



**T.C.  
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**LAKTİK ASİT BAKTERİ İNOKULANTLARININ MISIR SİLAJININ  
FERMANTASYON ve AEROBİK STABİLİTE ÖZELLİKLERİ ile  
RUMEN EKOLOJİSİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

**Ekin SUCU**

**Prof. Dr. İsmail FİLYA  
(Danışman)**

**DOKTORA TEZİ  
ZOOTEKİNİ ANABİLİM DALI**

**BURSA-2009**


T.C.  
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

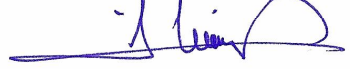
LAKTİK ASİT BAKTERİ İNOKULANTLARININ MISIR SİLAJININ  
FERMANTASYON ve AEROBİK STABİLİTE ÖZELLİKLERİ İLE  
RUMEN EKOLOJİSİ ÜZERİNE ETKİLERİ


Ekin SUCU

DOKTORA TEZİ  
ZOOTEKNİ ANABİLİM DALI

Bu Tez 05/06/2009 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği/oy  
çokluğu ile kabul edilmiştir.

  
Prof. Dr. İsmail FİLYA  
Danışman

  
Prof. Dr. İbrahim AK

  
Prof. Dr. İlhan TURGUT

  
Doç. Dr. Ramazan DOĞAN

  
Yrd. Doç. Dr. Fisun KOÇ

## ÖZET

Bu çalışma, laktik asit bakteri (LAB) inokulantlarının mısır silajının fermantasyon, mikrobiyal yapı, aerobik stabilite ve hücre duvarı bileşenleri ile *in vitro* rumen ekolojisinin bazı özellikleri üzerindeki etkilerini belirlemek amacıyla düzenlenmiştir.

Araştırmada kullanılan mısır hamur olum döneminde (%32.72 kuru madde) hasat edilmiştir. Yaklaşık 2 cm boyutunda parçalanmış olan materyal LAB inokulantları ile muamele edilerek, 1.5 L' lik laboratuvar (Weck, Wehr-Oflingen, Germany) silolarına silolanmıştır. Silaj katkı maddesi olarak, 6 homofermantatif, 2 heterofermantatif ve 1 homofermantatif+heterofermantatif LAB olmak üzere 9 farklı inokulant kullanılmıştır. İnokulantlar parçalanmış taze materyale  $10^6$  cfu/g düzeyinde katılmışlardır. Sonuçta 10 uygulama (kontrol + 9 LAB ), 4 farklı açım dönemi (2., 4., 8. ve 60. gün) ve 3 paralelden oluşan toplam 120 (10x4x3) silo silaj hazırlanmıştır. Her uygulama için 3' er silo, silolamanın 2., 4., 8. ve 60. günlerinde açılarak, kimyasal ve mikrobiyolojik analizler yapılmıştır. Silolama döneminin sonunda (60. gün) açılan silajlara 5 gün süre ile aerobik stabilite testi uygulanmış ve silajların *in vitro* gaz üretim değerleri, rumen uçucu yağ asitleri konsantrasyonları ile *in vitro* besin maddeleri sindirilebilirlikleri saptanmıştır.

Mısır silajında kullanılan homofermantatif ve homofermantatif +heterofermantatif LAB inokulantları; suda çözünebilir karbonhidratların etkin kullanımını sağlayarak, ortam pH' sı ile silajların asetik ve bütrik asit konsantrasyonlarını düşürmüşler, laktik asit konsantrasyonlarını ise kontrol grubuna göre önemli düzeyde artırmışlardır ( $P<0.05$ ). Bu silajlarda etkin mikroflora *Lactobacilli* olurken, bu inokulantlar silajların maya içeriklerini kontrol grubu ve diğer silajlara göre artırmışlar, küf gelişimini ise tamamen engellemişlerdir. Aerobik dönemde (65.gün) ise homofermantatif LAB silajlarda CO<sub>2</sub> üretimini artırmışlar ve aerobik stabiliteyi kontrol grubu ve diğer silajlara göre önemli düzeyde düşürmüşlerdir ( $P<0.05$ ). Homofermantatif+heterofermantatif LAB ise kontrol grubuna göre aerobik stabiliteyi etkilemezken ( $P>0.05$ ), homofermantatif LAB' ne göre artırmıştır ( $P<0.05$ ). Heterofermantatif LAB inokulantları; ortam pH' sını, silajların asetik asit konsantrasyonlarını ve kuru madde kayıplarını artırmışlar, suda çözünebilir karbonhidrat, bütrik asit ve etanol konsantrasyonlarını ise kontrol grubuna göre önemli düzeyde düşürerek, daha az laktik asit üretmişlerdir ( $P<0.05$ ). Bu inokulantlar silajların *Lactobacilli* içeriklerini kontrol grubuna göre düşürürlerken, maya ve küf gelişimini tamamen engellemişlerdir. Aerobik dönemde ise CO<sub>2</sub> üretimini diğer silajlara göre önemli düzeyde düşürerek, aerobik stabiliteyi geliştirmişlerdir ( $P<0.05$ ). İnokulantların hiçbirisi silajların kuru madde, ham protein, ham kül ve amonyak azotu konsantrasyonu ile hücre duvarı bileşenlerini etkilememiştir ( $P>0.05$ ).

Homofermantatif LAB inokulantları; rumen ekolojisine ait parametrelerden *in vitro* gaz üretim değerini (P1132™ ve *Lactobacillus pentosus*), rumen uçucu yağ asitleri (*L. plantarum* MTD1 ve *L. pentosaceus*) ile gerçek kuru madde (*L. plantarum* MTD1), organik madde (P1132™) ve nötr deterjanda çözünmeyen lif sindirilebilirliklerini (*L. plantarum* MTD1 ve *L. pentosus*) kontrol grubuna göre önemli düzeyde artırmışlardır ( $P<0.05$ ). Homofermantatif+heterofermantatif ve heterofermantatif LAB inokulantları ise genel olarak söz konusu parametreleri etkilememişlerdir ( $P>0.05$ ).

**Anahtar Kelimeler:** Katkı maddesi, laktik asit bakteri inokulantları, mısır silajı, fermantasyon, mikrobiyal yapı, aerobik stabilite, hücre duvarı bileşenleri, *in vitro* sindirilebilirlik, rumen ekolojisi

## ABSTRACT

This study was conducted to evaluate the effects of lactic acid bacterial (LAB) inoculants on the fermentation, microbial structure, aerobic stability, cell wall components and some of the rumen ecology parameters of maize silage.

Maize was harvested at dough stage of maturity (32.72% dry matter). Plant was chopped approximately 2 cm after harvest then treated with LAB inoculants and were ensiled in 1.5-L (Weck, Wehr-Oflingen, Germany) laboratory silos. Six homofermentative, 2 heterofermentative and 1 homofermentative +heterofermentative LAB inoculants were used as silage additives. The inoculants were applied at  $10^6$  cfu/g chopped fresh material. As a result, 10 treatment (control, 9 LAB), 4 opening period (2., 4., 8. and 60. days), 3 parallel, total 120 (10x4x3) silo were ensiled. Three silo per treatment were sampled on 2., 4., 8. and 60. days to evaluate the chemical and microbiological analysis. At the end of the ensiling period (60. day) the silages were subjected to an aerobic stability test, lasting 5 days. Furthermore, *in vitro* gas production values, rumen volatile fatty acid concentrations and *in vitro* nutrient digestibilities of maize silage were also determined.

Homofermentative and homofermentative+heterofermentative LAB inoculants; decreased silage pH, water-soluble carbohydrates, acetic and butyric acid concentrations, but increased lactic acid concentration when compared to the control or other inoculated silages ( $P<0.05$ ). In these silages dominant microflora was *Lactobacilli*. Besides, both inoculant groups inhibited mould growing but increased yeast population of the silages. In the aerobic period of the experiment (65 day), homofermentative LAB inoculants produced significantly more  $CO_2$  than the other silages, as a result they impaired aerobic stability of maize silage ( $P<0.05$ ). On the other hand homofermentative+heterofermentative LAB inoculants did not affect aerobic stability compared to control silage ( $P>0.05$ ) but they increased aerobic stability compared with homofermentative LAB inoculants ( $P<0.05$ ). Heterofermentative LAB inoculants; increased silage pH, acetic acid concentrations and dry matter losses compared to the other silages. In contrast, they decreased water-soluble carbohydrates, butyric and lactic acid concentrations compared with the others ( $P<0.05$ ). These inoculants also depressed *Lactobacilli*, yeast and moulds populations in maize silage. In the aerobic period of the experiment, heterofermentative additives produced significantly less  $CO_2$ , as a result they were found more stable to aerobic exposure than the other silages ( $P<0.05$ ). None of the inoculants had effected dry matter, crude protein, crude ash, ammonia nitrogen and cell wall contents of the silages when compared to control silage ( $P>0.05$ ).

Inoculation with homofermentative LAB enhanced rumen ecology parameters such as *in vitro* gas production (P1132<sup>TM</sup> and *Lactobacillus pentosus*), rumen volatile fatty acids (*L. plantarum* MTD1 and *L. pentosaceus*) and true dry matter (*L. plantarum* MTD1), organic matter (P1132<sup>TM</sup>), neutral detergent fiber digestibilities (*L. plantarum* MTD1 and *L. pentosus*) of maize silage according to control silage ( $P<0.05$ ). In contrast homofermentative+ heterofermentative and heterofermentative LAB inoculants generally did not lead to any difference on these parameters ( $P>0.05$ ).

**Key Words:** Silage additive, lactic acid bacterial inoculants, maize silage, fermentation, microbial structure, aerobic stability, cell-wall components, *in vitro* digestibility, rumen ecology

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	iii
ABSTRACT.....	iv
KISALTMALAR DİZİNİ .....	vii
SİMGELER DİZİNİ .....	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
<b>1. GİRİŞ .....</b>	<b>1</b>
<b>2. KAYNAK ÖZETLERİ.....</b>	<b>4</b>
2.1. Laktik Asit Bakterilerinin Morfolojik, Fizyolojik ve Taksonomik Özellikleri.....	4
2.2. Laktik Asit Bakteri İnokulantlarının Gelişimi.....	9
2.3. Laktik Asit Bakteri İnokulantlarının Silaj Fermantasyonu Üzerine Etkileri.....	11
2.4. Laktik Asit Bakteri İnokulantlarının Silajların Mikrobiyolojik Özellikleri Üzerine Etkileri .....	17
2.5. Laktik Asit Bakteri İnokulantlarının Silajların Hücre Duvarı Bileşenleri Üzerine Etkileri .....	22
2.6. Laktik Asit Bakteri İnokulantlarının Silajların Aerobik Stabiliteleri Üzerine Etkileri .....	25
2.7. Laktik Asit Bakteri İnokulantlarının Rumen Ekolojisi Üzerine Etkileri ..	31
2.7.1. Laktik asit bakteri inokulantlarının silajların rumen parçalanabilirlik özellikleri ile hayvanların performansları üzerine etkileri.....	34
<b>3. MATERYAL ve YÖNTEM .....</b>	<b>39</b>
3.1. Materyal .....	39
3.1.1. Silaj materyali.....	39
3.1.2. Hayvan materyali .....	39
3.1.3. Araştırmada kullanılan laktik asit bakteri inokulantları.....	40
3.2. Yöntem .....	41
3.2.1. Silajlarının hazırlanması.....	41
3.2.2. Silajların <i>in vitro</i> gaz üretim değerlerinin belirlenmesi .....	42
3.2.3. Silajların metabolik enerji değerlerinin belirlenmesi.....	44
3.2.4. Silajların <i>in vitro</i> gerçek kuru madde, nötr deterjanda çözünmeyen lif ve organik madde sindirilebilirliklerinin belirlenmesi.....	45
3.2.5. Kimyasal analizler .....	48

3.2.5.1. pH ölçümü.....	48
3.2.5.2. Suda çözünebilir karbonhidrat analizi.....	49
3.2.5.3. Laktik asit analizi .....	50
3.2.5.4. Organik asitler ve etanol analizi .....	51
3.2.5.5. Amonyak azotu analizi.....	52
3.2.5.6. Mikrobiyolojik analizler .....	53
3.2.5.7. Aerobik stabilite testi .....	55
3.2.5.8. Rumen sıvısında uçucu yağ asitleri analizi .....	56
3.2.6. İstatistik analizler.....	57
<b>4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI ve TARTIŞMA.....</b>	<b>58</b>
4.1. Silajların Fermantasyon Özellikleri.....	58
4.1.1. Silajların kimyasal kompozisyonları.....	58
4.1.1.1. Silajların organik asit ve etanol konsantrasyonları .....	66
4.1.2. Silajların mikrobiyal yapıları .....	77
4.2. Silajların Hücre Duvarı Bileşenleri .....	83
4.3. Silajların Aerobik Stabiliteleri.....	87
4.4. İnokulantların Rumen Ekolojisi Üzerine Etkileri .....	93
4.4.1. Silajların <i>in vitro</i> gaz üretim değerleri.....	93
4.4.1.1. Silajların <i>in vitro</i> gaz üretim parametreleri .....	100
4.4.2. Silajların rumen uçucu yağ asitleri konsantrasyonu .....	103
4.4.3. Silajların <i>in vitro</i> besin maddeleri sindirilebilirlikleri .....	110
<b>SONUÇ ve ÖNERİLER .....</b>	<b>116</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>118</b>
<b>TEŞEKKÜR.....</b>	<b>133</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>134</b>

## KISALTMALAR DİZİNİ

AA	: Asetik Asit
ADF	: Asit Deterjanda Çözünmeyen Lif
ADL	: Asit Deterjanda Çözünmeyen Lignin
AOAC	: Association of Official Analytical Chemists
BA	: Bütrik Asit
BBHB	: Büyükbaş Hayvan Birimi
CO <sub>2</sub>	: Karbondioksit, Carbondioxide
GKMS	: Gerçek Kuru Madde Sindirilebilirliği
GOMS	: Gerçek Organik Madde Sindirilebilirliği
hetLAB	: Heterofermantatif Laktik Asit Bakterileri
HK	: Ham Kül
HMS	: Hemisellüloz
hoLAB	: Homofermantatif Laktik Asit Bakterileri
ho+hetLAB	: Homofermantatif ve Heterofermantatif Laktik Asit Bakterilerinin Kombinasyonu
HP	: Ham Protein
HS	: Ham Sellüloz
İBA	: İzobütrik Asit
İVA	: İzovalerik Asit
KM	: Kuru Madde
KMK	: Kuru Madde Kaybı
KMS	: Kuru Madde Sindirilebilirliği
LAB	: Laktik Asit Bakterisi, Lactic Acid Bacteria
ME	: Metabolik Enerji
NDF	: Nötr Deterjanda Çözünmeyen Lif
NDFS	: Nötr Deterjanda Çözünmeyen Lif Sindirilebilirliği
NH <sub>3</sub> -N	: Amonyak Azotu
OM	: Organik Madde
PA	: Propiyonik Asit
PF	: Paylaşım Faktörü
S	: Sellüloz
SÇK	: Suda Çözünebilir Karbonhidratlar
TUİK	: Türkiye İstatistik Kurumu
TUYA	: Toplam Uçucu Yağ Asitleri
UYA	: Uçucu Yağ Asitleri
VA	: Valerik Asit

**SİMGELER DİZİNİ**

$\bar{x}$	: Ortalama
'	: Dakika
"	: Saniye
%	: Yüzde
°	: Derece
°C	: Santigrat derece
$\mu\text{g}$	: Mikrogram
$\mu\text{m}$	: Mikrometre
cfu	: Koloniform ünite
cm	: Santimetre
da	: Dekar
dk	: Dakika
E	: Doğu
g	: Gram
kg	: Kilogram
L	: Litre
M	: Molar
$\text{m}^3$	: Metreküp
mg	: Miligram
MJ	: Mega joule
mL	: Mililitre
mmol	: Milimol
N	: Kuzey, Normalite
nm	: Nano metre
r	: Korelasyon katsayısı
sn	: Saniye



## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Silolama dönemine kadar bitkide bulunan bakteriyal ve fungal popülasyonlar ile miktarları (cfu/g) .....	17
Çizelge 3.1. Araştırmada kullanılan LAB inokulantları .....	40
Çizelge 3.2. Taze materyale uygulanan inokulant miktarları (g) .....	41
Çizelge 3.3. İnokulantların içerdiği canlı mikroorganizma sayısı (cfu/g) .....	53
Çizelge 4.1. Silajların kimyasal kompozisyonları ( $\bar{x}$ ) .....	59
Çizelge 4.2. Silajların organik asit ve etanol konsantrasyonları ( $\bar{x}$ , g/kg KM) ..	67
Çizelge 4.3. Silajların mikrobiyal yapıları* ( $\bar{x}$ , cfu/g) .....	78
Çizelge 4.4. Silajların hücre duvarı bileşenleri ( $\bar{x}$ , %) .....	84
Çizelge 4.5. Silajların aerobik stabilite ölçümleri ( $\bar{x}$ ) .....	87
Çizelge 4.6. Silajların <i>in vitro</i> gaz üretim değerleri (mL) ve rumen pH düzeyleri .....	93
Çizelge 4.7. Silajların <i>in vitro</i> gaz üretim parametreleri ( $\bar{x}$ ) .....	100
Çizelge 4.8. Silajların rumen UYA konsantrasyonu ( $\bar{x}$ ) .....	103
Çizelge 4.9. Silajların <i>in vitro</i> besin maddeleri sindirilebilirlikleri, ME değerleri ve paylaşım faktörü ( $\bar{x}$ ) .....	110

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Embden–Meyerhoff-Parnas yolu.....	5
Şekil 2.2. Glukozun homofermantatif olarak parçalanması.....	6
Şekil 2.3. Glukozun heterofermantatif olarak parçalanması.....	7
Şekil 2.4. Silajlarda yaygın olarak bulunan laktik asit bakteri cinsleri.....	8
Şekil 2.5. Laktik asidin <i>Lactobacillus buchneri</i> tarafından asetik asit ve 1,2-propanediol' e anaerobik olarak parçalanma yolu.....	28
Şekil 2.6. pH regülasyonu sonucu oluşan ruminal fermantasyonun seyri.....	31
Şekil 3.1. Stomacher.....	42
Şekil 3.2. Yapay tükrük çözeltisi.....	43
Şekil 3.3. İnkübasyon ünitesi.....	44
Şekil 3.4. Ankom® DAISY <sup>u</sup> inkübatör.....	45
Şekil 3.5. Sıcak pres.....	46
Şekil 3.6. Ankom® <sup>200/220</sup> Sellüloz Tayin Cihazı.....	47
Şekil 3.7. pH metre.....	49
Şekil 3.8. Spektrofotometre.....	49
Şekil 3.9. Gaz kromatografisi.....	51
Şekil 3.10. Standart kromatogram.....	52
Şekil 3.11. Mikrobiyolojik analiz ünitesi.....	54
Şekil 3.12. Aerobik stabilite testi.....	55
Şekil 4.1. Fermantasyon süresince silajlardaki pH (a), SÇK (b) ve NH <sub>3</sub> -N/TN (c) değişimi.....	60
Şekil 4.2. Fermantasyon süresince silajlardaki laktik (a) ve asetik asit (b) değişimi.....	68
Şekil 4.3. Fermantasyon süresince silajlardaki bütirik asit (a) ve etanol (b) değişimi.....	69
Şekil 4.4. Fermantasyon süresince silajlardaki <i>Lactobacilli</i> (a) ve maya popülasyonu (b) değişimi.....	79
Şekil 4.5. Beş günlük aerobik dönem sonunda silajlardaki pH, CO <sub>2</sub> üretimi ve maya popülasyonu değişimi.....	88
Şekil 4.6. Silajların laktik asit konsantrasyonu (60. gün) ile 5 günlük aerobik dönem sonunda oluşan CO <sub>2</sub> miktarı arasındaki dağılım.....	90
Şekil 4.7. Silajların asetik asit konsantrasyonu (60. gün) ile 5 günlük aerobik dönem sonunda oluşan CO <sub>2</sub> miktarı arasındaki dağılım).....	91
Şekil 4.8. Silajların rumende zamana bağlı <i>in vitro</i> gaz üretim değerleri.....	96
Şekil 4.9. Silajların rumen uçucu yağ asitleri konsantrasyonu.....	104
Şekil 4.10. Silajların <i>in vitro</i> GKM, NDF ve OM sindirilebilirlikleri.....	111

## 1. GİRİŞ

Ülkemiz toplam 31.761.561 küçükbaş, 11.121.458 büyükbaş hayvan varlığına sahiptir (Anonim 2008a). Bu hayvan sayıları 8.960.364 büyükbaş hayvan birimine (BBHB) karşılık gelmektedir. Mevcut büyük ve küçükbaş hayvan varlığına göre, ülkemizin yıllık kaliteli kaba yem ihtiyacı 40 milyon ton/kuru maddedir (KM). Türkiye’ de yıllık üretilen toplam kaba yem miktarı ise 49.4 milyon ton/KM’ dir. Ancak, üretilen kaba yem miktarının %83.6’ sını düşük kaliteli kaba yemler oluşturmaktadır. Bu nedenle mevcut kaliteli kaba yemlerle ülkemizdeki büyük ve küçükbaş hayvanların ihtiyaçlarının karşılanması mümkün değildir. Oysa kaliteli kaba yem üretim ve kullanımının artırılması ile yoğun yem kullanımı azaltılarak, yem giderleri ve üretim maliyetleri düşürülebilir (Filya 2007a, b).

En nitelikli kaba yemlerin başında gelen silo yemleri üretimi ve kullanımı son yıllarda tüm dünyada olduğu gibi Türkiye’ de de önemli bir artış göstermiştir. Nitekim 1997 yılında 1.845.992 ton olan silo yemleri üretimimiz, 2000 ve 2003 yıllarında sırasıyla 3.442.787 ve 4.987.331 tona, 2005 yılında ise 9 milyon tona ulaşmıştır. Ancak hayvan varlığımız dikkate alındığında ulaşılan miktarın halen daha yetersiz olduğu görülmektedir. Diğer yandan ülkemizde üretilen silo yemlerinin kaliteleri oldukça düşüktür (Filya 2007a, b).

Su içeriği yüksek her türlü yeşil yemden silaj yapmak mümkündür. Ancak gerek birim alan veriminin ve besleme değerinin yüksekliği, silaj yapımına uygunluğu, gerekse diğer silajlık ürünlere göre işçiliğinin daha az ve makineli tarıma daha uygun olması gibi nedenlerle mısır dünyadaki en önemli silajlık bitkidir. Bu özelliklerinden dolayı mısır silajı çoğu ülkede süt ineklerinin beslenmesinde kullanılan en önemli kaba yemdir. Nitekim Avrupa’ da toplam silaj üretiminin %32’ sini, Amerika Birleşik Devletleri’ nde ise %52’ sini mısır oluşturmaktadır (Wilkinson ve Toivonen 2003). Ülkemizde de silaj yapımında kullanılan temel bitki mısır olup, 1997 yılında toplam silaj üretimimizin %67.0’

sini, 2000 yılında %74.1' ini, 2003 yılında 84.0' ünü, 2005 yılında ise %87.0' sini mısır oluşturmuştur (Filya 2007a, b).

Mısır silajının kalitesini artırmak ve bozulmadan kaynaklanabilecek kayıpları en aza indirmek için son yıllarda laktik asit bakterilerini (LAB) içeren bakteri kültürleri silaj katkı maddesi olarak kullanılmaya başlanmıştır. Canlı LAB' nin, dondurulmuş kuru ve toz formdaki kültürlerini içeren bu katkıları biyolojik silaj inokulantları olarak kabul edilmektedirler (Pahlow 1986). Bunlar arasında yer alan homofermantatif (<sup>ho</sup>LAB) ve heterofermantatif LAB (<sup>het</sup>LAB) inokulantlarının üretimi, endüstriyel alandaki tekniklerin (Liyofilizasyon/freeze drying) gelişmesi ve kapsamlı cins seçimlerinde sağlanan ilerlemeler sayesinde ticari olarak artmıştır (Robinson ve Mcevoy 1993, Muck 1996). Doğal ürün kategorinde yer alan bu inokulantların kullanımı ise, uygulanmalarının kolay ve güvenli oluşu, toksik etkilerinin olmayışı, silaj yapımında kullanılan makinelerde korozyona sebep olmamaları ve çevre kirliliği yaratmamaları gibi nedenlerle yaygınlaşmıştır. Homofermantatif LAB inokulantları daha çok silaj fermantasyonunu geliştirmek için kullanılırlarken, <sup>het</sup>LAB inokulantları silajların aerobik stabilitesini artırmak için kullanılmaktadırlar (Henderson ve ark. 1990, Weinberg ve Muck 1996).

Söz konusu inokulantlarla yapılan çalışmalar sonucunda hayvanların süt verimi, canlı ağırlık artışı ve yemden yararlanma etkinliği gibi önemli performans kriterlerinde de çeşitli gelişmeler sağlanmıştır (Harrison 1989, Muck 1993, Kung ve Muck 1997, Kung ve ark. 2003). Son yıllarda yapılan çalışmalar, LAB inokulantlarının fermantasyon ve aerobik stabilite özellikleri üzerine olan etkilerinin yanı sıra, hayvanların performanslarında sağlanan artışların nedenleri üzerinde yoğunlaşmış ve bu inokulantların antibakteriyal özellikleri sayesinde, silaj ve rumen ortamında bulunan zararlı mikroorganizmaların gelişimini engelleyerek, hayvanların performanslarında gelişme sağladıkları kaydedilmiştir (Gollop ve ark. 2005). *In vitro* koşullar altında yürütülen bazı çalışmalarda da, LAB' nin rumen sıvısına geçerek

burada yaşamlarını sürdürebildikleri ve bazı özel suşların (*L. plantarum* MTD1) rumen ortamında daha iyi gelişim gösterdikleri gözlenmiştir. Bu sonuçlar aynı zamanda, LAB inokulantlarının rumen uçucu yağ asidi (UYA) profili ile rumen pH'ında bazı değişimler yaratarak, rumen koşullarını etkilediğini de göstermiştir (Weinberg ve ark. 2003, 2004).

Bu çalışma ile LAB inokulantlarının mısır silajlarının fermantasyon, mikrobiyal yapı, aerobik stabilite ve hücre duvarı bileşenleri ile *in vitro* rumen ekolojisinin bazı özellikleri üzerine olan etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Ayrıca söz konusu LAB inokulantlarının mısır silajlarının fermantasyon özellikleri üzerinde yaratacağı etkiler ile *in vitro* koşullar altında belirlenen; gaz üretim değerleri, rumen UYA konsantrasyonları ve besin maddeleri sindirilebilirliklerine ait parametreler üzerinde yaratacağı etkiler arasındaki ilişkiler ortaya konmuştur.

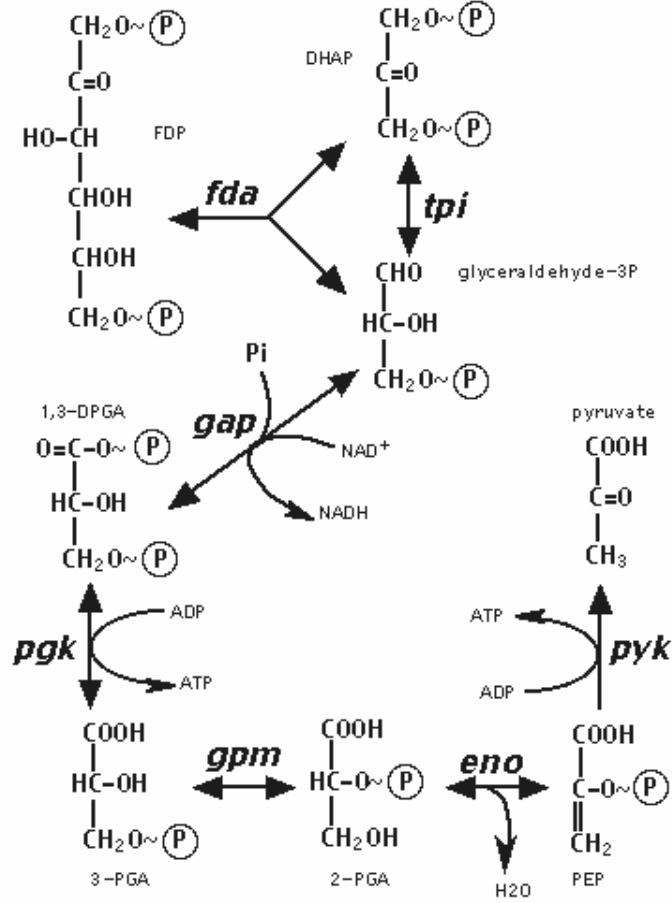
## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

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

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

göstermektedirler (McDonald ve ark. 1991). Pek çoğu et, süt ile hayvan ve bitki gibi doğal ortamlarda bulunurlar (Daeschel ve ark. 1987).

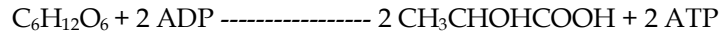
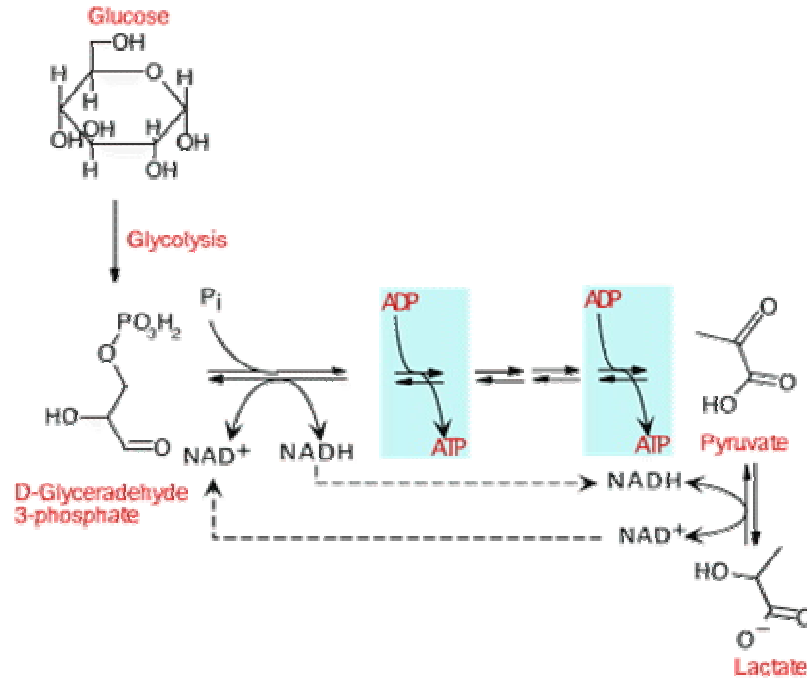
Laktik asit bakterileri gereksinim duydukları enerjiyi sağlamak için daha çok Embden-Meyerhoff-Parnas ile fosfoglukonat/fosfoketolaz glikolik yolunu kullanırlar (Şekil 2.1). Bu yolları izleyerek, pirüvat ve asetil fosfat üretirler. Daha sonra pirüvat, laktat dehidrojenaz ile laktata indirgenir. Asetil fosfat oluşumu ise başlangıç substratına ve redoksa bağlı olarak değişiklik gösterir. Substrat olarak heksoz şekerler fermente edildiğinde asetil fosfat indirgenerek etanol, pentoz şekerler fermente edildiğinde ise asetat oluşur (Pahlow ve ark. 2003).



Şekil 2.1. Embden-Meyerhoff-Parnas yolu (Anonim 2008b)

Kluyver ve Donker (1924) LAB' ni glikoz metabolizması sonucunda ürettikleri son ürüne bağlı olarak iki ana gruba ayırmıştır;

1. Mutlak homofermantatif (fakültatif heterofermantatif) LAB: Bu mikroorganizmalar glikolik yolla heksoz şekerleri laktik aside (>%85) fermente ederlerken, pentoz şekerler (ksiloz) ile glukonatı fermente edemezler. Bu aşamada da fosfoglukonat/fosfoketolaz yolunu kullanamazlar (Şekil 2.2). Bu gruba ait üyeler; *Pediococcus damnosus* ve *Lactobacillus ruminis*' tir (Devriese ve ark. 1992, Hammes ve ark. 1992).



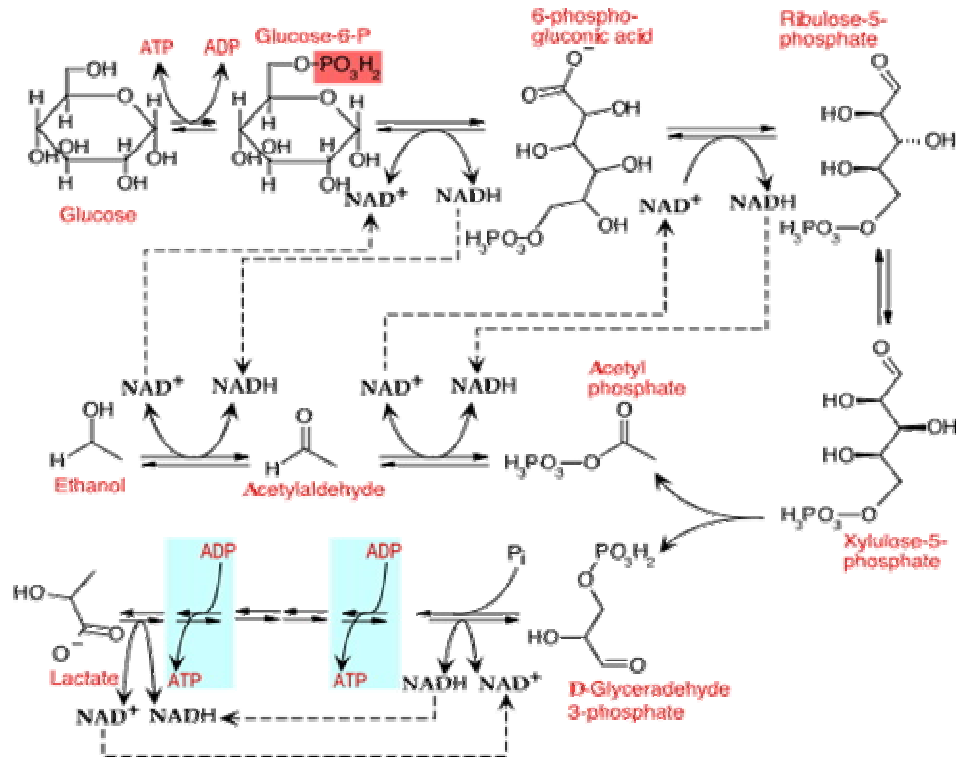
Şekil 2.2. Glukozun homofermantatif olarak parçalanması (Paustian 2000)

Yalnız bazı özel durumlarda (ortamda yeterli şeker olmadığında) fakültatif hetLAB olarak da isimlendirilen bu grupta yer alan mikroorganizmalar heksoz şekerleri laktik asidin yanı sıra CO<sub>2</sub> ve etanole (ya da asetik aside) fermente ederler. Bu aşamada asetik asit ancak NAD<sup>+</sup>' in ortamda yeniden oluşması ile etanol oluşmaksızın ortaya çıkabilir ya da fruktoz ve/veya moleküler oksijenin indirgenmesi sırasında oluşabilir. Ayrıca bu organizmalar



fosfoketolaz yolunu kullanarak pentoz şekerleri de fermente edebilir ve son ürün olarak laktik ve asetik asit üretebilirler. Bu gruba ait en önemli üye *Lactobacillus plantarum*' dur. Ayrıca *L. pentosus*, *Pediococcus acidilactici*, *P. pentosaceus* ve *Enterococcus faecium*' da bu grupta yer almaktadır (Devriese ve ark. 1992, Hammes ve ark. 1992).

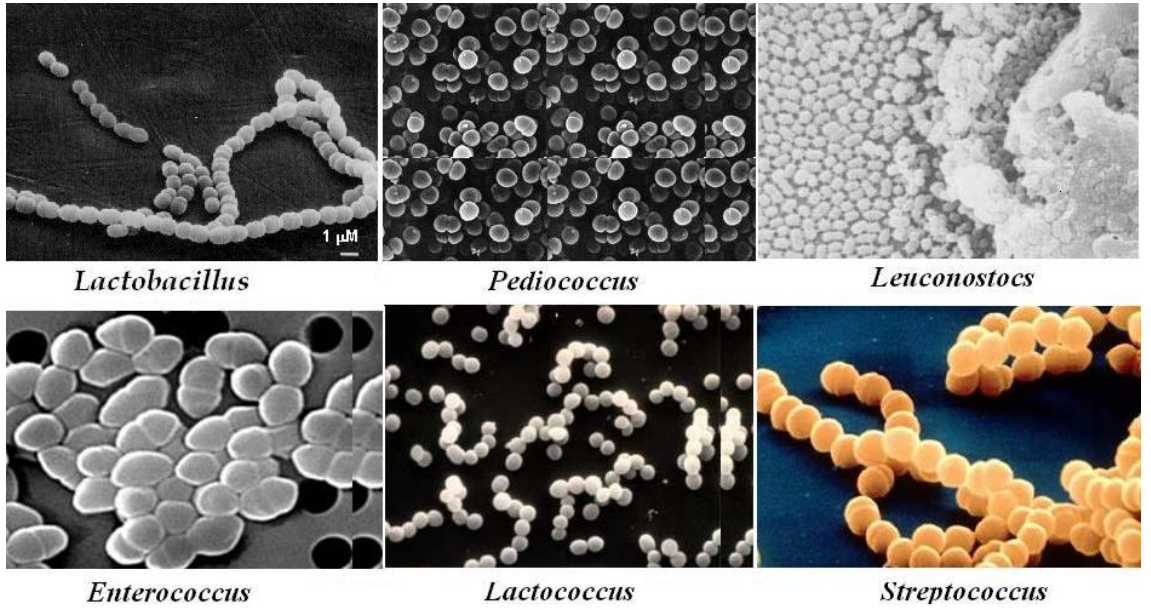
2. Mutlak heterofermantatif LAB: Bu mikroorganizmalarda heksoz şekerleri laktik asidin yanı sıra CO<sub>2</sub> ve etanole ya da uygun elektron alıcısı olduğunda asetik aside (Şekil 2.3), pentoz şekerleri ise sadece laktik ile asetik aside fermente ederler. Bu gruba ait üyeler; *Leuconostoc*, *Lactobacillus brevis*, *L. buchneri* ve bazı *Lactobacillus* spp. türleridir (Holzapfel ve Schillinger 1992, Weiss 1992).



Şekil 2.3. Glukozun heterofermantatif olarak parçalanması (Paustian 2000)

Silajlarda LAB' ne ait en yaygın altı üye tespit edilmiştir. Bunlar; *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus*, *Lactococcus* ve *Streptococcus*' tur (Şekil 2.4). Bunun yanı sıra Cai ve ark. (1998) silajlardan *Wiessella* cinsi yeni bir bakteri izole etmişlerdir.

Laktik asit bakterilerinin diğer üyeleri ise genel olarak farklı ortamlarda meydana gelmekte (örneğin *Carnobacterium*, *Bifidobacterium* ve *Sporolactobacillus*) ve morfolojik olarak *Pediococcus* bağlantılı, küçük alt türleri oluşturmaktadır (*Aerococcus*, *Alloiococcus*, *Tetragenococcus* ve *Atopobium*). Ancak, bu mikroorganizmalar silaj fermantasyonu açısından önem taşımayan cinsler olarak kabul edilmektedirler (Schleifer ve Ludwig 1995).



Şekil 2.4. Silajlarda yaygın olarak bulunan laktik asit bakteri cinsleri (Anonim 2008b)

## 2.2. Laktik Asit Bakteri İnokulantlarının Gelişimi

Laktik asit bakteri inokulantları ile ilgili ilk çalışmalar 1970' lerin sonu ile 1980' lerin başında başlamıştır. Geçmişteki çalışmalarda bu bakterilerin silaj ortamına adapte edilememesi, düşük dozlarda kullanımı ve canlılıklarını korumada bazı sorunlar yaşanması gibi nedenlerle istenilen başarı sağlanamamıştır. Daha sonraları, teknolojiye sağlanan ilerlemeler ve genetik mühendisliği alanındaki gelişmeler ile silolama sürecinin daha iyi anlaşılması bu ürünlerin ticarileştirilmesinde çok önemli katkılar sağlamıştır (Kung ve ark. 2003). İlk silaj inokulantları, hoLAB' nin sadece bir cinsini içermiştir. Yapılan çalışmalar sonucu *L. plantarum*, silaj inokulantı olarak kullanılabilen en uygun LAB olarak belirlenmiş ve gerek tek başına gerekse karışım halinde, hemen hemen tüm ticari bakteri inokulantlarının içerisinde yer almıştır (McDonald ve ark. 1991). *L. plantarum*, bir bakteri kültürünün içermesi gereken çoğu önemli kriteri içermesine rağmen, silolanan materyalin pH' sı 5' in altına düşene kadar oldukça yavaş laktik asit üretir. Bu nedenle çoğu ticari inokulantlar, *L. plantarum*' un yanı sıra fermantasyon döneminin başlarında pH' nın 5.0–6.5 arasında değiştiği sırada aktif olabilecek *Pediococcus* ve/veya *Enterococcus* cinsi bakteri gruplarını da içerirler (Filya 2001).

Laktik asit bakterilerinin silaj inokulantı olarak kullanılabilmesi için sahip olmaları gereken kriterler ilk kez Whittenbury (1961) ile Wieringa ve Beck (1964) tarafından ortaya konmuştur. Bu kriterlere göre, silajlarda kullanılacak LAB' nin silajdaki baskın mikroorganizma faaliyetini artırmaları, homofermantatif nitelikte olmaları, asit ortama tolerans göstermeleri, ortam pH' sını hızla düşürmeleri, çözünebilir karbonhidratları fermente edebilmeleri, organik asitler üzerinde etkili olmamaları, proteolitik etkinlik göstermemeleri ve değişik sıcaklık aralıklarında gelişmeleri gereklidir. Bazı bakteriler bu kriterleri sağlamamasına rağmen silaj inokulantı olarak kullanılmışlardır. Bunlardan *Propionibacteria* ve *L. buchneri* heterofermantatif nitelikteki LAB olmalarına karşın, aerobik stabilitenin geliştirilmesi üzerindeki olumlu

etkilerinden dolayı silaj inokulantı olarak önem kazanmışlardır. Özellikle *L. buchneri*' nin ticari kullanımı, 1995 yılında tanımlanması ve Muck (1996) tarafından yürütülen çalışmalarda kullanılmasını takiben 2001 yılında ABD Gıda ve İlaç İdaresi (US Food and Drug Administration, FDA) tarafından onaylanmasından sonra yaygınlaşmıştır.

Silaj fermantasyonunun doğal dinamizmi, gelecek çalışmalar için de ufuk açmaktadır. Bunlar arasında, aerobik stabiliteyi geliştirmek amacıyla kullanılan küf engelleyicileri (Lowes ve ark. 2000), *Clostridia* gelişimini önlemek için bakteriyofaj uygulamaları (Done 1990), bakteriosin ve antifungal bileşikler üretebilen organizmaların identifikasyonu ya da bu bileşiklerin direkt yedirilerek rumendeki mikrobiyal aktiviteyi olumlu etkilemesi gibi gelişmeler sayılabilir (Ohmomo ve ark. 1999). Ayrıca genetik mühendisliği ve biyoteknoloji alanında sağlanan ilerlemeler sayesinde LAB' ne sellüloolitik ve hemisellüloolitik enzimleri kodlayan genlerin aktarılması ile bitki hücre duvarı polisakkaritlerinden yararlanabilme özelliği kazandırmak da mümkündür. Bu amaçla, rumendeki fungusların fibrolitik enzimlerini (sellülaz, ksilanaz vb.) kodlayan genlerden birinin LAB' ne aktarılarak elde edilen modifiye edilmiş mikroorganizmalar, yasal düzenlemeleri yapıldıktan sonra silaj inokulantı olarak kullanılmaya başlanacaktır (Kung 2002, Kung ve ark. 2003).

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

Silaj fermantasyonu; kontrollü şartların kullanıldığı diğer ticari fermantasyon işlemlerinden farklı olarak, kontrolsüz bir fermantasyon işlemidir. Ayrıca silajlık materyalin kimyasal kompozisyonu değişkendir ve bu da silaj kalitesi üzerinde etkilidir (McDonald ve ark. 1991). Dolayısıyla LAB inokulantları; silajlarda fermantasyonu garanti altına almak, silaj kalitesini artırmak ve silajın daha iyi korunmasını sağlamak amacıyla kullanılmaktadır.

Laktik asit bakteri inokulantlarının mısır silajının fermantasyon özellikleri üzerindeki etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmiştir. Homofermantatif LAB inokulantları silajlarda suda çözünebilir karbonhidratların (SÇK) etkin kullanılmasını sağlayarak; ortam pH' sını, asetik asit, bütrik asit, amonyak azotu (NH<sub>3</sub>-N) ve etanol konsantrasyonlarını düşürür. Bunun yanı sıra laktik asit ve laktik:asetik asit oranını artırarak, yüksek düzeyde enerji ve KM geri kazanımı sağlar (Woolford 1984, McDonald ve ark. 1991). Bu konuda 1990-1995 yılları arasında yapılan ve hoLAB inokulantlarının silaj fermantasyonu üzerindeki etkinliklerinin değerlendirildiği çalışmaların %60' ında silajların laktik:asetik asit oranını artırdıkları (n= 233), %55' inde pH (n= 221) ve NH<sub>3</sub>-N (n= 148) konsantrasyonlarını ise düşürdükleri tespit edilmiştir (Muck ve Kung 1997). Davies (1996) *L. plantarum* MTD1' in silolamanın 100. günündeki mısır silajının pH' sını (3.6), asetik asit (18.3 g/kg KM) ve NH<sub>3</sub>-N (%6.4) konsantrasyonlarını kontrol grubuna göre (pH, 4.3; asetik asit, 20.3 g/kg KM; NH<sub>3</sub>-N, %8.2) önemli düzeyde düşürdüğünü, laktik asit konsantrasyonunu ise (53 g/kg KM) kontrol grubuna göre (48.8 g/kg KM) önemli düzeyde artırdığını belirlemiştir ( $P<0.05$ ). Aynı araştırmacı, *L. plantarum* MTD1' in mısır silajında protein geri kazanımı sağladığını belirterek, ham protein (HP) içeriğini kontrol grubu ve *L. plantarum* MTD1 kullanılan silajlarda sırasıyla 93.2 ve 101.6 g/kg KM olarak saptamıştır ( $P<0.05$ ). Shayan ve ark. (1996) *L. plantarum*+*E. faecium* kullandığı mısır silajının

laktik ve asetik asit konsantrasyonunu sırasıyla 16.4 ve 4.6 g/kg KM olduğunu belirlerken, aynı parametreleri kontrol silajında sırasıyla 13.7 ve 8.3 g/kg KM olarak saptamıştır. Aynı araştırmacılar, *L. plantarum*+*E. faecium*' un (%63.3) mısır silajının HP fraksiyonundaki gerçek protein değerini kontrol grubuna (%47.0) göre önemli düzeyde artırdığını tespit etmişlerdir ( $P<0.05$ ). Bunun nedenini kontrol grubundaki proteolitik bakterilerin yüksek metabolik aktivite göstermesine bağlamışlardır. Filya (2002a) başlangıç pH' sı 5.8 olan mısır bitkisinde (%35.0 KM) *L. plantarum*+*E. faecium* kullanmış ve silolamanın 50. gününde açtığı silajların pH' sını kontrol ve inokulant kullanılan gruplarda sırasıyla 3.6 ve 3.5; başlangıç materyalinde 0.8 olan laktik asidi %4.3 ve 9.4; başlangıç materyalinde hiç bulunmayan asetik asidi %4.3 ve 0; bütrik asidi %4.2 ve 0; etanolü ise %7.3 ve 2.2 olarak saptamıştır. Benzer sonuçlar Johnson ve ark. (2003) ile Kim ve ark. (2005) tarafından yapılan çalışmalarda da elde edilmiştir. Ayrıca bu araştırmalarda *L. plantarum*' un mısır silajının HP içeriğini ve KM geri kazanımını artırdığı da belirlenmiş olup, KM geri kazanımı kontrol ve inokulant kullanılan silajlarda sırasıyla %91.4 ve 95.4 olarak saptanmıştır. Araştırmacılar bu bulguların, tüm silajların hızlı ve tam olarak fermente olduğunu gösterdiğini bildirmişlerdir. Filya ve ark. (2006) mısır bitkisinde (%35.5 KM) *L. plantarum* ile *L. plantarum*+*Pediococcus cerevisiae* kullanmışlar ve silolamanın 50. gününde mısır silajının laktik asit konsantrasyonunu kontrol, *L. plantarum* ve *L. plantarum*+*Pediococcus cerevisiae* gruplarında sırasıyla 55.7, 86.6 ve 87.9 g/kg KM; NH<sub>3</sub>-N konsantrasyonunu 2.76, 1.71 ve 1.77 g/kg KM; SÇK' ları 21.6, 13.6 ve 14.4 g/kg KM olarak saptamışlardır. Bu çalışmalardan farklı olarak Weinberg ve ark. (2007) ise *L. plantarum* MTD1 (29 g/kg KM), *P. pentosaceus* A (35 g/kg KM) ve *E. faecium* Q' nun (37 g/kg KM) mısır silajının laktik asit konsantrasyonunu kontrol grubuna (39 g/kg KM) göre düşürdüğünü; *E. faecium* C' nin (39 g/kg KM) ise etkilemediğini belirlemişlerdir. Bazı <sup>ho</sup>LAB inokulantlarının (13–30 g/kg KM) ise beklenmedik bir şekilde mısır silajının asetik asit konsantrasyonunu kontrol grubuna (11 g/kg KM) göre önemli düzeyde artırdığını da saptamışlardır ( $P<0.05$ ).

Homofermantatif LAB inokulantlarının mısır silajlarının fermantasyon özelliklerini geliştirdiği bilinmekle birlikte, yapılan çalışmalarda bu inokulantların silaj fermantasyonunu etkilemediği de belirlenmiştir (Meeske ve Basson 1998, Ranjit ve Kung 2000). Araştırmacılar bunun nedenini, mısırın silolanabilme özelliğinin iyi olması ve fermantasyon için yeterli düzeyde epifitik LAB popülasyonunu içermesi ile açıklamışlardır. Bolsen ve ark. (1992) *L. plantarum*+*E. faecium*' un mısır silajının fermantasyon özelliklerini etkilemediğini belirterek, silolamanın 120. gününde açtıkları tüm silajların pH' larını 4.14 olarak saptamışlardır. Aynı araştırmacılar, silajların laktik asit konsantrasyonunu kontrol ve inokulant gruplarında sırasıyla %2.67 ve 2.88; asetik asit konsantrasyonunu %0.87 ve 0.89; etanol konsantrasyonunu %0.15 ve 0.21; NH<sub>3</sub>-N konsantrasyonunu tüm silajlarda %0.09 olarak belirlemişlerdir. Ranjit ve Kung (2000) *L. plantarum* 30115 kullandıkları mısır silajının pH' sını, laktik ve asetik asit konsantrasyonlarını sırasıyla 3.68, %7.24 ve %1.68 olarak belirlerlerken, aynı parametrelerin kontrol grubunda sırasıyla 3.66, %7.72 ve %1.82 olduğunu saptamışlardır. Weinberg ve ark. (2002) başlangıç pH' sı 5.7 olan mısır bitkisinde *L. plantarum*' un etkisini 50 L' lik plastik silolarda incelemişler ve silolamanın 90. gününde tüm silajların pH' sını 3.8 olarak belirlemişlerdir. Araştırmacılar mısır silajında laktik asidin kontrol ve inokulant kullanılan gruplarda sırasıyla 25 ve 26 g/kg KM; asetik asidin 10 ve 9 g/kg KM; gaz kayıplarının %1.7 ve 1.5 olduğunu saptamışlardır.

Heterofermantatif LAB inokulantlarının genel olarak silaj fermantasyonunu etkilemediği bildirilmekle birlikte (Ranjit ve Kung 2000, Holzer ve ark. 2003), yapılan bazı çalışmalarda bu inokulantların mısır silajının pH' sını, asetik asit konsantrasyonunu ve KM kaybını artırdıkları, laktik asit konsantrasyonunu ise düşürdükleri belirlenmiştir (Nishino ve ark. 2003, Kleinschmit ve ark. 2005). Driehuis ve ark. (1999) 3 aylık silolama süresi sonunda *L. buchneri*' nin, mısır silajının asetik asit ve 1-propanol konsantrasyonları ile KM kaybını artırdığını, laktik asit konsantrasyonunu ise düşürdüğünü saptamışlardır. Ranjit ve Kung (2000) *L. buchneri* (10<sup>6</sup> cfu/g)

kullandığı mısır silajının laktik ve asetik asit konsantrasyonlarını sırasıyla %7.72 ve 1.88 olarak belirlerken, aynı parametreleri kontrol grubunda sırasıyla %6.35 ve 3.60 olarak saptamışlardır. Nishino ve ark. (2003) fermantasyonun tüm dönemlerinde (10. ve 60. gün) *L. buchneri*' nin mısır silajının asetik asit (%5.27) konsantrasyonunu kontrol grubuna (%2.04) göre artırdığını belirlemişlerdir. Aynı araştırmacılar adı geçen inokulantın mısır silajının laktik asit (%3.73) ve etanol konsantrasyonlarını (%0.65) kontrol grubuna göre (sırasıyla %6.11, 1.68) düşürdüğünü bildirmişler ve aynı inokulantın KM kaybına neden olduğunu belirterek, fermantasyonun 60. gününde KM kaybını kontrol ve inokulant kullanılan silajlarda sırasıyla %4.21 ve 8.08 olarak saptamışlardır. Kleinschmit ve ark. (2005) süt olum döneminde (%25.5 KM) hasat ettikleri mısır bitkisinde *L. buchneri* 40788 ( $4 \times 10^5$  cfu/g) ve *L. buchneri* 11A44 ( $10^5$  cfu/g) içeren iki farklı inokulant kullanmışlardır. Araştırmacılar, silolamanın 122. gününde mısır silajının pH' sını kontrol ve inokulant kullanılan gruplarda (*L. buchneri* 40788 ve *L. buchneri* 11A44) sırasıyla 3.44, 3.50 ve 3.52; laktik asit konsantrasyonunu %8.21, 7.73 ve 7.70; asetik asit konsantrasyonunu %2.19, 2.83 ve 2.47; etanol konsantrasyonunu ise %2.76, 3.09 ve 3.40 olarak saptamışlardır. Filya ve ark. (2006) iki farklı gelişme döneminde (%29 ve 35.5 KM) hasat ettikleri mısır bitkisinde *L. buchneri* ( $10^6$  cfu/g) kullanmışlardır. Araştırmacılar, *L. buchneri*' nin mısır silajının SÇK içeriğini ve  $\text{NH}_3\text{-N}$  konsantrasyonunu etkilemediğini ( $P > 0.05$ ), aynı inokulantın silajların pH, asetik asit ve etanol konsantrasyonları ile gaz kaybını artırdığını, laktik asit konsantrasyonunu ise kontrol grubuna göre önemli düzeyde düşürdüğünü bildirmişlerdir ( $P < 0.05$ ). Kleinschmit ve Kung (2006a) *L. buchneri*' nin kullanıldığı 43 araştırmanın sonucunu meta-analiz yöntemi kullanılarak değerlendirmişler ve araştırmada uygulamaları kontrol ve *L. buchneri*' nin ( $\leq 10^5$  ve  $> 10^5$  cfu/g taze materyal) iki farklı dozu olmak üzere üç farklı kategoride toplamışlardır. Sonuçta, *L. buchneri*' nin ( $\leq 10^5$  ve  $> 10^5$  cfu/g) mısır silajının laktik asit konsantrasyonunu (sırasıyla %5.87 ve 4.79) kontrol grubuna (%6.59) göre düşürdüğünü, ortam pH' sını (sırasıyla %3.75 ve 3.88) ve asetik asit konsantrasyonunu (sırasıyla %2.63 ve 3.89) ise kontrol grubuna



(%2.18) göre önemli düzeyde artırdığını saptamışlardır ( $P<0.01$ ). Bununla birlikte *L. buchneri*' nin KM geri kazanımında düşüşe neden olduğunu, en önemli düşüşün ise *L. buchneri*' nin yüksek dozunda ( $>10^5$  cfu/g) gerçekleştiğini bildirmişler ve silajların KM geri kazanımını kontrol,  $\leq 10^5$  ve  $>10^5$  cfu/g gruplarında sırasıyla %95.5, 95.5 ve 94.5 olarak saptamışlardır. Weinberg ve ark. (2007) kontrol ve *L. buchneri* içeren mısır silajının laktik asit konsantrasyonunu sırasıyla 39 ve 36 g/kg KM; asetik asit konsantrasyonunu 11 ve 29 g/kg KM; etanol konsantrasyonunu 1 ve 4 g/kg KM olarak belirlemişlerdir. Kung ve ark. (2007) yürüttükleri iki farklı denemeden birincisinde *L. buchneri*' nin mısır silajının laktik asit konsantrasyonunu (%0.60) kontrol grubuna (%0.73) göre önemsiz düzeyde düşürdüğünü ( $P>0.05$ ), asetik asit (%0.71), etanol (%0.52) ve  $\text{NH}_3\text{-N}$  (%0.032) konsantrasyonlarını ise kontrol grubuna göre sırasıyla %0.23, 0.36 ve 0.021 önemli düzeyde artırdığını tespit etmişlerdir ( $P<0.05$ ). Aynı araştırmacılar, KM içeriği düşük mısır için en uygun *L. buchneri* dozunu  $6 \times 10^5$  (cfu/g taze materyal) olarak belirlemişler ve yürüttükleri ikinci denemede bu inokulasyon dozundan daha düşük ( $4 \times 10^5$  cfu/g taze materyal) ya da yüksek ( $8 \times 10^5$  cfu/g taze materyal) uygulamalar arasındaki farklılıkları incelemişlerdir. Deneme sonunda, inokulasyon düzeyindeki artışın silajların KM ve HP içeriklerinde doğrusal bir azalmaya neden olduğunu gözlemişlerdir. Diğer çalışmalardan farklı olarak bu araştırmalarında, *L. buchneri*' nin mısır silajının pH' sını (4.81,  $P=0.09$ ) ve SÇK' ları (%0.07,  $P=0.09$ ) kontrol grubuna göre (sırasıyla 4.91 ve %0.14) önemli düzeyde düşürdüğünü, laktik (%0.17,  $P=0.06$ ) ve propiyonik asit konsantrasyonlarını ise (%0.11,  $P=0.10$ ) kontrol grubuna göre (sırasıyla %0.14 ve 0) önemli düzeyde artırdığını da belirlemişlerdir. *Lactobacillus buchneri*' nin propiyonik asit üretmediğini bildiren araştırmacılar, söz konusu artışın sebebini *L. buchneri*' nin fermantasyon ürünü olan 1,2-propanediol' ün başka mikroorganizmalar tarafından propiyonik aside dönüştürülmesi olarak göstermişlerdir.

Homofermantatif ve heterofermantatif LAB' nin karışım ( $ho+hetLAB$ ) olarak kullanımı genel olarak umut verici bulunmakta ve bunların mısır silajlarının fermantasyon özelliklerini geliştirebileceği bildirilmektedir (Muck ve Kung 1997). Chen ve ark. (1994) *L. plantarum+Pediococcus acidilactici'* nin, Filya (2002b) *L. plantarum+E. faecium+P. acidilactici'* nin mısır silajının pH' sını ve etanol konsantrasyonunu düşürdüğünü, laktik asit konsantrasyonunu ise kontrol grubuna göre artırdığını,  $NH_3-N$  ve HP içeriklerini ise etkilemediğini belirlemişlerdir. Filya (2003) *L. plantarum+L. buchneri'* nin çeşitli dönemlerdeki etkisini incelemiş ve fermantasyon süresince ortamda bulunan SÇK' ların tüm silajlarda azaldığını, laktik ve asetik asit konsantrasyonlarının ise arttığını belirlemiştir. Araştırmacı, fermantasyonun 90. gününde mısır silajının pH' sını kontrol ve inokulant gruplarında sırasıyla 3.72 ve 3.80; SÇK' larını %6.75 ve 2.02; laktik asit konsantrasyonunu %4.86 ve 6.18; asetik asit konsantrasyonunu %0.96 ve 3.49;  $NH_3-N$  konsantrasyonunu %0.28 ve 0.24; gaz kaybını ise %1.97 ve 1.45 olarak saptamıştır. Kleinschmit ve Kung (2006b) *P. pentosaceus R1094+L. buchneri 40788'* in silolamanın 14-361 günleri arasındaki etkisini incelemişler ve söz konusu inokulantın fermantasyonun 14. gününde mısır silajının KM geri kazanımı ile laktik asit konsantrasyonunu kontrol silajına göre önemli düzeyde düşürdüğünü ( $P<0.05$ ), diğer dönemlerde ise etkilemediğini tespit etmişlerdir ( $P>0.05$ ). Bunun yanı sıra araştırmacılar, 14. günde mısır silajının KM geri kazanımını kontrol ve inokulant kullanılan silajlarda sırasıyla %96.8 ve 91.5 olarak saptarlarken, silolamanın 56. ve 361. günlerinde aynı inokulantın silajların asetik asit, 1,2-propanediol ve etanol konsantrasyonlarını önemli düzeyde artırdığını, SÇK' ları ise (14-282. gün) kontrol grubuna göre önemli düzeyde düşürdüğünü belirlemişlerdir ( $P<0.05$ ).

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

Silaj kalitesinin, bitkinin içerdiği başlangıç epifitik LAB' nin büyüklüğünden, varyete ve aktivitelerinden etkilendiği bilinmektedir (McDonald ve ark. 1991, Cai ve ark. 1998). Seale ve ark. (1990) bitkide bulunan, bakteriyal ve fungal popülasyonların taksonomik kompozisyonunu standart yöntemler kullanarak belirlemiştir (Çizelge 2.1).

Çizelge 2.1. Silolama dönemine kadar bitkide bulunan bakteriyal ve fungal popülasyonlar ile miktarları (cfu/g)

Bakteriyal ve fungal popülasyonlar	Miktar
Toplam aerobik bakteri	>10 000 000
Laktik asit bakteri	10-1 000 000
<i>Enterobacteria</i>	1 000-1 000 000
Maya ve maya benzeri mantar	1 000-100 000
Küf	1 000-10 000
<i>Clostridia</i> (endosporlar)	100-1 000
<i>Bacilli</i> (endosporlar)	100-1 000
Asetik asit bakteri	100-1 000
Propiyonik asit bakteri	10-100

Epifitik mikrobiyal floranın en önemli üyesi LAB' dir. Bitkideki sayıları geniş sınırlar içerisinde değişim göstermekle birlikte, yoncada  $10^5$  cfu/g, çimde  $10^6$  cfu/g, mısır ve sorgumda  $10^7$  cfu/g düzeyinde bulunmaktadır. Söz konusu bakteri grubu mevsim değişikliklerinden etkilenmekte ve sayıları kış aylarında azalıp, yaz aylarında artmaktadır. Ayrıca hasat zamanı da bitkinin içerdiği LAB popülasyonunu etkilemektedir. Nitekim yoncada LAB popülasyonunun 2. ya da 3. biçimde arttığı, mısırın erkenci çeşitlerinin de daha fazla LAB içerdiği bildirilmektedir (Lin ve ark. 1992). Canlı bitki üzerindeki epifitik LAB popülasyonu düşük olmasına rağmen, bu bakteriler parçalanma sürecinden de etkilenmektedir. Woolford ve Pahlow (1998) bu olguyu "parçalama inokulasyonu (chopper inoculation)" olarak tanımlamaktadırlar. Laktik asit bakterilerinin hasattan hemen sonraki sayılarının, hasat edilmeden önceki sayılarına göre 100 kat, hatta bazen daha fazla arttığı da bildirilmektedir (Pahlow 1991). Epifitik mikrofloranın diğer önemli üyesi *Enterobacteria'* dir.

Bu grup üyeleri nitratları indirgeyip, nitrit ve nitrojen oksit gazlarını oluşturmaktadır (Pahlow ve ark. 2003). *Enterobacteria'* nın diğer üyelerinden *Clostridia* ve *Bacilli* ise bitki üzerinde nadir bulunsa da toprak kontaminasyonu ile sayıları artmaktadır. Ayrıca *Bacilli* diğer aerob bakteriler gibi aerobik bozulma üzerinde de etkili olmaktadır. Çoğu zaman, parçalanmamış bitkide hatta silaj yapıldıktan sonra da aynı bakteriyel gruplardan mayaların varlığı da tespit edilmiştir (kuvvetli aerob olanlar hariç). Tarla üzerindeki üründe çok sayıda maya varyetesine rastlanırken, silajda sınırlı sayıda gelişim gösterdikleri kaydedilmiştir. Ancak daha sonraki yıllarda bilinen varyetelere ilave olan *Candida*, *Hansenula*, *Pichia*, *Geotrichum* ve *Saccharomyces'* ler ile bunlardan daha sonra tanımlanan *Debaromyces*, *Trichosporon* ve *Guilliermondella'* nın fermantasyonun ilerleyen safhalarında dominant hale geldiği, genellikle aerobik koşullarda gelişebildiği ve toplam mikrofloranın %10' undan az bir kısmını oluşturduğu belirlenmiştir (Middelhoven ve van Baalen 1988, Woolford 1990). Aynı durum küfler içinde geçerlidir. Flamentöz mantarlar bütün karma mikrobiyal popülasyonlarda olduğu gibi, bazı türleri düşük pH' da ve oksijen varlığında da gelişebilmekte, yüksek CO<sub>2</sub> ile organik asit konsantrasyonuna diğerlerinden daha iyi adapte olabilmektedirler. Bu nedenle, Pelhate (1977) küflerin aerobik, tolerant (toleranslı) ve mikroaerofilik türler olmak üzere üç ekolojik kategoriye ayrılmasını önermiştir. Araştırmacı, silaj ortamında *Bysochlamys nivea*, *Monascus ruber* veya *Penicillium roqueforti* gibi sadece depolamanın son aşamalarına doğru siloya oksijen girmesiyle ile dominant hale gelebilecek tolerant küf türlerine rastlamıştır. Bu grupların dışında daha az öneme sahip olan asetik ve propiyonik asit bakteri de epifitik mikrofloranın üyelerindedir. Asetik asit bakterileri daha çok mısır silajında olmak üzere, aerobik bozulmaya sebep olan bakteri türüdür (Spoelstra ve ark. 1988). Propiyonik asit bakterileri ise silaj fermantasyonu ve saklama dönemlerinde bozulmadan sorumlu bakteri grubunu oluşturmaktadır (Pahlow ve Honig 1994).

Sonuç olarak; silaj fermantasyonundaki temel prensip, silaj ortamında yeterli sayıdaki LAB' nin gelişmelerini sağlamak ve istenmeyen epifitik mikroorganizmalar ile bitkide bulunan endojen katabolik enzimlerin aktivitelerini engellemektir (McDonald ve ark. 1991). Çünkü silolanan bir materyal LAB' nin ürettiği laktik asit tarafından korunur (McDonald ve ark. 1991, Filya 2001). Ancak bitkiler istenen (LAB) ve istenmeyen mikroorganizma popülasyonlarının (*Enterobacteria*, maya ve küfler, *Clostridia*, *Bacillus* türleri, asetik ve propiyonik asit bakterileri) her ikisini de içermektedir. Silajlık materyalin ya da silo ortamının uygun olmaması durumunda *Enterobacteria*, *Clostridia* ve *Bacilli* sporları ile maya ve küfler fermantasyona katılır. Bu mikroorganizmalar bitkideki fermente olabilir karbonhidratları kullanabilmek için LAB' i ile rekabete girerler. Silaj ortamında bu tür mikroorganizmaların baskın gelmeleri durumunda, fermantasyon istenmeyen yönde ilerler ve silaj kalitesini düşüren bazı ürünler (bütrik asit, NH<sub>3</sub> ve etanol vb) açığa çıkar (Woolford 1984). Ayrıca silolanacak materyalin başlangıç epifitik LAB popülasyonu genellikle düşüktür ve bu bakterilerin büyük çoğunluğunu LAB' i oluşturur (Cai ve ark. 1998). Dolayısıyla LAB inokulantlarının kullanım amacı, silaj ortamında LAB popülasyonunu artırarak laktik asit üretimini teşvik etmek ve ortam pH' sının hızla düşmesini sağlamaktır. Böylece *Enterobacteria*, maya ve küfler, *Clostridia*, *Bacillus* türleri, asetik ve propiyonik asit bakterileri gibi silaj fermantasyonu açısından istenmeyen mikroorganizmaların gelişimi engellenerek, silajların besleme değerleri korunmaktadır (Bolsen ve ark. 1992).

Laktik asit bakteri inokulantlarının silajların mikrobiyal yapıları üzerindeki etkilerinin incelendiği araştırmalardan değişik sonuçlar alınmıştır. Homofermantatif LAB inokulantlarının mısır silajının *Lactobacilli* popülasyonunu genellikle artırdığı (Muck 1993, Weinberg ve ark. 1993, Filya 2001), maya ve küf popülasyonunu bazen düşürdüğü (Filya 2002a), bazen etkilemediği (Filya 2002a, b), bazen ise artırdığı bildirilmektedir (Weinberg ve ark. 1993, Kleinschmit ve ark. 2005). Diğer yandan bu inokulantların

*Enterobacteria* ve *Clostridia* gelişimini önemli düzeyde engellediği de belirtilmektedir (Filya 2002a, b). Weinberg ve ark. (1993) *L. plantarum*+*E. faecium* kullandıkları çalışmalarında, mısır silajının *Lactobacilli* popülasyonunu kontrol ve inokulant kullanılan silajlarda sırasıyla 4.0 ve 5.5 cfu/g; maya popülasyonunu 4.7 ve 5.4 cfu/g; küf popülasyonunu ise 0 ve 5.0 cfu/g olarak belirlemişlerdir. Davies (1996) *L. plantarum*' un mısır silajının maya ve küf popülasyonunu düşürdüğünü belirterek, silolamanın 100. gününde kontrol silajının maya ve küf içeriğini sırasıyla 3.11 ve 2 cfu/g, aynı mikrobiyal yapıyı *L. plantarum* kullanılan silajlarda sırasıyla 1.26 ve 0 cfu/g olarak saptamıştır. Filya (2003) taze mısırın *Lactobacilli*, maya ve küf popülasyonunu sırasıyla 3.86, 4.06 ve 2.58 cfu/g olarak belirlemiş ve fermantasyonun 2. gününden itibaren söz konusu mikroorganizmaların artış gösterdiğini, fermantasyonun 90. gününde en yüksek değerlerine ulaştığını tespit etmiştir. Araştırmacı, *L. plantarum*' un mısır silajının *Lactobacilli* (10.40 cfu/g) ve maya popülasyonunu (4.45 cfu/g) artırdığını, küf popülasyonunu ise (3.08 cfu/g) kontrol silajına göre (sırasıyla 8.35, 3.86 ve 3.26 cfu/g) düşürdüğünü belirlemiştir.

Heterofermantatif LAB inokulantları mısır silajının asetik asit konsantrasyonunu artırmakta, asetik asit ise maya ve küflerin gelişmesini büyük ölçüde engellemektedir (Holzer ve ark. 2003, Kleinschmit ve ark. 2005). Taylor ve Kung (2002) silolamanın 92. gününde mısır silajının, maya popülasyonunu kontrol ve *L. buchneri* ( $10^6$ ) kullanılan silajlarda sırasıyla 3.25 ve 2.56 cfu/g olarak saptamışlar ve bu silajlarda hiç küf oluşmadığını bildirmişlerdir. Kleinschmit ve ark. (2005) *L. buchneri* 40788 (3.70 cfu/g) ve *L. buchneri* 11A44' ün (<2.00 cfu/g) mısır silajının maya popülasyonunu kontrol silajına (4.43 cfu/g) göre düşürdüğünü belirlemişlerdir. Kung ve ark. (2007) taze mısırın LAB, maya ve küf popülasyonunu sırasıyla 4.64, 3.52 ve 3.34 cfu/g olarak saptadıkları araştırmalarında, *L. buchneri*' nin ( $8 \times 10^5$  cfu/g taze materyal) mısır silajının LAB popülasyonunu arttırdığını, maya ve küf popülasyonunu ise düşürdüğünü belirlemişler ve silolamanın 120. gününde silajların LAB popülasyonunu kontrol ve inokulant kullanılan silajlarda sırasıyla 7.47 ve 8.7

cfu/g; maya popülasyonunu 7.29 ve 5.85 cfu/g; küf popülasyonunu ise 6.05 ve 4.88 cfu/g olarak saptamışlardır. Weinberg ve ark. (2007) *L. buchneri* 40788' in mısır silajının LAB popülasyonunu (3.5 cfu/g) düşürdüğünü, *L. buchneri* 11A44' ün ise LAB popülasyonunu (5.3 cfu/g) kontrol silajına (4.2 cfu/g) göre artırdığını belirlemişlerdir.

Homofermantatif+heterofermantatif LAB inokulantları kullandıkları silajların *Lactobacilli* popülasyonunu artırmakta, silaj ortamında istenmeyen mikroorganizma popülasyonlarını (maya, küf, *Enterobacteria* ve *Clostridia* vb) ise engellemektedirler (Contreras-Govea ve ark. 2009). Filya (2003) ile Filya ve ark. (2004a) *L. plantarum*+*L. buchneri* kombinasyonu kullandıkları çalışmalarında, söz konusu kombinasyonun mısır silajının *Lactobacilli* popülasyonunu artırdığını; küf, *Enterobacteria* ve *Clostridia*' ların gelişimini ise engellediğini bildirmişlerdir. Bahsedilen araştırmacıardan Filya (2003) *L. plantarum*+*L. buchneri* kullandığı mısır silajının *Lactobacilli*, maya ve küf popülasyonunun sırasıyla 8.35, <2 ve <2 cfu/g olduğunu belirlerken, aynı mikrobiyal yapının kontrol grubunda sırasıyla 8.66, 3.86 ve 3.26 cfu/g olduğunu saptamıştır. Weinberg ve ark. (2002) taze mısırın *Lactobacilli*, maya ve küf popülasyonunu sırasıyla 5.3, 5.9 ve 3.0 cfu/g olduğunu belirledikleri araştırmalarında, *L. plantarum*+*L. buchneri*' nin mısır silajının *Lactobacilli* (6.5 cfu/g), maya (<2 cfu/g) ve küf (3.2 cfu/g) popülasyonlarını kontrol grubuna (sırasıyla 7.9, 2.7 ve 3.8 cfu/g) göre düşürdüğünü saptamışlardır. Kleinschmit ve Kung (2006b) *P. pentosaceus* R1094+*L. buchneri* 40788 kullandıkları çalışmalarında, söz konusu inokulantın silolamanın 42., 56., 70. ve 282. günlerinde mısır silajının maya içeriğini diğer silajlara göre düşürdüğünü belirlemişlerdir.

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

Homofermantatif LAB inokulantlarının silajların hücre duvarı bileşenleri (sellüloz, hemisellüloz, lignin) üzerinde etkisi ya hiç yoktur ya da bu etki çok düşüktür (Kung ve Muck 1997). Bu inokulantların hücre duvarını oluşturan polisakkaritler üzerindeki etkileri (özellikle hemisellülozun asit hidrolizi) dolaylıdır ve ortam pH' sını hızla düşürmeleri ile hidrojen iyonlarındaki artış bu etkiyi yaratır (Rook ve Hatfield 2003). Muck (1993) LAB inokulantlarının, pH' yı hızla düşürerek, hücre duvarı fraksiyonlarını açtığını ve hemisellülozun hidrolizini sağlayan ek bir asit ürettiğini bildirmiştir. Ranjit ve Kung (2000) tarafından yürütülen bir araştırmada da, bu görüşü destekler nitelikte sonuçlar alınmış ve *L. plantarum* 30115' in (<sup>ho</sup>LAB) mısır silajının nötr deterjanda çözünmeyen lif (NDF) içeriğini önemli düzeyde düşürdüğü ( $P<0.05$ ), ancak gözlenen bu azalmanın asit deterjanda çözünmeyen lif (ADF) içeriğinde önemsiz olduğu belirlenmiştir ( $P>0.05$ ). Aynı araştırmacılar, taze mısırın NDF ve ADF içeriğinin sırasıyla %48.8 ve 26.7 olduğunu belirlemişler ve mısır silajının NDF içeriğini kontrol ve inokulant gruplarında sırasıyla %46.2 ve 43.0, ADF içeriğini ise %26.5 ve 24.6 olarak saptamışlardır. Diğer yandan LAB inokulantlarının hücre duvarı bileşenlerini etkilemediğini gösteren çalışmalara da rastlanmıştır (Kung ve ark. 1993, Filya 2002a, Kleinschmit ve ark. 2005, Kleinschmit ve Kung 2006b).

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



Carpita 1997). Laktik asit bakterilerinin hücre duvarını oluşturan polisakkaritleri parçalayamadıkları bilinmekle birlikte son yıllarda *L. buchneri*, *L. reuteri*, *L. crispatus* ve *L. brevis* gibi bazı özel <sup>het</sup>LAB suşlarının ferulate esteraz ürettiği kaydedilmiştir. Ferulate esterazın hücre duvarı kapsamını azaltabildiği, bu sayede silaj bünyesindeki çözünebilir karbonhidratların miktarının arttığı ve çözünebilir karbonhidratlardaki bu artışın ise silaj fermantasyonunda kullanılabilecek ilave substrat sağladığı bildirilmektedir. Ancak ileri sürülen bu yeni yaklaşımın desteklenmesi için daha fazla çalışmanın yapılması gerektiği de ifade edilmektedir (Nsereko ve ark. 2008).

Diğer yandan hemisellülozların asit hidrolizi yavaş seyreden bir kimyasal parçalanmadır. Doğal silaj fermantasyonunda NDF içeriğindeki azalmanın %0.5' ten bile düşük seviyelerde gerçekleştiği bildirilmektedir (Muck 1996). Şayet silolanacak bitki sınırlı düzeyde SÇK içeriyorsa, yapısal karbonhidratların LAB tarafından fermente edilebilir forma dönüştürülebilmeleri için yüksek hidrolitik aktivite gereklidir. Bu da ancak ticari enzim preparatlarının kullanımı ile gerçekleştirilebilir. Ayrıca polisakkaritlerin hücre matriksindeki kompleks yapılarından dolayı LAB' nin kullanabileceği monosakkarit formuna dönüştürülebilmeleri için tek bir enzim katılmasının da yeterli olmayacağı bildirilmektedir (Rook ve Hatfield 2003).

Enzim kullanımının ekonomik olmadığı durumlarda *L. amylovorus* elde edilen  $\alpha$ -amilaz geninin ya da rumendeki fungusların fibrolitik enzimlerini (sellülaz, ksilanaz vb.) kodlayan genlerden birinin *L. plantarum'* a klonlanmasıyla elde edilen modifiye organizmalardan da yararlanmanın mümkün olabileceği belirtilmektedir (Fitzsimons ve ark. 1994, Kung ve ark. 2003). Yapılan çalışmalarda, bu organizmaların genellikle baklagiller ile ılıman iklim çayır otu silajlarında, kullanılabilir karbonhidrat içeriğini basit şekerler ve sukroz yönünden artırmak suretiyle, silaj fermantasyonunda yarar sağladığını göstermektedir (Fitzsimons ve ark. 1994).

İnokulant etkisi dışında da, silolama süresinin uzamasına bağlı olarak, süre gelen asidik koşullar silajların hücre duvarı fraksiyonlarını azaltabilmektedir (Muck 1996). Jones ve ark. (1992) baklagil ve çayır otu silajlarında yürüttükleri çalışmalarında, silolama süresinin uzamasına bağlı olarak, silajların pektik ve hemisellülotik fraksiyonlarında önemli sayılabilecek bir azalmanın meydana geldiğini saptamışlardır. Araştırmacılar, söz konusu değişimin arabinozal kalıntılar biçimde gerçekleştiğini belirterek, arabinozal dalların furanoz formda bulduklarını ve bu dalların zayıf asitlere bile açık olduğunu bildirmişlerdir.

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

Aerobik stabilite (silo ömrü), açılan bir silajın ısınmadan ve bozulmadan kaldığı sürenin uzunluğudur (Kung 1998). Aerobik bozulma kompleks bir süreç olup, silolanan ürünün mikrobiyal bileşimi, fermantasyon özellikleri, silaj kütesinin sıcaklığı ve silaj yoğunluğu oluşabilecek kayıpları etkilemektedir (Ohyama ve ark. 1975).

Aerobik bozulma üzerinde etkili olan mikroorganizmaların başında maya ve küfler gelmektedir (McDonald ve ark. 1991). Bu mikroorganizmalar silajdaki şekerleri ve laktik asit gibi fermantasyon ürünlerini tüketerek, büyük miktarlarda KM ve besin maddeleri (vitamin, protein ve karbonhidrat) kaybına neden olurlar. Aynı zamanda silajın lezzetini azaltarak yem değerini de değiştirirler (Sclatter ve Smith 1999). Mayalar, iyi fermente olmuş silajlarda 10 cfu/g, bozulmuş silajlarda ise  $10^{12}$  cfu/g' a kadar değişen düzeylerde bulunabilirler (Middelhoven ve van Baalen 1988). Daniel ve ark. (1970) maya popülasyonu  $10^6$  cfu/g olan silajların, aerobik bozulmaya açık silajlar olduğunu bildirmişlerdir. Bazı küf türleri mikotoksin ve diğer toksik bileşikler üretebilirler. Silajlardaki besin maddeleri kaybı ve mikotoksin oluşumu, silajın gerek ekonomik değerini gerekse besleme değerini düşürür. Bu tip silajlar hayvanların yem tüketimini azaltır, besin maddelerinin sindirilebilirliğini olumsuz yönde etkiler, emilimi düşürür ve toksik etki yaratabilir (Sclatter ve Smith 1999).

Silajların aerobik olarak bozulmasından özellikle maya ve küf gibi mikroorganizmalar sorumlu olurken, aerobik olarak bozulmuş silajlardaki kimyasal, fiziksel ve mikrobiyal değişiklikler, bakterilerin de bozulmadan sorumlu mikroorganizmalar olabileceğini göstermiştir (Woolford ve ark. 1982). Spoelstra ve ark. (1988) aerobik bozulmaya asetik asit bakterilerinin de sebep olduğunu bildirmişlerdir. Barry ve ark. (1980) ise yemleme döneminde bozulmaya sebep olan mikroorganizmaların aside dayanıklı aerobik bakteriler

olduğunu belirtmişlerdir. Diğer yandan kötü fermente olmuş silajlarda görülen *Listeria* gibi patojenik bakteriler ile *Clostridium botulinum*, *C. butyricum* ve *C. tyrubutyricum* gibi spor oluşturan bakteriler de silajların hijyenik kalitesini etkiler ve besleme değerini önemli ölçüde düşürürler (Wilkinson 1999). Bu mikroorganizmalardan *C. botulinum*, botulinum toksini üretir. Söz konusu toksin doğada bulunan en güçlü nörotoksindir ve kaslarda felçlere neden olur (Adams ve Moss 2000). Ayrıca *C. butyricum* ve *C. tyrubutyricum*' un silajlarda bulunması, süt ve süt ürünlerinin kalitesini de düşürmektedir (Klijn ve ark. 1995).

Aerobik bozulma üzerinde silajların fermantasyon özellikleri de etkilidir. Silaj bünyesinde kullanılmadan kalan şekerler ile yüksek düzeyde oluşan laktik asit, aerobik stabiliteyi düşürmektedir. Bazı maya ve küfler artan şekerler ile laktik asidi besin maddesi olarak kullanıp silajlarda CO<sub>2</sub> üretimine yol açmakta, bunun sonucunda ortam pH' sında ve sıcaklığında artış meydana gelmektedir (Ashbell ve ark. 1991). Dawson ve ark. (1990) aerobik mikroorganizmaların besin maddelerini metabolize etmeleri sonucunda siloda oluşan sıcaklık ve pH artışını "aerobik instabilite" olarak tanımlamaktadır.

Aerobik stabilite üzerinde etkili diğer bir faktör de çevre sıcaklığıdır. Yüksek sıcaklık (35–45°C) mikrobiyal aktiviteyi teşvik ederek, silajın hızlı bir şekilde bozulmasına neden olur (Uriarte 2001). Dolayısıyla sıcak bölgelerde yapılan silajlar, soğuk bölgelerde yapılan silajlara göre ve yaz aylarında yapılan silajlar da kış aylarında yapılan silajlara göre daha fazla ısınırlar (Filya 2001).

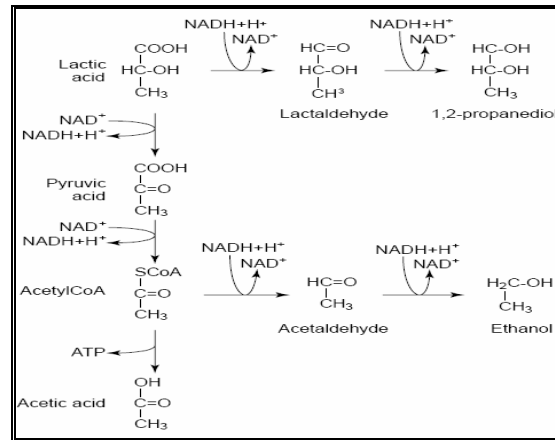
Silaj yoğunluğu da aerobik bozulma sürecini etkilemektedir. Lindgren ve ark. (1988) aerobik bozulmaya neden olan mikroorganizmaların silaj yoğunluğu artıkça, azaldığını bildirmektedirler. Silaj yoğunluğu üzerinde porozite etkilidir. Porozite, silaj bünyesine hava giriş miktarını ayarlamaktadır (Muck ve Holmes 2000). Hava giriş mekanizmasıyla ilgili yapılan araştırmalar; küçük boyutlarda parçalanmış bitkisel materyalin, daha büyük boyutlarda parçalanmış bitkisel materyale göre silo içerisine hava girişine daha az olanak tanıdığını göstermiştir

(McGechan 1990). Ayrıca genel olarak silaj yoğunluğu azaldıkça, siloya giren havanın yoğunluğu da artmaktadır (Muck ve Holmes 2000).

Homofermantatif LAB inokulantlarının mısır silajlarının aerobik stabiliteleri üzerindeki etkilerinin incelendiği araştırmalardan değişik sonuçlar alınmıştır. Bu inokulantlar; kullanıldıkları silajların aerobik stabilitelerini çoğunlukla düşürmüşler (Muck 1993, Weinberg ve Muck 1996), kimi çalışmada artırmış (Sebastian ve ark. 1989), kimisinde ise etkilememişlerdir (Filya ve ark. 2002a). Muck ve Kung (1997) 1990-1995 yılları arasında yapılan bir dizi araştırma sonucunu derledikleri çalışmalarında, <sup>ho</sup>LAB inokulantlarının kullanıldığı araştırmaların %60' ında silajların aerobik stabilitelerinin düştüğünü belirlemişlerdir. Araştırmacılar bu durumun nedenini, fermantasyon sırasında oluşan düşük asetik asit ile yüksek laktik asidin silajların havaya maruz kaldıkları dönemde antifungal ajan olarak yetersiz kalmasına bağlamışlardır. Weinberg ve ark. (1993) ile Filya (2002b) *L. plantarum*+*E. faecium*' un mısır silajının fermantasyon özelliklerini geliştirdiğini ancak aerobik stabilitesini düşürdüğünü belirlemişlerdir. Aerobik stabilitedeki düşüşe bu silajlardaki yüksek düzeydeki laktik asidin ve düşük düzeydeki UYA' nin neden olduğunu bildirmişlerdir. Bu araştırmacıardan Weinberg ve ark. (1993) aerobik dönemde mısır silajının CO<sub>2</sub> üretimini kontrol ve inokulant kullanılan silajlarda sırasıyla 0 ve 8.6 g/kg KM olarak belirlemişlerdir. Filya (2002b) ise mısır silajının CO<sub>2</sub>, maya ve küf içeriğinin kontrol silajında sırasıyla 12.3 g/kg KM, 4.8 ve 5.3 cfu/g olduğunu belirlerken, bu değerleri inokulant kullanılan silajda sırasıyla 18.8 g/kg KM, 7.2 ve 8.6 cfu/g olarak saptamıştır. Danner ve ark. (2003) uyguladıkları aerobik stabilite testinde, mısır silajının pH' sını kontrol grubu, *P. pentosaceus* 147 ve *L. plantarum* 268 kullanılan silajlarda sırasıyla 3.81, 3.88 ve 3.83; asetik asit konsantrasyonunu 16.5, 8.4 ve 8.1 g/kg KM olarak saptamışlardır. Aynı araştırmacılar, fermantasyonda sağlanan düşük pH' nın, silajların açıldıktan sonraki dönemde aerobik mikroorganizmaları engellemede yetersiz kaldığını bildirmişlerdir. Filya ve Sucu (2003) LAB inokulantlarının kullanıldığı bir dizi araştırma sonucunu değerlendirmişler ve

<sup>ho</sup>LAB inokulantlarının mısır silajlarının CO<sub>2</sub> üretimleri (16.3 g/kg KM) ile maya (9.5 cfu/g) ve küf içeriklerini (3.2 cfu/g) önemli düzeyde artırdığını belirlemişler ve kontrol silajında aynı parametreleri sırasıyla 13.9 g/kg KM, 7.9 cfu/g ve 2.3 cfu/g olarak saptamışlardır. Aynı araştırmacılar yapılan silajları görsel olarak değerlendirdiklerinde ise <sup>ho</sup>LAB inokulantlarının kullanıldığı silajların, noktalar halinde yüzeye yayılmış bir şekilde küf içeren silaj kategorisinde yer aldığını tespit etmişlerdir. Filya ve ark. (2006) mısır silajının CO<sub>2</sub> üretimini kontrol ve *L. plantarum* kullanılan silajlarda sırasıyla 42.19 ve 46.88 g/kg KM, maya içeriğini ise 5.88 ve 5.94 cfu/g olarak belirlemişlerdir.

Heterofermantatif LAB inokulantları çoğunlukla silajların aerobik stabilitesini artırmaktadır (Muck 1996, Weinberg ve Muck 1996). Heterofermantatif LAB' den silaj katkı maddesi olarak en yaygın kullanılanı *L. buchneri*' dir. *Lactobacillus buchneri*' nin maya ve küf gelişimini baskı altına alabilme potansiyeli ilk kez Cooke (1995) tarafından tanımlanmıştır. Daha sonra Muck (1996) *L. buchneri*' nin laktik asidi fermente ederek asetik asit ürettiğini, bu asidin ise aerobik süreçte bozulmaya sebep olan maya ve küflerin çoğalmasını engellediğini ve silajların aerobik stabilitelelerini artırdığını bildirmiştir. Oude-Elferink ve ark. (1999) ise *L. buchneri*' nin laktik asidi; asetik asidin yanı sıra 1,2-propanediol' e de fermente ettiğini ve her iki metabolitin de bozulmayı önlediğini belirlemişlerdir (Şekil 2.5).



Şekil 2.5. Laktik asidin *Lactobacillus buchneri* tarafından asetik asit ve 1,2-propanediol' e anaerobik olarak parçalanma yolu (Veiga-Da-Chuna ve Foster 1992)

Ranjit ve ark. (2002) *L. buchneri* 40788' in mısır silajının asetik asit konsantrasyonunu önemli düzeyde artırdığını ( $P<0.05$ ) ve silajlarda yüksek düzeyde oluşan asetik asidin ise küf gelişimini önemli ölçüde engellediğini belirlemişlerdir. Araştırmacılar, havanın oksijenine maruz bıraktıkları inokulantlı silajların 25 saatten daha fazla bozulmadan kaldığını gözlemişlerdir. Taylor ve Kung (2002) *L. buchneri* 40788+enzim kullandıkları çalışmalarında, aerobik süreçte en erken bozulan mısır silajının kontrol grubu (47 saat) olduğunu belirlerken; en geç bozulan silajın *L. buchneri* 40788 [sırasıyla  $6.6 \times 10^5$  (400 saat),  $10^6$  (371 saat) ve  $5 \times 10^5$  (333 saat)] kullanılan grup olduğunu saptamışlardır. Danner ve ark. (2003) aerobik stabilite testi sonunda, mısır silajının pH' sını kontrol ve *L. buchneri* 218 gruplarında sırasıyla 3.81 ve 4.11, asetik asit konsantrasyonunu 16.5 ve 55.5 g/kg KM olarak saptarlarken, silajların aerobik dayanıklılık süresini kontrol ve *L. buchneri* 218' de sırasıyla 40 ve 274 saat olarak belirlemişlerdir. Araştırmacılar, silajların bozulmadan en az 100 saat kalabilmeleri için gerekli asetik asit düzeyinin 50 g/kg KM olması gerektiğini belirtmişlerdir. Kleinschmit ve ark. (2005) mısır silajının aerobik dayanıklılık süresini kontrol grubu, *L. buchneri* 11A444 ve *L. buchneri* 40788 kullanılan silajlarda sırasıyla 39, 139 ve 45 saat olarak belirlemişlerdir. Kleinschmit ve Kung (2006a) 43 çalışmanın sonucunu meta-analiz yöntemi kullanılarak değerlendirmişler ve araştırmalarında uygulamaları kontrol grubu ve *L. buchneri*' nin ( $\leq 10^5$  ve  $>10^5$  cfu/g taze materyal) iki farklı dozu olmak üzere üç farklı kategoride toplamışlardır. Araştırmacılar, *L. buchneri*' nin mısır silajının aerobik stabilitesini artırdığını belirterek, silajların bozulmadan kaldıkları sürenin uzunluğunu kontrol,  $\leq 10^5$  cfu/g ve  $>10^5$  cfu/g gruplarında sırasıyla 25, 35 ve 503 saat olarak bulmuşlardır. Filya ve ark. (2006) en düşük CO<sub>2</sub> üretimi ile maya gelişiminin *L. buchneri* kullanılan mısır silajında gerçekleştiğini (sırasıyla 5.40 g/kg KM, 1.88 cfu/g) saptarlarken; en yüksek CO<sub>2</sub> üretimi ile maya gelişiminin kontrol silajında oluştuğunu (sırasıyla 44.19 g/kg KM, 5.88 cfu/g) belirlemişlerdir. Kung ve ark. (2007) *L. buchneri* kullandıkları mısır silajını (73 saat) kontrol grubundan (37 saat) aerobik olarak daha dayanıklı bulmuşlardır. Aynı

araştırcılar, *L. buchneri*' nin (maya ve küf sırasıyla 5.63–5.51 cfu/g) mısır silajında maya ve küf gelişimini kontrol grubuna göre (6.05–7.29 cfu/g) engellediğini de belirlemişlerdir ( $P<0.05$ ).

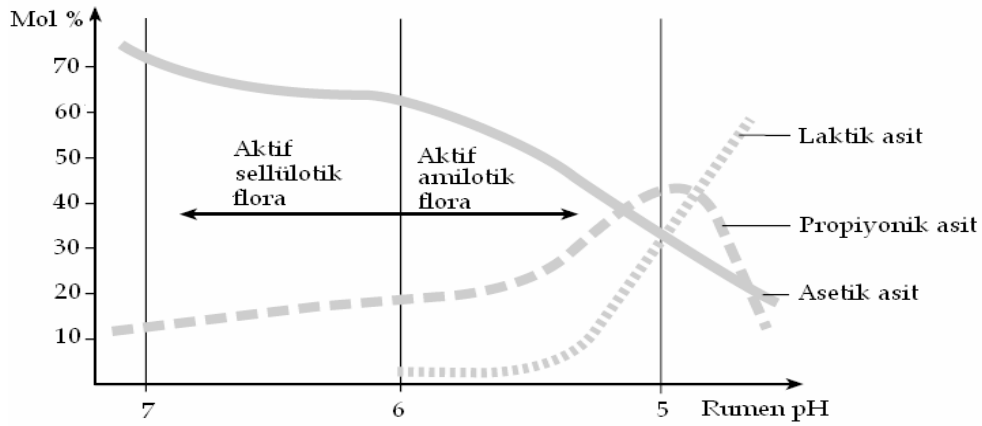
Son yıllarda hem fermantasyon hem de aerobik stabilite açısından <sup>ho</sup>LAB ile <sup>het</sup>LAB' nin kombinasyon (<sup>ho+het</sup>LAB) olarak kullanıldığı çalışmalarda, bu inokulantların mısır silajının aerobik stabilitesini <sup>ho</sup>LAB inokulantı kullanılan silajlara göre artırdığı belirlenmiştir (Ranjit ve Kung 2000, Filya ve Sucu 2003). Weinberg ve ark. (2002) yürüttükleri araştırmada, en yüksek asetik asidin *L. plantarum*+*L. buchneri* (22 g/kg KM) kullandıkları mısır silajında oluştuğunu, en düşük asetik asidin ise kontrol silajında gerçekleştiğini bildirmişlerdir. Araştırcılar, mısır silajının aerobik dayanıklılığını CO<sub>2</sub> üretimi ve pH bakımından değerlendirmişler ve en geç bozulmanın asetik asit içeriği yüksek olan *L. plantarum*+*L. buchneri* (sırasıyla 18.3 g/kg KM, 4.7) kullanılan silajda olduğunu, en erken bozulmanın ise asetik asit içeriği düşük olan kontrol silajında gerçekleştiğini belirlemişlerdir. Taylor ve Kung (2002) *L. plantarum*+*L. buchneri* 40788 kullandıkları mısır silajını (303 saat) kontrol grubundan (47 saat) daha stabil bulmuşlardır. Filya (2003) fermantasyon sırasında kullanılmadan kalan şekerlerin aerobik mikroorganizmalar tarafından tüketildiğini bunun da mısır silajının bozulmasını hızlandırdığını belirlemiştir. Araştırıcı CO<sub>2</sub> üretimi, maya ve küf içerikleri bakımından en erken bozulana silajın kalıntı şeker içeriğinin yüksek, asetik asit içeriğinin düşük olduğu kontrol grubu (CO<sub>2</sub>; 36.44 g/kg KM, maya; 7.26 ve küf; 3.45 cfu/g); en geç bozulana silajın ise kalıntı şeker içeriğinin düşük, asetik asit içeriğinin yüksek olduğu *L. buchneri*+*L. plantarum* (CO<sub>2</sub>; 9.61 g/kg KM, maya; 2.5 ve küf; <2.00 cfu/g) kullanılan grup olduğunu saptamıştır. Kleinschmit ve Kung (2006b) *P. pentosaceus* R1094+*L. buchneri* 40788' in mısır silajının aerobik olarak dayanıklılık süresini (~100–220 saat) kontrol grubuna (~70–150 saat) göre önemli düzeyde artırdığını belirlemiştir ( $P<0.10$ ).



## 2.7. Laktik Asit Bakteri İnokulantlarının Rumen Ekolojisi Üzerine Etkileri

Rumen ekolojisi üzerinde anaerobik ortam, pH, mikroorganizmalar ve faaliyetleri, besin maddeleri ve bileşimi ile besin maddelerinin fermantasyonu sonucu sentezlenen UYA etkili olmaktadır (Church ve Pond 1988).

Rumendeki mikroorganizma popülasyonu ve faaliyetleri üzerinde etkili olan unsurların başında rumen pH' sı ve UYA gelmektedir. Rumen pH' sını değiştiren amilolitik ve sellülotik olmak üzere iki temel bakteri grubu vardır. Lifli maddelerin rumende sindirimi pH 6.0-6.2 arasında gerçekleşirken, nişastanın sindirimi için daha asidik koşullar (pH 5.0-6.0) gerekmektedir. Bu nedenle rumen pH' sının 5.8-6.4 arasında olması gerektiği bildirilmektedir (Murphy ve ark. 1982). Rumen pH' sındaki değişim, besin maddelerinin fermantasyonu sonucu rumende sentezlenen UYA bileşimini etkilemektedir (Şekil 2.6, Kaufman ve ark. 1980).



Şekil 2.6. pH regülasyonu sonucu oluşan ruminal fermantasyonun seyri

Rumen mikroorganizmaları gelişmeleri için gereksinim duydukları enerjiyi besin maddelerinin fermantasyonu sonucu rumende oluşan UYA, CO<sub>2</sub> ve metandan karşılamaktadırlar. Bu ürünler ayrıca mikrobiyal gelişim için gerekli olan karbon iskeletinin ve mukoza hücrelerinin enerji kaynağını

oluşturmaktadır (Beever 1993). Rumende mikrobiyal fermantasyon sonucu sentezlenen UYA' nin başında asetik, propiyonik ve bütrik asit gelmektedir. Söz konusu UYA rasyonların yapısından etkilenmektedir. Optimum rumen fermantasyonu için rumende %50-60 asetik asit, %20-25 propiyonik asit ve %15-20 bütrik asit olması gerekmektedir (Ensminger ve ark. 1990). Rumende oluşan UYA bileşimindeki değişim süt üretimi ve sütün bileşimi üzerinde etkili olmaktadır. Rumende oluşan propiyonik asit, süt üretimi için gerekli olan enerjinin önemli kısmını karşılamakta ve toplam UYA içerisindeki propiyonik asidin molar konsantrasyonundaki artış dokulardaki enerjinin kullanım etkinliğini artırmaktadır (Armstrong ve Blaxter 1957). Rumende oluşan asetik asidin toplam UYA içerisindeki molar konsantrasyonundaki artış ise, süt yağı oluşumunu artırmaktadır (Ørskov ve ark. 1969). Buna karşın rumen propiyonik asit konsantrasyonu ile süt yağı arasında negatif bir ilişki bulunmakta ve rumende yüksek düzeyde oluşan propiyonik asit, süt yağı oranını düşürmektedir (Dijkstra 1994). Seymour ve ark. (2005) 20 araştırmanın sonucunu derledikleri çalışmaları sonucunda, süt veriminin rumen bütrik ( $r=0.47$ ) ve propiyonik asit ( $r=0.23$ ) konsantrasyonları ile yüksek düzeyde bağlantılı olduğunu belirlemişlerdir.

Laktik asit bakteri inokulantlarının rumen UYA konsantrasyonu üzerindeki etkilerinin incelendiği araştırma sonuçlarına göre, söz konusu inokulantların rumendeki propiyonik asidin molar konsantrasyonunu artırdığı, asetik asidin molar konsantrasyonunu ise düşürdüğü belirlenmiştir (Sharp ve ark. 1994). Benzer sonuçlar Martin ve ark. (1994) tarafından da elde edilmiştir. Araştırmacılar, çayır otu silajında fermantasyonu ve laktik asit üretimini sınırlayan katkı maddeleri kullanımının rumendeki propiyonik asidin konsantrasyonunu düşürdüğünü, fermantasyonu teşvik eden katkı maddelerinin ise rumendeki propiyonik asidi artırdığını belirlemişler ve silajların laktik asit konsantrasyonu ile rumende oluşan propiyonik asit konsantrasyonu arasında yüksek bir korelasyon tespit etmişlerdir. Ayrıca silajlardaki laktik asidin, silaja dayalı rasyonlarla beslenen süt ineklerinde, süt

üretimi için gerekli olan besin maddelerinin değerlendirilmesini ayarlayan en önemli faktör olduğunu bildirmişlerdir. Benzer bir araştırmada da, laktik asidin rumende hızla metabolize olduğu da, bunun sonucunda rumende yüksek düzeyde propiyonik asidin ve düşük düzeyde asetik asidin oluştuğu belirlenmiştir (Chamberlain ve ark. 1983).

Rumende oluşan UYA' nin molar konsantrasyonlarının belirlenmesi ile hayvan performanslarının tahmin edilmesinde gelişme sağlanabileceği, bu amaçla *in vitro* gaz üretim tekniğinin kullanılabileceği bildirilmektedir (Rymer ve Givens 2002). Bu kapsamda yürütülmüş olan bir çalışmada, mısır silajında çeşitli LAB inokulantlarının *in vitro* koşullar altında rumen UYA konsantrasyonları üzerindeki etkisi Weinberg ve ark. (2004) tarafından incelenmiştir. Bu çalışmanın sonucunda, <sup>ho</sup>LAB *L. plantarum* MTD1' in rumen toplam UYA (237 mmol) ile bütrik ve propiyonik asit konsantrasyonlarını (sırasıyla 31.4 ve 25.1 mmol) kontrol grubuna göre (sırasıyla 20.2 mmol ve 30.9 mmol) önemsiz düzeyde artırdığı, asetik asit konsantrasyonunu ise (43.5 mmol) kontrol grubuna (45.7 mmol) göre önemsiz düzeyde düşürdüğü saptanmıştır ( $P>0.05$ ). Aynı araştırmacılar, <sup>ho</sup>LAB *P. pentosaceus* (154 mmol) ve *L. pentosus*' un (184 mmol) toplam UYA konsantrasyonunu önemli düzeyde düşürdüğünü ( $P<0.05$ ), <sup>het</sup>LAB *L. buchneri* (197 mmol) ve P11A44<sup>TM</sup>' nin (225 mmol) ise toplam UYA konsantrasyonunu etkilemediğini ( $P>0.05$ ), *P. pentosaceus*' un (<sup>ho</sup>LAB) rumen asetik (59.0 mmol) ve propiyonik asit konsantrasyonlarını (23.3 mmol) artırdığını, bütrik asit konsantrasyonlarını ise (10.8 mmol) kontrol grubuna (sırasıyla 47.5, 23.3, 30.9 mmol) göre önemli düzeyde düşürdüğünü saptamışlardır ( $P<0.05$ ). Muck ve ark. (2007) kullandıkları <sup>ho</sup>LAB' nin birçoğunun (*L. plantarum* MTD1, *E. faecium* C, *E. faecium* Q, *L. plantarum*, *P. pentosaceus* E, *P. pentosaceus* A) yonca silajının *in vitro* rumen bütrik asit ve toplam UYA konsantrasyonlarını düşürdüğünü, *L. plantarum*+*E. faecium*' un ise her iki parametreyi artırdığını tespit etmişlerdir.

### 2.7.1. Laktik asit bakteri inokulantlarının silajların rumen parçalanabilirlik özellikleri ile hayvanların performansları üzerine etkileri

Laktik asit bakteri inokulantları ile yapılan çalışmalarda, inokulantların besin maddelerinin sindirilebilirliği üzerindeki etkilerinin genellikle olumlu yönde olduğu bildirilmiştir (Bolsen ve ark. 1996, Kung ve Muck 1997, Filya 2000). Nitekim Luther (1986) *L. plantarum'* un, Filya (2002a) *L. plantarum+E. faecium'* un (<sup>ho</sup>LAB) mısır silajının hem kalitesini hem de sindirilebilirliğini arttırdığını belirlemişlerdir. Bu araştırmacılar Luther (1986) yürüttüğü iki denemeden birincisinde, mısır silajının KM sindirilebilirliğini kontrol ve inokulant gruplarında sırasıyla %65.7 ve 68.5; ikincisinde ise %67.7 ve 71.2 olduğunu belirlemiştir. Filya (2002a) ise aynı parametreyi kontrol silajında %51.5, inokulant kullandığı silajda %60.1 olarak saptamıştır. Weinberg ve ark. (2007) çeşitli LAB inokulantlarını kullandığı çalışmasında, bazı inokulantların mısır silajının *in vitro* KM sindirilebilirliğini [<sup>ho</sup>LAB *E. faecium* Q (%64.5) ve *L. plantarum+E. faecium* (%61.1), <sup>het</sup>LAB *L. buchneri* (%63.1) ve P11A44 (%62.0)] kontrol silajına (%59.6) göre artırdığını, bazılarının ise etkilemediğini belirlemiştir (<sup>ho</sup>LAB *L. plantarum* MTD1 ve *P. pentosaceus* E). Diğer yandan Filya ve ark. (2004b), Rodrigues ve ark. (2002) ile Polat ve ark. (2005) *L. plantarum+E. faecium'* un (<sup>ho</sup>LAB ) mısır silajının *in situ* ve *in vivo* KM sindirilebilirliğini etkilemediğini bildirmişlerdir. Bahsedilen bu çalışmalardan Rodrigues ve ark. (2002)' nin yürüttüğü araştırmada, mısır silajının KM sindirilebilirliğinin kontrol ve *L. plantarum+E. faecium* içeren gruplarda sırasıyla %64.6 ve 64.5 olduğu belirlenmiştir. Polat ve ark. (2005) ise 1 yaşlı 3 baş Türkgeldi tokluda yürüttükleri sindirim denemesi sonucunda söz konusu silajda KM' nin sindirilme derecesini kontrol silajında %66.3, inokulant kullanılan silajda %69.8 olarak saptamışlardır.

Laktik asit bakterilerinin hücre duvarı bileşenleri ve diğer komponentlerini nasıl etkilediği tam anlamıyla açıklığa kavuşturulamamıştır (Muck 1993). Ancak inokulant kullanımına bağlı olarak silajlarda sağlanan düşük pH' nın, hücre duvarı komponentlerinde bir azalma sağladığı ve hemisellülozun hidrolizini sağlayan ek bir asit üreterek hücre duvarı fraksiyonlarını açtığı ve sonuçta hücre duvarının rumen mikroorganizmalarınca daha kolay sindirilebilir hale geldiği öne sürülmektedir (Bolsen ve ark. 1996). Nitekim Polat ve ark. (2005) yürüttükleri sindirim denemesinde, *L. plantarum*+*E. faecium*' un mısır silajının ham sellüloz sindirimini önemli düzeyde artırdığını belirterek, ham sellülozun sindirilme derecesini kontrol ve inokulant kullanılan silajlarda sırasıyla %71.3 ve 78.6 olarak belirlemişlerdir ( $P<0.05$ ). Weinberg ve ark. (2007) <sup>ho</sup>LAB *E. faecium* Q (%45.2) ile <sup>het</sup>LAB *L. buchneri* (%49.8) ve P11A44' ün (%49.6) mısır silajının NDF sindirilebilirliğini kontrol grubuna göre (%42.2) önemli düzeyde artırdığını saptamışlardır ( $P<0.05$ ). Diğer yandan Sanderson (1993) ve Filya (2002b) <sup>ho</sup>LAB *L. plantarum*+*E. faecium*' un, Filya ve ark. (2006) ise *L. buchneri*' nin (<sup>het</sup>LAB) mısır silajının NDF sindirilebilirliğini etkilemediğini bildirmişlerdir. Filya (2002b) tarafından yürütülen çalışmada, *in situ* NDF sindirilebilirliği kontrol ve inokulant kullanılan silajlarda sırasıyla %41.4 ve 40.6 olarak belirlenirken, Filya ve ark. (2006) aynı parametreyi kontrol silajında %35.6, *L. buchneri* kullandıkları silajda ise %35.5 olarak belirlemişlerdir.

Laktik asit bakterilerinin mısır silajının organik madde (OM) sindirilebilirliği üzerindeki etkilerinin incelendiği araştırmalardan değişik sonuçlar alınmıştır. Meeske ve Basson (1998) ile Kleinmans ve Hooper (1999) tarafından yürütülen çalışmalarda, *L. plantarum*+*E. faecium* mısır silajının *in vitro* OM sindirilebilirliğini artırmış ve bu silajları tüketen kuzular kontrol grubuna göre daha iyi bir besi performansı göstermiştir. Diğer yandan Filya ve ark. (2004b) <sup>ho</sup>LAB *L. plantarum*+*E. faecium*' un, Filya ve ark. (2006) ise <sup>het</sup>LAB *L. buchneri*' nin mısır silajının OM parçalanabilirliğini ve kuzuların besi performanslarını etkilemediğini bildirmişlerdir. Bahsedilen bu çalışmalardan

ilkinde, OM parçalanabilirliği kontrol grubu ve *L. plantarum*+*E. faecium* kullanılan silajda sırasıyla %60.6 ve 62.5, ikincisinde ise kontrol grubu ve *L. buchneri* kullanılan silajda sırasıyla %62.4 ve 62.3 olarak saptanmıştır (Filya ve ark. 2006).

Muck (1993) <sup>ho</sup>LAB inokulantlarının, ruminantların performanslarını genellikle olumlu yönde etkilediğini bildirerek, bu inokulantların yapılan çalışmaların %25–40' ında yem tüketiminde, canlı ağırlık artışında, yemin enerjisinin değerlendirilmesinde ve/veya süt üretimde %5–11 düzeyinde artış sağladığını bildirmiştir. Wohlt (1989) süt sığırlarını mısır silajı ve yoğun yem karmasıyla beslemiş ve 8 haftalık deneme sonunda, *L. plantarum* (<sup>ho</sup>LAB) içeren silajı tüketen sığırların kontrol grubuna göre 0.7 kg/gün daha fazla süt (%3.5 yağa göre düzeltilmiş) verdiğini belirlemiştir. Aynı araştırmacı, *L. plantarum*' un sütün bileşimini de olumlu yönde etkilediğini tespit etmiş ve bu inokulantın süt yağı (45 g/gün) ile süt proteinini (50 g/gün) artırdığını da saptamıştır. Kung ve ark. (1993) süt sığırlarını %50 mısır silajı, %45 yoğun yem ve %5 yonca kuru otu içeren komple rasyonla beslemişler ve *L. plantarum*' un süt verimini 1.5 kg/gün düzeyinde (%3.5 yağa göre düzeltilmiş) artırdığını saptamışlardır. Kung ve ark. (2003) 12 çalışmanın sonucunu değerlendirdikleri araştırmalarında, *L. plantarum* MTD1' in (<sup>ho</sup>LAB) süt verimini 1.2 kg/gün düzeyinde artırdığını belirlemişlerdir. Dhiman ve ark. (1991) 16 çalışmanın sonuçlarını derlemiş ve <sup>ho</sup>LAB inokulantlarının silajdaki epifitik LAB sayısını en az 10 kat artırması durumunda, süt veriminde %2.5 düzeyinde bir artışın sağlanabileceğini bildirmiştir. West ve ark. (2005) *Propionifreudenreichii bacterium*+*L. acidophilus* (<sup>ho+het</sup>LAB) içeren canlı bakteri kültürü kullandıkları araştırmalarında, kontrol rasyonunu ve canlı bakteri kültürünü içeren komple rasyonu tüketen ineklerin süt üretimini sırasıyla 37.40 ve 39.29 kg/gün, süt yağını ise 1.19 ve 1.31 kg/gün olarak saptamışlardır. Raeth-Knight ve ark. (2007) *L. acidophilus*+*P. freudenreichii* (<sup>ho+het</sup>LAB, DFM1) ve *L. acidophilus*+*P. freudenreichii*+PF24 laktik asit suşu (<sup>ho+het</sup>LAB, DFM2) içeren canlı bakteri kültürleri kullandıkları çalışmalarında, Holstein inekleri %12.7 yonca kuru otu, %46.2 mısır silajı, %41.1 yoğun yem

karmasından oluşan komple rasyonla beslemişlerdir. Araştırma sonucunda araştırmacılar, DFM1 canlı bakteri kültürünün süt ineklerinde KM tüketimini ve süt verimini etkilemediğini, DFM2 canlı bakteri kültürünün ise süt üretimini kontrol grubuna göre 1.5 kg/gün düzeyinde artırdığını belirlemişlerdir.

Heterofermantatif LAB inokulantlarının fermantasyon sırasında oluşturduğu asetik asit; silajların KM kaybında bir artış, silaj tüketiminde ise düşüşe neden olmaktadır (McDonald ve ark. 1973). Söz konusu inokulantların hayvan performansları üzerindeki etkilerini inceleyen az çalışmaya rastlanmıştır. Bu çalışmalardan Driehuis ve ark. (1999) ile Combs ve Hoffman (2003) tarafından yürütülen araştırmalarda, *L. buchneri*'nin süt ineklerinde yem tüketimini ve süt üretimini etkilemediği belirlenmiştir. Bahsedilen araştırmacılar Combs ve Hoffman (2003) *L. buchneri* kullandığı mısır silajını tüketen ineklerinde, süt veriminin ve süt yağının sırasıyla 42.2 kg/gün ve %2.83 olduğunu, aynı parametrelerin kontrol silajını tüketen ineklerde sırasıyla 41.3 kg/gün ve %2.92 olduğunu saptamıştır. Ranjit ve ark. (2002) ise *L. buchneri* 40788 içeren mısır silajını tüketen ineklerin canlı ağırlıklarında artış saptarlarken, aynı inokulantın süt ineklerinde KM ve yem tüketimini etkilemediğini bildirmişlerdir.

Laktik asit bakteri inokulantlarının kullanımına bağlı olarak hayvanların performanslarında sağlanan ilerlemelerinin nedeni henüz yeteri kadar açıklığa kavuşturulamamıştır (Weinberg ve ark. 2003, 2004, Muck ve ark. 2007). Fermantasyon ürünleri ile KM geri kazanımında ve KM sindirilebilirliğinde sağlanan artışların hayvanların performanslarına olumlu yönde yansıtacağı bildirilmektedir (Muck 1993). Ancak yapılan bazı çalışmalarda bunların aksine sonuçlar alınmış ve LAB inokulantlarının silaj fermantasyonunu ya da sindirilebilirliğini etkilemediği durumlarda bile hayvan performanslarında artış gözlenmiştir (Gordon 1989a, b, Kung ve ark. 1993). Keady ve ark. (1994) *L. plantarum* MTD1' in (<sup>ho</sup>LAB) silaj fermantasyonunda herhangi bir gelişme sağlamaksızın silaj tüketimi ile hayvanların performanslarında artış sağladığını belirlemişlerdir. Söz konusu artışların nedeni bilinen mekanizmalarla

açıklanamamış, dolayısıyla bu konu ile ilgili yeni hipotezler öne sürülmüştür. Bu hipotezlerden biri, spesifik LAB suşlarının probiyotik etki göstermeleri ve söz konusu LAB türlerinin rumen mikroorganizmaları ile etkileşime girerek, hayvanların performanslarında olumlu gelişmelere neden olmalarıdır (Weinberg ve Muck 1996, Malik ve Sharma 1998). Diğer bir hipotez ise LAB inokulantlarının silaj ve rumen ortamında bulunan zararlı mikroorganizmaları baskı altına alan bakteriosin gibi bileşikleri üretebilmeleridir (Vandenberg 1993). Öne sürülen bu hipotezlerden sonra Muck ve ark. (2007) yonca silajı ile yaptıkları çalışmaları sonucunda, silaj fermantasyonunda ya da sindirilebilirlikte herhangi bir gelişme sağlanmadığı durumlarda bile LAB inokulantlarının *in vitro* rumen fermantasyonunu etkilediğini, bazı inokulantların mikrobiyal biyokitle miktarını artırabileceğini ancak bu konunun aydınlatılması için daha fazla çalışmaya gereksinim duyulduğunu bildirmişlerdir.



### 3. MATERYAL ve YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

##### 3.1.1. Silaj materyali

Silaj materyali olarak Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarımsal Uygulama ve Araştırma Merkezi' nde (40° 51' 39" kuzey enlemi-28° 51' 39" doğu boylamı) yetiştirilen melez ADA 523 (Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Sakarya Tarımsal Araştırma Enstitüsü, 2000, Türkiye) mısır çeşidi (*Zea mays* L.) kullanılmıştır. Araştırmada kullanılan mısır, hamur olum döneminde (%32.72 KM) hasat edilmiştir. Yetiştirme döneminde toprağa, 25 kg/da saf azot (10 kg/da ekimde, 15 kg/da bitkiler 40-50 cm boylandığında), 10 kg/da saf fosfor ve 10 kg/da saf potasyum gelecek şekilde gübre verilmiştir. Bitkideki ortalama yaprak sayısı 15.1 adet, bitki boyu yaklaşık olarak 233 cm olarak tespit edilmiştir. Söz konusu çeşidin dekara yeşil ot verimi 8821.9 kg olarak belirlenirken; KM, OM ve NDF verimleri sırasıyla 2886.5, 2496.6 ve 4525.6 kg/da olarak saptanmıştır.

##### 3.1.2. Hayvan materyali

Araştırmada silajların *in vitro* gaz üretim değerleri ile besin maddeleri sindirilebilirliklerini belirlemek amacıyla yaklaşık 500 kg canlı ağırlığa sahip iki baş Siyah-Alaca süt ineği kullanılmıştır. Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarımsal Uygulama ve Araştırma Merkezi' nde barındırılan deneme hayvanları araştırmaya başlamadan bir hafta önce seçilmiştir. Hayvanlar bundan sonra işletmede hazırlanmış olan kırık buğday, ayçiçeği tohumu küspesi ile vitamin-mineral karması ve mermer tozundan oluşan yoğun yem karmasıyla birlikte, süt yemi ve mısır silajıyla beslenmişlerdir. Her bir hayvanın tüketeceği günlük yem miktarı iki eşit parçaya ayrılarak, sabah ve akşam olmak üzere iki öğünde verilmiştir. Hayvanlar bireysel olarak barındırılmış ve önlerinde sürekli temiz içme suyu bulundurulmuştur.

### 3.1.3. Araştırmada kullanılan laktik asit bakteri inokulantları

Araştırmada kullanılan LAB inokulantları ABD’ de bulunan Süt Sığırcılığı Kaba Yem Araştırma Merkezi’ nden (US Dairy Forage Research Center, Department of Forage Preservation, Madison, WI) sağlanmıştır (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. Araştırmada kullanılan LAB inokulantları

No	İnokulantlar	Kaynak	Kısaltma
<u>hoLAB inokulantları</u>			
1	<i>Lactobacillus plantarum</i> içeren Biomax®5	Chr. Hansen Biosystems, Milwaukee, WI	Biomax®5
2	<i>Lactobacillus plantarum</i> ve <i>Enterococcus faecium</i> içeren Pioneer 1132™	Pioneer Hi-Bred International Inc., Des Moines, IA	P 1132™
3	<i>Lactobacillus plantarum</i> MTD1	Ecosyl®, Yorkshire, UK	<i>L. plantarum</i> MTD1
4	<i>Lactobacillus pentosaceus</i>	Ecosyl®, Bio Products, Billingham, England	<i>L. pentosaceus</i>
5	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	Agri-King, Fulton, IL	<i>P. pentosaceus</i>
6	<i>Lactobacillus pentosus</i>	Agri-King, Fulton, IL	<i>L. pentosus</i>
<u>hetLAB inokulantları</u>			
7	<i>Lactobacillus buchneri</i> içeren Pioneer 11A44™	Pioneer Hi-Bred International Inc., Des Moines, IA	P 11A44™
8	<i>Lactobacillus buchneri</i> ve hidrolitik polisakkarit enzimleri	Biotal Canada Limited, Calgary, Alberta, Canada	<i>L. buchneri</i>
<u>ho+hetLAB inokulantı</u>			
9	<i>Lactobacillus plantarum</i> ve <i>Propionibacterium acidipropionici</i> içeren Lalsil®	Lallemand, Saint-Simon, France	Lalsil®

hoLAB, homofermantatif laktik asit bakterileri; hetLAB, heterofermantatif laktik asit bakterileri; ho+hetLAB, homofermantatif ve heterofermantatif laktik asit bakterilerinin kombinasyonu

## 3.2. Yöntem

### 3.2.1. Silajlarının hazırlanması

Mısır, hamur olum döneminde hasat edilmiş ve silaj makinesinde yaklaşık 2.0 cm boyutunda parçalanmıştır. Silaj katkı maddesi olarak, 6<sup>ho</sup>LAB, 2<sup>het</sup>LAB ve 1<sup>ho+het</sup>LAB inokulantı kullanılmıştır. Tüm inokulantlar Çizelge 3.2' de belirtilen miktarlarda tartılarak (10<sup>6</sup> cfu/g içerecek şekilde) 40 mL steril suda ayrı ayrı çözündürüldükten sonra, temiz bir alana yayılan taze materyale homojen bir şekilde püskürtülerek karıştırılmışlardır. Katkı maddesi içermeyen kontrol grubuna da aynı miktarda su ilave edilmiştir. Daha sonra silaj materyali 1.5 L' lik hava giriş çıkışına izin vermeyen ve yalnızca gaz çıkışına olanak tanıyan özel laboratuvar silolarına (Weck, Wehr-Oflingen, Germany) silolanmıştır.

Çizelge 3.2. Taze materyale uygulanan inokulant miktarları (g)

Uygulama	Miktar
Biomax®5	0.103
P 1132™	0.348
<i>L. plantarum</i> MTD1	0.530
<i>L. pentosaceus</i>	0.181
<i>P. pentosaceus</i>	0.910
<i>L. pentosus</i>	1.860
P 11A44™	0.348
<i>L. buchneri</i>	1.420
Lalsil®	4.970

Araştırmada her uygulama 3 paralelden oluşmuş ve 10 uygulama (1 kontrol + 9 LAB inokulantı), 4 farklı açım dönemi (2., 4., 8. ve 60. gün) olmak üzere toplam 120 adet (3x10x4) siloda silaj hazırlanmıştır. Her bir silo ortalama 1177.01 g taze materyal ile doldurulmuş ve sıkıştırma yoğunluğu 260.27 kg KM/m<sup>3</sup> olarak hesaplanmıştır. Silolamanın 2., 4., 8. ve 60. günlerinde 3' er silo açılarak pH, KM ve KM kayıpları saptanmış, mikrobiyolojik analizleri aynı

günler içerisinde yapılmıştır. Açılan bu silajlardan 40 g örnek alınıp üzerine 360 mL steril su (1:9) ilave edilerek stomacher' da (IUL Instruments, Barcelona, Spain, Şekil 3.1) 3 dk çalkalandıktan sonra filtre kağıdından (Whatman No 54, International Ltd. Maidstone, England) süzölmüştür. Elde edilen bu süzük 12.000 devir/dk' da 20 dk santrifüj (Sigma, 6K 15, Germany) edilmiş ve steril ependorf tüplere aktararak, diğler analizlerin yapılacağı zamana kadar  $-20^{\circ}\text{C}$ ' de derin dondurucuda (İnoksan, Derby Unig, Bursa, Türkiye) muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.1. Stomacher

### 3.2.2. Silajların *in vitro* gaz üretim değerlerinin belirlenmesi

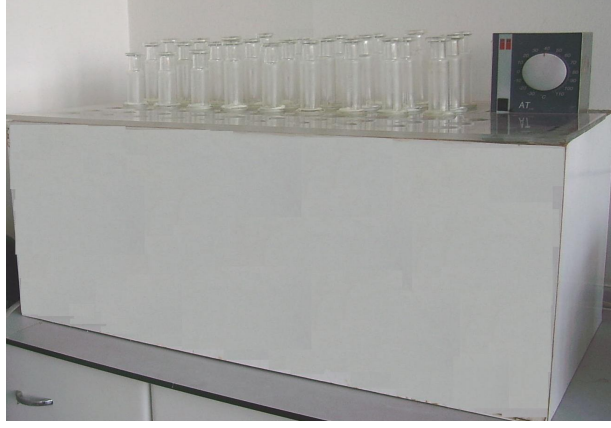
Silolamanın 60. gününde açılan silajların, *in vitro* koşullarda gaz üretim değerleri Menke ve Steingass (1988) tarafından tanımlanan "Gaz Üretim Tekniğı" kullanılarak belirlenmiştir. Yöntemde yemlerin gaz üretimini saptayabilmek için 100 mL hacimli özel cam şırıngalar (Model Fortuna, Häberle Labortechnik, Lonsee-Ettlenschieß, Germany) kullanılmıştır. Yöntemin uygulanması sırasında cam tüplere yaklaşık 569 mg (200 mg kuru yem) taze silaj örneğı tartılmış, şırınganın sadece piston kısmına gaz oluştuğı zaman kolay hareket edebilmesi için vazelin sürölmüştür. Her bir örnek için 3 şırınga hazırlanmıştır. Aynı zamanda kör deneme (sadece rumen sıvısı:yapay tükrük karışımı içerecek cam şırıngalar) için 3 paralel şırınga hazırlanmıştır. Yapay tükrük çözeltisini (Şekil 3.2) hazırlamak için düz tabanlı cam bir balona 712.5 mL saf su, 360 mL makro mineral çözeltisi, 360 mL tampon çözelti, 0.18 mL

mikro mineral çözeltisi ve 1.80 mL rezazurin çözeltisi ilave edilerek 39°C' ye ayarlanmış özel yapım termostatlı bir su banyosunun içine yerleştirilmiştir. Bundan sonra balona 75 mL redüksiyon çözeltisi ilave edilmiş ve magnetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Bir yandan da balon içerisindeki yapay tükrük karışımına bir hortum aracılığıyla düşük akımlı CO<sub>2</sub> gazı verilmiştir. Bu işleme balon içerisindeki çözeltinin rengi maviden pembeye dönene kadar devam edilmiş ve renk pembeye döndüğünde CO<sub>2</sub> gazı veren hortumun ucu balon içerisindeki karışımın üst yüzeyine çıkarılarak, gaz akışına devam edilmiştir.



Şekil 3.2.Yapay tükrük çözeltisi

Bir yandan yapay tükrük çözeltisi hazırlanırken bir yandan da 2 baş Siyah-Alaca inekten (yemlemeden hemen önce) rumen sıvısı, özafagustan rumene indirilen yumuşak bir hortum ve pompa yardımıyla vakum yaptırılarak alınmıştır. Daha sonra rumen sıvısı bir termos içerisinde (39°C' ye ayarlı) laboratuvara getirilip, sıcaklığını kaybetmeden 2 kat tülbent bezinden süzülmüştür. Önceden hazırlanan 1500 mL' lik yapay tükrük çözeltisine 750 mL rumen sıvısı ilave edilmiştir. Cam balon içerisindeki rumen sıvısı/yapay tükrük karışımının iyice karışmasını sağlamak için 15 dk süre ile karıştırma işlemine devam edilmiştir. Bu süre sonunda, 30 mL rumen sıvısı/yapay tükrük karışımı yarı otomatik bir pipet yardımıyla cam şırıngalara aktarılmış ve şırıngalar 39°C' deki su banyosunda inkübasyona bırakılmışlardır (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. İnkübasyon ünitesi

Şırıngalarda oluşan gaz hacmi 3, 6, 12, 24, 48, 72 ve 96 saatlik inkübasyon süreleri sonunda kaydedilmiş ve elde edilen veriler Ørskov ve McDonald (1979) tarafından geliştirilen  $P=a+b(1-e^{-ct})$  eksponensiyel denklemine uyarlanmış olan  $GP=a+b(1-e^{-ct})$  eksponensiyel denklem kullanılarak Neway bilgisayar programında (Chen 1994) hesaplanmıştır. Bu denklemde;

GP: Süreye (t) bağlı olarak substrattan elde edilen gaz üretimini (mL)

a: Yemin yapay rumene konulduğu ilk anda oluşan gaz hacmini (mL)

b: Süreye bağlı olarak oluşan gaz hacmini (mL)

a+b: Toplam (potansiyel) gaz üretimini (mL)

c: Gaz üretim hız sabitini (saat<sup>-1</sup> veya %)

t: Gaz üretim süresini (saat), göstermektedir.

### 3.2.3. Silajların metabolik enerji değerlerinin belirlenmesi

Silaj örneklerinin ME değerlerinin belirlenmesinde Menke ve ark. (1979) tarafından kaba yemler için bildirilen formül kullanılmıştır.

$$ME \text{ (MJ/kg KM)} = 2.20 + 0.136 \times G\ddot{U} + 0.057 \times HP \text{ (R}^2= 0.94\text{)}$$

GÜ: 24 saatlik inkübasyon sonundaki net gaz üretimi (mL)

HP: KM' de ham protein (%)

### 3.2.4. Silajların *in vitro* gerçek kuru madde, nötr deterjanda çözünmeyen lif ve organik madde sindirilebilirliklerinin belirlenmesi

*In vitro* koşullarda silajların gerçek sindirilme dereceleri “Ankom® DAISY™ İnkübatör” (Ankom® Technology Corp., Fairport, NY, USA) cihazı kullanılarak saptanmıştır (Şekil 3.4). Yemlerin sindirilebilirliklerini saptayabilmek için çok katmanlı polyesterden yapılmış filtre torbaları kullanılmıştır (Ankom® F57 filter bag, Ankom® Technology Corp., Fairport, NY, USA). Filtre torbaları kullanılmadan hemen önce asetonla yıkanmış ve 100°C’ de 24 saat kurutma dolabında kurutulduktan sonra tartılmışlardır (D1).



Şekil 3.4. Ankom® DAISY™ inkübatör

Daha sonra 0.25 g silaj örneği konan filtre torbalarının ağızları sıcak presle kapatılmıştır (Impulse Sealer, American International Electric Inc., AIE-200, Taiwan, Şekil 3.5). Filtre torbaları 65°C’ de 48 saat kurutma dolabında kurutulduktan sonra tekrar tartılıp inkübasyona hazır hale getirilmişlerdir (D2). Her bir örnek için 4 torba hazırlanmıştır. Aynı zamanda kör deneme için sıcak presle kapatılmış 4 adet boş torba oluşturulmuştur.



Şekil 3.5. Sıcak pres

Yapay tükrüğü hazırlamak için 2 adet tampon çözelti (Tampon A ve B) kullanılmıştır (Goering ve Van Soest 1970). Tampon A çözeltisi; 10.0 g potasyum hidrojen sülfat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ), 0.5 g magnezyum sülfat ( $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ), 0.5 g tuz, 0.1 g kalsiyum klorür ( $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) ve 0.5 g ürenin 1 L saf su içerisinde çözündürülmesiyle hazırlanmıştır. Tampon B çözeltisi ise; 15.0 g sodyum karbonat ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ), 1.0 g sodyum sülfatın ( $\text{Na}_2\text{S}_9\text{H}_2\text{O}$ ) 1 L saf su içerisinde çözündürülmesiyle hazırlanmıştır. Hazırlanan tampon çözeltilerin pH' ları 6.8' e ayarlanmıştır. Tampon A ve B çözeltileri kullanılmadan hemen önce 39°C' de ısıtılmışlardır. Ankom® DAISY™ İnkübatör cihazının yem örneği koyma kavanozuna önce 266 mL tampon B çözeltisinden, daha sonra 1300 mL tampon A çözeltisinden ilave edilmiştir. Bu şekilde hazırlanan tampon çözeltinin içerisine yem örnekleri bulunan filtre torbalar yerleştirilmiştir. Tampon çözelti hazırlanırken bir yandan da 2 baş Siyah-Alaca inekten rumen sıvısı alınmıştır. Rumen sıvısı 39°C' ye ayarlı bir termos içerisinde laboratuvara getirilip, 2 kat tülbent bezinden süzöldükten sonra, hazırlanan yapay tükrük çözeltisine 400 mL düzeyinde ilave edilmiştir. Kavanozların kapakları kapatılarak kavanoz içerisine  $\text{CO}_2$  gazı verilmiştir. Daha sonra kavanozlar Ankom® DAISY™ inkübatörde 48 saat süreyle 39°C' de inkübasyona bırakılmışlardır.

İnkübasyon süresi sonunda yapay rumen ortamından çıkarılan filtre torbaları çeşme suyunda iyice yıkanmışlar ve 65°C' de 48 saat inkübatörde kurutularak tartılmışlardır ( $D_3$ ). Rumende silaj örneklerinin gerçek KM sindirilebilirliği aşağıdaki eşitlikten yararlanılarak hesaplanmıştır (Bunge 2006).



$$\text{Gerçek KM sindirilebilirliği, \%} = 100 - \left[ \frac{D_3 - D_1}{D_2 - D_1} \times 100 \right]$$

Bu işlemlerden sonra aynı filtre torbaları Ankom<sup>200/220</sup> Sellüloz Tayin Cihaz' ında (Ankom<sup>®200/220</sup> Fiber Analyzer, Ankom<sup>®</sup> Technology Corp., Fairport, NY, USA, Şekil 3.6) 2 L' lik NDF çözeltisi (Ankom Neutral Detergent Dry Powder) ile 100°C' de 75 dk kaynatılmıştır. Kaynatma sonunda haznedeki çözelti boşaltılmış, 2-3 defa sıcak saf suyla yıkanan torbalar, plastik taşıyıcıdan alınarak yemdeki yağın uzaklaştırılması için 3-5 dk asetonla yıkanmıştır. Asetonla yıkama işlemi 2-3 kez tekrarlandıktan sonra torbalar önce ortam sıcaklığında yaklaşık 1 saat kadar, daha sonra da 105°C' de 1 gece kurutulup tartılmışlardır (D<sub>4</sub>).



Şekil 3.6. Ankom<sup>®200/220</sup> Sellüloz Tayin Cihazı

Rumende silaj örneklerinin gerçek NDF sindirilebilirliği aşağıdaki eşitlikten yararlanılarak hesaplanmıştır (Bunge 2006). Yem örneğinin orijinal %NDF içeriği (D<sub>6</sub>, Çizelge 4.4), KM içeriği (% , D<sub>7</sub>).

$$\text{Gerçek NDF sindirilebilirliği, \%} = 100 - \left[ \frac{D_4 - D_1}{D_6 \times D_7} \times 100 \right]$$

Bu işlemlerden sonra aynı filtre torbaları porselen kroze içerisine yerleştirilerek 500°C' de kül fırınında 6 saat boyunca yakılmışlardır (D<sub>5</sub>). Rumende silaj örneklerinin gerçek OM sindirilebilirliği aşağıdaki eşitlikten yararlanılarak hesaplanmıştır (Bunge 2006). Yem örneğinin orijinal %OM içeriği (KM-HK, D<sub>8</sub>).

$$\text{Gerçek OM sindirilebilirliği \%} = 100 - \left[ \frac{D_5 \times D_2}{D_8 \times D_7} \times 100 \right]$$

### 3.2.5. Kimyasal analizler

Taze materyal ve silaj örneklerinin KM, ham kül (HK) ve HP içerikleri AOAC (1990) tarafından bildirilen klasik analiz yöntemlerine göre belirlenmiştir. Bu yöntemlere göre silajların havada KM içerikleri, 200-250 g yaş örnek 60°C' de 48 saat havalı kurutma dolabında tutularak; HK içerikleri 3 g yem örneği porselen kroze içerisine tartıldıktan sonra ayarlanabilir kül fırınında (Nüve, MF 120, Ankara, Türkiye) 550-600°C' de 3.5-4 saat kademeli olarak yakılarak; HP içerikleri ise Kjeldahl yöntemi (Gerhadth, Bonn, Germany) kullanılarak saptanmıştır. Ayrıca taze materyal ve silaj örneklerinin NDF, ADF ve asit deterjanda çözünmeyen lignin (ADL) içeriklerinin belirlenmesinde Van Soest ve ark. (1991) tarafından geliştirilen yöntemler kullanılmıştır. Hemisellüloz (NDF-ADF) ve sellüloz içerikleri (ADF-ADL) hesap yoluyla belirlenmiştir.

#### 3.2.5.1. pH ölçümü

Bölüm 3.2.1' de belirtildiği gibi hazırlanan sıvı örneklerin pH değerleri, tampon çözeltiler (pH=4 ve pH=7) kullanılarak ayarlanmış olan elektronik pH metre ile ölçülmüştür (Sartorius, Basic PB-20, Goettingen, Germany, Şekil 3.7).



Şekil 3.7. pH metre

### 3.2.5.2. Suda çözünebilir karbonhidrat analizi

Taze materyal ve silaj örneklerinin SÇK analizleri Dubois ve ark. (1956) tarafından bildirilen fenol sülfürik asit yöntemine göre belirlenmiştir. Derin dondurucudan çıkarılan örnekler çözününceye kadar oda sıcaklığında bekletilmişlerdir. Çözündürülen örnekler daha sonra saf su ile seyreltilerek (1:9) kullanılmıştır. Seyreltilmiş örnekten tüplere otomatik pipet yardımıyla 1 mL aktarılmış ve üzerine 1 mL su, 0.150 mL %80' lik fenol ( $C_6H_5OH$ ) ile 5 mL %98' lik sülfürik asit ( $H_2SO_4$ ) ilave edilerek 30 sn vortekste (Isolab, VM 20, Wertheim, Germany) karıştırılmış ve 15 dk soğutulduktan sonra 490 nm dalga boyunda spektrofotometrede (Shimadzu, UV Mini 1240, Japan) okunmuştur (Şekil 3.8).



Şekil 3.8. Spektrofotometre

Standart eğrisinin oluşturulması: 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 ve 1 mL glukoz solüsyonlarının her biri 1 mL su bulunan tüplere aktararak 2 mL' ye tamamlanmıştır. Daha sonra tüplerin içerisine 0.150 mL %80' lik fenol ile 5 mL %98' lik sülfürik asit ilave edilmiş ve 30 sn karıştırılarak tüp içerisindeki çözeltinin iyice karışması sağlanmıştır. Tüpler 15 dk soğutulduktan sonra

490 nm dalga boyunda spektrofotometrede okunmuş ve standart eğri Microsoft Excel bilgisayar programında oluşturulmuştur.

Hesaplama: Örneklerin SÇK değerleri standart eğriden, okunarak belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar seyreltme katsayısı (10) ile çarpılarak yem örneğinin KM miktarına oranlanmış ve silajların KM' de %SÇK içerikleri saptanmıştır.

### 3.2.5.3. Laktik asit analizi

Taze materyal ve silaj örneklerinin laktik asit konsantrasyonları Barker ve Summerson (1941) tarafından geliştirilen spektrofotometrik analiz yöntemine göre belirlenmiştir. Derin dondurucuda saklanan örnekler analizin yapılacağı gün çıkartılarak, çözününceye kadar oda sıcaklığında bekletilmişlerdir. Çözünen örnekler daha sonra 1:100 oranında saf su ile seyreltildikten sonra kullanılmıştır. Seyreltilen örnekten otomatik pipet yardımıyla 1 mL sıvı tüplere aktarılmış ve üzerine 0.1 mL bakır sülfat (5 g  $\text{CuSO}_4$  /100mL saf su) ile 6 mL %98' lik sülfürik asit ilave edilmiştir. Hazırlanan tüpler 30 sn vortekste karıştırıldıktan sonra 5 dk soğuk su içerisinde soğumaya bırakılmıştır. Bu süre sonunda tüplere 0.1 mL para hidrosibifenil (%0.5 NaOH/100mL saf su + 2.5 g %97' lik  $\text{C}_6\text{H}_5\text{C}_6\text{H}_4\text{OH}$ ) eklenerek, tüpler 30 sn tekrar vortekste karıştırılmış ve oda sıcaklığında 10 dk bekletilmiştir. Daha sonra tüpler 90 sn kaynar su içerisine daldırılıp çıkarılmış ve soğuması beklendikten sonra spektrofotometrede 565 nm dalga boyunda okunmuştur.

Standart eğrisinin oluşturulması: 213 mg lityum laktat 500 mL saf su içerisinde çözüldürülmüş ve üzerine 0.5 mL %98' lik sülfürik asit ilave edilmiştir (400  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ). Elde edilen çözelti, önce 1:9 (40  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) daha sonra 1:1 (20  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , stok çözelti) oranında saf su ile seyreltilmiştir. Daha sonra stok çözeltden 2.5, 5.0, 10, 15  $\mu\text{g}/\text{mL}$  lityum laktat içerecek şekilde yeni karışımlar elde edilmiştir. Tüpler içerisine seyreltikten 1 mL aktarılmış ve üzerine 0.1 mL bakır sülfat ile 6 mL %98' lik sülfürik asit ilave edilmiş, 30 sn vortekste karıştırılmış ve 5 dk soğuk suda tutularak, soğuması sağlanmıştır. Bu süre

sonunda tüplere 0.1 mL para hidroksi bi fenil ilave edilerek, tüpler 30 sn tekrar vortekste karıştırılmış ve 10 dk oda sıcaklığında tutulmuşlardır. Daha sonra tüpler 90 sn kaynar su içerisine daldırılıp çıkartılarak, soğuması beklendikten sonra 565 nm dalga boyunda spektrofotometrede okunmuş ve standart eğri Microsoft Excel bilgisayar programında oluşturulmuştur.

Hesaplama: Örneklerin laktik asit değerleri standart eğriden okunarak belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar seyreltme katsayısı (10) ile çarpılarak yem örneğinin KM miktarına oranlanmış ve silajların KM' de % laktik asit konsantrasyonları saptanmıştır.

#### 3.2.5.4. Organik asitler ve etanol analizi

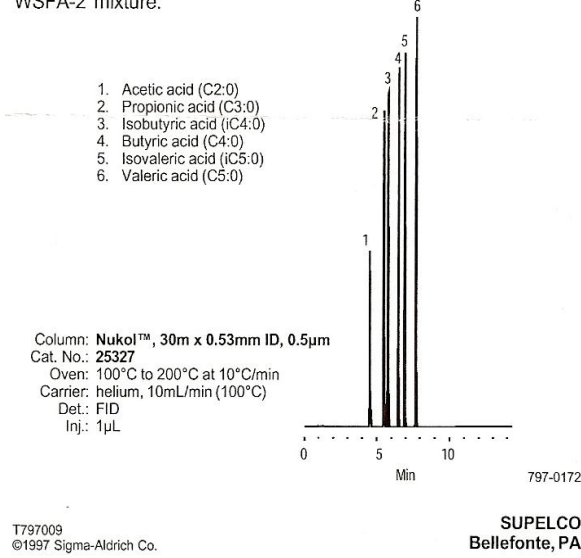
Taze materyal ve silaj örneklerinin organik asit ve etanol konsantrasyonları, gaz kromatografisinde (Agilent Technologies 6890N Network GC System, 7683 B Series Injector, China, Şekil 3.9) kapillar kolon (Stabilwax®-DA; Crossbond "Carbowax"-PEG asidik bileşikler için, 30 m, 0.25 mm ID, 0.25µm df, maksimum program sıcaklığı 260°C) kullanılarak belirlenmiştir. Analizler sırasında kromatografinin fırını 100°C' de 5 dk, ardından 10°C/dk artışla 160°C' de 2 dk ve son olarak 80°C/dk artışla 5 dk bekleme şeklinde programlanmıştır.



Şekil 3.9. Gaz kromatografisi

Örnekler gaz kromatografi cihazına enjekte edilmeden önce, 1 mL' lik viole konulan UYA standardı (Spelco™ WSFA-2 Mix Sigma-Aldrich Co, Şekil 3.10) ve etanol çözeltisi (%96' lık) otomatik örnekleyici bölümüne yerleştirilerek okunmuş ve bilgisayarda çeşitli pikler elde edilmiştir. Bölüm 3.2.1' de belirtildiği gibi hazırlanan sıvı örneklerin organik asit bileşimleri (asetik, propiyonik, bütrik) ve etanol konsantrasyonları standart kromatogramdan alınan piklere göre belirlenmiştir.

This qualitative water soluble fatty acid mixture contains acetic (C2:0), propionic (C3:0), isobutyric (iC4:0), butyric (C4:0), isovaleric (iC5:0), and valeric (C5:0) acids. The weight percent of each fatty acid component is 0.1% in water. Each ampul contains 5mL of the WSFA-2 mixture.



Şekil 3.10. Standart kromatogram

### 3.2.5.5. Amonyak azotu analizi

Taze materyal ve silaj örneklerinin NH<sub>3</sub>-N analizi Kjeldahl distilasyon ünitesinde (Gerhadth, Bonn, Germany) gerçekleştirilmiştir. Bu analiz için tartılan 40 g örnek 360 mL saf su ile stomacher' da 3 dk çalkalandıktan sonra filtre kağıdından süzülmüştür. Elde edilen filtrattan 100 mL alınarak distilasyon ünitesine yerleştirilmiş ve 12 dk distile edildikten sonra 0.1 N %37' lik hidroklorik asit (HCl) çözeltisi ile titre edilmiştir. Örneklerin NH<sub>3</sub>-N konsantrasyonları aşağıda belirtilen denkleme göre hesaplanmıştır.

$$\text{NH}_3\text{-N /TN (\%)} = \left[ \frac{[T \times 4 \times 0.1 \times 14]}{[(40 \times \text{KM}/100)] \times [(\text{HP}/100)/6.25]} \right] / 100$$

T= Titrasyonda harcanan 0.1 N HCl miktarı (mL)

4= Seyreltme katsayısı (40+360/100= 4)

0.1= HCl normalitesi (N)

14= Azotun atom ağırlığı (g)

40= Örnek miktarı (g)

KM= Kuru madde (%)

HP= KM' de ham protein (%)

6.25= Azotu HP' ne dönüştürme katsayısı

### 3.2.5.6. Mikrobiyolojik analizler

Taze materyal ve silaj örneklerinin içerdiği *Lactobacilli*, maya ve küf gibi mikrobiyal popülasyonlar Filya ve ark. (2000) tarafından tanımlanan mikrobiyolojik analiz yöntemlerine göre belirlenmiştir. Açılan silajlardan steril naylon torbalara 40' ar g örnek alınmış ve bu örnekler 360 mL steril deiyonize su ilave edilerek stomacher' da 3 dk çalkalanmıştır. Araştırmada kullanılan LAB inokulantlarının içerdiği canlı mikroorganizma sayıları, üretici firmanın bildirdiği mikroorganizma sayıları kullanılmayıp laboratuvarında analiz yoluyla belirlenmiştir (Çizelge 3.3, Şekil 3.10).

Çizelge 3.3. İnokulantların içerdiği canlı mikroorganizma sayısı (cfu/g)

Uygulama	Canlı mikroorganizma sayısı
Biomax®5	390×10 <sup>8</sup>
P 1132™	92.5×10 <sup>8</sup>
<i>L. plantarum</i> MTD1	75.5×10 <sup>8</sup>
<i>L. pentosaceus</i>	221×10 <sup>8</sup>
<i>P. pentosaceus</i>	44.0×10 <sup>8</sup>
<i>L. pentosus</i>	21.5×10 <sup>8</sup>
P 11A44™	115×10 <sup>8</sup>
<i>L. buchneri</i>	28.2×10 <sup>8</sup>
Lalsil®	8.05×10 <sup>8</sup>

Örneklerin içerdiği *Lactobacilli*, dökme yöntemiyle izole edilmiş ve bu amaçla toz formundaki inokulantlardan 0.1 g tartılarak 10 mL steril deiyonize suda çözündürülmüştür. Besi yeri olarak, otoklavda (Nüve, OT 4060, Ankara, Türkiye) 121°C' de 15 dk sterilize edilmiş Rogosa Agar (Oxoid CM627, Oxoid, Basingstoke, UK) kullanılmıştır. Elde edilen örneklerdeki mikroorganizma sayısını, petrilere uygun sayıda koloni oluşturacak düzeye indirgemek için seyreltme uygulanmıştır. Bunun için 121°C' de 15-20 dk sterilize edilmiş fizyolojik su (8.5 g/L saf NaCl) kullanılmıştır. Seyreltme işlemi örnekte var olan tahmini mikroorganizma sayısı dikkate alınarak yapılmıştır. Son seyreltme kademesinden alınan 1 mL aşılama materyali, steril bir petriye aktarılmıştır. Yaklaşık 48-50°C' ye soğutulduktan sonra aynı petriye bulaşmaya izin vermeyecek şekilde dökülmüştür. Petri kabı, sekiz çiçek şeklinde 5-6 kez çevrilerek; aşılama materyali ile agarlı besiyerinin karışması sağlanmış ve düz bir yüzeyde katılaşmaya bırakılmıştır. Petriler 30°C' de 3 gün inkübatörde (Nüve, EN 500, Ankara, Türkiye) tutulmuşlardır. Petriler inkübatörden çıkarılarak canlı mikroorganizma sayımı koloni sayma ünitesinde (Funke Gerber, Colony Star, Germany) gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.11. Mikrobiyolojik analiz ünitesi



Maya ve küf sayımında, aerobik mikroorganizmaların izolasyonunda kullanılan sürme petri kültürü yöntemi kullanılmıştır. Bunun için besi ortamı olarak, 121°C' de 15 dk sterilize edilmiş Malt Ekstrakt Agar (Difco, Detroit, MI, USA) ile %10' luk laktik asit kullanılmıştır. Agar steril petri kaplarına aktarılmış ve kuruması beklenmiştir. Mikroorganizma yükü uygun düzeye indirgenmiş 0.1 mL örnek, kurutulmuş besi yerine aktarılarak drigalski spatülü ile tüm yüzeye yayılmıştır. Drigalski spatülü her kullanımda %96' lık alkole batırılıp çıkarıldıktan sonra yakılmış ve sönmesi beklendikten sonra kullanılmıştır. Petriler 30°C' de 3 gün süre ile inkübatörde tutulmuşlardır. Bu süre sonunda mikroorganizma sayımı koloni sayma ünitesinde gerçekleştirilmiştir.

### 3.2.5.7. Aerobik stabilite testi

Silolamanın 60. gününde açılan silajların aerobik stabilitelerinin belirlenmesinde Ashbell ve ark. (1991) tarafından geliştirilen yöntem kullanılmıştır (Şekil 3.11). Aerobik stabilitenin 5. gününde silaj örneklerinin pH' ları ölçülmüş ve CO<sub>2</sub> üretimleri saptanmıştır. Ayrıca Filya ve ark. (2000) tarafından geliştirilen değerlendirme yöntemi ile silajların görsel küflenmeleri gözlenmiş ve silajların içerdiği maya ve küf sayıları (3.2.5.6.' da belirtildiği şekilde) belirlenmiştir.



Şekil 3.12. Aerobik stabilite testi

Aerobik stabilite testinin uygulanması için, 1 atm ve 25°C' de 24 saatteki CO<sub>2</sub> geçirgenlik oranı 15–25 mL/mil/254 m olan (Anonim 1981) stabil, aşınmaya dirençli ve gaz sızdırmaz özellikteki 1.5 L' lik polietilen (PET) şişeler

kullanılmıştır. Şişeler kullanılmadan önce 1 ve 0.5 L olmak üzere ikiye kesilmiştir. Kapak kısmına ise hava sirkülasyonunu sağlamak için küçük çivi delikleri açılmış ve üzeri telle kapatılmıştır. Yaklaşık 250-300 g silaj örneği 0.5 L' lik üst kısma sıkıştırılmadan konurken, 1 L' lik alt kısma da 100 mL potasyum hidroksit (%25, KOH) çözeltisi konmuştur. Silaj örnekleri 5 gün boyunca 25°C' lik laboratuvar ortamında havanın oksijenine maruz bırakılmışlardır. Bu süre içerisinde silaj örneklerinde oluşan ve havadan 1.5 kat daha yoğun olan CO<sub>2</sub> gazının alta çökerek tabanda tutulması sağlanmıştır. Beşinci gün sonunda potasyum hidroksit çözeltisinden 10 mL alınmış ve 1 N %37' lik hidroklorik asit ile titre edilmiştir. Titrasyon sırasında çözeltinin pH' sı devamlı pH metre ile ölçülmüş ve pH' nın 8.1' den 3.6' ya düşene kadarki harcanan hidroklorik asit miktarı belirlenmiştir. Beş gün süre ile havanın oksijenine maruz kalan silajların ürettikleri CO<sub>2</sub> gazı miktarı aşağıda belirtilen denkleme göre hesaplanmıştır.

$$\text{CO}_2 (\text{g/kg KM}) = 0.044 \times T \times V / (A \times \text{TM} \times \text{KM})$$

T= Titrasyonda harcanan 1 N HCl miktarı (mL)

V= %25 KOH çözeltisinin toplam hacmi (mL)

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

TM= Taze silaj materyalinin ağırlığı (kg)

KM= Taze silaj materyalinin kuru madde miktarı (g/kg)

### 3.2.5.8. Rumen sıvısında uçucu yağ asitleri analizi

Bölüm 3.2.2' de *in vitro* gaz üretim tekniği ile rumen sıvısı+yapay tükrük ile inkübasyona bırakılan cam şırıngaların içerikleri 50 mL' lik santrifüj tüplerine aktarılmış, pH' ları belirlendikten sonra 5000 devir/dk' da 15 dk santrifüj edilmiştir. Daha sonra tüplerin üst kısmından 10 mL sıvı alınıp, her bir tüpe 1 M' lik orto fosforik asit çözeltisinden 1.5 mL ilave edildikten sonra 30 dk tekrar santrifüj edilmiştir. Söz konusu örnekler analizlerin yapılacağı zamana kadar derin dondurucuda (-20°C) tutulmuş ve analizin yapılacağı gün çıkartılarak çözününceye kadar oda sıcaklığında bir süre bekletilmişlerdir.

Otomatik örnekleyici bölümüne yerleştirilen örneklerin UYA bileşimleri (asetik, propiyonik, bütirik, izobütirik, valerik ve izovalerik asit) standart kromatogramdan alınan piklere göre gaz kromatografisinde belirlenmiştir (3.2.5.4' te belirtildiği şekilde). Analiz sonucu elde edilen bireysel UYA' nin % konsantrasyonları aşağıda belirtilen denkleme göre hesaplanmıştır.

$$\%BUYA = \frac{\text{BUYA (mmol/L)}}{\text{TUYA (mmol/L)}} \times 100$$

%BUYA: bireysel uçucu yağ asitleri (%)

BUYA: bireysel uçucu yağ asitleri (mmol/L)

TUYA: toplam uçucu yağ asitleri (mmol/L)

### 3.2.6. İstatistik analizler

Araştırmadan elde edilen verilerin istatistikî olarak değerlendirilmesinde tesadüf parselleri deneme deseni kullanılmış olup, analizler MINITAB 14 paket programından yararlanılarak yapılmıştır. Ortalamalar arasında görülen farklılıkların önem seviyesinin belirlenmesinde ise Duncan çoklu karşılaştırma testinden yararlanılmıştır (Snedecor ve Cochran 1980).

## 4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI ve TARTIŞMA

### 4.1. Silajların Fermantasyon Özellikleri

#### 4.1.1. Silajların kimyasal kompozisyonları

Araştırmanın yem materyalini oluşturan taze ve silolanmış mısırın kimyasal kompozisyonlarına ilişkin araştırma bulguları Çizelge ve Şekil 4.1' de verilmiştir.

Araştırmada kullanılan <sup>ho</sup>LAB (Biomax<sup>®</sup>5, P1132<sup>TM</sup>, *L. plantarum* MTD1, *L. pentosaceus*, *P. pentosaceus*, *L. pentosus*), <sup>het</sup>LAB (P11A44<sup>TM</sup> ve *L. buchneri*) ve <sup>ho+het</sup>LAB (Lalsil<sup>®</sup>) inokulantlarının mısır silajının kimyasal kompozisyonu üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. Değerlendirme sonucunda, en etkin fermantasyonun <sup>ho</sup>LAB ve <sup>ho+het</sup>LAB inokulantlarının kullanıldığı silajlarda gerçekleştiği görülmüştür. Söz konusu inokulantlar fermantasyonun tüm günlerinde mısır silajının pH' sını ve SÇK içeriğini düşürerek, diğer silajlara göre daha fazla laktik asit üretmişlerdir. Diğer yandan <sup>het</sup>LAB inokulantlarının kullanıldığı silajların pH' ları diğer gruplardan yüksek bulunurken, söz konusu inokulantlarda genel olarak mısır silajının SÇK içeriğini düşürmüşler, ancak kontrol silajına göre daha az laktik asit üretmişlerdir.

Taze mısırın KM içeriğinin %32.72 olarak belirlendiği araştırmada, mısır silajlarının KM içerikleri %32.63–33.69 arasında değişmiştir. Laktik asit bakteri inokulantlarının KM üzerindeki etkileri fermantasyonun tüm dönemlerinde kontrol grubuna göre önemsiz bulunmuştur ( $P>0.05$ ). Filya ve ark. (2006) ile Kleinschmit ve Kung (2006a)' da *L. plantarum* ve/veya *L. buchneri*' nin mısır silajının KM içeriğini etkilemediğini belirlemişlerdir.

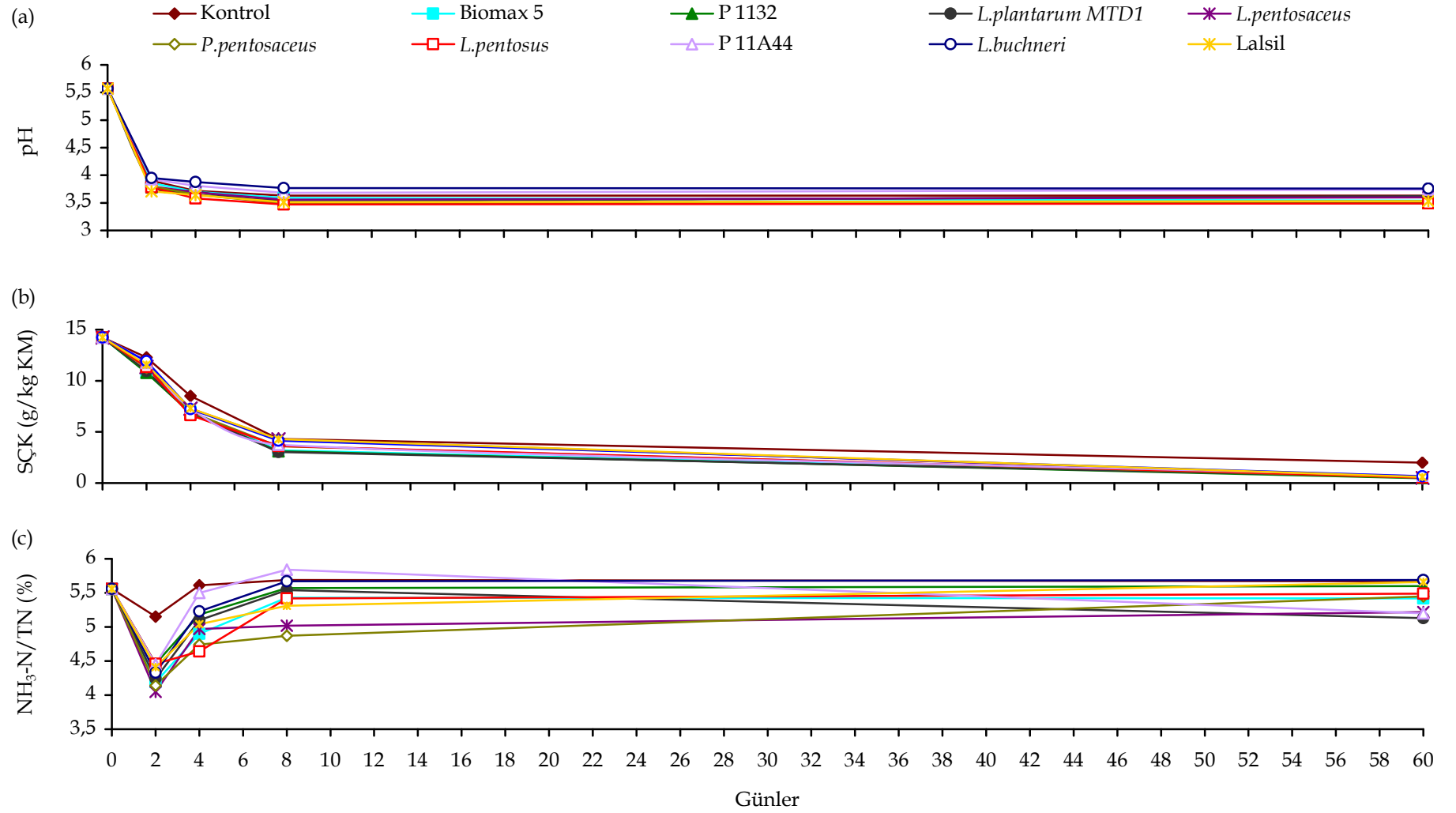
Taze mısırın pH' sının 5.57 olarak saptandığı bu araştırmada, yapılan tüm silajların pH' sı fermantasyonun 2. gününden itibaren düşmeye başlamış ve bu günde silajların pH' ları 3.71–3.95 arasında değişmiştir. Fermantasyonun 4. ve 8. günlerinde de yapılan tüm silajlarda pH düşmeye devam etmiş, ancak 60. günde silajların pH' sında önemli bir değişiklik gözlenmemiştir ( $P>0.05$ ).

Çizelge 4.1. Silajların kimyasal kompozisyonları ( $\bar{x}$ )

Günler	Uygulama	KM, %	pH	SÇK, %	HP, %	HK, %	NH <sub>3</sub> -N/TN, %	KMK, %
0	Taze	32.72	5.57	14.23	7.17	4.43	5.33	-
	Silaj							
2	Kontrol	32.83	3.90 <sup>bc</sup>	12.29	7.42	4.44	5.15	0.63 <sup>c</sup>
	Biomax <sup>®</sup> 5	33.07	3.86 <sup>c</sup>	10.83	7.33	4.18	4.19	0.52 <sup>de</sup>
	P1132 <sup>TM</sup>	33.30	3.78 <sup>d</sup>	10.79	7.66	4.21	4.46	0.35 <sup>f</sup>
	<i>L.plantarum</i> MTD1	33.28	3.86 <sup>c</sup>	10.95	7.51	4.32	4.24	0.50 <sup>e</sup>
	<i>L.pentosaceus</i>	33.10	3.80 <sup>d</sup>	11.34	7.43	4.42	4.05	0.69 <sup>b</sup>
	<i>P.pentosaceus</i>	33.28	3.80 <sup>d</sup>	11.27	7.63	4.48	4.14	0.53 <sup>de</sup>
	<i>L.pentosus</i>	33.41	3.78 <sup>d</sup>	11.35	7.53	4.87	4.46	0.35 <sup>f</sup>
	P11A44 <sup>TM</sup>	33.39	3.93 <sup>ab</sup>	11.74	7.36	4.96	4.45	1.09 <sup>a</sup>
	<i>L.buchneri</i>	33.06	3.95 <sup>a</sup>	11.92	7.42	4.04	4.33	1.13 <sup>a</sup>
	Lalsil <sup>®</sup>	33.26	3.71 <sup>e</sup>	11.56	7.44	4.97	4.41	0.56 <sup>d</sup>
	SH	0.525	0.024	0.769	0.295	0.230	0.363	0.022
4	Kontrol	33.05	3.72 <sup>c</sup>	8.52	7.77	4.74	5.61	0.78 <sup>cd</sup>
	Biomax <sup>®</sup> 5	33.34	3.70 <sup>cd</sup>	6.99	7.69	4.42	4.90	0.56 <sup>e</sup>
	P1132 <sup>TM</sup>	33.17	3.65 <sup>de</sup>	6.84	7.71	4.10	5.18	0.56 <sup>e</sup>
	<i>L.plantarum</i> MTD1	33.47	3.71 <sup>c</sup>	6.87	7.59	4.76	5.10	0.43 <sup>f</sup>
	<i>L.pentosaceus</i>	32.63	3.69 <sup>c-e</sup>	7.27	7.53	4.53	4.97	0.84 <sup>c</sup>
	<i>P.pentosaceus</i>	33.29	3.65 <sup>e</sup>	6.94	7.72	4.91	4.74	0.78 <sup>cd</sup>
	<i>L.pentosus</i>	33.26	3.58 <sup>f</sup>	6.64	7.67	4.92	4.64	0.48 <sup>f</sup>
	P11A44 <sup>TM</sup>	33.15	3.81 <sup>b</sup>	7.37	7.73	4.90	5.50	1.58 <sup>b</sup>
	<i>L.buchneri</i>	33.24	3.88 <sup>a</sup>	7.23	7.75	4.11	5.23	1.74 <sup>a</sup>
	Lalsil <sup>®</sup>	33.22	3.64 <sup>e</sup>	7.31	7.61	4.96	5.04	0.71 <sup>d</sup>
	SH	0.482	0.028	0.508	0.384	0.282	0.345	0.041
8	Kontrol	32.76	3.63 <sup>c</sup>	4.32	7.15	4.40	5.69	1.01 <sup>c</sup>
	Biomax <sup>®</sup> 5	33.13	3.59 <sup>d</sup>	3.21	7.32	4.37	5.43	0.66 <sup>fg</sup>
	P1132 <sup>TM</sup>	33.15	3.51 <sup>f</sup>	3.10	7.54	4.53	5.57	0.77 <sup>ef</sup>
	<i>L.plantarum</i> MTD1	33.02	3.55 <sup>e</sup>	3.03	7.67	4.76	5.54	0.63 <sup>g</sup>
	<i>L.pentosaceus</i>	33.20	3.56 <sup>de</sup>	4.28	7.82	4.83	5.02	0.85 <sup>de</sup>
	<i>P.pentosaceus</i>	33.11	3.49 <sup>fg</sup>	3.59	7.15	4.60	4.87	0.92 <sup>cd</sup>
	<i>L.pentosus</i>	33.31	3.47 <sup>g</sup>	3.63	7.90	4.66	5.42	0.59 <sup>g</sup>
	P11A44 <sup>TM</sup>	33.20	3.68 <sup>b</sup>	3.74	7.33	4.82	5.84	1.90 <sup>b</sup>
	<i>L.buchneri</i>	33.30	3.77 <sup>a</sup>	4.14	7.22	4.64	5.67	2.37 <sup>a</sup>
	Lalsil <sup>®</sup>	33.31	3.51 <sup>f</sup>	4.30	7.86	4.70	5.31	1.02 <sup>c</sup>
	SH	0.377	0.020	0.404	0.323	0.236	0.381	0.073
60	Kontrol	32.73	3.63 <sup>c</sup>	2.01 <sup>a</sup>	8.18	5.01	5.67	1.74 <sup>fg</sup>
	Biomax <sup>®</sup> 5	33.69	3.54 <sup>e</sup>	0.53 <sup>b</sup>	8.51	4.90	5.42	1.46 <sup>g</sup>
	P1132 <sup>TM</sup>	33.30	3.49 <sup>f</sup>	0.47 <sup>b</sup>	7.91	4.48	5.60	1.95 <sup>f</sup>
	<i>L.plantarum</i> MTD1	33.08	3.62 <sup>c</sup>	0.56 <sup>b</sup>	8.06	4.84	5.13	0.99 <sup>h</sup>
	<i>L.pentosaceus</i>	33.28	3.60 <sup>d</sup>	0.53 <sup>b</sup>	7.85	4.92	5.22	2.87 <sup>b</sup>
	<i>P.pentosaceus</i>	33.13	3.53 <sup>e</sup>	0.52 <sup>b</sup>	7.76	4.45	5.45	2.49 <sup>c</sup>
	<i>L.pentosus</i>	33.10	3.49 <sup>f</sup>	0.54 <sup>b</sup>	7.66	4.62	5.49	2.13 <sup>e</sup>
	P11A44 <sup>TM</sup>	33.19	3.74 <sup>b</sup>	0.70 <sup>b</sup>	8.09	4.44	5.20	3.72 <sup>a</sup>
	<i>L.buchneri</i>	33.13	3.76 <sup>a</sup>	0.67 <sup>b</sup>	7.35	4.13	5.69	3.64 <sup>a</sup>
	Lalsil <sup>®</sup>	33.16	3.53 <sup>e</sup>	0.59 <sup>b</sup>	7.81	4.99	5.66	2.45 <sup>d</sup>
	SH	0.362	0.012	0.158	0.591	0.245	0.656	0.204

KM, kuru madde; SÇK, suda çözünebilir karbonhidrat; HP, ham protein; HK, ham kül; NH<sub>3</sub>-N/TN, amonyak azotu miktarı; KMK, kuru madde kaybı; SH, standart hata.

<sup>a-b</sup> Aynı sütunda farklı inokulantlar için farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki farklılıklar önemlidir ( $P < 0.05$ ).



Şekil 4.1. Fermantasyon süresince silajlardaki pH (a), SÇK (b) ve NH<sub>3</sub>-N/TN (c) değişimi

SÇK, suda çözünebilir karbonhidrat; NH<sub>3</sub>-N/TN, amonyak azotu

Homofermantatif LAB ve <sup>ho+het</sup>LAB inokulantlarının kullanımı mısır silajının pH' sında belirlenen düşüşü daha belirgin hale getirmişlerdir ( $P<0.05$ ). Heterofermantatif LAB inokulantları ise mısır silajının pH' sını kontrol silajı ile <sup>ho</sup>LAB ve <sup>ho+het</sup>LAB inokulantlarının kullanıldığı silajlara göre daha geç düşürmüşlerdir. Bu durum <sup>het</sup>LAB' nin <sup>ho</sup>LAB' ne göre daha düşük hızda laktik asit üretmeleri ile açıklanabilir. Nitekim fermantasyon dönemi boyunca <sup>het</sup>LAB inokulantlarının kullanıldığı silajların laktik asit konsantrasyonundan elde edilen sonuçlar bu olguyu desteklemektedir (Çizelge 4.2). Konuya ilişkin yapılan çalışmalarda da, <sup>het</sup>LAB inokulantlarının silajların pH' larını daha yavaş (Ranjit ve ark. 2002, Danner ve ark. 2003), <sup>ho</sup>LAB inokulantlarının ise daha hızlı düşürdüğü (Filya ve ark. 2004a, Kim ve ark. 2005) belirlenmiştir. McDonald ve ark. (1991) silaj fermantasyonu için kritik dönemin silolamanın ilk haftası olduğunu ve ortamdaki oksijenin tükenmesiyle, istenilen düşük pH' ya ulaşılması durumunda, silajın stabil döneme girdiğini bildirmişlerdir. Dolayısıyla silajların pH' larına ilişkin olarak bu araştırmadan elde edilen bulgular McDonald ve ark. (1991)' nin bildiriyle uyumlu bulunmuştur. Silolamanın 2-8. günleri arasında istenilen pH' ya ulaşılmış ve 8. günden sonra fermantasyon açısından stabil döneme girilmiştir. Ayrıca fermantasyonun ilk günlerinde (7-14. gün) ortam pH' sının hızla düşmesi kaliteli bir silaj için gerçekleşmesi gereken bir olaydır. Kung ve Shaver (2001) kaliteli bir silajda sağlanması gereken optimum pH' nın, 3.7-4.2 arasında olması gerektiğini bildirmektedir. Silajların pH' sına ilişkin bu araştırmadan elde edilen sonuçlar kaliteli bir silaj için gerekli olan ortam pH' sına ulaşıldığını da göstermektedir. Benzer bulgular Johnson ve ark. (2003), Kleinschmit ve Kung (2006a) tarafından yürütülmüş çalışmalarda da belirlenmiştir.

Taze mısırın SÇK içeriğinin %14.23 olarak saptandığı araştırmada, mısır silajlarının SÇK içerikleri %0.47-12.29 arasında değişmiş ve fermantasyonun tüm dönemlerinde yapılan silajların SÇK içerikleri düşme eğilimi göstermiştir. Laktik asit bakteri inokulantlarının mısır silajının SÇK içeriği üzerindeki etkilerinin fermantasyonun 2., 4. ve 8. günlerinde önemsiz olduğu belirlenirken

( $P>0.05$ ), fermantasyonun 60. gününde bu inokulantların aynı parametre üzerindeki etkilerinin önemli olduğu görülmüştür. Nitekim 60. günde araştırmada kullanılan tüm inokulantlar mısır silajının SÇK' nı kontrol silajına göre önemli düzeyde düşürmüşlerdir ( $P<0.05$ ). Fermantasyon süresince silajların SÇK içeriğinde meydana gelen azalma, <sup>ho</sup>LAB inokulantlarının kullanıldığı silajlarda daha fazla olmuştur. Nitekim fermantasyonun 60. gününde rakamsal olarak en düşük SÇK içeriği <sup>ho</sup>LAB P1132™' nin (%0.47) kullanıldığı silajda saptanırken, en yüksek SÇK içeriği kontrol silajında (%2.01) belirlenmiştir. Homofermantatif LAB inokulantları (Biomax®5, P1132™, *L. plantarum* MTD1, *L. pentosaceus*, *P. pentosaceus*, *L. pentosus*) silaj bünyesinde bulunan SÇK' ları daha etkin kullanarak, daha fazla laktik asit üretmiş ve daha asidik bir ortam yaratmıştır (Çizelge 4.2). Silajların SÇK içerikleriyle ilgili olarak bu araştırmadan elde edilen bulgular fermantasyonun çeşitli dönemlerinde LAB inokulantlarının etkisini inceleyen Filya (2003)' nın çalışması ile uyumlu bulunmuştur. Nitekim araştırmacı, fermantasyonun 2., 4., 8. ve 15. günlerinde *L. plantarum* ve/veya *L. buchneri*' nin mısır silajının SÇK içeriğini etkilemediğini, fermantasyonun 90. gününde ise söz konusu inokulantların (%0.64-2.54) SÇK' ları kontrol silajına göre (%3.15) önemli düzeyde düşürdüğünü belirlemiştir. Diğer yandan Kleinschmit ve Kung (2006a) *L. buchneri*' nin, Filya ve ark. (2004a, 2006) ise *L. plantarum*' un mısır silajının SÇK içeriğini etkilemediğini bildirmişlerdir.

Taze mısırın HP ve HK içeriklerinin KM' de sırasıyla %7.17 ve 4.43 olarak belirlendiği araştırmada, mısır silajlarının HP ve HK içerikleri sırasıyla %7.15-8.51, 4.04-5.01 arasında değişmiştir. Mısır silajında kullanılan LAB inokulantlarının, söz konusu parametreler üzerindeki etkileri fermantasyonun tüm dönemlerinde kontrol silajına göre önemsiz bulunmuştur ( $P>0.05$ ). Diğer yandan silolamanın son döneminde (60. gün) açılan tüm silajların HP içeriklerinde, fermantasyonun ilk günlerine göre (2., 4., ve 8. gün) oransal bir artış gözlenmiştir. Bu açıdan bakıldığında en yüksek HP artışı %16.09 düzeyi ile <sup>ho</sup>LAB Biomax®5' in kullanıldığı silajda gerçekleşmiştir (2-60. gün). Ham



protein içeriklerinde gözlenen bu artış üzerinde, silajlarda sağlanan düşük pH etkili olmuştur. Dolayısıyla pH' da sağlanan hızlı düşüş, bitki proteazlarını inaktif hale getirerek deaminasyonu önlemiş ve 60. günde mısır silajında protein artışı (geri kazanımı) sağlamıştır. Konuya ilişkin benzer bulgular Kung ve Muck (1997), Sucu ve Filya (2006) tarafından yapılan çalışmalarda da elde edilmiştir. Söz konusu araştırmalarda da, LAB inokulantlarının mısır silajlarının HP ve HK içeriklerini etkilemediği, ancak fermantasyonun ileri günlerinde <sup>ho</sup>LAB inokulantlarının silajların HP içeriklerinde artış meydana getirdiği belirlenmiştir.

Taze mısırın NH<sub>3</sub>-N konsantrasyonunun %5.33 olarak saptandığı araştırmada, fermantasyon süresince mısır silajlarının NH<sub>3</sub>-N konsantrasyonları %4.05–5.84 arasında değişmiştir. Laktik asit bakteri inokulantlarının mısır silajının NH<sub>3</sub>-N konsantrasyonu üzerindeki etkileri fermantasyonun tüm dönemlerinde kontrol silajına göre önemsiz bulunmuştur ( $P>0.05$ ). Fermantasyonun 2. gününde LAB inokulantlarının kullanımı mısır silajının NH<sub>3</sub>-N konsantrasyonunu kontrol silajına göre rakamsal olarak düşürmüştür ( $P>0.05$ ). Bu dönemde en düşük NH<sub>3</sub>-N konsantrasyonu <sup>ho</sup>LAB *L. pentosaceus*' un (%4.05) kullanıldığı silajda saptanırken, en yüksek değer kontrol silajında (%5.15) oluştuğu belirlenmiştir. Cleale ve ark. (1990) *P. acidilactici*+*L. xylosus*' un mısır silajının NH<sub>3</sub>-N konsantrasyonunu etkilemediğini saptamıştır ( $P>0.10$ ). Araştırmacılar, bu durumun mısır silajının protein içeriğinin düşük olmasından kaynaklandığını bildirmişler ve NH<sub>3</sub>-N konsantrasyonunda oluşabilecek değişimlerin gözlenmesinin zor olduğunu ifade etmişlerdir. Fermantasyonun ilk günlerinde (2. gün) istenilen pH' ya ulaşıldığı için, 4., 8. ve 60. günlerde silajların NH<sub>3</sub>-N konsantrasyonları bakımından kayda değer bir değişiklik gözlenmemiştir. Ancak fermantasyonun 4. gününde NH<sub>3</sub>-N konsantrasyonunda bir miktar artış gözlenmiştir. Bu artış, <sup>het</sup>LAB (%5.23–5.50) ve <sup>ho+het</sup>LAB (%5.04) inokulantlarının kullanıldığı silajlar ile kontrol silajında, <sup>ho</sup>LAB inokulantlarının (%4.64–5.18) kullanıldığı silajlara göre daha yüksek olmuştur. Bu farklılığın oluşmasında <sup>het</sup>LAB inokulantlarının kullanıldığı

silajların pH'ının diğer gruplardan daha yüksek olması etkili olmuştur. Benzer bulgu Kung ve ark. (2007) tarafından yapılan çalışmada da elde edilmiştir. Nitekim araştırmacılar da, *L. buchneri*'nin mısır silajlarının HP içeriklerinde azalmaya sebep olduğunu, buna bağlı olarak silajların NH<sub>3</sub>-N konsantrasyonunda bir artışın meydana geldiğini bildirmişlerdir.

Bitki hasadından sonra görülen en önemli aktivite proteolizis olayıdır. Bu olay esnasında bitki bünyesindeki proteinler, proteaz enzimleri tarafından başlıca amino asitler ve amonyak olmak üzere peptid ve amidlere parçalanmaktadır (Filya 2001). Dolayısıyla silajlardaki NH<sub>3</sub>-N oluşumu, protein parçalanma düzeyini gösteren önemli bir parametredir. Fermantasyonun tüm dönemlerinde LAB inokulantlarının kullanımı ile ortam pH'ında sağlanan hızlı düşüş, bitki proteaz aktivitesini ve silajda bulunması istenmeyen *Clostridial* mikroorganizmaların gelişimini engellemiştir. Sonuçta, proteolizisin azalmasıyla birlikte silajlarda düşük NH<sub>3</sub>-N oluşumu gözlenmiştir. Kung ve Shaver (2001) kaliteli bir mısır silajında (%30-40 KM) NH<sub>3</sub>-N konsantrasyonunun %5-7 arasında olması gerektiğini bildirmişlerdir. Nitekim araştırmada silajların NH<sub>3</sub>-N konsantrasyonları Kung ve Shaver (2001) tarafından belirtilen sınırlar içerisinde kalmıştır. Ayrıca silajların NH<sub>3</sub>-N konsantrasyonlarına ilişkin bu araştırmadan elde edilen sonuçlar benzer konuda yapılan çalışmalar ile uyumlu bulunmuştur (Filya ve ark. 2006, Kleinschmit ve Kung 2006a).

Araştırmada mısır silajlarının KM kayıpları %0.35-3.72 arasında değişmiştir. Fermantasyon süresince yapılan tüm silajların KM kaybında bir artış gözlenmiştir. Filya (2001) fermantasyon başlangıcında görülen solunum olayı sırasında CO<sub>2</sub> ve su açığa çıktığını, bunun sonucunda da KM kaybının oluştuğunu bildirmiştir. Dolayısıyla fermantasyon süresince gözlenen bu artış solunum olayı sırasında oluşan fermantasyon gazlarının oluşturduğu kayıptır. Silolamanın 2., 4. ve 8. günlerinde <sup>h</sup>oLAB inokulantlarının kullanımı mısır silajında gözlenen KM kaybındaki artışı önemli düzeyde engellemiştir ( $P < 0.05$ ).

Homofermantatif LAB' den *L. plantarum* MTD1 mısır silajında KM kaybını en fazla engelleyen inokulant olmuştur. Nitekim McDonald ve ark. (1991) ile Muck ve Kung (1997) hoLAB inokulantlarının silajlarda KM kaybını azalttığını bildirmişlerdir. Johnson ve ark. (2003) ise *L. plantarum* kullanımının mısır silajının KM' sinde kazanım sağladığını belirlemişler ve KM geri kazanımı kontrol ve *L. plantarum* kullanılan silajlarda sırasıyla %91.4 ve 95.4 olarak saptamışlardır. Heterofermantatif LAB inokulantları (P11A44™ ve *L. buchneri*) ise KM kaybını kontrol silajına göre önemli düzeyde artırmışlardır ( $P<0.05$ ). Söz konusu dönemlerde (2-8. günler) ho+hetLAB Lalsil® inokulantı da mısır silajında KM kaybına neden olmuş ancak bu kayıp kontrol silajına göre önemsiz bulunmuştur ( $P>0.05$ ). Fermantasyonun 60. gününde ise bazı hoLAB inokulantlarının kullanımı (*L. pentosaceus*, *P. pentosaceus*, *L. pentosus*) KM kaybını kontrol silajına göre artırmış olsalar da, bu dönemde yine hetLAB' nin her ikisi de (P11A44™ ve *L. buchneri*) mısır silajında KM' de kaybını en çok artıran inokulantlar olmuşlardır. Heterofermantatif LAB' nin silaj bünyesinde bulunan substratları fermente etmesiyle birlikte oluşan asetik asit KM' de kayba neden olmaktadır (McDonald ve ark. 1973). Dolayısıyla özellikle hetLAB inokulantlarının kullanıldığı silajlarda belirlenen yüksek asetik asit, KM kaybını artıran en önemli etken olmuştur (Çizelge 4.2). Benzer bulgular Nishino ve ark. (2003)' da elde etmiş ve *L. buchneri* kullanımının mısır silajının KM' sinde %8.08 düzeyinde kayba neden olduğunu, benzer bir kaybın kontrol grubunda %4.21 düzeyinde olduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca mısır silajlarının KM kayıplarıyla ilgili bu araştırmadan elde edilen bulgular benzer konuda yapılan çalışmalarla da uyumlu bulunmuştur (Driehuis ve ark. 1999, Kleinschmit ve ark. 2005).

#### 4.1.1.1. Silajların organik asit ve etanol konsantrasyonları

Araştırmanın yem materyalini oluşturan, taze ve silolanmış mısırın organik asit ve etanol konsantrasyonlarına ilişkin bulgular Çizelge 4.2 ile Şekil 4.2 ve 4.3' de verilmiştir.

Araştırmada kullanılan <sup>ho</sup>LAB (Biomax<sup>®</sup>5, P1132<sup>TM</sup>, *L. plantarum* MTD1, *L. pentosaceus*, *P. pentosaceus*, *L. pentosus*), <sup>het</sup>LAB (P11A44<sup>TM</sup> ve *L. buchneri*) ve <sup>ho+het</sup>LAB (Lalsil<sup>®</sup>) inokulantları, mısır silajının organik asit ve etanol konsantrasyonlarını farklı düzeylerde etkilemiştir. Nitekim <sup>ho</sup>LAB inokulantları silajların etanol, asetik ve bütrik asit konsantrasyonlarını düşürürlerken, laktik asit konsantrasyonunu kontrol silajına göre önemli düzeyde artırmışlardır ( $P<0.05$ ). Heterofermantatif LAB inokulantları ise silajların laktik asit ve etanol konsantrasyonlarını düşürmüşler, asetik asit konsantrasyonlarını artırıp ( $P<0.05$ ), bütrik asit konsantrasyonlarını kontrol silajına göre etkilememişlerdir ( $P>0.05$ ). Homofermantatif+heterofermantatif LAB inokulantı mısır silajının etanol, bütrik ve asetik asit konsantrasyonlarını düşürerek, laktik asit konsantrasyonunu kontrol silajına göre önemli düzeyde artırmıştır ( $P<0.05$ ).

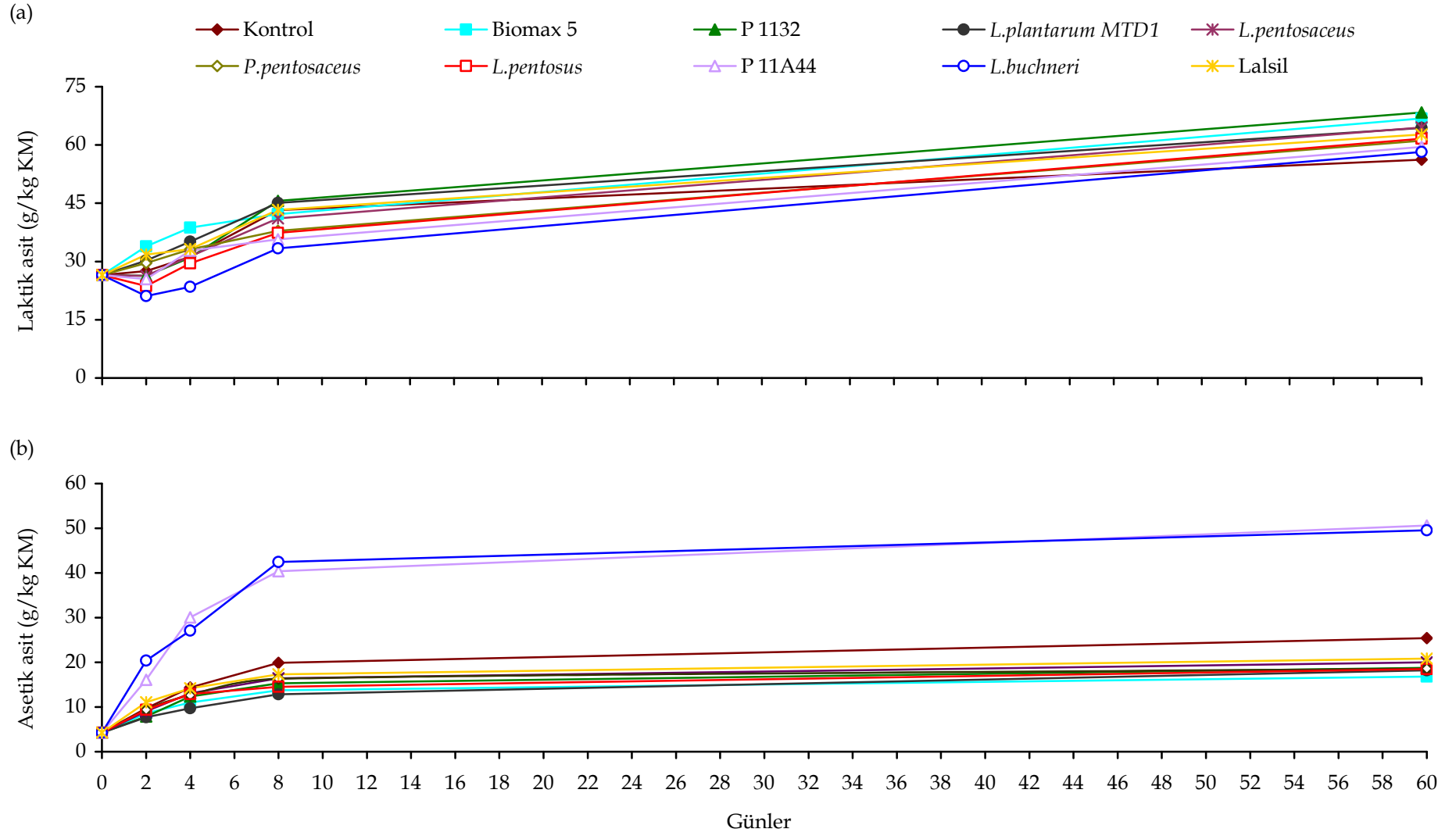
Taze mısırın laktik asit konsantrasyonunun 21.60 g/kg KM olarak saptandığı araştırmada, tüm silajların laktik asit konsantrasyonları fermantasyon süresince artış göstermiş ve 21.08–68.35 g/kg KM arasında değişmiştir. Fermantasyonun 2. gününde <sup>ho</sup>LAB (Biomax<sup>®</sup>5, *L. plantarum* MTD1) ile <sup>ho+het</sup>LAB (Lalsil<sup>®</sup>) inokulantlarının kullanımı mısır silajının laktik asit konsantrasyonunu, kontrol grubu ve <sup>het</sup>LAB (P11A44<sup>TM</sup> ve *L. buchneri*) inokulantlarının kullanıldığı silajlara göre önemli düzeyde artırmışlardır ( $P<0.05$ ). Fermantasyonun 2. gününde en yüksek laktik asit konsantrasyonu <sup>ho</sup>LAB Biomax<sup>®</sup>5 (33.87 g/kg KM) kullanılan silajda belirlenirken, en düşük laktik asit konsantrasyonunun <sup>het</sup>LAB *L. buchneri* kullanılan silajda oluştuğu saptanmıştır (21.08 g/kg KM,  $P<0.05$ ).

Çizelge 4.2. Silajların organik asit ve etanol konsantrasyonları ( $\bar{x}$ , g/kg KM)

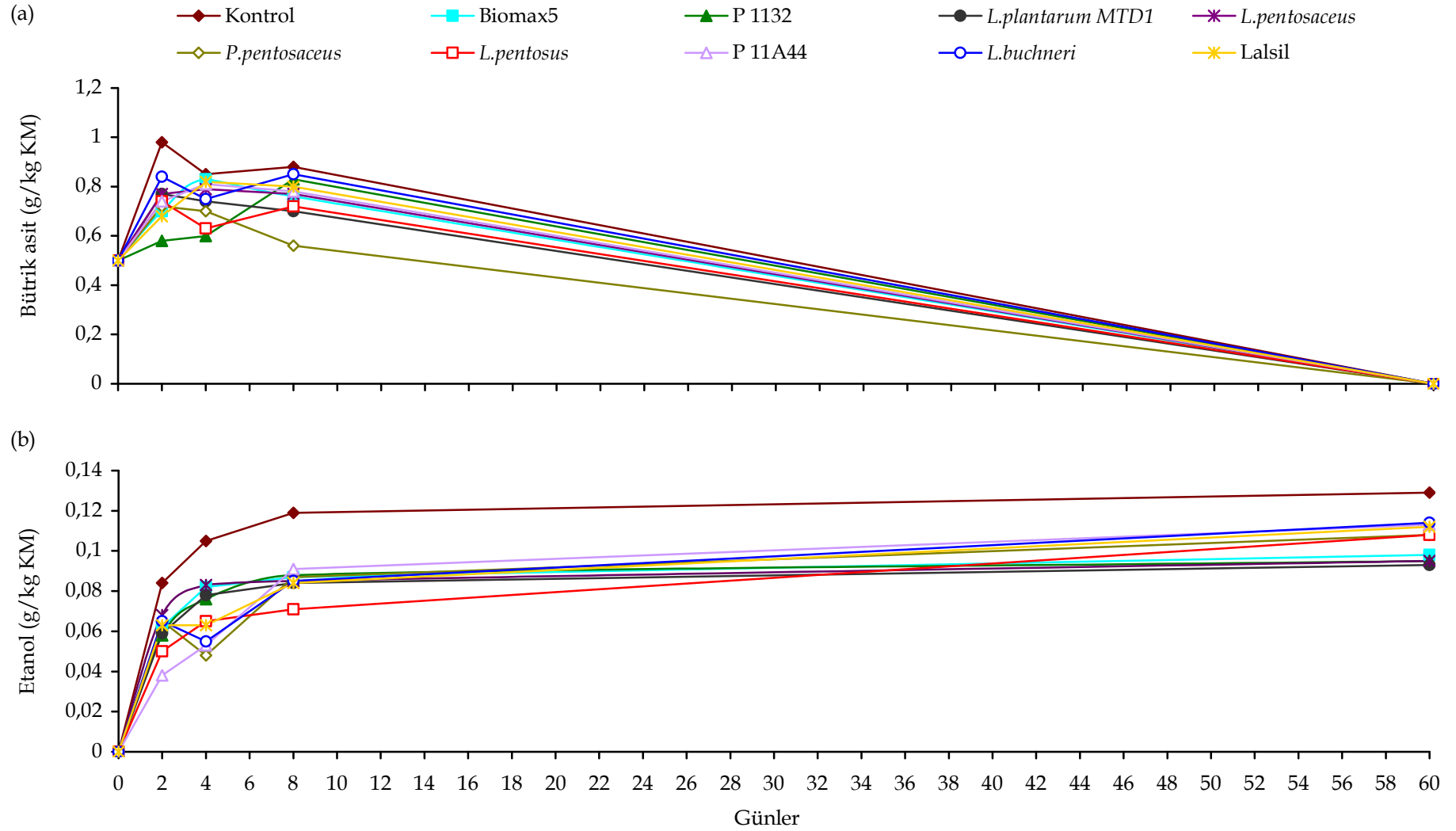
Günler	Uygulama	Laktik asit	Asetik asit	Bütirik asit	Propiyonik asit	Etanol
0	Taze	21.60	4.23	0.50	-	-
	Silaj					
2	Kontrol	27.50 <sup>cd</sup>	9.73 <sup>cd</sup>	0.98 <sup>a</sup>	0	0.084 <sup>a</sup>
	Biomax® 5	33.87 <sup>a</sup>	8.63 <sup>de</sup>	0.70 <sup>bc</sup>	0	0.062 <sup>b</sup>
	P 1132™	26.29 <sup>de</sup>	7.90 <sup>e</sup>	0.58 <sup>c</sup>	0	0.058 <sup>b</sup>
	<i>L.plantarum</i> MTD1	30.15 <sup>b</sup>	7.73 <sup>e</sup>	0.77 <sup>b</sup>	0	0.059 <sup>b</sup>
	<i>L.pentosaceus</i>	26.30 <sup>de</sup>	9.03 <sup>de</sup>	0.77 <sup>b</sup>	0	0.068 <sup>ab</sup>
	<i>P.pentosaceus</i>	29.62 <sup>bc</sup>	9.40 <sup>d</sup>	0.72 <sup>bc</sup>	0	0.065 <sup>b</sup>
	<i>L.pentosus</i>	23.73 <sup>e</sup>	9.37 <sup>d</sup>	0.74 <sup>bc</sup>	0	0.065 <sup>b</sup>
	P 11A44™	25.49 <sup>de</sup>	16.10 <sup>b</sup>	0.74 <sup>bc</sup>	0	0.038 <sup>c</sup>
	<i>L.buchneri</i>	21.08 <sup>f</sup>	20.40 <sup>a</sup>	0.84 <sup>ab</sup>	0	0.050 <sup>bc</sup>
	Lalsil®	31.81 <sup>ab</sup>	11.07 <sup>c</sup>	0.68 <sup>bc</sup>	0	0.063 <sup>b</sup>
	SH	0.142	0.628	0.096	-	0.0099
4	Kontrol	31.23 <sup>cd</sup>	14.37 <sup>c</sup>	0.85 <sup>a</sup>	0	0.105 <sup>a</sup>
	Biomax® 5	38.75 <sup>a</sup>	11.03 <sup>de</sup>	0.83 <sup>ab</sup>	0	0.082 <sup>b</sup>
	P 1132™	30.97 <sup>cd</sup>	12.33 <sup>cd</sup>	0.60 <sup>d</sup>	0	0.076 <sup>bc</sup>
	<i>L.plantarum</i> MTD1	35.07 <sup>b</sup>	9.70 <sup>e</sup>	0.74 <sup>a-c</sup>	0	0.078 <sup>bc</sup>
	<i>L.pentosaceus</i>	31.34 <sup>cd</sup>	13.07 <sup>cd</sup>	0.79 <sup>ab</sup>	0	0.083 <sup>b</sup>
	<i>P.pentosaceus</i>	33.07 <sup>bc</sup>	12.63 <sup>cd</sup>	0.70 <sup>b-d</sup>	0	0.055 <sup>de</sup>
	<i>L.pentosus</i>	29.50 <sup>d</sup>	12.93 <sup>cd</sup>	0.63 <sup>cd</sup>	0	0.065 <sup>cd</sup>
	P 11A44™	32.82 <sup>bc</sup>	30.03 <sup>a</sup>	0.81 <sup>ab</sup>	0	0.053 <sup>de</sup>
	<i>L.buchneri</i>	23.52 <sup>e</sup>	27.10 <sup>b</sup>	0.75 <sup>a-c</sup>	0	0.048 <sup>e</sup>
	Lalsil®	33.25 <sup>bc</sup>	14.20 <sup>c</sup>	0.82 <sup>ab</sup>	0	0.063 <sup>c-e</sup>
	SH	0.176	1.347	0.076	-	0.0086
8	Kontrol	43.25 <sup>a</sup>	19.87 <sup>b</sup>	0.88 <sup>a</sup>	0	0.119 <sup>a</sup>
	Biomax® 5	42.24 <sup>ab</sup>	13.77 <sup>de</sup>	0.76 <sup>ab</sup>	0	0.087 <sup>b</sup>
	P 1132™	45.58 <sup>a</sup>	15.30 <sup>c-e</sup>	0.83 <sup>a</sup>	0	0.091 <sup>b</sup>
	<i>L.plantarum</i> MTD1	45.10 <sup>a</sup>	12.83 <sup>e</sup>	0.70 <sup>ab</sup>	0	0.088 <sup>b</sup>
	<i>L.pentosaceus</i>	41.08 <sup>ab</sup>	16.43 <sup>cd</sup>	0.77 <sup>ab</sup>	0	0.085 <sup>b</sup>
	<i>P.pentosaceus</i>	37.86 <sup>bc</sup>	16.30 <sup>cd</sup>	0.56 <sup>b</sup>	0	0.087 <sup>b</sup>
	<i>L.pentosus</i>	37.44 <sup>bc</sup>	14.50 <sup>c-e</sup>	0.72 <sup>ab</sup>	0	0.071 <sup>b</sup>
	P 11A44™	35.74 <sup>c</sup>	40.37 <sup>a</sup>	0.78 <sup>ab</sup>	0	0.084 <sup>b</sup>
	<i>L.buchneri</i>	33.34 <sup>c</sup>	42.47 <sup>a</sup>	0.85 <sup>a</sup>	0	0.085 <sup>b</sup>
	Lalsil®	43.27 <sup>a</sup>	17.30 <sup>c</sup>	0.80 <sup>a</sup>	0	0.084 <sup>b</sup>
	SH	0.260	2.259	0.117	-	0.0112
60	Kontrol	56.20 <sup>g</sup>	25.40 <sup>b</sup>	0	0	0.129 <sup>a</sup>
	Biomax® 5	66.83 <sup>ab</sup>	16.80 <sup>d</sup>	0	0	0.113 <sup>ab</sup>
	P 1132™	68.35 <sup>a</sup>	18.77 <sup>cd</sup>	0	0	0.114 <sup>ab</sup>
	<i>L.plantarum</i> MTD1	64.44 <sup>bc</sup>	18.23 <sup>cd</sup>	0	0	0.112 <sup>ab</sup>
	<i>L.pentosaceus</i>	64.51 <sup>bc</sup>	20.00 <sup>cd</sup>	0	0	0.098 <sup>b</sup>
	<i>P.pentosaceus</i>	61.07 <sup>d-f</sup>	18.60 <sup>c</sup>	0	0	0.108 <sup>ab</sup>
	<i>L.pentosus</i>	61.57 <sup>c-e</sup>	18.47 <sup>cd</sup>	0	0	0.108 <sup>ab</sup>
	P 11A44™	59.50 <sup>ef</sup>	50.60 <sup>a</sup>	0	0	0.093 <sup>b</sup>
	<i>L.buchneri</i>	58.14 <sup>fg</sup>	49.57 <sup>a</sup>	0	0	0.095 <sup>b</sup>
	Lalsil®	62.72 <sup>cd</sup>	20.83 <sup>c</sup>	0	0	0.095 <sup>b</sup>
	SH	0.168	1.967	-	-	0.0133

KM, kuru madde; SH, standart hata.

<sup>a-g</sup>Aynı sütunda farklı inokulantlar için farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki farklılıklar önemlidir ( $P < 0.05$ ).



Şekil 4.2. Fermantasyon süresince silajlardaki laktik (a) ve asetik asit (b) değişimi



Şekil 4.3. Fermantasyon süresince silajlardaki bütirik asit (a) ve etanol (b) değişimi

Fermantasyonun 2. gününde gözlenen benzer eğilim genel olarak 4. günde de belirlenmiş ve bu dönemde <sup>ho</sup>LAB' den Biomax®5 (38.75 g/kg KM) ve *L. plantarum* MTD1 (35.07 g/kg KM) mısır silajında laktik asit üretimini kontrol silajına (31.23 g/kg KM) göre en fazla artıran, <sup>het</sup>LAB *L. buchneri* (23.52 g/kg KM) ise mısır silajındaki laktik asit üretimini en fazla düşüren inokulantlar olmuştur ( $P<0.05$ ). Diğer inokulantlar ise bu dönemde silajların laktik asit konsantrasyonlarını etkilememişlerdir ( $P>0.05$ ). Fermantasyonun 8. gününde ise <sup>ho</sup>LAB (*P. pentosaceus* ve *L. pentosus* dışında) ile <sup>ho+het</sup>LAB inokulantları silajların laktik asit konsantrasyonlarını kontrol silajına göre rakamsal olarak artırırken, bu artış istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur ( $P>0.05$ ). Diğer yandan <sup>het</sup>LAB' nin her ikisi de (P11A44™ ve *L. buchneri*) 8. günde mısır silajının laktik asit konsantrasyonunu kontrol grubuna göre önemli düzeyde düşürmüşlerdir ( $P<0.05$ ). Benzer düşüş Nishino ve ark. (2003) tarafından da tespit edilmiş olup, mısır silajının laktik asit konsantrasyonu kontrol grubu ve *L. buchneri* kullanılan silajlarda sırasıyla %6.11 ve 3.73 olarak belirlenmiştir. Fermantasyonun 60. gününde ise silajlardaki laktik asit üretimi en yüksek değerine ulaşmış ve bu dönemde <sup>ho</sup>LAB ve <sup>ho+het</sup>LAB inokulantlarının kullanımı mısır silajının laktik asit konsantrasyonunu kontrol silajına göre önemli düzeyde artırmışlardır ( $P<0.05$ ). Bu günde en yüksek artışı sağlayan inokulantlar; P1132™ (68.35 g/kg KM), Biomax®5 (66.83 g/kg KM), *L. plantarum* MTD1 (64.44 g/kg KM), *L. pentosaceus* (64.51 g/kg KM), *P. pentosaceus* (61.07 g/kg KM) olurken, en düşük laktik asit konsantrasyonu kontrol silajı (56.20 g/kg KM) ile <sup>het</sup>LAB P11A44™ (59.50 g/kg KM) ve *L. buchneri*' nin (58.14 g/kg KM) kullanıldığı silajlarda gerçekleşmiştir. Sonuç olarak, beklenildiği gibi <sup>ho</sup>LAB ile <sup>ho+het</sup>LAB inokulantları ortamda bulunan SÇK' ları fermente ederek daha fazla laktik asit üretmişler ve daha asidik bir ortam yaratmışlardır (Çizelge 4.1, 4.2 ve Şekil 4.2.). Benzer bulgular Filya (2003), Filya ve ark. (2004a), Kim ve ark. (2005)' nin *L. plantarum*, *L. plantarum*+*L. buchneri* kullandığı çalışmalarda da elde edilmiştir. Heterofermantatif LAB P11A44™ ise fermantasyonun 60. gününde mısır silajının laktik asit konsantrasyonunu, diğer



gruplardan daha düşük olmakla birlikte, kontrol silajına göre artırmıştır ( $P<0.05$ ). Benzer bir sonuç Kung ve ark. (2007) tarafından da elde edilmiş ve *L. buchneri*' nin mısır silajının laktik asit konsantrasyonunu kontrol silajına göre artırdığı tespit edilmiştir. Heterofermantatif LAB P11A44™' ün mısır silajının laktik asit konsantrasyonunu artırmasının nedeni, fermantasyon süresince bu grupta hiç maya oluşmaması olabilir (Çizelge 4.3 ve Şekil 4.4). Çünkü ortamda rekabet edebilecekleri istenmeyen mikroorganizma popülasyonu gelişmemiştir (Çizelge 4.3). Bu durumu fermantasyonun 60. gününde belirlenen SÇK içeriği de desteklemektedir (Çizelge 4.1). Nitekim P11A44™ kullanılan silajların SÇK içerikleri kontrol silajına göre daha düşük bulunmuştur. Bunlara ek olarak bilindiği gibi <sup>het</sup>LAB pentoz şekerleri asetik asidin yanı sıra laktik aside de fermente ederler (McDonald ve ark. 1991).

Taze mısırın asetik asit konsantrasyonunun 4.23 g/kg KM olarak saptandığı bu araştırmada, tüm silajların asetik asit konsantrasyonları fermantasyon süresince artış göstermiş ve 7.73–50.60 g/kg KM arasında değişmiştir. Fermantasyonun 2. gününde <sup>ho</sup>LAB *L. plantarum* MTD1 (7.73 g/kg KM) ve P1132™ (7.90 g/kg KM) mısır silajının asetik asit konsantrasyonunu önemli düzeyde düşürürlerken, <sup>het</sup>LAB P11A44™ (16.10 g/kg KM) ve *L. buchneri* (20.40 g/kg KM) asetik asit konsantrasyonunu kontrol silajına göre (9.73 g/kg KM) önemli düzeyde artırmışlardır ( $P<0.05$ ). Diğer yandan araştırmada kullanılan bazı <sup>ho</sup>LAB (Biomax®5, *L. pentosaceus*, *P. pentosaceus* ve *L. pentosus*) ile <sup>ho+het</sup>LAB' nin (Lalsil®) mısır silajının asetik asit konsantrasyonunu etkilemediği görülmüştür ( $P>0.05$ ). Fermantasyonun 4. gününde <sup>ho</sup>LAB Biomax®5 (11.03 g/kg KM) ve *L. plantarum* MTD1 (9.70 g/kg KM) mısır silajının asetik asit konsantrasyonunu önemli düzeyde düşürürlerken, <sup>het</sup>LAB P11A44™ (20.40 g/kg KM) ve *L. buchneri* (16.10 g/kg KM) söz konusu parametreyi kontrol silajına göre önemli düzeyde artırmışlardır ( $P<0.05$ ). Bu dönemde diğer inokulantların mısır silajının asetik asit konsantrasyonu üzerindeki etkileri ise önemsiz bulunmuştur ( $P>0.05$ ). Fermantasyonun 8 ve 60. gününde <sup>het</sup>LAB P11A44™ (40.37 ve 50.60 g/kg KM) ve *L. buchneri* (42.47 ve 49.57 g/kg KM)

mısır silajının asetik asit konsantrasyonunu önemli düzeyde artırırken, <sup>ho</sup>LAB ve <sup>ho+het</sup>LAB inokulantları asetik asit konsantrasyonunu kontrol silajına göre önemli düzeyde düşürmüşlerdir ( $P<0.05$ ). Laktik asit bakterilerinin fermantasyonu ile SÇK' lar, başta laktik asit olmak üzere asetik asit, etanol, CO<sub>2</sub> ve çok az miktarlarda da diğer ürünlere dönüşürler. Bunlardan homofermantatif olanlar (*L. acidophilus*, *L. casei*, *L. cornyiformis*, *L. curvatus*, *L. plantarum*, *L. salivarius*, *Enterococcus faecalis*, *E. faecium*, *Lactococcus lactis*, *Streptococcus bovis*) glukoz ve diğer 6 karbonlu şekerlerden ağırlıklı olarak (>%85) laktik asit üretirlerken, heterofermantatif olanlar (*L. brevis*, *L. buchneri*, *L. fermentum*, *L. viridescens*, *Leuconostoc mesenteroides*) laktik asidin yanı sıra asetik asit, etanol ve CO<sub>2</sub> üretirler (McDonald ve ark. 1991, Filya 2001). Bu nedenle, <sup>ho</sup>LAB inokulantlarının fermantasyon süresince daha az asetik asit üretmiş olmaları ve <sup>het</sup>LAB inokulantlarının asetik asit üretimini artırmış olmaları beklenen bir sonuçtur. Silajların asetik asit konsantrasyonlarıyla ilgili araştırmadan elde edilen bu bulgular, <sup>ho</sup>LAB *L. plantarum* (Davies 1996), *L. plantarum*+*E. faecium* (Shayan ve ark. 1996), <sup>het</sup>LAB *L. buchneri*' nin (Driehuis ve ark. 1999, Kung ve ark. 2007) kullanıldığı çalışmalarla uyumludur. Araştırmada kullanılan Lalsil® ise (<sup>ho+het</sup>LAB) mısır silajının asetik asit konsantrasyonunu <sup>ho</sup>LAB inokulantlarına göre artırsa da, kontrol silajına göre düşürmüştür. Elde edilen bu sonuçtan farklı olarak Filya (2003) *L. plantarum*+*L. buchneri*' nin (<sup>ho+het</sup>LAB) mısır silajının asetik asit konsantrasyonunu kontrol silajına göre önemli düzeyde artırdığını belirlemiştir ( $P<0.05$ ). Bu farklılığın nedeni Lalsil® in içerdiği *P. acidipropionici*' nin *L. buchneri*' den daha düşük miktarda asetik asit üretmesi ya da Lalsil® in içerdiği *L. plantarum*' un asetik asit konsantrasyonunu düşürmesi olabilir. Nitekim *L. plantarum*' un mısır silajının asetik asit konsantrasyonunu düşürdüğü çeşitli araştırmacılar tarafından da belirlenmiştir (Davies 1996, Filya ve ark. 2006).

Taze mısırın bütrik asit konsantrasyonunun 0.5 g/kg KM olarak saptandığı bu araştırmada, mısır silajının bütrik asit konsantrasyonu kontrol, <sup>ho</sup>LAB, <sup>het</sup>LAB ve <sup>ho+het</sup>LAB inokulantı kullanılan silajlarda sırasıyla 0.85–0.98, 0.58–0.83, 0.74–0.85 ve 0.68–0.82 g/kg KM arasında değişmiştir. Laktik asit bakteri inokulantları fermantasyonun ilk günlerinden (2., 4. ve 8.) itibaren mısır silajının bütrik asit konsantrasyonunu kontrol silajına göre düşürmüşlerdir. En etkili düşüş <sup>ho</sup>LAB inokulantlarının kullanıldığı silajlarda gözlenmiş olup, bunu sırasıyla <sup>ho+het</sup>LAB ve <sup>het</sup>LAB inokulantlarının kullanıldığı silajlar izlemiştir. Fermantasyonun 2. gününde tüm LAB inokulantları (*L. buchneri* dışında) mısır silajının bütrik asit konsantrasyonunu kontrol silajına göre önemli düzeyde düşürürlerken; 4. günde <sup>ho</sup>LAB P1132™, *P. pentosaceus* ve *L. pentosaceus*; 8. günde *P. pentosaceus* bütrik asit konsantrasyonunu kontrol silajına göre önemli düzeyde düşüren inokulantlar olmuşlardır ( $P<0.05$ ). Bu günlerde diğer inokulantların mısır silajının bütrik asit konsantrasyonu üzerindeki etkileri ise önemsiz bulunmuştur ( $P>0.05$ ). Diğer yandan 60. günde hiçbir silajda bütrik asit oluşumuna rastlanmamıştır.

*Clostridia* sporları (*C. tyrobutyricum*, *C. butyricum* ve *C. sporogenes* vb) silajlarda bulunan şekerleri ve organik asitleri fermente ederek bütrik asit üretirler ( $2 \text{ laktik asit} \rightarrow 1 \text{ bütrik asit} + 2 \text{ H}_2 + 2 \text{ CO}_2$ , McDonald ve ark. 1991). Dolayısıyla bütrik asit *Clostridial* aktivitenin önemli bir göstergesidir (Heron ve ark. 1986). *Clostridia* içeren silajların tipik özellikleri; yüksek bütrik asit ( $>5 \text{ g/kg KM}$ ) konsantrasyonunun yanı sıra, yüksek pH ( $>5$ ), amonyak ( $>120 \text{ g NH}_3\text{-N/g N}$ ) ve amin konsantrasyonu ile düşük laktik asit üretimidir (MacPherson ve Violante 1966, Voss 1966). Dolayısıyla fermantasyonun ilk günlerinde (2., 4. ve 8.) silajlardaki laktik asit üretim hızının oldukça yüksek olması; bunun sonucunda da silajların pH'ının hızla düşmesi ( $<3.88$ , Çizelge 4.1), amonyak konsantrasyonunun ( $<5.69$ , Çizelge 4.1) düşük seviyelerde seyretmesi; *Clostridial* aktiviteyi engellemiş, sonuçta yapılan tüm silajlarda düşük bütrik asit ( $<0.98 \text{ g/kg KM}$ ) oluşmuştur. Woolford (1984) ile McDonald ve ark. (1991) silajda oksijen varlığına bağlı olarak bitki solunumunun devam etmesi ve

aerobik mikroorganizmaların aktivitelerini sürdürmesi halinde; silaj fermantasyonu için kritik dönemin silolamanın ilk haftası olduğunu ve ortamdaki oksijenin tükenmesiyle, istenilen düşük pH' ya ulaşılması durumunda, silajın stabil döneme girdiğini ifade etmişlerdir. Dolayısıyla 60. günde silajlarda bütrik asit oluşmamış olması; fermantasyonun 8. gününden sonra solunum olayının tamamen durmasının ve anaerobik koşulların sağlandığının bir göstergesidir. Ayrıca silajların pH' ları ilgili araştırmadan elde edilen sonuçlar da, silolamanın 8. gününden sonra istenilen pH' ya ulaşılarak (3.51-3.77) silajın stabil döneme girdiğini göstermektedir. Silajların bütrik asit konsantrasyonlarıyla ilgili olarak bu araştırmadan elde edilen bulgular, benzer konuda yapılan araştırma sonuçlarıyla da uyumlu bulunmuştur (Ranjit ve Kung 2000, Filya ve ark. 2006).

Araştırmada fermantasyon süresince kontrol grubu da dahil olmak üzere silajların hiç birinde propiyonik asit oluşumuna rastlanmamıştır. Ancak *L. buchneri* kullanılan silajlarda 1-propanol ve propiyonik asidin oluşabileceği kaydedilmiştir (Oude-Elferink ve ark. 2001, Driehuis ve ark. 1999). Diğer yandan söz konusu ürünlerin silajlarda her zaman gözlenemediği, bu nedenle de *L. buchneri* ve *L. parabuchneri*' nin metabolizmaları ile ilgili daha detaylı araştırmaların yapılması gerektiği bildirilmektedir (Holzer ve ark. 2003).

Taze mısırdaki hiç bulunmayan etanol, yapılan silajların tümünde çok düşük düzeyde de olsa saptanmıştır. Laktik asit bakteri inokulantları, fermantasyonun 2-8. günlerinde mısır silajının etanol konsantrasyonunu kontrol grubuna göre önemli düzeyde düşürmüşlerdir ( $P < 0.05$ ). Ancak en etkili düşüş, <sup>het</sup>LAB inokulantlarının (P11A44<sup>TM</sup> ve *L. buchneri*) kullanıldığı silajlarda gözlenmiştir (8. gün hariç). Fermantasyonun 2., 4., ve 60. günlerinde en düşük etanol konsantrasyonu sırasıyla P11A44<sup>TM</sup> (0.038 g/kg KM), *L. buchneri* (0.048 g/kg KM) ve P11A44<sup>TM</sup> (0.093 g/kg KM) kullanılan silajlarda belirlenirken, fermantasyonun tüm dönemlerinde en yüksek etanol konsantrasyonunun kontrol silajında olduğu (sırasıyla 0.084, 0.105, 0.119 ve 0.129 g/kg KM)

saptanmıştır ( $P<0.05$ ). Fermantasyonun 8. gününde ise en düşük etanol konsantrasyonu <sup>ho</sup>LAB *L. pentosus* inokulantının kullanıldığı silajda belirlenmiştir (0.071 g/kg KM). Diğer yandan 60. günde <sup>ho</sup>LAB inokulantlarının silajların etanol konsantrasyonu üzerindeki etkileri kontrol silajına göre önemsiz bulunurken, <sup>het</sup>LAB ve <sup>ho+het</sup>LAB inokulantları mısır silajının etanol konsantrasyonunu kontrol silajına göre önemli düzeyde düşürmüşlerdir ( $P<0.05$ ). *Enterobacteriaceae* familyasına ait türlerin, <sup>het</sup>LAB' nin, maya ve küflerin; temel fermantasyon ürünü etanol ve CO<sub>2</sub>' tir (Ganceda ve Serrano 1989). Aslında çoğu maya türü oksijen varlığında gelişim gösterir, ancak bunlardan *Saccharomyces cerevisiae* bir istisna olup, anaerobik koşullarda da üreyip etanol üretebilir (van Dijken ve ark. 1993). Düşük silaj pH' sı ile silaj fermantasyonu sırasında oluşan asetik ve propiyonik asit gibi UYA bu mikroorganizmaların üremelerini durdurur (McDonald ve ark. 1991). Dolayısıyla <sup>het</sup>LAB inokulantlarının kullanıldığı silajlarda yüksek düzeyde oluşan asetik asit; mayaların üremesini durdurmuş, sonuçta düşük etanol oluşmasında etkili olmuştur (Çizelge 4.1 ve 4.3). Diğer yandan başlangıç materyalinin epifitik mikroflorasının çoğunlukla <sup>het</sup>LAB' nin oluşturması (Cai ve ark. 1999) diğer silajlara göre kontrol silajında yüksek düzeyde oluşan etanolün bir göstergesidir. Homofermantatif LAB inokulantlarının kullanıldığı silajlarda ise etanol oluşmasında, fermantasyon sırasında gözlenen mayalar etkin rol almıştır. Silajların mikrobiyal yapıları da bu bulguyu desteklemiş ve söz konusu silajlarda fermantasyon süresince maya gelişimi gözlenmiştir (Çizelge 4.3). Dolayısıyla mayalar; fermantasyonun erken dönemlerinde silaj bünyesindeki şekerler ile bu silajlarda yüksek düzeyde oluşan laktik asidi kullanarak etanol üretmişlerdir. Filya ve ark. (2006) mısır silajlarının etanol konsantrasyonunu kontrol, *P. acidipropionici* ve *L. plantarum* kullanılan silajlarda sırasıyla 1.6, 0.7 ve 1.3 g/kg KM olarak belirlemişlerdir. Fermantasyon süresince (2-60.gün) kontrol, <sup>ho</sup>LAB, <sup>het</sup>LAB ve <sup>ho+het</sup>LAB inokulantlarının kullanıldığı silajlarda fermantasyon son ürünleri içerisinde etanolün payı sırasıyla %0.16-0.23, 0.14-0.18, 0.09-0.12 ve 0.12-0.14 arasında değişim

göstermiştir. Ganceda ve Serrano (1989) ile Driehuis ve Van Wixelaar (2000) silajdaki fermantasyon son ürünlerinin %0.91' ini etanolün oluşturması halinde, silajlarda maya ve küflerin; %0.5' ini oluşturması halinde ise bakterin fermantasyonda etkin rol aldıklarını bildirmişlerdir. Bu sonuçlar doğrultusunda, fermantasyon süresince saptanan etanol düzeyi yapılan söz konusu araştırmalardan düşük düzeyde bulunmuştur. Dolayısıyla araştırmada mısır silajlarının etanol konsantrasyonlarıyla elde edilen bulgular, söz konusu mikroorganizmaların silaj fermantasyonunda tamamen baskın mikroflora olmadığını, fermantasyonun başlangıcında sağlanan düşük pH' nın istenmeyen bu mikroorganizmaların gelişmesini engellediğini de göstermiştir.

#### 4.1.2. Silajların mikrobiyal yapıları

Taze ve silolanmış mısırın mikrobiyal yapılarına ilişkin araştırma bulguları Çizelge 4.3 ve Şekil 4.4' de verilmiştir.

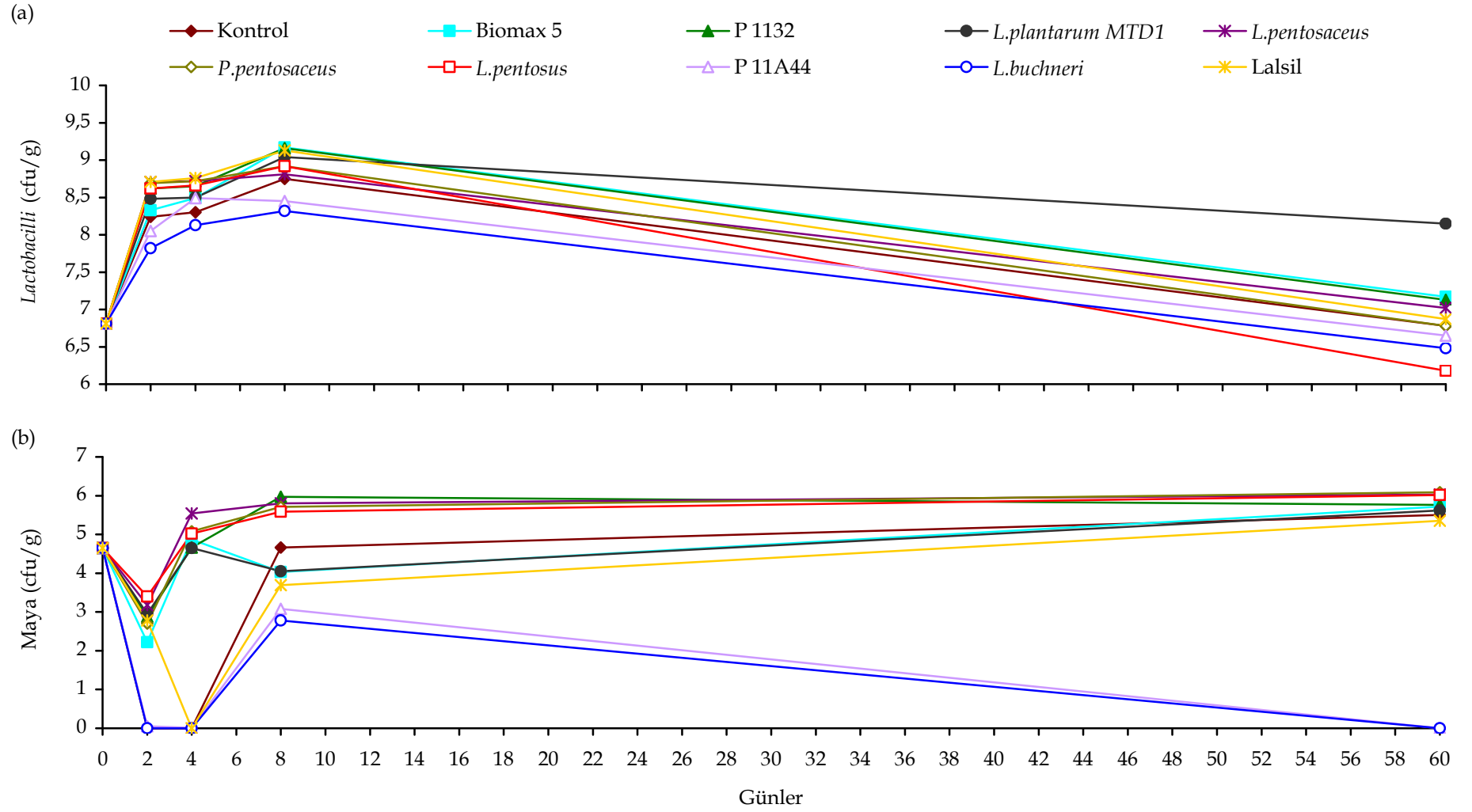
Araştırmada 6 adet <sup>ho</sup>LAB (Biomax®5, P1132™, *L. plantarum* MTD1, *L. pentosaceus*, *P. pentosaceus*, *L. pentosus*), 2 adet <sup>het</sup>LAB (P11A44™ ve *L. buchneri*) ve 1 adet <sup>ho+het</sup>LAB (Lalsil®) inokulantının mısır silajının mikrobiyal yapısı üzerindeki etkileri incelenmiştir. Bu incelemede, silolamanın 2., 4. ve 8. günlerinde <sup>ho</sup>LAB, <sup>het</sup>LAB ve <sup>ho+het</sup>LAB inokulantlarının kullanıldığı silajların *Lactobacilli* popülasyonunun sırasıyla 8.33-9.17, 7.82-8.35, 8.71-9.13 cfu/g arasında değiştiği belirlenmiştir. Fermantasyon süresince <sup>ho</sup>LAB ve <sup>ho+het</sup>LAB inokulantlarının kullanıldığı silajların *Lactobacilli* popülasyonu, kontrol silajı ve <sup>het</sup>LAB inokulantı kullanılan silajlardan daha yüksek bulunmuştur. Nitekim <sup>ho</sup>LAB ve <sup>ho+het</sup>LAB inokulantları, silolamanın ilk günlerinden itibaren <sup>ho</sup>LAB' nin hızla etkin hale gelmelerini sağlamış, bunun sonucunda da SÇK' ların fermantasyonunu artırarak, laktik asit üretimini teşvik etmiştir. Diğer yandan <sup>het</sup>LAB inokulantlarının etkinlikleri fermantasyonun ilk günlerinde (2. ve 8. gün) <sup>ho</sup>LAB ve <sup>ho+het</sup>LAB' ne göre daha düşük bulunmuştur. Bunun sebebi fermantasyon döneminin başında <sup>het</sup>LAB inokulantlarının <sup>ho</sup>LAB' ne göre ortam pH' sını geç düşürmeleri ve bunun sonucunda da daha yavaş laktik asit üretmeleridir. Nitekim Muck (2008) fermantasyonun ilk günlerinde *L. buchneri*' nin gelişmesinin yavaş olduğunu ancak fermantasyonun ileri günlerinde etkinliğinin arttığını bildirmiştir. Silolamanın son döneminde de (60. gün) yine <sup>ho</sup>LAB inokulantlarının (*L. pentosus* dışında) kullanıldığı silajların *Lactobacilli* popülasyonları, kontrol grubu ve diğer inokulantların kullanıldığı silajlardan daha yüksek bulunmuştur.

Çizelge 4.3. Silajların mikrobiyal yapıları\* ( $\bar{x}$ , cfu/g)

Günler	Uygulama	<i>Lactobacilli</i>	Maya	Küf
0	Taze	6.81	4.65	0
	Silaj			
2	Kontrol	8.24	0	0
	Biomax®5	8.33	2.22	0
	P1132™	8.62	2.88	0
	<i>L.plantarum</i> MTD1	8.48	2.95	0
	<i>L.pentosaceus</i>	8.71	3.18	0
	<i>P.pentosaceus</i>	8.69	2.70	0
	<i>L.pentosus</i>	8.62	3.40	0
	P11A44™	8.05	0	0
	<i>L.buchneri</i>	7.82	0	0
	Lalsil®	8.71	2.78	0
4	Kontrol	8.30	0	0
	Biomax®5	8.49	4.87	0
	P1132™	8.65	4.66	0
	<i>L.plantarum</i> MTD1	8.50	4.65	0
	<i>L.pentosaceus</i>	8.72	5.54	0
	<i>P.pentosaceus</i>	8.72	5.08	2.17
	<i>L.pentosus</i>	8.66	5.02	0
	P11A44™	8.49	0	0
	<i>L.buchneri</i>	8.13	0	0
	Lalsil®	8.76	0	0
8	Kontrol	8.75	4.66	4.48
	Biomax®5	9.17	4.03	6.17
	P1132™	9.16	5.97	0
	<i>L.plantarum</i> MTD1	9.04	4.05	0
	<i>L.pentosaceus</i>	8.81	5.80	0
	<i>P.pentosaceus</i>	8.92	5.71	0
	<i>L.pentosus</i>	8.92	5.59	0
	P11A44™	8.45	3.08	0
	<i>L.buchneri</i>	8.32	2.78	0
	Lalsil®	9.13	3.69	0
60	Kontrol	6.78	5.50	0
	Biomax®5	7.17	5.72	0
	P1132™	7.13	5.76	0
	<i>L.plantarum</i> MTD1	8.15	5.62	0
	<i>L.pentosaceus</i>	7.02	6.03	0
	<i>P.pentosaceus</i>	6.78	6.09	0
	<i>L.pentosus</i>	6.18	6.02	0
	P11A44™	6.65	0	0
	<i>L.buchneri</i>	6.48	0	0
	Lalsil®	6.87	5.35	0

\*Mikrobiyolojik analizler açılan üç silonun karıştırılması sonucu oluşturulan tek bir örnek (2 paralelli) üzerinde yürütüldüğünden, istatistik analiz yapılamamıştır.  
cfu, koloniform ünite





Şekil 4.4. Fermantasyon süresince silajlardaki *Lactobacilli* (a) ve maya popülasyonu (b) değişimi

Diğer yandan 60. günde açılan tüm silajların *Lactobacilli* popülasyonunun, fermantasyonun ilk günlerine (2., 4., ve 8. gün) göre daha düşük olduğu gözlenmiştir. Bunun sebebi 60. günde SÇK' ın tamamen tükenmesi, silajlarda laktik asit üretiminin en yüksek düzeyine ulaşması ve ortam pH' ın istenilen seviyeye düşmesidir. Aynı günde (60. gün) en fazla *Lactobacilli* gelişiminin <sup>ho</sup>LAB *L. plantarum* MTD1 kullanılan silajlarda olduğu belirlenirken, en az gelişimin <sup>ho</sup>LAB *L. pentosus*, <sup>het</sup>LAB P11A44™ ve *L. buchneri* kullanılan silajlarda olduğu gözlenmiştir. Filya ve ark. (2006) tarafından yapılan çalışmada da, <sup>ho</sup>LAB inokulantlarının mısır silajının (~%33.8 KM) LAB popülasyonunu (7.38-7.51 cfu/g) artırdığı, <sup>het</sup>LAB inokulantlarının (6.16-6.21 cfu/g) ise düşürdüğü belirlenmiştir. Ayrıca silajların *Lactobacilli* popülasyonlarıyla ilgili olarak bu araştırmadan elde edilen bulgular, benzer konuda yapılan çalışmalarla da uyumlu bulunmuştur (Filya 2003, Filya ve ark. 2004a). Bu sonuçlardan farklı olarak <sup>het</sup>LAB *L. buchneri*' nin mısır silajının LAB popülasyonunu artırdığını gösteren çalışmalara da rastlanmıştır (Driehuis ve ark. 1999, Kung ve ark. 2007).

Fermantasyon süresince kontrol grubu ile <sup>ho</sup>LAB ve <sup>ho+het</sup>LAB inokulantlarının kullanıldığı silajların maya popülasyonunda artma gözlenirken, <sup>het</sup>LAB inokulantlarının kullanıldığı silajlarda 8. gün hariç maya gelişimi gözlenmemiştir. Bitkisel materyal parçalanıp siloya doldurulduktan sonra özellikle fermantasyonun ilk günlerinde (aerobik dönem) solunum olayı görülür. Bu olay sırasında silo içerisinde ve bitki bünyesinde kalan oksijen kullanılarak, ortamdaki şekerler parçalanmaya başlar (Filya 2001). Özellikle laktik asit konsantrasyonunun yüksek olduğu <sup>ho</sup>LAB ve <sup>ho+het</sup>LAB inokulantlarının kullanıldığı silajlarda fermantasyon süresince gözlenen maya popülasyonundaki artışın sebebi, solunum olayı ve taze materyalde var olan mayalar olabilir. Dolayısıyla silolamanın başlangıcında (2., 4., ve 8.) <sup>ho</sup>LAB ve <sup>ho+het</sup>LAB kullanılan silajların SÇK içerikleri ile ilgili olarak araştırmadan elde edilen sonuçlarda, bu silajlarda mayaların varlığını göstermektedir (Çizelge 4.1). Diğer yandan fermantasyon sırasında sağlanan düşük pH ile yüksek laktik

asit oluşumu aslında silaj ortamında istenmeyen mikroorganizma popülasyonunun (maya, küf, *Enterobacteria*, *Clostridia* vb.) gelişimini engellemektedir. Ancak düşük pH' da (3.50–3.65) bile gelişebilen maya türleri mevcuttur (Woolford 1984). Mısır gibi yüksek SÇK içeriğine sahip bitkilerde *Candida lambica* ve *C. krusei* gibi maya varyetelerinin fermantasyon sırasında gelişebildikleri ve düşük düzeyde de olsa laktik asidi ve karbonhidratları asimile edebildikleri bildirilmiştir (McDonald ve ark. 1991). Middlehoven ve van Baalen (1988) ise mayaların iyi fermente olmuş silajlarda 10 cfu/g, bozulmuş silajlarda ise 10<sup>12</sup> cfu/g düzeyinde bulunduğunu bildirmiştir. Araştırmada <sup>ho</sup>LAB inokulantlarının kullanıldığı silajlarda maya popülasyonu gözlenmiş olmasına rağmen, silajların maya popülasyonları ile ilgili olarak elde edilen sonuçlar Middlehoven ve van Baalen (1988)' nin iyi fermente olmuş silajlar için belirledikleri düzeyden bile daha düşük bulunmuştur (Çizelge 4.3). Heterofermantatif LAB inokulantlarının antimikrobiyal özellikleri ile fermantasyon sırasında oluşturdukları metabolitler (asetik ve propiyonik asit vb) istenmeyen epifitik mikroorganizma gelişimini engellemektedir (Muck 1996). Dolayısıyla söz konusu inokulantların kullanıldığı silajlarda maya oluşmamasının başlıca nedeni, silolamanın erken dönemlerinde bu silajlarda oluşan yüksek düzeydeki asetik asittir. Çünkü asetik asit mayaların gelişmesini tamamen engellemiştir (Çizelge 4.2, 4.3). Araştırmada <sup>ho</sup>LAB (Weinberg ve ark. 1993, Kleinschmit ve ark. 2005), <sup>het</sup>LAB (Ranjit ve Kung 2002, Taylor ve Kung 2002, Kung ve ark. 2007) ve <sup>ho+het</sup>LAB (Filya 2003, Filya ve ark. 2004a) inokulantlarının kullanıldığı silajların maya popülasyonları ile ilgili olarak elde edilen bulgular söz konusu araştırmacıların sonuçlarıyla da uyumlu bulunmuştur. Filya 2002 (a, b) ise bu sonuçlardan farklı olarak <sup>ho</sup>LAB inokulantlarının mısır silajının maya popülasyonunu etkilemediğini belirlemiş ve kontrol silajı dahil olmak üzere yaptığı tüm silajların maya içeriklerini genel olarak düşük bulmuştur. Araştırmacı fermantasyon sırasında silajlara herhangi bir şekilde hava girişinin mümkün olmadığı için, mayaların uygulamalardan etkilenmediğini,

silajlarda belirlediği mayaların ise başlangıç materyalinde var olan mayalar olduğunu bildirmiştir.

Genel olarak taze materyal ile yapılan silajların hiçbirisinde küf oluşumuna rastlanmamıştır. Küfler, silaj fermantasyonuna olumsuz etkide bulunarak silaj bünyesindeki fermente olabilir karbonhidratları ve bu karbonhidratların son ürünlerini tüketip LAB ile rekabet ederler (Filya 2001). Pelhate (1977) depolamanın son aşamalarına doğru siloya oksijen girmesi ile dominant hale gelebilecek küf türlerine (*Byssoschlamys nivea*, *Monascus ruber*, *Penicillium roqueforti* vb) rastlamıştır. Ancak iyi bir şekilde kapatılmış, düşük pH ile anaerobik koşulların sağlandığı silajlar küf gelişimine uygun ortamlar değildir (McDonald ve ark. 1991). Dolayısıyla bu araştırmada, yapılan tüm silajlarda hakim mikrofloranın *Lactobacilli* olması, fermantasyonun erken dönemlerinden itibaren sağlanan düşük pH ve silajlara hava girişinin çok iyi bir şekilde kontrol altına alınması, yani anaerobik koşulların sağlanması küflerin fermantasyonda aktif rol almasını önlemiştir. Yapılan çalışmaların birçoğunda da LAB inokulantları mısır silajının küf popülasyonunu düşürdüğü belirlenmiştir (Filya ve ark. 2004a, Kleinschmit ve Kung 2006a, Kung ve ark. 2007).

## 4.2. Silajların Hücre Duvarı Bileşenleri

Taze ve silolanmış mısırın hücre duvarı bileşenlerine ait araştırmadan elde edilen bulgular Çizelge 4.4' de verilmiştir.

Taze mısırın NDF, ADF, ADL, hemisellüloz ve sellüloz içeriklerinin sırasıyla %51.26, 35.92, 5.37, 15.34 ve 30.55 olarak saptandığı araştırmada, LAB inokulantlarının mısır silajının hücre duvarı bileşenleri üzerindeki etkileri önemsiz bulunmuştur ( $P>0.05$ ). Fermantasyonun 2. ve 4. gününde <sup>het</sup>LAB, 4. ve 8. günde ise <sup>ho+het</sup>LAB kullanılan silajların NDF ve hemisellüloz içeriklerinde başlangıç materyaline göre bir miktar artış olmuştur. Solunum ve fermantasyon sırasında oluşan KM kaybının, hücre duvarı bileşenlerini artırması olasıdır (Pahlow ve ark. 2003, Filya ve ark. 2007). Nitekim fermantasyonun 2 ve 4. günlerinde <sup>het</sup>LAB ve <sup>ho+het</sup>LAB inokulantlarının kullanıldığı silajlarda KM kaybı gözlenmiştir (Çizelge 4.1). Dolayısıyla fermantasyonun ilk günlerinde gözlenen solunum ve bunun sonucunda oluşan KM kaybı, mısır silajının hücre duvarı bileşenlerinden NDF ve hemisellüloz içeriğinde bir artış sağlamıştır. Benzer sonuç Filya ve ark. (2007) tarafından yonca silajıyla yapılan çalışmadan da elde edilmiş ve başlangıç materyaline göre silajların hücre duvarı bileşenlerinin arttığı belirlenmiştir.

Diğer yandan fermantasyonun 8. gününden itibaren <sup>ho</sup>LAB inokulantları mısır silajının NDF ve hemisellüloz içeriğinde, fermantasyonun ilk günlerine göre oransal bir azalma sağlamıştır. Bu durum fermantasyonun 60. gününde daha da belirgin hale gelmiştir (NDF, ~%3.02; hemisellüloz, %14.4). Hemisellüloz ve NDF içeriğinde belirlenen en fazla azalmanın 2-60. günler arasında <sup>ho</sup>LAB P1132™ (%3.44, 16) ve *L. pentosus* (%4.27, 17.3) kullanılan silajlarda olduğu belirlenmiş ve benzer durumun 2. ve 8. günlerde aynı silajların sellüloz içeriğinde de olduğu görülmüştür. Fermantasyonun 60. gününde belirlenen oransal azalmanın nedeni, ilk günlerden itibaren sağlanan düşük ortam pH' sıdır.

Çizelge 4.4. Silajların hücre duvarı bileşenleri ( $\bar{x}$ , %)

Günler	Uygulama	NDF	ADF	ADL	HMS*	S**
0	Taze	51.26	35.92	5.37	15.34	30.55
	Silaj					
2	Kontrol	51.67	34.61	5.70	17.06	28.91
	Biomax®5	51.78	34.58	5.81	17.20	28.77
	P1132™	51.73	35.20	5.30	16.53	29.90
	<i>L.plantarum</i> MTD1	51.28	34.77	5.56	16.51	29.21
	<i>L.pentosaceus</i>	51.81	34.98	5.39	16.83	29.59
	<i>P.pentosaceus</i>	51.50	35.07	5.65	16.43	29.42
	<i>L.pentosus</i>	51.84	35.44	5.56	16.40	29.88
	P11A44™	52.21	35.45	5.96	16.76	29.49
	<i>L.buchneri</i>	52.57	35.05	5.96	17.52	29.09
	Lalsil®	51.78	35.10	5.92	16.68	29.18
	SH	0.617	0.755	0.406	0.722	0.870
4	Kontrol	51.45	36.00	5.82	15.45	30.18
	Biomax®5	51.60	35.12	5.61	16.48	29.51
	P1132™	51.80	34.98	5.45	16.82	29.53
	<i>L.plantarum</i> MTD1	51.59	35.49	5.65	16.10	29.84
	<i>L.pentosaceus</i>	51.02	35.79	5.48	15.23	30.31
	<i>P.pentosaceus</i>	51.17	36.01	5.64	15.16	30.37
	<i>L.pentosus</i>	51.68	36.19	5.34	15.49	30.85
	P11A44™	52.43	35.96	5.63	16.47	30.33
	<i>L.buchneri</i>	52.43	35.95	5.75	16.48	30.20
	Lalsil®	51.13	35.76	5.80	15.37	29.96
	SH	0.552	0.766	0.891	0.979	0.891
8	Kontrol	51.08	34.87	5.49	16.21	29.38
	Biomax®5	50.53	34.90	5.40	15.63	29.50
	P1132™	50.65	34.91	5.77	15.74	29.14
	<i>L.plantarum</i> MTD1	50.25	35.05	5.30	15.20	29.75
	<i>L.pentosaceus</i>	52.14	34.95	5.51	17.19	29.44
	<i>P.pentosaceus</i>	50.97	34.74	5.78	16.23	28.96
	<i>L.pentosus</i>	50.52	35.46	5.22	15.06	30.24
	P11A44™	51.40	35.01	5.45	16.39	29.56
	<i>L.buchneri</i>	51.21	34.26	5.71	16.95	28.55
	Lalsil®	51.78	35.36	5.61	16.42	29.75
	SH	0.741	0.705	0.467	0.974	0.597
60	Kontrol	50.26	36.16	5.42	14.10	30.74
	Biomax®5	50.32	35.94	5.29	14.38	30.65
	P1132™	49.95	36.06	5.46	13.89	30.60
	<i>L.plantarum</i> MTD1	49.79	35.55	5.28	14.24	30.27
	<i>L.pentosaceus</i>	51.26	36.19	5.25	15.07	30.94
	<i>P.pentosaceus</i>	49.65	35.73	5.00	13.92	30.73
	<i>L.pentosus</i>	49.47	35.90	5.54	13.57	30.36
	P11A44™	50.56	36.27	5.50	14.29	30.77
	<i>L.buchneri</i>	50.66	35.28	5.04	15.38	30.24
	Lalsil®	50.61	35.76	5.71	14.85	30.05
	SH	0.858	0.641	0.738	0.920	0.976

NDF, nötr deterjanda çözünmeyen lif; ADF, asit deterjanda çözünmeyen lif; ADL, asit deterjanda çözünmeyen lignin; HMS, Hemisellüloz; S, Sellüloz; SH, standart hata.

\*Hemisellüloz=NDF-ADF; \*\*Sellüloz=ADF-ADL

Araştırmada fermentasyon süresince en düşük pH; NDF ve hemisellüloz içeriğindeki en fazla azalmayı sağlayan <sup>ho</sup>LAB P1132™ ve *L. pentosus* inokulantlarının kullanıldığı silajlarda belirlenmiş ve 60. günde her iki inokulantta da pH 3.49 olarak saptanmıştır. (Çizelge 4.1,  $P<0.05$ ). Ayrıca silajların pH' sı ile NDF ( $r=0.547$ ,  $P<0.05$ ) ve hemisellüloz ( $r=0.516$ ,  $P<0.05$ ) içerikleri arasında pozitif yönde bir korelasyon da tespit edilmiştir. Pozitif yönde belirlenen bu korelasyon düşük ortam pH' sının silajların hücre duvarı bileşenlerini etkileyebileceğini göstermektedir. Rook ve Hatfield (2003) ortam pH' sının hızla düşmesi ile birlikte hidrojen iyonlarındaki artışın hücre duvarı bileşenlerinde azalma yaratabileceğini, Muck (1996) ise düşük pH' nın silajların NDF içeriğinde sağlayacağı oransal azalmanın %0.5' ten daha düşük düzeyde olduğunu bildirmiştir. Dolayısıyla bu araştırmadan elde edilen sonuçlar her iki bildirimle de uyumlu bulunmuştur. Nitekim silajların hücre duvarı kapsamında oransal bir azalma meydana gelmiştir. Ancak gözlenen bu azalma Muck (1996) tarafından bildirilen orandan yüksek olmakla birlikte, düşük seviyelerde gerçekleşmiştir. Sanderson (1993) ve Filya (2002b) <sup>ho</sup>LAB *L. plantarum* ve *E. faecium*' un mısır silajının NDF ve ADF içeriklerini etkilemediğini bildirmişlerdir. Nitekim Sanderson (1993) mısır silajının NDF içeriğini kontrol ve inokulant kullanılan silajlarda sırasıyla %45.9 ve 44.8, ADF içeriğini %25.6 ve 25.3 olarak saptamıştır. Filya (2002b) tarafından yürütülen araştırmada ise, kontrol grubu mısır silajının NDF ve ADF içerikleri sırasıyla %52.9 ve 27.5; inokulant kullanılan silajlarda aynı parametreler sırasıyla %53.0 ve 27.4 olarak belirlenmiştir. Ayrıca LAB inokulantlarının mısır silajının hücre duvarı bileşenleri üzerindeki etkileriyle ilgili olarak bu araştırmadan elde edilen bulgular söz konusu çalışmalarla da uyumlu bulunmuştur (Kleinschmit ve ark. 2005, Kleinschmit ve Kung 2006b). Diğer yandan Ranjit ve Kung (2000) <sup>ho</sup>LAB *L. plantarum* 30115' in mısır silajının NDF içeriğinde önemli düzeyde bir azalma sağladığını belirlemiştir. Bu farklılığın oluşmasındaki neden, adı geçen çalışmada silolama süresinin (100 gün) yapılan bu araştırmadan (60 gün) daha uzun olması ve materyalin daha uzun süre asidik bir ortamda kalması olabilir.

Nitekim silolama süresinin uzamasına baēlı olarak, süre gelen asidik koşulların silajların hücre duvarı kapsamını azalttığı bildirilmektedir (Muck 1996). Bu araştırmada <sup>het</sup>LAB inokulantlarının hücre duvarı bileşenleri üzerindeki etkileri ile ilgili elde edilen sonuçlardan farklı olarak, Nsereko ve ark. (2008) <sup>het</sup>LAB' den *L. buchneri*, *L. reuteri*, *L. crispatus* ve *L. brevis*' in bazı özel suşlarının (*L. buchneri* PTA-6138 ve NRRLB-30866 suşu; *L. crispatus* NRRL B-30868, NRRL B-30870 ve NRRLB-30869 suşu; *L. reuteri* NRRL B-30867; *L. brevis* NRRL B-30865 suşu) ferulate esteraz ürettiğini, bu enzimin de İngiliz çimi silajının hücre duvarı kapsamını azalttığını belirlemişlerdir.



### 4.3. Silajların Aerobik Stabiliteleri

Silajların aerobik stabilitelerine ilişkin bulgular Çizelge ve Şekil 4.5' de verilmiştir.

Araştırmada kullanılan <sup>ho</sup>LAB (Biomax<sup>®</sup>5, P1132<sup>TM</sup>, *L. plantarum* MTD1, *L. pentosaceus*, *P. pentosaceus*, *L. pentosus*), <sup>het</sup>LAB (P11A44<sup>TM</sup> ve *L. buchneri*) ve <sup>ho+het</sup>LAB (Lalsil<sup>®</sup>) inokulantları mısır silajının aerobik stabilitesini farklı düzeyde etkilemiştir. Uygulanan 5 günlük test sonunda <sup>ho</sup>LAB inokulantları mısır silajının CO<sub>2</sub> üretimini ve maya popülasyonunu artırırken, silaj pH' sını kontrol grubuna göre önemli düzeyde düşürmüşlerdir ( $P<0.05$ ). Heterofermantatif LAB inokulantları (P11A44<sup>TM</sup> ve *L. buchneri*) ise mısır silajının CO<sub>2</sub> üretimini ve maya popülasyonunu düşürürlerken ( $P<0.05$ ), silajların pH' sını kontrol grubuna göre önemli düzeyde artırmışlardır. Diğer yandan <sup>ho+het</sup>LAB inokulantı (Lalsil<sup>®</sup>) mısır silajında CO<sub>2</sub> üretimini ve maya popülasyonunu kontrol grubuna göre etkilememiştir ( $P>0.05$ ).

Çizelge 4.5. Silajların aerobik stabilite ölçümleri ( $\bar{x}$ )

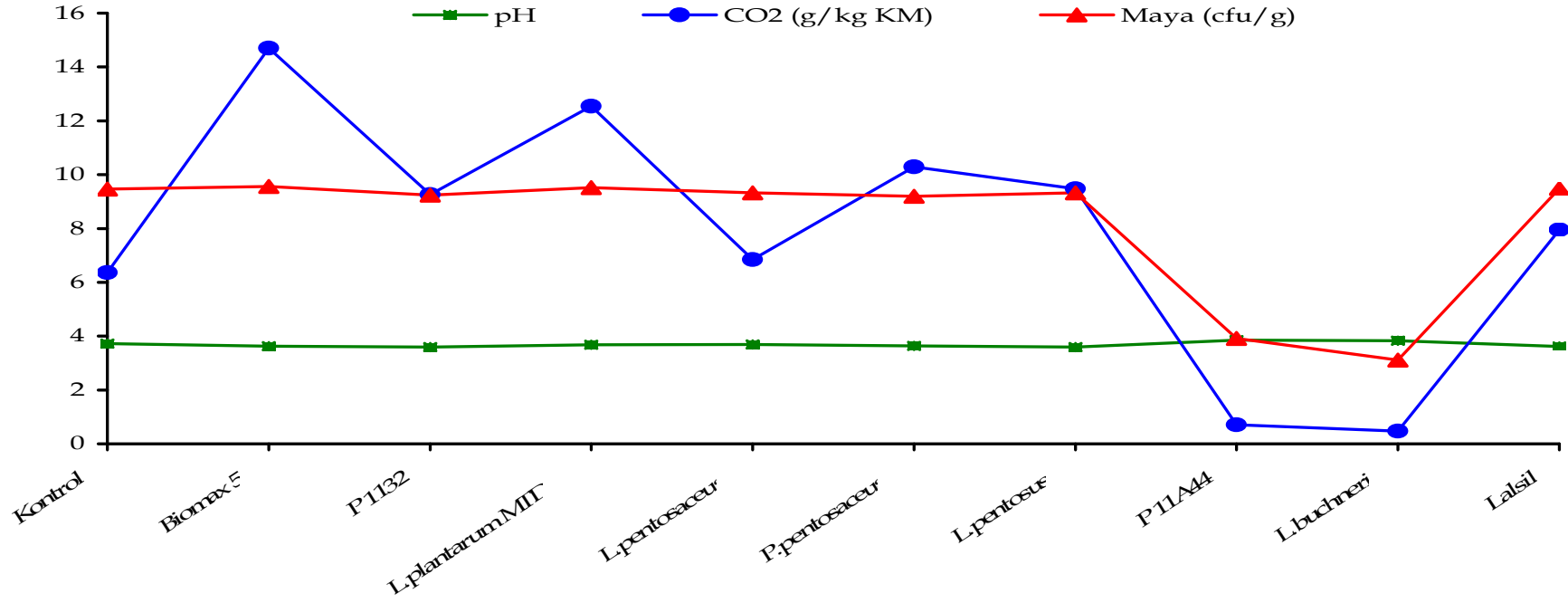
Uygulama	pH	CO <sub>2</sub> (g/kg KM)	Maya* (cfu/g)	Küf* (cfu/g)	Görsel küflenme**
Kontrol	3.72 <sup>b</sup>	6.36 <sup>e</sup>	9.46	0	1
Biomax <sup>®</sup> 5	3.63 <sup>d</sup>	14.70 <sup>a</sup>	9.56	0	1
P1132 <sup>TM</sup>	3.60 <sup>ef</sup>	9.26 <sup>cd</sup>	9.24	0	1
<i>L. plantarum</i> MTD1	3.68 <sup>c</sup>	12.54 <sup>ab</sup>	9.52	0	1
<i>L. pentosaceus</i>	3.69 <sup>c</sup>	6.85 <sup>de</sup>	9.32	0	1
<i>P. pentosaceus</i>	3.64 <sup>d</sup>	10.29 <sup>bc</sup>	9.20	0	1
<i>L. pentosus</i>	3.59 <sup>f</sup>	9.48 <sup>cd</sup>	9.33	0	1
P11A44 <sup>TM</sup>	3.85 <sup>a</sup>	0.71 <sup>f</sup>	3.92	0	1
<i>L. buchneri</i>	3.83 <sup>a</sup>	0.47 <sup>f</sup>	3.11	0	1
Lalsil <sup>®</sup>	3.62 <sup>de</sup>	7.95 <sup>c-e</sup>	9.49	0	1
SH	0.014	1.518	-	-	-

CO<sub>2</sub>, karbondioksit; KM, kuru madde; cfu, koloniform ünite; SH, standart hata.

\* Maya ve küf sayımı tek paralel olarak gerçekleştirilmiştir.

\*\*Silajların küflenme durumlarının görsel olarak 1' den 5' e kadar olan sayılarla değerlendirilmesidir. 1: hiç küf içermeyen bir silaj, 2: noktalar halinde çok çok az düzeyde küf içeren bir silaj, 3: noktalar halinde yüzeye yayılmış bir şekilde küf içeren bir silaj, 4: yüzeyi kısmen küf ile kaplı, bölge bölge küflenmiş yüzeyleri olan bir silaj, 5: yüzeyi tamamen küf ile kaplı, ağır bir kokuya sahip ve partikülleri birbirine yapışmış bir silaj. Bu değerlendirmeler üç kişi tarafından yapılmakta ve daha sonra üçünün ortalaması alınmaktadır.

<sup>a-f</sup> Aynı sütunda farklı inokulantlar için farklı harfler ile gösterilen ortalamalar arasındaki farklılıklar önemlidir ( $P<0.05$ ).

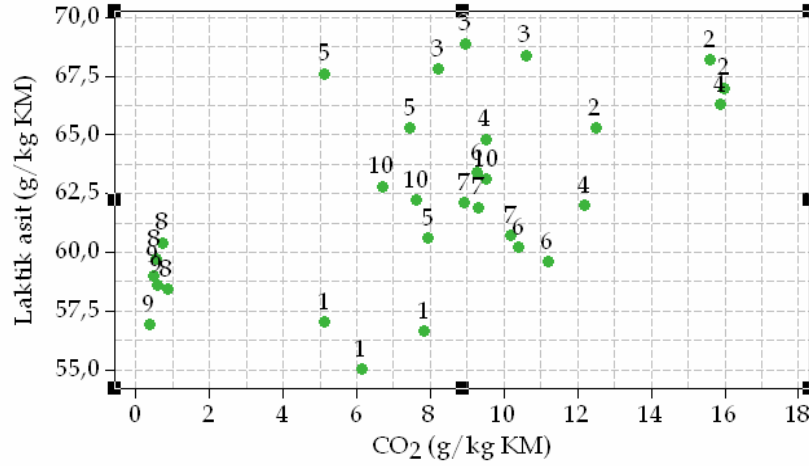


Şekil 4.5. Beş günlük aerobik dönem sonunda silajlardaki pH, CO<sub>2</sub> üretimi ve maya popülasyonu değişimi

Araştırmada 5 gün süre ile havanın oksijene maruz bırakılan silajlarda en yüksek CO<sub>2</sub> üretiminin 14.70 g/kg KM ile hoLAB Biomax®5 inokulantının kullanıldığı silajda, en düşük CO<sub>2</sub> üretiminin ise hetLAB P11A44™ (0.71 g/kg KM) ve *L. buchneri*' nin (0.47 g/kg KM) kullanıldığı silajlarda gerçekleştiği görülmüştür. Teste tabi tutulan silajların maya popülasyonu ise hoLAB kullanılan silajlarda 9.20–9.56 cfu/g, hetLAB kullanıldığı silajlarda 3.11–3.92 cfu/g arasında değişmiş ve en yüksek maya popülasyonunun hoLAB Biomax®5 kullanılan silajda (9.56 cfu/g), en düşük maya popülasyonunun hetLAB P11A44™ (3.92 cfu/g) ve *L. buchneri* (3.11 cfu/g) kullanılan silajlarda geliştiği gözlenmiştir.

Seale (1986) ve Filya (2001) hoLAB inokulantlarının kullanıldığı silajlarda yoğun olarak ortaya çıkan laktik asidin mayalar tarafından fermente edildiğini, bunun sonucunda silajlardaki maya popülasyonunun arttığını, mayaların ise CO<sub>2</sub> üretimine yol açtığını bildirmişlerdir. Weinberg ve ark. (1993) hoLAB inokulantlarının silaj kalitesini artırdığını, fakat bu silajların homolaktik fermantasyondan dolayı aerobik stabilitelerinin genellikle düşük olduğunu bildirmişlerdir. Aynı araştırmacılar bunun nedenini, hoLAB inokulantlarının silaj içerisindeki maya ve küf popülasyonlarını baskı altına alabilecek kadar yeterli miktarda asetik ve bütrik asit gibi UYA' ni üretememesi olarak göstermişlerdir. Dolayısıyla hoLAB inokulantlarının kullanıldığı silajların yüksek düzeyde laktik asit, düşük düzeyde asetik ve bütrik asit içermesi bunun yanı sıra maya popülasyonlarının diğer silajlara göre daha fazla olması, bu silajların aerobik stabilitelerinin düşük olduğunun bir göstergesidir (Çizelge 4.2). Ayrıca silolamanın son döneminde açılan silajların laktik asit konsantrasyonu ile aerobik dönemde saptanan CO<sub>2</sub> üretimi arasında pozitif yönlü bir korelasyon tespit edilmiş olması yukarıdaki bulguları destekler niteliktedir ( $r=+0.583$ ,  $P<0.05$ , Şekil 4.6).

Şekil 4.6' da da görüldüğü gibi yüksek laktik asit konsantrasyonuna sahip, 2-7 ve 10 numaralarla sembolize edilen <sup>ho</sup>LAB (Biomax®5, P1132™, *L. plantarum* MTD1, *L. pentosaceus*, *P. pentosaceus*, *L. pentosus*) ve <sup>ho+het</sup>LAB' nin (Lalsil®) kullanıldığı silajlarda daha yüksek miktarda CO<sub>2</sub> açığa çıkmıştır. Diğer yandan düşük laktik asit üretiminin gerçekleştiği, 8 ve 9 numaralarla sembolize edilen <sup>het</sup>LAB inokulantlarının (P11A44™ ve *L. buchneri*) kullanıldığı silajlarda ise daha düşük miktarda CO<sub>2</sub> açığa çıkmıştır ( $P<0.05$ ).

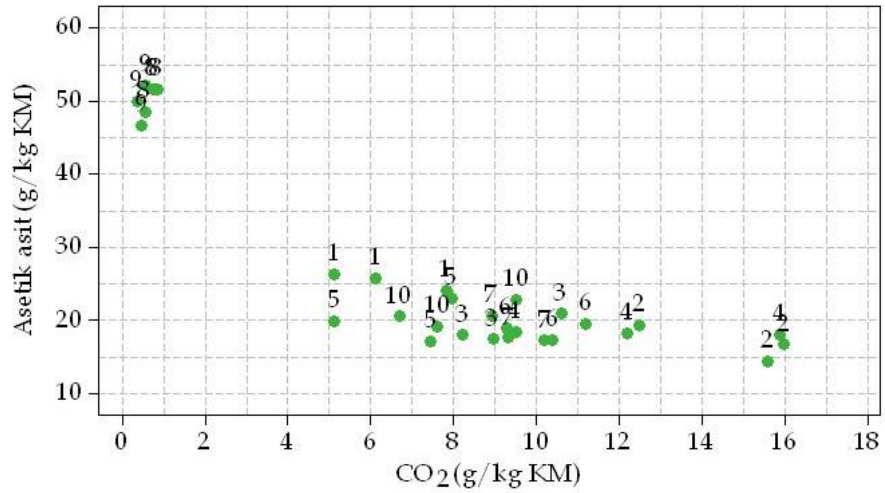


Şekil 4.6. Silajların laktik asit konsantrasyonu (60. gün) ile 5 günlük aerobik dönem sonunda oluşan CO<sub>2</sub> miktarı arasındaki dağılım (1, kontrol; 2-7, <sup>ho</sup>LAB; 8-9, <sup>het</sup>LAB; 10, <sup>ho+het</sup>LAB).

Homofermantatif LAB inokulantlarının mısır silajının aerobik stabilitesi üzerindeki etkileriyle ilgili olarak araştırmadan elde edilen bulgular, benzer konuda yapılan araştırma sonuçlarıyla da uyumlu bulunmuştur (Danner ve ark. 2003, Filya ve Sucu 2003). Ayrıca Weinberg ve ark. (1993) tarafından yürütülen çalışmada da, *L. plantarum*+*E. faecium*' un mısır silajının aerobik stabilitesini düşürdüğü belirlenmiştir. Filya ve ark. (2006) uyguladıkları 5 günlük test sonunda, *L. plantarum*' un mısır silajının CO<sub>2</sub> üretimini ve maya popülasyonunu artırdığını belirterek, silajların CO<sub>2</sub> üretiminin kontrol grubu ve *L. plantarum* kullanılan silajlarda sırasıyla 42.19 ve 46.88 g/kg KM, maya içeriğinin ise 5.88 ve 5.94 cfu/g olduğunu saptamışlardır.

Heterofermantatif LAB inokulantlarının mısır silajının aerobik stabilitesini artırmasının temel nedeni, bu bakterilerin asetik asit üretmesidir (Muck 1996, Driehuis ve ark. 1999). Asetik asit, aerobik süreçte istenmeyen mikroorganizmaların (maya ve küf vb) ortamda çoğalmalarını engelleyici etki göstererek silajların bozulmasını önlemektedir (Muck 1996). Bu araştırmada het<sup>+</sup>LAB inokulantlarının (P11A44<sup>TM</sup> ve *L. buchneri*) silajların asetik asit konsantrasyonunu artırması, fermantasyon sırasında oluşan bu asidin ise mayalar üzerindeki baskılayıcı etkisini göstermesi, bunun sonucu olarak ta aerobik süreçte silajların CO<sub>2</sub> üretiminin düşmesi Muck (1996) ve Driehuis ve ark. (1999)' nın bildirimleri ile uyumludur. Ayrıca silolamanın 60. gününde açılan silajların asetik asit konsantrasyonu ile CO<sub>2</sub> üretimi arasında negatif yönlü bir korelasyon tespit edilmiş olması yukarıdaki bulguları desteklemektedir ( $r=-0.837$ ,  $P<0.05$ , Şekil 4.7).

Şekil 4.7' de de görüldüğü gibi yüksek asetik asit konsantrasyonuna sahip 8 ve 9 numaralarla sembolize edilen het<sup>+</sup>LAB inokulantlarının kullanıldığı silajların CO<sub>2</sub> üretimleri daha düşük olmuştur. Diğer yandan 2-7 ve 10 numaralarla sembolize edilen, düşük asetik asit içeriğine sahip ho<sup>+</sup>LAB ve ho<sup>+</sup>het<sup>+</sup>LAB inokulantlarının kullanıldığı silajların CO<sub>2</sub> üretimleri ise daha yüksek olmuştur.



Şekil 4.7. Silajların asetik asit konsantrasyonu (60. gün) ile 5 günlük aerobik dönem sonunda oluşan CO<sub>2</sub> miktarı arasındaki dağılım (1, kontrol; 2-7, ho<sup>+</sup>LAB; 8-9, het<sup>+</sup>LAB; 10, ho<sup>+</sup>het<sup>+</sup>LAB).

Heterofermantatif LAB inokulantlarının mısır silajının aerobik stabilitesi üzerindeki etkileriyle ilgili olarak bu araştırmadan elde edilen bulgular, benzer konuda yapılan araştırma sonuçlarıyla da uyumlu bulunmuştur (Oude-Elferink ve ark. 1999, Ranjit ve ark. 1999, Filya ve ark. 2006). Ayrıca Kung ve ark. (2007) *L. buchneri* kullandıkları mısır silajını (73 saat) kontrol grubundan (37 saat) aerobik olarak daha dayanıklı bulmuşlardır. Aynı araştırmacılar, *L. buchneri*'nin mısır silajında maya ve küf gelişimini (maya ve küf sırasıyla 5.63 ve 5.51 cfu/g) kontrol grubuna (6.05 ve 7.29 cfu/g) göre önemli düzeyde düşürdüğünü de belirlemişlerdir ( $P<0.05$ ).

Araştırmada 5 günlük test sonunda yapılan silajların hiçbirisinde küf oluşumuna rastlanmamıştır. Ayrıca bu silajlar küflenme durumları görsel olarak değerlendirildiğinde de hiç küf içermeyen silaj kategorisinde yer almışlardır. Bu aerobik süreçte silajların pH'ının düşük olması, küf gelişimini tamamen engellemiştir (Çizelge 4.5). Benzer sonuçlar Filya (2002a, b), Filya ve ark. (2000) tarafından da elde edilmiş ve aerobik süreçte silajlarda hiç küf üremediği bildirilmiştir.

#### 4.4. İnokulantların Rumen Ekolojisi Üzerine Etkileri

##### 4.4.1. Silajların *in vitro* gaz üretim değerleri

Silajların rumende zamana bağlı *in vitro* gaz üretim değerleri ile rumen pH' sına ilişkin bulgular Çizelge 4.6 ve Şekil 4.8' de verilmiştir.

Çizelge 4.6. Silajların *in vitro* gaz üretim değerleri (mL) ve rumen pH düzeyleri

Uygulama	İnkübasyon süresi, saat							
	3	6	12	24	48	72	96	pH*
Kontrol	14.87 <sup>ab</sup>	24.30 <sup>a</sup>	37.37 <sup>bc</sup>	44.98 <sup>b-d</sup>	51.51 <sup>bc</sup>	52.96 <sup>bc</sup>	53.50 <sup>cd</sup>	6.09 <sup>ef</sup>
Biomax <sup>®</sup> 5	15.24 <sup>a</sup>	24.67 <sup>a</sup>	37.00 <sup>bc</sup>	44.62 <sup>b-d</sup>	51.51 <sup>bc</sup>	54.42 <sup>bc</sup>	54.96 <sup>cd</sup>	6.13 <sup>d-f</sup>
P1132 <sup>™</sup>	12.31 <sup>c</sup>	24.27 <sup>a</sup>	45.29 <sup>a</sup>	55.07 <sup>a</sup>	61.77 <sup>a</sup>	64.12 <sup>a</sup>	63.58 <sup>a</sup>	6.27 <sup>a</sup>
<i>L. plantarum</i> MTD1	15.60 <sup>a</sup>	24.12 <sup>a</sup>	39.18 <sup>b</sup>	45.34 <sup>b-d</sup>	52.24 <sup>bc</sup>	54.96 <sup>bc</sup>	54.96 <sup>cd</sup>	6.24 <sup>ab</sup>
<i>L. pentosaceus</i>	12.88 <sup>c</sup>	22.31 <sup>ab</sup>	36.46 <sup>bc</sup>	45.89 <sup>b-d</sup>	53.51 <sup>bc</sup>	55.68 <sup>bc</sup>	56.23 <sup>d</sup>	6.23 <sup>a-c</sup>
<i>P. pentosaceus</i>	12.69 <sup>c</sup>	21.77 <sup>b</sup>	34.17 <sup>c</sup>	43.82 <sup>cd</sup>	47.88 <sup>c</sup>	50.42 <sup>c</sup>	54.23 <sup>d</sup>	6.08 <sup>f</sup>
<i>L. pentosus</i>	12.33 <sup>c</sup>	22.85 <sup>ab</sup>	38.82 <sup>bc</sup>	47.52 <sup>bc</sup>	55.14 <sup>b</sup>	56.95 <sup>b</sup>	57.13 <sup>ab</sup>	6.22 <sup>a-c</sup>
P11A44 <sup>™</sup>	13.40 <sup>bc</sup>	22.46 <sup>ab</sup>	34.05 <sup>c</sup>	42.56 <sup>d</sup>	50.35 <sup>bc</sup>	53.61 <sup>bc</sup>	52.16 <sup>b-d</sup>	6.15 <sup>c-f</sup>
<i>L. buchneri</i>	14.51 <sup>ab</sup>	23.22 <sup>ab</sup>	35.91 <sup>bc</sup>	42.44 <sup>d</sup>	50.79 <sup>bc</sup>	53.33 <sup>bc</sup>	52.60 <sup>cd</sup>	6.17 <sup>b-e</sup>
Lalsil <sup>®</sup>	13.76 <sup>bc</sup>	24.27 <sup>a</sup>	39.85 <sup>b</sup>	48.91 <sup>bc</sup>	55.07 <sup>b</sup>	57.60 <sup>b</sup>	59.23 <sup>ab</sup>	6.21 <sup>a-d</sup>
SH	0.811	1.322	2.277	2.528	3.151	3.064	2.364	0.045

\* *In vitro* gaz üretiminin 48. saatinde ölçülmüştür.

SH, standart hata

<sup>a-f</sup>Aynı sütunda farklı inokulantlar için farklı harfler ile gösterilen ortalamalar arasındaki farklılıklar önemlidir ( $P < 0.05$ ).

Araştırmada kullanılan <sup>ho</sup>LAB (Biomax<sup>®</sup>5, P1132<sup>™</sup>, *L. plantarum* MTD1, *L. pentosaceus*, *P. pentosaceus*, *L. pentosus*), <sup>het</sup>LAB (P11A44<sup>™</sup> ve *L. buchneri*) ve <sup>ho+het</sup>LAB (Lalsil<sup>®</sup>) inokulantlarının mısır silajının *in vitro* gaz üretim değerini farklı düzeyde etkiledikleri gözlenmiştir. İnkübasyon süresince (3–96 saat) oluşan gaz üretim değerleri zamana bağlı olarak artış göstermiştir. İnkübasyonun 3. saatinde <sup>ho</sup>LAB inokulantlarından; P1132<sup>™</sup> (12.31 mL), *L. pentosus* (12.33 mL), *P. pentosaceus* (12.69 mL) ve *L. pentosaceus'* un (12.88 mL), 6. saatte *P. pentosaceus'* un (21.77 mL) mısır silajının *in vitro* gaz üretim değerini kontrol grubuna göre (3. ve 6. saatlerde sırasıyla 14.87 ve 24.30 mL) önemli düzeyde düşürdüğü belirlenmiştir ( $P < 0.05$ ). Aynı saatlerde (3. saatte P11A44<sup>™</sup> hariç) diğer inokulantların *in vitro* gaz üretim değeri üzerindeki etkilerinin ise önemsiz olduğu görülmüştür ( $P > 0.05$ ). İnkübasyonun 12–72. saatleri arasında mısır silajının *in vitro* gaz üretim değerini önemli düzeyde artıran (sırasıyla

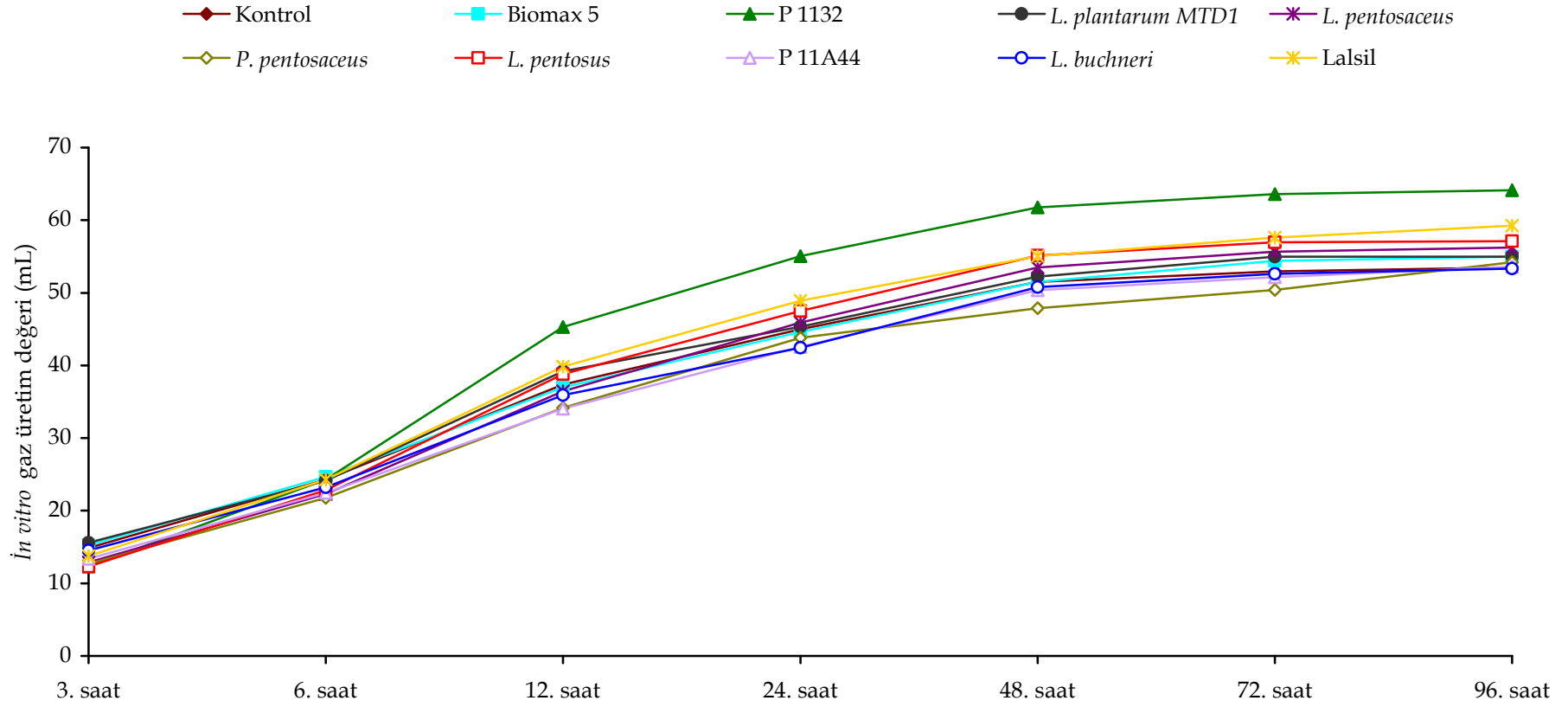
45.29, 55.07, 61.77 ve 64.12 mL) tek inokulant <sup>ho</sup>LAB P1132™ olmuştur ( $P<0.05$ ). İnkübasyonun 72. saatinde bazı inokulantların (<sup>ho</sup>LAB Biomax®5, *L. plantarum* MTD1, *L. pentosaceus*, *L. pentosus* ve <sup>ho+het</sup>LAB Lalsil®) mısır silajının *in vitro* gaz üretim değerini kontrol silajına göre önemsiz düzeyde artırdığı, <sup>ho</sup>LAB *P. pentosaceus* inokulantının ise aynı parametreyi önemsiz düzeyde düşürdüğü gözlenmiştir ( $P>0.05$ ). Silajların toplam gaz değeri incelendiğinde ise (96. saat), <sup>ho</sup>LAB P1132™ (63.58 mL) ve *L. pentosus* (57.13 mL) ile <sup>ho+het</sup>LAB Lalsil®' in (59.23 mL) kullanımı mısır silajının *in vitro* gaz üretim değerini kontrol grubuna (53.50 mL) göre önemli düzeyde artırdığı belirlenirken ( $P<0.05$ ), diğer inokulantların aynı parametreyi etkilemediği görülmüştür ( $P>0.05$ ).

Rumen fermantasyonunun son ürünlerini; mikrobiyal hücre, asitlerin fermantasyonu ve gaz oluşturmaktadır. Dolayısıyla gaz üretimi, rumendeki metabolik ve mikrobiyal aktiviteler hakkında da bilgi vermektedir (Getachew ve ark. 1998, Duan ve ark. 2006). Ayrıca farklı inkübasyon sürelerinde elde edilen gaz üretim değeri, ruminantlarda kullanılan yemlerin besleme değerinin tahmin edilmesinde kullanılabilir iyi bir parametredir (Menke ve ark. 1979). Dolayısıyla mısır silajının gaz üretim değerine ilişkin olarak elde edilen veriler doğrultusunda, araştırmada kullanılan bazı inokulantların (<sup>ho</sup>LAB, P1132™ ve *L. pentosus*; <sup>ho+het</sup>LAB, Lalsil®) mısır silajının besleme değerini artırabileceği, bununla birlikte söz konusu inokulantların rumen koşullarını iyileştirerek mısır silajının rumendeki metabolik ve mikrobiyal sindirimini de olumlu yönde etkileyebileceği söylenebilir. Nitekim Weinberg ve Muck (1996) LAB inokulantlarının silaj nitrojeninin mikrobiyal protein haline geçen kısmını artırdıklarını ve bu inokulantların rumendeki mikrobiyal büyümeyi teşvik ettiklerini bildirmişlerdir. Diğer yandan aynı araştırmacılar bu artışın çok da fazla olmadığını da ifade etmişlerdir. Laktik asit bakterilerinin mısır silajının *in vitro* gaz üretim değerleri üzerindeki etkilerinin incelendiği bir çalışmaya rastlanmamıştır. Ancak, Muck ve ark. (2007) çeşitli LAB inokulantlarının yonca silajının (%39.3 KM) zamana bağlı *in vitro* gaz üretimi üzerindeki etkisini incelemişler ve inkübasyonun 3-96 saatler arasındaki gaz üretim değerlerinin



zamana bağılı olarak artış gösterdiğini belirlemişlerdir. Ayrıca aynı araştırmacılar, kullandıkları LAB inokulantlarından <sup>ho</sup>LAB Biomax®5 ve P1174' ün yonca silajının 3-9. saatler arasındaki *in vitro* gaz üretim değerini önemli düzeyde artırdığını ( $P<0.01$ ), benzer artışı 24-96. saatlerde de gözlediklerini ancak bu saatlerdeki artışı istatistiki olarak önemsiz bulduklarını bildirmişlerdir ( $P>0.01$ ). Diğer yandan araştırmacılar kullandıkları <sup>het</sup>LAB P11A44™ inokulantının yonca silajının rumendeki *in vitro* gaz üretim değeri üzerindeki etkisinin kontrol silajıyla aynı olduğunu, *L. buchneri*' nin (<sup>het</sup>LAB, Biotal) ise inkübasyonun tüm saatlerinde (3-96) yonca silajının *in vitro* gaz üretim değerini önemsiz de olsa düşürdüğünü tespit etmişlerdir ( $P>0.01$ ). Filya ve ark. (2002b) Bursa bölgesinde yapılan bazı silajların zamana bağılı *in vitro* gaz üretim değerlerini incelemişlerdir. Araştırmacılar, mısır silajının 6., 24., 48., 72. ve 96. saatlerdeki *in vitro* gaz üretim değerlerinin sırasıyla 31.1-37.9, 53.9-57.9, 57.3-61.8 ve 61.1-68.2 mL/200 mg KM arasında değiştiğini saptamışlardır. Dolayısıyla mısır silajının *in vitro* gaz üretim değerlerine ilişkin bu araştırmadan elde edilen bulgular Filya ve ark. (2002b) tarafından belirlenen sınırlar içerisinde gerçekleşmiştir.

Mısır silajına ait bazı fermantasyon özellikleri (60.gün) ile aynı silajların *in vitro* gaz üretim değerleri arasında çeşitli Pearson korelasyon katsayıları belirlenmiştir. Silaj pH' ları ile 12-96. saatler arasında saptanan *in vitro* gaz üretim değerleri arasında negatif yönde bir korelasyon tespit edilmiştir ( $r=-0.373-0.621$ ,  $P<0.05$ ). Bu korelasyona göre, mısır silajının pH' sını en fazla düşüren inokulantlar (<sup>ho</sup>LAB, P1132™ ve *L. pentosus*; <sup>ho+het</sup>LAB, Lalsil®) *in vitro* gaz üretim değerini en fazla artıran olmuşlardır (Çizelge 4.1 ve 4.6). Bunun nedeni söz konusu silajlarda saptanan düşük pH' nın, silaj ve rumen ortamında istenmeyen mikroorganizma gelişimini engellemesi, bunun sonucunda LAB' nin *in vitro* koşullar altında rumen mikrobiyal popülasyonu ile rekabet edebilmesi olabilir. Weinberg ve ark. (2003, 2004) *in vitro* koşullarda yürüttükleri çalışmalarında, LAB' nin rumen sıvısına geçerek burada yaşamlarını sürdürebildiklerini belirlemişler ve LAB' nin rumendeki mikroorganizmalar ile rekabet edebildiklerini bildirmişlerdir.



Şekil 4.8. Silajların rumende zamana bağlı *in vitro* gaz üretim değerleri

Silajların laktik asit konsantrasyonları ile 12-96. saatlerdeki *in vitro* gaz üretim değerleri arasında pozitif yönde bir korelasyon tespit edilmiş ve bu korelasyon katsayıları  $r=0.432-0.506$  arasında değişmiştir ( $P<0.05$ ). Araştırmada mısır silajının laktik asit konsantrasyonunu artıran inokulantlar (<sup>ho</sup>LAB P1132™ ve <sup>ho+het</sup>LAB Lalsil®) aynı zamanda mısır silajının *in vitro* gaz üretim değerini de en fazla artıran olmuşlardır. Bunun nedeni, silaj fermantasyonu sırasında oluşan laktik asidin rumen mikroorganizmaları tarafından iyi bir şekilde değerlendirilmesi sonucu *in vitro* gaz üretiminin artmasıdır. Chamberlain ve ark. (1983) yüksek laktik asit içeren çayır otu silajlarıyla beslenen süt sığırlarının günde yaklaşık olarak 1.5 kg laktik asit tükettiklerini, bu tüketimde bile laktik asidin rumende 25 dk gibi kısa bir sürede hızla metabolize edilerek değerlendirildiğini belirlemişlerdir. Giesecke ve Stangassinger (1980) silaj fermantasyonu sırasında oluşan organik asitlerin çözünmemiş formlarına göre sindirim sisteminde daha iyi emildiğini bildirmişlerdir. Ayrıca aynı araştırmacılar, laktik asidin pKa değerinin (3.7) diğer UYA' den (4.9) düşük olmasının, normal rumen pH' sında laktik asidin emilimini yavaşlattığını ve rumen pH' sının 5.5' in altına düşmemesi durumunda ise laktik asidin çoğunlukla ince bağırsakta emildiğini ifade etmişlerdir. Diğer yandan Gill ve ark. (1988) ise laktik asidin sadece %10' unun rumenden kaçabildiğini bildirmişlerdir. Bu açıklamalar doğrultusunda, silajların laktik asit konsantrasyonu ile *in vitro* gaz üretim değerleri arasındaki korelasyon şiddetinin 96. saatte ( $r=0.506$ ) daha da artması ve rumen pH' sının 5.5' in altına düşmemesi Giesecke ve Stangassinger (1980)' in bildiri ile uyumlu bulunmuştur. Ancak silajların pH ve laktik asit konsantrasyonları ile *in vitro* gaz üretim değerleri arasında belirlenen korelasyon etkileri, Muck ve ark. (2007) tarafından yonca silajıyla yapılan çalışmayla çelişmektedir. Araştırmacılar silaj pH' sı ile 96. saatteki *in vitro* gaz üretim değerleri arasında pozitif yönlü bir korelasyon belirlerlerken (0.569), silajların laktik asit konsantrasyonu ile *in vitro* gaz üretim değerleri arasında negatif yönlü bir korelasyon ( $r=-0.529$ ) saptamışlardır. Bu çelişkinin oluşmasındaki başlıca neden silaj materyali olarak farklı bitkilerin

kullanılmasıdır. Diğer yandan silajların asetik asit konsantrasyonları ile 12-96 saatler arasında saptanan *in vitro* gaz üretim değerleri arasında negatif yönde bir korelasyon belirlenmiş ve korelasyon katsayıları  $r=-0.384-0.471$  arasında değişmiştir ( $P<0.05$ ). Mısır silajında asetik asit konsantrasyonunu artıran inokulantlar (kontrol; <sup>het</sup>LAB, P11A44™ ve *L. buchneri*) inkübasyonun 12-96 saatleri arasındaki *in vitro* gaz üretim değerini düşürmüşlerdir. Bunun nedeni silaj fermantasyonu sırasında oluşan asetik asidin, rumen mikroorganizmaları tarafından düşük düzeyde değerlendirilmesi ve bunun da rumendeki gaz üretimini olumsuz yönde etkilemesidir. Nitekim Weinberg ve Muck (1996) silaj fermantasyonu sırasında oluşan laktik asidin rumende fermente olduğunu, etanolün çok az, asetik asidin ise hiç fermente olmadığını bildirmişlerdir. Ayrıca mısır silajında belirlenen %KM kaybı (60. günde) ile aynı silajların 3-12. saatler arasında belirlenen *in vitro* gaz üretim değerleri arasında negatif yönde bir korelasyon belirlenmiştir ( $P<0.05$ ). Mısır silajında KM kaybını artıran inokulantların (<sup>ho</sup>LAB, *L. pentosaceus* ve *P. pentosaceus*; <sup>het</sup>LAB, P11A44™ ve *L. buchneri*) 3-12. saatler arasındaki *in vitro* gaz üretim değerlerini düşürdüğü görülmüştür. Silaj fermantasyonu sırasında yüksek düzeyde oluşan asetik asit, KM kaybında artışa neden olmaktadır (McDonald ve ark. 1991). Dolayısıyla KM kaybını artıran asetik asit *in vitro* gaz üretimini olumsuz yönde etkilemiştir.

Başlangıç rumen pH' sının 6.12 olarak saptandığı araştırmada, mısır silajlarının *in vitro* rumen pH' ları artmış (kontrol grubu hariç) ve rumen pH' ları 6.08-6.27 arasında değişmiştir. Homofermantatif LAB *P. pentosaceus* inokulantının kullanıldığı silajın (6.08) rumen pH' sını etkilemediği belirlenirken, diğer inokulantların kullanıldığı silajların bu parametreyi önemli düzeyde artırdığı görülmüştür ( $P<0.05$ ). En yüksek rumen pH' sı, <sup>ho</sup>LAB P1132™ kullanılan silajda (6.27) belirlenmiş olup, bunu sırasıyla *L. plantarum* MTD1 (6.24), *L. pentosaceus* (6.23), *L. pentosus* (6.22), <sup>ho+het</sup>LAB Lalsil® (6.21), <sup>het</sup>LAB *L. buchneri* (6.17), P11A44™ (6.15) ve <sup>ho</sup>LAB Biomax®5' in (6.13) izlediği görülmüştür. Ayrıca araştırmada mısır silajlarının 48. saatteki *in vitro* gaz üretim değerleri ile rumen pH' sı arasında pozitif yönlü bir korelasyon

belirlenmiştir ( $r=+0.582$ ,  $P<0.05$ ). Rumen pH' sını artıran <sup>ho</sup>LAB P1132™ ve *L. pentosus* ile <sup>ho+het</sup>LAB Lalsil® in kullanıldığı silajların, gaz üretim değerini de artırdığı görülmüştür (Çizelge 4.6). Russell ve Dombrowski (1980) rumen pH' sını (6.2) ile sıcaklığın; sellülotik bakterilerin gelişmesi için uygun düzeyin altına düşmesi durumunda, gaz üretim değerinin düşebileceğini bildirmişlerdir. Rumen pH' sını 6.2' nin altına düşüren <sup>ho</sup>LAB *P. pentosaceus'* un kullanıldığı silajın (pH=6.08) zamana bağlı *in vitro* gaz üretim değerinin düşük bulunması, diğer inokulantların ise rumen pH' sını ve gaz üretim değerini artırmaları Russell ve Dombrowski (1980)' nin bildirimleri ile paralellik göstermiştir (Çizelge 4.6). Ayrıca rumen pH' sına ilişkin bu araştırmadan elde edilen sonuçlar Weinberg ve ark. (2004)' nin çalışması ile uyumlu bulunmuştur. Aynı araştırmacılar mısır silajı kullandıkları çalışmada, LAB inokulantlarının rumen pH' sını artırdığını belirlemişlerdir. Ancak yapılan bu araştırmada rumen pH' sına ilişkin elde edilen sonuçlar, Weinberg ve ark. (2004) tarafından belirlenen (5.19–5.30) değerlerden yüksek bulunmuştur. Bunun rumen sıvısı alınan hayvanların beslenmesindeki farklılıklardan (yemler, yemleme şekli ve açlık süresi vb) ileri gelebileceği düşünülmektedir.

#### 4.4.1.1. Silajların *in vitro* gaz üretim parametreleri

Silajların *in vitro* gaz üretim parametrelerine (a, b, a+b ve c) ilişkin bulgular Çizelge 4.7' de verilmiştir.

Araştırmada kullanılan <sup>ho</sup>LAB (Biomax<sup>®</sup>5, P1132<sup>TM</sup>, *L. plantarum* MTD1, *L. pentosaceus*, *P. pentosaceus*, *L. pentosus*), <sup>het</sup>LAB (P11A44<sup>TM</sup> ve *L. buchneri*) ve <sup>ho+het</sup>LAB (Lalsil<sup>®</sup>) inokulantlarının mısır silajının *in vitro* gaz üretim parametreleri üzerindeki etkilerinin farklı olduğu görülmüştür.

Mısır silajına ait söz konusu parametrelerden; a, b, a+b ve c sırasıyla -6.43-6.25 mL, 46.67-69.60 mL, 51.46-63.17 mL ve 0.08-0.10 mL/saat olarak belirlenen araştırmada, LAB inokulantlarının gaz üretim hız sabiti olan c değerini etkilemediği belirlenmiştir ( $P>0.05$ ). Diğer yandan ilk anda oluşan gaz hacmi olan a, süreye bağlı olarak oluşan gaz hacmi olan b ve toplam gaz üretimini ifade eden a+b değerleri bakımından inokulantlar arasında önemli farklılıklar tespit edilmiştir ( $P<0.05$ ). İlk anda oluşan (a) gaz hacmini kontrol grubuna göre önemli düzeyde artıran <sup>ho</sup>LAB Biomax<sup>®</sup>5 ve <sup>het</sup>LAB *L. buchneri*'nin kullanıldığı silajların ( $P<0.05$ ), süreye bağlı gaz (b) ve toplam gaz hacimlerini (a+b) kontrol grubuna göre rakamsal olarak düşürdüğü gözlenmiştir ( $P>0.05$ ).

Çizelge 4.7. Silajların *in vitro* gaz üretim parametreleri ( $\bar{x}$ )

Uygulama	a	b	a+b	c
Kontrol	3.92 <sup>ab</sup>	48.83 <sup>c</sup>	52.76 <sup>bc</sup>	0.08
Biomax <sup>®</sup> 5	6.25 <sup>a</sup>	47.67 <sup>c</sup>	53.92 <sup>bc</sup>	0.08
P 1132 <sup>TM</sup>	-6.43 <sup>c</sup>	69.60 <sup>a</sup>	63.17 <sup>a</sup>	0.10
<i>L.plantarum</i> MTD1	4.58 <sup>ab</sup>	49.47 <sup>c</sup>	54.05 <sup>bc</sup>	0.09
<i>L.pentosaceus</i>	2.06 <sup>ab</sup>	53.40 <sup>bc</sup>	55.46 <sup>bc</sup>	0.08
<i>P.pentosaceus</i>	2.19 <sup>ab</sup>	49.27 <sup>c</sup>	51.46 <sup>c</sup>	0.09
<i>L.pentosus</i>	-0.73 <sup>b</sup>	57.17 <sup>b</sup>	56.44 <sup>bc</sup>	0.09
P 11A44 <sup>TM</sup>	4.90 <sup>ab</sup>	47.57 <sup>c</sup>	52.46 <sup>bc</sup>	0.07
<i>L.buchneri</i>	5.84 <sup>a</sup>	46.67 <sup>c</sup>	52.50 <sup>bc</sup>	0.08
Lalsil <sup>®</sup>	0.97 <sup>b</sup>	56.47 <sup>b</sup>	57.43 <sup>b</sup>	0.09
SH	2.279	3.657	2.642	0.011

a, ilk anda oluşan gaz hacmi (mL); b, süreye bağlı olarak oluşan gaz hacmi (mL); a+b, toplam gaz üretimi (mL); c, gaz üretim hız sabiti (mL/saat); SH, standart hata.

<sup>a-d</sup> Aynı sütunda farklı inokulantlar için farklı harfler ile gösterilen ortalamalar arasındaki farklılıklar önemlidir ( $P<0.05$ ).

Diğer yandan ilk anda oluşan gaz hacmini (a) düşüren <sup>ho</sup>LAB P1132™ ve <sup>ho+het</sup>LAB Lalsil® in ise mısır silajının süreye bağlı (b, 69.60 ve 56.47 mL) ve toplam gaz hacmini (a+b, 63.17 ve 57.43 mL) kontrol grubuna göre (b, 48.83; a+b, 52.76) önemli düzeyde artırdığı belirlenmiştir ( $P < 0.05$ ). Elde edilen bu sonuçlar zamana bağlı *in vitro* gaz üretim değerlerinden alınan bulgular ile uyumlu bulunmuştur (Çizelge 4.6). Nitekim inkübasyonun 3. ve 6. saatlerinde en yüksek gaz üretim değerleri <sup>ho</sup>LAB Biomax® 5 ve <sup>het</sup>LAB *L. buchneri*' nin kullanıldığı silajlarda gerçekleşirken, en düşük gaz üretim değeri <sup>ho</sup>LAB P1132™' nin kullanıldığı silajda belirlenmiştir. İnkübasyonun 12. saatinden sonra P1132™ ve Lalsil® kullanılan silajların gaz üretim değerleri de artış göstermiştir.

Ruminantlarda kaba yemlerin değerlendirilmesindeki temel sorunlardan birisi yem tüketiminin belirlenmesindeki zorluklardır (Minson 1990). Özellikle sellüloz içeriği yüksek olan kaba yemlerin tüketimlerinin belirlenmesi, ruminantların beslenmelerinde önemli bir konuyu oluşturmaktadır (Ørskov ve Ryle 1990). *In vitro* gaz üretimi, hayvanların tahmini KM tüketimlerini belirlemek amacıyla da kullanılabilir (Blümmel ve ark. 1997). Bu kapsamda çeşitli araştırmacılar, KM tüketimi ile gaz üretimi arasında yüksek bir korelasyonun var olduğunu belirlemişlerdir (Fernandez-Rivera 1997, Romney ve ark. 1997). Blümmel ve Ørskov (1993) ise eksponensiyel modele dayalı  $P = a + b(1 - e^{-ct})$  denklemini, sığırlarda yem tüketimini belirlemek için gaz üretim tekniğine adapte etmiştir. Yürüttükleri çalışmalar sonucunda, çoklu regresyon modelindeki denklemde tanımlanan toplam gaz üretim değeri (a+b) ile yem tüketimi (0.88), sindirilebilir KM tüketimi (0.93) ve büyüme (0.95) arasında yüksek düzeyde bir korelasyonun olduğunu belirlemişlerdir. Ancak, gaz üretim tekniğindeki "c" değeri ile herhangi bir korelasyon geliştirememişlerdir. Dolayısıyla araştırmadan elde edilen toplam gaz üretim değeri (a+b) ilgili sonuçlar; <sup>ho</sup>LAB P1132™ (63.17 mL) başta olmak üzere, *L. pentosus* (56.44 mL), <sup>ho+het</sup>LAB Lalsil® (57.43 mL), *L. pentosaceus* (55.46 mL), *L. plantarum* MTD1 (54.05 mL) ve Biomax®5' in (53.92 mL) silaj tüketimi ile silajların sindirilebilir KM

tüketimini olumlu yönde etkileyeceğini ve bunun da tahmini olarak hayvanların performanslarında gelişme sağlayabileceğini gösterebilir. Nitekim Muck (1993) <sup>ho</sup>LAB inokulantları kullanılarak yapılan silajları tüketen sığır ve koyunların %25' inde yem tüketimi ile günlük ortalama canlı ağırlık artışının, %40' ında süt veriminin ve %50' sinde de yemden yararlanma düzeyinin arttığını bildirmiştir. Ayrıca Kung ve Muck (1997) 1990-1995 yılları arasında yapılan araştırmaların sonuçlarını derledikleri çalışmalarında, <sup>ho</sup>LAB inokulantlarının kullanıldığı araştırmaların %28' inde (n= 67) yem tüketiminin, %53' ünde (n= 15) canlı ağırlık kazancının artırdığını bildirmişlerdir.

Laktik asit bakteri inokulantlarının silajların *in vitro* gaz üretim parametreleri üzerindeki etkilerinin incelendiği bir çalışmaya rastlanmamıştır. Ancak, Filya ve ark. (2002b) mısır silajlarının *in vitro* gaz üretim parametrelerinden a, b, a+b ve c değerlerini sırasıyla 4.9-17.2 mL, 44.0-55.7 mL, 60.6-68.0 mL, 0.084-0.097 saat olarak saptamışlardır. Bu araştırmada bazı gruplarda (<sup>ho</sup>LAB; P1132<sup>TM</sup> ve *L. pentosus*, <sup>ho+het</sup>LAB; Lalsil®) elde ettiğimiz a değerine ait sonuçlar Filya ve ark. (2002b) tarafından elde edilen sonuçlarla uyumsuz bulunurken; b, a+b ve c değerleriyle elde edilen sonuçlar söz konusu araştırmacıların belirledikleri sınırlar içerisinde kalmıştır.



#### 4.4.2. Silajların rumen uçucu yağ asitleri konsantrasyonu

*In vitro* gaz üretiminin 48. saatinde belirlenen rumen UYA konsantrasyonuna ilişkin bulgular Çizelge 4.8 ve Şekil 4.9' da verilmiştir. Silajların rumendeki bireysel UYA' nin % konsantrasyonları, bu asitlerin litredeki mmol konsantrasyonlarının toplam UYA konsantrasyonuna oranlanmasıyla bulunmuştur.

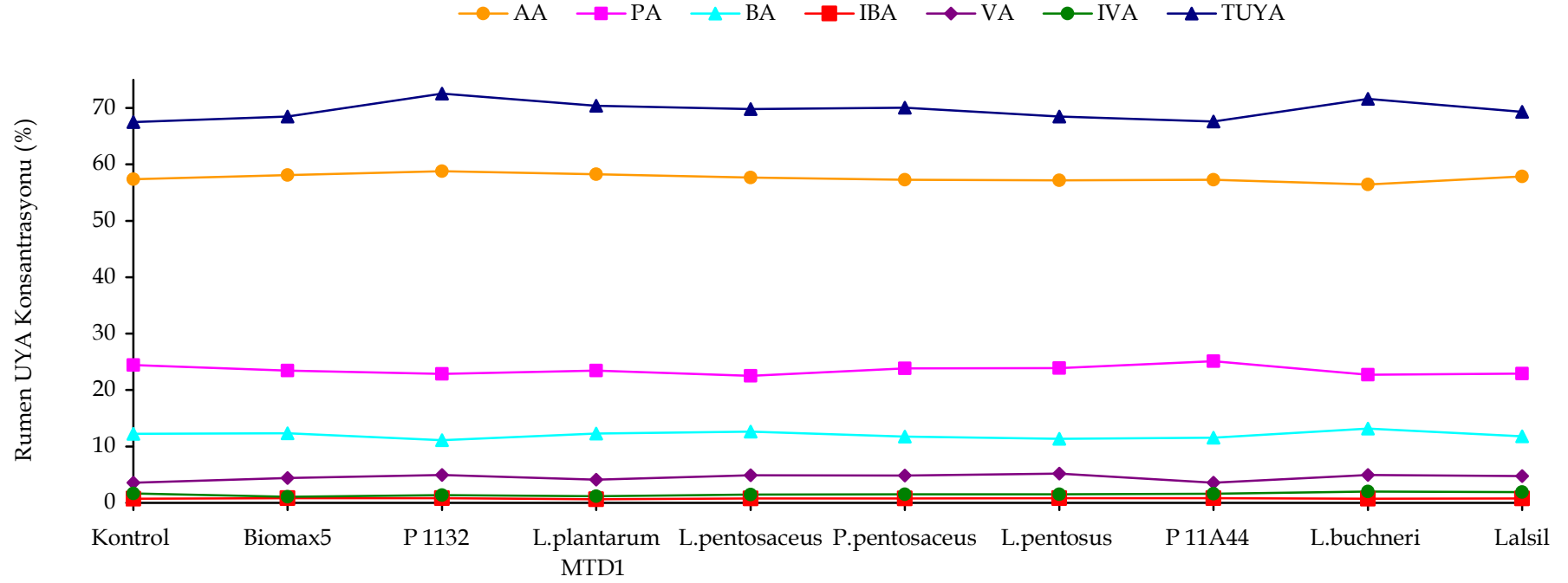
Çizelge 4.8. Silajların rumen UYA konsantrasyonu ( $\bar{x}$ )

Uygulama	Asetik asit, %	Propiyonik asit, %	Bütrik asit, %	İzobütrik asit, %	Valerik asit, %	İzovalerik asit, %	Toplam UYA mmol/L
Kontrol	58.80 <sup>a</sup>	22.70 <sup>cd</sup>	12.24 <sup>a-c</sup>	0.75	3.58 <sup>c</sup>	1.66	67.52 <sup>c</sup>
Biomax <sup>®</sup> 5	58.09 <sup>ab</sup>	23.46 <sup>b-d</sup>	12.36 <sup>a-c</sup>	0.81	4.43 <sup>b</sup>	1.08	68.85 <sup>bc</sup>
P1132 <sup>TM</sup>	57.36 <sup>bc</sup>	23.47 <sup>b-d</sup>	12.31 <sup>a-c</sup>	0.85	4.95 <sup>b</sup>	1.38	70.40 <sup>a-c</sup>
<i>L. plantarum</i> MTD1	56.47 <sup>c</sup>	25.09 <sup>a</sup>	13.17 <sup>a</sup>	0.67	4.10 <sup>b</sup>	1.19	72.54 <sup>a</sup>
<i>L. pentosaceus</i>	57.26 <sup>bc</sup>	24.41 <sup>ab</sup>	12.65 <sup>ab</sup>	0.80	4.91 <sup>b</sup>	1.47	69.82 <sup>a-c</sup>
<i>P. pentosaceus</i>	57.17 <sup>bc</sup>	23.82 <sup>a-d</sup>	11.77 <sup>b-d</sup>	0.80	4.83 <sup>b</sup>	1.52	70.04 <sup>a-c</sup>
<i>L. pentosus</i>	57.30 <sup>bc</sup>	23.91 <sup>a-c</sup>	11.34 <sup>cd</sup>	0.85	5.19 <sup>a</sup>	1.54	68.50 <sup>bc</sup>
P11A44 <sup>TM</sup>	57.68 <sup>a-c</sup>	22.50 <sup>d</sup>	11.53 <sup>cd</sup>	0.84	3.59 <sup>c</sup>	1.64	67.59 <sup>c</sup>
<i>L. buchneri</i>	58.25 <sup>ab</sup>	22.91 <sup>cd</sup>	11.13 <sup>d</sup>	0.71	4.95 <sup>b</sup>	1.99	71.64 <sup>ab</sup>
Lalsil <sup>®</sup>	57.86 <sup>a-c</sup>	22.88 <sup>cd</sup>	11.78 <sup>b-d</sup>	0.79	4.76 <sup>b</sup>	1.91	69.32 <sup>bc</sup>
SH	0.725	0.701	0.575	0.044	0.311	0.222	1.637

UYA, uçucu yağ asitleri; SH, standart hata.

<sup>a-d</sup>Aynı sütunda farklı inokulantlar için farklı harfler ile gösterilen ortalamalar arasındaki farklılıklar önemlidir ( $P<0.05$ ).

Araştırmada kullanılan <sup>ho</sup>LAB (Biomax<sup>®</sup>5, P1132<sup>TM</sup>, *L. plantarum* MTD1, *L. pentosaceus*, *P. pentosaceus*, *L. pentosus*), <sup>het</sup>LAB (P11A44<sup>TM</sup> ve *L. buchneri*) ve <sup>ho+het</sup>LAB (Lalsil<sup>®</sup>) inokulantlarının mısır silajının rumendeki UYA bileşimi üzerindeki etkileri incelendiğinde, <sup>ho</sup>LAB' nin mısır silajının rumendeki asetik asit konsantrasyonunu kontrol grubuna göre (%58.80) önemli düzeyde düşürdüğü (Biomax<sup>®</sup>5 hariç) görülmüştür ( $P<0.05$ ). Rumen asetik asit konsantrasyonunu en fazla düşüren inokulant *L. plantarum* MTD1 (%56.47) olurken; bu inokulantı sırasıyla *P. pentosaceus* (%57.17), *L. pentosaceus* (%57.26), *L. pentosus* (%57.30) ve P1132<sup>TM</sup> nin (%57.36) izlediği belirlenmiştir.



Şekil 4.9. Silajların rumen uçucu yağ asitleri konsantrasyonu

AA, asetik asit; PA, propiyonik asit; BA, bütrik asit; IBA, izobütrik asit; VA, valerik asit; İVA, izovalerik asit; TUYA, toplam uçucu yağ asitleri

Sharp ve ark. (1994) çayır silajı kullandıkları çalışmalarında, <sup>ho</sup>LAB *L. plantarum*+*E. faecalis*' in rumendeki asetik asit konsantrasyonunu düşürdüğünü bildirmişlerdir. Dolayısıyla araştırmada kullanılan <sup>ho</sup>LAB inokulantlarının mısır silajının rumendeki asetik asit konsantrasyonunu kontrol silajına göre düşürmesi, Sharp ve ark. (1994)' nin bulguları ile uyumlu bulunmuştur. ( $P>0.05$ ). Ancak bu araştırmada <sup>ho</sup>LAB *P. pentosaceus* inokulantından alınan sonucun Weinberg ve ark. (2004)' nin bulgusu ile çeliştiği görülmüştür. Söz konusu çalışmada *P. pentosaceus*' un (41.8 mmol/L) mısır silajının rumendeki asetik asit konsantrasyonunu kontrol silajına göre (44.2 mmol/L) artırdığı belirlenirken, bu araştırmada *P. pentosaceus*' un (%57.17) aynı parametreyi kontrol silajına göre (%58.80) önemsiz düzeyde düşürdüğü saptanmıştır ( $P>0.05$ ). Diğer yandan araştırmada kullanılan <sup>het</sup>LAB [P11A44™ (57.68) ve *L. buchneri* (%58.25)] ve <sup>ho+het</sup>LAB [Lalsil® (%57.86)] inokulantlarının rumendeki asetik asit konsantrasyonunu kontrol silajına göre (%58.80) etkilemediği tespit edilmiştir. Benzer sonuca Weinberg ve ark. (2003)' nin çalışmasında da ulaşılmıştır. Araştırmacılar rumen sıvısına aşılacakları *L. buchneri*' nin asetik asit konsantrasyonunu (%59.0) kontrol silajına göre (%58.7) etkilemediğini bildirmişlerdir. Ayrıca bu araştırmada silajların rumen fermantasyon ürününün ağırlıklı olarak asetik asit olduğu da tespit edilmiştir. Ensminger ve ark. (1990) kaba yemlerin ağırlıklı olarak rumende asetik aside fermente olduğunu ve asetik asidin toplam UYA' leri içerisindeki konsantrasyonunun %50–60 arasında değiştiğini bildirmektedir. Dolayısıyla mısır silajlarının rumen asetik asit konsantrasyonlarıyla ilgili olarak bu araştırmadan elde edilen bulgular, Ensminger ve ark. (1990) tarafından bildirilen sınırlar içerisinde yer almaktadır.

Araştırmadaki silajların, rumendeki propiyonik asit konsantrasyonları %22.50–25.09 arasında değişmiş ve genel olarak <sup>ho</sup>LAB ve <sup>ho+het</sup>LAB inokulantlarının mısır silajının rumen propiyonik asit konsantrasyonunu diğer gruplara (kontrol ve <sup>het</sup>LAB) göre artırdığı gözlenmiştir. Ancak kontrol silajına göre önemli sayılabilecek artışı (%22.70) bu inokulantlardan sadece *L. plantarum* MTD1 (<sup>ho</sup>LAB, %25.09) ve *L. pentosaceus*' un (<sup>ho</sup>LAB, %24.41) sağladığı

belirlenmiştir ( $P<0.05$ ). Diğer yandan <sup>het</sup>LAB inokulantlarının [P11A44™ (%22.50) ve *L. buchneri* (%22.91)] mısır silajının rumen propiyonik asit konsantrasyonunu kontrol silajına göre (%22.70) düşürdükleri belirlenirken, bu düşüşün istatistiki olarak önemsiz olduğu görülmüştür ( $P>0.05$ ). Silaj fermantasyon son ürünü olan laktik asit, rumende *in vitro* fermantasyonu sonucu ağırlıklı olarak propiyonik aside dönüşmektedir (Sharp ve ark. 1994, Weinberg ve ark. 2003). Diğer yandan LAB inokulantı kullanımına bağlı olarak propiyonik asit konsantrasyonundaki artış ise gaz üretim değerini düşürmektedir (Wolin 1960). Nitekim araştırmada laktik asit konsantrasyonu yüksek olan *L. plantarum* MTD1' in kullanıldığı silaj, rumendeki propiyonik asit konsantrasyonunu artırmış ve bunun sonucunda da bu grubun gaz üretim değeri düşmüştür (Çizelge 4.2 ve 4.6). Elde edilen bu sonuç Wolin (1960) Sharp ve ark. (1994), Weinberg ve ark. (2003)' nın bildirimleri ile uyumlu bulunmuştur. Weinberg ve ark. (2004)' nın mısır silajı kullandıkları çalışmada da, *L. plantarum* MTD1' in rumendeki propiyonik asit konsantrasyonunu kontrol grubuna göre artırdığı belirlenmiştir. Ayrıca silajların rumen propiyonik asit konsantrasyonu ile ilgili olarak bu araştırmadan elde edilen sonuçlar Ensminger ve ark. (1990) tarafından bildirilen sınırlar içerisinde kalmış ve propiyonik asidin toplam UYA içerisindeki konsantrasyonu %20–25 arasında değişmiştir.

Silajların rumendeki bütrik asit konsantrasyonlarının %11.13–13.17 arasında değiştiği araştırmada, <sup>ho</sup>LAB *L. plantarum* MTD1 (%13.17) mısır silajının rumendeki bütrik asit konsantrasyonunu kontrol grubuna (%12.24) göre önemli düzeyde artırdığı belirlenirken, <sup>het</sup>LAB *L. buchneri* (%11.13) bütrik asit konsantrasyonunu önemli düzeyde düşürdüğü tespit edilmiştir ( $P<0.05$ ). Araştırmada kullanılan bazı inokulantların ise [*L. pentosus* (<sup>ho</sup>LAB, %11.34), P11A44™ (<sup>het</sup>LAB, %11.53), *P. pentosaceus* (<sup>ho</sup>LAB, %11.77) ve Lalsil® (<sup>ho+het</sup>LAB, %11.78)] mısır silajının rumendeki bütrik asit konsantrasyonunu düşürdüğü, bazılarının [Biomax®5 (%12.36), *L. pentosaceus* (%12.65) ve P1132™ (%12.31)] kontrol silajına (%12.24) göre artırdığı görülmüştür. Ancak bu inokulantlarda

belirlenen düşüş ve artışlar istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur ( $P>0.05$ ). Laktik asidin rumendeki fermantasyon ürünlerinden birisi de bütrik asittir (Weinberg ve ark. 2003). Dolayısıyla *L. plantarum* MTD1 kullanılan silajda oluşan yüksek düzeydeki laktik asit, rumen fermantasyon ürünü olan bütrik asit konsantrasyonunu artırmıştır (Çizelge 4.2). Benzer bulgu Weinberg ve ark. (2004) tarafından da elde edilmiştir. Araştırmacılar da <sup>ho</sup>LAB *L. plantarum* MTD1' in (36.2 mmol/L) mısır silajının rumen bütrik asit konsantrasyonunu kontrol silajına göre (34.7 mmol/L) önemsiz düzeyde artırdığını, <sup>het</sup>LAB P11A44™ ün ise aynı parametreyi önemsiz düzeyde düşürdüğünü bildirmişlerdir.

Silajların rumendeki valerik asit konsantrasyonlarının %3.58–4.95 arasında değiştiği araştırmada, <sup>het</sup>LAB P11A44™ ün (%3.59) mısır silajının rumen valerik asit konsantrasyonunu kontrol silajına göre (%3.58) etkilemediği belirlenirken ( $P>0.05$ ), diğer inokulantların aynı parametreyi önemli düzeyde artırdığı görülmüştür ( $P<0.05$ ). Araştırmada en yüksek valerik asit konsantrasyonu <sup>ho</sup>LAB *L. pentosus* (%5.19) kullanıldığı silajda belirlenirken, bunu sırasıyla P1132™ (%4.95), <sup>het</sup>LAB *L. buchneri* (%4.95), *L. pentosaceus* (%4.91), *P. pentosaceus* (%4.83), Lalsil® (%4.76), Biomax®5 (%4.43), *L. plantarum* MTD1' in (%4.10) kullanıldığı silajlar izlemiştir.

Silajların rumendeki izobütrik ve izovalerik asit konsantrasyonları sırasıyla %0.71–0.85, %1.08–1.99 arasında değişmiş olup, araştırmada kullanılan LAB inokulantları mısır silajlarının rumen izobütrik ve izovalerik asit konsantrasyonlarını etkilememişlerdir ( $P>0.05$ ).

Mısır silajlarının rumendeki toplam UYA konsantrasyonunun 67.52–72.54 mmol/L arasında değiştiği araştırmada, *L. plantarum* MTD1 (<sup>ho</sup>LAB, 72.54 mmol/L) ve *L. buchneri*' nin (<sup>het</sup>LAB, 71.64 mmol/L) toplam UYA konsantrasyonunu kontrol silajına göre (67.52 mmol/L) önemli düzeyde artırdığı belirlenirken ( $P<0.05$ ), diğer inokulantların söz konusu parametreyi etkilemediği görülmüştür ( $P<0.05$ ). Weinberg ve ark. (2004)' da *L. plantarum* MTD1' in mısır silajının rumen toplam UYA konsantrasyonunu artırdığını,

<sup>het</sup>LAB P11A44<sup>TM'</sup> ün ise toplam UYA' ni etkilemediğini belirlemişlerdir. Ayrıca Canbolat (2006) rumende toplam UYA konsantrasyonunun 60-120 mmol/L arasında değiştiğini bildirmektedir. Dolayısıyla, araştırmada toplam UYA ile ilgili olarak elde edilen sonuçlar söz konusu araştırmacının bildirdiği sınırlar içerisinde kalmıştır.

Rumen UYA konsantrasyonu, hayvanların performansının tahmin edilmesinde kullanılacak önemli parametrelerden birisi olup, süt ineklerinin verim parametreleri (süt verimi, canlı ağırlık artışı, KM tüketimi, sütün bileşimi) ile rumende oluşan UYA' nin molar konsantrasyonları arasında bir bağlantı mevcuttur (Rymer ve Givens 2002). Nitekim Seymour ve ark. (2005) süt veriminin; rumen bütrik ( $r=0.47$ ) ve propiyonik asit ( $r=0.23$ ) konsantrasyonları ile direkt ilişkili olduğunu, KM tüketiminin de süt verimini etkilediğini ( $r=0.69$ ) belirlemişlerdir. Dolayısıyla, araştırmada kullanılan bazı inokulantların (<sup>ho</sup>LAB *L. plantarum* MTD1 ve *L. pentosaceus*) mısır silajının rumen UYA içerisinde propiyonik ve bütrik asidin molar konsantrasyonlarını artırmaları, tahmini olarak hayvanların performansını olumlu yönde etkileyebilir.

Mısır silajına ait bazı fermantasyon özellikleri (60.gün) ile aynı silajların rumen UYA konsantrasyonları arasında çeşitli Pearson korelasyon katsayıları belirlenmiştir. Söz konusu katsayılar incelendiğinde, silaj laktik asit konsantrasyonu ile rumen propiyonik asit ( $r=0.474$ ), bütrik asit ( $r=0.392$ ) ve toplam UYA ( $r=0.372$ ) konsantrasyonları arasında pozitif yönde yüksek bir korelasyonun var olduğu görülmüştür ( $P<0.05$ ). Sonuçta, yüksek laktik asit üretebilen inokulantların rumendeki propiyonik asit, bütrik asit ve toplam UYA konsantrasyonları da daha yüksek bulunmuştur. Bu etkinin en belirgin görüldüğü inokulant <sup>ho</sup>LAB *L. plantarum* MTD1 olmuştur. Martin ve ark. (1994) rumendeki propiyonik asidin molar konsantrasyonu ile silaj fermantasyonu sırasında oluşan laktik asidin direkt bağlantılı olduğunu belirterek, yoğun laktik asit fermantasyonun gerçekleşmesi ile ruminal fermantasyonun gelişebileceğini, bunda rumen propiyonik asit konsantrasyonunu artıracığını

bildirmişlerdir. Dolayısıyla araştırmada silajların laktik asit konsantrasyonları ile rumen propiyonik asit konsantrasyonları arasında belirlenen pozitif yönde bir korelasyonun tespit edilmiş olması Martin ve ark. (1994)' nın bildiri ile uyumlu bulunmuştur. Diğer yandan silajların asetik asit konsantrasyonları ile rumen propiyonik ( $r=-0.468$ ) ve bütrik asit ( $r=-0.456$ ) konsantrasyonları arasında negatif yönlü bir korelasyon belirlenmiştir. Silaj fermantasyonu sırasında asetik asidin yüksek düzeyde oluştuğu <sup>het</sup>LAB P11A44™ ve *L. buchneri* kullanılan silajların, rumen propiyonik ve bütrik asit konsantrasyonları düşük bulunmuştur ( $P<0.05$ ). Ayrıca araştırmada silajların SÇK içerikleriyle rumen asetik konsantrasyonu arasında pozitif yönde yüksek bir korelasyon da ( $r=0.469$ ) belirlenmiştir ( $P<0.05$ ). Fermantasyonun 60. gününde kontrol silajında belirlenen yüksek SÇK, rumendeki asetik asit konsantrasyonunu artırmıştır. Dolayısıyla kontrol silajında diğer silajlara göre daha yüksek belirlenen bu çözünebilir komponent (SÇK), rumen mikroorganizmaları tarafından tamamen değerlendirilerek rumende yüksek asetik asit konsantrasyonunun oluşmasına neden olmuştur. Nitekim rumende bulunan protozoan ve bakteriler karbonhidratları glukoza kadar yıkımlarlar ve glukozu da CH<sub>4</sub>, CO<sub>2</sub>, su ve UYA' ne fermente ederler. Enerji kaynağı olarak kullanılan basit şekerler (glukoz, sükroz ve fruktoz) rumende tamamen fermente olarak UYA' ne dönüşür (Yavuz 2001).

#### 4.4.3. Silajların *in vitro* besin maddeleri sindirilebilirlikleri

Silajların 48. saat *in vitro* besin maddeleri sindirilebilirlikleri, metabolik enerji (ME) ve paylaşım faktörüne ait bulgular Çizelge 4.9 ve Şekil 4.10' da verilmiştir.

Araştırmada kullanılan <sup>ho</sup>LAB (Biomax<sup>®</sup>5, P1132<sup>TM</sup>, *L. plantarum* MTD1, *L. pentosaceus*, *P. pentosaceus*, *L. pentosus*), <sup>het</sup>LAB (P11A44<sup>TM</sup> ve *L. buchneri*) ve <sup>ho+het</sup>LAB (Lalsil<sup>®</sup>) inokulantlarının, mısır silajının *in vitro* besin maddeleri sindirilebilirlikleri, ME içerikleri ve paylaşım faktörü üzerindeki etkilerinin farklı olduğu görülmüştür.

Çizelge 4.9. Silajların *in vitro* besin maddeleri sindirilebilirlikleri, ME değerleri ve paylaşım faktörü ( $\bar{x}$ )

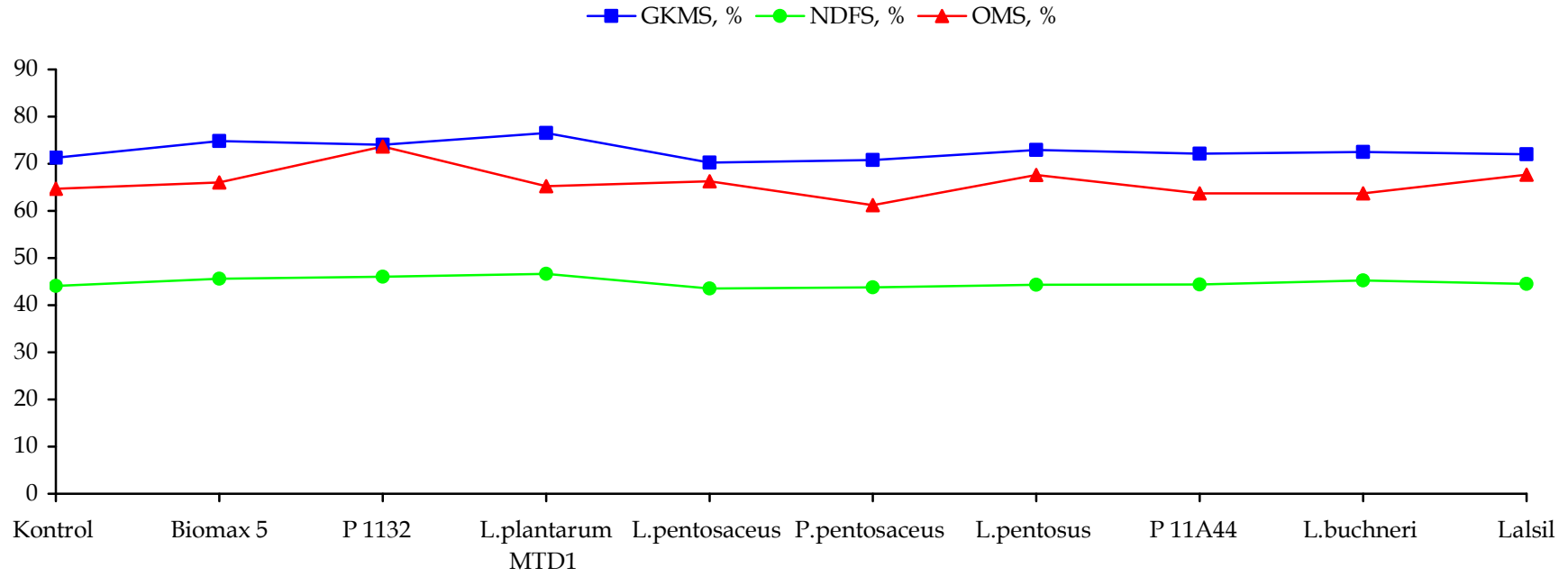
Uygulama	GKMS, %	NDFS, %	OMS, %	ME, MJ/kg KM	PF, mg/mL
Kontrol	71.27 <sup>ab</sup>	44.10 <sup>bc</sup>	64.68 <sup>a-c</sup>	9.67 <sup>b</sup>	3.53
Biomax <sup>®</sup> 5	74.83 <sup>ab</sup>	44.42 <sup>bc</sup>	66.01 <sup>a-c</sup>	9.69 <sup>b</sup>	3.29
P1132 <sup>TM</sup>	74.03 <sup>ab</sup>	44.50 <sup>bc</sup>	69.52 <sup>a</sup>	10.42 <sup>a</sup>	3.39
<i>L. plantarum</i> MTD1	76.54 <sup>a</sup>	46.65 <sup>a</sup>	65.26 <sup>a-c</sup>	9.76 <sup>b</sup>	3.72
<i>L. pentosaceus</i>	72.92 <sup>ab</sup>	45.23 <sup>ab</sup>	66.30 <sup>a-c</sup>	9.93 <sup>b</sup>	3.64
<i>P. pentosaceus</i>	72.16 <sup>ab</sup>	44.33 <sup>bc</sup>	61.23 <sup>c</sup>	9.15 <sup>b</sup>	3.64
<i>L. pentosus</i>	72.53 <sup>ab</sup>	46.04 <sup>a</sup>	67.65 <sup>ab</sup>	10.13 <sup>a</sup>	3.35
P11A44 <sup>TM</sup>	70.25 <sup>b</sup>	43.51 <sup>c</sup>	63.70 <sup>bc</sup>	9.51 <sup>b</sup>	3.64
<i>L. buchneri</i>	70.78 <sup>b</sup>	43.81 <sup>c</sup>	63.73 <sup>bc</sup>	9.53 <sup>b</sup>	3.38
Lalsil <sup>®</sup>	72.02 <sup>ab</sup>	45.60 <sup>ab</sup>	67.67 <sup>ab</sup>	10.13 <sup>a</sup>	3.34
SH	3.291	0.667	2.726	0.416	0.408

GKMS, gerçek kuru madde sindirilebilirliği; NDFS, nötr deterjanda çözünmeyen lif sindirilebilirliği; OMS, organik maddeler sindirilebilirliği; ME, metabolik enerji; PF, paylaşım faktörü; SH, standart hata.

<sup>a-c</sup> Aynı sütunda farklı inokulantlar için farklı harfler ile gösterilen ortalamalar arasındaki farklılıklar önemlidir ( $P < 0.05$ ).

Laktik asit bakterisi inokulantlarının mısır silajının gerçek KM sindirilebilirlikleri üzerindeki etkileri incelendiğinde, kullanılan tüm inokulantların mısır silajının KM sindirilebilirliği üzerindeki etkilerinin önemsiz olduğu görülmüştür ( $P > 0.05$ ). Diğer yandan <sup>ho</sup>LAB inokulantlarından bazılarının [*L. plantarum* MTD1 (%76.54), Biomax<sup>®</sup>5 (%74.83) ve P1132<sup>TM</sup> (%74.03)] mısır silajının gerçek KM sindirilebilirliğini kontrol grubuna göre (%71.27) rakamsal olarak artırdığı, <sup>het</sup>LAB inokulantının her ikisinin ise [P11A44<sup>TM</sup> (%70.25) ve *L. buchneri* (%70.78)] rakamsal olarak düşürdüğü gözlenmiştir ( $P > 0.05$ ).





Şekil 4.10. Silajların *in vitro* GKM, NDF ve OM sindirilebilirlikleri

GKMS, gerçek kuru madde sindirilebilirliği; NDFS, nötr deterjanda çözünmeyen lif sindirilebilirliği; OMS, organik maddeler sindirilebilirliği

Muck (1993) KM sindirilebilirliği ile hayvan performansları arasında yüksek bir korelasyonunun olduğunu bildirmektedir. Dolayısıyla araştırmada kullanılan bazı <sup>ho</sup>LAB inokulantlarının (*L. plantarum* MTD1, Biomax®5 ve P1132™) mısır silajının KM sindirilebilirliğini artırması, hayvanların performansında gelişme sağlayabilir. Rodrigues ve ark. (2002) ile Polat ve ark. (2005) *L. plantarum*+*E. faecium*' un (<sup>ho</sup>LAB), Weinberg ve ark. (2007)' da <sup>ho</sup>LAB *L. plantarum* MTD1 ve *P. pentosaceus* E' nin mısır silajının *in situ* ve *in vivo* KM sindirilebilirliğini rakamsal olarak artırdığını bildirmişlerdir. Diğer yandan Luther (1986) <sup>ho</sup>LAB *L. plantarum*' un, Weinberg ve ark. (2007) *E. faecium* Q (<sup>ho</sup>LAB) ve *L. buchneri*' nin (<sup>het</sup>LAB) mısır silajının *in vitro* KM sindirilebilirliğini kontrol silajına göre önemli düzeyde artırdığını belirlemişlerdir.

Laktik asit bakteri inokulantlarının mısır silajının NDF sindirilebilirliği üzerindeki etkileri incelendiğinde, <sup>ho</sup>LAB *L. plantarum* MTD1 (%46.65) ve *L. pentosus*' un (%46.04) mısır silajının NDF sindirilebilirliğini kontrol silajına göre (%44.10) önemli düzeyde artırdığı ( $P<0.05$ ), diğer inokulantların ise söz konusu parametreyi etkilemediği belirlenmiştir ( $P>0.05$ ). Diğer yandan <sup>het</sup>LAB inokulantının her ikisinin de [P11A44™ (%43.51) ve *L. buchneri* (%43.81)] mısır silajının NDF sindirilebilirliğini kontrol grubuna göre önemsiz düzeyde düşürdüğü, <sup>ho</sup>LAB *L. pentosaceus* (%45.23) ve <sup>ho+het</sup>LAB Lalsil® in (%45.60) ise önemsiz düzeyde artırdığı görülmüştür ( $P>0.05$ ). Ayrıca araştırmada genel olarak <sup>ho</sup>LAB ve <sup>ho+het</sup>LAB inokulantları mısır silajının NDF sindirilebilirliğini kontrol silajı ve <sup>het</sup>LAB' ne göre artırmışlardır. Bunun nedeni <sup>ho</sup>LAB inokulantlarında sağlanan düşük pH ve silajların NDF içeriğinde sağladığı oransal azalmadır (Çizelge 4.1, 4.4). Nitekim Bolsen ve ark. (1996) inokulant kullanımı ile sağlanan düşük pH' nın, hücre duvarı fraksiyonlarını rumen mikroorganizmalarınca daha kolay sindirilebilir hale getirdiğini bildirmişlerdir. Keady ve ark. (1994) *L. plantarum* MTD1' in çayır otu silajının NDF sindirilebilirliğini artırdığını belirlemiştir. Benzer sonuçlar bazı araştırmacılar tarafından da elde edilmiştir (Salawu ve ark. 2001).

Yemin hücre duvarı bileşenleri ve bu bileşenlerin rumende sindirim oranı, yem tüketimini etkilemektedir (Van Soest 1994). Nitekim Oba ve Allen (1999) NDF sindirilebilirliğindeki artışların KM tüketimini olumlu yönde etkilediğini ve *in vitro* ya da *in situ* NDF sindirilebilirliğinde sağlanacak bir birim artışın, rasyon KM tüketimini 0.17 kg, süt verimini 0.25 kg düzeyinde artıracığını bildirmektedir. Bu açıklamalar doğrultusunda araştırmada kullanılan bazı inokulantlar (*L. plantarum* MTD1, *L. pentosus* ve *L. pentosaceus*) mısır silajının NDF sindirilebilirliğini artırmak suretiyle, mısır silajının tüketimini olumlu yönde etkileyebilir ve bu da tahmini olarak hayvanların performansında gelişme sağlayabilir. Nitekim Keady ve Steen (1994, 1995), Keady ve ark. (1994) *L. plantarum* MTD1 içeren çayır otu silajlarını tüketen sığırların daha iyi besi performansı gösterdiğini belirlemişlerdir. Diğer yandan <sup>ho</sup>LAB inokulantlarının NDF sindirilebilirliğini etkilemediğini gösteren çalışmaya da rastlanmıştır (Filya 2002a). Heterofermantatif LAB inokulantları ile bu araştırmadan elde edilen sonuçlar Filya ve ark. (2006) tarafından yürütülen çalışmanın sonuçlarıyla benzerlik göstermiştir. Araştırmacılar da *L. buchneri*' nin mısır silajının *in situ* NDF parçalanabilirliğini etkilemediğini belirlemişlerdir. Diğer yandan Weinberg ve ark. (2007) *L. buchneri* (%49.8) ve P11A44' ün (%49.6) mısır silajının NDF sindirilebilirliğini kontrol silajına göre (%42.2) artırdığını saptamışlardır ( $P<0.05$ ). Benzer sonucu Nsereko ve ark. (2008)' da elde etmiş ve *L. buchneri* PTA-6138 suşunun İngiliz çimi silajının NDF sindirilebilirliğini (%61.8) kontrol silajına göre (%57.1) önemli düzeyde artırdığını belirlemişlerdir. Araştırmacılar *L. buchneri* PTA-6138 suşunun ferulate esteraz ürettiğini, bu enzimin de silajın hücre duvarı kapsamında azalma sağlayarak, sindirilebilirliğini olumlu yönde etkilediğini bildirmişlerdir.

Laktik asit bakteri inokulantlarının mısır silajının OM sindirilebilirliği üzerindeki etkileri incelendiğinde de, araştırmada kullanılan P1132<sup>TM</sup>' nin (<sup>ho</sup>LAB, %69.52) mısır silajının OM sindirilebilirliğini kontrol grubuna göre (%64.68) önemli düzeyde artırdığı ( $P<0.05$ ), *P. pentosaceus*' un (<sup>ho</sup>LAB, %61.23) düşürdüğü ( $P<0.05$ ), diğer inokulantların ise söz konusu parametreyi

etkilemediği belirlenmiştir ( $P>0.05$ ). Diğer yandan araştırmada kullanılan bazı inokulantların [<sup>het</sup>LAB P11A44<sup>TM</sup> (%63.70) ve *L. buchneri* (%63.73)] mısır silajının OM sindirilebilirliğini rakamsal olarak düşürdüğü, bazılarının ise [<sup>ho</sup>LAB *L. pentosus* (%67.65) ve <sup>ho+het</sup>LAB Lalsil® (%67.67)] rakamsal olarak artırdığı görülmüştür ( $P>0.05$ ). Benzer bulgular Keady ve ark. (1994), Filya (2002a) ve Filya ve ark. (2006) tarafından da elde edilmiştir. Nitekim Filya (2002a) <sup>ho</sup>LAB inokulantlarının mısır silajının OM sindirilebilirliğini (%59.3–61.8) kontrol silajına göre (%52.1) önemli düzeyde artırdığını ( $P<0.05$ ), Filya ve ark. (2006) ise *L. buchneri*' nin mısır silajının OM parçalanabilirliğini etkilemediğini saptamışlardır.

Mısır silajlarının ME içerikleri zamana bağlı *in vitro* gaz üretimleriyle paralellik göstermiş olup, <sup>ho</sup>LAB P1132<sup>TM</sup> (10.42 MJ/kg KM) ve *L. pentosus* (10.13 MJ/kg KM) ile <sup>ho+het</sup>LAB Lalsil® in (10.13 MJ/kg KM) kullanıldığı silajların ME içerikleri diğer silajlardan daha yüksek bulunmuştur ( $P<0.05$ ). Laktik asit bakteri inokulantlarının silajların ME içerikleri üzerindeki etkilerinin incelendiği herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Ancak, Getachew ve ark. (2002) mısır silajlarının ME içeriklerinin 8.00–9.35 MJ/kg KM arasında değiştiğini belirlemişlerdir. Araştırmada silajların ME içerikleri ile ilgili olarak bu araştırmadan elde edilen sonuçlar söz konusu çalışmadan yüksek bulunmuştur.

Blümmel ve ark. (1999) gerçek sindirilen substratın (mg), 24. saat *in vitro* gaz hacmine (mL) oranını "Paylaşım Faktörü (PF, partitioning factor)" olarak tanımlamışlardır. Araştırmacılar, paylaşım faktörünün rumende mikrobiyal etkinliği gösteren önemli bir parametre olduğunu, kaba yemlerde belirledikleri bu faktörün yüksek olması durumunda, yem tüketim değerinin artacağını bildirmişlerdir. Araştırmada mısır silajlarının paylaşım faktörü 3.29–3.72 mg/mL arasında değiştiği saptanmıştır. Laktik asit bakteri inokulantlarının paylaşım faktörü üzerindeki etkileri önemsiz bulunurken, <sup>ho</sup>LAB *L. plantarum* MTD1 en yüksek paylaşım faktörü değerine sahip inokulant olmuştur ( $P>0.05$ ). Blümmel ve ark. (1999)' nın açıklamaları doğrultusunda, *L. plantarum* MTD1' in

kullanımının mısır silajının rumendeki mikrobiyal etkinliğini bir miktar arttırabileceği, bunun da mısır silajının tüketimine olumlu yönde yansiyabileceği söylenebilir. Laktik asit bakteri inokulantlarının paylaşım faktörü üzerindeki etkilerini inceleyen bir çalışmaya rastlanmamıştır. Ancak Blümmel ve ark. (1997) bu faktörün kaba yemler için 2.74–4.41 mg/mL arasında değiştiğini bildirmiştir. Dolayısıyla paylaşım faktörü ile ilgili olarak bu araştırmadan elde edilen bulgular söz konusu araştırmacıların bildirdiği sınırlar içerisinde kalmıştır.

Mısır silajına ait bazı fermentasyon özellikleri (60. gün) ile aynı silajların *in vitro* gerçek sindirilebilirlikleri arasında çeşitli Pearson korelasyon katsayıları belirlenmiştir. Söz konusu katsayılar incelendiğinde, silajların laktik asit konsantrasyonu ile *in vitro* gerçek KM ( $r=0.409$ ), NDF ( $r=0.373$ ) ve OM sindirilebilirlikleri ( $r=0.374$ ) arasında pozitif yönde şiddetli bir korelasyonun varlığı tespit edilmiştir ( $P<0.05$ ). Buradan da, fermentasyon sırasında yüksek düzeyde laktik asit içeren silajların *in vitro* koşullar altında daha iyi sindirildiği sonucuna varılabilir. Dolayısıyla silaj fermentasyonu sırasında oluşan laktik asit rumen koşullarını iyileştirerek silajların sindirimini olumlu yönde etkileyebilir. Nitekim laktik asidin rumen fermentasyonunu geliştirdiği ve rumende iyi bir şekilde değerlendirildiği bildirilmektedir (Giesecke ve Stangassinger 1980). Diğer yandan silajların asetik asit konsantrasyonları ile *in vitro* gerçek KM ( $r=-0.373$ ,  $P<0.05$ ), NDF ( $r=-0.106$   $P>0.05$ ) ve OM sindirilebilirlikleri ( $r=0.277$ ,  $P>0.05$ ) arasında ise negatif yönde bir korelasyon belirlenmiştir ( $P<0.05$ ). En güçlü korelasyon silajların asetik asit konsantrasyonlarıyla *in vitro* gerçek KM sindirilebilirlikleri arasında görülmüştür. Dolayısıyla fermentasyon sırasında yüksek asetik asit içeren silajların (<sup>het</sup>LAB) *in vitro* koşullar altında daha az sindirildikleri düşünülebilir. Nitekim Weinberg ve Muck (1996) silaj fermentasyonu sırasında oluşan asetik asidin rumende hiç fermente olmadığını bildirmişlerdir.

## SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu araştırmada 9 adet LAB (6 <sup>ho</sup>LAB, 2 <sup>het</sup>LAB ve 1 <sup>ho+het</sup>LAB) inokulantının, mısır silajının fermantasyon, mikrobiyal yapı, hücre duvarı bileşenleri ve aerobik stabilite üzerindeki etkileri incelenmiş; ayrıca söz konusu inokulantların *in vitro* koşullar altında rumen ekolojisini nasıl etkiledikleri araştırılmış ve bu kapsamda silajların gaz üretim değerleri, rumen UYA ile gerçek KM, OM ve NDF sindirilebilirlikleri belirlenmiş, silajların fermantasyon özellikleri ile rumen ekolojisi parametreleri arasında ilişkiler ortaya konmaya çalışılmıştır.

Araştırma sonucunda, <sup>ho</sup>LAB (Biomax<sup>®</sup>5, P1132<sup>™</sup>, *L. plantarum* MTD1, *L. pentosaceus*, *P. pentosaceus*, *L. pentosus*) ve <sup>ho+het</sup>LAB (Lalsil<sup>®</sup>) inokulantları mısırdaki SÇK' ların etkin kullanımını sağlamış ve laktik asit üretimini teşvik etmişlerdir. Söz konusu inokulantlar mısır silajının pH' sı ile asetik asit, bütrik asit ve NH<sub>3</sub>-N konsantrasyonlarını önemli düzeyde düşürerek, silaj kalitesini artırmışlardır. Ayrıca mısır silajının mikrobiyal yapısını olumlu yönde etkileyip, *Lactobacilli* popülasyonunu artırarak, küf gelişimini tamamen engellemişlerdir. Diğer yandan bu inokulantların mısır silajının hücre duvarı bileşenlerini etkilemedikleri belirlenirken, ortam asitliğini hızla düşürmelerinin bir sonucu olarak hemisellüloz ve NDF' de oransal bir azalma yarattıkları görülmüştür. Uygulanan aerobik stabilite testi sonunda ise 6 adet <sup>ho</sup>LAB' nin tamamı aerobik stabiliteyi düşürürken, 1 adet <sup>ho+het</sup>LAB Lalsil<sup>®</sup> aerobik stabiliteyi etkilememiştir.

Araştırmada kullanılan 2 adet <sup>het</sup>LAB (P11A44<sup>™</sup> ve *L. buchneri*) inokulantı ise fermantasyonun ilk günlerinde (2-8. gün) yavaş laktik asit üreterek, ortam pH' sını diğer inokulantlardan daha geç düşürmüşlerdir. Dolayısıyla bu inokulantların fermantasyonun ilk günlerinde laktik asit üretim hızları <sup>ho</sup>LAB inokulantlarına göre düşük bulunmuş, fermantasyonun ileri dönemlerinde aktivitelerinin arttığı gözlenmiştir. Bunun yanı sıra söz konusu inokulantlar mısır silajının asetik asit konsantrasyonu ile KM kaybını artırıp;

etanol ve NH<sub>3</sub>-N konsantrasyonlarını düşürmüşler, hücre duvarı bileşenlerini ise etkilememişlerdir. Diğer yandan bu bakteri grubunun, antimikrobiyal özellikleri sayesinde oluşturdukları metabolitleri (asetik asit vb) mısır silajında istenmeyen epifitik mikroorganizma (maya ve küf) gelişimini engellemiş, silajların hijyenik kalitesini geliştirmiştir. Ayrıca uygulanan aerobik stabilite testi sonunda her iki <sup>het</sup>LAB' de mısır silajının aerobik stabilitesini artırmıştır.

Bu araştırmayla, laktik asit üretimini teşvik eden inokulantların (<sup>ho</sup>LAB ve <sup>ho+het</sup>LAB) rumen ekolojisine ait parametrelerden; *in vitro* gaz üretim değerleri (P1132<sup>TM</sup>, *L. pentosus* ve Lalsil®), rumen UYA konsantrasyonları (*L. plantarum* MTD1 ve *L. pentosaceus*) ile gerçek KM (*L. plantarum* MTD1), OM (P1132<sup>TM</sup>) ve NDF (*L. plantarum* MTD1 ve *L. pentosus*) sindirilebilirliklerini artırmak suretiyle rumen koşullarını iyileştirebilecekleri, özellikle bazı inokulantların (*L. plantarum* MTD1) bu etkiyi daha da artıracakları ortaya konmuştur. Diğer yandan asetik asit fermantasyonu teşvik eden inokulantların (<sup>het</sup>LAB) ise rumende diğer bakteri gruplarına göre daha düşük düzeyde değerlendirildiği gözlenmiştir. Söz konusu inokulantların rumen ekolojisine ait parametreleri önemli düzeyde etkilemedikleri saptanmıştır.

Rumen, bünyesinde birçok mikroorganizmayı barındıran kapalı ve karmaşık bir ekosisteme sahiptir. Ekosistemin bu yapısından dolayı, LAB inokulantlarının rumen koşullarını nasıl etkilediği ve rumen koşullarında oluşturulacak farklılıkların hayvan performanslarına nasıl yansıtacağı konusunda çok daha fazla çalışmaya gereksinim vardır. Gelecek çalışmalarda LAB inokulantlarının rumendeki mikrobiyal gaz üretimi ve mikrobiyal biyokitle üzerinde yaratacağı etkilerin belirlenmesinin önemli bir aşamayı oluşturacağı düşünülmektedir.

**KAYNAKLAR**

- ADAMS, M.R. and M.O. MOSS, 2000. Food Microbiology. 2nd ed. The Royal Society of Chemistry.
- ANONİM. 1981. Modern Plastics Encyclopedia 1981-1982, 58: 10A. In: Joan Agranoff (eds). New York, McGraw-Hill.
- ANONİM. 2008a. T.C. Başbakanlık Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) Hayvancılık İstatistikleri. <http://www.tuik.gov.tr/Start.do>. Erişim tarihi: 09.10.2008.
- ANONİM. 2008b. <http://images.google.com.tr>. Erişim tarihi: 17.05.2008.
- AOAC. 1990. Association of Official Analytical Chemists (A.O.A.C). Official Methods of Analysis, 15th ed., Vol. 1. AOAC, Washington, DC.
- ARMSTRONG, D.G. and K.L. BLAXTER. 1957. The Heat Increment of Steam-Volatile Fatty Acids in Fasting Sheep. Br. J. Nutr. 11 (3): 247-272.
- ASHBELL, G., Z.G. WEINBERG, A. AZRIELI, Y. HEN, and B. HOREV. 1991. A Simple System to Determine the Aerobic Determination of Silages. Can. Agric. Eng. 33: 391-395.
- BARKER, S.B. and W.H. SUMMERSON. 1941. The Colorimetric Determination of Lactic Acid in Biological Material. J. Biol. Chem. 138: 535-554.
- BARRY, T.N., M.E. DI MENNA, M.E. WEBB and J.N. PARLE. 1980. Some Observations on Aerobic Deterioration in Untreated Silages and in Silages Made with Formaldehyde-Containing Additives. J. Sci. Food and Agric. 31: 33-146.
- BEEVER, D. E. 1993. Rumen Function. In: Quantitative Aspects of Ruminant Digestion and Metabolism. J. M. Forbes and J. France, (eds). CABI, Wallingford, UK. pp. 187-215.
- BLUMMEL, M., and ØRSKOV, E.R. 1993. Comparison of *In Vitro* Gas Production and Nylon Bag Degradability of Roughages in Predicting Feed Intake in Cattle. Anim. Feed Sci. Technol. 40: 109-119.
- BLUMMEL, M., H.P.S MAKKAR and K. BECKER. 1997. *In Vitro* Gas Production: A Technique Revisited. J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. 77: 24-34.
- BLUMMEL, M., H. SCHRODER, K.H. SÜDEKUM and K. BECKER. 1999. Estimating Ruminant Microbial Efficiencies In Silage-Fed Cattle: Comparison of An *In Vitro* Method With A Combination of *In Situ* and *In Vivo* Measurements. J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. 81: 57-67.
- BOLSEN, K. K., R. N. SONAN, B. DALKE, R. POPE, J. G. RILEY and A. LAYTIMI. 1992. Evaluation of Inoculant and NPN Silage Additives: A Summary of 26 Trials and 65 Farm- Scale Silages. In: Kansas Agric. Exp. Sta. Rpt. of Prog. 651. Kansas State University, Manhattan. pp. 101-102.



- BOLSEN, K.K., D.R. BONILLA, G.L. HUCK, M.A. YOUNG, R.A. HART-THAKUR, and A. JOYEAUX. 1996. Effect of a Propionic Acid Bacterial Inoculant on Fermentation and Aerobic Stability of Whole-Plant Corn Silage. *J. Anim. Sci.* 74 (Suppl. 1): 274. (Abstr.).
- BUNGE, G.A. 2006. The Effect of Supplemental Biotin in Dairy Cow Diets on Forage Fermentation Characteristics. Stellenbosch University. Unpublished MSc Thesis. South Africa.
- CAI, Y., Y. BENNO, M. OGAWA, S. OHMOMO, S. KUMAI, and T. NAKASE. 1998. Influence of *Lactobacillus* spp. from an Inoculant and of *Weissella* and *Leuconostoc* spp. from Forage Crops on Silage Fermentation. *Appl. Environ. Microbiol.* 64: 2982-2987.
- CAI, Y., Y. BENNO, M. OGAWA and S. KUMA. 1999. Effect of Applying Lactic Acid Bacteria Isolated from Forage Crops on Fermentation Characteristics and Aerobic Deterioration of Silage. *J. Dairy Sci.* 82: 520-526.
- CANBOLAT, Ö. 2006. Seçmeli Yemlemenin Kuzularda Besi Performansı, Karkas Özellikleri, Bazı Rumen Sıvısı ve Kan Parametreleri Üzerine Etkileri. U.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü. Basılmamış Doktora Tezi. Bursa.
- CARPITA, N. 1997. Structure and Biosynthesis of Plant Cell Walls. In: *Plant Metabolism*, D.T. Dennis, D.H. Turpin, D.D. Lefebvre, and D.B. Layzell (eds.). 2nd ed. Addison Wesley Longman, Essex, England. pp. 124-147.
- CHAMBERLAIN, D.G., P.C. THOMAS, and F.J. ANDERSON. 1983. Volatile Fatty Acid Proportions and Lactic Acid Metabolism in the Rumen in Sheep and Cattle Receiving Silage Diets. *J. Agric. Sci. Camb.* 101: 47-58.
- CHEN, X. B. 1994. Neway Excel. An Excel Application Programme for Processing Feed Degradability Data. User Manual. Int. Feed Resources Unit. Rowrett Research Institute. Scotland (Unpublished).
- CHEN, J., M.R. STOKES and C.R. WALLACE. 1994. Effects of Enzyme-Inoculant System on Preservation and Nutritive Value of Hay Crop and Corn Silages. *J. Dairy Sci.* 77: 501-512.
- CHURCH, D.C. and W.G. POND. 1988. *Basic Animal Nutrition and Feeding*. 3rd Edition. Published by John Wiley and Sons, New York, NY.
- CLEALE, R.M., J.L. FIRKINS, F. VAN DER BEEK, J.H. CLARK, E.H. JASTER, G.C. MCCOY and T.H. KLUSMEYER. 1990. Effect of Inoculation of Whole Plant Corn Forage with *Pediococcus acidilactici* and *Lactobacillus xylosus* on Preservation of Silage and Heifer Growth. *J. Dairy Sci.* 73: 711-718.
- COMBS, D.K. and P.C. HOFFMAN. 2003. Intake and Milk Yield of Cows Fed Diets Containing *L. buchneri*-inoculated Corn Silage and High Moisture Corn or Acetic Acid Supplement. *J. Anim. Sci.* 81 (Suppl. 1): 232 (Abstr.).

- CONTRERAS-GOVEA, F.E., A.M. MARSALIS and M.L. LAURIAULT. 2009. Silage Microbial Inoculants: Use in Hot Weather Conditions. Circular 642. [aces.nmsu.edu/pubs/\\_circulars/cr642.pdf](http://aces.nmsu.edu/pubs/_circulars/cr642.pdf). Erişim tarihi: 12.04.2009.
- COOKE, L. 1995. New Strains Slows Silage Spoilage. *Agricult. Res.* 40: 17.
- DAESCHEL, M.A., R.E. ANDERSON and H.P. FLEMING, 1987. Microbial Ecology of Fermenting Plant Material. *FEMS Microbiol. Rev.* 46: 357-367.
- DANIEL, P., H. HONIG, F. WEISE, and E. ZIMMER. 1970. Wirkung von Propionsaure bei der Grunfuttersilierung. *Wirrtschaftseigene Futter.* 16: 239-252.
- DANNER, H., M. HOLZER, E. MAYRHUBER and R. BRAUN. 2003. Acetic Acid Increases Stability of Silage under Aerobic Conditions. *Appl. Environ. Microbiol.* 69: 562-567.
- DAVIDSON, P.M. and D.G. HOOVER. 1993. Antimicrobial Components from Lactic Acid Bacteria. In: *Lactic Acid Bacteria*, Salminen, S. and A. Von Wright (eds). p. 127, Marcel Decker Inc. New York.
- DAVIES, O.D. 1996. The Effect of Inoculant Additives on the Fermentation Characteristics of Maize Silage. In: *Proc. 11th Int. Silage Conference*, Aberystwyth, Wales. pp. 156-157.
- DAWSON, K.A., K.E. NEWMAN, and J.A. BOLING. 1990. Effects of Microbial Supplements Containing Yeast and *Lactobacilli* on Roughage-Fed Ruminant Microbial Activities. *J. Anim. Sci.* 68: 3392.
- DEVRIESE, L.A., M.D. COLLINS and R. WIRTH. 1992. The Genus *Enterococcus*. In: *The Prokaryotes*. A. Baalows, H.G. Truper, M. Dworkin, W. Harder, K.-H. Schleifer (eds): 2nd ed. Springer-Verlag, New York. pp. 1465-1481.
- DHIMAN, T.R., C.M. WACEK, and L.D. SATTER. 1991. Inoculation of Alfalfa Silage with *Lactobacillus plantarum*. *United States Dairy Forage Research Center Research Summaries*. Madison, WI, USA. pp. 55.
- DIJKSTRA, J. 1994. Production and Absorption of Volatile Fatty Acids in the Rumen. *Livest. Prod. Sci.* 39: 61-69.
- DONE, D.L. 1990. The Effect of an Inoculant Additive Containing Clostridiaphages on Grass of Low Ensiling Potential. In: *Proc. 9th Int. Silage Conference*, University of Newcastle-upon-Tyne. pp. 98.
- DRIEHUIS, F., S.J.W.H. OUDE-ELFERINK and S.F. SPOELSTRA. 1999. An Aerobic Lactic Acid Degradation During Ensilage of Whole Crop Maize Inoculated with *Lactobacillus buchneri* Inhibits Yeast Growth and Improves Aerobic Stability. *J. Appl. Microbiol.* 87: 583-594.
- DRIEHUIS, F. and P.G. Van WIKSELAAR. 2000. The Occurrence and Prevention of Ethanol Fermentation in High-Dry-Matter Grass Silage. *J. Sci. Food Agric.* 80: 711-718.

- DUAN Z.Y., W.J. YAN, Y.M. WU, J.A. YE and J.X. LIU. 2006. Comparison of Gas Test System Based on the Syringe with the Reading Pressure Technique. *J. Anim. Feed Sci.* 15: 121-129.
- DUBOIS, M., K.A. GILES, J.K. HAMILTON, P.A. REBES and F. SMITH, 1956. Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. *Anal. Chem.* 28: 350-356.
- ENSMINGER, M.E., J.E. OLDFIELD and W.W. HEINEMANN. 1990. *Feed and Nutrition*. The Ensminger Publishing Company.
- FERNANDEZ-RIVERA, S. 1997. Relationships Between Gas Release *In Vitro* and *In Vivo* Quality Measures of Tropical Forages. In: *In Vitro* Techniques for Measuring Nutrient Supply to Ruminants. In: Proc. Occasional Meeting of the British Society of Animal Science, University of Reading, UK.
- FITZSIMONS, A., P. HOLS, J. JORE, R.J. LEER, M. O'CONNELL, and J. DELCOUR. 1994. Development of an Amyolytic *Lactobillus plantarum* Silage Strain Expressing the *Lactobacillus amylovorus*  $\alpha$ -amylase Gene. *Appl. Environ. Microbiol.* 60: 3529-3535.
- FİLYA, İ. 2000. Bazı Silaj Katkı Maddelerinin Ruminantların Performansları Üzerindeki Etkileri *Hayvansal Üretim* 41: 76-83.
- FİLYA, I., G. ASHBELL, Y. HEN and Z.G. WEINBERG. 2000. The Effect of Bacterial Inoculants on the Fermentation and Aerobic Stability of Whole Crop Wheat Silage. *Anim. Feed Sci. Technol.* 88: 39-46.
- FİLYA, İ. 2001. *Silaj Teknolojisi*. Hakan Ofset, İzmir.
- FİLYA, İ. 2002a. Laktik Asit Bakteri Inokulantlarının Mısır ve Sorgum Silajlarının Fermantasyon, Aerobik Stabilite ve *In Situ* Rumen Parçalanabilirlik Özellikleri Üzerine Etkileri. *Turk J. Vet. Anim Sci.* 26: 815-823.
- FİLYA, İ. 2002b. Laktik Asit ve Laktik Asit+Enzim Karışımı Silaj İnokulantlarının Mısır Silajı Üzerine Etkileri. *Turk J. Vet. Anim Sci.* 26: 679-687.
- FİLYA, I., A.KARABULUT and E. SUCU. 2002a. The Effects of *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus buchneri* on the Fermentation, Aerobic Stability, and Ruminant Degradability of Maize Silage in Warm Climate. In: Proc. 13th Int. Silage Conference, Scotland, UK. pp. 192-193.
- FİLYA, İ., A. KARABULUT, Ö. CANBOLAT, T. DEĞİRMENCİOĞLU ve H.KALKAN. 2002b. Bursa Bölgesinde Yetiştirilen Yem Hammaddelerinin Besleme Değeri ve Hayvansal Organizmada Optimum Değerlendirme Koşullarının *In Vivo* ve *In Vitro* Yöntemlerle Saptanması Üzerinde Araştırmalar. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bilimsel Araştırmalar ve İncelemeler Serisi*. No: 25, Bursa.

- FİLYA, I. 2003. The Effect of *Lactobacillus buchneri*, with or without Homofermentative Lactic Acid Bacteria, on the Fermentation, Aerobic Stability and Ruminant Degradability of Wheat, Sorghum and Maize Silages. J. Appl. Microbiol. 95: 1080-1086.
- FİLYA, İ. ve E. SUCU. 2003. Silajlarda Fermantasyon Kalitesi ve Aerobik Stabilitenin Geliştirilmesi Üzerinde Araştırmalar. GAP III. Tarım Kongresi, Şanlıurfa. 45: 273-278.
- FİLYA I, E. SUCU and A. KARABULUT. 2004a. The Effect of *Propionibacterium acidipropionici*, with or without *Lactobacillus plantarum* on the Fermentation and Aerobic Stability of Wheat, Sorghum and Maize Silages. J Appl. Microbiol. 97: 818-826.
- FİLYA, İ., E. SUCU ve H. HANOĞLU. 2004b. Biyolojik Silaj Katkı Maddeleri Kullanılarak Yapılan Küçük Plastik Balya Mısır Silajlarının Kalite Özellikleri, Yem Değeri ve Kuzu Besisinde Kullanımı Üzerine Araştırma. A.Ü Zir. Fak. Tarım Bilim. Derg. 10 (2): 158-162.
- FİLYA, I., E. SUCU and A. KARABULUT. 2006. The Effect of *Lactobacillus buchneri* on the Fermentation, Aerobic Stability and Ruminant Degradability of Maize Silage. J. Appl. Microbiol. 101: 1216-1223.
- FİLYA, İ. 2007a. Türkiye' de Kaba Yem Sorunu ve Çözüm Yolları. Türkiye Süt Sığırcılığı Kurultayı. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi, İzmir.
- FİLYA, İ. 2007b. Ülkemizde Silaj Yapımı ve Silaj Kalitesinin Artırılma Yolları. Yem Magazin Dergisi. 15 (47): 37-45.
- FİLYA, I., R.E. MUCK, and F.E. CONTRERAS-GOVEA. 2007. Inoculant Effects on Alfalfa Silage: Fermentation Products and Nutritive Value. J. Dairy Sci. 90: 5108-5114.
- FRY, S.C. 1985. Primary Cell Wall Metabolism. Oxford Surveys of Plant Molecular & Cell Biology. 2: 1-42.
- GANCEDO, C. and R. SERRANO. 1989. Energy-yielding metabolism. In: The Yeasts. Rose A.H. and Harrison J.S. (eds). Vol 3, Academic Press, London. pp. 205-259.
- GETACHEW, G., M. BLUMMEL, H.P.S. MAKAR and K. BECKER. 1998. *In Vitro* Gas Measuring Techniques for Assessment of Nutritional Quality of Feeds: A Review. Anim. Feed Sci. Technol. 72: 261-281.
- GETACHEW, G., G.M. CROVETTO, M. FONDEVILA, U. KRISHNAMOORTHY, B. SINGH, M. SPANGHERO, H. STEINGASS, P.H. ROBINSON and M.M. KAILAS. 2002. Laboratory Variation of 24 H *In Vitro* Gas Production and Estimated Metabolizable Energy Values of Ruminant Feeds. Anim. Feed Sci. Technol. 102: 169-180.

- GIESECKE, D. and M. STANGASSINGER. 1980. Lactic Acid Metabolism. In: Y. Ruckebusch and P. Thivend (eds.) Digestive Physiology and Metabolism in Ruminants. MTP Press, Lancaster, UK. pp. 523-540.
- GILL, M. A.J. ROOK, and L.R. THIAGO. 1988. Factors Affecting the Voluntary Intake of Roughages by the Dairy Cow. In: P.C. Garnsworthy (ed.) Nutrition and Metabolism in the Dairy Cow. Butterworth, London. pp. 262-279.
- GOERING, H. K. and P. J. VAN SOEST. 1970. Forage Fiber Analysis: Apparatus, Reagents, Procedures, and Some Applications. Agric. Handbook No. 379. ARS, USDA, Washington, DC.
- GOLLOP, N., V. ZAKIN and Z.G. WEINBERG. 2005. Antibacterial Activity of Lactic Acid Bacteria Included in Inoculants for Silage and in Silages Treated with These Inoculants. J. Appl. Microbiol. 98: 662-666
- GORDON, F.J. 1989a. An Evaluation through Lactating Cows of a Bacterial Inoculant as an Additive for Grass Silage. Grass Forage Sci. 44: 169.
- GORDON, F.J. 1989b. A Further Study on the Evaluation through Lactating Cattle of a Bacterial Inoculant as an Additive for Grass Silage. Grass Forage Sci. 44: 353.
- HAMMES, W.P., N. WEISS and W. HOLZAPFEL. 1992. The Genera *Lactobacillus* and *Carnobacterium*. In: The Prokaryotes, A. Baalows, H.G. Truper, M. Dworkin, W. Harder, K.-H. Schleifer (eds), 2nd ed. Springer-Verlag, New York. pp. 1536-1594.
- HARRISON, J.H. 1989. Use of Silage Additives and Their Effect on Animal Productivity. In: Proc. Pacific Northwest Animal Nutrition Conference. Boise, Idaho. pp. 27-35.
- HENDERSON, A.R., D.R. SEALE, D.H. ANDERSON and S.J.E. HERON. 1990. The Effect of Formic Acid and Bacterial Inoculants on the Fermentation and Nutritive Value of Perennial Ryegrass Silages. In: Proc. Eurobac Conference. Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Sweden. pp. 93-98.
- HERON, S.J.E., R.A. EDWARDS and P. McDONALD. 1986. Changes in the Nitrogenous Components of Gamma Irradiated and Inoculated Ensiled Ryegrass. J. Sci. Food Agric. 37: 979-985.
- HOLZAPFEL, W.H. and U. SCHILLINGER. 1992. The Genus *Leuconostoc*. In: The Prokaryotes, A. Baalows, H.G. Truper, M. Dworkin, W. Harder, K.-H. Schleifer (eds), 2nd ed. Springer-Verlag, New York. pp. 1508-1534.
- HOLZER, M., E. MAYRHUBER, H. DANNER and R. BRAUN. 2003. The Role of *Lactobacillus buchneri* in Forage Preservation. Trends in Biotechnol. 21(6): 282-287.

- JOHNSON, L.M., J.H. HARRISON, D. DAVIDSON, W.C. MAHANNA and K. SHINNERS. 2003. Corn Silage Management: Effect of Hybrid, Maturity, Inoculation and Mechanical Processing on Fermentation Characteristics. *J. Dairy Sci.* 86: 287-308.
- JONES, B.A., R.D. HATFIELD, and R.E. MUCK. 1992. Effect of Fermentation and Bacterial Inoculation on Lucerne Cell Walls. *J. Sci. Food Agric.* 60: 147-153.
- KAUFMAN, W., H. HAGEMEISTER, and G. DURKSEN. 1980. Adaptation to Changes in Dietary Composition Level and Frequency of Feeding. In: *Digestive Physiology and Metabolism in Ruminants*, Ruckebusch Y. and P.T. Westport (eds.). AVI Publishing. pp. 587.
- KEADY, T.W.J., and W.J. STEEN. 1994. Effects of Treating Low Dry Matter Grass with a Bacterial Inoculant on the Intake and Performance of Beef Cattle and Studies on Its Mode of Action. *Grass Forage Sci.* 49: 438-446.
- KEADY, T.W.J., R.W.J. STEEN, D.J. KILPATRICK and C.S. MAYNE. 1994. Effects of Inoculant Treatment on Silage Fermentation, Digestibility and Intake by Growing Cattle. *Grass Forage Sci.* 49: 284-294.
- KEADY, T.W.J., and W.J. STEEN. 1995. The Effects of Treating Low Dry Matter, Low Digestibility Grass with a Bacterial Inoculant on the Intake and Performance of Beef Cattle and Studies on Its Mode of Action. *Grass Forage Sci.* 50: 217-226.
- KIM, J.G., J.S. HAM, E.S. CHUNG, S. SED and J.K. LEE. 2005. Effect of New Microbial Strain as an Inoculant on the Quality of Maize Silage. In: *Proc. 20th Int. Grassland Congress*, Belfast, North Ireland, UK. pp. 478.
- KLEINMANS, J. and P. HOOPER. 1999. The Effect of a Commercial Silage Inoculant (Pioneer® brand 1188) on Animal Performance. In: *Proc. 12th Int. Silage Conference*. Uppsala, Sweden, pp. 319-320.
- KLEINSCHMIT, D. H., R. J. SCHMIDT, and L. KUNG, JR. 2005. The Effects of Various Antifungal Additives on the Fermentation and Aerobic Stability of Corn Silage. *J. Dairy Sci.* 88: 2130-2139.
- KLEINSCHMIT D.H. and L. KUNG, JR. 2006a. A Meta-Analysis of the Effects of *Lactobacillus buchneri* on the Fermentation and Aerobic Stability of Corn, Grass and Small Grain Silages. *J. Dairy Sci.* 89: 4005-4013.
- KLEINSCHMIT D.H. and L. KUNG, JR. 2006b. The Effects of *Lactobacillus buchneri* 40788 and *Pediococcus pentosaceus* R1094 on the Fermentation of Corn Silage. *J. Dairy Sci.* 89: 3999-4004.
- KLIJN, N., F.F. NIEUWENHOF, J.D. HOOLWERF, C.B. Van Der WAALS and A.H. WEERKAMP. 1995. Identification of *Clostridium tyrobutyricum* as the Causative Agent of Late Blowing in Cheese by Species-Specific PCR Amplification. *Appl. Environ. Microbiol.* 61: 2919-2924.

- KLUYVER, A.J. and DONKER, H.J.L. 1924. The Unity in the Chemistry of the Fermentative Sugar Dissimilation Processes of Microbes. Proc. Akad. Wetenschappen Amsterdam, I., 28, pp. 297-313.
- KUNG, L. J.R., J.H. CHEN, E.M. KRECK and K. KNUTSEN. 1993. Effect of Microbial Inoculants on the Nutritive Value of Corn Silage for Lactating Dairy Cows. J. Dairy Sci. 76: 3763-3770.
- KUNG, L., JR. and R.E. MUCK. 1997. Animal Response to Silage Additives, Silage: Field to Feedbunk, Vol. NRAES-99. Northeast Regional Agric. Eng. Service, Hershey, PA. pp. 200-210.
- KUNG, L. JR., 1998. A Review on Silage Additives and Enzymes. In: Proc. 59th Minneapolis Nutrition Conference, Minneapolis, MN. pp. 121-135.
- KUNG, L. J.R. and R. SHAVER. 2001. How Good Is Your Silage Making? Hoard's Dairyman. 146: 597.
- KUNG, L. JR. 2002. The History and Future of Silage Inoculants. Forages and Pastures Symposium. The J.W. Thomas Forage Symposium: A Discussion on Silage Fermentation Issues No: 39.
- KUNG, L. JR., M.R. STOKES, and C.J. LIN. 2003. Silage Additives. In: Silage Science and Technology. D. R. Buxton, R. E. Muck and J. H. Harrison (eds.). Am. Soc. Agron., Madison, WI. pp. 305-360.
- KUNG, L. JR., R.J. SCHMIDT, T.E. EBLING and W. Hu. 2007. The Effect of *Lactobacillus buchneri* 40788 on the Fermentation and Aerobic Stability of Ground and Whole High-Moisture Corn. J. Dairy Sci. 90: 2309-2314.
- LIN, C., K.K. BOLSEN, B.E. BRENT, R.A. HART, J.T. DICKERSON, A.M. FAEYERHERM, and W.R. AIMUTIS. 1992. Epiphytic Microflora on Alfalfa and Whole-Plant Corn. J. Dairy Sci. 75: 2484-2493.
- LINDGREN, S., K. PETTERSON, A. JONSSON, P. LINGVALL and A. KASPERSSON. 1988. Silage Inoculation: Selected Strains, Temperature, Wilting and Practical Application. Swed. J. Agric. Res. 15: 9-18.
- LOWES, K. F., C.A. SHEARMAN, J. PAYNE, D. MACKENZIE, D.B. ARCHER, R.J. MERRY and M.J. GASSON. 2000. Prevention of Yeast Spoilage in Feed and Food by the Yeast Mycocin HMK. Appl. Environ. Microbiol. 66: 1066-1076.
- LUTHER, R. M. 1986. Effect of Microbial Inoculation of Whole-Plant Corn Silage on Chemical Characteristics, Preservation and Utilization by Steers. J. Anim. Sci. 63: 1329.
- MacPHERSON, H.T. and P. VIOLANTE. 1966. Ornithine, Putrescine and Cadaverine in Farm Silage. J. Sci. Food Agric. 17: 124-127.
- MALIK, R., and D.D. SHARMA. 1998. *In Vitro* Evaluation of Different Probiotics as Feed Supplement. Indian J. Dairy Sci. 51: 357-362.

- MARTIN, P.A., D.G CHAMBERLAIN, S. ROBERTSON and D. HIRST. 1994. Rumen Fermentation Pattern in Sheep Receiving Silages of Different Chemical Composition Supplemented with Concentrates Rich in Starch or in Digestible Fiber. *J. Agric. Sci. Camb.* 122: 145-150.
- McDONALD, P., A.R. HENDERSON and I. RALTON. 1973. Energy Changes During Ensilage. *J. Sci. Food Agr.* 24: 827.
- McDONALD, P., A.R. HENDERSON and S.J.E. HERON. 1991. *The Biochemistry of Silage*. 2nd ed. Marlow, Chalcombe Publications. United Kingdom.
- McGECHAN, M.B. 1990. A Review of Losses Arising During Conservation of Grass Forage: Part 2, Storage Losses. *J. Agric. Eng. Res.* 45: 1-30.
- MEESEKE, R. and H.M. BASSON. 1998. The Effects of a Lactic Acid Bacterial Inoculant on Maize Silage. *Anim. Feed Sci. Technol.* 70: 239-247.
- MENKE, K. H., L. RAAB, A. SALEVSKI, H. SETINGASS, D. FRITZ and W. SCHENEIDER. 1979. The Estimation of the Digestibility and Metabolizable Energy Content of Ruminant Feeding Stuffs from the Gas Production When They Are Incubated with Rumen Liquor *In Vitro*. *J. Agric. Sci.* 93: 217-222.
- MENKE, K.H. and H. STEINGASS. 1988. Estimation of the Energetic Feed Values Obtained from Chemical Analysis and *In Vitro* Gas Production Using Rumen Liquid. *Anim. Res. Dev.* 28: 7-55.
- MIDDELHOVEN, W.J. and A.H.M. Van BAALEN. 1988. Development of the Yeast Flora of Whole-Crop Maize During Ensilage and During Subsequent Aerobiosis. *J. Sci. Food Agric.* 42: 199.
- MINSON, D.J. 1990. *Forage in Ruminant Nutrition*. Academic Press, San Diego, CA, pp. 482.
- MUCK, R.E. 1993. The Role of Silage Additives in Making High Quality Silage. In: *Silage Production from Seed to Animal*. Northeast Reg. Agric. Eng. Serv., Syracuse, NY. 67: 106-116.
- MUCK, R.E. 1996. A Lactic Acid Bacteria Strain to Improve Aerobic Stability of Silages. In *Research Summaries*. U.S. Dairy Forage Res. Center, Madison, WI. pp. 42-43.
- MUCK, R.E. and L. KUNG. JR. 1997. Effects of Silage Additives on Ensilage. In *Silage: Field to Feedbunk [NRAES-99]*. Ithaca, NY: Northeast Regional Agric. Eng. Serv. pp. 187-199.
- MUCK, R.E. and B.J. HOLMES. 2000. Factors Affecting Bunker Silo Densities. *Appl. Eng. Agric.* 16: 613-619.
- MUCK R.E., I. FILYA and F.E. CONTRERAS-GOVEA. 2007. Inoculant Effects on Alfalfa Silage: *In Vitro* Gas and Volatile Fatty Acid Production. *J. Dairy Sci.* 90: 5115-5125.



- MUCK, R.E. 2008. Improving Alfalfa Silage Quality with Inoculants and Silo Management. In: Proc. 70th Annual Cornell Nutrition Conference for Feed Manufacturers. Syracuse, Cornell University, New York. pp. 137-146
- MURPHY, M.R., R.L. BALDWIN, and L.J. KOOMG. 1982. Estimation of Stoichiometric Parameters for Rumen Fermentation of Roughage and Concentrate. J. Anim. Sci. 55: 411-421.
- NISHINO, N., M. YOSHIDA, H. SHIOTA, and E. SAKAGUCHI. 2003. Accumulation of 1,2-propanediol and Enhancement of Aerobic Stability in Whole Crop Maize Silage Inoculated with *Lactobacillus buchneri*. J. Appl. Microbiol. 94: 800-807.
- NSEREKO, V.L., B.K. SMILEY, W.M. RUTHERFORD, A. SPIELBAUER, K.J. FORRESTER, G.H. HETTINGER, E.K. HARMAN and B.R. HARMAN. 2008. Influence of Inoculating Forage with Lactic Acid Bacterial Strains that Produce Ferulate Esterase on Ensilage and Ruminant Degradation of Fiber. Anim. Feed Sci. Technol. 145(1-4): 122-135.
- OBA, M. and M.S. ALLEN. 1999. Evaluation of the Importance of the Digestibility of Neutral Detergent Fiber from Forage: Effects on Dry Matter Intake and Milk Yield of Dairy Cows. J. Dairy Sci. 82: 589-596.
- OHMOMO, S., M. KOBAYASHI, M. YAJIMA, P. SUYANANDANA, P. BUDKA, P. SOMCHAI, 1999. Screening of Thermophilic Lactic Acid Bacteria Producing Bacteriocins in the Tropics. Jpn. Agric. Res. Q. 33: 125-131.
- OHYAMA, Y., S. MASAKI and S. HARA. 1975. Factors Influencing Aerobic Deterioration of Silages and Changes in Chemical Composition After Opening Silos. J. Sci. Food Agric. 26: 1137-1147.
- ØRSKOV, E.R., C. FRASER and R.N.B. KAY. 1969. Dietary Factors Influencing the Digestion of Starch in the Rumen and Small and Large Intestine of Early Weaned Lambs. Br. J. Nutr. 23: 217-226.
- ØRSKOV, E.R. and I. McDONALD. 1979. The Estimation of Protein Degradability in the Rumen From Incubation Measurements Weighed According to Rate of Passage. J. Agric. Sci. 92: 499-503.
- ØRSKOV, E.R. and M. RYLE. 1990. Energy Nutrition in Ruminants. Elsevier Applied Science London and New York.
- OUDE-ELFERINK, S.J.W.H., F. DRIEHUIS, J.C. GOTTSCHAL and S.F. SPOELSTRA. 1999. An Aerobic Degradation of Lactic Acid to Acetic Acid and 1,2 propanediol, a Novel Fermentation Pathway in *Lactobacillus buchneri*, Helps to Improve the Aerobic Stability of Maize Silage. In: Proc. Int. Silage Conference. Swedish Univ. of Agric. Sci. Uppsala, Sweden. pp. 266-267.

- OUDE-ELFERINK, S.J.W.H., J. KROONEMAN, J.C. GOTTSCHAL, S.F. SPOELSTRA, F. FABER, and F. DRIEHUIS. 2001. Anaerobic Conversion of Lactic Acid to Acetic Acid and 1,2 propanediol by *Lactobacillus buchneri*. Appl. Environ. Microbiol. 67: 125–132.
- PELHATE, J. 1977. Maize Silage. Incidence of Moulds During Conservation. Folia Veterinaria Latina. 7: 1–16.
- PAHLOW, G. 1986. Microbiology of Inoculants, Crops and Silages-Small Scale Silage Experiments. In: Proc. Eurobac Conference. Lindgren, S.E. and K.L. Patterson (eds.). Uppsala, Sweden University of Agricultural Science. pp. 45–59.
- PAHLOW, G. 1991. Role of Microflora in Forage Conservation. In: Proc. Conference on Forage Conservation Towards 2000. G. Pahlow and H. Honig (eds.). Braunschweig, Germany. pp. 26–36.
- PAHLOW, G. and HONIG, H. 1994. The Role of Microbial Additives in the Aerobic Stability of Silage. In Workshop Proc. the 15<sup>th</sup> General Meeting of the European Grassland Federation Wageningen, The Netherlands. pp. 149–151.
- PAHLOW, G., R.E. MUCK, F. DRIEHUIS, S.J.W.H. OUDE-ELFERINK, and S.F. SPOELSTRA. 2003. Microbiology of Ensiling. In: Silage Science and Technology. D. R. Buxton, R. E. Muck, and J. H. Harrison (eds). Crop Sci. Soc. Am., Madison, WI. pp. 31–93
- PALALI, H. 2007. Laktik Asit Bakterilerinde Transkripsiyon Regülasyonu. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü. Basılmamış Yüksek Lisans Tezi. Kahramanmaraş.
- PAUSTIAN. 2000. <http://dwb.unl.edu/Teacher/NSF/C11/C11Links/> [www.bact.wisc.edu/microtextbook/metabolism/Fermentation.html](http://www.bact.wisc.edu/microtextbook/metabolism/Fermentation.html). Erişim tarihi: 11.11.2008.
- POLAT, C., F. KOÇ ve M.L. ÖZDÜVEN. 2005. Mısır Silajında Laktik Asit Bakteri ve Laktik Asit Bakteri+Enzim Karışımı İnokulantların Fermantasyon ve Toklularda Ham Besin Maddelerinin Sindirilme Dereceleri Üzerine Etkileri. Tekirdağ Zir. Fak. Derg. 2(1): 13–22.
- RAETH-KNIGHT, M.L., J.G. LINN and H.G. JUNG. 2007. Effect of Direct-Fed Microbials on Performance, Diet Digestibility, and Rumen Characteristics of Holstein Dairy Cows. J. Dairy Sci. 90: 1802–1809.
- RANJIT, N.K., L. KUNG, JR., J.M. ROBINSON, and K.K. KREIKEMEIER. 1999. Moderate to High Levels of *Lactobacillus buchneri* Markedly Improve the Aerobic Stability of Corn Silage. J. Dairy Sci. 82 (Suppl.1): 125. (Abstr.).
- RANJIT, N.K., and L. KUNG, 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.

- RANJIT, N.K., C.C. TAYLOR and L. KUNG JR. 2002. Effects of *Lactobacillus buchneri* 40788 on the Fermentation, Aerobic Stability and Nutritive Value of Maize Silage. *Grass Forage Sci.* 57: 73–81.
- ROBINSON, J.J. and G. MCEVOY. 1993. Biotechnology-The Possibilities. *Anim. Prod.* 57: 335–352.
- RODRIGUES, M.A.M., A.J.M. FONSECA, C.A. SEQUEIRA and A.A DIAS da SILVA. 2002. Digestion Kinetic Parameters from an *In Vitro* Gas Production Method as Predictors of Voluntary Intake of Forage by Mature Ewes. *Anim. Feed Sci. Technol.* 95: 133–142.
- ROMNEY, D.L., F.C. CADARIO, E. OWEN and A.H. MURRAY. 1997. Comparison of Parameters from the Theodora Gas Production Technique Using Nitrogen-Free and Nitrogen-Rich Media as Predictors of DM Intake and Digestibility. In: *In Vitro* Techniques for Measuring Nutrient Supply to Ruminants. In: Proc. Occasional Meeting of the British Society of Animal Science, University of Reading, UK.
- ROOK, A.J. and R.D. HATFIELD. 2003. Biochemistry of Ensiling. In: *Silage Science and Technology*. D. R. Buxton, R. E. Muck, and J. H. Harrison (eds). *Crop Sci. Soc.*, Madison, WI. pp. 95–139.
- RUSSELL, J.B. and D.B. DOMBROWSKI. 1980. Effect of pH on the Efficiency of Growth by Pure Cultures of Rumen Bacteria in Continuous Culture. *Appl. Environ. Microbiol.* 39: 604–610.
- RYMER, C. and D.I. GIVENS. 2002. Relationships Between Patterns of Rumen Fermentation Measured in Sheep and *In Situ* Degradability and the *In Vitro* Gas Production Profile of the Diet. *Anim. Feed Sci. Technol.* 101: 31–44.
- SALAWU, M.B., E.H. WARREN, and A.T. ADESOGAN. 2001. Fermentation Characteristics, Aerobic Stability, and Degradation of Ensiled Pea/Wheat Bi-Crop Forages Treated with Two Microbial Inoculants, Formic Acid or Quebracho Tannins. *J. Sci. Food Agric.* 81: 1263–1268.
- SANDERSON, M.A. 1993. Aerobic Stability and *In Vitro* Fiber Digestibility of Microbially Inoculated Corn and Sorghum Silages. *J. Anim. Sci.* 71: 505–514.
- SAS., 1988. *Statistical Analysis System®. User's Guide: Statistics, Version 6.2 Edition.* SAS Inst. Inc. Cary, NC.
- SCHLATTER, L.K. and K. SMITH. 1999. Effects of Mold Growth on Nutrient Availability in Animal Feeds. In: *Four-State Applied Nutrition and Management Conference. MWPS-4SD5.* Iowa State University- Extension, University of Illinois-Extension, University of Minnesota- Extension, University of Wisconsin-Extension. pp. 139–144.
- SCHLEIFER, K.H. and W. LUDWIG. 1995. Phylogeny of the Genus *Lactobacillus* and Related Genera System. *Appl. Microbiol.* 14: 461–467.

- SEALE, D.R. 1986. Bacterial Inoculants as Silage Additives. *J. Appl. Bacteriol.* 61: 9-26.
- SEALE, D.R., PAHLOW, G., SPOELSTRA, S.F., LINDGREN, S., DELLAGLIO, F. and LOWE, J.F. 1990. Methods for the Microbiological Analysis of Silage. In: "Grass and Forage Reports" In: Proc. Eurobac Conference 1986. S. Lindgren and K.L. Pettersson (eds.). Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, pp. 147-164.
- SEBASTIAN, S., L.E. PHILIP, V. FELLNER and E.S. IDZIAK. 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.
- SEYMOUR, W.M., D.R. CAMPBELL and Z.B. JOHNSON. 2005. Relationships Between Rumen Volatile Fatty Acid Concentrations and Milk Production in Dairy Cows: A Literature Study. *Anim. Feed Sci. Technol.* 119: 155-169
- SHAPE, M.E., T.F. FRYER and D.G. SMITH. 1966. Identification of the Lactic Acid Bacteria. In: Identification Methods for Microbiologist. Part A. Gibbs, M.M. and F.A Skinner (eds.). Academic Press, New York.
- SHARP, R., P.G. HOOPER, and D.G. ARMSTRONG. 1994. The Digestion of Grass Silages Produced Using Inoculants of Lactic Acid Bacteria. *Grass Forage Sci.* 49: 42-53.
- SHAYAN, J.V., S.O. VOV. and A. S. KARTAVI. 1996. Effect of Biological Additive on Quality of Maize Silage and Performance of Silage-Fed Steers. In: Proc. 11th Int. Silage Conference, Aberystwyth, Wales. pp. 174-175.
- SNEDECOR, G.W. and W G. COCHRAN. 1980. Statistical Methods. 7th ed., Iowa State University Press, Ames, Iowa.
- SPOELSTRA, S.F., M.G. COURTIN and J.A.C. Van BEERS. 1988. Acetic Acid Bacteria Can Initiate Aerobic Deterioration of Whole Crop Maize Silage. *J. Agr. Sci. Camb.* 111: 127-132.
- SUCU, E. and I. FILYA. 2006. Effects of Homofermentative Lactic Acid Bacterial Inoculants on the Fermentation and Aerobic Stability Characteristics of Low Dry Matter Corn Silages. *Turk J. Vet. Anim. Sci.* 30: 83-88.
- TAYLOR, C.C. and L. KUNG, Jr. 2002. The Effect of *Lactobacillus buchneri* 40788 on the Fermentation and Aerobic Stability of High Moisture Corn in Laboratory Silos. *J. Dairy Sci.* 85: 1526-1532.
- URIARTE, M. E. 2001. Aerobic Stability of Corn Silage. Kansas State University Unpublished Ph.D. Thesis. Manhattan.
- VAN DIJKEN J.P., R.A. WEUSTHUIS and J.T. PRONK. 1993. Kinetics of Growth and Sugar Consumption in Yeast. *Antonie van Leeuwenhoek* 63: 343-352.

- VAN SOEST, P.H., J.B. ROBERTSON and B.A. LEWIS. 1991. Methods for Dietary Fiber, Neutral Detergent Fiber, and Nonstarch Polysaccharides in Relation to Animal Nutrition. *J. Dairy Sci.* 74: 3583–3597.
- VAN SOEST, P.J. 1994. *Nutritional Ecology of the Ruminant*, 2nd ed. Cornell University, Ithaca, New York.
- VANDENBERG, P.A. 1993. Lactic Acid Bacteria, Their Metabolic Products and Interference with Microbial Growth. *FEMS Microbiol. Rev.* 12: 221–238.
- VEIGA-DA-CHUNA, M. and M.A. FOSTER. 1992. 1,3-Propanediol NAD<sup>+</sup> Oxidoreductases of *Lactobacillus brevis* and *Lactobacillus buchneri*. *Appl. Environ. Biotechnol.* 54: 2005–2010.
- VOSS, N. 1966. Amines and Ammonia as Products of Protein Decomposition in Silage. In: *Proc. 10th Int. Grassland Congress, Helsinki, Finland.* pp. 540–546.
- YAVUZ, M.H. 2001. Süt Sığırlarının Beslenmesi. İçinde: Çiftlik Hayvanlarının Beslenmesinde Temel Prensipler ve Karma Yem Üretiminde Bazı Bilimsel Yaklaşımlar. M.H. Yavuz (ed). Hilal Yayınevi, İstanbul.
- WEINBERG, Z.G., G. ASHBELL, Y. HEN and A. AZRIELI. 1993. The Effect of Applying Lactic Acid Bacteria Ensiling on the Aerobic Stability of silages. *J. Appl. Bacteriol.* 75: 512–518.
- WEINBERG, Z.G. and R.E. MUCK. 1996. New Trends and Opportunities in the Development and Use of Inoculants for Silage. *FEMS Microbiol. Rev.* 19: 53–68.
- WEINBERG, Z.G., G. ASHBELL, HEN, Y., A. AZRIELI, G. SZAKACS and I. FILYA. 2002. Ensiling Whole-Crop Wheat and Corn in Large Containers with *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus buchneri*. *J. Indust. Microbiol. Biotechnol.* 28: 7–11.
- WEINBERG, Z.G., R.E. MUCK and P.J. WEIMER. 2003. The Survival of Silage Inoculant Lactic Acid Bacteria in Rumen Fluid. *J. Appl. Microbiol.* 94: 1066–1071.
- WEINBERG, Z.G., Y. CHEN and M. GAMBURG. 2004. The Passage of Lactic Acid Bacteria from Silage into Rumen Fluid, *In Vitro* Studies. *J. Dairy Sci.* 87: 3386–3397.
- WEINBERG, Z.G., O. SHATZ, Y. CHEN, E. YOSEF, M. NIKBAHAT, D. BENGHEDALIA and J. MIRON. 2007. Effect of Lactic Acid Bacteria Inoculants on *In Vitro* Digestibility of Wheat and Corn Silages. *J. Dairy Sci.* 90: 4754–4762.
- WEISS, N. 1992. The Genera *Pediococcus* and *Aerococcus*. In: *The Prokaryotes*, A. Baalows, H.G. Truper, M. Dworkin, W. Harder, K.H. Schleifer (eds). 2nd ed. Springer-Verlag, New York. pp. 1502–1507.

- WEST, J.W., J.K. BERNARD, G.H. CROSS, and D.S. TRAMMELL. 2005. Effect of Live Bacterial Inoculants on Performance of Lactating Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 88 (Suppl. 1): 59 (Abstr.).
- WHITTENBURY, R. 1961. An Investigation of the Lactic Acid Bacteria. Ph.D. Thesis. University of Edinburgh. Edinburgh, Scotland.
- WIERINGA, G.W. and T. BECK. 1964. Investigations on the Use of Cultures of Lactic Acid Bacteria in the Preparation of Silage in the Small Containers. 1. Obtaining Active *Lactobacillus* Cultures for Inoculation Trials. *Das Wirtschaftseigene Futter.* 10: 34-44.
- WILKINSON, J.M. 1999. Silage and Animal Health. *Nat Toxins.* 7: 221-232.
- WILKINSON, J.M. and M.I. TOIVONEN. 2003. *World Silage.* Chalcombe Publications. Lincoln, United Kingdom.
- WOHLT, J.E. 1989. Use of a Silage Inoculant to Improve Feeding Stability and Intake of A Corn Silage. *J. Dairy Sci.* 72:545.
- WOLIN, M.J. 1960. A Theoretical Rumen Fermentation Balance. *J. Dairy Sci.* 43: 1452-1459.
- WOOLFORD, M.K., K.K. BOLSEN, and L.A. PEART. 1982. Studies on the Aerobic Deterioration of Whole Crop Cereal Silages. *J. Agric. Sci. Camb.* 98: 529.
- WOOLFORD, M.K. 1984. The Chemistry of Silage. In: *The Silage Fermentation.* New York: Marcel Decker. pp. 71-132.
- WOOLFORD, M.K. 1990. The Detrimental Effects of Air on Silage. *J. Appl. Bacteriol.* 68: 101-116.
- WOOLFORD, M. and G. PAHLOW 1998. The Silage Fermentation. In: *Microbiology of Fermented Foods.* Vol 1. Wood B.J.B. (ed.). Blackie Academic & Professional. London. pp. 73-102.

## TEŞEKKÜR

Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootekni Anabilim Dalın' da yürüttüğüm doktora tez çalışmamı proje aşamasından bitimine kadar özenle izleyen ve bilgi birikimini benimle paylaşarak bu alanda yetişmemi sağlayan danışman hocam Sayın Prof. Dr. İsmail Filya başta olmak üzere, materyal temininde önemli desteğini gördüğüm, güler yüzü ile beni her zaman motive eden kıymetli hocam Sayın Prof. Dr. İlhan Turgut' a, göstermiş olduğu anlayış ve özen için, tez izleme komitesi üyelerinden değerli hocam Sayın Prof. Dr. İbrahim Ak' a, tezimin deneysel aşamasında büyük desteklerini gördüğüm Sayın Öğr. Gör. Dr. Önder Canbolat, Araş. Gör. Dr. Emine Budaklı' ya, U.Ü. Ziraat Fakültesi Araştırma ve Uygulama Merkezi çalışanlarına, yardımlarını esirgemeyen dostlarım Sayın Yrd. Doç. Dr. Sertaç Gönenç, Yrd. Doç. Dr. Barış Özdal ve Öğr. Gör. Dr. Yeliz Yazgan' a, tezimin bu noktaya ulaşmasında benimle birlikte gayret gösteren, sıkıntılı anlarımda her zaman yanımda olan ve beni destekleyen annem Yük. Zir. Müh. Nilgün İkbâl Hepergil başta olmak üzere, kardeşlerim Başak-Merih Yıldız ve Özgecan-Onur Yaşat' a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca bu çalışmayı (2006-35) destekleyen Uludağ Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Komisyonu' na da teşekkür ederim.

## ÖZGEÇMİŞ

1976 yılında Ankara' da doğdum. İlköğretimimi Faik Reşit Unat İlkokul' unda, orta ve lise öğretimimi Özel Orta Doğu Lisesi' nde İstanbul' da tamamladım. 1999 yılında Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootekni Bölümü' nden mezun oldum. 1998 yılında (Ağustos-Ekim) öğrenci değişim programıyla burslu olarak gittiğim Bonn Üniversitesi Ziraat Enstitüsü' nde (Institut für Tierernährung) Prof. Dr. Ernst Pfeffer danışmanlığında konuk öğrenci olarak çalışmalarda bulundum. 1999-2002 yılları arasında Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootekni Bölümü Yemler ve Hayvan Besleme Bilim Dalı' nda Yüksek Lisans eğitimimi tamamlayarak, Ziraat Yüksek Mühendisi ünvanını aldım. 2002 yılında aynı anabilim dalında doktora eğitimime başladım. 2000 yılında araştırma görevlisi olarak atandığım görevimi halen aynı anabilim dalında sürdürmekteyim.



