

**LAKTİK ASİT BAKTERİLERİ
İNOKULANTLARININ
AYÇİÇEĞİ (*Helianthus annuus*) SİLAJININ
FERMANTASYON VE AEROBİK
STABİLİTE ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

CENK TEPELİ

**Yüksek Lisans Tezi
Zootekni Anabilim Dalı
Danışman: Doç. Dr. M. Levent ÖZDÜVEN
Tekirdağ 2014**

T.C.
NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

LAKTİK ASİT BAKTERİLERİ İNOKULANTLARININ AYÇİÇEĞİ
(*Helianthus annuus*) SİLAJININ FERMANTASYON VE AEROBİK
STABİLİTE ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİLERİ

CENK TEPELİ

ZOOTEKNİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN: DOÇ. DR. M. LEVENT ÖZDÜVEN

TEKİRDAĞ-2014

Her hakkı saklıdır

Doç. Dr. M. Levent ÖZDÜVEN danışmanlığında, Cenk TEPELİ tarafından hazırlanan “Laktik Asit Bakterileri İnokulantlarının Ayçiçeği (*Helianthus annuus*) Silajının Fermantasyon ve Aerobik Stabilitate Özellikleri Üzerine Etkileri” isimli bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından Zootekni Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans Tezi olarak oybirliği ile kabul edilmiştir.

Juri Başkanı :Yrd. Doç. Dr. Ertan ATEŞ

İmza :

Üye : Yrd. Doç. Dr. Levent COŞKUNTUNA

İmza :

Üye : Doç. Dr. M. Levent ÖZDÜVEN

İmza :

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu adına

Prof. Dr. Fatih KONUKCU

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim ve tez çalışmam süresince bana her konuda destek olan danışman hocam Doç. Dr. M. Levent ÖZDÜVEN'e, Yrd. Doç. Dr. Levent COŞKUNTUNA, Doç. Dr. Fisun KOÇ'a, yüksek lisans öğrenimimde başlangıçtan sonuna kadar tüm aşamalarda her anlamda yanımda olan bölüm başkanımız başta olmak üzere tüm bölüm hocalarıma ve manevi desteklerinden dolayı aileme çok teşekkür eder, saygılarımı sunarım.

Haziran, 2014

Cenk TEPELİ

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

LAKTİK ASİT BAKTERİLERİ İNOKULANTLARININ AYÇİÇEĞİ (*Helianthus annuus*) SİLAJININ FERMANTASYON VE AEROBİK STABİLİTE ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Cenk TEPELİ

Namık Kemal Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Zootekni Anabilim Dalı

Danışman :Doç. Dr. M. Levent ÖZDÜVEN

Bu çalışma homofermantatif ve/veya heterofermantatif laktik asit bakteri inokulantları ilavesinin, ayçiçeği silajlarında fermantasyon, aerobik stabilite, hücre duvarı kapsamı ve *in vitro* organik madde sindirilebilirliği özellikleri üzerindeki etkilerinin saptanması amacı ile düzenlenmiştir. Araştırmada kullanılan ayçiçeği hasılları süt olum döneminde hasat edilmiştir. Homofermantatif laktik asit bakterisi olarak inokulant 1188 (Pioneer®, USA) ve heterofermantatif laktik asit bakterisi olarak inokulant 11A44 (Pioneer®, USA) kullanılmıştır. İnokulantlar silajlara 6,00 log₁₀ koloni form ünite/g düzeyinde katılmışlardır. Ayçiçeği hasılları yalnızca gaz çıkışına olanak tanıyan, 1,0 litrelik özel kavanozlara silolanmıştır. Kavanozlar laboratuvar koşullarında 25±2°C' de depolanmışlardır. Silolamadan sonraki 2, 4, 8 ve 60. günlerde her gruptan 3'er kavanoz açılarak silajlarda kimyasal ve mikrobiyolojik analizler yapılmıştır. Silolama döneminin sonunda açılan tüm silajlara 5 gün süre ile aerobik stabilite testi uygulanmıştır. Ayrıca bu silajların, *in vitro* organik madde sindirilebilirliği saptanmıştır. Sonuç olarak homofermantatif laktik asit bakteri inokulantı ayçiçeği silajlarının fermantasyon özelliklerini artırmış ancak aerobik stabilitelerini düşürmüştür (P<0.05). Bununla birlikte heterofermantatif laktik asit bakteri inokulantı ile muamale edilmiş ayçiçeği silajlarının asetik asit içeriği (P<0.05) ile aerobik stabilitesi (P<0.01) artmıştır. İn vitro organik madde sindirilebilirliği üzerine muamelelerin etkisi önemsiz (P>0.05) bulunmuştur.

Anahtar kelimeler: Laktik asit bakteri inokulantları, Fermantasyon, Aerobik stabilite, *in vitro* organik madde sindirilebilirliği

2014, 45 Sayfa

ABSTRACT

MSc. Thesis

The Effects of Lactic Acid Bacterial Inoculants on the Fermentation, Aerobic Stability and *In Vitro* Organic Matter Digestability of Sunflower Silages

Cenk TEPELİ

Namık Kemal University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Main Science Division of Animal Science

Supervisor: Associate Prof. Dr. M. Levent ÖZDÜVEN

This study was carried out to determine the effects of homofermentative (LAB) inoculants and/or heterofermentative lactic acid bacteria on the fermentation, aerobic stability and *in vitro* organic matter digestibility characteristics of sunflower silages. Hungarian vetch-Wheat mixtures were harvested at early bloom: milking stage. Inoculant 1188 (Pioneer®, USA), was used as homofermentative lactic acid bacteria and inoculant 11A44 (Pioneer®, USA) was used as heterofermentative lactic acid bacteria inoculant. Inoculants were applied to silages at 6.00 log₁₀ cfu/g levels. After treatment, the chopped whole crop sunflower was ensiled in 1.0 liter special anaerobic jars, equipped with a lid enabling gas release only. The jars were stored at 25±2°C under laboratory conditions. Three jars from each group were sampled for chemical and microbiological analysis 2, 4, 8 and 45 days after ensiling. At the end of the ensiling period all silages were subjected to an aerobic stability test for 5 days. In addition, *in vitro* organic matter digestibilities of these silages were determined. Homofermentative lactic acid bacteria inoculants increased characteristics of fermentation but impaired aerobic stability of sunflower silages (P<0.05). However, application of heterofermentative lactic acid bacteria increased the concentration of acetic acid (P<0.05) and aerobic stability (P<0.01) of sunflower silages. There was no (P>0.05) treatment effect on any variables measured on *in vitro* organic matter digestibility.

Keywords: Lactic acid bacterial inoculants, silage fermentation, whole plant sunflower, aerobic stability

2014, 45 Pages

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

| | |
|--|-----------|
| ÖZET | ii |
| İÇİNDEKİLER DİZİNİ..... | iv |
| ÇİZELGE LİSTESİ | v |
| ŞEKİL LİSTESİ | vi |
| 1. GİRİŞ..... | 1 |
| 2. KAYNAK ÖZETLERİ | 5 |
| 3. MATERYAL VE YÖNTEM | 16 |
| 3.1. MATERYAL | 16 |
| 3.1.1. SİLAJ MATERYALİ | 16 |
| 3.1.2. SİLAJLARIN HAZIRLANMASI | 16 |
| 3.2. YÖNTEM | 16 |
| 3.2.1. SİLAJ KALİTESİ TAKDİRİ İÇİN KULLANILAN YÖNTEMLER | 16 |
| 3.2.1.1. pH ve Bc Analizleri | 16 |
| 3.2.1.2. SÇK Analizi..... | 17 |
| 3.2.1.3. NH ₃ -N Analizi | 17 |
| 3.2.1.4. Organik Asit Analizleri | 17 |
| 3.2.1.4.1. Laktik Asit Analizleri | 18 |
| 3.2.1.4.2. Asetik Asit Analizleri | 18 |
| 3.2.1.5. Mikrobiyolojik Analizler | 19 |
| 3.2.2. HAM BESİN MADDELERİ VE HÜCRE DUVARI İÇERİKLERİ ANALİZLERİ | 20 |
| 3.2.2.1. Ham Besin Maddeleri İçerikleri Analiz Yöntemleri | 20 |
| 3.2.2.2. Hücre Duvarı İçerikleri Analiz Yöntemleri..... | 20 |
| 3.2.2.3. Enzimde OM Çözünübilirliği Analiz Yöntemleri | 22 |
| 3.2.2.4. Aerobik Bozulmaya Dirence İlişkin Analizler | 23 |
| 3.2.3. İSTATİKSEL ANALİZLER | 24 |
| 4. BULGULAR | 25 |
| 4.1. Silajların Fermantasyon Özellikleri..... | 25 |
| 4.1.1. Silajların kimyasal analizleri | 25 |
| 4.1.2. Silajların mikrobiyolojik analizleri..... | 30 |
| 4.2. Silajların Aerobik Stabiliteleri..... | 30 |
| 4.3. Silajların Hücre Duvarı Bileşenleri | 31 |
| 4.4. Silajların <i>in vitro</i> Organik Madde Sindirilebilirliği | 32 |
| 5. TARTIŞMA ve SONUÇ | 33 |
| 6. KAYNAKLAR..... | 40 |

ŞEKİL DİZİNİ

| | |
|---|----|
| Şekil 4.1. Ayçiçeği silajlarının fermantasyon süresince pH değişimler | 25 |
| Şekil 4.2. Ayçiçeği silajlarının fermantasyon süresince SÇK değişimleri | 27 |
| Şekil 4.3. Ayçiçeği silajlarının fermantasyon süresince NH ₃ -N değişimleri..... | 28 |
| Şekil 4.4. Ayçiçeği silajlarının fermantasyon süresince laktik asit değişimleri | 30 |
| Şekil 4.5. Ayçiçeği silajlarının fermantasyon süresince asetik asit değişimleri | 30 |

ÇİZELGE DİZİNİ

| | |
|---|----|
| Çizelge 1. Ayçiçeği silajına ait kimyasal analiz sonuçları | 26 |
| Çizelge 2. Ayçiçeği silajlarına ait mikrobiyolojik analiz sonuçları..... | 30 |
| Çizelge 3. Ayçiçeği silajlarının aerobik stabilite test sonuçları..... | 31 |
| Çizelge 4. Ayçiçeği silajlarının hücre duvarı kapsamına ilişkin analiz sonuçları..... | 31 |
| Çizelge 5. Ayçiçeği silajların in vitro OM sindirilebilirlik özellikleri | 32 |

KISALTMALAR DİZİNİ

| | |
|----------------------------|--|
| ADF | :Asit çözücülerde çözünmeyen karbonhidratlar |
| ADL | :Asit çözücülerde çözünmeyen lignin |
| Bc | :Buffer kapasitesi |
| CTAB | :Cetil trimetil amonyum bromidin |
| EÇOM | :Enzimde çözünmeyen organik madde |
| Het ^{Het} LAB | : Heterofermantatif laktik asit bakterileri |
| HK | :Ham kül |
| Hom+Het ^{Het} LAB | : Homofermantatif ve heterofermantatif laktik asit bakterileri |
| Hom ^{Hom} LAB | : Homofermantatif laktik asit bakterileri |
| HP | :Ham protein |
| KM | :Kuru madde |
| LAB | :Laktik asit bakterileri |
| ME | :Metabolik enerji |
| NDF | :Nötral çözücülerde çözünmeyen karbonhidratlar |
| NH ₃ -N | : Amonyğa bağlı nitrojen |
| OM | :Organik madde |
| OMS | :Organik madde sindirilebilirliği |
| SÇK | :Suda çözünebilir karbonhidratlar |
| TM | : Taze materyal |

1. GİRİŞ

Yeşil ve suca zengin yemlerin havasız ortamda süt asidi bakterileri yardımıyla fermantasyona uğratılması, yani ekşitilmesi yoluyla saklanması esasına dayanan yem saklama yöntemine silaj, bu yöntemle elde edilen yemlere de silo yemleri adı verilir. Silolama sırasında meydana gelen temel olay, laktik asit bakterileri (LAB), anaerobik koşullar altında başta glukoz ve fruktoz olmak üzere bitkisel materyalin içeriğinde doğal olarak bulunan suda çözünebilir karbonhidratları (SÇK), laktik asit ve diğer organik asitlere dönüştürürler. Bunun sonucunda pH düşer ve su içeriği yüksek olan bitkisel ürün bozulmaya neden olan mikroorganizmalardan korunmuş olur (Weinberg ve ark. 1993).

Silolanacak materyalin içerdiği aerobik mikroorganizma sayısı, materyalin hava ile temas ettiği sürenin uzunluğu, fermantasyon özellikleri, silonun doldurulma ve kapatılma süresi, yüzey kayıpları ve çevre sıcaklığı silajların aerobik stabilitelerini etkileyen en önemli faktörlerdir (Filya 2001a).

Silaj fermantasyonunda kullanılmak üzere çok sayıda katkı maddesi geliştirilmiştir. Bu katkı maddelerinin bazıları silajların fermantasyon özelliklerini olumlu yönde etkilerken, bazıları silajların aerobik olarak stabil hale getirmekte bazıları ise probiyotik etki göstererek silajların hayvanlar tarafından değerlendirme düzeylerini artırmaktadır (Filya 2000).

Başta sıcak ülkeler olmak üzere silaj yapılan tüm ülkelerde karşılaşılan en önemli sorunların başında fermantasyon sonucunda elde edilen silajların aerobik olarak stabil olmayışları gelir. Bu tür silajlar maya, küf, enterobacteria ve clostridia sporları gibi silajlarda bozulmaya neden olan başlıca mikroorganizma popülasyonlarını hem çok yüksek düzeylerde içerirler hem de bu mikroorganizma popülasyonlarının gelişerek çoğalmalarına çok elverişli bir ortam oluştururlar. Silaj açıldıktan sonra söz konusu mikroorganizma popülasyonları faaliyete geçerek ortamdaki şekerleri ve fermantasyon son ürünlerini tüketerek silajların ısınmasına yol açarlar. Bu tür silajlar aerobik olarak stabil değildir ve kısa bir süre içerisinde bozulur. Silolanacak materyalin içerdiği aerobik mikroorganizma sayısı, materyalin hava ile temas ettiği sürenin uzunluğu, fermantasyon özellikleri, silonun doldurulma ve kapatılma süresi, yüzey kayıpları ve çevre sıcaklığı silajların aerobik stabilitelerini etkileyen en önemli faktörlerdir (Filya 2001b).

Farklı silajların kimyasal ve mikrobiyolojik yapıları ile aerobik bozulma arasındaki ilişki günümüze kadar saptanamamıştır. Bugün için yalnızca asetik, propiyonik ve bütrik asit

gibi kısa zincirli uçucu yağ asitlerinin silajlarda özellikle maya ve küf gelişimini baskı altına alarak silajlardaki aerobik bozulmayı önlediği bilinmektedir (McDonald ve ark. 1991).

Son yıllarda silajlarda maya ve küf gelişimini önlemek ve aerobik stabiliteyi artırmak için organik asit temeline dayalı koruyucu özellikteki katkı maddeleri geniş bir kullanım alanı bulmuştur. Özellikle formik asit ve formik asit temeline dayalı koruyucular katıldıkları silajların pH' larını çok kısa bir sürede düşürerek fermantasyonu sınırlandırmakta ve silajlarda aerobik bozulmaya neden olan maya, küf, enterobacteria ve clostridia gelişimini önleyerek silajların aerobik stabiliteyi geliştirmektedir (Lindgren ve ark. 1983, Driehuis ve Van Wikselaar 1996, Filya 2003, Filya ve Sucu 2003).

Bu koruyucular ayrıca fermantasyon sırasında ve sonrasında silajların ısınmasını engelleyerek silajlardaki proteolizisi de (protein parçalanmasını) önlemektedir. Dolayısıyla bu tür silajlarda daha az amonyak azotuna (NH₃-N) rastlanmaktadır (Rooke ve ark. 1988, Polan ve ark. 1998, Winters ve ark. 2001, Filya ve Sucu 2003). Diğer yandan söz konusu koruyucuların ruminantların kuru madde (KM) tüketimini artırarak performanslarını olumlu yönde etkilediği bildirilmektedir (McDonald ve ark. 1991).

Silaj fermantasyonunda kullanılan biyolojik katkı maddelerinden olan homofermantatif laktik asit bakterisi (LAB) inokulantları silajların pH, asetik asit, bütirik asit, amonyak-azotu ve etanol düzeylerini düşürüp; lactobacilli, laktik asit ve laktik:asetik asit oranını artırarak silaj fermantasyonunu geliştirmektedir (Meeske ve ark. 1993). Weinberg ve ark. 1993, Filya 2002 a,b). Söz konusu inokulantlar silajların aerobik stabiliteyi bazen artırırken (Seale 1986, Moran ve ark. 1996), bazen etkilememekte (Filya ve ark. 2001c, Filya ve ark. 2002a) ve bazen de düşürmektedirler (Weinberg ve ark. 1993, Filya 2002 a,b).

Ayçiçeği hasılı (AH) Dünyanın birçok bölgesinde silaj üretimi amacı ile yetiştirilmektedir. Ülkemizde ise ayçiçeği tarımı bu amaçla ele alınmamıştır. Ayçiçeği bitkisine ait en tipik özellikler genel anlamda mısıra göre daha yüksek yapısal karbonhidrat ve protein içeriğine sahip olmasıdır (McDonald ve ark., 1991; Polat ve ark., 1998). Mısır gibi kolay silolanabilme yeteneğine sahip olduğundan tek başına silolanabileceği gibi, tek başına silolanması zor yem materyallerinin silolanmasında katkı maddesi olarak kullanılabilir (Kılıç, 1986).

Bitkisel üretim sonucu elde edilen yem kaynaklarının gereksinim duyulan dönemler için ve farklı yöntemler aracılığı ile saklanması sıkça başvurulan bir uygulamadır. Söz konusu

işlemin başlangıç materyalindeki besin maddelerinden en az kayıp ile gerçekleştirilmesi gerekmektedir. Üretime ilişkin özellikler yanında, hasat ve saklama koşullarında uygun yöntemlerin kullanılması ile ulaşılabilecek bu nokta, hayvan tarafından tüketilecek son üründe kalite kavramı olarak irdelenir.

Ruminantların beslenmesinde vazgeçilmez bir kaynak olan kaba yem üretimi gerek kalitatif ve gerekse kantitatif olarak yetersizdir. Kaba yem üretimimizin yetersiz oluşu, hayvan beslemede yem değeri düşük sap, saman ve kavuz gibi yemlerin kullanımını zorunlu hale getirmektedir. Ülkemizde hayvanların tüm yıl boyu kaba yem ihtiyaçlarının karşılanmasında, yemlerin muhafaza tekniklerinden kurutma yaygın olarak kullanılmasına karşın, silaj yapımı ve yemlerin silolanarak muhafazası arzu edilen düzeylere ulaşamamıştır. Silo yemleri geniş getiren hayvanlarının beslenmesinde vazgeçilmez bir kaba yem kaynaklarıdır. Hayvansal üretimde yem giderlerinin oldukça yüksek olması silo yemlerinin önemini bir kat daha artırmaktadır. Tarımı gelişmiş ülkelerde silo yemi yaygın olarak kullanılmakta ve rasyonların önemli bir kısmını silajın oluşturmasına özen gösterilmektedir (Sarıççek ve ark., 2002).

Ayçiçeği gerek dünyada, gerekse ülkemizde genelde kurak şartlarda yetiştirilmektedir. Çok geniş bir adaptasyon kabiliyeti olmasına rağmen, ekim alanlarının fazla olmaması, birim alandan elde edilen gelirin az olmasından kaynaklanmaktadır (Kaya, 2003). Sulu alanlarda ise, aynı nedenden dolayı pamuk, mısır, şeker pancarı ve soya gibi bitkiler ile rekabet edememektedir. Bu suretle, ayçiçeğinde geniş alanlarda ekiminin yayılması için, birim alandan elde edilen verimi artırıcı çalışmalara hız verilmelidir.

Silaj yapımının ekonomik anlamda hayvancılık yapmak için şart olmasıyla birlikte değişik ihtiyaçlara cevap verecek bitki alternatifleri de gündeme gelmiştir. Ülkemizin farklı ekolojik bölgeye sahiptir. Sulu tarımın uygulanmadığı yörelerde ikinci ürün yetiştirme şansı bulunmamaktadır. Bu özelliğe sahip yerlerde kısa sürede silajlık biçime gelen ve kurağa toleransı nedeniyle ayçiçeği, alternatif silaj bitkisi olarak değerlendirilebilir. Vejetasyon süresinin kısa olduğu Doğu Anadolu Bölgemizde tahıl hasadından sonra silajlık olarak yetiştirilebilir. Ayçiçeği silajı özellikle süt hayvanlarının beslenmesinde önemli bir yemdir. Yapılan değişik araştırmalarda ayçiçeği silo yemi ile yemlemeden sonra süt yağında önemli bir yükselme görülmektedir. Siloya doldurulmadan önce vejetatif aksamı iyi gelişen ayçiçeği çeşitlerinin çiçeklenme döneminde biçilerek 0.5-1.0 cm uzunluğunda parçalanması fermantasyonun seyrinin güvence altına almada önemli bir işlemdir. Silo yemi tadının daha

iyi duruma gelmesi ve 1/3 oranında üçgöl, yonca, mısır ve şeker pancarı yaprağı ile karıştırılarak silolanabilir (Anonim, 2008).

İklim, bitki çeşidi, bitkinin kimyasal bileşimi ve silolama tekniği gibi birçok faktörün kontrol edilmemesi durumunda fermantasyon olayları arzu edilmeyen bir şekilde gerçekleşebilir. Silolama süresince gerçekleşen fermantasyon olaylarının bir sonucu olarak silajlarda kuru madde (KM), pH, organik asit (asetik, bütrik ve laktik asit) bileşimi, amonyak azotu (NH₃-N) miktarı gibi özellikler bakımından gözlenecek değerlerin, silaja ilişkin KM tüketimi ve besleme değerliliği üzerinde önemli etkilere sahip olduğu bilinmektedir (Kılıç 1986, Phipps ve Wilkinson 1986, Mc Donald ve ark. 1988).

Bu çalışma ile, homofermantatif ve /veya heterofermantatif LAB inokulantlarının ayçiçeği hasıllarında silaj fermantasyon özellikleri, ham besin maddeleri, hücre duvarı bileşenleri, aerobik stabilitesi ve *in vitro* organik madde (OM) sindirebilirliği üzerine etkilerinin laboratuvar koşullarında incelenmesi ve sahaya aktarılabilecek verilerin geliştirilmesi amaçlanmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Ayçiçeği, başta ABD ve Rusya olmak üzere dünyanın çeşitli bölgelerinde silajlık bir bitki olarak başarılı bir şekilde yetiştirilmektedir. Mısıra göre daha düşük sıcaklıklarda yetişebilmesi ve geç ekilen tohumların hızla gelişebilmesi Avrupa' da da büyük ilgi görmesine yol açmıştır. Ayçiçeği mısıra göre daha fazla hücre duvarı bileşenine ve ham protein içeriğine sahiptir. Ayrıca SÇK içeriği de fermantasyon için yeterli düzeydedir. Ancak KM içeriği ile sindirilme derecesinin düşük oluşu ve fiziksel yapısından dolayı soldurulamaması ayçiçeğinin dezavantajlarıdır. Silaj için en uygun biçim zamanı danelerin süt olum dönemidir. Bu dönemin geçirilmesi halinde yapılan silajların sindirilme dereceleri çok düşmektedir (McDonald, 1991).

Düşük selüloz içeriğine sahip, silajlık amaçla geliştirilen çeşitlerin kullanıldığı A.B.D. ve Rusya başta olmak üzere, ayçiçeği dünyanın birçok bölgesinde silaj üretimi amacı ile yetiştirilmektedir. Ülkemizde ise ayçiçeği tarımı bu amaçla ele alınmamıştır. Ayçiçeği bitkisine ait en tipik özellikler genel anlamda mısıra göre daha yüksek yapısal karbonhidrat ve protein içeriğine sahip olmasıdır. Başarılı bir fermantasyon gelişimi açısından yeterli suda çözünebilir karbonhidrat (SÇK) içeriğine sahip olmakla birlikte, düşük kurumadde içeriği ve sindirilebilirlik özelliği bu materyalin olumsuz niteliklerini oluşturmaktadır. İskoçya'da yetiştiriciliği yapılan ayçiçeği çeşitlerinde vejetasyonun farklı aşamalarında tespit edilen tamponlama kapasitesi, KM, ham protein (HP), ham yağ (HY), ham kül (HK) ve SÇK değerleri sırası ile 449 mEq g/kg KM; %8.4-%18.3; %9.2-28.7; %1.6-10.0; %9.1-19.6 ve 103 - 213 g/kg KM arasında olduğu bildirilmektedir (McDonald, 1991).

Bitkilerdeki kimyasal ve mikrobiyolojik aktivite hasat anından itibaren başlar ve silolamanın sonuna kadar devam eder. Bu aktivitelere bağlı olarak silajların besleme değerleri bir miktar düşer. Olgunlaşma dönemi; ekonomik koşulları da göz önüne alarak bitkilerin kimyasal ve mikrobiyolojik yapı olarak maksimum verim ve sindirilme dereceleri açısından da en iyi durumda oldukları dönemdir. Bitkilerin olgunlaşmaya başlaması ile birlikte verimleri artar. Ancak bunun yanı sıra selüloz ve lignin içerikleri de arttığı için sindirilme dereceleri düşer. Çok olgun bitkiler gerek aşırı KM gerekse yetersiz SÇK içeriklerinden dolayı silaj yapımı için uygun değildir. Bitkilerin çok erken dönemlerde hasat edilmesiyle yapılan silajlarda da bütrik asidin yoğun olduğu kötü bir fermantasyon görülür. Çok erken dönemlerde hasat edilen ürünlerin KM içerikleri oldukça düşük olduğu için bu tip ürünler

daha fazla soldurma süresine gereksinim duyarlar. Bu süresinin uzaması bitkilerdeki enzim aktivitesini artırarak bozulmaya ve kayıplara sebep olur. Diğer yandan bitkilerin fizyolojik özellikleri ile hava ve toprak nemi, sıcaklık ve gün uzunluğu gibi çevre koşulları da doğru hasat zamanının belirlenmesi üzerinde etkili faktörlerdir (Filya 2005).

Bitkisel üretim sonucu elde edilen yem kaynaklarının gereksinim duyulan dönemleri için ve farklı yöntemler aracılığı ile saklanması sıkça başvurulan bir uygulamadır. Söz konusu işlemin başlangıç materyalindeki besin maddelerinden en az kayıp ile gerçekleştirilmesi gerekmektedir. Üretime ilişkin özellikler yanında hasat ve saklama koşullarında uygun yöntemlerin kullanılması ile ulaşılabilecek bu nokta, hayvan tarafından tüketilecek son üründe kalite kavramı içerisinde irdelenir (Polat ve ark. 1998).

Silaj, genellikle su içeriği %50'nin üzerinde olan yeşil yem, bitkisel ürün, tarımsal artık ve atıkların doğal fermantasyonu sonucu elde edilen bir yem kaynağıdır (Meeske ve ark., 1993). Yeşil yemlerin oksijensiz koşullarda fermantasyona tabi tutulması olarak tanımlanabilecek silaj yapımında amaç homofermantatif nitelikteki laktik asit fermantasyonunu yem kitlesine hakim kılmaktır. (Weinberg ve ark. 1993). Ancak iklim, bitki çeşidi ve kimyasal bileşimi, silolama tekniği gibi birçok faktör kontrol edilmediği takdirde fermantasyon olayları arzu edilmeyen bir şekilde gerçekleşir. Silolama süresince gerçekleşen fermantasyon olaylarının bir sonucu olarak silajlarda KM, pH, organik asit bileşimi, amonyak azotu (NH₃-N) gibi özellikler bakımından gözlenecek değerlerin, silaja ilişkin KM tüketimi ve besleme değerliliği üzerinde önemli etkilere sahip olduğu bilinmektedir (Kılıç 1986, Phipps 1986, Mc Donald ve ark. 1988, Yurtman ve ark. 1997).

Bitkilerin tamponlama kapasitesi fermantasyon kalitesi açısından çok önemli bir faktör olup bitkilerin tampon özelliklerinin büyük bir kısmı içerdikleri anyonlardan (organik asit tuzları, ortofosfatlar, sülfatlar, nitratlar ve klorürler) ileri gelirken, yaklaşık %10-20'lik bir kısmı ise bitki proteinlerinin aktivitelerinden ileri gelir. Baklagillerin Bc buğdaygillerden daha yüksektir. Bu nedenle baklagiller buğdaygillere göre daha zor silolanırlar. Yüksek Bc sahip bitkiler zor silolanmalarının yanı sıra fermente olabilmek için hem daha fazla SÇK'a gereksinim duyarlar hem de bu bitkilerin fermente olabilmesi için daha uzun bir süre gerekir. Diğer yandan Bc yüksek olan bitkiler silaj pH'sını yükselttikleri için bu tür bitkilerden yapılan silajlarda kayıp oranı daha yüksek olur (Filya 2007).

Herhangi bir bitkisel ürün silolandıktan sonra oluşacak fermantasyonun kalitesi silajların besleme değeri ve hijyenik yapıları açısından büyük önem taşımaktadır. Silaj

fermantasyonu sırasında oluşan; pH, NH₃-N ve organik asitlerin miktar ve kompozisyonları gibi son derece önemli silaj parametreleri fermentasyonun kalitesini belirlerler. Özellikle pH değeri ve NH₃-N düzeyleri düşük, laktik ve asetik asit oranı yüksek silajlar gerek bu silajları tüketen hayvanların verimlerinin artırılması açısından gerekse sağlıkları üzerinde herhangi bir olumsuz etkinin görülmemesi açısından istenen silajlardır. Çünkü silaj yapımında temel amaç, silajı tüketen hayvanların sağlıkları üzerinde olumsuz bir etkiye neden olmadan verimlerinin ekonomik olarak artırılmasıdır (Filya 2000b).

Polat ve ark. (1998)'nın ayçiçeği silajı için pH, KM, NH₃-N KM, laktik asit, asetik asit içeriklerini sırasıyla 3.84, %19.12, 1.21 g/kg KM, %1.51, %1.76, KM içinde HP, HY, ham selüloz (HS), HK, asit deterjanlarda çözünmeyen karbonhidratlar (ADF), nötral deterjanlarda çözünmeyen karbonhidratlar (NDF), asit deterjanlarda çözünmeyen lignin (ADL) içeriklerini sırasıyla %9.09, %3.09, %30.93, %9.37, %40.77, %45.71, %11.67 olarak saptamışlardır. Ensminger ve Olentine (1978) ayçiçeği silajının KM, HP, HY, HS, NÖM ve HK içeriklerinin sırasıyla %21.0, %2.1, %1.3, %6.2, %9.5 ve %2.1 olarak bildirmektedir. Kılıç'a (1986) göre, vejetasyonun farklı aşamaları (çiçeklenme ve çiçeklenme sonrası) itibari ile tespit edilen kimi özelliklere ilişkin değerler incelendiğinde, bu materyal için KM içeriğinin %14.8-%20.2; KM bazında HP içeriğinin %8.42-%9.45; HY içeriği %3.37-%3.47; HS içeriği %29.1-%38.1; NÖM içeriği % 44.6-%38.1 ve HK içeriği %13.5-%11.9 arasında değişim göstermektedir. Alççek (1988), yürüttüğü bir çalışmada ayçiçeği silajında KM, KM içinde OM, HP, HY, HS, NÖM ve HK içeriklerini sırası ile %14.47, %85.40, %11.07, %2.32, %28.62, %43.39 ve %14.60, ham besin madde sindirim derecelerini HK hariç sırası ile %57.81, %57.19, %65.94, %57.96, %46.24 ve %62.13, brüt enerji (BE), metabolik enerji (ME) ve net enerji laktasyon (NEL) içeriklerini ise sırası ile 16.95 MJ/kg KM, 7.23 MJ/kg KM ve 4.05 MJ/kg KM olarak saptamıştır. NRC (1989) verileri incelendiğinde, yağca zengin çeşitlerde ayçiçeği silajları için KM içerisinde HP, HS, NDF, ADF, selüloz, lignin ve HY değerleri sırası ile %12.5, %31.0, %42.0, %39.0, %27.0, %12.0 ve %10.7 olarak, yağca fakir çeşitlerde ise bu değerler %11.1, %33.5, %45.0, %42.0, %26.0, %16.0 ve %7.10 olarak bildirilmektedir. Ayçiçeği silajlarının mısır silajına oranla 5 kat daha fazla yağ ancak daha düşük enerji içerdiğini vurgulayan Macgregor (1994)'da ayçiçeği için olağan sayılabilecek KM ile KM içerisinde HP, HY, HS, NDF, ADF değerlerini sırası ile %27; %11.1 %10.7, %33.3, %49.0, %44.0 olarak açıklamaktadır.

Denek ve ark. (2003), ayçiçeği hasıllarına üre, üre+melas ve üre+buğday kırması katkısının silaj kalitesi üzerine etkilerini inceledikleri çalışmalarında ayçiçeği silajının

katkısız, %0.5 üre, %0.5 üre+%5 melas ve %0.5 üre+%5 buğday kırmacı grupları için pH değerleri sırasıyla 4.27, 5.41, 4.82 ve 6.94; KM içeriklerini %16.61, 14.45, 16.60 ve 16.14; HP içeriklerini %20.96, 25.80, 28.30 ve 24.40; ADF içeriklerini %31.18, 32.90, 28.69 ve 33.17; NDF içeriklerini %27.70, 30.63, 20.03 ve 28.30; *in vitro* KM sindirilebilirlik değerlerini ise %80.85, 78.16, 83.81 ve 79.34 olarak saptamışlardır.

Özdüven ve Öğün (2006), yaş bira posası ile ayçiçeği hasılı karışımlarından elde edilen silajların bazı kalite özelliklerinin ve yem değerlerinin belirlenmesi amacı ile yürüttükleri çalışmalarında, 45 günlük silolama sonunda yaş bira posası, ayçiçeği, %50 yaş bira posası+ %50 ayçiçeği ve %25 yaş bira posası+ % 75 ayçiçeği silajlarında KM içeriklerini sırasıyla %23.67, 25.63, 24.84, 24.80; ham protein içeriklerini %19.16, 7.23, 9.98, 13.01; NH₃-N içeriklerini toplam nitrojen içerisinde 72.37, 75.34, 62.61, 72.79 g/kg; laktik asit içeriklerini %0.76, 2.08, 1.68, 1.33; pH değerlerini 3.97, 4.21, 4.17, 4.12; *in vivo* KM sindirilme derecelerini %66.26, 59.03, 60.11, 62.71; HP sindirilme derecelerini %72.46, 49.64, 73.69, 77.49; HS sindirilme derecelerini %52.85, 30.75, 45.22, 51.62 olarak saptamışlardır. Koç ve ark. (1997), fiğ-tahıl karışımlarından yapılan silajlarda LAB içeren mikrobiyal katkı maddesi kullanımının etkilerini laboratuvar ve saha koşullarında inceledikleri çalışmalarında, laboratuvar ve saha çalışmalarında ele alınan başlangıç materyallerinde saptadıkları KM, pH, tamponlama kapasitesi, HP, HS değerlerini sırasıyla %33.39 ve 33.00; 6.28 ve 5.77; 441 ve 606 meğ NaOH/kg KM; %10.90 ve 10.01; %23.38 ve 24.04 olarak bildirmektedirler.

Herhangi bir bitkisel ürün silolandıktan sonra oluşacak fermantasyonun kalitesi silajların besleme değeri ve hijyenik yapıları açısından büyük önem taşımaktadır. Silaj fermantasyonu sırasında oluşan; pH, NH₃-N ve organik asitlerin miktar ve kompozisyonları gibi son derece önemli silaj parametreleri fermantasyonun kalitesini belirlerler. Özellikle pH değeri ve NH₃-N düzeyleri düşük, laktik ve asetik asit oranı yüksek silajlar gerek bu silajları tüketen hayvanların verimlerinin artırılması açısından gerekse sağlıkları üzerinde herhangi bir olumsuz etkinin görülmemesi açısından istenen silajlardır. Çünkü silaj yapımında temel amaç, silajı tüketen hayvanların sağlıkları üzerinde olumsuz bir etkiye neden olmadan verimlerinin ekonomik olarak artırılmasıdır (Filya 2000).

Silaj üretiminde fermantasyon olaylarının kontrol altına alınabilmesi bakımından başvurulan yollardan birisi de katkı maddesi kullanımımıdır. Katkı maddeleri kullanımı silaj yapımının önemli bir aşaması olup, parçalama işlemi ile birlikte kombine edilmelidir. Çünkü

parçalama işlemi silaj katkı maddelerinin silolanana materyale homojen bir şekilde karışmasına olanak sağlar (Filya 2005). Silajlık bitkilerin silolanmaları esnasında SÇK ve HP kayıplarının azaltılması, uygun bir fermentasyonun oluşması, bazı zararlı mikroorganizmaların üremelerinin önlenmesi gibi silaj niteliğinin artırılmasına yönelik çalışmalarda melas, tahıl kırmaları, kuru şeker pancarı posası gibi karbonhidrat kaynakları, tuz gibi inorganik tuzlar, laktik, propiyonik ve formik asit gibi organik asitler, amonyak ve üre gibi NPN bileşikler, LAB inokulantları, enzimler veya LAB+Enzim karışımı içeren inokulantlar gibi farklı uygulamalar yapılmaktadır (Kılıç ve ark. 2000, Filya 2005).

Silaj fermentasyonunun kontrolü amacıyla kullanılan klasik katkı maddelerine olan kimi üstünlükleri nedeniyle mikrobiyal katkı maddeleri son yıllarda oldukça geniş kullanım alanı bulmuşlardır. Silolanacak kitlede fermentasyonun yönlendirilmesi amacı ile mikrobiyal katkı maddesi kullanım fikri yakın bir geçmişe sahip değildir. Konuya ilişkin ilk uygulamaların 1909 yılında Fransız araştırmacılar tarafından gerçekleştirildiği bilinmektedir (Merry ve ark. 1993). Silaj mikrobiyolojisi konusundaki metotların gelişimi ile mikrobiyal katkı maddelerinin gelişimi arasında sıkı bir ilişkinin var olduğu gözlenmektedir. Seale ve ark. (1990), özellikle 1980'li yıllarda silaj mikrobiyolojisine olan ilginin artmasının mikrobiyal katkı maddelerinin değerlendirilmesine olan gereksiniminin bir sonucu olarak yorumlamaktadırlar. Aynı araştırmacılar, çoğu 1950-1960 yılları arasındaki kısa dönemde geliştirilen silaj mikrobiyolojisine ilişkin metotların günümüz koşullarında yeniden gözden geçirilmesine ve standardizasyonuna gereksinim duyduğunu vurgulamaktadırlar. Üretimlerini endüstriyel ölçekte gerçekleştirmesini sağlayan tekniklerin (liyoofilizasyon/ freze drying) gelişimi ile birlikte mikrobiyal katkı maddelerinin ticari anlamda üretimleri ve kullanımları yaygınlık kazanmıştır (Wilkinson 1984, Merry ve ark. 1993, Robinson 1993).

Silaj yapımında fermentasyon olaylarının kontrolü amacıyla kullanılan mikrobiyal katkı maddelerini ya da başka bir isimlendirmeye bakteri kökenli inokulantları; belirli dozlarda kullanılmaları durumunda silolanacak kitlede arzu edilen yönde (homofermantatif) fermentasyon olaylarının gelişimini sağlayabilecek yoğunlukta LAB ya da bakteri gruplarını içeren ürünler olarak tanımlanabilmektedir (Yurtman ve ark. 1997, Özdüven ve ark. 1999). Bu inokulantlar genellikle *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Pediococcus acidilactici*, *Pediococcus cerevisiae*, *Pediococcus pentosaceus* ve *Enterococcus faecium* olmak üzere homofermantatif özellikteki LAB'ni içerirler. Bu tür mikroorganizmalar, şekerleri ağırlıklı olarak laktik aside fermente ederler (Tengerdy ve ark. 1991). Laktik asit bakteri inokulantlarının kullanıldığı birçok çalışmada, bu katkı

maddelerinin silajların pH'larını hızla düşürdüğü, laktik asit ve laktik asit/asetik asit oranını artırdığı, asetik asit, bütrik asit, NH₃-N ve etanol düzeylerini düşürdüğü ve lactobacilli içeriklerini artırarak silaj fermantasyonunu geliştirdiği saptanmıştır (Weinberg ve ark 1993, Stokes ve Chen 1994, Moran ve ark. 1996, Filya ve ark. 2000). Bunun yanı sıra LAB inokulantlarının silajların aerobik stabiliteyi (aerobik koşullara dayanıklılık ve silo ömrü) üzerindeki etkilerinin incelendiği araştırma sonuçlarında, bazı araştırmacılar LAB inokulantlarının silajların aerobik dayanıklılığını artırdığını bildirirken (Weinberg ve ark. 1993), bazı araştırmacılar ise etkilemediğini (Moran ve ark. 1996) veya aerobik dayanıklılığını düşürerek, silajlarda gözle görülür bir küflenme ve yoğun karbondioksit gazı üretimine neden olduklarını bildirmişlerdir (Stokes ve Chen 1994). Filya ve ark. (2000) ise LAB inokulantlarının silajların aerobik dayanıklılığını düşürdüğünü, KM içeriği yeterli olanların ise aerobik dayanıklılığının artırdığını bildirmişlerdir.

1990- 1995 yıllarında yapılan araştırmalarda ise homofermantatif laktik asit bakterilerinin özellikle mısır ve küçük taneli buğdaygil bitki silajlarında aerobik stabilite üzerine olumsuz etkileri gözlenmiştir. Homolaktik asit inokulantlarının mayaların üretimini inhibe eden asetik asitin miktarını düşürüp, laktik asit miktarını artırmasının aerobik stabiliteyi azalttığı, artan laktik asitin mayaların üremesi için bir substrat olduğu hatta laktik asitin mayalar tarafından CO₂ ve suya ayrıştırıldığı ileri sürülmüştür (Adesogan 2008).

Silaj yapımında başta özellikle sıcak ülkeler olmak üzere tüm dünyada karşılaşılan en önemli sorunlardan birisi silajların aerobik olarak stabil olmayışlarıdır (Filya, 2003). Silaj açıldığında, anaerobik koşullar aerobik koşullara dönüşmektedir. Bu koşullar altında ortamda çoğalamayan mikroorganizmalar çoğalmaya başlayarak silajın bozulmasına neden olurlar (McDonald ve ark., 1991). Yemleme döneminde söz konusu mikroorganizmalar ortamdaki şekerler ile laktik ve asetik asit gibi fermantasyon ürünlerini tüketerek büyük miktarlarda kuru madde (KM) ve besin maddeleri kaybına neden olurlar. Bunun sonucunda silo içerisinde karbondioksit (CO₂) ve su açığa çıkar, sıcaklık artar (Filya, 2001). Sonuç olarak silajın bozulması söz konusudur. Çoğunlukla “aerobik bozulma” olarak da tanımlanır. Bu şekilde bozulmuş silajlar hayvanlar tarafından ya daha az tüketilir ya da hiç tüketilmeyebilir. Ayrıca bu tip silajların içerebileceği bazı küfler hayvanlar için öldürücü olabilecek mikotoksinler üretebilirler. Söz konusu mikotoksinlerin hayvansal ürünler ile birlikte insanlara geçme riski de oldukça yüksektir (Filya, 2003).

Silaj yapımında mikrobiyal katkı maddesi kullanımının, aerobik bozulmaya karşı direnç üzerindeki etkilerini inceleyen çalışmalardan elde edilen bulgular arasında tam bir uyum gözlenmemektedir. Mikrobiyal katkı maddesi kullanımının aerobik bozulmaya karşı direnç üzerinde herhangi bir etkiye sahip bulunmadığı yönünde bildirilişlerin (Rust ve ark., 1989) yanı sıra, bu tip katkı maddesi kullanımının aerobik bozulmayı kolaylaştırdığı doğrultusunda saptamalar da mevcuttur (Moon ve ark. 1980, Rooke ve Kafilzade 1994, Chen ve ark. 1994). Yapılan çalışmalar farklı materyalden yapılmış olan silajların aerobik bozulmaya olan dirençleri bakımından farklı özellikler taşıdığını ortaya koymaktadır (Mc Donald ve ark. 1991). Yüksek düzeylerde SÇK içeriğine sahip olan silajlar aerobik bozulmaya daha hassastırlar (Woolford 1978). Aerobik bozulmadan sorumlu başlıca mikroorganizmalar maya ve küflerdir. Söz konusu mikroorganizmalar ortamdaki şekerler ile laktik ve asetik asit gibi fermantasyon ürünlerini kullanarak büyük miktarlarda KM ve besin maddeleri kayıplarına neden olurlar. Bunun sonucunda silo içerisinde karbondioksit ve su açığa çıkar, sıcaklık artar (Filya 2004). Nitekim Weinberg ve ark. (1993) ile Filya (2002) silajların yemlemede kullanılmak üzere açıldığı ve tamamen sınırsız bir şekilde hava girişine maruz kaldıkları dönemde, silajlardaki yoğun karbondioksit (CO₂) üretimi ve pH yükselmesi ile maya ve küf popülasyonlarındaki artışın aerobik bozulmanın bir göstergesi olduğunu ve ayrıca fermantasyon sırasında oluşan yüksek düzeydeki laktik asit ve fermantasyon sonrasında kullanılmadan kalan şekerlerin varlığının silajların aerobik stabiliteğini düşürdüğünü saptamışlardır.

Heterofermantatif bir laktik asit bakterisi olan *L. buchneri*'nin maya ve küf üremesini engellediği ilk olarak 1995 yılında bildirilmiş 1996 yılında ise silajlarda kullanılması önerilmiştir (Holzer ve ark. 2003, Adesogan 2008). Ancak heterofermantatif laktik asit bakterileri inokulantları genel olarak silaj fermantasyonu üzerinde etkili olmazken, silajların aerobik stabiliteğini geliştirmektedirler (Kung ve ark. 2007). Son zamanlarda ise heterofermantatif *L. buchneri* inokulantlarının aerobik stabiliteyi artırıcı etkisine ilave olarak fermentasyon özelliklerini de artırmak için homofermantatif laktik asit bakterileri ile kombine ya da iki yönlü inokulantların geliştirilmesi yoluna gidilmeye başlanmıştır (Adesogan 2008).

Günümüzde mikrobiyal inokulant pazarında çok sayıda ürün yer almaktadır. Bu çeşitliliği mikrobiyal inokulant etkenliğini çok sayıda faktörün etkisi altında değişim gösterebilmesiyle açıklamak mümkündür. Özellikle mikrobiyal katkı maddeleri, kullanımlarının oldukça kolay olması, güvenli oluşları, toksik etkilerinin olmayışı, silaj yapımında kullanılan makinelerde korozyona sebep olmamaları, çevre kirliliği yaratmamaları

ve sonuç olarak doğal ürünler olmaları gibi önemli avantajlara sahip oldukları için kimyasal kökenli katkı maddelerine göre daha fazla tercih edilmektedir (Weinberg ve ark. 1993, Filya 2002). Uygulama yoğunluğu, katkının biyolojik bileşimi, ortamdaki yararlı besin madde miktarı gibi faktörler bakteri inokulantlarının başarısını belirlemektedir. Dolayısıyla silajı yapılacak bitkisel materyale ilişkin özellikler bu noktada önemli etkiye sahiptir (Özdüven ve ark. 1999).

Kung ve ark. (1990) üç farklı vejetasyon döneminde hasat ettikleri fiğ-arpa karışımlarına *L. plantarum* ve *P. cerevisiae* içeren mikrobiyal katkı maddesi kullanımının çeşitli fermantasyon özelliklerini inceledikleri çalışmalarında katkı maddesi kullanımının pH değerleri ile asetik asit ve $\text{NH}_3\text{-N}$ miktarını azalttığını, buna karşın laktik asit üretimini teşvik ettiğini açıklamaktadır.

Koç ve ark. (1997) fiğ-tahıl karışımlarından yapılan silajlarda LAB içeren mikrobiyal katkı maddesi kullanımının etkilerini laboratuvar ve saha koşullarında inceledikleri çalışmalarında, laboratuvar koşullarında kontrol ve katkı maddesi grupları için saptanan KM, pH, HP, $\text{NH}_3\text{-N}$, laktik asit, asetik asit, bütrik asit miktarlarını sırasıyla %32,00 ve 35,00; 3,70 ve 3,65; %11,15 ve 10,01; 3,03 ve 2,75 g/kg KM; %2,48 ve 2,83; %0,40 ve 0,40; %0,10 ve 0,05; saha çalışmalarında ise aynı sırayla %48,00 ve 44,00; 3,86 ve 4,59; %11,37 ve 11,49; 1,57 ve 1,73 g/kg KM; %3,36 ve 3,16; %0,63 ve 0,42; %0,00 ve 0,05 olarak bildirmektedirler.

Meeske ve Basson (1998), LAB inokulantlarının hamur olum döneminde hasat edilen mısır silajlarının fermantasyon ve aerobik stabilite özelliklerini saptamak amacıyla yürüttükleri çalışmalarında, doksan beş günlük silolama sonrası elde edilen mısır silajlarında kontrol ve *Lactobacillus plantarum*+*Lactobacillus bulgaricus*+*Lactobacillus acidophilus* içeren inokulant gruplarında sırasıyla pH değerlerini 3.7 ve 3.9; SÇK içeriklerini 71 ve 52 g/kg KM; laktik asit içeriklerini %6.9 ve 6.4; asetik asit içeriklerini %1.1 ve 1.4; LAB sayılarını 7.6 ve 7.6 log₁₀ cfu/g; maya sayılarını 2.1 ve 2.6 log₁₀ cfu/g; küf sayılarını ise 0.0 ve 2.0 log₁₀ cfu/g olarak saptamışlardır. Araştırmacılar LAB inokulantının mısır silajlarının fermantasyon özelliklerini üzerindeki etkilerinin çok az olduğunu bildirmektedirler.

Polat ve ark. (1998), LAB inokulantlarının fiğlerin çiçeklenme arpanın ise süt olum döneminde hasat edilen fiğ-arpa silajlarının fermantasyon ve aerobik stabilite özelliklerini saptamak amacıyla yürüttükleri çalışmalarında, elli altı günlük silolama sonrasında kontrol ve *Lactobacillus plantarum*+*Enterococcus faecium* içeren inokulant gruplarında sırasıyla pH değerlerini 4.40 ve 4.37; SÇK içeriklerini 3.68 ve 3.65 g/kg KM; $\text{NH}_3\text{-N}$ içeriklerini 0.59 ve

0.59 g/kg KM; HP içeriklerini %10.84 ve 10.77; laktik asit içeriklerini taze materyalde %2.25 ve 2.38; asetik asit içeriklerini taze materyalde %0.67 ve 0.59; LAB sayılarını 5.90 ve 6.46 log₁₀ cfu/g; maya sayılarını 5.00 ve 4.14 log₁₀ cfu/g; NDF içeriklerini KM'de %65.20 ve 65.20; ADF içerikleri %41.80 ve 42.62; ADL içeriklerini ise 10.08 ve 10.73 olarak saptamışlardır. Araştırmacılar LAB inokulantının fiğ silajlarının fermantasyon özelliklerini üzerindeki etkilerinin çok az olduğunu bildirmektedirler.

Filya ve ark. (2000), LAB inokulantlarının süt olum döneminde hasat edilen buğday silajlarının fermantasyon ve aerobik stabilite özelliklerini saptamak amacıyla yürüttükleri çalışmalarında, silolama öncesi buğday hasıllarında pH, KM, SÇK, HK ve HP içeriklerini sırasıyla 6.7, 368 g/kg, 52 g/kg KM, 93 g/kg KM ve 138 g/kg KM olarak bildirmektedirler. Altmış beş günlük silolama sonrası elde edilen buğday silajlarında kontrol, *Lactobacillus plantarum* + *Enterococcus faecium* ve *Lactobacillus pentosus* içeren inokulant gruplarında sırasıyla pH değerlerini 4.4, 3.9 ve 3.9; SÇK içeriklerini 43, 26 ve 25 g/kg KM; laktik asit içeriklerini 8, 35 ve 28 g/kg KM; asetik asit içeriklerini 6, 4 ve 5 g/kg KM; LAB sayılarını 7.2, 5.7 ve 6.2 log₁₀ cfu/g; maya sayılarını 3.4, 0.0 ve 0.0 log₁₀ cfu/g olarak saptamışlardır. Araştırmacılar her iki LAB inokulantının da buğday silajlarının fermantasyon özelliklerini geliştirdiğini, LAB sayılarını artırdığını ve maya sayılarını düşürdüğünü bildirmektedirler.

Filya (2003b), erken hamur olum döneminde hasat edilen buğday hasıllarına homofermantatif ve/veya heterofermantatif laktik asit bakteri inokulantı ilavesinin fermantasyon, aerobik stabilite ve in situ rumen parçalanabilirlik özelliklerini saptamak amacıyla yürüttüğü çalışmasında; buğday haslında silolama öncesi pH, KM, SÇK, HK, HP, NDF, LAB, maya ve küf içeriklerini sırasıyla 6.3, 384 g/kg, 68g/kg KM, 70 g/kg KM, 66 g/kg KM, 505 g/kg KM, 4.2 log₁₀ cfu/g, 5.1 log₁₀ cfu/g ve 3.4 log₁₀ cfu/g olarak bildirmektedir. Altmış günlük silolama sonrası elde edilen buğday silajlarında kontrol, *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus plantarum* ve *Lactobacillus buchneri* + *Lactobacillus plantarum* gruplarında sırasıyla pH değerlerini 3.9, 4.2, 3.8 ve 3.9; SÇK içeriklerini 47, 6, 42 ve 9 g/kg KM; laktik asit içeriklerini 33, 20, 47 ve 24 g/kg KM; asetik asit içeriklerini 8, 21, 6 ve 19 g/kg KM; NH₃-N içeriklerini 0.140, 0.135, 0.109 ve 0.115 g/kg TN; LAB sayılarını 6.1, 5.8, 7.7 ve 6.0 log₁₀ cfu/g; maya sayılarını 3.3, <2.0, 4.1 ve <2.0 log₁₀ cfu/g; küf sayılarını 2.8, <2.0, 3.1 ve <2.0 log₁₀ cfu/g olarak saptamıştır. Araştırmacı *Lactobacillus buchneri* + *Lactobacillus plantarum* uygulanan silajların diğer silajlara göre pH, NH₃-N ve fermantasyon kayıplarının önemli düzeyde daha az olduğunu, bununla birlikte *Lactobacillus buchneri*,

Lactobacillus plantarum ve *Lactobacillus buchneri* + *Lactobacillus plantarum* uygulanan silajlarda in situ KM, OM ve NDF parçalanabilirliğinin etkilenmediğini bildirmektedir.

Aksu ve ark. (2004), mısırlarda *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus bunscheri*, *Lactobacillus rhamnosus* ve *P. pentosaceus* içeren inokulant LAB inokulantının kullanıldığı çalışmada, silajlarda pH'ları kontrol ve LAB gruplarında sırasıyla 3.90 ve 3.63; laktik asitleri KM'de %1.67 ve 2.24; asetik asitleri KM'de % 4.94 ve 5.15; NDF miktarlarını KM'de %57.65 ve 57.11; ADF miktarları ise KM'de %36.19 ve 35.03 olarak saptamışlardır. Araştırmacılar LAB inokulantının mısır silajlarının fermantasyon özelliklerini geliştirdiğini, ancak ham besin madde ve hücre duvarı bileşenleri üzerindeki etkilerinin çok az olduğunu bildirmektedirler.

Filya ve Sucu (2007), bazı biyolojik ve kimyasal katkı maddelerinin hamur olum döneminde hasat edilen buğday hasıllarının fermantasyon, mikrobiyal flora ve aerobik stabilite özellikleri üzerine etkilerini inceledikleri çalışmalarında, 90 günlük silolama sonrasında kontrol, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus buchneri*, *propionibacterium acidipropionici* ve formik asit uygulanan gruplarda pH değerlerini sırasıyla 4.22, 3.96, 4.67, 4.55 ve 3.94; SÇK içeriklerini 59.5, 54.3, 20.7, 57.9 ve 58.8 g/kg KM; laktik asit içeriklerini %4.96, 8.14, 3.63, 5.15 ve 5.65; asetik asit içeriklerini %0.93, 0.56, 2.74, 1.83 ve 1.49; bütrik asit içeriklerini %0.07, 0.02, 0.01, 0.03 ve 0.02; NH₃-N içeriklerini 0.230, 0.194, 0.259, 0.246 ve 0.155 g/kg KM; LAB sayılarını 4.28, 6.96, 3.97, 4.15 ve 4.03 log₁₀ cfu/g; maya sayılarını 3.37, 4.63, 2.04, 2.12 ve 1.81 log₁₀ cfu/g; küf sayılarını ise 1.50, 1.42, 1.38, 1.45 ve 1.23 log₁₀ cfu/g olarak bildirmektedirler. Elde edilen sonuçlara göre *Lactobacillus plantarum* inokule silajların yüksek düzeyde laktik asit üreterek silajlardaki homolaktik fermantasyonu geliştirirken; *Lactobacillus buchneri*, *propionibacterium acidipropionici* ve formik asit özellikle maya aktivitesini engelleyerek silajların aerobik stabilitesini geliştirdiği görülmektedir.

Özdüven ve ark. (2009), hamur olum döneminde hasat edilen ayçiçeği hasıllarına LAB ve/veya enzim inokulantlarının ilavesinin fermantasyon, mikrobiyal flora, aerobik stabilite ve *in vitro* OMS özellikleri üzerine etkilerini inceledikleri çalışmalarında, 90 günlük silolama sonrasında kontrol, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus buchneri*, *propionibacterium acidipropionici* ve formik asit uygulanan gruplarda pH değerlerini sırasıyla 4.22, 3.96, 4.67, 4.55 ve 3.94; SÇK içeriklerini 59.5, 54.3, 20.7, 57.9 ve 58.8 g/kg KM; laktik asit içeriklerini %4.96, 8.14, 3.63, 5.15 ve 5.65; asetik asit içeriklerini %0.93,

0.56, 2.74, 1.83 ve 1.49; bütirik asit içeriklerini %0.07, 0.02, 0.01, 0.03 ve 0.02; NH₃-N içeriklerini 0.230, 0.194, 0.259, 0.246 ve 0.155 g/kg KM; LAB sayılarını 4.28, 6.96, 3.97, 4.15 ve 4.03 log₁₀ cfu/g; maya sayılarını 3.37, 4.63, 2.04, 2.12 ve 1.81 log₁₀ cfu/g; küf sayılarını ise 1.50, 1.42, 1.38, 1.45 ve 1.23 log₁₀ cfu/g olarak bildirmektedirler. Elde edilen sonuçlara göre *Lactobacillus plantarum* inokule silajların yüksek düzeyde laktik asit üreterek silajlardaki homolaktik fermantasyonu geliştirirken; *Lactobacillus buchneri*, *propionibacterium acidipropionici* ve formik asit özellikle maya aktivitesini engelleyerek silajların aerobik stabilitesini geliştirdiği görülmektedir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. MATERYAL

3.1.1. SİLAJ MATERYALİ

Silaj materyali olarak, Trakya'nın Kırklareli bölgesinde Sanbro MR çeşit tohumdan yetiştirilen ayçiçeği (*Helianthus annuus*) bitkisi kullanılmıştır.

3.1.2. SİLAJLARIN HAZIRLANMASI

Araştırmada kullanılan ayçiçeği süt olum döneminde hasat edilmiştir. Ayçiçeği bitkisi hasattan hemen sonra plastik torbalara doldurularak 1 saat içerisinde çalışmanın ve analizlerin yürütüleceği laboratuvar koşullarına ulaştırılmıştır. Taze materyal ağırlıkları önceden tartılarak tespit edilen (10 kg) her dört kitleden homofermantatif LAB uygulanacak gruba biyolojik kompozisyonunda *Lactobacillus plantarum* ve *Enterococcus faecium* içeren (Pioneer 1188, USA); heterofermantatif LAB uygulanacak gruba biyolojik kompozisyonunda *Lactobacillus buchneri* içeren (Pioneer 11A44 USA); homofermantatif ve heterofermantatif LAB grubu ise her iki inokulant karışımı olarak taze materyal üzerine homojen bir şekilde el pülverizatörü ile püskürtülmüştür. İnokulantlar ayçiçeği hasıllarına 6.0 log₁₀ cfu/g düzeyinde katılacaktır. Silolamanın 2., 4., 8., ve 60. günlerinde üçer adet kap açılarak kimyasal ve mikrobiyolojik analizler yapılmıştır. Ayrıca Ashbell ve ark. (1991) tarafından geliştirilen yöntem kullanılarak silajların silolamanın 60. gününde açılarak 5 gün süre ile aerobik stabilite testi uygulanmıştır.

3.2. YÖNTEM

3.2.1. SİLAJ KALİTESİ TAKDİRİ İÇİN KULLANILAN YÖNTEMLER

Araştırmada kullanılan yemlerin silolama öncesinde pH, Bc, SÇK, mikrobiyolojik analizler, silolama sonrası örneklerde pH, SÇK, NH₃-N, organik asitler (asetik, bütirik, laktik asit), mikrobiyolojik analizler gerçekleştirilmiştir.

3.2.1.1.pH ve Bc Analizleri

Silolama öncesi taze materyalde ve açım sonrası elde edilen örneklerde pH ölçümleri için 50 g' lık örneklere 125 ml saf su ilave edilmiş ve oda sıcaklığında 1 saat süre ile zaman zaman karıştırılarak tutulmuştur. Daha sonra örnekler süzülüş ve elde edilen süzükte pH metre aracılığı ile okuma gerçekleştirilmiştir (Anonymous 1986). Silolama öncesi alınan

örnekte Bc'nin saptanabilmesi için 20 gram örneğe, 250 ml saf su ilave edilerek mekanik karıştırıcı aracılığı ile 1 dakika süre ile karıştırılmıştır. Karışım dört katlı gazlı bezden geçirilerek elde edilen süzüğün pH'sı 0.1 N HCl ile 3.00'e ayarlanmıştır. Daha sonra 0.1 N NaOH kullanılarak süzüğün pH'sı 4.00 e standardize edilmiştir. Süzük aynı yoğunluğa sahip NaOH ile karışımın pH'sı 4.00 den 6.00 ya çıkıncaya kadar işleme tabi tutulmuştur. pH'nın 4.00'den 6.00'ya yükselmesi için gerekli alkali miktarı meq/kg KM olarak kaydedilmiştir (Playne ve McDonald 1966).

3.2.1.2. SÇK Analizi

Başlangıç ve silaj örneklerinde SÇK analizi Anonymous (1986)' a göre yapılmıştır. Analize tabi tutulacak örnek 102 °C sıcaklıkta 2 saat süre ile kurutulmuştur. Kurutulup öğütülmüş örnekten 0.2 g tartılarak bir sise içerisine konulmuş, üzerine 200 ml saf su ilave edilerek 1 saat süre ile çalkalanmıştır. Örneklerin ilk birkaç damlası ihmal edilecek şekilde süzülerek 50 ml'lik berrak ekstrakt elde edilmiştir. Standart eğrilerin hazırlanmasından sonra 2 ml ekstrakt alınarak 150x25 mm'lik borosilikat test tüplerine konulmuştur. Ön hazırlığı takiben absorbans değeri 620 nm'de 30 dakika içerisinde spektrofotometre aracılığı ile okunmuştur. Örnek ve kör denemeler sonrası tespit edilen absorbans değerlerine denk gelen mg glikoz değerleri arasındaki farklılık 500 katsayısı ile çarpılmıştır. Sonuç, örnek içerisinde yer alan g/kg SÇK miktarı olarak kaydedilmiştir.

3.2.1.3. NH₃-N Analizi

Silaj örneklerinde NH₃-N, silaj örneklerinden elde edilen ekstraktlarda mikro distilasyon metotlarına (Anonymous 1986) göre gerçekleştirilmiştir. Altmış günlük süre sonrasında günlük elde edilen örneklerde NH₃-N tespiti için 20 g'lık taze örnek üzerine 100 ml saf su ilave edilerek çalkalama makinesinde 1 saat süre ile çalkalanmıştır. Daha sonra süzülerek elde edilen ekstrakte mikro distilasyon metodu aracılığı ile söz konusu parametre saptanmıştır.

3.2.1.4. Organik Asit Analizleri

Organik asit miktarlarının (asetik ve laktik asitler) tespitinde Koç ve Coşkuntuna (2003)'nın bildirdikleri spektrofotometrik yöntemle göre saptanmıştır.

3.2.1.4.1 Laktik Asit Analizleri

Derin dondurucuda $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de saklanan örnekler analizin yapılacağı gün çıkartılarak çözülünceye kadar oda sıcaklığında bir süre bekletilmişlerdir. Çözündürülen örnekler daha sonra 1:100 oranında seyreltilerek kullanılmıştır. Seyreltilen örneklerden otomatik pipet yardımıyla 1ml sıvı tüplere aktarılmış üzerine 0.1 ml bakır sülfat (5g $\text{CuSO}_4/100$ ml saf su) ile 6 ml %98'lik sülfürik asit ilave edilmiştir. Hazırlanan tüpler 30 saniye vortekste karıştırıldıktan sonra 5 dakika soğuk banyoda tutularak soğumaya bırakılmıştır. Bu süre sonunda tüplere 0.1 ml para hidroxy bi phenol (%0.5 Na OH/1000 ml saf su + 2.5 g PHBP) eklenerek, tüpler 30 saniye tekrar vortekste karıştırılmış ve 10 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir. Daha sonra tüpler 90 saniye kaynar su içerisine daldırılıp çıkartılmış ve soğuması beklendikten sonra 565 nm dalga boyunda spektrofotometre cihazında okunmuştur.

Standart eğrinin oluşturulması

213 mg lityum laktat 500 ml saf su içerisinde çözündürülmüş ve üzerine 0.5 ml %98'lik sülfürik asit ilave edilmiştir (400 $\mu\text{g/ml}$). Elde edilen çözelti, önce 1:9 (40 $\mu\text{g/ml}$) daha sonra 1:1 (20 $\mu\text{g/ml}$, stok çözelti) oranında seyreltilerek kullanılmıştır. Daha sonra stok çözeltilerden 2.5, 5.0, 10.0 ve 15.0 $\mu\text{g/ml}$ lityum laktat içerecek şekilde yeni karışımlar elde edilmiştir. 1 ml seyreltik bulunan tüplerin içerisine 0.1 ml bakır sülfat ile 6 ml %98'lik sülfürik asit ilave edilmiş, 30 saniye vortekste karıştırılmış ve 5 dakika soğuk banyoda tutularak soğumaya bırakılmıştır. Bu süre sonunda tüplere 0.1 ml para hidroxy bi phenol eklenerek, tüpler 30 saniye tekrar vortekste karıştırılmış ve 10 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir. Daha sonra tüpler 90 saniye kaynar su içerisine daldırılıp çıkartılmış ve soğuması beklendikten sonra 565 nm dalga boyunda spektrofotometre cihazında okunmuş ve standart eğri Microsoft Excel bilgisayar programında oluşturulmuştur.

Hesaplama

Standart eğriden, örneklerin $\mu\text{g/ml}$ 'leri okunarak saptanmıştır. Elde edilen örneklerin KM miktarlarına bölünmüş ve silajların %KM' de % laktik asit içerikleri saptanmıştır.

3.2.1.4.2. Asetik Asit Analizleri

Asetik asidin saptanması: 50 – 60 g numune 0.1 mg tartılarak blendere alınmıştır. Üzerine 80 ml CHCl_3 ilave edilmiş ve 3 dakika yüksek devirde karıştırılmıştır. Cam süzgece 10 cm çaplı süzgeç kağıdı yerleştirilmiş, karışım süzgece aktarılmış ve emme yardımı ile

süzülmüştür. Süzgeç kağıdında kalan pasta ve süzgeç kağıdı blendere aktarılmış ve üzerine 80 ml CHCl_3 ilave edilerek 1 dakika çalıştırılmış, ikinci ekstraksiyon işlemi ile yeni süzgeç kağıdı kullanılarak ikinci bir süzme işlemi uygulanmıştır. Üçüncü ekstraksiyon ve süzme işlemi ikinci işlemde olduğu gibi uygulanmıştır. Süzgeç kağıdının kenarları ve çökelti 25 ml CHCl_3 ile yıkanmış ve çökelti bastırılarak CHCl_3 'ün büyük bir kısmı uzaklaştırılmıştır. Toplanan CHCl_3 ekstraktları 500 ml' lik ayırıcıya aktarılmış, süzgeç ve ekstrakt toplama kabı 2'şer ml'lik CHCl_3 ile yıkanmış ve ayırıcıya aktarılmıştır. Ayırıcıya 33 ml 0.5 N NaOH çözeltisi ilave edilerek ekstrakte edilmiş CHCl_3 fazı 600 ml'lik, sulu faz 300 ml'lik behere alınmıştır. CHCl_3 fazı aynı ayırıcıya alınmış ve 33 ml 0.5 N NaOH çözeltisi ile ikinci bir ekstraksiyon işlemi uygulanmıştır. Fazlara ait olan beherlere alınmış ve sonucu ekstraksiyon işlemindeki emülsiyon fazı alkali fazın toplandığı behere alınmıştır. Alkali ekstrakt 70 ml yaklaşık 1 N HCl çözeltisi ile asitlendirilmiş, çözülmüş CHCl_3 'ün uzaklaştırılması için 5 – 10 dakika hızlıca havalandırılmıştır. CHCl_3 tamamen uzaklaştığını koklayarak kontrol edilmiştir. Çözelti, süzgeç kağıdı yerleştirilmiş gözenekli cam süzgeçten süzülmüştür. Süzüntü 500 ml'lik balona aktarılmış ve çizgisine kadar saf su ile tamamlanmıştır. Standart çözelti karşı absorbansları spektrofotometre de 307 nm dalga boyunda okuma yapılmıştır.

Standart Çözeltinin Hazırlanması

500 ml'lik ayırıcıya 250 ml CHCl_3 alınmış, NaOH ile ekstrakte edilmiş, HCl ile asitlendirilmiş ve havalandırılmıştır. 500 ml'lik ölçü balonuna alınmış ve ölçüsüne kadar saf su ile tamamlanmıştır. Standart asetik asit çözeltisinden 1, 2, 3 ve 5 ml pipetle alınarak 500 ml'lik ölçü balonlarına aktarılmış, her birine 100 ml 0.5 N'lik NaOH çözeltisi ve 70 ml 1 N HCl çözeltisi ilave edilmiş ve ölçü çizgisine kadar saf su ile tamamlanmış, standart çözeltilere karşı absorbansları spektrofotometre de 307 nm dalga boyunda okuma yapılmıştır.

Hesaplama ve Sonuçların Gösterilmesi

$$\text{Asetik Asit (mg / kg)} = [(C \times 1000) / (M \times 500 \text{ ml })]$$

C: Kalibrasyon eğrisinde bulunan asetik asit miktarı (mg) M : Deney numunesi, g

3.2.1.5. Mikrobiyolojik Analizler

Çalışmada gerek silolama öncesi taze materyalde ve gerekse de son ürünler üzerinde LAB, maya ve küf yoğunluklarının saptanmasına yönelik analizler gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla 25 g'lık örnekler 225ml peptonlu su aracılığı ile 2 dakikadan az olmamak koşulu ile

kariştirilip mikroorganizmaların mümkün olduğu lde materyalden ayrılması sağlanmıştır. Elde edilen stok materyalden logaritmik seride dilüsyonlar hazırlanarak 1 saati aşmayan zaman zarfında ekim işlemi yapılmıştır. Laktik asit bakterileri için ekim ortamı olarak MRS Agar, maya ve küfler için Malt Ekstrakt Agar kullanılmıştır. Örneklere ait LAB, maya ve küfler için 30 °C sıcaklıkta 3 günlük inkübasyon dönemlerini takiben gerçekleştirilmiştir (Seale ve ark. 1990). rneklede saptanan LAB, maya ve küf sayıları logaritma koliform üniteye (cfu/g) evrilmiştir.

3.2.2. HAM BESİN MADDELERİ VE HÜCRE DUVARI İÇERİKLERİ ANALİZLERİ

3.2.2.1. Ham Besin Maddeleri İçerikleri Analiz Yöntemleri

Kuru madde miktarı; belli miktarda alınan silaj örneğinin 60 °C sıcaklıkta 48 saat süreyle kurutulması ve HK miktarı da 550 °C sıcaklıkta bir gece yakılması ile bulunmuştur. Yemin OM miktarı ise, KM ile HK arası farktan hesaplanmıştır. OM'yi oluşturan HP, belli miktardaki yem örneğinin önce kuvvetli asitle yakılarak azotun amonyum sülfata, daha sonra da baz ile muameleye tabii tutularak amonyak formuna dönüştürülmesi ve bu amonyağın belli normalitedeki bir asitle titrasyonu sonucu elde edilen sarfiyattan hesaplanmıştır. Organik maddeleri oluşturan diğer komponentlerden HY; belli miktardaki yem örneğinin dietil eter ile 6 saat sürekli ekstraksiyona tabi tutulması ve HS ise; yemin önce belli konsantrasyonlardaki asit ve alkali ile kaynatılıp szlmesi ve en son asetonla yıkanıp kurutularak yakılması sonucu elde edilmiştir. Yemin nitrojensiz öz maddeler (NM) miktarı ise, OM'den protein, yağ ve selülozun çıkartılması yolu ile hesaplanmıştır (Akyıldız 1984).

3.2.2.2. Hücre Duvarı İçerikleri Analiz Yöntemleri

Çalışmada silaj rneklelerinde NDF, ADF ve asit ADL analizleri Van Soest analiz yönteminde öngörülen prensipler doğrultusunda gerçekleştirilmiştir (Goering ve Van Soest 1983).

NDF analizi, hücrenin znebilir materyalinin sodyum lauryl sülfat içeren nötral üzücü ile kaynatılarak ekstraksiyonundan sonra hücre duvarı bileşenlerinin filtrasyon aracılığı ile ayrılması esasına dayanır (Goering ve Van Soest 1983). 1 mm' lik elekten geçecek şekilde öğütülmüş yem numunesinden 0.5-1 g bir cam kaba tartılmıştır. Sırasıyla oda sıcaklığındaki 100 ml nötral üzücü solüsyonuna 93 g EDTA ve 34 g sodyum tetra borat tartılarak birlikte geniş bir kaba konmuştur. Distile su ilave edilmiş ve hafifçe ısıtılarak zlmştir. Bu zeltiye 150 g sodyum lauryl sülfat ve 50 ml 2-etoksietanol ilave edilmiştir.

İkinci bir cam kapta 22.8 g susuz di sodyum hidrojen sülfat tartılır, distile su ilave edilir ve hafifçe ısıtılarak çözülmüştür. İlk çözeltiye ilave edilmiş, karıştırılmış ve 5 litreye seyreltilmiştir. Çözelti pH'sı 6.9-7.1 arasında kontrol edilmiştir. Birkaç damla dekaliyn, 0.5 g sodyum sülfat katılmış ve geri soğutucuya takılmıştır. Çözelti hızla kaynama durumuna getirilmiş ve bir saat kaynatılmıştır. Ateşten alınıp 10 dakika tutulmuştur. Darası alınmış cam krozeden düşük vakum aracılığıyla filtre edilmiştir. Kalıntı iki kısım kaynamaya yakın sıcaklıktaki su ve iki kısım asetonla yıkanmıştır. Cam kroze kurutma dolabında 103 °C 22 sıcaklıkta 4 saat veya 100 °C sıcaklıkta bir gece tutulmuştur. Sonra desikatörde soğutulmuş ve tartılmıştır.

$$\text{Hesaplama: NDF (g / kg KM)} = a - b / N \times 1000$$

a = NDF içeren kuru cam krozenin ağırlığı, g

b = Cam krozenin darası alınmış ağırlığı, g

N = Örneğin ağırlığı, g

ADF analizinde, yem örneği cetil trimetil amonyum bromidin (CTAB)-H₂SO₄ solüsyonu ile kaynatılmıştır. Filtrasyon sonrasında başlıca lignoselüloz ile silikadan oluşan ve ADF olarak adlandırılan çözünmeyen materyal kalır (Close ve Menke 1986). Bir mm'lik elekten geçecek şekilde öğütülmüş numuneden 0.5 g kadar behere tartılmıştır. 100 ml soğuk H₂SO₄ - CTAB solüsyonu (100 g CTAB 5 litre 1 N H₂SO₄ çözülür, gerekirse filtre edilir) ve birkaç damla dekalin ilave edilmiştir. Isıtıcıya konmuştur. Solüsyon hızla kaynama durumuna getirilmiş ve 1 saat hafifçe kaynatılmıştır. Düşük bir vakum ile darası alınmış cam krozeden sıcakken filtre edilmiştir. Kalıntı kaynamaya yakın su ile köpük oluşumu bitene kadar yıkanmıştır. Daha sonra asetonla yıkanmıştır. Kroze kurutma dolabında 103 °C sıcaklıkta bir gece tutulmuştur. Desikatörde soğutulmuş ve tartılmıştır.

$$\text{Hesaplama: ADF (g / kg KM)} = a-b / N \times 1000$$

a = ADF içeren kuru cam kroze ağırlığı, g

b = Darası alınmış cam krozenin ağırlığı, g

N = Numune miktarı, g

ADL analizinde, %72'lik sülfürik asit içeren çözücü solüsyonun (%72'lik H₂SO₄ - CTAB) selülozu ayrıştırması ile elde edilen kalıntının kül fırınında yakılması ile kütni de içeren lignin miktarı saptanmıştır (Close ve Menke 1986). Bir mm'lik elekten geçecek şekilde

öğütülmüş numuneden 0.5 g kadar behere tartılır. 100 ml'lik soğuk %72'lik H₂SO₄ - CTAB (100 g CTAB 5 litre %72'lik sülfürik asitte çözdürülmüştür, gerekirse filtre edilmiştir) ve birkaç damla dekalin ilave edilerek ısıtıcıya konmuştur. Solüsyon hızla kaynama durumuna getirilmiş ve bir saat hafifçe kaynatılmıştır. Düşük bir vakum ile darası alınmış cam krozeden sıcakken filtre edilmiştir. Kalıntı kaynamaya yakın sıcaklıktaki su ile köpük oluşumu bitene kadar yıkanmıştır. Daha sonra asetonla yıkama işlemine devam edilmiştir. Cam kroze yarıya kadar hazırlanan asit çözücü solüsyonu ile doldurulmuş ve asit uçana kadar karıştırılmıştır. Bu işlem üç defa tekrarlanmıştır. Oda sıcaklığında 3 saat muhafaza edilmiştir. Daha sonra düşük vakumla süzülmüştür. Kroze 103 °C sıcaklıkta 4 saat kurutulmuş veya 100 °C sıcaklıkta bir gece tutulmuştur. Desikatörde alınmış, soğutulmuş ve tartılmıştır. Yakma fırınında 500 - 550 °C sıcaklıkta 3 saat süre ile yakılmıştır. Desikatöre alınmış, soğutulmuş ve tartılmıştır.

$$\text{Hesaplama: ADL (g/kg KM)} = a - b / N \times 1000$$

a = Krozenin kurutmadan sonraki ağırlığı, g

b = Krozenin yakmadan sonraki ağırlığı, g

N = Numune miktarı, g

Yem materyallerinin selüloz ve hemiselüloz içeriklerinin saptanmasında NDF, ADF, ADL analizleri sonrasında elde edilen değerlerden yararlanılmış olup (Close ve Menke 1986), hesaplamada kullanılan formüller aşağıda verilmektedir;

$$\text{Selüloz (g / kg KM)} = \text{ADF} - \text{ADL}$$

$$\text{Hemiselüloz (g / kg KM)} = \text{NDF} - \text{ADF}$$

3.2.2.3. Enzimde KM ve OM Çözünürlüğü Analiz Yöntemleri

Çalışmada silaj örneklerindeki *in vitro* enzimde KM ve OM çözünürlük düzeyinin saptanması Naumann ve Bassler (1993) tarafından önerilen selülaz yöntemi ile gerçekleştirilmiştir.

Yönteme göre, kurutularak öğütülmüş materyalden alınan 0.3 g'lık örnek daha önce altı kapatılmış olan süzgeçli cam kaplara (800 °C ısıya dayanıklı, por. 1, altı ve üstü kapaklı, 50 ml'lik Gooch krezeler) tartılır. Her biri 3'er paralel olacak şekilde tartılan yem örnekleri üzerine 40 °C sıcaklıktaki pepsin + HCl çözeltilisinden 30 ml ilave edilir ve cam kabın üst kısmı kapatılır. Cam kaplar 40 °C sıcaklığa ayarlı inkübatör dolabına konur ve 5 saat sonra kaplar iyice karıştırılır. Burada enzim aktivitesinde herhangi bir yetersizliğe neden olmamak

için, çözelti sıcaklığının 39 - 40 °C sıcaklıkta tutulmasına dikkat edilmiştir. Cam kaplar 24 saat inkübatör dolabında kaldıktan sonra 80 °C sıcaklıktaki su banyosunda 45 dakika bekletilerek nişastanın hidrolizi sağlanır. Bu işlemin ardından cam kaplar açılarak içindeki çözelti vakum pompası yardımı ile emilir ve içinde kalan kısım sıcak su ile yıkanır. Alt kısmından kapatılan cam kaplara selülaz + buffer çözeltisinden 30 ml ilave edilir ve 40 °C sıcaklıktaki inkübatör dolabında 24 saat bekletilir. Bu işlem sonrası cam kapların kapakları açılır, çözeltiler süzülür ve sıcak su ile yıkanır. Süzme işleminden sonra 105 °C sıcaklığa ayarlı kurutma dolabında bir gece boyunca kurutulup, tartım işlemi yapılır. Cam kaplar 550 °C sıcaklığa ayarlı kül fırınında en az 90 dakika yakılmış ve tartım gerçekleştirilmiştir.

Analizler sonrası elde edilen sonuçlardan yararlanılarak enzimde çözünen KM, OM ve enzimde çözünmeyen OM miktarları aşağıdaki eşitlikler yardımı ile bulunmuştur.

$$\text{Kuru madde sindirilebilirliği, \%} = [B1 - (A1 - A0) \times 100] / B1$$

$$\text{Organik madde sindirilebilirliği, \%} = [B1 - (A1 - A2) \times 100] / B1 - C1$$

$$\text{Enzimde çözünmeyen organik madde (EÇOM)} = 100 - \text{OM sindirilebilirliği}$$

A0: Ghoch krozesinin darası, g

A1: 105 °C'de kurutulduktan sonraki dara + örnek ağırlığı, g

A2: 550 °C'de yandıktan sonraki dara + örnek ağırlığı, g

B1: Analize alınan örnek miktarı, g / KM

C1: Analize alınan örnekteki kül miktarı, g / KM

Enzimatik (selülaz) yöntemde kullanılan çözeltiler; pepsin - HCl çözeltisi: 2g pepsin + 0.1 N HCl; asetat buffer çözeltisi: 5.9ml asetik asit + 1 litre destile su (çözelti A) ve 13.6g sodyum asetat + 1 litre destile su (çözelti B) hazırlandıktan sonra 400 ml çözelti A ile 600 ml çözelti B karıştırılır; selülaz buffer çözeltisi: 3.3 g selülaz enzimi (trichoderma viride; onozuka R-10, 1 U / mg aktivite) + 1 litre asetat buffer çözeltisi.

3.2.2.4. Aerobik Bozulmaya Dirence İlişkin Analizler

Ashbell ve ark. (1991) tarafından geliştirilen yöntem kullanılarak silajların silolamanın 60. Gününde açılarak 5 gün aerobik stabilite testine tabi tutulmuşlardır. Aerobik stabilitenin 5. günündeki silaj örneklerinin pH'ları ölçülmüş ve CO₂ üretimleri saptanmıştır. Ayrıca silajların içerdiği maya ve küf popülasyonları saptanmıştır.

Araştırmada, aerobik stabilite testinin uygulanması için 1 atm ve 25 °C de 24 saatteki CO₂ geçirgenlik oranı 15 – 25 mL / mil / 254 m olan stabil, aşınmaya dirençli gaz sızdırmaz özellikteki 1.5 L’lik polietilen (PET) şişeler kullanılmıştır. Bir test ünitesinin oluşturulması için pet şişe 1 L ve 0.5 L olmak üzere ikiye kesilmiştir. 1L’lik PET şişenin kapak kısmına hava sirkülasyonunu sağlamak için 1 cm çapında delik açılıp üzeri telle kapatılmıştır. Daha sonra 0.5 L’lik kesilen kısmın üzerine yerleştirilmiştir. 250 - 300 g arasında taze silaj örnekleri, ünitenin üst kısmına sıkıştırılmadan yerleştirilmiş ve %20’lik potasyum hidroksit (KOH) çözeltisinden 100 mL ünitenin alt kısmına konulmuştur. Hazırlanan söz konusu ünite 5 gün oda sıcaklığında bekletilmiştir. Bu sayede aerobik aktivite sonucu silaj örneklerinde oluşan ve havadan 1.5 kat daha yoğun olan CO₂ gazı altta çökerek tabanda tutulmuştur. Çözeltiden 10 mL alınarak 1N’lik %37 ‘lik hidroklorik asit çözeltisiyle titre edilmiştir. pH’nın 8.1 - 3.6 arasında harcanan hidroklorik asit miktarı saptanmış ve CO₂ gazı miktarı aşağıda belirtilen denkleme göre hesaplanmıştır.

$$CO_2 = 0.044 \times T \times V / (A \times TM \times KM)$$

T= Titrasyonda harcanan 1 N HCl asit miktarı (mL)

V= %20 KOH çözeltisinin toplam hacmi (mL)

A= Ünitenin alt kısmına ilave edilen KOH miktarı (mL)

TM= Taze materyalin ağırlığı (kg)

KM= Taze materyalin kuru madde miktarı (g / kg)

3.2.3. İSTATİKSEL ANALİZLER

Araştırmadan elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirilmesinde varyans analizi, gruplar arası farklılığın belirlenmesinde ise Duncan çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır (Soysal, 1998). Bu amaçla Statistica (1999) paket programı kullanılmıştır.

4. BULGULAR

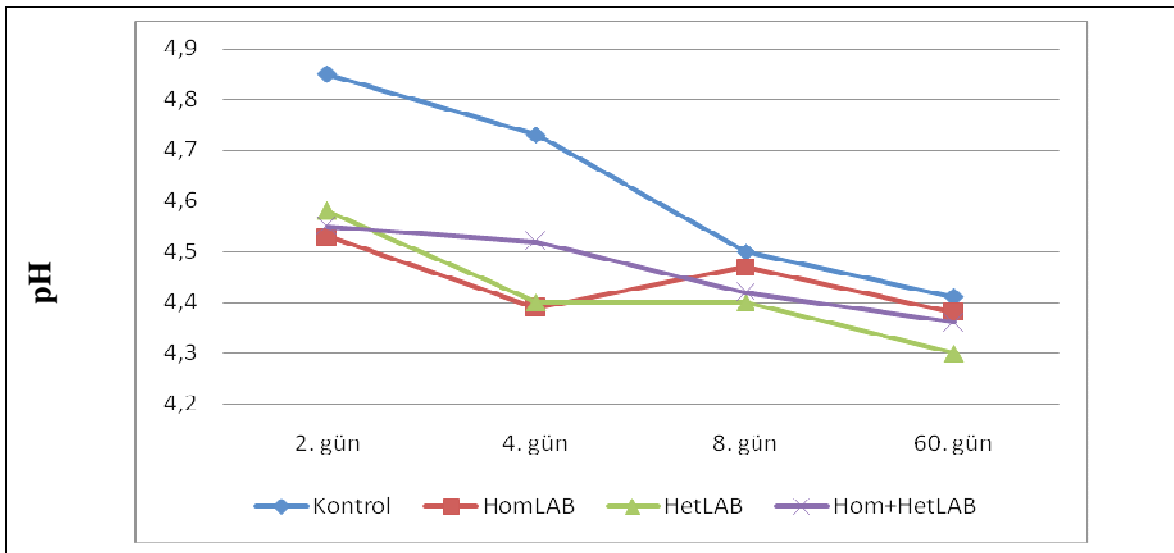
4.1. Silajların Fermantasyon Özellikleri

4.1.1. Silajların kimyasal analizleri

Araştırmanın yem materyalini oluşturan taze ve silolanmış ayçiçeği hasılına ait kimyasal analiz sonuçları Çizelge 1’de verilmiştir.

Çizelgeden de görülebileceği gibi, her üç inokulant da fermantasyonun başlarından itibaren ayçiçeği silajlarının pH ve NH₃-N miktarlarını önemli düzeyde düşürmüştür (P<0.05). Ayrıca her üç inokulant da fermantasyonun başlarından itibaren laktik asit ve asetik asit miktarlarını önemli düzeyde artırmıştır. (P<0.05). Silolamanın 60. günlerinde her üç inokulantı içeren silajların laktik asit miktarları kontrol grubu silajlardan önemli düzeyde yüksek; pH, NH₃-N ve asetik asit miktarları ise önemli düzeyde düşük bulunmuştur (P<0.05).

Taze ayçiçeği hasılının pH’sı sırasıyla 5,74 olarak saptanmıştır. Silaj kalitesine etki eden temel faktörlerden birisi, fermantasyonun erken aşamasında ortam pH’sındaki düşüş hızıdır. Silolanan kitlenin pH’nın olabildiğince çabuk bir şekilde 4,2-4,0’ın altına düşmesi arzu edilir (Polat ve ark. 2005). Kung ve Shaver (2001) kaliteli bir silajda pH’nın 3,7-4,2 arasında olması gerektiğini bildirmektedirler. Şekil 4.1.de de görüldüğü gibi her üç LAB inokulantının kullanıldığı gruplarındaki silajların pH’ları fermantasyonun 2. gününden itibaren hızla düşerek, 60. günde kontrol, ^{Hom}LAB, ^{Het}LAB ve ^{Hom+Het}LAB grupları için sırasıyla 4,41, 4,38, 4,30 ve 4,36 olarak saptanmıştır.



Şekil 4.1. Ayçiçeği silajlarının fermantasyon süresince pH değişimleri

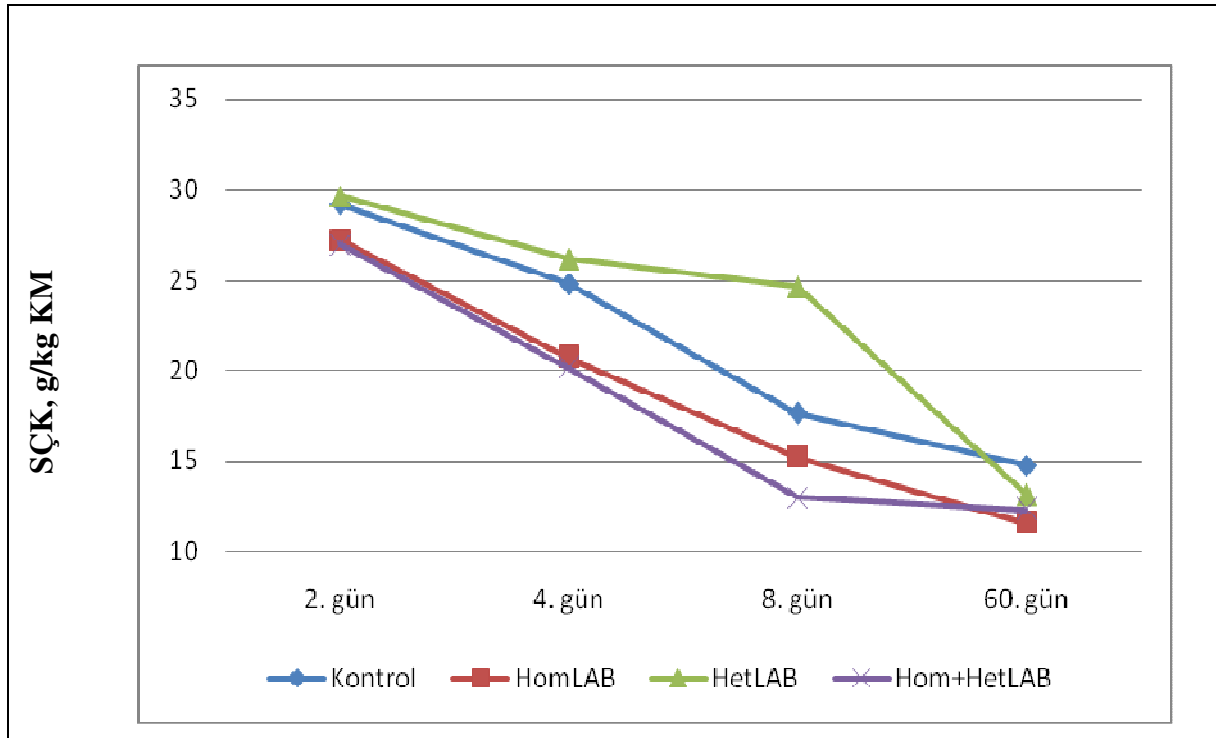
Çizelge 1. Ayçiçeği silajına ait kimyasal analiz sonuçları

| Günler | Uygulama | pH | KM, % | SÇK, g/kg KM | HK | HP | NH ₃ -N, g/kg TN | LA, % | AA, % |
|--------|------------------------|-------------------------|------------|--------------------------|------------|-----------|--------------------------------|-------------------------|-------------------------|
| 0 | | 5,74 | 22,89 | 41,19 | 11,03 | 8,60 | - | 0,92 | - |
| 2 | Kontrol | 4,85±0,06 ^a | 23,09±0,50 | 29,21±1,66 ^b | 10,95±0,20 | 8,67±0,22 | 39,98±0,95 | 1,92±0,04 ^b | 0,62±0,07 ^b |
| | ^{Hom} LAB | 4,53±0,05 ^b | 22,83±0,25 | 27,22±0,82 ^a | 10,72±0,04 | 8,69±0,22 | 32,43±1,59 | 2,80±0,05 ^a | 0,38±0,03 ^c |
| | ^{Hct} LAB | 4,58±0,05 ^b | 22,92±0,13 | 29,66±0,68 ^{ab} | 11,07±0,24 | 8,48±0,09 | 36,74±3,52 | 1,77±0,13 ^b | 1,10±0,13 ^a |
| | ^{Hom+Hct} LAB | 4,55±0,05 ^b | 22,74±0,16 | 26,97±1,26 ^a | 11,12±0,23 | 8,39±0,12 | 37,15±1,65 | 2,53±0,08 ^a | 0,57±0,03 ^b |
| 4 | Kontrol | 4,73±0,04 ^a | 22,87±0,14 | 24,80±0,81 | 10,86±0,17 | 8,61±0,08 | 69,60±2,40 ^a | 2,66±0,04 ^b | 0,74±0,09 ^b |
| | ^{Hom} LAB | 4,39±0,08 ^b | 22,69±0,16 | 20,73±0,77 | 10,81±0,04 | 8,50±0,09 | 49,44±4,26 ^b | 3,34±0,07 ^a | 0,80±0,06 ^b |
| | ^{Hct} LAB | 4,40±0,09 ^b | 22,68±0,12 | 26,18±0,60 | 10,69±0,28 | 8,60±0,15 | 39,75±3,11 ^b | 2,74±0,08 ^b | 1,51±0,07 ^a |
| | ^{Hom+Hct} LAB | 4,52±0,02 ^{ab} | 22,98±0,27 | 20,14±1,49 | 10,96±0,21 | 8,62±0,16 | 46,23±2,37 ^b | 3,17±0,05 ^a | 0,82±0,04 ^b |
| 8 | Kontrol | 4,50±0,06 | 22,78±0,04 | 17,65±0,72 ^{bc} | 10,65±0,12 | 8,71±0,08 | 85,41±1,83 ^a | 3,69±0,07 ^b | 1,10±0,11 ^b |
| | ^{Hom} LAB | 4,47±0,04 | 23,15±0,32 | 15,22±0,55 ^b | 11,02±0,18 | 8,69±0,17 | 54,50±3,53 ^b | 4,18±0,11 ^a | 1,09±0,09 ^b |
| | ^{Hct} LAB | 4,40±0,07 | 22,40±0,21 | 24,65±1,29 ^a | 10,57±0,22 | 8,48±0,07 | 70,70±7,36 ^b | 3,80±0,10 ^{ab} | 1,51±0,12 ^a |
| | ^{Hom+Hct} LAB | 4,42±0,04 | 22,58±0,39 | 13,00±0,69 ^c | 10,85±0,21 | 8,40±0,14 | 85,54±5,44 ^a | 4,09±0,11 ^{ab} | 1,37±0,02 ^{ab} |
| 60 | Kontrol | 4,41±0,03 | 22,14±0,67 | 14,78±0,72 | 10,54±21 | 8,31±0,12 | 113,91±8,90 ^a | 5,11±0,17 ^b | 1,71±0,05 ^{ab} |
| | ^{Hom} LAB | 4,38±0,05 | 22,16±0,38 | 11,56±0,54 | 10,41±0,15 | 8,43±0,11 | 78,06±2,34 ^b | 6,23±0,06 ^a | 1,57±0,08 ^b |
| | ^{Hct} LAB | 4,30±0,03 | 22,49±0,31 | 13,13±0,88 | 10,34±0,11 | 8,58±0,15 | 91,55±1,30 ^b | 5,40±0,24 ^{ab} | 1,90±0,07 ^a |
| | ^{Hom+Hct} LAB | 4,36±0,06 | 22,88±0,61 | 12,31±0,79 | 10,81±0,27 | 8,66±0,04 | 91,83±3,19 ^b | 5,96±0,24 ^{ab} | 2,00±0,04 ^a |

LAB: Laktik asit bakterileri, HK: Ham kül, HP: Ham protein, KM: kuru madde, SÇK: Suda çözünebilir karbonhidratlar; NH₃-N: Amonyak azotu; LA:Laktik asit, AA: Asetik asit
Aynı sütunda belirtilen günlerde farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılıklar önemlidir, P<0.05

Taze ayçiçeği hasılıının KM içeriğinin %22,89 olarak belirlendiği araştırmada, fermantasyon süresince ayçiçeği silajlarının KM içerikleri %22,14-23,15 değerleri arasında değişmiştir. Araştırmada, her üç LAB inokulantının kullanımı ayçiçeği silajlarının KM içeriklerini etkilememiştir ($P>0.05$).

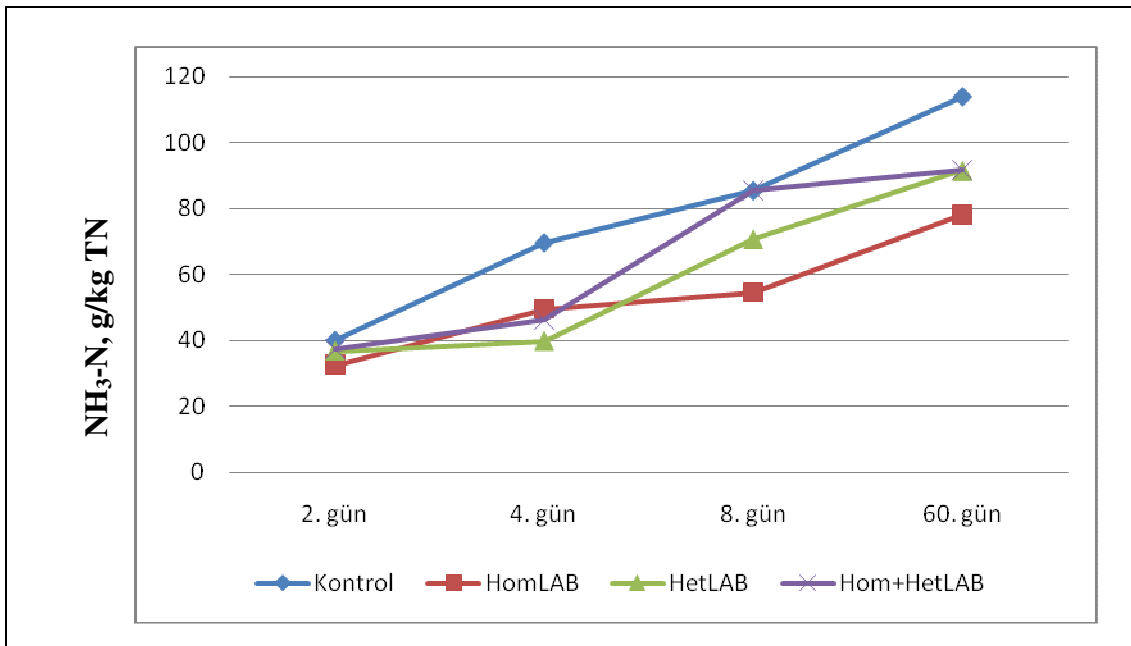
Taze ayçiçeği hasılıında 41,19 g/kg KM olan SÇK içerikleri fermantasyonun özellikle şekil 4.2. de görüldüğü gibi 2. gününden itibaren düşme eğilimi göstermiştir. Ancak bu etki kontrol grubu silajlarında daha belirgin bir şekilde gerçekleşmiştir. Nitekim fermantasyonun 60. gününde en yüksek SÇK içeriği 14,78 g/kg KM ile kontrol grubunda saptanmıştır. Silolama döneminin sonunda her üç LAB inokulant grubunda SÇK miktarları kontrol grubuna göre sayısal düzeyde daha düşük bulunmuştur ($P>0.05$).



Şekil 4.2. Ayçiçeği silajlarının fermantasyon süresince SÇK değişimleri

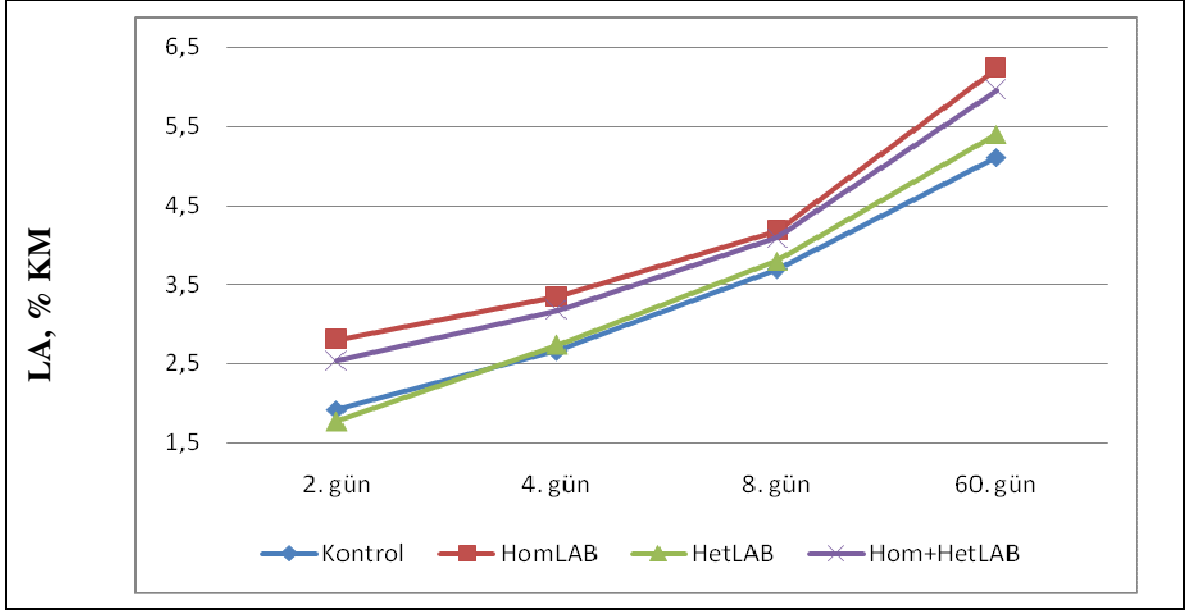
Taze ayçiçeği silajlarının HP ve HK içerikleri sırasıyla %8,60 ve 11,03 olarak saptanmıştır. Fermantasyon süresi boyunca ayçiçeği silajlarının HP ve HK içerikleri sırasıyla %8,31-8,71 ve 10,34-11,12 arasında değişmiştir. Araştırmada, ayçiçeği silajlarında her üç inokulantın HP ve HK üzerindeki etkileri fermantasyonun tüm dönemlerinde önemsiz bulunmuştur ($P>0.05$).

Bitki hasadından sonra görülen en önemli aktivite proteolisis olayıdır. Bu olayda bitki bünyesindeki proteinler, proteaz enzimleri tarafından amino asit ve amonyağa parçalanmaktadır (Filya 2001). Bu nedenlerle $\text{NH}_3\text{-N}$ oluşumu protein parçalanma düzeyini gösteren önemli bir parametredir. Araştırmada, fermantasyonun 4. gününden itibaren HomLAB HetLAB ve Hom+HetLAB gruplarında $\text{NH}_3\text{-N}$ içeriği kontrol grubu silajlarına göre önemli düzeylerde daha düşük bulunmuştur ($P<0.05$). Petterson (1988)'un kaliteli bir silajda $\text{NH}_3\text{-N}$ içeriğinin 80 g/kg TN den yüksek olmaması gerektiğini bildirmektedir. Araştırmadan elde edilen $\text{NH}_3\text{-N}$ içeriklerine ilişkin bulgular şekil 4.3. te görüldüğü üzere HomLAB grubu silajlarının iyi kalitede olduğunu göstermektedir.



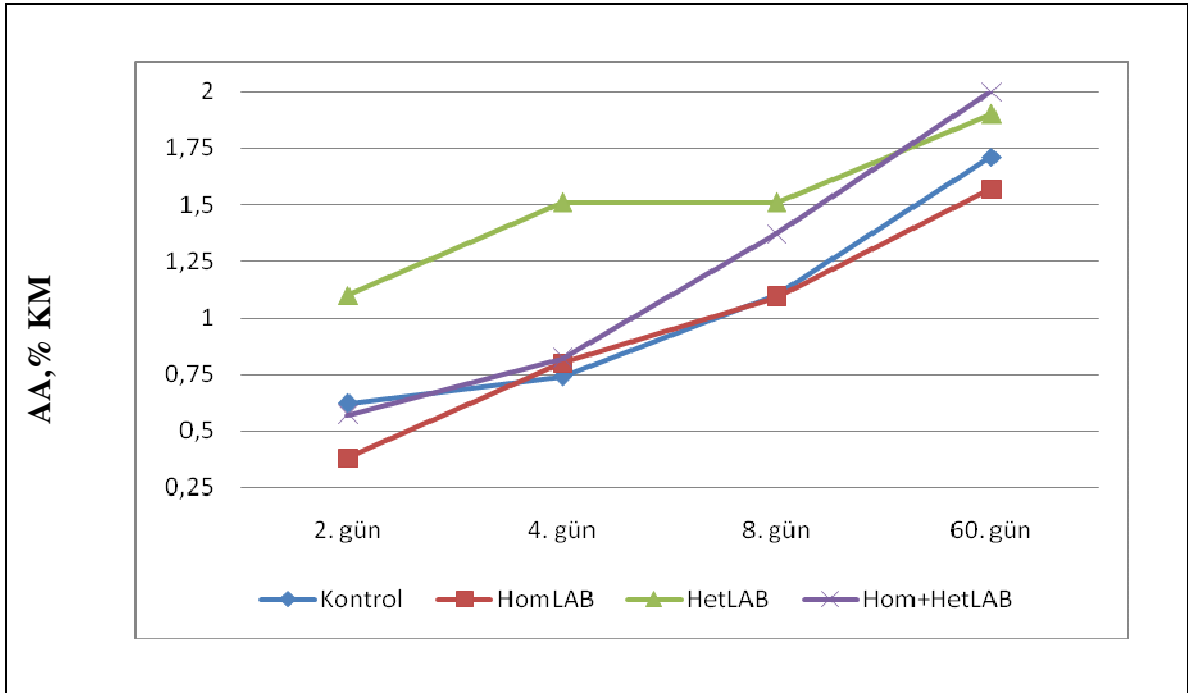
Şekil 4.3. Ayçiçeği silajlarının fermantasyon süresince $\text{NH}_3\text{-N}$ değişimleri

Taze ayçiçeği hasılının laktik asit içeriği KM'de %0,92 olarak saptandığı araştırmada, yapılan tüm silajların laktik asit içerikleri fermantasyon süresi boyunca şekil 4.4 te görüldüğü üzere artış göstermiş olup, bu etki her üç inokulantın kullanıldığı gruplarda daha belirgin bir şekilde gerçekleşmiştir. Nitekim fermantasyonun 60. gününde en düşük laktik asit içeriği KM'de %5,11 ile kontrol grubunda saptanırken, en yüksek laktik asit içeriği %6,23 ile HomLAB grubunda saptanmıştır. Araştırmada, fermantasyonun 2. gününden itibaren HomLAB ve Hom+HetLAB gruplarında laktik asit içerikleri kontrol ve HetLAB grubu silajlarına göre önemli düzeylerde daha yüksek bulunmuştur ($P<0.05$).



Şekil 4.4. Ayçiçeği silajlarının fermantasyon süresince laktik asit değişimleri

Taze ayçiçeği hasılının asetik asit içeriği KM'de %0.26 olarak saptandığı araştırmada, fermantasyon süresince ^{Het}LAB grubu silajlarında asetik asit içerikleri şekil 4.5. te görüldüğü gibi diğer silaj gruplarına göre önemli düzeylerde daha yüksek bulunmuştur ($P < 0.05$).



Şekil 4.5. Ayçiçeği silajlarının fermantasyon süresince asetik asit değişimleri

4.1.2. Silajların mikrobiyolojik analizleri

Taze ve silolanmış ayçiçeği hasılıının mikrobiyolojik analiz sonuçları Çizelge 2' de verilmiştir. Ayçiçeği hasıllarının *lactobacilli*, maya ve küf yoğunlukları sırasıyla 3,05, 3,97 ve 0,00 olarak saptanmıştır. Her üç inokulant da silajların *lactobacilli* yoğunluğu 2. günden itibaren tüm açım dönemlerinde kontrol grubuna göre önemli düzeyde artış gözlenmemiştir. ($P<0.05$). Maya yoğunluklarını ise bir miktar artış olduğu saptanmıştır. ($P>0.05$). Genel olarak ayçiçeği silajlarından hiçbirisinde küf oluşumuna rastlanmamıştır.

Çizelge 2. Ayçiçeği silajlarına ait mikrobiyolojik analiz sonuçları, \log_{10} cfu/g KM

| Günle | Uygulama | <i>Lactobacilli</i> | Maya | Küf |
|-------|--------------------------|-------------------------|-------------------------|-----|
| 0 | | 3.05 | 3.97 | 0 |
| 2 | Kontrol | 4,71±0.04 ^b | 2,67 ±0.06 | 0 |
| | Hom ⁺ LAB | 6,20±0.28 ^a | 2,66±0.14 | 0 |
| | Het ⁺ LAB | 5,45±0.21 ^a | 2,24±0.14 | 0 |
| | Hom+Het ⁺ LAB | 6,06±0.10 ^a | 2,45±0.16 | 0 |
| 4 | Kontrol | 5,49±0.22 ^b | 3,35±0.09 ^a | 0 |
| | Hom ⁺ LAB | 6,19±0.25 ^a | 3,18±0.07 ^a | 0 |
| | Het ⁺ LAB | 6,38±0.17 ^a | 2,52±0.06 ^b | 0 |
| | Hom+Het ⁺ LAB | 6,43±0.05 ^a | 3,94±0.09 ^{ab} | 0 |
| 8 | Kontrol | 5,50±0.20 ^b | 3,65±0.09 ^a | 0 |
| | Hom ⁺ LAB | 6,55±0.11 ^a | 3,46±0.18 ^a | 0 |
| | Het ⁺ LAB | 6,23±0.12 ^{ab} | 2,26±0.15 ^b | 0 |
| | Hom+Het ⁺ LAB | 6,26±0.19 ^{ab} | 2,45±0.10 ^b | 0 |
| 60 | Kontrol | 5,49±0.18 ^b | 3,70±0.07 ^a | 0 |
| | Hom ⁺ LAB | 6,78±0.45 ^a | 2,92±0.24 ^{ab} | 0 |
| | Het ⁺ LAB | 5,72±0.20 ^{ab} | 2,35±0.12 ^b | 0 |
| | Hom+Het ⁺ LAB | 5,90±0.30 ^{ab} | 2,37±0.05 ^b | 0 |

cfu: koloni form ünite; KM: kuru madde; LAB: laktik asit bakteri inokulantı

Aynı sütunda belirtilen günlerde farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılıklar önemlidir, $P<0.05$

4.2. Silajların Aerobik Stabiliteleri

Silolamanın son döneminde açılan silajlara ait 5 günlük aerobik stabilite testi sonuçları Çizelge 3' de verilmiştir. Silajların hava ile temas ettikleri bu 5 günlük süre içerisinde, ^{Het}LAB grubundaki silajların pH değerleri homofermantatif LAB (^{Hom}LAB ve ^{Hom+Het}LAB) kullanılan silajlara göre önemli düzeyde düşük saptanmıştır. CO₂ üretimi ve küf sayıları heterofermantatif LAB (^{Het}LAB ve ^{Hom+Het}LAB) kullanılan silajlarda önemli düzeyde düşük olduğu, maya sayısının ise ^{Het}LAB silaj grubunda önemli düzeyde azaldığı belirlenmiştir (P>0.05).

Çizelge 3. Ayçiçeği silajlarının aerobik stabilite test sonuçları

| Uygulama | pH | CO ₂ , g/kg KM | Maya, log ₁₀ cfu/g | Küf, log ₁₀ cfu/g |
|------------------------|-----------|------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|
| Kontrol | 4.91±0.11 | 21.81±2,05 ^a | 6.18±0.31 ^a | 4.91±0.19 ^a |
| ^{Hom} LAB | 4.83±0.09 | 20.63±1,18 ^a | 5.77±0.21 ^b | 2.99±0.41 ^b |
| ^{Het} LAB | 4.71±0.09 | 11.83±0.77 ^b | 4.63±0.17 ^b | 2.81±0.23 ^b |
| ^{Hom+Het} LAB | 4.68±0.15 | 11.60±1.01 ^b | 4.90±0.19 ^b | 2.73±0.27 ^b |

CO₂: karbondioksit; log₁₀cfu: logaritma koloniform ünite; LAB, laktik asit bakteri inokulantı

Aynı sütunda belirtilen günlerde farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılıklar önemlidir, P<0.05.

4.3. Silajların Hücre Duvarı Bileşenleri

Taze ve silolanmış ayçiçeği silajının hücre duvarı kapsamına ilişkin analiz sonuçları Çizelge 4' de verilmiştir. Çizelgeden de görüldüğü gibi, ayçiçeği silajlarının NDF, ADF, ADL, hemiselüloz ve selüloz içerikleri sırasıyla %29,16-31,23, 25,88-28,43, 10,30-13,66, 2,80-3,52 ve 14,77-15,97 arasında bulunmuştur. Silajların NDF, ADF ve ADL içerikleri inokulant kullanılan gruplarda kontrole göre sayısal anlamda daha düşük bulunmuştur (P>0.05).

Çizelge 4. Ayçiçeği silajlarının hücre duvarı kapsamına ilişkin analiz sonuçları, (%)

| Uygulama | NDF | ADF | ADL | Hemiselüloz | Selüloz |
|------------------------|------------|------------|------------|-------------|------------|
| 0 | 31.60 | 28.24 | 13.15 | 3.36 | 15.09 |
| Kontrol | 31.23±0.69 | 28.43±0.89 | 13.66±1.58 | 2.80±0.23 | 14.77±0.72 |
| ^{Hom} LAB | 30.71±0.48 | 27.19±0.43 | 11.22±0.86 | 3.52±0.12 | 15.97±0.50 |
| ^{Het} LAB | 29.62±0.99 | 26.57±1.04 | 11.62±0.15 | 3.04±0.24 | 14.95±1.11 |
| ^{Hom+Het} LAB | 29.16±0.94 | 25.88±0.95 | 10.30±1.52 | 3.28±0.22 | 15.58±0.64 |

NDF:Nötral çözücülerde çözünmeyen lif; ADF:Asit çözücülerde çözünmeyen lif; ADL:Asit çözücülerde çözünmeyen lignin, Hemiselüloz: NDF-ADF; Selüloz: ADF-ADL

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

4.4. Silajların *in vitro* Organik Madde Sindirilebilirliği

Araştırmanın 60. gününde gerçekleştirilen açım sonrası silaj örneklerinde *in vitro* OM sindirilebilirliğine ait analiz sonuçları Çizelge 5’de verilmiştir. Her üç LAB grubunda da OM sindirilebilirlikleri kontrol grubuna göre önemsiz farklılıklar gözlenmiştir.

Çizelge 5. Ayçiçeği silajların *in vitro* OM sindirilebilirlik özellikleri, %

| Uygulama | <i>In vitro</i> OMS, % |
|------------------------|------------------------|
| Kontrol | 44,02±0,65 |
| ^{Hom} LAB | 46,62±0,47 |
| ^{Het} LAB | 45,55±0,79 |
| ^{Hom+Het} LAB | 46,29±0,50 |

OMS:Organik madde sindirilebilirliği

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Silaj fermentasyonu sırasında oluşan pH, NH₃-N ve organik asitlerin miktar (asetik asit, bütirik ve laktik asit) ve kompozisyonları fermentasyonun kalitesini belirlemektedir. Özellikle pH ve NH₃-N miktarları düşük, laktik asit/asetik asit oranları yüksek silajlar iyi fermente olmuş silajlar olarak kabul edilebilirler (Filya 2007). Araştırmada kullanılan Hom_{LAB}, Het_{LAB} ve Hom+Het_{LAB} karışımı inokulantlar fermentasyonu geliştirerek, silajların kimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerini olumlu yönde etkilemişlerdir. Bunda ayçiçeği hasıllarının silaj fermentasyonu açısından yeterli düzeyde SÇK içermesi etkili olmuştur. Nitekim Çizelge 1'de de görüldüğü gibi, silajlarda temel fermentasyon ürünü laktik asit olurken, özellikle inokulant (Hom_{LAB}, Het_{LAB} ve Hom+Het_{LAB}) içeren silajlarda ortamda yoğun olarak bulunan LAB' nin SÇK' ları kullanarak laktik asit üretmeleri sonucu bu silajlarda görülen laktik asit miktarı kontrol grubuna göre önemli düzeyde yüksek olurken, pH' ları da önemli düzeyde düşmüştür (P<0.05). Ayçiçeği silajlarının KM içeriği göz önüne alındığında, LAB gruplarında (Hom_{LAB}, Het_{LAB} ve Hom+Het_{LAB}) saptanan pH değerlerinin Kung ve Shaver (2001)'nin bildirdikleri kaliteli bir silajda olması gereken pH değeri ile uyumlu olduğu saptanmıştır. Silolanan materyalin bozulmaması için ortamda mutlaka LAB ve bunların laktik asit üretebilmeleri için yeterli miktarda SÇK bulunmalıdır. LAB ancak ortamda yeterli miktarda SÇK bulunması halinde silaj fermentasyonu için gerekli laktik asidi üretebilirler (Filya 2001). Nitekim LAB katkı maddesi (Hom_{LAB}, Het_{LAB} ve Hom+Het_{LAB}) kullanılan silaj gruplarında kontrol grubu silajlarına göre laktik asit miktarları daha yüksek, asetik asit miktarları ise daha düşük olduğu saptanmıştır. Dolayısıyla silaj ortamında, LAB'ın dominant mikroflora olması nedeniyle bu asidik ortamda asetik asit ve bütirik asit üreten mikroorganizmaların faaliyet göstermediği söylenebilir. NH₃-N'nun kaliteli bir silajda 80 g/kg TN' den aşağı olması gerektiği bildirilmektedir (Pettersen 1988). Söz konusu parametre bakımından Hom_{LAB} ve Hom+Het_{LAB} silajları ile uyum sağlamıştır. Bununla birlikte Hom_{LAB} ve Hom+Het_{LAB} kullanılan silajların amonyak azotu düzeyleri kontrol ve Het_{LAB} kullanılan silajlara göre önemli düzeyde düşmüştür (P<0.05). Bunda, bu silajlarda gerçekleşen homolaktik fermentasyon ve daha az düzeydeki protein parçalanmasının etkili olduğu düşünülmektedir. Diğer yandan Het_{LAB} kullanılan silajların asetik asit içeriklerini önemli düzeyde yükselmiştir (P<0.05).

Meeske ve ark. (1993) süt olum sonunda hasat edilen sorgumda homofermantatif LAB inokulantının kullanıldığı çalışmada, silolamanın 31. gününde açılan silajların NH₃-N

içeriklerini 0,9, 1,0 ve 0,8 olarak saptarlarken, inokulant kullanılan gruplarda silaj pH'larının hızla düştüğünü ve gruplardaki SÇK içeriğinin kontrol grubundan daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Weinberg ve ark. (1993) başlangıç pH' sı sırasıyla 5,9 ve 6,1 olan mısır ve sorgum üzerinde bir LAB inokulantının etkilerini araştırmışlar ve silolamanın 45. günündeki silajlarda pH'nın kontrol ve inokulant grubunda sırasıyla mısırdaki 3,5 ve 3,5, sorgumda 3,9 ve 3,8; SÇK' ların mısırdaki KM' de %1,4 ve 1,8, sorgumda 5,9 ve 6,4; laktik asitin mısırdaki 9,0 ve 4,1, sorgumda 4,8 ve 5,9; asetik asitin mısırdaki 0,8 ve 0 olduğunu belirlemişlerdir. Tengerdy ve ark. (1991) başlangıç pH'sı 6.1 olan soldurulmuş yonca üzerinde HomLAB+Enzim inokulantının etkilerini araştırdıkları çalışmaları sonucunda, silolamanın 55. günündeki silajlarda pH'nın kontrol ve HomLAB grubunda sırasıyla 5,3 ve 4,3; laktik asitin KM' de % 3,5 ve 5,8; asetik asitin 3,9 ve 1,5 olduğunu saptamışlardır. Polat ve ark. (1998) Fiğ - Arpa karışımı üzerinde HomLAB inokulantının etkilerini incelemişler ve silolamanın 56. günündeki silajlarda pH'nın kontrol ve HomLAB gruplarında sırasıyla 4.40 ve 4.37 olduğunu; SÇK'ların 3,68 ve 3,65 g/kg KM; NH₃-N içeriklerini 0,59 ve 0,59 g/kg KM; laktik asit içeriklerini %2,25 ve 2,38; asetik asit içeriklerini %0,67 ve 0,59 olduğunu bildirmişlerdir. Stokes ve Chen (1994) başlangıç pH'sı 5,0 olan mısır üzerinde ^{Hom}LAB+Enzim inokulantının etkilerini incelemişler ve silolamanın 56. günündeki silajlarda pH'nın kontrol ve ^{Hom}LAB+Enzim gruplarında sırasıyla; 3.7 ve 3.7 olduğunu; başlangıç materyalinde hiç bulunmayan laktik asitin ise sırasıyla; KM' de %5,5 ve 5,7 olduğunu bildirmişlerdir. Kung ve Ranjit (2001), KM içeriği % 39,4 olan silajlık arpa materyalini 3 farklı seviyede ^{Het}LAB+enzim (1x10⁵, 5x10⁵ ve 1x10⁶ kob/g *Lactobacillus buchneri*+ enzim), ^{Hom}LAB+enzim (0.5x10⁵ *Lactobacillus plantarum*, 0.5x10⁵ *P. Pentosaceus*, 1x10⁴ kob/g *Propionibacterium freudenreichii*+enzim) karışımı inokulant ve taze materyalin %0,2'si düzeyinde propiyonik asite dayılı kimyasal katkı maddesinin etkilerini inceledikleri çalışmalarında, silolamanın 69. gününde silajların LA'sına ^{Het}LAB+enzim ilavesinin etkisi önemsiz olurken (P>0.05), ^{Het}LAB+enzim ilavesi ile silajların pH, BA ve SÇK değerleri düşmüş, Aa, PA ve etanol içerikleri ise yükselmiştir (P<0.05). Düşük ve orta düzeyde ^{Het}LAB+enzim ve PA ile muamele edilmiş silajların kuru madde kayıpları daha düşük olmuştur (P<0.05). Homofermantatif LAB içeren inokulant ilavesiyle silajın pH'sı, Aa, BA, NDF, ADF, NH₃-N ve etanol değerleri düşerken, propiyonik asit ilave edilmiş grupla birlikte kuru madde kayıpları, SÇK ve LA değerleri yükselmiştir (P<0.05). Demirci (2009) silajlık materyal olarak %70 Macar fiği+%30 tritikale karışımına ^{Hom}LAB ve ^{Hom+Het}LAB

inokulantlarının etkilerini incelemiştir. Silolamanın 3. ayında silajlarda kontrol grubu silajlarının pH'sı (4,63) ile ^{Hom}LAB katılan silajların pH'sı (4,33) arasında farklılık tespit edildiğini (P<0,05), ^{Hom}LAB ve ^{Hom+Het}LAB inokulantları ile hazırlanan silajlarda laktik asit içerikleri sırasıyla %6,30 ve %4,49 olarak bulunduğunu (P<0,05) ve ^{Hom+Het}LAB katılan silajlardaki asetik asit düzeyinin ise kontrol grubu ve ^{Hom}LAB grubuna göre önemli düzeyde arttığı belirlemiştir (P<0,05).

Silajların kimyasal özellikleri ile ilgili olarak araştırmadan elde edilen bulgular, benzer konularda yapılan araştırma bulguları ile uyumludur (Tengerdy ve ark. 1991, Meeske ve ark.1993, Kung ve Ranjit 2001, Demirci 2009).

Araştırmada kullanılan inokulant silajların lactobacilli içeriklerini önemli düzeyde artırmışlardır (P<0.05; Çizelge 2). Bu silajlarda LAB' nin dominant mikroflora olması ve ortamda yeterli düzeyde SÇK bulunması nedeniyle bunun beklenen bir gelişme olduğu söylenebilir. 45. günde açılan silajlarda HomLAB grubunda lactobacilli sayıları diğer gruplara göre önemli düzeyde yüksek bulunmuştur. Her iki heterofermantatif LAB grubu (^{Het}LAB ve ^{Hom+Het}LAB) silajlarda maya sayıları fermantasyonun başlangıcından itibaren kontrol ve ^{Hom}LAB gruplarına göre önemli düzeyde düşük bulunmuştur. Silajlara fermantasyon sırasında herhangi bir şekilde hava girişi mümkün olmadığı için, silajlarda görülen düşük düzeydeki maya popülasyonunun başlangıç (taze) materyalinde bulunan mayalar olabileceği düşünülmektedir. Diğer yandan inokulant kullanılan silajlarda, LAB' nin dominant mikroflora olup asidik bir ortam yaratmaları sonucunda, silajlarda fermantasyonun başlangıcından itibaren tespit edilememiştir.

Meeske ve ark. (1993) silolamanın 31. gününde açılan sorgum silajlarının maya içeriklerinin kontrol, ^{Hom}LAB ve ^{Hom}LAB+Enzim gruplarında sırasıyla 7,0, 6,7 ve 6,0 log cfu/g KM olduğunu ve inokulant kullanılan silajlarda küf görülmediğini bildirmişlerdir. Weinberg ve ark. (1993) silolamanın 45. gününde açılan mısır silajlarının lactobacilli içeriklerini kontrol ve HomLAB inokulant grubunda sırasıyla 4,0 ve 5,5, sorgum silajlarınınkini ise aynı sırayla 9,6 ve 9,7 log cfu/g KM olarak saptamışlardır. Tengerdy ve ark. (1991) silolamanın 55. gününde açılan yonca silajlarının lactobacilli içeriklerini kontrol ve HomLAB+Enzim gruplarında sırasıyla 1,0 ve 2.,6 log cfu/g KM olarak belirlerken, inokulant kullanılan silajlardaki maya ve küf düzeyinin çok düşük olduğunu bildirmişlerdir. Filya ve ark. (2001) silolamanın 60. gününde açılan sorgum silajlarının *lactobacilli*

içeriklerini kontrol, ^{Hom}LAB ve ^{Hom}LAB+Enzim gruplarında sırasıyla 7,7, 9,5, 9,2; küf içeriklerini 2,1, 0 ve 0 log cfu/g KM olarak saptamışlardır. Driehuis ve ark. (2001), ot silajına 2 farklı seviyede ^{Het}LAB (1x10⁵ ve 3x10⁵ kob/g *Lactobacillus buchneri*), ^{Hom}LAB (1x10⁵ *Lactobacillus plantarum* ve *P. pentosaceus*) ve ^{Hom+Het}LAB (1x10⁵ *Lactobacillus buchneri* + 1x10⁵ *Lactobacillus plantarum* ve *P. Pentosaceus*; 3x10⁵ *Lactobacillus buchneri* + 1x10⁵ *Lactobacillus plantarum* ve *P. pentosaceus* kob/g) etkilerini inceledikleri çalışmalarında, silolamanın 90. gününde lactobacilli sayıları ^{Hom}LAB grubunda daha düşük, maya sayıları ise daha yüksek bulunurken, en düşük maya sayıları ^{Het}LAB ve ^{Hom+Het}LAB inokulantı kullanılan gruplarda tespit edilmiştir.

Silajların mikrobiyolojik özellikleri ile ilgili olarak araştırmadan elde edilen bulgular, benzer konularda yapılan araştırma bulguları ile uyumludur (Tengerdy ve ark. 1991, Meeske ve ark.1993, Filya ve ark. 2001, Driehuis ve ark. 2001).

Araştırma sonucunda kontrol ve ^{Hom}LAB silajların aerobik stabiliteyi düşük bulunmuştur. Özellikle silaj ortamında bulunan mayaların bu aerobik dönemde yoğun bir şekilde CO₂ üreterek silajların aerobik stabiliteyi düşürdüğü söylenebilir. Karbondioksit üretimi, maya ve küf sayıları ^{Het}LAB ve ^{Hom+Het}LAB inokulantı kullanılan silajlarda önemli düzeyde düşük olduğu belirlenmiştir (P>0.05).

Seale ve ark. (1986), silajlarda bu dönemde görülen CO₂ üretiminin başlıca nedeninin mayalar olduğunu bildirmiştir. Meeske ve ark. (1993) 5 gün süre ile aerobik stabilite testine tabi tutulan sorgum silajlarının CO₂ üretimlerini Kontrol, ^{Hom}LAB ve ^{Hom}LAB+Enzim gruplarında sırasıyla 15,5, 48,8 ve 37,1g/kg KM; maya içeriklerini ise 9,2, 10,1 ve 9,9 cfu/g KM olarak saptamışlardır. Filya ve ark. (2001), HomLAB inokulantlarının kullanıldığı silajların lactobacilli içeriklerinin yüksek olmasından dolayı bu tür silajlarda yoğun bir laktik asit üretimi olduğunu ve burada oluşan laktatların bazı mayalar tarafından besin maddesi olarak kullanılması sonucu, silajların bu dönemdeki maya populasyonlarının arttığını ve bununla silajlarda CO₂ üretimine yol açtığını bildirmişlerdir. Polat ve ark. (2005) süt olum döneminde hasat edilen mısırlara ^{Hom}LAB ve ^{Hom}LAB+Enzim inokulantların kullanıldığı çalışmada, silolamanın 60. gününde açılan silajlara 7 gün süre ile aerobik stabilite uygulanmıştır. Mısır silajlarının pH değerleri kontrol, ^{Hom}LAB ve ^{Hom}LAB+Enzim gruplarında sırasıyla 3.63, 3.95 ve 3.75; maya ve küf içeriklerini ise 6,76, 7,51 ve 8,54 log₁₀ cfu/g KM olarak saptamıştır. Kung ve Ranjit (2001), arpa materyaline 3 farklı seviyede

^{Het}LAB+enzim (1×10^5 , 5×10^5 ve 1×10^6 kob/g *Lactobacillus buchneri*+enzim), HomLAB+enzim (0.5×10^5 *Lactobacillus plantarum*, 0.5×10^5 *P. Pentosaceus*, 1×10^4 kob/g *Propionibacterium freudenreichii*+enzim) karışımı inokulant ve taze materyalin %0.2'si düzeyinde propiyonik asite dayılı kimyasal katkı maddesinin etkilerini inceledikleri çalışmalarında, silajların aerobik stabiliteyi ^{Het}LAB ve propiyonik asit ilavesiyle artarken, kontrol grubuna kıyasla ^{Hom}LAB ilavesiyle düşmüştür. Çalışma sonuçları silaj fermantasyonunda ^{Het}LAB'nin baskın olabilmesi için bu bakterinin silajlık materyale 5×10^5 kob/g ya da bu düzeyden daha yüksek oranda uygulanması gerektiğini göstermiştir.

Silajların aerobik stabiliteyi ile ilgili olarak araştırmadan elde edilen bulgular, benzer konularda yapılan araştırma bulguları ile uyumludur (Meeske ve ark. 1993, Kung ve Ranjit 2001, Filya 2002, Polat ve ark. 2005).

Çizelge 4'den de görülebileceği gibi, homofermantatif LAB (^{Hom}LAB ve ^{Hom+Het}LAB) inokulantlarının kullanıldığı silajlarda NDF miktarları azalmıştır. ^{Hom}LAB, ^{Het}LAB ve ^{Hom+Het}LAB grubu silajlarının ADF ve selüloz içerikleri kontrol grubu silajlarına göre azalmış, ancak bu azalma önemsiz düzeyde olmuştur ($P > 0.05$).

Tengerdy ve ark. (1991) silolamanın 90. gününde açılan yonca silajlarının NDF içeriklerini kontrol ve ^{Hom}LAB+Enzim gruplarında sırasıyla KM' de %41,0 ve 38,7; ADF içeriklerini %31,9 ve 31,4 olarak belirlemişlerdir. Stokes ve Chen (1994) silolamanın 56. gününde açılan mısır silajlarının NDF içeriklerini kontrol ve LAB+Enzim gruplarında sırasıyla KM' de %53,1 ve 46,7; ADF içeriklerini %28,9 ve 25,5; hemiselüloz içeriklerini %24,3 ve 21,1; selüloz içeriklerini ise %25,7 ve 22,3 olarak saptamışlardır. Filya ve ark. (2001) silolamanın 60. gününde açılan sorgum silajlarının kontrol, HomLAB ve HomLAB+Enzim gruplarında NDF içeriklerini sırasıyla KM' de %59,0, 59,0 ve 58,0; ADF içeriklerini %30,0, 29,0 ve 29,0; ADL içeriklerini ise %4,0, 4,0 ve 4,0 olarak belirlemişlerdir. Filya (2002a) silolamanın 50. gününde açılan mısır silajlarının NDF içeriklerini kontrol, HomLAB ve HomLAB+Enzim gruplarında sırasıyla KM'de %50,2, 52,5 ve 46,2; ADF içeriklerini %27,2, 27,1 ve 22,4; ADL içeriklerini %4,3, 4,6 ve 4,1; hemiselüloz içeriklerini %24,8, 25,4 ve 23,8; selüloz içeriklerini %22,9, 22,5 ve 18,3 olarak saptamıştır. Araştırmacı, HomLAB+Enzim karışımı inokulantın, silajların NDF ve ADF içeriklerini önemli düzeylerde düşürdüğünü bildirmektedir. Basmacıoğlu ve ark. (2002) ise silolamanın 56. gününde açılan mısır silajlarında kontrol ve HomLAB+Enzim gruplarında sırasıyla KM'de NDF içeriklerini

%49.56 ve 49.63; ADF içeriklerini %27,3 ve 27,1; ADL içeriklerini %5,1 ve 4,9; hemiselüloz içeriklerini %22,2 ve 22,4; selüloz içeriklerini %22,2 ve 22,2 olarak belirlemiştir. Araştırmacılar, LAB+Enzim karışımı inokulantının, silajların hücre duvarı içerikleri üzerindeki etkileri önemsiz bulmuşlardır. Demirci (2009) silolamanın 3. ayında açılan Macar fiği-tritikale karışımı silajlarında kontrol, ^{Hom}LAB ve ^{Hom+Het}LAB inokulantları gruplarında KM'de NDF içeriklerini %55,48, 52,70 ve 62,92; ADF içeriklerini %39,15, 34,77 ve 37,91; ADL içeriklerini %18,70, 8,77 ve 11,67 olarak belirlemiştir. Araştırmacı, ^{Hom}LAB inokulantının silajların NDF ve ADL içeriklerini önemli düzeylerde düşürdüğünü bildirmektedir.

Silajların hücre duvarı kapsamaları ile ilgili olarak araştırmadan elde edilen bulgular, benzer konuda yapılan araştırma bulguları ile uyumludur (Tengerdy ve ark. 1991, Stokes ve Chen 1994, Filya ve ark. 2001, Filya 2002a, Demirci 2009).

Çizelge 5'den de görülebileceği gibi, ^{Hom}LAB inokulantlarının kullanıldığı silajlarda *in vitro* OM sindirilebilirliği diğer silaj gruplarına göre artmış, ancak bu artış önemsiz düzeyde bulunmuştur (P>0.05).

İnokulant katılarak silolanmış çavdar otunun kuru madde ve organik madde sindirilebilirlikleri daha yüksek bulunmuştur (Henderson ve ark. 1986). İnokulantlardaki mikroorganizmaların ürettikleri bazı metabolitlerle Rumen mikroorganizmalarını olumlu yönde etkiledikleri, ortamda bulunan toksinleri azalttıkları ve silajın sindirilebilirliğini artırdıkları ileri sürülmüştür (Nsereko ve ark. 2008). Polat ve ark. (2005) ^{Hom}LAB inokulantlarının mısır silajlarına katılmasıyla ham besin maddelerinin sindirilme derecelerinde olumlu bir sonuç alınmadığını bildirmektedirler. Filya (2003b) mısır ve sorguma ^{Hom}LAB, ^{Het}LAB ve ^{Hom+Het}LAB inokulant ilavesinin etkilerini inceledikleri çalışmalarında, silolamanın 3. ayında *in situ* rumen KM, OM ve NDF parçalanabilirliklerinin muamelelerden etkilenmediğini saptamıştır.

Silajların *in vitro* OM sindirilebilirlikleri ile ilgili olarak araştırmadan elde edilen bulgular, benzer konuda yapılan araştırma bulguları ile uyumludur (Filya 2003b, Polat ve ark. 2005).

Sonuç olarak ayçiçeği hasılıının silolanması sırasında kullanılan ^{Hom}LAB karışımı inokulantlar, silajlarda laktik asit üretimini teşvik etmişlerdir. Bunun sonucunda silajların pH'sı düşmüş, istenmeyen mikroorganizmaların gelişimi engellenmiştir. Diğer taraftan ^{Hom}LAB silajların asetik asit ve NH₃-N içeriklerini de önemli düzeylerde düşürerek silajların kalitesini artırmışlardır. Ancak söz konusu inokulantlar silajların aerobik stabiliteilerini de düşürmüşlerdir. Diğer yandan ^{Het}LAB inokulantları silajların amonyak azotu, asetik asit içeriklerini, kuru madde kayıplarını ve aerobik stabiliteyi artırırken, laktik asit/asetik asit oranını azaltmıştır.

Sonuçları yukarıda özetlenmeye çalışılan araştırma sürecinde gerçekleşen gözlemler, silajda kalitenin belirlenmesine yönelik araştırmaların taşıdığı temel özellikler ile ülkemizde var olan araştırma ve saha koşulları bağlamında getirilebilecek konuya ilişkin önerileri de şu şekilde özetlemek mümkündür.

Bakteriyal inokulantların üretimi biyoteknoloji destekli bir endüstri halini almıştır. Konu ile ilgili çok sayıda ürünü ticari anlamda yaygınlık kazanmış olması bu gelişimin güzel bir örneğini oluşturmaktadır. Biyolojik bileşim, uygulama yoğunluğu, ürüne özgü olma gibi özellikler yönünden gözlenen kimi farklılıklar bu tip ürünlerin seçimi ve kullanımı konusunda dikkatli davranmayı gerekli kılmaktadır. Ülkemiz koşulları için etkili olabilecek özelliklerin seçimi açısından epifitik mikroorganizma yoğunluğu ve kompozisyonu ile silajlık bitkilerde türe ve çeşide özgü kimyasal özellikleri tanımlayan temel nitelikli çalışmalara gereksinim duyulmaktadır.

Kullanım etkinliğini belirleyen faktörler göz önüne alındığında, ülkemizin değişik ekolojilerinde farklı bitkisel materyallerden yapılan silajlarda, bakteriyal inokulantların kullanımının önerilmesi için laboratuvar ve saha koşullarında gerçekleştirilebilecek çalışmalara gereksinim duyulduğunu söylemek mümkündür.

6. KAYNAKLAR

- Adesogan AT (2008). Recent Advances in Bacterial Silage Inoculant Technology. Florida Ruminant Nutrition Symposium, Best Western Gateway Grand, January 29-30, Gainesville, FL.
- Aksu T, Baytok E, Bolat D (2004). Effects of a bacterial silage inoculant on corn silage fermentation and nutrient digestibility. *Small Ruminant Research* 55: 249-252.
- Akyıldız AR (1984). Yemler Bilgisi Laboratuvar Kılavuzu. A.Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları: 895, Ders Kitabı: 213, 236 s, Ankara.
- Alçıçek A (1988). İkinci Ürün ve Artıklarının Yem Değerleri Üzerine Araştırmalar. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Zootekni Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, s. 81, İzmir.
- Anonim (2008). T.C. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Silo Yem Bitkileri Ve Silaj. http://www.tarim.gov.tr/uretim/Bitkisel_Uretim,Silo_Yem_Bitkileri.html
- Anonymus (1986). The Analysis of Agricultural Material, Reference Book: 427, 428 p, London.
- Asbell G, Weinberg ZG, Azrieli A, Hen Y and Horev B (1991). A simple system to study the the aerobic deterioration of silages. *Canadian Agric. Eng.* 33:391-393.
- Basmacıoğlu, H., Ergül, M., Karaayvaz, K., 2002. Mısır Silajında Bakteri+Enzim Karışımı İnokulant Kullanımının Silaj Kalitesi ve Yem Değerine Etkisi. Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Raporu, Proje No: 2000 ZRF-015, Bornova-İzmir.
- Chen J, Stokes MR, Wallace CR (1994). Effects of Enzyme-Inoculant Systems on Preservation and Nutritive Value of Hay Crop and Corn Silages. *J. Dairy Sci.*, 77: 501-512.
- Demirci U (2009). Homofermantatif ve Homofermantatif-Heterofermantatif Laktik Asit Bakterileri İlavesi İle Hazırlanan Tritikale-Macar Fiği Karışımı Silajların Konya Merinosu Dişi Toklularda Rumen Parametreleri Ve Canlı Ağırlık Değişimi Üzerine Etkileri. Selçuk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 54 s., Konya.
- Driehuis F, Oude Elferink SJWH, Van Wikselaar PG (2001). Fermentation characteristics and aerobic stability of grass silage inoculated with *Lactobacillus buchneri*, with or without homofermentative lactic acid bacteria. *Blackwell Science Ltd. Grass and Forage Science*, 56: 330-343.
- Denek N, Can A, Tüfenk Ş (2003). Mısır, sorgum ve ayçiçeği hasıllarına değişik katkı maddeleri katılmasının silaj kalitesi ve in vitro kurumadde sindirimine etkisi. *HR. Ü.Z.F.Dergisi*, 2004, 8 (2): 1-10, Şanlıurfa.
- Driehuis F, Van Wikselaar PG (1996). Effects of addition formic, acetic or propionic acid to maize silage and low dry matter grass silage on the microbial flora and aerobic

stability. Proc. of the XIth International Silage Conference. Aberystwyth, Wales, 8-11 September, pp. 256-257.

Ensminger ME, Olentine Jr CG (1978). Feeds and Nutrition. Complete. Clovis, California.

Filya I, Ashbell G, Hen Y and Weinberg ZG (2000). The effect of bacterial inoculants on the fermentation and aerobic stability of whole crop wheat silage. Anim. Feed Sci. Technol., 88: 39-46.

Filya İ (2000a). Silaj fermantasyonunda katkı maddeleri kullanımı. Ondokuz Mayıs Üniv. Ziraat Fak. Dergisi, 15 (3): 118-125.

Filya İ (2000b). Silaj Kalitesinin Artırılmasında Yeni Gelişmeler. International Animal Nutrition Congress'2000, 243-250 s, Isparta.

Filya İ (2001). Silaj Teknolojisi. Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootečni Bölümü, 16059, Görükle, Bursa.

Filya İ (2002a). Laktik asit bakteri inokulantlarının mısır ve sorgum silajlarının fermantasyon, aerobik stabilite ve in situ rumen parçalanabilirlik özellikleri üzerine etkileri. Turk J. Vet. Anim. Sci., 26: 815-823.

Filya İ (2002b). Laktik asit ve laktik asit+enzim karışımı silaj inokulantlarının mısır silajı üzerine etkileri. Turk J. Vet. Anim. Sci., 26, 679-687.

Filya İ (2003). Organik asitlerin buğday, mısır ve sorgum silajlarının mikrobiyal flora ile aerobik stabiliteleri üzerine etkileri. III. Ulusal Zootečni Bilim Kongresi, 14-16 Ekim 2002 Ankara. Bildiriler: 299-308.

Filya İ (2005). Silaj Yapımı, Teknolojisi ve Kullanımı. Süt Hayvancılığı Eğitim Merkezi Yayınları, Hayvancılık Serisi : 8 Yetiştirici El Kitabı, Karacabey, Bursa

Filya İ (2007). Ülkemizde Silaj Yapımı ve Silaj Kalitesinin Artırılma Yolları. Yem Magazin, Mart, 2007, 47:37-44.

Filya İ, Karabulut A, Kalkan H ve Sucu E (2001). Bakteriyal inokulantların sorgum silajlarının fermantasyon, aerobik stabilite ve rumen parçalanabilirlik özellikleri üzerine etkileri. Ankara Üniv. Ziraat Fak. Tarım Bilimleri Derg., 7 (2):112- 119.

Filya İ, Sucu E (2003). Silajlarda fermantasyon kalitesi ve aerobik stabilitenin geliştirilmesi üzerinde araştırmalar. GAP III. Tarım Kongresi, 2-3 Ekim 2003, Şanlıurfa. Bildiriler: 273-278.

Goering HK, Van Soest PJ: Forage Fiber Analyses. Agricultural Handbook, No 379, Washington. 1983.

Holzer M, Mayrhuber E, Danner H, Braun R (2003). The role of Lactobacillus buchneri in forage preservation. Trends in Biotechnology, 21: 282-287.

Kaya Y (2003). Türkiye'deki yağlık ayçiçeği üretiminin mevcut durumu, sorunları ve çözüm önerileri. Cine Tarım Dergisi. 5 (43): 34-35.

- Kılıç A (1986). Silo Yemi (Öğretim, Öğrenim ve Uygulama Önerileri), s. 327, İzmir.
- Kılıç A, Yalçın S, Yılmaz A (2000). Ruminant beslemede kaba yem kaynaklarında yapılabilecek iyileştirmeler. TUYEM 5. Uluslararası Yem Kongresi ve Yem Sergisi. 1-2 Mayıs 2000, Antalya.
- Koç F, Özdüven ML, Yurtman İY, Erman SM (1997). Fiğ tahıl karışımı silajlarda kalite özellikleri ve mikrobiyal katkı maddesi kullanımı üzerine bir araştırma. Hasad Dergisi, Mart 97, Sayı 142, Sayfa 34-36.
- Koç F, Coşkuntuna L (2003). Silo yemlerinde organik asit belirlemede iki farklı metodun karşılaştırılması. J Anim Prod, 44:37-47.
- Kung Jr L, Ranjit NJ (2001). The effect of Lactobacillus buchneri and other additives on the fermentation and aerobic stability of barley silage. J. Dairy Sci., 84:1149-1155.
- Kung L, Carmean BR, Tung RS (1990). Microbial Inoculation or Cellulase Enzyme Treatment of Barley and Vetch Silages Harvested at Three Maturities. J. Dairy Sci., 73: 1304-1311.
- Kung L, Shaver R (2001). How Good Is Your Silage Making? Hoard's Dairyman, 146:597.
- Lindgren S, Lingvall AP, Kartzow A and Rydberg E (1983). Effects of inoculants, grain and formic acid on silage fermentation. Swedish J. Agric. Res., 13: 91-100.
- Macgregor CA (1994). Directory of Feeds&Feed Ingredient, W.D. Hoard and Sons Company, USA, 85s.
- McDonald P, Edwards RA, Greenhalgh JFD (1988). Animal Nutrition. 4 th Edition. Longman Scientific and Technical, 543 p.
- McDonald P, Henderson AR and Heron SJE (1991). The Biochemistry of Silage. (2nd ed.). Chalcombe Publ., Church Lane, Kingston, Canterbury, Kent, UK.
- Meeske R, Ashbell G, Weinberg ZG and Kipnis T (1993). Ensiling forage sorghum at two stages of maturity with the addition of lactic acid bacterial inoculants. Anim. Feed Sci. Technol., 43, 165-175.
- Meeske R, Basson HM (1998). The Effects of a Lactic Acid Bacteria Inoculant on Maize Silage. Animal Feed Sci. and Technology, 70: 239-247.
- MINITAB (2000). Minitab Incorporation. Minitab for windows, release 13 for windows. user's guide 2-data analysis and quality tools, Minitab Inc., USA.
- Merry RJ, Cussen-MacKenna RF, Jones R (1993). Biological Silage Additives. Cienacia E Investigacion Agraria., Vol: 20, No:2.
- Moon MJ, Ely LO, Sudweeks EM (1980). Aerobic deterioration wheat, lucerne and maize silages prepared with L. acidophilus and a candida spp. J. APP. Bact, 49:75.
- Moran J, Weinberg ZG, Ashbell G, Hen Y, Owen TR (1996). The Effects of Bacterial Inoculant on the Fermentation and Aerobic Stability of Whole Crop Wheat Silage. in: Proc. 11th International Silage Conference. 164-165 p, Aberystwyth, Wales.

- Naumann C, Bassler R (1993). Die Chemische Untersuchung von Futtermitteln. VDLUFA-Methodenbuch, Band III. 3. Erg., Verlag Naumann, Melsungen.
- Nsereko VL, Smiley BK, Rutherford WM, Spiel-bauer A, Forrester KJ, Hettinger GH (2008). Influence of inoculating forage with lactic acid bacterial strains that produce ferulate esterase on ensilage and ruminal degradation of fiber. *Animal Feed Science and Technology*, 145(1-4), 122-135.
- NRC (1989). Nutrient Requirements of Dairy Cattle. Washington, D.C., 157s.
- Özdüven ML, Koç F, Yurtman İY (1999). Mikrobiyal Katkı Maddelerinin Mısır Silajında Kalite ve Aerobik Dayanıklılık Üzerindeki Etkileri. *Tarım Bilimleri Dergisi*, 5 (3):7-12, Ankara.
- Özdüven ML, Ögün S (2006). The effects of wet brewers grain-whole plant sunflower mixture silages on fermentation characteristics and nutrient digestibility in lambs. *J Tekirdag Agricultural Faculty*, 3:245-252.
- Petterson K (1988). Ensiling of Forages: Factors Affecting Silage Fermentation and Quality, Sveriges Lantbruksuniversitet, 46 p, Uppsala,
- Phipps R, Wilkinson M (1986). Maize Silage. 48 p, Chalcombe Publition.
- Polan CE, Stieve DE and Garrett JL (1998). Protein preservation and ruminal degradation of ensiled forage treated with heat, formic acid, ammonia, or microbial inoculant. *J. Dairy Sci.*, 81: 765-776.
- Polat C, Koç F, Özdüven ML (2005). Mısır Silajında Laktik Asit Bakteri ve Laktik Asit Bakteri+Enzim Karışımı İnokulantların Fermantasyon ve Toklularda Ham Besin Maddelerinin Sindirilme Dereceleri Üzerine Etkileri. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 2(1): 13-22.
- Polat C, Yurtman İY, Koç F, Coşkuntuna L, Özdüven ML (1998). Mikrobiyal Katkı Maddesi Kullanımının I. ve II. Ürün Mısır, Fiğ Tahıl Karışımı, Ayçiçeği Silajlarında Fermantasyon Gelişimi ve Aerobik Stabilitate Üzerindeki Etkileri. Proje No: VHAG - 1238, s. 79, Tekirdağ.
- Robinson JJ, McEvoy TG (1993). Biotechnology- The Possibilities. *Animal Production*, 57:335-352.
- Rooke JA, Maya FM, Arnold JA and Armstrong DG (1988). The chemical composition and nutritive value of grass silages prepared with no additive or with the application of additives containing either *Lactobacillus plantarum* or formic acid. *Grass Forage Sci.*, 43: 87-95.
- Sarıççek ZB, Ayan İ, Garipoğlu AV (2001). Mısır ve Bazı Baklagillerin Tek ve Karışık Ekilmelerinin Silaj Kalitesine Etkisi. *OMÜ Ziraat fakültesi Dergisi*, 2002, 17 (3): 1-5, Samsun.
- Seale DR (1986). Bacterial inoculants as silage additives. *J. Appl. Bacteriol.*, 61:9-26.

- Seale DR, Pahlow G, Spoelstra SF, Lindgren S, Dellaglio F, Lowe JF (1990). Methods for The Microbiological Analysis of Silage, Proceeding of The Eurobac Conference, 147. Uppsala.
- Soysal MI (1998). Biyometrinin Prensipleri (İstatistik I ve II Ders Notları), Yayın No:95, Ders Kitabı No: 64, T.Ü. Tekirdağ Ziraat Fakültesi, 331 s, Tekirdağ.
- Stokes M, Chen J (1994). Effects of an Enzyme-Inoculant Mixture on the Course of Fermentation of Corn Silage. *J. Dairy Sci.*, 77: 3401-3409.
- Tengerdy RP, Weinberg ZG, Szakacs G, Wu M, Linden JC, Johnson DE (1991). Ensiling Alfalfa with Additives of Lactic Acid Bacteria and Enzymes. *J. Sci. Food Agric.*, 55: 215-228.
- Weinberg ZG, Ashbell G, Hen Y, Azrieli A (1993). The Effect of Applying Lactic Acid Bacteria Ensiling on the Aerobic Stability of Silages. *J. Appl. Bacteriol.*, 75: 512-518.
- Weinberg ZG, Ashbell G, Hen Y, Azrieli A, Szakacs G and Filya I (2002). Ensiling whole-crop wheat and corn in large containers with *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus buchneri*. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, 28: 7-11.
- Winters AL, Fycan R and Jones R (2001). Effect of formic acid and a bacterial inoculant on the amino acid composition of grass silage and on animal performance. *Grass Forage Sci.*, 56: 181-192.
- Woolford MK (1984). *The Silage Fermentation*. Marcel Dekker Inc. New York.
- Yurtman İY, Koç F, Özdüven ML, Erman S (1997). Silaj Üretiminde Mikrobiyal Katkı Maddelerinin Kullanımı. Trakya Bölgesi II. Hayvancılık Sempozyumu, 346-351 s, Tekirdağ.

ÖZGEÇMİŞ

1987'da İstanbul'da doğdu. Lise öğrenimimi Kırklareli Atatürk Lisesi'nde tamamladı. 2005 yılında Namık Kemal Üniversitesi Tekirdağ Ziraat Fakültesi'nde Ziraat Mühendisliği / Zootekni Bölümü'nde lisans öğretimime başladım ve 2009 tarihinde mezun oldum. Mezun olduktan sonra 2010 yılında Yemler ve Hayvan Besleme Anabilim dalında Yüksek Lisansa başladım.