

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNERLİK HAYVAN BESLEME VE BESLENME
HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**ATLARDA KABA YEMLERİN SİNDİRİM DÜZEYLERİNİN
FARKLI *İN VİTRO* SİNDİRİM TEKNİKLERİ İLE SAPTANMASI**

**Hazırlayan
Abdullah ALTINSOY**

**Danışman
Doç. Dr. Kanber KARA**

Yüksek Lisans Tezi

**Eylül 2023
KAYSERİ**

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNERLİK HAYVAN BESLEME VE BESLENME
HASTALIKLARI ANA BİLİMDALI**

**ATLARDA KABA YEMLERİN SİNDİRİM DÜZEYLERİNİN
FARKLI *İN VİTRO* SİNDİRİM TEKNİKLERİ İLE SAPTANMASI**

Yüksek Lisans Tezi

**Hazırlayan
Abdullah ALTINSOY**

**Danışman
Doç. Dr. Kanber KARA**

**Bu Tez Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
tarafından TYL-2022-11824 kodlu proje ile desteklenmiştir.**

**Eylül 2023
KAYSERİ**

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu tezin kendi çalışmam olduğunu, tüm bilgilerin akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda akademik ve etik kuralların gerektirdiği gibi tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel kurallara uygun olarak atıfta bulunduğumu ve kaynaklar listesinde gösterdiğimi belirtirim.

Adı-Soyadı: Abdullah ALTINSOY

İmza:

YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI

“Atlarda Kaba Yemlerin Sindirim Düzeylerinin Farklı *in Vitro* Sindirim Teknikleri ile Saptanması” adlı **Yüksek Lisans Tezi**, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Tezi Hazırlayan

Abdullah ALTINSOY

Danışman

Doç. Dr. Kanber KARA

Anabilim Dalı Başkanı V.

Doç. Dr. Kanber KARA

Doç. Dr. Kanber KARA danışmanlığında **Abdullah ALTINSOY** tarafından hazırlanan “**Atlarda Kaba Yemlerin Sindirim Düzeylerinin Farklı in Vitro Sindirim Teknikleri ile Saptanması**” adlı bu çalışma jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı’nda **Yüksek Lisans tezi** olarak kabul edilmiştir.

01.09.2023

Jüri Üyesi

İmza

Danışman: Doç. Dr. Kanber KARA

Üye: Prof. Dr. Berrin KOCAOĞLU GÜÇLÜ

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Oğuzhan KAHRAMAN

ONAY

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun tarih ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

.... /...../ 2023

Prof. Dr. Bilal AKYÜZ

EnstitüMüdürü

TEŞEKKÜR

Bu tez projesinin planlanması, yürütülmesi ve yazılması hususlarında göstermiş olduğu destek ve yardımlarından ötürü tez danışmanım Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Kanber KARA' ya Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı Öğretim Üyelerine teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca tez çalışmamın laboratuvar aşamasında yardımcı olan Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı Doktora öğrencisi Sena YILMAZ ve Seyrani DEMİR'e teşekkür ederim.

Çalışma ve eğitim hayatım boyunca birçok fedakârlıklar gösteren babam Mustafa ALTINSOY, annem Esmâ ALTINSOY, kardeşlerim Ahmet ALTINSOY, Hatice ALTINSOY ve Yusuf ALTINSOY'a eşim Ayşegül ALTINSOY'a evlatlarım Mustafa ALTINSOY ve Egemen ALTINSOY'a yaşamımın her döneminde bana duydukları güven için en derin duygularıyla teşekkür ederim.

Bu Tez Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TYL-2022-11824 kodlu proje ile desteklenmiştir. Desteklerinden dolayı çok teşekkür ederim

Abdullah ALTINSOY

Kayseri, 2023

ATLARDA KABA YEMLERİN SİNDİRİM DÜZEYLERİNİN FARKLI İN VİTRO SİNDİRİM TEKNİKLERİ İLE SAPTANMASI

Abdullah ALTINSOY

Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi, Eylül 2023

Danışman: Doç. Dr. Kanber KARA

ÖZET

Bu çalışmanın amacı, at beslemede kuru kaba yem olarak kullanımı yaygın olan yonca kuru otu, çayır kuru otu, buğday samanı ve İtalyan çiminin at dışkı inokulumu kullanarak üç farklı *in vitro* sindirim tekniği ile sindirim düzeylerini saptamaktır. Sindirim teknikleri olarak *in vitro* total sindirim tekniği (TST), *in vitro* Sunvold-kalın bağırsak sindirim tekniği (SST) ve *in vitro* Menke-kalın bağırsak sindirim tekniği (MST) kullanıldı. Denemede sindirim parametreleri olarak *in vitro* gerçek kuru madde sindirimi (G-KMS), *in vitro* gerçek organik madde sindirimi (G-OMS), *in vitro* gerçek nötür deterjan lif sindirimi (G-NDFS), düz kısa zincirli yağ asitleri (SCFA; asetik, propiyonik, bütirik ve valerik asit) ve dallı kısa zincirli yağ asitleri (BSCFA; *iso*-bütirik, *iso*-valerik ve *iso*-kaproik asit) konsantrasyonları belirlendi. İncelenen dört farklı kaba yem için *in vitro* G-KMS, *in vitro* G-OMS ve *in vitro* G-NDFS değeri en yüksek *in vitro* TST tekniğinde saptandı ($P<0.05$). *İn vitro* TST tekniğinde yonca kuru otunun *in vitro* G-KMS ve *in vitro* G-OMS değerlerinin İtalyan çimi, çayır kuru otu ve buğday samanının değerinden yüksek olduğu saptandı ($P<0.001$). *İn vitro* SST tekniğine göre atlarda yonca kuru otunun *in vitro* G-KMS ve *in vitro* G-OMS değerlerinin çayır kuru otu ve buğday samanının değerlerinden yüksekti ($P<0.001$). *İn vitro* TST tekniğinde yonca kuru otunun sindirim sıvısında AA, T-SCFA ve BSCFA molaritesi diğer kaba yemlerinkinden daha yüksekti ($P<0.05$). Üç yöntemle göre kaba yemlerin *in vitro* sindirimleri sonunda en yüksek AA, PA, BA ve VA molaritesi *in vitro* TST’inde olduğu saptandı ($P<0.05$). Sonuç olarak, atlarda *in vitro* total enzimatik + fermentatif sindirim tekniği (TST) diğer *in vitro* fermentatif sindirim tekniklerine (MST ve SST) göre daha yüksek değerler ortaya koymuştur. Genel olarak kaba yemlerin içeriğindeki lif olmayan karbonhidrat (NFC) ve ham protein (HP) düzeyleri yükseldikçe *in vitro* TST tekniğinin diğer sindirim tekniklerine göre daha yüksek sonuçlar elde edilebileceği tespit edilmiştir. Bunun yanında kaba yemlerin bitki hücre duvarı içerikleri arttıkça atlarda yaygın olarak kullanılan kaba yemlerin *in vitro* G-KMS, G-OMS ve G-NDFS düzeylerinin azaldığı da anlaşılmıştır.

Anahtar Kelimeler: At, kısa zincirli yağ asitleri, *in vitro* sindirim, organik madde, sindirim kanalı.

DETERMINATION OF FORAGES' DIGESTION LEVELS FOR DIFFERENT IN VITRO DIGESTION TECHNIQUES IN HORSES

Abdullah ALTINSOY

Erciyes University, Graduate School of Healthy Sciences
Department of Animal Nutrition and Nutritional Diseases

M.Sc. Thesis, September 2023

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Kanber KARA

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the digestion levels of alfalfa hay, meadow hay, wheat straw and Italian ryegrass, which are widely used as dry forage in horse nutrition, with horse feces inoculum and three different *in vitro* digestion techniques. *In vitro* total digestion technique (TST), *in vitro* Sunvold-large intestine digestion technique (SST) and *in vitro* Menke-large intestine digestion technique (MST) were used as digestion techniques. In the study, *in vitro* true dry matter digestion (T-DMD), *in vitro* true organic matter digestion (T-OMD), *in vitro* true neutral detergent fiber digestion (T-NDFD), concentrations of straight short chain fatty acids (SCFA; acetic, propionic, butyric, and valeric acid) and branched short chain fatty acids (BSCFA). The highest *in vitro* T-DMD, T-OMD and G-NDFS values were determined by the *in vitro* TST technique for the four different forages ($P<0.05$). *In vitro* T-DMD and T-OMD values of alfalfa herbage were found to be higher than those of Italian ryegrass, meadow hay and wheat straw in the *in vitro* TST technique ($P<0.001$). According to the *in vitro* SST technique, *in vitro* T-DMD and T-OMD values of alfalfa herbage in horses were higher than those of meadow hay and wheat straw ($P<0.001$). In the *in vitro* TST technique, the molarities of AA, T-SCFA and BSCFA in the digestion fluid of alfalfa herbage was higher than the other forages ($P<0.05$). According to the three methods, at the end of the *in vitro* digestion of the roughages, the highest molarity of AA, PA, BA and VA was found in the *in vitro* TST ($P<0.05$). As a result, *in vitro* total enzymatic + fermentative digestion technique (TST) technique in horses revealed higher values than *in vitro* fermentative digestion techniques (MST and SST). In general, it has been determined that the higher the non fiber carbohydrates (NFC) and crude protein (CP) contents in the forage, the higher the results of the *in vitro* TST technique compared to the other techniques. Besides, as the plant cell wall contents of the forages increased, it was understood that the *in vitro* T-DMD, T-OMD and T-NDFD levels of the forage commonly used in horses decreased.

Keywords: Digestive tract, horse, *in vitro* digestion, organic matter, short chain fatty acids.

İÇİNDEKİLER

İÇ KAPAK.....	
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK.....	i
YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI.....	ii
ONAY	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
KISALTMALAR ve SİMGELER	ix
TABLolar LİSTESİ.....	xi
ŞEKİLLER LİSTESİ	xii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENELBİLGİLER	4
2.1. Atların Gastro-İntestinal Sisteminin Fizyolojisi ve İşlevi.....	4
2.2. Ağız Diş ve Tükürük	5
2.3. Özefagus.....	6
2.4. Mide	6
2.5. İnce Bağırsak.....	7
2.6. Kalın Bağırsak.....	8
2.7. Atlarda Yemlerin <i>in vitro</i> Sindirim Teknikleri.....	11
2.7.1. Atlarda yemlerin dışkı inokulumu ve bikarbonat:fosfat buffer solüsyonu ile muamalesi.....	12
2.7.2. Atlarda yemlerin dışkı inokulumu ve vitamin ile enzim içeren <i>in vitro</i> fermentasyon mediumu ile direkt muamele edilmesi	14
2.7.3. Atlarda yemlerin <i>in vitro</i> enzimatik + dışkı inokulumu + vitamin+mineral+tampon inokulumu yöntemi ile sindirimlerinin saptanması	15
3. GEREÇ VEYÖNTEM	17
3.1. Kaba Yemler	17
3.2. Kaba Yemlerin Besin Madde Analizi	17

3.3. <i>İn vitro</i> Sindirim Teknikleri	17
3.3.1. <i>İn vitro</i> Total Sindirim Tekniği	17
3.3.2. <i>İn vitro</i> Sunvold-Kalın Bağırsak Tekniği	20
3.3.3. <i>İn vitro</i> Menke-Kalın Bağırsak Sindirim Tekniği	20
3.4. <i>İn vitro</i> gerçek kuru madde (G-KMS), organik madde (G-OMS) ve nötür deterjan lif sindiriminin (G-NDFS) saptanması	21
3.5. <i>İn vitro</i> sindirim sıvılarının pH düzeyinin belirlenmesi	22
3.6. <i>İn vitro</i> sindirim sıvılarındaki kısa zincirli yağ asidi kompozisyonunun belirlenmesi	22
3.7. İstatistiki analiz	23
4. BULGULAR	24
4.1. Kaba Yemlerin Besin Madde Kompozisyonu	24
4.2. Atlarda Farklı Kaba Yemlerin Farklı <i>in vitro</i> Sindirim Yöntemleriyle <i>in vitro</i> G-KMS, G-OMS ve G-NDFS Değerleri	25
4.3. Atlarda farklı <i>in vitro</i> sindirim yöntemleriyle kaba yemlerin sindirim sıvısı kaza zincirli yağ asitleri konsantrasyonları	27
4.4. Atlarda farklı <i>in vitro</i> sindirim yöntemleriyle kaba yemlerin sindirim değişkenlerinin Pearson (r) korelasyonları	28
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	32
6. KAYNAKLAR	37
EKLER	
ÖZGEÇMİŞ	

KISALTMALAR ve SİMGELER

ADF	: Asit Deterjan Lif
ADFom	: Külsüz Asit Deterjan Lif
ADL	: Asit Deterjan Lignin
aNDFom	: Alfa Amilaz İle Saptanan KülsüzNötral Deterjan Lif
AOAC	: Association of Official Agricultural Chemists
BSCFA	: Dallı Kısa Zincirli Yağ Asitleri
g	: Gram
G-KMS	: <i>İn Vitro</i> Gerçek Kuru Madde Sindirimi
G-NDFS	: <i>İn Vitro</i> Nötür Deterjan Lif Sindirimi
G-OMS	: <i>İn Vitro</i> Gerçek Organik Madde Sindirimi
GÜ	: Gaz Üretimi
HK	: Ham Kül
HP	: Ham Protein
HS	: Ham Selüloz
HY	: Ham Yağ
Kcal	: Kilo kalori
Kg	: Kilogram
KM	: Kuru Madde
M	: Molarite
MCP	: Mikrobiyal Ham Protein Üretimi
ME	: Metabolik Enerji
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
Mmol	: Milimol

MST	: <i>İn vitro</i> Menke-kalın bağırsak sindirim tekniği
NDF	: Nötral Deterjan Lif
NRC	: National Research Council (Ulusal Araştırma Konseyi)
NH₃-N	: Amonyak Azotu
SE	: Sindirilebilir Enerji
SST	: <i>İn vitro</i> Sunvold-kalın bağırsak sindirim tekniği
SCFA	: Düz Kısa Zincirli Yağ Asitleri
T- SCFA	: Total Kısa Zincirli Yağ Asitleri
TST	: <i>İn vitro total</i> sindirim tekniği

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 2.1. Atlarda sindirim sistemi özellikleri ...	7
Tablo 3.1. <i>İn vitro</i> fermentasyon için kullanılacak tampon solüsyonunun kompozisyonu	19
Tablo 3.2. <i>İn vitro</i> gaz üretiminde kullanılan kimyasal solüsyonların içeriği	21
Tablo 3.3. GC-FID’de yağ asitlerinin geliş zamanı ve standart konsantrasyonu	23
Tablo 4.1. <i>İn vitro</i> sindirimde kullanılan kaba yemlerin besin madde içeriği	24
Tablo 4.2. Atlarda farklı kaba yemlerin farklı <i>in vitro</i> sindirim yöntemleriyle <i>in vitro</i> G-KMS, G-OMS ve G-NDFS değerleri	26
Tablo 4.3. Atlarda farklı <i>in vitro</i> sindirim yöntemleriyle kaba yemlerin sindirim sıvısı kıza zincirli yağ asitleri konsantrasyonları	29
Tablo 4.4. Atlarda farklı <i>in vitro</i> sindirim yöntemleriyle kaba yemlerin sindirim sıvısı kısa zincirli yağ asitleri konsantrasyonları	30
Tablo 4.5. Atlarda farklı <i>in vitro</i> sindirim yöntemleriyle kaba yemlerin sindirim değişkenlerinin Pearson (<i>r</i>) korelasyonları	31

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1.	At sindirim sistemi fizyolojisi	5
Şekil 2.2.	Atın gastrointestinal kanalındaki fermentasyon yolları	8
Şekil 2.3.	Atların kalın bağırsağında mikroorganizmalar tarafından kompleks karbonhidratların hidrolizi ve fermentasyon son ürünleri.....	9
Şekil 3.1.	Kısa zincirli yağ asiti standartının GC-FID kromotagramı	22



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Atlar monogastrik bir herbivor olduklarından rasyonlarında mutlaka kaba yem bulunmalıdır. Kaba yemlerin gereğinden düşük kullanılması gastro-intestinal kanal sağlığını ve devamında atın genel sağlık durumunu olumsuz etkilemektedir (NRC, 2007). Çiftlik hayvanlarının rasyondaki kaliteli kaba yem; doğal olarak yetişen ya da kültüre edilmiş olan çayır-mera bitkileri ve biçilebilen kültür yem bitkileri, tane yem üretim atıkları, yumru yem üretim atıkları, seracılık atıkları sanayi bitkileri artıklarından da faydalanılmaktadır (Tekin ve Kara, 2020; Erşahince ve Kara, 2017; Kara ve ark., 2018). At beslemede yaygın kullanılan buğdaygil otları olarak rye grass (*Lolium*), çayır otu (*Festuca*), çayır kelp kuyruğu (timothy; *Pheleum pratense*) ve domuz ayrığı (cockfoot; *Dactylis glomerata*), ile baklagil otları olarak kırmızı, beyaz ve melez üçgül, gazalboynuzu (*Lotus corniculatus*), yonca (*Medicago*) ve korunga (*Onobrychis*)'dır (Frape, 2004; Hintz ve Cymbaluk, 1994). Bu kaba yem kaynakları özellikle kış aylarında hayvanların kaba yeme olan ihtiyaçlarını istenilen seviyede karşılayamamaktadır. Küresel ısınmada yeterli miktarda kaliteli kaba yemin karşılanabilmesini olumsuz etkilemekte ve istenilen miktarda kaba yemin temin edilememesi kaynaklı alternatif kaba yem kaynağı arayışı devam etmektedir (Kara, 2015; Kara ve ark., 2015; Kara ve ark., 2016; Kara ve ark., 2018). At rasyonlarında haylaj (% 40-65 kuru madde; KM) gibi kaba yem hammaddeleri de kullanılabilmektedir. At beslemede mide hacminin küçük (8-18 L) olması ve kapasite olarak ancak 5-15 L bir hacime kadar yem alabilmesinden dolayı KM içeriği düşük olan fermente yemler (silaj) ve posalar kaba yem olarak en son kullanılabilecek lif yem hammaddeleridir (Frape, 2004; Hintz ve Cymbaluk, 1994). Atlar yaşama payı düzeyinde beslendiğinde (canlı ağırlığın % 1,6-2,0 KM) rasyonları tamamen orta ya da iyi kaliteli kaba yemden oluşabilir. Ancak yaşam payı düzeyinde beslenmesi gereken yetişkin atın rasyonunda kaba yem kalitesi düşükse, kısarak laktasyonun son döneminde ise, kısarak laktasyonun ilk 6 ayında, büyüme dönemindeki bir tay ise veya iş (eğitimde ya da hafif-orta-ağır iş) yapıyor ise rasyonda mutlaka konsantre yem bulunmalıdır

(NRC, 2007). Atlarda kaba yemlerin sindirimi kalın bağırsaktaki mikroorganizma (özellikle sekum ve ventral kolon) enzimlerinin fermentasyonu ile gerçekleşmektedir. Kaba yemin besinsel değeri, atların kalın bağırsağındaki besin maddelerinin ve son ürünlerin (düz ya da dallı kısa zincirli yağ asitleri: SFCA ve BCFA) düzeyi ve bunların enterositlerden absorpsiyonuna bağlıdır. Kaba yemlerin aminoasit değeri konsantre yemden düşük olup, yüksek kaliteli bir yoncanın (alfalfa cubes) bile gerçek protein ve lizin değeri konsantre yem karmasının sadece %60'ı kadardır (Frape, 2004). Çalışan (eğitim, çekim, biniş ve yarış) atlar genellikle yüksek miktarlarda mısır, arpa ve yulaf gibi nişasta kaynağı olan tahıllarla rasyonları takviye edilerek kaslara glikojen sağlanarak aerobik fosforilasyon için gerekli olan enerji (adenozin trifosfat: ATP) ihtiyaçları karşılanmış ve devamlılığı da sağlanmış olmaktadır. Yağlar da yarış atı rasyonlarına %10'a kadar ilave edilerek aerobik fosforilasyon yoluyla ATP sağlanabilir. Kaba yemlerde kalın bağırsakta fermente edilerek son ürünleri olan SCFA'ler şeklinde emilerek glikoz ve glikojen kaynağını oluşturmaktadır. Atın sindirilebilir enerji ihtiyacının yaklaşık %30'u kaba yem fermentasyonu ile sağlanır. Kaba yemlerin içeriğindeki soluble diyetlik lif (SDF) (pektin, beta-glukan, dirençli olmayan nişasta, inulin ve hemiselülozun bir kısmı) ve insoluble diyetlik lif (IDF) (selüloz, lignin ve hemiselülozun bir kısmı) unsurları bağırsak peristalsisi, kimüs-dışkı viskozitesi ve kalın bağırsak pH ve amonyak yoğunluğu üzerine etkisi vardır. Atlarda kaba yeme dayalı beslenmede sağlıklı bir kalın bağırsağın içeriğinde SCFA'lerden asetik asit (AA) yüksektir. Yoğun nişasta (özellikle dirençli olmayan nişasta) ağırlıklı besleme kalın bağırsağa ince bağırsak sindiriminden kaçan fazla oranda nişasta geçişine ve burada laktik asit oranının artışına ve laminitis, kolik, endotoksemi ile diareye neden olabilmektedir.

Hayvan beslemede rasyonları teşkil eden yemlerin besin içerikleri, beslenme değerleri ve hangi oranda sindirilebildikleri önem arz etmektedir. Atlarda rasyon içerikleri oluşturulurken, yem maddesinin besin madde profili ve sindirilebilirliği ile hangi oranda mikrobiyal fermentasyona uğrayacağı göz önüne alınmaktadır (NRC, 2007; Orskov ve McDonald, 1979). Yemlerin besin değerleri hakkında bilgi sahibi olunması daha etkili ve güvenli rasyonlara ve asıl herbivor rasyonunun önemli kısmını oluşturan kaba yemin kalitesi daha iyi performans sağlamaktadır (Karen ve ark., 2016). Atlarda yemlerin sindirimlerinin saptanması için *in vivo* ve *in vitro* yöntemlerin kullanımı yaygındır. *In vitro* yöntemlerin maliyetinin düşük olması, hızlı ve tekrarlanabilir olması, kontrollü

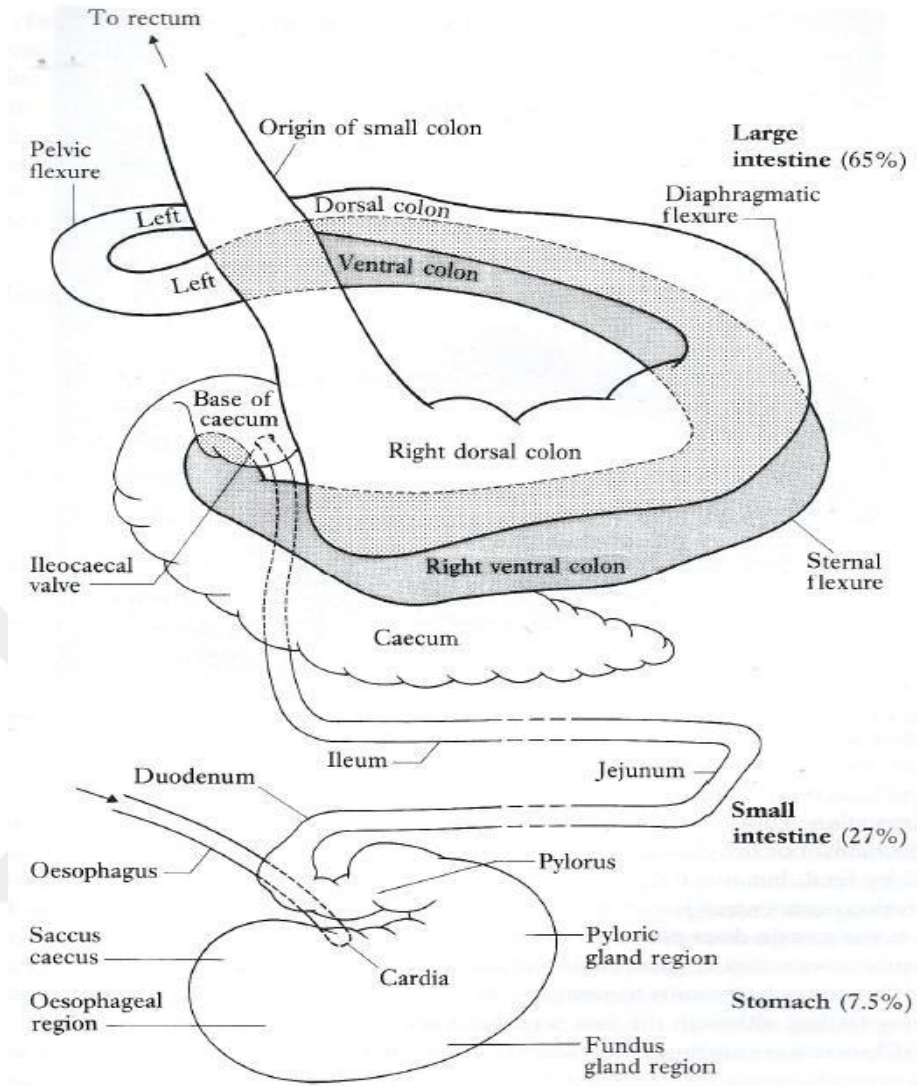
ortamda gerçekleştirilmesi ve direkt hayvanın değil sadece dışkısı kullanıldığından daha az hayvan gerektirmesi gibi avantajları *in vivo* yöntemlere göre üstünlüğünü göstermektedir (Pereira ve ark., 1995). Yapılan *in vitro* sindirim denemeleri, yem maddelerinin değerliliğinin belirlenmesinde, kimyasal analizlerinden sonra yapılan ve güvenilir sonuçlar veren denemelerdir. Dışkının toplanarak *in vitro* sindirim yöntemlerinde kullanılması günümüz araştırmacıları tarafından en çok kullanılan metottur. Atlarda kaba yemlerin sindirimlerini saptanması için farklı *in vitro* sindirim teknikleri kullanılmakta ve halen geçerli tek bir yöntem yoktur.

Bu tezin hipotezi, atlarda yaygın olarak kullanılan kaba yemlerin sindirilebilirliğinin ve sindirim son ürünlerinin farklı *in vitro* yöntemlerinde farklı sonuç vereceği ve yöntemler arasındaki farklılıkların araştırmacıların kaba yem hakkındaki yorumunu değiştireceğidir. Bildirilen hipotez doğrultusunda bu tezin amacı da, at beslemede kuru kaba yem olarak kullanımı yaygın olan yonca kuru otu, çayır kuru otu, buğday samanı ve İtalyan çiminin at dışkısı inokulumu ile üç farklı *in vitro* sindirim teknikleri [*in vitro* total sindirim tekniği (TST), *In vitro* Sunvold-kalın bağırsak sindirim tekniği (SST) ve *in vitro* Menke-kalın bağırsak sindirim tekniği (MST)] ile *in vitro* gerçek kuru madde sindirimi (G-KMS), *in vitro* gerçek organik madde sindirimi (G-OM), *in vitro* gerçek nötür deterjan lif sindirimi (G-NDFS), düz kısa zincirli yağ asitleri (SCFA; asetik, propiyonik, bütirik ve valerik asit) ve dallı kısa zincirli yağ asitleri (BSCFA; *iso*-bütirik, *iso*-valerik ve *iso*-kaproik asit) konsantrasyonlarının belirlenmesi ve karşılaştırılmasıdır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1.Atların Gastro-İntestinal Sisteminin Fizyolojisi ve İşlevi

Atlar, tek bölmeli bir mideye sahip olan monogastrik herbivorlar olarak sınıflandırılır. Atlarda sindirim sistemi ağız, farenks, özefagus, mide, ince bağırsak ve kalın bağırsaktan oluşur. Monogastrik olan atların sindirim sistemi, yapı olarak domuzlara benzemekle beraber bu hayvanlardan daha büyük bir sekuma sahip olması ile ayrıcalık gösterirler. Atlardaki mide (ponilerde 6-8 L, büyük ırklarda 15-18 L), ruminantlara göre oldukça küçük olup, sığırların onda biri kadardır. Bu nedenle atlara yemler aniden değil en az 2-3 öğün/gün halinde verilmelidir. Eğer atlar fazla miktarda kaba ve konsantre yem tüketirlerse hızlı solunum ve midede gaz birikimi şekillenir. Aşırı yem tüketiminde ise kolik ve mide yırtılması gibi istenmeyen durumlar ortaya çıkabilir (Cichorska ve ark., 2014; NRC, 2007). Atlar yemi tükettikten sonra yemler mideden hızlı bir şekilde geçerek ince bağırsağa gelir. Birçok besin maddelerinin emilimi ince bağırsakta gerçekleşmektedir. İnce bağırsak kapasitesi sığırlarinkine benzer ancak atlarda sığırların aksine fonksiyonel sekum bulunmaktadır. Atların sekumunda mikrobiyal fermentasyon gerçekleşmekte olup, rumendeki gibi SCFA (asetik, bütirik ve propiyonik asit gibi), karbondioksit ve metan gazları ile mikrobiyal proteinler (MCP) ve proteinlerin parçalanma son ürünü olan amonyak-azotu ($\text{NH}_3\text{-N}$) son ürünlerdendir (Erşahince ve Kara, 2017). Atlarda mide ve ince bağırsaklarda ya da yardımcı sindirim organları tarafından sekrete edilen fibrolitik bir enzim olmadığı için rasyondaki kaba yemler sekumda mikrobiyal enzimlerle fermente edilmektedir. Ancak selülozun sindirimi ruminantlarda olduğu gibi etkili değildir. Aşağıda anahatları ayrıntılı verilen at sindiriminin fizyolojik işlevi verilmiştir (Frape, 2004).



Şekil 2.1. At sindirim sistemi fizyolojisi (Frape, 2004).

2.2. Ağız Diş ve Tükürük

Atlarda sindirim süreçleri ağız boşluğunda (*cavum oris*) başlar. Atın güçlü, hareketli ve hassas dudakları vardır. Tüketim için otları, samanları ve tahılları seçer. Bu dudaklar ayrıca suyu ağza akıtmak için de kullanılır. Üst ve alt kesici dişler kaba yemleri kesmektedir. Besleme yönetiminin en önemli yönü, atın sağlıklı dişlere sahip olduğundan emin olmak için besinleri kolayca kavramak ve ardından sindirilmeden önce küçük parçacıklar haline getirmek sindirimin kolaylığı açısından önemlidir (NRC, 2007). Atlarda sindirim ağızda başlamaktadır. Kesici dişler, merada çayır otlarının koparılmasını sağlar. Ancak biçilmiş otlar ve konsantre yemler ise dil ve dudaklar ile ağza alınır. Dişlerin yapacağı öğütme, sindirim kanalının sonraki adımlarında enzimatik sindirim ve mikrobiyal fermentasyona uğrayacak olan yemin yüzey alanını

artırmaktadır. Tükürük, yetişkinlerde dil altı, mandibular ve parotis tükürük bezleri (glandulae: sublingualis, submandibularis et parotidea) tarafından günde 35 ila 40 L arasında değişen miktarlarda salgılanır (Moeller ve ark., 2008).

At tükürüğü içeriği, düşük seviyelerde enzim içermekte ve tükürüğün enzimatik aktivitesi muhtemelen sindirim sistemi için küçük bir öneme sahiptir. Tükürükteki sodyum bikarbonat ve sodyum klorür içeriği, midenin proksimal bölgesindeki sindirim için bir tamponlama maddesi görevi görür (Frape, 2004).

2.3. Özefagus

Atlarda özefagus yaklaşık 120-150 cm uzunluğunda olup, çok katmanlı epitel içeren en içteki mukozal katman olan çok sayıda katmandan oluşur (Ellis ve Hill, 2005). Peristaltik dalgalar sindirimi kardiyak sfinkterden mideye taşır (Colville ve Bassert, 2002; Ellis ve Hill, 2005). Alt yemek borusundaki güçlü kalp sfinkteri ve kası nedeniyle, atlarda reflü ve kusma çok nadir görülür (Colville ve Bassert, 2002; Hintz, 1990). Bu nedenle yemini hızlı ve çiğnmeden tüketen atların bu durumlarının fark edilerek gerekli önlemlerin alınması gerekir, aksi halde bu tür atlar çeşitli sindirim sorunları yaşarlar (Cunha, 2012).

2.4. Mide

Atların midesi belirgin bir şekilde kavisli olup gastrointestinal kanal hacminin yaklaşık % 8-10'unu oluşturur (Frape, 2004; Ellis ve Hill, 2005). Başka bir ifade ile tüm gastrointestinal sisteme kıyasla mide hacmi küçüktür. Mide hacmi ponilerde 6-8 L, safkan ve quarter Arap ve İngiliz atları ile soğukkanlı at ırklarında 15-18 L'dir. Mide mukozasından salgılanan pepsinojen, asit (HCl) ortamın (pH 2-4) etkisi ile pepsine aktive olur. Özellikle proteinli bileşiklerin peptidlere katabolizması midede gerçekleşir. Atın mide mikrobiyotası, öncelikle kimusun asidik reaksiyonu nedeniyle çok zengin bir mikro ekosistem değildir. Gastrointestinal sistemin bu segmentindeki baskın bakteriler arasında *Lactobacillus equigenersi* ve *Streptococcus* bulunur (Cichorska ve ark. 2014). Atın tükettiği yem midede sadece 15 dakika kadar kalmaktadır. Ancak rasyondaki yapısal karbonhidratlar midede 6 saate kadar kalabilmekte ve mide asla tamamen boş kalmamaktadır (Frape, 2004). Mide total kapasitesinin ¾'ü dolu iken en etkin şekilde yem sindirimi gerçekleşmektedir. Bu nedenledir ki atlara gün boyunca sürekli kaba yem sunulmalıdır (Cunha, 2012).

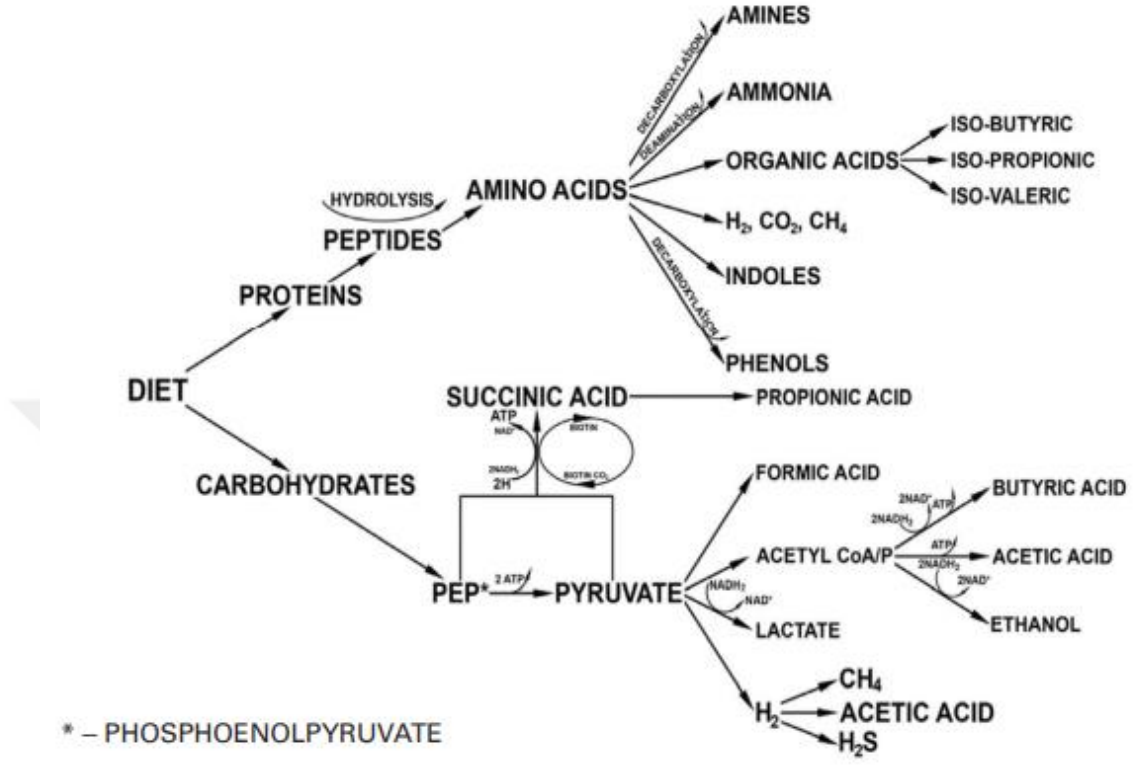
Tablo 2.1. Atlarda sindirim sistemi özellikleri (Şehu 2002)

	Uzunluk, m	Hacim, L	Yemlerin Geçiş Süresi
Özefagus	1,5	-	10-20 sn
Mide	-	15-18	3-9 saat
İnce Bağırsak	16-24	64	5-6 saat
Sekum	1	30-35	15-20 saat
Kolon	3-8	80-90	18-24 saat
Kolon Sonu	3	15	1-2 saat
Toplam	25-35	180-220	42-64 saat

2.5.İnce Bağırsak

Atın ince bağırsağı, tüm gastrointestinal sistemin %30'unu teşkil ederken bu oran sığırlardan yaklaşık 10 m daha kısadır ve bu uzunluk 19-30 m arasındadır (Cichorska ve ark., 2014). Rasyonla alınan sindirilebilen karbonhidratların (dirençli olmayan nişasta gibi), proteinlerin ve lipidlerin katabolizması ile son ürünlerin emilimi için ana bölge ince bağırsaktır (NRC, 2007). Bağırsak duvarından salgılanan enzimler, pankreas enzimleri ve karaciğer safra salgısı bu katabolizmalardan sorumludur (Clarke ve ark., 1990). Pankreas sıvısında bulunan sindirim enzimleri, örneğin: α -amilaz, lipaz, elastaz, tripsin ve kimotripsin, diğer çiftlik hayvanlarına kıyasla daha düşük aktivite ile karakterize edilir (Frape, 2004) (Şekil 2.2). Atların ince bağırsağı protein katabolizması ve emiliminin yaklaşık %60-70'inden, çözünür karbonhidratların %65-75'inden ve lifin %15-25'inden sorumludur (Hintz, 1990). Rasyondaki yağların sindirimlerinin başladığı yer ince bağırsak olup, bu kanala lipolitik etkili enzimler ve safra salgısı akıtılarak yağ asitlerinin emilimi gerçekleşmektedir (Hintz, 1990). Atın ince bağırsağındaki rasyon yağlarının görünür sindirilebilirlik katsayıları %55-70 aralığında olup, diğer monogastrik herbivorlar ile karşılaştırıldığında nispeten düşüktür (Sweeney ve ark., 2014). Safra ve pankreas salgıları ortak bir kanal aracılığıyla sürekli olarak doğrudan duodenuma salgılanır (Frape, 2004; Ellis ve Hill, 2005). İleum, protein katabolizması ve amino asit emiliminin önemli bir bölgesidir (Ellis ve Hill, 2005). Pankreas salgıları bikarbonat içeriği ile mideden gelen kimusun pH'ını yaklaşık 2'den 7'ye yükselterek buradaki enzimlerin aktivasyonu için kanalın nötralize edilmesini sağlamaktadır (Clarke

ve ark., 1990; Frape, 2004). Ayrıca safra sıvısı, ince bağırsaktan pH'ı 7-7.5'e tamponlamaktadır (de-Fombelle ve ark., 2003).



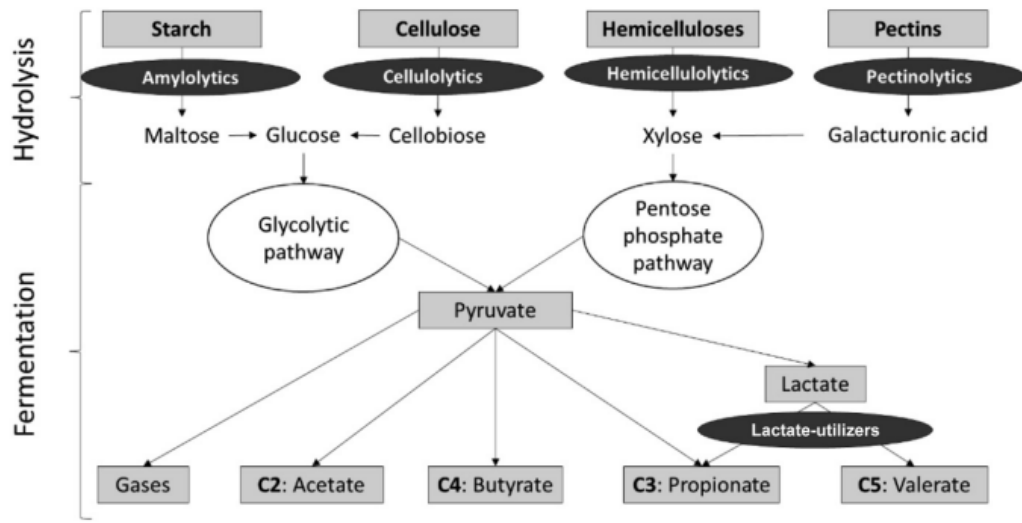
Şekil 2.2. Atın gastrointestinal kanalındaki fermentasyon yolları (Cummings ve Macfarlane, 1991)

2.6. Kalın Bağırsak

Kimusun kalın bağırsaktan geçişi 36 ila 72 saat sürer. Atın tüm gastrointestinal sistemini benzersiz kılan, toplam hacminin %15'ini oluşturan sekumdur. Sekum, ileumun distal ucunda yer alan büyük kör bir kesedir (Frape, 2004). Sindirim içeriğinin sekuma girişi ve kolona çıkışı, sekumun aynı ucunda ve birbirine çok yakın olan ayrı valfler (ileosekal ve sekoventral kolon) tarafından kontrol edilir (Frape, 2004). Rasyondaki kaba yem partikülleri, yuttuktan sonra 60 dakikada ve sıvı formdaki içerik ise 30 dakika içinde sekuma ulaşabilir (Hintz, 1990). Sekum yaklaşık 1,25 m uzunluğunda ve 25-30 litre kapasiteye sahiptir (Ellis ve Hill, 2005). Attaki kolon yaklaşık 10 m uzunluğunda ve 50-60 litre kapasitelidir (Ellis ve Hill, 2005). Rasyon içeriğine bağlı olarak yem ham maddelerindeki proteinlerin yaklaşık % 30-40'ının, sindirilebilir karbonhidratların % 25-35'inin ve yapısal karbonhidratların (selüloz, hemiselüloz gibi) %78-85'inin katabolizması sekum ve kolonda gerçekleşebilir (Hintz,

1990). Memelilerin kalın bağırsaklarındaki sıcaklığın nispeten sabit ve vücut sıcaklığına yakın olduğu (37,7-38,0°C) bilinmektedir (Hume, 1997). Kalın bağırsağın güçlü ritmik ve ritmik olmayan kasılmaları kimusu rektuma taşır. Rektum 300 mm uzunluğunda olup kalın bağırsak kısmı anüsle sonlanır (Frape, 2004).

Kalın bağırsakta, karbonhidratların parçalanması iki adım içerir: ilk olarak kompleks polisakkaritlerin hidrolizi ve ikinci olarak basit şekerlerin fermentasyonudur (Şekil 2.3; Julliand ve Grimm, 2017).



Şekil 2.3. Atların kalın bağırsağında mikroorganizmalar tarafından kompleks karbonhidratların hidrolizi ve fermentasyon son ürünleri

Yalnızca kaba yemlere dayalı diyetler, kan plazmasındaki asetat düzeylerini, antrenman öncesi ve sonrası önemli ölçüde arttırarak sekal fermentasyon ve enerji dengesinin önemini gösterir (Jansson ve Lindberg, 2012). Sekuma rasyonla nispeten düşük düzeyde nişasta ve yüksek düzeyde yapısal karbonhidrat gelmesi durumunda, burada gelişen Uçucu yağ asidi büyük oranda asetik asittir. Burada kolonize olan fibrolitik bakteriler *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Eubacterium*, *Propionibacterium*, *Selenomonas* ve *Streptococcus*'lardır (Mackie ve Wilkins, 1988; Costa ve ark., 2012). Öte yandan, kalın bağırsağa yüksek nişasta gelmesi, laktik asit fermentasyonun hızlı seyri ile ilişkili hastalıkların bir nedeni olabilir. Bu nedenle, ince bağırsaktaki basit şekerleri mümkün olan en iyi şekilde kullanmak ve atlar için rasyonlarda aşırı konsantre yem verilmesinden kaçınmak çok önemlidir (Kienzle, 1994). Bir öğünde, atın yapısal

olmayan karbonhidratların tüketimi, vücut ağırlığının %0,4'ünden fazla olması sağlığı için gerçek bir tehdit oluşturur (Cuddeford, 2000). Sekumdaki aşırı SCFA konsantrasyonları, kimus pH'sının selülitik mikrobiyota için optimal olan 6,5 değerinden aşağıya düşmesine neden olur. Sekumda azalan kimus pH'sı, mukozasını tahrip eder ve bu organdaki mikrobiyotanın yeniden düzenlenmesine (laktik fermentasyon bakterilerinin baskınlığı, örneğin *Lactobacillus* sp., *Clostridium* sp. popülasyonlarında artış) veya hatta tamamen ortadan kaldırılmasına yol açar. Atın kalın bağırsağındaki mikrobiyotadaki olumsuz değişiklikler, yalnızca gastrointestinal sistemdek bozuklukların (kolik, ishal, endotoksemi) ortaya çıkmasına neden olmakla kalmaz, aynı zamanda laminitis veya diğer lokomotor sistem hastalıkları gibi hastalıklara da neden olabilir (Milinovich ve ark., 2007; Costa ve ark., 2012). Bu kısımdaki pH değerindeki nispeten küçük değişiklikler bile subklinik asidoza neden olabilir. Sağlıklı bir at kalın bağırsağında, protozoa - bakterilerle birlikte uyumlu bir şekilde işleyen bir mikro ekosistem mevcuttur. Buradaki baskın protozoa şunları içerir: *Buetschila*, *Cycloposthium*, *Blepharocorys* ve *Paraisotricha* sp. (Moore ve Dehority, 1993). Eşzamanlı olarak, atın sekumunda Lignoselülozik komplekslerin parçalanmasına katılan *Caecomycetes equi* mantarlar da bulunur (Nagpal ve ark., 2009). Kolon-sekumda normal ve sağlıklı bir mikrobiyota aktivitesinin, at için SCFA dışında bazı vitaminleri sağladığı da bildirilmiştir (Mackenthun ve ark., 2013; Faubladier ve ark., 2013).

Yapılan bir çalışmada (Glatte ve ark., 2019) kalın bağırsakta soluble lif kaynağı olarak inulin ve frukto oligosakkarit (FOS) içeriği yüksek olan yerelması ununu tüketen yetişkin atların midelerinde *Lactobacillus* relatif oranının *Streptococcus* relatif oranından daha yüksek olduğu, kalın bağırsakta ise *Lactobacillus* relatif oranını artırıp fibrolitik bakteri relatif oranını (özellikle *Lachnospiraceae* ve *Ruminococcaceae* familyası) azalttığı saptanmıştır. (Glatte ve ark., 2019). *Ruminococcus* relatif oranının sekum ve transversal kolonda arttığı belirlenmiştir. Genel olarak, rasyona prebiyotiğin eklenmesi, gastrointestinal sistemin hemen hemen tüm kısımlarında çeşitliliği önemli ölçüde artırmıştır. Bu doğal prebiyotik bileşiğin atlarda, tüm gastrointestinal sistemdeki mikrobiyal topluluk üzerinde bir etki gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca, gastro intestinal (özellikle midedeki) bakteri yoğunluğu üzerindeki etki, kalın bağırsaktaki etkiye kıyasla daha belirgin olmuştur. Bu nedenle mide sağlığı üzerindeki etkisinin dikkatle değerlendirilmesi gerektiği ifade edilmiştir (Glatte ve ark., 2019). Atlarda kalın bağırsaktaki mikrobiyota, ekosistemin soluble lif oranının yüksek oranda alımıyla düşük

fibrolitik aktiviteden yüksek amilolitik aktivite doğru kaymaktadır. Bu değişiklik, (asetik asit + bütirik asit)/(propiyonik asit) oranındaki ($[C2+C4]/C3$) azalmaya neden olmuştur. Yüksek oranda lif içeren rasyonda kalın bağırsaktaki ($[C2+C4]/C3$) oranı 4,3'ten 6,0'a değişirken bu oranda iken yüksek nişastalı bir karma yemde azalarak 3,1'den 4,3'e gerilediğı bildirilmiştir (Julliand ve Grimm, 2017).

2.7. Atlarda Yemlerin *in Vitro* Sindirim Teknikleri

Rasyonu oluşturan yem maddelerinin içeriğindeki enerji ve besin maddelerinden yararlanma düzeyi yemin sindirilebilirliği ile ilgilidir. Kaba yemlerin sindirilebilirliğini içeriğindeki nötür deterjan lif (NDF) unsuru olan hemiselüloz, selüloz ve lignin miktarı etkilemektedir. Bitkilerin fenolojik dönemi ilerledikçe kompozisyonundaki lignin ve selüloz oranı ile kondenzasyonu arttığından sindirim dereceleri de düşmektedir (Van Soest, 1994; Wilson ve ark., 1991; Morrison, 1980). Hayvan beslemede sindirilebilirlik şu şekilde tarif edilmektedir. Yem ham maddelerinin sindirilebilen tarafı hayvan tarafından absorbe (emilen) edilen, dışkı ile atılmayan taraftır. Feçes sadece absorbe edilmeyen yada sindirilmeyen yem bileşenlerini değil, bunun yanında bazı endojen bileşikleri de (bağırsak epitel hücreleri, enzimler) yapısında bulundurur. At yemlerini geliştirirken veya yeniden formüle ederken sindirilebilirlik analizi önemlidir. Doğru beslenme yönergeleri, aşırı besleme ve israfı azalttığı için sindirilebilirlik bilgileri tüketici için ekonomik anlamda önemlidir. Besin bileşimi ve sindirilebilirlik tek bir yem ve işlenmiş yem grubu içinde değişebileceğinden, üreticiler ve distbirütörler, bir karma yem üretmeden önce sindirilebilirliği ile maliyeti birlikte düşünmelidir. Sindirilebilirlik analizi *in vivo* veya alternatif olarak *in vitro* teknikler kullanılarak yapılmaktadır. At yemlerinin sindirilebilirliğinin *in vivo* besin madde analizleri 1800'lerin sonundan beri yapılmaktadır. Ancak *in vivo* tekniklerin çok zaman alması, maliyetlerinin yüksek olması, çok sayıda tay, kısarak ya da aygırın *in vivo* çalışmalarda yer almasından kaynaklı hayvan refahı açısından olumsuz öğeler içermesi, sonuçların kontrol edilmesi ile yapılan çalışmanın tekrar edilmesinin zorluğundan kaynaklı araştırmacıları *in vitro* teknikleri yapmaya zorlamıştır. Hayvanlarda yemlerin sindirim düzeylerinin saptanmasında maliyet, tekrarlanabilirlik, hayvan refahı gibi hususlardan dolayı *in vivo* yöntemlere alternatif olarak *in vitro yöntemler* kullanılmaktadır. Ancak doğru *in vivo* verilerin kullanılması *in vitro* yöntemin kritik değerlendirilmesi ve doğrulanması için çok önemlidir (Sweeney, 2012). Çiftlik hayvanlarından ruminantlarda yem

hammaddeleri ya da rasyonun sindirilebilirliği hakkında karar vermek için *in vitro* gaz üretim tekniği yaygın olarak kullanılmaktadır. *İn vitro* gaz üretim tekniğinde özellikle yapısal kabonhidrat (NDF) bakımından zengin yem maddelerinin ruminal fermentasyon düzeyi (ruminal parçalanmış kuru madde (KM), ruminal parçalanmış organik madde (OM), ruminal parçalanmış NDF) ve fermentasyon son ürünlerinin (total gaz üretimi, metan üretimi ile fermentasyon sıvısı pH, amonyak, SCFA, BSCFA konsantrasyonu gibi) miktar ve oranlarının hesaplanması ve hesaplanabilir organik madde sindirimi (OMS) ve metabolik enerji (ME) değerleri ile *in vivo* gerçek değeri hakkında çıkarımlar yapılabilmektedir. Böylece *in vivo* yedirme sonuçlarına yol gösterebilmektedir (Menke ve ark., 1979; Menke and Steingass, 1988; Kara, 2015; Kara ve ark., 2015; Kara ve ark., 2016; Kara ve ark., 2018). Atlarda yem hammadde ve rasyonlarının *in vitro* sindirimleri dışkı inokulumu kullanılarak gerçekleştirilmektedir (Kara, 2022; Cagri ve Kara, 2018; Kara ve Baytok, 2017; Kholif ve ark., 2016; Sweeney 2012). At rasyonlarında kullanılan yem hammadde ve rasyonlarının *in vitro* sindirim düzeylerini saptamak için son yıllarda çalışmalar yoğunlaşmış olmakla birlikte çalışmalarda kullanılan *in vitro* tekniklerin yem substratının besin madde içeriği göz önüne alınarak yöntemin tercihi konusunda literatürde tutarsızlık vardır. Kaba yemlerin *in vitro* sindirimlerinin saptandığı yöntemlerde; sadece kalın bağırsak fermentasyonu (sadece tampon solüsyon ya da enzim+vitamin+tampon içeren karışım) ya da tüm sindirim kanalının fermentasyonunun taklit edildiği *in vitro* yöntemler mevcuttur. Bu nedenle en azından kaba yemler için atlarda standart bir yöntemin kullanılması ve yöntemlerin yem hammaddeğine göre farklı sonuçları doğurduğu ortaya konulmalıdır.

2.7.1. Atlarda yemlerin dışkı inokulumu ve bikarbonat:fosfat buffer solüsyonu ile muamelesi

Bu yöntemde taze dışkı numunesi doymuş bikarbonat: fosfat buffer solüsyonu ile karıştırılıp, filtre edildikten sonra 500 mg yem numunesi ile 60 ml bikarbonat:fosfat ile dilue edilen dışkı inokulumu ile muamele edilerek 38°C'lik sıcaklıkta inkübe edilerek farklı inkübasyon sürelerinde gaz üretimleri ve *in vitro* fermentasyon son ürünleri saptanmaktadır. Bu bikarbonat:fosfat buffer solüsyonu (g/L'de): 8,75 g NaHCO₃, 1,00 g NH₄CO₃, 1,43 g Na₂HPO₄, 1,55 g KH₂PO₄, 0,15 g MgSO₄·7H₂O, 0,52 g Na₂S, 0,017 g CaCl₂·2H₂O, 0,015 g MnCl₂·4H₂O, 0,002 g CoCl₃·6H₂O, 0,012 g FeCl₃·6H₂O ve 0,125 g rezazurin içermektedir (Cone ve ark., 1996). Bu bahsedilen *in vitro* sindirim tekniğini

kullanan, Kujawa ve ark. (2020), kaba yeme dayalı bir TMR tüketen ve sodyum bütirat (0,4 g/kg canlı ağırlık) verilen ya da verilmeyen atların ötenazi sonrası sekum, sağ ventral kolon ve sol ventral kolon içerikleri ile dışkılarından elde edilen inokulumların konsantre yem karması ve haylaj sindirimine etkilerini saptanmışlardır. Bütirat katkısının gaz üretimi ve mikrobiyal son ürünler üzerine etkisinin olmadığını, ancak inokulumdaki farklılığın SFCA, bütirik asit, BCFA ve amonyak azotu konsantrasyonu ve pH değerini değiştirdiğini ortaya koymuşlardır (Kujawa ve ark., 2020). Bu çalışmanın sonucu olarak; kaba yem dayalı olarak beslenen atlardan elde edilen dışkı inokulumun *in vitro* gaz üretimi tekniğinde kullanılmasının total sindirilebilirliğin anlaşılmasına katkı sunabileceği ifade edilmiştir (Kujawa ve ark., 2020)

Gandarillas ve ark. (2021) atlarda farklı kaba ve konsantre yemlerinin *in vitro* sindirimlerini Theodorou ve ark. (1994)'nın yöntemine göre dışkı inokulumu ve bikarbonat: fosfat buffer solüsyonu ile gerçekleştirmişlerdir. Bu yöntem ile Gandarillas ve ark. (2021)'ı at rasyonlarında yaygın kullanılan iki kaba yem (yonca ve çayır kuru otu) ve üç konsantre yemin [yulaf ve buğday kepeğinden oluşan iki konsantre yem karışımı; nişasta bazlı konsantre yem (buğday kepeği, yulaf, soya fasulyesi küspesi, mısır, melas, bitkisel yağ ve tuz) ve soluble lif içerikli konsantre karışımı (arpa, yulaf, mısır, buğday, tritikale, pirinç, buğday kepeği, kurutulmuş meyve ve havuç, yonca, keten tohumu, melas, ayçiçek yağı ve soya fasulyesi küspesi)] fermentasyonu gerçekleştirilerek yulaf+buğday kepeği karışımı ve soluble lif içeriği yüksek olan yemlerin gaz üretimlerinin nişasta bazlı, çayır kuru otu ve yonca kuru otunun değerinden yüksek olduğunu saptamışlardır. Çalışmada kalın bağırsak fermentasyonu için nişasta ağırlıklı karma yemlerin kümülatif gaz üretimi ve T-SCFA konsantrasyonunun arttığı (özellikle propiyonik asit) ortaya konulmuştur.

Başka bir çalışmada Theodorou ve ark. (1994)'nın yöntemine göre dışkı inokulumu ve bikarbonat: fosfat buffer solüsyonu ile gerçekleştirilen *in vitro* çalışmada (Kholif ve ark. 2016) yulaf samanı (%50) ve konsantre yem (%50) karışımından oluşan rasyona selüloz, selaz+ksilanaz veya ksilanaz enzim ilavesinin *in vitro* kümülatif gaz üretimi, metan ve diğer fermentasyon son ürünleri üzerine etkileri farklılık göstermiştir. Bu çalışmada rasyonun 24. saatteki total gaz üretimi yaklaşık 200-254 ml/ g KM, OMS ise 550-637 mg/g KM ve KMS ise 520-654 mg/g KM olduğu belirlenmiştir. Araştırmacılar

3 mL/g KM düzeyinde rasyona ksilanaz enzimi ilavesinin gaz üretimini artırdığı ve fermentasyon kinetiğinin olumlu etkilediğini bildirmişlerdir (Kholif ve ark.,2016).

Atlarda altı farklı buğdaygil çayır otu (çayır yumağı, domuz ayrığı, çok yıllık İngiliz çimi, kılçıksız brom, çamıssı yumak ve çayır kelp kuyruğu) ve farklı hasat zamanının *in vitro* sindirim değerleri Stang ve ark. (2023) tarafından ANKOM RF gaz üretim sistemi ile saptanmıştır. Çalışmada yem numunesi (1,1 g) ile buffer solüsyonu (66 mL) (1,750 mL distile suya ek olarak 875 mL makro mineral-, 875 mL tampon-, 0,44 mL mikro mineral- ve 4,4 mL resazurin-solüsyonu) (Goering ve Van Soest, 1970) inkübe edilmiş ve altı buğdaygil çayır otları için G-KMS değeri % 60-64 arasında olduğu, biçim zamanı ilerledikçe kaba yemdeki NDF artışı ve suda çözünebilir karbonhidrat (water soluble carbohydrates: WSC, glukoz ve früktoz) düzeyinin azalması ile G-KMS % 70'ten % 54'lere gerilemiştir (Stang ve ark., 2023). Çalışmada geç ve erken hasatlarının *in vitro* 24. saat gaz üretimleri çayır yumağı için sırasıyla yaklaşık 100 ve 150 ml/g OM, domuz ayrığı için sırasıyla yaklaşık 75 ve 140 ml/g OM, çok yıllık İngiliz çimi için sırasıyla yaklaşık 100 ve 150 ml/g OM, kılçıksız brom için sırasıyla yaklaşık 100 ve 130 ml/g OM, kamıssı yumak sırasıyla yaklaşık 100 ve 125 ml/g OM ve çayır kelp kuyruğu sırasıyla yaklaşık 100 ve 150 ml/g OM olduğu saptanmıştır (Stang ve ark., 2023).

Murray ve ark. (2006) yüksek ısıda kurutulmuş yonca kuru otu ve şeker pancarı posasının farklı oranlardaki karışımları (100:0, 90:10, 80:20, 70:30 ve 0:100) Theodorou ve ark. (1994)'nın yöntemine göre dışkı inokulumu ve bikarbonat: fosfat buffer solüsyonu ile *in vitro* sindirimleri saptanmıştır. Çalışmada araştırmacılar karışımdaki şeker pancarı oranı artışı ile gaz üretimini (134-227 ml/g KM) ve KM kaybının (466-658 mg/g) arttığını bildirmişlerdir (Murray ve ark., 2006).

2.7.2. Atlarda Yemlerin Dışkı İnokulumu ve Vitamin ile Enzim İçeren *in Vitro* Fermentasyon Mediumu İle Direkt Muamele Edilmesi

Bu yöntemde özetle yem numunesi ile dışkı inokulumu ve vitamin ile enzim içeren *in vitro* fermentasyon mediumu ile direkt muamele edilmektedir (Sunvold 1995; Sweeney, 2012).

At dışkısının taze olarak alınarak anaerobik ortamda 1:10 oranında serum fizyolojik ile sulandırılması ile elde edilen inokulumun dışkı inokulumun (5 ml) *in vitro* cam şırıngalarda (fermenterlerde) (100 ml hacimli) öğütülmüş (masimum 1mm çapında)

yem numunesi ile *in vitro* fermentasyon mediumu (30 ml) 38°C'lik inkübatörde inkübe edilerek farklı inkübasyon sürelerinde gaz üretimleri ve *in vitro* fermentasyon son ürünleri saptanmaktadır. *In vitro* fermentasyon mediumu solüsyon A, solüsyon B, iz mineral, suda çözünene vitamin, folat: biyotin solüsyonu, riboflavin solüsyonu, hemin solüsyonu, kısa zincirli yağ asiti karışımı, resazurin, maya ekstraktı, triptikaz, Na₂CO₃ ve sistein HCl*H₂O içermektedir. Bu yöntemle Erşahince ve Kara (2017) yaptıkları çalışmada, farklı fenolojik dönemlerdeki yerelması kuru otunun 48 saate kadar *in vitro* gaz üretiminin 200 - 230 ml/g KM, metan üretiminin 0,22-0,30 ml/g KM, G-KMS'nin % 43,4-57,8, G-OMS'nin %48-65, kısmi parçalanma değeri (PF24)'nin 3,32-3,94, gaz veriminin (GY24) 253-301 ml/g G-KMS ve mikrobiyal ham protein üretiminin (MCP) 156-323 mg/g KM olduğunu bildirmişlerdir. Aynı çalışmada farklı gelişim dönemlerindeki biçilen yerelması hasılının kuru otlarının *in vitro* fermentasyonu ile fermentasyon sıvısındaki SCFA'lerinden asetik asidin yaklaşık 48-53 mmol/L, propiyonik asitin yaklaşık 25-28 mmol/L ve bütirik asitin ise yaklaşık 8-9 mmol/L olduğu T-SCFA konsantrasyonunun ise yaklaşık 81-90 mmol/L olduğu ifade edilmiştir. Aynı yöntemin kullanıldığı başka bir çalışmada (Çağrı ve Kara, 2018) at total miks rasyonlarına (TMR) % 0, 5, 10 ve 20 oranında aspir tohumu, aspir kuru otu ve aspir samanı ilavesinin *in vitro* kümülatif gaz üretimlerinin 24. saatte yaklaşık 172, 243 ve 240 ml/g KM (hammaddeler için sırasıyla) ve 48. saatte ise yaklaşık 174, 251 ve 245 ml/g (hammaddeler için sırasıyla) olarak saptanmıştır. Bu çalışmada, Çağrı ve Kara (2018) aspir tanesi ya da kaba yemi içeren ve içermeyen TMR'ların G-KMS değerini yaklaşık % 44-50 arasında, T-OMS değerini % 45-56, GY24 değerini 361-448 ml/g G-KMS, PF24'ü ise 2,23-2,78 ve MCP 6-91 mg/g KM olarak saptanmıştır.

2.7.3. Atlarda yemlerin *in vitro* enzimatik + dışkı inokulumu + vitamin + mineral + tampon inokulumu yöntemi ile sindirimlerinin saptanması

Bu yöntemde mide sindirimi için asit ve pepsinojen ile ince bağırsak sindirimi için pankreatik enzimler kullanılır. Numune devamında kalın bağırsak fermentasyonuna maruz bırakılır. Atlarda %100 yüksek oranda lif içeren konsantre yem karması, %70:%30 lif ve tahıl karışımı, %100 tahıl içeren konsantre yem karması, %100 yonca kuru otu ve %100 şeker pancarı posası içeren beş farklı numunenin her gramına (KM olarak) pepsin HCl solüsyonu (2 g pepsin/L 0.075 M HCl) eklenip ve 37°C'de 2 saat inkübasyonu Moore-Colyer ve ark. (2014) tarafından gerçekleştirilmiştir. Gastrik

inkübasyonun devamında pH değeri 7'e ayarlanarak pankreatin solüsyonu eklenmiş ve tekrar 37°C'de 2 saat inkübasyona bırakılmıştır. Devamında kalın bağırsak fermentasyonu için Theodorou ve Brooks (1990)'un modifiye Van Soest kültür mediumu ile inkübasyon gerçekleştirilmiştir. Kültür mediumundan 70 mL ile 4 mL redüksiyon solüsyonu (2,5 g sistein HCl, 16 mL 1 M NaOH, 2,5 g sodyum sülfat ve 380 mL distile su) ve 20 mL fekal inokulum ile kimüs inkübe edilmiştir (Moore-Colyer ve ark., 2014). Çalışmada *in vitro* KM kaybının yüksek tahıllı karma yemin yaklaşık %66, düşük lifli karma yemin yaklaşık %61, yüksek lifli karma yemin yaklaşık % 54 ve tamamen kaba yemin ise %51 olduğu bildirilmiştir (Moore-Colyer ve ark., 2014).

Atlarda yemlerdeki fruktanlar ve proteinlerin pre-sekal sindirimlerini saptamak için mide de enzimatik sindirim ve ince bağırsak enzimatik sindirimleri gerçekleştirilerek inkübasyon sıvısı liyofilize edilip kurutularak WSC (mono- ve dimerik şekerler, fruktanlar), nişasta ve protein içerikleri ve kayıplarının belirlendiği çalışmalarda mevcuttur (Strauch ve ark., 2017).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Kaba Yemler

Çalışmanın *in vitro* sindirim denemesinde substrat olarak kullanılacak olan yonca kuru otu (çiçeklenme başlangıcı), İtalyan çimi, çayır kuru otu ve buğday samanı Kayseri ilindeki yerel bir üreticiden temin edilerek Erciyes Üniversitesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı Laboratuvarı'na getirildi.

3.2. Kaba Yemlerin Besin Madde Analizi

Kaba yem numuneleri kurutularak partikül büyüklüğü maksimum 1 mm elek çapına ulaşıncaya kadar laboratuvar tip değirmende (IKA Werke, Almanya) öğütüldü. Öğütülen numuneler 105°C'de 48 saat etüvde (Nüve, Ankara) bekletilerek KM düzeyleri saptandı. Numunelerin kuru madde (KM), ham protein (HP), ham yağ (HY) ve ham kül (HK) düzeyi AOAC (1995)'a göre saptandı. Numunelerde nötür deterjan lif (NDF), asit deterjan lif (ADF) ve asit deterjan lignin (ADL) düzeyi Van Soest ve ark. (1991) tarafından bildirilen metotlar doğrultusunda yapıldı. Bulunan aNDF, ADF ve lignin % değerleri kül kalıntısı içermemekteydi (NDFom, ADFom ve lignin). Kimyasal analizler üç tekrarlı olarak yapıldı.

3.3. *İn vitro* Sindirim Teknikleri

3.3.1. *İn vitro* Total Sindirim Tekniği

Atlarda *in vitro* total sindirim tekniği (TST) mide sindirimi, ince bağırsak sindirimi ve kalın bağırsak fermentasyonu olarak üç aşamada gerçekleştirildi.

- I. **Aşama** (*İn vitro* gastrik sindirim): Bu aşamada 310 ± 10 mg KM yem numunesi, 10 ml fosfat tamponu (0.1 M, pH 6) ile 100 ml hacimli anaerobik cam fermenterde (Model Fortuna, Haberle Labortechnik, Almanya) karıştırıldı. Bu karışıma 5 ml 0.2 M HCl ilave edildi ve pH değeri, pH 2.0'a ayarlandı (1 M HCl ve 1 M NaOH ile). Daha sonra 10 mg pepsin içeren 1 ml taze hazırlanmış pepsin

çözeltisi eklendi. Karışıma 1 ml kloramfenikol çözeltisi (100 ml etanol içinde 0.5 g) ilave edildi ve daha sonra *in vitro* fermentörlerin klipsleri kapatıldı. Fermentörler termostatik su banyosunda 2 saat 39.0 ± 0.2 ° C'de inkübe edildi (Hervera ve ark., 2007).

II. Aşama (*In vitro* ince bağırsak sindirimi): Mide sindiriminden sonra, cam fermenterler soğutuldu ve 5 ml fosfat tamponu (0.2 M, pH 6.8) ve 2.5 ml NaOH 0.6 M eklendi. pH değeri 6.8'e ayarlandı. Daha sonra her bir cam fermentöre 50 mg toz pankreatin içeren 1 ml taze hazırlanmış pankreatin çözeltisi ilave edildi. Klipslerle kapatıldıktan sonra 4 saat 39.0 ± 0.2 °C'de termostatik su banyosunda inkübe edildi (Hervera ve ark. 2007).

III. Aşama (*In vitro* kalın bağırsak fermentasyonu): Bu çalışmada inokulum olarak kullanılan dışkı örnekleri, 6 yaşındaki üç İngiliz atından dışkılama sonrası taze alındı. Atlar dışkı örneği alınmadan son dört hafta içinde buğday samanı, arpa ezme, yulaf, buğdaygil çayır otu, yonca kuru otu ve İtalyan çimi içeren rasyon ile beslenmekteydi. Dışkılar toprak ve zemin kontaminasyonu olmayacak şekilde alındı. Dışkı örnekleri laboratuvar tipi blender (Waring Products Division, Torrington C.T., ABD) kullanılarak % 0,9 steril serum fizyolojik solüsyonu (Polifleks, Polifarma, Türkiye) ile 1:10 oranında seyreltildi. Seyreltilmiş dışkı inokülleri, sabit CO₂ gazı altında (anaerobik) dört kat tülbentten süzüldü ve dışkı inokulumu olarak *in vitro* sindirim tekniğinde kullanıldı.

In vitro ince bağırsak sindiriminden sonra, önceden sindirilmiş yem numuneleri (substratlar) ve sindirim sıvısı, (solüsyon-A, solüsyon-B, trans mineral çözelti, suda çözünür vitaminler, folat-biotin çözeltisi, riboflavin çözeltisi, hemin çözeltisi, kısa zincirli yağ asitleri, resazurin, maya ekstraktı, triptikaz, Na₂CO₃ ve sistein HCl * H₂O (Tablo 3.1) (Sunvold ve ark.,1995a; Bosch ve ark., 2008)) içeren karışım dışkı inokulumu (1 mL) ve fermentasyon sıvısı (30 mL) ile inkübe edildi. Fermentörlerin başlangıç hacimleri kaydedildi ve 39.0 ± 0.2 ° C'de termostatlı bir su banyosunda 48 saate kadar inkübe edildi.

Tablo 3.1. *In vitro* Kalın bağırsak fermentasyon için kullanılacak tampon solüsyonunun kompozisyonu

Komponentler	Konsantrasyon
	mL/L
Solüsyon A ^a	330,0
Solüsyon B ^b	330,0
Trans mineral solüsyonu ^c	10,0
Suda eriyebilir vitamin karışımı ^d	20,0
Folat-biotin solüsyonu ^e	5,0
Riboflavin solüsyonu ^f	5,0
Hemin solüsyonu ^g	2,5
Kısa zincirli yağ asiti karışımı ^h	0,4
Resazurin ⁱ	1,0
Distile H ₂ O	296,0
	g/L
Maya ekstraktı	0,5
Trypticase	0,5
Na ₂ CO ₃	4,0
Sistein HCl.H ₂ O	0,5

Buffer solüsyonları:

^aSolüsyon A (g/L, distile su): 5,4 g NaCl, 2,7 g KH₂PO₄, 0,16 g CaCl₂*H₂O, 0,12 g MgCl₂*6H₂O, 0,06 g MnCl₂*4H₂O, 0,06 g CoCl₂*6H₂O ve 5,4 g (NH₄)₂SO₄ 1000 ml distile su içinde çözdürüldü.

^bSolüsyon B: 2,7 g K₂HPO₄ 1000 ml distile su içinde çözdürüldü.

^cTrans mineral solüsyonu (mg/L, distile su): 500 mg ethylenediamine tetraacetic acid (disodium salt), 200 mg FeSO₄*7H₂O, 10 mg ZnSO₄*7H₂O, 3 mg MnCl₂*4H₂O, 30 mg H₃PO₄, 20 mg CoCl₂*6H₂O, 1 mg CuCl₂*2H₂O, 2 mg NiCl₂*6H₂O, 3 mg Na₂MoO₄*2H₂O 1000 ml distile su içinde çözdürüldü.

^dSuda eriyebilir vitamin solüsyonu (mg/L, distile su): 100 mg thiamine HCl, 100 mg d-pantothenic acid, 100 mg niacin, 100 mg pyridoxine, 5 mg p-aminobenzoic acid ve 0,25 mg vitamin B₁₂ 1000 ml distile su içinde çözdürüldü.

^e**Folate/Biotin solüsyonu (mg/L, distile su):** 10 mg folic acid, 2 mg d-biotin ve 100 mg NH₄HCO₃ distile su içinde çözdürüldü.

^f**Riboflavin solüsyonu:** 5 mmol/L HEPES (4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid) içinde 10 mg/L riboflavin karıştırıldı.

^g**Hemin:** 10 mmol/L NaOH içinde 500 mg/L Hemin çözeltisi karıştırıldı.

^h**Kısa zincirli yağ asiti karışımı:** *n*-valerate, iso-valerate, iso-butyrate ve DL-alpha-methylbutyrate yağ asitlerinin her birinden 250 ml'şer alınıp 1000 ml'lik karışım yapıldı.

ⁱ**Resazurin:** 1 g resazurin 1000 ml distile su içinde çözdürüldü.

3.3.2. *In vitro* Sunvold-Kalın Bağırsak Tekniği

Bu teknikte kaba yem numunesi (310 ± 10 mg KM), Tablo 3.1'deki solüsyon-A, solüsyon-B, trans mineral çözelti, suda çözünür vitaminler, folat-biotin çözeltisi, riboflavin çözeltisi, hemin çözeltisi, kısa zincirli yağ asitleri, resazurin, maya ekstraktı, triptikaz, Na₂CO₃ ve sistein HCl·H₂O (Tablo 3.1) (Sunvold ve ark.,1995; Bosch ve ark., 2008)) içeren karışım dışkı inokulumu ile (1 mL) ve fermantasyon ortamında (30 mL) ile 24 saat inkübe edildi.

3.3.3. *In vitro* Menke-Kalın Bağırsak Sindirim Tekniği

Bu teknikte kullanılacak at dışkısı örnekleri yaklaşık % 47,8 konsantre (3,85 kg/gün yulaf, 1,65 kg/gün arpa ezme) + % 52,2 kaba yem (1 kg/gün buğday samanı, 1 kg/gün İngiliz çimi, 2 kg/gün yonca kuru otu ve 2 kg/gün çayır otu) KM'si tüketen Kayseri ili, Talas ilçesindeki ticari bir işletmedeki bir dişi (550 kg) ve iki erkek (650'şer kg) yaklaşık 6 yıllık yaştaki binişte kullanılan *Safkan İngiliz* atlarından alındı. Dışkı örnekleri hemen dışkılama sonrası alınarak yaklaşık 39±1°C'deki ağızı vidalı kapaklı cam şişe (Isolab, Almanya) içine konulup; kapaklı termos taşıyıcı ile laboratuvarı getirildi. Dışkılar CO₂ gazı altında dört kat tülbentten süzildikten sonra *in vitro* sindirim tekniğinde kullanıldı.

Teknikte Menke ve ark. (1979)'nın yöntemi doğrultusunda kullanılan 100 mL'lik cam şırıngalar (Model Fortuna, Haberle Labortechnik, Almanya) içinde 200±10 mg kurutulmuş yem numunesi ile buffer + makromineral + mikromineral + indirgenme + resazurin çözeltileri karışımı (20 mL) (Tablo 3.2) ve dışkı inokulumu (10 mL) inkübe

edildi. Çalışmada 6 tekrarlı olarak *in vitro* gaz üretimi gerçekleştirildi. Altı adet fermentasyon şırıngasında kör (yem numunesi içermeyen, sadece buffer ve çözeltiler ile dışkı inokulumu sıvısı içeren) olarak çalışıldı.

Tablo 3.2. *İn vitro* gaz üretiminde kullanılan kimyasal solüsyonların içeriği

Solüsyon	İçerik
Makro mineral solüsyonu (1000 ml dH ₂ O içinde)	5,7 g Na ₂ HPO ₄ 6,2 g KH ₂ PO ₄ 0,6 g MgSO ₄ .7H ₂ O 13,3 g CaCl ₂ .2H ₂ O
Mikro mineral solüsyonu (100 ml dH ₂ O içinde)	10,0 g MnCl ₂ .4H ₂ O 1,0 g CoCl ₂ .6H ₂ O 8,0 g FeCl ₃ .6H ₂ O
Tampon solüsyonu (1000 ml dH ₂ O içinde)	35,0 g NaHCO ₃ 4,0 g NH ₄ HCO ₃
Resazurin solüsyonu (100 ml dH ₂ O içinde)	0,1 g resazurin
İndirgenme solüsyonu (50 ml 0,04 N NaOH içinde)	285 ml Na ₂ S.7H ₂ O

3.4. *İn vitro* gerçek kuru madde (G-KMS), organik madde (G-OMS) ve nötür deterjan lif sindiriminin (G-NDFS) saptanması

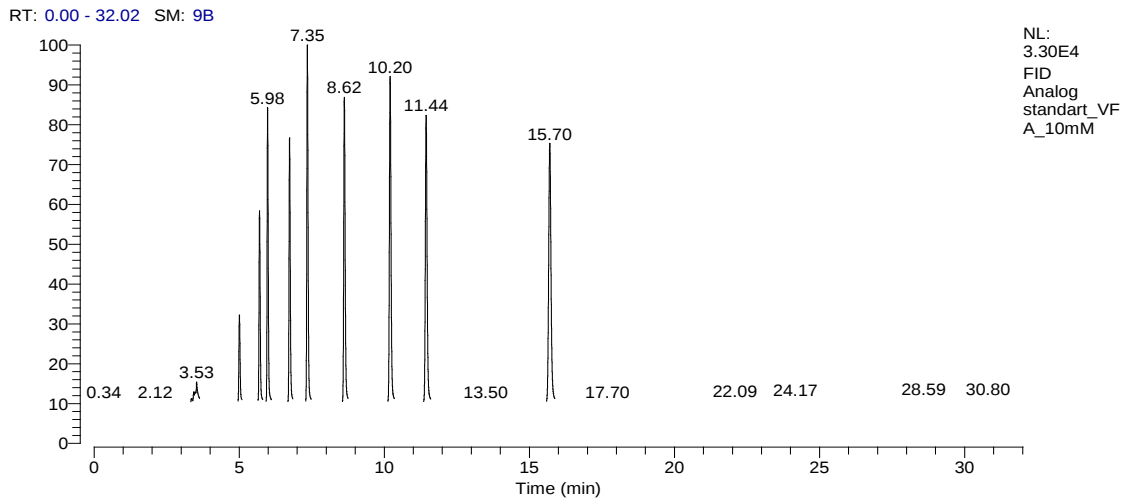
Her üç teknikte de inkübasyon sonunda sindirilmeyen yem kalıntısı şırıngadan alınıp Velp Dietary Fibre Analyzer (İtalya) cihazında Gooch krozesi kullanarak sırasıyla % 95'lik etanol, absolut aseton ve % 75'lik etanol'den geçirildi. Bu yıkama aşamalarından sonra krozeler her bir teknikteki her kaba yem için altı numunenin hepsi 105°C'de bir gece kurutuldu, tartıldı ve kaydedilip *in vitro* G-KMS saptandı. Daha sonra bunlardan üç numune kül fırınında 550°C'de minimum 8 saat yakıldı ve G-OMS değeri hesaplandı. Her bir *in vitro* teknikte Yem numunelerinde ve OM kalıntılarında, NDF düzeyi Van Soest ve ark. (1991)'ına göre saptanarak *in vitro* G-NDFS değeri hesaplanıyordu.

3.5. *İn vitro* sindirim sıvılarının pH düzeyinin belirlenmesi

İn vitro sindirim teknikleri sonunda elde edilen 24. saatteki inkübasyon sıvılarının (15 mL) dijital pH metre (Mettler Toledo, S220 pH/ion metre, Ohio, ABD) ile pH düzeyleri belirlendi.

3.6. *İn vitro* sindirim sıvılarındaki kısa zincirli yağ asidi kompozisyonunun belirlenmesi

Sindirim sıvılarının 24. saatindeki kısa zincirli yağ asidi kompozisyonu (short-chain fatty acids: SCFA) [asetik asit - AA (C 2:0), propionik asit - PA (C 3:0), bütirik asit - BA (C 4:0), valerik asit - VA (C 5:0), heksanoik asit - HEKA(C 6:0), heptanoik asit - HEPA (C 7:0) ve dallı SCFA (branched SCFAs: BSCFA) [*iso*-bütirik asit - IBA (C 4:0i), *iso*-valerik asit - IVA (C 5:0i) ve *iso*-kaproik asit - ICA (C 6:0i)] alev iyonlaştırma dedektörü (flame ionisation detector- FID)'e sahip gaz kromatografi cihazında (GC-FID) (TRACE™1300, Thermo Fisher Scientific, Orlando, ABD) saptandı. Cihazda bu analiz için polietilen glikol kolon (length: 60 m, i.d: 0.25 mm, film thickness: 0.25 µm; TG-WAXMS, Thermo Scientific, Orlando, FL, ABD) kullanılarak Ersahince ve Kara (2017)'nin metoduna göre analiz gerçekleştirildi. Toplam SCFA (T-SCFA) ve bireysel SCFA'lerin kompozisyonu (mmol/L ve %) ile asetik asit/propionik asit oranı (A/P) ve (asetik asit + bütirik asit)/(propionik asit) oranı ((A+B)/P) belirlendi.



Şekil 3.1. Kısa zincirli yağ asiti standartının GC-FID kromatogramı

Tablo 3. 3. GC-FID’de yağ asitlerinin geliş zamanı ve standart konsantrasyonu

Örneğin geliş zamanı, dk	Beklenen geliş zamanı, dk	Uçucu yağ asidi	Konsantrasyon	Birim
11,44	11,44	Hekzanoik asit	9.996	mmol/L
10,20	10,20	<i>İ</i> so-kaproik asit	9.997	mmol/L
8,62	8,62	Valerik asit	9.988	mmol/L
7,35	7,35	<i>İ</i> so-valerik asit	9.986	mmol/L
6,74	6,74	Bütirik asit	9.991	mmol/L
5,98	5,98	<i>İ</i> so-bütirik asit	9.988	mmol/L
5,70	5,70	Propiyonik asit	9.995	mmol/L
5,01	5,01	Asetik asit	10.013	mmol/L

3.7.İstatistiki analiz

Proje farklı kaba yemlerin ve farklı *in vitro* sindirim tekniklerinin incelenen değişkenlerin dağılımları Levene testine göre belirlendi. Homojen dağılımı belirlenen değişkenler üzerine *in vitro* tekniğin ve kaba yemin etkisi, iki yönlü varyans analizi (two-way ANOVA) ile SPSS 17.0 paket programında saptandı. İstatistiksel önemlilik belirlendiğinde ise önemlilik düzeyi Tukey çoklu karşılaştırma testi uygulandı.

Atlarda farklı *in vitro* sindirim yöntemleriyle kaba yemlerin sindirim değişkenleri arasındaki korelasyonlar Pearson (*r*) korelasyon ile SPSS 17.0 paket programında saptandı. Önemlilik düzeyi $P<0.05$ olarak alındı.

4. BULGULAR

4.1. Kaba Yemlerin Besin Madde Kompozisyonu

İn vitro sindirimde kullanılan kaba yemlerin besin madde içeriği Tablo 4.1’te verildi. Yonca kuru otu %16,36 HP,% 1,61 HY,% 10,02 HK,% 32,90 NFC,% 39,08 NDFom, % 28,02 ADF, % 11,06 HemS, %6,12 ADL ve % 21,90 selüloz içermekteydi. İtalyan çiminde ise% 12,43 HP, % 1,70 HY, % 10,67 HK, % 22,03 NFC,% 53,15 NDFom, % 40,88 ADF, % 12,27 HemS, % 6,81 ADL ve % 34,07 selüloz bulunmaktaydı. Buğday samanı da % 4,64 HP, % 1,21 HY, % 14,13 HK, % 10,73 NFC, % 69,27 NDFom,% 45,38ADF, % 23,89 HemS, % 11,26 ADL ve % 34,12 selüloz kapsadığı saptandı. Çayır otunun ise % 9,46 HP, % 1,56 HY, % 7,13 HK, % 20,91 NFC, % 60,92 NDFom, % 32,70 ADF, % 28,22 HemS, % 7,91 ADL ve % 24,79 selüloz ihtiva ettiği belirlendi.

Tablo 4.1. *İn vitro* sindirimde kullanılan kaba yemlerin besin madde içeriği

%, KM	Yonca kuru otu	İtalyan çimi	Buğday samanı	Çayır otu
HP	16,36	12,43	4,64	9,46
HY	1,61	1,7	1,21	1,56
HK	10,02	10,67	14,13	7,13
NFC	32,9	22,03	10,73	20,91
NDFom	39,08	53,15	69,27	60,92
ADF	28,02	40,88	45,38	32,7
HemS	11,06	12,27	23,89	28,22
ADL	6,12	6,81	11,26	7,91
Selüloz	21,9	34,07	34,12	24,79

NDFom: Külsüz nôtür deterjan lif, HP: ham protein, Hy: ham yağ, HK: ham kül, NFC: lif içermeyen karbonhidrat, NDFom: külsüz nôtür deterjan lif, ADF: Külsüz asit deterjan lif, ADL: asit deterjan lignin, HemS (Hemiselüloz) = NDF- ADF, Selüloz = ADF - ADL.

4.2. Atlarda Farklı Kaba Yemlerin Farklı *in vitro* Sindirim Yöntemleriyle Belirlenen *in vitro* G-KMS, G-OMS ve G-NDFS Değerleri

İncelenen dört farklı kaba yem için *in vitro* G-KMS, *in vitro* G-OMS ve *in vitro* G-NDFS değeri en yüksek *in vitro* TST tekniği ile saptandı ($P<0.05$). Çalışmada, *in vitro* TST tekniğinde yonca kuru otunun *in vitro* G-KMS (% 65,88) ve *in vitro* G-OMS(%70,48) değerlerinin İtalyan çimi (% 51,07 ve 58,15), çayır kuru otu (% 45,77 ve 49,80) ve buğday samanının (% 34,20 ve 42,31) değerinden yüksek olduğu saptandı ($P<0.001$). Aynı zamanda, *in vitro* TST tekniğinde İtalyan çimi ve çayır kuru otunun *in vitro* G-KMS ve *in vitro* G-OMS değerleri buğday samanının değerinden daha yüksekti ($P<0,001$). Yonca kuru otunun *in vitro* TST, SST ve MST tekniklerinde *in vitro* G-NDFS değeri diğer kaba yemlerden daha yüksekti ($P<0.05$). İtalyan çimi ve çayır kuru otunun *in vitro* TST ile *in vitro* G-NDFS buğday samanından daha yüksekti ($P<0.05$). Genel olarak üç yöntemdeki *in vitro* G-NDFS değerlerine göre kaba yemler yonca kuru otu>İtalyan çimi> çayır kuru otu = buğday samanı şeklinde sıralandı ($P<0.05$). Bu üç yöntemde incelenen kaba yemlerin en yüksek *in vitro* G-NDFS oranı *in vitro* TST tekniğinde (%29,35) gerçekleşti ($P<0,05$) (Tablo 4.2).

In vitro SST tekniğine göre atlarda yonca kuru otunun *in vitro* G-KMS (% 50,51) ve *in vitro* G-OMS (%55,43) değerlerinin çayır kuru otu (% 33,80 ve % 38,55) ve buğday samanının (%28,19 ve % 34,73) değerlerinden yüksek olduğu saptandı ($P<0,001$). Çayır kuru otu ve İtalyan çiminin *in vitro* G-KMS ve *in vitro* G-OMS değerleri, *in vitro* SST tekniğine göre benzer olarak belirlendi ($P>0,05$).

Tablo 4.2. Atlarda farklı kaba yemlerin farklı *in vitro* sindirim yöntemleriyle *in vitro* G-KMS, G-OMS ve G-NDFS değerleri

Yöntem	Kaba yem	<i>İn vitro</i> G-KMS	<i>İn vitro</i> G-OMS	<i>İn vitro</i> G-NDFS
<i>İn vitro</i> TST	Buğday samanı	34,20 ^C	42,31 ^C	20,97 ^C
	Yonca kuru otu	65,88 ^A	70,48 ^A	42,39 ^A
	Çayır kuru otu	45,77 ^B	49,80 ^B	25,19 ^B
	İtalyan çimi	51,07 ^B	58,15 ^B	28,84 ^B
<i>İn vitro</i> SST	Buğday samanı	28,19 ^C	34,73 ^C	14,03 ^C
	Yonca kuru otu	50,51 ^A	55,43 ^A	34,88 ^A
	Çayır kuru otu	33,80 ^B	38,55 ^{BC}	14,83 ^C
	İtalyan çimi	37,86 ^B	47,42 ^{AB}	28,72 ^B
<i>İn vitro</i> MST	Buğday samanı	23,41 ^B	31,05 ^B	16,35 ^C
	Yonca kuru otu	48,35 ^A	53,57 ^A	29,67 ^A
	Çayır kuru otu	35,17 ^B	38,81 ^B	17,66 ^C
	İtalyan çimi	45,74 ^A	55,82 ^A	23,68 ^B
Kaba yem	Buğday samanı	28,59 ^q	36,02 ^q	17,12 ^z
	Yonca kuru otu	54,91 ^x	59,82 ^x	35,65 ^x
	Çayır kuru otu	38,25 ^z	42,39 ^z	20,23 ^z
	İtalyan çimi	44,89 ^y	53,80 ^y	27,08 ^y
Yöntem	<i>İn vitro</i> TST	49,23 ^a	55,19 ^a	29,35 ^a
	<i>İn vitro</i> SST	37,59 ^b	44,03 ^b	23,12 ^b
	<i>İn vitro</i> MST	38,17 ^b	44,81 ^b	21,84 ^b
SS		11,95	11,59	8,69
P değeri	Yöntem	<0,001	<0,001	<0,001
	Kaba yem	<0,001	<0,001	<0,001
	Yöntem * Kaba yem	0,114	0,085	0,016

İn vitro TST: *İn vitro* total sindirim tekniği, *İn vitro* SST: *İn vitro* Sunvold-kalın bağırsak sindirimi tekniği, *İn vitro* MST: *İn vitro* Menke-kalın bağırsak sindirimi tekniği. SS: Standart sapma. *İn vitro* G-KMS: *İn vitro* gerçek kuru madde sindirimi, %, *İn vitro* G-OMS: *İn vitro* gerçek organik madde sindirimi, %. *İn vitro* G-NDFS: *İn vitro* gerçek nötür deterjan lif sindirimi, ^{a,b,c}: Yöntem için istatistiki önemlilik bu üstlendirmeler ile gösterilmiştir. ^{x,y,z,q}:Kaba yem türleri için istatistiki önemlilik bu üstlendirmeler ile gösterilmiştir. ^{A,B,C}: Farklı yöntemlere göre kaba yem türlerinin tek yönlü ANOVA'ya göre istatistiki önemliliği bu üstlendirmeler ile gösterilmiştir.

Atlarda *in vitro* MST tekniğinde yonca kuru otu (% 48,35), ve İtalyan çiminin (% 45,74) *In vitro* G-KMS değeri buğday samanı (% 23,41) çayır kuru otununkinden (% 35,17) fazla olduğu ortaya konuldu ($P<0.001$). Aynı yöntemle göre yonca kuru otu (% 53,57) ve İtalyan çiminin (% 55,82) *in vitro* G-OMS değerleri buğday samanı (% 31,05) ve çayır kuru otunun (% 38,81) değerinden daha yüksek olarak belirlendi ($P<0,001$) (Tablo 4.2).

Kaba yemlerin genel olarak *in vitro* sindirim düzeyleri karşılaştırıldığında yonca kuru otu (sırasıyla % 54,91 ve 59,82) ve İtalyan çimi (sırasıyla % 44,89 ve 53,80) *in vitro* G-KMS ve *in vitro* G-OMS düzeylerinin buğday samanı (sırasıyla % 28,59 ve 36,02) ve çayır kuru otu (sırasıyla % 38,25 ve 53,80) düzeylerinden daha yüksek olduğu ($P<0.001$) saptandı (Tablo 4.2).

In vitro sindirim tekniklerinin kaba yemlerin sindirim düzeyleri üzerine etkileri karşılaştırıldığında *in vitro* total sindirim tekniğinde kaba yemlerin *in vitro* G-KMS ve *in vitro* G-OMS parametreleri *in vitro* SST ve *in vitro* MST tekniğinden daha yüksek olarak saptandı ($P<0,001$) (Tablo 4.2).

4.3. Atlarda farklı *in vitro* sindirim yöntemleriyle kaba yemlerin sindirim sıvısı kısa zincirli yağ asitleri konsantrasyonları

In vitro TST tekniğinde yonca kuru otunun sindirim sıvısında AA, T-SCFA ve BSCFA molaritesi diğer kaba yemlerden daha yüksekti ($P<0,05$). Bu teknikte kaba yemler AA molaritesine yonca kuru otu > çayır kuru otu = İtalyan çimi > buğday samanı şeklinde sıralandı ($P<0,05$). *In vitro* TST tekniğinde VA molaritesi yonca kuru otu ve İtalyan çiminde diğer kaba yemlerden daha yüksekti ($P<0,05$). Üç yöntemle göre kaba yemlerin *in vitro* sindirimleri sonunda en yüksek AA, PA, BA ve VA molaritesi *in vitro* TST'inde olduğu saptandı ($P<0,05$). Yonca diğer kaba yemlere göre daha yüksek olarak AA ve BA molaritesine sahipti ($P<0,05$) (Tablo 4.3 ve 4.4).

In vitro TST tekniğinde sindirim sıvısındaki ICA, IBA, IVA, A/P, (A+B)/P konsantrasyonları farklılık göstermiş olup, yonca kuru otu ve İtalyan çimi için diğerlerinden daha yüksek değerler saptandı ($P<0,05$). *In vitro* SST ve MST tekniklerinde kaba yemler arasında BSCFA molariteleri farklılık oluşturmamış ($P<0,05$). Yöntemler arasında farklılık saptanmış olup, *in vitro* SST tekniğinde diğer iki yöntemdeki iso-asit molaritelerine göre daha yüksek değerler saptandı ($P<0,05$) (Tablo

4.3 ve 4.4).

4.4. Atlarda farklı *in vitro* sindirim yöntemleriyle kaba yemlerin sindirim değişkenlerinin Pearson (r) korelasyonları

Çalışmada kaba yemlerin NDFom, ADFom ve selüloz düzeyi ile atlarda *in vitro* G-KMS, G-OMS ve G-NDFS düzeyleri arasında negatif yönlü korelasyon olduğu saptandı ($P<0,05$). Çalışmada kaba yemlerin *in vitro* fermentasyon sıvılarının ICA ve IBA düzeyleri ile *in vitro* G-KMS ve G-NDFS arasında bir korelasyon olmadığı tespit edildi ($P>0,05$). Kaba yemlerin *in vitro* G-KMS, G-OMS ve G-NDFS düzeyleri ile *in vitro* fermentasyon sıvılarının AA ve BA arasında pozitif yönlü korelasyon olduğu belirlendi ($P<0,05$) (Tablo 4.5).

Tablo 4.3. Atlarda farklı *in vitro* sindirim yöntemleriyle kaba yemlerin sindirim sıvısı kıza zincirli yağ asitleri konsantrasyonları (mmol/L)

Yöntem	Kaba yem	BSCFA				SCFA		
		ICA	IBA	IVA	VA	BA	PA	AA
<i>In vitro</i> TST	Buğday samanı	0,21 ^B	0,24 ^B	0,22 ^B	0,20 ^C	8,04	25,53	39,87 ^C
	Yonca kuru otu	0,23 ^A	0,27 ^A	0,25 ^A	0,26 ^A	8,70	26,19	41,84 ^A
	Çayır kuru otu	0,21 ^B	0,25 ^B	0,23 ^B	0,24 ^B	8,62	26,07	40,55 ^B
	İtalyan çimi	0,23 ^A	0,28 ^A	0,27 ^A	0,25 ^A	8,61	26,11	40,97 ^B
<i>In vitro</i> SST	Buğday samanı	0,21	0,29	0,25	0,21	7,72	24,82	39,30
	Yonca kuru otu	0,21	0,30	0,30	0,23	8,26	24,90	42,00
	Çayır kuru otu	0,21	0,29	0,27	0,23	7,99	24,88	40,61
	İtalyan çimi	0,21	0,29	0,30	0,23	7,78	24,86	39,51
<i>In vitro</i> MST	Buğday samanı	0,21	0,25	0,20	0,19 ^B	7,71	24,74	38,80
	Yonca kuru otu	0,21	0,22	0,19	0,19 ^B	7,72	24,74	38,74
	Çayır kuru otu	0,21	0,23	0,19	0,19 ^B	7,71	24,74	38,74
	İtalyan çimi	0,21	0,24	0,21	0,22 ^A	7,73	24,75	38,76
Kaba yem	Buğday samanı	0,21	0,26	0,22	0,20 ^y	7,82 ^z	25,03	39,32 ^y
	Yonca kuru otu	0,21	0,26	0,25	0,23 ^x	8,23 ^x	25,27	40,86 ^x
	Çayır kuru otu	0,21	0,25	0,23	0,22 ^{xy}	8,11 ^y	25,23	39,96 ^y
	İtalyan çimi	0,21	0,27	0,26	0,23 ^x	8,04 ^y	25,24	39,75 ^y
Yöntem	<i>In vitro</i> TST	0,21	0,26 ^b	0,24 ^b	0,24 ^a	8,49 ^a	25,97 ^a	40,81 ^a
	<i>In vitro</i> SST	0,21	0,29 ^a	0,28 ^a	0,23 ^b	7,94 ^b	24,86 ^b	39,15 ^b
	<i>In vitro</i> MST	0,21	0,24 ^c	0,20 ^c	0,20 ^c	7,72 ^c	24,74 ^c	38,76 ^b
SS		0,001	0,03	0,04	0,02	0,41	0,59	1,33
P değeri	Yöntem	0,251	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	Kaba yem	0,061	0,045	0,024	<0,001	<0,001	<0,001	0,002
	Yöntem * Kaba yem	0,051	0,055	0,280	<0,001	0,012	<0,001	0,055

In vitro TST: *In vitro* total sindirim tekniği, *In vitro* SST: *In vitro* Sunvold-kalın bağırsak sindirimi tekniği, *In vitro* MST: *In vitro* Menke-kalın bağırsak sindirimi tekniği, SS: Standart sapma. ^{a,b,c}: Yöntem için istatistiki önemlilik bu üstlendirmeler ile gösterilmiştir. ^{x,y,z,q}: Kaba yem türleri için istatistiki önemlilik bu üstlendirmeler ile gösterilmiştir. ^{A,B,C}: Farklı yöntemlere göre kaba yem türlerinin tek yönlü ANOVA'ya göre istatistiki önemliliği bu üstlendirmeler ile gösterilmiştir.

Tablo 4.4. Atlarda farklı *in vitro* sindirim yöntemleriyle kaba yemlerin sindirim sıvısı pH değeri ve kısa zincirli yağ asitleri konsantrasyonları

Yöntem	Kaba yem	A/P	(A+B)/P	T-SCFA	BSCFA	SCFA	pH
<i>In vitro</i> TST	Buğday samanı	1,56 ^B	1,88 ^B	74,31 ^C	0,67 ^C	73,64 ^C	8,35
	Yonca kuru otu	1,60 ^A	1,93 ^A	77,71 ^A	0,73 ^B	76,98 ^A	7,71
	Çayır kuru otu	1,56 ^B	1,89 ^B	76,16 ^B	0,69 ^C	75,48 ^B	7,48
	İtalyan çimi	1,57 ^A	1,90 ^A	76,70 ^B	0,76 ^A	75,94 ^B	7,92
<i>In vitro</i> SST	Buğday samanı	1,58	1,89	72,80	0,75	72,05	8,53
	Yonca kuru otu	1,69	2,02	76,20	0,81	75,39	6,93
	Çayır kuru otu	1,63	1,95	74,47	0,77	73,70	7,48
	İtalyan çimi	1,59	1,90	73,18	0,79	72,39	7,66
<i>In vitro</i> MST	Buğday samanı	1,57	1,88	72,10	0,66	71,44	7,32
	Yonca kuru otu	1,57	1,88	72,01	0,62	71,39	6,65
	Çayır kuru otu	1,57	1,88	71,99	0,62	71,38	6,67
	İtalyan çimi	1,57	1,88	72,12	0,66	71,47	6,68
Kaba yem	Buğday samanı	1,57	1,88	73,07	0,69	72,38	8,06 ^x
	Yonca kuru otu	1,62	1,94	75,31	0,72	74,59	7,10 ^y
	Çayır kuru otu	1,58	1,91	74,21	0,69	73,52	7,21 ^y
	İtalyan çimi	1,57	1,89	74,00	0,74	73,26	7,42 ^y
Yöntem	<i>In vitro</i> TST	1,57 ^b	1,90 ^b	76,22 ^a	0,71 ^b	75,51 ^a	7,86 ^a
	<i>In vitro</i> SST	1,62 ^a	1,94 ^a	74,16 ^b	0,78 ^a	73,38 ^b	7,65 ^a
	<i>In vitro</i> MST	1,57 ^b	1,88 ^b	72,06 ^c	0,64 ^c	71,42 ^c	6,83 ^b
SS		0,04	0,05	2,18	0,07	2,15	0,73
P değeri	Yöntem	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	Kaba yem	0,011	0,009	<0,001	0,024	<0,001	0,001
	Yöntem * Kaba yem	0,057	0,075	0,028	0,173	0,032	0,590

In vitro TST: *In vitro* total sindirim tekniği, *In vitro* SST: *In vitro* Sunvold-kalın bağırsak sindirimi tekniği, *In vitro* MST: *In vitro* Menke-kalın bağırsak sindirimi tekniği, SS: Standart sapma. ^{a,b,c}: Yöntem için istatistiki önemlilik bu üstlendirmeler ile gösterilmiştir. ^{x,y,z,q}: Kaba yem türleri için istatistiki önemlilik bu üstlendirmeler ile gösterilmiştir. ^{A,B,C}: Farklı yöntemlere göre kaba yem türlerinin tek yönlü ANOVA'ya göre istatistiki önemliliği bu üstlendirmeler ile gösterilmiştir. T-SCFA: toplam kısa zincirli yağ asiti (mmol/L), BSCFA: Dallı kısa zincirli yağ asiti (mmol/L), SCFA: Düz kısa zincirli yağ asiti (mmol/L).

Tablo 4.5. Atlarda farklı *in vitro* sindirim yöntemleriyle kaba yemlerin sindirim değişkenlerinin Pearson (*r*) korelasyonları

	<i>İn vitro</i> G-KMS	<i>İn vitro</i> G-OMS	<i>İn vitro</i> G-NDFS
<i>İn vitro</i> G-OMS	0,982**	1	0,860**
<i>İn vitro</i> G-NDFS	0,860**	0,858**	1
NDFom	-0,761**	-0,793**	-0,838**
ADFom	-0,632**	-0,516**	-0,554**
Selüloz	-0,522**	-0,369*	-0,433**
ICA	-0,003	-0,093	-0,047
VA	-0,113	-0,201	-0,279
IBA	-0,047	-0,022	-0,053
IVA	-0,153	-0,224	-0,133
BA	0,313*	0,308*	0,349*
PA	-0,108	-0,074	-0,157
AA	0,393**	0,358**	0,402**

*: P<0,05, **: P<0,01.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Karbonhidratlar at rasyonlarının başlıca enerji kaynağı olup, bunlardan nişasta ve selüloz at rasyonlarında en yaygın bulunan polisakkaritlerdir. Pektin ve hemiselüloz da polisakkarit olup, ikinci sırada en yaygın bulunan karbonhidratlardır. Suda çözünen karbonhidrat (WSC) olan fruktooligosakkarit ve inulin ise fruktan olarak isimlendirilir ve 10'dan fazla monosakkarit içerdikleri için polisakkarit olarakta isimlendirilirler. Glikoz, fruktoz, galaktoz, mannoz, arabinoz ve ksiloz monosakkaritleri bitkilerde serbest halde düşük konsantrasyonda bulunmasına karşın polisakkarit ve oligosakkaritlerin yapısında yer alırlar. Kaba yemler, bir monogastrik herbivor olan atların rasyonlarında mutlaka bulması gereken rasyon bileşenidir. Bu nedenle atların, büyüme, laktasyon, gebelik ve iş yapma durumlarına göre rasyonlarındaki kaba yem oranı azaltılması dışında genel olarak rasyonunun büyük kısmını kaba yem oluşturur (NRC, 2006). Kaba yemlerin atlarda sindirim düzeylerin içeriklerindeki karbonhidrat monomerlerinin bileşimi ve bağ yapılarına göre değişmektedir (Cichorska ve ark., 2014).

Atlarda tüketilen yemlerin sindirilen unsurları mide ve ince bağırsakta enzimatik olarak parçalanmakta ve monomer halinde absorbe edilmektedir. Ancak at rasyonunun fermente olan unsurları kalın bağırsakta (sekum ve kolon) fermente edilmekte ve fermentasyon son ürünleri buradan absorbe edilmektedir (NRC, 2006). Bir herbivor olan ve rasyonu bitkisel yem hammaddelerinden oluşan atların kaba yemleri kalın bağırsakta fermente edilmekte ve buranın içeriğinde mikrobiyal yapının ürettiği enzimler tüketilen yemin sindirilebilirliğini değiştirmektedir. Özellikle kalın bağırsakta fermentasyondan sorumlu mikroorganizmalar *Ruminococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Lactobacillus* spp., ve *Enterococcus* spp.'dir ve son ürünleri olarak gazlar, SCFA

ortaya çıkmaktadır. Atların midesinde de lümen mikrobiyal içeriği *Firmicutes* (*Lactobacillus* spp., 108–109 CFU/mL), *Bacteroidetes* (*Prevotella* spp.) ve *Proteobacteria* (*Actinobacillus* spp.)’dır (Dick ve ark., 2014; Al Jassim ve Andrews, 2009; Perkins ve ark., 2012). Atlarda kaba yemlerin sindirimlerinin sadece *in vitro* kalın bağırsaktaki fermentasyon ile tam olarak anlaşılabilmesi ya da sadece kalın bağırsak *in vitro* kaba yem sindirimini esas alarak (Kholif ve ark. 2016; Kujawa ve ark., 2020; Gandarillas ve ark., 2021) yorum yapmak kaba yemler için hatalı olabilecektir. Bu nedenle Kaba yemlerin içeriklerindeki mono ve oligosakkaritler yanında diğer besin maddelerinin sindirimlerinin mide ve ince bağırsakta sağlanması, bitki hücre duvarı unsurları olan beta-glukan, pektin ve gum, hemiselüloz ve selülozun kalın bağırsak fermentasyon derecesini değiştirebilecektir. Sunulan çalışmada kaba yemlerin sindirimlerini saptamak için Hervera ve ark. (2007)’nın omnivor olan köpeklerde tüm sindirim kanalı sindirimini esas alan tekniğin atlara uyarlandığı “*in vitro* Total Sindirim Tekniği” (TST) ile zenginleştirilmiş kalın bağırsak fermentasyonu esas alan “*in vitro* Sunvold-Kalın Bağırsak Tekniği” (SST) (Sulvold ve ark., 1995) ve ruminantlardan uyarlanan “*In Vitro* Menke-Kalın Bağırsak Sindirim Tekniği” (MST) kullanılmıştır (Menke ve ark., 1979).

Sunulan çalışmada, incelenen dört farklı kaba yem için *in vitro* G-KMS, *in vitro* G-OMS ve *in vitro* G-NDFS değeri en yüksek oranda tüm gastro-intestinal kanalın sindirim simülasyonu olan *in vitro* TST tekniğinde saptanması kaba yem sindirim ve fermentasyonuna etkinliğinin sadece kolon fermentasyonunun simülasyonu şeklindeki tekniklerden (*in vitro* SST ve MST) daha iyi sonuçlar vereceğini göstermiştir. Tekniklerin *in vitro* sindirim sonuçları arasındaki farklılık kaba yem türlerinde de farklılık oluşturmuştur. *In vitro* MST tekniği ile yonca kuru otunun atlarda yaklaşık %71 *in vitro* G-OMS, % 66 *in vitro* G-KMS ve % 42 *in vitro* G-NDFS düzeyleri ile en yüksek değerlere ulaşmış olması içeriğindeki ADF düzeyinin incelenen diğer kaba yemlerden daha düşük ve NFC değerinin ise daha yüksek olması ile ilgili olduğu anlaşılmıştır (Kara ve ark., 2022; Erşahince ve Kara, 2017). Kaba yemlerde NFC unsurunun önemli bir substansı olan monogliserit ve digliseritlerin (özellikle fruktan yapılar) pre-sekal sindirimlerinin büyük oranda tamamlanması kolon fermentasyonuna çok fazla ulaşmaması (Moore-Colyer ve ark.,2014; Strauch ve ark., 2017) sunulan

çalışmada *in vitro* TST tekniğinde NFC değeri yüksek olan bir kaba yemin (yonca kuru otu) daha iyi sindirilebildiğini göstermiştir. Aynı şekilde, *in vitro* TST tekniğinde İtalyan çimi ve çayır kuru otunun *in vitro* G-KMS, *in vitro* G-OMS ve *in vitro* G-NDFS değerlerinin buğday samanının değerinden daha yüksek olması da bitki fenolojik döneminin sonunda elde edilen bir kaba yem olan samanın (NRC, 2001) içeriğindeki yüksek NDF ve yüksek lignoselüloz kompleksi ile ilişkili olduğu anlaşılmıştır. İncelenen kaba yemlerin *in vitro* sindirim düzeyleri yöntemlerde farklılık göstermesi yanında kendi aralarında da farklılık oluşturmuştur. Genel olarak üç yöntemdeki *in vitro* G-NDFS değerlerine göre kaba yemler yonca kuru otu>İtalyan çimi> çayır kuru otu = buğday samanı şeklinde sıralanması bu kaba yemlerin WSC ve lignoselüloz kompleks içerikleri ile ilgili olabildiği düşünülmüştür (Murray ve ark., 2006; Stang ve ark., 2023)). Atlarda yaygın olarak kullanılan baklagil ve buğdaygil kuru ot ve samanların nişasta içeriğinin yaklaşık %1-3 arasında olduğu göz önünde alındığında (NRC, 2006) çalışmada en yüksek NFC ve WSC içeriğinin yonca kuru otu ve İtalyan çiminde olduğu anlaşılmaktadır. Çalışma sonuçları ile benzer olarak, Stang ve ark. (2023) tarafından altı buğdaygil çayır otları (çayır yumağı, domuz ayrığı, çok yıllık İngiliz çimi, kılçıksız brom, çamıssı yumak ve çayırı kelp kuyruğu) için *in vitro* G-KMS değerinin % 60-64 arasında olduğu, biçim zamanı ilerledikçe kaba yemdeki NDF artışı ve WSC (glukoz ve früktoz) düzeyinin azalması ile G-KMS'nin %70'ten %54'lere gerilediği bildirilmiştir (Stang ve ark., 2023). Yonca kuru otunun *in vitro* TST tekniğinde *in vitro* G-KMS ve G-OMS düzeyinin diğer kaba yemlerden daha yüksek olması içeriğindeki total sindirilebilir besin madde unsuru (TDN) olan HP ve NFC'nin mide ve ince bağırsakta sindirimlerinin gerçekleşmesiyle de ilişkilendirilmiştir.

Daha önce yapılan çalışmalarda atlarda *in vitro* sindirim teknikleri karşılaştırılmamıştır. Ancak yapılan bazı *in vitro* tekniklerde elde edilen sonuçlar sunulan çalışmadaki tekniklerinin sonuçlarını karşılaştırmak için faydalı olabilir. Çağrı ve Kara (2018) aspir tanesi, aspir samanı ve aspir kuru otunu içeren at rasyonlarının atlardaki *in vitro* SST tekniği kullanarak G-KMS değerini yaklaşık % 44-50 arasında ve G-OMS değerini 45-56 arasında saptanmışlardır. Benzer olarak at rasyonlarına soluble lif kaynağı olarak % 20'e kadar domates posası ilave düzeyi ile *in vitro* SST tekniği ile *in vitro* G-KMS değerinin yaklaşık %43'ten %45'e ve SCFA düzeyinin de arttığı bildirilmiştir (Kara,

2022). *In vitro* MST tekniğine benzer bir teknikte (Theodorou ve ark.,1994) atlarda karma yem içindeki karışımdaki şeker pancarı oranı artışı ile KM kaybının (466'ten 658'e; mg/g) arttığını bildirmişlerdir (Murray ve ark., 2006). *In vitro* MST tekniğine benzer bir başka bir teknikte ise Stang ve ark. (2023) tarafından ANKOM RF gaz üretim sistemi ile (Goering ve Van Soest, 1970) altı buğdaygil çayır otları (çayır yumağı, domuz ayrığı, çok yıllık İngiliz çimi, kılçıksız brom, çamıssı yumak ve çayır kelp kuyruğu) için *in vitro* G-KMS değeri % 60-64 arasında olduğu, biçim zamanı ilerledikçe kaba yemdeki NDF artışı ve suda çözünebilir karbonhidrat (water soluble carbohydrates: WSC, glukoz ve früktoz) düzeyinin azalması ile G-KMS % 70'ten % 54'lere gerilediği bildirilmiştir (Stang ve ark., 2023). *In vitro* SST tekniğini kullanan Erşahince ve Kara (2017) ise farklı fenolojik dönemlerdeki yerelması kuru otunun G-KMS'nin yaklaşık % 43-58 ve G-OMS'nin % 48-65 olduğunu bildirmişlerdir.

Sekum ve kolona rasyonla nispeten düşük düzeyde nişasta ve yüksek düzeyde yapısal karbonhidrat gelmesi durumunda, burada gelişen SCFA, büyük oranda asetik asit olmaktadır. Burada kolonize olan fibrolitik bakteriler *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Eubacterium*, *Propionibacterium*, *Selenomonas* ve *Streptococcus*'lardır (Mackie ve Wilkins, 1988; Costa ve ark., 2012). Atlarda kaba yemlerin fermentasyonları ile elde edilen SCFA'lerin konsantrasyonlarındaki artış sindirilebilirliğinin yüksek olduğunu göstermektedir (Ersahince ve Kara, 2017). Şimdiki çalışmada atlarda uygulanan üç farklı sindirim tekniği için AA, PA ve BA molariteleri daha önceki çalışma sonuçları ile benzerdi (Ersahince ve Kara, 2017). Sunulan çalışmada kaba yemlerin *in vitro* G-KMS, *in vitro* G-OMS ve *in vitro* G-NDFS düzeyleri ile sindirim sıvısındaki AA ve PA konsantrasyonları arasındaki pozitif yönlü korelasyon olması daha önceki çalışma sonuçları ile uyumludur (Ersahince ve Kara, 2017). Ancak çalışmada sindirim sıvısındaki BSCFA konsantrasyonu ile *in vitro* G-KMS ve *in vitro* G-NDFS arasındaki bir korelasyon olmaması iso-asitlerin büyük oranda protein parçalanması ile ilişkili olması ve kaba yemlerin HP değerinin çok yüksek olmaması ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür. Esas olarak valin, izolösin, lösin ve prolin amino asitlerinin iso asitler (BSCFA) bozulma ürünlerinden oluşurlar ve sırasıyla bu amino asitlerin ve daha yüksek dallı zincirli uçucu yağ asitlerinin biyosentezi için kullanılmaları gerektirmektedir (Apajalahti ve ark.,2019). Sunulan çalışmada *in vitro* TST tekniğinde kaba yemlerin

BSCFA molaritelerinde farklılık saptanmış olup, en yüksek ICA, IBA ve IVA konsantrasyonu HP oranı en yüksek olan yonca kuru otu ve İtalyan çiminde saptanmıştır.

Atlarda tüketilen yemlerin *in vitro* şartlarda sindirilebilirliklerini tahmin etmek için ruminantlarda olduğu (Menke ve ark., 1979; Theodorou ve ark., 1990) gibi bazı yöntemler kullanılmaktadır. Ancak bu yöntemler genel olarak ruminantlar üzerinde geliştirilmiş olan yöntemlerin modifiye edilmiş şeklidir. Ruminantlardaki ön midelerin fermentasyon işlevi atlarda büyük oranda kolonda gerçekleşmektedir. Ancak atlarda kolona gelinceye kadar yem hammaddesi içindeki besin maddelerinin büyük kısmı (protein, yağ, mono- ve di-sakkaritler, dirençli olmayan nişasta gibi) mide ve ince bağırsakta organizmanın kendi enzimleri ile enzimatik (hidroliz) sindirim ile parçalanıp emilmektedir. Kolona ise sindirilmeyen yapısal karbohidrat unsurları ulaştığı ve belli oranda yem hammaddesi fermentasyon için ön sindirime/işleme uğraması ve fermentasyon için beklemesi gibi farklılıklar; ruminant rumen içeriği kullanılarak yapılan yöntemin (Menke ve ark., 1979; Theodorou ve ark., 1990) at dışkısı içeriği ile yapılan yöntem şeklinde (Kholif ve ark. 2016; Kujawa ve ark., 2020; Gandarillas ve ark., 2021; Stang ve ark., 2023) uyarlanması hatalı olabileceği bu çalışma sonuçları ile ortaya konulmuştur.

Sonuç olarak, atlarda *in vitro* total enzimatik + fermentatif sindirim tekniğinin (TST) tekniğinin *in vitro* fermentatif sindirim tekniklerine (MST ve SST) göre daha yüksek değerler ortaya koymuştur. Genel olarak kaba yemlerin içeriğindeki NFC ve HP düzeyi yükseldikçe *in vitro* TST tekniği ile diğer sindirim tekniklerine göre daha yüksek sonuçlar elde edilebileceği tespit edilmiştir. Bunun yanında atlarda yaygın olarak kullanılan kaba yemlerin NDFom, ADFom ve selüloz içerikleri arttıkça *in vitro* G-KMS, G-OMS ve G-NDFS düzeylerinin azaldığı anlaşılmıştır. Tüm bu sonuçların dikkat çekici ve araştırmacıları yönlendirici yönünün aşık olmaları yanında bu *in vitro* sonuçların ileride yapılacak atlarda *in vivo* çalışmalar ile elde edilen sonuçlar ile karşılaştırılabileceği daha yaygın çalışmalara ihtiyaç vardır.

6. KAYNAKLAR

- Al Jassim RAM, Andrews FM. The bacterial community of the horse gastrointestinal tract and its relation to fermentative acidosis, laminitis, colic, and stomach ulcers. *Veterinary Clinics of North America: Equine practice*, 2009;25:199-215.
- AOAC. Official methods of analysis. Arlington (VA): Association of Official Analytical Chemists. 1995.
- Apajalahti J, Vienola K, Raatikainen K, Holder V, Moran CA. Conversion of branched-chain amino acids to corresponding isoacids - an *in vitro* tool for estimating ruminal protein degradability. *Front Vet Sci*, 2019; 6: 311.
- Clarke LL, Roberts MC, Argenzio RA. Feeding and digestive problems in horses. Physiologic responses to a concentrated meal. *Vet Clin North Am Equine Pract*, 1990;6:433-50
- Cagri A, Kara K. The effect of safflower on their vitrodigestion parameters and methane production in horse and ruminant. *Acta Vet Eurasia*, 2018; 44: 73-84.
- Cichorska B, Komosa S, Nogowski L, Maćkowiak P, Józefiak D. Significance of nutrient digestibility in horse nutrition - a review. *Ann Anim Sci*, 2014; 14: 779-797.
- Colville T, Bassert JM. *Clinical Anatomy and Physiology for Veterinary*. 3th edition, Elsevier, Canada, 2002.
- Cone JW, Van Gelder AH, Visscher GJW, Oudshoorn L. Influence of rumen fluid and substrate concentration on fermentation kinetics measured with a fully automated time related gas production apparatus. *Anim Feed Sci Technol*, 1996; 61:113-128.

- Costa MC, Arroyo LG, Allen-Vercoe E, Stampfli HR, Kim RT, Sturgeon A, Scott-Weese J. Comparison of the fecal microbiota of healthy horses and horses with colitis by high throughput sequencing of the v3-v5 region of the 16S rRNA gene. PLoS One, 2012;7: e41484.
- Cuddeford D, Hughes D. A comparison between the nutritive value of short-cutting cycle, high temperature-dried alfalfa and timothy hay for horses, Equine, 1992; 24(2): 84-89.
- Cunha TJ. Horse Feeding and Nutrition. 2nd ed. Academic Press, 451 p. 2012.
- Cuddeford D. Starch digestion in the horse. Advances in Equine Nutrition Vol. II 1998-2000. Kentucky Equine Research, pp. 2000; 3: 95-104.
- Cummings JH, Macfarlane GT. The control and consequences of bacterial fermentation in the human colon. J Appl Bacteriol, 1991;70: 443-459
- De Fombelle A. Characterization of the microbial and biochemical profile of the different segments of the digestive tract in horses given two distinct diets. Anim Sci, 2003; 77: 293-304.
- Ellis AD, Hill J. Nutritional physiology of the horse. Nottingham University Press, Nottingham, UK, 2005, pp: 1-361.
- Ersahince AC, Kara K. Nutrient composition and *in vitro* digestion parameters of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) herbage at different maturity stages in horse and ruminant. J Anim Feed Sci, 2017; 26, 213–225.
- Faubladier C, Chaucheyras - Durand F, da Veiga L, Julliand V. Effect of transportation on fecal bacterial communities and fermentative activities in horses: Impact of *Saccharomyces cerevisiae* CNCM I-1077 supplementation. J Anim Sci, 2013; 91: 1736-1744.
- Frape D. Equine nutrition and feeding. Blackwell Publishing Ltd., Oxford, UK, 2004.
- Gandarillas M, Keim JP, Gapp EM. Associative effects between forages and concentrates on *in vitro* fermentation of working equine diets. Animals, 2021; 11: 2212-2219.

- Glatter M, Borewicz K, Van den Bogert B, Wensch-Dorendorf M, Bochnia M, Greef JM. Modification of the equine gastrointestinal microbiota by Jerusalem artichoke meal supplementation. PLoS One, 2019; 14: e0220553.
- Goering HK, Van S. Forage fiber analyses (Apparatus reagents, procedures, and some applications). Agric. Handbook No. Washington D: ARS USDA 1970; 379; 20-29.
- Hervera M, Baucells MD, Blanch F, Castrillo C. Prediction of digestible energy content of extruded dog food by in vitro analyses. J Anim Physiol Anim Nutr (Berl), 2007; 91(5-6): 205-209.
- Hintz HF, Cymbaluk NF. Nutrition of the horse. Annu Rev Nutr, 1994; 14:243-67.
- Hintz HF. Nutrition of the horse. Nutrition of the horse, Second edition, 1990;3: 189-312.
- Hume, Ian D. Fermentation in the hindgut of mammals. In: Gastrointestinal microbiology: volume 1 Gastrointestinal ecosystems and fermentations. Boston, MA: Springer US, 1997: 84-115.
- Jansson, Anna; Lindberg, Jan Erik. A forage-only diet alters the metabolic response of horses in training. Animal, 2012; 12: 1939-1946.
- Julliand V, Grimm P. The impact of diet on the hindgut microbiome. J Equine Vet Sci, 2017; 52: 23-28.
- Kara K, Baytok E. Effect of different levels of psyllium supplementation to horse diet on *in vitro* fermentation parameters and methane emission. J Fac Vet Med Istanbul Univ, 2017; 43:12-18.
- Kara K. *In vitro* methane production and quality of corn silage treated with maleic acid. Ital J Anim Sci, 2015; 14: 718–722.
- Kara K, Ozkaya S, Baytok E, Guclu BK, Aktug E, Erbas S. Effect of phenological stage on nutrient composition, in vitro fermentation and gas production kinetics of *Plantago lanceolata* herbage. Vet Med, 2018; 63(6); 251–260.

- Kara K. Investigation of the effectiveness of tomato pulp on the *in vitro* fermentation of working horse diets. J Appl Anim Res, 2022; 50: 198-203
- Kara K, Aktug E, Ozkaya S. 2016. Ruminal digestibility, microbial count, volatile fatty acids and gas kinetics of alternative forage sources for arid and semi-arid areas as *in vitro*. Ital J Anim Sci, 15:673–680.
- Kara K, Güçlü BK, Baytok E. Comparison of nutrient composition and anti-methanogenic properties of different Rosaceae species. J Anim Feed Sci, 2015; 24: 308-314.
- Kholif AE, Baza-García LA., Elghandour MMY, Salem AZM, Barbabosa A, Dominguez-Vara IA, Sanchez-Torres JE. *In vitro* assessment of fecal inocula from horses fed on high-fiber diets with fibrolytic enzymes addition on gas, methane, and carbon dioxide productions as indicators of hindgut activity. J Equine Vet Sci, 2016; 39: 44-50.
- Kienzle E. Small intestinal digestion of starch in the horse. Rev Med Vet, 1994; 145: 199-204.
- Kujawa TJ, van Doorn DA, Wambacq WA, Hesta M, Pellikaan WF. Evaluation of equine rectal inoculum as representative of the microbial activities within the horse hindgut using a fully automated *in vitro* gas production technique system. J Anim Sci, 2020; 98: 50-57.
- Mackenthun E, Coenen M, Vervuert I. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* supplementation on apparent total tract digestibility of nutrients and fermentation profile in healthy horses. J Anim Physiol Anim Nutr, 2013; 97: 115-120.
- Mackie RI, Wilkins CA. (). Enumeration of anaerobic bacterial microflora of the equine gastrointestinal tract. Appl Environ Microbiol, 1988; 54: 2155-2163.
- Menke HH, Steingass H. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. Anim Res Develop, 1988; 28(1): 7-55.

- Menke KH, Raab L, Salewski A, Steingass H, Fritz D, Schneider W. The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor. *J Agr Sci*, 1979; 93: 217-222.
- Milinovich GJ, Trott DJ, Burrell PC, Croser EL, AlJassim RAM, Morton JM, vanEps AW, Pollitt CC. Fluorescence in situ hybridization analysis of hindgut bacteria associated with the development of equine laminitis. *Environ Microb*, 2007; 9: 2090-2100.
- Moeller BA, McCall Ca, Silverman SJ, McElhenney WH. Estimation of saliva production in crib-biting and normal horses. *J Equine Vet Sci*, 2008; 28(2): 85-90.
- Moore BE, Dehority BA. Effects of diet and hindgut defaunation on diet digestibility and microbial concentrations in the cecum and colon of the horse. *J Anim Sci*, 1993; 71: 3350-3358.
- Moore CB. Imaging diagnosis-caudal cruciate ligament avulsion in a horse. *Vet Radiol Ultrasound*, 2001; 42(5): 414-416.
- Moore-Colyer, Meriel, Denise M. O'Gorman, and Katherine Wakefield. An *in vitro* investigation into the effects of a marine-derived, multimineral supplement in simulated equine stomach and hindgut environments. *OJVM*, 2014; 34.3: 391-397.
- Murray, JMD, LonglandA, Moore-Colyer M. *In vitro* fermentation of different ratios of high-temperature dried lucerne and sugar beet pulp incubated with an equine faecal inoculum. *Anim Feed Sci Technol* 2006; 129: 89-98.
- Nagpal R, Puniya AK, Griffith GW, Gujnan G, Punija M, Sehgal JP, Singh K. Anaerobic rumen fungi: potential and applications. In: Khachatourians GG, Arora DK, Rajendran TP, Srivastava AK (Eds), *Agriculturally Important Micro-Organisms*, Volume 1, Academic World International. 2009, Chapter 17, 375-393.
- NRC. National Research Council. *Nutrient Requirements of Horses: Sixth Revised Edition*. Washington, DC: The National Academies Press. 2007; 3: 41-47.

- NRC. National Research Council. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. Seventh Edition. Washington DC: The National Academies Press, 2001; 3: 41-49.
- Orskov ER, McDonald I. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighed according to rate of passage. *J Agric Sci*, 1979; 92, 499.
- Perkins GA, den Bakker HC, Burton AJ, Erb HN, McDonough SP, McDonough PL. Equine stomachs harbour an abundant and diverse mucosal microbiota. *Appl Environment Microbiol*, 2012; 78: 2522-253.
- Stang FL, Bjerregaard R, Müller CE, Ergon Å, Halling M, Thorninger NW, Kidane A, Jensen RB. The effect of harvest time of forage on carbohydrate digestion in horses quantified by *in vitro* and mobile bag techniques. *J Anim Sci*, 2023; 3:101-111.
- Strauch S, Wichert B, Greef JM, Hillegeist D, Zeyner A, Liesegang A. Evaluation of an *in vitro* system to simulate equine foregut digestion and the influence of acidity on protein and fructan degradation in the horse's stomach. *J Anim Physiol Anim Nutr*, 2017; 101: 51-58.
- Sunvold GD, Fahey GC, Merchen NR, Reinhart GA. *In vitro* fermentation of selected fibrous substrates by dog and cat fecal inoculum: influence of diet composition on substrate organic matter disappearance and short chain fatty acid production. *J Anim Sci*, 1995; 73:1110-1122.
- Sweeney CR. *In vivo* and *in vitro* digestibility of a complete pelleted feed in horses [Master of Science Thesis]. The Faculty of California Polytechnic State University. San Luis Obispo, CA (USA). 2012.
- Şehu, A. 2002. At Besleme. Şahıs Yayını, Ankara 2022, ISBN: 975-927- 81-0-3.
- Tekin M., Kara K. The forage quality and the *in vitro* ruminal digestibility, gas production, organic acids, and some estimated digestion parameters of tomato herbage silage with molasses and barley. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Science*, 2020; 44: 201-213.

Theodorou MK, Brooks AE. Evaluation of a new laboratory procedure for estimating the fermentation kinetic of tropical feeds. Annual Report AFRC Institute, Hurley, Maidenhead, UK. 1990

Theodorou MK, Williams BA, Dhanoa MS, McAllan AB, France J. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. *Anim Feed Sci Technol*, 1994; 48:185-197.

Van Soest PJ, Robertson JB, Lewis BA. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J Dairy Sci*, 1991; 74(10): 3583-3597.



EKLER

ATLARDA KABA YEMLERİN SİNDİRİM DÜZEYLERİNİN

ORIGINALITY REPORT

12%

SIMILARITY INDEX

11%

INTERNET SOURCES

6%

PUBLICATIONS

%

STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1

acikbilim.yok.gov.tr

Internet Source

4%

2

abis-files.erciyes.edu.tr

Internet Source

1%

3

cdn-tis.almscloud.com

Internet Source

1%

4

Kanber Kara, Sena Yılmaz, Süleyman Ercüment Önel, Abdullah Özbilgin. " Effects of plantago species herbage and silage on ruminal fermentation and microbiome ", Italian Journal of Animal Science, 2022

Publication

1%

5

A. Ersahince, K. Kara. "Nutrient composition and *in vitro* digestion parameters of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) herbage at different maturity stages in horse and ruminant", Journal of Animal and Feed Sciences, 2017

Publication

1%

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı,Soyadı : Abdullah ALTINSOY

Uyruğu : T.C.

EĞİTİM

<u>DERECE</u>	<u>KURUM</u>	<u>MEZUNİYET</u>
Lisans	Dicle Üniversitesi	2011
Lise	Develi Lisesi	2003

İŞ DENEYİMİ

<u>YIL</u>	<u>KURUM</u>	<u>GÖREV</u>
2011-2011	Serbest Veteriner Kliniği	Veteriner Hekim
2011-2012	Çiftlik Veteriner Hekimi	Sorumlu Veteriner Hekim
2013-2014	Midyat İlçe Tarım ve Orman Müdürlüğü	Veteriner Hekim
2014-2020	Yahyalı İlçe Tarım ve Orman Müdürlüğü	Veteriner Hekim
2020-Devam ediyor.	Melikgazi İlçe Tarım ve Orman Müdürlüğü	Veteriner Hekim