

LAKTİK ASİT BAKTERİLERİ VE ENZİM KARIŞIMI
İNOKULANLARIN DÜŞÜK KURU MADDELİ MISIR
SİLAJLARINDA FERMANTASYON ÖZELLİKLERİ
VE YEM DEĞERİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Bayram AKGÜL
Yüksek Lisans Tezi
Zootečni Anabilim Dalı
Danışman: Yrd. Doç. Dr. M.Levent ÖZDÜVEN

Tekirdağ-2010

T.C.
NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**LAKTİK ASİT BAKTERİLERİ VE ENZİM KARIŞIMI İNOKULANTLARIN
DÜŞÜK KURU MADDELİ MISIR SİLAJLARINDA FERMANTASYON
ÖZELLİKLERİ VE YEM DEĞERİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

BAYRAM AKGÜL

ZOOTEKNİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN: YRD. DOÇ. DR. M. LEVENT ÖZDÜVEN

TEKİRDAĞ-2010

Her hakkı saklıdır

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

Juri Başkanı : Prof. Dr. İsmet BAŞER

İmza :

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

İmza :

Üye : Yrd. Doç. Dr. Cemal POLAT

İmza :

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun 14.09.2010 tarih ve 33/13 sayılı
kararıyla onaylanmıştır.

Doç. Dr. Fatih KONUKÇU
Enstitü Müdürü

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

LAKTİK ASİT BAKTERİLERİ VE ENZİM KARIŞIMI İNOKULANTLARIN DÜŞÜK KURU MADDELİ MISIR SİLAJLARINDA FERMANTASYON ÖZELLİKLERİ VE YEM DEĞERİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Bayram AKGÜL

Namık Kemal Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Zootekni Anabilim Dalı

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

Bu çalışma laktik asit bakteri ve enzim inokulantların, mısır silajlarının fermantasyon, aerobik stabilite, hücre duvarı kapsamı ve *in vitro* organik madde sindirilebilirliği özellikleri üzerindeki etkilerinin saptanması amacı ile düzenlenmiştir. Laktik asit bakteri+enzim inokulantı olarak Sil-All (Allteck, UK) ve Microbios (Cuprem®, USA) kullanılmıştır. İnokulantlar silajlara 6.00 log₁₀ koloni form ünite/g düzeyinde katılmışlardır. Mısır, süt olum döneminde hasat edilmiş ve yalnızca gaz çıkışına olanak tanıyan, 1,0 litrelik özel kavanozlara silolanmıştır. Kavanozlar laboratuvar koşullarında 25±2°C'de depolanmışlardır. Silolamadan sonraki 2, 4, 8 ve 45. günlerde her gruptan 3' er kavanoz açılarak silajlarda kimyasal ve mikrobiyolojik analizler yapılmıştır. Silolama döneminin sonunda açılan tüm silajlara 5 gün süre ile aerobik stabilite testi uygulanmıştır. Ayrıca bu silajların, *in vitro* organik madde sindirilebilirliği saptanmıştır. Sonuç olarak her iki inokulant da, mısır silajlarının fermantasyon özelliklerini artırmış ancak aerobik stabilitelerini düşürmüştür. Laktik asit bakteri+enzim karışımı inokulantlar, silajların nötr ve asit deterjanda çözünmeyen lif kapsamını düşürürken, *in vitro* organik madde sindirilebilirliğini artırmıştır.

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

2010, 42 sayfa

ABSTRACT

MSc. Thesis

The Effects of Lactic acid Bacterial and Enzyme Inoculants on the Fermentation, Aerobic Stability and Feed Value of Low Dry Matter Maize Silages

Bayram AKGÜL

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

Supervisor : Asistant Prof. Dr. M. Levent ÖZDÜVEN

This study was carried out to determine the effects of lactic acid bacteria (LAB) and enzyme inoculants on the fermentation, aerobic stability and *in vitro* organic matter digestability characteristics of maize silages. Sil-All (Alltech, UK) and Microbios (Cuprem[®], USA) were used as lactic acid bacteria+enzyme mixture inoculants. Inoculants were applied to silages at 6.00 log₁₀ cfu/g levels. Maize was harvested milk stage of maturity and ensiled in 1.0-l special anaerobic jars, equipped with a lid enabling gas release only. The jars were stored at 25±2°C under laboratory conditions. Three jars from each group were sampled for chemical and microbiological analysis 2, 4, 8 and 45 days after ensiling. At the end of the ensiling period all silages were subjected to an aerobic stability test for 5 days. In addition, *in vitro* organic matter digestability of these silages were determined. Both inoculants increased characteristics of fermentation but impaired aerobic stability of triticale silages. Both inoculants decreased neutral and acid detergent fiber content and increased *in vitro* organic matter digestability of silages.

Keywords : Maize, Lactic acid bacterial inoculants, Enzyme, Fermentation, Aerobic stability, Cell wall content, *in vitro* organic matter digestability

2010, 42 sayfa

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

ÖZET	ii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	iv
ÇİZELGE LİSTESİ	v
ŞEKİL LİSTESİ.....	vi
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	5
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	12
3.1. MATERYAL	12
3.1.1. SİLAJ MATERYALİ	12
3.1.2. SİLAJLARIN HAZIRLANMASI.....	12
3.1.3. Kullanılan İnokulantlar	12
3.1.4. İnokulantların Kullanım Şekli.....	12
3.2.YÖNTEM	13
3.2.1.SİLAJ KALİTESİ TAKDİRİ İÇİN KULLANILAN YÖNTEMLER	13
3.2.1.1.pH ve Bc Analizleri	13
3.2.1.2. SÇK Analizi	14
3.2.1.3. NH ₃ -N Analizi	14
3.2.1.4. Organik Asit Analizleri.....	14
3.2.1.4.1. Laktik Asit Analizleri	14
3.2.1.4.2. Asetik Asit Analizleri	15
3.2.1.5. Mikrobiyolojik Analizler	16
3.2.2. HAM BESİN MADDELERİ VE HÜCRE DUVARI İÇERİKLERİ ANALİZLERİ	17
3.2.2.1.Ham Besin Maddeleri İçerikleri Analiz Yöntemleri	17
3.2.2.2. Hücre Duvarı İçerikleri Analiz Yöntemleri	17
3.2.2.3. Aerobik Bozulmaya Dirence İlişkin Analizler.....	19
3.2.2.4. Enzimde OM Çözünübilirliği Analiz Yöntemleri	20
3.2.3. İSTATİKSEL ANALİZLER	21
4. BULGULAR.....	22
4.1. Silajların Fermantasyon Özellikleri	22
4.1.1. Silajların kimyasal analizleri	22
4.1.2. Silajların mikrobiyolojik analizleri	27
4.2. Silajların Aerobik Stabiliteleri	28
4.3. Silajların Hücre Duvarı Bileşenleri.....	29
4.4. Silajların in vitro Organik Madde Sindirilebilirliği	30
5. TARTIŞMA.....	31
6. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	36
7. KAYNAKLAR	37
ÖZGEÇMİŞ.....	41
TEŞEKKÜR	42

ÇİZELGE LİSTESİ

	Sayfa No
Çizelge 1. Mısır silajlarına ait kimyasal analiz sonuçları.....	23
Çizelge 2. Mısır silajlarına ait mikrobiyolojik analiz sonuçları, log ₁₀ cfu/g KM.....	28
Çizelge 3. Mısır silajlarının aerobik stabilite test sonuçları	29
Çizelge 4. Mısır silajlarının hücre duvarı kapsamına ilişkin analiz sonuçları, (%).....	30
Çizelge 5. Silajların <i>in vitro</i> OM sindirilebilirlik özellikleri, (%).....	30

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Mısır silajlarının fermantasyon süresince pH değişimleri.....	22
Şekil 2. Mısır silajlarının fermantasyon süresince SÇK değişimleri.....	24
Şekil 3. Mısır silajlarının fermantasyon süresince NH ₃ -N değişimleri.....	25
Şekil 4. Mısır silajlarının fermantasyon süresince laktik asit değişimleri	26
Şekil 5. Mısır silajlarının fermantasyon süresince asetik asit değişimleri.....	27
Şekil 6. Mısır silajlarının fermantasyon süresince KM kayıpları.....	28

1. GİRİŞ

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 49.4 milyon ton/KM'nin ise hayvanlarımızın gereksinimini karşılayabilecek miktarda olduğu belirtilmektedir. 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, silaj yapımına uygunluğu, birim alandan çok fazla yeşil aksam üretilmesi, besleme değerlerinin yüksek olması ve yüksek düzeylerde tüketilebilmesi gibi nedenlerle mısır dünyanın birçok bölgesinde ve Türkiye'de önemli miktarlarda üretilmektedir (Anonim 2008, Kılıç 1986, McDonald ve ark. 1991). Silolanma etkinliği üzerinde belirleyici olan özellikler bakımından değerlendirildiğinde, nispeten yüksek kuru madde (KM) içeriğinin yanı sıra, laktik asit fermantasyonu için yeterli düzeyde suda çözünebilir karbonhidratlar (SÇK) ve düşük tamponlama kapasitesine sahip olması nedeniyle mısır ideal özelliklere sahiptir (Polat ve ark., 2005). Ayrıca, diğer silajlık ürünlere oranla işçiliğinin az ve makineli tarıma elverişlilik yönünden de tercih edilmektedir (Anonim 2008).

Ülkemizde de sulama imkânlarının 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*, *Pedococcus* 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, NH₃-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) üzerindeki etkilerinin incelendiği araştırma sonuçlarında, bazı araştırmacılar LAB inokulantların silajların aerobik dayanıklılıklarını arttırdığını bildirirken (Weinberg ve ark. 1993, Meeske ve ark. 1999), bazı araştırmacılar ise etkilemediğini (Moran ve ark. 1996) veya aerobik dayanıklılığı düşürerek, silajlarda gözle görülür bir küflenme ve yoğun karbondioksit gazı üretimine neden olduklarını bildirmişlerdir (Stokes ve Chen 1994, Meeske ve Basson 1998, Filya 2002b, Polat ve ark. 2005). Filya ve ark. (2000) ise silajların aerobik dayanıklılığının düştüğünü, KM içeriği yeterli olanların ise arttığını bildirmektedir.

Laktik asit bakterileri içeren inokulantların kullanıldığı silajlarda, fermantasyon ürünü olarak genellikle yüksek düzeyde laktik asit ve düşük düzeylerde asetik asit ve etanol oluşur. Bu tür silajlar ruminantların KM tüketimlerinde bir artış meydana getirmektedir. Bu artış, hem silajların KM ve OM sindirilebilirliğini, hem de ruminantların verim performanslarını olumlu yönde etkilemektedir (Moran ve ark. 1996, Kleinmans ve Hooper 1999).

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

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

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

arttırdığı, ADF ve NDF parçalanabilirliklerini arttırdığı, aerobik dayanıklılığın ise etkilenmediği bildirilmektedir (Filya 2002a).

Bu çalışma, laktik asit bakteri +enzim karışımı inokulantların düşük kuru maddeli mısır silajlarında fermantasyon özellikleri ve aerobik stabiliteleri ve in vitro organik madde sindirilebilirliği üzerine etkilerinin laboratuvar koşullarında incelenmesi amacıyla yürütülmüştür.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Silaj, genellikle su içeriği %50'nin üzerinde olan yeşil yem, bitkisel ürün, tarımsal artık ve atıkların doğal fermantasyonu sonucu elde edilen bir yem kaynağıdır (Meeske ve ark. 1993). Silaj yapımı, doğal fermantasyon sonucu laktik asit bakterileri (LAB)'nin anaerobik koşullar altında suda çözünebilir karbonhidratları (SÇK) başta laktik asit (LA) olmak üzere organik asitlere fermente etmesi temeline dayanır. Bunun sonucunda pH düşer ve su içeriği yüksek materyal bozulmaya neden olan mikroorganizmalardan korunmuş olur (McDonald 1981, Weinberg ve ark. 1993). 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 fermantasyonunda birden fazla faktör etkili olmaktadır. Bitkilerdeki kimyasal ve mikrobiyolojik aktivite hasat anından itibaren başlar ve silolamanın sonuna kadar devam eder. Bu aktivitelere bağlı olarak silajların besleme değerleri bir miktar düşer. Olgunlaşma dönemi; ekonomik koşulları da göz önüne alarak bitkilerin kimyasal ve mikrobiyolojik yapı olarak maksimum verim ve sindirilme dereceleri açısından da en iyi durumda oldukları dönemdir. Bitkilerin olgunlaşmaya başlaması ile birlikte verimleri artar. Ancak bunun yanı sıra selüloz ve lignin içerikleri de arttığı için sindirilme dereceleri düşer. Çok olgun bitkiler gerek aşırı KM gerekse yetersiz SÇK içeriklerinden dolayı silaj yapımı için uygun değildir. Bitkilerin çok erken dönemlerde hasat edilmesiyle yapılan silajlarda da bütrik asidin yoğun olduğu kötü bir fermantasyon görülür. Çok erken dönemlerde hasat edilen ürünlerin KM içerikleri oldukça düşük olduğu için bu tip ürünler daha fazla soldurma süresine gereksinim duyarlar. Bu süresinin uzaması bitkilerdeki enzim aktivitesini artırarak bozulmaya ve kayıplara sebep olur. Diğer yandan bitkilerin fizyolojik özellikleri ile hava ve toprak nemi, sıcaklık ve gün uzunluğu gibi çevre koşulları da doğru hasat zamanının belirlenmesi üzerinde etkili faktörlerdir (Filya 2005).

Bitkilerin tampon kapasiteleri de fermantasyon kalitesi açısından çok önemli bir faktör olup bitkilerin tampon özelliklerinin büyük bir kısmı içerdikleri anyonlardan (organik asit tuzları, ortofosfatlar, sülfatlar, nitratlar ve klorürler) ileri gelirken, yaklaşık %10-20'lik bir kısmı ise bitki proteinlerinin aktivitelelerinden ileri gelir. Baklagillerin buffer kapasiteleri (tamponlama kapasitesi) buğdaygillerden daha yüksektir. Bu nedenle

baklagiller buğdaygillere göre daha zor silolanırlar. Yüksek tampon kapasitesine sahip bitkiler zor silolanmalarının yanı sıra fermente olabilmek için hem daha fazla SÇK'a gereksinim duyarlar hem de bu bitkilerin fermente olabilmesi için daha uzun bir süre gerekir. Diğer yandan tampon kapasitesi yüksek olan bitkiler silaj pH'sını yükselttikleri için bu tür bitkilerden yapılan silajlarda kayıp oranı daha yüksek olur (Filya 2007).

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

Silajlarda başlangıç materyalinin (taze ve yeşil bitki) doğal LAB populasyonu genellikle düşüktür ve heterofermantatif LAB'lerinden oluşmuştur. Dolayısıyla silaj fermantasyonunu iyileştirmek için hızlı gelişim gösteren homofermantatif LAB'nin kullanımının etkinliği birçok çalışmada kanıtlanmıştır. Silaj yapımında son zamanlarda LAB'lerini içeren ve bakteriyal 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 inokulantlarının mısır silajının fermantasyon özellikleri üzerindeki etkilerinin incelendiği birçok araştırmaya rastlanmıştır. Söz konusu araştırmalar incelendiğinde, homofermantatif LAB inokulantları kullanıldıkları silajların; pH, asetik asit, bütirik asit, amonyak-azotu (NH₃-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. 2006, Weinberg ve ark. 2007).

Weinberg ve ark. (1993), başlangıç pH'sı 5.9 olan mısır bitkisine *L. plantarum*, *P. acidilactici* ve *E. faecium* içeren bir LAB inokulantının etkilerini araştırdıkları çalışmalarında silolamanın 45. günündeki silajlarda pH'nın kontrol ve inokulant gruplarında sırasıyla 3.5 ve 3.5, laktik asitin KM'de %9.0 ve 4.1, asetik asitin KM'de 0.8

ve 0, lactobacilli içeriklerinin 4.0 ve 5.5 log cfu/g KM, maya içeriklerini 4.7 ve 5.4 log cfu/g KM olduğunu saptamışlardır. Araştırmacılar 5. günlük aerobik stabilite testine tutulan mısır silajlarındaki CO₂ üretiminin kontrol ve inokulant gruplarında sırasıyla 0 ve 8.6, maya içeriklerini ise 6.6 ve 8.5 olduğunu belirlemişlerdir.

Shayan ve ark. (1996), *L. plantarum* ve *E. faecium* içeren homofermantatif LAB inokulantının mısır silajı üzerindeki etkilerini inceledikleri çalışmalarında, kontrol ve inokulant içeren grupların pH değerleri sırasıyla 4.1 ve 4.1, laktik asit içerikleri 13.7 ve 16.4 g/kg KM; asetik asit içerikleri 8.3 ve 4.6 g/kg KM olarak saptanmıştır. Araştırmacılar, silajların hiç birisinde bütrik asit oluşumuna rastlamamışlardır.

Muck ve Kung (1997), 1990-1995 yılları arasında homofermantatif LAB inokulantlarının silaj fermantasyonu üzerindeki etkinliğini değerlendirdikleri araştırmalarında, yapılan çalışmaların %60'ında silajların laktik:asetik asit oranını artırdığını (n= 233), %55'inde pH (n=221) ve NH₃-N (n=148) düzeyini düşüğünü, %38'inde (n=34) inokulantların kullanımına bağlı KM geri kazanımının arttığını, bu artışın çalışmaların sadece %6'sında istatistiki açıdan önemli düzeyde olduğunu belirlemişlerdir.

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

Ranjit ve Kung (2000) mısır bitkisinde *L. plantarum* 30115 içeren LAB inokulantının etkisini inceledikleri çalışmalarında, silolamanın 100. gününde silajların pH'sını kontrol ve inokulant kullanılan gruplarda sırasıyla 3.66 ve 3.68, laktik asit içeriklerinin %7.72 ve 7.24; asetik asit içeriklerinin %1.82 ve 1.68; laktik: asetik asit oranının ise 4.21 ve 4.22 olduğunu belirlemişlerdir.

Filya (2002b), LAB inokulantlarının hamur olum döneminde hasat edilen mısır bitkisine *L. plantarum* ve *E. faecium*, *L. Plantarum*, *Pediococcus acidilactici* ve *E. faecium* ile *E. faecium* içeren üç farklı LAB inokulantı kullandıkları çalışmalarında, silolamanın 60. gününde açılan mısır silajlarının laktik asit içerikleri kontrol ve inokulant

kullanılan gruplarda sırasıyla pH değerlerini 3.9 ve 3.7; SÇK içeriklerini 22 ve 33-43 g/kg KM; laktik asit içeriklerini KM'de %4.3 ve 8.3-9.4; asetik asit içeriklerini KM'de %4.3 ve 0.0-1.4; LAB sayılarını 6.4 ve 9.0-9.3 log₁₀ cfu/g; maya sayılarını 5.1 ve 4.7-5.1 log₁₀ cfu/g; küf sayılarını ise 4.0 ve 1.1-1.7 log₁₀ cfu/g, NDF içeriklerini KM' de %46.3 ve 44.4-45.8; ADF içeriklerini %24.1 ve 22.3-23.8; ADL içeriklerini ise %3.8 ve 3.2-4.0 olarak saptamışlardır. Araştırmacılar LAB inokulantının mısır silajlarının fermantasyon özelliklerini olumlu yönde etkilediğini, hücre duvarı bileşenleri üzerindeki etkilerinin çok az olduğunu bildirmektedirler.

Weinberg ve ark. (2002) başlangıç pH'sı 5.7 olan mısır bitkisinde *L. plantarum* etkisini inceledikleri çalışmalarında, silolamanın 90. gününde silajların pH'sını kontrol ve inokulant kullanılan gruplarda sırasıyla 3.8 ve 3.8, laktik asit içeriklerinin 25 ve 26 g/kg KM; asetik asit içeriklerinin 10 ve 9 g/kg KM; gaz kayıplarının ise 1.7 ve 1.5 olduğunu belirlemiştir.

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

Kim ve ark. (2005) %30.4 KM içeriğine sahip mısır bitkisinde *L. plantarum* içeren homofermantatif LAB inokulantını kullandıkları çalışmalarında, tüm silajların pH'sını 3.9 olarak saptadıklarını, inokulant kullanımının silajların laktik asit içeriğini (%8.61) artırdığını, asetik asit içeriğini (%0.15) kontrol grubuna (%3.94) göre düşürdüğünü (P<0.05). Ayrıca, LAB inokulant kullanımına bağlı silajların ham protein içeriklerinde önemli düzeyde bir artış meydana gelmiştir.

Filya ve ark. (2006) süt olum başlangıcı ve ½ süt olum dönemlerinde hasat edilen mısır bitkisine *L. plantarum* ile *L. plantarum* ve *P. cerevisiae* içeren iki farklı LAB inokulantı kullandıkları çalışmalarında, süt olum dönemi başlangıcında hasat edilen ve silolamanın 60. gününde açılan mısır silajlarının laktik asit içerikleri kontrol ve inokulant kullanılan gruplarda sırasıyla 58.1 ve 87.8-89.4 g/kg KM; NH₃-N içeriklerini 3.07 ve 1.95-2.02 g/kg KM; SÇK içeriklerini 26.2 ve 16.8-18.1 g/kg KM; ½ süt olum döneminde hasat edilen mısır silajlarında ise laktik asit içerikleri aynı sırayla 55.7 ve 86.6-87.9 g/kg KM;

NH₃-N içeriklerini 2.76 ve 1.71-1.77 g/kg KM; SÇK içeriklerini 21.6 ve 13.6-14.4 g/kg KM olarak saptamışlardır.

Bir ürünün iyi bir şekilde silolanabilmesi için başta heksozlar olmak üzere KM'de en az %3-5 düzeyinde fermente olabilir karbonhidrat içermesi gerekir. Silolanacak bitki materyallerinin yeterli düzeyde SÇK'nın bulunması durumunda LAB'nin inokulasyonu silaj kalitesini arttırabilmektedir. Ortamda yeterli miktarda SÇK bulunmaması durumunda ise silaj kalitesi düşmektedir. Bitkilerde bulunan karbonhidratların büyük bir bölümünü LAB tarafından fermente edilemeyen yapısal karbonhidratlar oluşturmaktadır. Bu nedenle SÇK bakımından yetersiz olan ürünlerin silolanması sırasında yeterli düzeyde fermente olabilir karbonhidrat sağlayabilmek için hücre duvarını ve nişastayı parçalayan enzimlerin kullanılması önerilmektedir. Bu enzimler selüloz, hemiselüloz, pektinaz ve amilazdır. Hücre duvarını parçalayıcı enzimler silajların pH, asetik asit ve diğer uçucu yağ asitleri içeriklerini düşürmektedirler. Bunun yanı sıra bu enzimler katıldıkları silajların NDF, ADF ve ADL olarak saptanan hücre duvarı bileşenlerini düşürürken, laktik asit ve SÇK içeriklerini arttırmaktadırlar (Filya 2001).

Filya (2002a), 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'nı KM'de %1.3, 3.0 ve 5.7; NH₃-N'nu KM'de %0.9, 0.4 ve 0.1; laktik asidi KM'de %3.8, 9.4 ve 13.6; asetik asidi KM'de %4.2, 0.3 ve 0.3; LAB içeriklerini 7.3, 12.4, 12.6 cfu g/ KM; küf içeriklerini 7.0, 6.9 ve 6.5 cfu g/ KM; küf içeriklerini 4.8, 1.0 ve 1.3 cfu g/ KM; NDF içeriklerini KM' de %52.0, 52.5 ve 46.2; ADF içeriklerini KM'de %27.2, 27.1 ve 22.4; ADL içeriklerini ise KM'de %4.3, 4.6 ve 4.1 olarak saptamışlardır. Araştırmacılar her iki LAB inokulantının da mısır silajlarının fermantasyon özelliklerini geliştirdiğini, LAB sayılarını arttırdığını, küf sayılarını ise düşürdüğünü, NDF ve ADF miktarlarının ise LAB+Enzim gruplarında önemli düzeyde azaldığını bildirmektedirler.

Basmacıoğlu ve ark. (2002) mısır bitkisinde 4.00 (ÍA) ve 6.00 (İB) log cfu/g düzeylerinde LAB+Enzim inokulantını kullanıldığı çalışmada, 14., 28., 42. ve 56. gününde açılan silajların fermantasyon özelliklerini incelemiştir. Araştırmacılar LAB+enzim inokulantı kullanımının silolamanın 14. günü dışındaki tüm silajlarda pH ve asetik asit içeriklerinin önemli düzeyde daha düşük olduğunu (P<0.05), 42. ve 56. günlerde ise LAB+enzim kullanımının laktik asit içeriklerini artırdığı ancak bu artışın istatistiksel anlamda önemli olmadığını bildirmektedirler (P>0.05). Silolamanın 56. gününde silajların pH değerleri kontrol, İA ve İB gruplarında sırasıyla 3,8, 3,7 ve 3,7; SÇK içerikleri 1,2, 1,2

ve 1,2; NH₃-N içerikleri %0,0, 0,0 ve 0,1; laktik asit içeriklerini %6,4, 7,0 ve 6,7; asetik asit içeriklerini %2,0, 1,6 ve 1,9; lactobacilli sayılarını 4,4, 5,2 ve 5,2 log cfu/g; maya sayılarını 2,1, 2,1 ve 2,2 log cfu/g olarak saptamışlardır. Silajların hiçbirinde küf oluşumuna raslanmamıştır.

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 popülasyonun 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. Mayaların silajlarda var olması ise silajın lezzetini azaltmakta, besleme profilini değiştirmektedir. Mayalar, iyi fermente olmuş silajlarda 10 cfu/g, bozulmuş silajlarda 10¹² cfu/g'a kadar değişen düzeylerde bulunabilirler (Middlehoven ve van Baalen 1988). 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).

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 CO₂ 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, ^{ho}LAB inokulantları kullanıldıkları silajların; aerobik stabiliteyi genellikle düşürdükleri (Filya 2002ab, Filya ve Sucu 2003), bazen ise artırdığı (Sebastian ve ark. 1989) belirlenmiştir.

Sebastian ve ark. (1989) *L. plantarum* ve *E. faecium* içeren homofermantatif 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 homofermantatif LAB inokulantlarının kullanımının aerobik stabilite üzerindeki etkilerinin incelendiği bir dizi araştırma sonucunu derlemişlerdir. Derleme sonucunda, ^{ho}LAB inokulantları yapılan çalışmaların %60'ında silajların aerobik stabiliteyi 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 homofermantatif LAB inokulantı kullanımının aerobik stabilite üzerindeki etkilerini incelemiştir. Araştırma sonucunda, homofermantatif LAB inokulantının kullanıldığı silajların CO₂ 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 CO₂ üretimini, kontrol ve homofermantatif 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 araştırmada da, mısır ve sorgum silajlarında *L. plantarum* + *E. faecium* (ÍA), *P. acidilactici* + *L. plantarum* (İB) ve *E. faecium* (İC) olmak üzere üç farklı homofermantatif LAB inokulantı kullanılmıştır. Silolamanın 60. gününde açılan silajlarda 5 gün süre ile aerobik stabilite uygulanmış ve mısır silajlarının CO₂ 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 homofermantatif 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, Kırklareli İlinin Lüleburgaz ilçesinde yetiştirilen mısır bitkisi kullanılmıştır.

3.1.2. SİLAJLARIN HAZIRLANMASI

Araştırmada kullanılan mısır bitkisi süt 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. Bitkisel materyaller 1.0 litre kapasiteli ve yalnızca gaz çıkışına olanak tanıyan özel cam kavanozlara (Weck, Wher-Oftlingen, Germany) 3'er paralelli olarak silolanmışlardır. Araştırmada her grup için (kontrol, LAB+enzim karışımı A ve LAB+enzim karışımı B) 12'er kavanoz olmak üzere toplam 36 kavanoz silaj yapılmıştır. Kavanozlar laboratuvar ortamında 20 ± 2 °C sıcaklıkta tutulmuşlardır. Her muamele grubundan 3'er kavanoz, silolandıktan sonraki 2, 4, 8 ve 45. Günlerinde açılarak kimyasal ve mikrobiyolojik analizleri yapılmıştır. 45. gün açılan son dönem silajlara 5 gün süre ile aerobik stabilite testi uygulanmıştır.

3.1.3. Kullanılan İnokulantlar

1. İnokulant A: Maize-All (ALltech, UK). Üretici firmanın bildirdiğine göre, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus salivarius* ve *Pediococcus acidilactici* ile amilaz içermektedir.
2. İnokulant B: MICROBIOS (Cuprem[®], USA). Üretici firmanın bildirdiğine göre, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis*, *Propionibacterium shermanii*, *Enterococcus faecium*, *Bacillus subsitus*, *Pediococcus acidilactici* ve selülaz, hemiselülaz ve amilaz içermektedir.

3.1.4. İnokulantların Kullanım Şekli

1. grup kontrol grubu olup inokulant içermemektedir.

2. grupta, Maize-All (ALltech, UK) kullanılmıştır. 10 kg parçalanmış taze materyal 1x4 m temiz bir alana yayılmıştır. İnokulanttan 0.1 g tartılarak üzerine 20 ml çeşme suyu konulmuş ve iyice karışması sağlandıktan sonra taze materyal üzerine homojen bir şekilde el pülverizatörü ile püskürtülmüştür. Böylece taze mısıra 6.0 log cfu/g LAB+enzim karışımları katılmıştır.
3. grupta, MICROBIOS (Cuprem[®], USA) kullanılmıştır. 1.1 g inokulant 2. Grupta açıklandığı gibi taze materyale uygulanmıştır. Böylece taze mısıra 6.0 log cfu/g LAB+enzim karışımları katılmıştır.

3.2.YÖNTEM

3.2.1.SİLAJ KALİTESİ TAKDİRİ İÇİN KULLANILAN YÖNTEMLER

Araştırmada kullanılan yemlerin silolama öncesinde pH, Bc, SÇK, mikrobiyolojik analizler, silolama sonrası örneklerde pH, SÇK, NH₃-N, organik asitler (asetik 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 örneklere 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 öğütülmüş örnekten 0.2 g tartılarak bir şişe içerisine konulmuş, üzerine 200 ml saf su ilave edilerek 1 saat süre ile çalkalanmıştır. Örneklerin ilk birkaç damlası ihmal edilecek şekilde süzülerek 50 ml'lik berrak ekstrakt elde edilmiştir. Standart eğrilerin hazırlanmasından sonra 2 ml ekstrakt alınarak 150x25 mm'lik borosilikat test tüplerine konulmuştur. Ön hazırlığı takiben absorbans değeri 620 nm'de 30 dakika içerisinde spektrofotometre aracılığı ile okunmuştur. Örnek ve kör denemeler sonrası tespit edilen absorbans değerlerine denk gelen mg glikoz değerleri arasındaki farklılık 500 katsayısı ile çarpılmıştır. Sonuç, örnek içerisinde yer alan g/kg SÇK miktarı olarak kaydedilmiştir.

3.2.1.3. NH₃-N Analizi

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

3.2.1.4. Organik Asit Analizleri

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

3.2.1.4.1. Laktik Asit Analizleri

Derin dondurucuda -20 °C'de saklanan örnekler analizin yapılacağı gün çıkartılarak çözülünceye kadar oda sıcaklığında bir süre bekletilmişlerdir. Çözündürülen örnekler daha sonra 1:100 oranında seyreltilerek kullanılmıştır. Seyreltilen örneklerden otomatik pipet yardımıyla 1 ml sıvı tüplere aktarılmış üzerine 0.1 ml bakır sülfat (5g CuSO₄/100 ml saf su) ile 6 ml %98'lik sülfürik asit ilave edilmiştir. Hazırlanan tüpler 30 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 µg/ml' leri okunarak saptanmıştır. Elde edilen örneklerin KM miktarlarına bölünmüş ve silajların %KM'de % laktik asit içerikleri saptanmıştır.

3.2.1.4.2. Asetik Asit Analizleri

Asetik asitin saptanması: 50-60 g numune 0.1 mg tartılarak blendere alınmıştır. Üzerine 80 ml CHCl₃ ilave edilmiş ve 3 dakika yüksek devirde karıştırılmıştır. Cam süzgece 10 cm çaplı süzgeç kağıdı yerleştirilmiş, karışım süzgece aktarılmış ve emme yardımı ile süzölmüştür. Süzgeç kağıdında kalan pasta ve süzgeç kağıdı blendere aktarılmış ve üzerine 80 ml CHCl₃ 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 CHCl₃ ile yıkanmış ve çökelti bastırılarak CHCl₃'ün büyük bir kısmı uzaklaştırılmıştır. Toplanan CHCl₃ ekstraktları 500 ml 'lik ayırıcıya aktarılmış, süzgeç ve ekstrakt toplama kabı 2'şer ml'lik CHCl₃ ile yıkanmış ve ayırıcıya aktarılmıştır. Ayırıcıya 33 ml 0.5 N NaOH çözeltisi ilave edilerek ekstrakte edilmiş CHCl₃ fazı 600 ml'lik, sulu faz 300 ml'lik behere alınmıştır. CHCl₃ fazı aynı ayırıcıya alınmış ve 33 ml 0.5 N NaOH çözeltisi ile ikinci bir ekstraksiyona işlemi uygulanmıştır. Fazlar ait olan beherlere alınmış ve sonuncu ekstraksiyon işlemindeki emülsiyon fazı alkali fazın toplandığı behere alınmıştır. Alkali ekstrakt 70 ml yaklaşık 1 N HCl çözeltisi ile asitlendirilmiş, çözülmüş CHCl₃'ün uzaklaştırılması için 5-10 dakika hızlıca havalandırılmıştır. CHCl₃ tamamen uzaklaştığını koklayarak kontrol edilmiştir. Çözelti, süzgeç kağıdı yerleştirilmiş gözenekli cam süzgeçten süzülmüştür. Süzüntü 500 ml'lik balona aktarılmış ve çizgisine kadar saf su ile tamamlanmıştır. Standart çözelti karşı absorbanları spektrofotometrede 307 nm dalga boyunda okuma yapılmıştır.

Standart Çözeltinin Hazırlanması

500 ml'lik ayırıcıya 250 ml CHCl₃ alınmış, NaOH ile ekstrakte edilmiş, HCl ile asitlendirilmiş ve havalandırılmıştır. 500 ml'lik ölçü balonuna alınmış ve ölçüsüne kadar saf su ile tamamlanmıştır. Standart asetik asit çözeltisinden 1, 2, 3 ve 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 çözeltiye karşı absorbanları spektrofotometrede 307 nm dalga boyunda okuma yapılmıştır.

Hesaplama ve Sonuçların Gösterilmesi

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

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

3.2.1.5. Mikrobiyolojik Analizler

Çalışmada gerek silolama öncesi taze materyalde ve gerekse de son ürünler üzerinde *lactobacilli*, 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. *Lactobacilli* için

ekim ortamı olarak MRS Agar, maya ve küfler için Malt Ekstrakt Agar kullanılmıştır. Örneklere ait LAB, maya ve küfler için 30 °C sıcaklıkta 3 günlük inkübasyon dönemlerini takiben gerçekleştirilmiştir (Seale ve ark. 1990). Örneklerde saptanan *lactobacilli*, 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 çözünabilir 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 çözeltiye 150 g sodyum lauryl sülfat ve 50 ml 2-etoksietanol ilave edilmiştir. İkinci bir cam kapta 22.8 g susuz di sodyum hidrojen sülfat tartılır, distile su ilave edilir ve hafifçe ısıtılarak çözülmüştür. İlk çözeltiye ilave edilmiş, karıştırılmış ve 5

litreye seyreltilmiştir. Çözelti pH'sı 6.9-7.1 arasında kontrol edilmiştir. Birkaç damla dekalin, 0.5 g sodyum sülfid katılmış ve geri soğutucuya takılmıştır. Çözelti hızla kaynama durumuna getirilmiş ve bir saat kaynatılmıştır. Ateşten alınıp 10 dakika tutulmuştur. Darası alınmış cam krozeden düşük vakum aracılığıyla filtre edilmiştir. Kalıntı iki kısım kaynamaya yakın sıcaklıktaki su ve iki kısım asetonla yıkanmıştır. Cam kroze kurutma dolabında 103 °C sıcaklıkta 4 saat veya 100 °C sıcaklıkta bir gece tutulmuştur. Sonra desikatörde soğutulmuş ve tartılmıştır.

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

a = NDF içeren kuru cam krozenin ağırlığı, g

b = cam krozenin darası alınmış ağırlığı, g

N = örneğin ağırlığı, g

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

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 H₂SO₄-CTAB) selülozu ayrıştırması ile elde edilen kalıntının kül fırınında yakılması ile kütni de içeren lignin miktarı saptanmıştır (Close ve Menke 1986). Bir mm'lik elekten geçecek şekilde öğütülmüş numuneden 0.5 g kadar behere tartılır. 100 ml'lik soğuk %72'lik H₂SO₄- CTAB (100 g CTAB 5 litre %72'lik 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.

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

a = Krozenin kurutmadan sonraki ağırlığı, g

b = Krozenin yakmadan sonraki ağırlığı, g

N = Numune miktarı, g

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

Selüloz (g/kg KM) = ADF - ADL

Hemiselüloz (g/kg KM) = NDF – ADF

3.2.2.3. 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 ölçölmüş ve CO₂ üretimleri saptanmıştır. Araştırmada, aerobik stabilite testinin uygulanması için 1 atm ve 25 °C de 24 saatteki CO₂ geçirgenlik oranı 15-25 ml /mil/254 m olan stabil, aşınmaya dirençli gaz sızdırmaz özellikteki 1.5 L' lik polietilen (PET) şişeler kullanılmıştır. Bir test ünitesinin oluşturulması için pet şişe 1L ve 0.5L olmak üzere ikiye kesilmiştir. 1L'lik PET şişenin kapak kısmına hava sirkölasyonunu 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 konuşmuştur. Hazırlanan söz konusu ünite 5 gün süreyle bekletilmiştir. Bu sayede aerobik aktivite

sonucu silaj örneklerinde oluşan ve havadan 1.5 kat daha yoğun olan CO₂ gazı altta çökerek tabanda tutulmuştur. Çözeltiden 10 ml alınarak 1N'lik %37'lik hidroklorik asit çözeltisiyle titre edilmiştir. pH'nın 8.1-3.6 arasında harcanan HCl miktarı saptanmış ve CO₂ gazı miktarı aşağıda belirtilen denkleme göre hesaplanmıştır.

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

T= titrasyonda harcanan 1 N HCl asit miktarı (ml)

V= %25 KOH çözeltisinin toplam hacmi (ml)

A= ünitenin alt kısmına ilave edilen KOH miktarı (ml)

TM= taze materyalin ağırlığı (kg)

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

3.2.2.4. Enzimde OM Çözünürlüğü Analiz Yöntemleri

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

Yönteme göre, kurutularak öğütülmüş materyalden alınan 0.3 g'lık örnek daha önce altı kapatılmış olan süzgeçli cam kaplara (800 °C ısıya dayanıklı, por. 1, altı ve üstü kapaklı, 50 ml'lik Gooch krozeler) tartılır. Her biri 3'er paralel olacak şekilde tartılan yem örnekleri üzerine 40 °C sıcaklıktaki pepsin+HCl çözeltisinden 30 ml ilave edilir ve cam kabın üst kısmı kapatılır. Cam kaplar 40 °C sıcaklığa ayarlı inkübatör dolabına konur ve 5 saat sonra kaplar iyice karıştırılır. Burada enzim aktivitesinde herhangi bir yetersizliğe neden olmamak için, çözelti sıcaklığının 39-40 °C sıcaklıkta tutulmasına dikkat edilmiştir. Cam kaplar 24 saat inkübatör dolabında kaldıktan sonra 80 °C sıcaklıktaki su banyosunda 45 dakika bekletilerek nişastanın hidrolizi sağlanır. Bu işlemin ardından cam kaplar açılarak içindeki çözelti vakum pompası yardımı ile emilir ve içinde kalan kısım sıcak su ile yıkanır. Alt kısmından kapatılan cam kaplara selüloz+buffer çözeltisinden 30 ml ilave edilir ve 40 °C sıcaklıktaki inkübatör dolabında 24 saat bekletilir. Bu işlem sonrası cam kapların kapakları açılır, çözeltiler süzülür ve sıcak su ile yıkanır. Süzme işleminden sonra 105 °C sıcaklığa ayarlı kurutma dolabında bir gece boyunca kurutulup, tartım işlemi yapılır. Cam kaplar 550 °C sıcaklığa ayarlı kül fırınında en az 90 dakika yakılmış ve tartım gerçekleştirilmiştir.

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

$$\begin{aligned}\text{Organik madde sindirilebilirliği, \%} &= [B_1-(A_1-A_2) \times 100]/B_1-C_1 \\ \text{Enzimde çözünmeyen organik madde (EÇOM)} &= 100-\text{OM sindirilebilirliği}\end{aligned}$$

A₀: Ghoch krozesinin darası, g

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

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

B₁: Analize alınan örnek miktarı, g/KM

C₁: Analize alınan örnekteki kül miktarı, g/KM

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

3.2.3. İSTATİKSEL ANALİZLER

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

4. BULGULAR

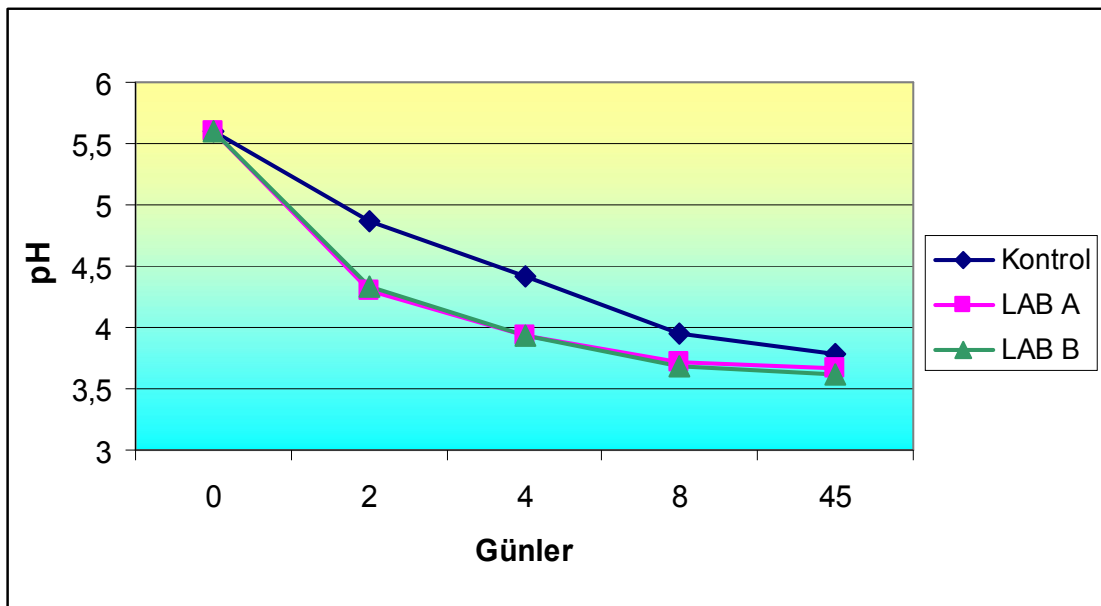
4.1. Silajların Fermantasyon Özellikleri

4.1.1. Silajların kimyasal analizleri

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

Çizelgeden de görülebileceği gibi, her iki inokulant da fermantasyonun başlarından itibaren mısır silajlarının pH ve amonyak-azotu miktarlarını önemli düzeyde düşürmüştür ($P<0.05$). Ayrıca her iki inokulant da fermantasyonun başlarından itibaren laktik asit miktarlarını önemli düzeyde artırmış, asetik asit miktarlarını ise önemli düzeyde düşürmüştür ($P<0.05$). Silolamanın 45. günlerinde her iki inokulantı içeren silajların laktik asit miktarları kontrol grubu silajlardan önemli düzeyde yüksek; pH, NH_3-N ve asetik asit miktarları ise önemli düzeyde düşük bulunmuştur ($P<0.05$).

Taze mısırın tamponlama kapasitesi ve pH’sı sırasıyla 137 meq/kg KM ve 5.60 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. Her iki LAB inokulantının kullanıldığı gruplarındaki silajların pH’ları fermantasyonun 2. gününden itibaren hızla düşerek, 45. günde kontrol, LAB A ve LAB B grupları için sırasıyla 3,78, 3,67 ve 3,61 olarak saptanmıştır.



Şekil 1. Mısır silajlarının fermantasyon süresince pH değişimleri

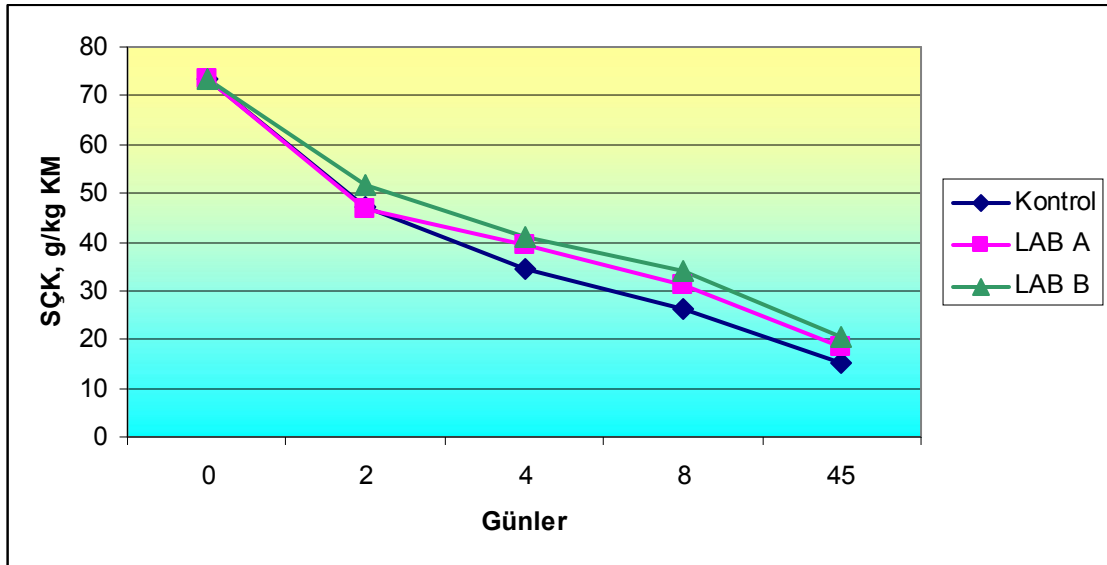
Çizelge 1. Mısır silajlarına ait kimyasal analiz sonuçları

Günler	Uygulama	Tk meq/kg KM	pH	KM, %	SÇK, g/kg KM	HP	HK	NH ₃ -N, g/kg TN	LA, %	AA, %	KM Kaybı, %
0		137	5.60	24.21	73.57	7.61	6.53	19.05	1.32	0.24	-
2	Kontrol		4.87±0.05 ^a	24.56±0.56	47.33±1.88	7.80±0.14	6.36±0.21	35.75±2.12	2.11±0.05 ^b	0.54±0.06	0.53±0.06 ^a
	LAB A		4.30±0.03 ^b	24.38±0.54	46.70±0.85	7.56±0.13	6.35±0.35	29.51±3.08	2.83±0.06 ^a	0.25±0.04	0.24±0.02 ^b
	LAB B		4.34±0.04 ^b	24.25±0.60	51.57±2.58	8.13±0.19	6.59±0.27	24.12±2.51	2.71±0.07 ^a	0.20±0.01	0.22±0.03 ^b
4	Kontrol		4.42±0.05 ^a	24.17±0.23	34.42±1.59	7.28±0.02	6.27±0.43	48.51±3.88 ^a	2.45±0.05 ^b	0.78±0.03 ^a	1.31±0.04 ^a
	LAB A		3.94±0.03 ^b	24.08±0.23	39.23±1.05	7.80±0.15	6.25±0.15	19.35±1.92 ^b	3.43±0.07 ^a	0.30±0.05 ^b	0.76±0.04 ^b
	LAB B		3.93±0.02 ^b	24.80±0.39	41.03±1.65	7.67±0.32	6.71±0.38	23.86±2.02 ^b	3.26±0.03 ^a	0.31±0.05 ^b	0.83±0.03 ^b
8	Kontrol		3.95±0.03 ^a	24.35±0.33	26.20±1.04	7.73±0.10	6.61±0.19	52.39±3.73 ^a	3.89±0.10 ^b	1.11±0.05 ^a	1.77±0.07 ^a
	LAB A		3.71±0.03 ^b	24.23±0.57	31.30±1.91	7.91±0.07	6.43±0.30	27.62±3.26 ^b	4.85±0.08 ^a	0.68±0.02 ^b	1.10±0.09 ^b
	LAB B		3.69±0.03 ^b	23.88±0.46	34.08±2.55	8.07±0.17	6.30±0.22	38.00±3.53 ^b	4.76±0.08 ^a	0.63±0.05 ^b	1.22±0.10 ^b
45	Kontrol		3.78±0.03 ^a	23.86±0.37	15.07±1.73	7.62±0.07	6.33±0.27	56.41±2.00 ^a	5.41±0.11 ^b	1.97±0.05 ^a	2.47±0.28 ^a
	LAB A		3.67±0.02 ^b	23.44±0.21	18.53±1.13	7.71±0.02	6.53±0.31	40.34±4.37 ^b	6.67±0.09 ^a	1.11±0.09 ^b	1.64±0.09 ^b
	LAB B		3.61±0.04 ^b	23.48±0.31	20.38±1.82	7.44±0.21	6.34±0.29	38.78±4.20 ^b	6.87±0.04 ^a	1.40±0.04 ^b	1.55±0.09 ^b

Tk: Tamponlama kapasitesi; KM: kuru madde; SÇK: suda çözünebilir karbonhidratlar; NH₃-N: amonyak azotu; LA: laktik asit; AA: asetik asit
 Aynı sütunda belirtilen günlerde farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılıklar önemlidir, P<0.05

Taze mısırın KM içeriğinin %24.21 olarak belirlendiği araştırmada, fermantasyon süresince mısır silajlarının KM içerikleri %23.44-24.80 değerleri arasında değişmiştir. Araştırmada, her iki LAB inokulantının kullanımı mısır silajlarının KM içeriklerini etkilememiştir ($P>0.05$).

Taze mısırın 73,57 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 45. gününde en düşük SÇK içeriği 15.07 g/kg KM ile kontrol grubunda saptanmıştır. Her iki LAB inokulantlarının içerdiği enzimlerin tritikaledeki hücre duvarını (Çizelge 3) ve nişastayı parçalaması sonucu açığa çıkan ilave substratların fermente olması sonucu, SÇK'ın bir bölümü kullanılmadan kalmıştır. Silolama döneminin sonunda her iki LAB inokulant grubunda SÇK miktarları kontrol grubuna göre sayısal düzeyde daha yüksek bulunmuştur ($P>0.05$).

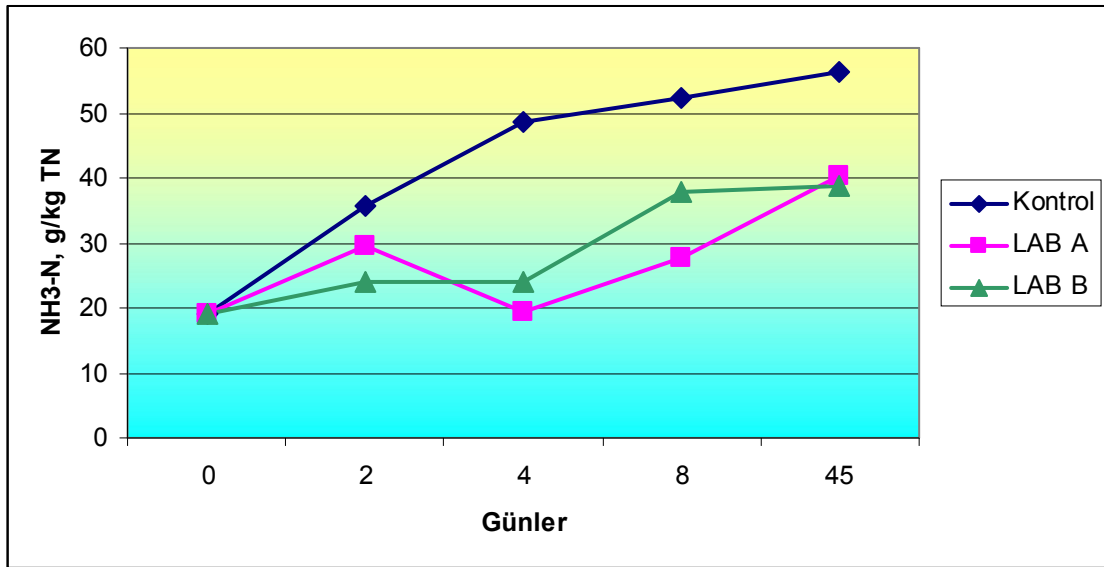


Şekil 2. Mısır silajlarının fermantasyon süresince SÇK değişimleri

Taze mısırın HP ve HK içerikleri sırasıyla %7.61 ve 6.53 olarak saptanmıştır. Fermantasyon süresi boyunca mısır silajlarının HP ve HK içerikleri sırasıyla %7.28-8.13 ve 6.25-6.71 arasında değişmiştir. Araştırmada, mısır silajlarında her iki

inokulantın HP ve HK üzerindeki etkileri fermantasyonun tüm dönemlerinde önemsiz bulunmuştur ($P>0.05$).

Taze mısırın $\text{NH}_3\text{-N}$ içeriği 19.05 g/kg TN olarak saptanmıştır. 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 $\text{NH}_3\text{-N}$ oluşumu protein parçalanma düzeyini gösteren önemli bir parametredir. Araştırmada, fermantasyonun 2. gününden itibaren LAB A ve LAB B gruplarında $\text{NH}_3\text{-N}$ içeriği kontrol grubu silajlarına göre önemli düzeylerde daha düşük bulunmuştur ($P<0.005$). Petterson (1988)'un kaliteli bir silajda $\text{NH}_3\text{-N}$ içeriğinin 80.00 g/kg TN den yüksek olmaması gerektiğini bildirmektedir. Araştırmadan elde $\text{NH}_3\text{-N}$ içeriklerine ilişkin bulgular tüm silajlarının iyi kalitede silajlar olduğunu göstermektedir.



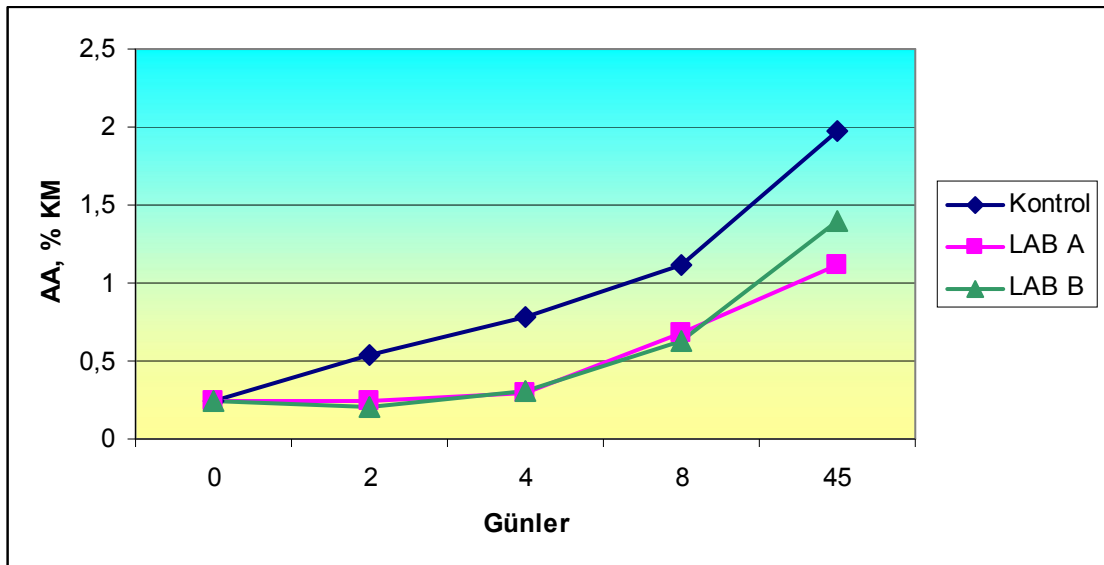
Şekil 3. Mısır silajlarının fermantasyon süresince $\text{NH}_3\text{-N}$ değişimleri

Taze mısırın laktik asit içeriği KM'de %1.32 olarak saptandığı araştırmada, yapılan tüm silajların laktik asit içerikleri fermantasyon süresi boyunca artış göstermiş olup, bu etki her iki inokulantın kullanıldığı gruplarda daha belirgin bir şekilde gerçekleşmiştir. Nitekim fermantasyonun 45. gününde en düşük laktik asit içeriği

KM'de %5.41 ile kontrol grubunda saptanırken, LAB A ve LAB B gruplarında sırasıyla %6.67 ve 6.87 ile önemli düzeyde daha yüksek bulunmuştur ($P<0.05$). Taze mısırın asetik asit içeriği KM'de %0.24 olarak saptandığı araştırmada, fermantasyon süresince LAB A ve LAB B gruplarında asetik asit içerikleri kontrol grubu silajlarına göre önemli düzeylerde daha düşük bulunmuştur ($P<0.05$).

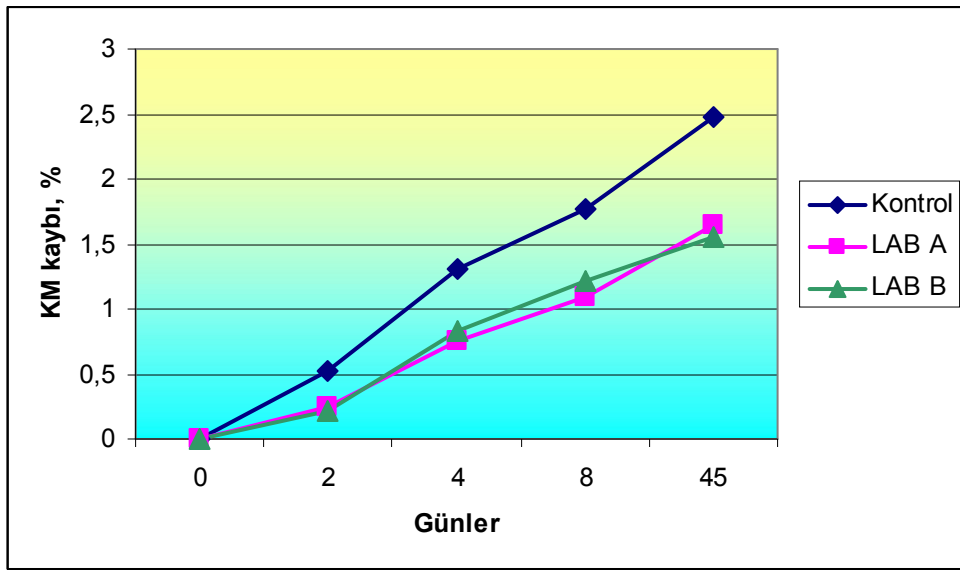


Şekil 4. Mısır silajlarının fermantasyon süresince laktik asit değişimleri



Şekil 5. Mısır silajlarının fermantasyon süresince asetik asit değişimleri

Mısır silajlarının KM kayıpları üzerindeki etkileri incelendiğinde, fermantasyon süresince tüm gruplarda KM kaybında bir artış gözlenmiştir. Özellikle fermantasyon başlangıcında görülen solunum sırasında CO₂ ve su açığa çıkmaktadır. Solunum sırasında oluşan fermantatif gazların oluşturduğu kayıplar KM kayıplarını oluşturmaktadır. Araştırmada fermantasyon süresince mısır silajlarının KM kayıpları %0.22-2.47 arasında değişmiştir. Fermantasyonun tüm günlerinde her iki inokulantta bu artışı önemli düzeylerde engellemiştir (P<0.05).



Şekil 6. Mısır silajlarının fermantasyon süresince KM kayıpları

4.1.2. Silajların mikrobiyolojik analizleri

Taze ve silolanmış mısırın mikrobiyolojik analiz sonuçları Çizelge 2' de verilmiştir. Taze mısırın *lactobacilli*, maya ve küf yoğunlukları sırasıyla 4.36, 3.72 ve 0.00 olarak saptanmıştır. Her iki inokulant da silajların *lactobacilli* yoğunluğu 2. günden itibaren tüm açım dönemlerinde kontrol grubuna göre önemli düzeyde arttırırken (P<0.05), maya yoğunluklarını ise etkilememiştir (P>0.05). Genel olarak taze mısırdaki ve silajlardaki hiçbirinde küf oluşumuna rastlanmamıştır. İyi kapatılmış, düşük pH ile anaerobik koşulların sağlandığı silajlar küf gelişimine uygun ortamlar değildir.

Çizelge 2. Mısır silajlarına ait mikrobiyolojik analiz sonuçları, log₁₀ cfu/g KM

Günler	Uygulama	<i>Lactobacilli</i>	Maya	Küf
0		4.36	3.72	0
2	Kontrol	5.68±0.06 ^b	2.90±0.03	0
	LAB A	7.15±0.03 ^a	2.97±0.04	0
	LAB B	7.10±0.02 ^a	3.01±0.09	0
4	Kontrol	6.20±0.20 ^b	4.08±0.12	0
	LAB A	7.66±0.08 ^a	4.12±0.04	0
	LAB B	7.60±0.11 ^a	4.14±0.03	0
8	Kontrol	6.23±0.08 ^b	4.38±0.17	0
	LAB A	7.27±0.07 ^a	3.99±0.16	0
	LAB B	7.39±0.04 ^a	3.89±0.17	0
45	Kontrol	5.29±0.07 ^b	4.43±0.29	0
	LAB A	6.52±0.29 ^a	3.98±0.19	0
	LAB B	6.75±0.29 ^a	3.79±0.15	0

log₁₀ cfu, logaritma koloniform ünite; KM: kuru madde; LAB: laktik asit bakterisi inokulanı. Aynı sütunda belirtilen günlerde farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılıklar önemlidir, P<0.05.

4.2. Silajların Aerobik Stabiliteleri

Silolamanın son döneminde açılan silajlara ait 5 günlük aerobik stabilite testi sonuçları Çizelge 3' de verilmiştir. Her iki inokulant da hava ile temas ettikleri bu 5 günlük süre içerisinde, silajların pH değerleri, CO₂ üretimi ve maya yoğunlukları önemli düzeyde artırıırken (P<0.05), küf yoğunluklarında görülen artış ise önemsiz düzeyde bulunmuştur (P>0.05).

Çizelge 3. Mısır silajlarının aerobik stabilite test sonuçları

Uygulama	pH	CO ₂ , g/kg KM	Maya, log ₁₀ cfu/g	Küf, log ₁₀ cfu/g
Kontrol	4.99±0.11 ^b	23.83±1.92 ^b	5.83±0.23 ^b	<2.00
LAB A	5.75±0.12 ^a	38.00±1.97 ^a	7.01±0.15 ^a	<2.00
LAB B	5.62±0.09 ^a	35.77±2.89 ^a	6.78±0.09 ^a	<2.00

CO₂: karbondioksit; log₁₀ cfu: logaritma koloniform ünite; LAB, laktik asit bakteri inokulanı
Aynı sütunda belirtilen günlerde farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılıklar önemlidir, P<0.05.

4.3. Silajların Hücre Duvarı Bileşenleri

Taze ve silolanmış mısırın hücre duvarı kapsamına ilişkin analiz sonuçları Çizelge 4' de verilmiştir.

Çizelgeden de görülebileceği gibi, taze mısırın NDF, ADF, ADL, hemiselüloz ve selüloz içerikleri sırasıyla %54.90, 31.80, 5.24, 23.10 ve 26.56 olarak saptandığı araştırmada, 2. ve 4. günlerde mısır silajında kullanılan her iki inokulantında hücre duvarı bileşenleri üzerindeki etkileri önemsiz bulunmuştur. Çizelge'den de görülebileceği gibi, fermantasyonun 8. ve 45. gününde LAB B inokulanı içeren silajların NDF içerikleri, kontrol grubu silajlarına göre önemli düzeyde düşük bulunurken (P<0.05), LAB A içeren silajlar ile benzer olduğu görülmektedir (P>0.05). Fermantasyon süresi boyunca ADF, ADL, hemiselüloz ve selüloz miktarlarında gruplar arasında görülen farklılıklar ise önemsiz düzeyde bulunmuştur (P>0.05).

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

Günler	Uygulama	NDF	ADF	ADL	Hemiselüloz	Selüloz
0		54.90	31.80	5.24	23.10	26.56
2	Kontrol	55.23±0.62	31.77±0.50	5.37±0.40	23.46±0.18	26.39±0.39
	LAB A	56.35±1.53	32.07±0.70	5.67±0.03	24.28±0.89	26.40±0.73
	LAB B	54.75±0.81	31.33±0.32	5.58±0.25	23.42±0.60	25.74±0.40
4	Kontrol	54.79±0.21	31.73±0.46	5.63±0.31	23.06±0.31	26.10±0.31
	LAB A	54.69±0.51	31.71±0.40	5.25±0.19	22.98±0.69	26.46±0.40
	LAB B	53.97±0.70	31.14±0.39	5.48±0.38	22.84±0.55	25.65±0.31
8	Kontrol	56.05±0.85 ^a	32.60±0.09 ^a	5.54±0.35	24.05±0.83	26.46±0.26
	LAB A	53.78±0.37 ^{ab}	31.22±0.41 ^{ab}	5.25±0.37	22.56±0.19	25.97±0.66
	LAB B	52.99±0.72 ^b	30.35±0.26 ^b	4.87±0.21	22.64±0.47	25.18±0.45
45	Kontrol	55.53±0.33 ^a	32.28±0.39	5.42±0.31	23.24±0.65	26.86±0.55
	LAB A	53.77±0.38 ^{ab}	30.63±0.52	5.60±0.18	23.14±0.49	25.02±0.42
	LAB B	52.25±0.62 ^b	30.48±0.71	5.04±0.20	21.77±0.60	25.44±0.81

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

*Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılıklar önemlidir.

4.4. Silajların *in vitro* Organik Madde Sindirilebilirliği

Silajların *in vitro* enzimde çözünen OM sindirilebilirlikleri Çizelge 5' de verilmiştir. Her iki LAB+Enzim grubunda da OM sindirilebilirlikleri kontrol grubuna göre önemli düzeyde artırmıştır ($P<0.05$; Çizelge 5).

Çizelge 5. Silajların *in vitro* OM sindirilebilirlik özellikleri, (%)

Uygulama	<i>In vitro</i> OM sindirilebilirliği
Kontrol	62,17 ^b
LAB A	65,54 ^a
LAB B	67,01 ^a

5. TARTIŞMA

Araştırmada kullanılan her iki inokulant da fermantasyonu geliştirerek, silajların kimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerini olumlu yönde etkilemişlerdir.

Çizelge 4.2'de de görüldüğü gibi, silajlarda temel fermantasyon ürünü laktik asit olmuştur. İnokulant 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. Ayrıca inokulant kullanılan silajların pH' ları da kontrol grubuna göre önemli düzeyde düşmüştür ($P<0.05$). LAB+Enzim karışımı inokulantların içerdiği enzimlerin mısırdaki hücre duvarını (Çizelge 3) ve nişastayı parçalaması sonucu açığa çıkan ilave substratların LAB tarafından fermente edilmesi sonucu bu silajların laktik asit miktarları diğer silajlardan daha yüksek düzeyde olmuştur ($P<0.05$). Bununla birlikte LAB+Enzim karışımı içeren inokulant kullanılan silajların NH_3-N düzeyleri kontrol grubu silajlarına göre önemli düzeyde daha düşük olduğu saptanmıştır ($P>0.05$). Bunda, her iki inokulant grubunda gerçekleşen homolaktik fermantasyon ve daha az düzeydeki protein parçalanmasının etkili olduğu düşünülmektedir.

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 (2002a), 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; NH_3-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_3-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; NH₃-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.

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

Hasat döneminde yeşil materyalde yer alan epifitik *lactobacilli* 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 log₁₀ 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 *lactobacilli* yoğunluğu 4,36 log₁₀ cfu/g ile söz konusu sınırlar arasındadır. Maya ve küf yoğunlukları ise sırasıyla 3,72 ve 0 log₁₀ cfu/g olarak bulunmuştur. Her iki inokulant da silajların *lactobacilli* yoğunluklarını önemli düzeyde arttırırken (P<0.05), maya ve küf yoğunlukları ise önemli düzeyde etkilenmemiştir (P>0.05). Bu silajlarda *lactobacilli* 'nin dominant mikroflora olması ve ortamda yeterli düzeyde SÇK bulunması nedeniyle bunun beklenen bir gelişme olduğu söylenebilir.

Filya (2002a) silolamanın 50. gününde açılan mısır silajlarının *lactobacilli* yoğunluklarını kontrol, LAB ve LAB+Enzim gruplarında sırasıyla 7.3, 12.4 ve 12.6 log₁₀ cfu/g KM; maya yoğunluklarını 7.0, 6.9 ve 6.5 log₁₀ cfu/g KM; küf yoğunluklarını 4.8, 1.0 ve 1.3 log₁₀ cfu/g KM olarak saptamıştır. Filya ve ark. (2002b) silolamanın 60. gününde açılan sorgum silajlarının *lactobacilli* yoğunluklarını kontrol, LAB ve LAB+Enzim gruplarında sırasıyla 7.7, 9.5, 9.2 log₁₀ cfu/g KM; küf yoğunluklarını 2.1, 0 ve 0 log₁₀ cfu/g KM olarak bildirmektedirler. Polat ve ark. (2005) silolamanın 75. gününde açılan mısır silajlarının *lactobacilli* yoğunluklarını kontrol, LAB ve

LAB+Enzim gruplarında sırasıyla 5.69, 6.56, 5.71 log₁₀ cfu/g TM; maya ve küf yoğunluklarını 5.97, 5.04 ve 5.47 log₁₀ cfu/g TM olarak saptamışlardır. Başkavak ve ark. (2008) süt olum döneminde hasat edilen ve silolamanın 75. gününde açılan buğday silajlarının *lactobacilli* yoğunluklarını kontrol ve LAB+Enzim gruplarında sırasıyla 3.31 ve 4.60 log₁₀ cfu/g TM; maya yoğunluklarını 0.77 ve 1.43 log₁₀ cfu/g TM; küf yoğunluklarını 2.58 ve 2.63 log₁₀ cfu/g TM; hamur olum dönemi için ise *lactobacilli* yoğunluklarını aynı sırayla 3.26 ve 4.48 log₁₀ cfu/g TM; maya yoğunluklarını 2.96 ve 3.24 log₁₀ cfu/g TM; küf yoğunluklarını 3.30 ve 1.56 log₁₀ cfu/g TM olarak bildirmektedirler. Silajların mikrobiyolojik özellikleri ile ilgili olarak araştırmadan elde edilen bulgular, benzer konularda yapılan araştırma bulguları ile uyumludur (Filya ve ark. 2001, Filya 2002 a, Polat ve ark. 2005, Başkavak ve ark. 2008).

Çizelge 3'den de görülebileceği gibi, tüm silajların aerobik stabiliteyi düşük bulunmuştur. Silajların küf sayılarında önemli bir değişiklik gözlenmezken (P>0.05), her iki LAB+enzim grubundaki silajlarda maya sayısı ve CO₂ üretiminin, kontrol grubu silajından önemli düzeyde yüksek olduğu saptanmıştır (P<0.05). Dolayısıyla her iki inokulant da silajların aerobik stabiliteyi düşürmüştür. Filya ve ark. (2001), LAB inokulantlarının kullanıldığı silajların laktik asit bakteri yoğunluğunun yüksek olması nedeniyle silajlarda yoğun bir laktik asit üretimi olduğunu, burada oluşan laktik asitlerin bazı mayalar tarafından besin maddesi olarak kullanılması sonucu, silajların bu dönemdeki maya popülasyonlarının artabileceğini ve bunun da silajlarda CO₂ üretimine yol açabileceğini bildirmektedirler. Araştırmacılar inokulantların içerdiği enzimlerin mısırdaki yapısal ve yapısal olmayan karbonhidratları parçalaması sonucu diğer gruplara göre daha fazla fermente olabilir karbonhidrat açığa çıkmasına neden olduğunu ve ortamdaki mayaların bunları kullanarak yoğun bir şekilde CO₂ üretmelerine bağlanabileceğini belirtmektedirler.

Laktik asit bakteri inokulantlarının mısır silajının aerobik stabiliteyi üzerindeki etkilerinin incelendiği araştırmalarda, homofermantatif LAB inokulantları kullanıldıkları silajların; aerobik stabiliteyi genellikle düşürdükleri (Filya 2002 a,b, Filya ve Sucu 2003), bazen ise artırdığı (Sebastian ve ark. 1989) belirlenmiştir. 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 CO₂ 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 log₁₀ cfu/g KM olarak saptamışlardır. Araştırma sonucunda her iki inokulantında silajlarının CO₂ üretimleri ve maya içeriklerinin kontrol grubu silajlarına göre daha yüksek olduğunu bildirmektedirler. Filya (2002b) 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; CO₂ üretimleri 12.3, 18.8 ve 23.6 g /kg KM; maya içeriklerini ise 4.8, 7.2 ve 9.9 log₁₀ cfu/g KM; küf içeriklerini ise 5.3, 8.6 ve 11.1 log₁₀ cfu/g KM olarak saptamıştır. Araştırma sonucunda her iki inokulant da, silajlardaki maya ve küf popülasyonu ile CO₂ üretimini önemli düzeyde artırdığını, başta LAB+Enzim karışımı inokulant olmak üzere her iki inokulant da silajların aerobik stabilitelelerini 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 log₁₀ cfu/g KM olarak saptamıştır. Silajların aerobik stabiliteleleri ile ilgili olarak araştırmadan elde edilen bulgular, benzer konularda yapılan araştırma bulguları ile uyumludur (Meeske ve ark. 1993, Filya 2002b, Polat ve ark. 2005).

Çizelge 4'den de görülebileceği gibi, fermantasyonun 8. ve 45. günde LAB B grubunda NDF içerikleri kontrol grubuna göre önemli düzeyde azalmanın olduğu görülmüştür (P<0.05). ADF, ADL, hemiselüloz ve selüloz içeriklerinde ise istatistiksel anlamda önemli bir farklılığın olmadığı ancak her iki LAB grubunda kontrol silajlarına göre sayısal anlamda daha düşük olduğu saptanmıştır (P>0.05). Dolayısıyla LAB B inokulantının 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 (2002b) 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 (2002a) 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 2002ab, Basmacıoğlu ve ark. 2002).

Çizelge 5'den de görülebileceği gibi, fermantasyonun 45. günde her iki LAB+E inokulantıda mısır silajının *in vitro* OM sindirilebilirliğini kontrol grubuna göre önemli düzeyde artırmıştır ($P<0.05$).

Filya (2002a), hamur olum döneminde hasat edilen mısır silajlarında kontrol, LAB ve LAB + Enzim karışımı inokulant gruplarında sırasıyla *in situ* KM parçalanabilirliğini %55.6, 63.7 ve 64.5; OM parçalanabilirliğini ise %57.8, 65.4 ve 66.0 olarak saptamışlardır. Sucu ve Filya (2006), hamur olum döneminde hasat edilen buğday silajlarında kontrol, LAB ve LAB + Enzim karışımı inokulant gruplarında sırasıyla *in situ* KM parçalanabilirliğini %56.8, 56.6 ve 57.8; OM parçalanabilirliğini ise %54.0, 54.3 ve 56.7 olarak belirlemişlerdir. Araştırmada elde edilen OM sindirilebilirliği ile ilgili sonuçlar diğer araştırmacılar tarafından elde edilen sonuçlardan benzer olduğu görülmüştür (Filya 2002a, Sucu ve Filya 2006).

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

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

Sonuç olarak mısırın silolanması sırasında kullanılan her iki LAB+Enzim karışımı inokulantı mısır silajlarının laktik asit üretimini teşvik etmişlerdir. Bunun sonucunda silajların pH'sı hızla düşmüş, istenmeyen mikroorganizmaların gelişimi engellenmiştir. Diğer taraftan silajların asetik asit ve NH₃-N içeriklerini de önemli düzeylerde düşürerek silajların kalitesini arttırmışlardır. Ayrıca silajların *lactobacilli* içeriklerini arttırmışlardır. Silajların maya içeriklerinde gruplar arasında farklılık bulunmazken, hiçbir grupta küf gelişimi gözlenmemiştir. Her iki LAB+Enzim karışımı inokulantı mısır silajlarının aerobik stabilitesini düşürmüşlerdir. LAB B inokulantı kullanılan grupta hücre duvarı bileşenlerinden NDF miktarlarını önemli düzeylerde düşerken, diğer hücre duvarı bileşenlerinde ise sayısal anlamda daha düşük bulunmuştur. Diğer yandan söz konusu inokulantlar silajların *in vitro* OM sindirilebilirlikleri önemli düzeyde 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 řu şekilde özetlemek mümkündür.

Silaj inokulantlarının kullanımının yaygınlaşmasıyla LAB+enzim inokulantlarının laktik asit üretimini teşvik edici etkileri özellikle Türkiye şartlarında küflü ve kızışmış silaj tüketiminin fazla olduğu düşünöldüğünde daha da önemli hale geldiği düşünölmektedir. Yapılan bu çalışma sonucunda düşük kuru maddeli mısıra homofermantatif LAB ilavesi ile silaj fermantasyonu gelişmiş, hücre duvarı bileşenleri düşmüş, OM sindirilebilirliği artmış ancak silajın aerobik stabilitesi olumsuz etkilenmiştir. Bu nedenle *L. buchneri* gibi heterofermantatif LAB yalnız ya da homofermantatif LAB ile beraber silaj inokulantı olarak kullanılması silajın aerobik stabilitesini artırılabilir.

7. KAYNAKLAR

- Aksu T, Baytok E, Bolat D (2004). Effects of a bacterial silage inoculant on corn silage fermentation and nutrient digestibility. *Small Ruminant Research*, 55: 249-252.
- Akyıldız AR (1984). *Yemler Bilgisi Laboratuvar Kılavuzu*. A.Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları: 895, Ders Kitabı: 213, 236 s, Ankara.
- Anonim (2006). T.C. Başbakanlık Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) Hayvancılık İstatistikleri. <http://www.tuik.gov.tr/Start.do>. Erişim tarihi: 15.05.2007.
- Anonim (2008). T.C. Başbakanlık Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) Hayvancılık İstatistikleri. <http://www.tuik.go.tr/Start.do>
- Anonymus (1986). *The Analysis of Agricultural Material*, Reference Book: 427, 428 p, London.
- Ashbell G, Weinberg ZG, Azrieli A, Hen Y, Horev B (1991). A simple system to study the aerobic deterioration of silages. *Can. Agric. Eng.*, 33: 391-393.
- 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, Özdüven 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.
- Bolsen KK, Heidker JL (1985). *Silage Additives USA*. Chalcombe Publication, Church Lane, Kingston, Canterbury, Kent, UK.
- Chen J, Stokes MR, Wallace CR (1994). Effects of Enzyme-Inoculant Systems on Preservation and Nutritive Value of Hay Crop and Corn Silages, *J. Dairy Sci.*, 77: 501-512.
- Close W, Menke KH (1986). *Selected Topics in Animal Nutrition* Universitat, Pp; 170+85, Hohenheim.
- 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 (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 Artırılma Yolları. Yem Magazin Dergisi. 15 (47): 37-45.
- Filya İ, Sucu E and Karabulut A (2006). 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.
- 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.
- Kılıç A (1986). Silo Yemi (Öğretim, Öğrenim ve Uygulama Önerileri). 327 s., İzmir.
- 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. XXth International Grassland Congress, July 2005 Belfast, North Ireland, UK. p. 478.
- Kleinmans J, Hooper P (1999). The Effect of a Commercial Silage Inoculant (Pioneer® brand 1188) on Animal Performance. In: Proc. 12th International Silage Conference. 319-320 p, Uppsala, Sweden.
- 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, 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 59th Minneapolis Nutrition Conference, Minneapolis, MN. pp. 121-135.
- McDonald P (1981). Biochemistry of Silage. John Willey, Sons, Chichester, New York, Brisbane, Toronto, pp. 226.
- McDonald P, Edwards RA, Greenhalgh JFD (1988). Animal Nutrition. 4th Edition. Longman Scientific and Technical, 543 p.
- McDonald P, Henderson AR, Heron SJE (1991). The Biochemistry of Silage. Second Edition. 340 p., Chalcombe Publication, Marlow, England.
- Meeske R, Ashbell G, Weinberg ZG, Kipnis T (1993). Ensiling Forage Sorghum at Two Stages of Maturity with the Addition of Lactic Acid Bacterial Inoculants. Animal Feed Sci. and Technology, 43:165-175.
- Meeske R, Basson HM (1998). The effects of a lactic acid bacteria inoculant on maize silage. Animal Feed Sci. and Technology, 70: 239-247.
- Meeske R, Basson HM, Cruywagen CW (1999). The effects of a lactic acid bacteria inoculant with enzymes on the fermentation dynamics, intake and digestibility of *Digitaria eriantha* silage. Animal Feed Sci. Technology, 81: 237-248.
- Merry RJ, Cussen-MacKenna RF, Jones R (1993). Biological Silage Additives. Cienacia E Investigacion Agraria, Vol: 20, No:2.
- 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 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.
- Moran J, Weinberg ZG, Ashbell G, Hen Y, Owen TR (1996). The Effects of Bacterial Inoculant on the Fermentation and Aerobic Stability of Whole Crop Wheat Silage. In: Proc. 11th International Silage Conference. 164-165 p, Aberystwyth, Wales.
- 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.
- 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.
- 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 Fermentasyon 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.
- 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.
- 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.
- 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 XIth International Silage Conference, Aberystwyth, Wales, pp. 174-175.
- 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 (1999). Stat Soft, Inc., Statistica for the Windows Operating System, 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.

- Weinberg ZG, Ashbell G, Hen Y, Azrieli A (1993). The Effect of Applying Lactic Acid Bacteria Ensiling on the Aerobic Stability of Silages. *J. Appl. Bacteriol.*, 75: 512-518.
- Weinberg ZG, Ashbell G, Hen, Y, Azrieli A, Szakacs G and Filya 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.
- 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.
- 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

1971 de İstanbul'da doğdum. Lise öğrenimimi İstanbul Pertevniyal Lisesinde tamamladım. 1989 yılında Trakya Üniversitesi Tekirdağ Ziraat Fakültesi Zootekni Bölümü'nde lisans öğretimime başladım ve 1994 tarihinde mezun oldum. Mezun olduktan sonra aynı yıl aynı Anabilim dalında Yüksek Lisansa başladım. Çeşitli nedenlerden dolayı öğrenimime ara verdikten sonra 2009 tarihinde afa Yüksek Lisans öğrenimime tekrar başladım. Halen özel bir şirkette yönetici olarak çalışmaktayım.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim ve tez çalışmam süresince bana her konuda destek olan danışman hocam Yrd. Doç. Dr. M. Levent ÖZDÜVEN'e, yüksek lisans öğrenimimde başlangıçtan sonuna kadar tüm aşamalarda her anlamda yanımda olan bölüm başkanımız başta olmak üzere tüm bölüm hocalarıma, benim yetişmemde ve anabilim dalımı sevmemde büyük emekleri olan hocam Prof.Dr. İsmail Yaman YURTMAN'a ve manevi desteklerinden dolayı aileme çok teşekkür eder, saygılarımı sunarım.

Bayram AKGÜL