

**HÜCRE DUVARINI VE NİŞASTAYI PARÇALAYICI
ENZİMLERİN FİĞ-YULAF KARIŞIMI
SİLAJLARIN FERMANTASYON, AEROBİK
STABİLİTE VE *İN VİTRO ORGANİK MADDE*
*SİNDİREBİLİRLİĞİ ÜZERİNE ETKİLERİ***

Mehtap ÖZKAN

**Yüksek Lisans Tezi
Zootekni Anabilim Dalı
Doç. Dr. M. Levent ÖZDÜVEN
2016**

T.C.

NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**HÜCRE DUVARINI VE NIŞASTAYI PARÇALAYICI ENZİMLERİN FİĞ-YULAF
KARIŞIMI SİLAJLARIN FERMANTASYON, AEROBİK STABİLİTE VE *İN VİTRO*
*ORGANİK MADDE SİNDİREBİLİRLİĞİ ÜZERİNE ETKİLERİ***

Mehtap ÖZKAN

ZOOTEKNİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN: Doç. Dr. M. Levent ÖZDÜVEN

TEKİRDAĞ-2016

Her hakkı saklıdır

Doç. Dr. M. Levent ÖZDÜVEN danışmanlığında, Mehtap ÖZKAN tarafından hazırlanan ‘Hücre Duvarını Ve Nişastayı Parçalayıcı Enzimlerin Fiğ-Yulaf Karışımı Silajların Fermantasyon, Aerobik Stabilite ve *in vitro* Organik Madde Sindirebilirliği Üzerine Etkileri’ isimli bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından Zootekni Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Juri Başkanı : Doç. Dr. M. Levent ÖZDÜVEN (Danışman) *İmza:*

Üye : Prof. Dr. Mürsel ÖZDOĞAN *İmza:*

Üye : Yrd. Doç. Dr. Sibel SOYCAN ÖNENÇ *İmza:*

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu adına

Prof. Dr. Fatih KONUKCU
Enstitü Müdürü

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

HÜCRE DUVARI PARÇALAYICI ENZİMLERİN FİĞ-YULAF KARIŞIMI SİLAJLARIN FERMANTASYON, AEROBİK STABİLİTE VE *İN VİTRO* ORGANİK MADDE SİNDİREBİLİRLİĞİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Mehtap ÖZKAN

Namık Kemal Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Zootekni Anabilim Dalı

Danışman : Doç. Dr. M. Levent ÖZDÜVEN

Bu çalışma, silaj katkı maddesi olarak kullanılan hücre duvarını parçalayıcı enzimlerin fiğ-yulaf silajının fermantasyon özellikleri, hücre duvarı içerikleri, *in vitro* organik madde sindirimi (OMS), nispi yem değerleri (NYD) ve aerobik stabilite üzerindeki etkilerinin saptanması amacıyla düzenlenmiştir. Araştırmada kullanılan fiğ- yulaf karışımı hasılları süt olum: çiçeklenme başlangıcı döneminde hasat edilmiştir. Hücre duvarını ve nişastayı parçalayıcı enzim olarak ise selüloz ve amilaz enzimleri içeren SILAID (Global, Türkiye) kullanılmıştır. Enzimler fiğ yulaf hasıllarına 1, 2, 4 ve 8 mg/kg düzeyinde katılmıştır. Fiğ-yulaf 2 kg'lık plastik torbalarda silolanmıştır. Paketler laboratuvar koşullarında 25±2 °C'de depolanmıştır. Silolamadan sonraki 70. günde, her bir gruptan 3 paket açılarak silajlarda fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik analizler yapılmıştır. Silolama döneminin sonunda açılan silajlara 5 gün süre ile aerobik stabilite testi uygulanmıştır. Ayrıca, enzimde çözünen organik madde miktarı ve nispi yem değeri belirlenmiştir. Sonuç olarak, kullanılan enzimler fiğ-yulaf silajlarının fermantasyon özelliklerini artırdığı, NDF içeriğini azalttığı ve aerobik stabilitesini etkilemediği, *in vitro* OMS ve nispi yem değerini ise artırdığı saptanmıştır.

Anahtar kelimeler: Fiğ-yulaf silajı, fermantasyon, enzim, aerobik stabilite

2016 , 41 Sayfa

ABSTRACT

Master Thesis

THE EFFECTS OF CELL WALL AND STARCH DEGRADING ENZYMES ON THE FERMENTATION, AEROBIC STABILITIES AND *IN VITRO* ORGANIC MATTER DIGESTIBILITY OF VETCH-OAT SILAGES

Mehtap ÖZKAN

Namık Kemal University
Graduate School of Natural and Applied Science
Department of Animal Science

Supervisor: Doç. Dr. M. Levent ÖZDÜVEN

This study was carried out to determine the effects of cell wall and starch degrading enzymes on the fermentation characteristics, aerobic stability and *in vitro* organic matter digestibility (OMD), relative feed values (RFV) of vetch- oat mixture silages. Vetch-oat mixtures was harvested at early bloom- milking stage. Cellulase and amylase (SILAD, Global Nutritech, TR) were used as cell wall and starch degrading enzymes. The enzymes were applied to vetch-oat mixtures at 1, 2, 4 and 8 mg/kg. The packages were stored at 25±2 °C under laboratory conditions. Three packages from each group were sampled physical, chemical and microbiological analysis 70th day after ensiling. At the end of the ensiling period all silages were subjected to an aerobic stability test for 5 days. In addition, enzymatic solubility of organic matter, and relative feed value of these silages was determined. As a result of cell wall degrading enzymes improved of fermentation characteristics, decreased neutral detergent fiber content and increased *in vitro* OMS and RFV, but did not effect aerobic stability vetch-oat silages.

Keywords: Vetch-oat silage, fermantation, enzyme, aerobic stability

2016 , 41 Page

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince tezimi gerçekleştirmemde yardımcı olan ve yol gösteren sayın hocam Doç. Dr. M. Levent ÖZDÜVEN'e, her konuda beni dinleyerek göstermiş olduğu hoşgörü ve sabırdan dolayı değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Sibel SOYCAN ÖNENÇ'e, hayatımın her döneminde yanımda olan, desteklerini esirgemeyen, bana her daim inanıp güvenen annem Ayşe ÖZKAN babam Hakkı ÖZKAN ile ablam Merve ÖZKAN IŞIK'a ve hayat arkadaşım sevgili Yiğit AKINCI' ya çok teşekkür ederim.

Ağustos, 2016

Mehtap ÖZKAN

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ÇİZELGELER DİZİNİ	vi
SİMGELER DİZİNİ	vii
1.GİRİŞ	1
2.KAYNAK ÖZETLERİ	3
3.MATERYAL VE YÖNTEM	10
3.1.Materyal.....	10
3.1.1. Silaj materyali	10
3.1.2. . Silajlarda kullanılan katkı maddeleri	11
3.1.3 Silajların hazırlanması	11
3.2.Yöntem	12
3.2.1. Silaj kalitesi takdiri için kullanılan yöntemler	12
3.2.1.1. pH ve Bc analizleri	12
3.2.1.2. SÇK analizi	12
3.2.1.3. NH ₃ -N analizi.....	13
3.2.1.4. Organik asit analizi.....	13
3.2.1.4.1. Laktik asit analizi	13
3.2.1.4.2. Asetik asit analizi	14
3.2.1.5. Mikrobiyolojik analizler	15
3.2.2. Ham besin maddeleri ve hücre duvarı içerikleri analizleri	16
3.2.2.1. Ham besin maddeleri içerikleri analiz yöntemleri	16
3.2.2.2. Hücre duvarı içerikleri analiz yöntemleri.....	16
3.2.2.3. Enzimde OM çözünebilirliği analiz yöntemleri	18
3.2.2.4. Aerobik Bozulmaya dirence ilişkin analizler.....	19
3.2.3. Nispi yem değeri (NYD) özellikler	20
3.2.4. İstatiksel analizler	21

4.ARAŞTIRMA BULGULARI	22
4.1. Araştırma yemlerinin silolama öncesi değerleri	21
4.1.1. Fiğ-yulaf silajlarının fermantasyonuna etki eden kimi özelliklerine ait bulgular	22
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	27
6.KAYNAKLAR.....	34
7.ÖZGEÇMİŞ	41

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1.Fiğ- yulafın kimyasal analiz sonuçları	10
Çizelge 4.1. Silajların fiziksel değerlendirmeleri ve flieg puanlaması.....	13
Çizelge 4.2. Fiğ-yulaf silajlarının kimyasal analiz sonuçları	14
Çizelge 4.3. Fiğ-yulaf silajlarının mikrobiyolojik analiz sonuçları.....	15
Çizelge 4.4. Fiğ-yulaf silajlarının hücre duvarı bileşenleri (%)	15
Çizelge 4.5. Fiğ-yulaf silajlarının <i>in vitro</i> OMS, SKM, KMT ve NYD sonuçları	20
Çizelge 4.6. Fiğ-yulaf silajlarının aerobik stabilite test sonuçları	21

SİMGELER DİZİNİ VE KISALTMALAR

A	: Asit
AA	: Asetik asit
ADF	: Acit deterjanda çözünmeyen lif
ADL	: Asit deterjanda çözünmeyen lignin
°C	: Santigrat derece
EÇOM	: Enzimde çözünen organik madde
HBM	: Ham besin maddesi
HP	: Ham protein
HY	: Ham yağ
HS	: Ham selüloz
HK	: Ham kül
KM	: Kuru madde
KMK	: Kuru madde kaybı
LA	: Laktik asit
LAB	: Laktik asit bakterileri
MEA	: Malt ekstrakt agar
ME	: Metabolik enerji
MO	: Mikroorganizma
N	: Azot
NDF	: Nötr deterjanda çözünmeyen lif
NH ₃ -N	: Amonyak azotu
NÖM	: Nitrojensiz öz madde
OM	: Organik madde
SÇK	: Suda çözünebilir karbonhidrat
TN	: Toplam nitrojen

1.GİRİŞ

Yeşil ve nem oranı yüksek (%60-70) yem bitkilerinin, 1-2 cm boyutlarında kıyılarak, sıkıştırılıp üzerinin kapatılması ile dış ortamla irtibatının kesilmesi sonucunda oluşturulan, kapalı ve oksijensiz ortamda fermantasyona bırakılması esasına dayanan kaba yem üretim tekniğine silaj yapım tekniği, bu şekilde elde edilen ürüne de silaj veya silo yemi adı verilir. Başta mısır olmak üzere sorgum, sorgum-sudan otu melezi, ayçiçeği, arpa ve buğday hasılları, fiğ-tahıl karışımları, şekerpancarı yaprakları ve bazı bitkisel kaynaklı konservelerden silaj yapmak mümkündür (Meeske ve ark. 1993).

Ruminantların beslenmesinde önemli bir yer tutan silajların kalitesini arttırmak, bozulmadan kaynaklanabilecek kayıpların en aza indirmek ve silaj fermantasyonunu garanti altına almak amacıyla son yıllarda çeşitli katkı maddeleri kullanılmaktadır. Bu katkı maddeleri arasında, hücre duvarını parçalayan enzimlerden silaj katkı maddesi olarak yoğun bir şekilde yararlanılır. Bir ürünün iyi bir şekilde silolanabilmesi için başta heksozlar olmak üzere kuru madde (KM) de en az % 3-5 düzeyinde fermente olabilir karbonhidrat içermesi gerekir (Filya ve ark. 2001).

Bitkilerde bulunan karbonhidratların büyük bir bölümünü, laktik asit bakterileri (LAB) tarafından fermente edilemeyen lifsel yapıdaki polimerler oluşturur. Bu nedenle özellikle baklagil yem bitkileri gibi suda çözünebilir karbonhidrat (SÇK) içerikleri yetersiz olan ürünlerin silolanması sırasında, yeterli düzeyde fermente olabilir karbonhidrat sağlanabilmesi için hücre duvarını parçalayıcı enzimlerin kullanılması önerilmektedir. Bu enzimler sellülaz, hemisellülaz ve pektinazdır (Stokes 1992, Muck 1993).

Hücre duvarını parçalayıcı enzimlerin silaj katkı maddesi olarak kullanılması, iki önemli avantaj sağlar. Bunlardan birincisi; bitkilerde bulunan yapısal karbonhidratları hidrolize ederek, özellikle suda çözünebilir karbonhidrat içeriği düşük olan bitkiler için ilave bir substrat açığa çıkartmaktır. İkincisi ise; fermente olabilir karbonhidrat içerikleri yetersiz olan bitkilerin yapısal karbonhidratlarını hidrolize ettikleri için bitkilerin KM ve organik maddelerinin (OM) hayvanlar tarafından sindirilme derecelerini artırmaktır (McDonald ve ark. 1991, Filya 2000). İnokulantlar ile birlikte sellülaz, hemiselülaz ve pektinaz gibi hücre duvarını parçalayıcı enzimler ile amilaz gibi

nişastayı parçalayan enzim katılan silajlarda LAB faaliyeti için ilave bir substrat açığa çıkar. Bu substrat, silaj fermantasyonunu geliştirirken (Meeske ve ark. 1993, Weinberg ve ark. 1993a), hücre çeperi fraksiyonlarını (asit deterjanlarda çözünmeyen karbonhidratlar (ADF), silajların nötral deterjanlarda çözünmeyen karbonhidratlar (NDF), asit deterjanlarda çözünmeyen lignin (ADL), hemiselüloz ve selüloz içeriklerini düşürür (Tengerdy ve ark. 1991, Stokes ve Chen 1994, Nadeau ve ark. 2000, Filya 2002b, Guo ve ark. 2014).

Bununla birlikte, KM, OM, NDF ve ADF parçalanabilirliğini arttırırken (Tengerdy ve ark. 1991, Filya 2002a, Özdüven ve ark. 2009), aerobik dayanıklılığını ise etkilemez veya düşürür. Aerobik stabilitenin düşmesiyle birlikte gözle görülür bir küflenme ve yoğun bir karbondioksit gaz üretimine neden olmaktadır (Meeske ve ark. 1993, Weinberg ve ark. 1993b).

Bu çalışma, silaj katkı maddesi olarak kullanılan hücre duvarını ve nişastayı parçalayıcı enzimlerin fiğ-yulaf hasıllarına farklı dozlarda ilavesinin fermantasyon, aerobik stabilite ve *in vitro* organik madde sindirilebilirliği üzerindeki etkilerinin saptanması amacı ile yapılacaktır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Ülkemizin büyükbaş hayvan varlığı, 2009 yılında 10.8 milyonken, 2014 yılında 14.2 milyon başa, küçükbaş varlığı ise 27.0 milyon baştan 41.5 milyon başa ulaşmıştır. 2014 yılında yaklaşık 18,5 milyon ton olarak süt üretimi gerçekleşmiştir. Üretilen toplam sütün %91'i büyükbaş hayvanlardan elde edilmiştir (TUIK 2015). Hayvan varlığı bakımından önemli bir konumda olmamıza rağmen, birim hayvandan elde edilen verim bakımından oldukça düşüktür. Hayvansal verimliliği ırkların genetik kapasitesi, bakım ve beslenme koşulları gibi faktörler etkilemektedir. Ülkemizdeki hayvanlar genel olarak genetik kapasitesi yüksek materyaller olmasına karşın, temel sorun, onların kaliteli yemlerle beslenmesindeki yetersizliklerden kaynaklanmaktadır. Bu nedenle ülkemizdeki hayvanların kaliteli kaba yemlerle beslenmemeleri sonucu, genetik kapasitelerinin çok altında verim alınmaktadır (Karayiğit 2005).

Hayvan başına verimliliğin artmasında ve besleme maliyetlerinin aşağıya çekilmesinde kaba yemlerin son derece önemli olduğu bilinen bir gerçektir (Yaylak ve Alçıçek 2003). Kaliteli kaba yem açığının oluşmasında tarla tarımı içerisinde yeterli yem bitkileri alanının bulunmaması yanında, çayır ve meraların bozulması en büyük etkenlerdir. Kuru ota göre çok sayıda avantajı nedeniyle, dünyada özellikle son otuz yılda silo yemlerinin üretimi ve kullanımı çok büyük hız kazanmıştır. Günümüzde başta hayvancılığı gelişmiş ülkeler olmak üzere, çoğu ülkede ruminant rasyonlarının önemli bir bölümünü silaj oluşturmaktadır (Filya ve ark. 2007).

Silaj, suca zengin yeşil yem bitkilerinin havasız koşullarda fermente edilerek saklanmasıyla elde edilen kaba yem kaynağıdır. Hayvanların severek tükettikleri silaj, taze yeşil ot bulunmayan mevsimlerde işletmeler için ucuz bir yem kaynağıdır. Silaj, yapımının kolay ve yatırım maliyetinin az olması, hemen her türlü bitkisel materyalden yapılabilmesi, yüksek iş gücü gerektirmemesi ve özellikle besin madde kayıplarının az olması nedeniyle kuru ota göre tercih edilebilecek iyi bir alternatiftir (Filya 2001). Silaj kalitesi; silaj yapılan materyale, biçim zamanına, biçim sayısına, silaj üretim teknolojisine, toprak ve iklim koşullarına bağlı olarak önemli düzeyde değişmektedir (Kaya ve ark. 2009).

Mısır, Dünyada ve ülkemizde silaj yapımında en çok kullanılan bitkidir. FAO (2013) mısırın Amerika Birleşik Devletleri başta olmak üzere Amerika kıtası, Asya ve Avrupa kıtalarında en çok üretimi yapılan tahıllar arasında olduğunu bildirmektedir. Silaj yapımında mısırın en çok tercih edilmesinin nedenleri; KM içeriğinin oransal olarak yüksek olması, tampon kapasitesinin düşük olması ve laktik asit fermantasyonu için gerekli olan SÇK'yı yeterli düzeyde içermesidir. Silaj olarak ruminantlar için istekle tüketilen, lezzetli ve enerji değeri yüksek bir kaba yem kaynağıdır. Ülkemizde silajlık mısır ekim alanı ve üretim miktarı sürekli bir artış göstermekte olup, silajlık mısır üretimi 2010 yılında 2 937 336 da alanda 12 446 450 ton iken 2015 yılında 4 231 233 da alanda 19 684 599 ton olmuştur (TÜİK 2015).

Yonca, dünyada fazla miktarda silajı yapılan bir bitkidir. Ülkemizde hakim silajlık bitki, mısır olduğu için yonca silajının toplam silaj üretimimiz içindeki payı (%5) oldukça düşüktür. Yoncanın en önemli özelliği ham protein içeriğinin yüksek olmasıdır. Özellikle son yıllara kadar, silolandıkları zaman *clostridia* sporları aracılığı ile bütrik asit içeriği yüksek kötü fermente olmuş silaj oluşumuna yol açmaları nedeniyle yonca ve diğer baklagillerin uygun bir silajlık bitki olmadıkları düşünülmüştür. Gerçekten de düşük KM içeriği, fermantasyon için yetersiz SÇK düzeyi ile yüksek protein ve yüksek tampon kapasitesi yoncanın silolanmasını çok güçleştirmektedir. Silaj yapımı için uygun olmayan özellikleri nedeniyle, yonca silolanması belki de en zor olan bitkidir. Ancak, tüm bu dezavantajlarına rağmen silaj teknolojisindeki gelişmeler sayesinde bugün yonca kolayca silolanabilmekte ve yüksek düzeydeki protein içeriğinden yararlanılabilmektedir. Ayrıca, besin maddeleri içeriği açısından zengin olan yonca silajları, hayvanlar tarafından yüksek oranda sindirilmektedirler.

Fiğ (*Vicia sativa*), baklagiller (*Fabaceae*) familyasından dane yemler içerisinde önemli bir yere sahip olan tek yıllık bir serin mevsim yem bitkisidir. Fiğ (*Vicia sp.*)'in, bir kısmı Güney Amerika'da olmak üzere, çoğunluğu eski dünyanın kuzey ılıman bölgelerinde yetişen yaklaşık 150 türü vardır. Kültürü yapılan fiğ türlerinin hemen hepsi Asya, Avrupa ve özellikle de Akdeniz ülkelerinden orijin almışlardır. Ülkemizde doğal vejetasyon, fiğ türleri bakımından çok zengindir. Türkiye'de hatta dünyada fiğ türleri içinde en çok yetiştirilen ve tanınan tür, adi fiğdir. Türkiye'de oldukça fazla miktarda yetiştirilen adi fiğ, sadece hayvan yemi olarak kullanılmaktadır. Hayvan beslemede

kullanılan adi fiğ, danelerinden olduğu kadar kuru ot, yeşil ot, münavebe bitkisi, tohum üretimi, mera bitkisi ve silo yemi olarak da kullanılmaktadır (Gençkan 1983, Serin ve Tan 1996, Özen ve ark. 1999).

Sparrow ve Masiak (2004), Alaska’da yetiştirilen adi fiğ ve tüylü fiğın HP içerikleri sırasıyla %18.2-21.1 ve %17.4-21.4, NDF içerikleri ise aynı sırayla %34.6-37.1 ve %42.2-44.3 arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Turgut ve ark. (2006), Doğu Anadolu Bölgesi ekolojik koşullarında farklı vejetasyon dönemlerinde hasat edilen adi fiğ (*Vicia sativa* L.), tüylü fiğ (*Vicia villosa* Roth) ve macar fiğın (*Vicia pannonica* Crantz.) OM içerikleri sırasıyla %86.9-89.9-21.1, 90.5-91.9 ve %88.4-88.9, HP içeriklerini aynı sırayla %19.1-23.2, 16.0-20.2 ve %17.9-24.1, NDF içerikleri ise yine aynı sırayla %35.9-44.3, 43.9-54.0 ve %37.0-42.7 arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Fiğlerin en önemli özelliği ham protein içeriğinin yüksek, fakat karbonhidrat içeriğinin düşük olmasıdır. Silajlık materyaldeki SÇK’lar, laktik asit bakterilerinin (LAB) organik asit üretmek amacıyla kullandıkları en önemli materyallerdir. Silajda, istenmeyen mikroorganizmaların faaliyetleri sonucunda KM kayıpları artarken silajın besleme değeri de düşer. Doğal bir fermentasyon sonucunda başarılı bir silaj yapımı ancak materyaldeki mevcut SÇK’nın çoğunlukla LAB tarafından kullanılması ile yüksek laktik asit üretimiyle mümkün olabilir. Düşük KM içeriği, fermentasyon için yetersiz SÇK düzeyi ile yüksek protein ve yüksek tampon kapasitesi, fiğın silolanmasını çok güçleştirmektedir. Silaj yapımı için uygun olmayan özellikleri nedeniyle, fiğ silolanması zor bitkilerdendir.. Silolandıkları zaman *clostridia* sporları aracılığı ile bütirik asit içeriği yüksek, kötü fermente olmuş silaj oluşumuna yol açmaları nedeniyle fiğ ve diğer baklagillerin uygun bir silajlık bitki olmadıkları düşünülmüştür. Bu nedenle tek başına silaj üretimi amacı ile yetiştirilmemektedir.

Fermentasyonun arzulanan seviyede gerçekleşmesi için fiğ tahıllarla (arpa, yulaf, tritikale, buğday) birlikte karışık yetiştirilmelidir. Karışık yetiştirmede fiğ-tahıl karışım oranları tür, çeşit ve ekolojik bölgelere göre belirlenmelidir. Fiğ-tahıl karışımlarından silaj yapmak için, fiğın tam çiçeklenme döneminde hasat edilmesi gerekir (Karakozak ve Ayaşan 2010). Yulaf (*Avena*) ise bol nişastalı taneleri (tohumları) için yetiştirilen bir tarım bitkisidir. Daha çok hayvan yemi olarak kullanılan bu tahıldan insanların beslenmesinde de yararlanılmaktadır. Canbolat (2012), yulaf hasılıının KM’de

OM, HP, HK, HY, NDF, ADF ve ADL içeriklerini sırasıyla %93.9, 7.7, 6.1, 3.2, 46.6, 24.9 ve 6.4 olarak bildirmektedir.

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'in inokulasyonu silaj kalitesini arttırabilmektedir. Ortamda yeterli miktarda SÇK bulunmaması durumunda ise silaj kalitesi düşmektedir. Bitkilerde bulunan karbonhidratların büyük bir bölümünü, LAB tarafından fermente edilemeyen yapısal karbonhidratlar oluşturmaktadır. Bu nedenle, SÇK bakımından yetersiz olan ürünlerin silolanması sırasında yeterli düzeyde fermente olabilir karbonhidrat sağlayabilmek için, hücre duvarını ve nişastayı parçalayan enzimlerin kullanılması önerilmektedir. Bu enzimler selülaz, hemiselülaz, pektinaz ve amilazdır (Filya ve ark. 2001).

Selülaz ve hemiselülaz gibi hücre duvarını parçalayıcı enzimlerin silajlara katılmasının iki ana nedeni vardır. Bunlardan birincisi silajların NDF, ADF ve ADL olarak saptanan hücre duvarı bileşenlerini azaltarak SÇK içeriğini artırmasıdır. Dolayısıyla, oluşan bu şekerler laktik asit bakterileri tarafından kullanılarak laktik aside dönüştürülür. Hücre duvarını parçalayıcı enzimler, genel olarak SÇK içeriklerinin yetersiz olmasından dolayı zor silolanan baklagil ve buğdaygil-baklagil karışımı yem bitkileri ile KM içerikleri %30'dan daha düşük olan buğdaygil ve baklagil yem bitkilerinden yapılan silajların; pH, asetik asit ve diğer uçucu yağ asitleri içeriklerini düşürmekte, laktik asit içerikleri yükseltmektedir. İkinci nedeni ise silajların hücre duvarı bileşenlerinin azaltılmasıyla hayvanların KM tüketimini ve sindirilebilirliğini arttırmasıdır (McDonald ve ark. 1991, Ridla ve Uchida 1998).

Bu konu ile ilgili olarak yapılan çalışmalarda, hücre duvarını parçalayan enzimlerin kullanıldığı ot silajlarında hücre duvarı bileşenlerinin azaldığı bildirilmektedir (Jaakkola ve ark. 1991, Jacobs ve ark. 1992, Filya 2001). Yapılan çalışmalarda, yonca silajlarına enzim ilavesinin hücre duvarı bileşenlerini azalttığı ya da etkilemediği bulunmuştur (Tengerdy ve ark. 1991, Sheperd ark. 1995).

Filya ve ark. (2001), hücre duvarını parçalayıcı enzimlerin %10-20 çiçeklenme döneminde hasat edilip silolanan yonca hasıllarının, fermantasyon ve aerobik stabilite özelliklerini saptamak amacıyla yürüttükleri çalışmalarında, silolamanın 50. gününde kontrol, %0.025, %0.050 ve %0.100 düzeyinde selülaz, hemiselülaz ve pektinaz içeren

enzim katkısı gruplarında sırasıyla pH değerlerini 5.1, 4.5, 4.3 ve 4.0; SÇK içeriklerini 3.2, 10.1, 12.5 ve 15.8 g/kg KM; laktik asit içeriklerini KM'de %1.8, 10.2, 11.0 ve 12.6; asetik asit içeriklerini KM'de %7.7, 3.3, 2.8 ve 2.4; LAB sayılarını 7.1, 7.3, 7.2 ve 7.4 log₁₀ cfu/g; maya sayılarını 4.3, 4.5, 4.4 ve 4.2 log₁₀ cfu/g; küf sayılarını 4.1, 4.1, 4.0 ve 3.9 log₁₀ cfu/g; NDF miktarını KM'de %38.9, 37.7, 36.2 ve 34.1; ADF miktarlarını KM'de %29.1, 27.0, 26.3 ve 23.5; ADL miktarlarını ise KM'de %15.4, 14.2, 13.9 ve 13.1 olarak saptamışlardır. Aerobik stabilite testi sonuçlarına göre pH değerleri aynı sırayla 5.4, 4.7, 4.4 ve 4.2; karbondioksit değerleri 2.5, 2.4, 2.4 ve 2.2; maya sayıları 5.4, 5.6, 5.3 ve 5.2 log₁₀ cfu/g; küf sayıları ise 6.1, 5.9, 5.9 ve 5.7 log₁₀ cfu/g olarak tespit etmişlerdir. Elde edilen sonuçlara göre; selülaz, hemiselülaz ve pektinaz gibi hücre duvarını parçalayıcı enzimlerin yonca silajlarının fermantasyon özelliklerini geliştirdiği, hücre duvarı bileşenlerini azalttığı, aerobik stabilitelelerinin ise etkilenmediği görülmektedir.

Filya (2002a), laktik asit bakteri ve laktik asit bakteri+enzim karışımı inokulantların, mısır (*Zea mays*) silajlarının fermantasyon, aerobik stabilite, hücre duvarı kapsamı ve in situ rumen parçalanabilirlik özellikleri üzerindeki etkilerini incelediği çalışmasında, silolamanın 50. günde açtıkları silajlarda pH değerleri kontrol, LAB ve LAB+enzim gruplarında sırasıyla 3.7, 3.6 ve 3.6; asetik asit içerikleri KM'de %4.2, 0.3 ve 0.3; laktik asit içerikleri KM'de %3.8, 9.4 ve 13.6; NH₃-N içerikleri 9.0, 4.0 ve 1.0 g/kg KM; SÇK içerikleri KM'de 13.0, 30.0 ve 57.0 g/kg KM; *lactobacilli* sayıları 7.3, 12.4 ve 12.6 log₁₀cfu/g; maya sayıları 7.0, 6.9 ve 6.3 log₁₀cfu/g; küf sayılarını 4.8, 1.0 ve 1.3 log₁₀cfu/g olarak bildirmektedir. Araştırma sonucunda LAB+enzim kullanılan silaj gruplarının kontrol grubu silajlarına göre asetik ve bütrik asit miktarlarını önemli düzeyde düşürdüğünü; SÇK ve laktik asit miktarları ile *lactobacilli* ve küf sayılarını ise artırdığını bildirmektedirler.

Özdüven ve ark. (2009), hamur olum döneminde biçilerek silolanan ve 60. günde açılan ayçiçeği silajlarının pH değerleri kontrol, LAB ve LAB+enzim katkı maddesi kullanılan gruplarda sırasıyla 4.22, 3.99 ve 3.96; SÇK içerikleri 19.68, 21.29, ve 25.16 g/kg KM; NH₃-N içerikleri 81.34, 68.47 ve 65.46 g/kg TN; HP miktarları %9.91, 9.53 ve 9.56; LA içerikleri 37.9, 51.2, 55.9 g/kg KM; AA içerikleri 15.7, 14.7 ve 14.2 g/kg KM; *lactobacilli* sayıları 3.90, 6.70 ve 6.32 log₁₀ cfu/g, maya sayılarını 3.28, 3.89 ve 3.79 log₁₀ cfu/g, küf sayılarını 2.98, 1.72 ve 1.76 log₁₀ cfu/g, NDF miktarları %44.97,

43.62 ve 40.25, ADF miktarları %36.53, 36.54 ve 34.57, *in vivo* KM sindirilebilirliğini %53.32, 53.59 ve 55.49, *in vivo* OM sindirilebilirliğini ise %54.23, 55.79 ve 57.20, *in vivo* NDF sindirilebilirliğini %46.75, 47.02 ve 48.08, *in vivo* ADF sindirilebilirliğini ise %35.39, 34.90 ve 38.46 olarak bildirmektedirler. Araştırmacılar, LAB+enzim kullanılan silajlarda fermantasyon özelliklerinin artması yanında NDF içeriklerinin azaldığını ve *in vivo* OM ve ADF sindirilebilirliğinin arttığını belirtmektedir.

Başkavak ve ark. (2009) süt ve hamur olum döneminde hasat edilen buğday hasıllarına LAB+enzim kullanılarak yaptıkları çalışmada, silolamanın 75. günde açtıkları süt olum dönemindeki silajlarda, pH değerlerini kontrol ve LAB+enzim gruplarda sırasıyla 4.64 ve 4.49; KM içerikleri %32.19 ve 33.65; asetik asit içerikleri KM'de %1.04 ve 0.83; laktik asit içerikleri KM'de %3.78 ve 4.37; NH₃-N içerikleri 78.85 ve 68.19 g/kg TN; SÇK içerikleri KM'de 12.30 ve 20.17 g/kg KM; *lactobacilli* sayıları 3.31 ve 4.60 log₁₀cfu/g; maya sayıları 0.77 ve 1.43 log₁₀cfu/g; küf sayılarını 2.58 ve 2.63 log₁₀cfu/g; hamur olum döneminde ise pH değerleri aynı sırayla 4.27 ve 4.09; KM içerikleri %35.74 ve 36.69; asetik asit içerikleri KM'de %0.70 ve 0.76; laktik asit içerikleri KM'de % 3.08 ve 3.73; NH₃-N içerikleri 102.41 ve 74.17 g/kg TN; SÇK içerikleri 5.60 ve 12.50 g/kg KM; *lactobacilli* sayılarını 3.26 ve 4.48 log₁₀cfu/g; maya sayılarını 2.96 ve 3.24 log₁₀cfu/g; küf sayılarını 3.30 ve 1.56 log₁₀cfu/g olarak saptamışlardır. Araştırma sonucunda LAB+enzim kullanılan silaj gruplarının kontrol grubu silajlarına göre pH, NH₃-N ve asetik asit miktarlarını önemli düzeyde düşürdüğünü; SÇK ve laktik asit miktarları ile *lactobacilli* ve maya sayılarını ise artırdığını bildirmektedirler.

Çelebi (2010) çiçeklenme başlangıcı döneminde biçilerek silolanan ve 45. günde açılan yonca silajlarının pH değerlerini kontrol, LAB, enzim ve LAB+enzim katkı maddesi kullanılan gruplarda sırasıyla 4.55, 4.13, 4.35 ve 4.18; SÇK içerikleri 16.56, 13.98, 14.70 ve 17.83 g/kg KM; NH₃-N içerikleri 82.93, 65.68, 65.33 ve 56.40 g/kg TN; HP miktarları %22.02, 21.54, 22.04 ve 22.84; LA içerikleri 39.83, 52.47, 49.79, 49.48 g/kg KM; AA içerikleri 24.38, 13.40, 18.38 ve 15.19 g/kg KM; *lactobacilli* sayıları kontrol, LAB, enzim ve LAB+enzim katkı maddesi kullanılan gruplarda sırasıyla 5.47, 6.06, 5.06 ve 5.59 log₁₀ cfu/g, maya sayılarını 2.50, 2.79, 2.79 ve 2.42 log₁₀ cfu/g, küf sayılarını 2,40, 2,42, 2,86 ve 2,37 log₁₀ cfu/g; çiçeklenme ortasında aynı sırayla pH değerleri 4.66, 4.15, 4.41 ve 4.13; SÇK içerikleri 13.77, 13.09, 18.50 ve

16.38 g/kg KM; NH₃-N içerikleri 94.24, 57.93, 69.87 ve 62.63 g/kg TN; HP miktarları %20.08, 20.26, 20.03 ve 21.00; LA içerikleri 33.06, 46.70, 41.82 ve 46.51 g/kg KM; AA içerikleri 20.52, 19.13, 19.49 ve 18.18 g/kg KM; *lactobacilli* sayılarını 4.53, 6.14, 5.27 ve 5.99 log₁₀ cfu/g, maya sayılarını 2.60, 2.57, 2.81 ve 2.43 log₁₀ cfu/g, küf sayılarını 2.60, 2.22, 2.67 ve 2.39 log₁₀ cfu/g; çiçeklenme sonu döneminde aynı sırayla pH değerleri 4.41, 4.06, 4.21 ve 3.93; SÇK içerikleri 17.08, 19.80, 19.13 ve 20.43 g/kg KM; NH₃-N içerikleri 80.56, 50.82, 62.99 ve 55.10 g/kg TN; HP miktarları %17.70, 18.66, 18.26 ve 18.60; LA içerikleri 33.50, 41.28, 36.74 ve 38.52 g/kg KM; AA içerikleri 21.97, 10.26, 14.48 ve 12.83 g/kg KM; *lactobacilli* sayılarını 5.86, 6.79, 5.40 ve 6.86 log₁₀ cfu/g, maya sayılarını 3.35, 3.36, 3.48 ve 3.11 log₁₀ cfu/g, küf sayılarını 2.48, 2.38, 2.65 ve 2.16 log₁₀ cfu/g olarak bildirmektedir.

Aerobik stabilite (silo ömrü), açılan bir silajın ısınmadan ve bozulmadan kaldığı sürenin uzunluğudur (Kung, 1998). Silaj açıldığında, anaerobik koşullar aerobik koşullara dönüşmektedir. Bu koşullar altında, ortamda çoğalamayan mikroorganizmalar çoğalmaya başlayarak silajın bozulmasına neden olur (McDonald ve ark. 1991). Aerobik kompleks bir süreç olup, silolanan ürünün mikrobiyal bileşimi, fermantasyon özellikleri, silaj kütlesinin sıcaklığı ve silaj yoğunluğu oluşabilecek kayıpları etkilemektedir (Ohyama ve ark. 1975). Silajların aerobik bozulmasından, özellikle maya ve küf gibi mikroorganizmalar sorumlu olmaktadır (Woolford ve ark. 1982). Yemleme döneminde söz konusu mikroorganizmalar ortamdaki şekerler ile laktik ve asetik asit gibi fermantasyon ürünlerini tüketerek, büyük miktarlarda KM ve besin maddeleri kaybına neden olur. Bunun sonucunda, silo içerisinde karbondioksit (CO₂) ve su açığa çıkar, sıcaklık artar (Filya 2001). Sonuç olarak silajın bozulması söz konusudur. Çoğunlukla “aerobik bozulma” olarak da tanımlanır. Bu şekilde bozulmuş silajlar hayvanlar tarafından ya daha az tüketilir ya da hiç tüketilmeyebilir. Ayrıca, bu tip silajların içerebileceği bazı küfler hayvanlar için öldürücü olabilecek mikotoksinler üretebileceği gibi söz konusu mikotoksinlerin hayvansal ürünler yoluyla insanlara geçme riski de oldukça yüksektir (Filya 2003).

Selülaz, hemisellülaz ve pektinaz karşımından oluşan ticari enzim preparatlarının kullanıldığı silajların aerobik stabilitesinin incelendiği çalışmalarda söz konusu enzimlerin silajların aerobik stabilitelelerini düşürdüğü (Jaakkola ve ark. 1991) veya etkilemediği (Bolsen ve ark. 1980, Stokes 1992, Filya 2001) saptanmıştır.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Silaj materyali

Bu araştırma da silaj materyali olarak fiğ için çiçeklenme başlangıcı yulaf için süt olumu başlangıcında hasad edilen fiğ-yulaf hasılı kullanılmıştır.

Araştırmada kullanılan fiğ-yulaf silajlarına ait kimyasal ve mikrobiyolojik analiz sonuçları Çizelge 3.1’de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Fiğ-yulafın kimyasal analiz sonuçları

İçerik	Miktar
pH	6,20
Tampon kapasitesi, Meq NaOH kg/KM	217
KM, % DH	29.82
OM, % KM	87.97
HP, % KM	9.61
HY, % KM	2.12
HK, % KM	12.03
SÇK g/kg KM	40.73
NDF, % KM	60.76
ADF, % KM	40.45
ADL,% KM	6.02
Hemiselüloz, % KM	20.31
Selüloz, % KM	34.43
<i>Lactobacilli</i> , cfu/g KM	2.11
Maya, cfu/g KM	2.26
Küf,cfu/g KM	1.80

KM:Kuru madde, DH:Doğal halde, OM:Organik madde, HP: Ham protein, HY: Ham yağ, HS: Ham sellüloz, NÖM: N’ siz öz maddeler, HK: Ham kül, NDF:Nötr deterjanda çözünmeyen lif, ADF: Asit deterjanda çözünmeyen lif, ADL: Asit deterjanda çözünmeyen lignin, SÇK:Suda çözünebilir karbonhidratlar

3.1.2. Silajlarda kullanılan katkı maddeleri

Araştırmada selüloz ve amilaz enzimlerini içeren SİLAID (Global, Kocaeli-Türkiye) ticari enzim preparatı kullanılmıştır. Söz konusu enzimler fiğ-yulaf silajlarında şu şekilde kullanılmışlardır,

1. **grup** kontrol grubu olup enzim içermemektedir.
2. **grupta**, 1 mg/kg olacak şekilde SİLAID ® 20 ml saf su ile karıştırılarak, 1x4 m' lik temiz bir alana yayılan 10 kg taze fiğ-yulaf üzerine püskürtülmüştür.
3. **grupta**, 2 mg/kg olacak şekilde SİLAID ® 20 ml saf su ile karıştırılarak, 1x4 m'lik temiz bir alana yayılan 10 kg taze fiğ-yulaf üzerine püskürtülmüştür.
4. **grupta**, 4 mg/kg olacak şekilde SİLAID ® 20 ml saf su ile karıştırılarak, 1x4 m' lik temiz bir alana yayılan 10 kg taze fiğ-yulaf üzerine püskürtülmüştür.
5. **grupta**, 8 mg/kg olacak şekilde SİLAID ® 20 ml saf su ile karıştırılarak, 1x4 m' lik temiz bir alana yayılan 10 kg taze fiğ-yulaf üzerine püskürtülmüştür.

3.1.3. Silajların hazırlanması

Silajı yapılacak fiğ-yulaf hasılları hasat edildikten hemen sonra silaj makinesinde yaklaşık 1.5-2.0 cm boyutlarında parçalanmış ve bitkisel materyal homojen bir şekilde karıştırılarak silolama öncesi analizleri için örnek alınmıştır.

Parçalanmış materyaller yaklaşık 2 kg'lık plastik torbalara konulup vakumla içindeki hava alındıktan sonra streç filmle 10-12 kez kaplanmış ve son olarak bir katta bant geçirilmiştir. Her grup için 3'er tane olmak üzere toplam 15 paket silaj kapalı bir depoda (25 ± 2 °C) 70 gün boyunca fermantasyona bırakılmıştır.

Fermantasyon dönemi sonunda (70. gün) silajlar açılarak kimyasal ve mikrobiyolojik analizler yapılmıştır. Ayrıca bu silajlara 5 gün boyunca aerobik stabilite testi uygulanırken, söz konusu silajların *in vitro* enzimde organik madde çözünebilirlikleri de saptanmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Silaj kalitesi takdiri için kullanılan yöntemler

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

3.2.1.1. pH ve Bc analizleri

Silolama öncesi taze materyalde ve açım sonrası elde edilen örneklerde pH ölçümleri için 50 g'lık 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 (Anonim 1986).

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

3.2.1.2. SÇK analizi

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

ile çarpılmıştır. Sonuç, örnek içerisinde yer alan g/kg SÇK miktarı olarak kaydedilmiştir.

3.2.1.3. NH₃-N analizi

Silaj örneklerinde NH₃-N, silaj örneklerinden elde edilen ekstraktlarda mikro distilasyon metotlarına (Anonim 1986) göre gerçekleştirilmiştir. Yetmiş 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 ekstrakta mikro distilasyon metodu aracılığı ile söz konusu parametre saptanmıştır.

3.2.1.4. Organik asit analizleri

Organik asit miktarlarının (laktik ve asetik asit) tespitinde Koç ve Coşkuntuna (2003)'nin bildirdikleri spektrofotometrik yöntemine göre saptanmıştır.

3.2.1.4.1. Laktik asit analizleri

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

Standart eğrinin oluşturulması

213 mg lityum laktat 500 mL saf su içerisinde çözündürülmüş ve üzerine 0.5 mL %98'lik sülfürik asit ilave edilmiştir (400 µg/mL). Elde edilen çözelti, önce 1:9 (40

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

Hesaplama

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

3.2.1.4.2. Asetik asit analizleri

Asetik asitin saptanması: 50-60 g numune 0.1 mg tartılarak blendere alınmıştır. Üzerine 80 ml CHCl_3 ilave edilmiş ve 3 dakika yüksek devirde karıştırılmıştır. Cam süzgece 10 cm çaplı süzgeç kağıdı yerleştirilmiş, karışım süzgece spatül yardımı ile aktarılmış ve emme yardımı ile süzölmüştür. Süzgeç kağıdında kalan pasta ve süzgeç kağıdı blendere aktarılmış ve üzerine 80 ml CHCl_3 ilave edilerek, 1 dakika çalıştırılmış, ikinci ekstraksiyon işlemi ile yeni süzgeç kağıdı kullanılarak ikinci bir süzme işlemi uygulanmıştır. Üçüncü ekstraksiyon ve süzme işlemi ikinci işlemde olduğu gibi uygulanmıştır. Süzgeç kağıdının kenarları ve çökelti 25 ml CHCl_3 ile yıkanmıştır. Çökelti bastırılarak CHCl_3 'ün büyük bir kısmı uzaklaştırılmıştır. Toplanan CHCl_3 ekstraktları 500 ml 'lik ayırıcıya aktarılmış, süzgeç ve ekstrakt toplama kabı 2'şer ml'lik CHCl_3 ile yıkanmış ve ayırıcıya aktarılmıştır. Ayırıcıya 33 ml 0.5 N NaOH çözeltisi ilave edilerek ekstrakte edilmiş CHCl_3 fazı 600 ml'lik, sulu faz 300 ml'lik behere alınmıştır. CHCl_3 fazı aynı ayırıcıya alınmış ve 33 ml 0.5N NaOH çözeltisi ile ikinci bir ekstraksiyon işlemi uygulanmıştır. İkinci ekstraksiyonda emülsiyon oluşursa bekletme ile emülsiyon fazı kırılmıştır. Fazlar ait olan beherlere alınmış ve sonuncu ekstraksiyon

işlemindeki emülsiyon fazı alkali fazın toplandığı behere alınmıştır. Alkali ekstrakt 70 ml yaklaşık 1 N HCl çözeltisi ile asitlendirilmiş, çözülmüş CHCl_3 'ün uzaklaştırılması için 5-10 dakika hızlıca havalandırılmıştır. CHCl_3 tamamen uzaklaştığını koklayarak kontrol edilmiştir. Çözelti, süzgeç kağıdı yerleştirilmiş gözenekli cam süzgeçten süzülmüştür. Süzüntü 500 ml'lik balona aktarılmış ve çizgisine kadar saf su ile tamamlanmıştır. Standart çözelti karşı absorbanları spektrofotometrede 307 nm dalga boyunda okuma yapılmıştır.

Standart Çözeltinin Hazırlanması

500 ml'lik ayırıcıya 250 ml CHCl_3 alınmış, NaOH ile ekstrakte edilmiş, HCl ile asitlendirilmiş ve havalandırılmıştır. 500 ml'lik ölçü balonuna alınmış ve ölçüsüne kadar saf su ile tamamlanmıştır. Standart asetik asit çözeltisinden 1, 2, 3 ve 5 ml pipetle alınarak 500 ml'lik ölçü balonlarına aktarılmış, her birine 100 ml 0.5 N'lik NaOH çözeltisi ve 70 ml 1 N HCl çözeltisi ilave edilmiş ve ölçü çizgisine kadar saf su ile tamamlanmış, standart 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 LAB, maya ve küf yoğunluklarının saptanmasına yönelik analizler gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla 25 g'lık örnekler peptonlu su aracılığı ile 2 dakikadan az olmamak koşulu ile karıştırılıp mikroorganizmaların mümkün olduğu ölçüde materyalden ayrılması sağlanmıştır. Elde edilen stok materyalden logaritmik seride dilüsyonlar hazırlanarak 1 saati aşmayan zaman zarfında ekim işlemi yapılmıştır. Laktik asit bakterileri için ekim ortamı olarak MRS Agar, maya ve küfler için Malt Ekstrakt Agar kullanılmıştır. Örneklere ait LAB, maya ve küfler için 30 °C sıcaklıkta 3 günlük inkübasyon dönemlerini takiben gerçekleştirilmiştir (Seale ve ark. 1990).

Örneklere saptanan LAB, maya ve küf sayıları logaritma koliform üniteye (cfu/g) çevrilmiştir.

3.2.2. Ham Besin Maddeleri Ve Hücre Duvarı İçerikleri Analizleri

3.2.2.1. Ham besin maddeleri içerikleri 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 amonyakın belli normalitede ki bir asitle titrasyonu sonucu elde edilen sarfiyattan hesaplanmıştır (Akyıldız 1984).

3.2.2.2. Hücre duvarı içerikleri analiz yöntemleri

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

NDF analizi, hücrenin çözünebilir materyalinin sodyum lauryl sülfat içeren nötral çözücü ile kaynatılarak ekstraksiyonundan sonra hücre duvarı bileşenlerinin filtrasyon aracılığı ile ayrılması esasına dayanır (Close ve Menke 1986). 1 mm'lik elekten geçecek şekilde öğütülmüş yem numunesinden 0.5-1 g bir cam kaba tartılmıştır. Sırasıyla oda sıcaklığındaki 100 ml nötral çözücü solüsyonuna 93 g EDTA ve 34 g sodyum tetra borat tartılarak birlikte geniş bir kaba konmuştur. Distile su ilave edilmiş ve hafifçe ısıtılarak çözülmüştür. Bu çözeltiliye 150 g sodyum lauryl sülfat ve 50 ml 2 - etoksietanol ilave edilmiştir. İkinci bir cam kapta 22.8 g susuz di sodyum hidrojen sülfat tartılır, distile su ilave edilir ve hafifçe ısıtılarak çözülmüştür. İlk çözeltiliye ilave edilmiş, karıştırılmış ve 5 litreye seyreltilmiştir. Çözelti pH'sı 6.9-7.1 arasında kontrol edilmiştir. Birkaç damla dekalın, 0.5 g sodyum sülfid katılmış ve geri soğutucuya takılmıştır. Çözelti hızla kaynama durumuna getirilmiş ve bir saat kaynatılmıştır. Ateşten alınıp 10 dakika tutulmuştur. Darası alınmış cam krozedden düşük vakum aracılığıyla filtre edilmiştir. Kalıntı iki kısım kaynamaya yakın sıcaklıktaki su ve iki

kısım asetonla yıkanmıştır. Cam kroze kurutma dolabında 103 °C sıcaklıkta 4 saat veya 100 °C sıcaklıkta bir gece tutulmuştur. Sonra desikatörde soğutulmuş ve tartılmıştır.

Hesaplama: NDF (g/kg KM) = a-b/Nx 1000

a = NDF içeren kuru cam krozenin ağırlığı, g

b =cam krozenin darası alınmış ağırlığı, g

N=örneğin ağırlığı, g

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

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

a= ADF içeren kuru cam kroze ağırlığı, g

b= Darası alınmış cam krozenin ağırlığı, g

N=numune miktarı, g

ADL analizinde, %72’lik sülfirik asit içeren çözücü solüsyonun (%72’lik H₂SO₄- CTAB) selülozu ayrıştırması ile elde edilen kalıntının kül fırınında yakılması ile kütini de içeren lignin miktarı saptanmıştır (Close ve Menke 1986). Bir mm’lik elekten geçecek şekilde öğütülmüş numuneden 0.5 g kadar behere tartılır. 100 ml’lik soğuk %72’lik H₂SO₄- CTAB (100 g CTAB 5 litre %72’lik sülfirik asitte çözdürülmüştür, gerekirse filtre edilmiştir) ve birkaç damla dekalin ilave edilerek ısıtıcıya konmuştur. Solüsyon hızla kaynama durumuna getirilmiş ve bir saat hafifçe kaynatılmıştır. Düşük bir vakum ile darası alınmış cam krozeden sıcakken filtre

edilmiştir. Kalıntı kaynamaya yakın sıcaklıktaki su ile köpük oluşumu bitene kadar yıkanmıştır. Daha sonra asetonla yıkama işlemine devam edilmiştir. Cam kroze yarıya kadar hazırlanan asit çözücü solüsyonu ile doldurulmuş ve asit uçana kadar karıştırılmıştır. Bu işlem üç defa tekrarlanmıştır. Oda sıcaklığında 3 saat muhafaza edilmiştir. Daha sonra düşük vakumla süzölmüştür. Kroze 103 °C sıcaklıkta 4 saat kurutulmuş veya 100 °C sıcaklıkta bir gece tutulmuştur. Desikatörde alınmış, soğutulmuş ve tartılmıştır. Yakma fırınında 500-550 °C sıcaklıkta 3 saat süre ile yakılmıştır. Desikatöre alınmış, soğutulmuş ve tartılmıştır.

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

a = Krozenin kurutmadan sonraki ağırlığı, g

b = Krozenin yakmadan sonraki ağırlığı, g

N = Numune miktarı, g

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

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

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

3.2.2.3. Enzimde OM çözünebilirliği analiz yöntemleri

Çalışmada silaj örneklerindeki *in vitro* enzimde OM çözünebilirlik düzeyinin saptanması Naumann ve Bassler (1993) tarafından önerilen selülaz yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Yönteme göre, kurutularak öğütölmüş materyalden alınan 0.3 g'lık örnek daha önce altı kapatılmış olan süzgeçli cam kaplara (800 °C ısıya dayanıklı, por. 1, altı ve üstü kapaklı, 50 ml'lik Gooch krozeler) tartılır. Her biri 3'er paralel olacak şekilde tartılan yem örnekleri üzerine 40 °C sıcaklıktaki pepsin+HCl çözeltisinden 30 ml ilave edilir ve cam kabın üst kısmı kapatılır. Cam kaplar 40 °C sıcaklığa ayarlı inkübatör dolabına konur ve 5 saat sonra kaplar iyice karıştırılır. Burada enzim aktivitesinde herhangi bir yetersizliğe neden olmamak için, çözelti sıcaklığının 39-40

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

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

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

A₀: Ghoch krozesinin darası, g A

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 (selüloz) yöntemde kullanılan çözeltiler; pepsin- HCl çözeltisi: 2g pepsin+0.1 N HCl; asetat buffer çözeltisi: 5.9 ml 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; selüloz buffer çözeltisi: 3.3 g selüloz enzimi (trichoderma viride; onozuka R-10, 1 U/mg aktivite)+1 litre asetat buffer çözeltisi.

3.2.2.4. Aerobik bozulmaya dirence ilişkin analizler

Ashbell ve ark. (1991) tarafından geliştirilen yöntem kullanılarak silajların silolamanın 70. gününde açılarak 5 gün aerobik stabilite testine tabi tutulmuşlardır. Aerobik stabilitenin 5. günündeki silaj örneklerinin pH’ları ölçülmüş ve CO₂ üretimleri saptanmıştır. Ayrıca silajların içerdiği maya ve küf popülasyonları saptanmıştır.

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

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

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

V= %25 KOH çözeltisinin toplam hacmi (mL)

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

TM= taze materyalin ağırlığı (kg)

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

3.2.3. Nispi yem değeri (NYD) özellikleri

Silajların nispi yem değerinin saptanmasında Van Dyke ve Anderson (2000) tarafından geliştirilen ve aşağıda verilen eşitlikler kullanılmıştır. İlk aşamada yemin ADF içeriğinden yararlanılarak sindirilebilir kuru madde (% SKM) hesaplanır.

$$\%SKM = 88.9 - (0.779 \times \% ADF)$$

İkinci aşamada yemin NDF içeriğinden yararlanılarak kuru madde tüketimi (% KMT) hesaplanır.

$$\%KMT = 120 / \% NDF$$

Üçüncü ve son aşama ise % SKM ve % KMT değerleri formülde yerine konarak NYD hesaplanır.

$$\text{NYD} = \% \text{SKM} \times \% \text{KMT} \times 0.775$$

3.2.4. İstatiksel Analizler

Araştırmadan elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirilmesinde varyans analizi, gruplar arası farklılığın belirlenmesinde ise Duncan çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır (Soysal 1998). Bu amaçla Minitab (2000) paket programı kullanılmıştır.

4. BULGULAR

4.1. Araştırma Yemlerinin Silolama Sonrası Değerleri

4.1.1. Fiğ-Yulaf silajlarının fermentasyon özellikleri ile ilgili bulgular

Farklı düzeylerde enzim katılarak silolanan fiğ-yulafa ait fiziksel analiz sonuçları Çizelge 4.1'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Silajların fiziksel değerlendirmeleri ve Flieg puanlaması (n=3)

Özellikler	Gruplar				
	K	E1	E2	E4	E8
Koku	Kuvvetli ekşi koku (8)	Kuvvetli ekşi koku (8)	Kuvvetli ekşi koku (8)	Hafif asidik (12)	Hafif asidik (12)
Strüktür	Değişmemiş (4)	Değişmemiş (4)	Değişmemiş (4)	Değişmemiş (4)	Değişmemiş (4)
Renk	Açık sarı yeşil (1)	Yeşil (2)	Yeşil (2)	Yeşil (2)	Yeşil (2)
Toplam Puan	13	14	14	18	18
Kalite Sınıfı	Memnuniyet verici	Memnuniyet verici	Memnuniyet verici	I-Pekiyi	I-Pekiyi
Flieg Puanı	80.31	86.76	86.52	82.78	82.74
Kalite Sınıfı	İyi	Pekiyi	Pekiyi	Pekiyi	Pekiyi

K: Kontrol, E1: 1 mg/kg enzim, E2: 2 mg/kg enzim, E4: 4 mg/kg enzim, E8: 8 mg/kg enzim

Fiğ-yulaf silajların 70. gününde açık sarı-yeşil renkte oldukları gözlenmiştir. Kontrol, E1 ve E2 gruplarında kuvvetli ekşi koku saptanırken diğer iki grubun hafif asidik bir kokuya sahip olduğu, sap ve yaprakların yapısının bozulmadığı belirlenmiştir (Çizelge 4.1). Yapılan puanlamada kalite sınıfının memnuniyet verici olduğu bulunmuştur. Flieg puanı değerlendirmelerine göre enzim ilave edilen grupların kalite sınıfı kontrol grubuna göre daha iyidir. En iyi sonucun ise E2 grubunda olduğu görülmektedir (Kontrol: 80.31, E1: 86.76, E2: 86.52, E4: 82.78, E8: 82.74).

Farklı düzeylerde enzim katılarak silolanan fiğ-yulafa ait kimyasal analiz sonuçları Çizelge 4.2'de verilmiştir.

Çizelge 4.2. Fiğ-yulaf silajlarının kimyasal analiz sonuçları

Özellikler	Gruplar					
	K	E1	E2	E4	E8	P
KM, %	28.32±0.05 ^b	29.55±0.09 ^a	29.43±0.06 ^a	28.22±0.11 ^b	28.20±0.12 ^b	0.001
pH	4.55±0.03 ^a	4.44±0.08 ^{ab}	4.35±0.03 ^{ab}	4.32±0.03 ^b	4.30±0.03 ^b	0.021
SÇK, g/kg KM	8.27±0.43 ^b	10.72±0.66 ^{ab}	11.87±1.14 ^a	11.91±0.65 ^a	12.49±0.97 ^a	0.028
NH ₃ -N, g/kg TN	108.00±7.89 ^a	96.36±10.27 ^{ab}	84.59±4.41 ^b	79.72±6.04 ^b	75.88±3.48 ^b	0.043
HP, %	9.33±0.29	9.09±0.10	9.26±0.06	9.69±0.11	9.11±0.09	0.103
HK, %	12.01±0.01 ^b	12.11±0.03 ^a	11.58±0.01 ^c	11.16±0.01 ^d	11.10±0.03 ^d	0.001
LA, g/kg KM	41.43±0.72	46.34±1.42	47.03±2.31	47.22±2.13	46.79±1.98	0.200
AA, g/kg KM	22.77±0.93	24.04±1.57	26.46±1.19	26.20±2.01	25.47±1.53	0.413
KMK, %	1.18±0.07	1.06±0.05	0.99±0.06	1.00±0.04	0.96±0.07	0.147

K: Kontrol, E1: 1 mg/kg enzim, E2: 2 mg/kg enzim, E4: 4 mg/kg enzim, E8: 8 mg/kg enzim

KM: Kuru madde, SÇK: Suda çözülebilir karbonhidrat, NH₃-N: Amonyak azotu, TN: Toplam azot, HP: Ham protein, HK: Ham kül, LA: Laktik asit, AA: Asetik asit, KMK: Kuru madde kaybı,

a,b,c, d: Aynı sütunda bulunan farklı harfler önemlidir (P<0.05).

Fiğ-yulaf silajlarında kullanılan hücre duvarını ve nişastayı parçalayıcı enzimler, genel olarak fiğ-yulaf silajlarının fermantasyon özelliklerini olumlu yönde etkilemiştir. Çizelge 4.2'den de görüldüğü gibi kontrol grubu ile enzim kullanılan gruplar arasında kimyasal bileşen bakımından önemli farklılıklar ortaya çıkmıştır. Enzim kullanılan tüm silajların pH ve NH₃-N içerikleri önemli düzeyde düşerken (P<0.05), SÇK içerikleri ise önemli düzeyde artmıştır (P<0.05). Enzim kullanılan gruplar kendi içerisinde incelendiğinde ise söz konusu fermantasyon özellikleri bakımından enzim dozundaki artışa paralel olarak silajların NH₃-N düzeyleri düşmüş, SÇK içerikleri ise artmıştır.

Fiğ-yulaf silajlarında kullanılan enzimlerin hücre duvarını ve nişastayı parçalaması sonucunda açığa çıkan karbonhidratlar, SÇK miktarını önemli düzeyde artırmıştır (P<0.05). Suda çözünebilir karbonhidratların LAB tarafından fermente edilmesiyle enzim grupların da pH ve NH₃-N düzeyleri kontrol grubuna göre önemli düzeyde düşmüştür (P<0.05). Diğer yandan hücre duvarını ve nişastayı parçalayıcı enzimler silajların ham protein içeriklerini etkilememiştir. Tüm silajlarda başlıca fermantasyon ürünü laktik asit olmuştur. Değişik düzeylerde katılan enzimlerin fiğ-

yulaf silajlarının laktik ve asetik asit içerikleri üzerinde önemli bir etki göstermemiştir. Ancak, hücre duvarının ve nişastanın parçalanmasıyla birlikte ortaya çıkan SÇK'nın LAB tarafından fermente edilmesi sonucu, fiğ-yulaf silajlarının LA içerikleri rakamsal olarak artmıştır ($P>0.05$). Diğer yandan enzim kullanılan gruplarda fermantasyon dönemi boyunca görülen KM kayıpları kontrol grubuna göre rakamsal olarak düşük bulunmuştur ($P>0.05$).

Farklı düzeylerde enzim katılarak silolanan fiğ-yulaf silajına ait mikrobiyolojik analiz sonuçları Çizelge 4.3'de verilmiştir.

Çizelge 4.3. Fiğ-yulaf silajlarının mikrobiyolojik analiz sonuçları

Özellikler	Gruplar					
	K	E1	E2	E4	E8	P
<i>Lactobacilli</i>	3.71±0.05 ^d	4.94±0.06 ^c	5.35±0.05 ^b	5.66±0.04 ^a	4.98±0.02 ^c	0.001
Maya	3.01±0.02	2.97±0.02	2.84±0.02	2.97±0.03	2.98±0.01	0.149
Küf	2.51±0.02	2.44±0.01	2.47±0.03	2.37±0.02	2.43±0.01	0.116

K: Kontrol, E1: 1 mg/kg enzim, E2: 2 mg/kg enzim, E4: 4 mg/kg enzim, E8: 8 mg/kg enzim

a,b,c, d: Aynı sütunda bulunan farklı harfler önemlidir ($P<0.05$).

Çizelge 4.3'den de görüldüğü gibi fiğ- yulaf silajlarına artan oranda katılan enzim *lactobacilli* içeriklerini önemli düzeyde arttırmıştır. Silajlarda görülen mikrobiyal büyüme oldukça normal olup, silajların içerdiği maya ve küf sayıları da düşük düzeylerde bulunmuştur.

Farklı düzeylerde enzim katılarak silolanan fiğ-yulaf silajlarına ait hücre duvarı bileşenlerine ait analiz sonuçları Çizelge 4.4'de verilmiştir.

Çizelge 4.4'den de görüldüğü gibi, enzim ilavesi fiğ-yulaf silajlarında etkili olmuş ve kullanım dozuna bağlı olarak NDF içeriklerini, kontrol grubuna göre önemli düzeyde düşürmüştür ($p<0.05$). Bununla birlikte ADF ve selüloz içerikleri ise kontrol grubuna göre önemsiz miktar da azaltmıştır ($P>0.05$).

Çizelge 4.4. Fiğ-yulaf silajlarının hücre duvarı bileşenleri, (%)

Özellikler	Gruplar					
	K	E1	E2	E4	E8	P
NDF	61.06±0.18 ^a	58.83±0.25 ^b	58.74±0.12 ^b	58.22±0.71 ^b	58.10±0.83 ^b	0.013
ADF	40.88±0.78	40.78±0.64	40.14±0.59	38.58±0.47	39.04±0.30	0.062
ADL	6.12±0.12	6.31±0.06	6.18±0.10	5.72±0.31	6.25±0.17	0.213
Hemiselüloz	20.18±0.80	18.05±1.09	17.83±0.70	20.30±0.33	19.17±0.77	0.142
Selüloz	34.77±0.90	34.47±0.60	33.96±0.52	32.86±0.77	32.79±0.15	0.168

K: Kontrol, E1: 1 mg/kg enzim, E2: 2 mg/kg enzim, E4: 4 mg/kg enzim, E8: 8 mg/kg enzim

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

a,b: Aynı sütunda bulunan farklı harfler önemlidir (P<0.05).

Farklı düzeylerde enzim katılarak silolanan fiğ-yulaf silajlarının *in vitro* OMS, SKM, KMT ve NYD Çizelge 4.5’de verilmiştir.

Çizelge 4.5. Fiğ-yulaf silajlarının *in vitro* OMS, SKM, KMT ve NYD sonuçları

Özellikler	Gruplar					
	K	E1	E2	E4	E8	P
OMS, %	52.39±0.51 ^c	53.71±0.54 ^{bc}	55.49±0.67 ^{ab}	55.76±0.61 ^a	54.80±0.55 ^{ab}	0.011
SKM,%	57.05±0.61	57.63±0.50	57.13±0.46	58.85±0.36	58.48±0.23	0.062
KMT,%	1.97±0.01 ^b	2.04±0.01 ^a	2.04±0.01 ^a	2.06±0.03 ^a	2.07±0.03 ^a	0.016
NYD	86.89±0.97 ^b	91.25±1.17 ^b	90.31±0.57 ^{ab}	94.04±1.63 ^a	93.67±1.58 ^a	0.014

K: Kontrol, E1: 1 mg/kg enzim, E2: 2 mg/kg enzim, E4: 4 mg/kg enzim, E8: 8 mg/kg enzim

SKM: sindirilebilir kuru madde; KMT: kuru madde tüketimi; NYD: nispi yem değeri,

a,b,c: Aynı sütunda bulunan farklı harfler önemlidir (P<0.05).

Çizelge 4.5’de de görüldüğü gibi, silajların *in vitro* OMS’leri %52.39-55.76, SKM’leri %57.05 ile %58.85, KMT ise 1.97 ile 2.06 arasında saptanmıştır. Farklı dozlarda enzim kullanımının silajların *in vitro* OMS’leri üzerindeki etkisi önemli bulunurken (P<0.05), SKM ve KMT’leri üzerinde ki etkisi önemsiz bulunmuştur (P>0.05). Silajların NYD’i 86.89 ile 94.04 arasında değişmiş ve 4 mg/kg düzeyinde silajlarda en yüksek, en düşük ise kontrol silajında bulunmuştur (P<0.05).

Silolamanın 70. gününde açılan silajlara ait 5 günlük aerobik stabilite testi sonuçları Çizelge 4.6'da verilmiştir.

Çizelge 4.6. Fiğ - yulaf silajlarının aerobik stabilite test sonuçları

Özellikler	Gruplar					
	K	E1	E2	E4	E8	P
pH	7.93±0.18	7.80±0.26	7.73±0.09	7.90±0.12	7.80±0.10	0.902
CO ₂ , g/kg KM	15.67±1.01	13.96±0.67	14.87±0.90	14.97±0.46	14.92±0.24	0.602
Maya, log ₁₀ cfu/g	4.78±0.20	4.54±0.15	4.59±0.08	4.38±0.17	4.44±0.09	0.395
Küf, log ₁₀ cfu/g	5.56±0.02a	5.21±0.02c	4.80±0.01d	5.38±0.02b	5.18±0.02c	0.001

K: Kontrol, E1: 1 mg/kg enzim, E2: 2 mg/kg enzim, E4: 4 mg/kg enzim, E8: 8 mg/kg enzim

CO₂: karbondioksit; log₁₀ cfu: logaritma koloniform ünite

a,b,c, d: Aynı sütunda bulunan farklı harfler önemlidir (P<0.05).

Çizelge 4.6'da da görüldüğü gibi silajların, hava ile temas ettikleri bu 5 günlük süre içerisinde pH, CO₂ üretimi ve maya içerikleri bütün gruplarda benzer bulunurken, enzim kullanılan silajlarda küf içerikleri, kontrol grubuna göre önemli düzeyde düşük bulunmuştur (P<0.001). Nişastayı ve hücre duvarını parçalayan enzimler fiğ-yulaf silajlarının aerobik stabiliteyi üzerinde önemsiz düzeyde etki göstermiştir. Kontrol grupları da dahil olmak üzere tüm silajlarda CO₂ üretimi görülmüştür. Özellikle bu dönemde silajlarda görülen maya popülasyonu silajların aerobik stabiliteyi üzerinde olumsuz etki göstermiş ve silajlarda CO₂ üretimine neden olmuştur. Nitekim Seale (1986) silajlarda görülen CO₂ üretiminin başlıca nedeninin mayalar olduğunu bildirmiştir. Ayrıca silajlarda bozulmanın olduğu bu 5 günlük dönem içerisinde silajların pH'larında bir artış görülmüştür.

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Uygun saklama koşullarının gerçekleşmesi sonrasında elde edilecek silo yeminde yemleme değeri üzerinde etkili olan temel faktörler silaj yapılacak olan materyalin pH, KM ve SÇK içeriği ile epifitik mikroorganizma yoğunluğu gibi özellikler bakımından sahip olduğu değerlere bağlıdır. Çizelgede 3.1'de de verildiği gibi, fiğ-yulaf hasıllarının sırasıyla pH, Bc değeri, KM, KM içindeki OM, HP, HY, HK, SÇK, NDF, ADF, ADL, hemiselüloz, selüloz, *lactobacilli*, maya ve küf içerikleri sırasıyla 6.20, 217 meq NaOH/kg KM, %29.82, %87.97, %9.61, 2.12, 12.03, 40.73 g/kg, %60.76, %40.45, %6.02, %20.31, %34.43, 2.11 log₁₀ cfu/g, 2.26 log₁₀ cfu/g, 1.80 log₁₀ cfu/g olarak bulunmuştur.

Silaj fermentasyonu sırasında oluşan pH, NH₃-N, organik asitlerin (asetik asit, bütirik ve laktik asit) miktar ve kompozisyonları fermentasyonun kalitesini belirlemektedir. Özellikle pH ve NH₃-N miktarları düşük, laktik asit/asetik asit oranları yüksek silajlar iyi fermente olmuş silajlar olarak kabul edilebilirler (Filya 2007). Araştırmada kullanılan hücre duvarını ve nişastayı parçalayıcı enzim karışımı inokulantların fermentasyonu geliştirerek, silajların kimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerini olumlu yönde etkilemişlerdir. Bunda fiğ-yulaf karışımlarının silaj fermentasyonu açısından yeterli düzeyde SÇK içermesi etkili olmuştur. Nitekim, Çizelge 4.1.'de de görüldüğü gibi, fiğ-yulaf silajlarında kullanılan bu enzimler, fiğ-yulaf karışımının hücre duvarını ve nişastayı parçalamışlardır. Bunun sonucunda açığa çıkan karbonhidratlar, silaj fermentasyonu sırasında *lactobacilli*'lerin besin maddesi olarak kullanabileceği SÇK miktarını önemli düzeyde artırmışlardır (P<0.05). SÇK'nın *lactobacilli*'ler tarafından fermente edilmesiyle enzimlerin kullanım dozlarındaki artışa bağlı olarak fiğ-yulaf karışımı silajlarının pH ve NH₃-N düzeyleri kontrol grubuna göre önemli düzeyde düşmüştür (P<0.05). Silajlarda temel fermentasyon ürünü laktik asit olurken, özellikle farklı oranlarda enzim içeren silajlarda LAB' in SÇK' ları kullanarak laktik asit üretmeleri sonucu bu silajlarda görülen laktik asit miktarı kontrol grubuna göre önemli düzeyde yüksek olurken, pH'ları da önemli düzeyde düşmüştür (P<0.05). Fiğ-yulaf silajlarının KM içeriği göz önüne alındığında, enzim gruplarında saptanan pH değerlerinin Kung ve Shaver (2001)'nin bildirdikleri kaliteli bir silajda olması gereken pH değeri ile uyumlu olduğu saptanmıştır. Silolanan materyalin bozulmaması için ortamda mutlaka LAB ve bunların laktik asit üretebilmeleri için yeterli miktarda SÇK

bulunmalıdır. Ortamda yeterli miktarda SÇK bulunması halinde *Lactobacilli* silaj fermentasyonu için gerekli laktik asidi üretebilirler (Filya 2001). Farklı dozlarda enzim katkı maddesi kullanılan silaj gruplarında kontrol grubu silajlarına göre laktik asit ve asetik asit miktarları daha yüksek saptanmıştır. Kaliteli bir silajda NH₃-N'nun 80 g/kg TN' den aşağı olması gerektiği bildirilmektedir (Pettersen 1988). Söz konusu parametre bakımından 4 ve 8 mg/ton düzeyinde enzim katılan silajlar ile uyum sağlamıştır. Bununla birlikte enzim kullanılan tüm silajların amonyak azotu düzeyleri kontrol silajına göre önemli düzeyde düşmüştür (P<0.05). Bu silajlarda gerçekleşen homolaktik fermentasyon ve daha az düzeydeki protein parçalanmasının etkili olduğu düşünülmektedir.

Kung ve ark. (1991) tarafından yürütülen araştırmada, yoncaya selüloz ve pektinaz içeren enzim karışımının 1, 5 ve 50 kat olmak üzere üç farklı dozunun etkilerini inceledikleri çalışmalarında 60. günde silajlarda pH değerlerini kontrol ve enzim (1, 5, 50 kat) gruplarında sırasıyla 4.11 ve 4.13-4.16, SÇK içerikleri 29.7 ve 23.3- 27.9 g/kg KM; NH₃-N içeriklerini KM' de 0.96 ve 0.97-1.01 g/kg KM; laktik asit içeriklerini KM'de %4.65 ve 4.20-4.74, asetik asit içeriklerini ise KM'de %0.91 ve 1.06-1.20 olarak saptamışlardır. Tengerdy ve ark. (1991) başlangıç pH'sı 6.1 olan yonca hasılına LAB+enzim inokulantı ilavesinin etkilerini araştırdıkları çalışmada, silolamanın 55. günündeki silajlarda pH'nın kontrol ve LAB+enzim grubunda sırasıyla 5,3 ve 4,3; laktik asidin KM' de % 3,5 ve 5,8; asetik asidin ise 3,9 ve 1,5 olduğunu saptamışlardır. Stokes ve Chen (1994) başlangıç pH'sı 5,0 olan mısır üzerinde LAB+Enzim inokulantının etkilerini inceleyerek silolamanın 56. günündeki silajlarda pH'nın kontrol ve LAB+Enzim gruplarında sırasıyla 3.7 ve 3.7 olduğunu; başlangıç materyalinde hiç bulunmayan laktik asidin ise sırasıyla KM'de %5,5 ve 5,7 olduğunu bildirmişlerdir. Filya ve ark. (2001)'nin %10-20 çiçeklenme döneminde hasat edilip 3 farklı düzeyde (% 0.025, % 0.05 ve % 0.1) selüloz, hemiselüloz ve pektinaz enzimi uyguladıkları yoncalarda silolamanın 50. gününde pH değerlerinin kontrol ve enzim gruplarında 5.1 ve 4.0-4.5; SÇK içeriklerini 3.2 ve 10.1-15.8 g/kg KM; NH₃-N içeriklerini KM'de 114 ve 17-24 g/kg KM; laktik asit içeriklerini KM'de %1.8 ve 10.2-12.6, asetik asit içeriklerini ise KM'de %7.7 ve 2.3-3.3 olarak saptamışlardır. Kung ve Ranjit (2001), KM içeriği % 39,4 olan silajlık arpa materyalini 3 farklı seviyede heterofermantatif LAB+enzim (1x10⁵, 5x10⁵ ve 1x10⁶ kob/g *Lactobacillus buchneri*+

enzim), homofermantatif LAB+enzim (0.5×10^5 *Lactobacillus plantarum*, 0.5×10^5 *P. Pentosaceus*, 1×10^4 kob/g *Propionibacterium freudenreichii*+enzim) karışımı inokulant ve taze materyalin %0,2'si düzeyinde propiyonik asite dayalı kimyasal katkı maddesinin etkilerini inceledikleri çalışmalarında, silolamanın 69. gününde silajların laktik asitleri heterofermantatif LAB+enzim ilavesinin etkisi önemsiz olurken ($P > 0.05$), heterofermantatif LAB+enzim ilavesi ile silajların pH, bütirik asit ve SÇK değerleri düşmüş, asetik asit, propionik asit ve etanol içerikleri ise yükselmiştir ($P < 0.05$). Düşük ve orta düzeyde heterofermantatif LAB+enzim ve propionik asit ile muamele edilmiş silajların kuru madde kayıpları daha düşük olmuştur ($P < 0.05$). Homofermantatif LAB içeren inokulant ilavesiyle silajın pH'sı, asetik asit, bütirik asit, NDF, ADF, $\text{NH}_3\text{-N}$ ve etanol değerleri düşerken, propiyonik asit ilave edilmiş grupla birlikte kuru madde kayıpları, SÇK ve laktik asit değerleri yükselmiştir ($P < 0.05$).

Özdüven ve ark. (2010) başlangıç pH'sı 5.8 olan tritikale hasılına LAB, enzim ve LAB+Enzim inokulantı ilavesinin etkilerini araştırdıkları çalışmalarında, silolamanın 45. günündeki silajlarda pH'nın kontrol, LAB, enzim ve LAB+enzim grubunda sırasıyla, 4.5, 3.8, 4.1 ve 3,7; SÇK'nın 14.7, 22.9, 20.4 ve 25.0 g/kg KM; $\text{NH}_3\text{-N}$ 'in 103.1, 57.0, 53.4 ve 48.8 g/kg TN; laktik asidin KM'de %7.3, 10.2, 9.3 ve 10.5; asetik asidin ise KM'de %5.0, 1.9, 2.6 ve 2.4 olduğunu saptamışlardır.

Silajların kimyasal özellikleri ile ilgili olarak araştırmadan elde edilen bulgular, benzer konularda yapılan araştırma bulguları ile uyumludur (Tengerdy ve ark. 1991, Filya ve ark. 2001, Kung ve Ranjit 2001, Özdüven ve ark. 2010).

Araştırmada farklı düzeylerde kullanılan enzimler bu silajların *lactobacilli* içeriklerini önemli düzeyde artırmıştır ($P < 0.05$). Silajlarda LAB'nin dominant mikroflora olması ve ortamda yeterli düzeyde SÇK bulunması nedeniyle bunun beklenen bir gelişme olduğu söylenebilir.

Meeske ve ark. (1993) silolamanın 31. gününde açılan sorgum silajları maya içerikleri kontrol, LAB ve LAB+Enzim gruplarında sırasıyla 7.0, 6.7 ve 6.0 log cfu/g KM olduğunu ve inokulant kullanılan silajlarda küf görülmediğini bildirmişlerdir. Tengerdy ve ark. (1991) silolamanın 55. gününde açılan yonca silajlarının *lactobacilli* içeriklerini kontrol ve LAB+Enzim gruplarında sırasıyla 1.0 ve 2.6 log cfu/g KM olarak

belirlerken, inokulant kullanılan silajlardaki maya ve küf düzeyinin çok düşük olduğunu bildirmişlerdir. Filya ve ark. (2001)'nin farklı düzeylerde enzim kullandıkları yoncalarda, silolamanın 50. gününde *lactobacilli* sayılarını kontrol ve enzim grupları için sırasıyla 7.1 ve 7.2-7.4 log₁₀ cfu/g, maya sayılarını 4.3 ve 4.2-4.5 log₁₀ cfu/g, küf sayılarını 4.1 ve 3.9-4.1 log₁₀ cfu/g arasında saptadıklarını bildirmektedirler. Çelebi (2010), üç farklı vejetasyon döneminde (çiçeklenme başlangıcı, ortası ve sonu) hasat edilen yoncalara LAB, enzim ve LAB+enzim katkı maddesi kullanımının etkilerini inceledikleri çalışmalarında vejetasyon dönemlerinin tümünde LAB içeren gruplarda (LAB ve LAB+enzim) *lactobacilli* sayılarının kontrol gruplarına göre daha yüksek olduğunu, maya sayıları üzerinde önemli bir etkileri olmadığı, küf sayılarının ise sadece çiçeklenme ortası dönemindeki yonca silajlarında LAB içeren gruplarda diğer gruplara göre daha düşük düzeyde tespit edildiği bildirmektedir. Özdüven ve ark. (2010), tritikale hasılına LAB, enzim ve LAB+enzim inokulantı ilavesinin etkilerini araştırdıkları çalışmalarında, silolamanın 45. gününde silajların maya sayıları üzerine LAB ve/veya enzim ilavesinin etkisi önemsiz olurken, *lactobacilli* sayılarını önemli düzeyde yüksek, küf sayıları da önemli düzeyde düşük saptamışlardır.

Fiğ-yulaf silajlarının fermantasyon özelliklerini temsil eden mikrobiyolojik analizler sonuçları ile, benzer konuda yapılan araştırmalardan elde edilen sonuçlar uyum içerisinde (Filya ve ark. 2001, Çelebi 2010, Özdüven ve ark. 2010).

Fiğ-yulaf hasılının NDF, ADF, ADL, hemiselüloz ve selüloz miktarları sırasıyla %60.76, 40.45, 6.02, 20.13, 34.43 olarak saptandığı araştırmada, fiğ-yulaf silajlarına selülaz ve amilaz içeren enzimlerin kullanılması hücre duvarı bileşenlerini azaltmıştır. Farklı düzeylerde enzim karışımı içeren silajların NDF içerikleri kontrol silajına göre önemli düzeyde (P<0.05), ADF ve selüloz miktarları ise rakamsal olarak azalmıştır (P>0.05).

Nitekim Filya ve ark. (2001) silolamanın 50. gününde açılan yonca silajlarının NDF içeriklerini kontrol, %0.025, %0.050 ve %0.100 düzeyinde selülaz, hemiselülaz ve pektinaz içeren enzim katkısı gruplarında sırasıyla KM'de %38.9, 37.7, 36.2 ve 34.1; ADF miktarlarını KM'de %29.1, 27.0, 26.3 ve 23.5; ADL miktarlarını ise KM'de %15.4, 14.2, 13.9 ve 13.1 olarak saptamışlardır. 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.

Can (2010), macar fiği-tritikale silajlarının çiçeklenme başlangıcı-süt olum döneminde kontrol, inokulant, enzim ve inokulant+enzim katkı maddesi kullanılan gruplarda, silolamanın 45. gününde NDF, ADF, ADL, hemiselüloz, selüloz miktarlarını sırasıyla %57.76, 58.55, 58.48 ve 55.75 g/kg KM, %41.25, 40.78, 41.06 ve 38.64 g/kg KM; %4.78, 4.93, 4.54 ve 4.44 g/kg KM, %16.51, 17.78, 17.42 ve 17.10 g/kg, %36.47, 35.86, 36.52 ve 34.21 g/kg KM; çiçeklenme sonu-hamur olum döneminde kontrol, inokulant, enzim ve inokulant+enzim katkı maddesi kullanılan gruplarda ise aynı sırayla 57.91, 56.21, 57.17 ve 56.29 g/kg KM; 41.29, 37.65, 39.63 ve 39.86 g/kg KM; 5.27, 4.92, 4.56 ve 4.62 g/kg KM; 16.63, 18.57, 17.55 ve 16.43 g/kg KM; 36.02, 32.73, 35.07 ve 35.24 g/kg KM olarak saptamıştır. Araştırma sonunda her iki vejetasyon döneminde de LAB+Enzim grubu silajlarının ADF ve selüloz içerikleri kontrol grubu silajlarına göre önemli düzeyde azalttığı (P<0.05), dolayısıyla LAB+Enzim karışımı inokulantların içerdiği selülaz, hemiselülaz, pentozanaz ve amilaz enzimlerinin macar fiği-tritikale karışımının hücre duvarını ve nişastasını parçalayarak LAB için ilave bir substrat ortaya çıkardığını bildirmektedir.

Silajların hücre duvarı bileşikleri ile ilgili olarak araştırmadan elde edilen bulgular, benzer konuda yapılan araştırma bulguları ile uyumludur (Filya ve ark. 2001, Filya 2002a, Özdüven ve ark. 2010, Can 2010).

Yemlerin yapısında yer alan ve sindirimi yavaşlatan NDF, ADF ve ADL düzeylerinin artması, fiziksel olarak hayvanın tokluk hissetmesine neden olarak, hayvanların yem tüketimini sınırladığı bildirilmektedir (Van Soest 1994). Araştırmadan elde edilen bulgularda bunu destekler nitelikte bulunmuştur. Farklı dozlarda enzim ilavesi ile silajların yapısındaki NDF, ADF ve ADL içeriğinin azalması *in vitro* OMS, KMS, KMT ve NYD'ni olumlu yönde etkilemiştir. Fiğ-yulaf silajlarında saptanan NYD normal yonca değeri olarak kabul edilen 100 ile karşılaştırıldığında, yemlerin özellikle enzim kullanılan gruplarda yüksek kaliteye yakın olduğu görülmektedir. Bu silajlardan

NYD 94'ün üzerinde olan 8 mg/kg enzim uygulanan fiğ-yulaf silajının en iyi kalitede kaba yem olarak saptanmıştır.

Silaj katkı maddesi olarak farklı düzeylerde kullanılan selüloz ve amilaz enzimleri fiğ-yulaf silajların fermantasyon özelliklerini olumlu yönde etkilerken silajların aerobik stabiliteelerini etkilememiştir. Araştırma sonucunda kontrol ve farklı dozlarda enzim uygulanan silajların aerobik stabiliteeleri düşük bulunmuştur. Seale (1986), aerobik dönemde görülen CO₂ üretiminin başlıca nedeninin silaj ortamında bulunan mayalar olduğunu bildirmiştir. Aerobik dönemin sonunda silajların pH, CO₂ üretimi ve maya sayıları farklı düzeylerde enzim ilavesinin etkisi önemsiz olurken (P>0.05), küf sayıları enzim kullanılan silajların tümünde önemli düzeyde düşük olduğu belirlenmiştir (P>0.05).

Meeske ve ark. (1993) 5 gün süre ile aerobik stabilite testine tabi tutulan sorgum silajlarının CO₂ üretimlerini kontrol, LAB ve LAB+enzim gruplarında sırasıyla 15.5, 48.8 ve 37.1g/kg KM; maya içeriklerini ise 9.2, 10.1 ve 9.9 cfu/g KM olarak saptamışlardır. Filya ve ark. (2001), farklı dozlarda enzim kullanıldığı yonca silajların hava ile temas ettikleri bu 5 günlük aerobik dönem süresince silajların pH, ürettikleri CO₂ miktarı, maya ve küf sayıları bakımından gruplar arasında önemli düzeyde bir farklılık olmadığını, silajlardaki maya ve küf düzeylerinin az olmasının özellikle mayaların hücre duvarının parçalanması sonucu ortaya çıkan karbonhidratları tüketerek gelişmesi ve silajların aerobik stabiliteelerini düşürmesi riskini engellediğini bildirmektedir. 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 stabiliteeleri ile ilgili olarak araştırmadan elde edilen bulgular, benzer konularda yapılan araştırma bulguları ile uyumludur (Meeske ve ark. 1993, Filya 2001, Polat ve ark. 2005).

Sonuç olarak fiğ-yulaf hasılıının silolanması sırasında farklı düzeylerde kullanılan selüloz ve amilaz enzimleri, silajlarda laktik asit üretimini teşvik etmişlerdir.

Bunun sonucunda silajların pH'sı düşmüş, istenmeyen mikroorganizmaların gelişimi engellenmiştir. Diğer taraftan enzimler silajların NH₃-N içeriklerini de önemli düzeylerde düşürerek silajların kalitesini yükseltmişlerdir. Ayrıca selüloz ve amilaz enzimleri silajların NDF miktarlarını azaltmış, OMS, KMT ve NYD'ni artırmışlardır. Ancak söz konusu enzimler silajların aerobik stabilitelelerini etkilememişlerdir.

7.KAYNAKLAR

- Akyıldız R (1984). Yemler bilgisi Lab. Klavuzu. A.Ü.Z.F. Yay. No:859, Ankara, 236.
- Anonim (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.
- Başkavak S, Özdüven ML, Polat C, Koç F (2009). The effects of lactic acid bacteria+enzyme mixture silage inoculant on wheat silage. J Tekirdag Agricultural Faculty, 5, 291-296, 2008.
- Bolsen, K. K., H. J. Ilg and D. E. Axe., (1980). Additives for alfalfa silage. J. Anim. Sci. 51 (Suppl. 1):230.
- Can L (2010). Tritikale-Macar Figi Hasılına Enzim Ve Laktik Asit Bakterileri İnokulant İlavesinin Silaj Kalitesi Üzerine Etkileri. Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, Tekirdağ.
- Canbolat Ö (2012). Bazı Buğdaygil Kaba Yemlerinin İn Vitro Gaz Üretimi, Sindirilebilir Organik Madde, Nispi Yem Değeri Ve Metabolik Enerji İçeriklerinin Karşılaştırılması. Kafkas Univ Vet Fak Derg 18 (4): 571-577.
- Close W, Menke KH (1986). Selected Topics in Animal Nutrition Universitat, Pp; 170+85, Hohenheim.
- Çelebi A (2010). Mikrobiyal İnokulantlar ve Hücre Duvarını Parçalayan Enzimlerinin Yonca Silajında Fermantasyon Özellikleri ve Aerobik Stabilite Üzerine Etkileri. Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ.
- FAO (2013). Food and Agriculture Organization of The United Nations, Statistics Division. <http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/E>.
- 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 inokulantlarının mısır silajı üzerine etkileri. Türk J Vet Anim Sci. 26:679-687.
- Filya İ (2002b). Laktik asit bakteri inokulantlarının mısır ve sorgum silajlarının Fermantasyon, aerobik stabilite ve in situ rumen parçalanabilirlik özellikleri üzerine etkileri. Türk J Vet Anim Sci. 26:815-823.
- Filya İ (2003). The Effect of Lactobacillus Buchneri, with or without Homofermentative Lactic Acid Bacteria, on The Fermentation, Aerobic Stability, and Ruminal Degradability of Wheat, Sorghum, and Maize Silages. J. Appl. Microbiol. 95:1080–1086.
- Filya İ (2007). Ülkemizde Silaj Yapımı ve Silaj Kalitesinin Artırılma Yolları. Yem Magazin, Mart, 2007, 47:37-44.
- Filya İ, Ashbell G, Weinberg ZG, Hen Y (2001). Hücre Duvarını Parçalayıcı Enzimlerin Yonca Silajlarının Fermantasyon Özellikleri, Hücre Duvarı Kapsamı ve Aerobik Stabiliteleri Üzerine Etkileri. Ankara Üniv. Zir. Fak. Tarım Bil. Dergisi 7 (3): 81-87.
- Filya İ, Kalkan H, Sucu E (2007). Silaj temeline dayalı rasyonların süt ineklerinin yemden yararlanma düzeyleri üzerine etkisi. Türkiye Süt Sığırcılığı Kurultayı, 330-337, İzmir.
- Gençkan S (1983). Yembitkileri Tarımı. Ege Üniv. Ziraat Fak. Yayınları, No: 467, Bornova-İzmir.
- Guo G, Yuan X, Li L, Wen A, Shao T (2014). Effects of fibrolytic enzymes, molasses and lactic acid bacteria on fermentation quality of mixed silage of corn and hullless-barely straw in the Tibetan Plateau. Japanese Society of Grassland Science, Grassland Science, 60, 240–246.

- Jaakkola S, Huhtanen P, Hissa K (1991). The effect of cell wall degrading enzymes or formic acid on fermentation quality and on digestion of grass silage by cattle. *Grass Forage Sci.* 46: 75–87.
- Jacobs J L, Haines M J, McAllan A B (1992). The Effects of Different Protein Supplements on the Utilization of Untreated, Formic Acid-Treated or Enzyme-Treated Silages by Growing Steer. *Grass and Forage Sci.* 47: 121-127.
- Karakozak E, Ayaşan T (2010). Değişik Yem Bitkileri ve Karışımlarından Hazırlanan Silajlarda İnokulant Kullanımının Flieg Puanı ve Ham Besin Maddeleri Üzerine Etkileri. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 16 (6): 987-994.
- Karayığit İ (2005). Farklı Olgunluk Dönemlerindeki Bazı Melez Mısır (*Zea Mays L.*) Çeşitlerinin Silaj Kaliteleri Üzerine Araştırmalar. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, sayfa :36, Kahramanmaraş.
- Kaya İ, Ünal Y, Aksu Elmalı D (2009). Effects of different additives on the quality of grass silage and rumen degradability and rumen parameters of the grass silage in rams. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 15(1): 19-24.
- Koç F, Coskuntuna L (2003). Silo Yemlerinde Organik Asit Belirlemedeki Farklı Metodun Karşılaştırılması. *Journal of Animal Production.* 44(2): 37-47.
- Kung L (1998). A review on silage additives and enzymes. 59th Minneapolis Nutrition Conference, Minneapolis, MN.
- Kung L Jr, Ranjit N K (2001). The effect of *Lactobacillus buchneri* and other additives on the fermentation and aerobic stability of barley silage. *J. Dairy Sci.* 84:1149-1155.
- Kung L Jr, Shaver R D (2001). Interpretation and Use of Silage Fermentation Analysis Reports. *Focus on Forage* 3(13):1-5. University of Wisconsin.

- Kung L, Tung RS, Maciorowski KG, Buffum K, Knutsen K, Aimutis WR (1991). Effects of plant cell-wall-degrading enzymes and lactic acid bacteria on silage fermentation and composition. *J Dairy Sci*, 74, 4284-4296.
- McDonald P, Henderson A R, Heron S J E (1991). *The Biochemistry of Silage*. Second Edition. 340 p., Chalcombe Publication, Marlow, England.
- Meeske R, Ashbell G, Weinberg Z G, 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.
- MINITAB (2000). Minitab Incorporation. Minitab for Windows, Release 13 for Windows. User's Guide 2-Data Analysis and Quality Tools, Minitab Inc, USA.
- Muck R E (1993). The role of silage additives in making high quality silage. In: *Proc. Nat.*
- Nadeau E M G, Russell J R, Buxton D R (2000). Intake, Digestibility, and Composition of Orchardgrass and Alfalfa Silages Treated with Cellulase, Inoculant, and Formic Acid Fed to Lambs. *J. Animal Sci.*, 78:2980-2989.
- Naumann C, Bassler R (1993). *Die Chemische Untersuchung von Futtermitteln*. VDLUFA-Methodenbuch, Band III. 3. Erg., Verlag Naumann, Melsungen.
- Ohyama Y, Morichi T, Masahi S (1975). The effect of inoculation with *Lactobacillus plantarum* and the addition of glucose at ensiling on the quality of aerated silages. *J. Sci. Food Agric.*, 26: 1001-1008.
- Ozduven M L, Koc F, Polat C, Coskuntuna L (2009). The effects of lactic acid bacteria and enzyme mixture inoculants on fermentation and nutrient digestibility of sunflower silage. *The Journal of the Faculty of Veterinary Medicine University of Kafkas*, 15 (2): 195-199.
- Ozduven M L, Kursun Onal Z, Koc F (2010). The effects of bacterial inoculants and/or enzymes on the fermentation, aerobic stability and in vitro dry and organic

matter digestibility characteristics of triticale silages. The Journal of the Faculty of the Veterinary Medicine University of Kafkas, 16 (5): 751-756.

Özen N, Çakır A, Haşimoğlu S, Aksoy A (1999). Yemler Bilgisi ve Yem Teknolojisi. Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Ders Notları No: 50, Erzurum.

Petterson K (1988). Ensiling of Forages: Factors Affecting Silage Fermentation and Quality, Sveriges Lantbruksuniversitet, 46 p, Uppsala,

Playne MJ, Mc Donald P (1966). The Buffering Constituent of Herbage and of Silage, J. Sci. Food. Agric, 17:264-268.

Polat C, Koç F, Özdüven ML (2005). Mısır Silajında Laktik Asit Bakteri ve Laktik Asit Bakteri+Enzim Karışımı İnokulantların Fermantasyon ve Toklularda Ham Besin Maddelerinin Sindirilme Dereceleri Üzerine Etkileri. Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi, 2(1): 13-22.

Ridla M, Uchida S, 1998. Effects of Combined Treatment of Lactic Acid Bacteria and Cell Wall Degrading Enzymes on Fermentation and Composition of Rhodesgrass (*Chloris gayana* Kunth.) Silage. AJAS 11 (5): 522-529.

Seale DR (1986). Bacterial inoculants as silage additives. J. Appl. Bacteriol.; 61 (Suppl.): 9-26.

Seale DR, Pahlow G, Spoelstra SF, Lindgren S, Dellaglio F, Lowe JF (1990). Methods for The Microbiological Analysis of Silage, Proceeding of The Eurobac Conference, 147. Uppsala.

Serin Y, Tan M (1996). Baklagil Yembitkileri. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fak. Ders Yayınları No: 190, Erzurum.

Sheperd AC, Maslanka M, Quinn D, Kung L (1995). Additives Containing Bacteria and Enzymes for Alfalfa Silage. J. Dairy Sci.,78: 565-572.

Soysal M İ (1998). Biyometrinin Prensipleri (İstatistik I ve II Ders Notları), Yayın No:95, Ders Kitabı No:64, T.Ü. Tekirdağ Ziraat Fakültesi, s.331, Tekirdağ.

- Sparrow DS, Masiak D T (2004). Forage crop variety trials in the Tanana valley of interior Alaska. AFES Circular, No:125, Alaska, USA.
- Stokes, M.R., (1992). Effects of an enzyme mixture, an inoculant, and their interaction on silage fermentation and dairy production. *J. Dairy Sci.* 75, 764-773.
- Stokes M, Chen J (1994). Effects of an Enzyme-Inoculant Mixture on the Course of Fermentation of Corn Silage. *J. Dairy Sci.*, 77: 3401-3409.
- Tengerdy RP, Weinberg ZG, Szakacs G, Wu M, Linden JC, Johnson DE (1991). Ensiling Alfalfa with Additives of Lactic Acid Bacteria and Enzymes. *J. Sci. Food Agric.*, 55: 215-228.
- TÜİK (2015). Türkiye İstatistik Kurumu, Bitkisel Üretim İstatistikleri. <http://tuikapp.tuik.gov.tr/bitkiselapp/bitkisel.zul>. (Erişim tarihi: 27. Haziran, 2016).
- Turgut L, Yanar M, Kaya A (2006). Farklı Olgunluk Dönemlerinde Hasat Edilen Bazı Fiğ Türlerinin Ham Besin Maddeleri İçeriği ve Bunların in situ Rumen Parçalanabilirlikleri. *Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Derg.* 37 (2):181-186.
- Van Dyke NJ, Anderson PM (2000). Interpreting a Forage Analysis. Alabama Cooperative Extension. Circular ANR-890.
- Van Soest PJ (1994). *Nutritional Ecology of the Ruminant*. 2nd ed., Ithaca, N.Y., Cornell University Press.
- Weinberg ZG, Ashbell G, Azrieli A and Brukental I (1993a). Ensiling Peas, Ryegrass and Wheat with Additives of Lactic Acid Bacteria (LAB) and Cell Wall Degrading Enzymes. *Grass Forage Sci.* 48:70-78.
- Weinberg ZG, Ashbell G, Hen Y, Azrieli A (1993b). The Effect of Applying Lactic Acid Bacteria Ensiling on the Aerobic Stability of Silages. *J. Appl. Bacteriol.*, 75: 512-518.
- Woolford, M.K., KK. Bolsen and L.A. Peart. (1982). Studies on the aerobic deterioration of whole crop cereal silages. *J. Agric. Sci. Camb.* 98: 529.

Yaylak E, Alçiçek A (2003). Sığır besiciliğinde ucuz bir kaba yem kaynağı: Mısır Silajı.
Hayvansal Üretim Dergisi 44 (2): 29-36.

6. ÖZGEÇMİŞ

06.12.1989 tarihinde Ayvalık' da doğdu. İlkokul, ortaokul ve liseyi Ayvalık' da tamamladı. 2008 yılında Namık Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesini kazandı. 2012 yılında Zootekni bölümünden mezun oldu. Ardından 2012 yılında Namık Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootekni bölümünde yüksek lisans eğitimine başladı ve halen yüksek öğrenimine devam etmektedir.