

NKUBAP.00.24.AR.14.06 nolu proje

HASAT ÖNCESİ ve HASAT SONRASI LAKTİK ASİT BAKTERİ (LAB)
İNOKULANTLARININ İLAVESİNİN MISIR
SİLAJ FERMANTASYONU VE AEROBİK STABİLİTE
ÜZERİNE ETKİLERİ

Yürütücü: Cemal POLAT
Araştırmacı: Fisun KOÇ
M. Levent ÖZDÜVEN
Burak KARA

2015

Proje No: NKUBAP.00.24.AR.14. 06

Proje Adı: Hasat Öncesi ve Hasat Sonrası Laktik Asit Bakteri (LAB) İlavesinin Mısır Silaj Fermantasyonu ve Aerobik Stabilité Üzerine Etkileri

Önsöz

Hemen her koşulda, silolanan kitlede gerek fermantasyon gelişim basamaklarının ve gerekse de son ürün özelliklerin belirleyen temel faktör, hasat zamanı yeşil materyalde yer alan epifitik laktik asit bakterilerinin yoğunluğu ve kompozisyonudur. Birçok durumda bu yoğunluğun <10 CFU/g TM ile 10^6 CFU/g TM arasında değişebildiği bildirilmektedir. Epifitik mikroorganizma yoğunluğu bakımından gözlenebilecek bu tip geniş farklılıkların temel nedeni ise söz konusu özellik üzerinde sıcaklık, nisbi nem, UV radyasyon ve bitki ile ilgili özelliklerin olası etkileridir.

Namık Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi desteği ile yürütölen bu projenin ana amacı başlangıçtan itibaren bitkide bulunan epifitik mikroorganizma yoğunluğunun hasat öncesi inokulant ilavesi ile artırılıp arttırılamayacağını tespit etmek ve silaj kalitesi ve aerobik stabite üzerindeki etkilerini belirlemektir.

ÖZET

Bu çalışma, hasat öncesi ve hasat sonrası laktik asit bakteri inokulantlarının ilavesinin mısır silajlarının fermantasyon ve aerobik stabiliteleri üzerindeki etkilerini belirlemek amacıyla yürütülmüştür.

Çalışmada katkı maddesi olarak homofermantatif ve heterofermantatif laktik asit bakterilerinin içeren 2 ticari inokulant kullanılmıştır. İnokulantlar silajlara $6.00 \log_{10}$ cfu/g düzeyinde katılmıştır. Araştırma materyali hasat öncesi ve hasat sonrası olmak üzere kontrol, homofermantatif (LAB) ve heterofermantatif (LAB) inokulant uygulaması içeren olmak üzere 3 deneme grubuna bölünmüştür. İnokulantların uygulanmasında firma önerileri dikkate alınmıştır. İnokulantlar hasattan 15 ve 7 gün olmak üzere 2 farklı dönemde tarlada mısırlara el tipi pülverizatör yardımı ile atılmıştır. Hasat öncesi ve sonrasının karşılaştırmak amacıyla, hasat dönemi geldiğinde yine kontrol, homofermantatif (LAB) ve heterofermantatif (LAB) inokulant uygulamaları yapılmıştır. Hasat öncesi ve hasat sonrası gruplarını içeren uygulamalara ait muameleler CASCVP 260PD marka laboratuvar tipi paket silaj makinası ile paketlenmiştir. Her muameleye ait 3'er paket silajın kullanıldığı çalışmada, silajların paketlenmesinden sonra materyaller laboratuvar koşullarında (20-22 °C) depolanmıştır. Fermantasyonun 45. gününde açılan örnekler üzerinden pH, kuru madde kaybı, maya ve küf sayımları için mikrobiyolojik analizlerin yapıldığı çalışmada aerobik stabiliteye ilişkin özellikler ana fermantasyon dönemi sonrası 14 günlük dönemde izlenmiştir.

Araştırma sonucunda, hasattan öncesi inokulant uygulamasının özellikle maya ve küf gelişimi üzerinde olumlu etkileri olduğu ve özellikle maya ve küf gelişiminin azalttığı yönündedir.

Anahtar kelimeler: Mısır silajı, inokulant, silaj kalitesi

ABSTRACT

This study was conducted in order to investigate the effect of adding inoculated lactic acid bacteria to maize before and after harvest on the fermentation and aerobic stability properties of silages. Two commercial inoculants containing homofermentative and heterofermentative lactic acid bacteria were used as additives. Inoculants were added into the silages at the level of $6.00 \log_{10}$ cfu/g. Pre and post harvest research materials were divided into three trials groups, namely, control, homofermentative (LAB) and heterofermentative (LAB) inoculants. During the use of inoculants, suggestions by the producers were taken into account. Inoculants were applied to the corn plants in the field by the aid of hand type pulverizator at three different times, 15 and 7 day before the harvest. To compare the pre and post harvest treatments, control, homofermentative and heterofermentative inoculants applications were realised at the time of harvest. The pre and post harvest treated materials were packed using lab-type CASCVP 260PD brand named silage machine. After packing, three sample packets from each treatment were stored under laboratory conditions (20-22 °C). pH, dry matter losses, microbiological analyses for yeast and mould count were done on the silage samples opened on the 45th day of fermentation. The same analyses were repeated and compared with the previous results 14 days after the opening in order to assess the aerobic stability. The results showed that inoculants applications before the harvest had a positive effects on silage quality by decreasing yeast and mould growth.

Key words: Maize silage, inoculants, aerobic stability

İÇİNDEKİLER DİZİNİ	Sayfa
ÖZET	I
ABSTRACT	II
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	III
KISALTMALAR DİZİNİ	IV
TABLO LİSTESİ	V
RESİM LİSTESİ	1
1. GİRİŞ	3
2. KAYNAK ÖZETLERİ	12
3. MATERYAL VE YÖNTEM	12
3.1. Materyal	12
3.1.1. Silaj Materyali	12
3.1.2. Silajların Hazırlanması	12
3.2. Metot	12
3.1.3. Silajlarda kullanılan katkı maddeleri	13
3.1.4. Katkı maddelerinin kullanım şekli	13
3.2. Yöntem	14
3.2.1. Silaj kalitesi belirlenmesi için kullanılan yöntemler	14
3.2.1.1. pH analizleri	14
3.2.1.2. SÇK analizi	15
3.2.1.3. NH ₃ -N Analizi	15
3.2.1.4. Laktik Asit Analizi	15
3.2.1.4.1. Standart eğrinin oluşturulması	16
3.2.1.4.2. Hesaplama	16
3.2.1.5. Mikrobiyolojik analizler	16
3.2.2. Ham madde analizler	17
3.2.2.1. Ham besin madde analiz yöntemleri	17
3.2.2.3. Hücre duvarı içerikleri analiz yöntemleri	17
3.2.3. Aerobik bozulmaya direnç ilişkili analizler	19
3.2.4. İstatistiksel analizler	19
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	20
4.1. Silajların başlangıç materyallerine ilişkin özellikleri	20
4.2. Silajların Fermantasyon Özellikleri	20
4.2.1. Hasattan 15 gün önce inokulant ilave edilmiş mısır silajlarının fermantasyon gelişimi ve son ürün özellikleri	21
4.2.2. Hasattan 7 gün önce inokulant ilave edilmiş mısır silajlarının fermantasyon gelişimi ve son ürün özellikleri	24
4.2.3. Mısır silajlarının mikrobiyolojik özellikleri ile ilgili bulgular	30
4.3. Silajların aerobik stabiliteyi	33
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	37
6. KAYNAKLAR	38

KISALTMALAR DİZİNİ

HK :Ham kül

HP :Ham protein

KM :Kurumadde

LAB :Laktik asit bakterileri

NDF :Nötral çözücülerde çözünmeyen karbonhidratlar

ADF :Asit çözücülerde çözünmeyen karbonhidratlar

ADL :Asit çözücülerde çözünmeyen lignin

SÇK :Suda çözünebilir karbonhidratlar

^{ho}LAB :Homofermantatif laktik asit bakterileri

^{het}LAB :Heterofermantatif laktik asit bakterileri

TABLO LİSTESİ	Sayfa
Tablo 4.1. Mısır hasıllarının silolanmadan önceki özelliklerine ilişkin değerler	20
Tablo 4.2. Hasattan 15 gün önce inokulant ilavesinin silajların bazı kimyasal parametreleri üzerine etkileri	22
Tablo 4.3. Hasattan 15 gün önce inokulant ilavesinin silajların 45. günde yapılan açım sonrası bazı kimyasal parametreleri üzerine etkileri	3
Tablo 4.4. Hasattan 7 gün önce inokulant ilavesinin silajların bazı kimyasal parametreleri üzerine etkileri	25
Tablo 4.5. Hasattan 7 gün önce inokulant ilavesinin silajların 45. günde yapılan açım sonrası bazı kimyasal parametreleri üzerine etkileri	26
Tablo 4.6. Hasat sonrası inokulant ilavesinin silajların bazı kimyasal parametreleri üzerine etkileri	28
Tablo 4.7. Hasattan sonrası inokulant ilavesinin silajların 45. günde yapılan açım sonrası bazı kimyasal parametreleri üzerine etkileri	29
Tablo 4.8. Hasattan 15 gün önce inokulant ilavesinin fermantasyon süresince silajların mikrobiyolojik parametreleri üzerine etkileri	30
Tablo 4.9. Hasattan 7 gün önce inokulant ilavesinin fermantasyon süresince silajların mikrobiyolojik parametreleri üzerine etkileri	31
Tablo 4.10. Hasat sonrası inokulant ilavesinin fermantasyon süresince silajların mikrobiyolojik parametreleri üzerine etkileri	32
Tablo 4.11. Hasattan 15 gün önce inokulant ilavesinin silajların aerobik stabilitesine ilişkin parametreleri üzerine etkileri	33
Tablo 4.12. Hasattan 7 gün önce inokulant ilavesinin silajların aerobik stabilitesine ilişkin parametreleri üzerine etkileri	34
Tablo 4.13. Hasattan sonrası inokulant ilavesinin silajların aerobik stabilitesine ilişkin parametreleri üzerine etkileri	34

RESİM LİSTESİ

Resim 1. Laboratuar tipi paket silaj makinası
Resim 2. Silajlık mısır bitkisi deneme alanı

Sayfa

13

14

1. GİRİŞ

Silaj yapımında fermantasyon olaylarının kontrolü amacı ile kullanılan mikrobiyal katkı maddelerini ya da bir başka isimlendirme ile bakteri kökenli inokulantları; belirli dozlarda kullanımları durumunda silolanacak kitlede arzu edilen yönde fermantasyon olaylarının gelişimini sağlayabilecek yoğunlukta laktik asit bakterisi (LAB) yada bakteri gruplarını içeren ürünler olarak tanımlamak mümkündür (Yurtman ve ark. 1997).

Silajlarda başlangıç materyalinin (taze ve yeşil bitki) doğal LAB popülasyonu genellikle düşüktür ve heterofermentatif (^{het}LAB) 'lerinden oluşmuştur. Dolayısıyla silaj fermantasyonunu iyileştirmek için hızlı gelişim gösteren homofermentatif (^{ho}LAB)'nin kullanımının etkinliği birçok çalışmada kanıtlanmıştır. Silaj yapımında LAB'lerini içeren ve bakteriyel inokulant ya da mikrobiyal inokulant olarak isimlendirilen bakteri kültürlerinden silaj katkı maddesi olarak yoğun bir şekilde yararlanılmaktadır. Canlı LAB'nin, dondurulmuş kuru ve toz formdaki kültürlerini içeren bu katkıları biyoteknolojik silaj katkıları olarak kabul edilmektedirler (Pahlow 1986).

Laktik asit bakterisi inokulantları ile ilgili ilk çalışmalar 1970'lerin sonu ile 1980'lerin başında popülerlik kazanmıştır. Geçmişteki çalışmalarda bu bakterilerin silaj ortamına adapte edilememesi, düşük dozlarda kullanımı, canlılıklarını korumada sorunların yaşanması nedeniyle istenilen başarı sağlanamamıştır. Daha sonraları; teknolojide sağlanan ilerlemeler, genetik mühendisliğindeki gelişmeler ile silolama sürecinin daha iyi anlaşılması bu ürünlerin ticarileştirilmesinde çok önemli gelişmeler sağlamıştır. İlk silaj inokulantları, ^{ho}LAB'nin sadece bir cinsini içermiştir. Yapılan çalışmalar sonucu *L. plantarum*, silaj inokulantı olarak kullanılabilir en uygun LAB olarak belirlenmiş ve gerek tek başına gerekse karışım halinde, hemen hemen tüm ticari bakteri inokulantlarının içerisinde yer almıştır. *L. plantarum*, bir bakteri kültürünün içermesi gereken çoğu önemli kriteri içermesine rağmen, silolanan materyalin pH'sı 5'in altına düşene kadar oldukça yavaş laktik asit üretmesinden dolayı, çoğu ticari inokulantlar, fermantasyon döneminin başlarında pH'nın 5.0-6.5 arasında değiştiği sırada aktif olabilecek *Pediococcus* ve/veya *Enterococcus* cinsi bakterisi gruplarını da içerirler (Filya 2001). Whirtenbury (1961) ile Wieringa ve Beck (1964) LAB'lerinin

silaj inokulantı olarak kullanılmaları için sahip olmaları gereken kriterleri belirlemişlerdir. Bu kriterlere dayanarak, LAB'lerinin, silajda baskın mikroorganizma faaliyetini artırmaları ve homofermantatif nitelikte olmaları gerekmektedir. Ayrıca, bu organizmalar asit ortama toleranslı olmalı ve ortam pH'sını hızla düşürmelidir. Çözünebilir karbohidratları fermente etmeli, organik asitler üzerinde etkili olmamalı, proteolitik etkinlik göstermemeli ve değişik sıcaklık aralıklarında gelişebilmelidirler. Silaj inokulantları olarak kullanılan bakterilerde kapsamlı cins seçimlerinde sağlanan ilerlemelerin yıllar sonra gerçekleşmesi ile birlikte bazı organizmalar Wittenbury'nin orijinal kriterlerini sağlamasa da silaj inokulantı olarak kullanılmaya başlanmıştır. Bunlardan *Propionibacteria* ve *L. buchneri* heterofermantatif nitelikteki LAB'leri olmalarına karşın, aerobik stabilitenin geliştirilmesi üzerindeki olumlu etkilerinden dolayı silaj inokulantı olarak önemleri artmıştır. Özellikle *L. buchneri'* nin 1995 yılında tanımlanması, Muck (1996) tarafından yürütülen araştırmalarda kullanılmasını takiben 2001 yılında ABD Gıda ve İlaç idaresi (US Food and Drug Administration, FDA) tarafından onaylanmasından sonra ticari olarak kullanılması yaygınlık kazanmıştır.

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

Hemen her koşulda, silolanan kitlede gerek fermantasyon gelişim basamaklarının ve gerekse de son ürün özelliklerin belirleyen temel faktör, hasat zamanı yeşil materyalde yer alan epifitik laktik asit bakterilerinin yoğunluğu ve kompozisyonudur. Birçok durumda bu yoğunluğun $<10^6$ CFU/g TM ile 10^6 CFU/g TM arasında değişebileceği bildirilmektedir. Epifitik mikroorganizma yoğunluğu bakımından gözlenebilecek bu tip geniş farklılıkların temel nedeni ise söz konusu özellik üzerinde sıcaklık, nisbi nem, UV radyasyon ve bitki ile ilgili özelliklerin olası etkileridir. Bu çalışmanın ana amacı başlangıçtan itibaren bitkide bulunan epifitik mikroorganizma yoğunluğunun hasat öncesi inokulant ilavesi ile artırılıp arttırılamayacağını tespit etmek ve silaj kalitesi ve aerobik stabite üzerindeki etkilerini belirlemektir.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Silaj, genellikle su içeriği %50'nin üzerinde olan yeşil yem, bitkisel ürün, tarımsal artık ve atıkların doğal fermantasyonu sonucu elde edilen bir yem kaynağıdır (Meeske ve ark. 1993). Silaj yapımı, doğal fermantasyon sonucu laktik asit bakterileri (LAB)'nin anaerobik koşullar altında suda çözünebilir karbonhidratları (SÇK) başta laktik asit (LA) olmak üzere organik asitlere fermente etmesi temeline dayanır. Bunun sonucunda pH düşer ve su içeriği yüksek materyal bozulmaya neden olan mikroorganizmalardan korunmuş olur (McDonald 1981, Weinberg ve ark. 1993). Silaj fermantasyonu; steril büyüme ortamı ve kontrollü şartların kullanıldığı ticari hale getirilmiş diğer fermantasyon işlemlerinden farklı olarak, nispeten kontrolsüz bir işlemdir (McDonald ve ark. 1991). Ayrıca, silajlık materyalin kimyasal kompozisyonu oldukça değişkendir ve silajın kalitesini etkiler (Peterson 1988).

Silaj fermantasyonunda birden fazla faktör etkili olmaktadır. Bitkilerdeki kimyasal ve mikrobiyolojik aktivite hasat anından itibaren başlar ve silolamanın sonuna kadar devam eder. Bu aktivitelere bağlı olarak silajların besleme değerleri bir miktar düşer. Olgunlaşma dönemi; ekonomik koşulları da göz önüne alarak bitkilerin kimyasal ve mikrobiyolojik yapı olarak maksimum verim ve sindirilme dereceleri açısından da en iyi durumda oldukları dönemdir. Bitkilerin olgunlaşmaya başlaması ile birlikte verimleri artar. Ancak bunun yanı sıra selüloz ve lignin içerikleri de arttığı için sindirilme dereceleri düşer. Çok olgun bitkiler gerek aşırı KM gerekse yetersiz SÇK içeriklerinden dolayı silaj yapımı için uygun değildir. Bitkilerin çok erken dönemlerde hasat edilmesiyle yapılan silajlarda da bütrik asidin yoğun olduğu kötü bir fermantasyon görülür. Çok erken dönemlerde hasat edilen ürünlerin KM içerikleri oldukça düşük olduğu için bu tip ürünler daha fazla soldurma süresine gereksinim duyarlar. Bu süresinin uzaması bitkilerdeki enzim aktivitesini artırarak bozulmaya ve kayıplara sebep olur. Diğer yandan bitkilerin fizyolojik özellikleri ile hava ve toprak nemi, sıcaklık ve gün uzunluğu gibi çevre koşulları da doğru hasat zamanının belirlenmesi üzerinde etkili faktörlerdir (Filya 2005).

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

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

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

Silajlarda başlangıç materyalinin (taze ve yeşil bitki) doğal LAB populasyonu genellikle düşüktür ve heterofermantatif LAB'lerinden oluşmuştur. Dolayısıyla silaj fermantasyonunu iyileştirmek için hızlı gelişim gösteren homofermantatif LAB'nin kullanımının etkinliği birçok çalışmada kanıtlanmıştır. Silaj yapımında son zamanlarda LAB'lerini içeren ve bakteriyel inokulant ya da mikrobiyal inokulant olarak isimlendirilen bakteri kültürlerinden silaj katkı maddesi olarak yoğun bir şekilde yararlanılmaktadır. Canlı LAB'nin, dondurulmuş kuru ve toz formdaki kültürlerini içeren bu katkıları biyoteknolojik silaj katkıları olarak kabul edilmektedirler (Pahlow 1986).

Laktik asit bakteri inokulantlarının mısır silajının fermantasyon özellikleri üzerindeki etkilerinin incelendiği birçok araştırmaya rastlanmıştır. Söz konusu araştırmalar incelendiğinde, homofermantatif LAB inokulantları kullanıldıkları silajların; pH, asetik asit, bütrik asit, amonyak-azotu (NH₃-N) ve etanol düzeylerini düşürüp; laktik asit ve laktik:asetik asit oranını artırarak, yüksek düzeyde enerji ve KM geri kazanımı sağlamaktadırlar (Weinberg ve ark. 1993, Keady ve ark. 1994, Kung ve Muck 1997, Filya ve ark. 2000, Filya ve ark. 2006, Weinberg ve ark. 2007).

Weinberg ve ark. (1993), başlangıç pH'sı 5.9 olan mısır bitkisine *L. plantarum*, *P. acidilactici* ve *E. faecium* içeren bir LAB inokulantının etkilerini araştırdıkları çalışmalarında silolamanın 45. günündeki silajlarda pH'nın kontrol ve inokulant gruplarında sırasıyla 3.5 ve 3.5, laktik asitin KM'de %9.0 ve 4.1, asetik asitin KM'de 0.8 ve 0, lactobacilli içeriklerinin 4.0 ve 5.5 log cfu/g KM, maya içeriklerini 4.7 ve 5.4 log cfu/g KM olduğunu saptamışlardır. Araştırmacılar 5. günlük aerobik stabilite testine tutulan mısır silajlarındaki CO₂ üretiminin kontrol ve inokulant gruplarında sırasıyla 0 ve 8.6, maya içeriklerini ise 6.6 ve 8.5 olduğunu belirlemişlerdir.

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

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

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

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

Filya (2002b), LAB inokulantlarının hamur olum döneminde hasat edilen mısır bitkisine *L. plantarum* ve *E. faecium*, *L. Plantarum*, *Pediococcus acidilactici* ve *E. faecium* ile *E. faecium* içeren üç farklı LAB inokulantı kullandıkları çalışmalarında, silolamanın 60. gününde açılan mısır silajlarının laktik asit içerikleri kontrol ve inokulant kullanılan gruplarda sırasıyla pH değerlerini 3.9 ve 3.7; SÇK içeriklerini 22 ve 33-43 g/kg KM; laktik asit içeriklerini KM'de %4.3 ve 8.3-9.4; asetik asit içeriklerini KM'de %4.3 ve 0.0-1.4; LAB sayılarını 6.4 ve 9.0-9.3 log₁₀ cfu/g; maya sayılarını 5.1 ve 4.7-5.1 log₁₀ cfu/g; küf sayılarını ise 4.0 ve 1.1-1.7 log₁₀ cfu/g, NDF içeriklerini KM'de %46.3 ve 44.4-45.8; ADF içeriklerini %24.1 ve 22.3-23.8; ADL içeriklerini ise %3.8 ve 3.2-4.0 olarak saptamışlardır. Araştırmacılar LAB inokulantının mısır silajlarının fermantasyon özelliklerini olumlu yönde etkilediğini, hücre duvarı bileşenleri üzerindeki etkilerinin çok az olduğunu bildirmektedirler.

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

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

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

Filya ve ark. (2006) süt olum başlangıcı ve ½ süt olum dönemlerinde hasat edilen mısır bitkisine *L. plantarum* ile *L. plantarum* ve *P. cerevisiae* içeren iki farklı LAB inokulantı kullandıkları çalışmalarında, süt olum dönemi başlangıcında hasat edilen ve silolamanın 60. gününde açılan mısır silajlarının laktik asit içerikleri kontrol ve inokulant kullanılan gruplarda sırasıyla 58.1 ve 87.8-89.4 g/kg KM; $\text{NH}_3\text{-N}$ içeriklerini 3.07 ve 1.95-2.02 g/kg KM; SÇK içeriklerini 26.2 ve 16.8-18.1 g/kg KM; ½ süt olum döneminde hasat edilen mısır silajlarında ise laktik asit içerikleri aynı sırayla 55.7 ve 86.6-87.9 g/kg KM; $\text{NH}_3\text{-N}$ içeriklerini 2.76 ve 1.71-1.77 g/kg KM; SÇK içeriklerini 21.6 ve 13.6-14.4 g/kg KM olarak saptamışlardır.

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

Filya (2002a), hamur olum döneminde hasat edilen mısırlarda LAB ve LAB+Enzim karışımı inokulantının kullanıldığı çalışmada, silolamanın 50. günündeki silajlarda pH'nın kontrol, LAB ve LAB+Enzim gruplarında sırasıyla 3.7, 3.6 ve 3.6;

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

Basmacıoğlu ve ark. (2002) mısır bitkisinde 4.00 (İA) ve 6.00 (İB) log cfu/g düzeylerinde LAB+Enzim inokulantını kullanıldığı çalışmada, 14., 28., 42. ve 56. gününde açılan silajların fermantasyon özelliklerini incelemiştir. Araştırmacılar LAB+enzim inokulantı kullanımının silolamanın 14. günü dışındaki tüm silajlarda pH ve asetik asit içeriklerinin önemli düzeyde daha düşük olduğunu (P<0.05), 42. ve 56. günlerde ise LAB+enzim kullanımının laktik asit içeriklerini artırdığı ancak bu artışın istatistiksel anlamda önemli olmadığını bildirmektedirler (P>0.05). Silolamanın 56. gününde silajların pH değerleri kontrol, İA ve İB gruplarında sırasıyla 3,8, 3,7 ve 3,7; SÇK içerikleri 1,2, 1,2 ve 1,2; NH₃-N içerikleri %0,0, 0,0 ve 0,1; laktik asit içeriklerini %6,4, 7,0 ve 6,7; asetik asit içeriklerini %2,0, 1,6 ve 1,9; lactobacilli sayılarını 4,4, 5,2 ve 5,2 log cfu/g; maya sayılarını 2,1, 2,1 ve 2,2 log cfu/g olarak saptamışlardır. Silajların hiçbirinde küf oluşumuna raslanmamıştır.

Aerobik stabilite (silo ömrü), silajın ısınmadan ve bozulmadan kaldığı sürenin uzunluğudur (Kung 1998). Silo açıldıktan sonra, silajın hayvanlara yedirilmek üzere alınmaya başladığı dönemden itibaren anaerobik koşullar aerobik hale dönüşür. Bu dönemde sınırsız hava girişi, istenmeyen kimyasal ve mikrobiyolojik aktivitelerin oluşmasına neden olur (Woolford 1990). Aerobik bozulma kompleks bir süreçtir. Silolanan ürünün; mikrobiyal popülasyonun bileşimi, çevre sıcaklığı, silaj kütlesinin sıcaklığı, silaj yoğunluğu ve fermantasyon özellikleri oluşabilecek aerobik kayıpları etkilemektedir (Ohyama ve ark. 1975). Ayrıca, silajlarda oluşan aerobik bozulmanın hızı farklı silajlar arasında oldukça geniş varyasyon göstermektedir. Kimi silajlarda hava ile temastan birkaç saat sonra silaj sıcaklığında artış gözlenirken, bazı silajlarda bir-

kaç gün hatta birkaç hafta süre ile sıcaklık artışı gözlenmeyebilir (McDonald ve ark. 1991).

Maya ve küfler çoğunlukla aerobik bozulmada başrolü oynayan mikroorganizmalardır (Woolford 1984, McDonald ve ark. 1991). Söz konusu mikroorganizmalar silajdaki şekerleri, laktik asit gibi fermantasyon ürünlerini tüketerek, büyük miktarlarda KM ve besin maddeleri kaybına neden olmaktadır. Mayaların silajlarda var olması ise silajın lezzetini azaltmakta, besleme profilini değiştirmektedir. Mayalar, iyi fermente olmuş silajlarda 10 cfu/g, bozulmuş silajlarda 10¹² cfu/g'a kadar değişen düzeylerde bulunabilirler (Middlehoven ve van Baalen 1988). Silajların aerobik bozulmasından maya ve küf gibi mikroorganizmalar sorumlu olurken, aerobik olarak bozulmuş silajlardaki kimyasal, mikrobiyolojik ve fiziksel değişiklikler, bakterilerin de bozulmadan sorumlu mikroorganizmalar olabileceğini göstermiştir (Woolford ve ark. 1982).

Aerobik bozulma üzerinde silajın fermantasyon özellikleri de etkilidir. Özellikle silaj bünyesinde kullanılmadan kalan şekerler ile yüksek düzeyde oluşan laktik asidin, aerobik stabiliteyi düşürdüğü bildirilmektedir. Bazı maya ve küfler artan şekerler ile laktik asidi besin maddesi olarak kullanıp silajlarda CO₂ üretimine yol açmakta, bunun sonucunda ortam pH'sında ve sıcaklığında artış meydana gelmektedir. Karbondioksit üretimi, silajın bozulma hassasiyetinin ve KM kaybının bir göstergesidir (Ashbell ve ark. 1991).

Laktik asit bakteri inokulantlarının mısır silajının aerobik stabiliteyi üzerindeki etkilerinin incelendiği birçok araştırmaya rastlanmış olup, söz konusu araştırmalar incelendiğinde, ^{ho}LAB inokulantları kullanıldıkları silajların; aerobik stabiliteyi genellikle düşürdükleri (Filya 2002ab, Filya ve Sucu 2003), bazen ise artırdığı (Sebastian ve ark. 1989) belirlenmiştir.

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

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

Filya (2002a) yürüttüğü araştırmasında, mısır silajında *Pediococcus acidilactici*, *L. plantarum* ve *E. faecium* içeren homofermantatif LAB inokulantı kullanımının aerobik stabilite üzerindeki etkilerini incelemiştir. Araştırma sonucunda, homofermantatif LAB inokulantının kullanıldığı silajların CO₂ üretimleri ile maya ve küf popülasyonlarını kontrol grubu silajlara göre daha yüksek olduğunu belirlemiştir (P<0.05). Araştırmacı, 5 gün süre ile aerobik stabilite uygulanan mısır silajlarının CO₂ üretimini, kontrol ve homofermantatif LAB inokulantı kullanılan gruplarda sırasıyla 12.3 ve 18.8 g/kg KM; maya içeriklerini 4.8 ve 7.2 log cfu/g KM, küf içeriklerini ise 5.3 ve 8.6 log cfu/g KM olarak saptamıştır.

Filya (2002b) tarafından yürütülen bir başka araştırmada da, mısır ve sorgum silajlarında *L. plantarum* + *E. faecium* (ÍA), *P. acidilactici* + *L. plantarum* (İB) ve *E. faecium* (İC) olmak üzere üç farklı homofermantatif LAB inokulantı kullanılmıştır. Silolamanın 60. gününde açılan silajlarda 5 gün süre ile aerobik stabilite uygulanmış ve mısır silajlarının CO₂ üretimleri, kontrol, İA, İB ve İC gruplarında sırasıyla 4.6, 8.5, 9.2 ve 9.0 g/kg KM, sorgum silajlarında ise 5.0, 11.1, 10.8 ve 11.3 g/kg KM olarak saptanmıştır. Ayrıca araştırmacı, bu 5 günlük aerobik süreçte homofermantatif LAB inokulantlarının her iki silajında maya içeriklerini önemli düzeyde artırdığını gözlemiştir (P<0.05).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Silaj materyali

Çalışmanın ana materyalini Kırklareli ili Babaeski ilçesi Hazinedar Köyü'nde yetiştirilen II. ürün mısır bitkisi oluşturmuştur (Resim 1).

3.1.2. Silajların hazırlanması

Çalışmada katkı maddesi olarak homofermantatif (^{ho}LAB) ve heterofermantatif (^{het}LAB) laktik asit bakterilerinin içeren 2 ticari inokulant kullanılmıştır. İnokulantlar silajlara 6.00 log₁₀ cfu/g düzeyinde katılmıştır. Araştırma materyali hasat öncesi ve hasat sonrası olmak üzere kontrol, ^{ho}LAB ve ^{het}LAB inokulant uygulaması içeren olmak üzere 3 deneme grubuna bölünmüştür. İnokulantların uygulanmasında firma önerileri dikkate alınmıştır. İnokulantlar hasattan 15 ve 7 gün olmak üzere 2 farklı dönemde tarlada mısırlara el tipi pülverizatör yardımı ile atılmıştır. Hasat öncesi ve sonrasının karşılaştırmak amacıyla, hasat dönemi geldiğinde yine kontrol, ^{ho}LAB ve ^{het}LAB inokulant uygulamaları yapılmıştır. Hasat öncesi ve hasat sonrası gruplarını içeren uygulamalara ait muameleler CASCVP 260PD marka laboratuvar tipi paket silaj makinası ile paketlenmiştir (Resim 2). Her muameleye ait 3'er paket silajın kullanıldığı çalışmada, silajların paketlenmesinden sonra materyaller laboratuvar koşullarında (20-22 °C) depolanmıştır.



Resim 1. Laboratuvar tipi paket silaj makinası

Fermantasyonun 2., 5., 14., 21. ve 45. günlerinde açılan örnekler üzerinden pH, laktik asit ve kuru madde kaybı analizleri gerçekleştirilmiştir. Laktik asit bakterileri ve maya ve küf sayımları için mikrobiyolojik analizlerin yapıldığı çalışmada, aerobik stabiliteye ilişkin özellikleri ana fermantasyon dönemi sonrası 14 günlük dönemde izlenmiştir.

3.1.3. Silajlarda kullanılan katkı maddeleri

1. Kontrol

2.^{ho} LAB: BİOTAL PLUS (LALLEMAND, USA). *Pediccocus pentosaceus* NCIMB 12455 ve *Propionibacterium freudenreichii* R2453 içermektedir.

3.^{het}LAB: BİOTAL PLUS (LALLEMAND, USA). *Lactobacillus buncheri* NCIMB 40788 ve *Pediococcus pentosaceus* NCIMB 12455 içermektedir.

3.1.4. Katkı maddelerinin kullanım şekli

1. grup kontrol grubu olup inokulant içermemektedir. Kontrol silajlarına 250 ml/kg düzeyinde çeşme suyu ilave edilmiştir.

2. grupta, inokulant uygulamaları sonucunda taze materyale 10^6 cfu/g LAB katılmıştır.

3. grupta, inokulant uygulamaları sonucunda taze materyale 10^6 cfu/g LAB katılmıştır.



Resim 2. Silajlık mısır bitkisi deneme alanı

3.2. Yöntem

3.2.1. Silaj kalitesi belirlenmesi için kullanılan yöntemler

Araştırmada kullanılan yemlerin silolama öncesinde pH, KM, SÇK, mikrobiyolojik analizler, silolama sonrası örneklerde pH, SÇK, $\text{NH}_3\text{-N}$, laktik asit ve mikrobiyolojik analizler gerçekleştirilmiştir.

3.2.1.1. pH analizleri

Silolama öncesi taze materyalde ve açım sonrası elde edilen örneklerde pH ölçümleri için 50 g' lık örnekler 125 ml saf su ilave edilmiş ve oda sıcaklığında 1 saat süre ile zaman zaman karıştırılarak tutulmuştur. Daha sonra örnekler süzölmüş ve elde edilen süzükte pH metre aracılığı ile okuma gerçekleştirilmiştir (Anonymous 1986).

3.2.1.2. SÇK analizi

Başlangıç ve silaj örneklerinde SÇK analizi Anonymous (1986)' a göre yapılmıştır. Analize tabi tutulacak örnek 102°C sıcaklıkta 2 saat süre ile kurutulmuştur. Kurutulup öğütülmüş örnekten 0,2 g tartılarak bir şişe içerisine konulmuş, üzerine 200 ml saf su ilave edilerek 1 saat süre ile çalkalanmıştır. Örneklerin ilk birkaç damlası ihmal edilecek şekilde süzülerek 50 ml'lik berrak ekstrakt elde edilmiştir. Standart eğrilerin hazırlanmasından sonra 2 ml ekstrakt alınarak 150x25 mm'lik borosilikat test tüplerine konulmuştur. Ön hazırlığı takiben absorbands değeri 620 nm'de 30 dakika içerisinde spektrofotometre aracılığı ile okunmuştur. Örnek ve kör denemeler sonrası tespit edilen absorbands değerlerine denk gelen mg glikoz değerleri arasındaki farklılık 500 katsayısı ile çarpılmıştır. Sonuç, örnek içerisinde yer alan g/kg SÇK miktarı olarak kaydedilmiştir.

3.2.1.3. NH₃-N Analizi

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

3.2.1.4. Laktik Asit Analizi

Laktik asit miktarlarının tespitinde Koç ve Coşkuntuna (2003)'nın bildirdikleri spektrofotometrik yöntemle göre saptanmıştır.

Derin dondurucuda -20 °C'de saklanan örnekler analizin yapılacağı gün çıkarılarak çözülünceye kadar oda sıcaklığında bir süre bekletilmişlerdir. Çözündürülen örnekler daha sonra 1:100 oranında seyreltilerek kullanılmıştır. Seyreltilen örneklerden otomatik pipet yardımıyla 1 ml sıvı tüplere aktarılmış üzerine 0.1 ml bakır sülfat (5g CuSO₄/100 ml saf su) ile 6 ml %98'lik sülfürik asit ilave edilmiştir. Hazırlanan tüpler 30 saniye vortekste karıştırıldıktan sonra 5 dakika soğuk banyoda tutularak soğumaya bırakılmıştır. Bu süre sonunda tüplere 0.1 ml parahidroxy biphenol (%0,5 NaOH/1000 ml saf su +2,5 g PHBP) eklenerek, tüpler 30 saniye tekrar vortekste karıştırılmış ve 10 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir. Daha sonra tüpler 90 saniye

kaynar su içerisinde daldırılıp çıkartılmış ve soğuması beklendikten sonra 565 nm dalga boyunda spektrofotometre cihazında okunmuştur.

3.2.1.4.1. Standart eğrinin oluşturulması

213 mg lityum laktat 500 ml saf su içerisinde çözündürülmüş ve üzerine 0.5 ml %98'lik sülfürik asit ilave edilmiştir (400 µg/ml). Elde edilen çözelti, önce 1:9 (40 µg/ml) daha sonra 1:1 (20 µg/ml, stok çözelti) oranında seyreltilerek kullanılmıştır. Daha sonra stok çözülden 2,5, 5,0, 10,0,15,0 µg/ml lityum laktat içerecek şekilde yeni karışımlar elde edilmiştir. 1 ml seyreltik bulunan tüplerin içerisinde 0,1 ml bakır sülfat ile 6 ml %98'lik sülfürik asit ilave edilmiş, 30 saniye vortekste karıştırılmış ve 5 dakika soğuk banyoda tutularak soğumaya bırakılmıştır. Bu süre sonunda tüplere 0.1 ml parahidroxy biphenol eklenerek, tüpler 30 saniye tekrar vortekste karıştırılmış ve 10 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir. Daha sonra tüpler 90 saniye kaynar su içerisinde daldırılıp çıkartılmış ve soğuması beklendikten sonra 565 nm dalga boyunda spektrofotometre cihazında okunmuş ve standart eğri Microsoft Excel bilgisayar programında oluşturulmuştur.

3.2.1.4.2. Hesaplama

Standart eğriden, örneklerin µg/ml' leri okunarak saptanmıştır. Elde edilen örneklerin KM miktarlarına bölünmüş ve silajların % KM'de % laktik asit içerikleri saptanmıştır.

3.2.1.5. Mikrobiyolojik analizler

Çalışmada gerek silolama öncesi taze materyalde ve gerekse de son ürünler üzerinde LAB, maya ve küf yoğunluklarının saptanmasına yönelik analizler gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla 10 g'lık örnekler peptonlu su aracılığı ile 2 dakikadan az olmamak koşulu ile karıştırılıp mikroorganizmaların mümkün olduğu ölçüde materyalden ayrılması sağlanmıştır. Elde edilen stok materyalden logaritmik seride dilüsyonlar hazırlanarak 1 saati aşmayan zaman zarfında ekim işlemi yapılmıştır. Laktik asit bakterileri için besi ortamı olarak MRS Agar, maya ve küfler için Malt Ekstrakt Agar kullanılmıştır. Örneklerle ait LAB sayımları 30 °C 3 günlük, maya ve küfler için 30 °C de 5 günlük sıcaklıkta inkübasyon dönemlerini takiben gerçekleştirilmiştir (Seal ve ark. 1990). Örneklerde saptanan LAB, maya ve küf sayıları logaritma koliform üniteye (cfu/g) çevrilmiştir.

3.2.2. Ham madde analizleri

3.2.2.1. Ham besin madde analiz yöntemleri

Kuru madde miktarı; belli miktarda alınan silaj örneğinin 60 °C sıcaklıkta 48 saat süreyle kurutulması ile bulunmuştur. HP, belli miktardaki yem örneğinin önce kuvvetli asitle yakılarak azotun amonyum sülfata, daha sonra da baz ile muameleye tabii tutularak amonyak formuna dönüştürülmesi ve bu amonyağın belli normalitedeki bir asitle titrasyonu sonucu elde edilen sarfiyattan hesaplanmıştır. Organik maddeleri oluşturan diğer komponentlerden HS; yemin önce belli konsantrasyonlardaki asit ve alkali ile kaynatılıp süzülmesi ve en son asetonla yıkanıp kurutularak yakılması sonucu elde edilmiştir (Akyıldız ve ark. 1984).

3.2.2.3. Hücre duvarı içerikleri analiz yöntemleri

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

NDF analizi, hücrenin çözünabilir materyalinin sodyum lauryl sülfat içeren nötral çözücü ile kaynatılarak ekstraksiyonundan sonra hücre duvarı bileşenlerinin filtrasyon aracılığı ile ayrılması esasına dayanır (Close ve Menke 1986). 1 mm' lik elekten geçecek şekilde öğütülmüş yem numunesinden 0.5-1 g bir cam kaba tartılmıştır. Sırasıyla oda sıcaklığındaki 100 ml nötral çözücü solüsyonuna 93 g EDTA ve 34 g sodyum tetra borat tartılarak birlikte geniş bir kaba konmuştur. Distile su ilave edilmiş ve hafifçe ısıtılarak çözülmüştür. Bu çözeltiliye 150 g sodyum lauryl sülfat ve 50 ml 2-etoksietanol ilave edilmiştir. İkinci bir cam kapta 22.8 g susuz di sodyum hidrojen sülfat tartılır, distile su ilave edilir ve hafifçe ısıtılarak çözülmüştür. İlk çözeltiliye ilave edilmiş, karıştırılmış ve 5 litreye seyreltilmiştir. Çözelti pH'sı 6.9-7.1 arasında kontrol edilmiştir. Birkaç damla dekalın, 0.5 g sodyum sülfat katılmış ve geri soğutucuya takılmıştır. Çözelti hızla kaynama durumuna getirilmiş ve bir saat kaynatılmıştır. Ateşten alınıp 10 dakika tutulmuştur. Darası alınmış cam krozeden düşük vakum aracılığıyla filtre edilmiştir. Kalıntı iki kısım kaynamaya yakın sıcaklıktaki su ve iki kısım asetonla yıkanmıştır. Cam kroze kurutma dolabında 103 °C sıcaklıkta 4 saat ve 100 °C sıcaklıkta bir gece tutulmuştur. Sonra desikatörde soğutulmuş ve tartılmıştır.

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

a = NDF içeren kuru cam krozenin ağırlığı, g

b = cam krozenin darası alınmış ağırlığı, g

N = örneğin ağırlığı, g

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

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

a = ADF içeren kuru cam kroze ağırlığı, g

b = Darası alınmış cam krozenin ağırlığı, g

N = numune miktarı, g

ADL analizinde, %72'lik sülfirik asit içeren çözücü solüsyonun (%72'lik H₂SO₄-CTAB) selülozu ayrıştırması ile elde edilen kalıntının kül fırınında yakılması ile kütini de içeren lignin miktarı saptanmıştır (Close ve Menke 1986). Bir mm'lik elekten geçecek şekilde öğütülmüş numuneden 0.5 g kadar behere tartılır. 100 ml'lik soğuk %72'lik H₂SO₄- CTAB (100 g CTAB 5 litre %72'lik sülfirik asitte çözdürülmüştür, gerekirse filtre edilmiştir) ve birkaç damla dekalin ilave edilerek ısıtıcıya konmuştur. Solüsyon hızla kaynama durumuna getirilmiş ve bir saat hafifçe kaynatılmıştır. Düşük bir vakum ile darası alınmış cam krozeden sıcakken filtre edilmiştir. Kalıntı kaynamaya yakın sıcaklıktaki su ile köpük oluşumu bitene kadar yıkanmıştır. Daha sonra asetonla yıkama işlemine devam edilmiştir. Cam kroze yarıya kadar hazırlanan asit çözücü

solüsyonu ile doldurulmuş ve asit uçana kadar karıştırılmıştır. Bu işlem üç defa tekrarlanmıştır. Oda sıcaklığında 3 saat muhafaza edilmiştir. Daha sonra düşük vakumla süzümüştür. Kroze 103 °C sıcaklıkta 4 saat kurutulmuş veya 100 °C sıcaklıkta bir gece tutulmuştur. Desikatörde alınmış, soğutulmuş ve tartılmıştır. Yakma fırınında 500-550 °C sıcaklıkta 3 saat süre ile yakılmıştır. Desikatöre alınmış, soğutulmuş ve tartılmıştır.

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

a = Krozenin kurutmadan sonraki ağırlığı, g

b = Krozenin yakmadan sonraki ağırlığı, g

N = Numune miktarı, g

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

Selüloz (g/kg KM) = ADF - ADL

Hemiselüloz (g/kg KM) = NDF – ADF

3.2.3. Aerobik bozulmaya dirence ilişkin analizler

Ashbell ve ark. (1991) tarafından geliştirilen yöntem kullanılarak hazırlanan silajlar silolamanın 45. günün sonunda açılan silajlara 14 gün süre ile aerobik stabilite testine tabi tutulmuşlardır. Aerobik stabilitenin 14. günündeki silaj örneklerinin pH'ları ölçülmüş, KM kayıpları hesaplanmış ve mikrobiyal kompozisyonu saptanmıştır.

3.2.4. İstatiksel analizler

Araştırmada elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirmesinde varyans analizi, gruplar arasında farklılığın belirlenmesinde ise Duncan çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır (Soysal 1998). Bu amaçla SPSS (1999) paket programı kullanılmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Bu bölümde araştırmadan elde edilen bulgular ayrı ayrı ele alınarak üzerine çalışılan parametrelerin fermantasyon dönemi içerisinde ve sonrasında uygulamadan hangi ölçülerde etkilendiği konuya ilişkin diğer araştırma sonuçları ile birlikte tartışmaya çalışılmıştır.

4.1. Silajların başlangıç materyallerine ilişkin özellikleri

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

Tablo 4.1. Mısır hasıllarının silolanmadan önceki özelliklerine ilişkin değerler

Özellikler	İçerik /değer
pH	6.33
KM, % TM	32.35
SÇK, g/kg KM	68.5
LAB, cfu/g TM	3.26
Maya,cfu/g TM	2.50

TM: Taze materyal; KM: Kuru madde; SÇK: Suda çözünebilir karbonhidratlar; LAB: Laktik asit bakterisi; cfu: Koliform ünite

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

şitler arasında sırası ile %19.35-%23.40; %8.60-%9.84; %24.12-%32.84 sınırlarında değişim gösterdiğini açıklamaktadır.

Tümer (1996) , Ege - Marmara Bölgeleri çiftçi koşullarında farklı mısır çeşitleri ile yürütülen silaj çalışmalarında başlangıç materyali için saptanan KM içeriklerini çeşitler arasında %25,10 ile %30,15 değerleri arasında değişim gösterdiğini bildirmektedir.

Çizelge 4.1'de aktarılan analiz sonuçları incelendiğinde, hamur olum dönemi içerisinde yapılan elde edilen üründe KM içeriğinin söz konusu bildirilişlere oranla yüksek bulunduğu (% 32,35) dikkati çekmektedir.

Araştırmanın başlangıç materyalinde saptanan pH değeri Chen ve ark. (1994) ile Stokes ve Chen (1994)'in başlangıç materyali için bildirdikleri değerlerden (pH 4.48 ve pH 5.03) daha yüksektir.

Hasat döneminde yeşil materyalde yer alan epifitik LAB yoğunluğu ve kompozisyonu birçok faktörün etkisi altında değişim gösterebilmektedir. Sıcaklık, nispi nem, UV radyasyon ve bitki ile ilgili özelliklere bağımlı olarak meydana gelebilecek bu değişimlerin 1.0-6.0 log cfu/g TM sınırları arasında gerçekleşebileceğini bildirmektedir (Mc Donald ve ark. 1988; Petterson 1988; Merry ve ark. 1993). Araştırmada mısırdaki tespit edilen epifitik LAB yoğunluğunun 3.26 cfu/g TM ile söz konusu sınırlar arasında olduğunu söylemek mümkündür.

4.2. Silajların fermantasyon özellikleri

4.2.1. Hasattan 15 gün önce inokulant ilave edilmiş mısır silajlarının fermantasyon gelişimi ve son ürün özellikleri

Çizelge 4.2'den de görüleceği gibi silolanana kitlede 45 günlük süreçte gerçekleşen açım sonrası saptanan pH değerleri incelendiğinde, gerek kontrol grubu gerekse katkı maddesi gruplarında silajlarda sürekli olarak gözlenen düşüşler sonrası son ürünlerde pH değerleri kontrol grubu ^{ho}LAB ve ^{het}LAB grupları için sırasıyla 3.34±0,01; 3.20±0,00 ve 3.25±0,00 olarak gerçekleşmiştir. Açım dönemlerinde uygulamaların gruplarda saptanan pH değerleri üzerinde etkisi, tüm dönemlerde önemli olduğu (P<0.01; P<0.05) saptanmıştır.

Araştırmada silaj örneklerinde saptanan laktik asit içeriklerine ilişkin olarak yapılan istatistiksel analiz sonucunda silolama süresince gözlenen değişimler üzerinde muamelenin etkisinin ($P<0.01$) önem taşıdığı saptanmıştır. LA içeriğinin, açım dönemleri bazında incelendiğinde tüm açım dönemlerinde katkı maddesi gruplarında daha yüksek değerlere sahip olduğu gözlenmiştir.

Açım dönemlerinde saptanan KM kaybı bakımından gözlenen değişimler üzerinde muamelenin etkisi sadece 2. gündeki açımlarda istatistiksel anlamda önemli olarak ($P<0.05$) saptanmıştır.

Tablo 4.2. Hasattan 15 gün önce inokulant ilavesinin silajların bazı kimyasal parametreleri üzerine etkileri

Özellikler	Günler	Muameleler			P
		Kontrol	^{ho} LAB	^{het} LAB	
pH	2	4.62±0.00 ^a	4.54±0.00 ^b	4.50±0.00 ^c	**
	5	4.49±0.02 ^a	4.41±0.00 ^b	4.46±0.02 ^b	*
	14	3.82±0.00 ^a	3.72±0.00 ^b	3.69±0.00 ^c	**
	21	3.87±0.02 ^a	3.75±0.01 ^b	3.69±0.00	**
	45	3.34±0.01 ^a	3.20±0.00 ^b	3.25±0.00 ^b	**
LA	2	6.58±0.10 ^b	8.01±0.18 ^a	8.14±0.14 ^a	**
	5	6.58±0.10 ^b	8.01±0.18 ^a	8.14±0.14 ^a	**
	14	6.58±0.10 ^b	8.01±0.18 ^a	8.14±0.14 ^a	**
	21	6.58±0.10 ^b	8.01±0.18 ^a	8.14±0.14 ^a	**
	45	6.80±0.21 ^a	7.25±0.14 ^a	5.62±0.36 ^b	*
KM Kaybı	2	0.48±0.26 ^a	0.32±0.04 ^b	0.32±0.03 ^b	*
	5	0.32±0.04	0.41±0.02	0.26±0.14	ÖD
	14	0.72±0.07	0.70±0.02	0.65±0.10	ÖD
	21	1.07±0.05	1.10±0.14	0.84±0.01	ÖD
	45	1.74±0.20 ^b	2.35±0.07 ^a	2.30±0.07 ^a	*

^{ho}LAB: Homofermentatif laktik asit bakterisi; ^{het}LAB: Heterofermentatif laktik asit bakterisi; KM: Kuru madde

Aynı satırda farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir. (** $P<0.01$; * $P<0.05$)

Araştırmada takip edilen yöntem gereği, mısır silajlarında bazı özelliklere yönelik analizler sadece 45. günde gerçekleştirilen açımlar sonrası elde edilen son

ürünler üzerinde gerçekleştirilmiştir. Söz konusu özellikler ilişkin saptanan değerler Çizelge 4.3’de aktarılmaktadır.

Tablo 4.3. Hasattan 15 gün önce inokulant ilavesinin silajların 45. günde yapılan açım sonrası bazı kimyasal parametreleri üzerine etkileri

Özellikler	Muameleler			P
	Kontrol	^{ho} LAB	^{het} LAB	
KM, %	32.62±0.36	32.73±0.32	32.45±0.28	ÖD
SÇK, g/kg KM	31.20±4.30	35.25±5.76	33.06±6.92	ÖD
NH ₃ -N, g/kg	7.30±1.68	5.87±1.38	4.64±0.19	ÖD
HP, %KM	7.37±0.19	7.58±0.19	7.30±0.11	ÖD
HK, %KM	4.36±0.16	4.39±0.16	4.24±0.30	ÖD
NDF, %KM	52.75±0.41 ^a	48.97±0.68 ^b	52.92±0.39 ^a	**
ADF, %KM	30.38±0.33 ^b	26.44±0.62 ^c	32.42±0.79 ^a	**
ADL, %KM	4.50±0.22	4.43±0.16	4.46±0.24	ÖD

^{ho}LAB: Homofermentatif laktik asit bakterisi; ^{het}LAB: Heterofermentatif laktik asit bakterisi; KM: Kuru madde; SÇK: Suda çözünebilir karbonhidrat; NH₃-N: Amonyafa bağlı nitrojen; HP: Ham protein; HK: ham kül; NDF: nötral çözücülerde çözünmeyen lif; ADF: Asit nötral çözücülerde çözünmeyen lif; ADL: Asit çözücülerde çözünmeyen lgnin; (ÖD): önemli değil.

Aynı satırda farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir (**P<0.01; *P<0.05).

45. günde yapılan analizlerde muamelenin etkisi sadece NDFve ADF üzerinde istatistiki anlamda önemli olarak (P<0.01) saptanmıştır.

Silaj kalitesine etki eden temel faktörlerden birisi, fermantasyonun erken aşamasında ortam pH’sındaki düşüş hızıdır. Silolanan kitlenin pH’nın olabildiğince çabuk bir şekilde 4.2-4.0’ın altına düşmesi arzu edilir (Polat ve ark. 2005). Kung ve Shaver (2001) kaliteli bir silajda pH’nın 3.7-4.2 arasında olması gerektiğini bildirmektedirler. LAB+Enzim gruplarındaki silajların pH’ları fermantasyonun 2. gününden itibaren hızla düşerek, 45 günde kontrol, ^{ho}LAB ve ^{het}LAB grupları için sırasıyla 3.34, 3.20 ve 3.25

olarak saptanmıştır. Araştırmadan elde edilen pH değerlerine ilişkin bulgular Kontrol ve inokulant grubu silajlarının iyi kalitede silajlar olduğunu göstermektedir.

Taze mısırın 85.90 g/kg KM olan SÇK içerikleri fermantasyonun tüm dönemlerinde düşme eğilimi göstermiştir. Ancak bu etki kontrol grubu silajlarında daha belirgin bir şekilde gerçekleşmiştir. Nitekim fermantasyonun 45. gününde en düşük SÇK içeriği 31.20 g/kg KM ile kontrol grubunda saptanmıştır.

Bitki hasadından sonra görülen en önemli aktivite proteolisis olayıdır. Bu olayda bitki bünyesindeki proteinler, proteaz enzimleri tarafından amino asit ve amonyoğa parçalamaktadır (Filya 2001). Bu nedenlerle NH₃-N oluşumu protein parçalanma düzeyini gösteren önemli bir parametredir. Araştırmada, inokulanat kullanımı mısır silajlarının NH₃-N içeriklerini etkilememiştir (P>0.05). Petterson (1988)'un kaliteli bir silajda NH₃-N içeriğinin 80.00 g/kg TN den yüksek olmaması gerektiğini bildirmektedir. Araştırmadan elde NH₃-N içeriklerine ilişkin bulgular kontrol ve inokulanat grubu silajlarının iyi kalitede silajlar olduğunu göstermektedir.

4.2.2. Hasattan 7 gün önce inokulant ilave edilmiş mısır silajlarının fermantasyon gelişimi ve son ürün özellikleri

Çizelge 4.4'den de görüleceği gibi silolanana kitlede 45 günlük süreçte gerçekleşen açım sonrası saptanan pH değerleri incelendiğinde, gerek kontrol grubu gerekse katkı maddesi gruplarında silajlarda sürekli olarak gözlenen düşüşler sonrası son ürünlerde pH değerleri kontrol grubu ^{ho}LAB ve ^{het}LAB grupları için sırasıyla 3.34 ±0,01; 3.26±0,03 ve 3.25±0,00 olarak gerçekleşmiştir. Açım dönemlerinde uygulamaların gruplarda saptanan pH değerleri üzerinde etkisi, 5. gün haricinde dönemlerde önemli olduğu (P<0.01; P<0.05) saptanmıştır.

Tablo 4.4. Hasattan 7 gün önce inokulant ilavesinin silajların bazı kimyasal parametreleri üzerine etkileri

Özellikler	Günler	Muameleler			P
		Kontrol	^{ho} LAB	^{het} LAB	
pH	2	4.62±0.00 ^c	4.59±0.00 ^b	0.00±0.00 ^a	**
	5	4.49±0.02	4.44±0.01	4.45±0.03	ÖD
	14	3.82±0.00 ^a	3.82±0.00 ^a	3.78±0.00 ^b	*
	21	3.87±0.02 ^a	3.77±0.00 ^b	3.73±0.00 ^b	**
	45	3.34±0.1 ^a	3.26±0.03 ^b	3.25±0.00 ^b	*
LA	2	6.60±0.08 ^b	9.05±0.42 ^a	6.73±0.16 ^b	**
	5	8.46±0.27 ^b	9.70±0.19 ^a	7.59±0.96 ^c	**
	14	9.50±0.08 ^c	10.61±0.35 ^b	11.70±0.26 ^a	**
	21	10.39±0.24 ^a	11.77±0.52 ^a	12.59±0.33 ^a	*
	45	6.74±0.28	7.38±0.24	6.75±0.30	ÖD
KM Kaybı	2	0.48±0.26	0.41±0.14	1.61±1.79	ÖD
	5	0.32±0.04	0.34±0.09	0.32±0.04	ÖD
	14	0.72±0.07	0.65±0.21	0.58±0.05	ÖD
	21	1.07±0.05 ^a	0.71±0.07 ^b	0.80±0.05 ^b	*
	45	1.74±0.20	1.42±0.01	1.38±0.09	ÖD

^{ho}LAB: Homofermentatif laktik asit bakterisi; ^{het}LAB: Heterofermentatif laktik asit bakterisi; KM: Kuru madde;

Aynı satırda farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir. (*P<0.01; *P<0.05)

Araştırmada silaj örneklerinde saptanan LA içeriklerine ilişkin olarak yapılan istatistiksel analiz sonucunda silolama süresince gözlenen değişimler üzerinde muamelelerin etkisinin (P<0.0; P<0.05) 45 gün haricinde önem taşıdığı saptanmıştır. LA içeriğinin, açım dönemleri bazında incelendiğinde tüm açım dönemlerinde katkı maddesi gruplarında daha yüksek değerlere sahip olduğu gözlenmiştir.

Açım dönemlerinde saptanan KM kaybı bakımından gözlenen değişimler üzerinde muamelelerin etkisi sadece 21. gündeki açımlarda istatistiksel anlamda önemli olarak (P<0,05) saptanmıştır.

Tablo 4.5. Hasattan 7 gün önce inokulant ilavesinin silajların 45. günde yapılan açım sonrası bazı kimyasal parametreleri üzerine etkileri

Özellikler	Muameleler			P
	Kontrol	^{ho} LAB	^{het} LAB	
KM, %	31.96±0.56 ^a	29.81±0.48 ^b	30.87±0.49 ^b	**
SÇK, g/kg KM	33.82±3.78	35.36±4.04	33.81±6.63	ÖD
NH ₃ -N, g/kg	7.30±1.68	8.97±1.11	5.76±1.49	ÖD
HP, %KM	7.17±0.08	7.29±0.09	4.58±3.37	ÖD
HK, %KM	4.34±0.19	4.17±0.14	4.88±0.48	ÖD
NDF, %KM	53.60±0.77 ^{ab}	55.40±0.73 ^a	51.61±0.75 ^b	*
ADF, %KM	30.36±0.36 ^b	29.96±0.72 ^b	32.93±0.81 ^a	*
ADL, %KM	4.55±0.07	4.60±0.14	4.35±0.21	ÖD

^{ho}LAB: Homofermentatif laktik asit bakterisi; ^{het}LAB: Heterofermentatif laktik asit bakterisi; KM: Kuru madde; SÇK: Suda çözünebilir karbonhidrat; NH₃-N: Amonyaga bağlı nitrojen; HP: Ham protein; HK: ham kül; NDF: nötral çözücülerde çözünmeyen lif; ADF: Asit nötral çözücülerde çözünmeyen lif; ADL: Asit çözücülerde çözünmeyen lgnin; (ÖD): önemli değil.

Aynı satırda farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir. (** P<0.01; * P<0.05)

45. günde yapılan analizlerde muamelenin etkisi KM (P<0.01), NDFve ADF üzerinde istatistiki anlamda önemli olarak (P<0.05) saptanmıştır.

Tengerdy ve ark. (1991) silolamanın 90. gününde açılan yonca silajlarının NDF içeriklerini kontrol ve LAB+Enzim gruplarında sırasıyla KM'de % 41.0 ve 38.7; ADF içeriklerini 31.9 ve 31.4 olarak belirlemişlerdir. Stokes ve Chen (1994) silolamanın 56. gününde açılan mısır silajlarının NDF içeriklerini kontrol ve LAB+Enzim gruplarında sırasıyla KM'de % 53.1 ve 46.7; ADF içeriklerini 28.9 ve 25.5; hemiselüloz içeriklerini 24.3 ve 21.1; selüloz içeriklerini ise 25.7 ve 22.3 olarak saptamışlardır. Filya (2002b) silolamanın 60. gününde açılan sorgum silajlarının kontrol, LAB ve LAB+Enzim gruplarında NDF içeriklerini sırasıyla KM'de % 59.0, 59.0 ve 58.0; ADF içeriklerini 30.0, 29.0 ve 29.0; ADL içeriklerini ise 4.0, 4.0 ve 4.0 olarak belirlemişlerdir. Filya (2002a) silolamanın 50. gününde açılan mısır silajlarının NDF içeriklerini kontrol, LAB ve LAB+enzim gruplarında sırasıyla KM'de %50.2, 52.5 ve 46.2; ADF

içeriklerini %27.2, 27.1 ve 22.4; ADL içeriklerini %4.3, 4.6 ve 4.1; hemiselüloz içeriklerini %24.8, 25.4 ve 23.8; selüloz içeriklerini %22.9, 22.5 ve 18.3 olarak saptamıştır. Araştırmacı, LAB+Enzim karışımı inokulantın, silajların NDF ve ADF içeriklerini önemli düzeylerde düşürdüğünü bildirmektedir. Basmacıoğlu ve ark. (2002) ise silolamanın 56. gününde açılan mısır silajlarında kontrol ve LAB+Enzim gruplarında sırasıyla KM'de %49.56 ve 49.63; ADF içeriklerini %27.3 ve 27.1; ADL içeriklerini %5.1 ve 4.9; hemiselüloz içeriklerini %22.2 ve 22.4; selüloz içeriklerini %22.2 ve 22.2 olarak belirlemişlerdir. Araştırmacılar, LAB+Enzim karışımı inokulantının, silajların hücre duvarı içerikleri üzerindeki etkileri önemsiz bulmuşlardır.

Silajların hücre duvarı kapsamaları ile ilgili olarak araştırmadan elde edilen bulgular, benzer konuda yapılan araştırma bulguları ile uyumludur (Tengerdy ve ark. 1991, Stokes ve Chen 1994, Filya ve ark. 2001, Filya 2002ab, Basmacıoğlu ve ark. 2002).

Filya (2002b) silolamanın 60. gününde açılan sorgum silajlarının kontrol, LAB ve LAB+Enzim gruplarında NDF içeriklerini sırasıyla KM'de % 59.0, 59.0 ve 58.0; ADF içeriklerini 30.0, 29.0 ve 29.0; ADL içeriklerini ise 4.0, 4.0 ve 4.0 olarak belirlemişlerdir. Filya (2002a) silolamanın 50. gününde açılan mısır silajlarının NDF içeriklerini kontrol, LAB ve LAB+enzim gruplarında sırasıyla KM'de %50.2, 52.5 ve 46.2; ADF içeriklerini %27.2, 27.1 ve 22.4; ADL içeriklerini %4.3, 4.6 ve 4.1; hemiselüloz içeriklerini %24.8, 25.4 ve 23.8; selüloz içeriklerini %22.9, 22.5 ve 18.3 olarak saptamıştır. Araştırmacı, LAB+Enzim karışımı inokulantın, silajların NDF ve ADF içeriklerini önemli düzeylerde düşürdüğünü bildirmektedir. Basmacıoğlu ve ark. (2002) ise silolamanın 56. gününde açılan mısır silajlarında kontrol ve LAB+Enzim gruplarında sırasıyla KM'de %49.56 ve 49.63; ADF içeriklerini %27.3 ve 27.1; ADL içeriklerini %5.1 ve 4.9; hemiselüloz içeriklerini %22.2 ve 22.4; selüloz içeriklerini %22.2 ve 22.2 olarak belirlemişlerdir. Araştırmacılar, LAB+Enzim karışımı inokulantının, silajların hücre duvarı içerikleri üzerindeki etkileri önemsiz bulmuşlardır.

Silajların hücre duvarı kapsamaları ile ilgili olarak araştırmadan elde edilen bulgular, benzer konuda yapılan araştırma bulguları ile uyumludur (Tengerdy ve ark. 1991, Stokes ve Chen 1994, Filya ve ark. 2001, Filya 2002ab, Basmacıoğlu ve ark. 2002).

4.2.3. Hasattan sonrası inokulant ilavesinin silajların 45. günde yapılan açım sonrası bazı kimyasal parametreleri üzerine etkileri

Tablo 4.6. Hasat sonrası inokulant ilavesinin silajların bazı kimyasal parametreleri üzerine etkileri

Özellikler	Günler	Muameleler			P
		Kontrol	^{ho} LAB	^{het} LAB	
pH	2	4.49±0.02 ^b	4.59±0.02 ^a	4.59±0.00 ^a	*
	5	4.49±0.02 ^a	4.32±0.01 ^b	4.52±0.02 ^a	**
	14	3.82±0.00 ^a	3.80±0.00 ^{ab}	3.78±0.01 ^b	*
	21	3.87±0.02 ^a	3.81±0.01 ^b	3.78±0.00 ^b	*
	45	3.34±0.01 ^a	3.29±0.00 ^b	3.27±0.00 ^b	**
LA	2	4.40±0.19 ^b	6.71±0.04 ^a	6.58±0.05 ^a	**
	5	6.30±0.04 ^c	8.08±0.05 ^b	9.07±0.04 ^a	**
	14	8.29±0.03 ^b	11.24±0.06 ^a	11.19±0.06 ^a	**
	21	10.59±0.04 ^c	12.56±0.04 ^b	15.66±0.06 ^a	**
	45	6.92±0.04 ^c	8.08±0.04 ^a	7.84±0.04 ^b	**
KM Kaybı	2	0.32±0.04 ^b	0.47±0.02 ^a	0.41±0.03 ^{ab}	*
	5	0.32±0.04	0.29±0.01	0.32±0.02	ÖD
	14	0.72±0.07	0.63±0.00	0.54±0.12	ÖD
	21	1.07±0.05 ^a	0.78±0.02 ^b	0.69±0.02 ^b	**
	45	1.74±0.20	1.33±0.24	1.81±0.06	ÖD

^{ho}LAB: Homofermentatif laktik asit bakterisi; ^{het}LAB: Heterofermentatif laktik asit bakterisi; KM: Kuru madde;

Aynı satırda farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir. (**P<0.01; *P<0.05)

Çizelge 4.6'den de görüleceği gibi silolanan kitlede 45 günlük süreçte gerçekleşen açımlar sonrası saptanan pH değerleri incelendiğinde, gerek kontrol grubu gerekse katkı maddesi gruplarında silajlarda sürekli olarak gözlenen düşüşler sonrası son ürünlerde pH değerleri kontrol grubu ^{ho}LAB ve ^{het}LAB grupları için sırasıyla 3.34±0,01; 3.29±0,00 ve 3.27±0,00 olarak gerçekleşmiştir. Açım dönemlerinde uygulamaların gruplarda saptanan pH değerleri üzerinde etkisi tüm dönemlerde önemli olduğu (P<0.01; P<0.05) saptanmıştır.

Araştırmada silaj örneklerinde saptanan LA içeriklerine ilişkin olarak yapılan istatistiksel analiz sonucunda silolama süresince gözlenen değişimler üzerinde muamelelerin etkisinin (P<0.01; P<0.05) önem taşıdığı saptanmıştır. LA içeriğinin, açım dö-

nemleri bazında incelendiğinde tüm açım dönemlerinde katkı maddesi gruplarında daha yüksek değerlere sahip olduğu gözlenmiştir.

Açım dönemlerinde saptanan KM kaybı bakımından gözlenen değişimler üzerinde muamelenin etkisi sadece 2. ve 21. gündeki açımlarda istatistiki anlamda önemli olarak ($P<0.01$; $P<0.05$) saptanmıştır.

Tablo 4.7. Hasattan sonrası inokulant ilavesinin silajların 45. günde yapılan açım sonrası bazı kimyasal parametreleri üzerine etkileri

Özellikler	Muameleler			P
	Kontrol	^{ho} LAB	^{het} LAB	
KM, %	32.36±0.02 ^a	30.78±0.05 ^b	30.67±0.05 ^b	**
SÇK, g/kg KM	33.67±6.38	37.07±5.76	38.52±9.01	ÖD
NH ₃ -N, g/kg	7.30±1.68	7.24±0.65	7.39±1.20	ÖD
HP, %KM	7.25±0.02 ^a	6.32±0.02 ^c	6.69±0.02 ^b	**
HK, %KM	4.49±0.01 ^a	4.01±0.02 ^c	4.31±0.02 ^b	**
NDF, %KM	53.46±0.57 ^b	56.51±0.51 ^a	53.62±0.15 ^b	*
ADF, %KM	30.97±0.49 ^b	32.71±0.28 ^a	28.43±0.55 ^c	*
ADL, %KM	4.55±0.07	4.45±0.07	4.55±0.07	ÖD

^{ho}LAB: Homofermentatif laktik asit bakterisi; ^{het}LAB: Heterofermentatif laktik asit bakterisi; KM: Kuru madde; SÇK: Suda çözünebilir karbonhidrat; NH₃-N: Amonyaga bağlı nitrojen; HP: Ham protein; HK: ham kül; NDF: nötral çözücülerde çözünmeyen lif; ADF: Asit nötral çözücülerde çözünmeyen lif; ADL: Asit çözücülerde çözünmeyen lgnin; (ÖD): önemli değil.

Aynı satırda farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir. (** $P<0.01$; * $P<0.05$)

45. günde yapılan analizlerde muamelenin etkisi KM HP, HK ($P<0.01$), NDFve ADF üzerinde istatistiki anlamda önemli olarak ($P<0.05$) saptanmıştır.

Silaj fermentasyonu sırasında oluşan pH, NH₃-N ve laktik asit miktarı fermentasyonun kalitesini belirlemektedir. Özellikle pH ve NH₃-N miktarları düşük, laktik

asit/asetik asit oranları yüksek silajlar iyi fermente olmuş silajlar olarak kabul edilebilirler (Filya 2007).

4.2.2. Mısır silajlarının mikrobiyolojik özellikleri ile ilgili bulgular

Hasattan 15 gün önce inokulant ilave edilmiş mısır silajlarının mikrobiyolojik analiz sonuçları Çizelge 4. 8'de verilmiştir. Özellikle ^{ho}LAB inokulant silajların LAB yoğunluğunu tüm açım dönemlerinde kontrol ve ^{het}LAB inokulanta göre önemli düzeyde artış gözlenmiştir (P<0.01). Maya yoğunluklarında da yine ^{ho}LAB grubunda daha az tespit edilmiştir (P<0.01; P<0.05). Genel olarak küf oluşumuna ise rastlanmamıştır.

Tablo 4.8. Hasattan 15 gün önce inokulant ilavesinin fermantasyon süresince silajların mikrobiyolojik parametreleri üzerine etkileri (cfu/g).

Özellikler	Günler	Muameleler			P
		Kontrol	^{ho} LAB	^{het} LAB	
LAB	2	3.19±0.15 ^b	3.57±0.04 ^a	2.85±0.00 ^c	**
	5	3.19±0.15 ^b	3.57±0.04 ^a	2.85±0.00 ^c	**
	14	3.19±0.15 ^b	3.57±0.04 ^a	2.85±0.00 ^c	**
	21	3.19±0.15 ^b	3.57±0.04 ^a	2.85±0.00 ^c	**
	45	4.50±0.00 ^b	4.60±0.07 ^a	3.80±0.01 ^c	**
Maya	2	0.00±0.00	3.78±0.18	1.15±1.62	ÖD
	5	3.39±0.07	3.15±0.15	3.45±0.21	ÖD
	14	4.37±0.10 ^a	3.84±0.07 ^{ab}	3.56±0.37 ^b	*
	21	3.96±0.06 ^a	2.98±0.18 ^b	4.16±0.16 ^a	**
	45	4.74±0.02 ^a	4.30±0.14 ^{ab}	4.09±0.28 ^b	*
Küf	2	3.80±0.06 ^a	3.19±0.15 ^b	3.15±0.10 ^b	*
	5	0.00±0.00	1.00±1.14	0.00±0.00	ÖD
	14	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	ÖD
	21	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	ÖD
	45	1.45±2.05	0.00±0.00	0.00±0.00	ÖD

^{ho}LAB: Homofermentatif laktik asit bakterisi; ^{het}LAB: Heterofermentatif laktik asit bakterisi; KM: Kuru madde;

Aynı satırda farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir. (**P<0.01; *P<0.05)

Tablo 4.9. Hasattan 7 gün önce inokulant ilavesinin fermantasyon süresince silajların mikrobiyolojik parametreleri üzerine etkileri (cfu/g).

Özellikler	Günler	Muameleler			P
		Kontrol	^{ho} LAB	^{het} LAB	
LAB	2	3.19±0.15 ^a	3.00±0.00 ^b	3.54±0.65 ^a	**
	5	3.99±0.68	3.96±0.12	3.27±0.01	ÖD
	14	3.16±0.02 ^b	4.30±0.11 ^a	4.29±0.03 ^a	**
	21	3.24±0.33 ^b	4.13±0.07 ^a	3.76±0.26 ^{ab}	*
	45	3.90±0.00	4.26±0.04	4.60±0.55	ÖD
Maya	2	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b	3.40±0.14 ^a	*
	5	3.39±0.07	3.13±0.07	1.00±1.41	ÖD
	14	4.37±0.10 ^a	0.00±0.00 ^c	3.27±0.01 ^b	**
	21	3.96±0.06 ^a	0.00±0.00 ^b	3.41±0.43 ^a	**
	45	4.74±0.02	4.33±0.07	3.80±0.56	ÖD
Küf	2	3.80±0.06 ^a	0.00±0.00 ^b	1.00±1.14 ^b	*
	5	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	ÖD
	14	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^a	**
	21	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	ÖD
	45	0.00±2.05	0.00±0.00	0.00±0.00	ÖD

^{ho}LAB: Homofermentatif laktik asit bakterisi; ^{het}LAB: Heterofermentatif laktik asit bakterisi; KM: Kuru madde; ÖD: önemli değil.

Aynı satırda farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir. (**P<0.01; *P<0.05)

Hasattan 7 gün önce inokulant ilave edilmiş mısır silajlarının mikrobiyolojik analiz sonuçları Çizelge 4. 9'da verilmiştir. Özellikle ^{ho}LAB inokulant silajların LAB yoğunluğunu tüm açım dönemlerinde kontrol ve ^{het}LAB inokulanta göre önemli düzeyde artış gözlenmiştir (P<0.01). Maya yoğunluklarında da yine ^{ho}LAB ve ^{het}LAB grubunda daha az tespit edilmiştir (P<0.01 P<0.05). Genel olarak silajlarda küf oluşumuna ise rastlanmamıştır.

Tablo 4.10. Hasat sonrası inokulant ilavesinin fermantasyon süresince silajların mikrobiyolojik parametreleri üzerine etkileri

Özellikler	Günler	Muameleler			P
		Kontrol	^{ho} LAB	^{het} LAB	
LAB	2	3.19±0.15 ^a	2.74±0.05 ^b	3.01±0.01 ^{ab}	*
	5	3.49±0.02 ^c	4.04±0.05 ^a	3.79±0.02 ^b	**
	14	3.05±0.07 ^c	4.30±0.11 ^a	3.54±0.04 ^b	**
	21	3.22±0.53	4.13±0.07	3.19±0.15	ÖD
	45	3.60±0.14 ^b	4.60±0.00 ^a	4.05±0.21 ^b	*
Maya	2	0.00±0.00 ^b	1.15±1.62 ^{ab}	3.37±0.04 ^a	*
	5	3.39±0.07 ^b	3.30±0.00 ^b	3.82±0.04 ^a	**
	14	4.37±0.10 ^a	0.00±0.00 ^c	3.06±0.16 ^b	**
	21	3.96±0.06 ^a	2.24±0.33 ^b	2.48±0.00 ^b	**
	45	4.74±0.02 ^a	3.44±0.41 ^b	3.35±0.07 ^b	*
Küf	2	3.80±0.06 ^a	1.00±1.41 ^b	0.00±0.00 ^b	*
	5	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	ÖD
	14	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	ÖD
	21	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b	2.65±0.07 ^a	**
	45	1.45±2.05	0.00±0.00	3.05±0.07	ÖD

^{ho}LAB: Homofermentatif laktik asit bakterisi; ^{het}LAB: Heterofermentatif laktik asit bakterisi; KM: Kuru madde; ÖD: önemli değil.

Aynı satırda farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir. (**P<0.01; *P<0.05)

Hasattan sonra inokulant ilave edilmiş mısır silajlarının mikrobiyolojik analiz sonuçları Çizelge 4. 9'da verilmiştir. Özellikle ^{ho}LAB inokulant silajların LAB yoğunluğunu tüm açım dönemlerinde kontrol ve ^{het}LAB inokulanta göre önemli düzeyde artış gözlenmiştir (P<0.01) . Maya yoğunluklarında da yine ^{ho}LAB ve ^{het}LAB grubunda daha az tespit edilmiştir (P<0.01 P<0.05). Genel olarak silajlarda küf oluşumuna ise rastlanmamıştır.

Filya (2002a) silolamanın 50. gününde açılan mısır silajlarının *lactobacilli* yoğunluklarını kontrol ve LAB ve gruplarında sırasıyla 7.3, 12.4 log₁₀ cfu/g KM; maya yoğunluklarını 7.0 ve 6.9 log₁₀ cfu/g KM; küf yoğunluklarını 4.8 ve 1.0 log₁₀ cfu/g KM olarak saptamıştır. Filya ve ark. (2002b) silolamanın 60. gününde açılan sorgum silajlarının *lactobacilli* yoğunluklarını kontrol ve LAB gruplarında sırasıyla 7.7 ve 9.5 log₁₀ cfu/g KM; küf yoğunluklarını 2.1 ve 0 log₁₀ cfu/g KM olarak bildirmektedirler. Polat ve ark. (2005) silolamanın 75. gününde açılan mısır silajlarının *lactobacilli* yoğunluklarını kontrol ve LAB gruplarında sırasıyla 5.69 ve 6.56 log₁₀ cfu/g TM; maya ve küf yoğunluklarını 5.97 ve 5.04 log₁₀ cfu/g TM olarak saptamışlardır. Silajların mikrobiyolojik özellikleri ile ilgili olarak araştırmadan elde edilen bulgular, benzer konularda yapılan

araştırma bulguları ile uyumludur (Filya ve ark. 2001, Filya 2002a, Polat ve ark. 2005).

4.3.2. Silajların aerobik stabiliteleeri

Fermantasyon sürecini takiben silaj kütlesi açıldığında, anaerobik koşullar aerobik koşullara dönüşür. Aerobik koşullar altında, açım öncesi oksijen yokluğu nedeni ile inaktif durumda olan mikroorganizmalar çoğalmaya başlar. Sonuç olarak silajın bozulması sözkonusudur. Çoğunlukla “aerobik bozulma” olarak da tanımlanan söz konusu oluşumun saha koşullarındaki en tipik belirleyicileri kitlede sıcaklığın yükselmesi ve küf gelişimidir. Yapılan çalışmalar farklı materyalden yapılmış olana silajların aerobik bozulmaya direnç bakımından farklı özellikler taşıdığını ortaya koymaktadır. Mısır benzeri karbonhidratça zengin materyalin bu anlamda daha fazla olumsuz etkiye sahip olduğu söylenebilir (Mc Donald ve ark. 1991).

Hasattan 15 gün önce inokulant ilavesinin silolamamının son döneminde açılan silajlara 14 günlük aerobik stabilite testi sonuçları Çizelge 4.11’de verilmiştir. Silajların hava ile temas ettikleri bu 14 günlük süre içerisinde, ^{ho}LAB ve ^{het}LAB kullanılan silajların KM kaybı, maya ve küf sayıları kontrol grubuna göre oldukça düşük saptanmıştır (P<0.01).

Tablo 4.11. Hasattan 15 gün önce inokulant ilavesinin silajların aerobik stabilitesine ilişkin parametreleri üzerine etkileri

Özellikler	Muameleler			P
	Kontrol	^{ho} LAB	^{het} LAB	
pH	7.40±0.00	6.44±1.19	7.53±0.09	ÖD
KM kaybı	2.69±0.08 ^a	1.46±0.06 ^c	2.23±0.08 ^b	**
Maya	5.74±0.36 ^a	5.69±0.12 ^a	0.00±0.00 ^b	**
Küf	2.69±0.08 ^a	2.23±0.08 ^b	1.46±0.06 ^c	**

^{ho}LAB: Homofermentatif laktik asit bakterisi; ^{het}LAB: Heterofermentatif laktik asit bakterisi;; LAB: Laktik asit bakterisi; KM: Kuru madde; ÖD: Önemli değil.

Aynı satırda farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir. (**P<0.01; *P<0.05).

Tablo 4.12. Hasattan 7 gün önce inokulant ilavesinin silajların aerobik stabilitesine ilişkin parametreleri üzerine etkileri

Özellikler	Muameleler			P
	Kontrol	^{ho} LAB	^{het} LAB	
pH	4.84±0.00 ^a	3.44±0.08 ^b	4.66±0.33 ^a	**
KM kaybı	1.46±0.06	1.36±0.01	0.66±0.94	ÖD
Maya	7.59±0.02 ^a	7.40±0.00 ^a	4.50±0.70 ^b	**
Küf	7.29±0.01 ^a	5.74±0.36 ^b	5.00±1.41 ^b	**

^{ho}LAB: Homofermentatif laktik asit bakterisi; ^{het}LAB: Heterofermentatif laktik asit bakterisi; LAB: Laktik asit bakterisi; KM: Kuru madde; ÖD: Önemli değil.

Aynı satırda farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir. (**P<0.01; *P<0.05).

Hasattan 7 gün önce inokulant ilavesinin silolamanın son döneminde açılan silajlara 14 günlük aerobik stabilite testi sonuçları Çizelge 4.12’de verilmiştir. Silajların hava ile temas ettikleri bu 14 günlük süre içerisinde, ^{ho}LAB ve ^{het}LAB kullanılan silajların pH, maya ve küf sayıları kontrol grubuna göre oldukça düşük saptanmıştır (P<0.01).

Tablo 4.13. Hasattan sonrası inokulant ilavesinin silajların aerobik stabilitesine ilişkin parametreleri üzerine etkileri

Özellikler	Muameleler			P
	Kontrol	^{ho} LAB	^{het} LAB	
pH	4.66±0.33 ^a	3.47±0.03 ^b	3.67±0.06 ^b	*
KM kaybı	2.19±0.09 ^a	1.43±0.13 ^b	1.46±0.06 ^b	**
Maya	7.69±0.01 ^a	7.40±0.00 ^b	7.53±0.09 ^{ab}	*
Küf	6.91±0.09 ^a	5.74±0.36 ^b	0.00±0.00 ^c	**

^{ho}LAB: Homofermentatif laktik asit bakterisi; ^{het}LAB: Heterofermentatif laktik asit bakterisi; LAB: Laktik asit bakterisi; KM: Kuru madde

Aynı satırda farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir (**P<0.01; *P<0.05).

Hasattan sonra inokulant ilavesinin silolamanın son döneminde açılan silajlara 14 günlük aerobik stabilite testi sonuçları Çizelge 4.13’de verilmiştir. Silajların hava ile temas ettikleri bu 14 günlük süre içerisinde, ^{ho}LAB ve ^{het}LAB kullanılan silajların

pH, KM kaybı, maya ve küf sayıları kontrol grubuna göre oldukça düşük saptanmıştır ($P<0.01$; $P<0.05$).

Araştırma da kullanılan katkı maddeleri mısır silajlarının aerobik stabiliteyi üzerinde etkili olmuşlardır. Ondört gün boyunca doğrudan havanın oksijenine maruz bırakılan silajların pH değerlerinde bir miktar yükselme görülmüştür.

LAB inokulantların silajların aerobik dayanıklılığı (silo ömrü) üzerindeki etkilerinin incelendiği araştırma sonuçlarında, bazı araştırmacılar LAB inokulantların silajların aerobik dayanıklılıklarını arttırdığını bildirirken (Weinberg ve ark. 1993, Meeske ve Basson 1999), bazı araştırmacılar ise etkilemediğini (Moran ve ark. 1996) veya aerobik dayanıklılığı düşürerek, silajlarda gözle görülür bir küflenme ve yoğun karbondioksit gazı üretimine neden olduklarını bildirmişlerdir (Stokes ve Chen 1994, Meeske ve Basson 1998, Filya ve ark. 2001, Filya 2002b, Polat ve ark. 2005).

Laktik asit bakteri inokulantlarının mısır silajının aerobik stabiliteyi üzerindeki etkilerinin incelendiği araştırmalarda, homofermantatif LAB inokulantları kullanıldıkları silajların; aerobik stabiliteyi genellikle düşürdükleri (Filya 2002 a,b, Filya ve Sucu 2003), bazen ise artırdığı (Sebastian ve ark. 1989) belirlenmiştir. Meeske ve ark. (1993) süt olum döneminde hasat edilen sorgumlarda LAB'lı inokulantların kullanıldığı çalışmada, silolamanın 31. gününde açılan silajlara 5 gün süre ile aerobik stabilite uygulanmıştır. Sorgum silajlarının CO_2 üretimleri kontrol ve LAB gruplarında sırasıyla 15.5 ve 48.8 g /kg KM; maya içeriklerini ise 9.2 ve 10.1 \log_{10} cfu/g KM olarak saptamışlardır. Araştırma sonucunda LA'lı inokulantlı silajlarının CO_2 üretimleri ve maya içeriklerinin kontrol grubu silajlarına göre daha yüksek olduğunu bildirmektedirler. Filya (2002b) hamur olum döneminde hasat edilen mısırlara LAB inokulantın kullanıldığı çalışmada, silolamanın 60. gününde açılan silajlara 5 gün süre ile aerobik stabilite uygulanmıştır. Mısır silajlarının pH değerleri kontrol ve LAB gruplarında sırasıyla 4.0 ve 3.8; CO_2 üretimleri 12.3 ve 18.8 g /kg KM; maya içeriklerini ise 4.8 ve 7.2 \log_{10} cfu/g KM; küf içeriklerini ise 5.3 ve 8.6 \log_{10} cfu/g KM olarak saptamıştır. Araştırma sonucunda inokulant kullanımının silajlardaki maya ve küf popülasyonu ile CO_2 üretimini önemli düzeyde artırdığını ve silajların aerobik stabiliteyi düşürdüğünü bildirilmektedir. Polat ve ark. (2005) süt olum döneminde hasat edilen mısırlara LAB inokulantını kullanıldığı çalışmada, silolamanın 60. gününde açılan silajlara 7 gün süre ile aerobik stabilite uygulanmıştır. Mısır silajlarının pH değerleri kontrol ve LAB gruplarında sırasıyla 3.63 ve 3.95; maya ve küf içeriklerini ise 6.76 ve 7.51 \log_{10} cfu/g

KM olarak saptamıştır. Silajların aerobik stabiliteleri ile ilgili olarak araştırmadan elde edilen bulgular, benzer konularda yapılan araştırma bulguları ile uyumludur (Meeske ve ark. 1993, Filya 2002b, Polat ve ark. 2005).

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmanın amacı hasat öncesi ve hasat sonrası inokulant ilavesinin mısır silaj kalitesi ve aerobik stabilite üzerindeki etkilerini belirlemektir.

Bu araştırmanın koşulları altında, farklı dönemlerde inokulant ilavesi silajların fermantasyon parametreleri açısından çok belirgin bir fark yaratmamıştır. Silajların mikrobiyolojik özellikleri açısından ise gerek fermantasyon dönemi süresince, gerekse aerobik stabilite dönemi üzerinde ise olumlu etkiler yaratmıştır.

Fermantasyon dönemi değerlendirildiğinde özellikle hasat öncesi inokulant kullanımı, silajların mikrobiyal kompozisyonu üzerinde olumlu etkilerde bulunmuştur. İnokulant kullanılan silajların kontrol grubuna göre LAB sayıları yükselmiştir. Aynı zamanda silajlarda küf tespit edilmemiştir.

Aerobik stabilite dönemi süresince inokulant kullanımı KM kaybı ve maya küf sayısı üzerinde olumlu etkilerde bulunmuştur. Özellikle hasattan 15 gün önce inokulant ilavesi yapılan ^{het}LAB silajlarda maya tespit edilmezken, küf sayısı önemli derecede düşük çıkmıştır. Hasat sonrası inokulant ilavesinde ^{het}LAB silajlarda küflenmeyi önlemiş, aerobik stabilite üzerine olumlu etkilerde bulunmuştur.

6. KAYNAKLAR

- Ak İ, Doğan R (1997). Bursa Bölgesinde Yetiştirilen Bazı Mısır Çeşitlerini Verim Özellikleri Ve Silaj Kalitelerinin Belirlenmesi, Türkiye I. Silaj Kongresi, 83-93s, Bursa
- Aksu T, Baytok E, Bolat D (2004). Effects of a bacterial silage inoculant on corn silage fermentation and nutrient digestibility. Small Ruminant Research, 55: 249-252.
- Akyıldız AR (1984). Yemler Bilgisi Laboratuvar Kılavuzu. A.Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları: 895, Ders Kitabı: 213, 236 s, Ankara.
- Anonymus (1986). The Analysis of Agricultural Material, Reference Book: 427, 428 p, London.
- Ashbell G, Weinberg ZG, Azrieli A, Hen Y, Horev B (1991). A simple system to study the aerobic deterioration of silages. Can. Agric. Eng., 33: 391-393.
- Basmacıoğlu H, Ergül M, Karaayvaz K (2002). Mısır Silajında Bakteri+Enzim Karışımı İnokulant Kullanımının Silaj Kalitesi ve Yem Değerine Etkisi. Ege üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Raporu, proje No: 2000 ZRF-015, Bornova, İZMİR.
- Chen J, Stokes MR, Wallace CR (1994). Effects of Enzyme-Inoculant Systems on Preservation and Nutritive Value of Hay Crop and Corn Silages, J. Dairy Sci., 77: 501-512.
- Close W, Menke KH (1986). Selected Topics in Animal Nutrition Universitat, Pp; 170+85, Hohenheim.
- Filya İ (2000). Silaj Kalitesinin Arttırılmasında Yeni Gelişmeler. International Animal Nutrition Congress'2000, 243-250 s, Isparta.
- Filya İ (2001). Silaj Teknolojisi. Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootečni Bölümü, 16059, Görükle, Bursa.
- Filya İ (2002a). Laktik Asit Bakteri ve Laktik Asit Bakteri+Enzim Karışımı Silaj İnokulantlarının Mısır Silajı Üzerine Etkileri. Turk J Vet Animal Sci, 26:679-687.
- Filya İ. (2002b). Laktik Asit Bakteri İnokulantlarının Mısır ve Sorgum Silajlarının Fermentasyon, Aerobik Stabilite ve *in situ* Rumen Parçalanabilirlik Özellikleri Üzerine Etkileri. Turk J Vet Animal Sci, 26:815-823.
- Filya İ (2005). Silaj Yapımı, Teknolojisi ve Kullanımı. Süt Hayvancılığı Eğitim Merkezi Yayınları, Hayvancılık Serisi: 8 Yetiştirici El Kitabı, Karacabey, Bursa.

- Filya İ (2007a). Türkiye' de Kaba Yem Sorunu ve Çözüm Yolları. Türkiye Süt Sığırçılığı Kurultayı. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi 25-26 Ekim, İzmir. 15 s.
- Filya İ (2007b). Ülkemizde Silaj Yapımı ve Silaj Kalitesinin Artırılma Yolları. Yem Magazın Dergisi. 15 (47): 37-45.
- Filya İ, Sucu E and Karabulut A (2006). The Effect of *Lactobacillus buchneri* on the Fermentation, Aerobic Stability and Ruminant Degradability of Maize Silage. Journal of Applied Microbiol., 101:1216-1223.
- Filya İ ve Sucu E (2003). Silajlarda Fermantasyon Kalitesi ve Aerobik Stabilitenin Geliştirilmesi Üzerinde Araştırmalar. GAP III. Tarım Kongresi 02-03 Ekim, Şanlıurfa. 45: 273-278.
- Keady TWJ, Steen RWJ, Kilpatrick DJ and Mayne CS (1994). Effects of Inoculant Treatment on Silage Fermentation, Digestibility and Intake by Growing Cattle. Grass Forage Sci. 49: 284-294.
- Kim JG, Ham JS, Chung ES, Sed S and Lee JK (2005). Effect of New Microbial Strain as an Inoculant on The Quality of Maize Silage. XXth International Grassland Congress, July 2005 Belfast, North Ireland, UK. p. 478.
- Koc F, Coskuntuna L (2003). The Comparison of the Two Different Methods on the Determination of Organic Acids in Silage Fodders. Journal of Animal Production. 44(2): 37-47.
- Kung LJR, Muck RE (1997). Animal Response to Silage Additives, Silage: Field to Feedbunk, Vol. NRAES-99. Northeast Regional Agric. Engng. Service, Hershey, PA. p. 200-210.
- Kung LJR (1998). A Review on Silage Additives and Enzymes. In Proceedings 59th Minneapolis Nutrition Conference, Minneapolis, MN. pp. 121-135.
- Kung, L. J.R., R. Shaver (2001). How Good Is Your Silage Making? Hoard's Dairyman. 146: 597.
- Lindgren, S., K. Petterson, A. Jonsson, P. Lingvall, A. Kaspersson (1988). Silage Inoculation: Selected Strains, Temperature, Wilting and Practical Application. Swed. J. Agric. Res. 15: 9-18.
- McDonald P (1981). Biochemistry of Silage. John Willey, Sons, Chichester, New York, Brisbane, Toronto, pp. 226.
- McDonald P, Edwards RA, Greenhalgh JFD (1988). Animal Nutrition. 4th Edition. Longman Scientific and Technical, 543 p.

- McDonald P, Henderson AR, Heron SJE (1991). *The Biochemistry of Silage*. Second Edition. 340 p., Chalcombe Publication, Marlow, England.
- Meeske R, Basson HM (1998). The effects of a lactic acid bacteria inoculant on maize silage. *Animal Feed Sci. and Technology*, 70: 239-247.
- Merry RJ, Cussen-MacKenna RF, Jones R (1993). Biological Silage Additives. *Cienacia E Investigacion Agraria*, Vol: 20, No:2.
- Middelhoven WJ and Van Baalen AHM (1988). Development of the Yeast Flora of Whole-Crop Maize During Ensiling and During Subsequent Aerobiosis. *J. Sci. Food Agric.* 42:199.
- Muck RE and Kung L JR (1997). Effects of Silage Additives on Ensiling. In: *Proc. From Silage, Field to Feed Bunk North American Conference*, Hershey, Pennsylvania. Northeast Regional Agricultural Engineering Service Publication 99, Ithaca, NY. pp. 187-199.
- Ohyama Y, Masaki S and Hara S (1975). Factors Influencing Aerobic Deterioration of Silages and Changes in Chemical Composition After Opening Silos. *J. Sci. Food Agric.* 26:1137-1147.
- Pahlow G (1986). Microbiology of Inoculants, Crops and Silages-Small Scale Silage Experiments. In *Proceedings of the Eurobac Conference* ed. Lindgren, S.E. & Patterson, K.L. Uppsala, Sweden University of Agricultural Science, pp. 45-59.
- Petterson K (1988). *Ensiling of Forages: Factors Affecting Silage Fermentation and Quality*, Sveriges Lantbruksuniversitet, 46 p, Uppsala,
- Polat C, Koç F, Özdüven ML (2005). Mısır Silajında Laktik Asit Bakteri ve Laktik Asit Bakteri+Enzim Karışımı İnokulantların Fermantasyon ve Toklularda Ham Besin Maddelerinin Sindirilme Dereceleri Üzerine Etkileri. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 2(1): 13-22.
- Seale DR, Pahlow G, Spoelstra SF, Lindgren S, Dellaglio F, Lowe JF (1990). Methods for the Microbiological Analysis of Silage, *Proceeding of The Eurobac Conference*, 147, Uppsala.
- Sebastian S, Philip LE, Fellner V and Idziak ES (1989). Comparative Assessment of Bacterial Inoculation and Propionic acid Treatment on Aerobic Stability and Microbial Populations of Ensiled High Moisture Ear Corn. *J. Anim Sci.* 74:447-456.
- Shayan JV, Vov. SO and Kartavi AS (1996). Effect of Biological Additive on Quality of Maize Silage and Performance of Silage-Fed Steers. In: *Proc XIth International Silage Conference*, Aberystwyth, Wales, pp. 174-175.

- Soysal Mİ (1998). Biyometrinin Prensipleri (İstatistik I ve II Ders Notları), Yayın No: 95, Ders Kitabı No: 64, T.Ü. Tekirdağ Ziraat Fakültesi, 331 s, Tekirdağ.
- Statistica (1999). Stat Soft, Inc., Statistica for the Windows Operating System, Tulsa, OK. Stokes M, Chen J (1994). Effects of an Enzyme-Inoculant Mixture on the Course of Fermentation of Corn Silage. J. Dairy Sci., 77: 3401-3409.
- Sucu E, Filya İ (2006). The Effects of Bacterial Inoculants on the Fermentation, Aerobic Stability and Rumen Degradability Characteristics of Wheat Silages. Turk J Vet Animal Sci., 30: 187-193.
- Tengerdy RP, Weinberg ZG, Szakacs G, Wu M, Linden JC, Johnson DE (1991). Ensiling alfalfa with additives of lactic acid bacteria and enzymes. J. Sci. Food Agric., 55: 215-228.
- Tümer S (1996). TÜYAP Ege-Marmara Dilimi Çiftçi Şartlarında Silaj Deneme ve Demonstrasyonları, Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Menemen, 25s.
- Ranjit, N.K., L. Kung, JR. (2000). The Effect of *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus plantarum*, or a Chemical Preservative on the Fermentation and Aerobic Stability of Corn Silage. J. Dairy Sci. 83: 526–535.
- Whittenbury, R. (1961). An Investigation of the Lactic Acid Bacteria. Ph.D. Thesis. University of Edinburgh. Edinburgh, Scotland.
- Wieringa, G.W.,T. Beck (1964). Investigations on the Use of Cultures of Lactic Acid Bacteria in the Preparation of Silage in the Small Containers. 1. Obtaining Active *Lactobacillus* Cultures for Inoculation Trials. Das Wirtschaftseigene Futter. 10: 34–44
- Weinberg ZG, Ashbell G, Hen Y, Azrieli A (1993). The Effect of Applying Lactic Acid Bacteria Ensiling on the Aerobic Stability of Silages. J. Appl. Bacteriol., 75: 512-518.
- Weinberg ZG, Shatz O, Chen Y, Yosef E, Nikbahat M, Ben-Ghedalia D and Miron J (2007). Effect of Lactic Acid Bacteria Inoculants on *In Vitro* Digestibility of Wheat and Corn Silages. J. Dairy Sci. 90: 4754-4762.
- Woolford MK, Bolsen KK and Peart LA (1982). Studies on the Aerobic Deterioration of Whole Crop Cereal Silages. J. Agric. Sci. (Camb.) 98: 529.
- Yurtman İY, Koç F, Özdüven ML, Erman S (1997). Silaj Üretiminde Mikrobiyal Katkı Maddelerinin Kullanımı. Trakya Bölgesi II. Hayvancılık Sempozyumu,