

**Mikrobiyal İnokulantlar ve Hücre Duvarını
Parçalayıcı Enzimlerinin Yonca Silajında
Fermantasyon Özellikleri ve Aerobik
Stabilite Üzerine Etkileri**

Arzu ÇELEBİ
Yüksek Lisans Tezi
Zootekni Anabilim Dalı
Danışman: Yrd. Doç. Dr. Levent ÖZDÜVEN

Tekirdağ-2010

T.C.
NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Mikrobiyal İnokulantlar ve Hücre Duvarını Parçalayıcı Enzimlerinin
Yonca Silajında Fermantasyon Özellikleri ve Aerobik Stabilite Üzerine Etkileri**

ARZU ÇELEBİ

ZOOTEKNİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN: YRD. DOÇ. DR. LEVENT ÖZDÜVEN

TEKİRDAĞ-2010

Her hakkı saklıdır.

Yrd. Doç. Dr. M. Levent ÖZDÜVEN danışmanlığında, Arzu ÇELEBİ tarafından hazırlanan bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından Zootekni Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Juri Başkanı : Yrd. Doç. Dr. İlker NİZAM

İmza :

Üye : Yrd. Doç. Dr. M. Levent ÖZDÜVEN (Danışman)

İmza :

Üye : Yrd. Doç. Dr. Fisun KOÇ

İmza :

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun 08.10.2010 tarih ve sayılı
kararıyla onaylanmıştır.

Doç.Dr. Fatih KONUKÇU
Enstitü Müdürü

Bu tez Namık Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Fonu
(NKUBAP00.24.YL.09.10) tarafından desteklenmiştir.

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

Mikrobiyal İnokulantlar ve Hücre Duvarını Parçalayıcı Enzimlerinin Yonca Silajında Fermantasyon Özellikleri ve Aerobik Stabilité Üzerine Etkileri

Arzu ÇELEBİ

Namık Kemal Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Zootekni Anabilim Dalı

Danışman :
Yrd. Doç. Dr. M. Levent ÖZDÜVEN

Bu çalışma laktik asit bakteri inokulantları ve/veya enzimlerin, yonca silajlarının fermantasyon, aerobik stabilite, hücre duvarı kapsamı ve *in vitro* organik madde sindirilebilirliği özellikleri üzerindeki etkilerinin saptanması amacı ile düzenlenmiştir. Araştırmada kullanılan yonca hasılları çiçeklenme başlangıcı, çiçeklenme ortası ve çiçeklenme sonu dönemlerinde hasat edilmiştir. Laktik asit bakteri inokulantı olarak Inoculant-1188 (Pioneer®, USA) ve Enzim (Global Nutritech, TR) kullanılmıştır. İnokulantlar silajlara 6.00 log₁₀ koloni form ünite/g düzeyinde katılmışlardır. Yonca hasılları yalnızca gaz çıkışına olanak tanıyan 1,0 litrelik özel kavanozlara silolanmıştır. Kavanozlar laboratuvar koşullarında 25±2°C'de depolanmışlardır. Silolamadan sonraki 45. günde her bir gruptan 4 adet 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 LAB inokulantı ve enzimler, yonca silajlarının fermantasyon özelliklerini artırmış, hücre duvarı bileşenlerini azaltmışlardır. Ancak aerobik stabilitelerini ve *in vitro* organik madde sindirilebilirliğini etkilememişlerdir.

Anahtar kelimeler: yonca, Laktik asit bakteri inokulantları, Enzim, Fermantasyon, Aerobik stabilite, Hücre duvarı kapsamı, *in vitro* organik madde sindirilebilirliği

2010, 56 Sayfa

ABSTRACT

MSc. Thesis

The Effects of Bacterial Inoculants and/or Enzymes on the Fermentation Characteristics and Aerobic Stability of Alfalfa Silages

Arzu ÇELEBİ

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

Supervisor : Asistant Prof. Dr. M. Levent ÖZDÜVEN

This study was carried out to determine the effects of lactic acid bacteria (LAB) inoculants and/or enzymes on the fermentation, aerobic stability and *in vitro* organic matter digestability characteristics of alfalfa silages. Alfalfa was harvested at early bloom, middle bloom and late bloom stage. Inoculant-1188 (Pioneer®, USA), and enzyme (Global Nutritech, TR) were used as lactic acid bacteria, enzyme and lactic acid bacteria+enzyme mixture inoculants. Inoculants were applied to silages at 6.00 log₁₀ cfu/g levels. After treatment, the chopped alfalfa 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. Four jars from each group were sampled for chemical and microbiological analysis 45th day 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 digestibility of these silages was determined. LAB and/or enzymes increased characteristics of fermentation, decreased cell wall content and not effect aerobic stability and *in vitro* organic matter digestibility of alfalfa silages.

Keywords : Alfalfa, Lactic acid bacterial inoculants, Enzyme, Fermentation, Aerobic stability, Cell wall content, in vitro organicmatter digestability

2010, 56 Pages

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
KISALTMALAR DİZİNİ	iv
ÇİZELGE LİSTESİ	v
ŞEKİL LİSTESİ.....	vi
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	4
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	15
3.1.MATERYAL	15
3.1.1. SİLAJ MATERYALİ	15
3.1.2. SİLAJLARIN HAZIRLANMASI	15
3.1.3 SİLAJLARDA KULLANILAN KATKI MADDELERİ	15
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	17
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. Aerobik Bozulmaya Dirence İlişkin Analizler	23
3.2.3. İSTATİKSEL ANALİZLER	24
4. BULGULAR.....	25
4.1.Araştırma Yemlerinin Silolama Öncesi Değerleri.....	25
4.2.Araştırma Yemlerinin Silolama Sonrası Değerleri.....	26
4.2.1.Yonca Silajlarının Fermantasyon Özellikleri İle İlgili Bulgular	26
4.2.2.Yonca Silajlarının Mikrobiyolojik Özellikleri İle İlgili Bulgular	32
4.2.3. Silajların Aerobik Stabiliteleri	34
4.2.4. Yonca Silajlarının Hücre Duvarı Bileşenlerine Ait Bulgular	36
4.2.5. Yonca Silajlarının Enzimatik Yöntem ile OM Sindirilebilirliğine Ait Bulgular.....	40
5. TARTIŞMA	42
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	50
7. KAYNAKLAR	51
ÖZGEÇMİŞ	55
TEŞEKKÜR	56

KISALTMALAR DİZİNİ

HK	:Ham kül
HP	:Ham protein
KM	:Kurumadde
LAB	:Laktik asit bakterileri
NDF	:Nötral çözücülerde çözünmeyen karbonhidratlar
ADF	:Asit çözücülerde çözünmeyen karbonhidratlar
ADL	:Asit çözücülerde çözünmeyen lignin
SÇK	:Suda çözünebilir karbonhidratlar
^{ho} LAB	:Homofermantatif laktik asit bakterileri
^{het} LAB	:Heterofermantatif laktik asit bakterileri

ÇİZELGE LİSTESİ

	Sayfa No
Çizelge 4.1. Yonca hasıllarına ilişkin kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri	25
Çizelge 4.2. Yonca silajlarında kimyasal analiz sonuçları	26
Çizelge 4.3. Yonca Silajlarında Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları.....	32
Çizelge 4.4. Yonca silajlarının aerobik stabilite test sonuçları.....	35
Çizelge 4.5. Yonca silajlarında Hücre Duvarı Bileşenlerine Ait Analiz Sonuçları.....	36
Çizelge 4.6. Yonca silajlarının in vitro OM sindirilebilirlik özellikleri	40

ŞEKİL ÇİZELGESİ

Sayfa No

Şekil 4.1. Muamele gruplarında saptanan pH düzeyleri.....	27
Şekil 4.2. Muamele gruplarında saptanan KM düzeyleri	28
Şekil 4.3. Muamele gruplarında saptanan NH ₃ -N düzeyleri	29
Şekil 4.4. Muamele gruplarında saptanan SÇK düzeyleri.....	29
Şekil 4.5. Muamele gruplarında saptanan HP düzeyleri.....	30
Şekil 4.6. Muamele gruplarında saptanan LA düzeyleri	31
Şekil 4.7. Muamele gruplarında saptanan AA düzeyleri.....	31
Şekil 4.8. Muamele gruplarında saptanan lactobacilli düzeyleri	32
Şekil 4.9. Muamele gruplarında saptanan maya düzeyleri	33
Şekil 4.10. Muamele gruplarında saptanan küf düzeyleri	34
Şekil 4.11. Yonca silajlarının NDF miktarları.....	37
Şekil 4.12. Yonca silajlarının ADF miktarları.....	37
Şekil 4.13. Yonca silajlarının ADL miktarları.....	38
Şekil 4.14. Yonca silajlarının hemiselülaz miktarları.....	39
Şekil 4.15. Yonca silajlarının selüloz miktarları	39

1. GİRİŞ

Silaj, yüksek su içeriğine sahip yeşil yem, bitkisel ürün, tarımsal artık ve atıkların kontrollü fermantasyonu neticesinde üretilen yem materyalidir (Meeske ve ark. 1993). Yapılan işleme silolama, yapıldığı yere de silo denir. Silolama olayında temel olarak, laktik asit bakterileri (LAB), anaerobik koşullar altında başta glukoz ve fruktoz olmak üzere bitkisel materyalin bünyesinde doğal olarak bulunan suda çözünebilir karbonhidratları (SÇK), laktik asit ve diğer organik asitlere dönüştürürler. Bunun sonucunda pH düşer ve su içeriği yüksek materyal bozulmaya neden olan mikroorganizmalardan korunmuş olur (Weinberg ve ark. 1993).

Silajı yapılacak bitkilerin kimyasal ve mikrobiyolojik kompozisyonları bitkilerin silolanabilirlik özelliklerini ve silaj kalitelerini önemli düzeyde etkilemektedir. Teknolojik faktörlerin dışında özellikle bitkilerin kuru madde (KM) içeriği, SÇK miktarı, protein içeriği, tampon kapasitesi ve mikrobiyolojik yapısı silaj fermantasyonu açısından çok büyük önem taşımaktadır. İklim, bitki çeşidi, bitkinin kimyasal bileşimi ve silolama tekniği gibi birçok faktörün kontrol edilmemesi durumunda fermantasyon olayları arzu edilmeyen bir şekilde gerçekleşebilir. İyi bir fermantasyon için kimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerin bitkilerde yeteri kadar ve uygun bir şekilde bulunmasının yanı sıra bu özelliklerin aynı zamanda kendi aralarında da iyi bir şekilde kombine olmaları gerekir. Aksi halde kaliteli bir silaj yapabilmek mümkün değildir (Filya 2005). Silolama süresince gerçekleşen fermantasyon olaylarının bir sonucu olarak silajlarda kuru madde (KM), pH, organik asit (laktik, asetik, bütrik 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).

Silaj üretiminde fermantasyon olaylarının kontrol altına alınabilmesi bakımından başvurulan yollardan birisi de katkı maddesi kullanımıdır. Silaj katkı maddeleri ile ilgili olarak etki mekanizmaları, yapıları ve kullanım amaçlarına göre çeşitli sınıflandırmalar mevcut ise de, ticari olarak üretilen katkı maddeleri başlıca; bakteriyel inokulantlar, enzimler, protein olmayan nitrojenli bileşikler (NPN), şeker kaynakları, asitler ve asit tuzları olarak gruplandırılabilir (Mc Donald ve ark. 1991, Muck, 1993). Silaj katkı maddesi olarak geliştirilen bakteriyel inokulantlar ve enzimlerin kullanım şekillerinin 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 sahiptirler (Weinberg ve ark. 1993).

Bakteriyal inokulantlar, belirli dozlarda kullanılmaları durumunda silolanacak kitlede homofermantatif nitelikli fermantasyon olaylarının gelişmesini sağlayacak yoğunlukta LAB ya da gruplarını içeren ürünlerdir (Yurtman ve ark. 1997). Bu inokulantlar genellikle *Lactobacillus plantarum*, diğer *Lactobacillus* türleri, *Streptococcus (Enterococcus) faecium* ve *Pedicoccus* türleri mikroorganizmaları tek başlarına veya çeşitli karışımlar halinde bir arada içerirler. Ancak bakteriyel inokulantların büyük bir çoğunluğu, başta *Lactobacillus plantarum* olmak üzere homofermantatif özellikteki LAB'ni içerirler. Bu tür mikroorganizmalar, şekerleri ağırlıklı olarak laktik aside fermente ederler (Tengerdy ve ark. 1991).

LAB inokulantların kullanıldığı birçok çalışmada, bu katkı maddelerinin silajların pH'larını hızla düşürdüğü, laktik asit ve laktik asit/asetik asit oranını arttırdığı, 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, Sheperd ve ark. 1995, Moran ve ark. 1996, Meeske ve ark. 1999, Filya ve ark. 2000, Filya 2002a, Filya 2002b). Bunun yanı sıra LAB inokulantların silajların aerobik dayanıklılığı (silo ömrü) üzerindeki etkilerinin incelendiği araştırma sonuçlarında, bazı araştırmacılar LAB inokulantların silajların aerobik dayanıklılıklarını arttırdığını bildirirken (Weinberg ve ark. 1993, Meeske ve Basson 1999), bazı araştırmacılar ise etkilemediğini (Moran ve ark. 1996) veya aerobik dayanıklılığı düşürerek, silajlarda gözle görülür bir küflenme ve yoğun karbondioksit gazı üretimine neden olduklarını bildirmişlerdir (Stokes ve Chen 1994, Meeske ve Basson 1998, Filya 2002b, Polat ve ark. 2005). Filya ve ark. (2000) ise silajların aerobik dayanıklılığının düştüğünü, KM içeriği yeterli olanların ise arttığını bildirmektedir. Laktik asit bakterileri içeren inokulantların kullanıldığı silajlarda, fermantasyon ürünü olarak genellikle yüksek düzeyde laktik asit ve düşük düzeylerde asetik asit ve etanol oluşur. Bu tür silajlar ruminantların KM tüketimlerinde bir artış meydana getirmektedir. Bu artış, hem silajların KM ve organik madde (OM) sindirilebilirliğini, hem de ruminantların verim performanslarını olumlu yönde etkilemektedir (Moran ve ark. 1996, Kleinmans ve Hooper 1999).

Enzimler, bakteriyel inokulantlara göre nispeten daha yeni silaj katkı maddeleridirler. Bu amaç için kullanılan enzimler ya inokulantlar ile karışım halinde ya da yalnızca bir veya

çoğunlukla birden fazla enzim içeren karışımlar halinde bulunurlar. Ticari olarak satılan ürünler genellikle sellüloz, hemisellüloz, ve pektinaz gibi bitki hücre duvarını parçalayıcı enzimler ile amilaz gibi nişastayı parçalayan enzimleri içerirler (Raurama ve ark., 1991; Kung, 1993). Silaj katkı maddesi olarak enzim kullanmanın birinci amacı, bitki hücre duvarını oluşturan polisakkaritlerin parçalanmasını ve silajın hem nötr deterjanda çözünmeyen karbonhidratlar (NDF) hem de asit deterjanda çözünmeyen karbonhidratlar (ADF) içeriğinin azaltılması, böylece silajın organik maddelerinin sindirilme derecesinin artırılmasıdır. İkincisi ise; bitki hücre duvarının parçalanarak, fermantasyon sırasında kullanılmak üzere laktik asit bakterileri için ilave şeker açığa çıkartılmasıdır (McDonald ve ark., 1991; Henderson ve ark., 1991). Enzimlerin kullanıldığı çalışmalarda, bu katkı maddelerinin silajların NDF içeriğini düşürdüğü, günlük KM tüketimini süt verimini arttırdığı saptanmıştır (McCullough 1970, Stokes 1992).

Laktik asit bakterileri ile birlikte kullanılan selüloz, hemiselüloz ve pektinaz gibi hücre duvarını parçalayıcı enzimler ile amilaz gibi nişastayı parçalayan enzim katılan silajlarda LAB faaliyeti için ilave bir substrat açığa çıkararak silaj fermantasyonunu geliştirilirken (Meeske ve ark., 1993; Weinberg ve ark., 1993), silajların nötral deterjanlarda çözünmeyen karbonhidratlar (NDF), asit deterjanlarda çözünmeyen karbonhidratlar (ADF), asit deterjanlarda çözünmeyen lignin (ADL), hemiselüloz ve selüloz içeriklerini düşürmekte (Tengerdy ve ark. 1991, Stokes ve Chen 1994, Nadeau ve ark. 2000, Filya 2002a), KM, OM, NDF ve ADF parçalanabilirliğini artırmakta (Tengerdy ve ark. 1991, Flores ve ark. 1999, Kleinmans ve Hooper 1999, Filya 2002a), aerobik dayanıklılığını ise etkilememekte veya düşürerek gözle görülür bir küflenme ve yoğun bir karbondioksit gazı üretimine neden olmaktadır (Meeske ve ark. 1993, Weinberg ve ark. 1993).

Bu çalışma ile, farklı dönemlerde hasat edilen yonca hasıllarına laktik asit bakteri ve/veya enzim ilavesinin silaj fermantasyon özellikleri, ham besin maddeleri, hücre duvarı bileşenleri, aerobik stabilitesi ve *in vitro* organik maddeler (OM) sindirilebilirliği üzerindeki etkilerinin laboratuvar koşullarında incelenmesi amaçlanmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

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. Silaj yapımında bitkisel materyalin doğal fermantasyon yolu ile saklanmasında birinci temel amaç; ortamda anaerobik koşulların oluşturulmasıdır. Pratikte anaerobik koşullar çeşitli yollarla sağlanabilirler. Bunlar içerisinde materyalin hava almayan kaplar içerisinde depolanması en yaygın ve en etkin olan yoldur. Açık tip silolarda anaerobik ortamın sağlanma etkinliği, materyalin çok iyi bir şekilde sıkıştırılıp kapatılmasına bağlıdır. Eğer silo içerisine hava girerse, aerobik mikroorganizma aktivitesi başlar ve bunun sonucunda silolanan materyal bozulur. Silaj yapımında ikinci temel amaç ise; Clostridium aktivitesinin engellenmesidir. Clostridium cinsi bakteriler gerek bütrik asit üretmeleri, gerekse amino asitleri besleme değeri düşük çeşitli ürünlere parçalamaları nedeniyle silaj fermantasyonu açısından istenmeyen mikroorganizmalardır. Silaj fermantasyonunda clostridium sporlarının çimlenerek çoğalmasını önlemede kullanılabilecek en iyi yol laktik asit fermantasyonunu teşvik etmektir (Filya 2001). Silolama olayında temel olarak, LAB anaerobik koşullar altında SÇK'ı başta laktik asit olmak üzere organik asitlere dönüştürürler. Silaj fermantasyonu sırasında oluşan pH ve NH₃-N ile organik asitlerin miktar ve kompozisyonları silajlardaki fermantasyon kalitesini belirlemektedir. Özellikle pH ve NH₃-N miktarı düşük, laktik:asetik asit oranları yüksek silajlar iyi fermente olmuş silajlar olarak kabul edilebilirler (Filya 2007). Diğer yandan silajların yüksek düzeyde bütrik asit içermesi, fermantasyon kalitelerinin çok düşük ve hayvan sağlığını dahi olumsuz yönde etkileyebilecek kadar kötü bir hijyenik yapıya sahip olduklarının bir göstergesidir. Bu tür yüksek düzeyde bütrik asit içeren silajlar pH ve NH₃-N miktarı düşük bile olsalar hayvan beslemede kullanılmamalıdır. Silajlarda iyi bir fermantasyon kalitesinin sağlanabilmesi için silajlık ürün, hasat, soldurma, parçalama, katkı maddeleri ile zenginleştirme, taşıma, doldurma,

sıkıştırma ve kapatma gibi silaj yapım teknolojisinin temel aşamalarının hiç hatasız bir şekilde uygulanması ve tüm aşamalar arasında maksimum bir koordinasyon sağlanması zorunludur. Aksi halde fermantasyon kalitesini artırabilmek mümkün değildir (Filya 2007).

Herhangi bir bitkisel ürünün başarılı bir şekilde silolanabilmesi için mutlaka fermantasyon için yeterli düzeyde KM ve SÇK içermesi, tampon kapasitesinin düşük olması ve mikrobiyolojik yapısının uygun olması gerekir. Gerek ülkemizde gerekse dünyada silajı yapılan çok sayıda bitkisel ürün ve yan ürün bulunmaktadır. Mısır, silajlık olarak üretiminin en popüler olduğu bitkisel materyal olup, dünyanın birçok bölgesinde ve ülkemizde diğer baklagil kökenli yem materyalleri ile birlikte silaj yapımında en fazla kullanılan ürün durumundadır. Ülkemizde silo yemleri üretimi sürekli bir artış göstermektedir. 1997 yılında 1.845.992 ton olan silo yemi üretimimiz, 2000 yılında 3.442.787 tona, 2003 yılında ise 4.987.331 tona ulaşmıştır (Filya 2007). Mısırın silaj yapımında en çok tercih edilmesinin nedenleri; KM içeriğinin oransal olarak yüksek olması, tampon kapasitesinin düşük olması ve laktik asit fermantasyonu için gerekli olan SÇK'ı yeterli düzeyde içermesidir (McDonald ve ark. 1991).

Yonca dünyada oldukça fazla miktarda silajı yapılan popüler bir bitkidir. Ülkemizde hakim silajlık bitki mısır olduğu için yonca silajının toplam silaj üretimimiz içindeki payı (% 5) oldukça düşüktür. Yoncanın en önemli özelliği ham protein içeriğinin yüksek olmasıdır. Filya İ (2005).

Kır ve Soya (2008), vejetasyonun %10-25 çiçeklenme döneminde hasat ettikleri mera tipi 5 yonca çeşidi (Osam, Victoria, Cinna, Mielga, Kayseri)'nin KM ve HP içeriklerini sırasıyla %19.15-21.52 ve % 16.39-22.02 arasında saptamışlardır.

Akbari ve Avcıoğlu (1992), yonca çeşitlerinin KM, HP ve HK içeriklerini sırasıyla %19.8-25.1, %18.7-22.9 ve %10.1-11.1 arasında değiştiğini belirtmişlerdir.

Aksoy ve Yılmaz (2003) birinci ve ikinci biçim dönemlerinde hasat ettikleri sekiz yonca varyetesinin HP, HK içeriklerinin sırasıyla %14.67-20.59 ve %9.33-10.79, in vitro KM ve organik madde sindirilme derecesinin ise sırasıyla %45.65-58.50 ve %39.04-54.21 arasında değiştiğini bildirmişlerdir.

Anderson ve ark. (1973), sulanan koşullarda farklı fenolojik devrelerde (tomurcuklanma, %10 çiçeklenme, %50 çiçeklenme ve çiçeklenme sonu) yapılan biçimlerde ilk ekim yılında Ranger, Dupuits ve Lahontan çok yıllık yonca kültür varyetelerinde yapmış oldukları çalışmada ham protein oranının günlük %0,2 azaldığını, besin değerlerinin de biçim süresi geciktirildikçe olumsuz bir oran oluştuğunu saptamışlardır.

Clarkson (1977), tek yıllık yoncalarla yaptığı bir denemesinde meyvelerin ilk olgunlaşma döneminde kuru ot kalitesinin çok iyi, ham protein oranının ortalama %15-20 olduğunu fakat olgunlaşma ile birlikte bu oranın hızla düştüğünü ifade etmektedir.

Rihawi ve ark. (1983), *Vicia sativa*, *Lathyrus sativus*, *Pisum sativum* ve *Medicago rigudula*'da çiçeklenme başlangıcı, %10 çiçeklenme, %100 çiçeklenme, %100 meyve oluşumu ve meyvelerin olgunlaşması olmak üzere beş farklı evrede biçim uygulamışlardır. Araştırmacılar biçim devreleri geciktirildikçe, *Medicago rigudula*'da KM veriminin 795 kg/ha'dan 5009 kg/ha'a yükseldiğini, HP oranının ise %29,5'den %8,1'e azaldığını; *Vicia sativa*'da KM veriminin 825 kg/ha'dan 4460 kg/ha'a yükseldiğini, HP oranının %27,5'den %8,6'ya azaldığını; *Lathyrus sativus*'ta KM veriminin 445 kg/ha' dan 3077 kg/ha' a yükseldiğini, HP oranının %26,67'den %7,15'e azaldığını, *Pisum sativum*'da ise KM oranları 630 kg/ha'dan 4504 kg/ha'a yükseldiğini, HP oranlarının ise %23,16'dan %8,55'e azaldığını bildirmektedirler.

Açıkgöz (1995), yoncanın çok genç biçim devresinde KM, HP ve HK içeriklerini %15,0, 23,3 ve 12,0; genç devrede aynı sırayla %18,9, 29,1 ve 10,0; tam çiçeklenme devresinde aynı sırayla %24,0, 17,1 ve 9,2; bakla bağlama devresinde ise yine aynı sırayla %28,0, 12,9 ve 7,9 içerdiğini saptamıştır. Araştırmacı yonca otunun kimyasal kompozisyonunun bölgeye, çeşide, toprak ve iklim şartlarına, biçim devresi ve kurutma yöntemine göre değişiklik gösterdiğini; ancak genel olarak ham protein oranının biçim zamanı ilerledikçe azalırken, selüloz oranının arttığını belirtmektedir.

Rankin ve George (1989), çok yıllık yoncanın ilk ekim yılında yaptıkları bir çalışmada çiçeklenme öncesi, tomurcuklanma, çiçeklenme başlangıcı ve çiçeklenme sonunda biçtikleri devrelerde, çiçeklenme öncesi biçimde kuru madde verimi 1825 kg/ha'ken, geciktirilen biçim devresinde 7575 kg/ha'a yükseldiğini ve bunun yanında ham protein oranlarının ise ilk biçim devresinde %27.2 iken, biçim devresi ilerledikçe %16.9'a kadar indiğini, biçim devresinin geciktirildikçe yem kalitesinin azaldığı ve kuru madde verimlerinin arttığını bildirmektedirler.

Yapısındaki protein düzeyinin yüksek olmasından dolayı yoncanın silolama kabiliyeti düşüktür. Fermantasyon esnasında ise proteinlerin peptid, amino asit ve amonyağa kadar parçalanması ve amonyak oranının yüksekliğine bağlı olarak pH'nın arttığı ve bu nedenle silaj kalitesinde düşme meydana geldiği bildirilmektedir (Çerçi ve ark. 1996). Özellikle son yıllara kadar, silolandıkları zaman clostridia sporları aracılığı ile bütrik asit içeriği yüksek kötü fermente olmuş silaj oluşumuna yol açmaları nedeniyle yonca ve diğer baklagillerin uygun bir silajlık bitki olmadıkları düşünülmüştür. Düşük KM ve SÇK içeriği ile yüksek tampon kapasitesi ve protein düzeyi yoncanın silolanmasını çok güçleştirmektedir. Silaj yapımı için

uygun olmayan özellikleri nedeniyle yonca silolanması belki de en zor olan bitkidir. Bu nedenle, yoncanın silolanması sırasında fermantasyonun güvence altına alınabilmesi için katkı maddelerinin kullanılması zorunlu hale gelmektedir. Silaj teknolojisindeki gelişmeler sayesinde bugün yonca kolayca silolanabilmekte ve oldukça yüksek düzeydeki protein içeriğinden yararlanılabilmektedir. Ayrıca besin maddeleri içeriği açısından zengin olan yonca silajları hayvanlar tarafından yüksek oranda sindirilmektedirler (Filya 2005).

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 değildirler. 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 sürenin uzaması bitkilerdeki enzim aktivitesini artırarak bozulmaya ve kayıplara sebep olur. Yoncanın silajlık olarak hasat edilebileceği en uygun dönem çiçeklenme başlangıcıdır. Bu dönemde yonca yaklaşık %20 KM içerir. Ancak yoncanın olumsuz silolanabilirlik özelliklerinin giderilebilmesi için silolanmadan önce mutlaka en az % 35-40 KM içerecek şekilde soldurulması gerekir. Bu düzeydeki KM içeriğinin fermantasyon kayıplarının en aza indirilmesi bakımından büyük yararı vardır. Aksi halde yapılan silajlarda büyük miktarlarda silo suyu çıkışı ve ısınma görülür. Bu da başta besin maddeleri ve sindirilebilir enerji olmak üzere fermantasyon kayıplarının çok yüksek boyutlara ulaştığının bir göstergesidir. Ayrıca bu durumda silajlarda bozulmaya neden olan mikroorganizmaların aktivitelerinin engellenmesi de mümkün olamaz ve yapılan silajlar büyük ölçüde bozulurlar. Yoncanın yeteri kadar soldurulamaması durumunda mutlaka uygun katkı maddeleri ile silolanması gerekir. Ancak katkı maddesi seçiminde çok dikkatli davranılmalı, amaca ve ürüne uygun katkı maddesi seçilmelidir (Filya 2005).

Tatlı ve ark. (2001) mısır, yonca ve yaş şeker pancarı posasının silolanma niteliklerinin belirlenmesi ile bu silajların farklı formasyonlarda koyunlara verilmesinin yem tüketimi ve sindirilebilirlik üzerine etkisini inceledikleri çalışmalarında, yonca silajlarının KM ve pH değerlerini sırasıyla %31.44 ve 4.92; KM içerisinde NH₃-N, laktik asit, asetik asit, propionik asit ve bütrik asit düzeylerini sırasıyla, %0.76, 1.78, 3.10, 0.15 ve 0.02 olarak bildirmektedirler. Araştırmacılar yonca silajının KM, OM, HP, HS, HY ve NÖM'nin

sindirilme derecelerini sırasıyla %62.80, 62.68, 71.93, 67.73, 75.19 ve 54.89 olarak saptamışlardır.

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 fermantasyonunun kontrolü amacıyla kullanılan klasik katkı maddelerine olan kimi üstünlükleri nedeniyle mikrobiyal katkı maddeleri son yıllarda oldukça geniş kullanım alanı bulmuşlardır. Silolanacak kitlede fermantasyonun 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 gerçekleşmesini sağlayan tekniklerin (liyofilizasyon/ freze drying) gelişimi ile birlikte mikrobiyal katkı maddelerinin ticari anlamda üretimleri ve kullanımları yaygınlık kazanmıştır (Wilkinson 1984, Merry ve ark. 1993, Robinson 1993).

Kullanım amaçları göz önünde bulundurularak mikrobiyal katkı maddelerinin kullanım etkinliğini belirleyen temel unsurları uygulama yoğunluğu, katkının biyolojik kompozisyonu ve ortamda yeterli besin maddelerinin bulunması olarak sıralamak mümkündür. Mikrobiyal katkı maddelerinin içerdiği mikroorganizmaların (LAB) ortamda baskın hale geçebilmesi açısından uygulama yoğunluğu önem taşır. Hemen her koşulda, silolanan kitlede gerek fermantasyon gelişim basamaklarını ve gerekse de son ürün özelliklerini belirleyen temel faktör, hasat zamanı yeşil materyalde yer alan epifitik LAB'nin yoğunluğu ve kompozisyonudur. Bir çok durumda bu yoğunluğun 1.0- 6.0 log₁₀ cfu/g

arasında değişebildiği bildirilmektedir. Pitt ve Liebensperger (1987), yaptıkları incelemelere dayanarak mikrobiyal katkı maddesinden beklenen etkenliğin gerçekleşebilmesi için uygulama yoğunluğu ile epifitik populasyon yoğunluğu arasındaki oranın en az 1/1 olması gerektiğini, mevcut koşullar çerçevesinde de böylesi bir seviyenin yakalanabilmesi bakımından uygulama yoğunluğu olarak $6.0 \log_{10}$ cfu/g'lık bir seviyenin seçilmesi gerektiğini vurgulamaktadırlar.

Silaj yapımında beklenen başarımın temin edilmesi, havasız koşullarda silolanan kitle içerisinde hızlı bir şekilde homofermantatif karakterdeki laktik asit fermantasyonunun başlatılabilmesine bağlıdır. Mikrobiyal katkıların kullanılmadığı durumlarda bu gelişimin belirleyicisi epifitik populasyonun niteliğidir. Bu noktada temel sorun, silolanmak üzere hasat edilen materyal üzerinde yer alan mikroorganizma varlığının sadece LAB tarafından oluşturulmuyor olmasıdır. Bu aşamada silolanacak materyal üzerinde arzu edilmeyen mikroorganizmaların varlığı da söz konusudur. Bu mikroorganizmalar silo içerisindeki koşullara da bağımlı olarak besin kaynakları tarafından epifitik LAB ile rekabete girerler. Birçok durumda silolanacak materyal üzerinde yer alan LAB'nin kendileri ile rekabete girecek arzu edilmeyen mikroorganizma gruplarına (enterobakter ve funguslar) oranla 100-1000 kat daha az sayıda yer alabildikleri bilinmektedir. Buna ilaveten silolanabilecek materyal üzerinde yer alan LAB'nin her zaman için homofermantatif nitelikte fermantasyonunun gelişimini sağlayacak niteliklere sahip olamayacağı da bilinmektedir (McDonald ve ark. 1991, Lin ve ark. 1992, Merry ve ark. 1993, Petterson 1988, Yurtman ve ark. 1997).

Mikrobiyal katkı maddelerinin diğer silaj katkılarına olan temel üstünlüğünü bu noktada açıklamak mümkündür. Silaj yapımında fermantasyon 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) fermantasyon 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).

Günümüzde mikrobiyal inokulant ve enzim pazarında çok sayıda ürün yer almaktadır. Bu çeşitliliği mikrobiyal inokulant ve enzim etkenliğini çok sayıda faktörün etkisi altında

değişim gösterebilmesiyle açıklamak mümkündür. Özellikle mikrobiyal ve enzim 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 2002a). 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).

Laktik asit bakteri inokulantlarının kullanıldığı birçok çalışmada, bu katkı maddelerinin silajların pH'larını hızla düşürdüğü, laktik asit ve laktik asit/asetik asit oranını arttırdığı, asetik asit, bütrik asit, $\text{NH}_3\text{-N}$ ve etanol düzeylerini düşürdüğü ve lactobacilli içeriklerini arttırarak 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 arttırdığını 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 arttırdığını bildirmişlerdir.

Filya ve ark. (2007), birinci ve ikinci biçim döneminde hasat edilip silolanan yonca hasıllarına 14 farklı LAB inokulantının fermantasyon ve aerobik stabilize özelliklerini saptamak amacıyla yürüttükleri çalışmalarında, birinci biçim için silolamanın 35. - 47. günleri arasında açılan silajların kontrol ve LAB katkısı gruplarında sırasıyla pH değerlerini 5.08 ve 4.33-5.14, laktik asit içeriklerini KM' de 40.5 ve 45.9-83.5 g/kg KM, asetik asit içeriklerini 14.2 ve 5.5-36.8 g/kg KM, NDF miktarını 419 ve 391-442 g/kg KM, ADF miktarlarını 342 ve 330-364 g/kg KM; ADL miktarlarını ise 78 ve 71-82 g/kg KM; hemiselüloz miktarlarını 78 ve 61-88 g/kg KM; selüloz miktarlarını 264 ve 259-283 g/kg KM; ikinci biçim için ise aynı sırayla pH değerleri 4.42 ve 4.29-4.65, laktik asit içeriklerini KM'de 86.5 ve 61.5-86.0 g/kg KM, asetik asit içeriklerini 29.0 ve 13.1-37.4 g/kg KM, NDF miktarını 307 ve 284-309 g/kg KM, ADF miktarlarını 258 ve 253-265 g/kg KM; ADL miktarlarını ise 62 ve 53-62 g/kg KM;

hemiselüloz miktarlarını 49 ve 31-54 g/kg KM; selüloz miktarlarını 196 ve 195-207 g/kg KM olarak saptamışlardır.

Bir ürünün iyi bir şekilde silolanabilmesi için başta heksozlar olmak üzere KM'de en az %3-5 düzeyinde fermente olabilir karbonhidrat içermesi gerekir. Silolanacak bitki materyallerinin yeterli düzeyde SÇK'ın bulunması durumunda LAB'nin inokulasyonu silaj kalitesini arttırabilmektedir. Ortamda yeterli miktarda SÇK bulunmaması durumunda ise silaj kalitesi düşmektedir. Bitkilerde bulunan karbonhidratların büyük bir bölümünü LAB tarafından fermente edilemeyen yapısal karbonhidratlar oluşturmaktadır. Bu nedenle SÇK bakımından yetersiz olan ürünlerin silolanması sırasında yeterli düzeyde fermente olabilir karbonhidrat sağlayabilmek için hücre duvarını ve nişastayı parçalayan enzimlerin kullanılması önerilmektedir. Bu enzimler selülaz, hemiselülaz, pektinaz ve amilazdır (Filya ve ark. 2001).

Hücre duvarını parçalayıcı enzimler, genel olarak SÇK içeriklerinin yetersiz olmasından dolayı zor silolanarak baklagil ve buğdaygil-baklagil karışımı yem bitkileri ile KM içerikleri düşük olan buğdaygil ve baklagil yem bitkilerinden yapılan silajların pH, asetik asit ve diğer uçucu yağ asitleri içeriklerini düşürmektedirler. Söz konusu enzimler, kuru madde içeriği düşük olan ürünlerden yapılan silajlarda, KM içeriği yüksek olan veya soldurulmuş ürünlerden yapılan silajlara göre daha etkilidirler. Diğer yandan bu enzimlerin selülaz, hemiselülaz ve pektinaz karışımı halinde bulunması ve silolanacak ürüne bu şekilde üçlü bir karışım halinde katılması, tek başlarına katılmalarına göre daha iyi sonuç vermektedir. Bunun yanı sıra bu enzimler katıldıkları silajların NDF, ADF ve ADL olarak saptanan hücre duvarı bileşenlerini düşürürken, laktik asit ve SÇK içeriklerini arttırmaktadırlar (Filya 2001).

Filya ve ark. (2001), hücre duvarını parçalayıcı enzimlerin %10-20 çiçeklenme döneminde hasat edilip silolanarak yonca hasıllarının fermantasyon ve aerobik stabilite özelliklerini saptamak amacıyla yürüttükleri çalışmalarında, silo lamanın 50. gününde kontrol, %0.025, %0.050 ve %0.100 düzeyinde selülaz, hemiselülaz ve pektinaz içeren enzim katkısı gruplarında sırasıyla pH değerlerini 5.1, 4.5, 4.3 ve 4.0; SÇK içeriklerini 3.2, 10.1, 12.5 ve 15.8 g/kg KM; laktik asit içeriklerini KM'de %1.8, 10.2, 11.0 ve 12.6; asetik asit içeriklerini KM'de %7.7, 3.3, 2.8 ve 2.4; LAB sayılarını 7.1, 7.3, 7.2 ve 7.4 log₁₀ cfu/g; maya sayılarını 4.3, 4.5, 4.4 ve 4.2 log₁₀ cfu/g; küf sayılarını 4.1, 4.1, 4.0 ve 3.9 log₁₀ cfu/g; NDF miktarını KM'de %38.9, 37.7, 36.2 ve 34.1; ADF miktarlarını KM'de %29.1, 27.0, 26.3 ve 23.5; ADL miktarlarını ise KM'de %15.4, 14.2, 13.9 ve 13.1 olarak saptamışlardır. Aerobik stabilite testi sonuçlarına göre pH değerleri aynı sırayla 5.4, 4.7, 4.4 ve 4.2; karbondioksit değerleri 2.5, 2.4, 2.4 ve 2.2; maya sayıları 5.4, 5.6, 5.3 ve 5.2 log₁₀ cfu/g; küf sayıları ise 6.1, 5.9, 5.9 ve

5.7 log₁₀ cfu/g olarak tespit etmişlerdir. Elde edilen sonuçlara göre selüloz, hemiselüloz ve pektinaz gibi hücre duvarını parçalayıcı enzimlerin yonca silajlarının fermantasyon özelliklerini geliştirdiği, hücre duvarı bileşenlerini azalttığı, aerobik stabilitelerinin ise etkilenmediği görülmektedir.

Bolsen ve Heidker (1985) ile Chen ve ark. (1994), LAB inokulantlarının enzimler ile birlikte karışım halinde silaj katkı maddesi olarak kullanılabileceğini bildirmektedirler. Laktik asit bakterileri ile birlikte kullanılan selüloz, hemiselüloz ve pektinaz gibi hücre duvarını parçalayıcı enzimler ile amilaz gibi nişastayı parçalayan enzimlerin, katıldıkları silajlarda ilave substrat çıkararak silajda fermantasyonu olumlu yönde geliştirdiği, hücre duvarı içeriklerini düşürdüğü, KM ve organik maddeler (OM)'in sindirilebilirliğini arttırdığı, ADF ve NDF parçalanabilirliklerini arttırdığı, aerobik dayanıklılığın ise etkilenmediği bildirilmektedir (Filya 2002a).

Tengerdy ve ark. (1991) başlangıç pH'sı 6.1 olan soldurulmuş yonca üzerinde LAB+Enzim inokulantının etkilerini araştırdıkları çalışmaları sonucunda, silolamanın 55. günündeki silajlarda pH'nın kontrol ve LAB+Enzim grubunda sırasıyla 5.3 ve 4.3; laktik asitin KM' de % 3.5 ve 5.8; asetik asitin KM'de %3.9 ve 1.5; NDF içeriklerini KM' de % 41.0 ve 38.7; ADF içeriklerini KM'de %31.9 ve 31.4; lactobacilli içeriklerini 1.0 ve 2.6 cfu/g KM olarak belirlerken, inokulant kullanılan silajlardaki maya ve küf düzeyinin çok düşük olduğunu saptamışlardır.

Kung ve ark. (1991a) tarafından yürütülen araştırmada, yonca bitkisine *Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus acidilactici* içeren LAB inokulantı, selüloz ve pektinaz içeren enzim karışımı ve her ikisinin birlikte kullanıldığı LAB+enzimin etkinliğini incelemişlerdir. Araştırmada uygulamalar; kontrol, LAB, enzimin (1, 5, 50 kat) üç farklı dozu ile LAB+enzim (1, 5, 50 kat) dozları olmak üzere sekiz katagoride toplanmıştır. Fermantasyonun 60. gününde silajların LAB sayıları kontrol, LAB, enzim ve LAB+enzim gruplarında sırasıyla 7.20, 6.63, 6.74-7.30 ve 6.61-7.30 log cfu/g, maya ve küf sayıları aynı sırayla 3.34, 2.90, <2.00-3.93 ve 2.90-4.48 log cfu/g olarak saptamışlardır. Yine aynı araştırmada kontrol, LAB ve Enzimin (1, 5, 50 kat) üç farklı dozunun etkilerinin incelendiği çalışmalarında 60. günde silaj pH'larının sırasıyla 4.11, 4.15 ve 4.11-4.16, SÇK içeriklerinin 27.6, 25.5 ve 23.3-29.7 g/kg KM, laktik asit KM'de % 4.97, 4.16 ve 4.20-4.74, asetik asit KM'de %111, 1.01 ve 0.91-1.20, NH₃-N içerikleri KM'de %0.101, 0.104 ve 0.96-0.101, NDF içeriklerini KM'de %53.1, 53.6 ve 52.4-54.7, ADF içeriklerini ise 36.2, 37.2 ve 35.6-37.8 olarak bildirmektedirler.

Kung ve ark (1991b) ise yaptıkları bir çalışmada yonca silajını soldurarak ve soldurmayarak yaptıkları silajda enzim ve inokulant uygulamışlar kuru madde oranı %20 olan

soldurulmamış yonca silajı ve kuru madde oranı %43.7 olan soldurulmuş yonca silajının her ikisinde de ADF düzeyinin azaldığını tespit etmişlerdir.

Stokes (1992), bitki hücre duvarını parçalayıcı enzimlerin buğdaygil yem bitkileri ve yonca karışımından silajların NDF içeriğini yaklaşık %15 oranında düşürdüğünü, ayrıca süt ineklerinde günlük KM tüketimini toplam rasyonun yaklaşık %10' u düzeyinde arttırdığını ve günlük süt verimini de hayvan başına günde 650 g arttırdığını bildirmiştir.

Sheperd ve ark. (1995) yonca bitkisinde, *Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus cereviseae*, sellüloz, amilaz ve pektinaz ile *Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus acidilactici*, sellüloz ve amilaz içeren iki farklı LAB+enzim inokulantının fermantasyon süresince etkilerini incelemişlerdir. Fermantasyonun 177. gününde silajların KM'si kontrol ve inokulant gruplarında sırasıyla %33.9 ve 43.2-47.1, laktik asit KM'de %6.0 ve 7.4-7.8, asetik asit KM'de %3.5 ve 1.2-1.4, NH₃-N içerikleri KM'de %0.65 ve 0.37-0.42, NDF KM'de %43.8 ve 40.0-40.6, ADF KM'de %38.9 ve 35.6-37.3, hemiselüloz KM'de %4.9 ve 3.3-4.3 olarak saptamışlardır. Araştırmacılar LAB+enzim karışımı inokulantların silajların fermantasyon özelliklerini olumlu yönde etkilediği ve silajdaki NDF, ADF ve hemiselüloz düzeyini düşürdüğünü bildirmektedirler.

Nadeau ve ark. (2000) vejetasyonun çiçeklenme öncesi, çiçeklenme başlangıcı ve çiçeklenme sonunda hasat edilen yonca bitkisinde, sellüloz enzimi, *Lactobacillus plantarum* ve *Pediococcus cereviseae* ile selüloz enziminin (2, 10 ve 20 ml selüloz /kg) farklı dozlarını içeren LAB+enzim inokulantının fermantasyon süresince etkilerini incelemişlerdir. Çiçeklenme öncesinde yoncanın KM, HP, NDF, selüloz, hemiselüloz ve lignin içerikleri sırasıyla 329 g/kg, 250 g/kg KM, 330 g/kg KM, 201 g/kg KM, 63 g/kg KM ve 57 g/kg KM; çiçeklenme başlangıcında aynı sırayla 326 g/kg, 216 g/kg KM, 370 g/kg KM, 208 g/kg KM, 97 g/kg KM ve 72 g/kg KM, çiçeklenme sonunda ise yine aynı sırayla 319 g/kg, 210 g/kg KM, 427 g/kg KM, 257 g/kg KM, 88 g/kg KM ve 77 g/kg KM olarak saptamışlardır. 60. günlük silolama sonrasında çiçeklenme öncesi dönemi için kontrol ve inokulant gruplarındaki silajların pH'ları sırasıyla 4,51 ve 4.03-4.17, laktik asit 49.9 ve 71.7-74.9 g/kg KM, asetik asit 17.4 ve 8.5-13.5 g/kg KM, NH₃-N 80.8 ve 69.1-76.4 g/kg KM, NDF 351 ve 284-325 g/kg KM, selüloz 199 ve 156-178 g/kg KM, hemiselüloz 81 ve 64-71 g/kg KM; çiçeklenme başlangıcında aynı sırayla pH 4,71 ve 4.05-4.31, laktik asit 30.9 ve 50.1-67.1 g/kg KM, asetik asit 17.3 ve 11.3-16.4 g/kg KM, NH₃-N 103.5 ve 79.9-93.7 g/kg KM, NDF 379 ve 338-349 g/kg KM, selüloz 212 ve 184-196 g/kg KM, hemiselüloz 88 ve 74-82 g/kg KM; çiçeklenme sonunda ise yine aynı sırayla 4,45 ve 3,97-4.08, laktik asit 47.5 ve 62.9-64.4 g/kg KM, asetik asit 16.7 ve 8.1-8.5 g/kg KM, NH₃-N 83.7 ve 66.6-66.9 g/kg KM, NDF 436 ve 379-409 g/kg

KM, selüloz 199 ve 156-178 g/kg KM, hemiselüloz 87 ve 78-88 g/kg KM olarak saptamışlardır.

Çiftçi ve ark (2005), yapmış oldukları bir denemede, şeker, arpa kırması ve elma katarak yaptıkları yonca silajlarında, 30 kg canlı ağırlıkta 6 ivesi erkek toklu üzerinde sindirilme dereceleri, silajların ADF, NDF, pH ve amonyak değerleri bakımından istatistiksel olarak önemli düzeyde farklılıklar gözlenmemiştir. Silajların kalitesinde, canlı ağırlık artışlarında ve kuru madde tüketimi değerlendirilmesinde üç grupta da sonuçlar birbiri ile uyumlu çıkmıştır.

3. MATERİYAL VE YÖNTEM

3.1. MATERİYAL

3.1.1. SİLAJ MATERİYALİ

Bu araştırmada silaj materyali olarak farklı biçim dönemlerinde hasat edilen yonca (*Medicago sativa*) bitkisi kullanılmıştır.

3.1.2. SİLAJLARIN HAZIRLANMASI

Araştırmada kullanılan yonca hasılları çiçeklenme başlangıcında (yaklaşık %10-20 çiçeklenme), çiçeklenme ortası (yaklaşık %50) ve tam çiçeklenme döneminde hasat edilmiştir. Hasattan hemen sonra parçalama makinesinde yaklaşık 1.5-2.0 cm uzunluğunda parçalanmış ve bitkisel materyal homojen bir şekilde karıştırılarak silolama öncesi analizleri için örnek alınmıştır. Parçalanmış materyaller 1 litre kapasiteli laboratuvar tipi silo kaplarında silolanmıştır. Her grup için (kontrol, LAB, enzim ve LAB+enzim karışımı) 4 kavanoz olmak üzere her vejetasyon dönemi için 16, toplam da ise 48 kavanoz silaj yapılmıştır. İyiye sıkıştırılmış olan ve ağızları kapatılan silo kapları, 25± 2°C sıcaklıkta karanlık bir ortamda muhafaza edilmiştir. Fermantasyon dönemi sonunda (45. gün) silajlar açılarak kimyasal ve mikrobiyolojik analizler yapılmıştır. Ayrıca bu silajlara 5 gün boyunca aerobik stabilite testi uygulanırken, söz konusu silajların in vitro enzimde organik madde çözünebilirlikleri de saptanmıştır.

3.1.3. SİLAJLARDA KULLANILAN KATKI MADDELERİ

1. LAB: İnokulant 1188 (Pioneer® 1188, USA). *Lactobacillus plantarum* ve *Enterococcus faecium* içermektedir.

2. Enzim: (Global, Kocaeli-Türkiye). Selülaz, hemiselülaz, pentozanaz ve amilaz içermektedir.

3.1.4. KATKI MADDELERİ KULLANILMA ŞEKLİ

1. **grup** kontrol grubu olup inokulant veya enzim içermemektedir.
2. **grupta**, inokulant 1188 (Pioneer®, USA) kullanılmıştır. 10 kg parçalanmış materyal temiz bir alana yayılmıştır. Inokulanttın 0,33 g tartılarak üzerine 20 ml çeşme suyu konmuş ve iyice karıştırıldıktan sonra materyal üzerine homojen bir şekilde püskürtülmüştür. Yapılan bu inokulant uygulamaları sonucunda taze materyale 10^6 koloniform ünite (cfu/g) LAB katılmıştır.
3. **grupta**, Enzim (Global, Kocaeli-Türkiye) kullanılmıştır. 0.1 g enzim 10 kg taze materyale, 2. grupta açıklandığı gibi uygulanmıştır.
4. **grupta**, 2. ve 3. gruptaki silajlar homojen olarak karıştırılmışlardır. Böylelikle LAB+enzim grubu oluşturulmuştur.

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, $\text{NH}_3\text{-N}$, organik asitler (laktik ve asetik asit) ve 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 örneklerle 125 ml saf su ilave edilmiş ve oda sıcaklığında 1 saat süre ile zaman zaman karıştırılarak tutulmuştur. Daha sonra örnekler süzölmüş 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 şişe 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 absorbens değeri 620 nm'de 30 dakika içerisinde spektrofotometre aracılığı ile okunmuştur. Örnek ve kör denemeler sonrası tespit edilen absorbens 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. Yetmişbeş 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 (laktik ve asetik asit) tespitinde Koç ve Coşkuntuna (2003)'nın bildirdikleri spektrofotometrik yöntemle göre saptanmıştır.

3.2.1.4.1. Laktik Asit Analizleri

Derin dondurucuda -20 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 1 ml sıvı tüplere aktarılmış üzerine 0.1 ml bakır sülfat (5g CuSO₄/100 ml saf su) ile 6 ml %98'lik sülfürik asit ilave edilmiştir. Hazırlanan tüpler 30 sn vortekste karıştırıldıktan sonra 5 dk. 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 sn

tekrar vortekste karıştırılmış ve 10 dk. oda sıcaklığında bekletilmiştir. Daha sonra tüpler 90 sn 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 µg/mL). Elde edilen çözelti, önce 1:9 (40 µg/mL) daha sonra 1:1 (20 µg/mL, stok çözelti) oranında seyreltilerek kullanılmıştır. Daha sonra stok çözeltilerden 2.5, 5.0, 10.0, 15.0 µg/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 sn vortekste karıştırılmış ve 5 dakika soğuk banyoda tutularak soğumaya bırakılmıştır. Bu süre sonunda tüplere 0.1 mL para hidroxy bi phenol eklenerek, tüpler 30 sn 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 µg/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 asitin 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 spatül yardımı ile aktarılmış ve emme yardımı ile süzölmüştür. 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 yıkanmıştır. 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. İkinci ekstraksiyonda emülsiyon oluşursa bekletme ile emülsiyon fazı kırılmıştır. Fazlar ait olan beherlere alınmış ve sonuncu ekstraksiyon işlemindeki emülsiyon fazı alkali fazın toplandığı behere alınmıştır. Alkali ekstrakt 70 ml yaklaşık 1 N HCl çözeltisi ile asitlendirilmiş, çözülmüş CHCl₃'ün uzaklaştırılması için 5-10 dakika hızlıca havalandırılmıştır. CHCl₃ 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 spektrofotometrede 307 nm dalga boyunda okuma yapılmıştır.

Standart Çözeltinin Hazırlanması

500 ml'lik ayırıcıya 250 ml CHCl₃ 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 çözeltiye karşı absorbansları spektrofotometrede 307 nm dalga boyunda okuma yapılmıştır.

Hesaplama ve Sonuçların Gösterilmesi

Asetik Asit (mg / kg) = [(C x 1000) / (M x 500 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 peptonlu su aracılığı ile 2 dakikadan az olmamak koşulu ile karıştırılıp mikroorganizmaların mümkün olduğu ölçüde 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. Örneklerle ait LAB, maya ve küfler için 30 °C sıcaklıkta 3 günlük inkübasyon dönemlerini takiben gerçekleştirilmiştir (Seale ve ark. 1990). Örneklerde saptanan LAB, maya ve küf sayıları logaritma koliform üniteye (cfu/g) çevrilmiştir.

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 (Akyıldız 1984).

3.2.2.2. Hücre Duvarı İçerikleri Analiz Yöntemleri

Çalışmada silaj örneklerinde NDF, ADF ve asit ADL analizleri Van Soest analiz yönteminde öngörülen prensipler doğrultusunda gerçekleştirilmiştir (Close ve Menke 1986).

NDF analizi, hücrenin çözünebilir materyalinin sodyum lauryl sülfat içeren nötral çözücü ile kaynatılarak ekstraksiyonundan sonra hücre duvarı bileşenlerinin filtrasyon aracılığı ile ayrılması esasına dayanır (Close ve Menke 1986). 1 mm' lik elekten geçecek şekilde öğütülmüş yem numunesinden 0.5-1 g bir cam kaba tartılmıştır. Sırasıyla oda sıcaklığındaki 100 ml nötral çözücü solüsyonuna 93 g EDTA ve 34 g sodyum tetra borat tartılarak birlikte geniş bir kaba konmuştur. Distile su ilave edilmiş ve hafifçe ısıtılarak çözülmüştür. Bu çözeltiliye 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 çözeltiliye ilave edilmiş, karıştırılmış ve 5 litreye seyreltilmiştir. Çözelti pH'sı 6.9-7.1 arasında kontrol edilmiştir. Birkaç damla dekalin, 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 sıcaklıkta 4 saat veya 100 °C sıcaklıkta bir gece tutulmuştur. Sonra desikatörde soğutulmuş ve tartılmıştır.

Hesaplama: NDF (g/kg KM) = a-b/Nx 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.

Hesaplama: ADF (g/kg KM) = a-b /N x 1000

a = ADF içeren kuru cam kroze ağırlığı, g

b =Darası alınmış cam krozenin ağırlığı, g

N =numune miktarı, g

ADL analizinde, %72'lik sülfirik asit içeren çözücü solüsyonun (%72'lik H₂SO₄-CTAB) selülozu ayrıştırması ile elde edilen kalıntının kül fırınında yakılması ile kütini 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 sülfirik 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 süzümüştür. 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.

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;

Selüloz (g/kg KM) = ADF - ADL

Hemiselüloz (g/kg KM) = NDF – ADF

3.2.2.3. Enzimde OM Çözünürlüğü Analiz Yöntemleri

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

Yönteme göre, kurutulmuş 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 krozeler) tartılır. Her biri 3'er paralel olacak şekilde tartılan yem örnekleri üzerine 40 °C sıcaklıktaki pepsin+HCl çözeltisinden 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 selüloz+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 OM miktarları aşağıdaki eşitlikler yardımı ile bulunmuştur.

$$\text{Organik madde sindirilebilirliği, \%} = [B_1 - (A_1 - A_2) \times 100] / B_1 - C_1$$

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 400ml 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 75. 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 1L ve 0.5L 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 HCl 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= %25 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 Minitab (2000) paket programı kullanılmıştır.

4. BULGULAR

4.1. ARAŞTIRMA YEMLERİNİN SİLOLAMA ÖNCESİ DEĞERLERİ

4.1.1. Yonca Hasıllarının Silaj Fermantasyonuna Etki Eden Kimi Özelliklerine Ait Bulgular

Araştırmada kullanılan yonca hasıllarına ait kimyasal ve mikrobiyolojik analiz sonuçları Çizelge 4.1’de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Yonca hasıllarına ilişkin kimyasal ve mikrobiyolojik özellikler

Özellikler	Çiçeklenme Başlangıcı	Çiçeklenme Ortası	Çiçeklenme Sonu
KM, %	20,13	22,67	25,04
ADF, % KM	28,20	31,99	34,59
NDF, % KM	39,03	44,59	48,51
HP, % KM	22,76	21,03	18,39
pH	6,05	6,14	7,17
Bc, meq NaOH/kg	427	448	507
SÇK, g/kg KM	33,45	29,57	26,74
<i>Lactobacilli</i> , log ₁₀ cfu/g TM	3,26	3,74	3,40

Bc: Tamponlama kapasitesi; KM: Kuru madde; HP: Ham protein; SÇK: Suda çözünebilir karbonhidratlar; NDF: Nötral çözücülerde çözünmeyen karbonhidratlar; ADF: Asit çözücüde çözünmeyen karbonhidratlar; ADL: Asit çözücüde çözünmeyen lignin; LAB: Laktik asit bakterileri; cfu: Koliform ünite

Çizelgede verildiği gibi, çiçeklenme başlangıcında, ortasında ve sonunda hasat edilen yonca hasıllarının sırasıyla KM içerikleri %20,13, 22,67 ve 25,04; pH değeri 6,05, 6,14 ve 7,17; Bc değerleri 427, 448 ve 507 meq NaOH/kg KM; SÇK içerikleri 33,45, 29,57 ve 26,74 g/kg KM; NDF içerikleri KM’de %39,03, 44,59 ve 48,51; ADF içerikleri %28,20, 31,99 ve 34,59; *lactobacilli* sayıları 3,26, 3,74 ve 3,40 log₁₀ cfu/g TM olarak bulunmuştur.

4.2. ARAŞTIRMA YEMLERİNİN SİLOLAMA SONRASI DEĞERLERİ

4.2.1. Yonca Silajlarının Fermantasyon Özellikleri İle İlgili Bulgular

Araştırmanın 45. gününde gerçekleştirilen açım sonrası silaj örneklerinde kimi özelliklere ait saptanan bulgular Çizelge 4.2’de sunulmuştur.

Çizelge 4.2. Yonca silajlarında kimyasal analiz sonuçları

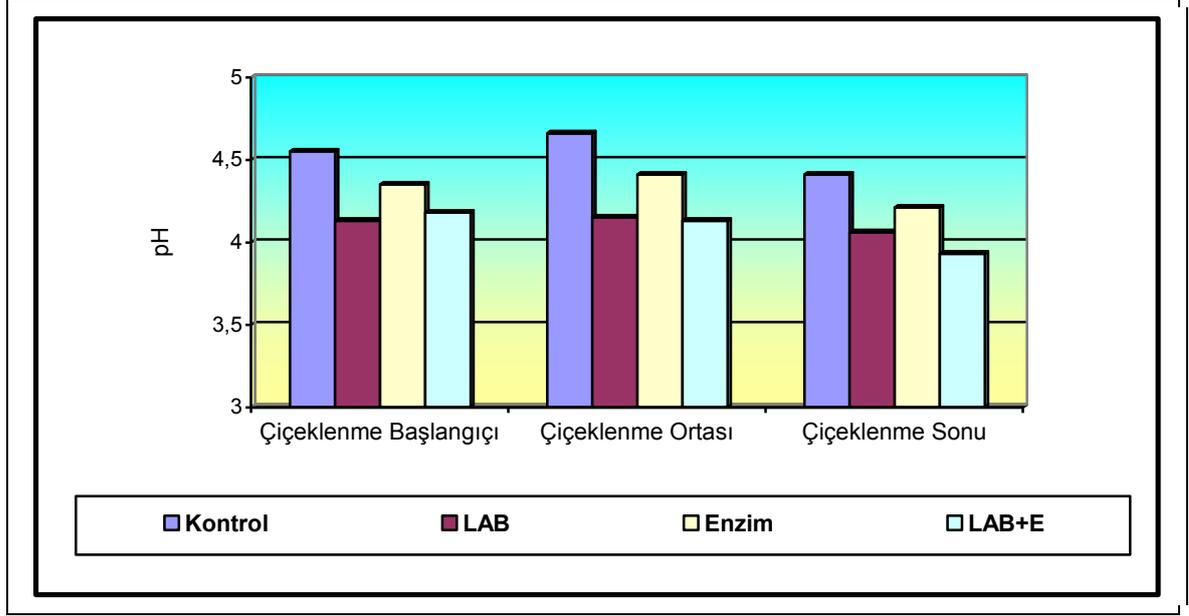
Uygulama	pH	KM, %	SÇK, g/kg KM	NH ₃ -N, g/kg TN	HP, % KM	LA, % KM	AA, % KM	
ÇB	Kontrol	4,55±0,05a	19,62±0,37	16,56±0,52ab	82,93±3,87a	22,02±0,27	39,83±0,94b	24,38±0,96a
	LAB	4,13±0,03c	19,61±0,34	13,98±1,48b	65,68±6,64b	21,54±0,25	52,47±0,71a	13,40±0,50c
	E	4,35±0,05b	19,40±0,47	14,70±0,53b	65,33±4,67b	22,04±0,30	49,79±1,39a	18,38±1,08b
	LAB+E	4,18±0,04c	19,79±0,42	17,83±0,59a	56,40±4,23b	21,84±0,30	49,48±1,18a	15,19±0,96c
ÇO	Kontrol	4,66±0,04a	21,13±0,54	13,77±0,34c	94,24±4,40a	20,08±0,15	33,06±0,78c	20,52±1,24
	LAB	4,15±0,02c	22,30±0,55	13,09±0,96c	57,93±1,69c	20,26±0,46	46,70±0,63a	19,13±0,58
	E	4,41±0,03b	22,34±0,33	18,50±0,45a	69,87±3,46b	20,03±0,39	41,82±1,17b	19,49±1,12
	LAB+E	4,13±0,05c	22,20±0,27	16,38±0,44b	62,63±1,19bc	21,00±0,70	46,51±1,11a	18,18±0,97
ÇS	Kontrol	4,41±0,03a	24,21±0,22	17,08±0,61b	80,56±3,30a	17,70±0,21	33,50±0,77c	21,97±1,34a
	LAB	4,06±0,02c	24,50±0,26	19,80±1,02ab	50,82±2,11b	18,66±0,50	41,28±0,84a	10,26±0,26c
	E	4,21±0,04b	24,31±0,28	19,13±1,08ab	62,99±7,76b	18,26±0,37	36,74±1,01b	14,48±0,58b
	LAB+E	3,93±0,03d	24,62±0,47	20,43±0,84a	55,10±3,11b	18,60±0,40	38,52±1,33ab	12,83±1,32bc
SEM	0,005		2,602	73,188	0,593	4,143	3,753	
D	0,0001		0,0001	0,022	0,0001	0,0001	0,0001	
K	0,0001		0,001	0,0001	0,375	0,0001	0,0001	
DxK	0,115		0,001	0,398	0,443	0,003	0,0001	

KM: kuru madde; SÇK: suda çözünebilir karbonhidratlar; NH₃-N: amonyak azotu; AA: asetik asit; LA: laktik asit; D: Dönem; LAB: laktik asit bakterileri; E: enzim; LAB+E: laktik asit bakterileri+enzim; K: Katkı Maddesi; ÇB: Çiçeklenme başlangıcı; ÇB: Çiçeklenme ortası; ÇB: Çiçeklenme sonu.

*Aynı satırda farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılıklar önemlidir, P<0.05

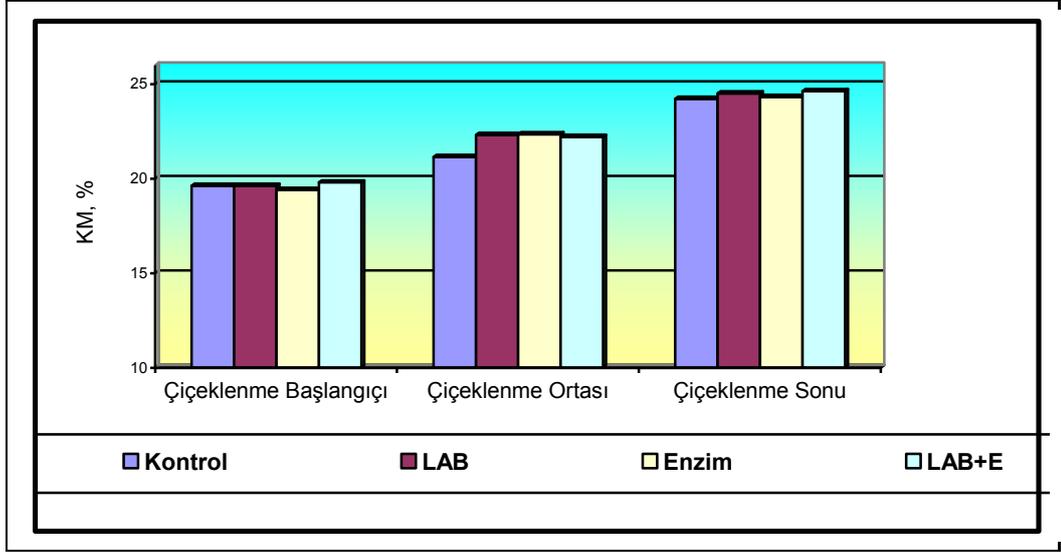
Aerobik fermantasyonun ilk aşamalarında, amaca uygun laktik asit fermantasyonunun gelişebilmesi bakımından önem taşıyan kitle pH’ındaki değişimlerin yanı sıra, son ürünün sahip olduğu pH değeri de silaj KM tüketimi üzerinde önemli etkilere sahiptir. Çeşitli bildirişlerde bu açıdan önerilen değerlerin 4.3-4.7 arasında değişim gösterdiği gözlenmektedir (Phipps 1986). En yüksek pH değerinin 4.66 ile çiçeklenme ortası kontrol grubunda, en düşük pH değerinin ise 3.93 ile çiçeklenme sonu LAB+enzim katkılı grupta elde

edildiği çalışmada (Şekil 4.2.1.), vejetasyon dönemi ve LAB+enzim katkısının pH değerleri üzerinde istatistiksel anlamda önemli olduğu ($P<0.001$), dönemXLAB+enzim katkısı interaksiyonunun önemli bir fark oluşturmadığı saptanmıştır ($P>0.05$).



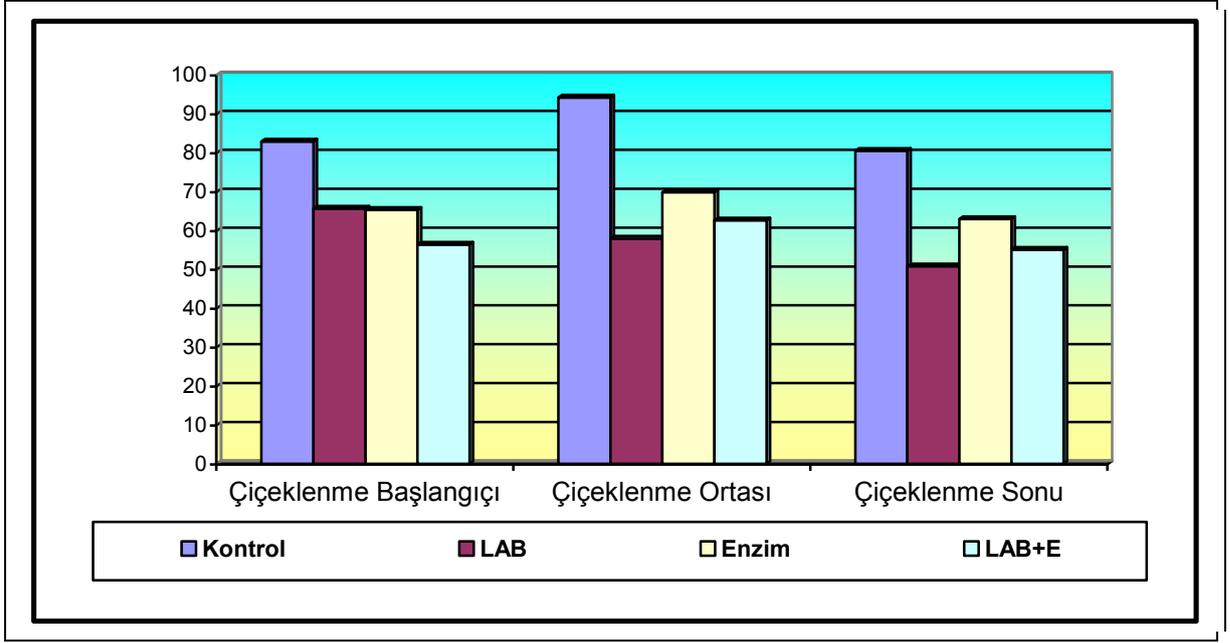
Şekil 4.1. Araştırmada muamele gruplarında saptanan pH düzeyleri

Çizelge 4.1. ve Çizelge 4.2'den de görüldüğü gibi, silolama öncesi çiçeklenme başlangıcında, ortasında ve sonunda sırasıyla %20,13, 22,67 ve 25.04 olarak saptanan yonca hasıllarının KM düzeyleri 45 günlük silolama sonrasında tüm muamele gruplarında düşüş göstermiştir. En yüksek KM içeriğinin %24,62 ile çiçeklenme sonu döneminde LAB+enzim katkı maddesi kullanılan grupta, en düşük KM içeriği ise %19,40 ile çiçeklenme başlangıcı döneminde enzim grubunda elde edildiği çalışmada (Şekil 4.2.2), vejetasyon dönemi ($P<0.001$) silajların KM içerikleri üzerinde etkili olduğu ve gruplar arasındaki farklılıkların istatistiksel anlamda önemli düzeyde olduğu saptanmıştır.



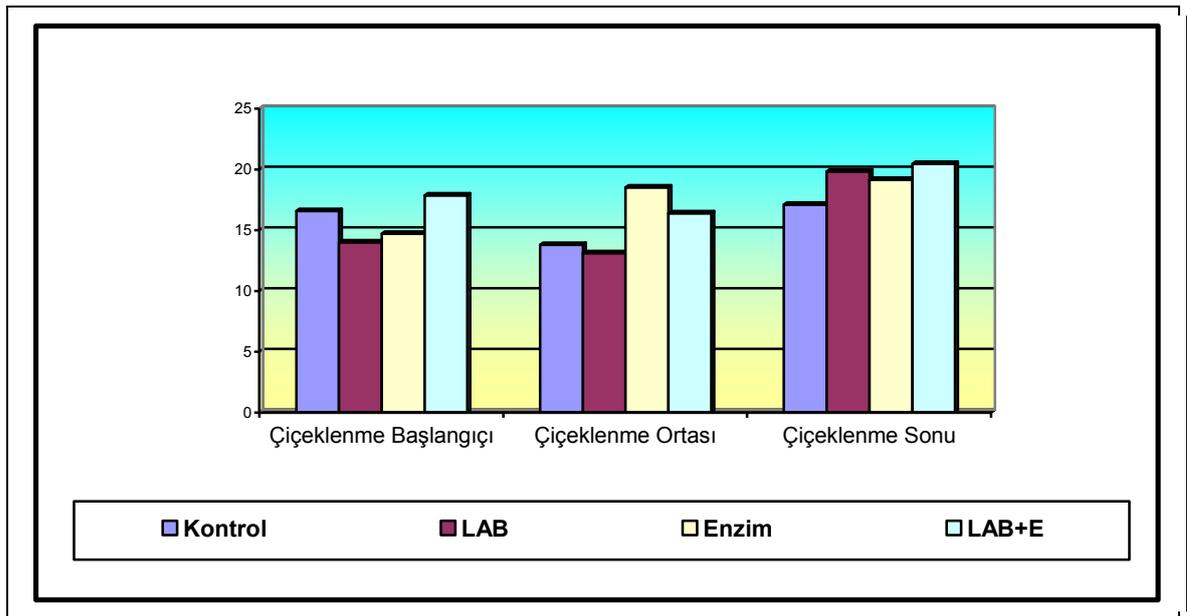
Şekil 4.2. Araştırmada muamele gruplarında saptanan KM düzeyleri

Silajı yapılacak kitlenin kapatılması sonrasında da, proteinlerin bitkisel enzimler aracılığı ile parçalanımı devam eder. Proteolitik aktivitenin boyutları ve bu bağlamda da proteinlerin yıkım miktarı ortamdaki asidik koşullarla ilişkili olup, silolamanın başlangıcındaki kritik dönemde pH değerindeki düşüşün hızı önemli bir faktördür (Petterson 1988, Mc Donald ve ark. 1991, Davies ve ark. 1998). Çalışmada protein parçalanımının bir ölçütü olarak ele alınan $\text{NH}_3\text{-N}$ içerikleri bakımından muamele gruplarında saptanan değerler incelendiğinde, en yüksek $\text{NH}_3\text{-N}$ içeriğinin 94.24 g/kg TN ile çiçeklenme ortası kontrol grubunda, en düşük $\text{NH}_3\text{-N}$ içeriği ise 50.82 g/kg TN ile çiçeklenme sonu dönemi LAB katkılı grupta elde edildiği çalışmada (Şekil 4.2.3.), gruplar arasındaki farklılıklarda vejetasyon dönemi önemsiz, katkı maddesi kullanımının ($P < 0.01$) istatistiksel olarak önemli olduğu, dönem*katkı maddesi interaksyonunun ($P > 0.05$) önemli farklılıklar oluşturmadığı belirlenmiştir.



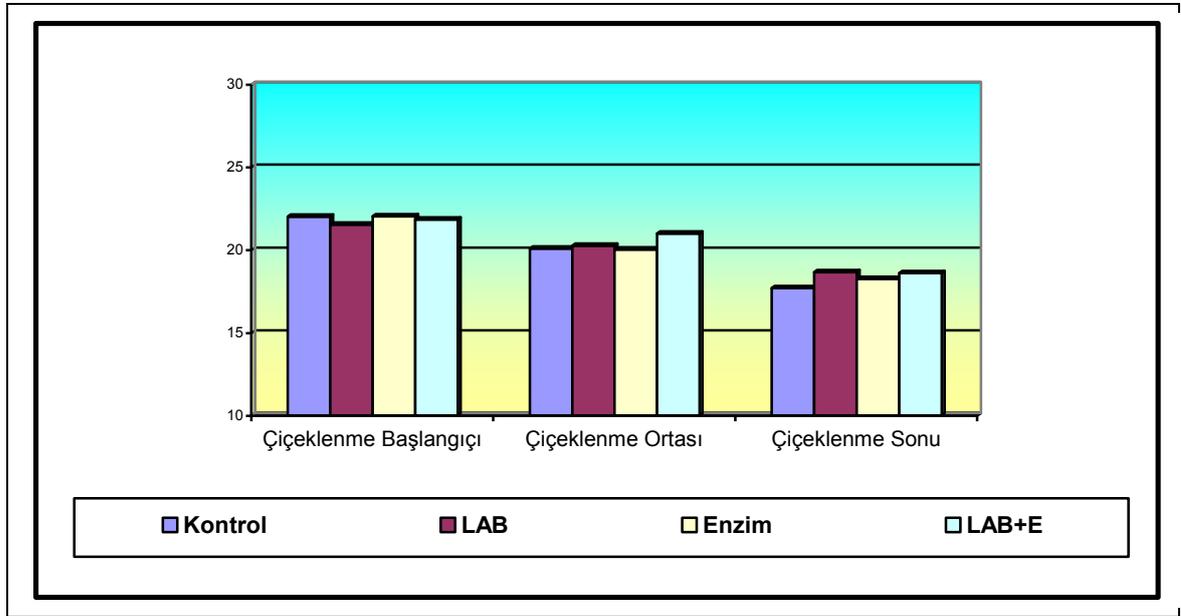
Şekil 4.3. Araştırmada muamele gruplarında saptanan $\text{NH}_3\text{-N}$ düzeyleri

SÇK içerikleri bakımından muamele gruplarında saptanan değerler incelendiğinde, en yüksek SÇK içeriğinin 20.43 g/kg KM ile çiçeklenme sonu dönemi LAB+enzim katkı maddesi kullanılan grupta, en düşük SÇK içeriği ise 13.09 g/kg KM ile çiçeklenme ortası LAB grubunda elde edildiği çalışmada (Şekil 4.2.4.), gruplar arasındaki farklılıklarda vejetasyon dönemi ($P < 0.001$) ve katkı maddesi kullanımının ($P < 0.01$) dönem*katkı maddesi etkileşiminin ($P < 0.005$) istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir.



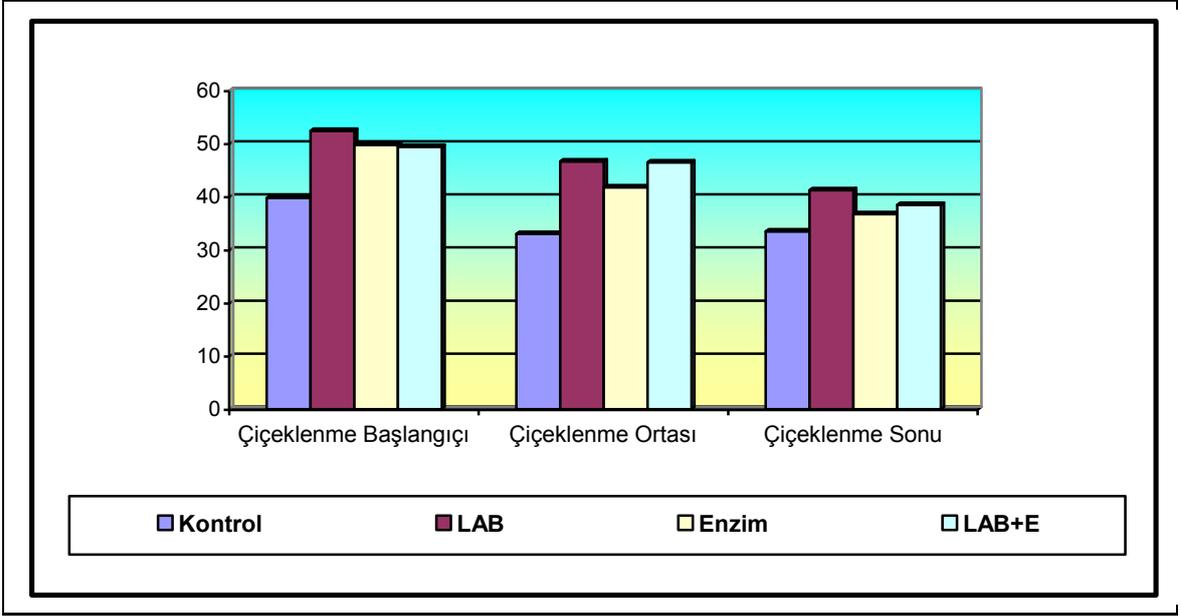
Şekil 4.4. Araştırmada muamele gruplarında saptanan SÇK düzeyleri

HP içerikleri bakımından muamele gruplarında saptanan değerler incelendiğinde, en yüksek HP içeriğinin %22.02 ile çiçeklenme başlangıcı dönemi kontrol grubunda, en düşük HP içeriği ise %17.70 ile çiçeklenme sonu kontrol grubunda elde edildiği çalışmada (Şekil 4.2.5.), gruplar arasındaki farklılıklarda vejetasyon döneminin ($P<0.001$) ve katkı maddesi kullanımının ($P<0.01$) önemli, dönem*katkı maddesi interaksiyonunun ($P>0.005$) istatistiksel olarak önemsiz olduğu belirlenmiştir.



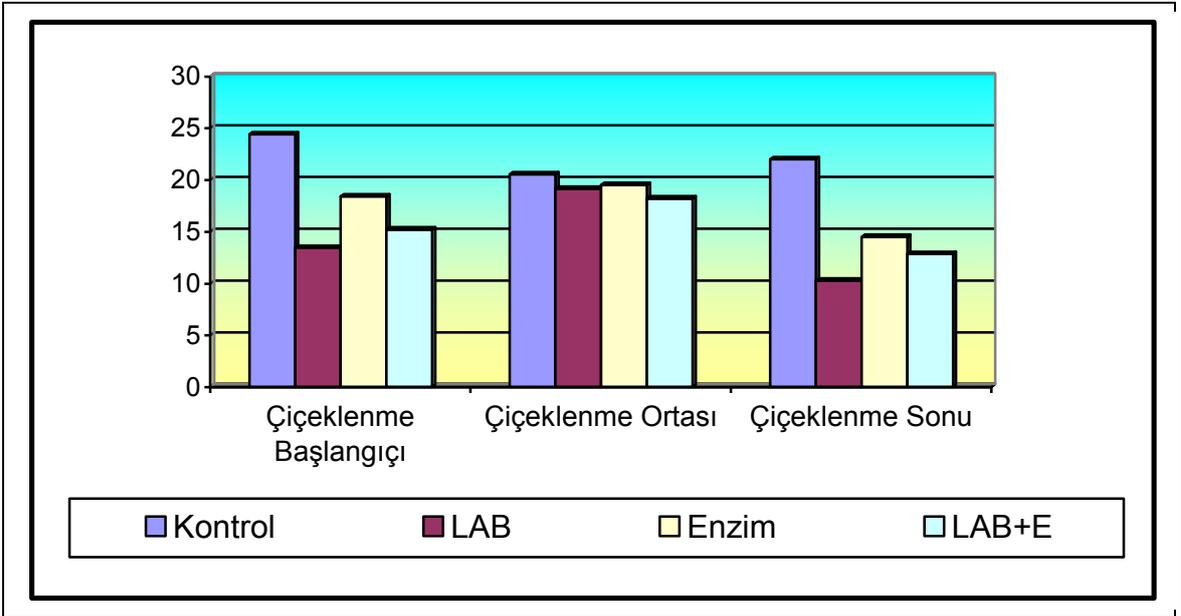
Şekil 4.5. Araştırmada muamele gruplarında saptanan HP düzeyleri

Laktik asit içerikleri bakımından muamele gruplarında saptanan değerler incelendiğinde, en yüksek LA içeriğinin 52.47 g/kg KM ile çiçeklenme başlangıcı dönemi LAB katkı maddesi olan grupta, en düşük LA içeriği ise 33.06 g/kg KM ile çiçeklenme ortası kontrol grubunda elde edildiği çalışmada (Şekil 4.2.6.), gruplar arasındaki farklılıklarda vejetasyon döneminin ($P<0.001$) ve katkı maddesi kullanımının ($P<0.01$) önemli, dönem*katkı maddesi interaksiyonunun ($P>0.005$) istatistiksel olarak önemsiz olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.6. Araştırmada muamele gruplarında saptanan LA düzeyleri

Asetik asit içerikleri bakımından muamele gruplarında saptanan değerler incelendiğinde, en yüksek AA içeriğinin 24.38 g/kg KM ile çiçeklenme başlangıcı dönemi kontrol grubunda, en düşük AA içeriği ise 10.26 g/kg KM ile çiçeklenme sonu LAB katkı maddeli grupta elde edildiği çalışmada (Şekil 4.2.7.), gruplar arasındaki farklılıklarda vejetasyon döneminin ($P<0.001$), katkı maddesi kullanımının ($P<0.01$) ve dönem*katkı maddesi etkisinin ($P<0.005$) önemli olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.7. Araştırmada muamele gruplarında saptanan AA düzeyleri

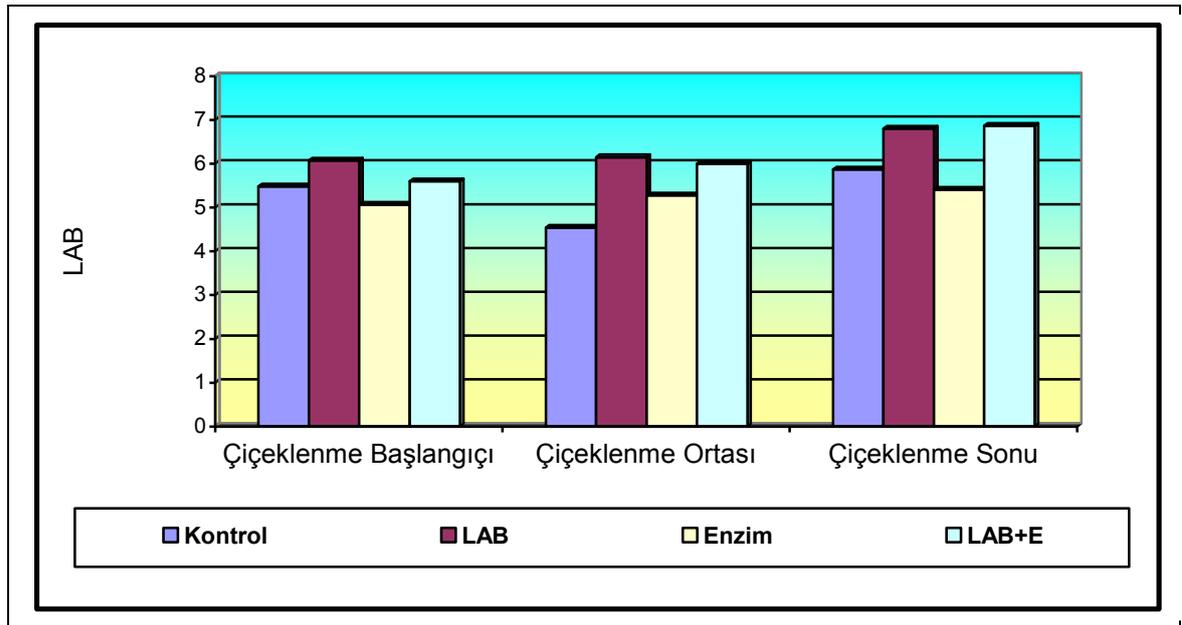
4.2.2. Yonca Silajlarının Mikrobiyolojik Özellikleri İle İlgili Bulgular

Araştırmanın 45. gününde gerçekleştirilen açım sonrası silaj örneklerinde mikrobiyolojik analizlere ait bulgular Çizelge 4.3’de sunulmuştur.

Çizelge 4.3. Yonca silajlarında mikrobiyolojik analiz sonuçları, \log_{10} cfu/g TM

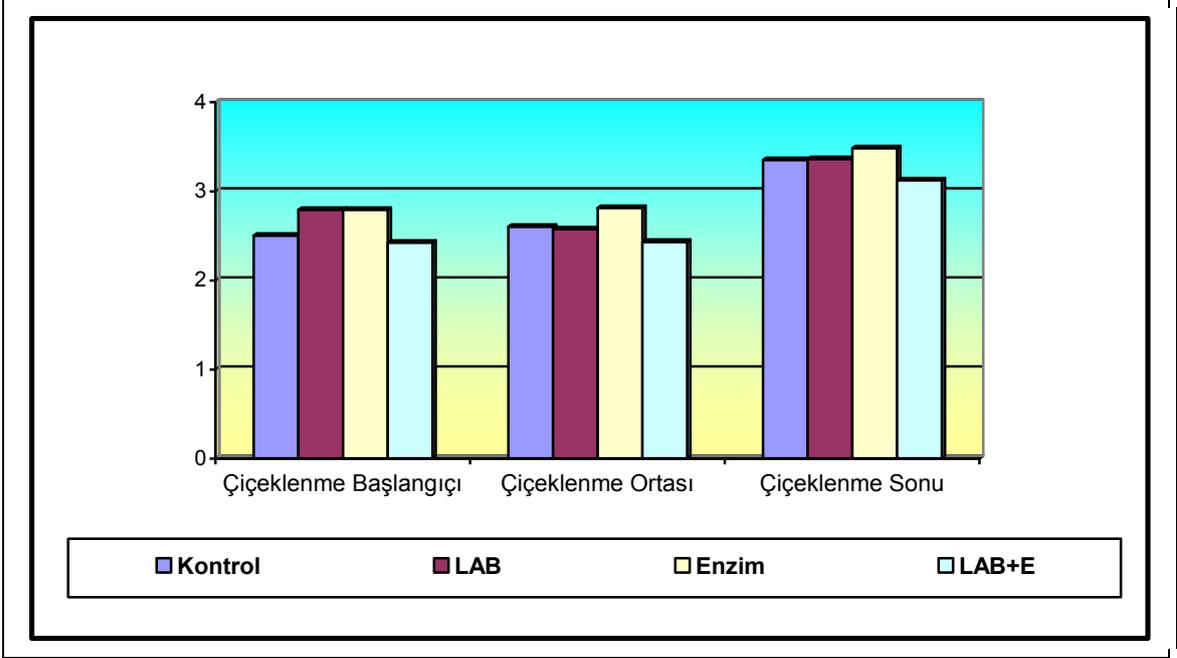
Uygulama	<i>Lactobacilli</i>	Maya	Küf	
ÇB	Kontrol	5,47±0,21ab	2,50±0,13	2,40±0,12
	LAB	6,06±0,26a	2,79±0,24	2,42±0,19
	E	5,06±0,15b	2,79±0,24	2,86±0,29
	LAB+E	5,59±0,09ab	2,42±0,20	2,37±0,20
ÇO	Kontrol	4,53±0,22c	2,60±0,06	2,60±0,11a
	LAB	6,14±0,10a	2,57±0,16	2,22±0,09b
	E	5,27±0,18b	2,81±0,23	2,67±0,14a
	LAB+E	5,99±0,15a	2,43±0,07	2,39±0,08ab
ÇO	Kontrol	5,86±0,22b	3,35±0,26	2,48±0,28
	LAB	6,79±0,18a	3,36±0,17	2,38±0,23
	E	5,40±0,19b	3,48±0,29	2,65±0,25
	LAB+E	6,86±0,15a	3,12±0,32	2,16±0,15
SEM	0,132	0,179	0,144	
D	<0,001	<0,001	0,779	
K	<0,001	0,201	0,042	
DxK	0,004	0,991	0,883	

LAB: laktik asit bakterileri; E: Enzim; LAB+E: laktik asit bakterileri+enzim, D: Dönem; K: Katkı maddesi; ÇB: Çiçeklenme başlangıcı; ÇO: Çiçeklenme ortası; ÇS: Çiçeklenme sonu.



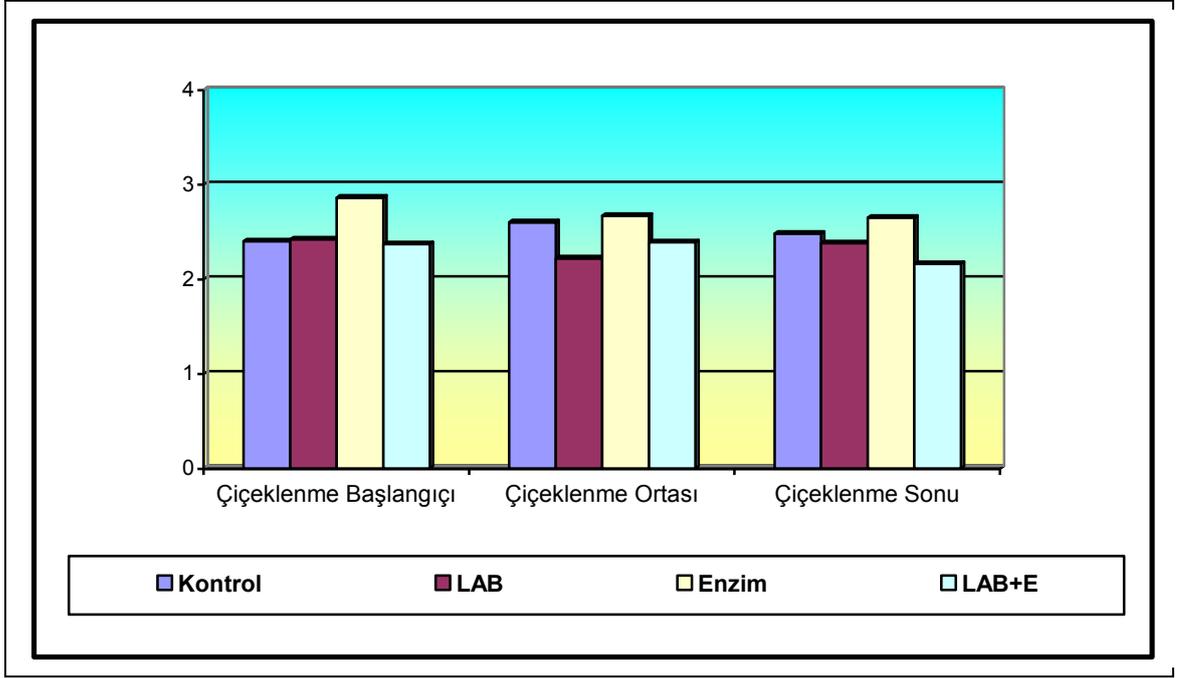
Şekil 4.8. Araştırmada muamele gruplarında saptanan *lactobacilli* düzeyleri

Çalışmada silaj kalitesi bakımından önem taşıyan *lactobacilli* sayısına ilişkin olarak saptanan değerler incelendiğinde, en yüksek değer 6.86 \log_{10} cfu/g ile çiçeklenme sonu LAB+enzim katkı maddesi kullanılan grupta, en düşük değer ise 5.06 \log_{10} cfu/g ile çiçeklenme başlangıcı dönemi enzim grubunda elde edildiği çalışmada, gruplar arasındaki farklılıklarda katkı maddesi ($P<0,001$), vejetasyon dönemi ($P<0.001$) ve dönemXkatkı maddesi interaksiyonunun ($P<0.004$) istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.9. Araştırmada muamele gruplarında saptanan maya düzeyleri

En yüksek maya sayısı 3.48 \log_{10} cfu/g ile çiçeklenme sonu dönemi Enzim kullanılan grupta, en düşük maya sayısı ise 2.42 \log_{10} cfu/g ile çiçeklenme başlangıcı LAB+Enzim grubunda elde edilmiştir. Muamele grupları arasındaki farklılıklarda katkı maddesi kullanımının ($P<0.01$) istatistiksel olarak önemli olduğu, vejetasyon dönemi ($P<0.001$) ve dönemXkatkı maddesi interaksiyonunun ($P>0.05$) önemli farklılıklar oluşturmadığı belirlenmiştir.



Şekil 4.10. Araştırmada muamele gruplarında saptanan küf düzeyleri

En yüksek küf sayısı 2.86 \log_{10} cfu/g ile çiçeklenme başlangıcı döneminde Enzim grubunda, en düşük küf sayısı ise 2.16 \log_{10} cfu/g ile çiçeklenme sonu dönemi LAB+enzim katkı maddesi kullanılan grupta elde edilmiştir. Muamele grupları arasındaki farklılıklarda vejetasyon dönemi, katkı maddesi kullanımının ve dönemXkatkı maddesi interaksyonunun önemli farklılıklar oluşturmadığı belirlenmiştir ($P>0.05$).

4.2.3. Silajların Aerobik Stabiliteleri

Silolamanın son döneminde açılan silajlara ait 5 günlük aerobik stabilite testi sonuçları Çizelge 4.4' de verilmiştir. Hava ile temas ettikleri bu 5 günlük süre içerisinde, silajların pH değerleri bakımından vejetasyon dönemlerinin istatistiksel olarak önemli, katkı maddesi kullanımı ve dönemXkatkı maddesi interaksyonunun önemli olmadığı görülmüştür. Karbondioksit üretimi, maya ve küf yoğunlukları bakımından muamele grupları arasındaki farklılıklar ise önemsiz düzeyde olduğu bulunmuştur ($P>0.05$).

Çizelge 4.4. Yonca silajlarının aerobik stabilite test sonuçları

	Uygulama	pH	CO ₂ , g/kg KM	Maya, log ₁₀ cfu/g	Küf, log ₁₀ cfu/g
ÇB	Kontrol	5,30±0,19	29,57±2,30	5,92±0,15	5,92±0,24
	LAB	5,12±0,07	24,28±2,50	5,82±0,13	5,68±0,19
	E	5,16±0,07	27,23±1,53	5,68±0,11	5,73±0,15
	LAB+E	5,17±0,06	26,63±1,92	5,88±0,13	5,60±0,16
ÇO	Kontrol	5,65±0,14	27,22±1,61	6,00±0,12	6,01±0,20
	LAB	5,45±0,11	23,22±2,60	5,67±0,13	5,71±0,12
	E	5,71±0,04	28,33±1,54	6,10±0,13	5,64±0,15
	LAB+E	5,65±0,05	24,54±2,07	5,92±0,10	5,81±0,19
ÇS	Kontrol	5,64±0,05	26,29±2,91	6,07±0,14	5,46±0,11
	LAB	5,61±0,07	22,00±1,16	5,94±0,11	5,74±0,17
	E	5,76±0,11	23,17±1,26	5,97±0,10	5,82±0,15
	LAB+E	5,91±0,11	21,35±0,75	5,79±0,08	5,48±0,13
SEM		0,039	1,888	0,058	0,111
D		<0,001	0,029	0,340	0,377
K		<0,121	0,028	0,293	0,684
DxK		0,474	0,071	0,257	0,354

LAB: laktik asit bakterileri; E: Enzim; LAB+E: laktik asit bakterileri+enzim, D: Dönem; K: Katkı maddesi; ÇB: Çiçeklenme başlangıcı; ÇO: Çiçeklenme ortası; ÇS: Çiçeklenme sonu.

KM: kuru madde; CO₂: karbondioksit; log₁₀ cfu: logaritma koloniform ünite; LAB, laktik asit bakteri inokulantı; E: Enzim; LAB+E, laktik asit bakteri+enzim karışımı

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

4.2.4. Yonca Silajlarının Hücre Duvarı Bileşenlerine Ait Bulgular

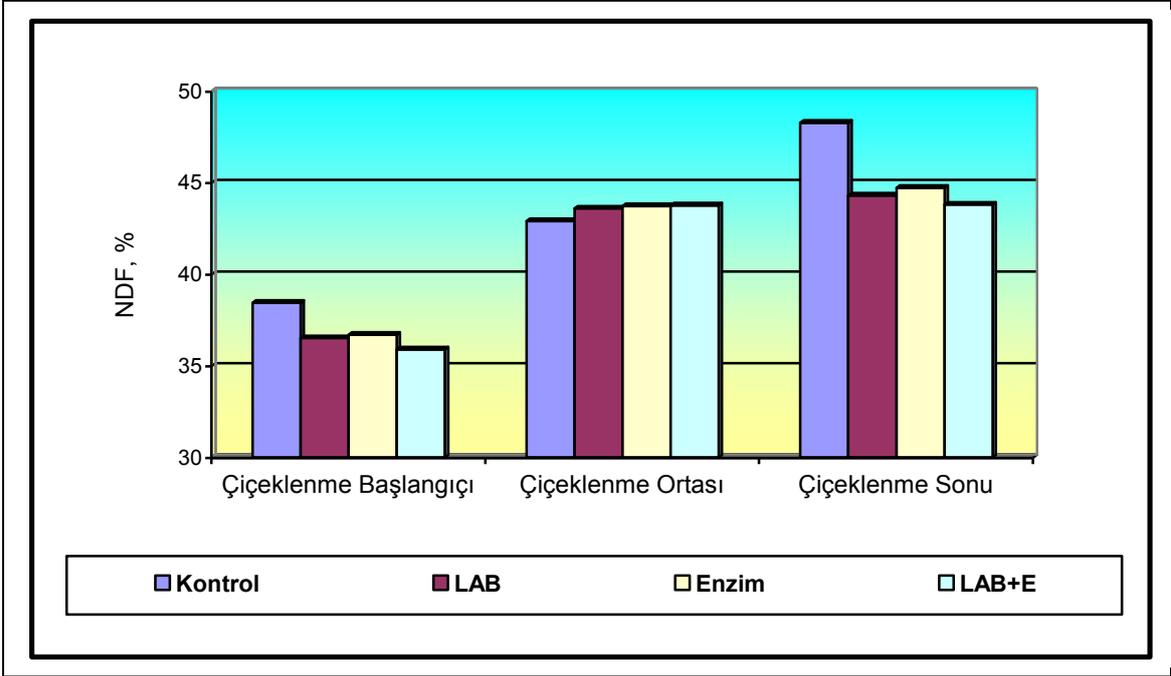
Araştırmanın 45. gününde gerçekleştirilen açım sonrası silaj örneklerinde hücre duvarı bileşenleri analizlerine ait bulgular Çizelge 4.4. ve Şekil 4.8’de sunulmuştur.

Çizelge 4.5. Yonca silajlarında hücre duvarı bileşenlerine ait analiz sonuçları, % KM

	Uygulama	NDF	ADF	ADL	HSEL	SELÜLOZ
ÇB	Kontrol	38,45±0,50a	28,50±0,44a	4,16±0,19	9,95±0,43	24,34±0,41a
	LAB	36,52±0,34b	27,03±0,58ab	4,29±0,10	9,49±0,79	22,74±0,57b
	E	36,71±0,72b	26,81±0,58b	4,13±0,10	9,90±1,04	22,68±0,64b
	LAB+E	35,90±0,41b	25,89±0,32b	4,13±0,19	10,00±0,65	21,77±0,38b
ÇO	Kontrol	42,91±0,43	32,50±0,48	7,38±0,29a	10,41±0,63b	25,12±0,72
	LAB	43,60±0,42	31,17±0,68	6,89±0,07ab	12,43±0,86a	24,29±0,67
	E	43,73±0,51	31,80±0,44	6,39±0,14b	11,93±0,26ab	25,42±0,46
	LAB+E	43,77±0,50	31,60±0,56	6,47±0,16b	12,18±0,29ab	25,12±0,71
ÇS	Kontrol	48,28±0,31a	35,46±0,68a	6,70±0,27	12,82±0,62a	28,76±0,53a
	LAB	44,31±0,30b	34,30±0,77ab	7,31±0,36	10,02±0,90b	26,99±0,44ab
	E	44,72±0,52b	33,31±0,52b	6,88±0,24	11,42±0,22ab	26,43±0,64b
	LAB+E	43,81±0,41b	32,69±0,61b	7,00±0,40	11,12±0,24ab	25,69±0,84b
SE		0,853	1,291	0,215	1,640	1,443
M						
D		<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
K		<0,001	<0,001	0,198	0,790	0,004
DxK		<0,001	0,494	0,133	0,039	0,170

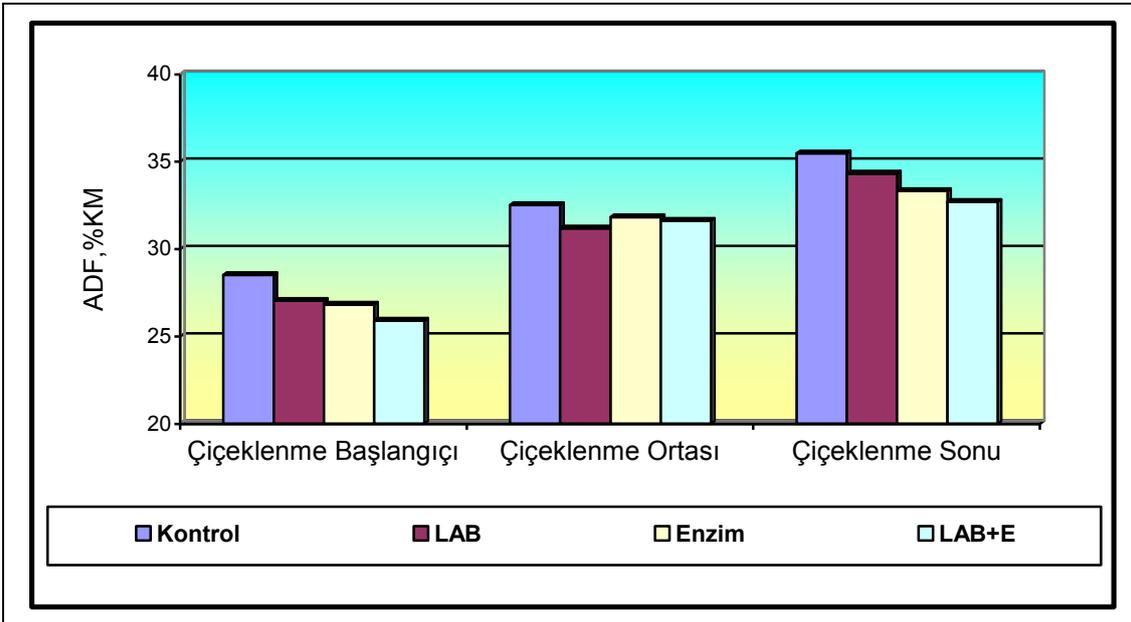
NDF: Nötral çözücülerde çözünmeyen karbonhidratlar; ADF: asit çözünmeyen karbonhidratlar; ADL: asit çözücülerde çözünmeyen lignin; Hemiselüloz: NDF-ADF; Selüloz: ADF-ADL; LAB: laktik asit bakterileri; E: Enzim; LAB+E: laktik asit bakterileri+enzim, D: Dönem; K: Katkı maddesi; ÇB: Çiçeklenme başlangıcı; ÇO: Çiçeklenme ortası; ÇS: Çiçeklenme sonu.

*Aynı sütunda farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılıklar önemlidir, P<0.05



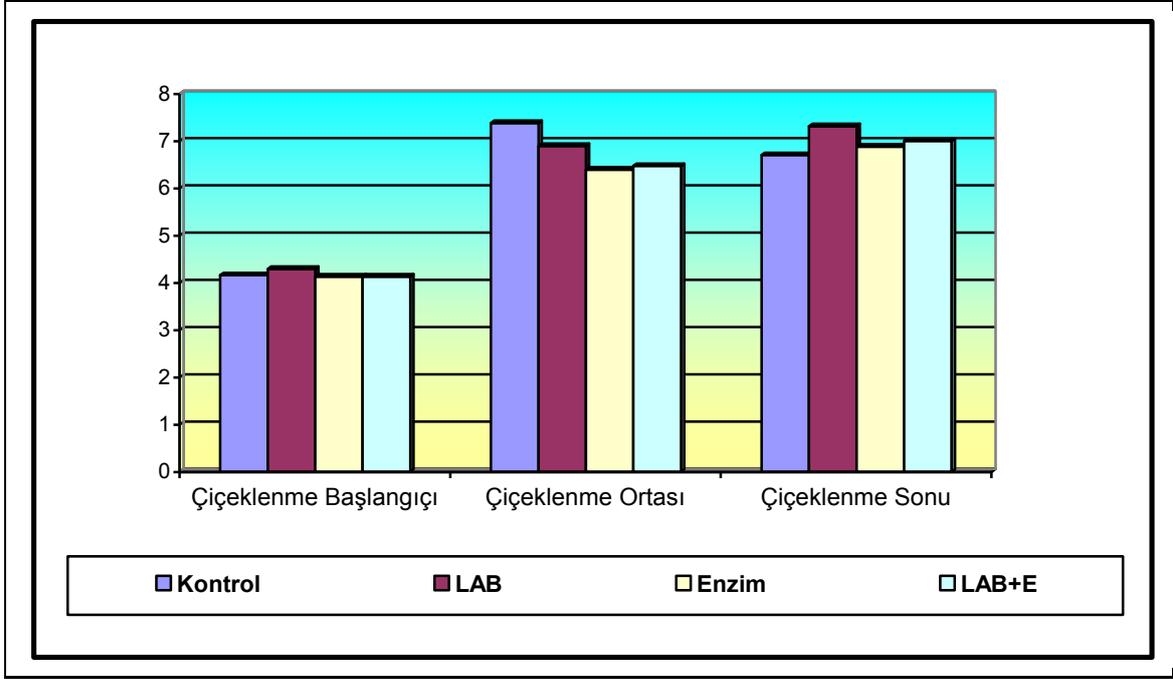
Şekil 4.11. Yonca silajlarının NDF miktarları

Verilerde NDF miktarlarının çiçeklenme dönemindeki değerleri incelendiğinde, en yüksek NDF miktarının %48.28 ile çiçeklenme sonu dönemi kontrol grubunda görülmüştür. En düşük düzeyin de çiçeklenme başlangıcı döneminde %35.90 ile LAB+Enzim grubunda olduğu saptanmıştır. Muamele grupları arasındaki farklılıklarda katkı maddesi kullanımının ($P<0.001$), vejetasyon dönemi ($P<0.001$) ve dönemXkatkı maddesi interaksyonunun ($P<0.001$) istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir.



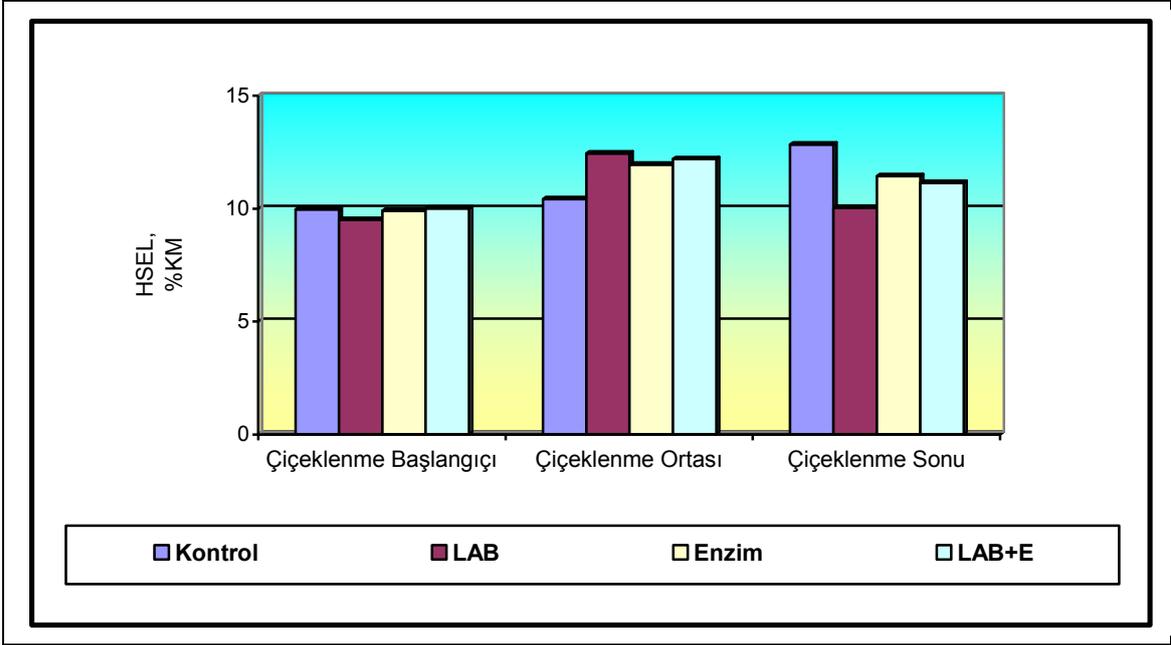
Şekil 4.12. Yonca silajlarının ADF miktarları

Çiçeklenme dönemlerinde ADF miktarlarının bulgularında en yüksek miktarın %35.46 ile çiçeklenme sonunda kontrol grubunda olduğu gözlenmiştir. En düşük miktarın da %25.89 ile çiçeklenme başlangıcında LAB+Enzim katkı maddesi eklenmiş grupta olduğu saptanmıştır. Muamele grupları arasındaki farklılıklarda katkı maddesi kullanımının ($P<0.001$) ve vejetasyon dönemi ($P<0.001$) için önemli, dönemXkatkı maddesi interaksyonunun ($P>0.05$) önemli farklılıklar oluşturmadığı belirlenmiştir.



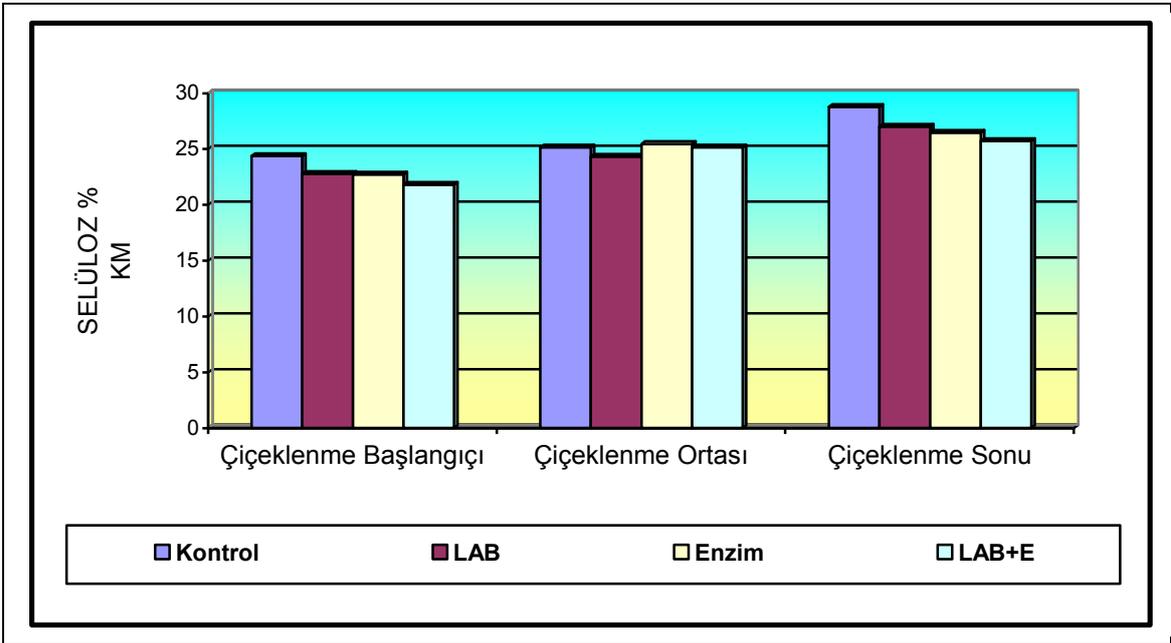
Şekil 4.13. Yonca silajlarının ADL miktarları

Çiçeklenme dönemlerinde ADL miktarlarının bulgularında en yüksek miktarın %7.38 ile çiçeklenme ortasında kontrol grubunda olduğu gözlenmiştir. En düşük miktarların da Enzim ve LAB+Enzim gruplarında %4.13 ile çiçeklenme başlangıcı döneminde görülmüştür. Muamele grupları arasındaki farklılıklarda katkı maddesi kullanımının ($P<0.001$) için önemli, vejetasyon dönemi ($P>0.05$) ve dönemXkatkı maddesi interaksyonunun ($P>0.05$) önemli farklılıklar oluşturmadığı belirlenmiştir.



Şekil 4.14. Yonca silajlarının hemiselüloz miktarları

Çiçeklenme dönemlerinde hemiselüloz miktarlarının bulgularında en yüksek miktarın %12.82 ile çiçeklenme sonu döneminde kontrol grubunda, en düşük değer ise %9.49 ile çiçeklenme başlangıcı döneminde LAB katkı maddeli grupta olduğu gözlenmiştir. Muamele grupları arasındaki farklılıklarda katkı maddesi kullanımının ($P < 0.001$) için önemli, vejetasyon dönemi ($P > 0.05$) ve dönem \times katkı maddesi interaksyonunun ($P > 0.05$) önemli farklılıklar oluşturmadığı belirlenmiştir.



Şekil 4.15. Yonca silajlarının selüloz miktarları

Çiçeklenme dönemlerinde selüloz miktarlarının bulgularında en yüksek miktarın %28.76 ile çiçeklenme sonu döneminde kontrol grubunda olduğu gözlenmiştir. En düşük değerin ise %21.77 ile çiçeklenme başlangıcı döneminde LAB+Enzim katkı maddeli grupta olduğu saptanmıştır. Muamele grupları arasındaki farklılıklarda katkı maddesi kullanımının ($P<0.001$) için önemli, vejetasyon dönemi ($P>0.05$) ve dönemXkatkı maddesi interaksyonunun ($P>0.05$) önemli farklılıklar oluşturmadığı belirlenmiştir.

4.2.5. Yonca Silajlarının Enzimatik Yöntem ile OM Sindirilebilirliğine Ait Bulgular

Araştırmanın 45. gününde gerçekleştirilen açım sonrası silaj örneklerinde *in vitro* OM sindirilebilirliğine ait analiz sonuçları Çizelge 4.5’de sunulmuştur.

Çizelge 4.6. Yonca silajlarının *in vitro* OM sindirilebilirlik özellikleri, (%)

	Uygulama	OMS
ÇB	Kontrol	62,08
	LAB	61,97
	E	62,58
	LAB+E	63,40
ÇO	Kontrol	60,74
	LAB	61,23
	E	61,50
	LAB+E	62,60
ÇS	Kontrol	57,23
	LAB	58,32
	E	58,73
	LAB+E	59,18
SEM		
DÖNEM		0,006
KATKI		0,079
DxK		0,325

OMS: Organik madde sindirilebilirliği; D: Dönem; LAB: laktik asit bakterileri; E: Enzim; LAB+E: laktik asit bakterileri+enzim; ÇB: Çiçeklenme başlangıcı; ÇO: Çiçeklenme ortası; ÇS: Çiçeklenme sonu.

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

Çizelgede verildiği gibi, çiçeklenme başlangıcı döneminde kontrol, LAB, enzim ve LAB+enzim katkı maddesi kullanılan gruplarda *in vitro* OM sindirilebilirliği sırasıyla

%62,08, 61,97, 62,58 ve 63,40; çiçeklenme ortasında %60,74, 61,23, 61,50 ve 62,60; çiçeklenme sonunda ise %57,23, 58,32, 58,73 ve 59,18 olarak bulunmuştur.

Organik madde sindirilebilirliğine ilişkin olarak saptanan değerler incelendiğinde, en yüksek OM sindirilebilirliği çiçeklenme başında %63,40 ile LAB+enzim grubunda, en düşük değerin ise çiçeklenme sonunda %57.23 ile kontrol grubunda elde edildiği çalışmada, gruplar arasındaki farklılıklarda vejetasyon dönemi ($P<0.001$) istatistiksel anlamda önemli bulunduğunu, katkı maddesi ve vejetasyon dönemiXkatkı maddesi interaksyonunun ise önemli farklılıklar oluşturmadığı belirlenmiştir ($P>0.05$).

5. TARTIŞMA

Uygun saklama koşullarının gerçekleştirilmesi sonrasında elde edilecek silo yeminde kalite ve bağlamında da değeri üzerinde etkili olabilecek temel faktörler silajı yapılacak taze materyalin kimi özelliklerce sahip olduğu değerlerle ilişkilidir. Bitkisel materyalin sahip olduğu ham besin maddeleri miktarı bir tarafa bırakılacak olursa KM, pH, SÇK kapsamı ve çoğu durumda da epifitik mikroorganizma yoğunluğunun bu anlamda ön plana çıktığı söylenebilir. Yetiştiriciliği yapılan çeşit ve hasat için seçilen dönem silajlık buğdayda KM ve diğer ham besin madde kapsamı üzerinde etkili olan başlıca faktörlerdir.

Çalışmada çiçeklenme başlangıcı, çiçeklenme ortası ve çiçeklenme sonunda hasat edilen yoncada KM içerikleri sırasıyla 20,13, 22,67 ve 25,04 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.1.). Kır ve Soya (2008), vejetasyonun %10-25 çiçeklenme döneminde hasat ettikleri mera tipi 5 yonca çeşidi (Osam, Victoria, Cinna, Mielga, Kayseri)'nin KM sırasıyla %19.15-21.52 ve arasında saptamışlardır. Akbari ve Avcıoğlu (1992) ise yonca çeşitlerinin KM içeriklerinin %19.8-25.1 arasında değiştiğini belirtmişlerdir. Aksoy ve Yılmaz (2003) yapmış oldukları bir araştırmada; birinci ve ikinci biçim dönemlerinde hasat ettikleri sekiz yonca varyetesinin, in vitro KM ve organik madde sindirilme derecesinin ise sırasıyla %45.65-58.50 ve %39.04-54.21 arasında değiştiğini bildirirken, Rihawi ve ark. (1983) de, *Vicia sativa*, *Lathyrus sativus*, *Pisum sativum* ve *Medicago rigudula*'da çiçeklenme başlangıcı döneminde, *Medicago rigudula*'da KM veriminin 795 kg/ha; *Vicia Sativa*'da KM veriminin 825 kg/ha; *Lathyrus sativus*'ta KM veriminin 445 kg/ha; *Pisum sativum*'da ise KM oranları 630 kg/ha olduğunu tespit etmişleridir. Açık göz (1995), yoncanın çok genç biçim devresinde KM içerikleri %15,0; genç devrede %18,9; tam çiçeklenme devresinde ise %24,0; bakla bağlama devresinde ise %28,0 içerdiğini saptadığı gözlenmiştir. Araştırmamızda saptanan KM değerleri ile diğer araştırmalardan elde edilen değerlerin uyumlu olduğu görülmektedir.

Çalışmada çiçeklenme başlangıcı, çiçeklenme ortası ve çiçeklenme sonunda hasat edilen yoncada SÇK miktarları sırasıyla 33,45, 29,57 ve 26,74 g/kg KM olarak bulunmuştur (Çizelge 4.1.). SÇK miktarları için elde edilen bulgular, literatür bildirişleriyle karşılaştırıldığında; Filya ve ark. (2001)'nin bildirdikleri 32 g/kg KM arasında değişen değerler ile benzerlik gösterdiği görülmektedir.

Çalışmada pH değerleri çiçeklenme başlangıcı, ortası ve sonu için sırasıyla 6,05, 6,14 ve 7,17 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.1.). Filya ve ark. (2001), yonca hasıllarının pH değerlerini 6,50 olarak bildirmektedirler. Araştırmanın başlangıç materyalinde saptanan pH değerleri söz konusu bildirişlerdeki pH değerleri ile benzerlik gösterdiği görülmüştür.

Mc Donald ve ark. (1991), silolama yeteneği göz önüne alındığında yüksek KM ve SÇK kapsamı yanında düşük Bc'ne sahip olmanın, kolay silolanabilir bir yem materyali olmasında etkili olduğunu bildirmektedirler. McDonald ve ark. (1991), yonca hasıllarında Bc için bildirdikleri değerlerle uyum içerisinde olduğu görülmektedir (Çizelge 4.1.).

Hasat döneminde yeşil materyalde yer alan epifitik LAB yoğunluğu ve kompozisyonu birçok faktörün etkisi altında değişim gösterebilmektedir. Sıcaklık, nispi nem, UV radyasyon ve bitki ile ilgili özelliklere bağımlı olarak meydana gelebilecek bu değişimlerin 1.0-6.0 log₁₀ cfu/g TM sınırları arasında gerçekleşebileceği bildirilmektedir (McDonald ve ark. 1988, Petterson 1988, Merry ve ark. 1993). Araştırmada çiçeklenme başlangıcı, ortası ve sonunda hasat edilen yonca hasıllarının epifitik LAB yoğunluğu sırasıyla 3,26, 3,74 ve 3,40 log₁₀ cfu/g TM ile söz konusu sınırlar arasında olduğunu söylemek mümkündür (Çizelge 4.1.).

Çalışmada çiçeklenme başlangıcı, çiçeklenme ortası ve çiçeklenme sonunda hasat edilen yoncada tespit edilen HP içerikleri KM'de % 22,76, 21,03 ve 18,39; NDF içerikleri sırasıyla KM'de %39,03, 44,59 ve 48,51; ADF içerikleri %28,20, 31,99 ve 34,59 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.1.). Elde edilen bulgular literatür bildirişleri ile karşılaştırıldığında, çiçeklenme başlangıcı, çiçeklenme ortası ve çiçeklenme sonunda hasat edilen yoncada HP içeriklerinin Nadeau ve ark. (2000)'nin bildirdikleri %23,3, 18,6 ve 16,3 ile çiçeklenme başlangıcı dönemlerinde hasat edilen yoncanın NDF ve ADF içeriklerinin Filya (2001)'nin bildirdikleri sırasıyla KM' %39,1 ve 29,2 ile benzerlik göstermiştir.

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). Çalışmada çiçeklenme başlangıcı dönemine ait olan pH, SÇK, NH₃-N, HP, LA, AA değerleri kontrol, LAB, Enzim ve LAB+Enzim katkı maddesi kullanılan gruplarda sırasıyla pH değerleri 4.55, 4.13, 4.35 ve 4.18; SÇK içerikleri 16.56, 13.98, 14.70 ve 17.83 g/kg KM; NH₃-N içerikleri 82.93, 65.68, 65.33 ve 56.40 g/kg TN; HP miktarları %22.02, 21.54, 22.04 ve 22.84; LA içerikleri 39.83, 52.47, 49.79, 49.48 g/kg KM; AA içerikleri 24.38, 13.40, 18.38 ve 15.19 g/kg KM; çiçeklenme ortasında aynı sırayla pH değerleri 4.66, 4.15, 4.41 ve 4.13; SÇK içerikleri 13.77, 13.09, 18.50 ve 16.38 g/kg KM; NH₃-N içerikleri 94.24, 57.93, 69.87 ve 62.63 g/kg TN; HP miktarları %20.08, 20.26, 20.03 ve 21.00; LA içerikleri 33.06, 46.70, 41.82 ve 46.51 g/kg KM; AA içerikleri 20.52, 19.13, 19.49 ve 18.18 g/kg KM; çiçeklenme sonu döneminde aynı sırayla pH değerleri 4.41, 4.06, 4.21 ve 3.93; SÇK içerikleri 17.08, 19.80, 19.13 ve 20.43 g/kg KM; NH₃-N içerikleri 80.56, 50.82, 62.99 ve 55.10 g/kg TN; HP miktarları %17.70, 18.66,

18.26 ve 18.60; LA içerikleri 33.50, 41.28, 36.74 ve 38.52 g/kg KM; AA içerikleri 21.97, 10.26, 14.48 ve 12.83 g/kg KM olarak saptanmıştır (Çizelge 4.2.).

Araştırmada kullanılan LAB, enzim ve LAB+enzim karışımı inokulantlar fermantasyonu geliştirerek, silajların kimyasal özelliklerini olumlu yönde etkilemişlerdir. silajlarda temel fermantasyon ürünü laktik asit olurken, özellikle inokulant (LAB ve LAB+enzim) 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 ($P < 0.05$). 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 fermantasyonu için gerekli laktik asidi üretebilirler (Filya 2001). Nitekim LAB ve/veya enzim katkı maddesi kullanılan silaj gruplarında kontrol grubu silajlarına göre laktik asit miktarları daha yüksek, asetik asit miktarları ise daha düşük olduğu saptanmıştır. Dolayısıyla silaj ortamında, LAB'nin dominant mikroflora olması nedeniyle bu asidik ortamda asetik asit ve bütrik asit üreten mikroorganizmaların faaliyet göstermediği söylenebilir. Ayrıca enzim katkı maddesinin içerdiği enzimler yoncanın hücre duvarını (Çizelge 4.4) ve nişastayı parçalaması sonucu açığa çıkan ilave substratların LAB tarafından fermente edilmesi sonucu enzim grubu kontrol silajına göre önemli düzeyde daha yüksek laktik asit üretimi olmuştur ($P > 0.05$).

Filya ve ark. (2007)'nin birinci ve ikinci biçim döneminde hasat edilip silolanan yonca hasıllarına 14 farklı LAB inokulantının fermantasyon özellikleri üzerine etkilerini inceledikleri çalışmalarında pH değerlerini birinci biçimde 5.08 ve 4.33-5.14 olarak, ikinci biçimde ise aynı sırayla 4.42 ve 4.29-4.69; Filya ve ark. (2001)'nin hücre duvarını parçalayıcı enzimlerin %10-20 çiçeklenme döneminde hasat edilen yoncalarda silolamanın 50. gününde kontrol ve üç farklı düzeyde uygulanan enzimlerin pH değerleri 5.1 ve 4.0-4.5; Tengerdy ve ark. (1991)'nin soldurulmuş yoncada 55. günde açılan silajlarda pH değerlerini kontrol ve LAB+Enzim gruplarında sırasıyla 5.3 ve 4.3; Kung ve ark (1991), yonca silajlarında pH değerlerini kontrol, LAB ve 3 farklı enzim dozu gruplarında sırasıyla 4.11, 4.15 ve 4.11-4.16; Tatlı ve ark. (2001)'nin yonca silajlarının pH değerleri 4.92 olarak bildirdikleri sonuçlar ile çalışmamızdan elde edilen pH sonuçlarının uyum içerisinde olduğu görülmektedir.

Filya ve ark. (2001)'nin %10-20 çiçeklenme döneminde hasat edilip 3 farklı düzeyde enzim uyguladıkları yoncalarda silolamanın 50. gününde SÇK içeriklerini kontrol ve enzim gruplarında 3.2 ve 10.1-15.8 g/kg KM; Kung ve ark. (1991)'nin yoncaya LAB, enzim ve LAB+enzim uyguladıkları yoncada silolamanın 60. gününde SÇK içerikleri kontrol, LAB,

enzim ve LAB+enzim gruplarında sırasıyla 27.6, 25.5, 23.3 ve 29.7 g/kg KM olarak bildirmektedirler.

Kung ve ark. (1991) tarafından yürütülen araştırmada, yonca bitkisine *Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus acidilactici* içeren LAB inokulantı, selülağ ve pektinaz içeren enzim karışımı ve her ikisinin birlikte kullanıldığı LAB+enzimin etkinliğini incelemişlerdir. Araştırmada uygulamalar; kontrol, LAB, enzimin (1, 5, 50 kat) üç farklı dozu ile LAB+enzim (1, 5, 50 kat) dozları olmak üzere sekiz kategoride toplanmıştır. Araştırmada kontrol, LAB ve Enzimin (1, 5, 50 kat) üç farklı dozunun etkilerinin incelendiği çalışmalarında 60. günde silaj NH₃-N içerikleri KM' de %0.101, 0.104 ve 0.96-0.101 olarak, Sheperd ve ark. (1995), yonca bitkisinin silolamanın 177. günde açtıkları silajların NH₃-N değerleri KM' de % 0.65 ve 0.37-0.42 olarak saptamışlardır. Çalışmamızda LAB ve/veya enzim katılan yonca silajlarında NH₃-N düzeyleri tüm vejetasyon dönemlerinde kontrol grubuna göre önemli düzeyde düşmüştür (P<0.05). Söz konusu katkı maddeleri kontrol grubuna göre silajlardaki protein parçalanmasını azaltarak, protein geri kazanımını arttırmışlardır. Protein parçalanmasının azalması ve protein geri kazanımının artması aynı zamanda silajların NH₃-N düzeylerinin düşük düzeyde kalması üzerinde etkili olmuştur.

Çalışmamızda yonca silajlarının laktik asit düzeyleri LAB ve/veya enzim kullanılmasıyla artış gösterirken çiçeklenme dönemi hariç düşüş olduğu gözlenmiştir. Ayrıca vejetasyonun ilerlemesine bağlı olarak silajların laktik asit düzeyleri azalmıştır. Filya ve ark. (2007), yapmış oldukları bir çalışmada birinci ve ikinci biçim dönemlerinde yapılan yoncanın kontrol ve 14 farklı LAB katkısı gruplarında sırasıyla birinci biçim dönemi için laktik asit içeriklerini sırasıyla 40.5 ve 45.9-83.5 g/kg KM, asetik asit içeriklerini 14.2 ve 5.5-36.8 g/kg KM, ikinci biçim döneminde ise laktik asit içeriklerini aynı sıra ile 86.5 ve 61.5-86.0 g/kg KM, asetik asit içeriklerini 29.0 ve 13.1-37.4 g/kg KM; Nadeau ve ark. (2000)'nın yonca bitkisine *Lactobacillus plantarum* ve *Pediococcus cereviseae* ile selülağ enziminin (2, 10 ve 20 ml selülağ /kg) farklı dozlarını içeren LAB+enzim inokulantını uyguladıkları çalışmalarında silolamanın 60. günde çiçeklenme öncesi dönemi için kontrol ve inokulant gruplarındaki silajların laktik asit içeriklerini 49.9 ve 71.7-74.9 g/kg KM, ieklenme başlangıcında 30.9 ve 50.1-67.1 g/kg KM, ieklenme sonunda ise 47.5 ve 62.9-64.4 g/kg KM olduğunu bildirmektedirler.

Çalışmada ieklenme başlangıcı, çiçeklenme ortası ve çiçeklenme sonu dönemlerinde hasat edilen yoncaların kontrol, LAB, enzim ve LAB+enzim gruplarında silaj fermantasyonlarında asetik asit miktarları çiçeklenme başlangıcı döneminde, 24.38, 13.40, 18.38 ve 15.19 g/kg KM olarak; çiçeklenme ortası döneminde, 20.52, 19.13, 19.49 ve 18.18

g/kg KM olarak ve son olarak çiçeklenme sonu döneminde ise 21.97, 10.26, 14.48 ve 12.83 g/kg KM olarak saptanmıştır. Görüldüğü gibi çiçeklenme ortası döneminde asetik asit oranları kontrol grubu hariç yükselmiş fakat çiçeklenme sonu döneminde tüm gruplarda düşüş göstermiştir. Nadeau ve ark. (2000), farklı biçim dönemlerinde hasat ettiği (çiçeklenme öncesi, çiçeklenme başlangıcı ve çiçeklenme sonu) yonca bitkisinin silajlarına kontrol ve inokulant grupların denemelerinde sırayla asetik asit oranı çiçeklenme öncesi 17.4 ve 8.5-13.5 g/kg KM olarak, çiçeklenme başlangıcında 17.3 ve 11.3-16.4 g/kg KM şeklinde; çiçeklenme sonu döneminde ise aynı değerler aynı sırayla, 16.7 ve 8.1-8.5 g/kg KM olarak bildirmektedirler.

Yonca silajının fermantasyon özelliklerini temsil eden kimyasal analizler sonuçları ile ilgili olarak araştırmalardan elde edilen veriler, benzer konuda yapılan araştırmalardan elde edilen sonuçlar ile uyum içerisindedir (Kung ve ark. 1991, Sheperd ve ark. 1995, Nadeau ve ark. 2000, Filya ve ark. 2001, Filya ve ark. 2007).

Çiçeklenme başlangıcı döneminde *lactobacilli* sayıları kontrol, LAB, enzim ve LAB+enzim katkı maddesi kullanılan grupları için sırasıyla 5,47, 6,06, 5,06 ve 5,59 log₁₀ cfu/g; maya değerleri 2,50, 2,79, 2,79 ve 2,42 log₁₀ cfu/g; küf değerleri 2,40, 2,42, 2,86 ve 2,37 log₁₀ cfu/g şeklinde bulunmuştur. Çiçeklenme ortasında aynı sırayla *lactobacilli* sayılarını 4,53, 6,14, 5,27 ve 5,99 log₁₀ cfu/g; maya sayılarını 2,60, 2,57, 2,81 ve 2,43 log₁₀ cfu/g; küf sayılarını 2,60, 2,22, 2,67 ve 2,39 log₁₀ cfu/g şeklinde saptanmıştır. Çiçeklenme sonu dönemine ait bulgular ise *lactobacilli* sayılarını 5,86, 6,79, 5,40 ve 6,86 log₁₀ cfu/g; maya sayılarını 3,35, 3,36, 3,48 ve 3,11 log₁₀ cfu/g; küf sayılarını 2,48, 2,38, 2,65 ve 2,16 log₁₀ cfu/g olarak saptanmıştır (Çizelge 4.3.). Çalışmaya göre vejetasyon dönemlerinin tümünde LAB içeren gruplarda (LAB ve LAB+enzim) *lactobacilli* sayıları kontrol gruplarına göre daha yüksek olurken, maya sayıları üzerinde önemli bir etkileri olmamıştır. Küf sayıları ise sadece çiçeklenme ortası dönemindeki yonca silajlarında LAB içeren gruplarda diğer gruplara göre daha düşük düzeyde tespit edilmiştir. Silajlarda görülen mikrobiyal büyüme oldukça normal olup, silajların içerdiği maya ve küf sayıları oldukça düşük düzeyde bulunmuştur. Weinberg ve ark. (1993), başlangıç pH'sı 5,9 olan ve KM'si %40,6 mısır bitkisine laktik asit bakteri inokulantının uyguladıkları çalışmalarında, silolamanın 45. gününde kontrol ve LAB içeren gruplarda *lactobacilli* sayılarını 4,0 ve 5,5 cfu/g; maya sayılarını 4,7 ve 5,4 cfu/g; küf sayılarını ise 0 ve 5,0 cfu/g olarak saptamışlardır. Bunun yanında LAB inokulantlarının maya sayılarını düşürdüğü sonucuna varan Filya ve ark. (2000), süt olum döneminde hasat edilen buğday silajlarının, silolamanın 65. gününde kontrol, *L. Plantarum* + *Enterococcus faecium* ve *L. Pentosus* içeren gruplarda maya sayıları ile ilgili verilerin 3,4, 0,0 ve 0,0 log₁₀ cfu/g

şeklinde olduğunu bildirmişlerdir. Filya ve ark. (2001)'nın farklı düzeylerde enzim kullandıkları yoncalarda silolamanın 50. gününde lactobacilli sayılarını kontrol ve enzim grupları için sırasıyla 7,1 ve 7,2-7,4 log₁₀ cfu/g, maya sayılarını 4,3 ve 4,2-4,5 log₁₀ cfu/g, küf sayılarını 4,1 ve 3,9-4,1 log₁₀ cfu/g arasında saptadıklarını bildirmektedirler.

Yonca silajlarının fermantasyon özекliklerini temsil eden mikrobiyolojik analizler sonuçları ile ilgili olarak araştırmalardan elde edilen veriler, benzer konuda yapılan araştırmalardan elde edilen sonuçlar ile uyum içerisindedir (Weinberg ve ark. 1993, Filya ve ark. 200, Filya ve ark. 2001).

Laktik asit bakterileri ve/veya enzimlerin yonca silajlarının aerobik stabiliteelerini etkilememişlerdir. Beş gün boyunca doğrudan havanın oksijenine maruz bırakılan silajların pH değerlerinde bir miktar yükselme görülmüştür. Silajların hava ile temas ettikleri 5 günlük dönem süresince silajların pH değerleri, ürettikleri CO₂ miktarı, maya ve küf sayıları açısından gruplar arasında önemli düzeyde bir farklılık görülmemiştir. Silajların aerobik stabilitesi ile ilgili olarak araştırmalardan elde edilen bulgular, benzer konuda yapılan çalışmalar ile uyum göstermektedir (Stokes 1992, Filya ve ark. 2001)

Çalışmada çiçeklenme başlangıcı döneminde NDF miktarları kontrol, LAB, enzim ve LAB+enzim katkı maddesi kullanılan gruplarda sırasıyla %38.45, 36.52, 36.71 ve 35.90 g/kg KM; ADF miktarları %28.50, 27.03 ve 26.81, 25.89; ADL miktarları %4.16, 4.29, 4.13 ve 4.13; HSEL miktarları %9.95, 9.49, 9.90 ve 10.00; selüloz miktarları %24.34, 22.74, 22.68 ve 21.77 olarak saptanmıştır. Çiçeklenme ortası döneminde NDF miktarlarını aynı sırayla %42.91, 43.60, 43.73 ve 43.77 g/kg KM; ADF miktarlarını %32.50, 31.17, 31.80 ve 31.60; ADL miktarlarını %7.38, 6.89, 6.39 ve 6.47; HSEL miktarlarını %10.41, 12.43, 11.93 ve 12.18; selüloz miktarlarını %25,12, 24.29, 25.42 ve 25.12 olarak saptanmıştır. Çiçeklenme sonu döneminde ise NDF miktarları yine aynı sırayla %48.28, 44.31, 44.72 ve 43.81; ADF miktarları %35.46, 34.30, 33,31 ve 32.69; ADL miktarları %6.70, 7.31, 6.88 ve 7.00; HSEL miktarları %12.82, 10.02, 11.42 ve 11.12; selüloz miktarları %28.76, 26.99, 26.43 ve 25.69 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.4.). Kaba yemlerde vejetasyonun ilerlemesine bağlı olarak sadece NDF fraksiyonunda bulunan hemiselülozun miktarının nispi olarak azaldığı, NDF ve ADF fraksiyonunun da bulunan selüloz ile NDF, ADF ve ADL fraksiyonunda bulunan lignin miktarlarının ise arttığı ifade edilirken, hemiselülozun miktarının selülozdan az olmasına rağmen sindirilebilirliğinin yüksek olduğu bildirilmektedir. Ligninin ise, hemiselüloz ve selülozdan miktar bakımından az olmasına rağmen kendisi sindirilmediği için bu iki komponentle oluşturduğu bağlar nedeniyle bunların sindirilebilirliklerini de düşürdüğü bilinmektedir (Kirchessner 1980, Öğün ve ark. 2003). Nitekim silajların hücre duvarı

fraksiyonlarının literatür bildirişleri ile uyum içerisinde olduğu görülmektedir. LAB ve/veya enzim katılarak silolanan yoncalar ile kontrol grubu arasında çiçeklenme başlangıcı ve çiçeklenme sonu dönemlerinde hücre duvarı bileşenlerinde önemli düzeyde bir azalma meydana gelmiştir ($P < 0,05$). Dolayısıyla yoncannın silolanması sırasında kullanılan LAB ve hücre duvarını parçalayan enzim karışımları yoncannın içerdiği selüloz, hemiselüloz ve pektinler gibi hücre duvarlarının önemli bir kısmını oluşturan bileşikler parçalamışlardır. Yoncannın yapısal karbonhidratlarını içeren hücre duvarının parçalanması sonucu serbest hale geçen SÇK'lar da *Lactobacilli* tarafından besin maddesi olarak kullanılmıştır. Sonuçta silaj fermentasyonu için yetersiz SÇK içeren ve bu nedenle silolanması zor olan yonca başarılı bir şekilde silolanmıştır.

Nadeau ve ark. (2000) yonca bitkisinde *Lactobacillus plantarum* ve *Pediococcus cereviseae* ile selülaz enziminin (2, 10 ve 20 ml selülaz /kg) farklı dozlarını içeren LAB+enzim inokulantının fermentasyon süresince etkilerini inceledikleri çalışmalarında, 60. günlük silolama sonrasında çiçeklenme öncesi dönemi için kontrol ve LAB+enzim gruplarındaki silajların NDF miktarlarını sırasıyla %35,1 ve 28,4-32,5, selüloz miktarlarını %19,9 ve 15,6-17,8, hemiselüloz miktarlarını %8,1 ve 6,4-7,1; çiçeklenme başlangıcında aynı sırayla NDF miktarlarını %37,9 ve 33,8-34,9, selüloz miktarlarını %21,2 ve 18,4-19,6, hemiselüloz miktarlarını %8,8 ve 7,4-8,2; çiçeklenme sonunda ise yine aynı sırayla NDF miktarlarını %43,6 ve 37,9-40,9, selüloz miktarlarını %19,9 ve 15,6-17,8, hemiselüloz miktarlarını %8,7 ve 7,8-8,8 olarak bildirdikleri değerler ile araştırmamızdan elde edilen bulguların uyum içerisinde olduğu görülmektedir.

Çiçeklenme başlangıcı döneminde *in vitro* OM sindirilebilirliği kontrol, LAB, enzim ve LAB+enzim katkı maddesi kullanılan grupları için sırasıyla %62,08, 61,97, 62,58 ve 63,40; çiçeklenme ortası için aynı sırayla %60,74, 61,23, 61,50 ve 62,60; çiçeklenme sonu için ise yine aynı sırayla %57,23, 58,32, 58,73 ve 59,18 olarak saptanmıştır. Laktik asit bakterileri ve/veya enzim kullanılan yonca silajlarında *in vitro* OM sindirilebilirliğini önemli düzeyde olmamakla birlikte sayısal anlamda artış göstermiştir.

Nadeau ve ark. (2000) yonca bitkisinde, selülaz enzimi, *Lactobacillus plantarum* ve *Pediococcus cereviseae* ile selülaz enziminin (2, 10 ve 20 ml selülaz /kg) farklı dozlarını içeren LAB+enzim inokulantının fermentasyon süresince etkilerini inceledikleri çalışmalarında, 60. günlük silolama sonrasında çiçeklenme öncesi dönemi için kontrol, enzim ve LAB+enzim gruplarındaki silajların *in vitro* KM sindirilebilirliğini sırasıyla %67,4, 67,6 ve 67,7-67,9; çiçeklenme başlangıcında aynı sırayla %64,8, 63,9 ve 64,7-64,9; çiçeklenme

sonunda ise yine aynı sırayla %60,8, 61,0 ve 60,8-61,4 olarak bildirdikleri değerler ile araştırmamızdan elde edilen bulguların uyum içerisinde olduğu görülmektedir.

6. SONUÇ

Bu araştırmada LAB inokulantları ve hücre duvarını parçalayıcı enzimlerin yonca silajlarının kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri ile hücre duvarı bileşenleri ve aerobik stabilite açısından değerlendirilmiştir. Bunun yanı sıra söz konusu katkıların *in vitro* OM sindirilebilirliğini nasıl etkiledikleri araştırılmıştır.

Araştırma sonucunda, yoncanın silolanması sırasında kullanılan LAB ve/veya selüloz, hemiselüloz, pektinaz gibi hücre duvarını parçalayıcı ve amilaz gibi nişastayı parçalayan enzimlerin katılması silajlarda SÇK'ların etkin kullanımını sağlamış, laktik asit üretimini teşvik etmiştir. Bu katkıları silajların pH değerlerini, NH₃-N ve asetik asit içeriklerini önemli düzeyde düşürüp, silaj kalitesini artırmışlardır. Ayrıca silajların mikrobiyolojik profilini olumlu yönde etkileyip, *lactobacilli* içeriklerini artırmışlardır. Diğer yandan söz konusu katkıları silajların hücre duvarı kapsamını azaltmışlar, aerobik stabilitesini ve *in vitro* OM sindirilebilirliğini ise etkilememişlerdir.

KAYNAKLAR

- Açıkgöz E (1995). Yem bitkileri (II. Baskı). Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Basımevi No: 7-025-0210, Bursa.
- Akbari N ve Avcıoğlu R (1992). Ege Bölgesine Uygun Bazı Yonca (*Medicago sativa L.*) Çeşitlerinin Agronomik Özellikleri ile Yem Kaliteleri Üzerinde Araştırma, Doktora Tezi, Bornova-İzmir.
- Aksoy A ve Yılmaz A (2003), Bazı Yonca Varyetelerinde Kuru Madde ve Organik Madde Sindirilebilirlikleri ve Metabolik Enerji Değerleri. Tarım Bilimleri Dergisi 2003, 9 (4) 440-444.
- Akyıldız AR (1984). Yemler Bilgisi Laboratuvar Kılavuzu. A.Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları: 895, Ders Kitabı: 213, 236 s, Ankara.
- Anderson MJ, Fries GF, Kopland DV, Waldo DR (1973). Effect of Cutting Date on Digestibility and Intake of Irrigated First-Crop Alfalfa Hay. Argon. J. 65: 357-360.
- Anonymus (1986). The Analysis of Agricultural Material, Reference Book: 427, 428 p, London.
- Ashbell G, Weinberg ZG, Azrieli A, Hen Y, Horev B (1991). A simple system to study the aerobic deterioration of silages. Can. Agric. Eng., 33: 391-393.
- Bolsen KK, Heidker JL (1985). Silage Additives USA. Chalcombe Publication, Church Lane, Kingston, Canterbury, Kent, UK.
- 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.
- Clarkson NM (1977). Annual Medics in Queensland. Queensland Agric. J., 103: 39-60.
- Close W, Menke KH (1986). Selected Topics in Animal Nutrition Universitat, Pp; 170+85, Hohenheim.
- Çerçi ÜH, Şahin K ve Güler T (1996). Farklı Oranlarda Silajlık Mısır ve Yonca Kullanılarak Yapılan Silajların Kalitesinin Belirlenmesi. F.Ü. Sağlık Bil. Dergisi, 10:193-200.
- Çifçi M, Çerçi H, Dalkılıç B, Güler T, Ertas ON (2005). Elmanın karbonhidrat kaynağı olarak yonca silajına katılma olanağının araştırılması. YYÜ Vet. Fak. Derg. 16 (2):93-98.
- Davies, D.R., Merry, R.J., Williams, A.P., Bakewell, E.L., Leemans, D.K., Tweed, J.K.S., 1998. Proteolysis During Ensilage of Forages Varying in Soluble Sugar Content, J. Dairy Sci, 81, 444-453.
- Filya İ (2000). Silaj Kalitesinin Arttırılmasında Yeni Gelişmeler. International Animal Nutrition Congress'2000, 243-250 s, Isparta.
- Filya İ (2001). Silaj Teknolojisi. Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootekni Bölümü, 16059, Görükle, Bursa.
- Filya İ (2002a). Laktik Asit Bakteri ve Laktik Asit Bakteri+Enzim Karışımı Silaj İnokulantlarının Mısır Silajı Üzerine Etkileri. Turk J Vet Animal Sci, 26:679-687.
- Filya İ (2002b). Laktik Asit Bakteri İnokulantlarının Mısır ve Sorgum Silajlarının Fermantasyon, Aerobik Stabilitate ve *in situ* Rumen Parçalanabilirlik Özellikleri Üzerine Etkileri. Turk J Vet Animal Sci, 26:815-823.
- 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 Arttırılma Yolları. Yem Magazin, Mart, 2007, 47:37-44.

- Filya İ, Ashbell G, Hen Y and Weinberg ZG (2000). The Effect of Bacterial Inoculants on The Fermentation and Aerobic Stability of Whole Crop Wheat Silage. *Animal Feed Sci. Technology*, 88:39-46.
- Filya İ, Ashbell G, Weinberg ZG, Hen Y (2001). Hücre Duvarını Parçalayıcı Enzimlerin Yonca Silajlarının Fermentasyon Özellikleri, Hücre Duvarı Kapsamı ve Aerobik Stabiliteleri Üzerine Etkileri. *Ankara Üniv. Zir. Fak. Tarım Bil. Dergisi* 7 (3): 81-87.
- Filya İ, Muck RE, Contreras-Govea FE: Inoculant effects on alfalfa silage: Fermentation products and nutritive value. *J Dairy Sci*, 90(11): 5108-5114,2007.
- Flores G, Castro J, Arraez AG, Amil A, Brea T, Warleta MG (1999). Effect of a Bacterial Additive on Silage Fermentation, Digestibility, Ruminal Degradability, Intake and Performance of Lactating Dairy Cattle in Galicia (NW Spain). In: *Proc. 12th International Silage Conference*, 181- 182 p, Uppsala, Sweden
- Henderson AR, McGinn R, Stanway AP, Morgan CA (1991). A technique designed to evaluate commercial polysaccharide degrading enzymes as additives for grass silage. *Proc. 5th Int. Symp. Forage Preservation*, Nitra, Czechoslovakia, September 1991, pp. 92-95.
- Kılıç A (1986). *Silo Yemi (Öğretim, Öğrenim ve Uygulama Önerileri)*. 327 s., İzmir.
- Kır B ve Soya H (2008), Kimi Mer'a Tipi Yonca Çeşitlerinin Bazı Verim ve Kalite Özellikleri Üzerinde Bir Araştırma. *Ege Üniv. Ziraat Fak. Derg.*, 45 (1): 11-19.
- Kirchessner M (1980). *Hayvan Besleme (Öğretim- Öğrenim- Uygulama Önerileri)*. Çev: Asım KILIÇ, 5. Ed. Ankara (Tübitak 1985).
- Kleinmans J, Hooper P (1999). The Effect of a Commercial Silage Inoculant (Pioneer® brand 1188) on Animal Performance. In: *Proc. 12th International Silage Conference*. 319-320 p, Uppsala, Sweden.
- Koç F, Coşkuntuna L (2003). Silo Yemlerinde Organik Asit Belirlemede İki Farklı Metodun Karşılaştırılması. *Journal of Animal Production*. 44(2): 37-47.
- Kung LJ, Tung RS, Maciorowski K (1991a). Effect of a microbial inoculant (Ecosyl-TM) and/or a glycopeptide antibiotic (vancomycin) on fermentation and aerobic stability of wilted alfalfa silage. *Animal Feed Science and Technology* 35, 37-48.
- Kung LJ, Tung RS, Maciorowski KG, Buffum K, Knutsen K, Aimutis WR (1991b) Effects of plant cell-wall-degrading enzymes and lactic acid bacteria on silage fermentation and composition. *Journal of Dairy Science* 74, 4284-4296.
- Kung, LJ (1993). Use of additives in silage fermentation. In: *Direct-fed Microbial, Enzyme and Forage Additive Compendium*. Miller Publ. Co., Minnetonka, Minnesota. pp. 31-35.
- Lin C, Bolsen K, Brent BE, Hart RA (1992). Epiphytic Microflora on Alfalfa and Whole-Plant Corn. *J. Dairy Sci.*, 75: 2484-2493.
- McCullough, M. E. 1970. *Silage research at the Georgia Station*, Univ. Georgia, Coll. Agric.
- McDonald P, Edwards RA, Greenhalgh JFD (1988). *Animal Nutrition*. 4th Edition. Longman Scientific and Technical, 543 p.
- McDonald P, Henderson AR, Heron SJE (1991). *The Biochemistry of Silage*. Second Edition. 340 p., Chalcombe Publication, Marlow, England.
- Meeske R, Ashbell G, Weinberg ZG, Kipnis T (1993). Ensiling Forage Sorghum at Two Stages of Maturity with the Addition of Lactic Acid Bacterial Inoculants. *Animal Feed Sci. and Technology*, 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.
- Meeske R, Basson HM, Cruywagen CW (1999). The Effects of a Lactic Acid Bacteria Inoculant with Enzymes on The Fermentation Dynamics, Intake and

- Digestibility of *Digitaria eriantha* Silage. *Animal Feed Sci. Technology*, 81: 237-248.
- Merry RJ, Cussen-MacKenna RF, Jones R (1993). *Biological Silage Additives*. *Cienacia E Investigacion Agraria.*, Vol: 20, No:2.
- MINITAB (2000), Minitab Incorporation. *Minitab for Windows, Release 13 for Windows. User's Guide 2-Data Analysis and Quality Tools*, Minitab Inc, USA.
- 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.
- Muck, R. E. 1993. The role of silage additives in making high quality silage. In: *Proc. Nat. Nadeau EMG, Russell JR, Buxton DR (2000). Intake, Digestibility, and Composition of Orchardgrass and Alfalfa Silages Treated with Cellulase, Inoculant, and Formic Acid Fed to Lambs. J. Animal Sci.*, 78:2980-2989.
- Naumann C, Bassler R (1993). *Die Chemische Untersuchung von Futtermitteln. VDLUFA-Methodenbuch, Band III. 3. Erg., Verlag Naumann, Melsungen.*
- Öğün S, Şayan Y, Özkul H, Alçiçek A, Akbaş Y, Coşkuntuna L, Soycan S, Polat C, Çapçı T, Kılıç A, Özkan K (2003). Bazı Kaba Yemlerin Yem Değerlerinin Farklı Analiz Teknikleri İle Belirlenmesi. *Trakya Üniversitesi Araştırma Fonu Projesi-272, Kesin Rapor, Edirne.*
- 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.
- 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.
- Pitt RE, Leibensperger RY (1987). The Effectiveness of Silage Inoculants: A Systems Approach. *Agric. Syst*, 25: 27-49.
- Playne MJ, Mc Donald P (1966). The Buffering Constituent of Herbage and of Silage, *J. Sci. Fd. Agric*, 17, 264-268.
- 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.*
- Rankin M, George JR (1989). Spring Harvest Management of Alfalfa Seeded in Late Summer. *J. Prod. Agric.* 2:352-357.
- Raurama, A. L., J. J. Setälä and A. E. A. Tommila. 1991. The effect of glucose oxidase on the Rihawi S, Williams PC, Somaro BH (1983). A Note of Changes in Potential Nutrition Efficiency of Different Legumes at Different Stages of Maturity. *Progress Report. Clovers and Special Purpose Legumes Res.* 16:92-97.
- Robinson JJ, McEvoy TG (1993). *Biotechnology- The Possibilities*. *Animal Production*, 57:335-352.
- 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.
- Sheperd AC, Maslanka M, Quinn D, Kung L (1995). Additives Containing Bacteria and Enzymes for Alfalfa Silage. *J. Dairy Sci.*, 78: 565-572.

- Soysal Mİ (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.
- Stokes MR (1992). Effects of an enzyme mixture, an inoculant and their interaction on silage fermentation and dairy production. *J. Dairy Sci.* 75-764.
- Tatlı P, Çerçi H, Gürdoğan F (2001). Mısır, yonca ve yaş şeker pancarı posasının silolanma niteliklerinin belirlenmesi ile bu silajların farklı formasyonlarda koyunlara verilmesinin yem tüketimi ve sindirilebilirlik üzerine etkisi. *Turk J Vet Anim Sci.*, 25:403-407.
- 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.
- Wilkinson M (1984). *Silage*, UK(6th Edition). Chalcombe Publications, Marlow.
- 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

15.04.1983 tarihinde Bursa’ da doğdum. İlkokul 1, 2 ve 3. Sınıfımı İnönü İlköğretim Okulunda, 4, 5 ve ortaokulu Uludağ İlköğretim Okulunda okudum. Yabancı Dil Ağırlıklı Süper Liseyi Bursa Cumhuriyet Lisesinde ilk yılı İngilizce hazırlık sınıfı okuyarak 2001 yılında tamamladım. 2002 yılında Trakya Üniversitesi Ziraat Fakültesi Hayvansal Üretim Bölümüne başladım. Stajımı Trakya Üniversitesi tavukçuluk işletmesinde yaptım. 2007 yılında biten üniversite hayatım ile S.S. Bursa Bölgesi Hayvancılık Kooperatifleri Birliği’ ne Tarımsal Danışman göreviyle başladım. 2007 yılının Şubat ayında Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Zootekni Ana Bilim Dalı’ nda yüksek lisansa başladım. S.S. Bursa Bölgesi Hayvancılık Kooperatifleri Birliği’ ne Tarımsal Danışmanlık görevinde 3 yıl faaliyet gösterdim. Şu an Süttaş A.Ş. bünyesinde olan Tarım Faaliyetleri A.Ş. Bölümünde Eğitim Yöneticisi olarak görev yapmaktayım.

TEŞEKKÜR

Bu araştırma sırasında desteğini ve pozitif enerjisini benden esirgemeyen, deneme aşamalarında gelemediğim zamanlarda göstermiş olduğu sabrına ve hoşgörüsüne hayran kaldığım çok değerli hocam Yrd. Doç. Dr. M. Levent ÖZDÜVEN başta olmak üzere, sayın rektörüm Prof. Dr. Nizamettin ŞENKÖYLÜ' ye, sayın bölüm başkanım Prof. Dr. Muhittin ÖZDER'e, Araş. Gör. Ahmet Refik ÖNAL' a, Yrd. Doç. Dr. Fisun KOÇ' a, Yrd. Doç. Dr. Levent COŞKUNTUNA' ya, Araş. Gör. Dr. Aylin Ağma OKUR' a manevi desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

Çalışmalarım esnasında maddi ve manevi desteğini her zaman hissettiğim başta aileme, Ziraat Mühendisi Ali ÇAM' a ve Songül YILDIRIM' a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.