



T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**FİBROLİTİK ENZİMLERİN BUĞDAY SAMANININ
BESLEME DEĞERİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

HATİCE KALKAN

**DOKTORA TEZİ
ZOOTEKNİ ANABİLİM DALI**

BURSA - 2008



T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**FİBROLİTİK ENZİMLERİN BUĞDAY SAMANININ
BESLEME DEĞERİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

HATİCE KALKAN

Prof.Dr. İSMAİL FİLYA
(Danışman)

DOKTORA TEZİ
ZOOTEKNİ ANABİLİM DALI

BURSA - 2008

T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ


FİBROLİTİK ENZİMLERİN BUĞDAY SAMANININ
BESLEME DEĞERİ ÜZERİNE ETKİLERİ


HATİCE KALKAN

DOKTORA TEZİ
ZOOTEKNİ ANABİLİM DALI


Bu tez 04/04/2008 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği / oyçokluğu ile kabul edilmiştir.


Prof. Dr. İsmail FİLYA
(Danışman)

Prof. Dr. Nihat ÖZEN


Prof. Dr. Süleyman AKKAN



Prof. Dr. Esvet AÇIKGÖZ

Prof. Dr. İbrahim AK


FİBROLİTİK ENZİMLERİN BUĞDAY SAMANININ BESLEME DEĞERİ ÜZERİNE ETKİLERİ

ÖZET

Bu çalışma fibrolitik enzimlerin buğday samanının besleme değeri üzerine olan etkilerini belirlemek amacı ile düzenlenmiştir.

Araştırmanın yem materyalini oluşturan ve %92.87 kuru madde (KM) içeriğine sahip buğday samanının (*Triticum aestivum* L.) pH' sı 6.62; suda çözünebilir karbonhidrat (SÇK), ham protein (HP), ham yağ (HY) nötr deterjanda çözünmeyen lif (NDF), hemisellüloz, sellüloz ve metabolik enerji (ME) içeriği ise (KM' de) sırasıyla; %3.90, 2.10, 1.72, 81.73, 28.45, 41.12 ve 1039.50 kcal/kg olarak belirlenmiştir. Buğday samanı %40 KM içerecek şekilde, *Trichoderma viride* kaynaklı sellülazla %0, 0.2, 0.4, 0.6 ve 0.8; *Thermomyces lanuginosus* kaynaklı ksilanazla %0, 1.4, 2.8, 4.2 ve 5.6; sellülaz+ksilanaz kombinasyonu (50:50) %0, 0.1+0.7, 0.2+1.4, 0.3+2.1 ve 0.4+2.8 dozlarında (KM' de), kontrol ve uygulama başına 3 paralelli olarak işlendikten sonra cam kavanozlara silolanarak oda sıcaklığı (22 °C) ve 40 °C' de 30 gün süre ile inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda açılan kavanozlardaki buğday samanlarının pH' ları ölçülerek, kimyasal analizleri yapılmış ve örneklerin rumende parçalanabilirlik özelliklerini saptayabilmek için *in vitro* Gaz Üretim Tekniği kullanılmıştır.

Buğday samanı örneklerinin farklı koşullarda fibrolitik enzimlerle işlenmesi sonucunda NDF, hemisellüloz ve sellüloz değerlerinde beklenen düşüş sırasıyla %72.67, 25.09 36.25 (KM' de) olarak 40 °C' de %0.8 dozunda sellülazla işleme sonucunda belirlenirken, pH ise 4.03 değeriyle 40 °C' de %0.4+2.8 dozunda sellülaz+ksilanazla işleme sonucunda belirlenmiştir. En yüksek laktik asit ve ME içerikleri sırasıyla (KM' de); %8.46 mg/kg ve 1310.00 kcal/kg olarak 40 °C' de %0.8 dozunda sellülazla; SÇK %10.36 (KM' de) olarak 40 °C' de %0.4+2.8 dozunda sellülaz+ksilanaz kombinasyonu; HP %2.88 (KM' de) olarak 40 °C' de %5.6 dozunda ksilanazla, HY %2.75 (KM' de) olarak 22 °C' de %0.4+2.8 dozunda sellülaz+ksilanaz kombinasyonu ile işleme sonucunda saptanmıştır (P<0.05).

In vitro gaz üretimi sonucunda elde edilen parametrelerden, gaz üretimi (GÜ), kuru madde sindirilebilirliği (KMS), gerçek organik madde sindirilebilirliği (GOMS) ve mikrobiyal protein üretimi (MPÜ) değerleri işlenmemiş buğday samanında sırasıyla; 14.92 ml, %16.66, 21.15 ve 44.88 mg olarak belirlenirken, yapılan işlemler sonucunda en yüksek GÜ, KMS ve GOMS değerleri sırasıyla; 23.00 ml, %24.30 ve 33.40 olarak 40 °C' de %0.8 dozunda sellülazla işleme sonunda, MPÜ ise 104.6 mg değeriyle 40 °C' de %1.4 dozunda ksilanazla işleme sonucunda saptanmıştır (P<0.05). Rumen sıvısındaki uçucu yağ asitleri konsantrasyonları asetik asitin baskın olduğu kaba yem tipi bir fermantasyon özelliği göstermiş ve en yüksek asetik asit değeri %58.13 (KM' de) olarak 40 °C' de %0.8 dozunda sellülazla işleme sonucunda belirlenmiştir (P<0.05).

Araştırma sonucunda besin maddeleri, hücre duvarı bileşenleri ve *in vitro* sindirilebilirlik parametrelerinde saptanan gelişmelerin ışığında, fibrolitik enzim kullanımının buğday samanının besleme değerini artırdığı ve en iyi sonuçların 40 °C' de sellülaz (%0.8) ile sellülaz+ksilanaz kombinasyonunun (%0.4+2.8; 50:50) kullanıldığı işlemlerin en yüksek dozlarında alındığı belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Fibrolitik enzim, buğday samanı, *in vitro* gaz üretimi, besleme değeri, mikrobiyal protein üretimi

EFFECTS OF FIBROLYTIC ENZYMES ON THE NUTRITIVE VALUE OF WHEAT STRAW

ABSTRACT

The research was carried out to determine effects of fibrolytic enzymes on the nutritive value of wheat straw.

Dry matter (DM), water soluble carbohydrate (WSC), crude protein (CP), crude fat (CF), neutral detergent fiber (NDF), hemicellulose, cellulose, metabolizable energy (ME) contents and pH value of the wheat straw were found as 92.87, 3.90, 2.10, 1.72, 81.73, 28.45, 41.12 %, 1039.50 kcal/kg and 6.62 respectively. Wheat straw treated with cellulase from *Trichoderma viride* in doses of 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8%; xylanase from *Thermomyces lanuginosus* 0, 1.4, 2.8, 4.2, 5.6% and cellulase+xylanase combination (50:50) 0, 0.1+0.7, 0.2+1.4, 0.3+2.1, 0.4+2.8% doses (DM basis), 3 replicates per control and treatments ensiled with 40% DM for 30 day incubation at room temperature (22° C) and 40° C. At the end of the ensiling period pH, chemical analysis were done and in vitro gas production technique used for ruminal degradability characteristics measurements.

As a result of enzyme treatment, some considerable differences were obtained from pH value, nutrient content and cell wall composition of wheat straw. Decline in pH (4.03) observed on 0.4+2.8% cellulase+xylanase treatment (50:50) at 40 °C. Significant increases in lactic acid (8.46 mg/kg of DM) and ME (1310.00 kcal/kg of DM) observed on 0.8% cellulase treatment at 40 °C; WSC (10.36% of DM) on 0.4+2.8% cellulase+xylanase treatment at 40 °C; CP on 2.88% of DM at 5.6% xylanase treatment at 40 °C; CF on 2.75% of DM at cellulase+xylanase treatment at 22 °C. Expected decreases obtained from NDF (72.67%), hemicellulose (25.09%), and cellulose (36.25%) contents at cellulase treatment in doses of 0.8% (40 °C) ($P<0.05$).

While in vitro gas production (GP), dry matter digestibility (DMD), true organic matter digestibility (TOMD) and microbial biomass production (MBP) parameters of wheat straw were found as 14.92 ml, %16.66, 21.15 and 44.88 mg (DM basis), respectively, after enzyme treatment significant increases were determined on GP, DMD and TOMD of wheat straw as 23.00 ml, 24.30 and 33.40% (DM basis), respectively, at 40 °C of 0.8% cellulase treatments, MBP was determined as 104.6 mg 40 °C of 1.4% xylanase treatment ($P<0.05$). Volatile fatty acid concentrations in rumen liquid tended to produce more acetic acid (AA) like roughage type fermentation characteristics and higher AA produced at 40 °C of 0.8% cellulase treatments ($P<0.05$).

As a result of this experiment, some improvements observed on nutrient matters, cell wall contents and in vitro degradability parameters of wheat straw. Fibrolytic enzymes are capable of increase nutritive value of wheat straw and best results obtained from higher doses of cellulase and cellulase+xylanase (50:50) treatment at 40 °C.

Key words: Fibrolytic enzyme, wheat straw, in vitro gas production, nutritive value, microbial biomass production

İÇİNDEKİLER

Sayfa:

TEZ ONAY SAYFASI.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT.....	iii
İÇİNDEKİLER	iv
KISALTMALAR DİZİNİ.....	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
EKLER DİZİNİ.....	xi
SİMGELER DİZİNİ.....	xii
GİRİŞ.....	1
1. KAYNAK ÖZETLERİ.....	4
1.1. Lignosellülozik Materyalin Hücre Duvarı Bileşenleri	4
1.2. Enzimlerin Tanımı, Etki Mekanizması, Sınıflandırılması ve Hayvan Beslemede Kullanım Amacı	8
1.3. Enzimlerin Ruminant Beslemede Kullanımı	12
1.4. <i>In Vitro</i> Gaz Üretimi, Mikrobiyal Protein Üretimi, Kuru Madde Sindirilebilirliği ve Gerçek Organik Madde Sindirilebilirliği	28
2. MATERYAL ve YÖNTEM.....	32
2.1. Materyal	32
2.1.1. Yem materyali	32
2.1.2. Enzim materyali	32
2.1.3. Hayvan materyali	32
2.2. Yöntem	33
2.2.1. Enzimle işleme	33
2.2.2. Gaz üretim tekniği	34
2.2.3. Metabolik enerjinin hesaplanması	36
2.2.4. <i>In vitro</i> kuru madde sindirilebilirliği, gerçek organik madde sindirilebilirliği ve mikrobiyal protein üretiminin saptanması	37
2.2.5. Kimyasal analizler.....	39
2.2.5.1. Temel ham besin maddeleri analizleri	39
2.2.5.2. Suda çözünür karbonhidrat analizi	39
2.2.5.3. Hücre duvarı bileşimi analizleri	41
2.2.5.3.1. NDF analizi.....	41
2.2.5.3.2. ADF analizi.....	42
2.2.5.3.3. ADL analizi.....	43
2.2.5.4. Uçucu yağ asitleri analizleri.....	43

2.2.6. İstatistik analizler	44
3. ARAŞTIRMA SONUÇLARI ve TARTIŞMA	45
3.1. Buğday Samanlarının Kimyasal Bileşimi	45
3.2. Buğday Samanlarının Hücre Duvarı Bileşenleri	54
3.3. Buğday Samanlarının Laktik Asit, Uçucu Yağ Asitleri ve Etanol Konsantrasyonları.....	66
3.4. Buğday Samanlarının <i>In Vitro</i> Gaz Üretimi, Kuru Madde Sindirilebilirliği, Gerçek Organik Madde Sindirilebilirliği, Mikrobiyal Protein Üretimi ve Metabolik Enerji İçerikleri ile Uçucu Yağ Asitleri Konsantrasyonları	73
SONUÇ.....	91
KAYNAKLAR.....	93
EKLER.....	105
ÖZGEÇMİŞ	111
TEŞEKKÜR	112

KISALTMALAR DİZİNİ

AA	:	Acetic Acid (Asetik asit)
AB	:	Avrupa Birliği
ADF	:	Acid Detergent Fiber (Asit Deterjanda Çözünmeyen Lif)
ADL	:	Acid Detergent Lignin (Asit Deterjanda Çözünmeyen Lignin)
AFRC	:	Agricultural and Food Research Council
AOAC	:	Association of Official Analytical Chemists
BA	:	Bütrik Asit
CA	:	Crude Ash
CF	:	Crude Fat
CMCaz	:	Karboksimetilsellüloz
CP	:	Crude Protein
DM	:	Dry Matter
DMD	:	Dry Matter Digestibility
EC	:	Enzyme Commission
EC-IUB	:	Enzyme Commission of the International Union of Biochemistry
EFSA	:	European Food Safety Authority
GKMS	:	Gerçek Kuru Madde Sindirilebilirliği
GOMS	:	Gerçek Organik Madde Sindirilebilirliği
GP	:	Gas Production
HS	:	Ham Sellüloz
KMS	:	Kuru Madde Sindirilebilirliği
GSS	:	Gerçek Substrat Sindirilebilirliği
GÜ	:	Gaz Üretimi
H.KURU	:	Havada Kuru
HK	:	Ham Kül
HP	:	Ham Protein
HY	:	Ham Yağ
KM	:	Kuru Madde
LS	:	Lignosellülozik
ME	:	Metabolizable Energy (Metabolik Enerji)
MBP	:	Microbial Biomass Production
MPÜ	:	Mikrobiyal Protein Üretimi
MÜE	:	Mikrobiyal Üretim Etkinliği
ND	:	Nişasta Değeri
NDF	:	Neutral Detergent Fiber (Nötr Deterjanda Çözünmeyen Lif)
NÖM	:	Nitrojensiz Öz Madde

NRC	:	National Research Council
OM	:	Organic Matter (Organik madde)
PA	:	Propiyonik Asit
SCAN	:	Scientific Committee for Animal Nutrition
SÇK	:	Suda Çözünebilir Karbonhidrat
TOMD	:	True Organic Matter Digestibility
TSBM	:	Toplam Sindirilebilir Besin Maddeleri
TÜİK	:	Türk İstatistik Kurumu
TUYA	:	Toplam Uçucu Yağ Asitleri
UYA	:	Uçucu Yağ Asitleri
WSC	:	Water Soluble Carbohydrate
YY	:	Yüz Yıl

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa:

Çizelge 1.2. Günümüzde hayvan yemlerinde kullanılan enzimler.....	11
Çizelge 2.2.2.1. Yapay tükrük hazırlamada kullanılan çözeltilerin kimyasal bileşimleri ve kullanılan miktarlar.....	36
Çizelge 2.2.2.2. Farklı hacimlerde hazırlanacak yapay tükrük çözeltisi için kullanılacak çözelti hacimleri	36
Çizelge 2.2.5.3.1. Deterjan lif analiz yönteminde kullanılacak NDF ve ADF çözeltilerinin kimyasal bileşimleri	42
Çizelge 3.1.1. İşlenmemiş buğday samanının kimyasal bileşimi (KM' de).....	45
Çizelge 3.2.1. Farklı doz ve sıcaklıklarda fibrolitik enzimlerle işlenen buğday samanlarının hücre duvarı bileşenleri (% KM).....	59
Çizelge 3.3.1. Farklı doz ve sıcaklıklarda fibrolitik enzimlerle işlenerek silolanan buğday samanlarının laktik asit, UYA ve etanol konsantrasyonları (mg/kg KM).....	69
Çizelge 3.4.1. İşlenmemiş buğday samanının pH, GÜ, KMS, MPÜ, ME değerleri ve UYA konsantrasyonları (KM' de)	73
Çizelge 3.4.2. Farklı doz ve sıcaklıklarda fibrolitik enzimlerle işlenen buğday samanlarının rumen sıvısında 24 saatlik inkübasyonları sonucu elde edilen pH, GÜ, KMS, GOMS, MPÜ ve ME değerleri (KM' de)	80
Çizelge 3.4.3. Farklı doz ve sıcaklıklarda fibrolitik enzimlerle işlenen buğday samanlarının rumen sıvısında 24 saatlik inkübasyonları sonucu elde edilen pH değerleri ve UYA konsantrasyonları	84

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa:

Şekil 1.1. Bitkilerdeki temel hücre duvarının moleküler yapısı.....	4
Şekil 1.2. Sellüloz lifinin moleküler yapısı.....	6
Şekil 1.2.1. Enzimlerin etki mekanizması	9
Şekil 1.2.2. Sellülazın sellüloz molekülü yüzeyindeki etkisi.....	12
Şekil 2.2.5.2. 490 nm dalga boyunda okunan örnek glukoz standart eğrisi.....	41
Şekil 3.1.1. Farklı doz ve sıcaklıklarda sellülazla işlenen buğday samanlarının kimyasal bileşimleri.....	51
Şekil 3.1.2. Farklı doz ve sıcaklıklarda ksilanazla işlenen buğday samanlarının kimyasal bileşimleri.....	52
Şekil 3.1.3. Farklı doz ve sıcaklıklarda sellülaz+ksilanazla işlenen buğday samanlarının kimyasal bileşimleri	53
Şekil 3.2.1. Farklı doz ve sıcaklıklarda sellülaz ile işlenen buğday samanlarının hücre duvarı bileşenleri.....	60
Şekil 3.2.2. Farklı doz ve sıcaklıklarda ksilanaz ile işlenen buğday samanlarının hücre duvarı bileşenleri.....	61
Şekil 3.2.3. Farklı doz ve sıcaklıklarda sellülaz+ksilanaz ile işlenen buğday samanlarının hücre duvarı bileşenleri	62
Şekil 3.2.4. Sellülazla işlenerek 22 °C' de inkübasyona bırakılan buğday samanlarının NDF ve SÇK içerikleri arasındaki regresyon denklemi ve korelasyon katsayısı	63
Şekil 3.2.5. Sellülazla işlenerek 40 °C' de inkübasyona bırakılan buğday samanlarının NDF ve SÇK içerikleri arasındaki regresyon denklemi ve korelasyon katsayısı	63
Şekil 3.2.6. Ksilanazla işlenerek 22 °C' de inkübasyona bırakılan buğday samanlarının NDF ve SÇK içerikleri arasındaki regresyon denklemi ve korelasyon katsayısı	64
Şekil 3.2.7. Ksilanazla işlenerek 40 °C' de inkübasyona bırakılan buğday samanlarının NDF ve SÇK içerikleri arasındaki regresyon denklemi ve korelasyon katsayısı	64
Şekil 3.2.8. Sellülaz+Ksilanaz kombinasyonu (50:50) işlenerek 22 °C' de inkübasyona bırakılan buğday samanlarının NDF ve SÇK içerikleri arasındaki regresyon denklemi ve korelasyon katsayısı	65
Şekil 3.2.9. Sellülaz+Ksilanaz kombinasyonu (50:50) işlenerek 40 °C' de inkübasyona bırakılan buğday samanlarının NDF ve SÇK içerikleri arasındaki regresyon denklemi ve korelasyon katsayısı	65
Şekil 3.3.1. Farklı doz ve sıcaklıklarda sellülazla işlenen buğday samanlarının pH, laktik asit ve SÇK düzeyleri	70
Şekil 3.3.2. Farklı doz ve sıcaklıklarda ksilanazla işlenen buğday samanlarının pH, laktik asit ve SÇK düzeyleri	71

- Şekil 3.3.3. Farklı doz ve sıcaklıklarda sellüloz+ksilanazla işlenen buğday samanlarının pH, laktik asit ve SÇK düzeyleri 72
- Şekil 3.4.1. Farklı doz ve sıcaklıklarda sellülozla işlenen buğday samanlarının rumen sıvısında 24 saatlik inkübasyonları sonucu elde edilen gaz üretimi, kuru madde sindirilebilirliği, gerçek organik madde sindirilebilirliği ve mikrobiyal protein üretimi değerleri 81
- Şekil 3.4.2. Farklı doz ve sıcaklıklarda ksilanazla işlenen buğday samanlarının rumen sıvısında 24 saatlik inkübasyonları sonucu elde edilen gaz üretimi, kuru madde sindirilebilirliği, gerçek organik madde sindirilebilirliği ve mikrobiyal protein üretimi değerleri 82
- Şekil 3.4.3. Farklı doz ve sıcaklıklarda sellüloz+ksilanazla ile işlenen buğday samanlarının rumen sıvısında 24 saatlik inkübasyonları sonucu elde edilen gaz üretimi, kuru madde sindirilebilirliği, gerçek organik madde sindirilebilirliği ve mikrobiyal protein üretimi değerleri . 83
- Şekil 3.4.4. Farklı doz ve sıcaklıklarda sellüloz ile işlenen buğday samanlarının rumen sıvısında 24 saatlik inkübasyonları sonucu elde edilen asetik asit (AA), propiyonik asit (PA) bütrik asit (BA) ve TUYA konsantrasyonları 85
- Şekil 3.4.5. Farklı doz ve sıcaklıklarda ksilanaz ile işlenen buğday samanlarının rumen sıvısında 24 saatlik inkübasyonları sonucu elde edilen asetik asit (AA), propiyonik asit (PA) bütrik asit (BA) ve TUYA konsantrasyonları 86
- Şekil 3.4.6. Farklı doz ve sıcaklıklarda sellüloz+ksilanazla işlenen buğday samanlarının rumen sıvısında 24 saatlik inkübasyonları sonucu elde edilen asetik asit (AA), propiyonik asit (PA) bütrik asit (BA) ve TUYA konsantrasyonları 87
- Şekil 3.4.7. Sellülozla işlenerek 22 °C' de inkübasyona bırakılan buğday samanlarının gaz üretimi x gerçek organik madde sindirilebilirliği arasındaki regresyon denklemi ve korelasyon katsayısı 88
- Şekil 3.4.8. Sellülozla işlenerek 40 °C' de inkübasyona bırakılan buğday samanlarının gaz üretimi x gerçek organik madde sindirilebilirliği arasındaki regresyon denklemi ve korelasyon katsayısı 88
- Şekil 3.4.9. Ksilanazla işlenerek 22 °C' de inkübasyona bırakılan buğday samanlarının gaz üretimi x gerçek organik madde sindirilebilirliği arasındaki regresyon denklemi ve korelasyon katsayısı 89
- Şekil 3.4.10. Ksilanazla işlenerek 40 °C' de inkübasyona bırakılan buğday samanlarının gaz üretimi x gerçek organik madde sindirilebilirliği arasındaki regresyon denklemi ve korelasyon katsayısı 89
- Şekil 3.4.11. Sellüloz+ksilanazla işlenerek 22 °C' de inkübasyona bırakılan buğday samanlarının gaz üretimi x gerçek organik madde sindirilebilirliği arasındaki regresyon denklemi ve korelasyon katsayısı 90
- Şekil 3.4.12. Sellüloz+ksilanazla işlenerek 40 °C' de inkübasyona bırakılan buğday samanlarının gaz üretimi x gerçek organik madde sindirilebilirliği arasındaki regresyon denklemi ve korelasyon katsayısı 90

EKLER DİZİNİ

Sayfa:

- Ek 1. İşleme koşulları ve bunların birbirleriyle olan interaksyonlarının buğday samanlarının kimyasal bileşimleri üzerine etkileri (KM' de)105
- Ek 2. İşleme koşulları ve bunların birbirleriyle olan interaksyonlarının buğday samanlarının hücre duvarı bileşenleri üzerindeki etkileri (% KM)106
- Ek 3. İşleme koşulları ve bunların birbirleriyle olan interaksyonlarının buğday samanlarının laktik asit, UYA ve etanol konsantrasyonları üzerine etkileri (mg/kg KM).....107
- Ek 4. İşleme koşulları ve bunların birbirleriyle olan interaksyonlarının buğday samanlarının rumen sıvısında 24 saatlik inkübasyonları sonucu elde edilen pH, GÜ, KMS, GOMS, MPÜ ve ME değerleri üzerine etkileri (KM' de)109
- Ek 5. İşleme koşulları ve bunların birbirleriyle olan interaksyonlarının buğday samanlarının rumen sıvısında 24 saatlik inkübasyonları sonucu elde edilen pH değerleri ve UYA konsantrasyonları üzerine etkileri (KM' de)110

SİMGELER DİZİNİ

C	:	Karbon
CO ₂	:	Karbondioksit
dk	:	Dakika
H	:	Hidrojen
IU	:	Uluslar arası ünite
Kcal	:	Kilokalori
Kg	:	Kilogram
L	:	Litre
mg	:	Miligram
MJ	:	Megajoule
mmol	:	Milimol
N	:	Azot
nm	:	Nanometre
O	:	Oksijen
U	:	Ünite
α	:	Alfa
β	:	Beta
δ	:	Gama

GİRİŞ

Yem, çoğu hayvansal üretim sisteminde en büyük işletme girdisini oluşturur. Bu nedenle bu tür işletmelerde karlılık ile yemlerin besleme değeri arasında çok yakın bir ilişki vardır. Yem hammaddesinin bileşiminde bulunan lifli bileşiklerin hayvanlar tarafından sindirilebilme düzeyi rasyon formüle edilirken sık sık karşılaşılan sınırlayıcı bir faktördür. Son yıllardaki gelişmelere rağmen, yem hammaddelerinin besleme potansiyelleri hayvanlar tarafından yeterli düzeyde değerlendirilememektedir. Besin maddelerinin değerlendirilmesindeki bu verimsizlik üreticiye, yem endüstrisine ve çevreye önemli bir maliyet artışı ve sorun olarak yansımaktadır.

Lignosellülozik (LS) materyal açısından zengin olan, büyük çoğunluğunu buğdaygil - baklagil sap ve samanların oluşturduğu bitkisel üretim artıkları, tüm dünyada ruminantların beslenmesinde çok yaygın olarak kullanılmaktadır. Sellüloz içeriği yüksek bu bitkilerin hücre duvarları, sindirilme derecesi çok düşük olan lignin bakımından zengin, protein ve sindirilebilir kuru madde (KM) bakımından ise oldukça fakirdirler. Van Soest (1981), ligninin kendi ağırlığının 1.4 katı kadar katı maddeyi sindirilemez hale getirerek sellüloz ve hemisellüloz sindirimini engellediğini göstermiştir. Bu durum araştırmacıların buğdaygil ve baklagil samanlarının sindirilme derecesini ve dolayısıyla yem değerini artırmaya yönelik konular üzerinde çalışmalarını yoğunlaştırmalarına neden olmuştur.

Sellülozca zengin kaba yemlerin yem değerinin artırılmasında fiziksel, kimyasal ve biyolojik işleme yöntemleri kullanılmaktadır. Özellikle fiziksel (bitkilerin çeşitli kısımlarının ayrılması, buharla işleme, öğütme, peletleme vb.) ve kimyasal (üre, sodyum hidroksit, potasyum hidroksit gibi alkaliler ve sulu veya susuz amonyak ile işleme) işleme yöntemleri kaba yemlerin yem değerinin artırılmasında geçmişten günümüze kadar kullanılmış olup halen de kullanılmaktadır. Ancak söz konusu işleme yöntemleri ile yem değerinde sağlanan ilerleme hiçbir zaman belirli bir düzeyin üzerine çıkamamıştır. Bu nedenle günümüzde bu alanla biyolojik (bazı böcek, bakteri ve funguslarla mikrobiyal işleme, sellülaz, hemisellülaz, pektinaz ve ksilanaz ile enzimatik

işleme vb.) yöntemlerin uygulanması büyük bir popülarite kazanmıştır (Filya, 2007).

Buğday, çok eski çağlardan beri bilinen ve büyük ölçüde insan gıdası olarak kullanılmak üzere, tüm dünyada çok geniş alanlarda ekilerek tarımı yapılan monokotiledon bir bitkidir. Üretilen her 1 kg buğday danesi, yaklaşık 1 kg saman üretimini de beraberinde getirmektedir. Ülkemizde yıllık yaklaşık 35.98 milyon ton olan saman üretiminin yaklaşık %56' sını buğday samanı (20.01 milyon ton) oluşturmaktadır (dane:saman oranı 1:1; TÜİK, 2008). Buğday samanı, az miktarda protein ve mineral madde ile birlikte başlıca sellüloz, hemisellüloz ve lignin içermektedir. Bu nedenle besleme değeri düşük bir kaba yemdir.

Hayvan beslemede LS materyalin kullanımındaki en önemli biyolojik kısıtlama, hücre duvarı polisakkaritlerinin, rumen mikroorganizmaları ve serbest enzimler tarafından düşük düzeylerde parçalanmasıdır. Bu durumun kesin nedenleri tam olarak bilinmemekle birlikte, lignin ve hemisellüloz arasında yüksek düzeyde ligninleşmiş doku ve bağların varlığının, LS materyaldeki hücre duvarı polisakkaritlerinden yararlanmayı düşürdüğünü gösteren araştırma bulguları söz konusudur. Ruminantların bu yemleri fazla miktarda tüketmesi ve beklenen verim performansını gösterebilmesi için, bu bağları kırarak bir ön işlem gerekmektedir (Castro, 1994).

Enzimler, birçok yem hammaddesinde bulunan anti besinsel faktörleri olduğu kadar, lif bakımından zengin hücre duvarını parçalayarak, içinde kalan nişasta, protein ve mineral maddelerden yararlanmayı da artırır. Yem hammaddesi içinde yer alan ve hayvanın endojen enzimleri tarafından genellikle parçalanmayan spesifik kimyasal bağları, yeme katılan enzimler parçalamakta, böylece daha fazla besin maddesi serbest hale geçmektedir. Enzim uygulamasıyla yem hammaddelerinin besleme değerleri arasındaki farklılıklar azaltılmakta, daha doğru ve gerçekçi rasyon formülasyonları yapılabilmekte ve hayvanların rasyonlardan daha iyi yararlanmaları sağlanabilmektedir. Çevresel açıdan da güvenilir alternatifler olarak görülen

enzimler, büyüme ve sağlık açısından yarar sağlarken, sayıları giderek artan çevre bilincine sahip tüketiciler için daha cazip yollarla üretilen ürünlerin pazarlanmasına da izin vermektedir.

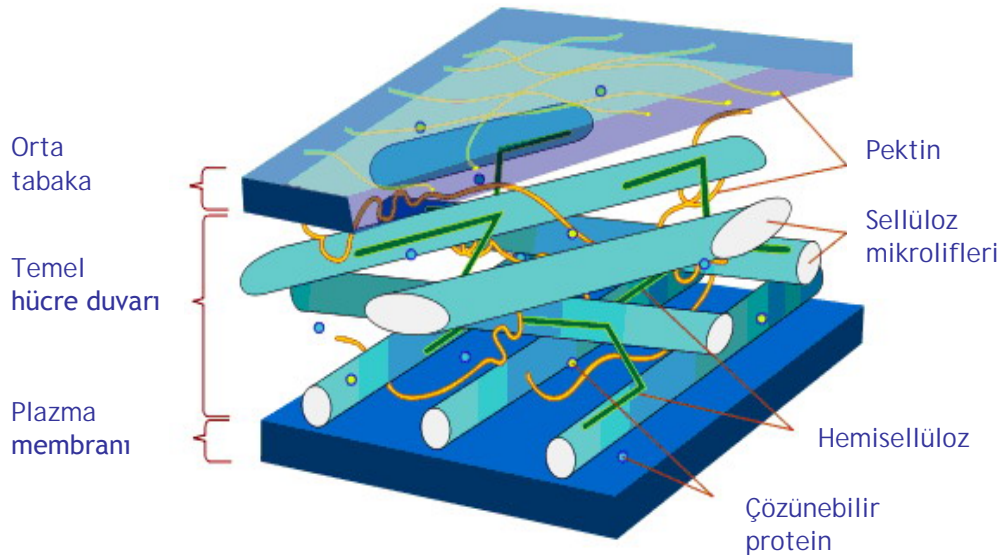
Bu çalışmada, LS materyalin besleme değerini artırabilmek için biyolojik bir yöntem üzerinde durulması amaçlanmıştır. LS materyal örneği olarak, ülkemizde ruminant beslemede çok yaygın olarak kullanılan bir kaba yem olan buğday samanı, fibrolitik (hücre duvarını parçalayıcı) enzimler ile farklı koşullarda işlenerek, bu uygulamaların buğday samanının besleme değeri üzerindeki etkileri araştırılmıştır.

1. KAYNAK ÖZETLERİ

1.1. Lignosellülozik Materyalin Hücre Duvarı Bileşenleri

LS materyalin büyük bir bölümünü oluşturan hücre duvarının en önemli üç bileşeni sellüloz, hemisellüloz ve lignindir. Sellüloz mikrolifleri hemisellülozik ipçikler yoluyla sellüloz - hemisellüloz ağı oluşturarak pektin matrisi içine yerleşmiştir. Lignin ise sellüloz, hemisellüloz ve pektin bileşenleri arasında kalan boşlukları doldurur. Hücre duvarı yaklaşık %35-50 sellüloz, %20-35 hemisellüloz ve %10-30 ligninden oluşmakla birlikte, bu 3 temel polimerin bileşimi bitkinin çeşidi, yaşı ve hücre tipine bağlı olarak değişmektedir.

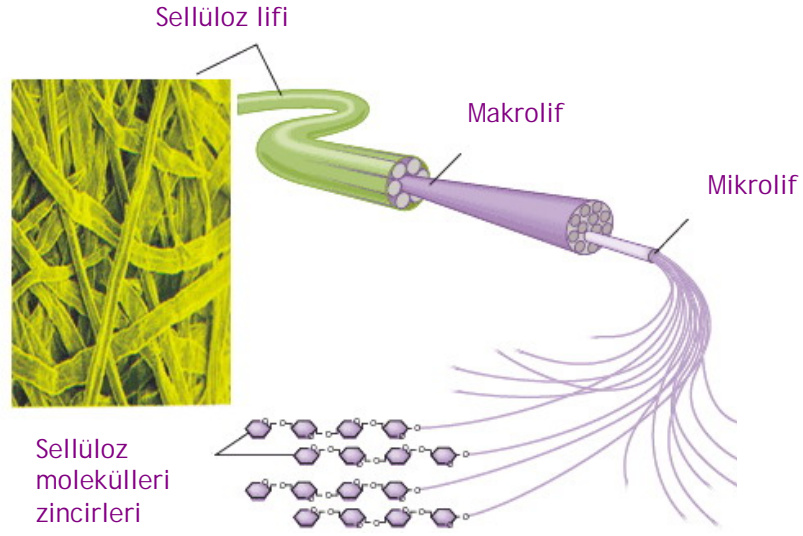
Hücre duvarının orta tabakası, en dış tabaka olup, pektin bakımından zengin olmakla birlikte bitişik bitki hücreleri arasında ara yüzey oluşturur. Temel hücre duvarı (Şekil 1.1; Wikipedia, 2008), hücre bölünmesi sırasında oluşur ve hücre büyüdükçe genişler. Bu tabaka hücreyi fazla su almaktan korur. İkincil hücre duvarı, hücre tamamen gelişmesini tamamladıktan sonra hücre duvarı içerisinde oluşan kalın bir tabaka olup her hücre çeşidinde bulunmaz.



Şekil 1.1. Bitkilerdeki temel hücre duvarının moleküler yapısı

Sellüloz bitkilerde en fazla bulunan hücre duvarı bileşenidir. Basit yapısı $\beta(1-4)$ -glikozidik bağlarla bağlı 14.000 anhidroglukopiranosid ünitesinin doğrusal polimerinden oluşmuştur (Cowling ve Kirk, 1976). Bu doğrusal polimerler lifsel formda bütünleşir. Sellülozun yapısı kısmen sellülozun kaynağına da bağlıdır. Örneğin; temel hücre duvarı büyümesinin ilk aşamasında sellüloz lifleri (birincil sellüloz) ile yaklaşık 60-70 glukoz zinciri biçimlenir (Preston, 1974). İkincil hücre duvarı lifleri, yani birincil liflerin kümelenmiş hali ise daha kalındır. Birincil ve ikincil sellülozlar arasında polimerizasyon derecesi bakımından da farklılık olabilir (sırasıyla <4500 ve ~14.000) (Marx-Figini, 1966; Blaschek ve ark., 1982). Bu uzun ve dallanmamış bağlar paralel olmayan bir düzenleme içinde birçok hidrojen bağı aracılığıyla çapraz bağlanarak depolanmıştır (Dey ve Brinson, 1984). Sellüloz zincirindeki glukoz ünitesinin üç boyutlu kimyası, komşusu ile 180° açı oluşturan her glukoz yarımı ile birlikte, her bitişik zincir başına arada kalan 3 hidrojen bağına izin vermektedir (Castro, 1994).

Karbonhidratlar içerisinde bu derece yoğun hidrojen bağlanma düzeyi bakımından sellüloz tektir. Sellüloz molekülünün dayanıklılığının en önemli nedeni de budur. Bu çok düzenli üç boyutlu yapı, sellülozun fiziksel etkilere karşı olan direncini artırırken, kimyasal ve biyolojik etkilere karşı olan direncini ise azaltır. Bu yapının bozulması sellüloza ulaşılabilirliği kolaylaştıracak yoğun işleme koşullarını gerektirir. Bununla beraber sellüloza ulaşılabilirliği sınırlayan tek faktör kendi özellikleri değildir. Sellüloz ile çok yakın olan lignin-hemisellüloz yapısı gibi dış bileşenlerin varlığı da sellülozdan mikroorganizmaların ve enzimlerin yararlanma düzeyini belirlemede çok önemli bir rol oynamaktadır (Cowling, 1975; Şekil 1.2, Anonymous, 2008a).



Şekil 1.2. Sellüloz lifinin moleküler yapısı

Sellülozun doğal özelliklerini (örneğin kristalleşme indeksi ve polimerleşme derecesi) etkileyen öğütme gibi fiziksel işleme yöntemleri, biyolojik yararlanılabilirliğini artırmakla birlikte sınırlayıcı olan başlıca kimyasal engeller (lignin bağları) parçalanmadan kalmaktadır. Alkali, asit ve oksidatif işlemler gibi kimyasal işleme yöntemleri sellülozun doğal yapısını ve ligninle birleşmesi sonucu oluşan lignin bağlarını parçalayabilmekte ve böylece biyolojik yararlanılabilirliğini artırmaktadır (Millet ve ark., 1975).

Hemisellüloz terimi ilk olarak hafif alkali çözeltilerle ekstrakte edilebilen bir bitki polisakaridi olarak tanımlanmıştır. Alkali ile elde etmede benzerlikleri olsa da bitkilerde ksilan, mannan, glukon, galaktan ve galakturonanlar gibi farklı hemisellülozlar bulunmaktadır (Wilkie, 1979). Genel olarak hemisellülozlar düşük polimerleşme derecesine (<200) sahiptir (Cowling ve Kirk, 1976). LS materyallerde bulunan en önemli iki grup hemisellüloz; ksilanlar ve mannanlardır. Ksilanlar en yaygın hemisellülozlar olup monokotiledonlar ve sert odunsu bitkilerin sellüloz olmayan en önemli polisakaritidir. Ksilanlar, B(1-4)-glikozidik bağlarla bağlanmış anhidroksilopiranosil ünitelerinden oluşan omurgalardan yapılmıştır. Olası en yaygın iki farklı ksilan konfigürasyonu "glukuronoarabinoksilan" ve

“glukuronoksilan”dır (Castro, 1994). Glukuronoarabinoksilanlar daha çok monokotiledon bitkilerde bulunur. Bu ksilanlar $\alpha(1-3)$ -L-arabinofuranosil ve normalde 4-O-metil eter formunda olan $\alpha(1-2)$ -glikozidik bağlarla ana ksiloz zincirine bağlanan glukuronik asiti içermektedir. Ksilanların ikinci en fazla bulunan formu olan glukuronoksilanlar genellikle sert odunsu materyallerde bulunur ve arabinofuranosil ünitelerinin bulunmaması dışında, glukuronoarabinoksilanlarla benzer yapıya sahiptir (Thompson, 1983). Her ne kadar monokotiledonlar ve sert odunsu bitkilerin içerdikleri çeşitli ksilanlar arasında birbirinin yerine geçebilme derecesi ve şeker bileşimlerinde önemli farklılıklar gözlemlenebilse de bunlar arasında fiziko-kimyasal özellikler ve işlemeye karşı gösterdikleri tepki bakımından benzerlikler vardır (Castro, 1994). Hemisellüloz kaynaklı şekerlerin kimyasal yöntemlerle ekstraksiyonunun göreceli kolaylığı, bilim adamlarının hemisellülozu olası yakıt, yem ve kimyasalların kaynağı olarak düşünmelerine öncülük etmiştir (Thompson, 1983; Overend ve Chornet, 1987). Mannanlar yumuşak odunsu bitkilerin en önemli hemisellüloz bileşenleridir. Ksilanlara oranla, hücre duvarı matrisinden daha zor ekstrakte edilir. Yumuşak odunsu bitkilerin yapısında yer alan en önemli mannan olan glukomannan $\beta(1-4)$ -glikozidik bağlarla bağlanmış glukopiranosil ve mannopiranosil üniteleri omurgalarından oluşmuştur.

Lignin, olgunlaşmış bitki hücre duvarında yer alan ve karbonhidrat olmayan başlıca bileşendir. Lignin, şekilsiz, molekül ağırlığı yüksek, karbon - karbon (C-C) ve eter (C-O-C) bağlarıyla bağlanmış fenilpropan ünitelerinin bir polimeridir. Başlıca iki işlevi olduğu düşünülmektedir. Birincisi; mikrobiyal saldırılara karşı direnç göstermek ve ikincisi de hücre duvarına mekanik sağlamlığını kazandırmaktır (Theander ve Aman, 1984). Karmaşık lignin yapısında yer alan güçlü kovalent bağlar (C-C ve C-O-C) lignini asit ve alkalinin hidrolitik etkisine karşı daha dayanıklı hale getirmektedir (Van Soest, 1982). Bu bağlar analitik ölçümler için sıkça kullanılan nitrobenzen oksidasyonu gibi hafif oksidasyonla kırılabilir (Wayman ve Chua, 1979). Hafif oksidasyona uğratıldığında, çekirdek ligninde bulunan fenilpropanoid alkollerden p-hidroksibenzaldehid, vanilin ve siringaldehid açığa çıkar. Ferulik ve p-kumarik

asitlerin oksidasyonu sonucunda da sırasıyla p-hidroksibenzaldehid ve vanilin açığa çıkar (Castro, 1994). Herhangi bir LS lignininin (çekirdeğini) polimerlerine ayrılabilmesi için, lignin ön maddeleri arasındaki C-C ve C-O-C gibi kimyasal bağların oksidatif işlemler (Gould, 1984) veya yüksek sıcaklıkta kimyasal işlemler gibi yöntemlerle (Chua ve Wayman, 1979) kırılması gerekmektedir.

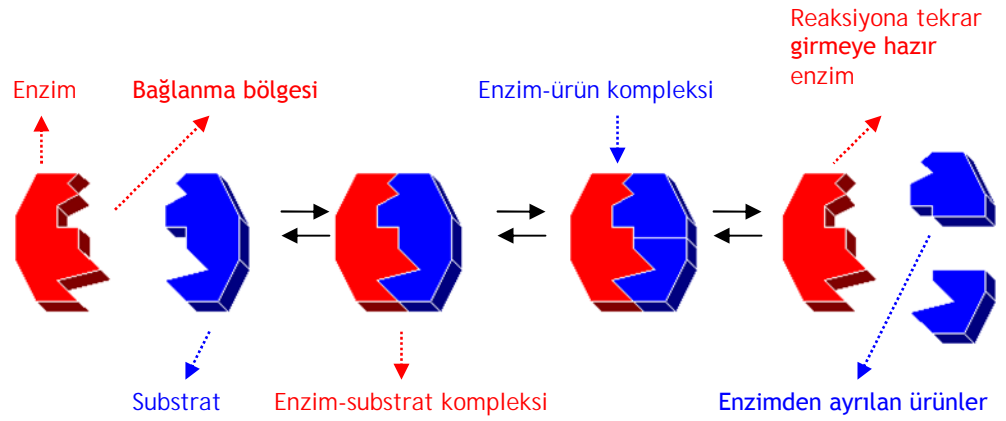
1.2. Enzimlerin Tanımı, Etki Mekanizması, Sınıflandırılması ve Hayvan Beslemede Kullanım Amacı

Enzimler, doğada bitkiler ve hayvanlar tarafından üretilen, tüm canlı doku ve hücrelerde bulunan, protein yapısındaki kompleks bileşiklerdir. Belirli koşullarda (sıcaklık, nem ve pH) biyolojik katalizör olarak görev alıp; spesifik substratlarla aktif duruma geçerler. Optimal koşullarda biyokimyasal reaksiyonları 10^6 - 10^8 misli artırabilir. Biyolojik reaksiyonları katalize ettikten sonra tekrar eski yapılarına dönerek, spesifik etkilerini korur ve yeniden aktif duruma geçer (Nir ve Şenköylü, 2000).

Canlı hücrelerde gerçekleşen difüzyon, osmoz ve fotosentez reaksiyonları gibi birkaç reaksiyon dışındaki tüm reaksiyonlar enzimler tarafından gerçekleştirilir. Enzimler reaksiyonları başlatmaz, ancak başlamış reaksiyonun hızını artırır. Her reaksiyonun başlayabildiği bir enerji seviyesi ya da sıcaklık derecesi vardır. Enzimlerin varlığıyla reaksiyonlar, daha düşük enerji ile gerçekleşir. Tek bir enzim, farklı hücre veya doku tiplerinde de reaksiyonları katalize etme görevi üstlenebilir. Kimyasal reaksiyonlar canlı hücrelerde genellikle 0-42 °C arasında meydana gelir. 0 °C' de enzimler pasif olup, yapıları bozulmaz. Her enzimin reaksiyon gösterebileceği uygun bir sıcaklık derecesi vardır. İnsanlarda bu sıcaklık derecesi vücut sıcaklığı olan 36.5 °C' dir. Enzimler protein yapısında olduklarından, yüksek sıcaklıklar enzimlerin denatüre olmasına yol açar ve beklenen reaksiyonlar gerçekleşemez. Genel olarak enzimler 60 °C' nin üzerindeki sıcaklıklarda bozulur. Her reaksiyonun gerçekleşebilmesi için ortamın pH' sınırın belirli bir seviyede olması gerekir. Ortam pH' sındaki (H⁺ ve OH⁻ iyonları) artış yada

düşüş, enzimi oluşturan çeşitli asit yada amin gruplarını etkileyerek enzimlerin doğal yapısının değişmesine yol açar (Stryer, 1995).

Bir enzimin etki ettiği bileşiğe “substrat” adı verilir. Enzimin saniyede etki ettiği substrat molekül sayısına “enzimin etkinlik değeri” denir. Bir enzim molekülü saniyede 1.000 substrat molekülünü dönüştürebilir. Enzimle reaksiyona girecek olan substrat, enzimin o substrata özel bağlanma bölgesine bağlanır ki bu durum “anahtar-kilit ilişkisi” olarak adlandırılır. Geçici olarak enzim-substrat kompleksi oluşur. Bu sırada enzim substratı değişime uğratar ve daha sonra oluşan ürün(ler) enzimden ayrılır. Enzim reaksiyondan hiç değişmeden ayrılırken, substrat ya parçalanır, ya bir başka bileşikle birleşir ya da diğer bir başka bileşiğe dönüşür (Şekil 1.2.1; Anonymous, 2008b).



Şekil 1.2.1. Enzimlerin etki mekanizması

Enzimatik reaksiyonun hızı, substrat konsantrasyonunun artmasına ve enzimin bütün bağlanma bölgelerine substratın bağlanmış olmasına göre en yüksek hızına ulaşabilir. Ortamdaki enzim ve substrat miktarı, reaksiyon hızını artırıcı yapılardan biridir. Her ikisinin de miktarı belirli oranlarda artırırsa reaksiyon hızı sürekli artar. Enzim reaksiyonunun gerçekleşebilmesi için ortamda belirli oranda su bulunmalıdır. Çünkü moleküllerin birbirine çarparak reaksiyonu gerçekleştirebilmesi için, hareketi sağlayacak sıvı bir ortamın olması gerekir.

Uluslararası Biyokimya Birliği' nin Enzim Komisyonu (Enzyme Commission of the International Union of Biochemistry, EC-IUB) 1961 yılında enzimlerin sınıflandırılması ve adlandırılmasında belirli kurallar getirmiştir. Buna göre; enzimler 6 ana sınıfa (oksidoredüktazlar, transferazlar, hidrolazlar, liyazlar, izomerazlar ve ligazlar) ayrılmış, her sınıf ayrıca alt sınıflara ve alt sınıflar da gruplara ayrılmıştır. Bir enzimin adı iki kısımdan oluşmaktadır. Birinci kısım substratın adını, ikinci kısım ise katalizlediği reaksiyon çeşidini açıklamakta ve -az (-ase) son eki ile bitmektedir.

Yem katkı maddesi olarak kullanılan enzimler "hidrolaz" sınıfına giren enzimlerdir. Bu enzimler moleküle su katılması suretiyle spesifik bağları özellikle C-O (karbon-oksijen) ve karbon-azot (C-N) ile C-C atomlarının ayrılmasını katalize eder. Günümüzde bazı enzimler karma yem endüstrisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Çizelge 1.2; şekil 1.2.2 - SciDAC, 2008). Bunlar yemlerdeki lifleri, proteinleri, nişastayı ve fitik asidi parçalayan enzimlerdir.

Hayvan yemlerinde enzim kullanımının 4 temel nedeni bulunmaktadır. Bunlar;

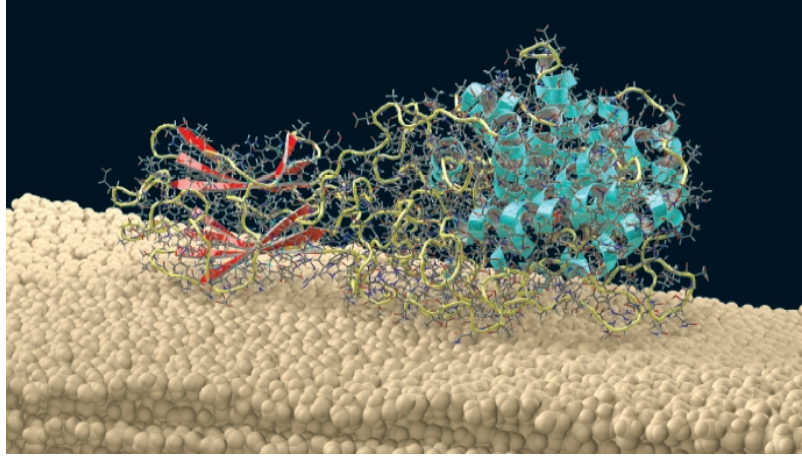
1. Birçok yem hammaddesinin yapısında yer alan anti besinsel faktörleri parçalamak.
2. Lif içeriği yüksek bitkisel kaynaklı yemlerde, hayvanın kendi salgıladığı sindirim enzimleri ile sindiremediği, lifle çevrili hücre duvarının içinde kalan nişasta, protein ve minerallerin yararlanılabilirliğini artırmak.
3. Yem hammaddesinin yapısında bulunan ancak hayvanların salgıladıkları kimyasal enzimler tarafından parçalanamayan spesifik kimyasal bağları parçalayarak, daha fazla besin maddesini serbest hale geçirmek.
4. Genç hayvanların sindirim sistemlerinin henüz tam olarak gelişmemesi nedeniyle yetersiz kalan endojen enzimlerine ilave yapmak ve bu yolla yemlerin sindirimine yardımcı olmak.

Bunların yanısıra; enzim kullanımıyla rasyonların yararlanılabilirliği artırılabilen, yem hammaddelerinin besleme değerleri arasındaki farklılıklar giderilebilmekte ve yem formülasyonlarının doğruluğu artırılabilir. Bu şekilde yemin güvenilirliğinin garanti edilmesiyle hayvan grupları arasında bir örnekliliğin sağlandığı ve bunun da karlılığa yansıdığı ortaya konmuştur (Sheppy, 2001).

Çizelge 1.2. Günümüzde hayvan yemlerinde kullanılan enzimler

Enzim	Etki	Hedef substrat	Yem çeşidi	Beklenen yarar
Beta-Glukanaz	Beta-Glukanları, oligosakkaritler ve glukoza dönüştürme	Arpa, yulaf ve çavdar esaslı rasyonlar	Kanatlı ve domuz yemleri	Yapışkan dışkının azalması, yemden yararlanmanın artması
Amilaz	Tahıl nişastasının dekstrin ve şekerlere parçalanması	Yüksek nişasta içerikli tahıl danesi içeren rasyonlar	Buzağı ve genç domuz rasyonları	Genç hayvanların rasyonlarında tahılların kullanılabilirliğini artırma
Sellüloz	Sellülozu düşük molekül ağırlıklı ürünlere ve glukoza dönüştürme	Yüksek lif içerikli rasyonlar	Düşük kalitede kaba yemler	Enerjiden yararlanılabilirliği artırma
Pentozanaz (Ksilanaz)	Arabinoksilanları, düşük molekül ağırlıklı ürünlere ve şekerlere dönüştürme	Çavdar, arpa ve buğday	Kanatlı ve domuz rasyonları	Altlık kalitesini ve yemden yararlanmayı artırma
Alfa-Galaktosidaz	Oligosakkaritleri ve anti besinsel faktörleri parçalama	Soya fasulyesi ve diğer baklagiller	Domuz rasyonları	Enerji yararlanılabilirliğini artırma, genç domuzlarda ishali azaltma
Fitaz	Fitik asite bağlı fosforun yararlanılabilirliğini artırma	Farklı rasyonlar	Kanatlı ve domuz rasyonları	İnorganik fosfor gereksinimini azaltma
Proteaz	Proteinleri peptid ve amino asitlere parçalama	Buğday yan ürünleri, baklagil proteinleri	Soya fasulyesi veya soya fasulyesi proteini kullanılarak hazırlanan süt ikame yemleri	Yüksek protein sindirilebilirliği, düşük N atımı sağlama
Lipaz	Yağları, yağ asitlerine dönüştürme	Hayvansal ve bitkisel yağlar	Pet hayvanları ve etlik piliç rasyonları	Yağ sindirimini ve sonuçta enerji olarak tutulmasını artırma

(Rotter ve ark., 1989; Cowan, 1992; Ogden, 1995' den uyarlanmıştır).



Şekil 1.2.2. Sellülazın sellüloz molekülü yüzeyindeki etkisi

1.3. Enzimlerin Ruminant Beslemede **Kullanımı**

Enzimler 19.YY' ın ikinci yarısında keşfedilmiş ve 20.YY' ın başından itibaren endüstriyel ve gıda proseslerinde kullanılmaya başlanmıştır. Karma yem endüstrisinde enzimler ilk kez 1960 yılında kullanılmıştır. Bu dönemde kullanılan enzimler aslında hayvan yemi olarak formüle edilmemiş, endüstriyel alanda yada insan gıdası olarak kullanılmak üzere üretilmişler. Spesifik olarak yem katkısı amacıyla formüle edilmiş enzimler 1980' lerin sonları ve 1990' lı yılların başlarında kullanılmaya başlanmıştır (Kalkan ve Karabulut, 2003).

Avrupa Birliği (AB) yem enzimlerini 1993 yılında güvenlik, kalite ve etkinliğinin resmi olarak denetlenmesini gerektirecek şekilde, 70/524/EEE yönergesi altında, yem katkı maddesi olarak sınıflandırmıştır. 1 Ocak 1997 tarihine kadar bir geçiş dönemi yaşanmış ve üye ülkelerin yem enzimlerini kendi içinde pazarlamasına izin verilerek, bu ürünler her ülkenin kendi katkı maddeleri listesinde yer almıştır. Bu süre içerisinde, enzimlerin hem hayvanlarda hem de insanlarda güvenli olarak kullanılabilmesi konusunda bilgi sağlanarak destek verilmiştir. 1998-2002 yılları arasında AB Hayvan Besleme Bilim Komitesi (Scientific Committee for Animal Nutrition - SCAN), hedef hayvan kategorisi için yem enzimleri ürünlerinin güvenli kullanımı hakkındaki ilk görüşleri güncellemiş, enzim ürünleri, bunların tüketim işinde çalışanları ve

enzim katılan rasyonlarla beslenmiş hayvanlardan elde edilmiş ürünleri ele almıştır. Yirminci yüzyılın sonlarında AB Hayvan Besleme Bilim Komitesi, 70/524/EEE yönergesi altındaki güvenlik değerlendirmeleri ve sonradan gelen düzenleyici görüşleri dikkate alarak yaklaşık 60 adet ürünün geçici AB onayı almasına izin vermiştir. Avrupa Gıda Güvenlik Otoritesi (European Food Safety Authority - EFSA) bilimsel panelleri, 2002 yılından sonra AB Hayvan Besleme Bilim Komitesi' nin yerini almış ve ilave olarak yem enzimleri, kesin AB onayı almak için daha çok titizlik isteyen bir değerlendirmeye mecbur bırakılmıştır. Bunun yanı sıra, yeni bir düzenleme (EC 1831/2003) eski yönergenin (70/524/EEC) yerini almıştır. Bütün bu değişikliklerin arasında yaklaşık 40 kadar yem enzimi yem katkı maddesi olarak kesin AB onayı almayı başarmıştır (Brufau ve ark., 2006).

Enzimlerin AB tarafından yem katkı maddeleri grubuna alındığı 1993 yılından sonra, yem enzimlerinin özellikle domuz ve kanatlı rasyonlarında kullanımı çarpıcı bir gelişme göstermiştir.

Besi sığırlarında eksojen enzim kullanımının günlük ortalama canlı ağırlık artışı ve yemden yararlanma etkinliğini artırdığı, ilk olarak 48 yıl önce yürütülen ve 10 besi denemesini kapsayan bir çalışma sonucunda belirlenmiştir. Öğütülmüş mısır, yulaf silajı ve mısır silajı ile amilolitik, proteolitik ve sellülotik aktivite gösteren enzimlerin karışımıyla işlenmiş baklagil kuru otu verilen grupta, işlem görmemiş baklagil kuru otu tüketen kontrol grubuna göre sığırların canlı ağırlık artışı %6.8-24.0 ve yemden yararlanma etkinliği %6.0-21.2 arasında artmıştır (Burroughs ve ark., 1960). Daha sonraki çalışmalar yüksek oranda silajla beslenen sığırlarda enzim uygulamasının canlı ağırlık artışı ve yemden yararlanma etkinliğini artırdığını doğrulamıştır (Rovics ve Ely, 1962).

Geçmişte yürütülen araştırmalar et sığırlarında enzim kullanımının potansiyel yararları hakkında değerli bilgiler sağlamasına rağmen, rasyonun bileşimi, enzim çeşidi, enzim aktivitesi ve enzim uygulama yöntemleri gibi faktörler, hayvanların enzimlere karşı gösterecekleri tepki konusunda

aydınlatıcı olamamıştır. Daha sonraki çalışmalar özellikle bu faktörlerin etkilerini araştırmak için düzenlenmiştir. Enzim çeşitleri (Beauchemin ve ark., 1995, 1997) uygulama dozları (Beauchemin ve Rode, 1996; Michal ve ark., 1996; McAllister ve ark., 1999) enzim ürünleri (Pritchard ve ark., 1996) ve enzim uygulama yöntemleri (Beauchemin ve ark., 1998; Hristov ve ark., 1998; Yang ve ark., 1999) kontrollü koşullar altında birbirleriyle karşılaştırılmıştır. Ksilanaz/sellülaz ürünlerinin karışımı ve sellülazın farklı dozları (%0.025-0.4) baklagil kuru otu ve buğdaygil çayır otu küpleriyle beslenen tosunlarda canlı ağırlık artışını sırasıyla %30 ve %36 artırmış, ancak bu enzim karışımı arpa silajına uygulandığında canlı ağırlık artışında herhangi bir ilerleme sağlanamamıştır (Beauchemin ve ark., 1995). Aynı karışım %95 dane yem ağırlıklı rasyona uygulandığında sığırların yemden yararlanma etkinliğinde %11' lik bir artış sağlanırken, mısırla beslenen sığırların performansı ise enzim uygulamasından etkilenmemiştir (Beauchemin ve Rode, 1996). Farklı karışımlar içeren fungal enzim preparatları %0.5 düzeyine kadar denenmiş, sonuçta baklagil silajı (Michal ve ark., 1996; Pritchard ve ark., 1996) veya arpa silajı esaslı rasyon tüketen besi sığırlarında, canlı ağırlık artışı ve besi sonu canlı ağırlığında artış sağlanmıştır (McAllister ve ark., 1999).

Eksojen enzimlerin süt ineklerinde süt üretimine etkisi ilk olarak 1990' ların ortasında araştırma konusu olmuş (Chen ve ark., 1995; Lewis ve ark., 1995; Stokes ve Zheng, 1995) ve bu konudaki çalışmalar bu konudaki çalışılmalar son yıllarda da sürdürülmüştür (Luchini ve ark., 1997; Nussio ve ark., 1997; Kung ve ark., 1998; Yang ve ark., 1998, 1999; Beauchemin ve ark., 1999).

Süt ineklerinde yürütülen çalışmalarda da, besi sığırlarında olduğu gibi eksojen enzimlere karşı değişken sonuçlar alınmıştır. Chen ve ark. (1995) tarafından Holstein ineklerle yürütülen bir araştırmada, sorguma uygulanan enzim karışımı, süt üretimini artırmamıştır. Benzer olarak, arpa esaslı rasyonda süt üretimi enzim uygulama yöntemine bağlı olmuştur (Beauchemin ve ark., 1999). Yoğun yem (%45-50), baklagil silajı, mısır silajı ve baklagil kuru otu içeren rasyonlara sellülaz/ksilanaz karışımı uygulanması da sütün verimini

artırmada başarısız olmuştur (Luchini ve ark., 1997 ve Nussio ve ark., 1997). Farklı olarak %50 yoğun yem %50 mısır silajı içeren rasyona benzer enzim preparatı püskürtülerek uygulandığında, süt bileşimi değişmeden süt üretimi günde 2.5 kg artmıştır (Kung, 1996). Bu enzim preparatları baklagil kuru otu/silaj esaslı komple rasyonlarla beslenen süt ineklerinde süt üretimini artırsa da (Lewis ve ark., 1995; Stokes ve Zheng, 1995; Sanchez ve ark., 1996) süt veriminde sağlanan olumlu gelişmeler asıl olarak uygulanan enzim dozlarına bağlı kalmıştır (Sanchez ve ark., 1996). Örneğin; uygulanan enzim dozunun %0.1' den %0.2' ye çıkarılmasının süt verimini günde 23.7 kg' dan (kontrol) 24.6 kg' a çıkardığı saptanmıştır (Yang ve ark., 1999). Erken laktasyon döneminde enzim preparatına karşı gösterilen tepki daha çarpıcı olmaktadır. Enzim, %24 mısır silajı, %15 baklagil kuru otu ve %61 arpa içeren rasyona uygulandığında süt üretimi günde 4 kg artmıştır. Bu sonuçlar, enzimin yararının uygulama yöntemine bağlı olduğunu, enzimin komple rasyona püskürtülerek uygulanması halinde süt üretiminin etkilemediğini ve rasyonun yoğun yem kısmına uygulandığında ise süt üretimini arttırdığını ortaya koymuştur (Beauchemin ve ark., 1998). Araştırmalar bazı enzimlerin yoğun glikolizasyon sonucu (Fontes ve ark., 1995) rumende proteolitik parçalanmadan korunduğunu göstermiştir (Hristov ve ark., 2000). Gerek fibrolitik enzimlerin suda çözündürülerek yemlemeden önce yeme püskürtüldüğü (Lewis ve ark., 1999; Beauchemin ve ark., 2000), gerekse sıvı formdaki enzimlerin yemlere püskürtüldüğü birkaç çalışmada, hem in vitro (Kung ve ark., 2002; Colombatto ve ark., 2003) hem de in vivo (Rode ve ark., 1999; Yang ve ark., 1999) sindirim parametrelerinde iyileşme gözlenirken, süt verimindeki iyileşmeler her zaman tutarlı olmamıştır (Stokes ve Zheng, 1995; Schingoethe ve ark., 1999; Beauchemin ve ark., 2000).

Enzimlerin yeme doğrudan sıvı formda püskürtülerek uygulandığı araştırmalara karşılık, ruminant rasyonlarına enzimi kuru formda uygulamayı değerlendiren bazı araştırmalar da bulunmaktadır. Zinn ve Salinas (1999) rasyona kuru enzim ilave edildiğinde nötr deterjanda çözünmeyen lifin (NDF) rumendeki sindirimi ile yem azotunun sırasıyla %23 ve %5 arttığını

saptamışlardır. Ayrıca enzim ilavesi sonucunda boğalarda KM tüketimi ve günlük canlı ağırlık artışı da gelişme göstermiştir. Benzer şekilde Ahn ve ark. (2003) kuru enzim ilavesiye beslenen süt ineklerinin süt üretiminde %8' lik bir artış gözlemiştir.

Gupta ve Pradhan (1977) tarafından yürütülen bir araştırmada, silolanmış buğday samanının kimyasal ve biyolojik özellikleri değerlendirilmiş, bu amaçla buğday samanına farklı enerji, protein ve mineral kaynakları ilave edilerek, demir konteynırlara silolanmıştır. Buğday samanı-yeşil yonca, buğday samanı-üre-melas, buğday samanı-üre-mısır, buğday samanı-yerfıstığı küspesi ve buğday samanı-yerfıstığı küspesi-melas şeklinde hazırlanan karışımlar iyi silolanabilmeleri için su ilave edilerek, KM içeriği %44'e, metabolik enerji (ME) 1750 kcal/kg' a, proteini ise %10.2' ye ayarlanmıştır. Silolamanın 30, 45, 60, 75 ve 90. günlerinde açılan silolarda pH, laktik, asetik, bütirik ve propiyonik asit ölçümleri yapılmıştır. Buğday samanı-üre-melas karışımının 3.8 olan ortalama pH' sı, yüksek laktik asit üretimine (%7.1), buğday samanı-yeşil yonca karışımının ortalama 5.1 olan pH'sı ise yoncanın düşük suda çözünebilir karbonhidrat (SÇK) içeriğine bağlanmıştır. Buğday samanı-üre-mısır, buğday samanı-yerfıstığı küspesi ve buğday samanı-yerfıstığı küspesi-melas karışımlarının düşük laktik asit (sırasıyla %0.37, 0.50 ve 0.53) içermeleri ise silodaki fermantasyon sırasında, mısırın SÇK kaynağı olarak etkin bir şekilde kullanılmamasından kaynaklanmıştır. Silodaki fermantasyona bağlı olarak uçucu yağ asitlerinden (UYA) başta asetik asit olmak üzere propiyonik ve bütirik asitler şekillenmiştir. En yüksek asetik asit değeri, buğday samanı ve yonca karışımından elde edilmiştir (197 mg/100g KM). Asetik asit, özellikle saman gibi besleme değeri düşük kaba yemlerin kalitesini değerlendirmede önemli bir parametre olmuştur. Buğday samanı-üre-mısır karışımı dışındaki diğer karışımların fermantasyonu sırasında hücre duvarı bileşenleri başlangıç materyaline göre azalma göstermiştir. Buğday samanı-yeşil yonca ve buğday samanı-üre-melas karışımlarının in vitro besin madde sindirilebilirlikleri diğer karışımlardan daha yüksek bulunmuştur. Diğer parametrelerde olduğu gibi, renk ve koku gibi özellikler de buğday samanının, yeşil yonca veya üre-melas

ile birlikte 60 gün süre ile silolanması sonucunda, iyi kalitede bir silo yemine dönüşebileceğini göstermiştir.

Karabulut (1986) tarafından üre ve sodyum hidroksitle işlenmiş buğday samanının yem değerini saptamak amacıyla bir araştırma düzenlenmiştir. %4, 8 ve 12 suda eritilmiş üre ile işlenmiş katkısız buğday samanı, %4, 8 ve 12 suda eritilmiş üre ile işlenmiş melas katkılı buğday samanı ve sodyum hidroksitle işlenmiş buğday samanının sindirilebilir besin maddeleri içeriği ve sindirilme dereceleri klasik sindirim denemesi yöntemiyle araştırılmıştır. Ham sellüloz (HS) en fazla %8 üre ile işlenmiş katkısız buğday samanında sindirilmiş ve samana melas katmanının özellikle HS'un sindirilme derecesindeki artışı sınırlandırdığı görülmüştür.

Özen ve ark. (1993) tarafından %4 üre ile işlenmiş mısır ve çeltik samanlarının süt ineklerinde kaba yem olarak kullanılma olanaklarını değerlendirmek amacıyla bir araştırma yürütülmüştür. Araştırma 4'er baş Holstein ve Jersey inekleri kullanılarak 4 x 4 Latin Kare Deneme Desenine uygun olarak gerçekleştirilmiştir. Çalışmada sırasıyla üreli çeltik, üresiz çeltik, üreli mısır ve üresiz mısır samanları kullanılmıştır. Üre ile işlemenin saman tüketimlerinde yarattığı artışlar istatistiksel olarak sadece üreli çeltik samanı tüketen Holstein ineklerde önemli bulunurken ($P < 0.05$), diğerlerinde önemsiz çıkmıştır ($P > 0.05$). Üre ile işleme, yoğun yem tüketimlerinde üreli çeltik samanı tüketen Jersey inekler haricinde istatistiksel olarak önemli olmayan tasarruflar sağlamıştır. Üreli çeltik samanı verilen Jersey ineklerin yoğun yem tüketimleri bir miktar artmakla beraber, bu durum istatistiksel açıdan önemli düzeyde olmamıştır ($P > 0.05$). Üre ile işleme genel olarak her iki ırkta da süt verimini arttırıcı bir etki yapmamıştır. Ancak bu etki üreli çeltik samanı verilen Holstein ineklerin günlük ve %4 yağa göre düzeltilmiş süt verimlerinde istatistiksel açıdan önemli ($P < 0.05$), diğerlerinde ise önemsiz bulunmuştur ($P > 0.05$). Sütteki KM, yağ, protein, laktoz ve kül oranlarında işlemler arasında ne Holstein ne de Jersey ineklerde istatistiksel farklılıklar bulunmamıştır ($P > 0.05$).

Nakashima ve ark. (1993) *Trichoderma viride* kaynaklı sellülaz uygulamasının koyunların rumenlerinde, naylon kese içerisinde inkübasyona bırakılan arpa ve pirinç samanlarının parçalanma özellikleri üzerine etkilerinin araştırılması için, iki farklı deneme düzenlemiştir. Birinci denemede, pirinç samanı öğütülerek sellülazla, 3 farklı dozda (0, 5 ve 10 g/kg KM) ve 3 farklı KM düzeyinde (%30, 40 ve 50) işlenmiş ve vakumla havası alınmış polietilen torbalarda, karanlık bir ortamda 20 °C sıcaklıkta tutularak 30 gün süreyle muhafaza edilmiştir. Deneme sonucunda, pirinç samanı düşük pH ($P<0.01$), yüksek yoğunlukta laktik asit ($P<0.01$), düşük NDF içeriği ($P<0.01$) ve artan sellülaz dozu ile yüksek çözünübilirlik göstermiştir. İkinci denemede, silolanmış samanın fermentasyonu sırasında kimyasal ön işlemenin (sodyum hidroksit ve hidrojen peroksit) enzim işlemesi üzerine etkileri ve propiyonik asit uygulamasının fermentasyon sırasındaki KM kaybını engellemesi konusu çalışılmıştır. Bu amaçla arpa samanı 2.5 mm çapında öğütülmüş ve %40 KM içeriği sağlanacak şekilde su ile ıslatılarak, 3 farklı dozda sellülazla (0, 5 ve 10g/kg KM) işlenmiştir. Samanlar cam kavanozlara silolanarak karanlık bir odada sırasıyla 10, 20, 30 veya 40 gün süreyle 20 °C' de muhafaza edilmiştir. Kimyasal ön işleme yapılan grupta saman 2 saat süre ile %3 (w/v) NaOH ve %1 alkali H_2O_2 çözeltisi (pH 11.5' e ayarlı) ile işlenmiş, daha sonra suda yıkanmış ve 60°C' de kurutulmuştur. Ön işlemden geçirilmiş grup daha sonra 2 farklı dozda sellülaz (5 g/kg KM) ile işlenmiş ve 30 gün boyunca cam kavanozda tutulmuştur. Propiyonik asit uygulanan grupta, samana 5 farklı yoğunlukta (0, 10, 30, 50 ve 70 g/kg KM) propiyonik asit uygulanmış ve daha sonra %40 KM içeriği sağlanacak şekilde su ile ıslatılarak sellülazla 2 farklı yoğunlukta (0 ve 5 g/kg KM) işlenmiş ve 30 gün süre ile fermentasyona bırakılmıştır. Deneme sonucunda, silolanmış arpa samanının pH değeri sürekli olarak düşmüş ($P<0.01$) ve sellülaz uygulamasıyla birlikte, artan silolama süresine bağlı olarak çözünübilirlik artmıştır ($P<0.01$). NaOH ile işleme arpa samanının parçalanabilirliğini artırırken ($P<0.01$), H_2O_2 ile işleme sonucu arpa samanının parçalanabilirliğindeki artış daha yüksek olmuştur ($P<0.01$). Araştırma sonucunda; arpa ve pirinç samanlarının sellülazla işlenmesine bağlı olarak, enzim etkisiyle serbest hale dönüşen şekerlerin fermentasyonu ile oluşan

laktik ve UYA samanların pH değerlerini düşürmüştür. Sellülaaz uygulamasıyla samanın rumende parçalanma hızı yükselmiş, fakat parçalanabilirliğin boyutu değişmemiştir. Parçalanma hızının yükselmesine, sellülaazın etkisi ile hücre duvarının hidrolizi sonucunda üretilen SÇK miktarındaki artışın neden olduğu belirlenmiştir. Silolama süresince çözünebilir şekerlerin fermantasyonunun engellenmesi sonucu, sellülaazla işlenmiş samanların potansiyel parçalanabilirlik değerleri artış göstermiştir. En etkileyici sonuçlar, alkali+sellülaaz işlemesiyle birlikte propiyonik asit uygulamasının yapıldığı samanların KM parçalanabilirliklerinde görülmüştür. İşletmelerde kullanılabilecek pratik ve az masraflı uygulamanın, propiyonik asit ile sellülaaz enziminin birlikte kullanıldığı uygulama olabileceği sonucuna varılmıştır. Bu uygulamanın samanların besleme değerinin artırılması için en etkili yöntem olduğu bildirilmiştir.

Özen ve Ocak (1994) tarafından yürütülen bir araştırmada %4, 6 ve 8 dozlarında üre ile işlemenin çeltik ve mısır samanlarının sindirilebilirlikleri ve yem değerleri üzerine etkisi Karayaka koçları üzerinde incelenerek, üre ile işleme değerlendirilmiştir. %4 üre ile işleme çeltik samanının KM ve nitrojensiz öz madde (NÖM) sindirilebilirliğini önemli derecede ($P<0.05$); çeltik samanının organik madde (OM), HS, ve HY ile mısır samanının ham protein (HP), HS ve ham yağ (HY) sindirilebilirliklerini çok önemli derecede arttırmıştır ($P<0.01$). %4 üre ile işlenen çeltik samanı işlenmemiş çeltik samanı ile karşılaştırıldığında, HP sindirilebilirliği sadece sayısal olarak daha yüksek bulunmuştur. Çeltik samanında KM, OM, HY, HS ile NÖM ve mısır samanında HS'un sindirilme dereceleri bakımından üre düzeyleri (%4, 6 ve 8) arasında fark bulunmamıştır ($P>0.05$). %6 ve 8 düzeyindeki işlemler, %4 üre işlemesi ile karşılaştırıldığında her iki saman çeşidinde HP'in, bunun yanı sıra sadece mısır samanında HY'ın sindirilme derecelerinde çok önemli artışlar elde edilmiştir ($P<0.01$). Çeltik samanının nişasta değerinde (ND) ve toplam sindirilebilir besin maddelerinde (TSBM) elde edilen artış tüm işlemlerde çok önemli iken ($P<0.01$), bu iki kriter bakımından mısır samanına üre ile işlemenin önemli bir etkisi olmamıştır ($P>0.05$).

Köseoğlu ve Karabulut (1996) tarafından üre ile işlemenin buğday ve fiğ samanlarının besleme değeri üzerine etkilerini belirlemek amacıyla Merinos koçlarının kullanıldığı bir klasik sindirim denemesi yürütülmüştür. %8 oranında uygulanan üre dozunun buğday samanının besleme değerini artırdığı, buna karşılık fiğ samanının yem değerini olumsuz yönde etkilediği, dolayısıyla üre ile işlemenin buğday samanı için tercih edilmesi gerektiği sonucuna varılmıştır.

Yang ve ark. (1999) tarafından, rumen ve duodenum kanülü takılı Holstein inekleri kullanılarak, 4 x 4 Latin Kare Deneme Deseni' ne göre yürütülen bir çalışmada, fibrolitik enzim uygulamasının, besin maddelerinin sindirilme yeri ve derecesi üzerine etkileri araştırılmıştır. Bu amaçla KM' de %45 yoğun yem, %10 arpa silajı ve %45 yonca kuru otu küpleri içeren 4 farklı rasyon hazırlanmıştır. Birinci rasyon katkısız (kontrol), ikinci rasyon 1 g/kg, üçüncü rasyon 2 g/kg düzeyinde enzim katkılı yonca kuru otu küplerinden oluşturulmuş; dördüncü rasyonun yoğun yem ve yonca kuru otu küplerinden oluşan her iki kısmına yine 1 g/kg düzeyinde enzim katılmıştır. Enzim preparatı başlıca sellülaz ve ksilanazdan oluşmuştur. Yüksek dozda enzimle işlenen rasyonu tüketen süt ineklerinde kontrol rasyonunu tüketen süt ineklerine göre HP' in rumende parçalanabilirliği daha yüksek bulunurken, OM ve NDF sindirilebilirliklerinde sadece rakamsal olarak bir artışın söz konusu olduğu belirlenmiştir. Yüksek düzeyde ruminal sindirilebilirlik, yüksek dozda enzim kullanımı ile ilişkili olarak mikrobiyal protein üretiminin (MPÜ) artışı ile sonuçlanmıştır. Yüksek dozda enzim kullanılan rasyonu tüketen süt ineklerinde, sütün bileşiminde belirgin bir değişime neden olmaksızın süt üretimi artmıştır. Sonuç olarak, fibrolitik enzimlerle işlenmiş yonca kuru otu küpleri süt ineklerinin rasyonlarının süt üretiminin artmasına yardımcı olmuştur. Artan süt üretimi, enzimin yem tüketimini değiştirmeden yemin sindirilebilirliğini artırmasının bir sonucudur. Eksojen enzimin etkisi, rumende gerçekleşmiştir. Enzim uygulamasından elde edilen sonucun boyutu, uygulanan enzim miktarından çok, enzimin rasyonun kaba yem yada yoğun yem kısmına uygulanmasından etkilenmiştir.

Morgavi ve ark. (2000) tarafından yürütülen bir çalışmada ruminal ve eksojen enzimler arasındaki interaksiyonların lif parçalanması üzerindeki etkilerinin araştırılması için Tesadüf Parselleri Deneme Deseninde 11 (enzim preparatları ve bunların kombinasyonları) x 5 (pH değerlendirmesi) muamele düzenlenmiştir. Ruminal enzimler yüksek lif ve yüksek yoğun yem içeren rasyonları tüketen ineklerden alınmış, eksojen enzimler *Trichoderma longibrachiatum* preparatı olup farklı oranlarda sellülaz ve ksilanaz aktivitesi içermiştir. Ruminal ve eksojen enzim preparatları ile bunların kombinasyonlarının, çözünebilir sellüloz, ksilan ve mısır silajını, 39 °C' de 4.5' ten 6.5' a kadar değişen pH' larda parçalama yetenekleri test edilmiştir. *Trichoderma longibrachiatum* enzimleri çözünebilir sellüloz, ksilan ve mısır silajı içindeki rumen mikroorganizmaları ile sinerjik etki göstermiştir. Parçalanma sellüloz, ksilan ve mısır silajı için sırasıyla %35, 100 ve 40 olarak artış göstermiş ve pH değerleri 5.0 ve 6.0 arasında gerçekleşmiştir. Ruminal ve eksojen enzimler arasındaki sinerjik etki rumen içi koşullardaki hidrolitik potansiyeli için kullanılan enzimlerin olası çalışma mekanizmalarını geliştirmiştir. Çözünebilir sellüloz, ksilan ve daha kompleks doğal bitki substratı konumunda olan mısır silajının hidrolizi sonucu, rumen mikroorganizmaları ile *Trichoderma longibrachiatum* tarafından üretilen enzimler arasında sinerjik ilişki gerçekleşmiştir. Endojen ve eksojen enzimler arasındaki bu sinerjik etki, süt ineği rasyonlarına enzim katılmasıyla gözlenen, lifin ruminal sindiriminin artışında kısmen önemli bulunmuştur.

Yang ve ark. (2000) tarafından yürütülen bir çalışmada, rasyonlara fibrolitik enzim uygulamasının yem tüketimi, süt verimi ve sindirilebilirlik üzerine etkilerini araştırmak amacıyla, erken laktasyon dönemindeki 43 inek kullanılmıştır. İnekler, parite ve buzağılama gününe göre bloklara ayrılmış ve biri kontrol, diğeri komple rasyona enzim uygulaması ve sonuncusu arpa temelinde dayalı olan rasyonun yoğun yemden oluşan kısmına enzim uygulamasından oluşan 3 muamele grubuna tesadüfi olarak ayrılmıştır. Araştırmada yüksek ksilanaz ve düşük sellülaz aktiviteli bir enzim kullanılmıştır. Enzim çözeltisi (50 mg toz enzim 20 ml su içerisinde çözüldürülmüştür) yemlemeden önce komple rasyonun üzerine püskürtülerek

uygulanmıştır. Alternatif olarak 73 g toz enzim 20 L su içerisinde çözündürülerek rasyonun yoğun yemden oluşan kısmına her kg KM' ye 50 mg enzim düşecek şekilde uygulanmıştır. Komple rasyon KM' de %24 mısır silajı, %14 yonca kuru otu ve %62 yoğun yem içermekte olup hayvanlara ad libitum olarak verilmiştir. Enzimle işlemenin sindirilebilirlik üzerine etkilerini incelemek için in vitro gaz üretim tekniği ile birlikte koyunların kullanıldığı iki deneme yürütülmüştür. İneklerin KM tüketimi (ortalama: 19.8 kg/gün) enzim uygulamasından etkilenmemiştir. Süt verimi yoğun yeme enzim uygulanan grupta (37.4 kg/gün) kontrol grubu (35.3 kg/gün) ve komple rasyona enzim uygulanan gruba (35.2 kg/gün) göre, süt bileşimi üzerinde etkiye neden olmadan, daha yüksek bulunmuştur. Süt ineklerinde KM' nin sindirilebilirliği, yoğun yeme enzim uygulanan grupta (%66.6) kontrol grubu (%63.9) ve komple rasyona enzim uygulanan gruba (%65.7) göre daha yüksek bulunmuştur. Bununla birlikte koyunlarda rasyonun sindirilebilirliği enzim uygulamasının bir etkisi olmadan süt ineklerine göre daha yüksek bulunmuştur. Sonuç olarak; eksojen fibrolitik enzimlerin erken laktasyon dönemindeki ineklerin rasyonunun yoğun yem kısmına uygulanması, besin maddeleri sindirilebilirliğinin artmasına bağlı olarak süt üretimini artırma potansiyeli göstermiştir. Buna karşın, komple rasyona enzim uygulaması sindirilebilirliği artırmış, süt verimi üzerinde ise etkili olmamıştır. Yoğun yem oranı yüksek rasyonlara uygulanan eksojen fibrolitik enzimler koyunlarda sindirim üzerinde etki göstermemiştir. Koyunlar, süt ineklerinde eksojen enzimlerin yemlerin sindirilebilirliği üzerindeki etkilerini belirlemek için iyi bir model teşkil etmemiştir. Bunun da nedeni sindirilebilirliğin koyunlarda süt ineklerine göre dikkate değer şekilde yüksek olmasına bağlanmıştır. Sindirim koyunlardan yada in vitro çalışmalarda elde edilenlerden daha düşük olduğundan, enzimlerin süt inekleri için besin maddelerinin sindirilebilirliğini artırmada kullanımının daha etkili olacağı belirlenmiştir.

Kung ve ark. (2000) tarafından yürütülen bir araştırmada komple rasyonun (%50 kaba yem: %50 yoğun yem) kaba yemden (mısır silajı ve yonca kuru otu) oluşan kısmına yoğun yem karıştırılmadan önce sıvı formda enzimler püskürtülmüş ve laktasyondaki süt ineklerine yedirilmiştir. İlk yıl işlemler:

1) kontrol, 2) kaba yemin KM' sinde 3500 ünite (U) karboksimetilsellüloz (CMCaz) ve 16.000 U ksilanaz içeren enzim kompleksi ve 3) kaba yemin KM' sinde 8800 U CMCaz ve 40.000 U ksilanaz içeren enzim kompleksinden oluşmuştur. İkinci yıl işlemler: 1) kontrol, 2) kaba yemin KM' sinde ilk yıl kullanılan CMCaz'dan 3700 U ve ksilanazdan 14.000 U içeren enzim kompleksi ve 3) farklı bir sellüloz kullanılarak kaba yemin KM' sinde 3600 CMCaz ve 11.000 U ksilanaz içeren enzim kompleksinden oluşmuştur. İlk yıl, 2. rasyon ile yemlenen inekler (39.5 kg/gün) 1. rasyon (37.0 kg/gün) ve 3.rasyon (36.2 kg/gün) ile yemlenen ineklerden daha fazla süt verme eğilimi göstermiştir. Yüksek enzim dozuna sahip olan 3. rasyon ile yemleme, düşük dozda enzim içeren 2. rasyon ile karşılaştırıldığında süt proteini ve yağında azalmaya neden olmuştur. İkinci yıl, 3. rasyon ile yemlenen inekler (35.4 kg/gün) 1.rasyon (32.9 kg/gün) yada 2. rasyon (33.6 kg/gün) ile beslenen ineklere göre daha fazla süt vermişlerdir. İşlemler arasında süt proteini ve yağı benzer sonuçlar vermiş fakat enzimle işlenmiş kaba yem tüketen ineklerde rakamsal olarak daha düşük bulunmuştur. Her iki yılda da KM tüketimi (kg/gün) işlemler arasında benzer bulunmuştur. Belirli doz ve kombinasyonlarda enzimin yemleme öncesinde doğrudan uygulanması süt verimini artırırken enzimin kaynağı ve uygulama dozu önemli kritik noktaları oluşturmuştur.

Araştırma sonucu elde edilen verilere göre, ruminantların tüketecekleri kaba ve yoğun yemler yemlemeden hemen önce fibrolitik enzim kompleksleriyle işlendiğinde canlı ağırlık artışı ve süt üretiminde artış sağlandığı görülmüştür. Mısır silajı ve yonca kuru otu içeren rasyonların fibrolitik enzimlerle işlenmesi süt bileşiminde göze çarpan bir etkiye neden olmadan süt üretiminde artış sağlamıştır. Süt üretimindeki artış, KM tüketiminde belirgin bir değişime neden olmadan gerçekleşmiştir. Yemlemeden hemen önce kaba yemin enzim ile işlenmesi, yılın istenilen zamanında ihtiyaç duyulan miktarda kaba yemin enzimle işlenmesinin mümkün olduğunu göstermiş ve manejmada esneklik sağlamıştır. Araştırmada yüksek enzim dozlarının fayda sağlayamayacağı ve bazı enzim kombinasyonlarının diğer enzim kombinasyonlarından daha etkili olabileceği ortaya çıkmıştır.

Kung ve ark. (2002) tarafından yürütülen başka bir araştırmada, kaba yemler üzerine püskürtülen farklı kombinasyonlardaki fibrolitik enzimlerin süt inekleri üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Holstein inekleri %30 mısır silağı, %15 yonca kuru otu ve %55 yoğun yem içeren komple rasyon ile beslenmiştir (KM temelinde). 12 haftalık deneme süresince kaba yemler; 1) kontrol, 2) sellülağ karışımı D ve ksilanaz karışımı B (kaba yemin kg KM' sinde 3400 U CMCaz ve 10.450 U ksilanaz) ve 3) sellülağ karışımı D ve ksilanaz karışımı C (kaba yemin kg KM' sinde 3350 U CMCaz ve 10.500 U ksilanaz) ile işlenmiştir. Enzimler su içerisinde çözündürülerek, karıştırma işlemi sırasında kaba yem üzerine püskürtülmüştür. Her iki enzim kombinasyonu, 50 °C' de yürütülen enzim aktivitesi değerlendirme testi sonucunda benzer aktivite göstermiştir. Sellülağ D ve ksilanaz B ile işlenmiş kaba yemleri tüketen inekler, işlenmemiş kaba yem tüketen ineklere göre 2.5 kg/gün daha fazla süt (%3.5 yağa göre düzeltilmiş) vermiştir. Süt verimi, KM tüketimi, süt yağı ve süt proteini enzim işlemesinden etkilenmemiştir. Enzimlerle işlenen kaba yemlerin in vitro gaz üretimleri işlenmemiş kaba yeme göre daha fazla olmuştur. Fakat 96. saat UYA üretimi bakımından işlemeler arasında herhangi bir farklılık gözlenmemiştir. Yalnızca ksilanaz kullanıldığında ise geniş bir pH sınırında yüksek düzeyde enzim aktivitesi gözlenmiştir. Bu bulgular gelecekte ruminant rasyonlarında fibrolitik enzim kullanımını konu alan çalışmalarda pH' nın enzim aktivitesi üzerinde etkili bir faktör olacağını göstermektedir. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar, fibrolitik enzimlerin laktasyondaki süt ineklerinin süt verimini artıracadığını gösteren daha fazla bilgi birikimi sağlamıştır.

Eun ve ark. (2006) tarafından, eksojen enzimlerin pirinç samanının hücre duvarı parçalanabilirliğini artırma potansiyelini değerlendirmek amacıyla yürütülen bir araştırmada, işlenmemiş ve amonyakla işlenmiş pirinç samanının in vitro parçalanabilirliğini artırma potansiyelini değerlendirmek amacıyla, yeni geliştirilen iki sellülağ (END) ve iki ksilanaz (XY) ile iki ticari enzim ürünü (EX, endoksilanaz ve ksilanaz karışımı; PROT, proteaz) kullanılmıştır. Öğütülmüş, işlenmemiş ve amonyakla işlenmiş pirinç samanı

örneklerine (KM' de 0.45 g) END ve XY, 200-300 uluslar arası ünite (IU) endoksilanaz veya ksilanaz sağlanacak düzeyde ilave edilmiştir. PROT büyük çoğunlukla proteaz sağladığı halde, EX endoksilanaz ve ksilanazın her ikisinden 200-300 IU arasında sağlamıştır. *In vitro* inkübasyon ile 24 saatlik inkübasyon süresi sonundaki gaz üretimi (GÜ) ölçülmüş, KM, NDF ve asit deterjanda çözünmeyen lif (ADF) sindirilebilirlikleri ile UYA profili saptanmıştır. Gaz üretimi ve pirinç samanının sindirilebilirliği amonyaklaşma ile büyük ölçüde artmıştır. END veya XY enzimlerinin düşük etki göstermesine karşılık, EX ve PROT enzimlerini ilave etmek GÜ' ni ve amonyakla işlenmemiş pirinç samanının sindirilebilirliğini artırmıştır ($P<0.05$). Amonyakla işlenmiş pirinç samanına XY enziminin ilave edilmesi KM ve lif sindirilebilirliğini 24 saat sonunda artırırken, gaz üretimini fermantasyonun 18. saatinde artırmaya başlamıştır ($P<0.01$). EX enzime göre, PROT enzimi amonyakla işlenmiş pirinç samanının GÜ ve lif sindirilebilirliğini daha fazla artırmıştır. Pirinç samanının *in vitro* sindirilebilirliği bakımından, amonyakla ön işleme ile XY, EX ve PROT eksojen enzimleri arasında sinerjik bir etki olduğu belirlenmiştir. Bu sinerji amonyağın fenolik bileşikleri uzaklaştırması ve lignin-karbonhidrat komplekslerini yıkmasıyla, enzimin substrata ulaşılabilirliğini artırması şeklinde kendini göstermiştir. Eksojen enzim kullanımı, fermantasyonu asetat:propiyonat oranının düşmesi şeklinde değiştirmiştir. Amonyakla işleme ve eksojen enzim kullanımını kombine ederek, ruminal sindirilebilirliğinin artırılmasıyla ruminant beslemede pirinç samanı kullanımının artabileceği belirlenmiştir.

Eun ve ark. (2007) tarafından yürütülen diğer bir araştırmada, yonca kuru otunun ruminal parçalanabilirliğini geliştirmek amacıyla 5 yem enzimi kullanılmıştır. Ayrıca çalışmada enzim etkinliğinin *in vitro* yöntemle rumen sıvısı ve tampon çözelti ile inkübe edilen yonca kuru otunun inkübasyon süresi uzunluğundan etkilenip, etkilenmediği de araştırılmıştır. İki farklı proteaz (P1 ve P2), üç adet farklı dozlarda endoglukanaz ve ksilanaz (F1, F2 ve F3) kullanılmıştır. Öğütülmüş yonca kuru otu; rumen sıvısı, tampon ve enzim preparatı (1.5 mg/g KM) ile inkübe edilmiştir. 12, 18 ve 24. saatlerin sonunda

inkübasyon sonlandırıldığında GÜ, KM parçalanabilirliği ve lif içeriği ölçülmüştür. Sonuç olarak, bütün inkübasyon sürelerinde P1 enzimi GÜ' ni %5.6-7.9 artırırken, P2 enzimi herhangi bir etkide bulunmamıştır. F1 ve F2 enzimleri, gaz üretimini %3.7-10.6 oranında artırmıştır. Enzim preparatlarından F3, NDF sindirilebilirliği üzerinde etkili olmazken, F1 ve F2 enzim karışımlarının kullanıldığı 12 saatlik inkübasyon süresi sonunda (%12-13) artış görülmüştür. Gaz üretiminin 18 saatlik inkübasyon süresi sonunda P1 (%11) ve F1 (%7), 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda F1 (%10.5), F2 (%16.5) ve F3 (%11.3) enzimlerinin kullanıldığı işlemler artış göstermiştir. Bu enzimler için inkübasyon süresine bağlı olarak ADF sindirilebilirliğindeki artış %17.5-44.4 arasında değişim göstermiştir. Enzim preparatlarından F1, F2 ve F3 asetat:propiyonat oranını düşürmüştür. Lif sindirilebilirliğindeki bu gelişme hayvan için glukoz başlangıç formlarının yararlanılabilirliğinde artışa neden olabileceği şeklinde yorumlanmıştır. Proteolitikten ziyade fibrolitik aktivite gösteren enzim ürünlerinin kullanılmasıyla yonca kuru otunun parçalanabilirliğinde büyük ölçüde gelişme sağlanmıştır.

Pinos-Rodriguez ve ark. (2008), eksojen fibrolitik enzimlerin farklı kaba yem:yoğun yem oranlarındaki komple rasyonların sindirilebilirlik ve ruminal fermantasyonu üzerindeki etkilerini saptamak amacıyla düzenledikleri araştırmada, 6 x 6 Latin Kare Deneme Deseni' nde, 6 baş rumen kanüllü Rambouillet koçu kullanmışlar ve 3 farklı kaba yem:yoğun yem oranı (400:600, 500:500; 600:400 kg/kg) ile 2 farklı fibrolitik enzim dozunu (komple rasyonun kg KM' sinde 0 ve 2 g) incelemişlerdir. Eksojen fibrolitik enzimler KM' nin çözünebilir fraksiyonunu ($P<0.01$) ve KM ile NDF' nin in situ sindirilebilirliğini artırmıştır ($P<0.001$). Bununla birlikte rasyona enzim ilavesine bağlı olarak KM ve NDF' nin in vivo sindirilebilirlikleri açısından işlemler arasında farklılık görülmemiştir. Yem tüketimi enzim işlemesinden etkilenmemiş ve ruminal sindirim modelleri değişmemiştir. Eksojen fibrolitik enzimler KM ve NDF' nin rumende parçalanabilirliğini artırmış fakat hayvanların performansı ve ruminal fermantasyon üzerinde herhangi bir etki göstermemiştir.

Reddish ve Kung (2007) tarafından yürütülen bir araştırmada, laktasyondaki süt inekleri ve büyüme dönemindeki kuzuların rasyonlarına süt üretimi ve besin maddeleri sindirimini artırmak amacıyla ksilanaz ve sellülaz aktivitesi içeren toz formda enzim karışımı ilave edilmiştir. Laktasyondaki (süt veriminin 50. ve 150. günleri arasında ve günde ortalama 40 kg süt veren) 24 baş süt ineği komple rasyon ile beslenmiştir (%26 KM içeriğine sahip mısır silajı, %17 yonca silajı, %7 doğranmış yonca kuru otu ve %50 yoğun yem). İneklerin yarısı komple rasyon ile enzim katkısı yapılmadan beslenirken diğer yarısı aynı komple rasyon ile inek başına günde 10 g enzim karışımı ilave edilerek beslenmiştir. Denemenin 21. gününün sonunda ikinci 21 günlük dönem başlatılarak aynı uygulamalar tekrar edilmiştir. Toz enzim karışımı KM tüketimi, süt üretimi ve sütün bileşimi üzerinde etkili olmamıştır. Farklı konsantrasyonlardaki enzim karışımı komple rasyonun in vitro NDF sindirilebilirliğini geliştirmemiştir. Sindirim denemesinde kuzulara rasyonlarıyla birlikte günde 4 g/baş enzim karışımı verilmiş, dışkı ve idrarları toplanmıştır. Her ne kadar enzimin yeme katılma oranı laktasyondaki ineklerde kullanılandan fazla olsa da enzim katkısı rasyonun görünür KM, NDF, ADF ve N sindirilebilirliğini etkilememiştir.

Rodrigues ve ark. (2008) beyaz çubuk küflerinin 4 cinsinden *Trametes versicolor* (TV1, TV2), *Bjerkandera adusta* (BA) ve *Fomes fomentarius* (FF)' den izole edilen enzim ekstraktlarının buğday samanının hücre duvarı bileşenlerinin parçalanabilirliğini artırma potansiyellerini belirlemek amacıyla bir dizi in vitro çalışma yürütmüşlerdir. Buğday samanı örnekleri enzim ekstraktlarıyla sitrat tamponu içerisinde (pH 5.0) 25 °C sıcaklığa ayarlı inkübatörde 6 gün inkübe edilmiştir. Enzim ekstraktlarıyla işlemeden önceki ve sonraki in vitro NDF sindirilebilirliği ile NDF fermantasyonunun oran ve kapsamı sırasıyla mikrobiyolojik yöntem ve in vitro gaz üretim tekniği ile saptanmıştır. Elde edilen sonuçlar TV2 ve BA enzimleri ekstraktlarının NDF içeriğini düşürdüğü ($P<0.05$) ve TV1 enzim ekstraktının sellüloz üzerinde daha yüksek aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir ($P<0.05$). *Bjerkandera adusta*, TV1 ve TV2' den elde edilen enzim ekstraktlarıyla işlenen buğday samanlarının

in vitro NDF sindirilebilirliklerinde artış görülmüş ($P<0.05$), bu artıştaki farklılık TV2 için kontrol grubuna göre %13 düzeyinde gerçekleşmiştir ($P<0.05$). *Trametes versicolor* 2' den elde edilen enzim ekstraktı 20 saatlik inkübasyondan sonra GÜ' nde artışa neden olmuş ($P<0.05$); ayrıca, maksimum gaz üretimini de artırarak fermantasyon kinetiklerini geliştirmemiştir. Lignin konsantrasyonu enzim ekstraktlarıyla işlemeden etkilenmemiştir. Lignini parçalama kapasitesi küfün cinsine bağlı olarak değişmiştir. Rumen sıvısında inkübasyon sonucu ortaya çıkan UYA oranları arasında farklılık görülmemekle beraber, asetat üretimi kontrol, TV1 ve FF' den elde edilen enzim ekstraktlarıyla işlenen buğday samanları için rakamsal olarak 40.0 mmol/L, BA ve TV2 ekstraktlarıyla işlenen samanlar için 46 mmol/L civarında bulunmuştur. Araştırma sonuçları, beyaz çubuk küflerinden elde edilen enzim ekstraktlarından bazı bitki hücre duvarlarının düşük olan sindirilebilirliğini artırmakta yararlanılabileceğini göstermiştir.

1.4. *In Vitro* Gaz Üretimi, Mikrobiyal Protein Üretimi, Kuru madde Sindirilebilirliği ve Gerçek Organik Madde Sindirilebilirliği

Rumendeki mikrobiyal biyokitle, ruminantların başlıca protein kaynağıdır. Bu nedenle ruminant beslemede, mikrobiyal üretim etkinliğinin (MÜE) tahmini çok önemlidir (Beever, 1993; Leng, 1993). Çeşitli ruminant besleme sistemlerinde hayvanın performansının tahmin edilebilmesi için MÜE' nin bilinmesine ihtiyaç vardır (NRC, 1996, 2001; Offer ve ark., 2002). Ancak MÜE' ndeki spesifik yemlerden kaynaklanan farklılıkları saptamak için pratik bir laboratuvar tekniğinin bulunmayışı problem yaratmaktadır. Bu nedenle MÜE' ndeki varyasyonun in vitro gaz üretim ölçümleri (Menke ve ark., 1979) ve gerçek substrat sindirilebilirliğini (GSS) (Blümmel, 2000) de içine alan bir kombinasyon ile saptanması önerilmiştir. Aslında parçalanabilirlik yemin mikrobiyal sindirim ve sentezin bütün ürünlerine özellikle de mikrobiyal biyokitle, UYA ve gazlara dönüşümünü açıklarken, gaz hacmi UYA ve gazlara çevrimi açıklar; bu ikisi arasındaki farkın da mikrobiyal biyokitle olduğu varsayılır.

Rumende sindirilen yemlerin mikrobiyal biyokitleye maksimum düzeyde dönüşümü, ruminant beslemede yaygın bir kavramdır. Mikrobiyal etkinliğin artması, ince barsaklara daha fazla mikrobiyal protein sağlar ve fermantatif gazlarla karbon kaybını oransal olarak azaltır (Beever 1993; Leng 1993). Son zamanlarda yürütülen çalışmalarla, kaba yemler arasındaki in vitro mikrobiyal etkinlik bağlamındaki farklılık, yani fermente olarak mikrobiyal biyokitleye ilave olmuş substrat oranları arasındaki varyasyon in vitro gaz üretim değerinin 24 saatlik inkübasyon sonunda sindirilen gerçek substrat miktarıyla birlikte değerlendirilmesi ile açıklanabilmektedir (Blümmel ve ark., 1997a). Bu iki ölçümün birbiriyle benzer olmayıp, sadece tamamlayıcı oldukları unutulmamalıdır. Sindirilebilirliğin ölçümünde Goering ve Van Soest (1970) tarafından modifiye edilen Tilley ve Terry (1963) yöntemi kullanılarak, parçalanmayan substrattan mikrobiyal biyokitle kalıntısı uzaklaştırılmakta; böylece fermantasyon ürünlerine (mikrobiyal biyokitle, UYA ve gazlar) dissimile edilen substratın toplam miktarının hesaplanması sağlanmaktadır. Gerçekte bu iki fermantasyon ürününün kimyasal olarak birbiriyle orantılı ve çok yakın bir ilişkiye sahip olduğunun anlaşılmasından sonra gaz hacminin ölçümü fermente edilmiş substratın ne kadarının UYA ve ne kadarının gazların oluşumunda kullanıldığını göstermektedir (Blümmel ve ark., 1997a).

Ruminant beslemenin güncel kavramları, ruminal MPÜ' ni geliştirmeyi hedeflemektedir. Yüksek MPÜ rumende parçalanmayan yem proteinine olan ihtiyacı azaltır. Mikrobiyal hücrelere oransal olarak daha fazla karbon elementinin bağlanması, fermantatif karbon kayıplarını (CO ve CH) düşürür (Beever, 1993; Leng, 1993; Blümmel ve ark., 1999a). Günümüzde yemleme sistemlerinin çoğunda MPÜ, ME tüketiminin sabit bir fonksiyonu olarak ele alınmakta ve 1 megajoule (MJ) ME'nin yaklaşık 10 g MPÜ' ne dönüştüğü öne sürülmektedir (AFRC, 1993). Araştırmacıların bazıları (Yang ve ark., 1999) enzimlerin MPÜ ve protein parçalanabilirliğini geliştirdiğini bildirirken, bazıları (Feng ve ark., 1996; Rode ve ark., 1999) süt ineği rasyonlarının lif ve kuru madde sindirilebilirliğini (KMS) artırdığını belirlemişlerdir. Bununla birlikte

fibrolitik enzimlerin kullanıldığı bazı çalışmalardan benzer olumlu sonuçlar alınamamıştır (Higginbotham ve ark., 1996; ZoBell ve ark., 2000).

Blümmel ve ark. (1997b) tarafından yürütülen bir araştırmada, 42 farklı kaba yem kullanılarak in vitro GÜ ve buna eşlik eden in vitro görünür ve gerçek kuru madde sindirilebilirlikleri (GKMS) üzerinde çalışılmıştır. Gerçek sindirilebilir substratın gaz hacmi ve mikrobiyal proteine bölünmesi ile hücrelere ¹⁵N bağlanması araştırılmıştır. Çalışma sonucunda söz konusu kaba yemlerin in vitro GÜ ve in vitro görünür ve gerçek sindirilebilirlikleri arasında yüksek korelasyonlar tespit edilmiş ve korelasyon katsayıları $r=0.96$ ve 0.95 olarak bulunmuştur. Diğer yandan kaba yemlerin GÜ ile MPÜ ($r=-0.67$) ve GÜ ile ¹⁵N kazancı ($r=-0.77$) arasında negatif korelasyonlar saptanmıştır.

Blümmel ve ark. (1999b) tarafından, sığırlara yedirilen silaj-temeline dayalı değişik 4 rasyonun mikrobiyal etkinlikleri arasındaki olası farklılıkları saptamak amacıyla, bir araştırma yürütülmüştür. Mikrobiyal etkinliği hesaplamak için in vivo ve in vitro yöntemler kullanılmıştır. *In vitro* yöntem modifiye edilmiş in vitro gaz üretim yöntemine dayalıdır. Çok yıllık İngiliz çimi gelişmesinin 4 farklı döneminde hasat edilerek soldurulduktan kısa bir süre sonra silolanmıştır. Ham protein içeriği yetersiz olan silajlar, soya fasulyesi kullanılarak rasyon KM' sinde %13 HP içerecek şekilde dengelenmiştir. Bütün silajlar arpa temelli karma yemle desteklenmiş (0.49 kg/gün), 4 baş Angler Rotvich sığırı 4x4 Latin Kare Deneme Deseni' ne göre beslenmiştir. Organik madde tüketimi serbest yem tüketiminin %85' i ile kısıtlanmış ve in vivo OM sindirilebilirliğini belirlemek için 14 gün boyunca titanyum (IV)-oksitle işaretli dışkılar toplanmıştır. Efektif olarak sindirilebilir OM tüketimi in situ inkübasyonlarla tespit edilmiştir. *In vivo* mikrobiyal etkinlik böbreklerden atılan allantoin temel alınarak hesaplanmış ve sindirilebilir OM tüketimi ile efektif olarak sindirilebilir OM tüketimi ile ilişkilendirilmiştir. Silajlar ve karma yemler gerçek organik madde sindirilebilirliği (GOMS) ile GÜ' ni saptayabilmek amacıyla, rumen sıvısında in vitro inkübasyona bırakılmıştır. Genel olarak farklı yöntemler OM sindirimi mikrobiyal biyokitle verimi açısından benzer değerleri vermiştir. Farklı hasat dönemlerine ait silaj örnekleri ruminal olarak

her üç yöntemde de (in vivo, in situ ve in vitro) daha az sindirilmiştir. Bununla birlikte sadece in vitro GÜ yöntemiyle elde edilen sonuçlar farklılık göstermiştir. İlave olarak, olgunlaşmanın ileri döneminde hasat edilen bitkiden yapılan silajlarda sindirilen substratın daha az bir bölümü mikrobiyal biyokitleye dönüştürülmüştür. Silajların in vivo, in situ ve in vitro yöntemler sonucu elde edilen mikrobiyal etkinlik değerleri benzerlik göstermiştir.

Grings ve ark. (2005) tarafından yürütülen bir araştırmada MÜE' nin tahmini için in vivo ve in vitro yöntemler arasındaki ilişki, silaj temeline dayalı 4 farklı rasyon kullanılarak araştırılmıştır. *In vivo* yöntemler sığırların böbreklerinden allantoin boşaltımına, in vitro yöntemler ise GÜ ve gerçek substrat sindirilebilirliğinin birlikte kullanılmasına dayanmaktadır. Yemler 96 saat süreyle düşük N' li ve yüksek N' li rumen sıvısı-tampon çözelti karışımında inkübasyona bırakılarak gaz üretim değerleri kaydedilmiştir. Gaz hacminin yarısının oluştuğu süre ($t_{1/2}$) hesaplanarak tespit edilmiş ve aynı inkübasyon sıvısı kullanılarak $t_{1/2}'$ de durdurulacak ikinci bir inkübasyon yürütülmüştür. Gerçek substrat sindirilebilirliği inkübasyon kalıntısının gaz hacmi ile kombine edilerek kullanılmasıyla MÜE tahminlenmiştir. Düşük N' li ($R^2 = 0.94$, $P = 0.03$) ve yüksek N' li ($R^2 = 0.91$, $P = 0.04$) inkübasyon sıvılarında MÜE' nin in vitro ve in vivo tahmini birbiriyle ilişkili bulunmuştur.

2. MATERYAL ve YÖNTEM

2.1. Materyal

2.1.1. Yem materyali

Araştırmanın yem materyalini oluşturan buğday (*Triticum aestivum* L.) samanını Uludağ Üniversitesi (U.Ü.) Tarımsal Uygulama ve Araştırma Merkezi (TUAM) Ziraat Fakültesi Birimi'nden temin edilerek 2.5 mm çapında öğütülmüş ve kullanıma hazır hale getirilmiştir.

2.1.2. Enzim materyali

Buğday samanını enzimle işlemek için toz formda;

- Ø *Trichoderma viride* kaynaklı sellülaz (C-9422; Sigma-Aldrich, USA. E.C. No: 232-734-4; 1,4-(1,3:1,4)- β -D-Glucan 4-glukano-hidrolaz; 7000 U/g; 1 U 37 °C sıcaklık ve pH:5.0 olan 2 saatlik inkübasyon sonunda sellülozdan 1.0 μ mol glukozu serbest bırakmaktadır),
- Ø *Thermomyces lanuginosus* kaynaklı ksilanaz (X-2753; Sigma-Aldrich, USA. E.C. No: 253-439-7; Endo 1,4- β -ksilanaz; 2500 U/g),
- Ø Bu iki enzimin (sellülaz+ksilanaz, 1:7) yarı yarıya (50:50) karışımından oluşan bir kombinasyon kullanılmıştır.

Enzim dozları üretici firmanın bildirdiği enzim aktiviteleri göz önünde bulundurularak hesaplanmıştır.

2.1.3. Hayvan materyali

Araştırmanın hayvan materyalini U.Ü. TUAM Ziraat Fakültesi Birimi Süt Sığırcılığı Ünitesi'nde yetiştirilen, birinci laktasyonlarında ve canlı ağırlıkları yaklaşık 550 kg olan 2 baş Holstein süt ineği oluşturmuştur. Hayvanlar kaba yem olarak mısır silajı (%50) ve yoğun yem karması (%50) ile sabah ve akşam olmak üzere günde iki kez yemlenmiştir. Yoğun yem karması (%18 HP ve 2750 kcal/kg ME), %19 buğday, %18 arpa, %7 mısır, %12 buğday kepeği, %20

ayçiçeği tohumu küspesi, %7.4 pamuk tohumu küspesi, %8 soya küspesi, %5 melas, %3 mermer tozu, %0.5 tuz ve %0.1 vitamin-mineral karmasından oluşmuştur.

2.2. Yöntem

2.2.1. Enzimle işleme

Araştırmanın yem materyali olan ve 2.5 mm çapında öğütülen buğday samanı ile U.Ü. Ziraat Fakültesi Zootekni Bölümü Yemler ve Hayvan Besleme Araştırma ve Uygulama Laboratuvarı' nda bir ön çalışma yapılarak, araştırmada kullanılacak olan enzim dozları (KM' de) aşağıdaki gibi belirlenmiştir.

- Ø Trichoderma viride kaynaklı sellülaz için % 0, 0.2, 0.4, 0,6 ve 0.8;
- Ø Thermomyces lanuginosus kaynaklı ksilanaz için % 0, 1.4, 2.8, 4.2 ve 5.6;
- Ø Sellülaz+ksilanaz kombinasyonu (50:50) için %0, 0.1+0.7, 0.2+1.4, 0.3+2.1 ve 0.4+2.8.

Enzimle işlemede Nakashima ve ark. (1993) tarafından bildirilen yöntem kullanılmıştır. Buna göre %92.87 KM içeriğine sahip buğday samanını enzimle işlemek için ilave edilecek su miktarı, samana yaklaşık %40 KM sağlanacak şekilde hesaplanmış, enzimlerin yem materyaline etkili bir şekilde dağılımını sağlamak için, saman ile su karıştırılmadan hemen önce, enzimler suda çözündürülmüş ve sonra samana püskürtülerek emdirilmiştir. Karıştırma işleminden sonra buğday samanları 110 ml' lik cam kavanozlara (Şişecam, Türkiye) 3 paralelli olarak silolanmış ve hava almamaları için kapakların etrafı silikonla kaplanarak sabitlenmiş, bir kısmı inkübatörde (Nüve EN 500, Türkiye) 40 °C' de diğer kısmı ise karanlık ortamda oda sıcaklığında (21.8±0.22-22.3±0.18 °C) tutularak, açılmadan 30 gün muhafaza edilmiştir.

Bu süre sonunda kavanozlar açılarak, dijital pH-metre (Sartorius AG, Germany) ile pH' ları ölçülmüş ve enzimle işlenmiş saman örneklerinin bir kısmı; 1/10 oranında saf su ilave edilerek çalkalanıp süzdürüldükten sonra, laboratuvar santrifüjü (Sigma 6K15 Laborzentrifugen, 12165 H Rotor, Germany) kullanılarak 14.000 devir/dk' da, 30 dk süre ile santrifüj edilmiş ve üstte kalan berrak sıvı eppendorf tüplerine aktarılarak daha sonra yapılacak SÇK ve UYA analizleri için derin dondurucuda (UĞUR BK 600, Türkiye) -30 °C' de saklanmıştır. Diğer bir kısmı ise enzim aktivitesinin durdurulması amacıyla hemen etüve (Nüve FN 500, Türkiye) alınmış ve 100 °C' de kurutulularak kimyasal analizler için ayrılmıştır. Kurutulan örnekler laboratuvar tipi değirmende (3303 Mill, Hundunge, Sweden) 1 mm çapında öğütülerek kimyasal analizlere hazır hale getirilmiştir.

2.2.2. Gaz üretim tekniği

Buğday samanı örneklerinin rumende parçalanabilirlikleri Menke ve Steingass (1988) tarafından tanımlanan ve in vitro bir yöntem olan Gaz Üretim Tekniği ile saptanmıştır. Yöntemde yemlerin GÜ' ni saptayabilmek için uçlarına silikon hortum parçası ve hortum kısıpacı takılan 100 ml hacimli özel cam şırıngalar (Model Fortuna, Häberle Labortechnik, Lonsee-Ettlenschieß, Germany) kullanılmıştır. Öğütülmüş buğday samanı örneğinden laboratuvar tipi bir terazide 200 mg (KM' de) tartılıp (Sartorius AG Basic BA210S, Germany), cam şırıngaya yerleştirilmiş, şırınganın piston kısmına gaz üretildiği zaman kolay hareket edebilmesi için vazelin sürülmüştür. Her örnek için 3 paralel hazırlanmış, ilave olarak, kör deneme (yem içermeyen rumen sıvısı:yapay tükruk karışımı içerecek cam şırıngalar) için 3 paralel daha hazırlanıp şırıngalar numaralandırılmış ve 1 gece öncesinden etüvde 39°C sıcaklıkta tutulmuştur.

Yapay tükruk çözeltisini hazırlamak için düz tabanlı geniş bir cam şişeye 475 ml saf su, 240 ml makro mineral çözeltisi, 240 ml tampon çözelti, 0.12 ml mikro mineral çözeltisi ve 1.22 ml resazurin çözeltisi ilave edilerek, 39°C' ye ayarlanmış termostatlı bir su banyosunun (Nüve BM 102, Türkiye) içine

yerleştirilmiştir. Cam balona, son olarak 45 ml redüksiyon çözeltisi ilave edilerek magnetik bir karıştırıcıyla karıştırılması sağlanmıştır. Bir yandan karıştırma işlemi devam ederken, diğer bir yandan da balon içerisindeki yapay tükrük çözeltisinin ortasına silikon bir hortum daldırılarak yavaşça karbondioksit (CO₂) gazı verilmiştir. Bu işleme balon içerisindeki çözeltinin rengi maviden pembeye dönene kadar devam edilmiştir. Renk pembeye döndüğünde CO₂ gazı veren hortumun ucu balon içerisindeki karışımın üst yüzeyine çıkartılıp gaz akışına devam edilmiştir. Çizelge 2.2.2.1' de yapay tükrük hazırlamak için kullanılan çözeltilerin kimyasal bileşimleri ve kullanılacak miktarlar ve Çizelge 2.2.2.2' de ise farklı hacimlerde hazırlanan yapay tükrük çözeltisi için kullanılan çözelti hacimleri verilmiştir.

Bir yandan yapay tükrük çözeltisi hazırlanırken diğer yandan 2 baş Holstein süt ineğinden sabah yemlemesi öncesinde rumen sıvısı alınarak, kapaklı pyrex şişeye aktarılmış, 39 °C' ye ayarlı bir termos içerisinde sıcaklığını kaybetmesine izin vermeyecek şekilde hemen laboratuara getirilmiştir. Öncelikle rumen sıvısının pH' sı ölçülmüştür. Bir miktar rumen sıvısı 14.000 devir/dk' da 30 dk süre santrifüj edilerek berrak sıvıdan alınıp üzerine koruyucu ilave edilerek daha sonra yapılacak UYA analizi için derin dondurucuda -30 °C' de saklanmıştır. Geri kalan rumen sıvısı 2 kat tülbent beziyle süzdürülmüş ve hazırlanan 1000 ml' lik yapay tükrük çözeltisinin üzerine 500 ml rumen sıvısı ilave edilmiştir. Cam balon içerisindeki rumen sıvısı:yapay tükrük karışımının iyice karışmasını sağlamak için 15 dk süreyle karıştırma işlemine devam edilmiştir. Bu sürenin sonunda bir gece öncesinden hazırlanmış cam şırıngalara, hazırlanan rumen sıvısı:yapay tükrük (1:2) karışımından bir dispenser kullanılarak 30 ml aktarılmış, hortum kısıacı kapatılarak 39 °C su sıcaklığına sahip termostatlı su banyosunun içerisine cam şırınganın piston kısmı yukarıda kalacak şekilde dik olarak yerleştirilip GÜ için inkübasyon başlatılmıştır. Cam şırıngalarda oluşan gaz hacmi 3, 6, 12 ve 24 saatlik inkübasyon süreleri sonunda kaydedilip elde edilen veriler Ørskov ve McDonald (1979) tarafından geliştirilen modele göre hesaplanarak GÜ değerleri bulunmuştur.

Çizelge 2.2.2.1. Yapay tükrük hazırlamada kullanılan çözeltilerin kimyasal bileşimleri ve kullanılan miktarlar

Kimyasallar	Makro mineral çözeltisi (g/L H ₂ O)	Mikro mineral çözeltisi (g/100 ml H ₂ O)	Tampon çözeltisi (g/L H ₂ O)	Resazurin çözeltisi (g/100 ml H ₂ O)
Na ₂ HPO ₄	5.7	-	-	-
KH ₂ PO ₄	6.2	-	-	-
MgSO ₄ .7H ₂ O	0.6	-	-	-
CaCl ₂ .2H ₂ O	-	13.2	-	-
MnCl ₂ .4H ₂ O	-	10.0	-	-
CoCl ₂ .6H ₂ O	-	1.0	-	-
FeCl ₂ .6H ₂ O	-	0.8	-	-
NaHCO ₃	-	-	35.0	-
NH ₄ HCO ₃	-	-	4.0	-
C ₁₂ H ₆ O ₄ Na	-	-	-	0.1

Çizelge 2.2.2.2. Farklı hacimlerde hazırlanacak yapay tükrük çözeltisi için kullanılacak çözelti hacimleri

Yapay tükrük çözeltisi	Çözeltilerin karışım miktarları (ml)						
	1000	1250	1500	1750	2000	2250	2500
Saf su (ml)	474.500	593.125	711.750	830.375	949.000	1067.625	1186.250
Makro mineral çözeltisi (ml)	237.230	296.538	355.845	415.153	474.460	533.768	593.075
Tampon çözeltisi (ml)	237.230	296.538	355.845	415.153	474.460	533.768	593.075
Mikro mineral çözeltisi (ml)	0.120	0.150	0.180	0.210	0.240	0.270	0.300
Resazurin çözeltisi (ml)	1.220	1.525	1.830	2.135	2.440	2.745	3.050
Redüksiyon çözeltisi							
Saf su (ml)	47.450	59.313	71.175	83.038	94.900	106.763	118.625
1N NaOH (ml)	1.990	2.488	2.985	3.483	3.980	4.478	4.975
Na ₂ S.7H ₂ O (g)	0.285	0.356	0.428	0.499	0.570	0.641	0.713

2.2.3. Metabolik enerjinin hesaplanması

Buğday samanlarının ME içerikleri, Menke ve ark. (1979) tarafından kaba yemler için bildirilen aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır. Formülde MJ cinsinden hesaplanan ME, bir katsayı kullanılarak kcal/kg' a dönüştürülmüştür. (1 MJ = 239.005736138 kcal).

$$ME \text{ (MJ/kg KM)} = 2.20 + 0.136 \times GÜ + 0.057 \times HP \text{ (R}^2 = 0.94\text{)}$$

ME: Metabolik enerji

GÜ: 200 mg kuru kaba yem örneğinin 24 saat inkübasyon süresi sonundaki net gaz üretimi

HP: % KM' de ham protein

2.2.4. *In vitro* kuru madde sindirilebilirliği, gerçek organik madde sindirilebilirliği ve mikrobiyal protein üretiminin saptanması

Buğday samanlarının rumen bakterileri kaynaklı protein biyokütlesinin gelişmesi üzerine etkileri Makkar ve ark. (1995; 1997) ile Blümmel ve ark. (1997a) tarafından bildirilen yöntemlere göre saptanmıştır. Bu amaçla, gaz üretim tekniğinde belirtilen ve kontrol, işlenmiş buğday samanları ve kör deneme başına en az 6 paralel olacak şekilde hazırlanan cam şırıngaların içerisine yem örneklerinden yaklaşık 500 mg (KM' de) tartılmış (a) ve üzerine 40 ml rumen sıvısı:yapay tükrük çözeltisi karışımı aktarıldıktan sonra şırıngalar 24 saat süreli bir inkübasyona bırakılmıştır.

İnkübasyon süresinin sonunda 3 adet şırınganın içeriği, darası alınmış 70 ml' lik santrifüj tüplerine (b) ayrı ayrı aktarılıp +4 °C sıcaklıkta 14.000 devir/dk' da 30 dk süre ile santrifüj edilerek, tüpün içerisindeki berrak sıvıdan otomatik pipetle bir miktar alınıp üzerine koruyucu eklenmiş ve daha sonra yapılacak UYA analizleri için derin dondurucuda -30 °C' de saklanmıştır. Örnek aldıktan sonra santrifüj tüpü içerisinde kalan sıvı kısım tamamen atılmıştır. Daha sonra cam şırıngalar bir dispenser (Brand Dispensette, Germany) yardımıyla 60 ml NaCl çözeltisi (4 g NaCl/L) ile yıkanıp içeriği santrifüj tüplerine aktarılmıştır. Santrifüj tüplerinin diplerinde kalan kalıntının sıvı kısım ile karışabilmesi için tüpler elde iyice çalkalandıktan sonra tekrar +4 °C' de 30 dk' lık santrifüj işlemi gerçekleştirilmiş ve üstte kalan sıvı kısım pipetle alınarak dışarı atılmıştır. Santrifüj tüpleri içerisindeki kalıntı, etüvde 105 °C sıcaklıkta 3 saat tutularak kurumaya bırakılmış ve daha sonra içerisinde kurumuş kalıntı bulunan tüplerin ağırlıkları saptanmıştır (c).

Sonraki aşamada geri kalan 3 şırınganın içeriği 600 ml' lik cam beherlere ayrı ayrı aktarılıp, şırıngalar dispenser kullanılarak kalıntı kalmayacak şekilde 70 ml NDF çözeltisi ile yıkanmış ve içerik behere tamamen aktarıldıktan sonra 1 saat süreyle kaynatılmıştır. Bu sürenin sonunda darası alınmış filtreli cam krozelerde (Gooch kroze, porozite:1) (d) süzdürülmüştür. Krozeler 1 gece boyunca 105 °C sıcaklıktaki etüvde kurutulduktan sonra ağırlıkları saptanmıştır (e). Son olarak içinde NDF kalıntısı bulunan ağırlığı saptanmış krozeler 550 °C' ye ayarlı kül fırınında (Nüve MF 120, Türkiye) 3,5 saat süre tutularak yakılmış ve oda sıcaklığına soğutulduktan sonra ağırlıkları saptanmıştır (f).

Bu işlemlerin sonunda aşağıdaki eşitlikler yardımıyla (kör inkübasyonlar sonucu elde edilen kalıntı ağırlığına göre düzeltilerek) yem örneklerinin KMS, GOMS ve MPÜ saptanmıştır. Gerçek organik madde sindirilebilirlikleri hesaplanırken cam şırınganın içine tartılmış olan örnek miktarı OM' ye göre düzeltilmiştir.

$$\text{Kuru Madde Sindirilebilirliği (\%)} = \frac{a - (c - b)}{a} \times 100$$

$$\text{Gerçek Organik Madde Sindirilebilirliği (\%)} = \frac{a - (e - f)}{a} \times 100$$

$$\text{Mikrobiyal Protein Üretimi (mg)} = (c - b) - (e - f)$$

a: Örnek miktarı (mg KM)

b: Boş santrifüj tüpü ağırlığı (g)

c: Kurutulmuş kalıntı içeren santrifüj tüpü ağırlığı (g)

d: Boş cam kroze ağırlığı (g)

e: NDF kalıntısı içeren kurutulmuş cam kroze ağırlığı (g)

f: NDF külü içeren cam kroze ağırlığı (g)

2.2.5. Kimyasal analizler

Araştırmada kullanılan işlenmemiş ve farklı koşullarda enzimle işlenmiş buğday samanlarının besin maddeleri içerikleri U.Ü. Ziraat Fakültesi Zootekni Bölümü Araştırma ve Uygulama Laboratuvarında AOAC (1990) tarafından bildirilen analiz yöntemlerine göre, hücre duvarı bileşimi Van Soest ve ark. (1991) tarafından bildirilen yöntemle göre saptanmıştır.

2.2.5.1. Temel ham besin maddeleri analizleri

Buğday samanlarının temel ham besin maddeleri analizleri sırasında KM, yaklaşık 3 g samanın 100 °C' de 2-2.5 saat süre ile etüvde tutulması; ham kül (HK), yaklaşık 2 g samanın kül fırınında 550-600 °C' de 3.5-4 saat süreyle yakılması; ham protein (HP), yaklaşık 1 g samanın Kjeldahl yöntemine göre ($N \times 6.25$) yakma (Gerhardt Kjeldatherm, Germany), damıtma (Gerhardt Vapodest 1, Germany), ve titrasyon (Brand, Bürette Digital III, Germany) aşamaları geçirmesi; ham yağ (HY), yaklaşık 3 g samanın 4 saat süre ile soxhlet cihazında (Kerman, Türkiye) 5-6 damla/sn' lik di-etil eter ekstraksiyonuna tabi tutulması sonucu saptanırken, OM içerikleri hesap yoluyla ($OM = KM - HK$) saptanmıştır.

2.2.5.2. Suda çözünebilir karbonhidrat analizi

Suda çözünebilir karbonhidrat analizi, Dubois (1956) tarafından bildirilen fenol sülfürik asit yöntemine göre saptanmıştır. Yöntemin ayrıntıları aşağıda bildirilmiştir.

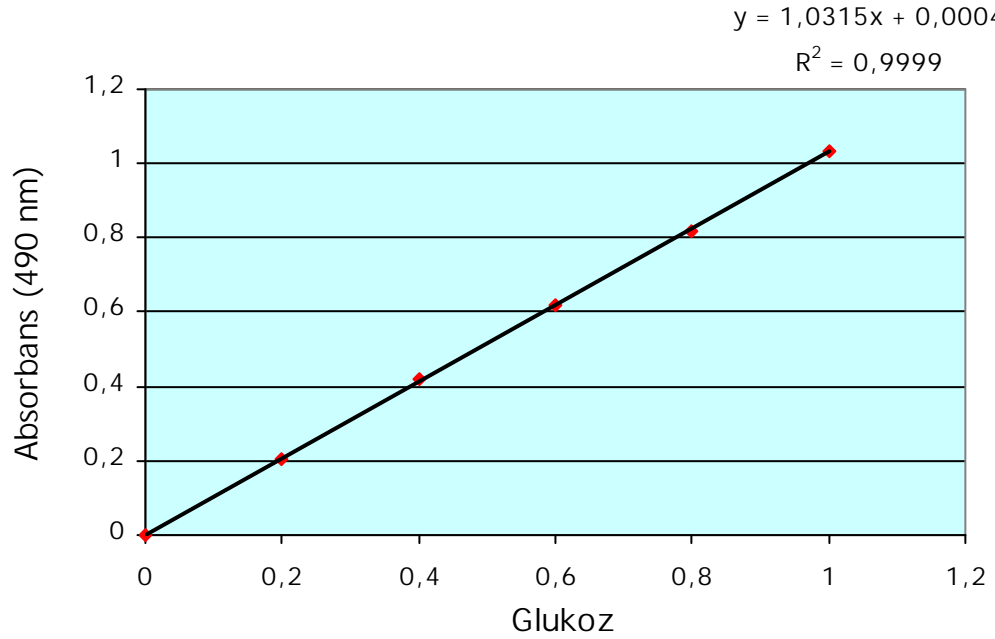
Glukoz standart eğrisinin oluşturulması: İçerisine 1 ml saf su eklenmiş deney tüplerine, 100mg/100ml oranında hazırlanmış glukoz stok çözeltisinden bir otomatik pipet (Finnpipette® Thermo Electron Corporation, USA) yardımıyla 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 ve 1 ml aktarılmış ve bu miktarlar saf su ile 1 ml' ye tamamlanarak tüplerin üzerine önce 0.150 ml %80' lik fenol (C_6H_5OH) çözeltisi (80g/ 100ml), sonra 5 ml % 8' lik derişik sülfürik asit (H_2SO_4) ilave edilmiştir. İyi bir karışım sağlanabilmesi için, sülfürik asit ilave edilirken; deney tüpü içerisinde bulunan solüsyonun orta yüzeyine hızlıca bırakılmasına,

sıçrama olmamasına dikkat edilmiştir. Hazırlanan tüpler 30 sn süre ile vortekslenerek (Heidolph Reax Top, Germany) tüp içerisindeki solüsyonun iyice karışması sağlanmış, bütün tüpler vortekslendikten sonra hazırlanan glukoz standartları 10-15 dk süre oda sıcaklığında soğumaya bırakılmıştır. Süre sonunda spektrofotometrede (Shimadzu UV-VIS mini 1240, Japan) glukoz standartlarının 490 nm dalga boyundaki absorbands değerleri okunmuştur.

Yem örneğinin hazırlanışı: Bölüm 2.2.1' de belirtildiği şekilde elde edilerek derin dondurucuda saklanan örnekler oda sıcaklığına geldikten sonra saf su ile 1/100 oranında tekrar seyreltilerek homojenize edilmiş ve kullanıma hazır hale getirilmiştir (sonuç seyreltme oranı: 1/1000).

Analiz: Yukarıdaki gibi hazırlanan yem örneğinden otomatik pipet yardımıyla 1 ml alınarak, içerisine 1 ml saf su bulunan deney tüplerine aktarılmış, tüplerin üzerine önce 0.150 ml %80' lik fenol çözeltisi, sonra 5 ml %98' lik derişik sülfürik asit ilave edilmiştir. Hazırlanan tüpler yukarıda belirtildiği gibi homojenize edilip soğumaya bırakılmış ve spektrofotometre cihazında 490 nm dalga boyundaki absorbands değerleri okunmuştur.

Hesaplama: 0, 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 ve 1 ml glukoz (g/L) içerecek şekilde hazırlanan standartların okuma değerleri yardımıyla, Mikrosoft Excel programı kullanılarak standart bir eğri çizilmiştir (Şekil 2.2.5.2). Okunan yem örneği absorbands değerleri seyreltme katsayısı (10 kat) dikkate alınarak bu eğriye karşı hesaplanmış ve bulunan değer KM değerine oranlanarak yapılan bir hesaplama sonucunda SÇK içeriği saptanmıştır.



Şekil 2.2.5.2. 490 nm dalga boyunda okunan örnek glukoz standart eğrisi

2.2.5.3. Hücre duvarı bileşimi analizleri

Hücre duvarı bileşimi deterjan lif analiz yöntemleri ile aşağıda açıklandığı şekilde saptanmıştır (Van Soest ve ark., 1991).

2.2.5.3.1. NDF analizi

Elek çapı 1 mm olan değirmende öğütülmüş 500 mg havada kuru yem örneği 600 ml' lik bir behere yerleştirilmiş ve üzerine 50 ml NDF çözeltisi (Çizelge 2.2.5.3.1) 1 ml $C_{10}H_{18}$ (dekahidronaftalin) ve 250 mg $Na_2S_2O_5$ (sodyum sülfid) ilave edilmiştir. Karışım ısıtıcı düzeneğe yerleştirilmiş, kaynamaya başladığı noktadan itibaren 1 saat süre ile kaynatılmıştır. Dara ağırlığı kaydedilmiş (1. tartı) filtreli cam krozede (Gooch kroze, porozite:1) sıcak su (90-100 °C) ve ardından asetonla yıkanmıştır. NDF kalıntısını içeren krozeler 1 gece boyunca etüvde 100 °C' de tutularak kurutulmuş ve soğutulduktan sonra tartılmıştır (2. tartı).

Hesaplama:

1. tartı = Boş cam kroze ağırlığı (g)

2. tartı = NDF kalıntısını içeren etüvde kurutulmuş cam kroze ağırlığı (g)

$$\%NDF = [(2. \text{ tartı} - 1. \text{ tartı}) / \text{örnek miktarı}] \times 100$$

Çizelge 2.2.5.3.1. Deterjan lif analiz yönteminde kullanılacak NDF ve ADF çözeltilerinin kimyasal bileşimleri

Kimyasallar	NDF çözeltisi (g L/H ₂ O)	ADF çözeltisi (g L/0.5 M H ₂ SO ₄)
C ₁₂ H ₂₅ O ₄ Na	30.0	-
C ₁₀ H ₁₆ N ₂ O ₈ Na ₂ 2H ₂ O	18.6	-
Na ₂ HPO ₄	4.56	-
C ₄ H ₁₀ O ₂	10.0	-
Na ₂ B ₄ O ₇ .10H ₂ O	6.81	-
C ₁₆ H ₃₃ N(CH ₃) ₃ Br	-	20.0

2.2.5.3.2. ADF analizi

1 mm elek çaplı değirmende öğütülmüş havada kuru 500 mg örnek, 600 ml' lik behere yerleştirilip üzerine 50 ml ADF çözeltisi (Çizelge 2.2.5.3.1) ve 1 ml C₁₀H₁₈ ilave edilmiştir. Isıtıcı düzeneğe yerleştirilen karışım NDF analizinde tanımlandığı gibi kaynatılmış, tara ağırlığı kaydedilmiş (1. tartı) filtreli cam krozede süzdürülmüş ve 100 °C' de kurularak tekrar tartılmıştır (2. tartı).

Hesaplama:

1.tartı = Boş cam kroze ağırlığı (g)

2.tartı = ADF kalıntısını içeren etüvde kurutulmuş cam kroze ağırlığı (g)

$$\% ADF = [(2. \text{ tartı} - 1. \text{ tartı}) / \text{örnek miktarı}] \times 100$$

Kaba yemin NDF ve ADF içeriği arasındaki farktan hemisellüloz içeriği hesaplanmıştır.

$$\% \text{Hemisellüloz} = \%NDF - \%ADF$$

2.2.5.3.3. ADL analizi

ADL analizi için ADF analizinde uygulanan prosedür kullanılmıştır. İçerisinde ADF kalıntısı bulunan cam kroze ADF hesabı için tartıldıktan sonra, ADL analizi için %72' lik H₂SO₄ çözeltisi ile 2 defa süzdürüldükten sonra oda sıcaklığında 3 saat bekletilmiştir. Süre sonunda asitinden arındırmak için, sıcak su ile (90-100 °C) krozede asit kalıntısı kalmayıncaya kadar yıkanmıştır. Bu işlemden sonra etüvde 1 gece boyunca 100 °C' de bekletilen örnek soğutulularak darası alınmıştır (3. tartı).

Hesaplama:

1.tartı = Boş kroze ağırlığı (g)

3.tartı = %72' lik H₂SO₄ ile işlenmiş etüvde kurutulmuş ADL kalıntısı içeren kroze ağırlığı (g)

$$\%ADL = [(3. \text{ tartı} - 1. \text{ tartı}) / \text{örnek miktarı}] \times 100$$

Kaba yemin ADF ve ADL içeriği arasındaki farktan sellüloz içeriği hesaplanmıştır.

$$\%Sellüloz = \%ADF - \%ADL$$

2.2.5.4. Uçucu yağ asitleri analizleri

Daha önce bölüm 2.2.1' de (kavanozlara silolanarak inkübasyona bırakılan) ve 2.2.3' de (in vitro gaz üretim tekniği ile rumen sıvısı+yapay tükürük çözeltisi ile inkübasyona bırakılan) işlenmemiş ve farklı koşullarda enzimlerle işlenmiş buğday samanı örneklerinin UYA değerleri, gaz kromatografi cihazında (Agilent Technologies 6890N Network GC System, 7683 B Series Injector, China), kapillar kolon (Stabilwax[®]-DA; Crossbond "Carbowax"-PEG, asidik bileşikler için, 30 m, 0.25 mm ID, 0.25µm df, maksimum program sıcaklığı: 260°C) kullanılarak saptanmıştır. Kromatografin fırını 100 °C' de 5 dk, ardından 10 °C/dk artışla 160 °C' de 2 dk ve son olarak 80°C/dk artışla 5 dk bekleme şeklinde programlanmıştır.

2.2.6. İstatistik analizler

Araştırmadan elde edilen bulguların istatistiki analizinde aşağıdaki lineer modelden yararlanılmıştır.

$$Y_{ijkl} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \delta_k + \alpha\beta_{ij} + \alpha\delta_{ik} + \beta\delta_{jk} + \alpha\beta\delta_{ijk} + \delta\epsilon_{ijkl}$$

$$Y_{ijkl} = i' \text{ inci enzimin } j' \text{ inci enzim dozunun } k' \text{ ıncı inkübasyon sıcaklığında } l' \text{ inci buğday samanının gözlem değeri}$$

$$\mu = \text{Genel ortalama}$$

$$\alpha_i = i' \text{ inci enzimin etkisi } (i = 3)$$

$$\beta_j = j' \text{ inci enzim dozunun etkisi } (j = 5)$$

$$\delta_k = k' \text{ ıncı inkübasyon sıcaklığının etkisi } (k = 2)$$

$$\alpha\beta_{ij} = i' \text{ inci enzim ile } j' \text{ inci enzim dozu arasındaki interaksiyonun etkisi}$$

$$\alpha\delta_{ik} = i' \text{ inci enzim ile } k' \text{ ıncı inkübasyon sıcaklığı arasındaki interaksiyonun etkisi}$$

$$\beta\delta_{jk} = j' \text{ inci enzim dozu ile } k' \text{ ıncı inkübasyon sıcaklığı arasındaki interaksiyonun etkisi}$$

$$\alpha\beta\delta_{ijk} = i' \text{ inci enzimin } j' \text{ inci enzim dozu ile } k' \text{ ıncı inkübasyon sıcaklığı arasındaki interaksiyonun etkisi}$$

$$\delta\epsilon_{ijkl} = \text{Deneme hatası}$$

Etkilerin belirlenmesinde yukarıda verilen modeller kullanılmış ve istatistik analizler MINITAB paket programında (MINITAB, 1996) yapılmış, elde edilen ortalamalar arasında görülen farklılıkların önem seviyesinin kontrol edilmesinde ise Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi' nden yararlanılmıştır (Snedecor ve Cochran, 1975).

3. ARAŞTIRMA SONUÇLARI ve TARTIŞMA

3.1. Buğday Samanlarının Kimyasal Bileşimi

Araştırmada üzerinde çalışılan bütün işleme koşulları; enzim çeşidi, enzim dozu ve inkübasyon sıcaklığı, kimyasal analizlerle belirlenen besin maddeleri parametreleri üzerinde farklı etkilerde bulunmuştur. Araştırmanın yem materyalini oluşturan buğday samanının kimyasal bileşimi Çizelge 3.1.1' de verilmiştir.

Çizelge 3.1.1. İşlenmemiş buğday samanının kimyasal bileşimi (KM' de)

Kimyasal analizler	Buğday samanı
pH	6.62
Kuru madde (%)	92.87
Suda çözünebilir karbonhidrat (%)	3.90
Ham yağ (%)	1.72
Ham protein (%)	2.10
Ham kül (%)	7.54
Organik madde (%)	85.33
Nötr deterjanda çözünmeyen lif (%)	81.73
Asit deterjanda çözünmeyen lif (%)	53.27
Asit deterjanda çözünmeyen lignin (%)	12.16
Hemisellüloz (%)	28.46
Sellüloz (%)	41.11
Laktik asit (mg/kg)	-
Asetik asit (mg/kg)	53.28
Propiyonik asit (mg/kg)	1.25
İzobütrik asit (mg/kg)	0.38
Bütrik asit (mg/kg)	0.65
İzovalerik asit (mg/kg)	0.88
Valerik asit (mg/kg)	0.31
Toplam uçucu yağ asitleri (mg/kg)	56.75
Etanol (mg/kg)	-

Buğday samanının, oda sıcaklığı (22 °C) ve 40 °C' de *Trichoderma viride* kaynaklı sellülazla % 0, 0.2, 0.4, 0.6 ve 0.8; *Thermomyces lanuginosus* kaynaklı ksilanazla % 0, 1.4, 2.8, 4.2 ve 5.6; sellülaz+ksilanaz kombinasyonu (50:50) %0, 0.1+0.7, 0.2+1.4, 0.3+2.1 ve 0.4+2.8 dozlarında, kontrol ve işleme başına 3 paralelli olarak (n=3) işlendikten sonra 30 gün süre ile inkübe edilmesi sonucundaki kimyasal bileşimi Çizelge 3.1.2 ile Şekil 3.1.1, 3.1.2, ve 3.1.3' de verilmiştir.

Çizelge 3.1.2 ile Ek 1'deki çizelge incelendiğinde işleme koşulları arasındaki interaksyonlar hemen hemen bütün kimyasal analiz parametrelerinde gözlenmektedir. Farklı düzey ve sıcaklıklarda fibrolitik enzimlerle işlenen buğday samanlarının pH değerleri incelendiğinde, bütün işleme koşullarının (enzim çeşidi, enzim dozu, inkübasyon sıcaklığı ve bunların birbirleriyle olan interaksyonlarının pH üzerindeki etkilerinin önemli olduğu görülmektedir ($P<0.05$). Fibrolitik enzimlerle işlenmiş buğday samanlarının 30 günlük silolama dönemi sonundaki pH' ları, işlenmemiş (6.62; Çizelge 3.1.1) ve kontrol buğday samanlarına (22 °C' de 5.14; 40 °C' de 5.10) göre belirgin bir düşüş göstermiştir (Çizelge 3.1.2; $P<0.05$). İşleme koşullarından inkübasyon sıcaklığı pH üzerinde etkili bulunurken, enzim çeşidi dikkate alındığında sellülaz ve sellülaz+ksilanazla işlenen grupların ortalamaları birbirleriyle benzer ve ksilanazdan daha düşük bulunmuştur (Ek 1; $P<0.05$). Enzim çeşidi x enzim dozu x inkübasyon sıcaklığı üçlü interaksyonu dikkate alındığında, yalnızca bir grup dışında (%0.3+2.1 sellülaz+ksilanaz) 40 °C' deki işleme koşullarında elde edilen pH değerleri, oda sıcaklığındaki işlemlerden (22 °C) daha düşük bulunmuş ve en düşük pH değerleri her iki inkübasyon sıcaklığında sellülaz+ksilanaz enziminin en yüksek dozu ile (22 °C' de 4.07; 40 °C' de 4.03) elde edilmiştir (Çizelge 3.1.2; $P<0.05$). pH değerlerinde gözlenen bu düşüş, enzimlerin hücre duvarını oluşturan sellüloz, hemisellüloz gibi yapısal polisakaritleri parçalamasıyla açığa çıkan basit şekerlerin, homofermantatif ve heterofermantatif bakterilerin kullanımı için kaynak teşkil ettiğini ve özellikle artan enzim uygulama dozlarında pH' nın daha fazla düşmesi sonucu, fermantasyonun ilerleyen aşamalarında laktik asit bakterilerinin kullanımı için daha fazla basit şeker sağlanıp daha fazla laktik asit üretildiği için ortam asitliğinin artmasının bir sonucu olduğu düşünülmektedir. pH değerlerindeki düşüş, Shultz ve ark (1974), Gupta ve Pradhan (1977), Nakashima ve ark. (1993) ile Filya ve ark. (2001a, b) tarafından da bildirilmiştir.

Suda çözünebilir karbonhidrat içerikleri dikkate alındığında, bütün işleme koşullarının (enzim çeşidi, enzim dozu, inkübasyon sıcaklığı) ve bunların birbirleriyle olan interaksiyonlarının etkilerinin önemli olduğu görülmektedir (Çizelge 3.1.2; Ek 1; $P<0.05$). Enzim çeşidi interaksiyonu tek başına göz önüne alındığında sellülaz ve sellülaz+ksilanaz karışımıyla işlenen grupların etkileri benzer ve sadece ksilanazla işlenen gruptan yüksek bulunmuştur. Artan enzim dozları ile birlikte SÇK artmış ve inkübasyon sıcaklığı bakımından 40 °C' deki grupların SÇK ortalaması (%6.13) oda sıcaklığına (%3.83) göre daha yüksek bulunmuştur (Ek 1; $P<0.05$). İşleme koşullarının üçlü interaksiyonu (enzim çeşidi x enzim dozu x inkübasyon sıcaklığı) dikkate alındığında SÇK içeriğinin başlangıç materyalinde %3.90 (Çizelge 3.1.1), kontrol gruplarında; 22 °C' de %0.61, 40 °C' de %0.68 olduğu araştırmada, en yüksek değerler, oda sıcaklığında %0.8 dozunda sellülazla işlenen gruptan (%8.96), 40 °C'de ise %0.8 dozunda sellülaz (%10.17) ve %0.4+2.8 dozunda sellülaz+ksilanazla işlenen gruptan (%10.36) elde edilmiştir (Çizelge 3.1.2; $P<0.05$). Suda çözünebilir karbonhidratların başlangıç ve kontrol gruplarına göre önemli bir artış göstermesinin sellülazın tek başına ve sellülaz+ksilanazın sinerjik etkisiyle hücre duvarı kapsamının hidrolize edilerek basit şekerlere dönüştürülmesinin sonucu olduğu düşünülmektedir. Ksilanazın diğer iki enzime göre oldukça zayıf etki göstermesinin nedeni olarak, bu enziminin etki mekanizmasının buğday samanının içerdiği sellüloz ünitelerinden glukoz birimlerini ayırmada sellülaza göre daha zayıf kalması olduğu söylenebilir. Suda çözünebilir karbonhidrat içeriğinde görülen artış Kung ve ark. (1991), Nakashima ve ark. (1993) ile Rodrigues ve ark. (2001)'nin bulgularıyla benzerlik göstermektedir.

Farklı doz ve sıcaklıklarda fibrolitik enzimlerle işlenen buğday samanlarının HY içerikleri incelendiğinde, işleme koşullarından inkübasyon sıcaklığı tek başına önemsiz (Ek 1; $P>0.05$), fakat, enzim çeşidi, enzim dozu, bunların birbirleriyle ve inkübasyon sıcaklığı ile olan interaksiyonları önemli bulunmuştur (Çizelge 3.1.2; Ek 1; $P<0.05$). İşlem gören bütün grupta HY, hem başlangıç materyaline (%1.72; Çizelge 3.1.1) hem de kontrol gruplarına

(22 °C' de %1.87; 40°C' de %2.02) göre önemli artış göstermiştir (Çizelge 3.1.2; Ek 1; $P<0.05$). En yüksek HY değerleri her iki inkübasyon sıcaklığında sellülaz+ksilanaz enziminin en yüksek dozunda (22 °C' de %2.75; 40 °C' de %2.74) elde edilmiştir (Çizelge 3.1.2; $P<0.05$). Bu durum sellülaz ve ksilanaz enzimlerinin sinerjik etki göstererek, hücre duvarı kapsamındaki sellüloz ve ksilan polisakaritlerinin matrisinden lipid komplekslerini serbest bıraktığını göstermektedir.

Ham protein içerikleri yönünden sadece enzim çeşidi tek başına önemsiz kalmış (Ek 1; $P>0.05$); enzim dozu, inkübasyon sıcaklığı, bunların birbirleriyle ve enzim çeşidi ile olan interaksiyonları ise önemli derecede etkili olmuştur (Çizelge 3.1.2; Ek 1; $P<0.05$). Yalnızca bir işleme koşulunda başlangıç materyaline göre düşüş gözlenirken (22 °C' de %0.1+0.7 sellülaz+ksilanaz; %2.06) bunun dışındaki diğer grupların HP düzeyleri hem başlangıç materyaline (%2.10; Çizelge 3.1.1) hem de kontrol gruplarına (22 °C' de %1.84; 40 °C' de %2.05) göre artış göstermiştir (Çizelge 3.1.2; $P<0.05$). En yüksek HP değerleri ksilanaz enziminin her iki inkübasyon sıcaklığının en yüksek dozunda yapılan işlemlerden (22 °C' de %2.75; 40 °C' de %2.88) elde edilmiştir (Çizelge 3.1.2; $P<0.05$). Enzim çeşidi x enzim dozu interaksiyonu birlikte dikkate alındığında, sellülaz ve sellülaz+ksilanaz gruplarının ortalamaları birbirine benzer; fakat sadece ksilanaz katkılı gruplardan düşük bulunmuştur ($P<0.05$). Bunun nedeni olarak ksilanaz saldırısıyla bir hemisellüloz olan ksilanların içerdiği glikoprotein komplekslerinden ksilanazın saldırısı sonucunda glikoz ünitesinin ayrılmasıyla protein bileşiklerinin serbest kalması gösterilebilir. Ksilanazın diğer enzimlerden daha etkili olmasının nedeni, ksiloz birimlerinden glikoz birimlerini ayırmanın sellüloz birimlerinden ayırmaya göre daha kolay olmasıdır. Ham protein içeriğinde gerçekleşen bu artış Zinn ve Salinas (1999)' ın bulgularıyla uyumludur.

Ham kül içerikleri incelendiğinde farklı etkiler hemen göze çarpmaktadır. Örneğin, enzim çeşitleri ve inkübasyon sıcaklıklarının ikili etkisi dikkate alındığında, oda sıcaklığındaki işlemlerin kontrole (%7.86;) göre düşük fakat işlem görmemiş buğday samanına (%7.54; Çizelge 3.1.1;) göre

genellikle yüksek olduğu görülmektedir (Çizelge 3.1.2). İnkübasyon sıcaklığı, enzim çeşidi x inkübasyon sıcaklığı, enzim çeşidi x enzim dozu x inkübasyon sıcaklığı interaksiyonları ele alındığında ise 40 °C' deki bütün işlemlerden elde edilen ortalama HK değerleri başlangıç materyali ile kontrole (%7.70) göre düşük bulunmuştur (Çizelge 3.1.2; Ek 1; P<0.05). Bu durum artan enzim dozu ile birlikte 40 °C' deki işlemlerin oda sıcaklığına göre hücre duvarından, daha fazla besin maddesini serbest bıraktığını doğrulamaktadır.

Organik madde içerikleri incelendiğinde, enzim çeşidinin tek başına etkisi önemsiz bulunurken (Ek 1; P>0.05), bunun dışındaki işleme koşulları ve birbirleriyle olan interaksiyonlarının etkilerinin önemli olduğu görülmektedir (Çizelge 3.1.2; Ek 1; P<0.05). İnkübasyon sıcaklıklarından 40 °C' deki grupların ortalaması (%92.62) oda sıcaklığına göre (%92.18) daha yüksek bulunmuş (Ek 1; P<0.05), artan enzim dozları genel olarak OM değerlerini artırmıştır. En yüksek OM değerleri 40 °C' de sellüloz+ksilanaz enziminin en yüksek dozuyla (%0.4+2.1) elde edilirken (%92.96 OM), oda sıcaklığında ise sellülozın en yüksek dozunda (%0.8) elde edilmiştir (%92.44 OM) (Çizelge 3.1.2; P<0.05). Organik madde değerlerinde elde edilen artışlar, ham besin madde içeriklerinde sağlanan gelişmelerle paralel niteliktedir.

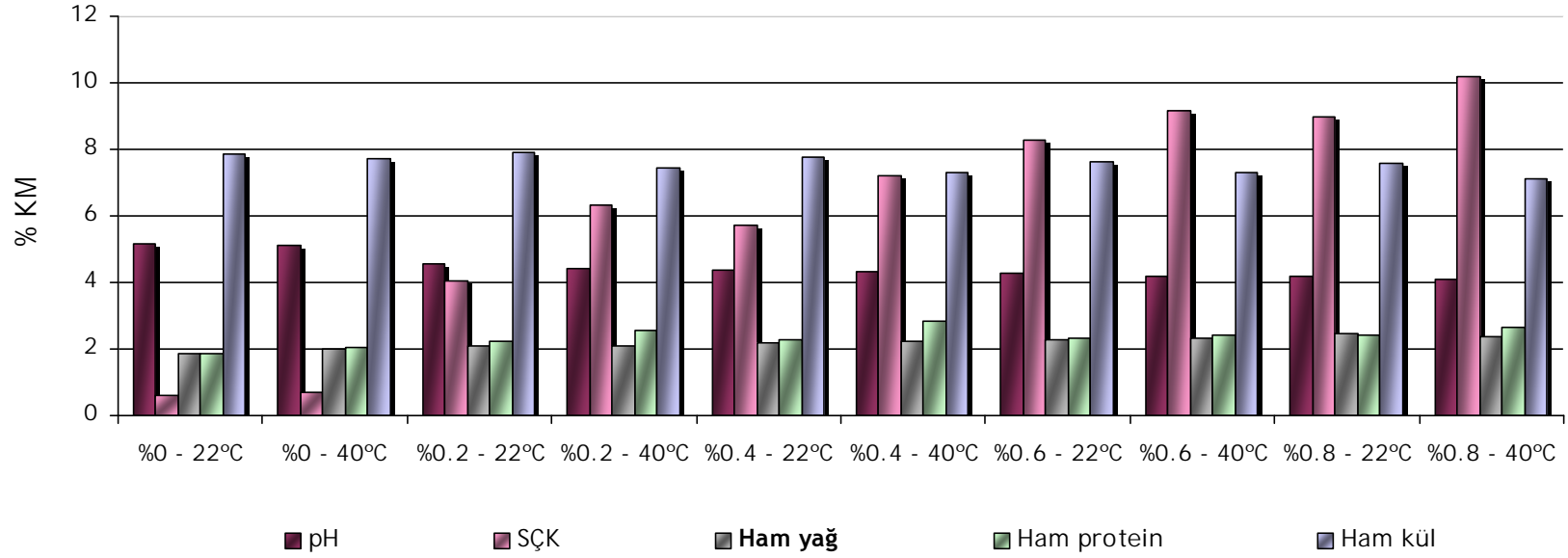
Fibrolitik enzimlerle yapılan işlemlerin, buğday samanının kimyasal bileşimi üzerindeki etkileri genel olarak göz önüne alındığında, elde edilen bulgular ham besin maddeleri içeriklerinde gelişmeler sağlandığını göstermektedir. Bu durumun enzimlerin yapısal polisakkaritleri parçalayarak daha küçük birimlere ayırmasıyla birlikte, hücre duvarından daha fazla besin maddesinin serbest hale geçmesinin bir sonucu olduğu söylenebilir. Nitekim, Petterson ve Aman (1989) ile Annison (1992) fibrolitik enzim kullanımıyla yemlerin besin maddeleri içeriklerinde artışlar sağlandığını belirlemişlerdir.

Çizelge 3.1.2. Farklı doz ve sıcaklıklarda fibrolitik enzimlerle işlenen buğday samanlarının kimyasal bileşimleri (KM' de)

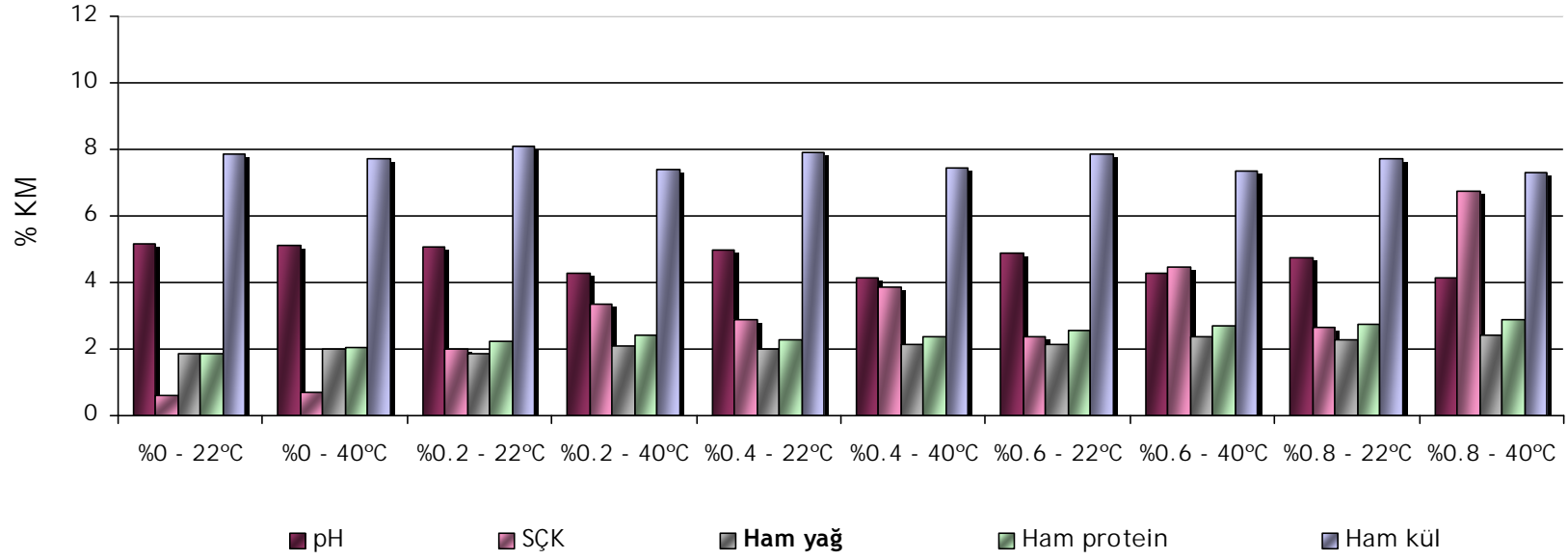
İşleme koşulları			pH	H. Kuru, %	SÇK, %	HY, %	HP, %	HK, %	OM, %	
Enzim çeşidi	Enzim dozu, % KM	İnkübasyon sıcaklığı								
Sellülaz	0	22°C	5.14 ^a	38.45 ^h	0.61 ^k	1.87 ^o	1.84 ^k	7.86 ^{bcd}	92.14 ^{ijkl}	
		40°C	5.10 ^{ab}	40.51 ^g	0.68 ^k	2.02 ^{mn}	2.05 ^{jk}	7.70 ^{def}	92.30 ^{ghi}	
	0.2	22°C	4.56 ^e	39.36 ^{gh}	4.06 ^{ghi}	2.07 ^{lm}	2.23 ^{ij}	7.93 ^{abc}	92.07 ^{klm}	
		40°C	4.40 ^f	42.12 ^{ef}	6.31 ^{de}	2.08 ^{klm}	2.58 ^{cdef}	7.46 ^{ghi}	92.54 ^{def}	
	0.4	22°C	4.38 ^f	40.74 ^{fg}	5.71 ^{def}	2.17 ^{ghijklm}	2.26 ^{hij}	7.77 ^{cde}	92.23 ^{hijk}	
		40°C	4.31 ^{fg}	45.15 ^a	7.20 ^{cd}	2.23 ^{fghijk}	2.85 ^{ab}	7.32 ^{ij}	92.68 ^{cd}	
	0.6	22°C	4.27 ^{fghi}	39.88 ^{gh}	8.30 ^{bc}	2.28 ^{defghi}	2.31 ^{ghi}	7.62 ^{efg}	92.38 ^{fgh}	
		40°C	4.20 ^{ghij}	43.65 ^{abcde}	9.15 ^{ab}	2.31 ^{cdefg}	2.43 ^{defghi}	7.28 ^{ijk}	92.72 ^{cd}	
	0.8	22°C	4.18 ^{ghijk}	40.69 ^{fg}	8.96 ^{ab}	2.45 ^{bc}	2.43 ^{defghi}	7.56 ^{fgh}	92.44 ^{efg}	
		40°C	4.09 ^{jk}	44.15 ^{abcd}	10.17 ^a	2.38 ^{bcde}	2.66 ^{abcde}	7.10 ^k	92.90 ^{ab}	
	Ksilanaz	0	22°C	5.14 ^a	38.45 ^h	0.61 ^k	1.87 ^o	1.84 ^k	7.86 ^{bcd}	92.14 ^{ijkl}
			40°C	5.10 ^{ab}	40.51 ^g	0.68 ^k	2.02 ^{mn}	2.05 ^{jk}	7.70 ^{def}	92.30 ^{ghi}
1.4		22°C	5.06 ^{ab}	39.90 ^{gh}	1.99 ^{jk}	1.88 ^{no}	2.23 ^{ij}	8.07 ^a	91.93 ^m	
		40°C	4.28 ^{fgh}	43.46 ^{bcde}	3.37 ^{ghij}	2.10 ^{klm}	2.41 ^{efghi}	7.41 ^{hij}	92.59 ^{de}	
2.8		22°C	4.97 ^{bc}	40.29 ^g	2.88 ^{hij}	2.02 ^{mn}	2.26 ^{hij}	7.90 ^{abc}	92.10 ^{ijklm}	
		40°C	4.12 ^{ijk}	44.64 ^{ab}	3.88 ^{ghi}	2.15 ^{hijklm}	2.38 ^{fghi}	7.42 ^{hi}	92.58 ^{de}	
4.2		22°C	4.90 ^c	40.61 ^{fg}	2.39 ^{ij}	2.13 ^{ijklm}	2.54 ^{cdegh}	7.85 ^{bcd}	92.15 ^{ijkl}	
		40°C	4.27 ^{fgh}	44.37 ^{abc}	4.46 ^{fgh}	2.36 ^{bcdef}	2.68 ^{abcd}	7.35 ^{ij}	92.65 ^{cd}	
5.6		22°C	4.73 ^d	40.67 ^{fg}	2.66 ^{ij}	2.29 ^{defgh}	2.75 ^{abc}	7.74 ^{cdef}	92.26 ^{hij}	
		40°C	4.13 ^{hijk}	45.11 ^a	6.75 ^{cd}	2.42 ^{bcd}	2.88 ^a	7.29 ^{ijk}	92.69 ^{cd}	
Sellülaz+ksilanaz (50:50)		0	22°C	5.14 ^a	38.45 ^h	0.61 ^k	1.87 ^o	1.84 ^k	7.86 ^{bcd}	92.14 ^{ijkl}
			40°C	5.10 ^{ab}	40.51 ^g	0.68 ^k	2.02 ^{mn}	2.05 ^{jk}	7.70 ^{def}	92.30 ^{ghi}
	0.1 + 0.7	22°C	4.70 ^d	39.24 ^{gh}	3.68 ^{ghi}	2.03 ^m	2.06 ^{jk}	7.87 ^{bcd}	92.13 ^{ijkl}	
		40°C	4.09 ^{jk}	43.79 ^{abcd}	8.20 ^{bc}	2.20 ^{ghijkl}	2.30 ^{ghij}	7.35 ^{ij}	92.65 ^{cd}	
	0.2 + 1.4	22°C	4.15 ^{hijk}	39.11 ^{gh}	3.78 ^{ghi}	2.13 ^{ijklm}	2.20 ^{ij}	7.55 ^{fgh}	92.45 ^{efg}	
		40°C	4.08 ^{jk}	42.99 ^{cde}	10.15 ^a	2.26 ^{efghij}	2.50 ^{cdefgh}	7.21 ^{jk}	92.79 ^{bc}	
	0.3 + 2.1	22°C	4.12 ^{ijk}	39.56 ^{gh}	4.77 ^{efg}	2.26 ^{efghij}	2.41 ^{efghi}	8.00 ^{ab}	92.00 ^{lm}	
		40°C	4.18 ^{ghijk}	42.64 ^{de}	9.94 ^a	2.47 ^b	2.61 ^{bcdef}	7.33 ^{ij}	92.67 ^{cd}	
	0.4 + 2.8	22°C	4.07 ^{jk}	39.88 ^{gh}	6.46 ^d	2.75 ^a	2.53 ^{cdefg}	7.79 ^{cde}	92.21 ^{hijk}	
		40°C	4.03 ^k	44.61 ^{ab}	10.36 ^a	2.74 ^a	2.63 ^{bcdef}	7.12 ^k	92.96 ^a	
	Standart Hata			0.045	0.491	0.518	0.076	0.059	0.235	0.056
	Önem Düzeyi			*	*	*	*	*	*	*

H. Kuru, Havada Kuru; SÇK, Suda Çözünebilir Karbonhidrat HY, ham yağ; HP, ham protein; HK, ham küll; OM, organik maddeler.

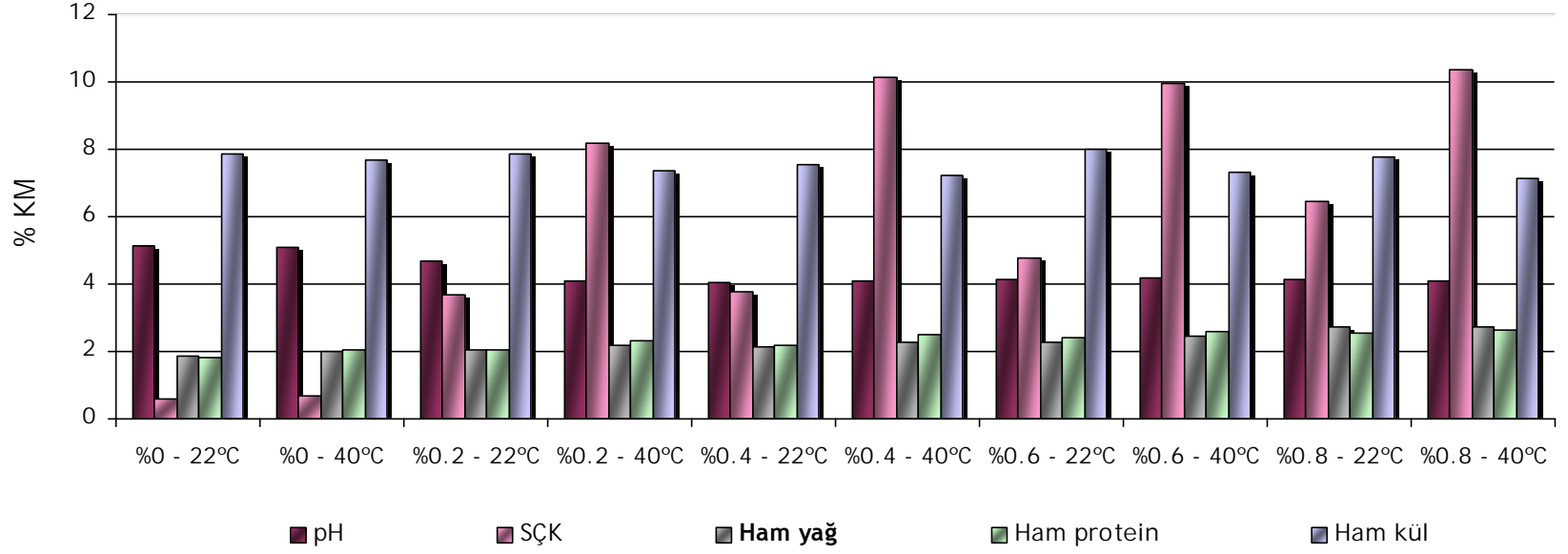
*Aynı sütunda farklı harfler ile gösterilen ortalamalar arasındaki farklılıklar önemlidir (P<0.05).



Şekil 3.1.1. Farklı doz ve sıcaklıklarda sellülozla işlenen buğday samanlarının kimyasal bileşimleri



Şekil 3.1.2. Farklı doz ve sıcaklıklarda ksilanazla işlenen buğday samanlarının kimyasal bileşimleri



Şekil 3.1.3. Farklı doz ve sıcaklıklarda sellüloz+ksilanazla işlenen buğday samanlarının kimyasal bileşimleri

3.2. Buğday Samanlarının Hücre Duvarı Bileşenleri

Araştırmada çalışılan bütün işleme koşulları; enzim çeşidi, enzim dozu ve inkübasyon sıcaklığı, kimyasal analizlerle araştırılan hücre duvarı bileşenleri parametreleri üzerinde farklı etkilerde bulunmuştur. Araştırmada kullanılan işlenmemiş buğday samanının hücre duvarı bileşenleri Çizelge 3.1.1' de verilmiştir. Buğday samanının, enzimlerle işlendikten sonra inkübe edilmesi sonucundaki hücre duvarı bileşenleri Çizelge 3.2.1 ile Şekil 3.2.1, 3.2.2 ve 3.2.3' de verilmiştir.

Çizelge 3.2.1' in incelenmesinden anlaşılacağı gibi, işleme koşulları arasındaki interaksiyonlar hemen hemen bütün hücre duvarı bileşenlerinde gözlenmektedir. Farklı doz ve sıcaklıklarda fibrolitik enzimlerle işlenen buğday samanlarının 30 günlük silolama dönemi sonundaki NDF içerikleri, işlenmemiş (%81.73; Çizelge 3.1.1) ve kontrol (22 °C' de %85.99; 40 °C' de %85.09) buğday samanlarına göre belirgin bir düşüş göstermiştir (Çizelge 3.2.1; $P<0.05$). Bütün işleme koşullarının (enzim çeşidi, enzim dozu ve inkübasyon sıcaklığı) ve bunların birbirleriyle olan interaksiyonlarının NDF üzerindeki etkisi önemli bulunmuştur (Çizelge 3.2.1; Ek 2; $P<0.05$). İşleme koşullarının üçlü interaksiyonu (enzim çeşidi x enzim dozu x inkübasyon sıcaklığı) dikkate alındığında yalnızca bir grup hariç (40 °C' de, %0.4+2.8 sellülaz+ksilanaz enzimiyle işleme) her üç enzim ve her iki inkübasyon sıcaklığında, artan enzim enzim dozlarıyla birlikte NDF içeriği kademeli olarak azalmıştır. En düşük NDF içeriği oda sıcaklığı (%73.99) ve 40 °C sıcaklık (%72.67) %0.8 dozunda sellülaz ile işlenmiş gruplarda görülürken (Çizelge 3.2.1), enzim çeşidi bakımından sellülaz+ksilanazla işlenen grupların ortalaması (%78.05) ile sellülazla işlenen grupların ortalaması (%78.08) birbirine çok yakın bulunmuştur (Ek 2; $P<0.05$). En düşük NDF değeri, başlangıç materyali ile karşılaştırıldığında %11.09, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ise %14.60' lık bir oransal çözünmenin gerçekleştiği anlaşılmaktadır.

Asit deterjanda çözünmeyen lif içerikleri üzerinde sadece inkübasyon sıcaklığı tek başına önemli etki yapmamış (Ek 2; $P>0.05$), ksilanazın 22 °C ve 40 °C' de %1.4 dozunda ve 22 °C' de %2.8 dozunda uygulandığı gruplarda, başlangıç materyalinden (%53.27) daha yüksek ADF içeriği elde edilmiş, bunun dışındaki tüm grupların ADF içeriklerinde hem başlangıç materyaline hem de kontrol gruplarına (22 °C' de %55.98; 40 °C' de %55.28) göre önemli düşüşler görülmüştür ($P<0.05$). Enzim çeşidi x enzim dozu x inkübasyon sıcaklığı üçlü interaksiyonları dikkate alındığında, en düşük değerler, 22 °C' de sellülaz enziminin %0.8 dozunda uygulandığı gruptan elde edilirken (%47.03), 40 °C' de ise %0.8 dozunda sellülaz (%47.58) ve %0.4+2.8 dozunda sellülaz+ksilanazla işlenen gruplardan (%47.46) sağlanmıştır (Çizelge 3.2.1; $P<0.05$). En düşük ADF olan %47.03' lük değer başlangıç materyalinden %11.71, kontrol grubundan %15.99 oranında daha düşüktür. Enzim çeşidi interaksiyonu tek başına göz önüne alındığında ise sellülaz ve sellülaz+ksilanazla işlemler sonucu elde edilen grupların ortalamaları birbirine benzer bulunmuştur (Ek 2; $P<0.05$).

Asit deterjanda çözünmeyen lignin içerikleri üzerinde, tek başına enzim çeşidi, inkübasyon sıcaklığı ve enzim çeşidi x inkübasyon sıcaklığı interaksiyonlarının etkileri önemsiz bulunurken (Ek 2; $P>0.05$), enzim dozu, enzim çeşidi x enzim dozu, enzim dozu x inkübasyon sıcaklığı ve enzim çeşidi x enzim dozu x inkübasyon sıcaklığı interaksiyonlarının etkileri önemli bulunmuştur (Çizelge 3.2.1; Ek 2; $P>0.05$). Her üç enzim grubunun, her iki inkübasyon sıcaklığında artan dozlarda işlendiği bütün grupların ADL içeriklerinde hem başlangıç materyaline (%12.16) hem de kontrol gruplarına (22 °C' de %12.69; 40 °C' de %12.54) göre önemli düşüşler görülmüştür (Çizelge 3.2.1; $P<0.05$). Enzim çeşidi x enzim dozu x inkübasyon sıcaklığı üçlü interaksiyonları dikkate alındığında, en düşük ADL değeri, 22 °C' de %0.8 sellülaz kullanılan gruptan (%10.13) elde edilirken, 40 °C' deki işlemlerde sellülaz+ksilanazın %0.4+2.8 düzeyinde kullanıldığı gruptan (%10.76) elde edilmiştir (Çizelge 3.2.1; $P<0.05$). Benzer şekilde enzim çeşidi x enzim dozu ikili interaksiyonları dikkate alındığında, her üç enzim için de enzim dozu arttıkça ADL içeriğindeki düşüşlerin fazlaştığı göze çarpmaktadır

(Ek 2; $P < 0.05$). En düşük ADL değeri (%10.13) başlangıç materyaline göre %16.69, kontrol grubuna göre ise %20.17' lik bir oransal çözünmenin gerçekleştiğini göstermektedir.

Hücre duvarı bileşenlerinden hemisellüloz içeriği incelendiğinde, sadece enzim çeşidi önemsiz bulunurken (Ek 2; $P > 0.05$), diğer koşulların tek başlarına veya birbirleriyle ve enzim çeşidi ile olan interaksyonları önemli farklılıklara yol açmıştır (Çizelge 3.2.1; Ek 2; $P < 0.05$). Enzim çeşidi x enzim dozu x inkübasyon sıcaklığı üçlü interaksyonu, hemisellüloz içeriklerinde hem başlangıç materyaline (%28.46) hem de kontrol gruplarına (22 °C' de %30.01; 40 °C' de %29.81) göre önemli düşüslere neden olmuştur (Çizelge 3.2.1; $P < 0.05$). Her iki inkübasyon sıcaklığındaki en düşük hemisellüloz değerleri, sellülazın en yüksek dozunda (%0.8) yapılan işlemlerden (22 °C' de %26.96; 40 °C' de %25.09) elde edilmiştir (Çizelge 3.2.1; $P < 0.05$). En düşük hemisellüloz değeri (%25.09) başlangıç materyaline göre %11.84, kontrol grubuna göre ise %15.83' lük bir oransal çözünmenin gerçekleştiğini göstermektedir.

Hücre duvarı bileşenlerinden sellüloz içeriği üzerinde inkübasyon sıcaklığının tek başına etkisi önemsiz bulunurken (Ek 2; $P > 0.05$), diğer koşulların tek başına veya birbirleriyle ve inkübasyon sıcaklığı ile interaksyonları önemli derecede etkili olmuştur (Çizelge 3.2.1; Ek 2; $P < 0.05$). Enzim çeşidi x enzim dozu x inkübasyon sıcaklığı üçlü interaksyonu ksilanaz söz konusu olduğunda sadece biri hariç (40 °C' de %5.6 dozunda işlenen) tüm ksilanazla işlenmiş gruplarda başlangıç materyaline (%41.11) göre önemli düşüslere neden olmuştur (Çizelge 3.2.1; $P < 0.05$). Sellülaz ve sellülaz+ksilanazın bütün gruplarında, hem başlangıç materyali hem de kontrol gruplarına (22 °C' de %43.29; 40 °C' de %42.74) göre önemli bir azalma görülmüştür (Çizelge 3.2.1; $P < 0.05$). En düşük sellüloz değerleri 22 °C (%36.90) ve 40 °C' de (%36.24) %0.8 dozunda sellülazla işlenmiş gruplardan elde edilmiştir (Çizelge 3.2.1; $P < 0.05$). Enzim çeşidi tek başına dikkate alındığında, sellülaz ve sellülaz+ksilanaz ortalamalarının birbirine yakın oldukları; inkübasyon sıcaklığı dikkate alındığında ise 40 °C' deki işlemlerden elde

edilen grupların ortalamasının (%39.47), oda sıcaklığındaki grupların ortalamasından (%40.71) daha yüksek bulunduğu görülmektedir (Ek 2; $P < 0.05$). En düşük sellüloz değeri (%36.24) üzerinden karşılaştırma yapıldığında başlangıç materyaline göre %11.84, kontrol grubuna göre ise %15.18' lik bir oransal çözünmenin gerçekleştiğini ortaya çıkmaktadır.

Kimyasal analiz parametrelerinden SÇK içeriklerindeki artışlar (Çizelge 3.1.2), hücre duvarı bileşenlerinden NDF içeriğindeki düşüşleri (Çizelge 3.2.1) destekler niteliktedir. Elde edilen bulgular sonucunda bu iki parametre arasında doğrusal bir ilişki olup olmadığı araştırılmış ve NDF ve SÇK içerikleri arasında yüksek negatif korelasyonlar saptanmıştır. Her 3 enzim için her iki inkübasyon sıcaklığında araştırılan korelasyon ilişkisi sonucunda elde edilen korelasyon katsayıları ve doğrusal ilişkilerin grafiksel olarak gösterilişleri sırayla şu şekildedir: sellülaz için 22 °C' de, $r = -0.992$; Şekil 3.2.4 ve 40 °C' de $r = -0.999$; Şekil 3.2.5, ksilanaz için 22 °C' de $r = -0.852$; Şekil 3.2.6 ve 40 °C' de $r = -0.989$; Şekil 3.2.7 ve sellülaz+ksilanaz için 22 °C' de $r = -0.948$; Şekil 3.2.8 ve 40 °C' de $r = -0.995$; Şekil 3.2.9.

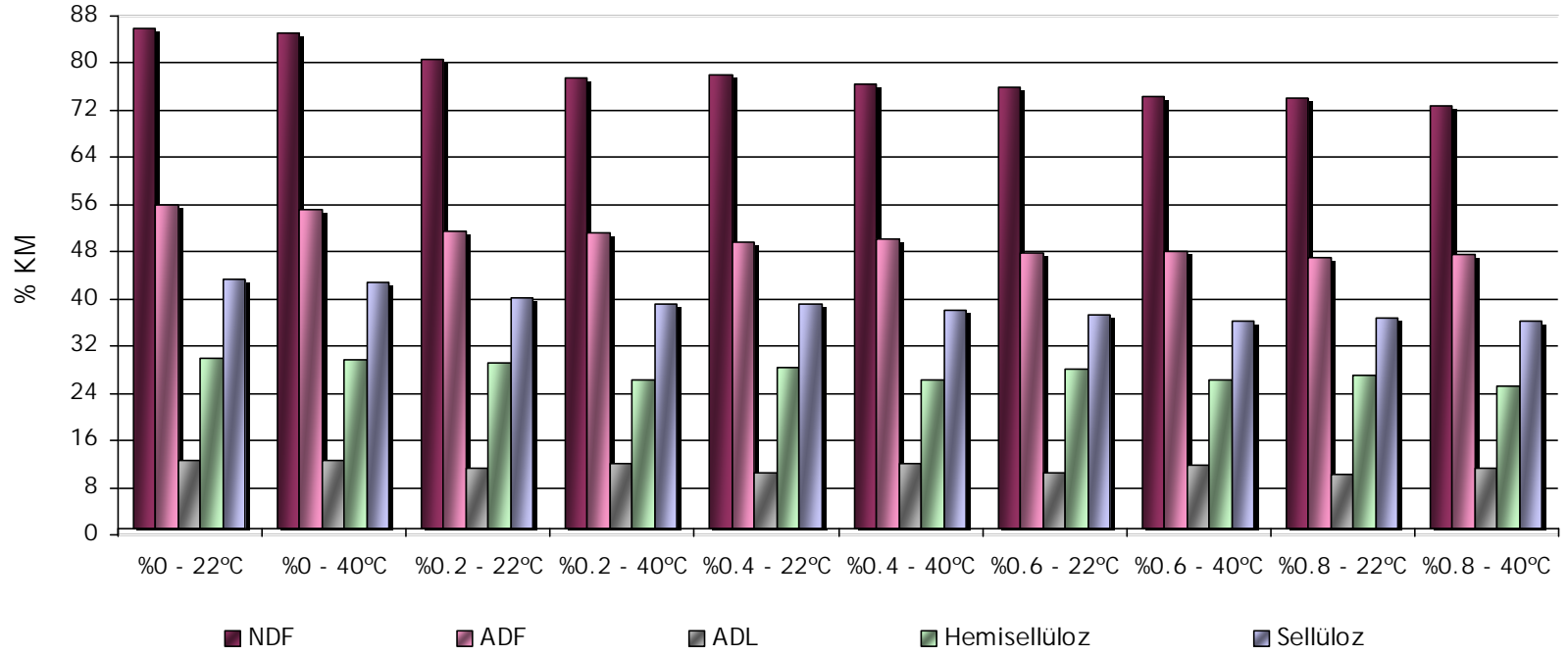
Fibrolitik enzimlerle işlemlerin hücre duvarı üzerindeki etkileri genel olarak değerlendirildiğinde, normal bir silaj fermantasyonu sırasında SÇK' ların bakteriler tarafından tüketilmesi sonucunda NDF içeriğinin artması beklenirken, araştırmada kullanılan fibrolitik enzimler, hücre duvarının parçalanabilirliğini artırarak sellüloz ve hemisellüloz gibi yapısal polisakkaritlerin basit şekerlere dönüştürülmesini sağlamış ve böylece NDF, ADF, ADL, hemisellüloz ve sellüloz içeriklerinde azalmaya yol açmıştır. Bazı gruplarda başlangıç materyalinden yüksek sonuçların elde edilmesi, sellüloz ve hemisellülozun hidrolizi sonrasında serbest kalan basit şekerlerin yer değiştirerek, tekrar kümeleşmelerine bağlanabilir. Ksilanazın sellülazla birlikte kullanıldığında neredeyse sellülaz kadar etkili olduğu halde tek başına yapılan işlemlerde daha düşük etki göstermesi, ksilanazın tek başına hücre duvarını parçalamada yetersiz kaldığını kanıtlamaktadır. Bu durum hücre duvarının hemisellülozdan daha ziyade sellüloz ünitelerinden oluşması ve ksilanaz enziminin ise hücre duvarı içinde yaygın bir hemisellüloz çeşidi olan

ksiloglukan ünitelerini substrat olarak kullanmasıyla açıklanabilir. Ksilanazın sellülazla birlikte kullanıldığında daha etkili olması, sellülazın parçalayarak ayırdığı ürünleri, ksilanazın substrat olarak kullanabilmesiyle yaratılan sinerjik etkiden ileri gelmiş olabilir. Nitekim, Gupta ve Pradhan (1977) ile Rodrigues ve ark. (2001) fibrolitik enzimlerle NDF, ADF ve ADL içeriklerinde düşüş bildirirken, Nakashima ve ark. (1993), Yang ve ark. (1999), Zinn ve Salinas (1999), Eun ve ark. (2007), Pinos-Rodriguez ve ark. (2008) ile Rodrigues ve ark. (2008) tarafından yürütülen çalışmalar da NDF içeriklerinde düşüşler meydana geldiği bildirilmiştir. Bununla beraber farklı sonuçlar veren araştırmalar da yayınlanmıştır. Örneğin; Reddish ve Kung (2007) tarafından NDF içeriklerinde önemli bir azalma saptanamamasına karşın, Higginbotham ve ark. (1996) ile ZoBell ve ark. (2000) tarafından önemli artışlar tespit edilmiştir. Nötr deterjanda çözünmeyen lif ve SÇK arasındaki tersine ilişki Smith ve ark. (1998; 2002) ile Tas ve ark. (2006) tarafından da bildirilmiştir.

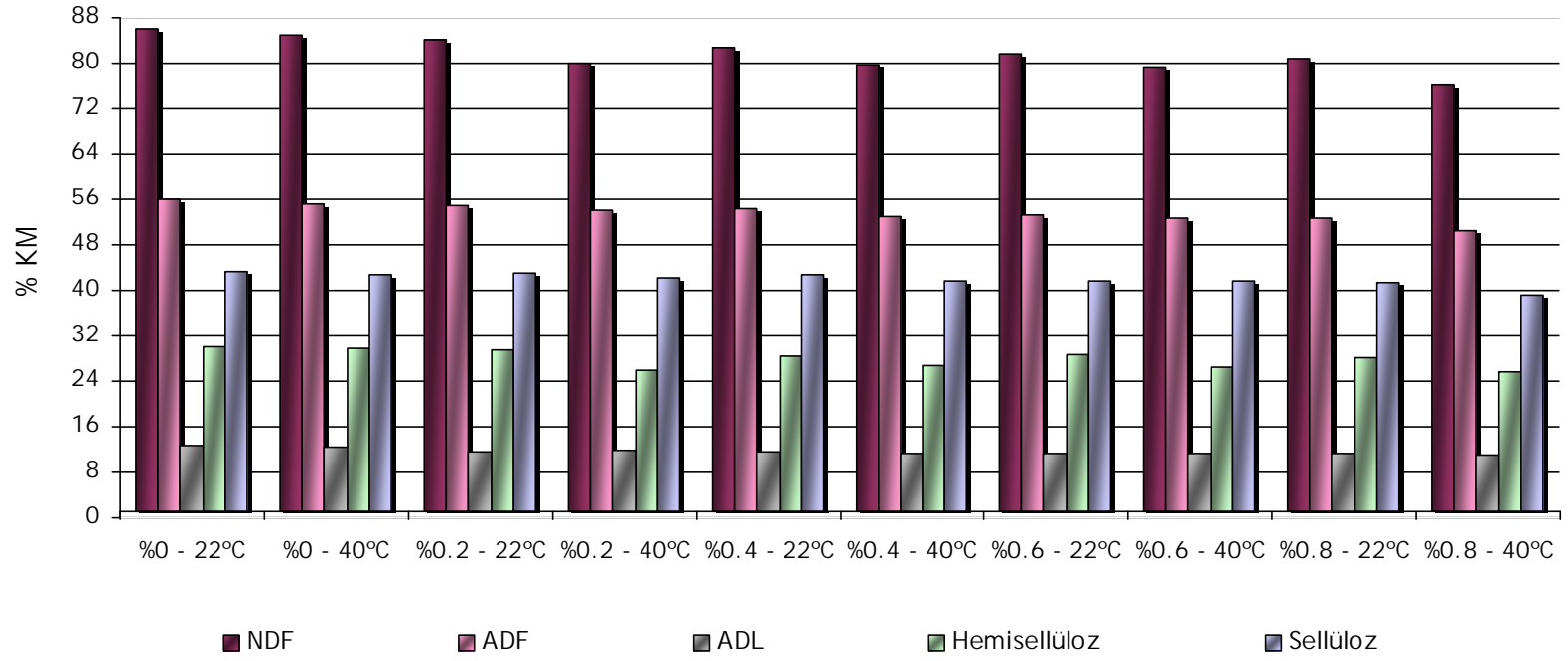
Çizelge 3.2.1. Farklı doz ve sıcaklıklarda fibrolitik enzimlerle işlenen buğday samanlarının hücre duvarı bileşenleri (% KM)

İşleme koşulları			NDF	ADF	ADL	Hemisellüloz	Sellüloz	
Enzim çeşidi	Enzim dozu, % KM	İnkübasyon sıcaklığı						
Sellülaz	0	22°C	85.99 ^a	55.98 ^a	12.69 ^a	30.01 ^a	43.29 ^a	
		40°C	85.09 ^{ab}	55.28 ^{ab}	12.54 ^{ab}	29.81 ^{ab}	42.74 ^{abc}	
	0.2	22°C	80.53 ^{def}	51.45 ^{ef}	11.25 ^{cdefgh}	29.08 ^{ab}	40.20 ^{ef}	
		40°C	77.51 ^{ij}	51.27 ^f	12.09 ^{abc}	26.24 ^{ghⁱ}	39.18 ^{fg}	
	0.4	22°C	78.13 ^{hi}	49.67 ^{gh}	10.60 ^{hi}	28.46 ^{abcde}	39.07 ^{fg}	
		40°C	76.56 ^{jk}	50.18 ^{fg}	11.98 ^{abcd}	26.38 ^{ghⁱ}	38.20 ^{ghⁱ}	
	0.6	22°C	76.02 ^k	47.91 ^{jk}	10.61 ^{hi}	28.11 ^{bcdef}	37.30 ^{hij}	
		40°C	74.36 ^{lm}	48.12 ^{jk}	11.79 ^{abcde}	26.24 ^{ghⁱ}	36.33 ^j	
	0.8	22°C	73.99 ^{lmn}	47.03 ^k	10.13 ⁱ	26.96 ^{defgh}	36.90 ^{ij}	
		40°C	72.67 ⁿ	47.58 ^{jk}	11.34 ^{cdefgh}	25.09 ⁱ	36.24 ^j	
	Ksilanaz	0	22°C	85.99 ^a	55.98 ^a	12.69 ^a	30.01 ^a	43.29 ^a
			40°C	85.09 ^{ab}	55.28 ^{ab}	12.54 ^{ab}	29.81 ^{ab}	42.74 ^{abc}
1.4		22°C	84.22 ^b	54.80 ^{ab}	11.70 ^{bcdefg}	29.42 ^{ab}	43.10 ^{ab}	
		40°C	79.93 ^{efg}	53.94 ^{bcd}	11.76 ^{bcdef}	25.99 ^{ghⁱ}	42.18 ^{abcd}	
2.8		22°C	82.87 ^c	54.37 ^{bc}	11.50 ^{cdefgh}	28.50 ^{abcde}	42.87 ^{abc}	
		40°C	79.77 ^{efg}	52.96 ^d	11.40 ^{cdefgh}	26.81 ^{efghⁱ}	41.56 ^{bcde}	
4.2		22°C	81.74 ^{cd}	53.11 ^{cd}	11.32 ^{cdefgh}	28.63 ^{abcd}	41.77 ^{bcd}	
		40°C	79.22 ^{fgh}	52.79 ^d	11.27 ^{cdefgh}	26.43 ^{fghⁱ}	41.52 ^{cde}	
5.6		22°C	80.78 ^{de}	52.64 ^{de}	11.20 ^{cdefgh}	28.14 ^{bcde}	41.44 ^{cde}	
		40°C	76.05 ^k	50.35 ^{fg}	11.08 ^{defgh}	25.70 ^{ghⁱ}	39.27 ^{fg}	
Sellülaz+ksilanaz (50:50)	0	22°C	85.99 ^a	55.98 ^a	12.69 ^a	30.01 ^a	43.29 ^a	
		40°C	85.09 ^{ab}	55.28 ^{ab}	12.54 ^{ab}	29.81 ^{ab}	42.74 ^{abc}	
	0.1 + 0.7	22°C	81.87 ^{cd}	53.01 ^{cd}	12.01 ^{abcd}	28.86 ^{abc}	41.00 ^{de}	
		40°C	75.15 ^{kl}	49.75 ^{gh}	11.54 ^{cdefgh}	25.40 ^{ghⁱ}	38.21 ^{ghⁱ}	
	0.2 + 1.4	22°C	78.80 ^{ghⁱ}	50.60 ^{fg}	11.42 ^{cdefgh}	28.20 ^{bcde}	39.19 ^{fg}	
		40°C	73.81	48.50 ^{hij}	10.91 ^{efghⁱ}	25.31 ^{hi}	37.59 ^{hij}	
	0.3 + 2.1	22°C	77.55 ^{ij}	50.41 ^{fg}	10.94 ^{efghⁱ}	27.14 ^{cdefg}	39.47 ^{fg}	
		40°C	72.82 ⁿ	47.56 ^{jk}	10.78 ^{ghⁱ}	25.26 ^{hi}	36.78 ^{ij}	
	0.4 + 2.8	22°C	76.50 ^{jk}	49.33 ^{ghⁱ}	10.84 ^{fghⁱ}	27.17 ^{cdefg}	38.49 ^{gh}	
		40°C	72.94 ^{mn}	47.46 ^{jk}	10.76 ^{ghⁱ}	25.48 ^{ghⁱ}	36.70 ^{ij}	
	Standart Hata			0.475	0.443	0.276	0.525	0.470
	Önem Düzeyi			*	*	*	*	*

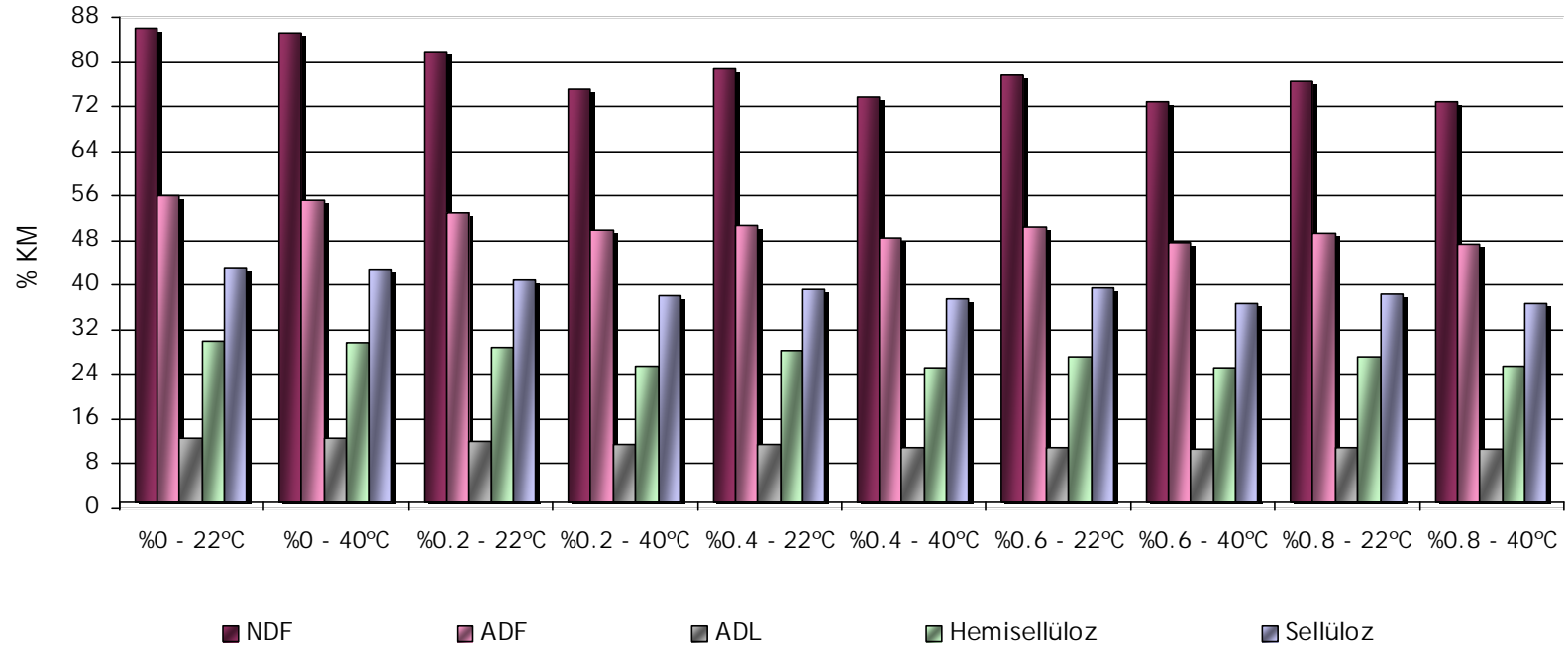
NDF, nötr deterjanda çözünmeyen lif; ADF, asit, deterjanda çözünmeyen lif; ADL, asit deterjanda çözünmeyen lignin.
*Aynı sütunda farklı harfler ile gösterilen ortalamalar arasındaki farklılıklar önemlidir (P<0.05).



Şekil 3.2.1. Farklı doz ve sıcaklıklarda sellüloz ile işlenen buğday samanlarının hücre duvarı bileşenleri



Şekil 3.2.2. Farklı doz ve sıcaklıklarda ksilanaz ile işlenen buğday samanlarının hücre duvarı bileşenleri

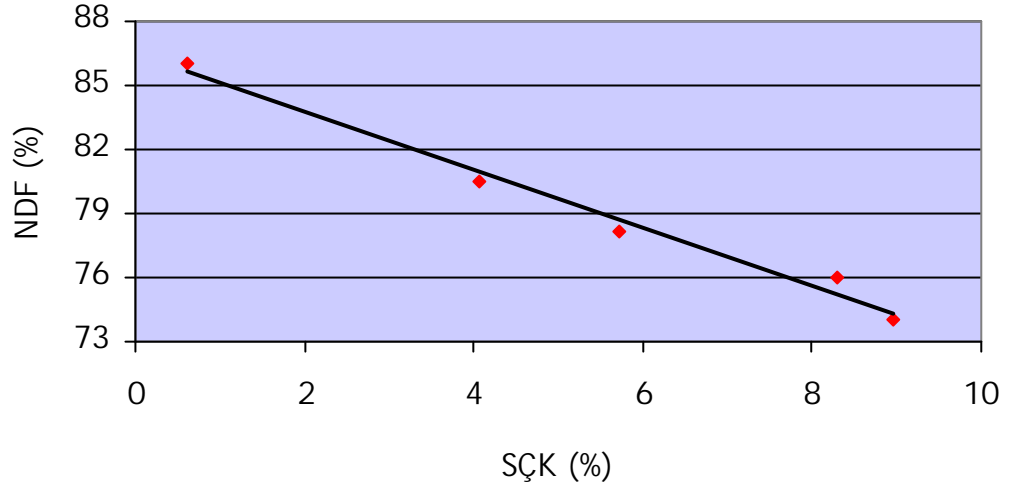


Şekil 3.2.3. Farklı doz ve sıcaklıklarda sellülaz+ksilanaz ile işlenen buğday samanlarının hücre duvarı bileşenleri

$$y = -1,3578x + 86,438$$

$$R^2 = 0,9835$$

Sellülaz (22°C)

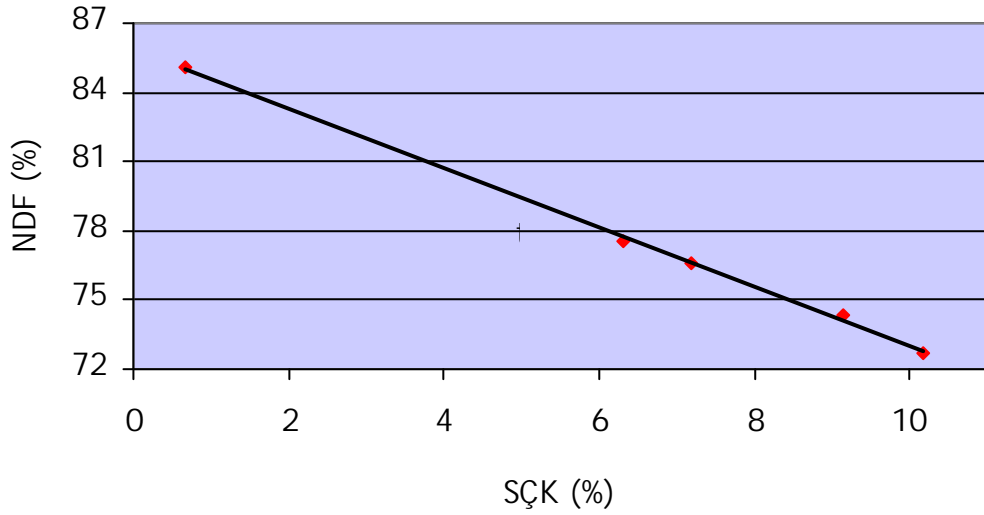


Şekil 3.2.4. Sellülazla işlenerek 22 °C' de inkübasyona bırakılan buğday samanlarının NDF ve SÇK içerikleri arasındaki regresyon denklemi ve korelasyon katsayısı

$$y = -1,2913x + 85,892$$

$$R^2 = 0,9984$$

Sellülaz (40°C)

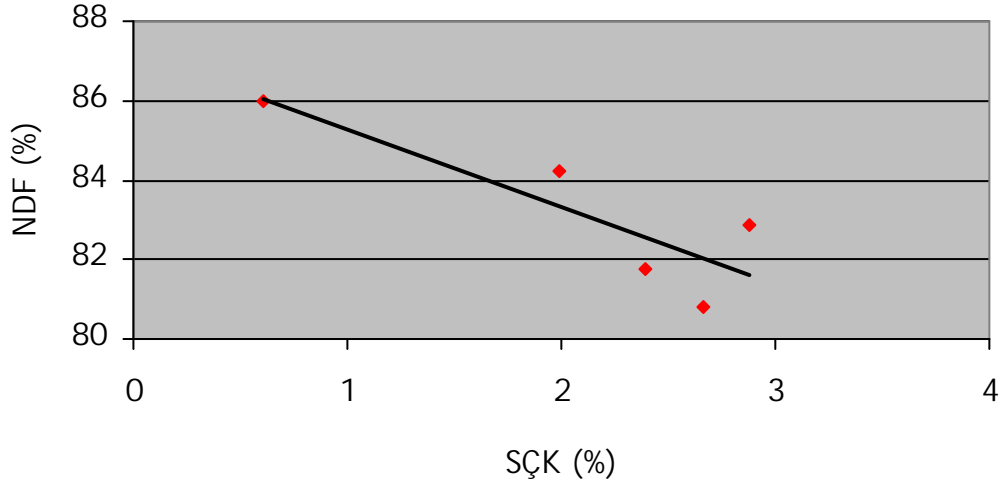


Şekil 3.2.5. Sellülazla işlenerek 40 °C' de inkübasyona bırakılan buğday samanlarının NDF ve SÇK içerikleri arasındaki regresyon denklemi ve korelasyon katsayısı

$$y = -1,9465x + 87,219$$

$$R^2 = 0,7264$$

Ksilanaz (22°C)

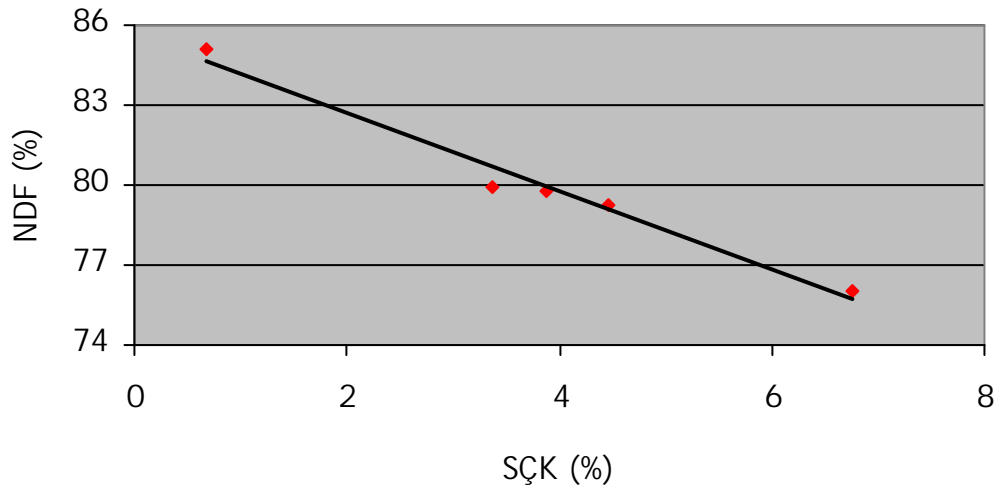


Şekil 3.2.6. Ksilanazla işlenerek 22 °C' de inkübasyona bırakılan buğday samanlarının NDF ve SÇK içerikleri arasındaki regresyon denklemi ve korelasyon katsayısı

$$y = -1,4711x + 85,643$$

$$R^2 = 0,9779$$

Ksilanaz (40°C)

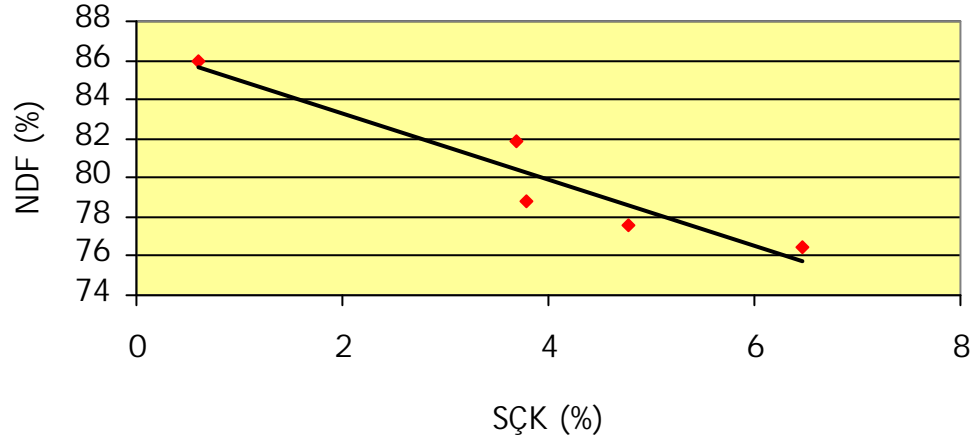


Şekil 3.2.7. Ksilanazla işlenerek 40 °C' de inkübasyona bırakılan buğday samanlarının NDF ve SÇK içerikleri arasındaki regresyon denklemi ve korelasyon katsayısı

$$y = -1,7064x + 86,729$$

$$R^2 = 0,8981$$

Sellülaz + Ksilanaz (22°C)

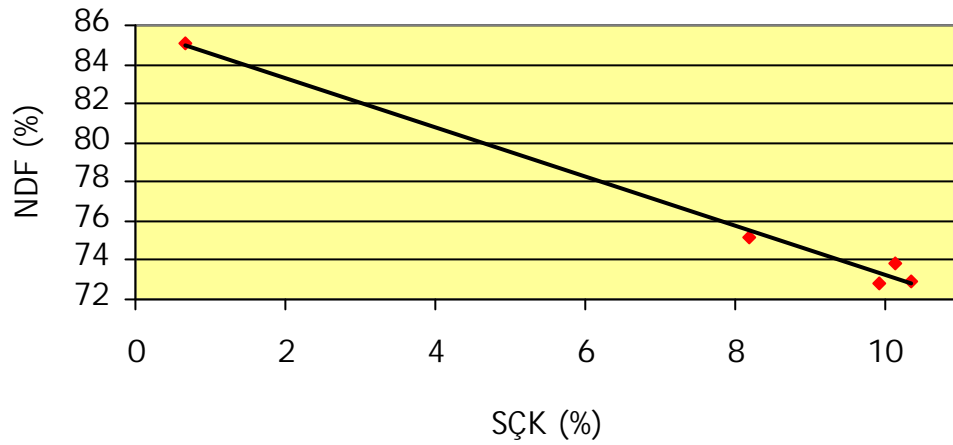


Şekil 3.2.8. Sellülaz+Ksilanaz kombinasyonu (50:50) işlenerek 22 °C' de inkübasyona bırakılan buğday samanlarının NDF ve SÇK içerikleri arasındaki regresyon denklemi ve korelasyon katsayısı

$$y = -1,257x + 85,85$$

$$R^2 = 0,9909$$

Sellülaz + Ksilanaz (40°C)



Şekil 3.2.9. Sellülaz+Ksilanaz kombinasyonu (50:50) işlenerek 40 °C' de inkübasyona bırakılan buğday samanlarının NDF ve SÇK içerikleri arasındaki regresyon denklemi ve korelasyon katsayısı

3.3. Buğday Samanlarının Laktik Asit, Uçucu Yağ Asitleri ve Etanol Konsantrasyonları

Araştırmada çalışılan bütün işleme koşulları; enzim çeşidi, enzim dozu ve inkübasyon sıcaklığı, laktik asit, UYA ve etanol içerikleri üzerinde farklı etkilerde bulunmuştur. Araştırmanın yem materyalini oluşturan buğday samanının laktik asit, UYA ve etanol içerikleri Çizelge 3.1.1' de verilmiştir. Buğday samanının enzimlerle işlendikten sonra inkübe edilmesi sonucundaki laktik asit, UYA ve etanol içerikleri Çizelge 3.3.1' de verilirken, pH, laktik asit ve SÇK düzeyleri grafiksel olarak Şekil 3.3.1, 3.3.2 ve 3.3.3' de verilmiştir.

Çizelge 3.3.1 incelendiğinde tüm işleme koşullarının (enzim çeşidi, enzim dozu, inkübasyon sıcaklığı) ve bunların birbirleriyle olan interaksiyonlarının laktik asit konsantrasyonları üzerindeki etkilerinin önemli olduğu görülmektedir (Ek 3; $P < 0.05$). En yüksek laktik asit konsantrasyonu, oda sıcaklığında %0.4+2.8 sellüloz+ksilanazla işlenen grupta (3.89 mg/kg), 40 °C sıcaklıkta ise %0.8 sellülozla işlenen gruptan (8.46 mg/kg) elde edilmiş, (Çizelge 3.3.1, $P < 0.05$), enzim çeşidi bakımından sellülozla işlenen grupların ortalaması (3.15 mg/kg) ksilanaz (1.58 mg/kg) ve sellüloz+ksilanazla (2.31 mg/kg) işlenen grupların ortalamalarından daha yüksek bulunmuştur (Ek 3; $P < 0.05$). Uygulanan enzimlerin dozları arttıkça, samanların laktik asit konsantrasyonlarında da bir artış görülmüştür (Ek 3; $P < 0.05$). İnkübasyon sıcaklıklarından 40 °C' deki işlemlerden elde edilen grupların ortalaması (3.04 mg/kg), oda sıcaklığındaki grupların ortalamasından (1.66 mg/kg) daha yüksek bulunmuştur (Ek 3; $P < 0.05$). Başlangıç materyali ve kontrol gruplarında laktik asit konsantrasyonuna rastlanmamasına rağmen, artan enzim dozlarıyla laktik asit içeriğinde artışın gözlenmesi fermantasyonun seyri hakkında fikir vermekte ve enzimlerin fermantasyon kalitesini iyileştirdiğini, ortamda laktik asit bakterilerinin gelişimlerini sağlayabilmeleri için gerekli SÇK miktarındaki artış ile birlikte laktik asit fermantasyonunun şekillendiğini göstermektedir. Bu sonuçlar SÇK içeriğinde gerçekleşen artışı ve pH içeriğinde gerçekleşen düşüşü de destekler niteliktedir (Çizelge 3.1.2). Nitekim Gupta ve Pradhan (1977) buğday samanını farklı yem kaynakları ile siloladıkları çalışmalarında, SÇK

içeriğinin düşük olması veya mevcut SÇK' ın iyi değerlendirilememesi durumunda pH' nın yavaş düşmesi nedeniyle, laktik asit içeriğinin de düşük olduğunu, Nakashima ve ark. (1993) arpa ve pirinç samanına sellülaz katıldığında, Rodrigues ve ark. (2001) ise çok yıllık İngiliz çimine sellülaz ve ksilanaz uygulandığında laktik asit konsantrasyonlarının arttığını belirlemiştir.

Etanol konsantrasyonu sadece enzim çeşidi x enzim dozu x inkübasyon sıcaklığı üçlü interaksiyonlarından önemli düzeyde etkilenmiş (Çizelge 3.3.1; $P < 0.05$), diğer işlemlerin tek başına ve birbirleriyle olan interaksiyonlarının etkileri önemsiz bulunmuştur (Ek 3; $P > 0.05$).

İşleme koşullarının UYA konsantrasyonu üzerindeki etkileri değerlendirildiğinde genel olarak enzim çeşidi, enzim dozu, inkübasyon sıcaklığı ve bunların birbirleriyle olan interaksiyonlarının UYA profilini önemli düzeylerde etkiledikleri görülmektedir (Çizelge 3.3.1; Ek 3; $P < 0.05$). Uçucu yağ asitlerinden asetik asit üretiminin baskın olduğu fermantasyonda, en yüksek asetik asit düzeyleri her iki sıcaklıkta (175.58 mg/kg ve 315.82 mg/kg) %0.8 sellülazla işlenmiş gruplarda saptanırken (Çizelge 3.3.1); enzim çeşidi interaksiyonu göz önüne alındığında sellülaz+ksilanazla işlenen grupların ortalaması (183.27 mg/kg) diğer iki enzimle işlenen gruplardan yüksek bulunmuştur (Ek 3; $P < 0.05$). Elde edilen UYA verileri, hücre duvarı bileşiminde gerçekleşen değişimlerle uyumlu niteliktedir (Çizelge 3.2.1). Başka bir deyişle fermantasyonda asetik asitteki artış eğilimi, lif sindirilebilirliğindeki artışla uyumlu olup, bunda mikrobiyal populasyon yada substratın parçalanması sırasında uğradığı metabolik değişiklikler etkili olmuş olabilir. Bütrik asit içerikleri bakımından inkübasyon sıcaklığı dikkate alındığında, oda sıcaklığında işlenmiş grupların bütrik asit ortalamasının (130.49 mg/kg) asetik asit ortalamasından (126.70 mg/kg) daha yüksek bir değerde olduğu gözlenmiştir (Ek 3; $P < 0.05$). Enzim çeşidi yönünden en düşük bütrik asit ortalaması, sellülazla yapılan işlemlerden elde edilirken, inkübasyon sıcaklığı bakımından 40°C' de (13.70 mg/kg) oda sıcaklığına (130.49 mg/kg) göre önemli derecede daha düşük çıkmıştır (Ek 3; $P < 0.05$). Bu durumun nedeni olarak, ksilanazla

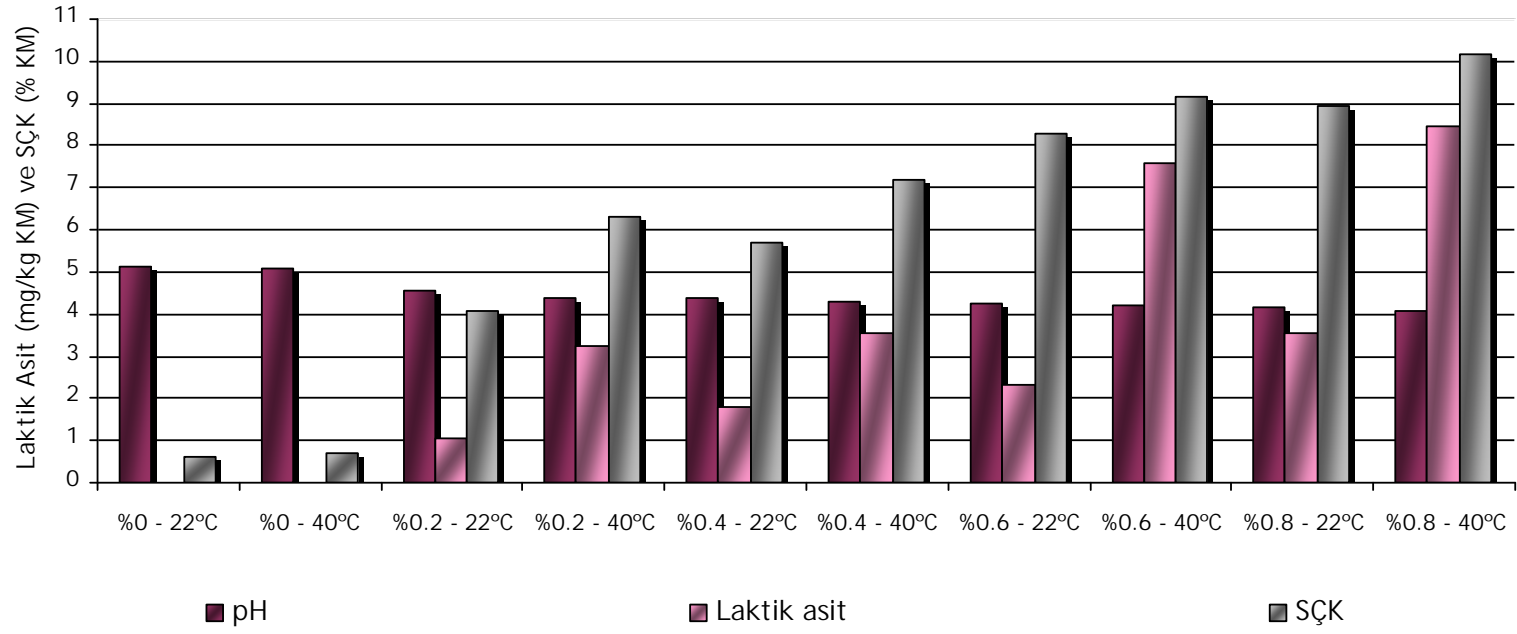
fermantasyonun daha yavaş seyretmesi yüzünden pH' nın daha yavaş düşmesi ve bunun da özellikle oda sıcaklığında yapılan işlemlerde bütirik asit gibi istenmeyen fermantasyon ürünlerinde neden olması gösterilebilir. Nitekim Filya (2003a, b), Kung ve Ranjit (2001) ile Weinberg ve ark. (2002) pH' daki yavaş düşüşlerin heterolaktik fermantasyonu teşvik ederek, CO₂, bütirik asit ve etanol gibi istenmeyen fermantasyon ürünlerinin konsantrasyonlarını artırdığını belirlemişlerdir.

Çizelge 3.3.1. Farklı doz ve sıcaklıklarda fibrolitik enzimlerle işlenerek silolanan buğday samanlarının laktik asit, UYA ve etanol konsantrasyonları (mg/kg KM)

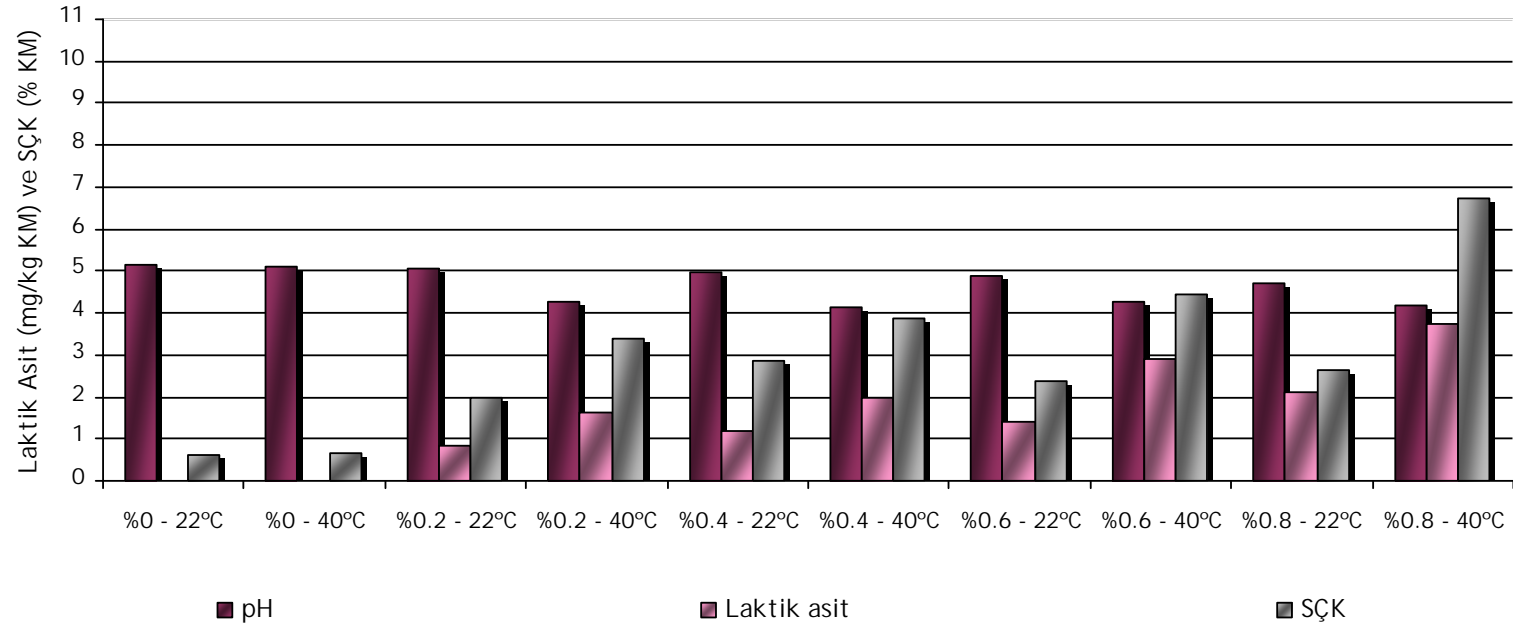
İşleme koşulları			Laktik asit	Uçucu yağ asitleri konsantrasyonları						TUYA	Etanol	
Enzim çeşidi	Enzim dozu (% KM)	İnkübasyon sıcaklığı		Asetik asit	Propiyonik asit	İzobütrik asit	Bütrik asit	İzovalerik asit	Valerik asit			
Sellülaz	0	22°C	-	128.99 ^g	38.08 ^c	10.35 ^g	151.21 ^g	2.50 ^e	1.36 ^b	332.49 ^c	0.05 ^b	
		40 °C	-	177.07 ^e	57.07 ^a	27.56 ^e	51.45 ^k	2.26 ^{ef}	23.54 ^a	338.95 ^b	0.09 ^b	
	0.2	22°C	1.05 ^o	106.58 ^m	13.41 ¹	-	89.18 ^l	3.59 ^d	-	212.76 ^l	0.08 ^b	
		40 °C	3.23 ^g	111.93 ^l	30.57 ^f	162.63 ^a	*	1.34 ^{kl}	-	306.47 ^g	0.13 ^{ab}	
	0.4	22°C	1.78 ^l	121.13 ^l	4.50 ^l	-	16.43 ^m	1.29 ^{kl}	-	143.35 ^q	0.10 ^{ab}	
		40 °C	3.56 ^f	115.41 ^k	7.05 ^{jk}	124.30 ^b	*	1.41 ^{jk}	-	248.17 ^j	0.07 ^b	
	0.6	22°C	2.32 ^l	152.21 ^f	6.17 ^k	-	7.22 ^o	1.39 ^{kl}	-	166.99 ^o	0.12 ^{ab}	
		40 °C	7.58 ^b	147.90 ^g	-	3.63 ^{hn}	*	1.42 ^{jk}	-	152.95 ^p	0.30 ^a	
	0.8	22°C	3.55 ^f	175.58 ^e	7.61 ^j	-	2.84 ^{rs}	2.13 ^{efg}	-	188.16 ^m	0.14 ^{ab}	
		40 °C	8.46 ^a	315.82 ^a	-	2.07 ^{ijk}	*	1.51 ^{ijk}	-	319.40 ^e	0.04 ^b	
	Ksilanaz	0	22°C	-	128.99 ^g	38.08 ^c	10.35 ^g	151.21 ^g	2.50 ^e	1.36 ^b	332.49 ^c	0.05 ^b
			40 °C	-	177.07 ^e	57.07 ^a	27.56 ^e	51.45 ^k	2.26 ^{ef}	23.54 ^a	338.95 ^b	0.09 ^b
1.4		22°C	0.84 ^p	85.73 ^o	44.45 ^b	3.41 ^{hn}	183.23 ^e	-	0.41 ^c	317.23 ^f	0.12 ^{ab}	
		40 °C	1.64 ^m	100.39 ⁿ	-	28.65 ^{de}	5.84 ^p	0.81 ^m	-	135.69 ^f	0.15 ^{ab}	
2.8		22°C	1.17 ^o	105.57 ^m	31.61 ^e	2.68 ^{ijk}	191.21 ^d	1.02 ^{lm}	0.32 ^c	332.41 ^c	0.11 ^{ab}	
		40 °C	1.99 ^k	107.00 ^m	-	50.48 ^c	12.67 ⁿ	2.30 ^{ef}	-	172.45 ⁿ	0.19 ^{ab}	
4.2		22°C	1.40 ⁿ	109.82 ^l	31.19 ^{ef}	3.02 ^{ij}	213.18 ^c	-	-	357.21 ^a	0.11 ^{ab}	
		40 °C	2.92 ^h	121.06 ^j	-	16.97 ^f	2.78 ^s	1.95 ^{fgh}	-	142.76 ^q	0.09 ^b	
5.6		22°C	2.12 ^j	117.51 ^k	13.85 ^l	1.58 ^{ijkl}	220.32 ^a	1.79 ^{ghn}	0.39 ^c	355.44 ^a	0.14 ^{ab}	
		40 °C	3.76 ^e	209.17 ^d	-	4.72 ^h	2.98 ^r	1.31 ^{kl}	-	218.18 ^k	0.09 ^b	
Sellülaz+ksilanaz (50:50)		0	22°C	-	128.99 ^g	38.08 ^c	10.35 ^g	151.21 ^g	2.50 ^e	1.36 ^b	332.49 ^c	0.05 ^b
			40 °C	-	177.07 ^e	57.07 ^a	27.56 ^e	51.45 ^k	2.26 ^{ef}	23.54 ^a	338.95 ^b	0.09 ^b
	0.1 + 0.7	22°C	1.34 ⁿ	83.48 ^o	16.90 ^h	-	215.06 ^b	-	-	315.44 ^f	0.13 ^{ab}	
		40 °C	2.10 ^{jk}	254.41 ^c	-	-	3.33 ^q	1.71 ^{hij}	-	259.45 ^l	0.07 ^b	
	0.2 + 1.4	22°C	2.17 ^j	135.55 ^h	6.90 ^{jk}	-	64.91 ^j	3.95 ^c	-	211.31 ^l	0.13 ^{ab}	
		40 °C	2.44 ^l	254.89 ^c	-	1.47 ^{ijkl}	2.58 ^t	1.37 ^{ijkl}	-	260.31 ^l	0.05 ^b	
	0.3 + 2.1	22°C	3.26 ^g	136.95 ^h	22.96 ^g	-	160.47 ^f	4.59 ^b	-	324.97 ^d	0.14 ^{ab}	
		40 °C	3.23 ^g	254.92 ^c	-	29.89 ^d	3.01 ^r	1.99 ^{fgh}	-	289.81 ^h	0.12 ^{ab}	
	0.4 + 2.8	22°C	3.89 ^d	136.80 ^h	34.99 ^d	-	139.72 ^h	4.44 ^b	-	315.95 ^f	0.05 ^b	
		40 °C	4.69 ^c	269.66 ^b	-	1.10 ^{kl}	17.98 ^l	17.51 ^a	-	306.25 ^g	0.03 ^b	
	Standart hata			0.045	0.817	0.316	0.516	0.058	0.118	0.100	0.577	0.166
	Önem düzeyi			*	*	*	*	*	*	*	*	*

TUYA, toplam uçucu yağ asitleri.

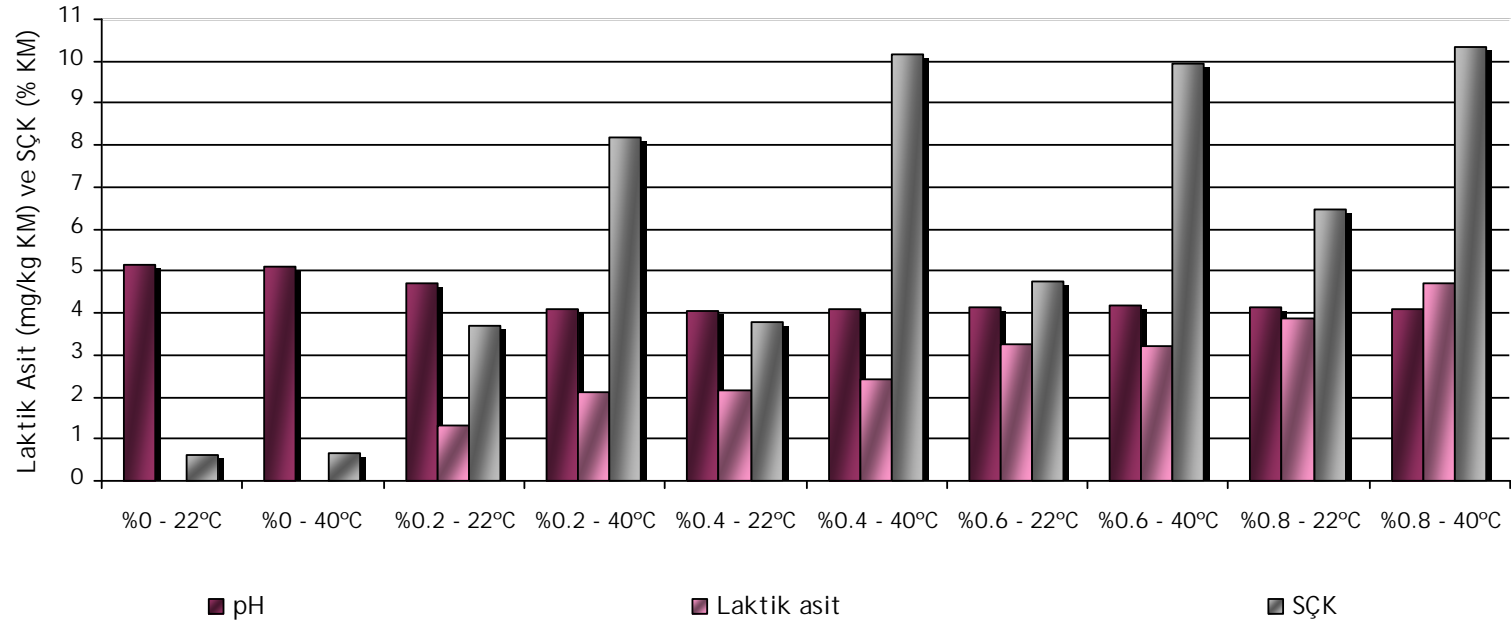
*Aynı sütunda farklı harfler ile gösterilen ortalamalar arasındaki farklılıklar önemlidir (P<0.05).



Şekil 3.3.1. Farklı doz ve sıcaklıklarda sellülozla işlenen buğday samanlarının pH, laktik asit ve SÇK düzeyleri



Şekil 3.3.2. Farklı doz ve sıcaklıklarda ksilanazla işlenen buğday samanlarının pH, laktik asit ve SÇK düzeyleri



Şekil 3.3.3. Farklı doz ve sıcaklıklarda sellülaz+ksilanazla işlenen buğday samanlarının pH, laktik asit ve SÇK düzeyleri

3.4. Buğday Samanlarının İn Vitro Gaz Üretimi, Kuru Madde Sindirilebilirliği, Gerçek Organik Madde Sindirilebilirliği, Mikrobiyal Protein Üretimi ve Metabolik Enerji İçerikleri ile Uçucu Yağ Asitleri Konsantrasyonları

Araştırmada; enzim çeşidi, enzim dozu ve inkübasyon sıcaklığı ile bunların birbirleriyle olan interaksyonları in vitro gaz üretim tekniği ile araştırılan GÜ, KMS, GOMS ve MPÜ parametreleri üzerinde farklı etkilerde bulunmuştur. Araştırmanın yem materyalini oluşturan işlenmemiş buğday samanının pH, GÜ, KMS, GOMS, MPÜ ve ME parametreleri ile UYA konsantrasyonları Çizelge 3.4.1' de verilmiştir.

Çizelge 3.4.1. İşlenmemiş buğday samanının pH, GÜ, KMS, MPÜ, ME değerleri ve UYA konsantrasyonları (KM' de)

Analiz sonuçları	Buğday samanı
pH*	6.70
Gaz üretimi* (ml)	14.92
Kuru madde sindirilebilirliği** (%)	16.66
Gerçek organik madde sindirilebilirliği** (%)	21.15
Mikrobiyal protein üretimi** (mg)	44.90
Metabolik enerji* (kcal/kg)	1039.50
pH**	6.95
Asetik asit** (%)	53.93
Propiyonik asit** (%)	27.77
İzobütrik asit** (%)	0.80
Bütrik asit** (%)	14.17
İzovalerik asit** (%)	1.31
Valerik asit** (%)	2.02
Toplam uçucu yağ asitleri** (mmol/L)	68.37
Asetik asit:propiyonik asit**	1.94

* 200 mg/KM örneğin rumen sıvısında 24 saatlik inkübasyonu sonucunda saptanmıştır.

** 500 mg/KM örneğin rumen sıvısında 24 saatlik inkübasyonu sonucunda saptanmıştır.

Farklı dozlarda enzimlerle işlendikten sonra farklı koşullarda silolanan buğday samanlarının, rumen sıvısında in vitro GÜ tekniği ile 24 saatlik 2 farklı inkübasyonu sonucunda (200 mg/KM ve 500 mg/KM örnek miktarı kullanılarak) elde edilen pH, GÜ, KMS, GOMS, MPÜ ve ME parametreleri Çizelge 3.4.2' de;

GÜ, KMS, GOMS ve MPÜ değerleri Şekil 3.4.1, 3.4.2 ve 3.4.3' de; UYA konsantrasyonları Çizelge 3.4.3' de; asetik asit, propiyonik asit, bütrik asit ve toplam uçucu yağ asitleri (TUYA) değerleri ise Şekil 3.4.4, 3.4.5 ve 3.4.6' da sunulmuştur.

Farklı işlemler arasındaki interaksyonlar hemen hemen bütün in vitro analiz parametrelerinde gözlenmektedir (Çizelge 3.4.2). Gaz üretim değerleri incelendiğinde, enzim çeşidi, enzim dozu ve inkübasyon sıcaklığı ile bunların birbirleriyle interaksyonlarının etkileri önemli bulunmuştur (Ek 4; $P<0.05$). Enzim çeşidi x enzim dozu x inkübasyon sıcaklığı üçlü interaksyonu bakımından biri hariç (22 °C, 0.1+0.7 sellülaz+ksilanaz, 11.09 ml) GÜ, tüm gruplarda kontrol buğday samanlarına (22 °C' de 11.89 ml; 40 °C' de 13.04 ml) göre artış göstermiş, en yüksek değerler her iki sıcaklık derecesinde (17.37 ve 23.00 ml) %0.8 dozunda sellülazla işlenmiş gruplarda görülmüştür (Çizelge 3.4.2; $P<0.05$). Enzim çeşidi bakımından ksilanazla işlenen grupların ortalaması (14.68 ml) ile sellülaz+ksilanaz gruplarının ortalaması (15.21 ml) birbiriyle benzer bulunmuştur (Ek 4; $P<0.05$). En yüksek GÜ değeri olan 23.00 ml, başlangıç materyaline (14.92 ml) göre %54.16, kontrol grubuna (13.04 ml) göre ise %76.38' lik bir oransal artış göstermiştir. Gaz üretimindeki benzer artışlar, Gupta ve Pradhan (1977), Rode ve ark (1999), Kung ve ark. (2002), Eun ve ark. (2006, 2007) ve Rodrigues ve ark. (2008)' nin çalışmalarında da görülmekle beraber, Rodrigues ve ark. (2001) tarafından çok yıllık İngiliz çimi ile yürütülen çalışmada sellülaz ve ksilanaz uygulamasıyla GÜ' nde herhangi bir gelişme sağlanamamıştır.

Kuru madde sindirilebilirliği üzerinde enzim çeşidi dışındaki bütün işleme koşulları ve bunların birbirleriyle olan interaksyonlarının önemli etkilerde bulunduğu göze çarpmaktadır (Çizelge 3.4.2; Ek 4; $P<0.05$;). En yüksek KMS değeri oda sıcaklığında, %5.6 ksilanaz enzimiyle işlenen grupta (%19.55) elde edilirken, 40 °C sıcaklıkta ise %0.8 sellülazla işlenen grupta (%24.30) görülmüştür (Çizelge 3.4.2; $P<0.05$). Uygulanan enzim dozları arttıkça, KMS değerleri de artmış (Ek 4; $P<0.05$), 40 °C' deki inkübasyonların ortalaması (%17.14), oda sıcaklığı ortalamasından (%14.77) daha yüksek

bulunmuştur (Ek 4; $P<0.05$). Bazı araştırmalar KMS'nde artış bildirirken (Feng ve ark., 1996; Rode ve ark., 1999; Yang ve ark., 2000; Eun ve ark., 2006; Pinos-Rodriguez ve ark., 2008), bazı araştırmacılar tarafından herhangi bir gelişme saptanamamış (Reddish ve Kung, 2007) bunun yanı sıra diğer bazı araştırmacılar tarafından ise olumsuz sonuçlar elde edilmiştir (Higginbotham ve ark., 1996; ZoBell ve ark., 2000).

Gerçek organik madde sindirilebilirliği değerleri de KMS değerlerinde olduğu gibi, enzim çeşidi dışındaki bütün işleme koşulları ve bunların birbirleriyle olan interaksiyonlarından önemli derecede etkilenmişlerdir (Çizelge 3.4.2; Ek 4; $P<0.05$). En yüksek GOMS değeri oda sıcaklığında, %5.6 dozunda ksilanazla (%25.65), 40 °C' de ise %0.8 dozunda sellülazla işlenen gruplarda (%33.40) görülmüştür (Çizelge 3.4.2, $P<0.05$). Enzim dozları arttıkça, GOMS değerlerinde de artış görülmüş (Ek 4; $P<0.05$), inkübasyon sıcaklıklarından 40 °C' deki grupların ortalaması (%25.80), oda sıcaklığına (%20.95) göre daha yüksek bulunmuştur (Ek 4; $P<0.05$). Oda sıcaklığındaki en yüksek GOMS değeri, başlangıç materyaline (%21.15) göre %21.28, kontrol grubuna (%14.25) göre ise %80.00' lik bir oransal artış gösterirken, 40 °C' de elde edilen en yüksek GOMS değeri başlangıç materyaline göre %57.92, kontrol grubuna (%15.90) göre ise %110.06' lık oransal bir artış göstermiştir. Organik madde sindirilebilirliğinde benzer artışlar Yang ve ark. (1999) tarafından da bildirilmiştir.

Gaz üretimi ile GOMS parametrelerinden elde edilen bulguların ışığında bu iki in vitro sindirilebilirlik parametresi arasında doğrusal bir ilişki olup olmadığı araştırılmış ve GÜ ve GOMS arasında genel olarak yüksek pozitif korelasyonlar tespit edilmiştir. Her 3 enzim için her iki inkübasyon sıcaklığında araştırılan korelasyon ilişkisi sonucunda elde edilen korelasyon katsayıları ve doğrusal ilişkilerin grafiksel olarak gösterilişleri sırayla şu şekildedir: sellülaz enzimi için 22 °C' de $r=0.920$, Şekil 3.4.7 ve 40 °C' de $r=0.970$, Şekil 3.4.8; ksilanaz enzimi için 22 °C' de $r=0.399$, Şekil 3.4.9 ve 40°C' de $r=0.991$, Şekil 3.4.10; sellülaz+ksilanaz enzimi 22°C' de $r=0.330$, Şekil 3.4.11 ve 40°C' de

$r=0.995$, Şekil 3.4.12. Gaz üretimi ile GOMS arasındaki pozitif korelasyon Blümmel ve ark. (1997b)'nin bildirişlerini destekler niteliktedir.

Mikrobiyal protein üretimi değerleri, KMS ve GOMS değerlerinde olduğu gibi enzim çeşidi dışındaki bütün işleme koşulları ve bunların birbirleriyle olan interaksiyonlarından önemli derecelerde etkilenmiştir (Ek 4; $P<0.05$). En yüksek MPÜ değeri oda sıcaklığında, %0.1+0.7 sellüloz+ksilanazla işlenen grupta (75.60 mg) görülürken, 40 °C sıcaklıkta ise %1.4 ksilanazla işlenen grupta (104.60 mg) görülmektedir (Çizelge 3.4.2, $P<0.05$). Enzim uygulamaları MPÜ' ni kontrol grubuna göre arttırmakla birlikte, enzim dozları arttıkça MPÜ değerlerinde bir miktar azalma göze çarpmaktadır (Ek 4; $P<0.05$). İnkübasyon sıcaklığı yönünden karşılaştırıldıklarında 40°C' deki işlemlerin ortalaması (86.60 mg), oda sıcaklığı ortalamasından (61.80 mg) önemli derecede daha yüksek çıkmıştır (Ek 4; $P<0.05$). Oda sıcaklığındaki en yüksek MPÜ değeri, başlangıç materyaline (44.90 mg) göre %68.37, kontrol grubuna (39.40 mg) göre ise %91.88' lik bir artış gösterirken, 40° C' deki en yüksek MPÜ değeri başlangıç materyaline göre %132.96, kontrol grubuna (45.70 mg) göre ise %128.88' lik oransal bir artışı ifade etmektedir. Enzim dozları arttıkça MPÜ değerlerinde görülen düşüşün nedeni artan SÇK'nın UYA' ne dönüştürülmesi, bu durumun mikrobiyal protein üreten bakterilerin rumen ortamında kendi bakteri proteinlerini üretebilmek için kullanabilecekleri substratın yetersiz kalmasına yol açarak MPÜ' nin yavaşlaması olabilir. Rumen ortamında karbonhidrat metabolizmasının protein parçalanma hızını geçmesi durumunda MPÜ' nin azaldığı, bazı araştırmacılar tarafından da doğrulanmakla beraber (Naga ve Harmeyer, 1970; Nocek ve Russel, 1988; Rymer ve Givens, 1999); diğer bazı araştırmacılar enzim kullanımıyla MPÜ' nin arttığını bildirmişlerdir (Yang ve ark., 1999; Chen ve ark., 2008).

Metabolik enerji üzerinde, enzim çeşidi, enzim dozu ve inkübasyon sıcaklığı ile bunların birbirleriyle interaksiyonlarının etkileri önemli bulunmuştur (Çizelge 3.4.2; Ek 4; $P<0.05$). Enzim çeşidi bakımından gruplarının ortalaması (1035.60 kcal/kg) ile sellüloz+ksilanaz kombinasyonu ile işlenen grupların ortalaması (1051.90 kcal/kg) birbiriyle benzer bulunurken,

enzim dozunun artmasıyla birlikte ME değerleri de artmış ve bu artış 40 °C' de yapılan işlemlerde oda sıcaklığına göre daha yüksek bulunmuştur (Ek 4; P<0.05). Enzim çeşidi x enzim dozu x inkübasyon sıcaklığı üçlü interaksiyonu dikkate alındığında, yalnızca bir grup dışında (22 °C, 0.1+0.7 sellülaz+ksilanaz, 914.30 kcal/kg) tüm diğer gruplarda ME değerleri, kontrol buğday samanlarına (22 °C' de 937.30 kcal/kg; 40 °C' de 977.60 kcal/kg) göre önemli derecede yüksek çıkmıştır (Çizelge 3.4.2; P<0.05). En yüksek ME değerleri, her iki sıcaklık derecesinde de (1123.50 ve 1309.80 kcal/kg) %0.8 dozundaki sellülaz enzimiyle işlenmiş gruplardan elde edilmiştir. Oda sıcaklığında saptanan en yüksek ME, başlangıç materyaline (1039.50 kcal/kg) göre %8.08 kontrol grubuna göre %19.87, 40 °C' de elde edilen en yüksek ME değeri ise başlangıç materyaline göre %26.00, kontrol grubuna göre ise %33.98' lik oransal bir artış göstermiştir.

In vitro GÜ tekniği ile 24 saat inkübasyon sonucu elde edilen UYA konsantrasyonları bakımından (Çizelge 3.4.3) işlemler arasında önemli interaksiyonlar gözlenmiştir. Toplam uçucu yağ asitleri yönünden sellülazla işlenen grupların ortalaması (82.22 mmol/L) rakamsal olarak diğerlerinden daha yüksek bulunmasına rağmen ksilanazla istatikselsel olarak benzer (77.72 mmol/L) ve sellülaz+ksilanaz kombinasyonu ile işlenen grupların ortalamasından (67.98 mmol/L) önemli derecede daha yüksek bulunmuştur (Ek 5; P<0.05). Inkübasyon sıcaklığı bakımından 40° C' deki işlemlerin ortalaması (87.34 mmol/ L), oda sıcaklığına (64.61 mmol/L) göre daha yüksek bulunmuş, kontrol grubuna göre daha yüksek olan enzim dozlarının ortalamaları arasındaki farklılıklar ise önemsiz olmuştur (Ek 5; P>0.05). Enzim çeşidi x enzim dozu x inkübasyon sıcaklığı üçlü interaksiyonu dikkate alındığında, en yüksek TUYA değerleri, oda sıcaklığında %0.4 dozunda sellülazla işlenen grupta (78.38 mmol/L) 40 °C' de ise %0.8 sellülaz (116.6 mmol/L) ve %5.6 ksilanazla (110.1 mmol/L) işlenmiş gruplarda görülmüştür (Çizelge 3.4.3; P<0.05). Oda sıcaklığında elde edilen en yüksek TUYA değeri, başlangıç materyaline (68.37 mmol/L) göre %14.64 kontrol grubuna (60.64 mmol/L) göre %29.25, 40 °C' de elde edilen en yüksek TUYA değeri ise

başlangıç materyaline göre %70.54, kontrol grubuna (70.47 mmol/L) göre ise %65.46' lık oransal artışlar ortaya koymaktadır.

İşleme koşullarının asetik asit konsantrasyonu üzerindeki etkileri incelendiğinde (Çizelge 3.4.3), TUYA konsantrasyonunun büyük bir kısmını asetik asitin oluşturduğu gözlenmektedir. Enzim çeşidi bakımından ksilanazla işlenen grupların asetik asit ortalamasının (%55.74), sellülazla (%53.62) ve sellülaz+ksilanazla (54.21) işlenen grupların ortalamasından yüksek olduğu gözlenirken (Ek 5; $P < 0.05$), enzim çeşidi x enzim dozu x inkübasyon sıcaklığı üçlü interaksiyonları dikkate alındığında özellikle 40 °C'de %0.8 sellülaz (%58.13) ve %5.6 ksilanaz (%57.88) katkılarıyla asetik asit miktarının önemli derecelerde arttığı görülmüştür (Çizelge 3.4.3; $P < 0.05$). Asetik asit:propiyonik asit oranları incelendiğinde, ksilanazla işlenen grupların asetik asit:propiyonik asit ortalaması (2.27) sellülazla (2.14) ve sellülaz+ksilanazla (2.04) işlenen grupların ortalamalarından yüksek bulunmuş (Ek 5; $P < 0.05$), enzim çeşidi x enzim dozu x inkübasyon sıcaklığı üçlü interaksiyonları dikkate alındığında ise 40 °C'de %0.8 sellülazla (2.60) ve %5.6 ksilanazla (2.56) işlemler sonucu asetik asit:propiyonik asit oranlarının önemli derecelerde arttığı saptanmıştır (Çizelge 3.4.3; $P < 0.05$). Konu ile ilgili olarak Rodrigues ve ark. (2008) tarafından yapılan araştırmada, enzimle işlemenin rumende UYA konsantrasyonlarını etkilemediği yine Rodrigues ve ark. (2001)' nin diğer bir çalışmasında asetik asit konsantrasyonlarının düştüğü; Eun ve ark. (2006, 2007) tarafından pirinç samanı ve yonca kuru otunun enzimle işlendiği çalışmalarda da asetik asit:propiyonik asit oranının düştüğü belirlenmiştir. Bu araştırmada ise UYA miktarındaki değişimler kapsamında asetik asitin artması veya propiyonik asitin azalması sonucu asetik asit:propiyonik asit oranları yükselmiştir.

Fibrolitik enzimlerle yapılan işlemlerin buğday samanlarının rumen ortamındaki in vitro sindirim parametreleri üzerindeki etkilerinin genel değerlendirilmesi, enzimle işlemenin bu parametreleri geliştirdiğini göstermektedir. Fibrolitik enzimlerle işleme hücre duvarı (NDF) kapsamındaki azalmayla serbest kalan karbonhidratların rumendeki fermantasyonuna bağlı

olarak GÜ, KMS, GOMS, UYA ve ME içeriklerini artırmıştır. En iyi sonuçlar 40 °C'de %0.8 sellülazla işleme sonucunda elde edilmiştir. Rumende karbonhidrat metabolizması ile bunların fermantasyonuna bağlı olarak GÜ ve UYA üretiminde artışlar Blümmel ve Ørskov (1993), Opatpatanakit ve ark. (1994), Aganga ve Mosase (2001), Deaville ve Givens (2001), Getachew ve ark (2002a), Babayemi (2006), Sallam ve ark. (2007), Makkar (2008); GÜ ve ME arasındaki pozitif ilişkiler Menke ve Steingass (1988), Aganga ve Mosase (2001), Getachew ve ark. (2002b), Babayemi (2006); GÜ ve OMS arasındaki pozitif ilişkiler Aganga ve Mosase (2001), Getachew ve ark (2002b), Babayemi (2006), Blümmel ve Reddy (2006) tarafından da vurgulanmıştır.

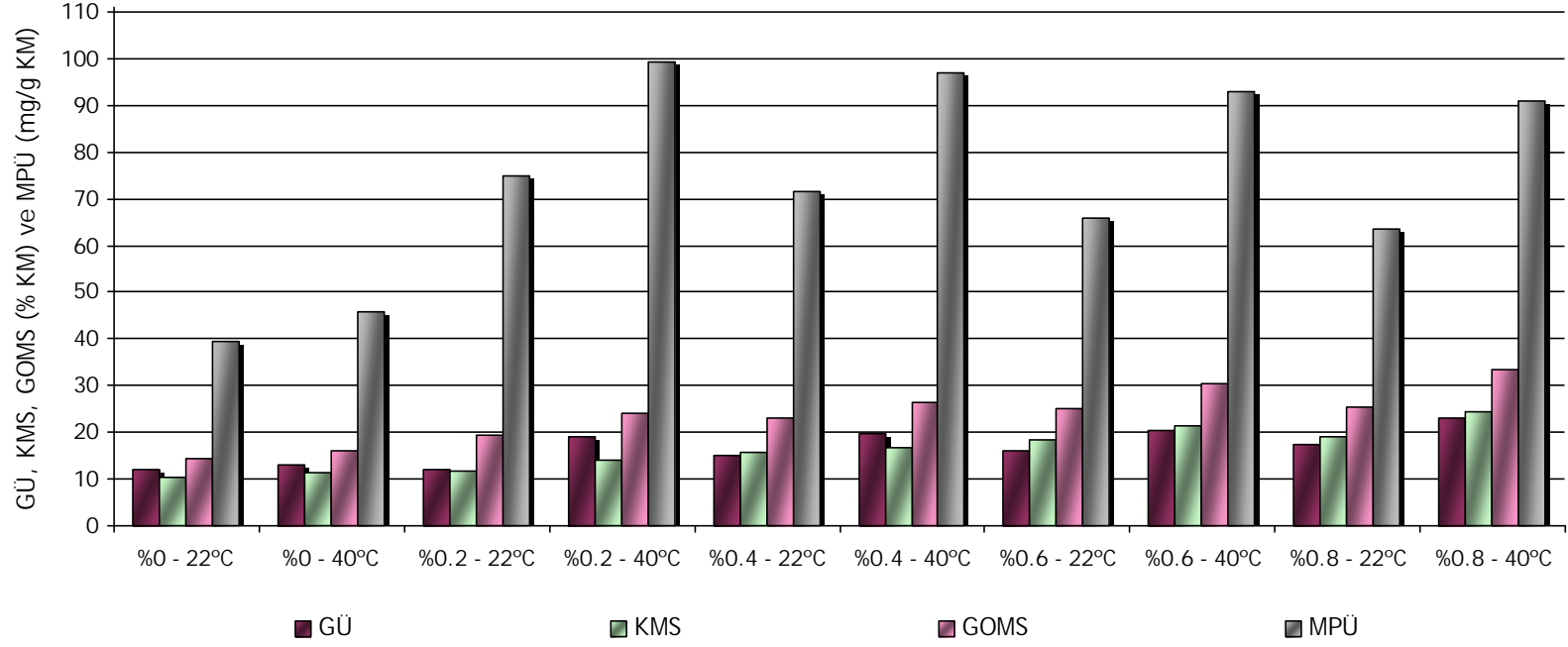
Çizelge 3.4.2. Farklı doz ve sıcaklıklarda fibrolitik enzimlerle işlenen buğday samanlarının rumen sıvısında 24 saatlik inkübasyonları sonucu elde edilen pH, GÜ, KMS, GOMS, MPÜ ve ME değerleri (KM' de)

İşleme koşulları			pH	GÜ, ml	KMS, %	GOMS, %	MPÜ, mg	ME kcal/kg
Enzim çeşidi	Enzim dozu, % KM	Inkübasyon sıcaklığı						
Sellülaz	0	22°C	6.75 ^a	11.89 ^k	10.31 ^m	14.25 ^s	39.40 ^g	937.30 ^k
		40 °C	6.73 ^{ab}	13.04 ^{hi}	11.33 ^l	15.90 ^f	45.70 ^g	977.60 ^{hi}
	0.2	22°C	6.63 ^{def}	12.16 ^{ijk}	11.81 ^l	19.30 ^q	74.90 ^d	951.50 ^{ij}
		40 °C	6.77 ^a	19.16 ^{cd}	14.10 ^j	24.04 ^{lm}	99.40 ^{abc}	1183.80 ^{cd}
	0.4	22°C	6.61 ^f	15.00 ^g	15.80 ⁱ	22.94 ⁿ	71.40 ^{de}	1044.10 ^g
		40 °C	6.75 ^a	19.86 ^{bc}	16.72 ^h	26.43 ^{gh}	97.10 ^{abc}	1210.10 ^{bc}
	0.6	22°C	6.63 ^{def}	15.90 ^g	18.36 ^g	24.94 ^{ik}	65.80 ^{ef}	1074.10 ^g
		40 °C	6.72 ^{abc}	20.41 ^b	21.27 ^c	30.55 ^c	92.80 ^{bc}	1222.30 ^b
0.8	22°C	6.60 ^f	17.37 ^f	19.05 ^{fg}	25.40 ^{ij}	63.50 ^{ef}	1123.50 ^f	
	40 °C	6.72 ^{abc}	23.00 ^a	24.30 ^a	33.40 ^a	91.00 ^c	1309.80 ^a	
Ksilanaz	0	22°C	6.75 ^a	11.89 ^{jk}	10.31 ^m	14.25 ^s	39.40 ^g	937.30 ^k
		40 °C	6.73 ^{ab}	13.04 ^{hi}	11.33 ^l	15.90 ^f	45.70 ^g	977.60 ^{hi}
	1.4	22°C	6.60 ^f	12.18 ^{ij}	11.63 ^l	18.66 ^q	70.30 ^{de}	952.00 ^{ij}
		40 °C	6.72 ^{abc}	17.64 ^{ef}	15.64 ^l	26.10 ^{sh}	104.60 ^a	1132.10 ^{ef}
	2.8	22°C	6.60 ^f	10.04 ^l	13.84 ^j	20.63 ^p	67.90 ^{def}	882.90 ^l
		40 °C	6.75 ^a	17.67 ^{ef}	17.51 ^h	27.42 ^f	99.10 ^{abc}	1132.70 ^{ef}
	4.2	22°C	6.60 ^f	12.08 ^{ijk}	16.96 ^h	23.42 ^{mn}	64.60 ^{ef}	953.20 ^{ij}
		40 °C	6.76 ^a	18.51 ^{de}	20.39 ^d	30.10 ^c	97.10 ^{abc}	1163.90 ^{de}
5.6	22°C	6.68 ^{bcd}	13.72 ^h	19.55 ^{ef}	25.65 ^{hij}	61.00 ^f	1009.20 ^h	
	40 °C	6.72 ^{abc}	19.99 ^{bc}	22.31 ^b	31.74 ^b	94.30 ^{bc}	1214.70 ^{bc}	
Sellülaz+ksilanaz (50:50)	0	22°C	6.75 ^a	11.89 ^{jk}	10.31 ^m	14.25 ^s	39.40 ^g	937.30 ^k
		40 °C	6.73 ^{ab}	13.04 ^{hi}	11.33 ^l	15.90 ^f	45.70 ^g	977.60 ^{hi}
	0.1 + 0.7	22°C	6.67 ^{cde}	11.09 ^k	13.03 ^k	20.59 ^p	75.60 ^d	914.30 ^k
		40 °C	6.67 ^{cde}	18.19 ^{def}	15.15 ^l	25.20 ^{ik}	100.50 ^{ab}	1148.40 ^{ef}
	0.2 + 1.4	22°C	6.68 ^{bcd}	12.07 ^{ijk}	15.42 ^l	22.13 ^o	67.10 ^{def}	948.00 ^{ij}
		40 °C	6.52 ^g	19.80 ^{bc}	16.94 ^h	26.79 ^{fg}	98.50 ^{abc}	1203.50 ^{bc}
	0.3 + 2.1	22°C	6.67 ^{cde}	13.79 ^h	16.86 ^h	23.29 ^{mn}	64.30 ^{ef}	1006.90 ^h
		40 °C	6.52 ^g	19.84 ^{bc}	18.72 ^g	28.20 ^e	94.80 ^{bc}	1206.30 ^{bc}
0.4 + 2.8	22°C	6.68 ^{bcd}	11.97 ^{ijk}	18.36 ^g	24.46 ^{kl}	61.00 ^f	949.20 ^{ij}	
	40 °C	6.62 ^{ef}	20.52 ^b	20.02 ^{de}	29.29 ^d	92.70 ^{bc}	1227.70 ^b	
Standart hata			0.017	0.328	0.270	0.263	2.775	10.660
Önem düzeyi			*	*	*	*	*	*

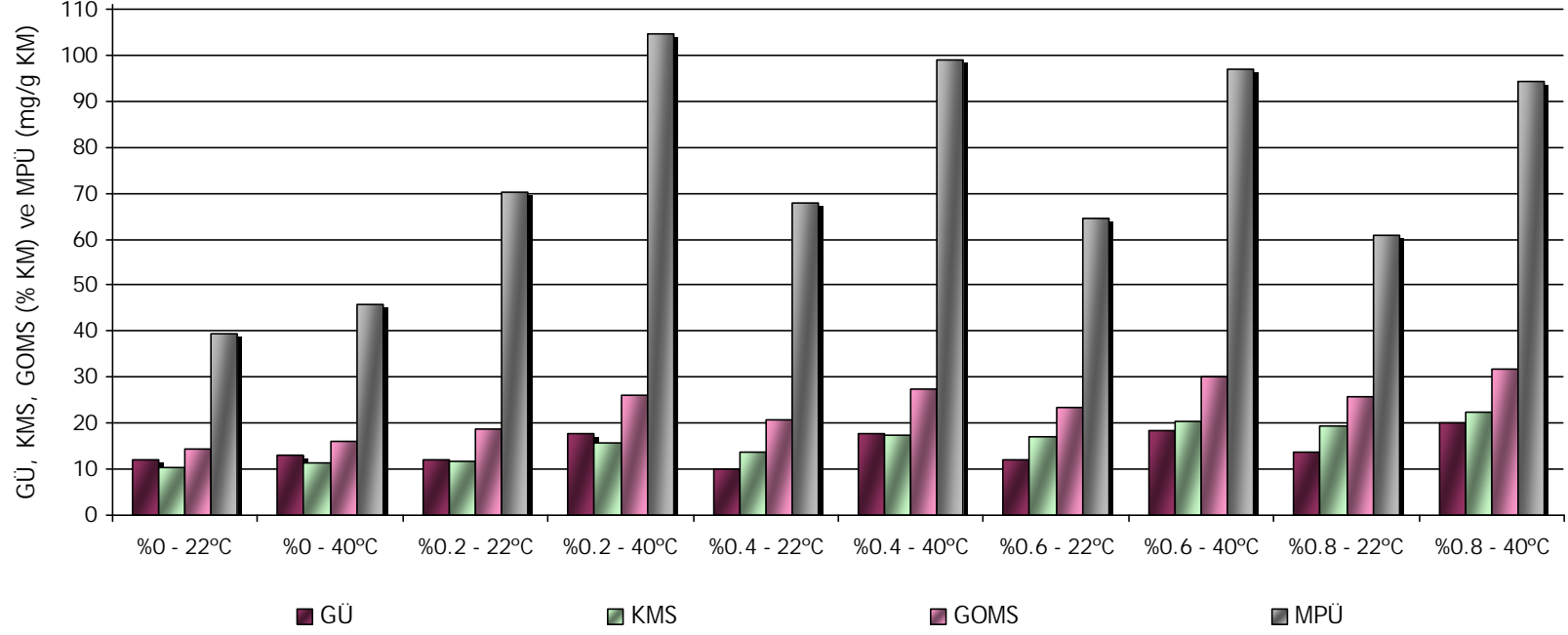
GÜ, gaz üretimi; KMS, kuru madde sindirilebilirliği; GOMS, gerçek organik madde sindirilebilirliği; MPÜ, mikrobiyal protein üretimi.

pH ve GÜ sonuçları, 200 mg/KM örneğin rumen sıvısında 24 saatlik inkübasyonu sonucunda; KMS, GOMS ve MPÜ sonuçları, 500 mg/KM örneğin rumen sıvısında 24 saatlik inkübasyonu sonucunda elde edilmiştir.

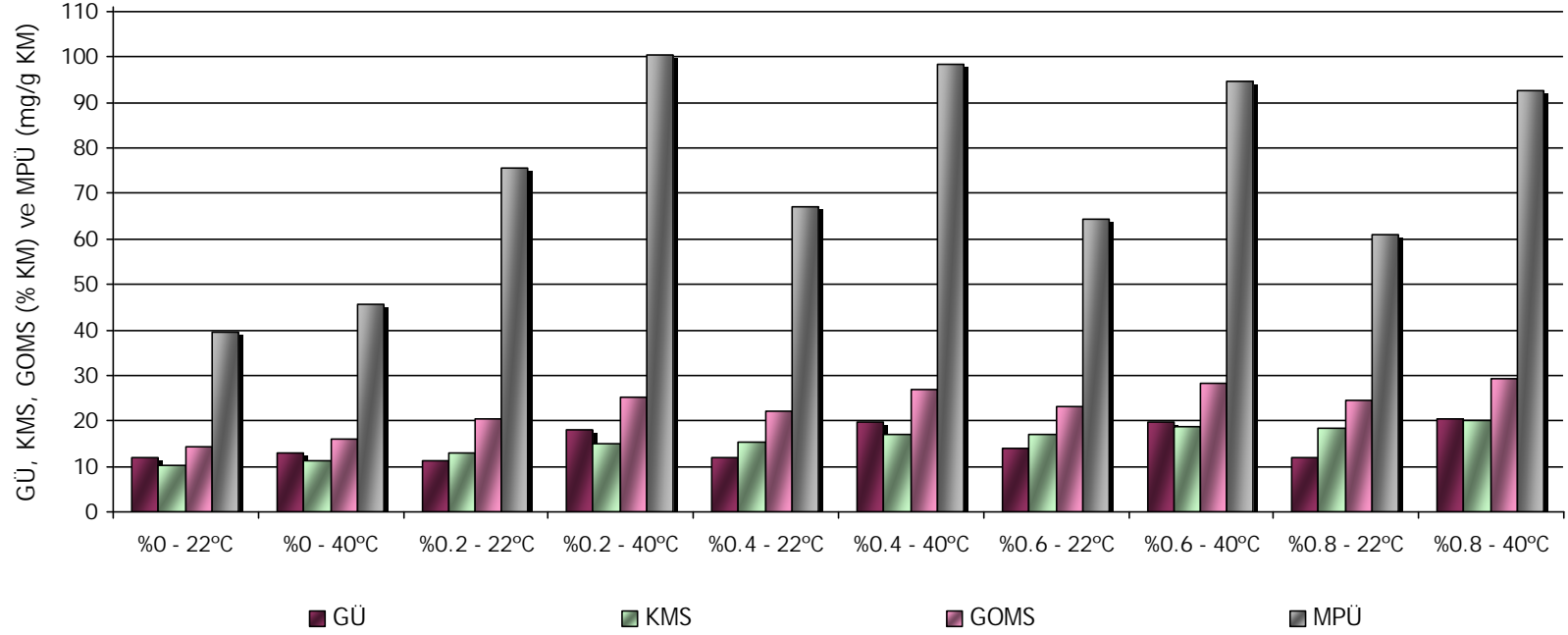
*Aynı sütunda farklı harfler ile gösterilen ortalamalar arasındaki farklılıklar önemlidir (P<0.05).



Şekil 3.4.1. Farklı doz ve sıcaklıklarda sellülozla işlenen buğday samanlarının rumen sıvısında 24 saatlik inkübasyonları sonucu elde edilen gaz üretimi, kuru madde sindirilebilirliği, gerçek organik madde sindirilebilirliği ve mikrobiyal protein üretimi değerleri



Şekil 3.4.2. Farklı doz ve sıcaklıklarda ksilanazla işlenen buğday samanlarının rumen sıvısında 24 saatlik inkübasyonları sonucu elde edilen gaz üretimi, kuru madde sindirilebilirliği, gerçek organik madde sindirilebilirliği ve mikrobiyal protein üretimi değerleri



Şekil 3.4.3. Farklı doz ve sıcaklıklarda sellüloz+ksitanazla ile işlenen buğday samanlarının rumen sıvısında 24 saatlik inkübasyonları sonucu elde edilen gaz üretimi, kuru madde sindirilebilirliği, gerçek organik madde sindirilebilirliği ve mikrobiyal protein üretimi değerleri

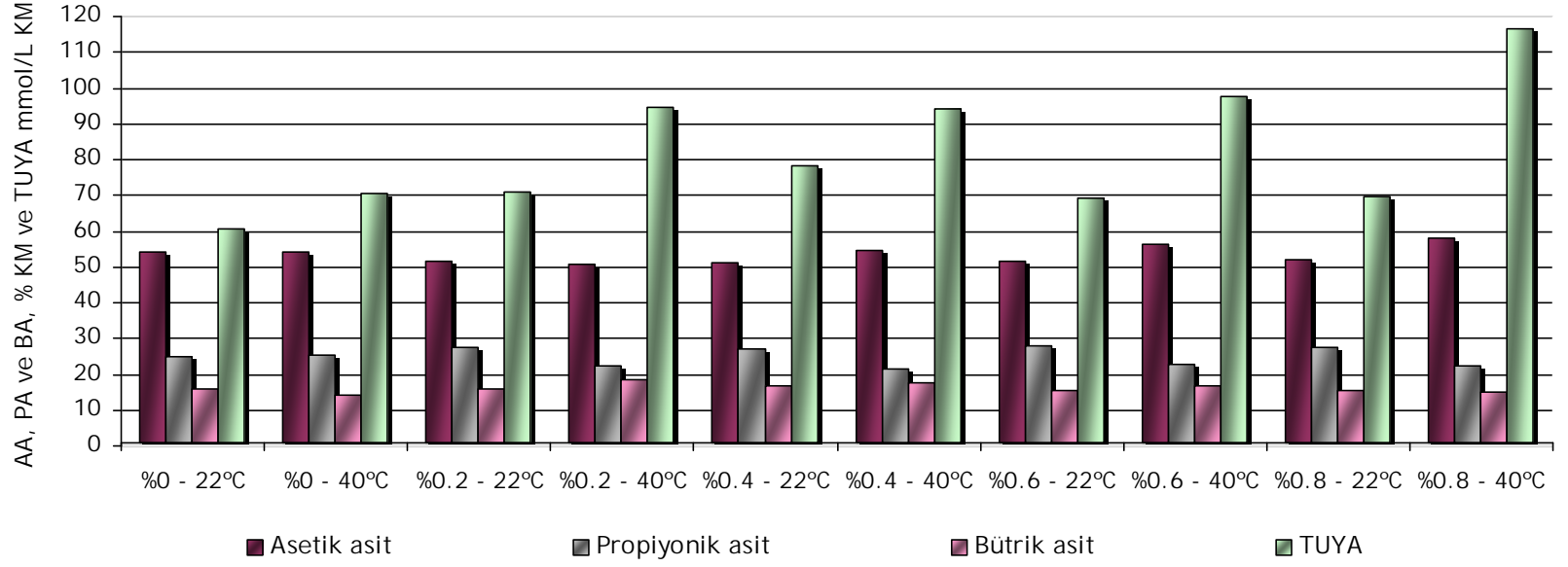
Çizelge 3.4.3. Farklı doz ve sıcaklıklarda fibrolitik enzimlerle işlenen buğday samanlarının rumen sıvısında 24 saatlik inkübasyonları sonucu elde edilen pH değerleri ve UYA konsantrasyonları

İşleme koşulları			Uçucu yağ asitleri kompozisyonu (% KM)							TUYA, mmol/L KM	Ase:Prop
Enzim çeşidi	Enzim dozu % KM	Inkübasyon sıcaklığı	pH	Asetik asit	Propiyonik asit	İzobütrik asit	Bütrik asit	İzovalerik asit	Valerik asit		
Sellülaz	0	22°C	6.94 ^{cde}	54.60 ^{efgh}	26.91 ^{abcde}	0.96 ^{de}	14.07 ^{hi}	1.38 ^{ef}	2.08 ^{bcde}	60.64 ^{gh}	2.03 ^{ij}
		40 °C	6.91 ^{de}	54.68 ^{efgh}	24.75 ^{ghi}	1.01 ^{de}	15.75 ^{bcdef}	1.63 ^{de}	2.18 ^{bcde}	70.47 ^{def}	2.21 ^{efg}
	0.2	22°C	6.99 ^{abcde}	51.80 ^{jk}	27.72 ^a	0.80 ^{ef}	15.87 ^{bcde}	1.58 ^{de}	2.23 ^{bcd}	70.86 ^{def}	1.87 ^k
		40 °C	7.08 ^a	50.69 ^k	22.29 ^{jk}	2.45 ^a	18.55 ^a	3.53 ^a	2.49 ^{ab}	94.65 ^b	2.27 ^{de}
	0.4	22°C	6.92 ^{cde}	51.37 ^{jk}	27.28 ^{abc}	0.79 ^{ef}	16.78 ^b	1.52 ^{def}	2.26 ^{abcd}	78.38 ^{cd}	1.88 ^k
		40 °C	6.98 ^{abcde}	54.49 ^{fgh}	21.37 ^k	2.20 ^a	17.82 ^a	2.14 ^{bc}	1.98 ^{cde}	94.19 ^b	2.55 ^{ab}
	0.6	22°C	6.93 ^{cde}	51.78 ^{jk}	27.79 ^a	0.84 ^{ef}	15.65 ^{bcdef}	1.53 ^{def}	2.41 ^{abc}	69.35 ^{def}	1.86 ^k
		40 °C	7.06 ^a	56.49 ^{abcdef}	22.82 ^{jk}	0.84 ^{ef}	16.73 ^b	1.44 ^{ef}	1.68 ^{ef}	97.61 ^b	2.47 ^b
	0.8	22°C	7.02 ^{abc}	52.22 ^{jk}	27.71 ^a	0.84 ^{ef}	15.28 ^{cdefg}	1.55 ^{def}	2.40 ^{abc}	69.48 ^{def}	1.88 ^k
		40 °C	6.99 ^{abcde}	58.13 ^a	22.36 ^{jk}	1.24 ^{cd}	15.21 ^{cdefgh}	1.23 ^{ef}	1.83 ^{de}	116.60 ^a	2.60 ^a
Ksilanaz	0	22°C	6.94 ^{cde}	54.60 ^{efgh}	26.91 ^{bcde}	0.96 ^{de}	14.07 ^{hi}	1.38 ^{ef}	2.08 ^{bcde}	60.64 ^{gh}	2.03 ^{ij}
		40 °C	6.91 ^{de}	54.68 ^{efgh}	24.75 ^{ghi}	1.01 ^{de}	15.75 ^{bcdef}	1.63 ^{de}	2.18 ^{bcde}	70.47 ^{def}	2.21 ^{efg}
	1.4	22°C	6.93 ^{cde}	55.87 ^{bcdefg}	23.78 ^{hij}	0.75 ^{ef}	16.70 ^b	1.22 ^{ef}	1.68 ^{ef}	70.10 ^{def}	2.35 ^{cd}
		40 °C	7.00 ^{abcd}	52.94 ^{hij}	25.28 ^{defgh}	1.58 ^b	16.33 ^{bc}	1.93 ^{cd}	1.94 ^{cde}	91.24 ^b	2.09 ^{ghi}
	2.8	22°C	7.08 ^a	57.38 ^{abcd}	23.40 ^j	0.79 ^{ef}	15.33 ^{cdefg}	1.33 ^{ef}	1.77 ^{de}	62.64 ^{fgh}	2.45 ^{bc}
		40 °C	6.93 ^{cde}	54.27 ^{ghi}	25.22 ^{efgh}	1.48 ^{bc}	14.98 ^{defgh}	2.21 ^{be}	1.84 ^{de}	91.06 ^b	2.15 ^{fgh}
	4.2	22°C	7.02 ^{abc}	56.54 ^{abcdef}	23.06 ^j	0.74 ^{ef}	16.40 ^{bc}	1.39 ^{ef}	1.87 ^{de}	58.56 ^{gh}	2.45 ^{bc}
		40 °C	6.94 ^{cde}	55.72 ^{cdefg}	25.02 ^{fghi}	1.41 ^{bc}	14.40 ^{ghi}	1.65 ^{de}	1.80 ^{de}	97.58 ^b	2.23 ^{ef}
	5.6	22°C	7.08 ^a	57.49 ^{abc}	25.57 ^{cdefg}	0.85 ^{ef}	13.57 ⁱ	0.62 ^g	1.90 ^{de}	64.84 ^{efg}	2.25 ^{def}
		40 °C	6.94 ^{bcde}	57.88 ^{ab}	22.61 ^{jk}	1.42 ^{bc}	14.28 ^{ghi}	2.51 ^b	1.30 ^f	110.10 ^a	2.56 ^{ab}
Sellülaz+ksilanaz (50:50)	0	22°C	6.94 ^{cde}	54.60 ^{efgh}	26.91 ^{abcde}	0.96 ^{de}	14.07 ^{hi}	1.38 ^{ef}	2.08 ^{bcde}	60.64 ^{gh}	2.03 ^{ij}
		40 °C	6.91 ^{de}	54.68 ^{efgh}	24.75 ^{ghi}	1.01 ^{de}	15.75 ^{bcdef}	1.63 ^{de}	2.18 ^{bcde}	70.47 ^{def}	2.21 ^{efg}
	0.1 + 0.7	22°C	7.04 ^{ab}	56.53 ^{abcdef}	24.87 ^{ghi}	0.73 ^{ef}	14.78 ^{efgh}	1.29 ^{ef}	1.80 ^{de}	72.10 ^{de}	2.27 ^{de}
		40 °C	6.91 ^{de}	52.14 ^{jk}	27.58 ^a	0.69 ^{ef}	16.14 ^{bcd}	1.25 ^{ef}	2.20 ^{bcd}	73.66 ^{cde}	1.89 ^k
	0.2 + 1.4	22°C	7.05 ^a	56.63 ^{abcde}	27.57 ^a	0.53 ^f	11.46 ^j	1.10 ^f	2.71 ^a	53.80 ^h	2.05 ^{hij}
		40 °C	6.94 ^{bcde}	51.80 ^{jk}	27.88 ^a	0.73 ^{ef}	16.19 ^{bcd}	1.22 ^{ef}	2.18 ^{bcde}	76.81 ^{cd}	1.86 ^k
	0.3 + 2.1	22°C	7.02 ^{abc}	56.06 ^{bcdefg}	26.61 ^{abcdef}	0.65 ^{ef}	13.50 ⁱ	1.24 ^{ef}	1.94 ^{cde}	59.09 ^{gh}	2.11 ^{ghi}
		40 °C	6.89 ^e	51.79 ^{jk}	27.44 ^{ab}	0.81 ^{ef}	16.62 ^b	1.21 ^{ef}	2.13 ^{bcde}	73.24 ^{de}	1.89 ^k
	0.4 + 2.8	22°C	7.00 ^{abcd}	55.36 ^{defg}	25.75 ^{bcdefg}	0.76 ^{ef}	14.60 ^{fghi}	1.48 ^{def}	2.05 ^{bcde}	58.06 ^{gh}	2.15 ^{fgh}
		40 °C	6.89 ^e	52.49 ^{ijk}	26.99 ^{abcd}	0.91 ^{de}	15.78 ^{bcdef}	1.69 ^{de}	2.14 ^{bcde}	81.94 ^c	1.94 ^{jk}
Standart hata			0.030	0.611	0.525	0.106	0.364	0.138	0.145	2.759	0.036
Önem düzeyi			*	*	*	*	*	*	*	*	*

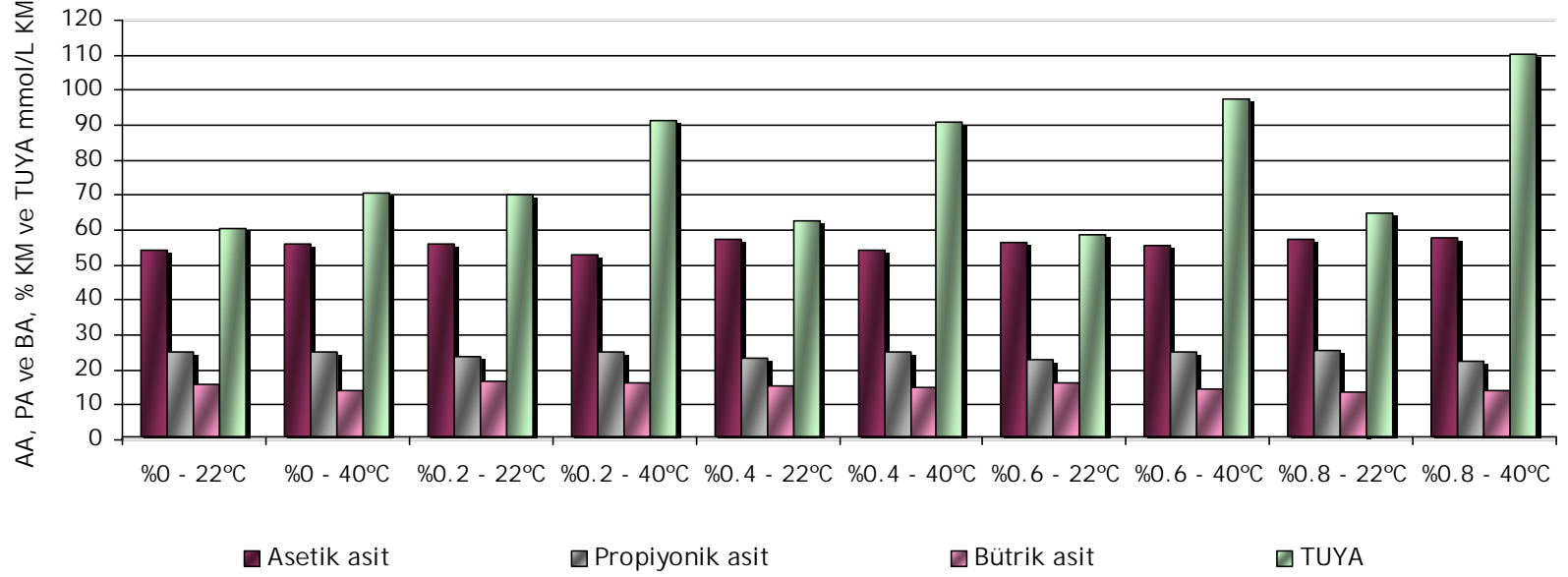
TUYA, toplam uçucu yağ asitleri. Ase:Prop, Asetik:propiyonik asit.

pH ve UYA değerleri, 500 mg/KM örneğin rumen sıvısında 24 saatlik inkübasyonu sonucunda elde edilmiştir.

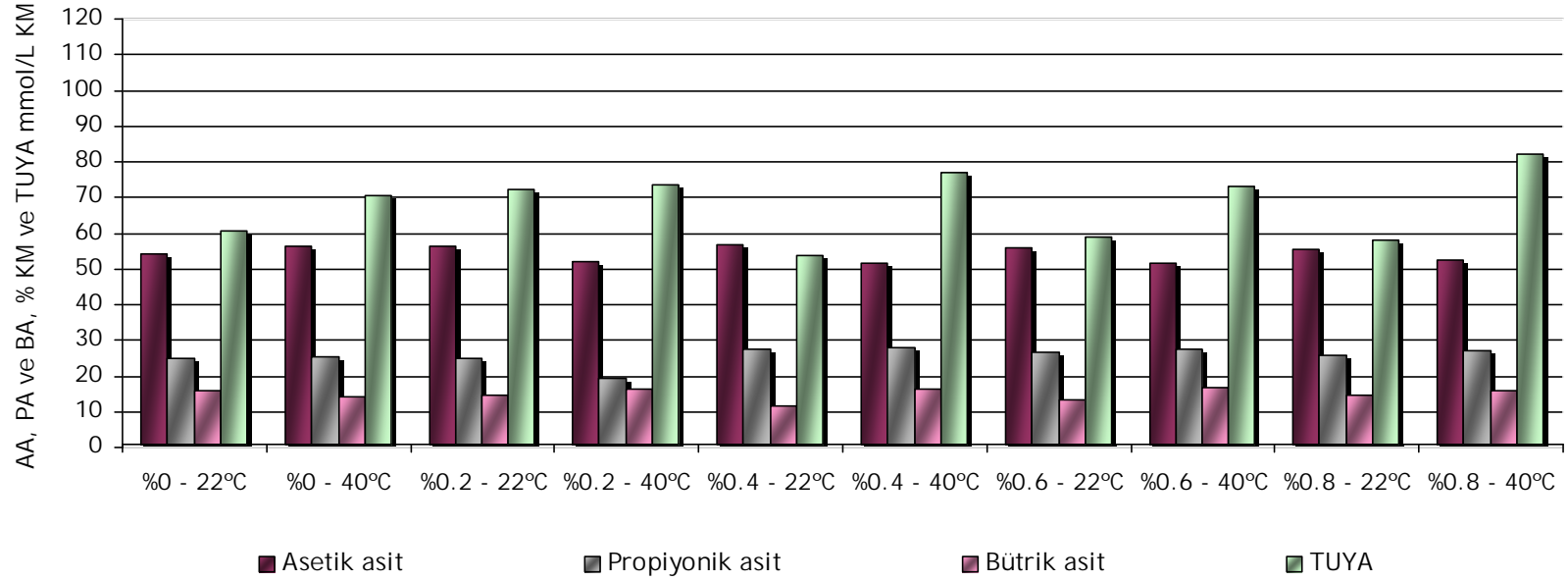
*Aynı sütunda farklı harfler ile gösterilen ortalamalar arasındaki farklılıklar önemlidir (P<0.05).



Şekil 3.4.4. Farklı doz ve sıcaklıklarda sellüloz ile işlenen buğday samanlarının rumen sıvısında 24 saatlik inkübasyonları sonucu elde edilen asetik asit (AA), propiyonik asit (PA) bütirik asit (BA) ve TUYA konsantrasyonları



Şekil 3.4.5. Farklı doz ve sıcaklıklarda ksilanaz ile işlenen buğday samanlarının rumen sıvısında 24 saatlik inkübasyonları sonucu elde edilen asetik asit (AA), propiyonik asit (PA) bütirik asit (BA) ve TUYA konsantrasyonları

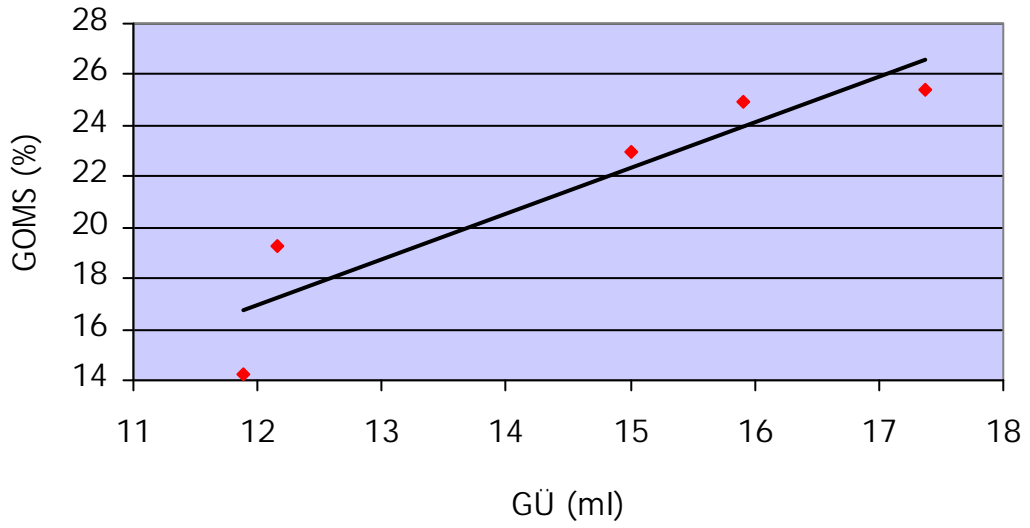


Şekil 3.4.6. Farklı doz ve sıcaklıklarda sellüloz+ksilanazla işlenen buğday samanlarının rumen sıvısında 24 saatlik inkübasyonları sonucu elde edilen asetik asit (AA), propiyonik asit (PA) bütrik asit (BA) ve TUYA konsantrasyonları

Sellülaz (22°C)

$$y = 1,794x - 4,5831$$

$$R^2 = 0,8464$$

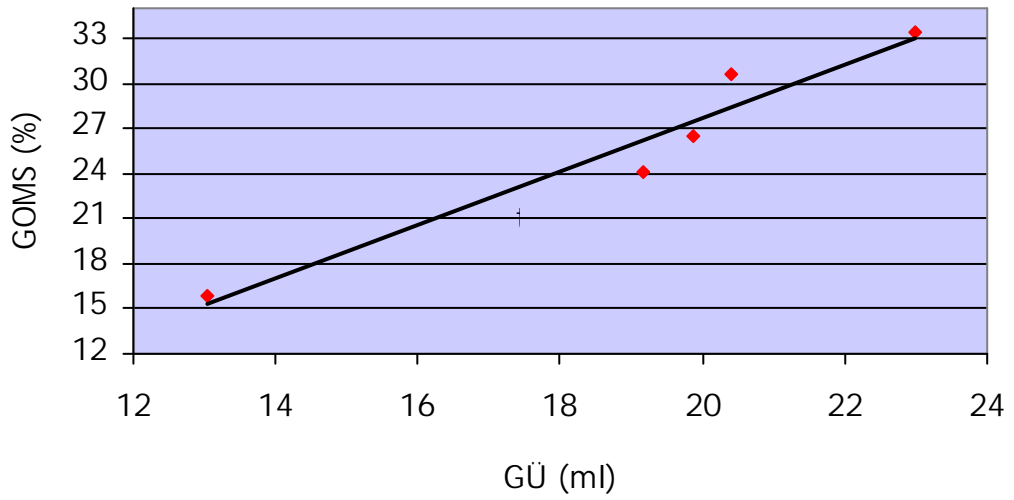


Şekil 3.4.7. Sellülazla işlenerek 22 °C' de inkübasyona bırakılan buğday samanlarının gaz üretimi x gerçek organik madde sindirilebilirliği arasındaki regresyon denklemi ve korelasyon katsayısı

Sellülaz (40°C)

$$y = 1,7746x - 7,8201$$

$$R^2 = 0,9411$$

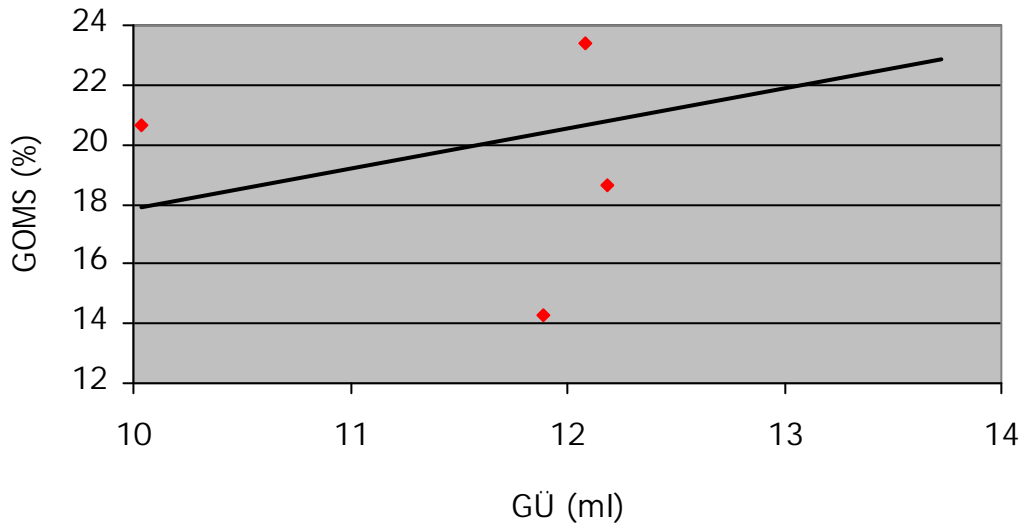


Şekil 3.4.8. Sellülazla işlenerek 40 °C' de inkübasyona bırakılan buğday samanlarının gaz üretimi x gerçek organik madde sindirilebilirliği arasındaki regresyon denklemi ve korelasyon katsayısı

Ksilanaz (22°C)

$$y = 1,3425x + 4,4363$$

$$R^2 = 0,1593$$

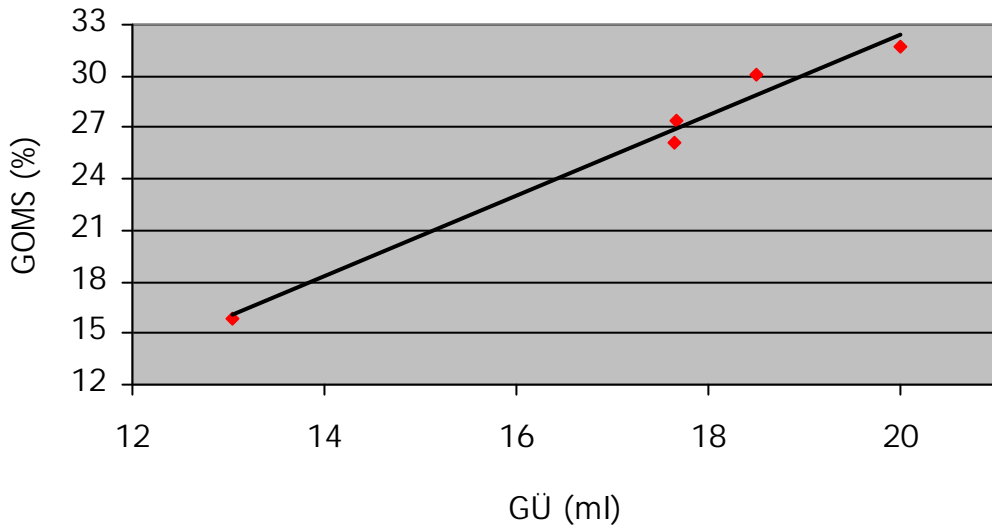


Şekil 3.4.9. Ksilanazla işlenerek 22 °C' de inkübasyona bırakılan buğday samanlarının gaz üretimi x gerçek organik madde sindirilebilirliği arasındaki regresyon denklemi ve korelasyon katsayısı

Ksilanaz (40°C)

$$y = 2,36x - 14,741$$

$$R^2 = 0,9826$$

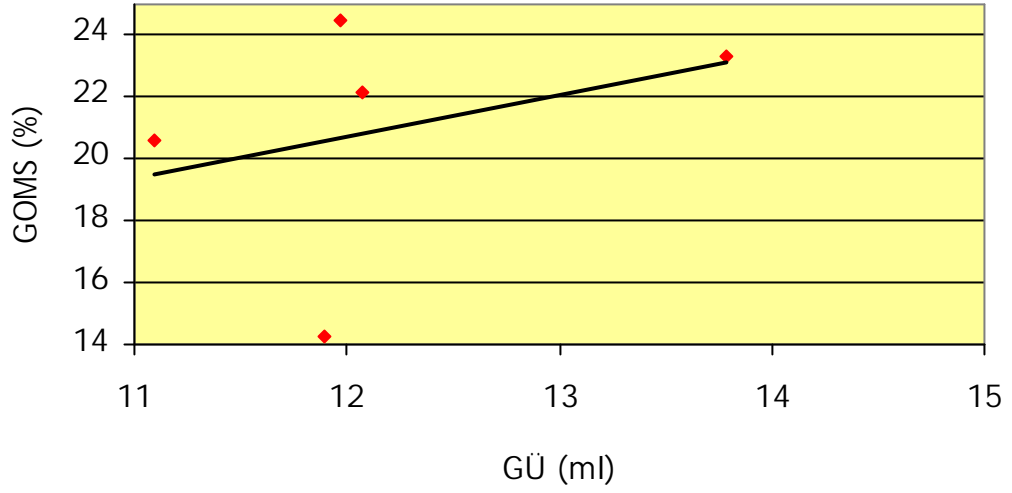


Şekil 3.4.10. Ksilanazla işlenerek 40 °C' de inkübasyona bırakılan buğday samanlarının gaz üretimi x gerçek organik madde sindirilebilirliği arasındaki regresyon denklemi ve korelasyon katsayısı

Sellülaz + Ksilanaz (22°C)

$$y = 1,3359x + 4,6964$$

$$R^2 = 0,1089$$

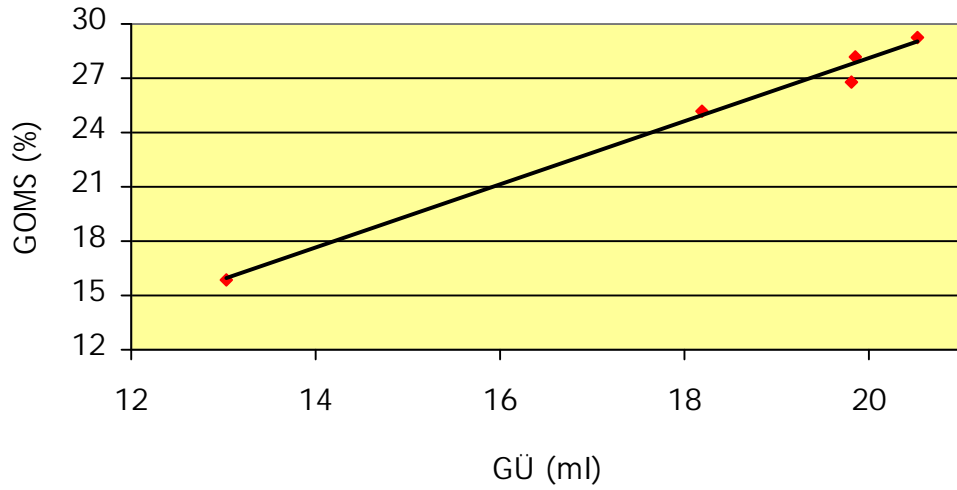


Şekil 3.4.11. Sellülaz+ksilanazla işlenerek 22 °C' de inkübasyona bırakılan buğday samanlarının gaz üretimi x gerçek organik madde sindirilebilirliği arasındaki regresyon denklemi ve korelasyon katsayısı

Sellülaz + Ksilanaz (40°C)

$$y = 1,7457x - 6,8326$$

$$R^2 = 0,9894$$



Şekil 3.4.12. Sellülaz+ksilanazla işlenerek 40 °C' de inkübasyona bırakılan buğday samanlarının gaz üretimi x gerçek organik madde sindirilebilirliği arasındaki regresyon denklemi ve korelasyon katsayısı

SONUÇ

Bu araştırmada ¼lkemizde ruminant beslemede yaygın bir şekilde kullanılan buğday samanı, oda sıcaklığı (22 °C) ve 40 °C' de *Trichoderma viride* kaynaklı sell¼lazla %0, 0.2, 0.4, 0,6 ve 0.8; *Thermomyces lanuginosus* kaynaklı ksilanazla %0, 1.4, 2.8, 4.2 ve 5.6; sell¼laz+ksilanaz kombinasyonu (50:50) %0, 0.1+0.7, 0.2+1.4, 0.3+2.1 ve 0.4+2.8 dozlarında işlendikten sonra, 30 g¼n s¼reyle silolanarak kimyasal ve biyolojik açıdan değerlendirilmiştir. Buğday samanı, diğer kaba yemler gibi rumende uzun s¼re kalarak oldukça yavaş parçalandığı için, bu t¼r ¼n işlemeler, gerek buğday samanı gerekse diğer kaba yemlerin sindirilebilirliğini arttırmada çok ¼nemlidir. Kaba yemlerin sindirilme derecelerinin arttırılmasıyla, rumenin fiziksel doluluğunun azaltılarak yem t¼ketiminin artmasına olanak sağlanmakta, bu da verimlere olumlu yansımaktadır.

Araştırma sonucunda sell¼laz, ksilanaz ve sell¼laz+ksilanaz enzimlerinin artan dozlarıyla birlikte, h¼cre duvarı bileşiminde azalma ile SK, in vitro G¼, GOMS ve ME içeriğindeki artışlar şeklinde g¼r¼len etkilerle, d¼ř¼k besleme değerine sahip olan buğday samanının besleme değerinin geliştirilebileceği s¼ylenebilir. Bu durum LS materyalin ruminant beslemede daha etkin bir şekilde değerlendirilebileceği anlamına da gelmektedir. En etkili sonuçlar ¼ncelikle sell¼laz, daha sonra sell¼laz+ksilanaz kombinasyonunun en y¼ksek dozlarıyla yapılan işlemelerden elde edilmiştir. Ksilanaz, tek başına kullanıldığında diğer iki enzim kadar etkili olmadığından uygulamada sell¼laz ve/veya yarı yarıya sell¼laz ve ksilanazdan oluşan karışımların kullanılması ¼nerilebilir. Enzimlerin etkilerinin sıcaklıkla artması nedeniyle, enzim kullanımı sırasında ink¼basyon sıcaklığı da ¼nemli bir fakt¼r olarak dikkate alınmalıdır.

Kaba yem ¼rneklerinin in vitro olarak rumen sıvısı, tampon ve enzim kullanılarak ink¼basyona tabi tutulması, yem enzimlerinin ruminantlar için etkinliğinin saptanması açısından kullanışlı ve in vivo y¼ntemlere g¼re daha ucuz y¼ntemlerdir. *In vitro* y¼ntemler ayrıca, daha fazla sayıda enzim kullanımına da olanak sağlayabilir. *In vitro* y¼ntemle enzimlerin yem

sindirilebilirliği üzerindeki etkileri araştırılırken, masraf ve iş gücünü azaltmak için sadece 24 saatlik inkübasyon süresi ile yetinilebilir.

Bu araştırmayla fibrolitik enzimlerin, kaba yemlerin besleme değerini artırmada dikkate değer bir potansiyele sahip oldukları ortaya konmuştur. Gelecekte yürütülecek araştırmalar, temel olarak kaba yemlerin yemlemeden hemen önce hangi enzimlerle nasıl işlenmesi gerektiğini, enzim çeşitlerinin özelliklerini ve birbirleriyle uygun kombinasyonlarını belirlemeyi amaçlamalıdır. İlave olarak, enzimlerin hücre duvarı bileşenleri ve bunların rumendeki sindirilebilirlikleri üzerine olan etkileri canlı hayvanlar üzerinde sindirim denemeleri yürütülerek incelenmeli, tüm bu çalışmalar enzim uygulamasının ekonomik yönünü de kapsayacak şekilde planlanmalıdır.

KAYNAKLAR

- AFRC, 1993. Energy and Protein Requirements of Ruminants. An advisory Manual Prepared by the AFRO Technical Committee on Response to Nutrients. CAB International, Wallingford, UK.
- AGANGA, A.A. and K.W. MOSASE. 2001. Tannin Content, Nutritive Value and Dry Matter Digestibility of *Lonchocarpus Cassa*, *Zizyphus Mucronata*, *Sclerocarya Birrea*, *Kirkia Acuminate* and *Rhus Lancea* Seeds. *Anim. Feed Sci. Technol.* 91: 107-113.
- AHN, J. H., Y. J. KIM and H. J. KIM. 2003. Effects of Fibrolytic Enzyme Addition on Ruminal Fermentation, Milk Yield and Milk Composition of Dairy Cows. *J. Anim. Sci.* 45: 131-142.
- ANNISON, G. 1992. Commercial Enzyme Supplementation of Wheat Based Diets Raises Ileal Glycanase Activities and Improves Apparent Metabolizable Energy, Starch and Pentosan Digestibilities in Broiler Chickens. *Anim. Feed Sci. Technol.* 38: 105-121.
- ANONYMOUS. 2008a. Fiber Dynamics Part 1. Accessed February 17, 2008. <http://www.abcbodybuilding.com/magazine03/fiberdynamics1.htm>
- ANONYMOUS. 2008b. Enzymes. Accessed February 24, 2008. <http://library.thinkquest.org/3659/orgchem/proteins.html>
- A.O.A.C. 1990. Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis, 15th (Ed.), Vol. 1. AOAC, Washington, DC, p.69-79.
- BABAYEMI, O.J. 2006. Antinutritional Factors, Nutritive Value and in vitro Gas Production of Foliage and Fruit of *Enterolobium cyclocarpum* World J. Zool. 1 (2): 113-117.
- BEAUCHEMIN, K.A., L.M. RODE and V.J.H. SEWALT. 1995. Fibrolytic Enzymes Increase Fiber Digestibility and Growth Rate of Steers Fed Dry Forages. *Can. J. Anim. Sci.* 75: 641-644.
- BEAUCHEMIN, K.A. and L.M. RODE. 1996. The Potential Use of Feed Enzymes for Ruminants. Proceedings of the Cornell Nutrition Conference for Feed Manufacturers. Rochester, New York, pp.131-141.
- BEAUCHEMIN, K.A., S.D.M. JONES, L.M. RODE, and V.J.H. SEWALT. 1997. Effect of Fibrolytic Enzyme in Corn or Barley Diets on Performance and Carcass Characteristics of Feedlot Cattle. *Can. J. Anim. Sci.* 77: 645-653.

- BEAUCHEMIN, K.A., L.M. RODE, Z. YANG, and T.A. McALLISTER. 1998. Use of Feed Enzymes in Ruminant Nutrition. Proceeding of the 33rd Pasific Northwest Nutrition Conference. Vancouver, British Columbia, pp.121-135.
- BEAUCHEMIN, K.A., W.Z. YANG, and L.M. RODE. 1999. Effects of Grain Source and Enzyme Additive on Site and Extent of Nutrient Digestion in Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 82: 378-390.
- BEAUCHEMIN, K. A., L. M. RODE, M. MAEKAWA, D. P. MORGAVI and R. KAMPEN. 2000. Evaluation of a Nonstarch Polysaccharidase Feed Enzyme in Dairy Cow Diets. *J. Dairy Sci.* 83: 543-553.
- BEEVER, D.E. 1993. Ruminant Animal Production from Forages: Present Position and Future Opportunities. In: Baker, M.J. (Ed.), *Grasslands for Our World*. SIR Publishing, Wellington, New Zealand, pp.158-164.
- BLASCHEK, W., H. KOEHLER, U. SEMLER and G. FRANZ. 1982. Molecular Weight Distrubition of Cellulose in Primary Cell Walls. Investigation with Regeneration Protoplasts, Suspension Cultured Cells and Mesophylls of Tobacco. *Planta.* 154: 550-558.
- BLUMMEL, M. and E.R. ØRSKOV. 1993. Comparison of Gas Production and Nylon Bag Degradability of Roughages in Predicting Feed Intake in Cattle. *Anim. Feed Sci. Technol.* 40: 109-119.
- BLUMMEL, M., H.P.S. MAKKAR and K., BECKER. 1997a. In vitro Gas Production: A Technique Revisited. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 77: 24-34.
- BLUMMEL, M., H. STEINGASS, and K. BECKER. 1997b. Relationship Between in vitro Gas Production, in vitro Microbial Biomass Yield and ¹⁵N Incorporation and Its Implications for the Prediction of Voluntary Feed Intake of Roughages. *Br. J. Nutr.* 77: 911-921.
- BLUMMEL, M., A. MOSS, I. GIVENS, H.P.S. MAKKAR and K. BECKER, 1999a. Preliminary Studies on the Relationship of Microbial Efficiencies of Roughages in vitro and Methane Production in vivo. *Proc. Soc. Nutr. Physiol.* 8: 76.
- BLUMMEL, M., A., SCHRODER, K-H. SUDEKUM and K. BECKER. 1999b. Estimating Ruminant Microbial Efficiencies in Silage-Fed Cattle: Comparison of an in vitro Method With a Combination of in situ and in vivo Measurements. *Anim. Physiol. A. Anim. Nutr.* 81: 57-67.
- BLUMMEL, M. 2000. Predicting The Partitioning of Fermentation Products by Combined in vitro Gas Volume-Substrate Degradability Measurements: Opportunities and Limitations. In: *Gas Production: Fermentation Kinetics for Feed Evaluation and to Assess Microbial activity*. Br. Soc. Anim. Sci., Penicuik, Midlothian, pp. 48-58.

- BLUMMEL, M. and B.V.S. REDDY. 2006. Stover Fodder Quality Traits for Dual-purpose Sorghum Genetic Improvement. *J. SAT Agric. Res.* 2 (1): 87-89.
- BRUFAU, J., M. FRANCESCH and A.M. PEREZ - VENDRELL. 2006. The Use of Enzymes to Improve Cereal Diets for Animal Feeding. *J. Sci. Food Agric.* 86: 1705-1713.
- BURROUGHS, W., W. WOODS. S.A. EWING, J. GREIG and B. THEURER. 1960. Enzyme Additions to Fattening Cattle Rations. *J. Anim. Sci.* 19: 458-464.
- CASTRO, F.B. 1994. The Use of Steam Treatment to Upgrade Lignocellulosic Materials for Animal Feed. PhD Thesis University of Aberdeen, Scotland, 192p.
- CHEN, K.H., J.T. HUBER, J. SIMAS, C.B. THEURER, P. YU, S.C. CHAN, F. SANTOS, Z. WU and R.S. SWINGLE. 1995. Effect of Enzyme Treatment or Steam-Flaking of Sorghum Grain on Lactation and Digestion in Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 78: 1721-1727.
- CHEN, X.L., J.K. WANG, Y.M. WU, J.X. LIU. 2008. Effects of Chemical Treatments of Rice Straw on Rumen Fermentation Characteristics, Fibrolytic Enzyme Activities and Populations of Liquid- and Solid-associated Ruminal Microbes in vitro. *Anim. Feed Sci. Technol.* 141: 1-14.
- CHUA, M.G.S. and M. WAYMAN. 1979. Characterization of Autohydrolysis Aspen (*P. Tremuloides*) Lignins. Part 3: Infrared and Ultraviolet Studies of Extracted Autohydrolysis Lignin. *Can. J. Chem.* 57: 2603-2611.
- COLOMBATTO, D., F. L. MOULD, M. K. BHAT, and E. OWEN. 2003. Use of Fibrolytic Enzymes to Improve the Nutritive Value of Ruminant Diets: A Biochemical and in vitro Rumen Degradation Assessment. *Anim. Feed Sci. Technol.* 107: 201-209.
- COWAN, W.D. 1992. Advances in Feed Enzyme Technology. *Agro Food Industry Hi Tech.* 3 (3): 9.
- COWLING, E.B. 1975. Physical and Chemical Constraints in the Hydrolysis of Cellulose and Lignocellulosic Materials. *Biotechnol. Bioeng. Symp.* 5: 163-181.
- COWLING, E.B. and T.K. KIRK. 1976. Properties of Cellulose and Lignocellulosic Materials as Substrates for Enzymatic Conversion Processes. *Biotechnol. Bioeng. Symp.* 6: 95-123.
- DEAVILLE, E.R. and D.I GIVENS. 2001. Use of Automated Gas Production Technique to Determine the Fermentation Kinetics of Carbohydrate Fractions in Maize Silage. *Anim. Feed Sci. Technol.* 93: 205-215.

- DEY, P.M. and K. BRINSON. 1984. Plant Cell Walls. Adv. Carb. Chem. Biochem. 42: 265-282.
- DUBOIS, M., K.A. GILLES, J.K. HAMILTON, P.A. REBBERS and F. SMITH. 1956. Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. Anal. Chem. 28: 350-356.
- EUN, J.-S., K.A. BEAUCHEMIN, S.-H. HONG and M.W. BAUER. 2006. Exogenous Enzymes Added to Untreated or Ammoniated Rice Straw: Effects on in vitro Fermentation Characteristics and Degradability. Anim Feed Sci. Technol. 131: 86-101.
- EUN, J.-S., K.A. BEAUCHEMIN and H. SCHULZE. 2007. Use of in vitro Fermentation Bioassay to Evaluate Improvements in Degradation of Alfalfa Hay Due to Exogenous Feed Enzymes. Anim. Feed Sci. Technol. 135: 315-328.
- FENG, P., C. W. HUNT, G. T. PRITCHARD and W. E. JULIEN. 1996. Effect of Enzyme Preparations on in situ and in vitro Degradation and in vivo Digestive Characteristics of Mature Cool-Season Grass Forage in Beef Steers. J. Anim. Sci. 74: 1349-1357.
- FILYA, I., G. ASHBELL, Z.G. WEINBERG and Y. HEN, 2001a. Cell-wall Degrading Ezymes Beneficial for Silages. FEEDSTUFFS. 73: 13-14.
- FILYA, I., G. ASHBELL, Z.G. WEINBERG ve Y. HEN, 2001b. Hücre Duvarını Parçalayıcı Enzimlerin Yonca Silajlarının Fermantasyon Özellikleri, Hücre Duvarı Kapsamı ve Aerobik Stabiliteleri Üzerine Etkileri. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Bilimleri Dergisi. 7 (3): 81-87.
- FILYA, I. 2003a. The Effect of Lactobacillus buchneri and Lactobacillus plantarum on the Fermentation, Aerobic Stability, and Ruminant Degradability of Low Dry Matter Corn and Sorghum Silages. J. Dairy Sci. 86: 3575-3581.
- FILYA, I. 2003b. The Effect of Lactobacillus buchneri, with or without Homofermentative Lactic Acid Bacteria, on the Fermentation, Aerobic Stability, and Ruminant Degradability of Wheat, Sorghum, and Maize Silages. J. Appl. Microbiol. 95: 1080-1086.
- FİLYA, İ. 2007. Türkiye' de Kaba Yem Sorunu ve Çözüm Yolları. Türkiye Süt Sığırcılığı Kurultayı. 25-26 Ekim 2007. İzmir (Çağrılı tebliğ).
- FONTES, C. M. G. A., J. HALL, B. H. HIRST, G. P. HAZELWOOD and H. J. GILBERT. 1995. The Resistance of Cellulases and Xylanases to Proteolytic Inactivation. Appl. Microbiol. Biotechnol. 43: 52-57.

- GETACHEW, G., H.P.S. MAKKAR and K. BECKER. 2002a. Tropical Browsers: Content of Phenolic Compounds, *in vitro* Gas Production and Stoichiometric Relationship Between Short Chain Fatty Acids and *in vitro* Gas Production. *J. Agric. Sci.* 139: 341-352.
- GETACHEW G., G.M. CROVETT, O.M. FONDEVILLA, U. KRISHNAMOORTHY, B. SINGH M. SPANGHERO, H. STEINGASS, P.H., ROBINSON and M.M. KAILAS. 2002b. Laboratory Variation of 24 Hour *in vitro* Gas Production and Estimated Metabolizable Energy Value of Ruminant Feeds. *Anim. Feed Sci. Technol.* 102: 169-180.
- GOERING, H.K. and P.J., VAN SOEST. 1970. Forage Fiber Analysis (Apparatus, Reagents, Procedures, and Some Applications). In: *Agricultural Handbook No. 379*. USDA-ARS, Washington DC, USA.
- GOULD, J.M. 1984. Alkaline Peroxide Delignification of Agricultural Residues to Enhance Enzymatic Saccharification. *Biotechnol. Bioeng.* 26: 46-52.
- GRINGS E.E., M. BLUMMEL and K.-H. SUDEKUM. 2005. Methodological Considerations in Using Gas Production Techniques For Estimating Ruminant Microbial Efficiencies for Silage-Based Diets. *Anim. Feed Sci. Technol.* 123-124: 527-545.
- GUPTA, M.L. and K. PRADHAN. 1977. Chemical and Biological Evaluation of Ensiled Wheat Straw. *J. Dairy Sci.* 60 (7): 1088-1094.
- HIGGINBOTHAM, G. E., E. J. dePETERS, S. L. BERRY, and A. AHMADI. 1996. Effect of Adding a Cell Wall Degrading Enzyme to a Total Mixed Ration for Lactating Dairy Cows. *Prof. Anim. Sci.* 21: 81-85.
- HRISTOV, A.N., T.A. McALLISTER and K.-J. CHENG. 1998. Effect of Dietary or Abomasal Supplementation of Exogenous Polysaccharide-Degrading Enzyme Supplementation on Rumen Fermentation and Nutrient Digestibility. *J. Anim. Sci.* 76: 3146-3156.
- HRISTOV, A. N., T. A. MCALLISTER and K.-J. CHENG. 2000. Intraruminal Supplementation with Increasing Levels of Exogenous Polysaccharide-Degrading Enzymes: Effects on Nutrient Digestion in Cattle Fed a Barley Grain Diet. *J. Anim. Sci.* 78: 477-487.
- KALKAN, H. ve A. KARABULUT. 2003. Ruminantların Beslenmesinde Enzim Kullanımı. II. Ulusal Hayvan Besleme Kongresi, 18-20 Eylül 2003, Konya. s.411-414.
- KARABULUT, A. 1988. Üre ve Sodyum Hidroksit İle Muamele Edilmiş Buğday Samanının Yem Değeri Üzerinde Bir Araştırma. *Ulud. Üniv. Zir. Fak. Derg.*, Yıl: 1986. 5: 1-9.

- KÖSEOĞLU, Ş. ve A. KARABULUT. 1996. Üre ile Muamele Edilen Buğday ve Fiğ Samanlarının Yem Değeri Üzerinde Bir Araştırma. I. Ulusal Zootekni Bilim Kongresi. 5-7 Şubat, Antalya. T.C. Ziraat Bankası Kültür Yayınları: 29, s.115-128.
- KUNG, L. Jr., R.S. TUNG, K.G. MACIOROWSKI K. BUFFUM, and K. KNUTSEN. 1991. Effects of Plant Cell-Wall-Degrading Enzymes and Lactic Acid Bacteria on Silage Fermentation and Composition. *J. Dairy Sci.* 74: 428-442.
- KUNG, L. Jr. 1996. Direct-Fed Microbial and Enzyme Feed Additives. In: Direct-Fed Microbial, Enzyme and Forage Additive Compendium. The Miller Publishing Co., Minnesota, pp.15-20.
- KUNG, L. Jr, R.J. TREACHER and M.A. COHEN. 1998. Enzyme Treated Forages for Lactating Cows, *J. Anim. Sci.* 76 (Suppl. 1): 196.
- KUNG, L. Jr., R.J. TREACHER, G.A. NAUMAN, A. M. SMAGALA, K. M. ENDRES and M.A. COHEN. 2000. The Effect of Treating Forages with Fibrolytic Enzymes on its Nutritive Value and Lactation Performance of Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 83: 115-122.
- KUNG, L. Jr. and N. K. RANJIT. 2001. The Effect of *Lactobacillus buchneri* and Other Additives on the Fermentation and Aerobic Stability of Barley Silage. *J. Dairy Sci.* 84: 1149-1155.
- KUNG, L. Jr., M. A. COHEN, L. M. RODE and R. J. TREACHER. 2002. The Effect of Fibrolytic Enzymes Sprayed onto Forages and Fed in a Total Mixed Ration to Lactating Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 85: 2396-2402.
- LENG, R.A. 1993. Quantitative Ruminant Nutrition—A Green Science. *Aust. J. Agric. Sci.* 44: 363-380.
- LEWIS, G.E., W.K. SANCHEZ, R. TREACHER, C.W. HUNT and G.T. PRITCHHARD. 1995. Effect of Direct Fed Fibrolytic Enzymes on Lactational Performance of Midlactation Holstein Cows. Proceeding of the Western Section American Society of Animal Science. Lethbridge, Alberta, 46: 310-313.
- LEWIS, G. E., W. K. SANCHEZ, C. W. HUNT, M. A. GUY, G. T. PROTCHARD, B.I. SWANSON and R. J. TREACHER. 1999. Effect of Direct-Fed Fibrolytic Enzymes on the Lactational Performance of Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 82: 611-617.
- LUCHINI, N.D., G.A. BRODERICK, D.L. HEFNER, R. DEROSA, S. REYNAL and R. TREACHER. 1997. Production Response to Treating Forage with Fibrolitic Enzymes Prior to Feeding to Lactating Cows. *J. Dairy Sci.* 80 (Suppl. 1): 262.

- MAKKAR, H.P.S., M. BLUMMEL and K. BECKER. 1995. Formation of Complexes Between Polyvinyl Pyrrolidones or Polyethylene Glycols and Tannins, and Their Implications in Gas Production and True Digestibility in in vitro techniques. *Br. J. Nutr.* 73: 897-933.
- MAKKAR, H.P.S., M. BLUMMEL and K. BECKER. 1997. In vitro Rumen Apparent and True Digestibilities of Tannin-Rich Forages *Anim Feed Sci. Technol.* 67: 245-251.
- MAKKAR, H.P.S. 2008. Recent Advances in in vitro Gas Method for Evaluation of Nutritional Quality of Feed Resources. Accessed February 7, 2008. http://www.fao.org/DOCREP/ARTICLE/AGRIPPA/570_en_toc.htm#TopOfPage
- MARX-FIGINI, M. 1966. Comparison of the Biosynthesis of Cellulose in vitro and in vivo Cotton Bolls. *Nature.* 210: 747-755.
- McALLISTER, T.A., S.J. OOSTING, J.D. POPP, Z. MIR, L.J. YANKE, A.N. HRISTOV, R.J. TREACHER and K-J. CHENG. 1999. Effect of Exogenous Enzymes on Digestibility of Barley Silage and Growth Performance of Feedlot Cattle. *Can. J. Anim. Sci.* 79: 353-360.
- MENKE, K.H., L. RAAB, A. SALEWSKI, H. STEINGASS, D. FRITZ and W. SCHNEIDER. 1979. The Estimation of the Digestibility and Metabolisable Energy Content of Ruminant Feedingstuffs from the Gas Production When They Are Incubated with Rumen Liquor. *J. Agric. Sci. (Camb.)* 93: 217-222.
- MENKE, K.H. and H. STEINGASS. 1988. Estimation of the Energetic Feed Value Obtained from Chemical Analysis and in vitro Gas Production Using Rumen Fluid. *Anim. Res. Devel. Seperate Print*, 28: 7-55.
- MICHAL, J.J., K.A. JOHNSAN, R.J. TREACHER, C.T. GASKINS and O. SEARS. 1996. The Impact of Direct Fed Fibrolytic Enzymes on the Growth Rate and Feed Efficiency of Growing Beef Steers and Heifers. *J. Anim. Sci.* 74 (Supp. 1): 296.
- MILLET, M.A., A.J. BAKER and L.D. SATTLER. 1975. Pretreatments to Enhance Chemical, Enzymatic and Microbial Attack of Cellulosic Materials. *Biotechnol. Bioeng. Symp.* 5: 193-219.
- MINITAB Inc. 1996. MINITAB Release 11 for Windows. State College, Pennsylvania, USA.
- MORGAVI, D.P., K.A. BEAUCHEMIN, V.L. NSEREKO, L.M. RODE, A.D. IWAASA, W.Z. YANG, T.A. McALLISTER and Y. WANG. 2000. Synergy Between Ruminant Fibrolytic Enzymes and Enzymes from *Trichoderma Longibrachiatum*. *J. Dairy Sci.* 83: 1310-1321.

- NAGA, M.A. and J.H. HARMEYER 1975. Gas and Volatile Fatty Acid Production at Different Rates of Rumen Microbial Protein Synthesis in vitro. *J. Anim. Sci.* 40: 374-379.
- NAKASHIMA, Y., E.R., ØRSKOV, E.A. ADEBOWALE, and K. AMBO. 1993. Enzymatic Manipulation of Straw Quality: Experience on Straw Upgrading. Proc. of the International Conference on Increasing Livestock Production through Utilization of Local Resources, October, 18-22, 1993 Beijing-China. pp.139-152.
- NIR, I. ve ŞENKÖYLÜ, N. 2000. Kanatlılar İçin Sindirimi Destekleyen Yem Katkı Maddeleri. 213s.
- NOCEK, J. E., and J. B. RUSSELL. 1988. Protein and Energy as an Integrated System. Relationship of Ruminal Protein and Carbohydrate Availability to Microbial Synthesis and Milk Production. *J. Dairy Sci.* 71: 2070-2107.
- NRC, 1996. National Research Council, Nutrient Requirements of Beef Cattle, Seventh ed. National Academy Press, Washington, DC, USA.
- NRC, 2001. National Research Council, Nutrient Requirements of Dairy Cattle, Seventh ed. National Academy Press, Washington, DC, USA.
- NUSSIO, L.G., J.T. HUBER, C.B. THEURER, C.B. NUSSIO, J. SANTOS, M. TARAZON, R.O. LIMA-FILHO, B. RIGGS, M. LAMAREAUX and R.J. TREACHER. 1997. Influence of a Cellulase/Xylanase Complex (C/X) on Lactational Performance of Dairy Cows Fed Alfalfa Hay Based Diets. *J. Dairy Sci.* 80 (Suppl. 1): 220.
- OFFER, N.W., R.E. AGNEW, B.R. COTTRILL, D.I. GIVENS, T.W.J. KEADY, W.J. MAYNE, C. RYMER, T. YAN, J. FRANCE, D.E. BEEVER and C. THOMAS. 2002. Feed into Milk - an Applied Feeding Model Coupled with a New System of Feed Characterisation. In: *Recent Advances in Animal Nutrition 2002*. Nottingham University Press, Nottingham, UK, pp. 167-194.
- OGDEN, J.M. 1995. Feeding Trial to Evaluate the Effects of in-Feed Enzyme Inclusion upon Growth, Food Conversion Ratio and Carcass Composition of Pigs. MSc Thesis. University of Bristol, UK.
- OPATPATANAKIT, Y., R.C. KELLAWAY, I.J. LEAN, G. ANNISON and A. KIRBY. 1994. Microbial Fermentation of Cereal Grains in vitro. *Aust. J. Agric. Res.*, 45: 1247-1263.
- ØRSKOV, E.R. and I. McDONALD. 1979. The Estimation of Protein Degradability in the Rumen from Incubation Measurements Weighted According to the Rate of Passage. *J. Agric. Sci.* 92: 499-503.

- OVEREND, R.P. and E. CHORNET. 1987. Fractionation of Lignocellulosics by Steam Aqueous Pretreatments. In: Proc. Royal Soc. Disc. Meet. on Technology in the 1990s: Utilization of Lignocellulosics Wastes. London, UK, 321: 523-536.
- ÖZEN, N., C. SARICAN, E. ÇEKGÜL, A.Y. OVALI. 1993. Üre ile Muamele Edilmiş Mısır ve Çeltik Samanlarının Süt İneklerinde Kaba Yem Olarak Kullanılma Olanakları. *Doğa Türk Veterinerlik ve Hayvancılık Dergisi*, 93 (3): 233-237.
- ÖZEN, N. ve N. OCAK. 1994. Üre ile Muamelenin Çeltik ve Mısır Samanlarını Sindirilebilirlikleri ve Yem Değerleri Üzerindeki Etkileri. *TÜBİTAK Türk Veterinerlik ve Hayvancılık Dergisi*, 18 (6): 347-352.
- PETTERSSON, D. and P. AMAN. 1989. Enzyme Supplementation of A Poultry Diet Containing Rye and Wheat. *Br. J. Nutr.* 62: 139-149.
- PINOS-RODRIGUEZ, J.M., R. MORENO, S.S. GONZALEZ, P.H. ROBINSON, G. MENDOZA and G. ALVAREZ. 2008. Effects of Exogenous Fibrolytic Enzymes on Ruminal Fermentation and Digestibility of Total Mixed Rations Fed to Lambs. *Anim. Feed Sci. Technol.* 142: 210-219.
- PRESTON, R.D. 1974. *The Physical Biology of Plant Cell Walls*. Chapman & Hall, London. 479p.
- PRITCHARD, G., C. HUNT, A. ALLEN and R. TREACHER. 1996. Effect of Direct Feed Fibrolytic Enzymes on Digestion and Growth Performance in Beef Cattle. *J. Anim. Sci.* 74 (Suppl. 1): 296.
- REDDISH, M.A. and L. KUNG Jr. 2007. The Effect of Feeding A Dry Enzyme Mixture With Fibrolytic Activity on the Performance of Lactating Cows and Digestibility of a Diet for Sheep. *J. Dairy Sci.* 90: 4724-4729.
- RODE, L.M., W.Z. YANG and K.A. BEAUCHEMIN. 1999. Fibrolytic Enzyme Supplements for Dairy Cows in Early Lactation. *J. Dairy Sci.* 82: 2121-2126.
- RODRIGUES, M.A.M., J.W. CONE, C.A. SEQUEIRA and A. MASCARENHAS-FERREIRA . 2001. Effect of the Addition of Cell Wall Degrading Enzymes on Fermentation Kinetics of Perennial Ryegrass Silage. *J. Agric. Sci.* 136: 443-449.
- RODRIGUES, M.A.M., P. PINTO, R.M.F. BEZERRA, A.A., DIAS, C.V.M. GUEDES, V.M.G. CARDOSO, J.W. CONE, L.M.M. FERREIRA, J. COLACO and C.A. SEQUEIRA. 2008. Effect of Enzyme Extracts Isolated From White-Rot Fungi on Chemical Composition and in vitro Digestibility of Wheat Straw. *Anim. Feed Sci. Technol.* 141 (3-4): 326-338.

- ROTTER, B.A., M. NESKER, R.R. MARQUARDT and W. GUENTER. 1989. Effect of Different Enzyme Preparation on the Nutritional Value of Barley in Chicken Diets. *Nutr. Rep. Int.* 39: 107-120.
- ROVICS, J.J. and C.M. ELY. 1962. Response of Beef Cattle to Enzyme Supplement. *J. Anim. Sci.* 21: 1012.
- RYMER, C. and D.I. GIVENS. 1999. The Use of the in vitro Gas Production Technique to Investigate the Effect of Substrate on the Partitioning Between Microbial Biomass Production and the Yield of Fermentation Products. *Proc. Br. Soc. Anim. Sci.* p.36.
- SALLAM, S.M.A., M.E.A. NASSER, A.M. EL-WAZIRY, I.C.S. BUENO and A.L. ABDALLA. 2007. Use of an in vitro Rumen Gas Production Technique to Evaluate Some Ruminant Feedstuffs. *J. of App. Sci. Res.* 3 (1): 34-41.
- SANCHEZ, W.K., C.W. HUNT, M.A. GUY, G.T. PRITCHARD, B.I. SWANSON, T.B. WARNER and J.M. HIGGINS. 1996. Effect of Fibrolytic Enzymes on Lactational Performance of Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 79 (Suppl. 1): 183.
- SCHINGOETHE, D. J., G. A. STEGMAN and R. J. TREACHER. 1999. Response of Lactating Dairy Cows to a Cellulase and Xylanase Enzyme Mixture Applied to Forages at the Time of Feeding. *J. Dairy Sci.* 82: 996-1003.
- SciDAC. Scientific Discovery through Advanced Computing. Scientific Computing at the Cutting Edge. Accessed 22 February, 2008. <http://www.scidacreview.org/0704/html/hardware.html>
- SHEEPY, C. 2001. The Current Feed Enzyme Market and Likely Trends. In: Bedford, M.R. and Partridge, G.G. (eds) *Enzymes in Farm Animal Nutrition*. Cabi Publishing UK, pp.1-10.
- SHULTZ, T.A., A.T. RALSTON and E. SHULTZ. 1974. Effect of Various Additives on Nutritive Value of Ryegrass Straw Silage. I. Laboratory Silo and in vitro Dry Matter Digestion Observations. *J. Anim. Sci.* 39: 920-925.
- SMITH, K.F., R.J. SIMPSON, R.N. ORAM, K.F. LOWE, K.B. KELLY, P.M. EVANS and M.O. HUMPHREYS. 1998. Seasonal Variation in the Herbage Yield and Nutritive Value of Perennial Ryegrass (*Lolium perenne* L.) Cultivars with High or Normal Herbage Water-Soluble Carbohydrate Concentrations Grown in Three Contrasting Australian Dairy Environments. *Aust. J. Exp. Agr.* 38 (8): 821-830.
- SMITH, K.F., R.A. CULVENOR, M.O. HUMPHREYS and R.J. SIMPSON. 2002. Growth and Carbon Partitioning in Perennial Ryegrass (*Lolium perenne*) Cultivars Selected for High Water-Soluble Carbohydrate Concentrations. *J. Agr. Sci.* 138 (4): 375-385.

- SNEDECOR, G.W. and W.G. COCHRAN. 1975. Statistical Methods. Iowa State University Pres. Ames. USA.
- STOKES, M.R. and S. ZHENG. 1995. The Use of Carbohydrase Enzymes as Feed Additives for Early Lactation Cows. Proceeding of the 23rd Conference on Rumen Function. Chicago, Illinois, p.34.
- STRYER, L. 1995. Biochemistry. IV. Edition. W.H. Freeman and Company NY. 1064p.
- TAS, B.M., H.Z. TAWHEEL and H.J. SMIT. 2006. Utilisation of N in Perennial Ryegrass Cultivars by Stallfed Lactating Dairy Cows. Livest. Sci. 100 (2-3): 159-168.
- THEANDER, O. and P. ÅMAN. 1984. Anatomical and Chemical Characteristics. In: Straw and Other Fibrous by-Products as Feed. Sundstøl and Owen (Eds.), Elsevier Science Publishers, Amsterdam. pp.45-78.
- THOMPSON, N.S. 1983. Hemicelulose as a Biomass Resource. In: Wood and Agricultural Residues. J. Soltes, (Ed.), Academic Press. pp.101-119.
- TILLEY, J.M.A., R.A. TERRY. 1963. A Two-Stage Technique for the in Vitro Digestion of Forage Crops. J. Brit. Grassland Soc. 18: 104-11.
- TÜİK. Türkiye İstatistik Kurumu. Bitkisel Üretim İstatistikleri. Accessed February 12, 2008. http://www.tuik.gov.tr/VeriBilgi.do?tb_id=45&ust_id=13.
- VAN SOEST, P.J. 1981. Limiting Factors in Plant Residues of Low Biodegradability. Agric. Environ. 6: 135-143.
- VAN SOEST, P.J. 1982. Analytical Systems for Evaluation of Feeds. In: Nutritional Ecology of the Ruminants. P.J. Van Soest (Ed.), Cornell University Press, Ithaca, NY, Chapter 6, pp.75-94.
- VAN SOEST, P.J., J.B. ROBERTSON and A. LEWIS. 1991. Methods for Dietary Fiber, Neutral Detergent Fiber, and Nonstarch Polysaccharides in Relation to Animal Nutrition. J. Dairy Sci. 74: 3583-3597.
- WAYMAN, M. and M.G.S. CHUA, 1979. Characterization of Autohydrolysis Aspen (*P. tremuloides*) Lignins. Part 2: Alkaline Nitrobenzene Oxidation Studies of Extracted Autohydrolysis Lignin. Can. J. Chem. 57: 2612-2616.
- WEINBERG, Z. G., G. ASHBELL, Y. HEN, A. AZRIELI, G. SZAKACS and I. FILYA. 2002. Ensiling Whole-Crop Wheat and Corn in Large Containers with *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus buchneri*. J. Ind. Microbiol. Biotechnol. 28: 7-11.
- WIKIPEDIA. The Free Encyclopedia. Cell Wall. Accessed February 17, 2008. http://en.wikipedia.org/wiki/Plant_cell_wall

- WILKIE, K.C.B. 1979. The Hemicelluloses of Grasses and Cereals. *Adv. Carb. Chem. Biochem.* 36: 215-264.
- YANG, W.Z., L.M. RODE and K.A. BEAUCHEMIN. 1998. Effects of Fibrolytic Enzyme Additives on Milk Production of Dairy Cows. *J. Anim. Sci.* 76 (Suppl.1): 320.
- YANG, W.Z., K.A. BEAUCHEMIN and L.M. RODE. 1999. Effects of an Enzyme Feed Additive on Extent of Digestion and Milk Production of Lactating Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 82: 391-403.
- YANG, W.Z., K.A. BEAUCHEMIN and L.M. RODE. 2000. A Comparison of Methods of Adding Fibrolytic Enzymes to Lactating Cow Diets. *J. Dairy Sci.* 83: 2512-2520.
- ZINN, R. A., and J. SALINAS. 1999. Influence of Fibrozyme in Digestive Function and Growth Performance of Feedlot Steers Fed a 78% Concentrate-growing Diet. Pages 313-319 in *Proc. Annu. Symp: Biotechnology in the Feed Industry*. T. P. Lyons and K. A. Jacques (Eds), Nottingham University Press, Loughborough, UK.
- ZoBELL, D. R., R. D. WIEDMEIER, K. C. OLSON and R. J. TREACHER. 2000. The Effect of an Exogenous Enzyme Treatment on Production and Carcass Characteristics of Growing and Finishing Steers. *Anim. Feed Sci. Technol.* 87: 279-285.

Ek 2. İşleme koşulları ve bunların birbirleriyle olan etkilerinin buğday samanlarının hücre duvarı bileşenleri üzerindeki etkileri (% KM)

İşleme koşulları ve etkileşimler	NDF	ADF	ADL	Hemiselüloz	Sellüloz
Enzim çeşidi					
Sellülaz	78.08 ^b	50.45 ^b	11.50 ^a	27.63 ^a	38.95 ^b
Ksilanaz	81.57 ^a	53.62 ^a	11.65 ^a	27.95 ^a	41.97 ^a
Sellülaz+ksilanaz	78.05 ^b	50.79 ^b	11.44 ^a	27.26 ^a	39.35 ^b
Standart hata	0.475	0.443	0.276	0.525	0.470
Önem düzeyi	*	*	Ö.D.	Ö.D.	*
Enzim dozu					
1. doz	85.54 ^a	55.63 ^a	12.61 ^a	29.91 ^a	43.02 ^a
2. doz	79.87 ^b	52.37 ^b	11.73 ^b	27.50 ^b	40.64 ^b
3. doz	78.32 ^c	51.05 ^c	11.30 ^b	27.27 ^b	39.75 ^{bc}
4. doz	76.95 ^d	49.98 ^{cd}	11.12 ^b	26.97 ^b	38.86 ^{cd}
5. doz	75.49 ^e	49.07 ^d	10.89 ^b	26.42 ^b	38.18 ^d
Standart hata	0.475	0.443	0.276	0.525	0.470
Önem düzeyi	*	*	*	*	*
İnkübasyon sıcaklığı					
22°C	80.73 ^a	52.15 ^a	11.44 ^a	28.58 ^a	40.71 ^a
40°C	77.74 ^b	51.09 ^a	11.62 ^a	26.65 ^b	39.47 ^a
Standart hata	0.475	0.443	0.276	0.525	0.470
Önem düzeyi	*	Ö.D.	Ö.D.	*	Ö.D.
Enzim çeşidi x Enzim dozu					
Sellülaz x 1. doz	85.54 ^a	55.63 ^a	12.61 ^a	29.91 ^a	43.02 ^a
Sellülaz x 2. doz	79.02 ^d	51.36 ^d	11.67 ^{bc}	27.66 ^b	39.69 ^{cd}
Sellülaz x 3. doz	77.34 ^{ef}	49.93 ^e	11.29 ^{bcd}	27.41 ^b	38.64 ^{de}
Sellülaz x 4. doz	75.19 ^{gh}	48.02 ^{gh}	11.20 ^{bcd}	27.17 ^b	36.82 ^{fg}
Sellülaz x 5. doz	73.33 ⁱ	47.31 ^h	10.73 ^d	26.02 ^b	36.58 ^g
Ksilanaz x 1. doz	85.54 ^a	55.63 ^a	12.61 ^a	29.91 ^a	43.02 ^a
Ksilanaz x 2. doz	82.08 ^b	54.37 ^{ab}	11.73 ^b	27.71 ^b	42.64 ^a
Ksilanaz x 3. doz	81.32 ^{bc}	53.67 ^{bc}	11.45 ^{bc}	27.65 ^b	42.22 ^a
Ksilanaz x 4. doz	80.48 ^c	52.95 ^c	11.29 ^{bcd}	27.53 ^b	41.66 ^{ab}
Ksilanaz x 5. doz	78.42 ^{de}	51.49 ^d	11.14 ^{bcd}	26.93 ^b	40.35 ^{bc}
Sellülaz+ksilanaz x 1. doz	85.54 ^a	55.63 ^a	12.61 ^a	29.91 ^a	43.02 ^a
Sellülaz+ksilanaz x 2. doz	78.51 ^{de}	51.38 ^d	11.78 ^{ab}	27.13 ^b	39.60 ^{cd}
Sellülaz+ksilanaz x 3. doz	76.31 ^{fg}	49.55 ^{ef}	11.16 ^{bcd}	26.76 ^b	38.39 ^{de}
Sellülaz+ksilanaz x 4. doz	75.19 ^{gh}	48.98 ^{efg}	10.86 ^{bcd}	26.21 ^b	38.12 ^{ef}
Sellülaz+ksilanaz x 5. doz	74.72 ^h	48.39 ^{fgh}	10.80 ^{cd}	26.33 ^b	37.59 ^{efg}
Standart hata	0.475	0.443	0.276	0.525	0.470
Önem düzeyi	*	*	*	*	*
Enzim çeşidi x İnkübasyon sıcaklığı					
Sellülaz x 22°C	78.93 ^b	50.41 ^c	11.06 ^a	28.52 ^a	39.35 ^{cd}
Sellülaz x 40°C	77.24 ^c	50.49 ^c	11.94 ^a	26.75 ^{bc}	38.55 ^d
Ksilanaz x 22°C	83.12 ^a	54.18 ^a	11.68 ^a	28.94 ^a	42.50 ^a
Ksilanaz x 40°C	80.01 ^b	53.06 ^{ab}	11.61 ^a	26.95 ^{bc}	41.45 ^{ab}
Sellülaz+ksilanaz x 22°C	80.14 ^b	51.87 ^b	11.58 ^a	28.27 ^{ab}	40.29 ^{bc}
Sellülaz+ksilanaz x 40°C	75.97 ^c	49.71 ^c	11.31 ^a	26.26 ^c	38.40 ^d
Standart hata	0.475	0.443	0.276	0.525	0.470
Önem düzeyi	*	*	Ö.D.	*	*
Enzim dozu x İnkübasyon sıcaklığı					
1. doz x 22°C	85.99 ^a	55.98 ^a	12.69 ^a	30.01 ^a	43.29 ^a
1. doz x 40°C	85.09 ^a	55.28 ^a	12.54 ^{ab}	29.81 ^{ab}	42.74 ^{ab}
2. doz x 22°C	82.21 ^b	53.08 ^b	11.65 ^c	29.13 ^{abc}	41.43 ^{bc}
2. doz x 40°C	77.53 ^{de}	51.65 ^c	11.80 ^{bc}	25.88 ^{ef}	39.85 ^d
3. doz x 22°C	79.93 ^c	51.55 ^c	11.17 ^{cd}	28.38 ^{bcd}	40.38 ^{cd}
3. doz x 40°C	76.71 ^{ef}	50.55 ^{cd}	11.43 ^{cd}	26.16 ^{ef}	39.12 ^{de}
4. doz x 22°C	78.44 ^d	50.48 ^{cd}	10.96 ^{cd}	27.96 ^{cd}	39.52 ^{de}
4. doz x 40°C	75.47 ^f	49.49 ^{de}	11.28 ^{cd}	25.98 ^{ef}	38.21 ^{ef}
5. doz x 22°C	77.09 ^{de}	49.67 ^{de}	10.72 ^d	27.42 ^{de}	38.95 ^{de}
5. doz x 40°C	73.89 ^g	48.46 ^e	11.06 ^{cd}	25.43 ^f	37.40 ^f
Standart hata	0.475	0.443	0.276	0.525	0.470
Önem düzeyi	*	*	*	*	*

NDF, nötr deterjanda çözünmeyen lif; ADF, asit, deterjanda çözünmeyen lif; ADL, asit deterjanda çözünmeyen lignin; Ö.D., önemli değil.

*Aynı sütunda farklı harfler ile gösterilen ortalamalar arasındaki farklılıklar önemlidir (P<0.05).

Ek 4. İşleme koşulları ve bunların birbirleriyle olan interaksyonlarının buğday samanlarının rumen sıvısında 24 saatlik inkübasyonları sonucu elde edilen pH, GÜ, KMS, GOMS, MPÜ ve ME değerleri üzerine etkileri (KM' de)

İşleme koşulları ve interaksyonlar		pH	GÜ, ml	KMS, %	GOMS, %	MPÜ, mg	ME, kcal/kg
Enzim çeşidi							
Sellüloz		6.69 ^a	16.78 ^a	16.31 ^a	23.72 ^a	74.10 ^a	1103.40 ^a
Ksilanaz		6.69 ^a	14.68 ^b	15.95 ^a	23.39 ^a	74.40 ^a	1035.60 ^b
Sellüloz+ksilanaz		6.65 ^a	15.22 ^b	15.61 ^a	23.01 ^a	74.00 ^a	1051.90 ^b
	Standart hata	0.017	0.328	0.270	0.263	2.775	10.660
	Önem düzeyi	Ö.D.	*	Ö.D.	Ö.D.	Ö.D.	*
Enzim dozu							
1. doz		6.74 ^a	12.46 ^d	10.82 ^e	15.08 ^e	42.60 ^c	957.50 ^d
2. doz		6.68 ^b	15.07 ^c	13.56 ^d	22.32 ^d	87.60 ^a	1047.00 ^c
3. doz		6.65 ^b	15.74 ^c	16.04 ^c	24.39 ^c	83.50 ^{ab}	1070.20 ^c
4. doz		6.65 ^b	16.76 ^b	18.76 ^b	26.75 ^b	79.90 ^{ab}	1104.50 ^b
5. doz		6.67 ^b	17.76 ^a	20.60 ^a	28.32 ^a	77.20 ^b	1139.00 ^a
	Standart hata	0.017	0.328	0.270	0.263	2.775	10.660
	Önem düzeyi	*	*	*	*	*	*
Inkübasyon sıcaklığı							
22°C		6.66 ^a	12.87 ^b	14.77 ^b	20.95 ^b	61.80 ^b	974.70 ^b
40°C		6.69 ^a	18.25 ^a	17.14 ^a	25.80 ^a	86.60 ^a	1152.60 ^a
	Standart hata	0.017	0.328	0.270	0.263	2.775	10.660
	Önem düzeyi	Ö.D.	*	*	*	*	*
Enzim çeşidi x enzim dozu							
Sellüloz x 1. doz		6.74 ^a	12.46 ^l	10.82 ^h	15.08 ^h	42.60 ^c	957.50 ^l
Sellüloz x 2. doz		6.70 ^{ab}	15.66 ^{ef}	12.95 ^g	21.67 ^g	87.20 ^a	1067.70 ^{fg}
Sellüloz x 3. doz		6.68 ^b	17.43 ^{bc}	16.26 ^e	24.68 ^e	84.20 ^{ab}	1127.10 ^{bc}
Sellüloz x 4. doz		6.67 ^b	18.16 ^b	19.81 ^b	27.75 ^b	79.40 ^{ab}	1148.20 ^b
Sellüloz x 5. doz		6.66 ^b	20.19 ^a	21.67 ^a	29.40 ^a	77.30 ^a	1216.60 ^a
Ksilanaz x 1. doz		6.74 ^a	12.46 ^l	10.82 ^h	15.08 ^h	42.60 ^c	957.50 ^l
Ksilanaz x 2. doz		6.66 ^b	14.91 ^{fg}	13.64 ^{fg}	22.38 ^{fg}	87.40 ^a	1042.10 ^{gh}
Ksilanaz x 3. doz		6.68 ^b	13.86 ^h	15.67 ^e	24.03 ^c	83.60 ^{ab}	1007.80 ⁱ
Ksilanaz x 4. doz		6.68 ^b	15.30 ^{efg}	18.68 ^c	26.76 ^c	80.80 ^{ab}	1058.60 ^{gh}
Ksilanaz x 5. doz		6.70 ^{ab}	16.85 ^{cd}	20.93 ^a	28.69 ^a	77.60 ^b	1112.00 ^{cd}
Sellüloz+ksilanaz x 1. doz		6.74 ^a	12.46 ^l	10.82 ^h	15.08 ^h	42.60 ^c	957.50 ^l
Sellüloz+ksilanaz x 2. doz		6.67 ^b	14.64 ^{gh}	14.09 ^f	22.90 ^f	88.10 ^a	1031.40 ^{hi}
Sellüloz+ksilanaz x 3. doz		6.60 ^c	15.93 ^{de}	16.18 ^e	24.46 ^e	82.80 ^{ab}	1075.70 ^{ef}
Sellüloz+ksilanaz x 4. doz		6.60 ^c	16.82 ^{cd}	17.79 ^d	25.75 ^d	79.60 ^{ab}	1106.60 ^{cde}
Sellüloz+ksilanaz x 5. doz		6.65 ^b	16.25 ^{de}	19.19 ^{bc}	26.87 ^c	76.80 ^b	1088.40 ^{def}
	Standart hata	0.017	0.328	0.270	0.263	2.775	10.660
	Önem düzeyi	*	*	*	*	*	*
Enzim çeşidi x inkübasyon sıcaklığı							
Sellüloz x 22°C		6.64 ^{bc}	14.46 ^c	15.07 ^c	21.37 ^c	63.00 ^b	1026.10 ^c
Sellüloz x 40°C		6.74 ^a	19.10 ^a	17.54 ^a	26.06 ^a	85.20 ^a	1180.80 ^a
Ksilanaz x 22°C		6.65 ^{bc}	11.98 ^d	14.46 ^c	20.52 ^d	60.60 ^b	946.90 ^d
Ksilanaz x 40°C		6.69 ^b	17.37 ^b	17.44 ^a	26.25 ^a	88.10 ^a	1124.20 ^b
Sellüloz+ksilanaz x 22°C		6.69 ^b	12.16 ^d	14.80 ^c	20.95 ^{cd}	61.50 ^b	951.20 ^d
Sellüloz+ksilanaz x 40°C		6.61 ^c	18.28 ^{ab}	16.43 ^b	25.08 ^b	86.50 ^a	1152.70 ^{ab}
	Standart hata	0.017	0.328	0.270	0.263	2.775	10.660
	Önem düzeyi	*	*	*	*	*	*
Enzim dozu x inkübasyon sıcaklığı							
1. doz x 22°C		6.75 ^a	11.89 ^g	10.31 ^h	14.25 ^l	39.40 ^e	937.30 ^f
1. doz x 40°C		6.73 ^{ab}	13.04 ^{ef}	11.33 ^g	15.90 ^h	45.70 ^e	977.60 ^e
2. doz x 22°C		6.63 ^d	11.81 ^g	12.16 ^f	19.52 ^g	73.60 ^c	939.30 ^f
2. doz x 40°C		6.72 ^{abc}	18.33 ^c	14.96 ^e	25.11 ^d	101.50 ^a	1154.80 ^c
3. doz x 22°C		6.63 ^d	12.37 ^{fg}	15.02 ^e	21.90 ^f	68.80 ^{cd}	958.30 ^{ef}
3. doz x 40°C		6.67 ^{cd}	19.11 ^{bc}	17.06 ^d	26.88 ^c	98.20 ^{ab}	1182.10 ^{bc}
4. doz x 22°C		6.63 ^d	13.93 ^{de}	17.39 ^d	23.88 ^c	64.90 ^d	1011.40 ^d
4. doz x 40°C		6.66 ^d	19.59 ^b	20.13 ^b	29.62 ^b	94.90 ^{ab}	1197.50 ^b
5. doz x 22°C		6.65 ^d	14.35 ^d	18.99 ^c	25.17 ^d	61.80 ^d	1027.30 ^d
5. doz x 40°C		6.68 ^{bcd}	21.17 ^a	22.21 ^a	31.48 ^a	92.70 ^b	1250.70 ^a
	Standart hata	0.017	0.328	0.270	0.263	2.775	10.660
	Önem düzeyi	*	*	*	*	*	*

GÜ, gaz üretimi; KMS, kuru madde sindirilebilirliği; GOMS, gerçek organik madde sindirilebilirliği; MPÜ, mikrobiyal protein üretimi; ME, metabolik enerji; Ö.D. önemli değil.

pH, GÜ ve ME sonuçları, 200 mg/KM örneğin rumen sıvısında 24 saatlik inkübasyonu sonucunda; KMS, GOMS ve MPÜ sonuçları, 500 mg/KM örneğin rumen sıvısında 24 saatlik inkübasyonu sonucunda elde edilmiştir.

*Aynı sütunda farklı harfler ile gösterilen ortalamalar arasındaki farklılıklar önemlidir (P<0.05).

ÖZGEÇMİŞ

1976 yılında Kurtalan' da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Bursa' da tamamladı. 1994-1998 yılları arasında Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootečni Bölümünde lisans öğrenimini tamamladı. 1998 yılında Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Zootečni Anabilim Dalı Yemler ve Hayvan Besleme Bilim Dalında yüksek lisans öğrenimine başladı. 1999 yılında araştırma görevlisi olarak atandı. 2001 yılında yüksek lisans öğrenimini tamamlayarak 2002'de aynı bilim dalında doktora öğrenimine başladı. Halen Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootečni Bölümünde, araştırma görevlisi olarak görevini sürdürmektedir.

Hatice KALKAN

TEŞEKKÜR

Birlikte başladığımız doktora öğrenimim ve tez çalışmam süresince ilgisi, bana kazandırdığı öğretileri, her türlü yardım ve bilimsel katkıları için merhum danışmanım, sevgili hocam Sayın Prof. Dr. Ali KARABULUT' a en içten teşekkürlerimi sunarak, kendisini şükran ve saygıyla anıyorum.

Doktora tez çalışmam süresince bilimsel katkı ve deneyimlerinden yararlandığım ve tezimi birlikte tamamladığımız danışmanım Sayın Prof. Dr. İsmail FİLYA başta olmak üzere, Prof. Dr. Esvet AÇIKGÖZ, Prof. Dr. İbrahim AK, Prof. Dr. Nihat ÖZEN ve Prof. Dr. Süleyman AKKAN' a, tez çalışmamın yürütülmesi sırasında yardımlarını esirgemeyen arkadaşlarım Araş. Gör. Şadıman KARAMAN, Öğr. Gör. Dr. Önder CANBOLAT, Zir. Yük. Müh. Fatmagül GÜRBÜZOL, Zir. Yük. Müh. Fatime OLCAY, Zir. Müh. Oktay ÇAKIROĞLU ile bölümümüz öğrencileri Elçin VATAN ve Hande CANPOLAT' a tezimin yürütülebilmesi için maddi destek sağlayan U.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı' na (Proje no: 2004/50), maddi ve manevi destekleriyle her konuda yanımda olduklarını gösteren başta annem Sıdıka KALKAN ve ağabeyim Kamil KALKAN olmak üzere aileme, sevgilerimle birlikte en içten teşekkürlerimi sunmayı bir borç bilirim.