

Farklı Sükroz Seviyeleri ve İnkubasyon Sürelerinde Hazırlanan Fermente Edilmiş Doğal Laktik Asit Sıvısının Yonca Silajı Kalitesine Etkisi**

Sadık Serkan AYDIN¹, Nihat DENEK^{2*}

¹Tarım ve Orman Bakanlığı, Gıda Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü, Şanlıurfa, Türkiye.

²Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye.

Geliş Tarihi: 23.01.2019

Kabul Tarihi: 31.05.2019

Özet: Bu çalışmada, değişik seviyelerde sükroz ilavesi (%1, %3, %5, %10) ve farklı inkubasyon süreleri (48, 72 ve 96 saat 30°C'de) sonrasında farklı sürelerde (taze, 15, 30, 45 ve 60 gün) oda ısısında (25°C) depolanan fermente edilmiş doğal laktik asit sıvılarının; toplam laktik asit bakteri sayısı, bakteri türü ile yonca bitkisinden hazırlanan silajların fermantasyon kalitesi üzerine etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Fermente edilmiş doğal laktik asit sıvılarında oluşan laktik asit bakteri kolonilerinden tesadüfî olarak seçilenlerde, oda ısısında depolama süresinin uzamasına bağlı olarak *Lb. Plantarum* hâkim bakteri türü olarak görülmüştür. Genel olarak her bir inkubasyon süresi (48, 72 ve 96 saat) için, taze olarak hazırlanan sıvılar hariç tüm depolama sürelerinde (15, 30, 45 ve 60 gün) %1 sükroz ilavesi ile hazırlanan fermente edilmiş laktik asit sıvılarında toplam laktik asit bakteri sayısı en yüksek bulunmuştur (P<0.001). Çalışmada %1 düzeyinde sükroz ilave edilerek 48 saat inkubasyon sonrası elde edilen taze (PFJ-T), 15 (PFJ-15) ve 30 (PFJ-30) gün depolanan fermente edilmiş laktik asit sıvılarının %0,1 (w/v) oranında taze yonca (*Medicago sativa*) bitkisine ilave edilmesiyle hazırlanan silajların pH, amonyak azotu, asetik asit değerleri azalırken, laktik asit değerleri ise artmıştır (P<0.001). Sonuç olarak %1 düzeyinde sükroz ilavesi ile 48 saat inkubasyon sonrasında taze ve değişik sürelerde (15 ve 30 gün) oda ısısında (25°C) depolanan laktik asit sıvılarında; laktik asit bakteri sayısının arttığı ve bu katkıların yonca silajlarının kalitelerini yükselttiği görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Laktik asit sıvısı, Yonca, Silaj.

The Effect of Fermented Lactic Acid Juice Prepared with Different Levels of Sucrose and Incubation Times on the Alfalfa Silage Quality

Abstract This study aimed to investigate the effect of fermented lactic acid juice prepared with different levels of sucrose (1%, 3%, 5% and 10%, w/v), different incubation times (48, 72 and 96 hour) and different storage times (fresh, 15, 30, 45 and 60 days) on the total lactic acid bacteria count, bacteria species and alfalfa silage fermentation quality. *Lb. Plantarum* was determined as the dominant species among the randomly selected colonies of lactic acid bacteria collected from fermented lactic acid bacteria juice depending on the storage period. In general, total lactic acid bacteria count was highest in those juice samples prepared with addition of 1% sucrose at all storage times (15, 30, 45 and 60 days) and all incubation periods (48, 72 and 96 hours) except for freshly prepared fermented lactic acid bacteria juice (P<0.001). Fermented lactic acid juice was added at 0.1% (w/v) level to fresh alfalfa (*Medicago sativa*) silage material fresh (PFJ-T), 15 (PFJ-15) and 30 (PFJ-30) days stored at room temperature (25°C) afterwards incubation for 48 hours by adding 1% sucrose group. In this study, silage pH, ammonia nitrogen, acetic acid values were decreased and lactic acid value was increased by addition of fermented lactic acid juice prepared 48 hours incubation time and with 1% sucrose added fresh (PFJ-F), stored at 15 (PFJ-15) and 30 (PFJ-30) days at room temperature (P<0.001). As a result, use of fermented lactic acid juice prepared at 48 hours incubation time and with 1% sucrose added fresh (PFJ-F), stored for 15 (PFJ-15) and 30 (PFJ-30) days at room temperature increased total lactic acid bacteria count and alfalfa silage quality.

Keywords: Fermented lactic acid, Alfalfa, Silage.

Giriş

Ülkemizde ve dünyada kaba yemlerin saklanması kurutma ve silolama yaygın olarak kullanılan konservasyon yöntemleri olarak bilinmektedir. Hayvansal üretimde vazgeçilmez yem kaynaklarından olan baklagil kaba yemlerinin kurutulmaları sürecinde yaprak kırılma ve dökülmelerine bağlı olarak besin madde kayıpları oldukça fazla olmakta, bu tip yemlerin silolanmasıyla besin madde kayıplarının en aza indirilebileceği bildirilmektedir (Rotz ve Abrams, 1988). Baklagil kaba yemlerinin yapısındaki kuru madde (KM) ve suda çözünebilir karbonhidrat (SÇK)

içeriğinin düşük olması, buna karşın tamponlama kapasitesinin yüksekliği nedeniyle silolanmaları oldukça zordur (McDonald ve ark., 1991). İdeal silaj fermantasyonu için, SÇK içeriğinin, yaş silaj materyalinde en az %3 olması gerektiği bildirilmiş, ancak yonca bitkisinde bu değer %1,3 civarında olduğu bilinmektedir (Chamberlain ve Wilkinson, 1996). Baklagil yem kaynaklarının yapılarında bulunan, düşük düzeydeki SÇK içeriği ve tamponlama kapasitesinin yüksek olması, silaj fermantasyonunda laktik asit bakterilerinin gelişimini, dolayısıyla laktik asit üretimini

sınırlamaktadır. Silaj fermentasyonu sırasında bitki yapısında bulunan proteaz enzimleri, bitkinin yapısındaki protein, aminoasit ve amonyağı peptid ve amidlere kadar parçalarlar. Oluşan proteolizis sonucunda yemdeki gerçek proteinlerin %80'inin amonyağa kadar parçalandığı bildirilmektedir (Winters ve ark., 2000). Baklagil kaba yemlerinin yapısında bulunan proteinler hem silaj oluşumu döneminde hem de rumende aşırı proteolizise maruz kaldıklarından, bu yem kaynaklarının yapısında bulunan proteinlerin besleyici değerinden ruminantlar yeterince faydalanamazlar. Bu gerekçelerden dolayı, baklagiller kullanılarak yapılacak silajlara katkı maddesi ilavesi zorunluluk arz etmektedir (McDonald ve ark., 1991). Ruminant beslemede yaygın olarak kullanılan baklagil kaba yem kaynaklarının uzun süre silolanarak bozulmadan muhafaza edilebilmeleri için, silaj fermentasyonu sırasında laktik asit düzeyini artırarak, pH değerini bir an önce düşürmek amacıyla silaj materyaline ticari laktik asit bakterisi (LAB) inokulantlarının kullanılması, son yıllarda yaygınlaşmıştır (Kung ve ark., 1991; Muck ve ark., 2007; Pitt, 1990). Pahalı ve bazen silaj fermentasyonunu iyileştirmesi bakımından etkisiz görülen ticari LAB inokulantlarına alternatif olarak, pratik ve ekonomik bir şekilde kolay hazırlanabilen fermente edilmiş doğal laktik asit sıvılarının (Previously Fermented Juice, PFJ) kullanımı son yıllarda dikkat çekmektedir (Cao ve ark., 2002a; Cao ve ark., 2002b; Ohshima ve ark., 1997a; Ohshima ve ark., 1997b; Wang ve ark., 2009).

Bu çalışma; değişik seviyelerde sükröz ilavesi ve farklı sürelerde inkübasyon sonrasında elde edilen fermente edilmiş doğal laktik asit sıvılarının katkı maddesi üzerine etkisini araştırmak amacıyla yapılmıştır.

Materyal ve Metot

Çalışmada fermente edilmiş doğal laktik asit sıvısının hazırlanmasında ve silaj materyali olarak kullanılan yonca bitkisi (*Medicago sativa*) Şanlıurfa ili Akçakale ilçesindeki özel bir işletmeden çiçeklenmenin başlangıç döneminde temin edilmiştir. Çalışma iki aşamada yürütülmüş olup, birinci aşamada laktik asit bakterilerinin en iyi üreyebildikleri sükröz düzeyi, inkübasyon ve depolama süreleri tespit edilmiştir. İkinci aşamada ise birinci aşamadan elde edilen verilere göre en iyi sükröz düzeyi, inkübasyon ve depolama süresine sahip sahip laktik asit bakterisi sıvılarının yonca silajının kalitesi üzerine etkileri araştırılmıştır. Fermente edilmiş doğal laktik asit sıvısı temelde Masuko ve ark. (2002)'nin bildirdiği yöntemle hazırlanmış, ancak elde edilecek ürünün daha

konsantre olması için su miktarı azaltılmıştır. Bu amaçla, 1000 gr taze yonca bitkisine 300 ml saf su ilave edilerek blender yardımıyla 2 dakika boyunca parçalanmıştır. Elde edilen bitki sıvı karışımı iki kat tülbent bezi kullanılarak süzümüştür. Çalışmanın birinci aşamasında süzümü, cam şişelere aktarılırak; %1, %3, %5 ve %10 düzeyinde sükröz ilave edilerek şişelerin ağzı kapatılmıştır. Şişeler 48, 72 ve 96 saat boyunca 30°C'de anaerobik şartlarda inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonlardan çıkarılan şişeler oda ısısında 25°C'de karanlık bir ortamda 15, 30, 45 ve 60 gün muhafaza edilmiştir. Her bir grubun taze, 15, 30, 45 ve 60 gün sonunda toplam laktik asit bakterisi sayımı ve türü belirlenmiştir. Çalışmada değerlendirilen fermente edilmiş laktik asit sıvı materyallerinin (taze ve farklı sürelerde oda ısısında depolanan) laktik asit bakterisi sayısı tempo cihazı test prosedürüne göre, laktik asit bakterisi tür tespiti API (Analytical Profile Index) 50 CHL test kit prosedürüne göre yapılmıştır (Biomerieux, Marcy l'Etoile, France). Laktik asit bakterisi tür tanımlaması, bilgisayar programı (API Lab Plus Program, Biomerieux) yardımıyla yapılmıştır (Charteris ve ark., 2001; Nigatu ve ark., 2000). Silaj materyali olarak kullanılan yonca bitkisi mini silotrak (Can marka elektrikli mini silaj makinası) yardımı ile 2-5 cm ebatlarında parçalanmıştır. Parçalanmış taze silaj materyaline bakterisi sayıları göz önünde bulundurularak en yüksek laktik asit bakterisi içeriğine sahip olan %1 sükröz seviyesinin 48 saat inkübasyon grubundan ilave edilmiştir. Parçalanmış taze silaj materyaline kontrol (katkısız), taze (PFJ-T), 15 (PFJ-15) ve 30 (PFJ-30) gün oda ısısında muhafaza edilen fermente edilmiş doğal laktik asit sıvılarından taze silaj materyaline ağırlık esasına göre %0.1 düzeyinde (w/v) ilave edilerek dört farklı grup oluşturulmuştur. Her bir muamele grubu için dört tekerrür olarak hazırlanan silajlar 1.5 litrelik cam kavanozlarda hava almayacak şekilde silolanarak, 60 gün süre ile üzerleri örtülmek suretiyle karanlık bir ortamda oda ısısında muhafaza edilmiştir.

Çalışmada silaj materyali olarak kullanılan yonca bitkisi ile elde edilen silajların ham besin madde içeriklerinden KM, ham kül (HK) ve ham protein (HP) analizleri AOAC (2005)'e göre, asit deterjanda çözünmeyen lif (ADF) ve nötr deterjanda çözünmeyen lif (NDF) analizleri ise Van Soest ve ark. (1991)'e göre yapılmıştır. Silajlar 60 günlük fermentasyon süresi sonunda açılarak pH değerleri hızlı bir şekilde pH metre (InoLab, pH, WTW 7310) ile ölçülerek kaydedilmiştir (Polan ve ark., 1998). Amonyak azotu analizi yapılacak örneklerin üzerine %1 düzeyinde 1M HCl; laktik asit ve uçucu yağ asidi analizi yapılacak örneklerin üzerine ise %2.5 düzeyinde %25'lik metafosforik asit ilave edilerek analizlerin yapılacağı zamana kadar derin

dondurucuda (-18°C) saklanmıştır. Silajların toplam azot (TN) içeriğindeki amonyak azotu oranı (NH₃-N/TN, %) analizleri AOAC (1990) tarafından bildirilen yöntemle yapılmıştır. Silaj örneklerinin laktik asit ve uçucu yağ asidi (asetik, propiyonik ve bütirik asit) analizleri ise Suziki ve Lund (1980)'e göre yapılmıştır. Bu amaçla yüksek performans likit kromatografi (HPLC) cihazı (Shimadzu L.C-20 AD HPCL pump, shimadzu SIL-20 ADHT Autosampler, Shimadzu SPD M20A DAD Detector, Shimadzu cto-20ac Columun oven, Icsep Coregel, 87H3 colon) kullanılarak yapılmıştır. Silajların *in vitro* organik madde sindirim (İVOMS) ve metabolik enerji (ME) içerikleri Menke ve ark. (1988) tarafından bildirilen yöntemle göre belirlenerek hesaplanmıştır (Menke ve ark., 1979). Araştırma sonunda elde edilen veriler SPSS paket programında tek yönlü varyans analizi ile değerlendirilmiştir. Grup ortalamalarının karşılaştırılmasında Duncan çoklu karşılaştırma testi

kullanılmış, bu amaçla SPSS (1991) paket programından yararlanılmıştır.

Bulgular

Çalışmada silaj materyali olarak kullanılan yonca bitkisinin KM, HK, HP, ADF ve NDF değerleri kuru madde esasına göre sırasıyla %24.91, %10.54, %21.79, %29.54 ve %41.60 olarak tespit edilmiştir. Farklı seviyelerde (%1, %3, %5 ve %10) sükröz ilave edilerek değişik sürelerde inkübasyona (48, 72 ve 96 saat) bırakılarak elde edilen fermente edilmiş laktik asit sıvılarının taze ve değişik sürelerde (15, 30, 45 ve 60 gün) oda ısısında depolanması sonucunda ürettiği tespit edilen homofermentatif ve heterofermentatif laktik asit bakteri türleri Tablo 1'de sunulmuştur.

Tablo 1. Farklı seviyelerde sükröz ilavesi ve değişik sürelerde inkübasyona bırakılarak elde edilen fermente edilmiş doğal laktik asit sıvılarının taze ve değişik sürelerde depolanmasının laktik asit bakteri türlerinin üremesi üzerine etkisi.

İnkübasyon Süresi (Saat)	Depolama Süresi (Gün)	Homofermentatif Laktik Asit Bakterileri				Heterofermentatif Laktik Asit Bakterileri		
		<i>Lb. Plantarum</i>	<i>Lb. delbrueckii ssp Lactis1</i>	<i>Lb. delbrueckii. ssp Bulgaricus</i>	<i>Lb. Brevis1</i>	<i>Lb. Brevis2</i>	<i>Leu. Lactis</i>	
48	Taze	%1, +	%3, +	%1, +	%5, +	%1, +	%1, +	
	15	%1, +	%1, +	%1, +	%3, +	%1, +	%1, +	
	30	%1, +	%1, +	%1, +	%1, +	%1, +		
	45	%5, +						
	60	%3, +						
72	Taze			%10, +	%5, +		%3, +	
	15		%1, +			%3, +		
	30	%10, +						
	45							
	60							
96	Taze		%3, +	%10, +	%3, +		%1, +	
	15					%10, +		
	30	%10, +						
	45							
	60							

%1, %3, %5 ve %10: Sükröz seviyesi; 48, 72 ve 96 saat: inkübasyon süresi; Taze, 15, 30, 45 ve 60 gün: Oda ısısında depolanma süresi; +: pozitif sonuç.

Farklı seviyelerde sükröz ilavesi (%1, %3, %5 ve %10) ve değişik sürelerde (48, 72 ve 96 saat) 30°C'de inkübe edilerek elde edilen fermente edilmiş doğal laktik asit sıvılarının değişik sürelerde (taze, 15, 30, 45 ve 60 gün) oda ısısında (25°C'de) muhafaza edilmesiyle, bu sıvılardaki toplam laktik

asit bakteri sayıları Tablo 2'de sunulmuştur. Taze olarak değerlendirilen fermente edilmiş doğal laktik asit sıvılarında inkübasyon süreleri dikkate alındığında, en yüksek laktik asit bakteri içeriği, 48 saatlik inkübasyonda %1 sükröz (11.50×10^8 cfu/ml) ilave edilen sıvılardan elde edilmiştir ($P < 0.001$). Oda

ısısında 15, 30 ve 45 gün bekletilen sıvılarda ise %1 süzkroz ilavesi ile 48 saat inkübe edilen sıvılardan en yüksek değerler (5.96×10^8 , 1.60×10^8 ve 1.62×10^8 cfu/ml) elde edilirken, 60 günlük depolanmasında ise %1 süzkroz ilavesi ile 96 saat inkübasyon değeri (0.90×10^8 cfu/ml) en yüksek bulunmuştur ($P < 0.001$). Genel olarak her bir inkübasyon süresi (48, 72 ve 96 saat) için, taze olarak hazırlanan sıvılar hariç tüm depolama sürelerinde (15, 30, 45 ve 60 gün) %1 süzkroz ilavesi ile hazırlanan fermente edilmiş laktik asit sıvılarında toplam laktik asit bakteri sayısı en

yüksek bulunmuştur ($P < 0.001$). Her bir inkübasyon süresinde (48, 72 ve 96 saat) ve her bir süzkroz seviyesinde (%1, %3, %5, %10), depolama süresinin (15, 30, 45 ve 60 gün) uzamasına bağlı olarak genel anlamda toplam laktik asit bakteri sayılarında azalmalar görülmüştür ($P < 0.001$). Her bir inkübasyon süresi (48, 72 ve 96 saat) ve her bir süzkroz seviyesinde (%1, %3, %5, %10) en yüksek laktik asit bakteri sayıları en fazla taze olarak elde edilen gruplarda belirlenmiştir ($P < 0.001$).

Tablo 2. Farklı seviyelerde süzkroz ilavesi ve değişik sürelerde inkübasyona bırakılarak elde edilen fermente edilmiş doğal laktik asit sıvılarının taze ve değişik sürelerde depolanmasının toplam laktik asit bakteri sayısı üzerine etkisi ($\times 10^8$ cfu/ml).

İnkübasyon süresi	Süzkroz seviyesi	Taze PFJ-T	15.Gün PFJ-15	30.Gün PFJ-30	45.Gün PFJ-45	60.Gün PFJ-60	SEM	P
48 saat	%1	11.50 ^{a,A}	5.96 ^{a,A}	1.60 ^{a,B}	1.62 ^{a,B}	0.48 ^{bc,B}	0.572	***
	%3	2.33 ^{efg,A}	0.53 ^{cd,B}	0.04 ^{e,B}	0.01 ^{c,B}	0.01 ^{d,B}	0.205	***
	%5	1.98 ^{e,A}	1.81 ^{bc,A}	0.23 ^{e,B}	0.01 ^{c,B}	0.01 ^{d,B}	0.173	***
	%10	1.90 ^{e,A}	1.37 ^{bcd,A}	0.30 ^{de,B}	0.01 ^{c,B}	0.01 ^{d,B}	0.174	***
72 saat	%1	3.82 ^{de,A}	2.60 ^{b,B}	1.81 ^{a,BC}	1.22 ^{ab,C}	0.39 ^{c,D}	0.244	***
	%3	4.26 ^{d,A}	1.37 ^{bcd,B}	1.25 ^{b,BC}	0.89 ^{b,C}	0.01 ^{d,D}	0.272	**
	%5	9.88 ^{b,A}	0.65 ^{cd,B}	0.28 ^{de,B}	0.01 ^{c,B}	0.00 ^{d,B}	0.725	***
	%10	2.38 ^{efg,A}	1.72 ^{bcd,A}	0.02 ^{e,B}	0.01 ^{c,B}	0.00 ^{d,B}	0.215	***
96 saat	%1	2.22 ^{fg,B}	5.23 ^{a,A}	1.47 ^{b,B}	1.38 ^{a,B}	0.90 ^{a,B}	0.337	***
	%3	4.82 ^{d,A}	0.37 ^{d,CD}	1.29 ^{b,B}	0.12 ^{c,D}	0.75 ^{ab,C}	0.327	***
	%5	3.67 ^{def,A}	0.76 ^{cd,B}	0.92 ^{c,B}	0.01 ^{c,C}	0.00 ^{d,C}	0.266	***
	%10	6.95 ^{c,A}	1.50 ^{bcd,B}	0.03 ^{e,C}	0.01 ^{c,C}	0.00 ^{d,C}	0.847	***
SEM		0.388	0.233	0.078	0.082	0.058		
P		***	***	***	***	***		

^{a-g}: Aynı sütunda farklı harf taşıyan değerler farklı bulunmuştur; ^{A-D}: aynı satırda farklı harf taşıyan değerler farklı bulunmuştur; **: $P < 0.01$; ***: $P < 0.001$, cfu/ml: Mililitredeki koloni sayısı; SEM: Ortalamaların standart hatası.

Hazırlanan fermente edilmiş doğal laktik asit sıvılarının mikroorganizma içerikleri göz önünde bulundurularak seçilen %1 süzkroz ilave edilerek 48 saat inkübasyon sonrası elde edilen PFJ-T ve farklı sürelerde (PFJ-15 ve PFJ-30) oda ısısında depolanan

fermente edilmiş laktik asit sıvılarının yonca bitkisine %0.1 (w/v) düzeyinde katılması ile elde edilen silajların ham besin madde, *in vitro* organik madde sindirilebilirliği ve metabolik enerji değeri üzerine etkileri Tablo 3'te sunulmuştur.

Tablo 3. Fermente edilmiş doğal laktik asit sıvılarının yonca silajlarının besin madde (%KM), *in vitro* organik madde sindirilebilirliği (IVOMS,% KM) ve Metabolik enerji (ME, MJ/Kg KM) içeriğine etkisi.

	KM	HK	HP	ADF	NDF	İVOMS	ME
Kontrol	23.75 ^b	11.04 ^a	22.80 ^a	25.71 ^c	35.99 ^a	77.24	11.29
PFJ-T	24.86 ^a	10.64 ^b	21.99 ^b	26.99 ^b	34.55 ^b	76.62	11.16
PFJ-15	24.81 ^a	11.07 ^a	22.13 ^b	27.97 ^a	34.86 ^{ab}	76.04	11.02
PFJ-30	24.87 ^a	10.90 ^a	22.10 ^b	26.99 ^b	32.99 ^c	74.70	10.84
SEM	0.14	0.05	0.10	0.24	0.33	0.54	0.08
P	***	**	**	***	**		

^{a-d}: Her sütunda farklı harf taşıyan değerler farklı bulunmuştur ($P < 0.01$, $P < 0.001$); **KM**: Kuru madde, %; **HK**: Ham kül, %KM; **HP**: Ham protein, % KM; **ADF**: Asit deterjanda çözünmeyen lif, % KM; **NDF**: Nötral deterjanda çözünmeyen lif, % KM; **İVOMS**: *in vitro* organik madde sindirilebilirliği, % KM; **ME**: metabolik enerji, MJ/kg KM; **PFJ**: Fermente edilmiş doğal laktik asit sıvısı (Previously Fermented Juice); **PFJ-T**: %1 süzkroz ilavesi ile 48 saat inkübasyon sonucu taze olarak kullanılan sıvı; **PFJ-15**: %1 süzkroz ilavesi ile 48 saat inkübasyon sonucu 15 gün oda ısısında bekletilerek kullanılan sıvı; **PFJ-30**: %1 süzkroz ilavesi ile 48 saat inkübasyon sonucu 30 gün oda ısısında bekletilerek kullanılan sıvı, **: $P < 0.01$; ***: $P < 0.001$; SEM: Ortalamaların standart hatası.

Elde edilen veriler kontrol silajı ile kıyaslandığında PFJ-T, PFJ-15 ve PFJ-30 katkıları ile elde edilen silajların KM değerleri sırasıyla %24.86, %24.81 ve %24.87 olarak tespit edilmiş, kontrol silajından elde edilen değer (%23.75) ile

karşılaştırıldığında kontrol grubu silajdan yüksek bulunmuştur ($P < 0.001$). Elde edilen silajların HP içerikleri değerlendirildiğinde; PFJ-T, PFJ-15 ve PFJ-30 katkıları silajlar, kontrol grubu silajı ile kıyaslandığında silajların HP değerlerini azaltmıştır

($P<0.01$). Çalışmada en yüksek HP içeriği (%22.80) kontrol silajından elde edilmiştir. Elde edilen silajların ADF içeriği; PFJ-T, PFJ-15 ve PFJ-30 ilavesine bağlı olarak, kontrol silajına kıyasla artış göstermiş, en düşük ADF içeriği %25.71 kontrol silajından, en yüksek ADF içeriği ise %27.97 ile PFJ-15 katkılı silajlardan elde edilmiştir ($P<0.001$). Çalışmada hazırlanan silajların NDF içeriği bakımından kontrol silajına kıyasla PFJ-T, PFJ-15 ve PFJ-30 katkıları genel olarak NDF değerlerini azaltmıştır ($P<0.01$). En yüksek NDF değeri %35.99 kontrol silajında belirlenirken, en düşük NDF değeri %32.99 ise PFJ-30 katkılı silajdan elde edilmiştir ($P<0.01$). Çalışmada değerlendirilen silajların İVOMS ve ME parametreleri bakımından istatistiksel fark görülmemiştir.

PFJ-T, PFJ-15 ve PFJ-30 katkılarının yonca silajının fermantasyon özellikleri üzerine etkisi Tablo 4'te sunulmuştur. Silajların pH değerleri incelendiğinde kontrol silajı ile kıyaslandığında, PFJ-T, PFJ-15 ve PFJ-30 katkıları silajların pH değerlerini azaltmıştır ($P<0.001$). Beklenen sonuç olarak en yüksek pH değeri (4.62) kontrol silajından elde edilmiştir ($P<0.001$). Silajların amonyak azotu değerleri incelendiğinde, kontrol silajına kıyasla fermente edilmiş doğal laktik asit sıvısı ilave edilen gruplarda silaj $\text{NH}_3\text{-N/TN}$ değerlerinin azaldığı görülmüştür ($P<0.001$). En yüksek $\text{NH}_3\text{-N/TN}$ değeri %12.99 ile kontrol silajında belirlenirken, en düşük $\text{NH}_3\text{-N/TN}$ değeri (%10.91) ise PFJ-T grubundan elde edilmiştir ($P<0.001$).

Tablo 4. Fermente edilmiş doğal laktik asit sıvıların katkılarının yonca silajının fermantasyon özellikleri üzerine etkisi.

	pH	$\text{NH}_3\text{-N/TN}$	LA	AA	PA	BA
Kontrol	4.62 ^a	12.99 ^a	53.57 ^d	25.55 ^a	ND	6.17
PFJ-T	4.47 ^b	10.91 ^c	64.25 ^b	15.90 ^c	ND	ND
PFJ-15	4.46 ^b	12.08 ^b	62.68 ^c	22.14 ^b	ND	ND
PFJ-30	4.41 ^b	12.36 ^b	67.78 ^a	22.64 ^b	ND	ND
SEM	0.02	0.22	1.37	0.94	-	-
P	***	***	***	***	-	-

^{a-d}: Her sütunda farklı harf taşıyan değerler farklı bulunmuştur ($P<0.001$); $\text{NH}_3\text{-N/TN}$: Toplam azot (TN) içeriğindeki amonyak azotu oranı, % $\text{NH}_3\text{-N/TN}$; **LA**: Laktik Asit, g/kg KM; **AA**: Asetik Asit, g/kg KM; **PA**: Propiyonik Asit, g/kg KM; **BA**: Bütirik Asit, g/kg KM **PFJ**: Fermente edilmiş doğal laktik asit sıvısı (Previously Fermented Juice); **PFJ-T**: %1 süzkroz ilavesi ile 48 saat inkübasyon sonucu taze olarak kullanılan sıvı; **PFJ-15**: %1 süzkroz ilavesi ile 48 saat inkübasyon sonucu 15 gün oda ısısında bekletilerek kullanılan sıvı; **PFJ-30**: %1 süzkroz ilavesi ile 48 saat inkübasyon sonucu 30 gün oda ısısında bekletilerek kullanılan sıvı; **ND**: Tespit edilmedi; *******: $P<0.001$; **SEM**: Ortalamaların standart hatası.

Silajların önemli fermantasyon kriterlerinden olan laktik asit düzeyine bakıldığında, en yüksek laktik asit içeriği 67.78 g/kg KM olarak PFJ-30 katkılı silajdan elde edilirken, en düşük laktik asit değeri 53.57 g/kg KM ise kontrol silajından elde edilmiştir ($P<0.001$). Silajlara taze, 15 ve 30 gün oda ısısında bekletilen fermente edilmiş doğal laktik asit sıvısının katılması kontrol silajına kıyasla silajların asetik asit düzeyinde istatistiksel olarak azalmalara neden olmuştur ($P<0.001$). En yüksek asetik asit içeriği 25.55 g/kg KM kontrol silajında belirlenirken, en düşük asetik asit değeri ise PFJ-T katkılı gruptan elde edilmiştir ($P<0.001$). Çalışmada değerlendirilen silajların hiçbirisinde propiyonik asit belirlenemezken, bütirik asit ise sadece kontrol silajında 6.17 g/kg KM olarak belirlenmiştir.

Tartışma ve Sonuç

Farklı seviyelerde süzkroz ilave edilerek değişik sürelerde inkübasyona bırakılarak elde edilen fermente edilmiş laktik asit sıvılarında tespit edilen homofermentatif ve heterofermentatif laktik asit bakteri türleri Tablo 1'de sunulmuştur. Çalışmada tüm inkübasyon sürelerinde (48, 72 ve 96 saat) taze olarak hazırlanan fermente edilmiş laktik asit sıvılarında *Leu. laktis*, *Lb. brevis 1* ve *Lb. delbrueckli spp bulgaricus*'un ürediği tespit edilmiştir. Çalışmada 48 saatlik inkübasyon süresi sonunda taze, 15 ve 30 günlük depolama süreleri sonunda genel olarak *Lb. plantarum*, *Lb. delbrueckli spp Lactis 1*, *Lb. delbrueckli spp bulgaricus*, *Lb brevis1*, *Lb brevis2* ve *Leu Lactis*'in üredikleri belirlenmiştir. Oda ısısında depolama süresinin uzamasına bağlı olarak asit ortamda çoğalabilen ve asit ortama dayanıklı olan *Lb. plantarum* hâkim bakteri türü olmuştur. Bitkisel ürünlerin fermantasyonu, heterofermentatif bir laktik asit bakterisi olan ve son ürün olarak özellikle laktik asit ve asetik asit üreten *Leuconostoc (Leu.) mesenteroides* tarafından başlatılır (Harris, 1998; Bergqvist ve ark., 2005). Asit miktarındaki artış ile beraber bu bakteriler aktivitelerini kaybeder ve fermantasyon *Lactobacillus (Lb.) brevis*, *Pediococcus (P) pentosaceus* ve *Lb. plantarum* tarafından devam ettirilir. Ortam pH değerinin düşüşü *Lb. brevis* ve *P. pentosaceus* türlerinin etkisinin azalmasına neden olur ve fermantasyon genellikle aside dayanıklı *Lb. plantarum* bakterisi tarafından tamamlanır (Harris, 1998). Yonca bitkisi ile yapılan bazı çalışmalarda; *Lb. plantarum* baskın tür olarak görülmüş ve izole edilen laktik asit bakterilerinin %90'dan daha fazlası homofermentatif tür olarak belirlenmiştir (Lin ve ark., 1992).

Farklı seviyelerde (%1, %3, %5 ve %10) süzkroz ilave edilerek değişik sürelerde (48, 72 ve 96 saat)

inkübasyona bırakılarak elde edilen fermente edilmiş doğal laktik asit sıvılarında taze olanlar hariç, farklı sürelerde oda ısısında depolanması ile (15, 30, 45 ve 60 gün) sükröz seviyesinin artışına bağlı olarak toplam laktik asit bakteri sayılarında azalmalar (Tablo 2) görülmüştür ($P<0.001$). Laktik asit bakteri sayılarının azalması, laktik asit bakterilerinin oluşturdukları asit nedeniyle ortam pH düzeyinin düşmesi, bu düşük pH seviyesinde bazı laktik asit bakterilerinin gelişiminin inhibe olması ile açıklanabilir (İç ve Özçelik, 1995). Taze olarak hazırlanan fermente edilmiş doğal laktik asit sıvılarında ise 48 saatlik inkübasyon süresi sonunda sükröz seviyesinin artışına bağlı olarak toplam laktik asit bakteri içeriği azalırken; 72 ve 96 saatlerde ise bu durumun aksine, genel olarak bir artış eğilimi görülmüştür. Mikroorganizmaların gelişme ve çoğalmalarında önemli fiziksel etkenlerden birisi de mikroorganizmanın bulunduğu ortamın ozmotik basıncı ve besin madde (şeker) miktarıdır. Taze olarak hazırlanan laktik asit bakteri sıvılarında sükröz seviyesinin artışına bağlı olarak, 72 ve 96 saatlik inkübasyon sürelerinde görülen artışlar, ortam ozmotik basıncının dengelenmesi ve sükrözün bu süreçten sonra daha etkin olarak kullanılması ve mikroorganizmaların ortama adaptasyon sürecinden sonra logaritmik olarak çoğalmaya başlamaları bildirişi ile açıklanabilir (MEGEP, 2006).

Bu çalışmada, kontrol silajı ile kıyaslandığında %1 sükröz ilavesi ve 48 saatlik inkübasyon sonucu elde edilen fermente edilmiş doğal laktik asit sıvısı katkısı ile hazırlanan silajlarda, taze ve oda ısısında 15 ve 30 gün depolama süresine bağlı olarak yonca silajlarının KM (Tablo 3) değeri artmıştır ($P<0.001$). Bu sonuç bazı çalışmalar (Denek ve ark., 2012; Nishino ve Uchida, 1999) ile uyumlu bulunmuştur. Henderson ve ark. (1982)'i silaj KM düzeyindeki artışın sebebini; silo içerisinde pH düzeyindeki azalmaya bağlı olarak, bütirik asit bakterileri ile birçok mikroorganizma türlerinin inhibe edilmesine bağlamaktadırlar. Benzer şekilde, silo içerisinde homofermentatif laktik asit bakterilerinin glikoz ve fruktoz gibi şekerleri laktik aside çevirerek, ortamdaki laktik asit miktarındaki artışa bağlı olarak KM kaybının azaldığı Kung, (2008) tarafından bildirilmektedir. Fermente edilmiş doğal laktik asit sıvılarının katıldığı silajlar, kontrol silajı ile kıyaslandığında yapılan bazı çalışmalarla (Nishino ve Uchida, 1999; Wang ve ark., 2009) uyumlu olarak İVOMS ve ME değerleri kontrol ve katkılı silajlar ile istatistiksel olarak benzer bulunmuştur. Bu çalışmada değerlendirilen kontrol ve fermente edilmiş laktik asit sıvısı katkılı silajların İVOMS ve ME değerleri istatistiksel olarak benzer bulunmuş olsa da gruplar arasında rakamsal olarak farklılıklar görülmüştür. Kontrol grubu silajın İVOMS ve ME

değerlerinin (%77.24 ve 11.29 MJ/kg KM), PFJ-T, PFJ-15 ve PFJ-30 gruplarından rakamsal olarak düşük bulunmasının muhtemel sebebi olarak, gaz üretim tekniği ile İVOMS belirlenmesinde kullanılan numune miktarının (yaklaşık 200 mg) çok düşük miktarda olmasından ve bu miktarın silajı tam olarak temsil etmemesinden (sap, yaprak oranına bağlı olarak) kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Kontrol silajı ile kıyaslandığında, %1 sükröz ilavesi ve 48 saatlik inkübasyon sonucu elde edilen PFJ-T, PFJ-15 ve PFJ-30 katkılarının yonca silajına ilave edilmesi ile silajların pH değerlerinde azalmalar (Tablo 4) şekillenmiştir ($P<0.001$). Farklı oranlarda sükröz katılarak hazırlanan fermente edilmiş doğal laktik asit sıvılarının, yonca bitkisine ilave edilerek yapılan bazı silaj çalışmalarında (Denek ve ark., 2012; Nishino ve Uchida, 1999; Wang ve ark., 2009), kontrol grubunun pH değerleri, bu çalışmadaki pH (4.62) değerinden yüksek iken; yonca bitkisi ile yapılan diğer çalışmalarda (Cao ve ark., 2002b; Ohshima ve ark., 1997b) kontrol grubu pH değerleri (4.59-4.67) bu çalışmadan elde edilen değerle uyumlu görülmüştür. Silajlık bitkilerin üzerinde bulunan mikroorganizma popülasyonları; bitki türü, olgunlaşma dönemi, hava koşulları, soldurma ve parçalama gibi çeşitli faktörlerden etkilenmektedir (Spoelstra ve Hindle, 1989). Bu çalışmada kontrol silajının pH değeri (4.62)'nin diğer çalışmalara ve beklenen sonuca göre düşük bulunması; silajlık yonca bitkisine uygulamış olduğumuz parçalama (partikül büyüklüğü 2-5 cm) ile serbest kalan bitki enzimlerinin, daha önce aktif olmayan bakterileri aktive etmesi (Woolford, 1984) özellikle laktik asit bakteri popülasyonunu arttırması (Lin ve ark., 1992; Muck, 1989) ve silajın hazırlandığı kavanozlarda iyi sıkıştırılması ile açıklanabilir.

Çalışmada kontrol silajı ile kıyaslandığında PFJ-T, PFJ-15 ve PFJ-30 katkıları silajların NH_3-N/TN değerinde istatistiksel olarak azalma şekillenmiştir ($P<0.001$). Bu sonuç birçok çalışma (Bai ve ark., 2011; Cao ve ark., 2002a; Cao ve ark., 2002b; Denek ve ark., 2012; Nishino ve Uchida, 1999; Ohshima ve ark., 1997b) ile uyumlu bulunmuştur. Silonun iyi sıkıştırılıp, sıkıştırılmaması, silo içerisindeki laktik asit üretim hızı ve silajlık bitkinin KM madde içeriği silaj NH_3-N düzeyi ile yakından ilişkilidir (Davies ve ark., 1998). Proteinlerin yıkılmasına bağlı olarak proteolizis artışı ve sonuç olarak amonyak azot düzeyi artar. Ortamda laktik asit artışına bağlı olarak proteolizis azalır dolayısıyla proteinlerin yıkılmasında azalır (Kung, 2010). Bu çalışmadaki silajlar; 1.5 litrelik cam kavanozlarda, bitki partikül büyüklüğü 2-5 cm boyutlarına getirilerek modifiye edilmiş meyve sıkacağı ile sıkıştırılarak hazırlanmıştır. Silo içerisinde proteolizis şekillenmemesi muhtemelen sıkıştırma işleminin iyi yapılması ve partikül büyüklüğünün ideal boyuta

küçültülmesinden kaynaklanmıştır. Carpintero ve ark. (1979) silaj $\text{NH}_3\text{-N/TN}$ değerinin %11'inden daha düşük seviyede bulunması ile silajın iyi kaliteli silaj sınıfında değerlendirilebileceğini bildirmektedir. Her ne kadar bu çalışmada elde edilen silajların $\text{NH}_3\text{-N/TN}$ değerleri genel olarak %11 değerinden düşük olmasalar da bu değere yakın bulunmuşlardır. Kontrol silajı ile kıyaslandığında PFJ-T, PFJ-15 ve PFJ-30 gruplarının ilave edildiği silajların laktik asit içeriğini arttırırken, asetik asit değerlerini azaltmıştır ($P<0.001$). Yapılan birçok çalışmada fermente edilmiş laktik asit sıvısı ilavesi ile hazırlanan silajlarda tespit edilen laktik asit oranındaki artış, asetik asit oranındaki azalma bu çalışma ile uyumluluk göstermektedir (Bai ve ark., 2011; Cao ve ark., 2002b; Ohshima ve ark., 1997b, Wang ve ark., 2009). Fermente edilmiş doğal laktik asit sıvıları katılarak elde edilen silajların laktik asit düzeyinin artışı, silaj pH değerinin düşüşüne bağlı olarak laktik asit bakterilerinin fermentasyonunun yoğunlaşmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir (Weinberg ve ark., 1988). Kaliteli bir silajda laktik asit düzeyi toplam silaj asitlerinin %65-70 düzeyinde olması gerekmektedir (Kung ve Shaver, 2001). Bu çalışmanın kontrol grubundaki laktik asit miktarı belirtilen oranın altında kalırken (%62.81), PFJ-T, PFJ-15 ve PFJ-30 gruplarının ilave edildiği silajlarda ise belirtilen oranın üzerinde olduğu (%80.16, %73.90 ve %74.96) görülmüştür. Bu çalışmada elde edilen silajlardan sadece kontrol silajında tespit edilen bütirik asit içeriği (6.17 g/kg KM) bazı çalışmalarla (Denek ve ark., 2011; Denek ve ark., 2012) benzerlik göstermektedir. Bu çalışmada silaj materyali olarak kullanılan yonca bitkisinin, HP oranının (21.79 g/kg KM) yüksek, KM (24.71g/kg) ve SÇK içeriğinin düşük olması, klostridyal bakterilerin gelişimini inhibe etmek için gerekli olan laktik asit üretiminde yetersizliğe neden olduğu düşünülmektedir (Weinberg ve ark., 1988). Bu durumun sonucu olarak sakkarolitik klostridyal, bitki bünyesindeki SÇK'ları ve organik asitleri, bütirik aside dönüştürmektedir (Ohshima ve ark., 1997b). Bu durum çalışmanın kontrol grubundaki bütirik asit varlığını açıklamaktadır.

Sonuç olarak; %1 düzeyinde sükröz ilavesi ve 48 saatlik inkübasyon süresi sonunda taze, 15 ve 30 gün süre ile oda ısısında depolanan fermente edilmiş laktik asit bakteri sıvılarının, yonca bitkisinden hazırlanan silajlarda silaj fermentasyon kalitesini arttırdığı; yonca bitkisinden hazırlanacak silajlara ekonomik, kolay hazırlanabilir ve etkili bir katkı maddesi olarak kullanılabileceği düşünülmektedir. Ancak uygulamanın pratikte kullanılabilmesi için bu katkı maddesi ile büyük silolarda yonca bitkisinin değişik parçalama boyutlarında silajlarının hazırlanmasının yanı sıra hayvanlarda

yedirme denemelerinin de yapılması gerektiği kanısına varılmıştır.

Kaynaklar

- AOAC, 1990: Association of Official Methods of Analysis. Vol. I. 15th ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, USA.
- AOAC, 2005: Association of Official Analytical Chemistry Official Methods of Analysis of AOAC. International, 18th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington DC, USA.
- Bai CS, Zhang RZ, Jiang C, Yan R, Han JG, Zhu Y, Zhang YJ, 2011: Characterization of carbohydrate fractions and fermentation quality in ensiled alfalfa treated with different additives. *Afr J Biotechnol*,10(48), 9958-9968.
- Bergqvist SW, Sandberg AS, Carlsson NG, Andlid T, 2005: Improved iron solubility in carrot juice fermented by homo and heterofermentative lactic acid bacteria. *Food Microbiol*, 22, 53-61.
- Cao LM, Goto M, Karita S, Yamamoto Y, Mizutani M, Deguchi Y, Urakawa S, Maekawa Y, Yamamoto Y, Masuko T, 2002a: Effect of fermented juice of epiphytic lactic acid bacteria on the fermentation quality of alfalfa (*Medicago sativa*) silage and its energy and nitrogen utilization by dry cows. *Grassl Sci*, 48, 227-235.
- Cao LM, Goto M, Ohshima M, 2002b: Variations in the fermentation characteristics of alfalfa silage of different harvest times as treated with fermented juice of epiphytic lactic acid bacteria. *Grassl Sci*, 47, 583-587.
- Carpintero CM, Henderson AR, McDonald P, 1979: The effect of some pre-treatments on proteolysis during the ensiling of herbage. *Grass Forage Sci*, 34, 311-315.
- Chamberlain AT, Wilkinson JM, 1996: Feeding the dairy cow. Part One: Feeds. Chalcombe Publications, Painshall, Church Lane, Welton, Lincoln. LN2 3 LT, UK, pp:19.
- Charteris WP, Kelly PM, Morelli L, Collins JK, 2001: Quality control lactobacillus strains for use with the API 50CH and API ZYM Systems at 37°C. *J Basic Microbiol*, 41(5), 241-251.
- Davies DR, Merry RJ, Williams AP, Bakewell EL, Leemans DK, Tweed JKS, 1998: Proteolysis during ensilage of forages varying in soluble sugar content. *J Dairy Sci*, 81, 444-453.
- Denek N, Can A, Avcı M, Aksu T, 2012: The effect of fresh and frozen pre-fermented juice on the fermentation quality of alfalfa silage. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 18(5), 785-790.
- Denek N, Can A, Avcı M, Aksu T, Durmaz H, 2011: The effect of molasses based pre-fermented juice on the fermentation quality of first cut lucerne silage. *Grass Forage Sci*, 66, 243-250.
- Harris LJ, 1998: The Microbiology of Vegetable Fermentations, (Wood BJB, editor), Microbiology of Fermented Foods, Blackie Academic and Professional. London, UK, pp:45-72.

- Henderson AR, McDonald P, Anderson D, 1982: The effect of a cellulase preparation derived from *Tricoderma viride* on the chemical changes during the ensilage of grass, lucerne and clover. *J Sci Food Agric*, 33, 16-20.
- İç E, Özçelik F, 1995: Hıyar turşusu fermentasyonunda görülen mikroorganizmalar. *Gıda*, 20(3), 173-178.
- Kung L, Shaver R, 2001: Interpretation and use of silage fermentation analysis reports. Universty of Wisconsin Extension publication. *Focus on Forage* 3, 1-5.
- Kung JRL, 2010: Understanding the biology of silage preservation maximize quality and protect the environment. Proceedings. California Alfalfa-Forage Symposium and Corn/Cereal Silage Conference. Visalia, CA, USA, pp: 41-54.
- Kung LJR, Tung RS, Maciorowski KG, Buffum K, Knutsen K, Aimutis WR, 1991: Effect of plant cell-wall-degrading enzymes and lactic acid bacteria on silage fermentation and composition. *J Dairy Sci*, 74, 4284-4296.
- Kung JRL, 2008: Silage fermentation end products and microbial populatations: Their relationships to silage quality and animal productivity. Annual Conference of the American Association of Bovine Practitioners. Charlotte, NC, USA, pp:25-27.
- Lin C, Bolsen KK, Brent BE, Fung DYC, 1992: Epiphytic lactic acid bacteria succession during the pre-ensiling and ensiling periods of alfalfa and maize. *J Appl Bacteriol*, 73, 375-387.
- Masuko T, Hariyama Y, Takahashi Y, Cao LM, Goto M, Ohshima M, 2002: Effect of addition of fermented juice of epiphytic lactic acid bacteria prepared from timothy and orchardgrass on fermentation quality of silages. *Grassl Sci*, 48, 120-125.
- McDonald P, Henderson AR, Heron SJE, 1991: The Biochemistry of Silage (2nd ed.). Part two: Silage additives. Chalcombe Publ., Churchiane, Kingston, Canterbury, Kent, UK, pp:340.
- MEGEP, 2006: Mesleki Eğitim ve Öğretim Sisteminin Güçlendirilmesi Projesi. Gıda Teknolojisi, Genel Mikrobiyoloji Ders notları. TC MEB Yayınları, sayfa, 15-16, Ankara.
- Menke KH, Raab L, Salewski A, Steingass H, Fritz D, Schneider W, 1988: Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid. *Anim Res Develop*, 28, 7-55.
- Menke KH, Raab L, Salewski A, Steingass H, Fritz D, Schneider W, 1979: The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feeding stuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor in vitro. *J Agric Sci Camb*, 93, 217-222.
- Muck RE, Filya I, Contreras Govea FE, 2007: Inoculant effects on alfalfa silage: In vitro gas and volatile fatty acid production. *J Dairy Sci*, 90, 5115-5125.
- Muck RE, 1989: Effect of inoculation level on alfalfa silage quality. *Am Soc Agric Eng*, 32, 1153-1158.
- Nigatu A, Ahrne S, Molin G, 2000: Temperature-Dependent Variation in API 50 CH Fermentation Profiles of Lactobacillus Species. *Current Microbiology*, 41, 21-26.
- Nishino N, Uchida S, 1999: Laboratory evaluation of previously fermented juice as a fermentation stimulant for lucerne silage. *J Sci Food Agric*, 79, 1285-1288.
- Ohshima M, Cao LM, Kimura E, Yokota HO, 1997a: Influence of addition of previously fermented juice to alfalfa ensiled at different moisture contents. *Grassl Sci*, 43, 56-58.
- Ohshima M, Kimura E, Yokota HO, 1997b: A method of making good quality silage from direct cut alfalfa by spraying previously fermented juice. *Anim Feed Sci Tech*, 66, 129-137.
- Pitt RE, 1990: The probability of inoculant effectiveness in alfalfa silages. *Am Soc Agric Eng*, 33, 1771-1778.
- Polan CE, Stieve DE, Garrett JL, 1998: Protein preservation and ruminal degradation of ensiled forage treated with heat, formic acid, ammonia, or microbial inoculant. *J Dairy Sci*, 81, 765-776.
- Rotz CA, Abrams SM, 1988: Losses and quality changes during alfalfa hay harvest and storage. *Am Soc Agric Eng*, 31, 350-355.
- Spoelstra, SF, Hindle VA, 1989: Influence of wilting on chemical and microbiological parameters of grass relevant to ensiling. *Neth J Agri Sci*, 37, 355-364.
- SPSS, 1991: Inc. Statistical package for the social sciences (SPSS/PC+). Chicago, IL, USA.
- Suzuki M, Lund CW, 1980: Improved gas liquid chromatography for simultaneous determination of volatile fatty acids and lactic acid in silage. *J Agric Food Chem*, 28, 1040-1041.
- Van Soest PJ, Robertson JB, Lewis BA, 1991: Methods of dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J Dairy Sci*, 74, 3583-3597.
- Wang J, Wang JQ, Zhou H, Feng T, 2009: Effects of addition of previously fermented juice prepared from alfalfa on fermentation quality and protein degradation of alfalfa silage. *Anim Feed Sci Tech*, 151, 280-290.
- Weinberg ZG, Ashbell G, Azrieli A, 1988: The effect of applying lactic bacteria in ensiling on the chemical and microbiological composition of vetch, wheat and alfalfa silages. *J Appl Bacteriol*, 64, 1-8.
- Winters AL, Cockburn JE, Dhanoa MS, Merry RJ, 2000: Effects of lactic acid bacteria in inoculants on changes in amino acid composition during ensilage of sterile and non-sterile ryegrass. *J Appl Microbiol*, 89, 442-451.
- Woolford MK, 1984: The Silage Fermentation. Marcel Dekker, Inc., New York. NY, USA.

**Bu araştırma makalesi aynı isimli Yüksek Lisans tezinden özetlenmiştir.

*Yazışma Adresi: Nihat DENEK

Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye.
e-mail: nihatenek@hotmail.com