

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HAYVAN BESLEME VE BESLENME HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI

SİLAJLIK MISIRDAN LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN
İZOLE EDİLMESİ, TANIMLANMASI VE SİLAJ
ÜRETİMİNDE İNOKULANT OLARAK KULLANILMA
OLANAKLARI

DOKTORA TEZİ

Mehmet YILMAZ

2015

ONAY SAYFASI

Prof. Dr. Mustafa KAPLAN

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Doktora Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.



Prof. Dr. İ. Halil ÇERÇİ

Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.



Prof. Dr. M. Ali AZMAN

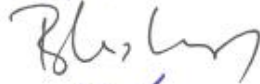
Danışman

Doktora Sınavı Jüri Üyeleri

Prof. Dr. İ. Halil ÇERÇİ



Prof. Dr. Behiç COŞKUN



Prof. Dr. Mehmet AVCI



Prof. Dr. Mehmet ÇALICIOĞLU



Prof. Dr. M. Ali AZMAN



İTHAF SAYFASI

Çalışmalarım boyunca, Sevgili eşim Sultan YILMAZ başta olmak üzere, Annem Gülşen YILMAZ ve Babam Ali Hikmet YILMAZ'a çok teşekkür ederim. Bana verdikleri destek ve yardımları olmasa bu tez çalışması hiç bir zaman mümkün olmayacaktı.

Bu tez çalışmamı biricik kızım Gülsu İrem YILMAZ'a ithaf etmek istiyorum.

Mehmet YILMAZ

TEŐEKKÖR

Daniőmanım Prof. Dr. Mehmet Ali AZMAN'a tez çalışmalarım boyunca verdiği her tŸrlŸ destek ve yardımlarından ayrıca gŸsterdiđi ilgi ve sabırdan dolayı çok teőekkŸr ederim.

Çalışma boyunca bilgi ve deneyimleri ile yol gŸsteren, Prof. Dr. İ. Halil ERI'ye mŸteőekkirim.

Tezin laboratuvar çalıőmaları aşamasında yardımcı olan ve imkan sağlayan Prof. Dr. Mehmet ÇALICIOĞLU' na Őukranlarımı sunmayı bir borç bilirim.

Mehmet YILMAZ

EylŸl 2015

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI	i
ONAY SAYFASI	ii
İTHAF SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
İÇİNDEKİLER	v
TABLolar LİSTESİ	ix
ŞEKİLLER LİSTESİ	xi
KISALTMALAR LİSTESİ	xii
1. ÖZET	1
2. ABSTRACT	3
3. GİRİŞ	5
3.1. Silajın Tanımı	9
3.1.1. Silolama ve Silajın Avantajları	9
3.1.2. Silaj Kalitesini Etkileyen Faktörler.....	11
3.1.2.1. Fiziksel Faktörler	11
3.1.2.1.1. Çevre Sıcaklığı	11
3.1.2.1.2. Parçacık Uzunluğu ve Sıkıştırma (Silaj Yoğunluğu)	12
3.1.2.2. Kimyasal Faktörler.....	15
3.1.2.2.1. Suda Çözünebilir Karbonhidrat Miktarı (SÇK)	15
3.1.2.2.2. Tamponlama Kapasitesi (TK)	16
3.1.2.2.3. Kuru Madde Düzeyi	18
3.1.2.3. Biyolojik Faktörler	19

3.1.3. Silajlarda Fermantasyon Dönemleri	20
3.1.3.1. Faz 1 (Aerobik-oksijenli faz)	21
3.1.3.2. Faz 2 (Fermantasyon fazı- erken anaerobik faz).....	22
3.1.3.3. Faz 3 (Fermantasyon geçiş fazı)	23
3.1.3.4. Faz 4 (Fermantasyon devam fazı)	23
3.1.3.5. Faz 5 (Sabit faz)	24
3.1.3.6. Faz 6 (Açma ve yedirilme dönemi).....	25
3.1.4. Fermantasyon Dönemindeki Mikrobiyolojik ve Biyokimyasal Olaylar	27
3.1.5. Oksijene Dayanıklılık (Aerobik stabilite).....	32
3.2. Silaj Katkı Maddeleri	33
3.2.1. Fermantasyon İnhibitörleri	36
3.2.1.1. Asitler ve Diğerleri.....	36
3.2.1.1.1. Tamponlanmış Propiyonik Asit Bazlı Katkı Maddeleri.....	37
3.2.2. Stimülanlar.....	41
3.2.2.1. Enzimler	41
3.2.2.2. Bakteriyel İnokulantlar.....	45
3.3. Laktik Asit Bakterilerinin Sınıflandırılmasının Tarihsel Gelişimi.....	46
3.3.1. Homofermentatif Laktik Asit Bakterileri	49
3.3.2. Fakultatif Heterofermentatif Laktik Asit Bakterileri	49
3.3.3. Heterofermentatif Laktik Asit Bakterileri.....	49
3.3.4. Homofermentatif Laktik Asit Bakterileri ve Homolaktik Fermantasyon.....	50

3.3.5. Heterofermantatif Laktik Asit Bakterileri ve Heterolaktik Fermentasyon.....	52
3.3.6. Fakültatif Heterofermantatif Laktik Asit Bakterileri	53
3.3.7. Laktik Asit Bakterilerinin Silaj kalitesi, Besin Maddeleri ve Fermantasyon Üzerine Etkisi.....	60
3.3.8. Laktik Asit Bakterilerinin Oksijene Dayanıklılık Üzerine Etkileri	62
3.3.9. Silajlara Katılan LAB Hayvan Performansına Etkileri.....	66
4. GEREÇ VE YÖNTEM.....	69
4.1. LAB İzolasyonu İçin Mısır Hasılı Örneklerinin Toplanması.....	69
4.1.1. Mısır Hasılı Örneklerinde Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri Sayısının Belirlenmesi	69
4.1.2. Maya Küf Sayımı.....	70
4.1.3. Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyon ve İdentifikasyonu.....	71
4.1.3.1. API 50 CHL Uygulaması	74
4.1.3.2. MRS Broth Geçişleri ve İnokulant Yoğunluğunun Hesaplanması	78
4.2. Kullanılan Besi Yerleri, Kitler ve Kimyasal Maddeler	79
4.2.1. Mikrobiyolojik Ekimlerde Kullanılan Besiyerleri ve Hazırlanışları ...	79
4.2.1.1. De Man,Rogasa And Sharpe (MRS) Agarın Hazırlanması	79
4.2.1.2. Maksimum Recovery Diluent (MRD)	80
4.2.1.3. De Man, Rogosa, Sharpe MRS Broth	81
4.2.1.4. Dichloran rose bengal chloramphenicol (DRBC) Agar.....	82
4.2.1.5. Plate Count Agar (PCA).....	82
4.2.1.6. Nutrient Agar (NA).....	83
4.2.1.7. API 50 CHL ve Mediumlar.....	83

4.2.1.7.1. Besiyerinin Bileşimi	83
4.3. Silaj Materyalinin Hazırlanması ve Deneme Düzeni	85
4.3.1. Silaj Materyali.....	85
4.3.2. Deneme Gruplarının Oluşturulması.....	85
4.3.3. Silajların Kavanozlara Doldurulması.....	86
4.3.4. Deneme Düzeni ve Deneme Gruplarının Açılması	87
4.3.5. Mikrobiyolojik ve Kimyasal analizler	87
4.3.6. pH Tayini ve Organik Asitlerinin Ölçülmesi.....	87
4.3.7. Oksijene Karşı Dayanıklılık (Aerobik stabilite).....	88
4.3.8. Silaj Örneklerinde Ham Besin Madde Analizleri.....	90
4.3.9. Kuru Madde Tayini (KM)	90
4.3.10. Ham Kül (HK) ve Organik Madde Tayini (OM).....	90
4.3.11. Ham Yağ Tayini (HY)	90
4.3.12. Ham Protein Tayini (HP).....	90
4.3.13. Asit Deterjan Lif (ADF) Tayini	91
4.3.14. Neutral Deterjan Lif (NDF) Tayini	93
4.3.15. Ham Selüloz Tayini (HS)	94
4.3.16. İstatistiksel Analizler	95
5. BULGULAR	96
6. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	123
7. KAYNAKLAR	157
8. ÖZGEÇMİŞ.....	170

TABLolar LİSTESİ

Tablo 1. Kaba Yem ve TKY için Önerilen Partikül Büyüklüğü %	15
Tablo 2. Sindirilebilir Protein Oranının Sıcaklık İle Değişimi.	26
Tablo 3. LAB Fermantasyon Reaksiyonları.....	28
Tablo 4. Silajda Klostridiaların Sakkarolitik ve Proteolitik Etkinlikleri.....	31
Tablo 5. Laktobasillus Ailesinin Metabolizma, LA İzomer Yapısına, Genomun Guanin Sitozin İçeriği, Filogenetik Grup ve Hücre Duvarı Unsurlarına Göre Sınıflandırılması.....	55
Tablo 6. Arazilerden Toplanan Mısır Püskülü ve Yapraklarında Oluşan LAB Üremeleri.	72
Tablo 7. İzolasyon ve İdentifikasyon İçin Alınan Kùltürler.	73
Tablo 8. Mısır Hasıllarından İzole Edilen Türler.	77
Tablo 9. Deneme Gruplarında Kuru Madde Düzeyleri (%).	105
Tablo10. Deneme Gruplarında pH Düzeyleri.	106
Tablo 11. Deneme Gruplarında Ham Kül Düzeyleri (%).	107
Tablo 12. Deneme Gruplarında Organik Madde Düzeyleri (%).	108
Tablo 13. Deneme Gruplarında Ham Yağ Düzeyleri (%).	109
Tablo 14. Deneme Gruplarında Ham Protein Düzeyleri (%).	110
Tablo 15. Deneme Gruplarında Laktik Asit Düzeyleri (g kg ⁻¹ KM).	111
Tablo 16. Deneme Gruplarında Asetik Asit Düzeyleri (g kg ⁻¹ KM).	112
Tablo 17. Deneme Gruplarında Bütirik Asit Düzeyleri (g kg ⁻¹ KM).	113
Tablo 18. Deneme Gruplarında ADF Düzeyleri, (%).	114
Tablo 19. Deneme Gruplarında NDF Düzeyleri, (%).	115

Tablo 20. Deneme Gruplarında ADL Düzeyleri, (%).	116
Tablo 21. Deneme Gruplarında Hemiselüloz Düzeyleri, (%).	117
Tablo 22. Deneme Gruplarında Laktik Asit Bakteri Düzeyleri (log kob/g).....	118
Tablo 23. Deneme Gruplarında Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri Düzeyleri (log kob/g).	119
Tablo 24. Deneme Gruplarında Maya Düzeyleri (log kob/g).	120
Tablo 25. Deneme Gruplarında Küf Düzeyleri (log kob/g).	121
Tablo 26. Deneme Gruplarında Oksijene Karşı Dayanıklılık Testi (60. gün). ..	122

ŞEKİLLER LİSTESİ

- Şekil 1.** Laktik Asitlerinin Moleküler Yapısı. – L (Levorotary, ışığı sağa çevirenler) ve D (Dextrorotary, ışığı sola çevirenler). 47
- Şekil 2.** Homofermentatif LAB'lerinin Glikozu Parçalama Yolu (EMP yolu), kesikli çizgi ile belirtilen; NAD/NADH yükseltgenme / indirgenme yolun parçasıdır 51
- Şekil 3.** Heterofermantatif LAB'lerinin Glikozu Parçalama Yolu (fosfoketolaz yolu). 54
- Şekil 4.** API 50CHL Medyum Metodoloji..... 76
- Şekil 5.** Seri Dilüsyonlar İle Yük Hesaplaması. 78
- Şekil 6.** MRS Agar'da Üreyen LAB. 79
- Şekil 7.** İnokulantların Mısır Hasılına Karıştırılması..... 86
- Şekil 8.** Oksijene Dayanıklılık Analizinde Kullanılan Düzenek. 89

KISALTMALAR LİSTESİ

A	Asetat
AA	Asetik Asit
ADF	Asit Deterjan Lif
BA	Bütirik Asit
D-GPT	D-Glutamat-Piruvat Transaminaz
D-LDH	Laktat Dehidrogenaz
E	Enzim
FAT	Formik Asit Temeline Dayalı Koruyucu Özellikteki Bir Katkı Maddesi
GAP	Gliseraldehid-3- Fosfat
GCAA	Günlük Canlı Ağırlık Artışı
^{he}LAB	Heterofermentatif Laktik Asit Bakterileri
HK	Ham Kül
^{ho}LAB	Homofermentatif Laktik Asit Bakterileri
HP	Ham Protein
HS	Ham Selüloz
HY	Ham Yağ
KM	Kuru Madde
LA	Laktik Asit
LAB	Laktik Asit Bakterileri
M	Molar
ME	Metabolik Enerji

mEq	Miliekivalent
MPa	Megapascal
NAD	Nnikotinamid Adenin Dinükleotid Aracılığı
NDF	Nötr Deterjanda Lif
NÖM	Azotsuz Öz Madde
P	Propionat
PA	Propiyonik Asit
PKP	Fosfoketolaz
SÇK	Suda Çözülebilir Karbonhidrat
TK	Tanponlama Kapasitesi
TKK	Tarım Kredi Kooperatifleri
TKY	Toplam Karma Yem
TM	Taze Materyal
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu
UYA	Uçucu Yağ Asitleri
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
YYO	Yemden Yararlanma Oranı

1. ÖZET

Bu çalışma, Elâzığ merkez köylerinden alınan farklı mısır hasılı örneklerinden laktik asit bakterilerini (LAB) izole etmek, tanımlamak ve laboratuvar koşullarında çoğaltarak mısır silajına inokulant olarak kullanılma olanaklarını tespit etmek amacıyla yapıldı.

Araştırmada 16 farklı mısır tarlasından mısır yaprakları (*Zea mais*) alındı ve laboratuvara getirilerek uygun yöntemlere göre LAB'ların izolasyon ve identifikasyonu yapıldı. Seçilen LAB içinden 4 farklı bakterileri türü inokulant olarak kullanıldı. Denemede hiçbir katkı yapılmayan grup kontrol (K), ticari bir firmadan temin edilen ve içeriğinde *Lactobacillus buchneri* (L.BUC) olan grup pozitif kontrol, *Lactobacillus pentosus* (L.PEN), *Leuconostoc mesenteriodes* (L.MEZ), *Lactobacillus brevis* (L.BRE) ve *Laktobacillus fermentum* (L.FER) türleri ise deneme gruplarını oluşturdu. İnokulantlar silaj materyaline 1×10^6 kob/g KM olacak şekilde karıştırıldı ve 1.8 litrelik anaerobik vakumlu kavanozlara sıkıştırılarak dolduruldu. Fermantasyonun 5, 10, 15, 30, 60 ve 90. günlerinde her gruptan üçer kavanoz açılarak analizleri yapıldı.

Silajlara inokulant katılması pH değerini hızla düşürdü. Fermantasyon sonunda en düşük pH değeri L.BRE ve L.FER gruplarında, en yüksek ise L.BUC grubunda elde edilmiş ve farklılık önemli bulunmuştur ($P < 0.001$). Fermantasyonun 5. gününde inokulant katılan gruplarda laktik asit (LA) önemli düzeyde artmış, 30. günde en yüksek LA düzeyi L.FER grubunda görülmüştür ($P < 0.05$). Deneme gruplarında başlangıçta düşük olan asetik asit (AA) düzeyi fermantasyonla birlikte yükselmeye başlamış ve 30. Günde en yüksek AA düzeyi

L.BUC grubunda görülmüştür ($P<0.05$). Araştırma gruplarında fermantasyonun 15. gününden itibaren maya sayılarında önemli azalmalar görülürken, 30. Günden sonra bütün gruplarda küf tespit edilmemiştir.

Bu sonuçlara göre, silajlık mısır bitkisinin doğal mikroflorasındaki bakterilerden seçilen laktik asit bakterilerinin, ticari inokulantlar kadar silaj fermantasyonu olumlu yönde etkilediğini söylemek mümkündür.

Anahtar Kelimeler: Mısır silajı, laktik asit bakterileri, inokulant, doğal flora

2. ABSTRACT

ISOLATION AND IDENTIFICATION OF LACTIC ACID BACTERIA FROM FRESH CORN AND POTENTIAL USE AS INOCULANT IN SILAGE PRODUCTION

This study was conducted to determine available for use as inoculants in corn silage by isolate, identify and reproduce lactic acid bacteria under laboratory conditions from different whole crop corn samples taken from central villages of Elazig.

Leaf samples of corn (*Zea mais*) in milk-dough stage were collected from a total of 16 different fields and brought to the laboratory. Lactic acid bacteria (LAB) were isolated and identified using appropriate methods. Four different types of bacteria were selected from LAB and used as inoculants.

Experimental groups were designated as follows: the control group with no added inoculant; (K) the positive control group including *Lactobacillus buchneri* (L.BUC), a commercial inoculant, the groups with added *Lactobacillus pentosus* (L.PEN), *Leuconostoc mesenteroides* (L.MEZ), *Lactobacillus brevis* (L.BRE) ve *Laktobacillus fermentum* (L.FER). The concentration of each inoculant was adjusted to 1.0×10^{-6} cfu/g. The silage material and LAB were thoroughly mixed, filled in 1.8 liter anaerobic jars. 5, 10, 15, 30, 60 and 90th day of the fermentation, three jars from each group were opened and analyzed.

Addition of LAB to silages caused a rapid decrease in pH. The lowest pH value was obtained in group *Lactobacillus brevis* and *Lactobacillus fermentum*,

whereas the highest pH value was obtained in group *L. buchneri* at the end of a fermentation period ($P < 0.001$). Addition of inoculant to corn silage increased a statistically significant lactic acid (LA) concentration on day 5 of fermentation. The highest LA level was found in group *Lactobacillus fermentum* on day 30 ($P < 0.05$). Acetic acid (AA) level was low in the first few days of fermentation and increased towards the end of the experiment in the experimental groups and the highest AA value was observed for group *L. buchneri* on day 30 ($P < 0.05$). Yeasts significantly decreased after day 15 of fermentation in the experimental groups, while mold was not detected after day 15 of fermentation in any of the groups.

According to these results, natural microflora from fresh corn plant obtained from lactic acid bacteria, it's possible to say that the lactic acid bacteria can use instead of commercial inoculant for silages fermentation.

Key words: Corn silage, lactic acid bacteria, inoculant, natural flora

3. GİRİŞ

Ülkemiz yaklaşık 77 milyon nüfusu ile Avrupa'nın önemli devletleri arasında yer almaktadır. Cumhuriyetin kurulduğu yıllarda nüfusumuzun önemli bir kısmı köylerde yaşayıp tarımla uğraşırken, son yıllarda bu durum tersine dönmüş, şehirlerde yaşayan insan sayısı hem rakamsal hem de oransal olarak artmıştır. Şehirleşme ile birlikte insanların beslenme alışkanlıkları da değişmiş, hayvansal gıdalara olan ilgi de artmıştır. İnsanların sağlıklı, dengeli ve yeterli beslenebilmeleri için tarımsal üretimin yanında hayvansal üretimin de artırılması gerekmektedir. Hayvanların sağlıklı yemlerle yeterli ve dengeli beslenmeleri durumunda verimleri artmakta, bu hayvanlardan elde edilen ürünlerin de kalitesi olumlu yönde etkilenmektedir.

Türkiye istatistik kurumunun (TÜİK) 2013 yılı verilerine göre ülkemizde 14.532.848 adet büyük baş ve 38.509.795 adet de küçükbaş hayvan bulunmaktadır (1). Bu hayvanların beslenmesinde kullanılmak üzere sığırlar için yaklaşık 45.685.000 ton, koyun ve keçiler için ise 9.404.000 ton kaba yeme ihtiyaç vardır. Yine TÜİK 2013 yılı verilerine göre Ülkemizde 12.616.178 ton/yıl yeşil yonca ve 17.835.115 ton/yıl silajlık mısır üretimi ile birlikte toplam 37.663.749 ton/yıl kültür yem bitkileri üretimi gerçekleşmiştir. Yine serin iklim tahıllarından elde edilen sap saman miktarı % 40 hasat indeksine göre 40 milyon tondur ve bunun yaklaşık 10 milyon tonu hayvan beslenmesinde kullanılmaktadır (2). Ülkemizde üretilen yaklaşık 18 milyon ton mısır silajı öncelikle süt ineklerinin beslenmesinde kullanılmaktadır.

Yakın gelecekte tüm sağmal ineklerin kültür ırkı hayvanlara dönüşmesi ve hayvan sayılarında oluşacak artışlara bağlı kaba yem tüketimin artacağı dikkate alındığında, mısır silajına veya kültür yem bitkilerine olan ihtiyaç daha da artacaktır. Ayrıca silajın gerek düvelerin gerekse de besi hayvanlarının temel yem maddesi olduğu bilinmeli, buna yönelik üretim ve tüketim planları yapılmalıdır. Geviş getiren hayvanların beslenmesinde kullanılan kaliteli kaba yemlerin yetersizliğinde çoğu ithal hammaddelerle üretilen yoğun yemlerle besin madde ihtiyaçları karşılanmaya çalışılmakta, karşılanmadığı durumlarda da yetersiz beslenmeye bağlı verim düşüklüğü ve bunun sonucunda işletmenin karlılığı azalmaktadır.

Ruminantların kaba yem ihtiyaı ayır-meralar yanında kültür yem bitkileri ile tahıl hasadından elde edilen sap ve samanlardan karşılanmaktadır. Sap ve samanların besin madde içeriğinin çok düşük olması, sindirilme derecelerinin azlığı çoğu zaman hayvanları tok tutmaya yönelik dolgu maddesi görevi üstlenmektedir. Bunlara ilaveten sıcak ve kurak mevsimlerde ayır ve meralardan elde edilen otlar ile hububat hasadından arta kalan saman miktarları çok azalmakta, zaman zaman saman veya ot ithal edilmesi söz konusu olmaktadır.

Geviş getiren hayvanların diyetlerinde kaliteli kaba yem kullanımındaki eksiklik ve hatalar, özellikle yüksek verimli ve ekonomik değerli olan kültür ırkı hayvanlarda verim kaybına, metabolik hastalıklara, klinik ve subklinik rumen asidozisi, karaciğer apseleri, abomasumun yer değiştirmesi, rumen atonisi ve laminitis gibi sorunlara yol açarak önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır (3, 4, 5, 6, 7). Yapılan hataların başında kaba yem / konsantre yem oranının iyi ayarlanamaması, diyetlerde yeterli düzeyde life yer verilmemesidir.

Toplam karma yemde lif içeriğinin ve kaba yem partikül büyüklüğünün artması çiğneme aktivitesini etkin bir şekilde uyararak tükürük salgısını artırmakta, tükürüğün tamponlama etkisi nedeniyle rumen pH' sını dengelemekte, asetat/propionat (A/P) oranını ve süt yağını artırıp, rumen asidozis ve laminitis gibi hastalıkların oluşmasını engelleyebilmektedir (3, 8, 9, 10).

Dünya genelinde yapılan tarımsal faaliyetler ve hayvan yetiştiriciliğinin yegâne amacı insanoğlunun gıda gereksiniminin karşılanmasıdır. Bu ihtiyaç dünya nüfusu arttıkça artmakta ve yapılan üretimlerin birim fiyatlarının artması sonucu zorlaşmaktadır. Diğer önemli bir konu da insanların gıda kaynaklarına kolay ulaşabilmesi ve ucuz bir şekilde satın alabilmesidir. Bu durum ancak üretim artışı ile olabilmektedir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) verilerine göre sağlıklı bir insanın her kilogram vücut ağırlığı için günde 1 gram protein tüketmesi ve bunun da % 42' sinin hayvansal kökenli oduğu bildirilmektedir. Proteinlerin hayvansal ürünlerden karşılanma oranları gelişmekte olan ülkelerde % 20 civarında iken, bu oran gelişmiş ülkelerde % 65'lere kadar çıkmaktadır (11). Ülkemizdeki mevcut büyükbaş hayvan varlığı ile Avrupa ülkeleri içerisinde ikinci sırada, koyun varlığı bakımından da birinci sıradadır (12). Hayvansal ürün fiyatlarının yüksekliği ve elde edilen verimin düşük olması nedeniyle insanlarımız yeterli düzeyde hayvansal proteinlerle beslenememektedir. Bu durumun başlıca nedenlerinden birisi kaliteli kaba yem yetersizliğidir. Geviş getiren hayvanların besin madde gereksinimlerini tümüyle sadece yoğun yemlerle karşılamak mümkün değildir. Yoğun yemlerle birlikte yeşil veya kuru kaba yemler ile silajların da rasyonlara girmesi ve böylece hem ekonomik besleme hem de rasyonel beslemenin gerçekleştirilmesi zorunludur.

Hayvanların yeşil yem gereksinimlerini doğadan taze olarak karşılamak, her bölgenin kendine özgü iklim özellikleri nedeniyle, yılın ancak belli günlerinde mümkündür. Orta Avrupa ülkeleri için 160-180 gün/yıl olan bu süre, ülkemizin de dâhil olduğu Akdeniz iklim kuşağındaki ülkeler için yaklaşık 200 gündür. Bu nedenle yılın geri kalan zamanında hayvanların kaba yem gereksinimleri değişik kaynaklarla karşılanmak zorundadır. Vejetasyon dönemlerinde otlatılarak veya biçilerek hayvanlara verilen yemlerin fazlası, su içerikleri nedeniyle uzun süre oldukları şekilde muhafaza edilemezler. Kızıyarak bozulmayı önlemek için suca zengin kaba yemlerin değişik yöntemler yardımıyla tüketilecekleri güne kadar saklanması gerekir. İşte bu saklama yöntemlerinden biri de silolayarak saklama yani silaj yapmadır. Yemlerin bu yolla uzun süre saklanmasına ilişkin bazı bilgiler çok eskilere dayanmaktadır.

Uygun yapılan silajlarda yemler doğal özelliklerini korumakta ve uzun süre bozulmadan saklanabilmektedir. Silajların fermantasyon kalitesini, oksijene karşı dayanıklılığını artırmak için çok çeşitli katkı maddeleri üzerinde çalışmalar yapılmıştır. Bu katkı maddelerinden belki de en önemlisi değişik laktik asit bakterilerinin (LAB) inokulant olarak kullanılmasıdır. LAB hayvan beslemede silajlara inokulant olarak kullanılmanın yanısıra turşu, sucuk-salam ve yoğurt gibi gıdalarında gerek fermantasyonu artırmak, gerekse koruyucu olarak olarak kullanılmaktadır. Silajlık yem bitkilerinde kullanılan LAB'i, fermantasyonu sağlarken kullandıkları şekerler farklı olmakta ve ürettiği son ürünler de değişmektedir (13, 14). Bu nedenle anaerop ortamda kolay çoğalan, fazla laktik asit üreten ve silaj pH değerini hızla düşüren bakterilerin inokulant olarak kullanılması önemlidir.

Bu özelliklere uygun LAB seçilmiş ve ticari olarak endüstriyel üretime geçilmiştir. Yapılan bilimsel çalışmalarda inokulantların silajların fermantasyon kalitesinin artırılması, yedirme dönemindeki oksijene karşı dayanıklılık ile birlikte, yem tüketimi, besin maddelerinin sindirimi ve verim performansı gibi kriterler üzerinde durulmuştur (15, 16, 17, 18).

Bu çalışmada, Elâzığ merkez köylerinden alınan farklı mısır hasılı örneklerinden LAB izole etmek, tanımlamak ve laboratuvar şartlarında çoğaltarak silajlara inokulant olarak kullanılma olanaklarını tespit etmek ve daha düşük maliyetli silajlar elde etmek için ticari suşların yerine endemik suşların kullanım olanakları araştırılmıştır.

3.1. Silajın Tanımı

Suca zengin yemlerin biçilmesi, belirli boyutlara getirilmesi, eğer kuru maddesi düşük ise bir süre soldurularak KM düzeylerinin yeterli düzeye ulaştığında silo içerisine sıkıştırılarak doldurulması ile anaerop ortamda fermantasyona uğratılmasıyla elde edilen konserve yemlere silaj denir. Yapılan işleme silolama ve yapıldığı yere silo veya silaj çukuru denir (19, 20).

3.1.1. Silolama ve Silajın Avantajları

Ülkemizde ekimi yapılan tarla yem bitkilerinin üretimi mevsime ve iklime bağlı oluşu nedeniyle hayvanların kış aylarındaki yem ihtiyaçlarının karşılanması için kurutularak konserve edilmesi yaygın olarak uygulanmaktadır. Ancak yemler kurutulduğunda hasat ve depolama sırasında besin madde kayıplarının fazla olur.

Vejetasyonun ilerlemesi ile sindirilebilirliğinin azalması gibi sorunlar nedeniyle silaj yapılarak konserve edilmesi tercih edilmektedir (19).

Yemler iyi silolanarak bozulmadan ve besin madde içeriklerinde önemli bir kayıp olmadan uzun süre saklanabilir.

İklim koşullarının kurutmaya uygun olmadığı bölgelerde silolama, yeşil yemlerin en uygun saklama yöntemidir.

Silajdaki fermantasyon, yemlerin tazeliğini ve yumuşaklığını koruduğu için hoş kokulu, lezzetli bir tada sahip olması nedeniyle hayvanlar tarafından sevilerek tüketilir ve iştahlarını açar.

Silolama ile oluşan fermantasyon nedeniyle yem içine karışmış her türlü yabancı ot zararsız hale gelir, bazı bitkilerdeki zehirli bileşikler etkilerini yitirir.

Silajın depolanması kuru ota nazaran daha kolay ve yangın tehlikesi yoktur.

Silolama, usulüne göre yapıldığında, silo yemi 2-3 yıl gibi uzun süre ile saklanmasına imkân sağlar.

Belirli kurallara uymak şartı ile her yem silolanabilir, ancak her yemden aynı kalitede silo yemi elde etmek mümkün değildir.

Yemler silolanma özelliklerine göre 3 grup altında incelenir (19, 20, 21.).

I. Kolay silolanabilen yemler

Mısır hasılı, sudan otu, yemlik lahana yaprakları, ayçiçeği yeşili, yer elması yeşil kısımları, şeker ve hayvan pancarı yaprakları, darı hasılı.

II. Orta derecede silolanabilen yemler

Çavdar hasılı, bakla ve baklagil karışımları, lüpen çeşitleri, üçgül çeşitleri, yeşil hardal, çayır otu.

III. Silolanmaları güç olan yemler

Yonca, körpe mera otları, fiğ ve bezelye çeşitleri, çiçeklenme öncesi hasat edilen üçgül çeşitleri, tatlı lüpen.

3.1.2. Silaj Kalitesini Etkileyen Faktörler

3.1.2.1. Fiziksel Faktörler

3.1.2.1.1. Çevre Sıcaklığı

Kaba yemler silolanırken çevre sıcaklığı veya silonun doldurulması esnasındaki silo içi sıcaklık fermantasyon için önemlidir. Laktik asit bakterileri için en uygun sıcaklık aralığı 5-50 °C arasında olmasına rağmen çoğu LAB için ideal sıcaklık 30 °C'dir (14, 22). Soğuk iklim şartlarında yapılan silajlarda inokulant olarak LAB katılsa bile yeterli fermantasyon olmaz ve yeterince laktik asit üretilemez. Laktik asit bakterilerinin faaliyetleri için en düşük ortam sıcaklığının 10 °C olması gerektiği bildirilmektedir. Bununla birlikte yüksek sıcaklık (>35 °C) ve yüksek rutubet bir arada olduğunda fermantasyon olumsuz etkilenir. Yüksek sıcaklığa karşı *Pediococci*'ların *Lactobacilli*'lere göre daha dirençli olduğu herkes tarafından iyi bilinmekte ve sıcak mevsimlerde yapılan silajlara katılan inokulantların seçiminde bu duruma dikkat edilmesi

gerekmektedir (14). Ashbell ve ark. (23) buğday ve mısır silajlarının oksijene karşı dayanıklılığında sıcaklığın etkilerini incelemek amacıyla yaptıkları çalışmada; mısır ve buğday silajlarından üçer numune alınarak 3 ve 6 gün boyunca 10, 20, 30 ve 40°C ısıya maruz bırakılarak maya, küf, pH, laktik asit (LA), asetik asit (AA) ve CO₂ üretimi değerlendirilerek oksijene dayanıklılıkları ölçülmüştür. Araştırma sonunda 30 °C'ye maruz kalan silaj örneklerinde en yoğun maya üremeleri, CO₂ üretimi ve yüksek pH bulunmuştur (P< 0.05). Silaj içerisindeki maya üremesi 30 °C'e sıcaklık artışına kadar devam ederken 40 °C'de üremesi inhibe edilmiştir. LA ve AA oranı sıcaklığı 40 °C olan silajlarda diğer sıcaklıktaki silajlara göre daha fazla olduğunu bildirirken, sıcaklığın oksijene karşı dayanıklılıkta önemli olduğunu bildirmiştir.

3.1.2.1.2. Parçacık Uzunluğu ve Sıkıştırma (Silaj Yoğunluğu)

Silolanacak yemlerin parçacık uzunluğu silajın fermantasyon düzeyi ve ölçüsünü etkiler. Parçacık uzunluğu bitki türüne ve kaba yemin kuru maddesine göre ayarlanmalıdır. Düşük kuru maddeli yemler biraz uzun, yüksek kuru maddeli kaba yemler ise daha kısa kıyılmalıdır. Çünkü kuru maddesi yüksek yemler uzun parçalar (kaba) şeklinde doğrandığında sıkıştırma ve silo içindeki havanın boşaltılması güçleşir. Düşük kuru maddeye sahip materyalde ise kısa (ince) kıyılma durumunda bitki hücrelerinin parçalanmasına ve SÇK'ların mikroorganizmalar tarafından hızla serbest bırakılmasına bağlı aşırı su kaybı ile birlikte istenmeyen fermantasyon oluşabilir (24).

Silolamada en uygun doğrama uzunluğu mısır hasılı için materyalin yüksek KM içeriğinde ortalama 1 cm, düşük KM içeriğinde ise ortalama 2 cm boyutunda kıyılmasının uygun olacağını ifade edilmektedir (24, 25, 26). Daha uzun parçacık büyüklüğu amaca uygun değildir. Çünkü yeterince sıkıştırılmazlar, buna bağlı olarak da aerobik fazın uzun sürmesine ve besin madde kayıplarının artmasına yol acar. Ayrıca iri parçacıklar yemliklerde hayvanlar tarafından tüketilmez ve yem kayıplarına neden olur. Daha kısa parçacıklar ise silo içinde topaklaşmaya neden olması ve iş gücünü artıracığından ve tavsiye edilmez.

Ayrıca ince kıyma işleminin ruminasyonun azalmasına, sindirim oranının düşmesine ve rumen asidozisi gibi olumsuzluklara da ortam hazırlar. Sıkıştırma basıncının da pH değeri ve silo suyu çıkışı üzerinde etkisi bulunmaktadır (19, 24, 25, 27).

Kononoff ve Heinichs (28) büyükbaş hayvanlarda mısır silajlarının farklı parçacık büyüklüklerinin etkisini (1.18 - 8. mm ve 8 - 19 mm) görmek için yapmış oldukları çalışmada, parçacık büyüklüğünün azalması çiğneme aktivitesi, KM tüketimi, rumen pH'sı, yapısal olmayan karbonhidrat ve selüloz sindirimi ve süt üretimini etkilemediğini bildirmiştir. Araştırmacılar parçacık büyüklüğünün artması ile toplam karma yemin (TKY) mikserde daha fazla ayrıştığını, bu durumu engellemek için TKY içerisine % 8 oranında pamuk tohumu kapçığının katılmasının ise çiğneme aktivitesini ve nötr deterjanda lif (NDF) tüketimini azaltırken KM tüketimini artırdığını bildirmişlerdir. Ayrıca pamuk tohumu kapçığının TKY katılmasına bağlı çiğneme aktivesindeki azalma, rumen pH'sı üzerinde çok az bir etki oluşturduğu, bunun yanısıra süt verimi, yağı ve proteini üzerine etkisinin olmadığını bildirmişlerdir.

Silaj yapımında sıkıştırmanın yetersiz olması kuru madde kayıplarını arttırır. Ayrıca düşük sıkıştırma silaja katılan katkı maddelerinin etkinliğini de azaltır (29, 30, 31).Yıldız ve ark. (24) mısır silajları ile yaptıkları çalışmada 1 ve 4 cm boyutlarında kıydıkları hasılına 1, 2 ve 3 Megapascal (MPa) farklı sıkıştırma basıncı uygulamışlar ve silajların pH değeri üzerinde hasat dönemi ve sıkıştırma basıncının etkisi önemsiz bulunurken, kıyma boyutunun küçültülmesi silajların pH değerini düşürmüştür ($P<0.05$). Araştırmacılar mısır silajının 1 cm uzunluğunda parçalanması ve 1 MPa basınç ile sıkıştırılmasının ideal olacağını bildirmişlerdir.

Çakmak ve ark. (32) mısır silajı ile yapmış oldukları çalışmada 1.3 - 1.7 cm parçacık büyüklüğüne sahip mısır hasılı ve iki ay süre ile fermente olmuş mısır silajına 130, 150 ve 160 bar basınç uygulayarak yapmış oldukları çalışmada; parçacık büyüklüğünün artması ile KM ve ham kül (HK) içeriğinin önemli oranda azaldığını ($P<0.01$), ham protein (HP), ham selüloz (HS), ham yağ (HY) ve metabolik enerji (ME) değerleri ile parçacık uzunluğu arasında gruplar arasında istatistiksel bakımdan farklılığın olmadığını, bunun yanısıra paketlenme basıncının ise silajların HP, HS, HK, HY, ME ve KM düzeylerine etkisi olmadığını bildirmişlerdir.

Tablo 1.Kaba Yem ve TKY için Önerilen Partikül Büyüklüğü % (33) .

Elek	Elek gözü (inç)	Partikül büyüklüğü (inç)	Mısır silajı %	Haylaj %	TKY %
Elek üstü	0.75	> 0.75	3-8	10-20	2-8
Orta elek	0.31	0.31 – 0.75	45 - 65	45 - 75	30 - 50
Dar elek	0.05*	0.07 – 0.31	30 - 40	20 - 30	30 - 50
Elek altı (alt tava)		< 0.07	< 5	< 5	< 20

* Elek gözleri kare şeklindedir ve büyük boyutlu yemler çapraz şekilde geçebileceğinden, parçacık büyüklüğü daha fazla olabilir.

3.1.2.2. Kimyasal Faktörler

Silaj kalitesini belirleyen kimyasal faktörlerin başında pH gelir. Bunun yanında KM, SÇK, laktik asit (LA), asetik asit (AA), Bütirik asit (BA) ve Propiyonik asit (PA) içerikleri de silaj kalitesi üzerinde önemli etkilere sahiptir. Bazı kaynaklarda kaliteli bir silajda olması gereken pH değeri 3.9- 4.8 arasında bir değer olduğu belirtilirken, diğer bazı kaynaklarda ise bu değer 3.8- 4.2 arasında bildirilmektedir (19). Kaliteli bir mısır silajda LA oranının % 4-7 TM' in (TM=taze materyal) üzerinde olması istenirken, AA oranının % 3'den az olması, PA'de % 0.1'den az olması ve BA' ise hiç bulunmaması istenmektedir (33, 34).

3.1.2.2.1. Suda Çözünebilir Karbonhidrat Miktarı (SÇK)

Genel bir kural olarak silolanacak materyalin kolay eriyebilir karbonhidrat içeriğinin % 3'den az olmaması ve ideal olarak % 6 civarında olması gerekir (yaş yem üzerinden). Yulaf, mısır, arpa, buğday gibi tahıl hasıllarının kolay eriyebilir karbonhidrat yönünden zengin olmalarına karşın, yonca ve üçgül gibi baklagiller kolay eriyebilir karbonhidratlarca fakirdirler ve silolanmaları daha güçtür (13).

SÇK bakımından zengin yemlerle yapılan silajlarda fermantasyon iyi olur. Bunun tersine düşük SÇK içeriği zayıf bir fermantasyon ve kolay bozulabilen silaj demektir. Birçok bitki olgunlaşmasının son döneminde SÇK içeriğini kaybeder ve bu da fermantasyonu olumsuz etkiler (14). Kolay eriyebilir karbonhidratlarca fakir yemlerin silajı yapıldığında silaj katkı maddelerinden yararlanılarak veya soldurma işlemi yapılarak kimyasal içeriğin fermentasyona uygun hale getirilmesi gerekir. Ilıman iklim çayır otlarının yapısal olmayan karbonhidratlarının en önemlileri glikoz, früktoz, sukroz ve fruktanlardır.

Fruktanlar en önemli depo karbonhidratlardandır. Ilıman iklim baklagilleri çayır otlarına göre daha düşük SÇK içeriğine sahiptir. Bunlar başlıca glikoz, früktoz ve sukrozdur. Ilıman iklim baklagillerinin ana depo karbonhidratları fruktanlardan ziyade nişastadır ve nişasta soğuk suda çözünmez. Yem bitkilerinin daneleri olgunlaştıkça SÇK düzeyi azalır, nişasta düzeyi artar. Bu nedenle bitki enzimleri, hidroliz veya fermantasyon sırasındaki asit hidrolizleri nişastayı SÇK'yı çevirmedikçe LAB gelişmek için nişastayı substrat olarak kullanamazlar (21).

3.1.2.2.2. Tamponlama Kapasitesi (TK)

Bütün bitkiler pH değişikliğine karşı tamponlar denilen kimyasal bileşiklere sahiptir. Kaba yemlerdeki tampon maddelerin başlıcaları organik asitler ve bunların tuzları, proteinlerin % 10-20'si bu maddeleri oluşturur. Silajlarda pH düşmesinin gecikmesi veya sınırlandırılması, istenmeyen bakterilerin gelişmesine ortam hazırlar.

Bu nedenle yüksek TK içeriğine sahip yemlerle yapılan silajların bozulma riski de yüksektir. Baklagil otları çayır otlarına göre, çayır otları da mısıra göre daha yüksek TK sahiptirler (31, 35, 36, 37, 38).

Tamponlama kapasitesi, 1 g silaj kuru maddesinin pH'sını 6 dan 4'e düşürmek için gerekli laktik asit (mEq) miktarı olarak ölçülür. (Tamponlama kapasitesi: 1 kg bitki kuru maddesinin (KM) pH'sını 4'den 6'ya çıkarabilmek için gerekli olan miliekivalent alkali miktarı). Bakteriyel fermantasyonla pH'nın istenilen düzeye inmesi için, yüksek tamponlamaya sahip kaba yemler (örnek: yonca, 366 mEq/g), mısıra göre (200 mEq/g) daha fazla miktarda SÇK'a ihtiyaç duyar (19). Yüksek tampon kapasitesine sahip yemlerde, biçme, doğrama ve soldurma ile bitkinin suyunun uçurulması ile SÇK yoğunluğu artırılır. Mısır hasıllarının soldurulmasına gerek yoktur ve bu nedenle yağmur gibi etkenlerle besin madde kayıpları olmaz.

Tamponlama kapasitesi bitki türüne, vejetasyon dönemine göre (bitki olgunlaştıkça TK azalır), toprağın gübrelenmesi (azotlu gübreler TK artırır) ve soldurma işlemine (soldurma işlemi bitki organik asitlerinin azalmasına bağlı TK azaltır) değişir. Mısır gibi yazlık bitkiler düşük TK sahipken, geniş yapraklı yabani otlar yüksek TK sahip yemlerdir. Silolanan bitkinin yüksek tampon kapasitesine sahip olduğu durumlarda (asitleşmeye karşı gösterilen direnç ne kadar yüksek ise pH düşüşü o kadar yavaş) klostridia bakterileri ortamda baskın hale geçerler, bunun sonucunda silaj fermantasyonu klostridial fermantasyona doğru kayar (19, 37).

Silajlardaki son pH düzeyi, yemlerdeki KM ve yem maddesinin türüne bağlıdır. Mısır silajının pH'sı 4 veya daha az olurken, baklagillerde bu değer 4.5 düzeyindedir. Silajlarda hedeflenen pH'ya ulaşıldığında konservasyon sağlanmış demektir. Silajların pH'sının ölçülmesi konservasyonun sağlanıp sağlanmadığını gösterir, ancak fermantasyon oranı ve kalitesi hakkında kesin bir bilgi vermez.

3.1.2.2.3. Kuru Madde Düzeyi

Silolanacak kaba yemlerde kuru maddenin % 30-35 olması istenir. Ayrıca uygun KM düzeyi daha iyi sıkıştırılmayı sağlayacağından, silodaki havanın boşaltılarak anaerop ortamın oluşumunu ve laktik asit bakterilerinin gelişimi ile iyi bir fermantasyon oluşumunu sağlayarak ve besin madde kayıplarını en aza indirmesi bakımından önemlidir (39, 40). Hayvan beslemede kullanılan yem bitkileri farklı biçim zamanlarında farklı besin madde düzeyleri içermektedir.

Körpe bitkiler proteince zengin olduğundan TK yüksek ve SÇK düzeyleri düşüktür, vejetasyonun ilerlemesi ile protein oranı azalır, SÇK oranı artar. Ancak KM'si ilerlemiş silajlarda ise SÇK'lar yerini nişastaya bırakacağından, nişastayı da LAB yeterince değerlendiremediğinden, bitkinin KM düzeyi fermantasyonu doğrudan etkilemektedir (41, 42, 43).

Alman Tarım Örgütü (DLG 1997)'den bildirdiğine göre; silajlık mısırın kuru madde oranı, süt olum dönemi başlangıcında ve sonunda sırasıyla % 20 ve 23, hamur olumu başlangıcında ve sonunda ise sırasıyla % 25 ve 29 olarak ifade edilmiştir. Ham protein oranı süt olum döneminde sırası ile 19 - 20 ve 22 g/ kg hamur olumu döneminde 22, 24 ve 25 g/kg ifade edilmiştir (44).

3.1.2.3. Biyolojik Faktörler

Kaba yemlerin sahip olduğu doğal mikroorganizmaların sayısı ve türleri çevre şartlarına, toprağın yapısına, çiftlik gübresi kullanılıp kullanılmamasına ve silonun yapıldığı yere, KM düzeyi gibi bir çok etmene göre oldukça geniş bir dağılım gösterdiği bildirilmektedir. Bu floranın özelliklerine bağlı olarak silo içerisinde fermantasyon sırasında asetik asit, propiyonik asit, bütirik asit ve laktik asit gibi çeşitli organik asitler ile bazı alkoller ve CO₂ oluşur. Silajın veya silo içindeki yemin bozulmadan kalmasını sağlayan en önemli asit laktik asittir (45, 46).

Laktik asit bakterileri, organik asitlerin yanısıra diasetil, asetoin, hidrojen peroksit, reuterin, antifungal peptitler ve bakteriyosinler gibi çok çeşitli antimikrobiyel bileşikler meydana getirerek silo içerisinde çoğalması arzu edilmeyen asetik asit ve bütirik asit bakterilerinin gelişmesini ve faaliyetlerini engeller ve böylece yemin bozulması önlenir. LAB faaliyetleri sonucu oluşan LA ve pH arasındaki ilişki doğrusaldır (47). Nitekim kalitesi düşük olan silo yemlerinde pH değeri 7' nin üzerine çıkabildiği gibi, iyi kalitedeki silo yemlerinde pH 3.5' in altına bile düşebilmektedir (19).

Böyle bir aralıktaki pH 'ya sahip siloda LAB fermantasyonu ile meydana gelen asitler diğer bakterilerin üremesini inhibe ederek bozulmayı engeller. Silaj fermantasyonunda LAB istenen, *Klostridia*'lar, *Enterobacteriaceae* familyasından bazı türler, asetik asit bakterileri, *Listeria*, mayalar ve küf mantarları ise istenmeyen mikroorganizmalar grubunda yer alırlar (48, 49).

3.1.3. Silajlarda Fermantasyon Dönemleri

Yüksek süt veren ineklerden maksimum süt verimini elde etmek için silaj ve tahıllar ile bir karma yem hazırlanmalı ve toplam karma yem içinde iyi fermente edilmiş kaliteli silajlar kuru madde tüketiminin % 50'den fazlasını oluşturmalıdır. Silaj kalitesi süt işletmelerinin karlılığı için önemlidir ve bu kalitenin bilgisayar programları ile kontrol edilmesinin nedeni de beslenme programlarının doğru yapılması içindir (33).

Silajların çok kötü fermente olmasının nedeni yem bitkisinden daha ziyade silaj yapımı sırasındaki hatalardan kaynaklanmaktadır. Bu hataların başında yem bitkisinin kuru madde düzeyinin düşük olması, bitkinin olgunluğu, paketlenme, kapatma ve silajın açılması ile hayvanlara verilmesi sırasındaki yönetim hataları gelmektedir. Silajlar ve hayvan beslemedeki kullanımında karşılaşılan sorunların ilk sıralarında oksijene dayanıklılığı az ve klostridial silajların tüketilmesi yer almaktadır (33).

Aerobik ve anaerobik bakteriler silaj fermantasyonuna katılmaktadırlar. Aerobik aktivite silo doldurulurken veya boşaltılırken oluşur. İyi bir silo yönetimi aerobik aktiviteyi en aza indirerek kuru madde kayıplarını azaltabilir. Enerji zengin şekerlerin oksidasyonu fazla sıcaklık artışına ve bu sıcaklık atışı da proteinlerin zarar görmesine neden olur. İyi bir silo yönetimi anaerobik şartlarda suda çözünebilir karbonhidratların silaj asitlerine dönüşümünü yükseltir, böylece pH azalır ve bozulmaya neden olan mikroorganizmaların faaliyetleri sınırlanır. Bu dönüşüm anaerobik hetero ve homofermantasyon kaynaklıdır (33).

Heterofermantatif anaerop bakteriler SÇK enerji olarak kullanır ve fermantasyon son ürünlerine dönüştürürler. Bunun sonucunda silajlarda önemli miktarda KM kayıpları olur. Homofermantatif laktik asit bakterileri (^{ho}LAB), SÇK'ları laktik aside çevirirler, az enerji kullanırlar ve bunun sonucu kuru madde kayıpları daha az olur. Homo ve heterofermantatif anaerop bakteriler silaj fermantasyonu için mutlak gereklidir, bununla birlikte iyi bir fermantasyonu heterofermantatifler azaltırken, homofermantatifler en yükseğe çıkarırlar. Silaj fermantasyonu 6 aşamaya ayrılabilir (33, 36).

3.1.3.1. Faz 1 (Aerobik-oksijenli faz)

Silajı yapılacak olan yem materyalinin biçimden sonra siloya doldurulması ve silajın kapatılması anına kadar ortamda bulunan oksijen veya SÇK'nın tüketilmesine kadar devam eden süreçtir. Bu dönemde fermantasyon açısından hiç istenmeyen aktivitelerden biri solunum, diğeri ise proteolisizdir. Her iki olay da silo içerisinde aynı zamanda başlar ve devam eder. Bu dönemde silo içerisindeki hava ve yüksek bitki pH'sı; yemde bulunan enzimlerin aktivitelerine, proteolitik aktiviteye, aerobik mikroorganizmalar, maya ve enterobakteriler gibi fakültatif aerobik mikroorganizmaların faaliyetlerine olanak verir (13, 21, 47, 48, 49, 50). Proteolisiz olayı sırasında bitki bünyesinde bulunan proteaz enzimleri bitkideki proteinleri başta aminoasitler ve amonyak olmak üzere, peptid ve amidlere parçalarlar. Solunum sırasında aerobik mikroorganizmalar SÇK'ları CO₂ ve H₂O dönüştürürler ve bunun sonucunda ısı açığa çıkar. Bunun yanısıra bitkide var olan enzimler nişasta ve hemiselülozun monosakkaritlere dönüşümüne yardımcı olurlar. Bu hidroliz daha sonra LA fermantasyonu için ilave şeker sağlamış olur.

Bütün bunların neticesinde silaj yapıldıktan sonra NDF düzeyi biraz artar, buna sebep olarak SÇK düzeyi azalması gösterilir (33).

Yem materyalinin kuru madde düzeyi, parçacık büyüklüğü ve sıkıştırmaya bağlı olarak aerobik faz birkaç saat sürebilir. İyi kapatılmayan silolarda, silajların bozulmasına neden olan aerobik mikroorganizmaların gelişmesini teşvik ederek aerobik dayanıklılığı azaltabilir. Örnek olarak, asitler kullanılarak maya ya da spor oluşturan basillus türleri artar. Bu faz silajlarda besin madde kayıplarına neden olur.

Ancak, anaerobik koşulların oluşması bazı antimikotik bileşenler üreterek silajın yedirilmesi sırasındaki oksijene karşı dayanıklılığı üzerine olumlu etki yapar (33).

Aerobik dönemde oluşan başlıca kayıpların düzeyi, bitki hasatı ile silonun kapatılması arasında geçen süreye göre değişim göstermektedir. Süre uzadıkça kayıplar artacağından bu zaman dilimi 48 saati geçmemelidir (13).

3.1.3.2. Faz 2 (Fermantasyon fazı- erken anaerobik faz)

Birinci faz olan aerobik dönemdeki oksijenin tüketilmesi ikinci fazı tetikler; anaerobik heterofermantatif dönem başlar. Çeşitli fermantatif son ürünler üretilir; bunların başında enterobakterialar tarafından üretilen ürünler gelir, çünkü bunlar aerobik dönemdeki sıcaklık artışını tolere edebilirler. Bu bakteriler SÇK'ları fermente ederek kısa zincirli uçucu yağ asitleri (asetat, laktat ve propiyonat), etanol, heksozlar (glukoz ve früktoz), pentozlar (ksiloz ve riboz) ve karbondioksit üretirler. İkinci fazdaki heterofermantatif bakteriler yeterli fermantasyonu sağlayamayabilirler, çünkü çok az besin maddesi harcarlar ve çok az asit üretirler.

Üretilen fermantasyon son ürünleri bitkinin olgunluğuna, rutubetine (KM düzeyine), hasat edilen bitkideki epifitik bakteri popülasyonuna bağlıdır.

Bu enterobakteriler pH 5-7 arasında yaşarlar, uçucu yağ asitlerini üretirler, bununla birlikte pH düzeyini ancak 6'nın altına indirebilirler. Bu nedenle heterofermantatif bakteriler ürettikleri asitler ile inhibe edilirler. Bu enterobakteriler ortam pH değerini 5'in altına indirerek homofermantatif bakteriler için ortam hazırlarlar. Bu pH düşüşü 24-72 saatten daha uzun sürmez ve pH'daki bu azalma erken anaerobik fazın sona erdiğini gösterir (33, 36).

3.1.3.3. Faz 3 (Fermantasyon geçiş fazı)

Fermantasyonun üçüncü aşaması yaklaşık 24 saat süren kısa süreli bir geçiş aşamasıdır. ^{ho}LAB ortamda hızla çoğalması pH düşüşünü teşvik eder. Bu bakteriler çoğunlukla laktik asit üreterek pH'nın hızlı ve daha verimli düşmesini sağlarlar. Bu anaeroblar faz 2 de bildirilen heterofermantatif bakterilere göre sıcaklığa karşı daha az tolerans gösterirler ve faz 4'de yaygın olarak bulunan laktik asit bakterilerine göre de daha fazla ısı toleransı gösterirler. Silaj ısı yaydıkça pH düşmeye devam eder, faz 3'te laktik asit bakterilerinin eylemi durur. Serin ve asidik bir ortamda laktik asit bakterilerinin faaliyeti tekrar artar ve bu evre faz 4 olarak adlandırılır (33, 36).

3.1.3.4. Faz 4 (Fermantasyon devam fazı)

Faz 4, Faz 3'ün devamı kabul edilir. Faz 4 süresince, sıcaklık sabit kalır ve ^{ho}LAB'leri SÇK'lardan laktik asit üretimine devam eder. Bu asit pH'nın düşürülmesi için en hızlı ve en güçlü asittir.

Laktik asit iyi kalitedeki bir silajda toplam yağ asitleri içinde % 60'dan fazlasını teşkil eder ve toplam kuru maddenin % 3-6 oranında olabilir. Laktik asit bakterileri (özellikle *Lactobacillus plantarum* türü) enterobakterlere karşı baskın yapıdadır ve asetat üreten bakteriler hızlı bir fermantasyon oluşturur, bu durumda da SÇK, peptitler ve aminoasitler daha fazla korunarak besin madde kayıpları azaltılmış olur. Eğer rasyonlar iyi bir şekilde dengelenirse, ruminantlar laktik asitleri enerji kaynağı olarak kullanırlar.

Silaj oluşumunda faz 2, 3 ve 4 fermantasyon için en uzun aşamalardır, bu süre pH'nın koruyucu düzeye ininceye kadardır, ancak asit ortam bütün mikroorganizmaları yok edecek düzeyde olmamalıdır. Herhangi bir katkı yapılmadan sadece epifitik mikroorganizmalarla yapılan silajlarda fermantasyon 10 – 21 gün arasında gerçekleşir. Bu zaman aralığını bitkinin olgunlaşma evresi, tamponlama kapasitesi ve kuru madde düzeyi etki eder. Yüksek kaliteli bir inokulant kullanılması fermantasyon süresini 3-10 gün (silo doldurulduktan sonra) azaltabilir (33, 36).

3.1.3.5. Faz 5 (Sabit faz)

Sabit faz olarak da adlandırılan bu dönem depolama süresince devam eder. Bu faz durağan değildir, çünkü bu aşamada çevre şartları, silaja hava girişi, hasat sırasında bitki üzerinde yer alan maya, küf ve aerop bakteri gibi mikroorganizmalar değişiklikler oluşturabilir. Bu dönem LAB aktif gelişiminin en yoğun olduğu ve LA üretiminin baskın olduğu fazdır.

Bu dönemde asit ortamına dirençli bir enzimatik reaksiyon ve çok az mikrobiyel aktivite görülebilir (51).

Hemiselüloz, selüloz ve ligninin kimyasal parçalanmaya uğramasıyla çok az miktarda ortama şeker bırakılır, ortamdaki SÇK ile birlikte LAB bu şekerleri kullanarak pH'nın düşüşünü hızlandırır (52). Ortamdaki yeterli LA, pH'nın azalması sayesinde silaj materyali uzun süre bozulmadan kalabilir, ancak ortamdaki LA miktardaki yetersizlik klostridia endosporlarının aktif hale gelmesini sağlayarak, mevcut bulunan SÇK, LA ve proteinlerin parçalanmasını (ikincil fermantasyon) bütirik, propiyonik, asetik asit ve amonyak oluşumunu sağlar. Bu durum silajda istenmeyen kötü bir koku, proteinlerin yıkımı nedeni ile silaj lezzetinin ve kalitesinin azalmasına pH'nın bir miktar artmasına neden olur (21, 53, 54).

Silajda istenmeyen mikroorganizmalardan bir diğeri de *Listeria monocytogenes* gibi patojenlerdir. Bu bakteri KM içeriği düşük olan silajlarda ve yüksek düzeyde oksijen girişine maruz silolarda büyük bir risk oluşturur (55, 56, 57).

3.1.3.6. Faz 6 (Açma ve yedirilme dönemi)

Hayvanlara yedirme amacıyla silonun açılması ile başlayan dönemdir. Açılan silodaki silaj materyali oksijen ile temasa girerek aerobik mikroorganizmalar fermantasyon ürünlerini başta LA ve AA'yi tüketerek silajda CO₂, H₂O ve ısı artışına sebep olur ve silajda KM ile besin madde kayıpları meydana gelir (52, 58, 59, 60, 61). Bu olay oksijene karşı dayanıksızlık (aerobik stabilite) olarak tanımlanmaktadır. Silajın açıldıktan sonra veya silaj örtüsünde daha önceden meydana gelen bir hasar, yemin serbest oksijen ile teması maya, küf ve mikotoksinlerin üremelerine yol açarak hayvan sağlığını ve ürünlerini olumsuz

yönde etkiler (62, 63, 64, 65). Ayrıca bu hayvanlardan elde edilen et ve süt gibi gıdalar da insan sağlığını tehdit eder (66).

Bakteri popülasyonu 10^7 - 10^8 kob/g, küf popülasyonu ise 10^6 - 10^7 kob/g miktarına ulaştığı zaman fermantasyon ürünleri mikroorganizmalar tarafından tüketilerek silajda ısı artışı olur (40). Silajlarda ortaya çıkan ısı $65\text{ }^{\circ}\text{C}$ geçtiği durumlarda kızışmaya, maya küf artışına ve protein hasarına neden olmaktadır (52, 54, 67, 68, 69). Silo içerisindeki sıcaklığın artması silajda amino asitler ile şekerler arasında kimyasal bir reaksiyon gerçekleşmesine, lignin kompleksi oluşmasına ve esmerleşme olarak adlandırılan Maillard reaksiyonuna neden olur (17, 37, 70, 71). Bu durum silajların kalite ve sindirim oranının azalmasına yol acar.

Gallagher ve ark. (72) yaptıkları çalışmada sıcaklık artışı ve süresi proteinlerin sindirimini doğrudan etkilediğini bildirmişlerdir. Tablo 2 incelendiğinde $43\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de % 69.7 olan HP sindirilebilirliği 30. günde % 65.4'e, aynı çalışmada sıcaklık değeri $71\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'ye çıktığında 30. gün sonunda bu değer % 30.1'e düşmüştür.

Tablo 2. Sindirilebilir Protein Oranının Sıcaklık İle Değişimi (72).

Sıcaklık süresi (Gün)	$43\text{ }^{\circ}\text{C}$ - ($110\text{ }^{\circ}\text{F}$)	$57\text{ }^{\circ}\text{C}$ - ($135\text{ }^{\circ}\text{F}$)	$71\text{ }^{\circ}\text{C}$ - ($160\text{ }^{\circ}\text{F}$)
0	69.7	69.7	69.7
3	68.7	65.4	60.2
9	68.4	64.4	50.0
18	65.2	58.6	35.8
30	65.4	49.0	30.1

3.1.4. Fermantasyon Dönemindeki Mikrobiyolojik ve Biyokimyasal Olaylar

Fermantasyon döneminin başında görülen SÇK'nın mikrobiyel ve enzimatik yolla parçalanmasıyla birlikte bitki suyu serbest hale geçer ve silo suyu çıkışı meydana gelir. Bu durum istenmeyen bir unsur olup silajda kuru madde kaybına yol açar (13). Fermantasyon başlangıcında polisakkaritler monosakkaritlere parçalanarak LAB'nin LA üretimi için gerekli olan şekerleri ortama verirler. LAB silaj kapandıktan 2 gün sonra hızla üreyerek LA ve birazda AA oluşumunu sağlayarak silaj pH'sını 6.5'dan 5.5 düzeyine inmesine neden olur (13, 37, 39, 73, 74).

Silajlarda bulunan LAB'leri şekerleri fermente ederken kullandıkları yola göre homofermentatif LAB ve heterofermentatif LAB olmak üzere ikiye ayrılır. Homofermentatif laktik asit bakterileri (^{ho}LAB) glikoz veya fruktoz gibi 6 karbonlu karbonhidratları kullanırken, heterofermentatif laktik asit bakterileri (^{he}LAB) glikoz veya fruktoz gibi 6 karbonlu şekerlerin yanısıra bunlara ek olarak 5 karbonlu pentozlar, arabinoz ve ksiloz gibi şekerleri, ayrıca laktik asitinde kullanırlar.

Homofermentatif laktik asit bakterileri son ürün olarak LA oluştururken, heterofermentatif laktik asit bakterileri LA yanında AA, etanol, mannitol ve karbondioksit üretirler (14).

Tablo 3. LAB Fermantasyon Reaksiyonları (22, 74, 75).

Fermantasyon tipi	Reaksiyon
Homofermantatif	1 Glikoz (6-C Şeker) → 2 Laktik asit (süt asiti) Fruktoz → 2 Laktik asit
Fakultatif heterofermantatif	Pentoz → Laktik asit + Asetik asit
Heterofermantatif	1 Glikoz (6-C Şeker) → 1 Laktik asit + 1 Asetik asit + CO ₂ 1 Glikoz (6-C Şeker) → 1 Laktik asit + 1 Etanol + CO ₂ 1 Laktik asit → 1 Asetik asit + CO ₂ 3 Fruktoz → 1 Laktik asit + 2 Mannitol + 1 Asetik asit + 1 CO ₂

Fermantasyon safhasında, farklı bakteri türleri farklı zamanlarda baskın duruma geçerler, bu ilişkiyi SÇK düzeyi, silo yeminin KM oranı ile bakteriler arasındaki yarış belirlemektedir. Başta enterobakter ailesinin üyeleri, klostridia sporları, mayalar-küfler ve listeria olmak üzere diğer mikroorganizmalar silaj fermantasyonu üzerinde olumsuz etkide bulunurlar (38).

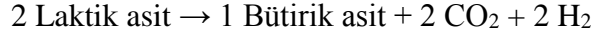
Bu mikroorganizmalar fermente olabilir karbonhidratları kullanarak bakterilerin türüne göre silajda istenmeyen maddeler üreterek silajın bozulmasına neden olurlar. Fakultatif anaerobik enterobakter grubu mikroorganizmalar normal olarak pH'nın 6-7 civarında olduğu ortamlarda etkili olurlarken, büyük bir bölümü ise pH'nın 4.5'in altında olduğu ortamlarda etkili olamazlar (14, 22, 33). Bu nedenle genellikle silolamanın yapıldığı ilk 12-36 saat içerisinde bitki bünyesinde yoğun bir enterobakter popülasyonu bulunur. Daha sonra fermantasyon döneminin ilk birkaç günü içerisinde pH'nın düşmeye başlaması ile birlikte sayıları hızla azalır ve herhangi bir sorun yaratmazlar.

Fakat pH'nın düşmesi yavaş ilerler ise enterobakterler ortama hakim olur ve LAB kullanacağı glikozu kullanarak ortama CO₂ ve H₂O verirken AA, etanol ve hidrojen salarak pH'nın düşmesini engellerler (14).



Enterobakter ailesindeki *Escherichia coli*, piruvatı laktik asit, asetil fosfat ve formik asite dönüştürür. Asetil fosfatın bir molekülü etanole indirgenirken diğeri de asetik asite çevrilir. Enterobakter ailesinden olan bazı türler de piruvatı, asetoin ve 2,3-butanediol'e indirgerler. Enterobakterler ayrıca fermentasyon sırasında toksik olarak biyojenik aminler oluştururlar. Bunun yanısıra enterobakteriler silajlardaki nitratı (NO₃) nitrite (NO₂) indirgerler bu biyokimyasal reaksiyon gerçekleşirken ortamda oluşan nitrit oksid (NO) ve nitrit, klostridyaların inhibisyonunda çok etkilidir (34). Silaj fermantasyonun başlangıcında etkin olan bu türlerin en uygun gelişim gösterdikleri pH değeri yaklaşık 7.0 sıcaklık ise 27-35 °C'dir (13, 14, 21, 22, 48).

Anaerobik klostridia'lar silaj materyalinin çok sulu olması, SÇK'nın düşük olması, siloda aşırı ısı artışı (37 - 50 °C'de gelişim gösterebilir), protein / şeker oranının dengesiz olması, yüksek pH durumlarında ve silolanan bitkinin yüksek tampon kapasitesine sahip olduğu durumlarda, klostridia bakterileri ortamda baskın hale geçerler (37). Bunun sonucunda silaj fermantasyonu klostridial fermantasyona doğru kayar. LAB etkinliği sonucu oluşan ilk fermantasyonu izleyen ve klostridia mikroorganizmalarının neden olduğu bu fermantasyon 'ikincil fermentasyon' veya 'Klostridial fermantasyon' olarak adlandırılır (54).



Bu fermentasyon sonucu oluşan asıl ürün tereyağı (bütirik) asitidir. Bunun yanında asetik asit, karbondioksit, hidrojen ve bir miktar da aseton ve bütüilalkol oluşur (14, 48, 75).

Klostridia'lar, sakkarolitik ve proteolitik klostridia olmak üzere başlıca iki gruba ayrılabilir. Sakkarolitik klostridia bitki bünyesindeki LA parçalarken, proteolitik klostridia ise proteinleri fermente ederek onları amidlere ve amonyağa kadar parçalayarak silajda kötü kokuya neden olan ürünler oluştururlar. Oluşan amonyak silaj pH'sını nötr durumuna getirir, fermentasyon sonucu oluşan bütirik asit fazla olduğu için pH yüksek olur (13, 14, 38). Klostridia sporlarının gelişim gösterdikleri en uygun pH değeri 7 - 7.4'dür ve asit ortamlara toleranslı değildirler (14).

Tablo 4. Silajda Klostridiaların Sakkarolitik ve Proteolitik Etkinlikleri (14, 22).

Sakkarolitik	Glikoz	→ Bütirik asit + 2 CO ₂ + 2 H ₂
	2 Laktik asit	→ Bütirik asit + 2 CO ₂ + 2 H ₂
Proteolitik	Deaminasyon	
	Glutamik asit	→ Asetik asit + Pruvik asit + NH ₃
	Lizin	→ Asetik asit + Bütirik asit + 2NH ₃
	Dekarboksilasyon	
	Arjinin	→ Putresin + CO ₂
	Glutamik asit	→ γ -amino Bütirik asit + CO ₂
	Histidin	→ Histamin + CO ₂
	Lisin	→ Kadaverin + CO ₂
	İndirgenme / Yükseltgenme	
	Alanin + 2 Glisin	→ 3 Asetik asit + 3NH ₃ + CO ₂

Klostridialar oluşturdukları kokuşma ve amonyak ile hayvanlarda KM tüketimini azaltmaktadır. Bunun yanısıra silajlarda bulunan *C. botulinum* ve *C. Perfringens* hayvanlarda önemli botilimus ve toksemi gibi hastalıklara neden olmaktadır (76).

Yüksek pH silajlarda klostridial fermantasyonu yanı sıra mayaların gelişimine katkı sağlar. Mayalar aynı zamanda LA'leri enerji kaynağı olarak kullanırlar ve pH'nın yükselmesine neden olurlar. Mayaların etkinlikleri aerobik fazda başlar, eğer O₂'li ortam ve yem materyalinde su yüksek ise bu etki daha fazladır ve fermantasyonun son dönemi olan yedirme dönemine kadar etkisi devam eder. Maya ve küfler fakultatif anaerobik ökaryot bir yapıya sahip olup, pH 3 - 8 ve 0-40 °C 'de gelişim gösterebilirler. Ayrıca mayalar organik asitleri fermantasyonun ilerleyen zamanında anaerobik ortamda LA, AA PA, malik asit, süksinik asit, sitrik asiti metabolize ederek oksijenasyonu yeniden başlatır ve ortama CO₂ ve H₂O verir (14).



Normal şartlar altında mayalar 1 birim glikozdan 2 birim etanol ve CO₂ açığa çıkarırlar. Ortama çıkan alkol silajın tat ve kokusunda olumlu bir etki yapmış olsada silajda kabarma ve dolayısıyla hacimde artış görülür (14). Mayalar LAB ile glikozlar için rekabete girmesi ve oksijene dayanıklılığı olumsuz etkilemesi sebebi ile silaj içerisinde istenmez (21, 77). Aerobik bozulmada önemli rol oynayan mayaları fermantasyon substratına göre (candida, endomycopsis, hansenula ve pichia) asitleri parçalayanlar ve (torulopsis, saccharomyces) şekerleri kullananlar olarak ikiye ayrılabilir. Maya ve küfler (fusarium, aspergillus, mucor, penicillium ve monilla) silajlarda metabolizasyonu sonucu çeşitli toksinler (mikotoksin, alfa toksin) ortama salarak, silajlarda bozulmanın yanısıra hayvan sağlığını bozulmasına ve yem tüketiminin azalmasına yol açabilirler (14, 21, 48, 77).

3.1.5. Oksijene Dayanıklılık (Aerobik stabilite)

Silaj materyalinin hava ile teması sonrasında ısınmadan ve bozulmadan kaldığı sürenin uzunluğuna oksijene dayanıklılık (aerobik stabilite) denir (78). Silajın bozulmasına giden olaylar dizisi; yem materyalinin doğal florasının yüksek oranda maya içermesi, yemleme döneminde silajların serbest oksijene maruz kalması, mayaların serbest oksijeni tüketmesi ve daha sonra fermantasyon ürünlerinin oluşması için ortam hazırlanmasıdır. Bunun sonucunda mayaların tekrar üremeye başlaması, LA'nın mayalar tarafından kullanılması, KM kaybı, ısı artışı, diğer uçucu yağ asitlerinin oluşumu, LA oranının azalmasına bağlı pH'nın yükselmesi ve küflerin üremeye başlaması ile sonuçlanır.

Bunu takiben silajın lezzet ve aromasındaki azalma ile sindirilebilirliğinin düşmesi sonucu silajda bozulma şeklinde tanımlanmıştır (60, 78). Silajlar açıldıktan sonraki yedirme döneminde 10 kob/g 'den daha az olan maya sayıları kısa sürede 10^{12} kob/g kadar çıkabilmektedir. Bu şekilde maya sayısının hızla artmış olduğu silajlara oksijene dayanıksız silajlar denir (14).

Silajda bozulmaya neden olan mayalar, Cryptococcus, Rhadotorala ve Sporabolomyces olan fermente olmayan türlerdir; Sacchromyces şekeri fermente edebilir ama en zararlı türler laktik asidi metabolize eden Candida ve Hansenula türleridir (60).

Silajdaki bu olumsuzlukları önlemek ve hayvanların kaliteli silajları tüketmesi ile sağlıklarının korunması ve hayvansal ürünlerin insan sağlığına olan zararlı etkilerini önlemek amacıyla silajlara çeşitli katkı maddeleri katılır. Bu katkıların başında LAB' i içeren inokulantlar, enzimler ve kimyasal katkıları gelir.

3.2. Silaj Katkı Maddeleri

Silaj yapmak çok basit gibi görünse de oldukça karmaşık ve uzmanlık isteyen bir konudur. Silajlık yem bitkisinin seçimi, hasat edilmesi, siloya doldurulması, sıkıştırılıp üzerinin örtülmesi ile her faktörün uygun olduğu durumlarda bile sorun çıkmayacağına garanti yoktur. Çünkü kabayemin doğal mikrobiyel içeriği, çevre sıcaklığı, kullanılan ekipmanlar gibi direkt veya dolaylı birçok faktör kaliteyi etkileyebilir. Bu şartlar altında elde edilen silajın besinsel değerlerinin iyi korunması ve hayvanlar tarafından sevilerek tüketilmesi işletme için önemlidir.

Bu şartların sağlanamaması durumunda silajlarda önemli düzeyde besin madde kaybı, bütirik asit oluşumuna neden olan kötü fermantasyon, küflenme gibi istenmeyen mikroorganizma üremesi görülebilir. Araştırmacılar bu tip riskleri azaltmak ve kaliteli bir fermantasyonu güvence altına almak için çeşitli silaj katkı maddeleri üzerinde çalışmaktadırlar (15).

Mısır, sorgum, buğday ve yonca gibi silajlara inokulantların kullanılması fermantasyon özelliklerini artırdığı bilinmektedir. Ancak kaba yemlerin konservasyon tekniklerinin hiçbirisi yemleri doğal haliyle koruyamaz, depolama sonunda mutlaka kalite ve miktar bakımından kayıplar oluşur (19).

Bu nedenle kaba yemlerin konservasyonunda öncelikle bozulmayı ve KM kayıplarını önlemek, dolayısıyla süt verimi için sınırlayıcı faktör olan enerji içeriğini korumak olmalıdır. Bu nedenle silaj katkıları;

- Silajdaki fermantasyonu olumlu etkilemeli (istenmeyen fermantasyonu önlemeli).
- Silaj açıldıktan sonra bozulmaya karşı korumalıdır.

Bu etkileri sağlamak için, üreticiler üç farklı ürünü ayrı ayrı veya birlikte kullanırlar. Bunlar;

- Asitler
- Bunların tuzları veya solüsyonları
- Biyolojik silaj inokulantları

Bunlara ilave olarak kullanım olanakları sınırlı olsa da melas ve enzimler de kullanılmaktadır. Kaba yemlerin KM düzeyi beklenenin dışında olduğunda, silaj pH değerini ani olarak düşürmek için asitler ve bunların tuzları kullanılır.

Eğer silaj materyali düşük KM değerine sahipse bu katkılar klostridia gelişimini engellerler. Yüksek kuru maddeye sahip silajlarda ise yem iyi sıkıştırılmayacağından, silo içinde anaerobik koşulların oluşumunu engelleyen hava kalır (19).

Biyolojik silaj inokulantları yaygın olarak kullanılmaktadır. Çünkü,

- Fermantasyonu hızlandırdığı ve aerobik kararlılığı artırdığı kanıtlanmıştır
- Katkı yapılmayanlara göre KM ve enerji kayıpları azalmaktadır.
- Kullanımı kolay ve güvenlidir.
- Asitlere göre daha ucuzdur.

Doğru biyolojik silaj katkı maddelerini seçmek için, örnek olarak silolanacak yem materyali gibi bazı ön koşulların bilinmesi gerekir (19).

DLG (Deutsche Landwirtschafts Gesellschaft)'ye göre bitkilerin silolanabilme yeteneği için üç önemli noktaya göre fermantasyon katsayısı (FK) hesaplanır (15, 48).

$FK = KM + 8 \times (\text{şeker miktarı/tamponlama kapasitesi})$.

Aşağıdaki değerler fermantasyon katsayısını yorumlamak için kullanılır.

- Kötü silolanabilme ($FK < 35$)
- Orta düzeyde silolanabilme ($35 < FK < 45$).
- İyi silolanabilme ($FK > 45$).

Fermantasyon katsayısına göre kötü silolanabilir kaba yemlere ^{ho}LAB katılmalı, çünkü ^{ho}LAB bakterileri hızla LA üretir ve hızla pH aşağı iner.

Silajda kullanılan katkı maddeleri stimulanlar ve inhibitörler olmak üzere iki ana başlık altında toplanır. İnhibitörlerin büyük bir bölümünü endüstriyel asitler oluşturur. Bu asitler içerisinde formik asit en güçlü olanıdır. Stimulanlar ise bakteriyel inokulantlar, enzimler, substrat ve besinsel kaynaklılar olarak kendi içerisinde sınıflandırılabilir (52).

3.2.1. Fermantasyon İnhibitörleri

3.2.1.1. Asitler ve Diğerleri

Organik asitler molekül yapılarında karboksil grubu (— COOH) içeren bileşiklerdir. Karboksil grubu bir tane ise monokarboksilli asitler, birden fazla ise polikarboksilli asitler olarak adlandırılırlar (79). Formik, asetik, propiyonik, bütirik, fumarik, sorbik, sitrik ve malik asit gibi asitler ve bunların tuzları başlıca organik asitlerdir.

Organik asitler doğada saf olarak bulunabildikleri gibi biyokimyasal tepkimeler ile de elde edilebilirler. Ayrıca bitki veya hayvan bünyesinde doğal olarak da bulunabilirler. Organizmada metabolize olduktan sonra CO_2 ve H_2O açığa çıkar (79, 80).

Organik asitlerin zararsız şekilde metabolize oluşu canlılar için herhangi bir sağlık sorunu oluşturmaması nedeniyle günümüzde yem ve yem hammaddelerindeki mikotoksin üremesini önlemek, depolanma sürelerini uzatmak, silajlardaki aerobik bozulma süresini uzatmak, hayvanların sindirim sisteminde antibakteriyel etki göstermek, hayvanlarda büyümeyi uyarmak amacıyla hayvan beslemede geniş bir kullanım alanı bulmuştur (80).

Çeşitli kimyasal katkı maddeleri özellikle propiyonik asit anti fungal özelliklerinden yararlanarak oksijene dayanıklılığı iyileştirdiği bildirilmiştir (22, 78). Yüksek KM'ye sahip silajlarda fermentasyon kalitesinin düşük olmasına bağlı oluşacak bozulmaları önlemek amacıyla propiyonik asidin silajlara katılması önerilmektedir (81).

3.2.1.1.1. Tamponlanmış Propiyonik Asit Bazlı Katkı Maddeleri

Kısa zincirli yağ asitleri içinde yer alan propiyonik asitler güçlü antimikotik etkiye sahiptir. Propiyonik asit aerobik bozulmaya neden olan maya ve küf oluşumunu önleyerek silajları korur. Propiyonik asidin antimikotik etkisi pH'da meydana getirdiği düşüşler ile olur ve düşük pH'lı mısır silajını aerobik bozulmaya karşı korur. Geçmişte, silajlara büyük miktarlarda katılan (% 1-2) propiyonik asidin aerobik kararlılığı artırdığı tespit edilmiştir. Fakat yüksek oranda asit kullanımı fermantasyonu olumsuz etkilemektedir. Propiyonik asit yüksek oranda tahriş edici olduğundan elle kullanımı zordur. Bu durumda, asit tuzları, kalsiyum, sodyum ve amonyum propiyonat yaygın olarak kullanılan ticari ürünlerdir. Propiyonik asit ve bunların tuzları suda çözündükleri için oldukça etkilidirler. Asit ve bazın aralarındaki bağın çok güçlü olmasından dolayı az çözünür bir ürün mantar oluşumunu engellemede daha az etkilidir. Bu tuzlar arasında amonyum propiyonat suda çok çözünür (% 90), bunu sodyum propiyonat takip eder (% 25) ve kalsiyum propiyonat ise en az (% 5) çözünür (19). Tamponlu propiyonik asit içeren en güçlü katkı maddeleri ve diğer antifungal bileşenler (örnek: sitrik asit, benzoik asit ve sorbik asit) düşük oranlarda uygulanması önerilir (900-1800 gram/ ton yaş yem).

Bu düşük oranlarda yapılan uygulama genellikle fermantasyonu etkilemez ancak aerobik bozulmaya neden olan mayaların sayılarını azaltarak aerobik kararlılığı geliştirir, bunun yanısıra silajlardaki sıcaklık artışını önleyerek fermantasyona yardımcı olur (82).

Bununla birlikte LA, silajlarda pH değerini hızla düşürmesine rağmen mayalar içinde enerji kaynağıdır. Bu nedenle laktik asidin tek başına oksijene dayanıklılık üzerine çok az bir etkisi vardır (83). Ayrıca sorbat, benzoat ve asetik asidin maya ve küfler üzerinde baskılayıcı etkisinin olduğu, fakat pahalı bir katkı maddesi olduklarından pratikte kullanım alanları sınırlıdır. Aerobik stabiliteyi korumak için kullanılan bir başka kimyasal ise amonyaktır. Amonyak kullanıcıda göz yanmaları ve solunum yetersizliği gibi sorunlar oluşturduğundan bunun yerine genelde üre tercih edilir. Fakat silajlarda üre kullanılması silaj kalitesini ve rumende besin madde sindirimini azalttığını göz ardı etmemek gerekir (78).

Filya ve Sucu (84). buğday, sorgum ve mısır silajlarına *L plantarum*, *L. Buchneri*, *P acidipropionici* ve formik asit + propiyonik (FAP) asit bazlı karışımı ilave ederek inokulantların ve kimyasal koruyucuların silajların fermantasyon özelliklerine ve oksijene dayanıklılığı üzerine etkileri araştırılmıştır. Çalışmanın 90. gününde yapılan analizlerde pH'nın tüm ürün gruplarında düşük olduğu en düşük pH değerinin FAB grubunda bulunduğu ifade edilmiştir (P< 0.05). Yapılan silaj çeşitlerinde maya ve küf üremesi en az FAB içerikli grupta tespit edilmiştir.

Kung ve ark. (85) KM'si düşük silajlarda tamponlanmış propiyonik asit ve *L plantarum*+ *L. bulgaricus* + *L. acidophilus* inokulant karışımını kullanarak yapmış olduğu çalışmada; inokulant karışımın yalnız başına silajlarda kullanılmasının KM kaybını azaltmadığı, fermantasyon ve ürünleirini

etkilemediği aynı zamanda oksijene karşı dayanıklılığı etkilemediği bildirilirken, % 0.1 – 0.2 oranında tamponlanmış propiyonik asitle birlikte kullanılması durumunda oksijene karşı dayanıklılığın arttığı ve fermantasyon öğelerini düzeltebileceği bildirilmiştir. Bunun yanısıra Kung (82) başka bir çalışmasında propiyonik asit karışımının tek başına kullanımı fermantasyonu etkilemediğini bildirilmiştir.

Queiroz ve ark. (86) yapmış oldukları çalışmada, mısır hasılına *L. Buchneri*, *Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus pentosaceus* *P. pentosaceus* ve *Enterococcus faecium*, sodyum benzoat % 0.1 ticari asit karışımı, *Acetobacter pasteurianus* suşu ve *Gluconobacter oxydans* suşu olmak üzere 8 farklı katkı maddesini kullanmışlardır. Araştırmacılar mısır silajlarını 3 ve 120. günlerde açarak, fermantasyon kalitesi, KM kaybı, oksijene dayanıklılık ve besin maddelerinin sindirimi üzerine etkilerini tespit etmişlerdir. Silajların 3. Gün açımında tüm silajların pH değeri 4'ün altında iken, % 0.1 sodyum benzoat grubunda diğer gruplara göre etanol değeri en az ölçülmüştür. Araştırmanın sonunda KM sindirimi bakımından gruplar arasında farklılık gözükmezken, sodyum benzoat katılan grupta BA, protein yıkımı ve maya üremesi hiç gözükmezken amonyak konsantrasyonu ise çok az bulunmuştur. Araştırmacılar mısır hasılı *L.buchneri* katılan gruplarda oksijene dayanıklılığın % 64, sodyum benzoat katılan grupta ise % 35 oranında arttığını, diğer katkı maddelerinin ise kontrol grubuna göre benzer olduğunu bildirmişlerdir.

Nowak (87) çayır otları ile yapılan balya silajlarında formik asit (4 L / t) ve inokulant (*L. plantarum* ve *Enterococcus faecium*, 10^5 düzeyinde) (30 L / t) kullanarak hazırladıkları silajlarda; silaj kalitesi, protein ve hücre duvarı

unsularının ruminal ve bağırsaklarda sindirilebilirliğini araştırmışlardır. Araştırma sonunda silajlara formik asit ilavesi amonyak-N ve LA miktarını azaltırken, AA ve SÇK'yı artırdığını, kullanılan her iki katkı maddesinin protein ve hücre duvarı unsularının ruminal ve intestinal sindirilebilirliği üzerine etkisinin olmadığını ifade etmişlerdir.

Baytok ve ark. (88) mısır silajlarına melas, formik asit ve inokulant katarak silaj kalitesini belirlemek ve koyunlarda rumen fermantasyonuna etkilerini incelemek amacıyla yaptıkları çalışmada; kontrol, formik asit, melas ve inokulant katkılı silajlar rumen kanülü 1.5 yaşındaki Kıvırcık x Morkaraman koyunlara takılarak çalışmayı dizayn etmişlerdir. Melas katkılı silajlarda KM ve HP içerikleri diğer gruplara göre yeksek bulunurken ($P<0.05$). muameleler arasında silaj pH'sı bakımından farklılık bulunamadığı, LA düzeyinin, enzim ve melas katkılı gruplarda diğer gruplara göre daha yüksek olduğunu ($P<0.05$) bildirmişlerdir. AA düzeyinin en yüksek asit katkılı, en düşük ise melas katkılı grupta belirlendiğini ($P < 0.05$), silajları tüketen tokluların yemleme öncesi ve sonrası rumen sıvısı organik asit miktarlarında katkılı silajlar lehinde farklılık gözlenirken ($P<0.05$), muameleler arasında propiyonik asit bakımından farklılığa rastlanmadığını bildirmişlerdir.

Çoşkuntuna ve ark. (89) fermantasyon artığı tanelere ticari organik asit kompleksini (% 60 formik asit, % 20 sodyum format ve % 20 su) katarak yaptıkları silajlarda maya, küf ve bakteri üremelerinin azaldığını bunun yanısıra 37°C 'de oksijene karşı dayanıklılığın olumlu yönde etkilendiğini bildirmişlerdir.

Başka bir çalışmada ise Filya ve ark. (90), hamur döneminde biçilen mısır hasılından yapılan silajlara 2, 3 ve 4 g /kg düzeyinde katılan formik asit temeline dayalı koruyucu özellikteki bir katkı maddesi (FAT) ve kontrol grubundan oluşan gruplar göre pH değerleri, LAB sayıları ile birlikte maya, küf, enterobacteria ve klostridia sayıları FAT katılan gruplarda önemli düzeyde düşük bulunmuştur ($P < 0.05$). Ayrıca formik asit mısır silajlarının oksijene dayanıklılığını geliştirirken, *in situ* rumen kuru madde ve organik maddele parçalanabilirliğini de artırmıştır (90, 91).

3.2.2. Stimülanlar

3.2.2.1. Enzimler

Silajlara daha çok amilaz ve selüloz enzimleri katılarak silaj kalitesine etkileri incelenmektedir. Bu enzimlerin silaja katılmasının temel amacı bitki hücre duvarında bulunan selüloz ve benzeri polisakkaritlerin parçalanmasını sağlayarak silajın NDF ve ADF içeriğinin azaltılması, böylece silajın organik maddelerinin sindirilme derecesinin artırılmasıdır. Aynı zamanda fermentasyonu hızlandırarak laktik asit oluşumuna katkı sağlayarak LAB için ilave enerji kaynağı sağlamaktadırlar. Enzimler asit üretimini teşvik ederek silajda iyi bir fermantasyon sağlamanın yanında pH ve amonyak-N oranının düşmesine yardımcı olurlar (92, 93). Ancak silajlara hem laktik asit bakterileri, hem de enzim katılması ekonomik olarak maliyeti artıran bir faktördür.

Enzimler protein yapısındadır ve çeşitli reaksiyonları katalize ederler. Enzimler başlangıçta selülozu parçalamak ve SÇK'ta çevirerek laktik asit bakterileri tarafından kullanılabilmesi için silajlara katıldı. Çünkü bu bakteriler selülozu kullanarak enerjiye çeviremezler ve de laktik asit üretemezler.

Bu nedenle, silajlardaki selülozun aşırı azalmasını sağlayacak şekilde planlanmamıştır. Selülaz (selülozu parçalayan) ve hemiselülaz (hemiselülozu parçalayan) enzim kompleksleri mikrobiyal inokulantlar ile birlikte karıştırılarak yaygın olarak kullanılır (94). Çok az sayıda da olsa sadece enzim içeren silaj katkı maddeleri de vardır. Bu nedenle enzimlerin silaj fermantasyonu ve hayvanların performansı üzerine etkilerini belirlemek oldukça zordur. Genel olarak, silajlara enzim katılarak yapılan araştırma sayısı mikrobiyal inokulant katılan çalışmalara göre çok az sayıdadır. Bu sebeptendir ki enzim katkılı silajların hayvanların performansları üzerine etkileri çok az çalışmada belirtilmiştir. 1990-95 yılları arasında yapılan çalışmalarda, enzim ile muamele edilmiş silajların yem tüketimi üzerine % 21 (n=29), canlı ağırlık artışına % 40 (n=10), süt verimi üzerine % 33 (n=12), yemden yararlanma üzerine olumlu etki yapan % 27 (n=11) araştırma sonucu olduğunu rapor etmişlerdir, günlük süt veriminin ortalama 907 gram arttığını bildirilmiş. Enzim katkılı silajların KM sindirimi üzerine olumlu etki yaptığını bildiren araştırma bulguları sadece % 9 (n=78) olarak tespit edilmiştir (93).

Enzimler, silaj materyaline tek başlarına veya birden fazla enzim içeren karışımlar halinde ya da enzim bakteriyel inokulant karışımı halinde kullanılırlar (93).

Enzimler silajda solunum olayının gerçekleşmesi, proteolizisin azaltılması, KM kayıplarının düşmesi, silaj sindirebilirliğinin artması ve silajın besinsel değeri ve oluşan metabolitler üzerinde önemli bir etkiye sahiptir (50).

Sheperd ve Kung (95) mısır silajına selüloz ve hemisellulaz enzim katarak yapıtıkları çalışmada; enzim katkısının silaj fermantasyonunu çok az etkilediğini ve selüloz düzeyini azalttığını, silajlara enzim ilavesinin süt ineklerinde KM tüketimi, süt verimi ve süt kompozisyonu üzerine etkisinin olmadığını bildirmişlerdir.

Polat ve ark. (96), mısır silajı ile yaptıkları çalışmada, katkı maddesi olarak kullanılan LAB (*L. plantarum* ve *Enterococcus faecium* içeren -Pioneer 1174- Pioneer International, Iowa, U.S.A.) ve LAB+enzim karışımı (*L. plantarum* ve *Pediococcus acidilactici* ile birlikte amilaz içeren -Maize-All Alltech, UK) inokuantların, silajlarının fermantasyon, aerobik stabilite, hücre duvarı içeriği ve toklularda ham besin maddelerinin sindirilme dereceleri üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Altmış günlük fermentasyon sonunda açılan silajlarda LAB+enzim karışımı inokuantların kullanıldığı grupta daha düşük pH, daha yüksek ham protein ile SÇK değerleri tespit edilmiştir. Silajların laktik asit içeriklerine bakıldığında ise en yüksek LA düzeyi LAB katılan grupta tespit edilmiştir (P<0.01). Silajların sindirim denemesinde ise; hayvan materyali olarak ortalama 12 aylık yaşta 3 baş Türkgeldi toklusundan yararlanılmıştır.

Araştırmada kullanılan LAB ve LAB+E karışımı inokulantlar fermantasyonu geliştirerek, silajların kimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerini olumlu yönde etkilemişlerdir. Araştırmacılar, bu duruma mısırın silaj fermantasyonu açısından yeterli düzeyde SÇK içermesinin etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Diğer yandan LAB+E karışımı inokulantlar silajların NDF ve ADF içeriklerini azaltmıştır. Mısırın silolanması sırasında kullanılan LAB ve LAB+E karışımı inokulantlar, mısır silajlarının fermentasyon özellikleri ile in vivo HS sindirilebilirliğini artırırken, KM, OM, HP, HY ve NÖM'ün sindirilme derecelerinin gruplar arasındaki farklılıkların istatistiki olarak önemli olmadığı tespit edilmiştir ($P>0.05$). Yapılan bu çalışmada mısır silajına LAB veya LAB+E katılması aerobik bozulmayı hızlandırdığı şeklinde değerlendirilmiştir.

Koç ve ark. (97). Mısır silajlarına *L.plantarum*, *Pediococcus acidilactici* ve amilaz enzimi katarak yaptıkları çalışmada LAB ve enzim karışımının silaj fermentasyonunu artırdığını, fakat HS ve oksijene dayanıklılığı azalttığını bildirmişlerdir. Benzer bir çalışmada ise hücre duvarını parçalayıcı enzimlerin silaja katılması durumunda fermentasyon özelliklerini geliştirdiği, hücre duvarı unsurlarını azalttığı, aerobik stabiliteyi ise etkilemediği saptanmıştır (98).

Young ve ark. (99) mısır silajı ile yaptıkları çalışmada katkı maddesi olarak proteaz enzimi kullanmışlardır. Fermentasyonun 45 ve 150. günlerinde açılan silajlarda pH, HP, NDF, ADF ve nişasta düzeyleri bakımından gruplar arası farklılık görülmemiştir. Söz konusu çalışmada yapılan sindirim denemesinde silajlara proteaz enzimi ilavesi nişastanın sindirimini önemli düzeyde artırmıştır ($P<0.05$).

Filya (100) Mısır silajına *Pediococcus acidilactici*, *Lactobacillus plantarum* ve *Enterococcus faecium* içeren ticari bir inokulant ile, *Pediococcus acidilactici*, *Lactobacillus plantarum* ve *Streptococcus faecium* ile birlikte selülaz, hemiselülaz, pentozanaz ve amilaz içeren başka bir firmanın ürününün katarak yaptıkları çalışmada, silajlara inokulant katmanın LA oranını artırdığını, buna

bağlı olarak pH değerini düşürdüğünü ve fermantasyon kalitesini artırdığını ifade etmiştir.

Ayrıca enzim içeren ticari ürünün katıldığı grupta hücre duvarı unsurlarının parçalanarak LAB için ayrı bir enerji kaynağı oluşturduğunu ifade etmiştir. Mısır silajlarında kullanılan inokulantlar in situ rumen kuru madde ve organik madde parçalanabilirliklerini artırmış, ancak oksijene karşı dayanıklılıklarını düşürmüştür.

3.2.2.2. Bakteriyel İnokulantlar

Silolanacak materyallerden kaliteli bir silaj elde edilmesi için en önemli faktör iyi bir fermantasyondur. Fermantasyonun kontrollü bir şekilde gerçekleşmesi için ise inokulantlar kullanılmaktadır. İnokulantlar içerisinde en fazla tercih edileni ise laktik asit bakterileridir (6, 18, 19).

Laktik asit bakterileri; SÇK'yı hızlı bir şekilde kullanarak LA üretimini artırır bunun sonucunda ortam pH' sı, asetik, bütrik asit, amonyak azotu (NH₃-N) ile etanol konsantrasyonlarını düşürür (13, 14, 15, 21, 22).

Bunun yanı sıra laktik /asetik asit oranını artırarak, yüksek düzeyde enerji içeren, KM kayıplarını azaltan, LAB'nin metabolizma ürünlerinden olan çeşitli organik asitler ile diasetil, asetoin, hidrojen peroksit, karbondioksit, reuterin, antifungal peptitler ve bakteriyosinler gibi çok çeşitli antimikrobiyel bileşikler üretilmesine ortam hazırlarlar. Bu metabolitler *Listeria*, *Basilus*, *Klostrida*, *Staphylococcus* gibi patojenik mikroorganizmaların üremesini etkin şekilde engellemekte ve bu şekilde yemlerin raf ömrünün uzamasını sağlarlar (6, 18, 76, 101, 102).

3.3. Laktik Asit Bakterilerinin Sınıflandırılmasının Tarihsel Gelişimi

Laktik asit bakterisi, süt ekşitici organizma terimi ile aynı anlamda uzun yıllar kullanılmıştır (103). Fakat aynı zamanda tahılların fermantasyonunda rol aldığı biliniyordu (104). Laktik asit bakterisi ile ilgili ilk çalışmalar L. Pasteur tarafından 1857 ve 1863 yılları arasında yapılmış ve gıda fermantasyonundaki rolü 1857 yılında bulunmuştur.

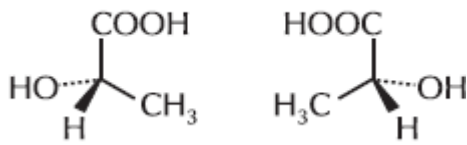
1873 yılında Joseph Lister sütte yapmış olduğu çalışmalarda ilk saf bakteri kültürü olan *bacterium lactisi* bulmuştur (105). LAB'ın ilk sınıflandırmasını ve tanımını Orla Jensen yapmıştır. Yaptığı çalışmada *bacterium lactisi*; *streptococcus lactis* olarak adlandırmış, günümüzde ise *Lactococcus lactis* olarak bilinmektedir, Yapılan çalışmaya göre gerçek laktik asit bakterileri; gram pozitif, hareketsiz, sporsuz, çubuk veya kok şeklinde, karbonhidratları ve yüksek alkollerini fermente ederek laktik asit oluşturan doğal bir grup olarak tanımlanmıştır (94). Ayrıca glikozu fermente etmesine (homo- veya heterofermentasyon) optimal üreme sıcaklık (10 ve 45°C) özelliklerine dayanarak bir klasifikasyon şeması oluşturmuştur.

LAB biyokimyasal ve filogenetik olarak birbirine yakın olan “*Carnobacterium*, *Alloiococcus*, *Dolosigranulum*, *Enterococcus* (Ent.), *Globicatella*, *Aerococcus*, *Lactosphaera*, *Oenococcus*, *Lactobacillus* (Lb.), *Lactococcus* (Lc.), *Leuconostoc* (Leu.), *Pediococcus* (Pe.), *Streptococcus* (Str.), *Tetragenococcus*, *Vagococcus*, *Weissella* ve *Bifidobacterium*.” cinsleri yer almaktadır (103, 106, 107, 108). Bu bakteriler, fermantasyon özelliklerine göre hetero ve hemo fermantatif olarak ayrılırken *Lactobacillus* cinsi için üçüncü bir grup olarak fakültatif bir grup oluşturur (103).

LAB, fermantasyon özelliklerinin yanısıra morfolojik ve taksonomik yapılarına, laktik asit üretim cinsi , % Guanin (G) + Sitozin (C) oranı, DNA dizisi gibi kriterlere bağlı olarak, tuz asit ve alkali toleranslarına, fermantasyon özellikleri ve moleküler yöntemlere göre vb gibi özelliklerinden yararlanılarak sınıflandırılmaktadır (103, 108,109). *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* ve *Streptococcus* diye 4 cinse ayırmıştır (105, 110).

Laktik asit bakterileri glikoz fermantasyonu sonucu üretmiş oldukları laktik asidin izomer (stereoisomeric form) yapılarına göre de sınıflandırılabilir (111, 112). Fermantasyonu sonucu ortaya çıkan laktik asidin optik ışığı çevirme yönüne göre D(-) (Dextrorotary, ışığı sola çevirenler), L (+) (Levorotary, ışığı sağa çevirenler) ve DL (optik olarak in aktiftir, racemic her ikisini birden yapabilenler) olarak adlandırılmaktadır.

D (-) ve L (+) formu 2. karbon atomundaki hidroksil grubunun biçimsel olarak dizilimi ile ilgilidir ve hidroksil grubu sağda ise D (-), solda ise L(+) laktik asit olarak tanınmaktadır (113, 114, 115, 116).



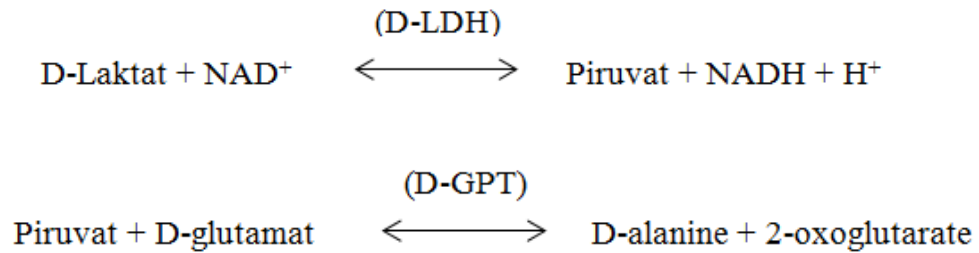
Şekil 1. Laktik Asitlerinin Moleküler Yapısı. – L (Levorotary, ışığı sağa çevirenler) ve D (Dextrorotary, ışığı sola çevirenler).

L (+) laktik asit; bitki ve hayvan hücrelerince glikolizis sonucu (anaerobik faz) fermantasyon ürünü olarak laktat dehidrojenaz enzimi (LDH) aracılığıyla purivattan oluşan bir üründür.

Bu biyokimyasal tepkime çift yönlü oluşmaktadır ve bir kısmı enerji kaynağı olarak kullanılır. Ortama CO₂ ve H₂O verilir. Bir kısmı da glikojenez olayında glikojen yapımında tekrar kullanılır.

Bu nedenle L (+) laktik asit fizyolojik laktik asit olarak tanımlanmaktadır. Buna karşın D (-) laktik asit ise; organizmada çok yavaş parçalanmaktadır. D (-) laktik asitin oluşması için iki tane enzime ihtiyaç vardır. İlk önce D Laktat, Laktat dehidrogenaz (D-LDH) varlığında, nikotinamid adenin dinükleotid aracılığı (NAD) ile piruvata okside olur. Piruvik asit laktat dehidrogenaz enziminin katalizör etkisi altında NADH + H'dan 2 H alarak laktik asite dönüşür (113, 117).

Homofermentatif LAB çoğu D-LDH ve L-LDH enzimini içererek NAD'ın kullanımını sağlanarak D-LA veya L-LA oluştururlar. Fakat bazı homofermantatif LAB'leri sadece L izomerik yapıyı içerirler ve son ürünleri format, asetat, etanol, CO₂ ve laktat olur, bu bakteriler fakultatif heterofermantatif bakterilerdir (111, 112).



Daha sonra piruvat D-glutamat-piruvat transaminaz (D-GPT) enzimi vasıtası ile D-alanine ve 2-oxoglutarate dönüşür. Günümüzde LAB'nin cinslerin ayırımında kullanılan önemli bir özellik ise glikoz fermantasyon yollarıdır.

Bu durum göz önüne alındığında LAB üç gruba ayrılabilir (21, 103, 108, 109, 118).

3.3.1. Homofermentatif Laktik Asit Bakterileri

Bu gruptaki LAB'leri glikozu Embden–Meyerhof–Parnas (EMP) yoluyla laktik asite dönüştürürler. Bu bakterilerin başlıcaları; *Lactobacillus acidophilus*, *L. delbrueckii*, *L. helveticus*, *L. farciminis*, *L. lactis*, *L. bovis*, *Lactobacillus amylophilus*, *Lactobacillus amylovorus*, *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus jensenii* 'dir (104, 105, 107).

3.3.2. Fakultatif Heterofermantatif Laktik Asit Bakterileri

6 –C'lu şekerleri EMP yoluyla LA, 5-C şekerleri pentoz fosfat yoluyla LA çevirirken son ürün CO₂ ve etanoldür. Bu bakterilerin başlıcaları; *L. agilis*, *L. alimentarius*, *L. bavaricus*, *L. casei*, *L. curvatus*, *L. coryniformis*, *L. coryniformis* subsp. *Coryniformis*, *L. coryniformis* subsp. *Torquens*, *L. homohiochii*, *L. maltaromicus*, *L. murinus*, *L. paralimentarius*, *L. plantarum*, *L. pentosus*, *Lactobacillus paracasei*, *L. sakei* 'dir (104, 105, 107).

3.3.3. Heterofermantatif Laktik Asit Bakterileri

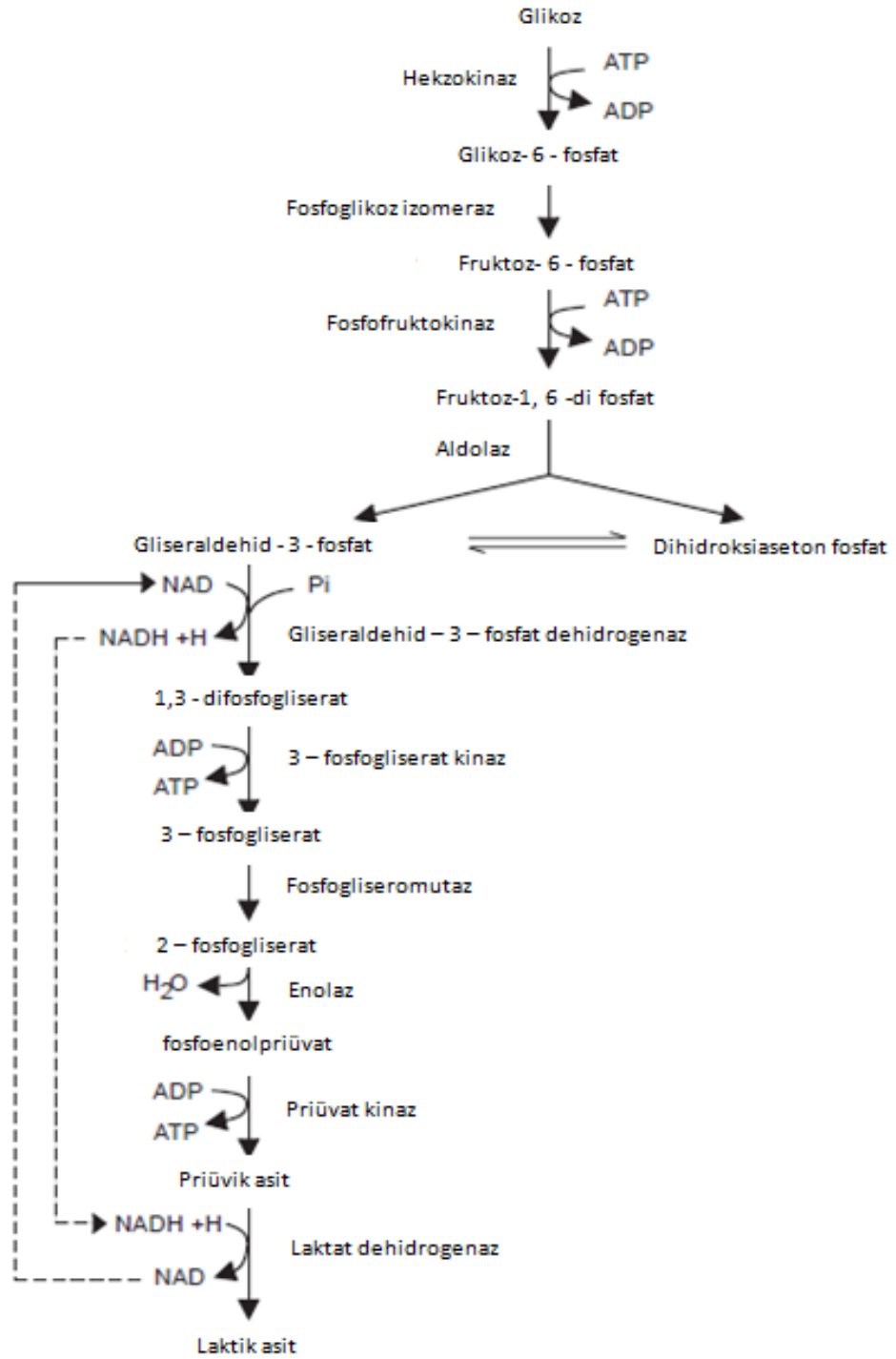
Hekzozları fosfoglukonat yolu ile laktat, etanol, asetik asit ve CO₂ çevirir. Pentozları ise aynı yolla kullanırken bu grup bakteriler pentozların çoğunu kullanırlar. Bu bakterilerin başlıcaları; *L. brevis*, *L. buchneri*, *L. fermentum*, *L. reuteri*, *L. fructivorans*, *L. sanfranciscensis*, *Leuconostoc mesenteroides*,

Lactobacillus kimchii, *Lactobacillus kefir*, *Lactobacillus divergens*'dir (104, 105, 107).

3.3.4. Homofermentatif Laktik Asit Bakterileri ve Homolaktik Fermantasyon

Bu grup laktik asit bakterileri zorunlu fermentlerdir, oksidasyon ürünlerini ve yollarını enerji elde etmek için kullanamazlar (108). Homofermentatif LAB heksozları fermente ederek % 95-100 (>% 85) oranında laktik asit üretirler (119, 120, 121, 122). Bu grup şekerleri EMP yoluyla parçalarken, glikolizis sonucu piruvatın LDH enzimi eşliği ile laktik asite çevrilmesi ile sonuçlanır (108, 123).

LDH enziminin L ve D olmak üzere iki tip izomer yapısı bulunmaktadır. Bu yapılara NAD ve LA reaksiyonları için; ihtiyaç duyulmaktadır (103, 124). Heksozlar gibi mannoz, galaktoz, fruktoz ve glikoz çoğunlukla LAB tarafından fermente edilir ve 1 mol heksozdan (1 mol glikozdan), glukoz-6-fosfat ya da fruktoz-6-fosfat metabolizma yollarında izomerizasyon ya da fosforilizasyon sonucunda; 2 mol laktik asit, 2 mol ATP, 2 mol piruvat, 2 mol NADH ve 2 mol H₂O meydana gelir (108, 110, 114).



Şekil 2. Homofermentatif LAB'lerinin Glukozu Parçalama Yolu (EMP yolu), kesikli çizgi ile belirtilen; NAD/NADH yükseltgenme / indirgenme yolun parçasıdır (108).

Glikoz, glikokinaz (heksokinaz) enzimi vasıtasıyla fruktoz 1,6-difosfata dönüşür. Bu biyokimyasal tepkimede 2 mol ATP harcanır, daha sonra fruktoz 1,6-difosfat, aldolaz enzimi ile reaksiyona girerek gliseraldehit-3-fosfat ve dihidroksiaseton fosfatı oluşturur. Bu bileşikler birbirlerine kolayca dönüşebilen 3 karbonlu bileşiklerdir. Gliseraldehit-3-fosfat daha sonra yükseltgenme ve indirgenme tepkimelerine girer. Daha sonra 2 molekül gliseraldehid -3-fosfatın hidrojenlerinin ayrılması sonucu 2 molekül NADH oluşur. Glikozun laktata çevrilmesinde her ne kadar iki yükseltgenme – indirgenme basamağı varsa da (ilki; gliseraldehit-3-fosfat↔1,3-difosfogliserat ikincisi; piruvat ↔ laktat), glikozun yapısındaki karbon durumunda bir değişiklik olmaz (glikoz C₆H₁₂O₆, laktat C₃H₆O₃). Yani hidrojen (H) / karbon oranı aynı kalır. Buna rağmen, glikozun parçalanması ile 2 molekül ATP yapacak kadar serbest enerji salınmış olur. Gliseraldehit-3-fosfat yükseltgenme – indirgenme tepkimeleri sonucu oluşan NADH ve piruvat, laktat dehidrogenaz enzimi varlığında laktatı oluşturur ve aynı biyokimyasal tepkime sırasında ortaya çıkan NAD ise tekrar gliseraldehit-3-fosfat yükseltgenme – indirgenme tepkimesine girer (108, 110, 114).

3.3.5. Heterofermantatif Laktik Asit Bakterileri ve Heterolaktik Fermentasyon

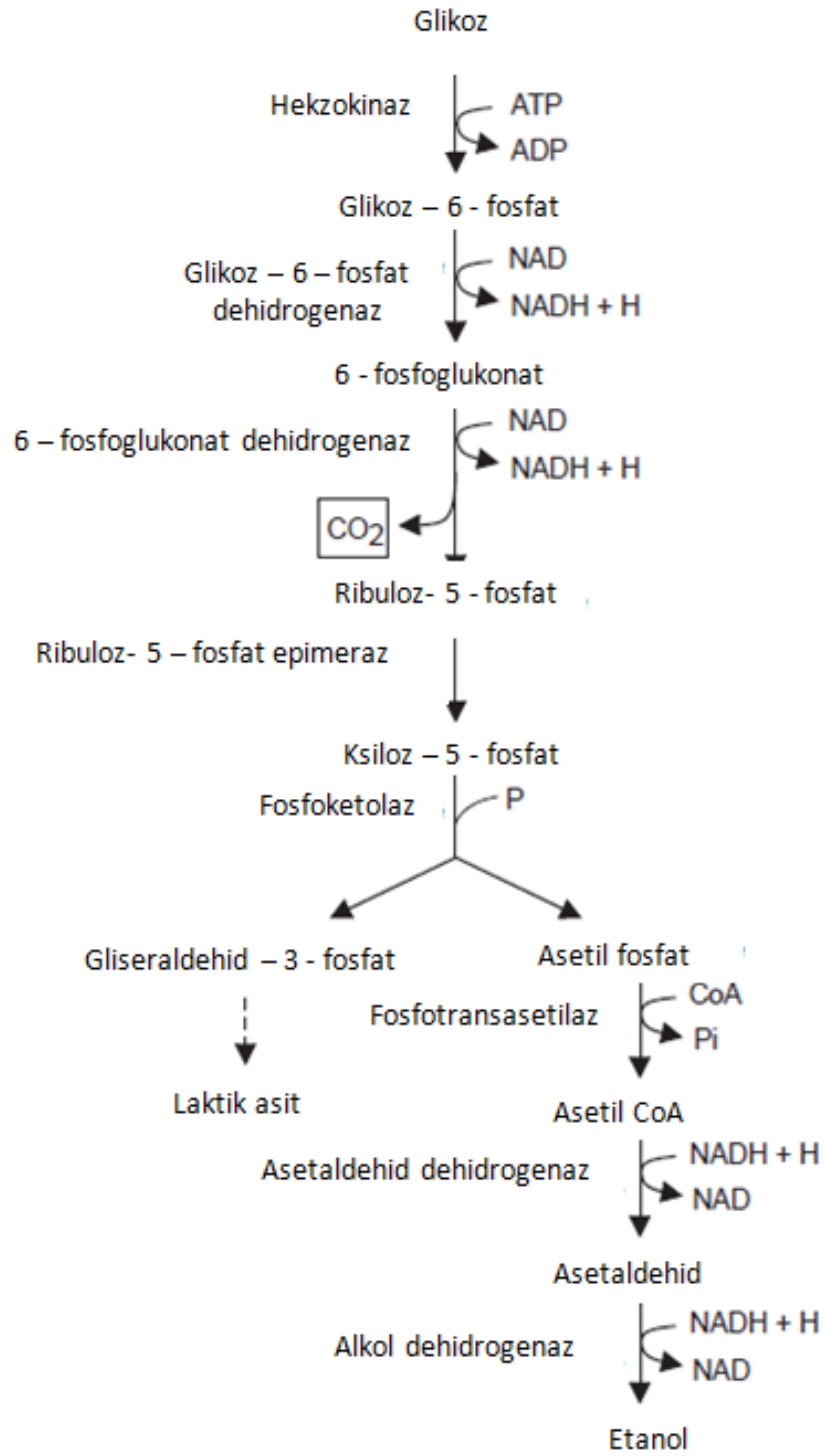
Heterofermantatif LAB (*Leuconostoc*, *Oenococcus* ve *Lactobacillus* türleri) şekerleri fermente ederken, fosfoketolaz (PKP) yolunu kullanırlar. Pentozların fermentasyonu piruvat ve asetil- P oluşumuna yol açar aynı zamanda asetat ve laktatın daha sonraki dönüşümlerine neden olur. Heksozlar bu bakteriler tarafından laktat, CO₂, ve etanole çevrilir.

Hekzosların pentoza çevrilmesi 6-fosfoglukonat dehidrogenaz enzimi vasıtasıyla gerçekleşirken ortamda CO₂ açığa çıkar.

Fakat pentozların ribuloz-5-fosfat ya da ksiloz-5-fosfat yoluyla parçalanmasında ortamda CO₂ salınımı olmaz. D - ksiloz – 5P - fosfoketolaz enzimi (Ribuloz-5-fosfat epimeraz) ksiluloz-5-fosfat'ı katalizleyerek, Gliseraldehid-3- fosfat (GAP) ve asetil fosfat meydana getirir. GAP, EMP yoluna girerek laktata, asetil fosfat ise etanola çevrilir (94,102). NADH/ NAD dengesi redüksiyon reaksiyonlarını katalizleyen iki enzim (Asetaldehid dehidrogenaz, alkol dehidrogenaz) vasıtasıyla gerçekleşir (108, 110, 114).

3.3.6. Fakültatif Heterofermantatif Laktik Asit Bakterileri

Bu gruptaki LAB'leri normal şartlar altında *L. alimentarius*, *L. casei*, *L. curvatus*, *L. sakei*, *L. paralimentarius*, *L. plantarum*, *L. pentosus* ise; glukoz-6-fosfat yolunu kullanmayarak pentoz fosfat ya da pentoz fosfoketolaz yolunu izleyerek pentozları fermente ederler (103, 111).



Şekil 3. Heterofermantatif LAB'lerinin Glukozu Parçalama Yolu (fosfoketolaz yolu) (108).

Tablo 5. Laktobasillus Ailesinin Metabolizma, LA İzomer Yapısına, Genomun Guanin Sitozin İçeriği, Filogenetik Grup ve Hücre Duvarı Unsurlarına Göre Sınıflandırılması (118).

Tür	Metabolizma	LA izomer yapısı	G – C içeriği	Filogenetik grup	Peptidoglikan
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	A	DL	34–37	delb	Lys-D-Asp
<i>Lactobacillus amylolyticus</i>	A	DL	39	delb	Lys-D-Asp
<i>Lactobacillus amylophilus</i>	A	L	44–46	delb	Lys-D-Asp
<i>Lactobacillus amylotrophicus</i>	A	L	43.5	delb	nd
<i>Lactobacillus amylovorus</i>	A	DL	40–41	delb	Lys-D-Asp
<i>Lactobacillus animalis</i>	A	L	41–44	sal	Lys-D-Asp
<i>Lactobacillus aviarius</i> subsp. <i>araffinosus</i>	A	DL (D<15%)	39–43	sal	Lys-D-Asp
<i>Lactobacillus aviarius</i> subsp. <i>aviarius</i>	A	DL	39–43	sal	Lys-D-Asp
<i>Lactobacillus catenaformis</i>	A	D	31–33	-	Lys-Ala
<i>Lactobacillus concavus</i>	A	DL (D 5%)	46–47	Pdex	mDAP
<i>Lactobacillus crispatus</i>	A	DL	35–38	delb	Lys-D-Asp
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	A	D	49–51	delb	Lys-D-Asp
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>delbrueckii</i>	A	D	49–51	delb	Lys-D-Asp
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>indicus</i>	A	D	Nd	delb	nd
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>lactis</i>	A	D	49–51	delb	Lys-D-Asp
<i>Lactobacillus equi</i>	A	DL	38–39	sal	nd
<i>Lactobacillus farciminis</i>	A	L (D<15%)	34–36	al-far	Lys-D-Asp
<i>Lactobacillus gallinarum</i>	A	DL	36–37	delb	Lys-D-Asp
<i>Lactobacillus gasseri</i>	A	DL	33–35	delb	Lys-D-Asp
<i>Lactobacillus helveticus</i>	A	DL	38–40	delb	Lys-D-Asp
<i>Lactobacillus iners</i>	A	L	34–35	delb	Lys-D-Asp
<i>Lactobacillus johnsonii</i>	A	DL	33–35	delb	Lys-D-Asp
<i>Lactobacillus kalixensis</i>	A	DL	35–36	delb	Lys-D-Asp
<i>Lactobacillus kefiranofaciens</i> subsp. <i>kefiranofaciens</i>	A	DL	34–38	delb	nd
<i>Lactobacillus kefiranofaciens</i> subsp. <i>kefirgranum</i>	A	DL	34–38	delb	nd

A:Hemofermantatif, B: Fakultatif Heterofermantatif ,C: Heterofermantatif

Tablo 5 devam

Tür	Metabolizma	LA izomer yapısı	G – C içeriği	Filogenetik grup	Peptidoglikan
<i>Lactobacillus mali</i>	A	L	32–34	sal	DAP
<i>Lactobacillus manihotivorans</i>	A	L	48–49	couple3	nd
<i>Lactobacillus mindensis</i>	A	DL	37–38	al-far	Lys-D-Asp
<i>Lactobacillus nagelii</i>	A	DL	Nd	sal	nd
<i>Lactobacillus pantheris</i>	A	D	52–53	ss	nd
<i>Lactobacillus ruminis</i>	A	L	44–47	sal	DAP
<i>Lactobacillus saerimneri</i>	A	DL	42–43	sal	DAP
<i>Lactobacillus salivarius</i>	A	L	34–36	sal	Lys-D-Asp
<i>Lactobacillus satsumensis</i>	A	L	39–41	sal	DAP
<i>Lactobacillus sharpeae</i>	A	L	53	ss	DAP
<i>Lactobacillus tuccei</i>	A	DL	nd	al-far	L-Lys-Gly-DAsp
<i>Lactobacillus ultunensis</i>	A	DL	35–36	delb	Lys-D-Asp
<i>Lactobacillus versmoldensis</i>	A	L	40–41	al-far	nd
<i>Lactobacillus vitulinus</i>	A	D	34–37	-	mDAP
<i>Lactobacillus acetotolerans -</i>	B	DL	35–37	delb	Lys- D-Asp
<i>Lactobacillus acidipiscis</i>	B	L	38–41	sal	Lys-D-Asp
<i>Lactobacillus agilis</i>	B	L	43–44	sal	DAP
<i>Lactobacillus algidus</i>	B	L	36–37	sal-ss	DAP
<i>Lactobacillus alimentarius</i>	B	L-DL	36–37	al-far	Lys-D-Asp
<i>Lactobacillus apodemi</i>	B	L	38.5	sal	L-Lys-D-Asp
<i>Lactobacillus bifermantans</i>	B	DL	45	cor	Lys-D- Asp
<i>Lactobacillus casei</i>	B	L	45–47	cas	Lys-D-Asp
<i>Lactobacillus coleohominis</i>	B	DL	Nd	reu	mDAP
<i>Lactobacillus composti</i>	B	DL	48	cor	nom -DAP
<i>Lactobacillus coryniformis</i> subsp. <i>coryniformis</i>	B	DL (L<15%)	45	cor	Lys-D-Asp
<i>Lactobacillus coryniformis</i> subsp. <i>torquens</i>	B	D	45	cor	Lys-D-Asp
<i>Lactobacillus curvatus</i>	B	DL	42–44	sakei	Lys-D-Asp
<i>Lactobacillus farraginis</i>	B	DL	40–41	buch	no mDAP

A:Hemofermantatif, B: Fakultatif Heterofermantatif , C: Heterofermantatif

Tablo 5 devam

Tür	Metabolizma	LA izomer yapısı	G – C içeriği	Filogenetik grup	Peptidoglikan
<i>Lactobacillus fornicalis</i>	B	DL	37	delb	nd
<i>Lactobacillus fuchuensis</i>	B	L(D<40%)	41–42	sakei	nd
<i>Lactobacillus graminis</i>	B	DL	41–43	sakei	Lys-D-Asp
<i>Lactobacillus hammesii</i>	B	DL	nd	bre	L-Lys-D-Asp
<i>Lactobacillus hamsteri</i>	B	DL	33–35	delb	Lys-D-Asp
<i>Lactobacillus harbinensis</i>	B	L	53–54	per	nd
<i>Lactobacillus homohiochii</i>		DL	35–38	fru	Lys-D-Asp
<i>Lactobacillus intestinalis</i>	B	DL	33–35	delb	Lys-D-Asp
<i>Lactobacillus jensenii</i>	B	D	35–37	delb	Lys-D-Asp
<i>Lactobacillus kimchii</i>	B	DL	35	al-far	nd
<i>Lactobacillus kitasatonis</i>	B	DL	37–40	delb	nd
<i>Lactobacillus murinus</i>	B	L	43–44	sal	Lys-D-Asp
<i>Lactobacillus nantensis</i>	B	DL	38.6	al-far	nd
<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp.	B	L	45–47	cas	Lys-D-Asp
<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>	B	L	45–47	cas	Lys-D-Asp
<i>Lactobacillus parafarraginis</i>	B	DL (D<70%)	40	buch	no mDAP
<i>Lactobacillus paralimentarius</i>	B	nd	37–38	al-far	nd
<i>Lactobacillus paraplantarum</i>	B	DL	44–45	plan	DAP
<i>Lactobacillus pentosus</i>	B	DL	46–47	plan	DAP
<i>Lactobacillus perolens</i>	B	L	49–53	per	Lys-D-Asp
<i>Lactobacillus plantarum</i>	B	DL	44–46	plan	DAP
<i>Lactobacillus plantarum</i> subsp. <i>argenteratensis</i>	B	DL	44–46	plan	nd
<i>Lactobacillus rennini</i>	B	DL	Nd	cor	L- Lys-D-Asp
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	B	L	45–47	cas	Lys-D-Asp
<i>Lactobacillus sakei</i> subsp. <i>carnosus</i>	B	DL	42–44	sakei	nd

A:Hemofermantatif, B: Fakultatif heterofermantatif, C: Heterofermantatif

Tablo 5. devam

Tür	Metabolizma	LA izomer yapısı	G – C içeriği	Filogenetik grup	Peptidoglikan
<i>Lactobacillus sakei</i> subsp. <i>sakei</i>	B	DL	42–44	sakei	nd
<i>Lactobacillus secaliphilus</i>	B	L (D 5%)	48	reu	L-Lys-D-Asp
<i>Lactobacillus sobrius</i>	B	DL	35–36	delb	nd
<i>Lactobacillus spicheri</i>	B	DL	55	buch	Lys-D-Asp
<i>Lactobacillus vini</i>	B	DL	39.4	sal	L-Lys-D-Asp
<i>Lactobacillus zeae</i>	B	L	48–49	cas	Lys-D-Asp
<i>Lactobacillus buchmeri</i>	C	DL	44–46	buch	Lys-D-Asp
<i>Lactobacillus collinoides</i>	C	DL	46	couple 3	Lys-D-Asp
<i>Lactobacillus diolivorans</i>	C	nd	nd	buch	nd
<i>Lactobacillus fermentum</i>	C	DL	52–54	reu	Orn-D-Asp
<i>Lactobacillus fructivorans</i>	C	DL	38–41	fru	Lys-D-Asp
<i>Lactobacillus frumenti</i>	C	L	43–44	reu	Lys-D-Asp
<i>Lactobacillus gastricus</i>	C	DL	41–42	reu	L-Orn-D-Asp
<i>Lactobacillus hilgardii</i>	C	DL	39–41	buch	Lys-D-Asp
<i>Lactobacillus acidifarinae</i>	C	DL	51	buch	nd
<i>Lactobacillus antri</i>	C	DL	44–45	reu	Lys-D-Asp
<i>Lactobacillus brevis</i>	C	DL	44–47	bre	Lys-D-Asp
<i>Lactobacillus ingluviei</i>	C	nd	49–50	reu	nd
<i>Lactobacillus kefir</i>	C	DL	41–42	buch	Lys-D-Asp
<i>Lactobacillus kunkeei</i>	C	L	nd	ss	Lys-D-Asp
<i>Lactobacillus lindneri</i>	C	DL	35	fru	Lys-D-Asp
<i>Lactobacillus malefermentans</i>	C	nd	41–42	ss	Lys-D-Asp
<i>Lactobacillus mucosae</i>	C	D	46–47	reu	Orn-D-Asp

A:Hemofermantatif, B: Fakultatif heterofermantatif, C: Heterofermantatif

Tablo 5. devam

Tür	Metabolizma	LA izomer yapısı	G – C içeriği	Filogenetik grup	Peptidoglikan
<i>Lactobacillus namurensis</i>	C	DL	52	buch	nd
<i>Lactobacillus oligofermentans</i>	C	DL (D30%)	35.3–39.9	Pdex	nd
<i>Lactobacillus oris</i>	C	DL	49–51	reu	Orn-D-Asp
<i>Lactobacillus panis</i>	C	DL	49–51	reu	Lys-D-Asp
<i>Lactobacillus parabrevis</i>	C	DL	49	bre	nd
<i>Lactobacillus parabuchneri</i>	C	nd	44	buch	Lys-D-Asp
<i>Lactobacillus pontis</i>	C	DL	53–56	reu	Orn-D-Asp
<i>Lactobacillus psittaci</i>	C	nd	nd	delb	nd
<i>Lactobacillus reuteri</i>	C	DL	40–42	reu	Lys-D-Asp
<i>Lactobacillus rossiae</i>	C	DL	44–45	couple1	Lys-Ser-Ala2
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i>	C	DL	36–38	fru	ys-Ala
<i>Lactobacillus siliginis</i>	C	nd	44.5	couple1	L-Lys-D-Glu-L-Ala
<i>Lactobacillus suebicus</i>	C	DL	40–41	couple2	DAP
<i>Lactobacillus vaccinofermentans</i>	C	nd	36–37	couple2	DAP
<i>Lactobacillus vaginalis</i>	C	nd	38–41	reu	Orn-D-Asp
<i>Lactobacillus zymae</i>	C	DL	53–54	buch	nd
<i>Lactobacillus rogosae</i>	na	na	Na	na	na

A:Hemofermantatif, B: Fakultatif heterofermantatif ,C: Heterofermantatif

3.3.7. Laktik Asit Bakterilerinin Silaj kalitesi, Besin Maddeleri ve Fermantasyon Üzerine Etkisi

Aragon ve ark. (125). mısır silajlarına homo ve heterofermentatif LAB (*Enterococcus faecium*, *L.plantarum*, *L.brevis*) kullanarak yapmış olduğu çalışmada HP ve SÇK yı sırası ile 87.9 ve 110.5 g/kg olarak bulmuşlar. Silajlara inokulant katılmasının fermantasyonu iyileştirdiğini, pH'yı düşürdüğünü ($P<0.01$), LA ve AA konsantrasyonun artırdığını ($P<0.01$), BA konsantrasyonunu azalttığını ($P<0.01$), sindirilebilir ve metabolik enerji düzeyinin arttığını bildirirken, inokulant katılan grupta KM kaybının önemli oranda azaldığını, HP oranı kontrol grubunda 48.2 g /kg iken inokulantlı grupta ise 52.5 g / kg olarak tespit etmişlerdir.

Yapılan bir çalışmada çayır ve mısır silajlarına *Lactobacillus brevis* katılmış ve silajlar 3, 7, 45 ve 90. günde açılarak KM içeriği, pH, LA ve diğer UYA kompozisyonları, etanol, amonyak, protein düzeyleri ve oksijene dayanıklılığı tespit edilmiştir. Çayır otu silajına *L. brevis* katıldığında; KM kaybının kontrol grubunda 2.14 iken, inokulantlı silajda 3.41 ($P < 0.05$) olarak tespit edilmiş, mısır silajı ile yapılan çalışmada ise kontrol grubunda 3.62 iken inokulantlı silajda 2.98 olarak bulunmuştur ($P < 0.05$). Bu sonuçlara göre çayır silajlarına *Lactobacillus brevis* katılması KM kaybını artırırken, mısır silajlarında önemli oranda azalttığı bildirilmiştir (126).

Junges ve ark. (127) mısır silajlarına *L. plantarum*, *L. brevis* ve *Enterococcus faecium* inokulant karışımını 1×10^5 kob /kg düzeyinde kullanmışlar ve silajları 30, 60, 90 ve 120 günlerde açarak silajın kimyasal kompozisyonu ile fermantasyon kayıpları incelenmişlerdir.

Araştırmacılar inokulant katkılı silajlarda silaj suyunun sızıntı şeklinde kayıplarının daha az olduğunu dolayısı ile KM kayıplarının önemli düzeyde azaldığını bildirmişlerdir.

Bununla birlikte inokulantlar silajların NDF, ADF, HK ve oksijene dayanıklılığı önemli oranda artırdığını bildirmişlerdir (P <0.01).

Filya ve ark. (128) mısır hasılına herhangi bir katkı yapılmayan grubu kontrol, 1×10^5 kob /g düzeyinde *L. plantarum* katılan grub deneme I, homofermentatif inokulant karışımı olan *L. plantarum*+*Pediococcus cerevisiae* 1×10^5 kob /g düzeyinde katılan grub deneme II ve 1×10^5 , 5×10^5 ve 1×10^6 kob /g düzeyinde *L. buchneri* katılan gruplar'da sırasıyla deneme III, deneme IV ve deneme V olarak düzenlemiştir. Silolamanın 60. gününde mısır silajının laktik asit konsantrasyonunu kontrol, *DI*, *DII*, *DIII*, *D IV* ve *DV* gruplarında sırasıyla 55.7, 86.6, 87.9, 44.2 44.1 ve 43.7 g/kg KM olarak bulunmuş, *L. plantarum* ve *L. plantarum*+*Pediococcus cerevisiae* katılan grupların LA düzeyi diğer gruplardan daha yüksek, *L. buchneri* katılan gruplar da ise en düşük değerler bulunmuştur (P <0.05). Araştırmada elde edilen pH değerleri LA bulgularına benzerlik göstermiş ve en düşük pH değerleri *DI* ve *DII* gruplarında görülmüştür. Çalışma sonunda *L. buchneri* gruplarının AA oranını artırdığı, silajlara inokulant katılmasının KM, OM ve NDF sindirimini etkilemediğini bildirmiştir.

Weinberg ve ark. (129) mısır ve buğday silajlarına 10 farklı LAB türü kullanarak yaptığı araştırmada (*L. plantarum*, *L. plantarum* MTD1, *Pediococcus pentosaceus*, *Lactobacillus pentosus*, *P. Pentosaceus*, *Enterococcus faecium*(C), *Lactobacillus buchneri* 11A44, *L. plantarum* ve *E. Faecium* karışımı, *E. faecium* (Q), *Lactobacillus buchneri* 40788), fermantasyon sonunda silaj pH ve

fermantasyon kalite deęerlerini incelemiřler, ayrıca in vitro sindirim denemesi yapmıřlardır. Mısır silajı ile yapılan çalıřmada en dūřuk pH deęerleri kontrol, *L. plantarum* MTD1, *Pediococcus pentosaceus*, *L. plantarum*, *P. Pentosaceus* katılan gruplarda 3.7 olarak tespit edilmiřtir. En yūksek dūzeyde LA oranı *Lactobacillus pentosus* ve *Pediococcus pentosaceus* grublarında 46 ve 45 g/kg KM olarak bulunmuřtur.

Yapılan in vitro sindirim denemesinde silajlara katılan tūm inokulantlar KM ve NDF sindirimini olumlu etkiledięini bildirmiřlerdir.

Muęlalı ve ark. (130) farklı vejetasyon dūnemindeki mısır hasılları ile yaptıkları silajlara (%19.3, 27.2 ve 36.9 KM) inokulant olarak *L. plantarum*, *L. brevis* ve *Enterococcus faecium* 2.5×10^{10} kob/g dūzeyinde kullanmıřlar ve laboratuvar kořullarında 1 lt hacimdeki cam kavanozlara silajları doldurmuřlardır. Dūřuk KM ye sahip (% 19.3) silajlarda fermentasyonun 15 ve 30. gūnlerinde pH bakımından farklılık gūzlenmemiřken, 45 ve 60. gūnūnde açılan silajlarda pH deęeri kontrol grubuna gūre daha dūřuk bulunmuřtur ($P < 0.05$). Yūksek KM ye sahip (% 36.9) silajlarına inokulant katılmasının pH ūzerine olumlu bir etki yapmadıęını bildirmiřtir. Ayrıca deneme gruplarında amonyak- N, organik asit dūzeyi ve silaj besin madde oranlarında farklılık gūzlenmedięi bildirmiřlerdir.

3.3.8. Laktik Asit Bakterilerinin Oksijene Dayanıklılık Ūzerine Etkileri

Aragon ve ark. (125). mısır silajlarına *Enterococcus faecium*, *L. plantarum* ve *L. brevis* kullanarak yapmış olduğu çalışmada, fermentasyon sonunda 1.5 – 2 kg ˘lık alınan silaj ūrnekleri birer kavonaza konulmuş ve silajlardaki sıcaklık

artışları takip edilmiştir. Araştırmada silajlardaki sıcaklık artışının oda sıcaklığına göre + 2 °C şeklinde arttığında kızıışmanın başlaması kabul edilmiştir. Bu değer çalışmanın 84. saatinde görülmüş ve aerobik bozulmanın başladığını, 186. satten sonra ise kontrol grubunda inokulantlı gruba göre 14 °C fazla olduğunu bildirmişlerdir. Mısır silajlarında inokulant katılan gruplarda oksijene karşı dayanıklılığın kontrol grubuna göre 72 saat daha fazla olduğunu bildirmişlerdir.

Driehuis ve ark. (63), mısır silajından izole ettikleri *Lactobacillus buchneri* bakterisini inokulant olarak kullanmanın silajlarda fermantasyon kalitesi ve oksijene dayanıklılık potansiyelini araştırdıkları çalışmada, inokulant katılmayan grup kontrol, silajlara 10^3 – 10^6 kob/ g düzeyinde *L. buchneri* katılan dört farklı grup da deneme gruplarını oluşturmuştur.

Laboratuvar tipi kavanozlarda yapılan silajlar oda sıcaklığında (18-20°C) 90 gün bekletilmiştir. Araştırmada *L. buchneri* katılan gruplarda gerek fermantasyon süresince gerekse aerobik dönemde maya sayıları kontrol grubuna göre daha az tespit edilmiştir. Silajlara *L. buchneri* katılması LA düzeyini azaltmış ve aynı zamanda asetik asit ile propiyonik asit düzeyini artırmıştır. Söz konusu inokulantın silajlara katılması, silajın açılıp hava ile temasa geçmesi sırasında maya üremesini baskılamak suretiyle aerobik bozulmayı önleyici etki göstermiştir.

Cai ve ark. (131), mısır, sorgum, yonca ve çayır otlarından izole ettikleri toplam 54 LAB türleri içerisinde *Weissella paramesenteroides*, *Leuconostoc pseudomesenteroides* ve *Lactobacillus casei* seçmişler ve bu türleri yonca ve çayır otu silajlarına inokulant olarak kullanmışlardır. *L. casei* katılan grubun LA düzeyi kontrol ve diğer iki inokulantlı gruba göre daha yüksek AA düzeyi ise daha düşük

bulunmuş, BA ise hiç tespit edilmemiştir. Bütün bunların sonucunda en düşük pH değeri bu grupta görülmüştür ($P < 0.05$). Aynı şekilde *L. casei* katılan grupta fermantasyon boyunca aerob bakterileri ve klostridyum türlerinin diğer iki inokulanta göre daha düşük olduğu, kontrol grubuna göre D-Laktik asit üretimi ve KM kaybının daha az olduğunu bildirilmişlerdir. Çalışma sonunda L-LA üreten LAB faydalı etkilerini D-izomer yapısını azaltarak silaj kalitesini artırdığını, kullanılan *Weissella paramesenteroides*, *Leuconostoc pseudomesenteroides* inokulantların ise silaj kalitesini etkilemediğini ve fermantasyon kayıplarına neden olduğu bildirilmiştir.

Adesogan ve ark. (132) yüksek KM'ye sahip çayır otu silajlarının KM oranını *Lactobacillus fermentum* (A), *Leuconostoc mesenteroides* (B), *Lactobacillus buchneri* (C), kontrol (K) ve alkali katkılı inokulant (D) gruplarında sırası ile 570, 566, 569, 566 ve 564 g/kg bulunmuşlardır.

Araştırmacılar bu silajlara *Lactobacillus fermentum*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus buchneri* inokulantlarını ve bunların haricinde alkali içerikli bir katkı maddesi kullanarak denemeyi düzenlemişlerdir. Denemede KM kaybının A, B, C, K ve D gruplarında sırası ile 38, 45, 40, 45 ve 44 g/kg şeklinde bildirilirken, KM kaybı en az A grubunda (*L. fermentum*) bulunmuştur. Bütün gruplarda fermantasyonun iyi olduğu, 68. gün açılan silajlarda 84 saat gibi oksijene karşı bozulmadan dayandıkları tespit edilmiştir.

Oksijene karşı dayanıklılık ile ilgili yapılan bazı çalışmalarında, silajlara inokulant olarak *L. plantarum* katıldığında yemlerin kolay bozulabildiği (133, 134, 135, 136, 137) buna rağmen bazı araştırmacılar ise oksijene dayanıklılığı artırdığını bildirmişlerdir (46, 138, 139, 140, 141).

Aerobik dayanıklılık için yapılan başka çalışmalarda inokulant olarak *L. buchneri* kullanılmasını oksijene karşı dayanıklılığı artığı bildirmişlerdir (142, 143, 144, 145, 146).

Schmidt ve Kung (147) mısır silajına *L. buchneri* ve *L. buchneri* + *Pediococcus pentosaceus* ticari inokulantlarını kullanarak yapmış oldukları çalışmada, inokulantların silaj fermantasyonu üzerine olan etkilerini ve oksijene karşı dayanıklılığını tespit etmişlerdir. Çalışma sonunda ölçülen pH ve AA değerlerinin inokulantlı gruplarda kontrol grubuna göre daha yüksek olduğunu, *L. buchneri* katılan grubun LA düzeyi kontrol ve *L. Buchneri* + *Pediococcus pentosaceus* katılan gruptan daha düşük değerlerde tespit etmişlerdir. Araştırmacılar inokulantların maya ve küf sayılarını azaltarak oksijene dayanıklılığı artırdığını bildirmişlerdir.

Steidlova ve Kalac (148), mısır silajlarına *L. plantarum*, *L. buchneri* içeren ticari karışımı 5×10^5 kob /g düzeyinde kullanmışlar, ayrıca *L. plantarum*, *Lactobacillus casei*, *Enterococcus faecium* ve *Pediococcus pentosaceus* içeren inokulantları ise 5×10^6 kob/g düzeyinde kullanarak yaptıkları çalışmada, inokulantların tiramin, putresin ve kadaverin maddelerini azalttığı, *L. plantarum* 'un ise ortaya çıkan bu üç amin üzerine çok daha etkin olduğunu, tüm inokulantlı gruplarda histamin ve triptamin değerlerinin çok az görüldüğünü, ayrıca oksijene dayanıklılığını artırdığı bildirilmiştir

3.3.9. Silajlara Katılan LAB Hayvan Performansına Etkileri

Meeske ve ark. (149) mısır silajlarına *L. plantarum*, *Pediococcus acidilactici* ve *amilaz* katkılı, inokulantı kullanarak yaptıkları çalışmada, hayvan materyali olarak 22 baş jersey süt ineğini, laktasyonun ortalama 127. gününde biri kontrol diğeri deneme olmak üzere iki gruba ayırmışlardır. Araştırmada silajlara inokulant katılmasının süt verimi, süt kompozisyonu ile CAA üzerine herhangi bir etkisinin olmadığını, ancak inokulantlı grupta silaj ve toplam yem tüketiminin daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Kanarloiy ve Yansari (150) hayvan materyali olarak 6 baş Holştayn erkek danasını (CA 225 kg) 2 x 2 latin kare deneme deseni oluşturmuş, rasyonu da arpa ve mısır silajına vitamin ve mineral katarak dengelemişlerdir. Hazırlanan mısır silajına inokulant olarak *L. plantarum* ve *Propionibacterium acidipropionici* katılmış, hayvanlara 14 gün alıştırma ve 7 gün de örnek alma şeklinde sindirim denemesi yapılmıştır. Araştırma sonucunda besi sığırlarında inokulant katılan grupta KM tüketimini 11.04 kg/gün, HP tüketimini 1.4 kg/gün olarak tespit edilirken kontrol grubuna göre KM ve HP tüketimlerinin arttığını, farklılığın önemli olduğunu bildirmişlerdir ($P < 0.05$). Aynı şekilde KM, HP, HY ve NDF sindirimini inokulantlı gruplarda arttığını ($P < 0.05$) ifade edilmiştir.

Arriola ve ark. (151). mısır silajına *Pediococcus pentosaceus*+*Propionibacteria freudenreichii* (B) ve *Pediococcus pentosaceus* + *L. Buchneri* (BUC) içeren inokulantları katmışlar ve 52 baş holştayn süt ineğinde verim performansı ile besin maddelerinin sindirimini üzerine etkilerinin belirlemişlerdir.

Araştırmada kontrol ve inokulantlı gruplar arasında KM, HP, NDF, ADF tüketimi ve KM ve HP sindirimi bakımından farklılık bulunmazken, NDF ve ADF sindiriminin B grubunda diğer gruplara göre az olduğu ($P < 0.05$) bildirilmiştir. Ayrıca mısır silajına katılan inokulantların, süt verimini, süt yağını ve süt proteinini etkilemediğini bildirmişlerdir.

Basso ve ark. (152) mısır silajlarına *L. buchneri* (LB) tek başına veya *L. plantarum* (LP + LB) katarak yapmış olduğu çalışmada, hayvan materyali olarak ortalama 20.4 kg canlı ağırlığında toplam 30 adet erkek toklu kullanmışlardır. Silaja inokulant katılması toklularda KM, OM, HP, NDF ve toplam karbonhidrat tüketimlerini artırırken, sindirim oranlarını azaltmıştır ($P < 0.05$). Araştırma sonunda GCAA bakımından en iyi değer (LP + LB) silajını tüketen grupta tespit edilmiş en iyi YYO ise (LB) grubunda belirlenmiştir ($P < 0.05$).

West ve ark. (153) süt sığır rasyonlarına *Propioni freudenreichii bacterium*+*L. acidophilus* inokulantını kullanarak yapmış oldukları çalışmada, kontrol ve inokulantlı silajı tüketen ineklerin süt verimini sırasıyla 37.40 ve 39.29 kg/gün, süt yağını ise 1.19 ve 1.31 kg/gün olarak saptamışlar ve bakteriyel inokulantların süt verimini ve yemden yararlanmayı artırdığını bildirmişlerdir.

Filya ve ark. (154) mısır silajlarına iki farklı laktik asit bakterisini inokulant olarak kullanmışlar ve silajlarının fermentasyon karakteristikleri ile toklularda besi performansına olan etkisini belirlemişlerdir. Çalışmada toplam 30 baş erkek toklu kullanılmıştır. Toklular CA ortalamaları birbirine eşit olacak şekilde 3 gruba ayrılmış ve hiçbir katkı katılmayan grup kontrol, farklı inokulant katılan gruplar ise A ve B grubu olarak adlandırılmıştır.

Araştırma sonunda açılan silajlarda pH, KM, HP ve HK içeriği bakımından gruplar arası farklılık gözükmezken, inokulant katılan gruplarda amonyak- N daha düşük bulunmuştur.

Silajlar organik asit bakımından değerlendirildiğinde inokulant katılan grupların LA düzeyleri kontrol grubuna göre daha yüksek, BA bakımından ise daha düşük bulunmuş ve farklılık önemlidir ($P < 0.05$).

Silajlara inokulant katılması AA ve etanol bakımından gruplar arasında farklılık oluşturmamıştır. Söz konusu araştırmada KM ve OM parçalanabilirliğinde gruplar arasında farklılık görülmezken, kullanılan inokulantlar besi performansı üzerine olumlu bir etki yapmamıştır.

Bu çalışmada, Elâzığ merkez köylerinden alınan farklı mısır hasılı örneklerinden LAB izole etmek, tanımlamak ve laboratuvar şartlarında çoğaltarak inokulant olarak kullanılma olanaklarını tespit etmek ve daha düşük maliyetli silajlar elde etmek için ticari suşların yerine endemik suşların kullanım olanakları araştırılmıştır.

4. GEREÇ VE YÖNTEM

4.1. LAB İzolasyonu İçin Mısır Hasılı Örneklerinin Toplanması

Elazığ ilinin coğrafik yapısı ve silajlık mısır ekimi yapılan araziler göz önüne alınarak üç ana bölge tespit edildi. Bu amaçla merkeze bağlı Yurtbaşı beldesinden 5, İçme beldesi yolu üzerindeki işletmelerden 5, Kuyulu köyünden 1, Avculu köyünden 2, Alpagut köyünden 1 ve Hankendi beldesinden 2 olmak üzere toplam 16 ayrı mısır tarlasından yaprak ve mısır püskülü örnekleri alındı. Her tarlanın farklı yerlerinden toplanan örnekler ayrı iki mikrobiyolojik steril numune poşetlerine her biri 50-100 g olacak şekilde konuldu, ağızları kapatılarak bantlandı ve daha sonra buz akülü termos içerisinde Anabilim Dalı Laboratuvarına getirildi. Örnekler toplanırken kontaminasyonun önlenmesi için steril eldiven ve makas kullanıldı.

4.1.1. Mısır Hasılı Örneklerinde Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri Sayısının Belirlenmesi

Soğuk zincir ile laboratuvara getirilen mısır hasıllarından 25 g örnek alındı, 225 ml Maksimum Recovery Diluent ile Veteriner Fakültesi Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü Laboratuvarında Stomacher'da (Bag Mixer 400 M) 2 dk homojenize edildi. 1/10'luk seri dilüsyonlar olmak üzere numunede beklenen sayıya göre dilüsyonlar hazırlandı. Örnek olarak 1/10, 1/100, 1/1000 dilüsyonlardaki tüpler dökme plak yöntemine göre paralel ekimler yapıldı. Dökme plak yönteminde; petrilere 1 ml inokulasyon yapıldı.

Bu işlem öncesi hazırlanan Plate Count Agar (PCA) agar otoklav sonrası 45-55°C'deki benmaride bekletilerek hedefteki sıcaklığa geldikten sonra 20 ml kadar petriye döküldü ve petriye dökülme işlemi sonrası inokulasyonun dağılımı için sekiz şekline uygun olarak dairesel hareket yaptırıldı. PCA agar'ın soğumasına müteakip petriler 35°C'de 48 saat bekletildi.

İnkübasyon sonunda besiyerlerinde oluşan üremeler aşağıdaki formüle göre hesaplanarak sonuçlar kaydedildi (155).

Sonuçlar 25-250 koloni arasında ise

$$N = \frac{\sum C}{[(1 \times n_1) + (0.1 \times n_2)] \times d}$$

N : koloni sayısı (gram(g) yada ml)

$\sum C$: petrilerde sayılan kolonilerin toplam miktarı

n_1 : birinci dilüsyondaki petri sayısı

n_2 : ikinci dilüsyondaki petri sayısı

d : ilk sayılan petrinin dilüsyon katsayısı

25 den az koloni üremesi gözlenirse

$$K_s \times 1/d \quad (K_s = \text{Koloni sayısı}, d = \text{dilüsyon faktörü})$$

4.1.2. Maya Küf Sayımı

Toplam aerobik mezofilik bakteri sayımı için homojenize edilen örneklerden 1/10'luk seri dilüsyonlar olmak üzere numunede beklenen sayıya göre dilüsyonlar hazırlandı. Her dilüsyonda önceden hazırlanmış iki adet Dichloran rose bengal chloramphenicol (DRBC) agar besiyeri bulunan petrilere 0.1 ml yayma plak yöntemiyle ekim yapıldı.

Petriler düz olarak 25°C’de 5 gün inkübasyona bırakıldı. Petrilerde küfler yeşil, mayalar ise pembemsi koloniler oluşturdu ve 10-150 koloni arasındaki petrilere hesaplamaya alındı. İki petride sayılan kolonilerin aritmetik ortalaması alındı ve dilüsyon faktörü ile çarpılarak sonuç kob/g olarak verildi (156).

4.1.3. Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyon ve İdentifikasyonu

LAB sayımı için homojenize edilen örnekler MRD ile seyreltildi, daha sonra seyreltilen numuneler stomacher cihazı ile 2dk homojenize edildi, bu seyreltmeden 1:9 oranında ileri seyreltimler yapılarak 1/10’luk (10^{-1}) 1/100’lük (10^{-2}), 1/1000’lik (10^{-3}) dilüsyonlardaki tüpler hazırlanarak dökme plak yöntemine göre paralel ekimler yapıldı. Dökme plak yönteminde; petrilere 1 ml otomatik pipet yardımı ile örneklerden alındı.

Bu işlem öncesi hazırlanan De Man, Rogosa And Sharpe (MRS) agar otoklav sonrası 45-55°C’ deki benmaride bekletilerek hedefteki sıcaklığa geldikten sonra her petriye 20 ml kadar döküldü.

Petriye dökülme işlemi sonrası inokulasyonun dağılımı için sekiz şekline uygun olarak dairesel hareket yaptırıldı, MRS agar’ın soğumasına müteakip petrilere $30 \pm 1^\circ\text{C}$ ’deki etüvde 72 ± 3 saat bekletildi (157, 158, 159).

Tablo 6. Arazilerden Toplanan Mısır Püskülü ve Yapraklarında Oluşan LAB Üremeleri.

	-1	-2	-3
Y1	141	40	6
Y2	287	31	5
Y3	82	8	0
Y4	X	66	8
Y5	X	71	8
İ6	21	6	0
İ7	13	4	0
İ8	277	27	4
İ9	X	71	6
K10	X	57	5
A11	18	5	1
A12	9	1	0
A13	197	35	3
H14	X	91	8
H15	10	1	0
H16	X	71	5

X:Sayılamayacak kadar çok koloni üremesi

İnkübasyon sonunda besi yerlerinde gelişen beyaz-krem ve/veya beyaz-şeffaf-gri renkli koloniler üremiştir.

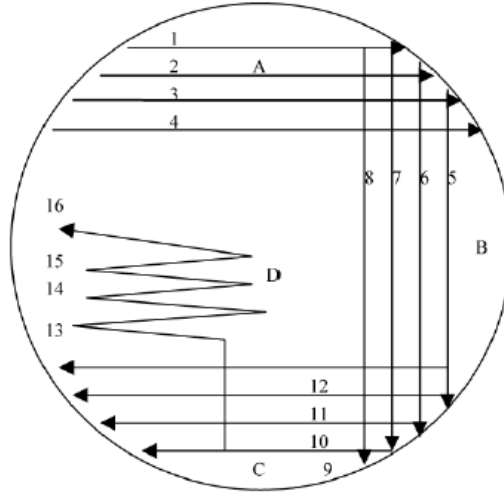
Petrilerdeki üremeler aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

$$N = \frac{\sum C}{[(1 \times n_1) + (0.1 \times n_2)] \times d \times V}$$

N: koloni sayısı (gram(g) ya da ml) n₁: birinci dilüsyondaki petri sayısı

$\sum C$: petrilere sayılan kolonilerin toplam miktarı n₂: ikinci dilüsyondaki petri sayısı

d : ilk sayılan petrinin dilüsyon katsayısı V : Mililitre cinsinden inokulum miktarı



Üreyen bu kolonilerden şekil, renk, büyüklük vb özelliklerinden yararlanılarak identifikasyon için nutrient agara steril öze yardımı ile şekildeki gibi geçilmiştir.

Tablo 7. İzolasyon ve İdentifikasyon İçin Alınan Kültürler.

Y	Y	Y	Y	Y	İ	İ	İ	İ	K1	A1	A1	A1	H1	H1	H1
1	2	3	4	5	6	7	8	9	0	1	2	3	4	5	6
3	3	1	2	3	2	2	2	2	2	4	0	4	1	0	5

0: Kültür alınmadı

Nutrient agar 35°C’de 20-24 saat inkübe edildi.

Nutrient agardaki kolonilerden Api 50 CHL uygulamasının yanısıra aynı zamanda bu kolonilerden MRS Broth geçişleri yapıldı.

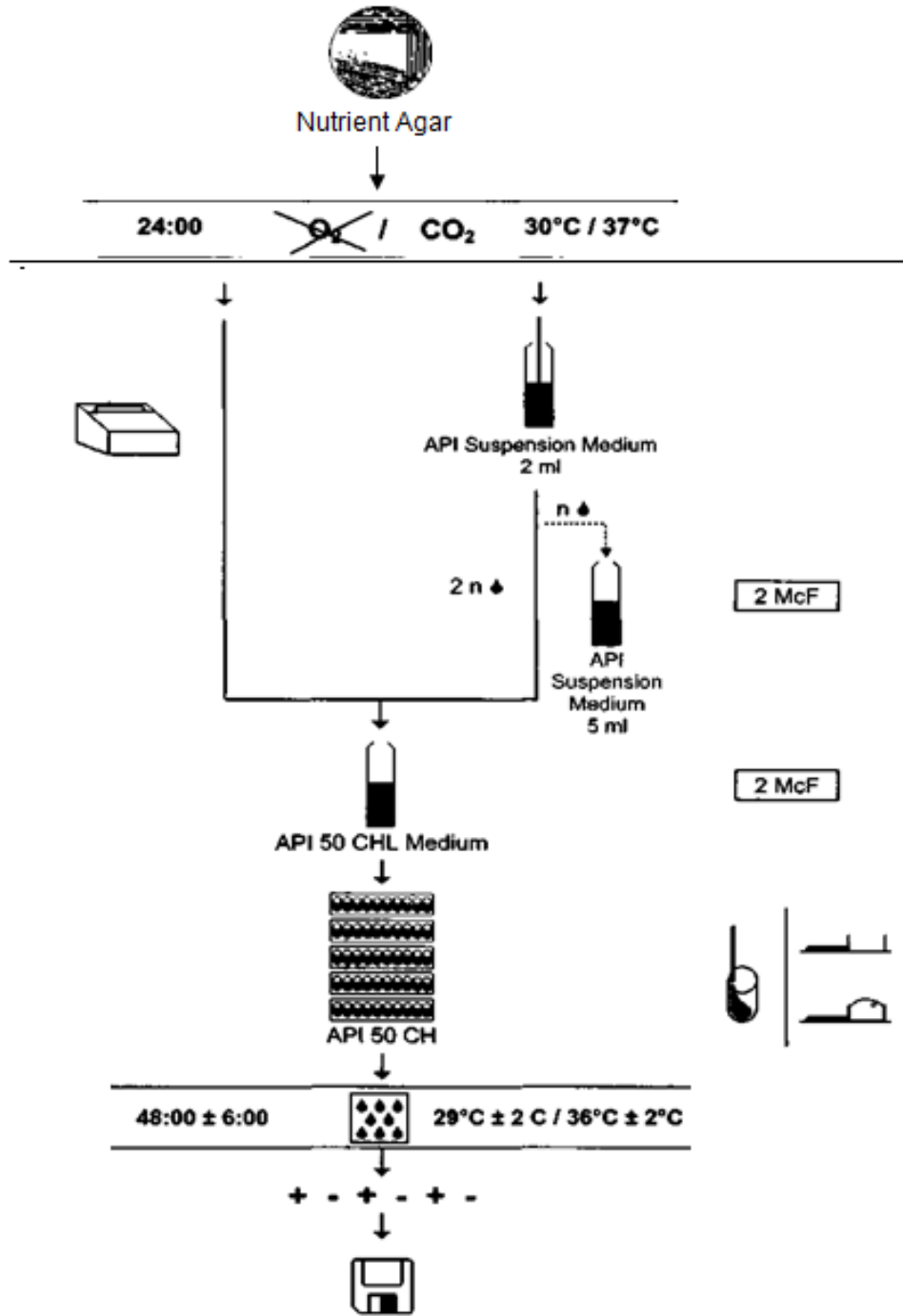
4.1.3.1. API 50 CHL Uygulaması

API 50 CHL Medium, Lactobacillus ve ilişkili cinslerin identifikasyonu için kullanılır. API 50 CH stribi ile 49 karbonhidratın fermentasyon özellikleri tespit edilebilir. Besiyeri içinde test edilecek mikroorganizma ile bir süspansiyon hazırlanır ve stripteki her tüp inoküle edilir. İnkübasyon sırasında karbonhidratların fermentasyonu ile asidik ortam oluşur ve buna bağlı olarak pH düşer. Bu ortam değişikliği indikatörler sayesinde tespit edilir. Bu sonuçlar suşun biyokimyasal profilini ortaya koyar ve tanımlama ya da tiplerede kullanılır. API 50 CHL Medium 50 410 uygulaması Biomeriex'nun metodolojisindeki (160) gibidir.

İnokulumun hazırlanması; Süspansiyon medium (2 ml) ampülü açıldı. Bir öze yardımıyla kültür içindeki bütün bakteriler alındı ve tüp içinde yoğun bir süspansiyon (en az 3-5 Mc Farland'lık) hazırlandı. Süspansiyon medium (5 ml) ampülü açıldı ve süspansiyon medium (2 ml) ampülündeki süspansiyondan belli sayıda damlatılarak 2 Mc Farland'a eşdeğer türbidite seviyesine sahip bir süspansiyon elde edildi. Bu sayı (n) kaydedildi.

API 50 CHL Medium ampülü açılır ve ilk damla sayısının iki katı kadar süspansiyon medium (5 ml) ampülünden API 50 CHL medium ampülüne (yani 2 n kadar) süspansiyon ilave ederek inoküle edildi. Vortex yardımı ile homojenize edilir. Homojenizasyon sonrası inkübasyon kutusu hazırlanır (tepsi ve kapak); inkübasyon tepsisine yaklaşık 10 ml distile su beş bölmeye ve her bölmedeki kutucuklara eşit miktarda dağıtılır bu işlem sonrası stripler numara sırasına göre yukarıdan aşağıya sıralanır, tepsinin geniş olan kısmına çalışılacak numune veya suş kodu yazıldı ve ekim işlemine geçildi, ekim işlemi; pastör pipeti veya 0.1 ml

lik steril otomatik pipet yardımı ile API 50 CHL Medium ampulünden strip tüpleri (50 tüp) doldurulur, işlem sırasında hava kabacığının oluşmamasına dikkat edilir ve tüm tüplerin üstü mineral yağ ile kaplanır, daha sonra stripleri plastik kabı ile kapatıp 48 saat süreyle aerobik olarak 30°C'de inkübe edilir. Stribin okunması; Tüm testler 24 ve 48 saat sonra okunur. Pozitif bir test, besiyeri içindeki bromokresol moru indikatörünün sarıya dönmesiyle ortaya çıkan asidifikasyon ile belli olur. Esculin testi için (tüp no: 25) mordan siyaha dönüşüm görülür. Sonuçları sonuç kâğıdına Pozitif (+), Negatif (-) olarak kayıt ettikten sonra profil api web programına yüklenir ve sonuçlar elde edilir (160).



Şekil 4. API 50CHL Medyum Metodoloji (160).

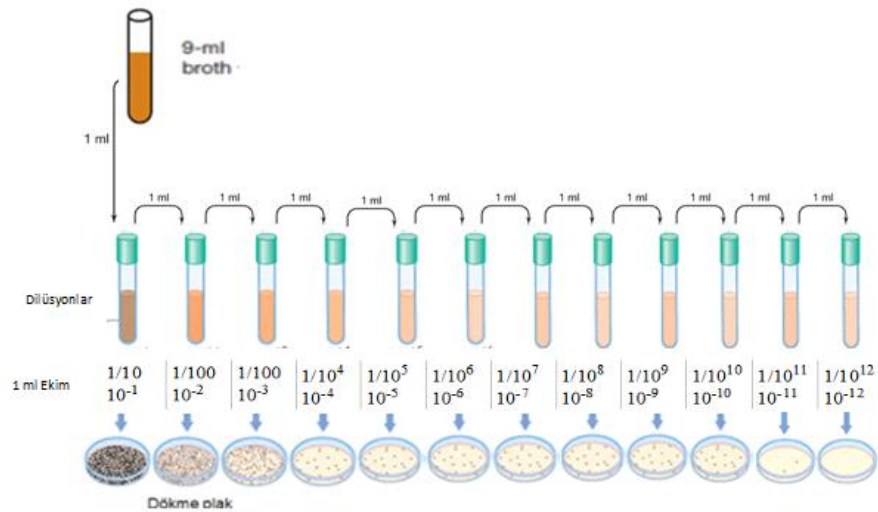
Tablo 8. Mısır Hasıllarından İzole Edilen Türler.

Grup isimleri	Elde edilen Türler
A13-2	% 99.8 <i>Lactobacillus brevis</i> 3 % 0.1 <i>Laktobacillus fermentum</i> 1
H14-1	% 96.4 <i>Laktobacillus fermentum</i> 1 % 3.3 <i>Lactobacillus brevis</i> 3
Y3-1	%65.9 <i>Streptococcus termopilus</i> %13.7 <i>L.delbruecki spp delbruecki</i> %12.6 <i>L.delbruecki spp lactis</i> 1 %7.3 <i>Leuconostoc mesenteriodes spp cremoris</i>
İ6-1	% 99.2 <i>Laktobacillus fermentum</i> 1 % 0.5 <i>Leuconostoc lactis</i>
Y5-1	%88.6 <i>L.delbruecki spp bulgaricus</i> %5.1 <i>L.helveticus</i>
K10-1	% 80.9 <i>L.delbruecki spp delbruecki</i> %6.8 <i>L.delbruecki spp lactis</i> % 10.4 <i>L. acidophilus</i>
K10-2	% 93.2 <i>Laktobacillus fermentum</i> 1 % 6.7 <i>Lactobacillus brevis</i> 3
İ9-1	% 94.8 <i>L.delbruecki spp delbruecki</i> % 2.3 <i>L.delbruecki spp bulgaricus</i>
H16-2	% 84.8 <i>Laktobacillus fermentum</i> 1 % 14.5 <i>Lactobacillus brevis</i> 3
A11-2	%88.9 <i>Lactobacillus plantarum</i> 2 %6.5 <i>Lactococcus lactis spp lactis</i> 1
Y1-1	%99.9 <i>Lactobacillus pentosus</i> , %0.1 <i>Lactobacillus plantarum</i>
A11-1	%91.8 <i>Lactobacillus delbruecki spp lactis</i> %3.6 <i>Aerococcus viridans</i>
A11-4	% 73.1 <i>L.delbruecki spp delbruecki</i> , % 20.4 <i>L.delbruecki spp lactis</i> ,% 4 <i>L. acidophilus</i>
A11-3	% 67.4 <i>L.delbruecki spp bulgaricus</i> % 22.9 <i>L.delbruecki spp delbruecki</i>
Y4-2	%99.8 <i>Leuconostoc mesenteriodes spp cremoris</i> %0.1 <i>Lactobacillus helveticus</i>

İzolasyon ve identifikasyon için alınan kültürlerin API sonuçlarına göre 15 grupta LAB türleri elde edilmiştir. İzole edilen türlerden mikrofulorayı temsil etmesi amacıyla saflık kriterleri göz önüne alınarak elde edilen türlerden en yaygın olanları ve ticari bir suş olarak çalışılmamış LAB inokulant olarak seçilmiştir. Proje bütçemiz nedeni ile izole ve identifiye edilen tüm suşlar çalışılmamış sadece 4 suş bu çalışmada inokulant olarak kullanılmıştır.

4.1.3.2. MRS Broth Geçişleri ve İnokulant Yoğunluğunun Hesaplanması

Nutrient agardaki alt kültürler 'den API 50 CHL geçiş öncesi bu kültürler 9-7 ml lik MRS Broth içeren zenginleştirici besi yerine öze yardımı ile geçişleri yapıldı. MRS Broth 30-37°C'de 24 saat bekletildi. Api Web sonuçlarına göre seçilen izolatlara ait MRS Broth tüplerinin bakteriyel yükünü hesaplamak için MRS broth dan 10^{-12} kadar MRD solüsyonundan seri dilüsyonlar hazırlandı. Bu dilüsyonlarda 1ml otomatik pipet yardımı ile alınarak dökme plak yöntemine göre MRS besi yerlerine geçilerek yükleri hesaplandı.



Şekil 5. Seri Dilüsyonlar İle Yük Hesaplaması.



Şekil 6. MRS Agar'da Üreyen LAB.

4.2. Kullanılan Besi Yerleri, Kitler ve Kimyasal Maddeler

4.2.1. Mikrobiyolojik Ekimlerde Kullanılan Besiyerleri ve

Hazırlanışları

4.2.1.1. De Man,Rogasa And Sharpe (MRS) Agarın Hazırlanması

Formül :

Enzimatik sindirilmiş kazein	10.0 g
Et ekstarktı	10.0 g
Maya ekstarktı	4.0 g
Triamonyum sitrat ((NH ₄) ₃ C ₆ H ₅ O ₇)	2.0 g
Sodyum asetat (CH ₃ COONa)	5.0 g
Magnezyum sülfat heptahidrat (MgSO ₄ ·7H ₂ O)	0.2 g
Mangan sülfat tetrahidrat (MnSO ₄ ·4H ₂ O)	0.05 g
Di potasyum hidrojen fosfat (K ₂ HPO ₄)	2.0 g
Glikoz (C ₆ H ₁₂ O ₆)	20.0 g
Polyoxyethylenesorbitan monooleate (Tween 80)	1.08 g
Agar	12 - 18 g (1)
Distile su	1000 ml

*(1):A garın jel kuvvetine bağlıdır

Araştırmada LABM firmasına ait LAB093 MRS Agar hazır besiyeri kullanıldı. MRS agardan 70 g alındı bir litre distile su içinde ısıtılarak çözüldürüldü. Otoklav sonrasında pH 6.4 olacak şekilde ayarlandı (159). Daha sonra elde edilen çözeltili 121°C'de 15 dakika sterilize edildi ve 45-47°C sıcaklığa kadar soğutuldu. Bu dilüsyon petri kutularına döküldü ve hemen sonra petri kutusu sekiz rakamı çizecek şekilde hareket ettirilerek besiyeri ile dilüsyonun homojen şekilde karışması sağlandı (159).

4.2.1.2. Maksimum Recovery Diluent (MRD)

Formül:

Pepton	: 1.0 g
Sodyum klorür	: 8.5 g
Distile su	: 1 litre

Tartılan hazır besiyeri içeriği distile su ile ısıtılarak çözüldürüldü, otoklav sonrası pH=7 olacak şekilde ayarlandı ve daha sonra 121°C'de 15 dakika sterilize edildi (157).

4.2.1.3. De Man, Rogosa, Sharpe (MRS) Broth

Formül :

Pepton	10.0 g
Et ekstarktı	10.0 g
Maya ekstarktı	5.0 g
Amonyum sitrat	2.0 g
Sodyum asetat (CH ₃ COONa)	5.0 g
Magnezyum sülfat	0.2 g
Mangan sülfat	0.05 g
Potasyum fosfat	2.0 g
Glikoz (C ₆ H ₁₂ O ₆)	20.0 g
Polyoxyethylenesorbitan monooleate (Tween 80)	1.08 g

Araştırmada LAB M firmasına ait LAB094 Broth de Man, Rogosa & Sharpe Broth (MRS) kullanıldı. Bu amaçla 55 g besi yeri bir litre distile su içinde ısıtılarak çözüldürüldü. Hazırlanan bir litrelik süspansiyon 9-7 ml olacak şekilde vidalı 15 ml'lik tüplere steril pipet yardımı ile bölündü ve otoklavda sterilize edildi. Otoklav sonrasında pH 6.4 olacak şekilde ayarlandı ve 121°C'de 15 dakika sterilize edildi (159).

4.2.1.4. Dichloran rose bengal chloramphenicol (DRBC) Agar

Formül:

Glikoz	10g
Bakteriyolojik pepton	5g
KH ₂ PO ₄	1g
MgSO ₄ 7H ₂ O	0.5g
Rose bengal(%5 sulu çözelti)	0.5 ml
Dikloran(%0.2 etanol çözeltisi)	1ml
Kloromfenikol	0.1g
Agar	15 g
Distile su	1000 ml

Bu araştırmada LAB M firmasına ait LAB 217 DRBC Agar kullanıldı ve 31.7 g besi yeri bir litre distile su içinde çözdürüldü. Daha sonra 121°C'de 15 dakika sterilize edildi ve 45°C ye kadar soğutulurak petrilere döküldü. Ayrıca maya-küf analizleri için; Dichloran 18 % gliserol, Malt Agar, Malt ekstrakt agar, Potato dekstroz agar da kullanılabilir (156).

4.2.1.5. Plate Count Agar (PCA)

Formül :

Tripton	5 g
Maya ekstraktı	2.5 g
Dekstroz	1 g
Agar	15 g
Distile su	1 litre

Araştırmada BIOMARK firmasına ait B298 PCA kullanıldı ve 23.5 g besi yeri bir litre distile su içinde ısıtılarak çözüldürüldü. Otoklav sonrası pH 7 olacak şekilde ayarlandı ve daha sonra 121+1 °C'de 15 dakika sterilize edildi (155).

4.2.1.6. Nutrient Agar (NA)

Formül	
Pepton	5 g
Et ekstraktı	1.5 g
Maya ekstraktı	5 g
Sodyum klorid	5 g
Agar	15 g

Araştırmada Biomark firmasına ait B550 Nutrient agar kullanıldı ve 28 g besi yeri bir litre distile su içinde ısıtılarak çözündürüldü, daha sonra 121 °C'de 15 dakika sterilize edildi.

4.2.1.7. API 50 CHL ve Mediumlar

4.2.1.7.1. Besiyerinin Bileşimi

Süspansiyon	Demineralize su	
Solüsyonu		
2 ve 5 ml		
API 50 CHL	Polipepton	10 g
Besiyeri	Maya ekstresi	5 g
10 ml	Tween 80	1 ml
	Dipotasyum fosfat	2 g
	Sodyum asetat 3H ₂ O	5 g
	Diamonyum sitrat	2 g
	Magnezyum sülfat 7H ₂ O	0.20 g
	Manganez sülfat 4H ₂ O	0.05 g
	Bromokresol moru	0.17 g
	1000 ml'ye Tamamlamak için demineralize su	

Biomerieux firmasından; API 50 CHL, API 50 CHL medium, Mineral yağ, identifikasyon yazılım programı (API WEB), 2 ve 5 ml lik suspension mediumlar, 1 den 5 kadar set halinde olan Mc Farland standartları temin edildi.

4.3. Silaj Materyalinin Hazırlanması ve Deneme Düzeni

4.3.1. Silaj Materyali

Araştırmada kullanılan silajlık mısır, Elazığ ili Akmezra köyünde Şevki YÜCE isimli çiftlik sahibinin işletmesinden silaj yapım aşamasında, makine ile kıyılarak silaj çukuruna getirilen mısırlardan yeterince alınarak temin edildi.

4.3.2. Deneme Gruplarının Oluşturulması

Araştırmada hiçbir katkı maddesi kullanılmayan grup negatif kontrol (K), ticari bir firmadan temin edilen ve *Lactobacillus buchneri* içeren izolat (Kofasil-S, Addcon, Germany) pozitif kontrol gruplarını oluşturdu. Bu denem gruplarının yanısıra çalışmada kullanılmak üzere araştırmmanın birinci aşamasında izole edilen altı farklı LAB'lerinden dört izolat seçilmiş ve bu bakteriler ile dört farklı deneme grubunu oluşturularak çalışma toplam 6 grup ile yürütüldü. İnokulant olarak kullanılan ticari izolatin ml'de 1×10^{11} kob/g (cfu /g) bakteri içerdiği ifade edilmiş ve çalışma başında yapılan ekimler ile bu sayı teyit edildi.

Deneme gruplarında kullanılmak üzere silajlık mısırlardan izole edilen ve LAB'leri, API web sonuçları ile doğrulanan; A13-2, *Lactobacillus brevis*3 (MRS broth daki yükü 3×10^{-11} cfu /g kadar), i6-1 *Lactobacillus fermentum* 1 (MRS broth da ki yükü 4×10^{-12} cfu /g kadar), y1-1 *Lactobacillus pentosus* (MRS broth daki yükü 2×10^{-10} cfu/g kadar), y4-2 *Leuconostoc mesenteriodes spp cremoris* (MRS broth daki yükü 1×10^{-10} cfu /g kadar) izolatları kullanıldı. Silaj materyali hazırlanmadan önce kullanılacak tüm izolatları yükü 10^{-6} şekilde ayarlandı (159).

4.3.3. Silajların Kavanozlara Doldurulması

Römork üzerinden her bir grup için 20 kg silaj örneği tartılarak alındı ve kendisine ait 3x2 m ebatlarındaki temiz naylon branda üzerine ince bir tabaka halinde yayıldı. İnokulant olarak hazırlanmış LAB'leri, 40 ml serum fizyolojik içine alınarak bakteri yükü 10^{-6} olacak şekilde ayarlandı ve silaj materyaline homojen bir şekilde püskürtülerek iyice karıştırıldı.

Hazırlanan silaj materyalini 1.8 kilogramlık silaj kavanozlarına doldurmadan önce bir deneme yapılarak kavanozların alabileceği yem miktarı tespit edildi ve bütün kavanozlara tartılarak eşit miktarda silaj sığdırılmaya çalışıldı. Buna göre inokulant içermeyen grup kontrol (K) grubunu, *Lactobacillus buchneri* içeren grup LBUC, *Lactobacillus pentosus* içeren grup LPEN, *Leuconostoc mesenteriodes* içeren grup LMEZ, *Lactobacillus brevis* içeren grup LBRE ve *Lactobacillus fermentum* içeren grup LFER deneme gruplarını oluşturdu.



Şekil 7. İnokulantların Mısır Hasılına Karıştırılması.

4.3.4. Deneme Düzeni ve Deneme Gruplarının Açılması

Hazırlanan silaj materyali her deneme grubu için toplam 18 adet silaj, kavanozlarına dolduruldu ve ağızları sıkıca kapatılarak oda sıcaklığında (ortalama 22 °C ve % 34 nisbi nem) muhafaza edildi. Denemenin 5, 10, 15, 30, 60 ve 90. günlerinde her gruptan üç kavanoz açıldı ve örnekler alındı. Alınan her örnekte mikrobiyolojik ve kimyasal analizler yapıldı.

4.3.5. Mikrobiyolojik ve Kimyasal analizler

Açılan her kavanozdan alınan örneklerde mikrobiyolojik (Maya-Küf sayısı, Laktik asit ve Toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı) sayımları, kimyasal (KM, HK, HY, HP, ADF, NDF) analizleri yapıldı. Ayrıca bu analizlere paralel olarak pH, organik asit tayini ile 60. günde aerobik stabilite testleri yapıldı.

4.3.6. pH Tayini ve Organik Asitlerinin Ölçülmesi

Açılan kavanozlardan 25 g örnek filtrelili stomacher poşetlerine alınarak üzerine 100 ml distile su ilave edildi ve karıştırıldıktan sonra 2 dk stomacher cihazında homejenize edildi, daha sonra filtre kısmında kalan solüsyon 50 ml lik santrifüj tülerine alınarak pH metre (Hannan) ile pH'sı ölçüldü (161). pH'sı ölçülen filtrat 50 ml lik santrifüj tüplerine alınarak 5000 devirde 10 dk süre ile santrifüj edildikten sonra filtratlar 1 ml'lik viallere alındı. Daha sonra UYA konsantrasyonu HPLC cihazı ile laktik asit, asetik asit ve butirik asit düzeyleri tespit edildi (162).

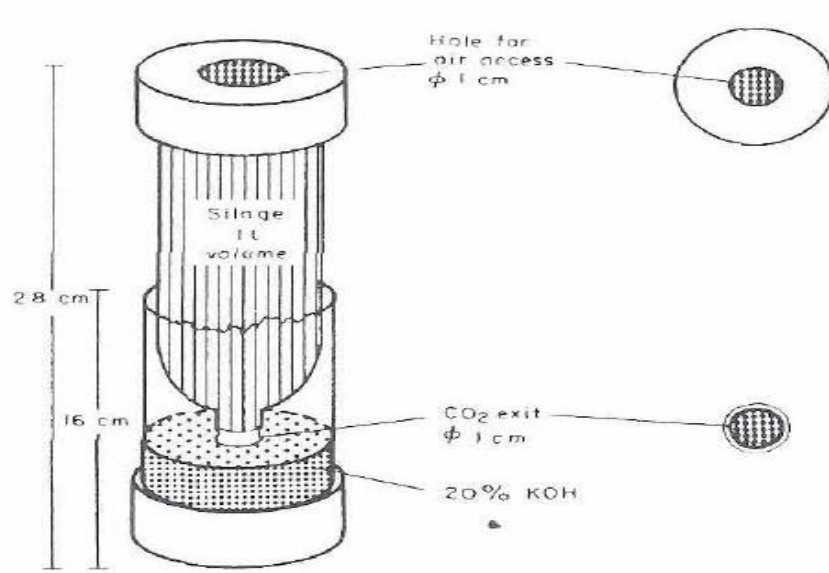
Organik asit analizi için HPLC cihazı (Shimadzu, Kyoto, Japan), pompa (LC-10 AD_{VP}), a PDA detektör (SPD M10_{VP}), kolon fırını (CTO-10AS_{VP}), otomatik numune alıcı (SIL-10AD_{VP}) ve HPLC’de inertsil ODS-3 kolon (15×4.6 mm, 5 µm) kullanıldı. HPLC kolonu 30 °C’ye ve 5 mM H₂SO₄ (pH=4.0) ve metanol (90:10, v/v) oranında olacak şekilde 1 ml/dakikaya ayarlandı. Organik asitler PDA dedektörü ile 210 nm’de ayrıldı.

4.3.7. Oksijene Karşı Dayanıklılık (Aerobik stabilite)

Silajların aerobik stabilite testlerinde Ashbell ve ark. (163) tarafından geliştirilen yöntem kullanıldı. Silajın 60. gününde alınan örnekler 5 gün süre ile oda sıcaklığında (22 °C) bekletildi. Aerobik stabilite testi için 1.5 lt’lik pet şişeler ortasından kesilerek ikiye ayrıldı ve içerisine 250 g silaj örneği konuldu. Kesilen yerden tekrar birleştirilen pet şişeler koli bandı ile hava geçirmeyecek şekilde bantlandı. Daha sonra pet şişelerin kapakları delindi ve ters olacak şekilde yine sadece alt tarafı olan ve içerisinde % 20’lik 100 ml potasyum hidroksit (KOH) içeren yarım pet şişenin içerisine yerleştirildi ve birleşme yerleri hava kaçırmayacak şekilde koli bandı ile yapıştırıldı.

Örnekler 5 gün bekletildikten sonra açılan pet şişelerin içerisinde bulunan potasyum hidroksitten 10 ml behere alınarak pH’sı 3 Molar (M), HCl ile miktatsız karıştırıcı yardımıyla titre edilerek önce 8.1’e, daha sonra 1 M, HCl ile yine miktatsız karıştırıcı yardımıyla 3.6’ya düşürüldü, kullanılan 1 M, HCl miktarı kayıt edildi.

Daha sonra aşağıda verilen formüle göre CO₂ miktarı hesaplandı. Beş gün bekletilen silaj örneklerinde Maya-Küf sayısı, Toplam aerobik mezofilik bakteri Sayısı ve LAB sayımları ile görsel küflenme bakımından değerlendirmeler yapıldı (164).



Şekil 8. Oksijene Dayanıklılık Analizinde Kullanılan Düzenek (163).

Hesaplama şu şekilde yapılmıştır;

$$CO_2 \text{ (g/kg)} = \frac{0.044 \times T \times H}{H^1 \times TM \times KM}$$

T: Titrasyonda harcanan 1 M HCL'nin ml'si

H: Toplam harcanan % 20'lik kısımdaki KOH'in ml'si (100 ml)

H1: Kullanılan KOH'nın ml'si (10 ml)

TM: Taze materyal (g/kg)

KM: Silaj kuru madde miktarı.

4.3.8. Silaj Örneklerinde Ham Besin Madde Analizleri

Örneklerin ham protein, ham yağ, ham kül değerleri AOAC'de (165) bildirilen yöntemle tespit edildi.

4.3.9. Kuru Madde Tayini (KM)

Silaj örnekleri 60 °C'de 72 saat etüvde bekletilerek suyu uçuruldu ve yüzde olarak KM'si hesaplandı. Kurutulmuş numuneler 1 mm elek gözüne sahip laboratuvar değirmeninde öğütülerek besin madde analizleri için hazırlandı.

4.3.10. Ham Kül (HK) ve Organik Madde Tayini (OM)

Kurutulmuş yem örnekleri 550°C de kül fırınında yakılarak HK değerleri tespit edildi. Bulunan bu değerden hareketle organik madde hesaplandı.

$$\% \text{ OM} = \% \text{ kuru madde} - \% \text{ ham kül}$$

4.3.11. Ham Yağ Tayini (HY)

Yem numuneleri soxhlet cihazında dietil eter ile muamele edilerek ham yağ düzeyleri tespit edildi (165).

4.3.12. Ham Protein Tayini (HP)

Kurutulmuş ve öğütülmüş silaj örneklerinde Protein tayini için Kjeldahl yöntemi uygulanmıştır. Bu amaçla Kjeldahl tüpleri sülfürik asit ile yakıldıktan sonra Destilasyon işlemi için NaOH ile muamele edilir ve erlenmayerler içinde oluşan azot HCl asit ile pembe renk oluşuncaya kadar titre edilir ve sarf edilen

HCL ile ham protein miktarı hesaplanır. Sonuçlar % protein olarak verilmiştir (165).

$$HP(\%) = \frac{0,1 \times 0,014 \times 6,25 \times (\text{kullanılan HCL}) \times 100}{\text{Numune miktarı}}$$

4.3.13. Asit Deterjan Lif (ADF) Tayini

ADF analizleri Vansoest ve ark. (166) tarafından bildirilen yönteme göre yapıldı.

Gerekli Kimyasallar:

a) *Asit Deterjan Solüsyonu*: Cetyl trimethyl ammonium bromide FAD20C 40 gram alınarak 2 litre 1 M, H₂SO₄ içerisinde çözülür.

Hazırlanışı: 2 litre 1 M, H₂SO₄ için 54.4 ml % 95-98 lik H₂SO₄. (54.95 ml % 95-97'lik H₂SO₄) 100 ml saf su da karıştırılır ve 2000 ml ye tamamlanır

b) *Aseton* (Analitik Saflıkta)

Gerekli Ekipmanlar

a) Ankom Fiber Analiz Cihazı

b) Filtreli torba

c) Torba mühürleyici

d) Desikatör ve desikant

Filtreli torbalar 30-35 °C'de 30 dakika bekletildi, desikatöre konularak oda sıcaklığına gelmeleri beklendi. Daha sonra torbalar boşken tartıldı ve kaydedildi (W1), kurutulup öğütülen numune yaklaşık 0.5 g olarak tartılarak torbaya yerleştirildi (W2).

Bu arada boş bir torba daha tartıldı ve kayıt edildi (C1). Torbalar üst kenara 0.5 cm uzaktan torba yapıştırıcı yardımıyla kapatılarak numune torba içine homojen bir şekilde yayıldı. Hazırlanan torbalar Ankom Fiber Analiz Cihazının katlı torba raflarına her gözde üç torba olacak şekilde yerleştirildi.

Kör için kullanılan torba en üst kata konuldu. 24 numuneyi kompartımanına yerleştirdikten sonra üzerine 1900-2000 ml hazırlanmış olan Asit Deterjan Solüsyonundan eklendi ve zaman sayacı 60 dakikaya ayarlanıp cihaz çalıştırıldı.

Analiz için bildirilen yöntem takip edildi ve cihazdan çıkarılan torbalar 250 ml'lik behere konuldu ve üzerlerini kaplayacak şekilde aseton eklendi.

Beherde torbalar 3-5 dakika kaldıktan sonra çıkartıldı ve asetonun uzaklaşması için yavaşça sıkıldı. Torbalar dış ortamda bir süre bekletildikten sonra 105 °C'ye ayarlı etüvde 2-4 saat kurutuldu. Süre bitiminde torbalar desikatöre alındı oda sıcaklığına gelinceye kadar bekletildikten sonra tartımları yapıldı (W3).

W1: Torbaların darası

W2: Örnek ağırlığı

W3: “örnek + torba” nın kurutulduktan sonraki ağırlığı

W4: Organik madde ağırlığı (torba içerisindeki örnekler 600°C'de 8 saat tutulduktan sonra geri kalan kısmın ağırlığı)

C1: Kör ağırlığı (boş torbanın kurutulduktan sonraki ağırlığı/darası)

C2: Köre göre düzeltilmiş kül (boş torbanın organik madde analizinden sonraki ağırlık/boş torbanın orijinal ağırlığı)

$$\%ADF \text{ (havada kuru)} = \frac{[W3 - (W1 \times C1) \times 100]}{W2}$$

$$\%ADF \text{ (kuru madde bazında)} = \frac{[W3 - (W1 \times C1) \times 100]}{W2 \times KM}$$

$$\%ADF_{OM} \text{ (Kuru madde bazında)} = \frac{[W4 - (W1 \times C2) \times 100]}{W2 \times KM}$$

4.3.14. Neutral Deterjan Lif (NDF) Tayini

Gerekli Kimyasallar

a) Nötral Deterjan Solüsyonu:.

Neutral Deterjan Tozu

Trietilen Glikol

b) *Alfa amilaz*

c) *Sodyum Sülfid:*

d) *Aseton:* Analitik saflıkta

Neutral deterjan solüsyonun hazırlanması

2 litre saf suya 120 g Neutral Deterjan Tozu ve 20 ml trietilen glikol ekleyip manyetik karıştırıcıda karıştırılır. Cihazın haznesine numuneleri ve NDF solüsyonunu ekledikten sonra direk hazneye 20 g sodyum sülfid ve 4 ml alfa amilaz eklenir.

Yem örneklerinin NDF analizi Vansoest ve ark. (166) yöntemine göre yapıldı. Örneklerin analiz için hazırlanmasında ADF analizinde belirtilen yol izlendi.

Elde edilen verilerden aşağıdaki formül yardımı ile NDF miktarı bulundu.

W1: Torbaların darası

W2: Örnek ağırlığı

W3: “örnek +torba” nın kurutulduktan sonraki ağırlığı

W4: Organik madde ağırlığı (torba içerisindeki örnekler 600 °C’de 8 saat tutulduktan sonra geri kalan kısmın ağırlığı)

C1: Kör ağırlığı (boş torbanın kurutulduktan sonraki ağırlığı/darası)

C2: Köre göre düzeltilmiş kül (boş torbanın organik madde analizinden sonraki ağırlık/boş torbanın orijinal ağırlığı)

$$\%NDF \text{ (havada kuru)} = \frac{[W3 - (W1 \times C1) \times 100]}{W2}$$

$$\%NDF \text{ (kuru madde bazında)} = \frac{[W3 - (W1 \times C1) \times 100]}{W2 \times KM}$$

$$\%NDF_{OM} \text{ (Kuru madde bazında)} = \frac{[W4 - (W1 \times C2) \times 100]}{W2 \times KM}$$

4.3.15. Ham Selüloz Tayini (HS)

a- Sülfürik asit çözeltisi: 0,255 ±0,005M. 0,25g H₂SO₄/100ml saf su (konsantrasyon titrasyon ile kontrol edilmelidir).

Hazırlanışı: 2 lt 0.255M, H₂SO₄ için: % 95-98 lik H₂SO₄ ü 500 ml suya 13.78 ml ilave edilir ve 2 litreye tamamlanır (% 95-97 lik H₂SO₄ ü 500 ml suya 14.01 ml ilave edilir ve 2 litreye tamamlanır)

b) Sodyum hidroksit çözeltisi: 0,313 ±0,005M. 1,25g NaOH/100ml saf su (konsantrasyon titrasyon ile kontrol edilmelidir). Kullanılan NaOH, Na₂CO₃ içermemeli ya da iz miktarda içermelidir.

Hazırlanışı: 2 lt 0.313M NAOH için 25 gr NaOH bir miktar suda çözülüp 2 litreye tamamlanır.

c) Aseton (veya petrol eteri).

Yem örneklerinin HS analizi Vansoest ve ark. (166) bildirdiği yöntemeye göre yapıldı. Örneklerin analiz için hazırlanmasında ADF analizinde belirtilen yol izlendi.

Elde edilen verilerden aşağıdaki formül yardımı ile HS miktarı bulundu.

$$W_2 = [(A1)-(A2)] - [A3]$$

$$W_2 = [(torba + lif+kroze) - (kroze +kül)] -[(krozel +boş torba)-(kroze +boş torba külü)]$$

$$\% \text{ Ham selüloz} = \frac{100 \times (W_2)}{W_1}$$

W_1 : Numune ağırlığı

W_2 : organik madde ağırlığı

4.3.16. İstatistiksel Analizler

İstatistik analizler için SPSS 15.0 paket programı kullanıldı (167). Grupların karşılaştırılmasında One-Way Anova testi kullanıldı. Farklı çıkan grupların önem seviyesinin kontrolünde Duncan çoklu karşılaştırma testi uygulandı.

5. BULGULAR

Bu araştırma, silajlık mısırdan laktik asit bakterilerini izole etmek ve bunların tanımlanmasını yaparak, elde edilen bakterileri mısır silajına starter kültür olarak kullanma olanaklarını belirlemek üzere planlanmıştır. Bu amaçla Elazığ merkez köylerinden toplanan mısır hasılı örneklerinden toplam altı adet laktik asit bakterisi izole ve identifiye edilmiştir. Bu altı bakteri türünden dört adedi seçilerek silajlara inokulant olarak kullanılmaya karar verilmiştir. Yapılan silajların KM değerleri Tablo 9’da verilmiştir. Tablodaki değerler incelendiğinde fermantasyonun 5. Gününde gruplar arasında KM bakımından farklılık görülmezken, 10. Günde farklılık oluşmuştur. Fermantasyonun 10. Gününde en yüksek KM değeri grup LBRE (*Lactobacillus brevis*)’de, en düşük değer ise grup LFER (*Laktobacillus fermentum*)’de tespit edilmiştir (P<0.001). KM bakımından denemenin 60. Gününe kadar benzer durum gözlenmiş, 90. günde ise en düşük KM değeri LFER grubunda görülmüş, diğer gruplar benzer bulunmuştur (P<0.05). Her grup kendi içerisinde değerlendirildiğinde deneme başı ile 90. Güne kadarki dönemde KM kaybı en fazla LFER grubunda görülmüş (P<0.001), diğer gruplardaki değişim istatistiksel bakımdan önemsiz bulunmuştur (P>0.05).

Araştırma gruplarında pH değerleri Tablo 10’da verilmiştir. Tablo incelendiğinde taze materyalin pH değeri 5.4 düzeyinde iken, fermantasyonun 5. gününde en düşük değer LBRE (*Lactobacillus brevis*) ve LFER (*Laktobacillus fermentum*) gruplarında sırasıyla 3.97 ve 4.00 iken, en yüksek değer ise kontrol grubunda 4.1 olarak tespit edilmiş ve gruplar arasındaki farklılık istatistiksel bakımdan önemli bulunmuştur (P<0.05).

Gruplar arasında pH bakımından farklılık fermantasyon boyunca küçük değişikliklerle devam etmiş ve 90. günde kontrol, LBUC (*Lactobacillus buchneri*), LPEN (*Lactobacillus pentosus*), LMEZ (*L. leuconostoc mesenteriodes*), LBRE (*Lactobacillus brevis*) ve LFER (*Laktobacillus fermentum*) gruplarında sırasıyla 4.02, 4.08, 4.05, 4.02, 4.00 ve 4.00 olarak tespit edilmiştir. Bu veriler içinde en düşük pH değeri LBRE ve LFER gruplarında, en yüksek değer ise LBUC grubunda elde edilmiş ve farklılık istatistiksel bakımdan önemli bulunmuştur ($P<0.001$).

Tablo 11’de verilen ham kül düzeyleri incelendiğinde, taze materyalin HK değerleri % 6.09 ile 6.81 olarak tespit edilmiştir. Fermantasyonun 5. gününde en düşük HK değeri % 6.19 ile LBRE grubunda, en yüksek değer ise LMEZ grubunda % 7.53 olarak tespit edilmiştir, farklılık önemli bulunmuştur ($P<0.05$). Benzer tablo fermantasyonun 10 ve 60. gününde açılan silaj gruplarında görülmüş, 90. gününde açılan silajlarda HK bakımından gruplar arasında farklılık görülmemiştir ($P>0.05$).

Organik madde ile ilgili araştırma bulguları Tablo 12’de verilmiştir. Tablo değerleri incelendiğinde fermantasyonun 5. gününde en yüksek OM düzeyi LBUC (*Lactobacillus buchneri*) ve LBRE (*Lactobacillus brevis*) gruplarında, 60. günde ise en yüksek OM düzeyi LBRE katılan grupta görülmüştür ($P<0.05$). Denemenin 90. gününde ise en yüksek değer LBUC, LBRE ve LFER gruplarında görülmüştür ($P<0.05$). Dönemlere göre gruplar kendi arasında değerlendirildiğinde fermantasyonun 5-30. Günlerinde OM madde bakımından bir artış, 60 ve 90. günlerde ise bir azalmanın olduğu tespit edilmiştir.

Fermantasyonun sonlarına doğru LBUC, LMEZ ve LBRE gruplarında organik madde düzeyinde meydana gelen azalmanın istatistiksel bakımdan önemli ($P<0.001$) olduğu görülmüştür.

Ham yağ ile ilgili veriler Tablo 13'te verilmiştir. Tablo incelendiğinde taze hasılın HY içeriğinin % 2.56 ile 3.51 arasında değiştiği görülmektedir. Fermantasyon süresince bu değerler genelde aynı sınırlar içinde kalmış ve gruplar arasında istatistiksel bakımdan farklılıklar görülmemiştir ($P>0.05$).

Çalışmada elde edilen ham protein değerleri Tablo 14'de verilmiştir. Tablo verileri incelendiğinde taze silaj materyalinin HP düzeyi % 5.94 ile 6.20 arasında değişmektedir. Araştırma gruplarında fermantasyon süresince gruplar arasında istatistiksel bakımdan farklılık görülmemiştir ($P>0.05$). Bununla birlikte LBUC grubunda fermantasyonun 60 ve 90. günlerinde HP düzeyinde azalma görülmüş ($P<0.001$), diğer gruplarda fermantasyonun ilerlemesiyle HP düzeylerinde kısmen azalmalar olmuş, ancak bu değerler istatistiksel bakımdan önemsiz bulunmuştur ($P>0.05$).

Deneme gruplarında laktik asit (LA) düzeyleri ($\text{g kg}^{-1} \text{KM}$) olarak Tablo 15'de verilmiştir. Tablo incelendiğinde taze materyalin LA düzeyi 7.37 olarak bulunmuş, bu değer fermantasyonun 5. gününde inokulant katılmayan kontrol grubunda 8.59, inokulant katılan LBUC, LPEN, LMEZ, LBRE ve LFER deneme gruplarında ise sırasıyla 68.03, 65.00, 69.41, 65.89 ve 68.34 $\text{g kg}^{-1} \text{KM}$ olarak tespit edilmiştir ($P<0.001$). Bu değerlere göre silajlara inokulant katılması fermantasyonun başlaması ile birlikte LA düzeyinde hızlı bir artış sağlamış ve en yüksek değerler 30. gün açılan silajlarda tespit edilmiştir.

İnokulant katılmayan kontrol grubunda LA düzeyleri doğrusal bir artış göstermiş ve en yüksek değer 30. Gün açılan silajlarda 63.59 g kg^{-1} KM olarak tespit edilmiştir ($P<0.001$). Buna rağmen kontrol grubunun LA düzeyi bütün dönemlerde diğer gruplardan düşük seyretmiştir. Fermantasyonun 90. gününde LA düzeyinin bütün gruplarda kısmen azaldığı görülmüştür ($P<0.001$). Fermantasyonun ilk 60 günlük döneminde LFER katılan grupta tespit edilen LA düzeyi diğer gruplardan yüksek bulunmuştur ($P<0.001$).

Araştırmadan elde edilen asetik asit (AA) değerleri Tablo 16'da verilmiştir. Taze materyalin AA düzeyi 2.88 g kg^{-1} KM olarak tespit edilmiş, fermantasyonun ilerlemesi ile grupların AA düzeyinde artışlar gözlenmiştir. Fermantasyonun 5. gününde kontrol, LBUC, LPEN, LMEZ, LBRE ve LFER gruplarında AA düzeyi sırasıyla 8.06, 10.66, 9.71, 8.66, 6.55 ve 8.77 g kg^{-1} KM olarak tespit edilmiştir.

Burada elde edilen değerler taze materyale göre önemli olarak yüksek bulunurken ($P<0.001$), gruplar kendi aralarında benzer bulunmuştur ($P>0.05$). Fermantasyonun 10. Gününde LBUC ve LPEN katılan gruplarda AA düzeyi sırasıyla 11.60 ve 10.63 g kg^{-1} KM olarak tespit edilmiş ve elde edilen bu değerler diğer gruplara göre istatistiksel bakımdan önemli bulunmuştur ($P<0.001$). Fermantasyonun 15 ve 30. gününde açılan silajlarda LBUC grubunun AA düzeyi diğer gruplara göre daha yüksek bulunmuştur ($P<0.001$). Laktik asit değerlerinde olduğu gibi fermantasyonun 90. gününde AA düzeyinin kısmen azaldığı görülmüştür.

Deneme gruplarında dönemlere göre bütirik asit (BA) düzeyleri Tablo 17’de verilmiştir. Taze mısır hasılıının BA düzeyi 0.17 g/kg KM düzeyinde iken, fermantasyonun 5. gününde kontrol, LBUC, LPEN, LMEZ, LBRE ve LFER gruplarında BA düzeyi sırasıyla 0.17, 2.36, 3.82, 3.01, 3.35 ve 4.40 g kg⁻¹ KM olarak tespit edilmiştir. Burada inokulant katılan grupların BA düzeyi kontrol grubundan yüksek bulunmuştur (P<0.001). Araştırmanın 15, 30 ve 60. günlerinde açılan silaj örneklerinde BA düzeyi çok düşük seyretmiş, 90. Gün değerlerinde ise yükselme görülmüş, ancak gruplar arasındaki farklılık istatistiksel bakımdan önemsiz bulunmuştur (P>0.05).

Araştırma gruplarında ADF düzeyleri Tablo 18’de verilmiştir. Tabloda da görüldüğü gibi taze mısır hasılıının ADF düzeyi % 29.75 ile 32.16 arasında değişmektedir. Fermantasyonun 30. gününde ADF bakımından gruplar arasında istatistiksel bakımdan farklılık görülmüş, en yüksek değer LBUC grubunda % 36.08 olarak tespit edilmiştir (P<0.001). Bunun dışında gerek gruplar arasında gerekse grupların fermantasyon dönemlerine göre ADF bakımından farklılık görülmemiştir (P>0.05).

Deneme gruplarında NDF değerleri Tablo 19’da verilmiştir. Taze silaj materyalinin NDF düzeyi % 46.72 ile 51.42 arasında değişirken, bu değerler fermantasyonun 90. Günündeki değerler ile benzer bulunmuştur. Gruplar karşılaştırıldığında 15 ve 60. Günlerdeki NDF oranları en az olarak LBRE grubunda bulunurken farklılık önemli bulunmuştur (P<0.001). Fermantasyonun diğer dönemlerinde gruplar arasında farklılıklar tespit edilmemiştir (P>0.05).

Araştırma gruplarında ADL düzeyleri Tablo 20’de verilmiştir. Tabloda da görüldüğü gibi taze mısır hasılının ADL içeriği % 6.30 ile 7.30 arasında değişmektedir. Fermantasyonun 10. Gününde en düşük ADL değeri LMEZ grubunda 4.99 olarak tespit edilmiş ($P<0.05$), bunun dışında gruplar arasında ADL bakımından farklılık görülmemiştir ($P>0.05$).

Ancak kontrol ve LFER gruplarında ADL bakımından dönemlere göre farklılık görülmezken, inokulant katılan diğer deneme gruplarında denemenin 30. gününde bir artış gözlenmiş ($P<0.001$), daha sonraki dönemlerde taze materyale benzer sonuçlar elde edilmiştir.

Araştırma gruplarında elde edilen hemiselüloz değerleri Tablo 21’de verilmiştir. Taze mısır hasılının hemiselüloz düzeyi % 16.97 ile 19.98 oranları arasında değişkenlik göstermiş, bu değerler fermantasyonun sonuna kadar benzerlik göstermiştir. Hemiselüloz bakımından gruplar arasında istatistiksel bakımdan farklılık görülmemiştir ($P>0.05$).

Tablo 22’de deneme gruplarında laktik asit bakterisi (LAB) sayıları (log kob/g) ile ilgili değerler verilmiştir. Taze materyalin LAB düzeyi 3.70 log kob/g olarak bulunmuş, fermantasyonun 5. gününde kontrol, LBUC, LPEN, LMEZ, LBRE ve LFER gruplarında LAB düzeyi sırasıyla 4.60, 9.54, 9.65, 8.94, 9.80 ve 10.32 log kob/g olarak tespit edilmiştir.

Bu değerlere göre en düşük LAB düzeyi inokulant katılmayan K grubunda, en yüksek değer LBUC, LPEN, LBRE ve LFER gruplarında görülmüş ve farklılık istatistiksel bakımdan önemli bulunmuştur ($P<0.001$).

Fermantasyonun 15. gününde LBUC, LMEZ, LBRE ve LFER gruplarında en yüksek LAB düzeyleri tespit edilmiş ve bu yüksek değerler denemenin sonu olan 90. güne kadar sürmüştür ($P<0.001$). İnokulant katılmayan K grubunda LAB düzeyleri bütün dönemlerde diğer gruplardan düşük düzeyde seyretmiştir ($P<0.001$).

Deneme gruplarında toplam aerobik mezofilik bakteri düzeyi ile ilgili veriler Tablo 23'te verilmiştir.

Tablo incelendiğinde taze mısır hasılıının toplam aerobik mezofilik bakteri düzeyi 4.88 log kob/g olarak belirlenirken, fermantasyonun 5. Gününde K, LBUC, LPEN, LMEZ; LBRE ve LFER gruplarında sırasıyla 6.78, 10.07, 10.67, 9.54, 11.07 ve 10.68 log kob/g olarak tespit edilmiş, inokulant katılan grupların toplam aerobik mezofilik bakteri düzeyi kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur ($P<0.001$). İnokulant katılan mısır silajında en yüksek toplam aerobik mezofilik bakteri fermantasyonun 15. Gününde elde edilmiştir ($P<0.001$). İnokulant katılmayan K grubunda toplam aerobik mezofilik bakteri düzeyleri bütün dönemlerde diğer gruplardan düşük düzeyde seyretmiştir ($P<0.001$).

Araştırma gruplarında tespit edilen maya düzeyleri Tablo 24'de verilmiştir. Tabloda da görüldüğü gibi, taze silaj materyalinde maya düzeyi 5.90 ile 7.68 log kob/g olarak tespit edilmiş, fermantasyonun 5. gününde K, LBUC, LPEN, LMEZ, LBRE ve LFER gruplarında sırasıyla 4.73, 7.32, 7.04, 5.50, 6.74 ve 5.37 log kob/g olarak tespit edilmiş ($P<0.001$) ve LBUC, LPEN ve LBRE gruplarındaki maya düzeyi ise diğer gruplardan daha yüksek bulunmuştur ($P<0.05$).

Fermantasyonun 15. Gününden itibaren bütün gruplarda maya düzeyinde azalmalar başlamış ve 90. Gününde K ile LBUC gruplarında maya küf tespit edilebilir miktarın altına düşmüştür., diğer gruplarda ise en düşük seviyelere inmiştir.

Bir silajın kalite ölçütlerinde dikkat edilmesi gereken en önemli hususlardan biri de küf düzeyidir. Bütün yemlerde küf olması hiç istenmez veya kabul edilebilir sınırlar içinde olmalıdır. Deneme gruplarında görülen küf düzeyleri Tablo 25’de verilmiştir. Tabloda da görüldüğü gibi taze materyalde küf düzeyi 3.32 ile 4.36 log kob/g düzeyindedir.

Fermentasyonun 5. gününde kontrol grubunda hiç küf tespit edilebilir miktarın altına düşmüştür, diğer gruplarda ise oldukça düşük düzeyde seyretmiştir. Denemenin 10. gününde kontrol, LBUC, LMEZ ve LBRE gruplarında hiç küf görülmemiş, diğer iki grupta daha da azalmıştır. Fermantasyonun 30. gününden sonra bütün gruplarında küf küf tespit edilebilir miktarın altına düşmüştür. (P>0.05).

Fermentasyonun 60. gününde açılan silajlardan alınan örnekler 5 gün süre ile oda sıcaklığında (22 °C) bekletildi. Daha sonra Ashbell ve ark. (154) tarafından geliştirilen yöntemle oksijene karşı dayanıklılık (aerobik stabilite) testi uygulandı. Beş gün bekletilen silaj örneklerinde KM, pH, maya-küf, LAB, toplam aerobik mezofilik bakteri (MAB) sayımları ile görsel küflenme bakımından değerlendirmeler yapıldı. Ayrıca silajlarda oluşan CO₂ miktarı hesaplandı (155). Deneme gruplarında oksijene karşı dayanıklılık testi için yapılan bu değerlendirmeler Tablo 26’da verilmiştir.

Buna göre oda sıcaklığında 5 gün bekletilen silajlarda görsel küflenme, renk ve koku bakımından herhangi bir olumsuzluk tespit edilememiştir. Araştırma gruplarında pH değerleri bir miktar yükselme göstermiş ancak iyi silajlar için kabul edilebilecek değerler içinde kalmıştır. Bununla birlikte en düşük pH değeri LBRE ve LFER gruplarında sırasıyla 4.27 ve 4.22 olarak tespit edilmiş ve farklılık diğer gruplara göre istatistiksel bakımdan önemli bulunmuştur ($P<0.05$). Deneme gruplarında LAB, toplam aerobik mezofilik bakteri ve maya düzeyi bakımından gruplar arasında önemli bir farklılık tespit edilememiş, küf üremesi ise görülmemiştir.

Ancak fermantasyonun 60. Gününde açılan silajlarda maya düzeyleri (log kob/g) K, LBUC, LPEN, LMEZ, LBRE ve LFER gruplarında sırasıyla 1.17, 2.66, 4.36, 4.78, 2.48 ve 2.60 düzeyinde iken 5 gün bekletilen silaj örneklerinde sırasıyla 6.97, 6.61, 7.78, 7.69, 7.44 ve 7.83 düzeyine çıkmıştır. Bu testin sonunda deneme gruplarından alınan örneklerde CO₂ düzeyi tespit edilmiş ve en yüksek değer 0.018 ile K grubunda hesaplanmıştır ($P<0.05$). Silajlara inokulant katılması CO₂ üretimini azaltıcı etki göstermiştir.

Tablo 9. Deneme Gruplarında Kuru Madde Düzeyleri (%).

	n	Taze materyal	5. gün	10. gün	15. gün	30. gün	60. gün	90. gün	P
K	3	30.83±0.45	30.83±0.75	29.51±0.27 ^B	30.16±0.29 ^B	29.68±0.27 ^B	29.79±0.75 ^B	29.73±0.39 ^A	0.492
LBUC	3	30.06±0.24	30.06±0.24	29.56±0.27 ^B	30.06±0.16 ^B	29.42±0.27 ^B	29.74±0.05 ^B	29.87±0.13 ^A	0.231
LPEN	3	30.69±0.32	31.06±0.13	30.54±0.18 ^B	30.28±0.41 ^B	30.15±0.22 ^B	30.30±0.40 ^B	30.52±0.39 ^A	0.470
LMEZ	3	30.56±0.61	30.53±0.34	30.05±0.61 ^B	29.47±0.34 ^B	29.68±0.15 ^B	31.17±0.63 ^{AB}	30.58±0.80 ^A	0.360
LBRE	3	30.55±0.37	31.41±0.42	32.34±0.21 ^A	31.79±0.64 ^A	31.04±0.26 ^A	32.45±0.57 ^A	31.00±1.00 ^A	0.976
LFER	3	30.90±0.40 ^a	27.61±0.26 ^b	28.22±0.21 ^{b,C}	27.76±0.20 ^{b,C}	28.18±0.13 ^{b,C}	27.66±0.15 ^{b,C}	27.54±0.56 ^{b,B}	0.000
P		0.751	0.699	0.000	0.000	0.000	0.000	0.023	

a, b, c...: Aynı satırda farklı harf taşıyan değerler istatistiksel olarak farklıdır (P<0.001).

A, B, C...: Aynı sütunda farklı harf taşıyan değerler istatistiksel olarak farklıdır (P<0.001).

K= kontrol, LBUC= *Lactobacillus buchneri*, LPEN= *Lactobacillus pentosus*, LMEZ= *L. leuconostoc mesenteriodes*
LBRE= *Lactobacillus brevis*, LFER= *Laktobacillus fermentum*

Tablo 10. Deneme Gruplarında pH Düzeyleri.

	n	Taze	5. gün	10. gün	15. gün	30. gün	60. gün	90. gün	P
		materyal							
K	3	5.4±0.04 ^a	4.1±0.03 ^{b,A}	4.04±0.01 ^{bc,B}	4.02±0.01 ^{c,A}	4.05±0.01 ^{bc,AB}	4.09±0.01 ^{b,A}	4.02±0.00 ^{c,C}	0.000
LBUC	3	5.4±0.06 ^a	4.06±0.01 ^{b,AB}	4.06±0.01 ^{b,A}	4.03±0.00 ^{b,A}	4.06±0.00 ^{b,A}	4.07±0.01 ^{b,A}	4.08±0.01 ^{b,A}	0.000
LPEN	3	5.4±0.04 ^a	4.04±0.01 ^{bc,AB}	4.01±0.01 ^{c,B}	4.04±0.00 ^{c,A}	4.05±0.00 ^{bc,A}	4.09±0.00 ^{b,A}	4.05±0.00 ^{bc,B}	0.000
LMEZ	3	5.4±0.06 ^a	4.09±0.07 ^{b,A}	4.01±0.00 ^{b,B}	4.01±0.01 ^{b,AB}	4.03±0.00 ^{b,B}	4.08±0.01 ^{b,A}	4.02±0.00 ^{b,C}	0.000
LBRE	3	5.4±0.04 ^a	3.97±0.01 ^{d,BC}	3.98±0.00 ^{cd,C}	4.00±0.00 ^{cd,B}	4.03±0.01 ^{bc,B}	4.06±0.01 ^{b,A}	4.00±0.01 ^{cd,D}	0.000
LFER	3	5.4±0.06 ^a	4.00±0.01 ^{b,C}	4.00±0.01 ^{b,C}	4.00±0.01 ^{b,C}	4.00±0.00 ^{b,C}	4.01±0.01 ^{b,B}	4.00±0.01 ^{b,D}	0.000
P		1.000	0.016	0.000	0.000	0.000	0.003	0.000	

a, b, c...: Aynı satırda farklı harf taşıyan değerler istatistiksel olarak farklıdır (P<0.001).

A, B, C...: Aynı sütunda farklı harf taşıyan değerler istatistiksel olarak farklıdır (P<0.001).

K= kontrol, LBUC= *Lactobacillus buchneri*, LPEN= *Lactobacillus pentosus*, LMEZ= *L. leuconostoc mesenteriodes*, LBRE= *Lactobacillus brevis*, LFER= *Laktobacillus fermentum*

Tablo 11. Deneme Gruplarında Ham Kül Düzeyleri (%).

	n	Taze materyal	5. gün	10. gün	15. gün	30. gün	60. gün	90. gün	P
K	3	6.09±0.36	7.37±0.43 ^{AB}	7.26±0.02 ^{AB}	7.31±0.23	7.34±0.25	7.45±0.29 ^{AB}	7.11±0.01	0.467
LBUC	3	6.48±0.63	7.24±0.21 ^{AB}	7.76±0.21 ^A	7.50±0.12	7.95±0.30	7.99±0.07 ^A	7.19±2.61	0.474
LPEN	3	6.44±0.63	6.62±0.2 ^{BC}	6.99±0.22 ^{AB}	7.26±0.28	6.93±0.14	7.34±0.15 ^{AB}	7.31±0.04	0.237
LMEZ	3	6.81±0.37 ^c	7.53±0.19 ^{ab A}	6.64±0.57 ^{bc BC}	7.83±0.43 ^a	7.39±0.08 ^{ab}	6.92±0.40 ^{abc B}	7.31±0.34 ^{ab}	0.035
LBRE	3	6.09±0.36	6.19±0.15 ^C	5.93±0.14 ^C	6.66±0.57	6.40±0.04	6.01±0.39 ^C	6.37±0.03	0.799
LFER	3	6.48±0.63	6.98±0.12 ^{AB}	7.29±0.08 ^{AB}	7.48±0.20	7.20±0.01	7.43±0.22 ^{AB}	7.31±0.18	0.200
P		0.911	0.015	0.008	0.186	0.596	0.006	0.678	

a, b, c...: Aynı satırda farklı harf taşıyan değerler istatistiksel olarak farklıdır (P<0.001).

A, B, C...: Aynı sütunda farklı harf taşıyan değerler istatistiksel olarak farklıdır (P<0.001).

K= kontrol, LBUC= *Lactobacillus buchneri*, LPEN= *Lactobacillus pentosus*, LMEZ= *L. leuconostoc mesenteriodes* LBRE= *Lactobacillus brevis*, LFER= *Laktobacillus fermentum*

Tablo 12. Deneme Gruplarında Organik Madde Düzeyleri (%).

	n	Taze materyal	5. gün	10. gün	15. gün	30. gün	60. gün	90. gün	P
K	3	88.78±0.56 ^b	89.84±0.39 ^{a C}	90.68±0.49 ^a	89.90±0.33 ^a	90.34±0.32 ^{a C}	88.46±0.16 ^{b B}	88.62±0.38 ^{b B}	0.001
LBUC	3	88.98±0.33 ^{cd}	91.52±0.19 ^{a A}	89.97±0.77 ^{bc}	89.76±0.67 ^{bc}	90.90±0.24 ^{ab BC}	87.75±0.12 ^{d B}	89.05±0.09 ^{cd AB}	0.000
LPEN	3	89.07±0.52 ^b	90.32±0.33 ^{ab BC}	90.20±0.28 ^{ab}	89.10±1.79 ^b	91.67±0.37 ^{b AB}	88.59±0.36 ^{b B}	88.50±0.19 ^{b B}	0.027
LMEZ	3	88.61±0.40 ^d	90.13±0.14 ^{bc C}	90.13±1.08 ^{bc}	90.93±0.11 ^{ab}	91.72±0.27 ^{a AB}	88.71±0.36 ^{cd B}	88.50±0.31 ^{d B}	0.001
LBRE	3	89.50±0.21 ^e	91.06±0.02 ^{b AB}	90.18±0.10 ^{bcd}	91.00±0.48 ^{bc}	92.40±0.20 ^{a A}	89.98±0.63 ^{cd A}	89.75±0.25 ^{d A}	0.000
LFER	3	88.25±0.07 ^b	90.59±0.16 ^{a BC}	90.02±0.18 ^a	89.87±0.45 ^a	90.81±0.40 ^{a BC}	88.76±0.40 ^{b B}	88.98±0.08 ^{b AB}	0.000
P		0.364	0.003	0.965	0.241	0.005	0.030	0.026	

a, b, c...: Aynı satırda farklı harf taşıyan değerler istatistiksel olarak farklıdır (P<0.001).

A, B, C...: Aynı sütunda farklı harf taşıyan değerler istatistiksel olarak farklıdır (P<0.001).

K= kontrol, LBUC= *Lactobacillus buchneri*, LPEN= *Lactobacillus pentosus*, LMEZ= *L. leuconostoc mesenteriodes* LBRE= *Lactobacillus brevis*, LFER= *Laktobacillus fermentum*

Tablo 13. Deneme Gruplarında Ham Yağ Düzeyleri (%).

	n	Taze materyal	5. gün	10. gün	15. gün	30. gün	60. gün	90. gün	P
K	3	2.95±0.82	2.91±0.50	2.88±0.51	2.80±0.32	4.00±0.17	2.30±0.28	2.27±0.10	0.208
LBUC	3	3.03±0.83	2.33±0.40	3.33±0.15	2.96±0.96	2.62±0.22	3.29±0.75	2.19±1.11	0.870
LPEN	3	2.56±0.52	2.32±0.20	2.36±0.47	2.49±0.41	2.29±0.20	2.07±0.02	2.38±0.06	0.958
LMEZ	3	3.51±0.44	3.35±1.14	2.86±1.05	2.22±0.36	3.68±0.55	3.88±1.83	3.24±0.54	0.913
LBRE	3	2.95±0.82	3.94±0.23	4.39±0.63	4.98±1.33	3.26±0.72	3.24±0.30	2.79±0.96	0.103
LFER	3	2.71±0.59	3.93±0.45	4.05±0.51	4.00±0.42	3.82±0.61	3.60±0.80	3.11±0.66	0.222
P		0.946	0.231	0.235	0.151	0.124	0.657	0.827	

K= kontrol, LBUC= *Lactobacillus buchneri*, LPEN= *Lactobacillus pentosus*, LMEZ= *L. leuconostoc mesenteriodes* LBRE= *Lactobacillus brevis*, LFER= *Laktobacillus fermentum*

Tablo 14. Deneme Gruplarında Ham Protein Düzeyleri (%).

	n	Taze materyal	5. gün	10. gün	15. gün	30. gün	60. gün	90. gün	P
K	3	5.99±0.23	6.71±0.38	6.56±0.76	5.90±0.62	6.48±0.23 ^B	5.25±0.09 ^{AB}	5.31±0.39	0.175
LBUC	3	6.07±0.24 ^b	6.86±0.63 ^{ab}	6.13±0.28 ^{ab}	6.18±0.13 ^{ab}	7.10±0.35 ^a	4.55±0.10 ^{c B}	4.91±0.10 ^c	0.000
						AB			
LPEN	3	5.94±0.18	6.62±0.50	6.86±0.38	5.63±1.40	6.86±0.32 ^{AB}	5.16±0.28 ^{AB}	4.78±0.13	0.156
LMEZ	3	6.20±0.12	6.88±0.72	6.09±0.47	6.45±0.61	6.39±0.18 ^B	5.42±0.22 ^A	5.14±0.21	0.124
LBRE	3	5.99±0.23	6.44±0.23	6.94±0.70	6.07±0.44	6.56±0.18 ^B	5.75±0.50 ^A	5.28±0.15	0.054
LFER	3	6.01±0.20	6.85±0.34	5.90±0.56	6.97±1.41	7.59±0.21 ^A	6.01±0.06 ^A	4.64±0.05	0.054
P		0.954	0.985	0.521	0.923	0.023	0.026	0.178	

a, b, c...: Aynı satırda farklı harf taşıyan değerler istatistiksel olarak farklıdır (P<0.001).

A, B, C...: Aynı sütunda farklı harf taşıyan değerler istatistiksel olarak farklıdır (P<0.05).

K= kontrol, LBUC= *Lactobacillus buchneri*, LPEN= *Lactobacillus pentosus*, LMEZ= *L. leuconostoc mesenteriodes* LBRE= *Lactobacillus brevis*, LFER= *Laktobacillus fermentum*

Tablo 15. Deneme Gruplarında Laktik Asit Düzeyleri (g kg⁻¹ KM).

	n	Taze materyal	5. gün	10. gün	15. gün	30. gün	60. gün	90. gün	P
K	3	7.37±0.18 ^d	8.59±2.49 ^{d,B}	10.56±1.88 ^{d,C}	23.96±0.33 ^{c,C}	63.59±1.84 ^{a,D}	46.45±0.99 ^{b,C}	42.19±1.32 ^b	0.000
LBUC	3	7.37±0.18 ^d	68.03±1.52 ^{bc,A}	64.42±5.79 ^{bc,B}	78.39±3.54 ^{ab,B}	90.60±4.37 ^{a,AB}	62.95±1.17 ^{c,B}	57.78±9.30 ^c	0.000
LPEN	3	7.37±0.18 ^f	65.00±2.24 ^{d,A}	72.08±0.22 ^{c,AB}	79.36±2.36 ^{b,B}	85.76±2.67 ^{a,BC}	66.40±0.75 ^{cd,AB}	48.32±0.22 ^e	0.000
LMEZ	3	7.37±0.18 ^d	69.41±1.85 ^{bc,A}	70.27±10.70 ^{bc,AB}	82.95±6.85 ^{ab,AB}	96.72±4.78 ^{a,AB}	63.88±1.31 ^{c,AB}	57.55±4.35 ^c	0.000
LBRE	3	7.37±0.18 ^e	65.89±7.71 ^{bc,A}	65.51±1.12 ^{bc,B}	75.81±1.20 ^{ab,B}	78.67±2.68 ^{a,C}	61.99±1.71 ^{cd,B}	54.60±1.17 ^d	0.000
LFER	3	7.37±0.18 ^e	68.34±6.34 ^{c,A}	87.77±1.69 ^{b,A}	90.92±2.34 ^{ab,A}	99.00±4.37 ^{a,A}	68.94±2.89 ^{c,A}	57.97±2.19 ^d	0.000
P		1.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.145	

a, b, c...: Aynı satırda farklı harf taşıyan değerler istatistiksel olarak farklıdır (P<0.001).

A, B, C...: Aynı sütunda farklı harf taşıyan değerler istatistiksel olarak farklıdır (P<0.001).

K= kontrol, LBUC= *Lactobacillus buchneri*, LPEN= *Lactobacillus pentosus*, LMEZ= *L. leuconostoc mesenteriodes*. LBRE= *Lactobacillus brevis*, LFER= *Laktobacillus fermentum*

Tablo 16. Deneme Gruplarında Asetik Asit Düzeyleri (g kg⁻¹ KM).

	n	Taze materyal	5. gün	10. gün	15. gün	30. gün	60. gün	90. gün	P
K	3	2.88±0.09 ^d	8.06±0.75 ^b	6.27±0.89 ^{bc,D}	6.27±0.89 ^{bc,C}	13.51±0.27 ^{a,B}	8.00±0.55 ^b	4.75±0.40 ^{cd}	0.000
LBUC	3	2.88±0.09 ^c	10.66±0.42 ^b	11.60±1.09 ^{b,A}	15.53±0.29 ^{a,A}	17.83±0.19 ^{a,A}	10.77±2.39 ^b	6.03±0.84 ^c	0.000
LPEN	3	2.88±0.09 ^e	9.71±0.26 ^b	10.63±0.33 ^{ab,AB}	10.93±0.06 ^{a,B}	11.44±0.21 ^{a,C}	7.63±0.19 ^c	6.15±0.68 ^d	0.000
LMEZ	3	2.88±0.09 ^c	8.66±0.65 ^{ab}	7.77±1.10 ^{b,CD}	10.45±1.27 ^{ab,B}	12.31±0.63 ^{a,BC}	7.09±0.11 ^b	8.66±2.90 ^{ab}	0.006
LBRE	3	2.88±0.09 ^c	6.55±1.41 ^{ab}	5.59±0.35 ^{b,D}	6.88±0.30 ^{ab,C}	8.50±0.34 ^{a,D}	5.66±0.11 ^b	6.07±0.95 ^b	0.002
LFER	3	2.88±0.09 ^c	8.77±1.06 ^b	8.83±0.35 ^{b,BC}	11.15±0.51 ^{a,B}	12.99±0.41 ^{a,B}	8.43±0.37 ^b	6.87±0.90 ^b	0.000
P		1.000	0.071	0.000	0.000	0.000	0.070	0.525	

a, b, c...: Aynı satırda farklı harf taşıyan değerler istatistiksel olarak farklıdır (P<0.001).

A, B, C...: Aynı sütunda farklı harf taşıyan değerler istatistiksel olarak farklıdır (P<0.001).

K= kontrol, LBUC= *Lactobacillus buchneri*, LPEN= *Lactobacillus pentosus*, LMEZ= *L. leuconostoc mesenteriodes*. LBRE= *Lactobacillus brevis*, LFER= *Laktobacillus fermentum*

Tablo 17. Deneme Gruplarında Bütirik Asit Düzeyleri (g kg⁻¹ KM).

	n	Taze materyal	5. gün	10. gün	15. gün	30. gün	60. gün	90. gün	P
K	3	0.17±0.02 ^b	0.17±0.09 ^{b,C}	0.09±0.05 ^{b,BC}	0.09±0.05 ^b	0.16±0.10 ^{b,C}	0.08±0.04 ^b	2.60±0.46 ^a	0.000
LBUC	3	0.17±0.02 ^{cd}	2.36±0.37 ^{a,B}	0.42±0.15 ^{cd,C}	0.00±0.00 ^d	1.15±0.06 ^{bc,B}	0.11±0.06 ^d	1.58±0.72 ^{ab}	0.001
LPEN	3	0.17±0.02 ^c	3.82±0.18 ^{a,AB}	3.06±0.47 ^{a,A}	0.00±0.00 ^c	1.32±0.50 ^{b,B}	0.07±0.07 ^c	1.03±0.51 ^{bc}	0.000
LMEZ	3	0.17±0.02 ^d	3.01±0.22 ^{a,AB}	0.86±0.22 ^{c,BC}	0.00±0.00 ^d	2.32±0.17 ^{b,A}	0.07±0.07 ^d	1.19±0.24 ^c	0.000
LBRE	3	0.17±0.02 ^b	3.35±1.01 ^{a,AB}	2.36±0.76 ^{a,AB}	0.00±0.00 ^b	0.32±0.03 ^{b,C}	0.18±0.10 ^b	2.41±0.17 ^a	0.001
LFER	3	0.17±0.02 ^c	4.40±0.19 ^{a,A}	3.16±1.00 ^{b,A}	0.11±0.11 ^c	1.15±0.10 ^{c,B}	0.19±0.03 ^c	2.53±0.03 ^b	0.000
P		1.000	0.001	0.012	0.397	0.000	0.606	0.068	

a, b, c...: Aynı satırda farklı harf taşıyan değerler istatistiksel olarak farklıdır (P<0.001).

A, B, C...: Aynı sütunda farklı harf taşıyan değerler istatistiksel olarak farklıdır (P<0.001).

K= kontrol, LBUC= *Lactobacillus buchneri*, LPEN= *Lactobacillus pentosus*, LMEZ= *L. leuconostoc mesenteriodes* LBRE= *Lactobacillus brevis*, LFER= *Laktobacillus fermentum*

Tablo 18. Deneme Gruplarında ADF Düzeyleri, (%).

	n	Taze materyal	5. gün	10. gün	15. gün	30. gün	60. gün	90. gün	P
K	3	32.16±1.19	32.28±1.73	31.90± 1.21	32.57±0.34	34.07±0.19 ^{BC}	30.06±1.07	31.23±0.39	0.266
LBUC	3	30.21±0.86 ^b	31.71±0.99 ^b	32.13±0.86 ^b	31.45±0.26 ^b	36.08±0.36 ^{aA}	31.44±1.56 ^b	32.79±0.47 ^b	0.009
LPEN	3	30.59±1.88	31.15±0.55	33.44±0.54	31.57±0.39	34.18±0.40 ^{BC}	30.45±0.84	31.49±0.59	0.067
LMEZ	3	30.92±0.63	30.83±1.32	28.24±2.54	34.10±0.86	35.02±0.23 ^{AB}	32.06±1.17	31.31±1.35	0.052
LBRE	3	29.91±0.86	29.10±0.87	28.56±0.65	29.59±1.79	33.18±0.38 ^{CD}	31.07±2.80	29.37±0.57	0.330
LFER	3	29.75±1.35	30.37±1.74	32.49±0.80	32.04±0.85	32.46±0.63 ^D	33.11±0.38	32.10±1.34	0.350
P		0.743	0.599	0.064	0.079	0.000	0.742	0.212	

a, b, c...: Aynı satırda farklı harf taşıyan değerler istatistiksel olarak farklıdır (P<0.001).

A, B, C...: Aynı sütunda farklı harf taşıyan değerler istatistiksel olarak farklıdır (P<0.001).

K= kontrol, LBUC= *Lactobacillus buchneri*, LPEN= *Lactobacillus pentosus*, LMEZ= *L. leuconostoc mesenteriodes* LBRE= *Lactobacillus brevis*, LFER= *Laktobacillus fermentum*

Tablo 19. Deneme Gruplarında NDF Düzeyleri, (%).

	n	Taze materyal	5. gün	10. gün	15. gün	30. gün	60. gün	90. gün	P
K	3	51.42±0.84	52.05±1.14	49.92±0.70	52.24±1.00 ^A	50.40±0.49	51.15±1.97 ^A	50.59±1.18	0.765
LBUC	3	50.19±0.69	51.84±0.94	52.53±2.26	52.89±1.03 ^A	52.17±0.54	52.36±0.03 ^A	52.78±0.11	0.616
LPEN	3	47.75±2.03	51.31±1.27	52.16±0.69	50.94±0.70 ^A	51.27±0.38	50.87±0.67 ^A	51.46±0.78	0.174
LMEZ	3	50.19±0.69	50.51±0.71	45.88±3.95	53.88±0.53 ^A	52.71±0.59	49.53±0.86 ^A	50.67±0.82	0.081
LBRE	3	47.71±0.30	46.01±1.42	45.80±0.46	46.98±2.49 ^B	48.64±1.22	44.23±1.67 ^B	48.51±0.12	0.281
LFER	3	46.72±2.05	48.69±0.76	51.82±0.05	51.83±0.51 ^A	51.10±1.56	50.48±0.24 ^A	49.53±1.80	0.098
P		0.144	0.16	0.077	0.028	0.091	0.005	0.119	

A, B, C...: Aynı sütunda farklı harf taşıyan değerler istatistiksel olarak farklıdır (P<0.001).

K= kontrol, LBUC= *Lactobacillus buchneri*, LPEN= *Lactobacillus pentosus*, LMEZ= *L. leuconostoc mesenteriodes* LBRE= *Lactobacillus brevis*, LFER= *Laktobacillus fermentum*

Tablo 20. Deneme Gruplarında ADL Düzeyleri, (%).

	n	Taze materyal	5. gün	10. gün	15. gün	30. gün	60. gün	90. gün	P
K	3	7.30±0.78	7.73±0.94	6.99±0.52 ^A	6.33±0.57 ^B	8.05±0.38	8.27±0.24	6.60±0.35	0.229
LBUC	3	7.00±0.76 ^c	7.30±0.78 ^{bc}	6.32±0.63 ^{cAB}	6.40±0.50 ^{cB}	9.17±0.07 ^a	8.73±0.24 ^{ab}	6.47±0.18 ^c	0.007
LPEN	3	6.64±0.24 ^{bc}	6.53±0.22 ^{bc}	7.32±0.13 ^{bA}	6.26±0.18 ^{cB}	8.70±0.06 ^a	7.33±0.59 ^b	5.88±0.07 ^c	0.000
LMEZ	3	6.30±0.59 ^{bc}	6.06±0.70 ^{bc}	4.99±0.83 ^{cB}	8.06±0.18 ^{aA}	8.66±0.03 ^a	7.67±0.35 ^{ab}	6.94±0.58 ^{ab}	0.004
LBRE	3	6.70±0.32 ^{bc}	6.66±0.54 ^{bc}	5.79±0.11 ^{cAB}	6.19±0.23 ^{bcB}	9.03±0.55 ^a	7.34±0.13 ^b	6.34±0.27 ^{bc}	000
LFER	3	6.33±0.47	6.50±0.63	6.72±0.18 ^A	6.93±0.59 ^{AB}	7.67±0.73	8.60±0.50	7.34±0.18	0.083
P		0.790	0.560	0.050	0.055	0.146	0.070	0.086	

a, b, c...: Aynı satırda farklı harf taşıyan değerler istatistiksel olarak farklıdır (P<0.001).

A, B, C...: Aynı sütunda farklı harf taşıyan değerler istatistiksel olarak farklıdır (P<0.001).

K= kontrol, LBUC= *Lactobacillus buchneri*, LPEN= *Lactobacillus pentosus*, LMEZ= *L. leuconostoc mesenteriodes* LBRE= *Lactobacillus brevis*, LFER= *Laktobacillus fermentum*

Tablo 21. Deneme Gruplarında Hemiselüloz Düzeyleri, (%).

	n	Taze materyal	5. gün	10. gün	15. gün	30. gün	60. gün	90. gün	P
K	3	19.26±0.49	19.76±0.40	18.02±0.79	19.67±1.23	16.33±0.56	21.09±2.72	19.36±1.12	0.286
LBUC	3	19.98±1.04	20.13±0.37	20.40±1.74	21.44±0.95	16.09±0.74	20.92±1.54	19.99±0.40	0.067
LPEN	3	17.16±3.82	20.16±0.92	18.72±0.96	19.37±1.03	17.09±0.22	20.42±1.39	19.97±0.40	0.662
LMEZ	3	19.27±0.18	19.68±0.72	17.64±1.54	19.78±0.42	17.69±0.39	17.47±1.94	19.36±0.90	0.476
LBRE	3	17.80±0.71	17.62±1.02	17.24±0.54	17.39±1.16	15.46±1.12	17.13±0.57	19.13±0.56	0.211
LFER	3	16.97±2.81	18.32±1.03	19.33±0.76	19.78±1.07	18.65±2.16	17.37±0.49	17.42±0.54	0.799
P		0.845	0.086	0.432	0.223	0.382	0.236	0.190	

K= kontrol, LBUC= *Lactobacillus buchneri*, LPEN= *Lactobacillus pentosus*, LMEZ= *L. leuconostoc mesenteriodes* LBRE= *Lactobacillus brevis*, LFER= *Laktobacillus fermentum*

Tablo 22. Deneme Gruplarında Laktik Asit Bakteri Düzeyleri (log kob/g).

	n	Taze materyal	5. gün	10. gün	15. gün	30. gün	60. gün	90. gün	P
K	3	3.70±0.03 ^d	4.60±0.05 ^{dc, C}	5.47±0.39 ^{c, C}	7.00±0.12 ^{b, C}	9.09±0.34 ^{a, D}	8.08±0.50 ^{ab, C}	8.29±0.86 ^{ab, B}	0.000
LBUC	3	3.70±0.03 ^d	9.54±0.25 ^{c, AB}	11.11±0.65 ^{c, B}	20.23±1.40 ^{a, AB}	17.59±0.43 ^{b, B}	17.85±0.32 ^{b, A}	16.20±0.18 ^{b, A}	0.000
LPEN	3	3.70±0.03 ^e	9.65±0.58 ^{d, AB}	10.34±0.32 ^{d, B}	19.24±0.50 ^{a, B}	17.77±0.16 ^{b, B}	18.62±0.29 ^{ab, A}	16.44±0.07 ^{c, A}	0.000
LMEZ	3	3.70±0.03 ^f	8.94±0.25 ^{e, B}	16.42±0.25 ^{c, A}	21.82±0.89 ^{a, A}	18.80±0.07 ^{b, A}	16.64±0.24 ^{c, B}	14.96±0.47 ^{d, A}	0.000
LBRE	3	3.70±0.03 ^f	9.80±0.17 ^{e, AB}	16.90±0.07 ^{c, A}	22.05±0.70 ^{a, A}	18.94±0.14 ^{b, A}	18.72±0.30 ^{b, A}	15.84±0.33 ^{d, A}	0.000
LFER	3	3.70±0.03 ^e	10.32±0.23 ^{d, A}	17.00±0.19 ^{b, A}	21.38±0.47 ^{a, AB}	16.81±0.10 ^{bc, C}	16.68±0.22 ^{bc, B}	15.91±0.47 ^{c, A}	0.000
P		1.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	

a, b, c...: Aynı satırda farklı harf taşıyan değerler istatistiksel olarak farklıdır (P<0.001).

A, B, C...: Aynı sütunda farklı harf taşıyan değerler istatistiksel olarak farklıdır (P<0.001).

K= kontrol, LBUC= *Lactobacillus buchneri*, LPEN= *Lactobacillus pentosus*, LMEZ= *L. leuconostoc mesenteriodes* LBRE= *Lactobacillus brevis*, LFER= *Laktobacillus fermentum*

Tablo 23. Deneme Gruplarında Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri Düzeyleri (log kob/g).

	n	Taze materyal	5. gün	10. gün	15. gün	30. gün	60. gün	90. gün	P
K	3	4.88±0.40 ^d	6.73±0.06 ^{c, D}	6.44±0.28 ^{c, D}	8.18±0.23 ^{b, B}	9.23±0.23 ^{a, E}	8.74±0.21 ^{ab, D}	9.25±0.39 ^{a, C}	0.000
LBUC	3	4.88±0.40 ^d	10.07±0.27 ^{c, B}	12.22±0.67 ^{c, C}	21.09±1.88 ^{a, A}	18.33±0.36 ^{b, C}	18.24±0.25 ^{b, AB}	16.76±0.34 ^{b, A}	0.000
LPEN	3	4.88±0.40 ^g	10.67±0.27 ^{f, AB}	13.73±0.28 ^{e, B}	22.78±0.43 ^{a, A}	21.23±0.36 ^{b, A}	18.87±0.24 ^{c, A}	17.02±0.19 ^{d, A}	0.000
LMEZ	3	4.88±0.40 ^f	9.54±0.39 ^{e, C}	18.31±0.33 ^{c, A}	22.65±0.69 ^{a, A}	19.92±0.30 ^{b, B}	17.71±0.31 ^{c, B}	15.18±0.34 ^{d, B}	0.000
LBRE	3	4.88±0.40 ^f	11.07±0.16 ^{e, A}	17.70±0.34 ^{c, A}	23.06±0.44 ^{a, A}	19.87±0.29 ^{b, B}	18.92±0.48 ^{b, A}	16.50±0.45 ^{d, A}	0.000
LFER	3	4.88±0.40 ^e	10.68±0.28 ^{d, AB}	17.72±0.13 ^{b, A}	23.23±0.05 ^{a, A}	16.78±0.19 ^{c, D}	17.09±0.32 ^{bc, C}	16.28±0.40 ^{c, A}	0.000
P		1.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	

a, b, c...: Aynı satırda farklı harf taşıyan değerler istatistiksel olarak farklıdır (P<0.001).

A, B, C...: Aynı sütunda farklı harf taşıyan değerler istatistiksel olarak farklıdır (P<0.001).

K= kontrol, LBUC= *Lactobacillus buchneri*. LPEN= *Lactobacillus pentosus*. LMEZ= *L. leuconostoc mesenteriodes*. LBRE= *Lactobacillus brevis*. LFER= *Laktobacillus fermentum*

Tablo 24. Deneme Gruplarında Maya Düzeyleri (log kob/g).

	n	Taze materyal	5. gün	10. gün	15. gün	30. gün	60. gün	90. gün	P
K	3	6.82±0.23 ^{a BC}	4.73±0.26 ^{b B}	4.86±0.34 ^b	3.37±0.32 ^c	1.94±0.69 ^d	1.17±0.48 ^{d C}	00±00 ^{e B}	0.000
LBUC	3	5.90±0.04 ^{ab D}	7.32±0.11 ^{a A}	5.52±0.33 ^{ab}	4.46±1.51 ^{bc}	3.88±1.34 ^{bc}	2.66±0.94 ^{cd BC}	00±00 ^{d B}	0.000
LPEN	3	7.68±0.17 ^{a A}	7.04±0.52 ^{a A}	5.67±0.29 ^b	5.86±0.27 ^b	5.60±0.50 ^b	4.36±0.14 ^{c AB}	1.23±0.08 ^{d AB}	0.000
LMEZ	3	7.27±0.24 ^{a AB}	5.50±0.18 ^{ab B}	3.84±1.28 ^b	3.66±1.24 ^b	4.42±0.07 ^b	4.78±0.25 ^{b A}	1.08±0.08 ^{c AB}	0.000
LBRE	3	6.67±0.21 ^{a C}	6.74±0.32 ^{a A}	5.37±0.46 ^{ab}	5.22±0.97 ^{ab}	3.84±1.28 ^{bc}	2.48±0.83 ^{c BC}	2.33±0.78 ^{c A}	0.001
LFER	3	6.70±0.11 ^{a C}	5.37±0.57 ^{a B}	6.74±0.25 ^a	4.77±0.28 ^{ab}	3.09±1.11 ^{bc}	2.60±0.87 ^{c BC}	2.40±0.80 ^{c A}	0.000
P		0.000	0.000	0.071	0.417	0.189	0.012	0.004	

a. b. c...: Aynı satırda farklı harf taşıyan değerler istatistiksel olarak farklıdır (P<0.001).

A. B. C...: Aynı sütunda farklı harf taşıyan değerler istatistiksel olarak farklıdır (P<0.001).

K= kontrol. LBUC= *Lactobacillus buchneri*. LPEN= *Lactobacillus pentosus*. LMEZ= *L. leuconostoc mesenteriodes* LBRE= *Lactobacillus brevis*. LFER= *Laktobacillus fermentum*

Tablo 25. Deneme Gruplarında Küf Düzeyleri (log kob/g).

	n	Taze materyal	5. gün	10. gün	15. gün	30. gün	60. gün	90. gün	P
K	3	3.81±0.04	<1.0±00 ^C	<1.0±00	<1.0±00	<1.0±00	<1.0±00	<1.0±00	0.000
LBUC	3	4.36±0.66	1.13±0.42 ^{BC}	<1.0±00	<1.0±00	<1.0±00	<1.0±00	<1.0±00	0.000
LPEN	3	3.32±0.19	0.25±0.25 ^C	0.38±0.38	<1.0±00	<1.0±00	<1.0±00	<1.0±00	0.000
LMEZ	3	3.64±0.22	2.09±0.72 ^B	<1.0±00	0.26±0.26	<1.0±00	<1.0±00	<1.0±00	0.001
LBRE	3	3.62±0.30	1.62±0.28 ^B	<1.0±00	0.26±0.26	<1.0±00	<1.0±00	<1.0±00	0.000
LFER	3	4.34±0.14	3.25±0.06 ^A	1.34±0.79	<1.0±00	<1.0±00	<1.0±00	<1.0±00	0.004
P		0.196	0.000	0.091	0.564				

a. b. c...: Aynı satırda farklı harf taşıyan değerler istatistiksel olarak farklıdır (P<0.001).

A. B. C...: Aynı sütunda farklı harf taşıyan değerler istatistiksel olarak farklıdır (P<0.001).

K= kontrol. LBUC= *Lactobacillus buchneri*. LPEN= *Lactobacillus pentosus*. LMEZ= *L. leuconostoc mesenteriodes* LBRE= *Lactobacillus brevis*. LFER= *Laktobacillus fermentum*

Tablo 26. Deneme Gruplarında Oksijene Karşı Dayanıklılık Testi (60. gün).

	n	Kuru Madde %	pH	LAB log kob/g	MAB log kob/g	Maya log kob/g	Küf	C0 ₂ g kg ⁻¹ KM
K	3	49.27±0.52	4.42±0.04 ^A	17.38±0.46	17.65±0.51	6.97±0.32	<1.0	0.018±0.002 ^A
LBUC	3	49.53±0.85	4.31±0.08 ^{AB}	17.29±0.44	18.23±0.27	6.61±0.33	<1.0	0.011±0.001 ^B
LPEN	3	49.87±0.18	4.44±0.03 ^A	17.98±0.39	18.60±0.37	7.78±0.10	<1.0	0.014±0.001 ^B
LMEZ	3	49.13±0.56	4.37±0.04 ^{AB}	16.70±0.41	17.46±0.35	7.69±0.28	<1.0	0.011±0.001 ^B
LBRE	3	50.27±0.19	4.27±0.03 ^{BC}	18.20±0.55	18.38±0.44	7.44±0.28	<1.0	0.013±0.001 ^B
LFER	3	48.83±0.34	4.22±0.02 ^C	16.93±0.25	17.51±0.16	7.83±0.53	<1.0	0.011±0.002 ^B
<i>P</i>		0.411	0.023	0.147	0.167	0.095	-	0.002

A. B. C...: Aynı sütunda farklı harf taşıyan değerler istatistiksel olarak farklıdır (P<0.05).

KM: Kuru madde, LA: Laktik asit, MAB: Toplam aerobik mezofilik bakteri , LA, PCA ve maya 10¹ kob g⁻¹ KM. C0₂: karbondioksit g kg⁻¹ KM.

K= kontrol. LBUC= *Lactobacillus buchneri*. LPEN= *Lactobacillus pentosus*. LMEZ= *L. leuconostoc mesenteriodes*. LBRE= *Lactobacillus brevis*. LFER= *Laktobacillus fermentum*.

6. TARTIŞMA VE SONUÇ

Çiftçi şartlarında üretilen ve taneleri hamur olgunluğuna gelmiş silajlık mısırdan seçilen laktik asit bakterilerinin mısır silajına starter kültür olarak katılma olanaklarının incelendiği bu araştırmada silajların kuru madde düzeyleri ile ilgili veriler Tablo 9'da verilmiştir. Tabloda da görüldüğü gibi taze mısır hasılının KM düzeyi ortalama % 30.50 olarak tespit edilmiştir. Fermantasyonun 10. Gününde yapılan analizlerde en yüksek KM düzeyi LBRE (*Lactobacillus brevis*) grubunda görülürken, en düşük değer ise LFER (*Laktobacillus fermentum*) grubunda görülmüştür. Benzer tablo 60. Gün açılan silajlarda devam etmiş ve 90. Gün açılan silajlarda ise LFER grubunda KM kaybı diğer gruplardan daha fazla olduğu görülmüştür ($P<0.001$). Bu konuda yapılan çalışmalarda silajlara inokulant katılmasının KM kaybını azalttığını bildiren araştırma bulguları olduğu gibi etkilemediği şeklinde de araştırmalara rastlanmaktadır.

Ranjit ve ark. (146) mısır silajına, tek homolaktik asit bakterisi propionobakteria ve enzim içeren ticari inokulant ile *Lactobacillus buchneri* 40788 bakterisini 1×10^5 , 2.5×10^5 , 5×10^5 ve 1×10^6 kob/g taze mısır olacak şekilde katarak yaptıkları çalışmada, altı haftalık bekletme sonunda *L. buchneri* 40788 ilave edilen gruplar ile inokulant katılmayan kontrol grubu arasında KM bakımından farklılık görülmezken, ticari inokulant katılan grupta KM düzeyi azalmış, farklılık istatistiksel bakımdan önemli bulunmuştur ($P<0.05$).

Jalc ve ark. (168) mısır silajına *L. plantarum*, *L. fermentum* ve *Enterococcus faecium* inokulantlarını katarak yaptıkları çalışmada, taze mısır hasılının KM düzeyleri ortalama % 28.83 iken, deneme sonunda ise bu değer

deneme gruplarında % 27.1 ile 28.02 arasında değiştiğini, silajlar 105 gün oda sıcaklığında bekletildikten sonra yapılan analizlerde, bütün gruplarda KM bakımından bir azalmanın olduğunu, KM kaybının en fazla *L. fermentum* katılan grupta (% 27.1) tespit edildiği ve bu değerin istatistiksel bakımından önemli ($P<0.05$) olduğu bulunmuştur. Benzer şekilde Filya (46) mısır silajına *L. buchneri*, *L. plantarum* ve *L. buchneri* + *L. plantarum* katarak yaptığı çalışmada, fermantasyonun 2. Gününde KM düzeylerini kontrol grubundan başlamak üzere; % 23.3, 23.3, 23.4 ve 23.2 olarak belirtirken deneme sonu olan 90. günde ise sıra ile % 21.6, 21.4, 21.7 ve 21.5 olarak değiştiğini tespit etmiştir. Yapılan birçok çalışmada fermantasyona bağlı KM kayıplarının olduğu, inokulant katıldığında bu kayıpların arttığı veya azaldığı bildirilmiştir (45, 168, 169). Bu alışma bulguları ile yukarıda bildirilen çalışmaların bulguları benzerdir.

Araştırma gruplarında pH değerleri Tablo 10'da verilmiştir. Tablo incelendiğinde taze materyalin pH değeri 5.4 düzeyinde iken, fermantasyonun 5. gününde en düşük değer LBRE (*Lactobacillus brevis*) ve LFER (*Laktobacillus fermentum*) gruplarında sırasıyla 3.97 ve 4.00 iken, en yüksek değer ise kontrol grubunda 4.1 olarak tespit edilmiştir. Gruplar arasında pH bakımından farklılık fermantasyon boyunca küçük değişikliklerle devam etmiş ve 90. günde en düşük pH değeri LBRE ve LFER gruplarında pH= 4.00, en yüksek değer ise pH= 4.08 ile LBUC grubunda elde edilmiş ve farklılık istatistiksel bakımdan önemli bulunmuştur ($P<0.001$).

Tabacco ve ark. (170) mısır silajına inokulant olarak *L. plantarum* (LP) ve *L. buchneri* (LB) (1×10^6 kob/g) katarak yaptıkları çalışmada, 90 gün sonra açılan silajların pH değerini kontrol, LP ve LB gruplarında sırasıyla 3.57, 3.74 ve

3.57 olarak tespit etmiş ve LP grubunun pH değerinin diğer iki gruptan yüksek ve istatistiksel bakımdan önemli olduğunu ($P < 0.001$) bildirmişlerdir.

Filya (100) mısır silajına *L. buchneri*, *L. plantarum* ve *L. buchneri* + *L. plantarum* katarak yaptığı çalışmada, fermantasyonun 2. gününde inokulant katılan grupların pH değerinin önemli düzeyde düştüğünü, inokulant katılmayan kontrol grubuna göre farklılığın önemli ($P < 0.05$) olduğunu bildirmiştir. Başka bir araştırmada ise Filya (138) mısır silajına *L. buchneri*, *L. plantarum* ve *L. buchneri* + *L. plantarum* katarak yaptığı çalışmada, fermantasyon sonunda *L. buchneri* katılan grupta pH diğer gruplardan daha yüksek bulunmuştur ($P < 0.005$).

Yapılan araştırmalarda silajlara inokulant katılmasının pH değerini hızla istenilen düzeye düşürdüğünü ve fermantasyonun daha erken tamamlandığı bildirilmektedir (125). Bu durum besin madde kaybı ile silajın ısınmasının önlenmesi bakımından önemlidir. Bunların aksine Driehuis ve ark. (63), mısır silajına inokulant olarak *L. buchneri* bakterisini 10^3 – 10^6 kob/ g taze mısır olacak şekilde değişik oranlarda katarak yaptıkları çalışmada 3 aylık fermantasyon süresince inokulant katılan gruplarda daha yüksek pH değerlerinin elde edildiğini bildirmişlerdir. Hu ve ark. (139) ise normal ve yüksek kuru maddeye sahip mısır silajlarına *L.buchneri* 40788 (LB) veya *L. plantarum* MTD-1 (LP) ayrı ayrı veya birlikte (kombine) katarak yaptıkları çalışmada, normal KM'ye sahip silajlarda yüksek KM'li silajlara göre daha düşük pH değerinin tespit edildiğini, az da olsa $KM \times LB$ ve $KM \times LP$ arasında interaksiyonun görüldüğünü bildirmişlerdir. Kleinschmit ve Kung (136) tarafından yapılan başka bir araştırmada ise inokulant olarak *L.buchneri* katılan silajlarda pH değerinin yüksek olduğu tespit edilmişler, buna neden olarak da LB, laktik asidi parçalayarak asetik aside dönüştürdüğünü

gösterilmişlerdir. Silajlara homolaktik asit bakterilerinin katılması, bu bakteriler daha çok laktik asit üretmelerine bağlı olarak genellikle düşük pH değerine neden olurlar (15,74). Daha önce yapılmış bir çalışmada (171) mısır silajına *L. plantarum* ve *L. plantarum* + *Streptococcus faecium* katarak süt ineklerinde yapmış olduğu çalışmada. Silajlarda pH değerlerini kontrol grubundan başlamak üzere sırası ile 3.7, 3.69 ve 3.81 olarak bulurken, *L. plantarum* + *Streptococcus faecium* katılan grupta pH olumsuz yönde etkilemiştir ($P < 0.05$). Ancak, homolaktik asit bakterileri mısır silajı pH'sı üzerine yonca silajlarına göre daha az etkiye sahiptirler, çünkü mısırdaki tamponlama kapasitesi nispeten düşüktür.

Filya (100), mısır silajına inokulant A (*Pediococcus acidilactici*, *L. plantarum* ve *Enterococcus faecium* içeren) (grup LAB) ve inokulant B (Sil-All Alltech, UK, *Pediococcus acidilactici*, *L. plantarum* ve *Streptococcus faecium* ile birlikte selüloz, hemiselüloz, pentozanaz ve amilaz içeren) (grup LAB+E) katarak yaptığı başka bir araştırmada fermantasyonun 2, 4, 8 ve 15. Günlerinde alınan örneklerde inokulant katılan grupların pH değerinin önemli düzeyde düştüğünü, inokulant katılmayan kontrol grubuna göre farklılığın önemli ($P < 0.05$) olduğunu bildirmiştir. Araştırmacı, mısır silajlarına LAB katılması ile ortamda yoğun olarak bulunan laktobasillerin SEK'ları kullanarak laktik asit ürettikleri, bunun sonucunda ise pH düzeyinin hızla düştüğünü ifade etmiştir. Ayrıca LAB+E grubunda, mısırdaki hücre duvarı unsurları ve nişastayı da parçalaması sonucu ilave substratın da LA üretimini artırdığı tespit edilmiştir.

Silajların pH'sı inokulant olarak katılan LAB türüne, bitkinin tamponlama kapasitesi ve SÇK düzeyi, bitkide doğal olarak var olan floranın yapısı ile silaj yönetimi gibi birçok faktörden etkilenmektedir.

Yapılan bu çalışmada fermantasyonun 5. Gününde K ve LMEZ gruplarında diğer gruplara göre daha yüksek pH değeri elde edilirken, 90. Günde en yüksek pH değeri LBUC grubunda tespit edilmiş, bunu sırasıyla LPEN, K ve LMEZ grupları takip etmiş, en düşük değerler ise LBRE ile LFER gruplarında görülmüştür.

Araştırma ile ilgili ham kül değerleri Tablo 11’de verilmiştir. Tablo incelendiğinde, taze materyalin HK değerleri % 6.09 ile 6. 81 olarak tespit edilmiştir. Bu iki değer arasındaki farklılık tarladan gelen mısır hasılı ile alınan örneklerin farklı olmasından kaynaklanabileceği şeklinde değerlendirilmiştir.

Fermantasyonun 5. gününde HK değerindeki farklılıklar, organik maddelerin laktik asit bakterileri tarafından tüketilmesine bağlı oransal bir değişiklik olarak kabul edilmiştir. Bu konuda yapılan araştırmalarda; Tabacco ve ark. (170) mısır silajına inokulant olarak *L. plantarum* (LP) ve *L. buchneri* (LB) katarak yaptıkları çalışmada, silajlara inokulant katılmasının HK üzerine herhangi bir etkisinin olmadığını bildirmişlerdir. Yapılan diğer çalışmalarda da silajlara inokulant olarak laktik asit bakterilerinin kullanımı, silaj HK düzeyi üzerine etki yapmamıştır (100).

Organik madde ile ilgili araştırma bulguları Tablo 12’de verilmiştir. Tablo değerleri incelendiğinde fermantasyonun 5 ve 60. Günlerinde gruplar arasında istatistiksel bakımdan farklılıklar görülmüştür ($P<0.05$). Fermantasyonun 5. gününde en yüksek OM düzeyi LBUC (*L. buchneri*) ve LBRE (*L. brevis*) gruplarında, 60. Günde ise en yüksek OM düzeyi LBRE katılan grupta görülmüştür ($P<0.05$).

Dönemlere göre gruplar kendi arasında değerlendirildiğinde fermantasyonun 5-30. Günlerinde OM madde bakımından bir artış, 60 ve 90. günlerde ise bir azalmanın olduğu tespit edilmiştir. Taze mısır hasılının organik madde düzeyi % 88.25 ile 89.50 arasında değişirken, fermantasyonun 90. Gününde benzer değerler elde edilmiştir. Ancak, fermantasyonun sonlarına doğru LBUC, LMEZ ve LBRE gruplarında organik madde düzeyinde meydana gelen azalmanın istatistiksel bakımdan önemli ($P < 0.001$) olduğu görülmüştür. Söz konusu katkıların organik maddeleri daha fazla kullandıkları söylenebilir. Polat ve ark. (96) mısır silajının OM düzeyini % 93.46 olarak tespit etmişlerdir.

Araştırma gruplarında ham yağ (HY) değerleri ile ilgili veriler Tablo 13'te verilmiştir. Tablo incelendiğinde taze hasılın HY içeriğinin % 2.56 ile 3.51 arasında değiştiği görülmektedir. Fermantasyon süresince bu değerler genelde aynı sınırlar içinde kalmış ve gruplar arasında istatistiksel bakımdan farklılıklar görülmemiştir ($P > 0.05$).

Aragon ve ark. (125) mısır silajına homo ve heterofermentatif laktik asit bakteri karışımını (*Enterococcus faecium*, *L. plantarum* ve *L. brevis*, sırasıyla DSM numaraları 3530, 19457 ve 23231) inokulant olarak kullanarak yaptıkları araştırmada, taze mısır hasılının ham yağ içeriğini % 1.9 olarak bulurken, kontrol ve inokulant katılan silajların HY düzeyini ise sırasıyla % 1.97 ve 1.98 olarak tespit etmişlerdir. Bu çalışmada silajlara LAB bakterilerinin inokulant olarak katılmasının HY düzeyi üzerine etkisinin önemsiz olduğunu bildirmişlerdir. Tabacco ve ark. (170) ise mısır silajına inokulant olarak *L. plantarum* (LP) ve *L. buchneri* (LB) katarak yaptıkları çalışmada, taze mısır hasılının ham yağ içeriğini % 2.43 olarak bulurken, fermantasyonun 90. Gününde açılan silajların HY

içeriğinin % 2.75- 2.82 arasında değiştiğini ve silajlara inokulant katılmasının HY içeriğini etkilemediğini bildirmişlerdir.

Çalışmada elde edilen ham protein değerleri Tablo 14’de verilmiştir. Tablo verileri incelendiğinde araştırma gruplarından LBUC grubunda fermantasyonun 60 ve 90. Günlerinde HP düzeyinde azalma görülmüştür ($P<0.001$), diğer gruplarda fermantasyonun ilerlemesiyle HP düzeylerinde kısmen azalmalar olmuş, ancak bu değerler istatistiksel bakımdan önemsiz bulunmuştur ($P>0.05$). Filya (169) mısır silajına laktik asit bakterisi ve enzim katarak yaptığı çalışmada, taze silaj materyalinin HP düzeyini % 5.7 olarak tespit etmiş ve 50 günlük fermantasyon sonunda silajların HP düzeyleri katılan inokulantlardan etkilenmemiştir. Hu ve ark. (139) mısır silajlarına *L. plantarum* ve *L. buchneri* katarak yaptıkları çalışmada, normal KM düzeyine sahip mısır hasılının HP düzeyini % 6.64, yüksek KM düzeyine sahip mısır hasılının HP düzeyini ise % 5.59 olarak tespit etmişler, silajlara inokulant katmanın HP düzeyini etkilemediğini bildirmişlerdir. Ancak, silajlara inokulant olarak laktik asit bakterilerinin katılmasının protein düzeyini artırdığı şeklinde araştırma bulguları da bulunmaktadır (146).

Laktik asit güçlü bir asittir ve diğer uçucu yağ asitlerine göre pH değerini hızla düşürür. Bu nedenle silajlarda öncelikle arzu edilen asittir. İdeal bir silajda genellikle (her zaman olmayabilir), uçucu yağ asitlerinden 3 kat daha fazla LA oluşur. Yem bitkisine bağlı olmakla birlikte silajların LA düzeyi kuru maddede % 1-3 arasındadır. Genel olarak yüksek laktik asit düzeyi, iyi bir fermantasyon ve daha az kuru madde kaybının göstergesidir.

Deneme gruplarında laktik asit (LA) düzeyleri olarak Tablo 15’de verilmiştir. Tablo incelendiğinde taze materyalin LA düzeyi $7.37 \text{ g kg}^{-1} \text{ KM}$ olarak bulunmuş, bu değer fermentasyonun 5. gününde inokulant katılmayan kontrol grubunda $8.59 \text{ g kg}^{-1} \text{ KM}$, inokulant katılan deneme gruplarında ise önemli bir artışın olduğu ($P<0.001$) ve bu artış 30. gün açılan silajlarda en yüksek düzeye ulaştığı tespit edilmiştir. Fermentasyonun ilk 60 günlük döneminde LFER (*L. fermentum*) katılan grupta tespit edilen LA düzeyi diğer gruplardan yüksek bulunmuş ($P<0.001$), 90. gününde ise bütün gruplarda LA düzeyinin kısmen azaldığı görülmüştür. Ranjit ve ark. (146) mısır silajına, homolaktik asit bakterisi propionobakteria ve enzim içeren ticari inokulant ile *Lactobacillus buchneri* 40788 bakterisini silajlara 1×10^5 , 2.5×10^5 , 5×10^5 ve 1×10^6 kob/g taze mısır olacak şekilde katarak yaptıkları çalışmada, silajlık mısırın LA düzeyini 6.78 kob/g taze materyal olarak tespit ederken, altı haftalık bekletme sonunda, inokulant katılmayan kontrol grubunun LA düzeyini $67.4 \text{ g/kg}^{-1} \text{ KM}$ olarak, en yüksek değeri ise $69.7 \text{ g/kg}^{-1} \text{ KM}$ ile ticari inokulant ve enzim karışımı olan deneme grubunda tespit etmişlerdir ($P<0.05$). Bu çalışma bulguları Ranjit ve ark. (146) tarafından bildirilen LA düzeyinden daha fazla olarak gerçekleşmiştir.

Tabacco ve ark. (170) ise mısır silajına inokulant olarak *L. plantarum* (LP) ve *L. buchneri* (LB) katarak yaptıkları çalışmada, fermentasyonun 90. Gününde inokulant katılmayan kontrol, LB ve LP gruplarında LA düzeyini sırasıyla % 5.64, 4.07 ve 5.91 olarak tespit etmişler, LP katılan grubun laktik asit düzeyi kontrol grubuna benzer bulunurken, LB katılan grubun LA düzeyi istatistiksel bakımdan diğer iki gruptan önemli düzeyde ($P<0.001$) düşük bulunmuştur.

Hu ve ark. (139) mısır silajlarına *L. plantarum* (LP) ve *L. buchneri* (LB) katarak yaptıkları çalışmada ise, fermantasyonun 240. Gününde yapılan analizlerde normal KM düzeyine sahip mısır hasılına LB katılması LA düzeyini kontrol grubuna göre azaltırken, yüksek KM düzeyine sahip silajların LA düzeyini etkilememiştir.

Filya (46), mısır silajına *L. buchneri*, *L. plantarum* ve *L. buchneri* + *L. plantarum* katarak yaptığı çalışmada, fermantasyonun 2. Gününde LA düzeyinin kontrol, LB, LP ve LB+LP gruplarında sırasıyla % 2.28, 1.75, 3.87 ve 2.52 olarak tespit etmiş, *L. plantarum* katılan grubun LA düzeyi diğer gruplardan önemli düzeyde yüksek bulunmuştur ($P<0.05$). Aynı araştırmada fermantasyonun 90. Gününde yapılan analizlerde laktik asit süzeyleri sırasıyla % 4.04, 2.76, 7.94 ve 5.55 değerleri elde edilmiştir. Araştırmacı *L. plantarum* katılan grupta tespit edilen LA düzeyinin diğer gruplardan önemli düzeyde yüksek ($P<0.05$) olduğunu, bu grubu *L. buchneri* + *L. plantarum* karmasının katıldığı grubun takip ettiğini, en düşük değer ise *L. buchneri* grubunda görüldüğünü bildirmiştir. Filya (138) aynı inokulan karışımını kullanarak ypmış olduğu başka bir çalışmasında 60 . gün sonunda LA düzeyinin kontrol, LB, LP ve LB+LP gruplarında sırasıyla % 37, 24, 51 ve 32 olarak bulmuştur. Bu verilere göre mısır silajına *L. plantarum* katılması LA düzeyini artırırken, *L. buchneri* ise azalmaya neden olmuştur.

Araştırmadan elde edilen asetik asit (AA) değerleri Tablo 16'da verilmiştir. Taze materyalin AA düzeyi 2.88 g kg⁻¹ KM olarak tespit edilmiş, fermantasyonun ilerlemesi ile grupların AA düzeyinde artışlar gözlenmiştir. Fermantasyonun 10. Gününde LBUC ve LPEN katılan gruplarda AA düzeyi sırasıyla 11.60 ve 10.63 g kg⁻¹ KM olarak tespit edilmiş ve elde edilen bu

değerler diğer gruplara göre istatistiksel bakımdan önemli bulunmuştur (P<0.001). Fermantasyonun 15 ve 30. gününde açılan silajlarda LBUC grubunun AA düzeyi diğer gruplara göre daha yüksek bulunmuştur (P<0.001).

Asetik asit: karakteristik sirke kokusu ve aroması ile fermantasyon sırasında üretilen ve aerobik stabilite için baskın bir asittir. Genellikle silajlarda % 3'den az bulunur. Herhangi bir şekilde % 3'den fazla olursa, istenmeyen heterofermantatif fermantasyonun göstergesi olarak kabul edilir (33). Asetik ve propiyonik asitler iyi bir antifungal etkiye sahiptirler. Bunların konsantrasyonları kimyasal katkılarla veya mikrobiyal inokulantlarla artırılabilir. Ancak, silajlara *Propionibacteria* veya *Lactobacillus buchneri* gibi inokulantlar katılarak asetik asit düzeyi kontrollü bir şekilde artırılabilir. Unutulmaması gereken bir husus da, silaja tipik turşu kokusunu asetik asit verir ve fazla olması aerobik kararlılığı artırırken, yem tüketimini azaltıcı etkiye sahiptir.

Aragon ve ark. (125) mısır silajına homo ve heterofermantatif laktik asit bakteri karışımını (*Enterococcus faecium*, *Lactobacillus plantarum* ve *Lactobacillus brevis*, sırasıyla DSM numaraları 3530, 19457 ve 23231) inokulant olarak kullanarak yaptıkları araştırmada, 1×10^5 kob/g taze materyal olacak şekilde inokulant seyreltilmiş ve inokulant katmanın silaj kalitesini artırdığını ifade etmişlerdir. Araştırmaya DSM katılan grupların pH düzeyinin daha düşük (P<0.01), toplam organik asitlerin daha yüksek (P<0.01), laktik asit düzeyinin fazla (P<0.01), bütirik asit, amonyak ve etanol düzeylerinin daha az (P<0.01) olduğunu, buna karşılık asetik asit bakımından gruplar arasında istatistiksel bakımdan farklılığın olmadığını ifade etmişlerdir.

Araştırmacılar silajlara inokulant katılmasının yem tüketimi ve canlı ağırlık artışıını iyileştirdiğini ifade etmişlerdir.

Driehuis ve ark. (63), mısır silajına inokulant olarak *L. buchneri* PW01 bakterisini 1×10^3 , 1×10^4 , 1×10^5 ve 1×10^6 kob/ g taze mısır olacak şekilde katarak yaptıkları çalışmada 3 aylık fermantasyon sonunda, silajlara katılan inokulant düzeyi arttıkka LA düzeyi önemli oranda azalmış (P<0.001), buna karşılık asetik asit ve propiyonik asit düzeyi önemli oranda artmıştır (P<0.001). Asetik ve propiyonik asit miktarındaki artış, silajların oksijenle temasında maya ve küf üremesini önlemiş ve aerobik kararlılığı artırmıştır.

Tabacco ve ark. (170) ise mısır silajına inokulant olarak *L. plantarum* (LP) ve *L. buchneri* (LB) katarak yaptıkları çalışmada, fermantasyonun 90. gününde inokulant katılmayan kontrol, LB ve LP gruplarında AA düzeyini sırasıyla % 1.23, 2.92 ve 1.19 olarak tespit etmişler, LP katılan grubun asetik asit düzeyi kontrol grubuna benzer bulunurken, LB katılan grubun AA düzeyi istatistiksel bakımdan diğer iki gruptan önemli düzeyde (P<0.001) yüksek bulunmuştur.

Filya (46), mısır silajına *L. buchneri*, *L. plantarum* ve *L. buchneri* + *L. plantarum* katarak yaptığı çalışmada, fermantasyonun 2. gününde AA düzeyinin kontrol, LB, LP ve LB+LP gruplarında sırasıyla % 0.65, 1.96, 0.11 ve 1.50 olarak tespit etmiş, *L. plantarum* katılan grubun AA düzeyi diğer gruplardan önemli düzeyde düşük bulunmuştur (P<0.05). Fermantasyonun 90. gününde yapılan analizlerde silajların AA düzeyi sırasıyla % 1.27, 3.89, 0.33 ve 3.17 olarak tespit edilmiş, *L. buchneri* ve *L. buchneri* + *L. plantarum* katılan grupların AA düzeyi kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur (P<0.05). Filya (138) farklı bir çalışmasında aynı inokulant karışımını kullanarak yapmış olduğu denemenin 60 .

gününde AA düzeyinin kontrol, LB, LP ve LB+LP gruplarında sırasıyla % 11, 21, 3 ve 20 olarak tespit edilirken, *L. plantarum* katılan grubun AA düzeyi diğer gruplardan önemli düzeyde düşük bulunmuştur ($P<0.05$). Bu durum silajların aerobik kararlılığı üzerine olumlu etki yaptığı bildirilmiştir.

Filya (100) mısır silajına inokulant A (*Pediococcus acidilactici*, *L. plantarum* ve *Enterococcus faecium* içeren) (grup LAB) ve inokulant B (Sil-All Alltech, UK, *Pediococcus acidilactici*, *L. plantarum* ve *Streptococcus faecium* ile birlikte selülaz, hemiselülaz, pentozanaz ve amilaz içeren) (grup LAB+E) katarak yaptığı başka bir araştırmada, konservasyonun ilk 15 günlük döneminde inokulant katılan gruplarda AA tespit edilemezken, 50. Günde kontrol, LAB ve LAB+E deneme gruplarında sırasıyla % 4.2, 0.3 ve 0.3 düzeyinde AA tespit etmişler ve farklılık istatistiksel bakımdan önemli bulunmuştur ($P<0.05$). Araştırmacılar yaptıkları bu çalışmada silajlara söz konusu inokulantların katılması AA düzeyini önemli miktarda azalttığını ifade etmişlerdir.

Ranjit ve ark. (146) mısır silajına, tek homolaktik asit bakterisi propionobakteria ve enzim içeren ticari inokulant ile *L. buchneri* 40788 bakterisini silajlara 1×10^5 , 2.5×10^5 , 5×10^5 ve 1×10^6 kob/g taze mısır olacak şekilde katarak yaptıkları çalışmada, altı haftalık fermantasyon sonunda silajlara 5×10^5 ve 1×10^6 kob/g düzeyinde *L. buchneri* 40788 katılan gruplarda asetik asit düzeyi diğer gruplara göre önemli artışlar ($P<0.05$) göstermiştir.

Hu ve ark. (139) mısır silajlarına *L. plantarum* (LP) ve *L. buchneri* (LB) katarak yaptıkları çalışmada ise, fermantasyonun 240. gününde yapılan analizlerde, beklendiği gibi silajlara inokulant olarak LB katılması asetik asit düzeyini de artırmıştır.

Bu etki yüksek KM'ye sahip silajlarda normal KM düzeyine göre daha fazla olmuştur. Araştırmacılar silajlara LP katılmasının asetik asit üzerine etkisinin olmadığını ($P>0.05$) bildirmişlerdir. Aynı çalışmada normal KM düzeyine sahip silajlara LB katılması laktik asit düzeyini kontrol grubuna göre azaltırken, yüksek KM düzeyine sahip silajların LA düzeyini etkilememiştir. Bu bilgilerden yola çıkarak yüksek kuru maddeye sahip mısır hasılına inokulant olarak LB katılması silaj fermantasyonu ve aerobik kararlılık üzerine olumlu etki göstermektedir.

Deneme gruplarında dönemlere göre bütirik asit (BA) düzeyleri Tablo 17'de verilmiştir. Taze mısır hasılına BA düzeyi 0.17 g/kg KM düzeyinde iken, fermantasyonun 5. gününde kontrol, LBUC, LPEN, LMEZ, LBRE ve LFER gruplarında BA düzeyi sırasıyla 0.17, 2.36, 3.82, 3.01, 3.35 ve 4.40 g kg⁻¹ KM olarak tespit edilmiştir. Burada inokulant katılan grupların BA düzeyi kontrol grubundan yüksek bulunmuştur ($P<0.001$). Araştırmanın 15, 30 ve 60. günlerinde açılan silaj örneklerinde BA düzeyi çok düşük seyretmiş, 90. Gün değerlerinde ise yükselme görülmüş, ancak gruplar arasındaki farklılık istatistiksel bakımdan önemsiz bulunmuştur ($P>0.05$).

Bütirik asit: Kokuşmuş tereyağı tadı ve kokusundadır. Kaliteli bir silajda % 0.1'den az olmalıdır. Bu seviyeden yüksek olması silajın bozulmasına bağlı ikincil fermantasyon göstergesidir, bunlar aminler ve amitler gibi tatsız proteinlerin son ürünü olarak ortaya çıkarlar. Bütirik asit ve proteinlerin proteoliz olması siloda klostridial aktivasyonun sonucudur, kuru madde ve enerji tüketimini önemli ölçüde azaltır. Silajların düşük KM içermesi veya kötü fermantasyon bütirik asit üretimi için ortam hazırlar.

Bütirat silajlar yem tüketimi ve hayvan sağlığını olumsuz etkilediği, ketozis oluşumuna duyarlı hale getirdiği ifade edilmektedir (33, 38).

Aragon ve ark. (125) mısır silajına homo ve heterofermantatif laktik asit bakteri karışımını (*Enterococcus faecium*, *L. plantarum* ve *L. brevis*) inokulant olarak kullanarak yaptıkları araştırmada, kontrol ve inokulant katılan grupların bütirik asit düzeylerini 0.4 ve 0.1 g/kg KM olarak bulmuşlar ve farklılığın istatistiksel bakımdan önemli olduğunu ($P<0.01$) bildirmişlerdir. Araştırmacılar silajlara inokulant katmanın proteinlerin parçalanmasını azalttığını ve silaj kalitesini artırdığını ifade etmişlerdir.

Filya (100) mısır silajına inokulant A (*Pediococcus acidilactici*, *L. plantarum* ve *Enterococcus faecium* içermekte) ve inokulant B (Sil-All Alltech, UK, *Pediococcus acidilactici*, *Lactobacillus plantarum* ve *Streptococcus faecium* ile birlikte selüloz, hemiselüloz, pentozanaz ve amilaz içermekte) katarak yaptığı başka bir araştırmada, konservasyonun ilk 15 günlük döneminde inokulant katılan gruplarda BA tespit edilemezken, 50. Günde kontrol, inokulant A ve inokulant B gruplarında sırasıyla % 5.7, 0.6 ve 0.3 olarak tespit edilmiş ve farklılık istatistiksel bakımdan önemli ($P<0.05$) bulunmuştur. Bu çalışmada silajlara söz konusu inokulantların katılması BA düzeyini önemli miktarda azaltmış, silaj kalitesine olumlu katkı sağlamıştır.

Filya (169) mısır silajına inokulant A (*L. plantarum* ve *Enterococcus faecium* içeren), inokulant B (*Pediococcus acidilactici*, *L. plantarum* ve *Enterococcus faecium* içeren) ve inokulant C (*Enterococcus faecium* içermekte) katarak yaptığı başka bir araştırmada, fermantasyonun ilk 10 günlük döneminde inokulant katılan gruplarda BA tespit edilemezken, 50. Günde kontrol grubunun

BA düzeyi % 4.2 olarak tespit edilmiş, inokulant katılan 3 grupta ise BA tespit edilememiştir (P<0.05). Araştırmacı, mısır silajına inokulant olarak LAB katılmasının, asetik asit, bütirik asit ve etanol içeriğini önemli düzeyde düşürdüğünü bildirmiştir (P<0.05).

Kung ve Ranjit (144) arpa silajına hiçbir katkı yapılmayan kontrol, 2) *L. buchneri* (1×10^5 kob/ g taze materyal, β -glukanaz, α -amilaz, ksilanaz ve galaktomannaz, 3) *L. buchneri* (5×10^5 kob/g ve grup 2’de verilen enzim karışımı (LB5), 4) *L. buchneri* (1×10^6 kob/g) ve grup 2’de verilen enzim karışımı (LB10), 5) *L. plantarum* (0.5×10^5 kob/g), *Pediococcus pentosaceus* (0.5×10^5 kob/g), *Propionibacterium freudenreichii* (1×10^4 kob/g), β - glukanaz, α -amilaz, ksilanaz ve galaktomannaz içeren inokulant (IN), 6) tamponlanmış propiyonik asit temeline dayalı ürünler kullanılarak yapılan araştırmada, konservasyonun 69. gününde kontrol grubunun BA oranı inokulant katılan gruplardan daha yüksek bulunmuş ve farklılık istatistiksel olarak önemlidir (P<0.05).

Araştırma gruplarında ADF düzeyleri Tablo 18’de verilmiştir. Tabloda da görüldüğü gibi taze mısır hasılının ADF düzeyi % 29.75 ile 32.16 arasında değişmektedir. Fermantasyonun değişik günlerinde alınan örneklerde elde edilen ADF değerleri yaklaşık % 31 gibidir. Konservasyonun değişik dönemlerinde alınan örneklerde gerek gruplar arasında gerekse grupların kendi içinde ADF bakımından farklılık görülmemiştir (P>0.05). Bazı haftalarda görülen istatistiksel bakımdan önemsiz rakamsal farklılıklar alınan örneklere bağlı tesadüf olarak ortaya çıktığı şeklinde yorumlanmıştır.

Filya (169) mısır silajına farklı inokulant katarak yaptığı çalışmada, taze mısır hasılının ADF düzeyini % 24.1 olarak tespit etmiş, 50. günlük fermantasyon sonunda silajlara inokulant katılmasının gruplar arasında ADF bakımından istatistiksel farklılığın olmadığını ifade etmiştir ($P>0.05$). Benzer bir çalışmada, Polat ve ark. (86), taze mısır hasılının ADF içeriğini % 31.46 olarak tespit etmiş, silajlara inokulant olarak LAB veya LAB+enzim ilave edilmesinin ADF içeriği üzerine istatistiksel bakımdan farklılık oluşturmadığını ($P>0.05$) bildirmişlerdir.

Aragon ve ark. (125) mısır silajına laktik asit bakteri karıştırarak yaptıkları araştırmada, kontrol grubu ve inokulant katılan grubun ADF içeriğini sırasıyla % 23.8 ve 22.8 olarak tespit etmiş, mısır silajına LAB katılmasının ADF içeriğini önemli ölçüde azalttığını bildirmişlerdir ($P<0.05$).

Hu ve ark. (139) mısır silajlarına *L. plantarum* (LP) ve *L. buchneri* (LB) katarak yaptıkları çalışmada normal KM (% 33.1) ve ileri olgunlaşmaya bağlı yüksek KM (% 40.6) ye sahip silajların ADF içeriğini sırasıyla % 23.1 ve 25.9 olarak tespit etmiştir. Normal ve yüksek KM içeriğine sahip silajlara LP katılması ADF oranını önemli ölçüde artırmış ($P<0.01$), araştırmacılar bu duruma herhangi bir açıklama getirememiştir.

Ranjit ve ark. (146) mısır silajına inokulant olarak *L. buchneri* 40788 katılmasının silajların ADF içeriğini değiştirmedini, ancak farklı ticari inokulant katıldığında (farklı LAB ve farklı enzim karışımı ticari inokulant) ise ADF bakımından önemli düzeyde yüksek değerlerin elde edildiğini bildirmişlerdir ($P<0.05$).

Filya (100) mısır silajına inokulant A (*Pediococcus acidilactici*, *L. plantarum* ve *Enterococcus faecium* içeren) ve inokulant B (Sil-All Alltech, UK, *Pediococcus acidilactici*, *L. plantarum* ve *Streptococcus faecium* ile birlikte selüloz, hemiselüloz, pentozanaz ve amilaz içermekte) katarak yaptığı çalışmada, taze yem materyalinin ADF içeriğini % 27.4 olarak tespit etmiş, fermantasyonun 4. Gününde alınan örneklerde kontrol, LAB ve LAB + enzim katılan gruplarda sırasıyla % 26.7, 27.0 ve 24.1 olarak bulmuşlar ve enzim katılan grubun ADF içeriği diğer iki grupran önemli düzeyde düşük bulunmuştur (P<0.05). Konservasyonun 50. Gününde ise gruplarda aynı sıraya göre % 27.2, 27.1 ve 22.4 değerleri elde edilmiştir (P<0.05). Araştırmacılar fermantasyonun 4. Gününden itibaren LAB + enzim katılan grupta ADF, NDF ve selüloz içeriğinde görülen azalmanın inokulantların içerdiği enzimlerin mısırdaki nişastanın yanı sıra hücre duvarını da parçalayarak LAB için ilave substrat ortaya çıkardığını ifade etmişlerdir.

Kung ve Ranjit (144) arpa silajına hiçbir katkı yapılmayan kontrol, değişik konsantrasyonlarda *L. buchneri* + β -glukanaz, α -amilaz, ksilanaz ve galaktomannaz enzimleri (LB), *L. plantarum*, *Pediococcus pentosaceus*, *Propionibacterium freudenreichii*, β -glukanaz, α -amilaz, ksilanaz ve galaktomannaz içeren inokulant (IN), ve tamponlanmış propiyonik asit (BP) temeline dayalı ürünler kullanılarak yaptıkları çalışmada, konservasyonun 69. gününde kontrol grubunun ADF oranı ile inokulant olarak LB katılan gruplar benzer bulunurken (P>0.05), IN ve BP grubunda daha düşük bulunmuş ve farklılık istatistiksel olarak önemlidir (P<0.05).

Araştırmacılar IN grubunda yer alan inokulantın içerdiği selüloolitik ve sakkarolitik enzimler nedeniyle, bu grupta ADF ve NDF oranının azaldığını bildirmişlerdir.

Deneme gruplarında NDF değerleri Tablo 19’da verilmiştir. Taze silaj materyalinin NDF düzeyi % 46.72 ile 51.42 arasında değişirken, bu değerler fermantasyonun 90. günündeki değerler ile benzer bulunmuştur.

Öğütölmüş ve kurutulmuş yem maddesi içinde hücre duvarının lifli karbonhidratları (selöloz ve hemiselöloz), lignin, ligninleşmiş ve sıcaklıkla zarar görmüş bir kısım proteinler ve silisyum içeren kısmın bulunmasıdır. Yemin hacmi-kabalığı hakkında fikir verir. Yüksek NDF içerikli yemlerin hacim kaplama özelliği yüksektir.

Polat ve ark. (96) mısır silajına *L. plantarum* ve *Enterococcus faecium* içeren mikrobiyal katkı maddesi ile *L. plantarum* ve *Pediococcus acidilactici* ile birlikte amilaz içeren katkı maddesi kullanarak yaptıkları çalışmada, taze materyalin NDF içeriğini % 56.97 olarak tespit etmişlerdir. Altmış günlük silolama sonunda kontrol, LAB ve LAB+enzim katılan gruplarda NDF düzeyi sırasıyla % 57.06, 56.68 ve 54.80 olarak bulmuşlar ve farklılığın istatistiksel bakımdan önemli ($P<0.01$) olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar, inokulantlardaki içerdiği enzimlerin mısırdaki nişastanın yanı sıra hücre duvarını da parçalayarak LAB için ilave bir substrat oluşturduğunu açıklamışlardır.

Aragon ve ark. (125) mısır silajına laktik asit bakteri karıştıırarak yaptıkları araştırmada, kontrol grubu ve inokulant katılan grubun NDF içeriğini sırasıyla % 44.4 ve 43.9 olarak tespit etmişler, mısır silajına LAB katılmasının NDF içeriği üzerine etkisinin önemsiz olduğunu bildirmişlerdir ($P>0.05$).

Hu ve ark. (139) mısır silajlarına *L. plantarum* (LP) ve *L. buchneri* (LB) katarak yaptıkları çalışmada normal KM (% 33.1) ve ileri olgunlaşmaya bağlı yüksek KM (% 40.6) ye sahip silajların NDF içeriğini sırasıyla % 37.9 ve 42.9 olarak tespit etmiştir. 240 günlük fermantasyon sonunda normal ve yüksek KM içeriğine sahip silajlara LP katılması NDF oranını üzerine etkisinin önemsiz ($P>0.05$) olduğunu, ancak kuru madde düzeyinin artmasıyla silajın NDF düzeyinin de önemli ölçüde arttığını ($P<0.01$) bildirmişlerdir. Benzer bir çalışmada mısır silajına ticari inokulant katılan grupta tespit edilen NDF oranı herhangi bir katkı yapılmayan kontrol grundan daha yüksek ($P<0.05$) bulunmuştur (137).

Filya (100) mısır silajına inokulant A (*Pediococcus acidilactici*, *L. plantarum* ve *Enterococcus faecium* içeren) ve inokulant B (Sil-All Alltech, UK, *Pediococcus acidilactici*, *L. plantarum* ve *Streptococcus faecium* ile birlikte selülaz, hemiselülaz, pentozanaz ve amilaz) katarak yaptığı çalışmada, taze yem materyalinin NDF içeriğini % 52.6 olarak tespit etmiş, fermantasyonun 4. gününde alınan örneklerde kontrol, LAB ve LAB + enzim katılan gruplarda sırasıyla % 52.2, 52.8 ve 49.0 olarak bulmuşlar ve enzim katılan grubun NDF içeriği diğer iki grupran önemli düzeyde düşük bulunmuştur ($P<0.05$). Fermantasyonun 50. gününde alınan örneklerde sırasıyla % 52.0, 52.5 ve 46.2 olarak bulmuşlar ve LAB+enzim katılan grubun NDF içeriği diğer iki grupran önemli düzeyde düşük bulunmuştur ($P<0.05$).

Bu konuda başka yem bitkilerine laktik asit bakterilerinin ilave edilmesi ile yapılan çalışmalarda bulunmaktadır. Bu çalışmalardan birinde Özdüven ve ark. (172) tritikale taze materyalinin NDF ve ADF içeriğini sırasıyla % 61.2 ve 38.3

olarak tespit etmişlerdir. Araştırmacılar tritikale silajlarına LAB (*L. plantarum* ve *Enterococcus faecium*), enzim (selülaz, amilaz, hemiselülaz ve pentozanaz) ile bu laktik asit bakterilerine söz konusu enzimleri (LAB+ enzim) ilave edilerek hazırlanmış ticari ürünleri karıştırarak yaptıkları çalışmada, Silolamanın 45. Gününe kadar geçen sürede kontrol ve deneme gruplarında silajların ADF içeriğinde istatistiksel bakımdan farklılık görülmemiş ($P>0.05$), NDF içeriğinde ise 2, 5 ve 8. günlerde açılan silajlarda gruplar arasında farklılık tespit edilemezken, 45. gün açılan silajlarda ise kontrol, LAB, enzim ve LAB+ enzim gruplarında sırasıyla % 60.4, 60.8, 58.7 ve 56.8 olarak tespit edilmiş, mısır silajında olduğu gibi LAB+ enzim grubunda elde edilen NDF değeri istatistiksel bakımdan önemli düzeyde düşük bulunmuştur ($P<0.05$).

Çayır yumağı ve çayır otuna inokulant katılarak yapılan başka bir çalışmada, Guo ve ark. (173), iki farklı çayır otuna hiçbir katkı yapılmayan grubu kontrol, bu gruplara *L. plantarum* MTD-1 (LP) veya *L. plantarum* +*L. buchneri* 40788 (LP+LB) katılması ile iki farklı deneme grubunu oluşturmuşlardır. Araştırmacılar birinci biçim çayır otlarının NDF içeriğini % 54.3, ikinci biçim otların NDF içeriğini ise % 59.5 olarak tespit etmişler ve farklılığı önemli bulmuşlardır ($P<0.05$). Altmış günlük fermantasyon sonunda birinci biçim çayır otlarının NDF içeriğini kontrol, LP ve LP+LB gruplarında sırasıyla % 46.6, 47.0 ve 48.1 olarak tespit etmişler ve LP+LB gruplarında elde edilen NDF değeri diğer iki gruptan önemli ölçüde yüksek bulunmuştur ($P<0.05$). Aynı çalışmada ikinci biçim ve yüksek NDF düzeyine sahip çayır otlarına aynı inokulantlar katılarak yapılan çalışmada gruplar arasında NDF bakımından farklılık görülmemiştir ($P>0.05$).

Araştırma gruplarında ADL düzeyleri Tablo 20’de verilmiştir. Tabloda da görüldüğü gibi taze materyalin ADL içeriği % 6.30 ile 7.30 arasında değişmektedir. Fermantasyon süresince tespit edilen değerlerde bazı farklılıklar görülse de gruplar arasında ADL bakımından istatistiksel bakımdan farklılık tespit edilememiştir ($P>0.05$).

Filya (169) mısır silajına farklı inokulant katarak yaptığı çalışmada, taze mısır hasılının ADL düzeyini % 4.1 olarak tespit etmiş, 50. günlük fermantasyon sonunda silajlara inokulant katılmasının gruplar arasında ADL bakımından istatistiksel farklılığın olmadığını ifade etmiştir ($P>0.05$).

Tabacco ve ark. (170) ise mısır hasılının ADL içeriğini % 3.73 olarak analiz etmişler ve bu silajlara inokulant olarak *L. plantarum* (LP) ve *L. buchneri* (LB) katarak yaptıkları çalışmada fermantasyonun 90. gününde inokulant katılmayan kontrol, LB ve LP gruplarında ADL içeriği sırasıyla % 3.74, 3.44 ve 3.67 olarak tespit edilmiş, inokulantların ADL içeriği üzerine etkisinin önemsiz ($P>0.05$) olduğu bildirilmiştir.

Polat ve ark. (96) mısır silajına *L. plantarum* ve *Enterococcus faecium* içeren mikrobiyal katkı maddesi ile *L. plantarum* ve *Pediococcus acidilactici* ile birlikte amilaz içeren katkı maddesi kullanarak yaptıkları çalışmada, taze materyalin ADL içeriğini % 4.98 olarak tespit etmişlerdir. Altmış günlük silolama sonunda kontrol, LAB ve LAB+enzim katılan gruplarda ADL düzeyi sırasıyla % 4.87, 4.87 ve 4.5 olarak bulmuşlar ve LAB+enzim katılan grubun ADL içeriği diğer iki gruptan önemli ($P<0.05$) oranda düşük bulunmuştur.

Bu çalışmada elde edilen ADL değerleri, yukarıda bildirilen araştırma sonuçlarından biraz yüksek olsa da, silajlara inokulant olarak farklı LAB katılması ADL üzerine etkisinin önemsiz olduğunu göstermiştir. Bu sonuçlar Filya (169) ve Tabacco ve ark. (170) bildirdiği sonuçlar ile benzerdir.

Araştırma gruplarında elde edilen hemiselüloz değerleri Tablo 21’de verilmiştir. Taze mısır hasılının hemiselüloz düzeyi % 16.97 ile 19.98 oranları arasında değişkenlik göstermiş, bu değerler fermantasyonun sonuna kadar benzerlik göstermiştir. Hemiselüloz bakımından gruplar arasında istatistiksel bakımdan farklılık görülmemiştir ($P>0.05$).

Filya (100) mısır silajına inokulant A (*Pediococcus acidilactici*, *L. plantarum* ve *Enterococcus faecium* içeren) ve inokulant B (Sil-All Alltech, UK, *Pediococcus acidilactici*, *L. plantarum* ve *Streptococcus faecium* ile birlikte selülaz, hemiselülaz, pentozanaz ve amilaz) katarak yaptığı çalışmada, taze yem materyalinin hemiselüloz içeriğini % 25.2 olarak tespit etmiş ve 50 günlük fermantasyon süresince silajlara yukarıda bildirilen katkıların hemiselüloz içeriği üzerine etkisi önemsiz bulunmuştur ($P>0.05$).

Polat ve ark. (96) mısır silajına *L. plantarum* ve *Enterococcus faecium* içeren mikrobiyal katkı maddesi ile *L. plantarum* ve *Pediococcus acidilactici* ile birlikte amilaz içeren katkı maddesi kullanarak yaptıkları çalışmada, 60 günlük silolama sonunda kontrol, LAB ve LAB+enzim katılan gruplarda hemiselüloz düzeyi sırasıyla % 25.17, 25.31 ve 24.79 olarak bulmuşlar ve gruplar arasında istatistiksel bakımdan farklılığın ($P>0.05$) olmadığını ifade etmişlerdir.

Tabacco ve ark. (170) ise mısır hasılıının hemiselüloz içeriğini % 22.5 olarak tespit etmişler ve bu silajlara inokulant olarak *L. plantarum* (LP) ve *L. buchneri* (LB) katarak yaptıkları çalışmada fermantasyonun 90. gününde inokulant katılmayan kontrol, LB ve LP gruplarında hemiselüloz içeriği sırasıyla % 16.3, 18.3 ve 17.6 olarak tespit edilmiş, inokulantların hemiselüloz içeriği üzerine etkisinin önemsiz ($P>0.05$) olduğunu bildirilmişlerdir. Bu çalışma bulguları ile bazı araştırmalardan elde edilen sonuçlar benzerdir (96, 100, 170).

Tablo 22’de deneme gruplarında laktik asit bakterisi (LAB) sayıları (log kob/g) ile ilgili değerler verilmiştir. Tablo incelendiğinde fermantasyonun 5. gününde en düşük LAB düzeyi inokulant katılmayan kontrol K grubunda, en yüksek değerler ise LBUC, LPEN, LBRE ve LFER gruplarında görülmüş ve farklılık istatistiksel bakımdan önemli bulunmuştur ($P<0.001$).

Fermantasyonun 15. gününde LBUC, LMEZ, LBRE ve LFER gruplarında en yüksek LAB düzeyleri tespit edilmiş ve bu yüksek değerler denemenin sonu olan 90. güne kadar sürmüştür ($P<0.001$). İnokulant katılmayan K grubunda LAB düzeyleri bütün dönemlerde diğer gruplardan düşük düzeyde seyretmiştir ($P<0.001$).

Filya (46), mısır silajına *L. buchneri* (LB), *L. plantarum* (LP) ve *L. buchneri* + *L. plantarum* (LB+LP) katarak yaptığı çalışmada, fermantasyonun 2. gününde LAB düzeyinin kontrol, LB, LP ve LB+LP gruplarında sırasıyla 5.25, 4.88, 6.77 ve 5.03 log kob/g olarak tespit etmiştir. Elde edilen en yüksek değerler fermantasyonun 15. Gününde bulunmuş ve 90. gününde yapılan analizlerde silajların LAB düzeyi sırasıyla 8.35, 7.03, 10.40 ve 8.66 log kob/g olarak tespit edilmiştir.

İstatistik analizlerin yapılmadığı bu çalışmada matematiksel olarak en iyi LAB düzeyi LP grubunda elde edilmiştir. Bu çalışmada tespit edilen LAB verileri Filya (138) tarafından bildirilen değerlerden daha yüksek bulunmuştur. İki çalışma arasında bazı benzerlikler bulunmaktadır. Örnek olarak en yüksek LAB değeri fermantasyonun 15. Gününde elde edilmiştir. Buradan iyi bir silajda ilk 15 gün çok önemlidir ve konservasyon bu dönemde şekillenmektedir. Filya (46) tarafından bildirilen değerlerde LB katılan grubun LAB düzeyi hiçbir katkı yapılmayan kontrol grubundan daha düşük çıkmıştır. Bu durum da silajlara katılan inokulantların her zaman LAB düzeyini artırmadığının işareti olarak kabul edilmesi gerektiğidir.

Filya (169) mısır silajına inokulant A (*L. plantarum* ve *Enterococcus faecium* içeren), inokulant B (*Pediococcus acidilactici*, *L. plantarum* ve *Enterococcus faecium* içeren) ve inokulant C (*Enterococcus faecium* içermekte) katarak yaptığı başka bir araştırmada, taze mısır hasılının LAB düzeyini 4.8 log kob/g olarak tespit etmiş, fermantasyonun 3. gününde kontrol, inokulant A, B ve C gruplarında LAB düzeyi sırasıyla 5.0, 6.5, 6.2 ve 6.4 log kob/g olarak tespit etmiş ve inokulant katılan gruplarda LAB düzeyi kontrol grubuna göre önemli düzeyde ($P<0.05$) yüksek bulunmuştur. Fermantasyonun 50. Gününde gruplarda LAB düzeyi biraz daha artış göstermiş ve 3. Günde olduğu gibi kontrol grubunun LAB düzeyi inokulant katılan 3 gruptan daha düşük tespit edilememiştir ($P<0.05$). Araştırmacı, mısır silajına inokulant olarak LAB katılmasının, silajlarda 1. Günden itibaren laktobasilli içeriğinin artmaya başladığını, 3. Günde ise istatistiksel bakımdan önemli düzeyde artışın olduğunu bildirmiştir ($P<0.05$). Bu durum silaj fermantasyonu için olumlu bir gelişme olarak değerlendirilmiştir.

Driehuis ve ark. (63), mısır silajına inokulant olarak *L. buchneri* PW01 bakterisini 1×10^3 , 1×10^4 , 1×10^5 ve 1×10^6 kob/ g taze mısır olacak şekilde katarak yaptıkları 4 farklı çalışmada 3 aylık fermantasyon sonunda, Deneme 1' de silajlara katılan inokulant düzeyi 1×10^4 ve daha fazla olduğunda LAB düzeyi önemli oranda azalmış ($P < 0.001$), buna karşılık asetik asit ve propiyonik asit düzeyi önemli oranda artmıştır ($P < 0.001$). Asetik ve propiyonik asit miktarındaki artış, silajların oksijenle temasında maya ve küf üremesini önlemiş ve aerobik kararlılığı artırmıştır.

Filya (100) mısır silajına inokulant A (*Pediococcus acidilactici*, *L. plantarum* ve *Enterococcus faecium* içeren) ve inokulant B (Sil-All Alltech, UK, *Pediococcus acidilactici*, *L. plantarum* ve *Streptococcus faecium* ile birlikte selüloz, hemiselüloz, pentozanaz ve amilaz) katarak yaptığı çalışmada, taze yem materyalinin laktobasil içeriğini 5.7 kob/ g olarak tespit etmiş ve fermantasyonun 2. gününde kontrol, inokulant A ve B gruplarında sırasıyla 5.8, 7.2 ve 7.3 kob/ g ($P < 0.05$), 50. gününde ise aynı sıraya göre 7.3, 12.4 ve 12.6 kob/ g olarak tespit edilmiş, kontrol grubunun LAB düzeyinde çok az artış görülürken, inokulant katılan gruplarda önemli artışlar görülmüştür ($P < 0.05$).

Özdüven ve ark. (172) tritikale taze materyalinin LAB içeriğini 3.8 olarak tespit etmişlerdir. Araştırmacılar tritikale silajlarına LAB (*L. plantarum* ve *Enterococcus faecium*), enzim E (selüloz, amilaz, hemiselüloz ve pentozanaz) ile bu laktik asit bakterilerine söz konusu enzimleri (LAB+ enzim) ilave edilerek hazırlanmış ticari ürünleri karıştırarak yaptıkları çalışmada, silolamanın 2. Gününde silajlarda laktobasil içeriğini kontrol, LAB, E ve LAB+ enzim gruplarında sırasıyla 3.9, 4.0, 3.8 ve 4.1 kob/ g olarak tespit edilmişler ve LAB ve

LAB+ enzim gruplarında elde edilen değerlerin diğer iki gruptan yüksek olduğunu ($P<0.05$), fermantasyonun 45. Gününde ise grupların laktobasil içeriklerini aynı sıraya göre 4.6, 6.0, 5.7 ve 6.1 kob/ g olarak tespit edilmişlerdir. Bu değerlere göre kontrol grubunun laktobasil içeriği diğer gruplardan istatistiksel bakımdan önemli düzeyde düşük bulunmuştur ($P<0.05$).

Deneme gruplarında toplam aerobik mezofilik bakteri düzeyi ile ilgili veriler Tablo 23'te verilmiştir. Tablo incelendiğinde taze mısır hasılıının toplam aerobik mezofilik bakteri düzeyi 4.88 log kob/g olarak belirlenirken, fermantasyonun 5 gününde en yüksek değer 11.07 log kob/g LBRE grubunda, 10 gününde en yüksek değer log kob/g LMEZ grubunda, 15 gününde en yüksek değer 22.78 log kob/g LPEN grubunda, 30 gününde en yüksek değer 21.23 log kob/g LPEN grubunda, 60 gününde en yüksek değer 18.92 log kob/g LBRE grubunda ve 90 gününde en yüksek değer 17.02 log kob/g LPEN grubunda olarak tespit edilmiştir. İnokulant katılan grupların toplam aerobik mezofilik bakteri düzeyi kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur ($P<0.001$).

Yapılan kaynak taramasında silajların toplam aerobik mezofilik bakteri düzeyi ile ilgili verilere rastlanmamıştır. Bu nedenle başka araştırmalar ile karşılaştırarak tartışma olanağı bulunmamaktadır. Ancak, silajlara inokulant katılması fermantasyonun ilk günlerinden itibaren laktik ve asetik asit düzeylerini önemli ölçüde artırmış ve bunun sonucu olarak da toplam aerobik mezofilik bakteri düzeyleri kontrol grubuna göre önemli düzeyde artmıştır ($P<0.001$).

Araştırma gruplarında tespit edilen maya düzeyleri Tablo 24'de verilmiştir. Tabloda da görüldüğü gibi, taze silaj materyalinde maya düzeyi 5.90 ile 7.68 log kob/g olarak tespit edilmiş, fermantasyonun 5. gününde LBUC,

LPEN ve LBRE gruplarındaki maya düzeyi ise diğer gruplardan daha yüksek bulunmuştur. Fermantasyonun 15. Gününden itibaren bütün gruplarda azalmalar başlamış ve 90. Gününde K ile LBUC gruplarında maya tespit edilememiş, diğer gruplarda ise en düşük seviyelere inmiştir.

Mayaların sayımlarda 100.000 kob/g'den az olması arzu edilir. Mayalar silajların oksijen teması halinde laktik asitleri kullanarak pH'nın yükselmesine, sıcaklık artışına, KM kaybına neden olur, sonunda karbondioksit ve su açığa çıkar. Maya aktivitesinden sonra küflenme başlar. Bu nedenle silajlarda maya sayısının fazla olması istenmez. Mayalar aerobik kararsızlığa neden olur. Bununla birlikte bazı mayaların son ürünleri olan metil ve etil asetatlar, oje temizleyicilere benzer kötü koku ve tat oluşturabilirler. Bu tip yemleri hayvanlar reddedebilirler. Bu çalışmada da görüldüğü gibi doğal florada yüksek sayılabilecek maya düzeyi fermantasyonun sonlarına doğru önemli azalmalar göstermiş, bu durum silaj kalitesi için olumlu olarak değerlendirilmiştir. Silajların maya sayıları ile yapılan çalışmalarda;

Filya (100) mısır silajına inokulant A (*Pediococcus acidilactici*, *L. plantarum* ve *Enterococcus faecium* içeren) ve inokulant B (*Pediococcus acidilactici*, *L. plantarum* ve *Streptococcus faecium* ile birlikte selülaz, hemiselülaz, pentozanaz ve amilaz) katarak yaptığı çalışmada, taze yem materyalinin maya içeriğini 6.3 log kob/ g olarak tespit etmiş ve fermantasyonun 50. gününde kontrol, inokulant A ve B gruplarında sırasıyla 5.8, 7.2 ve 7.3 kob/ g ($P<0.05$), 50. gününde ise aynı sıraya göre 7.0, 6.9 ve 6.5 log kob/ g olarak bulmuştur ($P>0.05$).

Araştırmacı gerek taze materyalde gerekse fermantasyon süresince gruplar arasında maya düzeyleri bakımından istatistiksel farklılığın olmadığını bildirmiştir ($P>0.05$). Bu alışma bulguları ile Filya (100) tarafından bildirilen değerler farklıdır.

Ranjit ve ark. (146) mısır silajına, tek homolaktik asit bakterisi propionobakteria ve enzim içeren ticari inokulant ile *L. buchneri* 40788 bakterisini silajlara 1×10^5 , 2.5×10^5 , 5×10^5 ve 1×10^6 kob/g taze mısır olacak şekilde katarak yaptıkları çalışmada, taze mısırın maya içeriğini 6.59 log kob/ g olarak tespit etmiş, altı haftalık fermantasyon sonunda silajlara 5×10^5 ve 1×10^6 kob/g düzeyinde *L. buchneri* 40788 katılan gruplarda maya düzeyi diğer gruplara göre önemli olarak azalmıştır ($P<0.05$). Burada dikkate değer bir konu aynı grupların asetik asit düzeyleri diğer gruplardan yüksek bulunmuş, bunun neticesinde maya oluşumu engellenmiştir. Asetik asidin fazla maya düzeyinin düşük olması aerobik kararlılık için önemli bir değerdir. Aynı çalışmada homolaktik asit bakterisi propionobakteria ve enzim içeren ticari inokulant katılan grubun maya düzeyi hiçbir katkı yapılmayan kontrol grubu ile benzer bulunmuştur.

Filya (169) mısır silajına inokulant A (*L. plantarum* ve *Enterococcus faecium* içeren), inokulant B (*Pediococcus acidilactici*, *L. plantarum* ve *Enterococcus faecium* içeren) ve inokulant C (*Enterococcus faecium* içermekte) katarak yaptığı başka bir araştırmada, taze mısır hasılının maya düzeyini 5.7 log kob/g olarak tespit etmiş, fermantasyonun daha sonraki dönemlerinde maya düzeyinde önemli değişiklikler görülmezken, 50. Gününde kontrol, inokulant A,

B ve C gruplarında sırasıyla 5.1, 4.7, 5.1 ve 4.9 log kob/g olarak bulmuştur (P>0.05).

Hu ve ark. (139) mısır silajlarına *L. plantarum* (LP) ve *L. buchneri* (LB) katarak yaptıkları çalışmada normal KM (% 33.1) ve ileri olgunlaşmaya bağlı yüksek KM (% 40.6) ye sahip silajların maya içeriğini sırasıyla 5.30 ve 5.33 9 log kob/g olarak tespit etmişler, 240 günlük fermantasyon sonunda yüksek KM içeriğine sahip silajların maya düzeyi normal KM silajlara göre daha yüksek (P<0.01) bulunmuş, normal KM'ye sahip silajlara inokulant katılmasının maya düzeyi üzerine etkisinin önemsiz (P>0.05) olduğunu, silajlara LB katılması maya düzeyini azalttığını (P<0.05), LP katılması ise maya düzeyini etkilemediğini (P>0.05) bildirmişlerdir.

Filya (46), mısır silajına *L. buchneri* (LB), *L. plantarum* (LP) ve *L. buchneri* + *L. plantarum* (LB+LP) katarak yaptığı çalışmada taze mısır hasılının maya düzeyini 4.06 log kob/g olarak tespit etmiş, fermantasyonun 2. gününde maya düzeyinin kontrol, LB, LP ve LB+LP gruplarında sırasıyla 3.95, 3.83, 4.17 ve 3.92 log kob/g olarak bulmuştur. Maya düzeylerinde istatistik değerlendirmenin yapılmadığı çalışmada fermantasyonun 90. gününde özellikle LB ve LB+LP gruplarında maya sayılarında önemli azalmalar görülmüştür.

Tabacco ve ark. (170) mısır silajına inokulant olarak *L. plantarum* (LP) ve *L. buchneri* (LB) (1×10^6 kob/g taze materyal) katarak yaptıkları çalışmada, 90 gün sonra açılan silajların maya düzeyini kontrol, LP ve LB gruplarında sırasıyla 2.09, 1.77 ve 1.44 log kob/g olarak tespit etmişler ve silajlara inokulant katmanın maya üzerine etkisinin istatistiksel bakımdan önemsiz (P>0.05) olduğunu

bildirmişlerdir. Benzer sonuçlar başka araştırmacılar tarafından da elde edilmiştir (144, 172).

Yapılan çalışmalarda silajın olgunlaşması için en az 21 gün beklenmeli, daha hayvanlara yedirilmeye başlanmalıdır. Silaj açıldığında hava ile temas başlar ve önce ortamdaki maya düzeyi artar, mayalar silajda arta kalan SK ve LA'leri enerji olarak kullanırlar ve bunun sonucunda pH yükselir, CO₂ ve su açığa çıkar. Bunun devamında ise sıcaklık artışı ve kflenmeler görülür. Doğal olarak besin madde kayıpları ortaya çıkar. Domino etkisi gibi birbirini tetikleyen bu olaylar zinciri bazı durumlarda hemen başlayıp hızla ilerleyebildiği gibi bazen çok yavaş seyredebilir. Silajlar açıldığında n yüzünden içeri doğru 50-60 cm derinliğe kadar hava geçişleri olabilir. Özellikle kepçe kullanılarak boşaltılan silajlarda bu geçiş çok daha fazla olmaktadır. Bu nedenle açılan silajlardan düzgün bir şekilde her gün 15 cm alınması ve mümkünse silaj kesme makinelerinin kullanılması gerekmektedir. Bu durum özellikle sıcak mevsimlerde yedirilen silajlar için ciddi sorun oluşurmaktadır.

Bu çalışmada oksijene karşı dayanıklılık testi için yapılan değerlendirmeler Tablo 26'da verilmiştir. Tablo verileri incelendiğinde maya düzeylerinde bir miktar artış görülmüş ancak bütün grupta kf tespit edilmemiştir. Ayrıca renk koku ve görsel küflenme bakımından da herhangi bir olumsuzluk görülmemiştir. Buna göre oda sıcaklığında (22 C) bekletilen silajların 5 günlük sürede bozulmadan kaldıkları söylenebilir. Beş günlük bekleme süresi sonunda araştırma gruplarında pH değerleri iyi silajlar için kabul edilebilecek düzeyler içinde kalmıştır.

Bununla birlikte en düşük pH değeri LBRE ve LFER gruplarında sırasıyla 4.27 ve 4.22 olarak tespit edilmiş ve diğer gruplardan istatistiksel bakımdan önemli bulunmuştur ($P<0.05$). Deneme gruplarında LAB, PCA ve maya düzeyi bakımından gruplar arasında önemli bir farklılık tespit edilememiştir. Silajların oksijenle teması sonrası oluşan aerobik fermantasyon sonucunda açığa çıkan karbondioksit (CO_2) miktarı KM kayıpları ile oksijene karşı dayanıklılığın göstergesidir. Bu testin sonunda deneme gruplarından alınan örneklerde CO_2 düzeyi en yüksek 0.018 g kg^{-1} KM ile K grubunda tespit edilmiş ($P<0.05$) ve silajlara inokulant katılması CO_2 üretimini azaltıcı etki göstermiştir.

Yapılan çalışmalarda silajlara ^{he}LAB katılması özellikle asetik asit düzeyinin artmasına, buna bağlı olarak oksijene karşı dayanıklılığın attığı bildirilmiştir (136, 144). Buna örnek olarak *Lactobacillus buchneri* katılan silajlarda AA düzeyi artmış ve oksijene karşı dayanıklılık da artmıştır (32). Bu durum yüksek KM'ye sahip silajlarda veya silajların yedirilmesi sıcak iklimlerde olacaksa AA düzeyini artıracak katkı maddelerin kullanılması gerektiğini göstermektedir.

Aragon ve ark. (125) mısır silajına homo ve heterofermantatif laktik asit bakteri karışımını (*Enterococcus faecium*, *L. plantarum* ve *L. brevis*) inokulant olarak kullanarak yaptıkları araştırmada, hiçbir katkı yapılmayan kontrol grubunda 86 saat sonra çevre sıcaklığına göre $+2^\circ\text{C}$ artış olduğunu, bu artışın 186 saat sonra $+14^\circ\text{C}$ düzeyine çıktığını, inokulant katılan grupta ise 156 saat sonra $+2^\circ\text{C}$, 234 saat sonra ise $+6^\circ\text{C}$ artış olduğunu, sonuçta silajlara katılan inokulantların kontrol grubuna göre 72 saatten daha fazla koruyucu etkiye sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Benzer bir çalışmada Driehuis ve ark. (63), mısır silajından izole ettikleri *Lactobacillus buchneri* bakterisini inokulant olarak kullanmanın silajlarda fermantasyon kalitesi ve oksijene dayanıklılık potansiyelini araştırdıkları çalışmada, inokulant katılmayan grup kontrol, silajlara 10^3 – 10^6 kob/ g düzeyinde *L. buchneri* katılan dört farklı grup deneme gruplarını oluşturmuşlardır. Silajlar oda sıcaklığında (18-20 °C) 90 gün bekletilmiş ve *L. buchneri* katılan gruplarda gerek fermantasyon süresince gerekse aerobik dönemde maya sayıları kontrol grubuna göre daha az tespit edilmiştir. Silajlara *L. buchneri* katılması LA düzeyini azaltmış ve aynı zamanda asetik asit ile propiyonik asit düzeyini artırmıştır. Söz konusu inokulantın silajlara katılması, silajın açılıp hava ile temasa geçmesi sırasında maya üremesini baskılamak suretiyle aerobik bozulmayı önleyici etki göstermiştir.

Hu ve ark. (139) mısır silajlarına *L. plantarum* (LP) ve *L. buchneri* (LB) katarak yaptıkları çalışmada, fermantasyonun 240. gününde yapılan analizlerde, beklendiği gibi silajlara inokulant olarak LB katılması asetik asit düzeyini de artırmıştır. Bu etki yüksek KM'ye sahip silajlarda normal KM düzeyine göre daha fazla olmuştur. Araştırmacılar silajlara LP katılmasının asetik asit üzerine etkisinin olmadığını ($P>0.05$) bildirmişlerdir. Aynı çalışmada normal KM düzeyine sahip silajlara LB katılması laktik asit düzeyini kontrol grubuna göre azaltırken, yüksek KM düzeyine sahip silajların LA düzeyini etkilememiştir. Bu bilgilerden yola çıkarak yüksek kuru maddeye sahip mısır hasılına inokulant olarak LB katılması silaj fermantasyonu ve aerobik kararlılık üzerine olumlu etki göstermektedir.

Filya (100) mısır silajına *Pediococcus acidilactici*, *Lactobacillus plantarum* ve *Enterococcus faecium* içeren ticari bir inokulant ile, *Pediococcus acidilactici*, *Lactobacillus plantarum* ve *Streptococcus faecium* ile birlikte selülaz, hemiselülaz, pentozanaz ve amilaz içeren başka bir firmanın ürününün katarak yaptıkları çalışmada, fermantasyonun 50. gününde oksijene karşı dayanıklılık testi uygulamıştır. Araştırmacı silajlara inokulant katmanın oksijene karşı dayanıklılığı azalttığını bildirmiştir.

Sonuç olarak;

- Silajlara LA üretimini artırmak ve bunun sonucunda pH'nın hızla düşmesini sağlamak ve kontrollü bir fermantasyon sağlamak için ticari inokulant kadar endemik suşlarda etkin rol oynamıştır.
- Bu çalışmada mısır hasıllarından izole edilen laktik asit bakterilerinden *Laktobacillus fermentum* (LFER) grubunda fermantasyonun 5. Gününde en yüksek konsantrasyonda LAB tespit edilmiş ve buna bağlı olarak hızlı bir LA artışı görülmüştür.
- Bu çalışmada mısır hasıllarından izole edilen endemik suşlar ve kullanılan ticari inokulant 5. günden başlamak üzere 90. güne kadar yüksek düzeyde üremeler göstermiş olup yapılan literatür çalışmasında karşılığı bulunmamıştır.
- Kaba yemlerin yapısında bulunan küfler fermantasyonun 10. gününden itibaren neredeyse tespit edilemeyecek limitin altına düşmüştür. Mayalar ise zamanla azalmakla birlikte 90. günde açılan silajlarda en düşük düzeye inmiştir.

- İyi fermente olmuş silajlar oda sıcaklığında 5 gün bozulmadan kalabilmektedirler.
- *Lactobacillus buchneri* katılan silajlarda asetik asit düzeyinin yüksek olması silajların küflenmeye karşı korunmasında önemlidir.
- Silajların kalite kontrolleri laboratuvar analizleri ile yapılmaya çalışılsa da asıl belirleyici olan hayvan denemeleridir. Bundan sonra yapılacak çalışmalarda hayvan denemelerine yer vermek daha yararlı olacaktır.

7. KAYNAKLAR

1. Anonim. “Hayvancılık genel müdürlüğü haziran 2015 ”. <http://www.tarim.gov.tr/sgb/Belgeler/SagMenuVeriler/HAYGEM.pdf> 15.07.2015.
2. Sancak C. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü. [agri.ankara.edu.tr](http://www.agri.ankara.edu.tr): http://www.agri.ankara.edu.tr/fcrops/1283_Tarla_Bitkileri_Yetistirme_1_Bolum_1.pdf . 18.02.2015
3. Anonim. “Digestive disturbances: acidosis, laminitis, and bloat”. http://beefextension.com/proceedings/cattle_grains06/06-29.pdf. 16.05.2014.
4. Nocek JE. Bovine acidosis: implications on laminitis. *J Dairy Sci* 1997;80:1005–1028.
5. Shaver RD. Nutritional risk factors in the etiology of left displaced abomasum in dairy cows: a review. *J Dairy Sci* 1997; 80:2449–2453.
6. Weinberg ZG, Muck RE, Weimer PJ, et al. Lactic acid bacteria used in inoculants for silage as probiotics for ruminants. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 2004;118:1-9.
7. Yang W Z, Beauchemin K A, Rode L M. Effects of grain processing, forage to concentrate ratio, and forage particle size on rumen ph and digestion by dairy cows. *J. Dairy Sci* 2001; 84:2203–2216.
8. Beauchemin KA, Rode LM. Minimum versus optimum concentrations of fiber in dairy cow diets based on barley silage and concentrates of barley or corn. *J Dairy Sci* 1997; 80: 1629–1639.
9. Mirzaei A, Sis NM. İmportance of “physically effective fibre” in ruminant nutrition: A review. *Annals of Biological Research* 2011; 2 (3):262-270.
10. Anonim. “Nutrient requirements of dairy cattle (NRC) Seventh Revised Edition. National academy press washington, D.C. 2001;198-199”. <http://profsite.um.ac.ir/~kalidari/software/NRC/HELP/NRC%202001.pdf>. 16.05.2014.
11. Anonim. “Hayvancılık sektörü raporu. Tarım İşletmeleri Genel Müdürlüğü”. <http://tarim.kalkinma.gov.tr/wp-content/uploads/2014/10/2013-TIGEM-HAYVANCILIK-SEKTOR-RAPORU.pdf>. 05.06.2014.
12. Anonim. “tuik”http://www.tuik.gov.tr/basinOdasi/haberler/2014_57_20140930.pdf. 05.05.2014.
13. Filya İ. Silaj fermantasyonu. *Atatürk Üniv Ziraat Fak. Derg* 2001;32 (i):87-93.
14. Basmacıoğlu H, Ergü M. Silaj mikrobiyolojisi. *Hayvansal Üretim* 2002; 43(1): 12-24.
15. Yitbarek MB, Tamir B. Silage additives: review. *Open Journal of Applied Sciences* 2014;4: 258-274.
16. Weinberg ZG. Effect of lactic acid bacteria on animal performance. *Indian Journal of Biotechnology*. 2003; (2):378-381.

17. Adesogan AT, Newman YC. "Silage harvesting, storing, and feeding". <http://edis.ifas.ufl.edu.13.10.2014>.
18. Adesogan AT. "Recent advances in bacterial silage inoculant technology". Florida Ruminant Nutrition Symposium 2008.
19. Küçükersan KM. Silaj yemleri. İn: Ergün A, Çolpan İ, Yıldız G, et al. (Editör). Yemler yem hijyeni ve teknolojisi. Ankara üniversitesi Veteriner Fakültesi.2.Baskı 2004: 69-102.
20. Tuncer ŞD, Çolpan İ, Küçükersan K, Küçükersan S. Silaj yemleri. İn: Türkmen İ. (Editör). Temel yem bilgisi ve hayvan besleme. 2011:33-36.
21. Piltz J W, Kaiser A. Principles of silage preservation. İn: Piltz J W, Kaiser A, Burns HM, Griffiths NW. (Editors). Successful silage. NSW Department of Primary industries. 2nd edition 2004:25-56.
22. Mc Donald P. Silage. İn: McDonald P, Edwards RA, Greenhalgh JFD, Morgan C A, Sinclair LA, Wilkinson RG. (Editors). Animal nutrition seventh edition. 2010:500-520.
23. Ashbell G, Weinberg ZG, Hen Y, Filya İ. The effects of temperature on the aerobic stability of wheat and corn silages. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology* .2002; 28: 261-263
24. Yıldız C, Öztürk İ, Erkmen Y. Farklı hasat dönemi, kıyma boyutu ve sıkıştırma basıncının mısır silajının fermentasyon niteliği üzerine etkileri. *Iğdır Üni Fen Bilimleri Enst Der* 2011;1(2): 85-90.
25. Yıldız C, Öztürk İ, Erkmen Y. Hasat dönemi, kıyma boyutu ve sıkıştırma basıncının sorgum-sudanotu melezi (*sorghum sudanense staph.*) silajının yem niteliği üzerine etkileri. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*. 2010;41 (2): 137-143.
26. Buss J, Hopkins A. Chop length factsheet.pdf - British Grassland Society. www.britishgrassland.com/.../Chop%20length. 29.08.2014
27. Gerlach K, Südekum KH, Rob F et al. Changes in maize silage fermentation products during aerobic deterioration and effects on dry matter intake by goats. *Agricultural and food science*. 2013;22: 168–181.
28. Kononoff PJ, Heinrichs AJ. The effect of corn silage particle size and cottonseed hulls on cows in early lactation. *J Dairy Sci* 2003; 86:2438–2451.
29. Hutnik E, Kobiela S. Density of silage stored in horizontal silos. *Acta Agrophysica*. 2012; 19 (3): 539-549.
30. Pyatt NA, Berger LL. Management and Storage Alternatives for Corn Silage. <http://web.extension.illinois.edu/oardc/downloads/54865.pdf>. 28.08.2014.
31. Visser B. Forage Density and Fermentation Variation: A Survey of Bunkers, Piles and Bags Across Minnesota and Wisconsin Dairy Farms. <http://www.dairyweb.ca/Resources/4SDNMC2005/Visser.pdf>. 07.07.2014.

32. Çakmak B, Yalçın H, Bilgen H. Hasıl ve fermente mısır silajlarının ham besin maddesi içeriği ve kalitesine paketlenme basıncı ve depolama süresinin etkileri. *Tarım Bilimleri Dergisi* 2013;19: 22-32.
33. Seglar B. Fermentation analysis and silage quality testing, from the proceedings of the minnesota dairy health conference college of veterinary medicine, university of minnesota 2003:119-136
34. Anonim. "Silage analysis interpretation". <http://www.hill-laboratories.com/file/fileid/45347>.27.08.2014.
35. Kung L. Understanding the biology of silage preservation to maximize quality and protect the environment. http://alfalfa.ucdavis.edu/+symposium/2010/files/talks/CAS05_KungBiologyOfSilage.pdf. 04.07.2014
36. Schroeder JW. Silage Fermentation and Preservation. <https://www.ag.ndsu.edu/pubs/ansci/range/as1254.pdf>. 06.08.2014.
37. Ward RT. Fermentation analysis of silage: Use and Interpretation. <http://www.foragelab.com/media/fermentation-silage-nfmp-oct-2008.pdf> 12.08.2014.
38. Santos EM, Silva TC, Macedo CHO, et al. Lactic acid bacteria in tropical grass silages. Chapter 14. <http://cdn.intechopen.com/pdfs-wm/42321.pdf>.28.09.2014.
39. Holmes BJ, Muck R E. Packing bunkers and piles to maximize forage preservation. <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.519.516&rep=rep1&type=pdf>, 12.03.2014.
40. Uygur M. Silo yemlerinde meydana gelen besin madde kayıpları. <http://arastirma.tarim.gov.tr/etae/Belgeler/EgitimBrosur/123-ciftcibro.pdf>.12.03.2014.
41. Çoşkun B, Alataş MS, Özcan C, et al. Gebeleme ve hamur olum döneminde hasat edilen buğdaygil hasıllarının protein fraksiyonları ve ham protein üretimleri. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 2014; 20 (3): 457-460.
42. Elmalı DA, Kaya İ. Farklı biçim zamanlarının korunga (*onobrychis sativa* l.) ve fiğın (*vicia sativa* l.) besin madde içerikleri üzerine etkisi. *Lalahan Hay Arast. Enst. Derg* 2012;52 (2): 39-45.
43. Khorasani GR, Jedel PE, Helm JH, et al. İnfluence of stage of maturity on yield components andchemical composition of cereal grain silages. *Can J Anim Sci Can.* 1997; 77: 259–267.
44. Yaylak E, Alçıçek A. Sığır Besiciliğinde Ucuz Bir Kaba Yem Kaynağı:Mısır Silajı. *Hayvansal Üretim* 2003;44(2): 29-36.
45. Filya İ, Karabulut A, Kalkan H, Sucu E. Bakteriyal inokulantlarının sorgum silajlarının fermantasyon, aerobik stabilite ve rumen parçalanabilirlik özellikleri üzerine etkileri, *Tarım Bilimleri Dergisi* 2001; 7 (2): 112-119.

46. Filya İ. The Effect of *Lactobacillus buchneri* and *Lactobacillus plantarum* on the fermentation, aerobic stability, and ruminal degradability of low dry matter corn and sorghum silages. *J Dairy Sci* 2003;86:3575–3581.
47. Keleş G, Yazgan O. Bakteriyel inokulantların silaj fermentasyonu ve hayvan performansına etkileri. *Hayvancılık Araştırma Dergisi* 2005; 15, 1: 26–34.
48. Elferink SJWHO, Driehuis F, Gottschal JC, et al. Silage fermentation processes and their manipulation. *FAO Electronic Conference on Tropical Silage*.
49. Kiely PO, McEniry J, Clipson NJW, et al. The microbiological and chemical composition of baled and precision-chop silages on a sample of farms in county meath. *Irish Journal of Agricultural and Food Research* 2006;45: 73–83,
50. Adesogan AT. Improving forage quality and animal performance with fibrolytic enzymes. *Florida Ruminant Nutrition Symposium* 2005.
51. Heguy J. “Understanding the ensiling process can help you reach your silage feeding goals” .<http://cestanislaus.ucanr.edu/files/152281.pdf>./24/06/2014.
52. Bolsen KK, Ashbell G, Weinberg ZG. Silage fermentation and silage additives. *AJAS* 1996;9(5):483-493.
53. Shave R. Silage preservation. [http://www1. foragebeef.ca/ \\$foragebeef/frgebeef.nsf/all/frg69/\\$FILE/silageroleofadditives.pdf](http://www1.foragebeef.ca/$foragebeef/frgebeef.nsf/all/frg69/$FILE/silageroleofadditives.pdf)/04/04/2014.
54. Seglar B. Ruminant disorders associated with pathogens found within ensiled forages, Presented to the American Assn. of Bovine Practitioners Convention 1999:1-18. http://gpvec.unl.edu/electives/Griffin/GriffinPMfiles/Silage_pathogens_BS.doc. 15.04.2014.
55. Donald AS, Fenlon D R, Seddon B. The relationships between ecophysiology, indigenous microflora and growth of *Listeria monocytogenes* in grass silage. *J Appl Bacteriol* 1995; 79: 141-148.
56. Fenlon DR. Growth of naturally occurring *Listeria* spp. in silage, a comparative study of laboratory and farm ensiled grass. *Grass Forage Sci.* 1986;41:375–378. doi: 10.1111/j.1365-2494.1986.tb01828.x
57. Pauly TM, Tham WA. Survival of *Listeria monocytogenes* in wilted and additive-treated grass silage. *Acta vet Scand* 2003; 4: 73-86.
58. Dawson KA, Newman KE, Boling JA. Effects of microbial supplements containing yeast and lactobacilli on roughage-fed ruminal microbial activities. *J Anim Sci* 1990; 68:3392-3398.
59. Driehuis F, Elferink SJWHO, Van Wikselaar P G. Fermentation characteristics and aerobic stability of grass silage inoculated with *Lactobacillus buchneri*, with or without homofermentative lactic acid bacteria. *Blackwell Science Ltd. Grass and Forage Science* 2001; 56:330-343.
60. Hoffman PC, Combs DK. Managing aerobic stability. http://qualitysilage.com/wp-content/themes/twentyten/PDF/Aerobic_Stability.pdf.10.01.2015

61. Merry RJ, Davies DR. Propionibacteria and their role in the biological control of aerobic spoilage in silage. *Lait* 1999; 79 (1):149-164.
62. Doerr JA. A little fresh air: fungal toxins and silage. <http://alfalfa.ucdavis.edu>. 13.04.2014.
63. Driehuis F, Elferink SJWHO, et al. Anaerobic lactic acid degradation during ensilage of whole crop maize inoculated with *Lactobacillus buchneri* inhibits yeast growth and improves aerobic stability. *Journal of Applied Microbiology* 1999;87: 583–594.
64. Teller RS, Schmidt RJ, Whitlow LW, et al. Effect of physical damage to ears of corn before harvest and treatment with various additives on the concentration of mycotoxins, silage fermentation, and aerobic stability of corn silage. *J Dairy Sci* 2011; 95 :1428–1436.
65. Wilkinson JM. Silage and animal health. *Nat Toxins* 1999;7(6):221-32.
66. Alonso VA, Pereyra CM, Keller LAM, et al. Fungi and mycotoxins in silage: an overview. *Journal of Applied Microbiology* 2013; 115: 637-643 .
67. Fletcher J. Heat Damage in Silage and Hay. [http://www1.agric.gov.ab.ca/\\$department/deptdocs.nsf/all/for4906](http://www1.agric.gov.ab.ca/$department/deptdocs.nsf/all/for4906). 04.03.2014.
68. Saun RJV. Troubleshooting silage problems: How to identify potential problems. <http://extension.psu.edu/animals/health/metabolic-profiling/bibliography/Bunksilo.pdf>.25.11.2014.
69. Lin C, Bolsen KK, Brent BE, Hart RA. Epiphytic microflora on alfalfa and whole-plant corn. *J Dairy Sci* 1992; 75:2484-2493.
70. Adesogan AT. “ Factors affecting corn silage quality in hot and humid climates”. Florida Ruminant Nutrition Symposium 2006.
71. Ruppel KA, Pitt RE, Chase LE, et al. Bunker silo management and its relationship to forage preservation on dairy farms. *J Dairy Sci* 1995;78:141-153.
72. Gallagher DW, Stevenson KR. Heat damage in hay-crop silage. *Ministry of Agriculture and Food*1976: 76-007.
73. Kung L. Silage fermentation additives. [http://www1.foragebeef.ca/\\$Foragebeef/frgebeef.nsf/all/frg69/\\$FILE/silagefermentationadditives.pdf](http://www1.foragebeef.ca/$Foragebeef/frgebeef.nsf/all/frg69/$FILE/silagefermentationadditives.pdf).2000
74. Muck RE. Improving alfalfa silage quality with inoculants and silo management. U.S. Dairy Forage Research Center 137- 146, <http://naldc.nal.usda.gov/naldc/download.xhtml?id=27143&content=PDF>.
75. Martin N. Silage Preservation. <http://mbfc.s3.amazonaws.com/wp-content/uploads/2013/03/Neal-Martin-Silage-Preservation-11-05.pdf>. 27.06.2014.
76. Driehuis F. Silage and the safety and quality of dairy foods: a review. *Agricultural and Food Science*.2013;22:16-34.
77. Duniere L, Sindou J, Durand F C, et al. Silage processing and strategies to prevent persistence of undesirable microorganisms. *Animal Feed Science and Technology* 2013;182: 1– 15.

78. Kung L. Aerobic stability of silage. <http://alfalfa.ucdavis.edu> for this and other alfalfa symposium Proceedings. <http://alfalfa.ucdavis.edu/+symposium/proceedings/2010/10-89.pdf> (2010).13.07.2014.
79. Anonim. “Karboksilli asitler”. http://yegitek.meb.gov.tr/aok/Aok_Kitaplar/AolKitaplar/Kimya_8/1.pdf 03.04.2014.
80. Sucu E, Filya İ. 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* 2006; 30 :83-88.
81. Kung L, Treacher RJ, Nauman GA, et al. The effect of treating forages with fibrolytic enzymes on its nutritive value and lactation performance of dairy cows. *J Dairy Sci* 2000; 83: 115–122.
82. Kung L, Sheperd AC, Smagala AM, Endres KM, Bessett CA, Ranjit N K, Glancey JL. The effect of preservatives based on propionic acid on the fermentation and aerobic stability of corn silage and a total mixed ration. *J Dairy Sci* 1998; 81:1322–1330.
83. Jatkauskas J, Vrotniakiene V, Ohlsson CH. Fermentation characteristics and aerobic stability of whole plant maize silage when adding an inoculant. *ICFC* 2008.
84. Filya İ, Sucu E. The effect of bacterial inoculants and a chemical preservative on the fermentation and aerobic stability of whole-crop cereal silages. *Asian-Aust. J Anim Sci* 2007;20 (3) : 378 – 384.
85. Kung L, Myers CL, Neylon JM, et al. The Effects of Buffered Propionic Acid-Based Additives Alone or Combined with Microbial Inoculation on the Fermentation of High Moisture Corn and Whole-Crop Barley. *J. Dairy Sci* 2004;87:1310–1316.
86. Queiroz OCM, Arriola KG, Daniel JLP, et al. Effects of 8 chemical and bacterial additives on the quality of corn silage. *J Dairy Sci* 2013; 96 :5836–5843.
87. Nowak W, Potkański A, Wylegała S. The effect of additives on quality and nutrient degradability and digestibility of round bale silage. *South African Journal of Animal Science* 2004; 34 (2):123-129.
88. Baytok E, Aksu T, Karşlı MA, et al. The Effects of formic acid, molasses and inoculant as silage additives on corn silage composition and ruminal fermentation characteristics in sheep. *Turk J Vet Anim Sci* 2005;29: 469-474.
89. Çoskuntuna L, Koc F, Özduven ML, et al. Effects of organic acid on silage fermentation and aerobic stability of wet brewer’s grain at different temperatures. *Bulgarian Journal of Agricultural Science* 2010;16 (5): 651-658.
90. Filya İ, Sucu E, Canbolat Ö. Silaj fermantasyonunda organik asit kullanımı üzerinde araştırmalar 2. formik asit temeline dayalı bir koruyucunun çiftlik koşullarında yapılan mısır silajlarının fermantasyon, mikrobiyal flora, aerobik stabilite ve in situ rumen parçalanabilirlik özellikleri üzerine etkisi. *Uludağ Üniv Zir Fak Derg* 2004; 18(2): 35-45.

91. Filya İ, Sucu E. Silaj fermantasyonunda organik asit kullanımını üzerinde araştırmalar 1. formik asit temeline dayalı bir koruyucunun laboratuvar koşullarında yapılan mısır silajlarının fermantasyon, mikrobiyal flora, aerobik stabilite ve in situ rumen parçalanabilirlik özellikleri üzerine etkisi. Tarım bilimleri dergisi 2005;11 (1): 51-56.
92. Filya İ. Bazı silaj katkı maddelerinin ruminantların performansları üzerindeki etkileri. Hayvansal Üretim 2000;41: 76-83.
93. Kung L. A review on silage additives and enzymes. http://ag.udel.edu/anfs/faculty/kung/articles/a_review_on_silage_additiv (2014). 13.07.2014.
94. Pitt RE. A model of cellulase and amylase additives in silage. J Dairy Sci 1990;73:1788-1799.
95. Sheperd AC, Kung L. An enzyme additive for corn silage: effects on silage composition and animal performance. J Dairy Sci 1996;79:1760- 1766.
96. Polat C, Koç F, Özduven ML. Mısır silajında laktik asit bakteri ve laktik asit bakteri+enzim karışımı inokulantların fermantasyon ve toklularda ham besin maddelerinin sindirilme dereceleri üzerine etkileri. Tek irdağ Ziraat Fak ültesi Dergisi 2005; 2(1):13-22.
97. Koç F, Coskuntuna L, Ozduven ML. The effect of bacteria+enzyme mixture silage inoculant on the fermentation characteristic, cell wall contents and aerobic stabilities of maize silage. Pakistan Journal of Nutrition 2008; 7 (2): 222-226.
98. Filya İ, Ashbell G, Weinberg ZG, et al. Hücre duvarını parçalayıcı enzimlerin yonca silajlarının fermantasyon özellikleri, hücre duvarı kapsamı ve aerobik stabiliteeleri üzerine etkileri. Tarım bilimleri dergisi 2001; 7 (3): 81-87.
99. Young KM, Lim JM, Bedrosian MCD, et al. Effect of exogenous protease enzymes on the fermentation and nutritive value of corn silage. J. Dairy Sci 2012; 95 :6687–6694.
100. Filya İ. Laktik asit bakteri ve laktik asit bakteri+enzim karışımı silaj inokulantlarının mısır silajı üzerine etkileri. Turk J Vet Anim Sci 2002;26: 679-687.
101. Chen H, Hoover DG. Bacteriocins and their food applications. Comprehensive reviews in food science and food safety 2003; 2: 82-100.
102. Magnusson J, Schnurer J. *lactobacillus coryniformis* subsp. *coryniformis* strain si3 produces a broad-spectrum proteinaceous antifungal compound. Applied and environmental microbiology 2001; 67 (1):1-5.
103. Wright AV, Axelsson L. Lactic acid bacteria an introduction İn: Lahtinen S, Ouwehand AC, Salminen S, Wright AV (Editors). Lactic acid bacteria, microbiological and functional aspects. 4nd Edition. by Taylor & Francis Group, LLC. 2012:1-17.
104. Yörük GN, Güner A. Laktik asit bakterilerinin sınıflandırılması ve *weissella* türlerinin gıda mikrobiyolojisinde önemi. Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg 2011; 6(2): 163-176.

105. Stiles ME, Holzapfel WH. Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *International Journal of Food Microbiology* 1997; 36: 1- 29.
106. Adams MR. Safety of industrial lactic acid bacteria. *Journal of Biotechnology* 1999; 68: 171–178.
107. Holzapfel WH, Haberer P, Geisen R, et al. Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition. *Am J Clin Nutr* 2001;73:365S–373.
108. Hutkins RW. Microorganisms and metabolism İn: Hutkins RW (Editors) *Microbiology and technology of fermented foods*. Blackwell Publishing First edition, 2006; 15-67.
109. Kıran F, Osmanağaoğlu Ö. Laktik asit bakterilerinin (LAB) identifikasyonunda/tiplendirmesinde kullanılan moleküler yöntemler. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 2011;27(1): 62-74.
110. Axelsson L. Lactic acid bacteria: classification and physiology. İn: Salminen S, Wright AV, Ouwehand A. (Editors). *Lactic Acid Bacteria Microbiological and Functional Aspects*. By Marcel Dekker, Inc. All Rights Reserved. 3rd Edition 2004:19-69.
111. Baltasar M, Tamara AP, Maria F, et al. Updates in the metabolism of lactic acid bacteria. İn: Mozzi F, Raya RR, Vignolo G M. (Editors). *Biotechnology of Lactic Acid Bacteria Novel Applications* . 1 st Edition Blackwell Publishing 2010;1-10
112. Connolly E, Lönnerdal B. D-Lactic acid-producing bacteria safe to use in infant formulas. *Nutra foods* 2004; 3(3): 37-49.
113. Anonim. “D-lactic acid, (D-lactate) and L-lactic acid (L-lactate) ”. *Megazyme International Ireland* 2012 http://secure.megazyme.com/files/Booklet/K-DLATE_DATA.pdf.15.04.2014.
114. Caplice E, Fitzgerald GF. Food fermentations: role of microorganisms in food production and preservation. *International Journal of Food Microbiology* 1999; 50: 131–149.
115. Jones R. L-Lactic Acid. *Biopesticides registration action document* 2009:2-22.
116. Singleton P, Sainsbury D. *Dictionary of microbiology and molecular biology*. 3rd Edition. John Wiley & Sons Ltd 2006: 424.
117. Hikmet G. Metabolizma ve enerji eldesi: glikoliz İn: *Biyokimya II*. http://www.academia.edu/4327073/Biyokimya_II. 2012:20-35.
118. Giovanna E, Felis D, Franco D. Taxonomy of lactobacilli and bifidobacteria. *Curr. Issues İntestinal Microbiol.* 8: 44–61.
119. Drinan DF, Tobin S, Cogan TM. Citric acid metabolism in hetero- and homofermentative lactic acid bacteria. *Applied and environmental microbiology* 1976; 31 (4):481-486.

120. Gfeller KY. Molecular analysis of antimicrobial resistance determinants of commensal lactobacilli. <http://e-collection.library.ethz.ch/eserv/eth:26303/eth-26303-02.pdf>. 2003; 2-10.
121. Thiruneelakandan G, Vidya S, Vinola jS, et al. Identification of lactobacilli isolated from mangrove biotopes of east coast of india. *Global Educational Research Journal* 2014; 2(2) :033-037.
122. Vodnar DC, Paucean A, Dulf FV, et al.HPLC characterization of lactic acid formation and ftir fingerprint of probiotic bacteria during fermentation processes. *Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj* 2010; 38 (2): 109-113.
123. Ganzle MG, Vermeulen N, Vogel RF. Carbohydrate, peptide and lipid metabolism of lactic acid bacteria in sourdough. *Food Microbiology* 2007; 24 :128–138.
124. Taskila S, Ojamo H.The Current Status and Future Expectations in Industrial Production of Lactic Acid by Lactic Acid Bacteria. In: Kongo M (Editors). *Lactic acid bacteria – r & d for food, health and livestock purposes*. Janeza Trdine,Rijeka, Croatia. 1 st 2013:627-632.
125. Aragon YA, Jatkauskas J, Vrotniakien V. The effect of a silage inoculant on silage quality, aerobic stability, and meat production on farmscale. *İSRN Veterinary Science* 2012: 1-6.
126. Scientific Opinion on the safety and efficacy of *Lactobacillus brevis* (DSM 23231), *Lactobacillus buchneri* (DSM 22501), *Lactobacillus buchneri* (NCIMB 40788—CNCM I-4323), *Lactobacillus buchneri* (ATCC PTA-6138) and *Lactobacillus buchneri* (ATCC PTA-2494) as silage additives for all species. EFSA Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed (FEEDAP). *EFSA Journal* 2013;11(4):3168
127. Junges D, Schmidt P, Novinski CO, et al. Additive containing homo and heterolactic bacteria on the fermentation quality of maize silage. *Acta Scientiarum. Animal Sciences Maringa* 2013; 35 (4): 371-377.
128. Filya İ, Sucu E, Karabulut A. The Effect of lactobacillus buchneri on the fermentation, aerobic stability and ruminal degradability of maize silage. *J Appl Microbiol* 2006;101: 1216–1223.
129. Weinberg ZG, Shatz O, Chen Y, et al. Effect of lactic acid bacteria inoculants on in vitro digestibility of wheat and corn silages. *J Dairy Sci* 2007; 90:4754–4762
130. Muğlalı HO, Salman M, Selçuk Z, et al. The effect of a lactic acid bacteria inoculant on corn silage ensiled at the different stages of vegetation. *Veterinary research* 2012;5 (2):41-45.
131. Cai Y, Benno Y, Ogawa M, et al. Influence of *Lactobacillus* spp. from an Inoculant and of *Weissella* and *Leuconostoc* spp. from Forage Crops on Silage Fermentation. *Applied and environmental microbiology* 1998; 64 (8):2982–2987.

132. Adesogan AT, Salawu MB, Ross AB, et al. Effect of *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus fermentum*, *Leuconostoc mesenteroides* inoculants, or a chemical additive on the fermentation, aerobic stability, and nutritive value of crimped wheat grains. *J Dairy Sci* 2003; 86: 1789–1796.
133. Adesoji AT, Ogunjobi AA, Fagade OE, et al. Effect of *Lactobacillus plantarum* starter culture on the microbial succession, chemical composition, aerobic stability and acceptability by ruminant of fermented *Panicum maximum* grass. *AU JT* 2010;14(1): 11-24.
134. Assis FG, Avila CLA, Pinto JC, et al. New inoculants on maize silage fermentation. *Revista Brasileira de Zootecnia. R. Bras Zootec* 2014; 43(8):395-403.
135. Higginbotham GE, Mueller SC, Bolsen KK, et al. Effects of inoculants containing propionic acid bacteria on fermentation and aerobic stability of corn silage. *J Dairy Sci* 1998;81:2185–2192.
136. Kleinschmit DH, Kung L. The effects of *Lactobacillus buchneri* 40788 and *Pediococcus pentosaceus* r1094 on the fermentation of corn silage. *J Dairy Sci* 2006; 89: 3999–4004.
137. Koç F, Özduven M L, Coskuntuna L, et al. The effects of inoculant lactic acid bacteria on the fermentation and aerobic stability of sunflower silage. *Poljoprivreda (Osijek)* 2009: 1330-7142.
138. Filya İ. The effect of *Lactobacillus buchneri*, with or without homofermentative lactic acid bacteria, on the fermentation, aerobic stability and ruminal degradability of wheat, sorghum and maize silages. *Journal of Applied Microbiology* 2003; 95: 1080–1086.
139. Hu W, Schmidt RJ, McDonnell EE, et al. The effect of *Lactobacillus buchneri* 40788 or *Lactobacillus plantarum* MTD-1 on the fermentation and aerobic stability of corn silages ensiled at two dry matter contents. *J Dairy Sci.* 2009; 92 : 3907–3914.
140. Ranjit NK, Kung L. The effect of *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus plantarum*, or a chemical preservative on the fermentation and aerobic stability of corn silage. *J Dairy Sci* 2000;83:526–535.
141. Zhang TL, Wang X, Zeng Z, et al. Effects of *Lactobacillus buchneri* and *Lactobacillus plantarum* on fermentation, aerobic stability, bacteria diversity and ruminal degradability of alfalfa silage. *World J Microbiol Biotechnol* 2009; 25:965–971.
142. Huisden CM, Adesogan AT, Kim SC, et al. Effect of applying molasses or inoculants containing homofermentative or heterofermentative bacteria at two rates on the fermentation and aerobic stability of corn silage. *J Dairy Sci.* 2009; 92:690–697.
143. Kleinschmit DH, Schmidt RJ, Kung L. The effects of various antifungal additives on the fermentation and aerobic stability of corn silage *J Dairy Sci* 2005;88: 2130–2139.
144. Kung L, Ranjit NK. The effect of *Lactobacillus buchneri* and other additives on the fermentation and aerobic stability of barley silage. *J Dairy Sci* 2001; 84:1149–1155.

145. Muck RE. Effects of corn silage inoculants on aerobic stability. Transactions of the ASAE 2004; 47(4): 1011–1016.
146. Ranjit NK, Taylor CC, Kung L. Effect of lactobacillus buchneri 40788 on the fermentation, aerobic stability and nutritive value of maize silage, Grass and Forage Science 2002; 57: 73–81.
147. Schmidt RJ, Kung L. The effects of *Lactobacillus buchneri* with or without a homolactic bacterium on the fermentation and aerobic stability of corn silages made at different locations. J Dairy Sci 2010; 93 :1616–1624
148. Steidlova S, Kalac P. The effects of using lactic acid bacteria inoculants in maize silage on the formation of biogenic amines. Arch Anim Nutr 2003; 57(5): 359 – 368.
149. Meeske R, Merwe GDV, Greyling JF, et al. The effect of adding a lactic acid bacterial inoculant to maize at ensiling on silage composition, silage intake, milk production and milk composition. South African Journal of Animal Science 2002;32 (4):263-270.
150. Kanarloy M, Yansari AT. Effect of Microbial inoculants on the nutritive value of corn silage for beef cattle. Pakistan Journal of Biological Sciences 2008; 11 (8):1137-1141.
151. Arriola KG, Kim SC, Staples CR, et al. Effect of applying bacterial inoculants containing different types of bacteria to corn silage on the performance of dairy cattle. J Dairy Sci 2011; 94: 3973–3979.
152. Basso FC, Adesogan AT, Lara EC, et al. Effects of feeding corn silage inoculated with microbial additives on the ruminal fermentation, microbial protein yield, and growth performance of lambs, J Anim Sci 2014; 92: 5640–5650.
153. West JW, Bernard JK. Effects of addition of bacterial inoculants to the diets of lactating dairy cows on feed intake, milk yield, and milk composition. The Professional Animal Scientist 2011 ;27: 122–126
154. Filya İ, Sucu E, Handalğlu H. Biyolojik Silaj Katkı Maddeleri Kullanılarak Yapılan Küçük Plastik Balya Mısır Silajlarının Kalite Özellikleri, Yem Değeri ve Kuzu Besisinde Kullanımı Üzerine Bir Araştırma. 2004;10 (2):158-162.
155. Anonim. “Aerobic plate count”. <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm063346.htm>. 02.02.2014.
156. Anonim. “Yeasts, Molds and Mycotoxins”. <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm071435.htm>. 02.02.2014.
157. ISO 6887-1. International Organization for Standardization. Microbiology of food and animal feeding stuffs — Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination — Part 1: General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions. International Organization for Standardization 1999.

158. ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs — General requirements and guidance for microbiological examinations. Amendment 1. International Organization for Standardization 2013..
159. ISO 15214. International Organization for Standardization. Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the enumeration of mesophilic lactic acid bacteria — Colony-count technique at 30 °C. International Organization for Standardization 1998.
160. Anonim. “API 50 CHL Package Insert ”.BioMérieux technical library. https://techlib.biomerieux.com/wcm/techlib/techlib/documents/docLink/Package_Insert/35006001-35007000/Package_Insert_-_07486_-_H_-_en_-_50410.pdf. 16.05.2014.
161. AOAC. Official methods of analysis, association of official analytical chemists. Agricultural Chemicals; Contaminants; Drugs. Helrich K (Editors). 15th, 1990.312-315.
162. Folch J, Lees M, Stanley SGH. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem* 1957; 226: 497-509.
163. Ashbell G, Weinberg ZG. Engineering aspects of ensiling. *Biochemical Engineering Journal* 2001: 181-188.
164. Sucu E, Filya İ. The effects of bacterial inoculants on the fermentation, aerobic stability and rumen degradability characteristics of wheat silages. *Turk J Vet Anim Sci* 2006; 30: 187-193.
165. AOAC. Official methods of analysis, association of official analytical chemists. Agricultural Chemicals; Contaminants; Drugs. Helrich K (Editors). 15th, 1990.
166. Vansoset PJ, Robertson JB, Lewis BA. Method for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J Dairy Sci* 1991; 74:3583-3597.
167. SPSS. Inc. SPSS for Windows Release 11.5 (6 Sep. 2002), Standard Version, Copyright SPSS Inc., 1989-2002, Chicago.
168. Jalc D, Laukova A, Simonova M, et al. Bacterial inoculant effects on corn silage fermentation and nutrient composition. *Asian-Aust J Anim Sci* 2009; 22 (7): 977 – 983.
169. Filya İ. Laktik Asit Bakteri inokulantlarının Mısır ve Sorgum Silajlarının Fermentasyon, Aerobik Stabilitate ve in situ Rumen Parçalanabilirlik özellikleri üzerine Etkileri, *Turk J Vet Anim Sci* 2002;26: 815-823.
170. Tabacco E, Righi F, Quarantelli A, et al. Dry matter and nutritional losses during aerobic deterioration of corn and sorghum silages as influenced by different lactic acid bacteria inocula. *J Dairy Sci* 2011; 94 :1409–1419.
171. Kung L, Chen JH, Kreck EM, et al. Effect of Microbial of Corn Silage for Inoculants on the Nutritive Value Lactating Dairy Cows. *J Dairy Sci* 1993 ;76: 3763-3770.

172. Özdüven ML, Önal KZ, Koç F. The Effects of bacterial inoculants and/or enzymes on the fermentation, aerobic stability and in vitro dry and organic matter digestibility characteristics of triticale silages, *Kafkas Vet* 2010; 16 (5): 751-756.
173. Guo XS, Undersander DJ, Combs DK. Effect of *Lactobacillus* inoculants and forage dry matter on the fermentation and aerobic stability of ensiled mixed-crop tall fescue and meadow fescue. *J Dairy Sci* 2013; 96 :1735–1744.

8. ÖZGEÇMİŞ

1980 yılında Balıkesir’de doğdum. İlk ve orta öğrenimimi Şanlıurfa’da, lise öğrenimimi Kütahya’da tamamladım. Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesine 1998 yılında eğitimime başladım ve 2003 yılında mezun oldum. 2003-2004 eğitim öğretim yılında Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü’nde Hayvanbesleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalında doktora eğitimime başladım. 2007 yılında kurumlar arası geçiş yaparak Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Savaştepe İlçe Müdürlüğü’ne atandım. Daha sonra 2009 yılında Balıkesir Gıda Kontrol Laboratuvar Müdürlüğüne geçiş yaptım ve halen bu kurumda Veteriner Hekim olarak çalışmaktayım 05.10.2015.