

## **Rumen Mikroorganizmalarının Manipülasyonu için Kullanılan Yöntemler**

Selma Büyükkılıç Beyzi<sup>1\*</sup>, İsmail Ülger<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Erciyes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootekni Bölümü, Kayseri 38039TURKEY

\*Sorumlu yazar sbuyukkilic@erciyes.edu.tr

### **ÖZ**

Ruminantlar rumende meydana gelen bir dizi sindirim olayları ile diğer çiftlik hayvanlarından kesin bir şekilde ayrılmaktadır. Rumende meydana gelen sindirim olayları mikroorganizma faaliyetleri ile gerçekleşmekte ve besin maddelerinin sindirimi ile hayvanlardan verim elde edilmektedir. Ancak bu faaliyetler sonucunda istenmeyen bazı metabolitler oluşmakta ve bunlar besin madde kaybı ve çevresel sorunlara neden olmaktadır. Yapılan güncel çalışmalarda hayvanların verimlerinin artırılması amacıyla rumende oluşan karbondioksit, metan ve hidrojen sülfür gibi istenmeyen son ürünlerin azaltılması amaçlanmaktadır. Bu nedenle bu durumdan sorumlu olan mikroorganizmaların modifiye veya manipüle edilmeye ihtiyaç olduğu düşünülmektedir. Son yıllarda bu amaçla yem katkı maddeleri, bitki sekonder metabolitleri kullanımı gibi hayvan besleme çalışmalarının yanında defaunasyon ve genetik manipülasyon yöntemleri de kullanılmaktadır. Bu çalışmada rumen mikroorganizmalarının manipüle edilmesinde kullanılan bazı yöntemler derlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Rumen, Mikroorganizma, Yem katkı maddeleri.

### **Methods used for the manipulation of rumen microorganisms**

#### **ABSTRACT**

Ruminants are clearly separated from other farm animals by a series of digestive processes that occur in the rumen. The resulting digestion in the rumen, which occurs with the ingestion of nutrients and microorganism activity is obtained as yield from animals. However, as a result of these activities, some metabolites are formed and these metabolites cause loss of nutrients and environmental problems. In the current studies, it is aimed to reduce the end products such as methane, hydrogen and carbon dioxide which are formed in the rumen in order to increase the efficiency of the animals. Therefore, it is thought that microorganisms responsible for this condition need to be modified or manipulated. In recent years, feed additives, plant secondary metabolites, as well as faunation and genetic manipulation methods

have been used for this purpose. In this study, some methods used to manipulate rumen microorganisms were collected.

**Keywords:** Rumen, Microorganism, Feed additives.

## **GİRİŞ**

Çiftlik hayvanları arasında ruminant ve monogastrik hayvanlar bakımından ciddi beslenme farklılıkları vardır. Bu farklılığa sebebiyet veren sindirim sistemi yani rumendir. Rumende mikrobiyal bir popülasyon yaşamakta ve ruminal fermantasyon işlevini gerçekleştirmektedir. Bu mikroorganizmalar ruminantlar için önemli yarar sağlamakta ve simbiyotik bir ilişki ile yaşamlarını sürdürmektedirler. Rumende mikrobiyal türler karmaşık işlemler sonucu gelişmektedirler. Rumen mikroorganizmaları çoğunluk olarak bakteri, protozoa ve funguslardan oluşmaktadır (Imai, 1998). Bu popülasyon sayesinde

- 1) Yüksek oranda selüloz içerikli yemlerden etkinlikle yararlanılabilme
- 2) Protein kaynağı olmayan azotlu bileşikler protein kaynağı olarak değerlendirme
- 3) Bitkisel kaynaklı yemlerde bulunan toksik bileşikler detoksifiye edilebilmektedir.

Tüm bu özellikler bakımından ruminantlar monogastrik hayvanlardan ayrılabilir. Dolayısı ile ruminant beslemede rumenin manipülasyonu oldukça önem kazanmaktadır. Rumende fermantasyonun manipülasyonu amacı ile birçok uygulama yapılmış ve yapılmaya devam etmektedir. Bu amaçla rumende fayda sağlayacak proseslerin artırılması, fayda sağlamayan proseslerin ve mikroorganizmalar için zor olanların azaltılması veya elemine edilmesi şeklinde gruplandırılabilir (Nagaraja ve ark., 1997). Esas olarak rumende yemlerin aerobik fermantasyonu hayvanların kendileri için yarar sağlayan bir işlemdir. Bu işlemin kusursuz olması karşılıklı olarak fayda sağlamakla ilişkilidir ve rumende fermantasyonun optimizasyonu oldukça önemli bir süreçtir. Son yıllarda yem çeşitliliği ve kalitesindeki artışla beraber genetik manipülasyonlarla yem değerlendirme ve üretim performansı iyileştirilmeye çalışılmıştır (Santra ve Karim 2003).

Rumen manipülasyonunda başarıya ulaşabilmek amacıyla birçok metot uygulanmıştır. Bu metotları genetik ve genetik olmayan metotlar olarak iki grupta toplamak mümkündür. Genetik uygulamalarda rumen mikroorganizmalarının gen transfer teknikleri kullanılarak manipülasyon gerçekleştirilmektedir. Ancak rumen mikroorganizmalarının genetik manipülasyonunda başarılı olabilmek oldukça güçtür. Bu sebeple daha çok yem katkı

maddeleri, bitki sekonder metabolitleri kullanımı gibi genetik olmayanmanipülasyonlar uygulanmaktadır.

## **YEM KATKI MADDELERİ**

Yem katkı maddeleri genellikle besin maddesi içermeyen katkı ya da bileşikler olup, rasyonda besin maddeleri kullanımının geliştirilmesi, performansın artırılması ve metabolik hastalıkların önlenmesi gibi avantajlar içermesi ile rasyonda kullanılmaktadır. Bu amaçla kullanılan yem katkı maddeleri genellikle iyonoforlar, mayalar, enzimler, esansiyel yağlar, tampon maddeler ve organik asit gibi katkılarıdır.

### **İyonoforlar**

İyonoforlar organik bileşiklerdir ve çoğunlukla *Streptomyces* spp. suşlarından elde edilir ve hücrede iyonların taşınmasında görev alırlar. En çok kullanılan iyonoforlar Rumensin (Monensin Sodyum), Bovatec (Lasalosit Sodyum), Salinomisin ve Cattlyst (Laidlomisin Propiyonat Potasyum) içermektedir. Bu maddelerden en fazla kullanılan iyonofor poliyeter bir antibiyotik olan monensindir ve sodyum tuzları şeklinde oral olarak uygulanmaktadır (Hobson ve Steward 1997; Yang ve ark., 2007).

İyonoforlar rumen fonksiyonlarını gram-pozitif bakterilerin sayısını azaltarak modifiye etmektedir. Çünkü gram-pozitif bakteriler daha çok asetat ve  $H^+$ ,  $CH_4$  ve  $NH_3$  gibi istenmeyen ürünleri üretmektedirler. İyonofor kullanımı rumen fonksiyonlarını geliştirmekte ve bu metabolitlerin üretimini azaltarak performansı artırmaktadır. İyonoforlar rumende asetat/propiyonat oranını azaltmakta ve ruminal enerji kullanım etkinliğini iyileştirmektedir. Ayrıca iyonoforlar monensin gibi metan oluşumunda prekürsor olarak görev yapan format ve  $H_2$  üretimini azaltarak ruminal metan üretimini azaltabilmekte (Russell ve Strobel 1989) ve direkt olarak metanogenezini inhibe edebilmektedir (Dellinger ve Ferry 1984). Metanogenezine sebep olan *Methanobacterium formicicum* format bakımından zengin ortamda baskılanmaktadır(Dellinger ve Ferry 1984).İyinofor uygulaması proteolizi kısmen azaltabilmekte ancak peptidolizis ve amino asit deaminasyonunu önemli derecede azaltabilmektedir ( Hobson ve Stewart 1997). Bu durum çoğunlukla gram-pozitif olan ve amonyak üreten *Peptostreptococcus anaerobius*, *Clostridium sticklandii* ve *C. Aminopholum* gibi bakterilerin inhibe edilmesi ile gerçekleşmektedir. Sonuç olarak iyonofor kullanımı genellikle protein ve peptidlerin postruminal miktarını artırmaktadır.

## **Probiyotikler**

Probiyotikler alternatif biyoteknolojik ürünlerin başında gelmektedir. Probiyotik kelimesinin İngilizce karşılığı “for life” yani “hayat için” anlamına gelmekte ve antibiyotik kelimesinin zıt anlamlısı olarak bilinmektedir (Shortt, 1999).

Probiyotik olarak kullanılan mikroorganizmalar genellikle Lactobacillus, Bifidobacterium ve Bacillus bakteri türleri ile mantar ve maya kültürleridir. Bunların çoğu, sindirim kanalı mikroflorasında sürekli doğal olarak bulunmakla birlikte, laktik asit üreten bu mikroorganizmaların her biri belli bir hayvan türüne adapte olmuştur. Probiyotikler bir ya da birden fazla bakteri suşunu bir arada içerebilmektedirler, birden fazla suş içerenler hayvanlarda daha çok etkili olabilmektedir (Fuller, 1989). Probiyotik bakteriler genel olarak Gram (+), anaerop ve zararsızdırlar (Arda ve ark., 1992). Patojen bakteriler ise gram (-) aerobik ve patojendirler (Yalçın ve ark., 1996). Probiyotik bakteriler, Lactobacillus, Leucanostoc, Pediococcus, Streptococcus türü bakteriler laktik asit üretirler ve Lactobacillus bakterileri mide pH'sına dayanıklılığı ile sindirim kanalından geçiş esnasında büyük oranda canlılıklarını koruyabilmektedirler.

Probiyotikler ruminantlarda kullanıldığında, rumen pH'sının stabil kalmasını, bu sayede asidoz gibi rumen pH'sı ile ilgili hastalıkların önlenmesini sağlamaktadır (Fuller, 2007). Rumen normalde anaerobik olmasına rağmen yem tüketimi esnasında veya kandan difüzyon yoluyla önemli miktarlarda oksijen rumene gelmektedir. Probiyotik mayalar, rumende oksijeni kullanarak anaerobik ortamı güçlendirmekte, laktat birikimini önlemekte ya da üretiminin azalmasını sağlamaktadır. Ayrıca oksijenin tüketilmesi ile redoks potansiyelinin azaldığı, böylece aerobik patojenlerin oksijenden yararlanmalarını engelleyerek gelişimlerini durdurduğu bildirilmektedir (Sarıpınar ve Sulu 2005; Fuller, 2007). Probiyotikler rumende selülozun parçalanmasını önemli düzeyde etkilemekte ve hemiselülotik bakterilerin gelişimini uyarmaktadırlar. Toplam anaerobik ve selülotik bakteri sayısını önemli düzeyde (5–8 kat) artırmaktadır (Karaayvaz ve Alçiçek 2004; Fuller, 2007). Probiyotik mayalar mikrobiyal protein sentezinde önemli düzeyde iyileşmeler meydana getirmekte ve organik maddelerin sindirim derecesini ve rumende toplam azot miktarını önemli derecede artırmaktadır. Bu şekilde rasyondaki ham proteinin sindirim derecesi artmaktadır (Sarıpınar ve Sulu 2005). Probiyotikler ruminantlarda kullanıldığında, toksik amin ve amonyağı üreten mikroorganizmaların çoğalmasını önleyerek, bağırsakta toksik aminlerin ve amonyağın birikmesini engellemektedirler. Bu şekilde amonyak azotundan yararlanma artırmakta ve

rumen amonyak konsantrasyonu düşmektedir (Karademir ve Karademir 2003; Karaayvaz ve Alçiçek 2004; Sarıpınar ve Sulu 2005).

### **Akarboz**

Akarboz nişastanın glukoza parçalanma hızını yavaşlatan  $\alpha$ -amilaz ve glikozidaz inhibitörleridir. Ticari olarak üretilir ve daha çok diyabetik hastalarda kan glukoz seviyesinin kontrolü için kullanılmaktadır (McLaughlin ve ark., 2009a). Akarboz rumende UYA üretim hızını azaltarak asidozise karşı koruma potansiyeline sahiptir. Yapılan bir çalışmada akut asidozis görülen hayvanlarda rasyona kg canlı ağırlığa göre 1.07 veya 2.14 mg akarboz ilavesinin ruminal laktat konsantrasyonunun azaldığı ve rumende daha yüksek pH sağlandığı gözlenmiştir (McLaughlin ve ark., 2009a). Aynı araştırmacılar tarafından yapılan başka bir çalışmada günlük 0.75 g akarboz ilavesinin erken laktasyondaki ineklerde yem tüketiminde ve yağa göre düzeltilmiş süt veriminde artış gözlenmiştir (McLaughlin ve ark., 2009b). Sonuç olarak akarbozun asidozise karşı kullanılabileceği bildirilmiştir.

### **Büyüme uyarıcılar**

Büyüme uyarıcılar esasen rumende üretilen ancak bazı durumlarda yetersiz kalan organik maddelerdir. Bunlara örnek olarak niyasin, tiyamin ve dallı zincirli karbon iskeletleri verilebilmektedir.

**Tiyamin:** Karbonhidrat metabolizmasında ve  $\alpha$ -keto asitlerin dekarboksilasyonunda önemli bir rol alan transketolazın koenzimidir. Ruminantlarda pentoz fosfat ile büyük oranlarda NADPH üretilmekte ve bunlar asetat ve bütirattan itibaren yağ asidi sentezi için kullanılmaktadır. Bütirat ve asetat enerji metabolizmasında ve süt yağ sentezinde kullanılmaktadır. Tiyamin üretiminin aksaması durumunda enerji metabolizmasına bağlı hastalıklar ve süt yağında düşüşler yaşanmaktadır.

**Niyasin:** Oksidasyon reaksiyonlarında hidrojen taşıyıcı olarak görev almaktadır. Yağ, karbonhidrat ve protein metabolizmasında koenzim olarak görev yapar ve sentez ve yıkım olaylarında önemli görev üstlenmektedir. Niyasin rumen mikroorganizmaları için büyüme faktörü olarak kullanılmaktadır. Bununla beraber rasyona niyasin ilavesi ile mikrobiyel protein sentezinin artması, UYA'den propiyonik asit oranının artması ve rumende selüloz sindiriminin artması beklenmektedir. Ek olarak niyasin ile kan glukoz konsantrasyonu artar,

$\beta$ -hidroksibutirik asit ve serbest yağ asidi konsantrasyonu azalmaktadır. Bu şekilde özellikle erken laktasyondaki ineklerde niyasin kullanımı önerilebilmektedir.

### **Organik asitler**

Aspartat, malat ve fumarat gibi dekarboksilik organik asitler metanogenezisi azaltma potansiyelinden dolayı yem katkı maddesi olarak kullanılmaktadır. Organik asitler propiyonata dönüşüm esnasında  $H_2$  emilimi yapmaktadırlar (Newbold ve Rode 2006; Bayaru ve ark., 2001; Moss ve Newbold, 2002; Wallace ve ark., 2005). Serbest  $H_2$ 'nin azaltılması aynı zamanda selülitik bakterilerin uyarılmasını ve selüloz sindiriminin artmasını sağlamaktadır (Newbold ve Wallace 2006). Ancak, hayvan performansında tutarlı bir etkiye sahip değildir (Sanson ve Stallcup 1984; Martin ve ark., 1999). Organik asitler GRAS (generally regarded as safe) statüsünde olmasına rağmen, lezzeti(Moss ve Newbold 2002), rumen pH'sının azalmasına neden olması(Asanuma ve ark., 1999), tutarsız etki ve yüksek fiyat gibi sebeplerle kullanımı sınırlıdır (Newbold ve Rode 2006).

### **Tampon maddeler**

Tampon maddeler  $H^+$ konsantrasyonu veya pH'ya karşı zayıf asit veya alkalilerdir. Bu maddeler salyanın tamponlama etkisini tamamlamak ve ruminal asiditeyi nötralize etmek için rasyona katılmaktadır. Bu şekilde nişastaca zengin veya asidik silajlarda asidozis riskini azaltmakta ve meradaki hayvanlarda taze otlarla beslenme ile oluşan şişme oranını azaltmaktadır. Tampon maddeler genellikle sodyum bikarbonat, kireç taşı, sodyum bentonit ve magnezyum oksit içermektedir. Tampon maddelerin temel etkisi pH değişimine karşı direnç veya pH'nın artırılması şeklindedir. pH'nın yükselmesi selüloz sindirimini artırmakta, bu sayede rumende asetat/propiyonat oranı artmaktadır. Ek olarak, bu katkıları ruminal ozmolaliteyi artırmakta ve bu şekilde ruminal propiyonat oranı azalmakta, bu sayede süt yağı sentezi artmaktadır (Rogers ve ark., 1982; Hobson ve Stewart 1997).

Sonuç olarak tampon maddeler rumen pH'sının satabilizasyonunu sağlayarak asidozis, rumenitis ve laminitis gibi hastalıklara karşı kullanılabilir. Aynı zamanda su tüketimi, rumen sıvısının terkedilme hızı, selüloz sindirimi ve süt yağı sentezini artırmaktadır. Ruminal ortamın asidik olması beklenen veya şişmeyi uyarıcı rasyonlarda tampon madde kullanımı önerilmektedir.

### **Mayalar**

Mayalartek hücreli mantarlardır. En çok kullanılan ticari ürün çeşitli oranlarda canlı ve ölü *Saccharomyces cerevisiae* hücrelerinden oluşan bir karışımdır. Yea-sacc (Alltech Inc.); Levucell SC-20 (Lallemand Animal Nutrition), ve Diamond V Yeast culture (Diamond V, Mills Inc.) ticari ürünlere örnektir. Mayalar rumende mikrobiyal uyarım, oksijen yutumu ve rumen pH'sına etkileri ile ön plana çıkmaktadır.

Mikrobiyal uyarım: Yapılan 14 çalışmada rasyona *S. cerevisiae* katılması ile ruminal bakteride %50'lik bir artış sağlanmıştır (Wallace ve Newbold 1993). Aynı zamanda ruminal mantarlarında uyarıldığı ve zoosporogenezis için tiamin sağlandığı kısmen ilişkilendirilmiştir (Chaucheyras-Durand ve ark., 2005). Ayrıca maya kültürü ilavesinin *Fibrobacter succinogens*, *Ruminococcus* spp, ve *Butyrivibrio fibrosolvans* gibi selüloz sindiren bakterilerin gelişimini uyardığı (Weidemeir ve ark., 1987) ve *Neocallimastix frontalis* gibi mantarların hücre duvarı kolonizasyonunu artırdığı bildirilmiştir (Chaucheyras- Durand ve ark., 1995). Bu faktörler selüloz sindirimini artırmaktadır (Weidemeir ve ark., 1987; Chaucheyras-Durand ve ark., 2008).

Oksijen yutumu: Rumende su tüketimi, ruminasyon ve salya miktarına bağlı olarak günlük olarak 16 litrenin üstünde O<sub>2</sub> oluşmakta (Newbold, 1995) ve bu *Fibrobacter succinogens* gibi anaerob selülitik bakterilerin gelişimini inhibe etmektedir (Marounek ve Wallace1984). Mayalar otokton mikroorganizmalar için O<sub>2</sub>'i kullanarak rumen koşullarını daha elverişli duruma getirmektedir (Chaucheyras-Durand ve ark., 2008). Yapılan *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarda maya kültürü ilavesinin rumende redox potansiyelini azalttığı belirtilmiştir (Joanny ve ark., 1998; Chaucheyras-Durand ve Fonty 2002).

pH modülasyonu: Mayalar endodiniyomorfid protozoaları baskılayarak rumen pH'sını ayarlamaktadır, bu şekilde

- 1) Laktat üretimini sağlamak amacıyla nişasta partiküllerini yok eder; nişasta için amilolitik bakterilerle rekabete girer (Mendoza ve ark.,1993; Williams ve Coleman, 1997);
- 2) Asidik potansiyeli azaltmak amacıyla nişastayı UYA'ne daha yavaş bir şekilde çevirir (Chaucheyras-Durand ve ark., 2008).

Bu faktörler maya kültürü ilavesi ile asidozisin azaltılmasını açıklamaktadır.

## **Yağlar**

Yağların sindirimi rumende başlamakta; bakteriyel lipaz ile gliserol ve yağ asitlerine parçalanmaktadır. Gliserol bakteriler tarafından enerji kaynağı olarak kullanılabilmekte ve propiyonik asite dönüştürülmektedir. Doymamış yağ asitleri bakteriler tarafından biyohidrojenizasyona uğratılabilmekte ancak enerji kaynağı olarak kullanılamamaktadır. Biyohidrojenizasyon rasyonda kullanılan yağın kaynağı ve rumen koşullarına göre değişmekle birlikte yağ asitlerinin %60-90'ı hidrojenize edilir. Rasyona yağ ilavesi ile protozoaların konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak mikrobiyal protein sentezinin etkinliği artmaktadır (Doreau ve Ferlay 1995; Oldick ve Firkins 2000).

Yağ kaynağında aranılan özelliklerin başında; ruminal fermantasyona minimum etki ve yüksek sindirilebilirlik olmalıdır, ancak bu iki özelliği elde etmek her zaman kolay değildir. Doymamış yağların sindirilebilirliği yüksektir ancak selülitik mikroorganizmaları baskılayıcı etkisinden dolayı rumende selüloz sindirimini azaltmaktadır. Doymuş yağlar ise rumende selüloz sindiriminde daha az etkili olmasına rağmen, yağların sidirimi konusunda doymuşluk seviyesine bağlı olarak değişiklik göstermektedir (Firkins ve Eastridge 1994; NRC, 2001). Yağlar doymuşluklarına göre karşılaştırıldığında iyodin oranı veya toplam doymamışlık kullanılmaktadır. Ruminal fermantasyonda problemleri minimize etmek amacıyla rasyon kuru maddesinde iyodin oranına bağlı olarak yağ ilave edilmelidir. Bu amaçla tahmini olarak rasyon kuru maddesinin %2-3'ü kadar yağ kullanılabilir. Bir başka yaklaşım ise rasyon selüloz oranına göre yapılacak olan hesaplamadır. Rasyon selüloz konsantrasyonunun yüksek olması durumunda doymamış yağ asitleri daha fazla tolere edilebilmektedir.

## **DEFAUNASYON**

Defaunasyon ruminantlarda rumenin protozoolardan uzaklaştırılması işlemidir. Becker ve Everelt (1930) rumen protozoalarının koyunlarda esansiyel olmadığını bildirmişlerdir. Ancak daha sonra yapılan çalışmalar bunun aksi iddia edilmiştir. Bazı araştırmacılar rumen protozoalarının ruminantlar için esansiyel olduğunu ve rumen pH'sının stabilizasyonunda gerekli olduğunu bildirmişlerdir (Santra ve ark.,1996; Santra ve Karim, 2002). Rumende protozoalar rumen mikroorganizmaları içerisinde büyük oranda yer almakta ve toplam



biyokütlenin %40-50'sini oluşturmaktadır. Protozoalar genellikle rumende enzim aktivitesinde rol almaktadırlar (Agarwall ve ark., 1991).

### **Defaunasyon metotları**

Rumende siliat protozoalarının uzaklaştırılması amacıyla kullanılan birçok metot vardır. Bunlar;

**Yenidoğanların izolasyonu:** Defaunasyonda yöntemlerden biri de yeni doğan bir hayvanın doğum yerinden ve herhangi bir ergin hayvandan uzaklaştırılmasıdır. Bu işlem doğumdan 2-3 gün sonra yapılabilmektedir (Jouany, 1978). Bu süre boyunca negatif bakteriyel popülasyona maruz bırakılmalı ancak siliat protozoaları ile kontamine edilmemelidir (Fonty ve ark., 1984). Ancak hayvanlar bir kez ayrıldıktan sonra herhangi bir şekilde ergin bir hayvanla kontamine olmamalı ve başka etkileyecek herhangi bir durumla karşılaşmamalıdır.

**Kimyasal uygulama:** Defaunasyonda diğer bir metot da kimyasal kullanımı ile defaunasyondur. Bu amaçla kullanılan en yaygın kimyasal bakır sülfat (Ramprasad ve Raghavan 1981), manoksol (Chaudhary ve ark., 1995) ve sodyum lauryl sülfattır (Santra ve ark., 1994; Santra ve Karim 1999). Bu kimyasallar hayvanlara rumen fistülü veya mide tüpleri ile oral olarak verilmektedir. Ancak, bu kimyasallar yalnız protozoalar için toksik olmayıp diğer mikroorganizmalar, özellikle bakteriler içinde öldürücü etkiye sahiptir. Yapılan bazı çalışmalarda, bu yöntemde yem tüketiminin baskılandığı, dehidrasyona sebep olduğu ve zaman zamanda ölümle sonuçlandığı gözlenmiştir (Jouany ve ark., 1988).

**Rasyon değişiklikleri:** Siliat protozoaları rasyon pH değişimlerine karşı oldukça hassas mikroorganizmalardır. Rumen pH'sı 5.8'in altında iken bu mikroorganizmaların aktiviteleri ciddi miktarda azalmakta ve rumen pH'sı 5'in altına düştüğünde tamamen elemine olmaktadır. Bundan dolayı, 24 saat aç bırakılan hayvanlara yüksek enerjili yemlerle (özellikle arpa, mısır gibi tahıllar) yapılacak besleme ile rumende asidik bir ortam hazırlanır ve pH 5'in altına düşürülür. Bu sayede protozoaların tamamen elemine edilmesi sağlanmakta ve defaunasyon gerçekleştirilmektedir. Bu metottaki önemli dezavantaj ise hayvanların asidozise maruz bırakılmasıdır. Hayvanda asidozis gelişimi çeşitli ikincil komplikasyonlara sebep vermektedir. Bunun dışında bitki yağları ile muamele edilmesi siliat protozoaları elemine etmekte ve bu şekilde defaunasyon ajanı olarak kullanılmaktadır (Newbold ve Chamberlain 1988; Nhan ve ark., 2001).

## **BİTKİ SEKONDER METABOLİTLER**

Yemlerde bulunan sekonder metabolitler bakteri, protozoa ve funguslara karşı antimikrobiyal olarak bilinmektedir. Fenolik bileşikler temel aktif bileşenlerden (Dorman ve Deans 2000; Burt, 2004) oluşmasına rağmen, fenolik olmayan maddeleri içeren türler de bildirilmiştir (Newton ve ark., 2002; Burt, 2004). Ruminal mikroorganizmalar üzerindeki etkileri bitki türleri tüketimi ve bitkinin kimyasal kompozisyonuna bağlıdır. Oksijenize olmuş monoterpenler özellikle monoterpen alkol ve aldehitler rumen mikroplarının metabolizma ve gelişimini ciddi ölçüde baskılamaktadır. Monoterpen hidrokarbonlar ise rumen mikroorganizma aktivitelerini daha az inhibe edici etkiye sahiptir (Benchaar ve ark., 2008).

Bitki bileşenlerinin fermentasyonda amonyak ve rumen UYA gibi son ürünlerde değişikliklere sebep vermektedir. Bu amaçla özellikle rumende amonyak azotu üretiminin azaltılmasında saponinler, tanenler ve esansiyel yağlar kullanılmaktadır (Frutos ve ark., 2004; Patra ve Saxena 2009; Spanghero ve ark., 2008). Amonyak konsantrasyonundaki azalma, izoasitlerin üretiminde azalmaya bağlı olarak rasyon proteinlerinin parçalanmasında azalmayla sonuçlanmaktadır (Alexander ve ark., 2008; Hervás ve ark., 2000). Rumen amonyak konsantrasyonunun etkileri,rumende rasyon proteini sindiriminde büyük etkiye sahip protozoal sayının azalmasına bağlı olarak değişmektedir (Lu ve Jorgensen 1987; Klita ve ark., 1996; Newbold ve ark., 1997).Rumende protein metabolizmasının azalması iki mekanizma ile ilişkilendirilebilmektedir (McIntosh ve ark., 2003; Newbold ve ark., 2004); 1)proteinlerin peptitlere parçalanmasında azalma, 2)mikroorganizmaların baskılanması (hiper amonyak üreten bakteriler ve bunların deaminaz aktivitesi) (Newbold ve ark., 2004).

Saponin, tanen ve bazı esansiyel yağlar anti-protozoal aktiviteye sahiptir (Hristov ve ark., 2003; Makkar ve ark., 1995). Bu antiprotozoal etki *yucca schidigera* (Valdez ve ark., 1986), ve yoncadan (Lu ve Jorgensen 1987) elde edilen saponinlerde gözlenmiştir(Goel ve ark., 2008). Antiprotozoal etki aynı zamanda *in vitro* olarak da gözlenmiştir (Hristov ve ark., 1999; Lu ve Jorgensen, 1987). Ancak saponinlerin rumen siliyatlarının gelişimini baskıladığı (Wallace ve ark., 1994; Wang ve ark., 1998)bilinmesine rağmen, tüm protozoa türlerinin hassasiyeti tam olarak belirlenememiştir (Patra ve Saxena 2009).

Saponinler UYA üretiminde değişik etkilere sahiptir ancak birçok çalışmada propiyonat üretimin arttığı, asetat, bütirat ve dallı zincirli UYA üretiminin azaldığı belirtilmiştir (Castro-Montoya ve ark., 2011; Patra ve Saxena 2009). Bu etkiler daha çok rasyondaki doza bağlı

olarak değişmekle birlikte, saponinler gram-pozitif bakteri (daha çok asetat üreten) ve protozoaların baskılanması ile propiyonat üretiminin artmasına neden olmaktadır (Wallace ve ark., 1994, 2002). Saponinler rumende pH'nın düşmesi ile daha belirgin etki göstermekte ve buna bağlı olarak rasyona katılan saponinlerin performans etkileri değişiklik arz etmektedir (Hristov ve ark., 1999; Lila ve ark., 2003; Liu ve ark., 2003; Hess ve ark., 2003; Hart ve ark., 2008).

Tanenler rumen protein ve bitki hücre duvarı sindirilebilirliğini azaltabilmektedir. Çünkü rasyon proteinini bağlamakta ve selüloz, hemiselüloz ve pektin gibi yapısal polisakkaritlerin sindirim hızlarını düşürmektedir. Tanenler aynı zamanda mikrobiyal enzimlere bağlanarak sindirime müdahale etmektedir (McSweeney ve ark., 2001).

Esansiyel yağlar, kolonizasyonu ve selüloz sindiriminden etkilenmeyen amilolitik ve proteolitik bakteriler tarafından kolaysindirilebilen substratların sindirimini baskılamaktadır (Wallace ve ark., 2002; Hart ve ark., 2008). Esansiyel yağların rumen UYA üretiminde gözlenen etkileri tutarlı değildir. Spanghero ve ark., (2008) tarafından yapılan çalışmada UYA konsantrasyonunda düşüş gözlenirken, Newbold ve ark., (2004) tarafından yapılan çalışmada artış gözlenmiştir. Beauchemin ve McGinn (2006) tarafından yapılan çalışmada herhangi bir değişiklik gözlenmemiştir. Castillejos ve ark., (2007) ise UYA konsantrasyonunda esansiyel yağların tür ve dozuna bağlı olarak UYA konsantrasyonunun değişim gösterdiğini bildirmişlerdir. Aynı tür aynı doz esansiyel yağ kullanımında rasyon kompozisyonuna bağlı olarak da değişim gözlenmiştir. Örneğin Benchaar ve ark., (2007) yonca ve mısır silajı bazlı rasyona aynı oranda katılan esansiyel yağın UYA konsantrasyonunu artırıp azaltabildiğini belirtmiştir. Esansiyel yağlar aynı zamanda UYA profilini de etkileyebilmektedir. Rasyona esansiyel yağ ilavesinin asetat üretimini azalttığı, bütirat üretimini artırdığı (Castillejos ve ark., 2006, 2007), propiyonat üretimini artırdığı (Busquet ve ark., 2005; Cardozo ve ark., 2005) gözlenmiştir. Esansiyel yağların rasyonda kullanımında düşük rumen pH'sının etkisi büyüktür ve önerilen rumen mikroorganizmalarının hücre duvarına karşı esansiyel yağ aktif molekülerinin çözünmemiş hidrofobik formu daha aktiftir (Cardozo ve ark., 2005; Spanghero ve ark., 2008).

## **GENETİK MANİPÜLASYONLAR**

Rumen popülasyonunun geliştirilmesinde genetik teknikler büyük bir potansiyele sahiptir (Forano 1991; Flint 1994; Wallace 1994). Bu teknikler özellikle selüloz ve detoksifikasyon

gibi istenilen proseslerin artırılması veya proteoliz, deaminasyon ve metanogenezis gibi istenilmeyen proseslerin azaltılması gibi amaçlarla yapılmaktadır. Bu şekilde yapılacak uygulama istenilen genlerin bulunması veya yeniden oluşturularak rumende baskın bakteriler haline getirilmesi amaçlanmaktadır. Rumende doğal olarak bulunan mikroorganizmalarda kapasite artırımı veya ilave fonksiyon tanımlama gibi genetik uygulamalar yapılmaktadır(Chang, 1996). Bağırsak mikroorganizmalarına ait çeşitli genlerin tanınması geniş ölçüde çalışılmıştır (McSweeney ve ark., 1999). Genetik olarak modifiye edilmiş mikroorganizmalar selüloz ve lignin içerikli yemlerin sindirimini sağlamakta veya toksin parçalama, amino asit sentezi, ruminal metan üretiminin azaltılması ve asitlerin tolere edilmesini sağlamaktadır (Forsberg ve ark.,1993). İkinci bir yaklaşım ise; sindirim sistemine yeni tür veya suş girişini sağlamak olabilecektir (Stewart ve ark., 1988). Bu iki yaklaşım ile yem hammaddelerinin sindirimi ve hayvansal üretimin artış potansiyeli olduğu söylenilebilmektedir.

Rumen mikroorganizmalarının genetik modifikasyonunda birinci aşama faydalı genlerin seçilmesidir. Örnek olarak selüloz sindirimi sağlayan *Fibrobacter succinogens* gibi bir bakterinin seçilmesidir. Bu şekilde rumende selüloz sindirimini artırılabilmesinde bu genler daha fazla modifiye edilebilmektedir. Faydalı genlerin seçiminin ardından alıcı hücreye taşınması için uygun bir vektör seçilmelidir. En önemli vektörlerden biri plazmitlerdir. Plazmitler kromozomal genetik materyalle entegre olmayan ve otonom kalabilen ekstra kromozomal genetik materyale sahiptir. Bazı rumen bakterileri de plazmitler gibi etki gösterilebilmektedir (Smith ve Hespell, 1983). Plazmit rumen bakterileri, faydalı genleri içeren bakterilerle yeniden kombine edilebilmektedir. Böylece faydalı genetik yapının rumene transfer edilmesi sağlanmaktadır. Bu şekilde yapılan mekik vektör uygulaması çift replikasyon kökenli veya iki konaklı türlerde her zaman önerilmektedir. Genetik manipülasyonda *Escherichia coli* gibi bakterilerin rekombinasyonu ve rumene transferinde bu pratik uygulamalar yapılmaktadır. *Escherichia coli*'ye endoglukanaz, ksilanaz,  $\beta$ -glukosidaz, amilaz, glutamin sentetaz gibi enzimler *Bacteroides fibrisolvens*, *Ruminococcus flavefaciens*, *Fibrobacter succinogenes*, *Neocallimastix frontalis*, *Streptococcus bovis* gibi bakterilerin donör olarak kullanılması ile eklenebilmektedir.

Genetik manipülasyonda rumen bakterilerinin çok suşlu ve kompleks olması bazı problemlere neden olmaktadır. Ek olarak, bu mikroorganizmaların genetik modifikasyonunda, rumen koşullarının sağlanmasında oluşan sınırlamalar sebebiyle bilimsel ve teknik problemler yaşanmaktadır. Daha gerçekçi yaklaşımlar yapılacak çalışmalarla belirlenmeli ve esas başarı

üretilen genlerin rumende parçalanmaya karşı stabilitesinin sağlanması ile gerçekleştirilebilir.

## **KAYNAKLAR**

- Alexander, G., Singh, B., Sahoo, A., and Bhat, T., 2008. In vitro screening of plant extracts to enhance the efficiency of utilization of energy and nitrogen in ruminant diets. *Animal Feed Science and Technology* 145: 229–244.
- Beauchemin, K.A., and McGinn, S., 2006. Methane emissions from beef cattle: effects of fumaric acid, essential oil, and canola oil. *Journal of Animal Science* 84: 1489.
- Benchaar, C., Calsamiglia, S., Chaves, A.V., Fraser, G.R., Colombatto, D., McAllister, T.A., and Beauchemin, K.A., 2008. A review of plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production. *Animal Feed Science and Technology* 145: 209–228.
- Benchaar, C., Chaves, A., Fraser, G., Beauchemin, K., and McAllister, T., 2007. Effects of essential oils and their components on in vitro rumen microbial fermentation. *Canadian Journal of Animal Science* 87: 413–419.
- Burt, S., 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International Journal of Food Microbiology* 94: 223–253.
- Busquet, M., Calsamiglia, S., Ferret, A., Cardozo, P., and Kamel, C., 2005. Effects of cinnamaldehyde and garlic oil on rumen microbial fermentation in a dual flow continuous culture. *Journal of Dairy Science* 88: 2508–2516.
- Cardozo, P., Calsamiglia, S., Ferret, A., and Kamel, C., 2005. Screening for the effects of natural plant extracts at different pH on in vitro rumen microbial fermentation of a high-concentrate diet for beef cattle. *Journal of Animal Science* 83: 2572–2579.
- Castillejos, L., Calsamiglia, S., and Ferret, A., 2006. Effect of essential oil active compounds on rumen microbial fermentation and nutrient flow in in vitro systems. *Journal of Animal Science* 89: 2649–2658.
- Castillejos, L., Calsamiglia, S., Ferret, A., and Losa, R., 2007. Effects of dose and adaptation time of a specific blend of essential oil compounds on rumen fermentation. *Animal Feed Science and Technology* 132: 186–201.
- Castro-Montoya, J.M., Makkar, H.P.S., and Becker, K., 2011. Chemical composition of rumen microbial fraction and fermentation parameters as affected by tannins and saponins using an in vitro rumen fermentation system. *Canadian Journal of Animal Science* 91: 433–448.

- Doreau, M. and A. Ferlay. 1995. Effect of dietary lipids on nitrogen metabolism in the rumen: a review. *Livestock Production Science* 43:97-110.
- Dorman, H.J.D., Deans, S.G., 2000. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology* 88: 308–316.
- Firkins, J.L., and M.L. Eastridge. 1994. Assessment of the effects of iodine value on fatty acid digestibility, feed intake, and milk production. *Journal of Dairy Science* 77:2357-2366.
- Frutos, P., Hervás, G., Giráldez García, F., and Mantecón, A., 2004. Review. Tannins and ruminant nutrition. *Spanish Journal of Agricultural Research* 2: 191–202.
- Goel, G., Makkar, H.P.S., and Becker, K., 2008. Effects of *Sesbania sesban* and *Carduus pycnocephalus* leaves and fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) seeds and their extracts on partitioning of nutrients from roughage- and concentrate-based feeds to methane. *Animal Feed Science and Technology* 147: 72–89.
- Hart, K.J., Yañez-Ruiz, D.R., Duval, S.M., McEwan, N.R., and Newbold, C.J., 2008. Plant extracts to manipulate rumen fermentation. *Animal Feed Science and Technology* 147: 8–35.
- Hervás, G., Frutos, P., Serrano, E., Mantecón, A.R., and Giráldez, F.J., 2000. Effect of tannic acid on rumen degradation and intestinal digestion of treated soya bean meals in sheep. *Journal of Agricultural Science* 135: 305–310.
- Hristov, A.N., McAllister, T.A., Van Herk, F.H., Cheng, K., Newbold, C.J., Cheeke, P.R., 1999. Effect of *Yucca schidigera* on ruminal fermentation and nutrient digestion in heifers. *Journal of Animal Science* 77: 2554.
- Hristov, A., Ivan, M., Neill, L., and McAllister, T., 2003. Evaluation of several potential bioactive agents for reducing protozoal activity in vitro. *Animal Feed Science and Technology* 105: 163–184.
- Klita, P., Mathison, G., Fenton, T., and Hardin, R., 1996. Effects of alfalfa root saponins on digestive function in sheep. *Journal of Animal Science* 74: 1144–1156.
- Lila, Z., Mohammed, N., Kanda, S., Kamada, T., and Itabashi, H., 2003. Effect of sarsaponin on ruminal fermentation with particular reference to methane production in vitro. *Journal of Dairy Science* 86: 3330–3336.
- Liu, J.Y., Yuan, W.Z., Ye, J., and Wu, Y., 2003. Effect of tea (*Camellia sinensis*) saponin addition on rumen fermentation in vitro. In: *Matching Herbivore Nutrition to Ecosystems Biodiversity. Tropical and Subtropical Agrosystems: Proceedings of the Sixth International Symposium on the Nutrition of Herbivores, Merida, Mexico.*

- Lu, C.D.,and Jorgensen, N.A., 1987. Alfalfa saponins affect site and extent of nutrient digestion in ruminants. *Journal of Nutrition* 117: 919–927.
- Makkar, H.P.S., Blümmel, M., and Becker, K., 1995. In vitro effects of and interactions between tannins and saponins and fate of tannins in the rumen. *Journal of Scienceand Food Agriculture* 69: 481–493.
- McIntosh, F.M., Williams, P., Losa, R., Wallace, R.J., Beaver, D.A., and Newbold, C.J., 2003. Effects of essential oils on ruminal microorganisms and their protein metabolism. *Applied Environmental Microbiology* 69: 5011–5014.
- McLaughlin, C.L., Thompson, A., Greenwood, K., Sherington, J., Bruce, C., 2009a. Effect of acarbose on acute acidosis. *Journal Dairy Science* 92:2758- 2766.
- McLaughlin, C.L., Thompson, A., Greenwood, K., Sherington, J., Bruce, C., 2009b. Effect of acarbose on milk yield and composition in earlylactation dairy cattle fed a ration to induce subacute ruminal acidosis. *Journal Dairy Science* 92:4481-4488.
- McSweeney, C., Palmer, B., Bunch, R., and Krause, D., 2001. Effect of the tropical forage calliandra on microbial protein synthesis and ecology in the rumen. *Journal of Applied Microbiology* 90: 78–88.
- National Research Council. 2001. Nutrient requirements of dairy cattle. 7th Rev. Ed. Natl. Acad. Sci., Washington, DC.
- Newbold, C.J., El Hassan, S.M., Wang, J., Ortega, M., and Wallace, R.J., 1997. Influence of foliage from African multipurpose trees on activity of rumen protozoa and bacteria. *British Journal of Nutrition* 78: 237–249.
- Newbold, C.J., McIntosh, F.M., Williams, P., Losa, R., and Wallace, R.J., 2004. Effects of a specific blend of essential oil compounds on rumen fermentation. *Animal Feed Scienceand Technology* 114: 105–112.
- Newton, S.M., Lau, C., Gurcha, S.S., Besra, G.S., and Wright, C.W., 2002. The evaluation of forty-three plant species for in vitro antimycobacterial activities; isolation of active constituents from *Psoralea corylifolia* and *Sanguinaria canadensis*. *Journal of Ethnopharmacology* 79: 57–67.
- Oldick, B.S., and Firkins,J.L.,2000. Effects of degree of fat saturation on fiber digestion and microbial protein synthesis when diets are fed twelve times daily. *Journal of Animal Science* 78:2412-2420.
- Patra, A.K., Saxena, J., 2009. A review of the effect and mode of action of saponins on microbial population and fermentation in the rumen and ruminant production. *Nutrition Research Reviews* 22: 204–219.

- Spanghero, M., Zanfi, C., Fabbro, E., Scicutella, N., and Camellini, C., 2008. Effects of a blend of essential oils on some end products of in vitro rumen fermentation. *Animal Feed Science and Technology* 145: 364–374.
- Valdez, F., Bush, L., Goetsch, A., Owens, F., 1986. Effect of steroidal saponins on ruminal fermentation and on production of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 69: 1568–1575.
- Wallace, R.J., Arthaud, L., and Newbold, C.J., 1994. Influence of *Yucca schidigera* extract on ruminal ammonia concentration and ruminal micro-organisms. *Applied Environmental Microbiology* 60: 1762–1767.
- Wallace, R.J., McEwan, N.R., McIntosh, F.M., Teferedegne, B., and Newbold, C.J., 2002. Natural products as manipulators of rumen fermentation. *Asian Australasian Journal of Animal* 15: 1458–1468.
- Wang, Y., McAllister, T., Newbold, C., Rode, L., Cheeke, P., Cheng, K., 1998. Effects of *Yucca schidigera* extract on fermentation and degradation of steroidal saponins in the rumen simulation technique (RUSITEC). *Animal Feed Science and Technology* 74: 143–153.
- Yang, W.Z. Benchaar, C., Ametaj, B. N., Chaves, A. V. He, M. L. and McAllister, T. A. 2007. Effects of garlic and juniper berry essential oils on ruminal fermentation and on the site and extent of digestion in lactating cows. *Journal of Dairy Science* 90:5671–5681.