

# KÜRESEL ISINMAYA KARŞI RUMİNANLARDA METAN EMİSYONUNU AZALTMAYA YÖNELİK BESLEME STRATEJİLERİ



Onur Keser<sup>1,a,\*</sup>, Halil Can Kutay<sup>1,b</sup>

<sup>1</sup>*İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye*

*\*Sorumlu Yazar*

*E-posta: okeser@iuc.edu.tr*

(Received 03<sup>rd</sup> May 2021; accepted 22<sup>nd</sup> September 2021)

a:  ORCID 0000-0001-8380-5549, b:  ORCID 0000-0002-3751-0106

## ÖZET

Sera gazlarından kaynaklı küresel ısınmanın iklim, ekolojik denge ve ekonomi üzerine olan olumsuz etkileri ile ilgili endişeler son yıllarda artmıştır. Metan, karbondioksitten sonra en fazla bulunan ikincil sera gazıdır ve % 95.5'i yemlerin rumende fermantasyonu sonucu oluşmaktadır. Ruminant kaynaklı metan emisyonunu azaltmaya yönelik çok çeşitli yöntemler (idari, besleme, genetik, ileri stratejiler vs) bulunmakla birlikte bu derlemede sadece beslenmeye yönelik stratejiler ele alınacaktır.

**Anahtar Kelimeler:** *Besleme Stratejisi, Küresel Isınma, Metan, Metan Emisyonu*

## THE NUTRITIONAL STRATEGIES FOR REDUCING METHANE EMISSION FROM RUMINANTS AGAINST GLOBAL WARMING

### ABSTRACT

Concerns about the negative effects of global warming caused by greenhouse gases on climate, ecological balance and economics have increased in recent years. Methane is the second most abundant secondary greenhouse gas after carbon dioxide and 95.5% is formed as a result of the rumen fermentation of feeds. Although there are various methods (administrative, feeding, genetics, advanced strategies, etc.) to reduce ruminant-induced methane emissions, only nutritional strategies will be mentioned in this review.

**Keywords:** *Nutritional Strategies, Global Warming, Methane, Methane Emission*

## GİRİŞ

Küresel ısınma, dünyada sıkça oluşan fırtınalar, kuraklık, sel baskınları, orman yangınları gibi felaketlere yol açan sıcaklık artışı olarak tanımlanmaktadır ve son on yılda sıkça görülen bu felaketlerden ortalama iklim sıcaklığındaki 1°C'dan az bir artışın sorumlu olduğu bildirilmektedir [1]. Sera gazlarının atmosferde birikimindeki artışına bağlı küresel ısınma ve iklim değişikliğini takip eden sosyo-ekonomik tehditler yönündeki endişeler son yıllarda artmıştır. Atmosfere salınan insan kaynaklı total sera gazları içinde hayvancılık sektörünün payının % 11 olduğu tahmin edilmekle birlikte hayvancılık sektörü içinde et ve mandıra hayvanlarının sera gazı oluşmasındaki katkısı sırasıyla % 41 ve % 20, domuz ve kanatlıların katkısı ise sırasıyla %9 ve %8 olduğu bildirilmiştir [2, 3]. Metan (CH<sub>4</sub>), karbondioksitten sonra en fazla bulunan ikincil sera gazıdır. Antropojenik kaynaklardan salınan metanın %60'ı tarımsal faaliyetlerden, bunun da %25'lik kısmı çiftlik hayvanlarındaki enterik fermantasyondan kaynaklanmaktadır [4].

Enterik fermantasyonu azaltmaya yönelik olarak idari stratejiler (hayvan sayısının azaltılması, seleksiyonun iyileştirilmesi, otlak ve meraların düzenlenmesi vb.), besleme stratejileri (yüksek kaliteli kaba yem ve diyetlerin kullanımı, rasyon modifikasyonları, propiyonat arttırıcıların kullanılması, emisyonu azaltmaya yönelik besleme metodları vb.), rumen manüplasyonları (metanojen önleyicilerle biyolojik kontrol, mikroorganizmaları etki yollarını değiştirmeye yönelik genomik girişimler, genetik mühendisliği vb.) ve ileri stratejiler (immunizasyon, bakteriyofajlar vb.) şeklinde farklı ve kapsamlı yöntemler bulunmakla birlikte [5], bu derlemede sadece CH<sub>4</sub> emisyonunu azaltmaya yönelik besleme stratejileri ele alınacaktır.

Hayvanlar, özellikle ruminantlar, sindirim kanallarındaki mikrobiyal metabolizma süresince üretilen metabolik hidrojenin ortadan kaldırılmasının bir yolu olarak anaerobik fermantasyonla CH<sub>4</sub> üretirler. CH<sub>4</sub>, ruminantlarda rasyon brüt enerjisinin %2-12'lik kısmının kaybindan sorumludur ve küresel ısınmada karbondioksitten yirmi üç kat daha fazla etkilidir [6, 7]. Bu nedenle ruminal CH<sub>4</sub>'ün azaltılması, besin maddelerinden etkili şekilde yararlanmayı iyileştirmekle kalmayıp, aynı zamanda çevreyi küresel ısınmadan korumada da yardımcı olacaktır [8].

## RUMENDE METAN OLUŞUMU

Dünyada yıllık olarak ruminantlar tarafından yaklaşık 80 milyon ton CH<sub>4</sub> üretilmektedir [9]. Enterik CH<sub>4</sub> rumende anaerobik şartlarda CO<sub>2</sub> ve H<sub>2</sub> kullanıp CH<sub>4</sub> formuna değiştiren metanojenik *Archaea* sınıfı mikroorganizmalar tarafından üretilmektedir [10]. Bir ruminantın rumeninde 100 g sindirilebilir selülozdan 3.5 L CH<sub>4</sub>, bir süt ineğinden ise günde 650 L CH<sub>4</sub> açığa çıkmaktadır. Yılda 9000 kg süt üretebilmek kapasitesine sahip bir inekten ise yılda 120-130 kg CH<sub>4</sub> salınmaktadır [11]. Rumende kendi enerji gereksinimlerini sağlamak için yemin fermantasyonunda görev yapan çok sayıda bakteri, protozoon ve mantar türleri bulunmaktadır. Bunların ortak aktiviteleri sonucunda ortaya çıkan son ürünler uçucu yağ asitleri (asetik asit, propiyonik asit, butirik asit), CO<sub>2</sub> ve H<sub>2</sub> dir. H<sub>2</sub> metanojenler (CH<sub>4</sub> üreten mikroorganizmalar) için en önemli enerji kaynağı olup bu mikroorganizmalar CO<sub>2</sub>'i CH<sub>4</sub>'e indirgemek için H<sub>2</sub>'i kullanmaktadırlar [12]. Doğada var olduğu bilinen 28 cins ve 113 tür metanojen arasında sadece yedi tür yaygın olarak rumenden kültüre edilmektedir. Bunlar; *Methanobacterium formicicum*, *Methanobacterium bryantii*, *Methanobrevibacter ruminantium*,

*Methanobrevibacter millerae*, *Methanobrevibacter olleyae*, *Methanomicrobium mobile* ve *Methanoculleus olentangyi*'dir [13]. Genellikle CH<sub>4</sub> yavaş üreyen (yaklaşık 130 saat) ve asetattan CH<sub>4</sub> üreten ile hızlı üreyen (yaklaşık 4-12 saat) ve CO<sub>2</sub>'yi H<sub>2</sub> ile indirgeyen metajonler olmak üzere iki tip metanojen tarafından üretilmektedir. Rumende CH<sub>4</sub> çoğunlukla hızlı üreyen türler tarafından yapılmaktadır [14]. Rumende CH<sub>4</sub> oluşum aşamaları şu şekilde özetlenebilir:

- I. Ağızda çiğneme hareketiyle öğütülüp rumene gelen yem partikülleri rumen mikroorganizmaları tarafından fermentasyona uğratılmakta ve açığa H<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> ve uçucu yağ asitleri (asetik asit, propiyonik asit, bütirik asit) çıkmaktadır.
- II. H<sub>2</sub> ve CO<sub>2</sub> *archaea* sınıfına ait metanojenik mikroorganizmalar tarafından CH<sub>4</sub>'e dönüştürülmektedir (CO<sub>2</sub> + H<sub>2</sub> → CH<sub>4</sub> + 2H<sub>2</sub>O).
- III. Rumende biriken CH<sub>4</sub> ise geçirme eylemiyle vücuttan atılıp atmosfere karışmaktadır.

Rumende CH<sub>4</sub> oluşumu (metanojenenezis) dehidrojenaz enzim aktivitesini baskılayan hidrojen birikimini önlemede ve rumenin optimum performansta çalışmasını sağlamada kritik bir öneme sahiptir. Bu nedenle CH<sub>4</sub> oluşumunu azaltmaya yönelik stratejilerin belirlenmesinde güdülmeye gereken hedefler;

- a) Yemin sindiriminde bozulma yaratmadan hidrojen üretiminin azaltılması,
- b) Hayvan için yararlı alternatif son ürünler açığa çıkaracak şekilde hidrojen kullanımının uyarılması,
- c) Rumende hidrojen birikimine yol açmayacak şekilde ve ya hidrojen tüketimini uyaracak yollara eşlik edecek şekilde *archaea* metanojeniklerinin sayısı ve/veya aktivitesinin baskılanması şeklinde özetlenebilir [15].

## METAN OLUŞUMUNU AZALTMAYA YÖNELİK BESLEME STRATEJİLERİ

### ***Kuru madde tüketimi***

Yem tüketimi CH<sub>4</sub> emisyonunda önemli bir faktör olup yem tüketiminin artmasına bağlı olarak CH<sub>4</sub> dönüşüm oranı düşmektedir. Yaşama payının üzerindeki her birim kuru madde (KM) tüketimi CH<sub>4</sub> dönüşüm faktöründe % 1.6'lık azalma yarattığı ve aynı şekilde CH<sub>4</sub> oluşum faktöründeki azalışın yem tüketimi ile doğrusal orantılı olduğu bildirilmiştir [16]. CH<sub>4</sub> dönüşüm oranından kastedilen birim brüt enerji tüketiminin (BET) bir yüzdesi olarak ifade edilen CH<sub>4</sub> miktarı olup CH<sub>4</sub>'ün alınan brüt enerjiye oranı (CH<sub>4</sub>/BET) şeklinde ifade edilmektedir [17]. Yemin içeriği, kalitesi, sindirilebilirliği, hayvanın verim kapasitesi gibi unsurlar göz ardı edilerek sadece KMT üzerinden oluşabilecek CH<sub>4</sub> miktarı ile ilgili kesin öngörüle bulunmak yanıltıcı sonuç verebilmektedir. Nitekim NRC [18] modelinde % 50 kabayem, % 30 NDF ve % 25 nişasta içeren rasyondan tüketen 680 kg'lık bir süt ineğine ait grafik incelendiğinde KMT'ne bağlı olarak CH<sub>4</sub> üretimi de doğrusal olarak artmış fakat bu artış enerjiye göre düzenlenmiş süt verimine (EDSV) göre yavaş seyir göstermiştir. EDSV daha hızlı bir yükselme gösterdiğinden CH<sub>4</sub>/EDSV oranında KMT'nin artışına bağlı olarak eğrisel bir azalış meydana gelmiştir. Aynı şekilde CH<sub>4</sub>/BET oranı da KMT arttıkça azalmıştır. Bu modelde kısaca KMT arttıkça CH<sub>4</sub> üretimi artmakta fakat birim EDSV ve BET başına CH<sub>4</sub> üretimi azalma göstermektedir. Bir başka örnekte ise günlük 30 kg süt verimine sahip bir inekte % 50 kaba yem ve % 50 konsantre yemle besleme kg EDSV başına 12.7 g CH<sub>4</sub> emisyonuna yol açarken aynı rasyon günlük 35 kg süt verimine sahip bir inekte 11.9 g CH<sub>4</sub> emisyonuna yol açmıştır [19]. Yem tüketimindeki artışa bağlı olarak sindirim sistemindeki pasaj hızı da artmakta ve dolayısıyla sindirilebilirlik azalmaktadır. Bu

durum da rumende sindirilmeden alt sindirim kanallarına geçen OM miktarında artış yaratmaktadır [18]. Pasaj hızı sadece sindirimi etkilemeyip aynı zamanda uçucu yağ asitleri (UYA) oluşumunu ve mikrobiyal gelişim oranını da etkilemektedir. Bu durumun CH<sub>4</sub> emisyonunda % 28'lik değişime yol açtığı Okine ve ark. [20] tarafından gösterilmiştir. Yem maddesinin rumenden geçiş hızının artması rumen fermantasyonu süresinin kısılmasına yol açtığından birim yem başına oluşabilecek CH<sub>4</sub> miktarını azaltmakta, geçiş hızının azalması ise rumen fermantasyonunda görev alan mikroorganizmaların çoğalması için gerekli olan mikrobiyal enerji gereksinmesini arttırmaktadır.

### ***Kaba yem : Konsantre yem oranı***

Post ruminal sindirimi teşvik edici, isteğe bağlı yem tüketimini arttırıcı ve rumen fermantasyonunu azaltıcı (örn: rumende yıkımlanabilirliği az olan nişastanın kullanılması) besleme stratejisi rumende CH<sub>4</sub> oluşumunu azaltabilmekte ve dolayısıyla CH<sub>4</sub> emisyonunu düşürmektedir. Rasyonda konsantre yeme ayrılan payın arttırılması (bir başka deyişle kaba yem:konsantre yem oranının azalması) ve ana kaba yem olarak mısır silajı kullanılması rumen pH'sını azaltırken propiyonat oluşumunu arttırmakta ve bu durum rumende H<sub>2</sub> oluşumunu azaltarak CH<sub>4</sub> miktarında düşme yaratmaktadır [21]. Sauvant ve Giger-Reverdin [22] rasyonda konsantre yem payının artması ile CH<sub>4</sub> üretiminin azalması arasındaki ilişkiyi %45 nişasta içeren rasyonun CH<sub>4</sub> üretiminde %56'lık bir azaltma yarattığını göstererek kanıtlamışlardır. Aynı şekilde Lettat ve ark. [23] nişasta içeriği yüksek rasyonların propiyonat konsantrasyonunu arttırmasından ayrı olarak asetat ve bütirat konsantrasyonunu düşürerek CH<sub>4</sub> oluşumunda %14'lük azaltma yarattığını bildirmişlerdir. Et sığırlarında kaba yem ve konsantre yem oranıyla ilgili yapılan bir çalışmada kaba yem:konsantre yem oranı sırasıyla 0.65:0.35 ile 0.10:0.90 olan gruplar karşılaştırıldığında bu oranın küçük olduğu grupta her kg KM tüketimi, CA kazancı ve brüt enerji tüketim yüzdesi başına oluşan CH<sub>4</sub> miktarı kaba yem:konsantre yem oranı büyük olan gruba göre önemli derecede düşük çıktığı bildirilmiştir [24]. Duthie ve ark. [25] ırk ve rasyon farklılığının CH<sub>4</sub> emisyonu üzerine etkisini araştırdıkları bir çalışmada hayvan materyali olarak çapraz ırk Charolais ve safkan Luving sığırlarında kaba yem: konsantre yem oranı 500:500 olan total karışım rasyonu ile 79:921 olan konsantre ağırlıklı rasyon kullanmışlardır. Konsantre ağırlıklı beslenenlerde propiyonik asit oluşumu önemli derecede yüksek, asetik asit, *Archaea* sınıfı bakteriler ve protozoonlar önemli ölçüde düşük bulunmuştur. CH<sub>4</sub> emisyonu bakımından ırklar arasında önemli bir farka rastlanmamış fakat konsantre ağırlıklı beslenen gruplarda CH<sub>4</sub> emisyonu total karışım rasyonu ile beslenenlere göre önemli derecede düşük bulunmuştur. Keçilerde yapılan bir çalışmada ise gruplara verilen rasyonların kaba yem:konsantre yem oranları sırasıyla 75:25, 46:54 ve 25:75 şeklinde olmuş ve günde 18.2 g CH<sub>4</sub> üretimiyle CH<sub>4</sub> emisyonunun en fazla olduğu grup 46:54 kaba yem : konsantre yem oranıyla beslenen gruptaki keçilerde gözlenen bu çalışmada CH<sub>4</sub> üretimindeki azalmanın ancak rasyona % 50'nin üzerinde konsantre yem ilavesiyle mümkün olabildiği sonucuna varılmıştır [26].

### ***Yem kalitesi, kompozisyonu ve tipi***

Yem kalitesinin iyileşmesi hayvan performansını arttırması yanında CH<sub>4</sub> üretimini ve birim verim başına CH<sub>4</sub> emisyonunu da azaltıcı etki yaratabilmektedir. Daha önce de bahsedildiği gibi rasyondaki kaba yem miktarının arttırılmasının rumende CH<sub>4</sub> oluşumunu arttırıcı etkisi bilinmektedir. Et ve süt hayvancılığının büyük bir kısmının

kaba yem kullanımına dayalı olduğu ve konsantre yemlerin kaba yemlere göre daha pahalı olduğu gerçeği göz önünde bulundurulduğunda kaba yem kalitesini artırıcı stratejilerin pratikte daha uygulanabilir bir alternatif haline geldiği görülmektedir. Blaxter ve Clapperton [27] kaba yem kalitesinin iyileştirilmesinin hayvanlarda isteğe bağlı yem tüketimini artırarak rumende kalma süresini azalttığını ve bunun da post-ruminal sindirimin daha etkin şekilde olmasını sağlayarak rumende CH<sub>4</sub> için harcanan enerji payının azalmasına yol açtığını bildirmiştir. Süt ineklerinde sindirilen birim selülozdan açığa çıkan CH<sub>4</sub>'ün aynı miktardaki hemiselülozdan üç kat daha fazla olduğu gösterilmiş olup [28] selüloz ve hemiselüloz gibi yapısal karbonhidratların nişasta ve şeker gibi yapısal olmayan karbonhidratlara göre daha yavaş sindirilmesi sonucu ortaya çıkan CH<sub>4</sub> miktarının da daha yüksek olduğu belirtilmiştir [29]. Genç bitkiler yapılarındaki yüksek miktardaki karbonhidrat ve düşük düzeydeki nötral deterjan fiber (NDF) nedeniyle daha iyi kaba yem olarak kabul edilirken erişkin bitkiler kimyasal kompozisyonlarındaki değişime, özellikle karbon ve azot düzeylerinin yükselmesine bağlı olarak daha zor sindirilmekte ve dolayısıyla daha yüksek CH<sub>4</sub> oluşumuna yol açmaktadır. Rasyona ayçekirdeği, kanola tohumu, keten tohumu, pamuk tohumu, sarımsak ve diğer yağlı tohumların ilavesinin ise CH<sub>4</sub> oluşumunun azalmasında etkili olduğu bildirilmiştir [30]. Trupa ve ark. [31] tarafından Letonya'daki çiftlikler üzerinde yürütülen bir tarama çalışmasının sonucunda CH<sub>4</sub> gazı üretimi üzerine en önemli faktörün hayvanlar tarafından tüketilen yem miktarı olduğu, KM tüketiminin ve süt veriminin artmasının buna karşın CH<sub>4</sub> gazına dönüştürülen enerji payının azalmasının kaba yem kalitesinin artırılmasıyla mümkün olduğu, yüksek selülozlu kaba yemin KM tüketimini azalttığı, süt ineklerinin düşük kaliteli, orta düzey kaliteli ve yüksek kaliteli kaba yemlerden canlı ağırlıklarının sırasıyla % 1.5'i, % 1.8-2.2'si ve % 3'ü oranında tüketebildikleri sonucuna varmışlardır. İçerdikleri metabolize olabilir enerjiye göre üç farklı kalitede üretilen çayır otu silajlarının ineklerdeki etkisinin araştırıldığı bir çalışmada her kg süt verimi için oluşan CH<sub>4</sub> miktarı silaj kalitesi artarken önemli derecede düşmüş, süt verimi ise artmıştır [32]. Rasyon kaba yeminin büyük kısmının legüminöz bitkilerden oluşması gerek selüloz içeriğinin daha az oluşu gerekse sindirim sisteminden geçiş hızını artırması ve ayrıca bazı durumlarda kondanse tanen içeriğinden dolayı çoğunlukla CH<sub>4</sub> emisyonunu azaltıcı etki göstermektedir [9]. Bu bilgilere ek olarak ülkemizde de çokça yetiştirilen Brassica türü bitkilerin CH<sub>4</sub> üretimini azaltıcı etkisine dikkat çeken bildirişler de mevcuttur. Özellikle kanola (*Brassica napus*) bitkisinin kışlık kaba yem olarak koyunlarda ve sığırlarda kullanılması aynı hayvanların çim bakımından zengin merada otlayanlarına göre sırasıyla % 37 ve % 44 daha az CH<sub>4</sub> ürettiği bildirilmektedir [33]. Kaba yemlerin kalitesine ek olarak seçilen konsantre yemin karbonhidrat fraksiyonu da CH<sub>4</sub> üretiminin azalmasında önemli bir unsurdur. Rumendeki sindirime yüksek direnç gösteren nişasta ile çözünebilirliği düşük olan şekerlerden oluşan fraksiyonların CH<sub>4</sub> emisyonunu azaltmaya katkı sağladığı görülmektedir. Nitekim Yurtseven ve Öztürk [34] ruminantlarda mısır kaynaklı CH<sub>4</sub> oluşumunun arpaya göre daha yavaş olduğunu ve bunun mısırdaki nişastanın arpaya göre daha yavaş yıkımlanmasından kaynaklı olabileceğini bildirmişlerdir.

Yemlerin işlenmesi ve korunması da enterik CH<sub>4</sub> üretimini etkilemektedir. Partikül büyüklüğünün azaltılması, peletleme, buhar altında flake haline getirme gibi işlemler yem tüketimini ve besin maddeleri sindirilebilirliğini arttırmakta ve birim hayvansal verim başına CH<sub>4</sub> üretimini azaltmaktadır [35]. Öğütme ve peletlemenin CH<sub>4</sub> kaybında birim yem tüketimi başına % 20-40 azalma yarattığı bildirilmiştir [36]. Kaba yemlerin öğütülmesi, kırılması ya da peletlenmesi rumen NDF sindirilebilirliğini düşürmekte,

sindirim kanalından geçiş hızını arttırmakta ve asetik asit : propionik asit oranında azalma yaratarak CH<sub>4</sub> emisyonunda azalma yaratabilmektedir [37]. Kaba yemlerin alkali ile muamelesi de bir strateji niteliği taşıyabilmektedir. Nitekim tahıl samanlarının alkali ile muamelesi rumen asetik asit:propionik asit oranında azalma yaratmakla kalmayıp CH<sub>4</sub> oluşumunda % 10'luk azalma da yaratabilmektedir [37,38].

Son yıllarda zirai yan ürünlerin ruminantlarda CH<sub>4</sub> oluşumu bakımından ele alınması ile ilgili çalışmalar da mevcuttur. Yetişkin koyunlarda konsantre ve yonca kuru otu karmasından oluşan bazal rasyona %5, 7.5 ve 10 oranında NaOH ile muamele edilmiş zeytin küspesinden %40 oranında ilave edilmesi günlük yaşama payı enerji tüketimlerinde bir değişim yaratmadan NaOH kullanılmayan gruba göre enterik CH<sub>4</sub> üretiminde önemli düzeyde azalma yaramıştır [39]. Yine yakın zamanda yapılan bir çalışmada [40], portakal yaprakları ve pirinç samanı karması denenmiş ve keçilere pelet formda verilen rasyonun KM bazında kaba yem kısmını kontrol grubunda % 27 arpa samanı ve % 45 şeker pancarı posası, deneme grubunda ise % 24 pirinç samanı ve % 45 portakal yaprağı oluşturmuştur. Çalışma sonucunda deneme grubunda günlük CH<sub>4</sub> üretimi ile her kg KM, OM, NDF, ADF, hemiselüloz ve selüloz tüketimi başına CH<sub>4</sub> oluşumu kontrol grubuna göre önemli derecede düşük bulunmuştur. Laktasyondaki mandalarda hint beктаşıüzümü (*Embllica officinalis*) posasından 120 gün boyunca rasyona 20 g/kg KM oranında katılması her kg KM, OM tüketimi başına, süt, süt yağı, süt proteini verimi başına CH<sub>4</sub> üretimi ile günlük CH<sub>4</sub> üretimini önemli derecede azaltmış, buna karşın süt verimi, süt üretim etkinliği, süt bileşenlerinden günlük süt yağı, yağsız KM'si ve protein verimini önemli derecede artmıştır [41].

### **Yağ kullanılması**

Rasyonlarda enerji kaynağı olarak kullanılan yağlar aynı zamanda CH<sub>4</sub> üretimini düşürücü etki de göstermektedir. Yağ kullanımının CH<sub>4</sub> üretimindeki azaltıcı etki mekanizmaları arasında a) Doymamış yağ asitlerinin hidrojeni kullanarak ortamdaki hidrojen miktarını düşürmesi ve dolayısıyla CH<sub>4</sub> oluşumunu azaltması, b) Yağ asitlerinin mikroorganizmalar üzerine olan negatif etkisine bağlı olarak selüloz fermantasyonunda ve asetik asit:propionik asit oranında azalma yaratması ve c) Metanojen bakterilerin simbiyotik olarak yaşadıkları protozoonların sayısında düşüş yaratması şeklinde sıralanabilir [42]. Rasyon KM'sine %6'ya kadar yağ ilavesi süt sığırlarında süt verimini iyileştirirken aynı zamanda CH<sub>4</sub> emisyonunda %15'lik bir azalma yaratmış fakat bu orandan fazla yağ kullanılması ise yem sindirimi ve fermantasyonunda azalma yaratarak verimin düşmesine neden olmuştur [43]. Aynı şekilde CH<sub>4</sub> üretimini azaltmaya yönelik bir strateji olarak rasyonda yağ kullanılmasında rasyon KM'sindeki yağ oranının % 5-8 arasında olması gerektiği ve daha yüksek oranlarda kullanımının ruminantlarda gastrointestinal fonksiyonlar üzerine olumsuz etkiler yaratarak hem hayvanın sağlığını hem de verimini negatif yönde etkileyebileceği bildirilmiştir [44]. Beauchemin ve ark. [9] tarafından 33 çalışma üzerinde yürüttükleri bir meta-analiz çalışmasında rasyona her % 1'lik yağ ilavesinin kg KMT başına üretilen CH<sub>4</sub> miktarında % 5.6 – 36 arasında azalma yarattığı sonucuna ulaşılmıştır. Yapılan başka bir meta-analiz çalışması sonucunda ise süt sığırlarının rasyonlarına ilave edilen yağda her % 1'lik artış günlük CH<sub>4</sub> üretiminde kg KMT başına % 2.3'lük bir düşüş yarattığı bildirilmiştir [45]. Süt ineklerinde CH<sub>4</sub> çıktısı üzerine yapılan bir çalışmada Martin ve ark. [46] deneme gruplarını sırasıyla ham keten tohumu, ekstrude keten tohumu ve keten tohumu yağı içeren rasyon ile beslemişler ve en düşük CH<sub>4</sub> miktarının % 5.7 oranında keten tohumu yağı verilen grupta görüldüğünü tespit etmişlerdir. Temelini kaba yem oluşturan

rasyonlarda yağ kullanılması ile ilgili yapılan bir çalışmada da CH<sub>4</sub> emisyonunun azalması bakımından olumlu sonuçlar alınmıştır. KM'sinde % 3.9 yağ içeren kontrol grubuyla karşılaştırıldığında üzerine yağ püskürtülmüş ve KM'sinde yaklaşık % 8.9 yağ içeren çavdar otuyla beslenen deneme grubu boğalarında KM tüketimlerinde bir fark olmadan asetik asit:propiyonik asit oranı ve enterik CH<sub>4</sub> emisyonu önemli derecede düşük bulunmuştur [47]. CH<sub>4</sub> emisyonunu azaltmak için yağların kullanılması her ne kadar hayvan üreticileri için ekonomik bir strateji olarak görülmesi de yağların uygun şekilde kullanılması, örneğin rasyondaki yağ ihtiyacının bütün haldeki yağlı tohumlardan karşılanması umut verici sonuçlar çıkartabilmektedir. Nitekim rasyonda bütün haldeki ayçiçeği tohumunun kullanılmasının sıvı ayçiçeği yağına göre daha yüksek düzeyde CH<sub>4</sub> azalmasına yol açması [48], bütün soya fasulyesi tohumuyla beslemenin günlük CA kazancında bir değişim yapmadan her kg CA kazancı başına CH<sub>4</sub> emisyonunun daha düşük olması [49], düşük kalitede merada otlayan süt ineklerinde pamuk tohumunun bütün halde kullanılmasının hem süt verimini arttırması hem de günlük ya da birim verim başına CH<sub>4</sub> oluşumunun azalması [50] örnek olarak gösterilebilir.

Yağ asitleri ile ilgili olarak doymamış yağ asitlerinin doymuş yağ asitlerine göre CH<sub>4</sub> emisyonunu azaltmada daha yüksek potansiyele sahip olduğu bildirilmektedir [43, 51]. Özellikle çoklu doymamış yağ asitleri rumendeki metanojen mikroorganizmalarının sayı ve metabolik aktivitelerini azaltabilmektedir [51, 52]. Ruminant rasyonlarında yağ asitlerinin etkileriyle ilgili toplam 27 araştırma üzerinde yapılan meta analiz sonucunda C12:0 ve C18:3 yağ asitlerinin süt sığırlarında verimi etkilemeden metanojenesis üzerinde önemli derecede engelleyici etki gösterdikleri sonucuna varılmıştır [43]. Yağ asitlerinin rumendeki fermentasyondan sorumlu ana mikroorganizmalar üzerinde aşırı miktarda sayı ve aktivite kaybına yol açması ya da metanojenler üzerine olan negatif etkinin rumende hidrojen birikimine neden olması gibi durumların sindirimi bozabilecek risklere yol açabileceği düşünülse de rumen mikroflorasının uzun sürede yağ asidi ilavesine adaptasyonunun mümkün olabileceği de bildirilmiştir [50]. Keten tohumundan elde edilen yağ asitlerinin *in vivo* denemeleri büyümekte olan kuzularda [53] ve süt ineklerinde [46] performans üzerinde her hangi bir olumsuz etki yapmadan CH<sub>4</sub> üretimini azalttığını göstermiştir.

Rasyonun enerji yoğunluğunu arttırmak için rumende aktifleşen ham yenilebilir yağların belli oranın üzerinde kullanılması selüloz sindirimi üzerine olumsuz etki yaptığı, iki değerlikli mineral iyonlarının bağlanmasına yol açtığı ve bu yağların kullanılması genellikle rumendeki mikrobiyal fermentasyonu negatif yönde etkileyip rumendeki selülitik mikrobiyal aktiviteyi baskılayıcı etki gösterdiği [54] göz önünde bulundurulduğunda korunmuş yağların kullanılması bu bağlamda avantaj yaratabilmekte ve ayrıca CH<sub>4</sub> üretiminin azaltılmasında da stratejik bir yaklaşım olabilmektedir. Besi sığırlarında 10 ay süreyle keten tohumu yağının kalsiyum tuzunun kullanılması da karkas kalitesinde değişim yaratmadan CA kazancında artış yaratmış ve birim KM tüketimi ve birim CA kazancı başına CH<sub>4</sub> üretimi sırasıyla yaklaşık %70 ve %13 oranında azalmıştır [55]. Çok yakın zamanda Sato ve ark. [56] tarafından yapılan bir *in vitro* çalışmada keten tohumu yağının uzun zincili yağ asitlerinin Ca tuzlarının %4.5 oranında kullanılmasının kontrol grubuna göre önemli derecede CH<sub>4</sub> üretimini azalttığı, propiyonat üretiminden sorumlu rumen mikroorganizmalarının sayısını arttırıp metanojenizisten sorumlu olanların sayısını düşürdüğü gözlenmiştir.

### ***Esans yağların kullanılması***

Yapısında ana komponent olarak yüksek konsantrasyonlarda terpen ve terpenoidler, eser miktarda fenilpropanoidler, ayrıca alkol, aldehit, hidrokarbon, keton, ester ve eter gibi farklı kimyasal maddeler içeren uçucu ve aromatik bitkisel metabolitler olarak bilinen esans yağlar [57, 58] CH<sub>4</sub> üretimini azaltıcı bir strateji olarak göz önünde bulundurulabilmektedir. Ruminantlarda CH<sub>4</sub> üretimi üzerine esans yağların etkisiyle ilgili olarak metanogenesizi doğrudan engellemesi, hidrojen üretimini azaltması ve hidrojen kullanan alternatif metabolik yollar sunması şeklinde muhtemel üç etkiden bahsedilebilir [59]. Yapılan bazı *in vitro* çalışmalar esans yağların metanojenesizi önlemede umut verici sonuçlar yaratmıştır. Özellikle kekikten elde edilen thymol, keklik otundan elde edilen carvacrol, tarçından ekstrakte edilen cinnamaldehyde ve sarımsaktan elde edilen allixin CH<sub>4</sub> üretimi üzerine etkileri en belirgin esans yağlar olarak bildirilmiştir [60]. Belki de bunlar içerisinde en ilginç olanı sarımsak esans yağı olabilir. Sarımsağın ruminantlarda yem katkı maddesi olarak kullanılmasının besin maddesi sindirilebilirliği ve antimikrobiyal aktivitesi bakımından olumlu etkiler yarattığı ve sarımsak yağının içeriğindeki organosülfür bileşikleri, enzimler, steroller, steroidler, triterpenoid glikozitler, flavonoidler, fenoller ve organoselenyum bileşikleri sayesinde asetik asit oranını düşürüp propiyonik asit ve butirik asit oranını arttırdığı ve CH<sub>4</sub> üretimini baskıladığı bildirilmektedir [61]. Yakın zamanda Hernandez ve ark. [62] tarafından 60 günlük buzağılardan toplanan inokülümelerde yaptıkları bir *in vitro* çalışmada 30, 120, 250 ve 500 µL/g KM sarımsak yağı kullanılan deneme gruplarında inkübe edilen g KM ve yıkılan g KM başına CH<sub>4</sub> oluşumu kontrol grubuna göre önemli derecede düşük bulunmuştur. Karanfil, okaliptüs, sarımsak, keklikotu ve naneden elde edilen beş farklı esans yağla ilgili yapılan bir *in vitro* çalışmada en az CH<sub>4</sub> üretiminin 1 g/L dozunda kullanılan keklikotu ve sarımsak esans yağı sayesinde olduğu kaydedilmiştir [59]. Günal ve ark. [63] tarafından Holstein ineğinden elde edilen rumen içeriklerinde yapılan bir *in vitro* çalışmada ise karanfil yağı, beyaz kekik yağı, idris otu yağı ve anason yağının 500 mg/L düzeyinde kullanılması sonucunda idris otu yağı hariç diğer esans yağlar kontrol grubuna göre CH<sub>4</sub> üretimini önemli derecede düşürmüştür. Aynı araştırmacıların yaptıkları ikinci bir *in vitro* çalışmada ise ilgili esans yağların her biri 125, 250 ve 500 mg/L miktarında kullanılmış ve kontrol grubuyla karşılaştırıldığında 500 mg/L dozunda tüm esans yağlar, 250 mg/L dozunda sadece anason ve karanfil yağı, 125 mg/L dozunda ise sadece karanfil yağı CH<sub>4</sub> üretiminde önemli derecede azalma yaratmıştır. Ayrıca bu esans yağlar içerisinde sadece karanfil yağının rumen mikrobiyal fermantasyonu üzerine olumsuz etkisi görülmemiştir. Papaya yaprağı (*Carica papaya*) ekstraktı ile keçilerde yapılan bir *in vitro* çalışmada [8] deneme gruplarında KM'de % 2, 4 ve 6 oranında bu ekstraktan kullanılmış ve CH<sub>4</sub> üretimi doza bağlı olarak düşüş göstererek % 6 oranında kullanılan grupta kontrol grubuna göre bu düşüş önemli derecede yüksek bulunmuştur. Ayrıca asetik asit:propiyonik asit oranı ise % 4 ve 6 kullanılan gruplarda kontrol grubuna göre önemli derecede düşmüştür.

### ***Tanenler ve saponinler***

Sekonder bitkisel metabolitler içerisinde yer alan tanen ve saponinler CH<sub>4</sub>'ün oluşumunun azaltılmasında potansiyel teşkil etmekle birlikte bu etkileri doğrudan metanojenler üzerine anti metanojenik, protozoonlar üzerine anti protozoal etki ve rumen sindirimi üzerine rumende yıkımlanabilirliği azaltmak şeklinde olmaktadır. CH<sub>4</sub> üzerine etkileri *in vivo* olarak tam kanıtlanamamışsa da *in vitro* çalışmalar ile daha net sonuçlar sunulan tanen ve saponinlerin etkilerinin bitkinin hasat zamanına ve fenolojik dönemine



göre değişim gösterebildiği bildirilmiştir [64]. Metal iyonları, amino asitler ve polisakkaritlerle kompleks oluşturabilen polifenolik bileşikler olarak bilinen tanenler hidrolize olabilir ve kondanse tanenler olarak iki gruba ayrılmaktadır. Hidrolize olabilir tanenler ruminantlar için yüksek konsantrasyonlarda toksik etki yaratabilmekteyken kondanse tanenler ise bazı besin maddeleriyle bağlanarak yetersizliklere yol açabilmektedir [65]. Bitki tanenlerinin gerek yem katkısı olarak gerekse tanen içeren kaba yem olarak rasyonda yer almasının enterik CH<sub>4</sub> emisyonunu %20'ye kadar düşürebilecek potansiyele sahip oldukları bildirilmiş olmakla birlikte ince bağırsaklardan amino asitlerin emilimini azaltabildiklerinden proteinin sınırlayıcı olduğu durumlarda KM'de %5'ten fazla olmasının hayvan verimini olumsuz etkileyeceği belirtilmiştir [66, 67]. Jayanegara ve ark. [68] *in vitro* şartlarda hidrolize olabilir ve kondanse tanenlerin 1 mg/ml oranında kullanılmasının metanojenik popülasyonda %22,3-36.7 arasında azalma yarattığını bildirmişlerdir. Quebracho ağacından elde edilen tanenle yapılan bir *in vitro* çalışmada ise 1-2 g/L oranında kullanılması CH<sub>4</sub> üretiminde % 12.3-32.6 arasında değişen oranlarda azalma yaratmıştır [69]. CH<sub>4</sub> emisyonunu azaltıcı bir strateji olarak tanenlerin kullanılmasıyla ilgili besleme denemelerinde başarılı sonuçların elde edilmesi çoğunlukla ham protein bakımından %15-25 gibi yüksek değerlere sahip tırfıl (*Lotus pedunculatus*), mızraklı Japon üçgülü (*Lespedeza cuneate*), İngiliz çimi (*Lolium perene*) gibi kaba yemlerin yer aldığı rasyonlarla olmuştur [70]. Koyun, alpaka ve keçilerde yapılan besleme denemelerinde kondanse tanen içeren gazal boynuzu (*Lotus corniculatus*, tırfıl (*Lotus pedunculatus*) ve siyah akasya (*Acacia mearnsii*) kullanılması sindirimde değişiklik yaratmadan CH<sub>4</sub> üretiminde % 30' a varan düşüşe yol açmıştır [15]. Tanen içeriği yüksek üç farklı tropikal ağaç (*Ficus benghalensis*, *Artocarpus heterophyllus* ve *Azadirachta indica*) yapraklarıyla yetişkin koyunlarda yapılan bir besleme çalışmasında deneme gruplarının rasyonlarına kg KM'de 7.15-10.8 g arası tanen olacak şekilde bu yapraklardan ilave edilmiş ve sindirilebilirlikte herhangi değişim yaratmadan protozoon sayısında düşüş yaratarak enterik CH<sub>4</sub> emisyonunda %20-26 düzeyinde önemli bir azalış elde edilmiştir [71]. Laktasyondaki Holstein ineklerinde yapılan bir besleme çalışmasında [72] deneme gruplarının rasyonlarına Quebracho ve kestane ağacından elde edilen tanen karmasından KM'de % 0.45 ve 1.8 olmak üzere iki farklı oranda katılmıştır. Düşük ve yüksek tanen gruplarında hayvan başına günlük CH<sub>4</sub> emisyonunda sırasıyla 56 ve 48 g'lık azalma gözlenmiştir. Ayrıca süt verimlerinde önemli bir düşüş yaratmadan kontrol grubuna göre birim süt başına CH<sub>4</sub> emisyonu düşük tanen grubunda %30, yüksek tanen grubunda ise % 48 azalma göstermiştir.

Triterpen ve steroid glikozitler olarak ikiye ayrılan kompleks moleküller olarak bilinen saponinler anti-protozoon özellikleri nedeniyle CH<sub>4</sub> üretimini baskılayıcı bileşikler olarak kabul edilmektedir [9,73]. Koyunlarda saponinin rumen içine enfüze edilmesinin ya da saponin bakımından zengin bitkilerle besleme yapılmasının rumendeki silyalı protozoon sayısında azalma yaratarak CH<sub>4</sub> emisyonunda azalma yarattığı bildirilmekle birlikte rumenden ince bağırsaklara mikrobiyal protein akışını arttırabileceği ve yemden yararlanmayı iyileştirebileceği olasılığından da bahsedilmiştir [36]. Yapılan *in vitro* ve *in vivo* çalışmalara bakıldığında saponinlerin bazılarının doza bağlı etki gösterdiği dikkati çekmektedir. Nitekim sabun kabuğu ağacından (*Quillaja saponaria*) elde edilen saponinin *in vitro* koşullarda CH<sub>4</sub> üretimindeki azaltıcı etkisi 1.2 g/L oranında kullanıldığında etkiliyken 0.6 g/L oranında etkisiz kalmıştır [74]. Benzer şekilde bir tür çilek olan *Sapindus* rarak meyvesinden elde edilen saponinin *in vivo* olarak 4 mg/ml gibi yüksek konsantrasyonda kullanıldığında metanojen miktarında azaltma yaratmış, fakat bu konsantrasyonun altında etkili bulunmamıştır [75]. Jayanegara ve ark. [76] tarafından

yapılan 89 veriden ibaret 23 çalışma sonuçlarının değerlendirildiği meta-analiz çalışmasında saponin bakımından zengin kaynakların artan dozlarda kullanılmasının inkübe edilen birim substrat başına CH<sub>4</sub> emisyonunu azalttığı, uçucu yağ asitlerinden asetik asitin azalıp propiyonik asit payının arttığı, yüksek saponin düzeylerinde protozoon sayısında azalma olduğu bildirilmiştir. Aynı çalışmada ayrıca saponin kaynakları arasında karşılaştırma yapılmış quillaja, çay ve yucca saponinlerinin her biri kontrol grubuna göre birim total gaz başına üretilen CH<sub>4</sub> miktarında önemli derecede azalma yaratmış, saponin kaynaklarının kendi aralarındaki etkinlik sıralaması yucca>çay>quillaja şeklinde olsa da bu farklılık istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur.

### **Bakteriler ve Mayaların Kullanılması**

Rumenden izole edilen propiyonik asit oluşturan bakteriler (*Streptococcus bovis*, *Fibrobacter succinogenes*), nitrat-nitrit azaltan bakteriler (*Wolinella succinogenes*, *Selenomonas ruminantium*, *Propionibacterium spp.*), sülfat azaltan bakteriler (*Desulfovibrio spp.*, *Desulfotomaculum spp.*, *Fusobacterium spp.*), homoasetojenler (*Peptostreptococcus productus*), metilotrof bakteriler (*Nitrosomonas spp.*, *Methanomicrococcus spp.*, *Methanosarcino spp.*), kapnofil bakteriler (*Actinobacillus succinogenes*, *Manheimia succiniproducens*, *Succinivibrio dextrinosolvens*) gibi bakteriler CH<sub>4</sub> inhibisyonu ile ilgili *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarda kullanılan mikroorganizmalardır [77]. Özellikle sığırlarda ruminal asidosizi azaltarak ve gastrointestinal florada avantajlı değişimler yaratarak hayvan performansını iyileştiren bakteriyal mikroorganizmalarla besleme uygulamaları yapılmakla birlikte *Enterococcus faecum* ve *Lactobacillus spp.* gibi laktik asit üreten bakteriler ile *Megashaera elsdonii*, *Selenomonas ruminantium*, *Propionibacterium spp.* gibi laktik asit kullanan bakteriler esas kullanılan türlerdendir. Beslemede laktik asit üreten bakterilerin kullanılmasının rumende laktik asit seviyesini artırarak laktik asit kullanan bakterilerin büyümesini uyaracağı ve bunların laktik asiti propiyonik asite çevirmesiyle birlikte propiyonat düzeyinin rumende artmasının CH<sub>4</sub> üretimini azaltacağı düşünülmektedir [44]. Rumende selüloz sindiriminden sorumlu selüloolitik bakteri popülasyonu içinde yer alan ve bol miktarda hidrojen oluşumuna yol açarak asetat üreten *Ruminococcus spp.* gibi bakterilerin aksine süksinat üreterek propiyonat oluşumuna yol açan düşük hidrojen çıktılı *Fibrobacter succinogenes*'in kuzulara inokule edilmesi *Ruminococcus spp.* inoküle edilenlere göre *in vitro* koşullarda daha düşük CH<sub>4</sub> üretmiştir [78].

Maya kültürlerinin CH<sub>4</sub> üretimini azaltıcı etkisi üç yolla açıklanmaktadır: 1) Rumende protozoon sayısında azaltma yaratarak 2) Bütirat ve propiyat üretiminde artış yaratarak ve 3) Metabolik hidrojen kullanan asetojenik bakterilerin gelişmesini ve sayısını artırarak [77]. Ruminantlarda sağlığı olumlu etkileyen, rumen fermantasyonunu stabilize eden, mikroflorayı düzenleyen ve hayvan performansında iyileşme yapan probiyotiklerin CH<sub>4</sub> oluşumu üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışmaların hemen hemen büyük çoğunluğu *in vitro* düzeydedir. Maya kültürleri içerisinde en çok çalışılan *Saccharomyces cerevisiae* olup elde edilen sonuçlar değişkenlik göstermektedir. Yonca kuru otu ve bermuda otuyla *S. cerevisiae* (1.16 x 10<sup>4</sup> CFU/g) kültürünün ve canlı hücrelerinin ayrı olarak *in vitro* şartlarda 0.35 ve 0.73 g/L oranında inkübe edilmesi sonucu CH<sub>4</sub> azaltıcı etki sadece 48 saat yonca kuru otuyla inkübe edilen 0.35 g/L *S. cerevisiae* canlı hücreleriyle elde edilmiş ve CH<sub>4</sub> oluşumu % 20 azalmıştır [79]. Malik ve Singh [80] mandalardan elde edilen rumen sıvısında *S. cerevisiae*'nin 12 kültürü ile yaptıkları bir *in vitro* çalışmada 10<sup>9</sup> CFU dozunda *S. cerevisiae* 41, 43, 45, 46, 50, 186, 189 ve 225 kullanılan grupta kontrol grubuna göre önemli derecede az CH<sub>4</sub> oluşumu gözlemlemişlerdir. Benzer şekilde Hernandez ve

ark. [62] tarafından 60 günlük buzağılardan toplanan inokülümelerde yaptıkları bir *in vitro* çalışmasında 2 ve 4 mg/g KM oranında *S. cerevisiae* maya kültürü kullanılan deneme gruplarında CH<sub>4</sub> oluşumu kontrol grubuna göre önemli derecede düşük bulunmuştur. Süt ineklerinde yapılan bir çalışmada ise her kg CA için  $1.32 \times 10^7$  CFU *S. cerevisiae* ilavesi kg KM ve brüt enerji tüketimi başına CH<sub>4</sub> üretiminde % 7 azalma yarattığı bildirilmiştir [81]. *S. cerevisiae* dışında farklı maya kültürleri ile de çalışmalar yapılmıştır. *Aspergillus oryzae*'nin protozoon popülasyonunda % 45'lik bir doğrudan azalım yaratarak CH<sub>4</sub> üretiminde % 50'ye varan bir azalma yarattığı [82], kaba yem:konsantre yem oranı 70:30 olan rasyonla beslenen koyunlarda *Trichosporon sericeum* maya kültüründen günde 4 g kullanılmasının % 10 daha az CH<sub>4</sub> üretimine yol açtığı [83] bildirilmiştir. Ayrıca yulaf samanının *in vitro* rumen fermantasyonunda *Candida norvegensis* maya kültürünün değerlendirildiği bir denemede de CH<sub>4</sub> üretiminde düşüş görülmüştür [84]. Yapılan bu çalışmalara ek olarak bazı diğer *in vitro* çalışmalar ise maya kültürlerinin CH<sub>4</sub> oluşumu ile ilgili olarak etkisiz ya da olumsuz sonuçlar verebildiği de görülmüştür [85, 86, 87, 88, 89]. CH<sub>4</sub> üretimiyle ilgili bu farklı sonuçların muhtemelen maya kültürlerindeki suş farklılıklarından, rasyon tipindeki değişikliklerden, kullanılan dozdan, hayvanların fizyolojik durumlarından ve tür farklılıklarından kaynaklanabileceği düşünülmektedir [90, 91].

### **Kimyasal İnhibitörlerin Kullanılması**

CH<sub>4</sub> oluşumunu etkili şekilde önlediği kanıtlanmış çeşitli kimyasal metanojenik inhibitörler mevcuttur. Metanojenlerde mevcut bulunan özel enzimleri inhibe eden spesifik inhibitörler ve metanojen ile metanojenik olmayan mikroorganizmaların aktivitesi üzerine etkili olan non-spesifik inhibitörler olarak iki kısma ayrılan bu kimyasal maddeler son yıllarda ruminantlarda enerji kaybını önleyici ve ruminal enerji etkinliğini iyileştirici olarak başarıyla kullanılmaktadır [92].

Halojenli sülfonu bileşikler içerisinde yer alan 2-bromoetanosülfonat (BES), 2-kloroetanosülfonat (CES) ve 3-bromopropansülfonat (BPS) gibi maddeler koenzim analogları olarak bilinmekte ve metanojeniziste aracı olan metil-koenzim M redüktaz enzimini yarışmalı olarak inhibe ederek düşük konsantrasyonlarda bile CH<sub>4</sub> üretimini düşürmektedirler. Bunlardan başka metanojeniziste kobamid bağımlı metil grubunun transferini önleyen, korinoid enzim fonksiyonunu bloke eden ve terminal elektron alıcısı olarak da görev yapan bromoklorometan (BCM), kloroform, bromoform, bromodiklorometan, dibromoklorometan, karbon tetraklorid, trikloroasetamid, trikloroetiladipat gibi halojenli alifatik bileşikler de rumende CH<sub>4</sub> oluşumunu düşürebilmektedirler [93]. Bir koenzim M analogu olan BES metanojenizisi spesifik olarak inhibe edebilmekte ve aneorobik diğer karma kültürlerdeki mikroorganizmaları etkilememektedir [92]. BES'e duyarlılıkla ilgili üç tür üzerinde yapılan teste en duyarlı olanın *Methanobrevibacter ruminatum*, orta düzeyde duyarlı olanın *Methanomicrobium mobile* ve en az duyarlı olanın *Methanosarcina mazei* olduğu bildirilmiştir [94]. Sığır dışkısında yapılan *in vitro* bir çalışmada BES'in 0.5 ve 10 mmol/L oranında katılması CH<sub>4</sub> oluşumunda sırasıyla % 89 ve 100 düşüş yaratmıştır [95]. BCM ile yapılan *in vitro* ve *in vivo* denemelerde de CH<sub>4</sub> oluşumunun büyük ölçüde azaldığı görülmüştür. Tomkins ve Colegate [96] sığırlarda rasyona 28 gün süresince 100 kg CA için 0.3 g BCM ilavesi sonucunda metanojeniziste % 93 azalma olduğunu gözlemlemişlerdir. Aynı araştırmacılar aynı miktarda BCM'yi kullandıkları ikinci denemede ise 30 ve 90. günlerdeki CH<sub>4</sub> oluşumunda kontrol grubuna göre sırasıyla % 60 ve % 50 azalma olduğunu ve hayvanların etlerinde herhangi bir toksik kalıntı görülmediğini

bildirmişlerdir. Laktasyondaki keçilerde yapılan bir çalışmada ağızdan 10 hafta süresince 100 kg CA için 0.3 g BCM verilmesi rumen bakteri, protozoon ve metanojenik archea sayısında değişim yaratmadan CH<sub>4</sub> üretiminde kontrol grubuna göre % 33 azalma yaratmış ve rumendeki propiyonik asit ve uçucu yağ asitlerinin artışına bağlı olarak da süt veriminde % 36 artış yaratmıştır [97]. Kloroform ile yapılan çalışmalar da CH<sub>4</sub> emisyonunda azaltıcı etkiler göstermiştir. Kloroform siklodektrin ile kısırlaştırılmış boğalarda yapılan bir çalışmada 100 kg CA için 1 g (düşük doz), 1.6 g (orta doz) ve 2.6 g (yüksek doz) olarak kullanılması CH<sub>4</sub> üretimini sırasıyla % 14, 37 ve 55 düşürmüştür [98]. Rumen fistüllü ineklerde yapılan bir denemede 42 gün süresince günlük 30 ml ayçiçeği yağı içerisinde 1.5 ml kloroform verilmiş ve denemeye başlamanın ilk haftasında CH<sub>4</sub> emisyonunda ve metanojen sayısında ani düşüş görülmüştür. Denemenin ilerleyen dönemlerinde CH<sub>4</sub> üretimi tekrar yavaşça artmaya başlamış ve 42. günde deneme öncesi düzeyin % 62'sine ulaşılmıştır. Ayrıca kloroform kullanılması deneme süresince yem sindirilebilirliğini, rumen dolgunluğunu, pH, amonyak ve uçucu yağ asidi konsantrasyonunu etkilememiş, asetat:propionat oranını düşürmüştür [99]. CH<sub>4</sub> üretimini azaltmada kullanılan bu kimyasal inhibitörlere ek olarak iki yeni sentetik bileşik olan 3-nitroksilpropanol (3NOP) ve etil-3NOP gibi nitro bileşiklerin de spesifik anti-metanojenik özellikler taşıdığı bildirilmiştir [100]. Romero-Perez ve ark. [101] tarafından et sığırlarında günlük hayvan başına 2 g 3NOP ile yapılan beslemede CH<sub>4</sub> üretimi %59 azalmış ve bu etki yem tüketimi, besin maddesi sindirilebilirliği ve total uçucu yağ asiti konsantrasyonu üzerinde olumsuzluk yaratmadan 112 gün süreyle kalıcılık göstermiştir. Yakın zamanda Van Wesemael ve ark. [102] tarafından laktasyondaki ineklerde yapılan bir çalışmada deneme gruplarından birine kaba yem içerisinde diğerine konsantre yem içerisinde hayvan başına günlük 1.6 g 3NOP verilmiş ve kontrol grubuna göre deneme gruplarında sırasıyla günlük CH<sub>4</sub> üretimi %28 ve %23, tüketilen her kg KM başına CH<sub>4</sub> üretimi %23 ve % 21, kg süt başına CH<sub>4</sub> yoğunluğu ise % 24 ve % 22 azalmıştır. Ayrıca çalışmada rasyona 3NOP ilavesi toplam KM tüketimi, süt verimi ve süt kompozisyonu bakımından önemli bir fark yaratmadığı da bildirilmiştir.

### ***Nitrat Kullanımı***

Kuvvetli bir inorganik anyon olan nitrat rumende hidrojen tüketen metanojenlerle yarışarak potansiyel bir hidrojen tutucu olarak görev yapmaktadır. Diyetle alınan nitrat öncelikle ortamdaki hidrojeni kullanarak nitrite indirgenmekte ve daha sonra amonyağa dönüşmektedir. Böylece hidrojenin CO<sub>2</sub> ile bağlanarak CH<sub>4</sub> oluşmasını engellemektedir [103]. Nitrat kullanımıyla ilgili en büyük risk adapte olmamış bir rumende yüksek dozlarda kullanılması sonucu nitrit birikimine ve nitritin kana karışmasıyla birlikte şekillenen methemglobinemiye bağlı oksijen taşınımının engellenmesi durumudur. Nitratın CH<sub>4</sub> azaltımında başarılı bir strateji olarak kullanılabilmesi ise düşük proteinli rasyon kullanımı ve hayvanın nitrata aşamalı olarak adapte edilmesiyle mümkün olabileceği bildirilmekle birlikte nitratla ilgili yapılan bazı çalışmalarda hayvanın aşamalı adaptasyonu ile her hangi bir sağlık sorunu yaşanmadığı gösterilmiştir [104, 105, 106]. En yakın zamanda Kebreab ve Feng [107] tarafından et sığırları ile ilgili 36, süt sığırlarıyla ilgili 21 uygulama olmak üzere toplam 57 uygulama içeren 24 makaleden elde edilen verilerin meta analizi sonucunda kullanılan ortalama nitrat dozunun kg KM'de 18 g olduğu ve bunun CH<sub>4</sub> üretiminde et ve süt sığırları için sırasıyla % 11,4 ve % 14,4 azalış yarattığı ortaya konulmuştur.

### **Mera İdaresi**

Mera bitki örtüsünün otlayan hayvanlarda CH<sub>4</sub> emisyonu üzerine etkili bir faktör olduğu belirtilmekle birlikte çok yıllık çimen bakımından zengin meralarda otlayan koyun ve sığırlardan kaynaklı CH<sub>4</sub> emisyonunun değerlendirildiği bir çalışmada bitkinin kimyasal kompozisyonunun CH<sub>4</sub> üretiminde %19'luk değişim yaratabildiği görülmüştür [108]. Aynı araştırmacılar çoğu merada yaygın olarak bulunan bir legüminoz olan ak üçgülün çok yıllık çim otuna göre %15 daha az CH<sub>4</sub> çıktısı yarattığını bildirmişlerdir. Benzer şekilde McCaughey ve ark. [109] tarafından otlayan sığırlarda yaptıkları bir çalışmada 78:22 oranında kaba yonca (*Medicago sativa*) ve çayır otu (*Bromus biebersteinii*) karmasının sadece çayır otuyla beslenenlere göre %10 daha az CH<sub>4</sub> ürettikleri ve bu durumun kaba yoncanın hayvanlarda yem tüketimini arttırmasına ve yüksek sindirilebilirlik oranı nedeniyle rumen pasajının daha hızlı gerçekleşmesinden kaynaklandığı sonucuna varmışlardır.

Mera idaresinde rotasyonlu otlama sıklıkla uygulanan bir yöntem olup iki ya da daha fazla otlak alanın belli periyotlarla kullanılarak alanın dinlendirilmesine olanak tanıyan bir otlama şeklidir. Rotasyonlu otlamayla meranın bitki örtüsünün büyümesi için tanınan zamanla hayvanların daha stabil ve besleyici değeri yüksek kaba yeme ulaşması sağlanmasıyla birlikte hayvanlardan atılan dışkının gübre olarak toprakta daha homojen dağılmasına olanak tanınmaktadır. Sürekli otlamaya göre bitki örtüsünü optimize etmede rotasyonlu otlatmanın daha etkili bir strateji olması yanında bu iki otlama şeklinin CH<sub>4</sub> emisyonu üzerine olan etkileri ilgili denemeler farklı sonuçlar yaratmıştır. Düvelerle yapılan bir çalışmada DeRamus ve ark. [110] yalancıdarı (*Bahiagrass – Paspalum notatum*) ve köpek dişi (*Bermudagrass – Cynodon dactylon*) otlarının yetiştirildiği iki ayrı merada yapılan rotasyonlu otlama sonucunda CH<sub>4</sub> üretiminde sırasıyla %21 ve %55 azalma tespit etmişlerdir. Buna karşın McCaughey ve ark. [111] 60:29 oranında yonca (*Medicago sativa*) ve Bromegrass (*Bromus biebersteinii*) içeren merada kısırlaştırılmış boğalarla yapılan otlama denemesinde CH<sub>4</sub> üretimi bakımından rotasyonlu otlama ile devamlı otlama arasında farka rastlanmamıştır. Savian ve ark. [112] İtalyan çimi (*Lolium multiflorum*) ekili merada sürekli otlamaya tabi tutulan koyunlarda rotasyonlu otlamaya göre daha düşük CH<sub>4</sub> yoğunluğu tespit etmişlerdir. Aynı araştırmacılar düşük ve orta düzey otlama yoğunluğu arasında hayvanlarda günlük ortalama canlı ağırlık kazancı bakımından önemli bir farka rastlanmadığını, ancak orta düzey otlama yoğunluğunun hektar başına canlı ağırlık kazancını ve günlük CH<sub>4</sub> emisyonunu arttırdığını fakat total CH<sub>4</sub> veriminde değişim yaratmadığını bildirmişlerdir. Geleneksel otlama stratejilerine karşın yenilikçi bir otlama stratejisi daha geliştirilmiştir. *Rotatinous* terimi ile anılan ve hayvan davranışı baz alınan bu stratejide farklı kaba yem türleri için ideal bitki yüksekliği tanımlanmakta ve bu şekilde otlama öncesi ve sonrası hayvanların birim otlama süresi başına ot tüketimini ve ot boyunu maksimize etmek hedeflenmektedir [113, 114]. Otlama öncesi ve sonrası ot boyu geleneksel rotasyonlu otlamada sırasıyla 25 ve 5 cm iken *Rotatinous* otlamada 18 ve 11 cm olmaktadır [113]. Yakın zamanda koyunlarda yapılan bir denemede İtalyan çimi ekilmiş merada *Rotatinous* otlatmanın günlük hayvan başına, kg organik madde (OM) tüketimi başına, kg sindirilebilir OM başına, kg canlı ağırlık (CA) kazancı başına ve günlük otlanan hektar başına CH<sub>4</sub> emisyonu geleneksel rotasyonlu otlamaya kıyasla önemli derecede düşük olduğu tespit edilmiştir [115].

Literatür bildirişler mera idaresi ile ilgili olarak otlama stratejileri dışında merayı oluşturan bitki örtüsünün kütesinin de CH<sub>4</sub> emisyonunda etkili bir faktör olduğunu göstermektedir. Hektar başına düşen KM'nin kg cinsinden değerini ifade eden bitkisel kütenin otlama öncesi düşük değerde olması yüksek değerde olmasına göre daha az kök

ve ölü materyal ve daha fazla sindirilebilir yapraklı kısım içerdiğinden dolayı daha yüksek OM sindirilebilirliğine sahip olduğu anlamına gelmektedir [116]. Ottaki OM sindirilebilirliğindeki artış da hem rumenden geçiş hızını arttıracak olan daha fazla KM tüketimine yol açarak hem de total uçucu yağ asitleri içerisindeki propiyonik asit payını arttırarak sindirilen birim yem başına CH<sub>4</sub> üretimini düşürmektedir [117,118]. Nitekim Boland ve ark. [119] düvelerle İngiliz çimi ekili düşük ve yüksek bitkisel kütleyle sahip iki farklı merada yaptıkları bir çalışmada düşük bitkisel kütleli merada otlayan hayvanların diğerlerine göre günlük CA artışı önemli düzeyde artmış, günlük CA artışı, günlük KM tüketimi ve günlük enerji tüketimi başına CH<sub>4</sub> emisyonu ise önemli derecede düşmüştür. Benzer şekilde Munoz ve ark. [120] tarafından İngiliz çimi ekili merada otlatılan süt inekleriyle yapılan çalışmada düşük bitkisel kütleli meradada (2311 kg KM/hektar) otlayan grubun yüksek bitkisel kütleli merada (5145 kg KM/hektar) otlayanlara göre KM tüketimi ve süt verimi daha yüksek, kg süt başına CH<sub>4</sub> emisyonu daha düşük olmuştur.

## SONUÇ

Sera gazlarına bağlı küresel ısınma dünya ekolojisi üzerinde büyük bir tehdit olarak kabul edilen ve hemen hemen bütün sektörel faaliyetleri de etkileyebilecek global bir sorun olmaya devam etmektedir. Sera gazları içerisinde yer alan CH<sub>4</sub>'ün karbondioksit göre çok fazla ısı tutma kapasitesinden dolayı küresel ısınmadaki rolü yadsınamayacak ölçüdedir. Bu nedenle tarımsal faaliyetler içerisinde ayrı bir öneme sahip hayvancılığa bağlı CH<sub>4</sub> emisyonunu azaltmaya yönelik stratejilerin geliştirilmesi büyük önem arz etmektedir. Özellikle ruminantlarda fermantasyon sonucu oluşan CH<sub>4</sub> salınımını azaltmaya yönelik olarak birçok besleme stratejisi gündeme gelmiş ve yapılan çalışmalarla olumlu sonuçlar elde edilmişse de bunların pratiğe dökülmesi hususunda bazı sorunlar da beraberinde gelmiştir. Nitekim, konsantre yem payının kaba yeme göre yüksek tutulması stratejisinin CH<sub>4</sub> emisyonunu azalttığı birçok çalışmayla kanıtlanmış olsa da rasyondaki konsantre yem payını arttırmanın pratikte ne denli uygulanabilir olabileceğini görmek bu stratejinin finansal yönleriyle ayrıntılı olarak araştırılması zorunluluğunu da beraberinde getirmektedir. Konsantre yem fiyatının kaba yem fiyatına göre yüksek olduğu göz önünde bulundurulduğunda üreticilerin CH<sub>4</sub> emisyonunu azaltma adına bu tarz bir stratejiye ikna olmaları büyük ölçüde bu stratejinin işletme bazında karlılık açısından olumsuz etkiler yaratmadığına dair kanıtlar sunan çok sayıda araştırmaların yapılmasıyla mümkün olabilecektir. Bununla birlikte yağlar, esans yağlar tanenler, saponinler, bakteriler, mayalar, nitratlar ile CH<sub>4</sub> oluşumunu etkili şekilde azalttığı ya da önlediği kanıtlanmış bazı kimyasal inhibitörlerle yapılmış çalışmalarla olumlu sonuçlar elde edilmiştir. Fakat bu yem katkı maddeleriyle ilgili denemelerin çok büyük kısmı *in vitro* ve *in vivo* çalışmalar olup uzun vadede ne gibi sonuçlar yaratacağına dair uygulamalara da ihtiyaç duyulmaktadır. Özellikle maailiyet-fayda analizine yönelik çalışmaların yapılması CH<sub>4</sub> emisyonunu azaltmaya yönelik besleme stratejilerinin sahada kullanılabilir bir yaklaşım olup olmadığı hususunda önem arz etmektedir.

## KAYNAKLAR

- [1] FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). (2006): Livestock a major threat to the environment: Remedies urgently needed. Rome, Italy.

- [2] Gerber, P. J., Hristov, A. N., Henderson, B., Makkar, H., Oh, J. et al. (2013): Technical options for the mitigation of direct methane and nitrous oxide emissions from livestock: a review. *Animal*, 7: 220-234. doi: 10.1017/S1751731113000876
- [3] FAO (Food and Agriculture Organisation). (2013): Mitigation of greenhouse gas emissions in livestock production. A review of technical options for non-CO<sub>2</sub> emissions. Rome, Italy.
- [4] Olivier, J. G. J., van Aardenne, J. A., Dentener, F., Ganzeveld, L., Peters, J. A. H. W. (2005): Recent trends in global greenhouse gas emissions: Regional trends and spatial distribution of key sources. In: van Amstel, A. (ed.), *Non-CO<sub>2</sub> greenhouse gases (NCGG-4)*, Rotterdam: Millipress, pp. 325-330.
- [5] Gowthami, R., Raghavendra, K. V., Shashank, R. (2014): Agriculture practices on GHG production: Adaptation and mitigation of GHG emission from agriculture sector. *Popular Kheti*, 2(4): 149-153.
- [6] IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change). (2007): Climate change 2007: the physical science basis. In: Solomon, S., Quin, D., Manning, M., Chen, Z., Marquis, M., Averyt, K. B., Tignor, M., Miller, H. L. (eds.), *Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, USA.
- [7] Subepang, S., Suzuki, T., Phonbumrung, T., Sommart, K. (2019): Enteric methane emissions, energy partitioning, and energetic efficiency of zebu beef cattle fed total mixed ration silage. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*, 32(4): 548-555.
- [8] Jafari, S., Goh, Y. M., Rajion, M. A., Jahromi, M. F., Ahmad, Y. H., Ebrahimi, M. (2017): Papaya (*Cracia papaya*) leaf methanolic extract modulates *in vitro* rumen methanogenesis and rumen biohydrogenation. *Animal Science Journal*, 88: 267-276.
- [9] Beauchemin, K. A., Kreuzer, M., O'Mara, F., McAllister, T. A. (2008): Nutritional management for enteric methane abatement: A review. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 48: 21-27. doi:10.1071/EA07199
- [10] McAllister, T. A., Newbold, C. J. (2008): Redirecting rumen fermentation to reduce methanogenesis. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 48: 7-13. doi: 10.1071/EA07218
- [11] Powers, W., Auvermann, B., Cole, A., Gooch, C., Grant, R. et al. (2014): Chapter 5. Quantifying in greenhouse gas sources and sinks in animal production systems. In: Eve, M., Pape, D., Flugge, M., Steele, R., Man, D., Riley-Gilbert, M., Biggar, S. (eds.) *Quantifying Greenhouse Gas Fluxes in Agriculture and Forestry: Methods for Entity-Scale Inventory*. Technical Bulletin No. 1939. Washington (DC): Office of the Chief Economist, U.S. Department of Agriculture, pp. 6060.
- [12] Thauer, R. K., Kaster, A. K., Seedorf, H., Buckel, W., Hedderich, R. (2008): Methanogenic archaea: ecologically relevant differences in energy conservation. *Nature Reviews Microbiology*, 6(8): 579-591. doi:10.1038/nrmicro1931
- [13] Janssen, P. J., Kirs, M. (2008): Structure of the archeal community of the rumen. *Applied and Environmental Microbiology*, 74: 3619-3625. doi: 10.1128/AEM.02812-07
- [14] Weimer, P. J. (1998): Manipulating ruminal fermentation: a microbial ecological perspective. *Journal of Animal Science*, 76: 3114-3122. doi:10.2527/1998.76123114x
- [15] Martin, C., Morgavi, D. P., Doreau, M. (2010): Methane mitigation in ruminants: from microbe to the farm scale. *Animal*, 4(3): 351-365. doi: 0.1017/S1751731109990620
- [16] Johnson, K. A., Johnson, D. E. (1995): Methane emissions from cattle. *Journal of Animal Science*, 73: 2483-2492. doi:10.2527/1995.7382483x
- [17] IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change). (2006): Chapter 10. Emissions from livestock and manure management. In: *Guidelines for national greenhouse inventories*. Vol. 4. Agriculture, forestry and other land use. IPCC, Geneva, Switzerland, pp. 10.1-10.87.

- [18] NRC. (2001): Nutrient Requirements of Dairy Cattle 7th rev. ed. National Academy Press, Washington, DC.
- [19] Knapp, J. R., Laur, G. L., Vadas, P. A., Weiss, W. P., Tricarico, J. M. (2014): Invited review: Enteric methane in dairy cattle production: Quantifying the opportunities and impact of reducing emissions. *Journal of Dairy Science*, 97: 3231-3261. doi:10.3168/jds.2013-7234
- [20] Okine, E. K., Mathison, G. W., Hardin, R. T. (1989): Effects of changes in frequency of reticular contractions on fluid and particulate passage rates in cattle. *Journal of Animal Science*, 67:3388-3396. doi: 10.2527/jas1989.67123388x
- [21] Ungerfeld, E. M. (2015): Shifts in metabolic hydrogen sinks in the methanogenesis-inhibited ruminal fermentation: a meta-analysis. *Frontiers in Microbiology*, 6: 1-17. doi:10.3389/fmicb.2015.00037
- [22] Sauvant, D., Giger-Reverdin, S. (2007): Empirical modelling by meta analysis of digestive interactions and methane production in ruminants. In: Ortigues-Marty, I., Miraux, N., Brand-Williams, W. (eds.), *Energy and protein metabolism and nutrition*, EAAP publication No 124, Wageningen Academic Publishers, the Netherlands, pp. 561-562.
- [23] Lettat, A., Hassanat, F., Benchaar, C. (2013): Corn silage in dairy cow diets to reduce ruminal methanogenesis: Effects on the rumen metabolically active microbial communities. *Journal of Dairy Science*, 96(8): 5237-5248. doi: 10.3168/jds.2012-6481
- [24] Lovett, D., Lovell, S., Stack, L., Callan, J., Finlay, M., Conolly, J. (2003): Effect of forage/concentrate ratio and dietary coconut oil level on methane output and performance of finishing beef heifers. *Livestock Production Science*, 84: 135-146. doi: 10.1016/j.livprodsci.2003.09.010
- [25] Duthie, C. A., Haskell, M., Hyslop, J. J., Wtarehouse, A., Wallace, R. J. et al. (2017): The impact of divergent breed types and diets on methane emissions, rumen characteristics and performance of finishing beef cattle. *Animal*, 11(10): 1762-1771. doi: 10.1017/S1751731117000301
- [26] Lima, A. R. C., Fernandes, M. H. M. R., Teixeira, I. A. M. A., Frighetto, R. T. S., Bompadre, T. F. V. et al. (2016): Effects of feed restriction and forage: concentrate ratio on digestibility, methane emission, and energy utilization by goats. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 45(12): 781-787. doi: 10.1590/s1806-92902016001200008
- [27] Blaxter, K. L., Clapperton, L. (1965): Prediction of the amount of methane produced by ruminants. *British Journal of Nutrition*, 19: 511-522. doi: 10.1079/BJN19650046
- [28] Moe, P. W., Tyrrell, H. F. (1979): Methane production in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 62: 1583-1586. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(79)83465-7
- [29] McAllister, T. A., Okine, E. K., Mathison, G. W., Cheng, K. J. (1996): Dietary environmental and microbiological aspects of methane production in ruminants. *Canadian Journal of Animal Science*, 76: 231-243. doi: 10.4141/cjas96-035
- [30] Haque, N. M. (2018): Dietary manipulation: a sustainable way to mitigate methane emissions from ruminants. *Journal of Animal Science and Technology*, 60:15. doi: 10.1186/s40781-018-0175-7
- [31] Trupa, A., Aplocina, E., Degola, L. (2015): Forage quality and feed intake effect on methane emissions from dairy farming. Presented at the Engineering for Rural Development, pp. 601-605.
- [32] Chagunda, M. G. G., Flockhart, J. F., Roberts, D. J. (2010): The effect of forage quality on predicted enteric methane production from dairy cows. *International Journal of Agricultural Sustainability*, 8(4): 250-256. doi: 10.3763/ijas.2010.0490
- [33] Sun, X., Pacheco, D., Luo, D. (2016): Forage brassica: a feed to mitigate enteric methane emissions? *Animal Production Science*, 56: 451-456. doi: 10.1071/AN15516
- [34] Yurtseven, S., Ozturk, I. (2009): Influence of two sources of cereals (corn or barley), in free choice feeding on diet selection, milk production indices and gaseous products



- (CH<sub>4</sub> and CO<sub>2</sub>) in lactating sheep. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*, 4: 76-85. doi: 10.3923/ajava.2009.76.85
- [35] Misra, S. S., Dey, A. (2014): Strategies for mitigation and adaptation to climate change for sustainable livestock production. *Journal of Agricultural Technology*, 1(1): 7-19.
- [36] Thao, N. T., Bang, N. P. (2015): Manipulating rumen fermentation for mitigation of methane emissions from ruminants. *Journal of Science*, 3(3): 60-69.
- [37] Van Nevel, C. J., Demeyer, D. I. (1996): Control of rumen methanogenesis. *Environmental Monitoring and Assessment*, 42: 73-97. doi: 10.1007/BF00394043
- [38] Johnson, D. E., Ward, G. M., Ramsey, J. J. (1996): Livestock methane: Current emissions and mitigation potential. In: Kornegay, E. T. (ed.), *Nutrient management of Food Animals to Enhance and Protect the Environment*. Lewis Publishers CRC Press Inc., Boca Raton, FL, pp. 219-233.
- [39] Aguilera, J. F., Molina-Alcaide, E. (2021): Enteric methane production in adult sheep of Segurena breed fed diets containing alkali-treated olive cake. *Small Ruminant Research*, 194: 106295. doi: 10.1016/j.smallrumres.2020.106295
- [40] Romero, T., Palomares, J. L., Moya, V. J., Loor, J. J., Fernandez, C. (2021): Alterations in energy partitioning and methane emissions in Murciano-Granadina goats fed orange leaves and rice straw as a replacement for beet pulp and barley straw. *Animals*, 11:38. doi: 10.3390/ani11010038
- [41] Singla, A., Hundal, J. S., Patra, A. K., Wadhwa, M., Nagarajappa, V. et al. (2021): Effect of dietary supplementation of *Emblica officinalis* fruit pomace on methane emission, ruminal fermentation, nutrient utilization, and milk production performance in buffaloes. *Environmental Science and Pollution Research*, 28: 18120-18133. doi: 10.1007/s11356-020-12008-z
- [42] Durmuş, M., Koluman, N. (2019): Impacts of stockbreeding on global warming. *Journal of Environmental Science and Engineering*, B 8: 223-229. doi: 10.17265/2162-5263/2019.06.003
- [43] Patra, A. K. (2013): The effect of dietary fats on methane emissions, and its other effects on digestibility, rumen fermentation and lactation performance in cattle: A meta-analysis. *Livestock Science*, 155: 244-254. doi: 10.1016/j.livsci.2013.05.023
- [44] Grainger, C., Beauchemin, K. A. (2011): Can enteric methane emissions from ruminants be lowered without lowering their production? *Animal Feed Science and Technology*, 166-167: 308-320. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2011.04.021
- [45] Eugene, M., Masse, D., Chiquette, J., Benchaar, C. (2008): Meta-analysis on the effects of lipid supplementation on methane production in lactating dairy cows. *Canadian Journal of Animal Science*, 88: 331-334. doi: 10.4141/CJAS07112
- [46] Martin, C., Rouel, J., Jouany, J. P., Doreau, M., Chilliard, Y. (2008): Methane output and diet digestibility in response to feeding dairy cows crude linseed, extruded linseed, or linseed oil. *Journal of Animal Science*, 86(10): 2642-2650. doi: 10.2527/jas.2007-0774
- [47] Pinares-Patiño, C. S., Franco, F. E., Molano, G., Kjestrup, H., Sandoval, E. et al. (2016): Feed intake and methane emissions from cattle grazing pasture sprayed with canola oil. *Livestock Science*, 184: 7-12. doi: 10.1016/j.livsci.2015.11.020
- [48] Beauchemin, K. A., McGinn, S. M., Petit, H. V. (2007): Methane abatement strategies for cattle: Lipid supplementation of diets. *Canadian Journal of Animal Science*, 87(3): 431-440. doi: 10.4141/CJAS07011
- [49] Jordan, E., Kenny, D., Hawkins, M., Malone, R., Lovett, D. K. et al. (2006): Effect of refined soy oil or whole soybeans on intake, methane output, and performance of young bulls. *Journal of Animal Science*, 84(9): 2418-2425. doi: 10.2527/jas.2005-354
- [50] Grainger, C., Clarke, T., Beauchemin, K. A., McGinn, S. M., Eckard, R. J. (2008): Supplementation with whole cottonseed reduces methane emissions and increases milk production of dairy cows offered a forage and cereal grain diet. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 48: 73-76. doi: 10.1071/EA07224

- [51] Patra, A. K., Yu, Z. (2013a): Effects of coconut and fish oils on ruminal methanogenesis, fermentation, and abundance and diversity of microbial populations *in vitro*. *Journal of Dairy Science*, 96: 1782-1792. doi: 10.3168/jds.2012-6159
- [52] Soliva, C. R., Meile, L., Hindrichsen, I. K., Kreuzer, M., Machmüller, A. (2004): Myristic acid supports the immediate inhibitory effect of lauric acid on ruminal methanogens and methane release. *Anaerobe*, 10: 269-276. doi: 10.1016/j.anaerobe.2004.06.003
- [53] Machmüller, A., Ossowski, D. A., Kreuzer, M. (2000): Comparative evaluation of the effects of coconut oil, oilseeds and crystalline fat on methane release, digestion and energy balance in lambs. *Animal Feed Science and Technology*, 85: 41-60. doi: 10.1016/S0377-8401(00)00126-7
- [54] Palmquist, D. L. (1991): Influence of source and amount of dietary fat on digestibility in lactating cows. *Journal of Dairy Science*, 74(4): 1354-1360. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(91)78290-8
- [55] Shiba, N., Tsuneishi, E., Matsuzaki, M., Shioya, S. (2003): Effect of linseed oil calcium salt on the methane emission and carcass characteristics of beef cattle. *Nihon Chikusan Gakkaiho*, 74(1): 37-42. doi: 10.2508/chikusan.74.37
- [56] Sato, Y., Tominaga, K., Aoki, H., Mutrayama, M., Oishi, K. et al. (2020): Calcium salts of long-chain fatty acids from linseed oil decrease methane production by altering the rumen microbiome *in vitro*. *PLoS ONE*, 15(11): e0242158. doi: 10.1371/journal.pone.0242158
- [57] Benchaar, C., Chaves, A. V., Fraser, G. R., Beauchemin, K. A., McAllister, T. A. (2007): Effects of essential oils and their components on *in vitro* rumen microbial fermentation. *Canadian Journal of Animal Science*, 87: 413-419. doi: 10.4141/CJAS07012
- [58] Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar, M. (2008): Biological effects of essential oils – a review. *Food and Chemical Toxicology*, 46: 446-475. doi: 10.1016/j.fct.2007.09.106
- [59] Patra, A. K., Yu, Z. (2012): Effects of essential oils on methane production and fermentation by, and abundance and diversity of, rumen microbial populations. *Applied and Environmental Microbiology*, 78: 4271-4280. doi: 10.1128/AEM.00309-12
- [60] Cobellis, G., Trabalza-Marinucci, M., Yu, Z. (2016): Critical evaluation of essential oils as rumen modifiers in ruminant nutrition: A review. *Science of the Total Environment*, 545-546: 556-568. doi: 10.1016/j.scitotenv.2015.12.103
- [61] Busquet, M., Calsamiglia, S., Ferret, A., Cardozo, P. W., Kamel, C. (2005): Effects of cinnamaldehyde and garlic oil on rumen microbial fermentation in a dual flow continuous culture. *Journal of Dairy Science*, 88: 2508-2516. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(05)72928-3
- [62] Hernandez, A., Kholif, A. E., Lugo-Coyote, R., Elghandour, M. M. Y., Cipriano, M. et al. (2017): The effect of garlic oil, xylanase enzyme and yeast on biomethane and carbon dioxide production from 60-d old Holstein dairy calves fed a high concentrate diet. *Journal of Cleaner Production*, 142: 2384-2392. doi: 10.1016/j.jclepro.2016.11.036
- [63] Günal, M., Pinski, B., AbuGhazaleh, A. A. (2017). Evaluating the effects of essential oils on methane production and fermentation under *in vitro* conditions. *Italian Journal of Animal Science*, 16(3): 500-506. doi: 10.1080/1828051X.2017.1291283
- [64] Patra, A. K., Saxena, J. (2010). A new perspective on the use of plant secondary metabolites to inhibit methanogenesis in the rumen. *Phytochemistry*, 71: 1198-1222. doi:10.1016/j.phytochem.2010.05.010
- [65] Reed, J. D. (1995): Nutritional toxicology of tannins and related polyphenols in forage legumes. *Journal of Animal Science*, 73(5): 1516-1528. doi: 10.2527/1995.7351516x

- [66] Waghorn, G. C., Tavendale, M. N., Woodfield, D. R. (2002): Methanogenesis from forages fed to sheep. *Proceedings of the New Zealand Grassland Association*, 64: 167-171. doi: 10.33584/jnzg.2002.64.2462
- [67] Waghorn, G. C. (2008): Beneficial and detrimental effects of dietary condensed tannins for sustainable sheep and goat production-progress and challenges. *Animal Feed Science and Technology*, 147: 116-139. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2007.09.013
- [68] Jayanegara, A., Goel, G., Makkar, H. P., Becker, K. (2015): Divergence between purified hydrolysable and condensed tannin effects on methane emission, rumen fermentation and microbial population *in vitro*. *Animal Feed Science and Technology*, 209: 60-68. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2015.08.002
- [69] Min, B. R., Pinchak, W. E., Fulford, J. D., Puchala, R. (2005): Wheat pasture bloat Dynamics, *in vitro* ruminal gas production, and potential bloat mitigation with condensed tannins. *Journal of Animal Science*, 83: 1322-1331. doi: 10.2527/2005.8361322x.
- [70] Min, B. R., Solaiman, S., Waldrip, H. M., Parker, D., Todd, R. W. et al. (2020): Dietary mitigation of enteric methane emissions from ruminants: A review of plant tannin mitigation options. *Animal Nutrition*, 6(3): 231-246. doi: 10.1016/j.aninu.2020.05.002
- [71] Malik, P. K., Kolte, A. P., Baruah, L., Saravanan, M., Bakshi, B. et al. (2017): Enteric methane mitigation in sheep through leaves of selected tanniniferous tropical tree species. *Livestock Science*, 200: 29-34. doi: 10.1016/j.livsci.2017.04.001
- [72] Duval, B. D., Aguerre, M., Wattiaux, M., Vadas, P. A., Powell, J. M. (2016): Potential for reducing on-farm greenhouse gas and ammonia emissions from dairy cows with prolonged dietary tannin additions. *Water, Air, & Soil Pollution*, 227: 329. doi: 10.1007/s11270-016-2997-6
- [73] Vicken, J. P., Heng, L., de Groot, A., Gruppen, H. (2007): Saponins, classification and occurrence in the plant kingdom. *Phytochemistry*, 68(3): 275-297. doi: 10.1016/j.phytochem.2006.10.008
- [74] Patra, A. K., Yu, Z. (2013b) Effective reduction of enteric methane production by a combination of nitrate and saponin without adverse effect on feed degradability, fermentation, or bacterial and archaeal communities of the rumen. *Bioresource Technology*, 148: 352-360. doi: 10.1016/j.biortech.2013.08.140
- [75] Wina, E., Muetzel, S., Hoffmann, E., Makkar, H. P. S., Becker, K. (2005): Saponins containing methanol extract of *Sapindus rarak* affect microbial fermentation, microbial activity and microbial community structure *in vitro*. *Animal Feed Science and Technology*, 121: 159-174. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2005.02.016
- [76] Jayanegara, A., Wina, E., Takahashi, J. (2014): Meta-analysis on Methane Mitigating Properties of Saponin-rich Sources in the Rumen: Influence of Addition Levels and Plant Sources. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*, 27(10): 1426-1435. doi: 10.5713/ajas.2014.14086
- [77] Elanthamil, R., Bandeswaran, C. (2017): Methane emission from ruminants and its mitigating measures using probiotic – A review. *International Journal of Science, Environment and Technology*, 6(1): 319-325.
- [78] Chaucheyras-Durand, F., Maseglier, S., Fonty, G., Forano, E. (2010): Influence of the composition of the cellulolytic flora on the development of hydrogenotrophic microorganisms, hydrogen utilization, and methane production in the rumens of gnotobiotically reared lambs. *Applied and Environmental Microbiology*, 76: 7931–7937. doi: 10.1128/AEM.01784-10
- [79] Lynch, H., Martin, S. (2002): Effects of *Saccharomyces cerevisiae* culture and *Saccharomyces cerevisiae* live cells on *in vitro* mixed ruminal microorganism fermentation. *Journal of Dairy Science*, 85(10): 2603-2608. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(02)74345-2
- [80] Malik, R., Singh, R. (2009): Effects of yeast and fungi culture on *in vitro* ruminal fermentation. *Indian Journal of Animal Nutrition*, 26(1): 40-45.

- [81] Chung, Y. H., Walker, N. D., McGinn, S. M., Beauchemin, K. A. (2011): Differing effects of 2 active dried yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) strains on ruminal acidosis and methane production in non-lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 94(5): 2431-2439. doi: 10.3168/jds.2010-3277
- [82] Frumholtz, P. P., Newbold, C. J., Wallace, R. J. (1989): Influence of *Aspergillus oryzae* fermentation extract on the fermentation of a basal ration in the rumen simulation technique (Rusitec). *Journal of Agricultural Science*, 113: 169-172. doi: 10.1017/S002185960008672X
- [83] Mwenya, B., Santoso, B., Sar, C., Gamo, Y., Kobayashi, T. et al. (2004): Effects of including  $\beta$ 1-4 galacto-oligosaccharides lactic acid bacteria or yeast culture on methanogenesis as well as energy and nitrogen metabolism in sheep. *Animal Feed Science and Technology*, 115 (3): 313-326. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2004.03.007
- [84] Ruiz, O., Castillo, Y., Arzola, C., Burrola, E., Salinas, J. et al. (2016): Effects of *Candida norvegensis* live cells on *in vitro* oat straw rumen fermentation. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 29(2): 211-218. doi: 10.5713/ajas.15.0166
- [85] Martin, S. A., Nisbet, D. J. (1990): Effects of *Aspergillus oryzae* fermentation extract on fermentation of amino acids, bermudagrass and starch by mixed ruminal microorganisms *in vitro*. *Journal of Animal Science*, 68: 2142-2149. doi: 10.2527/1990.6872142x
- [86] Mathieu, F., Jouany, J. P., Senaud, J., Bohatier, J., Berthin, G. et al. (1996): The effect of *Saccharomyces cerevisiae* and *Aspergillus oryzae* on fermentations in the rumen of faunated and defaunated sheep: protozoal and probiotic interactions. *Reproduction Nutrition Development*, 36: 271-287. doi: 10.1051/rnd:19960305
- [87] Lila, Z. A., Mohammed, N., Yasui, T., Kurokawa, Y., Kanda, S. et al. (2004). Effects of twin strain *Saccharomyces cerevisiae* live cells on mixed ruminal microorganism fermentation *in vitro*. *Journal of Animal Science*, 82(6): 1847-1854. doi: 10.2527/2004.8261847x
- [88] Wang, Z., He, Z., Beauchemin, K. A., Tang, S., Zhou, C. et al. (2016): Evaluation of different yeast species for improving *in vitro* fermentation of cereal straws. *Asian Australasian Journal of Animal Science*, 29(2): 230-240. doi: 10.5713/ajas.15.0188
- [89] Oeztuerk, H., Emren, B., Breves, G. (2016): Effects of hydrolysed yeasts on ruminal fermentation in the rumen simulation technique (Rusitec). *Veterinari Medicina*, 61(4): 195-203. doi: 10.17221/8820-VETMED
- [90] Newbold, C. J., Rode, L. M. (2006): Dietary additives to control methanogenesis in the rumen. In: Soliva, C. R., Takahashi, J., Kreuzer, M. (eds.), *Greenhouse Gases and Animal Agriculture: An Update*. Amsterdam: Elsevier. International Congress Series No. 1293, pp. 138-147.
- [91] Patra, A. K. (2012): The use of live yeast products as microbial feed additives in ruminant nutrition. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*, 7(5): 366-375. doi: 10.3923/ajava.2012.366.375
- [92] Liu, H., Wang, J., Wang, A., Chen, J. (2011): Chemical inhibitors of methanogenesis and putative applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 89: 1333-1340. doi: 10.1007/s00253-010-3066-5
- [93] Patra, A., Park, T., Kim, M., Yu, Z. (2017): Rumen methanogens and mitigation of methane emission by anti-methanogenic compounds and substances. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 8:13. doi: 10.1186/s40104-017-0145-9
- [94] Ungerfeld, E., Rust, S., Boone, D., Liu, Y. (2004): Effects of several inhibitors on pure cultures of ruminal methanogens. *Journal of Applied Microbiology*, 97: 520-526. doi: 10.1111/j.1365-2672.2004.02330.x
- [95] Alvarado, A., Montanez-Hernandez, L. E., Palacio-Molina, S. L., Oropeza-Navarro, R., Luevanos-Escareno, M. P. et al. (2014): Microbial trophic interactions and mcrA

- gene expression in monitoring of anaerobic digesters. *Frontiers in Microbiology*, 5: 597. doi: 10.3389/fmicb.2014.00597
- [96] Tomkins, N., Colegate, S., Hunter, R. A. (2009): A bromochloromethane formulation reduces enteric methanogenesis in cattle fed grain-based diets. *Animal Production Science*, 49(12): 1053-1058. doi: 10.1071/EA08223
- [97] Abecia, L., Toral, P. G., Martin-Garcia, A. I., Martinez, G., Tomkins, N. W. et al. (2012): Effect of bromochloromethane on methane emission, rumen fermentation pattern, milk yield, and fatty acid profile in lactating dairy goats. *Journal of Dairy Science*, 95: 2027-2036. doi: 10.3168/jds.2011-4831
- [98] Martinez-Fernandez, G., Denman, S. E., Yang, C., Cheung, J., Mitsumori, M. et al. (2016): Methane inhibition alters the microbial community, hydrogen flow and fermentation response in the rumen of cattle. *Frontiers in Microbiology*, 7: 1-14. doi: 10.3389/fmicb.2016.01122
- [99] Knight, T., Ronimus, R. S., Dey, D., Tootill, C. (2011): Chloroform decreases rumen methanogenesis and methanogen populations without altering rumen function in cattle. *Fuel and Energy Abstracts*, 166: 101-112. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2011.04.059
- [100] Duin, E. C., Wagner, T., Shima, S., Prakash, D., Cronin, B. et al. (2016): Mode of action uncovered for the specific reduction of methane emissions from ruminants by the small molecule 3-nitrooxypropanol. *Proceedings of the National Academy Science, USA*, 113(22): 6172-6177. doi: 10.1073/pnas.1600298113
- [101] Romero-Perez, A., Okine, E., McGinn, S., Guan, L., Oba, M. et al. (2015): Sustained reduction in methane production from long-term addition of 3-nitrooxypropanol to a beef cattle diet. *Journal of Animal Science*, 93: 1780-1791. doi: 10.2527/jas.2014-8726
- [102] Van Wesemael, D., Vandaele, L., Ampe, B., Cattrysse, H., Duval, S. et al. (2019): Reducing enteric methane emissions from dairy cattle: Two ways to supplement 3-nitrooxypropanol. *Journal of Dairy Science*, 102(2): 1780-1787. doi: 10.3168/jds.2018-14534
- [103] Olijhoek, D. W., Hellwing, A. L. F., Brask, M., Weisbjerg, M. R., Hojberg, O. et al. (2016): Effect of dietary nitrate level on enteric methane production, hydrogen emission, rumen fermentation, and nutrient digestibility in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 99: 6191-6205. doi: 10.3168/jds.2015-10691.
- [104] Nolan, J. V., Hegarty, R. S., Hegarty, J., Godwin, I. R., Woodgate, R. (2010): Effects of dietary nitrate on fermentation, methane production and digesta kinetics in sheep. *Animal Production Science*, 50: 801–806. doi: 10.1071/AN09211
- [105] Van Zijderveld, S. M., Gerrits, W. J. J., Dijkstra, J., Newbold, J. R., Hulshof, R. B. A. et al. (2011): Persistency of methane mitigation by dietary nitrate supplementation in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 94: 4028–4038. doi: 10.3168/jds.2011-4236
- [106] Hulshof, R. B. A., Berndt, A., Gerrits, W. J. J., Dijkstra, J., van Zijderveld, S. M. et al. (2012): Dietary nitrate supplementation reduces methane emission in beef cattle fed sugarcane based diets. *Journal of Animal Science*, 90: 2317–2323. doi: 10.2527/jas.2011-4209
- [107] Kebreab, E., Feng, X. (2021): Strategies to reduce methane emissions from enteric and lagoon sources. Prepared for State of California Air Resources Board Research Division, Sacramento CA, Contract 17RD018, pp. 25-38.
- [108] Hammond, K. J., Muetzel, S., Waghorn, G. C., Pinares-Patino, C. S., Burke, J. L. et al. (2009): The variation in methane emissions from sheep and cattle is not explained by the chemical composition of ryegrass. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production*, 69: 174-178.
- [109] McCaughey, W. P., Wittenberg, K., Corrigan, D. (1999): Impact of pasture type on methane production by lactating beef cows. *Canadian Journal of Animal Science*, 79: 221-226. doi: 10.4141/A98-107

- [110] DeRamus, H. A., Clement, T. C., Giampola, D. D., Dickison, P. C. (2003): Methane emissions of beef cattle on forages. *Journal of Environmental Quality*, 32: 269–277. doi:10.2134/jeq2003.2690
- [111] McCaughey, W. P., Wittenberg, K., Corrigan, D. (1997): Methane production by steers on pasture. *Canadian Journal of Animal Science*, 77: 519–524. doi: 10.4141/A96-137
- [112] Savian, J. V., Neto, A. B., de David, D. B., Bremm, C., Schons, R. M. T. et al. (2014): Grazing intensity and stocking methods on animal production and methane emission by grazing sheep: implications for integrated crop–livestock system. *Agriculture, Ecosystem and Environment*, 190: 112–119. doi: 10.1016/j.agee.2014.02.008
- [113] Amaral, M. F., Mezzalira, J. C., Bremm, C., Da Trindale, J. K., Gibb, M. J. et al. (2013): Sward structure management for a maximum short-term intake rate in annual ryegrass. *Grass and Forage Science*, 68: 271–277. doi:10.1111/j.1365-2494.2012.00898.x
- [114] Mezzalira, J. C., Carvalho, P. C. F., Foseca, L., Bremm, C., Cangiano, C. et al. (2014): Behavioural mechanisms of intake rate by heifers grazing swards of contrasting structures. *Applied Animal Behaviour Science*, 153: 1–9. doi: 10.1016/j.applanim.2013.12.014
- [115] Savian, J. V., Schons, R. M. T., Marchi, D. E., de Feritas, T. S., da Silva Neto, G. F. et al. (2018): Rotatinuous stocking: A grazing management innovation that has high potential to mitigate methane emissions by sheep. *Journal of Cleaner Production* 2018; 186: 602–608. doi: 10.1016/j.jclepro.2018.03.162
- [116] Wims, C. M., Deighton, M. H., Lewis, E., O’Loughlin, B., Delaby, L. et al. (2010): Effect of pregrazing herbage mass on methane production, dry matter intake and milk production of grazing dairy cows during the mid season period. *Journal of Dairy Science*, 93: 4976–4985. doi: 10.3168/jds.2010-3245
- [117] Hart, K. J., Martin, P. G., Foley, P. A., Kenny, D. A., Boland, T. M. (2009): Effect of sward dry matter digestibility on methane production, ruminal fermentation, and microbial populations of zero-grazed beef cattle. *Journal of Animal Science*, 87: 3342–3350. doi:10.2527/jas.2009-1786
- [118] Janssen, P. H. (2010): Influence of hydrogen on rumen methane formation and fermentation balances through microbial growth kinetics and fermentation thermodynamics. *Animal Feed Science and Technology*, 160(1-2): 1–22. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2010.07.002
- [119] Boland, T. M., Quinlan, C., Pierce, K. M., Lynch, M. B., Kenny, D. A et al. (2013): The effects of pasture pregrazing herbage mass on methane emissions, ruminal fermentation, and average daily gain of grazing beef heifers. *Journal of Animal Science*, 91: 3867–3874. doi: 10.2527/jas.2013-5900
- [120] Munoz, C., Letelier, P. A., Ungerfeld, E. M., Morales, J. M., Hube, S. et al. (2016): Effects of pregrazing herbage mass in late spring on enteric methane emissions, dry matter intake, and milk production of dairy cows. *Journal Dairy Science*, 99: 7945–7955. doi: 10.3168/jds.2016-10919