



Hasat Zamanının Meryemana Dikeninin (*Silybum marianum*) Kompozisyonuna, Gaz Üretimine, Metan Üretimine, Sindirimine ve Metabolik Enerjisine Etkisi *

Ahmet Aziz KURT¹, Adem KAMALAK¹

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootekni Bölümü, Kahramanmaraş-TÜRKİYE

Sorumlu yazar: Adem KAMALAK; akamalak@ksu.edu.tr; ORCID: 0000-0003-0967-4821

Atıf yapmak için: Kurt AA, Kamalak A. Hasat zamanının Meryemana dikeninin (*Silybum marianum*) kompozisyonuna, gaz üretimine, metan üretimine, sindirimine ve metabolik enerjisine etkisi. Erciyes Üniv Vet Fak Derg 2020; 17(2): 116-120.

Özet: Bu çalışmanın amacı hasat zamanının Meryemana dikeninin kompozisyonuna, gaz üretimine, metan üretimine, metabolik enerjisine ve organik madde sindirim derecesine etkisini belirlemektir. Çalışmada elde edilen bulgulara göre, hasat zamanı Meryemana dikeninin kompozisyonunu, gaz üretimini, metan üretimini, metabolik enerjisini (ME) ve organik madde sindirim derecesini (OMSD) önemli derecede etkilemiştir. Meryemana dikeninin kuru madde (KM), ham kül (HK), ham protein (HP), ham yağ (HY), nötral deterjan fiber (NDF), asit deterjan fiber (ADF) içerikleri %11.99 ile 43.26, %12.68 ile 16.56, % 11.11 ile 15.77, % 2.47 ile 5.86, % 39.88 ile 60.85 ve % 24.96 ile 44.52 arasında değişmiştir. Meryemana dikeninin 24 saatlik fermentasyonu sonucu açığa çıkan gaz üretimi ve metan üretimi 26.36 ile 40.44 ml ve 3.26 ile 5.34 ml arasında değişmiştir. Meryemana dikeninin metabolik enerji içeriği ve organik madde sindirim derecesi hasat zamanına bağlı olarak 7.67 ile 8.70 MJ kg/KM ve %48.87 ile 64.40 arasında değişmiştir. Sonuç olarak, hasat zamanı Meryemana dikeninin besleme değeri üzerinde önemli bir faktördür. Hasat zamanının ilerlemesiyle birlikte Meryemana dikeninin besleme değeri özellikle HP içeriği, ME ve OMSD düşmüştür. *In vitro* gaz üretim değerleri sonuçlarına göre Meryemana dikeninin anti-metanojenik özelliği olduğu bundan dolayı ruminantlarda enterik metan üretimini azaltmak için kullanım potansiyeli olduğu düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: Kimyasal kompozisyon, Meryemana dikenini, metabolik enerji, organik madde sindirim derecesi

Effect of Harvest Stage on Chemical Composition, Gas Production, Methane Production, Digestibility and Metabolisable Energy of Milk Thistle (*Silybum marianum*)

Summary: The aim of the current experiment was to determine the effect of harvesting stage on the chemical composition, gas production, methane production, metabolisable energy and organic matter digestibility of milk thistle. According to the findings, harvesting stage significantly affected the chemical composition, gas production, methane production, metabolisable energy and organic matter digestibility of milk thistle. Dry matter (DM), crude ash (CA), crude protein (CP), ether extract (EE), nötral detergent fiber (NDF) and acid detergent fiber (ADF) contents of milk thistle hay ranged from 11.99 to 43.26%, 12.68 to 16.56 %, 11.11 to 15.77 %, 2.47 to 5.86 %, 39.88 to 60.85% and 24.96 to 44.52% respectively. Gas production and methane production at 24 ranged from 26.36 to 40.44 ml and 3.26 to 5.34 ml respectively. Metabolisable energy and organic matter digestibility of milk thistle hay ranged from 7.67 to 8.70 MJ kg/KM and 48.87 to 64.40% respectively. As a conclusion, harvesting stage is an important factor on the nutritive value of milk thistle hay. Nutritive value especially crude protein, metabolisable energy and organic matter digestibility of milk thistle hay decreased with advancing maturity. Based on the *in vitro* gas production date, it was considered that milk thistle has a potential to mitigate the enteric methane production

Key words: Chemical composition, metabolisable energy, milk thistle, organic matter digestibility

Giriş

Ruminant rasyonlarının önemli bir kısmını oluşturan kaba yemler, hayvanlara enerji, protein ve mineral sağlamanın yanında dolgu maddesi olarak da önemli görevler üstlenmektedir. Rumende yemlerin fermentasyonunu sağlayan bakteriler, funguslar, protozoalar ve arkealar arasındaki dengenin korunması kaba yemlerin mevcudiyetine bağlıdır. Rasyonda yeterli miktarda kaba yemin olmadığı durumlarda, rumen

fonksiyonunu etkin bir şekilde yerine getirememekte buna bağlı olarak bazı metabolik bozukluklar kendini göstermektedir. Dünyanın birçok bölgesinde olduğu gibi ülkemizde de zaman zaman kuraklık veya başka nedenlerden dolayı kaba yem tedarik sorunu ortaya çıkmakta olup, bu durum ekonomik anlamda hayvansal üretimi etkilemektedir. Kaba yem temin sorununu çözmek için yurt dışından kaba yem ithal edildiği dönemler dahi olabilmektedir. Bu durum hayvansal üretim maliyetini önemli derecede yükseltmektedir. Oysa ülkemizin bir çok bölgesinde yer alan marjinal alanlarda yetişen, hayvanların direk olarak otlayamadığı dikenlerin dahi ruminantların kaba yem ihtiyacını karşılamak için kullanılabilmesi yapılan ön çalışma

Geliş Tarihi/Submission Date : 04.02.2020

Kabul Tarihi/Accepted Date : 05.05.2020

*Bu çalışma "Hasat Zamanının Meryem Ana Dikeninin (*Silybum marianum*) Kompozisyonuna, *In Vitro* Gaz Üretimine ve Metan Üretimine Etkisi" adlı yüksek lisans tezinden üretilmiştir.

larda görülmektedir (Kamalak ve ark., 2005; Özınan ve ark., 2017). Yol kenarları ile boş arazilerde yetişen ve 1-2 m kadar boylanabilen Meryemana dikeninin (*Silybum marianum*) uygun zamanda hasat edildiğinde, ruminantların kaba yem ihtiyacını karşılamak için kullanılabilmesi bildirilmiştir (Malayoğlu ve ark., 2016; Nikzad ve ark., 2017; Özınan ve ark., 2017).

Bu çalışmanın, amacı hasat zamanının Meryemana dikenin kompozisyonuna, gaz üretimine, metan üretimine, metabolik enerjisine ve organik madde sindirim derecesine etkisini Wende analizi ve Hohenheim gaz üretim tekniğini kullanarak belirlemektir.

Gereç ve Yöntem

Çiçeklenme öncesi, çiçeklenme ve tohum bağlama dönemlerinde 10 farklı Meryemana dikenini hasat edilerek laboratuvara getirilmiş ve kurutulmuştur. Daha sonra örnekler 1 mm elekten geçecek şekilde öğütülerek analizler için hazır hale getirilmiştir. Örneklerin kuru madde, ham kül, ham protein ve ham yağ içerikleri üç tekerrürlü olarak AOAC (1990) yöntemiyle belirlenmiştir. Örneklerin ADF ve NDF içerikleri ise Van Soest ve ark. (1991) yöntemiyle belirlenmiştir.

Örneklerin gaz üretimleri Hohenheim gaz üretim tekniği kullanılarak belirlenmiştir (Menke ve ark., 1979). Yaklaşık 200 mg KM olacak şekilde Meryemana dikenini tartılarak 100 ml kapasiteli cam şırıngalara transfer edilmiştir. Daha sonra üzerine 30 ml tamponlanmış rumen sıvısı ilave edilerek 39 °C ayarlanmış su banyosuna yerleştirilmiştir. Üç farklı dönemde hasat edilerek elde edilen Meryemana dikenini otu 24 saatlik inkübasyona tabi tutulmuştur. Fermentasyon için gerekli rumen sıvısı % 60 yonca kuru otu ve % 40 kesif yemden oluşmuş rasyonla beslenen üç baş kanüllü koçtan alınmıştır. Bütün inkübasyonlar üçer

nin ME ve OMSD değerleri Menke ve Steingass (1988)'ın aşağıda bildirdiği formüller kullanılarak hesaplanmıştır.

$$ME \text{ (MJ/kg KM)} = 24.59 + 0.7984GÜ + 0.0496HP$$

$$OMSD \text{ (\%)} = 1.68 + (0.1418GÜ) + (0.073HP) + (0.217HY) - (0.028HK)$$

GÜ: Gaz üretimi (ml)

HP: Ham protein (%)

HY: Ham yağ (%)

HK: Ham kül (%)

İstatistik analizler

Hasat zamanının Meryemana dikeninin kompozisyonuna, gaz üretimine, metan üretimine, ME ve OMSD etkisini belirlemek için çalışmadan elde edilen veriler varyans analizine tabi tutulmuş, ortalamalar arasındaki farklar ise Tukey çoklu karşılaştırma testiyle belirlenmiştir. Analizler IBM SPSS Statistics 20 Paket Programı kullanılmıştır (IBM Cooperation, Somers, NY, USA).

Bulgular

Farklı zamanlarda hasat edilen Meryemana dikenin kompozisyonu Tablo 1'de verilmiştir. Meryemana dikenin KM içeriği %11.99 ile 43.26 arasında değişmiş olup en yüksek KM içeriği tohum bağlama döneminde hasat edilen Meryemana dikeninde bulunmuştur (P<0.001). Meryemana dikenin HK içeriği %12.68 ile 16.56 arasında değişmiştir ve en yüksek değeri çiçeklenme öncesinde hasat edilen Meryemana dikeninde bulunmuştur (P<0.001).

Tablo 1. Farklı zamanlarda hasat edilen Meryemana dikenin kompozisyonu

Parametreler	Hasat Zamanı				
	Çiçeklenme öncesi	Çiçeklenme	Tohum bağlama	SHO	P
KM	11.99 ^c	19.63 ^b	43.26 ^a	0.883	<0.001
HK	16.56 ^a	14.24 ^b	12.68 ^c	0.477	<0.001
HP	15.77 ^a	11.79 ^b	11.11 ^b	0.345	<0.001
HY	2.47 ^c	2.84 ^b	5.86 ^a	0.066	<0.001
NDF	39.88 ^c	54.84 ^b	60.85 ^a	0.467	<0.001
ADF	24.96 ^c	36.58 ^b	44.52 ^a	0.630	<0.001

^{a,b,c}, Aynı satırda yer alan farklı simgeye sahip ortalamalar birbirinden farklıdır, SHO= standart hata ortalaması, KM; kuru madde (%), HK: Ham kül (%), HP: Ham protein (%), HY: Ham yağ (%), NDF: Nötral deterjan fiber (%), ADF: asit deterjan fiber(%).

tekerrürlü olarak yapılmıştır. Fermentasyon tamamlandıktan sonra gaz ölçüm değerleri ölçülerek kaydedilmiştir. Meryemana dikeninin fermentasyon sırasında açığa çıkan gazın metan içeriği Infrared Metan Analiz cihazıyla (Sensor Europe GmbH, Erkrath, Germany) belirlenmiştir (Goel, 2008). Meryemana dikenini

Meryemana dikenin HP içeriği % 11.11 ile 15.77 arasında olup en yüksek HP içeriği çiçeklenme öncesinde hasat edilen Meryemana dikeninde bulunmuştur (P<0.001). HY içeriği Meryemana dikeninde % 2.47 ile 5.86 arasında değişmiş olup en yüksek değeri tohum bağlama döneminde hasat edilen örnekler

göstermiştir ($P<0.001$). NDF içeriği % 39.88 ile 60.85 arasında olup en yüksek değere tohum bağlama döneminde hasat edilen örnekler sahip olmuştur ($P<0.001$). ADF içeriği % 24.96 ile 44.52 arasında değişmiş ve en yüksek ADF içeriği tohum bağlama döneminde hasat edilen örneklerde bulunmuştur ($P<0.001$).

Farklı zamanlarda hasat edilen Meryemana dikenin gaz üretimi, metan üretimi, ME ve OMSD Tablo 2'de verilmiştir. Hasat zamanı Meryemana dikenin gaz üretimi, metan üretimi, ME ve OMSD'ni önemli derecede etkilemiştir ($P<0.001$).

Tablo 2. Farklı zamanlarda hasat edilen Meryemana dikenin gaz üretimi, metan üretimi, metabolik enerji ve organik madde sindirim derecesi

Parametreler	Hasat Zamanı			SHO	P
	Çiçeklenme öncesi	Çiçeklenme	Tohum bağlama		
Gaz(ml)	40.44 ^a	36.12 ^b	26.36 ^c	0.770	<0.001
Metan (ml)	5.34 ^a	4.56 ^b	3.26 ^c	0.098	<0.001
Metan(%)	13.20 ^a	12.63 ^{ab}	12.38 ^b	0.233	<0.001
ME	8.70 ^a	8.07 ^b	7.67 ^c	0.099	<0.001
OMSD	64.40 ^a	58.26 ^b	48.87 ^c	0.711	<0.001

^{a,b,c} Aynı satırda yer alan farklı simgeye sahip ortalamalar birbirinden farklıdır, SHO= standart hata ortalaması, ME: metabolik enerji (MJ kg KM), OMSD: Organik madde sindirim derecesi (%).

Meryemana dikenin 24 saatlik fermentasyonu sonucu açığa çıkan gaz miktarı 26.36 ile 40.44 ml, metan üretimi 3.26 ile 5.34 ml arasında değişmiştir. En yüksek gaz ve metan üretimi çiçeklenme öncesi hasat edilen Meryemana dikeninde bulunmuştur ($P<0.001$). Meryemana dikeninin ME içeriği hasat zamanına bağlı olarak 7.67 ile 8.70 MJ kg/KM arasında değişmiş olup en yüksek değer çiçeklenme öncesi dönemde görülmüştür. Hasat zamanının ilerlemesiyle birlikte Meryemana dikeninin metabolik enerji içeriği düşmüştür. Meryemana dikeninin OMSD'si hasat zamanına bağlı olarak %48.87 ile 64.40 arasında değişmiş olup en yüksek değere çiçeklenme döneminde sahip olmuş ve hasat zamanının ilerlemesiyle birlikte Meryemana dikeninin OMSD'si düşmüştür ($P<0.001$).

Tartışma ve Sonuç

Hasat zamanı Meryemana dikeninin sadece kompozisyonunu etkilemekle kalmamış aynı zamanda gaz üretimi, metan üretimi, ME ve OMSD'ni önemli derecede etkilemiştir ($P<0.001$). Yabani korunga ve *Polygonum aviculare* otlarıyla yapılan çalışmalarda hasat zamanının ilerlemesiyle birlikte HK içeriğinin düştüğü bildirilmiştir (Kamalak 2010; Kaplan ve ark., 2014). Hasat zamanının ilerlemesiyle birlikte otun HK içeriği ve HP içeriği azalmıştır. Yapılan birçok çalışmada hasat zamanının ilerlemesiyle birlikte HP içeriğinde azalma teyit edilmiştir (Canbolat, 2012; Kamalak ve ark., 2011; Kamalak ve Canbolat 2010; Kaplan ve ark., 2014; Kaplan ve ark., 2016; Kara ve ark. 2018; Üke ve ark., 2017). Elde edilen kaba yemlerin HP içeriği yemlerin kalitesini belirleyen önemli bir

parametredir. Rumenin normal bir fonksiyon göstermesi için kullanılan yemin HP içeriğinin KM bazında %7-8 olması gerektiği bildirilmiştir (Van Soest, 1994). Tablo 1'den de görüldüğü gibi bu çalışmaya konu olan üç dönemde hasat edilen Meryemana dikenin protein içeriği rumenin minimum ihtiyacını karşılayacak seviyenin üzerinde protein içeriğine sahiptir.

Diğer taraftan hasat zamanının ilerlemesiyle birlikte Meryemana dikeninin NDF ve ADF gibi hücre duvarı unsurlarında önemli artışlar olduğu bildirilmiştir. Daha önceki yapılan çalışmalarda benzer sonuçlar bulunmuştur (Canbolat, 2012; Kamalak ve ark., 2011; Ka-

malak ve Canbolat 2010; Kaplan ve ark., 2014; Kaplan ve ark., 2016; Kara ve ark. 2018; Üke ve ark., 2017). Kısaca hasat zamanının ilerlemesiyle birlikte Meryemana dikeninin KM, HY, NDF ve ADF içeriği önemli derecede artmasına rağmen HK ve HP içeriğinde önemli derecede azalma olmuştur. Bilindiği gibi kaba yemlerde bol miktarda bulunana NDF ve ADF içerikleri yemin tüketimini ve sindirimini etkileyen önemli bir unsurdur. Hücre duvarını oluşturan bu unsurların artmasıyla birlikte yemin tüketimi ve sindirimi düşmektedir. Dolayısıyla hasat zamanının ilerlemesi yemin besleme değerini düşürmektedir.

Tablo 2'de görüldüğü gibi, hasat zamanının ilerlemesiyle birlikte Meryemana dikeninin gaz üretimi, metan üretimi, metabolik enerji ve organik madde sindirim derecesini önemli derecede düşmüştür. Gaz ve metan üretiminde azalışın sebebi fermente olabilen yem miktarıyla ilişkilidir. Yem içerisinde fermente olabilen substrat ne kadar fazla ise o kadar fazla gaz ve metan üretimi oluşmaktadır. Gaz ve metan oluşumu yemlerde bulunan karbonhidratların fermentasyonu sonucu oluşmakta, yağ ve proteinlerin fermentasyonu sonucu oluşan gaz ve metan miktarı ise oldukça düşüktür (Makkar, 2004). Genel olarak yavaş fermente olan NDF ve ADF gibi hücre duvarı unsurların yem içerisinde artmasıyla birlikte gaz ve metan üretiminde azalmalar çok belirgin hale gelmektedir. Bu yüzden bu çalışmada gaz ve metan üretiminde meydana gelen azalma beklenen bir sonuç olup direk olarak fermente olan substrat miktarının NDF ve ADF içeriğinin artmasıyla birlikte azaldığı düşünülmektedir.

Ayrıca gaz üretimindeki düşüşün bir kısmından, hasat zamanının ilerlemesiyle birlikte artan yağdan kaynaklanmış olabilir. Daha önceki yapılan *in vitro* çalışmalarda rasyonun yağ içeriği ile üretilen gaz arasında negatif bir ilişkinin olduğu bildirilmiştir ((Canbolat, 2012; Kamalak ve ark., 2011; Kamalak ve Canbolat 2010; Kaplan ve ark., 2014; Kaplan ve ark., 2016; Kara ve ark. 2018; Üke ve ark., 2017). Unutulmamalıdır ki yemlerin fermentasyonunu olumsuz etkileyen tanen, saponin ve esansiyel yağlar gibi bazı anti-besinsel faktörler mevcut olduğu ve gaz ve metan üretimini azalttığı bildirilmiştir (Jayanegara ve ark., 2014; Patra ve Yu, 2012). Hasat zamanının ilerlemesiyle birlikte Meryemana dikeninin metabolik enerji içeriği ve organik madde sindirim derecesi düşmüştür. Söz konusu parametrelerdeki azalmanın NDF ve ADF içeriğinin hasat zamana bağlı olarak artışından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Bu çalışmada belirlenen metan içeriği %12.38 ile 13.20 arasında değişmiştir ve bu değer yonca gibi bir kaba yemin metan yüzdesiyle (%16-18) karşılaştırıldığında oldukça düşük gözükmemektedir. Başka bir ifadeyle yoncayla ikamesi durumunda daha az enterik metan üretiminin olabileceği yani anti-metanojenik özelliği olabileceği düşünülmektedir. Bu anti metanojenik özelliğinin kesin olup olmadığı *in vivo* deneylerle test edilmesi gereklidir.

Sonuç olarak, hasat zamanı, Meryemana dikeninin besleme değeri üzerinde önemli bir faktördür. Hasat zamanının ilerlemesiyle birlikte Meryemana dikeninin besleme değeri özellikle HP içeriği, ME ve OMSD düşmüştür. Meryemana dikenini uygun zamanda hasat edildiğinde ruminantların besin madde ihtiyacını karşılamak için önemli bir potansiyele sahip olduğu gözükmemektedir. Bununla birlikte geniş bir uygulamaya geçilmeden *in vivo* besi deneyleri yapılarak hayvanlar üzerinde muhtemel etkilerin belirlenmesi gerekmektedir. *In vitro* gaz sonuçlarına göre Meryemana dikeninin anti-metanojenik özelliğinden dolayı ruminantlarda enterik metan üretimini azaltmak için kullanım potansiyeli olduğu düşünülmektedir.

Mevcut çalışmada Meryemana dikeninde bulunan olası anti besinsel faktörlerin analizi yapılmadığından, söz konusu unsurların gaz ve metan üretimine ne kadar etkisinin olduğunu kesin söylemek mümkün değildir. Bunun için daha fazla araştırmalara ihtiyaç olduğu aşikârdır.

Kaynaklar

- AOAC. Official Methods of Analysis. Fifteenth Edition. Washington DC: Association of Official Analytical Chemists, 1990.
- Canbolat O. Potential nutritive value of field bindweed (*Convolvulus arvensis* L) hay harvested at three different maturity stages. Kafkas Univ Vet Fak Derg 2012; 18(2):331-5.

Goel G, Makkar HPS, Becker K. Effect of *Sesbania sesban* and *Carduus pycnocephalus* leaves and fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L) seeds and their extract on partitioning of nutrients from roughage-and concentrate-based feeds to methane. Anim Feed Sci Technol 2008; 147(1-3): 72-89

Jayanegara A, Wina E, Takahashi J. Meta-analysis on methane mitigating properties of saponin-rich sources in the rumen: Influence of addition levels and plant sources. Asian-Austral J Anim Sci 2014; 27(10): 1426-35.

Kamalak A, Atalay AI, Ozkan CO, Kaya E, Tatlıyer A. Determination of potential nutritive value of *Trigonella kotschi* Fenzl hay harvested at three different maturity stages. Kafkas Univ Vet Fak Derg 2011; 17(4): 635-40.

Kamalak A, Canbolat O, Gurbuz Y, Erol A, Ozay O. Effect of maturity stage on chemical composition, *in vitro* and *in situ* dry matter degradation of tumbleweed hay (*Gundelia tournefortii* L). Small Ruminant Res 2005; 58: 149-56.

Kamalak A. Determination of potential nutritive value of *Polygonum aviculare* hay harvested at three maturity stages. J Appl Anim Res 2010; 38: 69-71.

Kamalak A, Canbolat O. Determination of nutritive value of wild narrow-leaved clover (*Trifolium angustifolium*) hay harvested at three maturity stages using chemical composition and *in vitro* gas production. Trop Grassl 2010; 44: 128-33.

Kaplan M, Kamalak A, Ozkan CO, Atalay AI. Vegetasyon döneminin yabancı korunga otunun potansiyel besleme değerine, metan üretimine ve kondense tanen içeriğine etkisi. Harran Üniv Vet Fak Derg 2014; 3(1): 1-5.

Kaplan M, Üke Ö, Kale H, Yavuz S, Kurt Ö, Atalay AI. Olgunlaşma döneminin teff otunun potansiyel besleme değeri, gaz ve metan üretimine etkisi. Igdir Üni Fen Bilimleri Enst Der 2016; 6(4):181-6.

Kara K, Ozkaya S, Baytok E, Guclu BK, Aktug E, Erbas S. Effect of phenological stage on nutrient composition *in vitro* fermentation and gas production kinetics of *Plantago lanceolata* herbage. Vet Med 2018; 63(06): 251-60.

Makkar HPS. Recent advances in the *in vitro* gas method for evaluation of nutritional quality of feed resource. Samuel J. ed. In: Assessing Quality and Safety of Animal Feeds. Rome: Food and Agriculture Organization of United Nations, 2004; pp.55-88.

Malayoğlu HB, Ozdemir P, Ipcak HH, Unlu B,

- Taghilloofar AH, Bayram B. Effect of ensiling milk thistle (*Silybum marianum* L Gaerth) with molasses or urea on silage quality and *in vitro* digestibility. VII International Scientific Agriculture Symposium. October,6-9 2016; Jahorina-Bosnia and Herzegovina.
- Menke KH, Raab L, Salewski A, Steingass H, Fritz D, Schneider W. The estimation of digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedstuffs from the gas production when they incubated with rumen liquor *in vitro*. J Agric Sci 1979; 92: 217-22.
- Menke KH, Steingass H. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. Anim Res Dev 1988; 28: 9-55.
- Nikzad Z, Chaji M, Mirzadeh K, Mohammadabadi T, Sari M. Effect of different levels of milk thistle (*Silybum marianum*) in diets containing cereal grains with different ruminal degradation rate on rumen bacteria of Khuzestan buffalo. Iran J Appl Anim Sci 2017; 7(3):401-09.
- Özinan L, Alatürk F, Gökkuş A. Meryemana dikenini (*Silybum marianum* L, Gaertner)'nin silaj olarak kullanım olanakları. Türk Tarım Doğa Bilim Der 2017; 4(1): 88-94.
- Patra AK, Yu Z. Effects of essential oils on methane production and fermentation by, and abundance and diversity of rumen microbial populations. Appl Environ Microb 2012; 78(12): 4271-80.
- Üke Ö, Kale H, Kaplan M, Kamalak A. Olgunlaşma döneminin kinoa (*Chenopodium quinoa* Wild)'da ot verimi ve kalitesi ile gaz ve metan üretimine etkisi. KSÜ Tarım Doga Derg 2017; 20(01): 42-6.
- Van Soest PJ. Nutritional Ecology of the Ruminant. Second Edition, New York: Cornell University Press, 1994; p. 290.
- Van Soest PJ, Robertson JB, Lewis BA. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. J Dairy Sci 1991; 74: 3583-97.