

## Biberiye Yaprağı Ekstraktının Yonca Otunun Rumen Fermentasyonu, Metan ve Mikrobiyal Protein Üretimine Etkisi

Bilal SELÇUK<sup>1\*</sup>, Adem KAMALAK<sup>2</sup>

<sup>1,2</sup>Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootekni Bölümü, Kahramanmaraş

<sup>1</sup><https://orcid.org/0000-0001-9136-5707>, <sup>2</sup><https://orcid.org/0000-0003-0967-4821>

✉: [blselcuk46@gmail.com](mailto:blselcuk46@gmail.com)

### ÖZET

Bu çalışma biberiye yapraklarından elde edilen ekstraktın yonca otunun *in vitro* metan (CH<sub>4</sub>) üretimine, gerçek sindirim derecesine (GSD), taksimat faktörüne (TF), mikrobiyal proteinine (MP) ve mikrobiyal proteinin sentezleme etkinliğine (MPSE) etkisini saptamak için düzenlenmiştir. Biberiye ekstraktı yonca otunun *in vitro* gaz, CH<sub>4</sub>, GSD, TF, MP ile MPSE değerlerini önemli derecede etkilemiştir (P<0.001). Yonca otunun *in vitro* gaz üretimi 92.80 ml ile 109.16 ml/500 mg kuru madde (KM) arasında değişmiştir. Ağustos ayında hasat edilen biberiye ekstraktı ve kurutulmuş ekstraksiyon yapılan grup hariç diğer gruplarda *in vitro* gaz üretimini önemli düzeyde artırmıştır (P<0.001). Biberiye ekstraktı CH<sub>4</sub> üretimini hem ml, hem de % olarak önemli derecede artırmış ve sırasıyla; 14.66-25.36 ml ile %15.76- %25.36 arasında saptanmıştır. Biberiye ekstraktı yonca otunun GSD'ni önemli derecede düşürmüştü ve GSD %67.07- %72.50 arasında bulunmuştur. Biberiye ekstraktı ilavesi mikrobiyal protein üretimini ve sentezleme etkinliğini önemli derecede azaltmıştır (P<0.001). Mikrobiyal protein üretimi 85.56 mg ile 140.20 mg arasında olmuştur. Eylül ayında elde edilmiş taze biberiye ekstraksiyonu en düşük MP ve MPSE neden olduğu saptanmıştır. Sonuç olarak biberiye ekstraktının mikrobiyal protein, sindirim derecesi ve CH<sub>4</sub> üretimindeki olumsuz etkisinden dolayı ruminant rasyonlarında kullanımı önerilmemektedir.

### Zootekni

### Araştırma Makalesi

### Makale Tarihi

Geliş Tarihi : 26.04.2021

Kabul Tarihi : 24.06.2021

### Anahtar Kelimeler

Biberiye ekstraktı

Gaz üretimi

Metan üretimi

Sindirim

## Effect of *Rosmarinus officinalis* Leaves on the Fermentation and Methane Production of Alfalfa Hay

### ABSTRACT

The current experiment was conducted to determine the effect of rosemary extract on *in vitro* methane production, true digestibility, partitioning factor, microbial protein and efficiency of microbial protein production of alfalfa hay. Rosemary extract significantly (P<0.001) affected the *in vitro* gas production, methane production, true digestibility, partitioning factor, microbial protein and efficiency of microbial protein of alfalfa hay (P<0.001). The gas production ranged from 92.80 ml to 109.16 ml/500 mg dry matter. The gas production significantly increased with supplementation of rosemary extract except for that of supplemented with dry rosemary extract obtained by drying and that of in August (P<0.001). The highest gas production was obtained in group that supplemented with fresh rosemary extract obtained in September. Rosemary extract significantly increased the methane production in both ml or %. The methane production in both ml and % ranged from 14.66 to 25.36 ml and %15.76 to 25.36, respectively. Rosemary extract significantly decreased true digestibility of alfalfa hay. The true digestibility ranged from %67.07 to 72.50. Supplementation of rosemary extract significantly decreased microbial protein production and efficiency of microbial protein production. Microbial protein ranged from 85.56 to 140.20 mg. The lowest microbial protein production and efficiency of microbial protein production were obtained in group of supplemented with fresh rosemary extract obtained in September. As a conclusion,

### Animal Science

### Research Article

### Article History

Received : 26.04.2021

Accepted : 24.06.2021

### Keywords

Rosemary extract

Gas production

Microbial protein

Digestibility

rosemary extract is suggested to use in ruminant diets to manipulate the ruminal fermentation due to negative effect on microbial production, digestibility and methane production.

- Atıf İçin:** Selçuk B, Kamalak A 2022. Biberiye Yaprağı Ekstraktının Yonca Otunun Rumen Fermentasyonu, Metan ve Mikrobiyal Protein Üretimine Etkisi. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 25 (3): 623-628. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.928188>.
- To Cite:** Selçuk B, Kamalak A 2022. Effect of *Rosmarinus officinalis* Leaves on the Fermentation and Methane Production of Alfalfa Hay KSU J. Agric Nat 25 (3): 623-628. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.928188>.

## GİRİŞ

Hayvan beslemede antibiyotiklerin kullanımının yasaklanması sonrası, antibiyotiklere alternatif olacak ve insan sağlığına zararlı olmayan sekonder metabolitleri üzerinde durulmuştur. Bu alanda yapılan çalışmalarla bitki ekstraktlarının ruminant beslenmede yem katkı maddesi olarak kullanımının önünü açmıştır (Patra ve ark. 2006; Agarwal ve ark. 2006; Salem 2019; Sinsz ve ark, 2019). Bu alanda yürütülen çalışmaların temel amacı hayvanın performansını olumsuz etkilemeden, rumen fermentasyonunu modifiye etmek, CH<sub>4</sub> üretimini azaltmak, enerji ve proteinin kullanım etkinliğini artırmaktır (Patra ve ark. 2006; Agarwal ve ark. 2006; Salem 2019; Sinsz ve ark, 2019). Ruminant hayvanların ürettikleri enterik CH<sub>4</sub> gazı küresel ısınmaya neden olan karbondioksitten (CO<sub>2</sub>) sonra ikinci önemli sera gazıdır (Van Nevel and Demeyer, 1996). Enterik CH<sub>4</sub> üretimi sera gazı emisyonunu artırma yanında, ruminant hayvanlarda önemli düzeyde enerji kaybına neden olduğu bildirilmektedir (Jonhson ve Jonhson 1995). Rasyona tanen, saponin ve esansiyel yağ ilavesiyle ruminantlarda enterik CH<sub>4</sub> üretimini azaltmaya yönelik çalışmalar artmıştır (Wina ve ark. 2005; Temizkan ve ark. 2011; Jayanegara ve ark. 2015; Zhou ve ark. 2020). Son zamanlarda enterik metanı azaltmak için hazırlanması ve kullanımı kolay bitki ekstraktlarında ruminant rasyonlarında kullanılmaya başlanmıştır. Bitki ekstraktlarının saponin, terpenoidler, fenolikler, fenolik glikosidler, tanin, alkaloidler ve esansiyel yağlar içerdiği ve rumen fermentasyonunu değiştirme potansiyeline sahip olduğu yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur (Salem ve ark. 2011; Bodas ve ark. 2012). Tıbbi ve aromatik bitki olan biberiye (*Rosmarinus officinalis* L.) bitkisi esansiyel yağ ve tanin bakımından zengin (Damianova ve ark. 2010) olmasından dolayı rumen fermentasyonunu değiştirmek için önemli bir aday olduğu düşünülmüştür. Bu araştırma; biberiye ekstraktının ruminantlarda rumen fermentasyonu, CH<sub>4</sub> üretimi ile rumen mikrobiyal biyokütlesine etkisini saptamak amacıyla düzenlenmiştir.

## MATERYAL ve METOD

### Yem ve Rumen Sıvısı Materyali

Araştırmanın yem materyalini çiçeklenme dönemi hasat edilmiş ve 105°C'de etüvde 24 saat süreyle

kurutulmuş ve 1 mm elekten geçirilerek öğütülmüş yonca otu (*Medicago sativa*) oluşturmuştur. Rumen sıvısı rumen kanüllü 3 baş koçtan alınmış ve rumen sıvısı alınan koçların bakım ve beslenmesinde etik ilkere uyulmuştur. Çalışmanın yapılabilmesi için KSÜ Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan (28.07.2017 tarih ve 2017/5-1 sayılı toplantı) izin alınmıştır.

### Biberiye Ekstraktının Hazırlanması

Biberiye bitkisinin Ağustos-Eylül aylarının yaş ve gölgede kurutulmuş halinin yaprakları ayrı ayrı 5 g tartılıp vida kapaklı cam şişenin içine 50 ml %20' lik metanol-etanol karışımı ile birlikte karıştırılarak konulmuştur. Üç gün boyunca bekletilen karışım biberiye bitkisinden süzülerek elde edilmiştir.

### In Vitro Gaz ve Metan Üretiminin Belirlenmesi

Yonca otunun *in vitro* gaz üretimi Menke ve ark. (1979)'nın uyguladıkları tekniğe göre yapılmıştır. 0.5 g yonca otu 100 ml cam şırıngalara konmuş ve üzerine 40 ml tamponlanmış rumen sıvısı ilave edilmiştir. Hazırlanan bu şırıngalara Ağustos ve Eylül aylarının elde edilen biberiye ekstraktlarından 1 ml ilave edilmiş ve 39°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Rumen sıvısı 1.5-2 yaşlarında fistül takılmış 55-60 kg ağırlığındaki iki koçtan alınmıştır. Alınan rumen sıvısı 1:2 oranında tampon çözeltisiyle karıştırılmıştır. Koçlar yaşama payının 1.25 katı düzeyinde beslenmişlerdir. Koçlara ad-libitum su verilmiştir.

Üretilen gazın CH<sub>4</sub> içeriği İnfrared metan analiz cihazıyla saptanmıştır (Goel ve ark. 2008). 24 saat inkübasyon süresi sonunda şırınga içeriği kullanılarak mikrobiyal biyokütle üretimi Blümmel ve ark. (1997)'nin bildirdikleri yöntemle göre saptanmış ve aşağıdaki eşitlikler ile hesaplanmıştır. Yonca otunun gerçek sindirilebilir kuru madde (g) (GSKM), gerçek sindirim derecesi (GSD), taksimat faktörü (TF), mikrobiyal protein (MP), mikrobiyal sentezleme etkinliği (MPSE) değerleri Blümmel ve ark. (1997) bildirdiği metoda göre yapılmıştır.

GSKM (mg) = İnkübe edilen KM (mg) – Kalan KM (mg)

GSD (%) = (GSKM / İnkübe edilen KM)

TF = GSKM / GÜ

MP (mg/g KM) = GSKM – (GÜ X 2,2 mg/ml),

MPSE = (GSKM – (GÜ X 2.2 mg/ml))/GSKM.

### Kimyasal Analizler

Yonca yonca otunun kuru madde (KM), ham kül (HK),

ham protein (HP), ham yağ (HY), içerikleri AOAC (1990)' a göre belirlenmiştir. Yonca otunun asit deterjan fiber (ADF) ve nötr deterjan fiber (NDF) içeriği ise Van Soest (1991)' in uyguladığı yönteme göre saptanmıştır.

### İstatistik Analizler

Araştırmadan elde edilen verilerin istatistiki olarak değerlendirilmesinde ortalamalar arasındaki farklılıkların saptanmasında varyans analizi (General Linear Model) (Statistica, 1996), görülen farklılıkların önem seviyelerinin belirlenmesinde ise Tukey çoklu karşılaştırma testinden yararlanılmıştır (Snedecor ve Cochran, 1967).

### BULGULAR ve TARTIŞMA

#### Çiçeklenme dönemi hasat edilmiş yoncanın besin madde kompozisyonları

Çiçeklenme döneminde hasat edilmiş yonca otunun kimyasal kompozisyonu Çizelge 1' de verilmiştir.

Çizelge1. Çiçeklenme dönemi hasat edilen yoncanın kimyasal kompozisyonu

Table 1. Chemical composition of alfalfa hay harvested during flowering

Besin maddeleri	%
Kuru Madde (KM)	92.6
Ham Kül (HK)	9.5
Ham Protein (HP)	16.5
Ham Yağ (HY)	1.2
Nötral Deterjan Lif (NDF)	46.3
Asit Deterjan Lif (ADF)	29.9

Çizelge 2. Biberiye ekstraktının yonca otunun rumen fermantasyon parametreleri ve sindirim derecesine etkisi

Table 2. The effect of rosemary extract on the rumen fermentation parameters and digestion degree of alfalfa.

Parametreler	K	BAY	BAK	BEY	BEK	Ö.D.
Gaz (ml)	92.80 <sup>c</sup> ±3.46	100.13 <sup>bc</sup> ±3.21	96.80 <sup>bc</sup> ±4.73	109.16 <sup>a</sup> ±1.53	104.46 <sup>ab</sup> ±2.08	***
CH <sub>4</sub> (ml)	14.66 <sup>b</sup> ±0.51	25.36 <sup>a</sup> ±0.50	23.02 <sup>a</sup> ±1.22	24.86 <sup>a</sup> ±1.57	24.20 <sup>a</sup> ±1.38	***
CH <sub>4</sub> (%)	15.76 <sup>c</sup> ±0.07	25.36 <sup>a</sup> ±1.29	23.80 <sup>ab</sup> ±0.34	22.76 <sup>b</sup> ±1.15	23.20 <sup>ab</sup> ±1.13	***
GSD (%)	72.50 <sup>a</sup> ±0.62	69.73 <sup>ab</sup> ±1.37	67.07 <sup>b</sup> ±1.05	69.06 <sup>b</sup> ±0.87	68.13 <sup>b</sup> ±1.26	***
TF	3.73 <sup>a</sup> ±0.13	3.30 <sup>b</sup> ±0.19	3.30 <sup>b</sup> ±0.16	3.00 <sup>b</sup> ±0.07	3.10 <sup>b</sup> ±0.03	***
MP (mg)	140.20 <sup>a</sup> ±6.99	110.20 <sup>b</sup> ±15.75	105.82 <sup>bc</sup> ±10.76	85.56 <sup>c</sup> ±6.91	92.50 <sup>bc</sup> ±4.28	***
MPSE (%)	40.73 <sup>a</sup> ±2.05	33.26 <sup>b</sup> ±3.95	33.00 <sup>b</sup> ±3.34	26.25 <sup>c</sup> ±1.77	28.69 <sup>bc</sup> ±0.65	***

<sup>abc</sup>Aynı simgeye sahip ve aynı satırda yer alan ortalamalar arasında fark yoktur ( $P>0,05$ ), Ö.D: Önemli düzeyi, GSD: Gerçek sindirim derecesi (%), TF: Taksimat faktörü, MP: Mikrobiyal protein üretimi (mg), MPSE: Mikrobiyal protein sentezleme etkinliği (%), \*\*\*  $P<0.001$ .

Biberiye ekstraktı yonca otunun gerçek sindirim derecesini önemli derecede düşürmüştür ( $P<0.001$ ). Yonca otunun gerçek sindirim derecesi %67.07 ile %72.50 arasında bulunmuştur. Ağustos ayında hasat edilen ve yaş olarak elde edilen biberiye ekstraktı hariç diğer biberiye ekstraktları yoncanın gerçek sindirim derecesini düşürmüştür. Farklı zaman ve şekilde elde edilen biberiye ekstraktı yonca otunun TF değerini de önemli derecede düşürmüştür. Yoncanın TF değeri 3.00 ile 3.73 arasında değişmiştir. Biberiye ekstraktı

Bu çalışmada kullanılan yonca otunun kuru madde, ham kül, ham protein ve nötral deterjan lif içeriği Kamalak ve ark. (2011) bildirdiği değerlerle uyumlu, asit deterjan lif ve ham yağ içeriği daha düşük bulunmuştur. Bu farklılığın yoncanın hasat zamanı ile yetiştirme bölgesindeki farklılıklardan kaynaklandığı söylenebilir.

#### Biberiye ekstraktının yonca otunu fermentasyon parametrelerine ve sindirim derecesi üzerine etkisi

Biberiye ekstraktının yonca otunun fermentasyon ve sindirim derecesi üzerine etkileri saptanmış ve Çizelge 2'de verilmiştir. Biberiye ekstraktı yonca otunun *in vitro* gaz üretimi, CH<sub>4</sub> üretimini, gerçek sindirim derecesini, mikrobiyal protein üretimini ve mikrobiyal protein sentezleme etkinliğini önemli düzeyde etkilemiştir ( $P<0.001$ ). Bu çalışmada, fermentasyon sonucunda yonca otunun *in vitro* gaz üretimi 92.80 ml ile 109.16 ml/500 mg KM arasında değişmiştir. Ağustos ayında hasat edilen biberiye ekstraktı, hasat edilen ve kurutulmuş ekstraksiyon yapılan grup hariç önemli derecede *in vitro* gaz üretimini artırmıştır. Eylül ayında hasat edilen ve taze biberiye ekstraksiyonu en yüksek gaz üretime neden olmuştur. Biberiye ekstraktı CH<sub>4</sub> üretimini hem ml olarak hem de %de olarak önemli derecede artırmış olup fermentasyona tabi tutulan yoncanın CH<sub>4</sub> üretimi sırasıyla 14.66 ml ile 25.36 ml arasında, %15.76 ile %25,36 bulunmuştur. Metan üretimi kontrol grubu hariç yaklaşık iki katına çıkmıştır.

ilavesi MP önemli derecede azaltmıştır ( $P<0.001$ ). Mikrobiyal protein üretimi 85.56 mg ile 140.20 mg arasında olmuştur. Eylül ayında elde edilen taze biberiye ekstraktının en düşük mikrobiyal protein sentezlemesine neden olmuştur. Eylül ayında elde edilen taze biberiye ekstraktının mikrobiyal protein sentezini düşürmüştür.

Bu çalışmada kullanılan biberiye ekstraksiyonu hem *in vitro* gaz üretimi hem de CH<sub>4</sub> üretimini önemli miktarda artırmıştır ( $P<0.001$ ). Benzer şekilde Patra

ve ark. (2006) farklı bitkisel ekstraktlarla yaptığı çalışmada benzer sonuçlar bulmuşlardır. *In vitro* gaz ve CH<sub>4</sub> üretimindeki artışın ekstraktlar içerisinde bulunan suda çözünebilir karbonhidratlardan kaynaklandığını bildirmişlerdir (Patra ve ark. 2006). Çözeltide kullanılan metanol ve etanolün *in vitro* gaz ve CH<sub>4</sub> üretimine etkisi olabileceği hakkında bilgi verilmemiştir. Bu çalışmada ekstraksiyon işleminde kullanılan metanol ve etanol arkealar tarafından CH<sub>4</sub> üretiminde kullanılabileceği organik maddelerdir. Arkealar metanolü direk CH<sub>4</sub> üretiminde kullanılmasına rağmen, etanolü önce asetik asite dönüştürüp, daha sonra asetik asiti CH<sub>4</sub> üretiminde kullanılabilmektedir (van Lier ve ark. 2008). Bu çalışmada kullandığımız biberiye ekstraktı hem metanol hem de etanolü içermektedir. Hem metanol hem de etanol arkealar tarafından fermente olduğundan dolayı sonuçların doğru bir şekilde elde edilmesi için her muamele grubu için spesifik körler oluşturulmuştur. Her muamele grubundan spesifik körlerden elde edilen *in vitro* gaz ve CH<sub>4</sub> üretim değerleri düşülmesine rağmen muamele gruplarının gaz ve CH<sub>4</sub> üretimleri kontrol grubuna göre önemli derece yüksek bulunmuştur. Gaz üretimindeki artışın ekstrakt ve yemin fermentasyonu sonucu oluşan asetik asit miktarının artmasından kaynaklandığı söylenebilir. Toplam *in vitro* gaz üretimi ile rumende oluşan asetik asit arasında yakın ilişki olduğu, asetik asit üretiminin *in vitro* gaz üretimini artırdığı, propionik asitin ise düşürdüğü bildirilmektedir (Getachew ve ark. 1998). Bu çalışmada, CH<sub>4</sub> üretimindeki artış miktarı, gaz üretimindeki artıştan çok daha yüksek bulunmuştur. Metan üretimindeki artış ekstraktan ziyade içinde bulunan ve çözücü olan metanol ve etanolden kaynaklandığı düşünülmektedir. Arkealar metanolü hem direk, hem de metanol ve H<sub>2</sub> iyonlarını kullanarak CH<sub>4</sub> ürettikleri bildirilmektedir (Jonhson ve Jonhson 1995; Leahy ve ark., 2010; Poulsen ve ark., 2012; Knapp ve ark., 2014). Biberiye ekstraktıyla birlikte arkealara metanol verilmesi arkealar sayısında başlangıçta çok hızlı bir artışa neden olduğu ve zaman geçtikçe bu farklılığın kapanmadığı ve bundan dolayı ekstrakt ilavesinin kontrol grubuna göre daha fazla CH<sub>4</sub> üretimine yol açtığı düşünülmektedir. Ayrıca ekstrakt içerisinde bulunan etanol metajonik bakteriler için direk kullanılan bir substrat olmadığından dolayı önce asetik asite dönüştürülmesi gerekmektedir. Etanolün asetik asit dönüşmesi sırasında açığa çıkan hidrojen iyonu (H<sup>+</sup>), inkübasyonda kullanılan tampon çözeltiyle reaksiyona girerek CO<sub>2</sub> açığa çıkmasına neden olarak *in vitro* gazın üretimini artırmış olacağı söylenebilir.

Bu çalışmada kullanılan biberiye ekstraktları yonca otunun *in vitro* sindirim derecesini düşürmüştür. Benzer şekilde bazı bitki ekstraktların yemlerin sindirim derecesinin düşürdüğü yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur (Patra ve ark., 2006; Agarwall ve

ark., 2009). Özellikle bitkisel ekstraktların rumendeki selülozik bakterilerin faaliyetlerini engellediği, buna bağlı olarak yemlerin sindirimini azaldığı bildirilmektedir (Patra, 2006). Bitkisel ekstraktlar içerisinde bulunan esansiyel yağlar, tanen ve diğer aktif bileşikler sindirim enzimlerinin aktivitesini düşürerek, yemlerin sindirim derecesinin düşmesine yol açtığı bildirilmektedir (Patra ve ark., 2006, 2010).

Biberiye ekstraktları yonca kuru otunun *in vitro* TF, MP ve MPSE değerlerini önemli düzeyde etkilemiştir (P<0.001). Yukarıda sıralanan parametrelerin *in vitro* gaz üretim miktarı ile yakın ilişkili olduğu söylenebilir. Çalışmada kullanılan biberiye ekstraktları hem gerçek sindirim derecesini düşürmesi, hem de *in vitro* gaz üretimini artırması nedeniyle, hesaplanan MP, TF ve MPSE'nin de önemli derecede düşmesine neden olmuştur (P<0.001).

Biberiye ekstraktının kullanılması *in vitro* MP'ni düşürmüştür. Bu durum rumende MP'ni sınırlayarak ruminantların performansını düşüreceği söylenebilir. Buradan hareketle biberiye ekstraktlarının anti-proteolitik potansiyellerinin saptanmasının önemli olduğuda söylenebilir. Bu şekilde mikrobiyal protein sentezindeki kayıpların bypass proteinle telafi edilip edilmeyeceği ortaya konabilir.

## SONUÇ ve ÖNERİLER

Biberiye ekstraktlarının yonca otunun *in vitro* gaz ve CH<sub>4</sub> artırdığı, GSD, TF, MP ve MPSE düşürdüğü saptanmıştır. Bundan dolayı biberiye ekstraktının anti-metanojenik özelliğe sahip olmadığı ve ruminantlarda anti-metanojenik olarak kullanılmasının fayda sağlamayacağı kanısına varılmıştır. Bununla birlikte, düşük MP ve GSD, biberiye ekstraktının anti-mikrobiyel etkisinin olduğunu göstermektedir. Ayrıca ekstraksiyonda kullanılan metanol ve etanolün *in vitro* inkübasyonda kullanılmadan önce ekstraktan bir şekilde uzaklaştırılması yoluyla daha güvenilir sonuçlar elde edileceği söylenebilir. Ayrıca biberiye ekstraktının anti-preteolitik etkisinin saptanmasına yönelik olarak *in vivo* ve *in situ* çalışmalara gereksinim olduğuda söylenebilir.

## TEŞEKKÜR

Bu çalışma Bilal SELÇUK' un yüksek lisans çalışma tezinden üretilmiştir.

## Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan eder.

## Çıkar Çatışması Beyanı

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

## KAYNAKLAR

- Agarwal N, Kamra DN, Chaudhary LC, Patra AK 2006. Effect of *Sapindus mukorossi* Extract on *in vitro* methanogenesis and fermentation characteristics in buffalo rumen liquor. *J Appl Anim Res* 30:1-4.
- Agarwal N, Shekhar C, Kumar R, Chaudhary LC, Kamra DN 2009. Effect of peppermint (*Mentha piperita*) oil on *in vitro* methanogenesis and fermentation of feed with buffalo rumen liquor. *Anim Feed Sci Technol* 148(2-4): 321-327.
- AOAC 1990. Official method of analysis. 15th ed., pp.66-88. *Association of Official Analytical Chemists*, Washington, DC, USA
- Blümmel M, Makkar HPS, Chisanga G, Mtimuni J, Becker K 1997. The prediction of dry matter intake of temperate and tropical roughages from *in vitro* digestibility gas-production data, and the dry matter intake and *in vitro* digestibility of African roughages in relation to ruminant liveweight gain. *Anim Feed Sci Technol* 69(1-3): 131-141.
- Bodas R, Prieto N, Garcia-Gonzalez R, Andres S, Giraldez FJ, Lopez S 2012. Manipulation of rumen fermentation and methane production with plant secondary metabolites. *Anim Feed Sci Technol* 176 (1-4): 78– 93.
- Cieslak A, Zmora P, Matkowski A, Nawrot-Hadzik I, Pers-Kamezyc E, El-Sherbiny M, Bryszak M, Szumacher-Strabel M 2016. Tannins from *Sanguisorba officinalis* affect *in vitro* rumen methane production and fermentation. *J Anim Plant Sci J Anim Plant Sci* 26(1):54-62.
- Damianova S, Tasheva S, Stoyanova A, Damianov D. 2013 Investigation of extract from rosemary (*Rosmarinus officinalis* L) for application in cosmetics. *J Essent Oil-Bear Plants*13(1):1-11.
- Getachew G, Blümmel M, Makkar HPS, Becker K 1998. *In vitro* gas measuring techniques for assessment of nutritional quality of feeds: a review. *Anim Feed Sci Technol* 72:261-281.
- Goel G, Makkar HP, Becker K 2008. Effects of *Sesbania sesban* and *Carduus pycnocephalus* leaves and *Fenugreek* (*Trigonella foenum-graecum* L.) seeds and their extracts on partitioning of nutrients from roughage-and concentrate-based feeds to methane *Anim Feed Sci Technol* 147(1-3): 72-89.
- Jayanegara A, Goel G, Makkar HPS, Becker K 2015. Diverge between purified hydrolysable and condensed tannin effects on methane emission, rumen fermentation and microbial population in *in vitro*. *Anim Feed Sci Technol* 209:60-68.
- Jonhson KA, Jonhson DE 1995. Methane emission from cattle. *J Anim Sci* 73:2483-2492.
- Kamalak A, Canbolat Ö, Özkan ÇÖ, Atalay A 2011 Effect of thymol on *in vitro* gas production, digestibility and metabolizable energy content of alfalfa hay. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 17(2): 211-216.
- Knapp JR, Laur GL, Vadas PA, Weiss WP, Tricarico JM, 2014. Enteric methane in dairy cattle production: quantifying the opportunities and impact of reducing emissions. *J Dairy Sci* 97:3231-3261.
- Leahy SC, Kelly WJ, Altermann E, Ronimus RS, Yeoman CJ, Pacheco DM, Li D, Kong Z, McTavish S, Sang C, Lambie SC, Janssen PH, Dey D, Attwood GT 2010. The genome sequence of the rumen methanogen *Methanobrevibacter ruminant* methane emissions. *PLos One* 5: e0008926.
- Menke KH, Raab L, Salewski A, Steingass H, Fritz D, Schneider W 1979. The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedingstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor *in vitro*. *The Journal of Agricultural Science*, 93(1): 217-222.
- Patra AK, Kamra DN, Agarwal N 2006. Effect of plant extracts on *in vitro* methanogenesis, enzyme activities and fermentation of feed in rumen liquor of buffalo. *Anim Feed Sci Technol* 128(3-4): 276-291.
- Patra AK, Kamra DN, Agarwal N 2010. Effects of extracts of spices on rumen methanogenesis, enzyme activities and fermentation of feeds *in vitro*. *J Sci Food Agric* 90: 511-520.
- Poulsen M, Jensen BB, Engberg RM, 2012. The effect of pectin, corn and wheat starch, inulin and pH on *in vitro* production of methane, short chain fatty acids and on the microbial community composition in rumen fluid. *Anaerobe*, 18(1): 83-90.
- Salem AZM, Olivares M, Lopez S, Gonzalez-Ronquillo M, Rojo R, Camacho LM, Cerrillo SMA, Mejia HP 2011. Effect of natural extracts of *Salix babylonica* and *Leucaena leucocephala* on nutrient digestibility and growth performance of lambs. *Anim Feed Sci Technol* 170(1-2): 27-34.
- Salem AZM. 2012. Oral administration of leaf extract to rumen liquid donor lambs modifies *in vitro* gas production of other tree leaves. *Anim Feed Sci Technol* 176:94-101.
- Sinz S, Marquardt S, Soliva CR, Braun U, Liesegang A, Kreuzer M 2019. Phenolic plant extracts are additive in their effects against *in vitro* ruminal methane and ammonia formation. *Asian-Austral J Anim Sci* 32(7):966-976.
- Snedecor GW, Cochran WG. 1967. *Statistical Methods*. Iowa State University Press, Ames.
- Statistica 1996. Minitab Inc: Minitab for Windows, Release 11.1. Minitab Inc., State College, 3081 Enterprise Drive, PA 16801-3008, USA.
- Van Soest PV, Robertson JB, Lewis B 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J Dairy Sci* 74(10): 3583-3597.
- Van Nevel CJ, Demeyer DI 1996. Control of rumen

- methanogenesis. Environ Monit Assess 42:73-97.
- Wina E, Muetzel S, Hoffman E, Makkar HPS, Becker K 2005 Saponins containing methanol extract of *Sapindus rarak* affect microbial fermentation, microbial activity and microbial community structure *in vitro*. Anim Feed Sci Technol 121:159-174.
- Van Lier JB, Mahmoud N, Zeeman G 2008. Anarobic Wastewater Treatment. pp.401-442. Biological Wastewater Treatment: Principles, Modeling and Design. Edit. Henze M, van Loosdrecht MCM, Ekama GA, Brdjanovic D. IWA Publishing, London UK.