



T.C.  
**BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
TR, Balıkesir University, Institute of Health Sciences



**YÜKSEK NEMLİ MISIRLA BESLENEN  
KUZULARDA *BACILLUS LICHENIFORMIS*  
KULLANIMININ BESİ PERFORMANSI, KAN  
PARAMETRELERİ, RUMEN FERMENTASYONU  
VE MİKROBİYOTASI ÜZERİNE ETKİLERİ**

**DOKTORA TEZİ**

DR-22.07

**MUHİTTİN ZENGİN**

**Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları  
Anabilim Dalı**  
Bilim Alan Kodu: 10102.02



**BALIKESİR**  
2022

**T.C.**  
**BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK NEMLİ MISIRLA BESLENEN KUZULARDA**  
***BACILLUS LICHENIFORMIS* KULLANIMININ BESİ**  
**PERFORMANSI, KAN PARAMETRELERİ, RUMEN**  
**FERMENTASYONU VE MİKROBİYOTASI ÜZERİNE**  
**ETKİLERİ**

**DOKTORA TEZİ**  
**DR-22.07**

**MUHİTTİN ZENGİN**

**TEZ DANIŞMANI**  
**PROF. DR. M. ALİ AZMAN**

**Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı**

**Bilim Alan Kodu: 10102.02**

**Proje No: 2020/074-Balıkesir Üniversitesi BAP**

**BALIKESİR**

**2022**



T.C.  
**BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



**TEZ KABUL VE ONAY**

Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı Doktora Programı çerçevesinde **Muhittin ZENGİN** tarafından yürütülmüş ve tamamlanmış olan

**“YÜKSEK NEMLİ MISIRLA BESLENEN KUZULARDA *BACİLLUS LİCHENIFORMİS* KULLANIMININ BESİ PERFORMANSI, KAN PARAMETRELERİ, RUMEN FERMENTASYONU VE MİKROBİYOTASI ÜZERİNE ETKİLERİ”**

başlıklı tez çalışması,  
Balıkesir Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca aşağıdaki jüri tarafından  
**DOKTORA TEZİ**  
olarak kabul edilmiştir.

**Tez Savunma Tarihi:** 16 / 08 / 2022

**TEZ SINAV JÜRİSİ**

Prof. Dr. İbrahim Halil ÇERÇİ  
Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi  
(Başkan)

Prof. Dr. Mehmet Ali AZMAN  
Balıkesir Üniversitesi  
Üye (Danışman)

Prof. Dr. Rahim AYDIN  
Balıkesir Üniversitesi  
Üye

Prof. Dr. Osman İrfan İLHAK  
Balıkesir Üniversitesi  
Üye

Doç. Dr. Mustafa Selçuk ALATAŞ  
Selçuk Üniversitesi  
Üye

Yukarıdaki Doktora Tezi, sınav jüri üyeleri tarafından imzalanarak 08 /09/2022 tarihinde teslim edilmiştir.

Prof. Dr. Osman İrfan İLHAK  
Enstitü Müdürü

## BEYAN

Balıkesir Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde ve ortaya çıkan sonuçlarda herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıpları kabullendiğimi **beyan ederim.**

08 / 09 / 2022

İmza

Araş. Gör. Muhittin ZENGİN

**İTHAF**

*Çok Kıymetli Aileme...*

## TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca mesleki ve hayat tecrübesi başta olmak üzere her türlü desteği sunan kıymetli danışmanım Sayın Prof. Dr. M. Ali AZMAN'a en derin saygı ve şükranlarımı sunarım.

Araştırma görevlisi olarak başladığım zamandan itibaren bilgi, tecrübe ve kıymetli vaktini ayırıp destek sağlayan Prof. Dr. Ergün DEMİR'e, desteğini yanımda hissettiğim ve değerli tecrübelerini esirgemeyen Prof. Dr. Rahim AYDIN'a teşekkür ederim. Tez çalışmam boyunca yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. İhsan KISADERE ve Doç. Dr. Hakan TAVŞANLI'ya teşekkürü borç bilirim. Tez çalışmasının farklı aşamalarında çekinmeden arayabildiğim ve tecrübelerini aktaran kıymetli hocalarım Prof. Dr. Hüseyin ESECELİ'ye, Prof. Dr. Osman İrfan İLHAK'a, Prof. Dr. Ziya İLHAN'a, Prof. Dr. Gözde GÜRELLİ'ye ve Dr. Öğr. Üyesi Mehmet ÖZÜİÇLİ'ye teşekkürlerimi sunarım. Tez kapsamındaki analizlerde yardımlarını esirgemeyen Dr. Selim ESEN'e, Dr. Mehmet Emin DİKEN'e, Araş. Gör. Mustafa USTA ve Öğr. Gör. Oğuz Koray BACAKSIZ'a şükranlarımı sunarım. Tez çalışmam dâhil olmak üzere bütün bilimsel çalışmalarda elinden gelen her türlü desteği sağlayan kıymetli abim Cevat Ekrem POSTACI'ya, ayrıca çalışmamın en başından beri bütün aşamalarında desteğini esirgemeyen ve probiyotiğin teminini sağlayan Dr. Shahram Golzar ADABI'ye teşekkür ederim. Çalışmamda uygun ortamların oluşumunu sağlayan Balıkesir Üniversitesi Hayvancılık Uygulama ve Araştırma Merkezi, Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi, Diagen firması çalışanları ile ayrıca Balıkesir Üniversitesi Veteriner Fakültesi öğrencilerine teşekkür ederim. Doktora eğitimimin başlangıcından itibaren enstitü işlemlerindeki yardımlarından dolayı Enstitü Sekreteri Fatma İŞLER'e teşekkür ederim. Bu çalışmayı 2020/074 proje numarası ile destekleyen Balıkesir Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne teşekkürlerimi sunarım.

Hayatımdaki bütün aşamalarda her türlü destekleriyle hayatıma neşe katan anneme, babama, ablama ve ayrıca en değerlim olan eşim Ayşe ZENGİN'e çok derin saygı ve şükranlarımı sunarım.

# İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	<b>i</b>
<b>ÖZET</b> .....	<b>iv</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>vi</b>
<b>SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ</b> .....	<b>viii</b>
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	<b>ix</b>
<b>TABLolar DİZİNİ</b> .....	<b>x</b>
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
1.2. Hayvancılıkta Mikrobiyotanın Önemi.....	3
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	<b>4</b>
2.1. Kuzu Besisi.....	4
2.2. Yüksek Nemli Mısır .....	5
2.3. Hayvan Beslemede Probiyotik Kullanımı .....	8
2.4. Ruminantlarda Spor Oluşturan Probiyotik Türlerinin Kullanımı.....	14
2.5. Probiyotiklerin Ruminantlarda Kan Parametreleri Üzerine Etkisi .....	17
2.6. Rumen Biyolojisi.....	18
2.7. Rumen Papilla Gelişimi.....	23
2.8. Ruminant Sindirim Sisteminde Mikrobiyota.....	24
2.8.1. Mikrobiyom Analizleri .....	25
2.8.1.1. Mikrobiyom Analizinde Temel Kavramlar.....	25
2.8.1.2. 16s rRNA Gen Dizilemesi.....	26
2.8.1.3. Meta-omik Analiz Teknikleri.....	27
2.8.2. Rumen Mikrobiyotasının Ruminantlardaki Etkileri .....	31
2.9. Probiyotiklerin Rumen Mikrobiyotası Üzerine Etkileri .....	34
2.10. Hayvancılıkta Gelecek Zamanda Biyoteknolojinin Önemi.....	35
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEM</b> .....	<b>42</b>
3.1. Gereç.....	42
3.1.1. Bölge ve İklim Koşulları.....	42
3.1.2. Hayvan Materyali.....	42
3.1.3. Yem Materyal Temini.....	43
3.2. Yöntem .....	44

3.2.1. Deneme Grupları.....	44
3.2.2. Deneme Gruplarının Yem Düzenlemesi.....	45
3.2. Yemlerin Ham Besin Madde Analizleri.....	46
3.2.1. Kuru Madde Tayini (KM).....	47
3.2.2. Ham Kül Tayini (HK).....	47
3.2.3. Ham Yağ Tayini (HY).....	47
3.2.4. Ham Protein Tayini (HP).....	47
3.2.5. Ham Selüloz Tayini (HS).....	48
3.2.6. Nötral Deterjan Lif Tayini (NDF).....	48
3.2.7. Asit Deterjan Lif Tayini (ADF).....	48
3.3. Kuzuların Canlı Ağırlık Artışlarının Belirlenmesi.....	49
3.4. Yem Tüketimi ve Yemden Yararlanma Oranının Belirlenmesi.....	49
3.5. Vücut Ölçülerinin Belirlenmesi.....	50
3.6. Kan Numunelerinin Alınması ve Saklanması.....	51
3.6.1. Kan Serum Parametrelerinin Analizi.....	51
3.7. Rumen Sıvısı Numunelerinin Alınması ve Analizleri.....	51
3.7.1. Rumen Sıvısında pH Ölçümü.....	52
3.7.2. Protozoa Sayımı.....	52
3.7.3. Rumen Sıvısında Uçucu Yağ Asidi Tayini.....	53
3.8. Rumen Papilla Gelişiminin Tespiti.....	55
3.9. Rumen Mikrobiyota Analizleri.....	55
3.9.1. DNA Ekstraksiyonu.....	55
3.9.2. 16S Sekans Analizi.....	56
3.9.3. Biyoinformatik Analizi.....	56
3.10. İstatistiksel Analizler.....	58
<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>60</b>
4.1. Deneme Gruplarının Canlı Ağırlıkları.....	60
4.2. Deneme Gruplarında Günlük Canlı Ağırlık Artışı.....	60
4.3. Deneme Gruplarında Toplam Yem Tüketimi.....	61
4.4. Deneme Gruplarında Günlük Yem Tüketimi.....	62
4.5. Deneme Gruplarında Yemden Yararlanma Oranları.....	63
4.6. Deneme Gruplarında Vücut Ölçüleri.....	64
4.7. Deneme Gruplarında Kan Analizleri.....	65



4.7.1.	Kan Serumunda Albumin Düzeyi .....	65
4.7.2.	Kan Serumunda Total Protein Konsantrasyonu .....	65
4.7.3.	Kan Serumunda AST Düzeyi .....	65
4.7.4.	Kan Serumunda ALT Düzeyi .....	65
4.7.5.	Kan Serumunda Glukoz Düzeyi .....	66
4.7.6.	Kan Serumunda Üre ve Kreatin Düzeyi .....	66
4.7.7.	Kan Serumunda Kreatin-Kinaz Düzeyi .....	66
4.7.8.	Kan Serumunda İnsulin Düzeyi .....	67
4.7.9.	Kan Serumunda İnsulin-Benzeri Büyüme Faktörü-I Düzeyi .....	67
4.7.10.	Kan Serumunda İmmunoglobulin A Konsantrasyonu .....	67
4.7.11.	Kan Serumunda İmmunoglobulin M Konsantrasyonu .....	68
4.7.12.	Kan Serumunda Superoksid Dismutaz Konsantrasyonu .....	68
4.7.13.	Kan Serumunda Glutasyon Peroksidaz Konsantrasyonu .....	68
4.7.14.	Kan Serumunda Toplam Antioksidan Kapasitesi .....	68
4.8.	Rumen Sıvısı Analiz Bulguları .....	69
4.9.	Rumen Papilla Ölçümleri .....	70
4.10.	Rumen Mikrobiyota Analizleri .....	70
4.10.1.	Çeşitlilik Analizleri .....	71
4.10.1.1.	Alfa Çeşitlilik .....	71
4.10.1.2.	Beta Çeşitlilik .....	72
4.10.2.	Taksonomik Analiz .....	73
4.10.2.1.	Filum (Phylum) Düzeyleri .....	73
4.10.2.2.	Sınıf (Class) Düzeyleri .....	75
4.10.2.3.	Takım (Order) Düzeyleri .....	76
4.10.2.4.	Aile (Family) Düzeyleri .....	77
4.10.2.5.	Cins (Genus) Düzeyleri .....	78
4.10.2.6.	Tür (Species) Düzeyleri .....	79
4.10.3.	Gruplarda Krona Değerlendirmeleri .....	80
4.10.4.	Grupların Isı Harita (Heatmap) Değerlendirmeleri .....	82
<b>5.</b>	<b>TARTIŞMA .....</b>	<b>84</b>
<b>6.</b>	<b>SONUÇ VE ÖNERİLER .....</b>	<b>99</b>
	<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>101</b>
	<b>ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>127</b>
	<b>EKLER .....</b>	<b>128</b>
	EK-1. Etik Kurul Onay Formu .....	128

## ÖZET

### **YÜKSEK NEMLİ MISIRLA BESLENEN KUZULARDA *BACILLUS LICHENIFORMIS* KULLANIMININ BESİ PERFORMANSI, KAN PARAMETRELERİ, RUMEN FERMENTASYONU VE MİKROBİYATASI ÜZERİNE ETKİLERİ**

Bu çalışma, sütten kesilmiş kuzularda yüksek nemli mısır ve *Bacillus licheniformis* kullanımının besi performansı, vücut ölçüleri, serum biyokimyasal ve bağışıklık parametreleri, rumen fermentasyonu, protozoa ve rumen mikrobiyotası üzerine etkilerini araştırmak amacıyla yapılmıştır.

Araştırmanın hayvan materyalini ortalama iki aylık yaş ve 25.54 kg canlı ağırlıkta toplam 35 baş erkek kuzu oluşturmuş, hayvanlar canlı ağırlık ortalamaları eşit olacak şekilde 5 gruba (her grupta 7 kuzu) ayrılmış ve gruplar; kontrol (K), yüksek nemli mısır (YNM), kırık mısır (KM), yüksek nemli mısır + *Bacillus licheniformis* (YNMBL), kırık mısır + *Bacillus licheniformis* (KMBL) şeklinde oluşturulup 56 gün boyunca beslenmiştir. Araştırmada rasyonlar izonitrojenik ve izokalorik olarak hazırlanmıştır. Araştırmanın son günü kuzuların *Vena jugularis*'inden kan ve rumenden sıvı örnekleri analiz edilmek için alınmıştır. Araştırmanın sonunda performans, kan serum ve rumen fermentasyon sonuçlarının istatistiksel değerlendirilmesi için SPSS paket programında tek yönlü varyans analizi yapılmıştır. Rumen mikrobiyota örnekleri DNA ekstraksiyon, 16S sekans analiz ve biyoinformatik analizi olacak şekilde yapılmıştır.

Araştırma sonuçlarına göre gruplarda 0-56. günler arasında yemden yararlanma oranının YNMBL grubunda K grubuna göre daha iyi olduğu belirlenmiştir ( $p < 0.05$ ). Yine bu günler arasında K grubunun yem tüketimi KM ve KMBL gruplarına göre daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir ( $p < 0.05$ ). Grupların vücut ölçümleri incelendiğinde istatistiksel olarak herhangi bir fark tespit edilememiştir ( $p > 0.05$ ). Çalışmada YNMBL ve KMBL gruplarında kreatin kinaz, insülin ve IGF-I değerleri K, YNM ve KM gruplarına göre istatistiksel olarak farklılık göstermiştir ( $p < 0.001$ ). Yine *B. licheniformis*

eklenen gruplarda IgA, IgM ve T-AOC değerinin en iyi olduğu gözlemlenmiştir (p<0.0001). KMBL grubunda, rumen papilla uzunluğunun yüksek olduğu gözlemlenmiştir (p<0.05). YNM ve YNMBL gruplarında propiyonik asit değerinin yüksek olduğu belirlenmiştir (p<0.0001). Gruplar arasında Chao1 indeksinde yüksek nemli mısır tüketen grupta farklılık olduğu görülürken, Shannon indeksinde yüksek çeşitlilik olmadığı görülmüştür. Grupların taksonomik analizlerinde filum düzeyinde kontrol grubunda en yüksek *Actinobacteria* (% 35.78), KM ve KMBL gruplarında en yüksek olan *Firmicutes*'ler sırasıyla % 51.97 ve 59.67, YNM ve YNMBL gruplarında ise *Firmicutes*'ler %72.53 ve 48.73 düzeyinde bulunmuştur.

Bu sonuçlar, YNM yoğunluklu hazırlanan rasyonda yemden yararlanmanın iyileştiiğini, genel olarak *Bacillus licheniformis* eklenmesinin kan serumunda antioksidan kapasitesinin arttığını göstermektedir. Ayrıca bu probiyotiiğin rumende metanojenik bakteriler üzerine baskılayıcı etkisinin olabileceği söylenebilir. Buna göre süttten kesilmiş kuzuların besisinde fabrika yemi yerine *B. licheniformis* katılmış yüksek nemli mısırın kullanılabilceği söylenebilir.

**Anahtar Kelimeler:** *Bacillus licheniformis*, kuzu besisi, mikrobiyota, rumen fermentasyonu, yüksek nemli mısır.

## ABSTRACT

### EFFECTS OF *BACILLUS LICHENIFORMIS* ON FATTENING PERFORMANCE, SOME BLOOD PARAMETERS, RUMEN FERMENTATION, AND MICROBIOTA ON LAMBS FED A HIGH MOISTURE CORN

This study set out to examine the effects of *Bacillus licheniformis* addition to high moisture corn on fattening performance, body measurement, blood biochemistry and immun parameters, rumen fermentation, protozoa and microbiota in weaned lamb.

A total of two months 35 male lambs with the initial live weight of 25.54 kg were allocated into 5 groups (7 lambs in each group) and fed with the following experimental diets for 56 days: control (C), high moisture corn (HMC), cracked corn (CC), high moisture corn + *Bacillus licheniformis* (HMCBL), cracked corn + *Bacillus licheniformis* (CCBL). The rations were prepared as isonitrogenic and isocaloric. At the end of the study, blood samples from the vena jugularis and rumen fluid samples of the lambs were taken for analysis. One-way analysis of variance was performed in the SPSS 25 package program for the statistical evaluation of blood and rumen fermentation results. Rumen microbiota samples were determined by DNA extraction, 16S sequence analysis, and bioinformatics analysis, respectively.

According to the results, it was determined that the feed conversion rate was better in the HMCBL group than in the C group between 0-56 days ( $p < 0.05$ ). Besides, between these days, it was observed that the feed consumption of the C group was higher than the CC and CCBL groups ( $p < 0.05$ ). When the body measurements of the groups were examined, no statistical difference was found ( $p > 0.05$ ). In the study, creatine kinase, insulin and IGF-I values in the HMCBL and CCBL groups were statistically different compared to C, HMC and CC groups ( $p < 0.001$ ). In addition, it was observed that IgA, IgM, and T-AOC values were better in the groups with *B. licheniformis* added compared to the other groups ( $p < 0.0001$ ). In the CCBL

group, rumen papillae length was found to be higher than in the other experimental groups ( $p < 0.05$ ). It was determined that the propionic acid value was higher in the YNM and YNMBL groups compared to other experimental groups ( $p < 0.0001$ ). While there was a difference between the groups in the Chao1 index in the group consuming high moisture corn, there was no high variation in the Shannon index. In the taxonomic analyzes of the groups, at the phylum level, the highest *Actinobacteria* (35.78%) in the control group, the highest *Firmicutes* in the CC and CCBL groups 51.97% and 59.67, and the *Firmicutes* in the HMC and HMCBL groups 72.53% and 48.73, respectively.

These results suggest that the feed conversion rate is improved in the ration prepared with HMC mainly, and the addition of *B. licheniformis* in general increases the antioxidant capacity in blood serum. Besides, it can be said that this probiotic may have a suppressive effect on methanogenic bacteria in the rumen. Accordingly, it can be said that high moisture corn with *B. licheniformis* added can be used instead of feedmill feed in the fattening of weaned lambs.

**Keywords:** *Bacillus licheniformis*, fattening lamb, microbiota, rumen fermentation, high moisture corn.

## SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ

ADF	: Asit deterjan fiber (Asit deterjan lif)
AO	: Antioksidanlar
CA	: Canlı ağırlık
CAT	: Katalaz enzimi
CFU	: Koloni oluşturan birim (Colony forming units)
DYM	: Direk yedirilebilir mikroorganizma
GH	: Growth hormone (Büyüme hormonu)
GIS	: Gastrointestinal sistem
GPX	: Glutatyon peroksidaz (GPX)
IGF	: İnsülin benzeri büyüme faktörü (Insülin like growth hormone)
KMT	: Kuru madde tüketimi
NDF	: Nötr deterjan fiber (Nötr deterjan lif)
SOD	: Süperoksit dismutaz
UV	: Ultraviyole
UYA	: Uçucu yağ asiti
YYO	: Yemden Yararlanma Oranı

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1. Tane Mısır Kesiti. ....	7
Şekil 2.3. Rumen Ortamındaki Mikroorganizmalar. ....	19
Şekil 2.4. Rumende Karbonhidratların Piruvata Dönüşümü. ....	20
Şekil 2.5. Rumende Pirüvatın Uçucu Yağ Asitlerine Dönüşümü. ....	22
Şekil 3.2. Balıkesir Üniversitesi Hayvancılık Uygulama ve Araştırma Merkezi. ....	44
Şekil 3.3. Hayvan Vücut Ölçümleri Alınması İşlemi. ....	50
Şekil 3.4. Hayvan Çalışmaları Sırasında Rumen Sıvısı Alma İşlemi. ....	52
Şekil 3.6. UYA Örneklerinin Analiz Edildiği HPLC Cihazı. ....	54
Şekil 3.7. Mikrobiyota Verilerin Analiz Edilme Basamakları. ....	59
Şekil 4.1. Gruplarda Chao1 İndeks Kutu Grafiği. ....	71
Şekil 4.2. Gruplarda Shannon İndeks Kutu Grafiği. ....	71
Şekil 4.3. Gruplarda Pcoa – Bray Gösterimleri. ....	72
Şekil 4.4. Gruplarda Pcoa Gösterimleri. ....	72
Şekil 4.5. Anosim Gösterimi. ....	73
Şekil 4.6. Gruplara Göre Filum Düzeyinde Göreceli Bolluk Değişimi. ....	74
Şekil 4.7. Gruplara Göre Sınıf Düzeyinde Göreceli Bolluk Değişimi. ....	75
Şekil 4.8. Gruplara Göre Takım Düzeyinde Göreceli Bolluk Değişimi. ....	76
Şekil 4.9. Gruplara Göre Aile Düzeyinde Göreceli Bolluk Değişimi. ....	77
Şekil 4.10. Gruplara Göre Cins Düzeyinde Göreceli Bolluk Değişimi. ....	78
Şekil 4.11. Gruplara Göre Tür Düzeyinde Göreceli Bolluk Değişimi. ....	79
Şekil 4.12. K Grubunda Rumen Mikrobiyotası Krona Gösterimi. ....	80
Şekil 4.13. YNM Grubunda Rumen Mikrobiyotası Krona Gösterimi. ....	80
Şekil 4.14. KM Grubunda Rumen Mikrobiyotası Krona Gösterimi. ....	81
Şekil 4.15. YNMBL Grubunda Rumen Mikrobiyotası Krona Gösterimi. ....	81
Şekil 4.16. KMBL Grubunda Rumen Mikrobiyotası Krona Gösterimi. ....	82
Şekil 4.17. Gruplarda Rumen Mikrobiyotasının Filum Düzeyinde Taksonomik Bollukları Isı Haritası. ....	82
Şekil 4.18. Gruplarda Rumen Mikrobiyotasının Cins Düzeyinde Taksonomik Bollukları Isı Haritası. ....	83

## TABLolar DİZİNİ

	<b><u>Sayfa No</u></b>
<b>Tablo 2.1.</b> Yemlerde Kullanılabilen Probiyotikler .....	9
<b>Tablo 3.1.</b> Araştırmada Kullanılan Temel Karma Yem ve Besin Maddeleri .....	45
<b>Tablo 3.2.</b> Araştırma Yemlerinin Ham Besin Madde İçeriği .....	46
<b>Tablo 4.1.</b> Deneme Gruplarında Dönemlere Göre Canlı Ağırlık Değerleri .....	60
<b>Tablo 4.2.</b> Deneme Gruplarında Günlük Canlı Ağırlık Artışı .....	61
<b>Tablo 4.3.</b> Deneme Gruplarında Toplam Yem Tüketimi. ....	62
<b>Tablo 4.4.</b> Deneme Gruplarında Dönemlere Göre Günlük Yem Tüketimleri .....	63
<b>Tablo 4.5.</b> Denemede Gruplarında Yemden Yararlanma Oranları .....	63
<b>Tablo 4.6.</b> Kuzuların Vücut Ölçüleri .....	64
<b>Tablo 4.7.</b> Deneme Gruplarında Kan Serum Değerleri .....	66
<b>Tablo 4.8.</b> Deneme Gruplarında Kan Serum Değerleri .....	67
<b>Tablo 4.9.</b> Denemede Gruplarında Kan Serum Değerleri .....	69
<b>Tablo 4.10.</b> Denemede Gruplarında Rumen Sıvısı Değerleri .....	69
<b>Tablo 4.11.</b> Rumen Papilla Ölçümleri .....	70



## 1. GİRİŞ

Dünya nüfusunun önümüzdeki 30 yıl içerisinde yaklaşık 2 milyar artarak, 2050 yılında 9,7 milyar kişi olması öngörülmektedir (UN, 2019). Bununla birlikte, gelişmekte olan ülkelerde artan gayri safi yurtiçi hasıla ve kentleşme sonucu insanların hayvansal proteince zengin gıdalara doğru beslenme eğilimleri artmıştır (Henchion ve ark., 2017; Thornton, 2010). Hızla artan nüfusun beslenme gereksinimlerinin karşılanması için performansı yüksek hayvancılık faaliyetlerinin daha fazla geliştirilmesi gerekmektedir (Hunter ve ark., 2017). Hayvancılıkta verimliliğin ve karlılığın artırılması noktasında genetik ve beslenme faktörleri önemli yer oluşturmaktadır. Yem, hayvancılık işletmelerinde karlılığı etkileyen en önemli ekonomik faktörlerden biri olarak değerlendirilmekte ve toplam işletme maliyetinin yaklaşık % 70'ini oluşturmaktadır (Kenny ve ark., 2018). Hayvancılık işletmelerinde maliyetin düşürülebilmesi için yemden yararlanma oranı yüksek hayvanların ıslah çalışmaları veya yem maddelerinin işlenerek daha etkin kullanılabilmesi için yeni çalışmaların yürütülmesi gerekmektedir (Capper, 2011; McGovern ve ark., 2018).

Türkiye'nin 2021 yılındaki nüfusu yaklaşık 84 milyon olup, her yıl bir milyon nüfus artışı olacağı tahmin edilmektedir (TÜİK, 2021). Ülkemizde son yıllarda kişi başı kırmızı et tüketimi 2018'de 14,84 kg/yıl (TEPGE, 2020) düzeyine çıkmış olsa da gelişmiş Avrupa ülkelerinin oldukça altındadır. Genel olarak ülkemizde kırmızı et ihtiyacını karşılayan domuz gibi hızlı kesim ağırlığına ulaşan hayvan eti tüketimi olmadığından, kırmızı et ihtiyacının sığır, koyun ya da keçi gibi hayvanlardan karşılanması gerekmektedir. Ancak ülkemizde kırmızı ete olan fazla talep, fiyatların artışına neden olmakta ve bazen de et ithalatı yapılarak hem üretici zarar görmekte hem de kırmızı et fiyatlarında dalgalanmalara neden olmaktadır. Türkiye büyükbaş hayvan sayısı yaklaşık 18,3 milyon, küçükbaş hayvan sayısında ise 45.182.280 koyun ve 12.235.069 keçi olmak üzere toplam 57.417.000 küçükbaş hayvan varlığı ile Avrupa'da önemli bir hayvancılık ülkesidir (TÜİK, 2021). Bu hayvanların özellikle erkekleri besiye alınıp kasaplık olarak değerlendirilmektedir.

Ancak yem maliyetlerinin yüksek olması nedeniyle zaman zaman dişi hayvanların kesildiği de görülmektedir. Dişi hayvanların kesim oranının artışı damızlık hayvan sayısının azalmasına yol açıp ilerleyen zamanlarda hızla artan nüfus karşısında et ve süt gibi gıdalarda krize yol açabileceği öngörülmektedir. Ayrıca, et ithalatı ülkemiz için önemli miktarda döviz kaybına neden olmaktadır. Bu durumların çözümü için bir an önce hayvanlardan en üst düzeyde verim alınmalı ve her hayvandan kendi yapısına göre en iyi şekilde yararlanılması gerekmektedir. Besleme ve yemleme yönünden bu faaliyetlerin gerçekleştirilmesi için hayvanların yemden yararlanmasının artırılması, farklı yem işleme teknikleriyle yemlerin besleyici değerlerinin artırılması ve hayvanlarda uygun yem madde kompozisyonlarının belirlenip rasyonda kullanımı sağlanmalıdır.

Ruminant besi hayvanlarında yapılan yemden yararlanma çalışmalarının bazılarında konakçı genetik yapısı üzerinde yoğunlaşmış ve yemden yararlanma değerlendirmesi için kalıtsallık tahminlerinin 0,06 ile 0,62 şeklinde ve orta düzeyde olduğu bildirilmiştir (Berry ve Crowley, 2013; Lu ve ark., 2013; Snelling ve ark., 2011). Bu durum yemden yararlanma oranının daha fazla iyileştirilebileceği yönünde fikir vermektedir. Son zamanlarda rumen mikrobiyotasının hayvanlar üzerinde yemden yararlanma ve verimi arttırmak için katkı sağlayacağı bildirilmektedir (Paz ve ark., 2018; Storm ve ark., 1983). Bu durum rumen mikrobiyotasının detaylı olarak bilinmesini gerektirmekte ve beslemeyle rumen yapısının iyi yönetimiyle ruminant yetiştiriciliğinde avantaj sağlayabileceği öngörülmektedir.

Hayvancılıkta verim ve performans artırılması amacıyla uzun yıllar kullanılan antibiyotiklerin 1 Ocak 2006'dan itibaren Avrupa Birliği (AB-Yönetmelik No; 1831/20031) yönetmeliği kapsamında yem katkı maddesi olarak kullanımı yasaklanmıştır. Bu kararın ardından bilim insanları hayvancılıkta performans artırıcı katkı maddelerinin kullanımını araştırmaya başlamıştır (Jouany ve ark., 2007). Bu eksikliğin giderilmesi amacıyla probiyotikler, prebiyotikler, organik asitler, bitkisel ekstrakt ve enzimlerin kullanımı artmaya başlamıştır.

## 1.2. Hayvancılıkta Mikrobiyotanın Önemi

Mikrobiyota çalışmaları, son zamanlarda beşeri ve veteriner hekimlikte sıkça yapılmaktadır. Bu çalışmalar mikrobiyal topluluğun yapısını ve işlevini ayrıntılı olarak anlaşılmasına imkân sağlamaktadır. Canlıların gastrointestinal sisteminde bulunan mikrobiyota, besin sindirimi, metabolizması ve emilimi gibi faaliyetlerde yardımcı olmak, patojenlerin uzaklaştırılması ile bağışıklık düzeyinin arttırılmasını teşvik ederek konakçı sağlığının korunmasında kritik bir rol oynar. Ayrıca mikrobiyom analizleri yapılarak hayvan beslenmede önemli bir rol oynayan rumen mikrobiyal topluluğunun geniş yapısal ve işlevsel çeşitliliği ortaya çıkarılmaktadır. Bu durum, rumen mikroorganizma dinamikleri bilgisini arttırmada ve daha sonra hayvancılık üretimini iyileştirme ile metan (CH<sub>4</sub>) emisyonlarını azaltmak için daha iyi besleme stratejilerinin geliştirilmesine yol açmaktadır (Kothari ve ark., 2018).

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Kuzu Besisi

Koyun yetiştiriciliği, Türkiye hayvancılık sektöründe önemli bir yere sahiptir ve bu sektör içerisinde ülkenin et ihtiyacını karşılanmak için farklı bölgelerde üretim potansiyelinin giderek arttığı görülmektedir (Yılmaz ve ark., 2013a). Balıkesir ili koyun sayısı ve kuzu eti üretimi bakımında önemli bir şehirdir. Balıkesir mezbahanelerinde kesilen hayvanlardan elde edilen etler yurdun birçok şehrine gönderilmekte, başta İstanbul ve İzmir olmak üzere Balıkesir etleri tercih edilmektedir. Ayrıca bu bölgede ‘Balıkesir kuzu eti’ için coğrafi işaret alınmış, bu etin markalaşması için çalışmalar devam etmektedir. Balıkesir ili 1.495.379 baş koyun sayısına sahiptir ve son yıllarda Karacabey Merinosu yetiştiriciler tarafından daha çok tercih edilmektedir. Buna gerekçe olarak % 70 gibi ikizlik oranına sahip olması, günlük canlı ağırlık artışının yüksek olması, karacabey merinosunda kıvırcık koyunu geni olması nedeniyle etinin lezzetli olması gibi nedenler gösterilebilir. Balıkesir kuzu eti üretimi kuzuların 60 günlük yaşta süttten kesimesi (veya krep yemleme yapılması), yoğun yemler ile beslenerek ortalama 110 günlük yaşta 45 kg canlı ağırlığa ulaşarak, kesim sonucu ortalama 22 kg karkas elde edilmesidir. Bu etler için özel bir besleme programı yapılarak lezzetli et üretimi önemlidir. Bu çalışmada kullanılan yüksek nemli mısır silajı ‘Balıkesir kuzu eti’ üretimine farklı bir bakış açısı getirecektir. Genç hayvanların kesiminden elde edilen etler, yumuşak ve daha az yağlı olduğu için tüketiciler tarafından daha çok tercih edilmektedir (Bumbieris Junior ve ark., 2019). Kaliteli et üretimi için yetiştiriciliğin farklı aşamalarında yapılan besleme hataları yetiştiricinin temel problemlerinden birisini oluşturmaktadır (Cirne ve ark., 2014). Bu sorunun çözümü ve üreticiler için uygun alternatif yem maddelerinin oluşturulması noktasında, özellikle beslenme ve yem bilimi alanında birçok araştırmacının çalışma yaptığı görülmektedir. Yem maliyetlerinin azaltılması amacıyla, yüksek nemli tahıl silajlarının kullanımının bir alternatif olarak kullanılabilirdiği görülmektedir. Bu yem maddesi, erken hasat ya da

ikinci ürün olarak elde edilmesi ve fermente bir ürün olması nedeniyle sindirilebilirlik yönünden daha iyi avantaj sağlayabilmektedir (Jobim ve ark., 2003).

Hayvancılık işletmelerindeki en önemli amaç, hayvanların et ve süt verimlerinin arttırılarak kâr payının yükseltilmesidir. Karacabey Merinosu ikizlik oranı yüksek, kuzularda canlı ağırlık artışı hızlı olan bir koyun ırkıdır. Bu ırkın kuzuları hızlı gelişimine bağlı olarak 110 gün gibi kısa bir sürede 45 kg canlı ağırlığa ulaşabilmekte ve kesimlerden ortalama 21-24 kg karkas elde edilmektedir. Kuzular kesime gidinceye kadar annelerini emerken ilave konsantre yem verilerek (krep yemleme, beşik yemlemesi) hızlı canlı ağırlık artışı teşvik edilmektedir. Bu şekil bir besleme sonucunda elde edilen hayvanların eti “süt kuzusu” olarak satılmakta, süttten kesildiğinde belirli bir süre beslenerek değerlendirildiğinde ise toklu eti olarak değerlendirilmektedir. Bu iki et arasında % 40’a varan bir fiyat farkı oluşmakta, yetiştiriciler zorunlu olarak süt kuzusu eti üretimine yönelmektedir. Koyunlardan 2 yılda 3 defa kuzulatma tekniği yapılmasıyla daha çok yavru alınabilir ve bu metod ülkede hem damızlık hem de kesimi yapılacak hayvan sayısı arttırılabilir. Kıvırcık koyunu ise kötü çevre şartlarına ve hastalıklara dayanıklıdır ve eti lezzetli olduğu için çok tercih edilir. Bütün bu uygulamalar için hem koyunun hem de kuzunun çok iyi ve doğru bir şekilde beslenmesine ihtiyaç vardır. Karacabey Merinosu X Kıvırcık melezi koyunlardan elde edilecek Balıkesir kuzusunun süttten kesilmiş erkekleri bu besleme çalışmasının yapılabilmesi için oldukça uygun bir besi meteryali oluşturmaktadır. Bu yetiştirme metodunun yapılabilmesi için uygun, ucuz ve yararlanması yüksek yemlere ihtiyaç vardır.

## 2.2. Yüksek Nemli Mısır

Poaceae ailesinin bir üyesi olan mısır (*Zea mays L.*), 2016 yılında dünya genelinde 188 milyon hektar alandan 1 milyar tonun üzerinde hasat edilmesiyle üretimi en çok yapılan tahıldır (FAOSTAT, 2016; TEPGE, 2020). 2019/2020 yılı üretim sezonunda Dünya mısır üretimi 1.1 milyar ton ve Türkiye’de ise 6 milyon tondur, ancak ülkemizin mısır kullanımının 8,5 milyon ton olduğu, geri kalan kısmının ithal edildiği, mısırın % 83’ünün yem olarak kullanıldığı bildirilmektedir (TÜİK, 2021).

Çiftlik hayvan yetiştiriciliğinde, başta kanatlı besleme olmak üzere tek mideli hayvanlar ile ruminant beslemede enerji kaynağı olarak tahıllar kullanılır (Marshall ve ark. 2013). Tahıllar içinde ise mısır, danesinin nişastaca zengin olması, bir miktar yağ içermesi, selüloz oranının düşük olması nedeniyle bütün hayvan türlerinin diyetlerinde yüksek oranlarda kullanılır (NRC, 2001). Mısır danesinin nişasta yararlanılabilirliğinin geliştirilmesi hayvanların verim performansını artırabilir ve tahıl fiyatları yüksek olduğunda yem maliyetlerini azaltabilir. Ayrıca, tahıllarda yararlanılabilirlik düzeyinin arttırılması, hayvan ve insanlar arasındaki gıda rekabetini hafifletebilir (Ertl ve ark., 2016). Çünkü mısır tanesi, dünya genelinde insan diyetlerinin de ayrılmaz bir bileşenidir (Hasjim ve ark., 2009).

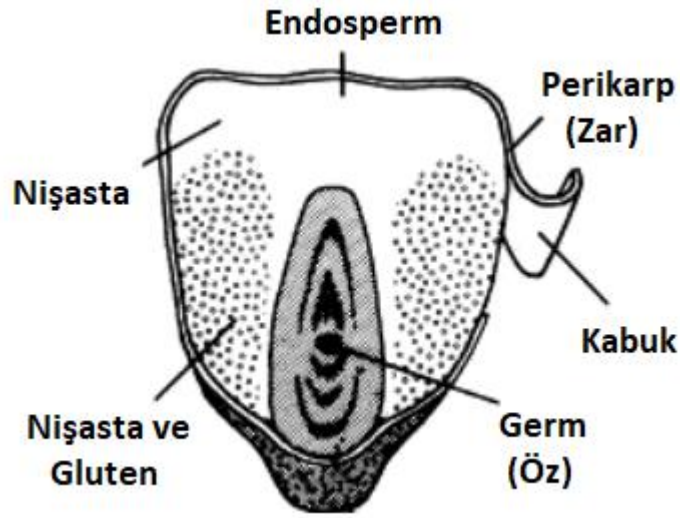
Mısır tanesinde nişasta sindirilebilirliğini iyileştirmek için öğütme, nemlendirme, mekanik basınç ve sıcaklık, hibrit tohum seçimi, GDO teknolojileri, silolama ve enzim uygulamaları gibi işlemler nişasta sindirimini iyileştirdiği bildirilmektedir (Ferraretto ve ark., 2015; Huntington, 1997; Huntington ve ark., 2006, Junior ve ark., 2016; Svihus ve ark., 2005). Tahılların işlenmesi, yem endüstrisinde nişasta sindirilebilirliğini en üst düzeye çıkarılması, protein içeriği ile yağ düzeyinin arttırılması ve hayvan performansını iyileştirmek için yaygın olarak kullanılan yöntemler arasındadır (Ertl ve ark., 2016; Zinn ve ark., 2002). Tane yemlerde, hasat olgunluğu ve nem içeriği dâhil olmak üzere perikarp ve nişasta-protein matrisi gibi birçok faktör nişasta sindirilebilirliğini etkileyebilir (Correa ve ark., 2002; Lopes ve ark., 2009; Ngonyamo-Majee ve ark., 2009).

Ruminantlarda, nişasta yararlanımını iyileştirebilecek konakçıya bağlı faktörlerin yanı sıra biyokimyasal ve fizikokimyasal yem faktörlerine ilişkin fikir edinmek, hayvan beslemede genel bir öneme sahiptir (Giuberti ve ark., 2014). Amiloz ( $\alpha$ -1,4 glikozidik bağlarıyla bağlı polisakkarit) içeriği gibi fiziksel ve kimyasal özellikler, nişasta granülünün yapısı, endosperm tipi ve nişasta-protein matrisi gibi yapılar mısır tanesinde nişasta kullanımını etkilemektedir (Giuberti ve ark., 2014).

Mısırdaki germ ve endosperm, perikarp ile çevrilidir ve bu yapı, mikroorganizmaların tanede nişasta granülleri içerisindeki nişastayı parçalaması için

bağlanmasını engelleyerek bloke eder (Kotarski ve ark., 1992; McAllister ve ark., 1994). Bu durum, mısırdan yararlanmayı azaltır.

Yüksek nemli mısır (YNM), % 25-30 oranında neme sahip tane mısırın (Şekil 2.1) hasat edilip, tane patlatma ve kırma işlemleri sonucu hava almadan silolanmasıyla elde edilen yem ham maddesidir (Ferraretto ve ark., 2013). Yüksek nemli mısırın silolanması sırasında nişasta partiküllerini saran hidrofobik nişasta-protein matrisi parçalanabilmekte ve bu durumda nişastanın rumende mikrobiyal yıkımlanmasını daha elverişli hale getirebilmektedir (Kotarski ve ark., 1992; McAllister ve ark. 1993).



**Şekil 2.1.** Tane mısır kesiti  
(Shukla ve Cheryan, 2001).

Yüksek nemli mısır, öncelikle kuru mısırla karşılaştırıldığında ruminantlarda daha yüksek nişasta sindirilebilirliği nedeniyle gelişmiş ülkelerde kullanılan bir yem maddesidir (Ferraretto ve ark., 2013; Firkins ve ark., 2001). Yüksek nemli mısırdaki besin madde kayıplarının daha az olması, nişastanın yüksek oranda sindirilebilirliği, flake mısıra göre daha ucuz elde edilebilir olması, ikinci ürün mısırların sezon olarak erken hasat yapılma zorunluluğu ile kurutma maliyetleri de dikkate alındığında bu ürünün avantajlı yönleri olduğu görülmektedir (Junior ve ark., 2017).

Ayrıca, yüksek nemli mısırın metabolik enerjisinin ortalama 3.84 Mcal/kg/KM, 2,24 Mcal/kg/NEm ve 1,56 Mcal/kg/NEg düzeylerinde olduğu belirtilmiştir (Kunishige ve ark., 2016). Farklı tane yem kaynaklarıyla beslenen laktasyondaki ineklerde toplam sistem sindirilebilirlik üzerine yapılan çalışmada, kırık dane mısırın % 85 olduğu, yüksek nemli mısırın ise % 94.2 olduğu, NDF sindirilebilirliği ise sırasıyla % 52.0 ve 50.0 olduğu belirtilmiştir (Firkins ve ark., 2001).

Yüksek nemli mısır, yetiştirici tarafından üretiminin yapılabilirliği, tane mısıra göre kayıpların düşük olması, enerji miktarının fazlalığı, ikinci ürün olarak ekilebilme avantajları, hayvan beslemede ise yüksek sindirilebilirliği nedeniyle katma değeri yüksek yem maddesidir. Yüksek nemli mısırın rumende hızlı yıkımlanması sonucu asidoz gibi metabolik bozuklukların şekillenmesi ile rumen mikrobiyotasını etkilemesi ve bunun hayvanlar üzerinde verim kayıpları gibi etkilerinin olması söz konusudur. Bu durum karşısında amilolitik, proteolitik ve antioksidant aktiviteye sahip bir probiyotik olan *B. licheniformis*'in besi hayvanlarının rumeninde rumen sağlığını arttırmaya yönelik etkilerinin olması beklenmektedir (Elshaghabee ve ark., 2017; Gong ve ark., 2018, Jia ve ark., 2018; Ouattara ve ark., 2017).

### **2.3. Hayvan Beslemede Probiyotik Kullanımı**

Probiyotikler ya da doğrudan yedirilen mikroorganizmalar (DYM) “konakçı hayvanlarda bağırsak mikrobiyal dengesini geliştirerek faydalı etkileri olan canlı yem katkı maddeleri” olarak tanımlanmıştır (Fuller, 1989). Amerika Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) ve Amerikan Yem Kontrol Yetkilileri Birliği (AAFCO), probiyotik yerine "doğrudan yedirilen mikroorganizmalar-DYM" terimini kullanılmasını zorunlu kılmış olup, DYM'lerin kullanımı için yaklaşık 42 ayrı mikroorganizma türünün onaylı olduğunu belirtmektedir (AAFCO 1999). DYM'ler, canlı mikrobiyal kültürleri, kültür ekstraktlarını, enzim preparatlarını, spesifik ve spesifik olmayan mayaları, mantarları, bakterileri ve hücre parçalarının çeşitli kombinasyonlarını içerebilir (Beharka ve ark., 1991). DYM'ler, laktik asit üreten bakteriler, laktik asit kullanan bakteriler, maya ile mantar ve diğer mikroorganizmalar olarak da



sınıflandırılabilir. Hayvanlarda kullanılacak DYM ya da probiyotikler Tablo 2.1’de belirtmiştir (Gaggia ve ark., 2010).

**Tablo 2.1.** Yemlerde Kullanılabilen Probiyotikler (Gaggia ve ark., 2010).

Cins	Tür
<i>Bacillus</i> spp.	<i>B. cereus</i>
	<i>B. licheniformis</i>
	<i>B. subtilis</i>
<i>Bifidobacterium</i> spp.	<i>B. animalis</i> subsp. <i>animalis</i>
	<i>B. lactis</i> subsp.
	<i>B. longum</i> subsp. <i>longum</i>
	<i>B. pseudolongum</i> subsp. <i>pseudolongum</i>
<i>Enterococcus</i> spp.	<i>B. thermophilum</i>
	<i>E. faecalis</i>
<i>Lactobacillus</i> spp.	<i>E. faecium</i>
	<i>L. acidophilus</i>
	<i>L. amylovorus</i>
	<i>L. brevis</i>
	<i>L. casei</i> subsp. <i>casei</i>
	<i>L. crispatus</i>
	<i>L. farmicinis</i>
	<i>L. fermentum</i>
	<i>L. murinus</i>
	<i>L. plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i>
	<i>L. reuteri</i>
	<i>L. rhamnosus</i>
	<i>L. salivarius</i>
<i>L. amylovorus</i>	
<i>Lactococcus</i> spp.	<i>L. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i>
	<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i>
<i>Leuconostoc</i> spp.	<i>L. citreum</i>
	<i>L. lactis</i>
	<i>L. mesenteroides</i>
<i>Pediococcus</i> spp. spp.	<i>P. acidilactici</i>
	<i>P. pentosaceus</i> subsp. <i>pentosaceus</i>
<i>Propionibacterium</i> spp.	<i>P. freudenreichii</i>
	<i>S. infantarius</i>
<i>Streptococcus</i> spp.	<i>S. salivarius</i> subsp. <i>salivarius</i>
	<i>S. thermophilus</i>
	<i>S. cerevisiae</i> ( <i>S. boulardii</i> )
<i>Saccharomyces</i> spp.	<i>S. pastorianus</i>
	<i>K. fragilis</i>
<i>Kluyveromyces</i> spp.	<i>K. marxianus</i>
	<i>A. orizae</i>
<i>Aspergillus</i> spp.	<i>A. niger</i>

Hayvan beslemede probiyotikler yem katkı maddeleri, rumen fermantasyonunu düzenleme, hayvanların verim performansını artırma ve antibiyotik büyütme faktörlerinin yerine alternatif olarak kullanılmasından dolayı büyük ilgi görmektedir (Elghandour ve ark., 2015).

Ayrıca, probiyotikler hayvanlarda antimikrobiyal maddeler üreterek enterik patojenlerin büyümesini ve sekonder hastalıkların gelişimini de engelleyebilmektedir (Cheng ve ark. 2018; Cheng ve ark., 2019; Luftul Kabir, 2009).

Probiyotik olarak kullanılan mikroorganizmalar 4 şekilde sınıflandırılabilir. Bunlar;

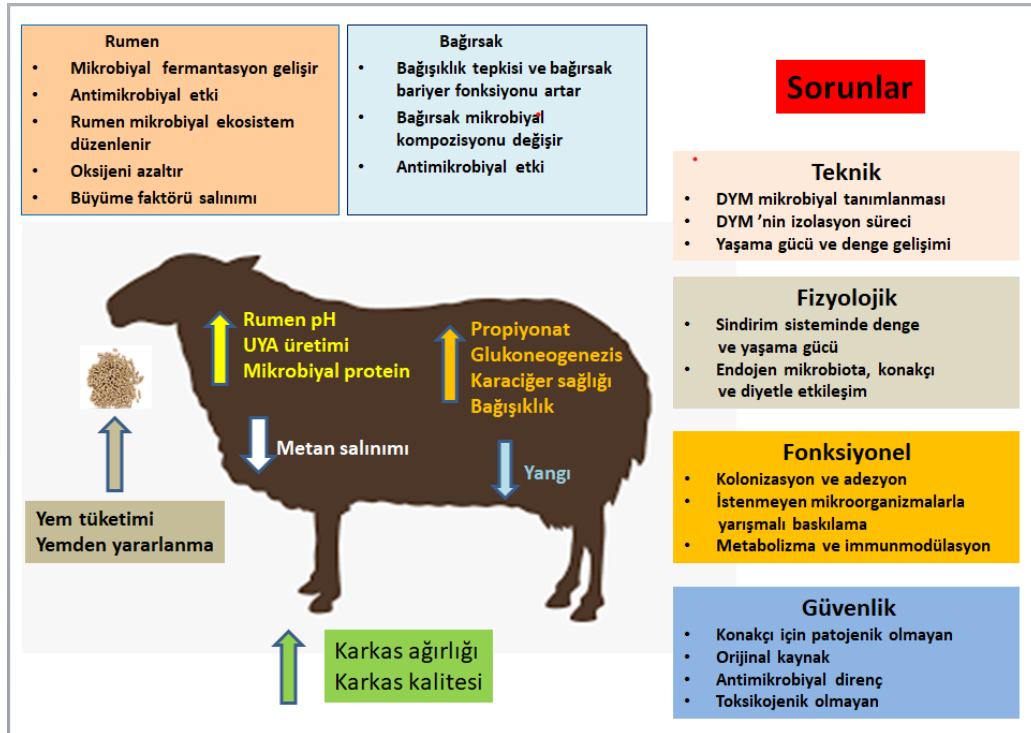
- I. Bakteri ve bakteri olmayan probiyotikler:** Bazı maya ve mantar kökenli probiyotikler dışında, kullanılan mikroorganizmaların çoğu bakteridir. Bakteriyel probiyotikler, *Lactobacillus* türleri, *Bifidobacterium*, *Bacillus* ve *Enterococcus* iken (Abdelqader ve ark., 2013; Khaksar ve ark., 2012; Mookiah ve ark., 2014; Pedroso ve ark., 2013) bakteriyel olmayan maya veya mantar probiyotikler ise *Aspergillus oryzae*, *Candida pintolopesii*, *Saccharomyces boulardii* ve *Saccharomyces cerevisiae*'dir (Bai ve ark., 2013; Daskiran ve ark., 2012; Shim ve ark, 2012).
- II. Spor oluşturan ve spor oluşturmeyen probiyotikler:** Spor oluşturmeyen suşlar *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium*, spor oluşturanlar ise *Bacillus* türleri örnek olarak verilebilir (Ahmed ve ark., 2014; Alexopoulos ve ark., 2004).
- III. Çoklu tür içeren probiyotikler ve tek tür içeren probiyotikler:** Probiyotik ürünlerin mikrobiyal bileşimi, tek bir türden çok türlü/tür bileşimlerine kadar değişebilir. Ticari ürün olarak satılmakta olan PoultryStar, *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus reuteri*, *L. salyarius* ve *Pediococcus acidilactici* türlerini içermektedir (Giannenas ve ark., 2012). Tek tür probiyotiklere ise Anta Pro EF (*E. faecium*) örnek verilebilir (Abdel-rahman ve ark, 2013).
- IV. Allohton probiyotikler ve otokton probiyotikler:** Probiyotik olarak kullanılan ve normalde hayvanların gastrointestinal sisteminde (GİS) bulunmayan mikroorganizmalara allohton denirken (mayalar gibi), normalde GİS'te bulunan mikroorganizmalara otokton probiyotikler denir (*Lactobacillus* ve *Bifidobacterium*).

Probiyotikler vücutta farklı mekanizmalarla çalışmaktadır (Kober ve ark., 2022).

Bunlar;

- (i) **GİS'in mikrobiyal popülasyonunun modifikasyonu:** Probiyotikler, *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* gibi faydalı mikroorganizmaların popülasyonunu artırabilir ve bu daha sonra inhibitör kimyasallar oluşturarak ve bağlanma bölgeleri için rekabet ederek zararlı bakterilerin büyümesini kısıtlayabilir (Mountzouris ve ark., 2009).
- (ii) **Patojenik mikroorganizmalar tarafından kolonizasyonu önlemek için GİS duvarına yapışma:** Enterik patojenlerin çoğu bağırsak epitelini kolonize edebilir ve bunun sonucunda hastalığa neden olabilir (Walker, 2000). Örneğin, *Lactobacillus* gibi probiyotikler bağırsak epiteline yapışabilir ve glikokonjugatlar (amino asitlere, proteinlere, lipitlere ve glikozitler gibi diğer küçük moleküllere kovalent olarak bağlı karbonhidratlar) gibi yapışma reseptörleri için patojenlerle rekabet edebilir (Dowarah ve ark., 2017).
- (iii) **Epitel bariyerinin güçlendirilmesi:** Deneysel çalışmalarda, *Pediococcus acidilactici* probiyotiğinin, süttten kesim sonrası domuz yavrularında enterotoksijenik *E. coli*'nin bağırsak epitelinin mezenterik lenf düğümlerine geçişinin geçirgenliğini azaltarak bağırsak bariyer fonksiyonunu iyileştirebilir (Lessard ve ark., 2008).
- (iv) **Besinlerin sindiriminde ve emiliminde artış:** Spor oluşturan bakteriler, besin sindirimini kolaylaştıran hücre dışı enzimlerin üretimini arttırır (Gangadharan ve ark., 2008).
- (v) **Bağırsaktaki besinler için patojenik bakterilerle rekabet:** Probiyotik bakteriler, enerji kaynaklarını hızla kullanarak, potansiyel olarak bakteri gelişim fazını kısaltarak besin ve absorpsiyon bölgeleri için patojenik bakterilerle rekabet edebilir (Zhao ve ark., 2015).
- (vi) **Antimikrobiyal maddelerin üretimi:** Bazı probiyotik bakteriler, özellikle laktik ve asetik asit üretenler, zararlı mikroorganizmaları baskılama yeteneğine sahiptir (Fayol-Messaoudi ve ark., 2005).
- (vii) **Patojenik mikroorganizmalarda gen ekspresyonunda değişiklik:** Probiyotikler, patojenik bakterilerin çekirdek algılamasını etkileyebilir, dolayısıyla patojenitelerini değiştirebilir.

- (viii) **Bakteriyel antagonizma:** Probiyotik mikroorganizmalar bağırsağa yerleştikten sonra, bakterisidal veya bakteriyostatik özellikler gösterebilen organik asitler, hidrojen peroksit, laktoferrin ve bakteriyosin gibi maddeler üretebilir (Pringsulaka ve ark., 2015).
- (ix) **Bakterisidal aktivite:** Lactobacillus, laktozu laktik aside dönüştürerek pH düzeyini patojenik bakterilerin yaşayamayacağı bir seviyeye düşürür. Ayrıca, canlı mayalar, nişasta parçalanmasından elde edilen şekerleri sindirmek için laktik asit üreten bakterilerle rekabet eder, böylece rumen pH'nı stabilize eder ve asidoz tehlikesini en aza indirir (García ve ark., 2019; Oh ve ark., 2017).
- (x) **İmmünomodülasyon:** Probiyotikler laktik asit bakterilerinin makrofaj aktivitesini (Shimazu ve ark., 2012) ve lokal antikor seviyelerini artırarak, anti-inflamasyon sitokinlerin (interlökin (IL)-10, interferon (IFN)-y) üretimini indükleyerek bağışıklık modülatörleri olarak hareket edebilir (Li ve ark., 2018a; Shimazu ve ark., 2012; Suda ve ark., 2021).



**Şekil 2.2.** DYM'lerin ruminantlar üzerindeki faydalı etkileri ve DYM 'lerin geliştirilmesi ve uygulanması için mevcut zorluklara genel bir bakış

(Ban ve Guan, 2021).

Hastalık durumlarında probiyotiklerin kullanımına yönelik çalışmalarda, *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus* türlerinin, enfeksiyon ve ishal durumunda hastalığa karşı direncin artırılması ve mukozal bağışıklık sisteminin uyarılması ile doğrudan bağlantılı olduğu bildirilmiştir (Macfarlane ve ark., 2008). Örneğin, *Bifidobacterium longum*, lenfosit aktivasyon mekanizması yoluyla *E. coli*'nin sebep olduğu bakteriyel translokasyonu inhibe ettiği (Yamazaki ve ark., 1985), *L. plantarum* ve *L. rhamnosus*'un flagellayı tanıyan toll-benzeri reseptörlerin yukarı doğru regülasyonu yoluyla bağırsakta *Salmonella Typhimurium*'a yanıt oluşturmak için epitel hücrelerini duyarlı hale getirdiği bildirilmiştir (Vizoso Pinto ve ark., 2009). Ayrıca, *L. rhamnosus GG* ve *L. casei DN* türleri, *E. coli*'nin yıkımladığı tight-junction (TG) proteinlerin (kan-beyin gibi endotel ve epitel hücrelerde seçici paraselüler bariyer oluşturan temel hücresel yapı) yeniden dağılmasına karşı epitel bariyer yapısını destekleyebilir (Cani ve ark., 2009; Parassol ve ark., 2005; Johnson-Henry ve ark., 2008). Ayrıca, bütirat üretimi yoluyla, kolonik mikrobiyota, epitel hücre hatlarında aşırı inflamasyonun baskılanması (Macfarlane ve ark., 2008), bağırsak bariyer fonksiyonunun iyileştirilmesi ile TG protein ekspresyonu artırması ve endotokseminin azalması gibi olumlu etkiler gösterebilir (Cani ve ark., 2009).

Zhang ve ark., (2019) Holstein buzağılarda *Lactobacillus rhamnosus* kullanımının gelişim, sağlık, rumen fermentasyonu üzerine etkilerini belirlemek için yapmış oldukları çalışmada, probiyotik kullanımının neonatal dönemdeki buzağuların yem tüketimi ve büyüme performansını arttığını ve rumen sıvısında propionat ile bütirat (mM) düzeylerinde artışa yol açtığını bildirmişlerdir.

Bağırsak mikroflorası üzerinde de etkisi olan probiyotiklerin ayrı ya da kombine olarak uygulanması sonucu, koyun, keçi, tavuk, domuz, sığır ve atlarda yem tüketimi, yemden yararlanma oranını, günlük ağırlık kazancı ve toplam canlı ağırlığı önemli ölçüde arttırdığı bildirilmiştir (Casey ve ark., 2007; Chiofalo ve ark., 2004; Li ve ark., 2006; Musa ve ark., 2009; Samli ve ark., 2007). Probiyotiklerin, piliçlerde kemik direncini artırdığı (Plavnik ve Scott, 1980), genç dişi domuzlarda açlığa bağlı infertiliteyi azalttığı belirtilmiştir (Bohmer ve ark., 2006). Diyabetik sıçanlara *B. licheniformis* ile fermente edilmiş soya küspesinin verildiği bir çalışmada, deneme grubunda kontrole göre hipokampusta  $\beta$ -amiloid plaklarının birikiminin azaldığı belirtilmiştir (Yang ve ark., 2015). Ayrıca, deneysel olarak

Alzheimer tipi demansı olan diyabetik sıçanlarda *B. licheniformis* fermente soya küspesi ile yem takviyesi yapılan grupta glikoz homeostazının geliştiği tespit edilmiştir (Yang ve ark., 2015).

Hassan ve ark., (2020a) *in vitro* anaerobik fermentasyon yolla geliştirilen *Ruminococcus flavefaciens* probiyotiğinin toz (PP) ve sıvı (PL) formunu Barki kuzularında denemişler, araştırmada ortalama 24.5 kg canlı ağırlığında 30 baş kuzu kullanılmış, deneme grupları probiyotik içermeyen kontrol grubu ile 20 g/gün/baş toz halde probiyotik içeren (PP) veya 10 ml/gün/baş sıvı halde (PL) verilecek şekilde oluşturulmuş ve deneme 75 gün sürdürülmüştür. *Ruminococcus flavefaciens* probiyotiğinin hem toz hem de sıvı uygulamalarında kontrol grubuna göre, sindirilebilirlik katsayısı, azot kullanımı, toplam uçucu yağ asitleri, rumen hacmi, mikrobiyal azot sentezini, gaz üretimi ve ortalama günlük canlı ağırlık kazancı parametrelerinde daha fazla artış olduğu bildirilmiştir ( $p < 0.05$ ). Ancak probiyotik kullanılan gruplarda, rumen amonyak azotu, asetik asit, *in vitro* metan konsantrasyonu ve protozoa sayısında azalma olduğunu tespit etmişlerdir ( $p < 0.03$ ).

#### **2.4. Ruminantlarda Spor Oluşturan Probiyotik Türlerinin Kullanımı**

Bakteri sporları, doğada zor çevresel koşullar altında uzun süre hayatta kalarak üreyebilirler (Nicholson ve ark., 2000). Spor, inaktif kromozomlu bir çekirdek içerir ve onları bir veya daha fazla protein yapıda sporlu katmanla etraflarını çevreler (Henriques ve Moran, 2007). Bunların sporları, UV radyasyondan, 80-85°C'ye kadar olan aşırı ısıdan, solvent çözücülere, hidrojen peroksit, mide de yoğun asidik durumlara ve lizozim gibi enzimlere karşı koruyabilir (Lee ve ark., 2012; Nicholson ve ark., 2000). Sporlu yapı sıvı içermez, ancak besi yeri ortamı olduğunda suyun spora girmesinden bir dakika içinde başlayan spor katlarının kırılmasından sonra vejetatif hücre büyümesinin yeniden filizlenmesini teşvik eden yeni bir süreç başlar (Moir, 2006). Bakteriyel spor oluşturucu probiyotik, yemlerde, insan diyetlerinde ve ruhsatlı ilaçlarda probiyotik takviye olarak kullanılmaktadır (Cutting, 2011). *Bacillus* türlerine probiyotik olarak bilimsel ilgi ise ancak son 15-20 yılda ortaya çıkmıştır (Cutting, 2011). En kapsamlı incelenenler *B. subtilis*, *B. clausii*, *B. cereus*, *B. coagulans* ve *B. licheniformis*'tir.

Probiyotik etkiye sahip birçok spor oluşturan bakteri, kendi etkisini ortadan kaldıran antagonist ilaçların üretimini geliştirilmesine yol açmıştır (Devyatkin ve ark., 2021). Basil sporları gastrointestinal sisteme girdikten sonra bölünme sürecinde, normal florada kendilerine duyarlı patojenik ile fırsatçı mikroorganizmaları parçalayıp yıkıp ve kendilerini temsil edecek kompleks biyolojik aktif maddeler üretmeye başlarlar (Cameron ve McAllister, 2019). Basiller, bölünme sürecinde amilaz, proteaz, lipaz, hemiselülaz ve düzenleyici peptitler sentezlerler. Bu sentezledikleri maddeler mide salgısında da bulunarak, sindirim süreçlerinin normalleşmesine katkıda bulunurlar (Devyatkin ve ark., 2021). Ayrıca, basil probiyotikler oral yoldan verildiğinde, patolojik olarak bozulan bağışıklık durumu iyileştirerek, endojen interferon üretimini ve monosit makrofajlar ile nötrofillerin işlevselliğini arttırarak, makroorganizmanın spesifik olmayan ve spesifik direncini önemli ölçüde arttırırlar (Magomedaliev ve ark. 2019). *Bacillus licheniformis* cinsi bakteriler çeşitli proteinler, peptitler, enzimler ve vitaminler üretmektedir (Kim ve ark. 2009). Ayrıca, patojenik mikroorganizma ve virüsleri baskılayan, bağırsak mikrobiyotasının normalleşmesine, daha iyi gıda sindirimi ile gıda ve kimyasal toksisitenin ortadan kaldırılmasına yol açan vücutta interferon üretimine katkıda bulunurlar (Devyatkin ve ark., 2021).

*Bacillus* türleri, genellikle toprak, su ve hava ile ilişkili, spor oluşturan, Gram (+) mikroorganizmalardır (Gaggia ve ark., 2010). *Bacillus* spp. türü probiyotikler patojenik olmayan katkı maddeleri olarak tanımlanmış olup, spor üreterek olumsuz çevre koşullarına uyum sağlayabildikleri için yemlerde yaygın olarak kullanılmaktadır (De Boer ve ark, 1994; Hong ve ark., 2005). Spor oluşturan bakterilerden yapılan katkı maddeleri, yem üretimi ve depolama süreçleri sırasında oluşan strese karşı daha yüksek dirence sahiptir (Hyronimus ve ark., 2000). Ayrıca, sporlar düşük mide pH'sında bile hayatta kalabilmekte (Barbosa ve ark., 2005; Spinosa ve ark., 2000), ancak bu durum tüm *Lactobacillus* türleri için geçerli değildir (Tuohy ve ark., 2007). Spor üreten probiyotikler insanlarda gıda takviyesi olarak, hayvanlarda büyümeyi hızlandırıcı ve su ürünleri yetiştiriciliğinde büyüme ve hastalıklara karşı direncin arttırılması amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır (Cutting, 2011).

*Bacillus* spp. türleri probiyotikler, vejetatif hücreler tarafından salgılanan hücre dışı enzimler üreterek, hayvanların sindirim sisteminde besin madde sindiriminde artışına yol açmaktadır (Davis ve ark., 2008; Jorgensen ve ark., 2015; Leser ve ark., 2008). *Bacillus* spp. türü probiyotiklerin konakçı canlıının mikrobiyal dengesi, sindirim işlemleri ve bağışıklığının iyileştirilmesinde kullanıldığı bildirilmiştir (Jia ve ark., 2018). Qiao ve ark., (2010) sütçü sığırlarda canlı *Bacillus* türü probiyotiklerin süt verimi ve rumen fermentasyonu üzerine etkilerini inceledikleri çalışmada, *B. licheniformis* 'in süt verimi ve proteini ile duodenuma mikrobiyal protein akışını, NDF, asit deterjan lif (ADF) ve organik maddelerin besin sindirilebilirliğini arttırdığı bildirmiştir.

*B. subtilis* gibi probiyotikler rasyondaki karbonhidrat ve protein yıkımlanmasında, rumende amilolitik ve proteolitik bakteri popülasyonları, rumen fermentasyonu ve toplam uçucu yağ asitleri (UYA) konsantrasyonunu artırmada, ayrıca *Lactobacilli*'nin çoğalmasını teşvik amaçlı probiyotik olarak kullanılmaktadır (Ban ve ark., 2021; Chiquette ve ark., 2012; Souza ve ark., 2017).

Ruminantlarda probiyotik kullanımı, rumen mikroorganizmalarını etkileyerek ve hayvanlara zararı olmadan metan (CH<sub>4</sub>) üretimini azaltabileceği yönünde çalışmalar bildirilmiştir (Gang ve ark., 2020; Sun ve ark., 2021). Küresel ısınmaya sebep olan CH<sub>4</sub>, CO<sub>2</sub>'den sonra en güçlü ikinci sera gazıdır. Ruminantlardan salınan metan emisyonu, tüm antropojenik kaynaklardan gelen toplam metan emisyonlarının yaklaşık %18'ini oluşturduğu bildirilmiştir (Mizrahi ve ark., 2021). Rumende, fermentasyon sırasında oluşan metabolik hidrojen, metanojen mikroorganizmalar tarafından kullanılarak metan üretilmektedir (Hassan ve ark., 2020b). Koyunların rumeninde H<sub>2</sub> ve CO<sub>2</sub> kullanılarak üretilen CH<sub>4</sub>'ın % 87'sinden fazlası, metanojenik arke, siliatlı protozoa, bakteri ve anaerobik mantarlardan oluşan bir topluluk tarafından üretildiği tahmin edilmektedir (Martin ve ark., 2010; Murray ve ark., 1976). Yemlerin rumende fermentasyonu sırasında oluşan CO<sub>2</sub> ve H<sub>2</sub> gibi bazı yan ürünler, *Methanopyrales*, *Methanomicrobiales*, *Methanobacterales*, *Methanococcales*, *Methanocellales* ve *Methanosarcinales* gibi bazı metanojen mikroorganizmalar tarafından CH<sub>4</sub>'e dönüştürülür (Hassan ve ark., 2020b). Bazı arkeler (*Methanoplasmatales* veya *Thermoplasmatales*), metanol ve mono-, di- ve tri-metilamin gibi diğer substratlar yoluyla da CH<sub>4</sub> oluşturabilir (Paul ve ark., 2012).



Metan emisyonu, konakçı hayvanın kullanabileceği brüt enerjinin % 2 ile 12 'sinin kaybolmasına ve dolayısıyla et ile süt veriminin azalmasına yol açmaktadır (Johnson ve Johnson, 1995). Besi hayvanlarında da rumen mikrobiyomunu manipüle edilmesi ile üretim düzeyi artarken çevresel zararı azaltmaya yönelik yaklaşımlar yapılması sera gazı düzeyinin azalmasına yol açabilir (O'hara, 2019). Metan emisyonlarının düşürülmesi çevreye ve muhtemelen hayvancılık üretiminde verimliliğe fayda sağlayacaktır (Tapio ve ark., 2017).

## 2.5. Probiyotiklerin Ruminantlarda Kan Parametreleri Üzerine Etkisi

Canlıların gelişim süreci, yaş, cinsiyet, genotip ve beslenme şekli gibi faktörlerden etkilenmektedir (Barkawi ve ark., 2009). İnsülin benzeri büyüme faktörleri (IGF 'ler), yapı ve işlev açısından oldukça benzer olan bir ligand ailesine (IGFI, IGF2 ve insülin) aittir (LeRoith ve Yakar, 2007). Kas gelişimi, IGF-I tarafından kontrol edilen protein sentezi ve yıkılma oranının bir sonucu olarak ortaya çıkmaktadır (Gatford ve ark., 1996; Oksbjerg ve ark., 2004). Bazı araştırmacılar büyümekte olan kuzularda plazma IGF-I konsantrasyonunun, gelişim sürecinde dikkate alınması gereken fizyolojik bir cevap olabileceğini bildirmektedir (Medrano ve Bradford, 1991; Gatford ve ark., 1996, 1997; Whisnant ve ark., 1997). Ayrıca Moore ve ark., (2005) besi sığırlarında, IGF-I'i yem yararlanımı daha fazla olan sığırları seçmek için potansiyel olarak kullanılabilmesi de öne sürmüştür. Büyüme hormonu (GH)–IGFI eksenini, normal büyüme ve gelişme döneminde merkezi bir role sahiptir (Lupu ve ark., 2001). Ayrıca IGF-I, GH reseptörüne bağlandıktan sonra, büyüme ve metabolizmayı kontrol eden genlerin transkripsiyonel aktivasyonuna veya baskılanmasına yol açan sinyal yollarını aktive etmektedir (LeRoith ve Yakar, 2007). Esas olarak hepatositler tarafından dolaşıma salınan IGFI, GH'ye yanıt olarak salınan ana üründür; hayvan ve hücre kültürü çalışmalarının sonuçlarından, GH'nin büyümeyi teşvik edici etkilerinin çoğunun IGFI üzerinden aracılık ettiğine inanılmaktadır.

Probiyotiklerin immünoglobulin düzeylerini arttırarak immunité üzerine olumlu etkilerinin olduğu bilinmektedir. Zhang ve Kim, (2014) tarafından yapılan bir çalışmada *L. acidophilus*, *B. subtilis* ve *C. butyricum* gibi birden çok suş içeren

DYM kullanımının, tavuklarda serum immunoglobulin A (IgA) ve immunoglobulin M (IgM) seviyelerini arttırdığı belirtilmiştir. Başka bir etlik piliç çalışmasında diyetle *B. subtilis* içeren probiyotik eklenmesinin koyun kırmızı kan hücresi uygulamasına karşı antikor yanıtını artırmıştır (Afsharmanesh ve Sadaghi, 2014). Ancak Lhteinen ve ark., (2014) yapmış olduğu bir çalışmada, sütten kesilmiş domuz yavrularında oral olarak *L. brevis ATCC 8287* verilmesinin gruplar arasında herhangi bir farklılığa neden olmadığını bildirmişlerdir.

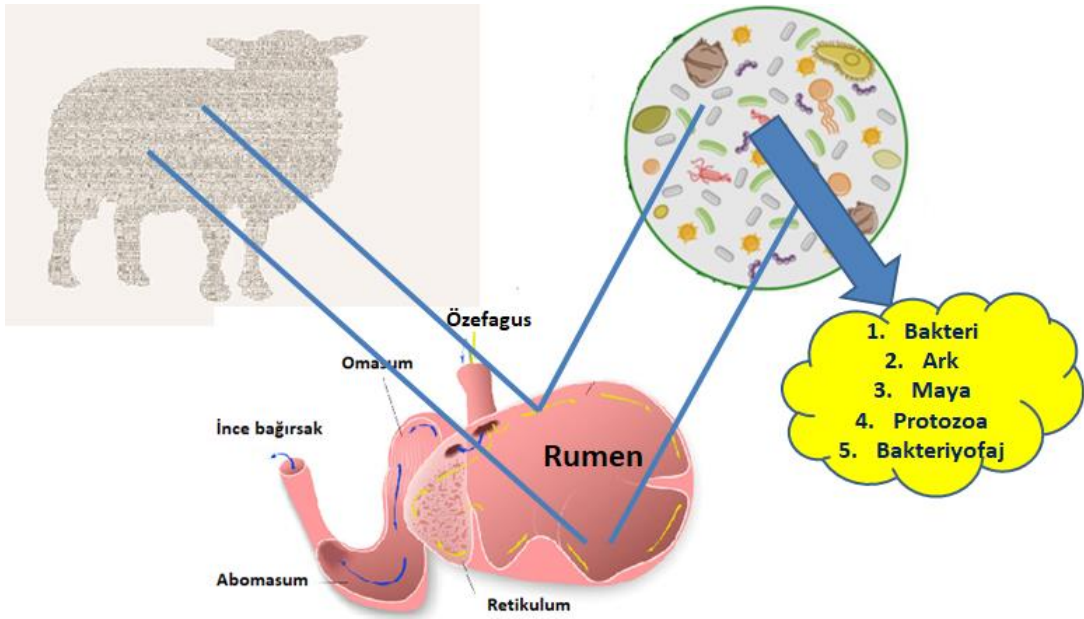
Bağırsak mikrobiyotası konakçı bağışıklık sistemi ve bağışıklık düzeyiyle de yakından ilişkilidir (Hua ve ark., 2016). Regulatory (düzenleyici) T hücreleri tarafından üretilen IgA, bağırsak mikrobiyomunu kontrol eder (Chida ve ark., 2021). Çoğu memelinin mukozal doku ve kan serumunda bulunan IgA, patojenlerin ortadan kaldırılması için savunma hattını oluşturur (Woof ve Kerr, 2004).

Canlı hücrelerinde oksidatif metabolizma sonunda oluşan peroksidasyonda, oksidatif hasara yol açan reaktif oksijen türleri ve serbest radikaller oluşur (Schogor ve ark., 2013). Hücreler, metal katalizörlerle reaksiyona girerek daha reaktif bileşiklerin oluşmasını önlemek için peroksitleri ve speroksitleri ortadan kaldıran antioksidanlar (AO) ve süperoksit dismutaz (SOD), glutasyon peroksidaz (GPX) ve katalaz (CAT) gibi hücre içi enzimler tarafından korunurlar (Miller ve ark., 1993). Oksidatif hasara karşı koymak için, çok çeşitli antioksidan enzim aktiviteleri ile antioksidan potansiyel sergileme kapasitesi açısından probiyotiklere önem verilmektedir. Yüksek antioksidatif kapasiteye sahip probiyotiklere ilaveten laktik asit bakterilerinde probiyotik olarak kullanıldığı çalışmalarda bunların yüksek antioksidan aktivite sergilediği belirtilmiştir (Kullisaar ve ark., 2002; Shimamura ve ark., 1992; Tang ve ark., 2018). Eklenen probiyotiklerin antioksidan kapasitesi, sütten kesim sonrası strese giren besi hayvanlarında konağın antioksidan aktivitesini modüle edebilir ve performans üzerine olumlu etki oluşturabilir.

## **2.6. Rumen Biyolojisi**

Rumen, içerisinde birçok fonksiyonel hizmeti sağlayan bakteri, ark, mantar, bakteriyofaj ve protozoa içerir (Rey ve ark., 2014). Rumen mikrobiyomu, bakteri

( $10^{11}$  hücre/ml), protozoa ( $10^4$  ila  $10^6$  hücre/ml), mantar ( $10^3$  ila  $10^6$  zoospor/ml), ark ( $10^6$  hücre/ml) ve bakteriyofajlardan ( $10^7$  ila  $10^{10}$  partikül/ml) oluşur (Morgavi ve ark., 2013). Bu organdaki mikrobiyal topluluklar, yemden gelen sindirilemeyen yapısal polisakkaritleri yararlanılabilir bileşiklere dönüştürerek konakçının yeterli enerji elde etmesine ve hayvanların büyümesine katkı sağlarlar (Mackie, 2002). Ayrıca rumen, insan tüketimi için et ve süt gibi gıdaların oluşumuna katkı sağlayan bir sürecin parçası olduğu için de çok önemlidir. Rumen mikrobiyomunun yapısını ve fonksiyonunun anlaşılması ruminant sindirim sisteminin verimliliğinin gelişmesi yönünden önemlidir (Li ve ark., 2020a).

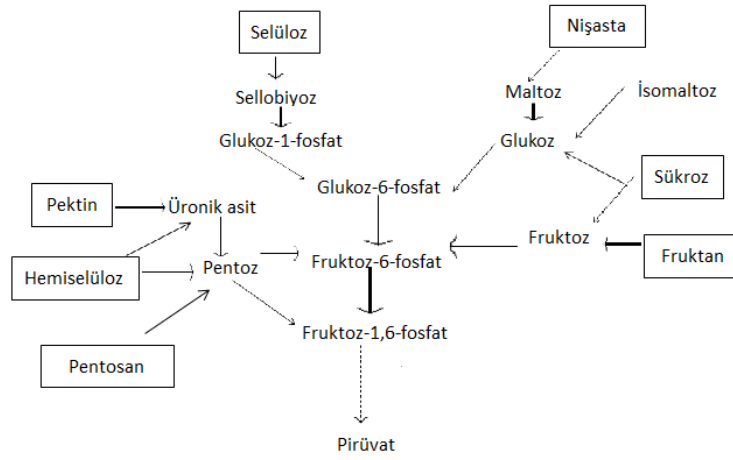


**Şekil 2.3.** Rumen ortamındaki mikroorganizmalar

(Xu ve ark., 2021).

Rumen florasında mikrobiyomlar ile birlikte protozoonlar da faaliyet gösterir ve bunlar rumende mikrobiyal kitlenin yaklaşık % 50'sini oluşturabileceği bildirilmiş olsa da (Hungate ve ark., 1971), son zamanlarda bu oranın daha düşük olabileceği öne sürülmüştür (Wenner ve ark., 2018). Protozoonlar genellikle mikroorganizmaları tüketir ve proteolitiklerdir, bu şekilde rumende dengenin oluşmasında büyük rol oynarlar. Rasyonda az miktarda azotlu bileşikler varsa, bakterilerin avlanma ve protozoal lizisi rumende mikrobiyal proteinin geri dönüşümüne yol açar ve protozoa sayısı ile ruminal amonyak arasında doğrudan bir ilişki oluşturur. Rumende yemlerin sindirimi üzerinde olumlu etkilerinin olabileceği bildirilen protozoalar, hayvanlar

yüksek oranda tahıllı rasyonlarla beslendiğinde, substrat için ruminal amilolitik bakterilerle rekabet ederek ve nişasta fermantasyon oranını azaltarak nişasta granüllerini hızla yutabilir, böylece metabolik problemlerden korunabilirler (Grüniger ve ark., 2019; Huws ve ark., 2018). Bununla birlikte, rasyon tahıllarla zengin ise, nişasta tanelerinin protozoalar tarafından yutulması ile nişasta fermantasyon hızı yavaşlayabilir ve pH dalgalanmaları düzene girer bu durum sonucu hayvan asidozdan korunabilir (Newbold ve ark., 2015; Owens ve ark., 1998; Russell, 2002; Yokoyama ve Johnson, 1988).



**Şekil 2.4.** Rumende karbonhidratların piruvata dönüşümü

(McDonald, 2011).

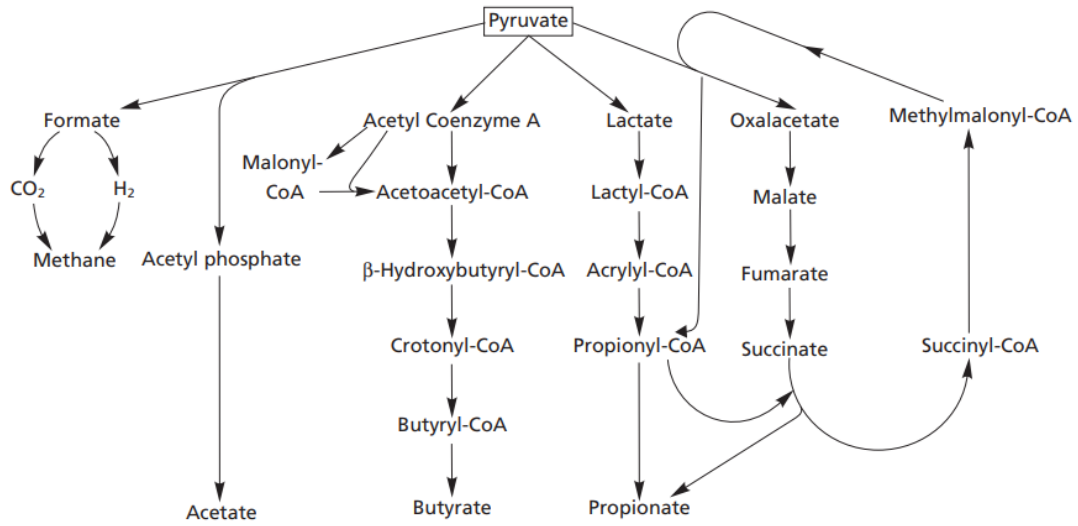
Rumen mikroorganizmaları, yemlerdeki protein, karbonhidrat, nişasta, şeker ve yağın sindiriminde görev alarak, konakçı hayvan rumeninde anaerobik fermantasyon yoluyla UYA ve mikrobiyal protein oluşturarak hayvanın enerji ve protein ihtiyacının karşılanmasında önemli bir rol oynamaktadır (Jiang ve ark., 2015; Li ve ark., 2020b). Yüksek konsantre yem içeren rasyonlar, ruminantlar için ana enerji kaynağı olan UYA'lar gibi organik asitlerin rumende hızlıca üretimine yol açan karbonhidratlar bakımından zengindir (McCann ve ark., 2016). Ruminantlarda UYA, hayvanların enerji gereksinimlerinin yaklaşık %70 'ini oluşturur (Bergman, 1990). Rasyonunda yapılan değişiklikler, rumen mikrobiyal florasında fermantasyon için sağlanan substrat türünü değiştirerek, UYA bileşenleri arasında da değişiklikler oluşmasına yol açar (France ve Dijkstra, 2005). UYA rumende karbonhidratların yıkılmasının son ürünleridir ve bunların arasında asetat, propiyonat ve bütirat

yüksek oranda bulunduğu için en önemlileri sayılabilir (Zhang ve ark., 2020a), oluşan bu UYA'ların farklı işlevleri bulunmaktadır (Bergman, 1990). UYA'lar içinde asetat baskındır, ancak önemli miktarlarda propiyonat ve butiratta her zaman mevcuttur (Dziuk, 1984; Hadjipanayiotou ve Antoniose, 1983; Van der walt, 1977). Valerat ve diğer asitler genellikle toplamın ~%5'ini oluşturur. Ancak tahıl taneleri gibi nişasta bakımından zengin rasyonlar propiyonat üretimini artırır ve genel olarak hızla fermente edilen ya da fermente rasyonlar daha az asetata neden olur. Asetik asit genellikle ATP ve lipid sentezi için kullanılırken, propiyonik asit karaciğerde glukoneogenezde ve bütirik asit ise enerji kaynağı olarak kullanımı için rumen epimural tabakasındaki enzimler tarafından enerji kaynağı olarak kullanılmak üzere bir ketona dönüştürülerek vücutta birçok dokuda farklı işlevlerde kullanılmaktadır (Bickhart ve Weimer, 2018). Laktat ise, piruvattan üretilebilir (Kern ve ark., 1964; Glinsky ve ark., 1976); laktik asit üretimi esas olarak laktobasillerin büyümesine ortam hazırlayan pH'nın düşmesinde etkili olur. Rumen pH'sı genellikle 5.8-6.8 aralığındadır, ancak hızlı bir fermantasyon olduğu zaman pH <5.0'a düşebilir.

Ruminantlarda, yüksek miktarlarda fermente olabilen karbonhidratın tüketilmesi ve/veya etkin lifin oranı düşük rasyonların tüketilmesi de belirgin bir pH düşüşüne neden olup ve böylece yüksek laktat konsantrasyonları subklinik ve hatta sistemik asidoza neden olabilmektedir (Counotte ve Prins, 1978; Dunlop, 1972; Plaizier ve ark., 2008). Rumendeki UYA 'ların da hızlıca birikimi rumen tamponlama kapasitesini azaltıp metabolik bozukluklara yola açabilir ve en başta subakut rumen asidozuna (SARA) sebep olmasıyla rumen florasında bakterilerin topluluk yapısı ve çeşitliliği değiştirebilmektedir (Mao ve ark., 2016). Bu durumun, hayvanlarda süt üretiminde azalma, iştahsızlık, ishal, dehidrasyon, rumen motilitesi ile lif sindirilebilirliğinde bozulmalara yol açtığı ve ayrıca ekonomik olarak da çok önemli olduğu bilinmektedir (Duffield ve ark., 2004; Plaizier ve ark., 2008). Probiyotikler, ruminal asidozun önlenmesinde veya tedavisinde de etkilidir. Lettat ve ark., (2012) koyunlarda üç gün boyunca yoğun konsantre (buğday, mısır ve pancar posası) yem uygulamasını takiben yapay asidoz oluşturulup, *Propionibacterium P63*, *L. plantarum suşu* ve *L. rhamnosus suşu* rumen kanülü ile  $1 \times 10^{11}$  cfu/hayvan/gün oranında bir dozda rumene direkt olarak uygulanması takiben, rumen pH'ını stabilize etmede etkili olduğunu bildirilmişlerdir. Benzer şekilde, laktasyondaki Holştayn ineklerin rasyonuna *S. cerevisiae* katılması rumenindeki laktik asit konsantrasyonunu

azaltmış (Marden ve ark., 2008), bu da rumen asidozunu önleyebileceği şeklinde değerlendirilmiştir (Throne ve ark., 2009).

Uçucu yağ asitlerinin rasyonla orantılı olarak farklılık gösterdiği bilinmektedir. Yüksek enerji düzeyine sahip rasyonlar, mikrobiyal gelişim ve metabolizma için yeterli enerjiyi sağladığı için mikrobiyal protein sentezini teşvik edebilmektedir (Bach ve ark., 2005; Owens ve Başalan, 2016). Rumen mikroorganizmalarıyla ilişkili besin maddelerinin biyolojik yolları, konağın bakımını, büyümesini ve performansını önemli ölçüde etkileyebilir. Buna karşılık, konakçı, mikroorganizmalarının gelişebildiği hem anaerobik hem de substrat açısından zengin bir ortam sağlar. Bu simbiyotik ilişki hem konakçıya hem de mikrobiyotaya fayda sağlar. Yemin türü ve bileşimi, konak yaş ve sağlığı, çevre sıcaklığı ve konum dâhil olmak üzere rumendeki mikrobiyal bileşimini etkileyebilir (Bryant, 1959; Von Keyserlingk and Mathison, 1993). Karbonhidratların rumen mikrobiyotası tarafından uçucu yağ asitlerine dönüştürülmesi, mikrobiyal enzimin katılımıyla gerçekleşmektedir (Kamke ve ark., 2016).



**Şekil 2.5.** Rumende pirüvatın uçucu yağ asitlerine dönüşümü

(McDonald, 2011).

Rumen protozoaları holotrichler ve entodiniomorflar olmak üzere iki ana tipe bulunan siliatlardır (Coleman, 1975; Hungate, 1966). Holotrich protozoaların

bakterileri tükettiği, ancak yem maddesi rumene ilk girdiği anda şekeri hızla emdiği bildirilmiştir (Bergman, 1990). Rumende glukozun bir kısmı fermente olur eğer yüksek oranda glukoz mevcutsa bunlar protozoa içinde nişasta olarak depolanır. Ortamda glukoz bittiğinde, protozoa içindeki nişasta sindirilip fermente eder ve böylece enerjinin kullanılabilirlik süresi uzar. Entodiniomorfların besinleri selüloz, nişasta ve bakterilerden oluşmaktadır.

Kim ve ark., (2018) indirgeyici asetojenik bakterilerin [asetojen probiyotikler (AP)] ve laurik asidin (LA) Hanwoo sığırlarında in vivo rumen fermentasyonu ve mikrobiyal popülasyonlar üzerindeki etkisini değerlendirme amacıyla yaptıkları çalışmada ortalama 392 kg canlı ağırlığında dört baş hayvanı, 4 x 4 Latin kare deneme düzenine göre gruplandırmışlardır. Metabolik kafeslere yerleştirilen sığırlar konsantre yem ve pirinç samanı ile beslenmiş; deneme grupları, i) asetojenik bakteri ve laurik asid katılmayan kontrol grubu; ii) bazal yeme 40 g laurik asid karıştırılmış deneme (T1) grubu; iii) bazal yeme 40 g asetojenik bakteri katılan deneme (T2) ve iv) bazal yeme 40 g asetojenik bakteri ile 40 g laurik asid katılan grup deneme (T3) grubu olacak şekilde oluşturulmuştur. Onbeş gün alıştırmadan sonra 6 gün besleme yapılan deneme gruplarındaki hayvanların rumen asetat, propiyonat ve bütirat konsantrasyonlarının kontrole göre daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Çalışmada asetojenik bakteri ve laurik asid eklenen gruplarda, kontrole göre CH<sub>4</sub> emisyonunun azaldığı bildirilmiştir (p < 0.01). Metanojenler, protozoalar ile simbiyotik yaşam sürdürdüğü için protozoa sayısında azaldığı, asetojenik bakterilerin tek başına veya laurik asitle birlikte verildiğinde metanojen popülasyonunu azalttığını (p < 0.05), tek başına laurik asit takviyesi ise metanojen popülasyonunu arttırdığını bildirmişlerdir (p < 0.05).

## **2.7. Rumen Papilla Gelişimi**

Yemlerin son fermentasyon ürünleri olan UYA ile mineraller gibi besinler rumen epitel duvarından emilir ve daha sonra hayvanlar tarafından kullanılır. Rumen de UYA'nın % 75'inden fazlası rumen epiteli tarafından emilir ve enerji kaynağı olarak kullanılır (Na ve Guan, 2022), bu nedenle ruminantların büyüme ve gelişiminde rumen epitel absorpsiyonu önemli bir rol oynar. Rumen epiteli,

bağırsaktaki villüsler gibi besin maddelerini verimli bir şekilde emmek için yüzey alanını genişleten papillalara sahiptir (Meyer ve ark., 2014). Neonatal hayvanların katı yemlere geçişinden sonra yemlerin fiziksel uyarıları rumen ağırlığını artırır ve UYA gibi fermantasyon ürünlerinin kimyasal uyarıları rumen papillasının gelişim ve keratinizasyonuna katkı sağlar (Baldwin ve Connor, 2017).

Besinlerin rumen ve ince bağırsaklar boyunca emilmesinde görev alan papilla ve villuslar sindirim sisteminin temel unsurlarındandır (Iji ve ark., 2001; Suo ve ark., 2012). Rumen ve ince bağırsağın sindirimdeki rolü ve etkisi, özellikle rumen papillasının ve ince bağırsak villusunun şekli ve boyutu olmak üzere mukozal yapıları ile yakından ilişkilidir (Thomsen ve ark. 2006). Kuzu veya buzağılarda, yüksek oranda fermente edilebilir karbonhidratça zengin başlangıç yemlerin tüketimi, rumen de uçucu yağ asitlerinden özellikle bütirik ve propiyonik asit olmak üzere konsantrasyonlarını arttırarak rumen epitelinin hızlı gelişimini uyarabilmektedir (Baldwin ve ark. 2004; Mirzae ve ark. 2015; Suarez-Mena ve ark. 2015). Dane veya kırık mısır verilerek rasyon oluşturulan besi kuzularında dane mısır verilen hayvanlarda rumen papilla epiteli ve yüzey alanının arttığı bildirilmiştir (Wang ve ark., 2022). Sütten kesilmiş oğlaklarda *Bacillus amyloliquefaciens* C-1 probiyotik ilavesinin, rumen gelişimini artırdığı ve bağırsakları iyileştirdiği ifade edilmiştir (Du ve ark., 2018).

Rumen epiteli ile diğer organlar arasındaki sistemik etkileşimi anlamaya yönelik gelecekte yapılacak olan çalışmalar, yem verimliliği üzerindeki sistemik rolünü belirlemek için hayati önem taşıyacaktır (Na ve Guan, 2022).

## **2.8. Ruminant Sindirim Sisteminde Mikrobiyota**

Hayvanların gastrointestinal sisteminde (GI), mikrobiyota olarak bilinen bakteri, arkeler, protistler, mantarlar ve virüsler dâhil olmak üzere trilyonlarca çeşitli mikroorganizma bulunmaktadır (Aggeletopoulou ve ark. 2019; Clavijo ve Flórez 2018). Bu sistem içerisindeki mikrobiyota, besin sindirimine, metabolizmasına ve emilimine yardımcı olarak, patojenlerin uzaklaştırılması ile bağışıklık düzeyinin arttırılmasını teşvik ederek konakçı sağlığının korunmasında kritik bir rol oynar



(Aggeletopoulou ve ark., 2019; Clavijo ve Flórez 2018). 16S rRNA gen dizilimi, metagenomik, metatranskriptomik ve metametabolomik gibi mikrobiyom analiz tekniklerindeki ilerlemeler, mikrobiyal topluluğun yapısının ve işlevinin ayrıntılı olarak anlaşılmasına imkân sağlamaktadır (Knight ve ark., 2018; Johnson ve ark., 2016; Zhang ve ark., 2019).

Bir mikrobiyal topluluğun işlevlerini daha fazla ortaya çıkarmak için metagenomik, metatranskriptomik, metaproteomik ve metametabolomik gibi meta-omik teknolojiler kullanılabilir (Nyholm ve ark. 2020). Bunlar, mikrobiyal topluluktaki farklı mikrobiyal genomları (bir organizmanın kalıtım materyalinde bulunan genetik şifrelerin tamamı ya da bir canlının gen ve kromozomlarındaki genetik materyal), RNA transkriptlerini, proteinleri ve metabolitleri ölçerek, mikrobiyotanın işlevsel ve metabolik aktiviteleri ve çevre ile etkileşimleri hakkında bilgi sağlar (Kogut ve Zhang, 2022).

## **2.8.1. Mikrobiyom Analizleri**

### **2.8.1.1. Mikrobiyom Analizinde Temel Kavramlar**

Mikrobiyom, belirli fizyokimyasal özelliklere sahip, makul ölçüde iyi tanımlanmış bir habitatı yerleşen mikrobiyal bir topluluk, olarak tanımlanır ve bu mikrobiyal topluluğa, mikrobiyal yapısal elementler ile metabolitler ve çevresel koşullar da dahil olmaktadır (Berg ve ark., 2020; Whipps ve ark., 1988). Mikrobiyota, bakteri, mantar, virüs, arke ve protistler de dâhil tüm canlı mikroorganizmaların temsil edilen mikrobiyomun mikrobiyal topluluğunu ifade eder (Berg ve ark., 2020).

Mikrobiyal ekolojistler tarafından Shannon, Chao, Ace ve Unifrac gibi mikrobiyal türlerin bolluk matrislerini azaltmak için çeşitli indeksler kullanılmaktadır (Lozupone ve ark., 2011; Morris ve ark., 2014). Bu indeksler, bir mikrobiyal topluluğun çeşitliliğinin alfa ve beta çeşitlilik ölçümünde yaygın olarak kullanılan ölçülerdir. " $\alpha$  çeşitliliği" tek bir numunedeki mikrobiyal popülasyonların

çeşitliliği ve " $\beta$  çeşitliliği" örnekler arasındaki mikrobiyal popülasyonların çeşitliliği gibi parametreleri tahmin etmek için kullanılmaktadır (Lozupone ve ark., 2011).

Alfa çeşitliliği, bir topluluk içindeki tür çeşitliliğini ifade eder ve zenginlik ve düzgünlük ile ölçülür (Whittaker, 1972). Zenginlik, bir topluluktaki tür sayısını tahmin eder ve gözlemlenen türlerin sayısı, Chao1 ve bolluğa dayalı kapsama tahmin edicileri (ACE) vs. ile ölçülebilir (Hughes ve ark., 2001; Knight ve ark., 2018). Düzgünlük, bir topluluk içindeki türlerin düzgünlüğünü karakterize eder (Whittaker, 1972). Bir mikrobiyal topluluğun hem düzgünlüğünü hem de zenginliğini ölçmek için Shannon indeksi ve Simpson indeksi sıklıkla kullanılır (Knight ve ark. 2018). Beta çeşitliliği, ikili mesafe ölçümlerini hesaplayarak mikrobiyal topluluklar arasındaki farklılıkları değerlendirir (Knight ve ark., 2018; Whittaker, 1972). Jaccard ve ağırlıklandırılmamış UniFrac, mikrobiyal türlerin varlığını veya yokluğunu ölçen beta çeşitliliğinin nitel ölçümleridir; Bray-Curtis ve ağırlıklı UniFrac gibi nicel indeksler, türlerin bolluğunun yanı sıra varlıklarını veya yokluklarını da hesaba katar (Knight ve ark., 2018). Jaccard veya Bray-Curtis'in aksine, UniFrac mikrobiyal topluluklar arasındaki mesafeyi ölçerken türlerin filogenetik ilişkilerini dikkate alır (Lozupone ve Knight, 2005).

### **2.8.1.2. 16s rRNA Gen Dizilemesi**

Küçük alt birim ribozomal RNA (rRNA) genlerinin PCR amplifikasyonu gibi moleküler yöntemler, bakteri topluluklarının kültürden bağımsız profillenmesine imkan vermiştir (Suo ve ark., 2012). Amplikon dizilimi olarak da bilinen 16S rRNA gen dizilimi, bakterilerde 16S rRNA geninin her yerde bulunmasından ve yüksek dizi korumasından yararlanarak bakteri profili oluşturmak için en yaygın kullanılan teknolojidir (Janda ve Abbott, 2007). Çoğunlukla korunmuş olmasına rağmen, 16S rRNA geni, aşırı derecede korunmuş bölgeler arasında serpiştirilmiş ve bakteriyel tanımlama için korunmuş bölgelerde bulunan evrensel primerlerle hedeflenebilen dokuz "hiperdeğişken" bölgeye (V1-V9) sahiptir (James, 2010).

### 2.8.1.3. Meta-omik Analiz Teknikleri

- **Metagenomik**, bir mikrobiyal topluluğun genom çeşitliliğini ve işlevlerini ortaya çıkarmak için mikrobiyal DNA'yı sıralamak, birleştirmek, sınıflandırmak ve açıklanması için tüm genom dizileme ve hesaplama araçlarını kullanır (Handelsman, 2004; Oulas ve ark., 2015). 16S rRNA geninin bir parçasını sıralamak yerine, metagenomik, mikrobiyal genomik DNA'nın tüm koleksiyonunu kesip sıralar, böylece mikroorganizmaların suş düzeyinde tanımlanmasına izin verir ve daha ayrıntılı genetik bilgi sağlar (Knight ve ark., 2018). Metagenomik, hayvan beslenmesinde önemli bir rol oynayan rumen mikrobiyal topluluğunun geniş yapısal ve işlevsel çeşitliliğini ortaya çıkarır. Burada, rumen mikroorganizma dinamikleri bilgisini artıran ve daha sonra hayvancılık üretimini iyileştirmek ve metan emisyonlarını azaltmak için daha iyi besleme stratejilerinin geliştirilmesine yol açan rumen metagenomik çalışmalar oldukça hız kazanmıştır (Kothari ve ark., 2018).
- **Metatranskriptomik**, mikrobiyal mRNA ekspresyon (gen ifadesi) profili ve aktif işlevsellik hakkında bilgi veren bir mikrobiyal topluluktaki tüm gen transkriptlerini dizileme yöntemidir (Knight ve ark., 2018). RNA dizilimi (RNA-Seq), mikrobiyal transkriptomun kapsamlı analizi için tercih edilen yöntem haline gelmiştir (Wickramasinghe ve ark., 2014).
- **Metaproteomik**, bir mikrobiyal topluluğun protein ekspresyon profilini ölçer ve böylece mikrobiyal işlevler hakkında daha fazla bilgi sağlar (Zhang ve ark., 2019).
- **Metabolomik**, bir mikrobiyal toplulukta bulunan metabolitlerin tüm bilgi profilini çıkarmayı amaçlar ve biyobelirteçleri tanımlamak ve belirli metabolik yolların katılımını açıklamak için yaygın olarak kullanılır (Johnson ve ark., 2016). Canlıların gen, protein ve biyokimyasal tepkimelerden etkileşimini, bütünleşmiş bir ağ yapısı oluşturarak incelemeyi amaçlayan sistem biyolojisi içerisinde çok disiplinli bir çalışma alanı olan metabolomik, son yıllarda insanlardan ve hayvanlardan plazma, fekal, rumen ve doku metabolit biyobelirteçlerini tespit etmek için kullanılan yenilikçi, yüksek verimli bir biyoanalitik yöntemdir (Karisa ve ark., 2014; Warner ve ark., 2015; Xia ve ark., 2018; Zhao ve ark., 2018).

İnsanlarında dâhil olduğu memeli türlerinin genç bireylerinin sindirim sistemi içerisinde binlerce mikrobiyal türden oluşan 100 trilyondan fazla bakteri bulunmaktadır (Frank ve Pace, 2008; Ley ve ark., 2008). Memeli sindirim sisteminde simbiyotik bakteriler, konakçı hayvanda temel besinlerin sağlanması, sindirilemeyen bileşiklerin metabolizması, fırsatçı patojenlerin kolonizasyona karşı savunma ve hatta bağırsak florasının gelişimine sağladığı katkılar uzun zamandan beri bilinmektedir (Hooper ve Gordon, 2001).

Ruminantların bağırsak mikroorganizmaları, özellikle rumen mikrobiyotası, sindirilemeyen rasyon substratlarının fermantasyonu yoluyla günlük enerji gereksinimlerinin % 70 'ini karşılamaktadır (Bi ve ark., 2018). Rumen mikrobiyotasında, besin maddelerinin fermantasyonunda yer alan bakteri, ark, protozoa ve mantarlar bulunur ve bu ortamdaki popülasyonlar bir dizi faktörden etkilenmektedir (Cho ve ark., 2006). Bazı araştırmalarda sığırlar, domuzlar ve kazlar da dahil olmak üzere hayvanlardaki bağırsak mikroorganizmaların çeşitliliğinin ve bileşiminin, büyük ölçüde beslenmeye bağlı olduğu bildirilmiştir (Lazarevic ve ark., 2009; Xia ve ark., 2018; Zhao ve ark., 2018).

Son zamanlarda yüksek düzeyde dizileme teknikleriyle birlikte, hayvanlarda ve insanlarda mide-bağırsak sistemindeki karmaşık bakteri popülasyonlarının yapıları ve birbirleriyle etkileşimleri hakkındaki bilgiler artmaktadır (Kim ve ark., 2019). Bağırsak mikrobiyotasının konakçı canlının besinlerden yararlanmasını arttırmada, bağışıklık sistemini uyarmada ve yaşam koşullarındaki değişikliklerde homeostazın sağlanmasında önemli roller oynadığı bilinmektedir (Clemente ve ark., 2012; Ellison ve ark., 2017; Kau ve ark., 2011).

Rumen mikrobiyal topluluğunun şekillenmesi ve rumen fermantasyonunda konakçı (Malmuthuge ve Guan, 2017), genetik (Paz ve ark., 2016), rasyon (Hua ve ark., 2017), hastalık (Ma ve ark., 2018), fiziksel dönem (Zhu ve ark., 2017), yaş (Jami ve ark., 2013) ve katkı maddeleri (Uyeno ve ark., 2015) gibi birçok faktör etkilidir.

Bağırsak mikroflorası, besin sindirimi ve immünomodülasyon sürecinde kritik bir rol oynamaktadır. Normal bağırsak mikrobiyotası, eksojen patojenik

mikroorganizmalar tarafından kolonizasyona karşı dirençten sorumludur (Pickard ve ark., 2017). Mikrobiyota, hem pro-inflamatuar hem de anti-inflamatuar etki potansiyeline sahip olup, bağırsak bakterilerinin topluluk yapısını dengeler ve bu durum bağışıklık sisteminin düzgün olmasını sağlayabileceği bildirilmiştir (Round ve Mazmanian, 2009). Rumendeki bakteri popülasyonu, hayvanların verim performansını (Myer ve ark., 2015), rumendeki fermantasyonu (Anderson ve ark., 2016; Fernando ve ark., 2010), rumen sıvı pH 'ını (Callaway ve ark., 2010) ve metabolize edilebilir protein düzeyini etkilemektedir (Castillo-Lopez ve ark., 2013). Genel olarak, geviş getirenlerin mikrobiyal yapısındaki ve işlevindeki değişiklikler hayvanların sağlığı ve verimliliği üzerinde olumlu bir etki göstermiştir. Rumen mikrobiyotası nispeten stabil olmasına rağmen, rasyon, konakçının genetiği, fizyolojik ve çevresel faktörlerdeki değişikliklere de büyük ölçüde duyarlıdır (Huang ve ark. 2018; Singh ve ark., 2015).

Rumen mikrobiyomunun gelişimi üzerine yenidoğandan yaşlı hayvanlara kadar birçok çalışma yapılmıştır (Jami ve ark, 2013; Jiao ve ark., 2016; Meale ve ark., 2016; Wang ve ark., 2016). Doğumdan kısa bir süre sonra, bakteri yapısında aerobik ve fakültatif anaerobik topluluktan, esas olarak zorunlu anaeroblardan oluşan çeşitli bir topluluğa geçiş vardır (Jami ve ark., 2013). Bu geçiş yaklaşık 3 aylık yaşta en üst düzeye çıktığı ve *Bacteroidetes* bolluğunda bir artış ve *Proteobacteria* bolluğunda bir azalma olduğu bildirilmiştir (Jami ve ark., 2013; Jiao ve ark., 2016; Wang ve ark., 2016). Yeni doğan buzağılarda *Firmicutes* filumu içinde *Bacteroides* cinsi en bol bulunurken, 2 aylık buzağılarda gözlenen başlıca cins *Prevotella*'dır (Jami ve ark., 2013). Bu değişiklik, süt ağırlıklı bir diyetten, süttten kesim sonrası kaba yem ağırlıklı bir rasyona geçişle ilişkili olabilir (Jami ve ark., 2013; Meale ve ark., 2016; Wang ve ark., 2016). Rasyon ve beslenme davranışındaki değişiklikler de rumen morfolojisinde ve nihayetinde rumen mikrobiyomunda değişikliklere neden olur.

Henderson ve ark., (2015) rumen mikrobiyal yapısıyla ilgili yapmış oldukları çalışmada, tüm bakteri dizisi verilerinin % 67.1'ini yansıtan bakterilere “baskın” rumen bakterisi olduğunu belirtip, bunların yedi bakteri türünü içerdiğini belirtmişlerdir. Bunların *Prevotella*, *Butyrivibrio*, *Ruminococcus*, sınıflandırılmamış

*Lachnospiraceae*, *Ruminococcaceae*, *Bacteroidales* ve *Clostridiales* olduğunu bildirmişlerdir.

Memeli mikrobiyotasında normal şartlar altında *Firmicutes* (dizinleme altında % 65.7), *Bacteroidetes* (% 16.3), *Proteobacteria* (% 8.8) ve *Actinobacteria* (% 4.7) hakimdir (Ley ve ark., 2008). Sığırlarda da benzer şekilde *Firmicutes*, *Bacteroidetes* ve *Proteobacteria* bakteri grupları baskındır (Bickhart ve Weimer, 2018). Koyunlarda % 50.3 oranla *Firmicutes* daha sonra % 40.6 oranla *Bacteroidetes*, analiz edilen 15 filum arasından en çok bulunanlar olarak ortaya konulmuştur (Langda ve ark. 2020). Mikrobiyal toplulukların bileşimi, popülasyon dinamikleri ve işlevleri; rasyon, hayvanın fizyolojik ve sağlık durumundan etkilenecek, bağırsaklarda farklı bölgeler arasında tamamen değişebilir (Bickhart ve Weimer, 2018; Pitta ve ark., 2018). Karbonhidrat metabolizmasına dahil olan genlerin nispi bolluğu, ön midelerden alınan sindirim örneklerinde yoğun bir şekilde bulunurken, protein metabolizması ile ilgili genlerin nisbi bolluğu mukozal dokuya sahip bölgelerde yoğunlaşmıştır (Mao ve ark., 2015). Bu gibi durumlar göz önüne alındığında, bölgelere özgü benzersiz mikrobiyal davranış ve çeşitlilik, yem verimliliğini ve diğer metabolik özellikleri etkileme kapasitesine sahip olduğu söylenebilmektedir (Bravo ve Wall, 2016). Ayrıca konakçı ve rumen mikroorganizmaları arasındaki etkileşimlerin hayvanların üretkenliğini ve refahını artırmak için manipüle edilmesi de olasıdır (Bickhart ve Weimer, 2018).

Paz ve ark., (2018) besi sığırlarında rumen bakterilerinin yemden yararlanım üzerine yapmış oldukları çalışmada, düve ve danalarda yem verimliliğini bakteriyel Operasyonel taksonomik birim (OTU) ile değerlendirip varyasyon analizi yapmışlardır. Çalışma, düve ve danalarda ortalama günlük yem tüketimi, günlük canlı ağırlık kazancı ve yemden yararlanma oranı verilerini kapsayan yem etkinliği değerlendirmesi sonuçlarına göre varyasyonlarda yaklaşık % 20 'sinde rumen mikrobiyomlarının etkisi olduğunu bildirilmişlerdir (Paz ve ark., 2018).

Wang ve ark., (2017a) 454 pyrosequencing analizi ile koyunların gastrointestinal sisteminde mikrobiyal popülasyonun karakterizasyonu belirlemek için yapmış oldukları çalışmada rumen, retikulum, omasum, abomasum, duodenum, jejunum, ileum, sekum, kolon ve rektumunda bulunan mikrobiyota kompozisyonunu

ve çeşitliliğini incelemişlerdir. Yapılan çalışmada 10 aylık yaşta, yaklaşık 55 kg canlı ağırlığında 5 baş besi toklusu aynı rasyonla beslenmiş, tüm gastrointestinal sistemde filum düzeyinde en yaygın bakteriyel grubun *Firmicutes*, *Bacteroidetes* ve *Proteobacteria* olduğu, genus düzeyinde ise mide de *Prevotella*, sınıflandırılmamış *Lachnospiraceae*, ve *Butyrivibrio* olduğu tespit edilmiştir.

Keçilerde kaba ve dane yeme dayalı rasyonla besleme yapılan bir çalışmada yüksek tahıl ağırlıklı rasyonla beslenen grupta cins düzeyinde, *Butyrivibrio*, sınıflandırılmamış *Clostridiales*, *Mogibacterium*, sınıflandırılmamış *Anaerolineaceae* ve *Succiniclasticum* taksonlarının nispi bolluğunu arttığını, diğer taraftan sınıflandırılmamış *Ruminococcaceae*, sınıflandırılmamış *Rikenellaceae*, sınıflandırılmamış *Erysipelotrichaceae*, *Howardisseriesiaceae* ve sınıflandırılmamış *Neyspeliaceae* oranının azalttığını belirtmişlerdir (Liu ve ark., 2015).

Besi kuzularına dane mısır ve kırık mısır verilmesinin rumen bakteriyel florası üzerine etkileri için 16S rRNA 'nin pirosekanslama işlemi ile yapılan bir çalışmada, tane mısır verilen grupta cins düzeyinde *Anaerovibrio*, *Schwartzia* ve *Sınıflandırılmamış\_Veillonellaceae* 'nin rumende nisbi bakteri bolluğunun arttığı, *Lachnospira* ve *Sınıflandırılmamış\_Synergistaceae* düzeyinin ise azaldığı bildirilmiştir (Wang ve ark., 2022).

### **2.8.2. Rumen Mikrobiyotasının Ruminantlardaki Etkileri**

Aşırı konsantre yem ve tahıllarca zengin rasyonla beslemenin rumen pH'sında düşmeyle birlikte sindirim sistemindeki mikrobiyal toplulukların yapılarını değiştirdiği bazı çalışmalarda bildirilmiştir (Plaizier ve ark., 2017a; Zhang ve ark., 2017). Ayrıca, rumen gelişiminin çeşitli faktörlerden etkilendiği de belirtilmektedir (Yang ve ark. 2018). Birçok faktör arasında, yaş ve rasyon üzerinde daha çok durulup, mevcut araştırmalar sadece epigenetik özellikleri yansıtmamakta, aynı zamanda çok daha derin bir moleküler düzeydeki değişiklikleri yansıtmaktadır. Mikrobiyal yapı ve gen ekspresyonu gündemde en çok üzerinde durulan konular haline gelmiştir. Bu yapının belirlenmesi için farklı teknikler uygulanmaktadır. Illumina tabanlı sıralama bu teknikler içinde en yaygın olup, dizinleme için 16S

rRNA geninin V3-V4 bölgesi en çok kullanılmaktadır (Caporaso ve ark., 2012). 16S rRNA V4 bölgesinin dizilenmesi, beklenen taksonomik dağılıma en yüksek benzerliği göstermiştir (Caporaso ve ark., 2012; D'Amore ve ark., 2016; Tremblay ve ark., 2015). O'Hara ve ark., (2020), sığır rumenindeki bakteri ve arkebakteri dinamiklerini değerlendirmek için 16S rRNA geninin DNA amplifikasyon dizisini kullanmış, sonuçlara bakıldığı zaman, erken dönemde rumenin mikrobiyal floranın buzağuların yaş, rasyon ve çevreden etkilendiğini belirtmiştir. Bugüne kadar, yem verimliliği ile rumen mikrobiyomu arasındaki ilişkisi üzerinde yapılan araştırmaların çoğu sığırlarda yapılmıştır. Bununla birlikte, koyunlar daha düşük maliyetlidir, daha az yem gerektirir, olgunluğa daha çabuk ulaşır ve sığırlara göre daha yönetilebilirdir, bu hususlar koyunları ruminant araştırmaları için pratik ve ekonomik bir model haline getirmektedir (Delano ve ark., 2002). Rumen mikrobiyotası karmaşık ve değişken bir sistemdir ve bu karmaşık yapının uzun süre araştırılması gerekir. Genel olarak karbonhidrat ağırlıklı beslenen koyunlar da baskın filum türleri yüzdeleri ile birlikte sırasıyla *Bacteroides* (% 72.18), *Firmicutes* (% 15.87), *Proteobacteria* (% 3.04), *Actinobacteria* (% 2.54), *Fusobacteria* (% 1.23) ve diğerlerinden oluşturmaktadır. Baskın filumların aile gruplarına bakıldığında ise, *Prevotellaceae* (% 30), *Succinivibrionaceae* (% 22), *Veillonellaceae* (% 18), *Ruminococcaceae* (% 8), *Lachnospiraceae* (% 6) ve diğerlerinden oluşmuştur (Lopes ve ark., 2015). Konsantre yemlerin fazla olduğu besi rasyonlarında *Eubacterium* spp., *Clostridium* spp., *Ruminococcus* spp., *Lactobacillus*, ve *Bifidobacterium* spp. daha fazla iken, *Prevotella* spp., *Fibrobacter succinogenes*, ve *Bacteroides* spp. düzeylerinde azalma olduğu belirtilmiştir (Zhang ve ark., 2020a). Henderson ve ark., (2015) ise konsantre yem içeren rasyonlarla beslenen hayvanların rumeninde *Prevotella* ve sınıflandırılmamış *Succinivibrionaceae* daha bol olduğunu bildirmiştir.

Bazı çalışmalarda, *Prevotellaceae*, *Lachnospiraceae*, *Ruminococcaceae* ailelerine ait birkaç rumen mikrobiyal taksonunun ortalama günlük canlı ağırlık artışı, yemden yararlanma oranı (YYO) gibi konularda yem verimliliği ile ilişkili olduğunu bildirilmiştir (Freetly ve ark., 2020; Li ve Guan, 2017; Lopes ve ark., 2021; Myer ve ark., ark., 2015; Paz ve ark., 2018).

Wang ve ark., (2020b) mongolian koyunları üzerinde serbest otlama (SO) ve ahırda besleme (AB) şeklinde yaparak beslenme modelinin mikrobiyota ve



performans bakımından yönünü incelemiştir. Yapılan çalışmada serbest otlayan ortalama 31.28 kg ağırlığındaki koyunların temel olarak çayırlarda serbest otlatma, ahırda bakılan 34.18 kg ağırlığındaki koyunların ise mısır (% 60), kuru ot (% 38) ve mineral karışımı (% 2) yemlerle 9 ay boyunca bakım ve beslemeleri yapılmıştır. Koyunların bağırsak mikrobiyota analizlerinde cins düzeyinde, serbest otlama grubunda, ahırda besleme grubuna göre daha yüksek *Bacteroides*, *Alistipes*, *Phocaeicola*, *Barnesiella* ve *Oscillibacter* düzeyleri görülürken ve daha düşük *Succinivibrio*, *Treponema* ve *Prevotella* seviyeleri gözlemlendiği belirtilmiştir.

Li ve ark. (2020a) kuzularda başlangıç yemlerinin fiziksel formunun rumen mikrobiyal kompozisyonu üzerine yapmış oldukları çalışmada, kuzuları süttten kesim öncesi (8-35. gün) ve süttten kesim sonrası (36-42. gün) pelet ve tekstür yemle beslemişlerdir. Süttten kesim öncesi ve süttten kesim sonrası dönemde tekstür yemle beslenen grupta filum düzeyinde *Bacteroidetes* 'ler pelet yeme göre daha önce yaygın olarak yerleşmiş ve cins düzeyinde ise *Sharpea*'da göreceli olarak bolluğun önemli derece arttığını bildirmiştir ( $P < 0.05$ ).

Li ve ark., (2022) besi kuzularında toplam karma rasyonun peletlenmiş (PTMR) ya da peletlenmemiş (UPTMR) halde kullanımının büyüme performansı, rumen mikrobiyotası ve rumen metabolomları arasındaki ilişkileri araştırmak için yaptıkları çalışmada 55 günlük yaşta ortalama 13.2 kg canlı ağırlıkta toplam 100 baş melez (Dorper × İnce yünlü koyun) kuzu kullanmışlardır. Kuzular deneme ve kontrol olmak üzere 2 gruba ayrılmışlar ve her grubun 5 alt grubu olacak şekilde deneme deseni düzenlemişlerdir. Deneme süresinin sonu olan 117 günlük yaşta pelet yemleme yapılan grupta peletleme yapılmayana göre, günlük ortalama ağırlık kazancının ( $p = 0.002$ ) ve günlük ortalama yem tüketiminlerinin ( $p = 0.003$ ) daha yüksek olduğu, yemden yararlanma oranının ise istatistiksel olarak önemli olduğunu bildirmişlerdir ( $P < 0.05$ ). Ayrıca, pelet yemle beslenen gruptaki kuzularda rumendeki toplam UYA konsantrasyonunun ve propiyonatın molar oranının arttığı, ancak bütirat ve asetat/propiyonat oranının azaldığını bildirmişlerdir ( $p < 0.05$ ). Bunlara ilave olarak, pelet yemleme yapılan grupta, rumen mikrobiyotasının alfa çeşitliliğinin azaldığı ve *Fibrobacter* ( $p < 0.05$ ), *Veillonellaceae* ( $p < 0.05$ ) ve *Rikenellaceae*'nin ( $p = 0.064$ ) arttığını bildirmişlerdir.

Konsantre yem bakımından zengin rasyonlarla beslenen hayvanlarda nişasta parçalayan amilolitik bakteriler varlığında propionat üretimi veya kaba yem bazı rasyonlarda lifi parçalayan fibrolitik bakteriler hâkim olduğu zaman asetat üretimi artar. Yapılan literatür taramalarında mısırın işlenme yöntemine göre rumende mikrobiyota yapısı üzerindeki etkisi hakkında bilgilerin yetersiz olduğu görülmüştür.

## **2.9. Probiyotiklerin Rumen Mikrobiyotası Üzerine Etkileri**

DYM'lerin bağırsak mikrobiyotasını etkilediği bildirilmiş olsa da, DYM'ler ile endojen bağırsak mikrobiyomu arasındaki etkileşimler net değildir (Ban ve Guan, 2021). Genç ruminantlarda, alt bağırsak bölgelerindeki mikrobiyota tam olarak oluşturulmadığı erken dönemlerde DYM takviyesinin daha etkili olabileceği öne sürülmüştür (Malmuthuge ve ark., 2015). Ancak süttten kesim sonrası dönemde DYM'lerin etkileri üzerine bilgiler hala sınırlı kalmaktadır. Bu arada, maya gibi DYM'ler, genç ruminantlarda rumen mikrobiyal floranın olgunlaşması ve bağırsak mikrobiyal dengesini iyileştirme potansiyeline sahiptir (Signorini ve ark., 2012; Chaucheyras-Durand ve ark., 2019). Son zamanlarda genç ruminantlarda rumen ve alt bağırsak mikrobiyomunun taksonomik bileşimini ortaya çıkarmış olsa da (Li ve ark., 2012; Malmuthuge ve ark., 2014), DYM'lerin bileşimsel ve fonksiyonel değişiklikler üzerindeki etkisi tam olarak çalışılmamıştır.

Bakteriyel DYM'ler ruminal laktik asit üreten (LAB) ve laktik asit kullanan (LUB) bakterileri etkileyebilirken, maya DYFM'leri fibrolitik bakteriler, LUB ve amilolitik bakteriler dahil olmak üzere rumen bakterilerini uyarır (Jiang ve ark., 2017; Pinloche ve ark., 2013). İşkembe bakterilerine ek olarak, DFM'ler işkembe metanojenlerini de etkileyebilir (Doyle ve ark., 2019), ancak DYM'lerin takviyesinin rumen protozoalarını ve mantarları nasıl etkilediği ortaya konmamıştır. Metagenomik analizlerde, süttten kesilmiş buzağılarda ileal mikrobiyom ile fonksiyonelliği ve bu tür varyasyonlar, konakçı hayvan bağışıklık fonksiyonları ile bağlantılı olabileceği bildirilmiştir (Malmuthuge ve ark., 2019).

Doğum kanalı, anne faktörü, doğum ve yetiştirme ortamı, ilk besleme stratejileri, sürü yönetimi, antibiyotik kullanımı ve konakçı faktörleri dâhil olmak

üzere birçok faktör ruminant sindirim sistemindeki bireyselleşmiş endojen mikrobiyomu etkileyebilir. Ayrıca, bağırsak mikroorganizmalarının sığırlarda kalıtsal olduğu bildirildiğinden, bunlarda konak genetiği ön plana çıkmıştır (Li ve ark., 2019a).

Probiyotikler, gastrointestinal sistemde bulunan mikrobiyotadaki dengeyi iyileştirmek ve ruminantların sağlığını ve verimlerini artırmak için antibiyotiklere göre daha uygun alternatif olarak düşünülmektedir (Ford ve ark., 2014). Yapılan bir çalışmada, laktik asit bakterisi içeren probiyotiklerin (direk mikrobiyal ajan) kullanımının bağırsakta patojen kolonizasyonunun azaldığı bildirilmiştir (Uyeno ve ark., 2015). Zhang ve ark., (2019) Holstein buzağılarda *Lactobacillus rhamnosus* GG kullanılan grupta rumen sıvısında bakterilerin aile düzeyinde *Prevotellaceae* (% 55.67) en fazla olduğu, kontrol grubunda ise *Succinivibrionaceae* (% 38.35) düzeyle en fazla olduğu tespit edilmiştir.

## 2.10. Hayvancılıkta Gelecek Zamanda Biyoteknolojinin Önemi

Rumen, sindirimi oldukça zor olan yüksek lif içeren kaba yemleri besin haline dönüştürmesiyle çok ciddi bir evrimsel adaptasyonu temsil etmektedir. Bu organ, simbiyotik mikroorganizmaların temel grubu ile konakçı hayvan arasında doğrudan bir tampon bölge oluşturup, et ve süt hayvanlarının beslenmesinin önemli bir basamağını oluşturmaktadır. Ruminantlarda üretimi arttırmak için genetik ve çevresel faktörleri daha iyi anlamak, rumen (sağlıklı veya sağlıksız, yüksek veya düşük verimli) ana mikroorganizma gruplarını karakterize etmek ve değişiklikleri etkileyen sistemin yapısını bilmek gerekir. Metagenomik analizlerle, dünyadaki mikrobiyal türlerin büyük çoğunluğunu temsil eden kültürlenmemiş mikroorganizmaların sahip olduğu muazzam genetik potansiyeli açıkça görülmüştür. Ne yazık ki, çok sayıda negatif klondan düşük frekanslı pozitif klonları saptamanın zorluğu nedeniyle bu kaynakların çoğuna kolayca erişilemiyor. Gelecekte, doğal gelişimlerinin bir parçası olarak rumende en uygun mikrobiyal kolonize mikroorganizmaları seçen hayvanlar için genetik seçim görmeyi bile bekleyebiliriz. Mikrobiyota çalışmalarından elde edilen bilgilerle, rumen mikrobiyal topluluğu tarafından besin üretimini optimize eden karma probiyotik kullanımının

geliştirilmesi muhtemel gerekli görülmektedir (Ban ve Guan, 2021; Bickhart ve Weimer, 2018).

Rumen mikrobiyal topluluğunun etçi ve sütçü hayvanların beslenmesinde doğrudan etkilerine rağmen, rumen içindeki metabolik süreçler hakkında sadece genel bilgiler edinilmiştir ve bu organda kolonize olan bireysel mikrobiyal türlerin çoğu hakkında daha az şey bilinmektedir. Bu konu ile ilgili olarak, rumende, yaşamın tüm ana alanlarından çeşitli mikrobiyal türler topluluğu içerdiği ve rumen içeriğinin bireysel hayvanlar arasında büyük ölçüde değişebileceği öngörülmektedir. Ön çalışmalar, rumen mikrobiyal profilinin bir konakçıda kalıtsal ve sürdürülebilir olduğunu ve rumen mikrobiyal topluluk yapısının önemli bir bozulmayı takiben kısa bir süre içinde orijinal profiline dönebileceğini göstermektedir. Rumedeki mikrobiyal türlerin çeşitliliğini belirlemek için son yıllarda çok ilerleme kaydedilmiştir; ancak bununla birlikte, belirli mikrobiyal profilin rumen metabolik aktivitesi ile ilişkilendirilmesi için mikrobiyal türleri tanımlamada kullanılan en popüler yöntemler yeterli olmamaktadır. Bu durum, rumen mikrobiyal yapısının et ve süt üretimi üzerine etkileri doğrudan tahmin edebilen modellerin tasarımının önündeki en önemli engeli temsil etmektedir. Bu tür zorlukların üstesinden gelinebilirse, rumen mikrobiyal yapısının ruminantlarda yeni bir fenotipik özellik olarak değerlendirilmesi mümkün olacaktır. Bugüne kadar, geviş getiren hayvanların bağırsak mikrobiyomu üzerindeki konak genetik ve fizyolojik etkilerinin yanı sıra arkasındaki mekanizmaları araştıran çalışmalar henüz başlangıç aşamasındadır ve konağın bağırsak mikrobiyomu üzerindeki düzenleyici rolünün daha iyi anlaşılması, gelecekteki DYM çalışmaları için gerekli bir başka husustur. Gelecekte, et ve süt üretimini etkileyen tüm faktörleri doğru bir şekilde birleştiren bir “genotip × çevre × mikrobiyal” etkileşim modeli kullanarak hayvanlardaki verim düzeyini tahmin etmede etkili olabilecektir. Bununla birlikte mikrobiyal türlerde, metagenomlardan genel işlevlerinin veya belirli faaliyetleri tanımlamanın, endüstride birçok önemli kaynak sağlama ve biyo-tabanlı bir ekonomiye önemli ölçüde katkı sağlama potansiyeli ile birlikte büyüyen bir araştırma alanı olduğunu söylemede tereddüt yoktur (Benedetti, 2014).

### ***Konu ile İlgili Yapılan Bilimsel Çalışmalar***

Ruminant besi hayvanları yüksek oranda konsantre ve düşük kaba yemle beslenmektedir. Besi hayvanlarında dane mısır konsantre yem olarak kullanılabilir, ancak perikarp olarak adlandırılan nişastanın etrafındaki koruyucu yapı bu nişastanın sindirimini sınırlandırır ve yemden yararlanmayı azaltır. Mısırın kullanılabilirliğini artırarak nişastadan en iyi şekilde yararlanılması, daha yüksek enerji ve bunu tüketen hayvanlarda daha iyi verim performansının sağlanması mümkün olabilmektedir (Owens ve ark., 1997; Zinn ve ark., 2002). Bu konuda bilim insanları değişik yöntemler deneyerek yemlerin sindirimini ve hayvanların verim performansını artırmak için çalışmaktadır. Bunlar içinde;

Gholami ve ark., (2018) farklı mısır işleme yöntemlerinin rumen mikrobiyal florası, histomorfometrisi ve fermantasyonu üzerine etkisini belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada, 90 günlük yaşta ve ortalama 25 kg canlı ağırlığında 20 baş erkek kuzu kullanmışlar ve çalışmayı 80 gün sürdürmüşlerdir. Araştırmada; (i) öğütülmüş mısırla beslenen kuzular; (ii) flake mısırla beslenen kuzular; (iii) 24 saat ıslatılmış tane mısırla beslenen kuzular ve (iv) 48 saat ıslatılmış tane mısırla beslenen kuzular deneme gruplarını oluşturmuştur. Araştırmacılar, deneme sonunda kuzuların rumeninden pH, uçucu yağ asitleri, amilolitik, proteolitik, selülit ve heterofilik bakteri ve protozoa değerlendirmesi için örnekler toplamışlar, sonuç olarak; ıslatılmış tane mısırla beslenen gruplarda proteolitik bakteri sayısının diğer gruplara göre arttığını ( $p<0.008$ ), ayrıca rumen duvarı ( $p<0.010$ ), rumen papilla kalınlığı ( $p<0.0001$ ) ve rumen epitel kalınlığını ( $p<0.027$ ) arttığını bildirilmişlerdir.

Reis ve ark., (2001) dane mısırı farklı formlarda (kuru, rehidre dane mısır silajı ve yüksek nemli dane mısır silajı) ve belli oranlarda kullanmanın kuzuların besi performansı üzerine etkisini değerlendirmek amacıyla yaptıkları çalışmada karışık cinsiyette 60 baş kuzu kullanmışlardır. Araştırmada, kuru mısır danesinin tekrar ıslatılıp silaj halinde verilen grup Deneme 1 (RCGS, %100) (başlangıç canlı ağırlık ortalaması 9.90 kg); kuru dane mısırın verildiği grup Deneme 2 (DCG, %100) (başlangıç canlı ağırlık ortalaması 8.98 kg); % 50-50 kuru mısır danesinin tekrar ıslatılıp silaj yapılması ve kuru mısır danesiyle birlikte verilen grup Deneme 3 (%50-50 RCGS + DCG) (başlangıç canlı ağırlık ortalaması 9.99 kg); yüksek nemli mısır

danesinin verildiği grup Deneme 4 (HMGCS, %100) (başlangıç canlı ağırlık ortalaması 9.94 kg) ve son olarak %50-50 yüksek nemli mısır silajı + kuru tane mısırın verildiği grup Deneme 5 (%50-50 HMGCS + DCG) (başlangıç canlı ağırlık ortalaması 9.34 kg) olarak deneme grupları oluşturmuşlardır. Araştırmacılar kaba yem olarak yulaf samanı kullanmışlar ve denemenin 28, 56 ve 73. günlerinde ortalama günlük canlı ağırlık kazançları ve yem tüketimlerini tespit etmişlerdir. Sonuç olarak; yüksek nemli mısır ile beslenen grupta 28, 56 ve 73 günlerde dane mısıra göre daha yüksek canlı ağırlık artışının olduğu belirtilmiştir. Bu durumun nemli mısırın silajı sırasında nişastanın jelatinleşmesine bağlı olabileceğini ve yüksek nemli dane mısır silajı kuzu rasyonlarında verimli bir şekilde kullanılabilceğini ifade etmişlerdir.

Wang ve ark., (2022), kuzu rasyonlarında tane ve öğütülmüş mısır verilmesinin performans ve rumen bakteri yapısı üzerine yaptıkları yedi haftalık bir çalışmada her bir grupta yedişer baş hayvan olmak üzere toplamda 14 baş kastre edilmiş kuzu kullanmışlardır. Araştırmacılar tane mısır verilen grupta ortalama günlük canlı ağırlık artışının daha fazla olduğunu ( $p=0.036$ ), yemden yararlanma oranının ise önemli ölçüde iyileştiğini ( $p=0.010$ ) bildirilmişlerdir.

Jia ve ark., (2018) monensin yerine iki alternatif (*B. licheniformis* ve *S. cerevisiae*) probiyotik olarak kullanımının besi kuzularının büyüme performansı, antioksidan kapasite, bağışıklık, rumen fermentasyonu ve mikrobiyal çeşitliliği üzerine etkilerini araştırmak için yaptıkları çalışmada, toplam 160 baş dorper × ince kuyruklu han kuzusunu (32 kg CA), her grupta 32 baş kuzu olacak şekilde 5 gruba ayırmışlardır. Kontrol grubundaki kuzulara bazal rasyon (NC) verilirken, diğer dört deneme grubu sırasıyla; monensin (PC), *B. Licheniformis* (BL), *S. cerevisiae* (SC) ve *B. licheniformis*, *S. cerevisiae* ve proteaz kombinasyonu (BS) katkı maddeleri katılarak deneme grupları oluşturulmuştur. Araştırma 66 gün sürdürülmüş ve denemenin sonunda gruplar arasında kuru madde tüketiminde fark olmadığını (KMT), ancak *B. licheniformis*, *S. cerevisiae* ve proteaz kombinasyonu (BS) katılan grupta ortalama günlük canlı ağırlık artışının (GCAA), kontrol (NC) grubuna göre arttığını bildirmişlerdir ( $p < 0.05$ ). Kontrol grubu diğer dört deneme grubu ile karşılaştırıldığında, büyüme hormonu (GH), insülin benzeri büyüme faktörü I (IGF-I) ve insülin (INS) düzeyinin arttığını bildirmişlerdir ( $p < 0.05$ ). Gruplar arasında

Malondialdehit (MDA) ve toplam antioksidan kapasitesi (TAOC) düzeyleri arasında bir fark görülmezken, BS grubunda süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) düzeyinin önemli ölçüde arttığını tespit etmişlerdir ( $p < 0.05$ ). Rasyona monensin ve probiyotik eklenmesinin asetat konsantrasyonlarını azalttığı ve propiyonat konsantrasyonlarını ise artırdığı ( $p < 0.05$ ), ayrıca mikrobiyal incelemede filum düzeyinde *Lentisphaerae*, *Fibrobacteres* ve *Tenericutes*'in nispi bolluğunu artarken, cins düzeyinde *Fibrobacter*'in nispi bolluğunun arttığını bildirmişlerdir ( $p < 0.05$ ).

Devyatkin ve ark., (2021) koyun ve kuzularda enzimsporin TM'in (*B. subtilis* B-2998D, B-3057D ve *B. licheniformis* B-2999D) biyokimyasal, hematolojik, immünolojik parametreler, bağırsak mikrobiyotası üzerine etkilerini inceledikleri çalışmada kuzu ve koyunlara farklı dozlarda 0, 1 ve 3 g Enzimsporin/baş/gün alan üç gruba (her biri altı alt grup) ve 0 ile 1 g Enzimsporin/gm alan kuzular (10'ar adet) olmak üzere iki grup şeklinde düzenlenmiştir. Probiyotik takviyesi (EnzimsporinTM) kuzuların canlı ağırlık artışını %18,8 oranında iyileştirdiğini ve probiyotik verilen kuzuların kanında toplam protein, globulinler ve üre seviyelerinde sırasıyla % 5,3, 10,8 ve 6,2 oranında iyileşme gösterdiğini belirtmişlerdir. Benzer şekilde EnzimsporinTM ilaveli rasyonla beslenen koyunlarda da toplam protein, albümin ve globulinlerde artış gözlenmiştir. Koyun ve kuzularda probiyotik takviyesi ile kandaki bilirubin ve kolesterol düzeylerinin düşmesi, bakterisidal ve fagositik indeksin artması EnzimsporinTM'in karaciğer fonksiyonu ve doğal direnç üzerinde olumlu etkisi olduğunu göstermiştir. Ayrıca, koyun ve kuzuların dışkı içeriğinde *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium*'daki artış ve *Escherichia coli*, *Enterococcus* ve maya'daki azalma, Enzimsporin TM'in bağırsak sağlığını koruma potansiyeline sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Phesatcha ve ark., (2021) Tayland yerli besi sığırlarında rasyona *S. cerevisiae* ilavesinin ve kaba yem/konsantre oranının (R:C) yemlerden yararlanma, rumen fermentasyonu, mikrobiyal protein sentezi ve protozoa popülasyon üzerindeki etkilerini araştırmak için ortalama 120 kg canlı ağırlığında 4 baş sığır kullanmışlardır. Denemede 4×4 Latin kare, 2×2 faktöriyel deneme düzeni kullanılarak; faktör A, 60:40 ve 40:60'ta kaba-konsantre yem oranı (R:C oranı), faktör B'de ise 0 ve 4 g/baş/gün olmak üzere canlı maya (LY- *S. cerevisiae*)

kullanmışlardır. Araştırmada kuru madde tüketimi ve organik madde, ham protein sindirilebilirliği bütün faktörlerde artmış ancak, kaba/konsantre yem oranının 60:40 ve maya oranının 4 g/baş/gün olduğu grupta daha fazla artış olduğunu bildirilmiştir ( $p < 0.05$ ). Yüksek düzeyde konsantre yem verilen ve maya (LY) ilavesi yapılan gruplarda toplam bakteri sayısı ve mantar zoosporların arttığı ( $p < 0.05$ ), ancak protozoal popülasyonların azaldığını bildirmişlerdir ( $p < 0.05$ ).

Deng ve ark., (2018) ortalama 45.0 kg CA Dorper melezi koçlarda bazal rasyona farklı oranlarda *B. licheniformis* kullanımının rumen fermantasyonu, besin madde sindirimi, metabolizması ve brüt enerji ile *in vivo* metan emisyonu üzerine etkilerini tespit etmek amacıyla her grupta 6 hayvanın olduğu 4 deneme grubu oluşturmuşlardır. Denemede bazal rasyon (kontrol); bazal rasyona  $2.5 \times 10^8$  cob probiyotik eklenen grup (düşük düzey; L);  $2.5 \times 10^9$  cob (orta düzey; M) ve  $2.5 \times 10^{10}$  cob (yüksek; H) düzeylerde *B. licheniformis* eklenerek gruplar oluşturulmuştur. Rumen amonyak azot konsantrasyonu düşük düzeyde probiyotik kullanılan (L) grupta (78.5 mg/L), kontrol grubuna göre (100.8 mg/L) daha düşük olduğunu bildirmişlerdir ( $p=0,001$ ). *B. licheniformis* uygulanan her grupta kuru madde, organik madde, azot (N) ve NDF'nin sindirilebilirliğini ( $p < 0.001$ ) arttırdığı, Azot tutma ve kullanım etkinliğini ( $p=0.005$ ) ve enerji metabolize edebilirliğini ( $p < 0.001$ ) iyileştirdiğini bildirmişlerdir. Ayrıca metan gazı ile ilgili olarak düşük düzey (39.9 L/gün) ve orta (39.8 L/gün) düzey probiyotik kullanılan gruplarda günlük  $CH_4$  üretimi kontrole (42.5 L/gün) göre daha düşük olduğu ve istatistiki değerlerin sırasıyla ( $p=0.017$  ve  $0.011$ ) düzeyinde ve önemli olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmada *B. licheniformis* ilavesinin, koyunlardan gelen *in vivo* metan emisyonlarını önemli düzeyde azalttığını bildirmişlerdir.

Şahin ve ark., (2018), Erkek Anadolu Merinosu kuzularında besi döneminde cidago yüksekliği, sağrı yüksekliği, göğüs çevresi, göğüs derinliği, vücut uzunluğu, but çevresi gibi vücut ölçülerin ait ortalamalardan canlı ağırlık, canlı ağırlık artışı ve yem tüketimleri arasındaki ilişkisi araştırmışlardır. Çalışmada, canlı ağırlık ile vücut ölçüleri arasında 0.674 ile 0.788 arasında değişen korelasyonlar olduğunu tespit etmişlerdir ( $p < 0.01$ ). Canlı ağırlık artışı ile sadece canlı ağırlık arasındaki ilişki önemli bulunurken ( $p < 0.05$ ), yem tüketimi, cidago yüksekliği, sağrı yüksekliği, göğüs derinliği ve canlı ağırlık arasında ( $p < 0.01$ ) değerinde, vücut uzunluğu ve but



çevresi arasında ( $p<0.05$ ) düzeyinde korelasyonlar önemli bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Ayrıca, besi sonu canlı ağırlığı ile göğüs çevresi arasında yüksek ve istatistik olarak önemli ilişki bulunması nedeniyle, vücut ölçülerinden sadece göğüs çevresi kullanılarak canlı ağırlık tahmin edilebileceği bildirmişlerdir.

Zhang ve ark., (2021) pelet formda toplam karma rasyona (PTMR) fermente yem eklenmesinin besiyeye alınan kuzularda büyüme performansı, besin sindirilebilirliği ve serum biyokimyasal parametreleri üzerindeki etkisini tespit etmek için yaptıkları çalışmada 90 günlük yaşta, ortalama 13.2 kg canlı ağırlığında 60 baş hibrit kuzu kullanmışlardır. Kuzular rastgele 4 gruba ayrılmış ve i) toplam karma rasyona dayalı bazal rasyonu tüketen kontrol (PTMR); ii) bazal rasyona % 2 fermente edilmiş soya küspesi katılan (FSM); iii) bazal rasyona % 2 *Lactobacillus* ile fermente edilmiş buğday kepeği katılan grup (L-FWB) ve iv) bazal rasyona % 2 maya ile fermente edilmiş buğday kepeği katılan grup (Y-FWB) deneme gruplarını oluşturmuştur. Denemede, bazal rasyona % 2 fermente soya küspesi katılan gruptaki kuzuların ortalama günlük kazancı ve karkas verimi artarken, yemden yararlanma oranının iyileştiği bildirilmiştir ( $p<0.05$ ). Günlük canlı ağırlık kazancına göre toplam azot atılımı, soya (FSM) veya *Lactobacillus* (L-FWB) katılan gruplarda maya (Y-FWB) veya kontrol (PTMR) gruplarına göre azaldığı belirtilmiştir ( $p<0.01$ ).

Bu çalışma, yaklaşık iki aylık yaşta besiyeye alınan kuzularda kuzu büyütme yemi, yüksek nemli mısır ve mısır kırması esaslı rasyonda *Bacillus licheniformis* probiyotığının kullanımının kuzularda performans, bazı kan parametreleri ile 16S rRNA dizinleme teknolojileri kullanılarak rumen mikrobiyotası üzerine etkilerinin belirlenmesi amacıyla planlanmıştır. Ayrıca, yüksek nemli mısır kullanımının ülkemizde yaygınlaştırılması yetiştiriciler için fabrika yemine alternatif oluşturabilir. *B. licheniformis* sütten kesim sonrası stresi azaltıp yem tüketimini arttırabilir. Sütten kesim yapılan erkek kuzularda yoğun konsantre yemle besleme ve probiyotik ilavesinin mikrobiyota üzerindeki etkilerini netleştirmek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

### **3. GEREÇ VE YÖNTEM**

#### **3.1. Gereç**

##### **3.1.1. Bölge ve İklim Koşulları**

Bu çalışma; 39.20° - 40.30° kuzey paralelleri ve 26.30° - 28.30° doğu meridyenleri arasında olan Balıkesir ilinde yapılmıştır. Araştırma Balıkesir ilinin güneyinde ve denizden yüksekliği 340 m olan Balıkesir Üniversitesi Hayvancılık Uygulama ve Araştırma Merkezine ait deneme ağılında yürütülmüştür. Ülkenin batısında yer alan Balıkesir ili yazları sıcak ve kurak, kışları ise ılık ve yağışlı, yıllık ortalama sıcaklık 14.3 °C, yıllık ortalama nisbi nem değeri % 71.3 civarında olan bir şehirdir.

##### **3.1.2. Hayvan Materyali**

Araştırmada hayvan materyali olarak Balıkesir Üniversitesi Hayvancılık Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde yetiştirilmekte olan Karacabey Merinosu X Kıvrıcık Melezi süttten kesilmiş kuzular kullanılmıştır. Bu kuzular aynı dönemde doğum yapan koyunlardan seçilmiş olan, benzer yaş ve kilodaki hayvanlardır. Kuzuların doğumunu takiben Coli-sera aşuları yapılmıştır. Hayvanların sürekli olarak sağlık kontrolleri bireysel olarak yapılmış olup, ishal ve pneumoni gibi hastalıklara karşı koruyucu önlemler alınmıştır. Bütün kuzulara bir aylık yaşta iken enterotoksemi ve daha sonra veba aşısı yapılmış, kulak küpeleri takılmıştır. Kuzular yaklaşık 8 haftalık yaşta iken süttten kesilerek, sağlık durumu iyi olan ve canlı ağırlığı birbirine yakın 35 baş erkek kuzu tartılarak bireysel padoklara alınmıştır.

Araştırma için Balıkesir Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'na müracaat edilmiş, 03.06.2021 tarih ve 2021/5-4 sayılı kararla onay belgesi alınmıştır.

### 3.1.3.Yem Materyal Temini

Araştırmada kullanılan yem materyalleri farklı şekillerde temin edilmiştir. Kontrol grubu için kullanılan yemler Balıkesir’de faaliyet gösteren özel bir yem fabrikasından alınmış, yüksek nemli mısır Balıkesir Üniversitesi Yerleşkesi’nde yetiştirilen mısırın % 75 kuru maddeye ulaştığında biçer-dver makinesi ile mısır tanesinin hasılda ayrılmasıyla sağlanmıştır. Daha sonra bu mısır tanesi Romill CP-1 makinesiyle 15-20 d/s olacak şekilde dane mısır patlatma işlemiyle hazırlanmıştır. Çalışmada kullanılan kırık mısır ve soya kspesti özel bir firmadan (Has etin Zahire, Balıkesir, Türkiye) tedarik edilmiştir. Kireç taşı, DCP, vitamin ve mineral premiksleri ise Yem-Vit A.ř. (İzmir) firmasından temin edilmiştir. Ayrıca kullanılacak probiyotik olan *Bacillus Licheniformis* DSM 28710 Huvepharma (Sofya, Bulgaristan) firmasından sağlanmıştır.



şekil 3.1. Hayvan alışmaları sırasında *B. licheniformis* verilmesi.

## 3.2. Yöntem

### 3.2.1. Deneme Grupları

Bu araştırmada hayvan denemesi, Balıkesir Üniversitesi Hayvancılık Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde yürütülmüştür. Kuzular 1.25 X 1.80 m ebatlarında olan tel çitle çevrili bireysel padoklarda bakılmıştır. Deneme hayvanları her biri 7 kuzudan oluşan biri kontrol olmak üzere 5 muamele grubuna ayrılmıştır. Deneme, 7 gün alıştırma, 56 gün araştırma dönemi olmak üzere toplam 63 gün sürmüştür. Alıştırma süresi sonunda kuzular tartılarak canlı ağırlıkları belirlenmiş, gruplarda deneme başı canlı ağırlık ortalamaları  $25.54 \pm 2.64$  kg olacak şekilde çalışmaya başlanmıştır.



Şekil 3.2. Balıkesir üniversitesi hayvancılık uygulama ve araştırma merkezi koyun ünitesi.

Deneme tesadüf parselleri deneme planına göre bir kontrol olmak üzere 5 grupta, her grupta 7 kuzu ile bireysel kafeslerde yürütülmüştür.

### Deneme grupları:

1. Kontrol grubu: Ticari kuzu büyütme yemi tüketen grup (K).
2. Muamele I: Yüksek Nemli Mısır + Soya küspesi tüketen grup (YNM).
3. Muamele II: Kırık Mısır + Soya küspesi tüketen grup (KM).
4. Muamele III: Yüksek Nemli Mısır + Soya küspesi + *Bacillus licheniformis* tüketen grup (YNMBL).
5. Muamele IV: Kırık Mısır + Soya küspesi + *Bacillus licheniformis* tüketen grup (KMBL).

### 3.2.2. Deneme Gruplarının Yem Düzenlemesi

Hayvanların günlük besin madde ihtiyaçları dikkate alınarak rasyon hazırlanmıştır (NRC, 2007). Alıştırma döneminde her gruptaki hayvanların günlük tüketebileceği konsantre yem miktarı her hafta belirlenmiş ve deneme süresince hayvanların günlük tüketebileceği miktarın %10'nu fazla verilip serbest (ad libitum) besleme yapılmıştır.

**Tablo 3.1.** Araştırmada kullanılan temel karma yem ve besin maddeleri %.

Deneme grupları					
Yem maddesi	K*	YNM	KM	YNMBL	KMBL
Yüksek nemli mısır	-	72.00	-	72.00	-
Kırık mısır	-	-	72.00	-	72.00
Arpa	25.00	-	-	-	-
Mısır	33.90	-	-	-	-
Soya küspesi (%46 HP)	12.10	21.90	24.90	21.90	24.90
Ayçiçeği küspesi(%30 HP)	8.90	-	-	-	-
Melas, şeker pancarı	4.00	-	-	-	-
Buğday kepeği	13.00	3.00	-	3.00	-
Kireçtaşı (CaCO <sub>3</sub> )	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8
Dikalsiyum fosfat (DCP)	1.6	1.6	1.6	1.6	1.6
Tuz	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4
Vitamin - Mineral	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
<b>Besin madde içeriği</b>					
Ham protein, %	16.37	16.39	16.33	16.39	16.33
ME Mcal/kg **	2980	3034	3071	3034	3071
Kalsiyum, %	0.84	0.72	0.73	0.72	0.73
Fosfor, %	0.79	0.63	0.69	0.63	0.69
<i>Bacillus licheniformis</i>		-	-	+	+

\* K: Kuzu büyüme yemi. \*\* Metabolik enerji hesap yoluyla bulunmuştur. Premiks İçeriği (her 1 kg'da) :15.000.000 IU Vitamin A, 3.000.000 IU Vitamin D3, 20.000 mg Vitamin E, 4.000 mg Vitamin B1, 4.000 mg Vitamin B6, 10.000 mg Niasin, 50.000 mg Mangan oksit, 150 mg Kobalt, 800 mg İyot, 5.000 mg Bakır, 25 mg Biotin.

Konsantre yemler ile kuru yonca otu sabah saat 08:00 ve akşam 17:00 olmak üzere iki öğünde verilmiştir. Deneme süresince kuzulara günlük 150 g yonca kuru otu uzunlukları 2-10 cm olacak şekilde kıyılarak verilmiştir. *Bacillus licheniformis* muamele III ve IV. gruplarına  $2 \times 10^7$  CFU/kg canlı ağırlık olacak şekilde, sıvı formda olduğu için hergün enjektör yardımıyla oral yolla verilmiştir. Karma yemin içeriği Tablo 3.1'de ve besin madde değerleri Tablo 3.2'te verilmiştir. Artan yemler tartılarak günlük yem tüketimleri hesaplanmış, hayvanların su ihtiyacı otomatik suluklarla temiz şekilde serbest olarak sağlanmıştır. Hayvanların padoklarına buğday sapı serilerek altlarının sürekli kuru ve temiz olmasına özen gösterilmiştir.

**Tablo 3.2.** Araştırma yemlerinin ham besin madde içeriği \*

Parametreler	Değerler, %					
	YNM	Kıvık mısır	Soya küspesi	Buğday kepeği	Büyütme y.	Yonca kuru o.
<b>Kuru Madde</b>	75.83±1.1	89.40±0.3	90.73±0.2	89.31±0.1	91.33±0.2	88.88±0.3
<b>Ham Protein</b>	8.38±0.2	7.04±0.1	45.24±0.1	14.26±0.2	16.32±0.1	13.55±0.2
<b>Ham Yağ</b>	4.48±0.2	4.34±0.1	1.58±0.1	4.12±0.1	4.22±0.09	1.87±0.1
<b>Ham Kül</b>	1.43±0.1	1.47±0.1	6.88±0.09	6.18±0.2	7.92±0.1	8.93±0.2
<b>Ham Selüloz</b>	3.1±0.09	2.84±0.1	1.09±0.09	10.24±0.1	7.68±0.08	27.13±0.3
<b>ADF</b>	2.16±0.1	2.46±0.1	4.76±0.1	11.30±0.1	9.45±0.1	21.73±0.2
<b>NDF</b>	6.75±0.1	9.79±0.1	6.96±0.1	39.44±0.1	23.74±0.1	42.74±0.3

\* Yem analizleri Balıkesir Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı laboratuvarında yapılmıştır.

### 3.2. Yemlerin Ham Besin Madde Analizleri

Araştırmada kullanılan yemlerin ham besin madde analizleri Balıkesir Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı laboratuvarında yapılmıştır. Yemlerdeki besin maddeleri, kuru madde (KM), ham kül (HK), ham yağ (HY), ham protein (HP), ham selüloz (HS), asit deterjan lif (ADF) ve nötral deterjan lif (NDF) analizleri yapılarak tespit edilmiştir.

### 3.2.1. Kuru Madde Tayini (KM)

Araştırmadaki KM düzeyleri AOAC, (2000)'de belirtilen metoda göre yapılmıştır. Yüksek nemli mısır 60 °C'de 72 saat bekletilerek ve mısır kırması ile büyütme yemi ise 105 °C'de 5 saat ağırlıkları değişmeyinceye kadar hava sirkülasyonlu kurutma cihazında (Mommert UNE 400, Germany) bekletilerek KM düzeyi belirlemiş olup yüzde olarak ifade edilmiştir.

$$\text{Nem (\%)} = [(G2 - G)/(G1 - G)] \times 100,$$

G: Dara, G1: İlk tartım, G2: Son tartım.

### 3.2.2. Ham Kül Tayini (HK)

Araştırmadaki HK düzeyleri AOAC, (2000)'de belirtilen metoda göre gravimetrik yöntemle tespit edilmiştir. Yem rnekleri 550°C 'de kül fırınında (Carbolite ELF 11/14, İngiltere) 5 saat yakılarak HK değerleri tespit edilmiştir.

$$\text{Ham Kül (\%)} = [(M2 - M)/(M1 - M)] \times 100$$

M: Dara, M1: İlk tartım, M2: Son tartım.

### 3.2.3. Ham Yağ Tayini (HY)

Araştırmadaki HY düzeyleri AOAC, (2000)'de belirtilen metoda göre tespit edilmiştir. Yem numuneleri Soxtherm cihazında (Gerhardt, Almanya) soxhlet yöntemiyle petrol eteri (Sigma Aldrich) kullanılarak analiz edilmiştir.

$$\text{Ham Yağ Miktarı (\%)} = [(M2-M1)/ m] \times 100$$

M1: İlk Tartım, M2: Son Tartım, m: rnek ağırlığı.

### 3.2.4. Ham Protein Tayini (HP)

Araştırmadaki HP düzeyleri AOAC, (2000)'de belirtilen metoda göre yapılmıştır. Kjeldahl yöntemi ile yapılan bu analizde kjeldahl tüplerine 1g örnek tartılmış ve üzerine derişik sülfürik asit (%97'lik) ilave edilmiştir. Yağ yakma işlemi

yapıldıktan sonra destilasyon aşamasında Vapodest 45s (Gerhardt, Almanya) cihazında, sodyum hidroksit (NaOH) ve borik asit (H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>) çözeltileri kullanılmıştır. Titrasyon aşamasında numuneler 0,1 N HCl ile pembe renk oluşuncaya kadar titre edilip azot değeri (N) değeri bulunmuş, bu değer 6.25 ile çarpılarak HP değeri tespit edilmiştir.

Azot miktarı (%)=[(VHCl -VKör) x NHCl x 0.14] / Örnek ağırlığı(g).

VHCl: Örnek için harcanan HCl (ml), VKör: Kör için harcanan HCl (ml).

Ham Protein (%) = Azot miktarı (%N) x 6,25.

### **3.2.5. Ham Selüloz Tayini (HS)**

Araştırmadaki HS düzeyleri AOAC, (2000)'de belirtilen metoda göre sülfürik asit ve sodyum hidroksit çözeltileri kullanılarak Fibretherm (Gerhardt, Almanya) cihazında yapılmıştır.

Kimyasallar: Sülfürik asit çözeltisi, sodyum hidroksit çözeltisi.

Kullanılan Ekipman: Fibretherm (Gerhardt, Almanya) cihazı.

### **3.2.6. Nötral Deterjan Lif Tayini (NDF)**

Araştırmadaki NDF düzeyleri Van Soest ve ark., (1991) tarafından belirtilen metoda göre yapılmıştır.

Kimyasallar: Ethylenediamine tetra acetic acid-disodium (EDTA), di-sodium tetra borate-decahydrate, dodecylsulphate-sodium, 2-ethoxyethanol, sodium dihydrogenphosphate, sodium sulphite, amilaz ve köpük önleyici n-octanol.

Kullanılan Ekipman: Fibretherm (Gerhardt, Almanya) cihazı.

### **3.2.7. Asit Deterjan Lif Tayini (ADF)**

Araştırmadaki ADF analizleri Van Soest ve ark., (1991) tarafından belirtilen metoda göre yapılmıştır.



Kimyasallar: N-cetyl-N,N,N-trimethyl-ammonium bromide, sülfürik asit ve köpük önleyici n-octanol.

Kullanılan Ekipman: Fibretherm (Gerhardt, Almanya) cihazı.

### 3.3. Kuzuların Canlı Ağırlık Artışlarının Belirlenmesi

Denemede canlı ağırlık tartımları, 0, 14, 28, 42 ve 56. günlerde olmak üzere besi programının başlangıcından itibaren çalışma sonuna kadar her 14 günde bir yapılmıştır. Bireysel olarak tartımın yapıldığı günler kuzular sabah yemlemesinden 12 saat öncesi padoklarındaki yem ve suları alınmıştır. Tartımlar 10 grama hassas özel kafesli terazide yapılmıştır. Yapılan tartımlar sonucu hayvanların canlı ağırlıkları tespit edilmiş, günlük canlı ağırlık artışı (GCAA) ise, iki tartım arasındaki canlı ağırlık artışı aynı dönemdeki gün sayısına bölünerek hesaplanmıştır.

$$\text{GCAA, g} = \frac{\text{Periyod Başı Canlı Ağırlık(kg)} - \text{Periyod Sonu Canlı Ağırlık(kg)}}{\text{Gün Sayısı}} \times 1000$$

### 3.4. Yem Tüketimi ve Yemden Yararlanma Oranının Belirlenmesi

Sabah yemlemesinden önce yemliklerde kalan yemler tartılarak günlük tüketilen yem miktarları hesaplanmıştır. Tartımlar 1.0 g hassasiyete sahip TEM (Türkiye) teraziyle yapılmıştır. Kuzuların deneme süresince belirtilen dönemlerde tüketilen yem maddesi, aynı dönemlerdeki canlı ağırlık artışına bölünerek yemden yararlanma oranı (YYO) (g günlük tüketilen yem / g günlük canlı ağırlık artışı) olarak tespit edilmiştir.

$$\text{Yemden Yararlanma Oranı} = \frac{\text{Günlük Tüketilen Yem Miktarı, g}}{\text{Günlük Canlı Ağırlık Artışı, g}} \times 1000$$

### 3.5. Vücut Ölçülerinin Belirlenmesi

Yapılan çalışmada kuzulara ait vücut ölçümleri deneme başı (0. gün), deneme ortası (28. gün) ve deneme sonu (56. gün) olmak üzere aynı günde aynı araştırmacı tarafından hayvanlar düz bir zemin üzerinde iken yapılmıştır. Ölçümler FAO (2012), Riva ve ark. (2004) ve Yılmaz ve ark. (2013b) tarafından bildirilen çalışmalara göre yapılmıştır. Vücut uzunluğu (VU), cidago yüksekliği (CY), sırt yüksekliği (SY), göğüs derinliği (GD), göğüs genişliği (GG) ve sağrı yüksekliği (SY) ölçü bastonu ile göğüs çevresi (GÇ), sağrı genişliği (SG), but çevresi (BÇ) ve incik çevresi (İÇ) ise şerit metre ile ölçülmüştür (Şekil 3.3).

1. Vücut uzunluğu, caput humeriden tuber ischiadicum'a kadar olan uzaklık;
2. Cidago yüksekliği, vertebrae anticlinalis'den yere olan dik olan uzaklık;
3. Sırt yüksekliği, thorocal vertebrae ile yer arasındaki uzaklık;
4. Göğüs derinliği, son thorocal vertebrae'den sternum'un processus xiphoides'una kadar olan uzaklık;
5. Göğüs genişliği, thorax'da yanlara doğru olan en kabarık iki costae arası uzaklık;
6. Sağrı yüksekliği, pelvic kuşağın tuber sacrale'sinden yere olan dik uzaklık;
7. Göğüs çevresi, costaların skapulanın hemen arkasından göğüs bölgesini çevreleyen uzaklık;
8. Sağrı genişliği, tubercxae'lar arası uzaklık;
9. But çevresi, arka bacak but bölgesinde şerit metre yardımıyla ölçülen uzaklık;
10. İncik çevresi, metacarpus'un en ince yerinin çevresi.



Şekil 3.3. Hayvan vücut ölçümleri alınması işlemi.

### **3.6. Kan Numunelerinin Alınması ve Saklanması**

Denemenin 56. gününde yem tüketiminden 3-4 saat sonra tüm kuzuların *Vena jugularis*'inden kan alma kanülleri ile kırmızı başlıklı antikoagülsüz vakumlu serum tüpleri içerisine 9'ar ml kan örneği alınmıştır. Alınan kanlar 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildikten (NF400, Nüve, Türkiye) sonra elde edilen serumlar 2 ml'lik ependorf tüplere alınıp analiz yapılana kadar -20°C'de derin dondurucuda saklanmıştır.

#### **3.6.1. Kan Serum Parametrelerinin Analizi**

Araştırmanın sonunda her kuzudan alınan kan serumundaki Albumin, Total Protein (TP), Aspartat Amino Transferaz (AST), Alanin Amino Transferaz (ALT), Glukoz, Üre, Kreatin, Kreatin kinaz (CK-NAC), İnsülin, İnsülin-benzeri büyüme faktörü I (IGF-I), İmmunoglobulin A (IgA), İmmunoglobulin M (IgM), Haptoglobulin, Superoksid Dismutaz (SOD) ve Glutasyon Peroksidaz (GSH\_PX) düzeyleri özel bir firma tarafından (Diagen A.Ş., Ankara) analiz edilmiştir.

### **3.7. Rumen Sıvısı Numunelerinin Alınması ve Analizleri**

Hayvan denemesinin son günü olan (56. günde) yemlemeden 3-4 saat sonrasında kuzulardan; iç çapı 0.5 cm, uzunluğu ise 120 cm olan kauçuk bir rumen içerik sondası yardımıyla yaklaşık 10-15 ml rumen sıvısı, numune toplama kaplarına alınmıştır. Alınan rumen sıvıları dört katlı tülbentten süzdürülerek bir kaba aktarılmıştır. Bu süzüntüden alınan örnekler farklı analizler yapılması için farklı kaplara aktarılmıştır.



**Şekil 3.4.** Hayvan çalışmaları sırasında rumen sıvısı alma işlemi.

### **3.7.1. Rumen Sıvısında pH Ölçümü**

Taze alınan rumen sıvısı dört katlı tülbentten süzildükten sonra kap içerisinde aktarıldıktan sonra pH metre (pH metre HANNA HI221, Almanya) cihazıyla rumen sıvısı pH ölçümü yapılmıştır.

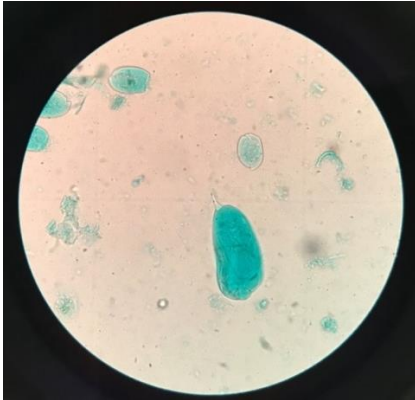
### **3.7.2. Protozoa Sayımı**

Rumen içeriği dört katlı tülbentten kendi haline süzildükten sonra (süzülürken sıkıştırma yapmadan) 5 ml falcon tüp içerisine süzüntü rumen içeriği alınmıştır. Rumen sıvısında protozoaların analiz edilinceye kadar bekletilmesi amacıyla önceden % 50 formalin (% 18.5 formaldehit konsantrasyonu) solüsyonu içerecek şekilde çözelti hazırlandı (Dehority, 1994). Rumen sıvıları ve hazırlanan formalin solüsyonları, eşit hacimde (v/v) nihai formaldehit konsantrasyonu % 9.75 içerecek şekilde karıştırıldı (Dehority, 1984). Protozoa sayımı yapılmadan önce

protozoalarının boyanması ve sabitlenmesi amacıyla daha önce hazırlanan rumen sıvısı-formalin karışımı eşit hacimde (v/v) metil green formalin saline (MFS) solüsyonuyla karıştırılarak ışık mikroskobu altında sayım yapılmıştır (Ogimoto ve Imai, 1981). Protozoaların iskelet plakalarını belirlenmesi için 2 damla % 2'lik lugol solüsyonu belirtmek için kullanılmıştır (Gürelli ve Ito, 2014).

Hazırlanan numunelerden Neubaver hemositometre lamına bir damla damlatılıp, sayım işlemleri için ışık mikroskobu (Nikon, Eclipse Ni, Tokyo, Japan) kullanılmıştır. Işık mikroskopunda 10'luk büyütmede alan bulunup, 40x 'lık büyütmede sayım işlemi gerçekleştirilmiştir. 1 ml rumen içeriği başına düşen protozoa sayısı aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır (Gürelli ve Ito, 2014).

$N = 10/4 \times a \times d$  (N: 1 ml rumen içeriğindeki protozoa sayısı, a: Neubauer hemisitometresindeki 4 bölümdeki protozoa sayısı, d:seyreltme katsayısı).



Şekil 3.5. Protozoa örneklerinin sayım işlemleri.

### 3.7.3. Rumen Sıvısında Uçucu Yağ Asidi Tayini

Alınan rumen sıvısı dört katlı tülbentten süzildükten sonra süzüntüden 2ml ependorf tüpüne alınmış, fermantasyonu önlemek amacıyla iki damla toluen damlatılmıştır. Örnekler deney yapılana kadar derin dondurucuda -20°C'de saklanmıştır. Rumen sıvısının uçucu yağ asitleri analizinin yapılması için yüksek

performanslı sıvı kromatografisi (Agilent 1200, Kyoto, Japonya) cihazı (HPLC) ile yapılmıştır.

Deneyin Yapılışı:

1. Ependorflar dondurucudan çıkarıldıktan sonra çözülünceye kadar oda sıcaklığında bekletilmiştir.
2. Çözülen rumen sıvısı örnekleri 10000 rpm de 20 dakika santrifüj edilmiştir.
3. Santrifüj edildikten sonra ependorf tüplerine süpernatantlardan 800 µl alınarak, üzerine 200 µl (v/v:3/1) oranında %25'lik metafosforik asit ve %5'lik formik asitten ilave edildi.
4. Proteinlerin çökmesi için 30 dakika beklenmiş olup, daha sonra bu homojenat örneklerden 1 ml'lik viallere alınmıştır.

HPLC Kromatografi Cihazı ve Özellikleri

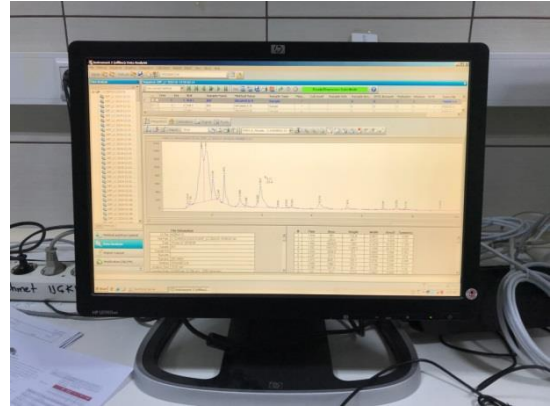
Model : Agilent 1200, Kyoto, Japan.

Pompa ve dedektör : LC-10 ADVP pompa ve PDA detektör (SPD M10 VP)

Kolon fırını : CTO-10ASVP

Numune alıcı : SIL-10ADVP

Kolon : İnertsil ODS-4 kolon (25×4.6 mm, 5 µm)



Şekil 3.6. UYA örneklerinin analiz edildiği HPLC cihazı (BÜBTAM, Balıkesir).

HPLC kolonu 30 °C'ye ve 5 mM H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (pH=4.0) ve metanol (90:10, v/v) oranında, kolon ısı 60°C'de sabit tutularak akış hızı dakikada 0.6 mL olacak şekilde ayarlandı. Uçucu yağ asitleri PDA dedektörü ile 210 nm'de tespit edilmiştir (Han ve ark., 2005; Li ve ark., 2018b; Tabaru ve ark., 1988). Numunelerdeki UYA konsantrasyonları (mM) birim olarak ifade edildi.

### **3.8. Rumen Papilla Gelişiminin Tespiti**

Deneme sonu olan 56. günde her gruptan canlı ağırlıkları grup ortalamalarına yakın ikişer kuzu seçilerek, bunların kesimi yapılmış ve rumen örnekleri alınarak Wang ve ark., (2020a) tarafından bildirilen metoda göre ölçülmüştür. Histopatolojik inceleme için rumenlerin dorsal ve ventral keselerinden 1-2 cm genişliğinde doku parçaları alınarak % 10'luk tamponlu nötral formaldehit solüsyonuna konulup, tespiti yapılmıştır. Formalinde tespit edilen doku örnekleri rutin takip işleminden sonra parafinde bloklanmıştır. Parafin bloklardan 4 µm kalınlığında kesitler alınarak Hematoksilen-Eosin boya ile boyanmış ve ışık mikroskobunda (Nikon, Eclipse Ni, Tokyo, Japan) incelenmiştir. Rumen papillalarının uzunlukları ve genişlikleri ışık mikroskobuna entegre kamera (Nikon, DS-Ri2, Tokyo, Japan) ile fotoğraflandıktan sonra NIS-Elements BR (5.02.00, Nikon, Tokyo, Japan) programında ölçülerek sonuçlar kaydedilmiştir.

### **3.9. Rumen Mikrobiyota Analizleri**

Rumen mikrobiyotası için alınan numuneler analizler gerçekleştirilene kadar -80°C'de saklanmıştır.

#### **3.9.1. DNA Ekstraksiyonu**

Ekstraksiyon protokolü uygulanırken, QuickGene (Kurabo, Japonya) cihazı ve doku ekstraksiyon kiti (Kurabo QuickGene DNA tissue kit S Bacterial Genomic DNA Extraction from Stool, DT-S, Japonya) kullanılmıştır. İlk olarak, 20 ml rumen numunesi 250 µl MDT (Doku Lizis) solüsyonu ile birlikte homojenizasyon tüpüne aktarılmıştır. Homojenize hale gelmesi için tüpün içerisine 15 mg 0.1 mmø cam boncuk ya da 10 tane 1.0 mmø zirkon boncuk eklenmiştir. Homojenizatörde 5000 rpm'de 3 dk santrifüj edilip, numune homojenize olduktan sonra, 25 µl EDTA (Proteinaz K) solüsyonu eklenerek 56°C'de 60 dk inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası, oda sıcaklığında 10 dakika 15000g santrifüj edimesini takiben 200 µl süpernatant 1,5 mL'lik

mikro tüpe aktarılmıştır. Bu süpernanant üzerine 180 µl LDT (Hücre Lizis) solüsyonu eklenip vortekste 3000 rpm'de 15 saniye karıştırıldıktan sonra mikro tüp 70°C'de 10 dakika inkübasyona bırakılmıştır. Tüplere, 240 µl %99 soğuk etanol ilave edilip 20 saniye vorteksle karıştırılmıştır. Mikro tüpün bütün içeriği QuickGene (Kurabo) filtreli kasete aktarılıp ve cihaz protokolü takip edilerek yıkamalar ve elüsyon işlemi gerçekleştirilmiştir. 750 µl WDT yıkama tampon (wash buffer) solüsyonu kullanılarak üç defa yıkama işlemi gerçekleştirilmiştir. Ekstraksiyon işlemi sonucunda 200 µl CDT (elution Buffer) ile sulandırılmış ortalama 50-60 ng genomik DNA elde edilmiştir. Elde edilen (nükleik asitin saflık ve kalite miktarı Nanodrop (Colibri Titertek Berthold) ve Qubit Florometer (Qubit™ dsDNA HS Kit- ThermoFisher, PicoGreen® Dye) cihazı ile kontrol edilmiştir.

### **3.9.2. 16S Sekans Analizi**

Ekstrakte edilen DNA, 16S V3-V4 314F-860R primer setleri ile amplifiye edilmiştir. Kütüphane hazırlığı NEBNext® Ultra™ DNA Library Prep Kit for Illumina® kütüphane hazırlama kiti ve indeksleri ile gerçekleştirilmiştir. PCR reaksiyonları, Phusion High-Fidelity Polymerase Chain Reaction (PCR) Master Mix (New England Biolabs) ile yapılmıştır. Belirli boyut seçimiyle temizlenen havuzlanmış kitaplıklar, üretici protokolü (AMPure XP, Beckman Coulter) izlenerek uygulanmıştır. Kütüphane hazırlığından sonra, sekanslamayı çalıştırmak için NovoSeq 6000 (Illumina) cihazı kullanılmıştır.

### **3.9.3. Biyoinformatik Analizi**

16S rRNA gen içeriğinden elde edilen veri, filogenetik ve hizalama (alignment) tabanlı yaklaşımlar ile data çözümlemesinden en yüksek seviyede verim alınmasını sağlar. Ekstrakte edilen bakteri DNA'larında bulunan 16S rDNA V3-V4 bölgesi PCR ile amplifike edildikten sonra HiSeq platformunda (Illumina) yaklaşık olarak bölgenin tamamının örtüştüğü 2x250 bp pair-end (çift sonlu) protokolü takip edilerek dizileme gerçekleştirilmiştir (Bolyen ve ark.,



2019). Özgün moleküler barkodlarla okuma çiftleri ayrıştırılır ve pair-end okumalar FLASH (V1.2.7, <http://ccb.jhu.edu/software/FLASH/>) (Tanja ve Salzberg, 2011) kullanılarak birleştirilir. FLASH yazılımı DNA fragmentinin karşılıklı kesişen sonlarından oluşturulan okumaya bazı okumaların örtüşmesiyle dahi pair-end'leri birleştirebilmesi için tasarlanmıştır (Bokulich ve ark., 2013). QIIME (V1.7.0, [http://qiime.org/scripts/split\\_libraries\\_fastq.html](http://qiime.org/scripts/split_libraries_fastq.html)) kalite kontrol prosesine göre raw taq'lardaki yüksek kalite filtresi ile temiz taq'lar elde etmek için spesifik filtreleme koşulları altında gerçekleştirilmiştir (Caporaso ve ark., 2010). Düşük phred puanına (<Q30) sahip bazlar çıkarılmıştır. Dada2 tarafından üretilen Amplikon Dizi Varyantları (ASV), GreenGenes ([/greengenes.lbl.gov](http://greengenes.lbl.gov)) veri tabanına göre eşlenmiştir (Schloss, 2021; Werner ve ark., 2012). Phyloseq nesnesi, R 4.1 ortamında qiime2 yapı dosyalarından oluşturulmuştur (McMurdie ve Holmes, 2013; R Core Team, 2021). Bu taq'lar UCHIME ([www.drive5.com/usearch/manual/uchime\\_algo.html](http://www.drive5.com/usearch/manual/uchime_algo.html)) algoritması kullanılarak kimera sekasları tespiti için referans database (Gold database, [http://drive5.com/uchime/uchime\\_download.html](http://drive5.com/uchime/uchime_download.html)) ile karşılaştırılmıştır. Bu KİMERA ([http://www.drive5.com/usearch/manual/chimera\\_formation.html](http://www.drive5.com/usearch/manual/chimera_formation.html)) sekansları çıkarılmış ve efektif taq'lar elde edilmiştir (Edgar, 2010). Ek olarak, birleştirilen okuma sonuçlarına kalite filtresi uygulanıp ve beklenen hata oranı ( $\geq 0,05$ ) üzerinde olanlar elenmiştir.

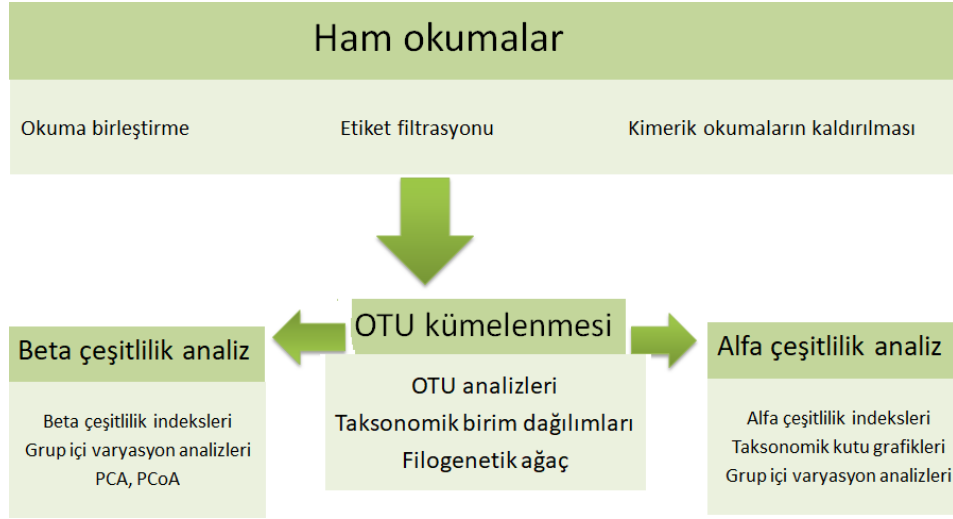
16S rRNA gen dizileri UPRASE (Uparse v7.0.1001 - <http://drive5.com/uparse/>) algoritması kullanılarak  $\geq \%97$  benzerlik kesim oranı (cut-off) ile OTU (bakterileri dizi benzerliğine göre sınıflandırmak için kullanılan yöntem- [http://www.drive5.com/usearch/manual/otu\\_definition.html](http://www.drive5.com/usearch/manual/otu_definition.html)) kümelerine ayrılmıştır. Taksonomik sınıflara karar vermek için sadece 16S V3- v4 bölgesini içeren SILVA (<http://www.arb-silva.de/>) veri tabanının (Edgar ve ark., 2013; Quast ve ark., 2013) optimize edilmiş versiyonu ile OTU'lar haritalanmıştır. Ayrılmış (demultiplexed) okumaların UPARSE OTUs kullanılarak haritalanması ile yoğunluklar elde edilmiştir. Bütün OTU'ların temsili dizilerinin filogenetik ilişkisinin belirlenmesi amacıyla, çok sayıda diziyi karşılaştırabilir olan MUSCLE (Sürüm 3.8.31 <http://www.drive5.com/muscle/>) kullanılmıştır (Edgar, 2004). Önceki iki basamakta oluşturulan OTU tabloları ile Alpha-diversity, beta-diversity (Lozupone ve Knight, 2005) analizleri yapıldı.

Taksonomik çeşitliliğin değerlendirilmesi için alfa çeşitlilik değerlendirilmesi, Shannon, Simpson, Chao1 indeksleri kullanılarak yorumlanmıştır. Gruplar arası normallik değerleri Kruskal-Wallis testi ile hesaplanmıştır (Kruskal ve Wallis, 1952). Taksonomik farklılıkların değerlendirilmesi için kullanılan beta çeşitlilik analizi, bray-curtis, ağırlıklı ve ağırlıksız unifrac temel alınarak hesaplanmıştır. Kuzular arası taksonomik farklılıkların değerlendirilmesi için beta çeşitlilik analizi QIIME (Version 1.7.0) kullanılarak tespit edilmiştir. Bütün bu indeksler, QIIME (Version 1.7.0) ve Deseq2 R paket programı (Version 2.15.3) kullanılarak hesaplanmıştır (Love ve ark., 2014). Doğrusal diskriminant Etki Büyüklüğü (LEfSe) analizi, istatistiksel olarak anlamlı taksonomileri göstermek için gruplar arasında yapılmıştır (Segata ve ark. 2011). Kutu grafikler, sütunlu grafikler, cins düzeyinde değerlendirmelerin yapıldığı ısı grafikleri R yazılımı kullanılmıştır.

### 3.10. İstatistiksel Analizler

Çalışmadan elde edilen veriler SPSS 25 paket programı kullanılarak varyans analizine tabi tutulmuştur. Deneme başında canlı ağırlıkların gruplar arasında ve grup içinde homojen olması için canlı ağırlıklar varyans homojenlik testine tabi tutularak yapılmıştır. Normallik testi için Shapiro-Wilk Testi yapılmıştır. Besi performansı, kan serum ve bağışıklık parametreleri, pH, protozoa ve toplam UYA ölçümlerinin değerlendirilmesinde gruplar arası farklılığın belirlenmek için tek yönlü varyans analizi (ANOVA), grup ortalamaları arasındaki farklılıkların belirlenmesinde Tukey testi kullanılmıştır.

Mikrobiyota Analiz İstatistikleri: OTU kümelenmesi, filogenetik sınıflandırmanın istatistiksel olarak taksonomik yapısı, gruplar arasındaki farklılıkların bileşen analizi (principle component analysis-PCA) ve temel koordinatlar analizi (principle coordinates analysis-PCoA) yoluyla belirtilmiştir. Lineer ayırıcı analiz etki büyüklüğü (Linear discriminant analysis effect size-LEfSe) analizi ise gruplar arasındaki farklılıkları test etmede kullanılmıştır. Rumen mikrobiyota verilerinin analizine ilişkin izlenen süreç Şekil 3.7 'de gösterilmiştir.



**Şekil 3.7.** Mikrobiyota verilerin analiz edilme basamakları.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Deneme Gruplarının Canlı Ağırlıkları

Deneme başında bütün kuzular tek tek tartılmış, grup canlı ağırlık ortalamaları birbirine benzer olacak şekilde gruplara ayrılmış, 14, 28, 42 ve 56. günlerde hayvanlar bireysel olarak tartılarak canlı ağırlıklar tespit edilmiştir. Deneme gruplarında canlı ağırlık değerleri Tablo 4.1’de verilmiştir. Tablo incelendiğinde deneme başı canlı ağırlıklar K, YNM, KM, YNBL ve KMBL gruplarında sırasıyla 25.514, 25.514, 25.585, 25.514 ve 25.571 kg olarak tespit edilmiştir. Denemenin 14, 28, 42 ve 56. günlerinde canlı ağırlık bakımından gruplar arası farklılık istatistiksel bakımdan önemsiz bulunmuştur ( $p>0.05$ ).

**Tablo 4.1.** Deneme gruplarında dönemlere göre canlı ağırlık değerleri (kg).

Dönemler, kg	Deneme Grupları					SEM	P
	K	YNM	KM	YNMBL	KMBL		
Deneme Baş.	25.514	25.514	25.585	25.514	25.571	0.44	1.000
14. gün	28.542	29.228	27.414	29.300	28.114	0.50	0.768
28. gün	33.500	34.142	31.393	34.042	32.664	0.56	0.539
42. gün	37.528	38.571	36.197	39.414	37.342	0.59	0.514
56. gün	40.642	42.085	39.680	44.142	40.342	0.68	0.260

K: Kontrol, YNM: Yüksek Nemli Mısır, KM: Kırık mısır, YNM: Yüksek Nemli Mısır + *Bacillus licheniformis*, KMBL: Kırık mısır + *Bacillus licheniformis*.

### 4.2. Deneme Gruplarında Günlük Canlı Ağırlık Artışı

Deneme Gruplarında günlük canlı ağırlık artışı Tablo 4.2 ‘de verilmiştir. Tablo incelendiğinde, denemenin 0-14. günlerinde kuzuların günlük canlı ağırlık artışları K, YNM, KM, YNBL ve KMBL gruplarında sırasıyla 216.32, 265.30, 130.62, 270.40 ve 181.63 g olarak tespit edilmiş, en yüksek GCAA YNMBL grubunda tespit edilmiştir ( $p\leq 0.05$ ). Araştırma süresince deneme gruplarında (0-56. günler arasında) GCAA sırasıyla 270.15, 295.91, 251.69, 332.65 ve 263.77 g olarak

bulunmuş, YNMBL grubunda diğer gruplara göre daha iyi canlı ağırlık artışı görülmüş de, gruplar arası farklılık istatistiksel bakımdan önemsiz bulunmuştur ( $p>0.05$ ).

**Tablo 4.2.** Deneme gruplarında günlük canlı ağırlık artışı (GCAA g/gün).

Dönemler	Deneme Grupları					SEM	P
	K	YNM	KM	YNMBL	KMBL		
0-14. gün	216.32ab	265.30ab	130.62b	270.40a	181.63ab	16.87	0.034
15-28. gün	354.08	351.02	284.24	338.77	325.00	14.13	0.544
29-42. gün	314.28	316.32	343.13	383.67	334.18	13.90	0.536
43-56. gün	222.44	285.71	248.78	337.75	214.28	16.04	0.074
0-56. gün	270.15	295.91	251.69	332.65	263.77	10.52	0.103

a,b: Aynı satırda farklı harf taşıyan gruplarda farklılık istatistiksel olarak önemlidir ( $p<0.05$ ).

K: Kontrol, YNM: Yüksek Nemli Mısır, KM: Kırık mısır, YNM: Yüksek Nemli Mısır + *Bacillus licheniformis*, KMBL: Kırık mısır + *Bacillus licheniformis*.

### 4.3. Deneme Gruplarında Toplam Yem Tüketimi

Deneme gruplarına verilen yemlerden kalan yemler çıkarılarak fark hesaplanmış, kuzuların 0-14, 15-28, 29-42, 43-56 ve 0-56. günler arası olmak üzere toplam yem tüketimleri dönemlik olarak Tablo 4.3 'de verilmiştir. Tablo incelendiğinde kuzuların 0-14. günlerde toplam yem tüketimleri K, YNM, KM, YNBL ve KMBL gruplarında sırasıyla 15.264, 13.230, 13.207, 11.607 ve 12.238 kg olarak tespit edilmiş, en yüksek yem tüketimi K grubunda, en düşük yem tüketimi ise YNMBL ve KMBL gruplarında tespit edilmiş, gruplar arası istatistiksel farklılık önemli bulunmuştur ( $p<0.004$ ). Denemenin 15-28. günleri arası toplam yem tüketimleri K grubunda en yüksek, KM grubunda ise düşük bulunmuştur ( $p<0.042$ ). Gruplar arasında 0-56. günlerdeki toplam yem tüketimleri sırasıyla 73.784, 64.227, 62.464, 65.493 ve 63.155 kg olarak bulunmuş, K grubunda önemli düzeyde yüksek olmuştur, YNM ve YNMBL gruplarında daha düşük yem tüketimi gözlemlenmiş ve birbirleri ile benzerlik göstermiştir, KM ve KMBL grupları ise en düşük olup gruplar arası farklılık istatistiksel bakımdan önemli bulunmuştur ( $p<0.018$ ).

**Tablo 4.3.** Deneme gruplarında toplam yem tüketimi (kg).

Dönemler	Deneme Grupları, kg					SEM	P
	K	YNM	KM	YNMBL	KMBL		
0-14. gün	15.264a	13.230ab	13.207ab	11.607b	12.238b	0.345	0.004
15-28. gün	17.747a	15.936ab	13.822b	16.415ab	15.014ab	0.432	0.042
29-42. gün	20.317	17.402	17.646	18.070	17.933	0.385	0.108
43-56. gün	20.455	17.658	18.467	19.400	17.597	0.439	0.189
0-56. gün	73.784a	64.227ab	62.464b	65.493ab	63.155b	1.249	0.018

a,b: Aynı satırda farklı harf taşıyan gruplarda farklılık istatistiksel olarak önemlidir ( $p<0.05$ ).

K: Kontrol, YNM: Yüksek Nemli Mısır, KM: Kırık mısır, YNMBL: Yüksek Nemli Mısır + *Bacillus licheniformis*, KMBL: Kırık mısır + *Bacillus licheniformis*.

#### 4.4. Deneme Gruplarında Günlük Yem Tüketimi

Araştırma gruplarında kuzuların günlük yem tüketimleri Tablo 4.4’de verilmiştir. Tablo verileri incelendiğinde denemenin 0-14. günler arası yem tüketimleri K, YNM, KM, YNBL ve KMBL gruplarında sırasıyla 1090.34, 945.04, 943.43, 829.11 ve 874.20 gram / gün olarak tespit edilmiş olup, günlük yem tüketimi K grubunda en yüksek, YNMBL ve KMBL gruplarında ise en düşük olarak gözlemlenmiş ve gruplar arası farklılık istatistiksel bakımdan önemli bulunmuştur ( $p<0.004$ ). Denemenin 15-28. günleri arası günlük yem tüketimleri gruplara göre sırasıyla 1267.66, 1138.30, 987.30, 1172.50 ve 1072.49 gram / gün olup K grubundaki yem tüketimleri YNM, YNMBL ve KMBL gruplarına göre daha yüksek olup, KM grubunda ise en düşük olduğu gözlemlenmiş ve gruplar arası farklılık istatistiksel bakımdan önemli bulunmuştur ( $p<0.042$ ). Gruplar arasında 0-56. günlerdeki günlük yem tüketimleri incelendiği zaman gruplar arasında sırasıyla 1317.58, 1146.58, 1115.43, 1169.53 ve 1127.78 gram / gün olduğu tespit edilirken, en fazla günlük yem tüketimi K grubunda, YNM ve YNMBL grupları birbiriyle benzerlik göstermiş olup, en düşük yem tüketimi ise KM ve KMBL gruplarında gözlemlenmiştir, gruplar arası farklılık istatistiksel bakımdan önemli bulunmuştur ( $p<0.018$ ).

**Tablo 4.4.** Deneme gruplarında dönemlere göre günlük yem tüketimleri (g).

Dönemler, g/gün	Deneme Grupları, g					SEM	P
	K	YNM	KM	YNMBL	KMBL		
0-14. gün	1090.34a	945.04ab	943.43ab	829.11b	874.20b	24.67	0.004
15-28. gün	1267.66a	1138.30ab	987.30b	1172.50ab	1072.49ab	30.88	0.042
29-42. gün	1451.23	1243.06	1260.47	1290.77	1280.93	27.53	0.108
43-56. gün	1461.11	1261.27	1319.11	1385.71	1256.95	31.41	0.189
0-56. gün	1317.58a	1146.92ab	1115.43b	1169.53ab	1127.78b	22.30	0.018

a,b: Aynı satırda farklı harf taşıyan gruplarda farklılık istatistiksel olarak önemlidir ( $p<0.05$ ).

K: Kontrol, YNM: Yüksek Nemli Mısır, KM: Kırık mısır, YNM: Yüksek Nemli Mısır + *Bacillus licheniformis*, KMBL: Kırık mısır + *Bacillus licheniformis*.

#### 4.5. Deneme Gruplarında Yemden Yararlanma Oranları

Kuzuların yemden yararlanma oranlarına ait veriler Tablo 4.5 'de verilmiştir. Tablo incelendiğinde denemenin 0-14. günleri arasında yemden yararlanma oranları K, YNM, KM, YNBL ve KMBL gruplarında sırasıyla 5.66, 4.60, 7.43, 3.23 ve 5.16 olarak tespit edilmiş, yemden yararlanma oranının KM grubuna göre YNMBL grubunda daha iyi olduğu gözlemlenmiş ve gruplar arası farklılık istatistiksel bakımdan önemli bulunmuştur ( $p<0.015$ ). Araştırmada genel olarak 0-56. günler arasında YYO verileri gruplarda sırasıyla 4.97, 4.16, 4.54, 3.53 ve 4.35 olarak bulunmuş, YNMBL grubunun yemden yararlanma oranının K grubuna göre daha iyi olduğu görülmüş ve gruplar arası farklılık istatistiksel bakımdan önemli bulunmuştur ( $p<0.020$ ).

**Tablo 4.5.** Denemede gruplarında yemden yararlanma oranları (kg yem / kg CAA).

Dönemler	Deneme Grupları					SEM	P
	K	YNM	KM	YNMBL	KMBL		
0-14. gün	5.66ab	4.60ab	7.43a	3.23b	5.16ab	0.400	0.015
15-28. gün	3.72	3.37	3.80	3.47	3.50	0.142	0.873
29-42. gün	4.97	4.14	3.78	3.49	4.03	0.187	0.155
43-56. gün	6.94	5.27	6.09	4.24	5.71	0.331	0.095
0-56. gün	4.97a	4.16ab	4.54ab	3.53b	4.35ab	0.145	0.020

a,b: Aynı satırda farklı harf taşıyan gruplarda farklılık istatistiksel olarak önemlidir ( $p<0.05$ ).

K: Kontrol, YNM: Yüksek Nemli Mısır, KM: Kırık mısır, YNM: Yüksek Nemli Mısır + *Bacillus licheniformis*, KMBL: Kırık mısır + *Bacillus licheniformis*.

#### 4.6. Deneme Gruplarında Vücut Ölçüleri

Kuzuların vücut ölçülerine ait veriler Tablo 4.6 'de verilmiştir. Tablo incelendiğinde kuzulara ait baş, orta ve son dönem olarak yapılan ölçümlerde grupların vücut uzunluğu, cidago yüksekliği, sırt yüksekliği, göğüs derinliği, göğüs genişliği, göğüs çevresi, sağrı yüksekliği, sağrı genişliği, but çevresi ve incik çevresi ölçümleri arasında gruplar arası farklılık istatistiksel bakımdan önemsiz bulunmuştur ( $p>0.05$ ).

**Tablo 4.6.** Kuzuların vücut ölçüleri.

Ölçüm Yerleri	Deneme Grupları						SEM	P
	Dönem	K	YNM	KM	YNMBL	KMBL		
Vücut Uzunluğu	Baş	58.14	60.14	57.85	58.42	59.14	0.54	0.71
	Orta	62.28	62.57	62.14	61.57	62.85	0.42	0.91
	Son	67.14	69.28	67.17	68.42	69.00	0.50	0.54
Cidago Yüksekliği	Baş	57.57	58.00	57.14	58.00	57.57	0.46	0.97
	Orta	61.00	61.42	59.57	62.28	60.28	0.55	0.62
	Son	62.71	63.14	65.14	66.14	64.85	0.51	0.19
Sırt Yüksekliği	Baş	58.85	58.71	58.28	57.85	57.85	0.40	0.91
	Orta	61.57	61.57	59.71	62.71	60.85	0.52	0.50
	Son	63.28	63.00	64.42	65.57	64.57	0.50	0.51
Göğüs Derinliği	Baş	27.85	27.85	27.14	27.14	27.57	0.26	0.85
	Orta	28.42	28.28	27.71	28.42	28.42	0.26	0.90
	Son	29.42	29.07	29.28	31.00	29.57	0.25	0.12
Göğüs Genişliği	Baş	18.42	18.71	18.28	18.42	18.71	0.27	0.98
	Orta	19.71	21.42	20.00	20.85	19.85	0.32	0.39
	Son	20.85	21.57	21.57	21.85	21.14	0.20	0.56
Göğüs Çevresi	Baş	67.71	68.14	69.28	69.57	69.00	0.68	0.91
	Orta	77.28	75.85	76.00	76.00	75.85	0.69	0.96
	Son	84.42	83.71	81.28	84.71	82.85	0.71	0.57
Sağrı Yüksekliği	Baş	58.00	58.00	58.42	56.14	57.85	0.44	0.55
	Orta	61.42	62.42	60.57	64.00	61.85	0.48	0.24
	Son	64.71	64.57	64.85	66.71	66.00	0.49	0.60
Sağrı Genişliği	Baş	18.14	17.85	18.00	18.42	19.00	0.19	0.40
	Orta	20.28	21.57	20.14	20.42	21.14	0.30	0.52
	Son	20.85	21.85	21.57	21.14	21.85	0.15	0.15
But Çevresi	Baş	49.28	48.85	49.85	49.85	49.42	0.73	0.99
	Orta	55.71	54.42	55.28	55.71	55.85	0.78	0.98
	Son	59.57	61.71	58.14	62.57	61.85	0.73	0.28
İncik Çevresi	Baş	7.62	7.42	7.60	7.64	7.42	0.08	0.89
	Orta	7.85	8.07	7.71	7.92	8.07	0.07	0.60
	Son	8.37	8.50	8.48	8.22	8.67	0.12	0.87

K: Kontrol, YNM: Yüksek Nemli Mısır, KM: Kırık mısır, YNM: Yüksek Nemli Mısır + *Bacillus licheniformis*, KMBL: Kırık mısır + *Bacillus licheniformis*.



## **4.7. Deneme Gruplarında Kan Analizleri**

### **4.7.1. Kan Serumunda Albumin Düzeyi**

Deneme sonunda kuzuların kan serumundan ölçülen albümin düzeyleri Tablo 4.7 'de verilmiştir. Ancak gruplar arasındaki farklılık istatistiksel bakımdan önemsiz bulunmuştur ( $p>0.05$ ).

### **4.7.2. Kan Serumunda Total Protein Konsantrasyonu**

Deneme sonunda kuzuların kan serumundan ölçülen total protein konsantrasyonu düzeyleri Tablo 4.7 'de verilmiştir. Ancak kan serumundaki total protein konsantrasyonu değerlendirildiğinde gruplar arasındaki farklılık istatistiksel bakımdan önemsiz bulunmuştur ( $p>0.05$ ).

### **4.7.3. Kan Serumunda AST Düzeyi**

Deneme sonunda kuzuların kan serumundan ölçülen AST düzeyleri Tablo 4.7 'de verilmiştir. Serum AST düzeyleri incelendiğinde K, YNM, KM, YNBL ve KMBL gruplarında sırasıyla 92.54, 93.08, 99.98, 76.26 ve 80.60 U/L olarak ölçülmüş, K, YNM ve KM grupları YNMBL ve KMBL gruplarına göre daha yüksek değerlere sahip olup gruplar arasındaki farklılık istatistiksel bakımdan önemli bulunmuştur ( $p<0.0001$ ).

### **4.7.4. Kan Serumunda ALT Düzeyi**

Deneme sonunda kuzuların kan serumundan ölçülen ALT düzeyleri Tablo 4.7 'de verilmiştir. Tabloda görüldüğü gibi ALT düzeyleri en düşük YNBL ve KMBL gruplarında, K, YNM ve KM gruplarında ise daha yüksek olarak bulunmuş ve gruplar arası farklılık istatistiksel bakımdan önemli bulunmuştur ( $p<0.0001$ ).

#### 4.7.5. Kan Serumunda Glukoz Düzeyi

Deneme sonunda kuzuların kan serumundan ölçülen glukoz düzeyleri Tablo 4.7 'de verilmiştir. Gruplar arasında istatistiki bakımdan bir fark tespit edilmemiştir ( $p>0.05$ ).

#### 4.7.6. Kan Serumunda Üre ve Kreatin Düzeyi

Deneme sonunda kuzuların kan serumundan ölçülen üre ve kreatin düzeyleri Tablo 4.7 'de verilmiştir. Her iki analizde de gruplar arasında gruplar arasında istatistiksel bakımdan farklılık tespit edilmemiştir ( $p>0.05$ ).

**Tablo 4.7.** Deneme gruplarında kan serum değerleri.

	Deneme Grupları					SEM	P
	K	YNM	KM	YNMBL	KMBL		
Albumin(g/dL)	3.03	3.16	3.24	3.35	3.44	0.11	0.830
Total Protein(g/dL)	6.24	7.11	6.50	7.12	7.04	0.18	0.477
AST(u/L)	92.54a	93.08a	99.98a	76.26b	80.60b	1.79	<0.0001
ALT(u/L)	24.88a	22.01b	23.12ab	16.52c	15.06c	0.71	<0.0001
Glukoz(mmol/L)	3.24	3.20	3.27	3.52	3.44	0.06	0.449
BUN(mmol/L)	8.56	9.15	8.68	8.27	8.48	0.15	0.479
Kreatin( $\mu$ mol/L)	1.34	1.32	1.23	1.34	1.18	0.04	0.782

a,b: Aynı satırda farklı harf taşıyan gruplarda farklılık istatistiksel olarak önemlidir ( $p<0.05$ ).

K: Kontrol, YNM: Yüksek Nemli Mısır, KM: Kırık mısır, YNM: Yüksek Nemli Mısır + *Bacillus licheniformis*, KMBL: Kırık mısır + *Bacillus licheniformis*.

#### 4.7.7. Kan Serumunda Kreatin-Kinaz Düzeyi

Deneme sonunda kuzuların kan serumundan ölçülen Kreatin -Kinaz düzeyleri Tablo 4.8 'de verilmiştir. Kreatin kinaz düzeyleri K, YNM ve KM gruplarında daha yüksek olup YNMBL ve KMBL gruplarıyla aralarında istatistiksel olarak farklılık tespit edilmiştir ( $p<0.0001$ ).

#### 4.7.8. Kan Serumunda İnsulin Düzeyi

Deneme sonunda kuzuların kan serumundan ölçülen insülin düzeyleri Tablo 4.8 'de verilmiştir. İnsülin değerleri K ve YNM gruplarında en düşük düzeyde iken YNMBL ve KMBL gruplarında en yüksek değerde olduğu tespit edilmiş ve bu gruplar arası farklılık istatistiksel bakımdan önemli bulunmuştur (p=0.001).

#### 4.7.9. Kan Serumunda İnsulin-Benzeri Büyüme Faktörü-I (IGF-I) Düzeyi

Deneme sonunda kuzuların kan serumundan ölçülen IGF-I düzeyleri Tablo 4.8 'de verilmiştir. IGF-I düzeyi KMBL grubunda en yüksek iken K grubunda en düşük gözlemlenmiş, YNM ve KM grupları birbirleri arasında benzerlik göstermiş ve gruplar arası farklılık istatistiksel bakımdan önemli bulunmuştur (p=0.001).

**Tablo 4.8.** Deneme gruplarında kan serum değerleri.

	Deneme Grupları					SEM	P
	K	YNM	KM	YNMBL	KMBL		
<b>KreatinKinaz(U/L)</b>	61.02a	62.40a	63.50a	51.22b	47.29b	1.26	<0.0001
<b>İnsulin(µIU/ mL)</b>	17.01b	17.48b	18.31ab	20.15a	20.48a	0.35	0.001
<b>IGF-I (µg/mL)</b>	28.50c	29.05bc	28.82bc	32.32ab	33.21a	0.49	0.001

a,b: Aynı satırda farklı harf taşıyan gruplarda farklılık istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05).

K: Kontrol, YNM: Yüksek Nemli Mısır, KM: Kırık mısır, YNM: Yüksek Nemli Mısır + *Bacillus licheniformis*, KMBL: Kırık mısır + *Bacillus licheniformis*.

#### 4.7.10. Kan Serumunda İmmunoglobulin A (IgA) Konsantrasyonu

Deneme sonunda kuzuların kan serumundan ölçülen IgA düzeyleri Tablo 4.9 'da verilmiştir. K, YNM ve KM grupları birbirleriyle benzerlik göstermiş olup, YNMBL ve KMBL gruplarından daha düşük düzeyde tespit edilmiştir ve gruplar arası istatistiksel fark önemli bulunmuştur (p<0.0001).

#### **4.7.11. Kan Serumunda İmmunoglobulin M (IgM) Konsantrasyonu**

Deneme sonunda kuzuların kan serumundan ölçülen IgM düzeyleri Tablo 4.9 'da verilmiştir. Ig M konsantrasyonu bakımından KMBL grubu en yüksek düzeyde iken, K ve YNM grupları en düşük konsantrasyonda bulunmuştur ve KM grubu ile YNMBL grupları arasında istatistiksel olarak farklılık önemli bulunmuştur ( $p<0.0001$ ).

#### **4.7.12. Kan Serumunda Superoksid Dismutaz Konsantrasyonu**

Deneme sonunda kuzuların kan serumundan ölçülen SOD düzeyleri Tablo 4.9 'da verilmiştir. SOD konsantrasyonları K, YNM, KM, YNBL ve KMBL gruplarında sırasıyla 90.58, 94.39, 83.40, 100.03 ve 103.17 U/ml olarak tespit edilmiştir. KMBL grubu en yüksek, KM grubu ise en düşük bulunmuş, YNM ve YNMBL grupları birbirleriyle benzer ancak K grubundan istatistiksel farklılık olarak önemli bulunmuştur ( $p<0.0001$ ).

#### **4.7.13. Kan Serumunda Glutasyon Peroksidaz Konsantrasyonu**

Deneme sonunda kuzuların kan serumundan ölçülen GSH\_PX düzeyleri Tablo 4.9 'da verilmiştir. K, YNM, YNMBL ve KMBL grupları birbirleriyle benzerlik göstermiş olup, KM grubundan istatistiksel farklılık olarak önemli bulunmuştur ( $p<0.0001$ ).

#### **4.7.14. Kan Serumunda Toplam Antioksidan Kapasitesi**

Deneme sonunda kuzuların kan serumundan ölçülen T-AOC düzeyleri Tablo 4.9 'da verilmiştir. T-AOC kapasiteleri K, YNM, KM, YNBL ve KMBL gruplarında sırasıyla 8.65, 7.39, 7.08, 9.54 ve 10.58 U/ml olarak tespit edilmiştir. YNM ve KM grupları en düşük seviyede olup KMBL grubu ise en yüksek seviyededir, KMBL

grubu K, YNM ve KM gruplarına göre istatistiksel olarak farklılık göstermiştir, ancak YNMBL grubu ile benzerlik göstermiştir ( $p < 0.0001$ ).

**Tablo 4.9.** Denemede gruplarında kan serum değerleri.

	Deneme Grupları					SEM	P
	K	YNM	KM	YNMBL	KMBL		
<b>Ig A (<math>\mu\text{g/ mL}</math>)</b>	0.38b	0.35b	0.42b	0.50a	0.54a	0.01	<0.0001
<b>Ig M (<math>\mu\text{g/ mL}</math>)</b>	1.24c	1.06c	1.30bc	1.50ab	1.57a	0.03	<0.0001
<b>SOD (U/ml)</b>	90.58bc	94.39ab	83.40c	100.03ab	103.17a	1.55	<0.0001
<b>GSH_PX (<math>\mu\text{mol/ L}</math>)</b>	718.67a	714.05a	601.42b	729.35a	758.51a	11.19	<0.0001
<b>T-AOC (U/ml)</b>	8.65bc	7.39c	7.08c	9.54ab	10.58a	0.28	<0.0001

a,b: Aynı satırda farklı harf taşıyan gruplarda farklılık istatistiksel olarak önemlidir ( $p < 0.05$ ).

K: Kontrol, YNM: Yüksek Nemli Mısır, KM: Kırık mısır, YNM: Yüksek Nemli Mısır + *Bacillus licheniformis*, KMBL: Kırık mısır + *Bacillus licheniformis*.

#### 4.8. Rumen Sıvısı Analiz Bulguları

**Tablo 4.10.** Denemede gruplarında rumen sıvısı değerleri.

Deneme Sonrası UYA Analiz	Deneme Grupları					SEM	P
	K	YNM	KM	YNMBL	KMBL		
<b>Propionik asit, mM</b>	29.34cd	38.82ab	21.94d	40.22a	31.38bc	1.149	<0.0001
<b>Asetik Asit, mM</b>	79.85	69.06	70.47	67.77	71.27	1.476	0.068
<b>Butirik asit, mM</b>	1.91	2.94	2.36	2.59	2.21	0.162	0.319
<b>İsovalerik asit, mM</b>	3.61ab	4.14a	2.50ab	2.34ab	2.09b	0.224	0.011
<b>Valerik asit, mM</b>	1.66	1.46	1.52	1.36	1.24	0.126	0.880
<b>Rumen pH</b>	5.68ab	5.65b	6.01ab	6.14a	5.81ab	0,05	0.027
<b>Protozoa sayısı, (<math>10^4</math>)</b>	39.14	122.00	77.29	23.00	52.57	14.63	0.236

a,b: Aynı satırda farklı harf taşıyan gruplarda farklılık istatistiksel olarak önemlidir ( $p < 0.05$ ).

K: Kontrol, YNM: Yüksek Nemli Mısır, KM: Kırık mısır, YNM: Yüksek Nemli Mısır + *Bacillus licheniformis*, KMBL: Kırık mısır + *Bacillus licheniformis*.

Grupların rumen sıvısı incelendiğinde asetik, butirik ve valerik asit miktarı ile protozoa sayıları bakımından gruplar arasında istatistiksel bir fark tespit edilmemiştir ( $p > 0.05$ ). Propiyonik asit düzeyleri K, YNM, KM, YNBL ve KMBL gruplarında sırasıyla 29.34, 38.81, 21.94, 40.22 ve 31.38 mM olarak tespit edilmiş olup gruplar

arası istatistiksel fark önemli bulunmuştur ( $p < 0.0001$ ). İsovalerik asit analizinde YNM grubunda en yüksek değer olduğu görülür iken, KMBL grubunda en düşük değer olduğu diğer grupların birbirleri arasında benzerlik olduğu tespit edilmiş ve gruplar arası istatistiksel fark önemli bulunmuştur ( $p = 0.011$ ). Rumen pH değerleri bakımından K, YNM, KM, YNBL ve KMBL gruplarında sırasıyla 5.68, 5.65, 6.01, 6.14 ve 5.81 olarak tespit edilmiş olup gruplar arası istatistiksel fark önemli bulunmuştur ( $p = 0.027$ ).

#### 4.9. Rumen Papilla Ölçümleri

Denemenin 56. gününde alınan rumen dokusu örneklerinde gruplar arası papilla uzunlukları bakımından K, YNM, KM, YNBL ve KMBL gruplarında sırasıyla 2270.26, 2063.91, 2278.22, 2561.81 ve 2864.07  $\mu\text{m}$  olarak tespit edilmiş olup gruplar arası istatistiksel fark önemli bulunmuş ( $p \leq 0.05$ ), papilla genişliklerinde gruplar arasındaki farklılık istatistiksel bakımdan önemsizdir ( $p > 0.05$ ).

**Tablo 4.11.** Rumen papilla ölçümleri ( $\mu\text{m}$ ).

Rumen papilla değerlendirmesi	Deneme Grupları.					SEM	P
	K	YNM	KM	YNMBL	KMBL		
Papilla uzunluğu	2270.26ab	2063.91b	2278.22ab	2561.81ab	2864.07a	91.860	0.05
Papilla genişliği	448.87	489.86	455.40	483.91	456.08	10.207	0.62

a,b: Aynı satırda farklı harf taşıyan gruplarda farklılık istatistiksel olarak önemlidir ( $p < 0.05$ ).

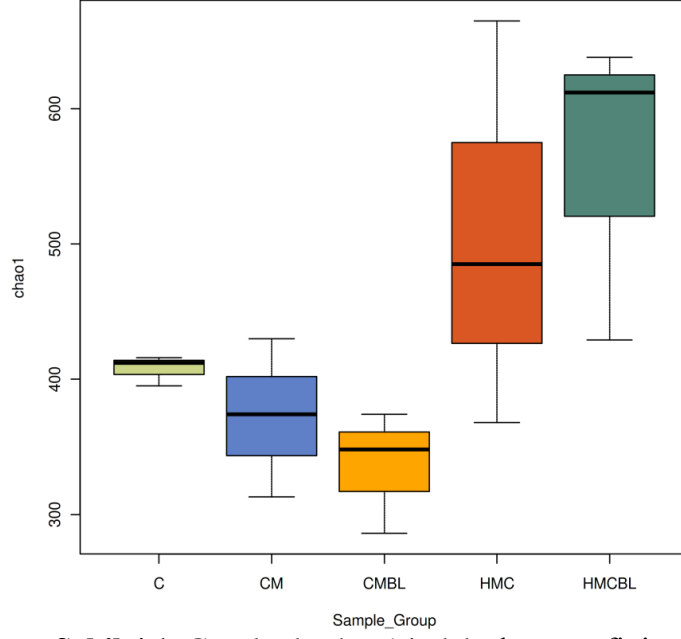
K: Kontrol, YNM: Yüksek Nemli Mısır, KM: Kırık mısır, YNM: Yüksek Nemli Mısır + *Bacillus licheniformis*, KMBL: Kırık mısır + *Bacillus licheniformis*.

#### 4.10. Rumen Mikrobiyota Analizleri

Ham diziler birleştirilip, optimize edildikten sonra kalite kontrolü gerçekleştirilmiştir. Dizilerin ölçümü sonucu 1.848.498 yüksek kaliteli dizi elde edilmiştir. Gruplara ait dizin miktarlarında K, YNM, KM, YNBL ve KMBL gruplarında sırasıyla 329.818, 381.317, 378.264, 398.811 ve 360.279 okuma yapılmıştır.

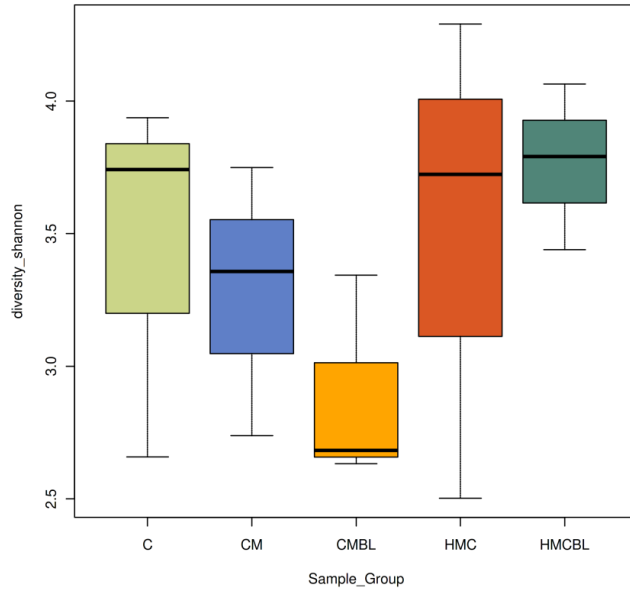
## 4.10.1. Çeşitlilik Analizleri

### 4.10.1.1. Alfa Çeşitlilik



Şekil 4.1. Gruplarda chao1 indeks kutu grafiği.

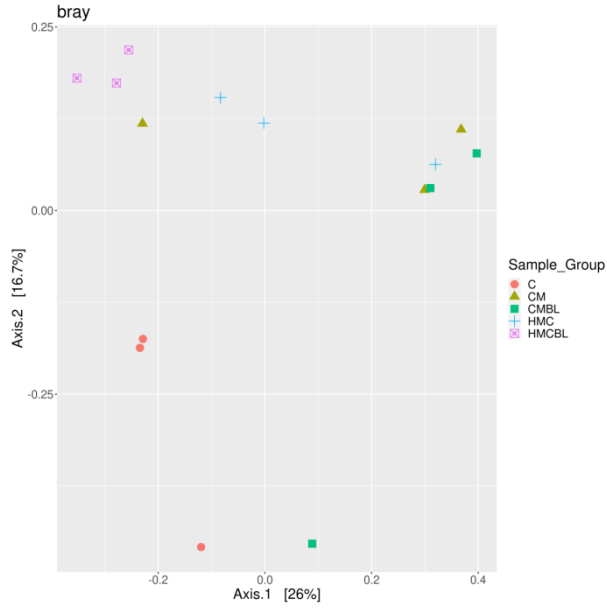
C: Kontrol, HMC: Yüksek Nemli Mısır, CM: Kırık mısır, HMCBL: Yüksek Nemli Mısır + *Bacillus licheniformis*, CMBL: Kırık mısır + *Bacillus licheniformis*.



Şekil 4.2. Gruplarda shannon indeks kutu grafiği.

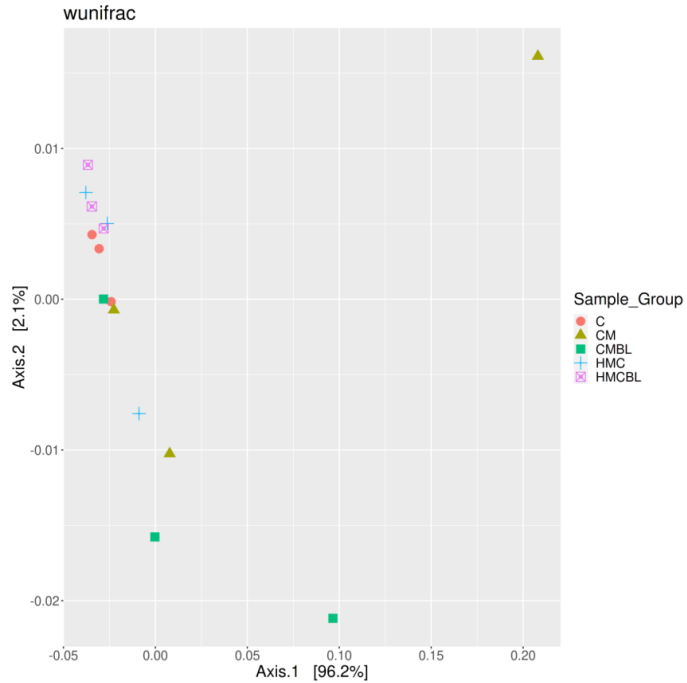
C: Kontrol, HMC: Yüksek Nemli Mısır, CM: Kırık mısır, HMCBL: Yüksek Nemli Mısır + *Bacillus licheniformis*, CMBL: Kırık mısır + *Bacillus licheniformis*.

#### 4.10.1.2. Beta Çeşitlilik



Şekil 4.3. Gruplarda PCoA – Bray gösterimleri.

C: Kontrol, HMC: Yüksek Nemli Mısır, CM: Kırık mısır, HMCBL: Yüksek Nemli Mısır + *Bacillus licheniformis*, CMBL: Kırık mısır + *Bacillus licheniformis*.

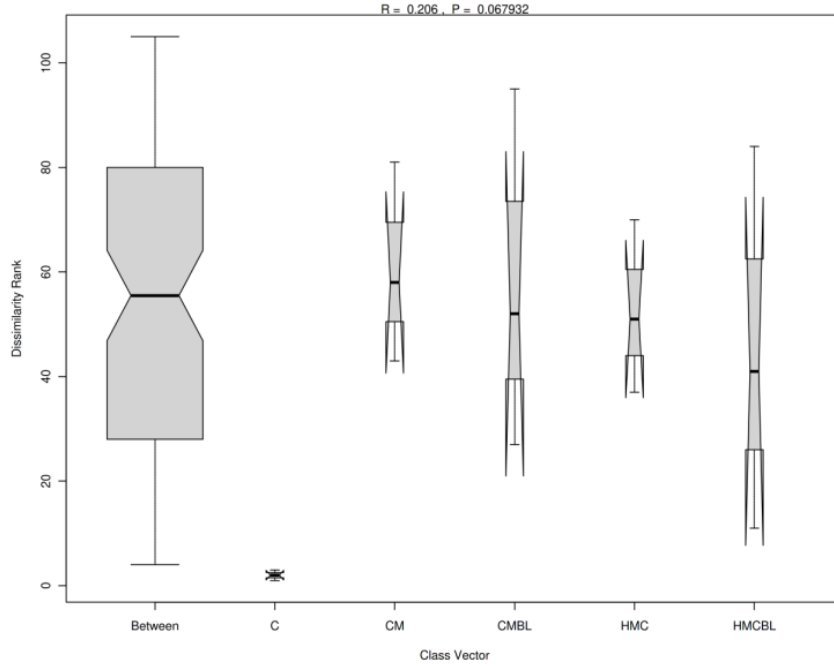


Şekil 4.4. Gruplarda PCoA gösterimleri.

C: Kontrol, HMC: Yüksek Nemli Mısır, CM: Kırık mısır, HMCBL: Yüksek Nemli Mısır + *Bacillus licheniformis*, CMBL: Kırık mısır + *Bacillus licheniformis*.



Bakteri topluluğu bileşimindeki farklılıklar, Bray-Curtis farklılık metriğine dayalı temel koordinat analizi kullanılarak tahmin edilmiştir (PCoA). Bu metrik incelendiğinde, 16S rRNA genine dayalı grupları arası Anosim değerleri  $R = 0.206$  ve  $P = 0.06$  olarak bulunmuştur.



Şekil 4.5. Anosim gösterimi.

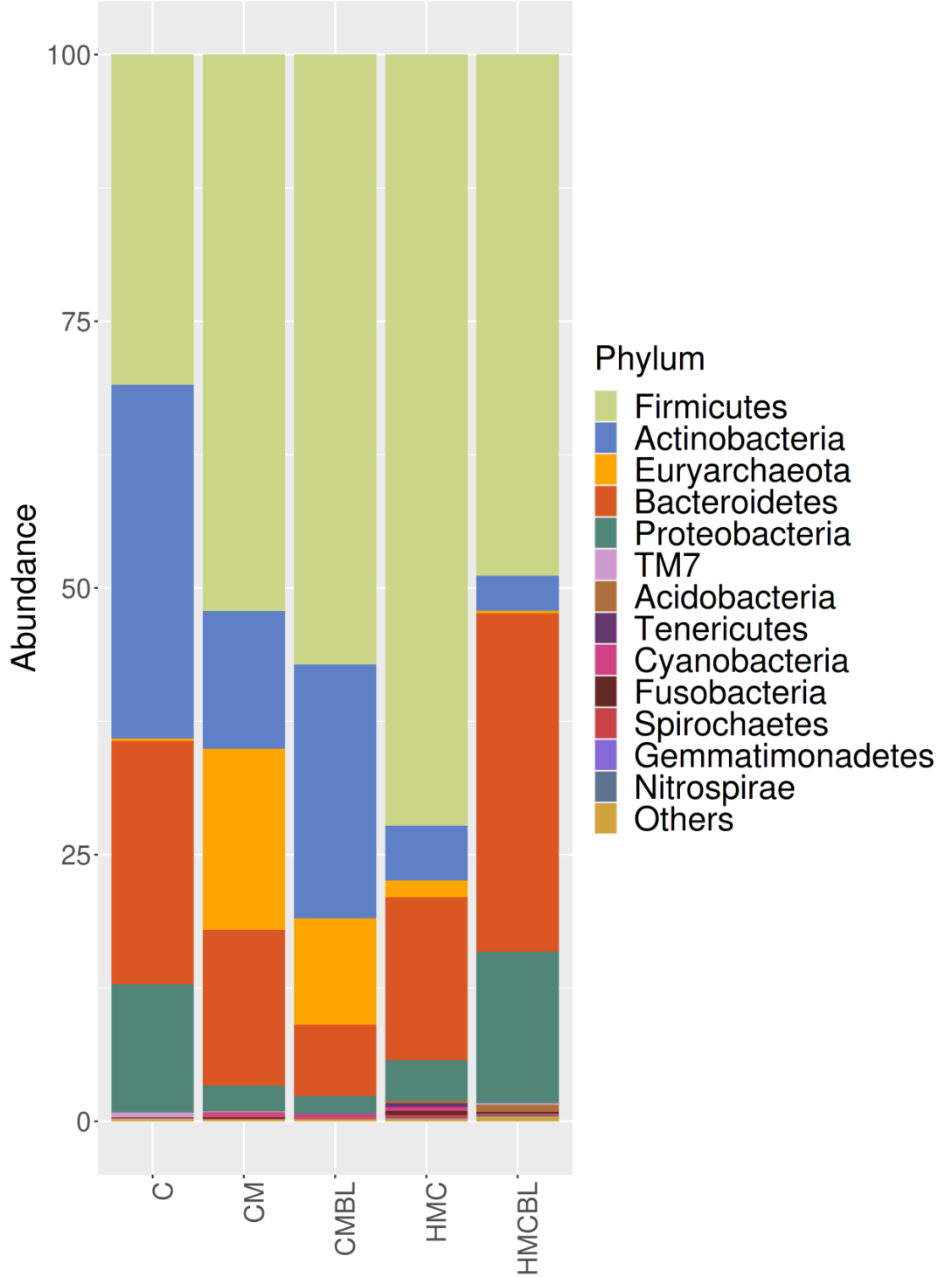
C: Kontrol, HMC: Yüksek Nemli Mısır, CM: Kırık mısır, HMCBL: Yüksek Nemli Mısır + *Bacillus licheniformis*, CMBL: Kırık mısır + *Bacillus licheniformis*.

## 4.10.2. Taksonomik Analiz

### 4.10.2.1. Filum (Phylum) Düzeyleri

Kuzuların rumen mikrobiyotasında gruplarda bakterilerin göreceli olarak bolluklarına bakıldığında kontrol grubunda filum (%) düzeyinde en bol olanların *Actinobacteria* (%35.78), *Firmicutes* (%22.83), *Bacteroidetes* (%22.00) ve *Proteobacteria* (%11.38) olduğu tespit edilmiştir. KM grubunda *Firmicutes* (%51.97), *Euryarchaeota* (%16.88), *Bacteroidetes* (%15.21) ve *Actinobacteria* (%12.65) olduğu, KMBL grubunda ise *Firmicutes* (%59.67), *Actinobacteria* (%20.84), *Euryarchaeota* (%10.63) ve *Bacteroidetes* (%6.42) olarak

gözlemlenmiştir. YNM 'de *Firmicutes* (%72.53), *Bacteroidetes* (%15.22), *Actinobacteria* (%4.98) ve *Proteobacteria* (%3.78) düzeyinde; YNMBL 'de ise *Firmicutes* (%48.73), *Bacteroidetes* (%31.57), *Proteobacteria* (%14.50) ve *Actinobacteria* (%3.27) düzeyinde göreceli bolluğuna sahip olduğu görülmüştür.

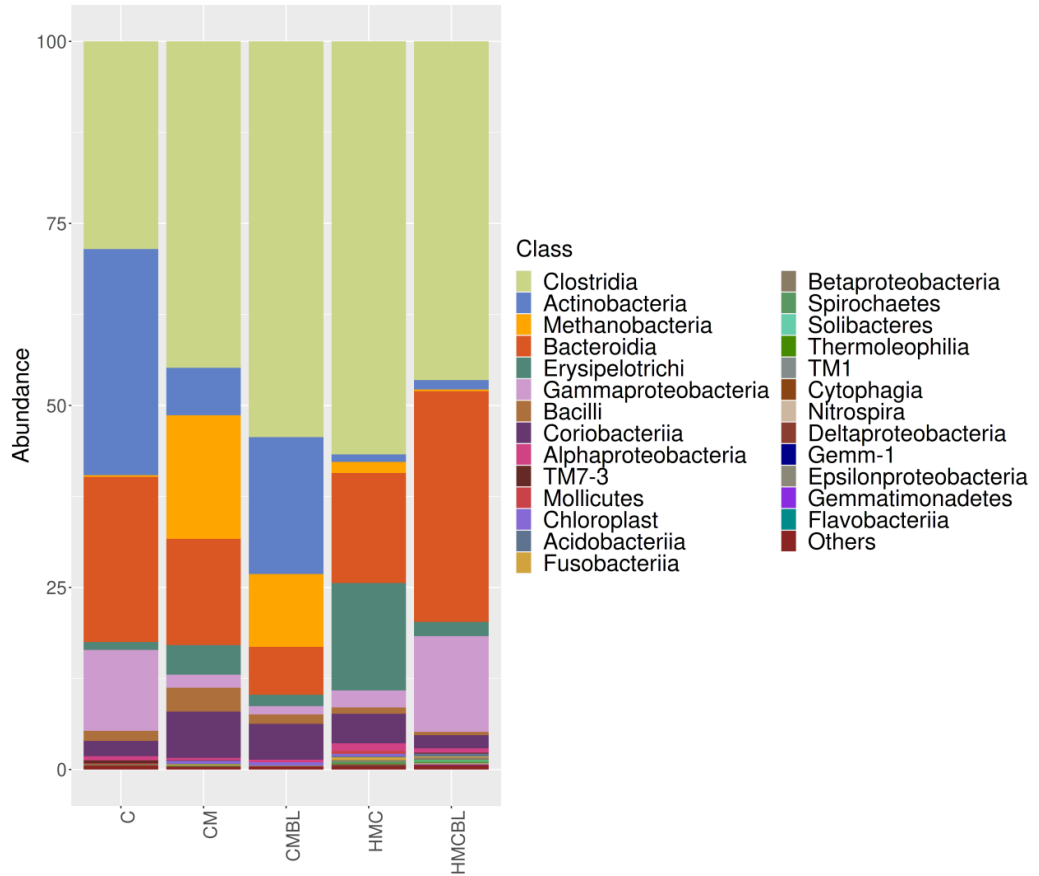


Şekil 4.6. Gruplara göre filum düzeyinde göreceli bolluk değişimi.

C: Kontrol, HMC: Yüksek Nemli Mısır, CM: Kırık mısır, HMCBL: Yüksek Nemli Mısır + *Bacillus licheniformis*, CMBL: Kırık mısır + *Bacillus licheniformis*.

#### 4.10.2.2. Sınıf (Class) Düzeyleri

Denemedeki kuzuların rumen mikrobiyotasında gruplarda bakterilerin göreceli olarak bolluklarına bakıldığında kontrol grubunda sınıf (%) düzeyinde en bol olanlar sırasıyla %33.58 *Actinobacteria*, %27.25 *Clostridia*, %21.87 *Bacteroidia* ve %10 *Gammaproteobacteria* olduğu tespit edilmiştir. Kırık mısır grubunda *Clostridia* (%45.03), *Methanobacteria* (%16.88), *Bacteroidia* (%15.19) ve *Actinobacteria* (%6.36) olduğu; KMBL’ de ise *Clostridia* %56.94, *Actinobacteria* %16.18, *Methanobacteria* %10.63 ve *Bacteroidia* %6.31 olarak bulunmuştur. YNM ‘de *Clostridia* (57.42), *Bacteroidia* (%15.02), *Erysipelotrichi* (%14.32) ve *Coriobacteriia* (%3.92) olarak; YNMBL ‘de ise *Clostridia* (46.37), *Bacteroidia* (%31.52), *Gammaproteobacteria* (%13.46) ve *Erysipelotrichi* (%1.98) düzeyinde göreceli bolluğuna sahip olduğu görülmüştür.

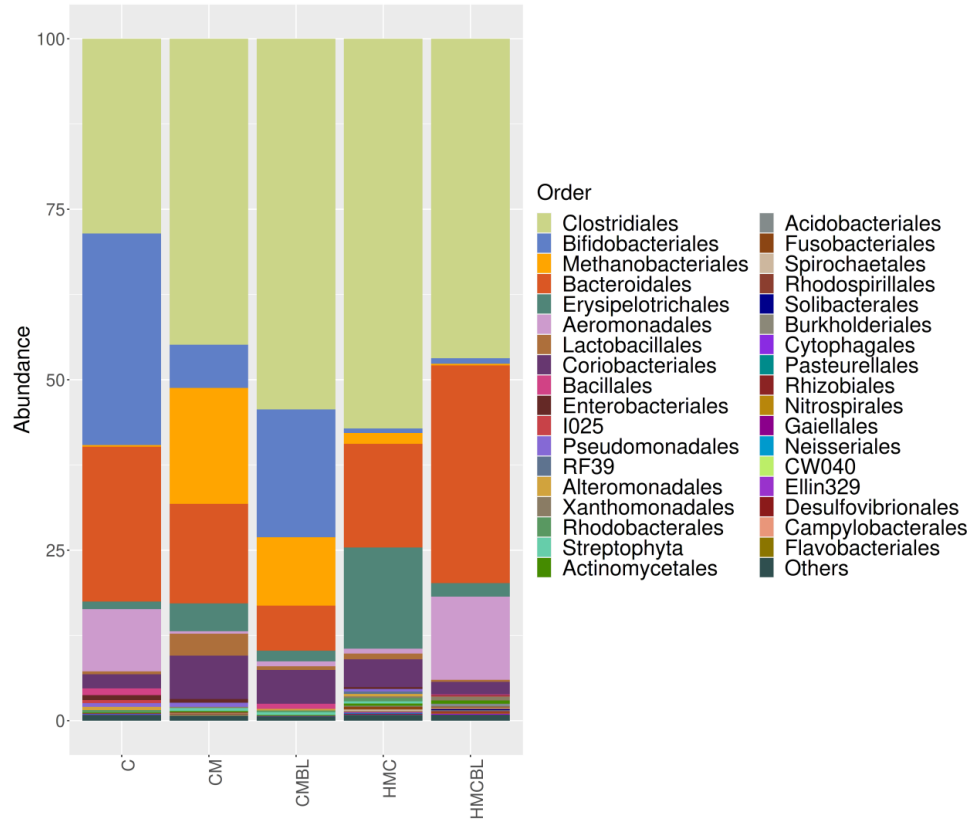


Şekil 4.7. Gruplara göre sınıf düzeyinde göreceli bolluk değişimi.

C: Kontrol, HMC: Yüksek Nemli Mısır, CM: Kırık mısır, HMCBL: Yüksek Nemli Mısır + *Bacillus licheniformis*, CMBL: Kırık mısır + *Bacillus licheniformis*.

#### 4.10.2.3. Takım (Order) Düzeyleri

Kuzuların rumen mikrobiyotasında gruplarda bakterilerin göreceli olarak bolluklarına bakıldığında kontrol grubunda takım (%) düzeyinde en bol olanların *Bifidobacteriales* (%33.54), *Clostridiales* (%27.28), *Bacteroidales* (%21.92) ve *Aeromonadales* (%8.71) olduğu gözlemlenmiştir. Kırık mısır grubunda *Clostridiales* (%45.05), *Methanobacteriales* (%16.90), *Bacteroidales* (%15.22) ve *Coriobacteriales* (%6.24) olduğu, KMBL 'de ise *Clostridiales* (%56.93), *Bifidobacteriales* (%16.11), *Methanobacteriales* (%10.67) ve *Bacteroidales* (%6.33) olarak göreceli olarak bolluğuna göre tespit edildi. YNM grubunda *Clostridiales* (%57.83), *Bacteroidales* (%15.13), *Erysipelotrichales* (%14.43) ve *Coriobacteriales* (%3.95); YNMBL 'de ise *Clostridiales* (%47.70), *Bacteroidales* (%31.76), *Aeromonadales* (%12.52) ve *Erysipelotrichales* (%1.99) düzeyinde göreceli bolluğuna sahip olduğu görülmüştür.

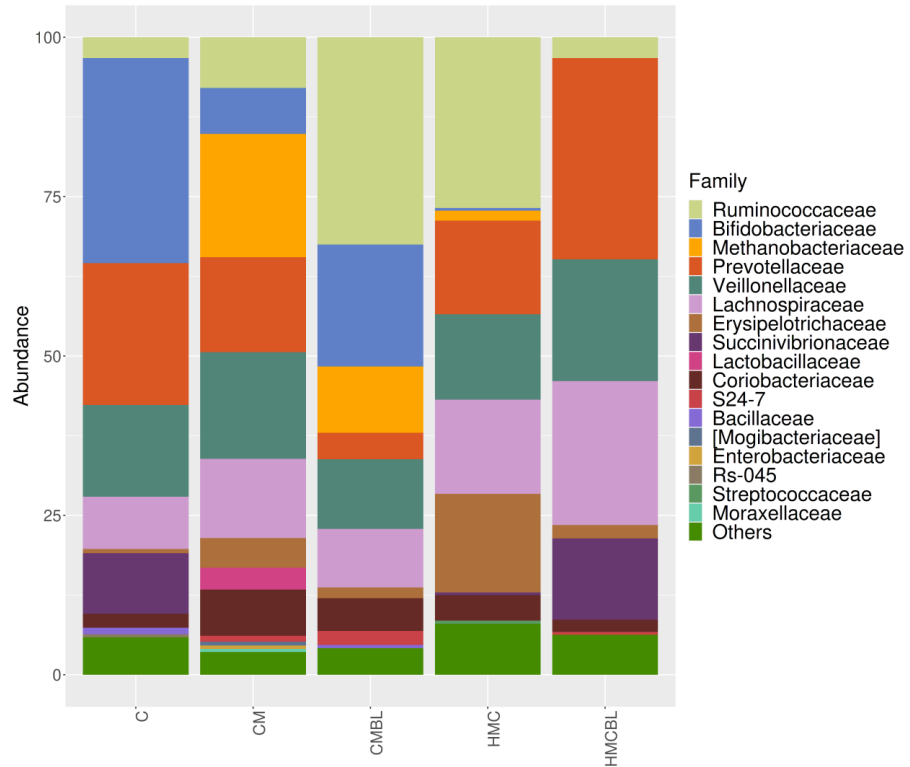


Şekil 4.8. Gruplara göre takım düzeyinde göreceli bolluk değişimi.

C: Kontrol, HMC: Yüksek Nemli Mısır, CM: Kırık mısır, HMCBL: Yüksek Nemli Mısır + *Bacillus licheniformis*, CMBL: Kırık mısır + *Bacillus licheniformis*.

#### 4.10.2.4. Aile (Family) Düzeyleri

Kuzuların rumen mikrobiyotasında gruplarda bakterilerin nispi olarak bolluklarına bakıldığında kontrol grubunda aile (%) düzeyinde en bol olanların sırayla *Bifidobacteriaceae* (%34.79), *Prevotellaceae* (%21.33), *Veillonellaceae* (%13.55) ve *Succinivibrionaceae* (%9.03) olduğu tespit edilmiştir. Kırık mısır grubunda *Methanobacteriaceae* %19.25, *Veillonellaceae* (%17.54), *Prevotellaceae* (%15.65) ve *Lachnospiraceae* (%12.10) olduğu; KMBL 'de göreceli olarak bolluğuna göre *Ruminococcaceae* (%35.35), *Bifidobacteriaceae* (%16.73), *Veillonellaceae* (%11.42) ve *Methanobacteriaceae* (%11.08) olduğu gözlemlenmiştir. YNM 'de *Ruminococcaceae* (%28.41), *Erysipelotrichaceae* (%15.36), *Prevotellaceae* (%14.58) ve *Lachnospiraceae* (%14.51); YNMBL 'de ise *Prevotellaceae* (%31.46), *Lachnospiraceae* (%22.22), *Veillonellaceae* (%19.24) ve *Succinivibrionaceae* (%13.08) düzeyinde göreceli bolluğuna sahip olduğu görülmüştür. Bu YNMBL grubunda *Prevotellaceae* 'nın rumen sıvısındaki nispi bolluğundaki artış, özellikle rasyondaki konsantre kısımlar için yıkılma hızını arttırmaya yardımcı olacaktır.

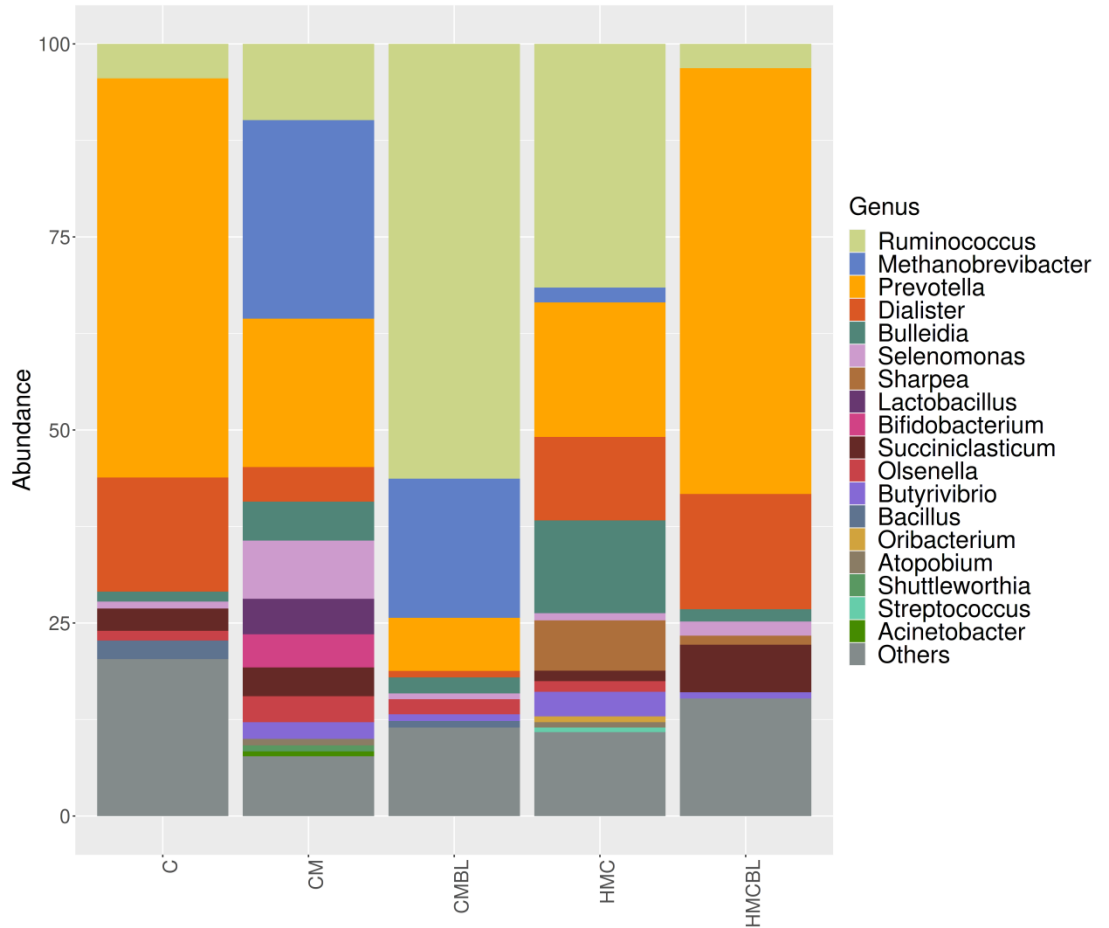


Şekil 4.9. Gruplara göre aile düzeyinde göreceli bolluk değişimi.

C: Kontrol, HMC: Yüksek Nemli Mısır, CM: Kırık mısır, HMCBL: Yüksek Nemli Mısır + *Bacillus licheniformis*, CMBL: Kırık mısır + *Bacillus licheniformis*.

#### 4.10.2.5. Cins (Genus) Düzeyleri

Kuzuların rumen mikrobiyotasında gruplarda bakterilerin nispi olarak bolluklarına bakıldığında kontrol grubunda cins (%) düzeyinde en bol olanların sırasıyla *Prevotella* (%51.35), *Dialister* (%14.48), *Ruminococcus* (%4.63) ve *Succinivibrio* (%3.01) olduğu tespit edilmiştir. Kırık mısır grubunda *Methanobrevibacter* (%25.54), *Prevotella* (%10.17), *Ruminococcus* (%9.45) ve *Selenomonas* (%8.56) olduğu; KMBL 'de ise *Ruminococcus* (%58.07), *Methanobrevibacter* (%18.25), *Prevotella* (%6.55) ve *Olsenella* (%2.33) göreceli bolluğa göre gözlemlenmiştir. YNM 'de *Ruminococcus* (%33.39), *Prevotella* (%17.25), *Bulleidia* (%11.82) ve *Dialister* (%10.50); YNMBL 'de ise *Prevotella* (%54.85), *Dialister* (%14.45), *Succinivibrio* (%6.45) ve *Ruminococcus* (%3.14) düzeyinde göreceli bolluğuna sahip olduğu görülmüştür.

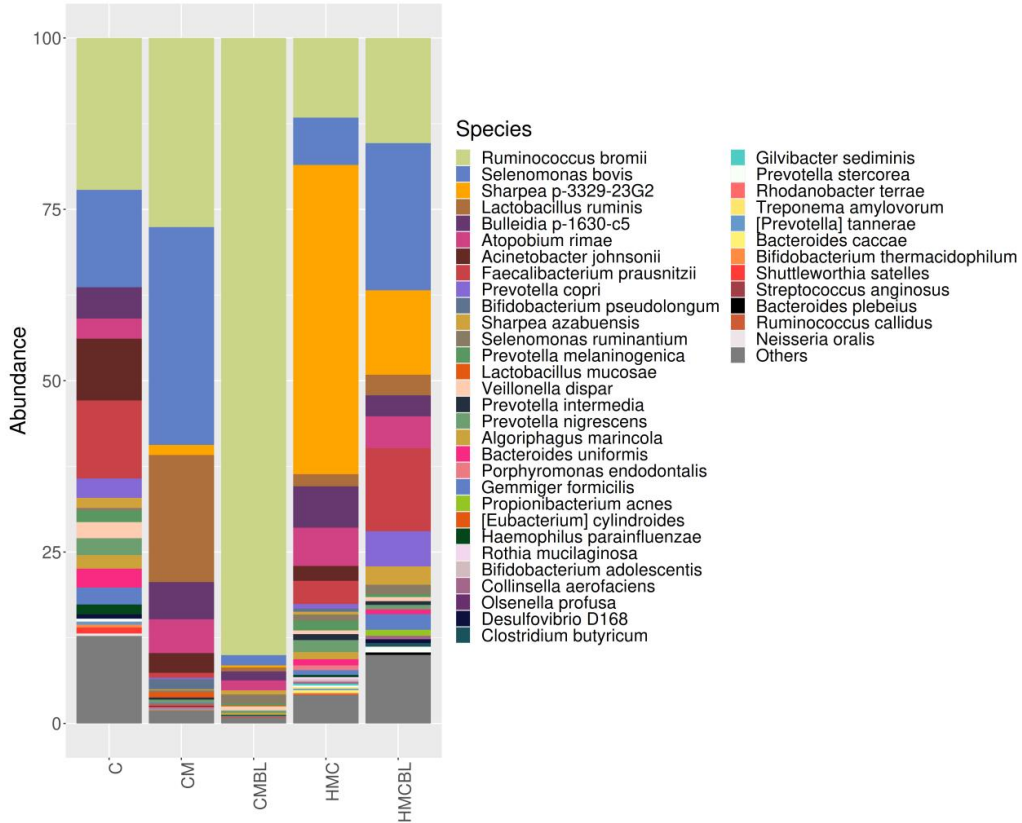


Şekil 4.10. Gruplara göre cins düzeyinde göreceli bolluk değişimi.

C: Kontrol, HMC: Yüksek Nemli Mısır, CM: Kırık mısır, HMCBL: Yüksek Nemli Mısır + *Bacillus licheniformis*, CMBL: Kırık mısır + *Bacillus licheniformis*.

#### 4.10.2.6. Tür (Species) Düzeyleri

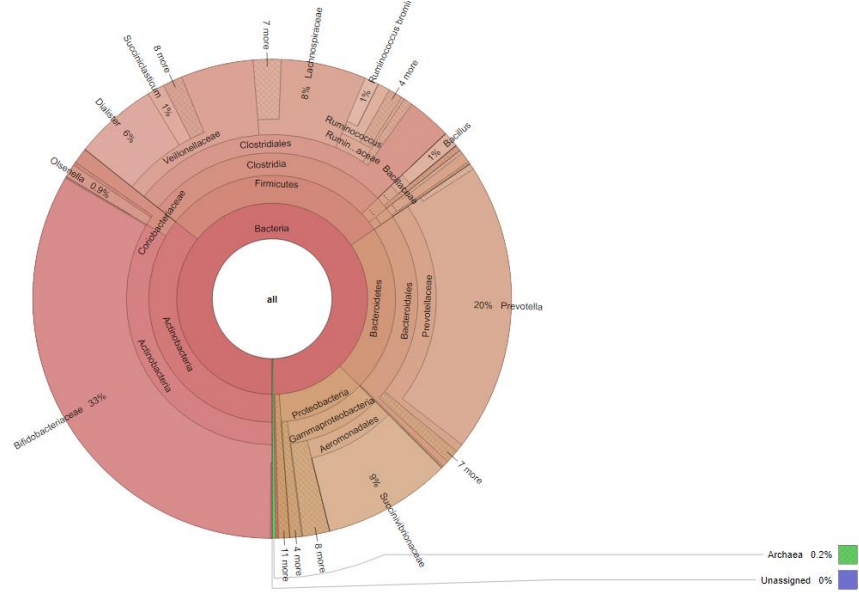
Kuzuların rumen mikrobiyotasında gruplarda bakterilerin nispi olarak bolluklarına bakıldığında kontrol grubunda tür (%) düzeyinde en bol olanların sırasıyla *Ruminococcus bromii* (%20.82), *Selenomonas bovis* (%13.70), *Faecalibacterium prausnitzii* (%11.48) ve *Acinetobacter johnsonii* (%9.02) olduğu gözlemlenmiştir. Kırık mısır grubunda *Selenomonas bovis* (%34.26), *Ruminococcus bromii* (%26.10), *Lactobacillus ruminis* (%17.41) ve *Bulleidia p-1630-c5* (%5.23) olarak, KMBL 'de ise *Ruminococcus bromii* (%90.80), *Selenomonas bovis* (%1.45), *Atopobium rimae* (%1.28) ve *Bulleidia p-1630-c5* (%1.21) olarak göreceli bolluğa göre tespit edilmiştir. YNM 'de *Sharpea p-3329-23G2* (%45.21), *Ruminococcus bromii* (%12.04), *Selenomonas bovis* (%6.70) ve *Bulleidia p-1630-c5* (%5.93); YNMBL 'de ise *Selenomonas bovis* (%22.06), *Ruminococcus bromii* (%15.20), *Sharpea p-3329-23G2* (%12.72) ve *Faecalibacterium prausnitzii* (%11.95) düzeyinde nispi olarak bolluğa sahip olduğu görülmüştür.



Şekil 4.11. Gruplara göre tür düzeyinde göreceli bolluk değişimi.

C: Kontrol, HMC: Yüksek Nemli Mısır, CM: Kırık mısır, HMCBL: Yüksek Nemli Mısır + *Bacillus licheniformis*, CMBL: Kırık mısır + *Bacillus licheniformis*.

### 4.10.3. Gruplarda Krona Değerlendirmeleri

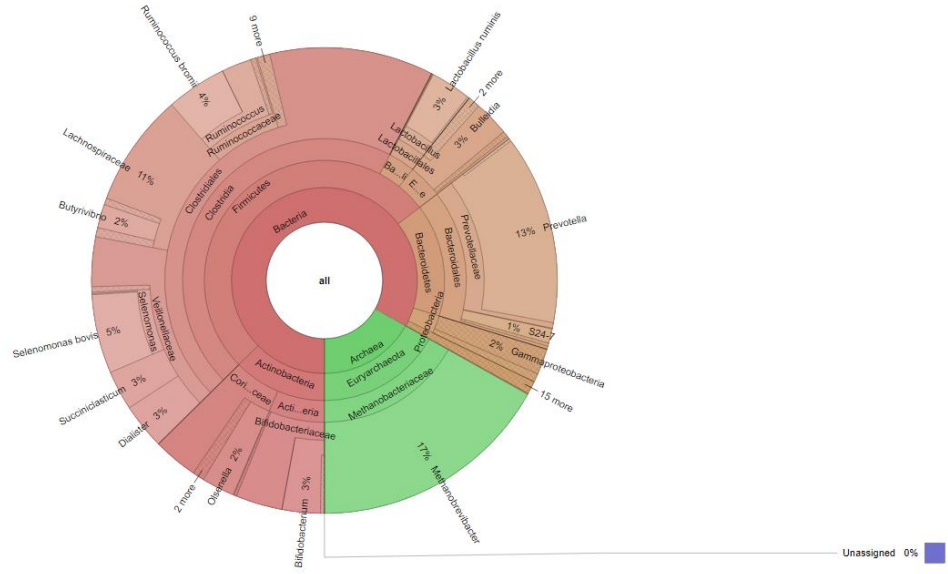


Şekil 4.12. K grubunda rumen mikrobiyotası krona gösterimi.

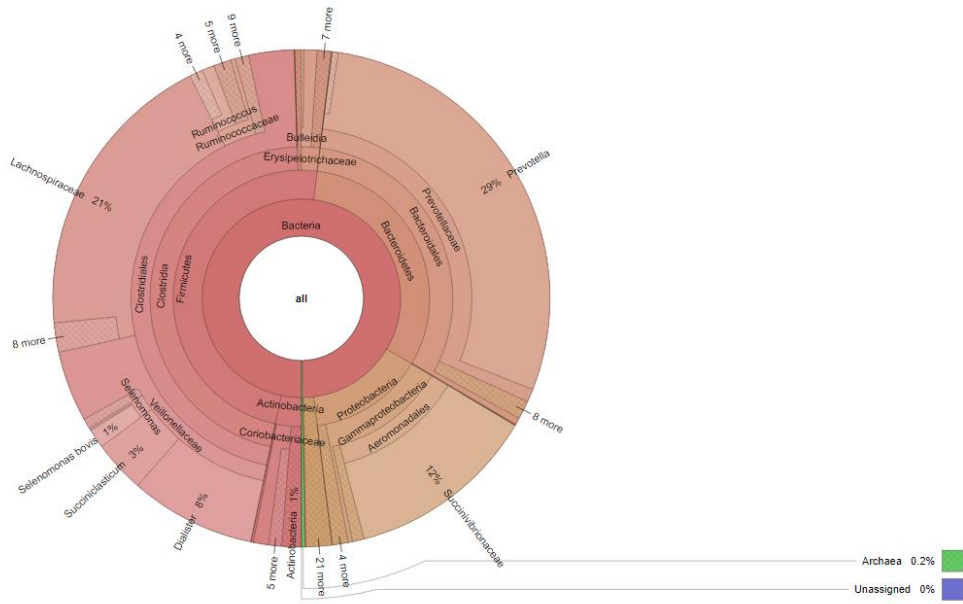


Şekil 4.13. YNM grubunda rumen mikrobiyotası krona gösterimi.

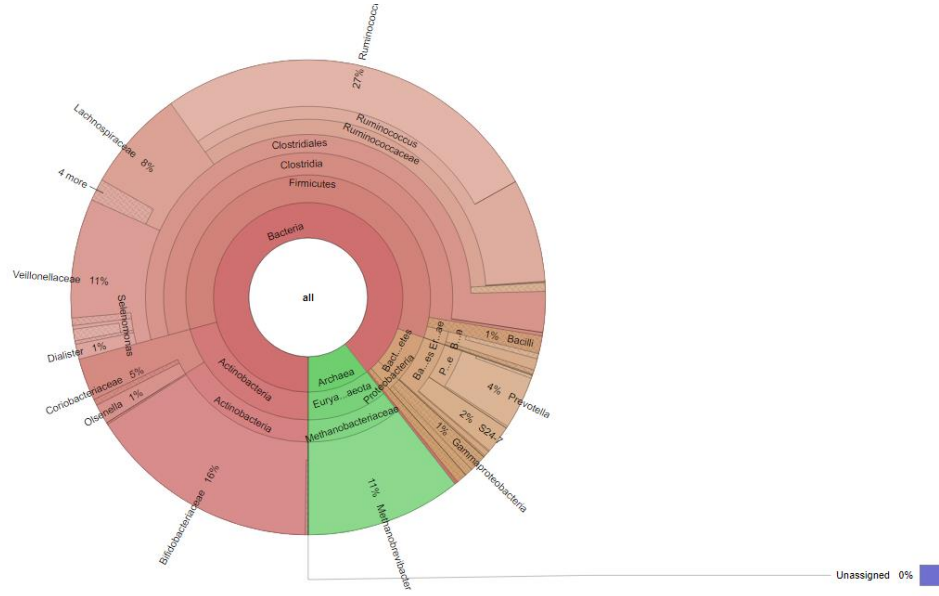




Şekil 4.14. KM grubunda rumen mikrobiyotası krona gösterimi.

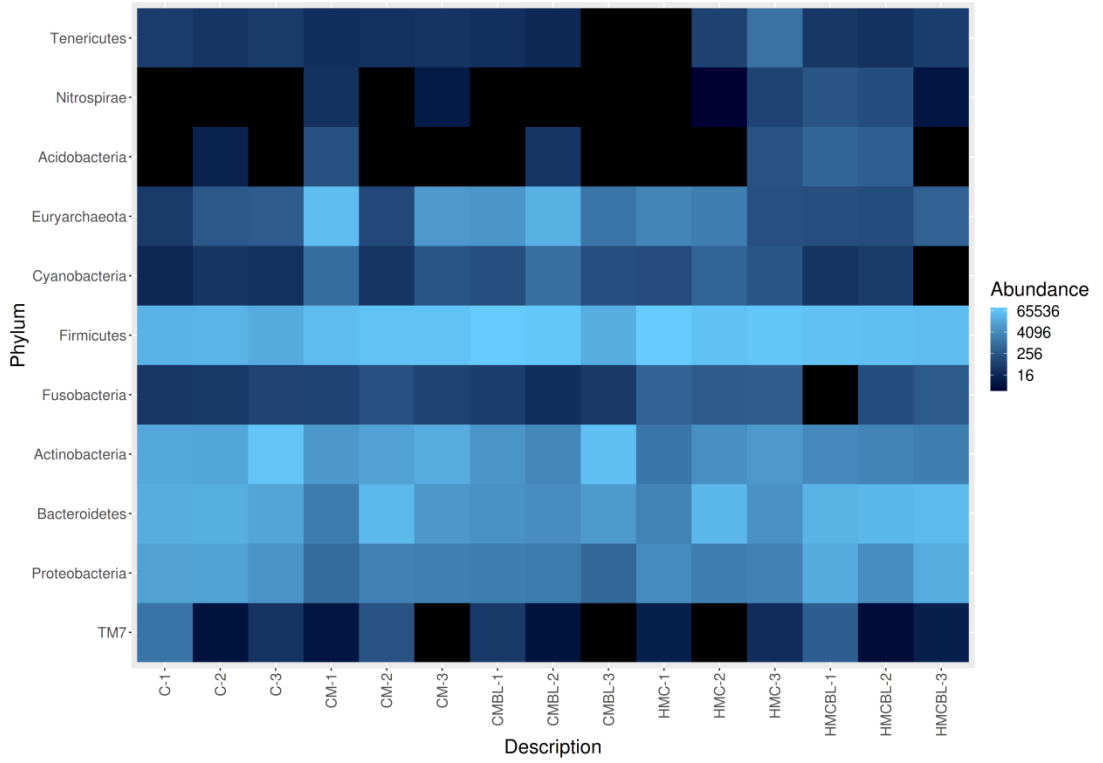


Şekil 4.15. YNMBL grubunda rumen mikrobiyotası krona gösterimi.

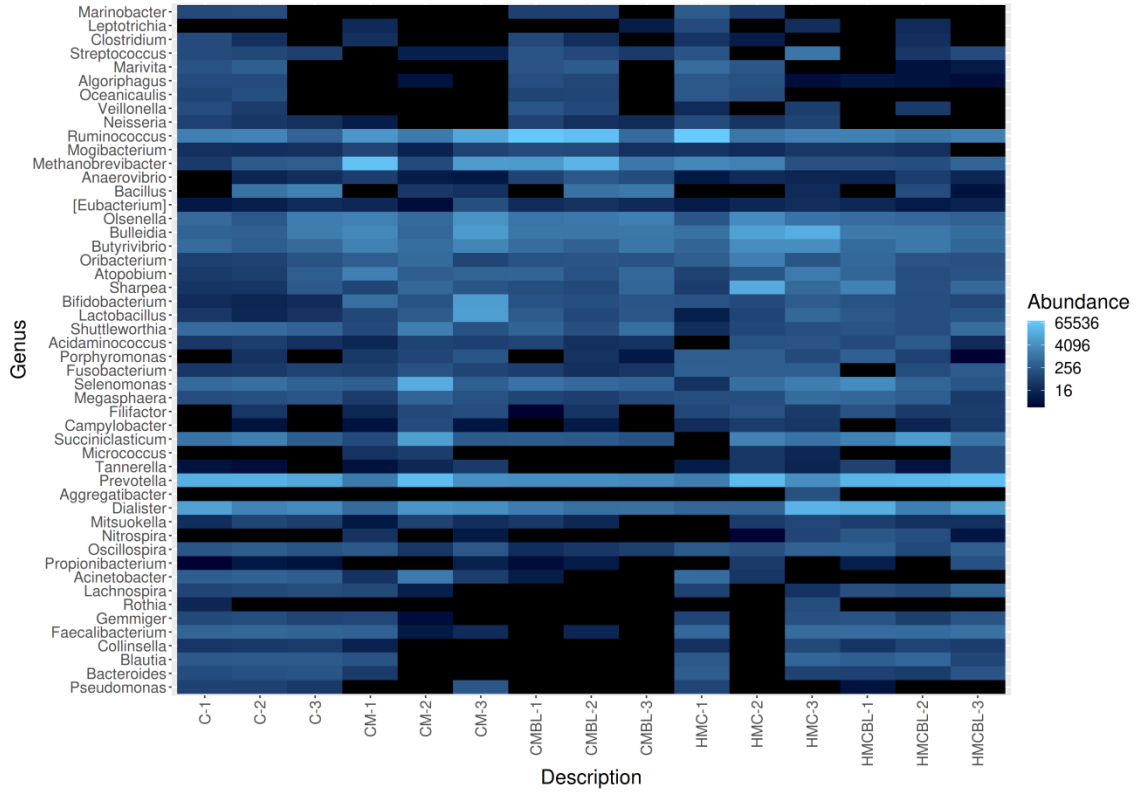


Şekil 4.16. KMBL grubunda rumen mikrobiyotası krona gösterimi.

#### 4.10.4. Grupların Isı Harita (Heatmap) Değerlendirmeleri



Şekil 4.17. Gruplarda rumen mikrobiyotasının filum düzeyinde taksonomik bollukları ısı haritası.



**Şekil 4.18.** Gruplarda rumen mikrobiyotasının cins düzeyinde taksonomik bollukları ısı haritası.

## 5. TARTIŞMA

Yem katkı maddesi olarak kullanılan antibiyotikler gıdalarda kalıntı oluşturması nedeniyle yasaklanmış olduğundan bunlara alternatif olan probiyotiklerin (Chen ve ark. 2013), hayvancılıkta üretim, verim ve refahı iyileştirme gibi nedenlerle kullanımını yaygınlaştırmıştır (Dersjant-Li ve ark., 2013). Yapılan çalışmada ticari kuzu büyütme yemleri yerine alternatif olarak yüksek nemli mısır silajı veya kırık mısır bazlı rasyon hazırlanarak ve ayrıca probiyotik olarak *B. licheniformis* katılmasının kuzularıda verim performansı, serum biyokimyasal ve bağışıklık parametreleri, rumen fermentasyonu ve rumen mikrobiyotaları arasındaki ilişki araştırılmıştır.

Çalışmada, kırma veya yüksek nemli mısıra *Bacillus licheniformis* ilave edilen gruplarda kontrol grubuna göre canlı ağırlıkları arasında fark olmadığı tespit edilmiştir. Jia ve ark., (2018) besi kuzuları ile yaptıkları çalışmada yem katkı maddesi olarak *B. licheniformis* ve *S. cerevisiae* kullanmışlardır. Araştırmada bazal rasyonu tüketen grup (NC) kontrol, diğer dört muamele grupları sırasıyla; monensin (PC), *B. licheniformis* (BL), *S. cerevisiae* (SC) ve *B. licheniformis*, *S. cerevisiae* ve proteaz kombinasyonu (BS) katkı maddeleri katılarak deneme gruplarını oluşturmuşlardır. Çalışma sonunda *B. licheniformis*, *S. cerevisiae* ve proteaz kombinasyonu (BS) katılan grupta ortalama günlük canlı ağırlık kazancının (GCAK), kontrol (NC) grubuna göre daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir ( $p < 0.05$ ). Bu çalışmadaki canlı ağırlık bulguları Jia ve ark., (2018) bulgularına göre farklıdır. Bunun nedeni Jia ve ark., (2018)'nin dorper  $\times$  ince kuyruklu han koyun melezleri kullanmış olduğundan ırk farklılığı olabilir.

Çalışmadaki gruplar arasında günlük ve toplam yem tüketimi en fazla K grubunda görülmüş, farklılığın istatistiksel bakımdan önemli olduğu tespit edilmiştir ( $p < 0.004$ ). Jia ve ark., (2018) besi kuzuları ile yaptıkları çalışmada rasyona monensin (PC), *B. licheniformis* (BL), *S. cerevisiae* (SC) ve *B. licheniformis*, *S. cerevisiae* ve proteaz kombinasyonu (BS) katmışlar 66 günlük çalışma sonucunda

ortalama canlı ağırlık artışlarını en düşük kontrol (NC) grubunda bulmuşlar probiyotik ve enzim katılan grupların hepsinde daha yüksek canlı ağırlık artışları tespit etmişlerdir ( $p < 0.05$ ). Li ve ark. (2021) besi kuzularında toplam karma yemin pelet ya da pelet yapılmadan önceki kırma yemin büyüme performansı üzerine etkilerini inceledikleri çalışmada, farklı yerlerde üç deneme yapmışlardır. Yapılan çalışmada deneme sonu yem tüketimi ve günlük canlı ağırlık kazancını incelendiklerinde rasyonun pelet şekilde verilmesinin daha iyi olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada 0-14 günler arasında büyütme yemi verilen K grubunda günlük yem tüketimi diğer gruplara göre daha yüksek bulunmuş farklılık istatistiksel olarak önemlidir ( $p < 0.02$ ), bu sonuçlar Li ve ark. (2021)'in çalışmasıyla benzerlik göstermiştir. Bu çalışmada K grubunda söz konusu günlerde toplam ve günlük yem tüketiminin yüksek olduğu bulunmuştur. Bu farklılık kırık mısır tüketen gruplardaki hayvanların bu yemi severek tüketmemelerinden kaynaklanabilir, nitekim 29-42 günlerden başlayarak günlük yem tüketimi bakımından gruplar arası farklılığın olmadığı tespit edilmiştir. Araştırmada genel değerlendirme olarak dikkate alınması gereken 0-56 günler arasındaki günlük ve toplam yem tüketimi KM ve KMBL gruplarında K gruba göre düşük ve gruplar arası fark istatistiksel bakımdan önemli bulunmuştur ( $p < 0.018$ ). Bumbieris Junior ve ark., (2019) süttten kesilmiş Texel × Santa Inês melezi erkek kuzularda yüksek nemli tritikalenin verim performansını, yem tüketimi ve sindirim davranışları üzerine etkilerini değerlendirmek için yaptıkları çalışmada 20.05 kg canlı ağırlığında yirmi dört erkek kuzu kullanmışlardır. Araştırmada i) katkı maddesi içermeyen yüksek nemli tritikale silajı; ii) enzim-bakteriyel katkı maddesi ile silolanmış yüksek nemli tritikale silajı; iii) %0.5 üre ile silolanmış yüksek nemli tritikale silajı ve iv) %1.5 sodyum benzoat ile silolanmış yüksek nemli tritikale silajı olacak şekilde grupları oluşturmuşlardır. Kuzuların günlük canlı ağırlık artışı ortalama 210 g / gün olduğu çalışmada gruplar arasında canlı ağırlık ve yemden yararlanma oranı bakımından fark olmadığını bildirmişlerdir ( $p > 0.05$ ). Bu çalışma bulguları Bumbieris Junior ve ark., (2019) 'nın bulguları ile benzerdir. Aynı şekilde Tablo 4.3 incelendiğinde 15-28. günler arasında K grubunda toplam yem tüketimi 17.747 kg, günlük yem tüketimi 1267.66 g olarak ve en fazla yem tüketiminin olduğu grup olarak tespit edilmiş olup gruplar arası farklılık istatistiksel açıdan önemlidir ( $p < 0.042$ ). Günlük yem tüketimi en yüksek K grubunda, en düşükte KM grubunda görülmüş olup buna neden olarak bu grupta hayvanların kırık mısırı tercih etmemesi (severek tüketmemesi) gösterilebilir.

Bu çalışmadaki yemden yararlanma oranı ile ilgili veriler incelendiğinde araştırma gruplarında 0-14. günler arasında YNMBL grubunda yemden yararlanma oranı KM grubuna göre daha iyi olduğu ve gruplar arası farkın istatistiksel açıdan önemli olduğu gözlemlenmiştir ( $p < 0.015$ ). Ancak 0-56. günler hariç diğer dönemlerde gruplar arasındaki farklılık istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur ( $p > 0.02$ ). Çalışmanın bütün dönemlerinin yemden yararlanma oranları değerlendirildiğinde YNMBL grubu K grubuna göre daha iyi olduğu tespit edilmiş olup gruplar arası farklılık istatistiksel açıdan önemlidir ( $p < 0.020$ ). Jia ve ark., (2018) besi kuzuları ile yaptıkları çalışmada rasyona monensin (PC), *B. licheniformis* (BL), *S. cerevisiae* (SC) ve *B. licheniformis*, *S. cerevisiae* ve proteaz kombinasyonu (BS) katmışlar 66 günlük çalışma sonucunda yemden yararlanma oranının BL ve BS gruplarında kontrol grubuna göre daha iyi olduğu tespit edilmiştir ( $p < 0.05$ ). Balasubramanian ve ark. (2016) 'da domuzlarda büyütme ve bitirme döneminde yapmış oldukları bir çalışmada rasyonlarına *B. licheniformis*, *B. coagulans* ve *B. subtilis* içeren *Bacillus* spp. kombine olarak hazırlanmış probiyotiklerin ilavesinin büyüme performansını iyileştirdiğini bildirmiştir. Bazı *Bacillus* türü probiyotikler amilaz, proteaz, lipaz, fitaz, selüloz ve ksilanaz dahil olmak üzere çeşitli hücre dışı enzimler üretebilir (Latorre ve ark. 2016). Bu enzimler, probiyotik kullanılan YNMBL grubunda yemin sindirimine yardımcı olarak ve besin emilimini iyileştirerek yemden yararlanmayı iyileştirmiş olabilir.

Du ve ark., (2018) probiyotiklerin büyümeyi artırıcı etkilerini belirlemek amacıyla büyüme geriliği olan 50 baş buzağıda deneme gruplarını *Bacillus amyloliquefaciens* C-1 (Ba,  $4 \times 10^{10}$ CFU/d,  $n = 16$ ), *B. subtilis* (Bs,  $4 \times 10^{10}$ CFU/d,  $n = 18$ ) ve negatif kontrol (NC,  $n = 16$ ) olacak şekilde oluşturmuşlardır. Yapılan çalışma 30 gün sürdürülmüş olup, çalışma sonunda canlı ağırlık artış oranı, yem alımı ve yem dönüşüm oranı gibi büyüme performans değerlerini incelemişlerdir. *Bacillus amyloliquefaciens* ve *B. subtilis* gruplarındaki buzağuların, kontrol grubuna göre daha yüksek canlı ağırlık artışı, yem alımı ve yemden yararlanma oranı olduğunu bildirmişlerdir ( $p < 0.05$ ). Deneme başındaki 14 günlük dönemde YYO bakımından gruplar arası farklılığın oluşması *B. licheniformis*'den kaynaklanmaktadır.

Çalışmada kuzuların vücut ölçüsü ile ilgili veriler değerlendirildiğinde çalışmanın başlangıcı, 28 ve 56. gününde yapılan vücut uzunluk, cidago yükseklik, sırt yükseklik, göğüs derinlik, göğüs genişlik, göğüs çevresi, sağrı yükseklik, sağrı genişlik, but çevresi ve incik çevresi ölçümlerinde gruplar arası farklılık istatistiksel bakımdan önemsiz olduğu gözlemlenmiştir ( $p > 0.05$ ). Esen ve ark., (2020) aktive edilen klinoptilolit ve inaktif bira mayası karışımının (CBY) bel göz kası (MLD) ve vücut indeksleri üzerindeki etkilerini belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada canlı ağırlığı 23.80 kg olan yaklaşık 62 günlük yaşta 48 baş Kıvircik erkek kuzu kullanmışlardır. Çalışmada aktive edilen klinoptilolit ve inaktif bira mayası karışımının farklı oranlarda katılmasıyla deneme grupları oluşturulmuş, gruplar; i) bazal rasyonun olduğu kontrol grubu (CON); ii) rasyona 1 g/kg CBY 'nin katıldığı deneme I; ii) rasyona 3 g/kg CBY katılan deneme II ve iii) rasyona 5 g/kg CBY katılan deneme III olacak şekilde düzenlenmiştir. Çalışmada bel göz kası derinliği ve yağ kalınlığı açısından denemeler arasında anlamlı fark olmadığını bildirmişlerdir ( $p > 0.05$ ). Geleneksel olarak morfometrik ölçümler ve vücut indeksleri, çiftlik hayvanlarında cins özelliklerini, türlerini, performanslarını ve üreme amaçları için kullanıldığından farklılık çıkmaması gruplardaki hayvan sayılarının az olmasından kaynaklanabilir.

Serum parametreleri genellikle hayvanların beslenme ve fizyolojik durumu ile bağışıklık fonksiyonunun göstergeleri olarak ölçülür. Bu çalışmada kuzuların kan serumundan elde edilen bulgular Tablo 4.7'de verilmiştir. Tablo incelendiğinde kan serumunda albümin, total protein, glukoz, BUN ve kreatin değerlerinde gruplar arası farklılık görülmezken ( $p > 0.05$ ), AST değerleri K, YNM, KM, YNBL ve KMBL gruplarında sırasıyla 92.54, 93.08, 99.98, 76.26 ve 80.60 U/L olarak tespit edilmiş en düşük değer YNMBL ve KMBL gruplarında görülmüş farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $p < 0.0001$ ). Aynı şekilde ALT değerleri K, YNM, KM, YNBL ve KMBL gruplarında sırasıyla 24.88, 22.01, 23.12, 16.52 ve 15.06 U/L olarak tespit edilmiş en düşük değerler YNMBL ve KMBL gruplarında görülmüştür ( $p < 0.0001$ ). Mousa ve ark., (2019) Barki kuzuları ile yaptıkları çalışmada rasyona *B. subtilis* katılmasının serum Total Protein, Albumin, BUN ve kreatin düzeylerinde istatistiksel olarak farklılık olmadığını tespit etmişlerdir. Bu çalışma bulguları ile Mousa ve ark., (2019) bulguları benzerlik göstermiştir. Çalışmada YNMBL ve

KMBL gruplarında ALT ve AST değerlerinin düşük çıkması hayvanların beslenme fizyolojisi yönünden olumlu olduğu şeklinde değerlendirilmiştir.

Enerji deposunun bir modülatörü olan kreatin kinaz, stres ve doku hasarı için değerli bir belirteç görevi görür (Huff ve ark., 2008). Çalışmada kuzuların kreatin kinaz ile ilgili veriler Tablo 4.8' de verilmiştir. Tablo incelendiğinde gruplar arası farklılık istatistiksel açıdan önemli bulunmuş ve K, YNM ile KM grupları daha yüksek olup, YNMBL ve KMBL gruplarının daha düşük düzeylerde olduğu görülmüştür ( $p < 0.0001$ ). Bu durum probiyotik kullanılan gruplarda daha az stres düzeyi olduğu şeklinde düşünülebilir. Çalışmada kuzuların insülin ile ilgili verileri Tablo 4.8' da verilmiştir. Tablo incelendiğinde araştırma gruplarında deneme sonunda insülin değerleri K, YNM, KM, YNBL ve KMBL gruplarında sırasıyla 17.01, 17.48, 18.31, 20.15 ve 20.48  $\mu\text{IU/mL}$  olarak tespit edilmiş olup gruplar arası farklılık istatistiksel açıdan önemlidir ( $p=0.001$ ). Çalışmada YNMBL ve KMBL grupları en yüksek olup, K ve YNM gruplarının en düşük düzeylerde olduğu görülmüştür. İnsülin iskelet kas ve yağ dokuda glikoz emilimini teşvik etmektedir (Sasaki, 2002), ayrıca yağ sentezini teşvik edip ve lipolizi baskılamaktadır (Brockman, 1979). Rabelo ve ark., (2001), kuru dönemdeki inek rasyonlarında artan NFC (lif içermeyen karbonhidrat) seviyelerinin rumen propiyonik asit seviyelerini arttırdığını, bunun da insülin sekresyonunu arttırdığını bildirmiştir. Bu çalışmada, *B. licheniformis* ile beslenen kuzularda yüksek propiyonik asit düzeyi, insülin sekresyonunu arttırmış olabilir. Bu çalışmada, lipolizin baskılanmasıyla birlikte daha yüksek canlı ağırlık görülebilirdi ancak bu durum istatistiki olarak önemli bulunamadı. Bu çalışmada kuzuların IGF-I ile ilgili veriler Tablo 4.8' da verilmiştir. Tablo incelendiğinde çalışmada KMBL grubundaki değer en yüksek olup, K grubunda ise en düşük olduğu görülmüştür ( $p = 0.001$ ). Büyümeyi teşvik edici bir hormon olarak IGF-I'in doku büyümesini ve farklılaşmasını düzenlediği ve yemden yararlanma ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (Oldham ve ark., 1999; Stick ve ark., 1998). Çalışmada IGF-I düzeyleri incelendiğinde *B. licheniformis* katılan gruplarda katılmayanlara göre IGF-I ve insülin seviyelerinin daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Montelli ve ark. (2020) kuzularda daha yüksek IGF-I kan konsantrasyonlarının, daha yüksek verim ile ilişkilendirmiştir. Bu çalışmada gruplar arasında canlı ağırlık değerleri bakımından farklılık görülmemiştir.

Kan metabolitleri, performans ve sağlık durumu ile ilişkili olarak hayvanların beslenme durumunu yansıtabilir. Örneğin immünoglobulinler bağışıklık durumunu



belirtmek için kullanılır (Abdelsattar ve ark., 2022). Bu çalışmada kuzuların IgA ile ilgili veriler Tablo 4.9' da verilmiştir. Çalışmada YNMBL ve KMBL grupları diğer gruplara göre daha yüksek değere sahip olduğu görülmüştür ( $p < 0.0001$ ). Jia ve ark., (2018) besi kuzuları ile yaptıkları çalışmada rasyona monensin (PC), *B.licheniformis* (BL), *S. cerevisiae* (SC) ve *B. licheniformis*, *S. cerevisiae* ve proteaz kombinasyonu (BS) kattıkları 66 günlük çalışmada IgA düzeylerinin BL, SC ve BS gruplarında kontrol grubuna göre daha iyi olduğu tespit etmişlerdir ( $p=0.002$ ). Li ve ark., (2019b) yaklardan izole ettiği *Bacillus* türü probiyotikleri farelere verdiği çalışmayla benzerlik görülmüştür, bu durum karaciğer hasarının az olmasıyla ilgili olabileceği düşünülmüştür. Yine aynı çalışma da *Bacillus* probiyotiği verilen farelerde, bağışıklık durumuyla ilgili olarak serum IgG, IgM ve IgA düzeylerinin yüksek olduğunu belirtilmişlerdir. Ayrıca, *Bacillus* sporlarının doğuştan gelen bağışıklık sistemini ve makrofajların fagositoz özelliğini artırabildiğini bildirilmiştir (Duc ve ark., 2004). Bu çalışmadaki IgA düzeylerinin probiyotik verilen gruplarda yüksek çıkması diğer araştırma sonuçlarıyla benzer olduğu yönünde değerlendirilmiştir.

Bu araştırmada, kuzuların IgM ile ilgili veriler Tablo 4.9' da verilmiştir. Çalışmada YNMBL ve KMBL grupları en yüksek değere sahip olduğu görülmüştür ( $p < 0.0001$ ). IgM gibi serum immünoglobulinleri, bağışıklık fonksiyonundaki önemli rolleri ve çeşitli enfeksiyonlara karşı direnç sağlamaları ile ilgili olarak hayvanların hümmoral immün durumu yansıtan önemli parametreler arasındadır (Reyneveld ve ark., 2020). Jia ve ark., (2018) besi kuzuları ile yaptıkları çalışmada rasyona monensin (PC), *B. licheniformis* (BL), *S. cerevisiae* (SC) ve *B. licheniformis*, *S. cerevisiae* ve proteaz kombinasyonu (BS) kattıkları 66 günlük çalışmada IgM düzeylerinin PC, BL, SC ve BS gruplarında kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu tespit etmişlerdir ( $p=0.002$ ). Yapılan çalışmada probiyotik katılan gruplarda IgM düzeyinin yüksek olması bağışıklık yanıtın daha iyi olduğunu göstermektedir.

Çalışmada kuzuların süperoksit dismutaz ile ilgili veriler Tablo 4.9' da verilmiştir. Tablo incelendiğinde çalışmada YNMBL ve KMBL gruplarının diğer gruplara göre daha yüksek değere sahip olduğu görülmüştür ( $p < 0.0001$ ). Jia ve ark., (2018) besi kuzuları ile yaptıkları çalışmada rasyona monensin (PC), *B. licheniformis* (BL), *S. cerevisiae* (SC) ve *B. licheniformis*, *S. cerevisiae* ve proteaz kombinasyonu

(BS) kattıkları 66 günlük çalışmada SOD düzeylerinin PC, BL, SC ve BS gruplarında kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu tespit etmişlerdir ( $p = 0.002$ ). Vücudu oksidatif stresten korumak için vücutta antioksidan sistemler içerisinde çok sayıda antioksidan enzimi (süperoksit dismutaz ve glutasyon peroksidaz) bulunmaktadır (Zhan ve ark., 2006). Süperoksit dismutaz enzimi, süperoksit radikallerinin neden olduğu elektron kaçırma işleminin kademeli olarak sonlandırır ve sonrası durumda hücreye verilen hasarı azalmaktadır (Wang ve ark., 2012). Süperoksit radikalleri, süperoksit dismutaz tarafından daha az toksik olan hidrojen peroksite dönüştürülür ve bu durum, glutasyon peroksidaz veya katalaz tarafından toksik olmayan sıvı forma dönüştürülür (Wang ve ark., 2012). Ayrıca *Bacillus* suşlarının antioksidan aktivite gösterdiği belirtilmiştir (Mingmongkolchai ve Panbangred, 2018). Çalışmada, kuzuların serum glutasyon peroksidaz düzeyi ile ilgili veriler Tablo 4.9’ da verilmiştir. Tablo incelendiğinde araştırma gruplarında deneme sonunda GSH\_PX değerleri K, YNM, KM, YNBL ve KMBL grupları sırasıyla 718.67, 714.05, 601.42, 729.35 ve 758.51  $\mu\text{mol/L}$  olarak tespit edilmiş olup gruplar arası farklılık istatistiksel açıdan önemlidir ( $p < 0.0001$ ). Çalışmada YNMBL ve KMBL grupları en yüksek değere sahip olduğu görülmüştür. Jia ve ark., (2018) besi kuzuları ile yaptıkları çalışmada rasyonlara monensin (PC), *B. licheniformis* (BL), *S. cerevisiae* (SC) ve *B. licheniformis*, *S. cerevisiae* ve proteaz kombinasyonu (BS) kattıkları 66 günlük çalışmada GSH\_PX düzeylerinin BS grubunun diğer gruplara göre daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir ( $p=0.007$ ).

Çalışmada kuzuların total antioksidantları ile ilgili veriler Tablo 4.9’ da verilmiştir. Tablo incelendiğinde araştırma gruplarında deneme sonunda T-AOC değerleri K, YNM, KM, YNBL ve KMBL gruplarında sırasıyla 8.65, 7.39, 7.08, 9.54 ve 10.58 U/ml olarak tespit edilmiş olup gruplar arası farklılık istatistiksel açıdan önemlidir ( $p < 0.0001$ ). Çalışmada YNMBL ve KMBL grupları en yüksek değere sahip olduğu görülmüştür. Jia ve ark., (2018) besi kuzuları ile yaptıkları çalışmada rasyona monensin (PC), *B. licheniformis* (BL), *S. cerevisiae* (SC) ve *B. licheniformis*, *S. cerevisiae* ve proteaz kombinasyonu (BS) kattıkları 66 günlük çalışmada T-AOC düzeylerinde herhangi bir fark bulamamışlardır ( $p > 0.05$ ). Başlıca antioksidan savunma mekanizmaları, antioksidant enzimler ve biyolojik antioksidanlardan oluşur (Itoh ve ark., 1997; Riedl ve ark., 2009). Rasyona eklenen *Bacillus* türleri, antioksidan enzimlerini artırarak bağırsak antioksidan

kapasitesini iyileştirebileceği bazı çalışmalarda belirtilmiştir (Gobi ve ark., 2018; Yang ve ark., 2019). Sonuçlara bakıldığında *Bacillus* verilen gruplarda serum T-AOC ve SOD aktivitelerinin ve GSH\_PX düzeylerinin önemli ölçüde arttığı saptanmıştır, bu durum Wang ve ark., (2017b) tarafından yapılan çalışma bulgularına benzerlik göstermiştir. Bu bulgular, *B. licheniformis*'in anti-oksidatif potansiyelini göstermekte ve saha koşullarında kullanımının faydalı olabileceğini düşündürmektedir.

Çalışmada kuzuların rumen fermentasyonu belirteçlerinden olan uçucu yağ asitleri ile ilgili veriler Tablo 4.10' da verilmiştir. Propiyonat üretimi, daha fazla rasyon nişasta içeriği ile artabilir ve KMT'yi baskılayabilir (Anil ve Forbes, 1980). Rumen pH ve UYA değerleri genel olarak rasyondaki fermente olabilen bileşenlerin oranı ve miktarı ile rasyonun fiziksel yapıları tarafından belirlenir. Rumen pH'ı, rumen ortamındaki dengeyi gösteren bir rehberdir; bu nedenle ruminal fermentasyonda verimliliği arttırmak için pH 'nın dengede tutulması önem taşımaktadır (Mani ve ark., 2021). Deneme de rumen pH değerleri incelendiğinde YNM grubunun YNMBL grubuna göre daha düşük olduğu gözlemlenmiştir. Bu durum probiyotik kullanımının ruminal asidozda etkin kullanılabileceği yönünde fikir vermektedir. Ancak, UYA emilim oranı, tükürük üretimi ve rumenden sıvıların geçiş oranı gibi durumlar rumen pH'sında farklılıklara yol açabilmektedir (Tafaj ve ark., 2006). Benzer şekilde Lettat ve ark., (2012) probiyotik kullanımının rumen pH'sı üzerindeki etkisinin, rumen mikrobiyotasını modüle ederek, selüloolitik aktiviteyi geliştirerek ve laktik asit üreten bakterilerin çoğalmasını sınırlayarak elde edildiği yönünde hipotez kurmuşlardır. Diğer deneme grupları incelendiği zaman, KM grubu ile KMBL grubu arasında pH değerleri yönünden istatistiksel fark oluşmamasına rağmen, Lettat ve ark. (2012)'nin probiyotik kullanımının laktik asit üreten bakterilerin çoğalmasını sınırlandırır yönündeki hipotezini doğrular niteliktedir. Başka bir çalışmada, yüksek düzeyde tahılla beslenen süt ineklerinde *L. plantarum*, *E. faecium*, ve *S. cerevisiae* 'dan oluşan direk yedirilen mikroorganizma içeren yem katkı maddelerinin, ineklerin ruminal pH 'sında değişikliklere yol açtığını bildirilmiştir (Nocek ve ark., 2002). Kawauchi ve ark., (2021)'de *B. subtilis* verilen grupta kontrol grubuna göre daha yüksek olduğunu belirtmiştir. Ancak probiyotiklerin rumen pH'sı üzerindeki etkilerinin mekanizması hala tam olarak tespit edilememiştir.

Rumen mikroorganizmaları tarafından üretilen UYA 'leri, kuzuların besin ve enerji ihtiyacına katkıda bulunur. Asetat periferik dolaşıma girer ve periferik dokular tarafından metabolize edilerek ve kolesterol sentezi için karaciğere taşınır (Wolever ve ark., 1989). Yüksek oranda bulunan asetat, yüksek lifli rasyon ve yavaş, verimli bir fermentasyon süreci ile ilişkilidir (Hume, 1997). Propionat, büyük ölçüde karaciğer tarafından emilir ve glukoneogenez, liponeogenez ve protein sentezi için iyi bir öncüdür (Wolever ve ark., 1991). Ruminantlardaki sindirim enzimlerinin çoğu rumendeki bakteriler tarafından salgılanır. Ruminantlar tarafından emilen besinlerin yaklaşık %70-85'ini UYA ve mikrobiyal proteine dönüştür (Bergman, 1990). Çalışmada gruplarda propiyonat düzeyleri değerlendirildiğinde, YNM ve KM gruplarına *B. licheniformis* ilave edilen YNMBL ve KMBL gruplarında artış olduğu tespit edilmiştir. Bu durum *Bacillus* türü probiyotiklerin amilolitik etkilerinin olduğunu doğrulamıştır. Bu durum, Qiao ve ark., (2010) tarafından yapılan çalışmayla benzerlik göstermemiş, her gruptaki propiyonat düzeyindeki bu farklılığın rasyon içeriği ile de etkili olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca, Zhang ve ark., (2019) Holstein buzağlarında *Lactobacillus rhamnosus* kullanımının gelişim, sağlık, rumen fermentasyonu üzerine etkilerini belirlemek için yapmış oldukları çalışmada, probiyotik kullanılan grupta rumen sıvısında propionat (mM) düzeyinde artış olduğunu bildirmişlerdir. Butirat normal bağırsak epiteli için enerjinin %60-70'ini sağlar (Scheppach, 1994). Herbivorların sindirim sisteminde bağırsağında az görülen bir kısa zincirli bir yağ asiti olarak laktat, temel olarak düşük lifli rasyonlarla ilişkilidir (Bevans ve ark., 2005; Sun ve ark., 2010). Ancak yüksek laktat birikimi de zararlı olabilir ve asidoza neden olur (Flint ve ark., 2015). Sindirim sistemi mikrobiyal popülasyonu, fizyolojik, metabolik, beslenme ve bağışıklık durumunu etkiler ve bu floranın bozulması mide bağırsak yapısındaki durumlarla bağlantılıdır (Guinane and Cotter, 2013; Ridaura ve ark., 2013). Ruminantlarda sindirim sistemi mikroorganizmaları uçucu yağ asitlerinin üretimi ve yemlerin sindiriminde önemli rol oynarlar (McAllister ve ark., 1994). Fazla miktarda ruminal ve toplam nişasta sindirilebilirliğine sahip yüksek nemli mısır silajı rumende hızlı yıkımlanabilirliği nedeniyle rumende farklı düzeyde etkilerinin olması beklenmektedir (Owens ve ark., 2007). Buna bağlı olarak UYA düzeylerinde farklılık görülebilir.

Yapılan çalışmalarda, yem içeriği ve formu asetat, propiyonat ve butirat oranını etkileyebileceği bildirilmiştir; özellikle, konsantre bazlı veya yüksek enerjili rasyonla beslenen hayvanlarda, rumendeki propiyonat oranında artış meydana

gelmektedir (van Soest, 1994; Keady ve ark., 2001; Agle ve ark., 2010). Bu çalışmada, gruplar arasında asetat, bütirat, valerat düzeyleri üzerinde önemli bir farklılık yok iken; propiyonat ve isovalerat düzeylerinde farklılık meydana gelmiştir. Rasyonda konsantre yem miktarındaki artış rumen fibrolitik bakterilerin sayısının, selüloz sindiriminin ve dolayısıyla asetik asit oranının azalmasına yol açmaktadır (Calsamiglia ve ark., 2008).

Yapılan bazı çalışmalarda, yemden yararlanma düzeyi yüksek hayvanların rumen epitelinde doku morfogenezinin ve UYA metabolizmasının daha fazla olduğu belirtilmiştir (Kong ve ark., 2016; Elolimy ve ark., 2018; Lam ve ark., 2018). Rumen epitelinde daha büyük metabolik ve fonksiyonel aktivite,  $\beta$ -hidroksibütirat ve asetoasetat gibi daha fazla son ürün üretimini arttırabilir ve sistematik hayvan verimini iyileştiren doku ve/veya organlarda insülin, insülin benzeri büyüme faktörü-I gibi endokrin moleküllerin ekspresyonunu etkileyebilir (Manns ve Boda, 1967; Kiani, 2013; Cantalapiedra-Hijar ve ark., 2018).

Çalışmadaki rumen protoza sayısı ile ilgili veriler Tablo 4.10' da verilmiştir. Tablo incelendiğinde araştırmadaki protozoa sayılarının gruplar arası istatistiksel bakımdan farklı olmadığı görülmüştür. Hassan ve ark., (2020a)' de büyümekte olan kuzularda probiyotik kullanımının protozoa sayısında azalmaya yol açtığını bildirmişlerdir. Ancak çalışmada gruplar arasında protozoa sayısı bakımından farklılık olmadığı tespit edilmemesine rağmen *B. licheniformis* kullanılan gruplarda YNM ve KM gruplarına göre rakamsal olarak düşük olduğu görülmektedir. Goad ve ark., (1998) rumen pH'sının azalmasına bağlı olarak protozoa sayısının azaldığı yönündeki bildirisiyle yapılan bu çalışma benzerlik göstermemiştir. Ancak, Mackie ve Gilchrist (1979) protozoa sayısı laktik asit üreten bakterilerin sayısı laktik asidi kullananların sayısını geçince fermentasyonu kontrol altına almak için tekrar çoğalmaya başladığını belirtmiştir.

Bu çalışmadaki rumen papilla uzunluğu ve genişliği ile ilgili veriler Tablo 4.11 'de verilmiştir. Tablo incelendiğinde araştırma gruplarında rumen papilla uzunlukları K, YNM, KM, YNBL ve KMBL gruplarında sırasıyla 2270.26, 2063.91, 2278.22, 2561.81 ve 2864.07  $\mu\text{m}$  olarak tespit edilmiş en yüksek değer KMBL grubunda görülmüş farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $p \leq 0.05$ ).

Yapılan çalışma rumen papilla ölçümleri yönünden değerlendirildiği zaman kırık mısır ve *B. licheniformis* verilen grubun papilla uzunluğunun en fazla olduğu görülmektedir. Zhang ve ark. (2020b) süttten kesilmiş Jintang keçilerinde *Bacillus amyloliquefaciens fsznc-06* ve *Bacillus pumilus fsznc-09* kullanımının rumen ve sekumda morfolojik değişiklikleri üzerindeki etkilerini histokimyasal boyama yaparak incelemiştirlerdir. Araştırmacılar, *Bacillus amyloliquefaciens fsznc-06* ve *Bacillus pumilus fsznc-09* kullanımını rumen papilla ve bağırsakta villüs uzunluk artışına yol açtığını bildirmişlerdir ( $p \leq 0.05$ ). Bu çalışma bulguları ile Zhang ve ark. (2020b) 'nın bulguları ile benzerlik göstermiştir. Ancak gruplar arası rumen papilla genişlikleri istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ( $p > 0.05$ ). Ruminant beslemede kullanılan yemlerin fiziksel yapısı ile yem teknolojisi kullanılarak yemlere uygulanan işlemler rumen papillası ve rumen ağırlığı üzerine etki etmektedir. Papilla boyutu; yemlerin içeriği, sindirilen besinlerin ağırlığı ve fermantasyon düzeyiyle doğrudan ilişkilidir (Nocek ve ark., 1984). Ruminantlarda rumen besin sindiriminin ve emiliminin yapılabildiği bir bölgedir. Genellikle rumen epitel gelişiminin tespitinde kullanılan rumen papilla uzunluk ve genişliği rasyonun enerji düzeyiyle ilgili olabileceğini (Steele ve ark., 2014; Steele ve ark., 2016), Khan ve ark. (2011) ise yem partikül boyutu ve rasyon kompozisyonu rumen papillalarının morfolojik yapısını etkileyebileceğini bildirmiştir. Keçilerde farklı tür *Bacillus* probiyotik uygulamasının kontrol grubuna göre rumen ve bağırsak papilla ve kripler üzerinde olumlu etkilerinin olduğu bildirilmiştir (Du ve ark., 2018). Besi performansı üzerindeki etkisi belirlenememesine rağmen probiyotik kullanılan gruplarda insülin benzeri büyüme faktörü-I ile insülin düzeylerinin yüksek olduğu tespit edilmiştir. Baldwin, (1999) insülin benzeri büyüme faktörü-I ile düşük düzeydeki insülinin rumen epitel sağlığı ve metabolizması için önemli bir rol oynayabileceğini bildirmiştir. Yapılan çalışmada KMBL grubunda rumen papilla uzunluğunun daha yüksek olduğu görülmüştür. Bu durum rumen sindirim ve emilimi için olumlu olarak değerlendirilmiştir.

Son zamanlarda, sekans teknolojisinin gelişmesiyle başta ruminantlar ve domuz olmak üzere hayvan türleri ile insanların sindirim sistemi mikrobiyotasının çeşitliliğinin başarılı bir şekilde tespiti için Illumina sekans platformu kullanılmaktadır. OTU(alfa çeşitlilik), dizin miktarlarını yansıtabilir ve rumen bakterilerinin bolluğunu ve çeşitliliğini değerlendirmek için alfa çeşitlilikleri

kullanılmıştır. Alfa çeşitlilikleri arasında, chao1 floradaki bakterilerin bolluğunu yansıtmaktadır; shannon ve simpson, flora çeşitliliğini bildiren rumen bakterilerinin çeşitliliğini yansıtmaktadır (Zeng ve ark. 2020). Sekans analizleri ile yapılan çalışmada kuzuların rumen mikrobiyotası ile filum düzeyi ilgili veriler Şekil 4.6 'da verilmiştir. Şekil incelendiğinde filum düzeyinde, rumen mikrobiyal topluluğunda kontrol grubunda en fazla saptanan bakteri *Actinobacteria* % 35.78 ve *Firmicutes* % 22.83 iken; mısır kırması verilen grupta *Firmicutes* % 51.97 ve *Euryarchaeota* % 16.88; kırık mısır ile *B. licheniformis* verilen grupta *Firmicutes*'ler % 59.67 ve *Actinobacteria* % 20.84 en bol bulunmuştur. Yüksek nemli mısır ve yüksek nemli mısır ile *B. licheniformis* verilen grupta *Firmicutes* sıra ile %72.53 ile %48.73 iken; *Bacteroidetes* 'ler sıra ile % 15.22 ile % 31.57 düzeyinde en yaygın topluluğu oluşturmuştur. Bu durum, Firmicutes filumlarının nispeten fazla olduğu daha önceki çalışmalarla benzerlik göstermiştir (Sadet-Bourgeteau ve ark., 2010; Chen ve ark., 2011; Petri ve ark., 2013). Mamuad ve ark. (2019)'da in vitro rumen fermentasyonu olarak yaptıkları çalışmada, canlı *Enterococcus faecium* bakterisini eklemişler ve filum düzeyinde en bol olarak *Bacteroidetes*, *Firmicutes* ve *Euryarchaeota* bakteri ile ark türünün olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca, sığır ve keçilerde yapılan çalışmalarda rumen mikrobiyotasında *Firmicutes*, *Bacteroidetes* ve *Proteobacteria* olmak üzere üç baskın filum düzeyinin yaygın olduğu bildirilmiştir (Zhang ve ark., 2017; Plaizier ve ark., 2017b; Wang ve ark., 2021). Mani ve ark., (2021) ve Peng ve ark. (2015) yapmış oldukları çalışmalarda filum düzeyinde *Bacteroidetes* ve *Firmicutes* nispi bolluğunun tüm deneme gruplarında en fazla bulunduğunu bildirmiş, Thomas ve ark., (2017) ise yüksek konsantre yem içeren bir rasyonda *Bacteroidetes* 'in ortamda bulunması için uygun bir ortam sağladığını öne sürmüşlerdir. Yapılan çalışmaların verileri bu çalışmanın verileriyle benzerlik göstermiştir. Ayrıca rumen mikrobiyal florası cins, yaş, beslenme, yönetim, mevsim, sürü ve coğrafi bölgelere göre değişiklik gösterdiği bilinmektedir (de Menezes ve ark., 2011).

Çalışmada kuzuların rumen mikrobiyotası ile aile düzeyi ilgili veriler Şekil 4.9 'da verilmiştir. Şekil incelendiğinde aile düzeyinde, rumen mikrobiyal topluluğunda K grubunda en fazla saptanan bakteri ailesi *Prevotella* %51.35 olduğu; KM grubunda *Methanobrevibacter* %25.54 ile *Prevotella* %10.17 düzeyinde; KMBL'de ise *Ruminococcus* %58.07 ile *Methanobrevibacter* %18.25 bolluk

sıralaması ile tespit edilmiştir. YNM'de *Ruminococcus* %33.39 ile *Prevotella* %17.25 olarak; YNMBL 'de ise *Prevotella* %54.85 ile *Dialister* %14.45 olarak tespit edilmiştir. Çalışmada YNM ve YNMBL gruplarında *Methanobrevibacter* bakteri bolluğunun düşük olması, propiyonik asit düzeyinin artışı metan üreten bakterilerin, dolayısıyla metan üretimi ile enerji kayıplarının azalacağını desteklemektedir (Nagaraja ve ark., 1997). Ayrıca probiyotik ilave edilen KMBL grubunda da metanojenik bakteri bolluk düzeyi daha düşük olduğu görülmüştür. Bu durum *B. licheniformis*' in metanojenik bakteriler üzerine baskılayıcı etkisini ortaya koymaktadır.

Çalışmada kuzuların rumen mikrobiyotası ile cins düzeyi ilgili veriler şekil 4.10 'da verilmiştir. Şekil incelendiğinde cins düzeyinde, rumen mikrobiyal topluluğunda kontrol grubunda en fazla saptanan bakteri rumen bakteri topluluğunda kontrol grubunda en fazla saptanan bakteri *Prevotella*'nın % 51.35 düzeyinde olduğu görülmüştür. Mısır kırmısı verilen grupta *Methanobrevibacter* % 25.54 ve *Prevotella* % 10.17 iken; kırık mısır ile *B. licheniformis* verilen *Ruminococcus* % 58.07 ile *Methanobrevibacter* % 18.25 olarak en bol bulunmuştur. Mamuad ve ark. (2019) in vitro rumen fermentasyonu olarak yapılan çalışmada % 0.1 düzeyinde canlı *E. faecium* bakterisinin eklenmesinin metan konsantrasyonunu azalttığını bildirmişlerdir. Ayrıca, *E. Faecium*'un, rumende H<sub>2</sub> kullanımında metanojenlerle rekabet ederek fumarat redüktaz üreten bir bakterisi olduğunu ve H<sub>2</sub>'nin fumaratın süksinata indirgenmesinde elektron donörü görevi gördüğünü belirtmişlerdir. Ayrıca *Methanobrevibacter*, substrat olarak format, CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub> kullanarak CH<sub>4</sub> üretir (Danielsson ve ark., 2012). Bu durum probiyotiklerin metan bakterileri üzerine baskılayıcı etkisi olabileceğini akla getirmektedir. Yüksek nemli mısır verilen grupta *Ruminococcus* % 33.39 ile *Prevotella*'nın % 17.25 iken; yüksek nemli mısır ile *B. licheniformis* verilen grupta *Prevotella*'nın % 54.85 düzeyinde olduğu tespit edilmiştir. Rasyonda kolay çözünebilir karbonhidratların fazla olması halinde mikroorganizmaların selülozu parçalaması ve dolayısıyla selülozun sindirilme oranı düşmektedir (Karabulut, 1991). Buna bağlı olarak rumen florasında değişimler olacağı ve selülotik bakteri faaliyetlerinin azalacağı tahmin edilebilmektedir. Çalışma konsantre yem ağırlıklı olduğu için selülotik bakterilerinin az olması bu duruma bağlı olabilir. Bakteri aileleri içinde *Lachnospiraceae*, fibrolitik ve proteolitik özelliklere sahip bakteri türlerini içerir (Seshadri ve ark. 2018),



*Ruminococcaceae* ailesinde ise bakteri türlerinin çoğunun dirençli polisakkaritlerin ana yıkımlayıcıları olduğu ve konağın bitki hücre duvarlarını parçalamasını sağlayan bir dizi parçalayıcı enzim sağladığı bilinmektedir (Wang ve ark. 2017c). Çalışmada YNMBL grubunda *Lachnospiraceae* bolluk düzeyinin fazla olduğu tespit edilmiştir. Bu durum *B. licheniformis* probiyotisinin proteolitik etkisinden kaynaklanabileceğini akla getirmiştir (Latorre ve ark. 2016).

*Bacteroides* 'ler, karmaşık polisakkaritleri parçalayabilir, besin kullanımını artırabilir ve bağışıklık sistemini geliştirebilir ve böylece konakçısına olumlu katkı sağlayabilirler (Backhed ve ark., 2004). *Bacteroides*'ler bağırsakta mikroekolojik dengeyi sürdürebilir (Zhang ve ark., 2018) ve proteinlerin parçalanmasında, rumen mikrobiyal protein sentezinde, peptit ve amino asitlerin emiliminde rol oynarlar (Castillo-Lopez ve ark., 2018). Su ve ark., (2014) ile Zhou ve ark., (2018) *Rikenellaceae* 'ye ait olan *RC9\_gut\_group* 'un genellikle karbonhidratları veya proteinleri fermente ettiğini ve lipid metabolizmasını iyileştirmede çok önemli bir rol oynayabileceğini bildirilmiştir. Benzer şekilde, entansif bakımı yapılan koyun ve keçi bağırsaklarında *Prevotella* (nişasta parçalayıcı etki) bolluğunun arttığını bildirilmiştir (Wang ve ark., 2020b; Ye ve ark., 2016).

*Prevotella* genellikle enerji içeriği yüksek olan rasyonla beslenen hayvanlarda daha çok bulunur ve uzun zamandır üzerinde çalışılan bakteri gruplarından birisidir (Tajima ve ark., 2001a,b; Fernando ve ark., 2010). *Prevotella* spp. genellikle rumen toplam bakteri popülasyonunun %42 ila %60 arasında değişen nispi bolluklarla rumen ortamında bulunabilirler (Stevenson ve Weimer, 2007; Castro-Carrera ve ark., 2014). Ayrıca, *Prevotella* nişasta, hemiselüloz, protein ve aminoasitlerin sindiriminde görev almaktadır (Flint ve ark., 2012; Russell, 2002). YNMBL grubunda *Prevotella* düzeyinin yüksek olması nemli mısır kullanılan grupta *B. licheniformis* kullanımının bunun düzeyini arttırabileceğini göstermektedir. Rumende *Prevotella* cinsi içinde önemli bir en iyi bilinen türler *P. ruminicola* ve *Prevotella bryantii*'dir. *Prevotella*, bitki hücre duvarının hemiselüloz, ksilan ve pektin gibi nişasta ve bitki hücre duvarı polisakkaritleri parçalayabilir ve bunlar substrat olarak kullanılabilir (Castillo-Lopez ve ark., 2018), *Prevotella ruminicola* ve *Prevotella bryantii*, ksilanaz ve karboksimetil selüloz üretebilir. *Prevotella*'nin rumen sıvısındaki nispi bolluğundaki artış, özellikle konsantre kısım için rasyonların

bozunma hızını arttırmaya yardımcı olacaktır (Zhang ve ark., 2019). Ayrıca, *Prevotella*'nın rumende yemlerdeki proteinlerin parçalanmasına yardımcı olur ve hemiselüloz kullanımında selüloz parçalanmasında görev alan *Fibrobacters* ile birlikte çalıştıkları bilinmektedir (Xu ve ark., 2003; Zeng ve ark., 2017).

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Balıkesir ili ve çevresinde kuzu besiciliği yaygın olarak yapılmaktadır. Bu şekil besicilikte kuzular 60 günlük yaşa geldiklerinde konsantre yeme dayalı yoğun besi uygulanmakta, ortalama 110 günlük yaşta 45 kg canlı ağırlık ve 22 kg karkas hesabı ile kestirilmektedir. Bunun için genellikle fabrika yemi olarak kuzu büyütme yemi kullanılmakta, ancak fabrika yemi kullanımında nakliye ve hayvanlarda metabolik sorunlarla sıklıkla karşılaşmaktadır. Ayrıca fabrika yemi hayvancılık işletmeleri için mali giderlerin büyük bir kısmını oluşturmaktadır. Bu çalışma ile çiftçi şartlarında üretilecek olan yüksek nemli mısırın silajı ile kuzu besisinin yapılıp yapılamayacağı üzerinde durulmuş, incelenen performans değerlerinde herhangi bir olumsuzlukla karşılaşılmamıştır. Buna ilave olarak,

- a- Kuzu besisinde yüksek nemli mısır bazlı rasyonlara *B. licheniformis* eklenmesinin ticari kuzu büyütme yemi kullanımına göre yemden yararlanmayı arttırdığı,
- b- Kırık mısır kullanımının yem tüketimini ticari kuzu büyütme yemi kullanımına göre azalttığı,
- c- Kuzuların vücut ölçümleri değerlendirildiğinde gruplar arasında farklılık görülmesi de yüksek nemli mısır bazlı rasyona *B. licheniformis* eklenmesinin vücut indeksleri üzerine olumlu etkileri olduğu anlaşılmıştır.
- d- *B. licheniformis* ilavesi kuzularda kreatin kinaz, insülin, IGF-I, IgA, IgM, SOD ve T-AOC değerlerini iyileştirmiştir.
- e- Rumen fermentasyon parametrelerinden propiyonik asit miktarı değerlendirildiğinde, yüksek nemli mısıra *B. licheniformis* eklenmesinin YNM grubuna benzerlik göstermesine rağmen, kırık mısır kullanılan gruplara ve K grubuna gruba göre artış gösterdiği bu yem maddesinin besi hayvanlarında kullanımının uygun olacağını desteklemiştir.
- f- Kırık mısıra *B. licheniformis* eklenmesinin kuzuların rumen papilla uzunlukları üzerine olumlu etkileri olduğu görülmüştür.

- g- Mikrobiyota analizlerinde alfa çeşitlik değerlendirmesinin biri olan Chao1 indeks mikroorganizmaların bolluğunu değerlendirme amacıyla yapılır. Yüksek nemli mısırın fermente bir ürün olması nedeniyle bu yem maddesini tüketen gruplarda mikroorganizmaların bolluk düzeyinde belirgin farklılık olduğu gözlemlenmiştir. Mikroorganizmalardaki çeşitlilik düzeyini değerlendirme amacıyla yapılan Shannon indeksine bakıldığında gruplar arasında yüksek çeşitlilik olmaması kuzuların rumeninde benzer mikroorganizmalar olduğunu düşündürmüştür.
- h- Mikrobiyota analizlerinde grupların filum düzeyinde bolluk düzeyleri incelendiğinde kontrol grubunda *Actinobacteria* düzeyinin fazla olması ticari kuzu yeminde polisakkarti ve selüloz düzeyinin fazla olabileceğini desteklemektedir. Diğer gruplarda filum düzeyinde *Firmicutes* bolluk düzeyinin daha fazla olması koyunlarda bu bakterilerin yaygın olduğunu destekler niteliktedir.
- i- Nemli yem kullanımı ve *B. licheniformis* ilavesi ruminantlarda metanojenik bakteriler üzerine baskılayıcı etkisinin olduğu dikkate değer bulunmuştur.

Ruminant beslenmesinde güncel yaklaşımlar içerisinde mikrobiyota önemli bir yer tutmaktadır. Bu çalışmada, YNM'nin kolay sindirilebileceği düşünülüp, asidoz riskine karşı *B. licheniformis* kullanılmış, rumen mikrobiyotası üzerine etkileri incelenmiştir. Elde edilen bulgular başka araştırmacıların bundan sonraki çalışmalarına da ışık tutacak niteliktedir. Ayrıca, gelecek yıllarda yapılan multiomik çalışmalar, et ve süt üretimi için besi ve süt hayvanlarının fizyolojik ve fenotipik gelişimini belirlemek için bir platform sağlayacaktır.

## KAYNAKLAR

- Abdel-Raheem, S. M., Abd-Allah, S. M. and Hassanain, K. M. (2012). The effects of prebiotic, probiotic and synbiotic supplementation on intestinal microbial ecology and histomorphology of broiler chickens. *International journal for agro veterinary and medical sciences*, 6(4), 277-289. doi: 10.5455/ijavms.156
- Abdel-Rahman, H. A., Shawky, S. M., Ouda, H., Nafeaa, A. A., and Orabi, S. H. (2013). Effect of two probiotics and bioflavonoids supplementation to the broilers diet and drinking water on the growth performance and hepatic antioxidant parameters. *Global Veterinaria*, 10(6), 734-741.
- Abdelqader, A., Irshaid, R. and Al-Fataftah, A.-R. (2013). Effects of dietary probiotic inclusion on performance, eggshell quality, cecal microflora composition, and tibia traits of laying hens in the late phase of production. *Tropical animal health and production*, 45, 1017-1024. <https://doi.org/10.1007/s11250-012-0326-7>
- Abdelsattar, M. M., Vargas-Bello-Pérez, E., Zhuang, Y., Fu, Y., and Zhang, N. (2022). Effects of Age and Dietary Factors on the Blood Beta-Hydroxybutyric Acid, Metabolites, Immunoglobulins, and Hormones of Goats. *Frontiers in veterinary science*, 8, 793427. doi:org/10.3389/fvets.2021.793427
- Afsharmanesh, M. and Sadaghi, B. (2014). Effects of dietary alternatives (probiotic, green tea powder, and Kombucha tea) as antimicrobial growth promoters on growth, ileal nutrient digestibility, blood parameters, and immune response of broiler chickens. *Comparative Clinical Pathology*, 23, 717-724. doi: 10.1007/s00580-013-1676-x
- Agle M., Hristov A. N., Zaman S., Schneider C., Ndegwa P. M. and Vaddella, V. K. (2010). Effect of dietary concentrate on rumen fermentation, digestibility, and nitrogen losses in dairy cows. *Journal of dairy science*, 93, 4211-4222. 10.3168/jds.2009-2977
- Ahmed, S. T., Islam, M. M., Mun, H. S., Sim, H.-J., Kim, Y. J. and Yang, C. J. (2014). Effects of *Bacillus amyloliquefaciens* as a probiotic strain on growth performance, cecal microflora, and fecal noxious gas emissions of broiler chickens. *Poultry science*, 93, 1963-1971. doi: 10.3382/ps.2013-03718
- Alexopoulos, C., Georgoulakis, I., Tzivara, A., Kritas, S., Stochu, A., and Kyriakis, S. (2004). Field evaluation of the efficacy of a probiotic containing *Bacillus licheniformis* and *Bacillus subtilis* spores, on the health status and performance of sows and their litters. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 88, 381-392. doi: 10.1111/j.1439-0442.2004.00637.x.
- Anderson, C. L., Schneider, C. J., Erickson, G. E., MacDonald, J. C., and Fernando, S. C. (2016) Rumen bacterial communities can be acclimated faster to high concentrate diets than currently implemented feedlot programs. *Journal of applied microbiology*, 120, 588-599. doi.org/10.1111/jam.13039
- Anil, M. H., and Forbes, J. M. (1980). Feeding in sheep during intraportal infusions of short-chain fatty acids and the effect of liver denervation. *The Journal of physiology*, 298(1), 407-414. doi: 10.1113/jphysiol.1980.sp013090
- AOAC. (2000). Official Methods of Analysis of AOAC international (17th ed.), Maryland, DC, USA.
- Association of American Feed Control Officials. (1999). Official Publication: AAFCO, Inc. Georgia Department of Agriculture, Plant Food, Feed and Grain Division, Capital Square, Atlanta.
- Bach, A., Calsamiglia, S., and Stern, M. D. (2005). Nitrogen metabolism in the rumen. *Journal of dairy science*, 88, 9-21. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(05)73133-7
- Backhed, F., Ding, H., Wang, T., Hooper, L. V., Koh, G. Y., Nagy, A., Semenkovich, C. F., and Gordon, J. I. (2004). The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage.

*Proceedings of the national academy of sciences*, 101(44), 15718-15723. doi: 10.1073/pnas.0407076101

Balasubramanian, B., Li, T., and Kim, I. H. (2016). Effects of supplementing growing-finishing pig diets with *Bacillus* spp. probiotic on growth performance and meat-carcass grade quality traits. *Revista brasileira de zootecnia*, 45, 93-100.

Baldwin, R. L. (1999). The proliferative actions of insulin, insulin-like growth factor-I, epidermal growth factor, butyrate and propionate on ruminal epithelial cells in vitro. *Small ruminant research*, 32, 261-268.

Baldwin, R. L., McLeod, K. R., Klotz, J. L., and Heitmann, R. N. (2004). Rumen development, intestinal growth and hepatic metabolism in the pre and postweaning ruminant. *Journal of dairy science*, 87:55-65.

Baldwin, R. L., and Connor, E. E. (2017). Rumen function and development. *Veterinary clinics: food animal practice*, 33(3), 427-439.

Barbosa, T. M., Serra, C. R., La Ragione, R. M., Woodward, M. J., and Henriques, A. O. (2005). Screening for *Bacillus* isolates in the broiler gastrointestinal tract. *Applied and environmental microbiology*, 71(2), 968-978.

Ban, Y., and Guan, L. L. (2021). Implication and challenges of direct-fed microbial supplementation to improve ruminant production and health. *Journal of animal science and biotechnology*, 12(1), 1-22. doi.org/10.1186/s40104-021-00630-x

Barkawi, A. H., El-Asheeri, A. K., Hafez, Y. M., Ibrahim, M. A., and Ali, M. M. (2009). Growth and carcass characteristics of lambs in relation to plasma IGF-I and some histological traits of Longissimus lumbarum and Biceps femoris as affected by breed and age at slaughter. *Livestock science*, 124(1-3), 9-14.

Beharka, A. A., Nagaraja, T. G. and Morrill, J. L. (1991). Performance and ruminal function development of young calves fed diets with aspergillus oryzae fermentation extract. *Journal of dairy science*, 74, 4326-4336

Benedetti, C. (2014). *Metagenomics: Methods, Applications and Perspectives*, New York. Nova Science Publishers.

Bergman, E. N. (1990). Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species. *Physiological reviews*, 70, 567–590. doi: org/10.1152/physrev.1990.70.2.567.

Berry, D. P., and Crowley, J. J. (2013). Cell Biology Symposium: genetics of feed efficiency in dairy and beef cattle. *Journal of animal science*. 91, 1594–1613. doi:10.2527/jas.2012-5862

Bevans, D., Beauchemin, K., Schwartzkopf-Genswein, K., McKinnon, J., and McAllister, T. (2005). Effect of rapid or gradual grain adaptation on subacute acidosis and feed intake by feedlot cattle. *Journal of animal science*, 83, 1116–1132

Bi, Y. L., Zeng, S. Q., Zhang, R., Diao, Q. Y., and Tu, Y. (2018). Effects of dietary energy levels on rumen bacterial community composition in Holstein heifers under the same forage to concentrate ratio condition. *BMC Microbiology*, 18(1), 1-11.

Bickhart, D. M., and Weimer, P. J. (2018). Symposium review: Host–rumen microbe interactions may be leveraged to improve the productivity of dairy cows. *Journal of dairy science*, 101(8), 7680-7689.

Bohmer., B. M., Kramer, W., and Roth-Maier, D. A. (2006). Dietary probiotic supplementation and resulting effects on performance, health status and microbial characteristics of primiparous sows. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 90(7-8), 309-315. doi: 10.1111/j.1439-0396

- Bokulich, N. A., Subramanian, S., Faith, J. J., Gevers, D., Gordon, J. I., Knight, R., and Caporaso, J. G. (2013). Quality-filtering vastly improves diversity estimates from Illumina amplicon sequencing. *Nature methods*, *10*(1), 57-59.
- Bolyen, E., Rideout, J. R., Dillon M. R, Bokulich, N. A., Abnet, C. C., Al-Ghalith, G. A., Alexander, H., Alm, E. J., Arumugam, M., Asnicar, F., Bai, Y., Bisanz, J. E., Bittinger, K., Brejnrod, A., Brislawn, C. J., Brown, C. T., Callahan, B. J., Caraballo-Rodríguez, A. M., ... Caporaso, J. G. (2019). Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2. *Nature biotechnology*, *37*: 852–857. doi: 10.1038/s41587-019-0209-9.
- Bravo, D. M., and Wall, E. H. (2016). The rumen and beyond: nutritional physiology of the modern dairy cow. *Journal of dairy science*, *99*(6), 4939-4940.
- Brockman, R. P. (1979). Roles for insulin and glucagon in the development of ruminant ketosis – A review. *The canadian veterinary journal*, *20*, 121–126
- Bryant, M. P. (1959). Bacterial species of the rumen. *Bacteriological reviews*, *23*(3), 125-153. Pmid: 13805451.
- Bumbieris Junior, V. H., de Pietro Guimarães, V. A., de Azambuja Ribeiro, E. L., das Dores Ferreira da Silva, L., Jobim, C. C., Mizubuti, I. Y., Camilo, I. M., Grandis, F. A., and Zanin, E. (2019). Productive performance of lambs fed with high-moisture triticale grain ensiled with different additives. *Canadian journal of animal science*, *100*(2), 323-329.
- Callaway, T. R., Dowd, S. E., Edrington, T. S., Anderson, R. C., Krueger, N., Bauer, N., Kononoff, P. J., and Nisbet, D. J. (2010). Evaluation of bacterial diversity in the rumen and feces of cattle fed different amounts of dried distillers grains plus solubles using bacterial tag-encoded FLX amplicon pyrosequencing. *Journal of animal science*, *88*, 3977–3983. doi: 10.2527/jas.2010-2900.
- Calsamiglia, S., Cardozo, P. W., Ferret, A., and Bach, A. (2008). Changes in rumen microbial fermentation are due to a combined effect of type of diet and pH. *Journal of animal science*, *86*: 702–711.
- Cameron, A. and McAllister, T. A. (2019). Could probiotics be the panacea alternative to the use of antimicrobials in livestock diets? *Beneficial microbes*, *10*(7):773. doi.org/10.3920/BM2019.0059.
- Cani, P. D., Possemiers, S., Van de Wiele, T., Guiot, Y., Everard, A., Rottier, O., Geurts, L., Naslain, D., Neyrinck, A., Lambert, D. M., Muccioli, G. G., and Delzenne, N. M. (2009). Changes in gut microbiota control inflammation in obese mice through a mechanism involving GLP-2-driven improvement of gut permeability. *Gut*, *58*(8), 1091-1103.
- Cantalapiedra-Hijar, G., Abo-Ismael, M., Carstens, G. E., Guan, L. L., Hegarty, R., Kenny, D. A., McGee, M., Plastow, G., Relling, A., and Ortigues-Marty, I. (2018). Biological determinants of between-animal variation in feed efficiency of growing beef cattle. *Animals*, *12*(s2), s321-s335.
- Caporaso, J. G., Kuczynski, J., Stombaugh, J., Bittinger, K., Bushman, F. D., Costello, E. K., Fierer, N., Peña, A. G., Goodrich, J. K., Gordon, J. I., Huttley, G. A., Kelley, S. T., Knights, D., Koenig, J. E., Ley, R. E., Lozupone, C. A., McDonald, D., Muegge, B. D., Pirrung, M., Reeder, J., ... Knight, R. (2010). QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nature methods*, *7*(5): 335-336.
- Caporaso, J. G., Lauber, C. L., Walters, W. A., Berg-Lyons, D., Huntley, J., Fierer, N., Owens, S. M., Betley, J., Fraser, L., Bauer, M., Gormley, N., Gilbert, J.A., Smith, G., and Knight, R. (2012). Ultra-high-throughput microbial community analysis on the Illumina HiSeq and MiSeq platforms. *The international society for microbial ecology*, *6*(8), 1621-1624.
- Capper, J. L. (2011). The environmental impact of beef production in the United States: 1977 compared with 2007. *Journal of animal science*, *89*:4249–4261. doi:10.2527/jas.2010-3784.

- Casey, P. G., Gardiner, G. E., Casey, G., Bradshaw, B., Lawlor, P. G., Lynch, P. B., Leonard, F. C., Stanton, C., Ross, R. P., Fitzgerald, G. F., and Hill, C. (2007). A 5-strain probiotic combination reduces pathogen shedding and alleviates disease signs in pigs challenged with *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium. *Applied and environmental microbiology*, 73: 1858-1863. doi: 10.1128/AEM.01840-06.
- Castillo-Lopez, E., Klopfenstein, T. J., Fernando, S. C., and Kononoff, P. J. (2013). In vivo determination of rumen undegradable protein of dried distillers grains with solubles and evaluation of duodenal microbial crude protein flow. *Journal of animal science*, 91, 924–934.
- Castillo-Lopez, E., Moats, J., Aluthge, N. D., Ramirez Ramirez, H. A., Christensen, D. A., Mutsvangwa, T., and Fernando, S. C. (2018). Effect of partially replacing a barley-based concentrate with flaxseed-based products on the rumen bacterial population of lactating Holstein dairy cows. *Journal of applied microbiology*, 124: 42-57.
- Castro-Carrera, T., Toral, P. G., Frutos, P., McEwan, N. R., Hervás, G., Abecia, L., Pinloche, E., Girdwood, S. E., and Belenguer, A. (2014). Rumen bacterial community evaluated by 454 pyrosequencing and terminal restriction fragment length polymorphism analyses in dairy sheep fed marine algae. *Journal of dairy science*, 97, 1661–1669.
- Chaucheyras-Durand, F., Ameilbonne, A., Auffret, P., Bernard, M., Mialon, M. M., Dunière, L., and Forano, E. (2019). Supplementation of live yeast based feed additive in early life promotes rumen microbial colonization and fibrolytic potential in lambs. *Scientific reports*, 9(1), 1-16.
- Chen, Y. H., Penner, G. B., Li, M. J., Oba, M., and Guan, L. L. (2011). Changes in bacterial diversity associated with epithelial tissue in the beef cow rumen during the transition to a high-grain diet. *Applied environmental microbiology*, 77, 5770–5781. doi: 10.1128/AEM.00375-11
- Chen, L., Zhou, C. S., Liu, G., Jiang, H. M., Lu, Q., Tan, Z. L., Wu, X. S., and Fang, J. (2013). Application of lactic acid bacteria, yeast and bacillus as feed additive in dairy cattle. *Journal of food, agriculture and environment*, 11:626.
- Cheng, Y. H., Zhang, N., Han, J. C., Chang, C. W., Hsiao, F. S. H., and Yu, Y. H. (2018). Optimization of surfactin production from *Bacillus subtilis* in fermentation and its effects on *Clostridium perfringens*-induced necrotic enteritis and growth performance in broilers. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 102, 1232–1244.
- Cheng, Y. H., Hsiao, F. S. H., Wen, C. M., Wu, C. Y., Dybus, A., and Yu, Y. H. (2019). Mixed fermentation of soybean meal by protease and probiotics and its effects on growth performance and immune response in broilers. *Journal of applied animal research*, 47, 339–348.
- Chiofalo, V., Liotta, L., and Chiofalo, B. (2004). Effects of the administration of Lactobacilli on body growth and on the metabolic profile in growing Maltese goat kids. *Reproduction nutrition development*, 44: 449-457. doi: 10.1051/rnd:2004051.
- Chida, S., Sakamoto, M., Takino, T., Kawamoto, S., and Hagiwara, K. (2021). Changes in immune system and intestinal bacteria of cows during the transition period. *Veterinary and animal science*, 14, 100222.
- Chiquette, J., Allison, M. J., and Rasmussen, M. (2012). Use of *Prevotella bryantii* 25A and a commercial probiotic during subacute acidosis challenge in midlactation dairy cows. *Journal of dairy science*, 95(10), 5985-5995.
- Cho, S. J., Cho, K. M., Shin, E. C., Lim, W. J., Hong, S., Choi, B. R. Kang, J. M., Lee, S. M., Kim, Y. H. Kim, H., and Yun, H. D. (2006). 16S rDNA analysis of bacterial diversity in three fractions of cow rumen. *Journal of microbiology and biotechnology*, 16, 92-101.
- Cirne, L. G. A., Da Silva Sobrinho, A. G., Santana, V. T., Silva, F. U., De Oliveira, E. A., De Almeida, F. A., Endo, V., Takahashi, R., Carvalho, G. G. P., and Zeoula, N. M. B. (2014).



Digestibility and performance of lambs fed with diets containing mulberry hay. *Semina: ciencias agrarias*, 35: 1523–1532. doi:10.5433/1679-0359.2014v35n3p1523

Clemente, J. C., Ursell, L. K., Parfrey, L. W., and Knight, R. (2012). The impact of the gut microbiota on human health: an integrative view. *Cell*, 148, 1258–1270.

Coleman, G. S. (1975). The interrelationship between rumen ciliate protozoa and bacteria. In: *Digestion and Metabolism in the Ruminant*, edited by I. W. McDonald and A. C. I. Warner. Armidale, Australia: Univ. of New England, p. 149-164.

Correa, C. E. S., Shaver, R. D., Pereira, M. N., Lauer, J. G., and Kohn, K. (2002). Relationship between corn vitreousness and ruminal in situ starch degradability. *Journal of dairy science*, 85(11), 3008-3012.

Counotte, G. H. M., and Prins, R. A. (1978). Regulation of rumen lactate metabolism and the role of lactic acid in nutritional disorders of ruminants. *Veterinary science communications*, 2(1), 277-303.

Cutting, S. M. (2011). Bacillus probiotics. *Food microbiology*, 28(2), 214-220.

D'Amore, R., Ijaz, U. Z., Schirmer, M., Kenny, J. G., Gregory, R., Darby, A. C., Shakya, M., Podar, M., Quince, C., and Hall, N. (2016). A comprehensive benchmarking study of protocols and sequencing platforms for 16S rRNA community profiling. *BMC genomics*, 17(1), 1-20.

Danielsson, R., Schnürer, A., Arthurson, V., and Bertilsson, J. (2012). Methanogenic population and CH<sub>4</sub> production in swedish dairy cows fed different levels of forage. *Applied and environmental microbiology*, 78:6172–9. doi: 10.1128/AEM.00675-12

Daskiran, M., Onol, A. G., Cengiz, O., Unsal, H., Turkyilmaz, S., Tatlı, O. and Sevim, O. (2012). Influence of dietary probiotic inclusion on growth performance, blood parameters, and intestinal microflora of male broiler chickens exposed to posthatch holding time. *Journal of applied poultry research*, 21, 612-622.

Davis, M. E., Parrott, T., Brown, D. C., de Rodas, B. Z., Johnson, Z. B., Maxwell, C. V., and Rehberger, T., (2008). Effect of a Bacillus-based direct-fed microbial feed supplement on growth performance and pen cleaning characteristics of growing-finishing pigs. *Journal of animal science*, 86, 1459–1467.

De Boer, A. S., Priest, F., and Diderichsen, B., (1994). On the industrial use of Bacillus licheniformis: a review. *Applied microbiology and biotechnology*, 40, 595–598.

Delano, M. L., Mischler, S. A., and Underwood, W. J. (2002). Chapter 14 – biology and diseases of ruminants: sheep, goats, and cattle,” in *Laboratory Animal Medicine* (Second Edition), eds J.G. Fox, L.C. Anderson, F. M. Loew, and F.W. Quimby (Burlington: Academic Press), 519–614. doi: 10.1016/b978-012263951-7/50017-x

De Menezes, A. B., Lewis, E., O'Donovan, M., O'Neill, B. F., Clipson, N., and Doyle, E. M. (2011). Microbiome analysis of dairy cows fed pasture or total mixed ration diets. *FEMS Microbiology ecology*, 78 : 256–265. doi:10.1111/j.1574-6941.2011.01151.x

Deng, K. D., Xiao, Y., Ma, T., Tu, Y., Diao, Q. Y., Chen, Y. H., and Jiang, J. J. (2018). Ruminal fermentation, nutrient metabolism, and methane emissions of sheep in response to dietary supplementation with *Bacillus licheniformis*. *Animal feed science and technology*, 241, 38-44.

Dersjant-Li, Y., Awati, A., Kromm, C., and Evans, C. (2013). A direct fed microbial containing a combination of three-strain *Bacillus* sp. can be used as an alternative to feed antibiotic growth promoters in broiler production. *Journal of applied animal nutrition*, 2:e11.

Devyatkin, V., Mishurov, A., and Kolodina, E. (2021). Probiotic effect of Bacillus subtilis B-2998D, B-3057D, and Bacillus licheniformis B-2999D complex on sheep and lambs. *Journal of advanced veterinary and animal research*, 8(1), 146–157. https://doi.org/10.5455/javar.2021.h497

- Dowarah, R., Verma, A. K., and Agarwal, N. (2017). The use of *Lactobacillus* as an alternative of antibiotic growth promoters in pigs: A review. *Animal nutrition*, 3(1), 1-6.
- Doyle, N., Mbandlwa, P., Kelly, W. J., Attwood, G., Li, Y., Ross, R. P., Stanton, C., and Leahy, S. (2019). Use of lactic acid bacteria to reduce methane production in ruminants, a critical review. *Frontiers in microbiology*, 10:2207.
- Duffield, T., Plaizier, J., Fairfield, A., Bagg, R., Vessie, G., Dick, P., Wilson, J., Aramini, J., and McBride, B. (2004). Comparison of techniques for measurement of rumen pH in lactating dairy cows. *Journal of dairy science*, 87, 59-66.
- Dunlop, R. H. (1972). Pathogenesis of ruminant lactic acidosis. *Advances in veterinary science and comparative medicine*, 16: 259-280.
- Du, R., Jiao, S., Dai, Y., An, J., Lv, J., Yan, X., Wang, J., and Han B. (2018) Probiotic *Bacillus amyloliquefaciens* C-1 improves growth performance, stimulates GH/IGF-1, and regulates the gut microbiota of growth-retarded beef calves. *Frontiers in microbiology*, 9:2006. doi: 10.3389/fmicb.2018.02006.
- Duc, L. H., Hong, H. A., Barbosa, T. M., Henriques, A. O., and Cutting, S. M. (2004). Characterization of *Bacillus* probiotics available for human use. *Applied and environmental microbiology*, 70(4), 2161-2171.
- Dziuk, H. E. (1984). Digestion in the ruminant stomach. In: Dukes' Physiology of Domestic Animals, edited by M. J. Swenson. Ithaca, NY: Cornell Univ. Press, p. 320-339.
- Edgar, R. C. (2004). MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic acids research*, 32(5), 1792-1797.
- Edgar, R. C. (2010). Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST. *Bioinformatics*. 26(19):2460-1. doi: 10.1093/bioinformatics/btq461.
- Edgar, R. C., Haas, B. J., Clemente, J. C., Quince, C., and Knight, R. (2013). UPARSE: Highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads. *Nature methods*, 10 (10): 996-8.
- Elghandour, M. M. Y., Salem, A. Z. M., Castañeda, J. S. M., Camacho, L. M., Kholif, A. E., and Chagoyán, J. C. V. (2015). Direct-fed microbes: a tool for improving the utilization of low quality roughages in ruminants. *Journal of integrative agriculture*, 14:526–33. doi: 10.1016/S2095-3119(14)60834-0.
- Ellison M. J., Conant G. C., Lamberson W. R., Cockrum R. R., Austin K. J., Rule D. C., Cammack, K. M. (2017). Diet and feed efficiency status affect rumen microbial profiles of sheep. *Small ruminant research*, 156, 12–19. 10.1016/j.smallrumres.2017.08.009
- Elolimy, A. A., Abdelmegeid, M. K., McCann, J. C., Shike, D. W., and Loor, J. J. (2018). Residual feed intake in beef cattle and its association with carcass traits, ruminal solid-fraction bacteria, and epithelium gene expression. *Journal of animal science and biotechnology*, 9(1), 1-13.
- Elshagabee, F. M. F., Rokana, N., Gulhane, R. D., Sharma, C., and Panwar, H. (2017). *Bacillus* as potential probiotics: status, concerns, and future perspectives. *Frontiers microbiology*, 8, 1490.
- Ertl, P., Zebeli, Q., Zollitsch, W., and Knaus, W. (2016). Feeding of wheat bran and sugar beet pulp as sole supplements in high-forage diets emphasizes the potential of dairy cattle for human food supply. *Journal of dairy science*, 99(2), 1228-1236.
- European Directive. (1999). 72/1999/CEE. Community methods of analysis for the official control of feeding stuffs. L 209, 08/07/1999, pp. 23–27.

- FAO. Food and Agriculture Organization Of The United Nations. (2012). Phenotypic characterization of animal genetic resources. Rome. Available online: <http://www.fao.org/3/i2686e/i2686e00.htm> (accessed on 12 December 2020).
- FAOSTAT. (2016). Food and agriculture organization of the United Nations Database, Food and Agriculture Organization Corporate Statistical Database, Rome, Italy.
- Fayol-Messaoudi, D., Berger, C. N., Coconnier-Polter, M. H., Liévin-Le, Moal, V., and Servin, A. L. (2005). pH-, Lactic acid-, and non-lactic acid-dependent activities of probiotic Lactobacilli against *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium. *Applied environmental microbiology*, *71*, 6008–6013.
- Fernando, S. C., Purvis, H. T., Najar, F. Z., Sukharnikov, L. O., Krehbiel, C. R., Nagaraja, T. G., Roe, B. A., and Desilva, U. (2010) Rumen microbial population dynamics during adaptation to a high-grain diet. *Applied environmental microbiology*, *76*, 7482–7490.
- Ferraretto, L. F., Crump, P. M., and Shaver R. D. (2013). Effect of cereal grain type and corn grain harvesting and processing methods on intake, digestion and milk production by dairy cows through a meta-analysis. *Journal of dairy science*, *96*:533–550.
- Ferraretto, L., Fredin, S., and Shaver, R. D. (2015). Influence of ensiling, exogenous protease addition, and bacterial inoculation on fermentation profile, nitrogen fractions, and ruminal in vitro starch digestibility in rehydrated and high-moisture corn. *Journal of dairy science*, *98*(10):7318-7327.
- Firkins, J. L., Eastridge, M. L., St-Pierre, N. R., and Noftsker, S. M. (2001). Effects of grain variability and processing on starch utilization by lactating dairy cattle. *Journal of animal science*, *79*, E218-238.
- Flint, H. J, Duncan, S. H, Scott, K. P., and Louis, P. (2015). Links between diet, gut microbiota composition and gut metabolism. *Proceedings of the nutrition society*, *74*(1):13–22
- Ford, A. C., Quigley, E. M. M., Lacy, B. E., Lembo, A. J., Saito, Y. A., Schiller LR, Soffer, E. E., Spiegel, B. M. R., and Moayyedi, P. (2014). Efficacy of prebiotics, probiotics, and synbiotics in irritable bowel syndrome and chronic idiopathic constipation: systematic review and meta-analysis. *American journal of gastroenterology*, *109*:1547–62. doi: 10.1038/ajg.2014.202
- France, J., and J. Dijkstra. (2005). Volatile fatty acid production. p. 157–175 in Quantitative Aspects of Ruminant Digestion and Metabolism. 2nd ed. J. Dijkstra, J. Forbes, and J. France, ed. CABI.
- Frank, D. N., and Pace, N. R. (2008). Gastrointestinal microbiology enters the metagenomics era. *Current opinion in gastroenterology*, *24*(1), 4-10.
- Freetly, H. C., Dickey, A., Lindholm-Perry, A. K., Thallman, R. M., Keele, J. W., Foote, A. P., and Wells, J. E. (2020). Digestive tract microbiota of beef cattle that differed in feed efficiency. *Journal of animal science*, *98*(2), skaa008.
- Fuller, R. (Ed.). (1997). Probiotics 2: applications and practical aspects (Vol. 2). Springer Science & Business Media.
- Gaggia, F., Mattarelli, P., and Biavati, B. (2010). Probiotics and prebiotics in animal feeding for safe food production. *International journal of food microbiology*, *141*, S15-S28.
- Gang, G., Shen, C., Qiang, L., Zhang, S. L., Shao, T., Wang, C., Wang, Y. X., Xu, Q. F., and Huo, W. J. (2020). The effect of lactic acid bacteria inoculums on in vitro rumen fermentation, methane production, ruminal cellulolytic bacteria populations and cellulase activities of corn stover silage. *Journal of integrative agriculture*, *19*(3), 838-847.
- Gangadharan, D., Sivaramakrishnan, S., Nampoothiri, K. M., Sukumaran, R. K., Pandey, A. (2008). Response surface methodology for the optimization of alpha amylase production by *Bacillus amyloliquefaciens*. *Bioresourcet technology*, *99*, 4597–4602.

- García, C., Rendueles, M., and Díaz, M. (2019). Liquid-phase food fermentations with microbial consortia involving lactic acid bacteria: A review. *Food research international*, 119, 207–220.
- Gatford, K. L., Fletcher, T. P., Clarke, I. J., Owens, P. C., Guinn, K. J., Walton, P. E., Grant, P. A., Hosking, B. J., Egan, A. R. and, Ponnampalam, E. N., (1996). Sexual dimorphism of circulating somatotropin, insulin-like growth factor I and II, insulin-like growth factor binding protein and insulin: relationship to growth rate and carcass characteristics in growing lambs. *Journal of animal science*, 74, 1314–1325.
- Gholami, M. A., Forouzmand, M., Khajavi, M., Hossienifar, S., and Naghiha, R. (2018). Effect of different corn processing methods on enzyme producing bacteria, protozoa, fermentation and histomorphometry of rumen in fattening lambs. *Veterinary research forum: an international quarterly journal*, 9(1), 43–48.
- Giannenas, I., Papadopoulos, E., Tsalie, E., Triantafillou, E., Henikl, S., Teichmann, K., and Tontis, D. (2012). Assessment of dietary supplementation with probiotics on performance, intestinal morphology and microflora of chickens infected with *Eimeria tenella*. *Veterinary parasitology*, 188, 31-40.
- Giuberti, G., Gallo, A., Masoero, F., Ferraretto, L. F., Hoffman, P. C., and Shaver, R. D. (2014). Factors affecting starch utilization in large animal food production system: A review. *Starch-stärke*, 66(1-2), 72-90.
- Glinsky, M. J., Smith, R. M., Spires, H. R., and Davies, C. L. (1976). Measurement of volatile fatty acid production rates in the cecum of the pony. *Journal of animal science*, 42: 1465-1470.
- Goad, D. W., Goad, C. L., and Nagaraja, T. G. (1998). Ruminal microbial and fermentative changes associated with experimentally induced subacute acidosis in steers. *Journal of animal science*, 76: 234-241.
- Gobi, N., Vaseeharan, B., Chen, J.-C., Rekha, R., Vijayakumar, S., Anjugam, M., and Iswarya, A. (2018). Dietary supplementation of probiotic *Bacillus licheniformis* Dabhl improves growth performance, mucus and serum immune parameters, antioxidant enzyme activity as well as resistance against *Aeromonas hydrophila* in tilapia *Oreochromis mossambicus*. *Fish shellfish immunology*, 74, 501-508
- Gong, L., Wang, B. K., Mei, H., Xu, H., Qin, Y., Li, W. F., and Zhou, S. (2018). Effects of three probiotic *Bacillus* on growth performance, digestive enzyme activities, antioxidative capacity, serum immunity, and biochemical parameters in broilers. *Journal of animal science*, 89, 1561--1571.
- Gruninger, R., Ribeiro, G., Cameron, A., and McAllister, T. (2019). Invited review: Application of meta-omics to understand the dynamic nature of the rumen microbiome and how it responds to diet in ruminants. *Animals*, 13(9), 1843-1854. doi:10.1017/S1751731119000752
- Guinane, C. M., and Cotter, P. D. (2013). Role of the gut microbiota in health and chronic gastrointestinal disease: understanding a hidden metabolic organ. *Therapeutic advances in gastroenterology*, 6(4), 295-308.
- Gürelli, G., and Ito, A. (2014). Intestinal ciliated protozoa of the Asian elephant *Elephas maximus* Linnaeus, 1758 with the description of *Triplumaria izmirae* n. sp. *European journal of protistology*, 50(1), 25-32.
- Hadjipanayiotou, M., and Antoniose, T. (1983). A comparison of rumen fermentation patterns in sheep and goats given a variety of diets. *Journal of the science of food and agriculture*, 34: 1319-1322, 1983.
- Han, S. K., Kim, S. H., and Shin, H. S. (2005). UASB treatment of wastewater with VFA and alcohol generated during hydrogen fermentation of food waste. *Process biochemistry*, 40(8), 2897-2905.

- Hasjim, J., Srichuwong, S., Scott, M. P., and Jane, J. L. (2009). Kernel composition, starch structure, and enzyme digestibility of opaque-2 maize and quality protein maize. *Journal of agricultural and food chemistry*, 57(5), 2049-2055.
- Hassan, A., Gado, H., Anele, U. Y., Berasain, M. A. M., and Salem, A. Z. M. (2020a) Influence of dietary probiotic inclusion on growth performance, nutrient utilization, ruminal fermentation activities and methane production in growing lambs. *Animal biotechnology*, 31:4, 365-372, doi: 10.1080/10495398.2019.1604380
- Hassan, F. U., Arshad, M. A., Ebeid, H. M., Rehman, M. S. U., Khan, M. S., Shahid, S., and Yang, C. (2020b). Phytogetic additives can modulate rumen microbiome to mediate fermentation kinetics and methanogenesis through exploiting diet–microbe interaction. *Frontiers in veterinary science*, 7:575801.
- Henchion, M., Hayes, M., Mullen, A. M., Fenelon, M., and Tiwari, B. (2017). Future protein supply and demand: strategies and factors influencing a sustainable equilibrium. *Foods*, 6:53. doi: 10.3390/foods6070053
- Henderson, G., Cox, F., Ganesh, S., Jonker, A., Young, W., and Janssen, P. H. (2015). Rumen microbial community composition varies with diet and host, but a core microbiome is found across a wide geographical range. *Scientific reports*, 5(1), 1-15.
- Henriques, A. O., and Moran, C. P. (2007). Structure, assembly, and function of the spore surface layers. *Annual Review of Microbiology*, Vol. 61, 555-88.
- Hooper, L. V., and Gordon, J. I. (2001). Commensal host-bacterial relationships in the gut. *Science*, 292(5519), 1115-1118.
- Hong, H. A., Duc, L. H., and Cutting, S. M. (2005). The use of bacterial spore formers as probiotics. *FEMS Microbiology reviews*, 29, 813–835.
- Hua, C., Tian, J., Tian, P., Cong, R., Luo, Y., Geng, Y., Tao, S., Ni, Y., and Zhao, R. (2017). Feeding a high concentration diet induces unhealthy alterations in the composition and metabolism of ruminal microbiota and host response in a goat model. *Frontiers in microbiology*, 8, 138.
- Hua, X., Goedert, J. J., Pu, A., Yu, G., and Shi, J. (2016). Allergy associations with the adult fecal microbiota: analysis of the American Gut Project. *EBioMedicine*, 3, 172-179.
- Huang, Q., Holman, D. B., Alexander, T., Hu, T., Jin, L., Xu, Z., McAllister, T. A., Acharya, S., Zhao, G., and Wang, Y. (2018). Fecal microbiota of lambs fed purple prairie clover (*Dalea purpurea* Vent.) and alfalfa (*Medicago sativa*). *Archives of microbiology*, 200:137–45. doi: 10.1007/s00203-017-1427-5.
- Huff, G. R., Huff, W. E., Rath, N. C., Anthony, N. B., and Nestor, K. E. (2008). Effects of *Escherichia coli* challenge and transport stress on hematology and serum chemistry values of three genetic lines of turkeys. *Poultry science*, 87(11), 2234-2241.
- Hume, I. (1997). Fermentation in the hindgut of mammals. In: Mackie RI, White BA (eds) *Gastrointestinal microbiology*. Chapman and Hall, New York, pp 84–115
- Hungate, R. E. (1966). *The rumen and Its Microbes*. New York: Academic.
- Hungate, R. E., Reichl, J., and Prins, R. (1971). Parameters of rumen fermentation in a continuously fed sheep: evidence of a microbial rumination pool. *Applied microbiology*, 22(6), 1104-1113.
- Hunter, M. C., Smith, R. G., Schipanski, M. E., Atwood, L. W., and Mortensen, D. A. (2017). Agriculture in 2050: recalibrating targets for sustainable intensification. *Bioscience*, 67, 386–391. doi: 10.1093/biosci/bix010

- Huntington, G. B. (1997). Starch utilization by ruminants: from basics to the bunk. *Journal of animal science*, 75(3), 852-867.
- Huntington, G., Harmon, D., and C. Richards. (2006). Sites, rates, and limits of starch digestion and glucose metabolism in growing cattle. *Journal of animal science* 84:E14.
- Huws, S. A., Creevey, C. J., Oyama, L. B., Mizrahi, I., Denman, S. E., Popova, M., Munoz-Tamayo, R., Forano, E., Waters, S. M., Hess, M., Tapio, I., Smidt, H., Krizsan, S. J., Ruiz, D. R. Y., Belanche, A., Guan, L., Gruninger, R. J., McAllister, T. A., Newbold, C. J., and Morgavi, D. P. (2018). Addressing global ruminant agricultural challenges through understanding the rumen microbiome: past, present, and future. *Frontiers in microbiology*, 9, 2161.
- Hyronimus, B., Le Marrec, C., Sassi, A. H. and Deschamps, A. (2000). Acid and bile tolerance of spore-forming lactic acid bacteria. *International journal of food microbiology*, 61:193-197.
- Iji, P. A., Saki, A., and Tivey, D. R. (2001). Body and intestinal growth of broiler chicks on a commercial starter diet. 3. Development and characteristics of tryptophan transport. *British poultry science*, 42:523–529. doi: 10.1080/00071660120073160.
- ISO 10520:1997. (1997). Native starch. Determination of starch content. Ewers polarimetric method International Organization for Standardization, Geneva.
- Itoh, K., Chiba, T., Takahashi, S., Ishii, T., Igarashi, K., Katoh, Y., Oyake, T., Hayashi, N., Satoh, K., Hatayama, I., Yamamoto, M., and Nabeshima, Y. I. (1997). An Nrf2/small Maf heterodimer mediates the induction of phase II detoxifying enzyme genes through antioxidant response elements. *Biochemical and biophysical research communications*, 236(2), 313-322. doi: 10.1006/bbrc.1997.6943.
- Jami, E., Israel, A., Kotser, A., and Mizrahi, I. (2013). Exploring the bovine rumen bacterial community from birth to adulthood. *The ISME journal*, 7(6), 1069-1079.
- Jia, P., Cui, K., Ma, T., Wan, F., Wang, W., Yang, D., Wang, Y., Guo, B., Zhao, L., and Diao, Q. (2018). Influence of dietary supplementation with *Bacillus licheniformis* and *Saccharomyces cerevisiae* as alternatives to monensin on growth performance, antioxidant, immunity, ruminal fermentation and microbial diversity of fattening lambs. *Scientific reports*, 8(1), 16712. doi.org/10.1038/s41598-018-35081-4
- Jiao, J., Lu, Q., Forster, R. J., Zhou, C., Wang, M., Kang, J., and Tan, Z. (2016). Age and feeding system (supplemental feeding versus grazing) modulates colonic bacterial succession and host mucosal immune maturation in goats. *Journal of animal science*, 94(6), 2506-2518.
- Jiang, S., Yang, Z., Yang, W., Li, Z., Zhang, C., Liu, X., and Wan, F. (2015). Diets of differentially processed wheat alter ruminal fermentation parameters and microbial populations in beef cattle. *Journal of animal science*, 93:5378\_5385 doi: 10.2527/jas.2015-9547
- Jiang, Y., Ogunade, I. M., Qi, S., Hackmann, T. J., Staples, C. R., and Adesogan, A. T. (2017). Effects of the dose and viability of *Saccharomyces cerevisiae*. 1. Diversity of ruminal microbes as analyzed by Illumina MiSeq sequencing and quantitative PCR. *Journal of dairy science*, 100(1), 325-342.
- Jobim, C. C., Branco, A. F., and dos Santos, G. T. (2003). Silagem de grãos úmidos na alimentação de bovinos leiteiros. Pages 357–376 in V. Simpósio Goiano Sobre Manejo e Nutrição de Bovino de Corte e Leite, Goiânia– Goiás.
- Johnson, K. A., and Johnson, D. E. (1995). Methane emissions from cattle. *Journal of animal science*, 73(8), 2483-2492.
- Johnson-Henry, K. C., Donato, K. A., Shen-Tu, G., Gordanpour, M., and Sherman, P. M. (2008). *Lactobacillus rhamnosus* strain GG prevents enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7- induced changes in epithelial barrier function. *Infection and immunity*, 76:1340-1348.

Jorgensen, J. N., Laguna, J. S., Millan, C., Casabuena, O., and Gracia, M. I. (2016). Effects of a Bacillus-based probiotic and dietary energy content on the performance and nutrient digestibility of wean to finish pigs. *Animal feed science and technology*, 221, 54–61.

Jouany, J. P., and Morgavi, D. P. (2007). Use of ‘natural’ products as alternatives to antibiotic feed additives in ruminant production. *Animal:an international journal of animal bioscience*, 1 (10), 1443-1466.

Junior, G. D., Ferraretto, L., Salvati, G., de Resende, L., Hoffman, P., Pereira, M., and Shaver, R. (2016). Relationship between processing score and kernel-fraction particle size in wholeplant corn silage. *Journal of dairy science*, 99(4):2719-2729.

Junior, M. Y., Jobim, C. C., Osmari, M. P., and Tres, T. T. (2017). Nutritional additives in high moisture corn silage. *Agrária, recife*, 12:1, 105-111.

Kamke, J., Kittelmann, S., Soni, P., Li, Y., Tavendale, M., Ganesh, S., Janssen, P. H., Shi, W., Froula, J., and Rubin, E.M., (2016). Rumen metagenome and metatranscriptome analyses of low methane yield sheep reveals a Sharpea-enriched microbiome characterised by lactic acid formation and utilization. *Microbiome*, 4, 56

Karabulut, A. (1991). Besleme Fizyolojisi ve Metabolizma. Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bursa.

Karisa, B. K., Thomson, J., Wang, Z., Li, C., Montanholi, Y. R., Miller, S. P., Moore, S. S., and Plastow, G. S. (2014). Plasma metabolites associated with residual feed intake and other productivity performance traits in beef cattle. *Livestock science*, 165, 200–211.

Kau, A. L., Ahern, P. P., Griffin, N. W., Goodman, A. L., and Gordon, J. I. (2011). Human nutrition, the gut microbiome and the immune system. *Nature*, 474, 327–336.

Kawauchi, D., Anghong, W., Keaokliang, O., Ishida, T., Takahashi, T., and Kawashima T. (2021). Effect of feeding Bacillus subtilis on rumen fermentation, blood metabolites, nutrient digestibility, and energy and nitrogen balances in non-lactating crossbred cows. *Journal of animal science*, 92:e13531. <https://doi.org/10.1111/asj.13531>

Keady, T. W., Mayne, C. S., Fitzpatrick, D. A., and McCoy, M. A. (2001). Effect of concentrate feed level in late gestation on subsequent milk yield, milk composition, and fertility of dairy cows. *Journal of dairy science*, 84, 1468–1479. 10.3168/jds.S0022-0302(01)70180-4

Kenny, D. A., Fitzsimons, C., Waters, S. M., and Mcgee, M. (2018). Invited review: Improving feed efficiency of beef cattle the current state of the art and future challenges. *Animals*, 12, 1815–1826. doi: 10.1017/s1751731118000976.

Kern, F., Singleton, J. W. and Struthers, J. E. (1964). Fecal lactic acid in carbohydrate malabsorption. *Journal of laboratory and clinical medicine*. 64: 874.

Khaksar, V., Gohian, A., and Kermanshahi, H. (2012). Immune response and ileal microflora in broilers fed wheat-based diet with or without enzyme Endofeed W and supplementation of thyme essential oil or probiotic PrimaLac. *African journal of biotechnology*, 11, 14716-14723.

Khan, M. A., Weary, D. M., and von Keyserlingk, M. A. (2011). Invited review: effects of milk ration on solid feed intake, weaning, and performance in dairy heifers. *Journal of dairy science*, 94 1071–1081. 10.3168/jds.2010-3733

Kiani, A. (2013). Temporal changes in plasma concentration of leptin, IGF-1, insulin and metabolites under extended fasting and re-feeding conditions in growing lambs. *International journal of endocrinology and metabolism*, 11(1), 34.

- Kim, J. Y., Chung, K. S., Kwak, Y. S., Lee, B. K. (2009). Characteristics of B-cell-specific growth substance produced by *Bacillus licheniformis* E1. *Journal of microbiology biotechnology*, 19(1):55-64. doi.org/10.4014/jmb.0806.396.
- Kim, S. H., Mamuad, L. L., Choi, Y. J., Sung, H. G., Cho, K. K., and Lee, S. S. (2018). Effects of reductive acetogenic bacteria and lauric acid on in vivo ruminal fermentation, microbial populations, and methane mitigation in Hanwoo steers in South Korea. *Journal of animal science*, 96(10), 4360–4367. https://doi.org/10.1093/jas/sky266
- Kim, J. H., Hong, S. W., Park, B. Y., Yoo, J. G., and Oh, M. H. (2019). Characterisation of the bacterial community in the gastrointestinal tracts of elk (*Cervus canadensis*). *Antonie van leeuwenhoek*, 112, 225–235.
- Kober, A. H., Riaz Rajoka, M. S., Mehwish, H. M., Villena, J., and Kitazawa, H. (2022). Immunomodulation Potential of Probiotics: A Novel Strategy for Improving Livestock Health, Immunity, and Productivity. *Microorganisms*, 10(2), 388.
- Kogut, M. H., and Zhang, G. Gut Microbiota, Immunity, and Health in Production Animals. (2022). *Springer Cham*, doi.org/10.1007/978-3-030-90303-9
- Kong, R. S., Liang, G., Chen, Y., Stothard, P., and Guan, L. L. (2016). Transcriptome profiling of the rumen epithelium of beef cattle differing in residual feed intake. *BMC genomics*, 17(1), 1-16.
- Kotarski, S. F., Waniska, R. D., and Thurn, K. K. (1992). Starch hydrolysis by the ruminal microflora. *The Journal of nutrition*, 122(1), 178-190.
- Kothari, R., Nathani, N M., Mootapally, C., Rank, J. K., Gosai, H. B., Dave, B. P., and Joshi, C. G. (2018). Metagenomics: Perspectives, Methods and Applications (Chapter 11 – Comprehensive Exploration of the Rumen Microbial Ecosystem With Advancements in Metagenomics). Academic Press, London (UK)
- Kruskal, W. H., and Wallis, W. A. (1952). Use of ranks in one-criterion variance analysis. *Journal of the american statistical association*. 47, 583–621 and errata, *ibid.* 48, 907–911.
- Kullisaar, T., Zilmer, M., Mikelsaar, M., Vihalemm, T., Annuk, H., Kairane, C., and Kilk, A. (2002). Two antioxidative lactobacilli strains as promising probiotics. *International journal of food microbiology*, 72(3), 215-224.
- Kunishige, K., Koda, Y., and Hara, S. (2016). Effect of high moisture ear corn and high moisture shelled corn feeds on laying hen performance. *Journal of poultry science*, 3:284-290.
- Lähteenen, T., Lindholm, A., Rinttilä, T., Junnikkala, S., Kant, R., Pietilä, T. E., Levonen, K., Von Ossowski, I., Solano-Aguilar, G., and Jakava-Viljanen, M. (2014). Effect of *Lactobacillus brevis* ATCC 8287 as a feeding supplement on the performance and immune function of piglets. *Veterinary immunology and immunopathology*, 158, 14-25.
- Lam, S., Munro, J. C., Zhou, M., Guan, L. L., Schenkel, F. S., Steele, M. A., Piller, S. P., and Montanholi, Y. R. (2018). Associations of rumen parameters with feed efficiency and sampling routine in beef cattle. *Animals*, 12(7), 1442-1450.
- Langda, S., Zhang, C., Zhang, K., Gui, B., Ji, D., Deji, C., Cuoji, A., Wang, X., and Wu, Y. (2020). Diversity and composition of rumen bacteria, fungi, and protozoa in goats and sheep living in the same high-altitude pasture. *Animals*, 10:186. doi: 10.3390/ani10020186
- Latorre, J. D., Hernandez-Velasco, X., Bielke, L. R., Vicente, J. L., Wolfenden, R., Menconi, A., Hargis, B. M., and Tellez, G. (2015). Evaluation of a *Bacillus* direct-fed microbial candidate on digesta viscosity, bacterial translocation, microbiota composition and bone mineralisation in broiler chickens fed on a rye-based diet. *British poultry science*, 56(6), 723-732.



- Lazarevic, V., Whiteson, K., Huse, S., Hernandez, D., Farinelli, L., Osterås, M., Schrenzel, J., and Francois, P. (2009). Metagenomic study of the oral microbiota by Illumina high-throughput sequencing. *Journal of microbiological methods*, 79, 266–271
- Leser, T. D., Knarreborg, A., and Worm, J., (2008). Germination and outgrowth of *Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis* spores in the gastrointestinal tract of pigs. *Journal of applied microbiology*, 104, 1025–1033.
- Lee, J., Park, I., Choi, Y., and Cho, J. (2012). *Bacillus* strains as feed additives: In vitro evaluation of its potential probiotic properties. *Revista colombiana de ciencias pecuarias*, 25(4), 577-585.
- LeRoith, D., and Yakar, S. (2007). Mechanisms of disease: metabolic effects of growth hormone and insulin-like growth factor 1. *Nature clinical practice endocrinology & metabolism*, 3(3), 302-310.
- Lessard, M., Dupuis, M., Gagnon, N., Nadeau, E., Matte, J., Goulet, J., and Fairbrother, J. (2008). Administration of *Pediococcus Acidilactici* or *Saccharomyces Cerevisiae* *Bouardii* modulates development of porcine mucosal immunity and reduces intestinal bacterial translocation after *Escherichia Coli* challenge. *Journal of animal science*, 87, 922–934
- Lettat, A., Nozière, P., Silberberg, M., Morgavi, D. P., Berger, C., and Martin, C. (2012). Rumen microbial and fermentation characteristics are affected differently by bacterial probiotic supplementation during induced lactic and subacute acidosis in sheep. *BMC Microbiology*, 12, 142.
- Ley, R. E., Hamady, M., Lozupone, C., Turnbaugh, P. J., Ramey, R. R., Bircher, J. S., Schlegel, M. L., Tucker, T. T., Schrenzel, M. D., Knight, R., and Gordon, J. I. (2008). Evolution of mammals and their gut microbes. *Science*, 320(5883), 1647-1651.
- Li, X., Yin, J., Li, D., Chen, X. J., Zang, J. J., and Zhou, X. (2006). Dietary supplementation with zinc oxide increases igf-I and igf-I receptor gene expression in the small intestine of weanling piglets. *Journal of nutrition*, 136: 1786-1791.
- Li, R. W., Connor, E. E., Li, C., Baldwin, Vi, R. L., and Sparks, M. E. (2012). Characterization of the rumen microbiota of pre-ruminant calves using metagenomic tools. *Environmental microbiology*, 14(1), 129-139.
- Li, F., and Guan, L. L. (2017). Metatranscriptomic profiling reveals linkages between the active rumen microbiome and feed efficiency in beef cattle. *Applied and environmental microbiology*, 83(9), e00061-17.
- Li, N., Wang, Q., Wang, Y., Sun, A., Lin, Y., Jin, Y., and Li X. (2018a). Oral probiotics ameliorate the behavioral deficits induced by chronic mild stress in mice via the gut microbiota-inflammation axis. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 12:266.
- Li, H., Qu, J., Li, T. Wirth, S., Zhang, Y., Zhao, X., and Li, X. (2018b). Diet simplification selects for high gut microbial diversity and strong fermenting ability in high-altitude pikas. *Applied microbiology biotechnology*, 102, 6739–6751. doi.org/10.1007/s00253-018-9097-z
- Li, F., Li, C., Chen, Y., Liu, J., Zhang, C., Irving, B., Fitzsimmons, C., Plastow, G., and Guan, L. L. (2019a). Host genetics influence the rumen microbiota and heritable rumen microbial features associate with feed efficiency in cattle. *Microbiome*, 7(1), 1-17.
- Li, A., Wang, Y., Li, Z., Qamar, H., Mehmood, K., Zhang, L., Liu, J., Zhang, H., and Li, J. (2019b) Probiotics isolated from yaks improves the growth performance, antioxidant activity, and cytokines related to immunity and inflammation in mice. *Microbial cell factories*, 18, 112. doi.org/10.1186/s12934-019-1161-6
- Li, Y., Guo, Y., Zhang, C., Cai, X., Liu, P., and Li, C. (2020a). Effects of Starter Feeds of Different Physical Forms on Rumen Fermentation and Microbial Composition for Pre-weaning and Post-weaning Lambs. *BioRxiv*, doi org/10.1101/2020.08.03.235580

- Li, H., Yu, Q., Li, T., Shao, L., Su, M., Zhou, H., and Qu, J. (2020b). Rumen Microbiome and Metabolome of Tibetan Sheep (*Ovis aries*) Reflect Animal Age and Nutritional Requirement. *Frontiers in veterinary science*, 7:609. doi: 10.3389/fvets.2020.00609
- Li, B., Sun, X., Huo, Q., Zhang, G., Wu, T., You, P., He, Y., Tian, W., Li, R., Li, C., Li, J., Wang, C., and Song, B. (2021). Pelleting of a total mixed ration affects growth performance of fattening lambs. *Frontiers in veterinary science*, 8, 629016.
- Li, S., Du, M., Zhang, C., Wang, Y., Lee, Y., and Zhang, G. (2022). Diet Type Impacts Production Performance of Fattening Lambs by Manipulating the Ruminal Microbiota and Metabolome. *Frontiers in microbiology*, 13:824001.
- Liu, J. H., Bian, G. R., Zhu, W. Y., and Mao, S. Y. (2015). High-grain feeding causes strong shifts in ruminal epithelial bacterial community and expression of Toll-like receptor genes in goats. *Frontiers in microbiology*, 6, 167.
- Lopes, J. C., Shaver, R. D., Hoffman, P. C., Akins, M. S., Bertics, S. J., Gencoglu, H., and Coors, J. G. (2009). Type of corn endosperm influences nutrient digestibility in lactating dairy cows. *Journal of dairy science*, 92(9), 4541-4548.
- Lopes, L. D., de Souza Lima, A. O., Taketani, R. G. Darias, P., Silva, L. R., Romagnoli, E. M. Louvandini, H., Abdalla, A. L., and Mendes, R. (2015). Exploring the sheep rumen microbiome for carbohydrate-active enzymes. *Antonie van leeuwenhoek*, 108, 15–30. <https://doi.org/10.1007/s10482-015-0459-6>
- Lopes, D. R. G., de Souza Duarte, M., La Reau, A. J., Chaves, I. Z., de Oliveira Mendes, T. A., Detmann, E., Bento, C. B. P., Mercadante, M. E. Z., Bobilha, S. F. M., Suan, G., and Mantovani, H. C. (2021). Assessing the relationship between the rumen microbiota and feed efficiency in Nellore steers. *Journal of animal science and biotechnology*, 12(1), 1-17.
- Love, M.I., Huber, W., and Anders, S. (2014). Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. *Genome biology*, 15, 550). <https://doi.org/10.1186/s13059-014-0550-8>
- Lozupone, C., and Knight, R. (2005). UniFrac: a new phylogenetic method for comparing microbial communities. *Applied and environmental microbiology*, 71(12): 8228-8235.
- Lozupone, C., Lladser, M. E., Knights, D., Stombaugh, J., and Knight, R. (2011). UniFrac: An effective distance metric for microbial community comparison. *The ISME journal*, 5:169–172. <https://doi.org/10.1038/ismej.2010.133>.
- Lu, D., Miller, S., Sargolzaei, M., Kelly, M., Vander Voort, G., Caldwell, T., Wang, Z., Plastow G., and Moore, S. (2013). Genome-wide association analyses for growth and feed efficiency traits in beef cattle. *Journal of animal science*, 91:3612–3633. doi:10.2527/jas.2012-5716.
- Lupu, F., Terwilliger, J. D., Lee, K., Segre, V., and Efstratiadis, A. (2001). Roles of growth hormone and insulin-like growth factor 1 in mouse postnatal growth. *Developmental biology*, 229(1), 141-162.
- Ma, C., Sun, Z., Zeng, B., Huang, S., Zhao, J., Zhang, Y., Su, X., Xu, J., Wei, H., and Zhang, H. (2018). Cow-to-mouse fecal transplantations suggest intestinal microbiome as one cause of mastitis. *Microbiome*, 6(1), 1-17.
- Macfarlane, T., Steed, H., and Macfarlane, S. (2008). Bacterial metabolism and health-related effects of galacto-oligosaccharides and other prebiotics. *Journal of applied microbiology*, 104:305-344.
- Mackie, R. I., and Gilchrist, F. M. (1979). Changes in lactate-producing and lactate-utilizing bacteria in relation to pH in the rumen of sheep during stepwise adaptation to a high-concentrate diet. *Applied and environmental microbiology*, 38(3), 422-430.
- Mackie, R. I. (2002). Mutualistic fermentative digestion in the gastrointestinal tract: diversity and evolution. *Integrative and comparative biology*, 42:319–26. doi: 10.1093/icb/42.2.319

- Magomedaliev, I. M., Nekrasov, R. V., Chabaev, M. G., Dzhavakhiya, V. V., Glagoleva, E. V., Kartashov, M. I., Durnikin, D. A., and Matsyura, A. V. (2019). Use of different concentrations of Enzymesporin probiotic in feeding of growing young pigs. *Ukrainian journal of ecology*, 9(4):704–8. doi.org/10.15421/2019\_813
- Malmuthuge, N., Griebel, P. J., and Guan, L. L. (2014). Taxonomic identification of commensal bacteria associated with the mucosa and digesta throughout the gastrointestinal tracts of preweaned calves. *Applied and environmental microbiology*, 80(6), 2021-2028.
- Malmuthuge, N., Griebel, P. J., and Guan, L. L. (2015). The gut microbiome and its potential role in the development and function of newborn calf gastrointestinal tract. *Frontiers in veterinary science*, 2, 36.
- Malmuthuge, N., and Guan, L. L. (2017). Understanding host-microbial interactions in rumen: searching the best opportunity for microbiota manipulation. *Journal of animal science and biotechnology*, 8(1), 1-7.
- Malmuthuge, N., Liang, G., Griebel, P. J., and Guan, L. L. (2019). Taxonomic and functional compositions of the small intestinal microbiome in neonatal calves provide a framework for understanding early life gut health. *Applied and environmental microbiology*, 85(6), e02534-18.
- Mamuad, L. L., Kim, S. H., Biswas, A. A., Yu, Z., Cho, K. K., Kim, S. B., Lee, K., and Lee, S. S. (2019). Rumen fermentation and microbial community composition influenced by live *Enterococcus faecium* supplementation. *Amb Express*, 9(1), 1-12.
- Mani, S., Aiyegoro, O. A., and Adeleke, M. A. (2021). Characterization of Rumen Microbiota of Two Sheep Breeds Supplemented With Direct-Fed Lactic Acid Bacteria. *Frontiers veterinary science*, 7:570074. doi: 10.3389/fvets.2020.570074.
- Manns, J. G., and Boda, J. M. (1967). Insulin release by acetate, propionate, butyrate, and glucose in lambs and adult sheep. *American journal of physiology-legacy content*, 212(4), 747-755.
- Mao, S., Zhang, M., Liu, J., and Zhu, W. (2015). Characterising the bacterial microbiota across the gastrointestinal tracts of dairy cattle: membership and potential function. *Scientific reports*, 5(1), 1-14.
- Mao, S. Y., Huo, W.J., and Zhu, W. Y. (2016). Microbiome-metabolome analysis reveals unhealthy alterations in the composition and metabolism of ruminal microbiota with increasing dietary grain in a goat model. *Environmental microbiology*, 18, 525–541.
- Marden, J., Julien, C., Monteils, V., Auclair, E., Moncoulon, R., and Bayourthe, C. (2008). How does live yeast differ from sodium bicarbonate to stabilize ruminal pH in high-yielding dairy cows? *Journal of dairy science*, 91, 3528-3535
- Marshall, A., Cowan, S., Edwards, S., Griffiths, I., Howarth, C., Langdon, T., and White, E. (2013). Crops that feed the world 9. Oats—a cereal crop for human and livestock feed with industrial applications. *Food security*, 5(1), 13-33.
- Marshall, A., Cowan, S., Edwards, S., Griffiths, I., Howarth, C., Langdon, T., and White, E. (2013). Crops that feed the world 9. Oats—a cereal crop for human and livestock feed with industrial applications. *Food security*, 5:13–33. doi.org/10.1007/s12571-012-0232-x
- Martin, C., Morgavi, D. P., and Doreau, M. (2010). Methane mitigation in ruminants: from microbe to the farm scale. *Animals*, 4(3), 351-365.
- McAllister, T. A., Phillippe, R. C., Rode, L. M., and Cheng, K. J. (1993). Effect of the protein matrix on the digestion of cereal grains by ruminal microorganisms. *Journal of animal science*, 71:205--212.
- McAllister, T. A., Bae, H. D., Jones, G. A., and Cheng, K. J. (1994). Microbial attachment and feed digestion in the rumen. *Journal of animal science*, 72(11), 3004-3018.

- McCann, J. C., Luan, S., Cardoso, F. C., Derakhshani, H., Khafipour, E., and Loor, J. J. (2016). Induction of subacute ruminal acidosis affects the ruminal microbiome and epithelium. *Frontiers in microbiology*, 7, e701.
- McDonald, P., Edwards, R. A., Greenhalgh, J. F. D., Morgan, C. A., Sinclair, L. A., and Wilkinson, R. G. (2011). *Animal nutrition*. 7th edition. New York.
- McMurdie, P. J., and Holmes, S. (2013). phyloseq: An R Package for Reproducible Interactive Analysis and Graphics of Microbiome Census Data. *PLoS ONE* 8(4): e61217. doi.org/10.1371/journal.pone.0061217.
- Meale, S. J., Li, S., Azevedo, P., Derakhshani, H., Plaizier, J. C., Khafipour, E., and Steele, M. A. (2016). Development of ruminal and fecal microbiomes are affected by weaning but not weaning strategy in dairy calves. *Frontiers in microbiology*, 7, 582.
- Medrano, J. F., and Bradford, G.E. (1991). Growth performance and plasma insulin like growth factor I concentration in sheep selected for high weaning weight. *Journal of animal science*, 69, 1991-1918.
- Meyer, W., Schoennagel, B., Kacza, J., Busche, R., Hornickel, I. N., Hewicker-Trautwein, M., and Schnapper, A. (2014). Keratinization of the esophageal epithelium of domesticated mammals. *Acta Histochemica*, 116(1), 235-242.
- Miller, J. K., Brzezinska-Slebozinska, E., and Madsen, F. C. (1993). Oxidative stress, antioxidants, and animal function. *Journal of dairy science*, 76(9), 2812-2823.
- Mingmongkolchai, S., and Panbangred, W. (2018). Bacillus probiotics: an alternative to antibiotics for livestock production. *Journal of applied microbiology*, 124(6), 1334-1346.
- Mirzaei, M., Khorvash, M., Ghorbani, G. R., Kazemi-Bonchenari, M., Riasi, A., Nabipour, A., Borne, J. J. G. C. (2015). Effects of supplementation level and particle size of alfalfa hay on growth characteristics and rumen development in dairy calves. *Journal of animal physiology animal nutrition*, 99: 553-564.
- Mizrahi, I., Wallace, R. J., and Morais, S. (2021). The rumen microbiome: balancing food security and environmental impacts. *Nature reviews microbiology*, 19(9), 553-566.
- Moir, A. (2006). How do spores germinate? *Journal of applied microbiology*, 101(3), 526-530.
- Montelli, N. L. L. L., Alvarenga, T. I. R. C., Almeida, A. K., Alvarenga, F. A. P., Furusho-Garcia, I. F., Greenwood, P. L., and Pereira, I. G. (2021). Associations of feed efficiency with circulating IGF-1 and leptin, carcass traits and meat quality of lambs. *Meat science*, 173, 108379.
- Mookiah, S., Seo, C. C., Ramasamy, K., Abdullah, N., and Ho, Y. W. (2014). Effects of dietary prebiotics, probiotic and synbiotics on performance, caecal bacterial populations and caecal fermentation concentrations of broiler chickens. *Journal of the science of food and agriculture*, 94, 341-348.
- Moore, K. L., Johnston, D. J., Graser, H. U., and Herd, R. (2005). Genetic and phenotype relationships between insulin-like growth factor-I (IGF-I) and the net feed intake, fat and growth traits in Angus beef cattle. *Australian journal of research*, 56, 211-218. doi.org/10.1071/AR04248
- Morgavi, D. P., Kelly, W. J., Janssen, P. H., and Attwood, G. T. (2013). Rumen microbial (meta) genomics and its application to ruminant production. *Animals*, 7(s1), 184-201.
- Morris, E. K., Caruso, T., Buscot, F., Fischer, M., Hancock, C., Maier, T. S., Meiners, T., Müller, C., Obermaier, E., Prati, D., Socher, S. A., Sonnemann, I., Wäschke, N., Wubet, T., Wurst, S., and Rillig, M. C. (2014). Choosing and using diversity indices: Insights for ecological applications from the German Biodiversity Exploratories. *Ecology and evolution*, 4:3514–3524. doi.org/10.1002/ece3.1155

- Mountzouris, K. C., Balaskas, C., Xanthakos, I., Tzivinikou, A., and Fegeros, K. (2009). Effects of a multi-species probiotic on biomarkers of competitive exclusion efficacy in broilers challenged with *Salmonella enteritidis*. *British poultry science*, *50*, 467–478.
- Mousa, S., Elsayed, A., Marghani, B., and Ateya, A. (2019). Effects of supplementation of *Bacillus* spp. on blood metabolites, antioxidant status, and gene expression pattern of selective cytokines in growing Barki lambs. *Journal of advanced veterinary and animal research*, *6*(3), 333–340. doi.org/10.5455/javar.2019.f351
- Murray, R. M., Bryant, A. M., and Leng, R. A. (1976). Rates of production of methane in the rumen and large intestine of sheep. *British journal of nutrition*, *36*(1), 1-14.
- Musa, H. H., Wu, S. L., Zhu, C. H., Seri, H. I., and Zhu, G. Q. (2009). The potential benefits of probiotics in animal production and health. *Journal of animal veterinary advance*, *8*(2), 313-321.
- Myer, P. R., Smith, P. L., Wells, J. E., Kuehn, L. A. and Freetly, H. C. (2015) Rumen microbiome from steers differing in feed efficiency. *PLoS ONE*, *10*, e0129174.
- Nagaraja, T. G., Newbold, C. J., Van Nevel, C. J., and Demeyer, D. I. (1997). Manipulation of ruminal fermentation, In: Hobson PJ, Stewart CS, editors. *The rumen microbial ecosystem*, (p. 523-632), 2nd ed. London: Blackie Acad Profess.
- National Research Council. (2001). Nutrient requirements of dairy cattle: 2001. NRC, National Academies Press, USA.
- National Research Council. (2007). Nutrient requirements of small ruminants: sheep, goats, cervids, and new world camelids. NRC, National Academy Press: Washington, DC, USA.
- Na, S. W., and Guan, L. L. (2022). Understanding the role of rumen epithelial host-microbial interactions in cattle feed efficiency. *Animal Nutrition*, *10*:41-53. doi:10.1016/j.aninu.2022.04.002
- Newbold, C. J., De la Fuente, G., Belanche, A., Ramos-Morales, E., and McEwan, N. R. (2015). The role of ciliate protozoa in the rumen. *Frontiers in microbiology*, 1313.
- Ngonyamo-Majee, D., Shaver, R. D., Coors, J. G., Sapienza, D., and Lauer, J. G. (2009). Influence of single-gene mutations, harvest maturity and sample processing on ruminal in situ and post-ruminal in vitro dry matter and starch degradability of corn grain by ruminants. *Animal feed science and technology*, *151*(3-4), 240-250.
- Nicholson, W. L., Munakata, N., Horneck, G., Melosh, H. J., and Setlow, P. (2000). Resistance of *Bacillus* endospores to extreme terrestrial and extraterrestrial environments. *Microbiology and molecular biology reviews*, *64*(3), 548-572.
- Nocek, J. E., Heald, C. W., and Polan, C. E. (1984). Influence of ration physical form and nitrogen availability on ruminal morphology of growing bull calves. *Journal of dairy science*, *67* (2), 334-343.
- Nocek, J. E., Kautz, W. P., Leedle, J. A. Z., and Allman, J. G. (2002). Ruminal supplementation of direct-fed microbials on diurnal pH variation and in situ digestion in dairy cattle. *Journal of dairy science*, *85*:429–33. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(02)74091-5
- Ogimoto, K., and Imai, S. (1981). Atlas of rumen microbiology. Japan Scientific Societies Press.
- Oh, B. T., Jeong, S. Y., Velmurugan, P., Park, J. H., and Jeong, D. Y. (2017). Probiotic-mediated blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) fruit fermentation to yield functionalized products for augmented antibacterial and antioxidant activity. *Journal of bioscience and bioengineering*, *124*, 542-550.
- O'hara, E., Kenny, D. A., McGovern, E., Byrne, C. J., McCabe, M. S., Guan, L. L., and Waters, S. M. (2020). Investigating temporal microbial dynamics in the rumen of beef calves raised on two farms during early life. *FEMS Microbiology Ecology*, *96*(2), doi:10.1093/femsec/fiz203.

- O'hara, E. (2019). Investigating early life microbial and host transcriptomic dynamics in the bovine gastrointestinal tract (Doctoral dissertation, Department of Agriculture, Food, and Nutritional Science-University of Alberta).
- Oksbjerg, N., Gondret, F., and Vestergaard, M., (2004). Basic principle of muscle development and growth in meat-producing mammals as affected by the insulin-like growth factor (IGF) system. *Domestic animal endocrinology*, 27, 219–240.
- Oldham, J. M., Martyn, J. A., Hua, K. M., MacDonald, N. A., Hodgkinson, S. C., and Bass, J. J. (1999). Nutritional regulation of IGF-II, but not IGF-I, is age dependent in sheep. *Journal of endocrinology*, 163, 395-402.
- Owens, F. N., Secrist, D. S., Hill, W. J., and Gill, D. R. (1997). The effect of grain source and grain processing on performance of feedlot cattle: a review. *Journal of animal science*, 75:868--879.
- Owens, F. N., Secrist, D. S., Hill, W. J., and Gill, D. R. (1998). Acidosis in cattle: a review. *Journal of animal science*, 76(1), 275-286.
- Owens, F. N., and Soderlund, S. (2007). Ruminant and postruminal starch digestion by cattle. In: Pioneer Hi-Bred, a DuPont business conference, Johnston.
- Owens, F. N., and Basalan, M. (2016). Ruminant fermentation, in *Rumenology*, eds D. D. Millen, M. D. B. Arrigoni, and R. D. L. Pacheco (Cham: Springer International Publishing).
- Ouattara, H. G., Reverchon, S., Niamke, S. L., and Nasser, W. (2017). Regulation of the synthesis of pulp degrading enzymes in *Bacillus* isolated from cocoa fermentation. *Food microbiology*, 63,255-62.
- Parassol, N., Freitas, M., Thoreux, K., Dalmaso, G., Bourdet-Sicard R., and Rampal, R. (2005). *Lactobacillus casei* DN-114 001 inhibits the increase in paracellular permeability of enteropathogenic *Escherichia coli*-infected T84 cells. *Research in microbiology*, 156:256-262.
- Paul, K., Nonoh, J. O., Mikulski, L., and Brune, A. (2012). “Methanoplasmatales,” Thermoplasmatales-related archaea in termite guts and other environments, are the seventh order of methanogens. *Applied and environmental microbiology*, 78(23), 8245-8253.
- Paz, H. A., Anderson, C. L., Muller, M. J., Kononoff, P. J., and Fernando, S. C. (2016). Rumen bacterial community composition in Holstein and Jersey cows is different under same dietary condition and is not affected by sampling method. *Frontiers in microbiology*, 7, 1206.
- Paz, H. A., Hales, K. E., Wells, J. E., Kuehn, L. A., Freetly, H. C., Berry, E. D., Flythe, M. D., Spangler, M. L., and Fernando, S. C. (2018). Rumen bacterial community structure impacts feed efficiency in beef cattle. *Journal of animal science*, 96(3), 1045–1058. doi.org/10.1093/jas/skx081.
- Pedroso, A. A., Hurley-Bacon, A. L., Zedek, A. S., and Lee, M. D. (2013). Can probiotics improve the environmental microbiome and resistome of commercial poultry production? *International journal of environmental research and public health*, 10, 4534-4559.
- Peng, S., Yin, J., Liu, X., Jia, B., Chang, Z., Lu, H., Jiang, N., and Chan, Q. (2015). First insights into the microbial diversity in the omasum and reticulum of bovine using Illumina sequencing. *Journal of applied genetics*, 56:393–401. doi: 10.1007/s13353-014-0258-1
- Petri, R. M., Schwaiger, T., Penner, G. B., Beauchemin, K. A., Forster, R. J., McKinnon, J. J., and McAllister, T. A. (2013). Changes in the rumen epimural bacterial diversity of beef cattle as affected by diet and induced ruminal acidosis. *Applied and environmental microbiology*, 79, 3744–3755. doi: 10.1128/AEM.03983-12
- Phesatcha, K., Phesatcha, B., Wanapat, M., and Cherdthong, A. (2021). The Effect of Yeast and Roughage Concentrate Ratio on Ruminant pH and Protozoal Population in Thai Native Beef Cattle. *Animals*, 12(1), 53. <https://doi.org/10.3390/ani12010053>

- Pickard, J. M., Zeng, M. Y., Caruso, R. and Núñez, G. (2017). Gut microbiota: Role in pathogen colonization, immune responses, and inflammatory disease. *Immunology review*, 279, 70–89.
- Pinloche, E., McEwan, N., Marden, J. P., Bayourthe, C., Auclair, E., and Newbold, C. J. (2013). The effects of a probiotic yeast on the bacterial diversity and population structure in the rumen of cattle. *PLoS one*, 8(7), e67824.
- Pitta, D. W., Indugu, N., Vecchiarelli, B., Rico, D. E., and Harvatine, K. J. (2018). Alterations in ruminal bacterial populations at induction and recovery from diet-induced milk fat depression in dairy cows. *Journal of dairy science*, 101(1), 295-309.
- Plaizier, J., Krause, D., Gozho, G., and McBride, B. (2008). Subacute ruminal acidosis in dairy cows: The physiological causes, incidence and consequences. *The veterinary journal*, 176, 21-31.
- Plaizier, J. C., Li, S., Danscher, A. M., Derakshani, H., Andersen, P. H., and Khafipour, E., (2017a). Changes in Microbiota in Rumen Digesta and Feces Due to a Grain-Based Subacute Ruminal Acidosis (SARA) Challenge. *Microbial ecology*, 74:485–495.
- Plaizier, J. C., Li S., Tun, H. M., and Khafipour, E. (2017b). Nutritional models of experimentally-induced subacute ruminal acidosis (SARA) differ in their impact on rumen and hindgut bacterial communities in dairy cows. *Frontiers in microbiology*, 7:2128. 10.3389/fmicb.2016.02128
- Plavnik, I., and Scott, M. L. (1980). Effects of additional vitamins, minerals or brewers yeast upon leg weaknesses in broiler chickens. *Poultry science*, 59: 459-464.
- Pringsulaka, O., Rueangyotchanthana, K., Suwannasai, N., Watanapokasin, R., Amnueysit, P., Sunthornthummas, S., Sukkhum, S., Sarawaneyaruk, S., and Rangsiruji, A. (2015). In vitro screening of lactic acid bacteria for multi-strain probiotics. *Livestock science*, 174, 66–73.
- Qiao, G. H., Shan, A. S., Ma, N., Ma, Q. Q., and Sun, Z. W. (2010). Effect of supplemental *Bacillus* cultures on rumen fermentation and milk yield in Chinese Holstein cows. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 94(4), 429–436. doi:10.1111/j.1439-0396.2009.00926.x
- Quast, C., Pruesse, E., Yilmaz, P., Gerken, J., Schweer, T., Yarza, P., Peplies J., and Glockner, F. O. (2013). The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. *Nucleic acids research*, 41(Database issue): D590-596.
- R Core Team (2021). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, <https://www.R-project.org/>
- Rabelo, E., Bertics, S. J., Mackovic, J., and Grummer, R. R. (2001). Strategies for increasing energy density of dry cow diets. *Journal of dairy science*, 84, 2240–2249
- Reis, W. D., Jobim, C. C., Macedo, F. D. A. F., Martins, E. N., Cecato, U., and Silveira, A. D. (2001). Desempenho de cordeiros terminados em confinamento, consumindo silagens de milho de grãos com alta umidade ou grãos de milho hidratados em substituição aos grãos de milho seco da dieta. *Revista brasileira de zootecnia*, 30, 596-603.
- Rey, M., Enjalbert, F., Combes, S., Cauquil, L., Bouchez, O., and Monteils, V. (2014). Establishment of ruminal bacterial community in dairy calves from birth to weaning is sequential. *Journal of applied microbiology*, 116:245–57. doi: 10.1111/jam.12405
- Reyneveld, G. I., Savelkoul, H., and Parmentier, H. K. (2020). Current Understanding of Natural Antibodies and Exploring the Possibilities of Modulation Using Veterinary Models. A Review. *Frontiers in immunology*, 11, 2139. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.02139>
- Ridaura, V. K., Faith, J. J., Rey, F. E., Cheng, J., Duncan, A. E., Kau, A. L., Griffin, N. W., Lombard, V., Henrissat, B., Bain, J. R., Muehlbauer, M. J., Ilkayeva, O., Semenkovich, C. F., Funai, K., Hayashi, D. K., Lyle, B. J., Martini, M. C., Ursell, L. K., Clemente, J. C., and Gordon, J. I. (2013).

- Gut microbiota from twins discordant for obesity modulate metabolism in mice. *Science*, 341(6150), 1241214.
- Riedl, M. A., Saxon, A., and Diaz-Sanchez, D. (2009). Oral sulforaphane increases Phase II antioxidant enzymes in the human upper airway. *Clinical immunology*, 130(3), 244-251.
- Riva, J., Rizzi, R., Marelli, S., and Cavalchini, L. G. (2004). Body measurements in Bergamasca sheep. *Small ruminant research*, 55(1-3), 221-227.
- Round, J. L., and Mazmanian, S. K. (2009). The gut microbiota shapes intestinal immune responses during health and disease. *Nature reviews. Immunology*, 9(5), 313–323. doi:org/10.1038/nri2515.
- Russell, J. B. (2002) *Rumen Microbiology and its Role in Ruminant Nutrition*. Ithaca, NY: Cornell University.
- Sadet-Bourgeteau, S., Martin, C., and Morgavi, D. P. (2010). Bacterial diversity dynamics in rumen epithelium of wethers fed forage and mixed concentrate forage diets. *Veterinary microbiology*, 146, 98–104. doi: 10.1016/j.vetmic.2010.04.029
- Samli, H. E., Senkoylu, N., Koc, F., Kanter, M., and Agma, A. (2007). Effects of *Enterococcus faecium* and dried whey on broiler performance, gut histomorphology and intestinal microbiota. *Archives of animal nutrition*, 61(1), 42-49.
- Sasaki, S. (2002). Mechanism of insulin action of glucose metabolism in ruminants. *Animal science journal*, 73, 423–433.
- Scheppach, W. (1994) Effects of short chain fatty acids on gut morphology and function. *Gut*, 35(1, Suppl):S35–S38.
- Schloss, P. D. (2021). Amplicon Sequence Variants Artificially Split Bacterial Genomes into Separate Clusters, *ASM Journals*, 6 (4), doi:org/10.1128/mSphere.00191-21
- Schogor, A. L. B., Palin, M. F., dos Santos, G. T., Benchaar, C., Lacasse, P., and Petit, H. V. (2013). Mammary gene expression and activity of antioxidant enzymes and oxidative indicators in the blood, milk, mammary tissue and ruminal fluid of dairy cows fed flax meal. *British journal of nutrition*, 110(10), 1743-1750.
- Segata, N., Izard, J., Waldron, L., Gevers, D., Miropolsky, L., Garrett, W. S., and Huttenhower, C. (2011). Metagenomic biomarker discovery and explanation. *Genome biology*, 12, R60. doi:10.1186/gb-2011-12-6-r60
- Seshadri, R., Leahy, S. C., Attwood, G. T., Teh, K. H., Lambie, S. C., Cookson, A. L., Eloie-Fadrosh, E. A., Pavlopoulos, G. A., Hadjithomas, M., Varghese, N. J., Paez-Espino, D., Hungate1000 project collaborators; Perry, R., Henderson, G., Creevey, C. J., Terrapon, N., Lapebie, P., Drula, E., Lombard, V., Rubin, E., and Kelly, W. J. (2018). Cultivation and sequencing of rumen microbiome members from the Hungate1000 Collection. *Nature biotechnology*, 36(4), 359-367.
- Shim, Y., Ingale, S., Kim, J., Kim, K., Seo, D., Lee, S., Chae, B., and Kwon, I. (2012). A multi-microbe probiotic formulation processed at low and high drying temperatures: effects on growth performance, nutrient retention and caecal microbiology of broilers. *British poultry science*, 53, 482-490.
- Shimamura, S., Abe, F., Ishibashi, N., Miyakawa, H., Yaeshima, T., Araya, T., and Tomita, M. (1992). Relationship between oxygen sensitivity and oxygen metabolism of *Bifidobacterium* species. *Journal of dairy science*, 75(12), 3296-3306.
- Shimazu, T., Villena, J., Tohno, M., Fujie, H., Hosoya, S., Shimosato, T., Aso, H., Suda, Y., Kawai, Y., Saito, T., Makino, S., Ikegami, S., Itoh, H., and Kitazawa, H. (2012). Immunobiotic *Lactobacillus jensenii* elicits anti-inflammatory activity in porcine intestinal epithelial cells by modulating negative regulators of the Toll-like receptor signaling pathway. *Infection and immunity*, 80, 276–288.



- Shukla, R., and Cheryan, M. (2001). Zein: the industrial protein from corn. *Industrial crops and products*, 13(3), 171-192.
- Signorini, M. L., Soto, L. P., Zbrun, M. V., Sequeira, G. J., Rosmini, M. R., and Frizzo, L. S. (2012). Impact of probiotic administration on the health and fecal microbiota of young calves: a meta-analysis of randomized controlled trials of lactic acid bacteria. *Research in veterinary science*, 93(1), 250-258.
- Singh, K. M., Bagath, M., Chikara, S. K., Joshi, C. G., and Kothari, R.K. (2015) Metagenomic approaches in understanding the rumen function and establishing the rumen microbial diversity. In: Sejian V, Gaughan J, Baumgard L, Prasad C, editors. *Climate Change Impact on Livestock: Adaptation and Mitigation*. New Delhi: Springer, 221–37. doi: 10.1007/978-81-322-2265-1\_14.
- Snelling, W. M., Allan, M. F., Keele, J. W., Kuehn, L. A., Thallman, R. M., Bennett, G. L., Ferrell, C. L., Jenkins, T. G., Freetly, H. C., Nielsen, M. K., and Rolfe, K. M. (2011). Partial-genome evaluation of postweaning feed intake and efficiency of crossbred beef cattle. *Journal of animal science*, 89:1731–1741. doi:10.2527/jas.2010-3526.
- Souza, V. L., Lopes, N. M., Zacaroni, O. F., Silveira, V. A., Pereira, R. A. N., Freitas, J. A., Almeida, D., Salvati, G. G. S., and Pereira, M. N. (2017). Lactation performance and diet digestibility of dairy cows in response to the supplementation of *Bacillus subtilis* spores. *Livestock science*, 200, 35-39.
- Spinosa, M. R., Braccini, T., Ricca, E., De Felice, M., Morelli, L., Pozzi, G., and Oggioni, M. R. (2000). On the fate of ingested *Bacillus* spores. *Research microbiology*, 151:361-368.
- Su, X. L., Tian, Q., Zhang, J., Yuan, X. Z., Shi, X. S., Guo, R. B., and Qiu, Y.L. (2014). *Acetobacteroides hydrogenigenes* gen. nov., sp. nov., an anaerobic hydrogen-producing bacterium in the family Rikenellaceae isolated from a reed swamp. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 64, 2986–2991.
- Suarez-Mena, F. X., Heinrichs, A. J., Jones, C. M., Hill, T. M., and Quigley, J. D. (2015). Digestive development in neonatal dairy calves with either whole or ground oats in the calf starter 1. *Journal of dairy science*, 98: 3417-3431.
- Suda, Y., Sasaki, N., Kagawa, K., Elean, M., Zhou, B., Tomokiyo, M., Islam, M. A., Rajoka, M. S. R., Kober, A. K. M. H., Shimazu, T., Egusa, S., Terashima, Y., Aso, H., Ikeda-Ohtsubo, W., Villena, J., and Kitazawa, H. (2021). Immunobiotic Feed Developed with *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Delbrueckii* TUA4408L and the Soymilk By-Product Okara Improves Health and Growth Performance in Pigs. *Microorganisms*, 9, 921.
- Sun, Y. Z., Mao, S. Y., and Zhu, W. Y. (2010). Rumen chemical and bacterial changes during stepwise adaptation to a high-concentrate diet in goats. *Animals*, 4(2):210–217
- Sun, K., Liu, H., Fan, H., Liu, T., and Zheng, C. (2021). Research progress on the application of feed additives in ruminal methane emission reduction: a review. *PeerJ*, 9, e11151.
- Steele, M. A., Garcia, F., Lowerison, M., Gordon, K., Metcalf, J. A., and Hurtig, M. (2014). Technical note: Three-dimensional imaging of rumen tissue for morphometric analysis using micro-computed tomography. *Journal of dairy science*, 97 7691–7696. doi:10.3168/jds.2014-8374
- Steele, M. A., Penner, G. B., Chaucheyras-Durand, F., and Guan L. L. (2016). Development and physiology of the rumen and the lower gut: Targets for improving gut health. *Journal of dairy science*, 99 4955–4966. doi:10.3168/jds.2015-10351
- Stevenson, D. M., and Weimer, P. J. (2007). Dominance of *Prevotella* and low abundance of classical ruminal bacterial species in the bovine rumen revealed by relative quantification real-time PCR. *Applied microbiol and biotechnology*, 75, 165–174.

- Stick, D. A., Davis, M. E., Loerch, S. C., and Simmen, R. C. M. (1998). Relationship between blood serum insulin-like growth factor I concentration and postweaning feed efficiency of crossbred cattle at three levels of dietary intake. *Journal of animal science*, 76(2), 498-505.
- Storm, E., Orskov, E. R., and Smart, R. (1983). The nutritive value of rumen micro-organisms in ruminants. 2. The apparent digestibility and net utilization of microbial N for growing lambs. *British journal of nutrition*, 50:471-478.
- Suo, C., Yin, Y., Wang, X., Lou, X., Song, D., Wang, X., and Gu, Q. (2012). Effects of *Lactobacillus plantarum* ZJ316 on pig growth and pork quality. *BMC Veterinary research*, 8:89. doi: 10.1186/1746-6148-8-89.
- Svihus, B., Uhlen, A. K., and Harstad, O. M. (2005). Effect of starch granule structure, associated components and processing on nutritive value of cereal starch: A review. *Animal feed science and technology*, 122(3-4):303-320.
- Şahin, Ö., Boztepe, S., and Keskin, İ. (2018). Anadolu Merinosu Erkek Kuzularında Besi Dönemi Vücut Ölçülerine Ait Or-talamalardan Canlı Ağırlık, Canlı Ağırlık Artışı ve Yem Tüketiminin Tahmini. *Selcuk journal of agriculture and food sciences*, 32(2), 142-145.
- Tafaj, M., Zebeli, Q., Maulbetsch, A., Steingass, H., and Drochner, W. (2006). Effects of fibre concentration of diets consisting of hay and slowly degradable concentrate on ruminal fermentation and digesta particle size in mid-lactation dairy cows. *Archives of animal nutrition*, 60: 3, 254-66.
- Tajima, K. , Aminov, R.I. , Nagamine, T. , Matsui, H. , Nakamura, M., and Benno, Y. (2001a) Diet-dependent shifts in the bacterial population of the rumen revealed with real-time PCR. *Applied environmental microbiology*, 67, 2766-2774.
- Tajima, K. , Nagamine, T. , Matsui, H. , Nakamura, M., and Aminov, R. I. (2001b) Phylogenetic analysis of archaeal 16S rRNA libraries from the rumen suggests the existence of a novel group of archaea not associated with known methanogens. *FEMS Microbiol Letters*, 200, 67-72.
- Tabaru, H., Kadota, E., Yamada, H., Sasaki, N., and Takeuchi A. (1988). Determination of volatile fatty acids and lactic acid in bovine plasma and ruminal fluid by high performance liquid chromatography. *The japanese journal of veterinary science*, 50:1124-1126.
- Tang, W., Li, C., He, Z., Pan, F., Pan, S., and Wang, Y. (2018). Probiotic properties and cellular antioxidant activity of *Lactobacillus plantarum* MA2 isolated from Tibetan kefir grains. *Probiotics and antimicrobial proteins*, 10(3), 523-533.
- Tanja, M., and Salzberg, S. L. (2011). FLASH: fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies. *Bioinformatics*, 27.21: 2957-2963.
- Tapio, I., Snelling, T. J., Strozzi, F., and Wallace, R. J. (2017). The ruminal microbiome associated with methane emissions from ruminant livestock. *Journal of animal science and biotechnology*, 8(1), 1-11.
- TEPGE, 2020. Tarım Ürünleri Piyasaları Dana Eti, Ürün No: HÜ-02.
- Thomas, M., Webb, M., Ghimire, S., Blair, A., Olson, K., Fenske, G. J, Fonder, A. T., Christopher-Hennings, J., Brake, D., and Scaria, J. (2017). Metagenomic characterization of the effect of feed additives on the gut microbiome and antibiotic resistome of feedlot cattle. *Scientific reports*, 7:1-13. doi: 10.1038/s41598-017-12481-6
- Thomsen, L. E., Knudsen, K. E., Hedemann, M. S., and Roepstorff, A. (2006). The effect of dietary carbohydrates and *Trichuris suis* infection on pig large intestine tissue structure, epithelial cell proliferation and mucin characteristics. *Veterinary Parasitology*, 142:112-122. doi: 10.1016/j.vetpar.2006.05.032.

- Thornton, P. K. (2010). Livestock production: recent trends, future prospects. *Philosophical transactions of the royal society of london. Series b, biological sciences*, 365, 2853–2867. doi: 10.1098/rstb.2010.0134
- Throne, M., Bach, A., Ruiz-Moreno, M., Stern, M., and Linn, J. (2009). Effects of *Saccharomyces cerevisiae* on ruminal pH and microbial fermentation in dairy cows: Yeast supplementation on rumen fermentation. *Livestock science*, 124, 261-265.
- Tremblay, J., Singh, K., Fern, A., Kirton, E. S., He, S., Woyke, T., Lee, J., Chen, F., Dangl, J. L., and Tringe, S. G. (2015). Primer and platform effects on 16S rRNA tag sequencing. *Frontiers in microbiology*, 6, 771.
- Tuohy, K. M., Pinart-Gilberga, M., Jones, M., Hoyles, L., McCartney, A. L., and Gibson, G. R. (2007). Survivability of a probiotic *Lactobacillus casei* in the gastrointestinal tract of healthy human volunteers and its impact on the faecal microflora. *Journal of applied microbiology*, 102:1026-1032.
- TÜİK, (2021). Türkiye İstatistik Kurumu, Adrese Dayalı Nüfus Kayıt İstatistikleri, www.tuik.gov.tr.
- TÜİK, (2021). Türkiye İstatistik Kurumu, Hayvansal Üretim İstatistikleri, www.tuik.gov.tr.
- Van Soest, P., Robertson, J., and Lewis, B. (1991). Methods for Dietary Fiber, Neutral Detergent Fiber, and Nonstarch Polysaccharides in Relation to Animal Nutrition. *Journal of dairy science*, 74(10), 3583–3597. doi:10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2
- Vizoso Pinto, M. G., Rodriguez Gómez, M., Seifert, S., Watzl, B., Holzapfel, W. H., and Franz, C. M. A. P. (2009). Lactobacilli stimulate the innate immune response and modulate the TLR expression of HT29 intestinal epithelial cells in vitro. *International journal of food microbiology*, 133:86-93.
- Van der walt, J. G. (1977). Volatile fatty acid metabolism in sheep. 2. Correlation between volatile fatty acid production and concentration in the rumen during the course of a feeding cycle. *Onderstepoort journal of veterinary research*, 44: 7-12, 1977.
- Van Soest P. J. (1994). Nutritional Ecology of the Ruminant, 2nd Edn. Ithaca, NY: Cornell University Press.
- Von Keyserlingk, G. E., and Mathison, G.W., (1993). The effect of ruminal escape protein and ambient temperature on the efficiency of utilization of metabolizable energy by lambs. *Journal of animal science*, Aug;71(8):2206-17. doi: 10.2527/1993.7182206x
- United Nations (UN) (2019). World Population Prospects 2019: Highlights (st/esa/ser. A/423). New York.
- Uyeno, Y., Shigemori, S., and Shimosato, T. (2015). Effect of probiotics/prebiotics on cattle health and productivity. *Microbes environmental*, 30:126–32. doi: 10.1264/jsme2.ME14176
- Walker, W.A. (2000). Role of nutrients and bacterial colonization in the development of intestinal host defense. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, 30 (Suppl. 2), S2–S7.
- Wang, J., Ji, H. F., Wang, S. X., Zhang, D. Y., Liu, H., Shan, D. C., and Wang, Y. M. (2012). *Lactobacillus plantarum* ZLP001: In vitro Assessment of Antioxidant Capacity and Effect on Growth Performance and Antioxidant Status in Weaning Piglets. *Asian-Australasian journal of animal sciences*, 25(8), 1153–1158. doi.org/10.5713/ajas.2012.12079
- Wang, L., Xu, Q., Kong, F., Yang, Y., Wu, D., Mishra, S., and Li, Y. (2016). Exploring the goat rumen microbiome from seven days to two years. *PLoS One*, 11(5), e0154354.
- Wang, J., Fan, H., Han, Y., Zhao, J., and Zhou, Z. (2017a). Characterization of the microbial communities along the gastrointestinal tract of sheep by 454 pyrosequencing analysis. *Asian-Australasian journal of animal sciences*, 30(1):100-110, doi.org/10.5713/ajas.16.0166.

- Wang, Y., Wu, Y., Wang, B., Cao, X., Fu, A., Li, Y., and Li, W. (2017b). Effects of probiotic *Bacillus* as a substitute for antibiotics on antioxidant capacity and intestinal autophagy of piglets. *AMB Express*, 7, 52. doi.org/10.1186/s13568-017-0353-x
- Wang, Y., Sun, J., Zhong, H., Li, N., Xu, H., Zhu, Q., and Liu, Y. (2017c). Effect of probiotics on the meat flavour and gut microbiota of chicken. *Scientific Reports*, 7, 6400.
- Wang, Q., Wang, Y., Wang, X., Dai, C., Tang, W., Li, J., Huang, P., Li, Y., Ding, X., Huang, J., Hussain, T., Yang, H., and Zhu, M. (2020a). Effects of dietary energy levels on rumen fermentation, microbiota, and gastrointestinal morphology in growing ewes. *Food science & nutrition*, 8(12), 6621-6632.
- Wang, B., Luo, Y., Su, R., Yao, D., Hou, Y., Liu, C., Du, R., and Jin, Y. (2020b). Impact of feeding regimens on the composition of gut microbiota and metabolite profiles of plasma and feces from Mongolian sheep. *Journal of microbiology*, 58(6), 472-482.
- Wang, Q., Zeng, Y., Zeng, X., Wang, X., Wang, Y., Dai, C., Li, J., Huang, P., Huang, J., Hussain, T., Zhu, M., and Yang, H. (2021). Effects of Dietary Energy Levels on Rumen Fermentation, Gastrointestinal Tract Histology, and Bacterial Community Diversity in Fattening Male Hu Lambs. *Frontiers in microbiology*, 12, 695445. doi:10.3389/fmicb.2021.695445
- Wang, L., Qi, W., Mao, S., Zhu, W., and Liu, J. (2022). Effects of whole corn high-grain diet feeding on ruminal bacterial community and epithelial gene expression related to VFA absorption and metabolism in fattening lambs. *Journal of animal science*, 100(3), skac056. doi.org/10.1093/jas/skac056
- Warner, R. D., Jacob, R. H., Rosenvold, K., Rochfort, S., Trenerry, C., Plozza, T., and McDonagh, M. B. (2015). Altered post-mortem metabolism identified in very fast chilled lamb *M. longissimus thoracis et lumborum* using metabolomic analysis. *Meat science*, 108, 155–164.
- Wenner, B. A., Wagner, B. K., and Firkins, J. L. (2018). Using video microscopy to improve quantitative estimates of protozoal motility and cell volume. *Journal of dairy science*, 101(2), 1060-1073.
- Werner, J. J., Koren, O., Hugenholtz, P., DeSantis, T. Z., Walters, W. A., Caporaso, J. G., Angenent, L. T., Knight, R., and Ley, R. E. (2012). Impact of training sets on classification of high-throughput bacterial 16S rRNA gene surveys. *The ISME journal*, 6:94-103
- Whisnant, C. S., Kline, R. S., Branum, J. C., Zaunbrecher, G. M., Khan, M. Z., and Jackson, S. P. (1997). Hormonal profile of callipyge and normal sheep. *Journal of animal science*, 76, 1443–1447.
- Wolever, T. M., Brighenti, F., Royall, D., Jenkins, A. L., and Jenkins, D. J. (1989). Effect of rectal infusion of short chain fatty acids in human subjects. *American journal of gastroenterology*, 84:1027–1033
- Wolever, T. M., Spadafora, P., and Eshuis, H. (1991). Interaction between colonic acetate and propionate in humans. *American journal of gastroenterology*, 84:1027–1033.
- Woof, J. M., and Kerr, M. A. (2004). IgA function-variations on a theme. *Immunology*, 113(2), 175–177. doi.org/10.1111/j.1365-2567.2004.01958.x
- Xia, C. Q., Niu, W. J., Shao, T. Q., Qiu, Q. H., Huawei, S. U., and Cao, B. H. (2018). Effects of dietary forage to concentrate ratio and wildrye length on nutrient intake, digestibility, plasma metabolites, ruminal fermentation and fecal microflora of male Chinese Holstein calves. *Journal of integrative agriculture*, 17(2), 415-427.
- Xu, J., and Gordon, J. I. (2003). Honor thy symbionts. *Proceedings of the national academy of sciences*, 100:10452–9. doi: 10.1073/pnas.1734063100

- Xu, Q., Qiao, Q., Gao, Y., Hou, J., Hu, M., Du, Y., Zhao, K., and Li, X. (2021). Gut microbiota and their role in health and metabolic disease of dairy cow. *Frontiers in Nutrition*, 8,701511.
- Ye, H., Liu, J., Feng, P., Zhu, W., and Mao, S. (2016). Grain-rich diets altered the colonic fermentation and mucosa associated bacterial communities and induced mucosal injuries in goats. *Scientific reports*, 6, 20329.
- Yamazaki, S., Machii, K., Ysuyuki, S., Momose, H., Kawashima, T., and Ueda, K. (1985). Immunological responses to monoassociated *Bifidobacterium longum* and their relation to prevention of bacterial infection. *Immunology*, 56:43.
- Yang, H. J., Kwon, D. Y., Kim, H. J., Kim, M. J., Jung, D. Y., Kang, H. J., Moon, N. R., Shin, B. K., and Park, S. (2015). Fermenting soybeans with *Bacillus licheniformis* potentiates their capacity to improve cognitive function and glucose homeostasis in diabetic rats with experimental Alzheimer's type dementia. *European journal of nutrition*, 54(1), 77-88.
- Yang, B., Le, J., Wu, P., Liu, J., Guan, L. L., and Wang, J. (2018). Alfalfa intervention alters rumen microbial community development in hu lambs during early life. *Frontiers in microbiology*, 9:574 doi: 10.3389/fmicb.2018.00574.
- Yang, G., Cao, H., Jiang, W., Hu, B., Jian, S., Wen, C., Kajbaf, K., Kumar, V., Tao, Z., and Peng, M. (2019). Dietary supplementation of *Bacillus cereus* as probiotics in Pengze crucian carp (*Carassius auratus* var. Pengze): Effects on growth performance, fillet quality, serum biochemical parameters and intestinal histology. *Aquaculture research*, 50, 2207-2217.
- Yilmaz, O., Cengiz, F., Ertugrul, M., and Wilson, R. F. (2013a). The domestic livestock resources of Turkey: Sheep breeds and cross-breeds and their conservation status. *Animal genetic resources*, 52, 147-163. doi:10.1017/S2078633613000015.
- Yılmaz, O., Cemal, I., and Karaca, O. (2013b). Estimation of mature live weight using some body measurements in Karya sheep. *Tropical animal health and production*, 45(2): 397-403. doi.org/10.1007/s11250-012-0229-7.
- Yokoyama, M. T., and Johnson, K.A. (1988). Microbiology of the rumen and intestine. In: Church DC, editor. The ruminant animal: digestive physiology and nutrition. NJ, EEUU: Prentice-Hall, 125-144.
- Zeng Y, Zeng D, Ni X, Zhu H, Jian P, Zhou Y, Xu, S., Lin, Y., Li, Y., Yin, Z., Pan, K., and Jing, B. (2017). Microbial community compositions in the gastrointestinal tract of Chinese Mongolian sheep using Illumina MiSeq sequencing revealed high microbial diversity. *AMB Express*, 7:1–10. doi: 10.1186/s13568-017-0378-1
- Zeng, Y., Gao, Y. H., Peng, Z.L., Chen, S. Y., Xie, X. T., Miao, J. J., Bai, X., and Guo, C. H. (2020). Effects of yeast culture supplementation in diets on rumen fermentation parameters and microflora of housed-feeding yak. *Chinese journal of animal nutrition*, 32: 1721-1733.
- Zhan, X. A., Wang, M., Xu, Z. R., Li, W. F., and Li, J. X. (2006). Effects of fluoride on hepatic antioxidant system and transcription of Cu/Zn SOD gene in young pigs. *Journal of trace elements in medicine and biology*, 20:83–87.
- Zhang, Z., and Kim, I. (2014). Effects of multistrain probiotics on growth performance, apparent ileal nutrient digestibility, blood characteristics, cecal microbial shedding, and excreta odor contents in broilers. *Poultry science*, 93, 364-370
- Zhang, R., Ye, H., Liu, J., and Mao, S. (2017). High-grain diets altered rumen fermentation and epithelial bacterial community and resulted in rumen epithelial injuries of goats. *Applied microbiology and biotechnology*, 101 6981–6992. doi:10.1007/s00253-017-8427-x

- Zhang, H., Shao, M., Huang, H., Wang, S., Ma, L., Wang, H., Hu, L., Wei, K., and Zhu, R. (2018). The dynamic distribution of small-tail han sheep microbiota across different intestinal segments. *Frontiers in microbiology*, *9*, 32.
- Zhang, L., Jiang, X., Liu, X., Zhao, X., Liu, S., Li, Y., and Zhang, Y. (2019). Growth, health, rumen fermentation, and bacterial community of Holstein calves fed *Lactobacillus rhamnosus* GG during the preweaning stage. *Journal of animal science*, *97*:2598–608. doi: 10.1093/jas/skz126.
- Zhang, R., Liu, J., Jiang, L., and Mao, S. (2020a). Effect of high-concentrate diets on microbial composition, function, and the VFAs formation process in the rumen of dairy cows. *Animal feed science and technology*. *269*: 114619, doi: doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2020.114619.
- Zhang, N., Wang, L., and Wei, Y. (2020b). Effects of *Bacillus amyloliquefaciens* and *Bacillus pumilus* on Rumen and Intestine Morphology and Microbiota in Weanling Jintang Black Goat. *Animals*, *10*(9), 1604. doi:10.3390/ani10091604
- Zhang, C., Zhang, C., Du, M., Wang, Y., Zhang, G., and Lee, Y. (2021). Effects of dietary supplementation with different fermented feeds on performance, nutrient digestibility, and serum biochemical indexes of fattening lambs. *Animal bioscience*, *34*(4), 633.
- Zhao, P. Y., and Kim, I. H. (2015). Effect of direct-fed microbial on growth performance, nutrient digestibility, fecal noxious gas emission, fecal microbial flora and diarrhea score in weanling pigs. *Animal feed science and technology*, *200*, 86–92.
- Zhao, J. B., Liu, P., Huang, C. F., Liu, L., Li, E. K., Zhang, G., and Zhang, S. (2018). Effect of wheat bran on apparent total tract digestibility, growth performance, fecal microbiota and their metabolites in growing pigs. *Animal feed science and technology*, *239*, 14–26.
- Zhou, L., Xiao, X., Zhang, Q., Zheng, J., Li, M., Yu, M., Wang, X., Deng, M., Zhai, X., and Li, R. (2018). Improved glucose and lipid metabolism in the early life of female offspring by maternal dietary genistein is associated with alterations in the gut microbiota. *Frontiers endocrinology*, *9*, 516.
- Zhu, Z., Noel, S. J., Difford, G. F., Al-Soud, W. A., Brejnrod, A., Sørensen, S. J., Lassen, J., Løvendahl, P., and Højberg, O. (2017). Community structure of the metabolically active rumen bacterial and archaeal communities of dairy cows over the transition period. *PLoS One*, *12*(11), e0187858.
- Zinn, R A., Owens, F. N., and Ware, R A. (2002). Flaking corn: processing mechanics, quality standards, and impacts on energy availability and performance of feedlot cattle. *Journal of animal science*, *80*:1145-56

## ÖZGEÇMİŞ

<b>Kişisel Bilgiler</b>	
<b>Adı Soyadı</b>	Muhittin ZENGİN
<b>Eğitim</b>	
<b>Lise</b>	Çivril Yabancı Dil Ağırlıklı Lisesi (2007)
<b>Lisans</b>	Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi (2009-2015)
<b>Yüksek Lisans</b>	Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi (2009-2015)
<b>Doktora</b>	Balıkesir Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı (2018-2022)
<b>Yabancı Dil Bilgisi</b>	
<b>İngilizce</b>	İyi derecede
<b>Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar</b>	
<b>Kuruluş Adı</b>	Çiftlik Hayvanları Hekimliği Derneği

## EKLER

### EK-1. Etik Kurul Onay Formu

**T.C.  
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ  
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU**

**Toplantı Yeri:** Denev Hayvanları Üretim Bakım Uygulama ve Araştırma Merkezi Toplantı Salonu  
**Toplantı Tarihi:** 03 Haziran 2021  
**Toplantı Saati:** 13:00  
**Toplantı Sayısı:** 2021/5

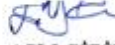
Balıkesir Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 03 Haziran 2021 tarihinde Başkan Dr. Öğr. Üyesi Elif AKSÖZ Başkanlığında toplandı.

**KARAR :4**

Prof. Dr. Mehmet Ali AZMAN'ın, "*Yüksek Nemli Mısırla Beslenen Kuzularda Probiyotik Kullanımının Besi Performansı ve Rumen Parametreleri Üzerine Etkisi*" isimli projesinin görüşülmesine geçildi.

Görüşme Sonunda; proje dosyasının etik açıdan uygun olduğuna oybirliği ile karar verilmiştir.

HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU ÜYELERİ  
(İMZA)



**ASLI GİBİDİR**

**Dr. Öğr. Üyesi Elif AKSÖZ  
BAŞKAN**





Eğitimde, bilimde, sanatta çağdaş...



Balıkesir Üniversitesi  
Tıp Fakültesi Dekanlık Binası  
Çağış Yerleşkesi/BALIKESİR



(0 266) 612 14 62  
sagbilen@balikesir.edu.tr  
<http://www.balikesir.edu.tr>

