

ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DEĞİŞİK ENZİM VE MUAMELE SÜRFELERİNİN KABA  
YEMLERİN "İN VİTRO" SİNDİRİLEBİLİRLİKLERİNE  
ETKİLERİ ÜZERİNDE BİR ARAŞTIRMA

Aydan ASİL

Yüksek Lisans Tezi  
ZOOTEKNİ ANABİLİM DALI

Bu Tez 23.6.1989 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Tarafından  
95.(.....) Not Takdir Edilerek Oybirliği/  
~~Geçici~~ İle Kabul Edilmiştir.

  
Doç. Dr. Murat  
ZİNCİRİLOĞLU  
(Danışman)

  
Prof. Dr. M. Rifat  
OKUYAN

  
Prof. Dr. Şahibe  
BAKOĞLU



ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

DEĞİŞİK ENZİM VE MUAMELE SÜRELERİNİN KABA  
YEMİERİN "İN VİTRO" SİNDİRİLEBİLİRLİKLİRİNÉ  
FTKİLFİRİ ÜZFRİNDE BİR ARAŞTIRMA

Aydan ASİL

Ankara Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Zootekni Anabilim Dalı

Danışman: Doç.Dr.Murat ZİNCİRLİOĞLU

1989, Sayfa: 78

Jüri: Doç.Dr.Murat Zincirlioğlu  
Prof.Dr.M.Rifat Okuyan  
Prof.Dr.Şahibe Bakoglu

Yem hamaddelerinin sindirilebilirliklerini belirlemek hayvanların besin maddeleri ihtiyaçlarının gerçege daha yakın olarak karşılanması sağlar. Yemlerin sindirilebilirliklerinin tayininde başlıca iki grup altında toplanan *in vivo* ve *in vitro* yöntemler kullanılmıştır.

Bu araştırmada, *in vitro* yöntemlerden sellülaz yöntemi uygulanarak yonca kuru otu ve buğday samanında farklı enzim ve muamele sürelerinin, organik ve kuru madde sindirilebilirliği üzerine etkileri saptanmıştır. Bunun için 12, 24, 48 ve 72 saat olmak üzere 4 farklı muamele süresi ile *Trichoderma viride*, *Onozuka* ve *Aspergillus niger* olmak üzere üç farklı sentetik enzim kullanılmıştır.

Araştırma sonuçlarına göre, *Trichoderma viride* (kontrol grubu) ve *Onozuka* enzimleri birbirine benzer sonuçlar verirken *Aspergillus niger* enzimi ile sonuçlar istatistiksel önemli bulunmuştur ( $P < 0.01$ ). İnkübasyon süreleri dikkate alındığında, *Trichoderma viride* ve *Onozuka* enzimlerinin 24 ve 48 saatlik muamele süreleri arasındaki farklılıklar istatistiksel önemli bulunmamış ( $P > 0.05$ ), bununla beraber, *Aspergillus niger* enzimi tüm muamele süreleri için istatistiksel önemsiz sonuçlar vermiştir ( $P > 0.05$ ).

**ANAHTAR KELİMELER:** Buğday samanı, yonca kuru otu, *in vitro*, organik madde sindirilebilirlik, kuru madde sindirilebilirlik

ABSTRACT

Masters Thesis

A RESEARCH ON THE AFFECTS OF DIFFERENT  
ENZYMES AND INCUBATION TIMES TO THE  
IN VITRO DIGESTIBILITY OF FORAGES

Aydan ASİL

Ankara University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Animal Science

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Murat ZİNCİRLİOĞLU  
1989, Page: 78

Jury: Assoc. Prof. Dr. M. Zincirlioğlu  
Prof. Dr. M. Rifat Okuyan  
Prof. Dr. Şahibe Bakoglu

The nutrients requirements of the animals can be covered as more reliable by the determination of the digestibilities of feedstuffs. The in vivo and in vitro digestibility methods have been using for determination of the digestibilities of feeds.

In this research, the influences of the different enzymes and incubation times on the dry matter and organic matter digestibilities of the alfalfa hay and wheat straw by using an in vitro method named as "cellulase method". With this aim, three enzymes (*Trichoderma viride*, *Onozuka* and *Aspergillus niger*) and four incubation times (12, 24, 48 and 72 hours) were used.

According to the result of research, *Trichoderma viride* (control group) and *Onozuka* enzymes gave generally similar results while the *Aspergillus niger* enzymes resulted significantly ( $P \leq 0.01$ ). As for the incubation times, there were no significant differences among the incubation times of 24 and 48 hours for *Trichoderma viride* and *Onozuka* enzymes ( $P > 0.05$ ), while the differences among the all incubation times for *Aspergillus niger* enzyme were not significant ( $P > 0.05$ ).

KEY WORDS : Wheat straw, alfalfa hay, in vitro, organic matter digestibility, dry matter digestibility.

## T E S E K K Ü R

Araştırmamın konusunun seçiminde ve çalış-  
mamın her safhasında yardımalarını esirgemeyen kıymet-  
li hocam Sayın Doç.Dr.Murat ZİNCİRLİOĞLU'na ve ayrıca  
Laboratuvar çalışmalarım sırasındaki değerli yardım-  
larından dolayı A.Ü.Ziraat Fakültesi Zootekni Bölümü  
Yemler ve Hayvan Besleme Anabilim Dalı personeline  
teşekkür etmeyi bir borç bilirim.

## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
1. GİRİŞ . . . . .	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI . . . . .	4
3. MATERİYAL VE METOD . . . . .	19
3.1. Materyal . . . . .	19
3.2. Metod . . . . .	20
3.2.1. Deneme düzeni . . . . .	20
3.2.2. Analiz yöntemleri . . . . .	21
3.2.2.1. Yem analizleri . . . .	21
3.2.2.2. In vitro analiz yöntemi . . . . .	23
3.2.2.2.1. Sellülez yöntemi . .	23
3.2.2.3. İstatistik yöntemler . . . . .	25
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI . . . . .	26
4.1. Organik Maddenin Sindirilebilirliğine İlişkin Araştırma Sonuçları . . . . .	26
4.1.1. Yonca kuru otu organik maddesi- nin sindirilebilirliğine ilişkin araştırma sonuçları . . . . .	26
4.1.1.1. Enzim etkilerine iliş- kin araştırma sonuçları	28
4.1.1.2. Muamele sürelerine ilişkin araştırma so- nuçları . . . . .	32
4.1.2. Buğday samanı organik maddesi- nin sindirilebilirliğine iliş- kin araştırma sonuçları . . . .	36
4.1.2.1. Enzim etkilerine iliş- kin araştırma sonuçları	39
4.1.2.2. Muamele sürelerine ilişkin araştırma so- nuçları . . . . .	43

Sayfa

<b>4.2. Kuru Maddenin Sindirilebilirliğine İlişkin Araştırma Sonuçları . . . . .</b>	<b>46</b>
<b>4.2.1. Yonca kuru otu kuru maddesinin sindirilebilirliğine ilişkin araştırma sonuçları . . . . .</b>	<b>46</b>
<b>4.2.1.1. Enzim etkilerine ilişkin araştırma sonuçları . . . . .</b>	<b>49</b>
<b>4.2.1.2. Muamele sürelerine ilişkin araştırma sonuçları . . . . .</b>	<b>53</b>
<b>4.2.2. Buğday samanı kuru maddesinin sindirilebilirliğine ilişkin araştırma sonuçları . . . . .</b>	<b>57</b>
<b>4.2.2.1. Enzim etkilerine ilişkin araştırma sonuçları . . . . .</b>	<b>59</b>
<b>4.2.2.2. Muamele sürelerine ilişkin araştırma sonuçları . . . . .</b>	<b>64</b>
<b>5. TARTIŞMA . . . . .</b>	<b>68</b>
<b>KAYNAKLAR . . . . .</b>	<b>70</b>

## 1. GİRİŞ

Gelişmiş ve gelişmekte olan bütün ülkelerin en büyük problemlerinden birisi de, artan nüfusla birlikte, azalan doğal yem kaynaklarının sonucu olan yetersiz beslenmedir. İnsanların dengeli beslenmelerine katkıda bulunmayı hedef alan hayvan besleme bilimine bu konuda büyük görevler düşmektedir.

Hayvan besleme bilimi bu görevini yaparken, insanların değerlendirmedikleri veya değerlendiremedikleri gıda kaynaklarını kullanmayı hedeflemiştir. Böyle gıda kaynaklarının kullanılması ise, hayvanların besin maddeleri ihtiyaçlarını belirlemek ve bu ihtiyaçları karşılayacak rasyonları hazırlayarak onlara yedirmek suretiyle mümkündür. Burada dikkat edilecek husus, rasyonları hazırlarken, rasyondaki toplam besin maddelerinin değil yararlanılabilir besin maddelerinin, hayvanların ihtiyaçlarını karşılayacak düzeyde olması gerekligidir. Çünkü organizma, yemlerle alınan besin maddelerinin tamamından yararlanamamakta ve yararlanılamayan bu besin maddeleri sindirimden vücuttan atılmaktadır. Burada söz konusu olan, yemin sindirilebilirliğidir.

Bir yemin ya da bir yem bileşeninin sindirilebilirliği, bu yemin ya da yem bileşeninin hayvanın sindirim sisteminde kaybolan kısımidır.

Genel olarak, bir yemin sindirilebilirliği yapısındaki ham sellüloz düzeyine bağlı olarak değişmektedir. Ham sellüloz içeriklerinin yüksek olması nede-

niyle, özellikle kaba yemlerin sindirilebilirliklerinin tespitinin hayvan beslemede ayrıcalıklı bir önemi vardır. Bol yapraklı ve az miktarda ligninleşmiş doku içerdiklerinde, yeşil yemlerin sindirilebilirlikleri oldukça yüksektir (Örn; genç çayır otunda yaklaşık % 80). Buna karşılık, sap ve ligninleşmiş doku (ham sellüloz) oranı arttıkça sindirilebilirlik derecesi de azalmaktadır (Örn; samanda % 45'ten fazla değildir). Özellikle yemdeki enerji değerini belirlemeye organik maddenin sindirilebilirlik (O.M.S.) tespiti büyük önem taşımaktadır.

Bu nedenlerden dolayı, rasyonda yer alan yemlerin sindirilebilirliklerini bilmek, hayvanların besin maddeleri ihtiyaçlarını eksiksiz olarak karşılayabilmek için şarttır. Bu amaçla, uzun bir zamanдан beri, yemlerin yapıları ve sindirilebilirlikleri üzerinde pek çok araştırma yapılmış ve halen de yapılmaktadır.

Bu konu üzerinde çalışan araştırmacılar, geviş getiren hayvanların yemlerinin sindirilebilirliklerini tayinde kullandıkları yöntemleri, başlıca iki grup altında toplamışlardır. Canlı hayvanlar üzerinde uygulanan yöntemlere "in vivo yöntemler" adı verilmiştir. In vivo yöntemlerin fazla külvetli, zaman alıcı ve pahalı olmaları nedeniyle araştırmacılar, bu sakıncaları bir dereceye kadar ortadan kaldırabilmek amacıyla laboratuvar çalışmalarına yönelmişler ve çok sayıda in vitro yöntemler geliştirmiştir. Özellikle son yıllarda geliştirilen bu yöntemler, in vivo yöntemlere nazaran zahmetsiz olup, çoğu zaman daha kısa sürede sonuç verebilmektedirler.

Yapılan araştırmalardan elde edilen sonuçlara göre, *in vivo* sindirilebilirlik ile *in vitro* sindirilebilirlik arasında ve ayrıca *in vitro* yöntemlerin de kendi aralarında farklı sonuçlar verdiği görülmüştür. *In vitro* yöntemlerin kendi aralarında farklı sonuçlar vermesinde, özellikle ham sellülozun parçalanmasına etki eden mikroorganizmaların farklılığı ve çeşitli araştıracılar tarafından bildirilen muamele sürelerinin farklı olması baş rolü oynamaktadır. İşte bu sebeple, gerek hangi mikroorganizmayla daha iyi sonuç alınabileceği ve gerekse muamele sürelerinin aynı veya farklı yemlerdeki etkisine açıklık getireceği düşünülerek bu çalışma planlanmıştır.

## 2. KAYNAK ARASTIRMASI

*İn vivo* ve *in vitro* olarak bilinen yöntemler, yemlerin sindirilebilirliklerinin tespiti için de kullanılmaktadır. Canlı hayvanlar üzerinde uygulanan yöntemlere *in vivo* yöntemler, laboratuvara uygulanan yöntemlere ise, *in vitro* yöntemler denilmiştir. Fakat, başlangıçta sadece *in vivo* yöntemler uygulanmıştır. *İn vivo* yöntemleri, yemlerin hasat edilmiş ya da edilmemiş olmasına göre, iki ana grup altında toplayabiliriz (Streater 1969). Biçilmiş ya da hasat edilmiş yemlerin sindirilebilirlikleri, klasik yöntemle belirlenebilir (Kennedy ve Dinsmore 1909, Christensen ve Hopper 1932, Streeter 1969). Bu yöntemde, kapalı yemlerde bulundurulan hayvanlara belirli bir süre zarfında sindirilebilirliği tespit edilecek olan yem yedirilir ve daha sonra bu hayvanlardan elde edilen dişki toplanır (Streeter 1969).

Mer'ada otlayan hayvanların tüketikleri yem miktarları ölçülemediğinden dolayı, yemlerin sindirilebilirlikleri bu yöntemle belirlenemez. Bunun yanında, mer'ada otlayan hayvanların farklı yemlerden, değişik miktarlarda tüketmeleri de söz konusudur. İşte bu nedenlerden dolayı, mer'ada otlayan hayvanlar üzerinde yapılan sindirilebilirlik tayininde "indirekt (dolaylı)" yöntemler uygulanmaktadır. Streeter (1969) tarafından bildirildiği üzere, başlıca üç indirekt yöntem bulunmakla beraber, bu yöntemlere ilâveten "nylon torbalar" yöntemi (Van Keuren ve Heinemann 1962, Demarquilly ve Chenost 1969) ve nükleer teknikler de bulunmaktadır (Comar 1955, El-Shazly ve Abou Akkada 1972, Çalışkaner vd 1987).

Genel olarak (direkt, indirekt ve nükleer yöntemlerle birlikte) *in vivo* yöntemleri altı grup altında toplayabiliriz. Bunlar:

- Tek yemle veya iki yemle yapılabilen "sindirim denemeleri",
- Rasyona katılan ve dışkıda bulunan indikatör konsantrasyonuna dayanan "oransal teknikler" yöntemi (Bergeim 1926),
- Dışkı azotu ile organik maddenin sindirilebilirliği arasındaki ilişkiye dayanan "dışkı indeksi" yöntemi (Lancester 1949),
- *In vivo* ve *in vitro* yöntemlerin karışımı olan "mikro sindirim tekniği" (Van Dyne ve Meyer 1964),
- *In vivo* yöntemler içinde diğerlerine göre daha hızlı yapılabilmesi ve daha az masraflı olması nedeniyle önem taşıyan "naylon torbalar" yöntemi (Van Keuren ve Heinemann 1962).
- Radyoizotoplardan yararlanılarak besin maddelerinin sindirilebilirliklerinin hesaplanması dayanan "nükleer teknikler" (Comar 1955, El-Shazly ve Abou Akkada 1972, Çalışkaner vd 1987).

*In vivo* ve *in vitro* teknikler arasında yapılan karşılaştırmalarında *in vivo* sonuçların ve buylar içinde özellikle "naylon torbalar" yönteminin daima *in vitro* sonuçlardan daha iyi olduğu görülmüştür. *In vivo* yöntemlerin en gelişmiş olan naylon torbalar yönteminin esası, Quin vd (1938) tarafından geliştirilen teknigue dayanır. Bu yöntemle, yemlerin vegetatif kısımlarının rumendeki sindirimini izlenebilir. Böylece yemlerin sindirilebilirlikleri tespit edilebilir.

Fakat daha önce de belirtildiği üzere, "in vivo" yöntemlerin gerek fazla zaman alışı ve gerekse pahalı olması araştıracıları laboratuvar çalışmalarına yöneltmiştir. Laboratuvar koşullarında uygulanabilen "in vitro" yöntemlerin geliştirilmesi için pek çok araştırmalar yapılmıştır. Böylece, "in vitro" sindirilebilirlik yöntemleri ile ilgili çalışmalarla, son 40-50 yıl içinde, önemli gelişmeler kaydedilmiştir.

Önceleri, sellüloz fermentasyonu üzerinde çalışan Tappeiner, koyuullardan elde ettiği rumen bakterilerini laboratuvar koşullarında muameleye tabi tutarak yağ asitlerini üretmiştir (Marston 1948).

Daha sonra, rumende bulunan bazı mikroorganizmalar tarafından, protein tabiatında olmayan azotlu maddelerin proteinlere çevrilebildiği ve daha sonra oluşan mikrobiyal sindirimin, hayvanın protein ihtiyacına katkıda bulunduğu saptanmıştır (Zuntz 1891).

Woodman ve Evans (1938), in vitro rumen fermentasyonunda rumen sıvısı ve bazı tuzlar kullanarak, sellülozun sindirimi üzerine çeşitli araştırmalar yapmışlar ve sellülozun sindirilmesinde ara ürünün glukoz, son ürünlerin ise purivik, laktik asit ve uçucu yağ asitleri olduğunu ispat etmişlerdir.

Quin (1943) ise, yaptığı çalışmalarda rumen sıvısında bulunan karbonhidratların sindirimini incelemiş ve manometre ile gaz üretimini ölçmüştür. Rumen sindirimi ile bakteri faaliyeti arasındaki ilişkinin var olduğunu anlaşılmasıından sonra araştıracı, bu ilişkiye açılığa kavuşturmak amacıyla, çalışmalarını bu konu üzerinde yoğunlaştırmıştır.

Pearson ve Smith (1943) tarafından yapılan bir çalışmada, rumen sıvısı, üre,  $K_2PO_4$ , glukoz ve  $FeSO_4$  kullanarak, ürenin rumen bakterileri tarafından kullanımı incelenmiştir. Buradan elde edilen sonuçlara göre, uzun süreli inkübasyonda, bir gün sonunda büyük değişiklikler olduğu, daha sonraki 2-4 saatlik inkübasyonda ise rumen bakterilerinin faaliyetlerinin kısıtlandığı gözlenmiştir. Bu gözlemler, Wagner vd (1940) tarafından yapılan çalışmaları destekleyici niteliktir. Marston (1948) ise, yalnız  $(NH_4)_2SO_4$ ,  $KH_2PO_4$ ,  $MgSO_4$  ve  $CaCl_2$  değil, ayrıca oligo elementleri de kullanarak hem uçucu yağ asitlerinin, hem de  $CH_4$  ve  $CO_2$  gibi gazların analizlerini yapmıştır.

Louw vd (1949), geliştirdiği bir sistem ile rumen sıvısını ve önemli maddeleri bir diyaliz (yarı geçirgen) kesesine koyarak diyaliz etmişlerdir. Araştıracılar bu yöntemde 24 saat sonunda sellüloz sindirimini düşük olduğunu, bununla birlikte elde edilen sonuçların, sıvının ya da inkübasyon süresinin oranına ve maddeye bağlı kaldığını bildirmiştir. Bu yöntem daha sonra Wasserman vd (1952), Huhtanen vd (1954), Huhtanen ve Elliott (1956), Salsbury vd (1956, 1958) ve Meiske vd (1958) tarafından da kullanılmıştır.

Burroughs vd (1950 a,b), in vitro fermantasyon yöntemleri üzerinde yaptığı çalışmalarla, bir mineral karışımı olan ve sun'u salya olarak bilinen ve McDougall eriyигini kullanmışlardır.

McDoughall (1949) tarafından oluşturulan sun'u koyun salyasının mineral madde kompozisyonu aşağıda verilmiştir.

Sun'i salyanın kimyasal kompozisyonu  
(McDoughall 1949)

<u>Kimyasal terkip</u>	<u>1 lt saf suda, g</u>
NaHCO <sub>3</sub>	9.80
KCl	0.57
CaCl <sub>2</sub>	0.04
NaPO <sub>4</sub> 12 H <sub>2</sub> O	9.30
NaCl <sub>2</sub>	0.47
MgSO <sub>4</sub> 7 H <sub>2</sub> O	0.12

Andersen vd (1956) ve Hall vd (1961), uyguladıkları *in vitro* rumen fermantasyon yönteminde, tampon eriyiklerinden fosfatları elimine etmişlerdir. Biotin ve bazı kısa zincirli yağ asitlerinin sellülotik rumen mikroorganizmaları için büyümeye faktörleri olduğunun Bentley vd (1954, 1955), Bryant ve Doetsch (1955) tarafından keşfinden sonra sellüloz, derecesi ölçülebilen değişken olarak ele alınmış ve *in vitro* fermantasyon eriyiklerinde valerik asit ve biotin, standard madde olarak kullanılmıştır.

Burroughs vd (1950 a, b) tarafından uygulanan "all glass" damar fermantasyonunda, McDoughall solüsyonu esasına dayanan bir karma mineral ve oligo-element serisi kullanılmıştır. Araştırmalardan elde edilen sonuçlara göre, birinci transfer işleminden sonra sellüloz sindiriminin düştüğü gözlenmiştir. Bentley vd (1954, 1955) ve Warner vd (1956) tarafından bu durum, esas inkübasyon dönemi esnasında bir mikroflora değişiminin olduğu şeklinde açıklanmaktadır.

Bazı araştıracılar, rumenden alınan mikroorganizmaların rumende olduğu gibi laboratuvar koşullarında da aynı şekilde fonksiyon gösterebilmesi için bu mikroorganizmaların saf ve izole edilmiş olmaları gerektiğini bildirmiştir (Bryant ve Hungate 1950).

Yapılan araştırmalara göre izole edilmiş rumen sellülotik türleri kanıtlanmış ve mikrobiyolojistler hangi kültürlerde başvurmaları gerektiğini aşağıdaki kriterleri dikkate alarak belirlemiştir.

1. Bakteri ve protozoaların morfolojik tiplerinden çoğunun güçlükle kültüre alınması.
2. Saf kültürdeki rumen protozoalarının çoğalmaya başlayabileceklerindeki imkânsızlık.
3. Rumende çok sayıda ve oksijensiz solunuma benzer solunumun tepkimelerle oluşumu için teknik zorlukların bulunması.

Bu iş için hem karışık, hem de saf kültürlerde rumen populasyonunun aktivitesinin incelenmesi gerekmektedir. Bunun başlıca nedenleri arasında, bu populasyonun hem tür ve sayıları, hem de metabolik tepkimelerinin değişik olması önde gelmektedir.

Yukarıda adı geçen araştıracılar, bir *in vitro* sindirilebilirlik yönteminin değerlendirilebilmesi için Warner (1956) tarafından belirtilen noktaların dikkate alınması gerektiğini bildirmiştir. Bunlar:

- *In vivo* sindirilebilirlik sonuçlarının elde edilebilir olması,
- Bakteri ve protozoaların sayı, görünüş ve birbirine oranları bakımından uygun biçimde elde edilmeleri ve

- Sellüloz, protein ve nişastanın sindirilme oranları ve bunların kendi aralarındaki olağan tepkimelerin normal bir seyir izlemesiidir.

Bu kriterlere benzer kriterler daha sonra Davey vd (1960) tarafından da bildirilmiştir. Aynı zamanda bu kriterler Warner (1956), Adler vd (1958), Bowie (1962), Gray vd (1962), Harbers ve Tillman (1962) tarafından belirtilen ihtiyaçları da kısmi olarak kapsamaktadır.

*In vitro* rumen fermantasyon yöntemleri ile ilgili pek çok araştırma yapılmış ve bu araştırmalarla oldukça yaygın bir kesime hizmet etme fırsatı doğmuştur.

*Bentley* Johnson ve/(1958), *in vitro* rumen fermantasyonunu aşağıdaki konulara açıklık getirmesi bakımından önemli bulmuşlar ve gelecekte bunlarla ilgili çalışmalara ağırlık verileceğini bildirmiştir:

- Sellüloz sindirimini ve bunu etkileyen faktörler,
- Saf ve karışık kültürlerin ana metabolizmaları,
- Sabit durum gerektirmeyen olayların oranı ile ilgili çalışmalar,
- Protein olmayan nitrojenin kullanımı,
- "All glass" ve devamlı akıcı kemostas sisteminin birlikte kullanılarak yapılan symbiosis çalışmalar,
- İlaçlar için eleme teknikleri,
- *In vitro* kaba yemleri değerlendirme çalışmaları. (Burada kaba yemlerin değerlendirilmesi işlemindeki tekniğin kullanımını ile aynı za-

manda bitki dokularındaki biyokimyasal farklılıkların tespiti söz konusudur. Özellikle in vitro çalışmalar bitki karbonhidratlarının yapısını, sindirilebilirliklerini ve aralarındaki ilişkiye incelemeye önemli bir araçtır. Bu durumda rumen bakterileri bir "analitik ayraç" olarak görev yaparlar.)

Warner'ın (1956) in vitro sindirilebilirlik yönteminin değerlendirilmesi üzerine gerekli gördüğü kriterleri açıklamasından sonra Tilley ve Terry (1963), yeni bir in vitro sindirilebilirlik yöntemi ortaya atmışlardır. Bu araştıracılar tarafından bildirilmiş olan bu yöntemin esası iki safhadan oluşmaktadır.

İlk safhada rumen sıvısı sindirim, ikinci safhada ise, pepsin sindirim söz konusudur. Araştıracılar her iki safhada da inkübasyon süresini 48 saat, ortamın sıcaklığını ise  $38-39^{\circ}\text{C}$  olarak belirlemiştir. İlk safha olan rumen sıvısı ile sindirimde inkübasyon süresi olan 48 saat, yemlerin yapısında bulunan sellülozun sindirim için gerekli bir süredir. Ancak burada dikkat edilmesi gereken nokta rumen sıvısının doğrudan doğruya rumenden alınmasının gereklisidir.

İkinci safha olan pepsin sindirim safhasında ise, yem yapısında bulunan çözünmeyen proteinlerin parçalanmasına katkıda bulunan pepsin kullanılmaktadır.

Yukarıda da belirtildiği gibi, Tilley ve Terry (1963) tarafından tabii rumen sıvısı kullanılarak yapılan çalışmalarla rumen sıvısının doğrudan rumenden alınması gerekmektedir. Ancak, rumen sıvısının rumenden alınması sırasında bazı güçlüklerle karşılaşmaktadır.

Ayrıca, bu yöntemde yemin sindirilebilirliğinin tespiti için aynı hayvandan farklı zamanlarda alınan rumen sıvısıyla farklı sonuçlar elde edilebilmektedir. Yine, aynı hayvandan bir defada alınan rumen sıvısı ile aynı yem farklı zamanlarda analiz edildiğinde farklı sonuçlar bulunabilmektedir.

İşte, bu sakıncaları ortadan kaldırabilmek amacıyla bazı araştırmacılar saflaştırılmış rumen mikroorganizmalarıyla çalışmayı uygun bulmuşlar ve bunun için *Trichoderma viride*, *Aspergillus niger* v.b. ham sellülozu parçalayan mikroorganizmalarla çalışarak "sellülaz" metodunu ortaya atmışlardır.

Bu son teknikler, rumenden elde edilen mikroorganizmaların laboratuvara, yapay işkembe şartlarında, belli sürelerde muamelesine dayanmaktadır.

Yapılan araştırmalardan elde edilen sonuçlara göre, özellikle *Trichoderma viride* ve bunun Japonya'da üretilen formu olan Onozuka ve *Aspergillus niger* mikroorganizmalarıyla yapılan çalışmalarda birbirine benzer sonuçlar elde edilmiş fakat, *Trichoderma viride* kullanılarak yapılan araştırma sonuçları biraz daha olumlu bulunmuştur. Yalnız, her araştırmacı kullandıkları aynı yem ve mikroorganizma için bile farklı muamele süreleri bildirmiştir (Guggolz vd 1963, Klett 1967, Jones ve Hayward 1973, Jones ve Hayward 1975, Pulli 1976, Goto ve Minson 1977, v.b.).

Donefer vd (1963), 14 adet baklagil ve bugdaygil yeşil yemini sellülaz 36 enzimi ile 40°C'de 24 saat muamele etmenin yeterli olduğunu bildirmiştir.

Guggolz vd (1963), 12 adet yeşil yemi, onozuka sellülazı ile  $40^{\circ}\text{C}$ 'de 72 saat muamele ederek, in vivo yöntemle elde edilen sonuçlara yakın sindirilebilirlik değerlerinin elde edilebileceğini bildirmiştir.

Klett (1967) ise, çeşitli yonca kuru otları ve buharla muamele edilmiş arpayı, sellülaz enzimi ile ayrı ayrı 12 ve 24 saat muamele etmiş ve her iki muamele süresiyle de in vivo (naylon torbalar) yöntemle benzer sonuçlar elde etmiştir.

Jarrige vd (1970) ise, 129 adet yeşil yem, kuru ot ve silajı, sellülaz "SEAB" enzimi ile  $40^{\circ}\text{C}$ 'de 24 saat muamele etmenin yeterli olduğunu bildirmiştir.

Singh vd (1970), kaba yemlerin, sıgırlar ve buffalolardaki sindirilebilirliğini tayin etmek için 12, 24, 36 ve 48 saat sellülaz ile muamele etmişler ve tüm yemler dikkate alındığında türler arasında sindirilebilirlik derecesi bakımından önemli bir farklılık bulunmadığını bildirmiştir.

Jones ve Hayward (1973), çayır otlarını *Trichoderma viride* sellülazı ile  $40^{\circ}\text{C}$ 'de 48 h muamele ederek, in vivo yöntemle elde edilen sonuçlara yakın sindirilebilirlik değerlerinin elde edilebileceğini bildirmiştir.

Hartley vd (1974), 45 adet baklagil ve buğdaygil yemini NDF ile ön muameleye tabi tuttuktan sonra sellülaz Basidiomycetes enzimi ile  $37^{\circ}\text{C}$ 'de 16 saat muamelenin yeterli olduğunu bildirmiştir.

Jones ve Hayward (1975a) tarafından yapılan başka bir araştırmada ise, 19 adet baklagil ve buğday-

gil yeşil yemi 0.1 N HCl içeren pepsin çözeltisiyle  $40^{\circ}\text{C}$ 'de 24 saat ön muameleye tabi tutulduktan sonra, sellüiaz "BDH" enzimi ile  $40^{\circ}\text{C}$ 'de 48 saat muamelenin yeterli olduğu sonucuna varılmıştır.

Jones ve Hayward (1975b), çayır otlarını pepsinle ön muameleye tabi tuttuktan sonra, ayrı ayrı *Trichoderma viride* ve *Basidiomycetes* sellüazları ile 24 saat muameleden birbirine benzer sonuçlar elde etmişlerdir.

McQeen ve Van Soest (1975), kaba yemlerin *Aspergillus niger* ve *Trichoderma viride* sellüazları ile  $40^{\circ}\text{C}$ 'de ayrı ayrı muamelesiyle birbirine yakın sonuçlar elde edilebileceğini bildirmiştir.

Tinnimit ve Thomas (1976), 12 adet yeşil yem ve kuru otu 0.075 N HCl içeren pepsin çözeltisiyle  $38-39^{\circ}\text{C}$ 'de 60 saat ön muamelesinden sonra, sellüaz "Marshall" enzimi ile  $38-39^{\circ}\text{C}$ 'de 60 saat muamelenin yeterli olduğunu belirtmişlerdir.

Pullı (1976), ise, çayır otlarını *Trichoderma viride* sellüazı ile muamele etmekle, in vivo sindirilebilirlik değerlerine çok yakın bir değer elde edilebileceğini bildirmiştir.

Adagbola ve Paladines (1977), 12 adet tropikal bitkiyi 0.05 N HCl içeren pepsin çözeltisiyle  $40^{\circ}\text{C}$ 'de 48 saat ön muameleden sonra, *Trichoderma* sellüazı ile  $40^{\circ}\text{C}$ 'de 48 saat muamele sonunda elde edilen sindirilebilirlik değerlerinin, in vivo yöntemle elde edilen sindirilebilirlik değerleriyle yakın ilişkili olduğunu bildirmiştir.

Clark ve Beard (1977a), 23 adet yeşil yem, kuru ot ve samanı 0.1 N HCl içeren pepsinle 40°C'de 24 saat muamele etmişler ve daha sonra *Aspergillus niger* sellüllazı ile 40°C'de 48 saat muamelenin yeterli olduğunu belirtmişlerdir.

Downman ve Collins (1977), 45 adet silajı 0.1 N HCl içeren pepsinle ön muameleden sonra, sellülaz "BDH" enzimi ile 40°C'de 24 saat muamelenin yeterli olduğunu bildirmiştir.

Goto ve Minson (1977) ise, 45 adet tropikal bitki üzerinde çalışmışlardır. Araştıracılar bu yemleri 0.1 N HCl içeren pepsin çözeltisinde 40°C'de 48 saat ön muameleden sonra, sellülaz "Onozuka SS-P 1500" enzimi ile 40°C'de 48 saat muameleyle in vivo yöntemle elde edilen sindirilebilirlik değerlerine yakın sonuçlar elde edilebileceğini bildirmiştir.

Roughan ve Holland (1977), 34 numuneden oluşan baklagil ve buğdaygil yemini, NDF solusyonu + kaynar su ile ön muameleden sonra, *Trichoderma viride* sellülazı ile 50°C'de 5 saat ve 50°C'de 16, 18 saat muamele etmişlerdir. Araştıracılar, sellülaz yönteminde elde ettikleri sindirilebilirlik değerleri ile in vivo yöntemle elde edilen sindirilebilirlik değerleri arasındaki korrelasyonun yüksek olduğunu bildirmiştir.

Clark ve Beard (1977b) ise, 24 numuneden oluşan tane ve kaba yemleri ayrı ayrı *Aspergillus niger* ve *Trichoderma viride* sellülazları ile muameleye tabi tutmuşlar, tane ve kaba yem içeren rasyonlarda *Aspergillus niger* sellülazı kullanıldığında elde edilen sindirilebilirlik değerleri ile in vivo yöntemle elde edilen

sindirilebilirlik değerleri arasındaki ilişkinin önemi olduğunu bildirmişlerdir. Fakat *Aspergillus niger* sellülazi yerine, *Trichoderma viride* sellülazi kullanıldığında bu ilişkinin tane içeren dietlerde düzeldiğini belirtmişlerdir.

Pezo ve Vohnout (1977) ise, tropikal bitkilerde 3 saatten 96 saat kadar olan tüm muamele sürelerini denemişler ve bunlar içerisinde en uygun sürenin 48 saat olduğunu belirtmişlerdir.

Kirchgessner ve Kellner (1978), 47 adet bugdaygil ve baklagil kuru otu ile yeşil yemi,  $100^{\circ}\text{C}$ 'de 30 dakika 2 N HCl ile ön muameleden sonra,  $40^{\circ}\text{C}$ 'de 24 saat sellülaz +  $40^{\circ}\text{C}$ 'de 24 saat HCl içeren pepsin çözeltisi ile muamele etmekle, *in vivo* yöntemle elde edilen sindirilebilirlik değerlerine yakın bir değer elde edilebileceğini bildirmiştir.

McLeod ve Minson (1978), 410 adet kuru otu 0.1 N HCl içeren pepsin çözeltisiyle  $39^{\circ}\text{C}$ 'de 48 saat ön muameleden sonra, sellülaz "Onozuka SS-P 1500" enzimi ile  $39^{\circ}\text{C}$ 'de 48 saat muamelenin, *in vivo* yöntemle elde edilen sindirilebilirlik değerleri ile yakın ilişkide olduğunu bildirmiştir. Araştıracılar daha sonra muamele süresini 24 saatte indirmişler ve böylece standart sapmanın arttığı sonucuna varmışlardır.

Terry vd (1978), 73 adet bugdaygil ve baklagil yemini, 0.1 N HCl içeren pepsin çözeltisiyle  $40^{\circ}\text{C}$ 'de 24 saat ön muameleden sonra, sellülaz "BDH" enzimi ile  $40^{\circ}\text{C}$ 'de 48 saat muamelenin yeterli olabileceğini bildirmiştir.

Carlier vd (1979), 19 adet yeşil yem ve buğdaygil kuru otunu 0.1 N HCl içeren pepsin çözeltisiyle 40°C'de 24 saat ön muameleden sonra, sellülaz "BDH" enzimi ile 40°C'de 48 saat muamelenin, in vivo yöntemle elde edilen sindirilebilirlik değerlerine oldukça yakın sonuçlar verdiğini bildirmiştir.

Adamson ve Terry (1980), 34 adet kuru otu 0.1 N HCl içeren pepsin çözeltisiyle 40°C'de 24 saat ön muameleden sonra sellülaz "BDH" enzimi ile 40°C'de 48 saat muamelenin, in vivo yöntemle elde edilen sindirilebilirlik değerleri ile çok az ilişkili olduğunu bildirmiştir.

McLeod ve Minson (1980), 80 adet baklagil ve tropikal buğdaygili 0.1 N HCl içeren pepsin çözeltisiyile 39°C'de 48 saat ön muameleden sonra, sellülaz "Onozuka 3 S" enzimi ile 39°C'de 48 saat muamelenin yeterli olduğunu bildirmiştir.

Aufrére (1982) ise, 154 adet baklagil ve buğdaygili 1 N HCl'te hazırlanan pepsin çözeltisiyle 40°C'de 24 saat muameleden sonra, sellülaz "Onozuka R 10" enzimi ile 40°C'de 24 saat muamele ederek elde edilen sindirilebilirlik değerlerinin, in vivo yöntemle elde edilen sindirilebilirlik değerleri ile yakın ilişkili olduğunu bildirmiştir.

Bartiaux-Thill vd (1980), çayır otunu HCl'te hazırlanan pepsin çözeltisiyle muameleden sonra, ayrı ayrı *Trichoderma viride* ve *Aspergillus niger* sellülazları ile 40°C'de 24 saat muamelenin yeterli olduğunu bildirmiştir.

Yazıcıoğlu (1987) tarafından yapılan bir araştırmada ise, kuru çayır otu, yonca kuru otu ve saman olmak üzere kaba yemler ile arpa, mısır ve ayçiçeği tohumu küspesi olmak üzere kesif yemler incelenmiştir. Araştırcı, bu yemleri *Trichoderma viride* sellülazi ile  $38^{\circ}\text{C}$ 'de 24 saat muameleden sonra 0.1-l N HCl içeren pepsin çözeltisiyle  $38^{\circ}\text{C}$ 'de 24 saat muamele ederek, her bir yem için ayrı ayrı organik madde ve kuru madde sindirilebilirliklerini tespit etmiştir. Sonuç olarak, özellikle yonca kuru otunun organik madde sindirilebilirliğinin *in vivo* yöntemle elde edilen değerlere oldukça yakın sonuçlar verdiğiini bildirmiştir.

### 3. MATERİYAL VE METOD

#### 3.1. Materyal

Bu araştırmada kolay sindirilebilen kaba yemleri temsilen üçüncü biçim yonca kuru otu ve güç sindirilebilen kaba yemleri temsilen de buğday samanı yem materyali olarak kullanılmıştır. Her iki kaba yem de Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Araştırma ve Uygulama Çiftliği'nde yetiştirilmiş ve kurutulmuştur.

Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootekni Bölümü Yemler ve Hayvan Besleme Anabilim Dalı laboratuvarlarında yapılan analizler sonucu her iki kaba yemin ham besin maddelerince elde edilen bileşimleri Çizelge 3.1.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1.1, Yonca kuru otu ve buğday samanının ham besin maddelerince bileşimleri

Yemler	K.M. %	H.P. %	H.S. %	H.Y. %	H.K. %	S.H.P. %	N.Ö.M. %
Yonca kuru otu(3. biçim)	92.42	15.18	29.82	2.35	10.32	13.56	34.75
Buğday samanı	93.94	2.86	39.11	1.42	9.19	1.25	41.36

Araştırmada Sigma C-2274, Onozuka R-10 ve Sigma C 2415 enzimleri kullanılmıştır. Sigma C-2274 enzimi "Trichoderma viride" mikroorganizmasından Amerikan üretimi, Onozuka R-10 yine "Trichoderma viride" mikroorganizmasından elde edilmiş, ancak Japon üretimi enzimlerdir. Buna karşılık Sigma C-2415 enzimi "Aspergillus niger" mikroorganizmasından elde edilen Amerikan yapımı bir enzimdir.

### 3.2. Metod

#### 3.2.1. Deneme düzeni

Araştırmada kullanılan, iki kaba yem materyali de (kolay sindirilebilir yemleri temsil eden yonca kuru otu ve güç sindirilebilir yemleri temsil eden buğdaygil samanı) her 3 enzimle (Trichoderma viride, Aspergillus niger ve Onozuka) muamele edilmişlerdir. Her bir enzime muamelede 4 farklı inkübasyon süresi (12, 24, 48 ve 72 saat) uygulanmıştır. Deneme düzeni çizelge 3.2.1.1'de verilmiştir.

## Çizelge 3.2.1.1, Deneme düzeni

Yemler	Yonca kuru otu			Buğdaygil samanı		
Enzimler	Tricho- <sup>1)</sup> derma viride	Asper- gillus niger	Ono- zuka	Tricho- derma viride	Asper- gillus niger	Ono- zuka
İnkübas- yon süre- si(saat)	12,24 48,72	12,24 48,72	12,24 48,72	12,24 48,72	12,24 48,72	12,24 48,72

1) Kontrol grubu

2) Her muamele 2 tekrar olarak yapılmıştır.

## 3.2.2. Analiz yöntemleri

## 3.2.2.1. Yem analizleri

Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootekni Bölümü Yemler ve Hayvan Besleme Anabilim Dalı laboratuvarlarına getirilen yemler öğütüldükten sonra, ham besin maddeleri (kuru madde, ham protein, ham sellüloz, ham yağ ve ham kül) miktarlarını bulmak için, Weende analiz yöntemine göre (Akyıldız 1984) analiz edilmişlerdir. Ayrıca sindirilebilir ham protein analizleri de yapılmıştır.

Daha önce kurutulmuş ve öğütülmüş olan bu yemlerin Weende analiz yöntemine göre analiz edilmeleri aşağıdaki prensiplere dayanır.

Kuru madde tayini, yem maddesinin belli bir ağırlığının  $105^{\circ}\text{C}$ 'lik bir ısı derecesinde ısıtılarak, suyu uçurulduktan sonraki ağırlığı ile ilk ağırlığı arasındaki farkın yüzde olarak hesaplanmasıdır.

Ham protein analizi, ağırlığı belli olan bir miktar yem maddesini, derişik sülfürik asit ile yaşı yakmaya tabi tuttuktan sonra kuvvetli alkali ile damıtılmasıyla elde edilen çözeltinin titre edilmesi esasına dayanır.

Ham sellüloz analizinde, yem maddesi arka arkaya belli konsantrasyonlardaki sülfürik asit ve sodyum hidroksit ile kaynatılır, süzülür, asetonla yıkılır. Kalıntı  $105^{\circ}\text{C}$ 'de kurutulur ve  $750^{\circ}\text{C}$ 'de yakma fırınında yakılır. Yakma sonucu ağırlık farkı ham sellüloz miktarını verir.

Ham yağ analizinde, öğütülmüş ve kurutulmuş belli ağırlıktaki yem maddesi saf eter ile ekstrakte edilir ve bu ekstrakt ham yağ olarak ifade edilir.

Ham kül tayininde, ağırlığı önceden saptanmış yem maddesinin  $550^{\circ}\text{C}$ 'deki yüksek sıcaklıkta yakılarak organik maddeleri uçurulur ve mineral maddeleri de ham kül olarak elde edilir.

Sindirilebilir ham protein analizi, numunenin 48 saat süre ile  $40^{\circ}\text{C}$  sıcaklıkta pepsin HCl ile muamelesinden sonra filtre edilmesi, süzügün, azot (N) içeriğinin ham protein tayinindeki gibi bulunmasıdır.

### 3.2.2.2. In vitro analiz yöntemi

#### 3.2.2.2.1. Sellülaz yöntemi (Kellner-Kirchgessner 1976)

Sellülaz yönteminde kullanılmak üzere, sellülozun parçalanmasını sağlayan *Aspergillus niger*, *Trichoderma viride* ve Onozuka mikroorganizmalarını içeren üç farklı enzim kullanılmıştır.

Deneyin yapılışına geçmeden önce, tampon çözeltisi ve pepsin çözeltisi olmak üzere iki kimyasal çözelti hazırlanmıştır. Bu çözeltilerin hazırlanması aşağıda olduğu gibidir.

##### Tampon çözeltisi :

2.9 ml kesif sirke asidi, 3 molekül kristal sulu 6.3 g sodyum asetat bir ölçü balonuna konur. 1 lt'ye saf su ile tamamlanır. Üzerine 1 g sellülaz enzimi ilave edilir. Sellülaz enzimi olarak, Sigma C-2274 *Trichoderma viride*, Onozuka R-10 ve Sigma C-2415 *Aspergillus niger* enzimlerinin her birisi için ayrı tampon çözeltisi hazırlanmıştır. En son olarak, hazırlanan tampon çözeltisinin pH'sı 4.6 olacak şekilde ayarlanır.

##### Pepsin çözeltisi :

1 lt 0.1 N HCl hazırlanır ve üzerine 2 g pepsin ilave edilerek % 0.2'lik pepsin çözeltisi hazırlanır. Pepsin olarak Merck 7190, 2000 FIP-U/g kullanılmıştır.

##### Analizin yapılışı :

Kurutulmuş ve öğütülmüş olan yem örneği homojen olacak şekilde karıştırıldıktan sonra 0.5 g tartılır ve santrifüj tüpüne konur. Üzerine 50 ml tampon çöz-

zeltisi ilave edilir ve ayrı ayrı 12, 24, 48 ve 72 saat süre ile  $38-40^{\circ}\text{C}$  sıcaklığındaki su banyosunda inkübas-yona bırakılır. İnkübasyon sonunda santrifüj tüpü 1800-2500 dev./dak. 10 dakika süre ile santrifüj edilir ve santrifüjden sonra üst kısmında bulunan tampon çözeltisi alınır ve yerine 50 ml pepsin çözeltisi ilave edilir, 24 saat süre ile  $38-40^{\circ}\text{C}$  sıcaklığındaki sıcak su banyosunda inkübasyona bırakılır. İnkübasyon sonunda tüp, sıcak saf su kullanarak darası alınmış olan  $G_1$ 'den süzülür.  $G_1$   $105^{\circ}\text{C}$  sıcaklığındaki kurutma dolabında 48 saat tutulur. Kurutma dolabından alınan  $G_1$  tartılır ve bu tartım değerine  $A_1$  değeri denir. Tartım işlemi bitirilen  $G_1$   $550^{\circ}\text{C}$  sıcaklığındaki yakma fırınında 3-4 saat süre ile yakılır ve tartılır. Bu tartım değerine  $A_2$  değeri denir.

Hesaplanması :

$$\% \text{ Artık} = \frac{\text{Kurutmadan sonraki Yandıktan sonraki}}{\text{Alınan numune miktarı (g)}} - \frac{\text{ağırlık (g)}}{\text{ağırlık (g)}} \times 100$$

$$\text{KMS} = 100 - \text{Artık}$$

$$\text{OMS} = 100 - \frac{\text{Artık}}{1 - \text{Ham kül}}$$

### 3.2.2.3. İstatistik yöntemler

Bu araştırmada *in vitro* yöntemle elde edilen kuru madde sindirilebilirlik ve organik madde sindirilebilirlik değerleri arasındaki farklılıklar, varyans analizi metodu (Düzgüneş 1983) ile kontrol edilmiş; farklılıkların hangi gruplar arasında olduğunun saptanmasında ise Duncan testi (Duncan 1955) uygulanmıştır.

#### 4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI

Araştırmadan elde edilen sonuçlar organik madde ve kuru madde için ayrı ayrı aşağıda verilmiştir.

##### 4.1. Organik Maddenin Sindirilebilirliğine İlişkin Araştırma Sonuçları

###### 4.1.1. Yonca kuru otu organik maddesinin sindirilebilirliğine ilişkin araştırma sonuçları

Yonca kuru otu organik maddesinin sindirilebilirliğine ilişkin araştırma sonuçları Çizelge 4.1.1.1'de verilmiştir.

Çizelge 4.1.1.1'de görüldüğü gibi gerek aynı muamele süresinde enzimler arasında, gerekse aynı enzimin muamele süreleri arasında istatistiksel önemli sonuçlar elde edilmiştir.

Yonca kuru otu organik maddesinin sindirilebilirliği üzerine enzimler ile muamele (inkübasyon) sürelerinin etkileri arasındaki ilişkiye ait varyans analizi Çizelge 4.1.1.2'de verilmiştir.

Çizelge 4.1.1.1, Yonca kuru otu organik maddesinin sindirilebilirliğine ilişkin araştırma sonuçları (%)<sup>1)</sup>

Egzinler	Süreler	12	24	48	72
Trichoderma viride	2)	<sup>a</sup> 56.52±0.49	<sup>b</sup> 62.22±0.84	<sup>b</sup> 63.33±0.55	<sup>b</sup> 62.62±0.37
O. Onozuka		50.94±0.44 <sup>y</sup>	59.91±0.82 <sup>bn</sup>	61.44±1.19 <sup>bn</sup>	60.69±1.11 <sup>bn</sup>
A. Aspergillus niger		48.16±0.29 <sup>yz</sup>	48.05±1.55 <sup>yz</sup>	45.87±1.89 <sup>y</sup>	49.41±1.14 <sup>z</sup>

1)  $P \leq 0.01$

2) Aynı satır ve sütunuda aynı harfi taşımayan değerler arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur.

Çizelge 4.1.1.2, Yonca kuru otu organik maddesinin sindirilebilirliği üzerine enzimler ile muamele sürelerinin etkileri arasındaki ilişkiye ait varyans analizi

	Kareler toplamı	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F
Enzimler	781.578	2	390.789	175.512
İnkübasyon sureleri	123.508	3	41.1693	18.4901
Enzim x inkü- basyon süresi	93.0703	6	15.5117	6.96667
Hata	26.7188	12	2.22656	-

xx  $P \leq 0.01$

Aynı muamele süresinde enzimler arasında ve aynı enzimin muamele süreleri arasında bulunan istatistiksel önemli farklılığın hangi enzimler veya muamele süreleri arasında olduğunu belirtmek için Duncan testi yapılmış ve sonuçlar aşağıda ayrı ayrı verilmiştir.

#### 4.1.1.1. Enzim etkilerine ilişkin araştırma sonuçları

12 saatlik inkübasyon süresinde yonca kuru otu organik maddesinin sindirilebilirliği Çizelge 4.1.1.1.'de görüldüğü gibi Trichoderma viride (kontrol grubu) enzimi ile % 56.52, Onozuka enzimi ile % 50.94 ve Asper-

*gillus niger* enzimi ile % 48.16 bulunmuştur. Bu değerler arasında bulunan istatistiksel önemli sonucun hangi enzimler arasında olduğunu belirtmek için Duncan testi yapılmış ve sonuçlar Çizelge 4.1.1.1'de verilmiştir.

Çizelge 4.1.1.1, Yonca kuru otu organik maddesinin 12 saatlik inkübasyon süresine ait Duncan testi

			$P \leq 0.05$ Duncan %5	$P \leq 0.01$ Duncan %1
Enzimler	50.94	56.52		
48.16	2.78	8.36 <sup>xx</sup>	3.39749	4.75227
50.94	-	5.58 <sup>xx</sup>	3.24977	4.55812

xx  $P \leq 0.01$

Çizelge 4.1.1.1'de görüldüğü gibi *Trichoderma viride* (kontrol grubu) enzimi ile elde edilen 12 saatlik inkübasyon süresine ait % 56.52 değeri, aynı inkübasyon süresinde Onozuka ve *Aspergillus niger* enzimleri ile elde edilen değerlerden istatistiksel olarak daha yüksektir ( $P \leq 0.01$ ).

24 saatlik inkübasyon süresinde yonca kuru otu organik maddesinin sindirilebilirliği Çizelge 4.1.1.1'de de görüldüğü üzere *Trichoderma viride* (kontrol grubu) enzimi ile % 62.22, Onozuka enzimi ile % 59.91 ve *Aspergillus niger* enzimi ile % 48.05 bulunmuştur. Elde edilen bu değerler arasında istatistiksel önemli sonucun hangi enzimler arasında olduğunu belirtmek için Duncan testi yapılmış ve sonuçlar Çizelge 4.1.1.2'de bildirilmiştir.

Çizelge 4.1.1.1.2, Yonca kuru otu organik maddesinin 24 saatlik inkübasyon süresine ait Duncan testi

	$P \leq 0.05$	$P \leq 0.01$
	Duncan %5	Duncan %1
Enzimler	59.91	62.22
	xx	xx
48.05	11.86	14.17
59.91	-	2.31
		3.39749
		4.75227
		3.24977
		4.55812

xx  $P \leq 0.01$

Çizelge 4.1.1.1.2'de görüldüğü gibi Trichodema viride (kontrol grubu) enzimi ile elde edilen 24 saatlik inkübasyon süresine ait % 62.22 değeri, aynı inkübasyon süresinde Onozuka enzimi ile elde edilen değerden istatistiksel olarak önemli bulunmamış, bununla beraber yine aynı inkübasyon süresinde Aspergillus niger enzimi ile elde edilen değerden istatistiksel olarak daha yüksek olduğu görülmüştür ( $P \leq 0.01$ ).

48 saatlik inkübasyon süresinde yonca kuru otu organik maddesinin sindirilebilirliği Trichodema viride (kontrol grubu) enzimi ile % 63.33, Onozuka enzimi ile % 61.44 ve Aspergillus niger enzimi ile % 45.87 olarak bulunmaktadır (Çizelge 4.1.1.1). Elde edilen bu değerler arasında istatistiksel önemli sonucun hangi enzimler arasında olduğunu belirtmek için Duncan testi yapılmış ve sonuçlar Çizelge 4.1.1.1.3'de verilmiştir.

Çizelge 4.1.1.1.3, Yonca kuru otu organik maddesinin 48 saatlik inkübasyon süresine ait Duncan testi

$P \leq 0.05$        $P \leq 0.01$   
Duncan %5      Duncan %1

Enzimler	61.44	63.33		
45.87	15.57 <sup>xx</sup>	17.46 <sup>xx</sup>	3.39749	4.75227
61.44	-	1.89	3.24977	4.55812

$xx \ P \leq 0.01$

Çizelge 4.1.1.1.3'de görüldüğü gibi Trichoderma viride (kontrol grubu) enzimi ile elde edilen 48 saatlik inkübasyon süresine ait % 63.33 değeri, aynı inkübasyon süresinde Onozuka enzimi ile elde edilen değerden istatistiksel olarak önemli bulunmamış, bununla beraber yine aynı inkübasyon süresinde Aspergillus niger enzimi ile elde edilen değerden istatistiksel olarak daha yüksek bulunmuştur. Ayrıca, 48 saatlik inkübasyon süresinde, Onozuka ve Aspergillus niger enzimleri ile elde edilen değerler arasındaki farklılığın da istatistiksel olarak önemli olduğu görülmektedir ( $P \leq 0.01$ ).

72 saatlik inkübasyon süresinde yonca kuru otu organik maddesinin sindirilebilirliği Çizelge 4.1.1.1.'de görüldüğü gibi Trichoderma viride (kontrol grubu) enzimi ile % 62.62, Onozuka enzimi ile % 60.69 ve Aspergillus niger enzimi ile % 49.41 olarak bulunmuştur.

Bu değerler arasında bulunan istatistiksel önemli sonucun hangi enzimler arasında olduğunu belirtmek için Duncan testi yapılmış ve sonuçlar Çizelge 4.1.1.1.4'de verilmiştir.

Çizelge 4.1.1.1.4, Yonca kuru otu organik maddesinin 72 saatlik inkübasyon süresine ait Duncan testi

	$P \leq 0.05$	$P \leq 0.01$
	Duncan %5	Duncan %1
Enzimler	60.69	62.62
49.41	11.28 <sup>xx</sup>	13.21 <sup>xx</sup>
60.69	-	1.93
		3.39749      4.75227
		3.24977      4.55812

xx  $P \leq 0.01$

Çizelge 4.1.1.1.4'te görüldüğü gibi *Trichoderma viride* (kontrol grubu) enzimi ile elde edilen 72 saatlik inkübasyon süresine ait % 62.62 değeri, aynı inkübasyon süresinde Onozuka enzimi ile elde edilen değerden istatistiksel olarak önemli bulunmamış, bununla beraber yine aynı inkübasyon süresinde *Aspergillus niger* enzimi ile elde edilen değerden istatistiksel olarak daha yüksek bulunmuştur. Ayrıca, 72 saatlik inkübasyon süresinde, Onozuka ve *Aspergillus niger* enzimleri ile elde edilen değerler arasındaki farklılığın da istatistiksel olarak önemli olduğu görülmektedir ( $P \leq 0.01$ ).

#### 4.1.1.2. Muamele sürelerine ilişkin araştırma sonuçları

*Trichoderma viride* (kontrol grubu) enzimi kullanılarak yonca kuru otu organik maddesinin sindirilebilirliği Çizelge 4.1.1.1.'de görüldüğü gibi 12 saatlik

inkübasyon süresi ile % 56.52, 24 saatlik inkübasyon süresi ile % 62.22, 48 saatlik inkübasyon süresi ile % 63.33 ve 72 saatlik inkübasyon süresi ile % 62.62 bulunmuştur.

Bu değerler arasında bulunan istatistiksel önemli sonucun hangi inkübasyon süreleri arasında olduğunu belirlemek amacıyla Duncan testi yapılmış ve sonuçlar Çizelge 4.1.1.2.1'de verilmiştir.

Çizelge 4.1.1.2.1, Yonca kuru otu organik madde-sinin Trichoderma viride enzimi ile muamelesine ait Duncan testi

$P \leq 0.05$     $P \leq 0.01$   
Duncan %5   Duncan %1

İnkübasyon Süreleri		62.22	62.62	63.33		
56.52	xx	5.70	xx	6.10	xx	6.81
62.22	-	-	0.40	-	1.11	3.49245
62.62	-	-	-	-	0.71	3.39749
						4.87677
						4.75227
						4.55812

xx  $P \leq 0.01$

Çizelge 4.1.1.2.1'de görüldüğü gibi Trichoderma viride (kontrol grubu) enzimi ile elde edilen 12 saatlik inkübasyon süresine ait % 56.52 değeri, yine aynı enzim kullanılarak 24, 48 ve 72 saatlik inkübasyon süreleri ile elde edilen değerlerden istatistiksel olarak daha düşük bulunmuştur. Buna karşılık, Trichoderma viride (kontrol grubu) enzimi kullanılarak 24, 48 ve 72 saatlik inkübasyon süreleri ile elde edilen değerler

arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık olmadığı tespit edilmiştir ( $P > 0.05$ ).

Onozuka enzimi kullanılarak yonca kuru otu organik maddesinin sindirilebilirliği Çizelge 4.1.1.1'de görüldüğü gibi 12 saatlik inkübasyon süresi ile % 50.94, 24 saatlik inkübasyon süresi ile % 59.91, 48 saatlik inkübasyon süresi ile % 61.44 ve 72 saatlik inkübasyon süresi ile % 60.69 bulunmuştur.

Bu değerler arasında bulunan istatistiksel önemli sonucun hangi inkübasyon süreleri arasında olduğunu belirlemek için Duncan testi yapılmış ve sonuçlar Çizelge 4.1.1.2.2'de verilmiştir.

Çizelge 4.1.1.2.2, Yonca kuru otu organik maddesinin Onozuka enzimi ile muamelesine ait Duncan testi

$P \leq 0.05$     $P \leq 0.01$   
Duncan %5   Duncan %1

<u>İnkübasyon Süreleri</u>		59.91	60.69	61.44		
50.94	xx	9.07	xx	9.75	xx	10.50
59.91	-	-	0.78	-	1.53	3.39749
60.69	-	-	-	-	0.75	3.24977
						4.87677
						4.75227
						4.55812

xx  $P \leq 0.01$

Çizelge 4.1.1.2.2'de görüldüğü gibi Onozuka enzimi ile elde edilen 12 saatlik inkübasyon süresine ait % 50.94 değeri, yine aynı enzim kullanılarak 24, 48 ve 72 saatlik inkübasyon süreleri ile elde edilen değerlerden istatistiksel olarak daha düşük bulunmuştur ( $P \leq 0.01$ ).

Bununla beraber Onozuka enzimi kullanılarak 24, 48 ve 72 saatlik inkübasyon süreleri ile elde edilen değerler arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık olmadığı tespit edilmiştir ( $P > 0.05$ ).

*Aspergillus niger* enzimi kullanılarak yonca kuru otu organik maddesinin sindirilebilirliği Çizelge 4.1.1.1'de görüldüğü gibi 12 saatlik inkübasyon süresi ile % 48.16, 24 saatlik inkübasyon süresi ile % 48.05, 48 saatlik inkübasyon süresi ile % 45.87 ve 72 saatlik inkübasyon süresi ile % 49.41 bulunmuştur. Elde edilen bu değerler arasında bulunan istatistiksel önemli sonucun hangi inkübasyon süreleri arasında olduğunu belirlemek için Duncan testi yapılmış ve sonuçlar Çizelge 4.1.1.2.3'de verilmiştir.

Çizelge 4.1.1.2.3, Yonca kuru otu organik maddesinin *Aspergillus niger* enzimi ile muamelesine ait Duncan testi

$P \leq 0.05$        $P \leq 0.01$   
Duncan %5      Duncan %1

İnkübasyon Süreleri	48.05	48.16	49.41			
45.87	2.18	2.29	3.54 <sup>xx</sup>	3.49245	4.87677	
48.05	-	0.11	1.36	3.39749	4.75227	
48.16	-	-	1.25	3.24977	4.55812	

xx  $P \leq 0.01$

Çizelge 4.1.1.2.3'de görüldüğü gibi *Aspergillus niger* enzimi ile elde edilen 48 saatlik inkübasyon süresine ait % 45.87 değeri ile aynı enzim kullanılarak 12 ve 24 saatlik inkübasyon süreleri ile elde edilen değerler arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık olmadığı bulunmuştur ( $P>0.05$ ). Bununla beraber, *Aspergillus niger* enzimi ile elde edilen 48 ve 72 saatlik inkübasyon sürelerine ait % 45.87 ve % 49.41 değerleri arasındaki farklılığın istatistiksel olarak önemli olduğu görülmektedir ( $P\leq0.01$ ).

Ayrıca, yine aynı enzimin kullanıldığı 24 ve 48 ile 24 ve 72 saatlik inkübasyon sürelerine ait değerler arasında istatistiksel olarak herhangi bir farklılık olmadığı görülmektedir ( $P>0.05$ ).

#### 4.1.2. Buğday samanı organik maddesinin sindirilebilirliğine ilişkin araştırma sonuçları

Buğday samanı organik maddesinin sindirilebilirliğine ilişkin araştırma sonuçları Çizelge 4.1.2.1'de verilmiştir.

Çizelge 4.1.2.1'de görüldüğü gibi gerek aynı muamele süresinde enzimler arasında, gerekse aynı enzimin muamele süreleri arasında istatistiksel önemli sonuçlar elde edilmiştir.

Çizelge 4.1.2.1, Buğday samanı organik maddesinin sindirilebilirliğine ilişkin araştırma sonuçları (%)<sup>1)</sup>

Enzimler Süreler	12			24			48			72		
	2)	a	b	2)	a	b	2)	a	b	2)	a	b
Trichoderma viride seman day dey dey	24.92 <sup>±</sup> 0.21		31.42 <sup>±</sup> 0.31		33.21 <sup>±</sup> 0.10		32.61 <sup>±</sup> 0.19					
Onozuka ay	25.32 <sup>±</sup> 0.48		32.78 <sup>±</sup> 0.77		32.48 <sup>±</sup> 0.34		30.79 <sup>±</sup> 0.61					
Aspergillus niger dey dey	27.00 <sup>±</sup> 0.17	y	27.75 <sup>±</sup> 1.42	y	26.95 <sup>±</sup> 0.39	y	26.35 <sup>±</sup> 0.03	y				

- 1)  $P \leq 0.01$
- 2) Aynı satır ve sütunda aynı harfi taşımayan değerler arasındaki farklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur.

Buğday samanı organik maddesinin sindirilebilirliği üzerine enzimler ile muamele (inkübasyon) sürelerinin etkileri arasındaki ilişkiye ait varyans analizi Çizelge 4.1.2.2'de verilmiştir.

Çizelge 4.1.2.2, Bugday samanı organik maddesinin sindirilebilirliği üzerine enzimler ile muamele sürelerinin etkileri arasındaki ilişkiye ait varyans analizi

	Kareler toplamı	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F
Enzimler	62.8047	2	31.4023	51.0143
İnkübasyon sureleri	103.934	3	34.6445	56.2813
Enzim x inkübasyon süresi	57.5098	6	9.58496	xx 15.5711
Hata	7.38672	12	61.556	-

xx  $P \leq 0.01$

Aynı muamele süresinde enzimler arasında ve aynı enzimin muamele süreleri arasında bulunan istatistiksel önemli farklılığın hangi enzimler veya muamele süreleri arasında olduğunu belirtmek için Duncan testi yapılmış ve sonuçlar aşağıda ayrı ayrı verilmiştir.

#### 4.1.2.1. Enzim etkilerine ilişkin araştırma sonuçları

12 saatlik inkübasyon süresinde buğday samanı organik maddesinin sindirilebilirliği Çizelge 4.1.2.1'de de görüldüğü gibi *Trichoderma viride* (kontrol grubu) enzimi ile % 24.92, Onozuka enzimi ile % 25.32 ve *Aspergillus niger* enzimi ile % 27.00 bulunmuştur. Bu değerler arasında bulunan istatistiksel önemli sonucun hangi enzimler arasında olduğunu belirtmek için Duncan testi yapılmış ve sonuçlar Çizelge 4.1.2.1.1'de verilmiştir.

Çizelge 4.1.2.1.1, Buğday samanı organik maddesinin 12 saatlik inkübasyon süresine ait Duncan testi

Enzimler			$P \leq 0.05$	$P \leq 0.01$
	Duncan % 5	Duncan % 1		
Enzimler	25.32	27.00		
24.92	0.4	2.08 <sup>x</sup>	1.78639	2.49873
25.32	-	1.68	1.70872	2.39665

<sup>x</sup>  $P \leq 0.05$

Çizelge 4.1.2.1.1'de görüldüğü gibi *Trichoderma viride* (kontrol grubu) enzimi ile elde edilen 12 saatlik inkübasyon süresine ait % 24.92 değeri, aynı inkübasyon süresinde *Aspergillus niger* enzimi ile elde edilen değerden istatistiksel olarak daha düşük bulun-

mus ( $P \leq 0.01$ ), buna karşılık yine aynı inkübasyon süresinde Onozuka enzimi ile elde edilen değerle karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel önemli bir farklılığın olmadığı bulunmuştur ( $P > 0.05$ ). Ayrıca, aynı inkübasyon süresinde Onozuka ve *Aspergillus niger* enzimleri kullanıldığında elde edilen değerler arasında da istatistiksel önemli bir farklılığın olmadığı görülmektedir ( $P > 0.05$ ).

24 saatlik inkübasyon süresinde buğday samanı organik maddesinin sindirilebilirliği Çizelge 4.1.2.1'de görüldüğü gibi *Trichoderma viride* (kontrol grubu) enzimi ile % 31.42, Onozuka enzimi ile % 32.78 ve *Aspergillus niger* enzimi ile % 27.75 bulunmuştur. Bu değerler arasında istatistiksel önemli sonucun hangi enzimler arasında olduğunu belirtmek için Duncan testi yapılmış ve sonuçlar Çizelge 4.1.2.1.2'de verilmiştir.

Çizelge 4.1.2.1.2, Buğday samanı organik maddesinin 24 saatlik inkübasyon süresine ait Duncan testi

	$P \leq 0.05$ Duncan % 5	$P \leq 0.01$ Duncan % 1
Enzimler	31.42	32.78
27.75	xx	xx
31.42	-	1.70872
		2.39665
	xx $P \leq 0.01$	
		1.78639
		2.49873

Çizelge 4.1.2.1.2'de görüldüğü gibi *Trichoderma viride* (kontrol grubu) enzimi ile elde edilen 24 saatlik inkübasyon süresine ait % 31.42 değeri, *Aspergillus niger* enzimi ile elde edilen değerden istatistiksel olarak daha yüksek bulunmuş ( $P \leq 0.01$ ), buna karşılık yine aynı inkübasyon süresinde Onozuka enzimi ile elde edilen değer arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılığın olmadığı tespit edilmiştir ( $P > 0.05$ ). Ayrıca, 24 saatlik inkübasyon süresinde Onozuka ve *Aspergillus niger* enzimleri kullanıldığında elde edilen değerler arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılığın bulunduğu görülmektedir ( $P \leq 0.01$ ).

48 saatlik inkübasyon süresinde buğday samanı organik maddesinin sindirilebilirliği Çizelge 4.1.2.1'de görüldüğü gibi *Trichoderma viride* (kontrol grubu) enzimi ile % 33.21, Onozuka enzimi ile % 32.48 ve *Aspergillus niger* enzimi ile % 26.95 olarak bulunmuştur. Elde edilen bu değerler arasında istatistiksel önemli sonucun hangi enzimler arasında olduğunu belirtmek için Duncan testi yapılmış ve sonuçlar Çizelge 4.1.2.1.3'de verilmiştir.

Çizelge 4.1.2.1.3'de görüldüğü üzere *Trichoderma viride* (kontrol grubu) enzimi ile elde edilen 48 saatlik inkübasyon süresine ait % 33.21 değeri, aynı inkübasyon süresinde *Aspergillus niger* enzimi ile elde edilen değerden istatistiksel olarak daha yüksek bulunmuş ( $P \leq 0.01$ ), buna karşılık yine aynı inkübasyon süresinde Onozuka enzimi ile elde edilen değerle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak önemli bir farklılığın olmadığı tespit edilmiştir ( $P > 0.05$ ).

Çizelge 4.1.2.1.3, Buğday samanı organik maddesinin 48 saatlik inkübasyon süresine ait Duncan testi

	$P \leq 0.05$	$P \leq 0.01$
	Duncan %5	Duncan %1
Enzimler	32.48	33.21
	xx	xx
26.95	5.53	6.26
32.48	-	0.73
		1.78639
		1.70872
		2.49873
		2.39665

xx  $P \leq 0.01$

Bunun yanında, 48 saatlik inkübasyon süresinde Onozuka enzimi ile elde edilen % 32.48 değeri ve yine aynı inkübasyon süresinde *Aspergillus niger* enzimi ile elde edilen % 26.95 değeri arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık bulunduğu tespit edilmişdir ( $P \leq 0.01$ ).

72 saatlik inkübasyon süresinde buğday samanı organik maddesinin sindirilebilirliği Çizelge 4.1.2.1'de görüldüğü gibi *Trichoderma viride* (kontrol grubu) enzimi ile % 32.61, Onozuka enzimi ile % 30.79 ve *Aspergillus niger* enzimi ile % 26.35 bulunmuştur. Bu değerler arasında istatistiksel önemli sonucun hangi enzimler arasında olduğunu belirtmek için Duncan testi yapılmış ve sonuçlar Çizelge 4.1.2.1.4'de verilmiştir.

Çizelge 4.1.2.1.4'de görüldüğü gibi *Trichoderma viride* (kontrol grubu) enzimi ile elde edilen 72 saatlik inkübasyon süresine ait % 32.61 değeri, aynı

Çizelge 4.1.2.1.4, Buğday samanı organik maddesinin 72 saatlik inkübasyon süresine ait Duncan Testi

	$P \leq 0.05$	$P \leq 0.01$
	Duncan %5	Duncan %1
Enzimler	30.79	32.61
	xx	xx
26.35	3.44	6.26
30.79	-	1.78639      2.49873 1.82 <sup>x</sup> 1.70872      2.39665

x  $P \leq 0.05$  xx  $P \leq 0.01$

inkübasyon süresinde Onozuka enzimi ile elde edilen % 30.79 değeri ile % 5'e ve Aspergillus niger enzimi ile elde edilen % 26.35 değeri ile % 1'e göre istatistiksel önemli olarak bulunmuştur. Ayrıca, yine aynı inkübasyon süresinde Onozuka enzimi ile elde edilen % 30.79 değeri ve Aspergillus niger enzimi ile elde edilen % 26.35 değeri arasındaki farklılığın istatistiksel olarak önemli olduğu tespit edilmiştir ( $P \leq 0.01$ ).

#### 4.1.2.2. Muamele sürelerine ilişkin araştırma sonuçları

Trichoderma viride (kontrol grubu) enzimi kullanılarak buğday samanı organik maddesinin sindirilebilirliği Çizelge 4.1.2.1'de görüldüğü gibi 12 saatlik inkübasyon süresi ile % 24.92, 24 saatlik inkübasyon

süresi ile % 31.42, 48 saatlik inkübasyon süresi ile % 33.21 ve 72 saatlik inkübasyon süresi ile % 32.61 bulunmuştur.

Bu değerler arasında bulunan istatistiksel önemli sonucun hangi inkübasyon süreleri arasında olduğunu belirlemek amacıyla Duncan testi yapılmış ve sonuçlar Çizelge 4.1.2.2.1'de verilmiştir.

Çizelge 4.1.2.2.1, Buğday samanı organik maddesinin *Trichoderma viride* enzimi ile muamelesine ait Duncan testi

	$P \leq 0.05$	$P \leq 0.01$
	Duncan %5	Duncan %1
<u>İnkübasyon Süreleri</u>	31.42	32.61
	xx	xx
24.92	6.50	7.69
31.42	-	1.19
32.61	-	0.60
	1.83632	2.56419
	1.78639	2.49873
	1.70872	2.39665

xx  $P \leq 0.01$

Çizelge 4.1.2.2.1'de görüldüğü gibi *Trichoderma viride* (kontrol grubu) enzimi ile elde edilen 12 saatlik inkübasyon süresine ait % 24.92 değeri, aynı enzim kullanılarak 24,48 ve 72 saatlik inkübasyon süreleri ile elde edilen değerlerden istatistiksel olarak daha düşük bulunmuştur ( $P \leq 0.01$ ). Buna karşılık *Trichoderma viride* (kontrol grubu) enzimi kullanılarak 24,48 ve 72 saatlik inkübasyon süreleri ile elde edilen değer-

ler arasında istatistik olarak önemli bir farklılık olmadığı tespit edilmiştir ( $P > 0.05$ ).

Onozuka enzimi kullanılarak buğday samanı organik maddesinin sindirilebilirliği Çizelge 4.1.2.1'de görüldüğü gibi 12 saatlik inkübasyon süresi ile % 25.32, 24 saatlik inkübasyon süresi ile % 32.78, 48 saatlik inkübasyon süresi ile % 32.48 ve 72 saatlik inkübasyon süresi ile % 30.79 olarak bulunmuştur. Elde edilen bu değerler arasında bulunan istatistiksel önemli sonucun hangi inkübasyon süreleri arasında olduğunu belirlemek için Duncan testi yapılmış ve sonuçlar Çizelge 4.1.2.2.2'de verilmiştir.

Çizelge 4.1.2.2.2, Buğday samanı organik maddesinin Onozuka enzimi ile muamele sine ait Duncan testi

$P \leq 0.05$        $P \leq 0.01$   
Duncan % 5      Duncan % 1

İnkübasyon Süreleri	30.79			32.48			32.78		
	xx	xx	xx	xx	xx	xx	xx	xx	xx
25.32	5.47	-	7.16	-	7.46	-	1.83632	-	2.56419
30.79	-	-	1.69	-	1.99 <sup>x</sup>	-	1.78639	-	2.49873
32.48	-	-	-	-	0.30	-	1.70872	-	2.39665

<sup>x</sup>  $P \leq 0.05$       xx  $P \leq 0.01$

Çizelge 4.1.2.2.2'de görüldüğü gibi Onozuka enzimi ile elde edilen 12 saatlik inkübasyon süresine ait % 25.32 değeri yine aynı enzimin kullanıldığı 24, 48 ve 72 saatlik inkübasyon süreleri ile elde edilen

değerlerden istatistiksel olarak daha düşük bulunmuştur ( $P \leq 0.01$ ). Bununla beraber, Onozuka enzimi kullanılarak 24 ile 48 ve 48 ile 72 saatlik inkübasyon süreleri ile elde edilen değerler arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık olmadığı tespit edilmiştir ( $P > 0.05$ ).

Aynı enzimin 24 ve 72 saatlik inkübasyon süreleri ile elde edilen değerleri arasındaki farklılığın ise istatistiksel olarak önemli olduğu görülmektedir ( $P \leq 0.01$ ).

*Aspergillus niger* enzimi kullanılarak bugday samanı organik maddesinin sindirilebilirliği Çizelge 4.1.1.1'de görüldüğü gibi 12 saatlik inkübasyon süresi ile % 27.00, 24 saatlik inkübasyon süresi ile % 27.75, 48 saatlik inkübasyon süresi ile % 26.95 ve 72 saatlik inkübasyon süresi ile % 26.35 bulunmaktadır. Bu değerler arasında bulunan istatistiksel önemli sonucun hangi inkübasyon süreleri arasında olduğunu belirlemek amacıyla yapılan Duncan testi sonucunda, gruplar arasındaki farklılığın istatistiksel önemli olmadığı tespit edilmiştir ( $P > 0.05$ ).

#### 4.2. Kuru Maddenin Sindirilebilirliğine İlişkin Araştırma Sonuçları

##### 4.2.1. Yonca kuru otu kuru maddesinin sindirilebilirliğine ilişkin araştırma sonuçları

Yonca kuru otu kuru maddesinin sindirilebilirliğine ilişkin araştırma sonuçları Çizelge 4.2.1.1'de verilmiştir.

**ŞİZELE GE 4.2.1.1.** Yonca kuru otu kuru maddesinin sindirilebilirliğine ilişkin araştırma sonuçları (%)<sup>1)</sup>

Enzimler Süreler				
	12	24	48	72
T Trichoderma viride	61.00 <sup>a</sup> <sub>±0.00</sub>	66.12 <sup>b</sup> <sub>±0.09</sub>	67.11 <sup>b</sup> <sub>±1.39</sub>	66.48 <sup>b</sup> <sub>±0.33</sub>
O Onozuka	56.01 <sup>c</sup> <sub>±0.39</sub>	64.04 <sup>y</sup> <sub>±0.74</sub>	65.42 <sup>bn</sup> <sub>±1.06</sub>	64.75 <sup>bn</sup> <sub>±1.00</sub>
A Aspergillus niger	53.51 <sup>d</sup> <sub>±0.25</sub>	53.41 <sup>yz</sup> <sub>±1.39</sub>	51.45 <sup>yz</sup> <sub>±1.69</sub>	54.63 <sup>z</sup> <sub>±1.02</sub>

1)  $P \leq 0.01$

2) Aynı satır ve sütunda aynı harfi taşımayan değerler arasında farklı istatistiksel olarak önemli bulunumuştur.

Çizelge 4.2.1.1'de görüldüğü gibi gerek aynı muamele süresinde enzimler arasında, gerekse aynı enzimin muamele süreleri arasında istatistiksel önemli sonuçlar elde edilmiştir.

Yonca kuru otu kuru maddesinin sindirilebilirliği üzerine enzimler ile muamele (inkübasyon) sürelerinin etkileri arasındaki ilişkiye ait varyans analizi Çizelge 4.2.1.2'de verilmiştir.

Çizelge 4.2.1.2, Yonca kuru otu kuru maddesinin sindirilebilirliği üzerine enzimler ile muamele sürelerinin etkileri arasındaki ilişkiye ait varyans analizi

	Kareler toplamı	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F
Enzimler	628.695	2	314.348	175.641
İnkübasyon sureleri	99.3672	3	33.1224	18.5071
Enzim x inkü- basyon süresi	74.7344	6	12.4557	xx 6.95962
Hata	21.4766	12	1.78971	

xx  $P \leq 0.01$

Aynı muamele süresinde enzimler arasında ve aynı enzimin muamele süreleri arasında bulunan istatistiksel önemli farklılığın hangi enzimler veya muamele süreleri arasında olduğunu belirtmek için Duncan testi yapılmış ve sonuçlar aşağıda ayrı ayrı verilmiştir.

#### 4.2.1.1. Enzim etkilerine ilişkin araştırma sonuçları

12 saatlik inkübasyon süresinde yonca kuru otu kuru maddesinin sindirilebilirliği Çizelge 4.2.1.1'de görüldüğü gibi *Trichoderma viride* (kontrol grubu) enzimi ile % 61.00, Onozuka enzimi ile % 56.01 ve *Aspergillus niger* enzimi ile % 53.51 bulunmuştur.

Elde edilen değerler arasında bulunan istatistiksel önemli sonucun hangi enzimler arasında olduğunu belirlemek amacıyla Duncan testi yapılmış ve sonuçlar Çizelge 4.2.1.1.1'de verilmiştir.

Çizelge 4.2.1.1.1, Yonca kuru otu kuru maddesinin 12 saatlik inkübasyon süresine ait Duncan testi

			$P \leq 0.05$ Duncan % 5	$P \leq 0.01$ Duncan % 1
Enzimler	56.01	61.00		
		xx		
53.51	2.5	7.49 xx	3.04602	4.26064
56.01	-	4.99	2.91358	4.08658

xx  $P \leq 0.01$

Çizelge 4.2.1.1.1'de görüldüğü üzere *Trichoderma viride* (kontrol grubu) enzimi ile elde edilen 12 saatlik inkübasyon süresine ait % 61.00 değeri, aynı inkübasyon süresinde Onozuka ve *Aspergillus niger* enzimleri

ile elde edilen değerlerden istatistiksel olarak daha yüksektir ( $P \leq 0.01$ ). Bununla beraber, 12 saatlik inkübasyon süresinde Onozuka ve Aspergillus niger enzimleri ile elde edilen değerler arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılığın bulunmadığı tespit edilmiştir ( $P > 0.05$ ).

24 saatlik inkübasyon süresinde yonca kuru otu kuru maddesinin sindirilebilirliği Çizelge 4.2.1.1'de görüldüğü gibi Trichoderma viride (kontrol grubu) enzimi ile % 66.12, Onozuka enzimi ile % 64.04 ve Aspergillus niger enzimi ile % 53.41 olarak bulunmuştur. Bu değerler arasında istatistiksel önemli sonucun hangi enzimler arasında olduğunu belirlemek için Duncan testi yapılmış ve sonuçlar Çizelge 4.2.1.1.2'de bildirilmiştir.

Çizelge 4.2.1.1.2, Yonca kuru otu kuru maddesinin 24 saatlik inkübasyon süresine ait Duncan testi

Enzimler	$P \leq 0.05$		$P \leq 0.01$	
	Duncan %5	Duncan %1		
Enzimler	64.04	66.12		
53.41	xx	xx	3.04602	4.26064
64.04	10.63	12.71	2.91358	4.08658
	-	2.08		

xx       $P \leq 0.01$

Çizelge 4.2.1.1.2'de görüldüğü gibi Trichoderma viride (kontrol grubu) enzimi ile elde edilen 24 saatlik inkübasyon süresine ait % 66.12 değeri, aynı

inkübasyon süresinde Onozuka enzimi ile elde edilen % 64.04 değerinden istatistiksel olarak önemli bulunmamış ( $P>0.05$ ), bununla beraber yine aynı inkübasyon süresinde *Aspergillus niger* enzimi ile elde edilen % 53.41 değerinden istatistiksel olarak daha yüksek olduğu tespit edilmiştir ( $P \leq 0.01$ ). Yine aynı şekilde Onozuka enzimi ile elde edilen % 64.04 değerini de *Aspergillus niger* enzimi ile elde edilen % 53.41 değerinden % 1 seviyesinde istatistiksel önemli bulunmuştur.

48 saatlik inkübasyon süresinde yonca kuru otu kuru maddesinin sindirilebilirliği *Trichoderma viride* (kontrol grubu) enzimi ile % 67.11, Onozuka enzimi ile % 65.42 ve *Aspergillus niger* enzimi ile de % 51.45 bulunmaktadır (Çizelge 4.2.1.1). Elde edilen bu değerler arasında istatistiksel önemli sonucun hangi enzimler arasında olduğunu belirlemek için Duncan testi yapılmış ve sonuçlar Çizelge 4.2.1.1.3'de verilmiştir.

Çizelge 4.2.1.1.3, Yonca kuru otu kuru maddesinin 48 saatlik inkübasyon süresine ait Duncan testi

Enzimler			$P \leq 0.05$	$P \leq 0.01$
	Duncan %5	Duncan %1		
65.42	67.11			
51.45	xx	xx	3.04602	4.26064
65.42	-	1.69	2.91358	4.08658

xx  $P \leq 0.01$

Çizelge 4.2.1.3'de görüldüğü gibi *Trichoderma viride* (kontrol grubu) enzimi ile elde edilen 48 saatlik inkübasyon süresine ait % 67.11 değeri, aynı inkübasyon süresinde Onozuka enzimi ile elde edilen değerden istatistiksel olarak önemli bulunmamış ( $P > 0.05$ ), bununla beraber yine aynı inkübasyon süresinde *Aspergillus niger* enzimi ile elde edilen değerden istatistiksel olarak daha yüksek bulunmuştur. Ayrıca, 48 saatlik inkübasyon süresinde Onozuka ve *Aspergillus niger* enzimleri ile elde edilen değerler arasındaki farklılığın da istatistiksel olarak önemli olduğu görülmektedir ( $P \leq 0.01$ ).

72 saatlik inkübasyon süresinde yonca kuru otu kuru maddesinin sindirilebilirliği Çizelge 4.2.1.1'de görüldüğü gibi *Trichoderma viride* (kontrol grubu) enzimi ile % 66.48, Onozuka enzimi ile % 64.75 ve *Aspergillus niger* enzimi ile % 54.63 bulunmuştur. Elde edilen bu değerler arasında bulunan istatistiksel önemli sonucun hangi enzimler arasında olduğunu belirtmek amacıyla Duncan testi yapılmış ve sonuçlar Çizelge 4.2.1.4'de verilmiştir.

Çizelge 4.2.1.4, Yonca kuru otu kuru maddesinin 72 saatlik inkübasyon süresine ait Duncan testi

Enzimler	$P \leq 0.05$		$P \leq 0.01$	
	Duncan %5	Duncan %1		
64.75	66.48			
54.63	xx 10.12	xx 11.85	3.04602	4.26064
64.75	-	1.73	2.91358	4.08658

xx  $P \leq 0.01$

Çizelge 4.2.1.1.4'de görüldüğü gibi *Trichoderma viride* (kontrol grubu) enzimi ile elde edilen 72 saatlik inkübasyon süresine ait % 66.48 değeri, aynı inkübasyon süresinde Onozuka enzimi ile elde edilen değerden istatistiksel olarak önemli bulunmamış ( $P > 0.05$ ), bununla beraber yine aynı inkübasyon süresinde *Aspergillus niger* enzimi ile elde edilen değerden istatistiksel olarak daha yüksek bulunmuştur ( $P \leq 0.01$ ). Ayrıca, 72 saatlik inkübasyon süresinde, Onozuka ve *Aspergillus niger* enzimleri ile elde edilen değerler arasındaki farklılığın da istatistiksel olarak önemli olduğu görülmektedir ( $P \leq 0.01$ ).

#### 4.2.1.2. Muamele sürelerine ilişkin araştırma sonuçları

*Trichoderma viride* (kontrol grubu) enzimi kullanılarak yonca kuru otu kuru maddesinin sindirilebilirliği Çizelge 4.2.1.1'de görüldüğü gibi 12 saatlik inkübasyon süresi ile % 61.00, 24 saatlik inkübasyon süresi ile % 66.12, 48 saatlik inkübasyon süresi ile % 67.11 ve 72 saatlik inkübasyon süresi ile % 66.48 olarak bulunmuştur.

Elde edilen değerler arasında bulunan istatistiksel önemli sonucun hangi inkübasyon süreleri arasında olduğunu belirlemek amacıyla Duncan testi yapılmış ve sonuçlar Çizelge 4.2.1.2.1'de verilmiştir.

Çizelge 4.2.1.2.1, Yonca kuru otu kuru maddesinin Trichoderma viride enzimi ile muamelesine ait Duncan testi

$P \leq 0.05$     $P \leq 0.01$   
Duncan %5   Duncan %1

İnkübasyon Süreleri		66.12	66.48	67.11		
61.00	xx	5.12	5.48	xx 6.11	3.13115	4.37226
66.12	-		0.36	0.99	3.04602	4.26064
66.48	-		-	0.63	2.91358	4.08658

xx  $P \leq 0.01$

Çizelge 4.2.1.2.1'de görüldüğü gibi Trichoderma viride (kontrol grubu) enzimi ile elde edilen 12 saatlik inkübasyon süresine ait % 61.00 değeri, yine aynı enzim kullanılarak 24, 48 ve 72 saatlik inkübasyon süreleri ile elde edilen değerlerden istatistiksel olarak daha düşük bulunmuştur ( $P \leq 0.01$ ). Buna karşılık, Trichoderma viride (kontrol grubu) enzimi kullanılarak 24, 48 ve 72 saatlik inkübasyon süreleri ile elde edilen değerler arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık olmadığı tespit edilmiştir ( $P > 0.05$ ).

Onozuka enzimi kullanılarak yonca kuru otu kuru maddesinin sindirilebilirliği Çizelge 4.2.1.1'de görüldüğü gibi 12 saatlik inkübasyon süresi ile % 56.01, 24 saatlik inkübasyon süresi ile % 64.04, 48 saatlik inkübasyon süresi ile % 65.42 ve 72 saatlik inkübasyon süresi ile % 64.75 bulunmaktadır.

Bu değerler arasında bulunan istatistiksel önemli sonucun hangi inkübasyon süreleri arasında oldu-

günü belirlemek için Duncan testi yapılmış ve sonuçlar Çizelge 4.2.1.2.2'de verilmiştir.

Çizelge 4.2.1.2.2, Yonca kuru otu kuru maddesinin Onozuka enzimi ile muamelesine ait Duncan testi

	$P \leq 0.05$	$P \leq 0.01$
	Duncan %5	Duncan %1
İnkübasyon Süreleri	64.04	64.75
56.01	xx	xx
64.04	8.03	8.74
64.75	-	9.41
		3.13115
		4.37226
		0.38
		3.04602
		4.26064
		0.67
		2.91358
		4.08658

xx  $P \leq 0.01$

Çizelge 4.2.1.2.2'de görüldüğü gibi Onozuka enzimi ile elde edilen 12 saatlik inkübasyon süresine ait % 56.01 değeri, yine aynı enzim kullanılarak 24, 48 ve 72 saatlik inkübasyon süreleri ile elde edilen değerlerden istatistiksel olarak daha düşük bulunmuştur ( $P \leq 0.01$ ). Bununla beraber, Onozuka enzimi kullanılarak 24, 48 ve 72 saatlik inkübasyon süreleri ile elde edilen değerler arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık olmadığı tespit edilmiştir ( $P > 0.05$ ).

Aspergillus niger enzimi kullanılarak yonca kuru otu kuru maddesinin sindirilebilirliği Çizelge 4.2.1.1.'de görüldüğü gibi 12 saatlik inkübasyon süresi

ile % 53.51, 24 saatlik inkübasyon süresi ile % 53.41, 48 saatlik inkübasyon süresi ile % 51.45 ve 72 saatlik inkübasyon süresi ile % 54.63 bulunmaktadır. Elde edilen bu değerler arasında bulunan istatistiksel önemli sonucun hangi inkübasyon süreleri arasında olduğunu belirlemek amacıyla Duncan testi yapılmış ve sonuçlar Çizelge 4.2.1.2.3'de verilmiştir.

Çizelge 4.2.1.2.3, Yonca kuru otu kuru maddesinin Aspergillus niger enzimi ile muamelesine ait Duncan testi

	$P \leq 0.05$	$P \leq 0.01$
	Duncan%5	Duncan%1
<u>İnkübasyon Süreleri</u>	53.41	53.51
51.45	1.96	2.06
53.41	-	0.10
53.51	-	-
	x	3.18
		3.13115
		4.37226
		3.04602
		4.26064
		2.91358
		4.08658

x  $P \leq 0.05$

Çizelge 4.2.1.2.3'de görüldüğü gibi Aspergillus niger enzimi ile elde edilen 48 saatlik inkübasyon süresine ait % 51.45 değeri ile aynı enzim kullanılarak 12 ve 24 saatlik inkübasyon süreleri ile elde edilen değerler arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık olmadığı bulunmaktadır ( $P > 0.05$ ). Bununla beraber, Aspergillus niger enzimi ile elde edilen 48 ve 72 saatlik inkübasyon sürelerine ait % 51.45 ve % 54.63

değerleri arasındaki farklılığın istatistiksel olarak önemli olduğu görülmektedir ( $P \leq 0.01$ ).

Ayrıca, yine aynı enzimin kullanıldığı 24 ve 48 ile 24 ve 72 saatlik inkübasyon sürelerine ait değerler arasında istatistiksel olarak herhangi bir farklılık tespit edilmemiştir ( $P > 0.05$ )

#### 4.2.2. Buğday samanı kuru maddesinin sindirilebilirliğine ilişkin araştırma sonuçları

Buğday samanı kuru maddesinin sindirilebilirliğine ilişkin araştırma sonuçları Çizelge 4.2.2.1'de verilmiştir.

Çizelge 4.2.2.1'de görüldüğü gibi gerek aynı muamele süresinde enzimler arasında, gerekse aynı enzimin muamele süreleri arasında istatistiksel önemli sonuçlar elde edilmiştir.

Buğday samanı kuru maddesinin sindirilebilirliği üzerine enzimler ile muamele (inkübasyon) sürelerinin etkileri arasındaki ilişkiye ait varyans analizi Çizelge 4.2.2.2'de verilmiştir.

Çizelge 4.2.2.1, Buğday samanı kuru maddenisin sindirilebilirliğine ilişkisin araştırma sonuçları (%)<sup>1)</sup>

Enzimler	Süreler			
	12	24	48	72
Trichoderma viride 2) a)	31.82 <sup>±</sup> 0.18	37.73 <sup>±</sup> 0.29 <sup>b</sup>	39.35 <sup>±</sup> 0.08 <sup>b</sup>	38.80 <sup>±</sup> 0.17 <sup>b</sup>
Onozuka ay	32.18 <sup>±</sup> 0.43	38.96 <sup>±</sup> 0.70 <sup>bn</sup>	38.69 <sup>±</sup> 0.32 <sup>bn</sup>	37.15 <sup>±</sup> 0.55 <sup>m</sup>
Aspergillus niger ay	33.72 <sup>±</sup> 0.15 <sup>y</sup>	34.39 <sup>±</sup> 1.30 <sup>y</sup>	33.66 <sup>±</sup> 0.35 <sup>y</sup>	33.12 <sup>±</sup> 0.00 <sup>y</sup>

1)  $P \leq 0.01$

2) Aynı satır ve sütundaki aynı harfi taşımayan değerler arası istatistiksel farklılık bulunmaktadır.

Çizelge 4.2.2.2, Buğday samanı kuru maddesinin sindirilebilirliği üzerine enzimler ile muamele sürelerinin etkileri arasındaki ilişkiye ait varyans analizi

	Kareler toplamı	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F
Enzimler	51.8086	2	25.9043	50.9136
İnkübasyon sureleri	85.7051	3	28.5684	56.1497
Enzim x inkübasyon süresi	47.4844	6	7.91406	xx 15.5547
Hata	6.10547	12	0.508789	

xx  $P \leq 0.01$

Aynı muamele süresinde enzimler arasında ve aynı enzimin muamele süreleri arasında bulunan istatistiksel önemli farklılığın hangi enzimler veya muamele süreleri arasında olduğunu belirtmek için Duncan testi yapılmış ve elde edilen sonuçlar aşağıda ayrı ayrı verilmiştir.

#### 4.2.2.1. Enzim etkilerine ilişkin araştırma sonuçları

12 saatlik inkübasyon süresinde buğday samanı kuru maddesinin sindirilebilirliği Çizelge 4.2.2.1'de görüldüğü gibi Trichoderma viride (kontrol grubu)

enzimi ile % 31.82, Onozuka enzimi ile % 32.18 ve Aspergillus niger enzimi ile % 33.72 bulunmuştur.

Bu değerler arasında bulunan istatistiksel önemli sonucun hangi enzimler arasında olduğunu belirtmek amacıyla Duncan testi yapılmış ve sonuçlar Çizelge 4.2.2.1.1'de verilmiştir.

Çizelge 4.2.2.1.1, Buğday samanı kuru maddesinin 12 saatlik inkübasyon süresine ait Duncan testi

Enzimler			$P \leq 0.05$	$P \leq 0.01$
	Duncan % 5	Duncan % 1		
Enzimler	32.18	33.72		
31.82	0.36	1.9 <sup>x</sup>	1.62409	2.27171
32.18	-	1.54	1.55348	2.1789

x  $P \leq 0.05$

Çizelge 4.2.2.1.1'de görüldüğü gibi Trichodema viride (kontrol grubu) enzimi ile elde edilen 12 saatlik inkübasyon süresine ait % 31.82 değeri, aynı inkübasyon süresinde Aspergillus niger enzimi ile elde edilen değerden istatistiksel olarak daha düşük bulunmuş ( $P \leq 0.05$ ), buna karşılık yine aynı inkübasyon süresinde Onozuka enzimi ile elde edilen değerle karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel önemli bir farklılığın olmadığı bulunmuştur ( $P > 0.05$ ). Ayrıca, aynı inkübasyon süresinde Onozuka ve Aspergillus niger enzimleri kullanıldığında elde edilen değerler arasında da

istatistiksel önemli bir farklılığın olmadığı görülmektedir ( $P > 0.05$ ).

24 saatlik inkübasyon süresinde buğday samanı kuru maddesinin sindirilebilirliği Çizelge 4.2.2.1'de görüldüğü gibi *Trichoderma viride* (kontrol grubu) enzimi ile % 37.73, Onozuka enzimi ile % 38.96 ve *Aspergillus niger* enzimi ile % 34.39 bulunmuştur.

Elde edilen bu değerler arasında istatistiksel önemli sonucun hangi enzimler arasında olduğunu belirlemek için, Duncan testi yapılmış ve sonuçlar Çizelge 4.2.2.1.2'de verilmiştir.

Çizelge 4.2.2.1.2, Buğday samanı kuru maddesinin 24 saatlik inkübasyon süresine ait Duncan testi

Enzimler	$P \leq 0.05$		$P \leq 0.01$	
	Duncan %5	Duncan %1		
37.73	38.96			
34.39	xx	xx	1.62409	2.27171
37.73	-	1.23	1.55348	2.1789

xx  $P \leq 0.01$

Çizelge 4.2.2.1.2'de görüldüğü gibi *Trichoderma viride* (kontrol grubu) enzimi ile elde edilen 24 saatlik inkübasyon süresine ait % 37.73 değeri, aynı inkübasyon süresinde *Aspergillus niger* enzimi ile elde edilen değerden istatistiksel olarak daha yüksek bulunmuş ( $P \leq 0.01$ ), buna karşılık yine aynı inkübasyon süre-

sinde Onozuka enzimi ile elde edilen değer arasında istatistiksel önemli bir farklılığın bulunmadığı saptanmıştır ( $P > 0.05$ ). Ayrıca, 24 saatlik inkübasyon süresinde Onozuka ve *Aspergillus niger* enzimleri kullanıldığında elde edilen değerler arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılığın bulunduğu görülmektedir ( $P \leq 0.01$ ).

48 saatlik inkübasyon süresinde buğday samanı kuru maddesinin sindirilebilirliği, *Trichoderma viride* (kontrol grubu) enzimi ile % 39.35, Onozuka enzimi ile % 38.69 ve *Aspergillus niger* enzimi ile % 33.66 olarak bulunmaktadır (Çizelge 4.2.2.1).

Bu değerler arasında istatistiksel önemli sonucun hangi enzimler arasında olduğunu belirlemek için Duncan testi yapılmış ve sonuçlar ayrı ayrı verilmiştir.

Çizelge 4.2.2.1.3, Buğday samanı kuru maddesinin 48 saatlik inkübasyon süresine ait Duncan testi

Enzimler			$P \leq 0.05$	$P \leq 0.01$
	Duncan % 5	Duncan % 1		
38.69	39.35			
33.66	xx 5.03	xx 5.69	1.62409	2.27171
38.69	-	0.66	1.55348	2.1789

xx  $P \leq 0.01$

Çizelge 4.2.2.1.3'de görüldüğü gibi *Trichoderma viride* (kontrol grubu) enzimi ile elde edilen 48 saatlik inkübasyon süresine ait % 39.35 değeri, aynı inkü-

basyon süresinde *Aspergillus niger* enzimi ile elde edilen değerden istatistiksel olarak daha yüksek bulunmuş ( $P \leq 0.01$ ), buna karşılık yine aynı inkübasyon süresinde Onozuka enzimi ile elde edilen değerle karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak önemli bir farklılığın olmadığı tespit edilmiştir ( $P > 0.05$ ).

Bunun yanında, 48 saatlik inkübasyon süresinde Onozuka enzimi ile elde edilen % 38.69 değeri ve yine aynı inkübasyon süresinde *Aspergillus niger* enzimi ile elde edilen % 33.66 değeri arasında istatistiksel olarak farklılığın önemli olduğu görülmektedir ( $P \leq 0.01$ ).

72 saatlik inkübasyon süresinde buğday samanı kuru maddesinin sindirilebilirliği Çizelge 4.2.2.1'de görüldüğü üzere *Trichoderma viride* (kontrol grubu) enzimi ile % 38.80, Onozuka enzimi ile % 37.15 ve *Aspergillus niger* enzimi ile % 33.12 bulunmuştur. Elde edilen bu değerler arasında istatistiksel önemli sonucun hangi enzimler arasında olduğunu belirlemek amacıyla Duncan testi yapılmış ve sonuçlar Çizelge 4.2.2.1.4'de verilmiştir.

Çizelge 4.2.2.1.4, Buğday samanı kuru maddesinin 72 saatlik inkübasyon süresine ait Duncan testi

Enzimler	$P \leq 0.05$		$P \leq 0.01$	
	Duncan %5	Duncan %1		
37.15	37.15	38.80		
33.12	4.03 <sup>xx</sup>	5.68 <sup>xx</sup>	1.62409	2.27171
37.15	-	1.65 <sup>x</sup>	1.55348	2.1789

x  $P \leq 0.05$

xx  $P \leq 0.01$

Çizelge 4.2.2.1.4'de görüldüğü gibi *Trichoderma viride* (kontrol grubu) enzimi ile elde edilen 72 saatlik inkübasyon süresine ait % 38.80 değeri, aynı inkübasyon süresinde, Onozuka enzimi ile elde edilen % 37.15 değeri ile % 5'e ve *Aspergillus niger* enzimi ile elde edilen % 33.12 değeri ile % 1'e göre istatistiksel önemli olarak bulunmuştur. Ayrıca, yine aynı inkübasyon süresinde Onozuka enzimi ile elde edilen % 37.15 değeri ve *Aspergillus niger* enzimi ile elde edilen % 33.12 değeri arasındaki farklılığın istatistiksel olarak önemli olduğu tespit edilmiştir ( $P \leq 0.01$ ).

#### 4.2.2.2. Muamele sürelerine ilişkin araştırma sonuçları

*Trichoderma viride* (kontrol grubu) enzimi kullanılarak buğday samanı kuru maddesinin sindiribebilirliği Çizelge 4.2.2.1'de görüldüğü gibi 12 saatlik inkübasyon süresi ile % 31.82, 24 saatlik inkübasyon süresi ile % 37.73, 48 saatlik inkübasyon süresi ile % 39.35 ve 72 saatlik inkübasyon süresi ile % 38.80 olarak bulunmuştur.

Bu değerler arasında bulunan istatistiksel önemli soncun hangi inkübasyon süreleri arasında olduğunu belirlemek için Duncan testi yapılmış ve sonuçlar Çizelge 4.2.2.1.1'de verilmiştir.

Çizelge 4.2.2.1.1, Buğday samanı kuru maddesinin Trichoderma viride enzimi ile muamelesine ait Duncan testi

$P \leq 0.05$     $P \leq 0.01$   
Duncan %5   Duncan %1

İnkübasyon Süreleri	37.73	38.80	39.35			
	xx	xx	xx			
31.82	5.91	6.98	7.53	1.66948	2.33122	
37.73	-	1.07	1.62	1.62409	2.27171	
38.80	-	-	0.55	1.55348	2.1789	

xx    $P \leq 0.01$

Çizelge 4.2.2.1.1'de görülgüğü gibi Trichoderma viride (kontrol grubu) enzimi ile elde edilen 12 saatlik inkübasyon süresine ait 31.82 değeri, aynı enzim kullanılarak 24, 48 ve 72 saatlik inkübasyon süreleri ile elde edilen değerlerden istatistiksel olarak daha düşük bulunmuştur ( $P < 0.01$ ). Buna karşılık Trichoderma viride (kontrol grubu) enzimi kullanılarak 24, 48 ve 72 saatlik inkübasyon süreleri ile elde edilen değerler arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık olmadığı görülmektedir ( $P > 0.05$ ).

Onozuka enzimi kullanılarak buğday samanı kuru maddesinin sindirilebilirliği Çizelge 4.2.2.1'de görüldüğü gibi 12 saatlik inkübasyon süresi ile % 32.18, 24 saatlik inkübasyon süresi ile % 38.96, 48 saatlik inkübasyon süresi ile % 38.69 ve 72 saatlik inkübasyon süresi ile % 37.15 bulunmuştur.

Elde edilen bu değerler arasında bulunan istatistiksel önemli sonucun hangi inkübasyon süreleri

arasında olduğunu belirlemek amacıyla Duncan testi yapılmış ve sonuçlar Çizelge 4.2.2.1.2'de verilmiştir.

Çizelge 4.2.2.1.2, Buğday samanı kuru maddesinin Onozuka enzimi ile muamelesine ait Duncan testi

$P \leq 0.05$        $P \leq 0.01$   
Duncan %5    Duncan %1

İnkübasyon Süreleri	37.15	38.69	38.96		
	xx	xx	xx		
32.18	4.97	6.51	6.78	1.66948	2.33122
37.15	-	1.54	1.81 <sup>x</sup>	1.62409	2.27171
38.69	-	-	0.27	1.55348	2.1789

x     $P \leq 0.05$       xx     $P \leq 0.01$

Çizelge 4.2.2.1.2'de görüldüğü gibi Onozuka enzimi ile elde edilen 12 saatlik inkübasyon süresine ait % 32.18 değeri, yine aynı enzimin kullanıldığı 24, 48 ve 72 saatlik inkübasyon süreleri ile elde edilen değerlerden istatistiksel olarak daha düşük bulunmuştur ( $P \leq 0.01$ ). Bunayla beraber, Onozuka enzimi kullanılarak 24 ve 48 ile 48 ve 72 saatlik inkübasyon süreleri ile elde edilen değerler arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık olmadığı tespit edilmişdir ( $P > 0.05$ ).

Aynı enzimin 24 ve 72 saatlik inkübasyon süreleri ile elde edilen değerleri arasındaki farklılığın ise istatistiksel olarak önemli olduğu olduğu görülmektedir ( $P \leq 0.05$ ).

*Aspergillus niger* enzimi kullanılarak buğday samanı kuru maddesinin sindirilebilirliği Çizelge 4.2.2.1.'de görüldüğü gibi 12 saatlik inkübasyon süresi ile % 33.72, 24 saatlik inkübasyon süresi ile % 34.39, 48 saatlik inkübasyon süresi ile % 33.66 ve 72 saatlik inkübasyon süresi ile % 33.12 bulunmuştur. Bu değerlere uygulanan Duncan testi sonucunda, gruplar arasındaki farklılığın istatistiksel önemli olmadığı tespit edilmiştir ( $P > 0.05$ ).

## 5. TARTIŞMA

Araştırma sonuçlarına enzimler açısından bakıldığında, *Trichoderma viride* (kontrol grubu) enzimi ile Onozuka enzimi birbirine benzer sonuçlar verirken, *Aspergillus niger* enziminin daha düşük sonuçlar verdiği görülmektedir ( $P \leq 0.01$ ). Bunda ilk iki enzimin her ne kadar farklı ülkelerde üretilmiş olsalar bile aynı mikroorganizmadan (*Trichoderma viride*'den) elde edilmiş olmalarının rolü büyütür. Bu sonuçlar literatürle de uyum halindedir (Guggolz vd 1963, Klett 1967; Jones ve Hayward 1973, Pulli 1976, Goto ve Minson 1977).

Enzimlerin muamele süreleri incelendiğinde ise, *Aspergillus niger* enzimi daha çabuk etki eden ancak etkisi daha sınırlı kalan bir enzim olarak görülmektedir (12, 24 ve 48 saatlik inkübasyon süreleri ile elde edilen sonuçlar arasındaki farklar önemsiz bulunmuştur).

Buna karşılık *Trichoderma viride* ve Onozuka enzimleri 12 saatlik muamele süresinde daha düşük sonuçlar verirken, gerçek performanslarını ancak 24 saatten itibaren gösterebilmekte ve bundan sonra muamele süresinin uzatılması performanslarını pek etkilememektedir. Bu sonuçlar da literatür ile uyum halindedir (Jarrige 1970, Singh vd 1970, Jones ve Hayward 1973, Adegbola ve Paladines 1977, Goto ve Minson 1977, Pezo ve Vohnout 1977, Kirchgessner ve Kellner 1978, Mc Leod ve Minson 1978-1980, Aufrére 1980, Yazıcıoğlu 1987).

Ancak, bu araştırmadan elde edilen sonuçlar *Aspergillus niger* enzimi ile *Trichoderma viride*'den türetilen enzimlerle elde edilen sonuçlarla benzer sonuçlar alındığını bildiren araştırmaların bir kısmıyla uyum içinde olmamakla birlikte (Mc Queen ve Van Soest 1975, Bartiaux-Thill vd 1980) diğer bir kısmıyla uyum içindedir (Clark ve Beard 1977).

Gerek enzimler, gerekse muamele süreleri dikkate alındığında kaba yemek kalitesinin önemli olmadığı görülmektedir. Aynı enzim kaba yemek kalitesine bağlı kalmadan etkisini aynı muamele süresinde gösterebilmektedir. En uygun muamele süreleri *Trichoderma viride* ve Onozuka enzimleri için 24 ve 48 saat, *Aspergillus niger* enzimi için 12, 24, 48 ve 72 saatlerdir.

Bu araştırma sonuçlarına göre "in vitro" sindirilebilirlik çalışmaları için en uygun mikroorganizma türü *Trichoderma viride* olup bunun iki ticari formu arasındaki etki farkı öhemsizdir. Bu mikroorganizmdan saflaştırılan enzimin kaba yeme kalite farkı gözetmeden 24 veya 48 saatlik bir süreyle (zaman tasarrufu yönünden 24 saat yeterlidir) yemle muamele edilmesi uygun sonuçlar elde edilebilmesi için yeterlidir.

## KAYNAKLAR

- ADAMSON, A.H. ve TERRY.G.R., 1980. The relationship between the *in vivo* digestibility of hay and its solubility in pepsin-hydrochloric acid and fungal cellulase solutions. *J.Sci.Food Agric.* 31, 854-856. Alınmıştır: AUFRERE,J., 1982. Etude de la prévision de la digestibilité des fourrages par une méthode enzymatique. *Ann.Zootech.* 31(2), 111-130.
- ADEGBOLA,A.A. ve PALADINES,O., 1977. Prediction of the digestibility of the dry matter of tropical forages from their solubility in fungal cellulase solutions. *J.Sci.Food Agric.* 28, 775-785. Alınmıştır: AUFRERE,J., 1982. Etude de la prévision de la digestibilité des fourrages par une méthode enzymatique. *Ann. Zootech.* 31(2), 111-130.
- ADLER, J.H., DYE, J.A., BOGGS, D.E. ve WILLIAMS, H.H., 1958. Growth of rumen microorganisms in an *in vitro* continuou-flow system on a protein free diet. *Cornel Vt.* 48:53. Alınmıştır: STREETER, C.L., 1969. A review of techniques used to *in vivo* digestibility of grazed forage. *Journal of Animal Sci.* 29, 759-761.
- AKYILDIZ, A.R., 1984. Yemler Bilgisi Laboratuvar Kılavuzu. A.Ü.Ziraat Fakültesi Yayınları: 895.
- ANDERSON, R., CHENG, F. ve BURROUGHS, W., 1956. A laboratory technique for measuring phosphorus availability of feed supplements feed to ruminants. *J.Anim.Sci.* 15: 489.
- AUFRERE, J., 1982. Etude de la prévision de la digestibilité des fourrages par une méthode enzymatique. *Ann. Zootech.* 31(2), 111-130.
- BARTIAUX-THILL, N., BISTON, R. ve FABBRY, J., 1980. Estimation *in vitro* of digestibility of permanent grass pasture by cellulase. 1. Study of factors affecting digestion by cellulase. *Bulletin des Recherches Agronomiques de Gembloux.* 15(4), 277-295.

- BENTLEY, O.G., JOHNSON, R.R., VANECKO, S. ve HUNT, C.H., 1954. Studies on factors needed by rumen microorganisms for cellulose digestion in vitro. J.Anim.Sci. 13: 581.
- BENTLEY, O.G., JOHNSON, R.R., HERSHBERGER, T.V., CHINE, J.H. ve MOXON, A.I., 1955. Cellulolytic factor activity of certain short-chain fatty acids for rumen microorganisms in vitro. J.Nutr. 57: 389.
- BERGEIM, O., 1926. Intestinal hemistry. IV. A method for the study of food utilization or digestibility. J.Biol.Chem. 70:29. Alınmıştır:
- STREETER, C.L., 1969. A review of techniques used to in vivo digestibility of grazed forage. Journal of Animal Sci. 29, 759-761.
- BOWIE, W.C., 1962. In vitro studies of rumen microorganism using a continuous flow system. Ann.J. Vet.Res. 23: 858. Alınmıştır: STREETER, C.L., 1969. A review of techniques used to in vivo digestibility of grazed forage. Journal of Animal Sci. 29, 759-761.
- BRYANT, M.P. ve DOETSCH, R.N., 1955. Factors necessary for the growth of bacteroides succinogenes in the volatile acid praction of rumen fluid J. Dairy Sci. 38: 340.
- BURROUGHS, W., HEADLEY, U.G., BETHKE, R.M. ve GELAUGH, P., 1950 a. Cellulose digestion in good poor quality roughages using an artifical rumen J. Anim.Sci. 9: 513.
- BURROUGHS, W., FRANKS, N.A., GERLAUGH, P. ve BETHKE, R.M., 1950 b. Preliminary observation upon factors influencing cellulose digestion by rumen microorganisms. J.Nutr. 40:9.
- CARLIER, L.A., VAN HEE, L.P. ve ANDRIES, A.P., 1979. Estimation de la digestibilité des fourrages grossiers par le traitement à la pepsine-cellulase ou au jus de rumen-pepsine. Rev.Agric. 1, 32, 147-157. Alınmıştır: AUFRERE, J., 1982. Etude de la prévision de la digestibilité des fourrages par une méthode enzymatique. Ann. Zootech. 31(2), 111-130.

- CHRISTIENSEN, F.W. ve HOPPER, T.H., 1932. Effect of weatherring and stage of maturity on the palatability and nutritive value of prairie hay. N. Dak. Agr. Exp. Sta. Bul. 260. Alınmıştır:
- STREETER, C.L., 1969. A review of techniques used to in vivo digestibility of grazed forage. Journal of Anim. Sci. 29, 759-761.
- CLARK, J. ve BEARD, J., 1977 a. Prediction of the digestibility of ruminant feeds from their solubility in enzyme solutions. Anim. Feed. Sci. Technol. 2, 153-159. Alınmıştır: AUFRERE, J., 1982. Etude de la prévision de la digestibilité des fourrages par une méthode enzymatique. Ann. Zootech. 31(2), 111-130.
- CLARK, J. ve BEARD, J., 1977 b. Prediction of the digestibility of ruminant feeds from their solubility in enzyme solutions. Animal Feed Science and Technology. 2(2), 153-159.
- COMAR, C.L. 1955. Radioisotopes in Biology and Agriculture McGraw Hill Book Comp. Inc. New York.
- ÇALIŞKANER, Ş., FLİÇİN, A. ve DÖNMEZ, S. 1987. A study on effect of sulfur levels on microbial protein synthesis in the rumen using  $^{35}\text{S}$  in vitro. Turkish Journal of Nuclear Sci. 14(1987). 75-87.
- DAVEY, L.A., CHEESEMAN, G.C., ve BRIGGS, C.A.E., 1960. Evaluation of an improved artificial rumen designed for continuous control during prolonged operation. J. Agr. Sci. 55: 155.
- DEMARQUILLY, C., CHENOST, M., 1969. Stades de la digestion des fourrages dans le rumen par la méthode des sachets de nylon. Liaisons avec valueus alimentaire. Annale de Zootechnie, 18, 419-436.
- DONEFER, E., NIEMANN, P.J., CRAMPTON, E.W. ve LLYOD, L.E., 1963. Dry matter disappearance by enzyme and aqueous solutions to predict the nutritive value of forages. J. Dairy Sci. 46, 965-970.
- DOWMAN, M.G. ve COLLINS, F.C., 1977. The prediction of the digestibility of silage using cellulase. Journal of the Science of Food and Agriculture. 28(12), 1071-1074.
- DUNCAN, O.B., 1955. Multiple F. Tests. Biometrics, 11: 1-42.

- DÜZGÜNÇ, O., 1983. İstatistik Metodları. I. A.Ü.Ziraat Fak.Yayınları: 861, Ders Kitabı: 229, 3-218.
- EL-SHAZLY, K. ve ABOU AKKADA, A.R., 1972. Techniques for studying protein synthesis by rumen micro-organisms. Tracer studies on non-protein nitrogen for ruminants. IAEA. Vienna. 1972. 47-56.
- GOTO, I. ve MINSON, D.J., 1977. Prediction of the dry matter digestibility of tropical grasses using a pepsin-cellulase assay. Animal Feed Science and Technology. 2(3), 247-253.
- GRAY, F.V., WELLER, R.A., PILGRIM, A.F. ve JONES, G.B., 1962. A stringent test for the artificial rumen. Australian J.Agr.Res. 13:343. Alınmıştır: STREETER, C.L., 1969. A review of techniques used to in vivo digestibility of grazed forage. Journal of Animal Sci. 29, 759-761.
- GUGGOLZ, J., SAUNDERS, R.M., KOHLER, G.O. ve KLOPFENSTEIN, T.J., 1963. Enzymatic evaluation of processes for improving agricultural wastes for ruminant feeds. J.Anim.Sci. 33, 167-170. Alınmıştır: AUFRERE, J., 1982. Etude de la prévision de la digestibilité des fourrages par une méthode enzymatique. Ann.Zootech. 31(2), 111-130.
- HALL, O.G., BAXTER, H.D. ve HOBBS, C.S., 1961. Effect of phosphorus in different chemical from on in vitro cellulose digestion by rumen microorganisms. J.Animal Sci. 20: 817.
- HARBERS, L.H. ve TILIMAN, A.D., 1962. Countinacous liquid culture of rumen microorganisms. J.Animal Sci. 21: 575.
- HARTLEY, R.D., JONES, E.L. ve FENLON, J.S., 1974. Prediction of the digestibility of forages by treatment of their cell walls with cellulolytic enzymes. J.Sci.Food.Agric. 25, 947-954. Alınmıştır: AUFRERE, J., 1982. Etude de la prévision de la digestibilité des fourrages par une méthode enzymatique. Ann.Zootech. 31(2), 111-130.
- HUHTANEN, C.N., SAUNDERS, R.K. ve GALL, L.S., 1954. Fiber digestion using to miniature artificial rumen J.Dairy Sci. 37: 328.

- HUHTANEW, C.N. ve ELLIOTT, R.F., 1956. Factors influencing in vitro rumen cellulose digestion. *J. Animal Sci.* 15: 1180.
- HUNGATE, R.E., 1950. The anaerobic mesophilic cellulolytic bacteria. *Bact. Rev.* 14.1. Alınmıştır:
- STREETER, C.L., 1969. A review of techniques used to in vivo digestibility of grazed forage. *Journal of Animal Sci.* 29, 759-761.
- JARRIGE, R., THIVEND, P. ve DEMARQUILLY, C., 1970. Development of a cellulolytic enzyme digestion for predicting the nutritive value of forages. In: Proc. 11th Intern. Grassl. Congr., Paradise, Australia, 762-768. Alınmıştır: AUFRERE, J., 1982. Etude de la prévision de la digestibilité des fourrages par une méthode enzymatique. *Ann. Zootech.* 31(2), 111-130.
- JOHNSON, R.R. ve BENTLEY, O.G., 1958. Cobalt and the synthesis of vitamin B<sub>12</sub> and vitamin B<sub>12</sub> like substance by rumen microorganisms. Trace element. Wooster and microorganisms. Academic Press. I. in New York p. 213. Alınmıştır: STREETER, C.L., 1969. A review of techniques used to in vivo digestibility of grazed forage. *Journal of Animal Sci.* 29, 759-761.
- JONES, D.I.H. ve HAYWARD, M.V., 1973. A cellulase digestion technique for predicting the dry matter digestibility of grasses. *J. Sci. Food Agric.* 24(11), 1419-1426.
- JONES, D.I.H. ve HAYWARD, M.V., 1975 a. The effect of pepsin pretreatment of herbage on the prediction of dry matter digestibility from solubility in fungal cellulase solutions. *J. Sci. Food Agric.* 26, 711-718. Alınmıştır: AUFRERE, J., 1982. Etude de la prévision de la digestibilité des fourrages par une méthode enzymatique. *Ann. Zootech.* 31(2), 111-130.
- JONES, D.I.H. ve HAYWARD, M.V., 1975 b. The effect of pepsin pretreatment of herbage on the prediction of dry matter digestibility from solubility in fungal cellulase solutions. *J. Sci. of Food and Agri.* 26(5), 711-718.

- KELLNER, R.J. ve KIRCHGESSNER, M., 1976. A method of estimating digestibility of green fodder and roughages with cellulase in vitro. Landwirtschaftliche Forschung, 29(3/4), 204-210.
- KENNEDY, P.P. ve DINSMORE, S.C., 1909. Digestion experiments of the rangi. Nev.Agr.Exp.Sta.Bul. 71. Alınmıştır: STREETER, C.L., 1969. A review of techniques used to in vivo digestibility of grazed forage. Journal of Anim.Sci. 29, 759-761.
- KIRCHGESSNER, M. ve KELLNER, R.J., 1978. Estimation of digestibility, metabolizable energy and net energy of forage by a cellulase method. Live stock of Production Sci. 5(4), 373-377.
- KLETT, R.H., 1967. A comparison of in vivo and in vitro techniques for the evaluation of varying roughage. Concentrate rations. Dissertation Abstr. (B). 27: 2758-B-2759-B.
- LANCESTER, R.J., 1949. Estimation of digestibility of grazed pasture from feces nitrogen. Nature 25: 330. Alınmıştır: STREETER, C.L., 1969. A review of techniques used to in vivo digestibility of grazed forage. Journal of Anim. Sci. 29, 759-761.
- LOUW, J.G., WILLIAMS, H.H. ve MAYNARD, L.A., 1949. A new method for the study in vitro of rumen digestion. Sci.(Wash.D.C.) 110: 478-480. Alınmıştır: STREETER, C.L., 1969. A review of techniques used to in vivo digestibility of grazed forage, Journal of Anim.Sci. 29, 759-761.
- MARSTON, H.R., 1948. The fermentation of cellulose in vitro by organisms from the rumen of sheep. Biochem.J. 42: 564.
- McDOUGHALL, E.T., 1949. Studies on ruminant saliva. The composition and out put of sheep saliva. Biochem. J. 43:99.
- MCLEOD, M.N. ve MINSON, D.J., 1978. The accuracy of the pepsin-cellulase technique for estimating the dry matter digestibility in vivo of grasses and legumes. Animal Feed Sci. and Technology. 3(4), 277-287.

- MCLEOD, M.N. ve MINSON, D.J., 1980 A note on Onozuka 35 cellulase as a replacement for Onozuka SS (P 1500) cellulase when estimating forage digestibility *in vitro*. *Anim.Feed.Sci.Technol.* 5, 347-350. Alınmıştır: AUFRERE, J., 1982. Etude de la prévision de la digestibilité des fourrages par une méthode enzymatique. *Ann.Zootech.* 31(2), 111-130.
- MCQUEEN, R. ve VAN SOEST, P.J., 1975. Fungal cellulase and hemicellulase prediction of forage digestibility, *J.Dairy Sci.* 58, 1482-1491.
- MEISKE, J.C., SALSBURY, R.L., HOFFER, J.A. ve LUECKE, R.W., 1958. The effect of starvation and subsequent refeeding on some activities of rumen microorganisms *in vitro*. *J.Anim.Sci.* 17, 744.
- PEARSON, R.M. ve SMITH, J.A.B., 1943. The utilization of urea in the bovine rumen. III. Synthesis and breakdown of protein in rumen ingesta. *Biochem.J.* 37: 153.
- PEZO, D. ve VOHNOUT, K., 1977. Digestibility *in vitro* of six tropical grasses. *Turrialba.* 27(1), 47-53.
- PULLI, S., 1976. Cellulase digestion technique compared with the *in vitro* digestibility of forages. *Journal of the Scientific Society of Finland.* 48(2), 187-194.
- QUIN, J.I., VAN DER WATH, J.C. ve MYBRUGH, S., 1938. Studies on the alimentary tract of Merino sheep in South Africa IV. Description of experimental technique. *Orderste poort. J. Vet.Sci.Anim.Ind.* 11:341. Alınmıştır: STREETER, C.L., 1969. A review of techniques used to *in vivo* digestibility of grazed forage. *Journal of Anim.Sci.* 29, 759-761.
- QUIN, J.I., 1943. Studies on the alimentary tract of Merino sheep in South Africa VII. Fermentation in the forestomachs of sheep. *Orderste poort. J.Vet.Sci.* 18:91.

- ROUGHAN, P.G. ve HOLLAND, R., 1977. Predicting *in vivo* digestibilities of herbages by exhaustive enzymic hydrolysis of cell walls. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 28(12), 1057-1064.
- SALSBURY, R.L., SMITH, C.K. ve HUFFMAN, C.F., 1956. The effect of high levels of cobalt on the *in vitro* digestion of cellulose by rumen micro-organisms. *J.Anim.Sci.* 15: 863.
- SALSBURY, R.L., VANDERKOLK, A.L., RALTLE, B.V., LUECKE, R.W., 1958. The rates of digestion of the cellulose of some plant fraction by rumen microorganisms *in vitro*. *J.Anim.Sci.* 17:744.
- SINGH, N., VERMA, M.L., SIDHU, G.S. ve KOCHAR, A.S., 1970. Comparison of *in vivo* and *in vitro* techniques for the determination of the nutritive value index of some common Indian cattle feeds. *Indian J.Animal Sci.* 40, 252-261.
- STREETER, C.L., 1969. A review of techniques used to *in vivo* digestibility of grazed forage. *Journal of Anim.Sci.* 29, 759-761.
- TERRY, R.A., MUNDELL, D.C. ve OSBOURN, D.F., 1978. Comparison of two *in vitro* procedures using rumen liquor-pepsine or pepsin-cellulase for prediction of forage digestibility. *J.Br.Grassl.Soc.* 33, 13-18. Alınmıştır:  
AUFRFRE, J., 1982. Etude de la prévision de la digestibilité des fourrages par une méthode enzymatique. *Ann.Zootech.* 31(2), 111-130.
- TILLEY, J.M.A. ve TERRY, R.A., 1963. A two-stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. *Journal of British Grassland Society*. 13:104.
- TINNIMIT, P. ve THOMAS, J.W., 1976. Forage evaluation using various laboratory techniques. *Journal of Anim.Sci.* 43(5), 1051-1065.
- VAN DYNE, G.M., MEYER, J.H., 1964. A method for measurement of forage intake of grazing. Livestock using microdigestion techniques. *Journal Range Management*, 17, 204.

- VAN KEUREN, A.W. ve HEINNEMEN, W.W., 1962. Study of nylon bag technique for in vivo estimation of forage digestibility. Journal of Anim. Sci. 21, 340-345.
- WAGNER, M.I., BOOTH, A.N., BOHSTEDT, G. ve HART, E.B., 1940. The in vitro conversion of in organic nitrogen to protein by microorganisms from cows rumen. J. Dairy Sci. 23: 1123. Alınmıştır: STREETER, C.L., 1969. A review of techniques used to in vivo digestibility of grazed forage. Journal of Anim. Sci. 29, 759-761.
- WARNER, A.C.E., 1956. Criteria for establishing the validity of in vitro studies with rumen microorganisms in so-called artificial rumen systems. J. Gen. Microbial. 14: 733.
- WASSERMAN, R.H., DUNCAN, C.W., CHURGHILL, F.S. ve HUFFMANN, G.F., 1952. The effect of antibiotics on in vitro digestion by rumen microorganisms. J. Dairy Sci. 35: 571.
- WOODMAN, H.E. ve EVANS, R.E., 1938. The mechanism of cellulose digestion in the ruminant organisms. IV. Futher observation from in vitro studies of the behavior of rumen bacteria and their bearing on the nutritive value of cellulose. J. Agric. Sci. 28: 43. Alınmıştır: STREETER, C.L., 1969. A review of techniques used to in vivo digestibility of grazed forage. Journal Of Anim. Sci. 29, 759-761.
- YAZICIOĞLU, N., 1987. Ruminant yemlerinin sindirilebilirliklerini saptamada uygulanılan çeşitli in vitro yöntemlerin karşılaştırılması üzerinde bir araştırma. A.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü. (Yayınlanmamıştır).
- ZUNTZ, N., 1891. Bemerkungen über die verdaung und den Nährwert der cellulose. Arch. Ges. Physiol. 49: 447. Alınmıştır: STREETER, C.L., 1969. A review of techniques used to in vivo digestibility of grazed forage. Journal of Anim. Sci. 29, 759-761.

74 ref.