

Laktik Asit Üretme Yeteneklerinin Yüksek Olduğu Bilinen İzolatların Mısır Silajının *In Vitro* Gaz Üretim Değerleri ve Yem Kalitesi Özelliklerine Etkileri

*Mustafa KIZILŞİMŞEK¹ Negar Ebrahim Pour MOKHTARİ¹
Adem EROL¹ Çehre ÖZTÜRK² Latife GÜRKAN¹

¹Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Ziraat Fak., Tarla Bitkileri Böl., Kahramanmaraş

²Kahramanmaraş Sütçü İmam Üni., Fen Bilim. Enst., Tarla Bit. Anabilim Dalı, Kahramanmaraş

*Sorumlu yazar e-posta (Corresponding author e-mail): kizilsimsek1969@hotmail.com

Öz

Fermente edilmiş ürünler insanoğlunun uzun yıllardan beri çeşitli amaçlarla yararlandığı bir gıda koruma yöntemidir. Silaj yapımı, yine uzun yıllardan bu yana hayvansal üretimde yararlanılan bir yeşil yem saklama metodudur. Bitkisel materyal üzerinde doğal (epiphytic) olarak bulunan laktik asit bakterileri (LAB) suda çözünebilen karbonhidratları anaerob şartlarda başta laktik asit olmak üzere birçok organik aside parçalarlar. Bunun bir sonucu olarak silajın pH seviyesi düşer ve silo içindeki yeşil ve suca zengin materyal korunmuş olur. Son yıllarda giderek yaygınlaşan mikrobiyel inokulant kullanımının, silaj fermentasyon kalitesini, silaj yemi kalitesini ve sindirilebilirliği de etkilediği bilinmektedir. Yapılan bu çalışmada laktik asit üretme yeteneklerinin yüksek olduğu bilinen izolatların mısır silajı yeminin *in-vitro* gaz üretim değerleri, diğer bir ifade ile yemin organik madde sindirilebilirliği, metabolik enerji değerleri ve yem kalitesi özelliklerine etkileri araştırılmıştır.

Anahtar Kelimeler: LAB, mısır silajı kalitesi, *in vitro* sindirim

The Isolates are Known to Have High Ability to Produce Lactic Acid in Corn Silage *In-Vitro* Gas Production Values and Their Effects on Feed Quality Properties

Abstract

Fermented products are food preservation method that was used for various purposes for mankind since many years. Silage production is a green forage preservation method for livestock feeding. The lactic acid bacteria (LAB) that epiphytically founds on the forage plants can break down water-soluble carbohydrates in anaerobic conditions into organic acids mainly lactic acid. As a result of breakdown, silage pH comes down preventing green and wet forage from spoilage. Usage of microbial inoculants that affects the quality of fermentation, silage quality and digestibility of forage is becoming increasingly widespread. In this study, high lactic acid producer LAB isolates were investigated in terms of their effects on the *in-vitro* gas production, organic matter digestibility, metabolic energy value and feed quality of inoculated corn silage.

Keywords: LAB, corn silage quality, *in-vitro* digestion

Giriş

Silaj, suca zengin yeşil yem bitkilerinin havasız koşullarda fermente edilerek saklanmasıyla elde edilen, besin madde bakımından tercih edilebilir bir kaba yem kaynağıdır (Avcı ve Ayaşan 2007). Ülkemizde de giderek hızlı bir şekilde yaygınlaşan silaj yapımında en yaygın olarak kullanılan bitki mısırdır. Yüksek kaliteli bir mısır silajı, yüksek enerji içeriğine sahip, hayvanlar tarafından kolayca tercih edilen ve rumendeki fermentasyon sürecini düzenleyen özelliklere sahiptir. Yem

bitkilerini silaj olarak saklama sırasında yeşil yem materyalinin besin madde kaybını azaltmak, silajın yem değerini iyileştirmek ve daha birçok amaçla silaj katkı maddeleri kullanılmaktadır. Bu amaçla son yıllarda en sık kullanılanlar mikrobiyel inokulantlar ve enzimlerdir (Karakozak ve Ayaşan 2010). Bakteriyel inokulantlar, hızlı ve etkili bir silaj fermentasyonunu garantiye almak amacıyla laktik asit bakterileri içeren silaj katkı maddesi olarak kullanılırlar (Filya 2000; Ozduven ve ark. 2010). Bu amaçla dünyada birçok

Çizelge 1. Çalışmada kullanılan mikrobiyel inokulantlar ile ilgili bazı bilgiler
Table 1. Information about some inoculants used in this study

İzolat Adı	Tür Adı	Koloni Tipi	LA Üretim (mmol/L)	LA/Toplam Fermente Ürün (%)	Fizyolojik Karakter
LS-65-2-1	<i>L. bifementans</i>	Bacillus	56.65	94.66	Homofermentatif
LS-51-2-1	<i>L. gasseri</i>	Bacillus	53.85	94.24	Homofermentatif
LS-31-1-4	<i>L. buchneri</i>	Bacillus	59.08	85.12	Heterofermentatif
LS-2-4-1	<i>L. plantarum</i>	Kısa bacillus	52.96	91.96	Homofermentatif
LS-55-2-2	<i>L. brevis</i>	Bacillus	70.02	81.79	Heterofermentatif
LS-71-2-3	<i>L. plantarum</i>	Kısa bacillus	52.39	96.93	Homofermentatif
LS-3-3	<i>L. plantarum</i>	Bacillus	54.59	90.26	Homofermentatif
LS-8-1	<i>P. pentosaceus</i>	Coccus	52.69	92.05	Homofermentatif
L-70-6-1	<i>Leuc. citerum</i>	Coccus	53.47	91.51	Homofermentatif
LS-72-2	<i>L. plantarum</i>	Bacillus	54.00	93.94	Homofermentatif

kaynaktan LAB izole edilmiş ve silaj inokulantı olarak kullanılmıştır. Ancak kullanılan inokulantın bazı durumlarda istenmeyen sonuçlara da yol açmıştır (Muck ve Kung 1997). Aksu ve ark. (2004) mısır bitkisinde, Polat ve ark. (2005) mısır bitkisinde, Filya ve ark (2006) mısır bitkisinde ve Filya ve Sucu (2007) buğday, sorgum ve mısır bitkilerinde bakteri inokulantı uygulaması ile ilgili çalışmalar yapmışlardır.

Ancak ülkemiz florasından izole edilmiş LAB ile yapılmış bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

Materyal ve Yöntem

Yukarıda verilen LAB izolatlarının mısır silajına inokulant olarak kullanıldığı bu çalışmada, bitki materyalini temin amacıyla, KSU Ziraat Fakültesinin araştırma alanı olarak kullandığı Dođu Akdeniz Geçit Bölgesi Tarımsal Araştırma İstasyonuna ait arazide mısır bitkisi ikinci ürün olarak yetiştirilmiştir.

Araştırmada kullanılan inokulantlar 5×10^5 kob/g hedef yoğunluğunda silajlara uygulanmış ve silaj yapını takip eden 60. Günde silajlar açılarak tüm analizler yapılmıştır. Olgunlaşmış silajlarda yemlerin hücre duvarı bileşenlerini oluşturan ADF ve NDF analizleri Ankom Fiber Analiz cihazından (Fiber Analyser, ANKOM marka, A220 model) yararlanılarak yapılmıştır (Van Soest et al. 1991). Kuru madde tüketimi hesabında (KMT) $KMT = 120/NDF\%$ formülünden, Sindirilebilir Kuru Madde (SKM) hesabında ise $SKM = 0.89 - (0.779 \times ADF\%)$ formüllerinden yararlanılmıştır. Nispi Yem Değeri (NYD)

hesabında $NYD = (SKM\%) \times (KMT\%) / 1.29$ formülü kullanılmıştır. Ham protein değerleri Kjeldahl azotuna göre belirlenmiştir (AOAC, 1990). Atmış günlük silolama süresi sonunda oluşan silajların *in vitro* gaz üretimleri için 200 mg kurutulmuş silaj örnekleri 30 ml çözeltiyle (10 ml rumen sıvısı + 20 ml yapay tükürük) 100 ml hacimli özel cam şiringalar (Model Fortuna, Häberle Labortechnik, Lonsee-Ettlenschieß, Germany) içerisine konulmuştur. Şiringalar 39°C'de inkübe edilerek, fermantasyon sırasında açığa çıkan gazlar 3, 6, 12, 24, 48, 72 ve 96 saatlerde belirlenmiştir. Zamana bağlı gaz üretim değerleri, Orskov ve McDonald (1979) önerdiği $Y = a + b(1 - \exp^{-ct})$ fonksiyon kullanılarak yemlerin fermantasyonuna ait parametreler hesaplanmıştır.

a = kolay çözünebilir kısmın fermantasyonundan açığa çıkan gaz miktarı (ml)

b = kolay çözünmeyen fakat zamanla yıkılan kısmın fermantasyonundan açığa çıkan gaz miktarı (ml)

c = gaz üretim hızı (ml/saat)

Y = t anında üretilen gaz miktarı (ml)

Silaj yemlerinin Metabolik Enerji (ME) değerleri

$ME (MJ/kg KM) = 2.20 + 0.136 \times \text{Gaz} + 0.057 \times \text{HP}$ formülüne,

Organik Madde Sindirim Derecesi (OMSD) ise $OMSD (\%) = 24.59 + 0.7984 \times \text{Gaz} + 0.496 \times \text{HP}$ formülüne göre hesaplanmıştır.

Bulgular ve Tartışma

Atmış günlük fermentasyon süresi sonunda elde edilen silajların hücre duvarı bileşenleri ile KMT, SKM ve NYD özelliklerine ilişkin ortalama veriler ve oluşan guruplar Çizelge 2'de, gaz ölçümleri ile HP, Metabolik Enerji ve OMSD verilerine ilişkin ortalama değerler ve oluşan guruplar ise Çizelge 3'de verilmiştir.

Çizelge 3'den NDF, KMT ve NYD özelliklerine ilişkin ortalama değerler arasında istatistiksel bakımdan önemli bir farklılık bulunmadığı izlenmektedir. Ancak, inokulant uygulamaları arasında 6 nolu *L. plantarum* izolatının hem NDF ve hem de ADF değerlerini oldukça düşürdüğü buna bağlı olarak da SKM ve NYD bakımından tüm uygulamalar içerisinde en yüksek değerlere ulaştığı izlenmiştir. ADF ve SKM değerleri bakımından bu farklılığın istatistiksel bakımdan

da önemli olduğu belirlenmiştir. Söz konusu izolat ile ilgili aerobik stabilite çalışmasında, kontrol gurubundan farksız olduğu gerçeği dikkate alındığında, anılan izolatın yem kalitesi bakımından çok önemli avantajlar sağlayabileceği belirlenmiştir. Nitekim 6 nolu izolat NDF, ADF, KMT, SKM ve NYD değerleri bakımından kontrol gurubuna göre sırasıyla %11.80, %17.22, %11.84, %4.73 ve %16.12'lik çok önemli avantajlar sağlamıştır. Bu kadar büyük avantajların geniş uygulamalarda çok büyük ekonomik kazançlar sağlayacağı açıktır.

Benzer şekilde 1 nolu *L. bifermentans* izolatı ile yapılan inokulasyonlarda tüm veriler bakımından tatmin edici sonuçlar alınmış ve özellikle NYD bakımından kontrol gurubuna göre %7.04'lük bir avantaj kaydedilmiştir. Bununla birlikte yalnızca 3 nolu *L. buchneri*, 7 nolu

Çizelge 2. LAB inokülasyonu yapılmış silajların hücre duvarı bileşenleri değerlerine ilişkin ortalamalar ve oluşan guruplar

Table 2. Averages and groups of LAB inoculated silages cell wall components

Uygulama	NDF (%)	ADF (%)	KMT (kg)	SKM (%)	NYD
Kontrol	42.54	25.49 ab	2.83	69.04 bc	151.28
1 <i>L. bifermentans</i>	40.45	23.74 abc	2.98	70.41 abc	162.73
2. <i>L. gasseri</i>	42.17	25.32 ab	2.86	69.17 bc	153.45
3. <i>L. buchneri</i>	43.13	21.87 bc	2.79	71.86 ab	155.51
4. <i>L. plantarum</i>	39.85	23.85 abc	3.01	70.32 abc	164.41
5. <i>L. brevis</i>	41.96	24.46 abc	2.86	69.85 abc	154.83
6. <i>L. plantarum</i>	37.52	21.10 c	3.21	72.47 a	180.37
7. <i>L. plantarum</i>	44.29	27.13 a	2.71	67.77 c	142.40
8. <i>P. pentosaceus</i>	42.64	23.51 abc	2.82	70.58 abc	154.08
9. <i>Leuc. citerum</i>	40.82	27.06 a	2.95	67.82 c	155.17
10. <i>L. plantarum</i>	40.65	24.83 abc	2.96	69.56 abc	159.37
Önem Seviyesi	ÖD	0.04	ÖD	0.04	ÖD

HP: Ham Protein, ADF: Acid Detergent Fiber, NDF: Neutral Detergent Fiber, SKM: Sindirilebilir Kuru Madde, NYD: Nispi yem değeri, (KMT) kuru madde tüketimi

HP: Crude Protein, ADF: Acid detergent insoluble lignin, NDF: Neutral insoluble detergent fiber, SKM: Digestible dry matter, NYD: Relative feed value, KMT: Dry matter intake

Çizelge 3. LAB inokülasyonu yapılmış silajların in vitro gaz üretimi, HP, ME ve OMSD değerlerine ilişkin ortalamalar ve oluşan guruplar

Table 3. Averages and groups of in vitro gas production, HP, ME and OMSD values of LAB inoculated silages

Uygulama	Gaz	HP	ME	OMSD
Kontrol	38.83	6.85 b	7.87	58.99
1 <i>L. bifermentans</i>	41.55	6.39 b	8.21	60.93
2. <i>L. gasseri</i>	35.09	7.52 ab	7.40	56.33
3. <i>L. buchneri</i>	39.85	7.46 ab	8.04	60.11
4. <i>L. plantarum</i>	40.87	7.49 ab	8.19	60.94
5. <i>L. brevis</i>	40.53	6.78 b	8.10	60.31
6. <i>L. plantarum</i>	40.53	7.70 ab	8.15	60.77
7. <i>L. plantarum</i>	36.11	7.09 ab	7.51	56.94
8. <i>P. pentosaceus</i>	37.81	6.37 b	7.70	57.93
9. <i>Leuc. citerum</i>	38.83	6.59 b	7.86	58.86
10. <i>L. plantarum</i>	39.51	8.48 a	8.06	60.34
Önem Seviyesi	ÖD	0.028	ÖD	ÖD

L. plantarum ve 8 Nolu *L. pentosaceus* inokulantlarından, kontrol uygulamalarından daha yüksek NDF değerleri elde edildiği, diğer tüm inokulant uygulamalarında ise kontrol gurubundan daha düşük NDF değerlerine ulaşıldığı izlenmektedir. Mikroorganizma florasının araştırıldığı diğer çalışmada ön plana çıkan 5 nolu *L. brevis* inokulantı uygulamalarından ise tatmin edici sonuçların alındığı görülmektedir. Nitekim aralarındaki farklılık istatistiki olarak önemli olmamakla birlikte 5 nolu *L. brevis* izolatından elde edilen NDF, ADF, KMT, SKM ve NYD değerleri kontrole göre sırasıyla %1.36, %4.04, %1.06, %1.16 ve %2.35'lik bir avantaj sağladığı izlenmektedir. Benzer şekilde mikroorganizma flora gelişimi ve aerobik stabilite bakımından tatminkar sonuçlar veren 4 nolu *L. plantarum* izolatının, yem kalitesi bakımından da dikkate değer sonuçlar verdiği ve kontrol gurubuna göre NDF, ADF, KMT, SKM ve NYD değerleri bakımından sırasıyla %6.32, %6.43 %5.98, %1.82 ve %7.98'lik bir avantaj sağladığı izlenmektedir. Her ne kadar bu rakamlar arasındaki farklılık istatistiki olarak önemli bulunmasa da, geniş miktarlarda yapılan uygulamalarda önemli sonuçlar doğurabilecek farklılıklardır.

Yapılan inokulasyonlar ile kontrol uygulamaları arasında gaz üretimi yönünden ortaya çıkan farklılıklar istatistiki olarak önemli bulunmamıştır. Bununla birlikte yemlerin ham protein oranları bakımından uygulamalar arasında farklılığın önemli bulunduğu, en yüksek değerlerin %8.48 ile 10 nolu *L. plantarum* inokulasyonundan elde edildiği izlenmektedir. ME ve OMSD değerleri bakımından 1 nolu *L. bifermentans*, 6 nolu *L. plantarum*, 4 nolu *L. plantarum* ve 5 nolu *L. brevis* inokulantlarının istatistiki olarak önemli olmayan avantajlar sağladığı izlenmektedir. Özellikle 1 nolu *L. bifermentans* ve 4 nolu *L. plantarum* inokulantlarının ME ve OMSD değerlerinde kontrol gurubuna göre sırasıyla %3.91 ve %3.20'lik bir avantaj sağladığı belirlenmiştir. Yine bu rakamlar geniş uygulamalarda önemli farklılıklar yaratabilecek düzeydedir.

Sonuç

Çalışmada yer alan inokulantların silaj yemi kalitesi bakımından istatistiki olarak çok önemli farklılıklar yaratmadığı, bununla birlikte bazı izolatların, bazı özellikler bakımından ön plana çıktığı belirlenmiştir. Bununla birlikte araştırmada yer alan inokulantlarla yapılan aerobik stabilite ve

mikroorganizma florası çalışmasında ön plana çıkan 5 nolu *L. brevis* 6 nolu *L. plantarum* ve 4 nolu *L. plantarum* izolatlarının silaj kalitesi, NYD, ME ve OMSD bakımından kontrol gurubuna göre önemli avantajlar sağlayabileceği belirlenmiştir. Aerobik stabilite çalışmasında herhangi bir avantajı bulunmayan 1 nolu *L. bifermentans* izolatının ise, silaj yemi kalitesi ve yemin sindirebilirlik değerlerine olumlu katkılar sağladığı belirlenmiştir.

Teşekkür

TUBITAK tarafından desteklenen 1130922 nolu proje sonuçlarının bir bölümüdür.

Kaynaklar

- Avcı M. ve Ayaşan T., 2007. Yem bitkileri ile silaj hazırlanması. Öztürk A. (Editor). Pratik Sığırcılık. Ankara: Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Yaygın Çiftçi Eğitim Projesi, 2007: 205-222.
- Filya İ., 2000. Bazı silaj katkı maddelerinin ruminantların performansları üzerindeki etkileri. Hayvansal Üretim; 41: 76-83.
- Karakozak E. ve Ayaşan T., 2010. Değişik yem bitkileri ve karışımlarından hazırlanan silajlarda inokulant kullanımının fleig puanı ve ham besin maddeleri üzerine etkileri. Kafkas Univ Vet Fak Derg 2010; 16(6): 987-994.
- Mansoori H.Y. and Fakhraei J., 2008. The study of possibility corn silage quality improvement and ensiling period reduction by using microbial additives. J Anim Vet Adv; 7(3): 263-267.
- Muck R.E. and Kung L.Jr., 1997. Effects of silage additives ensiling: in silage:field to feedbunk. NRAES-99. NRAES, Ithaca, Ny, USA, pp. 187-199.
- Orskov E.R. and McDonald I., 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. J. Agric. Sci. Camb., 92: 499-503
- Ozduven M.L., Onal Z.K. and Koc F., 2010. The effects of bacterial inoculants and/or enzymes on the fermentation, aerobic stability and in vitro dry and organic matter digestibility characteristics of triticale silages. Kafkas Univ Vet Fak Derg; 16(5): 751-756.
- Van Soest P.J., Robertson J.B. and Lewis B.A., 1991. Methods for dietary fiber, natural detergent fiber and ninstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. J. Dairy Sci. 74: 3583-3597.
- Van Soest P.J., 1994. Nutritional Ecology of the Ruminant (2nd Ed.). Cornell University Press., Ithaca, N.Y., p7-21.