

31544

ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SAMANIN LİGNOLİK AKTİVİTELİ
MİKROORGANİZMALARLA MUAMELE EDİLEREK YEM DEĞERİNİN
ARTTIRILMA OLANAKLARININ ARAŞTIRILMASI

Ö.Hakan MUĞLALI

Veteriner Hekim

DOKTORA TEZİ

HAYVAN BESLEME ve BESLEME HASTALIKLARI

ANA BİLİM DALI

Danışman

Prof. Dr. Ahmet ERGÜN

Bu çalışma AÜ. Araştırma Fon'unun 91300004 no'lu projesiyle desteklenmiştir

1993-ANKARA

— *AILEME* —



İlk bölümde buğday samanı lignolitik aktiviteli funguslarla değişik sürelerde inkübe edilerek ham besin maddelerindeki değişimler, ikinci bölümde ise bu besin maddelerinin in-sitü yıkılabilirlikleri incelenmiştir. Son bölümde ise fungusların değişik ortamlardaki ligninaz enzim aktiviteleri tesbit edilmiş ve saman numuneleri enzim içeren sıvı ortamlarda 4 gün süre ile inkübe edildikten sonra in-sitü yıkılabilirlik incelenmiştir.

Düşük kaliteli bir yem olan samanın değerlendirilebilirliğinin artırılma olanaklarının biyoteknolojik olarak araştırılması çalışmanın amacını oluşturmuştur.

Bu çalışma A.Ü. Araştırma Fonu 9130004 proje ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ

1. GİRİŞ ve GENEL BİLGİLER.....	1
1.1. Giriş	1
1.2. Genel Bilgiler	4
1.2.1. Lignosellülozlu materyal olarak saman	4
1.2.2. Lignosellülozlu materyalin rumen içi sindirimi	8
1.2.3. Ligninin biyosentezi ve oluşumu	15
1.2.4. Lignosellülozlu Materyalin Delignifikasyonu	20
1.2.4.1. Lignosellülozlu Materyalin Fiziksel ve Kimyasal Yöntemlerle sindirilebilirliklerinin artırılması	20
1.2.4.2. Ligninin Biyolojik Parçalanması	21
1.2.4.3. Funguslar ve Sitematikteki Yerleri	26
1.2.4.4. Fungusların lignosellülozlu Materyal üzerine etkileri.....	31
2. MATERYAL ve METOT	35
2.1. Materyal	35
2.1.1. Çalışmalarda Kullanılan Mikroorganizmalar	35
2.1.2. Hayvan Materyali	35
2.1.3. Delignifikasyonda Kullanılan Materyal.....	35
2.2. Metot	36
2.2.1. Örneklerde Kimyasal Analizler	36
2.2.2. İn-sitü sindirilebilirliğin tayini	36
2.2.3. Deneme Hayvanlarının Beslenmesi.....	37
2.2.4. Ekim ve Üretim	39

2.2.5. Enzim üretimi için besi yerinin hazırlanması	41
2.2.6. Enzim için ekim ve kültürasyon	42
2.2.7. Enzim Aktivitelerinin Tesbiti.....	43
2.2.8. Numunelerin Enzimatik Delignifikasyonu.....	43
2.3. İstatistik Analizler.....	43
3. BULGULAR	44
4. TARTIŞMA ve SONUÇ	59
5. ÖZET	73
6. SUMMARY	76
7. KAYNAKÇA	78
8. TEŞEKKÜR	95
9. BİYOGRAFİ	96

Tablo, Grafik ve Şekiller

Sayfa

Tablo-1.1. : Yurdumuzda elde edilen kimi saman türlerinin besin maddeleri kompozisyonu	4
Tablo-2.1. : Deneme hayvanlarında kullanılan rasyonun özellikleri.....	38
Tablo-2.2. : Bazal rasyonun bileşimi.....	38
Tablo-2.3. : Stok temel besi yeri	39
Tablo-2.4. : Stok mineral solüsyon	40
Tablo-2.5. : Ligninaz üretiminde kullanılan besi yeri.....	41
Tablo-3.1. : Buğday samanı besin madde miktarı	45
Tablo-3.2. : Buğday samanı kimi besin maddelerinin in-sitü yıkılabilirlikleri	45
Tablo-3.3. : Dokuz farklı tür beyaz-çürükçül fungus ile inkübe edilen buğday samanı ham protein miktarındaki değişmeler.....	46
Tablo-3.4. : Dokuz farklı tür beyaz-çürükçül fungus ile inkübe edilen buğday samanı ham selüloz miktarındaki değişmeler	47
Tablo-3.5. : Dokuz farklı tür beyaz-çürükçül fungus ile inkübe edilen buğday samanı ham nötral deterjan fiber miktarındaki değişmeler	48

Tablo-3.6. : Dokuz farklı tür beyaz-çürükçül fungus ile inkübe edilen buğday samanı ham lignin miktarındaki değişmeler	49
Tablo-3.7. : Dokuz farklı tür beyaz-çürükçül fungus ile değişik sürelerde inkübe edilen buğday samanı in-sitü kuru madde yıkılabilirliği	50
Tablo-3.8. : Dokuz farklı tür beyaz-çürükçül fungus ile değişik sürelerde inkübe edilen buğday samanı in-sitü ham protein yıkılabilirliği	51
Tablo-3.9. : Dokuz farklı tür beyaz-çürükçül fungus ile değişik sürelerde inkübe edilen buğday samanı in-sitü ham sellüloz yıkılabilirliği	52
Tablo-3.10.: Dokuz farklı tür beyaz-çürükçül fungus ile değişik sürelerde inkübe edilen buğday samanı in-sitü nötral deterjan fiber yıkılabilirliği	53
Tablo-3.11.: Dokuz farklı tür beyaz-çürükçül fungus ile değişik sürelerde inkübe edilen buğday samanı in-sitü lignin yıkılabilirliği	54
Tablo-3.12.: Farklı fungal kültürlerle ait ligninaz enzimi ile 4 gün süre ile 37 °C'de inkübe edilen buğday samanının in-sitü kuru madde yıkılabilirliği	58

Grafik-3.1. : 28 °C'de statik ve labil olarak (50 rpm) üretilen <i>Pl. comeopia</i> kültüründe ligninaz aktivitesi.....	55
Grafik - 3.2. : 28 °C'de statik ve labil olarak (50 rpm) üretilen <i>Pl. eryngii</i> kültüründe ligninaz aktivitesi.....	55
Grafik - 3.3 : 28 °C'de statik ve labil olarak (50 rpm) üretilen <i>Pl. flagellatus</i> kültüründe ligninaz aktivitesi.....	55
Grafik - 3.4 : 28 °C'de statik ve labil olarak (50 rpm) üretilen <i>Pl. florida</i> kültüründe ligninaz aktivitesi.....	56
Grafik - 3.5 : 28 °C'de statik ve labil olarak (50 rpm) üretilen <i>Pl. sapidus</i> kültüründe ligninaz aktivitesi.....	56
Grafik - 3.6. : 28 °C'de statik ve labil olarak (50 rpm) üretilen <i>Pl. sajor-caju</i> kültüründe ligninaz aktivitesi.....	56
Grafik - 3.7. : 28 °C'de statik ve labil olarak (50 rpm) üretilen <i>Pl. ostreatus</i> kültüründe ligninaz aktivitesi.....	57
Grafik - 3.8. : 40 °C'de statik ve labil olarak (50 rpm) üretilen <i>Ph. chrysosporium</i> kültüründe ligninaz aktivitesi	57
Grafik - 3.9. : 25 °C'de statik ve labil olarak (50 rpm) üretilen <i>A. bisporus</i> kültüründe ligninaz aktivitesi.....	57

Şekil 1.1. :	Karbonhidratların rumende piruvat ve uçucu yağ asitlerine çevrimi	10
Şekil 1.2. :	Sellüloz molekülü	11
Şekil 1.3. :	Glukomanan yapısı.....	12
Şekil 1.4. :	Ksilan yapısı	12
Şekil 1.5. :	Bitki hücre duvarı.....	16
Şekil 1.6. :	Lignin Prekürsörleri	18
Şekil 1.7. :	Lignin molekülü.....	19

1.GİRİŞ ve GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş

Dünya'da ve ülkemizde hızlı bir nüfus artışının olması gıda maddeleri üretiminin yanısıra hayvansal üretimin artırılması ve daha az yem materyali ile daha fazla hayvansal ürün alınması zorunluluğunu ortaya çıkarmaktadır. Bu bağlamda insanların tüketemedikleri yem maddelerini tüketerek değerli besin ve sanayi ham maddeleri sağlayan ve bu özellikleri nedeniyle geleceğin hayvanları gözü ile bakılan ruminantların beslenmesi ayrı bir önem taşımaktadır.

Hayvan varlığımız fazla olmasına karşın otlamaya ayrılan çayır ve mera alanlarının her geçen yıl azalması ve üzerindeki otların büyük bölümünü yarsız bitkilerin oluşturması ve bazı yıllar iklimin kurak geçmesi gibi nedenlerden ötürü kaliteli kaba yem açığımız hızla artmaktadır. Ruminant beslenmesi ise temel olarak kaba yemlere dayanmaktadır. Hükümetler tarafından yapılan kalkınma planlarının hepsinde kaliteli kaba yem üretimi planlar dahiline alınmasına rağmen yeterli sonuçlar alınamamaktadır. Oysa ki yurdumuzda kaba yemlerin önemli bir kısmını hububat samanları oluşturmakta ve yıllık saman üretimimiz 25-30 milyon ton civarında olmaktadır. Temel olarak kaba yeme dayanan ruminant beslenmesinde sindirim faaliyetlerinin normal bir şekilde yürütülebilmesi için rumenin % 75'inin dolu olması gerekmektedir. Ancak bu sayededir ki alınan tüm yemler optimum bir şekilde değerlendirilebilir. Bu durum kaba yemlerle sağlanır ve aynı zamanda kaba yemin kalitesi nedeni yüksek ise konsantre yemden de o oranda daha az verilerek ekonomik bir fayda sağlanır.

Kaba yemsiz düşünilemeyen ruminant beslenmesi yurdumuzda ligno-sellülozlu materyal olarak daha çok samana dayanmaktadır. Her ne kadar yem bitkileri üretimi artırılmaya çalışılırsa çalışılsın her yıl giderek artırılmaya

çalışılan tahıl üretimimiz oldukça bunların artığı olan samanda olacak ve hayvan besleme alanında kullanılacaktır. Samanın düşük kaliteli bir yem maddesi olmasında içerdiği lignin kompleksinin etkisi çok büyüktür. Lignin kompleksini yıkımlayarak samanı değerli bir yem maddesi yapmaya yönelik çalışmalar yüzyılımızın başından beri devam edegelmektedir ve devam etmek zorundadır. Çünkü hızla artan dünya nüfusu; açlık, enerji açığı ve çevre kirliliği gibi önemli sorunlarla karşı karşıyadır. Bu sorunlar gün geçtikçe artan bir şekilde kendini hissettirmektedir. Bu sorunlarla mücadelede lignin kompleksinin yıkımlanması da önemli rol oynayacaktır. Çünkü;

a) artan Dünya nüfusu ile hayvanlara ayrılan alanlar azalacağı gibi birim yemden hayvan başına daha fazla ürün alınma zorunluluğu ortaya çıkacaktır, bu durum lignin kompleksinin yıkımlanması ile yakından ilgilidir,

b) sellüloz kullanan sistemlerde yüksek oranda lignin ve türevlerinin bulunması bu bileşiklerin yoğunlaştırılarak yakıt maddesi olarak kullanımına imkan vermektedir. Elde edilif yöntemine bağlı olarak 1650 ila 6000 kilokalori/Kg. enerji elde edilebilmektedir.

c) lignosellülozlu materyali ham madde olarak kullanan kağıt sanayiinde fazla miktarda su kullanılmakta, lignin ve lignosülfat içeren atıklar doğal çevreye verilmektedir. Bu durum suların oksijen miktarını azaltmakta ekosistemi bozarak bitki ve balıkların yok olmasına neden olmaktadır. Oksijen tüketiminde büyük rol oynayan lignin ve türevleri parçalanmaya karşı oldukça dirençlidirler. Yukarıda sıralanan nedenlerden ötürü lignin kompleksinin parçalanması ile ilgili araştırmalara hız verilme zorunluluğu vardır.

Yüzyılımızın başından beri hayvan besleme alanında samanın lignin kompleksini yıkımlayarak, onu, daha değerli bir yem maddesi haline getirmeye

yönelik çalışmalar daha çok fiziksel ve kimyasal yöntemler üzerinde yoğunlaşmış, ancak her ikisinde de uygulamaların pratiğe aktarılamamaları ve ekonomik olmamalarının yanı sıra kimyasal yöntemlerin çevre kirliliğine de yol açmaları ve yeterli olmayan sonuçların alınması başka metodların araştırılması zorunluluğunu ortaya çıkarmıştır. Bu nedendir ki gerek insan ve gerekse hayvan beslenmesindeki alternatif arayışlar bizi biyoteknolojik çalışmalara yöneltmiştir. Biyoteknolojik çalışmaların ekonomik oluşları, çevre kirliliğine yol açmamaları ve pratiğe aktarılabilmeleri nedeniyle popülariteleri tüm dünya'da hızla artmaktadır.

Dünya'da adeta bir patlamanın yaşandığı bilimsel yarışta hayvan besleme alanında da bu yarışta geride olmadığımızı göstermeyi amaçlayan bu çalışmada ülkemiz için vaz geçilemez bir yem maddesi olan samanın değerlendirilebilirliğinin artırılması amaçlanmıştır. bu çalışmada ülkemizde yılda 25-30 milyon ton miktarında tarımsal artık olarak elde edilen ve sindirilemeyen lignin kompleksi nedeniyle değersiz bir yem niteliği taşıyan samanın lignolitik aktiviteli değişik tür funguslarla muamele edilerek yem değeri ve sindirilebilirliğinin artırılması amaçlanmıştır.

1.2. GENEL BİLGİLER

1.2.1. Lignosellülozlu Materyal Olarak Saman

Kaba yemsiz olarak düşünölemeyen ruminant beslenmesi yurdumuzda lignosellülozlu materyal olarak daha çok samana dayanmaktadır.

Saman; tahılların, baklagillerin ve benzeri bitkilerin olgunlaşmış tohumları elde edildikten sonra harmanda ele geçen kalıntıları olup elde edildiği bitkinin sap ve yapraklarından meydana gelir. Harman kalıntıları, bitkinin hayat devrelerini tamamlamış ham sellülozca zengin kısımları olduklarından besin değerleri düşüktür. Suda kolay eriyebilen, yani kolay sindirilebilen besin maddeleri daha sonraki yaşam döneminde bitkiye hayat verecek olan tohumlara taşındığından sap ve yapraklarda sindirimi zor olan besin maddeleri kalmıştır, aynı zamanda bitki hücre duvarı lignin, kitin ve silisyum birikimi nedeniyle parçalanamaz yada çok zor parçalanabilir bir hal almıştır. Samanın besin değeri bitkinin yetiştiği toprak ve iklime göre değişiklik göstermektedir. Asıl değişiklik bitkinin tür ve çeşidine göre olmaktadır.

Tablo - 1.1. Yurdumuzda elde edilen kimi saman türlerinin besin maddeleri kompozisyonu (%)

	Kuru Madde	Ham Protein	Ham Yağ	Ham sellüloz	N-siz Öz Madde	Ham Kül	Silindirilebilir Ham Protein
Buğday	92.8	3.6-4.2	1.5-1.8	33.4-40.7	35.6-39.8	9.0-9.4	0.6
Arpa	92.6	3.4-4.5	1.1-1.9	33.6-35.3	37.3-39.3	7.1-11.6	0.2
Çavdar	92.4	2.9-3.6	1.3-1.5	31.4-36.3	37.7-36.2	5.2-11.3	1.2
Yulaf	92.9	3.1-4.5	1.6-2.5	34.5	36.3	5.5-7.6	2.8
Çeltik	94.7	4.5	1.6	33.2-42.4	37.5-41.8	17.9	0.5

Toprağın yapısı üzerinde yetişen bitkinin yapısını dolayısıyla samanın yapısını etkilemektedir. Örneğin azotlu gübrelere gübreleme o topraktan elde edilen samanın ham protein miktarını arttırmaktadır.

Hızlı gelişen bitkilerde değerli besin maddelerinin hepsi tohumla taşımadan yaşam siklusu sona erdiğinden bir kısmı sap ve yapraklarda kalmakta ve bu tür bitkilerin samanları daha değerlidir. Bu sebeptendir ki yazlık samanlar kışlık samanlardan daha değerlidir. Yine aynı sebeptendir ki daha bol yapraklıdır, sapsız daha yumuşaktır ve dolayısıyla çiğneme sırasında daha az enerji harcanır. Fakat yazlık saman daha higroskopik olduğundan yağışlı mevsimlerde veya bölgelerde daha kolay bozulabilir.

Ekstansif tarımla elde edilen saman entansif tarımla elde edilenden daha değerli olmakta, bu durum samanın kendisinden değil tarlayı sarmış olan yabancı otların hasat zamanında henüz kartlaşmamış olmalarından ileri gelmektedir. Bol yağışlı yıllarda ve sulanan tarlalardan elde edilen samanlar ham protein ve mineraller bakımından kurak yıllar veya susuz tarım yapılan yerlerden elde edilenlerden daha değerlidir.

Samanların yapı ve besin değerleri arasında farklılıklar bulunmakla beraber bu farklar aynı yemin danesi veya yeşilleri arasındaki kadar büyük değildir. Baklagil samanları buğdaygil samanlarından daha değerlidir. Buğdaygil samanları sindirilebilir ham protein bakımından oldukça fakirdirler (%1-0.2), ham selüloz miktarı ise % 50'nin üzerinde çıkabilir, ham yağ miktarı % 1-2 civarındadır. Yararlanılabilen besin maddelerinin % 28-50'sini N'siz öz maddeler oluşturur ki bu miktarın da % 32'si lignin benzeri karbonhidratlar, % 54 kadar pentozonlar ve % 14 kadar diğer karbonhidratlardan oluşmaktadır. Minerallerden fakir olup silisyumdioksit miktarı yüksektir. Vitaminler önemsiz mik-

tarda olup bir miktar D-vitamini içerirler. Baklagil samanlarında lignin: hemisellüloz oranı yüksek olmasına karşın buğdaygil samanlarında silika oranı daha fazladır. Lignin ve silika nefatif korrelasyona eğilimli oldukları halde her ikisinde sellüloz ve hemisellüloz gibi strüktürel karbanhidratların sindirimini engellerler. Karbonhidratlar genellikle strüktürel ve non-strüktürel olmak üzere ikiye ayrılarak incelenirler. Non-strüktürel bileşikler olan şekerler, nişastalar ve fruktozanlar % 20'den daha az yer işgal ederler. Bu bileşikler yüksek sindirilebilirliktedirler ve etkili olarak kullanılırlar. Strüktürel karbonhidratlar olan hemisellüloz, sellüloz, pektin ve lignin, ham sellüloz adı altında incelenir, miktarı bitkinin yaşı ile birlikte artarken eriyebilirlik ve sindirilebilirlik de azalır. Bitki hücre duvarı yapısında bulunan sellüloz amorf bir matriks oluşturacak şekilde organize olmuştur. Genç bitkide 1. hücre duvarı matriksi başlıca sellüloz ve hemisellülozdan oluşmasına rağmen olgun bitkide polisakkarit materyalden oluşan ve lignin adı verilen 2. bir hücre duvarı bulunmaktadır. Henüz yapısı tam anlamıyla çözümlenememiş kompleks bir bileşik olan lignin; phenyl-propanın 3 türevi olan p-coumaryl alkol, coniferyl alkol ve sinapyl alkolden köken almış bir polimerdir (34, 100). Tam bir lignin molekülü kompleks bir şekilde birbirleriyle çapraz bağlı phenylpropanoin birimlerinden oluşmuştur. Lignin fiziksel ve kimyasal parçalanmaya karşı büyük bir direnç göstermektedir, ancak bu sayededir ki; yer çekimi, rüzgâr, yağmur gibi mekanik etkilere karşı bitkiyi koruyabilmektedir. Bitkiler bu zorlamalara karşı lignin ile desteklenmiş destek organlarını evrim süresince kazanmış ve kara hayatına adapte olmuşlardır. Bitkinin destek ve dayanıklılık kazanması için duvar yapısında biriken lignin gerek sellüloz ve gerekse hemisellüloz ile bağlantılı olup bitkiyi mikroorganizma saldırısına karşı koruyucu güce sahiptir. Ligninin kompleks yapısı rumen mikroorganizmalarının parçalayıcı etkisine karşı koyabilmekte böylelikle yapısında bulunan besin maddelerinin sindirilmesine engel olduğu gibi aynı zamanda bunları hücre içerisinde tutsak ederek besin maddelerinden yararlanmayı da engellemektedir.

Bu bakımdan samanların sindirilme derecesi düşük bir kaba yem özelliği kazanmalarında lignin kompleksinin etkisi çok büyüktür.

Kaba yemin sindirilebilirliğindeki olumsuz etkisi nedeniyle lignin hakkında pek çok araştırma yapılmıştır. Ligninin kendisi hayvan tarafından sindirilemediği gibi kaba yemin sindirilmesini de mikroorganizmaların veya sindirim sularının nüfuz etmesini önleyerek inhibe etmektedir. Öğütme, fiziksel inhibisyonun bir miktar üstesinden gelirse de asıl önemlisi lignin ile karbonhidrat polimerleri arasındaki çapraz bağlardır. Bu çapraz bağlar enzim aktivitelerini inhibe etmekte böylelikle enzimler karbonhidrat zincirlerini hidrolize edememekte ve rumen mikroorganizmalarınca kullanılamamaktadır. Lignin aynı zamanda protein ve karbonhidratları hücre duvarlarında bağlamakta, bunun sonucunda da hücre duvarı düşük sindirilebilirlikte olmaktadır (101).

Bitki gövdesindeki lignin miktarı yapraklardakinden fazladır. Lignifikasyon arttıkça yemin kaliteside düşmektedir bu yüzden ki düşük kaliteli yemler yüksek lignin miktarına sahiptirler. Öğütme işlemi genellikle sindirilebilirliği bir miktar arttırmaktadır. Yüksek oranda lignifiye olmuş kaba yemlerin kuvvetli asit ve alkalilerle muameleleri sindirilebilirliği arttırmaktadır. Bu durum bu tür kimyasal maddelerin bitki liflerini şişirmesi ve bazı lignin-karbonhidrat bağlarını yarması sonucu olmaktadır. Silolamanın lignin içeriği üzerine etkisi önemsizdir. Lignin formasyonunu etkileyen bilinen 4 faktör vardır. Bunlar önem sırasına göre; iklim, bitkinin yaşı, ışık yoğunluğu ve azotlu gübrelemedir. Yüksek ısı ve bitkinin yaşının ilerlemesi lignin formasyonunu arttırmakta ve böylelikle bitkinin sindirilebilirliğini azalmaktadır. Işık yoğunluğunun artması sindirilebilirliği artırırken azotlu gübrelerle yapılan gübreleme lignin formasyonunu arttırmakta hücre duvarı içeriğini azaltmaktadır. Işık yoğunluğu ve azotlu gübrelerle yapılan gübrelemenin, ısı ve bitkinin yaşı ile karşılaştırıldığında lignin formasyonu üzerindeki rolleri daha az olmaktadır.

1.2.2. Lignosellülozlu materyalin rumen içi sindirimi

Ruminantlar tarafından tüketilen yemler rumende mikroorganizmalar yardımıyla yıkılma ve sentez gibi önemli kimyasal değişikliklere ve metabolik çevrimlere uğramaktadırlar. Ruminantların beslenmesi gerçekte rumen mikroorganizmalarının beslenmesi anlamında olup sürekli olarak ön midelerden abomasuma geçen mikroorganizmalar burada gerçek sindirime uğrayarak yıkılırlar. Yem maddelerinin kimyasal yıkımı retikulo-rumende olup bakteri ve protozoaların ekstrasellüler enzimleri aracılığı ile olmaktadır. Retikulo-rumen enaerobik olan bu mikroorganizmalar için sürekli uygun bir kültür ortamı sağlamaktadır. Rumene alınan besin maddeleri son ürün olarak uçucu yağ asitleri, mikrobiyal hücreler, metan ve karbondioksit gibi gazlara çevrilirler.

Metan ve karbondioksit ruktusla atılır. Uçucu yağ asitlerinin ise büyük bir bölümü rumen duvarından emilmektedir. Mikroorganizmalar ise rumende sindirilemeyen yada by-pass olarak geçen besin maddeleriyle birlikte abomasum ve ince barsaklara geçerek mide asidi ve enzimlerce sindirilip absorbe edilirler. Ruminal sindirimin optimum koşullarda devam edebilmesi için; rumende 39-40°C'lik bir ısı, yüksek bir nemlilik, fermentasyona elverişli besin maddelerinin sürekli olarak rumene aktarımı, fermentasyondan ileri gelen asit ortamın nötralizasyonu için tükürükle aralıksız olarak sodyumbikarboat tamponunun rumene verilmesi (Ph:6,5-6,8), anaerobik bir ortam ve fermentasyon ürünlerinin rumenden sürekli olarak uzaklaştırılması gerekir. Uygun bir rumen ortamı mikroorganizmaların üreme, gelişme ve çalışmalarına etkili olduğu gibi istenilen oran ve harmoniyi de sağlar. Ancak bu şekilde ruminantlar tüketilen rasyondan gereği gibi yararlanabilirler. 60'dan fazla türün identifiye edildiği 1 ml. rumen sıvısında 10^9 - 10^{10} adet bakteri ve 10^6 adet kadar protozoon bulunmakta ve bunlar arasında simbiyotik bir yaşam söz konusu olmaktadır.

Örneğin : tiyamin en az iki bakterinin karşılıklı etkisiyle sentezlenmektedir, aynı şekilde suktsinik asit bir bakterinin son ürünü iken bir diğer bakteri tarafından kullanılarak propiyonik aside çevrilmekte ve bundan da süt komponentlerinin oluşumunda yararlanılmaktadır.

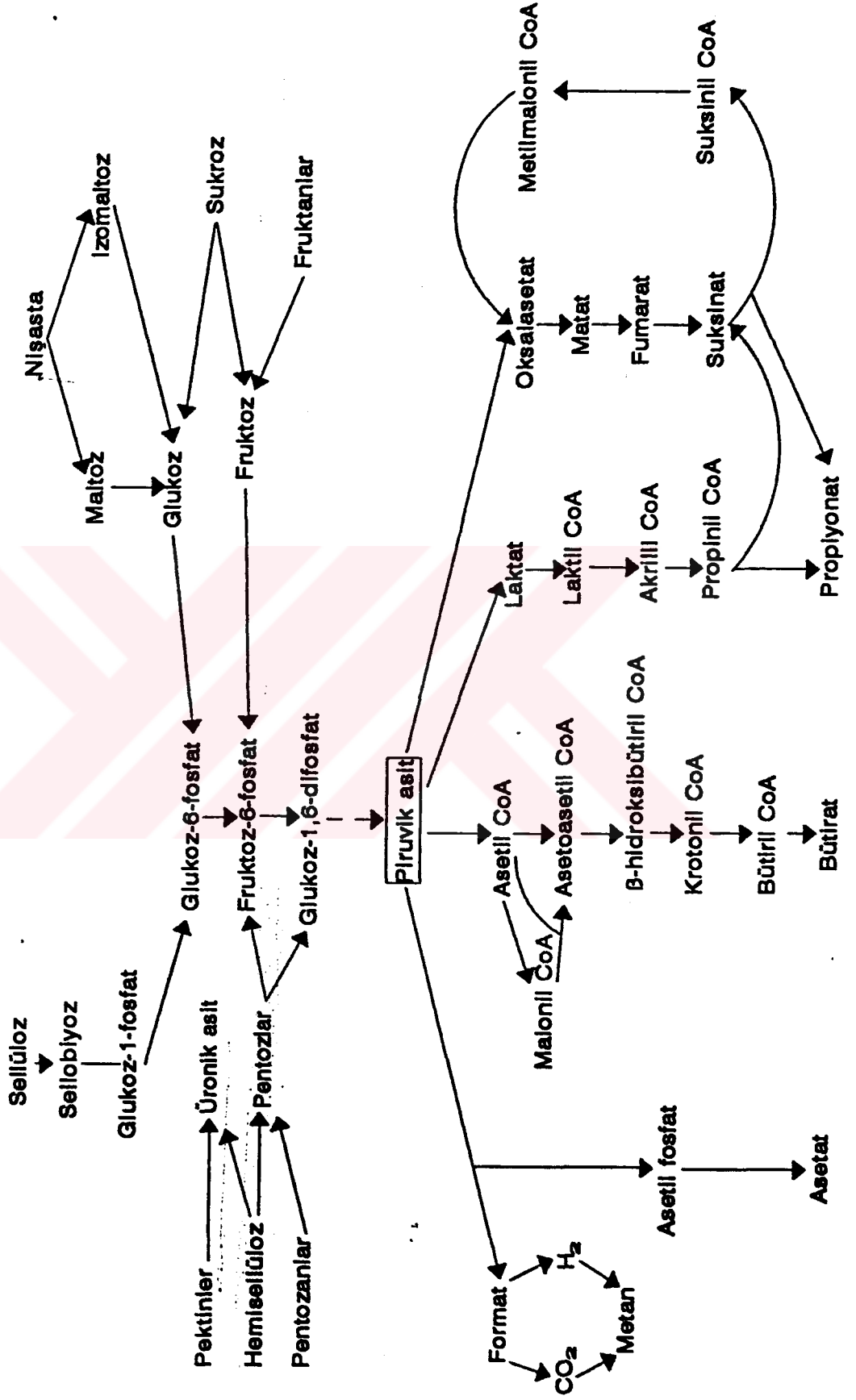
Ruminant rasyonları fazlasıyla sellüloz, hemisellüloz, nişasta ve genellikle fruktan formunda suda eriyebilir karbonhidratlar içermektedir. Ruminantların sıklıkla tek gidasını oluşturan çayır otları % 40 civarında sellüloz ve hemisellüloz ile % 20 civarında suda eriyebilir karbonhidratları içermektedir. Kuru ot ve samanda ise sellüloz ve hemisellüloz oranı daha yüksek, suda eriyebilir karbonhidratlar ise daha düşük miktarlardadırlar. β -bağlı karbonhidratlar lignin ile ilişkili olup kuru maddede % 2-12 arasında olabilir.

Lignin dışındaki tüm karbonhidratlar mikroorganizmalarca parçalanabilmektedir.

Karbonhidratların rumede yıkılımı iki değişik yolla olabilmektedir. Eriyebilir karbonhidratlar ekstrasellüler mikrobiyal enzimlerce aynen monogastrik hayvanlarınkine benzer bir şekilde basit şekerlere indirgenerek metabolize edilmektedir.

Kompleks karbonhidratlardan ise; sellüloz bir yada daha fazla sayıdaki β -1,3 glikozidaz'larca sellöbiyoza yıkılır. Sellöbiyozda glukoz veya fosforilaz etkisiyle glukoz-1-fosfata çevrilir. Nişasta ve destirin: Önce amilaz etkisiyle maltoz ve izomaltoza daha sonra ise maltoz; maltozfosforilaz veya 1,6- glikozidaz etkisiyle glukoz veya glukoz-1-fosfata çevrilir. Fruktanlar: 2.1 ve 2,6 bağlarına saldıran

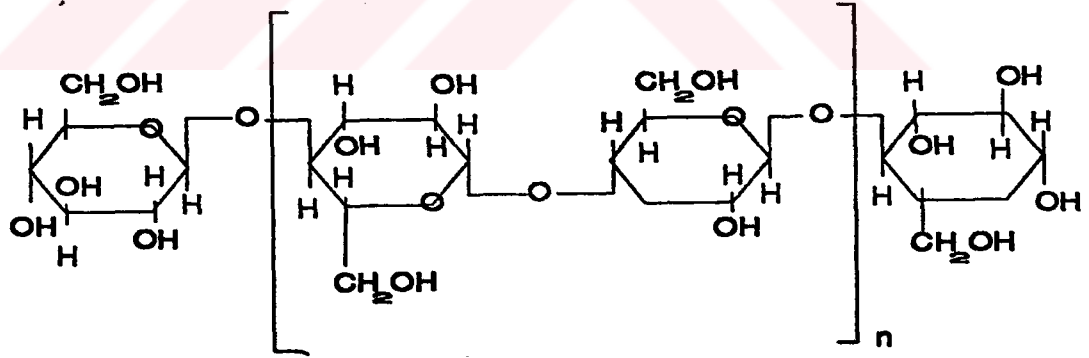
Şekil - 1.1.1. Karbonhidratların Rumende Piruvat ve Uçucu Yağ Asitlerine Çevirimi



enzimlerce fruktoz verecek şekilde hidrolize edilirlerki sukrozun sindirimi sonucunda da fruktoz ve glukoz elde edilir.

Pentozlar hemisellüloz yıkımının ana ürünleri olup enzimlerin β -1,4 bağlarına hücumlarıyla ksiloz ve üronik asite daha sonra ise ksiloza çevrilirler. Üronik asit ilk önce pektinesteraz tarafından pektik asit ve metanole hidrolize edilen pektinlerden elde edilir. Daha sonra pektik asit poligalakturonidazlarla galakturonik asit ve sonuçta ksiloz verecek şekilde çevirime uğrar. Yeşil yem kuru maddelerinin önemli bir kısmını oluşturan ksilanların hidrolizinden de ksiloz elde edilebilir. Bitki hücre duvarının temel strüktürü olan sellüloz bir glukandır. Sellüloz ve lignin arasında olduğu gibi sellülozla hemisellüloz ve diğer bitki duvarı bileşenleri arasında da bağlar vardır. Sellüloz hemen hemen saf bir formda olarak pamukta izlenebilir. Yüksek molekül ağırlıklı bir homoglikan olan sellüloz ard arda dizili sellobiyoz ünitelerinden meydana gelmiş olup β -glükoz artıkları 1,4 bağlıdır. Polimer zinciri 15.000'den fazla bağ içerir ve yaygın bir şekilde hidrojen köprüleri vardır. Sonuçta kompakt, oldukça sıkı bağlanmış güçlü, fibröz bir yapı ortaya çıkar.

Şekil - 1.2. Sellüloz Molekülü



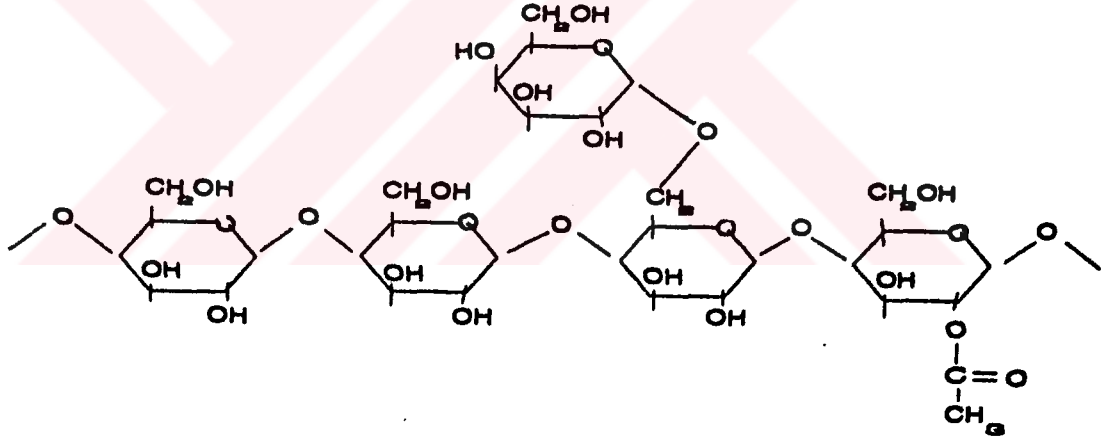
Sellülozla birlikte bulunan hemisellüloz ise çeşitli pentoz ve heksozlar ile birlikte üronik asitlerden oluşmuştur ve kimyasal yapı itibariyle sellülozla bir benzerliği yoktur. Hemisellüloz polisakkaridi sellülozun bir prekürsörü olmayıp iki gruba ayrılır. Bunlar;

a) Ksilanlar

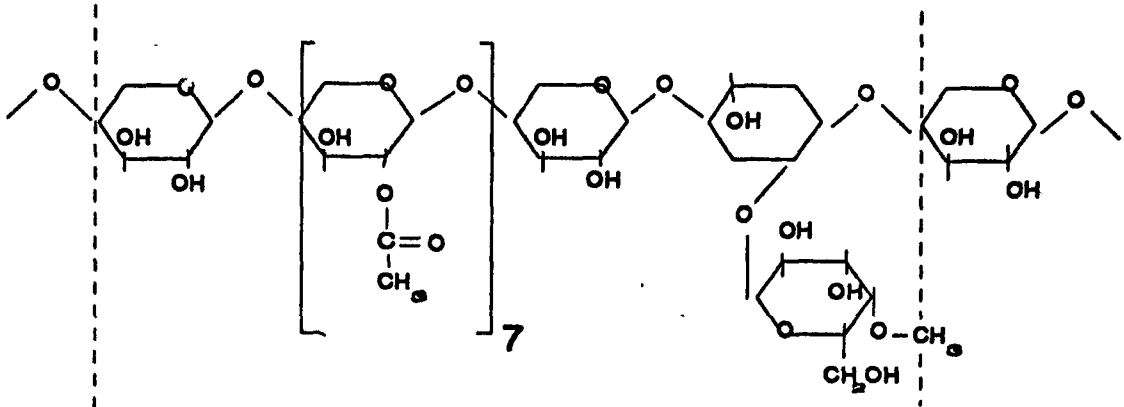
b) gluko ve galakto-gluko mannanlar'dır.

Hemiselülozlar temel olarak D-glükoz, D-mannoz, D-ksiloz ve L-arabinoz ünitelerinin birlikte değişik kombinasyonlarla ve çeşitli glikozidik bağlarla birleşmeleri sonucu oluşurlar ve aynı zamanda üronik asitleride içerebilirler. Angiosperm tür bitkilerdeki hemiselülozların büyük bir kısmı ksilan tipte olup, gymnosperm tür bitkilerdeki ise gluko ve galakto-mannan tiptedirler. Kaba yemlerdeki hemiselülozlar β -1,4 bağlı D-glükoz üniteler ile metilglukronik asit ve sıklıkla glükoz, galaktoz ve arabinoz içeren yan zincirlerden oluşmuş ksilan ana zincirini içermektedirler (73).

Şekil - 1.3. Glukomannan yapısı



Şekil - 1.4. Ksilan yapısı



Karbonhidratların rumen mikroorganizmalarınca parçalanmalarından sonraki başlıca son ürünler; asetik, propiyonik ve bütirik asitler ile karbondioksit ve metan gazlarıdır. Pirüvik, suksinik ve laktik asitler ara metabolizmada önemli olup, laktik asite bazen rumen sıvısında rastlanabilmektedir. Ayrıca az miktarda olmak üzere amino asitlerin rumende deaminasyonu sonucu yağ asitlerine de rastlanır. Bunlar; valin'den izobütirik, prolinden valerik, izolöysinden 2-metil 7-bütirik ve löysinden 3-metil bütiriktir. Uçucu yağ asitlerinin rumen sıvısındaki toplam konsantrasyonu 2-15 gr./Lt. arasında değişmektedir ki bu miktar rasyona bağlıdır. Predominant olan asetik asit olup sellülozdan zengin kaba yemler asetik asit miktarını arttırmaktadır. Rasyonda konsantre yem payı artırıldığında ise asetik asit miktarı düşmekte, propiyonik asit miktarı artmaktadır.

Tamamiyle konsantre yemden oluşan bir rasyon verildiğinde propiyonik asit miktarı asetik asit miktarını aşabilir. Bu tür rasyonlarda bile rumen protozoları hayatiyetlerini koruyorlar ise asetik asit predominantlığını sürdürülebilmektedir. Yetişkin bir sığır tarafından üretilen asitlerin miktarı günlük olarak 4Kg. 'ın üzerinde olmaktadır.

Üretilen asitlerin büyük bir kısmı rumen, retikulum ve omasumdan emilirken geri kalan kısmı abomazum ve ince barsaklardan emilmektedir. Ayrıca rumende sindirilen karbonhidrat ürünlerinin bir bölümü bakteri ve protozoonlarca kendi hücre polisakkaritlerinin yapımında kullanılmaktadır. Ayrıca az miktarda polisakkarit rumen mikroorganizmalarında depo edilmektedir. Bu şekilde mikroorganizmalarca barsaklara geçen karbonhidrat miktarı 5-6 gr.'ı aşmamaktadır. Bu durum ruminantlarda aynı zamanda beslenmeye bağlı bir hipergliseminin meydana gelmemesinin nedenini de açıklamaktadır. Ruminant yem tüketimini takiben saatte 30 Lt.'nin üzerinde gaz oluşturur ki rumen gazlarının tipik kom-

pozisyonu % 40 karbondioksit, % 30-40 metan, % 5 hidrojen ile birlikte değişen miktarlarda oksijen ve azottur. Karbondioksit; fermentasyonun bir yan ürünü ve organik asitlerin tükürükteki bikarbonatla reaksiyonu sonucunda ortaya çıkmaktadır. Metan oluşumu ise; karbondioksidin hidrojen ile redüksiyona uğraması ve bir kısmının formattan üretilmesiyle olmaktadır. Metanojenesis folik asit ve vitamin-B₁₂'yi de içeren komplike bir işlem olup, sindirilen her 100 gr. karbonhidrattan yaklaşık 4.5 gr. metan oluşmakta ve ruminant. yem enerjisinin yaklaşık % 7'sini metan olarak kaybetmektedir. Besin maddeleri sindirimini engelleyen faktörlerin başında lignin miktarı gelmektedir (101). Örneğin % 5 lignin içeren çayır otunda sellülozun sindirilebilirliği % 80 iken, bu oran % 10'a çıktığında sellüloz sindirilebilirliği % 60 'ın altına inmektedir. Aynı şekilde sellüloz sindirimi rasyonun artan şeker ve nişasta miktarıyla azalmaktadır.

Rumende karbonhidratların yıkılmasıyla başlıca asetik asit ve propiyonik asit şekillendiği halde proteinlerin yıkılmasıyla bütirik asit oluşmaktadır. Uçucu yağ asitlerinin % 50-60'ını asetik asit, % 20 - 25'ini propiyonik asit ve % 15-20'sini bütirik asit oluşturmaktadır. Kısa zincirli yağ asitleri emilmeden önce değişikliklere uğrayabilmektedirler. Örneğin bütirik asidin bir kısmı asetik aside propiyonik aside ve valerik aside çevrilebildiği halde propiyonik asit olduğu gibi emilir. Ayrıca yağ asitlerinin çevrimi rumen duvarı epitelinde de devam etmektedir. Bir miktar bütirik asitle asetik asit keton cisimlerine çevrilmektedir. Bu tür bir çevirim propiyonik asitte görülmemektedir. Rumenden emilen kısa zincirli yağ asitlerinin büyük bir kısmı karaciğerde değerlendirilmektedir. Ruminant kanında kısa zincirli yağ asitlerinin yoğunluğu monogastriklerinkinden daha fazladır buna karşın ruminant kanında glikoz miktarı daha düşüktür. Rumende şekillenen kısa zincirli yağ asitleri önemli bir enerji kaynağı olup ruminantın yaşama payı enerji gereksiniminin tamamını veya toplam enerji gereksiniminin % 50'sini karşılamaktadır. Asetik asit süt yağının sentezi için en önemli bir ana

maddedir, ayrıca asetik asit süt sentezi için gerekli enerjinin bir kısmını da sağlamaktadır. Propiyonik asit karbonhidrat sentezi için önemli bir madde olup süt Őekerinin sentezinde büyük rol oynar. Propiyonik asit bazı amino asitlerin sentezine de katılmaktadır. Btrik asit ise gerek süt yağı ve gerekse süt Őekeri sentezine girmesinin yanı sıra süt proteininin sentezinde de yer almakta, aynı zamanda süt oluŐumunu enerji yönünden desteklemektedir. Asetik asit süt yağının sentezine % 70, Laktoz ve protein sentezine ise % 15-20 oranında katılmaktadır. Propiyonik asidin süt yağı sentezine katılımı düşük olduğu halde laktoz sentezindeki payı % 60 kadardır. Btrik asidin süt yağı sentezine etkisi azdır, süt proteinine katılma payı her iki asitten daha yüksek olup % 40 kadardır.

1.2.3. Ligninin biyosentezi ve Oluşumu

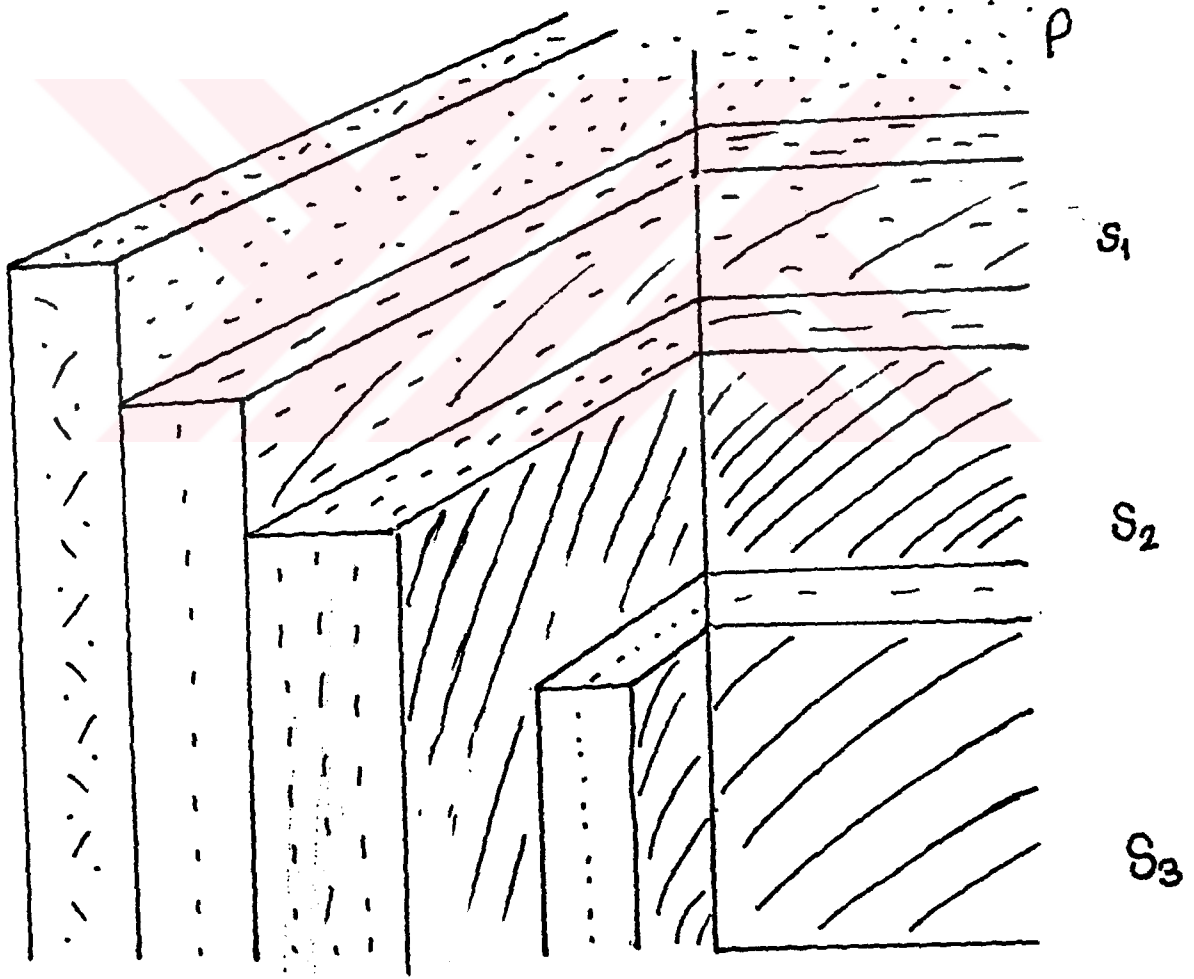
Bitki hücre duvarının temel bir unsuru olan lignin fenil propan birimlerinin düzensiz bir biçimde birbirleriyle çeşitli bağlar aracılığıyla bağlanması sonucu oluşan aromatik bir bileŐiktir (55). İlk olarak 1865 yılında izole edilerek tanınlanmıŐtır.

Bitki dokularının kuru ağırlığında % 1-40'a kadar değişen değerlerde bulunmaktadı. En yüksek lignin miktarına gymnosperm bitkilerde (am, kayın gibi) rastlanmaktadır. Bununla beraber odun dokularının genellikle % 15-35'ini oluşturmaktadır. Lignin hemisellülozla birlikte bir matriks oluŐturarak sellüloz mikrofibrillerini korumaktadır.

Bitkilerin evrimi üzerine yapılan çalışmalar karasal bitkilerin her yönden eşit hidrostatik basınca maruz kalan basit sucul bitkilerden köken aldığını göstermektedir. Karasal bitkiler her zaman yer çekimi, yağmur, rüzgar gibi mekaniksel zorlamaların etkisi altında bulunduğundan bu zorlamalara karşı koya-bilmek için ligninle kuvvetlendirilmiŐ destek organları geliŐtirmiŐlerdir. Diğer bir değişle lignifikasyon bu destek organlarının varlığı ile ilgilidir. Bu yüzdendir ki

lignin karakteristik olarak gymnospermlerde, angiospermlerde ve likopodlarda bulunmaktadır (43). *Pinus radiata* çam türüne ait hücre duvarında lignifikasyon ultraviyole mikroskopla incelendiğinde hücre duvarının bölümlere ayrıldığı gözlenmektedir. Bunlar sırasıyla en dışta primer duvar, daha sonra hücreler arası boşluk ve en içte sekonder duvardır. sekonder duvar ise dıştan içe doğru S_1 , S_2 ve S_3 olmak üzere alt bölümlere ayrılmıştır (100).

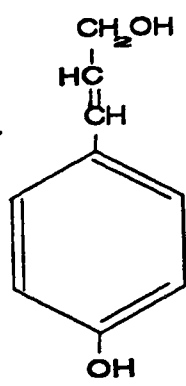
Şekil - 1.5. Bitki hücre duvarı



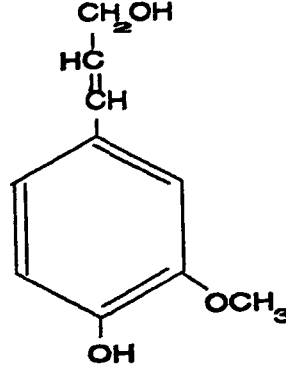
Ligninin oluşumu ile ilgili çeşitli radyoizotopik çalışmalar lignifikasyonun farklılaşmış odun hücrelerinde primer duvara komşu hücrelerin köşelerinden başlayarak hücreler arası başluğa, primer ve sekonder duvara doğru yayıldığını göstermiştir. Odun hücrelerindeki toplam lignin miktarının yaklaşık % 70-80'inin sekonder duvarda % 9-10'unun hücre köşelerinde, % 10-16'sının hücreler arası boşlukta yer aldığı saptanmıştır (105).

Lignin, şikimik asit-sinamik asit metabolik yoluyla L-fenilalanin ve L-tirozinden sentezlenmektedir. Şikimik asit ve sinamik asit ise şekerlerden oluşmaktadır. L-fenilalanin ve L-tirozin lignin biyosentezinde rol oynayan iki önemli aromatik asittir. L-fenilalanin pek çok bitkide bulunan esansiyel bir amino asit olup fenilalanin amonyak liyaz enzimi ile transsinamik aside (sinamik asit) dönüşmektedir. Yapılan çalışmalar lignin biyosentezinin angiosperm ve gymnospermlerde L-fenilalaninden, çimlerde ise L-fenilalanin ve L-tirozinden oluştuğunu göstermiştir. Buna bağlı olarak sinamik asit özgül hidroksilazlarla trans- p-kumarik aside, daha sonra kafeik aside hidroksile edilmektedir. Kafeik asit, O-metiltransferazlarla ferulik aside dönüşmektedir. O-metiltransferazlar bitkilerde yaygın olarak bulunan ve metilasyonu sağlayan enzimlerdir. Oluşan ferulik asit hidroskilasyon ve metilasyon kademeleriyle sinapik aside dönüşmektedir. Ferulik asit ve sinapik asit; hidroksisinnamat CoA liyaz, hidroksisinnamil CoA redüktaz ve hidroksisinnamil alkol oksidaz sistemleriyle sinapil alkollere indirgenmektedir. Sonuçta sinapik asitten sinapil alkol, ferullik asitten koniferil alkol ve p-kumarik asitten p-kumaril alkoller ligninin öncül molekülleri olarak oluşmaktadır (43).

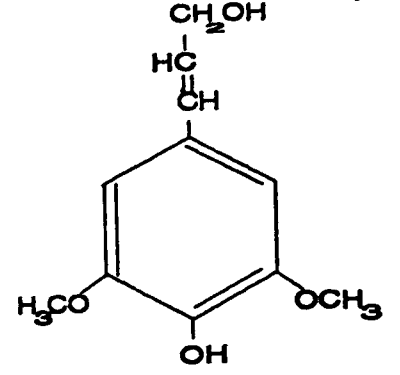
Şekil - 1.6. Lignin prekürsörleri



P-kumaril alkol



Koniferil alkol

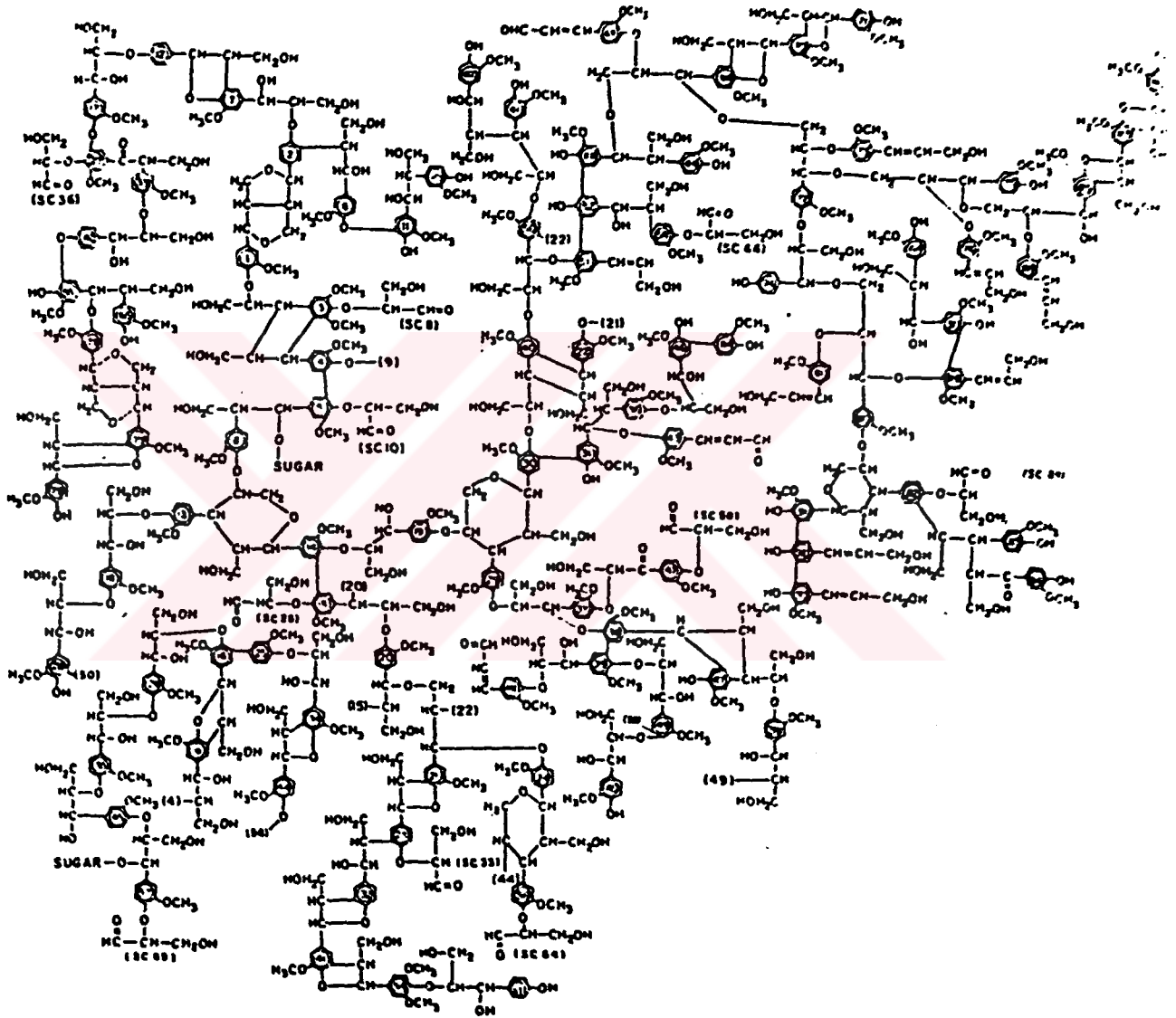


Sinapil alkol

Sinapil alkoller oksidatif polimerizasyona uğrayarak serbest mezomerik radikal şekillerine dönüşmektedirler. Bu aşamada fenol okside edici enzimler (lakkaz : O_2 , peroksidoz : $H_2 O_2$) görev almaktadır (52, 43, 105).

Lignin polisakkarit kompleksinin oluşumu üzerine pek çok çalışma yapılmıştır. Özellikle lignin polisakkarit kompleksini ayırma ve inceleme yöntemleri ligninin polisakkaritlerle bağlantısının hemisellülozla olduğunu gösterilmiştir (36). Lignin, özellikle hemisellüloz birimleri olan ksiloz, arabinaz ve galaktrozla kovalent veya hidrojen veya Van der Waals bağlarıyla bağlanmaktadır. Bununla birlikte yapılan çalışmalar sonucu ligninin polisakkaritlerle bağlanmasında kovalent bağların daha etkin olduğu bildirilmiştir (31, 40). Yapılan çalışmalarla lignin polisakkarit oluşumu üzerine bazı modeller (40) oluşturulmuştur (Şekil 1.7).

Şekil - 1.7. Lignin Molekülü



1.2.4. Lignosellülozlu Materyalin Delignifikasyonu

1.2.4.1. Lignosellülozlu Materyalin Fiziksel ve Kimyasal Yöntemlerle Sindirilebilirliklerinin Arttırılması

Bitki hücre duvarında bulunan lignin kompleksini yıkımlayarak saman gibi düşük değerlikli lignosellülozlu artıkları değerli bir yem haline getirmeye yönelik çalışmalar yüz yılımızın başından beri devam edegelmiştir. Bu çalışmalar daha çok fiziksel ve kimyasal metodlar üzerinde yoğunlaşmıştır.

Kimyasal yöntemler arasında samanın asit ve alkalilerle muamelesi üzerinde durulmuş, bunlar arasında; alkol (1), formik asit (126, 127), kalsiyum klorür (128), silaj yapma (86), üre (18, 19, 21, 22, 81, 111, 112), biüre (3), organik klor (128), amonyak (15, 44, 67, 76, 91, 96, 98, 99, 132), formaldehid (106, 126, 106, 127), amonyum hidroksit (41), hidrojen peroksit (48, 49, 78, 107, 110), ferroklorür (67), ferri nitrat (67), ferri sodyum tartarat (67), potasyum hidroksit (9, 103, 104), sodyum klorit (128), sodyum hipoklorit (128), sodyum peroksit (63), hidroklorik asit, sülfürik asit ve özellikle de sodyum hidroksit (45, 46, 63, 84, 103, 128) üzerinde çalışılmıştır.

Fiziksel yöntemler arasında ise; su emdirme (64), kaynatma (64), otoklave etme (38, 64, 113), ısıtma (85, 113, 129), doğrama (46), irradasyon (128), ince öğütme, un haline getirme üzerinde çalışılmıştır. Fiziksel metodlar uygulamaları sırasındaki enerji sarfiyatı gibi ekonomik nedenler ve sonuçlarının yetersiz olması nedeniyle uygulama alanı bulamamış, kimyasal metodların ise çevre kirliliğine yol açmaları pratiğe aktarımlarını engellemiştir.

Bunlar arasında sodyum hidroksit, üzerinde en çok çalışılan alkali olmuş, ancak gerek uygulama zorluğu ve gerekse sodyum hidroksitin samandan

ayrılması sırasında yapılan yıkama işleminde çok fazla miktarda suyun kullanılarak çevre kirliliğine yol açılması ve yıkamayla eriyebilir besin maddelerinin kaybı nedeniyle pratiğe aktarılamamıştır. En çok kullanılan bir diğer kimyasal madde olan amonyak ve üre ile muamele ise lignin kompleksini yakmayıp sadece samanı azot yönünden takviye eden bir yöntem olarak kalmıştır.

1.2.4.2. Ligninin Biyolojik Parçalanması

Yaşlı Dünyamızın kimyasal atık ve artıklarla giderek kirlenmesini önlemek ve daha ekonomik bir fayda sağlayabilmek için çalışmalar giderek artan bir hızla biyolojik metotlara kaydırılmaktadır.

Mikroorganizmaların buldukları ortam ve metabolik aktiviteleri göz önüne alınarak mikrobiyoloji; tıbbi mikrobiyoloji, veteriner mikrobiyoloji, tarım mikrobiyolojisi, toprak mikrobiyolojisi, deniz mikrobiyolojisi ve endüstriyel mikrobiyoloji gibi bölümlere ayrılmıştır. Çok geniş çalışma alanı olan endüstriyel mikrobiyoloji mikrobiyolojinin ekonomik yönü olan her konusu ile ilgilidir. Endüstriyel mikrobiyolojinin uygulama konuları arasında; organik çözücülerin ve organik asitlerin elde edilmesi, alkollü içkilerin yapımı, dekstanların elde edilmesi, amino asitlerin elde edilmesi antibiyotiklerin elde edilmesi, enzimlerin elde edilmesi, vitaminler ve diğer gelişme faktörlerinin elde edilmesi, çeşitli gıdaların elde edilmesi, steroidlerin transformasyonu, besin maddelerinin protein miktarının artırılması, çeşitli virus ve bakteri aşularının elde edilmesi çeşitli amaçlar için kullanılan hidrojen, karbondioksit gibi gazların elde edilmesi, biyogaz üretimi ve atık maddelerin değerlendirilmesi bulunmakta ve her geçen gün yeni uygulama alanları katılmaktadır.

Tarımsal artıkların değerlendirilmesi üzerine yapılan ilk çalışmalar uzak doğuda odun çürütücü fungusların ormanlık arazideki artık ağaç kütükleri

üzerine yapılan ekimleri ve sonucunda odun üzerindeki etkilerinin incelenmesiyle başlamıştır (68, 14).

Bitki hücre duvarı polimerlerinin biyolojik olarak ayrışması mikroorganizmalarca sentezlenen enzimlerle biyokimyasal olarak gerçekleşmektedir. Bitki hücre duvarı polimerlerinin enzimler veya diğer bileşikler arasındaki ilişkileri hidrolitik yada oksidatif bir olay şeklinde olmaktadır. Çünkü duvar polimerleri olan sellüloz, hemisellüloz ve lignin suda çözünmeyen moleküler yapıya sahip ve fiziksel olarak birbirleri ile sıkı ilişki halindedirler. Bitki hücre duvarında sellüloz mikrofibrilleri hemisellülozla ve her ikisinde lignin muhafazası içerisinde bulunmakta olup lignifiye dokuların sindiriminde lignin miktarının rolü önemlidir. Lignin içeriği ne kadar fazla ise sellüloz ve hemisellülozun sindiriminde o denli az olmaktadır (36).

Bitki hücre duvarında lignin engelinin kaldırılmasında 3 biyolojik mekanizma görev almaktadır. Bunlar :

1) Böcekler : Fiziksel olarak bitkiyi parçalarlar ki bu durum ağız organlarının kuvvetine bağlıdır. Böcekler genellikle selüloz ve hemisellülozdan yararlanırlarsa da bazı türlerin lignini sindirdikleri radyo izotop çalışmalarıyla ortaya konmuştur. Buna göre örneğin bir termit olan *Nasutitermes exitiosus*'un sindirim sisteminde C^{14} ile işaretli ligninin karbondioksitde çevrildiği bildirilmiştir. Bundan başka bazı *Coleoptera*, *Isoptera*, *Hymenoptera* cinsi böcek türlerinin de lignini sindirebildikleri bilinmektedir.

2) Bakteriler : *Pseudomonas*, *Xantomanas*, *Nocardia* cinsi bazı bakteri türlerinin uzun bir inkübasyon süresi sonunda lignini parçalayabildikleri, yine bazı *Mycobacterium*, *Arthrobacter*, *Aeromonas* ve *Flavobacterium* türü bakterilerin de parçalanmada rol oynadıkları saptanmıştır.

3) Funguslar : Bazı tür yüksek funguslar lignini parçalayarak polisakkaritleri serbest hale geçirmektedirler. Bu tür fungusların bitkide meydana getirdikleri parçalanmaya çürüme adı verilmekte olup 3 tür çürüme oluşturmaktadırlar. Bunlar; a) beyaz çürüme, b) kahverengi çürüme, c) yumuşak çürümedir (34, 51, 52, 56, 62).

Lignin dahil tüm odun bileşenlerinin parçalanması ile meydana gelen ve sağlam odundan daha açık renge dönüşmüş odundaki çürümeye beyaz çürüme ve buna neden funguslara da beyaz-çürükçül funguslar (*Coriolus versicolor*, *Phanerochaete chrysosporium* vb.) adı verilmiştir. Yapıdaki lignin parçalanmadığı halde sellüloz ve hemisellülozun parçalanması ile meydana gelen ve sağlam oduna oranla kahverengiye dönüşen odunda meydana gelen çürümeye kahverengi-çürüme ve bu tip çürümeden sorumlu funguslara kahverengi çürükçül funguslar (*Goelphyllum trabeum*, *Poria placenta*, *Merulius lacrymans* vb.) adı verilmiştir. Kahverengi çürükçüller sellülozu parçalayıp lignini parçalayamadıklarından renkleri ve ortamda bıraktıkları kalıntı ligninden ötürü kahverengidir. Yumuşak çürükçül funguslar ise *Ascomycetes* ve *Fungi imperfecti* sınıfına dahil olup (*Chaetomium globoosum*, *Paecilomyces* spp., *Allescheria* spp., vb.) bu tür çürümede lignin parçalanması polisakkarit parçalanmasının gerisinde kalmaktadır. Bu tip çürümeden sorumlu olanlara da yumuşak -çürükçül funguslar adı verilmektedir (51, 82, 83)

Beyaz ve kahverengi çürükçül funguslar taksonomik olarak birbirleriyle yakın ilgili olmalarına rağmen lignin üzerine olan etkileri sellüloza olduğu gibi farklıdır. Her iki grup fungusun lignini aynı reaksiyonlarla parçalamaları mümkündür. Ancak kahverengi-çürükçül funguslarda bazı reaksiyonlar bloke edilmiş olup bunlar gerçekleşmemekte ve polimer tamamiyle dekompoze olamamaktadır. Yumuşak çürükçül fungusların diğer polisakkaritleri lignine oranla

daha hızlı kullandıkları, beyaz-çürükçül fungusların tüm lignosellülozlu maddeleri eş zamanlı olarak metabolize ettikleri, kahverengi-çürükçül fungusların ise yalnızca lignin dışındaki polisakkaritleri kullanabildikleri, buna bağlı olarakta lignini ortama artık olarak bıraktıkları ve ortamın kahverengi olduğu saptanmıştır (61).

Beyaz-çürükçül funguslarla yapılan çalışmalar lignin parçalanmasının aerobik şartlarda, oksidatif bir süreç içerisinde, özgün olmayan bir sistemle gerçekleştiğini göstermiştir. Lignin parçalanmasının anaerobik süreci gözlenmemiş olup Dünya kömür yatakları bunun en iyi kanıtıdır.

Lignin polimerinin parçalanmasındaki başlıca oksidatif reaksiyonlar; propil yan zincirinde oksidatif ayrılmalar, metoksil gruplarının demetilasyonu ve aromatik halka açılmasıdır (60, 62, 95). Fungusların lignini parçalamaları sekunder metabolizmaya bağlı olarak üremenin duraklama fazında, aerobik koşullarda, sınırlı azot kaynaklarının varlığında ve sellülozun kosubstrat olarak kullanıldığı ortamlarda olabilmektedir (39). Lignin parçalanmasının enzimatik ve enzimatik olmayan mekanizmalarla gerçekleştirildiğine dair farklı görüşler mevcuttur.

Enzimatik olmayan mekanizmada başlangıç parçalanmasında çeşitli oksijen türlerinin görev aldığı öne sürülmektedir. Bu durumun oksijenin serbest radikalleri etkisiyle oluştuğu ve hidroksi radikallerin lignin parçalanmasından sorumlu olabildikleri ileri sürülmüştür. Bir diğer değişle moleküler oksijenden türeyen süperoksit radikalleri gibi diffüze olabilen türler lignin parçalanmasından sorumlu olabilmektedirler. Aktif oksijen türleri olarak kabul edilen süper oksit anyon radikalleri (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksi radikaller (OH), ve singlet oksijen ($.O_2$) lignin parçalanmasında rol oynayan oksidant türleridir. Özellikle son iki tür kuvvetli oksidant karakterde olup lignini okside edebilmektedir (7, 37, 77).

Lignin parçalanmasında etkili olan funguslarda (örneğin : *Coriolus versicolor*'un süper oksit anyon radikalleri, *Phanerochaete chrysosporium*'un hidroksil radikalleri ve yine bir çok fungus türünün hidrojen peroksit ürettiği) bu aktif oksijen türlerinin üreme ortamlarında ortaya çıktığı tesbit edilmiştir. Lignifikasyon başlangıç oluşumunda moleküler oksijene gereksinirken ilginç olanı bazı fungusların lignin parçalanmasında oksijen konsantrasyonuna çok hassas olmaları ve düşük konsantrasyonlarda bu işlemi gerçekleştirememeleridir. Bakterilerin lignin parçalamaları üzerine yeterli bilgi mevcut olmayıp ksilem dokuların parçalanmasında öncül bir role sahip değil gözükmemektedirler. Bir hipotez olarak lignin polimerinin parçalanması her iki yan zincirde bulunan α - karbonil ve α - karboksil grup formasyonlarıyla ve fenolik ünitelerin 3,4-dihidroksifenil parçalarına demetilasyonu takip ederek oksidatif olarak yarılan aromatik çekirdekte olmaktadır. Bu şekilde yarılan halkada devam eden erozyonla alifatik ürünler ve fenolik hidroksiller doğuran ünitelerin ardışık bir şekilde salındığı tahmin edilmektedir.

Ligninin başlangıç parçalanma mekanizmasının enzimatik olarak gerçekleştiği fikrini ileri sürenler bu süreçte 4 oksidatif enzimin görev aldığını belirtmekte olup, Bunlar; fenol oksidazlar (lakkaz, peroksidad) alkol oksidazlar, sellobiyoz oksidaz ve sellobiyoz dehidrojenazlardır (124). Fenol oksidazlar lignin parçalanmasında görev alan önemli enzimlerdir. Nitekim beyaz-çürükçül fungusların kahverengi-çürükçüllere oranla lignin parçalanmasında daha etkin rol oynamaları onların fenol oksidaz aktivitelerine bağlanmaktadır. Aynı şekilde *Phanerochaete chrysosporium* kültürleriyle yapılan çalışmalarda peroksidad enzimi saptanmıştır. *Sporotrichum pulverulentum*'un fenol oksidazsız mutanı ve fenol oksidaz aktiviteli mutanın lignin parçalamadaki rolü araştırıldığında fenolok-

sidazsız mutantlarda odun ve kraft (sülfat) ligninin parçalanamadığı, fenol oksidaz aktiviteli mutantlarının ise odun ve kraft ligninini parçaladıkları saptanmıştır. Ayrıca fenol oksidazsız mutantlarda sellüloz ve ksiloz enzimlerinin sentezinde lignin bileşiklerinin varlığında inhibe edilmektedir. Fenol oksidazsız mutantların bulunduğu kraft lignini içeren ortama lakkaz eklenmesiyle endo-1-4- glukonaz sentezinin arttığı gözlenmiştir. Bütün bu verilere karşın fenoloksidazların lignin parçalanmasında tek başlarına etkili olmadıkları kabul gören yaygın bir kanıdır. Ligninin biyolojik parçalanmasında görevli olan alkol oksidazlar ligninde bulunan primer alkol gruplarının okside edilmesinden sorumludurlar, reaksiyon sırasında H_2O_2 üretilmektedir. Bu enzimler alkil zincirindeki ve β -karbon atomları arasındaki bağları okside etmektedirler. Sellobiyoz oksidaz enziminde oksijenin serbest radikallerini arttırarak ligninin biyolojik parçalanmasında görev almaktadır. Sellobiyoz dehidrojenaz enzimi de fenol oksidazların oluşturdukları minon ve radikalleri indirgemektedir, böylelikle ligninin yeniden sentezi önlenmektedir (31, 34, 52, 53, 69).

Ligninin biyolojik parçalanması ile ilgili veriler mekanizmanın biçimini ve bundan sorumlu enzim sistemlerinin neler olduğunu tamamiyle açıklığa kavuşturamamıştır. Bir enzimler sistemi şeklinde oldukça kompleks bir şekilde ve birbirlerini tamamlayarak seyreden bu olaydaki enzim sistemlerine kısaca ligninaz adı verilmektedir.

1.2.4.2. Funguslar ve Sitematikteki Yerleri

Funguslar bitkiler alemi içinde yer alan canlılar olup hareket etme yeteneklerinin olmayışı, hücre duvarının bulunuşu ve sporla çoğalmaları nedeniyle bitki kabul edilmektedirler. Genellikle çok hücreli olmaları, hücre çekirdeği etrafında bir membran varlığı ve nükleusa sahip olmaları nedeniyle bakteriler-

den, klorofil içermemeleri nedeniyle de alglerden ayrılırlar. Yine klorofilden yoksun olmaları, kök, gövde, yaprak, tohum gibi organellerinin olmayışı ile yüksek bitkilerden farklıdır. Klorofilsiz olmaları funguslar karbon sentezi yapmaktan alıkoyan bir özelliktir bu yüzden gereksindiği karbonu çevre dokulardan sağlamak zorundadır, yani karbon açısından heterotrofturlar. Canlı veya ölü dokulardan veya artıklarından yararlanarak beslenip gelişebilirler. Funguslar diğer bitki ve alglerden ayıran bir başka özellikte kimyasal yapı farklılığıdır. Yüksek bitki ve alglerdeki nişasta birikiminin aksine funguslarda glikojen akümülyasyonu söz konusudur (14).

Bazı fungus türleri yaşamlarını yalnızca canlı varlıklar üzerinde sürdürülebilir, ölü dokularda gelişemezler, bunlara parazitik funguslar adı verilir. Bunun tersi durumundaki saprofitik funguslar ise çürümüş ve çürümekte olan artıklar üzerinde gelişebilirler. Diğer bazı funguslar ise üzerinde buldukları canlılarla ortak bir yaşam halindedirler simbiyotik bir yaşam biçimi olarak anılan bu durumda fungus ve konakçı karşılıklı olarak birbirlerinden yararlanırlar. Gıda olarak tüketilen funguslar saprofitiktirler. Bu nedenle doğada ölü vejetasyonun bol olarak bulunduğu ortamlarda yani ormanlarda çayır ve meralarda, çeşitli artıkların bulunduğu ortamlarda görülmektedirler. Yetiştiriciliklerde buna benzer olarak sap, saman, gübre, talaş, yaprak gibi ölü organik maddeler üzerinde gerçekleştirilir.

Yer yüzündeki mevcut bitkiler 4 grup içerisinde sınıflandırılırlar. Bunlar;

- *Thallophyta* (talli bitkiler)
- *Byrophyta* (yosunlar)
- *Pteridophyta* (eğrelti otları)
- *Spermatophyta* (tolumlu bitkiler)

Funguslar *Tallopita* grubu içerisinde yer almaktadırlar. Talli bitkiler olarak adlandırılan bu canlılar oldukça ilkel olup talli adı verilen tek veya çok hücreli yapılardan oluşurlar. Talli bitkiler organizmalarında klorofil bulunup bulunmaması bakımından ikiye ayrılırlar;

- klorofilli talli bitkiler (mavi ve yeşil algler)
- klorofilsiz talli bitkiler (funguslar)

Algler ve mavi algler nemli yüzeylerde veya sularda yaşayan akuatik canlılardır. Buna karşın funguslar büyük çoğunlukla karasal hayata adapte olmuştur, yalnızca çok ilkel bazı fungus türleri su içerisinde yaşamaya devam etmektedir. 110.000'e yakın fungus türü tesbit edilmiş olup ancak mikroskop altında görülebilenlerinden dev yapılı olanlara kadar büyük bir çeşitlilik içerisinde ayrı bir dünya oluşturmaktadırlar. Büyük bir bitki grubunu oluşturan funguslar her yönden tamamiyle incelenememiş olduklarından mevcut bilgiler yetersizdir. Bundan ötürü fungusların sınıflandırılması çok güçleşmektedir (68).

Modern sistematikçiler fungusları cıvık funguslarla beraber *mycota* divizyonu altında değerlendirmektedirler.

Mycota divizyonu da 2 alt bölüme ayrılır;

- *Myxomycotina* (cıvık funguslar)
- *Eumycotina* (hakiki funguslar)

Örneğin çalışmalarımızda kullanılan *Agaricus bisporus* fungusunun sistematigi aşağıdaki gibidir.

Alem	: <i>Plantae</i>
Grup	: <i>Thallophyta</i>
Şube	: <i>Mycota</i>
Alt şube	: <i>Eumycotina</i>
Sınıf	: <i>Basidiomycetes</i>
Alt sınıf	: <i>Homobasidiomycetidae</i>
Takım	: <i>Agaricales</i>
Familya	: <i>Agaricaceae</i>
Cins	: <i>Agaricus</i>
Tür	: <i>Agaricus bisporus</i>

Eumycotina (hakiki funguslar) 8 sınıf ve 1 form sınıf içerisinde toplanmışlardır. Bunlar :

1. *Chytridiomycetes*
2. *Hyphochytridiomycetes*
3. *Plasmodiophoromycetes*
4. *Oomycetes*
5. *Zygomycetes*
6. *Trichomycetes*
7. *Ascomycetes*
8. *Basidiomycetes*
9. *Deuteromycetes (Fungi imperfecti)*

Funguslar iklimsel istekler açısından seçici bitkilerdir. Özellikle ısı, nem, havalandırma gereksinimleri değişik gelişme dönemlerinde farklılıklar gösterir. Optimal değerler oldukça dar sınırlar içerisinde bulunmaktadır. Optimum ısı istekleri genellikle 20 - 30 C° arasında değişir. Yaşayabildikleri ısı dere-

celerine göre psikofilik (10 C° 'ye kadar), mezofilik (10 - 40 C° arası), ve termofilik (40 C° 'nin üzeri) olarak sınıflandırılabilirler. Gelişme dönemlerine göre ısı gereksinimleri değişmektedir. Örneğin çalışmalarımızda kullandığımız *Agaricus bisporus*'un misel gelişimi 23-25 C° 'de olurken karpofor meydana getirme aşamasında ısı isteği 14 - 16 C° arasındadır. Nem miktarının ise % 70 civarında olması yeterlidir. Işık konusunda fazla seçici değildirler. Ancak örneğin *Agaricus bisporus* gelişme ve fruktifikasyon döneminde ışığa gereksinmezken yine çalışmalarımızda kullandığımız *Pleurotus* türleri fruktifikasyon dönemlerinde ışığa gereksinmektedirler. Yapılan analizlerde mantarların genellikle C, H, O, P, K, N, S, Fe, Mg, Mo, Cu, Zn, B, Ca gibi elementlere gereksindikleri ortaya çıkmıştır. Gelişme ortamının asiditesi önemli olup funguslar asit ortamı bazik ortama tercih etmektedirler. Genellikle optimum Ph gereksinimleri 6 civarındadır (14).

Toplam amino asit miktarının % 25 - 40'ını esansiyel amino asitler oluşturmakta, yine toplam amino asitlerinin % 25 - 35'ini serbest amino asitler oluşturmaktadır. Funguslar türe göre değişmek üzere kuru ağırlığın % 9-44 arasında değişen miktarlarda ham protein içeriğine sahiptirler. Ham yağ miktarı ise kuru maddenin % 1 - 20'si arasında değişmektedir. Ham yağ serbest yağ asitleri, mono, di- ve trigliseridler, steroller, sterol esterler ve fosfolipidlerde dahil tüm yağ bileşiklerini içermektedir. Karbonhidrat olarak pentozlar (ksiloz ve riboz), metil pentozlar (ramnoz ve fukoz), heksozlar (glukoz, galaktoz ve mannoz), disakkaritler (sukroz), amino şekerler (glukozamin ve N-asitilglukozamin), şeker alkoller (mannitol ve inositol), şeker asitler (galakturonik ve glukuronik asit) ve henüz tam olarak tanımlanamamış üronidler ve metil şekerleri ve özellikle mannitölü fungus türüne bağlı olmakla beraber yüksek konsantrasyonda içerirler. Polimerik karbonhidratlar yüksek bitkilerdeki nişastanın yerine funguslarda glikojen şeklinde depolanırlar. Funguslar tiyamin, riboflavin, niyasin, biyotin ve askorbik asit gibi vitaminler yönünden iyi bir kaynaktır (14, 39, 68).

1.2.4.3. Fungusların lignosellülozlu materyal üzerine etkileri

Fungusların lignolitik aktivitelerinin bakterilerinkinden üstün olması ve uygulama kolaylığının bulunması gibi nedenlerden ötürü delignifikasyon çalışmaları funguslar üzerinde yoğunlaştırılmıştır.

Lignolitik aktiviteleri yüksek olan funguslar kâğıt sanayi atıkları olan lignin içerikli kirli suların delignifiye edilerek arıtılmasında kullanılmış ve başarılı olunmuştur (10, 16, 29, 35, 89, 97). Yine kâğıt endüstrisinde ağaç yongalarının asit ve alkalilerle muamelesi yerine funguslarla inkübasyonu sonucu gerilme, kopma ve uzama katsayıları daha yüksek ve daha beyaz kâğıt elde edildiği gibi daha az miktarda kimyasal artığın ortaya çıktığı bildirilmiştir (2, 65, 79, 92, 102, 122). Buradan hareketle lignolitik aktivitesi yüksek olan funguslarla saman gibi yüksek lignin içerikli tarımsal atık ve artıkların delignifiye edilmesine yönelik çalışmalar güncellik kazanmıştır. Lignini parçalayabilme yeteneklerinden ötürü delignifikasyon işlemi beyaz-çürükçül funguslar kullanılmaktadır. Funguslar bu parçalanmayı yapısı henüz tam olarak açığa kavuşturulamamış bir enzim kompleksi olan ligninaz enzimiyle yapmaktadırlar. Fungusların lignolitik etkinliklerinin bunların sekonder metabolizmaları ile ilgili olduğu saptanmıştır. Funguslar sekonder metabolizmaya duraklama fazına ulaştığı dönemde başlamaktadırlar (95).

Polyporus versicolor'un kullanıldığı bir çalışmada şeker kamışı lignininin % 97 oranında parçalandığı, beyaz-çürükçüllerin lignin ve lignin türevleri bulunan ortamlarda lignini karbon kaynağı olarak kullandıkları saptanmıştır (50). Bir diğer çalışmada pamuk tohumu çır çır artıkları *Pycnoporus cinnabarinus* ile 30 gün süre ile inkübe edildiğinde lignosellülozlu materyalin % 58.6'sının parçalandığı bildirilmiştir (109).

Pleurotus ostreatus beyaz-çürükçülü ve *Erwinia corotovor*a bakterisi ile inkübe edilen buğday samanında in-vitro sindirilebilirliğin % 32.7'den % 47.7'ye yükseldiği bildirilmiştir (108). Bir diğer araştırmada *Pleurotus ostreatus* ve *Pleurotus florida* ile 21 günlük inkübasyona tâbi tutulan buğday samanı ve pamuk saplarında parçalanabilirlik sırasıyla % 10.8 ve % 17.05 oranında artmıştır (87). 22 değişik fungal kültürün kullanıldığı bir başka çalışmada buğday samanının 30, 60 ve 90 günlük inkübasyonlarında 30. gün sonunda lignin kaybının % 12.5 ile 35 arasında değiştiği bildirilmiştir (75). 60 günlük inkübasyon uygulanan 45 değişik fungal kültürün kullanıldığı bir çalışmada samandaki lignin kaybı *Phanerochaete chrysosporium* ile inkübasyonda % 52.5, *Ganoderma* sp. de % 51 ve *Fomes fomentarius*' ta % 50 olarak bulunmuş, kayın ağacı talaşında ise *Armillaria* sp.' de % 33.3, *Trametes versicolor*'da % 27.6 ve *Ganoderma* sp.'de % 52.4 olarak bulunmuştur (120). Bir başka çalışmada *Stropharia rugosoannulata*, *Pleurotus florida*, *Pleurotus cornicopiae* ve *Agrocybe aegerita* ile inkübe edilen kayın talaşı, saz, kolza ve ayçiçeği samanı ile pirinç kavusunda en yüksek dekompozisyon *Pleurotus cornicopiae* ile inkübe edilen kolza samanı (% 44.5) ve ayçiçeği samanında (% 45.2) bulunmuştur. Aynı çalışmada lignolitik aktivitenin uygulanan fungusu ve substart olarak kullanılan bitkisel atığın türüne göre değişmekte olduğu, *Pleurotus florida* ile *Stropharia rugosoannulata*nın iyi bir lignin aktivitesi göstererek yüksek bir dekompozisyon yaptığı ve in-vitro sindirilebilirliği arttırmasına karşın *Agrocybe aegerita* ile inkübe edilen aynı pirinç kavusunda ligninin çok düşük miktarda dekompoze edildiği ve in-vitro sindirilebilirliğin etkilenmediği bildirilmiştir(130). Yapılan bir başka çalışmada çeşitli lignosellülozik tarımsal atıkların alkali delifikasyona uğratılmalarının fungal gelişimi stimule ettiği fakat ürün miktarında her hangi bir artışa neden olmadığı belirtilmiştir (90). Yulaf samanı kullanılan bir başka çalışmada fermentörde oksijen : karbondioksit oranı ve fermentasyon ısısının lignin kaybı üzerine etkisi incelendiğinde *Phanerochaete chy-*

sosporium fungusu ile muamele edilenlerde intermittent oksijenin % 60 - 40, karbondioksit konsantrasyonunun % 0 - 20 ve ısının 30 C° olduğunda lignin kaybının % 31.9 olduğu, *Polyporus tulpiiferae* fungusunun kullanıldığı aynı çalışmada oksijen konsantrasyonunun % 20'nin üzerinde olmasının lignin kaybı üzerine etkili olduğu bildirilmiş ve % 85 civarında sürekli bir oksijen akımı ve % 2 - 3' lük karbondioksit konsantrasyonunun % 26.9 oranında lignin kaybına neden olduğu bildirilmiştir (66). Bir başka çalışmada CO₂ 'in fungus gelişimi ve lignin yıkımı üzerine inhibitör etkide bulunduğu bildirilmiştir (131).

Diplodia gossypina fungusu ile inkübe edilen pamuk tohumu artıkları, yer fıstığı kabukları, mısır koçanı, mısır sapı ve buğday samanında inkübasyon süresi sonunda NDF, sellüloz ve hemisellüloz miktarlarındaki azalışa karşın ADF ve lignin fraksiyonları 28 günlük inkübasyon için sırasıyla ADF için % 56.2'den % 59.1'e ve lignin için % 14.6'dan % 18.7'ye yükseldiği bildirilmiştir (70). Bu fungusla inkübe edilen pamuk tohumu artıklarıyla % 40 oranında beslenen ratlarda kan kreatin ve amino asit azot seviyelerinin, düştüğü, üre azotu ve tüm kan azot miktarının değişmediği, idrar kreatin ve amino asit azotu atımının azaldığı bildirilmiştir (70). *Phanerochaete chrysosporium* fungusunun SC26 mutanı ile yapılan bir çalışmada 10 günlük bir inkübasyon sonunda buğday samanı lignin miktarında çok az bir değişim olduğu ve başlangıç seviyesini % 83.5 oranında koruduğu tesbit edilmiştir (125).

Beyaz-çürükçüller olarak *Colybia velutipes*, *Echinodontium tinctorium*, *Fomes annosus*, *Peniophora gigantea*, *Pleurotus ostreatus*, *Polyporus adustus*, *Polyporus dichrous*, *Polyporus fumosus*, *Poria taxicola*, *Schizophyllum commune*, *Stereum grustulatum*, *Stereum subpileatum*, *Stereum sanguinolentum* ve kahverengi-çürükçüller olarak *Fomes officinalis*, *Lentinus kaufmanii*, *Polyporus balsameus*, *Poria monticola*, *Trametes heteromarphan*'in kullanıldığı ve çam ve ladin ağacı ka-

bukları ile yapılan inkübasyon sonunda hemen hepsinde belirgin ağırlık kaybı olmasına rağmen *C.velutipes* ve *S.commune* funguslarıyla inkübasyonda önemsiz kayıplar olmuştur. Yine *C.velutipes* ve *S.commune* hariç tüm diğer beyaz çürükçüller çam ve ladin kabuklarındaki lignin içeriğini % 12.7 ile % 54.7 arasında azaltmışlardır (57). *Phanerochaete chrysosporium* fungusunun kullanıldığı bir başka çalışmada kavak ağacı lignininin parçalanması üzerine oksijenin kısmi basıncı incelendiğinde fungusun 2 atmosferlik basınçta da 1 atmosferlik basınçta olduğu gibi üreme ve parçalama yaparak karbondioksit ürettiği 3 atmosferik basınçta üremenin inhibe edildiği ve 4 atmosferik basınçta ise öldüğü saptanmıştır (93).

Ligninaz sentezi üzerine yapılan çalışmalarda *Phanerochaete chrysosporium*'un ligninaz üretimi üzerine sorbitan polioksietilenmonooleat ve oleik asidin arttırıcı yönte etkisi bildirilmiştir (6). Bir başka çalışmada karbon kaynağının tabiatına bağlı olarak ortama veratril alkol ilavesinin ligninaz aktivitesini arttırdığı saptanmıştır (32).

2. MATERYAL ve METOT

2.1. Materyal

2.1.1. Çalışmalarda Kullanılan Mikroorganizmalar

Çalışmalarda gerek lignolitik aktivitelerinden yararlanmak ve gerekse ligninaz enzimi üretmek amacıyla *Basidiomycetes* sınıfına ait 9 değişik fungus türü kullanıldı. Bu funguslardan *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus florida* G-9 Essen, *Pleurotus eryngii*, *Pleurotus sapidus* Ungarn HK-35, *Pleurotus flagellatus* İndien, *Pleurotus comeopia* TMI 30015 ve *Pleurotus Sajor-caju* Dr. F.Zadrazil (Almanya), *Agaricus bisporus* U-1 Köy İşleri Merkez Laboratuvarı (Ankara) ve *Phanerochaete chrysosporium* ME 446 Prof.Dr.Micheal H.Gold'dan (ABD) temin edildi. Getirilen bu funguslar yatık yeast ekstrakt agarlı besi yerinde bir hafta süre ile üretilerek elde edilen stok kültürler çalışmalarda kullanılmak üzere +4 C° 'de saklandı. Pleomorfizme engel olmak amacıyla kültürler ara sıra sıvı besi yerine ekilerek üretildi ve buradan tekrar yatık agarlı besi yerine pasajlar yapıldı.

2.1.2. Hayvan Materyali

Çalışmada Türkiye koyun varlığının % 70'ini oluşturan Akkaraman ırkına ait 2-2.5 yaşlı ortalama 70 Kg. canlı ağırlıkta 3 baş erkek toklu kullanıldı. Hayvanların aynı yaş ve ağırlıkta olmalarına dikkat edildi. Hayvanlar Bâlâ tarım İşletmeleri Genel Müdürlüğünden temin edildi. Olası iç ve dış parazitlere karşı ilaçlandıktan sonra operasyonla 4 cm. iç çapında rumen kanülleri takıldı.

2.1.3. Delignifikasyonda Kullanılan Materyal

Çalışmalarda lignosellülozlu materyal olarak yurdumuz için ekonomik önemi büyük olan ve en fazla miktarda üretilen buğday samanı kullanıldı. Çalışmalarda pratiğe aktarılabilirlik ve ekonomik oluş göz önünde bulundurulduğundan saman, patozdan çekildiği gibi doğal hali ile kullanılmıştır. Ancak tozu elenmiş ve içerisine karışmış olabilen yabancı otlardan arındırılmıştır. Kullanılan samanun partikül boyutları 1 - 5 cm. arasında değişmektedir.

2.2. Metot

2.2.1. Örneklerde kimyasal analizler

İnkübasyon öncesi ve sonrasındaki saman örneklerinde ve in-situ dene-
melerde kullanılan hayvanlara verilen rasyonlara ait besin madde analizleri
A.O.A.C.'de bildirilen analiz metodlarıyla saptandı (5).

Nötral deterjan fiber ve lignin tayinleri Van Soest metoduna göre yapıldı
(121).

2.2.2. İn - situ yıkılabilirliğin tesbiti

Funguslar ve enzimle muamele edilmiş olan saman numunelerinde in-
situ yıkılabilirliğin tayininde naylon kese tekniği kullanılmıştır. İn-situ bir
yöntem olan naylon kese tekniği normal rasyonlarla hayvanları besleyerek bir
çok yem maddesinin aynı anda sindirilme derecesinin tesbitinde kul-
lanılabilmektedir (8, 17, 24, 119).

Kullanılan naylon keseler 90 x 140 mm. ölçülerinde olup göz açıklığı 45
mikron olan naylon materyalden (dakron) imal edilmiştir. İçerisine konan numu-
ne miktarı ortalama olarak 2 gr. civarındadır. numunelerin bulunduğu keselerin
ağızları paket lastiği ile bağlanarak 25 cm. uzunluğundaki plastik hortumlara
tutturulmuştur. Her bir plastik hortuma 4 adet kese tutturulmuş ve her hayvana
3'er hortum olmak üzere 12 adet kese fistül aracılığıyla rumene sarkıtılmıştır.
Keseler rumen içerisindeki sıvı ve katı fazla birlikte serbestçe hareket edebilir bir
pazisyonda bulundurulmuşlardır. Hortumların uçları kanül kapağına tutturul-
muş ve inkübasyon süresince kanül kapağı kapalı tutulmuştur. Keseler rumen-
de 48 inkübe edilmişlerdir. İnkübasyon süresi sonunda rumenden geri alınan
keseler hemen soğuk su içerisinde konularak mikrobiyel aktiviteye son verilmiştir.
Daha sonra keseler hafif şiddette akmakta olan musluk suyu altında berrak su

akıncaya kadar baş ve işaret parmakları arasında ovalanarak yıkanmıştır. Plastik hortumdan çıkarılan keseler 65 C° kurutma dolabında sabit ağırlık alıncaya kadar kurutulup desikatörde sağıtılarak tartıldılar.

Yıkılabilirlik hesabı şu şekilde yapıldı :

$$\% \text{ Yıkılabilirlik} = \frac{\text{Keseye konan numune miktarı} - \text{İnkübasyon süresi sonunda kesedeki kalıntı}}{\text{Numune miktarı}} \times 100$$

Besin maddelerinin yıkılabilirlik hesabı ise şu şekilde yapıldı :

$$\% \text{ Besin maddelerinin yıkılabilirliği} = \frac{\text{Numune miktarı} \times \% \text{ besin maddesi} - \text{Kalıntı} \times \text{kalıntının \% besin maddesi}}{\text{Numune miktarı}} \times 100$$

Her hayvan için konan paraleller ayrı ayrı torbalarda birleştirildi. bu kalıntılar daha sonra ham protein, ham sellüloz, NDF, Lignin analizleri yapılmak üzere saklandı.

2.2.3. Deneme hayvanlarının beslenmesi

Rasyonlar deneme hayvanlarının günlük yaşama payı besin madde gereksinimlerini karşılayacak şekilde hazırlandı. Hayvanların günlük tüketilebilecekleri yem miktarı göz önünde bulundurularak Orskow'un önerdiği "yaşama payı x 1.25 (Kg) "formülüne göre belirlendi (80). Verilen rasyonun % 60'ını konsantre yem, % 40'ını kaba yem oluşturmuştur. Günlük olarak hayvan başına 840 gr. konsantre yem ve 560 gr. kaba yem verildi. Yemleme iki eşit öğün ve miktarda yapıldı. Önlerinde temiz ve taze içme suları her an için hazır bulundu-

ruldu. Deneme hayvanlarında kullanılan bazal rasyonun bileşimi ve özellikleri aşağıdaki gibidir.

Tablo 2.1. Deneme Hayvanlarında Kullanılan Rasyonun özellikleri (%)

Kuru Madde	91.30
Ham Protein	12.84
Ham Yağ	2.31
Ham Sellüloz	4.70
Ham Kül	4.39
N-siz Öz Madde	75.75
Metabolik Enerji (kcal / Kg.)	2904.00

Tablo 2.2. Bazal Rasyonun Bileşimi (%)

Arpa	97.60
Kireç Taşı	0.50
Tuz	1.00
DCP	0.50
Vit. + Min*	0.40

Besin Maddeleri ;

Ham Protein (%)	11.66
Metabolik Enerji (kcal/Kg.)	2650.00

* X Vit. + Min. Karması : Her Kg Kavimiks VM-812'de A-vitamini 10.00 IU; D3-vitamini 1.000.000 IU; Mangan 10.000 mg. ; Demir 10.000 mg. ; Çinko 10.000 mg. ; Bakır 5.000 mg. ; İyot 100 mg. ; Kobalt 100 mg. ; Selenyum 100 mg. ; Kalstiyum 330.906 mg. bulunmaktadır.

2.2.4. Ekim ve Üretim

Literatür 20, 23, 25, 29, 109'da önerilen besi yerleri bazı değişiklikler yapılarak kullanıldı. Stok temel besi yeri olarak tanımlanan besi yeri tablo 2.1'de izlenmektedir.

Tablo - 2.3. Stok temel besi yeri

	gr. / Lt.
KH ₂ PO ₄	0.2
CaCl ₂	0.1
MgSO ₄ . 7H ₂ O	0.5
NH ₄ NO ₃	0.5
Yeast ekstrakt	0.1
Gliserol	0.5

Besi yerinde karbon kaynağı olarak gliserol ve çalışmamızın hedefini oluşturan buğday samanı kullanıldı. Besi yeri Ph 'sı 4.5 olacak şekilde 0.1 N HCl ve 0.1 N NaOH ile ayarlandı.

250 ml.'lik erken mayelere 10' ar gr. miktarında konulan buğday samanı üzerine 35 ml. miktarında stok temel besi yeri kondu ve otoklavda 121 C° 'de 1 atm. basınç altında 15 dakika süre ile steril edildikten sonra otoklavda bozulması nedeniyle milipor filtrasyonla steril edilmiş stok temel mineral solüsyondan 1 ml. / 1 Lt. stok temel besi yeri olacak şekilde ilave edildi.

Tablo - 2.4. Stok mineral Solüsyon

	gr. / Lt.
MnCl ₂ . 4H ₂ O.....	1.0
CoCl ₂ . 7 H ₂ O.....	0.1
ZnSO ₂ . 7 H ₂ O	1.4
FeSO ₂ . 7 H ₂ O.....	1.0
NaCl.....	0.5

Ekimlerde; spor süsyansiyonu, miçelyal süsyansiyon ve disk ekimi gibi farklı ekim teknikleri denendi ve bunlar içerisinde en az kontaminasyon riskli ve en pratik olarak disk ekim yönteminin olduğuna karar verilerek saman üzerine yapılan ekimlerde bu yöntemle çalışıldı. Buna göre funguslar stok kültür olarak 2 mm. kalınlığında katı ağırlı besi yeri içeren petrielerde tüm yüzeyi örtecek şekilde üretilmiş ve bu stok kültürlerden 14 mm. çaplı cam borularla kesilen fungus diskleriyle ekim yapılmıştır. Cam borular alkol-ateş aşamalarından geçirilerek steril edilmiş ve 3 fungus diski / besi yeri olacak şekilde ekilmiştir.

Kültür ortamı olarak pratiğe aktarılabilirliğinin tesbiti amacıyla katı üretim tekniği uygulanmıştır. Ekilen funguslar 20, 40 ve 60 gün süre ile her bir fungusun üretim isteği dikkate alınarak inkübe edilmişlerdir. *Pleurotus* grubu ve *Agaricus bisporus* 24 - 25 C° civarında *Phanerochaete chrysosporium* fungusu ise 28 - 30 C° civarında inkübe edilmişlerdir.

Buğday samanının partikül büyüklükleri daha önceki çalışmaların aksine pratiğe aktarılabilirliğinin tesbiti amacıyla patozdan çıktıkları gibi (1 - 5 cm.

uzunlukta) kullanılmışlardır. İnkübasyon süresi boyunca besi yerinin hızla buharlaşmasını engellemek için inkübatör içerisindeki nem % 70 - 80 bağıl nem değerinde tutulmaya çalışılmıştır.

2.2.5. Enzim üretimi için besi yerinin hazırlanması

Bu amaçla literatür (4, 12, 33, 77, 117)'da önerilen ve ligninaz üretimini indükleyen veratril alkollü sıvı besi yeri kullanıldı. Besi yerinin bileşimi tablo - 2.5'de verilmiştir

Tablo 2.5. Ligninaz üretiminde kullanılan besi yeri

	gr. / Lt.
KH_2PO_4	0.2
CaCl_2	0.02
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.05
NH_4NO_3	0.5
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	0.0462
$\text{FeNH}_4 (\text{SO}_4)_2 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$	0.084
$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0.035
$\text{CoCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$	0.007
Yeast ekstrakt	0.2
Gliserol	10.0
Tween - 80	0.01
Veratril alkol (0.4 mM).....	0.01
Asparagin.....	1.0

Besi yerinin hazırlanmasında distile su yerine sodyum-sitrat tamponu (0.1 M, Ph : 5.0) kullanıldı. 100 ml.'lik erlenmayerlere sıvı besi yeri olacak şekilde konuldu ve otoklavda steril edildi. Asparagın ve veratril alkol milipor filtrasyonla (0.45 mikron) steril edildikten sonra besi yerine ilave edildi.

2.2.6. Enzim için ekim ve kültürasyon

Yatık agarlı besi yerinde üretilen *Pleurotus* cinsine ait fungusların enzim üretimi amacıyla sıvı besi yerine ekimlerini yapmak için bu kültürler üzerine 10'ar ml. steril distile su ilave edilerek miçelyum süspanسیونu haline getirildi ve bu süspanسیونdan stok temel besi yerine ekimler yapıldı. Fungus kültürleri 30 °C'de 100 rpm. çalkalama hızına sahip inkübatörde bir hafta süreyle üretildi. Üretim sonunda elde edilen biyokitle steril şartlarda homojenize edildi ve 5 ml. homojenat / 20 ml. enzim üretim besi yeri olacak şekilde ekildi. *Phanerochaete chrysosporium* ve *Agaricus bisporus*'un ekimleri ise yatık agarlı besi yerinde üretilen stok kültürler üzerine ilave edilen steril distile su ile hazırlanan süspanسیونdan 5 ml. alınarak direkt enzim üretim besi yerine aktırılmak suretiyle yapıldı.

Phanerochaete chrysosporium kültürleri 40 C°'de, *pleurotus* kültürleri 28 - 30 °C'de *Agaricus bisporus* kültürleri ise 25 C° de inkübe edildi. tüm funguslarda enzim aktiviteleri hem labil ve hemde statik ortamlar için ayrı ayrı tesbit edildi.

2.2.7. Enzim Aktivitelerinin Tesbiti

Çalışmalarda ligninaz aktiviteleri literatür (54, 116)'de önerilen yöntem göre veratril alkolün hidrojen peroksite bağlı olarak veratraldehide oksidasyonunun 310 nm. dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçümü ile saptandı. Ölçümlerde kültür filtratı enzim kaynağı olarak kullanıldı. Ölçüm için içerisinde 1.0 ml. sodyum-tartarat tamponu (0.1 M., Ph: 3.0) ve 0.4 mM. veratril alkol bu-

lunan reaksiyon tüpüne 1 ml. enzim kaynağı eklendi. t p 37 C de 2 dakika inkübe edildikten sonra üzerine 0.27 mM. H₂O₂ eklendi karıştırılarak kuvarts küvete aktarıldı. Reaksiyon sonucu oluşan veratraldehidin absorbands değeri 310 nm. dalga boyunda okundu (Simatsu double-beam spektrophotometre) Birim enzim aktivitesi bir dakikada 1 nanomol veratraldehid oluşturana enzim miktarı olarak tanımlandı.

2.2.8. Numunelerin Enzimatik Delignifikasyonu

Enzimatik delignifikasyona tâbi tutulmak üzere bölüm 2.1.3.'de belirtilen partikül boyutundaki saman örneklere kullanıldı. Delignifikasyon için 100 ml.'lik erlenmayer içerisine 1 gr. kadar saman  rneği konuldu üzerine enzim kaynağı olarak 10 ml. kültür filtratı + 10 ml. sodyum - tartarat (0.1 M., Ph: 3.0) ve 5 ml. 0.27 mM. H₂O₂ kondu. *Pleurotus* cinsine ait kültür filtratı ile muamele edilen numuneler 28 C  civarında, *Agaricus bisporus* kültür filtratı ile muamele edilen numuneler 25 C  civarında ve *Phanerochaete chrysosporium* kültür filtratı ile muamele edilen numuneler 38 C  civarında hem labil ve hemde statik olmak üzere iki ayrı ortamda 4 gün süre ile inkübe edildiler. Her günün sonunda enzim filtratı, tampon ve H₂O₂ fazı yenilendi. Süre sonunda numunelerde bölüm 2.2.3'de anlatıldığı Şekilde in-situ yıkılabilirlik tayini yapıldı.

2.3. İstatistik Analizler

Araştırmada elde edilen değerlere ait istatistiksel hesaplamalar ve bu değerler arasındaki farklılığın önemi varyans analiz metodu (27) ve farklılıkların önem kontrolü Duncan testi (28) yapılarak uygulandı.

3.BULGULAR

Lignosellülozlu artık madde olarak kullanılan kontrol grubu buğday samanına ait ham besin madde miktarları ve kimi basın maddelerinin in-situ yıkılabilirlikleri tablo 3.1. ve tablo 3.2. 'de verilmiştir.

Buğday samanının *Pleurotus comeopia*, *Pleurotus eryngii*, *Pleurotus flagellatus*, *Pleurotus florida*, *Pleurotus sapidus*, *Pleurotus sajor-caju*, *Pleurotus ostreatus*, *Phanerochaete chrysosporium* ve *Agaricus bisporus* beyaz çürükçül funguslarıyla yapılan 20, 40 ve 60'ar günlük inkübasyonu sonucu ham protein, ham sellüloz, nötral deterjan fiber ve lignin miktarındaki değişimler tablo - 3.3., 3.4., 3.5. ve 3.6'da verilmiştir. Bunlara ait kuru madde, ham protein, ham sellüloz, nötral deterjan fiber ve lignin, İn-situ yıkılabilirlikleri tablo-3.7., 3.8., 3.9., 3.10. ve 3.11.'de gösterilmiştir.

Araştırmada kullanılan fungusların statik ve labil ortamlarda, sıvı besi yerlerinde değişik inkübasyon sürelerindeki ligninaz aktiviteleri grafik - 3.1., 3.2., 3.3., 3.4., 3.5., 3.6., 3.7., 3.8. ve 3.9.'da gösterilmiştir.

Her bir fungusun ligninaz aktivitesinin en yüksek olduğu döneme ait yapılan bir seri pasajla 4. gün süre ile inkübe edilen buğday samanı numunelerinin in-situ yıkılabilirlikleri tablo - 3.12' de verilmiştir.

Tablo - 3.1. Buğday samanı besin madde miktarları (%)

Kuru madde	93.72
Ham protein	3.24
Ham sellüloz	37.70
Ham yağ	1.70
Nötral Deterjan fiber	73.70
Lignin	8.54
Ham kül	5.90

Tablo - 3.2. Buğday samanı kimi besin maddelerinin in-situ yıkılabilirlikleri (%)

Ham Besin Maddeleri	İnkübasyon süresi (48 saat)
Kuru Madde	31.15
Ham Protein	19.75
Ham Sellüloz	28.32
Nötral deterjan fiber	20.93
Lignin	16.52

Tablo - 3.3. Dokuz farklı tür beyaz çürükçül fungus ile değişik sürelerde inkübe edilen buğday samanı ham protein miktarındaki değişimler (%)

	20 gün		40 gün		60 gün	
	\bar{X}	S \bar{x}	\bar{X}	S \bar{x}	\bar{X}	S \bar{x}
Kontrol	3.24	0.0870 a	3.24	0.0870 a	3.24	0.0870 a
Pl.comeopia	6.44	0.1077 b	5.50	0.1443 b	4.69	0.1125 b
Pl.eryingi	3.29	0.1379 a	5.65	0.2683 b	7.17	0.2562 d
Pl.flagellatus	3.50	0.0124 ac	4.18	0.1531 c	4.90	0.2407 b
Pl.florida	4.00	0.3010 e	4.97	0.2010 d	5.14	0.2394 bc
Pl.sapidus	4.68	0.2251 d	5.46	0.1960 bd	6.40	0.0966 e
Pl.sajorcaju	4.61	0.2313 d	5.48	0.1934 b	5.52	0.1527 c
Pl.ostreatus	6.12	0.0997 b	4.39	0.1092 c	4.14	0.1770 f
Ph.chryso sporium	4.79	0.0720 d	5.34	0.1164 bd	7.18	0.1760 de
A.bisporus	3.82	0.1318 c	4.51	0.1872 c	5.60	0.0577 c
F $\bar{\bar{}}$		48.55 ^{xx}		30.12 ^{xx}		27.97 ^{xx}

xx : P < 0.05

a, b, : Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan grup ortalamaları arası fark önemlidir.

Tablo - 3.4. Dokuz farklı tür beyaz çürükçül fungus ile değişik sürelerde inkübe edilen buğday samanı ham sellüloz miktarındaki değişimler (%)

	20 gün		40 gün		60 gün	
	\bar{X}	$S\bar{x}$	\bar{X}	$S\bar{x}$	\bar{X}	$S\bar{x}$
Kontrol	37.70	0.1333 a	37.70	0.1333 a	37.70	0.1333 a
Pl. comeopia	35.13	0.3390 b	31.04	0.2851 b	31.69	0.2228 b
Pl. eryngii	34.75	0.3346 b	33.23	0.4150 c	30.10	0.6505 c
Pl. flagellatus	36.74	0.6568 c	35.10	1.1622 d	31.42	0.4805 b
Pl. florida	32.45	0.9031 d	28.20	0.7374 e	28.00	0.4945 d
Pl. sapidus	33.19	0.2081 e	30.90	0.2955 b	30.21	0.1139 c
Pl. sajour caju	44.78	0.5048 f	41.70	0.2462 f	39.97	0.5008 e
Pl. ostreatus	36.00	0.4250 g	32.69	0.3530 g	30.28	0.2535 c
Ph. chrysosporium	36.02	0.2090 g	34.58	0.2555 h	28.70	1.407 f
A. bisporus	40.02	0.3444 h	40.97	0.2386 i	43.68	0.2379 g
\bar{F}		63.80 ^{xx}		86.83 ^{xx}		99.81 ^{xx}

xx : P < 0.05

a, b, : Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan grup ortalamaları arası fark önemlidir.

Tablo - 3.5. Dokuz farklı tür beyaz çürükçül fungus ile değişik sürelerde inkübe edilen bugday samanı nötral deterjan fiber miktarındaki değişmeler (%)

	20 gün		40 gün		60 gün	
	\bar{X}	$\pm S\bar{X}$	\bar{X}	$\pm S\bar{X}$	\bar{X}	$\pm S\bar{X}$
Kontrol	73.70	0.2253 a	73.70	0.2253 a	73.70	0.2253 a
Pl.comeopla	70.06	0.2699 b	68.64	0.3534 b	63.16	0.2798 b
Pl.eryingli	71.30	0.5626 c	65.10	0.9057 c	60.40	0.3828 c
Pl.flagellatus	71.00	0.5772 c	63.23	0.9320 d	60.50	0.4311 c
Pl. florida	70.00	4.1544 b	68.35	0.8014 b	61.54	0.4945 d
Pl. sapidus	72.10	0.3604 d	68.43	0.2713 b	58.93	0.2228 c
Pl. sajour caju	71.50	0.4471 c	70.70	0.2502 e	68.80	1.3031 f
Pl. ostreatus	71.12	0.4826 c	68.43	0.2993 b	65.12	0.3330 g
Ph. chrysosporium	79.31	0.3151 e	71.18	0.2542 f	58.11	0.2851 h
A.bisporus	83.57	0.2120 f	84.13	0.2645 g	85.54	0.2097 i
\bar{F}		3871.99 ^{xx}		33.89 ^{xx}		21051 ^{xx}

xx : P < 0.05

a, b, : Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan grup ortalamaları arası fark önemlidir.

Tablo - 3.6. Dokuz farklı tür beyaz çürükçül fungus ile değişik sürelerde inkübe edilen
bugday samanı lignin miktarındaki değişimler (%)

	20 gün		40 gün		60 gün	
	\bar{X}	$S\bar{X}$	\bar{X}	$S\bar{X}$	\bar{X}	$S\bar{X}$
Kontrol	8.54	0.0922	8.54	0.0922	8.54	0.0922
<i>Pl. comeopia</i>	8.14	0.2548	6.97	0.4089	6.45	0.1182
<i>Pl. eryngii</i>	8.50	0.1154	7.80	0.0930	6.81	0.0836
<i>Pl. flagellatus</i>	8.20	0.0999	7.63	0.1672	6.73	0.4728
<i>Pl. florida</i>	8.13	0.0875	7.25	0.2502	6.50	0.1750
<i>Pl. sapidus</i>	8.00	0.0816	7.02	0.1168	6.16	0.1353
<i>Pl. sajour caju</i>	8.00	0.0577	7.15	0.1460	6.00	0.0516
<i>Pl. ostreatus</i>	7.72	0.2016	7.13	0.0999	6.44	0.1516
<i>Ph. chrysosporium</i>	8.71	0.1825	7.12	0.1642	6.02	0.0682
<i>A. bisporus</i>	8.70	0.1999	8.36	0.1965	7.80	0.1750
\bar{F}	7.00 ^{xx}		11.77 ^{xx}		59.50 ^{xx}	

xx : P < 0.05

a, b, : Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan grup ortalamaları arası fark önemlidir.

**Tablo - 3.7. Dokuz farklı tür beyaz çürükçül fungus ile değişik sürelerde inkübe edilen
bugday samanı in-situ kuru madde yıkılabilirliği (%)**

	20 gün		40 gün		60 gün	
	\bar{X}	$\pm S\bar{x}$	\bar{X}	$\pm S\bar{x}$	\bar{X}	$\pm S\bar{x}$
Kontrol	31.15	3.51	31.15	3.51	31.15	3.51
Pl.comeopla	22.39	1.14	38.46	1.26	46.59	0.61
Pl.eryngli	37.60	0.47	43.15	1.29	53.20	0.61
Pl.flagellatus	33.15	0.76	41.15	0.84	52.81	0.90
Pl. florida	30.24	0.27	35.50	0.80	45.75	0.20
Pl. sapidus	46.38	0.76	32.52	0.50	36.56	0.46
Pl. sajour caju	33.70	0.53	36.42	0.81	46.75	0.45
Pl. ostreatus	34.69	0.52	34.80	0.50	44.30	0.71
Ph. chryso sporium	36.94	0.49	32.69	0.26	47.14	0.74
A. bisporus	37.80	0.45	31.11	0.53	39.38	0.48
\bar{F}		4.646 ^{xxx}		3.269 ^{xx}		11.614 ^{xxx}

xx : P < 0.01

xxx : P < 0.001

a, b, : Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan grup ortalamaları arası fark önemlidir.

Tablo - 3.8. Dokuz farklı tür beyaz çürükçül fungus ile değişik sürelerde inkübe edilen
bugday samanı in-situ ham protein yıkılabilirliği (%)

	20 gün		40 gün		60 gün	
	\bar{X}	$\pm S\bar{x}$	\bar{X}	$\pm S\bar{x}$	\bar{X}	$\pm S\bar{x}$
Kontrol	19.75	0.10 a	19.75	0.01 a	19.75	0.10 a
Pl.comeopia	22.81	0.64 b	26.14	1.01 b	33.95	0.38 b
Pl.eryingi	21.15	0.62 ac	24.65	0.22 cd	34.19	0.57 b
Pl.flagellatus	20.15	0.80 a	23.32	0.72 cef	27.54	0.34 c
Pl. florida	22.65	0.10 b	24.70	0.26 bcg	24.90	0.20 d
Pl. sapidus	22.15	0.23 bc	25.47	0.58 bd	34.32	0.68 b
Pl. sajour caju	22.15	0.53 bc	24.18	0.78 deg	24.65	0.24 e
Pl. ostreatus	32.16	0.35 d	23.12	0.22 eh	23.00	0.68 f
Ph. chrysosporium	15.63	0.83 e	22.69	0.18 fh	33.46	0.29 b
A.bisporus	13.92	0.11 f	17.33	0.22 I	36.01	0.36 g
\bar{F}	104.017 ^{xxx}		34.84 ^{xxx}		262.662 ^{xxx}	

xxx : P < 0.001

a, b, : Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan grup ortalamaları arası fark önemlidir.

Tablo - 3.9. Dokuz farklı tür beyaz çürükçül fungus ile değişik sürelerde inkübe edilen buğday samanı in-situ ham sellüloz yıkılabilirliği (%)

	20 gün		40 gün		60 gün	
	\bar{X}	$S\bar{x}$	\bar{X}	$S\bar{x}$	\bar{X}	$S\bar{x}$
Kontrol	28.32	a	28.32	a	28.32	a
Pl.comeopla	37.51	b	37.66	bc	49.05	b
Pl.eryngli	30.50	cd	35.42	d	61.74	c
Pl.flagellatus	35.11	e	35.13	d	39.24	de
Pl. florida	32.15	cd	39.15	b	38.20	df
Pl. sapidus	38.13	bc	38.16	b	38.90	de
Pl. sajour caju	32.39	f	31.60	e	31.10	g
Pl. ostreatus	30.14	ad	32.12	e	39.54	e
Ph. chryso sporium	30.22	ad	29.45	a	38.45	dh
A.bisporus	40.33	g	36.00	cd	37.19	fh
F	40.067 ^{xxx}		40.710 ^{xxx}		319.012 ^{xxx}	

xxx : P < 0.001

a, b, : Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan grup ortalamaları arası fark önemlidir.

Tablo - 3.10. Dokuz farklı tür beyaz çürükçül fungus ile değişik sürelerde inkübe edilen buğday samanı in-situ nötral deterjan fiber yıkılabilirliği (%)

	20 gün		40 gün		60 gün	
	\bar{X}	$\pm S\bar{x}$	\bar{X}	$\pm S\bar{x}$	\bar{X}	$\pm S\bar{x}$
Kontrol	20.93	0.28 ab	20.93	0.28 a	20.93	0.28 a
Pl.comeopia	23.22	1.14 c	26.43	0.93 b	38.89	0.09 b
Pl.eryingli	32.03	1.13 d	34.03	0.87 c	51.80	0.98 c
Pl.flagellatus	23.35	0.67 c	32.11	0.41 d	40.16	0.23 b
Pl. florida	23.55	0.56 c	25.20	0.43 b	50.27	0.84 c
Pl. sapidus	26.41	1.32 e	29.71	0.50 e	32.47	0.34 d
Pl. sajour caju	19.83	0.16 a	23.33	0.55 f	23.60	0.06 e
Pl. ostreatus	22.56	0.30 bc	25.66	0.27 b	32.66	0.31 d
Ph. chrysosporium	34.61	0.45 f	22.62	0.27 f	32.82	0.39 d
A.bisporus	36.30	0.27 f	26.10	0.80 b	25.93	0.16 f
F	72.514 ^{xxx}		63.696 ^{xxx}		461.224 ^{xxx}	

xxx : P < 0.001

a, b, : Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan grup ortalamaları arası fark önemlidir.

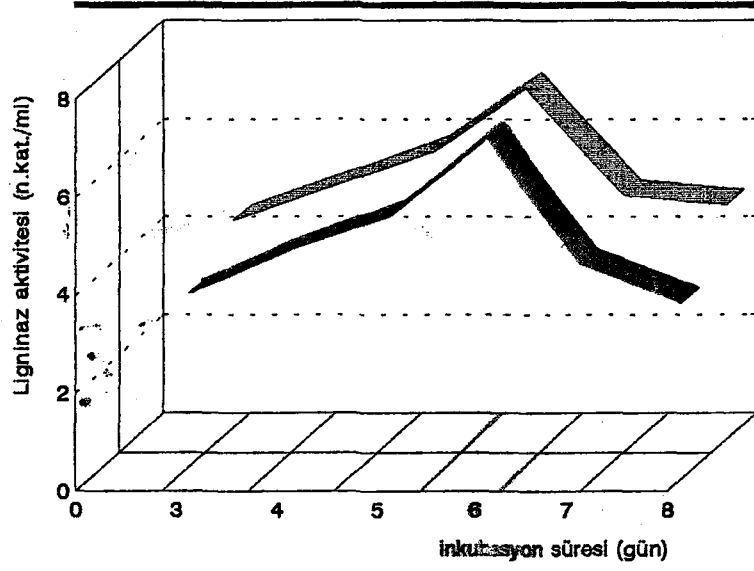
Tablo - 3.11. Dokuz farklı tür beyaz çürükçül fungus ile değişik sürelerde inkübe edilen buğday samanı in-situ lignin yıkılabilirliği (%)

	20 gün		40 gün		60 gün	
	\bar{X}	S \bar{x}	\bar{X}	S \bar{x}	\bar{X}	S \bar{x}
Kontrol	16.52	0.33 a	16.52	0.33 a	16.52	0.33 a
Pl.comeopla	16.75	0.72 a	20.17	0.49 b	20.16	0.23 b
Pl.eryngli	16.64	0.35 a	22.46	0.66 c	24.57	0.29 c
Pl.flagellatus	17.70	0.15 a	22.10	0.83 c	27.36	0.41 d
Pl.florida	16.05	0.86 a	22.02	0.74 c	27.40	0.74 d
Pl.sapidus	16.73	0.48 a	21.85	0.20 c	24.13	0.29 c
Pl.sajor caju	17.50	0.54 a	26.15	0.98 d	28.45	0.31 e
Pl.ostreatus	22.30	0.20 b	23.30	0.21 c	27.35	0.45 d
Ph.chryso sporium	16.77	0.82 a	27.80	0.17 d	29.35	0.48 f
A.bisporus	16.85	0.81 a	17.30	0.73 a	16.10	0.35 a
F $\bar{\bar{}}$		9.747 ^{xxx}		42.459 ^{xxx}		127.085 ^{xxx}

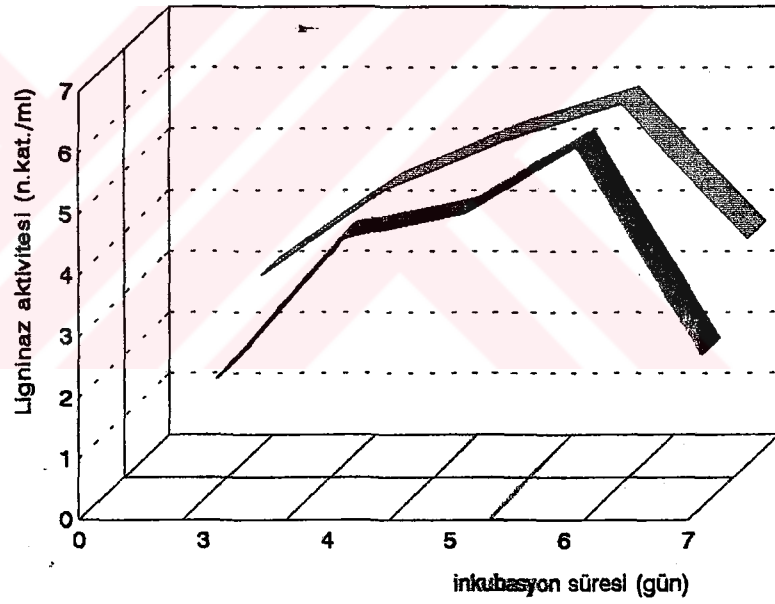
xxx : P < 0.001

a, b, : Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan grup ortalamaları arası fark önemlidir.

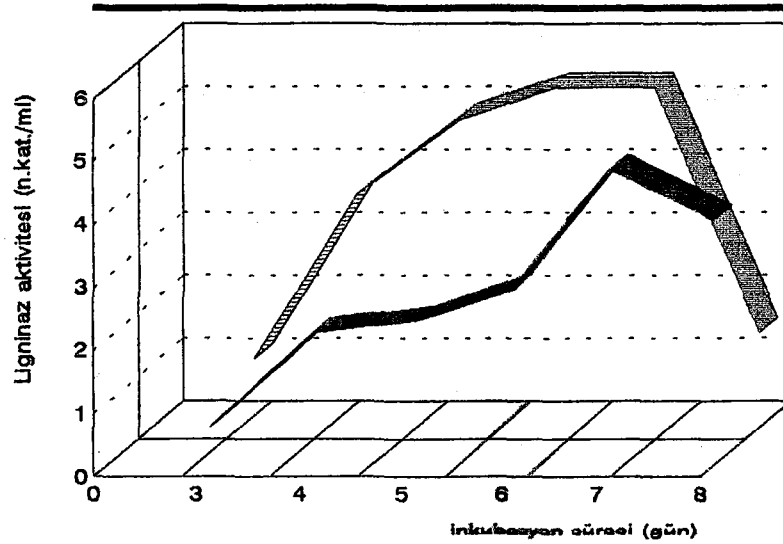
Grafik 3-1 : 28°C'de statik ve labil olarak (50 rpm) üretilen
Pl. comeopia kültüründe ligninaz aktivitesi





Grafik 3-2 : 28°C'de statik ve labil olarak (50 rpm) üretilen
Pl. eryngii fungus kültüründe ligninaz aktivitesi

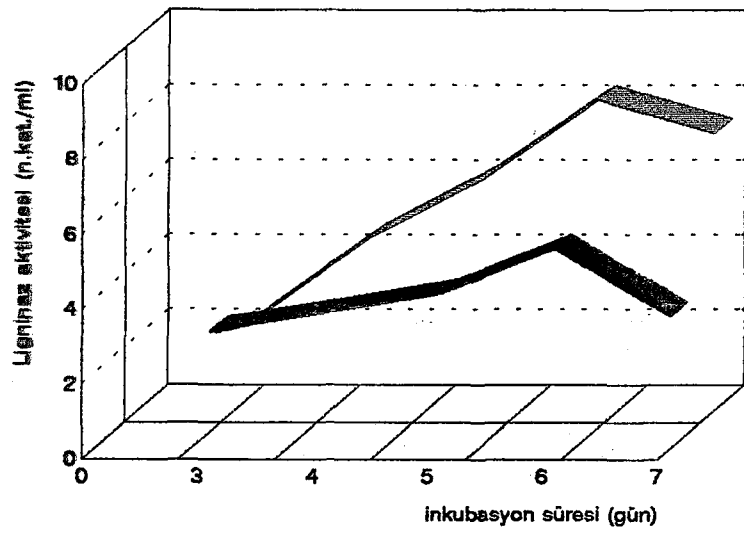


Grafik 3-3 : 28°C'de statik ve labil olarak (50 rpm) üretilen
Pl. flagellatus kültüründe ligninaz aktivitesi

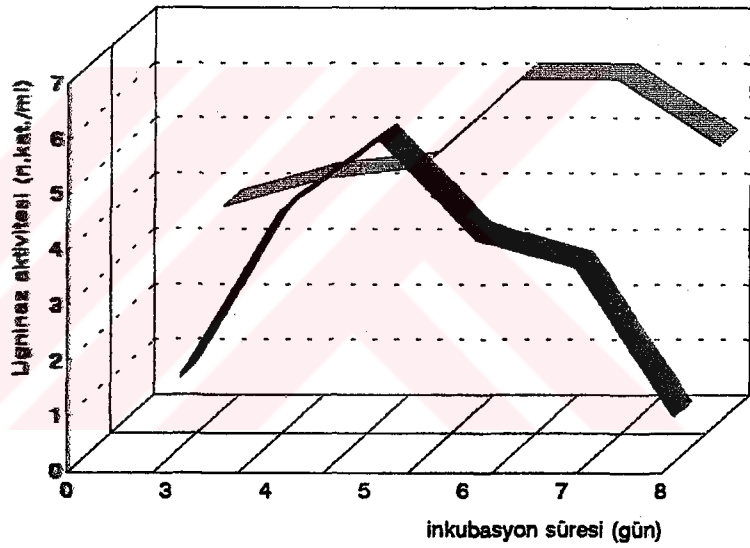


 Statik
 Labil

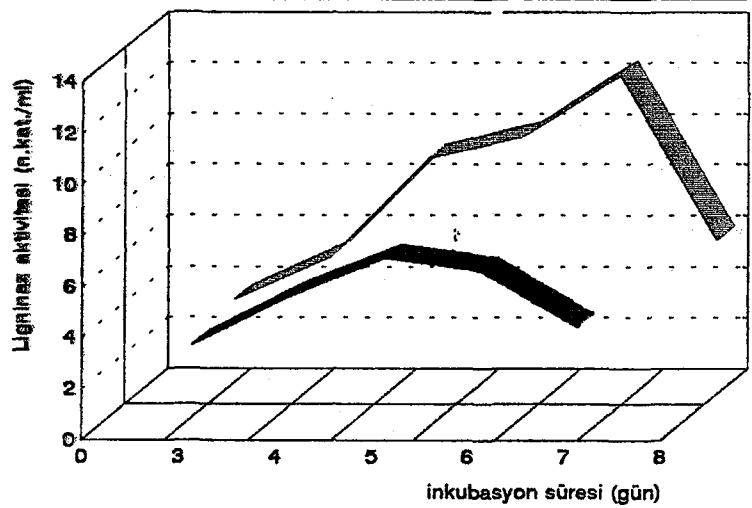
Grafik 3-4 : 28°C'de statik ve labil olarak (50 rpm) üretilen
Pl. florida kültüründe ligninaz aktivitesi



Grafik 3-5 : 28°C'de statik ve labil olarak (50 rpm) üretilen
Pl.sapidus kültüründe ligninaz aktivitesi

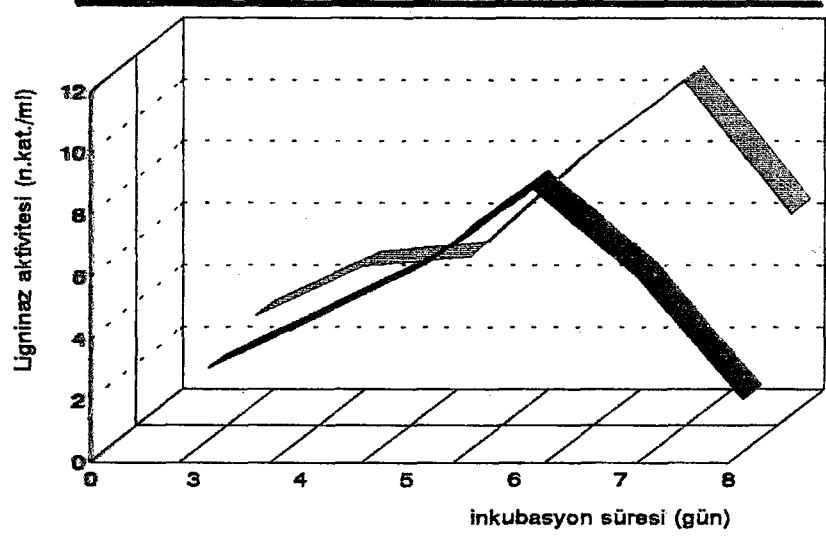


Grafik 3-6 : 28°C'de statik ve labil olarak (50 rpm) üretilen
Pl.sajor-caju kültüründe ligninaz aktivitesi

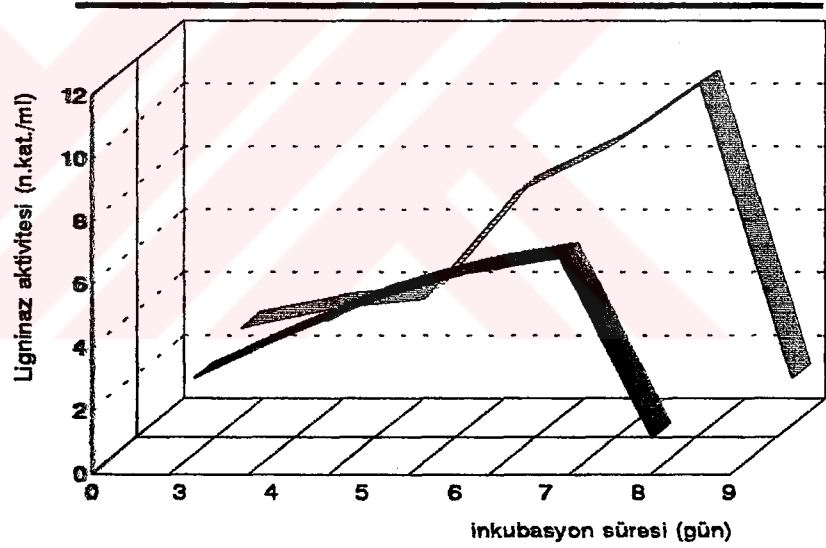


Statik
Labil

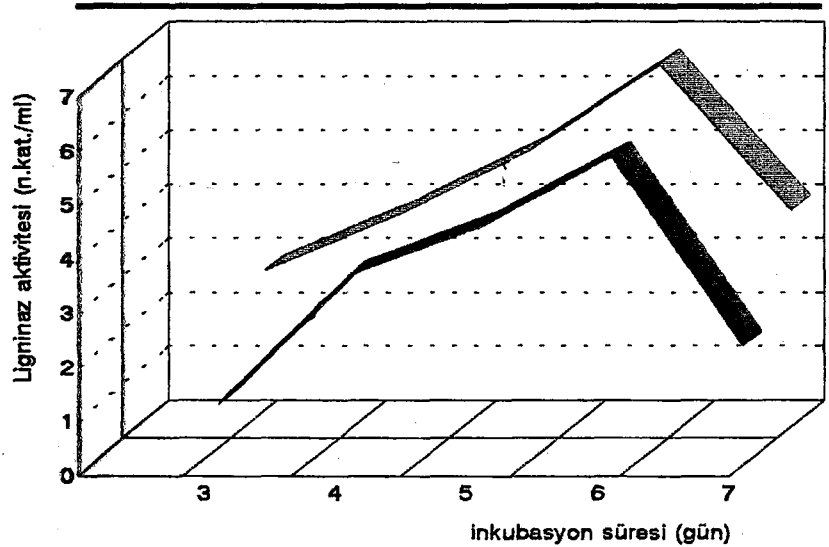
Grafik 3-7 : 28°C'de statik ve labil olarak (50 rpm) üretilen *Pl. ostreatus* kültüründe ligninaz aktivitesi



Grafik 3-8 : 40°C'de statik ve labil (50 rpm) olarak üretilen *Ph. chrysosporium* kültüründe ligninaz aktivitesi



Grafik 3-9 : 25°C'de statik ve labil (50 rpm) olarak üretilen *A. bisporus* kültüründe ligninaz aktivitesi



St. La

Tablo - 3.12: Farklı fungal kùltùrlere ait ligninaz enzimi ile 4 gün süre ile 37 °C'de inkùbe edilen buğday samannın in-situ kuru madde yıkılabilirliği(%)

	\bar{X}	\pm	$S\bar{x}$	
Kontrol	30.60	0.55		a
Pl.comeopia	36.00	0.76		cf
Pl.eryngii	31.10	1.10		ab
Pl.flagellatus	32.40	1.44		ac
Pl. florida	36.80	1.98		dg
Pl. sapidus	35.10	1.10		be
Pl. sağor caju	40.79	0.39		g
Pl. ostreatus	38.16	1.95		eg
Ph. chrysosporium	40.00	1.15		fg
A.bisporus	33.70	1.42		ad
F	7.58 ^{xxx}			

xxx : P < 0.001

a, b, : Aynı sùtunda farklı harfleri taşıyan grup ortalamaları arası fark önemlidir.

4. TARTIŞMA ve SONUÇ

Kaba yemlerin düşük kaliteli yemler olmalarında en büyük rolü oynayan lignin kompleksinin biyolojik delignifikasyonla yıkılmasının hedeflendiği bu çalışmada tarımsal artık olarak ülkemizde en fazla miktarda elde edilen buğday samanı kullanılmıştır.

Buğday samanın kimyasal analizinde kuru madde % 93.72, ham protein % 3.24, ham selüloz % 37.70, ham yağ % 1.70, nötral deterjan fiber % 73.70 ve lignin miktarı % 8.54 olarak bulunmuştur (Tablo 3.1.).

Samanın 9 farklı tür beyaz çürükçül fungusla yapılan 20,40 ve 60'ar günlük inkübasyonu sonucu ham protein miktarı üzerine en etkili olan fungusların 20 günlük inkübasyonda sırasıyla %98.77'lik bir artışla *Pleurotus comeopia* (6.44), % 88.89'luk bir artışla *Pleurotus ostreatus* (6.12) ve % 47.83'lük bir artışla *Phanerochaete chrysosporium* (4.79) olarak bulunmuştur. Farklılık istatistiksel olarak önemlidir ($P < 0.05$). Aynı inkübasyon süresinde en az etkili olan türler *Pleurotus eryngii* ve *Pleurotus flagellatus* olarak bulunmuştur. 40 ve 60 günlük inkübasyonlarda ise tüm türler kontrole göre etkin bulunmuştur ($P < 0.05$).

Ham protein miktarındaki en fazla artış 40 günlük inkübasyonda *Pleurotus eryngii*'de % 74.07, *Pleurotus comeopia*'ta % 69.75, *Pleurotus sajour-caju*'da % 69.13, *Pleurotus sapidus*'ta 68.51 ve *Phanerochaete chrysosporium* % 64.81 olarak bulunmuş olup bu türler arasında istatistiksel farklılığa rastlanılmamıştır (tablo - 3.3.).

60 günlük inkübasyonlarda ise en etkili türler sırasıyla % 121.60'lık bir artışla *Phanerochaete chrysosporium* ve % 121.29'lük bir artışla *Pleurotus eryngii* olmuş, bunları *Pleurotus sapidus* (% 97.53), *Agaricus bisporus* (% 72.84) ve *Pleurotus sajour-caju* (% 70.37) izlemiştir. Buna göre ham protein miktarı 3.24'ten sırasıyla 7.18, 7.17, 6.4, 5.6 ve 5.52 'ye yükselmiştir (tablo - 3.3.). *Phanerochaete*

chryso sporium ve *Pleurotus eryngii* ham protein artışı üzerine en etkin türler olarak bulunmasına rağmen bu türler arasında istatistiksel farklılığa rastlanılmamıştır.

Yapılan bir çalışmada *Pleurotus ostreatus* fungusu ile 20.40 ve 60 günlük buğday samanı inkübasyonu sonucunda ham protein miktarını sırasıyla % 31.21, % 56.25 ve % 137.5 oranlarında artırdığı bildirilmiştir (72).

Diplodia gossypina fungusu ile yapılan bir çalışmada mineral tuzlarla yapılan muamelede ham protein miktarındaki artış 14. günde % 130, 28. günde ise % 125 olduğu bildirilmiştir. Saman üzerine yalnızca suyun kullanıldığı denemede ise ham protein miktarındaki artış 14. günde % 115, 28. günde ise % 117 olarak bulunduğu bildirilmiştir (71).

İki farklı ekim türünün karşılaştırıldığı bir başka çalışmada broth inokulum tekniğinin uygulandığı örneklerde *Pleurotus florida* ve *Pleurotus ostreatus* ile inkübasyonda ham protein miktarında 60. günde % 133'lük bir artış saptanmış olmasına rağmen agar plak inokulum tekniğinin uygulandığı örneklerde ise artışlar çok düşük düzeylerde kalmıştır (118).

Bu durum araştırma sonuçlarımızla karşılaştırıldığında (tablo 3.3.) broth inokulum tekniğinin ham protein miktarlarında daha iyi bir artışa neden olduğu sonucuna varılmış olmasına rağmen agar plak inokulum tekniğine benzer uygulamanın yapıldığı çalışmamızda agar plaklarının substratla iyice karıştırılmış olmasına dikkat edilmiş ve erlenmayer içerikleri periyodik olarak karıştırılmak suretiyle fungusun hava yapması önlenmiştir. Bu nedenle ki çalışma sonuçlarımız broth inokulum tekniği uygulanan çalışma sonuçlarına paralellik göstermektedir.

Adı geçen çalışmanın agar plak inokulum tekniği uygulanan bölümünde fungusların hava yapmış olmaları olasıdır. Aynı çalışmada delignifikasyon miktarları 60. günde % 30-48 arasında bulunurken çalışmamızda bu oranlar % 20-30 arasında bulunmuştur. Sellüloz miktarında ise tüm kültürlerde % 22 civarında bir azalma olduğu bildirilmiş olup bulgular araştırma sonuçlarımızla paralellik göstermektedir (tablo 3.4.).

Phanerochaete chrysosporium ve bunun SC-26 mutanı ile *Chaetomium cellulolyticum* funguslarının mono ve co-kültür olarak kullanıldığı ve samanın inokülasyon öncesi % 1 NaOH ile muameleye tabi tutulduğu bir çalışmada 10. günde ham protein miktarı co-kültürlerde % 28.1'lik bir artışla mono kültürlerinkinden % 25.1 daha fazla bulunduğu bildirilmiştir (125). Aynı çalışmada protein miktarının artışına paralel olarak çok az da olsa lignin miktarında azalma gözlenmesi çalışmamızla paralellik göstermektedir (tablo-3.6.).İnkübasyonun 20, 40 ve 60 günlük süreleri sırasında ham sellüloz miktarını *Agaricus bisporus* sırasıyla % 6.15, % 8.67 ve % 15.86 ve *Pleurotus sajor-caju* % 18.78, % 10.61 ve % 6.02 oranında arttırmış olmasına rağmen diğer tüm türler azaltıcı yönde etkilmiş olup farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P < 0.05$).

Tüm inkübasyon süreleri boyunca ham sellüloz miktarının sırasıyla % 13.93, % 25.20 ve % 25.73 oranlarında azalmasına neden olan *Pleurotus florida* ile sırasıyla % 11.96, % 18.03 ve % 19.87 oranlarındaki azalmalarla *Pleurotus sapidus* en etkin fungus türleri olarak tesbit edilmiştir (tablo - 3.4). Ham sellüloz miktarının % 10.32 oranında azaldığının bildirildiği 28 günlük bir inkübasyon sonucu (70) ile çalışmamızın 40 günlük inkübasyon sonuçları paralellik göstermektedir. 20,40 ve 60 günlük inkübasyonlar sonucunda samanın nötral deterjan fiber miktarını *Agaricus bisporus* tüm inkübasyon süreleri boyunca

sırasıyla % 13.39, % 14.15 ve % 16.06 oranlarında, *Phanerochaete chrysosporium* ise yalnızca 20 günlük inkübasyonda % 7.61 oranında arttırmış, diğer funguslar ise tüm inkübasyon sürelerinde azaltıcı yönde etki etmişlerdir (tablo - 3.5). Farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P < 0.05$).

Nötral deterjan fiber azalması üzerine en etkili türler olarak 20 günlük inkübasyonda *Pleurotus florida* (%5.02), 40 günlük inkübasyonda *Pleurotus flagellatus* (% 14,20) ve *Pleurotus eryngii* (% 11.66) bulunmuştur. 60 günlük inkübasyonda ise nötral deterjan fiber azalması üzerine en etkili türler sırasıyla *Phanerochaete chrysosporium* (% 21.15), *Pleurotus sapidus* (% 20.04), *Pleurotus eryngii* (% 18.04) ve *Pleurotus flagellatus* (%17.91) olarak tesbit edilmiştir ($P < 0.05$). Ancak türler arasında istatistiksel bir fark bulunamamıştır.

Çırcır artığı, yerfıstığı kabukları, mısır koçanı, mısır sapı ve samandan oluşan bir sellüloolitik artık karışımında besi yeri olarak yalnızca su kullanılan çalışmanın bir bölümünde inkübasyonun 14. gününde nötral deterjan fiber miktarı % 4.48, besi yeri karışımında mineral tuzlarında kullanıldığı araştırmanın bir diğer bölümünde inkübasyonun 14. gününde % 1.36 ve 28. gününde % 2.46 oranında azaldığı bildirilmiştir. bu sonuçlar araştırmanın 20 günlük sonuçları ile benzerlik göstermektedir (Tablo 3.5.) Aynı çalışmada 14 ve 20 günlük inkübasyon süreleri sonundaki nötral deterjan fiber kaybı sırasıyla % 8.87 ve % 9.87 olarak bildirilmiş olup (71) bu sonuçlar 20 günlük inkübasyon sonuçlarımızla uyum içindedir.

20, 40 ve 60 günlük inkübasyonlar sonucunda buğday samanı nötral deterjan fiber miktarları *Agaricus bisporus* dışında diğer türlerde azalmış olup düşüşler istatistiksel olarak önemlidir. Ham sellüloz miktarlarındaki azalma ile nötral deterjan fiber miktarlarındaki azalma aynı süreli inkübasyonlarda benzer olduğundan bu durum bu fungusların bu besin maddeleri ile birlikte lignini de parçalamalarına bağlanabilir (tablo - 3.4., 3.5., 3.6)

Fungusların samanın lignin miktarı üzerine 20, 40 ve 60'ar günlük inkübasyon süreleri sonundaki etkileri incelendiğinde; *Agaricus bisporus*'un tüm inkübasyon süreleri boyunca delignifikasyon üzerine etkisiz olduğu, 20 günlük inkübasyon süresinde lignin miktarı üzerine *Pleurotus comeopia*, *Pleurotus eryngii*, *Pleurotus flagellatus* ve *Pleurotus florida*'nın etkisiz olduğu tesbit edilmiştir. 20 günlük inkübasyonda delignifikasyon üzerine en etkili türün *Pleurotus ostreatus* (% 9.60) olduğu, *Pleurotus sapidus* ile *Pleurotus sajor caju*'nun aynı miktarda bir etkiye sahip olduğu (% 6.32) ve her üçü arasında istatistiksel bir farklılığın bulunmadığı ancak anılan her 3 fungusun delignifikasyon üzerine etkisinin istatistiksel olarak anlamlı olduğu tesbit edilmiştir ($P < 0.05$).

40 günlük inkübasyonda delignifikasyon üzerine en etkili türün *Pleurotus comeopia* (% 18.38) olduğu ve bunu sırasıyla *Pleurotus sapidus* (% 17.79), *Phanerochaete chrysosporium* (% 16.63), *Pleurotus ostreatus* (% 16.51) ve *Pleurotus sajor-caju*'nun (% 16.28) izlediği saptanmış olup fark istatistiksel olarak önemlidir ($P < 0.05$). Ancak anılan türler arasında istatistiksel farklılık bulunmamıştır.

60 günlük inkübasyon süresinde tüm fungusların delignifikasyon üzerine % 20 - 30 arasında değişen miktarlarda etkili olduğu ve farklılıkların istatistiksel önem taşıdığı tesbit edilmiştir ($P < 0.05$). En etkili türler ise *Pleurotus sajor-caju* (% 29.74), *Phanerochaete chrysosporium* (% 29.50) ve *Pleurotus sapidus* (% 27.87) olarak bulunmuştur. Ancak türler arasında istatistiksel farklılığa rastlanmamıştır (Tablo 3.6.).

Sellülitik artıkların kullanıldığı bir çalışmada 28 günlük inkübasyon sonunda lignin miktarı % 27.21 oranında artmış, bu artış kullanılan mikroorganizmanın sellülitik etkinliğinin yüksek olup lignolitik etkinliğinin olmamasına

bağlanmıştır (70). 45 değişik fungus türünün saman ve kayın ağacı üzerine 60 günlük inkübasyonunun delignifikasyon üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada en etkili türün *Trametes versicolor* (% 79) olduğu ve *Fomes fomerantis*'un da benzer delignifikasyonda bulunduğu bildirilmiştir. En etkili türler olarak *Pleurotus eryngii*, *Fomes fomerantis*, *Trametes versicolor*, *Pleurotus ostreatus*, *Picnoporus cinnabarinus* ve *Phanerochaete chrysosporium* bildirilmiş olup, delignifikasyon % 15-20 arasındadır (120). Bildirişler çalışmamızın 40. gününe ait sonuçlarla paralellik göstermektedir (tablo - 3.6.). Fungal degradesyondan sonra suda eriyebilir lignin fraksiyonu en fazla miktarda *Ganoderma applanatum* ile inkübasyonda artmıştır (% 36.8). *Trametes versicolor*la inkübasyon sonucu samanın sindirilebilirliğinin % 40 oranında arttırıldığı bildirilmiştir (120) benzer durum bulgularımızda gözlenmektedir.

Pamuk samanına inkübe edilen *Pleurotus* türlerinin 21 günlük inkübasyonları sonucu pamuk samanı lignin içeriğini ortama spesifik solubl fenolik fraksiyonlar bırakarak % 60 oranında parçaladığı bildirilmiştir (88). Bu oran araştırma sonuçlarımızda aynı tür funguslarda ve benzer inkübasyon süresinde % 10'u geçmemekte olup sonuçlar arasında büyük fark tesbit edilmiştir. Buğday samanında *Polyponus odustus* fungusunun Cel-6 mutanı ile yapılan 2 aylık inkübasyon sonrası lignin kaybının % 52 olduğu bildirilmiştir (30).

Pleurotus ostreatus fungusu ile *Erwinia corotovora* bakterisinin birlikte 56 gün süre ile inkübe edildiği bir başka çalışmada delignifikasyonun % 69, ham sellüloz kaybının % 55 olarak bulunduğu bildirilmiştir (108). Çalışmamızda aynı fungus ile aynı süreli inkübasyonda bulunan sonuçlar lignin ve ham sellüloz için sırasıyla % 24.60 ve % 19.68 olarak tesbit edilmiş olup sonuçlar arasında farklılıklar mevcuttur. Bu farklılığın fungus + bakteri kompleksinin sinerjetik etkileşimi sonucu olabileceği tahmin edilmektedir.

Lignin miktarları sırasıyla % 30.6, % 20.1, % 22.7, % 25.1 ve % 29.2 olan kayın talaşı, saz, üzüm ve ayçiçeği sapları ile pirinç kavusunun *Pleurotus* türleri ile yapılan 60 günlük inkübasyon sonucu fungus türlerine bağlı olarak lignin kaybı sırasıyla % 20.1 - 34.7, % 55.8 - 35.3, % 67.6 - 68.1, % 60.3 - 59.6 ve % 21.6 olarak bildirilmiştir (130).

Sonuçlar çalışmamızın aynı süreli delignifikasyon miktarlarının bir kısmı ile paralellik gösterirken diğer bir kısmı ile oldukça farklıdır. Bir çoğu beyaz çürükçül olan *Basidiomycetes* sınıfına dahil 22 fungusun 30, 60 ve 90 gün süre ile samanla inkübe edildiği bir çalışmada delignifikasyon üzerine en etkili türler olarak *Pleurotus ostreatus* ve *Pleurotus florida* bildirilmiştir (75). 30. günde delignifikasyon sırasıyla % 23.75 ve % 26.25 olarak bildirilirken 60. gün için ise sırasıyla % 51.25 ve % 61.25 olarak bildirilmiştir. Aynı funguslar çalışmamızda da delignifikasyon üzerine etkili bulunmuştur ancak literatürdeki 60. gün sonuçları ile çalışmamızın 30. gün bulguları paralellik göstermesine rağmen 60 günlük bulgular karşılaştırıldığında farklılıklar ortaya çıkmaktadır. Bu farklılık, kullanılan fungusların Brezilya'dan elde edilen tropik türlerin sellüloz-eksik mutantlarının (cellulase deficient mutant - PFR-343, PFB-551) kullanılmış olması nedeniyle ileri gelmiş olabilecektir.

Pleurotus sajor-caju ile 12 hafta süre ile inkübasyona tabi tutulan buğday samanında lignin miktarı % 55.55 oranında bir düşüş gösterdiği bildirilirken (74) aynı fungusun kullanıldığı çalışmamızda 60. gün sonundaki lignin kaybı % 29.74 olmuştur. Bulgular arasında inkübasyon süresine bağlı olarak fark gözlenmiştir.

Şeker kamışı artıklarının 40 gün süre ile *Pleurotus sajor-caju* fungusu ile inkübe edildiği bir çalışmadaki delignifikasyon % 14 olarak bildirilmiştir (50). Sonuçlar aynı fungus ile yapılan çalışmamızın 40 günlük inkübasyon bulguları ile

benzerlik göstermektedir. Aynı çalışmada in-vitro sindirilebilirlik kontrole göre % 17 artığı bildirilmiş olup çalışma bulgularımız ile paralellik göstermektedir.

Kâğıt hamuru üretiminde fungusların kullanımı ile ilgili yapılan bir çalışmada buğday samanı *Pleurotus ostreatus* ile 60 gün süreyle inkübasyonunda delignifikasyonun % 22.05 olduğu sellüloz miktarında da % 45.17'lik bir kaybın olduğu bildirilmiştir (11). Yapılan bildirişle aynı fungusun benzer süreli kullanıldığı çalışmamızda delignifikasyon oranları benzer olmasına rağmen sellüloz kayıpları arasında farklılıklar bulunmuştur. Kâğıt hamuru üretiminde fungusların kullanımı ile ilgili yapılan bir çalışmada buğday samanının *Pleurotus ostreatus* ile yapılan inkübasyonuna ait bildirişlerde (11) 60. güne ait delignifikasyon ve sellüloz kayıpları ile ilgili sonuçlar ile çalışmamızın aynı süreli sonuçları arasında fark varken aynı çalışmanın 131. günlük bildirişleri ile paralellik mevcuttur. Bu durumun substrat olarak kullanılan buğday samanının boyutları ile ilgili olduğu sonucuna varılmıştır.

Çalışmanın diğer bir bölümünde ise samanın 9 farklı tür beyaz çürükçül fungusla yapılan 20, 40 ve 60 günlük inkübasyon sonucu elde edilen ürünün rumen fistüllü deneme hayvanlarında 48 saat'lik in-situ yıkılabilirliği incelenmiştir. Buna göre kontrol grubunun in-situ kuru madde yıkılabilirliği % 31.15, ham protein yıkılabilirliği % 19.75, Ham sellüloz yıkılabilirliği % 28.32, nötral deterjan fiber yıkılabilirliği % 20.93 ve lignin yıkılabilirliği ise % 16.52 olarak bulunmuştur.

20 günlük inkübasyonlarda in-situ yıkılabilirlik üzerine % 48.89'luk bir artışla *Pleurotus sapidus* en etkili olmasına rağmen aynı fungusun 40 ve 60 günlük inkübasyonlarda kontrole ve diğer türlere göre istatistiksel olarak etkisi önemli bulunmamıştır. Buğday samanında 20 günlük bir inkübasyon yapılmak istenirse bu

fungus türü tavsiye edilebilir. Aynı zamanda ham sellüloz, ham protein ve nötral deterjan fiber yıkılabilirlikleri de kontrole göre sırasıyla % 34.63, % 12.15, % 26.18 oranlarında artmıştır artışlar istatistiksel olarak önemlidir ($P < 0.001$).

40 günlük inkübasyonlarda *Pleurotus eryngii* ve *Pleurotus flagellatus* in-situ kuru madde yıkılabilirlikleri diğer türlere göre daha fazladır farklılık istatistiksel olarak önemlidir ($P < 0.01$). 60 günlük inkübasyonlarda her bir fungus türü kuru madde yıkılabilirliğini arttırmıştır, artışlar *Pleurotus sapidus* hariç istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P < 0.001$).

Ham sellüloz yıkılabilirliği incelendiğinde 20 günlük inkübasyonlarda *Pleurotus ostreatus* ve *Phanerochaete chrysosporium* haricinde diğer türlerin kontrole göre % 10 - 30 oranında yıkılabilirliği arttırdığı bulunmuş olup artışlar istatistiksel olarak önemlidir ($P < 0.001$). 40 günlük inkübasyonlarda ise *Phanerochaete chrysosporium* hariç diğer fungus türleri etkili bulunmuştur. 60 günlük inkübasyonda tüm fungus türleri ham sellüloz yıkılabilirliği üzerine etkili bulunmuştur ($P < 0.001$).

Nötral deterjan fiber yıkılabilirliğini 20 günlük inkübasyonlarda *Pleurotus sajor-caju* hariç diğer türler, 40 ve 60 günlük inkübasyonlarda ise bütün fungus türleri yıkılabilirliği arttırmıştır artış istatistiksel olarak önemlidir ($P < 0.001$).

Ham protein yıkılabilirliği üzerine 20 günlük inkübasyonlarda *Pleurotus eryngii* ve *pleurotus flagellatus* hariç diğer türler etkili bulunurken 40 ve 60 günlük inkübasyonlarda tüm fungus türleri etkili bulunmuştur, yıkılabilirlikteki artışlar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P < 0.001$).

Yapılan bir çalışmada 60 günlük inkübasyonda in-vitro sindirilebilirlik % 40-50 arasında seyrederken (118) çalışmamızda bu değerler % 30-50 arasında

değişmiş olup kontrole göre artışlar % 30-70 arasında değişmektedir. Sonuçlar arasında paralellik mevcuttur. *Trichoderma viride* fungusu ile 4 hafta süreli mısır koçanının inhibasyonu sonucu farelerde yapılan bir denemede canlı ağırlık artışının yükseldiği, koyunlarla yapılan bir sindirim denemesinde ise kuru madde yıkılabilirliğinin % 4.8, N'siz öz madde yıkılabilirliğinin % 9 ve tüm sindirilebilir besin maddeleri yıkılabilirliğinin % 18 oranında arttığı bildirilmiştir (123).

Bir diğer çalışmada 60 günlük inkübasyonda buğday samanı yıkılabilirliği kullanılan fungusun türüne bağlı olarak kontrole göre % 38 - 45 oranında artmıştır (120). Sonuçlar arasında paralellik mevcuttur. *Pleurotus ostreatus* fungusu + *Erwinia corotovor*a bakterisi karışımı ile yapılan 56 günlük bir inkübasyonda in-vitro kuru madde yıkılabilirliğinin % 15 oranında arttığı bildirilmiştir (108). Çalışmamızda aynı fungus ile yapılan inkübasyonda in-situ kuru madde yıkılabilirlikleri 20 ve 40. günlerde sırasıyla % 11.36 ve % 11.72 oranındaki artışlarla adı geçen literatürle uyum içinde olmasına rağmen 60 günlük inkübasyonda % 42.21'lik bir artışla büyük bir farklılık ortaya çıkarmıştır.

In-vitro sindirilebilirlik artışının test edildiği kayın talaşı, saz, üzüm ve ayçiçeği saplarının kullanıldığı ve *Pleurotus türleri*yle 60 günlük inkübasyonun yapıldığı bir çalışmada in-vitro yıkılabilirlikler sırasıyla % 34.9 - 17.6, % 44.9 - 62.5, % 71.2 - 61.9 olarak bildirilmiş olup (130) çalışmamızın aynı süreli inkübasyonunun in-situ yıkılabilirlik sonuçlarıyla paralellik göstermektedir. Çam ve paşa ağacı kabuklarının beyaz ve kahverengi çürükçüllerle yapılan 3 haftalık inkübasyonları sonucu beyaz çürükçül fungusların lignini % 30 - 56 arasında yıkladıkları, kahverengi çürükçüllerde ise bu oranın % 0.1 - 2.3 arasında kaldığı bildirilmiştir (57). Bildirilerin çalışmamızın aynı süreli bölümünden farklı olması substrat olarak kullanılan bitki materyali ile fungus kültürlerinin farklılığından ileri gelebileceği gibi adı geçen literatürdeki fungusların yüksek fenolik aktivitelerinden de ileri gelebilmektedir.

8 aynı türü temsil eden 129 ot örneğinin kullanıldığı bir çalışmada artan lignin miktarı ile hücre duvarı, sellüloz ve hemisellüloz in-vitro yıkılabilirliklerinin olumsuz yönde etkilendiği bildirilmiş olup (47), çalışmamızda delignifikasyonla orantılı olarak in-situ yıkılabilirliklerinin artmış olması araştırmalar arasında paralelligi ortaya koymaktadır. Buğday samanının *Pleurotus sajor-caju* ile 12 hafta süre ile inkübe edildiği bir çalışmada in-vitro yıkılabilirliğin % 29.8'den % 98.65'lik bir artışla % 59.2' ye çıktığı bildirilmiştir (74). Bu sonuç 60 günlük inkübasyonda % 50.08'lik bir artışla % 31.15 den % 46.75'e çıkan aynı fungusu ait bulgu ile paralellik göstermektedir.

Yapılan bir başka çalışmada *Pleurotus ostreatus* fungusu ile buğday samanının 40 ve 60 günlük inkübasyonu sonucu in-vitro kuru madde yıkılabilirliği kontrole göre sırasıyla % 25.64 ve % 31.41 oranlarında arttığı bildirilmiş olup (30) bu durum çalışmamızda sırasıyla % 11.72 ve % 42.21 oranlarında tesbit edilmiştir.

Çalışmanın son bölümünde ise mevcut fungusların statik ve labil ortamlardaki ligninaz aktiviteleri saptandı (Grafik - 3.1., 3.2, 3.3, 3.4, 3.5, 3.6, 3.7., 3.8. ve 3.9).

Aktivitelerin en yüksek olduğu güne ait yapılan seri inkübasyonlarla saman numuneleri 4 gün süre ile inkübe edilerek fungal ekstraksiyondaki ligninaz enziminin in-sitü yıkılabilirlik üzerine etkisi araştırıldı. Statik ortamda elde edilen aktiviteler labil ortamlardan elde edilenlerden daha yüksek bulunmuştur. Statik ortamda üretilen kültürlerden elde edilen ligninaz aktivitelerinin labil ortamda üretilenlerinkinden fazla olması kimi araştırmacılar tarafından da paylaşılmaktadır (6, 42, 58).

Fungusların ligninaz enzimi üretimlerinin, bunların sekonder metabolizmalarıyla ilgili olduğu bildirilmiştir (13, 53, 94, 95, 100, 115). Funguslarda sekonder metabolizma logaritmik faz sonrası üreme eğrisinin duraklama fazına ulaştığı dönemde başlamaktadır ve ısı, fungal kültür, zaman, substart bileşimi, makro ve mikro elementler substratın fiziksel yapısı, gaz fazın bileşimi gibi etkenlerin kombine olduğu multifaktöriyel bir etkileşim göstermektedir. Çalışmamızda ligninaz indüktörü olarak veratril alkol kullanılmıştır.

Günlere bağlı olarak funguslarda üremenin 3. gününden itibaren ligninaz aktivitesinin arttığı ve yine türe bağlı olarak 6, 7 ve 8. günlerde maksimum noktaya ulaştığı ve daha sonra ani bir düşüş gösterdiği saptanmış olup bu durum literatür verileriyle de paralellik göstermektedir (6, 13, 61, 59, 32, 26, 87).

Çalışmamızdaki fungus türlerine göre ligninaz aktivitelerinin en yüksek olduğu günler ve aktivite miktarları; *Pleurotus comeopia* 6. günde 7.2 nkat.ml⁻¹, *Pleurotus eryngii* 6. günde 5.9 nkat.ml⁻¹, *Pleurotus flagellatus* 7. günde 5.4 nkat.ml⁻¹, *Pleurotus florida* 6. günde 8.3 nkat.ml⁻¹, *Pleurotus sapidus* 7. günde 6.2 nkat.ml⁻¹, *Pleurotus sajor-caju* 7. günde 12.5 nkat.ml⁻¹, *Pleurotus ostreatus* 7. günde 10.8 nkat.ml⁻¹, *Phanerochaete chrysosporium* 8. günde 10.8 nkat.ml⁻¹ ve *Agaricus bisporus* 6. günde 6.7 nkat.ml⁻¹ olarak tesbit edilmiştir. Buna göre en yüksek aktivite *Pleurotus sajor-caju* ve aynı miktarlarda olmak üzere *Phanerochaete chrysosporium* ile *Pleurotus ostreatus* saptanmış olup sırasıyla 12.5 nkat.ml⁻¹, 10.8 nkat.ml⁻¹ ve 10.8 nkat.ml⁻¹ olarak tesbit edilmiştir. Ligninaz enzim aktivitesi, pH, nem, azot miktarı, N : C oranı ısı, ışık, ajitasyon gibi bir çok faktörden etkilenebilmektedir.

Phanerochaete chrysosporium ile yapılan bir çalışmada ligninaz aktivitesi 22.4 nkat.ml⁻¹ olarak bulunmuşken (6) araştırmamızda 10.8 nkat.ml⁻¹ olarak

tesbit edilmesi aktivitenin multi faktöriyel bir olgu olmasından kaynaklanmaktadır. Ligninaz enzimi ile buğday samanının inkübasyonunda in-situ kuru madde yıkılabilirlikleri incelendiğinde *Pleurotus eryngii*, *Pleurotus flagellatus* ve *Agaricus bisporus*'un etkisinin istatistiksel olarak önemli olmadığı tesbit edilmiştir (tablo - 3.12). Buna karşın kontrolle karşılaştırıldığında in-situ yıkılabilirlik üzerine en yüksek etkinin *Pleurotus sajor-caju*, *Phanerochaete chrysosporium* ve *Pleurotus ostreatus*'tan elde edilen enzim tarafından meydana getirildiği ve yıkılabilirliklerin sırasıyla % 33.30, % 30.71 ve % 24.70 oranlarında arttığı (tablo - 3.12) ve farklılıkların istatistiksel olarak önemli olduğu saptanmıştır ($P < 0.001$).

Pleurotus sajor-caju, *Phanerochaete chrysosporium* ve *Pleurotus ostreatus* funguslarının araştırmanın ilk bölümündeki buğday samanı lignin miktarı üzerindeki etkileriyle, son bölümde aynı mikroorganizmaların ligninaz aktiviteleri ve bunlardan elde edilen enzim solüsyonlarıyla samanın inkübasyonu sonucundaki in-situ kuru madde yıkılabilirlikleri arasında paralellik mevcuttur.

Sonuç olarak, hayvan besleme alanında saman gibi düşük kaliteli kaba yemlerin besin madde içeriklerinin ve sindirilebilirliklerinin artırılmasına yönelik sayısız fiziksel ve kimyasal çalışma yapılmış, ancak ekonomik olmamaları, delignifikasyona etkilememeleri ve çevre kirliliğine yol açmaları gibi nedenlerle yaygınlık kazanamamışlardır. Ekonomik oluş, artık ve atıkların yüksek değerlikli ürünlere dönüşümü, çevre kirliliğine yol açmama ve yığinsal üretim gibi faktörler göz önüne alındığında hayvan besleme alanında biyoteknolojik çalışmalara yer verilme zorunluluğu vardır.

Bu çalışma ile yurdumuzda en fazla miktarda tarımsal artık olarak elde edilen ve hayvan besleme açısından düşük değerlikli bir yem maddesi olan sa-

manın lignolitik aktiviteli funguslarla inkübe edilerek gerek delignifikasyon sonucu sindirilebilirliğinin ve gerekse ham protein içeriğinin, yüksek sindirilebilirlikli ve biyolojik değerlikli tek hücre proteini yönünden arttırılabildiği gösterilmiştir. Ligninaz enziminin de aynı amaçlarla kullanılabilceğinin gösterilmiş olduğu bu çalışmada, enzim kullanımının ekonomik olabilmesi için sentetik olarak elde edilen sellüloz enziminde olduğu gibi ligninazın da sentetik olarak eldesine yönelik çalışmalara ve kullanılan fungusların genetik çalışmalara sellüloz üzerine etkisiz mutantlarının geliştirilmesine gerek vardır.

5.ÖZET

Bu çalışmada ülkemizde en fazla miktarda tarımsal artık olarak elde edilen ve hayvan beslemede düşük kaliteli bir kaba yem olarak kullanılan buğday samanının biyoteknolojik metodlarla değerlendirilebilirliğinin artırılma olanakları araştırılmıştır.

Araştırmada 9 farklı tür beyaz-çürükçül fungus kullanılmıştır. Çalışma 3 farklı aşamada yürütülmüştür.

Birinci aşamada buğday samanı funguslarla 20, 40 ve 60 gün süreyle inkübe edilmiştir. İnkübasyon süreleri sonunda buğday samanı besin maddelerindeki değişiklikler incelenmiştir. Buna göre ham protein miktarı tüm inkübasyon sürelerinde artmıştır. En fazla artış ise 60 günlük inkübasyonda *Phanerochaete chrysosporium* ile *Pleurotus eryngii* tarafından meydana getirilmiş olup sırasıyla % 121.60 ve % 121.29 olarak tesbit edilmiştir Tüm inkübasyon süreleri boyunca ham selüloz miktarında *Agaricus bisporus* ile *Pleurotus sajor-caju* hariç ve nötral deterjan fiber miktarında *Agaricus bisporus* dışındaki diğer türler azalmaya neden olmuştur.

Ham selüloz ve nötral deterjan fiber miktarlarındaki azalma aynı süreli inkübasyonlarda benzer olduğundan bu durum fungusların bu besin maddeleri ile birlikte lignini de parçalamalarına bağlanmıştır. En yüksek delignifikasyon miktarının ise 60 günlük inkübasyonda *Pleurotus sajor-caju* ve *Phanerochaete chrysosporium* tarafından sırasıyla % 29.74 ve % 29.50 şeklinde gerçekleştiği tesbit edilmiştir.

Çalışmanın ikinci aşamasında ise funguslarla değişik sürelerde inkübasyona tâbi tutulan buğday samanının besin maddelerinin naylon-torba tekniği ile in-situ yıkılabilirliklerindeki değişimler incelenmiştir.

Bu amaçla 3 adet rumen fistüllü Akkaraman koç kullanılmıştır. 20 günlük inkübasyonda kuru madde yıkılabilirliği üzerine en etkili tür olarak *Pleurotus sapidus* bulunmasına karşın diğer inkübasyon sürelerinde tüm fungus türleri yıkılabilirliği arttırmıştır.

Ham protein yıkılabilirliği üzerine 20 günlük inkübasyonda *Pleurotus eryngii* ve *Pleurotus flagellatus* hariç diğer tüm fungus türleri, ile bütün inkübasyon sürelerinde fungusların hepsi artırıcı etkide bulunmuştur. Ham sellüloz yıkılabilirliğini 20 günlük inkübasyonda *Pleurotus ostreatus* ve *Phanerochaete chrysosporium* hariç diğer türler, 40 günlük inkübasyonda *Phanerochaete chrysosporium* dışındaki diğer türler ile 60 günlük inkübasyonda tüm fungus türleri arttırmıştır.

Nötral deterjan fiber yıkılabilirliğini 20 günlük inkübasyonda *Pleurotus sajor-caju* hariç ve 40 ve 60 günlük inkübasyonlarda ise tüm fungus türleri arttırmıştır. Lignin yıkılabilirliği üzerine ise 20 günlük inkübasyonda *Pleurotus ostreatus* 40 ve 60 günlük inkübasyonlarda ise *Phanerochaete chrysosporium* ve *Pleurotus sajor-caju* en etkili fungus türleri olarak saptanmıştır.

Çalışmanın son bölümünde ise funguslardan elde edilen ligninaz enzimiyle yapılan inkübasyonların in-situ kuru madde yıkılabilirliği üzerine etkisi incelenmiştir. En yüksek ligninaz aktivitesi *Pleurotus sajor-caju*, *Pleurotus ostreatus* ve *Phanerochaete chrysosporium*'da tesbit edilmiş olup en yüksek in-situ yıkılabilirlik bu funguslardan elde edilen enzimle inkübe edilmiş numunelerde saptanmıştır. Kuru madde yıkılabilirlikleri ise sırasıyla % 33.30, % 24.70 ve % 30.71 olarak tesbit edilmiştir.

Pleurotus sajorajju, *Phanerochaete chrysosporium* ve *Pleurotus ostreatus* funguslarının araştırmanın ilk bölümündeki buğday samanı lignin miktarı üzerindeki etkileriyle ~~son~~ bölümde aynı mikroorganizmaların ligninaz aktiviteleri ve bunlardan elde edilen enzim solüsyonlarıyla samanın inkübasyonu sonucundaki in-sitü kuru madde yıkılabilirlikleri arasında paralellik saptanmıştır.



6. SUMMARY

This study was carried out to investigate the development of wheat straw as a low quality roughage which is obtained in the greatest amount of agricultural waste in Turkey using biotechnologic methods.

In the study 9 different kinds of white-rot fungi were used. The study was carried out in 3 different steps.

In the first step, wheat straw was incubated with fungi for 20,40 and 60 days. At the end of the incubation period nutritional differences of the wheat straw were investigated. According to the results, crude protein contents were increased in all the incubation times. The highest increases were brought about with *Phanerochaete chrysosporium* and *Pleurotus eryngii* 121.60 % and 121.29 % respectively at 60 days incubation period. Through all the incubation periods, with the exception of *Agaricus bisporus* and *Pleurotus sajor-caju* for crude cellulose and *Agaricus bisporus* for neutral detergent fiber content, all strains caused a reduction in these parameters. As the reduction of crude cellulose and neutral detergent fiber content were similar through the same incubation times, it was concluded that the fungi degraded lignin along with these nutrients. The highest delignification rates were determined as 29.74 % and 29.50 % for *Pleurotus sajor-caju* and *Phanerochaete chrysosporium* respectively at 60 days incubation period.

In the second step of the study, the in-situ degradation changes of the nutrients of wheat straw which had been incubated with fungi at different times were investigated using the nylon-bag technique.

For this purpose 3 mature Akkaraman rams were used. Although *Pleurotus sapidus* was determined to be the most effective strain on dry matter degra-

dability at 20 days incubation time, all the fungi strains increased the degradability at all the incubation times. The degradation of crude protein through 20 days incubation times was increased by all the fungi strains except *Pleurotus eryngii* and *Pleurotus flagellatus* and was increased by all the fungi during all the incubation times. With the exception of *Pleurotus ostreatus* and *phanerochaete chrysosporium* at 20 days incubation and *Phanerochaete chrysosporium* at 40 days incubation and all the fungi at 60 days incubation increased crude cellulose degradability. With the exception of *Pleurotus sajor-caju* at 20 days incubation time, all the fungi increased the neutral detergent fiber degradability at all the incubation times.

Pleurotus ostreatus at 20 days incubation and *Phanerochaete chrysosporium* and *Pleurotus sajor-caju* at the other incubation times were found to be the most effective fungi strains on lignin degradability.

In the last step of the study, the effect of incubation with the enzyme ligninase obtained from the fungi on in-situ dry matter degradation was investigated. The highest ligninase activities were determined in *Pleurotus sajor-caju*, *Phanerochaete chrysosporium* and *Pleurotus ostreatus* and the largest dry matter degradation rates were determined for samples incubated with the enzyme obtained from these fungi. The dry matter degradabilities were determined as 33.30 %, 30.71 % and 24.70 % respectively.

A direct relationship was determined among the effect of *Pleurotus sajor-caju*, *Phanerochaete chrysosporium* and *pleurotus ostreatus* on the wheat straw lignin content in the first part of the study and the ligninase activities of the same microorganisms in the final part of the study and the in-situ dry matter degradabilities as a result of incubation of the straw with the enzyme solutions obtained from these fungi.

7. KAYNAKÇA

1. Aar, P.J., Berger, L.L., Fahey, Jr and Loerch, S.C. : Effects of alcohol treatments on utilization of soybean meal by lambs and chicks. J. Anim.Sci. 57: 511-518.1983.
2. Akhtar, M., Attridge, C.M., Myers, C.G., Kirk T.K. and Blanchette, R.A.: Biomechanical Pulping of loblolly pine with different strains of the white-rot-fungus *ceripriopsis subvermispora*. Tappi Journal February : 105-109.1992.
3. Ammerman, C.B., Gladys, J.V., Moore, J.E., Burns, W.C. and Chicco, C.F.: Bluret, urea and natural proteins as nitrogen supplements for low quality roughage for sheep.J.Anim.Sci.35:121-127.1972.
4. Ander, P. and Eriksson. K.E.: Selective degradation of wood components by white-rot fungus.J. physiol. Plant.41:239-248.1977.
5. A.O.A.C. Official Methods of Analysis: Association of official Analytical chemists 14 th ed., Arlington Inc. Virginia 1984.
6. Astherand, M. and Corrieu, G.: Effect of tween-80 and Oleic acid on ligninose production by *Phanerochaete chrysosporium* INA-12 Enzyme Mikrobiol. Technol., 9:245-249.1987.
7. Barley, S.S. and Kirk, T.K.: Effects of Molecular Oxygen on lignin degradation by *Phanerochaete chrysosporium*. Biochemical and Biophysical Research Communication 99:373-378.1981.
8. Bhargava,P.K. and Orskov,B.R.: Mannual for the use of Nylon bag technique in the evaluation of feedstuffs. The Rowett research institute, scotland.1987.

17. Close,W. and Menke, K.H.: Selected Topics in Animal Nutrition 1+163. The Institute of Animal Nutrition, University of Hohenhein.1986.
18. Coombe,J.B., Dinius,D.A., Goering,H.K. and Oltjen,R.R.: Wheat straw-urea diets for beef steers: Alkali treatment and supplementation with protein, monensin and a feed intake stimulant J.Anim.Sci., 48:1223-1233.1979.
19. Coşkun.B.,Tuncer,Ş.D.,Şeker,E.,Kadak,R. ve Deligözlüoğlu,F.: Süt ineklerinde üre ile muamele edilen samanın bazı kaba yemlerle karşılaştırmalı olarak kullanılması. Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Derg.,30:7-8. Ankara 1990.
20. Crueger.W. and Crueger,A.: Biotechnology.: A textbook of Industrial Microbiology X + 357. 2 nd ed. Sinaver Ass. Inc.1989.
21. Çerçi,H.İ. ve Sarı,M: Ürenin rasyonlara farklı yöntemlerle ilave edilmesinin keçilerde sindirilme dereceleri ve azot dengesi üzerine etkileri A.Ü. Vet.Fak.Derg.,37: 160-172.1990.
22. Çerçi,H.İ. ve Sarı,M.: Farklı kimyasal maddelerle işlenen buğday samanının in-vitro sindirilme derecesi (Yayınlanmadı).
23. Çetin, E.T., Erarslan, A.: Mikroorganizmanın beslenme gereksinimleri ve fermentasyonda kullanılan besi yerlerinin bileşimi. 71-85. Çetin, E.T. (Ed.) Endüstriyel Mikrobiyoloji.İ.Ü. Tıp Fak.Vakfi Yayınları Yayın No:2. 1983.
24. Çetinkaya,N.: Yem maddelerinin değerlendirilmesinde naylon torba metodunun kullanılması. Yem Magazin 1:28-30.1992.

25. Demain,L.A. and Solomon, A.N.: Manuel of Industrial microbiology and biotechnology. American Society for microbiology. XI+448. Washington 1986.
26. Duran,N., Rodriguez,J., Ferraz,A. and Campos,V.: Chrysonila sitophila (TFB-27441): A hyperlignolytic strain.Biotechnology letters 9:357-360.1987.
27. Düzgüneş,O., Kesici,T.ve Gürbüz.F.: İstatistik metodları A.Ü.Zir.Fak. Yayın No:861.A.Ü. Basımevi, Ankara.1983.
28. Düzgüneş,O., Kesici,T., Kavuncu,O. ve Gürbüz, F.: Araştırma ve deneme metodları A.Ü. Zir.Fak.Yayın No: 1021.A.Ü.Yayınevi,Ankara 1987.
29. Ek, M. and Eriksson, K.E.: Utilization of the white-rot fungus *Sporotrichum pulverulentum* for water purification and protein production on mixed lignocellulosic waste waters. Biotechnology and Bioengineering 22: 2273-2284.1980.
30. Erikson,K.E. and Goodell,E.W.: Pleiotropic mutants of the wood-rotting fungus *Polyporus adustus* lackig cellulase, mannase and xylanase. Can-j. Microbiol 20: 371-378.1974.
31. Evans,S.C.: Lignin degradation. Process Biochemistry,August : 102-105.1987.
32. Faison,B.D., Kirk, T.K. and Farrell,R.L.: Role of veratryl alcohol in regutating ligninase activity in *Phanerochaete chrysosporium*. J. Appl. Environ Mikrobiol. 52:251-254.1986.

33. Fermor, T.R. and Grant, W.D.: Degradation of fungal and Actinomycete Mycelia by *Agaricus bisporus*. J. General Microbiol. 131:1729-1734. 1985.
34. Fiecher, A.: Advances in Biochemical Engineering and Biotechnology: Pentoses and Lignin. 27 : 120-174. 1983.
35. Friedman, A.A. Robbins, L.E. and Wauford, R.J.: Effect of disk rotational speed on biological contuctor efficiency. J. Water Poll. Cont. Fed. 51:2678-2690. 1979.
36. Garleb, K.A., Fahey, G.C., Lewis, S.M., Kerley, M.S. and Montgomery, L.: Chemical composition and digestibility of fiber fractions of certain by-product feedstuffs fed to ruminants. J. Anim. Sci. 66:2650-2662. 1988.
37. Glenn, J.K., Morgan, M.A., Mayfield, M.B., Kuwahara, M. and Gold, M.H.: An extracellular H₂O₂-requiring enzyme preparation involved in lignin biodegradation by the white rot Basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium*. Biochemical and biophysical research communications. 114:1077-1083. 1983.
38. Guggolz, J., Kohler, G.O. and Kloppenstein, T.J.: Composition and improvement of grass straw for ruminant nutrition J. Anim. Sci., 33:131-156, 197.
39. Günay, A., Abak, K. ve Koçyiğit, A.E.: Mantar Yetiştirme. 1+272. Cilt II. Çağ Matbaası. Ankara. 1984.
40. Hall, P.L.: Enzymatic transformations of lignin: 2 Enzyme Microbiol Technol. 2:170-176. 1980.
41. Harbes, L.H., Kreitner, G.L., Davis, G.V., Rosmussen, M.A. and Corah, L.R.: Ruminant digestion of ammonium hydroxide-treated wheat straw observed by scanning electron microscopy. J. Anim. Sci. 54:1309-1320. 1982.

42. Hatakka,A.,Kantelinen,A.,Terusla-wilo,A.and Viikari,L.:Production of ligninase by *Phlebia radiata* in agitated cultures. International seminar on lignin enzymic and microbiol degredation, Paris.1987.
43. Hiquchi,T.:Lignin structure and morfological distribution in plant cell walls 2-17: Lignin biodegradation microbiology, chemistry and applications. Kirk,T.K. and chang (Ed.), H. CRC press.Inc.Boco Rator,Florida 2-17.1981.
44. Horton,G.M.J. and Steacy,G.M.: Effect of anhydrous ammonia treatment on the intake and digestibility of cereal straws by steers.J.Anim.Sci. 48:1239-1249.1979.
45. Hunt,C.W., Paterson,J.A.,Fischer,J.R. and Williams,J.E.: The effect of sodium hydroxide treatment of fescue corn stillage diets on intake, digestibility and performace with lambs.J.Anim.Sci.57:1013-1019.1983.
46. Hunt,C.W.,Paterson,J.A.,Zinn,G.M. and Williams,J.E.: Effect of particle length and sodium hydroxide treatment of wheat straw on site and extent of digestion by lambs.J.Anim.Sci.58:1454-1460.1984.
47. Jung,H.G. and Vogel,K.P.: Influence of lignin on digestability of forage cell wall material. J.Anim.Sci.62:1703-1712.1986.
48. Kerley,M.S.,Fahey,G.C.,Berger,L.L.,Merchen,N.R. and Gould,J.M.: Effects of alkaline hydrogen peroxide treatment of wheat straw on site and extent of digestion in sheep.J.Anim.Sci.,868-878.1986.

49. Kerley, M.S., Garleb, K.A., Fahey, G.C., Berger, L.L., Moore, K.J., Phillips, G.N. and Gould, J.M.: Effects of alkaline hydrogen peroxide treatment of cotton and wheat straw on cellulose crystallinity and on composition and site and extent of disappearance of wheat straw cell wall phenolics and monosaccharides by sheep. *J. Anim. Sci.*, 66:3235-3244. 1988.
50. Kewalramani, N., Kamra, D.N., Lall, D. and Pathak, N.N.: Bioconversion of sugarcane baggasse with white rot fungi. *Biotechnology letters*. 10:369-372. 1988.
51. Kirk, K.T.: Effects of microorganism on Lignin *Ann. Rev. of Phytopathology*. 9:185-210. 1971.
52. Kirk, T.K.: Degradation of lignin. *Microbial degradation of Organic compounds*. D.T. Gibson (c.d.) Inc. 14:399-437. 1984.
53. Kirk, T.K. and Cowling, E.B.: Biological decomposition of solidwood: The chemistry of solid wood: R.M. Rowell (Ed). *Advances in chemistry series* 207 Washington, American chemical society., 12:455-487. 1984.
54. Kirk, T.K., Croan, S., Tien, M., Murtagh, K.E., Farrell, R.L.: Production of multiple ligninase by phanerochaete *Cryosporium*: Effect of selected growth conditions and use of a mutant strain *Enzyme Microbial. Technol.* 8:27-32. 1986.
55. Kirk, T.K. and Farrell, R.: Enzymatic "combustion" The microbial degradation of lignin *Ann. Rev. Microbiol.* 41:465-505. 1987.

56. Kirk.T.K., Higuchi,T. and Chang, H.: Lignin biodegradation, Microbiology, Chemistry and Potential applications. Crawford.D.L. and Sutherland, J.B.(Ed): Isolation and characterization of Lignocellulose-decomposing actinomycetes. CRC Press.Inc. Boca Paton,Florida.1981.
57. Kirk,K.T. and Kelman, A.: Lignin degradation as related to the phenoloxidases of selected wood decaying basidiomycetes. *Phytopathology*. 55:737-745.1965.
58. Kirk,T.K., Schultz,E.,Tonnors, W.J. Louenz, L.F. and Zeikus J.G.: Influence of culture parameters on lignin metabolism by *Phanerochaete chrysosporium* *J.Appl.Microbiol.*117:227-285.1978.
59. Kirk,T.K., Tien,M.,Johnsrud,S.C. and Eriksson, K.E.: Lignin degrading activity of *Phanerochaete chrysosporium* Burds: Comparison of cellulase-negative and other strains *Enzyme Microbiol. Technol.* 48:75-80.1986.
60. Kirk,T.K., Tien,M.,Kersten,P.J.,Mozuch,M.D. and Kalyanaraman,B.: Ligninase of *phanerochaete chrysosporium* mechanism of its degradation of the non-phenolic arylglycerol β -aryl ether substructure of lignin. *J.Biochem.*236:279-187.1986.
61. Kirk, T.K. and Highley, T.L.: Quantative changes in structural components of coniter woods during decay by white and brown-rot fungi. *Phytopathology*, 63:1338-1342.
62. Kirk, T.K.: Polysaccharide nitegrity as related to the degradation of lignin in wood by white-rot fungi. *Phytopathology*.63:1504-1507,

63. Klopfenstein, T.J., Krause, V.E., Jones, M.J. and Woods, W.: Chemical treatment of low quality roughages. *J. Anim. Sci.* 35:418-422. 1972.
64. Lancaster, C.M. and Patterson, J.A.: Effect of forage sterilization method on rate and extent of fiber degradation by ruminal bacteria. *J. Anim. Sci.*, 66:1800-1806. 1968.
65. Leatham, G.F., Myers, G.C. and Wegner, T.H.: Biomechanical pulping of aspen chips: energy savings resulting from different fungal treatments. *Tappi Journal May*: 197-200. 1990.
66. Levonen, E. and Boue, D.H. Effect of different gas environments on bench-scale solid state fermentation of oat straw by white-rot fungi *Biotechnology and Bioengineering* 27: 382-387. 1985
67. Lin, K.W., Schaefer, D.M., Ladisch, M.R., Patterson, J.A. and Noller, C.H. In-vitro anaerobic fermentation of alkali-treated corn, stover by rumen microbes. *J. Anim. Sci.* 62:822-829. 1986.
68. Lincoff, G.H.: *Mushrooms*. 1+513 Simon and Schuster Inc. New York. 1981.
69. Lobanok, A.G., Stakheev, I.V. and Babitskaya, V.G.: Bioconversion of straw into protein using mycelial fungi. Proceeding of the Finnish-Soviet symposium. October, 25-27. Finland. 1983.
70. Lynch, G.P., Smith, D.F., Jackson, E.D., Cope, R.C. and Simpson, M.E.: Fungal degradation and nutritional value of cellulosic wastes. *J. Anim. Sci.* 44:883-888. 1977.
71. Lynch, G.P., Smith, D.F., Simpson, M.E. and Marsh, P.B.: Degradation of cellulosic wastes by *Diplodia gossypina*. *J. Dairy Sci.* 58:1241.

72. Martinez, M.J. and Martinez, A.T.: Kinetics of wheat straw solid-state fermentation with *Trametes versicolor* and *Pleurotus ostreatus*-lignin and polysaccharide alteration and production of related enzymatic activities. *Evr. Appl. Microbiol. Biotechnol* 35:817-823. 1991.
73. Matheus, C.K. and Van Holde, K.E.: Biochemistry XXVIII + 1129 Cumming Pub. Comp. Inc. 1990.
74. Moyson, E. and Verachtert, H.: Growth of higher fungi on wheat straw and their impact on the digestibility of the substrate. *J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 36:421-424. 1991.
75. Müller, H.W. and Trösch, W.: Screening of white-rot fungi for biological pretreatment of wheat straw for biogas production. *J. Appl. Microbiol. and Biotechnol.* 24: 180-185. 1986.
76. Nelson, M.L., Klopfenstein, T.J., Britton, R.A. and Lowry, S.R.: Protein supplementation of ammoniated roughages. III. Corncobs. supplemented with a blood meal corn gluten meal mixture-steer studies. *J. Anim. Sci.*
77. Niku, Paavola, M.L.: Lignolytic enzymes of the white-rot fungus *Phlebia radiata*. Lignin enzymic and microbial degradation. Ed. INRA. 119-123. Paris. 1987.
78. Odenyo, A.A., Mackie, R.L., Fahey, G.C., and White, B.A.: Degradation of wheat straw and alkaline hydrogen peroxide-treated wheat straw by *Ruminococcus albus* 8 and *Ruminococcus flavefaciens* FD-1 *J. Anim. Sci.*, 69:819-826. 1991.

79. Oriaran, P.T., Laborsky, Jr. P. and Blankenhorn, P.R.: Kraft Pulp and papermaking properties of *Phanerochaete chrysosporium*-degraded aspen. *Toppi. Journal July*: 147-152.1990.
80. Orskov, E.R., Shand, W.J., Tedesco, D. and Morricè, A.F.: Rumen degradation of straw. *J. Anim. Prod.* 51:155-162.1990.
81. Ortigues, I., Fonetenot, J.P. and Ferry, 3.6.: Digesta flows in sheep fed poor-quality hay supplemented with urea and carbonhydrates. *J. Anim. Sci.*, 66: 975-985. 1988
82. Öner, M.: Mikoloji. I. V+180. E.Ü.Fen. Fak. Kitaplar Serisi No:53 Ders Kitabı. E.Ü. Fen. Fak. Baskı İşleri Bornova-İzmir. 1980
83. Öner, M.: Mikoloji II. V+136. E. Ü. Fen. Fak. Kitaplar Serisi No:39. Ders Kitabı E. Ü. Fen. Fak. Baskı İşleri Bornova-İzmir 1980
84. Paterson, J., Klopfenstein, T.J. and Britton, R.A.: Digestibility of sodium hydroxide-treated crop residues when fed with alfaalfa hay. *J. Anim. Sci.*, 54: 1056-1066 1982
85. Pena, F., Tagori, H. and Satter, L.D.: The effect of heat treatment of whole cotton seed on site and extent of protein digestion in dairy cows. *J. Anim. Sci.*, 62:1423-1433 1986
86. Phillips, W.A. and Pendlum, L.C.: Digestibility of wheat and alfaalfa silage with and without wheat straw. *J. Anim. Sci.* 59: 476-482. 1984
87. Platt, M.W., Hadar, Y. and chet, I.: Fungal activities involved in lignocellulose degradation by *Pleurotus*. *J. Appl. Microbiol. and Biotechnol.* 20: 150-154. 1984

88. Platt, M.M., ~~Harber~~, Y., Hevis, Y and Chet, I.: Increased degradation of straw by *Pleurotus ostreatus* sp "florida Eur. J. Appl. Microbiol. and Biotechnol. 17: ~~140~~-142. 1983"
89. Poon, C.P.C., ~~Chin~~, H.K., Smith, E.D. and Mikucki, W.J.: Upgrading with rotating biological contactor for BOD removal. J. Water Poll. Cont. Fed. 53 : 474-481. ~~1981~~
90. Rajarathnam, S., Bano, Z. and Patwardhan., M.V.: Nutritron of the mushroom *Pleurotus flabellatus* during its growth on paddy straw substrate. J. ~~Horticultural~~ sci. 61: 223-232. 1986
91. Reddy, G.V.N. ~~and~~ Reddy, M.R.: Effect of ammoniated and processed cotton straw ~~as sole~~ source of roughage incomplete feeds for crossbred milch cows. J. ~~Anim.~~ Sci. 55: 1082-1086. 1985
92. Reid, D.J., Paice, G.M., Ho, C., Jurasek, L.: Biological bleaching of softwood kraft ~~pulp~~ with the fungus *Trametes (Coriolus) versicolor*. Tappi Journal August: ~~149~~-153 1990.
93. Reid, I. D and ~~Siefert~~, K.A.: Lignin degradation by phanerochaete chrysosporium ~~in~~ hyperbaric oxygen. Can. J. Microbiol. 26 : 1168-1171. 1980
94. Roch, P., Cain, ~~RB~~, Odier, E. and Buswell, J. A.: Metabolism of glycerol and ligninolytic activity in *Phanerochaete chrysosporium*. International seminar on Lignin enzymic and microbial degradation. 23-24 Paris. 1987
95. Rose, A.H.: ~~Secondary~~ Products of Metabolism. IX + 33, Academic Press London. 1979.

96. Saenger, P.F., Lemenager, R.P. and Hendrix, K.S.: Anhydrous ammonia treatment of ~~corn~~ stover and its effects on digestibility, intake and performance of beef cattle. I. Anim. Sci. 54 : 419-425. 1982
97. Safi, B.F., Rouleau, D., Mayer, R.C., and Desrochers, M.: Fermentation kinetics of spent sulfite liquor by *Sacharomyces cerevisiae*. Biotechnol. and bioeng 27 : 944-951. 1986
98. Saldana, H.R., Church, D.C. and Kellems, R.O.: The effect of ammoniation treatment on intake and nutritive value of wheat straw. 54 : 603-608. 1982.
99. Saldana, H.R., Church, D.C. and Kellems, R.O. : Effect of ammoniation treatment of wheat straw on in vitro and in-vivo digestibility, J. Anim. Sci. 56 : 938-942. 1983
100. Sarkuen, K.V. and Ludwiy, C.H. : Lignins; occurrence, formation, structure and reactions. John wiley and sons Inc. XXV+916 NewYork 1971
101. Seoane, J.R. : Relationships between the physico-chemical characteristics of hays and their nutritive value. J. Anim. Sci., 55 : 422-431. 1982.
102. Setliff, E.C., Mar ton, R., Granzow, S.G. and eriksson, K.L. : Biomechanical pulping with white-rot fungi Toppi Journal August a: 141-147 1990.
103. Shultz, T.A. and Ralston, A.T. : Effect of various additives on nutritive value of ryegrass straw silage. II. Animal metabolism and performance observations. J. Anim. Sci. 39 : 926-929. 1979

104. Shultz, T.A., Ralston, A.T. and Shultz, E. : Effect of various additives on nutritive value of ryegrass straw silage. I. Laboratory silo and in vitro dry matter digestion observations. *J. Anim. Sci.*, 39 No 1 : 920-926. 1979
105. Sjöström, E. : Wood Polysaccharides: Wood chemistry fundamentals and applications. Academic Press Inc. NewYork 1981.
106. Skpears, J.W., Clark, J. H. and Hatfield, E.E. : Nitrogen utilization and ruminal fermentation in steers fed soybean meal treated with formaldehyde. *J. Anim. Sci.* 60 : 1072-1980. 1985
107. Springer, L.E. : Delignification of aspen wood using hydrogen peroxide and peroxymonosulfate. *Toppi J.* January : 175-178. 1990.
108. Streeter, C.L., Conway, K. E., Horn, G.W. and Mader, T.L. : Nutritional evaluation of wheat straw incubated with the edible mushroom *Pleurotus ostreatus*. *J. Anim. Sci.* 54 : 183-188. 1982.
109. Sutherland, J.B. : Biodegradation of lignocelluloses from cotton-gin trash by *Pycnoporus cinnbarinus*. *Mycologia* 36 : 369-372. 1989.
110. Sultan, I.J., Fhulaty, F.L., Firkins, L.J., Loerch, S.C. : Effect of supplemental protein source and alkaline hydrogen peroxide treatment of wheat straw on ite of nutrient digestion and flow of nitrogenous compounds to the duodenum of steers. *J. Anim. Sci.* 70 : 3909-3915. 1992
111. Swingle, R.S. and Waymack, L.B. : Digestibility by steers of grain soghum stover and. wheat straw supplemented with rpn. *J. Anim. Sci.* 44 : 112-117. 1977

112. Şeker, e. ve Özgen, H. : Merinos toklularında üre +melas ile muamele edilen buğday samanının sindirilme derecesinin naylon kese tekniği ve klasik sindirim denemesi ile tesbit edilmesi . Hay. Araş. Derg. 1 : 5-12. Konya. 1991.
113. Tagari, H., Pena, F. and Satter, L.D. : Protein degradation by rumen microbes of heat-treadet whole cottonseed. J. anim. Sci., 62 : 1732-1736. 1986
114. T.C. Başbakanlık Devlet İstatistik Enstitüsü: Türkiye İstatistik Yılığı. Ankara. 1989.
115. Tien,M.and Kirk,T.K.:Lignin-degrading enzyme from the *Hymenomycete pharochaete chrysosparium* birds. Science.221:661-663.1983.
116. Tien,M.and Kirk,T.K. : Lignin-degrading enzyme from *Phanerochaete chrysosporium*: Purification, characterization and catalytic properties of a unique H₂O₂-requiring oxygenase.Proc.Natl.Acad.Sci. 81:2280-2284.1984.
117. Tonon,F.,Odier,E.: Influence of veratryl alcohol and hydrogen peroxide on ligninase acticity and ligninose production by *Phanerochaete chrysosporium*. J. Appl.Environ.Microbiol.54:466-472.1988.
118. Topal,Ş ve Kırat,E.: Samanın mikrobiyel delignifikasyonunda farklı inokulum teknikleri ve test organizmalarının etkileri.Tübitak Doğa biyoloji Derg.17:1-15.1993.
119. Tuncer,D.Ş., Kocabatmaz,M.,Coşkun,B. ve Şeker, E: Kimyasal maddelerle muamele edilen arpa samanının sindirilme derecesinin naylon kese tekniği ile tesbit edilmesi. Doğa Türk Vet.Hay.Derg.13:66-81.1989.

120. Valmaseda, M., Almendros, G. and Martinez, A.T.: Substrate-dependent degradation patterns in the decay of wheat straw and beech wood by ligninolytic fungi. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 33:481-484. 1990.
121. Van Soest, P.J. and Robertson, J.B.: Analysis of forages and fibrous foods. A laboratory manual for animal science 613 Cornell University Press VI+195. 1985.
122. Verma, D.C. and Einspar, D.W.: Conifer tissue culture and how it may impact the pulp and paper industry. *Tappi Journal* November: 25-27. 1983.
123. Ward, J.W. and Perry, T.W.: Enzymatic conversion of corn cobs to glucose with *Trichoderma viride* fungus and the effect on nutritional value of the corn cobs *J. Anim. Sci.* 54: 609-617. 1982.
124. Westermark, U. and Eriksson, K.E.: Cellobiase: quinone oxidoreductase, a new wood-degrading enzyme from white-rot fungi. *Acta chemica scandinavica* 28:209-214. 1974.
125. Wilkerson, Y., Coughlan, M.F. and Colleran, E.: Protein upgrading of wheat straw by fungal fermentation. *Biochemical society* 1:68. 1991.
126. Wing, P.D., Goodrich, R.D., Linn, J.G. and Meiske, J.C.: Effects of chemical additives on the preservation and digestibility of alfalfa haylage. *J. Anim. Sci.*, 42:469-475. 1976.
127. Yu, Y.: Estimated nutritive value of formaldehyde or heat treated alfalfa leaves for ruminants *J. Anim. Sci.*, 46: 313-319. 1978.
128. Yu, Y., Thomas, J.W. and Emery, R.S.: Estimated nutritive value of treated forages for ruminants. *J. Anim. Sci.*, 41: 1742-1751. 1975.

129. Yu, Y. and Veira, D.M.: Effect of artificial heating of alfalfa haylage on chemical composition and sheep performance. *J. Anim. Sci.* 44:1112-1118. 1977.
130. Zadrazil, F.: Conversion of different plant waste into feed by basidiomycetes. *Eur. J. Appl. Microbiol and Biotechnol.* 9:243-248. 1980.
131. Zadrazil, F. and Kamra, D.N.: Influence of air and oxygen supplies on lignin degradation and its relation with in-vitro digestibility of wheat straw fermented with *Strophario rugosoannulata*, *Pleurotus eryngri* and *Pleurotus sajor-caju*. *Mush. J. Tropics.* 9:79-88. 1989.
132. Zorrilla-Rios, J., Owens, F.N., Horn, G.W. and McNew R.W.: Effect of ammoniation of wheat straw on performance and digestion kinetics in cattle. *J. Anim. Sci.* 60:814-821. 1985.

8. TEŞEKKÜR

Hayvan besleme alanında biyoteknolojik çalışmalardaki yarışta yerimiz olması gerektiği bilinciyle bu çalışmayı bana tez konusu olarak veren, araştırmamın her aşamasında bilgi ve tecrübesiyle destek olan ve çalışmalarımı tam bir serbesti içerisinde yapmamı sağlayan sayın hocam ve doktora yöneticim Prof.Dr. Ahmet ERGÜN'e, araştırmamın özellikle in-situ deneme döneminde yakın desteğini gördüğüm Araş.Gör. Seher KÜÇÜKERSAN ve Dr. Kemal KÜÇÜKERSAN'a, sıcak ilgisini hiç bir zaman eksik etmeyen TAEK Hayvan Sağlığı Nükleer Araştırma Enstitüsünden Doç.Dr. Nurcan ÇETİNKAYA'ya, mikrobiyoloji konusunda yakın ilgi ve desteğini gördüğüm H.Ü. Mikrobiyoloji Bölümünden Prof.Dr. Nazif KOLANKAYA, Araş.Gör.Aysun ERGENE ve Araş.Gör. Münevver ARISOY'a, istatistik hesaplamalarında yardımcı olan Biyometri Bilim Dalından Uzman Mehmet ORMAN'a, çalışmalarım sırasında yakın ilgilerini hiç bir zaman eksik etmeyen Viroloji Bilim Dalından Dr. Aykut ÖZKUL ve Araş.Gör. Taner KARAOĞLU'na, ayrıca bu çalışmayı maddi katkılarıyla destekleyen A.Ü. Araştırma Fonuna içten teşekkürleri bir borç bilirim.

9. BİYOGRAFİ

1963 yılında Balıkesir'de doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi Ankara'da tamamladıktan sonra 1980 yılında A.Ü. Veteriner Fakültesine girdim. Aynı fakülteden 1985 yılında mezun oldum. Vatani görevimi takiben A.Ü.V.F. Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalına asistan olarak girdim.

T.O.B'nın açmış olduğu "yem mikroskopisi", T.A.E.K.'nun açmış olduğu "Hayvan beslemede yeni enerji ve protein birimleri", Mediterranean Agronomic Institute (İspanya) açmış olduğu "Feeding value of Mediterranean forages and by-product" isimli kurslara katıldım.

Türkiye radyo ve televizyonlarının köye yönelik programlarında değişik tarihlerde sohbet konuşmalarım oldu.

Halen aynı Bilim Dalında asistan olarak çalışmaktayım. Bekârım.