

# Farklı sarımsak yağı dozlarının, korunga otunun *in vitro* gaz üretimi, rumen fermantasyonu ve metan üretimi üzerine etkisi

Ahmet UZATICI<sup>1a</sup>, Önder CANBOLAT<sup>2b</sup>✉

<sup>1</sup>Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Biga Meslek Yüksekokulu, Çanakkale; <sup>2</sup>Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootekni Bölümü, Nilüfer, Bursa, Türkiye.

<sup>a</sup>ORCID: 0000-0001-7600-1390; <sup>b</sup>ORCID: 0000-0001-7139-1334

✉Sorumlu yazar: onder@uludag.edu.tr

Geliş tarihi: 05.12.2018- Kabul tarihi: 03.05.2019

**Özet:** Bu araştırma rumen sıvısına (RS) 0 (kontrol), 100, 200, 400, 800, 1200 ve 1600 mg/L sarımsak yağı (SY) ilavesinin korunga (*Onobrychis sativa* L.) otunun gerçek kuru madde sindirimi (GKMS), organik madde sindirimi (OMS), nötr deterjanda çözünmeyen lif sindirimi (NDFS), rumen sıvısı parametreleri ile karbondioksit (CO<sub>2</sub>) ve metan (CH<sub>4</sub>) gazı üretimi üzerine etkilerinin saptanması amacıyla düzenlenmiştir. Farklı SY dozlarının rumen fermantasyonu, OMS ve metabolik enerji (ME) düzeyinin saptanması için *in vitro* gaz üretim tekniği kullanılmıştır. Korunga otunun GKMS ve NDFS ise Daisy inkübatör tekniği ile saptanmıştır. Rumen sıvısına SY ilavesinin korunga otunun *in vitro* gaz üretimini, GKMS, OMS, NDFS ve metabolik enerji (ME) içerikleri ile rumen fermantasyonu sonucu oluşan toplam uçucu yağ asitleri (TUYA), asetik asit (AA), propiyonik asit (PA) ve butirik asit (BA) ve diğere uçucu yağ asidi düzeylerini azalttığı saptanmıştır (P<0.01). Ayrıca, rumen sıvısına farklı dozlarda SY ilavesi CH<sub>4</sub> ve CO<sub>2</sub> üretimini de düşürmüştür (P<0.01). Sonuç olarak, *in vitro* gaz üretimi, rumen fermantasyonu, besin maddeleri sindirimi, metan ve karbondioksit üretimi üzerinde, en fazla olumsuz etkili sarımsak yağı dozu 1600 mg/L RS olduğu saptanmıştır. Yüksek SY dozlarının rumen fermantasyonunu, yemlerin sindirimini olumsuz etkilemesi nedeniyle düşük dozlarda (400 mg/L RS) kullanılmasının uygun olacağı kanaatine varılmıştır.

Anahtar sözcükler: *İn vitro* gaz üretimi, korunga otu, metan, rumen fermantasyonu, sarımsak yağı

## Effect of different garlic oil doses on *in vitro* gas production, rumen fermentation and methane production of sainfoin hay

**Abstract:** This study was conducted to determine the effects of addition of garlic oil (GO) 0 (control), 100, 200, 400, 800, 1200 and 1600 mg/L rumen fluid (RF) by *in vitro* gas production technique, on the true organic matter digestibility (TOMD), organic matter digestibility (OMD), neutral detergent fiber digestibility (NDFD), metabolizable energy (ME) compound and rumen fermentation parameters, carbon dioxide (CO<sub>2</sub>) and methane (CH<sub>4</sub>) gas production of the sainfoin (*Onobrychis sativa* L.) hay. *In vitro* gas production technique was used to determine the effects of different doses of GO on rumen fermentation, OMD and metabolic energy (ME) level. GKMS and NDFS contents of sainfoin hay were determined by Daisy incubator technique. The addition of GO significantly decreased the *in vitro* gas production, OMD, NDFD, ME, total volatile fatty acids content (VFA), acetic acid (AA), propionic acid (PA), butyric acid (BA) and the other volatile fatty acids levels of sainfoin hay (P<0.01). In addition, the addition of GO at different doses to the rumen fluid also reduced the production of CH<sub>4</sub> and CO<sub>2</sub> production (P <0.01). As a result, *in vitro* gas production, rumen fermentation, nutrient digestion, methane and carbon dioxide production on the most adverse effect garlic oil dose was found to be 1600 mg / L RF. It was concluded that it would be appropriate to use low doses (400 mg / L RF) because of the high GO doses that affect rumen fermentation and the digestion of feed.

Keywords: Garlic oil, *in vitro* gas production, methane, rumen fermentation, sainfoin hay

## Giriş

Hayvancılık sektöründe hastalıkları, metabolik bozuklukları ve yemden yararlanmayı artırmak için antibiyotikler yaygın olarak kullanılmıştır (20, 23). Ancak son yıllarda hayvanlarda antibiyotik kullanımı, insan sağlığı için risk oluşturabilecek dirençli bakterilerin

gelişmesine yol açması nedeniyle Avrupa Birliği 2003 yılında (EU regulation no.1831/2003 of the European Parliament and of the Council of 22 September 2003) aldığı karar gereği 2006 Ocak ayından sonra hayvan beslemede gelişmeyi teşvik edici antibiyotik kullanımını yasaklamıştır (15).

Bu sorunu çözmek için antibiyotiklere alternatif olabilecek yem katkı maddelerinin geliştirilmesine yönelik çalışmalar artmıştır. Bu çalışmalar sonucu aromatik bitki ve bu bitkilerden izole edilen esansiyel yağların antibiyotiklere alternatif olabilecekleri ortaya konulmuştur (11, 14, 23, 36). Esansiyel yağların çeşitli mikroorganizmalara karşı bakterisit, fungusit ve antiparazitik etkiye sahip oldukları bildirilmektedir (5, 10, 11, 12, 36). Bu yağların antimikrobiyal mekanizmaları henüz tam olarak aydınlatılmamasına rağmen, mikroorganizmaların hücre zarı lipid (lipofilik) tabakasının (3), kimyasal yapısı (5, 13) ile hücre duvarı enzimlerini olumsuz etkileyerek yapılarını bozdukları ve gelişmelerini sınırlamak suretiyle etki yaptıkları bildirilmektedir (4, 5). Esansiyel yağların antimikrobiyal, özellikleri dışında, antioksidan, antikanserijen ve immün sistemini geliştirici özellik göstermeleri, bu ürünlerin hayvan beslemede kullanımlarına imkan vermiştir. (5, 24). Ayrıca esansiyel yağların rumen fermantasyonunun kontrolünde kullanılması da gündeme gelmiştir (20, 36, 38). Bu esansiyel yağlardan birisini sarımsak yağı (SY) oluşturmaktadır. Sarımsak yağı ezilmiş sarımsağın (*Allium sativa*) 100°C'de damıtılmasıyla elde edilmektedir. Sarımsak yağının gram-negatif ve pozitif bakterilere karşı antibakteriyel etki gösterdiği bildirilmektedir (10, 42). Sarımsak yağının ana bileşenini allisin (C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>S<sub>2</sub>O), dialil sülfür (C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>S), dialil disülfür (C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>S<sub>2</sub>), allil merkaptan (C<sub>3</sub>H<sub>6</sub>S) ve tiyosülfinatlar gibi bileşikler oluşturmaktadır (10, 29).

Sarımsak yağı ile ilgili yapılan çalışmalarda SY'nın rumen mikrobiyal aktiviteyi uyardığı (31), bazı çalışmalarda ise rumen fermantasyonunu sınırlayarak olumsuz etki gösterdiği bildirilmektedir (10, 21, 24). Sarımsak yağının *in vitro* gaz üretimi (6, 26, 39), rumen sıvısı UYA (6, 10) ve metan (CH<sub>4</sub>) üretimini azalttığını (6, 10, 28, 31, 39), rumen NH<sub>3</sub>-N'nu ise etkilemediği bildirilmiştir (10, 20). Cardozo ve ark., (12) ile Blanch ve ark., (6)'ı ise SY'nın NH<sub>3</sub>-N'nu düşürdüğünü bildirmişlerdir. Ayrıca SY'nın yemlerin sindirimini olumsuz etkilediği yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur (6, 39).

Günümüze kadar yapılan çalışmalar SY'nın rumen ortamına etkisinin hem olumlu hem de olumsuz etki gösterdiği bildirilmektedir. Ayrıca SY'nın hangi dozlarda kullanılması gerektiğiyle ilgili sınırlı bilgi mevcuttur. Bu durumu ortaya koymak için SY ve farklı dozlarının (0, 100, 200, 400, 800, 1200 ve 1600 mg/L RS) *in vitro* gaz üretimi, besin maddeleri sindirimi, rumen fermantasyonu (pH, TUYA, NH<sub>3</sub>-N) ile metan (CH<sub>4</sub>) gazı üretimi üzerine olan etkilerini saptamak ve ruminant beslemede önerilecek SY dozunu saptamak amacıyla düzenlenmiştir.

### Materyal ve Metot

**Yem ve hayvan materyali:** Araştırmanın yem materyalini korunga kuru otu (KKO) oluşturmuştur.

Korunga kuru otu 1 mm elek çapına sahip değirmende öğütülmüş ve analizlerde kullanılmıştır. Araştırmada kullanılan rumen sıvısı yaklaşık 1 yaşlarında kesimi yapılan 3 baş Kıvırcık ırkı koyundan Bursam Et Entegre San. Tic. Ltd Şti'nin 26.07.2018 yazılı kararı ile alınmıştır. Koyunlar kesim öncesi %70 kaba yem (çayır-mera otu) ve %30 yoğun yem temeline dayanan rasyonla yemlenmişlerdir.

***In vitro* gaz üretim tekniğinin uygulanması:** Korunga kuru otunun *in vitro* gaz üretimi, organik madde sindirimi (OMS) ve metabolik enerjilerinin (ME) saptanmasında Menke ve Steingass (33) tarafından geliştirilen "*in vitro* gaz üretim tekniği" kullanılmıştır. *In vitro* gaz üretiminin saptanması için 100 mL'lik özel cam şırıngalar (Model Fortuna, Häberle Laborotechnik, Lonsee-Ettlenschief, Germany) kullanılmıştır. Şırıngalara yaklaşık kuru madde üzerinden 200±10 mg yem örneği ile 0, 100, 200, 400, 800, 1200 ve 1600 mg/L RS düzeylerinde SY olacak şekilde hesaplanan miktarlarda 5 tekerrür olarak konmuştur. Cam şırıngaların üzerine Menke ve ark. (32)'nin bildirdikleri yöntemle göre hazırlanmış RS/tampon çözeltisinden yaklaşık 30 mL ilave edilmiştir. Daha sonra cam şırıngalar 39°C'ye ayarlanmış su banyosunda inkübasyona alınmış ve sırasıyla; 3, 6, 12, 24, 48, 72 ve 96. saatlerdeki *in vitro* gaz üretim miktarları ölçülmüştür.

İnkübasyonun 96. saatinde şırıngalar içerisindeki rumen sıvısında pH, UYA ve NH<sub>3</sub>-N ile karbondioksit (CO<sub>2</sub>) ve metan (CH<sub>4</sub>) gazları saptanmıştır. Karbondioksit ve CH<sub>4</sub> gazları rumen sıvısı bireysel UYA'leri kullanılarak aşağıdaki eşitliklerle hesaplanmıştır (7).

CO<sub>2</sub>, mmol/L = Asetik asit/2 + Propiyonik asit/4 + 1.5 x Butirik asit

CH<sub>4</sub>, mmol/L = (Asetik asit + 2 x Butirik asit) - CO<sub>2</sub> (UYA'nin konsantrasyonu mmol olarak alınmıştır).

Korunga otunun organik madde sindirimi (OMS) ve metabolik enerji (ME) içerikleri Menke ve Steingass (33)'in bildirdikleri aşağıdaki eşitlikler ile hesaplanmıştır.

OMS, % = 15.38 + 0.8453 x GÜ + 0.0595 x HP + 0.0675 x HK

ME, MJ/kg KM = 2.20 + 0.1357 x GÜ + 0.0057 x HP + 0.0002859 x HY<sup>2</sup>

(GÜ: inkübasyonun 24 saatindeki net gaz üretimi (mL/200 mg KM yem), HP: ham protein, HY: ham yağ ve HK: ham kül ise g/kg KM olarak alınmıştır).

Korunga kuru otunun gerçek kuru madde ve nötr deterjan lif sindirimi Ankom Daisy<sup>II</sup> inkübatör cihazı kullanılarak saptanmıştır (ANKOM Technology Corp., Fairport, NY, USA, 2008).

**Kimyasal analizler:** Korunga kuru otunun kuru madde, ham protein, ham yağ ve ham kül analizi AOAC (2)'a göre, hücre duvarı bileşenlerinden nötr deterjan lif (NDF), asit deterjan lif (ADF) ve asit deterjan lignin (ADL) analizi Van Soest ve ark. (47) tarafından bildirilen

yöntemlere göre ANKOM 200 Fiber Analyzer cihazı ile saptanmıştır.

Rumen sıvısı pH'sı dijital pH metre cihazıyla (Sartorius PB-20), amonyak azotu (NH<sub>3</sub>-N) kjeldahl metodu ile Blümmel ve ark. (7)'nin bildirdikleri yöntemle göre, rumen UYA ise Wiedmeier ve ark. (48)'nin bildirmiş oldukları yöntem kullanılarak gaz kromatografi cihazıyla saptanmıştır.

**İstatistik analizler:** Araştırmadan verilerinin istatistiki olarak değerlendirilmesinde varyans analizi (45), veriler arası görülen farklılıkların önem düzeylerinin saptanması Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi ile belirlenmiştir (44).

### Bulgular

#### Korunga kuru otunun kimyasal bileşimleri:

Araştırmada kullanılan KKO'nun besin maddeleri bileşimi saptanmış ve Tablo 1'de verilmiştir. Korunga otu organik madde, ham kül, ham protein, ham yağ, NDF, ADF ve ADL içerikleri sırasıyla; %93.12, 6.88, 16.84, 3.50, 53.78, 37.97 ve 10.05 olarak saptanmıştır.

**Tablo 1.** Korunga otunun kimyasal bileşimi, %, (n=5).

**Table 1.** Chemical composition of sainfoin hay, %, (n=5).

Besin maddeleri	%
Organik maddeler	93.12
Ham kül	6.88
Ham protein	16.84
Ham yağ	3.50
Nötr deterjan lif, (NDF)	53.78
Asit deterjan lif, (ADF)	37.97
Asit deterjan lignin, (ADL)	10.05
Selüloz	15.81
Hemiselüloz	27.92

**Tablo 2.** Sarımsak yağı ve farklı dozlarının *in vitro* gaz üretimine etkisi, (mL).

**Table 2.** Effects of garlic oil and different doses on *in vitro* gas production, (mL).

İnkübasyon süresi, saat	Sarımsak yağı, mg/L RS							
	Kontrol (0)	100	200	400	800	1200	1600	SH
3	22.05 <sup>a</sup>	20.79 <sup>a</sup>	17.17 <sup>b</sup>	14.96 <sup>c</sup>	11.78 <sup>d</sup>	10.64 <sup>de</sup>	9.54 <sup>e</sup>	0.678
6	39.74 <sup>a</sup>	38.74 <sup>a</sup>	36.25 <sup>b</sup>	29.43 <sup>c</sup>	22.94 <sup>d</sup>	19.45 <sup>e</sup>	16.69 <sup>f</sup>	0.963
12	54.23 <sup>a</sup>	52.15 <sup>a</sup>	48.86 <sup>b</sup>	43.76 <sup>c</sup>	40.15 <sup>d</sup>	36.66 <sup>e</sup>	33.06 <sup>f</sup>	1.029
24	66.18 <sup>a</sup>	62.89 <sup>b</sup>	58.91 <sup>c</sup>	52.63 <sup>d</sup>	46.99 <sup>e</sup>	42.71 <sup>f</sup>	40.58 <sup>f</sup>	0.945
48	70.16 <sup>a</sup>	69.99 <sup>a</sup>	65.01 <sup>b</sup>	57.59 <sup>c</sup>	50.71 <sup>d</sup>	46.55 <sup>e</sup>	44.43 <sup>e</sup>	0.899
72	74.27 <sup>a</sup>	72.29 <sup>a</sup>	67.35 <sup>b</sup>	62.33 <sup>c</sup>	54.84 <sup>d</sup>	50.39 <sup>e</sup>	48.51 <sup>e</sup>	0.828
96	76.65 <sup>a</sup>	73.06 <sup>b</sup>	68.99 <sup>c</sup>	63.13 <sup>d</sup>	56.07 <sup>e</sup>	52.19 <sup>f</sup>	49.90 <sup>f</sup>	0.996

SH: Standart hata; Aynı satırda farklı harfler ile gösterilen ortalamalar arası farklılıklar önemlidir (P<0.01).

**Sarımsak yağının *in vitro* gaz üretimi üzerine etkisi:** Sarımsak yağı ve farklı dozlarının KKO'nun *in vitro* gaz üretimi üzerine etkisi Tablo 2'de verilmiştir. Rumen sıvısına farklı dozlarda SY ilavesi KKO'nun *in vitro* gaz üretimini önemli düzeyde düşürmüştür (P<0.01). Sarımsak yağı dozlarına bağlı olarak 96. saat *in vitro* gaz üretimi 76.65 ile 49.90 mL/200 mg KM arasında değişmiş ve en düşük 49.90 mL ile 1600 mg SY/L RS ilave edilen grupta saptanmıştır.

**Sarımsak yağının besin maddeleri sindirimi ve ME üzerine etkisi:** Sarımsak yağı ve farklı dozlarının KKO'nun *in vitro* koşullarda besin maddeleri sindirimi ve metabolik enerji (ME) üzerine etkisi saptanmış ve Tablo 3'te verilmiştir. *In vitro* koşullarda rumen sıvısına SY ve farklı dozlarının ilavesi, KKO'nun GKMS, OMS ve NDFS içerikleri önemli düzeyde etkilemiştir (P<0.01). Rumen sıvısına artan dozlarda SY ilavesi yemlerin GKMS, OMS ve NDFS'in düşürmüştür (P<0.01).

**Sarımsak yağının rumen fermantasyonu üzerine etkisi:** Sarımsak yağı ve farklı dozlarının rumen sıvısına ilavesinin rumen fermantasyon özellikleri üzerine etkisi Tablo 4'te verilmiştir. Sarımsak yağı ve farklı dozlarının rumen sıvısına ilavesi TUYA, asetik, propiyonik ve butirik asitler ile NH<sub>3</sub>N içeriklerini önemli düzeyde düşürmüştür (P<0.01). Rumen pH'sı ise artış göstermiş ve rumen fermantasyon parametreleri üzerine en etkili SY dozunun 1600 mg SY/L RS olduğu saptanmıştır (P<0.01).

**Sarımsak yağının karbondioksit (CO<sub>2</sub>) ve metan (CH<sub>4</sub>) gazı üretimine etkisi:** Rumen sıvısına SY ve farklı dozları ilavesinin CO<sub>2</sub> ve CH<sub>4</sub> gazı üretimi üzerine etkisi Tablo 5'te verilmiştir. Rumen sıvısına ilave edilen SY dozu artışına bağlı olarak *in vitro* CO<sub>2</sub> ve CH<sub>4</sub> gazı üretimi önemli düzeyde düşmüştür (P<0.01).

**Table 3.** Sarımsak yağı ve farklı dozlarının *in vitro* koşullarda besin maddeleri sindirimi ve ME üzerine etkisi.  
**Table 3.** Effect of garlic oil and different doses on nutrient digestion and ME in *in vitro* conditions.

Parametreleri	Sarımsak yağı, mg/L RS							
	Kontrol (0)	100	200	400	800	1200	1600	SH
GKMS, %	73.56 <sup>a</sup>	71.89 <sup>ab</sup>	69.40 <sup>b</sup>	63.21 <sup>c</sup>	57.69 <sup>d</sup>	51.39 <sup>e</sup>	45.68 <sup>f</sup>	1.165
OMS, %	85.98 <sup>a</sup>	83.21 <sup>b</sup>	79.84 <sup>c</sup>	74.53 <sup>d</sup>	69.77 <sup>e</sup>	66.14 <sup>f</sup>	64.34 <sup>f</sup>	0.830
NDFS, %	66.59 <sup>a</sup>	66.95 <sup>a</sup>	60.07 <sup>b</sup>	53.06 <sup>c</sup>	48.91 <sup>d</sup>	43.83 <sup>e</sup>	42.27 <sup>e</sup>	1.272
ME, MJ/kg KM	12.49 <sup>a</sup>	12.04 <sup>b</sup>	11.50 <sup>c</sup>	10.65 <sup>d</sup>	9.89 <sup>e</sup>	9.30 <sup>f</sup>	9.01 <sup>f</sup>	0.133

GKMS: Gerçek kuru madde sindirimi; OMS: Organik madde sindirimi; NDFS: Nötr deterjan lif sindirimi; ME: Metabolik enerji. SH: Standart hata; Aynı satırda farklı harfler ile gösterilen ortalamalar arası farklılıklar önemlidir (P<0.01).

**Table 4.** Sarımsak yağı ve farklı dozlarının rumen fermantasyon özelliklerine etkisi.  
**Table 4.** Effects of garlic oil and different doses on rumen fermentation properties.

Rumen sıvısı parametreleri	Sarımsak yağı, mg/L RS							
	0	100	200	400	800	1200	1600	SH
pH	6.05 <sup>e</sup>	6.14 <sup>e</sup>	6.16 <sup>e</sup>	6.34 <sup>d</sup>	6.43 <sup>c</sup>	6.52 <sup>b</sup>	6.64 <sup>a</sup>	0.027
NH <sub>3</sub> -N, mg N/100 mL	38.05 <sup>a</sup>	36.43 <sup>a</sup>	31.49 <sup>b</sup>	27.50 <sup>b</sup>	24.95 <sup>d</sup>	21.47 <sup>e</sup>	18.43 <sup>f</sup>	0.992
TUYA, mmol/L	116.23 <sup>a</sup>	107.53 <sup>b</sup>	103.72 <sup>b</sup>	94.46 <sup>c</sup>	84.81 <sup>d</sup>	73.93 <sup>e</sup>	69.10 <sup>e</sup>	2.496
Asetik asit, mmol/L	62.20 <sup>a</sup>	57.64 <sup>ab</sup>	55.13 <sup>b</sup>	47.71 <sup>c</sup>	40.04 <sup>d</sup>	39.19 <sup>d</sup>	39.09 <sup>e</sup>	2.279
Propiyonik asit, mmol/L	26.06 <sup>a</sup>	23.72 <sup>b</sup>	22.86 <sup>bc</sup>	21.62 <sup>cd</sup>	20.81 <sup>de</sup>	20.22 <sup>ef</sup>	19.64 <sup>f</sup>	0.679
Butirik asit, mmol/L	17.58 <sup>a</sup>	16.55 <sup>b</sup>	16.43 <sup>b</sup>	17.10 <sup>b</sup>	16.31 <sup>b</sup>	10.99 <sup>c</sup>	7.55 <sup>d</sup>	0.994
DUYA, mmol/L	10.39 <sup>a</sup>	9.61 <sup>ab</sup>	9.30 <sup>b</sup>	8.03 <sup>c</sup>	7.64 <sup>c</sup>	3.54 <sup>d</sup>	2.86 <sup>d</sup>	0.466
Asetik asit/propiyonik asit	2.39 <sup>ab</sup>	2.43 <sup>a</sup>	2.41 <sup>a</sup>	2.20 <sup>b</sup>	1.92 <sup>c</sup>	1.94 <sup>c</sup>	1.99 <sup>c</sup>	0.084

NH<sub>3</sub>-N: Amonyak azotu; TUYA: Toplan uçucu yağ asidi; DUYA: Diğer uçucu yağ asitleri; AA/PP: asetik asit/propiyonik asit. SH: Standart hata; Aynı satırda farklı harfler ile gösterilen ortalamalar arası farklılıklar önemlidir (P<0.01).

**Table 5.** Sarımsak yağı ve farklı dozlarının karbondioksit (CO<sub>2</sub>) ve metan (CH<sub>4</sub>) üretimi üzerine etkisi.  
**Table 5.** Effects of garlic oil and different doses on carbon dioxide (CO<sub>2</sub>) and methane (CH<sub>4</sub>) production.

Parametreleri	Sarımsak yağı, mg/L RS							
	Kontrol (0)	100	200	400	800	1200	1600	SH
CO <sub>2</sub> , mmol/L	63.99 <sup>a</sup>	59.58 <sup>b</sup>	57.93 <sup>bc</sup>	56.22 <sup>cd</sup>	55.64 <sup>d</sup>	41.13 <sup>e</sup>	35.76 <sup>f</sup>	0.878
CH <sub>4</sub> , mmol/L	33.38 <sup>a</sup>	31.17 <sup>b</sup>	30.07 <sup>b</sup>	27.44 <sup>c</sup>	24.03 <sup>d</sup>	20.03 <sup>e</sup>	18.39 <sup>e</sup>	0.671

SH: Standart hata; Aynı satırda farklı harfler ile gösterilen ortalamalar arası farklılıklar önemlidir (P<0.01).

### Tartışma ve Sonuç

Korunga otunun organik madde, ham kül, ham protein, ham yağ, NDF, ADF ve ADL içerikleri sırasıyla; %93.12, 6.88, 16.84, 3.50, 53.78, 37.97 ve 10.05 olarak saptanmış ve ham besin maddeleri bileşimi Deniz ve ark. (18), Karabulut ve ark. (25) ve NRC (35)'nin bildirdikleri besin maddeleri bileşimi ile benzer bulunmuştur.

Rumen sıvısına farklı dozlarda SY ilavesi KKO'nun *in vitro* gaz üretimini tüm inkübasyon saatlerinde düşürmüştür (P<0.01). Sarımsak yağı dozlarına bağlı olarak 96. saat *in vitro* gaz üretimi 76.65 ile 49.90 mL/200 mg KM arasında değişmiş ve en düşük 49.90 mL ile 1600 mg SY/L RS ilave edilen grupta, en yüksek ise SY ilave edilmeyen kontrol grubunda saptanmıştır. Tüm

inkübasyon saatleri incelendiğinde 1200 ile 1600 mg SY/L RS dozlarının benzer etki gösterdiği saptanmıştır. Yapılan birçok çalışmada SY'nin *in vitro* gaz üretimini azalttığı bildirilmektedir (6, 26, 39, 43). Bu çalışmada saptanan bulgular Kılıç ve ark. (26) ve Blanch ve ark. (6)'nın bildirdikleri sonuçları desteklemektedir.

Rumen sıvısına SY ilavesinin *in vitro* gaz üretimini azaltması SY'da bulunan ve kükürt (S) içeren allisin ve dialil sülfürlerin antimikrobiyal aktivite göstermesi ile açıklanabilir (5, 19, 24). Sarımsak yağında bulunan organik sülfürlü (S) bileşiklerin (allisin, dialil sülfür, dialil disülfür ve dialil trisülfür) yapısında bulunan S atomlarının mikroorganizma hücre zarı ve içi protein ile amino asitlere bağlanarak fonksiyonlarını bozduğu, buna

bağlı olarak da gram pozitif ve negatif bakteriler ile bazı patojenlerin gelişmesini önlediği ortaya konmuştur (5, 10, 19, 21, 40, 43). Aynı mekanizma ile rumen mikroorganizmalarının gelişmesini de sınırladığı bildirilmektedir (5, 19, 31). Rumen mikroorganizmalarının sınırlanması *in vitro* gaz üretimini azaltmıştır.

*In vitro* koşullarda rumen sıvısına SY ve farklı dozlarının ilavesi, KKO'nun GKMS, OMS ve NDFS içerikleri sırasıyla; %73.56-45.68, %85.98.79-64.34 ve %66.59-42.27 arasında değişmiş, SY ve dozları arasındaki farklılıklar önemli bulunmuştur ( $P<0.01$ ). Rumen sıvısına artan dozlarda SY ilavesi yemlerin GKMS, OMS ve NDFS'ni düşürmüştür. Besin maddeleri sindirimi SY dozunun artışına bağlı olarak azalmış ve sindirimi 1200 ve 1600 mg SY/L RS dozları daha fazla olumsuz etkilemiştir. Sarımsak yağı dozunun artışına bağlı olarak GKMS, OMS ve NDFS'inde ki azalma sırasıyla; %37.90, %25.17 ve %36.52 olmuştur.

Korunga kuru otunun ME düzeyi de SY ve dozlarının artışına bağlı olarak 12.49 ile 9.01 MJ/kg KM arasında değişmiş ve SY dozu artışa bağlı olarak azalmıştır ( $P<0.01$ ). En düşük ME düzeyi 1200 ve 1600 mg SY/L RS ilave edilen grupta saptanmış ve azalma oranı %27.86 olmuştur. Sarımsak yağı ve farklı dozlarının GKMS, OMS, NDFS ile ME içeriğindeki azalma SY'nin rumen fermantasyonunun sınırlanması ile açıklanabilir (5, 40, 43). Ayrıca OMS ve ME değerleri 24. saatte üretilen *in vitro* gaz hacmi (mL gaz/24 saat) temel alınarak hesaplanmıştır. Artan SY dozları rumen sıvısında antimikrobiyal etki göstererek (6, 26, 39, 43) daha az *in vitro* gaz oluşumuna yol açmış (Tablo 2) ve daha düşük OMS ve ME içeriğine neden olmuştur.

Sarımsak yağı dozu artışına bağlı olarak GKMS, OMS, NDFS ve ME içerikleri düşmüştür. Bu durumun sarımsak yağında bulunan kükürtlü bileşiklerin (allisin ve dialil sülfiterin) antimikrobiyal etki göstererek rumen fermantasyonunu sınırlamasından ileri geldiği söylenebilir (5, 19, 24, 34).

Araştırmada saptanan GKMS'de ki düşüş farklı yem ve sarımsak yağı dozu ile çalışan Busquet ve ark. (10), Roy ve ark. (43) ve Patra ve Yu (40)'nun araştırmalarında da olmuştur. Aynı durum NDFS için incelendiğinde sarımsak yağı ile çalışan Busquet ve ark. (10) ile Patra ve Yu (40)'nun bulguları araştırma bulguları ile benzer saptanmıştır. Anassori ve ark. (1) ile Roy ve ark. (43)'nin sarımsak yağı ile yapmış oldukları çalışmalarda SY'nin OMS ve NDFS'ni düşürdüğünü bildirmişlerdir. Ayrıca KKO'nun kuru madde sindirimi, OMS, NDFS ile ME içeriği KKO ile çalışan Deniz ve ark. (18)'nin sonuçları ile benzer bulunmuştur.

Sarımsak yağı ve farklı dozlarının rumen sıvısına ilavesi TUYA ile asetik, propiyonik ve butirik asitler önemli düzeyde düşürmüştür ( $P<0.01$ ) ve SY dozu artışına bağlı olarak rumen sıvısı TUYA'leri 116.23 ile 69.10

mmol/L arasında saptanmıştır. Rumen sıvısı asetik, propiyonik ve butirik asit düzeyi ise sırasıyla; 62.20-39.09 mmol/L, 26.06-19.64 mmol/L ve 17.58-7.55 mmol/L arasında değişmiştir. Toplam UYA, asetik, propiyonik ve butirik asitler üzerinde en etkili olan SY dozunun 1600 mg SY/L RS olduğu saptanmıştır ( $P<0.01$ ). Rumen sıvısına SY ilavesi rumen fermantasyonunu önemli düzeyde etkilemiştir. Bu durum SY'nin rumen mikroorganizmaları üzerine antibakteriyel (5, 19, 24) etki yapması ile açıklanabilir.

Roy ve ark. (43)'nin yapmış oldukları çalışmada rumen sıvısına 30, 300 ve 600 ppm SY ilave etmişler ve araştırma sonucunda SY dozları artışına bağlı olarak propiyonik asit artışı, TUYA'leri ile asetik asit oranının ise azaldığını bildirmişlerdir. Benzer bulgular Busquet ve ark. (10), Patra ve Yu, (39) ve Blanch ve ark. (6)'nın yapmış oldukları çalışmalarda da ortaya konmuştur. Araştırmada uçucu yağ asitlerine ait bulgular Busquet ve ark. (10), Patra ve Yu, (39) ve Blanch ve ark. (6)'nın bildirdikleri sonuçlarla uyumlu bulunmuştur. Araştırmada saptanan AA/PA oranı SY dozuna bağlı olarak 2.43 ile 1.92 arasında değişmiş ve SY dozları arası farklılıklar önemli bulunmuştur ( $P<0.01$ ). Belirlenen AA/PA oranı SY ile çalışan Zhu ve ark. (49) (3.31-3.28) ile Mateos ve ark. (30)'nin saptadıkları (3.63-2.60) değerlerden düşük, Chaves ve ark. (14)'nin bildirdikleri değerlerden (1.8-1.7) daha yüksek bulunmuştur. Araştırmacıların AA/PA oranı ile ilgili bildirdikleri farklılıklar kullanılan rasyon ve yem farklılıklarından kaynaklandığı söylenebilir.

Sarımsak yağı dozu artışına bağlı olarak rumen sıvısı pH düzeyi 6.05-6.64 arasında değişmiş ve SY dozları arası farklılıklar önemli bulunmuştur ( $P<0.01$ ). Sarımsak yağı rumen pH'sını artırmış ve en yüksek rumen pH'sı 1600 mg SY/L RS'da saptanmıştır. Sarımsak yağı dozu artışına bağlı olarak pH'nın artması, SY'nin rumen sıvısını asit karaktere dönüştüren uçucu yağ asitlerini azaltmasına bağlanabilir (Tablo 4). Araştırmada saptanan rumen pH değerleri SY ile çalışan Klevenhusen ve ark. (28), Anassori ve ark. (1), Patra ve Yu (40) ve Blanch ve ark. (6)'nin bulguları ile benzerlik göstermiştir.

Rumen sıvısı  $NH_3N$  düzeyi SY dozunun artmasına bağlı olarak düşmüştür ( $P<0.01$ ). Amonyak azotu SY dozu artışına bağlı olarak 38.05 ile 18.43 mg N/100 mL arasında değişmiş ve en yüksek  $NH_3N$  38.05 mg N/100 mL ile SY içermeyen kontrol grubunda, en düşük ise 1600 mg SY/L RS bulunan grupta (18.43 mg N/100 mL) saptanmıştır. Rumen sıvısı  $NH_3N$  düzeyindeki azalma başta rumen sıvısı mikroorganizmalarının etkinliğinin azalması yanında, esansiyel yağların amino asitlerin deaminasyonunu önlemesi ile açıklanabilmektedir (40, 43). Rumende amonyak ( $NH_3$ ) şeklinde azot kaybının düşmesi yemin enerji ve azotundan yararlanmayı artıracığı ve bu yolla hayvan beslemeye yarar sağlayacağı bildirilmektedir (1, 6, 40). Araştırmada saptanan rumen

sıvısı NH<sub>3</sub>N düzeyi SY ile çalışan Anassori ve ark. (1), Mateos ve ark. (30), Roy ve ark. (42), Patra ve Yu (36) ve Blanch ve ark. (6)'nın bildirdikleri sonuçlarda da olduğu gibi azalmış ve elde edilen bulgular araştırma sonuçları ile benzerlik göstermiştir.

Rumen sıvısına ilave edilen SY dozunun artması CO<sub>2</sub> gazı üretimini azaltmış ve SY dozları arasındaki farklılıklar önemli bulunmuştur (P<0.01). En yüksek 63.99 mmol/L ile kontrol grubunda, en düşük ise 35.76 mmol/L ile 1600 mg SY/L RS bulunan grupta saptanmıştır. *In vitro* CH<sub>4</sub> gazı üretimi ise SY dozu artışına bağlı olarak azalmış ve CH<sub>4</sub> gazı üretimi dozlarla bağlı olarak 33.38 ile 18.39 mmol/L arasında değişmiş ve SY dozları arası farklılıklar önemli bulunmuştur (P<0.01). Ruminantlarda CO<sub>2</sub> ve CH<sub>4</sub> üretimi rumende bulunan metanojenik bakteriler (arkealar) tarafından UYA ile hidrojen iyonlarını (H<sup>+</sup>) kullanılarak üretilmektedir (6, 17). Sarımsak yağı diğer rumen bakterileri gibi metanojenik bakteriler üzerine antimikrobiyal etki göstererek CH<sub>4</sub> gazı oluşumu düşmektedir. Metan en önemli sera gazlarından birisi olup, sera etkisi CO<sub>2</sub>'e göre 23 kat fazla olduğu bildirilmektedir (22, 27). Çiftlik hayvanlarının sera gazları emisyonuna katkılarının %18 olduğu bildirilmektedir. Bu kısmın yaklaşık %15'inin ruminant hayvanların rumen ve gübrelinde gerçekleşen fermentasyon kaynaklandığı bildirilmiştir (46).

Rumende yemlerin fermentasyonu sonucu üretilen metan gazı ile yem enerjisinin %2-15'sinin kayba uğradığı bildirilmektedir (9, 16, 27). Metan gazı yoluyla enerji kaybını azaltmada ve sera gazı emisyonunu düşürmede esansiyel yağların kullanılabileceği bildirilmektedir (5, 41). Sarımsak yağı da rumende metanojenik bakterilerin sayısını sınırlayarak, metan üretiminin azalmasına yol açtığı birçok çalışma tarafından ortaya konmuştur (5, 40, 43). Özellikle dünya nüfusunun artmasına bağlı olarak ruminant hayvan sayısındaki artışta, ruminant kaynaklı sera gazlarının (CH<sub>4</sub>, CO<sub>2</sub> ve azot-dioksit) artmasına yol açacağı düşünülmektedir. Sarımsak yağının metanojenik bakteriler başta olmak üzere, bazı rumen mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip oldukları bildirilmektedir (6, 27, 30, 43). Bu antimikrobiyal etki nedeniyle rumende besin maddelerinin (selüloz, nişasta, protein vb.) parçalanması azalacağı ve buna bağlı olarak rumende metan üretimi sınırlayarak olumlu etkisi olacağı bildirilmektedir (30, 31, 40, 43). Bu açıdan ruminantlardan kaynaklı sera gazlarının azaltılmasında SY'nin önemli bir kaynak olacağı söylenebilir.

Araştırmada rumen sıvısına farklı dozlarda SY ilavesi *in vitro* metan gazı üretimini önemli düzeyde azaltmıştır. Araştırma bulguları SY'nin farklı dozları ile çalışan Patra ve Yu (39), Mateos ve ark. (30), Patra ve Yu (40) ve Blanch ve ark. (6)'nın bulguları ile paralellik göstermiştir.

Sonuç olarak, *in vitro* koşullarda rumen sıvısına farklı dozlarda SY ilavesi *in vitro* gaz üretimini, GKMS, OMS ve NDFS ile ME içeriklerini düşürmüştür (P<0.01). Aynı şekilde rumen sıvısına artan seviyede ilave edilen SY rumen metabolitlerinden TUYA ve bireysel uçucu yağ asitleri ile NH<sub>3</sub>N, CO<sub>2</sub> ve CH<sub>4</sub> üretimini azaltmış, rumen pH'sını ise artırmıştır. Araştırmadan elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde, SY'nin NH<sub>3</sub>N düzeyini azaltarak azot kaybını önleyeceği ve metan şeklinde enerji kaybını azaltarak yem enerjisinden daha etkin yararlanılacağı söylenebilir. Ayrıca SY'nin ruminant beslemede kullanımı durumunda CO<sub>2</sub> ve CH<sub>4</sub> gibi sera gazları azalarak sera gazı emisyonuna katkı sağlayacağı düşünülmektedir. Araştırmadan elde edilen veriler ve bu alanda yapılan diğer araştırma verileri değerlendirildiğinde, ruminant beslemede verimi olumsuz etkilemeden kullanılacak SY dozunun ise düşük tutulması gerektiğini (100-400 mg SY/L RS) araştırma bulgularıyla ortaya konmuştur. Sarımsak yağının ruminant beslemede kullanımı ile ilgili çalışma sayısı son zamanlarda artmasına rağmen, bu konuda daha fazla sayıda *in vitro* ve *in vivo* çalışmaya gerek olduğu söylenebilir.

### Kaynaklar

1. **Anassori E, Dalir-Naghadeh B, Pirmohammadi R ve ark.** (2011): *Garlic: A potential alternative for monensin as a rumen modifier*. Livest Sci, **142**, 276-287.
2. **AOAC** (2000): *Official Methods of Analysis*. 17<sup>th</sup> ed. 5<sup>th</sup> rev. Association of Official Analytical Chemists. Arlington, VA, USA. 930-954
3. **Benchaar C, Calsamiglia S, Chaves AV ve ark.** (2008): *A review of plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production*. Anim Feed Sci Technol, **145**, 209-228.
4. **Benchaar, C, Chaves, A.V, Fraser, G.R ve ark.** (2007). *Effects of essential oils and their components on in vitro rumen microbial fermentation*. Can J Anim Sci, **87** (3), 413-419.
5. **Benchaar C, Greathead H** (2011): *Essential oils and opportunities to mitigate enteric methane emissions from ruminants*. Anim Feed Sci Technol, **166**, 338-355.
6. **Blanch M, Carro MD, Ranilla MJ ve ark.** (2016): *Influence of a mixture of cinnamaldehyde and garlic oil on rumen fermentation, feeding behavior and performance of lactating dairy cow*. Anim Feed Sci Technol, **219**, 313-323.
7. **Blümmel M, Steingass H, Becker K** (1997): *The relationship between in vitro gas production, in vitro microbial biomass yield and 15N incorporation and its implications for the prediction of voluntary feed intake of roughages*. Br J Nutr, **77**, 911-921.
8. **Blümmel M, Aiple KP, Steingass H ve ark.** (1999): *A note on the stoichiometrical relationship of short chain fatty acid production and gas evolution in vitro in feedstuffs of widely differing quality*. J Anim Physiol Anim Nutr, **81**, 157-167.
9. **Boadi D, Benchaar C, Chiquette J ve ark.** (2004): *Mitigation strategies to reduce enteric methane emissions from dairy cows: Update review*. Can J Anim Sci, **84**, 319-335.

10. **Busquet M, Calsamiglia S, Ferret A ve ark.** (2005): *Effect of garlic oil and four of its compounds on rumen microbial fermentation.* J Dairy Sci, **88**, 4393-4404.
11. **Calsamiglia S, Busquet M, Cardozo PW ve ark.** (2007): *Invited review: Essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation.* J Dairy Sci, **90**, 2580-2595.
12. **Cardozo PW, Calsamiglia S, Ferret A ve ark.** (2004): *Effects of natural plant extracts on ruminal protein degradation and fermentation profiles in continuous culture.* J Anim Sci, **82**, 3230-3236.
13. **Castillejos L, Calsamiglia S, Ferret A** (2006): *Effect of essential oil active compounds on rumen microbial fermentation and nutrient flow in in vitro systems.* J Dairy Sci, **89**, 2649-2658.
14. **Chaves AV, Stanford K, Dugan MER ve ark.** (2008): *Effects of cinnamaldehyde, garlic and juniper berry essential oils on rumen fermentation, blood metabolites, growth performance, and carcass characteristics of growing lambs.* Livest Sci, **117**, 215-224.
15. **Chesson A** (2006): *Phasing out antibiotic feed additives in the EU: worldwide relevance for animal food production. Antimicrobial Growth Promoters-Where do We Go from Here?* Wageningen Academic Publishers, The Netherlands, pp. 69-81.
16. **Cobellis G, Tralbalza-Marinucci M, Yu Z** (2016): *Critical evaluation of essential oils as rumen modifiers in ruminant nutrition: A review.* Sci Total Environ, **545-546**, 556-568.
17. **Demeyer DI, Fiedler D, De Graeve KG** (1996): *Attempted induction of reductive acetogenesis into the rumen fermentation in vitro.* Reprod Nutr Dev, **36**, 233-240.
18. **Deniz S, Akdeniz H, Avcı M ve ark.** (2005): *Faklı devrelerde biçilen korunganın verim potansiyeli ile sindirilebilirlik ve enerji düzeylerinin in vivo ve vitro yöntemlerle belirlenmesi.* Vet Bil Derg, **21**, 3-4, 47-55.
19. **Fujisawa H, Watanabe K, Suma K ve ark.** (2009): *Antibacterial potential of garlic-derived allicin and its cancellation by sulfhydryl compounds.* Biosci Biotechnol Biochem, **73**, 1948-1955.
20. **Hodjatpanah AA, Danesh Msegaran M, Vakili AR** (2010): *Effects of diets containing monensin, garlic oil or turmeric powder on ruminal and blood metabolite responses of sheep.* J Anim Vet Adv, **9** (24): 3104-3108.
21. **Hodjatpanah-montazeri A, Danesh Mesgaran M, Vakili A ve ark.** (2014): *In vitro effect of garlic oil and turmeric extract on methane production from gas test medium.* Annu Res Rev Biol, **4**, 1439-1447.
22. **IPCC** (Intergovernmental Panel on Climate Change) (2007): *IPCC Fourth Assessment Report.*
23. **Jouany JP, Morgavi DP** (2007): *Use of "natural" products as alternatives to antibiotic feed additives in ruminant production.* Animal, **1**, 1443-66.
24. **Kallel F, Driss D, Chaari F ve ark.** (2014): *Garlic (Allium sativum L.) husk waste as a potential source of phenolic compounds: Influence of extracting solvents on its antimicrobial and antioxidant properties.* Ind Crops Prod, **62**, 34-41.
25. **Karabulut A, Canbolat O, Kalkan H ve ark.** (2007): *Comparison of in vitro gas production, metabolizable energy, organic matter digestibility and microbial protein production of some legume hays.* Asian-Australas J Anim Sci, **20**, 517-522.
26. **Kılıç U, Boğa M, Görgülü M ve ark.** (2011): *The effects of different compounds in some essential oils on in vitro gas production.* J Animal Feed Sci, **20**, 626-636.
27. **Kim ET, Kim CH, Min KS ve ark.** (2012): *Effects of plant extracts on microbial population, methane emission and ruminal fermentation characteristics in in vitro.* Asian-Australas J Anim Sci, **25**, 806-811.
28. **Klevenhusen F, Zeitz JO, Duval S ve ark.** (2011): *Garlic oil and its principal component diallyl disulfide fail to mitigate methane, but improve digestibility in sheep.* Anim Feed Sci Technol, **166-167**, 356-363.
29. **Lawson L** (1996): *The composition and chemistry of garlic cloves and processed garlic. Pages 37-107 in Garlic. The Science and Therapeutic Application of Allium sativum L. and Related Species.* H. P. Koch and L. D. Lawson, ed. Williams & Wilkins, Baltimore, MD.
30. **Mateos I, Ranilla MJ, Tejido ML ve ark.** (2013): *The influence of diet type (dairy versus intensive fattening) on the effectiveness of garlic oil and cinnamaldehyde to manipulate in vitro ruminal fermentation and methane production.* Anim Prod Sci, **53**, 299-307.
31. **Mbiriri DT, Cho S, Mamvura CI ve ark.** (2015): *Assessment of Rumen Microbial Adaptation to Garlic Oil, Carvacrol and Thymol Using the Consecutive Batch Culture System.* J Vet Sci Anim Husband, **4**, 1-7.
32. **Menke KH, Raab L, Salewski A ve ark.** (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.* J Agric Sci, **93**, 217-222.
33. **Menke KH, Steingass H** (1988): *Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid.* Anim Res Dev, **28**, 9-55.
34. **Munchberg U, Anwar A, Mecklenburg S ve ark.** (2007): *Polysulfides as biologically active ingredients of garlic.* Org Biomol Chem, **5**, 1505-1518.
35. **NRC (National Research Council)** (2007): *Nutrient Requirements of Small Ruminants: Sheep, Goats, Cervids, and New World Camelids.* Washington, DC: The National Academies Press.
36. **Panthee A, Matsuno A, Al-Mamun M ve ark.** (2017): *Effect of feeding garlic leaves on rumen fermentation, methane emission, plasma glucose kinetics, and nitrogen utilization in sheep.* J Anim Sci Technol, **59**, 1-9.
37. **Patra AK** (2011): *Effects of essential oils on rumen fermentation, microbial ecology and ruminant production.* Asian J Anim Vet Adv, **6**, 416-428.
38. **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.
39. **Patra AK, Yu Z** (2012): *Effects of essential oils on methane production and fermentation by, and abundance and diversity of, rumen microbial populations.* Appl Environ Microbiol, **78**, 4271-4280.
40. **Patra A, Yu Z** (2015): *Effects of adaptation of in vitro rumen culture to garlic oil, nitrate, and saponin and their combinations on methanogenesis, fermentation, and abundances and diversity of microbial populations.* Front Microbiol, **6**, 1-11.

41. **Ratika K, James Singh RK** (2018). *Plant derived essential oil in ruminant nutrition*. Int J Curr Microbiol Appl Sci, **7**, 1747-1753.
42. **Reuter HD, Koch HP, Lawson D** (1996): *Therapeutic effects and applications of garlic and its preparations*. In: Lawson, L.D. and Koch, H.P, Eds, *Garlic: The Science and Therapeutic Applications of Allium sativum L. and Related Species*, 2<sup>nd</sup> Edition, William & Wilkins, Baltimore, 135-212.
43. **Roy D, Tomar SK, Sirohi SK ve ark.** (2014): *Efficacy of different essential oils in modulating rumen fermentation in vitro using buffalorumen liquor*. Vet World, **7**, 213-218.
44. **SAS (Statistical Analysis Systems)** (2004): *SAS procedures guide. Release 9.1*. (SAS Institute Inc.: Cary, NC).
45. **Snedecor GW, Cochran WG** (1967): *Statistical Methods*, 7<sup>th</sup> Edition, Iowa State University Press, Ames.
46. **Takahashi J, Mwenya B, Santoso B ve ark.** (2005): *Mitigation of methane emission and energy recycling in animal agricultural systems*. Asian-Australas J Anim Sci, **18**, 1199-1208.
47. **Van Soest PJJ, Robertson JB, Lewis BA** (1991): *Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition*. J Dairy Sci, **74**, 3583-3597.
48. **Wiedmeier RD, Arambell MJ, Walters, JL** (1987): *Effect of orally administered pilocarpine on ruminal characteristics and nutrient digestibility in cattle*. J Dairy Sci, **70**, 284-289.
49. **Zhu Z, Mao S, Zhu W** (2012): *Effects of ruminal infusion of garlic oil on fermentation dynamics, fatty acid profile and abundance of bacteria involved in biohydrogenation in rumen of goats*. Asian-Australas J Anim Sci, **25**, 962-970.