

MISIR SİLAJINDA ENZİM-İNOKULANT  
KULLANIMININ FERMANTASYON GELİŞİMİ VE  
AEROBİK STABİLİTE ÜZERİNE ETKİLERİ

**Yurdanur MUTLU**  
**Yüksek Lisans Tezi**  
**Zootekni Anabilim Dalı**  
**Danışman: Yrd. Doç. Dr. Fisun KOÇ**

**Tekirdağ-2009**

**T.C.**  
**NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**MISIR SİLAJINDA ENZİM-İNOKULANT KULLANIMININ**  
**FERMANTASYON GELİŞİMİ VE AEROBİK STABİLİTE ÜZERİNE ETKİLERİ**

**YURDANUR MUTLU**

**ZOOTEKNİ ANABİLİM DALI**

**DANIŞMAN: YRD. DOÇ. DR. FİSUN KOÇ**

**TEKİRDAĞ-2009**

**Her hakkı saklıdır**

Yrd. Doç. Dr. Fisun KOÇ danışmanlığında, Yurdanur MUTLU tarafından hazırlanan bu çalışma 15/10/2009 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Zootekni Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Juri Başkanı : Yrd. Doç. Dr. Fisun KOÇ

*İmza :*

Üye : Yrd. Doç. Dr. M. Levent ÖZDÜVEN

*İmza :*

Üye : Yrd. Doç. Dr. Binnur KAPTAN

*İmza :*

**Yukarıdaki sonucu onaylarım**

Prof. Dr. Orhan DAĞLIOĞLU  
**Enstitü Müdürü**

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

### MISIR SİLAJINDA ENZİM-İNOKULANT KULLANIMININ FERMANTASYON GELİŞİMİ VE AEROBİK STABİLİTE ÜZERİNE ETKİLERİ

Yurdanur MUTLU

Namık Kemal Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Zootekni Anabilim Dalı

Danışman :  
Yrd. Doç. Dr. Fisun KOÇ

Bu çalışma ile inokulant hazırlama süresi ve dozunun mısır silajının fermantasyon gelişimi üzerine etkilerinin laboratuvar koşullarında saptanması amacı ile düzenlenmiştir. Mısır, hamur olum döneminde hasat edilmiştir. Araştırmada içeriğinde *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis*, *Propionibacterium shermanii*, *Enterococcus faecium*, *Bacillus subtilis*, *Pediococcus acidilactici* ve *alpha-Amylase (A.oryzae)*, *cellulase* ve *hemicellulase (A. niger)* içeren MICROBIOS (Cuprem<sup>®</sup>, USA) adlı ticari inokulant kullanılmıştır. İnokulant silajlara 10.0 ve 10.30 kob cfu/g düzeyinde katılmışlardır. Uygulamalardan sonra muameleler yalnızca gaz çıkışına olanak tanıyan, 1,0 litrelik özel kavanozlara silolanmıştır. Kavanozlar laboratuvar koşullarında 25±2°C'de depolanmışlardır. Silolamadan sonraki 4., 7., 14., 21. ve 55. günlerde her gruptan 3'er kavanoz açılarak silajlarda kimyasal ve mikrobiyolojik analizler yapılmıştır. Silolama döneminin sonunda açılan tüm silajlara 5 gün süre ile aerobik stabilite testi uygulanmıştır. Sonuç olarak dozun artırılması silaj fermantasyonunu ve aerobik stabiliteyi olumlu yönde etkilememiştir.

**Anahtar kelimeler: Keywords:** Mısır silajı, doz, inokulant hazırlama zamanı, silaj fermantasyonu

2009 , 58 sayfa

## ABSTRACT

MSc. Thesis

### **The Effects of Enzyme - Inoculants on the Fermentation and Aerobic Stability Characteristics of Maize Silages**

Yurdanur MUTLU

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

Supervisor : Asistant Prof. Dr. Fisun KOÇ

This study was carried out to determine the effects of inoculant preparation time and doses on fermentation profiles of the maize ensiled under laboratory conditions. Maize was harvested at the dough stage. A commercial inoculant MICROBIOS (Cuprem<sup>®</sup>, USA) containing *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis*, *Propionibacterium shermanii*, *Enterococcus faecium*, *Bacillus subtilis*, *Pediococcus acidilactici* and *alpha-Amylase (A.oryzae)*, *cellulase and hemicellulase (A. niger)* was used in this study.

Inoculants were applied to silages 10.0 and 10.30 log cfu/g levels. After treatment, the chopped maize was ensiled in 1.0-l special anaerobic jars, equipped with a lid that enables gas release only. Three jars from each group were sampled for chemical and microbiological analysis on days 4., 7., 14., 21. and 55. after ensiling. At the end of the experiment the silages were also subjected to an aerobic stability test, lasting 5 days. The study shows that doubling the rate of inoculant application was not effective than the recommended rate at enhancing the quality or aerobic stability of maize silage.

**Keywords:** Maize silage, dose, inoculant preparation time, silage fermentation

2009, 58 pages

## İÇİNDEKİLER DİZİNİ

ÖZET .....	ivv
ABSTRACT .....	v
İÇİNDEKİLER DİZİNİ .....	vvi
KISALTMALAR DİZİNİ .....	vvii
ÇİZELGE LİSTESİ .....	viii
ŞEKİL LİSTESİ.....	ix
1. GİRİŞ .....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ .....	4
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	21
3.1.MATERYAL .....	211
3.1.1. SİLAJ MATERYALİ .....	211
3.1.2. SİLAJLARIN HAZIRLANMASI.....	211
3.2.YÖNTEM .....	222
3.2.1.SİLAJ KALİTESİ TAKDİRİ İÇİN KULLANILAN YÖNTEMLER .....	222
3.2.1.1. pH ve Bc Analizleri.....	233
3.2.1.2. SÇK Analizi.....	233
3.2.1.3. NH <sub>3</sub> -N Analizi.....	233
3.2.1.4. Organik Asit Analizleri .....	244
3.2.1.4.1. Laktik Asit Analizleri .....	244
3.2.1.4.2. Asetik Asit Analizleri .....	255
3.2.1.5. Mikrobiyolojik Analizler .....	266
3.2.2. HAM BESİN MADDELERİ VE HÜCRE DUVARI İÇERİKLERİ ANALİZLERİ .....	266
3.2.2.1.Ham Besin Maddeleri İçerikleri Analiz Yöntemleri .....	266
3.2.2.2. Hücre Duvarı İçerikleri Analiz Yöntemleri .....	27
3.2.2.3. Aerobik Bozulmaya Dirence İlişkin Analizler .....	29
3.2.3. İSTATİKSEL ANALİZLER .....	29
4. BULGULAR .....	30
4.1.Başlangıç Materyaline İlişkin Analizler.....	30
4.2.Silajların Fermantasyon Özellikleri .....	31
4.2.1. Silajların Kimyasal Analizleri .....	31
4.2.2.Silajların Mikrobiyolojik Analizleri.....	36
4.3.Silajların Aerobik Stabiliteleri.....	36
4.4.Silajların Hücre Duvarı Bileşenleri.....	38
5. TARTIŞMA.....	39
6. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	45
7. KAYNAKLAR .....	46
ÖZGEÇMİŞ.....	57
TEŞEKKÜR .....	58

## 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
<sup>ho</sup> LAB	:Homofermantatif laktik asit bakterileri
<sup>het</sup> LAB	:Heterofermantatif laktik asit bakterileri

## ÇİZELGE LİSTESİ

	<b>Sayfa No</b>
Çizelge 2.1. Silolama dönemine kadar bitkilerde bulunan bakteriyal ve fungal grupların populasyonu	12
Çizelge 4.1. Mısırın silolanmadan önceki özelliklerine ilişkin değerler	30
Çizelge 4. 2. Mısır silajlarına ait kimyasal ve mikrobiyolojik analiz sonuçları.....	34
Çizelge 4. 3. Mısır silajlarının aerobik stabilite test sonuçları.....	37
Çizelge 4.4. Mısır silajlarının ham protein, ham kül ve hücre duvarı kapsamına ilişkin analiz sonuçları	37



## ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 3.1. Laboratuvar koşullarında araştırmanın yürütüldüğü silo kapları.....	22
Şekil 4.1. Mısır silajlarının fermantasyon süresince pH değişimleri.....	35
Şekil 4.2. Mısır silajlarının fermantasyon süresince SÇK değişimleri.....	35
Şekil 4.3. Mısır silajlarının fermantasyon süresince NH <sub>3</sub> -N değişimleri.....	35
Şekil 4.4. Mısır silajlarının fermantasyon süresince laktik asit değişimleri.....	36

## 1. GİRİŞ

Su içeriği genellikle % 50'den daha yüksek olan yeşil yemler, tarımsal kökenli yan ürünler ve diğer bitkisel materyallerin havasız ve asidik bir ortamda doğal fermantasyonları sonucunda üretilen kaba yem kaynağına silaj, yapılan bu işleme silolama, silolama işleminin yapıldığı yere ise silo adı verilir (Filya 2001a).

Silolama işlemi, anaerobik koşullar altında laktik asit bakterilerinin (LAB) suda çözünebilir karbonhidratları (SÇK), doğal fermantasyon yoluyla başta laktik asit olmak üzere organik asitlere fermente etmesi temeline dayanır. Sonuç olarak pH düşer, zararlı aerobik mikroorganizmaların aktivitesi engellenir ve böylece silolanan materyal korunmuş olur (Weinberg ve Muck 1996).

Ülkemizin toplam küçükbaş hayvan sayısı 31.761.561, büyükbaş hayvan sayısı ise 11.121.458'dir (Anonim 2008). Mevcut hayvan varlığımız dikkate alındığında ülkemiz kaliteli kaba yem ihtiyacı 40 milyon ton/KM olarak hesaplanmakta, yıllık üretilen toplam kaba yem miktarımızın ise hayvanlarımızın gereksinimini karşılayabilecek miktarda olduğu belirtilmektedir (49.4 milyon ton/KM). Ancak, üretilen kaba yem miktarımızın %83.6'sını düşük kaliteli kaba yemler oluşturmaktadır (Filya 2007a). Dolayısıyla mevcut kaliteli kaba yem miktarımızla hayvanların ihtiyaçlarının karşılanması mümkün görünmemektedir. Gelişmiş ülkelerde hayvan beslemede kaliteli kaba yem kullanımı %90 iken ülkemizde sadece %10 düzeyindedir (Anonim 2006).

Ülkemizde kaba yem üretimi ağırlıklı olarak doğal çayır meralardan, kültürü yapılan yem bitkilerinden, çeşitli samanlardan, silajlardan ve yan ürünlerden yapılmaktadır (Filya 2007a). Ancak, çayır mer'alarımızın yıllardır süre gelen aşırı otlatmalar nedeniyle hayvanlarımızı beslemekten uzaktır. Ayrıca, yem bitkileri üretim alanlarımız da oldukça yetersizdir. Nitekim hayvancılıkta ileri olan ülkelerde yem bitkileri ekim alanları toplam ekilebilir alan içerisindeki payı %25-30 iken ülkemizde bu oran %6 civarındadır. Ayrıca, kaliteli kaba yem kullanımımızın düşük olması nedeniyle hayvancılıkta girdi maliyetimiz gelişmiş ülkelerle kıyaslandığında 3-4 kat daha yüksektir (Anonim 2006). Oysa kaliteli kaba yem üretiminin ve kullanımının artırılması ile konsantre yemin kullanımının azalması ile yem giderlerinin düşürülmesi mümkündür. Bu amaçla da gerek yem değeri gerekse üretim maliyeti düşünüldüğünde silo yemlerinin ruminantların beslenmesinde yoğun bir şekilde kullanılmasının önemi vurgulanmaktadır (Filya 2007b).

Ülkemizin ekolojik şartları silaj üretimine uygun birçok yem bitkisinin yetiştirilmesine olanak vermekle birlikte, birim alan veriminin yüksekliği, silaj yapımına uygunluğu ve

elde edilen silajın besleme değerinin yüksekliği gibi nedenlerden dolayı silaj yapımı için tercih edilen türler arasında birinci sırayı mısır bitkisi almaktadır. Ayrıca, diğer silajlık ürünlere oranla işçiliğinin az ve makineli tarıma elverişlilik yönünden de tercih edilmektedir (Anonim 2008).

Fransa gibi birçok Avrupa ülkesinde mısır silajı süt ineklerinin beslenmesinde kullanılan çok önemli bir kaba yem olarak yerini almaktadır. Nitekim Avrupa'da üretilen silo yemlerinin %32'sini mısır silajı oluşturmakta, Amerika Birleşik Devleti'nde ise bu oran %52'lere kadar yükselmektedir (Filya ve Sucu 2003). Ülkemizde de sulama imknlarının her geçen gün artması, silajlık mısır üretimini gün geçtikçe artırmaktadır. Günümüzde silaj yapmak amacı ile birinci ürün olarak ekilen ve dekara 8-10 ton ürün veren mısır, ikinci ürün olarak da 3-5 ton vererek ekilebilecek önemli bir yem bitkisidir. Ancak, halen yapılan silajlarının kalitelerinin düşük olduğu da belirtilmektedir. Bu nedenle silo yemleri üretimi ve kullanımlarının yaygınlaştırılması ile birlikte kaliteleri de artırılmalıdır (Filya 2007b).

Süt ineklerinin beslenmesinde önemli bir yer tutan mısır silajının kalitesini artırmak, bozulmadan kaynaklanabilecek kayıpların en aza indirmek ve silaj fermantasyonunu garanti altına almak amacıyla son yıllarda çeşitli katkı maddeleri kullanılmaktadır.

Silaj fermantasyonunda katkı maddesi olarak kullanılmak üzere çeşitli özelliklerde birçok bakteriyel inokulant (bakteriyel kültür) geliştirilmiştir. Silaj yapımında kullanılan bakteriyel inokulantları; belirli dozlarda kullanılmaları durumunda silolanacak kitlede homofermantatif nitelikli fermantasyon olaylarının gelişmesini sağlayacak yoğunlukta LAB ya da gruplarını içeren ürünler olarak tanımlamak mümkündür (Yurtman ve ark. 1997). Bu inokulantlar genellikle *Lactobacillus*, *Pedicoccus* ve *Enterococcus* cinsi mikroorganizmaları içerirler. Ancak bakteriyel inokulantların büyük bir çoğunluğu, başta *Lactobasillus 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, NH<sub>3</sub>-N ve etanol düzeylerini düşürdüğü ve *Lactobacilli* içeriklerini arttırarak 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) zerindeki etkilerinin incelendiği araştırma sonuçlarında, bazı araştırıcılar LAB inokulantların silajların aerobik dayanıklılıklarını arttırdığını bildirirken (Weinberg ve ark. 1993, Meeske ve Basson 1999), bazı araştırıcılar 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 OM sindirilebilirliğini, hem de ruminantların verim performanslarını olumlu yönde etkilemektedir (Moran ve ark. 1996, Kleinmans ve Hooper 1999).

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, enzim inokulant hazırlama süresi ve farklı dozda enzim inokulant kullanımının mısır silajının fermantasyon gelişimi ve aerobik stabilite üzerine etkilerinin laboratuvar koşullarında incelenmesi amaçlanmıştır.

## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

### 2.1. Laktik Asit Bakterilerinin Morfolojik, Fizyolojik ve Taksonomik Özellikleri

Mikrobiyoloji bilim dalının doğuşu ile birlikte, doğada çok yaygın olarak bulunduğu bilinen LAB'leri ile ilgili çalışmalar da başlamıştır. İlk kez 19. yüzyıl sonlarında sütte fermantasyona ve koagülasyona yol açan bakteriler LAB'leri olarak isimlendirilmiş ve daha sonraki yıllarda *Lactobacillaceae* familyası içinde sınıflandırılmışlardır. Morfolojik açıdan çok değişken özellik gösteren (kısa ve uzun çubuk veya kok şekilli) familya üyeleri fizyolojik açıdan oldukça benzer özellikler göstermektedir. Tüm üyeler; Gram pozitif, katalaz negatif, *Sporolactobacillus inulinus* hariç spor oluşturmeyen, fakültatif anaerob (oksijenin varlığında ya da yokluğunda yaşayabilen), *Pediococcus* cinsi hariç yalnız tek düzlemde bölünen ve bazı istisnalar hariç hareketsiz, düzgün veya düzensiz çubuk ya da kok şeklinde bakteriler olarak tanımlanmaktadır. Ayrıca bu bakteriler mutlak fermantatifler ve asıl fermantasyon ürünü olarak laktik asit üretirler. Katalaz ve sitokrom içermeksizin, oksijen varlığında gelişebilen nadir mikroorganizmalardır (Shape ve ark. 1966). Gelişebilmeleri için kompleks besin maddelerine ve vitaminlere gereksinim duyarlar. Laktik asit bakterilerinin ortamda büyümesi ile karbonhidrat miktarı ve bakterinin laktik asit üretimine bağlı olarak ortamın pH düzeyi düşmektedir. Ortam pH'sının hızlı bir şekilde düşürmesi LAB'nin istenilen önemli özelliklerinden birini oluşturmaktadır. Laktik asit bakterileri düşük pH'da (3.5-4) canlılıklarını ve büyümelerini sürdürmekte ve patojen mikroorganizmalar üzerindeki baskılayıcı özelliğiyle, kontaminasyonu engellemektedir (Palalı 2007). Patojen mikroorganizmalara karşı gösterdiği bu antagonistik aktivite, ürettikleri laktik ve asetik asit gibi organik asitler, hidrojen peroksit, bakteriosin veya bakteriosin benzeri metabolitler, diasetil, alkol ve karbondioksit (CO<sub>2</sub>) gibi metabolitlerden kaynaklanmaktadır (Davidson ve Hoover 1993). Laktik asit bakterileri 5°C ile 50°C arasında gelişebilmekle birlikte, en iyi aktiviteyi 25-40°C arasında göstermektedir (McDonald ve ark. 1991). Pek çoğu et, süt ile hayvan ve bitki gibi doğal ortamlarda bulunurlar (Daeschel ve ark. 1987).

Laktik asit bakterileri gereksinim duydukları enerjiyi sağlamak için daha çok Embden-Meyerhoff-Parnas ile fosfoglukonat/fosfoketolaz glikolik yolunu kullanırlar. Bu yolla, pirüvat ve asetil fosfat üretirler. Daha sonra pirüvat, laktat dehidrojenaz ile laktata indirgenir. Asetil fosfat oluşumu, başlangıç substratına ve redoksa bağlı olarak değişiklik gösterir. Eğer substrat olarak heksoz şekerler fermente ediliyorsa asetil fosfat indirgenerek etanol, pentoz şekerleri fermente ediliyorsa asetat oluşur.

Laktik asit bakterileri, sakkarolitik fermantasyon tiplerine göre 2 temel gruba ayrılır (Axelsson 1998).

1. Zorunlu homofermantatif ya da fakültatif heterofermantatif LAB'leri: Bu mikroorganizmalar glikolik yolla heksozları laktik aside fermente ederken, pentoz şekerler ile glukonatı fermente edemezler ve bu aşamada fosfoglukonat/fosfoketolaz yolunu kullanamazlar. Bu gruba ait üyeler; *Lactobacillus acidophilus*, *L. delbrueckii*, *L. helveticus*, *L. farciminis*, *L. lactis*, *L. bovis*' tir.

Yalnız bazı özel durumlarda (ortamda yeterli şeker olmadığında) fakültatif heterofermantatif LAB'leri olarak isimlendirilen bu grupta yer alan mikroorganizmalar heterofermantatif karakter kazanarak heksoz şekerleri laktik asidin yanı sıra CO<sub>2</sub> ve etanole (ya da asetik aside) fermente ederler. Bu aşamada asetik asit ancak NAD<sup>+</sup> ortamda yeniden oluşursa, etanol oluşmaksızın ortaya çıkabilir. Yani asetik asit, fruktoz ya da moleküler oksijenin indirgenmesi sırasında oluşabilir. Bu organizmalar fosfoketolaz yolu pentozları da fermente edebilirler, bu yolla laktik ile asetik asit oluşur. Bu gruba ait en önemli üye *L. plantarum*' dur. Ayrıca bu grupta; *L. alimentarius*, *L. casei*, *L. curvatus*, *L. sakei*, *L. paralimentarius*, *L. pentosus*' da yer almaktadır.

2. Zorunlu heterofermantatif LAB'leri: bu mikroorganizmalarda heksozları laktik asidin yanı sıra CO<sub>2</sub> ve etanole ya da uygun elektron alıcısı olduğunda asetik aside fermente ederler. Pentoz şekerleri ise sadece laktik ile asetik aside fermente ederler. Bu gruba ait üyeler; *L. brevis*, *L. buchneri*, *L. fermentum*, *L. reuteri*, *L. fructivorans*, *L. sanfranciscensis*, *Leuconostoc mesenteroides*' dir.

Silajlarda LAB' lerine ait en yaygın altı üye tespit edilmiştir. Bunlar; *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus*, *Lactococcus* and *Streptococcus*' tur. Son zamanlarda *Wiessella* cinsi yeni bir bakteri türü de silajlardan izole edilmiştir (Cai ve ark. 1998). Laktik asit bakterilerinin diğer üyeleri ise genel olarak farklı habitatlarda meydana gelmekte (örneğin *Carnobacterium*, *Bifidobacterium*, *Sporolactobacillus*) ve morfolojik olarak *Pediococcus* bağlantılı, küçük alt türleri oluşturmaktadır (*Aerococcus*, *Alloiococcus*, *Tetragenococcus* ve *Atapobium*) (Schleifer ve Ludwig 1995). Ancak, bu mikroorganizmalar silaj fermantasyonu açısından önem taşımayan cinsler olarak kabul edilmektedirler.

## 2.2. Laktik Asit Bakteri İnokulantlarının Gelişimi

Silajlarda başlangıç materyalinin (taze ve yeşil bitki) doğal LAB popülasyonu genellikle düşüktür ve <sup>het</sup>LAB'lerinden oluşmuştur. Dolayısıyla silaj fermantasyonunu iyileştirmek

için hızlı gelişim gösteren <sup>ho</sup>LAB'nin kullanımının etkinliği birçok çalışmada kanıtlanmıştır. Silaj yapımında son zamanlarda LAB'lerini içeren ve bakteriyel inokulant ya da mikrobiyal inokulant olarak isimlendirilen bakteri kültürlerinden silaj katkı maddesi olarak yoğun bir şekilde yararlanılmaktadır. Canlı LAB'nin, dondurulmuş kuru ve toz formdaki kültürlerini içeren bu katkıları biyoteknolojik silaj katkıları olarak kabul edilmektedirler (Pahlow 1986).

Laktik asit bakteri inokulantları ile ilgili ilk çalışmalar 1970'lerin sonu ile 1980'lerin başında popülerlik kazanmıştır. Geçmişteki çalışmalarda bu bakterilerin silaj ortamına adapte edilememesi, düşük dozlarda kullanımı, canlılıklarını korumada sorunların yaşanması nedeniyle istenilen başarı sağlanamamıştır. Daha sonraları; teknolojiye sağlanan ilerlemeler, genetik mühendisliğindeki gelişmeler ile silolama sürecinin daha iyi anlaşılması bu ürünlerin ticarileştirilmesinde çok önemli gelişmeler sağlamıştır. İlk silaj inokulantları, <sup>ho</sup>LAB'nin sadece bir cinsini içermiştir. Yapılan çalışmalar sonucu *L. plantarum*, silaj inokulantı olarak kullanılabilir en uygun LAB olarak belirlenmiş ve gerek tek başına gerekse karışım halinde, hemen hemen tüm ticari bakteri inokulantlarının içerisinde yer almıştır. *L. plantarum*, bir bakteri kültürünün içermesi gereken çoğu önemli kriteri içermesine rağmen, silolanan materyalin pH'sı 5'in altına düşene kadar oldukça yavaş laktik asit üretmesinden dolayı, çoğu ticari inokulantlar, fermantasyon döneminin başlarında pH'nın 5.0-6.5 arasında değiştiği sırada aktif olabilecek *Pediococcus* ve/veya *Enterococcus* cinsi bakteri gruplarını da içerirler (Filya 2001). Whirtenbury (1961) ile Wieringa ve Beck (1964) LAB'lerinin silaj inokulantı olarak kullanılmaları için sahip olmaları gereken kriterleri belirlemişlerdir. Bu kriterlere dayanarak, LAB'lerinin, silajda baskın mikroorganizma faaliyetini artırmaları ve homofermantatif nitelikte olmaları gerekmektedir. Ayrıca, bu organizmalar asit ortama toleranslı olmalı ve ortam pH'sını hızla düşürmelidir. Çözünabilir karbonhidratları fermente etmeli, organik asitler üzerinde etkili olmamalı, proteolitik etkinlik göstermemeli ve değişik sıcaklık aralıklarında gelişebilmelidirler. Silaj inokulantları olarak kullanılan bakterilerde kapsamlı cins seçimlerinde sağlanan ilerlemelerin yıllar sonra gerçekleşmesi ile birlikte bazı organizmalar Wittenbury'nin orijinal kriterlerini sağlamasa da silaj inokulantı olarak kullanılmaya başlanmıştır. Bunlardan *Propionibacteria* ve *L. buchneri* heterofermantatif nitelikteki LAB'leri olmalarına karşın, aerobik stabilitenin geliştirilmesi üzerindeki olumlu etkilerinden dolayı silaj inokulantı olarak önemleri artmıştır. Özellikle *L. buchneri*'nin 1995 yılında tanımlanması, Muck (1996) tarafından yürütülen araştırmalarda kullanılmasını takiben 2001 yılında ABD Gıda ve İlaç idaresi (US Food and Drug

Administration, FDA) tarafından onaylanmasından sonra ticari olarak kullanılması yaygınlık kazanmıştır.

Çağdaş silaj inokulantları birden fazla LAB'sini bir arada içermektedir. Bakteriler arasındaki sinerjistik etkiler katkı maddelerinin etkisini artırmaktadır. (Lindgren ve ark. 1985) *P. acidilactici* ve *L. plantarum* içeren LAB inokulantlarının sadece *Enterococcus* spp. içerenlerden daha etkili olduğunu bildirmişlerdir. Genelde *Enterococci* ve *Pediococci*'nin büyüme hızları yüksek pH'da (>5.0) ve oksijen varlığında *Lactobaccilli*'den daha yüksektir. Fakat doğal silaj fermantasyonunda *Enterococcus* ailesi ile *L. plantarum* ve *P. pentosaceus* gibi mikroorganizmaların etkin olmasıyla, asit intoleransına bağlı olarak hızla azalır. Nitekim *Enterococcus* ailesine mensup bakteriler genellikle tek başlarına silaj kalitesini artıramazlar. *Pediococci* ise silaj inokulantlarında yaygın olarak bulunur. *Pediococci*'ler yüksek KM ve pH'ya dayanıklı mikroorganizmalardır. *Lactobaccilli* gelişiminin yavaş olduğu fermantasyonun ilk safhalarında etkin rol oynarlar. *Pediococci*'nin özel suşlarının katkı maddesi olarak kullanılması, silaj ortamında *L. plantarum*'un dominant olmasını teşvik eder. Son yıllarda da *L. buchneri* ile *L. plantarum*'un birlikte kullanımı yapılan araştırmalarda denenmiş olup, hem aerobik stabilite hem de silaj fermantasyon üzerinde olumlu etkilerinin olduğu bildirilmiştir (Filya ve Sucu 2003).

### **2.3. Laktik Asit Bakteri İnokulantlarının Silaj Fermantasyonu Üzerine Etkileri**

Silolama işlemi, nem içeriği yüksek yeşil yemlerin korunmasında kullanılan bir teknolojidir. Silaj yapımı, doğal fermantasyon sonucu LAB anaerobik koşullar altında SÇK'ları, başta laktik asit olmak üzere diğer organik asitlere fermente etmesi temeline dayalıdır. Bunun sonucunda pH düşer, silaj ortamında bulunması istenmeyen aerobik mikroorganizmalar baskı altına alınır (McDonald 1981). Silaj fermantasyonu; steril büyüme ortamı ve kontrollü şartların kullanıldığı ticari hale getirilmiş diğer fermantasyon işlemlerinden farklı olarak, nispeten kontrolsüz bir işlemdir (McDonald ve ark. 1991). Ayrıca, silajlık materyalin kimyasal kompozisyonu oldukça değişkendir ve silajın kalitesini etkiler (Peterson 1988). Silaj katkı maddeleri olarak kullanılan LAB inokulantları, silaj fermantasyonunu garanti altına almakta ve silajın daha iyi korunmasını sağlamaktadır.

Laktik asit bakteri inokulantlarının mısır silajının fermantasyon özellikleri üzerindeki etkilerinin incelendiği birçok araştırmaya rastlanmıştır. Söz konusu araştırmalar incelendiğinde, <sup>h</sup>LAB inokulantları kullanıldıkları silajların; pH, asetik asit, bütrik asit, amonyak-azotu (NH<sub>3</sub>-N) ve etanol düzeylerini düşürüp; laktik asit ve laktik:asetik asit oranını artırarak, yüksek düzeyde enerji ve KM geri kazanımı sağlamaktadırlar (Weinberg



ve ark. 1993, Keady ve ark. 1994, Kung ve Muck 1997, Filya ve ark. 2000, Filya ve ark. 2004, 2006, Weinberg ve ark. 2007). Nitekim 1990-1995 yılları arasında <sup>ho</sup>LAB inokulantlarının silaj fermentasyonu üzerindeki etkinliğinin değerlendirildiği bir araştırmada, söz konusu katkıların kullanımı, yapılan çalışmaların %60'ında silajların laktik:asetik asit oranını artırmış (n= 233), %55'inde pH (n=221) ve NH<sub>3</sub>-N (n=148) düzeyini düşürmüştür. Ayrıca, çahşmaların %38'inde (n=34) inokulantların kullanımına bağlı KM geri kazanımında artış saptanırken, bu artışın çalışmaların sadece %6'sının istatistiki açıdan önemli düzeyde olduğu belirlenmiştir (Muck ve Kung 1997).

Davies (1996) yürütmüş olduğu çalışmasında, mısır bitkisinde (%22.7 KM) *L. plantarum* içeren 2 farklı <sup>ho</sup>LAB inokulantı kullanmıştır. Silolamanın 100. gününde kontrol grubunun pH'sının 4.3 olarak saptandığı araştırmada, inokulantların her ikisinde silajların pH'sını 3.6 olarak belirlemişlerdir. Söz konusu inokulantlar silajların laktik asit içeriklerini (53-58.3 g/kg KM) kontrol grubuna göre (48.8 g/kg KM) önemli düzeyde artırmış, asetik asit (18 g/kg KM) ve NH<sub>3</sub>-N (%6.2-6.4) içeriklerini de kontrol grubuna göre (20.3 g/kg KM, %8.2) önemli düzeyde düşürmüşlerdir (P<0.05). İnokulant kullanımına bağlı olarak NH<sub>3</sub>-N sağlanan azalma protein geri kazanımını artırmış olup, silajların HP içerikleri kontrol ve inokulant kullanılan gruplarda sırasıyla 93.2 ve 101.6-103.2 g/kg KM olarak saptanmıştır (P<0.05). (Weinberg ve ark. 1993) başlangıç pH'sı 5.9 olan mısır (%40.6 KM) bitkisinde <sup>ho</sup>LAB inokulantı kullanmışlardır. Silolamanın 45. gününde tüm silajların pH'ları 3.5 olarak belirlendiği araştırmada, SÇK içeriklerini kontrol ve inokulant kullanılan gruplarda sırasıyla 18 ve 14 g/kg KM; laktik asit içeriklerini 90 ve 41 g/kg KM; asetik asit içeriklerini ise 8 ve 0 g/kg KM olarak saptamışlardır.

Shayan ve ark. da (1996) yürütmüş oldukları çalışmalarında, *L. plantarum* ve *E. faecium* içeren <sup>ho</sup>LAB inokulantının mısır silajı üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. Söz konusu araştırmada, kontrol ve inokulant içeren gurupların laktik asit içerikleri sırasıyla 13.7 ve 16.4 g/kg KM; asetik asit içerikleri 8.3 ve 4.6 g/kg KM olarak saptanmıştır. Araştırmacılar, her iki grubun pH'sını 4.1 olarak belirlemiş olup, silajların hiç birisinde bütrik asit oluşumuna rastlamamışlardır. Ayrıca, inokulant kullanılan silajlarda ham protein fraksiyonundaki gerçek proteini %63.3, kontrol grubunda ise %47.0 olarak saptamışlardır. Bunun nedenini, kontrol grubundaki proteolitik bakterilerin yüksek metabolik aktivite göstermiş olmasına bağlamışlardır.

Filya (2002b) başlangıç pH'sı 5.8 olan mısır bitkisinde (%35.0 KM), *L. plantarum* ve *E. faecium* (İA, İB) ile *E. faecium* (İC) içeren üç farklı <sup>ho</sup>LAB inokulantının fermentasyonun süresince (1, 3, 5, 10 ve 50. gün) etkilerini incelemiştir. Fermentasyonun 50. gününde

silajların pH'sini kontrol ve inokulant gruplarında sırasıyla 3.6 ve 3.5 olduğunu; başlangıç materyalinde 0.8 olan laktik asidin %KM'de %4.3 ve 8.3-9.4; başlangıç materyalinde hiç bulunmayan asetik asidin %4.3 ve 0-1.4; bütrik asidin 4.2 ve 0; etanolun ise 7.2 ve 3.2-4.0 olduğunu saptamıştır. Sonuç olarak, inokulantlar silajların pH'larını önemli düzeyde düşürmüş ve laktik asit üretimini artırmışlar ( $P<0.05$ ), bunun yanı sıra asetik ve bütrik asit ile etanol oluşumunu önemli düzeyde engellemişlerdir. Araştırma sonucunda üç inokulantta silajlarda çok hızlı bir fermantasyona yol açarak, silajların kimyasal özelliklerini olumlu yönde etkilemiş, temel fermantasyon ürünü laktik asit olmuştur. Diğer yandan inokulant kullanımı silajların KM ve SÇK içeriklerini etkilememişlerdir ( $P>0.05$ ). Araştırmacı, asetik ve bütrik asit üreten mikroorganizmaların görülmemesinde silaj ortamında dominant mikrofloranın LAB'den oluşmasından kaynakladığını da bildirmiştir. Johnson ve ark. (2003) süt olum başlangıcı (%23.5 KM), 1/3 süt olum (%25 KM) dönemlerinde hasat ettikleri mısır bitkilerinde *L. plantarum* ve *E. faecium* içeren <sup>ho</sup>LAB inokulantı kullanmışlardır. Araştırma sonucunda, hasat döneminin ilerlemesine bağlı olarak mısır bitkisinin KM içeriği artmış, SÇK içerikleri ise azalan bir trend izlemiştir. Araştırmada farklı dönemlerde hasat edilen mısır silajlarında inokulant kullanımı silajların pH'larını önemli düzeyde düşürerek (3.74-3.91) laktat ve asetat içeriklerini artırmış, SÇK içeriklerini ise önemli düzeyde azaltmıştır ( $P<0.05$ ). Elde edilen bu sonuçların, inokulant kullanımının mısır silajlarında mikrobiyal aktiviteyi artırdığının bir göstergesi olduğunu bildirmişlerdir. Nitekim fermantasyonun 57. gününde laktat içeriklerinin %23.5 KM içeren mısır silajlarında kontrol ve inokulant kullanılan gruplarda sırasıyla %KM'de %5.22 ve 6.90; asetat içeriklerinin %1.74 ve 1.84; %25 KM'de ise laktat içeriklerinin %5.29 ve 5.50; asetat içeriklerinin %2.49 ve 2.75 olduğunu belirlemişlerdir. Mısır silajlarının KM geri kazanımlarının belirlendiği araştırmada, KM geri kazanımlarının mısır silajlarında %88-100 arasında değiştiğini, olgunlaşma döneminin KM geri kazanımını etkilemediğini belirlemişlerdir. Nitekim %23.5 KM içeren mısır silajlarının KM geri kazanımlarını kontrol ve <sup>ho</sup>LAB inokulantı kullanılan gruplarda sırasıyla %91.4 ve 95.4; %25 KM içeren mısır silajlarında ise %93.9 ve 92.4 olarak belirlemişlerdir. Elde edilen bu bulguların araştırmada yapılan tüm silajların hızlı ve tam olarak fermente olduklarını gösterdiğini bildirmişlerdir.

Kim ve ark. (2005), mısır bitkisinde (%30.4 KM) *L. plantarum* içeren <sup>ho</sup>LAB inokulantı kullanmışlardır. Tüm silajların pH'sının 3.9 olarak saptandığı araştırmada, inokulant kullanımı silajların laktik asit içeriğini (%8.61) artırırken, asetik asit içeriğini (%0.15) kontrol grubuna (%3.94, 0.29) göre düşürmüştür ( $P<0.05$ ). Ayrıca, LAB inokulant

kullanımına bağı silajların ham protein içeriklerinde önemli düzeyde bir artış meydana gelmiştir.

Filya ve ark.(2006a) süt olum başlangıcı (%29 KM), 1/2 süt olum (%35.5 KM) dönemlerinde hasat ettikleri mısır bitkisinde *L. plantarum* ile *L. plantarum* ve *Pediococcus cerevisiae* içeren iki farklı <sup>ho</sup>LAB inokulantı kullanmışlardır. Sıkıştırma yoğunluklarının sırasıyla 154.7 ve 189.3 kg/m<sup>3</sup> KM olarak saptandığı araştırmada, başlangıç pH'sı sırasıyla 5.77 ve 5.97 olarak belirlenmiştir. Ayrıca, hasat döneminin ilerlemesine bağı olarak mısır bitkisinin SÇK içeriğinde azalma meydana gelmiş, süt olum başlangıcı ve 1/2 süt olum dönemlerinde mısırın SÇK içerikleri sırasıyla %8.41 ve 6.2 olarak saptanmıştır. Her iki inokulant da; silajların pH'sını, asetik asit içeriklerini ve gaz kayıplarını etkilemezken, SÇK ve NH<sub>3</sub>-N içeriklerini düşürmüş, laktik asit içeriklerini ise önemli düzeyde artırmıştır (P<0.05). Nitekim fermantasyonun 60. gününde %29 KM içeren mısır silajlarının laktik asit içerikleri kontrol ve inokulant kullanılan gruplarda sırasıyla 58.1 ve 87.8-89.4 g/kg KM; NH<sub>3</sub>-N içerikleri 3.07 ve 1.95-2.02 g/kg KM; SÇK içerikleri ise 26.2 ve 16.8-18.1 g/kg KM olarak belirlenmiştir. %35.5 KM içeren mısır silajlarında ise laktik asit kontrol ve inokulant kullanılan gruplarda sırasıyla 55.7 ve 86.6-87.9 g/kg KM; NH<sub>3</sub>-N 2.76 ve 1.71-1.77 g/kg KM; SÇK ise 21.6 ve 13.6-14.4 g/kg KM olarak saptanmıştır.

Weinberg ve ark. (2007) tarafından yürütülen araştırmada, mısır (%37.0 KM) ve buğday (% 35.0 KM) bitkilerinde <sup>ho</sup>LAB (*E. plantarum* MTD1, *P. pentosaceus* E, *L. plantarum*, *L. pentosus*, *P. pentosaceus* A, *E. faecium* C, *E. faecium* Q, *L. plantarum*+*E. faecium*) inokulantları kullanılmıştır. Silolamanın 60. gününde açılan silajların fermantasyon özelliklerinin incelendiği araştırmada, <sup>ho</sup>LAB inokulantları buğday silajlarının genel olarak pH'larını etkilememiş, laktik asit içerikleri ile etanol düzeylerini artırmış, asetik asit içeriklerini ise düşürmüştür (P<0.05). Etanol içeriğindeki bu beklenmedik artışın (40-64 g/kg), fermantasyonun ilk günlerinde gözledikleri maya aktivitesinden kaynaklanabileceğini bildirmişlerdir. Söz konusu inokulantların kullanıldığı silajların laktik içerikleri 30-44 g/kg KM arasında değişim göstermiş olup, en yüksek laktik asit üretimi *L. plantarum* + *E. faecium* (44 g/kg KM), *L. plantarum* MTD1 (38 g/kg KM), *L. plantarum* (38 g/kg KM), *L. pentosus* (37 g/kg KM) kullanılan silajlarda gözlenmiştir. Mısır silajlarında ise söz konusu inokulantlar genel olarak silajların pH'larını etkilememiş; laktik asit içeriğini ise *L. plantarum* MTD1 (29 g/kg KM), *P. pentosaceus* A (35 g/kg KM), *E. faecium* Q (37 g/kg KM) düşürken; *E. faecium* C (39 g/kg KM) etkilememiş; *P. pentosaceus* E (45 g/kg KM) ve *L. pentosus* (46 g/kg KM) ise artırmıştır. Beklenmedik bir

şekilde bazı <sup>ho</sup>LAB inokulantları (13-30 g/kg KM) mısır silajlarının asetik asit içeriklerini kontrol grubuna (11 g/kg KM) göre artırmışlar, bazıları ise düşürmüşlerdir (3-9 g/kg KM). Homofermantatif LAB inokulantlarının silajların fermantasyon özelliklerini etkilemediğini gösteren çalışmalara da rastlanmıştır. Bunun sebebi mısırın silolanabilme özelliklerinin iyi ve epifitik LAB popülasyonunun yeterli olmasına bağlanmaktadır (Meeske ve Basson 1998, Cleale ve ark. 1990, Bolsen ve ark. 1992, Ranjit ve Kung 2000, Sucu ve Filya 2006a). Nitekim Cleale ve ark. (1990) mısır silajlarının pH'sını kontrol ve inokulant kullanılan gruplarda sırasıyla 4.24 ve 4.14 olarak belirledikleri araştırmalarında, toplam N, eriyebilir-N, NH<sub>3</sub>-N ve ADIN (asetik deterjanda çözünmeyen azot) içerikleri bakımından gruplar arasında önemli farklılıkların oluşmadığını saptamışlardır (P>0.10). Bu sonuçların mısır silajlarının azot içeriklerinin düşük olmasından kaynaklandığını belirterek, azot düzeylerinde oluşabilecek değişimlerin mısırdaki düşük konsantrasyonlarda gerçekleşmesinden dolayı, gözlenmelerinin zor olduğunu belirtmişlerdir. Benzer sonuçları Bolsen ve ark. (1992)'da elde etmiş olup, başlangıç pH'sı 5.8 olan mısırdaki <sup>ho</sup>LAB inokulantının fermantasyon üzerinde etkili olmadığını belirterek, silolamanın 120. gününde silajların pH'sını 4.14 olarak belirlemişlerdir. Ayrıca, silajlarda laktik asidin kontrol ve inokulant gruplarında sırasıyla %2.67 ve 2.88; asetik asidin %0.87 ve 0.89; etanolün 0.15 ve 0.21; NH<sub>3</sub>-N'nin ise 0.09 ve 0.09 olduğunu saptamışlardır. Ranjit ve Kung (2000)'da mısır bitkisinde *L. plantarum* 30115 içeren <sup>ho</sup>LAB inokulantının etkisini incelemişlerdir. Silolamanın 100. gününde silajların pH'sını kontrol ve inokulant kullanılan gruplarda sırasıyla 3.66 ve 3.68 olduğunu; toplam laktik asidin %7.72 ve 7.24; asetik asidin %1.82 ve 1.68; laktik: asetik asit oranının 4.21 ve 4.22 olduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca silajlarda propiyonik (%0-0.02) ve bütrik asidin (%0-0.01) çok düşük düzeylerde oluştuğunu bildirmişlerdir. Weinberg ve ark. (2002) başlangıç pH'sı 5.7 olan mısır bitkisinde *L. plantarum*' un etkisini 50 L'lik plastik konteynırda incelemişlerdir. Silolamanın 90. gününde silajların pH'sını kontrol ve inokulant kullanılan gruplarda sırasıyla 3.8 ve 3.8 olduğunu; laktik asidin 25 ve 26 g/kg KM; asetik asidin 10 ve 9; gaz kayıplarının ise 1.7 ve 1.5 olduğunu belirlemişlerdir.

#### **2.4. Laktik Asit Bakteri İnokulantlarının Silajların Mikrobiyolojik Özellikleri Üzerine Etkileri**

Silaj kalitesi başlangıç epifitik LAB'nin büyüklüğü ile varyete ve aktivitelerinden etkilenmektedir (McDonald 1981, Cai ve ark. 1998). Bundan dolayı bitkinin içerdiği mikrobiyal popülasyonun taksonomik kompozisyonu ortaya konulmuş olup, Orta Avrupa

ve Yakın Doğu'da son yıllar içerisindeki bitkide bulunan bakteriyal ve fungal populasyonlar standart yöntemler kullanılarak belirlenmiştir (Çizelge 2.1, Seale ve ark. 1990). Çoğu cinsi zorunlu aerob bakteriler (Hirano ve Upper 1991) olan ve sayıları taze materyalde  $10^5$ - $10^9$  cfu/g arasında değişen (Langston ve Bouma 1960a, b) bu mikrobiyal populasyonunun çok önemli bölümü, ultraviyole (UV) ışınlarından ve kurumaktan korundukları için bitkinin alt yapraklarında ve gövdesinde yer almaktadır (Blakeman 1981).

**Çizelge 2.1.** Silolama dönemine kadar bitkide bulunan bakteriyal ve fungal grupların populasyonu

Grup	Populasyon cfu/g
Toplam aerobik bakteri	> 10 000 000
Laktik asit bakteri	10 - 1 000 000
<i>Enterobakteria</i>	1000 – 1 000 000
Maya and ve maya benzeri mantar	1000 – 100 000
Küf	1000 – 10 000
<i>Clostridia</i> (endosporlar)	100 – 1000
<i>Bacilli</i> (endosporlar)	100 – 1000
Asetik asit bakteri	100 – 100
Propionik asit bakteri	10 - 100

Epifitik mikrobiyal floranın en önemli üyesi LAB'leridir. Bu bakteri grubu silaj fermentasyonunda da önemli mikrofloradır. Bitkideki sayıları geniş sınırlar içerisinde değişim göstermekle birlikte, yoncada (*Medicago sativa* L.)  $10^5$  cfu/g, çok yıllık çim otunda  $10^6$  cfu/g, mısırdaki (*Zea mays* L.) ve sorgumda (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) ise  $10^7$  cfu/g düzeyinde bulunmakta, mevsim ve biçim zamanından etkilenmektedir. Nitekim yonca ve çim otunun epifitik LAB populasyonunu 2. yada 3. biçimde artmakta, mısırdaki ise erkenci çeşitler daha fazla epifitik LAB içermektedir. Diğer yandan soğuk mevsimlerde bakterilerin sayıları azalmaktadır (Lindgren ve ark. 1985, Bolsen ve ark. 1988, Muck 1989, Lin ve ark. 1992). Canlı bitki üzerindeki epifitik LAB populasyonu düşük olmasına rağmen, bu bakteriler hasat sürecinden etkilenmektedir. Bu fenomen "hasat inokulasyonu (chopper inoculation)" olarak tanımlanmaktadır (Woolford ve Pahlow 1998). Laktik asit

bakterlerinin hasattan hemen sonraki sayıları, hasat edilmeden önceki sayılarına göre 100 kat hatta daha fazla artışı belirlenmiştir (Muck 1989, Pahlow 1991).

*Enterobacteria'* da epifitik mikrofloranın önemli üyelerindedir. Bu grup üyeleri LAB'leri ile rekabete girerler ve fermantasyon ürünü olarak asetik asit üretirler. Bunların dışında nitratları indirgeyip, nitrit ve nitrojen oksit gazları da oluştururlar (Pahlow ve ark. 2003). *Enterobacteria* genusunun diğer üyelerinden *Clostridia* ve *Bacilli* ise bitki üzerinde nadir bulunsada, toprak kontaminasyonu ve çiftlik dışıkları sayıları artmaktadır. Her iki bakteri de ortam pH'sini yükseltmekte, fermantasyon üzerinde olumsuz etki yaratarak silaj kalitesini düşürmektedir. Ayrıca, *Bacilli* diğer aerobik bakter gibi aerobik bozulmada da etkili olmaktadır. Çoğu zaman, parçalanmamış bitkide hatta silaj yapıldıktan sonrada aynı bakteriyel gruplardan mayaların varlığı da tespit edilmiştir (kuvvetli aerob olanlar hariç). Tarla üzerindeki üründe çok sayıda maya varyetesine rastlanırken, silajda sınırlı sayıda gelişim gösterdikleri kaydedilmiştir (Diğer bir ifade ile tarla üzerindeki üründe gelişen maya varyetesi sayısı ile silajda gelişen maya varyeteleri arasında önemli bir fark olduğu belirlenmiştir). Ancak, daha sonraları bilinen varyetelere ilave olan *Candida*, *Hansenula*, *Pichia*, *Geotrichum* ve *Saccharomyces* ile bunlardan daha kısa bir süre sonra tanımlanan *Debaromyces*, *Trichosporon* ve *Guilliermondella'* nın fermantasyonun ilerleyen safhalarında dominant hale gelebildiği, genellikle aerobik koşullarda gelişebildikleri ve toplam floranın %10'undan az bir kısmını oluşturdukları saptanmıştır (Di Menna ve ark. 1981, Middelhoven ve van Baalen 1988, Woolford 1990). Aynı durum küflere içinde geçerlidir. Flamentöz mantarlar aerobik koşullarda iyi gelişmektedirler. Bütün karma mikrobiyal populasyonlarda olduğu gibi, bazı türleri düşük oksijen ve pH'da da gelişebilmekte, yüksek CO<sub>2</sub> ve organik asit konsantrasyonuna diğerlerinden daha iyi adapte olabilmektedir. Bu nedenle, Pelhate (1977) küflerin üç ekolojik kategoriye ayrılmasını önermiştir. Bunlar; aerobik, tolerant (toleranslı) ve mikroaerofilik türlerdir. Silaj ortamında *Byssochlamys nivea*, *Monascus ruber* veya *Penicillium roqueforti* gibi sadece depolamanın son aşamalarına doğru siloya oksijen girmesiyle ile dominant hale gelebilecek tolerant maya türleri gözlenmiştir.

Bu grupların dışında daha az öneme sahip olan asetik ve propiyonik asit bakteri de epifitik mikrofloranın üyelerindedir. Asetik asit bakterileri daha çok mısır silajında olmak üzere, silajlarda aerobik bozulmaya sebep olan bakteri türüdür (Spoelstra ve ark. 1988). Propiyonik asit bakterileri ise silaj fermantasyonu ve saklama dönemlerinde bozulmadan zorunlu bakteri grubudur (Pahlow ve Honig 1994).

Taze materyal silolanıp tam anlamıyla kapatılacak olursa materyal içerisinde kalan oksijen kısa sürede tüketilmektedir. Böylece anaerobik (oksijen yokluğunda) koşullarda gelişen bakteriler (LAB, *Enterobacteriaceae* ve *Bacillus* türleri) eğer ortamda mevcutlarsa hızla çoğalırlar. Bu çoğalma dönemi başlangıçta küçük bir azalmayı izleyen birkaç gün içerisinde tamamlanır. Mikroorganizma popülasyonunun çoğalma hızı ve yoğunlukları bitki çeşidi ve silo içi sıcaklığına bağlı olarak değişmektedir. Başlangıçta mikroflora içerisinde *Enterobacteria* dominant olduğu halde kısa süre sonra bu bakterilerin yerini *Leuconostocs* ve *Streptococcus*' lar almaktadır. Bundan sonraki aşamada ise *Leuconostocs* ve *Streptococcus*' ların yerine pH'yi 4.0'e düşüren *Lactobacillus* ve *Pediococcus*' lar dominant hale geçerler (McDonald ve ark. 1991). Önceki yıllarda buğdaygil yeşil otu ve kırmızı üçgülün fermantasyonu sırasında *Lactobacillus*' ların kalitatif değişimi ile ilgili olarak düşük ve yüksek KM koşullarında ortaya çıkan değişimler bir deneme ile izlenmiştir. İyi kapatılmış siloda hem taze hem de soldurulmuş söz konusu bitkilerde asit oluşumu büyük ölçüde <sup>ho</sup>LAB tarafından gerçekleştirilmiş olup, bu durumda dominant bakterilerin *L. curvatus* ve *L. plantarum* olduğu gözlenmiştir. Silolamadan 4 gün sonra ise silaj içinde bulunan *Lactobacillus*' ların %85'inin heterofermantatif türler oldukları ve *L. buchneri* ile *L. brevis*' in dominant oldukları anlaşılmıştır. Silolama döneminin sonunda ise düşük KM içerikli silajda *Lactobacillus*' ların %75'i, yüksek KM içerikli silajda ise %98'i heterofermantatif türlerdir. Bakteri popülasyonundaki bu değişimin *Lactobacillus* türlerinin asetik asite duyarlılık farklılıklarından ileri geldiği öne sürülmektedir. Nitekim saf kültürlerle gerçekleştirilen çalışmalar sonucunda *L. buchneri* ve *L. brevis* gibi heterofermantatif bakterilerin asetik asite karşı homofermantatif mikroorganizmalara göre iki kat daha az duyarlı oldukları gözlenmiştir (McDonald ve ark. 1991).

Silaj fermantasyonundaki temel prensip, silaj ortamında yeterli sayıdaki LAB'lerinin gelişmelerini sağlamak ve istenmeyen epifitik mikroorganizmalar ile bitkide bulunan endojen katabolik enzimlerin aktivitelerini engellemektir. Çünkü silolanan bir materyal LAB'lerinin ürettiği laktik asit tarafından korunur. Ancak, bitkiler istenen (LAB) ve istenmeyen mikroorganizma popülasyonlarının (*Enterobacteriaceae* ve *Bacillus* türleri ile maya ve küfler) her ikisini de içermektedir. Silajlık materyalin ya da silo ortamının uygun olmaması durumunda *Enterobacteriaceae* genusuna ait türler, *Clostridia* ve *Bacilli* sporları ile maya ve küfler fermantasyona katılır. Adı geçen bu mikroorganizmalar bitkideki fermente olabilir karbonhidratları kullanabilmek için LAB'leri ile rekabete girerler. Silaj ortamında baskın gelmeleri sonucunda ise, fermantasyon istemeyen bir yönde ilerler ve silaj kalitesini bozucu özellikteki bazı ürünler (etanol, NH<sub>3</sub>-N ve bütrik asit gibi) açığa çıkar.

Ayrıca, silolanacak materyalin başlangıç epifitik LAB popülasyonu genel olarak düşüktür ve bu bakterilerin büyük çoğunluğunu <sup>het</sup>LAB'leri oluşturmaktadır (Woolford 1984, Cai ve ark. 1998). Dolayısıyla LAB inokulantlarının kullanım amacı, silaj ortamında istenen mikroorganizma popülasyonunu (LAB) artırmak bunun sonucunda laktik asit üretimini teşvik ederek, pH'nın hızla düşmesini sağlamaktır. Böylece istenmeyen mikroorganizmaların gelişimi engellenerek, silajın besleme değeri korunmaktadır (Bolsen ve ark. 1992).

Laktik asit bakteri inokulantlarının silajların mikrobiyolojik yapıları üzerindeki etkileri ile ilgili değişik sonuçlar alınmıştır. Homofermantatif LAB inokulantları silajların genellikle *Lactobacilli* içeriklerini artırmaktadır (Weinberg ve ark. 1993, Filya 2003, Filya ve ark. 2004, Filya ve ark. 2006a, Weinberg ve ark. 2007). Maya ve küf içeriklerini ise bazen düşürmekte (Filya 2002b), bazen etkilememekte (Filya 2002a, b), bazen ise artırmaktadır (Weinberg ve ark. 1993, Filya 2003, Kleinschmit ve ark. 2005). Diğer yandan söz konusu katkılar *Enterobacteria* ve *Clostridia* oluşumunu önemli düzeyde engellemektedir (Filya 2002a,b). Nitekim Weinberg ve ark. (1993) araştırmalarında, mısır silajlarının *Lactobacilli*, maya ve küf popülasyonlarının, inokulant kullanımına bağlı olarak arttığını gözlemişlerdir. Araştırmacılar, kontrol ve <sup>ho</sup>LAB inokulantı kullanılan silajların *Lactobacilli* içeriklerini sırasıyla 4.0 ve 5.5 cfu/g; maya içeriklerini 4.7 ve 5.4 cfu/g; küf içeriklerini ise 0 ve 5.0 cfu/g olarak belirlemişlerdir. Davies'de (1996) silajların maya popülasyonunun <sup>ho</sup>LAB inokulantı kullanımına bağlı olarak önemli düzeyde düştüğünü belirterek, silolamanın 100. gününde açılan silajların maya içeriklerini kontrol ve <sup>ho</sup>LAB inokulantı kullanılan silajlarda sırasıyla  $3.11 \times 10^7$  ve  $1.26 \times 10^4$  cfu/g; küf içeriklerini ise 0 ve 2 cfu/g olduğunu belirlemiştir. Filya (2002b) tarafından yürütülen araştırmada da, mısır bitkisinde üç farklı <sup>ho</sup>LAB inokulantı kullanılmıştır. Silajların *Lactobacilli* içerikleri inokulant kullanımına bağlı olarak kontrol grubu silajlara göre önemli düzeyde artmış ( $P < 0.05$ ), küf ve *Enterobacteria* içerikleri ise önemli düzeyde düşmüştür ( $P < 0.05$ ). Ayrıca, inokulant kullanılan silajların hiç birisinde *Clostridia* oluşumuna rastlanmamış ve maya içerikleri uygulamalardan etkilenmemiştir. Taze mısır bitkisinin *Lactobacilli*, maya ve küf içeriklerini sırasıyla 3.86, 4.06 ve 2.58 log<sub>10</sub> cfu/g olarak saptayan Filya (2003) araştırmasında, fermantasyonun 2. gününden itibaren söz konusu mikroorganizmaların artış gösterdiğini belirterek, fermantasyonun 90. gününde en yüksek değerlerine ulaştığını belirlemiştir. Araştırmada, <sup>ho</sup>LAB inokulantı (*L. plantarum*) silajların *Lactobacilli* ve maya içeriklerini önemli düzeyde artırmış, küf içerikleri ise düşürmüştür. Araştırmacı, fermantasyonun 90. gününde silajların *Lactobacilli* içerikleri kontrol ve inokulant gruplarında sırasıyla 8.35 ve 10.40



$\log_{10}$  cfu/g; maya içerikleri 3.86 ve 4.45  $\log_{10}$  cfu/g; küf içerikleri ise 3.26 ve 3.08  $\log_{10}$  cfu/g saptamıştır.

## **2.5. Laktik Asit Bakteri İnokulantlarının Silajların Hücre Duvarı Bileşenleri Üzerine Etkileri**

Laktik asit bakteri inokulantlarının silajların hücre duvarı bileşenleri (sellüloz, hemisellüloz, lignin) üzerinde etkisi ya hiç yoktur ya da bu etki düşüktür (Kung ve Muck 1997). Bu inokulantlarının hücre duvarını oluşturan polisakkaritler üzerindeki etkileri (özellikle hemisellülozların asit hidrolizi) dolaylı olmakta, ortam pH'sini hızla düşürmeleri ile hidrojen iyonlarının artışı bu etkiyi yaratmaktadır (Rooke ve Hatfield 2003). Muck'da (1993) LAB inokulantlarının, pH' yi hızla düşürerek, hücre duvarı fraksiyonlarını açtığı ve hemisellülozun (HMS) hidrolizini sağlayan ek bir asit ürettiği bildirmiştir. Ranjit ve Kung (2000) tarafından yürütülen araştırmada da bu görüşü destekler nitelikte sonuçlar alınmış olup, süt olum döneminde (%31.3 KM) hasat edilen mısırdaki <sup>ho</sup>LAB'si olan *L. plantarum* 30115 kullanımının mısır silajının nötr deterjanda çözünmeyen lif (NDF) içeriğinde önemli düzeyde azalmaya neden olduğu saptanmıştır (P<0.05). Ayrıca, asit deterjanda çözünmeyen lif (ADF) içeriğinde de bir azalma meydana gelmiş, fakat bu azalma istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur (P<0.05). Başlangıç NDF ve ADF içeriklerinin sırasıyla %48.8 ve 26.7 olduğu söz konusu araştırmada, kontrol ve <sup>ho</sup>LAB inokulantı kullanılan mısır silajlarının NDF içerikleri sırasıyla %46.2 ve 43.0, ADF içerikleri ise %26.5 ve 24.6 olarak belirlenmiştir. Diğer yandan LAB inokulantlarının hücre duvarı bileşenlerini etkilemediğini gösteren araştırmalara da rastlanmıştır (Rust ve ark. 1989, Kung ve ark. 1993, Kleinschmit ve ark. 2005, Kleinschmit ve Kung 2006a). Benzer bulgular Sanderson (1993) ile Filya (2002a)'da elde etmiş olup, mısır silajında *L. plantarum* ve *E. faecium* içeren <sup>ho</sup>LAB kullanımının silajların NDF ve ADF düzeylerini etkilemediğini bildirilmişlerdir. Nitekim Sanderson'nın (1993) yürüttüğü araştırmada, mısır silajlarının NDF içeriklerini kontrol ve <sup>ho</sup>LAB inokulantı kullanılan gruplarda sırasıyla %45.9 ve 44.8, ADF içerikleri %25.6 ve 25.3 olarak saptanmıştır. Filya'nın (2002a) yürüttüğü araştırmada ise, mısır silajlarının NDF içerikleri kontrol ve <sup>ho</sup>LAB inokulantı kullanılan gruplarda sırasıyla %52.9 ve 53.0, ADF içerikleri %27.5 ve 27.4 olarak belirlenmiştir.

İnokulant etkisi dışında da, silolama süresinin uzamasına bağlı olarak, süre gelen asidik koşullar hücre duvarı fraksiyonlarını azaltabilmektedir (Muck 1996). Jones ve ark.'da (1992) baklagil ve çim silajlarında yürüttükleri çalışmalarında, silolama süresinin uzamasına bağlı olarak, silajların pektik ve hemisellülotik fraksiyonlarında önemli

sayılabilecek bir azalmanın meydana geldiğini saptamışlardır. Araştırmacılar, söz konusu değişimin arabinozal kalıntılar biçimde gerçekleştiğini belirterek, arabinozal dalların furanoz formda bulduklarını ve bu dalların zayıf asitlere bile açık olduğunu bildirmişlerdir.

Laktik asit bakterilerinin hücre duvarını oluşturan polisakkaritleri fermente edebilme yetenekleri yoktur. Bu bakteriler sadece basit şekerler ile çok az sayıda disakkaritleri (sukroz ve maltoz) metabolize edebilirler. Silaj fermantasyonu açısından yapısal karbonhidratlardan yararlanma ancak hidrolitik aktiviteyle mümkün olabilir. Bitkiler hücre duvarı hidrolitik enzimlerini üretmelerine karşın, bu enzimlerin yapısal karbonhidratlar üzerindeki etkileri, spesifik organ ve dokular tarafından kısıtlanmaktadır. Bitki bünyesinde bulunan doğal hidrolazlar, hücre duvarını genişletebilmekte veya çok düşük oranlarda hücre duvarı kapsamını azaltabilmektedirler (Fry 1985, Carpita 1997).

Hemisellülozların asit hidrolizi yavaş seyreden bir kimyasal parçalanmadır. Doğal silaj fermantasyonunda NDF içeriğindeki azalmanın %0.5'ten bile düşük seviyelerde gerçekleştiği belirtilmektedir (Muck 1996). Şayet silolanacak bitki sınırlı düzeyde çözünebilir karbonhidrat içeriyorsa, yapısal karbonhidratların LAB'leri tarafından fermente edilebilir forma dönüştürülebilmeleri için yüksek hidrolitik aktivite gereklidir. Buda ancak, ticari enzim preparatlarının kullanımı ile gerçekleştirilebilir. Ayrıca, polisakkaritlerin hücre matriksindeki kompleks yapılarından dolayı LAB'lerinin kullanabileceği monosakkarit forma dönüştürülebilmeleri için tek bir enzimin ilave edilmesinin de yeterli olmayacağı bildirilmektedir (Rooke ve Hatfield 2003).

Diğer yandan enzim kullanımının ekonomik olmadığı durumlarda da *L. amylovorus* elde edilen  $\alpha$ -amilaz geninin *L. plantarum'* a klonlanılmasıyla elde edilen modifiye organizmalar gibi katkılardan da yararlanmanın mümkün olabileceği belirtilmektedir. Yapılan çalışmalarda, bu organizmaların genellikle baklagiller ile ılıman iklim çayır silajlarında, kullanılabilir karbonhidrat içeriğini basit şekerler ve sukroz yönünden artırmak suretiyle, silaj fermantasyonunda yarar sağladığını göstermiştir (Fitzsimons ve ark. 1994).

## **2.6. Laktik Asit Bakteri İnokulantlarının Silajların Aerobik Stabiliteleri Üzerine Etkileri**

Aerobik stabilite (silo ömrü), silajın ısınmadan ve bozulmadan kaldığı sürenin uzunluğudur (Kung 1998). Silo açıldıktan sonra, silajın hayvanlara yedirilmek üzere alınmaya başladığı dönemden itibaren anaerobik koşullar aerobik hale dönüşür. Bu dönemde sınırsız hava

girişi, istenmeyen kimyasal ve mikrobiyolojik aktivitelerin oluşmasına neden olur (Woolford 1990).

Aerobik bozulma kompleks bir süreçtir. Silolanan ürünün; mikrobiyal populasyonun bileşimi, çevre sıcaklığı, silaj kütesinin sıcaklığı, silaj yoğunluğu ve fermantasyon özellikleri oluşabilecek aerobik kayıpları etkilemektedir (Ohyama ve ark. 1975). Ayrıca, silajlarda oluşan aerobik bozulmanın hızı farklı silajlar arasında oldukça geniş varyasyon göstermektedir. Kimi silajlarda hava ile temastan birkaç saat sonra silaj sıcaklığında artış gözlenirken, bazı silajlarda birkaç gün hatta birkaç hafta süre ile sıcaklık artışı gözlenmeyebilir (McDonald ve ark. 1991).

Maya ve küfler çoğunlukla aerobik bozulmada başrolü oynayan mikroorganizmalardır (Woolford 1984, McDonald ve ark. 1991). Söz konusu mikroorganizmalar silajdaki şekerleri, laktik asit gibi fermantasyon ürünlerini tüketerek, büyük miktarlarda KM ve besin maddeleri kaybına neden olmaktadır. Dawson ve ark. (1990) aerobik mikroorganizmaların besin maddelerini metabolize etmeleri sonucunda siloda oluşan sıcaklık ve pH artışını "aerobik instabilite" olarak tanımlamışlardır. Mayaların silajlarda var olması ise silajın lezzetini azaltmakta, besleme profilini değiştirmektedir. Ancak, bu mikroorganizmalar aynı zamanda silajın vitamin, protein ve karbonhidrat miktarında önemli düzeylerde kayıplara neden olmaktadır (Scatter ve Smith 1999). Mayalar, iyi fermente olmuş silajlarda  $10^6$  cfu/g, bozulmuş silajlarda  $10^{12}$  cfu/g'a kadar değişen düzeylerde bulunabilirler (Middlehoven ve van Baalen 1988). Daniel ve ark. (1970) maya populasyonu  $10^6$  cfu/g olan silajların, aerobik bozulmaya açık silajlar olduklarını bildirmişlerdir. Bazı küf türleri mikotoksin ve diğer toksik bileşikler üretebilirler. Silajlarda oluşan besin maddeleri kaybı ve mikotoksin oluşumu, silajın gerek ekonomik değerini gerekse besleme değerini olumsuz yönde etkiler. Bu tip silajlar hayvanların yem tüketimini düşürerek, besin maddelerinin sindirilebilirliğini düşürerek, emilimi azaltır, toksik etki yaratabilir (Scatter ve Smith 1999). Silajların aerobik bozulmasından maya ve küf gibi mikroorganizmalar sorumlu olurken, aerobik olarak bozulmuş silajlardaki kimyasal, mikrobiyolojik ve fiziksel değişiklikler, bakterilerin de bozulmadan sorumlu mikroorganizmalar olabileceğini göstermiştir (Woolford ve ark. 1982). Spoelstra ve ark. (1988) aerobik bozulmaya asetik asit bakterilerinin de sebep olduğunu bildirmişlerdir. Asetik asit bakterilerinin temel substratı etanol olup bunu laktik ve asetik asit izlemektedir (Woolford 1990). Barry ve ark. (1980) ise yemleme döneminde ilk atakta bulunan mikroorganizmaların aside dayanıklı aerobik bakteriler olduğunu bildirmiştir. Diğer yandan kötü fermente olmuş silajlarda görülen *Listeria* gibi patojenik bakteriler ile *C.*

*botulinum*, *C. butyricum* ve *C. tyrubutyricum* gibi spor oluşturan bakterilerde silajların hijyenik kalitesini etkileyerek, besleme değerini önemli ölçüde düşürürler (Wilkinson 1999). Bu mikroorganizmalardan *C. botulinum*, botulinum toksini üretir. Söz konusu bu toksin doğada bulunan en güçlü nörotoksindir ve kaslarda felçlere neden olur (Adams ve Moss 2000). Ayrıca, *C. butyricum* ve *C. tyrubutyricum* bakterilerinin silajlarda bulunması, süt ve süt ürünlerinin kalitesini de düşürmektedir (Klijn ve ark. 1995).

Aerobik stabilite üzerinde etkili diğer bir faktör de çevre sıcaklığıdır. Yüksek sıcaklık (35-45°C) mikrobiyal aktiviteyi teşvik ederek, silajın hızlı bir şekilde bozulmasına neden olur (Uriarte 2001). Dolayısıyla sıcak bölgelerde yapılan silajlar, soğuk bölgelerde yapılan silajlara göre ve yaz aylarında yapılan silajlar da kış aylarında yapılan silajlara göre daha fazla ısınırlar. Bu nedenle sıcak bölgelerde ve yaz aylarında açılan silajlarda bozulmayı azaltmak için bazı yönetimsel önlemlerin alınması gereklidir. Bunun içinde yüksek yemleme oranı gereklidir. Ayrıca hayvan sayısı fazla olan işletmelerde silaj, silodan günlük olarak daha fazla miktarlarda çıkarılmalıdır. Küçük işletmelerde ise küçük çapta silajların yapılması önerilmektedir (Filya 2001). Sıcak bölgelerde silajların bozulması çok sık karşılaşılan bir durum olduğu bildirilmekte, *L. buchneri* bu açıdan denenmektedir.

Silajın yoğunluğu da aerobik bozulma sürecini etkilemektedir. Çünkü silaj yoğunluğu üzerinde porozite etkilidir. Porozite, silaj bünyesine hava giriş miktarını ayarlamaktadır (Muck ve Holmes 2000). Hava giriş mekanizmasıyla ilgili yapılan araştırmalar; küçük boyutlarda parçalanmış materyallerin, daha büyük boyutlarda parçalanmış materyallere göre silo içerisine hava girişine daha az izin verdiğini göstermiştir (McGechan 1990). Genelde silaj yoğunluğu azaldıkça, siloya hava girişinin derinliği artmaktadır. Diğer yandan Lindgren ve ark. (1988) aerobik bozulmaya neden olan mikroorganizmaların silaj yoğunluğu arttıkça, azaldığını bildirmişlerdir.

Aerobik bozulma üzerinde silajın fermantasyon özellikleri de etkilidir. Özellikle silaj bünyesinde kullanılmadan kalan şekerler ile yüksek düzeyde oluşan laktik asidin, aerobik stabiliteyi düşürdüğü bildirilmektedir. Bazı maya ve küfler artan şekerler ile laktik asidi besin maddesi olarak kullanıp silajlarda CO<sub>2</sub> üretimine yol açmakta, bunun sonucunda ortam pH'sında ve sıcaklığında artış meydana gelmektedir. Karbondioksit üretimi, silajın bozulma hassasiyetinin ve KM kaybının bir göstergesidir (Ashbell ve ark. 1991).

Laktik asit bakteri inokulantlarının mısır silajının aerobik stabilite üzerindeki etkilerinin incelendiği birçok araştırmaya rastlanmıştır olup, söz konusu araştırmalar incelendiğinde, <sup>ho</sup>LAB inokulantları kullanıldıkları silajların; aerobik stabiliteyi genellikle düşürdükleri

(Filya 2002a, b, Filya ve Sucu 2003), bazen ise artırdığı (Sebastian ve ark. 1989) belirlenmiştir.

Sebastian ve ark. (1989) *L. plantarum* ve *E. faecium* içeren <sup>ho</sup>LAB inokulantı kullandıkları mısır silajlarını silolamanın 138. gününde açılarak, 7 gün süre ile aerobik stabilite testine tabi tutmuşlardır. Araştırma sonucunda, inokulant kullanımına bağlı olarak sıcaklıkta meydana gelen düşüşün, aerobik stabiliteyi geliştirdiğini ancak silajların kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri değerlendirildiğinde ise inokulant kullanımının aerobik stabiliteyi düşürdüğünü bildirmişlerdir.

Muck ve Kung (1997) 1990-1995 yılları arasında çeşitli silajlarda <sup>ho</sup>LAB inokulantlarının kullanımının aerobik stabilite üzerindeki etkilerinin incelendiği bir dizi araştırma sonucunu derlemişlerdir. Derleme sonucunda, <sup>ho</sup>LAB inokulantları yapılan çalışmaların %60'ında silajların aerobik stabilitelerini düşürmüştür. Araştırmacılar, bu durumun nedenini fermantasyon sırasında oluşan düşük asetik asit ile yüksek laktik asidin silajların havaya maruz kaldıkları dönemde antifungal ajan olarak yeteriz kalmasına bağlamışlardır.

Filya (2002a) yürüttüğü araştırmasında, mısır silajında *Pediococcus acidilactici*, *L. plantarum* ve *E. faecium* içeren <sup>ho</sup>LAB inokulantı kullanımının aerobik stabilite üzerindeki etkilerini incelemiştir. Araştırma sonucunda, <sup>ho</sup>LAB inokulantının kullanıldığı silajların CO<sub>2</sub> üretimleri ile maya ve küf popülasyonlarını kontrol grubu silajlara göre daha yüksek olduğunu belirlemiştir (P<0.05). Araştırmacı, 5 gün süre ile aerobik stabilite uygulanan mısır silajlarının CO<sub>2</sub> üretimini, kontrol ve <sup>ho</sup>LAB inokulantı kullanılan gruplarda sırasıyla 12.3 ve 18.8 g/kg KM; maya içeriklerini 4.8 ve 7.2 log cfu/g KM, küf içeriklerini ise 5.3 ve 8.6 log cfu/g KM olarak saptamıştır.

Filya (2002b) tarafından yürütülen bir başka çalışmada da, mısır ve sorgum silajlarında *L. plantarum* + *E. faecium* (İA), *P. acidilactici* + *L. plantarum* (İB) ve *E. faecium* (İC) olmak üzere üç farklı <sup>ho</sup>LAB inokulantı kullanılmıştır. Silolamanın 60. gününde açılan silajlarda 5 gün süre ile aerobik stabilite uygulanmış ve mısır silajlarının CO<sub>2</sub> üretimleri, kontrol, İA, İB ve İC gruplarında sırasıyla 4.6, 8.5, 9.2 ve 9.0 g/kg KM, sorgum silajlarında ise 5.0, 11.1, 10.8 ve 11.3 g/kg KM olarak saptanmıştır. Ayrıca araştırmacı, bu 5 günlük aerobik süreçte <sup>ho</sup>LAB inokulantlarının her iki silajında maya içeriklerini önemli düzeyde artırdığını gözlemiştir (P<0.05).

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. MATERYAL

##### 3.1.1. SİLAJ MATERYALİ

Silaj materyali olarak, Tekirdağ İlinin Çorlu ilçesinde faaliyet gösteren Kemalbey Çiftliğinde yetiştirilen (TTM - 815 ) mısır çeşidi kullanılmıştır.

##### 3.1.2. SİLAJLARIN HAZIRLANMASI

Araştırmada kullanılan mısır bitkisi hamur olum döneminde hasat edilmiştir. Mısır bitkisi hasattan hemen sonra plastik torbalara doldurularak 1 saat içerisinde çalışmanın ve analizlerin yürütüleceği laboratuvar koşullarına ulaştırılmıştır. Torbalar içerisindeki materyalin karıştırılarak birleştirilmesinden sonra kitleden 2 kg'lık bir bölüm silolama öncesi taze materyalde gerçekleştirilecek analizler için ayrılmıştır.

Silo kaplarına doldurulacak materyalin hazırlanması amacıyla, stok karışım beş ana kısma ayrılmış, her kitlede naylon serili bir zemin üzerine ince tabaka oluşturacak şekilde yayılmıştır. Taze materyal ağırlıkları önceden tartılarak tespit edilen (20 kg) her beş kitleye içeriğinde *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis*, *Propionibacterium shermanii*, *Enterococcus faecium*, *Bacillus subtilis*, *Pediococcus acidilactici* ve selüloz, hemiselüloz ve amilaz içeren MICROBIOS (Cuprem<sup>®</sup>, USA) inokulanttan 1.1 g tartılarak üzerine 20 ml çeşme suyu konmuş ve iyice karışması sağlandıktan sonra taze materyal üzerine homojen bir şekilde el pülverizatörü ile püskürtülmüştür.

Muamele gruplarını şu şekilde sıralayabiliriz.

1. K: Kontrol
2. D1: 10.0 kob cfu/g düzeyinde uygulamadan hemen önce hazırlanmış.
3. D2: 10.30 kob cfu/g düzeyinde uygulamadan hemen önce hazırlanmış.
4. BD1: 10.0 kob cfu/g düzeyinde uygulamadan 24 saat önce hazırlanmış.
5. BD2: 10.30 kob cfu/g düzeyinde uygulamadan 24 saat önce hazırlanmış.

BD1 ve BD2 gruplarına uygulanacak LAB ve enzim karışımları 24 saat önceden hazırlanarak silajlara ilave edilmiştir.

LAB ve enzim ilavesinden sonra, materyaller yalnızca gaz çıkışına olanak tanıyan 1.0 litrelik (Weck, Wher-Oftlingen, Germany) anaerobik kavanozlarda silolanmıştır. Her muameleye ait 3'er silo kabının kullanıldığı çalışmada, silo kaplarının doldurulmasından sonra materyaller laboratuvar koşullarında ( $30^{\circ}\text{C}\pm 2$ ) depolanmıştır.

Fermantasyonun 4., 7., 14., 21. ve 55. günlerinde açılan örnekler üzerinden pH, kuru madde,  $\text{NH}_3\text{-N}$ , suda çözünebilir karbonhidratlar, laktik asit analizleri gerçekleştirilmiştir. Laktik asit bakterileri, enterobakteri ve maya ve küf sayımları için mikrobiyolojik analizlerin yapıldığı çalışmada aerobik stabiliteye ilişkin özellikler ana fermantasyon dönemi sonrası 5 günlük dönemde izlenmiştir.



**Şekil 3.1.** Laboratuvar koşullarında araştırmanın yürütüldüğü silo kapları

## **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 (asetik ve laktik 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 örnekler 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 g 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 öğütölmüş 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 süzölerek 50 ml'lik berrak ekstrakt elde edilmiştir. Standart eğrilerin hazırlanmasından sonra 2 ml ekstrakt alınarak 150x25 mm'lik borosilikat test tüplerine konulmuştur. Ön hazırlığı takiben absorbans değeri 620 nm'de 30 dakika içerisinde spektrofotometre aracılığı ile okunmuştur. Örnek ve kör denemeler sonrası tespit edilen absorbans değerlerine denk gelen mg glikoz değerleri arasındaki farklılık 500 katsayısı ile çarpılmıştır. Sonuç, örnek içerisinde yer alan g/kg SÇK miktarı olarak kaydedilmiştir.

### **3.2.1.3. NH<sub>3</sub>-N Analizi**

Silaj örneklerinde NH<sub>3</sub>-N, silaj örneklerinden elde edilen ekstraktlarda mikro distilasyon metotlarına (Anonymous 1986) göre gerçekleştirilmiştir. Ellibeş günlük süre sonrasında günlük elde edilen örneklerde NH<sub>3</sub>-N tespiti için 20 g'lık taze örnek üzerine 100 ml saf su



ilave edilerek çalkalama makinesinde 1 saat süre ile çalkalanmıştır. Daha sonra süzülerek elde edilen ekstrakte mikro distilasyon metodu aracılığı ile söz konusu parametre saptanmıştır.

#### **3.2.1.4. Organik Asit Analizleri**

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

##### **3.2.1.4.1. Laktik Asit Analizleri**

Derin dondurucuda -20 °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 CuSO<sub>4</sub>/100 ml saf su) ile 6 ml %98'lik sülfürik asit ilave edilmiştir. Hazırlanan tüpler 30 saniye vortekste karıştırıldıktan sonra 5 dakika soğuk banyoda tutularak soğumaya bırakılmıştır. Bu süre sonunda tüplere 0.1 ml para hidroxy bi phenol (%0.5 Na OH/1000 ml saf su +2.5 g PHBP) eklenerek, tüpler 30 saniye tekrar vortekste karıştırılmış ve 10 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir. Daha sonra tüpler 90 saniye kaynar su içerisine daldırılıp çıkartılmış ve soğuması beklendikten sonra 565 nm dalga boyunda spektrofotometre cihazında okunmuştur.

##### ***Standart eğrinin oluşturulması***

213 mg lityum laktat 500 ml saf su içerisinde çözündürülmüş ve üzerine 0.5 ml %98'lik sülfürik asit ilave edilmiştir (400 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 çözülden 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 saniye vortekste karıştırılmış ve 5 dakika soğuk banyoda tutularak soğumaya bırakılmıştır. Bu süre sonunda tüplere 0.1 ml para hidroxy bi phenol eklenerek, tüpler 30 saniye tekrar vortekste karıştırılmış ve 10 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir. Daha sonra tüpler 90 saniye kaynar su içerisine daldırılıp çıkartılmış ve

soğuması beklendikten sonra 565 nm dalga boyunda spektrofotometre cihazında okunmuş ve standart eğri Microsoft Excel bilgisayar programında oluşturulmuştur.

### ***Hesaplama***

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

### **3.2.1.4.2. Asetik Asit Analizleri**

Asetik asitin saptanması: 50-60 g numune 0.1 mg tartılarak blendere alınmıştır. Üzerine 80 ml  $\text{CHCl}_3$  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  $\text{CHCl}_3$  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  $\text{CHCl}_3$  ile yıkanmıştır. Çökelti bastırılarak  $\text{CHCl}_3$ 'ün büyük bir kısmı uzaklaştırılmıştır. Toplanan  $\text{CHCl}_3$  ekstraktları 500 ml 'lik ayırıcıya aktarılmış, süzgeç ve ekstrakt toplama kabı 2'şer ml'lik  $\text{CHCl}_3$  ile yıkanmış ve ayırıcıya aktarılmıştır. Ayırıcıya 33 ml 0.5 N NaOH çözeltisi ilave edilerek ekstrakte edilmiş  $\text{CHCl}_3$  fazı 600 ml'lik, sulu faz 300 ml'lik behere alınmıştır.  $\text{CHCl}_3$  fazı aynı ayırıcıya alınmış ve 33 ml 0.5 N NaOH çözeltisi ile ikinci bir ekstraksiyona 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  $\text{CHCl}_3$ 'ün uzaklaştırılması için 5-10 dakika hızlıca havalandırılmıştır.  $\text{CHCl}_3$  tamamen uzaklaştığını koklayarak kontrol edilmiştir. Çözelti, süzgeç kağıdı yerleştirilmiş gözenekli cam süzgeçten süzölmüştür. Süzöntü 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  $\text{CHCl}_3$  alınmış, NaOH ile ekstrakte edilmiş, HCl ile asitlendirilmiş ve havalandırılmıştır. 500 ml'lik ölçü balonuna alınmış ve ölçüsüne kadar

saf su ile tamamlanmıştır. Standart asetik asit çözeltisinden 1, 2, 3 ve 5ml 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 çözeltileri karşı absorbanları 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. Örnekler için 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 dekalın, 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.

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

$$a = \text{NDF içeren kuru cam krozenin ağırlığı, g}$$

$$b = \text{cam krozenin darası alınmış ağırlığı, g}$$

$$N = \text{örneğin ağırlığı, g}$$

ADF analizinde, yem örneği cetil trimetil amonyum bromidin (CTAB)-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 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 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> - CTAB solüsyonu (100 g CTAB 5 litre 1 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> çözülür, gerekirse filtre edilir ) ve birkaç damla dekalın ilave edilmiştir. Isıtıcıya konmuştur. Solüsyon hızla kaynama

durumuna getirilmiş ve 1 saat hafifçe kaynatılmıştır. Düşük bir vakum ile darası alınmış cam krozeden sıcakken filtre edilmiştir. Kalıntı kaynamaya yakın su ile köpük oluşumu bitene kadar yıkanmıştır. Daha sonra asetonla yıkanmıştır. Kroze kurutma dolabında 103 °C sıcaklıkta bir gece tutulmuştur. Desikatörde soğutulmuş ve tartılmıştır.

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

a = ADF içeren kuru cam kroze ağırlığı, g

b = Darası alınmış cam krozenin ağırlığı, g

N = numune miktarı, g

ADL analizinde, %72'lik sülfirik asit içeren çözücü solüsyonun (%72'lik H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>- CTAB ) selülozu ayrıştırması ile elde edilen kalıntının kül fırınında yakılması ile kütni de içeren lignin miktarı saptanmıştır (Close ve Menke 1986). Bir mm'lik elekten geçecek şekilde öğütülmüş numuneden 0.5 g kadar behere tartılır. 100 ml'lik soğuk %72'lik H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>- 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 süzölmüştür. Kroze 103 °C sıcaklıkta 4 saat kurutulmuş veya 100 °C sıcaklıkta bir gece tutulmuştur. Desikatörde alınmış, soğutulmuş ve tartılmıştır. Yakma fırınında 500-550 °C sıcaklıkta 3 saat süre ile yakılmıştır. Desikatöre alınmış, soğutulmuş ve tartılmıştır.

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

a = Krozenin kurutmadan sonraki ağırlığı, g

b = Krozenin yakmadan sonraki ağırlığı, g

N = Numune miktarı, g

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

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

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

### 3.2.2.3. Aerobik Bozulmaya Dirence İlişkin Analizler

Ashbell ve ark. (1991) tarafından geliştirilen yöntem kullanılarak silajların silolamanın 55. gününde açılarak 5 gün aerobik stabilite testine tabi tutulmuşlardır. Aerobik stabilitenin 5. günündeki silaj örneklerinin pH'ları ölçülmüş ve CO<sub>2</sub> üretimleri saptanmıştır. Ayrıca Filya ve ark. (2000) tarafından geliştirilen değerlendirme yöntemi ile silajların görsel küflenmeleri gözlenmiş ve silajların içerdiği maya ve küf popülasyonları 3.2.5.'de belirtildiği şekilde saptanmıştır.

Araştırmada, aerobik stabilite testinin uygulanması için 1 atm ve 25 °C de 24 saatteki CO<sub>2</sub> 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 20 °C, 30 °C ve 37 °C'de bekletilmiştir. Bu sayede aerobik aktivite sonucu silaj örneklerinde oluşan ve havadan 1.5 kat daha yoğun olan CO<sub>2</sub> 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 CO<sub>2</sub> 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 Statistica (1995) paket programı kullanılmıştır.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Başlangıç Materyaline İlişkin Analizler

Uygun saklama koşullarının gerçekleşmesi sonrasında elde edilecek silo yeminde kalite ve bağlamında da besleme değeri üzerinde etkili olabilecek temel faktörler silaj yapılacak taze materyalin kimi özelliklerce sahip olduğu değerlerle ilişkilidir. Bitkisel materyalin sahip olduğu ham besin maddeleri miktarı bir tarafa bırakılacak olursa, KM içeriği, pH, SÇK kapsamı ve çoğu durumda epifitik mikroorganizma yoğunluğunun bu anlamda ön plana çıktığı söylenebilir.

Yetiştiriciliği yapılan çeşit ve hasat için seçilen dönem mısırdaki KM ve diğer ham besin madde kapsamı üzerinde etkili olan başlıca faktörlerdir. Avrupa’da hasıl mısır yetiştiriciliğinde erken gelişen çeşitler üzerinde durulduğu ve bu açıdan özellikle at dişi mısır (*Zea Mays Leucodan*) çeşitlerinin tercih edildiğini aktaran Ak ve Doğan (1997), ülkemizde de silaj amacı ile yetiştirilecek mısır çeşitlerinin belirlenmesi amacı ile farklı ekolojik koşullarda çok sayıda araştırmanın gerçekleştirildiğini bildirmektedirler. Araştırmanın benzeri amaçla FURIO, Px-74, TTM-815 ve P-3184 çeşitleri ile yürüttükleri çalışmada başlangıç materyali için saptadıkları KM, HP, HS içeriklerinin çeşitler arasında sırası ile %19.35-%23.40; %8.60-%9.84; %24.12-%32.84 sınırlarında değişim gösterdiğini açıklamaktadır.

**Çizelge 4 .1.** Mısırın silolanmadan önceki özelliklerine ilişkin değerler

Özellikler	İçerik /değer
pH	5.31
KM, % TM	32.51
HP, %KM	9.30
HS, %KM	22.94
HK, %KM	4.00
ADF, %KM	22.43
NDF, %KM	52.87
ADL, %KM	4.66
SÇK, g/kg KM	85.90
LAB log <sub>10</sub> cfu/g TM*	5.20
Enterobakteri log <sub>10</sub> cfu/g TM	0
Maya log <sub>10</sub> cfu/g TM	6.55
Küf log <sub>10</sub> cfu/g TM	0

TM\*: Taze materyal; KM: Kuru madde; HP: Ham protein; HS: Ham selüloz; HK: Ham kül; ADF: Asit çözücülerde çözünmeyen lif; NDF: Nötr çözücülerde çözünmeyen lif; ADL: Asit çözücülerde çözünmeyen lignin; SÇK: Suda çözünebilir karbonhidratlar; LAB: Laktik asit bakterileri; cfu: Koliform ünite

Tümer (1996), Ege ve Marmara bölgeleri çiftçi koşullarında farklı mısır çeşitleri ile yürütülen çalışmalarında başlangıç materyali için saptanan KM içeriklerinin çeşitler arasında %25.10 ile %30.51 değerleri arasında değişim gösterdiğini bildirmektedir.

Çizelge 4.1.'de aktarılan mısıra ilişkin analiz sonuçları incelendiğinde hamur olum dönemi içerisinde yapılan hasat sonrası elde edilen KM içeriğinin söz konusu bildirilişlere oranla yüksek bulunduğu (% 32.51) dikkati çekmektedir.

Araştırmanın başlangıç materyalinde saptanan pH değeri Stokes ve Chen (1994)'in bildirdikleri değerlerden (pH 4.48 ve pH 5.03) daha yüksektir. Buna karşın gerek SÇK ve gerekse de ADF, NDF, hemiselüloz gibi karbonhidrat sınıflarınca başlangıç materyalinde saptanan içeriklerin Moon ve ark. (1983), Hunt ve ark. (1993) ile Stokes ve Chen (1994)'in bildirilişlerine yakınlığı söz konusudur.

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 log cfu/g TM sınırları arasında gerçekleşebileceğini bildirmektedir (Mc Donald ve ark. 1988; Petterson 1988; Merry ve ark. 1993). Araştırmada mısırdaki tespit edilen epifitik LAB yoğunluğunun 5.20 cfu/g TM ile söz konusu sınırlar arasında olduğunu söylemek mümkündür.

## **4.2. Silajların Fermantasyon Özellikleri**

### **4.2.1. Silajların Kimyasal Analizleri**

Araştırmanın yem materyalini oluşturan silolanmış mısır silajına ait kimyasal ve mikrobiyolojik analiz sonuçları Çizelge 4.2'de verilmiştir.

Çizelgeden de görülebileceği gibi, tüm muamele gruplarında fermantasyonun başlarından itibaren mısır silajlarının pH değerleri başlangıç materyeline (5.31) göre tüm muamele gruplarında düşmüştür. Ancak pH değeri üzerinde gerek dozun gerekse bekleme süresinin istatistikî anlamda bir fark yaratmadığı gözlenmiştir. KM içeriklerine bakıldığında silajların tümünde başlangıç materyeline göre bir kayıp söz konusu olmakla birlikte yine uygulamalar silajlar arasında bir fark yaratmamıştır. Doz uygulaması ve bekleme süresi ise silajların kontrol grubu silajlarına göre SÇK içeriklerini önemli düzeyde artırmıştır (P<0.001).



Ayrıca her iki uygulama yine silajların fermantasyonun başlarından itibaren laktik asit miktarlarını önemli düzeyde artırmış, asetik asit miktarlarını ise önemli düzeyde düşürmüştür ( $P<0.05$ ). Silolamanın 55. gününde LAB+Enzim karışımı inokulant içeren silajların SÇK ve laktik asit miktarları kontrol grubu silajlardan önemli düzeyde yüksek;  $\text{NH}_3\text{-N}$  ve asetik asit miktarları ise önemli düzeyde düşük bulunmuştur ( $P<0.05$ ).

Taze mısırın KM içeriğinin %32.51 olarak belirlendiği araştırmada, fermantasyon süresince mısır silajlarının KM içerikleri %31.26-27.66 değerleri arasında değişmiştir. Araştırmada, LAB+Enzim kullanımı mısır silajlarının KM içeriklerini etkilememiştir ( $P>0.05$ ). Taze mısırın pH'sı 5.31 olarak saptanmıştır. Silaj kalitesine etki eden temel faktörlerden birisi, fermantasyonun erken aşamasında ortam pH'sındaki düşüş hızıdır. Silolanan kitlenin pH'nın olabildiğince çabuk bir şekilde 4.2-4.0'ın altına düşmesi arzu edilir (Polat ve ark. 2005). Kung ve Shaver (2001) kaliteli bir silajda pH'nın 3.7-4.2 arasında olması gerektiğini bildirmektedirler. LAB+Enzim gruplarındaki silajların pH'ları fermantasyonun 4. gününden itibaren hızla düşerek, 55. günde kontrol D1, D2, BD1 ve BD2 grupları için sırasıyla 4.09, 4.11, 4.11, 4.08 ve 4.11 olarak saptanmıştır. Araştırmadan elde edilen pH değerlerine ilişkin bulgular Kontrol ve LAB+Enzim grubu silajlarının iyi kalitede silajlar olduğunu göstermektedir.

Taze mısırın 85.90 g/kg KM olan SÇK içerikleri fermantasyonun tüm dönemlerinde düşme eğilimi göstermiştir. Ancak bu etki kontrol grubu silajlarında daha belirgin bir şekilde gerçekleşmiştir. Nitekim fermantasyonun 55. gününde en düşük SÇK içeriği 19.70 g/kg KM ile kontrol grubunda saptanmıştır. LAB+Enzim karışımı inokulantların içerdiği enzimlerin mısırdaki hücre duvarını (Çizelge 3) ve nişastayı parçalaması sonucu açığa çıkan ilave substratların fermente olması sonucu, SÇK'ın bir bölümü kullanılmadan kalmıştır. Silolama döneminin sonunda LAB+Enzim grubunda SÇK miktarları kontrol grubuna göre önemli düzeyde daha yüksek bulunmuştur ( $P<0.001$ ).

Taze mısırın HP ve HK içerikleri sırasıyla %9.30 ve 4.00 olarak saptanmıştır. Fermantasyon süresi boyunca mısır silajlarının HP ve HK içerikleri sırasıyla %9.22-9.53 ve 3.92-4.32 arasında değişmiştir. Araştırmada, mısır silajlarında her iki uygulamada HP üzerindeki etkileri fermantasyonun üzerinde etkileri önemsiz bulunurken ( $P>0.05$ ), 55. günde BD1 grubu dışındaki tüm silajların HK içeriği ise kontrol grubuna oranla önemli düzeyde yüksek bulunmuştur ( $P<0.001$ ).

Bitki hasadından sonra görülen en önemli aktivite proteolisis olayıdır. Bu olayda bitki bünyesindeki proteinler, proteaz enzimleri tarafından amino asit ve amonyağa parçalamaktadır (Filya 2001). Bu nedenlerle NH<sub>3</sub>-N oluşumu protein parçalanma düzeyini gösteren önemli bir parametredir. Araştırmada, LAB+Enzim kullanımı mısır silajlarının NH<sub>3</sub>-N içeriklerini etkilememiştir (P>0.05). Petterson (1988)'un kaliteli bir silajda NH<sub>3</sub>-N içeriğinin 80.00 g/kg TN den yüksek olmaması gerektiğini bildirmektedir. Araştırmadan elde NH<sub>3</sub>-N içeriklerine ilişkin bulgular kontrol ve LAB+Enzim grubu silajlarının iyi kalitede silajlar olduğunu göstermektedir.

Mısırdan, yapılan tüm silajların laktik asit içerikleri fermantasyon süresi boyunca artış göstermiş olup, bu etki LAB+Enzim gruplarında daha belirgin bir şekilde gerçekleşmiştir. Nitekim fermantasyonun 55. gününde en düşük laktik asit içeriği KM'de %5.73 ile kontrol grubunda saptanırken, D1, D2, BD1 ve BD2 gruplarında sırasıyla %7.73, 6.87, 6.65 ve 8.78 ile önemli düzeyde daha yüksek bulunmuştur (P<0.001). Mısır silajlarında fermantasyonun 55. gününde LAB+Enzim gruplarında asetik asit içerikleri kontrol grubu silajlarına göre önemli düzeylerde daha düşük bulunmuştur (P<0.001).

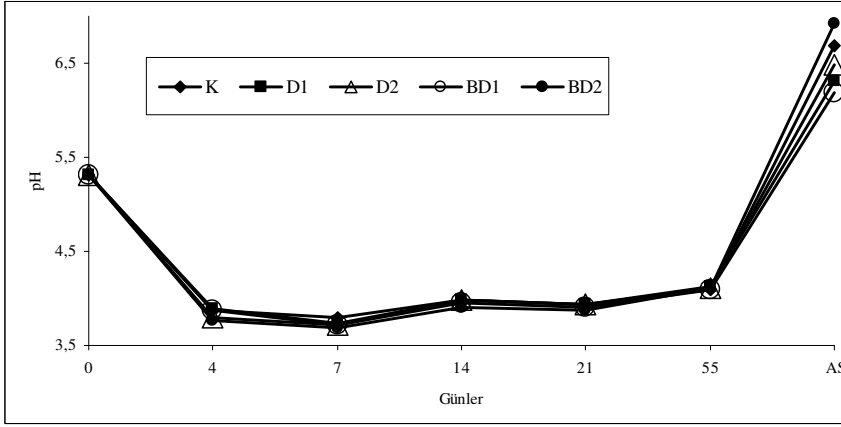
Mısır silajlarının KM kayıpları üzerindeki etkileri incelendiğinde, fermantasyon süresince tüm gruplarda KM kaybında bir artış gözlenmiştir. Özellikle fermantasyon başlangıcında görülen solunum sırasında CO<sub>2</sub> ve su açığa çıkmaktadır. Solunum sırasında oluşan fermantatif gazların oluşturduğu kayıplar KM kayıplarını oluşturmaktadır. Araştırmada fermantasyon süresince mısır silajlarının KM kayıpları %1.00-1.71 arasında değişmiştir. Fermantasyonun tüm günlerinde tavsiye edilen dozdaki LAB+Enzim kullanımı bu artışı önemli düzeylerde engellemiştir (P<0.01).

**Çizelge 4.2.** Mısır silajlarına ait kimyasal ve mikrobiyolojik analiz sonuçları

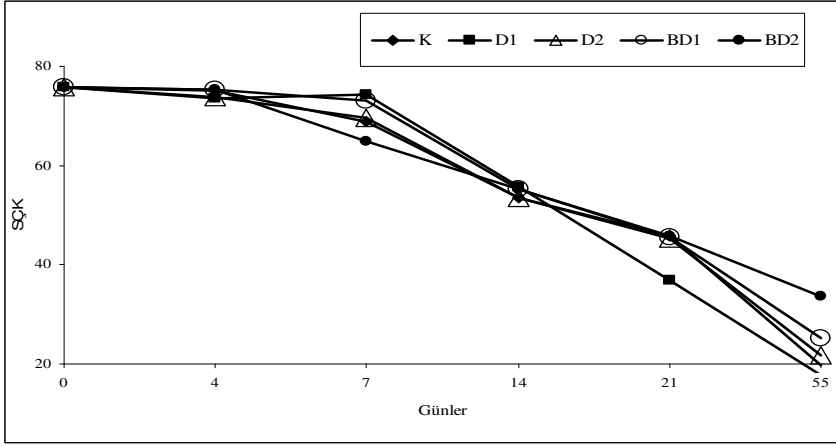
Özellikler	K	D1	D2	BD1	BD2	SEM	D	B	DXB
pH	4.09	4.11	4.11	4.08	4.11	0.017	ÖD	ÖD	ÖD
KM, % TM	31.06	31.00	31.26	30.92	27.66	0.714	ÖD	ÖD	ÖD
NH <sub>3</sub> -N, g/kg KM	4.30	4.41	4.03	3.80	4.63	0.127	ÖD	ÖD	0.009**
NH <sub>3</sub> -N, g/kg TN	28.29	29.99	26.74	25.43	30.45	1.456	ÖD	ÖD	ÖD
SÇK, g/kg KM	19.70	19.80	21.80	25.31	33.73	1.390	0.003**	0.001**	0.014*
LA, % KM	5.73	7.73	6.87	6.65	8.78	0.176	0.001**	ÖD	0.0000**
AA, % KM	2.50	1.80	1.84	1.87	1.90	0.021	0.046*	0.000**	ÖD
LAB, log <sub>10</sub> cfu/g FM	5.67	6.48	5.99	5.83	6.88	0.014	0.001**	0.001**	0.001**
Maya, log <sub>10</sub> cfu/g TM	2.17	0	0	0	0				
Küf, log <sub>10</sub> cfu/g TM	0	0	0	0	0				
Kuru Madde Kaybı, %	1.71	1.00	1.26	1.00	1.34	0.131	0.005*	ÖD	ÖD

KM: Kuru Madde; TM: Taze materyal; NH<sub>3</sub>-N: Amonyaya Bağlı Nitrojen; SÇK: Suda çözünebilir karbonhidrat; LA: laktik Asit; AA: Asetik Asit; LAB: Laktik Asit Bakterileri; cfu: Colony forming unit; ÖD: Önemli Değil;

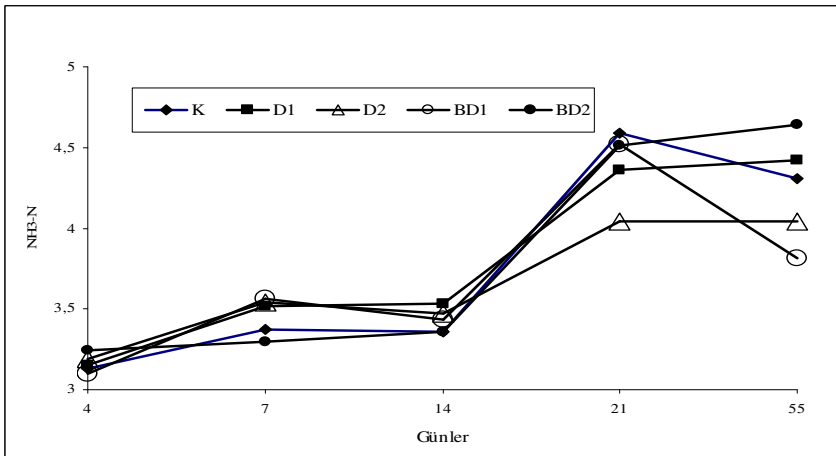
K: Kontrol; D1: 10.0 kob cfu/g uygulamadan hemen önce hazırlanmış; D2: 10.30 kob cfu/g uygulamadan hemen önce hazırlanmış; BD1: 10.0 kob cfu/g uygulamadan 24 saat önce hazırlanmış; BD2: 10.30 kob cfu/g uygulamadan 24 saat önce hazırlanmış; D: Doz; B: Bekleme süresi; BXD: İnteraksiyon Aynı sütunda belirtilen günlerde farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılıklar önemlidir, P<0.05.



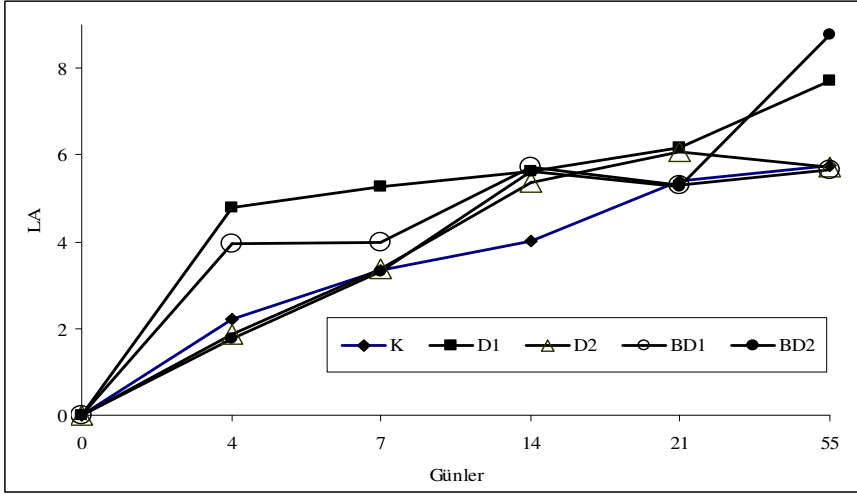
Şekil 4.1. Mısır silajlarının fermentasyon süresince pH değişimleri



Şekil 4.2. Mısır silajlarının fermentasyon süresince SÇK değişimleri



Şekil 4.3. Mısır silajlarının fermentasyon süresince NH<sub>3</sub>-N değişimleri



**Şekil 4.4.** Mısır silajlarının fermentasyon süresince laktik asit değişimleri

#### 4.2.2. Silajların Mikrobiyolojik Analizleri

Taze ve silolanmış mısırın mikrobiyolojik analiz sonuçları Çizelge 4.1 ve Çizelge 4.2'de verilmiştir.

Taze mısırdaki laktik asit bakterileri, maya ve küf yoğunlukları sırasıyla 5.20, 6.55 ve 0 olarak saptanmıştır. Her iki uygulamada (doz ve inokulant hazırlama süresi) silajların laktik asit bakterileri yoğunluğunu artırırken ( $P < 0.001$ ), maya yoğunluklarını ise azaltmıştır ( $P > 0.05$ ). Fermentasyon süresince tüm muamele gruplarında küf yoğunluğu tespit edilmemiştir.

#### 4.3. Silajların Aerobik Stabiliteleri

Silolamanın son döneminde açılan silajlara ait 5 günlük aerobik stabilite testi sonuçları Çizelge 4.3'de verilmiştir.

**Çizelge 4.3.** Mısır silajlarının aerobik stabilite test sonuçları

Özellikler	K	D1	D2	BD1	BD2	SEM	D	B	DXB
pH	6.69	6.31	6.48	6.18	6.92	0.187	ÖD	ÖD	ÖD
CO <sub>2</sub> , g/kg DM	17.52	15.39	23.28	10.75	22.72	0.491	0.000**	0.005*	0.000**
Maya, log <sub>10</sub> cfu/g FM	3.07	>2.0	3.96	2.60	4.00	0.126	0.001**	0.001**	0.001**
Küf, log <sub>10</sub> cfu/g FM	>2.0	0	0	0	>2.0				
Görsel küflenme*	2	1	1	1	2				

K: Kontrol; D1: 10.0 kob cfu/g uygulamadan hemen önce hazırlanmış; D2: 10.30 kob cfu/g uygulamadan hemen önce hazırlanmış; BD1: 10.0 kob cfu/g uygulamadan 24 saat önce hazırlanmış; BD2: 10.30 kob cfu/g uygulamadan 24 saat önce hazırlanmış; D: Doz; B: Bekleme süresi; BXD: İnteraksiyon

\*Silajlarda küflenme durumlarını görsel olarak 1'den 5'e kadar olan sayılarla değerlendirilmesidir. 1: hiç küf içermeyen bir silaj. 2: noktalar halinde çok az düzeyde küf içeren bir silaj. 3: noktalar halinde yüzeye yayılmış bir şekilde küf içeren bir silaj. 4: yüzeyi kısmen küf ile kaplı. bölge bölge küflenmiş yüzeyleri olan silaj. 5: yüzeyi tamamen küf ile kaplı. ağır bir kokuya sahip ve partikülleri birbirine yapışmış bir silaj.

Aynı sütunda belirtilen günlerde farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılıklar önemlidir, P<0.01

**Çizelge 4.4.** Mısır silajlarının ham protein, ham kül ve hücre duvarı kapsamına ilişkin analiz sonuçları, (% , KM)

Özellikler	K	D1	D2	BD1	BD2	SEM	D	B	DXB
HP	9.53	9.22	9.46	9.38	9.53	0.306	ÖD	ÖD	ÖD
HK	4.04	4.20	4.32	3.92	4.06	0.013	0.001**	0.000**	0.000**
NDF	49.79	48.97	49.81	49.80	50.69	1.207	ÖD	ÖD	ÖD
ADF	21.07	21.38	22.74	22.43	22.01	0.982	ÖD	ÖD	ÖD
ADL	4.40	5.50	4.85	5.55	6.20	0.064	0.001**	0.001**	0.001**
Hemiselüloz	28.70	27.55	27.05	27.30	28.65	0.0353	0.001**	0.001**	0.001**
Sellüloz	16.64	15.88	17.86	16.89	15.81	0.288	0.001**	0.001**	0.001**

K: Kontrol; D1: 10.0 kob cfu/g uygulamadan hemen önce hazırlanmış; D2: 10.30 kob cfu/g uygulamadan hemen önce hazırlanmış; BD1: 10.0 kob cfu/g uygulamadan 24 saat önce hazırlanmış; BD2: 10.30 kob cfu/g uygulamadan 24 saat önce hazırlanmış; D: Doz; B: Bekleme süresi; BXD: İnteraksiyon

HP: Ham protein; HK: Ham kül; NDF: Nötral çözücülerde çözünmeyen lif; ADF: Asit çözücülerde çözünmeyen lif; ADL: Asit çözücülerde çözünmeyen lignin, Hemiselüloz: NDF-ADF; Sellüloz: ADF-ADL

\*Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılıklar önemlidir

Her iki uygulamada (doz ve inokulant hazırlama süresi) silajların aerobik stabilitelelerini farklı yönde etkilemiştir. 10.0 düzeyindeki uygulamalarda silajların maya yoğunlukları ve CO<sub>2</sub> üretimini önemli düzeyde azaltırken (P<0.001), 10.30 düzeyindeki uygulamalarda ise her iki parametreyide önemli düzeyde kontrol grubu silajlara göre artırmıştır (P<0.001). pH ve küf yoğunluklarında görülen artış ise önemsiz düzeyde bulunmuştur (P>0.05). Kontrol grubu dışındaki silajların hiç birinde aerobik stabilite sonrası dönemde küf tespit edilmemiştir.

#### **4.3. Silajların Hücre Duvarı Bileşenleri**

Silolanmış mısırın hücre duvarı kapsamına ilişkin analiz sonuçları Çizelge 4.4'de verilmiştir.

Taze mısırın NDF, ADF, ADL, hemiselüloz ve selüloz içerikleri sırasıyla %52.87, 22.43, 4.66, 30.44 ve 17.77 olarak saptanmıştır. Fermantasyonun 55. gününde LAB+Enzim karışımı inokulant içeren silajların NDF ve ADF içerikleri kontrol grubu silajlarına göre önemsiz bulunmuştur (P>0.05). ADL, hemiselüloz ve selüloz miktarlarında görülen değişiklikler ise istatistiki anlamda önemli düzeyde bulunmuştur (P<0.001).

## 5. TARTIŞMA

Araştırmada kullanılan LAB+Enzim karışımı inokulant fermantasyonu geliştirerek, silajların kimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerini olumlu yönde etkilemişlerdir.

Çizelge 4.2'de de görüldüğü gibi, silajlarda temel fermantasyon ürünü laktik asit olmuştur. LAB+Enzim karışımı içeren inokulant kullanılan silajlarda ortamda yoğun olarak bulunan LAB'nin SÇK'ı kullanarak laktik asit üretmeleri sonucu bu silajlarda görülen laktik asit miktarı kontrol grubuna göre önemli düzeyde yüksek olmuştur. Ancak inokulant kullanılan silajların pH'ları da kontrol grubuna göre önemli düzeyde bir değişiklik yaratmamıştır ( $P>0.05$ ). LAB+Enzim karışımı inokulantların içerdiği enzimlerin mısırdaki hücre duvarını (Çizelge 4.4) ve nişastayı parçalaması sonucu açığa çıkan ilave substratların LAB tarafından fermente edilmesi sonucu bu silajların laktik asit miktarları diğer silajlardan daha yüksek düzeyde olmuştur ( $P<0.001$ ). Ayrıca açığa çıkan ilave substratların fermente olması sonucu, SÇK'ın bir bölümü kullanılmadan kalmıştır. Silolama döneminin sonunda LAB+Enzim grubunda SÇK miktarları kontrol grubuna göre önemli düzeyde daha yüksek bulunmuştur ( $P<0.001$ ). Bununla birlikte LAB+Enzim karışımı içeren inokulant kullanılan silajların  $\text{NH}_3\text{-N}$  düzeyleri kontrol grubu silajlarına göre uygulamalara bağlı olarak farklılık göstermiştir.

Filya ve ark. (2001) süt olum döneminde hasat edilen sorgumlarda LAB ve LAB+Enzim inokulantların kullanıldığı çalışmada, 60. gününde açılan silajların kontrol, LAB ve LAB+Enzim gruplarında sırasıyla pH değerlerini 4.5, 3.8 ve 3.8; SÇK miktarlarını KM'de % 4.0, 6.0 ve 6.0; laktik asit miktarlarını KM'de %5.0, 8.0 ve 8.0 olarak saptamışlardır. Filya (2002), hamur olum döneminde hasat edilen mısırlarda LAB ve LAB+Enzim karışımı inokulantının kullanıldığı çalışmada, silolamanın 50. günündeki silajlarda pH'nın kontrol, LAB ve LAB+Enzim gruplarında sırasıyla 3.7, 3.6 ve 3.6; SÇK'nın KM'de %1.3, 3.0 ve 5.7;  $\text{NH}_3\text{-N}$ 'un KM'de %0.9, 0.4 ve 0.1; laktik asitin KM'de %3.8, 9.4 ve 13.6 olduğunu saptarken, inokulant kullanılan gruplarda silaj pH'larının hızla düştüğünü ve gruplardaki SÇK içeriğinin kontrol grubundan daha yüksek olduğunu bildirmiştir. Sucu ve Filya (2006), hamur olum başlangıcında hasat edilen buğdaylara LAB ve LAB+Enzim karışımı inokulantının etkilerini inceledikleri çalışma sonucunda, silolamanın 50. gününde açılan silajların kontrol, LAB ve LAB+Enzim gruplarında sırasıyla pH değerlerini 4.4, 3.7 ve 3.7; SÇK miktarlarını



KM'de %0.9, 1.8 ve 2.0; NH<sub>3</sub>-N miktarlarını KM'de %11.5, 1.2 ve 1.5; laktik asit miktarlarını KM'de %3.0, 3.9 ve 4.3 olarak saptamışlardır. Başkavak ve ark. (2008) süt olum ile hamur olum döneminde hasat edilen buğdaylarda LAB+Enzim inokulantların kullanıldığı çalışmada, silolamanın 75. günündeki silajlarda pH'nın kontrol ve LAB+Enzim gruplarında sırasıyla süt olum döneminde 4.27 ve 4.09, hamur olum döneminde 4.64 ve 4.49; SÇK'nın KM'de süt olum döneminde %1.23 ve 2.02, hamur olum döneminde %0.56 ve 1.25; NH<sub>3</sub>-N'un toplam nitrojen içerisinde süt olum döneminde 78.85 ve 68.19, hamur olum döneminde 102.41 ve 74.17; laktik asitin KM'de süt olum döneminde %3.78 ve 4.37, hamur olum döneminde %3.08 ve 3.73 olduğunu belirlemişlerdir. Filya ve ark. (2001), hücre duvarını parçalayıcı enzim kullanılan yonca silajlarında SÇK'ların LAB tarafından fermente edildiğini, silajların pH ve amonyak-azotu düzeyinin düştüğünü ve ayrıca silajlardaki protein parçalanmasının azaldığını ve protein geri kazanımının arttığını bildirmektedir. Diğer yandan LAB+Enzim gruplarında silajların asetik asit miktarlarını istatistiksel anlamda önemli düzeyde düşürmüşlerdir (P<0.001). Silaj ortamında LAB'nin dominant mikroflora olması nedeniyle bu asidik ortamda asetik asit üreten mikroorganizmaların faaliyet gösteremediği söylenebilir.

Silajların fermantasyon özellikleri ile ilgili olarak araştırmadan elde edilen bulgular, benzer konularda yapılan araştırma bulguları ile uyumludur (Filya ve ark. 2001, Filya 2002, Sucu ve Filya 2006, Başkavak ve ark. 2008, Filya ve ark. 2001) .

Hasat döneminde yeşil materyalde yer alan epifitik LAB sayısı ve kompozisyonu birçok faktörün etkisi altında değişim gösterebilmektedir. Sıcaklık, nispi nem, UV radyasyon ve bitki ile ilgili özelliklere bağımlı olarak meydana gelecek bu değişimlerin 1.0-6.0 log<sub>10</sub> cfu/g sınırları arasında gerçekleşebileceği bildirilmektedir (McDonald ve ark. 1988, Petterson 1988, Meery ve ark. 1993). Çizelge 1'den de görülebileceği gibi, araştırmada tespit edilen epifitik LAB yoğunluğu 5.20 log<sub>10</sub> cfu/g ile söz konusu sınırlar arasındadır. Maya ve küf yoğunlukları ise sırasıyla 6.55 ve 0 log<sub>10</sub> cfu/g olarak bulunmuştur. LAB+Enzim inokulant gruplarındaki silajların laktik asit bakteri yoğunluklarını önemli düzeyde artarken, küf yoğunlukları önemli düzeyde azalmıştır

( $P < 0.001$ ). Bu silajlarda LAB'nin dominant mikroflora olması ve ortamda yeterli düzeyde SÇK bulunması nedeniyle bunun beklenen bir gelişme olduğu söylenebilir.

Filya (2001) silolamanın 50. gününde açılan mısır silajlarının laktik asit bakteri yoğunluklarını kontrol, LAB ve LAB+Enzim gruplarında sırasıyla 7.3, 12.4 ve 12.6  $\log_{10}$  cfu/g KM; maya yoğunluklarını 7.0, 6.9 ve 6.5  $\log_{10}$  cfu/g KM; küf yoğunluklarını 4.8, 1.0 ve 1.3  $\log_{10}$  cfu/g KM olarak saptamıştır. Filya ve ark. (2001) silolamanın 60. gününde açılan sorgum silajlarının laktik asit bakteri yoğunluklarını kontrol, LAB ve LAB+Enzim gruplarında sırasıyla 7.7, 9.5, 9.2  $\log_{10}$  cfu/g KM; küf yoğunluklarını 2.1, 0 ve 0  $\log_{10}$  cfu/g KM olarak bildirmektedirler. Polat ve ark. (2005) silolamanın 75. gününde açılan mısır silajlarının laktik asit bakteri yoğunluklarını kontrol, LAB ve LAB+Enzim gruplarında sırasıyla 5.69, 6.56, 5.71  $\log_{10}$  cfu/g TM; maya ve küf yoğunluklarını 5.97, 5.04 ve 5.47  $\log_{10}$  cfu/g TM olarak saptamışlardır. Başkavak ve ark. (2008) süt olum döneminde hasat edilen ve silolamanın 75. gününde açılan buğday silajlarının laktik asit bakteri yoğunluklarını kontrol ve LAB+Enzim gruplarında sırasıyla 3.31 ve 4.60  $\log_{10}$  cfu/g TM; maya yoğunluklarını 0.77 ve 1.43  $\log_{10}$  cfu/g TM; küf yoğunluklarını 2.58 ve 2.63  $\log_{10}$  cfu/g TM; hamur olum dönemi için ise laktik asit bakterileri yoğunluklarını aynı sırayla 3.26 ve 4.48  $\log_{10}$  cfu/g TM; maya yoğunluklarını 2.96 ve 3.24  $\log_{10}$  cfu/g TM; küf yoğunluklarını 3.30 ve 1.56  $\log_{10}$  cfu/g TM olarak bildirmektedirler. Silajların mikrobiyolojik özellikleri ile ilgili olarak araştırmadan elde edilen bulgular, benzer konularda yapılan araştırma bulguları ile uyumludur (Filya 2001, Filya ve ark. 2001, Polat ve ark. 2005, Başkavak ve ark. 2008).

Çizelge 3'den de görülebileceği gibi, tüm silajların aerobik stabiliteyi düşük bulunmuştur. Silajların pH ve küf yoğunluklarında önemli bir değişiklik gözlenmezken ( $P > 0.05$ ), ve D1 ve BD1 grubundaki silajlarda maya popülasyonu ve CO<sub>2</sub> üretiminin, kontrol grubu silajından önemli düzeyde düşük olduğu saptanmıştır ( $P < 0.001$ ). Dolayısıyla özellikle 1.0 seviyesinde 24 saat bekletme süresi silajların aerobik stabiliteyi olumlu yönde etkilemiştir.

Laktik asit bakteri inokulantlarının mısır silajının aerobik stabiliteyi üzerindeki etkilerinin incelendiği birçok araştırmaya rastlanmıştır olup, söz konusu araştırmalar incelendiğinde, <sup>ho</sup>LAB inokulantları kullanıldıkları silajların; aerobik stabiliteyi

genellikle düşürdükleri (Filya 2002 a,b, Filya ve Sucu 2003), bazen ise artırdığı (Sebastian ve ark. 1989) belirlenmiştir.

LAB inokulantlarının kullanıldığı silajların laktik asit bakteri yoğunluğunun yüksek olması nedeniyle silajlarda yoğun bir laktik asit üretimi olmaktadır. Burada oluşan laktik asitler bazı mayalar tarafından besin maddesi olarak kullanılması sonucu, silajların bu dönemdeki maya populasyonlarının artabileceğini ve bunun da silajlarda CO<sub>2</sub> üretimine yol açabileceği bildirilmektedir (Filya ve ark. 2001). Özellikle en düşük aerobik stabilitenin BD2 karışımı inokulant içeren silajlarda gerçekleşmesi, bu inokulantın içerdiği enzimlerin mısırdaki yapısal ve yapısal olmayan karbonhidratları parçalaması sonucu diğer gruplara göre daha fazla fermente olabilir karbonhidrat açığa çıkmasına ve ortamdaki mayaların bunları kullanarak yoğun bir şekilde CO<sub>2</sub> üretmelerine bağlanabilir.

Meeske ve ark. (1993) süt olum döneminde hasat edilen sorgumlarda LAB ve LAB+Enzim inokulantların kullanıldığı çalışmada, silolamanın 31. gününde açılan silajlara 5 gün süre ile aerobik stabilite uygulanmıştır. Sorgum silajlarının CO<sub>2</sub> üretimleri kontrol, LAB ve LAB+Enzim gruplarında sırasıyla 15.5, 48.8 ve 37.1 g /kg KM; maya içeriklerini ise 9.2, 10.1 ve 9.9 log<sub>10</sub> cfu/g KM olarak saptamışlardır. Araştırma sonucunda her iki inokulantında silajlarının CO<sub>2</sub> üretimleri ve maya içeriklerinin kontrol grubu silajlarına göre daha yüksek olduğunu bildirmektedirler. Filya (2002) hamur olum döneminde hasat edilen mısırlara LAB ve LAB+Enzim inokulantların kullanıldığı çalışmada, silolamanın 60. gününde açılan silajlara 5 gün süre ile aerobik stabilite uygulanmıştır. Mısır silajlarının pH değerleri kontrol, LAB ve LAB+Enzim gruplarında sırasıyla 4.0, 3.8 ve 3.8; CO<sub>2</sub> üretimleri 12.3, 18.8 ve 23.6 g /kg KM; maya içeriklerini ise 4.8, 7.2 ve 9.9 log<sub>10</sub> cfu/g KM; küf içeriklerini ise 5.3, 8.6 ve 11.1 log<sub>10</sub> cfu/g KM olarak saptamıştır. Araştırma sonucunda her iki inokulant da, silajlardaki maya ve küf populasyonu ile CO<sub>2</sub> üretimini önemli düzeyde artırdığını, başta LAB+Enzim karışımı inokulant olmak üzere her iki inokulant da silajların aerobik stabilitelerini düşürdüğü bildirilmektedir. Polat ve ark. (2005) süt olum döneminde hasat edilen mısırlara LAB ve LAB+Enzim inokulantların kullanıldığı çalışmada, silolamanın 60. gününde açılan silajlara 7 gün süre ile aerobik stabilite uygulanmıştır. Mısır silajlarının pH değerleri kontrol, LAB ve LAB+Enzim gruplarında sırasıyla 3.63,

3.95 ve 3.75; maya ve küf içeriklerini ise 6.76, 7.51 ve 8.54 log<sub>10</sub> cfu/g KM olarak saptamıştır. Silajların aerobik stabiliteleri ile ilgili olarak araştırmadan elde edilen bulgular, benzer konularda yapılan araştırma bulguları ile uyumludur (Meeske ve ark. 1993, Filya 2002, Polat ve ark. 2005).

Çizelge 4.4'den de görülebileceği gibi, fermantasyonun 55. gününde ise NDF ve ADF içerikleri kontrol grubuna göre önemsiz bulunmuştur. (P>0.05); ADL içeriklerinde ise artış sözkonusu olurken; hemiselüloz içeriğinde BD2 grubu dışındaki tüm silajlarda kontrol grubuna oranla önemli düzeyde bir azalma söz konusu olmuştur (P<0.001). Yine selüloz içeriğinde D2 grubu dışındaki tüm silajlarda kontrol grubuna oranla önemli düzeyde bir azalma söz konusu olmuştur (P<0.001). Dolayısıyla LAB+Enzim karışımı inokulantların içerdiği selülaz, hemiselülaz, pentozanaz ve amilaz enzimleri mısırdaki hücre duvarını ve nişastayı parçalayarak LAB için ilave bir substrat ortaya çıkardığı görülmektedir.

Tengerdy ve ark. (1991) silolamanın 90. gününde açılan yonca silajlarının NDF içeriklerini kontrol ve LAB+Enzim gruplarında sırasıyla KM'de % 41.0 ve 38.7; ADF içeriklerini 31.9 ve 31.4 olarak belirlemişlerdir. Stokes ve Chen (1994) silolamanın 56. gününde açılan mısır silajlarının NDF içeriklerini kontrol ve LAB+Enzim gruplarında sırasıyla KM'de % 53.1 ve 46.7; ADF içeriklerini 28.9 ve 25.5; hemiselüloz içeriklerini 24.3 ve 21.1; selüloz içeriklerini ise 25.7 ve 22.3 olarak saptamışlardır. Filya ve ark. (2001) silolamanın 60. gününde açılan sorgum silajlarının kontrol, LAB ve LAB+Enzim gruplarında NDF içeriklerini sırasıyla KM'de % 59.0, 59.0 ve 58.0; ADF içeriklerini 30.0, 29.0 ve 29.0; ADL içeriklerini ise 4.0, 4.0 ve 4.0 olarak belirlemişlerdir. Filya (2002) silolamanın 50. gününde açılan mısır silajlarının NDF içeriklerini kontrol, LAB ve LAB+enzim gruplarında sırasıyla KM'de %50.2, 52.5 ve 46.2; ADF içeriklerini %27.2, 27.1 ve 22.4; ADL içeriklerini %4.3, 4.6 ve 4.1; hemiselüloz içeriklerini %24.8, 25.4 ve 23.8; selüloz içeriklerini %22.9, 22.5 ve 18.3 olarak saptamıştır. Araştırmacı, LAB+Enzim karışımı inokulantın, silajların NDF ve ADF içeriklerini önemli düzeylerde düşürdüğünü bildirmektedir. Basmacıoğlu ve ark. (2002) ise silolamanın 56. gününde açılan mısır silajlarında kontrol ve LAB+Enzim gruplarında sırasıyla KM'de %49.56 ve 49.63; ADF içeriklerini %27.3 ve 27.1; ADL

içeriklerini %5.1 ve 4.9; hemiselüloz içeriklerini %22.2 ve 22.4; selüloz içeriklerini %22.2 ve 22.2 olarak belirlemişlerdir. Araştırmacılar, LAB+Enzim karışımı inokulantının, silajların hücre duvarı içerikleri üzerindeki etkileri önemsiz bulmuşlardır. Silajların hücre duvarı kapsamları ile ilgili olarak araştırmadan elde edilen bulgular, benzer konuda yapılan araştırma bulguları ile uyumludur (Tengerdy ve ark. 1991, Stokes ve Chen 1994, Filya ve ark. 2001, Filya 2002, Basmacıoğlu ve ark. 2002).

## 6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu araştırmada LAB+Enzim karışımı inokulantın farklı dozlarda kullanımının ve inokulantın hazırlama süresinin mısır silajının kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri, aerobik stabilitesi ve hücre duvarı içerikleri üzerine etkisini ortaya koymak amacıyla düzenlenmiştir.

Sonuç olarak mısırın silolanması sırasında kullanılan LAB+Enzim karışımı inokulant, mısır silajlarının laktik asit üretimini teşvik etmişlerdir. Bunun sonucunda silajların pH'sı hızla düşmüş, istenmeyen mikroorganizmaların gelişimi engellenmiştir. Diğer taraftan silajların asetik asit ve NH<sub>3</sub>-N içeriklerini de önemli düzeylerde düşürerek silajların kalitesini arttırmışlardır. Sonuçları yukarıda özetlenmeye çalışılan araştırma sürecinde gerçekleşen gözlemler, silajda kalitenin belirlenmesine yönelik araştırmaların taşıdığı temel özellikler ile ülkemizde var olan araştırma ve saha koşulları bağlamında getirilebilecek konuya ilişkin önerileri de şu şekilde özetlemek mümkündür.

Bu çalışmadan elde edilen veriler ışığında inokulant dozunun artırılması silaj kalitesini olumlu yönde etkilememiştir. Bu yüzden inokulant kullanımında firma önerileri dikkate alınmasını önerebiliriz. Bu maliyet açısından da faydalı olacaktır. 24 saatlik bekletme süresi ise silajların özellikle aerobik stabilitelerini bu çalışmanın koşulları altında olumlu yönde etkilemiştir.

Ancak kullanım etkinliğini belirleyen faktörler göz önüne alındığında, ülkemizin değişik ekolojilerinde farklı bitkisel materyallerden yapılan silajlarda, bakteriyal inokulantların dozu ve bekleme süresi ile ilgili öneriler için laboratuvar ve saha koşullarında gerçekleştirilebilecek çalışmalara gereksinim duyulduğunu söylemek mümkündür.

## 7. KAYNAKLAR

- Adams MR and MO Moss (2000). Food Microbiology. 2nd Ed. The Royal Society of Chemistry. pp. 480.
- Ak İ, Doğan R (1997). Bursa Bölgesinde Yetiştirilen Bazı Mısır Çeşitlerini Verim Özellikleri Ve Silaj Kalitelerinin Belirlenmesi, Türkiye I. Silaj Kongresi, 83-93s, Bursa.
- Akyıldız AR (1984). Yemler Bilgisi Laboratuvar Kılavuzu. A.Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları: 895, Ders Kitabı: 213, 236 s, Ankara.
- Anonim (2006a). T.C. Başbakanlık Türkiye İstatistik Kurumu (TUİK) Hayvancılık İstatistikleri. <http://www.tuik.gov.tr/Start.do>. Erişim tarihi: 15.05.2007.
- Anonim (2008). T.C. Başbakanlık Türkiye İstatistik Kurumu (TUİK) Hayvancılık İstatistikleri. <http://www.tuik.go.tr/Start.do>
- Anonymus (1986). The Analysis of Agricultural Material, Reference Book: 427, 428 p, London.
- Axelsson L (1998). Lactic Acid Bacteria: Classification and Physiology. In: Salminen, S., Wright AV, Lactic Acid Bacteria: Microbiology and Functional Aspects. New York, Marcel Decker, pp. 1-72.
- Barry TN, Di Menna ME, Webb ME and Parle JN (1980). Some Observations on Aerobic Deterioration in Untreated Silages and in Silages Made with Formaldehyde-Containing Additives. J. Sci. Food and Agric. 31:1 33-146.
- Basmacıoğlu H, Ergül M, Karaayvaz K (2002). Mısır Silajında Bakteri+Enzim Karışımı İnokulant Kullanımının Silaj Kalitesi ve Yem Değerine Etkisi. Ege üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Raporu, proje No: 2000 ZRF-015, Bornova, İZMİR.
- Başkavak S, Özduven ML, Polat C, Koç F (2008). The Effects of Lactic Acid Bacteria+Enzyme Mixture Silage Inoculant on Wheat Silage. Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi, 5 (3):291-296.
- Blakeman JP (1981). Microbial Ecology of the Phylloplane. Academic Press London, pp. 502.
- Bolsen KK, Laytimi A and Schirhammer J (1988). Effect of Enzyme and Inoculant Additives on Preservation and Feeding Value of Sorghum Silages. J. Anim. Sci. 66 (Suppl. 1): 367.

- Bolsen KK, Sonan RN, Dalke B, Pope R, Riley JG and Laytimi A (1992). Evaluation of Inoculant and NPN Silage Additives: A Summary of 26 Trials and 65 Farm- Scale Silages. In: Kansas Agric. Exp. Sta. Rpt. of Prog. 651. Kansas State University, Manhattan, pp 101-102.
- Cai Y, Benno Y, Ogawa M, Ohmomo S, Kumai S, and Nakase T (1998). Influence of *Lactobacillus* spp. from an Inoculant and of *Weissella* and *Leuconostoc* spp. from Forage Crops on Silage Fermentation. Applied and Environmental Microbiol. 64: 2982-2987.
- Carpita N (1997). Structure and Biosynthesis of Plant Cell Walls. In D.T. Dennis, D.H. Turpin, D.D. Lefebvre, and D.B. Layzell (eds.) Plant metabolism, 2nd Edition. Addison Wesley Longman, Essex, England, pp. 124-147.
- Cleale RM, Firkins JL, Van Der Beek F, Clark JH, Jaster EH, McCoy GC and Klusmeyer TH (1990). Effect of Inoculation of Whole Plant Corn Forage with *Pediococcus acidilactici* and *Lactobacillus xylosus* on Preservation of Silage and Heifer Growth. J. Dairy Sci. 73: 711-718.
- Close W, Menke KH (1986). Selected Topics in Animal Nutrition Universitat, Pp; 170+85, Hohenheim.
- Davidson PM, Hoover DG (1993). Antimicrobial Components from Lactic Acid Bacteria, Salminen, S. and A. Von Wright(eds). P: 127, markel decker, Inc. New York.
- Daeschel MA, Anderson RE and Fleming HP (1987). Microbial Ecology of Fermenting Plant Material. FEMS Microbiology Review. 46: 357-367.
- Daniel P, Honig H, Weise F, and Zimmer E (1970). Wirkung von Propionsaure bei der Grunfuttersilierung. Wirtschaftseigene Futter. 16: 239-252.
- Davies OD (1996). The Effect of Inoculant Additives on the Fermentation Characteristics of Maize Silage. In: Proc XI<sup>th</sup> International Silage Conference, Aberystwyth, Wales, pp. 156-157.
- Dawson KA, Newman KE, and Boling JA (1990). Effects of Microbial Supplements Containing Yeast and *Lactobacilli* on Roughage-Fed Ruminant Microbial Activities. J. Anim. Sci. 68: 3392.



- Di Menna ME, Parle JN and Lancaster RJ (1981). The Effects of Some Additives on the Microflora of Silage. J. Sci. Food Agric. 32:1151-1156.
- Filya İ (2003). Nutritive Value of Whole Crop Wheat Silage Harvested at Three Stages of Maturity. Animal Feed Sci. Technology 103:85–95.
- Filya İ (2003). The Effect of *Lactobacillus Buchneri*, with or without Homofermentative Lactic Acid Bacteria, on The Fermentation, Aerobic Stability, and Ruminal Degradability of Wheat, Sorghum, and Maize Silages. J. Appl. Microbiol. 95:1080–1086.
- 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 Zootečni 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 Stabilite ve *in situ* Rumen Parçalanabilirlik Özellikleri Üzerine Etkileri. Turk J Vet Animal Sci, 26:815-823.
- Filya İ (2003). The Effect of *Lactobacillus Buchneri*, with or without Homofermentative Lactic Acid Bacteria, on the Fermentation, Aerobic Stability, and Ruminal Degradability of Wheat, Sorghum, and Maize Silages. J. Appl. Microbiol. 95:1080–1086.
- Filya İ (2005). Silaj Yapımı, Teknolojisi ve Kullanımı. Süt Hayvancılığı Eğitim Merkezi Yayınları, Hayvancılık Serisi : 8 Yetiştirici El Kitabı, Karacabey, Bursa.
- Filya İ (2007a). Türkiye' de Kaba Yem Sorunu ve Çözüm Yolları. Türkiye Süt Sığırcılığı Kurultayı. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi 25-26 Ekim, İzmir.15 s.
- Filya İ (2007b). Ülkemizde Silaj Yapımı ve Silaj Kalitesinin Arttırılma Yolları. Yem Magazin Dergisi. 15 (47): 37-45.

- Filya İ, Ashbell G, Hen Y, 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, Karabulut A, Kalkan H, Sucu E (2001). Bakteriyal İnokulantların Sorgum Silajlarının Fermantasyon, Aerobik Stabilite ve Rumen Parçalanabilirlik Özellikleri Üzerine Etkileri. *Ankara Üniv. Zir. Fak. Tarım Bil. Dergisi* 7: 112-119.
- Filya İ, Sucu E (2004). Formik Asit Temeline Dayalı Bir Koruyucunun Mısır ve Sorgum Silajlarının Aerobik Stabiliteleri Üzerine Etkisi. 4. Ulusal Zootekni Bilim Kongresi, Konya.
- Filya İ, Sucu E and Karabulut A (2006a). The Effect of *Lactobacillus* buchneri on the Fermentation, Aerobic Stability and Ruminant Degradability of Maize Silage. *Journal of Applied Microbiol.* 101:1216-1223.
- Filya İ ve Sucu E (2003). Silajlarda Fermantasyon Kalitesi ve Aerobik Stabilitenin Geliştirilmesi Üzerinde Araştırmalar. GAP III. Tarım Kongresi 02-03 Ekim, Şanlıurfa. 45: 273-278.
- Filya İ, (2002). Laktik Asit Bakteri ve Laktik Asit Bakteri+Enzim Karışımı Silaj İnokulantlarının Mısır Silajı Üzerine Etkileri. *Turk J. Vet. Anim. Sci.*, 26: 679-687.
- Filya İ (2004). Nutritive Value and Aerobic Stability of Whole Crop Maize Silage Harvested at Four Stages of Maturity. *Animal Feed Science and Technology* 116:141–150.
- Flores G, Castro J, Arraez AG, Amil A, Brea T, Warleta MG (1999). Effect of a Bacterial Additive on Silage Fermentation, Digestibility, Ruminant Degradability, Intake and Performance of Lactating Dairy Cattle in Galicia (NW Spain). In: *Proc. 12th International Silage Conference*, 181- 182 p, Uppsala, Sweden
- Fitzsimons A, Hols P, Jore J, Leer RJ, O'Connell M and Delcour J (1994). Development of an Amylolytic *Lactobacillus plantarum* Silage Strain Expressing the *Lactobacillus amylovorus* oc-amylase Gene. *Appl. Environ. Microbiol.* 60: 3529-3535.

- Fry SC (1985). Primary Cell Wall Metabolism. Oxford Surveys of Plant Molecular & Cell Biology 2:1-42.
- Hirano SS and Upper CD (1991). Bacterial Community Dynamics. In: Andrews, J.H., Hirano, S.S. (eds). Microbial Ecology of Leaves, Springer, New York, p.271-294.
- Johnson LM, Harrison JH, Davidson D, Mahanna WC and Shinnors K (2003). Corn Silage Management: Effect of Hybrid, Maturity, Inoculation and Mechanical Processing on Fermentation Characteristics. J. Dairy Sci. 86:287-308.
- Jones BA, Hatfield RD and Muck RE (1992). Effect of Fermentation and Bacterial Inoculation on Lucerne Cell Walls. J. Sci. Food Agric. 60:147-153.
- Keady TWJ, Steen RWJ, Kilpatrick DJ and Mayne CS (1994). Effects of Inoculant Treatment on Silage Fermentation, Digestibility and Intake by Growing Cattle. Grass Forage Sci. 49: 284-294.
- Kim JG, Ham JS, Chung ES, Sed S and Lee JK (2005). Effect of New Microbial Strain as an Inoculant on The Quality of Maize Silage. XX<sup>th</sup> International Grassland Congress, July 2005 Belfast, North Ireland, UK. p. 478.
- Kleinschmit, D. H., R. J. Schmidt, and L. Kung, JR. (2005). The Effects of Various Antifungal Additives on the Fermentation and Aerobic Stability of Corn Silage. J. Dairy Sci. 88: 2130-2139.
- Kleinschmit DH and Kung L, JR (2006a). The Effects of *Lactobacillus buchneri* 40788 and *Pediococcus pentosaceus* R1094 on the Fermentation of Corn Silage. J. Dairy Sci. 89: 3999-4004.
- Klijn N, Nieuwenhof FF, Hoolwerf JD, Van Der Waals CB and Weerkamp AH (1995). Identification of *Clostridium tyrobutyricum* as The Causative Agent of Late Blowing in Cheese by Species-Specific PCR Amplification. Applied and Environmental Microbiology. 61:2919-2924.
- Kleinmans J, Hooper P (1999). The Effect of a Commercial Silage Inoculant (Pioneer<sup>®</sup> brand 1188) on Animal Performance. In: Proc. 12<sup>th</sup> International Silage Conference. 319-320 p, Uppsala, Sweden.

- Koc F, Coskuntuna L (2003). The Comparison of the Two Different Methods on the Determination of Organic Acids in Silage Fodders. *Journal of Animal Production*. 44(2): 37-47.
- Kung LJR, Shaver R (2001). How Good Is Your Silage Making? *Hoard's Dairyman*, 146:597.
- Kung LJR, Chen JH, Kreck EM and Knutsen K (1993). Effect of Microbial Inoculants on the Nutritive Value of Corn Silage for Lactating Dairy Cows. *J. Dairy Sci*. 76:3763-3770.
- Kung LJR and Muck RE (1997). Animal Response to Silage Additives, *Silage: Field to Feedbunk*, Vol. NRAES-99. Northeast Regional Agric. Engng. Service, Hershey, PA. p. 200-210.
- Kung LJR (1998). A Review on Silage Additives and Enzymes. In *Proceedings 59<sup>th</sup> Minneapolis Nutrition Conference*, Minneapolis, MN. pp. 121-135.
- Langston CW and Bouma C (1960a). A Study of the Microorganisms from Grass Silage. I. The Cocci. *Appl. Microbiol*. 8: 212-222.
- Langston CW and Bouma C (1960b). A Study of the Microorganisms from Grass Silage. II. The Lactobacilli. *Appl. Microbiol*. 8: 223-234.
- Lindgren S, Petterson K, Kaspersson A, Jonsson A and Lingvall P (1985). Microbial Dynamics During Aerobic Deterioration of Silages. *J. Sci. Food Agr*. 36: 765-774
- Lindgren S, Petterson K, Jonsson A, Lingvall P and Kaspersson A (1988). Silage Inoculation: Selected Strains, Temperature, Wilting and Practical Application. *Swed. J. Agric. Res*. 15: 9-18.
- Lin C, Bolsen K, Brent BE, Hart RA (1992). Epiphytic Microflora on Alfalfa and Whole-Plant Corn. *J. Dairy Sci.*, 75: 2484-2493.
- McDonald P (1981). *Biochemistry of Silage*. John Willey, Sons, Chicester, New York, Brisbane, Toronto, pp. 226.
- McDonald P, Edwards RA, Greenhalgh JFD (1988). *Animal Nutrition*. 4<sup>th</sup> 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*, Vot: 20, No:2.
- Middelhoven WJ and Van Baalen AHM (1988). Development of the Yeast Flora of Whole-Crop Maize During Ensiling and During Subsequent Aerobiosis. *J. Sci. Food Agric.* 42:199.
- Muck RE (1989). Initial Bacterial Numbers on Lucerne Prior to Ensiling. *Grass Forage Sci.* 44:19-25.
- Muck RE (1993). The Role of Silage Additives in Making High Quality Silage. Pages 106-116 in *Silage Production from Seed to Animal*. NRAES-67. Northeast Reg. Agric. Eng. Serv., Syracuse, NY.
- Muck RE (1996). A Lactic Acid Bacteria Strain to Improve Aerobic Stability of Silages. In *Research Summaries*. U.S. Dairy Forage Res. Center, Madison, WI. pp. 42-43.
- Muck RE and Kung L JR (1997). Effects of Silage Additives on Ensiling. In: *Proc. From Silage, Field to Feed Bunk North American Conference*, Hershey, Pennsylvania. Northeast Regional Agricultural Engineering Service Publication 99, Ithaca, NY. pp. 187-199.
- Muck RE and Holmes BJ (2000). Factors Affecting Bunker Silo Densities. *Appl. Eng. in Agric.* 16: 613-619.
- Moon MJ, Ely LO, Sudweeks EM (1980). Aerobic deterioration wheat, lucerne and maize silages prepared with *L. acidophilus* and a candida spp. *J. App. Bact.*, 49:75.

- Moran J, Weinberg ZG, Ashbell G, Hen Y, Owen TR (1996). The Effects of Bacterial Inoculant on the Fermentation and Aerobic Stability of Whole Crop Wheat Silage. In: Proc. 11<sup>th</sup> International Silage Conference. 164-165 p, Aberystwyth, Wales.
- 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.
- Ohyama Y, Masaki S and Hara S (1975). Factors Influencing Aerobic Deterioration of Silages and Changes in Chemical Composition After Opening Silos. *J. Sci. Food Agric.* 26:1137-1147.
- Pelhate J (1977). Maize Silage. Incidence of Moulds During Conservation. *Folia Veterinaria Latina.* 7:1-16.
- Pahlow G (1986). Microbiology of Inoculants, Crops and Silages-Small Scale Silage Experiments. In Proceedings of the Eurobac Conference ed. Lindgren, S.E. & Patterson, K.L. Uppsala, Sweden University of Agricultural Science, pp. 45-59.
- Pahlow G (1991). Role of Microflora in Forage Conservation. In: Proceedings of a Conference on Forage Conservation Towards 2000. (Pahlow, G and Honig, H., Eds.) Braunschweig, Germany, pp 26-36.
- Pahlow G and Honig H (1994). The Role of Microbial Additives in the Aerobic Stability of Silage. In Workshop Proc. the15\* General Meeting of the European Grassland Federation Wageningen, The Netherlands, June 6-9. pp. 149-151.
- Pahlow G, Muck RE, Driehuis F, Oude Elferink SJWH and Spoelstra SF (2003). Microbiology of Ensiling. In: *Silage Science and Technology.* D. R. Buxton, R. E. Muck, and J. H. Harrison, ed. Am. Soc. Agron., Crop Sci. Soc. Am., Soil Sci. Soc. Am., Madison, WI. pp. 31-93
- Palalı H (2007). Laktik Asit Bakterilerinde Transkripsiyon Regülasyonu. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Basılmamış Yüksek Lisans Tezi. 35 s.
- Petterson K (1988). Ensiling of Forages: Factors Affecting Silage Fermentation and Quality, Sveriges Lantbruksuniversitet, 46 p, Uppsala,

- Playne MJ, Mc Donald P (1966). The Buffering Constituent of Herbage and of Silage. J. Sci. Food. 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.
- Ranjit NK, and Kung L JR (2000). The Effect of *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus plantarum*, or a Chemical Preservative on the Fermentation and Aerobic Stability of Corn Silage. J. Dairy Sci. 83:526-535.
- Rooke JA and Hatfield RD (2003). Biochemistry of Ensiling. In Silage Science and Technology. D. R. Buxton, R. E. Muck, and J. H. Harrison, Ed. Am. Soc. Agron., Crop Sci. Soc. Am., Soil Sci. Soc. Am., Madison, WI. pp. 95-139.
- Rust SR, Kim HS ve Enders GL, (1989). Effect of a Microbial Inoculant on Fermentation Characteristics and Nutritional Value of Corn Silage. J. Prod. Agric. 2:235-241.
- 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.
- Schlatter LK and Smith K (1999). Effects of Mold Growth on Nutrient Availability in Animal Feeds. In: Four-State Applied Nutrition and Management Conference. MWPS-4SD5. Iowa State University- Extension, University of Illinois-Extension, University of Minnesota- Extension, University of Wisconsin-Extension, pp. 139-144.
- Schleifer KH and Ludwig W (1995). Phylogeny of the Genus *Lactobacillus* and Related Genera. Syst. Appl. Microbiol. 14:461-467.
- Sebastian S, Philip LE, Fellner V and Idziak ES (1989). Comparative Assessment of Bacterial Inoculation and Propionic acid Treatment on Aerobic Stability and Microbial Populations of Ensiled High Moisture Ear Corn. J. Anim Sci. 74:447-456.
- Shape ME, Fryer TF and Smith DG (1966). Identification of The Lactic Acid Bacteria. "Gibbs, M.M. and Skinner, F.A (ed): Identification Methods for Microbiologist" Part A. Academic Press, New York. pp. 245.

- Shayan JV, Vov. SO and Kartavi AS (1996). Effect of Biological Additive on Quality of Maize Silage and Performance of Silage-Fed Steers. In: Proc XI<sup>th</sup> International Silage Conference, Aberystwyth, Wales, pp. 174-175.
- Spoelstra SF, Courtin MG and Van Beers JAC (1988). Acetic Acid Bacteria Can Initiate Aerobic Deterioration of Whole Crop Maize Silage. *J. Agric. Sci., Camb.* III: 127-132.
- 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.
- Statistica for the Windows Operating System, (1995). Stat Soft, Inc., Tulsa, OK.
- 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.
- Sucu E, Filya İ (2006). The Effects of Bacterial Inoculants on the Fermentation, Aerobic Stability and Rumen Degradability Characteristics of Wheat Silages. *Turk J Vet Animal Sci.*, 30: 187-193.
- 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.
- Tümer S (1996). TÜYAP Ege-Marmara Dilimi Çiftçi Şartlarında Silaj Deneme ve Demonstrasyonları, Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Menemen, 25s.
- Uriarte ME (2001). Aerobic Stability of Corn Silage. PhD Diss., Kansas State University, Manhattan.
- Weinberg ZG, Ashbell G, Hen Y, Azrieli A (1993). The Effect of Applying Lactic Acid Bacteria Ensiling on the Aerobic Stability of Silages. *J. Appl. Bacteriol.*, 75: 512-518.
- Weinberg ZG and Muck RE (1996). New Trends and Opportunities in The Development and Use of Inoculants for Silage. *FEMS Microbiol. Rev.* 19(1):53-68.



- Weinberg ZG, Ashbell G, Azrieli A and Brukental I (1993). Ensiling Peas, Ryegrass and Wheat with Additives of Lactic Acid Bacteria (LAB) and Cell Wall Degrading Enzymes. *Grass Forage Sci.* 48:70-78.
- Weinberg ZG, Ashbell G, Hen, Y, Azrieli A, Szakacs G and Filya İ (2002). Ensiling Whole-Crop Wheat and Corn in Large Containers with *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus buchneri*. *J. Indust. Microbiol. and Biotechnol.* 28: 7-11.
- Weinberg ZG, Shatz O, Chen Y, Yosef E, Nikbahat M, Ben-Ghedalia D and Miron J (2007). Effect of Lactic Acid Bacteria Inoculants on *In Vitro* Digestibility of Wheat and Corn Silages. *J. Dairy Sci.* 90: 4754-4762.
- Whittenbury R (1961). An Investigation of the Lactic Acid Bacteria. Ph.D. Thesis. University of Edinburgh.
- Wieringa GW and Beck T (1964). Investigations on the Use of Cultures of Lactic Acid Bacteria in the Preparation of Silage in the Small Containers. 1. Obtaining Active *Lactobacillus* Cultures for Inoculation Trials. *Das Wirtschaftseigene Futter.* 10: 34-44.
- Wilkinson JM (1999). Silage and Health. *Natural Toxins.* 7: 221-232.
- Woolford MK, Bolsen KK and Peart LA (1982). Studies on the Aerobic Deterioration of Whole Crop Cereal Silages. *J. Agric. Sci. (Camb.)* 98: 529.
- Woolford MK (1984). The Chemistry of Silage. In "The Silage Fermentation". New York: Marcel Decker, pp. 71-132.
- Woolford MK (1990). The Detrimental Effects of Air on Silage. *J. Appl. Bacteriol.* 68:101-116.
- Woolford M and Pahlow G (1998). The Silage Fermentation. In: Wood BJB, editor. *Microbiology of Fermented Foods.* Vol 1. London: Blackie Academic & Professional, p. 73-102.
- 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

01.10.1980 yılında Kırklareli’de doğdu. İlkokulu Kırklareli Kocahıdır İlkokulu’nda, Ortaokulu Kırklareli Merkez Ortaokulu ve Lise öğrenimini ise Kırklareli Atatürk Lisesi’nde tamamladıktan sonra 1999-2001 yılları arasında Trakya Üniversitesi Kırklareli Meslek Yüksek Okulu Süt ve Ürünleri bölümünde okudu. 2001 yılında bu bölümden mezun olduktan sonra 2002 yılında dikey geçiş sınavlarında başarılı olup, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Hayvansal Üretim bölümünü kazandı. 2003 yılında Trakya Üniversitesi Tekirdağ Ziraat Fakültesi Hayvansal Üretim bölümüne yatay geçiş yaptı. 2006 yılında aynı fakülteden mezun oldu. 2007 yılında Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Zootekni Anabilim Dalında yüksek lisans eğitime başladı. 2007 yılında S.S. Kırklareli Bölgesi Hayvancılık Birliği’nde teknik eleman olarak işe başladı. Halen aynı işyerinde görev yapmaktadır.

## **TEŞEKKÜR**

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

Yurdanur MUTLU