

## Bazı kaba yemlere ilave edilen probiyotiklerin in vitro organik madde sindirimi ve metan üretimi üzerine etkileri\*\*

Ali Güler<sup>1</sup>, Oktay Kaplan<sup>2</sup>, Faruk Bozkaya<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>Harran Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Şanlıurfa, Türkiye.

<sup>2</sup>Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye.

<sup>3</sup>Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Genetik Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye.

Geliş Tarihi: 14.03.2019

Kabul Tarihi: 31.05.2019

**Özet:** Bu çalışma ruminantlarda yaygın olarak kullanılan bazı kaba yemlere katılan probiyotiklerin (*Lactobacillus rhamnosus*, *Bifidobacterium lactis* ve *Saccharomyces boulardii*) in vitro ortamda metan gazı oluşumuna etkisini tespit etmek için yapılmıştır. Bu amaçla %0.1 oranında probiyotik ilave edilen öğütülmüş kaba yem örnekleri rumen sıvısı içeren özel cam tüpler içerisinde 39 °C'de 24 saat inkube edilmiştir. İnkubasyon sonunda oluşan toplam gaz içerisindeki metan (CH<sub>4</sub>) gazı ve karbondioksit (CO<sub>2</sub>) yüzdesi CH<sub>4</sub> ölçüm cihazı yardımıyla belirlenmiştir. Ayrıca her bir deneme grubundaki in vitro organik madde sindirilebilirliği (IVOMS), amonyak azotu miktarı (NH<sub>3</sub>-N), metabolik enerji (ME) ve pH değerleri belirlenmiştir. Buğday samanına ilave edilen *B. lactis*'in oluşan toplam gaz, CH<sub>4</sub> ve CO<sub>2</sub> hacmini ve IVOMS'ni düşürdüğü, *S. boulardii*'nin ise CH<sub>4</sub> yüzdesini yükseltirken, CO<sub>2</sub> yüzdesini düşürdüğü gözlenmiştir. Çayır kuru otuna ilave edilen *L. rhamnosus* oluşan toplam gaz miktarını, CH<sub>4</sub> miktarını ve IVOMS'ni yükseltirken CH<sub>4</sub> yüzdesini etkilememiştir. Silaj ve yonca kuru otuna ilave edilen probiyotikler CH<sub>4</sub> ve CO<sub>2</sub> düzeylerini etkilememiştir. Sonuç olarak çalışmada buğday samanına katılan *B. lactis* dışındaki probiyotik mikroorganizmalar CH<sub>4</sub> üretimini arttırmış ya da etkilememiştir. Buğday samanına ilave edilen *B. lactis*'in CH<sub>4</sub> miktarını azaltması, Çayır kuru otuna ilave edilen *L. rhamnosus*'un ise CH<sub>4</sub> miktarını arttırmasının söz konusu yemlerin IVOMS'ni etkilemesinden kaynaklandığı, bu nedenle sunulan çalışmada kullanılan probiyotiklerin CH<sub>4</sub> miktarını azaltmakta etkili olmadığı sonucuna varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Probiyotik, Kaba yem, in vitro, Metan üretimi.

### Effects of Probiotics Added to Some Roughages on in vitro Organic Matter Digestibility and Methane Production

**Abstract:** The objective of this study was to determine the effects of probiotics (*Lactobacillus rhamnosus*, *Bifidobacterium lactis* and *Saccharomyces boulardii*) added to some roughages on in vitro methane production. Ground roughage samples added with 0.1% of probiotics were incubated in special glass tubes containing rumen fluid at 39 °C for 24 h. Percentages of methane (CH<sub>4</sub>) and carbon dioxide (CO<sub>2</sub>) in total gas produced were measured by using a methane measuring device. Additionally, in vitro organic matter digestibility (IVOMD), amount of ammonia nitrogen (NH<sub>3</sub>-N), metabolic energy (ME) and pH values were also determined. Addition of *B. lactis* to wheat straw decreased CH<sub>4</sub> and CO<sub>2</sub> amount and IVOMD while *S. boulardii* increased the percentage of CH<sub>4</sub> and decreased the percentage of CO<sub>2</sub>. Among probiotics added to grass hay *L. rhamnosus* increased total gas volume, CH<sub>4</sub> volume and IVOMD while it did not affect the percentage of CH<sub>4</sub>. It was detected that addition of the probiotics to corn silage and alfa alfa roughage did not affect methane and carbondioxyde levels. As a result, except for *B. lactis*, added to wheat straw, probiotic microorganisms used in the present study increased or did not affect in vitro methane production. The results suggested that decreased methane production in wheat straw added with *B. lactis* and increased methane production in grass hay added with *L. rhamnosus* resulted from the affected IVOMD of these roughages due to addition of these probiotics and therefore use of the probiotics in this study was not effective for reducing ruminal methane production.

**Keywords:** Probiotics, Roughage, in vitro, Methane production.

### Giriş

Küresel ısınmaya neden olan sera gazları içerisinde oldukça yüksek bir paya sahip olan (Steinfeld ve ark., 2006) metan gazı salınımının en önemli kaynağını tarımsal üretim, organik atıklar ve hayvancılık faaliyetleri oluşturur. Toplam sera gazı salınımının %10-18'inin tarımsal üretim, %3-5'inin ise ruminant kaynaklı metan üretimi olduğu bildirilmektedir (O'Mara, 2011). Ruminantlar rumende meydana gelen fermentasyon nedeniyle kilogram canlı ağırlık başına günlük 26-29 L metanı

dışarı atarlar. Metan oluşumu nedeniyle meydana gelen enerji kaybı yemle alınan brüt enerjinin %2-12'si kadardır (Johnson ve Johnson, 1995).

Rasyonla alınan enerjinin metan yoluyla kaybının önlenmesi ve sera gazı salınımının azaltılması amacıyla yoğun araştırmalar yapılmıştır. Rasyonun kolay sindirilebilir karbonhidratlarca zengin olması veya %8'e kadar yağ katılması metan üretimini azaltmaktadır (Dohme ve ark., 2000; Grainer ve Beauchemin, 2011). Rasyona katılan

monensin gibi iyonofor grubu antibiyotikler metan emisyonunda %9'a kadar azalmaya neden olmakla birlikte (McGinn ve ark., 2004) antibiyotiklere karşı direnç gelişmesi ve hayvansal ürünlerde kalıntı oluşturması nedeniyle Avrupa Birliği'ne üye ülkelerde antibiyotiklerin hayvan beslemede kullanımı yasaklanmıştır (Anonim, 2003). Bu nedenle metan üretimini azaltırken direnç gelişimini önleyecek ve kalıntı oluşturmayacak yöntemler üzerine araştırmalar yoğunlaşmıştır. Bunlar arasında özellikle saponin, tanen veya esansiyel yağ içeren bitkiler ve bitki özütlerinin metan oluşumu üzerine etkileri yoğun bir şekilde araştırılmıştır (Akçil ve Denek, 2013; Ece ve Avcı, 2018; Kamra ve ark., 2006; Oruç ve Avcı, 2018). Bitkisel özütlerin metan üretimini azaltıcı etkileri bulunmakla birlikte bu özütler sıklıkla anti nutrisyonel faktörler içerebilir ve bazı durumlarda zehirli olabilir (Cheeke, 1998; Teferedegne 2000). Diğer taraftan bitki özütleri içerisindeki anti mikrobiyel aktiviteye sahip maddeler bitki özütlerinin ilaç kategorisinde değerlendirilmesine neden olabilir ve yasal olarak kullanılmasını sınırlandırabilir (Newbold ve Rode, 2006).

Hayvanların yemden yararlanma kabiliyetlerinde artış sağlayarak verimlerini arttıran probiyotiklere karşı direnç gelişmemesi ve kalıntı probleminin olmaması yanında bağırsaklarda meydana gelen enfeksiyonların engellenmesi ve kanser gibi hastalıkların tedavisindeki destekleyici rolleri nedeniyle probiyotiklere olan ilgi artmaktadır (Tabe ve ark., 2008; Younts-Dahl ve ark., 2005).

Sunulan çalışmada kullanılan probiyotikler genellikle insanlarda destekleyici tedavi amacıyla kullanılmıştır (Agrawal ve ark., 2008; Horvath ve ark., 2011; Pinos-Rodriguez ve ark., 2008). *Bifidobacterium lactis*'in insanlarda irritabl bağırsak sendromlu bireylerde bağırsak geçiş hızını arttırarak şişkinliği azalttığı konstipasyonu önlediği bildirilmiştir (Agrawal ve ark., 2008). Benzer şekilde *Lactobacillus rhamnosus* GG uygulamasının sancıyla seyreden mide bağırsak fonksiyon bozukluklarında sancı sıklığını ve düzeyini azalttığı belirtilmiştir (Horvath ve ark., 2011).

**Tablo 1.** Kullanılan kaba yemlerin ham besin madde (%KM) içerikleri.

Kaba Yemler	KM	HK	ADF	NDF	HP
Buğday Samanı	95.06	10.11	51.01	79.05	4.84
Çayır Kuru Otu	96.53	8.21	40.97	70.46	6.69
Yonca Kuru Otu	94.46	10.38	31.92	40.24	18.56
Mısır Silajı	93.19	4.91	29.59	54.26	6.52

Oeztuerk ve ark. (2005) in vitro rumen ortamına *Saccharomyces boulardii* katılmasının mikrobiyel metabolizmayı arttırdığını bildirmişlerdir. Bununla birlikte preruminant buzağılara *S. boulardii* verilmesinin buzağuların gelişiminde ya da sağlığında herhangi bir iyileşmeye neden olmadığı bildirilmiştir (Pinos-Rodriguez ve ark., 2008).

Sunulan çalışmada, ruminant tarafından kullanılan kaba yem kaynaklarına, ilave edilen farklı probiyotiklerin in vitro gaz üretim tekniği kullanılarak metan gazı oluşumu ve in vitro organik madde sindirimi üzerine etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

## Materyal ve Metot

Araştırmada kullanılan yem materyallerinden yonca ve çayır kuru otları Türkiye Jokey Kulübü Şanlıurfa Pansiyon Harasından, mısır silajı ve buğday samanı Harran Üniversitesi Hayvancılık Araştırma Ünitesinden temin edilmiştir. Araştırmada probiyotik olarak *Saccharomyces boulardii* (Reflor) *Lactobacillus rhamnosus* GG (Kaleidon 30) *Bifidobacterium lactis* (Maflor) içeren ticari preparatlar kullanılmıştır.

Araştırmada kullanılan yem materyalleri laboratuvar değirmeninde 1 mm'lik elekten geçecek şekilde öğütülmüştür. Kullanılan kaba yemlerin asit deterjan fiber (ADF) ve nötral deterjan fiber (NDF) analizleri Van Soest ve ark. (1991) tarafından bildirilen yöntemle, kuru madde, ham protein ve ham kül içeriği analizleri ise AOAC (2005)'ye göre yapılmıştır.

Her bir yem örneğine kuru madde esasına göre %0.1 oranında probiyotik katılmıştır. Her bir muamele dört tekerrür olacak şekilde yürütülmüştür. İçerisine yem maddesi ve probiyotik katılmamış olan rumen sıvısı kör grubu olarak kullanılmıştır. Kontrol grubu ve kör gruplarıyla beraber toplam 67 adet örnek oluşturulmuştur.

Çalışma Menke ve Steingass (1988) tarafından bildirilen in vitro gaz üretim tekniğine uygun olarak yürütülmüştür. Örnekler özel cam şırıngalar içerisinde 39 °C'lik su banyosunda 24 saat inkube edilmiştir. İnkubasyon sonunda oluşan gaz hacmi kaydedilmiştir. Şırınga içerisindeki gaz CH<sub>4</sub> ve CO<sub>2</sub> gazı ölçümleri için üç yollu şırınga sistemi kullanılarak bilgisayara bağlı metan gazı ölçüm cihazına (Sensors Analysentechnik GmbH&Co. KG, Berlin, Germany) aktarılmış ve metan gazı değeri yüzde (%) olarak belirlenmiştir. Ölçüm sonunda cam şırıngalarda kalan sindirim sıvısı ve yem karışımı 4 katlı tülbentten süzöldükten sonra pH değerleri ölçülmüştür. Sindirim sıvısının amonyak azot analizi (NH<sub>3</sub>-N) Markham distilasyon yöntemi ile yapılmıştır (Markham, 1942).

Çalışmalar sonucunda elde edilen verilerin analizinde tek yönlü varyans analizi kullanılmıştır. Gruplar çoklu karşılaştırma için Duncan testi kullanılmıştır. İstatistiksel analizler için SPSS (1991) paket programından faydalanılmıştır.

## Bulgular

Çalışmada kullanılan kaba yemlerin ham besin madde içerikleri Tablo 1'de gösterilmiştir. Buğday samanına ilave edilen probiyotiklerin in vitro gaz üretimi ve diğer parametreler üzerine etkileri Tablo 2'de sunulmuştur. Buğday samanında toplam gaz miktarı, CH<sub>4</sub> miktarı, CH<sub>4</sub> yüzdesi, CO<sub>2</sub> miktarı, CO<sub>2</sub> yüzdesi, İVOMS ve ME değerleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak önemli farklılık gözlenmiştir (P<0.05) Amonyak azotu, pH değerleri açısından gruplar arasındaki farklılık önemsiz bulunmuştur (P>0.05). Buğday samanına B. lactis ilavesi kontrol grubuna göre toplam gaz miktarı, CH<sub>4</sub> miktarı, CO<sub>2</sub> miktarı, CO<sub>2</sub> yüzdesi, İVOMS ve ME değerlerini düşürdüğü halde CH<sub>4</sub> oranını değiştirmemiştir. Buğday samanına S. boulardii ilavesi ise CH<sub>4</sub> yüzdesini artırmıştır (P<0.05). Çayır kuru otuna ilave edilen probiyotiklerin in vitro gaz üretimi ve diğer parametreler üzerine etkileri Tablo 3'de sunulmuştur. Çayır kuru otunda toplam

gaz miktarı, CH<sub>4</sub> miktarı, CO<sub>2</sub> miktarı, pH, İVOMS ve ME değerleri açısından grupları arasında istatistiksel olarak önemli farklılık gözlenirken (P<0.05), CH<sub>4</sub> yüzdesi, CO<sub>2</sub> yüzdesi ve amonyak azotu değerleri açısından gruplar arasındaki farklılık önemsiz bulunmuştur (P>0.05). Toplam gaz miktarı, CH<sub>4</sub> miktarı, CO<sub>2</sub> miktarı, pH, İVOMS ve ME değerleri bakımından L. rhamnosus grubu ile kontrol grubu arasındaki fark istatistiksel olarak önemli (P<0.05) diğer gruplar arasındaki fark önemsiz bulunmuştur (P>0.05). Çayır kuru otunda İVOMS ve ME bakımından en yüksek değer L. rhamnosus, en düşük değer ise kontrol grubunda gözlenmiştir.

Çalışmada kullanılan silaja ilave edilen probiyotiklerin in vitro gaz üretimi ve diğer parametreler üzerine etkileri Tablo 4'te sunulmuştur. Silajda sadece pH değeri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak önemli farklılık gözlemlenmiştir (P<0.05). Diğer parametreler açısından gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur (P>0.05).

**Tablo 2.** Buğday samanına ilave edilen probiyotiklerin in vitro gaz oluşumu ve diğer değerler üzerine etkisi (Ortalama±Standart Hata).

	Kontrol	<i>L. rhamnosus</i>	<i>B. lactis</i>	<i>S. boulardii</i>
Gaz Hacmi (ml/ g KM)	155.89±6.40 <sup>a</sup>	162.30±1.67 <sup>a</sup>	135.89±3.92 <sup>b</sup>	152.29±3.08 <sup>a</sup>
CH <sub>4</sub> (%)	15.90±0.07 <sup>a</sup>	16.80±0.46 <sup>ab</sup>	16.58±0.13 <sup>ab</sup>	17.58±0.43 <sup>b</sup>
CH <sub>4</sub> Hacmi (ml/ g KM)	13.23±0.94 <sup>ab</sup>	15.49±0.76 <sup>a</sup>	10.81±0.71 <sup>b</sup>	15.06±0.76 <sup>a</sup>
CO <sub>2</sub> (%)	84.10±0.07 <sup>a</sup>	83.20±0.46 <sup>ab</sup>	83.43±0.13 <sup>ab</sup>	82.42±0.43 <sup>b</sup>
CO <sub>2</sub> Hacmi (ml/ g KM)	83.72±4.66 <sup>a</sup>	86.84±1.56 <sup>a</sup>	65.40±3.41 <sup>b</sup>	77.65±2.81 <sup>a</sup>
pH	6.88±0.02	6.88±0.02	6.89±0.01	6.87±0.01
NH <sub>3</sub> -N (mg/dl)	211.20±4.06	210.53±3.14	210.67±4.77	221.60±6.28
İVOMS (% KM)	45.01±1.14 <sup>a</sup>	46.15±0.30 <sup>a</sup>	41.45±0.70 <sup>b</sup>	44.37±0.55 <sup>b</sup>
ME (MJ/ kg KM)	6.68±0.17 <sup>a</sup>	6.86±0.05 <sup>a</sup>	6.14±0.11 <sup>b</sup>	6.59±0.09 <sup>b</sup>

<sup>a, b</sup> Aynı satırda farklı sütunlar arasındaki istatistiksel farklılık değişik harflerle gösterilmiştir (P<0.05).

**Tablo 3.** Çayır Kuru Otuna ilave edilen probiyotiklerin in vitro gaz oluşumu ve diğer değerler üzerine etkisi (Ortalama±Standart Hata).

	Kontrol	<i>L. rhamnosus</i>	<i>B. lactis</i>	<i>S. boulardii</i>
Gaz Hacmi (ml/ g KM)	175.26±6.12 <sup>b</sup>	201.35±7.26 <sup>a</sup>	189.39±4.57 <sup>ab</sup>	185.08±7.04 <sup>ab</sup>
CH <sub>4</sub> (%)	17.02±0.17	17.35±0.09	17.32±0.10	17.38±0.15
CH <sub>4</sub> Hacmi (ml/ g KM)	17.86±0.79 <sup>b</sup>	22.83±1.35 <sup>a</sup>	20.69±0.67 <sup>ab</sup>	20.14±1.08 <sup>ab</sup>
CO <sub>2</sub> (%)	82.98±0.17	82.65±0.09	82.67±0.10	82.63±0.15
CO <sub>2</sub> Hacmi (ml/ g KM)	96.51±5.22 <sup>b</sup>	116.80±6.03 <sup>a</sup>	107.02±3.91 <sup>ab</sup>	103.80±5.99 <sup>ab</sup>
pH	6.83±0.01 <sup>b</sup>	6.86±0.02 <sup>ab</sup>	6.85±0.01 <sup>ab</sup>	6.88±0.02 <sup>a</sup>
NH <sub>3</sub> -N (mg/dl)	221.6±4.41	225.6±5.46	220.66±8.13	227.86±4.90
İVOMS (% KM)	49.69±1.09 <sup>b</sup>	54.33±1.29 <sup>a</sup>	52.20±0.81 <sup>ab</sup>	51.43±1.25 <sup>ab</sup>
ME (MJ/ kg KM)	7.48±0.17 <sup>b</sup>	8.18±0.20 <sup>a</sup>	7.86±0.13 <sup>ab</sup>	7.74±0.19 <sup>ab</sup>

<sup>a, b</sup> Aynı satırda farklı sütunlar arasındaki istatistiksel farklılık değişik harflerle gösterilmiştir (P<0.05).

**Tablo 4:** Silaja ilave edilen probiyotiklerin in vitro gaz oluşumu ve diğer değerler üzerine etkisi (Ortalama±Standart Hata).

	Kontrol	<i>L. rhamnosus</i>	<i>B. lactis</i>	<i>S. boulardii</i>
Gaz Hacmi (ml/ g KM)	215.92±8.815	222.89±2.28	217.35±4.85	223.78±5.66
CH <sub>4</sub> (%)	16.55±0.51	16.68±0.14	17.00±0.14	16.80±0.20
CH <sub>4</sub> Hacmi (ml/ g KM)	23.89±2.39	25.31±0.42	24.99±1.00	25.73±1.31
CO <sub>2</sub> (%)	83.45±0.51	83.32±0.14	83.00±0.14	83.20±0.20
CO <sub>2</sub> Hacmi (ml/ g KM)	131.07±6.52	137.20±2.00	131.37±3.61	137.44±4.03
pH	6.82±0.01 <sup>a</sup>	6.77±0.01 <sup>b</sup>	6.80±0.02 <sup>ab</sup>	6.83±0.01 <sup>a</sup>
NH <sub>3</sub> -N (mg/dl)	210.13±12.89	212.13±6.69	212.00±1.06	205.07±4.89
İVOMS (% KM)	56.73±1.57	57.97±0.41	56.98±0.86	58.13±1.01
ME (MJ/ kg KM)	8.59±0.24	8.77±0.06	8.63±0.13	8.80±0.15

<sup>a, b</sup> Aynı satırda farklı sütunlar arasındaki istatistiksel farklılık değişik harflerle gösterilmiştir (p<0.05).

**Tablo 5:** Yonca kuru otuna ilave edilen probiyotiklerin in vitro gaz oluşumu ve diğer değerler üzerine etkisi (Ortalama±Standart Hata).

	Kontrol	<i>L. rhamnosus</i>	<i>B. lactis</i>	<i>S. boulardii</i>
Gaz Hacmi (ml/ g KM)	215.90±4.70	226.96±2.40	226.14±3.63	215.26±7.20
CH <sub>4</sub> (%)	17.37±0.23	16.90±0.26	17.32±0.29	17.37±0.25
CH <sub>4</sub> Hacmi (ml/ g KM)	25.37±0.39	26.21±0.60	27.11±1.20	25.27±0.87
CO <sub>2</sub> (%)	82.62±0.23	83.10±0.26	82.68±0.29	82.62±0.25
CO <sub>2</sub> Hacmi (ml/ g KM)	1.29±4.29	1.39±2.24	1.37±2.43	1.28±65
pH	6.88±0.01	6.86±0.002	6.89±0.01	6.90±0.01
NH <sub>3</sub> -N (mg/dl)	273.47±5.72	280.27±9.97	269.07±3.15	276.53±9.55
İVOMS (% KM)	59.72±0.84	61.69±0.43	61.54±0.65	59.61±1.28
ME (MJ/ kg KM)	9.30±0.13	9.61±0.06	9.58±0.10	9.28±0.20

<sup>a, b</sup> Aynı satırda farklı sütunlar arasındaki istatistiksel farklılık değişik harflerle gösterilmiştir (p<0.05).

Araştırmada kullanılan yonca kuru otuna ilave edilen probiyotiklerin in vitro gaz üretimi ve diğer parametreler üzerine etkileri Tablo 5'de sunulmuştur. Yonca kuru otunda toplam gaz miktarı, CH<sub>4</sub> miktarı, CH<sub>4</sub> yüzdesi, CO<sub>2</sub> miktarı, CO<sub>2</sub> yüzdesi, pH, amonyak azot, İVOMS ve ME değerleri açısından uygulama grupları arasında (Kontrol, *L. rhamnosus*, *B. lactis* ve *S. boulardii*) istatistiksel olarak farklılık önemsiz bulunmuştur (P>0.05)

## Tartışma ve Sonuç

Yemlerin sindirilme derecelerinin, amonyak ve metan gazı üretiminin belirlenmesinde ve enerji düzeyinin tahmin edilmesinde in vitro yöntemler yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Al-Masri, 2003; Tan ve ark., 2011). Ham protein ve selüloz olmayan karbonhidrat ve yağ düzeylerinin tahmin denklemlerine dahil edilmesi gaz üretimine dayanılarak in vitro gerçek sindirilebilirlik tahminlerini iyileştirmektedir. Selüloz olmayan karbonhidrat düzeyi ile gaz üretimi arasında güçlü pozitif bir korrelasyon bulunmaktadır. Sindirilebilir ham protein düzeyi ile gaz üretimi arasında ise negatif bir ilişki bulunmaktadır (Getachew, 2005). Sindirilme derecesi yüksek yem maddeleri açısından in vitro yöntemle elde edilen değerlerin in vivo yöntemler ile elde edilen değerlerden daha düşük, kaba yemler için bulunan değerlerin ise in vivo yöntemlerle elde edilen değerlere benzer olduğu bildirilmiştir (Getachew, 2005).

Sunulan çalışmada toplam gaz miktarı buğday samanında en düşük (155.89±4.40 ml/g KM), yonca (215.90±4.73 ml/g KM) ve silajda ise (215.92±8,81 ml/g KM) en yüksek olarak tespit edilmiştir. Bu bulgu yemlerin İVOMS değerleri ile oluşan gaz miktarı arasında yüksek düzeyde bir korrelasyon olduğunu bildiren araştırma bulguları ile uyumludur (Al-Masri 2003).

Araştırmada kullanılan *B. lactis*'in tri- ve tetrasakkaritleri kullandığı bildirilmiştir. Laktat rumende propiyonik asit üretimi sırasında ara bir bileşiktir. Propiyonat üretimi ise hidrojen kullanımı açısından metan üretimi ile yarış halinde olan bir süreçtir. *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus* türleri galakto oligosakkaritleri kullanabildiğinden ve daha fazla laktat üretebileceğinden metan üretimini azaltması beklenir (Santoso ve ark., 2003). Sunulan çalışmada *B. lactis*'in buğday samanında oluşan toplam gaz hacmini ve metan miktarını (ml/g KM) kontrol grubuna göre düşürdüğü gözlenmiştir. Diğer taraftan *B. lactis* ilavesi İVOMS'ni de önemli ölçüde düşürmüştür. Bu nedenle *B. lactis* grubunda metan oluşumundaki azalma İVOMS'nin düşmesinden kaynaklanmış olabilir. Buğday samanına ilave edilen *B. lactis*'in in vitro sindirilebilirlik ve gaz üretimi

üzerine etkisi hakkında literatür bir veriye rastlanmamıştır. Ancak Tan ve ark. (2011) değişik konsantrasyonlarda kondanse tanen (KT) ilave edilmiş *Panicum maximum* bitkisi üzerinde yaptıkları çalışmada artan KT ilavesinin metan üretimini azaltırken in vitro kuru madde sindirimini de düşürdüğünü göstermiştir. Benzer şekilde Akçil ve Denek (2013) çayır kuru otuna farklı düzeyde okaliptus yaprağı (*Eucalyptus camaldulensis*) ilave edildiğinde okaliptus yaprağı seviyesindeki artışa bağlı olarak oluşan metan miktarı ile birlikte İVOMS'nin düştüğünü bildirmiştir. Rumen ya da rumen benzeri ortamların mikroflorası üzerine *B. lactis*'in etkisi konusunda yayınlanmış bir veriye rastlanmamıştır. Ancak *B. lactis* tüketiminin yaşlı insan ve ratların barsaklarındaki *lactobacillus* türü bakteri sayısını arttırırken *enterococcus* türü bakterilerden *E. coli* sayısını azalttığı çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Ahmed ve ark., 2007; Gopal ve ark., 2001; Lesniewska ve ark., 2006). *B. lactis*'in bağırsaklardan geçiş hızını arttırması nedeniyle konsipasyona karşı kullanılabilmesi bildirilmiştir (Agrawal, 2008). İnsanlarda diyet ile alınan *B. lactis*'in doğal immunitiyi teşvik ettiği gösterilmiştir (Chiang ve ark., 2000).

Çayır kuru otuna *L. rhamnosus* ilavesi toplam gaz üretimi ve oluşan metan miktarını (ml/g KM) kontrol grubuna göre arttırdığı halde oluşan toplam gaz miktarı içerisindeki metan gazı oranını etkilememiştir. Diğer taraftan *L. rhamnosus* ilavesi İVOMS'ni de önemli ölçüde arttırmıştır. Bu nedenle *L. rhamnosus* grubunda metan oluşumundaki artma İVOMS'nin artmasından kaynaklanmış olabilir. Raju ve ark. (2011) çayır otunda İVOMS ile biyokimyasal metan potansiyeli arasında orta düzeyde bir korrelasyon (R<sup>2</sup>= 0.41) olduğunu bildirmiştir.

Gopal ve ark. (2001) *B. lactis* ve *L. rhamnosus*'un kültür ortamındaki *E. coli* sayısını ve yayılma ve hücrelere tutunma yeteneğini azalttığını bildirmiştir. Bu nedenle *B. lactis*'in buğday samanında İVOMS'ni azaltması ve *L. rhamnosus* ilavesinin ise çayır otunda İVOMS'ni arttırması bu bakterilerin in vitro ortamdaki mikroflora kompozisyonunu değiştirmesinden kaynaklanabilir.

Sunulan çalışmada kullanılan kaba yemlere *S. boulardii* ilavesinin buğday samanında toplam gaz hacmini, metan miktarını (ml/g KM) ve İVOMS'ni etkilemediği ancak toplam gaz içerisindeki metan yüzdesini arttırdığı gözlenmiştir. Mutsvangwa ve ark. (1992) rasyona *S. cereviciae* ilavesinin in vitro metan üretimini 12 saat inkubasyon sonunda önemli ölçüde azaltırken 24 saat inkubasyon sonucunda in vitro metan üretimini etkilemediğini bildirmiştir. Opsi ve ark. (2012) ruminant rasyonlarına canlı maya (*S. cereviciae*) katılmasının toplam gaz üretimini, metan oluşumunu ve

İVOMS'ni arttırdığını bildirmiştir. Lynch ve Martin (2002) 48 saat inkubasyon sonunda canlı maya (*S. cerevisiae*) katılmasının yoncada metan üretimini %20 oranında azalttığını bildirmiştir. Bununla birlikte farklı maya suşlarıyla yapılan in vivo (Mathieu ve ark., 1996) ve in vitro (Lila ve ark., 2004) çalışmalar farklı sonuçlar ortaya çıkarmıştır. Newbold ve ark (1995) farklı *S. cerevisiae* suşlarının rumendeki bakteri kompozisyonunu farklı düzeylerde etkilediğini ve selülitik bakteri sayısını arttırdığını bildirmiştir.

Sonuç olarak, *B. lactis* ilavesinin samanda in vitro gaz oluşumu, metan oluşumu ve İVOMS'ni azalttığı, *L. rhamnosus* ilavesinin ise çayır kuru otunda in vitro gaz oluşumu, metan oluşumu ve İVOMS'ni arttırdığı tespit edilmiştir. Kaba yemlere ilave edilen *S. boulardii*'nin ise çayır kuru otunda in vitro gaz oluşumu, metan oluşumu ve İVOMS'ni etkilemediği halde toplam gaz içerisindeki metan hacmini (ml/gKM) arttırdığı tespit edilmiştir. Sunulan çalışmada her bir kaba yem kaynağının kuru madde miktarının %0.1'i kadar probiyotik katılmıştır. Metan gazı üretiminin azaltılması amacıyla kullanılan katkı maddelerinin ya da uygulanan yöntemlerin aynı zamanda ekonomik olarak da sürdürülebilir olması gereklidir. Sunulan çalışmada buğday samanına katılan *B. lactis* dışındaki probiyotik mikroorganizmalar metan gazı üretimini arttırmış ya da etkilememiştir. Bu nedenle sunulan çalışmada kullanılan probiyotiklerden *B. lactis* dışındakilerin metan gazını azaltmak amacıyla kullanılmasının etkili olmadığı sonucuna varılmıştır. Bununla birlikte *L. rhamnosus* ilavesi çayır kuru otunda İVOMS'ni arttırdığından *L. rhamnosus* ilavesinin in vivo şartlarda yemden yararlanma üzerine etkisinin araştırılması gereklidir.

## Kaynaklar

- Ahmed M, Prasad J, Gill H, Stevenson L, Gopal P, 2007. Impact of consumption of different levels of *Bifidobacterium lactis* HN019 on the intestinal microflora of elderly human subjects. *J Nutr Health Aging*, 11, 26.
- Agrawal A, Houghton LA, Morris J, Reilly B, Guyonnet D, Goupil Feuillerat N, Whorwell PJ, 2008. Clinical trial: the effects of a fermented milk product containing *Bifidobacterium lactis* DN-173 010 on abdominal distension and gastrointestinal transit in irritable bowel syndrome with constipation. *Aliment Pharm Ther*, 29, 104-114.
- Akçıl E, Denek N, 2013. Farklı seviyelerde okaliptus (*Eucalyptus camaldulensis*) yaprağının bazı kaba yemlerin in vitro metan gazı üretimi üzerine etkisinin araştırılması. *Harran Univ Vet Fak Derg*, 2, 75-81.
- Al-Masri MR, 2003. An in vitro evaluation of some unconventional ruminant feeds in terms of the organic matter digestibility, energy and microbial biomass. *Trop Anim Health Pro*, 35, 155-167.
- Anonim, 2003. Regulation (EC) No. 1831/2003 of the European Parliament and the Council of 22 September 2003 on Additives for Use in Animal Nutrition. *OJEU* L268/36.
- AOAC, 2005. Association of Official Analytical Chemistry Official Methods of Analysis of AOAC. International, 18th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington DC, USA.
- Cheeke PR, 1998. Saponins: surprising benefits of desert plants. *The Linus Pauling Institute Newsletter*, 4-5.
- Chiang BL, Sheih YH, Wang LH, Liao CK, Gill HS, 2000. Enhancing immunity by dietary consumption of a probiotic lactic acid bacterium (*Bifidobacterium lactis* HN019): optimization and definition of cellular immune responses. *Eur J Clin Nutr*, 54, 849-855.
- Dohme F, Machmüller A, Wasserfallen A, Kreuzer M, 2000. Comparative efficiency of various fats rich in medium-chain fatty acids to suppress ruminal methanogenesis as measured with RUSITEC. *Can J Anim Sci*, 80, 473-484.
- Ece Z, Avcı M, 2018. Yonca Kuru Otu ve Süt Sığırı Rasyonuna Zeolit ve Meşe Palamudu İlavesinin İn Vitro Organik Madde Sindirimi ve Metan Oluşumu Üzerine Etkisi *Harran Univ Vet Fak Derg*, 7, 67-73.
- Getachew G, DePeters EJ, Robinson PH, Fadel JG, 2005. Use of an in vitro rumen gas production technique to evaluate microbial fermentation of ruminant feeds and its impact on fermentation products. *Anim Feed Sci Techn*, 123, 547-559.
- Gopal PK, Prasad J, Smart J, Gill HS, 2001. In vitro adherence properties of *Lactobacillus rhamnosus* DR20 and *Bifidobacterium lactis* DR10 strains and their antagonistic activity against an enterotoxigenic *Escherichia coli*. *Int J Food Microbiol*, 67, 207-216.
- Grainger C, Beauchemin KA, 2011. Can enteric methane emissions from ruminants be lowered without lowering their production? *Anim Feed Science Techn*, 166, 308-320.
- Horvath A, Dziechciarz P, Szajewska H, 2011. Meta-analysis: *Lactobacillus rhamnosus* GG for abdominal pain-related functional gastrointestinal disorders in childhood. *Aliment Pharm Ther*, 33, 1302-1310.
- Johnson KA, Johnson DE, 1995. Methane emissions from cattle. *J Anim Sci*, 73, 2483-2492.
- Kamra DN, Agarwal N, Chaudhary LC, 2006. Inhibition of ruminal methanogenesis by tropical plants containing secondary compounds. *Int Congress Series*, 1293, 156-163.
- Lesniewska V, Rowland I, Cani PD, Neyrinck AM, Delzenne NM, Naughton PJ, 2006. Effect on components of the intestinal microflora and plasma neuropeptide levels of feeding *Lactobacillus delbrueckii*, *Bifidobacterium lactis*, and inulin to adult and elderly rats. *Appl Environ Microb*, 72, 6533-6538.
- Lila ZA, Mohammed N, Yasui T, Kurokawa Y, Kanda S, Itabashi H, 2004. Effects of a twin strain of live cells on mixed ruminal microorganism fermentation in vitro. *J Anim Sci*, 82, 1847-1854.

- Lynch HA, Martin SA, 2002. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* culture and *Saccharomyces cerevisiae* live cells on in vitro mixed ruminal microorganism fermentation. *J Dairy Sci*, 85, 2603-2608.
- Markham R, 1942. Distillation apparatus suitable for mikrokjeldahl analysis. *Biochem J*, 36, 790.
- Mathieu F, Jouany JP, Senaud J, Bohatier J, Bertin G, Mercier M 1996. The effect of *Saccharomyces cerevisiae* and *Aspergillus oryzae* on fermentations in the rumen of faunated and defaunated sheep; protozoal and probiotic interactions. *Reprod Nutr Dev*, 36, 271-287.
- McGinn SM, Beauchemin KA, Coates T, Colombatto D, 2004. Methane emissions from beef cattle: Effects of monensin, sunflower oil, enzymes, yeast, and fumaric acid. *J Anim Sci*, 82, 3346-3356.
- Menke KH, Steingass H, 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid. *Anim Res Dev*, 28, 7-55.
- Mutsvangwa T, Edwards IE, Topps JH, Paterson GFM, 1992. The effect of dietary inclusion of yeast culture (Yea-Sacc) on patterns of rumen fermentation, food intake and growth of intensively fed bulls. *Anim Prod*, 55, 35-40.
- Newbold CJ, Wallace RJ, Chen XB, McIntosh FM, 1995. Different strains of *Saccharomyces cerevisiae* differ in their effects on ruminal bacterial numbers in vitro and in sheep. *J Anim Sci*, 73, 1811-1818.
- Newbold CJ, Rode LM, 2006. Dietary additives to control methanogenesis in the rumen. *Int Congr Ser*, 1293, 138-147.
- Oetzuerk, H, Schroeder B, Beyerbach M, Breves G, 2005. Influence of living and autoclaved yeasts of *Saccharomyces boulardii* on in vitro ruminal microbial metabolism. *J Dairy Sci*, 88, 2594-2600.
- O'Mara FP, 2011. The significance of livestock as a contributor to global greenhouse gas emissions today and in the near future. *Anim Feed Sci Technol*, 166, 7-15.
- Opsi F, Fortina R, Tassone S, Bodas R, López S, 2012. Effects of inactivated and live cells of *Saccharomyces cerevisiae* on in vitro ruminal fermentation of diets with different forage: concentrate ratio. *J Agr Sci*, 150, 271-283.
- Oruç A, Avcı M, 2018: Bazı Kaba Yemlere Farklı Seviyelerde İlave Edilen Söğüt Ağacı (*Salix Alba*) Yaprağının In Vitro Sindirim ve Metan Oluşumu Üzerine Etkisi. *Harran Univ Vet Fak Derg*, 7, 60-66.
- Pinos-Rodríguez JM, Robinson PH, Ortega ME, Berry SL, Mendoza G, Bárcena R, 2008. Performance and rumen fermentation of dairy calves supplemented with *Saccharomyces cerevisiae*1077 or *Saccharomyces boulardii*1079. *Anim Feed Sci Technol*, 140, 223-232.
- Raju CS, Ward AJ, Nielsen L, Møller HB, 2011. Comparison of near infra-red spectroscopy, neutral detergent fibre assay and in-vitro organic matter digestibility assay for rapid determination of the biochemical methane potential of meadow grasses. *Bioresource Technol*, 102, 7835-7839.
- Santoso B, Kume S, Nonaka K, Kimura K, Mizukoshi H, Gamo Y, Takahashi J, 2003. Methane emission, nutrient digestibility, energy metabolism and blood metabolites in dairy cows fed silages with and without galacto-oligosaccharides supplementation. *Asian Austral J Anim Sci*, 16, 534-540.
- SPSS, 1991, Inc. Statistical package for the social sciences (SPSS/PC+). Chicago, IL, USA.
- Steinfeld H, Gerber P, Wassenaar T, Castel V, Rosales M, De Haan C, 2006. *Livestock's Long Shadow: Environmental Issues and Options*. FAO, Food Agriculture Organization of the United Nations. [http://www.afpafasso.org/afpf/vie/vie/images/FAOL\\_ivestock-Environment.pdf](http://www.afpafasso.org/afpf/vie/vie/images/FAOL_ivestock-Environment.pdf), (Erisim tarihi: 03.01.2007).
- Tabe ES, Oloya J, Doetkott DK, Bauer ML, Gibbs PS, Khaitsa ML, 2008. Comparative effect of direct-fed microbials on fecal shedding of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* in naturally infected feedlot cattle. *J Food Protect*, 71, 539-544.
- Tan HY, Sieo CC, Abdullah N, Liang JB, Huang XD, Ho YW, 2011. Effects of condensed tannins from *Leucaena* on methane production, rumen fermentation and populations of methanogens and protozoa in vitro. *Animal feed science and technology*, 169, 185-193.
- Teferedegne B, 2000. New perspectives on the use of tropical plants to improve ruminant nutrition. *Proc Nutr Soc*, 59, 209-214.
- Van Soest PV, Robertson JB, Lewis BA, 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J Dairy Sci*, 74, 3583-3597.
- Younts-Dahl, SM, Osborn GD, Galyean ML, Rivera JD, Loneragan GH, Brashears MM, 2005. Reduction of *Escherichia coli* O157 in finishing beef cattle by various doses of *Lactobacillus acidophilus* in direct-fed microbials. *J Food Protect*, 68, 6-10.

\*\*Bu çalışma Ali GÜLER'in yüksek lisans tezinden özetlenmiştir.

\*Yazışma Adresi: Faruk BOZKAYA

Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Genetik Anabilim Dalı, Eyyübiye, Şanlıurfa, Türkiye.  
e-mail: farukbozkaya@yahoo.com