

RUMİNANTLARDA RUMEN MİKROORGANİZMALARININ VARLIĞI VE ÖNEMİ (Derleme)

O. Tolga ÖZEL, B. Zehra SARIÇİÇEK*

Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Zootekni Bölümü, Kurupelit, Samsun

Özet

Ruminantlar, tek mideli hayvanların sindiremediği besin maddelerini retikulumunda bulunan mikroorganizma popülasyonu sayesinde sindirebilmektedirler. Sindirim faaliyetlerinin %60'ından fazlası retikulumunda gerçekleşmektedir. Rumen mikroorganizmaların büyümeleri için en uygun çevreyi sağlar. Normal koşullarda rumen içi sıcaklığı 38-41°C, pH'sı ise 5.5-7 arasında değişmektedir. Rumen içeriği bakteri ve protozoa popülasyonu tarafından oluşturulan fermentasyon nedeniyle asidik niteliktedir. Retikulumunda değişik tipte mikroorganizmalar bulunmakla birlikte en çok bakteriler ve silli protozoalar bulunmaktadır. Mikroorganizmaların tamamına yakın kısmı anaerobik ya da fakültatif anaerobiktir. Selüloz sindiren en önemli selüloolitik bakteri türleri: *Fibrobacter succinogenes*, *Ruminococcus albus* ve *Ruminococcus flavefaciens* dir. Protozoa türleri içerisinde ise en fazla Entodinium, Diplodinium ve Isotricha türleri bulunmakta olup, bunlar da daha çok selüloz ve nişasta sindirimine katkıda bulunmaktadır. Rumen mantarları bitki hücre duvarındaki yapısal polisakkaritlerin çoğunu hidrolize edebilecek enzimlere sahiptir.

Anahtar Kelimeler: Ruminant, rumen, mikroorganizma

THE IMPORTANT AND EXISTENCE OF RUMEN MICROORGANISMS IN RUMINANTS (A review)

Abstract

Ruminants can digest the nutrients which can not be digested by monogastrics by means of microorganism population found in their reticulorumen. Over the sixty percent of digestion processes occurs in reticulorumen. The rumen provides an environment that is very favorable for microbial growth. Under normal conditions rumen temperature and pH values range between 38-41 °C and 5.5-7, respectively. Rumen content is acidic due to the fermentation caused by bacteria and protozoa population in the rumen. Although there are a lot of various microorganism types in rumen, vast majority of these are bacteria and cilia protozoa. Nearly all of the rumen microorganisms are anaerobic or facultative anaerobic. Important cellulolytic (cellulose digesting) bacteria species include: *Fibrobacter succinogenes*, *Ruminococcus albus* and *Ruminococcus flavefaciens*. Entodinium, Diplodinium and Isotricha, which are the most common protozoa varieties, contribute to the cellulose and starch digestion. Ruminant fungi have enzymes which can hydrolyse the majority of the structural polysaccharides found in plant cell wall.

Key Words: Ruminant, rumen, microorganism

* E-posta: bzehra@omu.edu.tr

1. Giriş

Ruminantlar tek midelilerden farklı bir mide yapısına sahiptirler. Tek midelilerde enzimatik basit bir mide bulunmasına karşın Ruminantlar rumen, retikulum, omasum ve abomasumdan ibaret 4 bölmeli bir mide yapısına sahiptirler. Ruminantlarda midenin ilk 3 bölümünde mikrobiyel aktivite bulunmasına rağmen 4. bölme (abomasum) tek midelilerde olduğu gibi enzimik yapıya sahiptir. Omurgalılar yapısal bitki hücre duvarı kısımlarını parçalayacak selüloolitik ve hemiselüloolitik enzimler içermezler. Omurgalı otçullar ile bu kısımları hidrolize eden mikroorganizmalar arasında bir ilişki gelişmiştir [1]. Ruminant hayvanlar, tek mideli hayvanların sindiremediği besin maddelerini retikulorumende bulunan mikroorganizma popülasyonu sayesinde sindirebilmektedirler. Ruminant hayvanların sindirim sistemi fermentasyon için ideal bir yer olup, sindirim faaliyetlerinin %60'ından fazlası retikulorumende gerçekleşmektedir [2, 3].

Rumen ve retikulumda yemlerin kimyasal olarak parçalanması mikroorganizmalar tarafından salgılanan enzimler yardımıyla olmaktadır [4]. Rumen mikroorganizmaları bakteri, protozoa ve mantarlardan oluşmaktadır. Rumen içeriği bakteri ve protozoa popülasyonu tarafından oluşturulan fermentasyon nedeniyle asidik niteliktedir [5].

Retikulorumende değişik tipte mikroorganizmalar bulunmakla birlikte en çok bakteriler ve silli protozoalar bulunmaktadır. Mikroorganizmaların tamamına yakın kısmı anaerobik ya da fakültatif anaerobiktir. Mikroorganizma popülasyonu çok yoğun olup, mikrobiyel protoplazma rumen sıvısının %10'una kadar çıkabilmektedir Mikroorganizma grupları arasında gerek miktar gerekse rumen fizyolojisi açısından en önemli yeri bakteriler oluşturmaktadır [2]. Rumende en çok bulunan selüloolitik bakteri türü *Fibrobacter succinogenes*, *Ruminococcus albus* ve *Ruminococcus flavefaciens* olup, bu bakteriler selüloz sindiriminde önemli rol oynamaktadırlar. Protozoa türleri içerisinde ise en fazla *Entodinium*, *Diplodinium* ve *Isotricha* türleri bulunmakta olup, bunlar da daha çok selüloz ve nişasta sindirimine katkıda bulunurlar [4].

2. Rumen Ortamı

Rumen, mikrobiyel popülasyonun diyeti sindirmeye yardım ettiği bir fermentasyon odasıdır. Kısmen fermente olan yemler ve mikroorganizmalar rumenden geçerek ince bağırsaklara ulaşırlar. Yemlerin rumendeki sindirimi, mikrobiyel fermentasyon ve geniş getirme yoluyla maruz kaldığı fiziksel parçalanmanın ortaklaşa çalışmasıyla gerçekleşir [6]. Rumen ortamı topraklar, sulak alanlar, göller ve akarsular gibi sürekli dışarıdan gelen mikroorganizmalara maruz kalan, açık mikrobiyel sistemlerdir [1]. Rumen içi sıcaklığı 39-41°C [5], pH'sı 5.5-7.0 arasında değişmektedir [7]. Rumen ortamı, yemlerin kalış süresine (1-2 gün), osmotik basınca (250-350 mOsm), sık ve yüksek düzeyde sürekli besin maddesi sağlaması nedeniyle diğer ekosistemlerden farklılık göstermektedir [1]. Retikulorumende sindirim faaliyetleri tümüyle mikroorganizma faaliyetlerine dayanmaktadır. Kolay fermente olabilen karbonhidratlarca zengin olan rumen ortamı tükürük tarafından tamponlanmaktadır. Rumen hayvanın tüm kan dolaşımında bulunan kadar su içermekte [5] ve rumendeki nemli ortam birçok mikroorganizma türü için uygun bir yaşama ortamı hazırlamaktadır. Rumendeki anaerobik ortamın %95-99'u anaerobik karakterde olan mikroorganizma popülasyonu için ideal bir ortam oluşturmaktadır [1]. Rumen kuru maddesi çok değişkenlik gösteren bir parametre olmakla birlikte genelde rumen içeriğinin % 10-15'i arasında değişmektedir.

3. Mikroorganizmalar ve Özellikleri

Vahşi ruminantların rumenlerindeki mikroorganizma türleri ile evcil ruminantların rumenlerindeki mikroorganizma türleri hemen hemen aynıdır [8]. Mikroorganizma popülasyonundaki herhangi bir değişim sindirimi ve hayvanın performansını olumsuz yönde etkileyebilmektedir [9].

Rumen mikroorganizmaları ile ruminant arasında simbiyotik bir ilişki vardır. Rumen mikroorganizmaları rumende gelişmeleri için uygun bir ortam bulurken ruminantın ihtiyaç duyduğu besin maddelerini de sağlamaktadır. Rumen mikroorganizmalarının ruminantların ham selüloz içeriği yüksek olan kaba yemlerden daha iyi yararlanmalarını sağlayarak, yemlerdeki selüloz ve pentozanları uçucu yağ asitleri olarak bilinen organik asitlere (asetik asit, propiyonik asit ve bütirik asit) kadar parçalamaktadır [2]. Ayrıca rumen mikroorganizmalarının ruminantlar için protein, vitamin ve kısa zincirli organik asitleri de sağlamaktadır [3]. Ruminal fermentasyon oksijensiz ortama ihtiyaç duyar ve bu oksijen bir çok rumen mikroorganizması için toksik etki yapar. Rumen duvarından geçerek veya yemin bünyesine giren oksijen rumen duvarına yapışık durumda bulunan mikroorganizmalar veya rumendeki oksijene toleranslı mikroorganizmalar tarafından hızlı bir şekilde tüketilir [8]. Rumen mikroorganizmaları yüksek düzeyde rekabetçi nitelik taşıdıklarından rumen popülasyonu oldukça stabildir [3].

Rumen mikroorganizmaları ruminantların toksinlere karşı direncini artırmakla birlikte tüm sıcakkanlı hayvanların gastrointestinal kanalında varolan mikrobiyel floranın hastalıklara direnç sağlamada da etkisi bulunmaktadır [2]. Ruminant hayvanlar lifli maddeleri parçalayan enzimleri üretmezler ancak bakteri, protozoa ve mantarları rumenlerinde barındırırlar ve onların salgıladıkları enzimler sayesinde lifli maddeleri parçalayabilmekte ve sindirilebilmektedir [3]. Rumendeki predominant mikroorganizmalar zorunlu anaerob olup, büyük bir kısmı proteolitik özelliktedir ve prokaryotlar (bakteri ve anaeroplasm), arkebakteriler (metanojenler), ökaryotlar (protozoa ve mantar) ve bakteriofajlardan ibarettir [1].

3.1. Bakteriler

Rumendeki fermentatif faaliyetlerin büyük bir kısmından sorumlu olan bakterilerin [10] sayısı ile protozoaların sayısı arasında ters bir ilişki olduğu bilinmektedir. Yapılan bir çalışmada yüksek düzeyde dane yemle beslenen hayvanlarda toplam bakteri sayısının 2.8×10^{10} iken, protozoaların uzaklaştırılması halinde bakteri sayısının 13×10^{10} 'a kadar yükselebildiği belirlenmiştir [11].

Rumendeki bakteri sayısını Ørskov ve Ryle [10] ile Patterson [1] 10^{10} - 10^{11} , Sevgican [4], 10^9 - 10^{10} , Russell ve Rychlik [3], ise 10^{10} 'dan daha yüksek olduğunu bildirmektedirler. Rumen bakterilerin çoğu zorunlu anaerob olup, fakültatif anaeroblar da bulunmaktadır ve sayıları 10^7 - 10^8 arasındadır. Rumendeki bakteriler 0.5 - 10 µm boyutlarında, kok, çubuk, kokobasil ve spiral şekilde olmakla birlikte, rumende çoğunluğu gram negatif bakteriler (*Anaerovibrio lipolytica*, *Bacteroides ruminicola*, *Megasphaera elsdenii*, *Veillonella parvula*) oluşturmaktadır [1].

Rumen bakterileri hücre içi ve hücre dışı yıkıcı ve yapıcı enzim sistemine sahiptir. Bu enzimleri genel olarak bakterilerin konuk oldukları hayvanlar ya sentezleyemez ya da bu enzimler rumende bulunmaz. Bakteriler bu yolla (enzim sistemi ile) yaşamlarını sürdürmek için rumendeki besin maddelerine saldırarak enerji gereksinimlerini karşılar ve kendi vücut dokularını oluştururlar [12]. İn vitro çalışmalar lifli maddeleri sindiren rumen bakterilerinin mantarları inhibe eden bakteriyosinleri ürettiklerini ortaya koymuş olup, bu durum suca zengin kaba yemler veya dane yeme dayalı diyetlerle beslenen ruminantlardaki mantar sayılarının düşüklüğünü açıklamaktadır [3]. Bakteriler arasında *Ruminococcus amylophilus*, *Procella ruminicola*, *Butyrivibrio fibrosolvens* ve *Streptococcus bovis* gibi bakteriler proteolitik aktiviteye sahiptir [1].

Kaba yemle yemlenen hayvanlarda selülitik bakteri popülasyonu mikrofloranın önemli bir bileşenidir. *Fibrobacter succinogenes*, *Ruminococcus albus* ve *Ruminococcus flavefaciens* gibi türler rumende en çok bulunan selülitik bakteri türleridir ve bu üç bakteri türü kristal yapıdaki selülozu hızlıca parçalayabilme yeteneğine sahiptir [13]. Ayrıca *Butyrivibrio fibrisolvens* ve *Anaerovibrio lipolytica* bakterisinin lipidleri hidrolize ettikleri bilinmektedir. Uzun zincirli doymamış yağ asitleri *Butyrivibrio fibrisolvens* tarafından izomerize ve hidrojenize edilirler [1].

3.2. Protozoalar

Rumen protozoaları kamçılılar (Mastigophora) ve siliyatlar (Ciliophora) olmak üzere iki gruba ayrılmakla birlikte çoğunluğu siliyatlar oluşturmaktadır. Siliyat protozoaların tamamı zorunlu anaerob olup oksijene kısmen toleranslıdır ve patojen değildirler. Rumendeki protozoa sayısının 10^5 - 10^6 arasında olup [1; 8; 10], ebatları 25 - 250 µm arasında değişmektedir [10].

Rumen protozoaların varlığı diyet ve siliyatların sayı ve çeşidine bağlıdır. Düşük düzeyde protein içerikli diyetle beslenen hayvanlarda siliyat protozoalar büyüme ve performansla negatif etkide bulunurlar [11]. Rumen protozoaları rumen mikrobiyel popülasyonunun önemli bir kısmını temsil etmekte olup, toplam mikrobiyel biyokütlenin %50'sini oluşturmaktadır [3;13]. Rumen protozoaları proteolitik özelliktedir ve protein kaynağı olarak bakterileri tüketirler [1].

Protozoalar rumende gerçekleştirilen lif sindiriminin $1/3$ - $1/4$ 'lük kısmından sorumlu olup [8], diyet içeriği, pH, dönüşüm oranı, yemleme sıklığı ve yemleme düzeyi gibi faktörlerin protozoal faunayı etkileyen faktörler arasında yer aldığı bildirilmektedir [14] Bazı şartlarda protozoalar lifli madde sindiriminin % 30-40'lık kısmından sorumlu olabilirler. Ayrıca protozoaların lipid hidrolizinde rol aldıkları bilinmektedir. *Epidinium* spp. üzerinde yapılan çalışmalar protozoaların lipid hidrolizinin % 30-40'lık kısmından sorumlu olduğunu ortaya koymuştur [1]. Protozoaların rumende kalma süreleri bakterilere göre 4 kere daha fazladır [15]. Rumen protozoal popülasyonu yem tüketiminden etkilenmektedir [16].

Siliyat protozoalar, yüksek düzeyde konsantre diyetlerin kullanılması durumunda rumende oluşan şeker ve kolay çözünebilir karbonhidratların büyük bir kısmını bünyelerine alarak laktik asit oluşumunu ve rumen pH'sındaki dalgalanmaları [2] ve ani pH düşmelerini önlemektedirler [15]. Siliyatsız bir rumen ortamında selüloz ve nişasta sindiriminin yavaşladığı ve rumen sıvısının proteolitik aktivitesinin düştüğü bildirilmektedir.

Isotricha ve Dasytricha türü protozoalar sillelere sahiptir ve çözünebilir karbonhidratları kullanma eğilimindedir. Ophryoscolecid türü protozoalar ise ağız bölgesinde sillelere sahiptir ve bunlar da çözünebilir substratların yanında partikül halindeki substratları da kullanabilmektedir [1].

Ruminantların rumeninde bulunan ve tüm siliyat cinsleri içinde en zengini olan Entodinium, nişasta sindiren bir protozodur [17] ve düşük pH derecelerine karşı dayanıklıdır. Bu yüzden yüksek dane yem içerikli diyetlerin verilmesi durumunda rumendeki protozoa popülasyonunun büyük bir kısmını oluşturmaktadır. Yüksek dane yem içerikli diyetlerin sözkonusu olması durumunda Entodinium spp.'nin dışında varlıklarını koruyanlar Epidinium spp. dir [18]. Rumendeki silli protozoalardan Entodinium toplam protozoal popülasyonunun yaklaşık %80'ini, Epidinium, Dasytricha, Isotricha ve Ophryoscolex türler % 19'unu ve Polyplastron, Metadinium ve Diplodinium türleri ise %1.2'sini oluşturmaktadır [16].

3.3. Mantarlar

Mantarlar, bakterilere oranla sayıları az olup, proteolitik bakterilerde olduğu gibi azotlu maddeleri aminoasitlere kadar parçalarlar. Oksijeni yoğaltarak karbondioksit ürettikleri için rumendeki anaerobik ortamı hazırlar. Ayrıca B grubu vitaminlerin sentezlenmesinde önemli rolleri vardır. Kaba yemler ve silo yemleri bu mikroorganizmaların sayısını artırdığı bilinmektedir. Rumen mantarları kendiliğinden hareketli zoosporlara sahiptir [19]. Rumendeki mantar sayısı diğer mikroorganizma türlerine oranla daha az olmakla birlikte (10^3-10^5) ve toplam rumen biyokütlesinin %8'lik kısmını oluşturmaktadır [8]. Rumen mantarları lif sindiriminde [19; 20] ve arpa samanı gibi dirençli kaba yemlerin sindiriminde önemli rolleri bulunmaktadır [8]. Rumen mantarları bitki hücre duvarındaki yapısal polisakaritlerin çoğunu hidrolize edebilecek enzimlere sahip olup, bitkisel materyaldaki yapısal engelleri parçalamak ya da kırmak yönündeki yetenekleri bakterilere göre yüksektir ve rumenden uzaklaştırılmaları halinde yem tüketimi ve lif sindirimi düşmektedir [21]. Mantarlar tarafından bitki materyallerinin yoğun sindirimi, esas olarak bitki hücre duvarlarının en önemli yapısal komponentlerini parçalayacak çok geniş enzim düzenine sahip olmalarına bağlanmaktadır. Mantarlar metanojenlerle ve laktatı kullanan bakterilerle kokültüre edildiğinde selüloz sindirimi artar [20].

Rumen mantarlarının yaşam döngüsü koloni içinde meydana gelir [19] ve nispeten uzun bir hayat siklusüne (24-32 saat) sahiptir ve sadece düşük kaliteli kaba yemlerle beslenen ruminantlar yoğun mantar popülasyonlara sahip olabilmektedirler [3]. Serbest halde yüzen kamçılı zoosporlar bitki parçacıklarına kemotaksis yoluyla yapışırlar ve burada çoğalarak bitki dokusu içine rizoitlerini gönderirler. Bu aşamadan sonra sporogonium büyür ve bu sporogonium içerisinde genç zoosporlar oluşur daha sonra sporogonium patlar ve zoosporlar açığa çıkar ve hayat siklusu tekrar başlar [1]. Sporogoniumdan ayrılan zoosporlar motilitelerini 30-60 dakika devam ettirirler [19].

4. Mikroorganizmaların Sınıflandırılması

Rumen bakterileri bir çok şekilde sınıflandırılmakla birlikte (morfolojilerine, boyama durumlarına, etkiledikleri substratlara, ürettikleri son ürünlere göre) en fazla enerji kaynağı olarak kullanılan substratlara göre yapılan sınıflandırma kullanılır. Rumendeki silli protozoalar mikro ve makronükleus esasına göre ve dış (ekstriyor) dikenlerin ve lobların varlığına veya dahili iskeletsel tabakaların ve hücrelerin şekil ve boyutlarına göre sınıflandırılırlar [13]. Rumen mikroorganizmalarının türlere göre sınıflandırılması Çizelge 1'de gösterilmiştir.

Çizelge 1. Rumen mikroorganizmalarının sınıflandırılması

Bakteriler	Protozoalar	Mantarlar
Spiroketler	Filum: Ciliophora	Division: Eumycota
Treponema (bryantii, saccharophilum)	Alt Filum: Rhabdophora	Alt division: Mastigomycotina
Anaerobik gram negatif düz, eğri ve helikal çubuklar	Sınıf: Litosomatea	Sınıf: Chytridiomycetes
Anaerovibrio (lipolytica)	Alt sınıf: Trichostomatia	Takım: Spizellomycetales
Bacteroides (ruminicola)	Takım: Vestibuliferida	Aile: Neocallimasticaceae

Selenomonas (ruminantium)	Aile: Isotrichidae	Cins: Neocallimastix (trontalis)
Succinimonas(amylolytica)	Cins:Dasytricha (ruminantium)	Caecomyces (communis)
Succinivibrio(dextrinosolvans)	Isotricha (intestinalis, prostoma)	Piromyces (communis)
Wolinella (succinogenes)	Oligoisotricha (bubali)	
Anaerobik gram negatif koklar)	Takım: Entodiniomorpha	
Megasphaera (elsdenii)	Aile: Blepharocorythidae	
Veillonella (parvula)	Cins: Charonina (ventriculi, equi, nuda)	
Mycoplasmalar	Aile: Buetschliidae	
Anaeroplasma (bactoclasticum)	Cins: Buetschlia (parva, neglecta)	
Gram pozitif koklar	Parabundlleia (ruminantium)	
Ruminococcus (albus, flavefaciens)	Polymorphella (bovis)	
Streptococcus (bovis)	Aile: Ophryoscolecidae	
Düzenli, spor oluşturmeyan, gram pozitif çubuklar	Cins: Entodinium (bursa, caudatum)	
Lactobacillus (ruminitis)	Diplodinium (dentatum)	
Düzensiz, spor oluşturmeyan, gram pozitif çubuklar	Epidinium (ecaudatum)	
Butyrivibrio (fibrisolvens)		
Eubacterium (ruminantium)		
Lachnospira (multiparus)		
Archaeobacteria		
Methanobrevibacter (ruminantium)		
Methanosarcina (barkeri)		

2. Kaynak:[1].

5. Mikroorganizmaların Yapısı

Rumende bulunan bakteri ve protozoaların kimyasal bileşimi sabit değildir. Hayvana verilen rasyonun kolay çözünebilir karbonhidratlarca zengin olması durumunda mikroorganizmalar amilopektin benzeri vücut karbonhidratlarını daha fazla sentezlemekte ve daha sonra bu karbonhidratların mobilize etmektedir. Bu nedenle mikroorganizmaların depoladıkları karbonhidrat miktarı çok değişken olup, %0-25 arasında değişmektedir [12]. Gerek bakteriler gerekse protozoalar karbonhidraz enzimi içermektedirler [5]. Entodiniomorphid protozoalar selüloz ve hemiselülozu, Holotrich protozoalar ise nişasta ve çözünebilir şekerleri sindirebilen enzimlere sahiptir. Isotricha ve Dasytricha protozoalar α -amilaz enzimi içermektedirler. I. intestinalis ve I. prostoma maltaz, sellobiaz ve β -glükosidaz enzimi içerirken, Entodinium caudatum amilaz, maltaz ve sellobiaz enzimi içermektedir [5].

Bir kısım bakteriler sümüksü bir tabaka oluşturan dekstranları içermektedirler. Her ne kadar mikroorganizma türleri arasında hücum ettikleri spesifik karbonhidratlar bakımından önemli düzeyde farklılıklar olsa da bakterilerin bünyesinde çok değişik karbonhidraz enzimleri mevcuttur. Bakteriler % 47 düzeyinde amilopektin olarak karakterize edilen polisakkarit içeriğine sahiptir. Bir miktar Holotricha protozoa çözünebilir karbonhidratların tüketimini takiben depo polisakkaritlerini depolarlar; Isotricha ve Oligotricha protozoalar nişastanın tüketilmesini takiben depo polisakkaritlerini hızlı bir şekilde depolamaktadır [5]. Mikroorganizmaların karbonhidrat rezervi fazla olduğu zaman mikroorganizma vücudunda protein sentezi yavaş olmakta, bu rezervler mobilize olduğunda protein sentezi hızlanmaktadır. Karbonhidrat rezervinin azalması durumunda protein miktarı kuru maddede %50-55 düzeyine yükselebilmektedir. Gerek bakteri gerekse protozoalarda azotun önemli kısmı nükleik asitte bulunmaktadır. Azotun diğer kısmı hücre çeperinde yer almaktadır. Hücre çeperi bakterilerde çok kalın olup kuru maddede %10-20 düzeylerine ulaşabilmektedir. Bu nedenle azotun %5-20'si hücre çeperinde yer almaktadır [12].

Protozoal ve bakteriyel N nispi olarak sabit kalmaktadır. Rumen mikroorganizmalarının proteolitik aktiviteleri diyetle bağlı olarak değişmektedir [5]. Bazı bakteriler serin tipi proteazlar içermesine rağmen bakteriyel proteazlar ve protozoal proteazlar çok düşük düzeyde aspartik asit tipi aktiviteye sahip olan sistin tipi aktiviteye sahiptir. Mantarların ise proteolitik aktiviteleri yüksek olup çoğunlukla tripsin benzeri metalloproteaz içermektedirler [1]. Protozoa ve bakterilerin vücutlarındaki proteinlerin aminoasit bileşimi sabittir [12]. Bakteriler %42-44 protozoalar

%55 düzeyinde protein içermektedir. Bakteri ve protozoaların vücut proteinleri bitki proteinlerine göre lizince zengin, histidin ve sistin bakımından fakirdir. Protozoalar bakterilerden daha fazla lizin ve glutamik asit içerir. Bakteriler ise histidin ve treonin bakımından protozoalardan daha zengindir. Ayrıca rumen bakterileri kendi dokularında bitkilerde, hayvanlarda ve protozoal dokularda olmayan yüksek düzeyde 2.6-diaminopmelik asit içerir. Buna karşın protozoalar bakterilerde olmayan siliatin (aminoetilfosfonik asit) amino asiti içerir ki bu asit isotricha türlerinde 1.12 mg/g KM (kuru madde), Entodinium türlerinde 0.30 mg/g KM, karışık protozoalarda 1.02 mg/g KM düzeyindedir. Ayrıca protozoalar kayda değer miktarda piperolik (2-piperidin karboksilik asit) asit içerirler ve bu karboksilik asitin büyük bir kısmı işaretlenmiş 14 karbonlu lizinden gelmektedir [5].

Isotricha intestinalis %9.1, Entodinium simplex %6.3 ve protozoalara yapışık olan bakteriler %6.8 düzeyinde lipid içermesine rağmen [5], mikroorganizmaların enerji kaynağı olarak karbohidratları kullanmalarından dolayı vücutlarında önemli miktarda lipid rezervi bulunmaz [12]. Protozoal lipidler daha yüksek linolenik asit ve linoleik asit içermeleri bakımında bakteriyel lipidlerden farklılık gösterir. Ayrıca protozoalar sadece cis formundaki doymamış yağ asitleri içerirken, bakteriler esas olarak trans formundaki yağ asitlerini içermektedir. Rumen bakterileri önemli miktarda tek zincirli ve dallı zincirli, özellikle 15 karbonlu asitleri protozoalara göre daha yüksek oranda içermektedir. Protozoalar 15 karbonlu asitleri sentezleyemedikleri için bu asitleri düşük düzeyde içermektedir [5]. Bakterilerin vücudunda yaklaşık %15-20 düzeyinde mineral madde bulunmaktadır. Ayrıca bol miktarda sentezleyebildikleri tüm B grubu vitaminleri ve K vitamini içermektedirler [12].

6. Mikroorganizmaların Beslenmesi

Mikrobiyel populasyon için gerekli besin maddeleri enerji, protein, vitamin ve minerallerdir. Bu besin maddelerinin herhangi birinin yetersiz olması durumunda, mikrobiyel büyüme ve üretim zayıflamaktadır [9]. Lifli maddeleri sindiren mikroorganizmalar enerji ihtiyaçlarını daha çok kaba yem kaynaklarından olmak üzere yemlerdeki selüloz ve hemiselülozdan karşılarlar. Enerji sağlamak amacıyla polisakkaritlerden faydalanan bakterilerin büyük bir kısmı bu amaçla disakkarit ve monosakkaritleri kullanabilmektedir [2]. Ruminant rasyonlarında yeterli miktarda kolay çözünebilir nişasta ve benzeri karbohidratların bulunması gerekir. Böylece mikroorganizmalar tarafından protein sentezi ve selülozun sindirimi artar. Ancak rasyonda kolay çözünebilir karbohidratların fazla olması halinde mikroorganizmaların selülozu parçalaması ve dolayısıyla selülozun sindirilmesi oranı düşmektedir [12]. Nişastayı sindiren mikroorganizmalar enerji ihtiyaçlarını nişasta, şeker ve pektinlerden protein ihtiyaçlarını ise hem aminoasitlerden hem de amonyaktan karşılamaktadır. Bu mikroorganizmaların azot gereksinimlerinin yaklaşık olarak 2/3'ü aminoasitlerden ve 1/3 ü amonyaktan sağlanmaktadır. Ayrıca nişastayı sindiren mikroorganizmaların aksine lifli maddeleri sindirenler mikrobiyel protein sentezlemek için gerekli olan azot kaynakları olarak başlıca amonyak kullanırlar. Rumen ortamında yeterli düzeyde amonyak bulunması durumunda bakteriler hızlı bir şekilde çoğalmaktadır. Proteolitik bakteriler temel enerji kaynağı olarak aminoasitleri kullanmaktadır [2]. Protozoalar ise aminoasit kaynağı için bakterileri ve protozoaları tüketir ve protozoal sindirim bakteriyel proteinlerin yeniden kullanılmasında ve bakteriyel büyümede önemli rol oynamaktadır. Protozoalar çözünebilir proteinleri ve serbest aminoasitleri sindirebilmelerine rağmen aktiviteleri nispeten düşüktür ve rumende önemli değildirler. Protozoa sayıları yüksek olduğunda rumendeki amonyak konsantrasyonu daha yüksektir [1].

Diyete alınan proteinler rumende parçalanmaları durumunda sindirimin daha sonraki aşamalarında idrar yoluyla üre formunda dışarı atılan amonyağa dönüşürken aynı proteinler ince bağırsakta sindirilmeleri durumunda aminoasitlere dönüşmektedir. Proteinler rumende hidrolize olmaları durumunda bir nevi boşa harcanmış olmaktadır. Çünkü hidrolizasyon sonucunda ortaya çıkan aminoasitler rumen mikroorganizmaları tarafından sadece protein sentezinde değil aynı zamanda enerji üretimi amacıyla da kullanılmaktadırlar ki bu durum proteinlerin asıl kullanılma amaçlarından sapma anlamına gelmektedir. Bu yüzden rumendeki mikroorganizmaların N ihtiyaçlarının üre gibi bir protein olmayan nitrojenli bileşiklerle karşılanması şartıyla proteinlerin rumende parçalanma oranlarının sınırlandırılması bir takım avantajlar sağlamaktadır [22].

Rumende baskın olarak bulunan rumen mikroorganizmalarının büyük bir çoğunluğu çok fazla sayıda değişik çözünebilir karbohidratlardan faydalanma özelliğine sahiptir. Bu mikroorganizmaların bir kısmı glukozdan düşük düzeyde yararlanırken glukoz içeren polimerleri etkin bir şekilde kullanabilmektedirler [5]. Fermentatif faaliyetler sonucunda ortaya çıkan enerjinin bir kısmı gaz ve ısı formunda açığa çıkmakta geriye kalan kısmı ise mikroorganizmalar tarafından yaşama payı ve büyüme ihtiyaçlarının karşılanması amacıyla kullanılmaktadır [22]. Lifli maddeleri sindirebilen mikroorganizmaların rumende tam olarak aktif bir şekilde kalabilmeleri için en az 10 mg/dl amonyağa ihtiyaç duyduğu bilinmektedir. Rumen amonyak düzeyi bu düzeyin altına düşerse lifli madde sindiren mikroorganizmalar görevlerini yapamazlar. Mikroorganizmalar besin maddelerine hücum ederek

fermentasyona uğratar ve parçalar. Bunlardan karbonhidratların parçalanmasıyla uçucu yağ asitleri, laktik asit, süksünik asit ile CO₂ ve metan gazları ayrıca bir miktar da etanol, hidrojen ve hidrojen sülfid açığa çıkar [2].

7. Mikrobiyel Populasyonu Etkileyen Faktörler

Rumen mikroorganizmaları, yemlerin sindiriminde karşılıklı bir etkileşim içerisinde olup bir çok faktöre bağlı olarak sayı ve oranları değişmektedir. Bunlar, rasyonun yapısı (kaba yem : yoğun yem oranı), rumen uçucu yağ asitleri oranı, yemin formu ve besin madde içeriği, rumen pH'sı, yemin olgunluk dönemi, biçim zamanı, hayvan türü, yemlere uygulanan ısıtma, ıslatma, öğütme v.b. işlemler olarak sıralanabilmektedir. Dolayısıyla bu faktörlere bağlı olarak yemlerin etkin olarak değerlendirilmesinde farklılıklar ortaya çıkabilmektedir [23].

Rumen mikrobiyel populasyonunu kalitatif ve kantitatif anlamda etkileyen bir çok faktörün bulunduğu ortaya çıkarılmıştır. Mikroorganizmalar tarafından ihtiyaç duyulan bazı besinler diyetle bulunmayabilir, ancak diğer bazı mikroorganizmaların fermentasyon son ürünleri olarak üretilebilirler. Bunlara örnek olarak suda çözünen vitaminler, dallı zincirli uçucu yağ asitleri ve muhtemelen diğer bazı büyüme faktörleri verilebilir. Rumen mikroorganizmalarına sunulan besin madde düzeylerini kalitatif ve kantitatif anlamda etkileyen yem tüketim hızı, otlama sırasındaki seçicilik, toprak verimliliği, coğrafik konum ve iklim gibi faktörler de sayılmaktadır [5].

Ruminantlarda tüketilen yemlerin çeşitliliği mikrobiyel populasyonda farklılığa yol açmaktadır. Bazı mikroorganizmalar sınırlı sayıdaki besin maddelerini kullanabilirken diğer bazıları çok fazla sayıdaki besin maddelerini kullanabilmektedir [2] Rumendeki mikrobiyel populasyon, diyetlerin değişmesiyle değişmektedir. Dane yemle ya da konsantre yemle beslenen ineklerin rumenlerindeki mikrobiyel populasyon, mer'ada otlayan ineklerden farklılık göstermektedir [24]. Farklı dane yemler rumendeki mikrobiyel/protozoal populasyon üzerine farklı etkilere sahiptir [18]. Diyet ve hayvanın bulunduğu coğrafik konum rumen populasyonu üzerinde hayvanın genetik yapısından daha fazla etkiye sahiptir. Her ne kadar ruminantların herhangi bir bölgede yaşayabilmesi için genetik adaptasyon gerekli ise de hayvanların genetik yapılarının rumen mikroorganizmaları üzerindeki etkisi önemsiz düzeydedir [8]. Dolayısıyla ruminant diyetlerinin rumen ortamı üzerine büyük etkisi vardır. Yem kompozisyonu, fiziksel işleme derecesi ve yem katkı maddelerinin varlığı gibi faktörlerin hepsi rumen mikroorganizmalarının sayılarını, oranlarını ve sindirim aktivitelerini etkilemektedir [8]. Ruminantlar selülozca zengin kaba yemlerle beslenmeleri durumunda rumen pH'sı (pH=6.0-6.8) artmakta, yoğun yemlerle beslenmeleri durumunda ise (pH=5.4-6.0) düşmektedir. Kaba yemlerin öğütülmesi, otların ince kıyılması gibi işlemlerin de rumen pH'sını düşürmekte, dolayısıyla mikroorganizma populasyonunu değiştirebilmektedir [25].

Hayvanlar gece geniş getirme eğiliminde olduğu için rumen pH'sı sabah yemlemeden önce yüksek olup, yemlemeden sonra ise yüksek düzeyde fermente olabilen karbonhidratlar nedeniyle düşmektedir [26]. Rumen pH'sı diyetin yapısına ve yem tüketiminden sonra geçen süreye bağlı olarak düzenli bir şekilde değişmektedir. Rumen pH'sındaki dalgalanmalar yem içeriğinde biriken organik asit miktarındaki ve üretilen tükürük miktarındaki değişimleri yansıtmaktadır. Tükürük salgılanma oranı yemlerin kuruluk derecesi tarafından etkilenmektedir ve bu durum pH'yı değiştirmektedir [5]. Uçucu yağ asitleri de rumen sıvısının pH'sını düşürme eğilimindedirler [8]. Dolayısıyla ruminal pH'sı uçucu yağ asitleri konsantrasyonunun azalmasıyla artış göstermektedir. Yüksek düzeyde nişasta veya diğer kolay çözünebilen karbonhidrat içeren yem maddelerinin kullanılması selüloz ve diğer yavaş metabolize olan karbonhidratların hakim olduğu rasyonlara göre daha düşük pH değerlerinin ortaya çıkmasına sebep olmaktadır [5]. Düşük pH rumende daha hızlı absorbe olan asitlerin oranında yükselişlere yol açmaktadır. Rumen pH'sı uçucu yağ asitleri üretim düzeyleri ve mikrobiyel populasyonu etkileyen birçok faktörden biridir. pH'yı değiştiren iki temel bakteri grubu vardır. Bunlar; selülitik ve amilolitik bakterilerdir. Toplam bakteri ve amilolitik bakteri sayısı, artan yem tüketimine paralel olarak substrat miktarının artması ve protozoal tüketimin (protozolarca tüketilen bakteri sayısının azalması) azalmasına bağlı olarak mikrobiyel rekabetin azalması nedeniyle artış göstermektedir [16]. Lifli maddelerin sindirimi çoğunlukla pH=6.0–6.2 de gerçekleşirken, nişastanın sindirimi için daha asidik çevre şartları (pH =5.2–6.0) gerekmektedir. Belirli protozoa türleri pH 5.5'in altında olduğu zaman önemli derecede baskı altında olmaktadır. Bu nedenle rumen pH'sının 5.8-6.4 arasında olması gerektiği bildirilmektedir [7]. Ruminal laktik asit düzeyini artıran rasyonların söz konusu olması durumunda ruminal pH ile laktik asit düzeyi arasında yüksek derecede ilişki vardır.

Ruminant hayvanlar kaba yemden konsantre yeme geçtiklerinde ruminal mikrobiyel populasyon değişime uğramaktadır [27]. Rumen ortamında en önemli değişim kaba yem ağırlıklı diyetten konsantre yem ağırlıklı diyetle geçişte meydana gelmektedir. Konsantre yeme dayalı diyetlerin fermentasyonu oldukça hızlıdır ve aşırı laktik asit üretimi rumen pH'sının 5'ten aşağı düşmesine neden olmaktadır. Selülitik bakteriler ve protozoalar rumen

pH'sının 6'dan aşağı olması halinde etkisini gösterememekte ve konsantrite yem ile kaba yem karışımları sık sık lifli maddelerin ruminal sindiriminin azalmasına neden olmaktadır [8].

8. Mikrobiyel Protein

Mikrobiyel protein, esansiyel aminoasitleri yeterince içerdiğinden biyolojik değeri yüksek kaliteli bir protein olup, ruminantlarda rumen mikroorganizmaları tarafından yemlerde ve protein olmayan azotlu kaynaklardan yararlanarak sentezlenen bakteri proteindir [28]. Ön midede yıkılabilir protein ve protein olmayan azotlu bileşikler mikroorganizmalar tarafından serbest aminoasitlere ve amonyağa parçalanır. Serbest aminoasitler ve amonyak mikroorganizmalar tarafından mikrobiyel protein sentezinde kullanılır[28]. Rumende protein parçalanmasının ilk adımı proteinlerin proteinazlar tarafından ya mikroflora tarafından doğrudan kullanılacak ya da peptidazlar ve deaminize edici enzimler tarafından kısa zincirli yağ asitleri ve amonyağa parçalanacak olan peptidler ve aminoasitlere kadar parçalanmalarıdır. Rumen mikroorganizmaların % 38'i protolitik aktiviteye sahiptir. Amonyak azotunun % 59-66'sı rumende emilir ve omasuma geçerek orada değerlendirilir. Bakteriye azotun %50-65'i ve protozoal azotun %31-55'i rumen amonyağında elde edilir. Ayrıca amonyağın %17-54'ü rumende emilir. Mikrobiyel azotun % 80'i amonyaktan % 20'si ise aminoasitlerden gelir. Rumene giren diyet kaynaklı azotun % 59'u burada sindirilir, sindirilen azotun % 29'u aminoasit olarak kullanılır ve geriye kalan % 71'i de amonyağa parçalanır [5]. Rumendeki mikrobiyel populasyon hızlı bir şekilde gelişir ve mikrobiyel hücreler sindirilmemiş bitkisel materyal ile birlikte sindirim sisteminin aşağı kısımlarına taşınır. Sindirim sisteminin bu bölümlerinde salgılanan proteaz enzimi ile mikrobiyel hücreler parçalanarak sindirilmektedir [2]. Mikrobiyel fermantasyonun ürünleri olan uçucu yağ asitleri ve mikrobiyel protein hayvan tarafından absorbe edilmeye hazır durumdadır. Uçucu yağ asitleri hayvanın enerji ihtiyaçlarının %80'ni karşılamakta, rumeni terk eden mikrobiyel protein ince bağırsaklara giren proteinin % 50-90'luk kısmını oluşturmaktadır[6]. Mikrobiyel protein ince bağırsaklara ulaşan aminoasitlerin %90'ından fazlasından sorumludur [3]. Bakteri ve protozoa proteinlerinin %75'i aminoasitlerden oluşur ve mikrobiyel proteindeki aminoasitlerin %85'i absorbe edilir. Mikrobiyel proteinin sindirilme derecesi %74-90 arasında değişmekte esansiyel aminoasit bakımından dengeli olduğundan biyolojik değeri de %80 civarındadır [28]. Bakteriye proteinlerin ve protozoal proteinlerin biyolojik değerleri birbirlerine oldukça yakın olmasına rağmen, bakteriye proteinlerin sindirilme derecesi (%74), protozoal proteinlerin sindirilme derecesinden (%91) oldukça düşüktür. Bu yüzden protozoaların net protein kullanma oranları daha yüksek gerçekleşmektedir [2]. Mikrobiyel proteinlerin yapısına giren miktarın üzerinde üretilen aminoasitler amonyak üretmek üzere deaminasyona uğrarlar. Amonyak ve dallı zincirli yağ asitlerinin sağlanması serbest amino asitlerle gelişme gösteremeyen *Fibrobacter succinogenes* ve *Ruminococcus sp.* gibi bazı türlerin beslenmesi açısından önemlidir. Protozoalar gereğinden fazla bulunan aminoasitleri aktif olarak deaminasyona uğratırlar [1].

9. Sonuç

Ruminantların beslenmesinde hayvanların tüketimine sunulan yemlerin sadece bu hayvanları değil aynı zamanda rumen mikrobiyel populasyonun da beslenmesini sağlamakta olduğu bilinen bir gerçektir. Ruminantlardan ekonomik yarar sağlamakta en önemli unsur şüphesiz rumendeki mikroorganizmaların verimli ve sağlıklı beslenmesini sağlamaktan geçmektedir. Dolayısıyla rumen şartlarının optimum olabilme durumu rumen mikroorganizmalarının uygun sayı ve oranda olma zorunluluğunu da ortaya çıkarmaktadır. Rumen mikroorganizma populasyonunu dolaylı ya da direkt olarak etkileyecek her faktör hayvandan elde edilecek verimi ve yemden etkin yararlanmayı da etkileyeğinden rumen mikroorganizmaları üzerine daha detaylı çalışmalara ve bilgilere olan ihtiyacı da artıracaktır.

Rumen mikroorganizmalarının ruminant hayvanlar için önemi her geçen gün artmakla birlikte özellikle ülkemizde rumen mikrobiyel populasyonun belirlenmesi üzerine yapılan çalışmalar hala yetersiz kalmaktadır. Bu konuda eksikliklerin giderilmesi için rumen mikrobiyel populasyonun uygun yem kaynakları da kullanmak şartıyla ruminant hayvanlar için nasıl yararlı olabilecekleri konusunda yoğun araştırmaların yapılması mutlaka gereklidir.

Kaynaklar

- [1] J.A. Patterson, "Rumen Microbiology". Editor-in-Chief Lederberg, J. Encyclopedia of Microbiology. Academic press. Inc. Harcourt Brace Jovanovich Publishers. New York. Volume 3, 623-542.(1992)
- [2] A.V. Garipoğlu, B.Z. Sarıççek, "Rumen bakterileri." OMÜ, Zir.Fak.Dergisi , 15 (3): 131-137.(2000a)
- [3] J.B. Russell, J.L. Rychlik, "Factors That Alter Rumen Microbial Ecology". <http://www.distillersgrains.com/pdf/Russell - Factors That Alter Rumen.pdf>(2001)
- [4] F. Sevgican, "Ruminantların Beslenmesi". Ege Üniv. Zir.Fak. Yayınları No:524. (1996)

- [5] D.C. Church, "Digestive Physiology and Nutrition of Ruminants". Volume 1- Digestive Physiology (Second Edition), Oregon, (1984)
- [6] L.M. Rode, "Maintaining a Healthy Rumen – An Overview". <http://www.wcds.afns.ualberta.ca/Proceedings/2000/Chapter10.htm>,(2004)
- [7] M.R. Murphy, R.L. Baldwin, L.J. Koong, "Estimation of stoichiometric parameters for rumen fermentation of roughage and concentrate", *J. Anim. Sci.* 55:411-421.(1982)
- [8] T. McAllister, "Learning more about rumen bugs: genetics and environmental factors affecting rumen bugs". *Southern Alberta Beef Review – January, Volume 2, Issue 1.* (2000)
- [9] B. Lamb, "Forage Quality Influences Animal Performance". <http://www.moormans.com/Ecosyl/ForageQualityInfluencesAnimal.htm>. (2004),
- [10] E.R. Ørskov, M. Ryle, "Energy nutrition in ruminants". Elsevier, Applied Science Publ. London. (1990)
- [11] T.G. Nagaraja, G. Towne, A.A. Beharka, "Moderation of ruminal fermentation by ciliated protozoa in cattle fed a high-grain diet". *Applied and Environmental Microbiology*, Aug. p. 2410-2414.(1992)
- [12] A. Karabulut, "Besleme Fizyolojisi ve Metabolizma" Ders Notu. Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi. (1991)
- [13] M. Regensbogenova., S. Kısdıyova., T. Michalowski P. Javorsky, S.Y. Moon-Van Der Staay, G.W.M. Moon-Van Der Staay, J.H.P. Hackstein., N.R. McEwan, J.P. Jouany, J.C. Newbold. And P. Pristas, "Rapid identification of rumen protozoa by restriction analysis of amplified 18s rRNA gene". *Acta Protozool.* 43: 219 – 224. (2004)
- [14] R. Franzolin, B.A. Dehority, "Effect of prolonged high- concentrate feeding on ruminal protozoa concentrations". *J. of Animal Science* 74: 2803-2809. (1996)
- [15] M. Eugene, H. Archimede, D. Sauvart, "Quantitative meta-analysis on the effects of defaunation of the rumen on growth, intake and digestion in ruminants". *Livestock Production Science*, 85: 81-97. (2004)
- [16] K.K. Kreikemeier, D.L. Harmon, R.T. Brandt, T.G. Jr., Nagaraja, R.C. Cochran, "Steam-rolled wheat diets for finishing cattle: effects of dietary roughage and feed intake on finishing steer performance and ruminal metabolism". *J. of Animal Science.* 68: 2130-2141. (1990)
- [17] F.L. Fluharty, B.A. Dehority, " Effects of sugar beet pulp and corn as energy supplements for cattle fed forage diets on diet digestibility and ruminal microorganisms". <http://ohioline.osu.edu/sc156/sc156-10.html> (Erişim Tarihi: 20.04.2004). (2004)
- [18] A.N. Hristov, M. Ivan, L.M. Rode, T.A. McAllister, "Fermentation characteristics and ruminal ciliate protozoal populations in cattle fed medium or high concentrate barley based diets". *J. Animal Science*, 79:515-524. (2001)
- [19] K.N. Joblin, "Isolation, enumeration and maintenance of rumen anaerobic fungi in roll tubes". *Applied And Environmental Microbiology*, Dec. p. 1119-1122. (1981)
- [20] N.E. Obispo, B.A. Dehority, "A most probable number method for enumeration of rumen fungi with studies on factors affecting their concentration in the rumen". *J. Microbiol. Methods* 16:259-270. (1992)
- [21] B.A. Dehority, P.A. Tirabasso, "Antibiosis between ruminal bacteria and ruminal fungi. applied and environmental microbiology", July, p. 2921-2927. (2000)
- [22] A.V. Garipoğlu, B.Z. Sarıççek, "Rumendeki mikrobiyel metabolizmanın manipülasyonu metotları". *OMÜ Zir. Fak. Dergisi* , 15 (3): 138-144. (2000b.)
- [23] Anonymous, "From feed to milk: understanding rumen function". (<http://www-das.cas.psu.edu/den/catnut/422/index.html>) Erişim Tarihi: 02.08.2001. (2001)
- [24] K.N. Joblin, A. Hudson, "Management of milk flavour through the manipulation of rumen microorganisms". Edited by R.A.S. Welch, D.J.W. Burns, S.R. Davis, A.I. Popay And C.G. Prosser. *Milk Composition Production And Biotechnology.* CAB International, USA. (1997.)
- [25] S. Akkan, K. Özkan, "Rasyonun kaba-yoğun yem oranının süt miktar ve kalitesi ile rumen içeriğine etkileri". *EÜZFD. Cilt, 24, Sayı: 1, sayfa: 261-273.* (1987)
- [26] G.R. Ghorbani, D.P. Morgavi, K.A. Beauchemin, J.A.Z. Leedle, "Effects of bacterial direct-fed microbials on ruminal fermentation, blood variables, and the microbial populations of feedlot cattle". *Journal of Animal Science.* 80:1977-1985. (2002)
- [27] G. Towne, T.G. Nagaraja, R.T.J.R. Brandt, K.E. Kemp, "Dynamics of ruminal ciliated protozoa in feedlot cattle". *Applied Environmental Microbiology*, oct. p. 3174-3178. (1990)
- [28] B.Z. Sarıççek, "Küçükbaş ve Büyükbaş Hayvan Besleme". *OMÜ, Zir.Fak. Ders Kitabı No:37.* (2007)