

Kuzularda Rasyona *Yucca Schidigera* Tozu Katılması ve Günlük Dozunun Rumen Fermentasyonu ile Verime Etkilerinin Araştırılması

Abdullah ERYAVUZ^{1*}, İsmail KÜÇÜKKURT², Sinan İNCE³, Abdurrahman Fatih FİDAN⁴
Gülcan AVCI⁵, Tuba BÜLBÜL⁶

¹Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, Afyonkarahisar /TÜRKİYE

^{2,4,5}Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Afyonkarahisar /TÜRKİYE

³Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Afyonkarahisar /TÜRKİYE

⁶Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, Afyonkarahisar /TÜRKİYE

#Bu çalışma Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir.(Proje no:07.VF.13)

ÖZET

Bu araştırma, yeme ilave olarak *Yucca schidigera* (YS) katılması ve günlük verilme düzeyinin canlı ağırlık ve günlük canlı ağırlık artışı, rumen fermentasyonu, rumen protozoon sayısı ve kan oksidan-antioksidan dengedeki değişimler üzerine etkilerinin belirlenmesi amacıyla planlandı. Çalışmada, 10-12 aylık yaşta toplam 30 baş Pırlak ırkı erkek tokludan yararlanıldı. Hayvanlar, 60 gün süreyle her bir grupta 10 adet toklu bulunacak şekilde biri kontrol, ikisi deneme olmak üzere toplam 3 gruba ayrıldı. Kontrol grubunun karma yemine herhangi bir katkı yapılmazken; deneme gruplarından I. deneme grubuna 500 mg/kg günlük, II. deneme grubuna 1500 mg/kg her 3 günde bir YS tozu katılmıştır. Toplam 60 gün süren çalışmada, hayvanlardan 30 ve 60. günlerde alınan rumen içeriği örneklerinde pH, NH₃-N'ü ile protozoon sayısı ve yüzde oranları; kan malondialdehid (MDA), antioksidan aktivite (AOA), superoksid dismutaz (SOD) ve katalaz düzeyleri belirlendi. YS tozunun rumen pH ve rumen protozoon sayısı ile tür dağılımlarına etkisinin olmadığı, buna karşın rumen amonyak azotu düzeyini 30. ve 60. günlerde azalttığı tespit edildi. Araştırmada, YS tozunun her iki uygulamasının da kanda MDA düzeyini düşürdüğü, AOA'yi ise artırdığı, buna karşın antioksidan enzimlerin düzeylerine etkisinin olmadığı gözlemlendi. Sonuç olarak; YS tozunun rumen azot metabolizmasında olumlu etkiye sahip olduğu ve serbest radikallerin verdiği zararı azaltarak hayvanların sağlıklarının korunması ve verimlerinin devamında doğal bir yem katkı maddesi olarak kullanılabilmesine işaret etmektedir.

Anahtar Kelimeler: Oksidan-Antioksidan Denge , Rumen Fermentasyonu ,Yucca Schidigera

•••

Effects Of Supplementation of *Yucca Schidigera* to Diet and Its Daily Dose on Some Rumen and Blood Parameters, Live Weight Gain in Lambs

SUMMARY

This study was designed to investigate the effects of supplementation of *Yucca schidigera* (YS) and its daily dose to diet on live weight gain, rumen fermentation, rumen protozoal numbers and blood oxidant-antioxidant balance in lambs. In the study, thirty male lambs aged 10-12 months were used. The animals were equally divided into three groups contained 10 animals per group as control and two experimental groups throughout experimental period lasted 60 days. While the animals in the control group were fed with the basal diet, YS was supplemented 500 mg/kg daily to the basal diet of the experimental 1 group and 1500 mg /kg a three day to the basal diet of the experimental 2 group. In the study lasted 60 days totally, ruminal pH, NH₃-N and protozoal numbers were determined in the rumen content samples taken from animals at 30 and 60th days, whereas levels of malondialdehyde (MDA), antioxidant activity (AOA), superoxide dismutase (SOD) and catalase were measured in the blood samples. pH and protozoal numbers in rumen content were not changed by treatments, whereas rumen ammonia nitrogen concentration in the rumen content and MDA level in the blood was reduced significantly at 30th and 60th day by treatments. Treatments increased significantly AOA and unchanged SOD and catalase activity. We concluded that the supplementation of YS to diet as a natural feed additive has a positive effect on rumen nitrogen metabolism and in the protection of animal health by decreasing the oxidative damage caused by free radicals.

Key Words: Oxidant-Antioxidant Balance, Rumen Fermentation ,Yucca Schidigera

GİRİŞ

Büyüme uyarıcı maddeler olarak uzun yıllardır hayvan beslemede kullanılmakta olan antibiyotikler ve antimikrobiyel maddelerin, insanların patojen bakterilerinde direnç gelişimine yol açması ve hayvansal ürünlerde oluşturabileceği kalıntılardan dolayı tüketiciler tarafından bu tür ürünlere talep gün geçtikçe azalmaktadır (Jouany ve Morgavy, 2007, Patra ve Saxena 2009). Son yıllarda ürün özellikleri açısından tüketici isteminin de ön plana çıkmasıyla daha doğal ve insan sağlığına daha uygun ürün elde edilme istemi, besleme alanındaki yeni arayışları gündeme getirmiş, araştırmacıların pek çoğu dikkatlerini bitkisel besinlere yoğunlaştırmışlardır (Hart ve ark., 2008, Szumacher-Strabel ve Cieslak, 2010). Hayvancılıkta karlılığı artıran, ancak insan sağlığı açısından tehdit oluşturabilecek büyüme uyarıcı yem katkı maddelerinin önemli bir grubunu oluşturan antibiyotiklerin yerini alabilecek doğal ürünlerin ortaya konulması ve bunların kullanımının yaygınlaştırılması hem karlılığın devamı, hem de daha sağlıklı ürün elde edilmesi açısından günümüzün öncelikli konuları haline gelmiştir (Khorrami ve ark., 2015). Bu nedenle, doğal yem katkı maddelerine doğru bilim adamlarında ilgi oluşmakta ve son yıllarda bu alanda yapılan araştırmaların sayısı artmaktadır (Jouany ve Morgavi, 2007, Hart ve ark., 2008, Ciftci ve ark., 2010, Szumacher-Strabel ve Cieslak, 2010, Bodas ve ark., 2012, Khorrami ve ark., 2015).

Bazı bitkilerde bulunan ve genellikle antibesinsel faktör olarak düşünülen saponinlerin düşük oranda emilmeleri ve biyolojik etkilerini daha çok sindirim kanalında göstermelerinden dolayı, bilim adamları tarafından bir yem katkı maddesi olarak kullanılma olanakları üzerinde durulmuştur (Eryavuz, 2004, Nasri ve ark., 2011, Gümüş ve İmik, 2012, Szczechowiak ve ark., 2013). Bu bitkiler arasında YS bitkisi de yer almakta (Avcı ve ark., 2007, Gümüş ve İmik 2012) ve bu bitkinin rumen fermentasyonunu manipüle etme potansiyeline sahip olduğu bildirilmektedir (Bodas ve ark., 2012, Gümüş ve İmik, 2012). Bununla birlikte, bitkilerin ya da bunların ekstraktlarının kullanımına bağlı olarak zamanla rumen mikroorganizmalarının bitkilerde bulunan fitokimyasalları parçalayan enzim sistemleri geliştirebildikleri ve bitkinin oluşturduğu fermentasyonu manipüle etme etkisini ortadan kaldırdığı ileri sürülmektedir (Newbold ve ark., 1997; Eryavuz ve Dehority, 2004; Ivan ve ark., 2004; Eryavuz, 2004). Rumen mikroorganizmalarının saponinlere karşı adaptasyonlarından sakınmak için, saponinlerin yeme aralıklarla ilave edilmesi önerilmektedir (Newbold ve ark., 1997). Hayvan barınaklarından ve atıklarından amonyak emisyonlarını azaltmak için yeme 120 ila 240 ppm arasında YS ekstratının katılmasının tavsiye edildiği

(Lowett ve ark., 2006), buna karşın rumen fermentasyonunu manipüle etmek için 3000 ppm düzeyi gibi yüksek bir düzeyde ilave edilebileceği öne sürülmektedir (Lowett ve ark., 2006, van Zijderveld ve ark., 2011). Bununla birlikte, özellikle saponin içerikli bitkilerin yüksek düzeyde kullanılması aynı zamanda antinutrisyonel bir faktör olması nedeniyle toksik etkilere de yol açabilmektedir (Kaya ve Pirinçci, 2002). Bu nedenle, ruminantlarda saponinlerin düşük dozlarda günde veya yüksek dozlarda gün aşırı verilmesinin, bakterilerin adaptasyonunu olumsuz etkileyip etkilemediği ile yüksek ilavesinin olumsuz etkilerinin belirlenmesi önem arz etmektedir.

Bu araştırma, dünyada yaygın ticari kullanıma ulaşmış YS'nin yeme ilave olarak katılması ve günlük verilme düzeyinin; canlı ağırlık ve günlük canlı ağırlık artışı, rumen fermentasyonu, rumen protozoon sayısı ve kan oksidan-antioksidan dengedeki değişimler üzerine etkilerine bakarak kullanımının mümkün ve ekonomik olup olmadığını ortaya koyabilmek amacıyla planlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Araştırmanın hayvan materyalini, Afyon Kocatepe Üniversitesi Hayvancılık Araştırma ve Uygulama Çiftliği'nde yetiştirilen 30 adet yaklaşık 10-12 aylık yaşta Pırlak ırkı erkek toklu oluşturdu. Hayvanlar 60 gün süreyle her bir grupta 10 adet toklu bulunacak şekilde biri kontrol, ikisi deneme olmak üzere toplam 3 gruba ayrıldı. Gruplardaki hayvanların birbirine yakın doğumlu ve ağırlıkta olmasına dikkat edildi ve gruplar birbirleriyle temas kuramayacak şekilde ayrı bölmelere yerleştirildi. Araştırmada kullanılacak kontrol ve deneme grubunu oluşturan hayvanlar araştırma süresince temel rasyonla *ad libitum* beslendi. Araştırmada kaba yem olarak kuru ot ile % 16 ham protein ve 2698 kcal/kg metabolik enerji içeren konsantre yem kullanılmıştır. Konsantre yem; % 68 arpa, % 14 buğday kepeği, % 15.40 ayçiçeği küspesi, % 1.60 kireç taşı, % 0.70 tuz ve % 0.30 vitamin ve mineral karmasından oluşmuştur. Araştırmada kullanılan konsantre yem, Afyon Kocatepe Üniversitesi Mandacılık Araştırma Enstitüsü'ne ait karma yem ünitesinde hazırlanmış, kaba yem de buradan temin edilmiştir. Hayvanların günlük tüketebileceği yem miktarı, enerji ve besin madde gereksinimleri NRC (1985)'e göre hesaplanarak yaşama gereksinimlerinin 1.25 katı olacak şekilde ayarlanmıştır. Hayvanlar deneme süresince % 70 kaba yem ve % 30 konsantre yemden oluşan kaba yem ağırlıklı rasyon ile beslenmeye tabi tutulmuştur. Araştırmada kontrol grubunun konsantre yemine herhangi bir katkı yapılmazken; deneme gruplarından I. deneme grubuna 500 mg/kg günlük, II. deneme grubuna 1500 mg/kg her 3 günde bir *Yucca schidigera* (Sarsaponin 30®, Ekol Gıda A.Ş. İstanbul) tozu

katılmıştır. Deneme hayvanları 7 gün süreyle rasyona alıştırma dönemini takiben toplam 60 günlük esas araştırma süresince kendilerine tahsis edilen yemle beslendi. Yemleme sabah ve akşam olmak üzere günde iki öğün halinde yapılarak kaba ve konsantre yem aynı öğün içinde ayrı ayrı verilmiştir. Araştırmada kullanılan konsantre yem ile kaba yemin ham besin madde miktarları A.O.A.C (1990)'de bildirilen analiz metotlarına göre belirlenmiştir. Konsantre yem ile kaba yemin kuru madde esasına göre saptanan ham besin madde bileşimleri Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1: Araştırmada kullanılan konsantre ve kaba yemin ham besin madde bileşimleri (KM %)

Table 1: Chemical composition of the concentrate and roughage in the basal diet (% DM).

Ham Besin Maddeleri	Konsantre Yem	Kaba Yem
Kuru Madde	90.70	91,51
Ham Kül	4.22	6,54
Ham Protein	16.30	11,04
Ham Yağ	2.07	2,90
Ham Selüloz	9.48	33,70
Organik madde *	86.48	84,97
Azotsuz öz madde*	58.63	37,33

* : Hesap yoluyla bulunmuştur.

Hayvanlar deneme döneminin başlangıcında ve iki haftada bir bireysel olarak sabah yemlemesinden önce tartılarak canlı ağırlıkları ve tartımlar arasındaki farktan da canlı ağırlık artışları tespit edildi. Hayvanların önlerinde sürekli temiz içme suyu bulunduruldu.

Esas araştırma periyodunun birinci ve ikinci aylarında sabah yemlemesinden önce rumen örnekleri alındı. Alınan rumen içeriğinde protozoon sayısı ve identifikasyonu, pH ve amonyak düzeyleri belirlendi. İç çapı 5-6 mm olan rumen sondası ile özefagustan girilerek geniş hacimli enjektör yardımıyla rumen içeriği rumenin ventral kesesinden alındı ve alınan rumen örneklerinin pH'sı örnekler alındıktan hemen sonra dijital pH-metre ile ölçüldü. Rumen içeriğinde amonyak ticari kitler (Sigma AA0100- Ammonia assay kit) kullanılarak spektrofotometrik olarak (Eryavuz ve ark., 2003), protozoon sayıları Eryavuz ve Dehority, (2004)'nin bildirdikleri yöntemlere göre belirlendi.

Deneysel periyod boyunca 30. ve 60. günlerde hayvanların vena jugularisinden yeteri kadar kan örneği alındı. Kan örneklerinin plazmaları 3000 rpm'de 10 dk. santrifüj edilerek ayrıldı, eritrosit

paketleri ve plazmalar 1.5 ml'lik ependorf tüplere alınarak analizleri yapıncaya kadar -30°C'de saklandı. Eritrositlerin hazırlanması Witterbourn ve ark., (1975)'nin bildirdikleri yöntemle yapıldı.

Biyokimyasal Analizler

Süperoksid Dismutaz (SOD) Aktivitesinin Tayini

Reaksiyon ortamında enzimatik bir tepkime ile ortaya çıkan süperoksid gruplarının, ortamda bulunan nitroblue tetrazolium (NBT) indirgemesinin, örnekte bulunan SOD ile engellenmesi prensibine dayanır. Yöntemde süperoksid grupları üretimi ksantin-oksidad reaksiyona girerek maddeyi indirgemesi sonucunda, en yüksek absorbanasının 560 nm'de veren formazon oluşur. Ortama ilave edilen enzimin, üretilen grupları dismutasyona uğratması nispetinde NBT indirgeme tepkimesi yavaşlar ve sonuçta spektrofotometrede okunan absorban değerleri düşer. Dolayısı ile formazon oluşumunun baskılanmasının tayin edilmesiyle SOD aktivitesi dolaylı olarak belirlenir (Sun ve ark., 1988).

Katalaz (CAT) Aktivite Tayini

Hidrojen peroksit ışık spektrumunun UV alanında dalga boyunun azalmasıyla artan bir absorbsiyon gösterir. Uygun bir tampon içinde bulunan H₂O₂'nin örnekte bulunan CAT etkisi ile yıkılması sonucu bu maddenin 240 nm'de neden olduğu absorbansta azalma meydana gelir. Absorbansta meydana gelen azalma hızı CAT aktivitesi ile orantılıdır (Luck, 1955).

Malondialdehid (MDA) Tayini

Serbest radikaller sonucu oluşan peroksidasyon ürünlerinden MDA tayini, Draper ve Hadley'in (1990) çift kaynatma yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Metot, yağ asitlerinin peroksidasyonunda bir son ürün olan MDA (malondialdehit)'in, TBA ile reaksiyona girerek 532 nm dalga boyunda spektrofotometrik ölçümde maksimum absorban vermesi prensibine dayanmaktadır.

Antioksidan Aktivite (AOA) Tayini

Fe-EDTA kompleksi standart solusyonu Fenton reaksiyonu tarafından hidrojen peroksit ile reaksiyona girer, hidroksil radikallerinin oluşumuna izin verir. Bu reaktif oksijen radikalleri TBARS salınımı sonucunda benzoatı bozar. İnsan sıvısına eklenen antioksidanlar, TBARS üretiminin baskılanmasına sebep olur. Bu reaksiyon spektrofotometrik olarak ölçülür, renk gelişiminin baskılanması AOA olarak saptandı (Koracevic ve ark., 2001).

Redükte Glutasyon (GSH) Tayini

5-5'-ditiyobis [2-nitrobenzoik asit] [DTNB:3-karboksi-4-nitrofenil disülfid: Elman Ayıracağı] sülfidril

bileşikleri ile tepkimeye girdiğinde bir disülfid bileşiği olan sarı renkli kompleks yapı oluşturur. Bu sarı bileşiğin optik dansitesi 412 nm’de okunarak GSH miktarı saptandı (Beutler, 1984).

Araştırmada elde edilen gruplara ait verilerin istatistiki hesaplamaları ve grupların ortalama değerleri arasındaki farklılıkların önemliliği için Varyans analiz metodu, gruplar arası farkın önemlilik kontrolü için Duncan testi uygulanmıştır. Bu amaçla, SPSS paket programı kullanılmıştır.

BULGULAR

Yeme YS ilavesi ve günlük doz uygulamasının koyunlarda canlı ağırlık ile bazı rumen parametreleri ve kan oksidan/ antioksidan denge üzerine etkilerinin araştırıldığı ve toplam 60 gün süren bu çalışmada, uygulamaların; canlı ağırlık ve ortalama günlük canlı ağırlık artışına etkileri ile istatistiksel değerleri Tablo 2.’de, rumen parametrelerine etkileri Tablo 3’te ve kan oksidan-antioksidan dengeye etkileri ise Tablo 4’te verilmiştir.

Tablo 2: Koyunlarda günlük (500 ppm) ve 3 günde bir (1500 ppm) diyeteye ilave edilen YS’nin 30 ve 60. günlerdeki canlı ağırlık ve ortalama günlük canlı ağırlık artışlarına etkisi (n=10, \pm SE).

Table 2 : Effects of supplementation of *Yucca schidigera* to diet and its daily dose on body weight and daily gain in the lambs (n=10, mean \pm SE).

Parametre	Ölçüm	Kontrol	500 ppm YS	1500 ppm YS	P
CA*	0. gün	32.75 \pm 1.35	34.35 \pm 1.11	34.25 \pm 2.57	0.815
	30. gün	39.31 \pm 1.84	39.66 \pm 1.72	40.15 \pm 2.60	0.963
	60. gün	47.870 \pm 1.41	46.93 \pm 2.12	48.45 \pm 2.79	0.896
OGCAA**	0-30 gün	6.56 \pm 1.45	5.31 \pm 1.00	5.90 \pm 0.51	0.695
	30-60 gün	8.56 \pm 1.03	7.37 \pm 1.26	8.30 \pm 0.94	0.732
	0-60. gün	15.12 \pm 1.56	12.60 \pm 1.02	14.20 \pm 0.94	0.352

*:CA; Canlı ağırlık

** :OGCAA; Ortalama günlük canlı ağırlık artışı

Tablo 3. Koyunlarda günlük (500 ppm) ve 3 günde bir (1500 ppm) diyeteye ilave edilen YS’nin 30 ve 60. günlerdeki rumen pH, amonyak, protozoon sayısı, *Holotrich* ve *Entodiniumorph* oranı üzerine etkisi (n=10, \pm SE).

Table 3: Effects of supplementation of *Yucca schidigera* to diet and its daily dose on pH and ammonia N concentrations, protozoal numbers and the ratio of *Holotrich* and *Entodiniumorphid* protozoa in the rumen (n=10, mean \pm SE).

Parametre	Ölçüm	Kontrol	500 ppm YS	1500 ppm YS	P
Rumen pH	30. gün	7.16 \pm 0.10	6.99 \pm 0.07	6.98 \pm 0.04	0.177
	60. gün	7.08 \pm 0.04	7.12 \pm 0.03	7.01 \pm 0.04	0.136
Amonyak (mg/dl)	30. gün	24.52 \pm 1.26 ^a	20.44 \pm 1.05 ^b	17.52 \pm 0.74 ^b	0.000
	60. gün	21.05 \pm 1.39 ^a	18.10 \pm 1.03 ^{ab}	16.46 \pm 1.04 ^b	0.035
Protozoon sayısı (n/ml) (10 ⁴)	30. gün	58.79 \pm 7.3	71.01 \pm 12.2	48.75 \pm 6.2	0.221
	60. gün	45.70 \pm 6.19	61.83 \pm 6.38	56.11 \pm 8.8	0.318
Holotrich (%)	30. gün	5.37 \pm 1.41	11.17 \pm 2.41	9.14 \pm 2.08	0.123
	60. gün	15.88 \pm 1.83	13.83 \pm 1.08	17.71 \pm 1.15	0.233
Entodiniomorph (%)	30. gün	94.63 \pm 1.41	88.83 \pm 2.41	90.86 \pm 2.08	0.123
	60. gün	84.13 \pm 1.83	86.17 \pm 1.08	82.29 \pm 1.15	0.233

^{a,b}: Aynı satırdaki farklı harfler istatistiksel olarak farklıdır.

YS’nin gerek günlük gerekse üç günde bir dozunun yeme ilave edilmesinin canlı ağırlık ve ortalama günlük canlı ağırlık artışına etkisinin olmadığı bulundu. Benzer şekilde, uygulamaların rumen pH ve rumen protozoon sayısı ile tür dağılımlarına etkisinin olmadığı, buna karşın rumen amonyak azotu düzeyini her iki uygulamanın da önemli düzeyde azalttığı tespit edildi. Araştırmada, YS’nin her iki uygulamasının da kanda MDA düzeyini önemli düzeyde düşürdüğü, AOA’yi ise önemli düzeyde artırdığı, buna karşın antioksidan enzimlerin düzeylerine etkisinin olmadığı gözlemlendi.

Tablo 4: Koyunlarda günlük (500 ppm) ve 3 günde bir (1500 ppm) diyetle ilave edilen YS'nin 30 ve 60. günlerdeki kan MDA ve GSH ile eritrosit SOD ve CAT aktiviteleri üzerine etkisi (n=10, \pm SE).

Table 4 : Effects of supplementation of *Yucca schidigera* to diet and its daily dose on the blood MDA and GSH concentrations, SOD and CAT activities in the erythrocytes (n=10, mean \pm SE).

Parametre	Ölçüm	Kontrol	500 ppm YS	1500 ppm YS	P
MDA(nmol/ml)	30. gün	8.56 \pm 0.45 ^a	7.88 \pm 0.30 ^{ab}	5.46 \pm 0.47 ^b	0.000
	60. gün	6.35 \pm 0.18 ^a	5.91 \pm 0.33 ^{ab}	5.46 \pm 0.19 ^b	0.048
GSH (mg/dl)	30. gün	26.44 \pm 2.90	29.92 \pm 5.73	22.83 \pm 2.86	0.479
	60. gün	26.13 \pm 3.09	26.09 \pm 3.59	24.86 \pm 3.86	0.959
SOD (k/g-Hb)	30. gün	10.98 \pm 1.94	12.19 \pm 2.05	10.47 \pm 1.62	0.823
	60. gün	17.93 \pm 3.88	18.94 \pm 3.09	24.12 \pm 4.66	0.510
CAT (k/g-Hb)	30. gün	3.78 \pm 0.77	4.15 \pm 0.83	2.23 \pm 0.17	0.157
	60. gün	2.44 \pm 0.38	3.25 \pm 0.54	3.87 \pm 1.00	0.300
AOA (mmol/L)	30. gün	1.43 \pm 0.13 ^b	1.91 \pm 0.14 ^a	2.05 \pm 0.10 ^a	0.017
	60. gün	1.49 \pm 0.12 ^b	1.87 \pm 0.18 ^{ab}	2.01 \pm 0.08 ^a	0.034

TARTIŞMA

Araştırmada; deneme hayvanları, günlük 500 mg/kg ile üç günde bir 1500 mg/kg düzeylerinde YS tozu katılmış ve ilave yapılmamış temel yem olmak üzere 3 değişik yemle beslendi. Çalışmada, YS'nin yüksek dozunun üç günde bir uygulanması, hem mikrobiyel adaptasyonun önlenmesi hem de saponinlerin yüksek düzeylerinin oluşturabileceği olumsuz etkilerden (Kaya ve Pirinççi, 2002) sakınmak için tercih edildi. Saponinlerin organizmada önemli biyolojik etkilere sahip olduğu (Francis ve ark., 2002), düşük düzeyde emilmelerinden dolayı biyolojik etkilerinin daha çok sindirim kanalı içinde gerçekleştiği (Eryavuz, 2004) ve sindirim kanalındaki etkilerinden önemli bir kısmının ise enterik mikroorganizmalara olan etkilerinden kaynaklanabileceği ileri sürülmektedir (Hart ve ark., 2008). Rumen fermentasyonuna saponinlerin etkilerinin değişken olmasında kullanılan saponinlerin günlük tüketilen miktarları ve mikroorganizmaların saponinlere adaptasyonunun da rol oynadığı bildiriminden (Patra ve Saxena, 2009) hareketle bu çalışmada; 60 gün süren çalışma dönemi

boyunca YS'nin günlük ve üç günde bir yüksek miktarının yeme ilave edilmesinin etkileri araştırıldı. Antibiyotiklerin büyütme faktörü olarak hayvan yemlerinde kullanılmasının yasaklanmasından sonra oluşan boşluğu doldurmak amacıyla kullanılabilirliği araştırılan aromatik bitkilerin, evcil hayvanların performans ve verimi üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda; aromatik bitkiler ve bu bitkilerden elde edilen ekstraktların büyütme faktörü olarak kullanımı ile hayvanlarda yem tüketimi, yemden yararlanma, canlı ağırlık artışı gibi parametrelerde olumlu yönde gelişme sağlandığı, ancak bu gelişmelerin hayvan türü ve beslemeye göre değiştiği kaydedilmektedir (Wilson ve ark., 1998; Eryavuz, 2004; Aregheore, 2005; Wina ve ark., 2005; Patra ve Saxena, 2009). Bu çalışmada, YS uygulamalarının canlı ağırlık ile günlük canlı ağırlık artışına etki etmediği bulundu. Bu bulgunun ruminant hayvanların yemine YS ilave edilerek yapılan besleme çalışmalarında canlı ağırlığın etkilenmediği yönündeki bildirimlerle uyumlu olduğu gözlemlendi (Eliwinski ve ark., 2002, Gorgulu ve ark., 2004, Holtshausen ve ark., 2009, Selcuk ve Tuncer, 2010). Çalışmada canlı ağırlığa yönelik elde edilen bu bulgu, yeme günlük ya da üç günde bir yüksek düzeyde YS ilavesinin performans üzerine olumlu etkiye sahip olmadığını göstermektedir.

Rumen pH düzeyi yemde bulunan karbonhidrat düzeyi ve çözünebilirliğinden etkilenmekte ve karbonhidratların mikrobiyel sindirimi sonucu oluşan uçucu yağ asitlerinin rumende artması rumen pH düzeyini düşürmektedir (Eryavuz ve ark., 2003). Çalışmada, rumende pH düzeyine YS uygulamalarının etkisinin olmadığı bulundu. Ruminant hayvanların yemine YS ya da ekstraktı ilave edilerek yapılan daha önceki çalışmalarda; rumen pH düzeyinde bir değişimin olmadığı (Wilson ve ark., 1998, Hristov ve ark., 1999, Benchaar ve ark., 2008), düştüğü (Wu ve ark., 1994) ya da arttığı (Eryavuz ve Dehority, 2004) yönünde birbirinden farklı bildirimler bulunmaktadır. Saponinlerin rumen fermentasyonuna olan etkilerinin kalıcı olmadığı ve farklılıklar gösterdiği, bu farklılıkların ise saponinlerin kimyasal yapıları ve kullanılan miktarı ile yemin bileşimi, mikrobiyel topluluk ve mikroorganizmaların saponinlere adaptasyonu ile ilişkili olduğu kaydedilmektedir (Hart ve ark., 2008; Patra ve Saxena 2009). Bu çalışmada elde edilen bulgu; rumen pH düzeyinde bir değişimin olmadığı yönündeki bildirimleri (Wilson ve ark., 1998, Hristov ve ark., 1999, Benchaar ve ark., 2008, Holtshausen ve ark., 2009) destekler nitelikte olup, YS'nin değişik miktar ve uygulamalarının çalışmada kullanılan besleme düzeyinde (kaba yem % 70, karma yem % 30) rumen pH düzeyine etkisinin olmadığını göstermektedir. Rumende lif sindirimi rumen pH düzeyinden etkilenmekte ve pH 6.4'ün altına indiğinde selüloz sindirimi azalmakta, 5.9'un altına indiğinde ise selüloolitik bakterilerin gelişimi

durmaktadır (Eryavuz ve Dehority, 2004). Bu çalışmada, tüm gruplarda elde edilen rumen pH değerleri, rumende lif sindiriminin etkilendiği bildirilen düzeylerin (6.4) üzerinde olduğu gözlemlendi ve YS ilavelerine bağlı rumende lif sindiriminin bozulmadığına yönelik bildirimle uyumluydu (Holtshausen ve ark., 2009).

Rumen protozoonları, rumen içinde azot döngüsünün artmasına, oluşan aşırı amonyakın rumen duvarından emilerek dolaşıma geçmesine ve karaciğerde üreye dönüştürülerek idrarla atılmasına yol açmaktadır (Eryavuz, 2000). Rumen protozoonları *Holotrich* ve *Entodiniomorph* olarak ikiye ayrılmakta ve sayı olarak *Entodiniomorph*'lar daha fazla bulunmaktadır (Eryavuz, 2000). *Holotrich*'ler kolay çözünebilir şekerlerin sindiriminde aktif rol oynarken, *Entodiniomorph*'lar nişasta ile çözünmeyen proteinlerin sindiriminde etkin olmaktadır (Eryavuz, 2000). Bu çalışmada, YS'nin gerek günlük gerekse üç günde bir yeme ilavesinin rumen protozoon sayısı ile tür dağılımına etkisinin olmadığı tespit edildi. Rumen protozoonlarına saponinlerin etkilerine yönelik değişik bildirimler bulunmaktadır (Wina ve ark., 2005, Hart ve ark., 2008). Bazı çalışmalarda farklı yapıda saponin içeren bitki ya da ekstraktlarının ruminant diyetine ilave edilmesinden sonra rumende protozoon sayısının azaldığı (Ivan ve ark., 2004, Pen ve ark., 2006, Wina ve ark., 2006 a,b, Malik ve ark., 2009), bazılarında göre de etkisinin olmadığı bildirilmektedir (Eryavuz ve Dehority, 2004, Benchaar ve ark., 2008, Holtshausen ve ark., 2009). Bu farklılıkların nedeni; kullanılan saponin içerikli bitki ya da saponinlerdeki farklılıklar, yeme ilave edilen uygulama miktarı ile uygulama süresi ve kullanılan yemdeki değişikliklere atfedilmektedir (Hart ve ark., 2008). Nitekim, Wine ve ark. (2005) değişik çalışmalarda elde edilen bulgulardaki farklılıkların kısmen saponinlerin kimyasal yapılarındaki farklılıktan kaynaklanabileceğini ifade etmektedirler. Bazı çalışmalarda, hayvanların yemine saponin içeren bitki ilavesinden hemen sonra rumende protozoonların azaldığı ancak daha sonraki günlerde tekrar başlangıç düzeyine ulaştığı kaydedilmektedir (Newbold ve ark., 1997; Ivan ve ark., 2004). Bu nedenle, Newbold ve ark. (1997) saponinlere karşı mikroorganizmaların sağladığı hızlı adaptasyondan sakınmak için, saponinlerin yeme aralıklarla ilave edilmesi gerektiğini öne sürmüşlerdir. Buna karşın, Wina ve ark. (2006a,b)'nın saponin içeren *Sapindus rarak* bitkisinden elde edilen ekstraktın koyun ve keçilere verilmesine bağlı olarak rumende protozoon sayısının azaldığını ve bu azalmanın hem süreden hem de aralıklarla verilmesinden etkilenmediğini bulmuşlardır. Toplam 60 gün süren bu çalışmada gerek günlük gerekse 3 günde bir yüksek ilave edilmesiyle elde edilen bulgunun, YS ya da ekstraktı katılarak ruminantlarda yapılan çalışmalarda elde edilen bulgularla (Eryavuz

ve Dehority, 2004, Benchaar ve ark., 2008, Holtshausen ve ark., 2009) uyumlu olduğu ve rumende protein sindirimi ve yararlanım ile metan düzeyinde etkilere sahip rumen protozoonlarına etkisinin olmadığı gözlemlendi. Bu bulgu, YS'nin kurutulmuş tozunun yeme hem uzun hem de aralıklı ilave edilmesinin rumen protozoonlarını azaltıcı etkiye sahip olmadığını göstermektedir.

YS'da bulunan saponinlerin amonyak bağlama kapasitesine sahip oldukları (Wallace ve ark., 1994) ve YS ilave edilerek yapılan çalışmalarda rumende amonyak düzeyinin azaldığı yönündeki bildirimini (Sliwinski ve ark., 2002; Pen ve ark., 2006) destekler nitelikte bu çalışmada da; YS ilaveleri rumen amonyak düzeyini önemli düzeyde azalttığı ve en fazla azalmayı ise 3 günde bir yüksek doz ilavesinin sağladığı tespit edildi. Buna karşın, YS ilavesinin rumen amonyak düzeyinde herhangi bir etkisinin olmadığına yönelik bildirimlerde bulunmakta ve bunun nedeni olarak rumen protozoon sayısının etkilenmemesi gösterilmektedir (Makkar ve ark., 1998; Holtshausen ve ark., 2009). Rumen amonyak düzeyi tüketilen yemdeki azotlu maddeler ile mikrobiyel proteinlerin rumende yıkılmaları sonucu meydana gelmekte (Bölükbaşı, 1989; Eryavuz ve ark., 2003) ve rumen bakterileri kendi proteinlerinin sentezi için gerekli azotun % 50-80'ini oluşan bu amonyaktan sağlayabilmektedir (Wina ve ark., 2005). Bu nedenle, yemdeki azotlu maddelerin düzeyi ve rumende yıkılma oranları ile mikroorganizmaların rumen içinde yıkıma uğrama düzeyleri ve bakterilerin oluşan amonyakı kullanma oranları rumen amonyak düzeyini etkilemektedir (Eryavuz ve ark., 2003). Hristov ve ark. (1999), YS ekstraktının rumende proteolitik aktiviteyi etkilemediğini bildirmektedir. Rumen protozoonlarının hem yem proteinlerini hem de bakteriyel proteinleri parçalayarak rumen amonyak havuzunu artırdığı bildirimini (Eryavuz, 2000) dikkate alınır, bu çalışmada protozoon sayısı etkilenmeksizin rumen amonyak düzeyindeki azalmanın amonyakın YS'da var olan yapılar tarafından tutulmasına bağlanabilir (Wallace ve ark., 1994, Lovett ve ark., 2006). Çalışmada elde edilen bulgu; ruminantların rumeninde meydana gelen azot metabolizmasının, hem ruminant verimini hem de ruminantların yetiştiriciliğinin yapıldığı bölgelerdeki çevre kirliliğini etkilemesi (Monteny ve ark., 2002; Ataşoğlu ve ark., 2004) nedeniyle yeme YS ilavesinin ruminantlar tarafından çevreye verilen zararın azaltılması ve çevrenin korunması bakımından önemli katkı sağlayabileceğine işaret etmektedir.

Dış orbitallerinde eşlenmemiş elektron bulunan kısa ömürlü reaktif atom ve moleküller serbest radikal olarak bilinmekte, radikaller ve reaksiyonlarını önlemeye çalışan enzimatik ve enzimsel olmayan yapılar ise antioksidan olarak tanımlanmaktadır (Dündar ve Aslan, 2000). Normal işlevini yerine getiren hücrelerde hücre fonksiyonunun bir yan

ürünü olarak üretilen serbest radikaller ile bunları etkisizleştiren antioksidanlar arasında bir denge bulunmakta ve oksidan-antioksidan denge olarak tarif edilmektedir. Oksidatif stres; hücrelerde antioksidan savunma sistemini aşan bir serbest radikal üretimi olduğunda meydana gelmekte, hücrelerde lipid peroksidasyonu ile protein ve DNA oksidasyonuna yol açmakta ve sonuç olarak hücre yıkılışına dolayısıyla doku hasarına sebep olmaktadır (Dündar ve Aslan, 2000). Membran lipidleri serbest radikallerin en büyük hedefleri olması nedeniyle, serbest radikallerin hücrede yol açtığı oksidatif hasarın tespit edilmesinde lipid peroksidasyon düzeyinin belirlenmesi en yaygın kullanılan bir parametredir (Enginar ve ark., 2006; Cigerci ve ark., 2009). MDA düzeyi ölçümleriyle serbest radikallerin yol açtığı lipid peroksidasyon düzeyi belirlenebilmektedir (Dündar ve ark., 2004; Enginar ve ark., 2006).

Bu çalışmada, yeme YS ilavesinin kanda MDA düzeyini düşürdüğü ve en fazla düşmeyi ise üç günde bir yüksek YS ilavesinin sağladığı gözlemlendi. Benzer şekilde, çalışmada, AOA'nın de YS tüketen hayvanlarda yükseldiği ve en fazla yükselmenin ise üç günde bir yüksek YS tüketen hayvanlarda olduğu tespit edildi. Buna karşın, SOD, CAT ve GSH düzeylerinde uygulamalar arasında bir farkın olmaması, antioksidan aktivitedeki yüksekliğin enzimatik ya da hücre içi nonenzimatik bir antioksidan yapı olan GSH'dan kaynaklanmadığını göstermektedir. Bu çalışmada, AOA tam kanda analiz edildi. Kan üre, ürik asit ve proteinler gibi nonspesifik antioksidanlar içermesi nedeniyle (Dündar ve Aslan, 2000, Dündar ve ark., 2004), YS'nin AOA'de artış sağlaması, kandaki nonspesifik antioksidan düzeyinde bir artışa yol açmasına bağlanabilir. Ayrıca, saponinlerin ve saponin içerikli bitkilerin sindirim kanalından bazı besin maddelerinin emilimlerini etkilediği bildirimleri (Francis ve ark., 2002; Avcı ve ark., 2008) dikkate alınırsa, yeme YS ilavesine bağlı antioksidan etkili maddelerin emilimlerinin artması kanda antioksidan aktivitenin yükselmesine katkı sağlamış olabilir. Bu bulgular, diğer hayvan türlerinde olduğu gibi (Aslan ve ark., 2005; Enginar ve ark., 2006; Cigerci ve ark., 2009) yeme YS ilavesinin ruminant hayvanlarda da serbest radikallerin yol açtığı oksidatif hasara karşı hücreleri korumada bir potansiyele sahip olduğunu, kanda antioksidan yapısını güçlendirerek peroksidasyonu azaltabileceğini ve hayvanların verimlilik ve direncini azaltan oksidatif stresten korunmada etkili olabileceğini göstermektedir.

Sonuç olarak, çalışmada; yeme YS'nin gerek günlük gerekse üç günde bir yüksek doz uygulamasının rumen fermentasyonunda önemli etkilere sahip protozoon sayısını etkilemediği, rumen amonyak düzeyini düşürdüğü ve kanda oksidatif stresi azalttığı tespit edildi. Bu bulgular; YS'nin rumen azot

metabolizmasında olumlu etkiye sahip olduğu ve serbest radikallerin verdiği zararı azaltarak hayvanların sağlıklarının korunması ve verimlerinin devamında doğal bir yem katkı maddesi olarak kullanılabileceğine işaret etmektedir. Aynı zamanda, YS'nin günlük miktarı ile 3 günde bir yüksek verilen miktarının oluşturduğu etkiler karşılaştırıldığında, YS'nin üç günde bir yüksek doz uygulamasının daha yararlı olduğu söylenebilir. Çalışmada elde edilen verilerin, antibiyotiklere alternatif olarak doğal bitkisel ürünler arasında yer alan YS'nin kullanımına bağlı rumen fermentasyonunda meydana gelen değişikliklere ve bu değişikliklerin kanın yapısına etkilerinin bilinmesine yönelik hem yetiştiricilere hem de bu konuda yapılacak yeni araştırmalara önemli katkı sağlayacağı kanaatine varıldı.

KAYNAKLAR

AOAC. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemistry, 14th Ed. Inc. Arlington, Virginia. 1990.

Aslan R, Dündar Y, Eryavuz A, Bülbül A, Küçük Kurt I, Fidan AF, Akinci Z. Effects of different dietary levels of *Yucca schidigera* powder (deodorase) added to diets on performance, some hemotological and biochemical blood parameters and total antioxidant capacity of laying hens. *Rev Med Vet* . 2005.156:350–355

Ataşoğlu C, Yüksel E, Ayışığı K, Yurtman İY. Organik üretim koşullarındaki zorunluluklar açısından rumen fermentasyonunun kontrolünde yeni arayışlar. I. Uluslararası Organik Hayvansal Üretim ve Gıda Güvenliği Kongresi, Kuşadası, Türkiye, 2004.257-270.

Avcı G, Konaş T, Eryavuz A, Küçük Kurt İ, Fidan AF. Tavşanlarda rasyona ilave edilen farklı miktarlardaki *yucca schidigera* ekstraktının (De-odorase®) bazı serum makro ve mikro element düzeylerine etkisi. *Fırat Üniv. Sağ. Bil. Derg.* 2007. 21 (6), 257 – 262.

Benchaar C, McAllister TA, Chouinard PY. Digestion, ruminal fermentation, ciliate protozoal populations, and milk production from dairy cows fed cinnamaldehyde, quebracho condensed tannin, or *Yucca*

schidigera saponin extracts. J. Dairy Sci. 2008. 91:4765–4777.

Beutler E. Red cell Metabolism.3rd.Ed., Orlando:Grune and Stratton. 1984.

Bodas R, Prieto N, Garcia-Gonzalez R, Andres S, Giraldez FJ, Lopez S. Manipulation of rumen fermentation and methane production with plant secondary metabolites. Anim Feed Sci Technol, 2012.176;78-93.

Bölükbaşı F. Fizyoloji Ders Kitabı (Vücut Isısı ve Sindirim), Cilt I., A.Ü. Vet. Fak. Yayınları, AÜ Basımevi, Ankara. 1989.

Ciftci M, Simsek UG, Yuce A, Yılmaz O, Dalkilic B. Effects of dietary antibiotic and cinnamon oil supplementation on antioxidant enzyme activities, cholesterol levels and fatty acid compositions of serum and meat in broiler chickens. Acta Vet. Brno, 2010.79, 33-40.

Cigerci IH, Fidan AF, Konuk M, Yuksel H, Kucukkurt I, Eryavuz A, Sozbilir NB. The protective potential of *Yucca schidigera* (Sarsaponin 30(A (R))) against nitrite-induced oxidative stress in rats. J. Nat.Med. 2009. 63, 311-317.

Draper HH, Hadley M. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. Methods Enzymol. 1990.186: 421-30.

Dündar Y, Aslan R. Hekimlikte Oksidatif Stres ve Antioksidanlar. AKÜ Yayınları, Yayın No, 29, Uyum Ajans, Ankara. 2000.

Dündar Y, Aslan R, Eryavuz A. Effects of defaunation and urea on glutathione and malondialdehyde levels in blood and rumen fluid of Ramlıç Lambs, Tr.J.Vet.Anim.Sci. 2004. 28; 265-269.

Eliwinski BJ, Kreuzer M, Wettstein HR, Machmüller A. Rumen fermentation and nitrogen balance of lambs fed diets containing plant extracts rich in tannins and saponins and

associated emissions of nitrogen and methane. Arch. Anim. Nutr. 2002.56, 379-392.

Enginar H, Avcı G, Eryavuz A, Kaya E, Kucukkurt I, Fidan AF. Effect of *Yucca schidigera* extract on lipid peroxidation and antioxidant activity in rabbits exposed to gamma-radiation. Rev.Med.Vet. 2006. 157; 415-419.

Eryavuz A. Defaunasyonun ruminantların sindirimine etkileri (Derleme). Hayv. Araş. Derg. 2000.10 (1-2); 78-84.

Eryavuz A. Saponinler ve ruminantlarda rumen protozoon sayısının azaltılmasında bunların kullanılması (Derleme). Hayv. Araş.Derg. 2004. 13, (1-2); 60-66.

Eryavuz A, Dehority BA. Effect of *Yucca schidigera* extract on the concentration of rumen microorganisms in sheep. Anim.Feed Sci.Technol. 2004.117 (3-4): 215-222.

Eryavuz A, Dundar Y, Özdemir M, Aslan R, Tekerli M. Effects of adding urea and sulfur on performance of faunate and defaunate Ramlıç lambs, and some rumen and blood parameters. Anim.Feed Sci.Technol. 2003.109; 35-46.

Francis C, Kerem Z, Makkur HP, Becker K. The biological action of saponins in animal system: a review. Brit. J. Nutr. 2002. 88, 587-605.

Gorgulu M, Yurtseven S, Unsal I, Kutlu HR. Effect of dietary supplemental *Yucca schidigera* powder on fattening performance of male lambs. J. Appl. Anim. Res., 2004. 25, 33-36.

Gümüş R, İmİK H. Saponinlerin hayvan beslemede yem katkı maddesi olarak kullanımı. Atatürk Üni. Vet. Bil. Derg. 2012. 7(3), 221-229.

Hart KJ, Yanez-Ruiz DR, Duval SM, McEwan NR, Newbold CJ. Plant extracts to manipulate rumen fermentation. Anim. Feed Sci.Technol. 2008.147, 8-35.

- Holtshausen L, Chaves AV, Beauchemin KA, McGinn SM, McAllister TA, Cheeke PR, Benchaar C.** Feeding saponin-containing *Yucca schidigera* and *Quillaja saponaria* to decrease enteric methane production in dairy cows. *J.Dairy Sci.* 2009. 92, 2809-2881.
- Hristov AN, McAllister FH, Van Herk KJ, Cheng CJ, Newbold PR.** Effect of *Yucca schidigera* on ruminal fermentation and nutrient digestion in heifers, *J. Anim. Sci.* 1999.77 (1999), pp. 2554–2563.
- Ivan M, Koenig KM, Teferedegne B, Newbold CJ, Entz T, Rode LM, Ibrahim M.** Effect of the dietary *Enterolobium cyclocarpum* foliage on the population dynamics of rumen ciliate protozoa in sheep. *Small Rum. Res.* 2004. 52, 81-91.
- Jouany JP, Morgavi DR.** Use of 'natural' products as alternatives to antibiotic feed additives in ruminant production. *ANIMAL.* 2007. 1; 1443-1466.
- Jouany JP.** Effect of rumen protozoa on nitrogen utilization by ruminants, *J. Nutr.* 1996.126 (1996), pp. 1335S–1346S.
- Kaya S, Pirinçci İ.** *Bitkisel zehirler-Glikozidler "Saponinler"*, Veteriner Hekimliğinde Toksikoloji .Medisan Yayınevi. 2.Baskı. 2002.S.325-326.
- Khorrami B, Vakili AR, Danesh Mesgaran M, Klevenhusen F.** Thyme and cinnamon essential oils: Potential alternatives for monensin as a rumen modifier in beef production systems. *Anim Feed Sci Technol.* 2015. 200; 8-16.
- Koracevic D, Koracevic G, Djordjevic V, Andrejevic S, Cosic V.** Method for the measurement of antioxidant activity in human fluids. *J Clin Pathol.* 2001. 54:356-361.
- Lovett DK, Stack L, Lovell S, Callan J, Flynn B, Hawkins M, O'Mara FP.** "Effect of feeding *Yucca schidigera* extract on performance of lactating dairy cows and ruminal fermentation parameters in steers", *Liv. Sci.*, 2006. 102;23-32.
- Luck H.** *Catalase.* In: Bergmeyer HU, editor. *Methods in Analysis.* London: Academy Press. 1955.
- Makkar HP, Sen M, Blummel K, Becker.** Effect of fractions containing saponins from *Yucca schidigera*, *Quillaja saponaria* and *Acacia auriculiformis* on rumen fermentation. *J. Agric. Food Chem.* 1998. 46:4324–4328.
- Malik PK, Singhal KK, Deshpande SB.** Effect of saponin rich lucerne fodder supplementation on rumen fermentation, bacterial and protozoal population in buffalo bulls. *Indian J. Anim. Sci.* 2009.79, 9: 912-916.
- Monteny GJ, Smith MCJ, van Duinkerken G, Mollenhors H, de Boer JM.** Prediction of ammonia emission from dairy barns using feed characteristics part II: Relation between urinary urea concentration and ammonia emission. *J.Dairy Sci.*, 2002. 85; 3389-3394.
- Nasri S, Ben Salem H, Vasta V, Abidi S, Makkar HPS, Priolo A.** Effect of increasing levels of *Quillaja saponaria* on digestion, growth and meat quality of Barbarine lamb. *Anim. Feed Sci. Technol.* 2011. 164: 71–78.
- Newbold CJ, El SM, Hassan J, Wang ME, Ortega RJ, Wallace.** Influence of foliage from African multipurpose trees on activity of rumen protozoa and bacteria, *Br. J. Nutr.*, 1997. 78, 237–249.
- NRC (National Research Council).** Nutrients requirements of domestic animals. Nutrient requirements of sheep. 6th Ed. National Academic Sci., Washington 1985.
- Patra AK, Saxena J.** The effect and mode of action of saponins on the microbial populations and fermentation in the rumen and ruminant production. *Nutr. Res. Rev.* . 2009. 22, 2: 204-219.

- Pen B, Sar B, Mwenya K, Kuwaki R, Morikawa J, Takahashi.** Effects of *Yucca schidigera* and *Quillaja saponaria* extracts on *in vitro* ruminal fermentation and methane emission. Anim. Feed Sci. Technol. 2006. 129:175–186.
- Selcuk Z, Tuncer SD.** The Effects of Different Levels of *Yucca schidigera* Added to the Lamb's Diets Containing Urea on Growth Performance, Carcass Characteristics, Some Rumen and Blood Parameters. J. Anim. Vet. 2010. Adv. 9: 4: 654-660.
- Sliwinski BJ, M Kreuzer HR, Wettstein A, Machmuller.** Rumen fermentation and nitrogen balance of lambs fed diets containing plant extracts rich in tannins and saponins, and associated emissions of nitrogen and methane. Arch. Anim. Nutr. 2002. 56:379–392.
- Sun Y, Oberley LW, Li Y.** A Simple Method for Clinical Assay of Superoxide Dismutase. Clin Chem. 1988. 34:497–500.
- Szczechowiak J, Szumacher – Strabel M, Stochmal A, Nadolna M, Pers - Kamczyc E, Nowak A, Kowalczyk M, Cieślak A.** Effect of *Saponaria officinalis* L. or *Panax ginseng* C.A Meyer triterpenoid saponins on ruminal fermentation *in vitro*. Ann. Anim. Sci. 2013. 13; 815–827.
- Szumacher-Strabel M, Cieslak A.** Potential of phytofactors to mitigate rumen ammonia and methane production. J. Anim Feed Sci., 2010. 19; 319-337.
- Van Zijderveld SM, Dijkstra J, Perdok HB, Newbold JR, Gerrits WJ.** “Dietary inclusion of diallyl disulfide, yucca powder, calcium fumarate, an extruded linseed product, or medium-chain fatty acids does not affect methane production in lactating dairy cows”, J Dairy Sci. 2011.94; 3094-3104
- Wallace RJ, Arthaud CL, Newbold CJ.** Influence of *Yucca schidigera* extract on ruminal ammonia concentrations and ruminal microorganisms. Appl. Environ. Microb. 1994.60 : 1762 1994
- Wilson RC, Overton TR, Clark JH.** Effects of *Yucca schidigera* extract and soluble protein on performance of cows and concentrations of urea nitrogen in plasma and milk. J. Dairy Sci., 1998.81, 1002–1027.
- Wina E, Muetzel S, Becker K.** The impact of saponins or saponin-containing plant materials on ruminant production-A review. J.Agric.Food Chem., 2005.53; 8093-8105.
- Wina E, Muetzel S, Becker K.** The dynamics of major fibrolytic microbes and enzyme activity in the rumen in response to short and long-term feeding of *Sapindus rarak* saponins. J. Appl. Microbiol. 2006a. 100;114-122.
- Wina E, Muetzel S, Becker K.** Effects of daily and interval feeding of *Sapindus rarak* saponins on protozoa, rumen fermentation parameters and digestibility in sheep. ASIAN-AUST. J. Anim Sci., 2006b. 19; 1580-1587.
- Witterbourn CC, Hawkins RE, Brain M, Carrel W.** The estimation of red cell superoxide dismutase activity. J Lab Clin Med. 1975. 55:337–41.
- Wu Z, Sadik M, Sleiman FT, Simas J, Pessaraki M, Huber JT.** Influence of *Yucca* extract on ruminal metabolism in cows. J. Anim. Sci. 1994. 72, 1038–1042.