

## Sütçü Sığırlarda Yeme *Yucca Schidigera* İlavesinin Kan Oksidan-Antioksidan Denge, Bazı Biyokimyasal Parametreler ve Süt Kalitesine Etkisi

İbrahim DURMUŞ<sup>1</sup>, İsmail AYTEKİN<sup>2</sup>, İsmail KÜÇÜKKURT<sup>3</sup>, Sinan İNCE<sup>4</sup>,  
Abdullah ERYAVUZ<sup>5\*</sup>, Zeki GÜRLER<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Afyon Kocatepe Üniversitesi Şubat MYO Laborant ve Veteriner Sağlık Bölümü, Afyonkarabısar/TÜRKİYE

<sup>2</sup>Balıkesir Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Balıkesir/TÜRKİYE

<sup>3</sup>Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Afyonkarabısar/TÜRKİYE

<sup>4</sup>Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Afyonkarabısar/TÜRKİYE

<sup>5</sup>Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, Afyonkarabısar/TÜRKİYE

<sup>6</sup>Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Afyonkarabısar/TÜRKİYE

Corresponding author e-mail: eryavuz@aku.edu.tr

#Bu çalışma Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje no:16.KARİYER.58).

### ÖZ

Hayvan beslemede verim artırıcı ve büyümeyi teşvik edici olarak kullanılan ionofor grubu antibiyotikler başta olmak üzere birçok kimyasal katkı maddesi Avrupa'da yasaklanmıştır. Son yıllarda bu maddelerin yerine bitkilerden elde edilen saponinler gibi biyolojik aktif ürünler kullanılmaktadır. Bu araştırmanın amacı steroidal saponin içeren *Yucca schidigera* (YS) bitki tozunun sütçü sığırlarda kan oksidan-antioksidan denge ve sütte malondialdehit, üre-N ile süt kalitesi üzerine etkilerini belirlemektir. Çalışmada ortalama süt verimi 20,7 kg ± 3,1 kg/gün ve canlı ağırlıkları 552 kg ± 30 kg olan 10 adet Holştayn inek kullanıldı. Çalışmanın başlangıcında ve 15 günün sonunda (15 gün boyunca rasyonlarına 1500 pp *Yucca schidigera* ilave edildi) bu hayvanlardan sabah yemlemesinden öncesi ve 2 saat sonrasında kan ve süt örnekleri alındı. Kanda malondialdehit (MDA), antioksidan aktivite (AOA), redukte glutatyon (GSH), süperoksid dismutaz (SOD), katalaz (CAT), A vitamini, beta karoten, amonyak tayini ve süt örneklerinde MDA, üre-N ile süt kalite parametreleri ölçüldü. İstatistik analizler için SPSS paket programı, verilerin değerlendirilmesinde paired-t testi uygulandı. Yemleme öncesi ve sonrasında kanda MDA ve amonyak düzeyleri düşük bulundu ( $p < 0,05$ ), yemleme öncesi GSH yemleme sonrası GSH ve  $\beta$ -karoten düzeyleri ise yüksek bulundu ( $p < 0,05$ ). Çalışmada yeme YS ilavesinin süt MDA ve üre azotu düzeylerini düşürdüğü ( $p < 0,05$ ), süt yağ yüzdesini artırdığı ( $p < 0,05$ ), diğer parametrelere ise etkisinin olmadığı bulundu. Bu bulgular YS ilavesinin sütte MDA ve üre azotu düzeylerini düşürdüğünü gösteren ilk çalışmadır. Sonuç olarak, bu çalışmada elde edilen bulgular, süt ineklerinin rasyonlarına doğal bir antioksidan olarak YS ilavesinin kanda antioksidan savunmayı güçlendirebileceği ve süt kalitesinin artmasında olumlu bir etkisinin olabileceğini göstermektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Antioksidanlar, Saponinler, Süt Kalitesi, Sütçü Sığır, *Yucca Schidigera*

### Effects of *Yucca Schidigera* To Diet of Dairy Cows on Blood Oxidant-Antioxidant Balance, Biochemical Parameters, and Milk Quality

#### ABSTRACT

In recent years, use of plant bioactive compounds such as saponins in animal nutrition has been of increasing interest, particularly in Europe because of the EU ban on use of growth promoting antibiotics, including ionophores, in livestock production. The purpose of this research was to evaluate the effects of *Yucca schidigera* powder (YS), containing steroidal saponins, supplementation to diets of lactating dairy cows on oxidant-antioxidant balance in the blood and, concentrations of urea nitrogen and malondialdehyde in milk. In the study, 10 Holstein cows in the mid lactation, with an average milk yield of 20.7 kg ( $\pm 3.1$  kg)/day and a live weight of 552 kg ( $\pm 30$  kg), were used. The blood and milk samples were taken from all animals fed the same diet at 2 h after feeding. After that, YS was added at the rate of 1500 mg/kg DM to the concentrate mixture of the same animals. All animals were fed the concentrate mixture with YS for 15 days and the blood and milk samples were taken at 15th d of feeding with YS and 2 h after feeding. The concentrations of malondialdehyde (MDA), reduced glutathione (GSH), vitamin A,  $\beta$ -carotene, ammonium nitrogen and antioxidant activity (AOA), superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) activities were determined in the blood. The levels of MDA and urea nitrogen, and milk quality parameters were measured in the milk. In statistical analysis, paired t-test method was used in SPSS computer program to compare the levels between before feeding with YS and after feeding with YS in the same animals. The concentrations of MDA and ammonium nitrogen were lower ( $p < 0.05$ ), the levels of GSH and  $\beta$ -carotene were higher ( $p < 0.05$ ) after feeding with YS than that before feeding with YS in the blood of cows. In the milk of cows, the concentrations of MDA and urea nitrogen were lower ( $p < 0.05$ ) and the rate of fat % was higher ( $p < 0.05$ ) after feeding with YS than that before feeding with YS. Those results are the first results showing that the YS decreased the lipid peroxidation and urea nitrogen concentration in the milk of dairy cows. The results indicate that YS may have a potential for use as a natural antioxidant source in dairy cow nutrition and contribute to the protection of their health.

**Key Words:** Antioxidants, Saponins, Milk Quality, Dairy Cows, *Yucca Schidigera*

To cite this article: Durmuş İ, Aytakin İ, Küçükkurt İ, İnce S, Eryavuz A, Gürler Z. Sütçü Sığırlarda Yeme *Yucca Schidigera* İlavesinin Kan Oksidan-Antioksidan Denge, Bazı Biyokimyasal Parametreler ve Süt Kalitesine Etkisi. *Kocatepe Vet J.* 2016; 9(4): 339-347.

## GİRİŞ

Süt üretiminin artırılması ve kalitesinin geliştirilmesinin ekonomik öneminden dolayı süt sığırcılığına yönelik pek çok araştırma gerçekleştirilmektedir. Süt sığırlarının beslenmesinde özellikle antibiyotikler olmak üzere, probiyotikler, mantarlar, enzimler ve aminoasitler gibi pek çok madde yem katkı maddesi olarak süt üretimini artırmak amacıyla uzun yıllardır kullanılmıştır (Jouany ve Morgavi, 2007, Wang ve ark., 2010, Liu ve ark., 2011). Bununla birlikte, yem katkı maddesi olarak kullanılan kimyasalların hayvansal ürünlerde oluşturduğu kalıntılardan dolayı bu tür gıdalara tüketicilerin ilgisi gittikçe azalmaktadır. Son yıllarda, büyümeyi uyarıcı maddeler olarak kullanılan antibiyotikler ve antimikrobiyel maddelerin hayvan beslemede kullanılmalarının yasaklanmasından sonra (Jouany ve Morgavi, 2007), süt verimi ve kalitesini artırmak amacıyla, sütü sığırlarının beslenmesinde büyümeyi uyarıcılara karşı alternatif olarak aromatik bitkiler ve bunların ekstraktlarının kullanılmasına yönelik hem toplumsal ve hem de bilimsel ilgi artmaktadır (Vasta ve Luciano, 2011, Gümüş ve İmik, 2012, Mandal ve ark., 2014). Bazı bitkiler hayvanların tükettiği yem maddelerinin sindirim kanalı içerisinde sindirim ve emilim düzeyini etkileyen antimikrobiyel maddeler içermektedir. Bitki ekstraktlarında var olan antimikrobiyel maddeler bitkiler tarafından doğal olarak üretildikleri için sentetik olarak üretilen kimyasallara göre daha güvenli oldukları kabul edilmektedir. Yem katkı maddesi olarak kullanılan kimyasal maddelerin çevreye vereceği olumsuz etkilerinin de bulunması (Tamminga ve Hobson, 1996), doğal ürünlere yönelik arayışların artmasına yol açmıştır. Doğal bitkilerin ya da ekstraktlarının hayvan beslemede verim ve kalitenin yükseltilmesi ile hayvan sağlığının korunmasında oluşturdukları etkileri tespit etmeye yönelik son yıllarda çok sayıda araştırma gerçekleştirilmektedir. Bunlar arasında pek çok bitkide bulunan ve ruminant hayvanlarda tüketilen yemin rumende sindirimi ve emilimini etkilediği ileri sürülen saponinler de yer almaktadır (Eryavuz, 2004, Hart ve ark., 2008, Küçükkurt ve Fidan 2008, Gümüş ve İmik, 2012, Jayanegara ve ark., 2014, Eryavuz ve ark., 2015). Ruminant hayvanların yemine saponin içeriği yüksek bitki ya da bunun ekstraktı ilavesinin rumende protozoon sayısını azalttığı (Szczechowiak ve ark., 2013) ya da etkilemediği (Eryavuz ve Dehority, 2004, Eryavuz ve ark., 2015), amonyak azotu düzeyini düşürdüğü (Eryavuz ve ark., 2015), metan üretimini azalttığı (Holtshausen ve ark., 2009) gösterilmiştir. Bununla birlikte, saponin içeriği yüksek bitki ya da bunun ekstraktının yeme ilave edilen düzeylerinin yetersizliğinden ya da rumen ortamında sindirilmelerinden dolayı beklenen etkileri

gösteremeyebileceği gibi (Eryavuz ve ark., 2015), bitkilerde bulunan antimikrobiyel maddeler, süt sığırlarına zararlı olabilir ya da sütün kalitesini de olumsuz etkileyebilir. Sığırlarda yapılan çalışmalarda, yeme saponin içeriği yüksek bitki ilavelerinin süt verimini etkilemediği ifade edilmektedir (Patra ve Saxena, 2009, Holtshausen ve ark., 2009). İlave olarak saponin içeren bitkilerin ya da bunların ekstraktlarının ruminant hayvan yemlerine katıldığında, bu hayvanların et ve süt kalitesi üzerine olan etkilerine yönelik yapılan çalışma sayısı oldukça azdır. Bu nedenle, çalışmada; yeme saponin içeriği yüksek *Yucca schidigera* bitkisi ilavesinin süt sığırlarında kanda oksidan-antioksidan denge, vitamin A, beta karoten ve amonyak düzeyleri ile süt kalitesine etkileri araştırıldı.

## MATERYAL ve METOT

Afyon Kocatepe Üniversitesi Hayvan Deneyleleri Yerel Etik Kurulundan 25.02.2016 tarih ve 49533702/08 nolu onay belgesi alındıktan sonra yapılan çalışmada; hayvan materyali olarak Afyonkarahisar ili Şuhut ilçesinde yetiştirici izni alınan özel bir çiftlikte yetiştirilen 10 adet Holştayn süt ineği kullanıldı. Hayvanların yaklaşık canlı ağırlıklarının 552 kg ± 30 kg ve süt verimlerinin 20,7 kg ± 3,1 kg/gün birbirine yakın olmalarına dikkat edildi. Araştırmada deneme hayvanları, 16 kg mısır silajı, 3 kg yonca, 2 kg buğday samanı, 19 ham protein ve 2700 metabolik enerjili 7 kg ticari yem içeren rasyonla beslenmiştir. Hayvanlara 15 gün boyunca YS toz halde 1500 ppm/hayvan olacak şekilde rasyona ilave edilmiştir. Çalışmanın başlangıcında ve rasyonlarına 1500 ppm YS ilave edildikten sonraki 15. günde bu hayvanlardan sabah yemleme öncesi ve 2 saat sonrasında vena jugularislerinden yaklaşık 10 ml taze tam kan lityum heparinli tüplere ve yaklaşık 50 ml süt örneği sabah sağımda temiz steril şişelere usulüne uygun bir şekilde alındı. Kandan plazmalar 3000 rpm/dk devirde 10 dakika santrifüj edilerek elde edildi. Örnekler +4 derecede muhafaza edilerek derhal Veteriner Fakültesi Biyokimya AD laboratuvarına getirilerek aynı gün içerisinde analizleri yapıldı.

Biyokimyasal Analizler

Malondialdehid (MDA) Tayini

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

Antioksidan Aktivite (AOA) Tayini

Fe-EDTA kompleksi standart solusyonu Fenton reaksiyonu tarafından hidrojen peroksid ile

reaksiyona girer, hidroksil radikallerinin oluşumuna izin verir. Bu reaktif oksijen radikalleri TBARS salınımı sonucunda benzoatı bozar. İnsan sıvısına eklenen antioksidanlar, TBARS üretiminin baskılanmasına sebep olur. Bu reaksiyon spektrofotometrik olarak ölçülür ve renk gelişiminin baskılanması AOA olarak saptanır (Koracevic ve ark., 2001).

Redükte Glutatyon (GSH) Tayini

5-5'-ditiyobis [2-nitrobenzoik asit] [DTNB:3-karboksi-4-nitrofenil disülfid: Elman Ayrırıcı] sülfidril bileşikleri ile tepkimeye girdiğinde bir disülfid bileşiği olan sarı renkli kompleks yapı oluşturur. Bu sarı bileşiğin optik dansitesi 412 nm'de okunarak GSH miktarı saptanır (Beutler, 1984).

Süperoksid Dismutaz (SOD) Aktivitesinin Tayini

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

Katalaz (CAT) Aktivite Tayini

Hidrojen peroksit ışık spektrumunun UV alanında dalga boyunun azalmasıyla artan bir absorpsiyon gösterir. Uygun bir tampon içinde bulunan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin örnekte bulunan CAT etkisi ile yıkımlanması sonucu bu maddenin 240 nm'de neden olduğu absorbansta azalma meydana gelir. Absorbansta meydana gelen azalma hızı CAT aktivitesi ile orantılıdır (Luck, 1955).

Eritrosit Paketlerinde Hemoglobin Miktarı Tayini

Eritrosit paketlerinde çalışılan parametrelerin sonuçları hesaplanırken kullanılan eritrosit hemoglobin düzeyleri ferrosiyanomethemoglobin metodu ile çalışıldı. Bu metotta deney tüpü içerisine konulan 5 ml Drabkin çözeltisi üzerine 20 µl hemolizat eritrosit eklendi. Bir süre beklendikten sonra Drabkin çözeltisi kör olarak kullanılarak 540 nm'de spektrofotometrede okundu (Drabkin ve Austin, 1935).

Plazma A vitamini ve β-karoten düzeylerinin belirlenmesi için, askorbik asitle presipite edilen plazma lipoproteinlerinden hekzan ilavesi ile A vitamini ve β-karoten'in ayrılması esasına dayalı Suzuki ve Katoh (1990)'un tanımladığı spektrofotometrik yöntem kullanıldı. Plazma Amonyak ve süt üre-N miktarları ticari kitler (Sigma AA0100- Ammonia assay kit) kullanılarak spektrofotometrik olarak tayin edildi. Sütte parametrelerinin belirlenmesinde (% yağ, % protein,

% laktoz, % mineral, % yağsız kuru madde, donma noktası, iletkenlik) Lactostar cihazı (Funke Gerber, Berlin, Almanya) kullanılmıştır.

Yapılan çalışmalar sonucunda elde edilen veriler bilgisayar istatistik paket programı (SPSS for Windows 16.0 Standart Versiyon) kullanılarak değerlendirilmiştir. Bütün veriler aritmetik ortalama±standart hata (SH) şeklinde tanımlandı, verilerin değerlendirilmesinde paired-t testi uygulandı.

## BULGULAR

Çalışma sonunda elde edilen kan bulguları Tablo1 ve Tablo2'de, süt parametreleri Tablo3' de verilmiştir. Elde edilen bulgulara göre, kan MDA düzeyinin, YS ilave edilmeden önce alınanlara göre önemli oranda ( $p < 0.05$ ) düştüğü bulundu. Çalışmada, YS ilavesinden sonra alınan kan örneklerinde AOA beslemeden sonra rakamsal olarak yüksek olmasına rağmen, istatistiksel öneme ulaşmamıştır ( $p > 0.05$ ). Benzer şekilde, SOD ve CAT enzim aktivitelerine yeme YS ilavesinin etkisi olmadığı bulundu ( $p > 0.05$ ). Buna karşın, hücrelerde nonenzimatik bir antioksidan olan GSH düzeyleri, YS ilave edildikten sonra alınan kan örneklerinde hem yemleme öncesi hem de yemleme sonrası önemli oranda yüksek bulundu ( $p < 0.05$ ). Bu çalışmada; enzim olmayan antioksidanlar arasında bulunan vitamin A ve onun ön maddesi olan β-karotenin YS ilave edilmiş yemle beslemeden sonra kan düzeylerinde vitamin A da değişim olmazken β-karoten düzeyinin arttığı bulundu ( $p < 0.05$ ). Çalışmada yeme YS ilavesinin süt MDA ve üre azotu düzeylerini düşürdüğü ( $p < 0.05$ ), süt yağ yüzdesini artırdığı ( $p < 0.05$ ), diğer parametrelere ise etkisinin olmadığı bulundu.

## TARTIŞMA

Süt sığırlarında süt verim ve kalitesinin artırılması amacıyla antibiyotikler çok yaygın kullanılmaktadır (Jouany ve Morgavi, 2007). Bununla birlikte, tüketicilerde sağlıklı gıda tüketimine yönelik büyük bir ilgi bulunmaktadır. İnsan ve hayvan sağlığında olumsuz etkilere sahip patojen bakterilerde direnç gelişimine yol açması ve hayvansal ürünlerde oluşturabileceği kalıntılardan dolayı antibiyotikler ve antimikrobiyel maddelerin Avrupa Birliği ve bazı diğer ülkeler tarafından yasaklanmasıyla birlikte, yerine doğal ürünlerin kullanılması yönünde tüm dünyada hayvan yetiştiricileri ve tüketicilerde tercih oluşmasına yol açmıştır. Bu nedenle çalışmada; yeme saponin içeriği yüksek *Yucca schidigera* bitkisi ilavesinin süt sığırlarında kanda oksidan-antioksidan denge, vitamin A, beta karoten ve amonyak düzeyleri ile bazı süt kalite parametrelerine etkileri araştırıldı. Bununla birlikte, yapılan çalışmalarda, süt sığırlarının beslenmesinde yeme ilave edilecek YS düzey bakımından çok değişik bildirimler bulunmaktadır. Ruminant yemlerinde YS, yemin kuru madde

düzeyinde 40 ila 5800 ppm arasında olmak üzere çok farklı düzeylerde kullanılmıştır (Calsamiglia ve ark., 2006, Jayanegara ve ark., 2014).

Araştırmada; deneme hayvanları, 15 gün normal rasyonla ve sonraki 15 gün normal rasyona ilaveten 1500 ppm düzeylerinde YS tozu eklenerek beslenmişlerdir. Çalışmada, hayvan başına 1500 ppm YS'nin tercih edilmesinin nedeni; hayvan barınaklarından ve atıklarından amonyak emisyonlarını azaltmak için yeme 120 ila 240 ppm arasında YS tozu katılmasının tavsiye edildiği (Lowett ve ark., 2006), buna karşın rumen fermentasyonunu manipüle etmek için 3000 ppm düzeyi gibi yüksek bir düzeyde ilave edilebileceği (Lowett ve ark., 2006, van Zijderveld ve ark., 2011) yönündeki bildirimler ile saponin içerikli bitkilerin yüksek düzeyde kullanılması aynı zamanda antinutrisyonel bir faktör olması nedeniyle toksik etkilere de yol açabileceği yönündeki bildirimden (Kaya ve Pirinçci, 2002) elde edilen verilerden kaynaklanmıştır. Son yapılan bir çalışmada (Eryavuz ve ark., 2015), koyunların yemine günde 500 ve 3 günde bir 1500 ppm YS tozu katılmasına bağlı değişiklikler incelenmiş, elde edilen veriler bakımından üç günde bir 1500 ppm YS ilavesinin; rumen amonyak azotu düzeyini azalttığı, kanda lipid peroksidasyonunu düşürdüğü ve antioksidan aktiviteyi artırdığı tespit edilmiştir.

Hücrelerde enerji metabolizması sonucu oluşan serbest radikaller; dokular ve hücre zarlarındaki enzimler, proteinler ve lipidlerin dejenerasyonunda oldukça etkili bir role sahiptir (Ayaşan ve Karakozak, 2010). Serbest radikaller, biyolojik membranlarda bulunan fosfolipidler gibi biyomolekülleri okside ederek lipid peroksidasyonuna neden olurlar. Bu nedenle, ruminant hayvanların beslenmesinde doğal antioksidanların kullanılması, hem hayvan sağlığını (Dündar ve ark., 2000) hem de et kalitesini geliştirmek (Aouadi ve ark., 2014) amacıyla önerilmektedir. MDA varlığı, serbest radikallerin membran lipidlerine verdikleri hasarın bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (Avcı ve ark., 2012). Çalışmada YS ilave edildikten sonra alınan kan örneklerinde hem yemleme öncesi hem de yemleme sonrası MDA düzeyinin, YS ilave edilmeden önce alınanlara göre önemli oranda ( $p < 0.05$ ) düştüğü bulundu (Tablo 1 ve 2). Bu bulgu, saponinlerin kan lipid peroksidasyon düzeyini azalttığı yönündeki pek çok bildirimle uyumluydu (Aslan ve ark., 2005, Enginar ve ark., 2006, Eryavuz ve ark., 2015). Benzer şekilde, yeme YS ilavesinin süt MDA düzeylerini de azalttığı bulunmuştur. Bu bulgu yeme YS ilavesinin süt MDA düzeyine etkisini gösteren ilk bulgu olması nedeniyle önemli olmaktadır. Organizmada oksidatif stresin bir göstergesi olarak kullanılan MDA düzeyindeki değişiklikler dikkate alındığında (Dündar ve ark., 2000, Dündar ve Aslan, 2004), yeme YS ilavesinin hem kanda hem de sütte oksidatif stresi azalttığı söylenebilir. Bunun, özellikle süt verimi ile serbest radikal üretimi ve antioksidanlar arasında bir

ilişkinin var olabileceği yönündeki bildirim (Dündar ve ark., 2000) dikkate alınır, meme sağlığı bakımından da önemli olduğu söylenebilir. Bu çalışmada elde edilen bulgu, yeme YS ilavesinin yemle alınan antioksidan düzeyini artırdığına ve oksidatif hasarı azaltarak süt sığırlarının hem sağlıklarının korunmasında hem de süttün oksidatif stabilitesini geliştirerek süttün oksidatif bozulmasını geciktirmesinde ve raf ömrünün uzatılmasında katkı sağlayabileceğine işaret etmektedir.

Hücreler, serbest radikal oluşumunu ve vereceği zararı azaltmak için antioksidan savunma sistemlerine sahiptirler. Bu antioksidan savunma sistemleri; süperoksit dismutaz, glutasyon peroksidaz ve katalaz gibi enzimler ile GSH ve vitaminler gibi enzim olmayan yapılardan oluşmaktadır (Dündar ve Aslan, 2000). Bir tripeptid ve hücre içi redoks homeostazisin en büyük düzenleyicisi olan GSH, dokuların oksidan-antioksidan dengesinin sürdürülmesinde önemli bir rol oynamaktadır (Avcı ve ark., 2012). Bu nedenle, GSH düzeyi azalmış hücreler oksidatif hasara daha duyarlı hale gelirler. Çalışmada, YS ilavesinden sonra alınan kan örneklerinde AOA beslemeden sonra rakamsal olarak yüksek olmasına rağmen, istatistiksel öneme ulaşmamıştır. Benzer şekilde, SOD ve KAT enzim aktivitelerine yeme YS ilavesinin etkisi olmadığı bulundu (Tablo 1 ve 2). Buna karşın, hücrelerde non enzimatik bir antioksidan olan GSH düzeyleri, YS ilave edildikten sonra alınan kan örneklerinde hem yemleme öncesi hem de yemleme sonrası önemli oranda yüksek bulundu. Bu bulgu, yeme 1500 ppm düzeyinde YS ilavesinin kan GSH düzeyini artırarak dokuların antioksidan stabilitesini geliştireceğine işaret etmektedir.

Bu çalışmada; enzim olmayan antioksidanlar arasında bulunan vitamin A ve onun ön maddesi olan  $\beta$ -karotenin YS ilave edilmiş yemle beslemeden sonra kan düzeylerinde vitamin A da değişim olmazken  $\beta$ -karoten düzeyinin arttığı bulundu (Tablo 1 ve 2). Kanatlılarda yapılan bir çalışmada, saponin ilave edilmiş yemle beslenen tavukların plazma vitamin A düzeylerinin azaldığı tespit edilmiştir (Jenkins ve Atwal, 1994). Bu çalışmada steroidal saponin içeren YS'nin yeme ilave edilmesinden sonra kanda vitamin A düzeyinin değişmeyip  $\beta$ -karoten düzeyinin artmasının nedeni, çalışmalarda kullanılan hayvan türlerinin ve yemlerin farklı olmasından kaynaklanabilir (Ayaşan ve Karakozak, 2010).

Süt sığırlı işletmelerinde, sığırların üreme ve döl verimi yönünden sağlıklı bir gelişim sergilemeleri, işletme gelirleri açısından çok önemlidir. Bu nedenle, süt sığırlarının üreme siklusunun sağlıklı seyri, kızgınlık, dölleme ve gebeliğin devamı için özel etkili besin maddeleri de büyük önem taşımakta ve bu maddeler arasında gerek yemlerine gerekse paranteral olarak  $\beta$ -karoten uygulamaları da yer almaktadır (Arıkan ve Muğlalı, 1999, Ayaşan ve Karakozak, 2010). Nitekim, düzensiz siklus ve suböstrüs gösteren ineklerin

kanında  $\beta$ -karoten düzeylerinin, sağlıklı olanlara göre önemli oranda düşük olduğu gözlenmiştir (Salmanoğlu ve ark., 1997). Sığırlarda yavru verimliliğini artırmak amacıyla son yıllarda  $\beta$ -karoten kullanımının tavsiye edilmesi (Kaçar ve ark., 2008) nedeniyle, bu çalışmada kan  $\beta$ -karoten düzeyindeki artışa yol açmasından dolayı sığırların yemine YS ilavesi reproduktif performansın gelişmesine katkı sağlayabilir. Süt ineklerindeki  $\beta$ -karoten'in plazma konsantrasyonlarının 3 mg/L'den fazla olması gerektiği öne sürülmektedir (Jukola ve ark., 1996).

Çalışmada yeme YS ilavesinin süt MDA ve üre azotu düzeylerini düşürdüğü, süt yağ yüzdesini artırdığı, diğer parametrelere ise etkisinin olmadığı bulundu. Çalışmada sığırlardan YS ilave edilmeden önce alınan süt örneklerinde elde edilen MDA düzeyleri (Tablo 3), sağlıklı sığırlarda bildirilen (Dündar ve ark., 2000) süt MDA düzeyleriyle (4.198  $\mu$ mol/ml) uyumluydu. Bununla birlikte, YS ilave edildikten sonra belirlenen MDA düzeyleri ise söz konusu değerlerden düşüktü (Tablo 3). Çalışmada elde edilen bulgular; yeme 2750 ppm YS ilavesinin sığırlarda süt üretimi ve içeriğini etkilemediği yönündeki bildirimle (Bencheat ve ark., 2008) lipid peroksidasyonu, üre azotu ve yağ yüzdesi dışında uyumluydu. Süt yağ sentezinde rumende fermentasyon sonucu oluşan uçucu yağ asitlerinden asetik asitin etkili olduğu bilinmektedir (Bölükbaşı, 1989). Bazı çalışmalarda rumen toplam uçucu yağ asidi düzeylerinin yeme YS ilavesinden etkilenmediği bildirilmesine rağmen (Wu ve ark., 1994, Hristov ve ark., 1999), Cardozo ve ark. (2005) in vitro rumen mikrobiyel fermentasyon ortamında YS'nin asetik asit oranını azalttığı ve propiyonik asit düzeyini artırdığını bulmuşlardır. Bununla birlikte, Hristov ve ark. (1999) sığırlarda yaptıkları çalışmada, yeme YS ekstraktı ilavesinin rumen propiyonik asit düzeyini artırdığını ve diğer uçucu yağ asitlerine etkisinin olmadığını ifade etmektedirler. Cardozo ve ark. (2005), YS'nin rumen uçucu yağ asitlerine olan etkisinde pH'nın da etkili olduğunu öne sürmüşler ve pH 5.5 da toplam uçucu yağ asitleri (UYA) artarken, pH 7.0 da tam tersi azaldığını, asetik asit düzeyinin yükseldiği, propiyonik asit düzeyinin ise azaldığını ifade etmişlerdir. İlave olarak, YS'de bulunan saponinlerin rumen UYA'ne olan etkilerinin yemin bileşimi ve YS'nin yemdeki düzeylerine göre de değişebileceği ifade edilmektedir (Bencheat ve ark., 2008). Bu çalışmada rumende UYA düzeyleri belirlenmemiş olmasına rağmen, çalışmada kullanılan düzeyde (1500 ppm) YS ilavesinden sonra süt yağ yüzdesindeki artma muhtemelen rumende sentezlenen asetik asit düzeyindeki artıştan kaynaklanabilir. Bununla birlikte, Ondarza ve ark. (2009), yüksek süt verimli ineklerin rasyonlarına  $\beta$ -karoten katkısının süt verimini etkilemezken süt yağ düzeyini artırdığını bulmuşlardır. Bu çalışmada plazma  $\beta$ -karoten düzeyinin YS verilmesinden sonra artmış olmasının, süt yağ düzeyinin yükselmesine katkısı olabilir.

Ruminant hayvanların rumeninde meydana gelen mikrobiyel fermentasyon sonucu üretilen mikrobiyel proteinler, alt sindirim organlarında sindirilerek ince bağırsaklardan emilen aminoasitlerin büyük bir kısmını oluşturmaktadır (Bölükbaşı, 1989). Orta veya düşük süt verimine sahip sığırların günlük protein gereksinimleri, rumende sentezlenen mikrobiyel proteinlerle karşılanabilmektedir. Bununla birlikte, yüksek süt verimine sahip sığırlar, mikrobiyel proteinlerin sağladığından daha fazla proteine ihtiyaç duymaktadırlar (Güney ve Karlı, 2014). Bu nedenle, yüksek süt verimine sahip sığırlar hem enerji hem de protein gereksinimlerini karşılamak için laktasyon boyunca enerji ve protein yoğun yemler tüketirler. Bununla birlikte, süt sığırlarının yeminde protein düzeyi yükseldiğinde; yem proteinlerinin mikrobiyel fermentasyonu sonucu rumende amonyak düzeyi artmakta, bakterilerin kullanacağı düzeyin üzerindeki amonyak ise kana geçmekte ve karaciğerde üreye dönüştürülerek plazma amonyak ve üre düzeyi de yükselmektedir (Bölükbaşı, 1989, Eryavuz ve ark., 2008). Plazma ve süt üre düzeyindeki yükselme süt sığırlarının üreme kabiliyetini ve embriyonik gelişmeyi olumsuz yönde etkilemektedir (Ayaşan, 2009). Bu çalışmada hem plazma amonyak düzeyi hem de süt üre düzeyinin YS verildikten sonra azalması, YS ilave edilmiş yemle beslenen süt sığırlarında reproduksiyonun ve embriyonik gelişmesinin olumlu yönde etkileneceğine işaret etmektedir. Bu bulgu, yemde bulunan azotlu maddelerin rumende yıkılımı sonucu oluşan amonyanın, YS'de bulunan saponinler tarafından tutularak emiliminin azaltılmasına atfedilebilir (Wallace ve ark., 1994). Nitekim, YS ilave edilmiş yemle beslenen koyunların rumeninde amonyak düzeyinin azaldığı ifade edilmektedir (Eryavuz ve ark., 2015).

Sonuç olarak, elde edilen bulgular doğrultusunda; süt sığırlarının yemine 1500 ppm düzeyinde YS ilavesinin, hem kanda hem de sütte lipid peroksidasyonunu azaltarak antioksidan düzeyin yükseltilmesinde ve yüksek süt verimli sığırların protein tüketimlerine bağlı olarak kanda artan amonyak düzeyini ve dolayısıyla süt üre düzeyini azaltarak, süt sığırlarında protein tüketimine bağlı gelişecek olan reproduktif problemlerin önlenmesinde yararlı olacağı kanaatine varılmıştır. Bununla birlikte, çalışmada elde edilen bu bulguların süt sığırlarında daha uzun süreli yapılacak çalışmalarla teyit edilmesine ihtiyaç vardır.

**Tablo 1:** Süt sığırlarında yeme *Yucca schidigera* ilavesinin yemleme öncesi kan amonyak düzeyi ve oksidan-antioksidan dengeye etkileri (n=10, Ortalama (X) ± Standart Hata (SH) ve Anlamlılık Düzeyleri (P))

**Table 1:** The effects of *Yucca schidigera* supplementation to diets before feeding on blood ammonia levels and oxidant-antioxidant status in dairy cows (n=10, mean (X) ± Standart deviation (SH) and significant (P))

Parametre	0.gün	15.gün	P
MDA (µmol/L)	6.89±1.31	5.28±0.55	0.001
AOA (mmol/L)	3.57±0.91	3.73±0.64	0.740
GSH (mg/dl)	27.80±4.73	32.14±5.11	0.008
SOD (U/mg Hb)	9.91±2.81	7.24±4.37	0.165
CAT (k/g Hb)	1.47±1.06	0.75±0.83	0.302
A vitamini(µg/dl)	3.79±1.86	3.41±2.31	0.760
β- karoten (µg/dl)	49.83±15.40	53.58±14.83	0.515
Amonyak (mg/dl)	3.18±1.35	1.49±0.41	0.002

Malondialdehit (MDA), antioksidan aktivite (AOA), redukte glutatyon (GSH), süperoksid dismutaz (SOD), katalaz (CAT)

**Tablo 2:** Süt sığırlarında yeme *Yucca schidigera* ilavesinin yemleme sonrası kan amonyak düzeyi ve oksidan-antioksidan dengeye etkileri (n=10, Ortalama (X) ± Standart Hata (SH) ve Anlamlılık Düzeyleri (P))

**Table 2:** The effects of *Yucca schidigera* supplementation to diets after feeding on blood ammonia levels and oxidant-antioxidant status in dairy cows (n=10, mean (X) ± Standart deviation (SH) and significant (P))

Parametre	0.gün	15.gün	P
MDA (µmol/L)	6.21±0.82	5.50±0.68	0.010
AOA (mmol/L)	3.41±1.33	4.73±0.78	0.095
GSH (mg/dl)	22.94±2.74	34.25±4.06	0.001
SOD (U/mg Hb)	9.39±3.86	10.84±5.45	0.703
CAT (k/g Hb)	0.50±0.15	2.82±2.58	0.087
A vitamini (µg/dl)	2.62±3.59	3.06±1.66	0.723
β- karoten(µg/dl)	43.39±12.11	62.76±17.09	0.000
Amonyak (mg/dl)	4.86±0.71	0.77±0.82	0.000

Malondialdehit (MDA), antioksidan aktivite (AOA), redukte glutatyon (GSH), süperoksid dismutaz (SOD), katalaz (CAT)

**Tablo 3:** Süt sığırlarında yeme *Yucca schidigera* ilavesinin süt MDA ve üre-N düzeyleri ile bazı süt parametrelerine etkisi (n=10, Ortalama (X) ± Standart Hata (SH) ve Anlamlılık Düzeyleri (P))

**Table 3:** The effects of *Yucca schidigera* supplementation to diets on milk MDA and urea-N levels and some milk parameters in dairy cows (n=10, mean (X) ± Standart deviation (SH) and significant (P))

Parametre	0.gün	15.gün	P
MDA(µmol/L)	4.37±1.82	2.47±0.54	0.013
Üre-N (mg/dl)	16.84±3.38	12.78±4.14	0.052
Yağ %	3.54±0.14	3.67±0.21	0.031
Protein %	3.66±0.84	3.68±0.71	0.597
Laktoz %	4.53±0.28	4.50±0.23	0.409
YKM %	8.19±0.49	8.19±0.38	0.905
Donma Nok.°C	-0.48±0.02	-0.48±0.02	0.977
Min. Mad. %	0.78±0.08	0.76±0.06	0.574
İletkenlik mS30±1°C'de	30.27±3.59	29.04±2.67	0.235

Malondialdehit (MDA), yağsız kuru madde (YKM)

## KAYNAKLAR

- Aouadi D, Luciano G, Vasta V, Nasri S, Brogna DMR, Abidi S, Priolo A, Ben Salem H.** The antioxidant status and oxidative stability of muscle from lambs receiving oral administration of *Artemisia herba alba* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Meat Sci.* 2014; 97: 237-243.
- Arıkan Ş, Muğlalı ÖH.** Bazı çiftlik hayvanlarının üreme fonksiyonları üzerine  $\beta$ -karotenin etkisi. *Lalahan Hay Araş Enst Derg.* 1999; 39 (2): 85-94.
- Aslan R, Dunder Y, Eryavuz A, Bülbül A, Küçükkurt İ, Fidan AF, Akinci Z.** Effects of different dietary levels of *Yucca schidigera* powder (deodorase) added to diets on erformance, some hemotological and biochemical blood parameters and total antioxidant capacity of laying hens. *Rev Med Vet.* 2005; 156: 350–355.
- Avcı G, Kucukkurt I, Bırdane YO, Eryavuz A, Ozdemir M.** Influence of high dietary nitrate intake and sulphur supplementation on oxidant / antioxidant balance and on some haematological parameters in Angora goats. *Revue Méd. Vét.* 2012; 163 (2): 79-84.
- Ayaşan T, Karakozak E.** Hayvan Beslemede  $\beta$ -Karoten Kullanılması ve Etkileri. *Kafkas Üniv.Vet.Fak.Derg.* 2010; 16 (4): 697-705.
- Ayaşan T.** Süt ineklerinin beslenmesinde süt üre nitrojenin önemi. *GOU Zir Fak Derg,* 2009; 26 (2): 27-33.
- Benchaar C, McAllister TA, Chouinard PY.** Digestion, ruminal fermentation, ciliate protozoal populations, and milk production from dairy cows fed cinnamaldehyde, quebracho condensed tannin, or *Yucca schidigera* saponin extract. *J. Dairy Sci.* 2008; 91: 4765 – 4777.
- Beutler E, Duron O, Kelly BM.** Improved method for the determination of blood glutathione. *J. Lab. Clin. Med.* 1963; 61: 882-888.
- Calsamiglia S, Castillejos L, Busquet M.** Alternatives to antimicrobial growth promoters in cattle. Pages 129–167 in Recent Advances in Animal Nutrition. P. C. Garnsworthy, and J. Wiseman, ed. Nottingham University Press, Nottingham, UK. 2006.
- Cardozo PW, Calsamiglia S, Ferret A, Kamel C.** Screening for the effects of natural plant extracts at different pH on in vitro rumen microbial fermentation of a high-concentrate diet for beef cattle. *J. Anim. Sci.* 2005; 83: 2572–2579.
- Drabkin DL, Austin JH.** Spectrophotometric studies. II. Preparations from washed blood cells; nitric oxide hemoglobin and sulfhemoglobin. *J. Biol. Chem.* 1935; 112: 51–65.
- Draper HH, Hardley M.** Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods in Enzymology.* 1990; 186: 421-431.
- Dünder R, Eryavuz A, Aslan R, Uçar M.** Malondialdehyde and glucose-6-phosphate dehydrogenase levels in healthy and subclinical mastitic cows. *Yüz.Y. Ü.Sağ.Bil.Derg.* 2000; 6: 84-86.
- Dünder Y, Aslan R.** Antioxidative stress. *East. J. Med.* 2000; 5: 45-47.
- Enginar H, Avcı G, Eryavuz A, Kaya E, Kucukkurt I, Fidan AF.** Effect of *Yucca schidigera* extract on lipid peroxidation and antioxidant activity in rabbits exposed to gamma-radiation. *Rev.Med.Vet.* 2006; 157: 415-419.
- Eryavuz A, Dehority BA.** Effect of *Yucca schidigera* extract on the concentration of rumen microorganisms in sheep. *Anim.Feed Sci.Technol.* 2004; 117 (3-4): 215-222.
- Eryavuz A, Küçükkurt İ, İnce S, Fidan AF, Avcı G, Bülbül T.** Kuzularda rasyona *Yucca schidigera* tozu katılması ve günlük dozunun rumen fermentasyonu ile verime etkilerinin araştırılması. *Kocatepe Vet J.* 2015; 8 (2): 1-10.
- Eryavuz A.** Saponinler ve ruminantlarda rumen protozoon sayısının azaltılmasında bunların kullanılması (Derleme). *Hayv.Araş.Derg.* 2004; 13; (1-2); 60-66.
- Eryavuz, A., Avcı, G., Çelik, H. A., Kucukkurt, I.** Plasma leptin, insulin, glucose and urea concentrations throughout lactation in dairy cows. *Bull Vet Inst Pulawy,* 2008; 52 (3): 381-385.
- Gümüş R, İmİK H.** Saponinlerin hayvan beslemede yem katkı maddesi olarak kullanımı. *Atatürk Üni.Vet.Bil.Derg.* 2012; 7 (3): 221-229.

- Güney M, Karlı M.A.** Süt İneklerinin Protein Fraksiyonlarına Tepkileri (Derleme). *YYÜ Tar.Bil.Derg.*, 2014; 24 (3); 317-324.
- Hart KJ, Yanez-Ruiz DR, Duval SM, McEwan NR, Newbold CJ.** Plant extracts to manipulate rumen fermentation. *Anim, Feed Sci.Technol.* 2008; 147: 8-35.
- Holtshausen L, Chaves AV, Beauchemin KA, McGinn SM, McAllister TA, Cheeke PR, Benchaar C.** Feeding saponin-containing *Yucca schidigera* and *Quillaja saponaria* to decrease enteric methane production in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 2009; 92 (6): 2809- 2821.
- Hristov AN, McAllister TA, Van Herk FH, Cheng KJ, Newbold CJ, Cheeke PR.** Effect of *Yucca schidigera* on ruminal fermentation and nutrient digestion in heifers. *J. Anim. Sci.* 1999; 77: 2554–2563.
- 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-Austr. *J.Anim. Sci.* 2014; 27 (10): 1426-1435.
- Jenkins KJ, Atwal AS.** Effects of dietary saponins on fecal bile acids and neutral sterols, and availability of vitamins A and E in the chick. *J.Nutr.Bioch.* 1994, 5: 134-137.
- Jouany JP, Morgavi DR.** Use of 'natural' products as alternatives to antibiotic feed additives in ruminant production. *Animal.* 2007; 1: 1443-1466.
- Jukola E, Hakkarainen J, Saloniemi H, Sankari S.** Blood selenium, vitamin E, vitamin A, and  $\beta$ -carotene concentrations and udder health, fertility treatments and fertility. *J Dairy Sci*, 1996; 79: 838-845.
- Kaçar C, Kamiloğlu NN, Uçar Ö, Arı UÇ, Pancarcı ŞM, Güngör Ö.** İneklerde  $\beta$ -karoten + E vitamini uygulamasıyla kombine edilen Ovsynch ve Cosynch senkronizasyon programlarının gebelik oranı üzerine etkisi. *Kafkas Univ Vet Fak Derg.* 2008; 14 (1): 45-50.
- Kaya S, Piriñci İ.** Bitkisel zehirler-Glikozidler “Saponinler”, Veteriner Hekimliğinde Toksikoloji. Medisan Yayınevi. 2.Baskı. 2002. S. 325-326.
- Koracevic D, Koracevic G, Djordjevic V, Andrejevic S, Cosic V.** Method for the measurement of antioxidant activity in human fluids. *J Clin Pathol.* 2001; 54: 356-361.
- Küçük Kurt İ, Fidan AF.** Saponinler ve Bazı Biyolojik Etkileri. *Kocatepe Vet J.* 2008; 1: 89-96.
- Liu CJ, Sun MJ, Sun JY, Lv W L, Liu W. Shan AS, Zhang YG.** Dietary compound probiotics on Rumen fermentation and cellulase activity in dairy cows. *Chin. J. Anim. Nutr.* 2011; 23 (5): 821-827.
- Lovett, D.K., Stack, L., Lovell, S., Callan, J., Flynn, B., Hawkins, M., O'Mara, F.P.** Effect of feeding *Yucca schidigera* extract on performance of lactating dairy cows and ruminal fermentation parameters in steers. *Liv. Sci.*, 2006: 102; 23-32.
- Luck H.** Catalase. In: Bergmeyer HU (ed) Methods in Analysis. London: Academy Press. 1955.
- Mandal G.P., Roy A., Patra A.K.** Effects of feeding plant additives rich in saponins and essential oils on the performance, carcass traits and conjugated linoleic acid concentrations in muscle and adipose tissues of Black Bengal goats. *Anim.Feed Sci.Technol.*, 2014: 197; 76-84.
- Ondarza MB, Wilson JW, Engstrom M.** Case study: Effect of supplemental  $\beta$ -carotene on yield of milk and milk components and on reproduction of dairy cows. *The Professional Anim Scient.* 2009; 25: 510-516.
- Patra AK, Saxena J.** The effect and mode of action of saponins on the microbial populations and fermentation in the Rumen and ruminant production. *Nutr. Res. Rev.* 2009; 22 (2): 204-219.
- Salmanoğlu R, Baştan A, Salmanoğlu B, Küplülü Ş, Vural R.** Çeşitli fertilité problemlé holştayn ırkı ineklerde kan beta-karotén, retinol, glikoz ve kolesterol düzeyleri. *Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg.* 1997; 44: 151-157.
- Sun Y, Oberley LW, Li Y.** A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin. Chem.* 1988; 34: 497-500.
- Suzuki J, Katoh N.** A simple and cheap methods for measuring serum vitamin A in cattle using only a spectrophotometer. *Jpn J Vet Sci.* 1990; 52: 1281-1283.
- Tamminga S, Hobson PN.** A review on environmental impacts of nutritional strategies in ruminants. *J.Anim.Sci.* 1996; 74: 3112-3124.



- Vasta V. and Luciano G.** The effects of dietary consumption of plants secondary compounds on small ruminants' products quality. *Small Rum.Res.*, 2011; 101; 150-159.
- Van Zijderveld, S.M., Dijkstra, J., Perdok, H.B., Newbold, J.R., Gerrits, W.J.** Dietary inclusion of diallyl disulfide, yucca powder, calcium fumarate, an extruded linseed product, or medium-chain fatty acids does not affect methane production in lactating dairy cows. *J Dairy Sci.*, 2011; 94; 3094-3104.
- Wallace RJ, Arthaud L, Newbold CJ.** Influence of *Yucca schidigera* extract on ruminal ammonia concentrations and ruminal microorganisms. *Appl. Environ. Microbiol.* 1994; 60: 1762-1767.
- Wang C, Liu HY, Wang YM, Yang ZQ, Liu JX, Wu YM, Yan T, Ye HW.** Effects of dietary supplementation of methionine and lysine on milk production and nitrogen utilization in dairy cows. *J. Dairy. Sci.* 2010; 93 (8): 3661-3670.
- Wu Z, Sadik M. Sleiman FT, Simas JM, Pessaraki M, Huber JT.** Influence of yucca extract on ruminal metabolism in cows. *J. Anim. Sci.* 1994; 72: 1038-1042.  
.1976. 10: 147-51.