



Ruminantlarda Rumende Oluşan Metan Üretimini Azaltmaya Yönelik Çalışmalar

Cavit ARSLAN^{1✉}, Esra ÇELEBİ²

1. Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, Konya, TÜRKİYE.
2. Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Programı, Kars, TÜRKİYE

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
20.01.2017	21.02.2017	20.12.2017

Öz: Ruminantlarda ructus yoluyla salınan metan bir taraftan yemlerle alınan enerjinin kaybına neden olduğu için ekonomik kayba, diğer taraftan sera gazı etkisine sahip olduğu için küresel ısınmaya katkı yapan ekolojik bir probleme sebep olmaktadır. Küresel ısınmanın yaklaşık %18'lik kısmının ruminatlardan kaynaklandığı tahmin edilmektedir. Bu yüzden, ruminantlardan salınan metan gazının azaltılması ekonomik ve ekolojik açıdan faydalı olacaktır. Bu derlemede ruminatlarda metan gazı salınımının azaltılmasına yönelik olarak yapılmış çalışmalar üzerinde durulmuştur.

Anahtar Kelimeler: Küresel ısınma, Metan salınımı, Ruminant, Sera gazı.

Studies on Reduction of Ruminal Methane Production in Ruminants

Abstract: Methane emitted through ruminants in ruminants is induced that both loss of feed energy in the feed and an ecological problem contributing to global warming through its greenhouse effect. It is estimated to be about 18% of the portion originating from ruminates in global warming. Therefore, reduced methane emission by ruminants has been useful for both economic and ecologic aspects. This review deal with on studies to reduce the emission of methane in ruminants.

Keywords: Global warming, Methane emission, Ruminant, Greenhouse gas.

✉ Cavit ARSLAN

Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, Konya, TÜRKİYE.
e-posta: carslan42@hotmail.com

GİRİŞ

Ruminantlar; sindirim sistemlerinin anatomik ve fizyolojik özellikleri bakımından tek mideli hayvanlardan oldukça farklıdır. Dört bölmeli ve çok gelişmiş mide yapısına sahip olan ruminantlar retikulo-rumenlerinde bulunan mikroorganizmaların (bakteri, archaea, protozoa ve maya-mantar) salgılamış oldukları enzimler sayesinde yemlerle almış oldukları besin maddelerini fermente ederek insanoğlu için çok önemli besin maddeleri olan et ve süt gibi hayvansal gıdalara dönüştürebilmektedirler. Yemlerle alınan karbonhidrat kaynakları rumende fermente edilerek uçucu yağ asitleri (UYA), H₂ ve CO₂'e dönüştürülmektedir. Fermentasyon sonucunda oluşan UYA'ların başlıcaları; asetik-, propiyonik- ve bütirik asit olup, bunlar hayvanların enerji ihtiyacını karşılamak üzere kullanılmaktadır. Rumen fermentasyonu sonucu açığa çıkan H₂ ve CO₂ ise metanojenik mikroorganizmalarca (bakteri, archaea, protozoon); $CO_2 + 4H_2 \rightarrow CH_4 + 2H_2O$, indirgenme reaksiyonuna uğratarak metan gazı oluşumuna (metanogenezise) yönlendirilmektedir (1-3).

Rumende oluşan metan gazının sahip olduğu enerji vücut tarafından kullanılamamakta ve ructus yoluyla atmosfere salınmaktadır. Ructus yoluyla metan şeklinde kaybedilen enerji miktarı rasyonun bileşimine, yemlere uygulanan yem işleme tekniği ve yem katkı maddeleri kullanımı gibi birçok faktöre bağlı olarak yemlerle alınan enerjinin %2'si ile %12'si arasında olabilmektedir (1,4,5). Bu durum bir taraftan yemlerle alınan enerjinin hayvan tarafından

kullanılmayıp ructus yoluyla atılarak ekonomik kaybı anlamına gelirken, diğer taraftan sera gazı etkisine sahip olan metan; küresel ısınmaya neden olarak ekolojik bir problem unsuru olarak karşımıza çıkmaktadır.

Birleşmiş Milletler İklim Değişikliği Çerçeve Sözleşmesi Kyoto Protokolü'ne göre, sera gazı etkisine sahip 6 ana bileşik olduğu bildirilmektedir (6). Bunlar; 1. Metan (CH₄), 2. Karbondioksit (CO₂), 3. Nitroz oksit/Diazot oksit (N₂O), 4. Hidrofluorokarbonlar (HFCs), 5. Perfluorokarbonlar (PFCs) ve 6. Kükürt heksaflorür (SF₆)'dür. Bu bileşikler içerisinde en önemlileri, CH₄, CO₂ ve N₂O'tir (3). Metan (dışkı ve enterik fermentasyon sonucu oluşmaktadır), karbondioksite göre 23 kat, diazot oksit (dışkıdan oluşmaktadır) karbondioksite göre 298 kat daha fazla küresel ısınmaya sebep olmaktadır (7).

Yıllık küresel toplam metan salınımının 452.6 milyon ton olduğu, bu oranın %19'unun (86 milyon ton) hayvancılık faaliyetlerinden kaynaklandığı, bu oranın %95-97'sinin ruminantlardan ve geriye kalan %3-5'inin ise tek mideli hayvanlar tarafından üretildiği belirtilmektedir (8). Ruminantlarda metan gazı salınımının önemli bir kısmı (%90-95) ructus yolu ile daha az kısmı ise (%10-15) gübre ile olmaktadır (3).

Türkiye'deki 2001 yılı ruminant sayılarına göre bu hayvanlardan hesaplanan enterik ve gübre kaynaklı metan salınım miktarları Tablo 1'de görülmektedir (3).

Tablo 1. Türkiye'deki ruminantlardan enterik ve gübre kaynaklı metan salınımı.
Table 1. Enteric and fecal originated methane emission from ruminants in Turkey.

Tür	Popülasyon	Enterik, Ton	Gübre, Ton	Toplam, Ton	Enterik, %	Tür, %
Siğir	11.185.000	675.394	108.457	783.850	86.16	76.53
Koyun	30.238.000	203.800	6.114	209.914	97.09	20.49
Keçi	8.376.000	29.600	888	30.488	97.09	2.98
Toplam	49.799.000	908.794	115.459	1024.252	280.34	100.00

Ruminatlarda ructus yoluyla atılan metan gazının ekonomik ve ekolojik zararlarının ortaya konulmasından sonra rumende oluşan metan gazı üretiminin azaltılmasına yönelik çalışmalar daha da hız kazanmıştır.

2. RUMENDE METAN OLUŞUMUNU AZALTMAYA YÖNELİK UYGULAMALAR

2.1. Rasyona Yağ İlave Edilmesi

Ruminant rasyonlarında enerji kaynağı olarak kullanılan yağların aynı zamanda metan oluşumunu azalttığı ifade edilmektedir (9,10). Ruminant metanogenezisi baskılamada özellikle çoklu doymamış yağ asitlerinin etkili olduğu bildirilmektedir (11,12). Doymuş yağ asitleri içerisinde ise orta zincir uzunluğuna sahip olanların (C8-C16) metanogenezis (13) ve metanojenlerin (14) faaliyetlerini baskılamada potansiyel etkiye sahip olduğu belirtilmektedir.

Süt ineklerinde yapılan çalışmalarda rasyona %5 miristik asit (15), %5.7 keten tohumu, ekstrude keten tohumu ve keten yağı (16) ilavesinin metan salınımını azalttığı, azalmanın miristik asitin rumendeki metanojenlerin aktivitelerini baskılamasından kaynaklandığı belirlenmiştir (15). Süt ineklerinde yapılan başka bir çalışmada ise, rasyona %2.3, 4.0 ve 5.6 oranında eşit oranlarda (50:50) pamuk tohumu yağı:kanola yağı karışımı ilavesinin metan salınımını değiştirmedeği bildirilmiştir (17).

Süt ineklerinde *in vitro* gaz üretim tekniğiyle yapılan bir çalışmada yeme hindistan cevizi yağı veya tozu ilavesinin metan üretimini kontrole göre azalttığı, bakteri ve protozoa sayısını önemli derecede düşürdüğü belirlenmiştir (18). Dohme ve ark. (9), rasyona 53 g/kg korunmuş yağ, hurma yağı, kuyruk yağı, süt yağı, iki farklı kanola yağı, hurma çekirdeği yağı ve hindistan cevizi yağı ilavesinin metan salınımına etkilerini RUSITEC tekniğiyle araştırmışlardır. Araştırma sonucunda, stearik asit bakımından fakirleştirilmiş, oleik asit bakımından zenginleştirilmiş kanola yağı, hurma çekirdeği yağı ve hindistan cevizi yağı ilave edilen gruplarda metan salınımının sırasıyla %34, 21 ve 20 oranında azaldığı ve bu azalmanın Kontrol ve diğer deneme gruplardan önemli derecede düşük olduğu belirlenmiştir. Bu

çalışmada korunmuş yağın metan oluşumu üzerinde bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir. Sabun formunda korunmuş yağlarla (palm yağı, zeytin yağı, soya yağı, ayçiçeği yağı 4:1 oranında laurik asit-miristik asit karışımı) *in vitro* şartlarda yapılan başka bir çalışmada da (19), korunmuş zeytin yağı, soya yağı ve ayçiçeği yağının metan üretimini azalttığı tespit edilmiştir. Araştırma sonucunda özellikle sabun formunda korunmuş soya ve ayçiçeği yağı kullanımının ruminant metanogenezisi azaltmada alternatif olabileceği bildirilmiştir.

Süt ineklerinde yapılmış 7 farklı çalışmaya ait verilerin değerlendirildiği bir meta analiz çalışmasında (11); süt verimindeki ve rasyondaki yağ miktarı artışına bağlı olarak metan oluşumunun azaldığı sonucuna ulaşılmıştır. Aynı zamanda yağların doymamışlık derecesindeki artışa bağlı olarak metan üretiminin daha da azaldığı ifade edilmiştir. Ancak rasyondaki doymamış yağ asidi miktarındaki artışa bağlı olarak, yem tüketiminde azalma ya da selüloz sindiriminde düşme olabileceği belirtilmiştir.

Besi sığırlarında, kaba: konsantre yem oranı 65:35, 40:60 ve 10:90 olacak şekilde ve her orana 0 ya da 300 g/gün hindistan cevizi yağı ilave edilerek yapılan bir çalışmada (20) yağ ilave edilen tüm gruplarda metan salınımının azaldığı tespit edilmiştir. McGinn ve ark. (10) besi sığırlarında farklı uygulamaların metan salınımına etkilerini belirlemeye yönelik iki deneme halinde bir araştırma yapmışlardır. I. Denemede; rasyona monensin, ayçiçek yağı ve proteolitik enzim ilavesini, II. Denemede; rasyona iki farklı miktarda *Saccharomyces cerevisiae* ve fumarik asit ilavesini Kontrol'le karşılaştırmalı olarak araştırmışlardır. I. Deneme sonunda; ayçiçek yağı ilavesinin metan gazı üretimini Kontrole göre önemli derecede düşürdüğünü, monensin ve enzim ilavesinin metan gazı üretiminde değişikliğe sebep olmadığını belirlemişlerdir. Rasyona ayçiçek yağı ilavesinin NDF sindirimi ile ham enerjinin metan yoluyla atılımını % 21 oranında azalttığı, bu azalışın monensin ilave edilen grupta %9 olduğu belirlenmiştir. II. Deneme sonunda; maya ve fumarik asit ilavesinin metan salınımını etkilemediği belirlenmiştir.

Koyunlarda yeme keten tohumu yağı ilave edilerek *in vitro* şartlarda yapılan bir çalışmada metan üretiminin azaldığı tespit edilmiştir (21). Yine koyunlarda rasyona %0, 3.5 ve 7.0 oranında hindistan cevizi yağı ilave edilerek yapılan bir çalışmada, metan oluşumunda sırasıyla %28 ve %73 oranında azalma olduğu tespit edilmiştir (22).

Rasyonlara yağ ilave edilerek metan salınımının azaltılmasına yönelik olarak yukarıda bahsi geçen çalışmalar bir bütün olarak değerlendirildiğinde, rasyonlara yağ, özellikle de doymamış yağ asitlerince zengin yağ kaynakları ilavesinin metan salınımını azalttığı görülmektedir. Bu azalmaların nedenleri iki başlık altında toplanabilir. 1) Rasyona yağ ilavesine bağlı olarak, rumendeki mikroorganizma popülasyonu değişmekte ve/veya mikroorganizmaların aktiviteleri olumsuz yönde etkilenmektedir. Neticede yağ ilavesi ya yapısal karbonhidratların sindirimini azaltmakta, asetat: propiyonat oranı düşmekte ya da metanojenik mikroorganizmaların sayısını azaltmakta veyahutta her iki durum bir arada gerçekleşerek metan üretimi azalmaktadır. Diğer taraftan rumende metan ve propiyonat üretimi amacıyla mevcut hidrojenin kullanımı konusunda propiyonat oluşumu lehine bir artış gerçekleşmekte, bunun sonucunda da metan oluşumu azalmaktadır. 2) Rasyona doymamış yağ asitlerince zengin yağ kaynakların ilave edilmesi durumunda, rumendeki H₂'nin bir kısmı rumen mikroorganizmalarınca doymamış yağ asitlerinin doyurulmasında (biohidrojenizasyon) kullanılarak ortamındaki hidrojen azalmakta, bu azalmaya bağlı olarak da metan üretimi düşmektedir.

2.2. Rasyonun Kaba: Konsantre Yem Oranında Değişiklik Yapılması

Rasyondaki kaba: konsantre yem oranı ve kuru madde tüketimi ile rumende üretilen metan miktarı arasında direk bir ilişki bulunmaktadır. Rasyonlara sindirilebilirliği yüksek karbonhidrat kaynakları ilavesinin rumende oluşan metan üretimini azalttığı bildirilmektedir (4,10,23). Bilindiği üzere rasyonda kaba yem oranı yüksek olduğu durumlarda rumen sıvısı asetik asit oranı, konsantre yem oranı yüksek olduğunda ise propiyonik asit oranı artmaktadır.

Rumende propiyonik asit üretimi için H₂'ne ihtiyaç vardır. Konsantre yem ağırlıklı beslemede artan propiyonik asit oluşumuna bağlı olarak; daha fazla H₂ kullanıldığı için, ayrıca rumen ortamında oluşan amonyaktaki hidrojen de propiyonik asit üretimine sevk edildiği için metan oluşumuna yönlendirilecek H₂ miktarı azalmakta, bunların sonucunda da metan oluşumu düşmektedir (4,23). Ayrıca; konsantre yem ağırlıklı beslenen ruminantlarda rumen pH'sında düşme gerçekleşir. Yapılan *in vitro* çalışmalarda pH'nın 6.0'nın altına düştüğünde bakterilerinin daha az metan (24) ve amonyak (25) ürettiği belirlenmiştir.

Konsantre yemlere uygulanan yem işleme tekniklerinin de (öğütme, peletleme, kimyasal muameleler) metan üretiminde %20-40 arasında azalmaya sebep olduğu, azalmanın yemlerin sindirim kanalından hızlı geçmesine bağlı olarak yapısal karbonhidrat sindirimini düşmesiyle ilişkili olduğu bildirilmektedir (4).

Kaba yemlerin rumendeki sindirimi konsantre yemlere göre daha uzun sürmektedir. Rasyonda kaba yem miktarının artmasına bağlı olarak yemlerin rumende kalış süresi uzamakta ve neticede metan üretimi artmaktadır (5). Kaba yem kaynağı olarak yonca kuru otu verilen Kontrol grubu ile deneme gruplarından birisine kurutulmuş üzüm posası peleti, diğerine üzüm posası silajı verilerek süt ineklerinde yapılan bir çalışmada (25), hayvan başına metan salınımı sırasıyla 470, 375 ve 389 g/gün olarak belirlemiştir. Metan salınımindaki azalmanın ruminal bakteri ve archaea sayısındaki azalmadan kaynaklandığı tespit edilmiştir.

Besi sığırlarında selüloz bakımından zengin rasyonlarla beslenen grupta, nişasta bakımından zengin aynı zamanda ekstrude keten tohumu ilave edilen grubun metan salınımının karşılaştırıldığı bir çalışmada (26), nişasta bakımından zengin grubun daha az metan ürettiği belirlenmiştir. Aynı çalışmada bakteri ve archaea sayılarında gruplar arasında farklılık görülmezken, protozoa sayısı nişastaca zengin grupta %65 oranında daha düşük bulunmuştur. Besi sığırlarında rasyonda %0, 45 ve 90 oranında konsantre yem bulundurulmuş *in vivo* ve *in vitro* olarak yapılan bir çalışmada, rasyondaki konsantre yem artışına bağlı olarak ruminal metan

üretimini azaldığı belirlenmiştir (23). Rasyondaki konsantre yem artışına bağlı olarak asetat: propiyonat oranı ve rumen amonyak oranı da azalmıştır. Söz konusu azalmaların rumen pH'sındaki azalmayla ilişkili olduğu belirlenmiştir.

Rumen fistüllü koyunlarda sadece yulaf otu (Kontrol) ve yulaf otuyla birlikte %35 ya da %70 oranında tahıl kırması verilerek yapılan bir çalışmada her iki tahıl kırması grubunda da metan salınımı Kontrol grubundan önemli derecede düşük bulunmuştur (27). Aynı çalışmada rumen sıvısı asetik asit oranında gruplar arasında farklılık görülmezken, propiyonik asit oranı, %70 tahıl kırması tüketen grupta diğer gruplardan önemli derecede yüksek bulunmuştur.

Kaba yem kaynağının baklagil familyasından ya da buğdaygil familyasından oluşu da metan üretimini etkilemektedir. Ruminal metan üretimi, baklagil kaba yemleriyle beslemelerde buğdaygillerle beslemeye göre daha az olmaktadır. Azalmanın sebebi; baklagillerde yapısal karbonhidrat kaynaklarının daha az olması, buna karşın rumenden daha hızlı geçmesi ve daha fazla propiyonat üretmeleri şeklinde izah edilmektedir (4).

2.3. Yem Tüketim Miktarı ve Yemleme Sıklığında Değişiklik Yapılması

Yem tüketim miktarının artması yemlerin rumenden geçişini hızlandırmakta, buna bağlı olarak ta yemlerin rumende kalış süresi kısaltılmaktadır. Böyle bir durumda; bir taraftan rumenden hızlı geçen yemlerle, diğer taraftan da rumendeki diğer mikroorganizmalarla yarış halinde bulunan metanojenik mikroorganizmalar substrat bulmakta zorlanmaktadır. Ayrıca yemler rumenden hızlı geçince rumen mikroorganizmaları daha kolay sindirilebilen yemleri sindirmekte, sonuçta propiyonik asit miktarı artmaktadır. Propiyonik asit sentezinde fazla miktarda H₂ kullanıldığı için de metan oluşumu azalmaktadır. Rumen içeriği geçiş hızının %54'ten %68'e çıkması durumunda metan oluşumunda %30 azalma olmaktadır (2). Yaşam payı düzeyinde beslenen hayvanlara verilen yem miktarının yaşam payının iki katına çıkarıldığında üretilen metan miktarının arttığı, ancak tüketilen

birim kuru madde için üretilen metan miktarının azaldığı bildirilmektedir (28).

Rumen ekosistemi yemleme sıklığına bağlı olarak ta değişkenlik göstermektedir. Arzu edilen durum, rumen pH'sının mümkün olduğunca arzu edilen sınırlarda (6.2-6.8) stabil kalmasıdır. Mümkün olduğunca sık yemleme ya da *ad libitum* yemleme yapılması stabilitenin korunmasına yardımcı olmaktadır. Yemleme aralığının uzun olması rumen pH'sında keskin iniş ve çıkışlara sebep olmaktadır. Rumen pH'sının 6'nın altına düşmesi metanojenik mikroorganizmalar üzerinde olumsuz etki yapmaktadır. Öğün sayısının azaltılması, asetik asit üretimini artırıp propiyonat sentezini azalttığı için metan üretiminde artışa sebep olmaktadır (29).

2.4. Probiyotik Kullanılması

In vivo (30) ve *in vitro* (31) şartlarda yapılan çalışmalarda yeme *Saccharomyces cerevisiae* ilavesinin metan oluşumunu azalttığı belirlenmiştir. Manda rumen sıvısından izole edilen *Fusobacterium sp.* bakterileriyle *in vitro* şartlarda yapılan başka bir çalışmada da, yemlere bu tür bakteri ilavesinin metan oluşumunu azalttığı, selüloz sindirimini ise arttırdığı tespit edilmiştir (32).

2.5. İyonofor Grubu Antibiyotiklerin Kullanılması

Ruminant rasyonlarına iyonofor grubu antibiyotik ilavesi rumende propiyonik asit miktarını artırırken, asetat: propiyonat oranını azaltmakta, sonuçta da metan üretimi baskılanmaktadır (33). İyonofor grubu antibiyotikler içerisinde metan oluşumunu baskılamada en yaygın olarak kullanılanı monensin olup, ayrıca lasolisid, narasin, salinomisin ve tetronasin de bu amaçla kullanılabilir (29). Büyükbaş ruminant rasyonlarına iyonofor antibiyotik ilavesinin metan salınımını azalttığı, ancak bu etkinin kısa süreli olduğu bildirilmektedir (4). Rasyona monensin ilavesinin besi sığırlarında metan salınımını değiştirmedığı (10), süt ineklerinde ise azalttığı tespit edilmiştir (34). Burada yem katkı maddesi olarak Ülkemizde antibiyotik kullanımının yasak olduğunun hatırlatılmasında yarar vardır.

2.6. Organik Asitlerin Kullanılması

Fumarik asit, propiyonik asit üretimi için kullanılan bir ara metabolittir. Fumarik asit oluşumu esnasında H₂ kullanılmaktadır. Dolayısıyla metan oluşumuna sevk edilecek hidrojenin bir kısmı bu yolla kullanılarak azaltılmaktadır. *In vitro* şartlarda yapılan çalışmalarda yeme ilave edilen fumaratın metan oluşumunu %5-11 arasında azalttığı, ancak *in vivo* çalışmalarla bu durumun henüz teyit edilemediği belirtilmiştir (29). Yine *in vitro* şartlarda yapılan bir çalışmada rasyona fumarik asit ilavesinin metan üretimini azalttığı belirlenmiştir (35). Rasyona fumarik asit veya kapsül halinde fumarik asit ilavesinin metan salınımına etkisinin araştırıldığı bir çalışmada günlük üretilen metan miktarının kontrol, fumarik asit ve kapsül halinde fumarik asit gruplarında sırasıyla 23.9, 12.2 ve 6 litre olarak tespit edilmiştir (36).

2.7. Bitkisel Ekstraktlar ve Esansiyel Yağların Kullanılması

Ruminal metanogenezin azaltılması üzerinde en yaygın çalışmaların yapıldığı bileşiklerden birisi tanenlerdir. Tanenler üzerinde yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçların verildiği Tablo 2'den de görüldüğü üzere tanenler metan üretimini azaltmaktadır. Tanenlerin metan salınımını azaltmadaki etki mekanizmaları; selülozu parçalayan mikroorganizmaların aktivite ve çoğalmalarını baskılayıp böylelikle oluşacak asetik asit miktarını azaltarak, metan üretimi için gerekli olan CO₂ ve H₂ miktarını azaltarak (37), metanojenik bakteri (38) archaea ve protozoa sayılarını (39) azaltarak gerçekleştirdiği şekilde izah edilmektedir. Ancak yüksek dozlarda kondanse tanen ilavesinin kuru madde sindiriminde olumsuz etkilediği de belirlenmiştir (39).

Tablo 2. Farklı tanen kaynağı ve çeşitlerinin metan üretimi üzerine etkileri.

Table 2. The effects of different tannin sources and types on methane production.

Araştırma tekniği	Kullanılan tanen kaynağı/çeşidi	Metan salınımına Etkisi	Kaynak
<i>In vivo</i> (Süt İneği)	Kondanse tanence zengin gazal boynuzu	Azaltmış	38
<i>In vitro</i>	Kondanse tanence zengin tropikal bir ağaç (<i>Leucaena</i>)	Azaltmış	39
<i>In vitro</i>	Üzüm çekirdeği tanen ekstraktı	Azaltmış	40
<i>In vitro</i>	Kondanse tanence zengin akasya	Azaltmış	41
	Kondanse tanence zengin subtropikal bir ağaç (<i>Quebracho</i>)	Azaltmış	
	Hidrolize tanence zengin kestane	Azaltmış	
	Hidrolize tanence zengin meşe palamudu	Azaltmış	
<i>In vitro</i>	Kondanse tanence zengin okaliptus yaprağı	Azaltmış	8

Süt ineklerinde rasyona %5 nane ilavesinin metan üretimini önemli derecede azalttığı belirlenmiştir (42). *In vitro* gaz tekniğiyle yapılan bir çalışmada rumen sıvısına 0, 0.33, 1.0 ve 2.0 µl/ml nane yağı ilavesinin metan salınımına etkisinin araştırıldığı bir çalışmada deneme gruplarında metan salınımında sırasıyla %19.9, 46.0 ve 75.6 oranlarında azalma tespit edilmiştir (43). Ayrıca nane yağı ilavelerinin protozoa sayılarında ve aktivitelerinde önemli düşüşe sahip olduğu belirlenmiştir. Rumen sıvısına 0, 50, 100, 200 ve 400 µg/ml timol (kekikte bulunan farmakolojik olarak aktif bir madde)

ilavesinin metan oluşumuna etkisinin *in vitro* şartlarda araştırıldığı bir çalışmada, sadece 400 µg/ml düzeyindeki ilavede metan salınımının önemli derecede azaldığı tespit edilmiştir (44). Canbolat ve ark. (45), *in vitro* gaz üretim tekniği ile yaptıkları bir çalışmada, rumen sıvısına 0, 400, 800 ve 1200 mg/l kekik yağı, nane yağı ve portakal yağı ilavesi durumunda, tüm yağ çeşitlerinin ve yağ dozlarının metan salınımını azalttığı tespit edilmiştir. Araştırmada elde edilen sonuçlara bağlı olarak ruminant beslemede esansiyel yağların düşük düzeylerde kullanılabileceği, ancak yüksek düzeyde

kullanılmasının rumen fonksiyonu ve yemden yararlamayı düşürebileceği ifade edilmiştir.

Koyunlarda yapılan bir çalışmada rasyona 5 g/kg sarımsak ya da 2 g/kg sarımsakta bulunan dially disülfid isimli etken madde ilavesinin metan salınımını etkilemediği belirlenmiştir (46).

2.9. Metan İnhibitörlerinin Kullanılması

Metan inhibitörleri arasında üzerinde yoğun çalışma yapılan bileşiklerden birisi nitrattır. Süt ineklerinde rasyona kuru madde bazında 21 g/kg nitrat ilave edilerek yapılan bir çalışmada metan salınımının % 16 oranında azaldığı belirlenmiştir (47). Metan salınımının azaltılmasına bağlı olarak ne süt veriminde ne de enerji dengesinde iyileşme olmadığı tespit edilmiştir. Aynı çalışmada methemoglobin düzeyinin nitrat ilavesine bağlı olarak üre verilen Kontrol grubuna göre yükseldiği belirlenmiştir.

Şeker kamışına dayalı olarak beslenen besi sığırlarında rasyona kuru madde bazında 22 g/kg nitrat ilave edilerek yapılan bir çalışmada, metan salınımının Kontrol grubuna göre %27 azaldığı tespit edilmiştir (48).

Rumen fistüllü koyunlarda rasyona %4 oranında nitrat ilave edilerek yapılan bir çalışmada, metan salınımının Kontrol grubuna göre %23 oranında azaldığı, nitrat ilavesinin methemoglobin düzeyini etkilemediği belirlenmiştir (49). Kuzularda rasyona kuru madde bazında %2.6 oranında nitrat, sülfat ve nitrat+sülfat ilave edilerek yapılan bir çalışmada; metan salınımının aynı sıraya göre %32, 16 ve 47 oranında azaldığı tespit edilmiştir (50). Aynı çalışmada nitrat ilavesinin; metanojenik mikroorganizma sayısını azalttığı, hemoglobinin % 7'sini methemoglobine dönüştürdüğü bu oranın nitrat+sülfat grubunda %2 olduğu tespit edilmiştir.

Metan inhibitörü olarak üzerinde durulan maddelerden birisi de bromklorometandır. Bu madde ile yapılan çalışmalarda metan üretiminin azaldığı tespit edilmiştir (51-52).

Metan inhibitörü olarak kullanılan diğer bileşikler 2-bromoetan sülfonik asit (BES) ve 3-bromopropan sülfonik asittir (BPS). Bu bileşiklerden BES metanojenik bakterileri baskılayarak metan

oluşumunu azaltmaktadır. Ancak metanojenik bakterilerin kısa sürede bu bileşiğe direnç geliştirdiği, dolayısıyla etkisinin kısa sürdüğü bildirilmiştir (53). Direkt metan inhibitörleri arasında en iyi sonuçları BES verirken bu inhibitörün en büyük avantajı direkt metanojen inhibitörü olması ve diğer bakteriler üzerine herhangi bir zarar vermemesidir (33).

Mevastatin ve lavastatin gibi statin grubu maddelerin 3-hidroksi 3-metilglutaril CoA (HMG-CoA) reduktaz enzimi inhibitörleri olduğu ve rumende metan oluşumunu azalttıkları bildirilmektedir (54).

Metan inhibitörü olarak üzerinde durulan maddelerden bir diğeri de kloroformdur. Rumen fistüllü ineklerde rumene günlük 1.5 ml kloroform ilave edilerek yapılan bir çalışmada, metan salınımında ve metanojenlerin sayısında denemenin ilk 5 günü içinde hızlı ve belirgin bir düşüşe sebep olduğu belirlenmiştir (55). Ancak araştırmanın 42. gününe doğru gidildikçe metan oluşumunda yavaş yavaş artış olduğu, çalışmanın 42. gününde çalışma öncesindeki metan üretiminin %62'sine ulaştığı belirlenmiştir. Benzer durum asetat: propiyonat oranında da görülmüştür. Araştırma sonucunda metan salınımı ve metanojenler üzerinde kloroformun kalıcı bir etki göstermediği kanaatine ulaşılmıştır. Amikloral da metan oluşumunu azaltmakta, ancak uzun süreli kullanımında methemoglobinemiye sebep olmaktadır (2).

2.10. Biyoteknolojik Yöntemlerin Uygulanması

2.10.1 Defaunasyon

Rumendeki metanogezisin %9-25'inin protozoolarla ilişkili olduğu belirtilmektedir (56). Rumende protozoa popülasyonunun azaltılmasıyla ruminal metan üretiminin azaltılabileceği düşüncesinden hareketle özellikle saponinler üzerinde durulmaktadır. Saponinler; rumen protozoonlarını öldürerek defaunasyona sebep olmaktadır (57). Defaunasyon yapılan ya da defaunasyon yapıp tekrar fauna edilen fistüllü koyunlarda yapılan bir çalışmada, rasyona günlük 3 g saponin ilavesinin ruminal metan salınımını Kontrol grubuna göre önemli derecede azalttığı belirlenmiştir (58). Bu bildirişten farklı olarak saponin ilavesinin

ruminal metan salınımını etkilmediği yönünde çalışma sonuçları da bulunmaktadır (59,60).

2.10.2 Bakteriosinler

Bakteriosinler; bakteriler tarafından üretilen peptit veya protein yapısındaki bileşiklerdir (33) ve metan salınımını azaltıcı etkileri üzerinde çalışmalar yapılmaktadır. Nicin üzerinde en yaygın çalışılan bakteriosinlerden birisidir. Nicin; *Lactococcus lactis* bakterisi tarafından üretilmektedir. *In vitro* şartlarda yapılan iki farklı çalışmada, doğal ve güvenli bir bakteriosin olan nicin ilavesinin metan salınımını %36 oranında azalttığı belirlenmiştir (1,61). Lee ve ark. (62), tarafından *Streptococcus bovis*'ten üretilen bir bakteriosin olan HC5 bovisin ile yapılan *in vitro* bir çalışmada metan üretiminin %50 oranında azaldığı tespit edilmiştir.

2.10.3 Immünizasyon

Metanojenik bakterilerden izole edilen antijenlerden elde edilen aşılardan ve rumen protozoonlarına karşı hazırlanan immunolojik preparatlar ruminal metan üretimini azaltabilmektedir (63).

SONUÇ

Ruminal metan salınımıyla yemlerle alınan enerjinin %2-12'si arasındaki bir kısmı kayba uğramaktadır. Metan sera etkisine sahip bir gaz olduğu için küresel ısınmaya katkı yaparak ekolojik bir problem de oluşturmaktadır. Ruminal metan salınımının azaltılması, söz konusu bu iki olumsuzluğun hafifletilmesine katkı sağlayacaktır.

Ruminal metan salınımının azaltılmasına yönelik hayvan besleme uygulamalarında temel olarak iki ana prensip üzerinden hareket edilmektedir. Bunlar; 1. Rumendeki metanojenik mikroorganizmaların sayısını veya aktivitesini azaltmak, 2. Rumen fermentasyonu sonucu oluşan hidrojenin, metan oluşumuna katılmadan hidrojen içeren diğer bileşiklerin sentezine yönlendirilmesidir.

Ruminal metan salınımının azaltılmasına yönelik yapılan hayvan besleme stratejilerinde; rasyona yağ ilavesi, kaba konsantre yem oranında konsantre yem lehine artış yapılması, yem tüketimi ve yemleme

sıklığının artırılması, probiyotik, iyonofor antibiyotikler, organik asitler, çeşitli tıbbi ve aromatik bitkilerin kendileri ya da bunlardan elde edilen ekstraktlar veya esansiyel yağlar, metan inhibitörleri ve biyoteknolojik yöntemlerin kullanılması gibi alternatifler üzerinde durulmaktadır. Üzerinde durulan uygulamaların birçoğundan olumlu sonuç alınmakla birlikte, elde edilen etkinin uzun süreli olmaması ve zamanla rumendeki mikroorganizmaların yapılan uygulamaya karşı direnç kazanması, bazı uygulamaları sindirim üzerinde olumsuz etki oluşturması veya organizma için toksik özellikte olması söz konusu uygulamaların pratiğe aktarılmasını güçleştirmektedir.

Yukarıda bahsedilen uygulamalar genel olarak düşünüldüğünde metan salınımının azaltılmasının zor bir işlem olduğu görülmektedir. Konu ile ilgili çalışmalar yoğunlaşarak devam etmektedir.

KAYNAKLAR

1. Hegarty RS., Klieve AV., 1999. Opportunities for biological control of ruminal methanogenesis. Aust J Agric Res, 50, 1315-1320.
2. Moss A., Jouany JP., Newbold J., 2000. Methane production by ruminants: Its contribution to global warming. Ann Zootech, 49, 231-253.
3. Görgülü M., Darcan NK., Karakök SG., 2009. Hayvancılık ve Küresel Isınma. V. Ulusal Hayvan Besleme Kongresi 30 Eylül-3 Ekim 2009 Çorlu, Tekirdağ.
4. Johnson KA., Johnson DE., 1995. Methane emissions from cattle. J Anim Sci, 73, 2483-2492.
5. McAllister TA., Okine EK., Mathison GW., Cheng KJ., 1996. Dietary, environmental and microbiological aspects of methane production in ruminants. Can J Anim Sci, 76, 231-243.
6. Türkiye Cumhuriyeti Resmi Gazetesi, 13.05.2009 tarih ve 27227 sayılı nüshası.
7. IPCC., 2001. Intergovernmental Panel on Climate Change. Climate Change: Synthesis report. A contribution of Working Groups I, II and III to the third assessment report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge Univ Press, Cambridge, UK.
8. Akçıl E., Denek N., 2013. Farklı seviyelerde

- okaliptus (*Eucalyptus camaldulensis*) yaprağının bazı kaba yemlerin *in vitro* metan gazı üretimi üzerine etkisinin araştırılması. Harran Üniv Vet Fak Derg, 2, 75-81.
9. Dohme F., Machmüller A., Wasserfallen A., Kreuzer M., 2000. Comparative efficiency of various fats rich in medium chain fatty acids to suppress ruminal methanogenesis as measured with RUSITEC. Can J Anim Sci, 80, 473-482.
 10. McGinn SM., Beauchemin KA., Coates T., Colombatto D., 2004. Methane emissions from beef cattle: Effects of monensin, sunflower oil, enzymes, yeast, and fumaric acid. J Anim Sci, 82, 3346-3356.
 11. Giger-Reverdin S., Morand-Fehr P., Tan G., 2003. Literature survey of the influence of dietary fat composition on methane production in dairy cattle. Livest Prod Sci, 82, 73-79.
 12. Martin C., Morgavi DP., Doreau M., Jouany JP., 2006. Comment reduire la production de methane chez les ruminants? Fourrages, 187, 283-300.
 13. Blaxter KL., Czerkawsky J., 1966. Modification of the methane production of the sheep by supplementation of its diet. J Sci Food Agric, 17, 417-421.
 14. Soliva CR., Meile L., Cieslak A., Kreuzer M., Machmüller A., 2004. Rumen simulation technique study on the interactions of dietary lauric and myristic acid supplementation in suppressing ruminal methanogenesis. Br J Nutr, 92, 689-700.
 15. Odongo NE., Or-Rashid MM., Kebreab E., France J., McBride BW., 2007. Effect of supplementing myristic acid in dairy cow rations on ruminal methanogenesis and fatty acid profile in milk. J Dairy Sci, 90, 1851-1858.
 16. Martin C., Rouel J., Jouany JP., Doreau M., Chilliard Y., 2008. Methane output and diet digestibility in response to feeding dairy cows crude linseed, extruded linseed, or linseed oil. J Anim Sci, 86, 2642-2650.
 17. Johnson KA., Kincaid RL., Westberg HH., Gasking CT., Lamb BK., Cronth JD., 2002. The effect of oilseeds in diets of lactating cows on milk production and methane emissions. J Anim Sci, 85, 1509-1515.
 18. Kim ET., Park CG., Lim DH., Kwon EG., Ki KS., Kim SB., Moon YH., Shin NH., Lee SS., 2014. Effects of coconut materials on *in vitro* ruminal methanogenesis and fermentation characteristics. Asian-Aust J Anim Sci, 27, 1721-1725.
 19. Blanco C., Bodas R., Prieto N., Moran L., Andres S., Lopez S., Giraldez FJ., 2012. Vegetable oil soapstocks reduce methane production and modify ruminal fermentation. Anim Feed Sci Technol, 176, 40-46.
 20. Lovett D., Lovell S., Stack L., Callan J., Finlay M., Conolly J., O'Mara FP., 2003. Effect of forage/concentrate ratio and dietary coconut oil level on methane output and performance of finishing beef heifers. Livest Prod Sci, 84, 135-146.
 21. Broudiscou L., Lassalas B., 1991. Linseed oil supplementation of the diet of sheep: Effect on the *in vitro* fermentation of amino acids and proteins by rumen microorganisms. Anim Feed Sci Technol, 33, 161-171.
 22. Machmüller A., Kreuzer M., 1999. Methane suppression by coconut oil and associated effects on nutrient and energy balance in sheep. Can J Anim Sci, 79, 65-72.
 23. Lana RP., Russell JB., Van Amburg ME., 1998. The role of pH in regulating methane and ammonia production. J Anim Sci, 76, 2190-2196.
 24. van Kessel JAS., Russell JB., 1996. The effect of pH on ruminal methanogenesis. FEMS Microbiol Ecol, 20, 205-210.
 25. Moate PJ., Williams SRO., Torok VA., Hannah MC., Ribaux BE., Tavendale MH., Eckard RJ., Jacobs JL., Auld MJ., Wales WJ., 2014. Grape marc reduces methane emissions when fed to dairy cows. J Dairy Sci, 97, 5073-5087.
 26. Popova M., Martin C., Eugène M., Mialon MM., Doreau M., Morgavi DP., 2011. Effect of fibre- and starch-rich finishing diets on methanogenic archaea diversity and activity in the rumen of feedlot bulls. Anim Feed Sci Tech, 166-167, 113-121.
 27. Christophersen CT., Wright ADG., Vercoe PE.,

2008. *In vitro* methane emission and acetate: propionate ratio are decreased when artificial stimulation of the rumen wall is combined with increasing grain diets in sheep. *J Anim Sci*, 86, 384-389.
28. Blaxter KL., 1967. *Metabolism of Ruminants*. Hutchinson and Co. Ltd, London, UK.
29. Boadi D., Benchaar C., Chiquette J., Masse D., 2004. Mitigation strategies to reduce enteric methane emissions from dairy cows: Update review. *Can J Anim Sci*, 84, 319-335.
30. Mutsvangwa T., Edwards IE., Topps JH., Paterson GFM., 1992. The effect of dietary inclusion of yeast culture (Yea-Sacc) on patterns of rumen fermentation, food intake and growth of intensively fed bulls. *Anim Prod*, 55, 35-40.
31. Chaucheyras F., Fonty G., Bertin G., Gouet P., 1995. *In vitro* H₂ utilization by a ruminal acetogenic bacterium cultivated alone or in association with an archaea methanogen is stimulated by a probiotic strain of *Saccharomyces cerevisiae*. *Appl Environ Microbiol*, 61, 3466-3467.
32. Paul SS., Deb SM., Singh D., 2011. Isolation and characterization of novel sulphate-reducing *Fusobacterium* sp. and their effects on *in vitro* methane emission and digestion of wheat straw by rumen fluid. *Anim Feed Sci Tech*, 166-167, 132-140.
33. Meral Y., Biricik H., 2013. Ruminantlarda metan emisyonunu azaltmak için kullanılan besleme yöntemleri. VII. Ulusal Hayvan Besleme Kongresi, 26-27 Eylül 2013, Ankara.
34. Sauer FD., Fellner V., Kinsman R., Kramer JK., Jackson HA., Lee AJ., Chen S., 1998. Methane output and lactation response in Holstein cattle with monensin or unsaturated fat added to the diet. *J Anim Sci*, 76, 906-914.
35. Asanuma NM., Iwamoto M., Hino T., 1999. Effect of the addition of fumarate on methane production by ruminal microorganism *in vitro*. *J Anim Sci*, 82, 780-787.
36. Wallece RJ., Wood TA., Rowe A., Price J., Yanez DR., Williams SR., Newbold CJ., 2006. In *Greenhouse Gases and Animal Agriculture : An Update*. (Ed. Soliva, CR., Takahashi J., Kreuzer M.) 148-151 (Elsevier International Congress Series 1293, Amsterdam, The Netherland).
37. Goel G., Makkar HPS., 2012. Methane mitigation from ruminants using tannins and saponins, a status review. *Trop Anim Health Prod*, 44, 729-739.
38. Woodward SL., Waghorn GC., Ulyatt MJ., Lassey KR., 2001. Early indications that feeding lotus will reduce methane emissions from ruminants. In: *Proceedings of The New Zealand Society of Anim Produc. ACIAR*, Adelaide, 23-26.
39. Tana HY., Sieoa CC., Abdulla N., Lianga JB., Huang XD., Ho YW., 2011. Effects of condensed tannins from *Leucaena* on methane production, rumen fermentation and populations of methanogens and protozoa *in vitro*. *Anim Feed Sci Tech*, 169, 185-193.
40. Pellikaan WF., Strigano E., Leenaars J., Bongers DJGM., van Laar-van Schuppen S., Plant J., Mueller-Harvey L., 2011. Evaluating effects of tannins on extent and rate of *in vitro* gas and CH₄ production using an automated pressure evaluation system (APES). *Anim Feed Sci Tech*, 166-167, 377-390.
41. Hassanat F., Benchaar C., 2013. Assessment of the effect of condensed (acacia and quebracho) and hydrolysable (chestnut and valonea) tannins on rumen fermentation and methane production *in vitro*. *J Sci Food Agric*, 93, 332-339.
42. Hosoda K., Nishida T., Park WY., Eruden B., 2005. Influence of *Mentha piperita* L. (peppermint) supplementation on nutrient digestibility and energy metabolism in lactating dairy cows. *Asian-Austr J Anim Sci*, 18, 1721-1726.
43. 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, 321-327.
44. Evans JD., Martin SA., 2000. Effects of thymol on ruminal microorganisms. *Curr Microbiol*, 41, 336-340.
45. Canbolat Ö., Kalkan H., Karaman Ş., Filya İ., 2011. Esansiyel yağların sindirim, rumen

- fermantasyonu ve mikrobiyal protein üretimi üzerine etkileri. Kafkas Üniv Vet Fak Derg, 17, 557-565.
46. Klevenhusen F., Zeitz JO., Duval S., Kreuzer M., Soliva CR., 2011. Garlic oil and its principal component diallyl disulfide fail to mitigate methane, but improve digestibility in sheep. Anim Feed Sci Tech, 166-167, 356-363.
 47. van Zijderveld SM., Gerrits WJJ., Dijkstra J., Newbold JR., Hulshof RBA., Perdok HB., 2011. Persistency of methane mitigation by dietary nitrate supplementation in dairy cows. J Dairy Sci, 94, 4028-4038.
 48. Hulshof RBA., Berndt A., Gerrits WJJ., Dijkstra J., van Zijderveld SM., Newbold JR., Perdok HB., 2012. Dietary nitrate supplementation reduces methane emission in beef cattle fed sugarcane-based diets. J Anim Sci, 90, 2317-2323.
 49. Nolan JV., Hegarty RS., Hegarty J., Godwin IR., Woodgate R., 2010. Effects of dietary nitrate on fermentation, methane production and digesta kinetics in sheep. Anim Produc Sci, 50, 801-806.
 50. van Zijderveld SM., Gerrits WJJ., Apajalahti JA., Newbold JR., Dijkstra J., Leng RA., Perdok HB., 2010. Nitrate and sulfate: Effective alternative hydrogen sinks for mitigation of ruminal methane production in sheep. J Dairy Sci, 93, 5856-5866.
 51. Shima S., Warkentin E., Thauer RK., Ermler U., 2002. Structure and function of enzymes involved in the methanogenic pathway utilizing carbon dioxide and molecular hydrogen. J Biosci Bioeng, 93, 519-530.
 52. Zheming Z., Qingxiang M., Zhongtang Y., 2011. Effects of methanogenic inhibitors on methane production and abundances of methanogens and cellulolytic bacteria *in vitro* ruminal cultures. Appl Environ Microbiol, 77, 2634-2639.
 53. Imming I., 1996. The rumen and hindgut as source of ruminant methanogenesis. Envir Monit Assess, 42, 57-72.
 54. Miller TL., Wolin MJ., 2001. Inhibition of growth of methane-producing bacteria of the ruminant forestomach by hydroxymethylglutaryl-SCoA reductase inhibitors. J Dairy Sci, 84, 1445-1448.
 55. Knight T., Rominus RS., Dey D., ToOtil C., Naylor G., Evans P., Molano G., Smith A., Tavendale M., Pinares-Patino CS., Clark H., 2011. Chloroform decreases rumen methanogenesis and methanogen populations without altering rumen function in cattle. Anim Feed Sci Tech, 166-167, 101-112.
 56. Newbold CJ., Lassalas B., Jouany JP., 1995. The importance of methanogenesis associated with ciliate protozoa in ruminal methane production *in vitro*. Lett Appl Microbiol, 21, 230-234.
 57. Eryavuz A., Dehority BA., 2004. Effect of *Yucca schidigera* extract on the concentration of rumen microorganisms in sheep. Anim Feed Sci Tech, 117, 215-222.
 58. Zhou YY., Mao HL., Jiang F., Wang JK., Liu JX., McSweeney CS., 2011. Inhibition of rumen methanogenesis by tea saponins with reference to fermentation pattern and microbial communities in Hu sheep. Anim Feed Sci Tech, 166-167, 93-100.
 59. Yuan ZP., Zhang CM., Zhou L., Zou CX., Guo YQ., Li WT., Liu JX., Wu YM., 2007. Inhibition of methanogenesis by tea saponin and tea saponin plus disodium fumarate in sheep. J Anim Feed Sci, 7 (Suppl. 2), 560-565.
 60. Guo YQ., Liu JX., Lu Y., Zhu WY., Denman SE., McSweeney CS., 2008. Effect of tea saponin on methanogenesis, microbial community structure and expression of *mcrA* gene, in cultures of rumen micro-organisms. Lett Appl Microbiol, 47, 421-426.
 61. Callaway TR., Carneiro De Melo AMS., Russell JB., 1997. The effect of nisin and monensin on ruminal fermentation *in vitro*. Curr Microbiol, 35, 90-96.
 62. Lee SS., Hsu JT., Mantovani HC., Russell JB., 2002. The effect of bovicin HC5, a bacteriocin from streptococcus bovis HC5, on ruminal methane production *in vitro*. FEMS Microbiol Lett, 217, 51-55.
 63. Ulyatt MJ., Lassey KR., 2001. Methane emission from pastoral system: The situation in New Zealand, Arc Latinoam Prod Anim, 9, 118-126.