



**LAKTİK ASİT BAKTERİ İNOKULANTLARININ SORGUM (*SORGUM bicolor*)
SİLAJLARINDA FERMANTASYON, AEROBİK STABİLİTE, SİLAJ
BAKTERİLERİNİN GENETİK KARAKTERİZASYONU VE YEM DEĞERİ
ÜZERİNE ETKİLERİ**

BERRİN OKUYUCU

Zootekni Anabilim Dalı

Doktora Tezi

Danışman: Prof. Dr. Mehmet Levent ÖZDÜVEN

İkinci Danışman: Prof. Emel ÖZKAN ÜNAL

2024

T.C.
TEKİRDAĞ NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**LAKTİK ASİT BAKTERİ İNOKULANTLARININ SORGUM (*SORGUM bicolor*)
SİLAJLARINDA FERMANTASYON, AEROBİK STABİLİTE, SİLAJ
BAKTERİLERİNİN GENETİK KARAKTERİZASYONU VE YEM DEĞERİ
ÜZERİNE ETKİLERİ**

BERRİN OKUYUCU

ORCID: 0000-0001-8322-5050

ZOOTEKNİ ANABİLİM DALI

DOKRORA TEZİ

Danışman: Prof. Dr. Mehmet Levent ÖZDÜVEN

İkinci Danışman: Prof. Emel ÖZKAN ÜNAL

HAZİRAN-2024

Her hakkı saklıdır.

ÖZET

LAKTİK ASİT BAKTERİ İNOKULANTLARININ SORGUM (*SORGUM bicolor*) SİLAJLARINDA FERMANTASYON, AEROBİK STABİLİTE, SİLAJ BAKTERİLERİNİN GENETİK KARAKTERİZASYONU VE YEM DEĞERİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Berrin OKUYUCU

Zootečni Anabilim Dalı

Doktora Tezi

Danışman: Prof. Dr. Mehmet Levent ÖZDÜVEN

İkinci Danışman: Prof. Dr. Emel ÖZKAN ÜNAL

Bu çalışma, üç çeşit [Bmr Gold 2 (ST), Es Hyperion Greengo (ST),] sorgum (*Sorghum bicolor*) bitkilerine farklı laktik asit bakteri (LAB) inokulantı kullanımının silaj fermentasyon özellikleri, aerobik stabilitesi ile sorgum silajlarında fermentasyon özelliklerini etkileyen LAB'nin DNA dizi analiz tekniği ile genetik karakterizasyonunun yapılması ve filogenetik ilişkilerin ortaya konması amacıyla düzenlenmiştir. Laktik asit bakteri inokulantı olarak homofermantatif LAB (^{HM}LAB) biyolojik kompozisyonunda *Lactobacillus plantarum* bakterilerini içeren LACTOSIL ve heterofermantatif LAB (^{HT}LAB) biyolojik kompozisyonunda *Lactobacillus buchneri* bakterisi içeren Pioneer 11A44 kullanılmıştır. Kontrol ve katkı maddeleri ile muamele edilen sorgum 1 litre hacimli polietilen torbalarda silolanmıştır. Torbalar laboratuvar koşullarında 20±2 °C sıcaklıkta depolanmışlardır. Fermentasyonun 2, 4, 8, 16 ve 60. günlerde her gruptan 3' er torba açılarak silajlarda kimyasal ve mikrobiyolojik analizler yapılmıştır. Silolama döneminin sonunda (60. gün) açılan tüm silajlar 5 gün süre ile aerobik stabilite testine tabi tutulmuşlardır. Bakterilerin tanımlanmasında 16S rRNA bölgesini dizilemesinde Sanger DNA dizi analizi yapılmıştır. Silolama süresinin sonunda (60. gün), en düşük pH ile kuru madde (KM), nötr deterjan lif (NDF), asit deterjan lif (ADF) ve selüloz içerikleri, en yüksek amonyak azotu (NH₃-N), suda çözünabilir karbonhidratlar (SÇK), laktik asit (LA), asetik asit (AA), nispi yem değeri (NYD), *in vitro* organik madde sindirilebilirliği (OMS), metabolik enerji (ME) ve net enerji laktasyon (NEL) içerikleri Es Hyperion silajlarında tespit edilmiştir (P<0.05). ^{HM}LAB (*L. plantarum*) inokulantı sorgum silajlarının pH ve NH₃-N içeriklerini azaltırken, LA içerikleri ve *lactobacilli* popülasyonunu artırmıştır (P<0.05). Buna karşın sorgum silajlarında CO₂ üretimini artırarak silajların aerobik stabiliteyi düşürmüştür (P<0.05). ^{HT}LAB (*L. buchneri*) inokulantı sorgum silajlarının LA ve PA içeriklerini azaltırken, AA, HK ve ham protein (HP) içeriğini artırmışlardır (P<0.05). Aerobik dönemde ise CO₂ üretimini diğer silajlara göre önemli düzeyde düşürerek aerobik stabiliteyi geliştirmişlerdir. ^{HM+HT}LAB (*L. plantarum*+ *L. buchneri*) inokulantının sorgum silajlarının LA, AA, HK, HP içeriklerini ve maya popülasyonunu artırırken, sorgum silajlarında CO₂ üretimini azaltarak silajların aerobik stabiliteyi iyileştirmişlerdir (P<0.05). 16S rRNA gen bölgesi ile tanımlanan bakterilerin tür düzeyinde dağılımı; *Lactobacillus buchneri* (%85,06), *Lactobacillus plantarum* (%8,05), *Lactobacillus brevis* (%4,60), *Weissella cibaria* (%2,29) şeklinde olmuştur.

Anahtar Kelimeler: Sorgum silajı, Laktik asit bakteri inokulantı, Fermentasyon, 16S rRNA,

ABSTRACT

EFFECTS OF LACTIC ACID BACTERIA INOCULANTS ON FERMENTATION, AEROBIC STABILITY, GENETIC CHARACTERISATION OF SILAGE BACTERIA AND FEED VALUE OF SORGHUM (*SORGHUM BICOLOR*) SILAGES

Berrin OKUYUCU

Department of Animal Science

PhD. Thesis

Supervisor: Prof. Dr. Mehmet Levent ÖZDÜVEN

Co-Supervisor: Prof. Dr. Emel ÖZKAN ÜNAL

This study was carried out to investigate the silage fermentation characteristics and aerobic stability of three sorghum (*Sorghum bicolor*) cultivars [Bmr Gold 2 (ST), Es Hyperion Greengo (ST),] using different lactic acid bacteria (LAB) inoculants and to genetically characterize the LAB affecting the fermentation characteristics of sorghum silages by DNA sequence analysis technique and to determine phylogenetic relationships. Sorghum was harvested at dough stages. LACTOSIL containing *Lactobacillus plantarum* bacteria in homofermentative LAB (^{HM}LAB) biological composition and Pioneer 11A44 containing *Lactobacillus buchneri* bacteria in heterofermentative LAB (^{HT}LAB) biological composition were used as LAB inoculants. Control and additive-treated sorghum were ensiled in polyethylene bags with a volume of 1 liter. The bags were stored under laboratory conditions at 20±2°C. Three bags from each group were sampled for chemical and microbiological analyses on the days 2, 4, 8, 16 and 60 after ensiling. All silages were opened at the end of the ensiling period (60 days) and subjected to an aerobic stability test for 5 days. Sanger DNA sequencing was used to identify the 16S rRNA region for bacteria. As a result, the lowest pH and dry matter (DM), neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF) and cellulose contents, the highest ammonia nitrogen (NH₃-N), water soluble carbohydrates (WSC), lactic acid (LA), acetic acid (AA), relative feed value (RFV), *in vitro* organic matter digestibility (OMD), metabolic energy (ME) and net energy lactation (NEL) contents were observed in Es Hyperion silages (P<0.05). The ^{HM}LAB (*L. plantarum*) inoculant decreased the pH and NH₃-N contents of sorghum silages, but increased LA contents and *lactobacilli* population (P<0.05). On the contrary, it increased CO₂ production in sorghum silages and decreased their aerobic stability (P<0.05). The ^{HT}LAB (*L. buchneri*) inoculant decreased the LA and PA contents of sorghum silages but increased the AA, crude ash (CA), and crude protein (CP) contents (P<0.05). Compared to other silages, they significantly decreased CO₂ production during the aerobic period and improved aerobic stability. The ^{HM+HT}LAB (*L. plantarum* + *L. buchneri*) inoculant increased the sorghum silages' LA, AA, CA, CP, and yeast populations. It also made the silages more aerobically stable by lowering CO₂ production (P<0.05). The species level distribution of bacteria identified by 16S rRNA gene region was as follows: *Lactobacillus buchneri* (85.06%), *Lactobacillus plantarum* (8.05%), *Lactobacillus brevis* (4.60%), *Weissella cibaria* (2.29%).

Keywords: Sorghum silage, Lactic acid bacteria inoculant, Fermentation, 16S rRNA,

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
SİMGELER DİZİNİ	xiii
KISALTMALAR DİZİNİ.....	xiv
TEŞEKKÜR.....	xv
1. GİRİŞ	1
1.1 Literatür Özeti.....	5
1.1.1 Sorgum Bitkisinin Genel Özellikleri	6
1.1.2 Silaj ve Silaj Yapım Prensipleri	8
1.1.3 Silaj Fermantasyonu.....	8
1.1.3.1 Aerobik Dönem.....	9
1.1.3.2 Fermantasyon Dönemi	9
1.1.3.3 Stabil Dönemi	10
1.1.3.4 Yemleme Dönemi	10
1.1.4 Silaj Fermantasyonunun Son Ürünleri.....	11
1.1.5 Silaj Mikroflorası.....	11
1.1.5.1 Laktik asit bakterileri (LAB).....	12
1.1.5.2 Mayalar	13
1.1.5.3 Enterobakteriler	14
1.1.5.4 Clostridia	15
1.1.5.5 Asetik asit bakterileri.....	15
1.1.5.6 Basiller	15
1.1.5.7 Küfler	16
1.1.5.8 Epifitik mikroorganizmalar	16
1.1.6 Silaj Fermantasyonunda LAB.....	17
1.1.7 Laktik Asit Bakteri İnokulantları	18
1.1.7.1 LAB İnokulantlarının Silaj Fermantasyonu Üzerindeki Etkileri	19
1.1.7.2 LAB İnokulantlarının Silaj Mikrobiyolojisi Üzerindeki Etkileri	26
1.1.7.3 LAB İnokulantlarının Aerobik Stabilité Üzerindeki Etkileri	28
1.1.8 Laktik Asit Bakterilerinin Fenotipik ve Genetik Yöntemlerle Tanımlamaları	31
1.1.8.1 Laktik Asit Bakterilerinin Fenotipik Tanımlanması	31

1.1.8.2	Laktik Asit Bakterilerinin Moleküler Yöntemlerle Tanımlanmasının Önemi.....	35
1.1.8.2.1	Evrimsel Kronometreler olarak Ribozomal RNA'lar	37
1.1.8.2.2	Silajda Laktik Asit Bakterilerinin Moleküler Tanımlanmasında 16S rRNA Gen Dizilimi Tekniğine İlişkin Yapılan Çalışmalar	41
1.2	Çalışmanın Amacı ve Kapsamı	48
2.	MATERYAL VE YÖNTEM.....	49
2.1	Yem Materyali	49
2.1.1	Katkı Maddesi ve Kullanım Şekli	49
2.2	Yöntem	50
2.3	Yem Analizleri	50
2.3.1	Kimyasal Analizler.....	50
2.3.2	Fermantasyon Analizleri	51
2.3.3	Mikrobiyolojik Analizler.....	53
2.3.4	Hücre Duvarı Bileşenleri Analizleri	53
2.3.5	Nispi Yem Değerleri Özellikleri	53
2.3.6	Besin Madde Sindirilebilirliği Analizleri	54
2.3.7	Silajların Sindirim Derecesi ve Metabolik Enerji (ME) İçeriklerinin in vitro Gaz Üretim Tekniği ile Belirlenmesi.....	54
2.3.8	Toplam Fenolik Madde ve Kondense Tanen İçeriğinin Belirlenmesi.....	55
2.3.9	Aerobik Bozulmaya İlişkin Analizler	55
2.4	Laktik Asit Bakterilerinin Tanımlanması	55
2.4.1	Laktik Asit Bakterilerinin Fenotipik Tanımlanması	55
2.4.1.1	Gram Boyama ve Hücre Morfolojisi	55
2.4.1.2	Katalaz Testi	56
2.4.1.3	Laktik Asit Bakterilerinin Safılaştırılması.....	56
2.4.2	Laktik Asit Bakterilerinin Genotipik Tanımlanması	56
2.4.2.1	Bakterilerden DNA İzolasyonu	56
2.4.2.2	16S rRNA Gen Bölgesinin Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) İle Yükseltgenmesi	57
2.4.3	İstatistik Analizler	60
2.4.3.1	DNA dizilerinin belirlenmesi ve Verilerin Analizi	60
3.	BULGULAR.....	62
3.1	Araştırma Yemlerinin Silolama Öncesi Değerleri.....	62
3.2	Araştırma Yemlerinin Silolama Sonrası Değerleri.....	63
3.2.1	Sorgum Silajlarının Fermantasyon Özellikleri İle İlgili Bulgular	63
3.2.1.1	Sorgum silajlarının kuru madde değerleri	63

3.2.1.2	<i>Sorgum silajlarının pH değerleri</i>	64
3.2.1.3	<i>Sorgum silajlarının ham kül değerleri</i>	66
3.2.1.4	<i>Sorgum silajlarının ham protein değerleri</i>	67
3.2.1.5	<i>Sorgum silajlarının amonyak azotu değerleri</i>	68
3.2.1.6	<i>Sorgum silajlarının suda çözünebilir karbonhidrat değerleri</i>	70
3.2.1.7	<i>Sorgum silajlarının kuru madde kaybı değerleri</i>	71
3.2.1.8	<i>Sorgum silajlarının laktik asit değerleri</i>	72
3.2.1.9	<i>Sorgum silajlarının asetik asit değerleri</i>	74
3.2.1.10	<i>Sorgum silajlarının propiyonik asit değerleri</i>	75
3.2.2	<i>Sorgum Silajlarının Mikrobiyolojik Özellikleri İle İlgili Bulgular</i>	77
3.2.2.1	<i>Sorgum silajlarının lactobacilli değerleri</i>	77
3.2.2.2	<i>Sorgum silajlarının maya değerleri</i>	78
3.2.2.3	<i>Sorgum silajlarının enterobakteri değerleri</i>	80
3.2.3	<i>Sorgum Silajların Hücre Duvarı Bileşenleri</i>	81
3.2.3.1	<i>Sorgum silajlarının NDF değerleri</i>	81
3.2.3.2	<i>Sorgum silajlarının ADF değerleri</i>	82
3.2.3.3	<i>Sorgum silajlarının ADL değerleri</i>	84
3.2.3.4	<i>Sorgum silajlarının hemiselüloz değerleri</i>	85
3.2.3.5	<i>Sorgum silajlarının selüloz değerleri</i>	87
3.2.4	<i>Sorgum Silajlarının Nispi Yem Değeri İle İlgili Bulgular</i>	88
3.2.5	<i>Sorgum Silajların HS ve HY Değeri İle İlgili Bulgular</i>	90
3.2.6	<i>Sorgum Silajların KT ve TFB</i>	92
3.2.7	<i>Sorgum Silajların Besin Madde Sindirilebilirlikleri</i>	94
3.2.8	<i>Silajların Sindirim Derecesi ve Metabolik Enerji (ME) İçeriklerinin in vitro Gaz Üretim Tekniği ile Belirlenmesi</i>	96
3.2.9	<i>Sorgum Silajların Aerobik Stabilite Testi Değerleri</i>	101
3.2.10	<i>Laktik Asit Bakterilerinin Tanımlanması</i>	104
3.2.10.1	<i>Laktik Asit Bakterilerinin Fenotipik Tanımlanması</i>	104
3.2.10.1.1	<i>Gram Boyama Testi ve Hücre Morfolojisi</i>	104
3.2.10.2	<i>Katalaz Testi</i>	111
3.2.10.3	<i>Laktik Asit Bakterilerinin Genotipik Tanımlanması</i>	118
3.2.10.3.1	<i>Laktik Asit Bakterilerinin 16S rRNA Gen Bölgesi Dizi Analizi Yöntemi ile Moleküler Tanımlanması</i>	118
4.	TARTIŞMA	131
5.	SONUÇ VE ÖNERİLER	155
	KAYNAKLAR	156



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Prokaryot ve ökaryotlarda rRNA türlerinin ribozom alt birimleri	38
Çizelge 1.2. 16S rRNA gen bölgesinde yüksek düzeyde değişkenlik gösteren “V” bölgelerinin başlangıç ve bitiş pozisyonları (Chakravory vd., 2007).	40
Çizelge 1.3. Farklı bitki silajlarının yapısındaki LAB’lerinin genetik olarak tanımlanmasına ilişkin referans çalışmalar	47
Çizelge 2.1. Sorgum silajlarına ait çeşit ve katkıların gösterimi	49
Çizelge 2.2. Tez kapsamında çalışılan 16S rRNA gen bölgesini PZR ile yükseltgemedede kullanılan ileri ve geri primerler	57
Çizelge 2.3. 16S rRNA gen bölgesi PZR reaksiyonunda kullanılan kimyasal bileşenler	59
Çizelge 2.4. 16S rRNA gen bölgesi PZR reaksiyonu yükseltgenme koşulları	60
Çizelge 3.1. Sorgum bitkilerinin kimyasal ve mikrobiyolojik analiz sonuçları	62
Çizelge 3.2. Sorgum silajlarının kuru madde (KM) analiz sonuçları (g/kg)	64
Çizelge 3.3. Sorgum silajlarının ph değerleri	65
Çizelge 3.4. Sorgum silajlarının HK analiz sonuçları (g/kg KM)	66
Çizelge 3.5. Sorgum silajlarının ham protein (HP) analiz sonuçları (g/kg KM)	68
Çizelge 3.6. Sorgum silajlarının amonyak azotu (NH ₃ N) analiz sonuçları (g/kg TN)	69
Çizelge 3.7. Sorgum silajlarının suda çözünebilir karbonhidrat (SÇK) analiz sonuçları (g/kg KM)	70
Çizelge 3.8. Sorgum silajlarının kuru madde kaybı (KMK) analiz sonuçları (g/kg KM)	72
Çizelge 3.9. Sorgum silajlarının laktik asit (LA) analiz sonuçları (g/kg KM)	73
Çizelge 3.10. Sorgum silajlarının asetik asit (AA) analiz sonuçları (g/kg KM)	74
Çizelge 3.11. Sorgum silajlarının propiyonik asit (PA) analiz sonuçları (g/kg KM)	76
Çizelge 3.12. Sorgum silajlarının <i>Lactobacilli</i> analiz sonuçları (log ₁₀ kob/g KM)	77
Çizelge 3.13. Sorgum silajlarının maya analiz sonuçları (log ₁₀ kob/g KM)	79
Çizelge 3.14. Sorgum silajlarının enterobakteri analiz sonuçları (log ₁₀ kob/g KM)	80
Çizelge 3.15. Sorgum silajlarının NDF analiz sonuçları (g/kg KM)	81
Çizelge 3.16. Sorgum silajlarının ADF analiz sonuçları (g/kg KM)	83
Çizelge 3.17. Sorgum silajlarının ADL analiz sonuçları (g/kg KM)	84
Çizelge 3.18. Sorgum silajlarının hemiselüloz (HSEL) analiz sonuçları (g/kg KM)	86
Çizelge 3.19. Sorgum silajlarının selüloz (SEL) analiz sonuçları (g/kg KM)	87
Çizelge 3.20. Fermantasyonun 60. gününde açılan silajların nispi yem değerleri sonuçları (%)	88

Çizelge 3.21. Fermantasyonun 60. gününde açılan silajların HS ve HY sonuçları (g/kg KM)	90
Çizelge 3.22. Fermantasyonun 60. gününde açılan silajların KT ve TF analiz sonuçları (g/kg KM)	92
Çizelge 3.23. Fermantasyonun 60. gününde açılan silajların <i>in vitro</i> KMS, OMS ve HPS analiz sonuçları (g/kg KM).....	94
Çizelge 3.24. Fermantasyonun 60. gününde açılan silajların organik madde sindirim derecesi ve metabolik enerji sonuçları.....	98
Çizelge 3.25. Fermantasyonun 60. gününde açılan silajların 24, 48 ve 72. saat gaz ve metan üretimi analiz sonuçları	99
Çizelge 3.26. Fermantasyonun 60. gününde açılan silajların aerobik stabilite analiz sonuçları	101
Çizelge 3.27. BMR GOLD2 (ST) çeşidinde bulunan silajlardan elde edilen bakteri kolonilerinin gram boyama testi ve hücre morfolojisi sonuçları.....	105
Çizelge 3.28. Es Hyperion çeşidinde bulunan silajlardan elde edilen bakteri kolonilerinin gram boyama testi ve hücre morfolojisi sonuçları.....	106
Çizelge 3.29. Greengo çeşidinde bulunan silajlardan elde edilen bakteri kolonilerinin gram boyama testi ve hücre morfolojisi sonuçları.....	107
Çizelge 3.30. BMR GOLD2 (ST) çeşidinde bulunan silajların 5 günlük aerobik stabilite testi sonrasında elde edilen bakteri kolonilerinin gram boyama testi ve hücre morfolojisi sonuçları	108
Çizelge 3.31. Es Hyperion çeşidinde bulunan silajların 5 günlük aerobik stabilite testi sonrasında elde edilen bakteri kolonilerinin gram boyama testi ve hücre morfolojisi sonuçları	109
Çizelge 3.32. Greengo çeşidinde bulunan silajların 5 günlük aerobik stabilite testi sonrasında elde edilen bakteri kolonilerinin gram boyama testi ve hücre morfolojisi sonuçları	110
Çizelge 3.33. BMR GOLD2 (ST) çeşidinde bulunan silajlardan elde edilen bakteri kolonilerinin katalaz testi sonuçları.....	112
Çizelge 3.34. Es Hyperion çeşidinde bulunan silajlardan elde edilen bakteri kolonilerinin katalaz testi sonuçları.....	113
Çizelge 3.35. Greengo çeşidinde bulunan silajlardan elde edilen bakteri kolonilerinin katalaz testi sonuçları.....	114
Çizelge 3.36. BMR GOLD2 (ST) çeşidinde bulunan silajların 5 günlük aerobik stabilite testi sonrasında elde edilen bakteri kolonilerinin katalaz testi sonuçları	115

Çizelge 3.37. Es Hyperion çeşidinde bulunan silajların 5 günlük aerobik stabilite testi sonrasında elde edilen bakteri kolonilerinin katalaz testi sonuçları	116
Çizelge 3.38. Greengo çeşidinde bulunan silajların 5 günlük aerobik stabilite testi sonrasında elde edilen bakteri kolonilerinin katalaz testi sonuçları	117
Çizelge 3.39. Taze sorgumdan elde edilen epifitik LAB'nin 16S rRNA gen bölgesi dizi analizi yöntemiyle moleküler tanımlama sonuçları.....	122
Çizelge 3.40. Sorgum silajlarından elde edilen laktik asit bakterilerinin 16S rRNA gen bölgesi dizi analizi yöntemiyle moleküler tanımlama sonuçları.....	123



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Fermantasyon son ürünleri (Mcdonald vd., 2002)	11
Şekil 1.2. Literatürde kullanılan moleküler ve fenotipik tiplendirme yöntemlerinin taksonomik ayırt etme yetenekleri (Kıran ve Osmanağaoğlu, 2011).	36
Şekil 1.3. Ribozom kompleksi ve 16S rRNA geninin ayrıntılı görünümü. Beyaz ve gri renkli kutular sırasıyla korunmuş bölgeleri ve aşırı değişken bölgeleri (V1- V9) göstermektedir. Şekildeki kalın oklar ise E. Coli'nin 16S rRNA gen dizisi üzerindeki primerlerin yaklaşık konumlarını belirlemektedir (Fukuda vd., 2016).	40
Şekil 1.4. 16S rRNA Geni Dizi Analizi akış şeması. 16S rRNA dizi analizi, tüm genom dizileme ve metagenomik dizileme süreçlerinin karşılaştırılması (Cox vd. 2013).	41
Şekil 2.1. Referans olarak alınan 16S rRNA Gen Bölgesi DNA dizisi (GenBank No: LC094428.1) üzerinde tez kapsamında çalışılan primerlerin gösterimi.	58
Şekil 2.2. 16S rRNA Gen Bölgesi Gradient PZR sonrası agaroz jel görüntüsü.	59
Şekil 3.1. Sorgum silajlarının kuru madde değişimleri	64
Şekil 3.2. Sorgum silajlarının pH değişimleri	65
Şekil 3.3. Sorgum silajlarının ham kül değişimleri	67
Şekil 3.4. Sorgum silajlarının ham protein değişimleri	68
Şekil 3.5. Sorgum silajlarının amonyak azotu değişimleri	69
Şekil 3.6. Sorgum silajlarının SÇK değişimleri	71
Şekil 3.7. Sorgum silajlarının kuru madde kaybı değişimleri	72
Şekil 3.8. Sorgum silajlarının laktik asit değişimleri	73
Şekil 3.9. Sorgum silajlarının asetik asit değişimleri	75
Şekil 3.10. Sorgum silajlarının propiyonik asit değişimleri	76
Şekil 3.11. Sorgum silajlarının <i>lactobacilli</i> değişimleri	77
Şekil 3.12. Sorgum silajlarının maya değişimleri	79
Şekil 3.13. Sorgum silajlarının <i>enterobakteri</i> değişimleri	80
Şekil 3.14. Sorgum silajlarının NDF değişimleri	82
Şekil 3.15. Sorgum silajlarının ADF değişimleri	83
Şekil 3.16. Sorgum silajlarının ADL değişimleri	85
Şekil 3.17. Sorgum silajlarının hemiselüloz değişimleri	86
Şekil 3.18. Sorgum silajlarının selüloz değişimleri	87
Şekil 3.19. Sorgum silajlarının SKM değişimleri	89
Şekil 3.20. Sorgum silajlarının KMT değişimleri	89

Şekil 3.21. Sorgum silajlarının NYD değişimleri	89
Şekil 3.22. Sorgum silajlarının ham selüloz değişimleri	91
Şekil 3.23. Sorgum silajlarının ham yağ değişimleri	91
Şekil 3.24. Sorgum silajlarının kondanse tanen değişimleri	93
Şekil 3.25. Sorgum silajlarının TF değişimleri	93
Şekil 3.26. Sorgum silajlarının <i>in vitro</i> KMS değişimleri	95
Şekil 3.27. Sorgum silajlarının <i>in vitro</i> OMS değişimleri	95
Şekil 3.28. Sorgum silajlarının 1. ve 24. Saat <i>in vitro</i> HPS değişimleri	95
Şekil 3.29. Sorgum silajlarının organik madde sindirim derecesi değişimleri	98
Şekil 3.30. Sorgum silajlarının metabolik enerji değişimleri	98
Şekil 3.31. Sorgum silajlarının NE _L değişimleri	98
Şekil 3.32. Sorgum silajlarının 24,48 ve 72. Saatlik gaz üretim değişimleri	100
Şekil 3.34. Sorgum silajlarının 24,48 ve 72. Saatlik metan üretim değişimleri	100
Şekil 3.34. Sorgum silajlarının aerobik stabilite sonrası kuru madde değişimleri	102
Şekil 3.35. Sorgum silajlarının aerobik stabilite sonrası pH değişimleri	102
Şekil 3.36. Sorgum silajlarının aerobik stabilite sonrası CO ₂ değişimleri	103
Şekil 3.37. Sorgum silajlarının aerobik stabilite sonrası maya değişimleri	103
Şekil 3.38. BMR GOLD2 (ST) çeşidinin ^{HM} LAB inokulantı kullanılan sorgum silajından elde edilen gram pozitif ve gram negatif bakteri görüntüsü	111
Şekil 3.39. Genetik tanımlamada kullanılan 16S rRNA gen bölgesinin yaklaşık 900 bp uzunluğundaki PZR ürünlerinin agaroz jel görüntüsü (M: 50 bp DNA Ladder, C: Negatif kontrol, 6, 8, 11,15, 16, 17, 1, 14: silaj örnek numaraları).	118
Şekil 3.40. BMR GOLD 2 (ST) çeşidine ait ^{HM} LAB katkılı silajdan elde edilen bakterinin 16S rRNA gen bölgesi primerleri ile yükseltgenen bölgesinin kromatogramdaki kısmi görüntüsü (HM: Homofermantatif)	120
Şekil 3.41. Sorgum silajı örneklerinden izole edilen <i>Lactobacillus buchneri</i> suşlarına ait dizi analizi verilerinin referans veriler ile birlikte BioEdit programında hizalanmasına ait görüntü.	121
Şekil 3.42. <i>Lactobacillus buchneri</i> izolatu dizisinin NCBI / BLAST taraması sonrası ekran görüntüsü.	124
Şekil 3.43. <i>Lactobacillus buchneri</i> ve <i>Lactobacillus plantarum</i> türü bakterilerin referans veriler ile karşılaştırılması özdeşlik oranı görünümü.	125

Şekil 3.44. a) Sorgum örneklerindeki <i>Lactobacillus buchneri</i> izolat grubu içerisinde 16S rRNA gen bölgesinde görülen nükleotid değişimi görüntüsü. b) Çalışmamızda sorgum örneklerinde gözlemlenen 2 farklı dizinin referans veriler ile karşılaştırılma görüntüsü.....	126
Şekil 3.45. a) Sorgum örneklerindeki <i>Lactobacillus plantarum</i> izolat grubu içerisinde 16S rRNA gen bölgesi görüntüsü. b) Çalışmamızda sorgum örneklerinde gözlemlenen tek dizinin referans veriler ile karşılaştırılma görüntüsü	127
Şekil 3.46. a) Sorgum örneklerindeki <i>Lactobacillus brevis</i> izolat grubu içerisinde 16S rRNA gen bölgesi görüntüsü. b) Çalışmamızda sorgum örneklerinde gözlemlenen tek dizinin referans veriler ile karşılaştırılma görüntüsü	128
Şekil 3.47. a) Sorgum bitkisi örneklerindeki <i>Weissella cibaria</i> suşu 16S rRNA gen bölgesi görüntüsü. b) Çalışmamızda sorgum bitkisi örneklerinde gözlemlenen tek dizinin referans veriler ile karşılaştırılma görüntüsü.....	129
Şekil 3.48. Taze sorgum ve sorgum silajı örneklerinden izole edilen LAB'lerinin 16S rRNA gen bölgesi dizilerine dayanan NJ (neighbour-joining) filogenetik ağacı.....	130

SİMGELER DİZİNİ

°C Santigrat derece



KISALTMALAR DİZİNİ

AA	Asetik asit
ADF	Asit deterjanda çözünmeyen lif
ADL	Asit deterjanda çözünmeyen lignin
BA	Bütirik asit
EÇOM	Enzimde çözünen organik madde
HK	Ham kül
HP	Ham protein
HS	Ham selüloz
HSEL	Hemiselüloz
HY	Ham yağ
KM	Kuru madde
KMK	Kuru madde kaybı
KMT	Kuru madde tüketimi
LA	Laktik asit
LAB	Laktik asit bakterileri
ME	Metabolik enerji
N	Azot
NDF	Nötr deterjanda çözünmeyen lif
NH ₃ -N	Amonyak azotu
NÖM	Nitrojensiz öz madde
NYD	Nispi yem değeri
OM	Organik madde
PA	Propiyonik asit
SÇK	Suda çözünebilir karbonhidrat
SEL	Selüloz
SKM	Sindirilebilir kuru madde
TN	Toplam nitrojen

TEŞEKKÜR

Lisans, Yüksek lisans ve doktora öğrenimim ve tez çalışmam süresince bana her konuda destek olup yol gösteren danışman hocam Sayın Prof. Dr. Mehmet Levent ÖZDÜVEN'e, göstermiş olduğu sabır ve şevkatiyle her zaman yanımda olan ilgisini eksik etmeyen Öğr. Gör. Dr. Fatma Funda ÖZDÜVEN'e, çalışmalarımda desteklerini ve bilgilerini eksik etmeyen her zaman yanımda olan ikinci danışmanım Sayın Prof. Dr. Emel ÖZKAN ÜNAL'a, teşekkür eder saygılarımı sunarım.

Tez çalışmamda bazı analizlerimin yapılabilmesi için Erciyes Üniversitesi Zootekni Bölümü laboratuvarlarını bana sunan ve desteklerini veren Sayın Prof.Dr. Yusuf KONCA'ya, Sayın Doç. Dr. Selma BÜYÜKKILIÇ BEYZİ'ye ve Bölüm Başkanı Sayın Prof.Dr. Hasan Ersin ŞAMLI başta olmak üzere tüm bölüm hocalarıma teşekkür eder saygılarımı sunarım.

Tez çalışması kapsamında sorgum tohumlarını temin eden Lidea firmasına, tarla denemesinde tüm ekibiyle birlikte çalışmalara maddi manevi desten veren Önder Çiftçi Projesi Genel Müdürü Sayın Ali Hakan DAĞANUZ'a ve tez yazımı ve teslimi süresince maddi manevi destek olan Milagro Yem A.Ş. Genel Müdürü Frederic Fatih PAGY'a ve Genel Müdür yardımcısı Murat BURAN'a teşekkür eder saygılarımı sunarım.

Eğitimim boyunca maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen her anımda yanımda olan babam ve anneme, Tekirdağ ilinde ikinci ailem olan OSMANPAŞA ailesine, yakın arkadaşım Gülah KULAKSIZ'a, tez çalışmalarımda yanımda olan ablam Seda OKUYUCU'ya ve Eda OKUYUCU USTA'ya teşekkür ederim.

Bu doktora tezini dedem merhum Erkem OKUYUCU, arkadaşım merhum Dr. Muhammed Hamit EKİNCİ ve 25.06.2024 tarihinde kaybettiğim babam Cafer OKUYUCU atfediyoum.

Berrin OKUYUCU

Ziraat Mühendisi

1. GİRİŞ

Türkiye’de 2022 verilere göre 17.023.791 büyükbaş ve 56.265.750 küçükbaş hayvan varlığı bulunmaktadır (Türkiye İstatistik Kurumu [TÜİK], 2023). Türkiye'deki büyükbaş hayvan birimi yaklaşık 24 milyondur ve bunların kuru madde (KM) ihtiyacı yaklaşık olarak 110 milyon ton/yıldır. Mera ve tarım alanlarından elde edilen toplam kaba yem üretimi 31 milyon ton KM olup (Günaydın, Akbay, Arıkan ve Kızıllı, 2023), ortaya çıkan kaba yem açığı 79 milyon ton KM’dir. Ülkemizde ciddi anlamda kaliteli kaba yem açığının olduğu bilinen bir gerçektir. Hayvanlarımızın besin madde ihtiyaçlarının karşılanabilmesi için kaliteli kaba yem açığımızın kapatılması öncelikli olarak hedeflenmelidir. Son yıllarda ineklerin süt verimindeki süregelen artış, genetik ilerlemenin yanı sıra iyileştirilen besleme koşulları ve yönetimden kaynaklanmaktadır. Günümüzde inekler, süt üretimi bakımından yüksek bir genetik potansiyele sahip olduğundan, enerji ve besin madde gereksinimlerini karşılamak için yüksek kaliteli kaba yemlere olan gereksinimi de artmaktadır. Ülkemizin sahip olduğu ekolojik yapısı, kaliteli kaba yem açığının kapanmasında faydalı olabilecek birçok yem bitkisinin yetiştirilmesine uygundur. Bu nedenle alınacak bilimsel, teknik, ekonomik ve sosyal tedbirlerle yem bitkileri ekiliş alanlarının artırılması sağlanarak kaliteli kaba yem sorununun çözülmesine çalışmak önem taşımaktadır (Er, 2018).

Büyükbaş hayvanların beslenmesinde kullanılan başlıca kaba yem mısır silajıdır (Sucu, Kalkan, Canpolat ve Filya, 2016). Kaba yem olarak mısır, yüksek enerji içeriği ve tüketim özellikleri nedeniyle tercih edilmektedir. Türkiye’de yetiştirilen silajlık mısır alanı son yıllarda önemli ölçüde artmıştır ve yerel iklim koşullarına bağlı olarak 250 ila 375 g kg⁻¹ taze ağırlık arasındaki kuru madde (KM) içeriklerinde hasat edilip silolanmaktadır. Ülkemizde 5.298.522 dekar ekim alanında, ortalama 28.558.983 ton silajlık mısır üretilirken, birim alandan ortalama 5.390 kg da⁻¹ verim alınmaktadır (TÜİK 2022). Ancak, Türkiye’nin her bölgesinde silajlık mısır başarılı bir şekilde yetiştirilememektedir. Dünyanın bazı ılıman bölgelerindeki sera etkisi ve sıcaklık artışları silajlık mısır bitkisinin gelişimini olumsuz etkileyerek verim ile KM kayıplarına neden olduğu bildirilmiştir (Giaveno ve Ferrero 2003). Bu nedenlerle mısır silajına alternatif olabilecek kaba yem arayışları özellikle son yıllarda daha da dikkat çekmeye başlamıştır.

Sorgum üretimi, sulama imkanı bulunmayan kurak ve yarı kurak bölgelerde esnek ekim süreleri, hızlı büyümeleri, yüksek verimleri, rotasyon sistemlerine uygunlukları ve yem değerinin yüksek olması nedeniyle hayvan yetiştiricileri arasında oldukça popülerdir (Cothren

vd., 2000; Dann vd., 2008; Hasan vd., 2017; McDonald vd., 1991). Sorgum ile mısır silajı arasında çok sayıda benzerlik vardır. Bunların bazıları; verim, lezzet, yüksek lif içeriği ve sindirilebilirlik, yüksek oranda hemiselüloz, rumen metabolizması ve sürünün süt verimliliği üzerinde olumlu etkilerinin olmasıdır. Sorgum (*Sorghum bicolor*) yüksek verimi ve kuraklığa dayanıklılığı nedeniyle ruminantlar için önemli bir yem kaynağıdır (Junior vd., 2015; Neves vd., 2015). İklim değişikliğine, marjinal topraklara uyum sağlama kabiliyeti, hastalık ve zararlılara daha dayanıklı olması gibi nedenlerle mısır bitkisine alternatif olarak hayvan beslemede kullanımı her yıl artmaktadır (Getachew vd., 2016; Gleadow vd., 2016). Ülkemizde yapılan sorgum silajlarında her yıl bir önceki yıla göre artış gözlenmektedir. Sorgum, mısıra göre kurağa karşı oldukça dayanıklı olup, besin maddelerince yetersiz ve tuzlu topraklarda da yetişebilmektedir. Bu özellikleri nedeniyle yarı kurak ve sulama imkanları kısıtlı bölgeler için çok önemli bir avantaj sağlamaktadır. Sorgum bitkisi sahip olduğu suyun büyük bir bölümünü gövdesinde biriktirir. Geç dönemlerde bile hasat edilse yine de yüksek bir su içeriğine sahiptir. Kalın sapı nedeniyle sorgum kurutularak kuru ot haline getirilemez ve silolama depolama için tek olanaktır. Özellikle son yıllarda dünya çapında çok önemli bir yem bitkisi olan sorgum, silaj yapımında yaygın olarak kullanılmaktadır (Cândido, Pimenta Filho ve Gonzaga Neto, 2014). Silajlık yemlik sorgum genellikle olgunluğun hamur aşamasında hasat edilir, ancak bu geç aşamada bile düşük KM ve yüksek SÇK içeriği ile ilişkilidir. Bu da aerobik koşullarda istenmeyen ikincil fermentasyona ve bozulmaya neden olabilir. Sorgum silajlarına LAB inokulantlarının ilavesinin fermentasyonu iyileştirdiği, ancak aerobik stabilitesini bozduğu bildirilmiştir (Meeske vd., 1993, Weinberg vd., 1993). Bunun nedeni, bu tür inokulantların aerobik koşullarda maya ve küfleri inhibe eden daha az uçucu yağ asidi (UYA) üretmesidir.

Silolama, su içeriği yüksek yem bitkilerinin saklanması yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. Laktik asit bakterilerinin (LAB) anaerobik koşullar altında suda çözünen karbonhidratları (SÇK) başta laktik asit (LA) olmak üzere asetik asit (AA) ve CO₂'e parçalayarak fermentasyonu hızlandırır ve ortamdaki pH'ın hızla düşmesine katkıda bulunur. Ayrıca LAB birçok aerobik bakterinin büyümesini engeller ve böylece yemin korunmasını sağlar. Silolanacak bitkisel materyallerin üzerindeki epifitik bakteriyel mikrofloranın bileşimi ve yoğunluğu LA üretimini başlatmak için yetersizdir. Bitki materyalleri üzerindeki doğal LAB populasyonları genellikle heterofermentatiftir ve genellikle <2-5 log koloni oluşturan birim (kob) arasında düşük sayılarda bulunurlar (Amaral vd., 2020; Ben-Dov vd., 2006; Carvalho vd., 2017; Fabiszewska vd., 2019.). İyi kalitede ve yüksek sindirilebilirlikte

silajların elde edilmesi için çeşitli katkı maddelerinin ilave edilmesi ile silolama sürecinin uyarılmasını gerektirir. Bakteri kültürleri son yıllarda silaj kalitesini iyileştirmek için silaj katkı maddesi olarak kullanılmaktadır. Uygun bir fermantasyon elde etmek, sindirilebilirliği artırmak ve bozulmalardan meydana gelebilecek kayıpları azaltmak amacıyla LAB içeren mikrobiyal katkı maddelerinin kullanımı büyük ilgi görmüştür (Dunière vd., 2013; McDonald vd., 1991). Lee vd. (2018), silolamadan hemen önce ilave edilen LAB'nin LA fermantasyonunu destekleyebileceğini ve elde edilen silajın yem kalitesini artırabileceğini belirtmiştir.

Silajla ilişkili LAB türleri genellikle *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc* ve *Enterococcus*, *Streptococcus* ve *Lactococcus* (Pahlow, Muck, Driehuis, Elferink ve Spoelstra, 2003) ailelerine aittir. Bu ürünler homofermentatif laktik asit bakterileri (^{HM}LAB) veya heterofermentatif laktik asit bakterileri (^{HT}LAB) suşlarını içermektedir (Muck, 2010). Homofermentatif LAB arasında en sık kullanılanlar *Enterococcus faecium*, *Pediococcus acidilactici*, *Pediococcus pentosaceus*, *Lactobacillus plantarum* ve *Lactobacillus acidophilus*'tur (Weinberg, Muck, Weimer, Chen ve Gamburg, 2004). Heterofermentatif LAB arasında en sık kullanılanlar *Lactobacillus buchneri* ve *Lactobacillus brevis* 'tir (Xu, He, Zhang ve Kong, 2017).

Homofermentatif LAB uygulaması genellikle SÇK'ları LA'e dönüştürerek pH'daki düşüş oranını hızlandırır (Blajman vd., 2018; Blajman vd., 2020; Contreras-Govea vd., 2011). Böylece etkili bir şekilde silaj fermantasyonu sağlayarak besin madde ve enerji kayıplarını en aza indirirken silajın korunmasını da iyileştirir (Weinberg, Ashbell, Hen ve Azrieli, 1993). Ayrıca, fermantasyonun başlangıcında enterobakteriler ve basiller gibi diğer mikroorganizmaların aktivitesini en aza indirmesi amaçlanmaktadır (Muck, 2010). Bununla birlikte ^{HM}LAB inokulantı uygulanmış silajlarda başlıca fermantasyon ürünü LA olup, maya ve küflerin gelişmesini engelleyen az miktarda AA üretilir (Filya vd., 2006; Wohlt, 1989). Bu durum silajlar açıldıktan sonra hava ile temasıyla birlikte LA'ı absorbe eden mikroorganizmalar için bir substrat görevi görebilir. Bozulmaya neden olan mikroorganizmalar silajda besin madde kayıpları ile hayvan sağlığı ve performansı üzerinde olumsuz etkilere neden olabilir (McDonald, Henderson ve Heron, 1991). Öte yandan, ^{HT}LAB türleri LA ve CO₂ yanı sıra eser miktarda etanol veya AA üretir (Borreani, Tabacco, Schmidt, Holmes ve Muck, 2018). Bu durum, gaz üretimiyle ilişkin olarak KM kayıplarına yol açmakta ve silajın besleme değerini düşürmektedir (Borreani vd., 2018; Ni vd., 2015). Bununla

birlikte, ^{HT}LAB inokulantları aerobik stabiliteyi artırmada değerlidir çünkü orta düzeyde AA üretimi, havaya maruz kaldığında bozulmayı başlatmaktan sorumlu olan maya ve küfleri engelleme potansiyeline sahiptir (Ferrero vd., 2019; Mucket vd., 2018,). Bu nedenle, ^{HT}LAB uygulamasından kaynaklanan az miktardaki KM kayıpları, aerobik stabilitedeki iyileşmeler ve yem çıkışındaki kayıpların azalmasıyla dengelenebilir (Borreani vd., 2018).

Her iki LAB türü de siloda doğrudan fermantasyona farklı yaklaşımlar benimsediğinden, bunların kombinasyonunun potansiyel avantajları ve tamamlayıcı etkileri olabilir (Zhang, Wang, Zeng, Hu ve Cui, 2009). Homofermentatif LAB ve ^{HT}LAB içeren çift amaçlı inokulantlar, tek başına bakteri türlerinden birini içeren inokulantların getirdiği kısıtlamaların üstesinden gelmek için geliştirilmiştir (Comino vd., 2014). Birçok araştırmacı LAB uygulamasının fermantasyon modelleri üzerindeki çeşitli faydalarının olacağını bildirmiş olsa da LAB uygulamasının silajın korunması üzerindeki etkilerindeki değişkenliğin kapsamı ve inokulantlar ile diğer ortak değişkenler (örneğin, LAB türleri, LAB uygulama oranı, enzimlerin birlikte kullanımı, çalışma süresi ve silo büyüklüğü) arasındaki etkileşimlerin etkisi hakkında hala cevaplanmamış sorular ve zorluklar bulunmaktadır. Bazı çalışmalar, LAB uygulamasıyla silajların fermantasyon özelliklerinin iyileştiğini (Li vd., 2018; Liu vd., 2016, Zielińska vd., 2015), ancak diğer çalışmalarda LAB'nin amonyak azotu (NH₃-N) üretimini her zaman azaltmadığını (Kozelov, Iliev, Hristov, Zaman ve McAllister, 2008), ham protein (HP) içeriğini koruyamadığını (Chilson, Rezamand, Drewnoski, Price ve Hunt, 2016), yem kalitesini iyileştiremediğini (Rabelo, Lara, Basso, Härter ve Reis, 2018) ve istenmeyen mikroorganizmaları engelleyemediğini (Twarużek vd., 2016) göstermiştir. Laktik asit bakterileri ilavesine verilen yanıtlardaki anlaşmazlıklar çok faktörlüdür ve muhtemelen hasat zamanı, hasat koşulları, su içeriği, silaj yoğunluğu, LAB türleri ve uygulama oranı, epifitik LAB popülasyonu, SÇK içeriği, bitki KM yoğunluğu, silolama süresi, inokulant suşların etkinliği ve inokulanttaki mikrobiyal türler ile yemdeki kimyasal bileşenler arasındaki etkileşimler gibi temel faktörlere bağlanabilir (Özdüven ve Çelebicam 2017; Santos ve Kung 2016).

Son zamanlarda, silaj katkı maddesi olarak bazı LAB türlerinin ayrıntılı olarak belgelenmesi, farklı fermentasyon özelliklerine sahip LAB'nin silaj kalitesi üzerinde çeşitli etkilerinin olduğunu göstermektedir. 16S rRNA geni tarafından tahmin edilen fonksiyonel analizlerle birleştirilen yüksek verimli dizileme teknolojisi, silolama sırasında bakteri topluluğundaki değişiklikleri ve bunların metabolik yollarını tanımlamak için birçok

araştırmada yaygın olarak kullanılmaktadır. Silolama sırasında mikrobiyal topluluklardaki değişiklikleri izlemek, silolama sürecini iyice anlamak ve geliştirmek için yardımcı olacaktır (Xu vd., 2017). İlk dönmelerde sadece mikrobiyolojik analizlerle belirlenmeye çalışılan mikroorganizmalar bugün genetik ve biyoteknoloji alanındaki gelişmeler ile çok daha ileri seviyelere taşınmıştır. Bugünkü aşamada filogenetik sınıflama ile türleri tanımlamak hiç şüphesiz fermentasyon kontrol etme açısından etkili olan silaj katkı maddeleri ile ilgili yeni yaklaşımların önünü açacaktır. Bu çalışma ile sorgumun silolanması sırasında fermentatif profilleri, mikrobiyal popülasyonları, bakteri topluluk yapısını ve bunların 16S rRNA geni tarafından tahmin edilen metabolik özellikleri değerlendirilebilecektir. Bu çalışma ile bazı sorgum çeşitlerinde fermentasyon özellikleri, aerobik stabilitesi, yem değeri, tanen ve fenol bileşikleri ile silaj bakterilerinin genetik karakterizasyonu üzerinde ^{HM}LAB ve ^{HT}LAB inokulantlarının tek başına veya bir arada kullanılması ile hangisinin en iyi sonuç verdiği çalışma sonunda önerilebilecektir.

1.1 Literatür Özeti

Birçok süt ve besi sığırcılığı işletmesi, büyükbaş hayvan rasyonları için kaba yem kaynağı olarak genellikle silaj kullanmaktadır. Silolama, çiftlik hayvanları beslenmesinde kullanılan yüksek su içeren yem bitkilerinin saklanması uzun bir geçmişe sahip etkili bir yöntemdir (Duniere vd., 2013; Romero vd., 2015). Mısır (*Zea mays* L) silajının sindirilebilirliği ve besleme değerinin yüksek olması nedeniyle ruminantların beslenmesinde en yaygın kullanılan kaba yem kaynağıdır (Bean ve Mersalis 2012; Blajman vd., 2018; Li ve Nishino 2011). Bununla birlikte, sorgumun (*Sorghum bicolor* L) besin madde kompozisyonu ve besleme değerinin değişken olması, mısırdan daha az tercih edilmesine neden olmuştur (Hibberd vd., 1982). Sorgum bitkisi, mısır bitkisine göre kuraklığa daha dayanıklı olması, suya daha az ihtiyaç duyması, tuzlu ve besin maddeleri bakımından yetersiz topraklarda yetişebilmesi nedeniyle son yıllarda yeniden ilgi görmeye başlamıştır (Filya 2005, Howell vd., 2008, Marsalis vd., 2009). Hibrit seçimi, hasat olgunluğu ve silolama gibi önemli yönetsel kararlar sorgumun besleme değerinin iyileştirilmesi üzerinde etkili olan faktörlerdir. Mısırdan yapılan çok sayıda çalışmada sindirilebilirliğin silolamaya, mekanik işlemeye ve olgunluk aşamasına göre değiştiği gösterilmiştir (Ebling ve Kung 2004; Der Bedrosian vd., 2012; Johnson vd., 2002; Philippeau ve Michalet-Doreau, 1998). Ancak, bu değişkenlerin sorgum sindirilebilirliği üzerindeki birleşik etkilerini değerlendiren çok az

Çalışma bulunmaktadır. Sorgum silajının kullanımına yönelik ilgi arttıķa, besleme değerini potansiyel olarak arttırabilecek yöntemlerin daha iyi anlaşılmasına ihtiyaç bulunmaktadır.

1.1.1 Sorgum Bitkisinin Genel zellikleri

Sorgum (*Sorghum bicolor* L.), yarı kurak iklimlerden ılıman iklimlere kadar dünya çapında yetiştirilen tek yıllık sıcak mevsim tropikal C4 bitkisidir (Köppen, Reinhardt ve Grtner, 2009). Özellikle Afrika ve Asya'da yüzyıllardır yetiştirilmektedir (Borrell ve Hammer, 2000). Dünyada retim ve ekim alanı bakımından buğday, eltik, mısır ve arpadan sonra beşinci sırada yer alan tahıl bitkisidir (Getachew vd., 2016; Lenka vd., 2020). Farklı ortamlara adaptasyonu nedeniyle dünyanın birçok bölgesinde hayvancılık sistemlerinde kullanılan önemli bir yem bitkisidir (Amelework vd., 2015; Fonseca vd., 2012; Sanchez vd., 2002). Kurak ve yarı kurak bölgelerde sorgum, yüksek KM verimi sağlayan, su stresine karşı morfofizyolojik adaptasyonları ve yağışın düzensiz dağıldığı alanlara uyum sağlaması nedeniyle önemli bir kaba yem kaynağıdır (zge vd., 2020; Rakshit vd., 2016; Su-jiang vd., 2016). Sorgumlar genel olarak kaba yem ve danelik olarak iki geniş tre ayrılır. Yem sorgumları ise; hibrit yem sorgumu, sudan otu, sorgum x sudan otu melezleri ve tatlı sorgum şeklinde dört tre ayrılır (Getachew, Putnam, De Ben ve De Peters, 2016). Zheng vd. (2023) ise sorgumları; tane sorgum, enerji sorgum ve silajlık sorgum olarak sınıflandırmaktadır.

Tipik bir C4 fotosentetik karbon asimilasyon yoluna sahip kısa gün bitkisi olan sorgum, fotosentez olarak en verimli ve hızlı olgunlaşan ürünler arasında yer almaktadır (Council, 1996). Mısır ve yemlik sorgum aynı fotosentez yola (C4) sahip olsa da, yaprak, gövde ile başakların doku yapısı ve dağılımındaki farklılıklar besleme değerleri üzerinde etkili olmaktadır (Contreras-Govea, Marsalis, Lauriault ve Bean, 2010). Schmid vd. (1976) silajlık mısır ve yemlik sorgumun besleyici değerini karşılaştırdıkları çalışmalarında, 11 mısır ve 14 silajlık sorgum çeşidinden alınan örnekleri yaprak, gövde ve başak olarak ayrılmışlardır. Mısırın yaprak ve başak oranı sorguma göre daha fazla, gövde oranının ise daha az olduğunu belirlemişlerdir. Sorgum bitkileri genellikle mısıra kıyasla daha yüksek lignin içeriğine sahip olması nedeniyle mısıra göre sindirilebilirliği daha düşük bir yemle sonuçlanmaktadır (Yang vd. 2019). Abdelhadi ve Santini (2006), sorgum silajı için *in vitro* KM sindirilebilirliğinin (%52) mısır silajına (%65) göre önemli derecede düşük olduğu bildirilmiştir. Ayrıca, sığırılarda mısır silajına dayalı bir rasyonun (%71) *in vivo* KM sindirilebilirliğinin de sorgum silajına dayalı bir rasyondan (%65) daha yüksek olduğunu belirlemişlerdir. Yeni kimyasal ve genetik yaklaşımlardaki ilerlemeler, Kahverengi orta damar (BMR) adı verilen yeni sorgum

çeşitlerinin geliştirilmesine yol açmıştır. Bu çeşitler daha düşük lignin ve lif (NDF) içeriğine sahiptir. Bu da hayvanlar tarafından sorgum tüketimini ve sindirimini iyileştirmektedir (Pino ve Heinrichs, 2017). Holman vd. (2019) tarafından yapılan bir çalışmada, BMR sorgum çeşitlerinin daha düşük su ihtiyacının yanı sıra mısırla benzer yem değerlerine sahip olarak geliştirildikleri ileri sürülmüştür. BMR olmayan sorgumum daha yüksek ADF içermesi nedeniyle sindirilebilirliğin mısıra göre daha düşük olmasıyla ilişkili olabilir. Gövde sert bir yapıya sahiptir ve dokunun büyük bir kısmı lignifiye olup sindirilebilir değildir (Akin 1989). Farklı bir çalışmada Cummins (1981) dört yemlik sorgumu dört olgunluk aşamasında karşılaştırmış ve yaprak, gövde ve baş oranını ve her bir bileşenin besleyici değerini ayırmıştır. Schmid'in çalışmasına benzer şekilde, sap tüm olgunluk aşamalarında daha büyük orandaydı. Cummins (1981) bitki bileşenleri arasında besin değerini karşılaştırmamış olsa da, ADF oranı gövde de yapraktan daha yüksek olmasına rağmen, dört olgunluk aşamasının üçünde gövdenin sindirilebilirliğinin yapraktan daha yüksek ve başın sindirilebilirliğine benzer sonuçların olduğunu belirlemiştir.

Birçok silajlık sorgum, geleneksel dane sorgumlarına kıyasla daha az tahıl içerirler. Ancak, silajlık sorgumlar tipik olarak daha fazla yaprak üretir ve boyları daha uzundur. Silajlık sorgumlar taşıdıkları veya taşımadıkları genotipik özelliklere göre sınıflandırılmaktadırlar. Sorgum hibritlerini genetik olarak farklılaştıran özellikler BMR, BMR olmayan, fotoperiyoda duyarlı ve duyarlı olmayan şeklindedir (Bean vd. 2013). Besin maddelerinin sindirilebilirliğini ve kullanılabilirliğini artırmada en büyük etkinin geliştirilmiş sorgum hibritleri olduğu görülmektedir (Oliver vd. 2005). Hücre duvarı sindirilebilirliği öncelikle lignine veya lignin ile hücre duvarı karbonhidratları arasındaki çapraz bağlanma derecesine bağlıdır (Oliver vd. 2005). Lif sindirilebilirliğinin artırılması istendiğinde lignin içeriği daha düşük olan BMR yem sorgumu hibritleri kullanılır; örneğin ruminantlara silaj yedirirken olduğu gibi. BMR silajlık sorgumlar genellikle daha düşük lignin içeriğine sahip olduğundan, sorgum bitkisinin gövdesi bükülmeye, kırılmaya veya yatmaya eğilimlidir (Bean ve Marsalis 2012).

Birçok yem üreticisi silajlık sorgumları yüksek verim ve yatmaya karşı dayanıklılıkları bakımından seçmektedir; ancak sindirilebilirlik ve besin maddesi bileşimi büyükbaş hayvan işletmeleri için öncelikli konulardır (Bean vd. 2009). Silajlık sorgum çeşitleri arasında verim ve sindirilebilirlik açısından belirgin farklılıklar McCollum, McCuiston, ve Bean (2012) tarafından gösterilmiştir. McCollum vd. (2012) beş üretim yılı boyunca sorgum çeşit deneme

parsellerinden topladıkları verileri özetlemişlerdir. Genel olarak, BMR ve BMR olmayan çeşitlere göre PS çeşitleri daha yüksek verim elde etme eğiliminde olduğu görülmüştür. *In vitro* toplam sindirilebilirliklerinin (TS) 48 saatlik rumen sıvısı inkübasyonu kullanılarak elde edilen geniş ortalamaları, BMR grubunun BMR olmayan çeşitlerden %5,3 daha fazla sindirilebildiğini; ancak BMR olmayan çeşitler için *in vitro* TS'nin PS çeşitlerinden %10,1 daha fazla olduğunu göstermiştir (McCollum vd., 2012). Bununla birlikte, McCollum vd. (2012) BMR, BRM olmayan ve PS çeşitleri arasında benzer verim ve *in vitro* TS'nin gözlemlendiği durumların olduğu sonucuna varmıştır. Araştırmacılar kararların genotip tanımlamasına değil, belirli bir hibrite dayandırılmasını tavsiye etmiştir.

Sorgum silajı, ruminantlar için alternatif bir kaba yem kaynağıdır (Harper vd., 2017). Yem sorgumlarından elde edilen silajlar, süt sığırları rasyonlarında mısır silajlarının yerini alma potansiyeline sahip olabilirler (Cattani vd., 2017). Sorgum bitkisi yüksek SÇK içeriği (Sankarapandian vd., 2013), düşük tamponlama kapasitesi ve yüksek besleme değeri (Lema vd., 2001; Kumar vd., 2015) nedeniyle silaj üretimi için uygundur (Brocke vd., 2014) ve bunların hepsi yeterli LA fermentasyonu gelişimini sağlayabilir (Santos vd., 2013).

1.1.2 Silaj ve Silaj Yapım Prensipleri

Silaj, yüksek su içeriğine sahip kaba yemlerin kontrollü bir şekilde fermentasyonu yoluyla üretilen yem materyalidir. Yapılan bu işleme silolama, yapıldığı yer de silo olarak adlandırılır (Filya 2005; McDonald 1981). Silolama süreci, başta LAB olmak üzere epifitik mikrofloranın SÇK'ı organik asitlere (özellikle LA) dönüştürmesi sonucunda başlatılır (Filya 2003). Başarılı bir fermentasyon, LA üretimini uyaran ve silaj pH'sını hızlı bir şekilde düşüren anaerobik koşullara bağlıdır. Bu da aerobik mikroorganizmaları ve doğal olarak oluşan bitki proteolitik enzimlerini inaktive eder (Muck ve Pitt, 1994).

1.1.3 Silaj Fermentasyonu

Yem materyalinin siloya doldurulmasıyla birlikte bitkilerde önce aerobik fermentasyon, silonun kapatılmasından sonra ise asıl fermentasyon dönemi başlar (Filya 2005). Silaj fermentasyonu genellikle aerobik, fermentasyon, stabil ve yemleme olmak üzere dört döneme ayrılır (Barnhart 2008, Wilkinson ve Davies 2012, Wilkinson ve Davies, 2013).

1.1.3.1 Aerobik Dönem

Aerobik dönem tarlada ve siloda geçen süre olmak üzere iki bölüme ayrılabilir (Rooke ve Hatfield, 2003). Silo içinde korunan ürünün miktarı ve kalitesi, bitki, hasat süreci, çevresel faktörler ve silo yönetim tekniklerinin bir bileşiminden etkilenir (Muck, Moser ve Pitt, 2003). Bu nedenle gerek tarlada gerekse silodaki aerobik koşullar eşit öneme sahiptir. Aktif fermentasyon dönemi başlamadan önce silajlık materyalin içerisinde sıkışmış oksijen (O_2) bulunmaktadır. Ayrıca silolanan materyalin pH'sı da 6,00 ile 6,50 arasındadır. Aerobik dönemde silo içerisindeki O_2 ve yüksek pH, solunum ve proteolitik aktivitenin (proteinlerin parçalanması) aynı anda başlamasına ve devam etmesine neden olur. Solunum ve proteinlerin parçalanması olayı, besin maddelerini ve enerjiyi tüketen biyolojik ve kimyasal süreçlere izin vererek su, karbondioksit (CO_2) ve amonyak (NH_3) üretimine yol açar (Filya 2005; McAllister ve Hristov, 2000; Muck 1988).

Bu durumda silo içerisindeki sıcaklık artar ve silajın hem KM hem de besin madde kayıplarına neden olur (Borreani vd., 2017; Holmes 2006). Silaj sıcaklığın 45-50 °C gibi aşırı düzeyde yükselmesi silo içerisinde aşırı miktarda oksijen sıkışmasının bir işaretidir (Kung, Shaver, Grant ve Schmidt, 2018). Silonun mümkün olduğunca çabuk doldurulmasına, sıkıştırılmasına ve kapatılmasına özen gösterilmelidir.

1.1.3.2 Fermentasyon Dönemi

Bu aşamada siloda anaerobik koşullar oluşur ve fermentasyon sürecini anaerobik mikroflora kontrol eder. Silolamada LAB'nin florası, mevcut bitki besin maddelerini, yani SÇK'ları organik asitlere dönüştürerek silolanan ürünün pH'sını azaltmada önemli bir rol oynar. Silaj fermentasyonunun ana ürünü LA'tır ve bu da fermentasyonun erken aşamalarında LAB'nin, mevcut SÇK için rekabet eden enterobakteriler, maya, basiller ve *Clostridia* gibi çeşitli diğer fakültatif ve zorunlu anaerobik mikroorganizmalara karşı üstünlük sağlamasına yardımcı olur (Knický, 2005; Pahlow vd., 2003). Laktik asit etkisinin temelinde mikroorganizmaların asitliğe karşı farklı direnç seviyeleri yatmaktadır. Laktik asit bakteri florası genel olarak asitliğe karşı en yüksek toleransa sahiptir ve bu nedenle en düşük pH'a bile direnç gösterebilir. Silolama süreci ilerledikçe, LAB popülasyonu artan miktarlarda LA üreterek çoğalır ve böylece silaj kütlelerinin geri kalan mikroflorasına da hakim olur. Bu süreç, pH değerinin LAB'nin çoğalmasını engelleyecek seviyeye kadar azalmasıyla sona erer. Fermentasyon işlemi sırasında organik asitlerin yanı sıra gazlar ve atık maddeler de üretilir

(Knický, 2005). Bu dönem yaklaşık 1 hafta sürer. Ancak bitkinin özelliklerine ve silolama koşullarına bağlı olarak 1 aydan fazla sürebilir (Pahlow vd., 2003).

1.1.3.3 *Stabil Dönemi*

Fermantasyon dönemi sonrasında, silonun iyi bir şekilde kapalı kalması ve dışarıdan hava girmemesi koşuluyla oldukça az olayın gerçekleştiği stabil döneme geçer. Sadece aside toleranslı enzimler aktif olmaya devam ederek yapısal ve depo karbonhidratların asit ortamında yavaşça hidrolize olmasına neden olur. Bu durum, uzun silolama süreleri boyunca SÇK'nın azalmasını önleyen önemli ve sürekli bir kaynak sağlar. Ayrıca proteazlar, kompleks N bileşiklerinin NH_3 'e dönüşmesine yol açabilir. Laktik asit bakteri popülasyonu, düşük pH ve fermantasyon ürünlerinden kaynaklanan engelleyici faktörler nedeniyle bir azalmaya uğrar. Aside toleransı yüksek birkaç maya türü neredeyse inaktif bir durumda hayatta kalırken, basilli ve *Clostridia* gibi mikroorganizmalar spor oluştururlar (Pahlow vd., 2003). Stabil dönemde bazı proteazlar, karbohidrazlar ve *Lactobacillus buchneri* (LB) gibi mikroorganizmalar düşük pH değerlerinde de faaliyetlerine devam edebilmektedirler (Keleş, 2009). Yeterli SÇK içeriğine sahip silajlarda bu stabil dönem teorik olarak herhangi bir uzunlukta olabilir. Ancak pratikte genellikle bir sonraki hasat sezonundan daha uzun sürmemektedir (Pahlow vd., 2003).

1.1.3.4 *Yemleme Dönemi*

Yemleme dönemi boyunca O_2 , istenmeyen mikroorganizmaların çoğalmasını sağlayacak miktarda silo yüzeyine ve yüzeyin yaklaşık 1 m gerisindeki silaja serbestçe erişebilmektedir (Honig, 1991). Bunlar arasında özellikle aerobik stabilitenin başlamasından en çok sorumlu olan mayalar ve bazı küflerin sporları ile AA bakterileri yer alır. Bu bakteriler çoğunlukla mısır ve tahıl silajlarında görülür. Bu mikroorganizmalar havanın varlığıyla çoğalmaya başlar. Sonuç olarak LA'nın azalmasına, buna bağlı olarak pH'nın yükselmesine, besin değerinde önemli bir düşüşe neden olarak silajın ısınmasına ve önemli kimyasal değişikliklere sebep olur. Silajın etkilenen alanında bir gün içinde meydana gelen bu kayıpların büyüklüğü ($30\text{-}50 \text{ g KM kg}^{-1}$), hava geçirmeyecek şekilde kapatılmış bir siloda birkaç aylık silolama sırasında meydana gelebilecek kayıpla aynı düzeye ulaşabilir (Honig ve Woolford, 1980).

1.1.4 Silaj Fermantasyonunun Son Ürünleri

Fermantasyonun son ürünleri, silolama işlemi sırasında baskın olan mikroorganizmaların türünü yansıtır ve silajın kalitesini değerlendirmek için kullanılabilir. Laktik asit, ^{HM}LAB tarafından gerçekleştirilen fermantasyonun bir göstergesidir. Laktik asit ve AA oluşumu ^{HT}LAB baskınlığını gösterirken, BA ve NH₃-N oluşumu ise istenmeyen *Clostridia* aktiviteyi yansıtmaktadır (McDonald vd., 1991). Amonyak N ayrıca bitki enzimlerinin ve enterobakterilerin etkisinden de kaynaklanabilir (McDonald vd., 1991). Silaj mikroorganizmaları SÇK'ları çoğunlukla organik asitlere ve bir miktar alkole katabolize eder. Farklı bakteri türleri tarafından farklı şekerlerin olası fermantasyon son ürünleri Şekil 1.1 'de gösterilmiştir.

Laktik Asit Bakterileri:	
<i>Homofermantatif:</i>	<i>Heterofermantatif:</i>
Glukoz → 2LA	Glukoz → LA + Etanol + CO ₂
Fruktoz → 2LA	3 Fruktoz → LA + 2 Mannitol + Aa + CO ₂
Pentoz → 2LA	Pentoz → LA + Aa
Clostridialar:	
<i>Sakkarolitik:</i>	
2 LA → BA + 2CO ₂ + 2H ₂	
<i>Proteolitik:</i>	
<i>Deamimasyon:</i>	
Glutamik A. → Aa + pürivik A. + NH ₃	
Lisin → Aa + BA + 2NH ₃	
<i>Dekarboksilasyon:</i>	
Arjinin → Putresin + CO ₂	
Glutamik A. → γ-Aminobütirik A. + CO ₂	
Histidin → Histamin + CO ₂	
Lisin → Kadeverin + CO ₂	
<i>Oksidasyon/Redüksiyon:</i>	
Alanin + 2 Glisin → 3 Aa + 3NH ₃ + CO ₂	
Enterobacteria:	
Glukoz → Aa + etanol + 2CO ₂ + 2H ₂	

Şekil 1.1. Fermantasyon son ürünleri (McDonald vd., 2002)

1.1.5 Silaj Mikroflorası

Silaj mikroflorası, fermantasyon sürecinin başarılı bir şekilde sonuçlanmasında kilit bir rol oynar. Flora temel olarak istenen ve istenmeyen mikroorganizmalar olmak üzere iki gruba ayrılabilir. Arzu edilen mikroorganizmalar LAB'dir. İstenmeyenler ise anaerobik (*Clostridia* ve enterobakteriler) veya aerobik bozulmaya (mayalar, basiller, listeria ve küfler) neden olabilen organizmalardır. Bozulmaya neden olan bu organizmalarının çoğu sadece silajın yem değerini düşürmekle kalmaz, aynı zamanda hayvan sağlığı ve/veya süt kalitesi üzerinde de olumsuz bir etkiye sahiptirler (Filya, 2005).

1.1.5.1 Laktik asit bakterileri (LAB)

Laktik asit bakterileri, glikoz, laktoz, fruktoz, galaktoz, maltoz, mannoz ve sellobiyoz gibi karbon kaynaklarını genellikle LA'e piruvat metabolik yolu ile fermente edebilen mikroorganizmalardır (Kleerebezem vd., 2000). Cins ve türlere göre değişmekle birlikte LAB'i genel olarak kok, düzgün çubuk ve düzensiz çubuk olmak üzere üç farklı şekilde görünmektedir. Gram-pozitif, fakültatif anaerob, bir iki ayrıcalık gösteren üye dışında hareketsiz, katalaz enzim sistemi içermemeleri, spor oluşturmamaları genel özelliklerindendir. Farklı cinsleri olan LAB'nin sınıflandırılması; morfoloji (kok, çubuk veya tetrad formasyon), glikoz fermentasyonu (homo-ve hetero-fermantasyon), farklı sıcaklıklarda gelişme (10–60 °C), LA üretiminin konfigürasyonu, yüksek tuz konsantrasyonlarında gelişme yeteneği ve asit veya alkali toleransı temellerine dayanır. Laktik asit bakterileri anaerobiktir, ancak O₂ varlığında da üreyip gelişebildiklerinden aerotolerant anaerob olarak adlandırılırlar. Porfirin ve sitokrom bakımından yoksun olmaları nedeni ile elektron taşımaya bağlı fosforilasyon yapamayan LAB, yalnızca substrat düzeyinde fosforilasyon yaparak ihtiyacı olan enerjiyi elde ederler (Klein vd., 1998; Pot vd., 1994; Wood ve Holzapfel, 1995).

Silajdaki LAB başlıca anaerobik bakteriler olup *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus* ve *Leuconostoc* bakterilerini kapsamaktadır (Pahlow vd., 2003). Laktik asit bakterileri bitki materyalinin epifitik mikroflorasında bulunur. Genellikle LAB popülasyonu hasat ve silolama işlemleri sırasında önemli oranda artar. Bu durum muhtemelen hasat makineleri tarafından inokülasyon veya doğal popülasyonun çoğalmasıyla değil, hareketsiz ve kültüre edilemeyen hücrelerin yeniden canlanmasıyla gerçekleşir (McDonald vd., 1991; Woolford, 1984). Silaj LAB'nin çoğunluğu mezofilik bakterilerdir, yani optimum 25-40 °C arasında olmak üzere 5-50 °C arasındaki sıcaklıklarda çoğalabilirler. Yem bitkisinin türüne ve çeşidine bağlı olarak silaj pH'sını 4,0-5,0'e kadar azaltabilirler. Tüm LAB fakültatif aeroblardır, ancak bazıları anaerobik koşulları tercih eder (Devriese vd., 1992; Hammes vd., 1992; Holzapfel ve Schillinger 1992; Teuber vd., 1992; Weiss 1992;). Hepsi şekerleri fermente ederek ana ürün olarak LA üretir, ancak özellikle AA, etanol ve CO₂ gibi diğer ürünler de yaygındır (Muck, 2010).

Laktik asit bakterileri şekerleri fermente etme ürünlerine göre zorunlu homofermenter, fakültatif heterofermenter veya zorunlu heterofermenter olarak gruplandırılırlar. Zorunlu homofermenterler glikoz gibi heksozlardan (C-6 şekerleri) %85'ten fazla LA üretir, ancak ksiloz gibi pentozları (C-5 şekerleri) parçalayamazlar. Homofermenterler bir mol glikozdan 2

mol LA üretirler. Fakültatif heterofermenterler de çoğunlukla heksozlardan LA üretirler, ancak buna ilaveten bazı pentozları LA ile AA ve/veya etanole dönüştürürler. Zorunlu heterofermenterler hem heksozları hem de pentozları dönüştürür. Ancak homofermenterlerin aksine heksozları eşit miktarda LA, CO₂ ve AA ve/veya etanole dönüştürürler (Hammes vd., 1992; Schleifer ve Ludwig 1995). Heterofermenterler glikozdan bir mol LA, bir mol CO₂ ve bir mol etanol ya da bir mol AA üretirler (Muck, 2010). Heksozlardan LA üretiminde ^{HM}LAB'i ^{HT}LAB'den daha etkindirler (McDonald vd., 2002). Bu nedenlerle silolamada sadece şekerleri fermente eden ve fermantasyonlarının son ürünü LA olan ^{HM}LAB tercih edilmektedir. Laktik asit AA'ten daha güçlü bir asit olmasıyla birlikte, KM ve enerji kayıpları AA ve etanol üretimine göre daha az olmaktadır (Muck, 1996). Zorunlu homofermenterler *Pediococcus damnosus* ve *Lactobacillus ruminis* gibi türlerdir. Fakültatif heterofermenterler ise *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus pentosus*, *Pediococcus acidilactici*, *Pediococcus pentosaceus* ve *Enterococcus faecium*'dur. Zorunlu heterofermenterlere *Leuconostoc* cinsi üyeleri ve *Lactobacillus brevis* ve *Lactobacillus buchneri* gibi bazı *Lactobacillus* türleri dahildir (Devriese vd., 1992; Hammes vd., 1992; Holzapfel ve Schillinger 1992; Weiss, 1992).

1.1.5.2 Mayalar

Mayalar ökaryotik, fakültatif anaerobik, heterotrofik mikroorganizmalardır. Silajlarda aerobik maya aktivitesinin yanı sıra anaerobik maya aktivitesi de istenmeyen bir durum olarak kabul edilir. Anaerobik silaj koşulları altında mayalar şekerleri etanol ve CO₂'e fermente eder (McDonald vd., 1991). Silajdaki bu etanol üretimi sadece LA fermantasyonu için mevcut şeker içeriklerini azaltmakla kalmaz, aynı zamanda süt tadı üzerinde de olumsuz bir etkiye sahip olabilir (Randby vd. 1998). Aerobik koşullar altında birçok maya türü LA'ı CO₂ ve H₂O'ya fermente ederek silaj pH'sının yükselmesine neden olurlar (McDonald vd., 1991). Maya popülasyonu silolamanın ilk haftalarında 7,00 log₁₀ koloni oluşturan birime (kob) g⁻¹ KM'ye kadar ulaşabilir. Uzun süreli silolamada maya popülasyonu kademeli bir azalma söz konusu olabilir (Driehuis ve Van Wikselaar 1996; Jonsson ve Pahlow 1984; Middelhoven ve Van Balen 1988). Silolama sırasında mayaların varlığını sürdürmesini etkileyen faktörler ise O₂'siz koşullar ve organik asit yoğunluğudur. Oksijenin varlığı silolama sırasında mayaların yaşamını sürdürmesini ve çoğalmalarını arttırırken (Donald vd., 1995; Jonsson ve Pahlow 1984), yüksek formik veya AA seviyeleri mayaların canlılığını sürdürmesini azaltmaktadır (Driehuis ve Van Wikselaar 1996; Oude Elferink vd., 1999).

Silaj havaya maruz kaldığında, siloda veya yemlikte besleme sırasında aerobik mikroorganizmalar aktif hale gelebilir. Mayaların silajın aerobik bozulmasını başlatmada önemli bir rol oynadığı genel olarak kabul edilmektedir (Jonsson ve Pahlow, 1984). Aerobik koşullar altında, mayalar şekerleri ve LA'ı parçalayarak CO₂, H₂O ve ısı üretimine yol açabilir ve böylece silajın bozulmasına (Woolford, 1990) ve önemli besin maddesi bileşenlerinin kaybına neden olabilirler (Kung vd., 1998). Laktik asidin mayalar tarafından parçalanması, silaj pH'sının basillerin ve küflerin (örneğin *Aspergillus*, *Fusarium* ve *Penicillium*) çoğalmasına ve silaj kalitesinin daha da düşürmesine izin verecek bir seviyeye ulaşmasına neden olurlar (McDonald vd., 1991). Silajların aerobik bozulmasıyla ilişkili maya popülasyonu iki fizyolojik gruba ayrılabilir. İlk grup, şekerleri fermente etme kabiliyeti yüksek ancak LA'ı asimile etme kabiliyeti değişken olan mayalardan oluşur. Bu organizmalar *Saccharomyces cerevisiae* ve *Torulopsis* türlerini içerir. İkinci grup ise LA için yüksek bir solunum afinitesine sahip mayalardan oluşur. Bu organizmalar *Candida*, *Issatchenkia*, *Pichia*, *Hansenula* ve *Endomycopsis* türlerini içerir (Jonsson ve Pahlow, 1984; McDonald vd., 1991; Moon ve Ely, 1979). Pahlow vd. (2003) *Candida* ve *Hansenula* (*Pichia*) cinsi mayaların LA'ı asimile etme yetenekleri ve glikoza olan güçlü ilgileri nedeniyle silaj bozulmasının aerobik aşamasında özellikle üretken olduklarını bildirmişlerdir. Jonsson ve Pahlow (1984), silolanan bitkinin, silaj katkı maddelerinin ve O₂ varlığının silajdaki maya florasını etkileyebileceğini bildirmektedir.

1.1.5.3 Enterobakteriler

Enterobakteriler fakültatif olarak anaerobiktir. Çoğu silaj enterobakterilerinin patojenik olmadığı kabul edilir. Bununla birlikte, silajda enterobakteriler istenmeyen mikroorganizmalardır. Çünkü mevcut şekerler için LAB ile rekabet ederler ve ayrıca proteinleri de parçalayabilirler. Bu protein parçalanması sadece besleme değerini de azaltırken, aynı zamanda biyogenik aminler ve dallanmış yağ asitleri gibi toksik bileşiklerin üretimine de yol açar. Biyogenik aminlerin silajın lezzeti üzerinde olumsuz bir etkisi olduğu bilinmektedir (McDonald vd., 1991; van Os ve Dulphy 1996; Woolford 1984). Bununla birlikte, proteoliz yoluyla oluşan NH₃-N silolanan ürünün tampon kapasitesini artırır. Böylelikle silajın pH'sının hızlı bir şekilde düşmesine engel olur. Enterobakteriler düşük pH'da çoğalamamaktadırlar. Bu nedenle silaj pH'sında hızlı ve yeterli bir düşüşe neden olan silolama yöntemleri enterobakteriyel büyümeyi azaltmaya yardımcı olacaktır (McDonald vd., 1991).

1.1.5.4 *Clostridia*

Bitkilerde *Clostridia* doğal olarak bulunmakla birlikte, silajlarda görülme nedenlerinin başında silaj materyalinin toprakla kirlenmesi gelmektedir (Keleş, 2010). *Clostridia*'lar endospor oluşturan anaerobik bakteriler olup sakkarolitik ve proteolitik *clostridia*'lar olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Sakkarolitik olanlar SÇK ve LA'yı bütirik aside (BA) fermente ederek silaj pH'sının artmasına sebep olurlar. Söz konusu etki, BA'nın LA'ya göre daha zayıf bir asit olmasından kaynaklanmaktadır. Proteolitik olanlar ise başta amino asitler olmak üzere farklı bileşikler AA, BA, amin ve NH₃ gibi farklı ürünlere dönüştürürler. Böylelikle enterobakteriler gibi yem değerinde azalma ve biyogenik amin üretimi gibi sorunlara neden olurlar (McDonald, 1981).

1.1.5.5 *Asetik asit bakterileri*

Asetik asit bakterileri zorunlu aerobik, aside toleranslı bakterilerdir. Şimdiye kadar silajdan izole edilen tüm AA bakterileri *Acetobacter* cinsine aittir (Spoelstra vd., 1988). *Acetobacter* ssp. türlerinin silajdaki aktivitesi istenmeyen bir durumdur. Çünkü LA ve AA'ı CO₂ ve H₂O'ya oksitleyebildikleri için aerobik bozulmayı başlatabilirler. Genel olarak, mayalar aerobik bozulmanın ana başlatıcılarıdır. Aerobik bozulmada AA bakterileri ya yoktur ya da küçük bir rol oynamaktadırlar. Ancak, mısır silajları için AA bakterilerinin tek başına aerobik bozulmayı başlatabileceğine dair bulgulara bulunmaktadır (Spoelstra vd. 1988).

1.1.5.6 *Basiller*

Bacillus, *Clostridia* gibi endospor oluşturan çubuk şekilli bakterilerdir. Bununla birlikte, (fakültatif) aerob olmaları nedeniyle *Clostridia*'dan kolayca ayırt edilebilirler (Cato vd., 1986). Fakültatif aerobik basiller çok çeşitli karbonhidratları organik asitler (AA, LA, BA veya etanol, 2,3-bütandiol ve gliserol gibi bileşiklere fermente eder (Claus ve Berkely, 1986). Bazı spesifik *Bacillus* türleri antifungal maddeler üretebildiği ve silajın aerobik bozulmasını engellemek için kullanıldığı bildirilmektedir (Moran vd., 1993). Bu spesifik suşlar dışında, silajda *Bacillus*'ların çoğalmasa genellikle istenmeyen bir durum olarak kabul edilir. *Bacillus*'lar LAB'nden daha az LA ve AA üretilmeleri (McDonald vd., 1991) yanı sıra aerobik bozulmayı da artırabilirler (Lindgren vd., 1985).

1.1.5.7 Küfler

Küfler ökaryotik mikroorganizmalardır. Küfle enfekte olmuş bir silaj genellikle birçok türün ürettiği büyük ipliksi yapılar ve renkli sporlar sayesinde kolayca tespit edilir. Küfler silajın O₂ bulunan kısımlarında gelişir. Silolama sırasında bu genellikle silajın sadece yüzey katmanlarında olurken, aerobik bozulma sırasında ise tüm silaj küflenebilir. Silajdan düzenli olarak izole edilen küf türleri *Penicillium*, *Fusarium*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Byssoschlamys*, *Absidia*, *Arthrinium*, *Geotrichum*, *Monascus*, *Scopulariopsis* ve *Trichoderma* cinslerine aittir (Frevel vd., 1985; Jonsson vd., 1990; Nout vd., 1993; Pelhate, 1977; Woolford, 1984). Küfler sadece silajın yem değerini ve lezzetini düşürmekle kalmaz, aynı zamanda insan ve hayvan sağlığı üzerinde de olumsuz etkilere neden olabilir. Küf sporları akciğer hasarı ve alerjenik reaksiyonlarla ilişkilidir (May, 1993). Diğer sağlık sorunları ise küfler tarafından üretilen mikotoksinlerle ilişkilidir (Auerbach, 1996; Oldenburg, 1991). Mikotoksin üreten bazı önemli küf türleri *Aspergillus fumigatus*, *Penicillium roqueforti* ve *Byssoschlamys nivea*'dır. Oksijen girişini en aza indiren silolama yöntemleri (örneğin silonun iyi sıkıştırılması ve örtülmesi) ve aerobik bozulmanın başlamasını önleyen katkı maddeleri küf gelişimini önlemeye veya sınırlandırmaya yardımcı olacaktır.

1.1.5.8 Epifitik mikroorganizmalar

Laktik asit bakterilerinin kaynağı bitkisel materyalin üzerinde bulunan epifitik floradır ve ana kaynağını toprak oluşturmaktadır. Hasattan önce bitkinin sahip olduğu LAB yoğunluğu, KM içeriği, bitki gelişim dönemi, yapraklardaki besin maddesi varlığı, toprak özellikleri, rakım ve iklim koşulları gibi birçok faktöre göre değişiklik göstermektedir (Kızılsimsek, Erol, Ertekin, Dönmez ve Katrancı, 2016). Hasat işlemlerini müteakip bitkinin silaj yapımı amacıyla parçalanması epifitik bakterilerin sayısını artırmaktadır (Keleş, 2010). Silajı yapılacak bitkide *Clostridia* varlığı çok az düzeyde veya hiç bulunmamaktadır, ancak hasatta topraktan silaj materyaline yüksek miktarda *Clostridia* bulaşması meydana gelebilmektedir (Beck, 1978). Özellikle bitkilerde bulunan epifitik MO'daki maya popülasyonu oldukça yüksektir (Filya, 2006). Epifitik MO'da birbirinden çok farklı sayı ve oranlarda MO'ların bulunması sonucunda oluşabilecek kontrolsüz bir silaj fermantasyonunu engellenmek için silaj katkı maddelerinin kullanılmasına gereksinim duyulmaktadır (Keleş, 2010).

1.1.6 Silaj Fermantasyonunda LAB

Silaj yapımında kullanılan bitkilerde ve diğer materyallerde LAB'leri doğal olarak bulunmaktadır. Bu bakteriler doğal fermantasyon için oldukça önemlidir; ancak genellikle düşük populasyonlarda (g substrat başına <5 log koloni oluşturan birim (kob)) veya hatta tespit seviyelerinin altında (g substrat başına <2 log kob) bulunurlar (Amaral vd., 2020; Cai vd., 1999; Carvalho vd., 2017; Fabiszewska vd., 2019). Laktik asit bakterileri tarafından üretilen LA öncelikle silajın korunmasından sorumludur. Bu nedenle LAB bir inokulant olarak çalışılan ana bakteri grubudur (Fabiszewska vd., 2019; Muck vd. 2018; Wilkinson ve Muck 2019). Laktik asit bakterilerinin bazı türleri veya suşları, CO₂ kullanımının farklı metabolik yolları aracılığıyla AA, etanol, 1,2-propandiol ve diğer bileşikler üretebilirler (Von Wright ve Axelsson 2012).

Silodaki fermentasyonun kontrol edilmemesi, silolanacak materyalin besin madde içeriğinin ideal düzeyde korunmasını güçleştirmektedir. Siloda istenmeyen fermantasyon riskini azaltmak ve kontrollü bir fermantasyon sağlamak amacıyla farklı biyolojik ve kimyasal katkı maddeleri silaj katkı maddesi olarak kullanılmaktadır (Henderson, 1993). Silaj yapımında kullanılan katkı maddelerinin silaj kuru madde kaybı (KMK) ve besleme değeri üzerine etkileri, bu katkı maddelerinin bitki enzimleri, silodan su çıkışı, farklı MO'ın gelişimi ve silajın aerobik stabilitesi üzerindeki olası etkileri ile ilişkilidir (Keleş, 2009). Mikrobiyal katkılar, silaj fermentasyonunu kontrol etmek için kullanılan kimyasal katkılara göre bazı avantajları nedeniyle yaygın olarak kullanılmaktadır. Dolayısıyla mikrobiyal katkı maddeleri, belli oranlarda kullanıldıkları zaman silajı yapılacak kitlede fermantasyon olaylarının arzulanan yönde gelişmesini sağlayabilecek yoğunluktaki LAB'lerini veya bakteri gruplarını bulunduran ürünler olarak nitelendirmek mümkündür (Yurtman vd., 1997).

Son yıllarda hızlı ve etkili bir silaj fermentasyonunu garanti altına almak için kimyasal katkı maddeleri yerine biyolojik kökenli olmaları nedeniyle LAB inokulantları tercih edilmektedir. Fermantasyonda ^{HM}LAB'ın baskın olması durumunda silaj materyalinde var olan SÇK'nin en etkin kullanımı sağlandığı gibi, materyalde SÇK miktarı kritik olduğu durumlarda bile iyi fermente olmuş bir silaj üretme şansı da yükselir. Bunun yanı sıra, ^{HM}LAB ile yapılmış çalışmalarda, silaj fermentasyonu ve hayvan performansı olumlu yönde etkilenirken, aerobik stabilitesi (AS) ^{HM}LAB ilavesinden olumsuz etkilenmiştir (Cai vd., 1999; Muck, 1996).

1.1.7 Laktik Asit Bakteri İnokulantları

Dünyanın birçok yerinde LAB inokulantlarının silaj katkı maddesi olarak yaygın kullanımı, yalnızca kullanım uygunluğu veya kolaylığından değil, aynı zamanda silaj fermantasyonu sırasında mikrobiyal olayları kontrol etmeleri beklentisinden de kaynaklanmaktadır. Laktik asit bakterilerinin temel işlevleri, silajda LA'nın yoğun bir şekilde üretilmesini ve pH'nın hızlı bir şekilde düşmesini sağlamak için silaj materyalindeki SÇK'nın hızlı ve verimli bir şekilde kullanılmasıdır. Ayrıca, bakteriyel inokulantların uygulandıkları silajlarda AS'ni iyileştirmeleri ve bu silajla beslenen hayvanların performansını olumlu yönde etkilemeleri arzu edilir (Weinberg ve Muck, 1996).

İnokulantlar, bitkilerde bulunan ve şekerlerin etkin olmayan fermantasyonuyla KM kayıplarına neden olan epifitik (doğal) bakteri popülasyonunu kontrol altına almak amacıyla silaja ilave edilmektedir. Mikrobiyal inokulantlar homofermentif ve heterofermentif olmak üzere iki ana gruba ayrılır. Homofermentatif inokulantlar *Lactobacillus*, *Pediococcus* ve *Lactococcus* türleri gibi bakteriler içerir. Bunlar özellikle LA üreten hızlı bir fermantasyonu teşvik eder ve pH değerinin hızla 4'e düşürerek üründeki şeker ve proteinlerin daha fazla parçalanmasını önler. Heterofermentatif inokulantlar *Lactobacillus buchneri* ve *Lactobacillus brevis* gibi bakteriler içerir. Laktik asit ve AA üretirler, bu da homofermentatif inokulantlardan daha yavaş bir fermantasyona neden olur. Bunlar, yemleme sırasında aerobik bozulma sürecini başlatan maya ve küfleri engellemek için tasarlanmışlardır (Filya, 2005).

Yemler genellikle doğal olarak birçok zararlı bakteri türü içerdiğinden, silaja mikrobiyal bir inokulant ilave etme fikri, daha kaliteli bir silajla sonuçlanan fermantasyona hakim olmak için hızlı çoğalabilen ^{HM}LAB eklemektir. Silaj inokulantlarında kullanılan daha yaygın ^{HM}LAB'nden bazıları *Lactobacillus plantarum*, *L. acidophilus*, *Pediococcus acidilactici*, *P. pentacaceus* ve *Enterococcus faecium*'dur. Mikrobiyal inokulantlar, fermantasyona hakim olma kabiliyetlerine göre seçilen bu bakterilerden bir veya daha fazlasını içermektedir. Çoklu organizma kullanımının gerekçesi olası sinerjik etkilerden kaynaklanmaktadır. Örneğin, *Enterococcus*>*Pediococcus*> *Lactobacillus*'ta büyüme hızı daha yüksektir. Bazı *Pediococcus* suşları, *Lactobacillus*'a göre yüksek KM koşullarına daha toleranslıdır ve büyüme için daha geniş bir optimum sıcaklık ve pH aralığına sahiptir.

1.1.7.1 LAB İnokulantlarının Silaj Fermantasyonu Üzerindeki Etkileri

Silaj yapımında kullanılan en eski ve en yaygın bakteriyel inokulantlar ^{HM}LAB'dir. Günümüzde bu gruptaki bakterilerin çoğu taksonomik olarak zorunlu homofermentatif türler yerine fakültatif heterofermentatif LAB türleri olarak tanınmaktadır (Pahlow vd., 2003). Fakültatif ^{HT}LAB, glikoz gibi heksozları zorunlu homofermenterlerle aynı şekilde fermente ederek neredeyse sadece LA üretir. Bu durum, laktik aside ek olarak heksozlardan başka bileşikler de üreten zorunlu heterofermenterlerin tersidir. Fakültatif heterofermenterler, fosfoketolaza sahip olmalarıyla zorunlu homofermenterlerden ayrılırlar. Bu enzim, fakültatif heterofermenterlerin pentozları fermente ederek öncelikle LA ve AA üretmesini sağlar. Yaygın fakültatif heterofermentatif suşlar arasında *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei*, *Enterococcus faecium* ve çeşitli *Pediococcus* türleri bulunur. ^{HM}LAB uygulanan silajlarda genellikle pH, AA, bütirik asit (BA), NH₃-N ve etanol bakımından daha düşük, LA içeriği ve LA/AA oranı daha yüksek bir silaj elde edilmektedir. Bununla birlikte, ^{HM}LAB kullanılan silajlarda kuru madde kayıplarının azaldığı ve hayvan performansının da artış olduğu bildirilmektedir (Muck ve Kung, 1997).

Bolsen vd. (1992) mısır silajında ^{HM}LAB (*L. plantarum* + *E. Faecium*) inokulantının silajın fermantasyon özelliklerini etkilemediğini ve silolamanın 120. gününde açılan tüm silajların pH'sının 4,14 olduğunu belirtmişlerdir. Bununla birlikte, araştırmacılar kontrol ve inokulant gruplarında LA içeriklerini sırasıyla %2,67 ve %2,88, AA içeriklerini %0,87 ve %0,89; etanol içeriklerini %0,15 ve %0,21; NH₃-N içeriklerini ise %0,09 olarak belirlemişlerdir.

Davies (1996), mısır bitkisine ^{HM}LAB (*Lactobacillus plantarum*) kullandıkları çalışmalarında, silolamanın 100. gününde kontrol ve LAB inokulant silajlarının pH değerlerinin sırasıyla 4,3 ve 3,6; LA içeriklerini 48,8 ve 53 g/kg KM; AA içeriklerini 20,3 ve 18,3 g/kg KM; NH₃-N içeriklerini 82 ve 64 g/kg KM olarak saptamıştır. Mısır silajına ^{HM}LAB ilavesinin pH, AA ve NH₃-N içeriklerini önemli düzeyde azaltırken, LA içeriklerini ise önemli düzeyde yüksek olduğunu belirlemiştir (P<0,05). Ayrıca kontrol ve ^{HM}LAB kullanılan silajlarda maya sayısı sırasıyla 3,11 ve 1,26 kob/g, küf sayısı ise 2,0 ve 0 kob/g olduğunu, *L. plantarum*'un silajların maya ve küf popülasyonunu azalttığını belirtmiştir.

Muck ve Kung (1997), ^{HM}LAB silaj inokulantlarının kullanıldığı araştırmalarının yaklaşık %60'ında silajlardaki LA:AA oranını artırdığı (n= 233), %55'inde ise pH (n= 221) ve NH₃-N (n= 148) oranlarının düştüğü saptanmıştır.

Meeske ve Basson (1998), hamur olum döneminde hasat edilen mısır bitkisine ^{HM}LAB (*Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus bulgaricus* ve *Lactobacillus acidophilus*) inokulantı kullanmışlar ve silolamanın 95. gününde mısır silajlarının pH'sı kontrol ve ^{HM}LAB gruplarında sırasıyla 3,7 ve 3,9; SÇK miktarı 71 ve 52 g/kg KM; LA miktarı 69 ve 64 g/kg KM; AA miktarı 11 ve 14 g/kg KM; LAB sayılarını 7,6 ve 7,6 log kob/g; maya sayılarını 2,1 ve 2,6 log kob/g; küf sayılarını ise 0,0 ve 2,0 log kob/g olarak belirlemişlerdir. Araştırmacılar ^{HM}LAB inokulantının mısır silajlarının fermentasyon özellikleri çok az etkilediğini belirtmişlerdir.

Özdüven vd. (1999) tarafından yürütülen bir çalışmada, ^{HM}LAB (*Lactobacillus plantarum*) mısır silajının kalitesi üzerine etkileri incelenmiş ve silolamanın 60. gününde kontrol ve ^{HM}LAB kullanılan silajlarının pH değerlerinin sırasıyla 3,86 ve 3,73; HP içeriklerinin %5,9 ve %5,7; NH₃-N içeriklerinin %0,6 ve %5,5; SÇK içeriklerinin %8,3 ve %9,7; LA içeriklerinin %2,5 ve %2,6, AA içeriklerini %0,8 ve 0,8 olarak bulmuşlardır. Kontrol ve LAB kullanılan silajlarda *lactobacilli* sayısını sırasıyla 6,76 ve 6,35 kob/g, maya ve küf sayısı ise 5,98 ve 0,0 kob/g olduğunu bildirmektedirler.

Ranjit ve Kung (2000) mısır bitkisine ^{HM}LAB (*Lactobacillus plantarum* 30115) ilave ettikleri çalışmalarında, kontrol ve ^{HM}LAB silajı gruplarında pH değerlerini sırasıyla 3,68 ve 3,66; LA içeriklerini 72,4 ve 7,72 g/kg KM; AA miktarlarını 1,68 ve 1,82 g/kg KM olarak belirlemişlerdir.

Filya (2002a) mısır bitkisinde (%35.0 KM) ^{HM}LAB (*L. plantarum*+*E. faecium*) kullandığı çalışmasında, 50 günlük fermentasyon sonrasında açmış olduğu silajların pH'sını kontrol ve *L. plantarum*+*E. faecium* gruplarında sırasıyla 3,6 ve 3,5; LA %4,3 ve 9,4; AA %4,3 ve 0,0; BA %4,2 ve 0,0; etanol ise %7,3 ve 2,2 olarak belirlemiştir.

Filya vd. (2006), %35,5 KM'de hasat edilen mısır bitkisine ^{HM}LAB (*L. plantarum* ve *L. plantarum* + *Pediococcus cerevisiae*) kullandıkları çalışmalarında, silolamadan sonraki 50. günde mısır silajının LA içeriklerini kontrol, *L. plantarum* ve *L. plantarum*+*Pediococcus cerevisiae* grupları için sırasıyla 55,7; 86,6 ve 87,9 g/kg KM; NH₃-N miktarı 2,76; 1,71 ve 1,77 g/kg KM; SÇK miktarı ise 21,6; 13,6 ve 14,4 g/kg KM olarak belirlenmiştir.

Oliveira vd. (2017), ^{HM}LAB uygulaması yapılan araştırmaların genelinde silaj fermentasyonunda sağlanan gelişmelerin bitkisel materyale göre değiştiğini bildirmektedir. ^{HM}LAB inokulantları yonca ve diğer baklagillerde silajların pH'sını düşürürken mısır, sorgum ve şeker kamışında düşürmediğini, AA'deki azalmanın yonca ve diğer baklagiller hariç tüm bitki türleri için önemli olduğunu bildirmektedirler.

Yan vd. (2019), %17,48 KM'de hasat edilen İtalyan çim bitkisine ticari bir *L. plantarum* ve seçilmiş bir *L. plantarum* (L694) suşu kullandıkları çalışmalarında, silolamanın 42. gününde italya çimi silajının pH değeri kontrol, *L. plantarum* ve *L. plantarum* (L694) grupları için sırasıyla 4,52; 4,41 ve 4,38; LA içeriklerini 15,76; 13,60 ve 12,97 g/kg KM; propionik asit içeriklerini 0,35; 0,0 ve 0,0; BA miktarı 2,63; 1,21 ve 1,18 g/kg KM; NH₃-N miktarı 2,76; 1,71 ve 1,77 g/kg KM; olarak belirlenmiştir.

Heterofermentatif (fakültatif ve zorunlu) LAB, *Lactobacillaceae* familyasına aittir ve *Lactobacillus*, *Oenococcus*, *Leuconostoc* ve *Weissella* cinslerindendir (Hammes ve Hertel, 2009). *Lactobacillus* cinsi, *Lactobacillus buchneri*, *Lb. plantarum*, *Lactobacillus reuteri* ve *L. casei* olarak bilinen 4 gruba ayrılır (Hammes ve Hertel, 2009). Hem *L. buchneri* hem de *L. reuteri* grupları zorunlu heterofermenterler içerirler. Ancak *L. buchneri* potansiyel silaj inokulantı olarak çalışılan zorunlu heterofermentatif suşların tek kaynağı olmuştur. *L. buchneri* grubunda *Lb. buchneri*, *Lb. diolivorans*, *Lb. farraginis*, *Lb. hilgardii*, *Lb. kefir*, *Lb. kisonensis*, *Lb. otakiensis*, *Lb. parabuchneri*, *Lb. parafarraginis*, *Lb. parakefir*, *Lb. rapi*, *Lb. sunkii* (Hammes ve Hertel, 2009; Sun vd., 2014), *Lb. ferintoshensis* (Hammes ve Hertel, 2009), *Lb. senioris* (Feichtinger, Mayrhofer, Kneifel ve Domig, 2016), *Lb. kunkee*, *Lb. homiohiochii*, *Lb. fructivorans*, *Lb. sanfranciscensis*, *Lb. lindneri*, *Lb. spicheri*, *Lb. namurensis*, *Lb. zymae*, *Lb. acidifarinae*, *Lb. hammesii* ve *Lb. brevis* (Pot ve Tsakalidou, 2009) türleri bulunmaktadır. Bununla birlikte, *Lb. buchneri* grubundan yalnızca birkaç tür silaj fermentasyonu üzerindeki etkileri açısından değerlendirilmiştir; bunlar arasında öncelikle *Lb. buchneri* ve çok daha az yaygın olarak *Lb. brevis*, *Lb. diolivorans*, *Lb. hilgardii*, *Lb. kefir* ve son zamanlarda *Lb. parafarraginis* bulunmaktadır.

^{HT}LAB inokulantlarının genellikle silaj fermentasyonuna etki etmediği belirtilmekle beraber (Holzer vd., 2003; Ranjit ve Kung 2000), bazı çalışmalar bu inokulantların mısır silajlarında pH, AA ve KM kaybını artırdığını, LA içeriklerini ise azalttığını göstermiştir (Kleinschmit vd., 2005; Nishino vd., 2003). Ranjit ve Kung (2000), kontrol ve *L. buchneri* (6,00 log kob/g) ilave edilen mısır silajında LA içeriklerini sırasıyla 77,2 ve 63,5 g/kg KM, AA miktarlarını ise 18,8 ve 36,0 g/kg KM olarak belirlenmiştir.

Söz konusu bakteriler aerobik stabilite sorununu çözmek için ortaya çıkmıştır. Bu mikroorganizmanın temel amacı AA içeriklerini arttırmak ve bunun sonucunda silajdaki maya seviyesini düşürmektir. Muck (1996), 1990'ların ortalarında *Lb. buchneri*'nin silajlara ilave edilmesinin aerobik stabiliteyi iyileştirmede değerli olabileceğini, çünkü aerobik bozulmayı başlatmaktan sorumlu mayaları engelleme potansiyeline sahip AA içeriğinde ılımlı

artışlara neden olduğunu öne sürmüştür. Kleinschmit ve Kung (2006)'un 43 çalışmayı özetlediği meta-analizde, *L. buchneri* ilave edilen silajlarda LA içeriklerini azaltırken, AA içeriklerini artırmış ve dolayısıyla uygulama yapılmamış silajlara göre silaj pH'sında bir artış gözlenmiştir. Silajlar için LAB inokulantı olarak kullanılmaya başlanmasından bu yana, çok sayıda laboratuvar (Driehuis vd., 1999; Ranjit ve Kung, 2000; Weinberg vd., 1999) ve saha çalışması (Kristensen vd., 2010; Mari vd., 2009; Tabacco vd., 2011) *Lb. buchneri*'nin çeşitli silajların aerobik stabilitesini başarılı bir şekilde geliştirdiğini göstermiştir; ancak etkilerin suşa (Kleinschmit vd., 2005; Muck, 2004) ve doza bağımlı (Filya vd., 2006; Ranjit ve Kung, 2000; Taylor ve Kung, 2002) olduğu bildirilmektedir. Oude Elferink vd. (2001), AA'teki artışın klasik fosfoketolaz yolu üzerinden değil, orta miktarda LA'in AA ve 1,2-propandiole anaerobik dönüşümü yoluyla olduğunu göstermiştir. *Lactobacillus buchneri*'nin başlangıçta 1,2-propandiolü propanol ve propiyonik aside daha fazla metabolize edemeyeceği düşünülmüştür. Zielinska vd., (2017) *Lb. buchneri* A KKP 2047p suşunun 1,2-propandiolü propiyonik aside metabolize edebildiğini ve bunun da glikoz ve kobalamin varlığında kolaylaştığını bildirmiştir. Kobalamin, gliserolün 1,3-propandiole ve 1,2-propandiolün propiyonik aside metabolizması için gerekli olan diol dehidratazın bir kofaktörüdür (Lee ve Abeles, 1963). Silajda doğal olarak bulunan *Lb. buchneri* suşlarının bu dönüşümü gerçekleştirme yeteneğine sahip olup olmadığı ise bilinmemektedir.

Lb. buchneri içeren LAB inokulantların geliştirilebileceği bir diğer alan ise aerobik stabilite üzerindeki etkilerinin hızlı bir şekilde gösterebilir olmasıdır. Çünkü bazı hayvan üreticileri genellikle silolamadan sonraki birkaç hafta içerisinde silajları açarak hayvanlarını beslemek zorundadırlar. Yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlar, laktik asidin *Lb. buchneri* tarafından asetik aside anaerobik dönüşümünün hemen gerçekleşmediğini ve belirgin hale gelmesi için yaklaşık 30 ila 60 gün gerektiğini göstermektedir. Driehuis vd. (1999) mısır silajına 5×10^5 kob/g düzeyinde *Lb. buchneri* uygulamış oldukları çalışmaları, 14. günde laktik ve AA miktarları kontrol ile *Lb. buchneri* grubları arasında önemli bir fark bulunmamış, ancak 28. günde *Lb. buchneri* uygulanan silaj grubunda AA içerikleri artarken LA içerikleri azalmıştır. Schmidt vd. (2009) yonca bitkisine *Lb. buchneri* ilave edildiğinde laktik asidin asetik dönüşümüne bir göstergesi olarak kullanılan 1,2-propandiolün fermantasyonun 5. gününde tespit edilmezken, fermantasyonun 45. günde 1,2-propandiolün mevcut olduğunu bildirmişlerdir. Laktik asidin *Lb. buchneri* tarafından 1,2-propandiole dönüşümünün gecikmesi tam olarak bilinmemekle birlikte, Oude Elferink vd. (2001) bunun ortamdaki glikoz tükenene kadar gerçekleşmediğini bildirmiştir.

Nishino vd. (2003), mısır bitkisinde *L. Buchneri* kullandıkları çalışmalarında, silolamanın 60. gününde kontrol ve *Lb. Buchneri* silaj gruplarında AA miktarlarını sırasıyla 20,4 ve 52,7 g/kg KM; LA miktarlarını 61,1 ve 37,3 g/kg KM; etanol içeriklerini ise 16,8 ve 6,5 g/kg KM; KM kaybı ise 42,1 ve 80,8 g/kg olarak saptamışlardır. Araştırmacılar, söz konusu inokulantın mısır silajının AA içeriklerini kontrol grubuna kıyasla arttırdığını, LA ile etanol içeriklerini azalttığını ve KM kaybına neden olduğunu bildirmişlerdir.

Nishino ve Touno (2005), ryegrass ve festulolium bitkilerine ^{HT}LAB (*Lactobacillus casei* veya *Lactobacillus buchneri*) ilavesinin silaj fermantasyonu üzerindeki etkilerini inceledikleri çalışmalarında, 120. gün silolama sonrası *L. casei* ilavesi yem türünden bağımsız olarak laktik asidi arttırırken, AA ve KM kaybını azaltmıştır. *L. buchneri* ilavesi ise laktik asidi azaltırken, AA ve 1,2-propandiolü arttırmıştır.

Fakültatif ve zorunlu heterofermentatif LAB'yi birleştiren inokulantların geliştirilmesiyle, her iki inokulant türünün faydalarının tek bir üründe elde edilmesi hedeflenmektedir. Fakültatif heterofermentatif LAB (çoğunlukla *Lb. buchneri*), aktif fermantasyonun erken dönemlerinde enterobakteri, clostridia ve diğer mikroorganizmaları baskılayarak proteoliz ve fermantasyondan kaynaklanan KM kayıplarını azaltmaktadır. Bu aktif fermantasyon döneminde, silaj pH'sının uygulama yapılmamış silaja göre daha hızlı ve daha düşük bir değere inmesi beklenir. Zorunlu heterofermentatif LAB, çoğu durumda *Lb. buchneri*, aktif silaj fermantasyon döneminden sonra laktik asidi kademeli olarak asetik aside dönüştürerek pH'ı yükseltir ve silajın aerobik stabilitesini artırır. İdeal olarak, ister günlük kazanç ister süt üretimi olsun, hayvansal üretim, fakültatif heterofermentatif LAB'nin üretim üzerindeki etkisi veya silajın silo içerisinde soğuk tutulması sayesinde iyileştirilebilir.

Driehuis vd. (2001), çok yıllık çavdar (%24-42 KM) bitkisine ^{HT}LAB (*L. Buchneri*), ^{HM}LAB (*Pediococcus pentosaceus*+*Lactobacillus plantarum*) veya ^{HM+HT}LAB (*L. buchneri*+*Pediococcus pentosaceus*+*Lactobacillus plantarum*) ilave edilmesinin 90 günlük fermantasyon sürecindeki etkilerini inceledikleri çalışmalarında, ^{HM}LAB ve ^{HM}LAB + ^{HT}LAB grubu silajların pH değerleri diğer silajlara göre daha hızlı düşmüş ve KM kayıpları daha az olmuştur. Tek başına ^{HT}LAB ve ^{HM}LAB + ^{HT}LAB aerobik stabiliteyi arttırırken, genel olarak maya ve küf sayısını azaltmıştır. Söz konusu LAB'leri son ürünün pH'sını ve KM kaybını arttırmışlardır. Ayrıca AA ile 1,2-propandiol miktarlarını arttırmış ve LA miktarlarını ise azaltmıştır. Tek başına ^{HT}LAB uygulanan silajlardaki pH düşüşü kontrol grubu silajları ile benzer bulunurken, KM kayıpları da benzer veya daha yüksek düzeyde olduğu saptanmıştır.

Weinberg vd. (2002), silajlık buğday (%43,3 KM) ve mısır (%35,1) bitkilerine ^{HM}LAB (*L. plantarum*) ve ^{HT}LAB (*L. buchneri*) inokulantlarını yalnız veya beraber kullandıkları bir çalışmada, silolamanın 90. gününde ^{HM}LAB ilave edilen buğday silajlarında pH ve AA azaldığını ($P<0,05$), LA, SÇK, etanol ve gaz kayıplarını etkilenmediğini bildirmektedirler ($P>0,05$). Buğday silajlarında ^{HT}LAB ilavesi pH ve AA arttırmış, LA ve SÇK'ı ise azaltmıştır ($P<0,05$). Ayrıca ^{HT}LAB ilavesi mısır silajının kontrol grubuna göre pH ve AA içeriğini arttırmış, LA içeriğini azaltmış ($P<0,05$), SÇK içeriğini ise etkilememiştir ($P>0,05$). Mısır ve buğday bitkisine ^{HM+HT}LAB ilavesi silajların fermentasyon ürünleri üzerine etkisi tutarlı olmamakla birlikte genellikle ^{HT}LAB etkisine benzer olduğu görülmüştür.

Filya (2003) sorgum bitkisine ^{HM}LAB (*L. plantarum*) ve/veya ^{HT}LAB (*L. buchneri*) inokulantı ilave ettikleri çalışmalarında, 60 günlük fermentasyon sonunda ^{HT}LAB grubu silajların (pH 4,0) kontrol (pH 3,8) ve ^{HM}LAB (3,7) grubundaki silajlara göre önemli ölçüde daha yüksek pH değerine sahip olmuştur ($P<0,05$); kontrol (58 g/kg KM) ve ^{HM}LAB (51 g/kg KM) grubu silajların ^{HT}LAB (16 g/kg KM) veya ^{HT}LAB + ^{HM}LAB (23 g/kg KM) grubu silajlarından daha fazla rezidüel SÇK içerdiğini ($P<0,05$); kontrol ve ^{HM}LAB grubundaki silajların ^{HT}LAB veya ^{HT}LAB + ^{HM}LAB grubu silajlarından önemli ölçüde daha yüksek LA, daha düşük AA içerdiğini ($P<0,05$); Amonyak-N, ^{HM}LAB ve ^{HT}LAB + ^{HM}LAB grubu silajlarında ^{HT}LAB grubu silajlarından daha düşük; ağırlık kayıplarının ise ^{HT}LAB grubu silajlarında diğer silajlara göre daha yüksek ($P<0,05$) bulunduğunu bildirmektedir. Taze sorgumun *Lactobacilli*, maya ve küf sayılarını sırasıyla 4,6; 5,7 ve 3,4 kob/g olarak belirlemiştir. Araştırmacı, ^{HM}LAB ilavesinin sorgum silajının *Lactobacilli* (8,2 kob/g) maya (4,8 kob/g) ve küf (3,2 kob/g) sayılarını kontrol (sırasıyla 6,7; 3,7 ve 3,0 kob/g) silajına göre düşürdüğünü, ^{HT}LAB (sırasıyla 4,9, >2,0 ve >2,0 kob/g) ve ^{HT}LAB + ^{HM}LAB (sırasıyla 5,8; >2,0 ve >2,0 kob/g) arttırdığını belirlemiştir.

Aksu vd. (2004) mısır bitkisine ^{HM+HT}LAB (*Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus bunscheri*, *Lactobacillus rhamnosus* ve *P. pentosaceus*) inokulantı kullanmışlardır. Fermentasyonun 60. gününde mısır silajlarının pH değerlerini kontrol ve LAB gruplarında sırasıyla 3,90 ve 3,63; LA miktarlarını 16,7 ve 22,4 g/kg KM; AA miktarlarını 49,4 ve 51,5 g/kg KM; NDF miktarlarını 576,5 ve 571,1 g/kg KM; ADF miktarlarını ise 361,9 ve 350,3 g/kg KM olarak saptamışlardır.

Schmidt vd. (2009) ^{HT}LAB (*Lb. buchneri*) veya ^{HM+HT}LAB (*Lb. buchneri*+ *P. pentosaceus*) ilave edilen yonca silajında fermentasyonun ilk 5 günü boyunca pH değerleri inceledikleri çalışmalarında, ^{HT}LAB uygulanan silajların kontrol silajına göre daha yüksek

bulunurken, ^{HM}LAB + ^{HT}LAB grubu silajların kontrol silajından daha hızlı bir pH düşüşü gözlenmiştir.

Aragon vd. (2012), süt/hamur olum döneminde hasat edilen mısır bitkisine (%32,3 KM'de) ^{HM+HT}LAB (*Enterococcus faecium* 3530, *L. Plantarum* 19457, *L. brevis* 23231) inokulantı ilave ettikleri çalışmalarında, silolamanın kontrol ve LAB silaj grupları için pH değeri 3,89 ve 3,71; SÇK miktarı 1,9 ve 2,1 g/kg/KM; LA miktarı 50,3 ve 61,4 g/kg KM; AA içeriklerini 29,0 ve 31,5; BA miktarı 0,4 ve 0,1 g/kg KM, NH₃-N miktarı 51,0 ve 38,0 g/kg KM olarak saptamışlardır. Silajlara ^{HM+HT}LAB ilavesinin fermentasyon özelliklerini iyileştirdiğini, pH'yı düşürdüğünü (P<0,01), LA ve AA konsantrasyonun artırdığını (P<0,01), BA konsantrasyonunu azalttığını (P<0,01), sindirilebilir ve metabolik enerji düzeyinin arttığını bildirirken, inokulant katılan grupta KM kaybının önemli oranda azaldığını, HP oranı kontrol grubunda 48,2 g /kg iken inokulantlı grupta ise 52,5 g / kg olarak tespit etmişlerdir.

Addah vd. (2012) arpa silajında ^{HM+HT}LAB (*Lb. buchneri*, *Lb. plantarum* ve *Lb. casei*) içeren bir kombinasyon inokulantı ile işlem görmemiş bir kontrolü karşılaştırmıştır; laboratuvar silolarında, kombinasyon inokulantı silolamanın ilk haftasında daha hızlı bir pH düşüşü göstermiştir.

Junges vd. (2013), mısır bitkisine ^{HM+HT}LAB (*L. plantarum*, *L. brevis* ve *Enterococcus faecium*, 5,00 log kob g/kg) kullanmışlar ve 120. günde açılan silajların pH değeri kontrol ve LAB grupları için sırasıyla 3,75 ve 3,79; LA içeriklerini 8,04 ve 6,76 g/kg KM; AA içeriklerini 1,90 ve 1,90; propionik asit içeriklerini 0,06 ve 0,05; BA miktarı 0,0 ve 0,0 g/kg KM olarak belirlenmiştir. Araştırmacılar ^{HM}LAB + ^{HT}LAB ilavesinin silajların KM kayıplarını önemli düzeyde azaldığını bildirmişlerdir.

Thomas vd. (2013), 4 farklı sorgum (*Sorghum bicolor*) çeşidine ^{HM+HT}LAB (*Lactobacillus buchneri* ve *Lactobacillus plantarum*) kullanmışlar ve silolamanın 120. gününde açmış oldukları silajlarda ^{HM+HT}LAB ilavesinin fermentasyon özelliklerini iyileştirdiğini, pH'yı düşürdüğünü, LA içeriklerini artırdığını (P<0,01), AA, propiyonik asit (PA) ve BA içeriklerini ise etkilemediğini saptamışlardır.

Arriola vd. (2015), köpek dişi ayrığı bitkisine (yaklaşık %50 KM'de) dört farklı LAB inokulantının ilave ettiği çalışmalarında, 7 ve 30 gün boyunca en hızlı pH düşüşü ^{HM+HT}LAB (*Lb. buchneri* ve *P. pentosaceus*) grubu silajlarında olurken, ^{HM}LAB (*P. pentosaceus* ve *Propionibacterium freudenreichii*) içeren silaj grubu da benzer bir performans gösterdiğini bildirmektedir. Bu sonuçlar, ^{HM+HT}LAB inokulantının fermentasyonun erken aşamalarına hakim olabileceğini ve kontrol silajına göre pH'da daha hızlı bir düşüşe neden olabileceğini göstermektedir.

Özdüven vd. (2017), ayçiçeği bitkisine ^{HM}LAB (*L. Plantarum* + *Enterococcus faecium*) ve/veya ^{HT}LAB (*Lactobacillus buchneri*) kullanmışlar ve 60. günde açılan silajların pH değeri kontrol, ^{HM}LAB; ^{HT}LAB ve ^{HM+HT}LAB grupları için sırasıyla 4,41; 4,38; 4,30 ve 4,36; LA içeriklerini 5,11; 6,23; 5,40 ve 5,96 g/kg KM; AA içeriklerini 1,71; 1,57; 1,90 ve 2,00; SÇK içeriklerini 14,78; 11,56; 13,13 ve 12,31; NH₃-N içeriklerini ise 113,91; 78,06; 91,55 ve 91,83 g/kg KM olarak belirlenmişlerdir. Araştırmacılar ^{HM}LAB ilavesinin silajların LA içeriklerini önemli düzeyde artırdığını, AA ve NH₃-N miktarlarını ise azalttığını bildirmişlerdir.

Li vd. (2023), çok yıllık sorgum (*Sorghum bicolor* × *Sorghum propinquum*) bitkisine ^{HM}LAB (*Lactiplantibacillus plantarum*) veya ^{HM+HT}LAB (*Lactiplantibacillus plantarum* + *Lentilactobacillus buchneri*) inokulantı kullandıkları çalışmalarında, ^{HM+HT}LAB grubundaki silajların havaya maruz bırakıldıktan sonra daha düşük KM kaybı oranlarına ve daha yüksek AA içeriğine sahip olduğunu bildirmektedirler. Ayrıca, ^{HM}LAB + ^{HT}LAB ilave edilen silajların kontrol silajına göre aerobik stabilite sonrası SÇK (27,9-65,5 g/kg KM) ve HP (38,2-90,2 g/kg KM)'in daha yüksek düzeyde olduğu bildirilmektedir.

1.1.7.2 LAB İnokulantlarının Silaj Mikrobiyolojisi Üzerindeki Etkileri

Silajların mikrobiyal kompozisyonu üzerinde ^{HM}LAB inokulantlarının etkilerini araştıran çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmiştir. Bu çalışmalarda ^{HM}LAB inokulantları silajların *Lactobacilli* populasyonu çoğunlukla artırmışlardır (Filya, 2001; Muck 1993, Weinberg vd., 1993). Maya ve küf populasyonları bazı çalışmalarda azalırken (Filya 2002a), bazen arttırdığı (Kleinschmit vd., 2005; Weinberg vd., 1993), bazen ise etkilemediği (Filya 2002a, b) bildirilmektedir. Öte yandan, ^{HM}LAB inokulantların *Enterobacteria* ve *Clostridia* gelişimini önemli ölçüde baskıladığı da bildirilmektedir (Filya 2002a, b).

Weinberg vd. (1993) mısır bitkisine ^{HM}LAB (*L. plantarum* + *E. faecium*) ilave ettikleri çalışmalarında, kontrol ve ^{HM}LAB silajlarda *Lactobacilli* populasyonları sırasıyla 4,0 ve 5,5 kob/g; maya populasyonları 4,70 ve 5,40 kob/g; küf populasyonları ise 0,00 ve 5,00 kob/g olarak belirlemişlerdir. Davies (1996) *L. plantarum*' un mısır silajının maya ve küf populasyonunu düşürdüğünü belirterek, silolamanın 100. gününde kontrol silajının maya ve küf populasyonları sırasıyla 3,11 ve 2,00 kob/g, aynı mikrobiyal yapıyı *L. plantarum* kullanılan silajlarda sırasıyla 1,26 ve 0,00 kob/g olarak saptamıştır. Filya (2003) taze mısırın *Lactobacilli*, maya ve küf populasyonunu sırasıyla 3,86; 4,06 ve 2,58 kob/g olarak belirlemiş ve fermantasyonun 2. gününden itibaren söz konusu mikroorganizmaların artış gösterdiğini,

fermantasyonun 90. gününde en yüksek değerlerine ulaştığını tespit etmiştir. Araştırmacı, *L. plantarum*' un mısır silajının *Lactobacilli* (10,40 kob/g) ve maya populasyonunu (4,45 kob/g) artırdığını, küf populasyonunu ise (3,08 kob/g) kontrol silajına göre (sırasıyla 8,35; 3,86 ve 3,26 kob/g) düşürdüğünü belirlemiştir. Heterofermantatif LAB inokulantları mısır silajının AA içeriklerini artırmakta, AA ise maya ve küflerin gelişmesini büyük ölçüde engellemektedir (Kleinschmit vd., 2005; Holzer vd., 2003).

Taylor ve Kung (2002) silolamanın 92. gününde mısır silajının, maya populasyonunu kontrol ve *L. buchneri* kullanılan silajlarda sırasıyla 3,25 ve 2,56 kob/g olarak saptamışlar ve bu silajlarda hiç küf oluşmadığını bildirmişlerdir. Kleinschmit vd. (2005) *L. buchneri* 40788 (3,70 kob/g) ve *L. buchneri* 11A44' ün (<2,00 kob/g) mısır silajının maya populasyonunu kontrol silajına (4,43 kob/g) göre düşürdüğünü belirlemişlerdir. Kung vd. (2007) taze mısırın LAB, maya ve küf populasyonunu sırasıyla 4,64; 3,52 ve 3,34 kob/g olarak saptadıkları araştırmalarında, *L. buchneri*'nin (8×10^5 kob/g taze materyal) mısır silajının *Lactobacilli* populasyonunu arttırdığını, maya ve küf populasyonunu ise düşürdüğünü belirlemişler ve silolamanın 120. gününde silajların *Lactobacilli* populasyonunu kontrol ve inokulant kullanılan silajlarda sırasıyla 7,47 ve 8,7 kob/g; maya populasyonunu 7,29 ve 5,85 kob/g; küf populasyonunu ise 6,05 ve 4,88 kob/g olarak saptamışlardır.

Weinberg vd. (2007) *L. buchneri* 40788'in mısır silajının *Lactobacilli* populasyonunu (3,5 kob/g) düşürdüğünü, *L. buchneri* 11A44'ün ise *Lactobacilli* populasyonunu (5,3 kob/g) kontrol silajına (4,2 kob/g) göre artırdığını belirlemişlerdir. Homofermantatif+heterofermantatif LAB inokulantları kullanıldıkları silajların *Lactobacilli* populasyonunu artırmakta, silaj ortamında istenmeyen mikroorganizma populasyonlarını (maya, küf, *Enterobacteria* ve *Clostridia* vb) ise engellemektedirler (Contreras-Govea vd., 2009).

Filya (2003) ile Filya vd. (2004a), ^{HM+HT}LAB (*L. plantarum*+*L. buchneri*) kullandıkları çalışmalarında, söz konusu ^{HM+HT}LAB'ın mısır silajlarının *Lactobacilli* populasyonunu artırdığını; küf, *Enterobacteria* ve *Clostridia*'ların gelişimini ise engellediğini bildirmişlerdir. Bahsedilen araştırmacıardan Filya (2003) *L. plantarum*+*L. buchneri* kullandığı mısır silajının *Lactobacilli*, maya ve küf populasyonunun sırasıyla 8,35; <2 ve <2 kob/g olduğunu belirlerken, aynı mikrobiyal yapının kontrol grubunda sırasıyla 8,66; 3,86 ve 3,26 kob/g olduğunu saptamıştır.

Weinberg vd. (2002) taze mısırın *Lactobacilli*, maya ve küf popülasyonunu sırasıyla 5,3; 5,9 ve 3,0 kob/g olduğunu belirledikleri araştırmalarında, ^{HM+HT}LAB (*L. plantarum*+*L. buchneri*)'nin mısır silajının *Lactobacilli* (6,5 kob/g), maya (<2 kob/g) ve küf (3,2 kob/g) popülasyonlarını kontrol grubuna (sırasıyla 7,9; 2,7 ve 3,8 kob/g) göre düşürdüğünü saptamışlardır.

Kleinschmit ve Kung (2006b) *P. pentosaceus* R1094+*L. buchneri* 40788 kullandıkları çalışmalarında, söz konusu inokulantın silolamanın 42., 56., 70. ve 282. günlerinde mısır silajının maya popülasyonunu diğer silajlara göre düşürdüğünü belirlemişlerdir.

Özdüven vd. (2017), taze ayçiçeği bitkisinin *Lactobacilli*, maya ve küf sayılarını sırasıyla 3,05; 3,97 ve 0,00 kob/g olarak saptadıkları araştırmalarında, ^{HM}LAB (*L. plantarum*+*Enterococcus faecium*)'in ayçiçeği silajların *Lactobacilli* popülasyonlarını arttırdığını, ^{HT}LAB (*L. buchneri*) ve ^{HM+HT}LAB'ın ise maya popülasyonlarını önemli düzeyde azalttığını bildirmişlerdir.

Okuyucu vd. (2018), %31,72 KM'de hasat edilen yonca bitkisinin *Lactobacilli* ve maya sayılarını sırasıyla 3,83 ve 6,47 kob/g olarak saptadıkları araştırmalarında, farklı dozlarda kullanılan ^{HM}LAB (*Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus acidilactici*, *Pediococcus pentosaceus* ve *Propionibacteria acidipropionici*) yonca silajlarının *Lactobacilli* popülasyonunu arttırdığını, maya popülasyonunu ise azalttığını belirlemişler ve silolamanın 45. gününde silajların *Lactobacilli* popülasyonunu kontrol ve ^{HM}LAB kullanılan silajlarda sırasıyla 5,73 ve 5,82-6,04 kob/g KM; maya popülasyonunu ise 6,09 ve 5,51-5,94 kob/g KM olarak saptamışlardır.

1.1.7.3 LAB İnokulantlarının Aerobik Stabilite Üzerindeki Etkileri

Silolar yemleme için açıldıktan sonra O₂ silajlara nüfuz eder ve silajdaki asite toleranslı aerobik mikroorganizmaların çoğalmasını ve fermentasyon ürünlerinin oksidasyonunu teşvik eder. Aerobik bozulma olarak adlandırılan bu durum silajların bozulmasına neden olabilir ve potansiyel olarak toksik maddelerin veya istenmeyen mikroorganizmaların ortaya çıkmasına yol açabilir. Silajların aerobik bozulmaya karşı stabilitesi (aerobik stabilite) önemli ölçüde değişebilir. Bununla birlikte, aerobik bozulmayı önleyen mekanizmalar iyi anlaşılmamıştır. Weinberg vd. (1993), ^{HM}LAB inokulantların aerobik stabilite üzerindeki etkilerini belirlemek amacıyla yürüttükleri çalışmalarında, ^{HM}LAB ilave edilen silajların kontrol silajlarından bile daha hızlı bozulma eğiliminde olduğunu

belirlemişlerdir. O'Kiely ve Muck (1992) aerobik stabilitenin silaj kuru madde içeriği, pH, maya sayısı veya silolama sırasında şeker ilavesi ile ilgili olmadıklarını, organik asitlerin (AA, LA ve PA) etkilerinin ise belirli bir düzeyde ortaya çıktığını belirtmişlerdir. Kimi araştırmacılar da ^{HT}LAB tarafından AA oluşumunun olumlu yönlerini tanımlamış ve bunun bozulmaya neden olan organizmaları engellediğini belirtmiştir (Rooke 1991, Weinberg vd. 1996).

Homofermentatif veya fakültatif ^{HT}LAB inokulantları ile ilgili olası sorunlardan biri, bazı koşullarda silo ömründe veya aerobik stabilitede bir azalmanın meydana gelmesidir. Muck (1993), 1985 ve 1992 yılları arasında ^{HM}LAB uygulamasını içeren çalışmaların yaklaşık %60'ında fermantasyon özelliklerinin (pH, LA:AA oranı ve NH₃-N) iyileştirdiğini, KM tüketimi ve canlı ağırlık artışı yaklaşık %25'inde artarken, süt veriminde ise %40 oranında artış olduğunu bildirmektedir. Muck ve Kung (1997), 1990-1995 yılları arasında 230'dan fazla çalışmayı karşılaştırdığı araştırmalarında, ^{HM}LAB uygulaması ile çalışmaların üçte birinden daha azında önemli pozitif etkiler ve yaklaşık üçte birinde ise önemli negatif etkiler görülmüştür. Olumlu etkilerin çoğu ot ve yonca silajlarında görülürken, olumsuz etkiler büyük ölçüde mısır ve mısır ve küçük taneli tahıl silajlarında görülmüştür. Ot ve yonca silajlarının ^{HM}LAB uygulaması fermantasyon özelliklerini iyileştirmede etkili olurken, mısır ve küçük taneli tahıl silajlarında aerobik stabiliteyi olumsuz yönde etkilediğini belirtmişlerdir. Aerobik stabilitedeki küçük değişimler, ^{HM}LAB inokulantların silaj fermantasyonunda yaptığı değişikliklerle tahmin edilebilir. Laktik asit, AA'e göre mayaları engellemede daha az etkilidir. Yonca silajında, inokulantlar genellikle uygulama yapılmamış silajlara göre pH'da 0,2 ila 0,3 birimlik bir azalmaya neden olur ve pH'daki bu azalma LA'e geçişi dengeleyerek aerobik stabiliteyi artırabilir. Mısır silajında, inokulantların genellikle pH üzerinde etkisi yoktur. Ancak fermantasyonu AA'ten LA'e kaydırarak aerobik stabilite üzerinde olumsuz etkileri vardır (Muck, 2004). Söz konusu ^{HM}LAB inokulantlarının AA içeriklerini azalttığı, LA içeriklerini artırdığını ve artan LA'lerin mayalar tarafından CO₂ ve suya dönüştürmesi için bir substrat görevi görerek besin maddesi kayıplarına yol açtığı ileri sürülmüştür (Adesogan 2008). Laktik asit parçalanmasından kaynaklanan yüksek pH, maya ve küflerin çoğalmasına neden olarak bozulmaları daha da şiddetlendirir. Sonuç olarak, mayaların büyümesini engelleyecek ve aerobik stabiliteyi artıracak bakterilerin araştırılmasına başlanmıştır. Oliveira vd. (2017) tarafından yapılan meta-analiz çalışmasında, aerobik stabilitenin inokülasyondan etkilenmediğini ve bitkisel materyale göre herhangi bir etkinin görülmediğini bildirmektedirler. Bununla birlikte, ^{HM}LAB ilave edilen silajlarda maya sayısı

kontrol silajlarına göre daha yüksek bulunmuştur. ^{HM}LAB'nin özellikle mısır ve küçük taneli buğdaygil silajlarında aerobik stabilite üzerine olumsuz etkileri gözlenmiştir. Mayalar genellikle aerobik bozulmanın başlatıcıları olduğundan (Pahlow vd., 2003), daha yüksek maya sayısı ^{HM}LAB ile yapılan silajların zaman zaman azalan aerobik stabilitesini de açıklayabilmektedir. Homofermantatif LAB uygulamasından kaynaklanan düşük AA içerikleride daha hızlı maya büyüme oranlarına ve dolayısıyla aerobik stabilitenin azalmasına neden olabilir. Genel olarak, ^{HM}LAB sonuçlarının neden tüm çalışmalar arasında tutarlı olmadığını anlamak için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır.

Heterfermantatif LAB inokulantları, aerobik stabilite sorununa çözüm getirilebilmesi amacıyla geliştirilmiştir. Bu mikroorganizmanın birincil amacı AA içeriklerini arttırmakta ve bunun sonucu olarak silajdaki maya seviyesini azaltmaktadır. Bugüne kadar AA üretimi, ^{HT}LAB (*L. buchneri*)'ın silajların aerobik stabilitesini nasıl artırdığına dair en çok kabul gören açıklama olmuştur. Ancak başka etki şekilleri de mevcut olabilir. Strom vd. (2002) silajda LAB tarafından üretilen antifungal bileşiklerin bulunduğunu bildirmişler. Broberg vd. (2007) LAB inokulantları uygulanan ot silajında benzoik asit, kateşol, hidrosinamik asit, salisilik asit, 3-fenillaktik asit, 3-hidroksidekanoik asit ve 4-hidroksibenzoik asit gibi antifungal bileşiklerin yüksek miktarlarda bulunduğunu bildirmiştir. Ganzorig vd. (2016) proteaz uygulamasından sonra inaktive olan antifungal aktiviteye sahip *Lb. hilgardii* ve *Lb. diolivorans* suşlarını izole ederek aktivitenin peptitlerle ilişkili olduğunu öne sürmüşlerdir. *Lactobacillus hilgardii*'nin antifungal aktiviteye sahip fenillaktik ve 4-hidroksifenillaktik asitler ürettiği de belirtilmiştir (Valerio vd., 2004). Dolayısıyla, çoklu veya sinerjik etkiler aerobik stabilitede tek başına asetik asidin ötesinde iyileşmelere yol açabilir. ^{HT}LAB (*L. buchneri*)'nin silajlarda (Schmidt vd., 2009) ve diğer fermente gıdalarda (Johanningsmeier ve McFeeters, 2013) uzun süreli fermantasyonlarda nasıl ve neden baskın LAB haline geldiğini anlamak, silajların aerobik stabilitesini artırmak için tasarlanan gelecekteki LAB inokulantlarında hangi özellikleri aramamız gerektiğini daha iyi anlamamıza yardımcı olabilir. Kleinschmit ve Kung (2006a) tarafından yapılan meta-analizde, mısır silajının aerobik stabilitesi kontrol, 5,00 log kob/g TM ve >5,00 kob/g TM düzeyinde ^{HT}LAB (*L. buchneri*) uygulanan gruplarda sırasıyla 25, 35 ve 503 saat olduğunu belirtmektedirler. Araştırmacılar heterolaktik asit fermantasyonundan kaynaklanan büyük KM kayıpları ve yüksek AA seviyeleri nedeniyle KM tüketimi üzerindeki olumsuz etkilere ilişkin endişelerin genellikle yersiz olduğunu belirtmektedirler.

Adesogan ve Salawu (2004), buğday ile iki bezelye çeşidinin (Magnus veya Setchey) ^{HT}LAB (*L. buchneri*) ve ^{HM+HT}LAB (*L. buchneri*, *P. pentosaceus* ve *L. plantarum*) kullandıkları çalışmalarında, her iki LAB inokulantı da kontrol silajlarına göre aerobik stabiliteyi iyileştirdiğini bildirmektedirler. Her iki kontrol silajında da AA'nin yüksek olduğu (42 ve 26 g/kg KM) ve ^{HM+HT}LAB inokulantının kontrol silajına göre AA'yi artırmadığını belirtmektedirler.

Reich ve Kung (2010), mısır bitkisine ^{HT}LAB (*L. buchneri*) ile 3 farklı ^{HM}LAB suşunun (*P. acidilactici*, *P. pentosaceus* ve *L. plantarum*) ayrı ayrı eşleştirdiği çalışmada, her bir ^{HM+HT}LAB uygulamasının mısır silajlarında düşük veya tespit edilebilir seviyenin altında maya içerdiğini ve kontrol silajına (180 saat) göre ^{HM+HT}LAB silaj gruplarında (>500 saat) daha iyi bir aerobik stabilite ile sonuçlandığını belirlemişlerdir.

Thomas vd. (2013), 4 farklı sorgum bitkisi çeşidine ^{HM+HT}LAB (*L. buchneri*, *P. acidilactici*, *P. pentosaceus*, *L. plantarum* ve *E. faecium*) kullandıkları çalışmalarında, ^{HM+HT}LAB grubu silajların kontrol silajlarına göre daha heterofermentatif bir silaj üretmediğini, 4 çeşitten 2'sinde ^{HM+HT}LAB uygulanan silajların, kontrol'e göre daha homofermentatif bir fermantasyonun gerçekleştiğini bildirmektedirler. Araştırmacılar ^{HM+HT}LAB uygulamasının çeşitlerin hiçbirinde aerobik stabiliteyi iyileştirmedeğini belirtmektedirler. Fermantasyon ve aerobik satabilite bakımından elde edilen sonuçlar, *Lb. buchneri*'nin herhangi bir nedenle fermantasyona katkıda bulunmadığını göstermektedir. Genel olarak, ^{HM+HT}LAB inokulantlarının başarısızlığı ya doğal popülasyonun önemli ölçüde ^{HT}LAB (*L. buchneri*) benzeri aktivite sergilemesinden veya inokulanttaki ^{HT}LAB (*L. buchneri*) suşunun herhangi bir nedenle fermantasyonun son aşamalarına hakim olamamasından kaynaklanabileceği bildirilmektedir.

1.1.8 Laktik Asit Bakterilerinin Fenotipik ve Genetik Yöntemlerle Tanımlamaları

1.1.8.1 Laktik Asit Bakterilerinin Fenotipik Tanımlanması

Laktik asit bakterileri türleri arasındaki ayrımın sağlanması için sınıflandırma yapmak önemlidir. Taksonomik sınıflandırma fenotipik metotlar ve genotipik metotlar ile yapılmaktadır. Orla-Jensen (1919), LAB'ın ilk sınıflandırmasını morfolojik, ekolojik ve özellikle optimal üreme sıcakları olmak üzere başlıca fizyolojik özelliklerine dayanarak oluşturmuştur. LAB; oldukça fazla soy ve türe sahip çubuk, kok ve kokobasil şekilde, Gram (+), hareketsiz, spor şekillerini oluşturmayan, katalaz (-), mikroaerofilik veya anaerobik, aside

dayanıklı, kuvvetli fermentatif olup, büyüme ve gelişimleri için glikoz ve amonyum yanında bazı vitamin ve aminoasitlere ihtiyaç duyan mikroorganizmalardır (Holzapfel, Haberer, Geisen, Björkroth ve Schillinger, 2007).

Laktik asit bakterilerinin fenotipik olarak tanımlanması öncelikle, bakterilerin bulunduğu ortamdan izole edilerek saf kültürlerin elde edilmesidir. Bu amaçla MRS agar ve MRS broth besiyerleri, laktobasilleri üretmek ve izole etmek için yaygın olarak kullanılan besiyerlerdir. Laktik asit bakterilerinin izolatları saf kültür olarak elde edildikten sonra, klasik yöntemlerle tanımlanmaları için gram boyama, hücre morfolojisi ve katalaz aktivitesi gibi özellikleri belirlenir. Mikroskopik inceleme, LAB'nin cins seviyesi, saflığı hakkında bilgi veren ilk kriterdir. Hücreleri ayırt etmek için basit boyama, gram boyama, asit hızlı boyama, endospor boyama, kapsül boyama gibi bazı boyama yöntemleri vardır. En önemli ve yaygın olarak kullanılan yöntem Gram boyamadır. Gram boyasına verilen reaksiyon temelinde bakteriler iki büyük gruba ayrılabilir; Gram pozitif organizmalar ve Gram negatif organizmalar. Laktik asit bakterileri Gram pozitif gruba aittir. Yuvarlak veya küresel hücrelere kok, uzun çubuk şeklindeki hücrelere basil, kok ve basil arasında orta şekilli oval hücrelere kokobasil, tetrad oluşumuna yol açan tek bir düzlemde birbirine dik iki yönde hücre bölünmesine tetrakok denir (Garvie, 1984). Katalaz birçok organizma tarafından üretilen bir enzimdir ve bu nedenle katalaz eksikliği önemli bir teşhis özelliğidir. Enzim hidrojen peroksit ($2 \text{H}_2\text{O}_2$)'i su ve O_2 'e parçalar ve gaz kabarcıkları gözlenir. Bu nedenle gaz kabarcıklarının oluşumu katalaz enziminin varlığını gösterir (Bulut, 2023). Bu sayede, Gram (+), spor oluşturmayan, çubuk veya kok şeklinde ve katalaz (-) olan bakteri izolatları LAB olarak ayrıştırılır (Hitchener vd., 1982; Rogosa vd., 1953; Schillinger ve Lücke 1987).

Tür düzeyinde LAB'nin tanımlanmalarında kullanılan klasik yöntemler zaman alıcı ve aynı zamanda ayırım gücü ve hassasiyetleri bakımından da şüphe uyandırıcı ve metotların ayırt ediciliği ve tekrarlanabilirliği azdır (Müller vd., 1996; Pınarkara, 2016). Bakterilerin büyüme koşulları hücre morfolojisini etkileyebilmekte ve bazı durumlarda cins düzeyinde dahi tanımlamada sorun olmaktadır. Klasik tanımlamalar her ne kadar yararlı olsa da benzer özelliklere sahip suşların ayırımında yeterli olmamaktadır. Laktik asit bakterilerini klasik yöntemler ile tanımlama, izolatların sayısının azaltılmasını sağlayarak moleküler tanımlamaya ön hazırlık açısından önemlidir (Huys vd., 2003). Morfolojik tanımlama yapılmadan, çok sayıda koloni ile yapılan moleküler tanımlamalar yanlış tanımlamalara neden olabilmektedir. Son yıllarda çalışmalar LAB'nin mikrobiyal tanımlanmaları için moleküler

tekniklerin bu alanda uygulaması üzerine yoğunlaşmıştır. Suşların tanımlanması aşamasında klasik yöntemler kesin sonuçlara ulaşmada yeterli bulunmamıştır. Bu testler ile elde edilen bazı sonuçlar moleküler tekniklerle karşılaştırıldığında benzer sonuçlara ulaşılamamış ve hata oranı yüksek olmuştur. Bunun temel sebebi olarak LAB'nin temel özelliklerinin birbirine çok benzemesi görülmektedir (Kıran ve Osmanağaoğlu 2011). Laktik asit bakterilerinde fizyolojik tanımlama ile moleküler tanımlama birlikte değerlendirildiğinde daha etkin bir tanımlama yapılabileceği bildirilmektedir (Tabasco, Paarup, Janer, Peláez ve Requena, 2007).

Pang vd. (2011) süt çiftliklerinde hazırlanan mısır (*Zea mays* L.), çeltik (*Oryza sativa* L.), sorgum (*Sorgum bicolor* L.) ve yonca (*Medicago sativa* L.) silajlarından izole edilen 156 LAB izolatu fenotipik özelliklerine göre değerlendirdikleri çalışmalarında, 110 izolatu Gram pozitif ve katalaz negatif özelliklerine göre LAB olarak kabul etmişlerdir ve 16S rRNA gen dizileme sonrası izolatları *Weissella cibaria* (%36,4), *Weissella confusa* (%9,1), *Leuconostoc citreum* (%5,3), *Leuconostoc lactis* (%4,9), *Leuconostoc pseudomesenteroides* (%8,0), *Lactococcus lactis subsp. lactis* (%4,5), *Lactobacillus paraplantarum* (%4,5) ve *Lactobacillus plantarum* (%27,3) olarak tanımlamışlardır. Mısır silajlarında *W. cibaria* ve *W. confusa*, sorgum ve çeltik silajlarında *L. plantarum* yaygın türler olurken, yonca silajlarında *L. pseudomesenteroides*, *L. plantarum* ve *L. paraplantarum* yaygın türler olmuştur.

Tohno vd. (2012) İtalyan çimi (*Lolium multiflorum* Lam.) silajının üç çeşidinden izole edilen 23 LAB izolatını, fenotipik özelliklerine ve 16S rRNA dizilimine göre tanımlamışlardır. İtalyan çimi silajından izole edilen LAB suşlarını; *Lactococcus lactis subsp. lactis*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus coryniformis subsp. Torquens*, *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus plantarum subsp. plantarum*, *Lactobacillus sakei subsp. carnosus*, *Leuconostoc mesenteroides subsp. dextranicum* ve *Pediococcus parvulus* olarak tanımlamışlardır.

Chahrour vd. (2013), sorgum silajından elde edilen 63 izolatın 27'si gram boyama, katalaz aktivitesi, hareketlilik ve spor üretip üretmeme gibi özelliklerine göre LAB olarak değerlendirilmiştir. Morfolojik tanımlama sonrasında sorgum silajlarındaki LAB popülasyonu *Lactobacillus sp*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus pentosus*, *Lactobacillus manihotivorans*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactococcus lactis subsp. lactis biovar. diacetylactis* *Weissella cibaria*, *Weissella minor*, *Weissella soli*, *Weissella viridescence* ve *Leuconostoc mesenteroides subsp.* oluşmuştur.

Ni vd. (2015) yaptıkları çalışmada Çin'de çeltik pirinci silajından, LAB doğal popülasyonunu karakterize etmek ve suşları seçmeyi amaçlamışlardır. Küçük ölçekli bir fermantasyon sistemi kullanılarak hazırlanan çeltik silajından 126 LAB suşu izole edilmiş ve fenotipik özelliklerine göre 99 izolatu (%78,57) Gram-pozitif ve katalaz-negatif olarak değerlendirirken, hücre morfolojisine göre izolatları %13,13 çubuk ve %86,87 kok olarak belirlemişlerdir. İzolatların genotipik değerlendirmesi 16S rRNA genlerinin sekans analizlerine dayanarak belirlenmiştir. Çeltik pirinci silajından; *Lactobacillus plantarum* (%8,1), *L. casei* (%5,1), *Leuconostoc pseudomesenteroides* (%11,1), *Pediococcus pentosaceus* (%24,2), *Enterococcus mundtii* (%12,1), *Lactococcus garvieae* (%15,2), *E. faecium* (%9,1) ve *Lc. lactis subsp. lactis* (%15,2) LAB suşları tanımlanmıştır. *P. pentosaceus*, çeltik pirinci silajındaki LAB popülasyonunun en bol üyesi olmuştur.

Li vd. (2015) mısır silajından LAB suşlarını fenotipik ve genotipik olarak tanımlamışlardır. Elde edilen 59 izolatu, fenotipik olarak Gram pozitif, katalaz negatif, homofermentatif, heterofermentatif, kok ve çubuk şeklinde 12 grupta tanımlanmıştır. Genotipik olarak 16S rRNA'nın dizilenmesi yapılan izolatları; *Lactobacillus plantarum subsp.*, *Pediococcus pentosaceus*, *Enterococcus mundtii*, *Weissella cibaria* ve *Leuconostoc pseudomesenteroides* olarak bildirmişlerdir.

Wang vd. (2017) yaptıkları çalışmada Tibet platosunda bulunan fiğ, uzun fescue ve çok yıllık çavdar otlarından izole edilen dört LAB suşu karakterize etmişlerdir. Elde edilen 5 LAB suşunun morfolojik ve fizyolojik özellikleri incelenmiş ve tüm LAB suşları Gram pozitif, homofermentatif, katalaz negatif, çubuk ve kok olarak bulunmuştur. İzolatların 16S rRNA'nın dizilenmesiyle sırasıyla *Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus acidilactici*, *Lactobacillus paraplantarum* ve *Lactobacillus casei* olarak tanımlanmıştır.

Zhang ve Yu (2017) yaptıkları çalışmada Çin'deki bozkırlarda hazırlanan *L. chinensis* silajından 167 LAB suşu izole etmişlerdir. Fizyolojik ve 16S rRNA gen dizilenmesine göre izolatlar 10 gruba ayrılmıştır. Elde edilen izolatları *Lactobacillus plantarum* (%44,9), *Lactobacillus brevis* (%40,7), *Lactobacillus casei* (%6,6), *Weissella hellenica* (%2,4), *Enterococcus faecium* (%1,2), *Enterococcus faecalis* (%1,2), *Enterococcus mundtii* (%1,2), *Enterococcus durans* (%0,6), *Enterococcus sulphreus* (%0,6) ve *Lactococcus garvieae* (%0,6) olarak bildirmişlerdir.

Sifeeldein vd. (2018) Fil otu silajından LAB suşlarını fenotipik ve genotipik olarak tanımlamışlardır. İzole edilen 7 suşu Gram pozitif, katalaz negatif, homofermentatif ve çubuk (%100) şeklinde tanımlanmıştır. Genetopik olarak 16S rRNA'nın dizilenmesi yapılan 7 suşu; *Lactobacillus plantarum* ve *Pediococcus acidilactici* olarak tanımlamışlardır.

Alhaag vd. (2019) sorgum silajından doğal LAB suşlarını fenotipik ve genotipik olarak tanımlamışlardır. İzole edilen 3 suşu Gram pozitif, katalaz negatif (%100), homofermentatif (%100), kok (%33,33) ve çubuk (%66,67) şeklinde tanımlanmıştır. Genetopik olarak 16S rRNA'nın dizilenmesi yapılan 3 suşu; *Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus acidilactici* ve *Pediococcus claussenii* olarak tanımlamışlardır.

You vd. (2021) yaptıkları çalışmada, İç Moğol Platosu'ndaki yerli ot silajından doğal LAB suşlarını fenotipik ve genotipik olarak tanımlamışlardır. LAB izolatlarını morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal testler kullanılarak değerlendirmiş ve izole edilen 3 suş Gram pozitif, homofermentatif, katalaz negatif, glukozdan gaz üretmeyen ve çubuk (%100) şeklinde tanımlanmıştır. Genetopik olarak 16S rRNA'nın dizilenmesi yapılan 3 suşun tamamı *Lactobacillus plantarum* grubu oldukları bildirilmiştir.

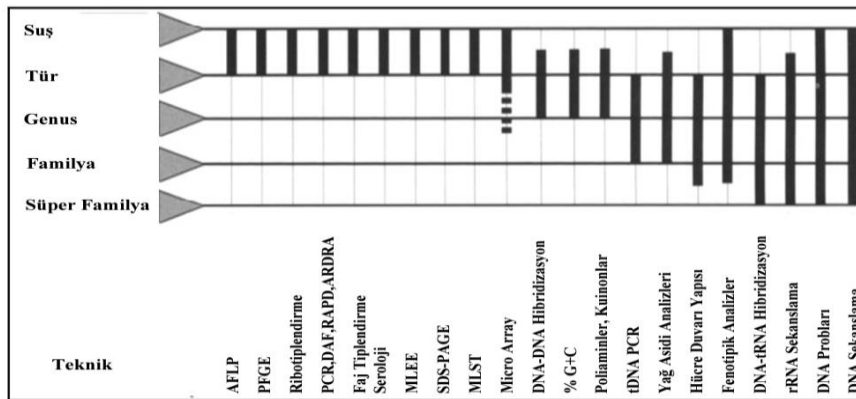
1.1.8.2 Laktik Asit Bakterilerinin Moleküler Yöntemlerle Tanımlanmasının Önemi

Morfolojik yöntemler sonucunda LAB'nin tanımlanması ilk aşama da yararlı görülse de çok daha kesin sonuca ulaşabilmek için moleküler yöntemlerin kullanılması önerilmektedir (Huys vd., 2003; Tabasco vd., 2007; You vd., 2021). Morfolojik tekniklerin silajdaki LAB'ni ayırmak için yararlı olduğu kanıtlanmış olmasına rağmen, benzer morfolojik özelliklere ya da fenotiplere sahip suşların her zaman birbiriyle yakından alakalı genotiplere sahip olmadığı görülmektedir. Ayrıca morfolojik yöntemlerin tekrarlanabilirliği ve ayırt ediciliği moleküler bazlı tekniklere göre daha zayıf olduğu bildirilmektedir (Miller vd., 1996; Pınarkara 2016). Bu nedenle çalışma kapsamında morfolojik özelliklere göre ayırım yapılmış olan LAB'nde moleküler bazlı tanımlama yapılması amaçlanmıştır. Özellikle silaj mikroflorası içerisindeki yararlı bakterilerin (LAB) yanısıra zararlı bakterilerin bulunması, küf ve maya oluşumu arzu edilmeyen bir durumdur. Bu flora içerisindeki yararlı bakterilerinin (LAB'nin) yoğunluğunun belirlenmesi oldukça önemlidir. Zararlı oluşumların silaj fermantasyonu üzerindeki olumsuz etkilerinin yanı sıra hayvanlarda verim kaybı, hastalıkların görülmesi ve hatta ölümler ile sonuçlanmasına neden olması konunun hassasiyetini daha da önemli hale getirmektedir. Bu nedenle LAB veya ticari inokulantlar istenmeyen mikroorganizma gelişiminin engellenmesi

amacıyla silajlarda sıklıkla kullanılmaktadır (Kung, Stokes ve Lin, 2003). Silajın fermentasyonu, aerobik stabilitesi ve istenmeyen mikroorganizma gelişiminin engellenmesi üzerinde önemli fonksiyonları olan LAB hayvan besleme alanında kullanılan bakterilerin en önemlileri arasındadır. Özellikle son yıllarda mısır, sorgum, buğday ve yonca gibi silajlarda bu tür inokulantların kullanımının yaygınlaştığı görülmektedir (Filya ve Sucu 2007; Muck vd., 2020; Özdüven vd., 2018).

Laktik asit bakterilerinin tanımlanmaları ve karakterizasyonu endüstriyel, teknolojik, ekolojik ve özellikle silajın kalitesinin belirlenmesini amaçlayan bilimsel açıdan gittikçe daha fazla önem kazanan bir konu haline gelmiştir (Rademaker ve De Bruijn 2000).

Bu bakterilerin tanımlanabilmesi ve karakterizasyonu amacıyla klasik yöntemlerin (morfolojik, biyokimyasal ve fizyolojik özellikleri, antibiyotik duyarlılıkları, faj tiplerinin belirlenmesi ve serolojik olarak tiplendirilmeleri) yanısıra son yıllarda güncellik kazanan PZR (Polimeraz Zincir Reaksiyon) tabanlı moleküler tekniklerden (Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi-RFLP, Çoğaltılmış ribozomal DNA'nın Restriksiyon Analizi-ARDRA, Pulsed-Field Jel Elektforezi Metodu-PFGE, Sodyum Dodesil SülfatPoliakrilamide Jel Elektforezi-SDS-PAGE ve DNA dizi analiz yöntemi) yararlanılabilmektedir. Bu moleküler teknikler: güçlü bir ayırım gücüne sahip olmaları, tekrarlanabilir olmaları, uygulamasının kolay olmasının yanında, sonuçların kolay yorumlanabilmesi gibi nedenlerden dolayı son yıllarda sıklıkla kullanılmakta ve geliştirilmektedir (Kabadjova vd., 2002; Lin vd., 2022; Vanechoutte 1996; Williams vd., 1990). Bu metodların her biri bakterileri cins, tür, alttür ve suş düzeyinde sınıflanmasına, tanımlanmasına ve karakterize edilmesine olanak sağlamaktadır (Şekil 1.2.).



Şekil 1.2. Literatürde kullanılan moleküler ve fenotipik tiplendirme yöntemlerinin taksonomik ayırt etme yetenekleri (Kıran ve Osmanağaoğlu, 2011).

Uygulanması planlanan her moleküler yöntemin kendi içerisinde avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır (Kıran ve Osmanağaoğlu, 2011). Bunlar; tekrar edilebilirliği, ekipman ve alt yapı gereksinim farklılığı, çözüme ulaşmadaki kesinlik düzeyleri, maliyet vb. gibi parametrelerden oluşmaktadır. Özellikle son on yılda hızla gelişen yeni nesil dizileme teknolojilerinin kullanıma sunulmasıyla DNA moleküllerinin daha düşük maliyetli ve yüksek verimlilikle dizilenmesi mümkün olmaktadır (Metzker, 2010).

Birinci nesil dizileme teknolojileri olarak adlandırılan Sanger dizileme tekniği daha yeni teknolojiler geliştirilmiş olmasına rağmen halen kullanılmakta olup 1 kilobazdan (kb) biraz daha kısa bölgelerin dizilenmesi amacıyla kullanılmaktadır. İkinci ve üçüncü nesil dizileme teknikleri ise daha büyük bölgelerin hatta tüm genomların dizilenmesi için geliştirilmiştir. Her ne kadar bu yeni nesil dizileme yöntemleri ile genom dizileme maliyetleri düşmüş olsa da bu yöntemlerin rutin olarak kullanılması ülkemizde halen oldukça pahalı yöntemlerdir. Bu nedenle bu proje kapsamında LAB'nin genetik olarak tanımlaması amacıyla tüm genom dizilimine teknolojilerine alternatif olan 16S rRNA gen bölgesinin dizilenmesi yöntemi tercih edilmiştir. 16S rRNA bölgelerinin dizilimleri evrimsel süreç içerisindeki değişimleri tanımlamada ve kronometre olarak kullanılmaktadır. 16S rRNA hem yüksek derecede korunmuş hem de yüksek derecede değişken bölgelere sahiptir. Bu değişken bölgeler sayesinde bakterilerden 16S rRNA genlerinin özel primerleri sentezletilir ve bu primerler, her bir gruba ait türlerin kökenini araştırmak için kullanılır.

1.1.8.2.1 Evrimsel Kronometreler olarak Ribozomal RNA'lar

Prokaryot ve ökaryot hücrelerin ribozomlarında bulunan bir RNA tipi olan Ribozomal RNA (rRNA), ribozomun protein senteziyle ilişkili katalitik fonksiyonundan sorumludur. Hücre sitoplazmasında serbest halde bulunan RNA'nın %80' i rRNA'dan oluşmaktadır. Prokaryot ve ökaryotlarda ribozomların alt birimleri ve bu alt birimlerde bulunan rRNA molekülleri farklılıklar göstermektedir. Ökaryotlarda büyük alt birim 60S, küçük alt birim ise 40S'tir. Bu alt birimlerin birleşimi 80S'lik ökaryot ribozomunu oluşturur. Prokaryotlarda büyük alt birim 50S, küçük alt birim 30S'tir. Bu alt birimlerin birleşimi ise 70S'lik prokaryot ribozomunu oluşturur (Çizelge 1.1).

Çizelge 1.1. Prokaryot ve ökaryotlarda rRNA türlerinin ribozom alt birimleri

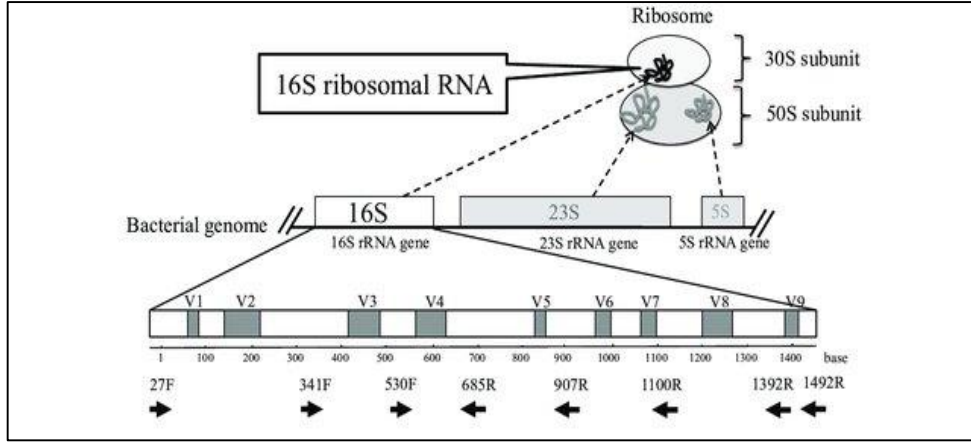
Prokaryot			
Ribozom	Altbirim	rRNA'lar(nükleotid uunlukları)	Protein
70S	50S	5S (120 nt), 23S (2904 nt)	34
	30S	16S (1540 nt)	21
Ökaryot			
Ribozom	Altbirim	rRNA'lar	Protein
80S	60S	5S (120 nt), 5.8S (160 nt), 28S (4718 nt)	49
	40S	18S (1874 nt)	33

Prokaryotlarda büyüklükleri; 5S, 16S ve 23S ('S', 'Svedberg'i simgeler ve bir partikülün santrifüj edildiğinde çökmesini esas alan bir kütle ölçüsüdür) olan 3 çeşit ribozomal RNA molekülü bulunurken, ökaryolarda 4 farklı rRNA molekülü (5S, 5.8S, 28S ve 18S) bulunmaktadır. Bu RNA'lar, mükemmel evrimsel kronometreler olmalarını sağlayan çeşitli özelliklere sahiptirler. Oldukça büyük, işlevsel olarak sabit, evrensel olarak yaygın moleküller olan rRNA'lar, tüm hücrelerde nükleotit dizisinin korunduğu çok sayıda bölge içermeleri nedeniyle türler arasındaki varyasyonların incelenmesinde en çok kullanılan moleküllerdir. Hem yüksek derecede korunmuş hem de yüksek derecede değişken bölgelere sahip olan 16S rRNA bölgesi prokaryotların genetik tanımlanması amacıyla oldukça yaygın kullanılan bir bölgedir (Nogales vd., 2001). Ökaryotlarda ise tanımlamada işlevsel olarak benzer fakat biraz daha büyük olan 18S rRNA gen bölgesi kullanılmaktadır. 16S ve 18S rRNA'ları ribozomun küçük alt biriminin (30S veya 40S) bir parçası olduklarından SSU (small subunit- küçük alt birim) dizilemesi kısaltması literatürde, 16S veya 18S dizilemesi ile eş anlama gelmektedir. Bu küçük alt birim rRNA'ların filogenetik incelemelerde bir araç olarak kullanımına 1970'lerde Illinois Üniversitesi'nden Carl Woese öncülük etmiştir ve bu yöntem günümüzde tüm biyolojide yaygın olarak kullanılmaktadır (Madigan ve Martinko 2010).

16S rRNA dizisi (veya 16S rDNA) bakteriler arasındaki filogenetik yapıyı incelemekte kullanılan güçlü bir araçtır. Bu gen dizisi filogenetik tanımlamada ilgi çekicidir, çünkü ribozomal RNA, bakteriler arasında hem evrensel dizilere hem de ulusal veritabanıyla karşılaştırıldığında bakterileri tür ya da cins düzeyinde tanımlamayı mümkün kılabilen tür-spesifik dizilere sahiptir (Mignard ve Flandrois 2006). Genel olarak kabul gören şekliyle 16S rRNA dizisinde, diğer tüm organizmalardan %3'ten fazla farklılık gösteren veya diğer bir

deyişle veri tabanındaki diğler tüm dizilere %97'den az benzerlik gösteren bir prokaryotun yeni bir tür olduğı düşünölür. Bu öneriyi destekleyen en önemli gözlemin, 16S rRNA gen dizisinde %3' ten fazla farklılık gösteren iki prokaryotun genomik DNA'larının %70'ten az hibridize olduğıdur. İki organizmanın aynı tür olduğunu söylemek için %70 veya üzerindeki hibridizasyon değeriine sahip olunmasının gerektiğı bildirilmektedir. Ancak 16S rRNA gen dizilemesi bazı durumlarda DNA hibridizasyonu ve diğler moleköler yöntemlere göre organizmaları tür seviyesinde ayırt etmede yetersiz kalabilir, ancak evrensel olması ve birbirinden farklı türlerin amplifikasyonunda kullanışlı olması nedeni ile filogenetik tanımlamada oldukça yaygın olarak kullanılmaktadır (Madigan ve Martinko 2010).

Bakterilerin genetik olarak tanımlanmasında yaygın olarak kullanılan moleköler tabanlı yöntemlerden biri olan 16S rRNA gen bölgesinin dizilenmesidir. Dizi analizi ile elde edilen verilerin, önceden sekansı yapılan ve veritabanında yer alan diziler ile karşılaştırılması sonrasında yakın akrabalık ilişkileri tespit edilmekte ve türler arasındaki benzerlik-farklılık oranları kontrol edilerek, bakterilerin türü belirlenebilmektedir (Johnson vd., 2019; Kızıışimşek ve Günaydın, 2020; Li vd., 2015; Sifeeldein vd., 2018). 16S rRNA gen bölgesinin bütün bakterilerde bulunması, fonksiyonel olarak korunmuş olması, uygun büyüklükte olması (~1550 bp), çok değışken bölgeler içermesi nedeni ile uygun PZR primerlerinin oluşturulabilmesi ve bu çok değışken bölgelerin tür analizinde belirleyici olması, bu genin dizilerinin mevcut veri tabanlarında ulaşılabilir ve kıyaslanabilir olması bu genin filogenetik çalışmalarda tercih edilme nedenleridir (Neelakanta ve Sultana, 2013; Turan vd., 2018). Yukarıda belirtilen özelliklerin yanısıra bu yapısal genin (housekeeping) genetik işaretleyici olarak seçilmesinin en önemli nedeni sadece tüm bakterilerin bu geni içermesi değil, aynı zamanda genomik dizilerin karşılaştırılmasını mümkün kılan farklı türler arasındaki dokuz "yüksek oranda değışkenlik (hypervariable) gösteren bölge" çeşitliliğinin mevcut olmasından kaynaklanmaktadır (Şekil 1.3). Ayrıca, bu gen biyoinformatik analiz için yeterince uzundur (Janda ve Abbott 2007) ve evrensel primerler kullanılarak (Şekil 1.4) genin amplifikasyonuna izin veren korunmuş bölgeler içerir. Genellikle V2, V3 ve V6 bölgeleri cins düzeyinde ayırım için yeterli olmakla birlikte, bazı durumlarda tür düzeyinde ayırımda kullanılabilir. Yang vd. (2016) yaptığı çalışma sonuçları, V4-V6'nın bakteriyel filumlar için üstün filogenetik çözünürlüğe sahip evrensel primerlerin tasarımı için en uygun alt bölgeler olabileceğini göstermektedir. 16s rRNA gen bölgesinde mevcut olan yüksek oranda varyasyon görölün gen bölgeleri Şekil 1.3' de ve bu bölgelerin başlangıç ve bitiş pozisyonları Çizelge 1.2 'de gösterilmektedir.



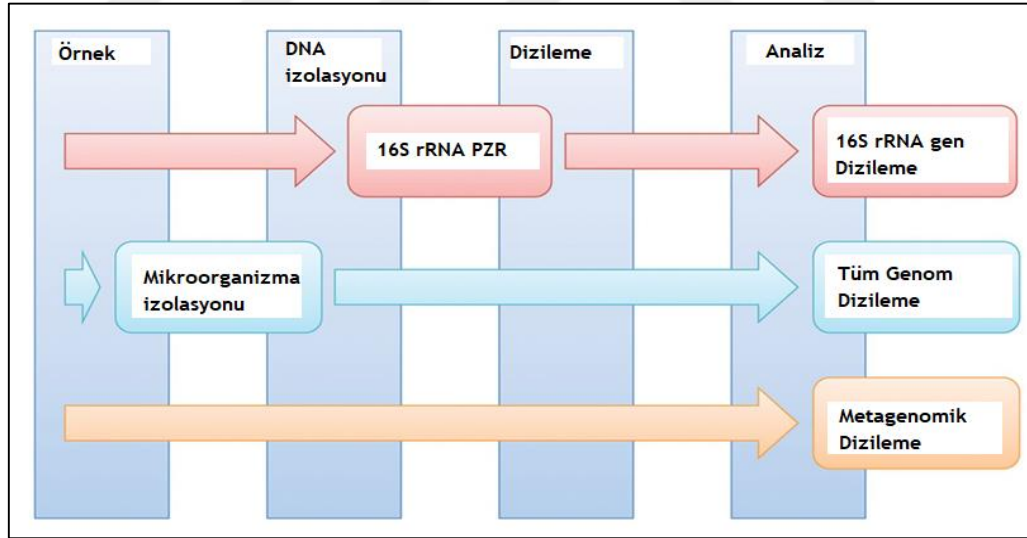
Şekil 1.3. Ribozom kompleksi ve 16S rRNA geninin ayrıntılı görünümü. Beyaz ve gri renkli kutular sırasıyla korunmuş bölgeleri ve aşırı değişken bölgeleri (V1- V9) göstermektedir. Şekildeki kalın oklar ise *E. Coli*'nin 16S rRNA gen dizisi üzerindeki primerlerin yaklaşık konumlarını belirlemektedir (Fukuda vd., 2016).

Çizelge 1.2. 16S rRNA gen bölgesinde yüksek düzeyde değişkenlik gösteren “V” bölgelerinin başlangıç ve bitiş pozisyonları (Chakravory vd., 2007).

Değişken Bölge numarası	Başlangıç ve Bitiş
V1	66-99
V2	137-142
V3	433-497
V4	576-872
V5	822-879
V6	986-1043
V7	1117-1173
V8	1243-1294
V9	1435-1465

16S rRNA gen dizisi ile tanımlama, geleneksel biyokimyasal testlerde tanımlanamayan bakterileri tanımlamak için uygun bir alternatiftir. Daha spesifik olarak, 16S rRNA gen dizilimi, PZR amplifikasyonu, dizilimi ve belirli veri tabanlarında bulunan dizilenmiş genomlarla hizalama yapılmasını içerir. 16S rRNA gen dizilerinin karşılaştırılması, mikroorganizmaların cins ve hatta tür düzeyinde tanımlanmasıyla sonuçlanır (Janda ve Abbott 2007). Bununla birlikte, 16S rRNA gen dizilimi yoluyla bakteri türlerini tanımlamak için gerekli kriterler konusunda bir fikir birliği olmadığı ve bir dizinin bir veritabanındaki belirli bir diziyle %99 benzerlik göstermesi durumunda bile doğru bir tanımlamayı garanti etmenin mümkün olmadığını belirtmek önemlidir (Janda ve Abbott 2007). Bunun bir nedeni, *Aeromonas veronii* gibi bazı bakterilerin 16S rDNA'da intragenomik heterojenlik göstermesidir (Janda ve Abbott 2007). Bu gibi durumlarda maliyeti bu tekniğe göre henüz daha da yüksek olan alternatif teknolojilerin (tüm genom dizileme, metagenomik dizilemeler) kullanılması önerilmektedir (Agarussi vd., 2022). Ancak 16S rRNA gen dizilim tekniği

bakterilerin genetik olarak tanımlanmasında halen kullanılan güncel bir tekniktir. Bu teknikte ilk adım örneklerin toplanması ve DNA'ların izolasyonu aşamasıdır. Bakteri DNAsını elde etmek için ya standart bir DNA izolasyon protokolu veya kullanıma hazır ticari bir DNA izolasyon kiti kullanılabilir. Bir sonraki aşamada izole edilen DNA örneğinin miktar ve kalitesi kontrol edilmektedir. Ardından PZR ile çoğaltılacak ve dizilimi yapılacak bölgenin primer çiftinin tasarlanması veya evrensel dizilerden seçiminin yapılması gerekmektedir. Ardından seçilen bölgenin uygun PZR ile yükselgenmesinin yapılması ve ilgili ürünün kontrol edilme aşaması gelmektedir. Kontrol sonrası Sanger dizileme tekniği ile ilgili bölgenin dizilimi yapılmaktadır. Dizileme işlemi sonrasında veriler, sonuçların değerlendirilmesi amacıyla biyoinformatik analizler ile değerlendirilmektedir. Analizde referans veriler ile elde edilen diziler karşılaştırılmaktadır. En son aşamada genin yüksek değişken bölgelerindeki varyasyonları tanımlanmakta ve diğer referans dizilerle benzerlik ve farklılıkları tespit edilmeye çalışılmaktadır (Oto-Tsuzuki vd., 2008). 16S rRNA dizileme tekniği ile diğer tekniklerin karşılaştırılması yapıldığında (Şekil 1.4) örnek toplama, DNA izolasyonu, dizileme ve analiz aşamaları her 3 teknikte yapılmaktadır ancak 16S rRNA gen dizilemesi ek adımlar gerektirmektedir (primer seçimi, PZR, PZR ürün kontrolü vb.).



Şekil 1.4. 16S rRNA Geni Dizi Analizi akış şeması. 16S rRNA dizi analizi, tüm genom dizileme ve metagenomik dizileme süreçlerinin karşılaştırılması (Cox vd. 2013).

1.1.8.2.2 Silajda Laktik Asit Bakterilerinin Moleküler Tanımlanmasında 16S rRNA Gen Dizilimi Tekniğine İlişkin Yapılan Çalışmalar

Son dönemlerde, silaj materyalinin korunmasını sağlamak ve fermente materyalin besinsel ve mikrobiyolojik kalitesini iyileştirmek için katkı maddesi olarak kullanılan LAB

türlerinin klasik agar kaplama teknikleri ile tanımlanması, bu LAB'nin silolamadaki rolünü, mayalar ve küflerin bozulmaya katkısını tanımlamakta yararlı olmuş, ancak bu teknikler silajın yapısındaki mikrobiyal çeşitliliğin tahmin edilmesinde yetersiz kalmıştır. Özellikle son yıllarda geliştirilen yeni nesil dizileme teknolojilerinin kullanılması, silolama sırasında meydana gelen mikrobiyolojik süreçlerin daha iyi anlaşılmasına katkı sağlamaktadır. Moleküler bazlı bu teknikler, silajın mikrobiyal ekolojisinin karmaşıklığı hakkında yeni bir anlayış oluşturmuş, silaj kalitesindeki epifitik popülasyonların rolünü ve silaj katkı maddelerinin yüksek kaliteli silaj üretimine nasıl daha elverişli mikrobiyomlar üretebileceğini karakterize etmiştir (Puntillo vd., 2022). Bu amaçla kullanılan dizileme teknolojilerinden biri olan 16S rRNA gen dizilim tekniğinden elde edilen veriler ile silolama sırasında bakteri topluluğundaki değişiklikler ve bunların metabolik yollarını tanımlamak için birçok araştırmada hala yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu teknik, silolama sırasında mikrobiyal topluluklardaki değişikliklerin izlenmesine, silolama sürecinin iyice anlaşılmasına ve geliştirilmesine için yardımcı olmaktadır (Xu vd., 2017). İlk dönemlerde sadece mikrobiyolojik analizlerle belirlenmeye çalışılan bu bakteriler bugün genetik ve biyoteknoloji alanındaki gelişmeler ile çok daha ileri seviyelere taşınmıştır. Bugünkü aşamada yürütülen dizileme çalışmaları ile filogenetik sınıflama ile türleri tanımlamak hiç şüphesiz fermentasyonu kontrol etme açısından etkili olan silaj katkı maddeleri ile ilgili yeni yaklaşımların önünü açmaktadır.

Silajlardaki LAB'nin tanımlanması amacıyla yapılan referans çalışmalar incelendiğinde, özellikle son yıllarda Yeni Nesil Dizileme (NGS) teknolojilerinin kullanımı ile metagenomik çalışmaların yaygınlaştığı (Puntillo vd., 2022) ve özelliklede iki tür NGS tabanlı teknolojinin kullanıldığı bildirilmektedir (McAllister vd., 2018) : (1) daha uygun bir şekilde 'metaprofilleme' veya amplikon tabanlı profillem (örneğin prokaryotlarda 16S rRNA geni) olarak adlandırılan tek/işaretleyici gen amplifikasyon metagenomiği (Gallagher vd., 2018; Guan vd., 2018; Li vd., 2023; Puntillo vd., 2022; Wang vd., 2020; Wu vd., 2022) veya (2) tüm genom shotgun dizileme metagenomiği (McAllister vd., 2018; Okoye vd., 2023; Puntillo vd., 2022; Tanizawa vd., 2015). Ancak bu yöntemlerin maliyetlerinin günümüz koşullarında oldukça yüksek olması nedeni ile 16S rRNA gen bölgesi dizileme çalışmalarıyla tanımlamaların yapılabileceği bildirilmektedir (Silva vd., 2020). Silajda bulunabilecek homofermentatif LAB türlerinin *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus coryniformis*, *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus acidilactici*, *Pediococcus cerevisiae*, *Pediococcus pentosaceus*; heterofermentatif LAB türlerinin ise *Lactobacillus*

brevis, *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus viridescens* (*Weissella viridescens*), *Leuconostoc cremoris*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Leuconostoc dextramicum* şeklinde olduğu bildirilmektedir (McDonald, 1981). Farklı bitki silajlarının yapısındaki LAB'lerinin genetik olarak tanımlanmasına ilişkin yapılan referans çalışmaların ayrıntıları aşağıda verilmiş olup çalışmaların sonuçları tablo halinde özetlenmiştir (Çizelge 2.3).

Çeltik-pirinç silajında LAB'lerinin filogenetik çeşitliliğinin incelendiği çalışmada (Ennahar, Cai ve Fujita, 2003) morfolojik ve biyokimyasal özelliklerine (fenotipik özellikler) dayanarak *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* ve *Weissella* cinslerinin üyeleri olduklarına karar verilen 10 gruptan 161 örnekte 16S rRNA gen bölgesi ile dizilimleri yapılmıştır. Çalışmada 16S rRNA gen bölgesi analizi fenotipik analizlere dayanarak belirlenen baskın grupların varlığının doğrulanması ve mevcut suşların filogenetik ilişkisinin incelenmesi amacıyla kullanılmaktadır. Çalışmada bir tür haricinde, genetik verilerin fenotipik tanımlama ile uyumlu olduğu belirlenmiştir. Ağırlıklı olarak homofermentatif (%66) olan yaygın LAB'nin: *Lactobacillus plantarum* (%24), *Lactococcus lactis* (%22), *Leuconostoc pseudomesenteroides* (%20), *Pediococcus acidilactici* (%11) *Lactobacillus brevis* (%11), *Enterococcus faecalis* (%7), *Weissella kimchii* (%3) ve *Pediococcus pentosaceus* (%2) olduğu bildirilmiştir.

Çin'in Pekin kentinde yapılan bir çalışmada (Pang vd., 2011) süt sığırı işlemlerinde 9 ay boyunca silolanan mısır, sorgum, çeltik ve yonca silajlarından alınan örneklerden izole edilen 156 bakteri suşunda yapılan morfolojik ve biyokimyasal analizler sonucunda 110 izolatın LAB olduğu tanımlanmış ve bu suşlarının moleküler olarak tanımlanması için 16S rRNA dizi analiz tekniği kullanılmıştır. Moleküler tanımlama sonucunda LAB suşlarının *Weissella cibaria* (%36,4), *Weissella confusa* (%9,1), *Leuconostoc citreum* (%5,3), *Leuconostoc lactis* (%4,9), *Leuconostoc pseudomesenteroides* (%8,0), *Lactococcus lactis subsp. lactis* (%4,5), *Lactobacillus paraplantarum* (%4,5) ve *Lactobacillus plantarum* (%27,3) türlerinden oluştuğu belirlenmiştir. Mısır silajında baskın olan LAB suşlarının *W. cibaria* ve *W. confusa* türleri olduğu, sorgum ve çeltik silajlarında *L. plantarum* suşu ve yonca silajında ise *L. pseudomeseneroides*, *L. plantarum* ve *L. paraplantarum* suşları olduğu görülmüştür.

Çin'de 38 yonca çeşidinden izole edilen 84 LAB suşunun yonca silajının kalitesini iyileştirmedeki etkinliğinin incelendiği bir çalışmada (Li vd., 2017) fenotipik, taksonomik, 16S rRNA dizilimine ve recA geni polimorfizm tekniğine göre tanımlaması yapılmıştır (Li

vd. 2018). Çalışmada 16S rRNA dizilimine göre yonca silajında 7 cins (*Enterococcus*, *Streptococcus*, *Weissella*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Lactococcus* and *Lactobacillus*) 15 tür ve alt türe ait suş tanımlanmış olduğu belirlenmiştir. Baskın olan türün *Leuconostoc* (%46,4) suşlarına ait olduğu ve her bir türün dağılımlarının sırası ile *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* (%22,6), *Leuconostoc lactis* (%2,4), *Leuconostoc fallax* (%7,1), *Leuconostoc citreum* (%1,2), *Leuconostoc pseudomesenteroides* (%13,1), *Enterococcus hirae* (%8,3), *Enterococcus casseliflavus* (%8,3), *Enterococcus faecium* (%6,0), *Streptococcus parauberis* (%2,4), *Weissella cibaria* (%2,4), *Weissella confusa* (%11,9), *Pediococcus pentosaceus* (%6,0), *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* (%2,4), *Lactococcus garvieae* (%2,4) ve *Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum* (%3,5) olduğu gözlemlenmiştir.

Wang vd. (2017)'nin yaptığı çalışmada, Çin'in Tibet Platosu'ndaki adi fiğ, uzun yumak çimi ve çok yıllık çavdardan izole edilen dört LAB suşu (LCG3, LTG7, I5 ve LI3) morfolojik, fizyolojik ve 16S rRNA dizi analiz tekniği ile karakterize edilmiş ve karakterize edilen bu bakterilerin İtalyan çavdarı (*Lolium multiflorum* Lam.) silajının fermantasyon kalitesi üzerindeki etkileri incelenmiştir. Çalışmada dizi analizi sonrasında referans veriler ile filogenetik olarak değerlendirilen LAB suşlarının *Lactobacillus plantarum* (LCG3 suşu), *Pediococcus acidilactici* (LTG7 suşu), *Lactobacillus paraplantarum* (I5 suşu) ve *Lactobacillus casei* (LI3 suşu) olduğu belirlenmiştir.

Soya fasülyesi kalıntı silajında 16S rRNA analizi ile belirlenen LAB'nin filogenetik çeşitliliğinin incelendiği bir çalışmada (Zheng ve Xu, 2017), 10 baskın olan LAB suşu izole edilmiş ve ilgili gen bölgesinin DNA dizilimi yapılmıştır. Çalışma sonuçları incelendiğinde *Lactobacillus L. farciminis* (%18), *L. amylovorus* (%18), *L. buchneri* (%13), *L. plantarum* (%11), *L. casei* (%11), *L. parafarraginis* (%5), *L. pantheris* (%5) , *Pediococcus P. pentosaceus* (%13), *P. acidilactici* (%2), ve *W. cibaria* (%5) cinsi LAB'lerinin gözlemlendiği bildirilmektedir.

Sifeeldein vd. (2018) 'nin yaptığı çalışmada; fil çimeni silajından izole edilen 7 farklı LAB suşunun 16S rRNA gen bölgesinin dizilenmesi ve filogenetik olarak tanımlanması sonrasında 3 suşun (AZZ1, AZZ2 ve AZZ5) *Pediococcus* cinsi, 4 suşun (AZZ3, AZZ4, AZZ6 ve AZZ7) ise *Lactobacillus* cinsi olduğu gözlemlenmiştir. Araştırmanın bir sonraki aşamasında fil çimeni silajından izole edilen bu LAB'lerinden AZZ1(*Pediococcus acidilactici*), AZZ4 (*L. plantarum* subsp. *plantarum*) ve AZZ7 (*L. plantarum* subsp.

argentoratensis) 'nin tatlı sorgum silajına katılarak bu bakterilerin sorgum silajı fermantasyon kalitesine etkileri incelenmiştir.

Wang vd. (2018)'nın yaptıkları bir çalışmada Çin'in Tibet platosunda doğal olarak fermente edilmiş adi fiğ, zun yumak çimi ve italyan çimi silajından elde edilen 124 LAB suşunun izole edilmesi ve 16S rRNA dizi analiz tekniği ile tanımlanması sonrası seçilen 5 farklı LAB suşunun (LCG9, LTG7, I5, TG1 ve LI3) inokulant olarak İtalyan çavdarı (*Lolium multiflorum* Lam.) silajına katıldığı ve silaj kalitesi üzerindeki kombine etkilerinin incelendiği görülmektedir. Çalışmada seçilen LAB'lerinin ilgili gen bölgesi dizisinin referans veriler ile karşılaştırılması sonrasında %99 benzerlik oranı ile sırası ile *Pediococcus pentosaceus* (DSM 20336), *Pediococcus acidilactici* (DSM 20284), *Lactobacillus paraplantarum* (DSM 10667), *Lactobacillus plantarum* (CIP 103151) ve *Lactobacillus casei* (ATCC 334) olduğu bildirilmektedir.

Buğdaygil (buğday, arpa ve yulaf bitkilerinden) silajlarından izole edilen LAB'lerinin fenotipik (morfolojik ve biyokimyasal) ve genetik olarak tanımlanmasının yapıldığı tez çalışmasında (Aksu, 2020); 16S rRNA gen bölgesi dizi analiz tekniği kullanılarak tanımlanan 17 izolatın 14 tanesi tür düzeyinde tanımlanabilmiş, ancak 3 tanesinin kültüre-edilmemiş türlerle benzerlik gösterdiği belirlenmiştir. Çalışmada tanımlanan izolatların tür düzeyinde dağılımlarının; 2 izolat *Lactobacillus gasseri*, 6 izolat *Lactobacillus plantarum*, 2 izolat *Enterococcus faecium*, 1 izolat *Pediococcus acidilactici*, 2 izolat *Weissella viridescens* ve 1 izolatın *Lactobacillus brevis* şeklinde olduğu görülmüştür. Çalışmada buğday silajlarından tanımlanan LAB türlerinin *Lactobacillus plantarum*, *Weissella viridescens*, *Pediococcus acidilactici* ve *Enterococcus faecium* olduğu, arpa silajından tanımlanan LAB türlerinin *Lactobacillus brevis* ve *Lactobacillus gasseri* olduğu ve yulaf silajından tanımlanan LAB türünün ise *Lactobacillus plantarum* olduğu belirlenmiştir. Silajlardan tanımlanan LAB türlerinin dizi benzerliği oranları incelendiğinde ise değerlerin %91,16 (*Lactobacillus brevis*) ile %100 (*Weissella viridescens*) arasında değiştiği gözlemlenmiştir.

Silva vd. (2020) 'nın yaptığı 2 aşamalı bir çalışmada, Brezilya'nın tropikal bir bölgesinde üretilen yonca silajından yabancı olarak isimlendirdikleri (silajın doğal yapısından elde edilen) LAB suşlarını ilk aşamada seçip (*L. pentosus*, *Lactobacillus brevis*, *P. acidilactici*) ve izole edip bir sonraki aşamada inokulant olarak yonca silajında kullanılmış, yeni silajda mevcut LAB'lerinin karakterize edilmesi ve 16S rRNA gen bölgesi dizilim tekniği ile tanımlanması yapılmıştır. Çalışmada LAB'lerinin genetik olarak tanımlanması,

silajın fermentasyonuna ve besleme değerine etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. 4 x 2 faktöriyel deneme deseninde (4 farklı inokulant, 2 farklı hasat dönemi, 4 tekerrürlü) planlanmış olan bu çalışmanın 2. aşamasında farklı günlerde silaj açimleri yapılmıştır. 1, 3, 7, 14, 28 ve 56 gün boyunca silolanan örneklerden ekstrakte edilen ve MRS agarda inkibe edilen LAB'den 102 suş elde edilmiş ve 16 S rRNA gen bölgesi dizilenmesi yapılmıştır. Çalışmada 77 suşun (3'ü bitkiden ve 74'ü silajdan), GenBank veri tabanında bulunan diğer LAB dizileriyle %97'nin üzerinde benzerlik gösterdiği belirlenmiştir. Tüm LAB'leri içerisinde *Pediococcus*, *Lactobacillus* ve *Weissella* cinslerinin sırasıyla izolatların %52.0, %24.7 ve %20.8'ini temsil ettiği bildirilmektedir. Ayrıca çalışmada *W. cibaria*, *L. plantarum*, *L. pentosus*, *L. brevis*, *L. casei*, *P. pentosaceus* ve *P. acidilactici*'ye ait LAB suşlarının tanımlandığı bildirilmiştir. Bu çalışma sonucuna göre Brezilya'nın tropikal bölgelerinde üretilen yonca silajında *Weissella cibaria*, *Pediococcus pentosaceus*, *Pediococcus acidilactici* ve *Lactobacillus plantarum*'un yaygın türler olduğu gözlemlenmiştir.

Lin vd. (2022)'nin yaptıkları bir çalışmada ananas kalıntısı silajında doğal olarak bulunan LAB'nin genotipik ve fenotipik olarak karakterizasyonu yapılmıştır. Çalışmada 34 LAB suşu izole edilmiş olup genotipik olarak tanımlamada 16S rRNA gen bölgesi dizi analiz tekniği ve recA geni polimorfizmi kullanılmıştır. Dizi analiz tekniği sonucuna göre A, B, C ve D olmak üzere 4 farklı grubun görüldüğü belirlenmiştir. Grup A suşunun (P12) *Lactocaseibacillus paracasei*, grup B'deki suşun (P15) ise, *Lactiplantibacillus* (*L.*) cinsine ait olduğu, çünkü filogenetik ağaçta *L. pentosus*, *L. plantarum*, *L. argentoratensis*, *L. paraplantarum* ve *L. fabifermentans*'ı içeren *L. plantarum* dalında kümelendiği bildirilmektedir. Grup C suşu (P22)'nin *Levilactobacillus brevis* ve grup D (P24) suşunun ise *Leuconostoc* (*Ln.*) kümesinde yer aldığı ve filogenetik ağaçta *Ln. citreum* ile birlikte gruplandığı görülmektedir. Çalışma sonuçları incelendiğinde, 16S rRNA'nın dizilenmesinin, LAB'nin tür düzeyinde tanımlanması için başarıyla uygulanabileceğini göstermektedir.

Liu vd. (2022)'nin doğal fermente edilmiş *Stipa grandis* silajındaki LAB suşlarını tanımlamak için yaptıkları çalışmasında 38 LAB izole edilmiş ve 16S rRNA dizilimi tekniği ile 2 farklı suşun (*Lactiplantibacillus plantarum* ve *Pediococcus pentosaceus*) silajda mevcut olduğu görülmüştür. Bu çalışmanın ikinci aşamasında ise izole edilen iki LAB'si ve bir ticari katkı maddesi (*Lactiplantibacillus plantarum*) *Stipa grandis* silajına eklenmiş, silajın kimyasal kompozisyonuna, fermentasyon kalitesine ve bakteri topluluğu üzerine etkileri araştırılmıştır.

Çizelge 1.3. Farklı bitki silajlarının yapısındaki LAB'lerinin genetik olarak tanımlanmasına ilişkin referans çalışmalar

Silaj cinsi	LAB cinsi	LAB türleri	Referans
Ananas Kalıntısı	<i>Lactobacillus, Leuconostoc</i>	<i>Lactocaseibacillus paracasei, Levilactobacillus brevis, Ln. citreum., L. plantarum</i>	Lin vd., 2022
Stipa grandis	<i>Lactobacillus, Pediococcus</i>	<i>Lactiplantibacillus plantarum, Pediococcus pentosaceus</i>	Liu vd., 2022
Yonca	<i>Lactobacillus, Pediococcus, Weissella</i>	<i>W. cibaria, L. plantarum, L. pentosus, L. brevis, L. casei, P. pentosaceus ve P. acidilactici</i>	Silva vd., 2020
Buğday, arpa ve yulaf	<i>Lactobacillus, Enterococcus, Pediococcus, Weissella</i>	<i>L. gasseri, L. plantarum, E. faecium, P. acidilactici, W. Viridescens, L. brevis</i>	Aksu, 2020
İtalyan çimi	<i>Pediococcus, Lactobacillus</i>	<i>LCG9 (Pediococcus pentosaceus), LTG7(Pediococcus acidilactici), I5 (Lactobacillus paraplantarum), TG1(Lactobacillus plantarum), LI3 (Lactobacillus casei)</i>	Wang vd., 2018
Fil otu	<i>Lactobacillus, Pediococcus</i>	<i>AZZ3, AZZ4, AZZ6, AZZ7 (Lactobacillus cinsi) AZZ1, AZZ2, AZZ5 (Pediococcus cinsi)</i>	Sifeeldein vd., 2018
Soya fasülyesi kalıntısı	<i>Lactobacillus, Pediococcus, Weissella,</i>	<i>Lactobacillus farciminis, Lactobacillus amylovorus, Lactobacillus buchneri, Pediococcus pentosaceus, Lactobacillus plantarum, Lactobacillus casei, Lactobacillus parafarraginis, Weissella cibaria, Lactobacillus pantheris, Pediococcus acidilactici</i>	Zheng ve Xu, 2017
Adi fiğ, uzun yumak çimi ve çok yıllık çavdar	<i>Lactobacillus, Pediococcus</i>	<i>L. plantarum, P. acidilactici, L. paraplantarum, L. casei</i>	Wang vd., 2017
Yonca	<i>Enterococcus, Streptococcus, Weissella, Pediococcus, Leuconostoc, Lactococcus, Lactobacillus</i>	<i>Leuconostoc mesenteroides subsp. mesenteroides, Leuconostoc lactis, Leuconostoc fallax, Leuconostoc citreum, Leuconostoc pseudomesenteroides, Enterococcus hirae, Enterococcus casseliflavus, Enterococcus faecium, Streptococcus parauberis, Weissella cibaria, Weissella confusa, Pediococcus pentosaceus, Lactococcus lactis subsp. lactis, Lactococcus garvieae ve Lactobacillus plantarum subsp. plantarum</i>	Li vd., 2017
Mısır, çeltik, yonca ve sorgum	<i>Lactobacillus, Lactococcus, Weissella, Leuconostoc,</i>	<i>W. cibaria, W. confusa, Leuconostoc citreum, Leuconostoc lactis, Leuconostoc pseudomesenteroides, Lactococcus lactis subsp. lactis, L.paraplantarum, L.plantarum</i>	Pang vd., 2011
Çeltik-pirinç	<i>Lactobacillus, Pediococcus, Leuconostoc, Enterococcus Streptococcus, Weissella</i>	<i>L. plantarum, Lactococcus lactis, Leuconostoc pseudomesenteroides, P. acidilactici, L. brevis, E. faecalis, W. kimchii, P. pentosaceus</i>	Ennahar vd., 2003

Sonuç olarak, 16S rRNA gen bölgesi dizileme tekniğinin silajlardaki LAB'lerini genetik olarak tanımlamada hala yaygın olarak kullanıldığı görülmektedir. Referans çalışmalar incelendiğinde ülkemizde sorgum silajından izole edilen LAB'lerinin 16S rRNA gen dizilim tekniği ile genetik olarak tanımlanması amacıyla yapılan herhangi bir çalışmanın olmadığı görülmektedir. Birçok farklı yem bitkisinden (mısır, arpa, buğday, vs) yapılan silajlar üzerine yapılan araştırmalarda genellikle fenotipik (morfolojik, biyokimyasal) tanımlama yöntemleri ve tanımlanan LAB'lerinin silaj fermentasyonuna, kalitesine ve yem değerine katkıları incelenmiştir. İşte bu nedenle mısır silajına alternatif olabileceği düşünülen sorgum silajına karakteristik nitelikler kazandırabileceği düşünülen fermentatif LAB'lerinin hassas ve güvenilir yöntemlerle tanımlanmasının oldukça yararlı olacağı düşünülmektedir. Bu çalışmada, sorgum silajındaki LAB'nin tanımlanmasında, 16S rRNA gen bölgesi dizi analizi tekniği kullanılmıştır.

1.2 Çalışmanın Amacı ve Kapsamı

Bu çalışmanın amacı üç farklı genotipe sahip sorgum hasıllarına homofermantatif ve/veya heterofermantatif LAB inokulantlarının ilavesinin fermentasyon özellikleri, aerobik stabilitesi, besin madde ve hücre duvarı içerikleri, *in vitro* KMS, OMS ve protein sindirilebilirlikleri, kondanse tanen ve toplam fenolik bileşikler, *in vitro* gaz üretim tekniği ile yem değerinin belirlenmesi ve silaj bakterilerinin genetik karakterizasyonun araştırılması ve ortaya konulmasıdır. Bu amaç doğrultusunda öncelikli olarak sorgum silajlarının besin madde içerikleri, *in vitro* sindirilebilirlikleri ile silolanan yemlerin fermentasyon özellikleri belirlenerek aşağıdaki hedeflere ulaşılabilecektir;

- Homofermantatif ve/veya heterofermantatif LAB inokulantları ilave edilen farklı genotipe sahip sorgum hasıllarının fermentasyon özellikleri, aerobik stabilite ile yem değerlerinin belirlenmesi ve karşılaştırılması,
- Farklı sorgum hasıllarından elde edilen silajların tanen ve fenolik madde miktarına etkilerinin belirlenmesi ve karşılaştırılması,
- Farklı LAB inokulantlarının silaj bakterileri genetik karakterizasyonu üzerindeki etkilerinin belirlenmesi ve karşılaştırılmasıdır.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1 Yem Materyali

Çalışmanın bitkisel materyalini oluşturan üç çeşit [Greengo (ST), Es Hyperion, BMR Gold 2 (ST)] sorgum (*Sorghum bicolor* L.) Tekirdağ Bağcılık Araştırma İstasyonu Deneme alanında bölünmüş parseller deneme desenine göre 3 tekrarlamalı olarak ekilmiştir. Sıra arası 45 cm, sıra üzeri 5 cm, parsel uzunluğu 5 m, parsel genişliği 2,7 m, her parselde 6 sıra ve her sırada 100 bitki olacak şekilde elle ekim yapılmıştır. Denemede, tüm parsellere ekimle beraber taban gübresi olarak 23 kg/da 20-20-0 taban gübresi uygulanmıştır. Deneme alanında gelişen yabancı otlara karşı ilaçlama yapılmış, deneme alanında hastalık ve zararlılara karşı herhangi bir kimyasal ilaç uygulaması yapılmamıştır. Bitki gelişimleri izlenerek her çeşit sorgum daneli ve tek biçim olarak hamur olum döneminde, biçim yüksekliği 20 cm olacak şekilde tez çalışması kapsamında hasat edilmiştir. Materyallerden; hasattan hemen sonra taze materyal (TM)'e ilişkin analizler için örnek alınmıştır. Hasattan hemen sonra silaj makinesinde (Tınaz MS 01) yaklaşık 2.0 cm uzunluğunda parçalanmış ve parçalanan materyaller 1.0 litre kapasiteli PVC torbalara doldurulduktan sonra vakum makinesi ile havası alınarak 3' er paralelli olarak silolanmıştır. Araştırmada her grup için (kontrol, ^{HM}LAB, ^{HT}LAB ve ^{HM+HT}LAB) 12' şer torba olmak üzere toplam 180 torba silaj yapılmıştır (Çizelge 2.1). Torbalar laboratuvar ortamında 20±5 °C sıcaklıkta tutulmuştur.

Çizelge 2.1. Sorgum silajlarına ait çeşit ve katkıların gösterimi

Bmr Gold 2 (ST)	Es Hyperion	Greengo (ST)
Kontrol	Kontrol	Kontrol
^{HM} LAB	^{HM} LAB	^{HM} LAB
^{HT} LAB	^{HT} LAB	^{HT} LAB
^{HM+HT} LAB	^{HM+HT} LAB	^{HM+HT} LAB

2.1.1 Katkı Maddesi ve Kullanım Şekli

Katkı maddesi olarak; biyolojik kompozisyonunda *Lactobacillus plantarum* bakterilerini içeren LACTOSIL (Centro Sperimentale Del Latte (CSL), Persico, Italy) ve biyolojik kompozisyonunda *Lactobacillus buchneri* bakterisi içeren Pioneer 11A44 (Pioneer Hi-Bred International, Des Moines, IA) kullanılmıştır.

1. grup kontrol grubu olup katkı maddesi içermemektedir.
2. grupta, 15 kg parçalanmış taze materyal 1x4 m temiz bir alana yayılmış. Homofermantatif inokulanttan 60 mg tartılarak üzerine 20 ml çeşme suyu konmuş ve iyice karışması sağlandıktan sonra taze materyal üzerine homojen bir şekilde püskürtülmüştür.
3. grupta, heterofermantatif inokulanttan 37,5 g 2. grupta açıklandığı gibi taze materyale uygulanmıştır.
4. grupta ise homofermantatif inokulanttan 30 mg ve heterofermantatif inokulanttan 18,75 g karıştırılarak homofermantatif+heterofermantatif LAB grubu oluşturmuştur.

2.2 Yöntem

Her muamele grubundan 3' er torba, silolandıktan sonraki 2, 4, 8, 16 ve 60. günlerde açılarak kimyasal ve mikrobiyolojik analizler yapılmıştır. Atmışıncı gün açılan son dönem silajlara 5 gün süre ile aerobik stabilite testi uygulanmıştır. Bu tez kapsamında altmışıncı gün açılan silajlarda ve aerobik stabilite sonrası silajlarda bakterilerin ayırımı, çoğaltılması ve sonrasında izolasyonu yapılmıştır. Örneklerden DNA izolasyonları kit ile yapılmıştır ve izole edilen DNA'lara ilişkin gen bölgeleri Polimeraz Zincir Reaksiyonu metodu (PZR) ile yükseltgenmiştir. Bakterilerin genetik tanımlanması DNA Sanger dizi analiz yöntemi ile yapılmıştır.

2.3 Yem Analizleri

2.3.1 Kimyasal Analizler

Taze ve silolanmış sorgumun kuru madde içerikleri Akyıldız (1984) tarafından bildirilen formülden yararlanılarak tespit edilmiştir. Silolama öncesi taze materyalde ve açım sonrası elde edilen örneklerde pH ölçümleri için 25 g'lık örneklerle 125 ml saf su ilave edilmiş ve oda sıcaklığında 1 saat süre ile zaman zaman karıştırılarak tutulmuştur. Daha sonra örnekler süzölmüş ve elde edilen süzökte pH metre aracılığı ile okuma gerçekleştirilmiştir (Anonymous, 1986).

Silolama öncesi alınan sorgum bitkisinde tamponlama kapasitesi (Tk)'ni belirleyebilmek saptanabilmesi için 40 g örnek 500 ml saf su ilave edilerek mekanik karıştırıcı aracılığı ile 1 dakika süre ile karıştırılmıştır. Karışım kaba filtre kağıdından geçirilerek elde

edilen süzüğün pH'sı 0,1 N HCl ile 3,00'e ayarlanmış ve 0,1 N NaOH ile süzüğün pH'sı 4,00'e standardize edilmiştir. Daha sonra pH 4.00-6.00 arasında harcanan NaOH miktarı saptanmış ve meq/kg KM olarak kaydedilmiştir (Playne ve McDonald, 1966).

Çalışmada ham kül analizi için örnekler kül fırınında yaklaşık 550 °C sıcaklıkta en az 4 saat (açık gri-beyaz arası bir kül rengine ulaşana kadar) yakılmışlardır. Yakma işlemi bittikten sonra kül fırını yaklaşık 100-150 °C sıcaklığa kadar soğuduktan sonra yanmış yem örneğinin içerisinde olduğu porselen krozeler desikatöre alınmış, oda sıcaklığına kadar soğutulmuş ve hassas terazide tartım işlemleri yapılmıştır. Aşağıda gösterilen formülden yararlanılarak yem materyalinin % HK miktarı bulunmuştur (AOAC, 1990).

$$\% \text{ HK} = [(C - B)/A] * 100 \quad (2.1)$$

HK: Ham Kül (%), C: yanmış yem + porselen kroze darası (g), B: porselen kroze darası (g), A: Yem miktarı (g)

Soxhlet kartuşu içerisine yaklaşık 10 gram kuru silaj örneği tartılmış ve hegzan ile 8 saat süreyle ekstrakte edilerek ham yağın cam balonlarında birikmesi sağlanmıştır. Daha sonra yağ balonları 55 °C sıcaklıkta 24 saat kurutma dolabında bekletilmiştir. Hegzanın uçması sağlandıktan sonra balonlar oda sıcaklığına kadar soğuması amacıyla desikatöre konulmuştur. Yağ balonlarındaki yağ miktarı, başlangıçta darası belirlenen boş balonun ağırlığı düşülerek hesaplanmıştır (AOAC, 1990)

Yem örneklerinde ham selüloz içeriği, Naumann ve Bassler (1993) tarafından açıklanan yöntemlere göre belirlenmiştir. Ham protein analizi Kjeldahl yöntemine göre; yem örnekleri derişik sülfürik asit (H₂SO₄) ile yakılarak içindeki azot (N) önce amonyum sülfata sonra da amonyağa dönüştürülerek, titrasyonla amonyaktaki azot miktarına karşılık gelen ham protein miktarı hesaplanmıştır (Akyıldız, 1984).

$$\% \text{ Protein} = (K) * (V) * (N) * (f_{\text{HCl}}) * (100) / (M) * (1000) * (fp) \quad (2.2)$$

K: 14,007 (Azotun atom ağırlığı), V: Kullanılan HCl (ml), N: HCl'nin normalitesi (0,1), f_{HCl}: 0,1 N HCl'nin faktörü, fp: Proteine çevirme faktörü (6,25), M: Tartılan yem miktarı

2.3.2 Fermantasyon Analizleri

Silaj örneklerinde NH₃-N, 40 g taze silajın 200 ml saf su içerisinde 2 saat süreyle çalkalama makinesinde homojenize edilmesi ile belirlendi. Homojenat Whatman no 1 filtre

kağıdından süzölmüştür. Süzöntödeki amonyak azotu içeriği, mikro distilasyon yöntemine (Anonymous 1986) göre gerçekleştirilmiştir.

Taze materyalde ve silaj örneklerinde SÇK analizi Anonymous (1986)'a göre yapılmıştır. Analize tabi tutulacak yem örneği etövide en az 4 saat süreyle 72 °C sıcaklıkta tamamen kuruyana kadar tutulmuştur. Yaklaşık 200 mg yem örneği bir erlenmayer içerisine konulduktan sonra üzerine 200 ml saf su ilave edilmiş ve 60 dakika bir çalkalayıcıda homojenize edilmiştir. Çalkalama sonrasında örneklerin ilk birkaç damlası ihmal edilecek şekilde Whatman no 1 filtre kağıdından süzölerek 50 ml'lik berrak süzük elde edilmiştir. Standart eğrilerin hazırlanmasından sonra 2 ml süzük alınarak test tüplerine konulmuştur. Ön hazırlığı takiben spektrofotometrede 30 dakika içerisinde absorbans değeri 620 nm'de okunmuştur. Örnek ve kör denemeler sonrası tespit edilen absorbans değerlerine denk gelen mg glikoz değerleri arasındaki farklılık 500 katsayısı ile çarpılmıştır. Sonuç, örnek içerisinde yer alan g/kg SÇK miktarı olarak kaydedilmiştir.

Silajların kuru madde kayıpları, 2., 4., 8., 16. ve 60. günlerinde torbalarında hesaplanan silaj KM'si ağırlığının, torbalara konulan taze sorgumun KM ağırlığına orantılanmasıyla hesaplanmıştır (Kleinschmit ve Kung 2006).

Tez kapsamında çalışılan örneklerde organik asit analizi için açılan torbalardan 40 g sorgum silajı alınarak üzerine 360 mL steril su (1:9) ilave edilmiştir. Çalkalama cihazında (IUL Instruments, Barcelona, Spain) 3 dakika boyunca çalkalandıktan sonra Whatman No 54 (International Ltd. Maidstone, England) filtre kağıdı ile süzölmüş ve süzük dakikada 6000 devir hızında olmak üzere 20 dakika süreyle santrifüj (Sigma, 6K 15, Germany) edilmiştir. Silaj örneklerinin organik asit konsantrasyonları, gaz kromatografisinde (Agilent Technologies 6890N Network GC System, 7683 B Series Injector, China) kapillar kolon (Stabilwax®-DA; Crossbond "Carbowax"-PEG asidik bileşikler için, 30 m, 0.25 mm ID, 0.25µm df, maksimum program sıcaklığı 260 °C) kullanılarak belirlenmiştir. Analizler sırasında 15 kromatografinin fırını 100 °C sıcaklıkta 5 dakika, ardından 10 °C/dakika artışla 160 °C sıcaklıkta 2 dakika ve son olarak 80 °C/dakika artışla 5 dakika bekleme şeklinde programlanmıştır. Örnekler gaz kromatografi cihazına enjekte edilmeden önce, 1 mL' lik viole konulan UYA standardı (Spelco™ WSFA-2 Mix Sigma-Aldrich Co otomatik örnekleyici bölümüne yerleştirilerek okunmuş ve bilgisayarda çeşitli pikler elde edilmiştir. Örneklerin organik asit bileşimleri (AA, PA ve BA) konsantrasyonları standart kromatogramdan alınan piklere göre belirlenmiştir (Supelco, 1998). Laktik asit miktarlarının

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

2.3.3 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 20 g'lık örnekler 180 ml tuzlu su (%8,5) 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 ekim ortamı olarak MRS Agar, maya ve küfler için Malt Ekstrakt Agar, enterobakteri için VRB Agar kullanılmıştır. Örneklerle ait *Lactobacilli*, maya ve küfler için 30 °C sıcaklıkta 3 günlük inkübasyon dönemlerini takiben gerçekleştirilmiştir (Seale vd., 1990). Örneklerde saptanan *Lactobacilli*, maya, küf ve enterobakteri sayıları logaritma koliform üniteye (cfu/g) çevrilmiştir.

2.3.4 Hücre Duvarı Bileşenleri Analizleri

Sorgumun taze ve silaj örneklerinde NDF, ADF ve asid deterjanlarda çözünmeyen lignin (ADL) analizleri Van Soest analiz yöntemine göre gerçekleştirilmiştir (Goering ve Van Soest, 1983). 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;

$$\text{Selüloz (g/kg KM)} = \text{ADF} - \text{ADL} \quad (2.3)$$

$$\text{Hemiselüloz (g/kg KM)} = \text{NDF} - \text{ADF} \quad (2.4)$$

2.3.5 Nispi Yem Değerleri Özellikleri

Çalışmada silajların ADF ve NDF değerleri kullanılarak örneklerin sindirilebilir kuru madde (SKM) ve kuru madde tüketimleri (KMT) aşağıda verilen eşitlikler kullanılarak hesaplanmıştır (Moore ve Undersander, 2002).

$$\% \text{SKM} = 88,9 - (0,779 \times \% \text{ADF}) \quad (2.5)$$

İkinci aşamada yemin NDF içeriğinden yararlanılarak kuru madde tüketimi (%KMT) hesaplanmıştır.

$$\%KMT = 120 / \%NDF \quad (2.6)$$

Daha sonra, silajların %SKM ve %KMT değerleri kullanılarak Van Dyke ve Anderson (2002) tarafından geliştirilen aşağıdaki formül ile nispi yem değerleri (NYD) hesaplanmıştır.

$$NYD = \%SKM \times \%KMT \times 0,775 \quad (2.7)$$

2.3.6 Besin Madde Sindirilebilirliği Analizleri

Çalışmada silaj örneklerindeki *in vitro* enzimde KM ve OM çözünebilirlik düzeyinin saptanması Naumann ve Bassler (1993) tarafından önerilen selüloz yöntemi ile gerçekleştirilmiştir.

Silaj örneklerinin *in vitro* enzimatik parçalanabilirlik değerleri örneklerin proteaz enzimi ile borat fosfat tampon çözeltisinde 24 saatlik hidrolizlerinden hesaplanmıştır (Aufrere ve Cartailles, 1988). Her bir örnek için ölçümler 24 saatlik inkübasyon süreleri için 3 tekerrür şeklinde yapılmıştır. Hazırlanan enzim çözeltilerinin azot içeriğinin belirlenmesi için içinde örnek bulunmayan 2 tüp de inkübasyona tabi tutulmuştur. İnkübasyon sonrası elde edilen süzüklerin HP miktarı Kjeldahl yöntemine göre belirlenerek ve kör numuneye göre düzeltme yapılmıştır. *In vitro* HP parçalanabilirliği aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

Toplam HP'in parçalanmış kısmı

$$(\%) = \text{Süzükteki HP miktarı} / \text{Yemdeki HP miktarı} \times 100 \quad (2.8)$$

2.3.7 Silajların Sindirim Derecesi ve Metabolik Enerji (ME) İçeriklerinin *in vitro* Gaz Üretim Tekniği ile Belirlenmesi

Taze materyal ve silaj örneklerinin *in vitro* gaz üretim miktarları, ME ve OMSD belirlenmesi amacıyla Kayseri bölgesinde faaliyette olan mezbahanelere gelen, yemleme, hastalık geçmişi bilinen ve kesime sevk edilmiş olan hayvanlardan kesimin hemen sonrasında rumeninden temin edilmiş ve termoslarda hızlıca laboratuvara getirilmiştir. Silaj başlangıç materyali ve silaj örneklerinin gaz üretimi okumaları 24, 48 ve 72 saatlik inkübasyonun ardından yapılmıştır (Menke vd., 1979). Net gaz üretiminin belirlenmesi amacıyla kör şırıngalarda üretilen miktarın ortalaması örnek okumalarından çıkarılarak hesaplanmıştır. 24,

48 ve 72 saatlik metan üretimi ise şırıngalarda biriken gazın başka bir şırıngaya aktarılarak metan dedektörüne (Sensor Europe Gmbh, Erkrath, Germany) aktarılması ile yüzde olarak belirlenmesi sağlanmıştır. Metan üretimi yüzde olarak belirlendikten sonra toplam üretilen gaz içerisindeki oranı belirlendiğinden üretilen metan miktarı ml olarak da hesaplanmıştır (Goel vd., 2008). Ayrıca gaz üretimi (GÜ) değerleri kullanılarak OMSD ve ME değerleri de hesaplanmıştır (Menke ve Steingass, 1988). Bu hesaplamalara ait değerler aşağıda verilmiştir.

$$\text{CH}_4 (\text{ml}) = \text{Gaz}(\text{ml}) \times \text{CH}_4 (\%) \text{ OMSD (g/kg KM)} = 14,88 + 0,889 \times \text{GÜ} + 0,45 \times \text{HP} + 0,0654 \times \text{HK} \quad (2.9)$$

$$\text{ME (MJ/kg KM)} = 2,2 + 0,1136 \times \text{GÜ} + 0,0057 \times \text{HP} + 0,00029 \times \text{HY2} \quad (2.10)$$

$$\text{NEL (MJ/kg KM)} = 0,101 \times \text{GÜ} + 0,051 \times \text{HP} + 0,112 \times \text{HY} \quad (2.11)$$

2.3.8 Toplam Fenolik Madde ve Kondense Tanen İçeriğinin Belirlenmesi

Taze materyal ve silaj örneklerinde toplam fenolik madde miktarı Folin Ciocalteu reaktifi kullanılarak Makkar vd. (1993)'nın; kondense tanen içeriği ise Sun vd., (1998)'nin belirttiği yöntem kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

2.3.9 Aerobik Bozulmaya İlişkin Analizler

Ashbell, Weinberg, Azrieli, Hen ve Horev (1991) tarafından geliştirilen yöntem kullanılarak silajların silolamanın 60. gününde açılarak 5 gün aerobik stabilite testine tabi tutulmuşlardır. Aerobik stabilitenin 5. günündeki silaj örneklerinin pH'ları ölçülmüş ve CO₂ üretimleri saptanmıştır. Ayrıca silajların içerdiği maya ve küf sayıları saptanmıştır.

2.4 Laktik Asit Bakterilerinin Tanımlanması

2.4.1 Laktik Asit Bakterilerinin Fenotipik Tanımlanması

2.4.1.1 Gram Boyama ve Hücre Morfolojisi

Christian Gram tarafından 1884 yılında geliştirilmiş diferansiyel bir boyama tekniği olan Gram boyama ile bakterilerin Gram reaksiyonu incelenmiştir. İzolatların 24 saatlik aktif kültürlerinden Gram boyama yapılmıştır. Gram boyama sonrası prepatlar mikroskopta 100X'te görüntülenmiş ve mor-mavi renkli olan bakteriler Gram pozitif, pembe renkli olan bakteriler ise Gram negatif olarak değerlendirilmiştir (Gram, 1884; Temiz, 2008). Bakteri

izolatları mikroskopta görüntüleme sonrası, hücre morfolojilerine göre çubuk, kısa çubuk ve kok olarak kayıt altına alınmıştır. Görüntülerin aktarılmasında ScopePhoto programı kullanılmıştır.

2.4.1.2 Katalaz Testi

Katalaz testi için MRS ve M17 agarda 18-24 saat geliştirilmiş bakteri örneği steril koşullarda öze yardımıyla lam üzerine konularak homojen şekilde yayılmıştır. Aktif koloniler üzerine % 3-10-30''luk H₂O₂ çözeltisinden 2-3 damla ilave edilerek, kolonilerin etrafında gaz kabarcıklarının görülmesi pozitif olarak değerlendirilmiştir(Harrigan vd., 2014; Temiz 2008).

2.4.1.3 Laktik Asit Bakterilerinin Saflaştırılması

Çalışmada silaj örneklerinden LAB'lerinin izolasyonu için, hazırlanan uygun dilüsyonlardan MRS agar ve M17 agar besiyerine yüzeye yayma yöntemiyle petrilere ekim yapılmıştır. MRS agara ekim yapılan plaklar 37 °C'de 72 saat, M17 agara ekim yapılan plaklar ise 30 °C'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır (Centeno vd., 1996; Collins ve Layne 1984;). İnkübasyon sonunda birbirinden farklı görünümdeki koloniler (1-2 mm çaplı konveks, yuvarlak ya da buğday tanesi şekilli, beyaz veya krem renkli koloniler), aynı besiyerlerinin sıvı ortamı olan MRS broth ve M17 broth besiyerlerine alınıp üremeleri sağlandıktan sonra tekrar agarlı besi yerine sürme kültür yöntemi ile pasajlanarak saflaştırılmıştır. MRS ve M17 agar besiyerlerine sürme yöntemi kullanılarak tek koloni düşürme yöntemi uygulanmıştır. Pasajlama işlemine LAB tek koloniye düşürülene kadar devam edilmiştir. Elde edilen izolatlardan gram pozitif ve katalaz negatif olanlar muhtemel LAB kabul edilmiştir. DNA izolasyonu için seçilen koloniler MRS broth ve M17 broth besiyerlerinde, 30-37 °C'de 24 saat anaerobik ortamda inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda sıvı besiyerleri vortekslenmiştir.

2.4.2 Laktik Asit Bakterilerinin Genotipik Tanımlanması

2.4.2.1 Bakterilerden DNA İzolasyonu

Saflaştırılan LAB''de yapılan görüntü ayrımı ve katalaz testi sonrasında seçilen örneklerin moleküler tanımlamasının yapılabilmesi amacıyla gereksinim duyulan DNA'ların izolasyonunda GeneJET Genomik DNA Saflaştırma Kiti (Thermo Scientific™) kullanılmıştır. DNA İzolasyonu ilgili kitin protokolüne göre yapılmıştır (www.thermofisher.com/order/catalog/product/K0721). Elde edilen DNA'ların kalite ve

yoğunluğu spektrofotometrik ölçüm ile yapılmıştır (Thermo Scientific NanoDrop 2000c nanodrop spektrometre).

2.4.2.2 16S rRNA Gen Bölgesinin Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) İle Yükseltgenmesi

DNA izolasyonları tamamlanan bakterilerin genetik tanımlanmasının yapılması amacıyla yaklaşık 900 bp uzunluğundaki 16S rRNA gen bölgesine ait spesifik primerler kullanılarak ilgili bölge PZR ile çoğaltılmıştır. Çalışma kapsamında PZR ile çoğaltmada kullanılan gen bölgesine ait primer dizilimleri aşağıdaki çizelgede verilmiştir (Çizelge 2.2). Bu primerler çalışmada kullanılmadan önce, gen bankasından örnek bir çalışmadan alınan referans DNA dizisi üzerinde kontrolleri yapılmıştır (Şekil 2.1).

Çizelge 2.2. Tez kapsamında çalışılan 16S rRNA gen bölgesini PZR ile yükseltgemedede kullanılan ileri ve geri primerler

16S rRNA universal primerler	27F 1492R	5'-AGAGTTTGATCCCTGGCTCAG- 3' 5'-CCGTCAATTCCTTTGAGTTT-3'	~900	(Beasley ve Saris 2004)
---	----------------------	--	-------------	------------------------------------

Lactobacillus buchneri gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence, strain: DG1

GenBank: LC094428.1

[FASTA](#) [Graphics](#)

[Go to:](#) ☐

LOCUS LC094428 1536 bp DNA linear BCT 04-JUN-2016
DEFINITION Lactobacillus buchneri gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence, strain: DG1.
ACCESSION LC094428
VERSION LC094428.1
KEYWORDS .
SOURCE Lentilactobacillus buchneri
ORGANISM [Lentilactobacillus buchneri](#)
Bacteria; Bacillota; Bacilli; Lactobacillales; Lactobacillaceae; Lentilactobacillus.
REFERENCE 1
AUTHORS Tohno,M.
TITLE Lactic acid bacteria for 16S rRNA, partial sequence
JOURNAL Unpublished
REFERENCE 2 (bases 1 to 1536)
AUTHORS Tohno,M. and Tajima,K.
TITLE Direct Submission
JOURNAL Submitted (03-NOV-2015) Contact:Masanori Tohno National Agriculture and Food Research Organization, National Institute of Livestock and Grassland Science; 768 Senbonmatsu, Nasushiobara, Tochigi 329-2793, Japan
FEATURES
source Location/Qualifiers
1..1536
/organism="Lentilactobacillus buchneri"
/mol_type="genomic DNA"
/strain="DG1"
/db_xref="taxon:1581"
rRNA
<1..>1536
/product="16S ribosomal RNA"

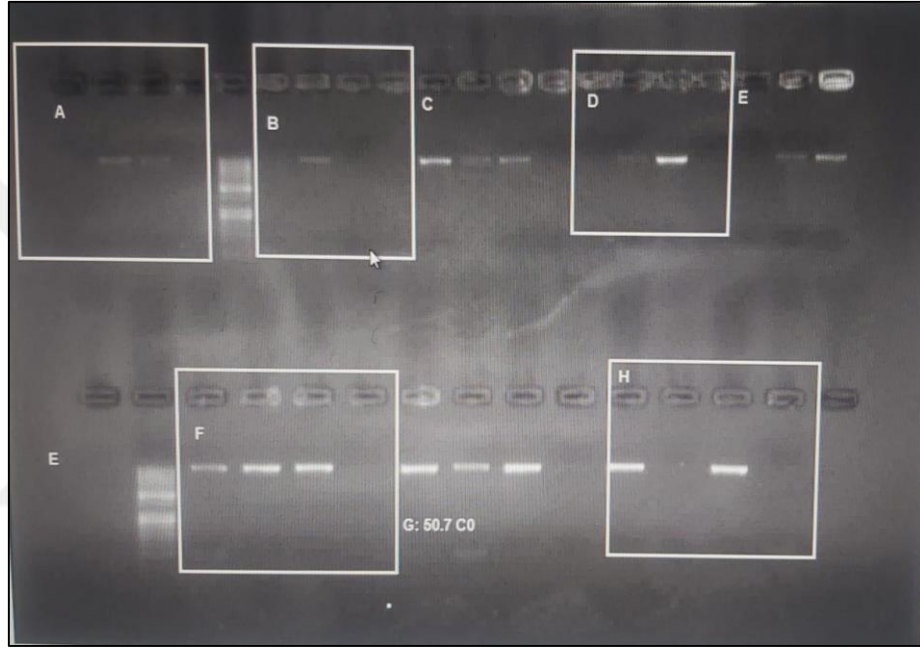
ORIGIN

```
1 AGAGTTTGAT CCTGGCTCAG GACGAACGCT GGCGGCGTGC CTAATACATG CAAGTCGAAC
61 GCGTCTCCGT TAATGATTTT AGGTGCTTGC ACTTGAAAGA TTAAACATTG AGACGAGTGG
121 CGAACTGGTG AGTAACACGT GGGTAACCTG CCCTGAAGT AGGGGATAAC ACTTGGAAC
181 AGGTGCTAAT ACCGTATAAC AACCAAAACC ACCTGGTTTT GGTTTAAAAG ACGGCTTCGG
241 CTGTCACTTT AGGATGGACC CGCGGCGTAT TAGCTTGTTG GTAAGGTAAC GGCCTACCAA
301 GGCGATGATA CGTAGCCGAC CTGAGAGGGT AATCGGCCAC ATTGGGACTG AGACACGGCC
361 CAAACTCCTA CGGGAGGCAG CAGTAGGGAA TCTTCCACAA TGGACGAAAG TCTGATGGAG
421 CAACGCCGCG TGAGTGATGA AGGGTTTCGG CTCGTAAAAC TCTGTTGTTG GAGAAGAACA
481 GGTGTCAGAG TAACTGTTGA CATCTGACG GTATCCAACC AGAAAGCCAC GGCTAACTAC
541 GTGCCAGCAG CCGCGGTAAT ACGTAGGTGG CAAGCGTTGT CCGGATTTAT TGGGCGTAAA
601 GCGAGCGCAG GCGGTTTTTT AGGTCTGATG TGAAAGCCTT CGGCTTAACC GGAGAAGTGC
661 ATCGGAAACC GGGGAGACTT AGTGCAAG AGGACAGTGG AACTCCATGT GTAGCGGTGA
721 AATGCGTAGA TATATGGAAG AACACCAAGT GCGAAGGCGG CTGTCTGGTC TGTAAGTAC
781 GCTGAGGCTC GAAAGCATGG GTAGCGAACA GGATTAGATA CCCTGGTAGT CCATGCCGTA
841 AACGATGAGT GCTAAGTGTT GGAGGGTTTC CGCCCTTCAG TGCTGCAGCT AACGCATTAA
901 GCACTCCGCC TGGGGAGTAC GACCGCAAGG TTGAAACTCA AAGGAATTGA CGG GGGCCCG
961 CACAAGCGGT GGAGCATGTG GTTTAATTTC ATGCTACGCG AAGAACCTTA CCAGGTCTTG
1021 ACATCTTCTG CCAACCTAAG AGATTAGGCG TTCCCTTCGG GGACAGAATG ACAGGTGGTG
1081 CATGGTTGTC GTCAGCTCGT GTCGTGAGAT GTTGGGTAA GTCCCGCAAC GAGCGCAACC
1141 CTTATTGTTA GTTGCCAGCA TTCAGTTGGG CACTCTAGCA AGACTGCCGG TGACAAACCG
1201 GAGGAAGGTG GGGATGACGT CAAATCATCA TGCCCTTAT GACCTGGGCT ACACACGTGC
1261 TACAATGGAC GGTACAACGA GTCGCGAAAC CGCGAGGTCA AGCTAATCTC TTAAAGCCGT
1321 TCTCAGTTCG GATTGTAGGC TGCAACTCGC CTACATGAAG TTGGAATCGC TAGTAATCGT
1381 GGATCAGCAT GCCACGGTGA ATACGTTCCC GGGCCTTGTA CACACGCCCC GTCACACCAT
1441 GAGAGTTTGT AACACCCAAA GCCGGTGAGG TAACCTTCGG GGACCAGCCG TCTAAGGTGG
1501 GACAGATGAT TAGGGTGAAG TCGTAACAAG GTAACC
```

//

Şekil 2.1. Referans olarak alınan 16S rRNA Gen Bölgesi DNA dizisi (GenBank No: LC094428.1) üzerinde tez kapsamında çalışılan primerlerin gösterimi.

Laboratuvarımız koşullarında 16S rRNA gen bölgesinin PZR ile yükseltgenmesinde en uygun primer bağlanma sıcaklığının belirlenmesi amacıyla gradient PZR yapılarak optimizasyon gerçekleştirilmiştir. 95°C’de 3 dk’lık ilk denatürasyon ardından 95°C’de 30s denatürasyon, 50–60°C aralığında değişen (gradient) bağlanma sıcaklığında 30 s ve 72°C’de 1 dk uzama aşamalarını içeren 35 döngüyü takiben 72°C’de 10 dk son uzama yaptırılarak tamamlanmıştır. PZR’ın ardından, yükseltgeme ürünleri %2’lik agaroz jelde 200V altında 20-30 dakika elektroforez yapılarak kontrol edilmiştir. 16S rRNA gen bölgesi gradient PZR sonrası agaroz jel görüntüsü Şekil 2. 2’de verilmiştir.



Şekil 2.2. 16S rRNA Gen Bölgesi Gradient PZR sonrası agaroz jel görüntüsü.

16S rRNA gen bölgesinin PZR ile yükseltgenmesinde en uygun primer bağlanma sıcaklığının belirlenmesi amacıyla yapılan gradient PZR sonucunda Şekil 1’deki agoroz jel görüntüsüne göre optimum sıcaklığın 50,7 °C’de olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 2.2). Aşağıda verilen Çizelge 2.3’de ilgili gen bölgesinin PZR ile yükseltgenmesinde kullanılan kimyasalların bileşenleri ve Çizelge 2.4’de ise optimizasyon koşulları sunulmuştur.

Çizelge 2.3. 16S rRNA gen bölgesi PZR reaksiyonunda kullanılan kimyasal bileşenler

Bileşenler	Kullanılan Miktar
PZR master mix	12,5 µl
İleri / Geri primer	1 µl
DNA	1 µl
dH ₂ O	11,5 µl

Çizelge 2.4. 16S rRNA gen bölgesi PZR reaksiyonu yükseltgenme koşulları

Sıcaklık	Süre	Döngü	
95 °C'de	3dk	1	İlk denatürasyon
95 °C'de	30 sn		Denatürasyon
50.7 °C'de	30 sn	35	Primer bağlanma
72 °C'de	30 sn		Uzama
72 °C'de	10 dk	1	Son Uzatma

2.4.3 İstatistik Analizler

Araştırmadan elde edilen verilerin istatistiksel 3 x 4 Faktöriyel deneme desenine göre varyans analizi, gruplar arası farklılığın belirlenmesi ise Duncan çoklu karşılaştırma testi uygulanarak hesaplanmıştır (Soysal, 1998). Bu amaçla SPSS 15.0 (2007) paket programı kullanılmıştır. Verilerin grafiklerinin oluşturulmasında SAS programı kullanılmıştır. İstatistiksel model aşağıda gösterilmiştir.

$$Y_{ijl} = \mu + \tau_i + \gamma_j + \tau_{ij} + e_{ijl}, \quad (2.12)$$

μ = genel ortalama;

τ_i = çeşit etkisi i;

γ_j = uygulamanın etkisi j; τ

γ_{ij} = çeşit $\times$ uygulama interaksiyonu; ve e_{ijl} = hata.

2.4.3.1 DNA dizilerinin belirlenmesi ve Verilerin Analizi

16S rRNA gen bölgesi ve ITS gen bölgesine ait PZR örneklerinin DNA dizilimleri Genometri Biyoteknoloji Arge ve San. Hiz. Ltd. Şti. tarafından hizmet alımı şeklinde yaptırılmıştır. İlgili firma tarafından dizi analizlerinin tamamlanması sonrası DNA dizilerinin kromotogramları ChromasPro v15. (<http://www.technelysium.com.au/ChromasPro.html>) programı kullanılarak kontrol edilmiş ve ileri – geri primerler ile dizi analizleri ayrı ayrı yapılan diziler birleştirilmiştir. Birleştirilmiş diziler FASTA formatında kaydedilmesinin ardından, hizalanmaları (alignent) Bioedit v7.0.9 (Hall, 2011) programı ile ClustalW Çoklu Hizalama uygulaması kullanılarak yapılmıştır. Hizalama sonuçları, yanlış yerleştirilen boşlukların olması ihtimaline karşı gözle kontrol edilmiştir. Dizilim sonuçları NCBI gen bankasında bulunan dizilerle Blast veri sisteminde taranarak analiz edilmiş olup LAB suşlarının ve mayaların özdeşlik oranı tanımlanmıştır. Çalışma sonucunda elde edilen dizilerin özdeşlik oranının görselleştirilmesi amacıyla her bir suş referans veriler ile Sequence

Demarcation Tool (SDT v.1.3) programında ClustalW Çoklu Hizalama modelinde analiz edilmiştir. Elde edilen verilerin filogenetik analizi referans diziler ile birlikte MEGA programında (Kumar, Stecher ve Tamura, 2016) analiz edilmiştir.



3. BULGULAR

3.1 Araştırma Yemlerinin Silolama Öncesi Değerleri

Araştırmada kullanılan sorgum bitkilerine ait kimyasal ve mikrobiyolojik analiz sonuçları Çizelge 3.1.'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Sorgum bitkilerinin kimyasal ve mikrobiyolojik analiz sonuçları

İçerik	BMR GOLD 2 (ST)	ES HYPERION	GREENGO (ST)
KM, g/kg TM	327,24	315,65	327,23
pH	5,62	5,70	6,14
Tampon Kapasitesi	213,00	207,00	228,00
HK, g/kg KM	52,79	51,10	64,25
HP, g/kg KM	67,49	60,83	60,45
HY, g/kg KM	29,38	26,43	25,44
HS, g/kg KM	254,63	200,81	275,66
SÇK, g/kg KM	201,64	278,51	230,42
NDF, g/kg KM	464,21	412,82	494,35
ADF, g/kg KM	307,32	246,37	324,31
ADL, g/kg KM	47,57	25,19	42,77
Hemiselüloz, g/kg KM	156,89	166,45	170,04
Selüloz, g/kg KM	259,75	221,18	281,54
KMS, g/kg KM	599,00	645,92	592,18
OMS, g/kg KM	564,37	652,73	586,10
OMSD (g/kg KM)	552,50	612,89	562,75
ME (MJ/kg KM)	8,89	9,13	7,98
NEL (MJ/kg KM)	4,81	5,43	4,89
HPS _{1sa} , g/kg KM	401,29	432,74	569,38
HPS _{24sa} , g/kg KM	504,45	511,24	616,62
KT, g/kg KM	8,54	11,80	6,96
TF, g/kg KM	8,83	5,88	8,03
AA, (g/kg KM)	7,56	4,88	8,75
PA, (g/kg KM)	0,10	0,15	0,10
BA, (g/kg KM)	0,07	0,02	0,04
<i>Lactobacilli</i> , log ₁₀ kob/g KM	6,00	6,04	5,29
Maya, log ₁₀ kob/g KM	7,99	7,80	6,39
Enterobakteri, log ₁₀ kob/gKM	8,43	7,15	7,28

KM: Kuru madde, DH: Doğal halde, HP: Ham protein, HY: Ham yağ, HS: Ham selüloz, HK: Ham kül, SÇK: Suda çözünabilir karbonhidrat, NDF: Nötr deterjanda çözünmeyen lif, ADF: Asit deterjanda çözünmeyen lif, ADL: Asit deterjanda çözünmeyen lif, KMS: Kuru madde sindirilebilirliği,

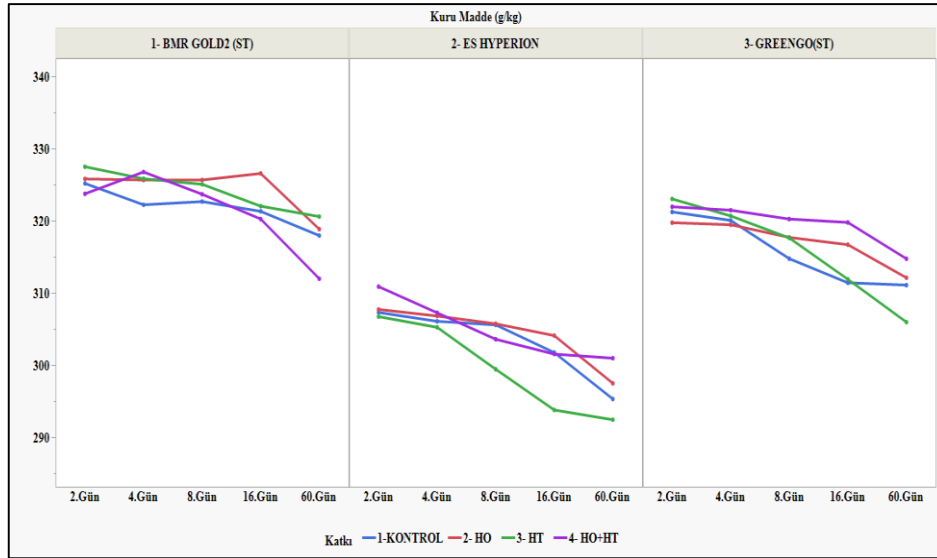
Çizelgede 3.1’de de verildiği gibi, sorgum bitkisinin sırasıyla KM, pH, KM içindeki HK, HP, HY, HS, SÇK, NDF, ADF, ADL, hemiselüloz, selüloz, KMS, OMS, OMSD, ME, NEL, HPS_{1sa}, HPS_{24sa}, KT, TF, AA, PA, BA, *lactobacilli*, maya ve enterobakteri içerikleri sırasıyla 315,65-327,24 g/kg DH, 5,62-6,14, 51,10-64,25 g/kg KM, 60,45-67,49 g/kg KM, 25,44-29,38 g/kg KM, 200,81-275,66 g/kg KM, 201,64-278,51 g/kg KM, 412,82-494,35 g/kg KM, 246,37-324-31 g/kg KM, 25,19-47,57 g/kg KM, 156,89-170,04 g/kg KM, 22118-281,54 g/kg KM, 592,18-645,92 g/kg KM, 564,37-652,73 g/kg KM, 552,50-612,89 g/kg KM, 7,98-9,13 MJ/kg KM, 4,81-5,43 MJ/kg KM, 401,29-569,38 g/kg KM, 504,45-616,62 g/kg KM, 6,96-11,80 g/kg KM, 5,88-8,83 g/kg KM, 4,88-8,75 g/kg KM, 0,10-0,15 g/kg KM, 0,02-0,07 g/kg KM, 5,29-6,04 log₁₀ kob/g KM, 6,39-7,99 log₁₀ kob/g KM, 7,15-8,43 log₁₀ kob/g KM arasında bulunmuştur.

3.2 Araştırma Yemlerinin Silolama Sonrası Değerleri

3.2.1 Sorgum Silajlarının Fermantasyon Özellikleri İle İlgili Bulgular

3.2.1.1 Sorgum silajlarının kuru madde değerleri

Fermantasyonun 2, 4, 8, 16 ve 60. günlerinde açılan sorgum silajlarına ait KM analiz sonuçları Çizelge 3.2. ile Şekil 3. 1.’de verilmiştir.



Şekil 3.1. Sorgum silajlarının kuru madde değişimleri

Çizelge 3.2. Sorgum silajlarının kuru madde (KM) analiz sonuçları (g/kg)

Çeşit		2. Gün	4.Gün	8.Gün	16.Gün	60.Gün
BMR GOLD 2(ST)		325,52 ^a	325,08 ^a	324,23 ^a	322,50 ^a	317,30 ^a
ES HYPERION		308,13 ^c	306,31 ^c	303,55 ^c	300,26 ^c	296,52 ^c
GREENGO(ST)		321,45 ^b	320,38 ^b	317,54 ^b	314,91 ^b	310,94 ^b
SEM		0,92	1,29	1,49	1,34	1,47
	Katkı					
	Kontrol	317,87	316,08	314,30	311,46 ^{ab}	308,08
	^{HM} LAB	317,72	317,27	316,33	315,75 ^a	309,45
	^{HT} LAB	319,05	317,21	314,01	309,21 ^b	306,30
	^{HM+HT} LAB	318,82	318,46	315,80	313,82 ^{ab}	309,19
SEM		1,07	1,49	1,72	1,55	1,69
Çeşit X Katkı						
BMR GOLD2 (ST)	Kontrol	325,14 ^{ab}	322,18 ^a	322,62 ^{ab}	321,27 ^{ab}	317,92 ^a
	^{HM} LAB	325,76 ^{ab}	325,61 ^a	325,62 ^a	326,52 ^a	318,81 ^a
	^{HT} LAB	327,45 ^a	325,79 ^a	325,03 ^a	321,99 ^{ab}	320,55 ^a
	^{HM+HT} LAB	323,70 ^{ab}	326,73 ^a	323,64 ^{ab}	320,21 ^{a-c}	311,94 ^{ab}
ES HYPERION	Kontrol	307,27 ^c	306,04 ^b	305,55 ^c	301,71 ^{fg}	295,28 ^d
	^{HM} LAB	307,69 ^c	306,78 ^b	305,70 ^c	304,07 ^{ef}	297,45 ^{cd}
	^{HT} LAB	306,70 ^c	305,21 ^b	299,41 ^c	293,76 ^g	292,41 ^d
	^{HM+HT} LAB	310,85 ^c	307,22 ^b	303,56 ^c	301,50 ^{fg}	300,93 ^{cd}
GREENGO(ST)	Kontrol	321,19 ^b	320,02 ^a	314,72 ^b	311,38 ^{de}	311,06 ^{ab}
	^{HM} LAB	319,71 ^b	319,42 ^a	317,66 ^{ab}	316,66 ^{b-d}	312,08 ^{ab}
	^{HT} LAB	322,99 ^{ab}	320,64 ^a	317,59 ^{ab}	311,87 ^{c-e}	305,93 ^{bc}
	^{HM+HT} LAB	321,91 ^{ab}	321,43 ^a	320,20 ^{ab}	319,74 ^{a-d}	314,71 ^{ab}
SEM		1,85	2,58	2,98	2,68	2,93
P	Çeşit	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	Katkı	0,760	0,736	0,731	0,035	0,552
	Çeşit X Katkı	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

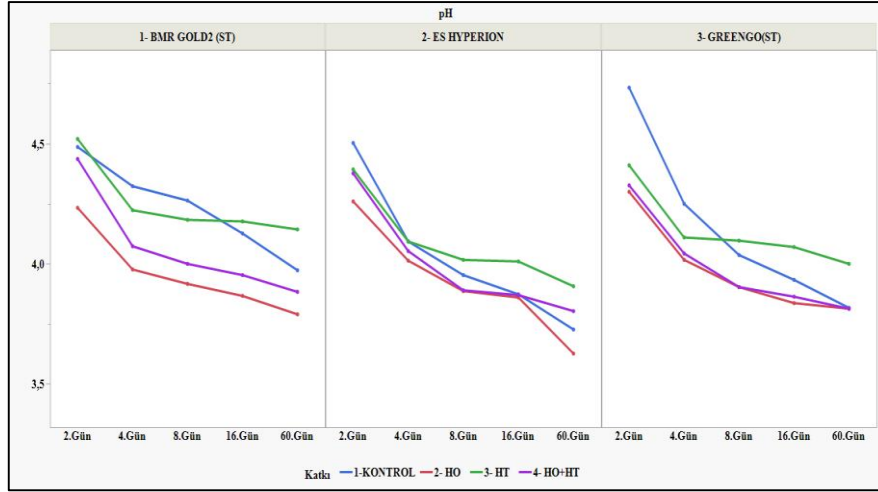
HM: Homofermantatif, HT: Heterofermantatif, LAB: Laktik asit bakterisi

^{a-g}Aynı sütunda bulunan farklı harfler önemlidir (P<0,05)

Taze sorgumun KM içerikleri BMR Gold 2 (ST) 327,24 g/kg, Es Hyperion 315,65 g/kg ve Greengo çeşidinin 327,23 g/kg olarak saptandığı bu çalışmada, fermantasyon süresince sorgum silajlarının KM içerikleri 292,41-327,45 g/kg arasında değişmiştir. Çalışmada, fermantasyonun 2., 4., 8., 16. ve 60. günlerinde Es Hyperion çeşidindeki silajların KM'sinin BMR Gold 2 (ST) ve Greengo çeşidindeki silajlardan önemli düzeyde daha düşük olduğu belirlenmiştir ($P<0,001$). Fermantasyonun 2., 4., 8. ve 60. günlerinde tüm çeşitlerde katkı maddesi kullanımı sorgum silajlarının KM içeriklerini etkilemezken ($P>0,05$) fermantasyonun 16. gününde gruplar arasında fark görülmüştür ($P<0,035$).

3.2.1.2 Sorgum silajlarının pH değerleri

Fermantasyonun 2, 4, 8, 16 ve 60. günlerinde açılan sorgum silajlarına ait pH analiz sonuçları Çizelge 3.3. ile Şekil 3.2.'de verilmiştir.



Şekil 3.2. Sorgum silajlarının pH değişimleri

Çizelge 3.3. Sorgum silajlarının pH değerleri

Çeşit		2. Gün	4.Gün	8.Gün	16.Gün	60.Gün
BMR GOLD 2(ST)		4,42 ^b	4,15 ^a	4,09 ^a	4,03 ^a	3,95 ^a
ES HYPERION		4,38 ^c	4,06 ^c	3,94 ^c	3,90 ^c	3,77 ^c
GREENGO(ST)		4,44 ^a	4,11 ^b	3,99 ^b	3,93 ^b	3,86 ^b
SEM		0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Katkı						
	Kontrol	4,57 ^a	4,22 ^a	4,08 ^b	3,98 ^b	3,84 ^b
	HM LAB	4,26 ^d	4,00 ^d	3,90 ^d	3,85 ^d	3,74 ^c
	HT LAB	4,44 ^b	4,14 ^b	4,10 ^a	4,09 ^a	4,02 ^a
	HM+HT LAB	4,38 ^c	4,06 ^c	3,93 ^c	3,90 ^c	3,83 ^b
SEM		0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Çeşit X Katkı						
BMR GOLD2 (ST)	Kontrol	4,49 ^c	4,32 ^a	4,26 ^a	4,13 ^b	3,97 ^b
	HM LAB	4,23 ^h	3,98 ^g	3,92 ^g	3,87 ^{fg}	3,79 ^d
	HT LAB	4,52 ^b	4,22 ^b	4,18 ^b	4,18 ^a	4,14 ^a
	HM+HT LAB	4,44 ^d	4,07 ^{de}	4,00 ^e	3,95 ^e	3,88 ^c
ES HYPERION	Kontrol	4,50 ^{bc}	4,09 ^{cd}	3,95 ^f	3,87 ^f	3,73 ^e
	HM LAB	4,26 ^h	4,01 ^f	3,89 ^h	3,86 ^{fg}	3,63 ^f
	HT LAB	4,39 ^{ef}	4,09 ^{cd}	4,02 ^e	4,01 ^d	3,91 ^c
	HM+HT LAB	4,38 ^f	4,05 ^e	3,89 ^h	3,87 ^f	3,80 ^d
GREENGO(ST)	Kontrol	4,73 ^a	4,25 ^b	4,04 ^d	3,93 ^e	3,82 ^d
	HM LAB	4,30 ^g	4,02 ^f	3,90 ^{gh}	3,84 ^g	3,81 ^d
	HT LAB	4,41 ^{de}	4,11 ^c	4,10 ^c	4,07 ^c	4,00 ^b
	HM+HT LAB	4,33 ^g	4,04 ^{ef}	3,90 ^{gh}	3,86 ^{fg}	3,81 ^d
SEM		0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
P	Çeşit	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	Katkı	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	Çeşit X Katkı	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

HM: Homofermantatif, HT: Heterofermantatif, LAB: Laktik asit bakterisi,

^{a-h}Aynı sütunda bulunan farklı harfler önemlidir (P<0,05)

Taze sorgumun pH içerikleri BMR Gold 2 (ST) 5,62, Es Hyperion 5,70 ve Greengo çeşidinin 6,14 olarak saptandığı bu çalışmada, fermentasyon süresince sorgum silajlarının pH

içerikleri 3,63-4,73 arasında değişmiştir. Çalışmada, fermantasyonun 2., 4., 8., 16. ve 60. günlerinde Es Hyperion çeşidindeki silajların pH'sının BMR Gold 2 (ST) ve Greengo çeşidindeki silajlardan önemli düzeyde daha düşük olduğu belirlenmiştir ($P<0,001$). Sorgum bitkisine farklı çeşitlerde inokulant kullanılması genel olarak sorgum silajlarının fermantasyon özelliklerini olumlu yönde etkilemiştir. ^{HT} LAB grubu ile diğer gruplar arasında önemli düzeyde farklılıklar oluşmuştur ($P<0,001$).

3.2.1.3 Sorgum silajlarının ham kül değerleri

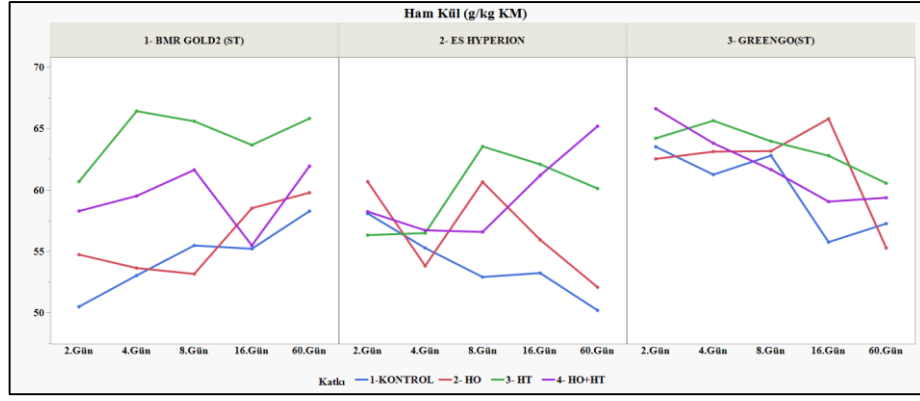
Fermantasyonun 2, 4, 8, 16 ve 60. günlerinde açılan sorgum silajlarına ait ham kül analiz sonuçları Çizelge 3.4. ile Şekil 3.3.'de verilmiştir.

Çizelge 3.4. Sorgum silajlarının HK analiz sonuçları (g/kg KM)

Çeşit		2. Gün	4.Gün	8.Gün	16.Gün	60.Gün
BMR GOLD 2 (ST)		56,03 ^b	58,13 ^b	58,94 ^b	58,19	61,43 ^a
ES HYPERION		58,30 ^b	55,55 ^b	58,40 ^b	58,09	56,87 ^b
GREENGO (ST)		64,20 ^a	63,43 ^a	62,88 ^a	60,82	58,09 ^b
SEM		0,98	1,11	1,09	1,13	0,86
	Katkı					
	Kontrol	57,34	56,50 ^c	57,04 ^b	54,71 ^c	55,22 ^b
	^{HM} LAB	59,29	56,83 ^c	58,97 ^b	60,06 ^{ab}	55,69 ^b
	^{HT} LAB	60,38	62,83 ^a	64,35 ^a	62,82 ^a	62,14 ^a
	^{HM+HT} LAB	61,02	59,99 ^{ab}	59,94 ^b	58,55 ^b	62,14 ^a
SEM		1,13	1,28	1,26	1,31	0,99
Çeşit X Katkı						
BMR GOLD2 (ST)	Kontrol	50,47 ^e	53,01 ^e	55,45 ^{cd}	55,18 ^{bc}	58,25 ^{cd}
	^{HM} LAB	54,71 ^{de}	53,62 ^e	53,14 ^d	58,49 ^{a-c}	59,76 ^{b-d}
	^{HT} LAB	60,66 ^{a-d}	66,40 ^a	65,57 ^a	63,64 ^a	65,80 ^a
	^{HM+HT} LAB	58,26 ^{b-d}	59,49 ^{a-e}	61,61 ^{a-c}	55,45 ^{bc}	61,92 ^{a-c}
ES HYPERION	Kontrol	58,06 ^{b-d}	55,25 ^{de}	52,89 ^d	53,21 ^c	50,17 ^f
	^{HM} LAB	60,65 ^{a-d}	53,79 ^e	60,63 ^{a-c}	55,92 ^{bc}	52,06 ^{ef}
	^{HT} LAB	56,30 ^{c-e}	56,46 ^{c-e}	63,52 ^{ab}	62,07 ^{ab}	60,10 ^{b-d}
	^{HM+HT} LAB	58,21 ^{b-d}	56,69 ^{b-e}	56,56 ^{b-d}	61,16 ^{ab}	65,17 ^{ab}
GREENGO (ST)	Kontrol	63,50 ^{ab}	61,23 ^{a-d}	62,78 ^{ab}	55,73 ^{bc}	57,23 ^{c-e}
	^{HM} LAB	62,51 ^{a-c}	63,10 ^{a-c}	63,14 ^{ab}	65,77 ^a	55,25 ^{d-f}
	^{HT} LAB	64,19 ^{ab}	65,62 ^a	63,94 ^a	62,77 ^{ab}	60,53 ^{a-d}
	^{HM+HT} LAB	66,59 ^a	63,78 ^{ab}	61,63 ^{a-c}	59,03 ^{a-c}	59,34 ^{cd}
SEM		1,96	2,22	2,18	2,26	1,73
P	Çeşit	<0,001	<0,001	0,015	0,172	0,003
	Katkı	0,136	0,006	0,003	0,002	0,001
	Çeşit X Katkı	<0,001	0,001	0,002	0,009	<0,001

HM: Homofermantatif, HT: Heterofermantatif, LAB: Laktik asit bakterisi, KM: Kuru madde

^{a-f} Aynı sütunda bulunan farklı harfler önemlidir ($P<0.05$)

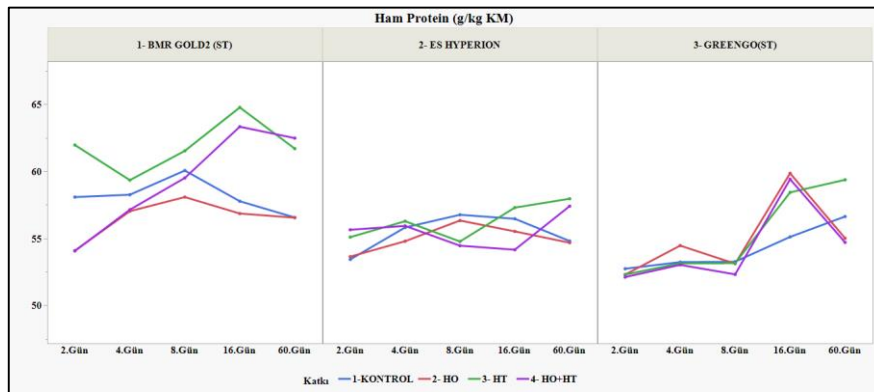


Şekil 3.3. Sorgum silajlarının ham kül değişimleri

Taze sorgumun HK içerikleri BMR Gold 2 (ST) 52,79 g/kg, Es Hyperion 51,10 g/kg ve Greengo çeşidinin 64,25 g/kg olarak saptandığı bu çalışmada, fermantasyon süresince sorgum silajlarının HK içerikleri 50,17-66,59 g/kg arasında değişmiştir. Çalışmada, fermantasyonun ilk günlerinde (2., 4. ve 8. gün) Greengo çeşidindeki silajların HK içerikleri BMR Gold 2 (ST) ve Es Hyperion çeşidindeki silajlardan önemli düzeyde daha yüksek olduğu belirlenmiştir ($P<0,001$). Fermantasyonun 16. Gününde çeşitler arasında HK içeriği önemsiz bulunurken, 60. Gün açılan silajlarda BMR Gold 2 (ST) çeşidindeki silajların HK içeriği Es Hyperion ve Greengo çeşidindeki silajlardan önemli düzeyde daha yüksek olduğu belirlenmiştir ($P<0,001$). Fermantasyonun 4., 8., 16. ve 60. günlerinde katkı maddesi kullanımı sorgum silajlarının HK içeriklerini önemli düzeyde etkilerken ($P<0,05$) fermantasyonun 2.gününde gruplar arasında fark görülmemiştir ($P>0,05$).

3.2.1.4 Sorgum silajlarının ham protein değerleri

Fermantasyonun 2, 4, 8, 16 ve 60. günlerinde açılan sorgum silajlarına ait ham protein analiz sonuçları Çizelge 3.5. ile Şekil 3.4.'de verilmiştir.



Şekil 3.4. Sorgum silajlarının ham protein değişimleri

Çizelge 3.5. Sorgum silajlarının ham protein (HP) analiz sonuçları (g/kg KM)

Çeşit		2. Gün	4.Gün	8.Gün	16.Gün	60.Gün
BMR GOLD 2 (ST)		57,05 ^a	57,94 ^a	59,79 ^a	60,68 ^a	59,32 ^a
ES HYPERION		54,45 ^b	55,70 ^b	55,57 ^b	55,85 ^c	56,21 ^b
GREENGO (ST)		52,36 ^c	53,46 ^c	52,95 ^c	58,20 ^b	56,42 ^b
SEM		0,39	0,65	0,56	0,76	0,53
	Katkı					
	Kontrol	54,74 ^b	55,76	56,69	56,44 ^b	55,99 ^b
	^{HM} LAB	53,34 ^c	55,42	55,84	57,41 ^b	55,40 ^b
	^{HT} LAB	56,45 ^a	56,25	56,48	60,16 ^a	59,67 ^a
	^{HM+HT} LAB	53,93 ^{bc}	55,36	55,42	58,96 ^{ab}	58,19 ^a
SEM		0,45	0,75	0,65	0,87	0,61
Çeşit X Katkı						
	Kontrol	58,08 ^b	58,25 ^{ab}	60,06 ^{ab}	57,77 ^{cd}	56,55 ^{bc}
BMR GOLD2 (ST)	^{HM} LAB	54,08 ^{c-e}	57,02 ^{a-c}	58,08 ^{a-d}	56,85 ^{cd}	56,54 ^{bc}
	^{HT} LAB	61,96 ^a	59,34 ^a	61,53 ^a	64,77 ^a	61,69 ^a
	^{HM+HT} LAB	54,06 ^{c-e}	57,13 ^{a-c}	59,51 ^{a-c}	63,33 ^{ab}	62,48 ^a
	Kontrol	53,42 ^{c-e}	55,81 ^{a-c}	56,76 ^{b-e}	56,46 ^{cd}	54,80 ^c
ES HYPERION	^{HM} LAB	53,63 ^{c-e}	54,78 ^{bc}	56,33 ^{c-e}	55,52 ^{cd}	54,67 ^c
	^{HT} LAB	55,09 ^{cd}	56,28 ^{a-c}	54,76 ^{d-f}	57,29 ^{cd}	57,95 ^{bc}
	^{HM+HT} LAB	55,64 ^c	55,93 ^{a-c}	54,45 ^{ef}	54,15 ^d	57,40 ^{bc}
	Kontrol	52,73 ^{de}	53,22 ^c	53,26 ^{ef}	55,11 ^{cd}	56,63 ^{bc}
GREENGO (ST)	^{HM} LAB	52,29 ^e	54,46 ^{bc}	53,11 ^{ef}	59,85 ^{bc}	55,01 ^c
	^{HT} LAB	52,30 ^e	53,13 ^c	53,14 ^{ef}	58,43 ^{cd}	59,37 ^{ab}
	^{HM+HT} LAB	52,11 ^e	53,02 ^c	52,31 ^f	59,41 ^{bc}	54,70 ^c
SEM		0,79	1,30	1,12	1,51	1,05
	Çeşit	<0,001	<0,001	<0,001	0,001	<0,001
P	Katkı	<0,001	0,828	0,498	0,029	<0,001
	Çeşit X Katkı	<0,001	0,029	<0,001	0,001	<0,001

HM: Homofermantatif, HT: Heterofermantatif, LAB: Laktik asit bakterisi, KM: Kuru madde

^{a-f} Aynı sütunda bulunan farklı harfler önemlidir (P<0,05)

Taze sorgumun HP içerikleri BMR Gold 2 (ST) 67,49 g/kg, Es Hyperion 60,83 g/kg ve Greengo çeşidinin 60,45 g/kg olarak saptandığı bu çalışmada, fermentasyon süresince sorgum silajlarının HP içerikleri 52,11-64,77 g/kg arasında değişmiştir. Çalışmada, 2., 4., 8., 16. ve 60. günlerinde BMR Gold 2 (ST) çeşidindeki silajların HP içerikleri Es Hyperion ve Greengo çeşidindeki silajlardan önemli düzeyde daha yüksek olduğu belirlenmiştir ($P<0,001$). Fermentasyonun 2., 16. ve 60. günlerinde katkı maddesi kullanımı sorgum silajlarının HP içeriklerini önemli düzeyde etkilerken ($P<0,05$) fermentasyonun 2. ve 4. gününde gruplar arasında fark görülmemiştir ($P>0,05$).

3.2.1.5 Sorgum silajlarının amonyak azotu değerleri

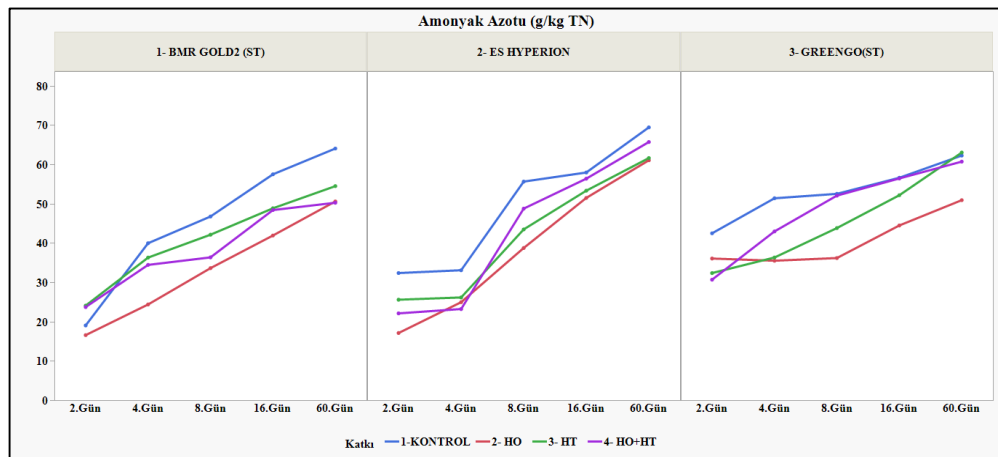
Fermentasyonun 2, 4, 8, 16 ve 60. günlerinde açılan sorgum silajlarına ait amonyak azotu analiz sonuçları Çizelge 3.6. ile Şekil 3.5.'de verilmiştir.

Çizelge 3.6. Sorgum silajlarının amonyak azotu (NH₃N) analiz sonuçları (g/kg TN)

Çeşit	2. Gün	4.Gün	8.Gün	16.Gün	60.Gün
BMR GOLD 2 (ST)	20,84 ^c	33,75 ^b	39,70 ^b	49,14 ^b	54,82 ^c
ES HYPERION	24,28 ^b	26,84 ^c	46,63 ^a	54,76 ^a	64,43 ^a
GREENGO (ST)	35,38 ^a	41,52 ^a	46,13 ^a	52,40 ^a	59,21 ^b
SEM	0,45	0,58	0,61	0,92	1,42
Katkı					
Kontrol	31,28 ^a	41,46 ^a	51,62 ^a	57,33 ^a	65,22 ^a
HM LAB	23,24 ^d	28,26 ^c	36,16 ^d	45,94 ^c	54,16 ^c
HT LAB	27,33 ^b	32,91 ^b	43,12 ^c	51,43 ^b	59,69 ^b
HM+HT LAB	25,49 ^c	33,52 ^b	45,71 ^b	53,72 ^b	58,87 ^{bc}
SEM	0,52	0,67	0,71	1,07	1,64
Çeşit X Katkı					
BMR GOLD2 (ST)	Kontrol	19,03 ^f	39,94 ^b	46,73 ^{cd}	57,46 ^{ab}
	HM LAB	16,56 ^f	24,36 ^d	33,60 ^h	41,90 ^e
	HT LAB	24,07 ^{de}	36,28 ^c	42,11 ^{ef}	48,83 ^{cd}
	HM+HT LAB	23,70 ^{de}	34,43 ^c	36,34 ^{gh}	48,38 ^{cd}
ES HYPERION	Kontrol	32,35 ^c	33,06 ^c	55,61 ^a	57,93 ^a
	HM LAB	17,10 ^f	24,94 ^d	38,72 ^{fg}	51,46 ^{bc}
	HT LAB	25,57 ^d	26,14 ^d	43,45 ^{de}	53,30 ^{a-c}
	HM+HT LAB	22,10 ^e	23,20 ^d	48,74 ^{bc}	56,36 ^{ab}
GREENGO (ST)	Kontrol	42,46 ^a	51,37 ^a	52,50 ^{ab}	56,59 ^{ab}
	HM LAB	36,05 ^b	35,49 ^c	36,17 ^{gh}	44,46 ^{de}
	HT LAB	32,35 ^c	36,30 ^c	43,79 ^{de}	52,15 ^{a-c}
	HM+HT LAB	30,66 ^c	42,94 ^b	52,05 ^{ab}	56,41 ^{ab}
SEM	0,91	1,16	1,23	1,85	2,83
P	Çeşit	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	Katkı	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	Çeşit X Katkı	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

HM: Homofermantatif, HT: Heterofermantatif, LAB: Laktik asit bakterisi, KM: Kuru madde, TN: Toplam nitrojen

^{a-h} Aynı sütunda bulunan farklı harfler önemlidir (P<0,05)



Şekil 3.5. Sorgum silajlarının amonyak azotu değişimleri

Sorgum silajlarının fermantasyon süresince NH₃-N içerikleri 16,56-65,68 g/kg TN arasında değişmiştir. Çalışmada, 2., 4., 8. Ve 16. günlerinde Greengo çeşidindeki silajların

NH₃-N içerikleri BMR Gold 2 (ST) ve Es Hyperion çeşidindeki silajlardan önemli düzeyde daha yüksek olduğu belirlenirken ($P<0,001$) silolamanın son gününde (60.) Es Hyperion çeşidindeki silajların NH₃-N içerikleri diğer çeşitlere göre daha yüksek bulunmuştur ($P<0,001$). Fermantasyonun tüm günlerinde inokulant kullanılan silajlarda NH₃-N miktarları kontrol silajına göre önemli düzeyde daha düşük bulunmuştur ($P<0,001$).

3.2.1.6 Sorgum silajlarının suda çözünebilir karbonhidrat değerleri

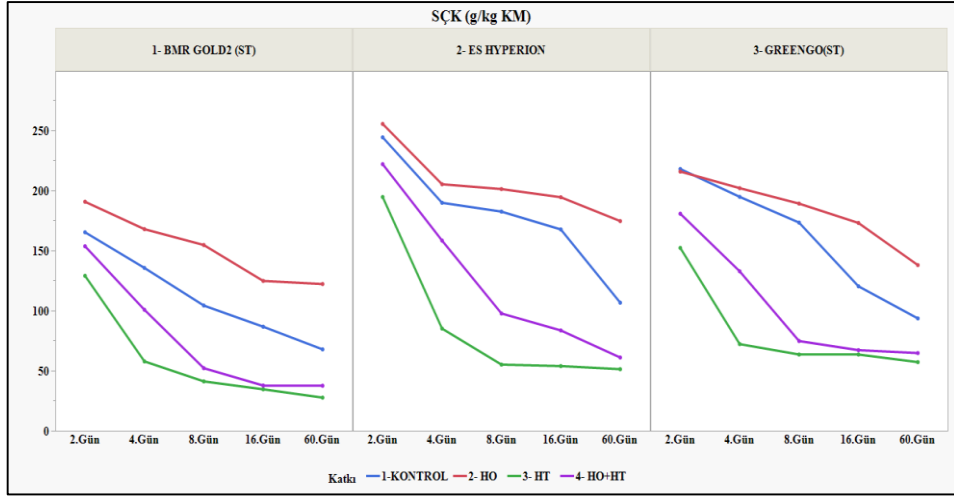
Fermantasyonun 2, 4, 8, 16 ve 60. günlerinde açılan sorgum silajlarına ait suda çözünebilir karbonhidrat analiz sonuçları Çizelge 3.7. ile Şekil 3.6.'de verilmiştir.

Çizelge 3.7. Sorgum silajlarının suda çözünebilir karbonhidrat (SÇK) analiz sonuçları (g/kg KM)

Çeşit	2. Gün	4.Gün	8.Gün	16.Gün	60.Gün
BMR GOLD 2 (ST)	159,55 ^c	115,44 ^c	88,01 ^c	70,88 ^c	63,75 ^c
ES HYPERION	228,96 ^a	159,53 ^a	134,05 ^a	124,81 ^a	98,34 ^a
GREENGO (ST)	191,55 ^b	150,33 ^b	125,10 ^b	105,94 ^b	88,30 ^b
SEM	1,23	1,34	0,99	1,21	1,09
Katkı					
Kontrol	209,05 ^b	173,29 ^b	153,27 ^b	124,80 ^b	89,29 ^b
^{HM} LAB	220,51 ^a	191,59 ^a	181,57 ^a	163,98 ^a	144,82 ^a
^{HT} LAB	158,53 ^d	71,65 ^d	53,24 ^d	50,63 ^d	45,35 ^d
^{HM+HT} LAB	185,32 ^c	130,55 ^c	74,81 ^c	62,77 ^c	54,39 ^c
SEM	1,42	1,55	1,14	1,40	1,26
Çeşit X Katkı					
BMR GOLD2 (ST)	Kontrol	165,17 ^f	135,53 ^f	104,23 ^f	67,75 ^f
	^{HM} LAB	190,57 ^d	167,78 ^d	154,58 ^e	122,11 ^c
	^{HT} LAB	128,93 ^h	57,76 ^j	41,12 ^k	27,62 ^k
	^{HM+HT} LAB	153,54 ^g	100,70 ^g	52,10 ^j	37,52 ^j
ES HYPERION	Kontrol	244,17 ^b	189,69 ^c	182,36 ^c	167,53 ^b
	^{HM} LAB	255,30 ^a	205,11 ^a	201,11 ^a	194,32 ^a
	^{HT} LAB	194,52 ^d	85,06 ^h	55,09 ^j	53,85 ^f
	^{HM+HT} LAB	221,83 ^c	158,26 ^e	97,64 ^g	83,52 ^d
GREENGO (ST)	Kontrol	217,82 ^c	194,63 ^{bc}	173,22 ^d	120,25 ^c
	^{HM} LAB	215,66 ^c	201,87 ^{ab}	189,01 ^b	172,92 ^b
	^{HT} LAB	152,14 ^g	72,13 ⁱ	63,49 ⁱ	63,49 ^e
	^{HM+HT} LAB	180,60 ^e	132,70 ^f	74,69 ^h	67,11 ^e
SEM	2,46	2,68	1,98	2,42	2,18
P	Çeşit	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	Katkı	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	Çeşit X Katkı	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

HM: Homofermantatif, HT: Heterofermantatif, LAB: Laktik asit bakterisi, KM: Kuru madde

^{a-k}Aynı sütunda bulunan farklı harfler önemlidir ($P<0,05$)

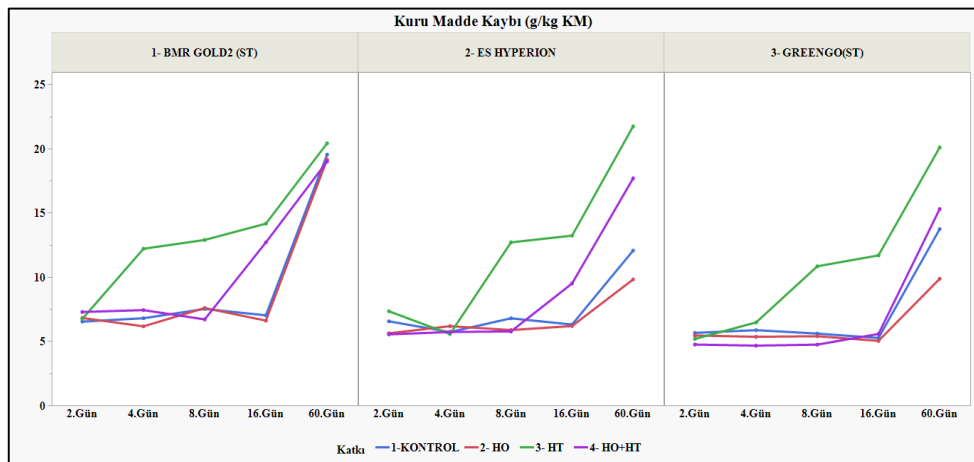


Şekil 3.6. Sorgum silajlarının SÇK değişimleri

Taze sorgumun SÇK içerikleri BMR Gold 2 (ST) 201,64 g/kg, Es Hyperion 278,51 g/kg ve Greengo çeşidinin 230,42 g/kg olarak saptandığı bu çalışmada, fermentasyon süresince sorgum silajlarının SÇK içerikleri 27,62-255,30 g/kg arasında değişmiştir. Çalışmada, fermentasyonun 2., 4., 8., 16. ve 60. günlerinde Es Hyperion çeşidindeki silajların SÇK içerikleri BMR Gold 2 (ST) ve Greengo çeşidindeki silajlardan önemli düzeyde daha yüksek olduğu belirlenmiştir ($P<0,001$). Sorgum bitkisine farklı çeşitlerde inokulant kullanılması genel olarak sorgum silajlarının SÇK içeriğini olumlu yönde etkilemiştir. Ancak ^{HM} LAB grubu ile diğer gruplar arasında önemli düzeyde farklılıklar oluşmuştur ($P<0,001$).

3.2.1.7 Sorgum silajlarının kuru madde kaybı değerleri

Fermentasyonun 2, 4, 8, 16 ve 60. günlerinde açılan sorgum silajlarına ait kuru madde kaybı analiz sonuçları Çizelge 3.8. ile Şekil 3.7.'de verilmiştir.



Şekil 3.7. Sorgum silajlarının kuru madde kaybı değişimleri

Çizelge 3.8. Sorgum silajlarının kuru madde kaybı (KMK) analiz sonuçları (g/kg KM)

Çeşit		2. Gün	4.Gün	8.Gün	16.Gün	60.Gün
BMR GOLD 2 (ST)		6,84 ^a	8,14 ^a	8,67 ^a	10,12 ^a	19,52 ^a
ES HYPERION		6,26 ^b	5,79 ^b	7,78 ^b	8,80 ^b	15,32 ^b
GREENGO (ST)		5,25 ^c	5,58 ^b	6,64 ^c	6,88 ^c	14,74 ^b
SEM		0,12	0,14	0,25	0,32	0,57
	Katkı					
	Kontrol	6,24 ^{ab}	6,12 ^b	6,63 ^b	6,19 ^c	15,11 ^c
	^{HM} LAB	5,96 ^b	5,89 ^b	6,28 ^{bc}	5,94 ^c	12,94 ^d
	^{HT} LAB	6,42 ^a	8,08 ^a	12,14 ^a	13,02 ^a	20,74 ^a
	^{HM+HT} LAB	5,85 ^b	5,93 ^b	5,73 ^c	9,25 ^b	17,32 ^b
SEM		0,14	0,17	0,29	0,36	0,66
Çeşit X Katkı						
	Kontrol	6,53 ^a	6,79 ^{bc}	7,52 ^c	7,02 ^d	19,53 ^{ab}
BMR GOLD2 (ST)	^{HM} LAB	6,81 ^a	6,16 ^{c-e}	7,59 ^c	6,60 ^d	19,15 ^{ab}
	^{HT} LAB	6,75 ^a	12,20 ^a	12,89 ^a	14,16 ^a	20,41 ^{ab}
	^{HM+HT} LAB	7,28 ^a	7,42 ^b	6,70 ^{cd}	12,70 ^{ab}	18,99 ^{ab}
	Kontrol	6,55 ^a	5,71 ^{de}	6,79 ^{cd}	6,30 ^d	12,06 ^{de}
ES HYPERION	^{HM} LAB	5,62 ^b	6,17 ^{c-e}	5,87 ^{de}	6,19 ^d	9,81 ^e
	^{HT} LAB	7,33 ^a	5,56 ^{de}	12,70 ^a	13,22 ^{ab}	21,73 ^a
	^{HM+HT} LAB	5,54 ^b	5,72 ^{de}	5,76 ^{de}	9,50 ^c	17,68 ^{bc}
	Kontrol	5,65 ^b	5,86 ^{de}	5,59 ^{de}	5,25 ^d	13,73 ^d
GREENGO (ST)	^{HM} LAB	5,45 ^{bc}	5,35 ^{ef}	5,39 ^{de}	5,03 ^d	9,86 ^e
	^{HT} LAB	5,18 ^{bc}	6,47 ^{cd}	10,84 ^b	11,68 ^b	20,09 ^{ab}
	^{HM+HT} LAB	4,74 ^c	4,66 ^f	4,74 ^e	5,56 ^d	15,29 ^{cd}
SEM		0,25	0,29	0,51	0,63	1,15
	Çeşit	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
P	Katkı	0,038	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	Çeşit X Katkı	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

HM: Homofermantatif, HT: Heterofermantatif, LAB: Laktik asit bakterisi, KM: Kuru madde

^{a-f}Aynı sütunda bulunan farklı harfler önemlidir (P<0,05)

Sorgum silajlarının fermentasyon süresince KMK 4,66-21,73 g/kg arasında değişmiştir. Çalışmada, fermentasyonun 2., 4., 8., 16. ve 60. günlerinde BMR Gold 2 (ST) çeşidindeki silajların KMK Greengo ve Es Hyperion çeşidindeki silajlardan önemli düzeyde daha yüksek olduğu belirlenmiştir ($P<0,001$). Fermentasyonun 60. Gününde KMK kaybı fermentasyonun ilk günlerine göre daha fazla bulunmuştur. Ayrıca ^{HM} LAB grubu ile diğer gruplar arasında önemli düzeyde farklılıklar oluşmuştur ($P<0,001$).

3.2.1.8 Sorgum silajlarının laktik asit değerleri

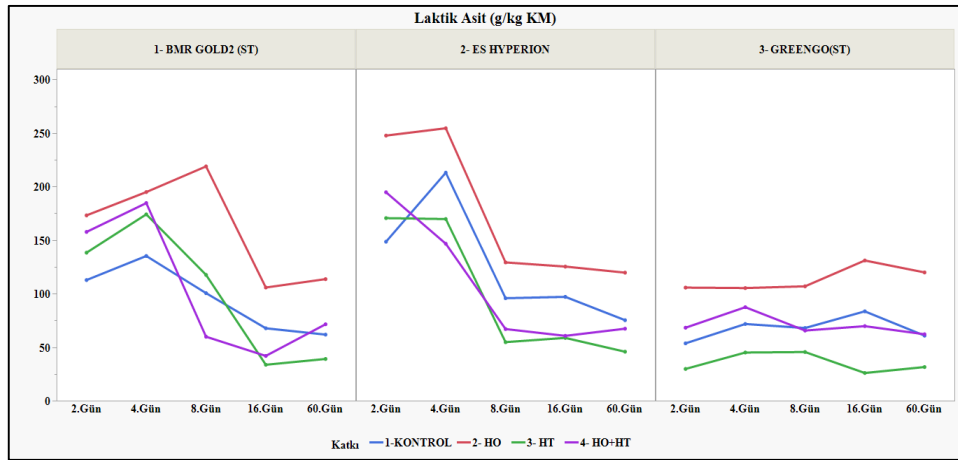
Fermentasyonun 2, 4, 8, 16 ve 60. günlerinde açılan sorgum silajlarına ait LA analiz sonuçları Çizelge 3.9. ile Şekil 3.8.'de verilmiştir.

Çizelge 3.9. Sorgum silajlarının laktik asit (LA) analiz sonuçları (g/kg KM)

Çeşit	2. Gün	4.Gün	8.Gün	16.Gün	60.Gün
BMR GOLD 2 (ST)	145,43 ^b	172,18 ^b	124,16 ^a	62,20 ^c	71,43 ^b
ES HYPERION	190,34 ^a	195,94 ^a	86,64 ^b	85,38 ^a	76,97 ^a
GREENGO (ST)	64,28 ^c	77,32 ^c	71,44 ^c	77,50 ^b	68,54 ^c
SEM	1,48	2,00	1,26	0,87	0,85
Katkı					
Kontrol	104,94 ^d	139,95 ^b	88,04 ^b	82,71 ^b	65,91 ^b
^{HM} LAB	175,45 ^a	184,85 ^a	151,62 ^a	120,66 ^a	117,68 ^a
^{HT} LAB	112,83 ^c	129,59 ^c	72,57 ^c	39,38 ^d	38,75 ^c
^{HM+HT} LAB	140,17 ^b	139,53 ^b	64,09 ^d	57,36 ^c	66,91 ^b
SEM	1,71	2,31	1,46	1,01	0,98
Çeşit X Katkı					
BMR GOLD2 (ST)	Kontrol	112,69 ^g	135,18 ^f	100,47 ^{de}	67,65 ^f
	^{HM} LAB	173,10 ^c	194,87 ^c	218,85 ^a	105,73 ^c
	^{HT} LAB	138,27 ^f	174,07 ^{de}	117,53 ^c	33,58 ⁱ
	^{HM+HT} LAB	157,65 ^d	184,61 ^{cd}	59,79 ^{gh}	41,83 ^h
ES HYPERION	Kontrol	148,52 ^e	213,00 ^b	95,75 ^e	97,01 ^d
	^{HM} LAB	247,62 ^a	254,47 ^a	129,18 ^b	125,27 ^b
	^{HT} LAB	170,53 ^c	169,67 ^e	54,70 ^h	58,66 ^g
	^{HM+HT} LAB	194,68 ^b	146,62 ^f	66,94 ^{fg}	60,58 ^g
GREENGO (ST)	Kontrol	53,59 ⁱ	71,68 ⁱ	67,90 ^f	83,48 ^e
	^{HM} LAB	105,64 ^g	105,22 ^g	106,85 ^d	130,97 ^a
	^{HT} LAB	29,70 ^j	45,03 ^j	45,48 ⁱ	25,89 ^j
	^{HM+HT} LAB	68,19 ^h	87,36 ^h	65,54 ^{fg}	69,65 ^f
SEM	2,96	4,00	2,53	1,74	1,71
P	Çeşit	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	Katkı	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	Çeşit X Katkı	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

HM: Homofermantatif, HT: Heterofermantatif, LAB: Laktik asit bakterisi, KM: Kuru madde

^{a-j}Aynı sütunda bulunan farklı harfler önemlidir (P<0,05)



Şekil 3.8. Sorgum silajlarının laktik asit değişimleri

Sorgum silajlarının fermentasyon süresince LA içerikleri 29,70-254,47 g/kg KM arasında değişmiştir. Çalışmada fermentasyonun 2., 4., 16. ve 60. günlerinde Es Hyperion çeşidindeki silajların LA içerikleri BMR Gold 2 (ST) ve Greengo çeşidindeki silajlardan önemli düzeyde daha yüksek olduğu belirlenirken ($P<0,001$), fermentasyonun 8. gününde ise LA içeriği BMR Gold 2 (ST) çeşidinde daha yüksek bulunmuştur. Fermentasyonun ilk günlerinde (2. gün) inokulant kullanılan tüm silajlarda LA içerikleri kontrol silajına göre önemli düzeyde daha yüksek bulunurken ($P<0,001$) fermentasyonun 4. gününden itibaren en yüksek LA içeriği ^{HM}LAB inokulantı ilave edilen silajlarda tespit edilmiştir.

3.2.1.9 Sorgum silajlarının asetik asit değerleri

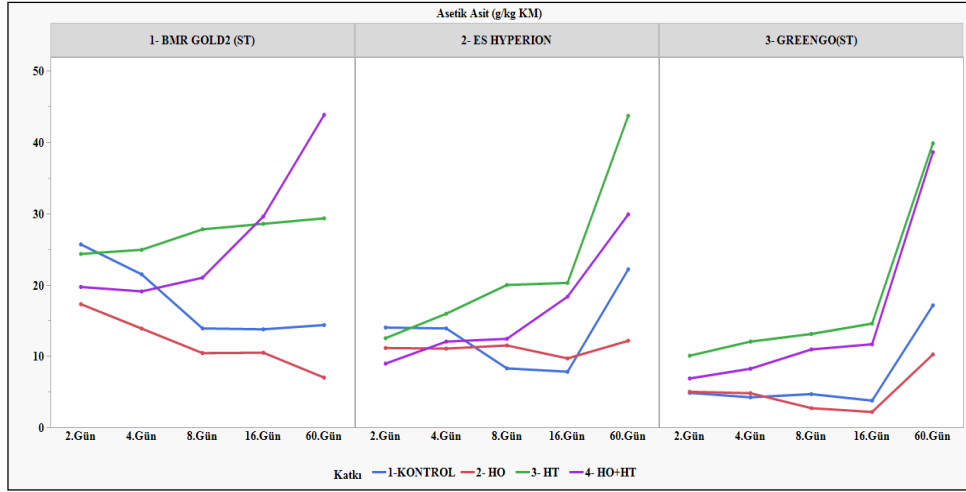
Fermentasyonun 2, 4, 8, 16 ve 60. günlerinde açılan sorgum silajlarına ait AA analiz sonuçları Çizelge 3.10. ile Şekil 3.9.'de verilmiştir.

Çizelge 3.10. Sorgum silajlarının asetik asit (AA) analiz sonuçları (g/kg KM)

Çeşit	2. Gün	4.Gün	8.Gün	16.Gün	60.Gün
BMR GOLD 2 (ST)	21,74 ^a	19,82 ^a	18,27 ^a	20,59 ^a	23,62 ^b
ES HYPERION	11,64 ^b	13,22 ^b	13,04 ^b	14,02 ^b	26,97 ^a
GREENGO (ST)	6,68 ^c	7,31 ^c	7,84 ^c	8,03 ^c	26,45 ^a
SEM	0,25	0,28	0,21	0,19	0,39
Katkı					
Kontrol	14,83 ^a	13,18 ^b	8,94 ^c	8,44 ^c	17,87 ^b
^{HM} LAB	11,13 ^b	9,89 ^c	8,20 ^d	7,43 ^d	9,78 ^c
^{HT} LAB	15,63 ^a	17,62 ^a	20,28 ^a	21,13 ^a	37,62 ^a
^{HM+HT} LAB	11,83 ^b	13,11 ^b	14,78 ^b	19,86 ^b	37,44 ^a
SEM	0,28	0,32	0,25	0,22	0,45
Çeşit X Katkı					
BMR GOLD2 (ST)	Kontrol	25,66 ^a	21,46 ^b	13,88 ^c	14,35 ^f
	^{HM} LAB	17,28 ^c	13,85 ^e	10,41 ^f	10,47 ^f
	^{HT} LAB	24,33 ^a	24,91 ^a	27,78 ^a	28,55 ^a
	^{HM+HT} LAB	19,70 ^b	19,07 ^c	20,99 ^b	29,57 ^a
ES HYPERION	Kontrol	14,00 ^d	13,88 ^e	8,27 ^g	7,80 ^g
	^{HM} LAB	11,13 ^{ef}	11,04 ^f	11,49 ^{ef}	9,67 ^f
	^{HT} LAB	12,51 ^e	15,94 ^d	19,97 ^b	20,27 ^b
	^{HM+HT} LAB	8,94 ^g	12,03 ^f	12,42 ^{de}	18,34 ^c
GREENGO (ST)	Kontrol	4,84 ⁱ	4,21 ^h	4,66 ^h	3,75 ^h
	^{HM} LAB	4,99 ⁱ	4,79 ^h	2,69 ⁱ	2,16 ⁱ
	^{HT} LAB	10,05 ^{fg}	12,03 ^f	13,10 ^{cd}	14,56 ^d
	^{HM+HT} LAB	6,86 ^h	8,22 ^g	10,92 ^f	11,66 ^e
SEM	0,49	0,56	0,43	0,38	0,78
P	Çeşit	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	Katkı	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	Çeşit X Katkı	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

HM: Homofermantatif, HT: Heterofermantatif, LAB: Laktik asit bakterisi, KM: Kuru madde

^{a-i}Aynı sütunda bulunan farklı harfler önemlidir ($P<0,05$)

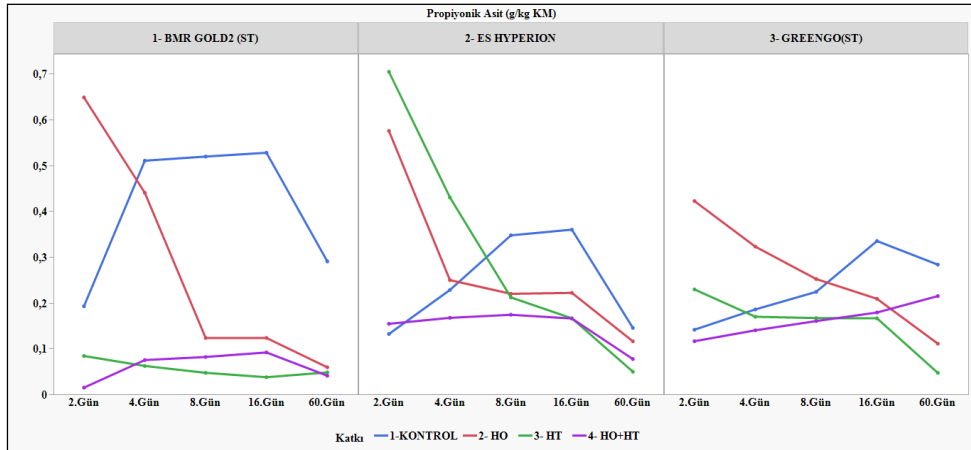


Şekil 3.9. Sorgum silajlarının asetik asit değişimleri

Taze sorgumun AA içerikleri BMR Gold 2 (ST), Es Hyperion ve Greengo çeşitlerinde sırasıyla 7,56; 4,88 ve 8,75 g/kg KM olarak saptandığı bu çalışmada sorgum silajlarının fermantasyon süresince AA içerikleri 2,16-43,84 g/kg KM arasında değişmiştir. Çalışmada fermantasyonun 2., 4., 8. ve 16. günlerinde BMR Gold 2 (ST) çeşidindeki silajların AA içerikleri Es Hyperion ve Greengo çeşidindeki silajlardan önemli düzeyde daha yüksek olduğu belirlenirken ($P<0,001$), fermantasyonun 60. gününde ise AA içeriği Es Hyperion çeşidinde daha yüksek bulunmuştur. Fermantasyonun ilk günlerinden itibaren en yüksek AA içeriği ^{HM}LAB inokulantı ilave edilen silajlarda tespit edilmiştir ($P<0,001$).

3.2.1.10 Sorgum silajlarının propiyonik asit değerleri

Fermantasyonun 2, 4, 8, 16 ve 60. günlerinde açılan sorgum silajlarına ait PA analiz sonuçları Çizelge 3.11. ile Şekil 3.10.'de verilmiştir.



Şekil 3.10. Sorgum silajlarının propiyonik asit değişimleri

Çizelge 3.11. Sorgum silajlarının propiyonik asit (PA) analiz sonuçları (g/kg KM)

Çeşit		2. Gün	4.Gün	8.Gün	16.Gün	60.Gün
BMR GOLD 2 (ST)		0,23 ^b	0,27 ^a	0,19 ^b	0,19 ^b	0,11 ^b
ES HYPERION		0,39 ^a	0,27 ^a	0,24 ^a	0,23 ^a	0,10 ^b
GREENGO (ST)		0,23 ^b	0,20 ^b	0,20 ^b	0,22 ^a	0,16 ^a
SEM		0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
	Katkı					
	Kontrol	0,16 ^c	0,31 ^a	0,36 ^a	0,41 ^a	0,24 ^a
	^{HM} LAB	0,55 ^a	0,34 ^a	0,20 ^b	0,18 ^b	0,10 ^b
	^{HT} LAB	0,34 ^b	0,22 ^b	0,14 ^c	0,12 ^d	0,05 ^c
	^{HM+HT} LAB	0,09 ^d	0,13 ^c	0,14 ^c	0,15 ^c	0,11 ^b
SEM		0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Çeşit X Katkı						
	Kontrol	0,19 ^{de}	0,51 ^a	0,52 ^a	0,53 ^a	0,29 ^a
BMR GOLD2 (ST)	^{HM} LAB	0,65 ^a	0,44 ^b	0,12 ^f	0,12 ^f	0,06 ^d
	^{HT} LAB	0,08 ^g	0,06 ^h	0,05 ^h	0,04 ^g	0,05 ^d
	^{HM+HT} LAB	0,01 ^h	0,07 ^{gh}	0,08 ^g	0,09 ^f	0,04 ^d
	Kontrol	0,13 ^{e-g}	0,23 ^{de}	0,35 ^b	0,36 ^b	0,15 ^c
ES HYPERION	^{HM} LAB	0,57 ^b	0,25 ^d	0,22 ^{cd}	0,22 ^c	0,12 ^c
	^{HT} LAB	0,70 ^a	0,43 ^b	0,21 ^d	0,17 ^e	0,05 ^d
	^{HM+HT} LAB	0,15 ^{ef}	0,17 ^{ef}	0,17 ^e	0,17 ^e	0,08 ^d
	Kontrol	0,14 ^{e-g}	0,19 ^{d-f}	0,22 ^{cd}	0,33 ^b	0,28 ^a
GREENGO (ST)	^{HM} LAB	0,42 ^c	0,32 ^c	0,25 ^c	0,21 ^{cd}	0,11 ^c
	^{HT} LAB	0,23 ^d	0,17 ^{ef}	0,17 ^e	0,17 ^e	0,05 ^d
	^{HM+HT} LAB	0,12 ^{fg}	0,14 ^{fg}	0,16 ^e	0,18 ^{de}	0,21 ^b
SEM		0,02	0,02	0,01	0,01	0,01
	Çeşit	<0,001	<0,001	<0,001	0,001	<0,001
P	Katkı	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	Çeşit X Katkı	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

HM: Homofermantatif, HT: Heterofermantatif, LAB: Laktik asit bakterisi, KM: Kuru madde

^{a-h} Aynı sütunda bulunan farklı harfler önemlidir (P<0,05)

Taze sorgumun PA içerikleri BMR Gold 2 (ST), Es Hyperion ve Greengo çeşitlerinde sırasıyla 0,10; 0,15 ve 0,10 g/kg KM olarak saptandığı bu çalışmada sorgum silajlarının fermantasyon süresince PA içerikleri 0,01-0,70 g/kg KM arasında değişmiştir. Çalışmada fermantasyonun 2., 4., 8. ve 16. günlerinde Es Hyperion çeşidindeki silajların PA içerikleri BMR Gold 2 (ST) ve Greengo çeşidindeki silajlardan önemli düzeyde daha yüksek olduğu belirlenirken ($P<0,001$), fermantasyonun 60. gününde ise PA içeriği Greengo çeşidinde daha yüksek bulunmuştur. Fermantasyonun ilk günlerinde (2. ve 4. Gün) en yüksek PA içeriği ^{HM} LAB inokulantı ilave edilen silajlarda tespit edilirken ($P<0,001$), fermantasyonun 60. gününde ise inokulant kullanılan silajların PA içeriği kontrol grubuna göre önemli düzeyde daha düşük bulunmuştur ($P<0,001$).

3.2.2 Sorgum Silajlarının Mikrobiyolojik Özellikleri İle İlgili Bulgular

3.2.2.1 Sorgum silajlarının lactobacilli değerleri

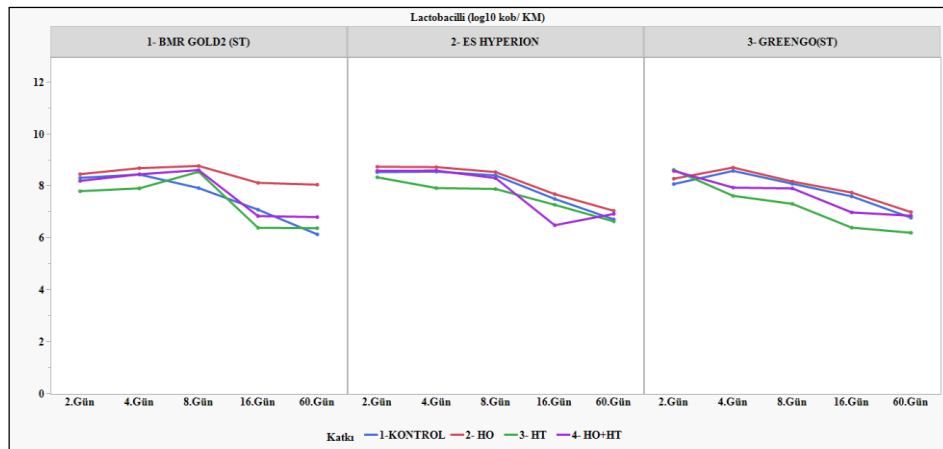
Fermantasyonun 2, 4, 8, 16 ve 60. günlerinde açılan sorgum silajlarına ait *Lactobacilli* analiz sonuçları Çizelge 3.12. ile Şekil 3.11.'de verilmiştir.

Çizelge 3.12. Sorgum silajlarının *Lactobacilli* analiz sonuçları (log₁₀ kob/g KM)

Çeşit	2. Gün	4.Gün	8.Gün	16.Gün	60.Gün	
BMR GOLD 2 (ST)	8,17 ^c	8,35 ^a	8,44 ^a	7,09 ^c	6,82 ^a	
ES HYPERION	8,53 ^a	8,43 ^b	8,26 ^b	7,22 ^a	6,81 ^a	
GREENGO (ST)	8,37 ^b	8,19 ^c	7,85 ^c	7,16 ^b	6,69 ^b	
SEM	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	
	Katkı					
	Kontrol	8,29 ^c	8,51 ^b	8,12 ^c	7,38 ^b	6,52 ^c
	HM LAB	8,47 ^a	8,69 ^a	8,47 ^a	7,83 ^a	7,34 ^a
	HT LAB	8,23 ^d	7,80 ^d	7,90 ^d	6,67 ^d	6,38 ^d
	HM+HT LAB	8,43 ^b	8,31 ^c	8,26 ^b	6,75 ^c	6,84 ^b
SEM	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	
Çeşit X Katkı						
BMR GOLD2 (ST)	Kontrol	8,29 ^f	8,42 ^c	7,90 ^h	7,07 ^g	6,12 ⁱ
	HM LAB	8,44 ^e	8,67 ^a	8,75 ^a	8,10 ^a	8,03 ^a
	HT LAB	7,78 ^j	7,89 ^d	8,53 ^c	6,37 ^k	6,35 ^h
	HM+HT LAB	8,18 ^h	8,43 ^c	8,59 ^b	6,82 ⁱ	6,78 ^{de}
ES HYPERION	Kontrol	8,52 ^d	8,53 ^b	8,39 ^d	7,48 ^e	6,70 ^f
	HM LAB	8,72 ^a	8,71 ^a	8,52 ^c	7,67 ^c	7,02 ^b
	HT LAB	8,31 ^f	7,90 ^d	7,87 ^h	7,26 ^f	6,62 ^g
	HM+HT LAB	8,56 ^c	8,57 ^b	8,28 ^e	6,47 ^j	6,91 ^c
GREENGO (ST)	Kontrol	8,05 ⁱ	8,56 ^b	8,07 ^g	7,58 ^d	6,76 ^{ef}
	HM LAB	8,26 ^g	8,69 ^a	8,15 ^f	7,73 ^b	6,98 ^{bc}
	HT LAB	8,60 ^b	7,60 ^e	7,29 ⁱ	6,38 ^k	6,18 ⁱ
	HM+HT LAB	8,56 ^c	7,92 ^d	7,89 ^h	6,96 ^h	6,83 ^d
	SEM	0,01	0,02	0,02	0,02	0,02
P	Çeşit	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	Katkı	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	Çeşit X Katkı	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

HM: Homofermantatif, HT: Heterofermantatif, LAB: Laktik asit bakterisi, KM: Kuru madde

^{a-k} Aynı sütunda bulunan farklı harfler önemlidir (P<0,05)

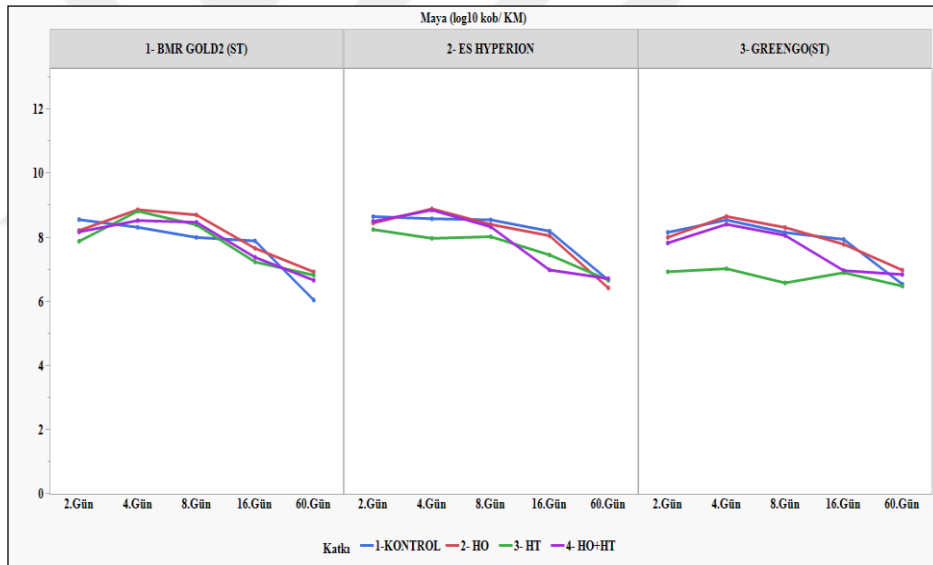


Şekil 3.11. Sorgum silajlarının *lactobacilli* değişimleri

Taze sorgumun *Lactobacilli* içerikleri BMR Gold 2 (ST), Es Hyperion ve Greengo çeşitlerinde sırasıyla 6,00; 6,04 ve 5,29 log₁₀ kob/g KM olarak saptandığı bu çalışmada, fermantasyonun 2., 4., 8., 16. ve 60. günlerinde *Lactobacilli* içerikleri 6,12-8,71 log₁₀ kob/g KM arasında değişmiştir. Fermantasyonun 2. ve 16. günlerinde *Lactobacilli* içeriği en yüksek Es Hyperion çeşidinde bulunurken ($P<0,001$), fermantasyonun 4. ve 8. *Lactobacilli* içeriği en yüksek BMR Gold 2 (ST) çeşidinde bulunmuştur ($P<0,001$). Fermantasyonun 60. gününde ise *Lactobacilli* içeriği Greengo çeşidinde daha düşük bulunmuştur ($P<0,001$). Fermantasyonun tüm günlerinde en yüksek *Lactobacilli* içeriği ^{HM} LAB inokulantı ilave edilen silajlarda tespit edilmiştir ($P<0,001$).

3.2.2.2 Sorgum silajlarının maya değerleri

Fermantasyonun 2, 4, 8, 16 ve 60. günlerinde açılan sorgum silajlarına ait maya analiz sonuçları Çizelge 3.13. ile Şekil 3.12.'de verilmiştir.



Şekil 3.12. Sorgum silajlarının maya değişimleri

Çizelge 3.13. Sorgum silajlarının maya analiz sonuçları (log₁₀ kob/g KM)

Çeşit	Katkı	2. Gün	4.Gün	8.Gün	16.Gün	60.Gün
BMR GOLD 2 (ST)		8,19 ^b	8,61 ^a	8,37 ^a	7,52 ^b	6,35 ^b
ES HYPERION		8,44 ^a	8,56 ^b	8,31 ^b	7,65 ^a	6,60 ^b
GREENGO (ST)		7,71 ^c	8,14 ^c	7,76 ^c	7,38 ^c	6,69 ^a
SEM		0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
	Kontrol	8,43 ^a	8,46 ^c	8,21 ^c	7,99 ^a	6,40 ^d
	^{HM} LAB	8,20 ^b	8,78 ^a	8,45 ^a	7,81 ^b	6,76 ^a
	^{HT} LAB	7,66 ^d	7,92 ^d	7,65 ^d	7,18 ^c	6,64 ^c
	^{HM+HT} LAB	8,15 ^c	8,58 ^b	8,27 ^b	7,09 ^d	6,72 ^b
SEM		0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
BMR GOLD2 (ST)	Kontrol	8,54 ^b	8,30 ^g	7,98 ^h	7,87 ^c	6,03 ⁱ
	^{HM} LAB	8,20 ^{de}	8,85 ^{ab}	8,68 ^a	7,64 ^e	6,91 ^b
	^{HT} LAB	7,86 ^g	8,80 ^b	8,37 ^d	7,21 ^h	6,80 ^c
	^{HM+HT} LAB	8,15 ^e	8,51 ^e	8,45 ^c	7,36 ^g	6,65 ^e
ES HYPERION	Kontrol	8,63 ^a	8,56 ^d	8,53 ^b	8,17 ^a	6,65 ^e
	^{HM} LAB	8,43 ^c	8,87 ^a	8,39 ^d	8,03 ^b	6,40 ^h
	^{HT} LAB	8,23 ^d	7,95 ^h	8,00 ^h	7,43 ^f	6,65 ^e
	^{HM+HT} LAB	8,48 ^{bc}	8,83 ^{ab}	8,31 ^e	6,96 ⁱ	6,70 ^d
GREENGO (ST)	Kontrol	8,14 ^e	8,52 ^{de}	8,13 ^f	7,92 ^c	6,52 ^f
	^{HM} LAB	7,98 ^f	8,64 ^c	8,29 ^e	7,77 ^d	6,96 ^a
	^{HT} LAB	6,91 ^h	7,01 ⁱ	6,56 ⁱ	6,88 ^j	6,46 ^g
	^{HM+HT} LAB	7,81 ^g	8,39 ^f	8,04 ^g	6,94 ⁱ	6,82 ^c
SEM		0,02	0,02	0,01	0,02	0,01
	Çeşit	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	Katkı	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	Çeşit X Katkı	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

HM: Homofermantatif, HT: Heterofermantatif, LAB: Laktik asit bakterisi, KM: Kuru madde

^{a-j}Aynı sütunda bulunan farklı harfler önemlidir (P<0,05)

Taze sorgumun maya içerikleri BMR Gold 2 (ST), Es Hyperion ve Greengo çeşidinin 7,99; 7,80 ve 6,39 log₁₀ kob/g KM olarak saptandığı bu çalışmada, fermantasyonun 2., 4., 8., 16. ve 60. günlerinde maya içerikleri 6,03-8,87 log₁₀ kob/g KM arasında değişmiştir. Fermantasyonun 2. ve 16. günlerinde maya içeriği en yüksek Es Hyperion çeşidinde bulunurken (P<0,001), fermantasyonun 4. ve 8. günlerinde maya içeriği en yüksek BMR Gold 2 (ST) çeşidinde bulunmuştur (P<0,001). Fermantasyonun 60. gününde ise maya içeriği Greengo çeşidinde daha yüksek bulunmuştur (P<0,001). Fermantasyonun 2. ve 16. günlerinde inokulant kullanılan silajların maya içeriği kontrol grubuna göre önemli düzeyde düşük bulunurken (P<0,001), fermantasyonun 4. ve 8. günlerinde en yüksek maya içeriği ^{HM} LAB inokulantı ilave edilen silajlarda tespit edilmiştir (P<0,001). Fermantasyonun 60. gününde ise ^{HM+HT} LAB inokulant kullanılan silajların maya içeriği diğer gruplara göre önemli düzeyde daha yüksek bulunmuştur (P<0,001).

3.2.2.3 Sorgum silajlarının enterobakteri değerleri

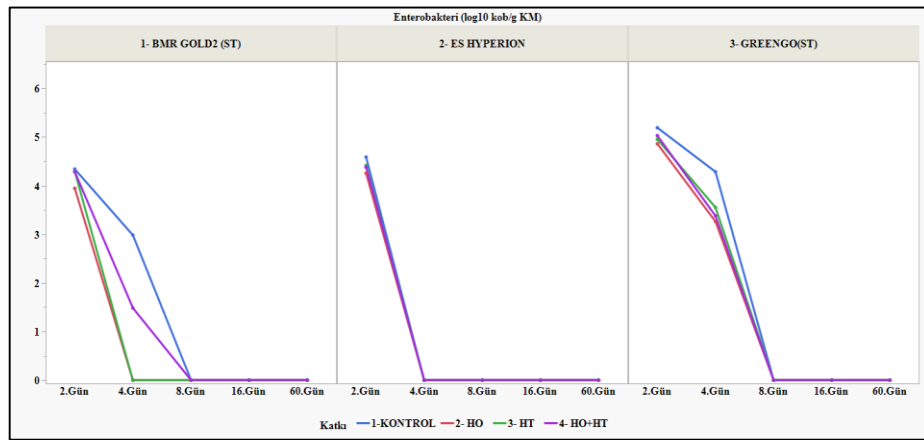
Fermantasyonun 2, 4, 8, 16 ve 60. günlerinde açılan sorgum silajlarına ait enterobakteri analiz sonuçları Çizelge 3.14. ile Şekil 3.13.'de verilmiştir.

Çizelge 3.14. Sorgum silajlarının enterobakteri analiz sonuçları (log₁₀ kob/g KM)

Çeşit		2. Gün	4.Gün	8.Gün	16.Gün	60.Gün
BMR GOLD 2 (ST)		4,22 ^c	1,12 ^b	0,00	0,00	0,00
ES HYPERION		4,41 ^b	0,00 ^c	0,00	0,00	0,00
GREENGO (ST)		5,01 ^a	3,62 ^a	0,00	0,00	0,00
SEM		0,00	0,01	0,00	0,00	0,00
	Katkı					
	Kontrol	4,71 ^a	2,42 ^a	0,00	0,00	0,00
	HM LAB	4,35 ^d	1,09 ^d	0,00	0,00	0,00
	HT LAB	4,55 ^c	1,18 ^c	0,00	0,00	0,00
	HM+HT LAB	4,57 ^b	1,62 ^b	0,00	0,00	0,00
SEM		0,00	0,02	0,00	0,00	0,00
Çeşit X Katkı						
	Kontrol	4,34 ^h	2,98 ^e	0,00	0,00	0,00
BMR GOLD2 (ST)	HM LAB	3,95 ^k	0,00 ^g	0,00	0,00	0,00
	HT LAB	4,29 ⁱ	0,00 ^g	0,00	0,00	0,00
	HM+HT LAB	4,29 ⁱ	1,48 ^f	0,00	0,00	0,00
	Kontrol	4,59 ^e	0,00 ^g	0,00	0,00	0,00
ES HYPERION	HM LAB	4,26 ^j	0,00 ^g	0,00	0,00	0,00
	HT LAB	4,41 ^f	0,00 ^g	0,00	0,00	0,00
	HM+HT LAB	4,38 ^g	0,00 ^g	0,00	0,00	0,00
	Kontrol	5,19 ^a	4,29 ^a	0,00	0,00	0,00
GREENGO (ST)	HM LAB	4,86 ^d	3,26 ^d	0,00	0,00	0,00
	HT LAB	4,95 ^c	3,55 ^b	0,00	0,00	0,00
	HM+HT LAB	5,03 ^b	3,38 ^c	0,00	0,00	0,00
SEM		0,01	0,03	0,00	0,00	0,00
	Çeşit	<0,001	<0,001	0,000	0,000	0,000
	Katkı	<0,001	<0,001	0,000	0,000	0,000
	Çeşit X Katkı	<0,001	<0,001	0,000	0,000	0,000

HM: Homofermantatif, HT: Heterofermantatif, LAB: Laktik asit bakterisi, KM: Kuru madde

^{a-k} Aynı sütunda bulunan farklı harfler önemlidir (P<0,05)



Şekil 3.13. Sorgum silajlarının enterobakteri değişimleri

Taze sorgumun enterobakteri içerikleri BMR Gold 2 (ST), Es Hyperion ve Greengo çeşitlerinde sırasıyla 8,43; 7,15 ve 7,28 log₁₀ kob/g KM olarak saptandığı bu çalışmada, fermantasyonun 2., 4., 8., 16. ve 60. günlerinde enterobakteri içerikleri 0,00-5,19 log₁₀ kob/g KM arasında değişmiştir. Fermantasyonun 2. ve 4. günlerinde enterobakteri içeriği en yüksek Greengo çeşidinde bulunurken ($P<0,001$), fermantasyonun 8. 16. ve 60. günlerinde tüm çeşitlerde enterobakteri görülmemiştir. Fermantasyonun ilk günlerinde (2. ve 4. Gün) inokulant kullanılan silajlarda enterobakteri içerikleri kontrol silajına göre önemli düzeyde daha düşük bulunurken ($P<0,001$), fermantasyonun 8. gününden itibaren hiç bir grupta enterobakteri gelişmemiştir.

3.2.3 Sorgum Silajların Hücre Duvarı Bileşenleri

3.2.3.1 Sorgum silajlarının NDF değerleri

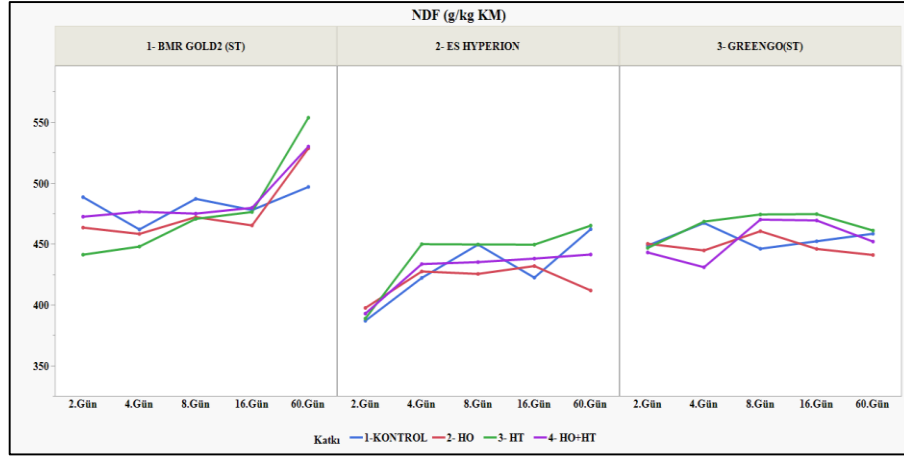
Fermantasyonun 2, 4, 8, 16 ve 60. günlerinde açılan sorgum silajlarına ait NDF analiz sonuçları Çizelge 3.15. ile Şekil 3.14.'de verilmiştir.

Çizelge 3.15. Sorgum silajlarının NDF analiz sonuçları (g/kg KM)

Çeşit		2. Gün	4.Gün	8.Gün	16.Gün	60.Gün
BMR GOLD 2 (ST)		466,27 ^a	461,02 ^a	476,08 ^a	474,65 ^a	527,21 ^a
ES HYPERION		391,35 ^c	433,10 ^b	439,77 ^c	435,30 ^b	444,98 ^b
GREENGO (ST)		447,04 ^b	452,67 ^a	462,60 ^b	460,40 ^a	452,99 ^b
SEM		2,31	3,20	3,95	5,83	5,47
	Katkı					
	Kontrol	441,23 ^a	450,30	460,76	450,69	472,36 ^b
	^{HM} LAB	436,91 ^a	443,34	452,56	447,57	460,33 ^b
	^{HT} LAB	425,45 ^b	455,24	464,70	466,65	493,18 ^a
	^{HM+HT} LAB	435,96 ^a	446,84	459,91	462,22	474,34 ^b
SEM		2,67	3,70	4,56	6,73	6,32
Çeşit X Katkı						
	Kontrol	488,36 ^a	461,81 ^{a-c}	486,97 ^a	477,74 ^a	496,76 ^{bc}
BMR GOLD2 (ST)	^{HM} LAB	463,34 ^{bc}	458,15 ^{a-c}	471,99 ^{a-c}	465,13 ^{a-c}	528,49 ^{ab}
	^{HT} LAB	441,08 ^d	447,74 ^{b-e}	470,52 ^{a-c}	476,16 ^{ab}	553,64 ^a
	^{HM+HT} LAB	472,30 ^b	476,38 ^a	474,84 ^{ab}	479,60 ^a	529,93 ^{ab}
	Kontrol	386,78 ^e	421,99 ^f	449,35 ^{b-e}	422,22 ^d	462,02 ^d
ES HYPERION	^{HM} LAB	397,33 ^e	427,31 ^{ef}	425,29 ^e	431,76 ^{cd}	411,67 ^e
	^{HT} LAB	388,63 ^e	449,72 ^{b-d}	449,46 ^{b-e}	449,35 ^{a-d}	464,97 ^{cd}
	^{HM+HT} LAB	392,68 ^e	433,38 ^{d-f}	434,99 ^{de}	437,86 ^{b-d}	441,23 ^{de}
	Kontrol	448,54 ^d	467,11 ^{ab}	445,96 ^{c-e}	452,12 ^{a-d}	458,31 ^d
GREENGO (ST)	^{HM} LAB	450,05 ^{cd}	444,55 ^{c-e}	460,40 ^{b-d}	445,81 ^{a-d}	440,84 ^{de}
	^{HT} LAB	446,64 ^d	468,27 ^{ab}	474,13 ^{ab}	474,44 ^{ab}	460,94 ^d
	^{HM+HT} LAB	442,91 ^d	430,77 ^{d-f}	469,91 ^{a-c}	469,22 ^{a-c}	451,86 ^d
SEM		4,62	6,41	7,90	11,66	10,95
	Çeşit	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
P	Katkı	0,003	0,159	0,319	0,168	0,011
	Çeşit X Katkı	<0,001	<0,001	<0,001	0,016	<0,001

HM: Homofermantatif, HT: Heterofermantatif, LAB: Laktik asit bakterisi, KM: Kuru madde, NDF: Nötr deterjanda çözünmeyen lif

^{a-f}Aynı sütunda bulunan farklı harfler önemlidir (P<0,05)

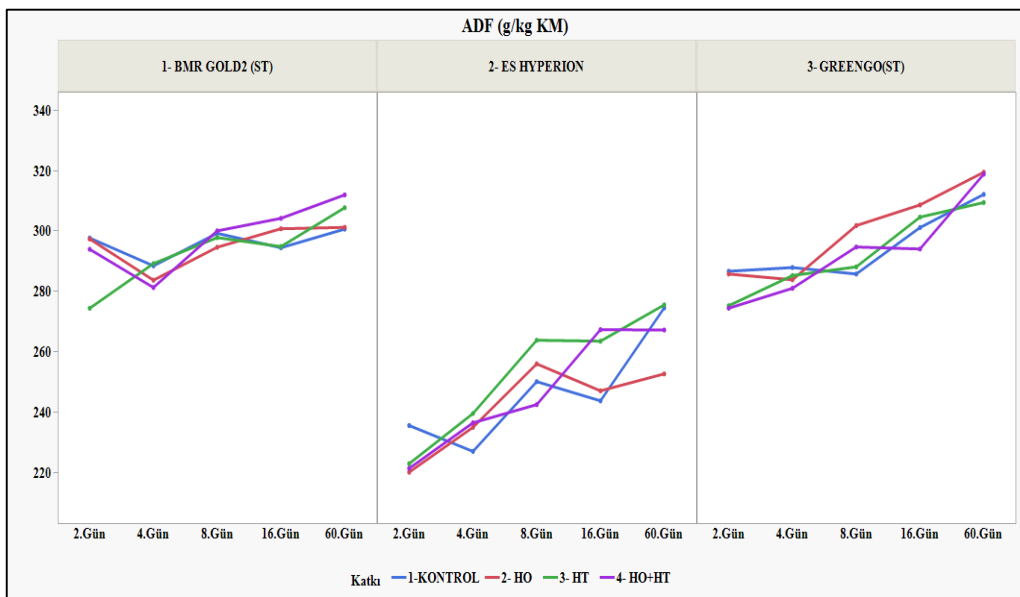


Şekil 3.14. Sorgum silajlarının NDF değişimleri

Taze sorgumun NDF içerikleri BMR Gold 2 (ST), Es Hyperion ve Greengo çeşitlerinde 464,21; 412,82 ve 494,35 g/kg KM olarak saptandığı bu çalışmada, fermentasyonun 2., 4., 8., 16. ve 60. günlerinde NDF içerikleri 386,78-553,64 g/kg KM arasında değişmiştir. Çalışmada, fermentasyonun 2., 4., 8., 16. ve 60. günlerinde BMR Gold 2 (ST) çeşidindeki silajların NDF içerikleri Es Hyperion ve Greengo çeşidindeki silajlardan önemli düzeyde daha yüksek olduğu belirlenmiştir ($P<0,001$).

3.2.3.2 Sorgum silajlarının ADF değerleri

Fermentasyonun 2, 4, 8, 16 ve 60. günlerinde açılan sorgum silajlarına ait ADF analiz sonuçları Çizelge 3.16. ile Şekil 3.15.'de verilmiştir.



Şekil 3.15. Sorgum silajlarının ADF değişimleri

Çizelge 3.16. Sorgum silajlarının ADF analiz sonuçları (g/kg KM)

Çeşit		2. Gün	4.Gün	8.Gün	16.Gün	60.Gün
BMR GOLD 2 (ST)		290,70 ^a	285,51 ^a	297,79 ^a	298,42 ^a	305,25 ^a
ES HYPERION		224,78 ^c	234,28 ^b	252,91 ^b	255,23 ^b	267,31 ^b
GREENGO (ST)		280,37 ^b	284,35 ^a	292,44 ^a	301,97 ^a	314,84 ^a
SEM		2,53	3,54	2,92	2,75	4,42
Katkı						
	Kontrol	273,14 ^a	267,61	278,20	279,62	295,62
	^{HM} LAB	267,57 ^{ab}	267,34	283,98	285,33	290,97
	^{HT} LAB	257,35 ^c	271,16	283,09	287,50	297,42
	^{HM+HT} LAB	263,07 ^{bc}	266,08	278,92	288,38	299,20
SEM		2,92	4,08	3,37	3,18	5,10
Çeşit X Katkı						
BMR GOLD2 (ST)	Kontrol	297,53 ^a	288,31 ^a	299,10 ^a	294,30 ^a	300,49 ^{ab}
	^{HM} LAB	297,22 ^a	283,56 ^a	294,48 ^a	300,61 ^a	301,07 ^{ab}
	^{HT} LAB	274,24 ^b	289,06 ^a	297,68 ^a	294,71 ^a	307,59 ^a
	^{HM+HT} LAB	293,80 ^a	281,12 ^a	299,90 ^a	304,07 ^a	311,84 ^a
ES HYPERION	Kontrol	235,36 ^c	226,78 ^b	249,91 ^{bc}	243,55 ^c	274,35 ^{bc}
	^{HM} LAB	219,89 ^c	234,76 ^b	255,80 ^{bc}	246,86 ^c	252,48 ^c
	^{HT} LAB	222,72 ^c	239,33 ^b	263,64 ^b	263,34 ^b	275,37 ^{bc}
	^{HM+HT} LAB	221,14 ^c	236,25 ^b	242,29 ^c	267,16 ^b	267,04 ^c
GREENGO (ST)	Kontrol	286,52 ^{ab}	287,75 ^a	285,60 ^a	301,00 ^a	312,00 ^a
	^{HM} LAB	285,59 ^{ab}	283,70 ^a	301,65 ^a	308,51 ^a	319,35 ^a
	^{HT} LAB	275,09 ^b	285,10 ^a	287,96 ^a	304,47 ^a	309,30 ^a
	^{HM+HT} LAB	274,26 ^b	280,86 ^a	294,56 ^a	293,90 ^a	318,72 ^a
SEM		5,05	7,07	5,84	5,50	8,84
P	Çeşit	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	Katkı	0,006	0,835	0,536	0,230	0,699
	Çeşit X Katkı	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

HM: Homofermantatif, HT: Heterofermantatif, LAB: Laktik asit bakterisi, KM: Kuru madde, ADF: Asit deterjanda çözünmeyen lif

^{a-c} Aynı sütunda bulunan farklı harfler önemlidir (P<0,05)

Taze sorgumun ADF içerikleri BMR Gold 2 (ST), Es Hyperion ve Greengo çeşitlerinde 307,32; 246,37 ve 324,31 g/kg KM olarak saptandığı bu çalışmada, fermentasyonun 2., 4., 8., 16. ve 60. günlerinde ADF içerikleri 219,89-319,35 g/kg KM arasında değişmiştir. Çalışmada, fermentasyonun 2., 4., 8., 16. ve 60. günlerinde BMR Gold 2 (ST) çeşidindeki silajların ADF içerikleri Es Hyperion ve Greengo çeşidindeki silajlardan önemli düzeyde daha yüksek olduğu belirlenmiştir ($P<0,001$). Fermentasyonun 2. gününde katkı maddesi kullanılan silajların ADF içerikleri kontrol grubuna göre daha düşük tespit edilmiştir ($P<0,001$). Fermentasyonun 4. gününden itibaren katkı maddesi kullanımı sorgum silajlarının ADF içeriğini etkilememiştir.

3.2.3.3 Sorgum silajlarının ADL değerleri

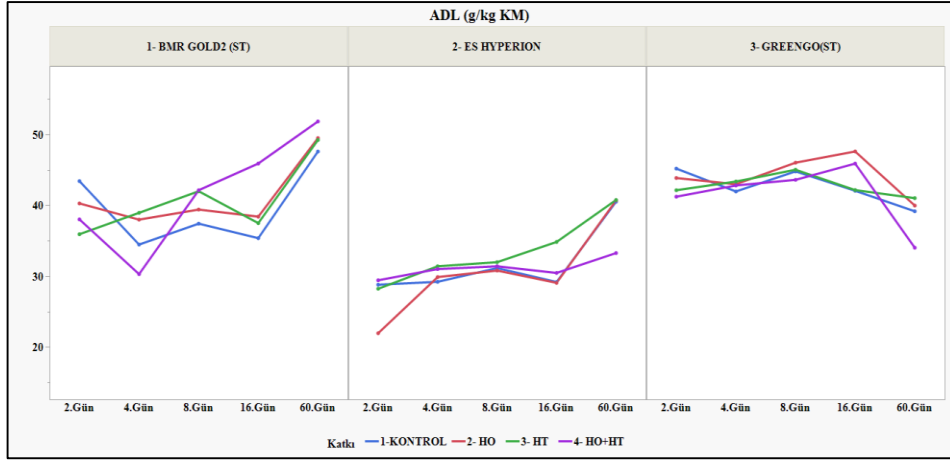
Fermantasyonun 2, 4, 8, 16 ve 60. günlerinde açılan sorgum silajlarına ait ADL analiz sonuçları Çizelge 3.17. ile Şekil 3.16.'de verilmiştir.

Çizelge 3.17. Sorgum silajlarının ADL analiz sonuçları (g/kg KM)

Çeşit		2. Gün	4.Gün	8.Gün	16.Gün	60.Gün
BMR GOLD 2 (ST)		39,40 ^b	35,41 ^b	40,23 ^b	39,28 ^b	49,53 ^a
ES HYPERION		27,09 ^c	30,36 ^c	31,32 ^c	30,87 ^c	38,80 ^b
GREENGO (ST)		43,09 ^a	42,77 ^a	44,85 ^a	44,42 ^a	38,53 ^b
SEM		0,65	0,61	0,73	0,57	0,68
Katkı						
	Kontrol	39,13 ^a	35,20 ^{bc}	37,77	35,53 ^c	42,42 ^a
	^{HM} LAB	35,35 ^b	36,94 ^{ab}	38,73	38,35 ^b	43,38 ^a
	^{HT} LAB	35,42 ^b	37,89 ^a	39,66	38,15 ^b	43,66 ^a
	^{HM+HT} LAB	36,21 ^b	34,69 ^c	39,04	40,74 ^a	39,70 ^b
SEM		0,75	0,71	0,85	0,66	0,78
Çeşit X Katkı						
BMR GOLD2 (ST)	Kontrol	43,41 ^{ab}	34,45 ^{de}	37,41 ^c	35,36 ^c	47,59 ^a
	^{HM} LAB	40,26 ^{bc}	37,98 ^{cd}	39,39 ^{bc}	38,40 ^c	49,49 ^a
	^{HT} LAB	35,92 ^d	38,94 ^{bc}	41,98 ^{ab}	37,48 ^c	49,21 ^a
	^{HM+HT} LAB	38,01 ^{cd}	30,28 ^f	42,13 ^{ab}	45,90 ^a	51,83 ^a
ES HYPERION	Kontrol	28,79 ^e	29,20 ^f	31,14 ^d	29,17 ^d	40,51 ^b
	^{HM} LAB	21,94 ^f	29,87 ^f	30,79 ^d	29,05 ^d	40,68 ^b
	^{HT} LAB	28,22 ^e	31,39 ^{ef}	31,97 ^d	34,82 ^c	40,75 ^b
	^{HM+HT} LAB	29,42 ^e	31,00 ^{ef}	31,39 ^d	30,45 ^d	33,26 ^c
GREENGO (ST)	Kontrol	45,18 ^a	41,95 ^{ab}	44,78 ^a	42,05 ^b	39,15 ^b
	^{HM} LAB	43,85 ^{ab}	42,98 ^a	46,01 ^a	47,60 ^a	39,96 ^b
	^{HT} LAB	42,13 ^{a-c}	43,35 ^a	45,02 ^a	42,15 ^b	41,01 ^b
	^{HM+HT} LAB	41,21 ^{a-c}	42,80 ^a	43,59 ^{ab}	45,89 ^a	34,01 ^c
SEM		1,30	1,23	1,47	1,14	1,36
P	Çeşit	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	Katkı	0,005	0,013	0,476	<0,001	0,006
	Çeşit X Katkı	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

HM: Homofermantatif, HT: Heterofermantatif, LAB: Laktik asit bakterisi, KM: Kuru madde, ADL: Asit çözücülerde çözünmeyen lignin

^{a-f}Aynı sütunda bulunan farklı harfler önemlidir (P<0,05)

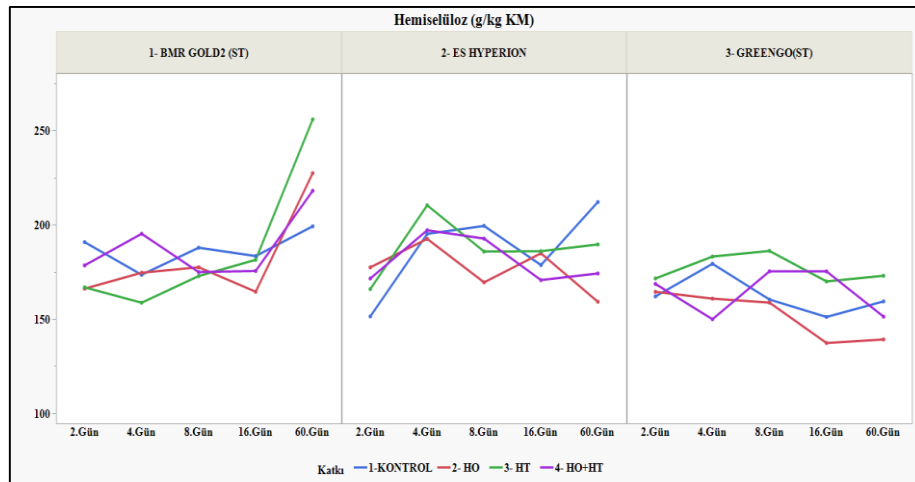


Şekil 3.16. Sorgum silajlarının ADL değişimleri

Taze sorgumun ADL içerikleri BMR Gold 2 (ST), Es Hyperion ve Greengo çeşitlerinde sırasıyla 47,57; 25,19 ve 42,77 g/kg KM olarak saptandığı bu çalışmada, fermentasyonun 2., 4., 8., 16. ve 60. günlerinde ADL içerikleri 28,22-51,83 g/kg KM arasında değişmiştir. Çalışmada, fermentasyonun 2., 4., 8. ve 16. günlerinde Greengo çeşidindeki silajların ADL içerikleri BMR Gold 2 (ST) ve Es Hyperion çeşidindeki silajlardan önemli düzeyde daha yüksek olduğu belirlenirken ($P<0,001$), 60. günde açılan silajlardan BMR Gold 2 (ST) çeşidindeki silajların diğer çeşitlerden yapılan silajlara göre ADL içeriklerinin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir ($P<0,001$).

3.2.3.4 Sorgum silajlarının hemiselüloz değerleri

Fermentasyonun 2, 4, 8, 16 ve 60. günlerinde açılan sorgum silajlarına ait hemiselüloz analiz sonuçları Çizelge 3.18. ile Şekil 3.17.'de verilmiştir.



Şekil 3.17. Sorgum silajlarının hemiselüloz değişimleri

Çizelge 3.18. Sorgum silajlarının hemiselüloz (HSEL) analiz sonuçları (g/kg KM)

Çeşit		2. Gün	4.Gün	8.Gün	16.Gün	60.Gün
BMR GOLD 2 (ST)		175,57 ^a	175,51 ^b	178,29 ^{ab}	176,23 ^{ab}	225,17 ^a
ES HYPERION		166,58 ^b	198,82 ^a	186,86 ^a	180,07 ^a	183,78 ^b
GREENGO (ST)		166,67 ^b	168,32 ^b	170,16 ^b	158,43 ^b	155,71 ^c
SEM		2,39	3,93	3,78	6,17	6,20
	Katkı					
	Kontrol	168,09	182,69	182,56	171,08	190,24 ^{ab}
	^{HM} LAB	169,34	176,00	168,58	162,24	175,27 ^c
	^{HT} LAB	168,10	184,08	181,61	179,14	206,18 ^a
	^{HM+HT} LAB	172,90	180,76	181,00	173,85	181,20 ^c
SEM		2,76	4,53	4,36	7,12	7,16
Çeşit X Katkı						
BMR GOLD2 (ST)	Kontrol	190,83 ^a	173,50 ^{b-d}	187,88 ^{ab}	183,43	199,23 ^{b-d}
	^{HM} LAB	166,12 ^{b-d}	174,60 ^{b-d}	177,51 ^{a-c}	164,52	227,42 ^{ab}
	^{HT} LAB	166,84 ^{b-d}	158,68 ^{cd}	172,84 ^{bc}	181,45	255,96 ^a
	^{HM+HT} LAB	178,50 ^{ab}	195,26 ^{ab}	174,94 ^{a-c}	175,52	218,10 ^{ab}
ES HYPERION	Kontrol	151,42 ^d	195,21 ^{ab}	199,44 ^a	178,67	212,11 ^{bc}
	^{HM} LAB	177,44 ^{a-c}	192,55 ^{ab}	169,49 ^{bc}	184,90	159,19 ^{d-f}
	^{HT} LAB	165,91 ^{b-d}	210,38 ^a	185,82 ^{ab}	186,01	189,60 ^{b-e}
	^{HM+HT} LAB	171,53 ^{bc}	197,13 ^{ab}	192,70 ^{ab}	170,70	174,19 ^{c-f}
GREENGO (ST)	Kontrol	162,02 ^{cd}	179,35 ^{bc}	160,36 ^c	151,12	159,38 ^{d-f}
	^{HM} LAB	164,46 ^{b-d}	160,86 ^{cd}	158,74 ^c	137,30	139,19 ^f
	^{HT} LAB	171,56 ^{bc}	183,17 ^{bc}	186,17 ^{ab}	169,97	172,98 ^{c-f}
	^{HM+HT} LAB	168,65 ^{bc}	149,91 ^d	175,35 ^{a-c}	175,32	151,30 ^{ef}
SEM		4,78	7,85	7,56	12,33	12,41
P	Çeşit	0,019	<0,001	0,017	0,046	<0,001
	Katkı	0,576	0,618	0,104	0,416	0,030
	Çeşit X Katkı	0,002	<0,001	0,020	0,234	<0,001

HM: Homofermantatif, HT: Heterofermantatif, LAB: Laktik asit bakterisi, KM: Kuru madde, Hemiselüloz: NDF-ADF

^{a-d}Aynı sütunda bulunan farklı harfler önemlidir (P<0,05)

Taze sorgumun HSEL içerikleri BMR Gold 2 (ST) 156,89 g/kg KM, Es Hyperion 166,45 g/kg KM ve Greengo çeşidinin 170,04 g/kg KM olarak saptandığı bu çalışmada, fermentasyonun 2., 4., 8., 16. ve 60. günlerinde HSEL içerikleri 137,30-255,96 g/kg KM arasında değişmiştir. Çalışmada, fermentasyonun 2., 4. ve 60. günlerinde BMR Gold 2 (ST) çeşidindeki silajların HSEL içerikleri Es Hyperion ve Greengo çeşidindeki silajlardan önemli düzeyde daha yüksek olduğu belirlenmiştir (P<0,001).

Fermentasyonun ilk günlerinde (2., 4., 8., ve 16.) katkı maddesi kullanımı sorgum silajlarının HSEL içeriklerini etkilemezken (P>0,05), 60. günde açılan silajlarda gruplar arasındaki farklılıklar önemli bulunmuştur (P<0,001).

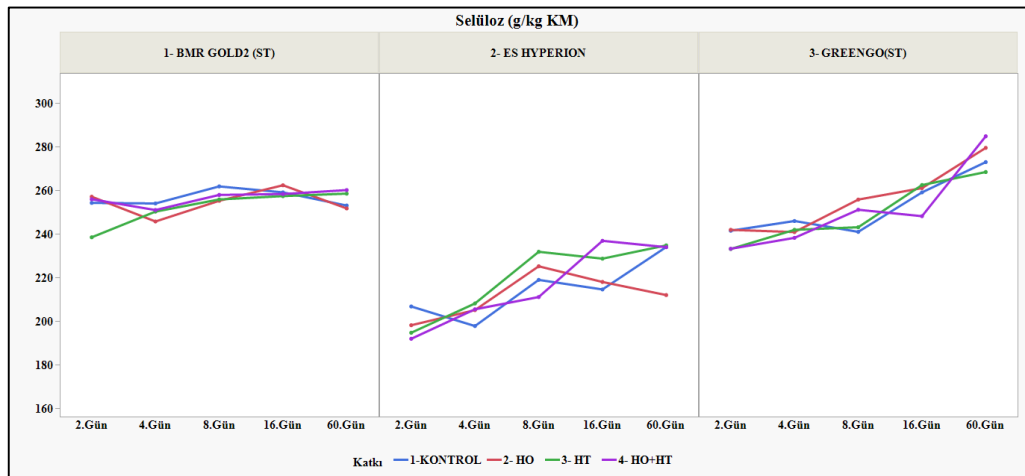
3.2.3.5 Sorgum silajlarının selüloz değerleri

Fermantasyonun 2, 4, 8, 16 ve 60. günlerinde açılan sorgum silajlarına ait selüloz analiz sonuçları Çizelge 3.19. ile Şekil 3.18.'de verilmiştir.

Çizelge 3.19. Sorgum silajlarının selüloz (SEL) analiz sonuçları (g/kg KM)

Çeşit		2. Gün	4.Gün	8.Gün	16.Gün	60.Gün
BMR GOLD 2 (ST)		251,30 ^a	250,10 ^a	257,56 ^a	259,14 ^a	255,72 ^b
ES HYPERION		197,69 ^c	203,92 ^b	221,59 ^c	224,35 ^b	228,51 ^c
GREENGO (ST)		237,27 ^b	241,58 ^a	247,59 ^b	257,55 ^a	276,31 ^a
SEM		2,12	3,22	3,03	2,60	4,31
	Katkı					
	Kontrol	234,01 ^a	232,41	240,43	244,09	253,20
	HM LAB	232,22 ^a	230,40	245,25	246,98	247,59
	HT LAB	221,93 ^b	233,27	243,44	249,35	253,76
	HM+HT LAB	226,86 ^{ab}	231,39	239,88	247,63	259,50
SEM		2,45	3,72	3,50	3,00	4,98
BMR GOLD2 (ST)	Kontrol	254,12 ^{ab}	253,85 ^a	261,69 ^a	258,94 ^a	252,91 ^{bc}
	HM LAB	256,96 ^a	245,58 ^a	255,08 ^{ab}	262,21 ^a	251,59 ^{bc}
	HT LAB	238,33 ^c	250,12 ^a	255,70 ^{ab}	257,23 ^a	258,38 ^{a-c}
	HM+HT LAB	255,79 ^a	250,84 ^a	257,78 ^{ab}	258,18 ^a	260,00 ^{a-c}
	SEM					
ES HYPERION	Kontrol	206,57 ^d	197,58 ^b	218,77 ^{de}	214,38 ^d	233,85 ^{cd}
	HM LAB	197,95 ^{de}	204,89 ^b	225,02 ^{c-e}	217,81 ^d	211,80 ^d
	HT LAB	194,50 ^{de}	207,94 ^b	231,67 ^{cd}	228,51 ^{cd}	234,62 ^{cd}
	HM+HT LAB	191,73 ^e	205,26 ^b	210,90 ^e	236,71 ^{bc}	233,78 ^{cd}
	SEM					
GREENGO (ST)	Kontrol	241,34 ^{bc}	245,80 ^a	240,82 ^{bc}	258,95 ^a	272,84 ^{ab}
	HM LAB	241,74 ^{bc}	240,72 ^a	255,64 ^{ab}	260,91 ^a	279,39 ^{ab}
	HT LAB	232,96 ^c	241,75 ^a	242,94 ^{a-c}	262,32 ^a	268,29 ^{ab}
	HM+HT LAB	233,05 ^c	238,07 ^a	250,97 ^{ab}	248,01 ^{ab}	284,72 ^a
	SEM					
P	Çeşit	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	Katkı	0,008	0,952	0,669	0,664	0,430
	Çeşit X Katkı	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

HM: Homofermantatif, HT: Heterofermantatif, LAB: Laktik asit bakterisi, KM: Kuru madde, Selüloz: ADF-ADL
^{a-e} Aynı sütunda bulunan farklı harfler önemlidir (P<0,05)



Şekil 3.18. Sorgum silajlarının selüloz değişimleri

Taze sorgumun SEL içerikleri BMR Gold 2 (ST), Es Hyperion ve Greengo çeşidinin 259,75; 221,18 ve 281,54 g/kg KM olarak saptandığı bu çalışmada, fermantasyonun 2., 4., 8., 16. ve 60. günlerinde SEL içerikleri 191,73-284,72 g/kg KM arasında değişmiştir. Çalışmada, fermantasyonun 2., 4., 8. ve 16. günlerinde BMR Gold 2 (ST) çeşidindeki silajların SEL içerikleri Es Hyperion ve Greengo çeşidindeki silajlardan önemli düzeyde daha yüksek olduğu belirlenirken ($P<0,001$), 60. günde Greengo çeşidindeki silajların SEL içerikleri diğer çeşitlere göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Fermantasyonun 2. gününde katkı maddesi kullanımı sorgum silajlarında gruplar arasında SEL içeriklerinde farklılıklar oluştururken ($P<0,05$) 8. günden itibaren ise gruplar arasındaki farklılıkların önemsiz olduğu görülmüştür ($P>0,05$).

3.2.4 Sorgum Silajlarının Nispi Yem Değeri İle İlgili Bulgular

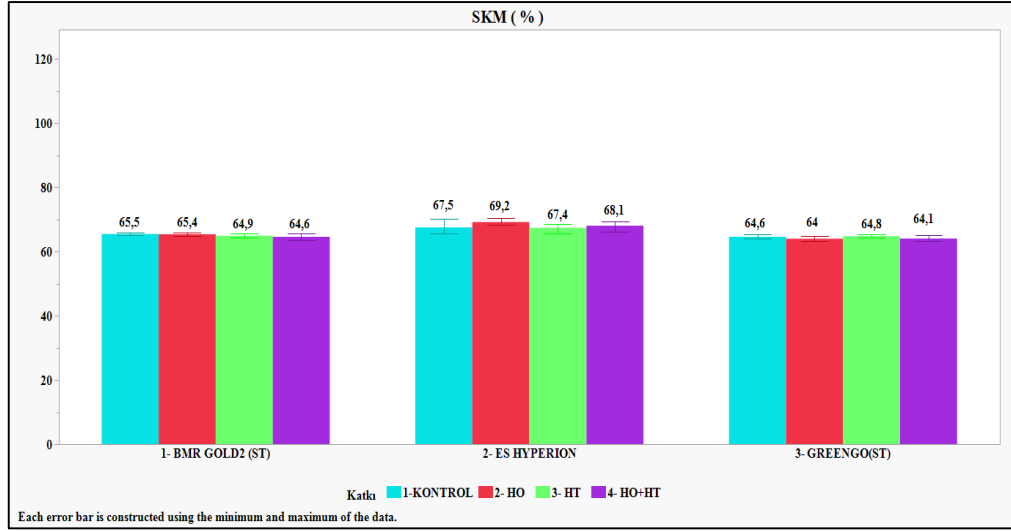
Fermantasyonun 60. gününde açılan sorgum silajlarına ait SKM, KMT ve NYD analiz sonuçları Çizelge 3.20. ile Şekil 3.19. Şekil 3.20 ve Şekil 3.21.'de verilmiştir.

Çizelge 3.20. Fermantasyonun 60. gününde açılan silajların nispi yem değerleri sonuçları (%)

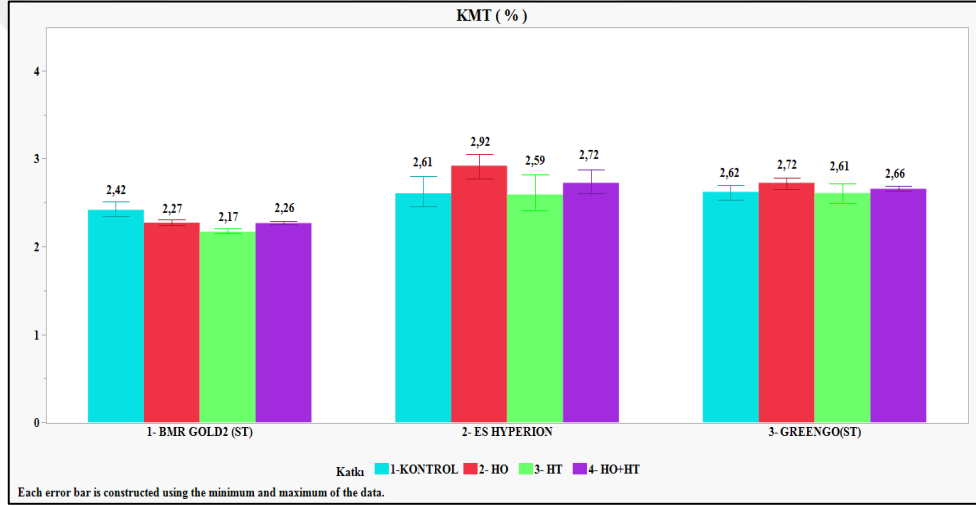
Çeşit		SKM	KMT	NYD
BMR GOLD 2 (ST)		65,12 ^b	2,28 ^b	115,10 ^c
ES HYPERION		68,08 ^a	2,71 ^a	143,08 ^a
GREENGO (ST)		64,37 ^b	2,65 ^a	132,27 ^b
SEM		0,34	0,03	1,90
	Katkı			
	Kontrol	65,87	2,55 ^{ab}	130,01 ^{ab}
	HM LAB	66,23	2,64 ^a	135,67 ^a
	HT LAB	65,73	2,46 ^b	125,20 ^b
	HM+HT LAB	65,59	2,55 ^{ab}	129,71 ^{ab}
SEM		0,40	0,04	2,19
Çeşit X Katkı				
	Kontrol	65,49 ^{bc}	2,42 ^{cd}	122,69 ^{de}
BMR GOLD2 (ST)	HM LAB	65,45 ^{bc}	2,27 ^{de}	115,19 ^{ef}
	HT LAB	64,94 ^c	2,17 ^e	109,11 ^f
	HM+HT LAB	64,61 ^c	2,26 ^{de}	113,40 ^{ef}
	Kontrol	67,53 ^{ab}	2,61 ^{bc}	136,16 ^{bc}
ES HYPERION	HM LAB	69,23 ^a	2,92 ^a	156,69 ^a
	HT LAB	67,45 ^{ab}	2,59 ^{bc}	135,59 ^{bc}
	HM+HT LAB	68,10 ^a	2,72 ^b	143,87 ^b
	Kontrol	64,60 ^c	2,62 ^{bc}	131,19 ^{cd}
GREENGO (ST)	HM LAB	64,02 ^c	2,72 ^b	135,14 ^{bc}
	HT LAB	64,81 ^c	2,61 ^{bc}	130,89 ^{cd}
	HM+HT LAB	64,07 ^c	2,66 ^b	131,87 ^{b-d}
SEM		0,69	0,06	3,80
	Çeşit	<0,001	<0,001	<0,001
P	Katkı	0,699	0,017	0,023
	Çeşit X Katkı	<0,001	<0,001	<0,001

HM: Homofermantatif, HT: Heterofermantatif, LAB: Laktik asit bakterisi, SKM: Sindirilebilir kuru madde, KMT: Kuru madde tüketimi, NYD: Nispi yem değeri

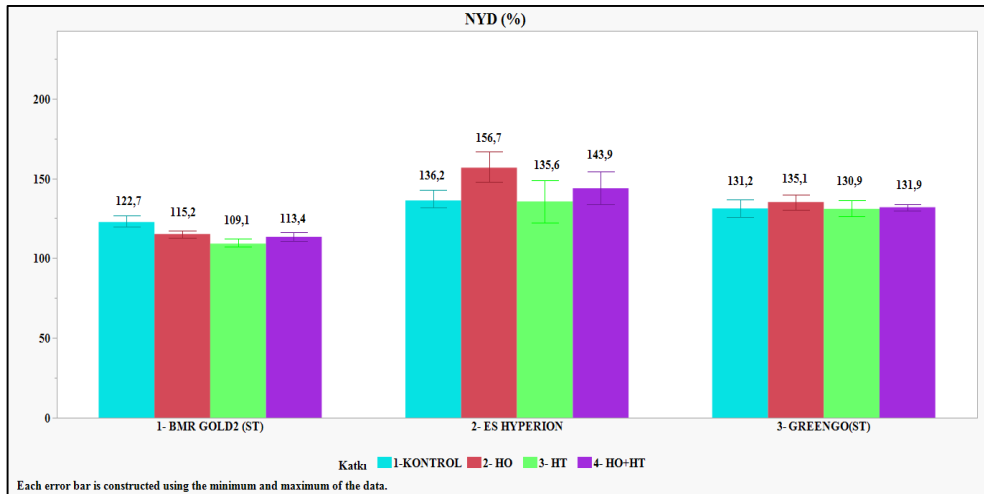
^{a-f}Aynı sütunda bulunan farklı harfler önemlidir ($P<0,05$)



Şekil 3.19. Sorgum silajlarının SKM değişimleri



Şekil 3.20. Sorgum silajlarının KMT değişimleri



Şekil 3.21. Sorgum silajlarının NYD değişimleri

Çizelge 3.21'den de görüldüğü gibi, BMR Gold 2 (ST), Es Hyperion ve Greengo çeşidindeki silajların SKM'leri sırasıyla %65,12; 68,08 ve 64,37; KTM'leri %2,28; 2,71 ve 2,65; NYD'leri ise 115,10; 143,08 ve 132,27 olarak saptanmıştır. Es Hyperion çeşidindeki silajların SKM, KTM ve NYD'leri diğer çeşitlerle silajlardan önemli düzeyde daha yüksek olduğu saptanmıştır ($P<0.001$). Kontrol, ^{HM} LAB, ^{HT} LAB ve ^{HM+HT} LAB kullanılan silajlarda SKM sırasıyla ile %65,87; 66,23; 65,73 ve 65,59; KTM %2,55; 2,64; 2,46 ve 2,55; NYD ise 130,01; 135,67; 125,20 ve 129,71 olarak saptanmıştır. Farklı inokulant kullanımı silajların KMT ve NYD'lerini önemli oranda arttırırken ($P<0,05$), SKM'leri üzerinde ki etkisi ise önemsiz bulunmuştur ($P>0,05$).

3.2.5 Sorgum Silajların HS ve HY Değeri İle İlgili Bulgular

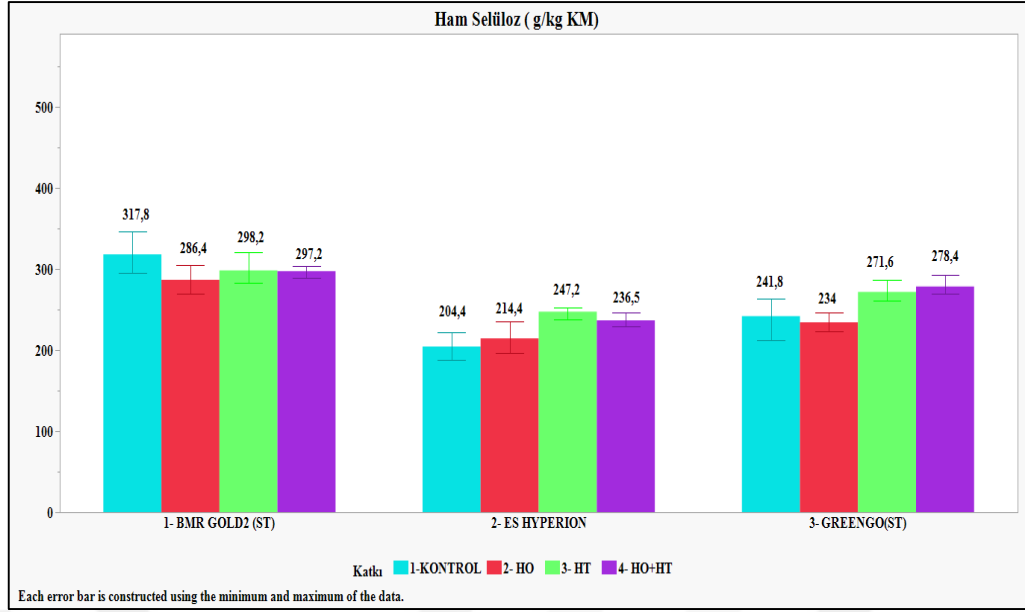
Fermantasyonun 60. gününde açılan sorgum silajlarına ait ham selüloz ve ham yağ analiz sonuçları Çizelge 3.21. ile Şekil 3.22 ve Şekil 3.23'de verilmiştir.

Çizelge 3.21. Fermantasyonun 60. gününde açılan silajların HS ve HY sonuçları (g/kg KM)

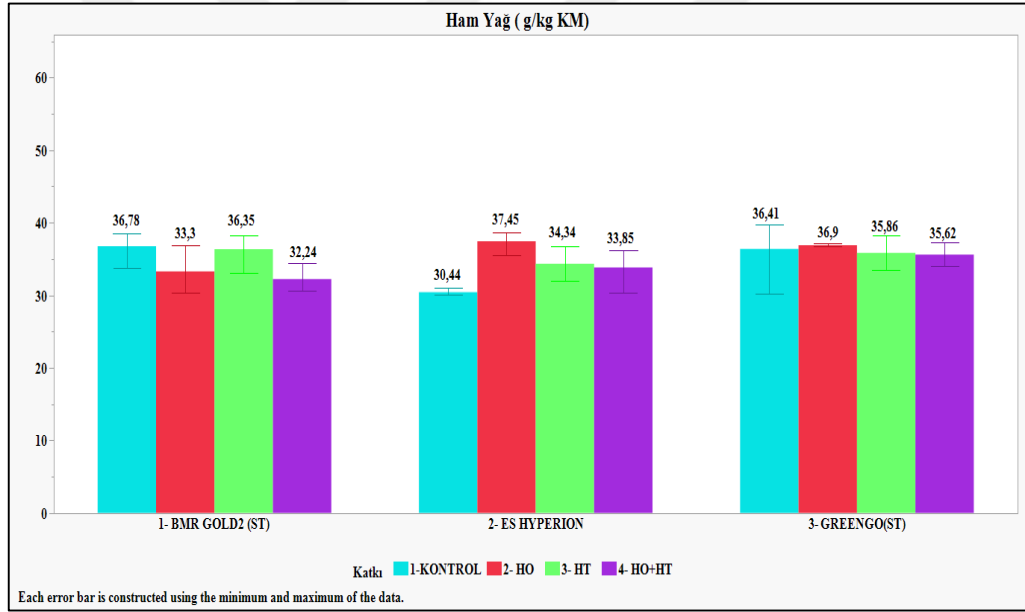
Çeşit		HS	HY
BMR GOLD 2 (ST)		299,89 ^a	34,67
ES HYPERION		225,62 ^c	34,02
GREENGO (ST)		256,46 ^b	36,20
SEM		4,88	0,77
	Katkı		
	Kontrol	254,66 ^{bc}	34,54
	^{HM} LAB	244,94 ^c	35,88
	^{HT} LAB	272,35 ^a	35,52
	^{HM+HT} LAB	270,68 ^{ab}	33,91
SEM		5,63	0,89
Çeşit X Katkı			
	Kontrol	317,80 ^a	36,78
BMR GOLD2 (ST)	^{HM} LAB	286,40 ^b	33,30
	^{HT} LAB	298,21 ^{ab}	36,35
	^{HM+HT} LAB	297,17 ^{ab}	32,24
	Kontrol	204,39 ^f	30,44
ES HYPERION	^{HM} LAB	214,36 ^{ef}	37,45
	^{HT} LAB	247,21 ^{cd}	34,34
	^{HM+HT} LAB	236,50 ^{de}	33,85
	Kontrol	241,79 ^{c-e}	36,41
GREENGO (ST)	^{HM} LAB	234,05 ^{d-f}	36,90
	^{HT} LAB	271,63 ^{bc}	35,86
	^{HM+HT} LAB	278,37 ^b	35,62
SEM		9,76	1,54
	Çeşit	<0,001	0,143
P	Katkı	0,005	0,395
	Çeşit X Katkı	<0,001	0,083

HM: Homofermantatif, HT: Heterofermantatif, LAB: Laktik asit bakterisi, HS: Ham selüloz, HY: Ham yağ, KM: Kuru madde

^{a-f}Aynı sütunda bulunan farklı harfler önemlidir ($P<0,05$)



Şekil 3.22. Sorgum silajlarının ham selüloz değişimleri



Şekil 3.23. Sorgum silajlarının ham yağ değişimleri

Taze sorgumun HS ve HY içerikleri sırasıyla, BMR Gold 2 (ST) 254,63; 29,38 g/kg KM, Es Hyperion 200,81; 26,43 g/kg KM ve Greengo çeşidinin 275,66; 25,44 g/kg KM olarak saptandığı bu çalışmada, fermentasyonun 60. gününde BMR Gold 2 (ST), Es Hyperion ve Greengo çeşidindeki silajlarda HS içerikleri sırasıyla 299,89; 225,62 ve 256,46 g/kg KM; HY içerikleri ise 34,67; 34,02 ve 36,20 g/kg KM olarak saptanmıştır. BMR Gold 2 (ST) çeşidindeki silajların HS içerikleri diğer çeşitlerdeki silajlardan önemli düzeyde daha yüksek olduğu saptanmıştır ($P<0.001$). Çeşitler arasındaki HY içeriği önemsiz bulunmuştur

($P>0,05$). Kontrol, ^{HM} LAB, ^{HT} LAB ve ^{HM+HT} LAB kullanılan silajlarda HS içerikleri sırasıyla ile 254,66; 244,94; 272,35 ve 270,68; HY içerikleri ise sırasıyla 34,54; 35,88; 35,52 ve 33,91 g/kg KM olarak saptanmıştır. Farklı inokulant kullanımı sorgum silajlarının HS içeriklerini önemli oranda arttırırken ($P<0,05$) HY içerikleri üzerindeki etkisi ise önemsiz bulunmuştur ($P>0,05$).

3.2.6 Sorgum Silajların KT ve TFB

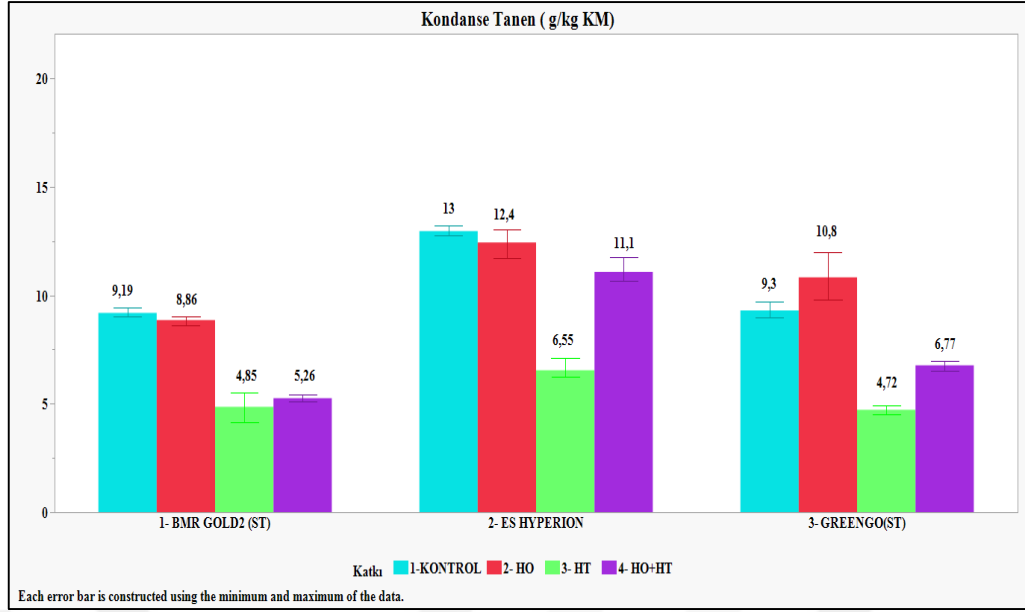
Fermantasyonun 60. gününde açılan sorgum silajlarına ait kondanse tanen ve toplam fenolik bileşik analiz sonuçları Çizelge 3.22. ile Şekil 3.24 ve Şekil 3.25’de verilmiştir.

Çizelge 3.22. Fermantasyonun 60. gününde açılan silajların KT ve TF analiz sonuçları (g/kg KM)

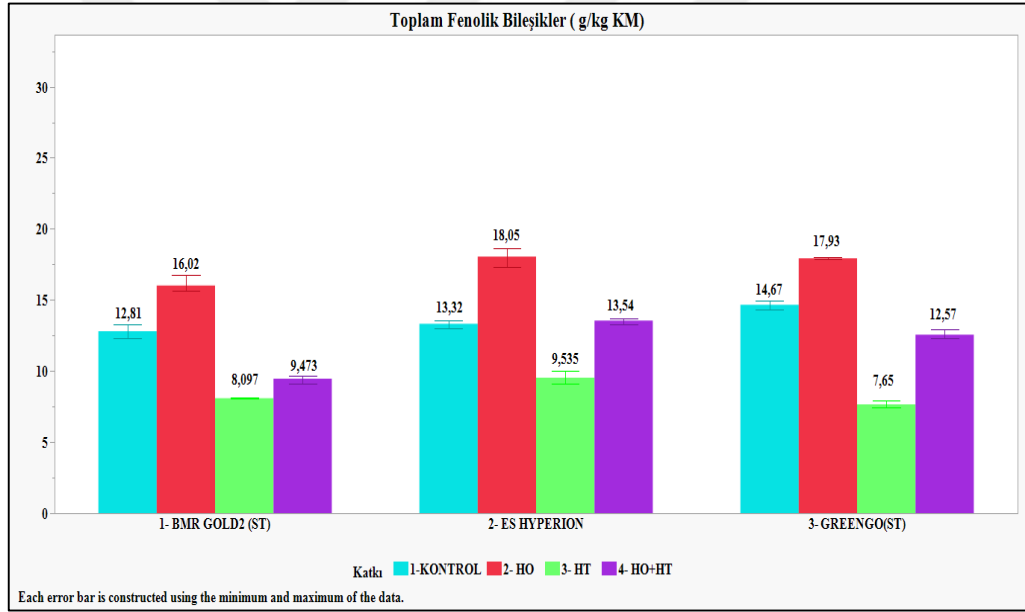
Çeşit	KT	TF
BMR GOLD 2 (ST)	7,04 ^c	11,60 ^c
ES HYPERION	10,76 ^a	13,61 ^a
GREENGO (ST)	7,91 ^b	13,20 ^b
SEM	0,15	0,11
Katkı		
Kontrol	10,49 ^a	13,60 ^b
^{HM} LAB	10,71 ^a	17,33 ^a
^{HT} LAB	5,37 ^c	8,43 ^d
^{HM+HT} LAB	7,70 ^b	11,86 ^c
SEM	0,17	0,13
Çeşit X Katkı		
BMR GOLD2 (ST)	Kontrol	9,19 ^c
	^{HM} LAB	8,86 ^c
	^{HT} LAB	4,85 ^e
	^{HM+HT} LAB	5,26 ^e
ES HYPERION	Kontrol	12,96 ^a
	^{HM} LAB	12,43 ^a
	^{HT} LAB	6,55 ^d
	^{HM+HT} LAB	11,08 ^b
GREENGO (ST)	Kontrol	9,30 ^c
	^{HM} LAB	10,83 ^b
	^{HT} LAB	4,72 ^e
	^{HM+HT} LAB	6,77 ^d
SEM	0,29	0,23
P	Çeşit	<0,001
	Katkı	<0,001
	Çeşit X Katkı	<0,001

HM: Homofermantatif, HT: Heterofermantatif, LAB: Laktik asit bakterisi , KT: Kondanse tanen, TFB: Toplam fenolik bileşikler

^{a-h}Aynı sütunda bulunan farklı harfler önemlidir ($P<0,05$)



Şekil 3.24. Sorgum silajlarının kondanse tanen değişimleri



Şekil 3.25. Sorgum silajlarının TF değişimleri

Taze sorgumun KT ve TF içerikleri sırasıyla, BMR Gold 2 (ST) 8,54; 8,83 g/kg KM, Es Hyperion 11,80; 5,88 g/kg KM ve Greengo çeşidinin 6,96; 8,03 g/kg KM olarak saptandığı bu çalışmada, fermentasyonun 60. gününde BMR Gold 2 (ST), Es Hyperion ve Greengo çeşidindeki silajların KT'leri sırasıyla 7,04; 10,76 ve 7,91 g/kg KM; TF'leri ise 11,60; 13,61 ve 13,20 g/kg KM olarak saptanmıştır. Es Hyperion çeşidindeki silajların KT ve TF içerikleri diğer çeşitlerdeki silajlardan önemli düzeyde daha yüksek olduğu görülmektedir ($P<0,001$). Kontrol, ^{HM} LAB, ^{HT} LAB ve ^{HM+HT} LAB kullanılan silajlarda KT içerikleri sırasıyla 10,49,

10,71; 5,37 ve 7,70 g/kg KM; TF içerikleri sırasıyla 13,60; 17,33; 8,43 ve 11,86 g/kg KM olarak saptanmıştır. Heterofermentatif LAB uygulanan silajlarda KT ve TF içerikleri önemli düzeyde düşük bulunurken, en yüksek KT ve TF içerikleri ^{HM}LAB uygulanan silajlarda tespit edilmiştir.

3.2.7 Sorgum Silajların Besin Madde Sindirilebilirlikleri

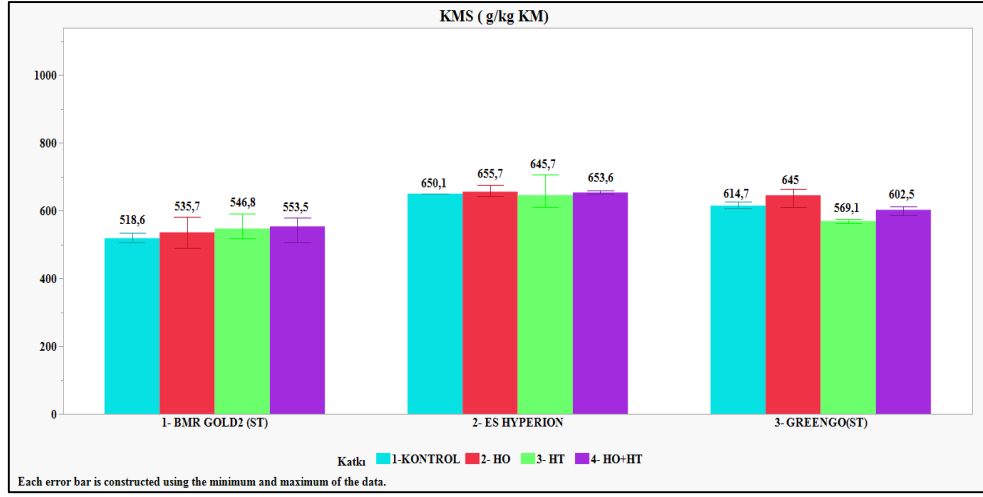
Fermantasyonun 60. gününde açılan sorgum silajlarına ait *in vitro* KMS, OMS ve HPS analiz sonuçları Çizelge 3.23. ile Şekil 3.26, Şekil 3.27 ve Şekil 3.28’de verilmiştir.

Çizelge 3.23. Fermantasyonun 60. gününde açılan silajların *in vitro* KMS, OMS ve HPS analiz sonuçları (g/kg KM)

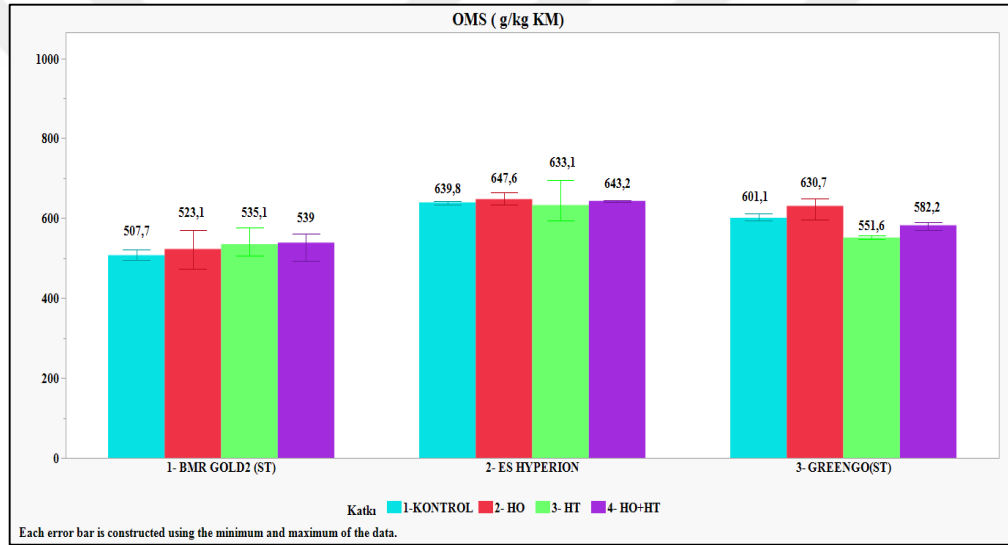
Çeşit		KMS	OMS	HPS _{1.saat}	HPS _{24.saat}
BMR GOLD 2 (ST)		538,67 ^c	526,20 ^c	416,69 ^c	529,36 ^c
ES HYPERION		651,26 ^a	640,90 ^a	480,64 ^b	547,19 ^b
GREENGO (ST)		607,84 ^b	591,42 ^b	601,28 ^a	660,72 ^a
SEM		8,34	8,23	9,30	5,06
	Katkı				
	Kontrol	594,48	582,87	483,96 ^b	556,97 ^b
	^{HM} LAB	612,13	600,46	469,84 ^b	564,58 ^b
	^{HT} LAB	587,21	573,28	556,49 ^a	624,46 ^a
	^{HM+HT} LAB	603,19	588,10	487,84 ^b	570,36 ^b
SEM		9,63	9,50	10,74	5,84
Çeşit X Katkı					
BMR GOLD2 (ST)	Kontrol	518,64 ^d	507,68 ^e	355,61 ^g	494,20 ^f
	^{HM} LAB	535,66 ^d	523,09 ^e	359,05 ^g	508,07 ^{ef}
	^{HT} LAB	546,83 ^d	535,09 ^{de}	550,18 ^{bc}	614,32 ^c
	^{HM+HT} LAB	553,53 ^{cd}	538,95 ^{de}	401,92 ^{fg}	500,84 ^f
ES HYPERION	Kontrol	650,06 ^a	639,78 ^a	479,14 ^{de}	533,84 ^{de}
	^{HM} LAB	655,71 ^a	647,58 ^a	443,25 ^{ef}	549,42 ^d
	^{HT} LAB	645,71 ^a	633,11 ^{ab}	521,04 ^{cd}	565,05 ^d
	^{HM+HT} LAB	653,55 ^a	643,15 ^a	479,13 ^{de}	540,47 ^d
GREENGO (ST)	Kontrol	614,73 ^{ab}	601,14 ^{a-c}	617,14 ^a	642,87 ^{bc}
	^{HM} LAB	645,02 ^a	630,73 ^{ab}	607,23 ^{ab}	636,26 ^c
	^{HT} LAB	569,10 ^{b-d}	551,64 ^{c-e}	598,25 ^{ab}	694,00 ^a
	^{HM+HT} LAB	602,49 ^{a-c}	582,19 ^{b-d}	582,48 ^{ab}	669,76 ^{ab}
SEM		16,67	16,45	18,60	10,12
P	Çeşit	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	Katkı	0,312	0,261	<0,001	<0,001
	Çeşit X Katkı	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

HM: Homofermantatif, HT: Heterofermantatif, LAB: Laktik asit bakterisi, KMS: Kuru madde sindirilebilirliği, OMS: Organik madde sindirilebilirliği, HPS: Ham protein sindirilebilirliği,

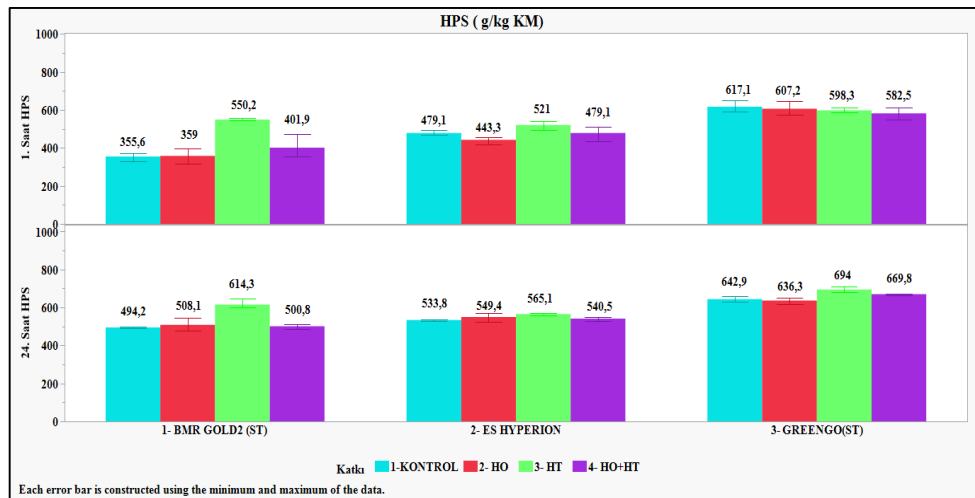
^{a-g}Aynı sütunda bulunan farklı harfler önemlidir (P<0,05)



Şekil 3.26. Sorgum silajlarının *in vitro* KMS değişimleri



Şekil 3.27. Sorgum silajlarının *in vitro* OMS değişimleri

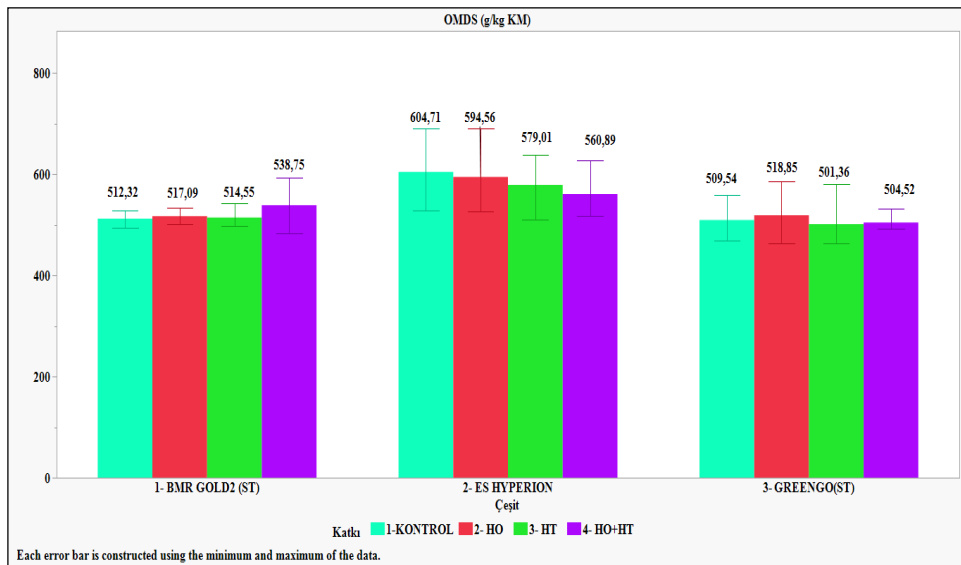


Şekil 3.28. Sorgum silajlarının 1. ve 24. Saat *in vitro* HPS değişimleri

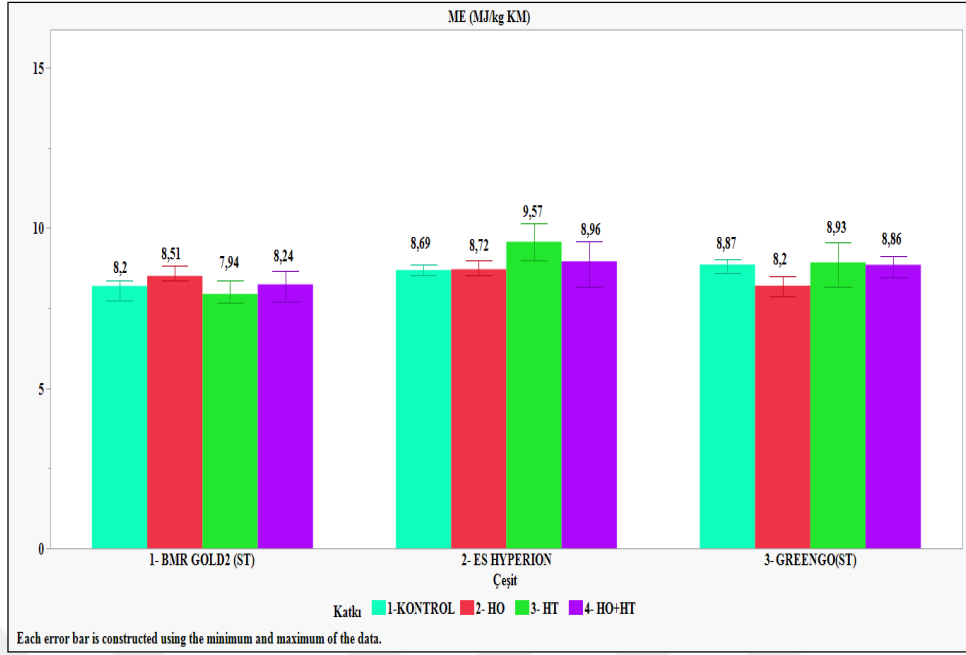
Taze sorgumun KSM içerikleri BMR Gold 2 (ST), Es Hyperion ve Greengo çeşitlerinde sırasıyla 599,00; 645,92 ve 592,18 g/kg KM; OMS'leri 564,37; 652,73 ve 586,10 g/kg KM; HPS_{1.sa}'leri 401,29; 432,74 ve 569,38 g/kg KM; HPS_{24sa}'leri 504,45; 511,24 ve 616,62 g/kg KM olarak saptandığı bu çalışmada, fermentasyonun 60. gününde BMR Gold 2 (ST), Es Hyperion ve Greengo çeşidindeki silajların KMS'leri sırasıyla 538,67; 651,26 ve 607,84 g/kg KM; OMS'leri 526,20; 640,90 ve 591,42 g/kg KM; HPS_{1.sa} 'leri 416,69; 480,64; 601,28 g/kg KM; HPS_{24sa} 'leri 529,36; 547,19; 660,72 olarak saptanmıştır. BMR Gold 2 (ST) çeşidindeki silajların KMS, OMS, HPS_{1.sa} ve HPS_{24sa} içerikleri diğer çeşitlerdeki silajlardan önemli düzeyde daha düşük olduğu görülmektedir ($P<0,001$). Kontrol, ^{HM} LAB, ^{HT} LAB ve ^{HM+HT} LAB kullanılan silajlarda KMS içerikleri sırasıyla ile 594,48; 612,13; 587,21 ve 603,19 g/kg KM; OMS içerikleri sırasıyla 582,87; 600,46; 573,28 ve 588,10 g/kg KM; HPS_{1.sa} sırasıyla 483,96; 469,84; 556,49 ve 487,84 g/kg KM; HPS_{24sa} içerikleri sırasıyla 556,97; 564,58; 624,46 ve 570,36 g/kg KM olarak saptanmıştır. Farklı inokulant kullanımı sorgum silajlarının HPS_{1.sa} ve HPS_{24sa}'lerini önemli oranda artırırken ($P<0,05$), KSM ve OMS'leri üzerindeki etkisi ise önemsiz bulunmuştur ($P>0,05$).

3.2.8 Silajların Sindirim Derecesi ve Metabolik Enerji (ME) İçeriklerinin in vitro Gaz Üretim Tekniği ile Belirlenmesi

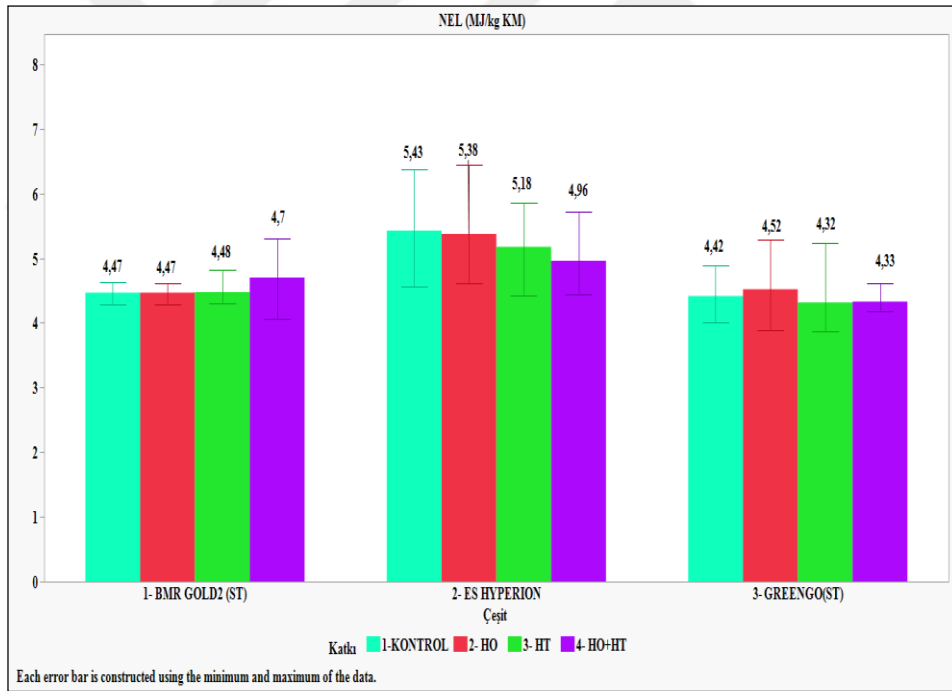
Fermentasyonun 60. gününde açılan sorgum silajlarına ait organik madde sindirim derecesi ve metabolik enerji analiz sonuçları Çizelge 3.24. ile Şekil 3.29, Şekil 3.30 ve Şekil 3.31'de verilmiştir.



Şekil 3.29. Sorgum silajlarının organik madde sindirim derecesi değişimleri



Şekil 3.30. Sorgum silajlarının metabolik enerji değişimleri



Şekil 3.31. Sorgum silajlarının NE_L değişimleri

Çizelge 3.24. Fermantasyonun 60. gününde açılan silajların organik madde sindirim derecesi ve metabolik enerji sonuçları

Çeşit		OMSD, (g/kg KM)	ME, (MJ/kg KM)	NE _L , (MJ/kg KM)
BMR GOLD 2 (ST)		520,68 ^b	8,22 ^c	4,53 ^b
ES HYPERION		584,79 ^a	8,98 ^a	5,24 ^a
GREENGO (ST)		508,57 ^b	8,71 ^b	4,40 ^b
SEM		8,89	0,06	0,10
	Katkı			
	Kontrol	542,19	8,58 ^b	4,77
	^{HM} LAB	543,50	8,47 ^b	4,79
	^{HT} LAB	531,64	8,82 ^a	4,66
	^{HM+HT} LAB	534,72	8,69 ^{ab}	4,66
SEM		10,27	0,07	0,12
Çeşit X Katkı				
	Kontrol	512,32 ^{cd}	8,20 ^{de}	4,47 ^c
BMR GOLD2 (ST)	^{HM} LAB	517,09 ^{cd}	8,51 ^{cd}	4,47 ^c
	^{HT} LAB	514,55 ^{cd}	7,94 ^e	4,48 ^c
	^{HM+HT} LAB	538,75 ^{b-d}	8,24 ^{de}	4,70 ^{bc}
	Kontrol	604,71 ^a	8,69 ^{bc}	5,43 ^a
ES HYPERION	^{HM} LAB	594,56 ^a	8,72 ^{bc}	5,38 ^a
	^{HT} LAB	579,01 ^{ab}	9,57 ^a	5,18 ^{ab}
	^{HM+HT} LAB	560,89 ^{a-c}	8,96 ^b	4,96 ^{a-c}
	Kontrol	509,54 ^{cd}	8,87 ^{bc}	4,42 ^c
GREENGO (ST)	^{HM} LAB	518,85 ^{cd}	8,20 ^{de}	4,52 ^c
	^{HT} LAB	501,36 ^d	8,93 ^b	4,32 ^c
	^{HM+HT} LAB	504,52 ^{cd}	8,86 ^{bc}	4,33 ^c
SEM		17,78	0,13	0,20
	Çeşit	<0,001	<0,001	<0,001
P	Katkı	0,816	0,011	0,787
	Çeşit X Katkı	<0,001	<0,001	<0,001

HM: Homofermantatif, HT: Heterofermantatif, LAB: Laktik asit bakterisi, KM: Kuru madde, OMSD: Organik madde sindirim derecesi, ME: Metabolik enerji, NEL: Net enerji laktasyon

^{a-f}Aynı sütunda bulunan farklı harfler önemlidir (P<0,05)

Taze sorgumun OMSD içerikleri BMR Gold 2 (ST), Es Hyperion ve Greengo çeşitlerinde sırasıyla 552,50; 612,89 ve 562,75 g/kg KM; ME'leri 8,89; 9,13 ve 7,98 MJ/kg KM; NE_L 'leri 4,81; 5,43 ve 4,89 MJ/kg KM olarak saptandığı bu çalışmada, fermantasyonun 60. gününde BMR Gold 2 (ST), Es Hyperion ve Greengo çeşidindeki silajların OMSD'leri sırasıyla 520,68; 584,79 ve 508,57 g/kg KM; ME'leri 8,22; 8,98 ve 8,71 Mj/kg KM; NE_L 'leri 4,53; 5,24 ve 4,40 Mj/kg KM olarak saptanmıştır. Es Hyperion çeşidindeki silajların OMSD, ME ve NE_L içerikleri diğer çeşitlerdeki silajlardan önemli düzeyde daha yüksek olduğu görülmektedir ($P<0,001$). Kontrol, ^{HM} LAB, ^{HT} LAB ve ^{HM+HT} LAB kullanılan silajlarda OMSD içerikleri sırasıyla 542,19; 543,50; 531,64 ve 534,72 g/kg KM; ME içerikleri

sırasıyla 8,58; 8,47; 8,82 ve 8,69 MJ/kg KM; NE_L içerikleri sırasıyla 4,77; 4,79; 4,66 ve 4,66 MJ/kg KM olarak saptanmıştır. Farklı inokulant kullanımı sorgum silajlarının ME'lerini önemli oranda arttırırken ($P<0,05$), OMSD ve NE_L 'leri üzerindeki etkisi ise önemsiz bulunmuştur ($P>0,05$).

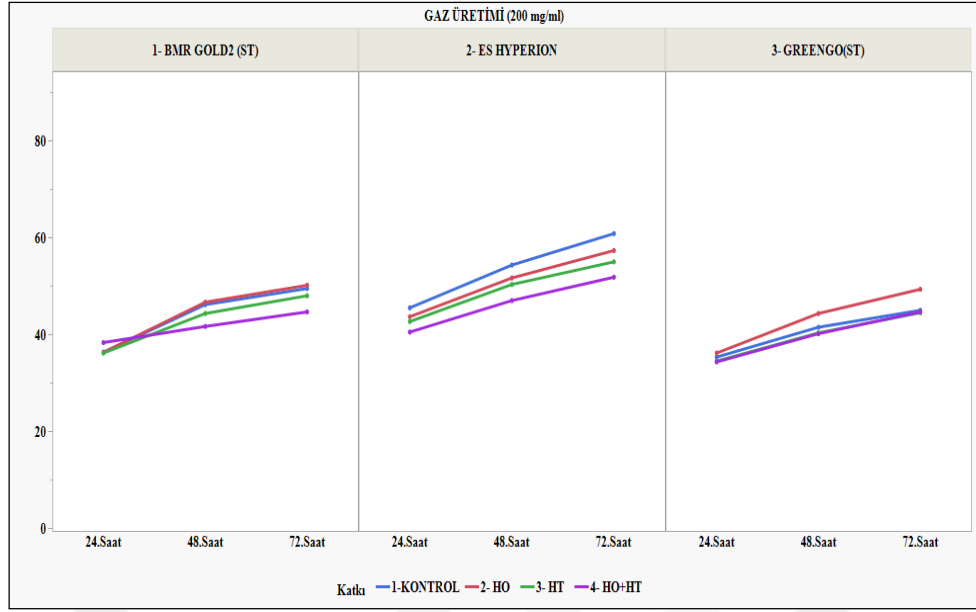
Fermantasyonun 60. gününde açılan sorgum silajlarına ait 24, 48 ve 72. saat gaz ve metan üretimi analiz sonuçları Çizelge 3.25. ile Şekil 3.32 ve Şekil 3.33'de verilmiştir.

Çizelge 3.25. Fermantasyonun 60. gününde açılan silajların 24, 48 ve 72. saat gaz ve metan üretimi analiz sonuçları

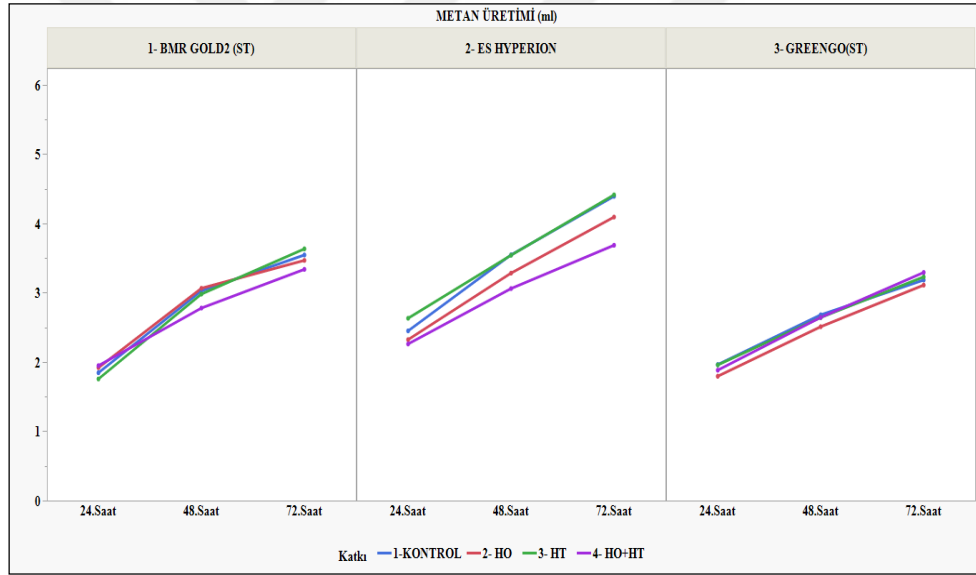
Çeşit	Katkı	Gaz Üretimi (200mg/ml)			Metan Üretimi (ml)		
		24.Saat	48.Saat	72.Saat	24.Saat	48.Saat	72.Saat
BMR GOLD 2 (ST)		36,80 ^b	44,72 ^b	48,09 ^b	1,87 ^b	2,96 ^b	3,50 ^b
ES HYPERION		43,09 ^a	50,84 ^a	56,25 ^a	2,42 ^a	3,36 ^a	4,15 ^a
GREENGO (ST)		35,09 ^b	41,59 ^b	45,88 ^b	1,90 ^b	2,62 ^c	3,20 ^b
SEM		0,96	1,25	1,44	0,06	0,09	0,13
	Kontrol	39,06	47,34	51,78	2,09	3,09	3,71
	^{HM} LAB	38,73	47,56	52,28	2,01	2,95	3,56
	^{HT} LAB	37,78	45,01	49,17	2,12	3,06	3,76
	^{HM+HT} LAB	37,73	42,95	47,06	2,03	2,83	3,44
SEM		1,11	1,44	1,67	0,07	0,11	0,15
BMR GOLD2 (ST)	Kontrol	36,34 ^c	46,17 ^{bc}	49,50 ^{bc}	1,85 ^d	3,03 ^{a-c}	3,55 ^{bc}
	^{HM} LAB	36,34 ^c	46,67 ^{a-c}	50,17 ^{bc}	1,92 ^{cd}	3,06 ^{a-c}	3,47 ^{bc}
	^{HT} LAB	36,17 ^c	44,34 ^{bc}	48,00 ^{bc}	1,76 ^d	2,98 ^{a-c}	3,63 ^{a-c}
	^{HM+HT} LAB	38,34 ^{bc}	41,67 ^c	44,67 ^c	1,95 ^{cd}	2,78 ^{bc}	3,34 ^{bc}
ES HYPERION	Kontrol	45,51 ^a	54,34 ^a	60,84 ^a	2,45 ^{ab}	3,55 ^a	4,39 ^a
	^{HM} LAB	43,67 ^{ab}	51,67 ^{ab}	57,34 ^{ab}	2,32 ^{ab}	3,28 ^{ab}	4,09 ^{ab}
	^{HT} LAB	42,67 ^{ab}	50,34 ^{ab}	55,00 ^{ab}	2,63 ^a	3,54 ^a	4,41 ^a
	^{HM+HT} LAB	40,51 ^{a-c}	47,01 ^{a-c}	51,84 ^{bc}	2,26 ^{bc}	3,06 ^{a-c}	3,69 ^{a-c}
GREENGO (ST)	Kontrol	35,34 ^c	41,51 ^c	45,00 ^c	1,96 ^{cd}	2,68 ^c	3,18 ^a
	^{HM} LAB	36,17 ^c	44,34 ^{bc}	49,34 ^{bc}	1,80 ^d	2,51 ^c	3,11 ^c
	^{HT} LAB	34,51 ^c	40,34 ^c	44,50 ^c	1,96 ^{cd}	2,64 ^c	3,23 ^c
	^{HM+HT} LAB	34,34 ^c	40,17 ^c	44,67 ^c	1,88 ^d	2,64 ^c	3,29 ^{bc}
SEM		1,92	2,50	2,89	0,12	0,18	0,25
	Çeşit	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	Katkı	0,778	0,089	0,107	0,683	0,309	0,409
	Çeşit X Katkı	<0,001	0,001	0,001	<0,001	0,001	0,002

HM: Homofermantatif, HT: Heterofermantatif, LAB: Laktik asit bakterisi, KM: Kuru madde,

^{a-f}Aynı sütunda bulunan farklı harfler önemlidir ($P<0,05$)



Şekil 3.32. Sorgum silajlarının 24,48 ve 72. Saatlik gaz üretim değişimleri



Şekil 3.33. Sorgum silajlarının 24,48 ve 72. Saatlik metan üretim değişimleri

Sorgum silajlarının 24, 48 ve 72 saatlik gaz ve metan üretimi analizi sonucunda BMR Gold 2 (ST), Es Hyperion ve Greengo çeşidindeki silajların gaz üretimi 24. saatte sırasıyla 36,80; 43,09; 35,09 (200 mg/ml); 48. saatte sırasıyla 44,72; 50,84; 41,59 (200 mg/ml); 72. saatte sırasıyla 48,09; 56,25 ve 45,88 (200 mg/ml); metan üretimi 24. saatte sırasıyla 1,87; 2,42 ve 1,90 ml; 48. saatte sırasıyla 2,96; 3,36 ve 2,62 ml; 72. saatte sırasıyla 3,50; 4,15 ve 3,20 ml olarak saptanmıştır. Es Hyperion çeşidindeki silajların 24., 48. ve 72. saatteki gaz ve metan üretimi diğer çeşitlerdeki silajlardan önemli düzeyde daha yüksek olduğu

görülmektedir ($P<0,001$). Sorgum silajlarında katkı maddesi kullanımı silajların gaz ve metan üretimine etkisi bulunmamıştır ($P>0,05$).

3.2.9 Sorgum Silajların Aerobik Stabilite Testi Değerleri

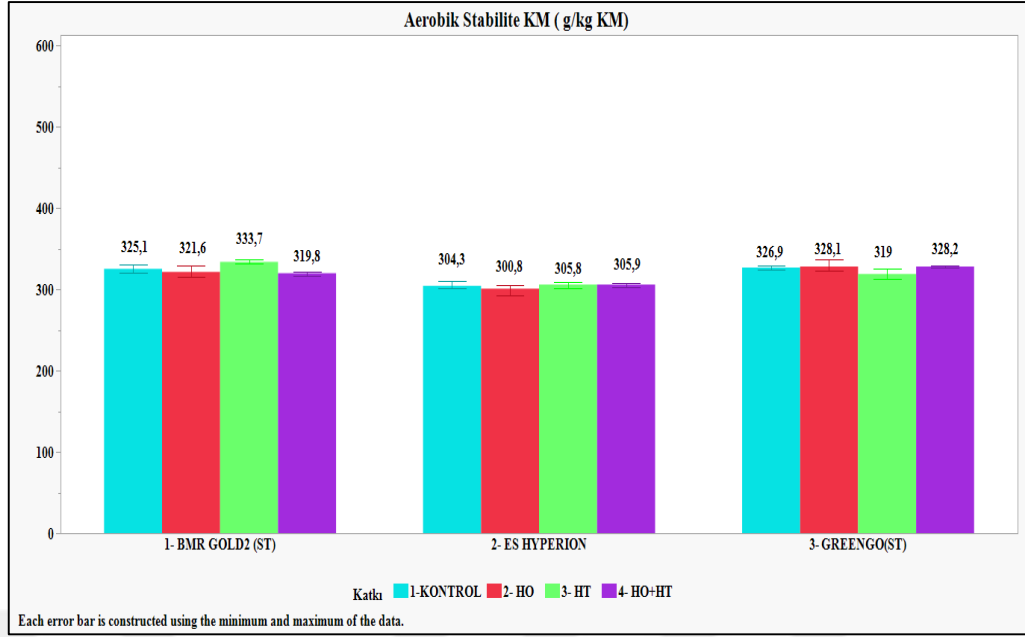
Fermantasyonun 60. gününde açılan sorgum silajlarına ait aerobik stabilite analiz sonuçları Çizelge 3.26. ile Şekil 3.34, Şekil 3.35, Şekil 3.36 ve Şekil 3.37’de verilmiştir.

Çizelge 3.26. Fermantasyonun 60. gününde açılan silajların aerobik stabilite analiz sonuçları

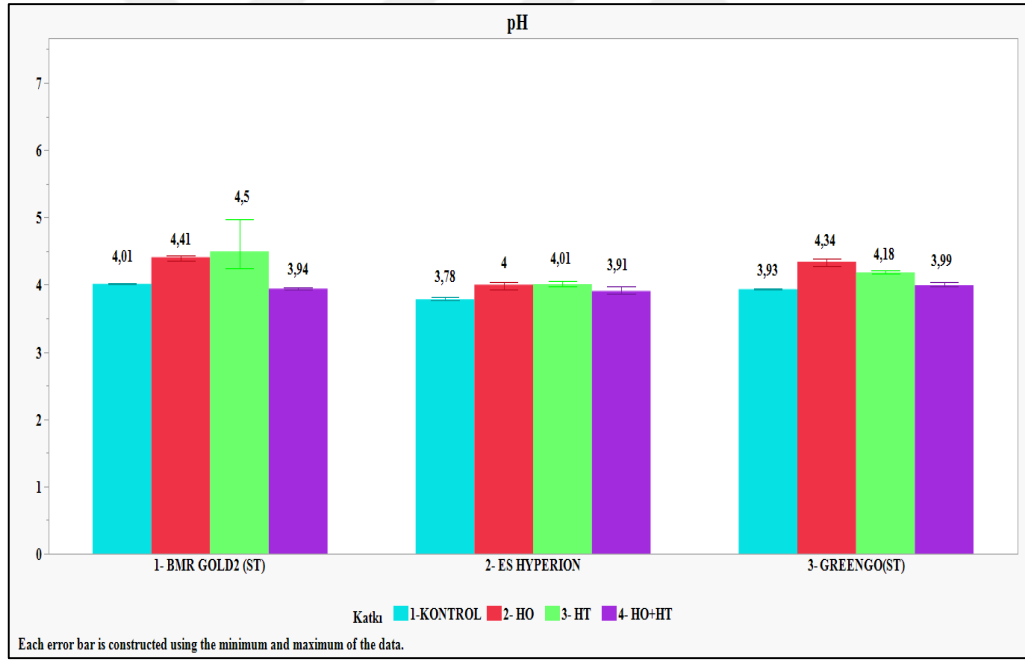
Çeşit		KM	pH	CO ₂	Maya
BMR GOLD 2 (ST)		325,06	4,22 ^a	22,20 ^a	7,13 ^a
ES HYPERION		304,20	3,93 ^b	14,91 ^b	7,64 ^b
GREENGO (ST)		325,56	4,11 ^a	12,12 ^c	6,83 ^c
SEM		1,40	0,04	0,04	0,01
	Katkı				
	Kontrol	318,79	3,91 ^b	8,99 ^b	7,03 ^c
	^{HM} LAB	316,84	4,25 ^a	47,99 ^a	7,57 ^a
	^{HT} LAB	319,51	4,23 ^a	4,22 ^c	7,15 ^b
	^{HM+HT} LAB	317,95	3,95 ^b	4,44 ^c	7,04 ^c
SEM		1,62	0,04	0,45	0,01
Çeşit X Katkı					
	Kontrol	325,13 ^{ab}	4,01 ^{cd}	17,60 ^d	6,63 ^h
BMR GOLD2 (ST)	^{HM} LAB	321,58 ^b	4,41 ^a	61,33 ^a	7,97 ^a
	^{HT} LAB	333,72 ^a	4,50 ^a	5,27 ^{ef}	7,11 ^f
	^{HM+HT} LAB	319,81 ^b	3,94 ^d	4,59 ^{ef}	6,80 ^g
	Kontrol	304,30 ^c	3,78 ^e	5,78 ^e	7,85 ^b
ES HYPERION	^{HM} LAB	300,78 ^c	4,00 ^{cd}	45,09 ^b	7,65 ^c
	^{HT} LAB	305,83 ^c	4,01 ^{cd}	4,29 ^{ef}	7,56 ^d
	^{HM+HT} LAB	305,87 ^c	3,91 ^d	4,49 ^{ef}	7,49 ^e
	Kontrol	326,92 ^{ab}	3,93 ^d	3,59 ^{ef}	6,60 ^h
GREENGO (ST)	^{HM} LAB	328,14 ^{ab}	4,34 ^{ab}	37,56 ^c	7,10 ^f
	^{HT} LAB	318,98 ^b	4,18 ^{bc}	3,10 ^f	6,77 ^g
	^{HM+HT} LAB	328,19 ^{ab}	3,99 ^{cd}	4,25 ^{ef}	6,84 ^g
SEM		2,80	0,07	0,78	0,02
	Çeşit	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
P	Katkı	0,682	<0,001	<0,001	<0,001
	Çeşit X Katkı	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

HM: Homofermantatif, HT: Heterofermantatif, LAB: Laktik asit bakterisi, KM: Kuru madde, CO₂ : Karbondioksit

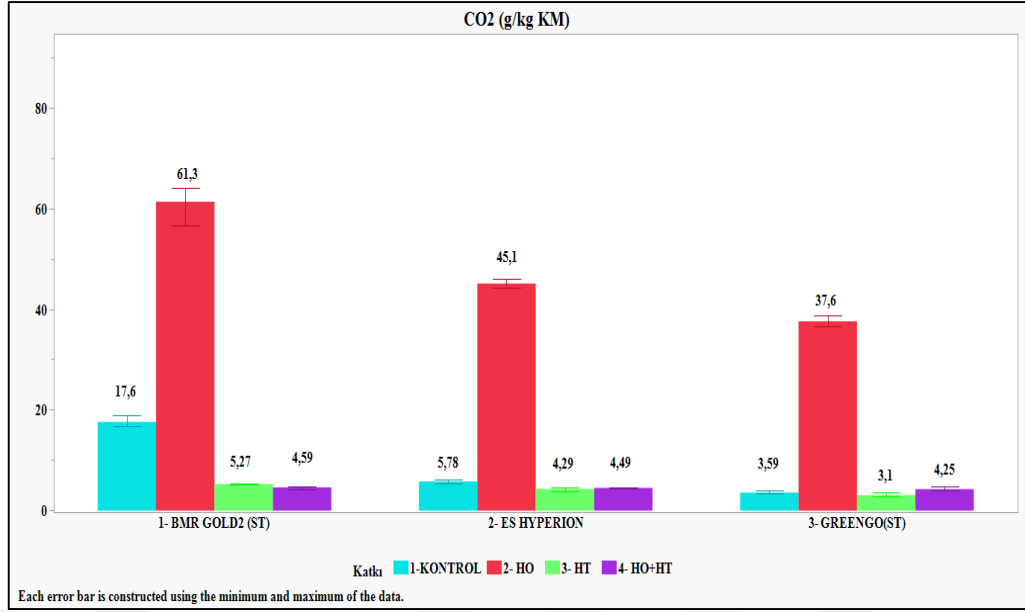
^{a-f}Aynı sütunda bulunan farklı harfler önemlidir ($P<0,05$)



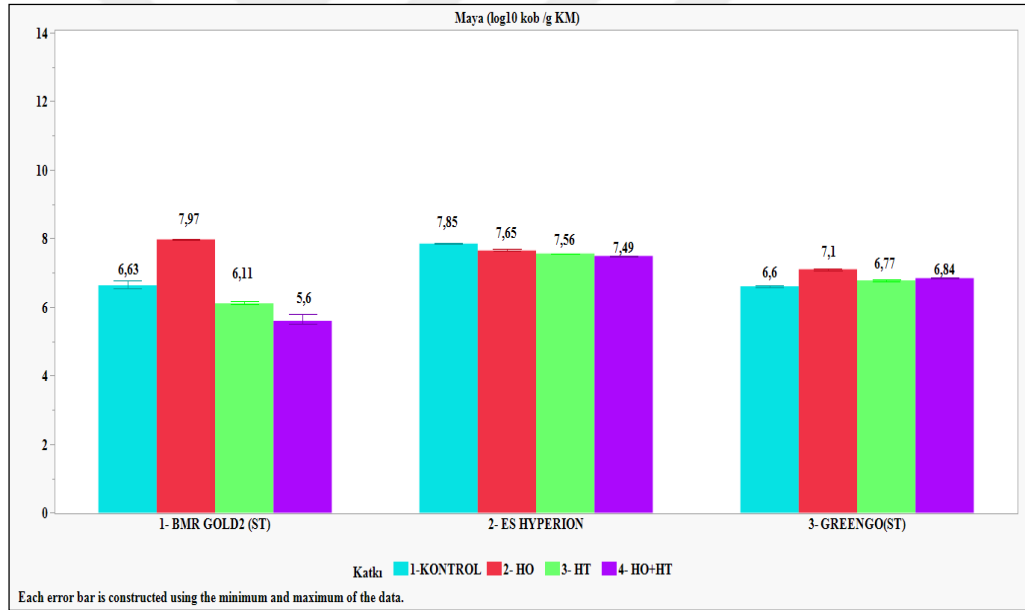
Şekil 3.34. Sorgum silajlarının aerobik stabilite sonrası kuru madde değişimleri



Şekil 3.35. Sorgum silajlarının aerobik stabilite sonrası pH değişimleri



Şekil 3.36. Sorgum silajlarının aerobik stabilite sonrası CO₂ değişimleri



Şekil 3.37. Sorgum silajlarının aerobik stabilite sonrası maya değişimleri

Beş günlük aerobik stabilite testi sonucunda BMR Gold 2 (ST), Es Hyperion ve Greengo çeşidindeki silajların KM değerleri sırasıyla 325,06; 304,20 ve 325,56 g/kg; pH değerleri sırasıyla 4,22; 3,93 ve 4,11; CO₂ üretimleri 22,20; 14,91 ve 12,12 g/kg KM; maya içerikleri sırasıyla 7,13; 7,64 ve 6,83 olarak saptanmıştır. BMR Gold 2 (ST) çeşidindeki silajların pH, CO₂ maya içerikleri diğer çeşitlerdeki silajlardan önemli düzeyde daha yüksek olduğu görülmektedir ($P<0,001$). Kontrol, ^{HM} LAB, ^{HT} LAB ve ^{HM+HT} LAB kullanılan

silajlarda KM içeriği sırasıyla ile 318,79; 316,84; 319,51 ve 317,95 g/kg; pH içeriği sırasıyla 3,91; 4,25; 4,23 ve 3,95; CO₂ üretimleri 8,99; 47,99; 4,22 ve 4,44 g/kg KM; maya içeriği sırasıyla 7,03; 5,57; 7,15 ve 7,04 log₁₀ kob/g KM olarak saptanmıştır. ^{HM} LAB inokulanı kullanılan silajların pH, CO₂ maya içerikleri kontrol, ^{HT} LAB ve ^{HM+HT} LAB inokulanı kullanılan silajlardan önemli düzeyde daha yüksek olduğu görülmektedir ($P<0,001$).

3.2.10 Laktik Asit Bakterilerinin Tanımlanması

3.2.10.1 Laktik Asit Bakterilerinin Fenotipik Tanımlanması

3.2.10.1.1 Gram Boyama Testi ve Hücre Morfolojisi

Laktik asit bakterilerinin tanımlanması için silaj örneklerinden elde edilen bakterilerin Soif SMART-3/L Binoküler mikroskopta 100X görüntüsü ScopePhoto programı kullanılarak kayıt altına alınmıştır. Laktik asit bakterilerinin tanımlanması için fermentasyonun 60. gününde açılan silaj örneklerinden ve 5 günlük aerobik stabilite sonrası silajlardan elde edilen bakterilerin gram boyama ve hücre morfolojisi sonuçları Çizelge 3,27, Çizelge 3,28, Çizelge 3,29, Çizelge 3,30, Çizelge 3,31 ve Çizelge 3,32’de verilmiştir.

Çizelge 3.27. BMR GOLD2 (ST) çeşidinde bulunan silajlardan elde edilen bakteri kolonilerinin gram boyama testi ve hücre morfolojisi sonuçları

İzolat Kodu	Gram B.T.	Hücre Morfolojisi
Kontrol 1	+	Kısa çubuk
Kontrol 2	+	Kısa çubuk
Kontrol 3	+	Kısa çubuk
Kontrol 4	+	Kısa çubuk
Kontrol 5	+	Kısa çubuk
Kontrol 6	+	Çubuk
Kontrol 7	+	Kısa çubuk
Kontrol 8	+	Çubuk
Kontrol 9	-	Kok
Kontrol 10	-	Çubuk
HM LAB 1	+	Çubuk
HM LAB 2	+	Kısa çubuk
HM LAB 3	+	Çubuk
HM LAB 4	+	Çubuk
HM LAB 5	+	Çubuk
HM LAB 6	+	Kısa çubuk
HM LAB 7	+	Kısa çubuk
HM LAB 8	+	Çubuk
^{HM} LAB 9	+	Çubuk
^{HM} LAB 10	+	Kısa çubuk
^{HM} LAB 11	+	Kısa çubuk
^{HM} LAB 13	-	Çubuk
^{HM} LAB 14	-	Kısa çubuk
^{HT} LAB 1	+	Kısa çubuk
^{HT} LAB 2	+	Kısa çubuk
^{HT} LAB 3	+	Kısa çubuk
^{HT} LAB 4	+	Kısa çubuk
^{HT} LAB 5	+	Çubuk
^{HT} LAB 6	+	Kısa çubuk
^{HT} LAB 7	+	Kısa çubuk
^{HT} LAB 8	+	Kısa çubuk
^{HT} LAB 9	+	Kısa çubuk
^{HT} LAB 10	+	Çubuk
^{HT} LAB 11	-	Çubuk
^{HT} LAB 12	-	Çubuk
^{HM+HT} LAB 1	+	Kısa çubuk
^{HM+HT} LAB 2	+	Çubuk
^{HM+HT} LAB 3	+	Kısa çubuk
^{HM+HT} LAB 4	+	Kısa çubuk
^{HM+HT} LAB 5	-	Çubuk
^{HM+HT} LAB 6	-	Çubuk

HM: Homofermantatif, HT: Heterofermantatif, LAB: Laktik asit bakterisi, +: Pozitif, -: Negatif

BMR GOLD2 (ST) çeşidinde bulunan silajlardan elde edilen bakteri kolonilerinin gram boyama testi sonuçları; kontrol %80, ^{HM}LAB %78,57, ^{HT}LAB %83,33 ve ^{HM+HT}LAB %66,66 oranında pozitif bulunmuştur. Bakteri kolonileri hücre morfolojilerine göre; kontrol %60 kısa çubuk, %30 çubuk ve %10 kok, ^{HM}LAB %42,86 kısa çubuk ve %57,14 çubuk, ^{HT}LAB %66,67 kısa çubuk ve %33,33 çubuk, ^{HM+HT}LAB %50 kısa çubuk ve %50 çubuk olarak belirlenmiştir.

Çizelge 3.28. Es Hyperion çeşidinde bulunan silajlardan elde edilen bakteri kolonilerinin gram boyama testi ve hücre morfolojisi sonuçları

İzolat Kodu	Gram B.T.	Hücre Morfolojisi
Kontrol 1	+	Kısa çubuk
Kontrol 2	+	Çubuk
Kontrol 3	+	Çubuk
Kontrol 4	+	Çubuk
Kontrol 5	+	Kısa Çubuk
Kontrol 6	+	Çubuk
Kontrol 7	+	Kok
Kontrol 8	-	Kok
Kontrol 9	-	Kok
^{HM} LAB 1	+	Çubuk
^{HM} LAB 2	+	Kısa çubuk
^{HM} LAB 3	+	Kısa çubuk
^{HM} LAB 4	+	Çubuk
^{HM} LAB 5	+	Kısa çubuk
^{HM} LAB 6	+	Kısa çubuk
^{HM} LAB 7	+	Çubuk
^{HM} LAB 8	-	Kısa çubuk
^{HM} LAB 9	-	Kısa çubuk
^{HM} LAB 10	-	Kısa çubuk
^{HT} LAB 1	+	Kısa çubuk
^{HT} LAB 2	+	Kısa çubuk
^{HT} LAB 3	+	Çubuk
^{HT} LAB 4	+	Kısa çubuk
^{HT} LAB 5	+	Kok
^{HT} LAB 6	+	Kısa çubuk
^{HT} LAB 7	+	Kısa çubuk
^{HT} LAB 8	+	Kısa çubuk
^{HT} LAB 9	+	Çubuk
^{HT} LAB 10	+	Kısa çubuk
^{HT} LAB 11	+	Kısa çubuk
^{HT} LAB 12	+	Kısa çubuk
^{HT} LAB 13	-	Kok
^{HT} LAB 14	-	Kok
^{HM+HT} LAB 1	+	Kısa çubuk
^{HM+HT} LAB 2	+	Kısa çubuk
^{HM+HT} LAB 3	+	Çubuk
^{HM+HT} LAB 4	+	Kısa çubuk
^{HM+HT} LAB 5	+	Kısa çubuk
^{HM+HT} LAB 6	+	Kısa çubuk
^{HM+HT} LAB 7	+	Çubuk
^{HM+HT} LAB 8	+	Çubuk
^{HM+HT} LAB 9	+	Kısa çubuk
^{HM+HT} LAB 10	+	Kısa çubuk
^{HM+HT} LAB 11	+	Kısa çubuk
^{HM+HT} LAB 12	+	Çubuk
^{HM+HT} LAB 13	-	Çubuk
^{HM+HT} LAB 14	-	Çubuk
^{HM+HT} LAB 15	-	Kısa çubuk

HM: Homofermantatif, HT: Heterofermantatif, LAB: Laktik asit bakterisi, +: Pozitif, -: Negatif

Es Hyperion çeşidinde bulunan silajlardan elde edilen bakteri kolonilerinin gram boyama testi sonuçları; kontrol %66,67, ^{HM}LAB %70, ^{HT}LAB %80 ve ^{HM+HT}LAB %80 oranında pozitif bulunmuştur. Bakteri kolonileri hücre morfolojilerine göre; kontrol %22,22 kısa çubuk, %44,44 çubuk ve %33,34 kok, ^{HM}LAB %70 kısa çubuk ve %30 çubuk, ^{HT}LAB %60 kısa çubuk, %20 çubuk ve %20 kok, ^{HM+HT}LAB %60 kısa çubuk ve %40 çubuk olarak belirlenmiştir.

Çizelge 3.29. Greengo çeşidinde bulunan silajlardan elde edilen bakteri kolonilerinin gram boyama testi ve hücre morfolojisi sonuçları

İzolat Kodu	Gram B.T.	Hücre Morfolojisi
Kontrol 1	+	Kısa çubuk
Kontrol 2	+	Kısa çubuk
Kontrol 3	+	Kısa çubuk
Kontrol 4	+	Kısa çubuk
Kontrol 5	+	Çubuk
Kontrol 6	+	Çubuk
Kontrol 7	+	Çubuk
Kontrol 8	-	Kok
Kontrol 9	-	Kısa çubuk
Kontrol 10	-	Çubuk
^{HM} LAB 1	+	Kısa çubuk
^{HM} LAB 2	+	Çubuk
^{HM} LAB 3	+	Çubuk
^{HM} LAB 4	+	Çubuk
^{HM} LAB 5	+	Çubuk
^{HM} LAB 6	+	Kısa çubuk
^{HM} LAB 7	+	Kısa çubuk
^{HM} LAB 8	+	Kısa çubuk
^{HM} LAB 9	+	Kısa çubuk
^{HT} LAB 1	+	Çubuk
^{HT} LAB 2	+	Çubuk
^{HT} LAB 3	+	Kısa çubuk
^{HT} LAB 4	+	Kısa çubuk
^{HT} LAB 5	+	Kısa çubuk
^{HT} LAB 6	+	Kısa çubuk
^{HT} LAB 7	+	Kısa çubuk
^{HT} LAB 8	+	Kısa çubuk
^{HT} LAB 9	+	Kısa çubuk
^{HT} LAB 10	+	Kısa çubuk
^{HT} LAB 11	+	Kısa çubuk
^{HT} LAB 12	+	Kok
^{HT} LAB 13	+	Kok
^{HT} LAB 14	-	Kok
^{HM+HT} LAB 1	+	Çubuk
^{HM+HT} LAB 2	+	Kok
^{HM+HT} LAB 3	+	Kısa çubuk
^{HM+HT} LAB 4	+	Kısa çubuk
^{HM+HT} LAB 5	+	Kısa çubuk
^{HM+HT} LAB 6	+	Kısa çubuk
^{HM+HT} LAB 7	+	Çubuk
^{HM+HT} LAB 8	+	Çubuk
^{HM+HT} LAB 9	+	Kısa çubuk
^{HM+HT} LAB 10	+	Kısa çubuk
^{HM+HT} LAB 11	+	Kısa çubuk
^{HM+HT} LAB 12	-	Çubuk

HM: Homofermantatif, HT: Heterofermantatif, LAB: Laktik asit bakterisi, +: Pozitif, -: Negatif

Greengo çeşidinde bulunan silajlardan elde edilen bakteri kolonilerinin gram boyama testi sonuçları; kontrol %63,64, ^{HM}LAB %90, ^{HT}LAB %92,86 ve ^{HM+HT}LAB %78,57 oranında pozitif bulunmuştur. Bakteri kolonileri hücre morfolojilerine göre; kontrol %45,45 kısa çubuk, %45,45 çubuk ve %9,10 kok, ^{HM}LAB %50 kısa çubuk ve %50 çubuk, ^{HT}LAB %64,29 kısa çubuk, %14,28 çubuk ve %21,43 kok, ^{HM+HT}LAB %64,29 kısa çubuk, %28,57 çubuk olarak ve %7,14 kok olarak belirlenmiştir.

Çizelge 3.30. BMR GOLD2 (ST) çeşidinde bulunan silajların 5 günlük aerobik stabilite testi sonrasında elde edilen bakteri kolonilerinin gram boyama testi ve hücre morfolojisi sonuçları

İzolat Kodu	Gram B.T.	Hücre Morfolojisi
Kontrol 1	+	Kısa çubuk
Kontrol 2	+	Kısa çubuk
Kontrol 3	+	Kısa çubuk
Kontrol 4	+	Çubuk
Kontrol 5	+	Kısa çubuk
Kontrol 6	+	Çubuk
Kontrol 7	+	Kısa çubuk
Kontrol 8	+	Çubuk
Kontrol 9	-	Çubuk
Kontrol 10	-	Çubuk
^{HM} LAB 1	+	Çubuk
^{HM} LAB 2	+	Çubuk
^{HM} LAB 3	+	Çubuk
^{HM} LAB 4	+	Kısa çubuk
^{HM} LAB 5	+	Çubuk
^{HM} LAB 6	+	Çubuk
^{HM} LAB 7	+	Kısa çubuk
^{HM} LAB 8	+	Çubuk
^{HM} LAB 9	+	Çubuk
^{HM} LAB 10	+	Çubuk
^{HM} LAB 11	+	Kısa çubuk
^{HM} LAB 12	-	Çubuk
^{HT} LAB 1	+	Kısa çubuk
^{HT} LAB 2	+	Kısa çubuk
^{HT} LAB 3	+	Kısa çubuk
^{HT} LAB 4	+	Kısa çubuk
^{HT} LAB 5	+	Çubuk
^{HT} LAB 6	+	Kısa çubuk
^{HT} LAB 7	+	Kısa çubuk
^{HT} LAB 8	+	Kısa çubuk
^{HT} LAB 9	+	Kısa çubuk
^{HT} LAB 10	+	Çubuk
^{HT} LAB 11	-	Çubuk
^{HT} LAB 12	-	Çubuk
^{HM+HT} LAB 1	+	Kısa çubuk
^{HM+HT} LAB 2	+	Çubuk
^{HM+HT} LAB 3	+	Kısa çubuk
^{HM+HT} LAB 4	+	Kısa çubuk
^{HM+HT} LAB 5	-	Çubuk
^{HM+HT} LAB 6	-	Çubuk

HM: Homofermantatif, HT: Heterofermantatif, LAB: Laktik asit bakterisi, +: Pozitif, -: Negatif

BMR GOLD2 (ST) çeşidinde bulunan silajların 5 günlük aerobik stabilite testi sonrasında elde edilen bakteri kolonilerinin gram boyama testi sonuçları; kontrol %80, ^{HM}LAB %91,66, ^{HT}LAB %76,93 ve ^{HM+HT}LAB %66,67 oranında pozitif bulunmuştur. Bakteri kolonileri hücre morfolojilerine göre; kontrol %50 kısa çubuk ve %50 çubuk, ^{HM}LAB %25 kısa çubuk ve %75 çubuk, ^{HT}LAB %61,54 kısa çubuk ve %38,46 çubuk, ^{HM+HT}LAB %50 kısa çubuk ve %50 çubuk olarak belirlenmiştir.

Çizelge 3.31. Es Hyperion çeşidinde bulunan silajların 5 günlük aerobik stabilite testi sonrasında elde edilen bakteri kolonilerinin gram boyama testi ve hücre morfolojisi sonuçları

İzolat Kodu	Gram B.T.	Hücre Morfolojisi
Kontrol 1	+	Kısa çubuk
Kontrol 2	+	Kısa çubuk
Kontrol 3	+	Kısa çubuk
Kontrol 4	+	Çubuk
Kontrol 5	+	Kısa çubuk
Kontrol 6	+	Çubuk
Kontrol 7	+	Kısa çubuk
Kontrol 8	+	Çubuk
Kontrol 9	-	Kısa çubuk
Kontrol 10	-	Çubuk
^{HM} LAB 1	+	Kısa çubuk
^{HM} LAB 2	+	Kısa çubuk
^{HM} LAB 3	+	Kısa çubuk
^{HM} LAB 4	+	Kısa çubuk
^{HM} LAB 5	+	Çubuk
^{HM} LAB 6	-	Çubuk
^{HM} LAB 7	-	Kısa çubuk
^{HM} LAB 8	-	Çubuk
^{HT} LAB 1	+	Kısa çubuk
^{HT} LAB 2	+	Kısa çubuk
^{HT} LAB 3	+	Kısa çubuk
^{HT} LAB 4	+	Kısa çubuk
^{HT} LAB 5	+	Çubuk
^{HT} LAB 6	+	Kısa çubuk
^{HT} LAB 7	+	Kısa çubuk
^{HT} LAB 8	+	Kısa çubuk
^{HT} LAB 9	+	Kısa çubuk
^{HT} LAB 10	+	Kısa çubuk
^{HT} LAB 11	+	Çubuk
^{HM+HT} LAB 1	+	Kısa çubuk
^{HM+HT} LAB 2	+	Çubuk
^{HM+HT} LAB 3	+	Kısa çubuk
^{HM+HT} LAB 4	+	Kısa çubuk
^{HM+HT} LAB 5	+	Çubuk
^{HM+HT} LAB 6	+	Çubuk
^{HM+HT} LAB 7	+	Kısa çubuk
^{HM+HT} LAB 8	+	Kısa çubuk
^{HM+HT} LAB 9	+	Kısa çubuk
^{HM+HT} LAB 10	+	Kısa çubuk
^{HM+HT} LAB 11	+	Kısa çubuk
^{HM+HT} LAB 12	+	Kısa çubuk
^{HM+HT} LAB 13	+	Kısa çubuk

HM: Homofermantatif, HT: Heterofermantatif, LAB: Laktik asit bakterisi, +: Pozitif, -: Negatif

Es Hyperion çeşidinde bulunan silajların 5 günlük aerobik stabilite testi sonrasında elde edilen bakteri kolonilerinin gram boyama testi sonuçları; kontrol %80, ^{HM}LAB %62,5, ^{HT}LAB %100 ve ^{HM+HT}LAB %100 oranında pozitif bulunmuştur. Bakteri kolonileri hücre morfolojilerine göre; kontrol %60 kısa çubuk ve %40 çubuk, ^{HM}LAB %62,5 kısa çubuk ve %37,5 çubuk, ^{HT}LAB %81,82 kısa çubuk ve %18,18 çubuk, ^{HM+HT}LAB %76,92 kısa çubuk ve %23,07 çubuk olarak belirlenmiştir.

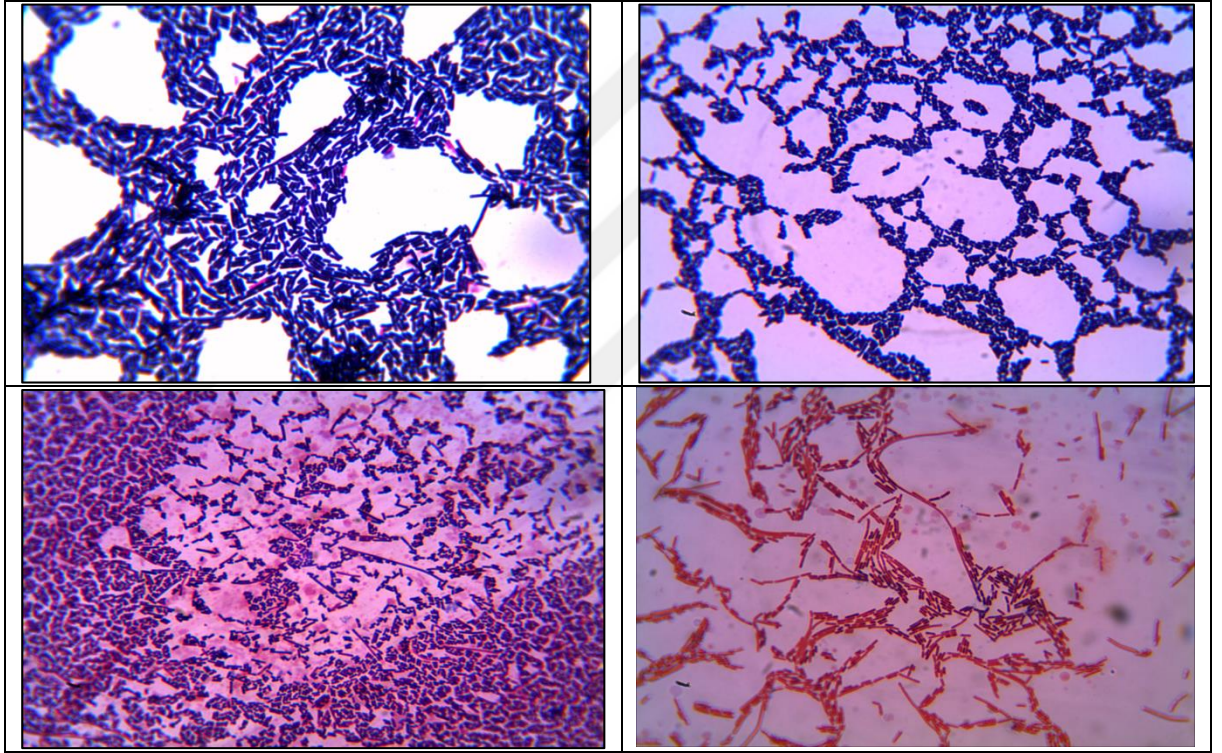
Çizelge 3.32. Greengo çeşidinde bulunan silajların 5 günlük aerobik stabilite testi sonrasında elde edilen bakteri kolonilerinin gram boyama testi ve hücre morfolojisi sonuçları

İzolat Kodu	Gram B.T.	Hücre Morfolojisi
Kontrol 1	+	Kısa çubuk
Kontrol 2	+	Kısa çubuk
Kontrol 3	+	Kısa çubuk
Kontrol 4	+	Çubuk
Kontrol 5	+	Kısa çubuk
Kontrol 6	+	Çubuk
Kontrol 7	+	Kısa çubuk
Kontrol 8	+	Kısa çubuk
Kontrol 9	+	Kısa çubuk
Kontrol 10	+	Kısa çubuk
Kontrol 11	+	Kısa çubuk
Kontrol 12	+	Kısa çubuk
Kontrol 13	+	Kısa çubuk
^{HM} LAB 1	+	Kısa çubuk
^{HM} LAB 2	+	Kısa çubuk
^{HM} LAB 3	+	Kısa çubuk
^{HM} LAB 4	+	Kısa çubuk
^{HM} LAB 5	+	Kısa çubuk
^{HM} LAB 6	-	Çubuk
^{HM} LAB 7	-	Kısa çubuk
^{HM} LAB 8	-	Çubuk
^{HT} LAB 1	+	Kısa çubuk
^{HT} LAB 2	+	Kısa çubuk
^{HT} LAB 3	+	Kısa çubuk
^{HT} LAB 4	+	Kısa çubuk
^{HT} LAB 5	+	Kısa çubuk
^{HT} LAB 6	+	Kısa çubuk
^{HT} LAB 7	+	Kısa çubuk
^{HT} LAB 8	+	Kısa çubuk
^{HM+HT} LAB 1	+	Kısa çubuk
^{HM+HT} LAB 2	+	Kısa çubuk
^{HM+HT} LAB 3	+	Kısa çubuk
^{HM+HT} LAB 4	+	Kısa çubuk
^{HM+HT} LAB 5	+	Kısa çubuk
^{HM+HT} LAB 6	+	Kısa çubuk
^{HM+HT} LAB 7	+	Kısa çubuk
^{HM+HT} LAB 8	+	Kısa çubuk
^{HM+HT} LAB 9	+	Çubuk
^{HM+HT} LAB 10	+	Çubuk
^{HM+HT} LAB 11	+	Kısa çubuk
^{HM+HT} LAB 12	+	Kısa çubuk

HM: Homofermantatif, HT: Heterofermantatif, LAB: Laktik asit bakterisi, +: Pozitif, -: Negatif

Greengo çeşidinde bulunan silajların 5 günlük aerobik stabilite testi sonrasında elde edilen bakteri kolonilerinin gram boyama testi sonuçları; kontrol %100, ^{HM}LAB %62,5, ^{HT}LAB %100 ve ^{HM+HT}LAB %100 oranında pozitif bulunmuştur. Bakteri kolonileri hücre morfolojilerine göre; kontrol %84,62 kısa çubuk ve %15,38 çubuk, ^{HM}LAB %75 kısa çubuk ve %25 çubuk, ^{HT}LAB %100 kısa çubuk, ^{HM+HT}LAB %83,33 kısa çubuk ve %16,67 çubuk olarak belirlenmiştir.

Çalışma kapsamında LAB'nin tanımlanması için silaj örneklerinden elde edilen bakterilerin Soif SMART-3/L Binoküler mikroskopta 100X görüntüsü ve gram boyama sonrası bakterilere ait bazı görüntüler Şekil 3.38'te verilmiştir.



Şekil 3.38. BMR GOLD2 (ST) çeşidinin ^{HM} LAB inokulanı kullanılan sorgum silajından elde edilen gram pozitif ve gram negatif bakteri görüntüsü

3.2.10.2 Katalaz Testi

Laktik asit bakterilerinin tanımlanması için fermentasyonun 60. gününde açılan silaj örneklerinden ve 5 günlük aerobik stabilite sonrası silajlardan elde edilen bakterilerin katalaz testi sonuçları Çizelge 3.33, Çizelge 3.34, Çizelge 3.35, Çizelge 3.36, Çizelge 3.37 ve Çizelge 3.38'de verilmiştir.

Çizelge 3.33. BMR GOLD2 (ST) çeşidinde bulunan silajlardan elde edilen bakteri kolonilerinin katalaz testi sonuçları

İzolat Kodu	% 3 H ₂ O ₂	%10 H ₂ O ₂	% 30 H ₂ O ₂
Kontrol 1	+	+	+
Kontrol 2	-	-	-
Kontrol 3	-	-	-
Kontrol 4	-	-	+
Kontrol 5	-	-	-
Kontrol 6	-	-	-
Kontrol 7	-	-	-
Kontrol 8	-	-	-
^{HM} LAB 1	-	-	-
^{HM} LAB 2	-	-	-
^{HM} LAB 3	-	-	-
^{HM} LAB 4	-	-	-
^{HM} LAB 5	-	-	-
^{HM} LAB 6	-	-	-
^{HM} LAB 7	-	-	-
^{HM} LAB 8	-	-	-
^{HM} LAB 9	-	-	-
^{HM} LAB 10	-	-	-
^{HM} LAB 11	-	-	-
^{HT} LAB 1	-	-	-
^{HT} LAB 2	-	-	-
^{HT} LAB 3	-	-	-
^{HT} LAB 4	-	-	-
^{HT} LAB 5	-	-	+
^{HT} LAB 6	-	-	-
^{HT} LAB 7	-	-	-
^{HT} LAB 8	-	-	-
^{HT} LAB 9	-	-	-
^{HT} LAB 10	-	-	-
^{HM+HT} LAB 1	-	-	-
^{HM+HT} LAB 2	+	+	+
^{HM+HT} LAB 3	-	-	-

HM: Homofermantatif, HT: Heterofermantatif, LAB: Laktik asit bakterisi

BMR GOLD2 (ST) çeşidinde bulunan silajlardan elde edilen bakteri kolonilerinin katalaz testi sonuçları; kontrol %75, ^{HM}LAB %100, ^{HT}LAB %88,88 ve ^{HM+HT}LAB %66,66 oranında negatif bulunmuştur. Saflaştırılarak tek koloniye düşürülen ve gram boyama sonrası pozitif olan bakteri kültürlerinde yapılan katalaz testi sonucuna göre negatif olan koloniler seçilmiştir.

Çizelge 3.34. Es Hyperion çeşidinde bulunan silajlardan elde edilen bakteri kolonilerinin katalaz testi sonuçları

İzolat Kodu	% 3 H ₂ O ₂	%10 H ₂ O ₂	% 30 H ₂ O ₂
Kontrol 1	-	-	-
Kontrol 2	-	-	-
Kontrol 3	-	-	-
Kontrol 4	-	-	-
Kontrol 5	-	-	-
Kontrol 6	-	-	-
Kontrol 7	-	-	-
^{HM} LAB 1	-	-	-
^{HM} LAB 2	-	-	-
^{HM} LAB 3	-	-	-
^{HM} LAB 4	-	-	-
^{HM} LAB 5	-	-	-
^{HM} LAB 6	-	-	-
^{HM} LAB 7	-	-	-
^{HT} LAB 1	+	+	+
^{HT} LAB 2	-	-	-
^{HT} LAB 3	-	-	-
^{HT} LAB 4	-	-	-
^{HT} LAB 5	-	-	-
^{HT} LAB 6	-	-	-
^{HT} LAB 7	-	-	-
^{HT} LAB 8	-	-	-
^{HT} LAB 9	-	-	-
^{HT} LAB 10	-	-	-
^{HT} LAB 11	-	-	-
^{HT} LAB 12	-	-	-
^{HM+HT} LAB 1	-	-	-
^{HM+HT} LAB 2	-	-	-
^{HM+HT} LAB 3	-	-	-
^{HM+HT} LAB 4	-	-	-
^{HM+HT} LAB 5	-	-	-
^{HM+HT} LAB 6	-	-	-
^{HM+HT} LAB 7	-	-	-
^{HM+HT} LAB 8	-	-	-
^{HM+HT} LAB 9	-	-	-
^{HM+HT} LAB 10	-	-	-
^{HM+HT} LAB 11	-	-	-
^{HM+HT} LAB 12	-	-	-

HM: Homofermantatif, HT: Heterofermantatif, LAB: Laktik asit bakterisi

Es Hyperion çeşidinde bulunan silajlardan elde edilen bakteri kolonilerinin katalaz testi sonuçları; kontrol %100, ^{HM}LAB %100, ^{HT}LAB %91,66 ve ^{HM+HT}LAB %100 oranında negatif bulunmuştur. Saflaştırılarak tek koloniye düşürülen ve gram boyama sonrası pozitif olan bakteri kültürlerinde yapılan katalaz testi sonucuna göre negatif olan koloniler seçilmiştir.

Çizelge 3.35. Greengo çeşidinde bulunan silajlardan elde edilen bakteri kolonilerinin katalaz testi sonuçları

İzolat Kodu	% 3 H ₂ O ₂	%10 H ₂ O ₂	% 30 H ₂ O ₂
Kontrol 1	+	+	+
Kontrol 2	-	-	-
Kontrol 3	-	-	-
Kontrol 4	-	-	-
Kontrol 5	-	-	-
Kontrol 6	-	-	-
Kontrol 7	-	-	-
^{HM} LAB 1	-	-	-
^{HM} LAB 2	-	-	-
^{HM} LAB 3	-	-	-
^{HM} LAB 4	-	-	-
^{HM} LAB 5	-	-	-
^{HM} LAB 6	-	-	-
^{HM} LAB 7	-	-	-
^{HM} LAB 8	-	-	-
^{HM} LAB 9	-	-	-
^{HT} LAB 1	-	-	-
^{HT} LAB 2	-	-	-
^{HT} LAB 3	-	-	-
^{HT} LAB 4	+	+	+
^{HT} LAB 5	-	-	-
^{HT} LAB 6	-	-	-
^{HT} LAB 7	-	-	-
^{HT} LAB 8	-	-	-
^{HT} LAB 9	-	-	-
^{HT} LAB 10	-	-	-
^{HT} LAB 11	-	-	-
^{HT} LAB 12	-	-	-
^{HT} LAB 13	-	-	-
^{HM+HT} LAB 1	-	-	-
^{HM+HT} LAB 2	-	-	-
^{HM+HT} LAB 3	-	-	-
^{HM+HT} LAB 4	-	-	-
^{HM+HT} LAB 5	-	-	-
^{HM+HT} LAB 6	-	-	-
^{HM+HT} LAB 7	-	-	-
^{HM+HT} LAB 8	-	-	-
^{HM+HT} LAB 9	-	-	-
^{HM+HT} LAB 10	-	-	-
^{HM+HT} LAB 11	-	-	-

HM: Homofermantatif, HT: Heterofermantatif, LAB: Laktik asit bakterisi

Greengo çeşidinde bulunan silajlardan elde edilen bakteri kolonilerinin katalaz testi sonuçları; kontrol %85,71, ^{HM}LAB %100, ^{HT}LAB %92,30 ve ^{HM+HT}LAB %100 oranında negatif bulunmuştur. Saflaştırılarak tek koloniye düşürülen ve gram boyama sonrası pozitif olan bakteri kültürlerinde yapılan katalaz testi sonucuna göre negatif olan koloniler seçilmiştir.

Çizelge 3.36. BMR GOLD2 (ST) çeşidinde bulunan silajların 5 günlük aerobik stabilite testi sonrasında elde edilen bakteri kolonilerinin katalaz testi sonuçları

İzolat Kodu	% 3 H ₂ O ₂	%10 H ₂ O ₂	% 30 H ₂ O ₂
Kontrol 1	-	-	-
Kontrol 2	-	-	-
Kontrol 3	-	-	-
Kontrol 4	-	-	-
Kontrol 5	-	-	-
Kontrol 6	-	-	-
Kontrol 7	-	-	-
Kontrol 8	-	-	-
^{HM} LAB 1	-	-	-
^{HM} LAB 2	-	-	-
^{HM} LAB 3	-	-	-
^{HM} LAB 4	-	-	-
^{HM} LAB 5	-	-	-
^{HM} LAB 6	-	-	-
^{HM} LAB 7	-	-	-
^{HM} LAB 8	-	-	-
^{HM} LAB 9	-	-	-
^{HM} LAB 10	-	-	-
^{HM} LAB 11	-	-	-
^{HT} LAB 1	-	-	-
^{HT} LAB 2	-	-	-
^{HT} LAB 3	-	-	-
^{HT} LAB 4	-	-	-
^{HT} LAB 5	-	-	-
^{HT} LAB 6	-	-	-
^{HT} LAB 7	-	-	-
^{HT} LAB 8	-	-	-
^{HT} LAB 9	-	-	-
^{HT} LAB 10	-	-	-
^{HM+HT} LAB 1	-	-	-
^{HM+HT} LAB 2	-	-	-
^{HM+HT} LAB 3	-	-	-
^{HM+HT} LAB 4	-	-	-

HM: Homofermantatif, HT: Heterofermantatif, LAB: Laktik asit bakterisi

BMR GOLD2 (ST) çeşidinde bulunan silajların 5 günlük aerobik stabilite testi sonrasında elde edilen bakteri kolonilerinin katalaz testi sonuçları; kontrol %100, ^{HM}LAB %100, ^{HT}LAB %100 ve ^{HM+HT}LAB %100 oranında negatif bulunmuştur. Saflaştırılarak tek koloniye düşürülen ve gram boyama sonrası pozitif olan bakteri kültürlerinde yapılan katalaz testi sonucuna göre negatif olan koloniler seçilmiştir.

Çizelge 3.37. Es Hyperion çeşidinde bulunan silajların 5 günlük aerobik stabilite testi sonrasında elde edilen bakteri kolonilerinin katalaz testi sonuçları

İzolat Kodu	% 3 H ₂ O ₂	%10 H ₂ O ₂	% 30 H ₂ O ₂
Kontrol 1	-	-	-
Kontrol 2	-	-	-
Kontrol 3	-	-	-
Kontrol 4	-	-	-
Kontrol 5	-	-	-
Kontrol 6	-	-	-
Kontrol 7	-	-	-
Kontrol 8	-	-	-
^{HM} LAB 1	-	-	-
^{HM} LAB 2	-	-	-
^{HM} LAB 3	-	-	-
^{HM} LAB 4	-	-	-
^{HM} LAB 5	-	-	-
^{HT} LAB 1	-	-	-
^{HT} LAB 2	-	-	-
^{HT} LAB 3	-	-	-
^{HT} LAB 4	-	-	-
^{HT} LAB 5	-	-	-
^{HT} LAB 6	-	-	-
^{HT} LAB 7	-	-	-
^{HT} LAB 8	-	-	-
^{HM+HT} LAB 1	-	-	-
^{HM+HT} LAB 2	-	-	-
^{HM+HT} LAB 3	-	-	-
^{HM+HT} LAB 4	-	-	-
^{HM+HT} LAB 5	-	-	-
^{HM+HT} LAB 6	-	-	-
^{HM+HT} LAB 7	-	-	-
^{HM+HT} LAB 8	-	-	-
^{HM+HT} LAB 9	-	-	-
^{HM+HT} LAB 10	-	-	-
^{HM+HT} LAB 11	-	-	-
^{HM+HT} LAB 12	-	-	-
^{HM+HT} LAB 13	-	-	-

HM: Homofermantatif, HT: Heterofermantatif, LAB: Laktik asit bakterisi

Es Hyperion çeşidinde bulunan silajların 5 günlük aerobik stabilite testi sonrasında elde edilen bakteri kolonilerinin katalaz testi sonuçları; kontrol %100, ^{HM}LAB %100, ^{HT}LAB %100 ve ^{HM+HT}LAB %100 oranında negatif bulunmuştur. Saflaştırılarak tek koloniye düşürülen ve gram boyama sonrası pozitif olan bakteri kültürlerinde yapılan katalaz testi sonucuna göre negatif olan koloniler seçilmiştir.

Çizelge 3.38. Greengo çeşidinde bulunan silajların 5 günlük aerobik stabilite testi sonrasında elde edilen bakteri kolonilerinin katalaz testi sonuçları

İzolat Kodu	% 3 H ₂ O ₂	%10 H ₂ O ₂	% 30 H ₂ O ₂
Kontrol 1	-	-	-
Kontrol 2	-	-	-
Kontrol 3	-	-	-
Kontrol 4	-	-	-
Kontrol 5	-	-	-
Kontrol 6	-	-	-
Kontrol 7	-	-	-
Kontrol 8	-	-	-
Kontrol 9	-	-	-
Kontrol 10	-	-	-
Kontrol 11	-	-	-
Kontrol 12	-	-	-
Kontrol 13	-	-	-
^{HM} LAB 1	-	-	-
^{HM} LAB 2	-	-	-
^{HM} LAB 3	-	-	-
^{HM} LAB 4	-	-	-
^{HM} LAB 5	-	-	-
^{HM} LAB 6	-	-	-
^{HM} LAB 7	-	-	-
^{HT} LAB 1	-	-	-
^{HT} LAB 2	-	-	-
^{HT} LAB 3	-	-	-
^{HT} LAB 4	-	-	-
^{HT} LAB 5	-	-	-
^{HT} LAB 6	-	-	-
^{HT} LAB 7	-	-	-
^{HM+HT} LAB 1	-	-	-
^{HM+HT} LAB 2	-	-	-
^{HM+HT} LAB 3	-	-	-
^{HM+HT} LAB 4	-	-	-
^{HM+HT} LAB 5	-	-	-
^{HM+HT} LAB 6	-	-	-
^{HM+HT} LAB 7	-	-	-
^{HM+HT} LAB 8	-	-	-
^{HM+HT} LAB 9	-	-	-
^{HM+HT} LAB 10	-	-	-

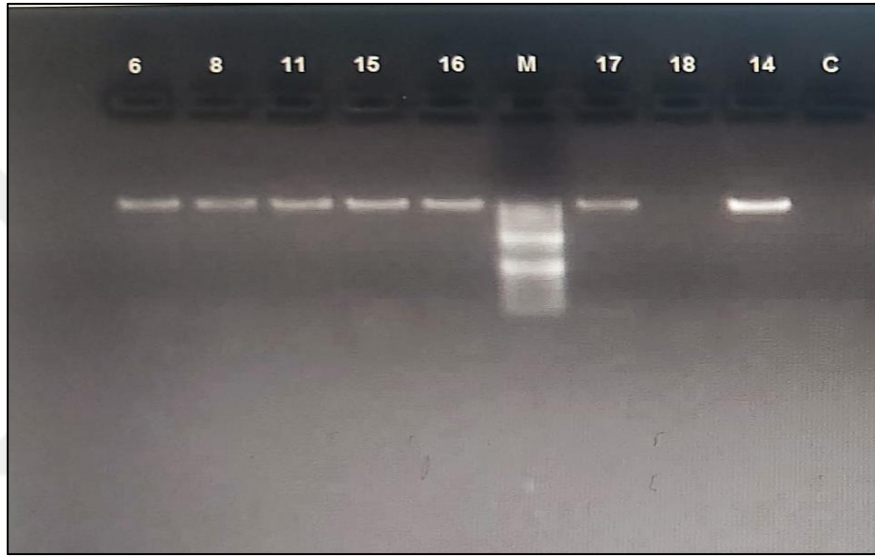
HM: Homofermantatif, HT: Heterofermantatif, LAB: Laktik asit bakterisi

Greengo çeşidinde bulunan silajların 5 günlük aerobik stabilite testi sonrasında elde edilen bakteri kolonilerinin katalaz testi sonuçları; kontrol %100, ^{HM} LAB %100, ^{HT} LAB %100 ve ^{HM+HT} LAB %100 oranında negatif bulunmuştur. Saflaştırılarak tek koloniye düşürülen ve gram boyama sonrası pozitif olan bakteri kültürlerinde yapılan katalaz testi sonucuna göre negatif olan koloniler seçilmiştir.

3.2.10.3 Laktik Asit Bakterilerinin Genotipik Tanımlanması

3.2.10.3.1 Laktik Asit Bakterilerinin 16S rRNA Gen Bölgesi Dizi Analizi Yöntemi ile Moleküler Tanımlanması

Çalışmada sorgum silajındaki LAB'nin genetik olarak tanımlanmasında yaygın olarak kullanılan 16S rRNA gen bölgesinde analiz tekniği kullanılmıştır. İlgili bölgenin PZR ile yükseltgenmesinde en uygun primer bağlanma sıcaklığının ve bileşenlerin belirlenmesinin ardından tüm DNA örneklerinde yapılan yükseltgeme sonrası bazı PZR ürünlerinin agaroz jel görüntüsü Şekil 3.39' da verilmiştir.

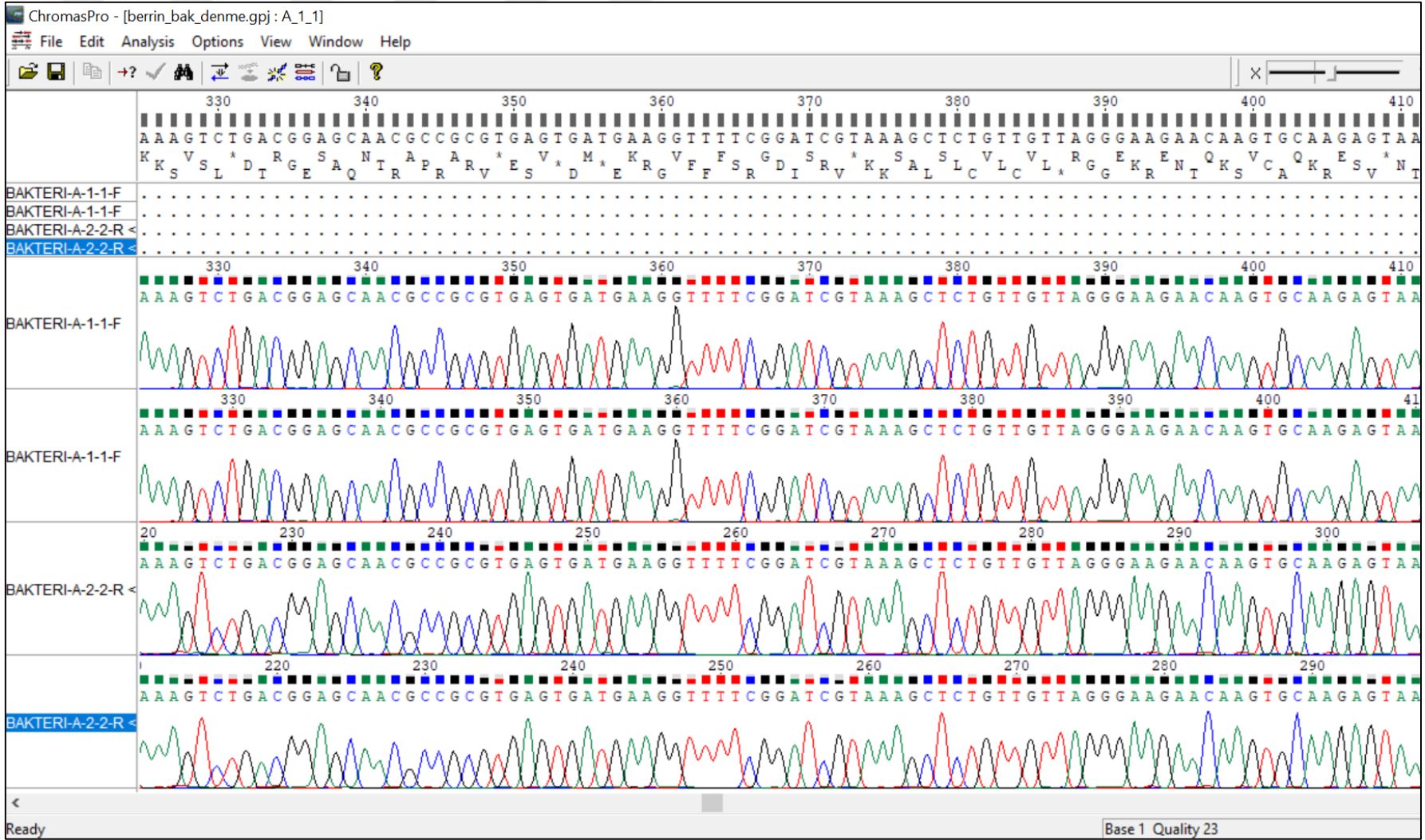


Şekil 3.39. Genetik tanımlamada kullanılan 16S rRNA gen bölgesinin yaklaşık 900 bp uzunluğundaki PZR ürünlerinin agaroz jel görüntüsü (M: 50 bp DNA Ladder, C: Negatif kontrol, 6, 8, 11, 15, 16, 17, 18, 14: silaj örnek numaraları).

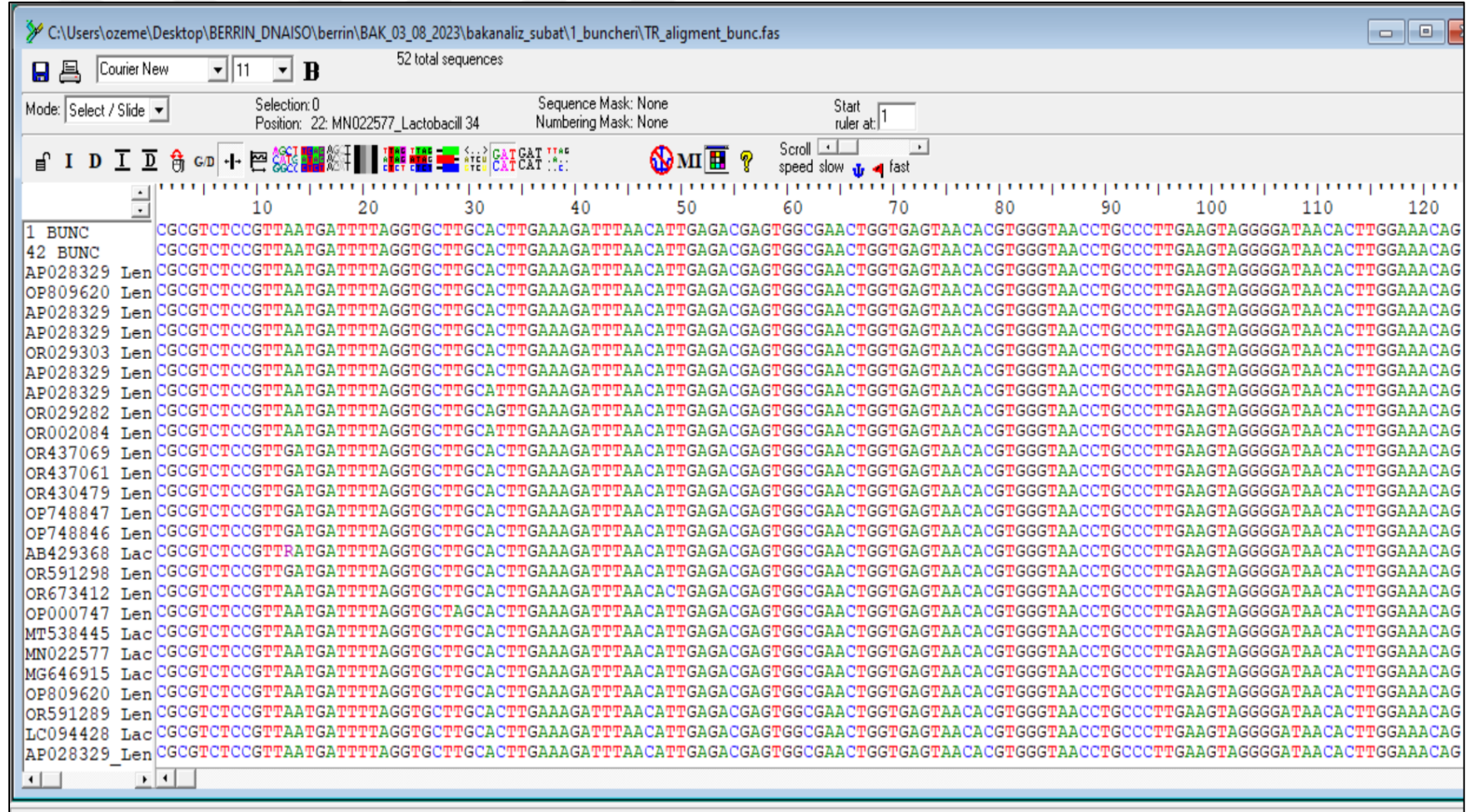
Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile yükseltgenen 16S rRNA gen bölgesi ürünleri Sanger'ın (1973) zincir bitirme yöntemiyle Applied Biosystems® marka, 8 kapilerli 3500 cihazında DNA dizileme işlemi yapılmıştır. Her bir örnek için hem ileri hem de geri primerlerin kullanılmasıyla elde edilen kromatogramlar ChromasPro Version 1.7.4 programında (Technelysium Pty Ltd, <http://www.technelysium.com.au/ChromasPro.html>) açılarak alt alta sıralanmış, geri primerin “reverse komplementi” alınarak ileri primer dizisi ile karşılaştırılmış ve konsensus diziler elde edilmiştir. Her bir örnek için elde edilen konsensus diziler ve gen bankasından alınan (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) alınan referans diziler, BioEdit Version 7.0.4.1 (Hall 1999) programı altında “ClustalW Multiple Alignment” (Thompson vd., 1994) yazılımı kullanılarak aynı baz dizileri alt alta gelecek şekilde hizalanmıştır. Çalışmada hizalanmış diziler fasta formatında kaydedilerek istatistik

programlarında kullanılmak üzere dosyalanmıştır. Dizilere ait örnek görüntüler aşağıda verilmiştir. Seçilen örneklerle ait 16S rRNA gen bölgesi primerleri ile yükseltgenen bölgenin kromatogramdaki kısmi görüntüsü örneği Şekil 3.40 ve dizi analizi sonuçlarının BioEdit programı yardımıyla karşılaştırılmasına ait görüntüsü örneği Şekil 3.41’ te verilmiştir.

Taze sorgum bitkisi ve sorgum silajından elde edilen LAB’nin 16S rRNA gen bölgesi dizi analiz yöntemiyle moleküler tanımlanması sonrasında gözlemlenen suşlara ait sonuçlar Çizelge 3.39. ve Çizelge 3.40’te verilmiştir. Tez kapsamında toplamda 98 izolat elde edilmiştir. Çalışmanın ilk aşamasında yapılan dizi analiz sonrasında M17 besi yerinde geliştirilen bakterilerden elde edilen 11 izolatın LAB grubunda olmadığı, *Bacillus sp.* suşları olduğu tanımlanmıştır. *Bacillus* türündeki suşların M17 besi yerinde baskın olması ve yayılım göstererek çoğalmaları nedeniyle çalışmaya MRS-agar ortamı ve S-MRS agar besi ortamında geliştirilen LAB kültürleri ile devam edilmiş olup toplamda 87 LAB suşunun mevcut olduğu gözlemlenmiştir.



Şekil 3.40. BMR GOLD 2 (ST) çeşidine ait ^{HM} LAB katkılı silajdan elde edilen bakterinin 16S rRNA gen bölgesi primerleri ile yükseltgenen bölgesinin kromatogramdaki kısmi görüntüsü (HM: Homofermantatif)



Şekil 3.41. Sorgum silaji örneklerinden izole edilen *Lactobacillus buchneri* suşlarına ait dizi analizi verilerinin referans veriler ile birlikte BioEdit programında hizalanmasına ait görüntü.

Hizalama sonrasında elde edilen DNA dizi verilerinin (~850 bp), NCBI gen bankasında bulunan referans dizi verileri ile Blast taraması sonrası karşılaştırılması sonucunda tanımlanan tüm izolatların tür düzeyinde dağılımı; *Lactobacillus buchneri* (%85,06), *Lactobacillus plantarum* (%8,05), *Lactobacillus brevis* (%4,60), *Weissella cibaria* (%2,29) şeklinde olduğu gözlemlenmiştir.

Sorgum bitkilerinde; BMR GOLD 2 (ST) çeşidinde *Lactobacillus buchneri* (%100), Es Hyperion çeşidinde *Lactobacillus buchneri* (%75) ve *Weissella cibaria* (%25), Greengo çeşidinde ise *Lactobacillus buchneri* (%75) ve *Weissella cibaria* (%25) tanımlanmıştır. Silo açım dönemindeki silajlarda; *Lactobacillus buchneri* (%78,05), *Lactobacillus plantarum* (%12,19), *Lactobacillus brevis* (%9,76), 5 günlük aerobik stabilite sonrası silajlarda *Lactobacillus buchneri* (%94,59), *Lactobacillus plantarum* (%5,41), şeklinde olduğu gözlemlenmiştir. Sorgum bitkisi ve sorgum silajlarında en yaygın gözlemlenen LAB'sinin *Lactobacillus buchneri* olduğu dikkat çekmektedir.

Çizelge 3.39. Taze sorgumdan elde edilen epifitik LAB'nin 16S rRNA gen bölgesi dizi analizi yöntemiyle moleküler tanımlama sonuçları

Çeşit	Sorgum Bitkisi	n
BMR GOLD 2 (ST)	<i>Lactobacillus buchneri</i>	3
ES HYPERION	<i>Lactobacillus buchneri</i>	2
	<i>Weissella cibaria</i>	1
GREENGO (ST)	<i>Lactobacillus buchneri</i>	2
	<i>Weissella cibaria</i>	1
Toplam		9

HM: Homofermantatif, HT: Heterofermantatif, LAB: Laktik asit bakterisi, n: İzolat sayısı

Çizelge 3.40. Sorgum silajlarından elde edilen laktik asit bakterilerinin 16S rRNA gen bölgesi dizi analizi yöntemiyle moleküler tanımlama sonuçları

Çeşit	Katkı	Silo Açım	n	Aerobik Stabilité	n
BMR GOLD2 (ST)	Kontrol	<i>Lactobacillus buchneri</i>	4	<i>Lactobacillus buchneri</i>	2
				<i>Lactobacillus plantarum</i>	1
		<i>Lactobacillus buchneri</i>	2	<i>Lactobacillus buchneri</i>	2
		<i>Lactobacillus plantarum</i>	2	<i>Lactobacillus plantarum</i>	1
	^{HM} LAB	<i>Lactobacillus brevis</i>	1		
	^{HT} LAB	<i>Lactobacillus buchneri</i>	3	<i>Lactobacillus buchneri</i>	4
ES HYPERION	^{HM+HT} LAB	<i>Lactobacillus buchneri</i>	3	<i>Lactobacillus buchneri</i>	3
	Kontrol	<i>Lactobacillus buchneri</i>	3	<i>Lactobacillus buchneri</i>	3
	^{HM} LAB	<i>Lactobacillus buchneri</i>	2	<i>Lactobacillus buchneri</i>	3
		<i>Lactobacillus plantarum</i>	1		
	^{HT} LAB	<i>Lactobacillus buchneri</i>	3	<i>Lactobacillus buchneri</i>	3
	^{HM+HT} LAB	<i>Lactobacillus buchneri</i>	3	<i>Lactobacillus buchneri</i>	3
GREENGO (ST)	Kontrol	<i>Lactobacillus buchneri</i>	2	<i>Lactobacillus buchneri</i>	3
		<i>Lactobacillus brevis</i>	1		
		<i>Lactobacillus buchneri</i>	2		
	^{HM} LAB	<i>Lactobacillus plantarum</i>	2	<i>Lactobacillus buchneri</i>	3
		<i>Lactobacillus brevis</i>	1		
	^{HT} LAB	<i>Lactobacillus buchneri</i>	3	<i>Lactobacillus buchneri</i>	3
	^{HM+HT} LAB	<i>Lactobacillus buchneri</i>	2	<i>Lactobacillus buchneri</i>	3
		<i>Lactobacillus brevis</i>	1		
Toplam			41		37

HM: Homofermantatif, HT: Heterofermantatif, LAB: Laktik asit bakterisi, n: İzolat sayısı

Çalışma kapsamında gözlemlenen LAB suşları (*Lactobacillus buchneri*, *Weissella cibaria*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus plantarum*)’na ait DNA dizileri NCBI’den alınan referans veriler ile birlikte değerlendirildiğinde her bir tür için özdeşlik oranlarının %99,88-100 arasında değiştiği görülmüştür. Yapılan tarama sonrası gözlemlenen özdeşlik değerlerine ilişkin ekran görüntüsü aşağıda verilmektedir (Şekil 3.42).

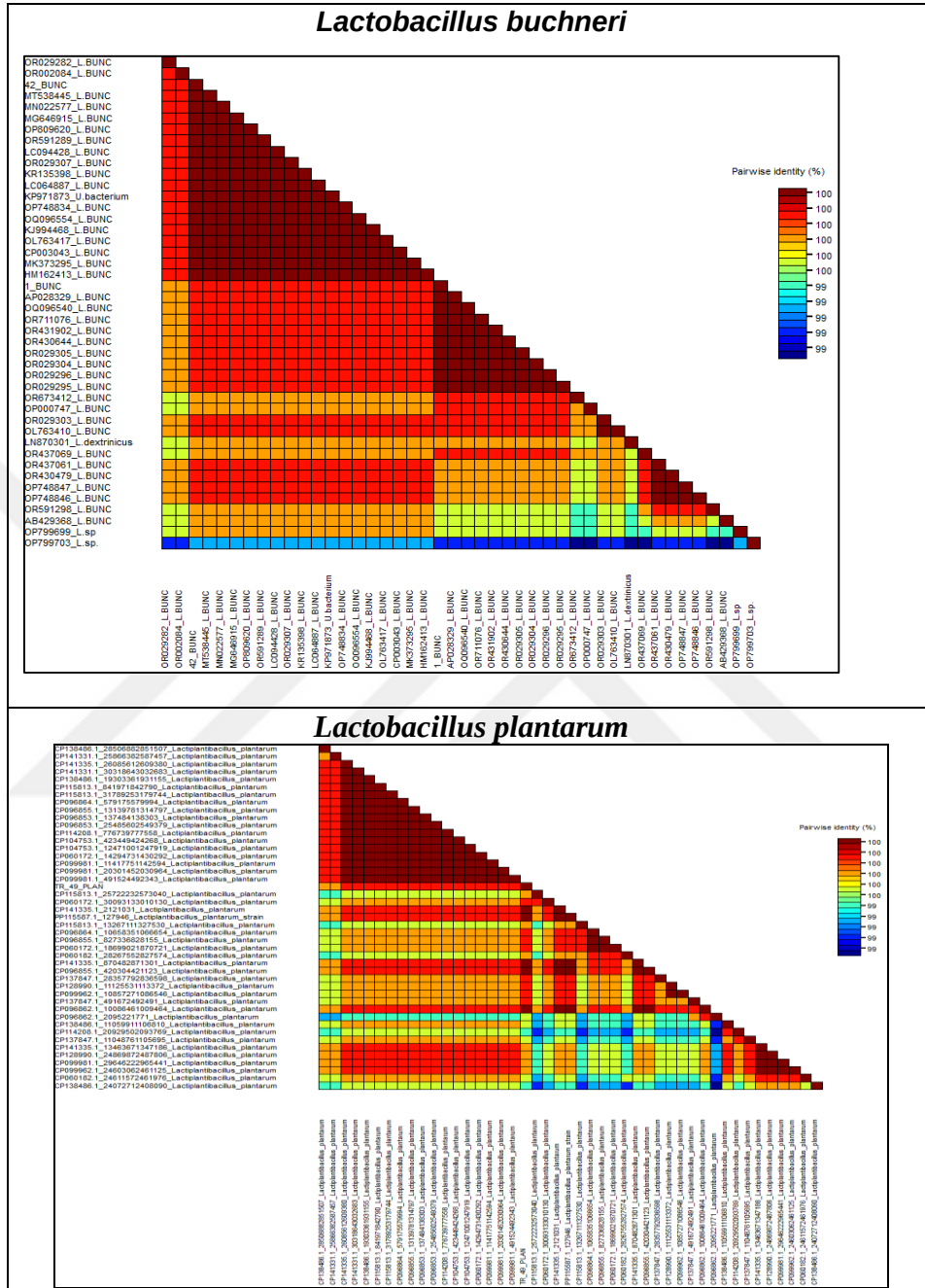
The screenshot displays the NCBI BLAST results page for a nucleotide sequence. The top navigation bar includes the NIH logo and the text 'National Library of Medicine National Center for Biotechnology Information'. The main header shows 'BLAST® » blastn suite » results for RID-WD40R66J013'. Below this, there are links for 'Home', 'Recent Results', 'Saved Strategies', and 'Help'. The left sidebar contains a 'Job Title' section with details: 'Nucleotide Sequence', 'RID: WD40R66J013', 'Program: BLASTN', 'Database: nt', 'Query ID: lcl|Query_685005', 'Description: None', 'Molecule type: dna', 'Query Length: 832', and 'Other reports: Distance tree of results, MSA viewer'. The 'Filter Results' section on the right allows filtering by 'Organism' (with a search box and 'Add organism' button), 'Percent Identity' (with input fields and 'Filter' button), 'E value' (with input fields and 'Filter' button), and 'Query Coverage' (with input fields and 'Filter' button). The main content area shows 'Sequences producing significant alignments' with a table of results. The table has columns for 'Description', 'Scientific Name', 'Max Score', 'Total Score', 'Query Cover', 'E value', 'Per. Ident', 'Acc. Len', and 'Accession'. The first 10 rows of the table are as follows:

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
Lactobacillus buchneri strain 2595 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Lentilactobacillus buc...	1537	1537	100%	0.0	100.00%	1471	MT911820.1
Lactobacillus buchneri strain 2594 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Lentilactobacillus buc...	1537	1537	100%	0.0	100.00%	1455	MT911819.1
Lactobacillus buchneri strain 8474 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Lentilactobacillus buc...	1537	1537	100%	0.0	100.00%	1454	MT515902.1
Lactobacillus buchneri strain 4955 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Lentilactobacillus buc...	1537	1537	100%	0.0	100.00%	1477	MT512078.1
Lactobacillus buchneri strain 8771 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Lentilactobacillus buc...	1537	1537	100%	0.0	100.00%	1451	MT464396.1
Lactobacillus buchneri strain 5295 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Lentilactobacillus buc...	1537	1537	100%	0.0	100.00%	1483	MT463457.1
Lactobacillus buchneri strain LBMAE-JZ-L1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Lentilactobacillus buc...	1537	1537	100%	0.0	100.00%	1217	MH545946.1
Lactobacillus buchneri strain 17 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Lentilactobacillus buc...	1537	1537	100%	0.0	100.00%	1076	MK514423.1
Lactobacillus buchneri strain 16 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Lentilactobacillus buc...	1537	1537	100%	0.0	100.00%	1086	MK514422.1
Lactobacillus buchneri strain Y1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	Lentilactobacillus buc...	1537	1537	100%	0.0	100.00%	1428	MN336224.1

Şekil 3.42. *Lactobacillus buchneri* izolatu dizisinin NCBI / BLAST taraması sonrası ekran görüntüsü.

Çalışmada sorgum bitkisi ve sorgum silaj örneklerinden izole edilen suşların genetik olarak ait oldukları tür gruplarının belirlenmesi sonrası mevcut dizilerin referans diziler ile benzerliklerini görselleştirmek için her bir bakteri grubu kendi referans dizileri tek tek karşılaştırılmış ve aşağıda örnek olarak verilmiştir (Şekil 3.43). Görselde LAB’lerinin 16S rRNA gen bölgesine ait diziler çift olarak karşılaştırarak benzerlikler hesaplanmış olup bu benzerlikler renk kodlu matrislerle görselleştirilmiştir. Bu görseller farklı dizilerin ilişkilerini daha anlaşılır bir şekilde gözlemlememize olanak sağlamaktadır. Görsellerin her biri

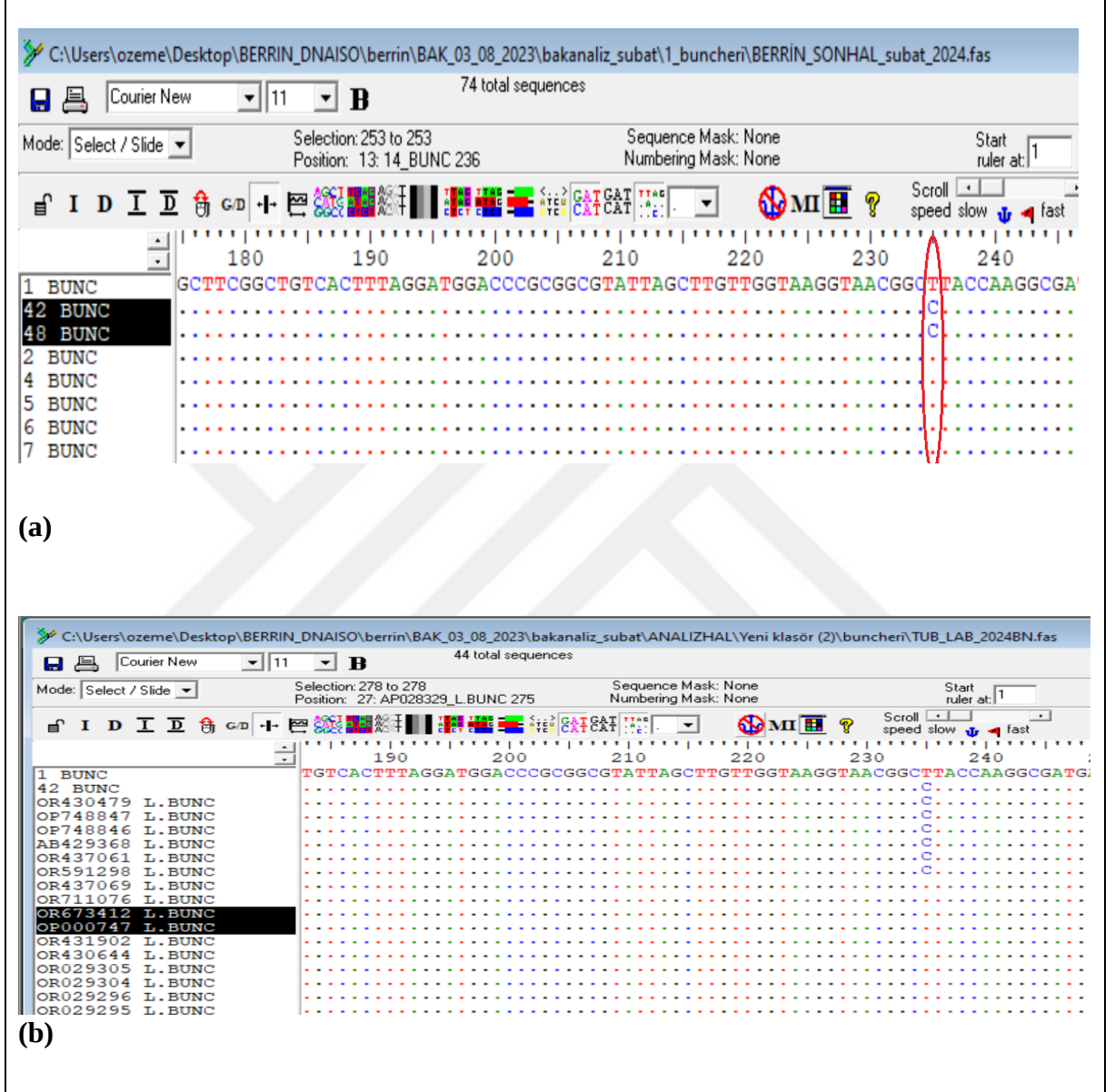
incelendiğinde çalışılan 16S rRNA gen bölgesinin tanımlanan bakteri türleri içerisindeki özdeşlik oranının %99-100 arasında değişim gösterdiği birkez daha ortaya konmuştur. Her bir tür içerisinde gözlemlenen nükleotid değişimleri ise aşağıda özetlenmiştir.



Şekil 3.43. *Lactobacillus buchneri* ve *Lactobacillus plantarum* türü bakterilerin referans veriler ile karşılaştırılması özdeşlik oranı görünümü.

Lactobacillus buchneri izolat grubunda (n=74 izolat) hizalama sonrası 235. nükleotidde T yerine C nükleotidi değişiminin (n=2 izolatta) görüldüğü, toplamda 2 farklı dizilimin söz konusu olduğu görülmektedir (Şekil 3.44.a). Farklılık gösteren 2 dizinin referans veriler ile karşılaştırılması sonrasında benzer nükleotid değişiminin görüldüğü

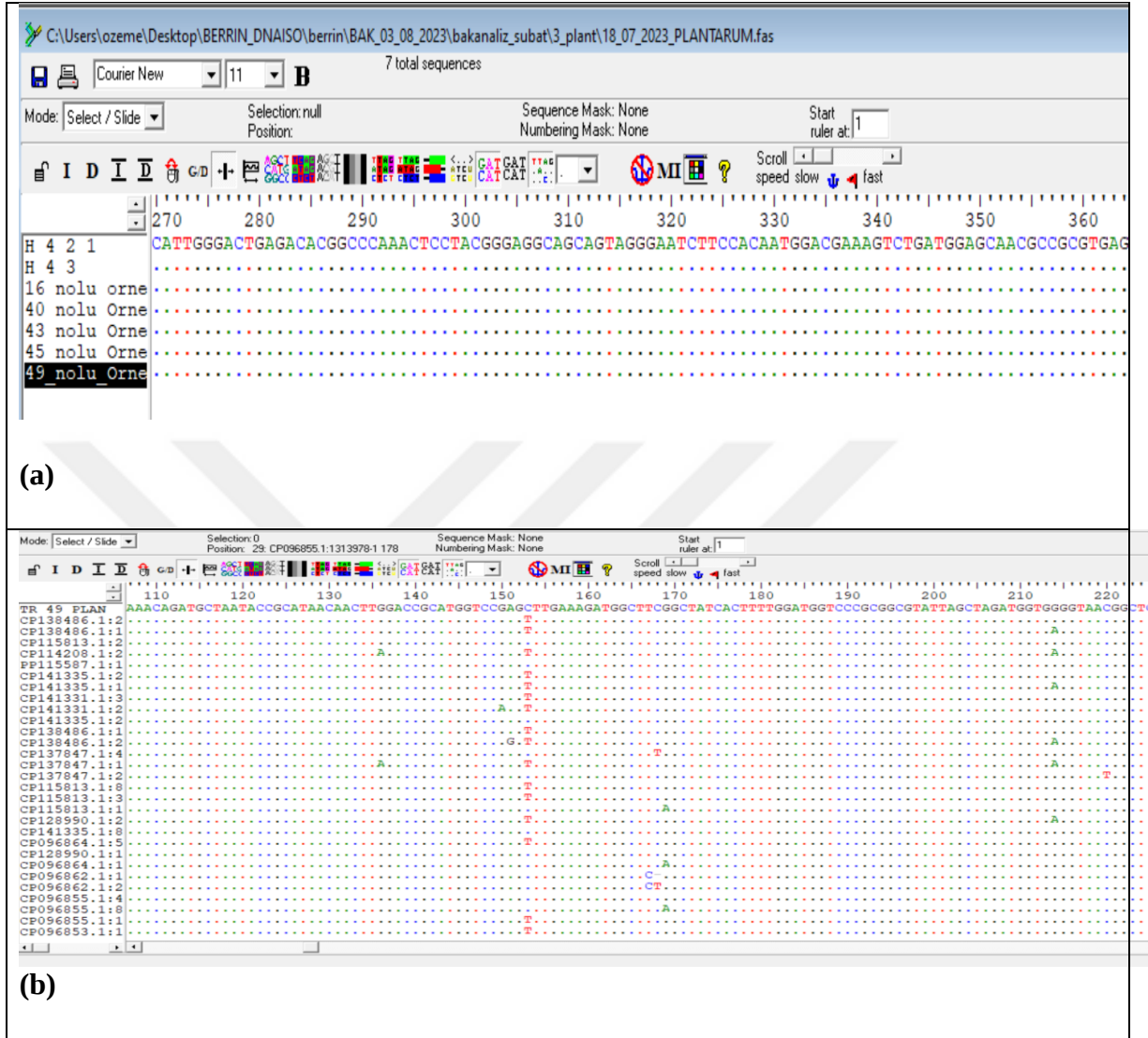
örnekler bulunmaktadır (Şekil 3.44.b). Referans diziler ile hizalama sonrasında çalışmamızda ve aynı zamanda referans sekanslarda *Lactobacillus buchneri* suşlarında yaygın olan grubun (T) nükleotidi içeren grup olduğu (n=72), (C) nükleotidini içeren grubun sayısal olarak daha az olduğu görülmektedir (n=2).



Şekil 3.44. a) Sorgum örneklerindeki *Lactobacillus buchneri* izolat grubu içerisinde 16S rRNA gen bölgesinde görülen nükleotid değişimi görüntüsü. b) Çalışmamızda sorgum örneklerinde gözlemlenen 2 farklı dizinin referans veriler ile karşılaştırılma görüntüsü

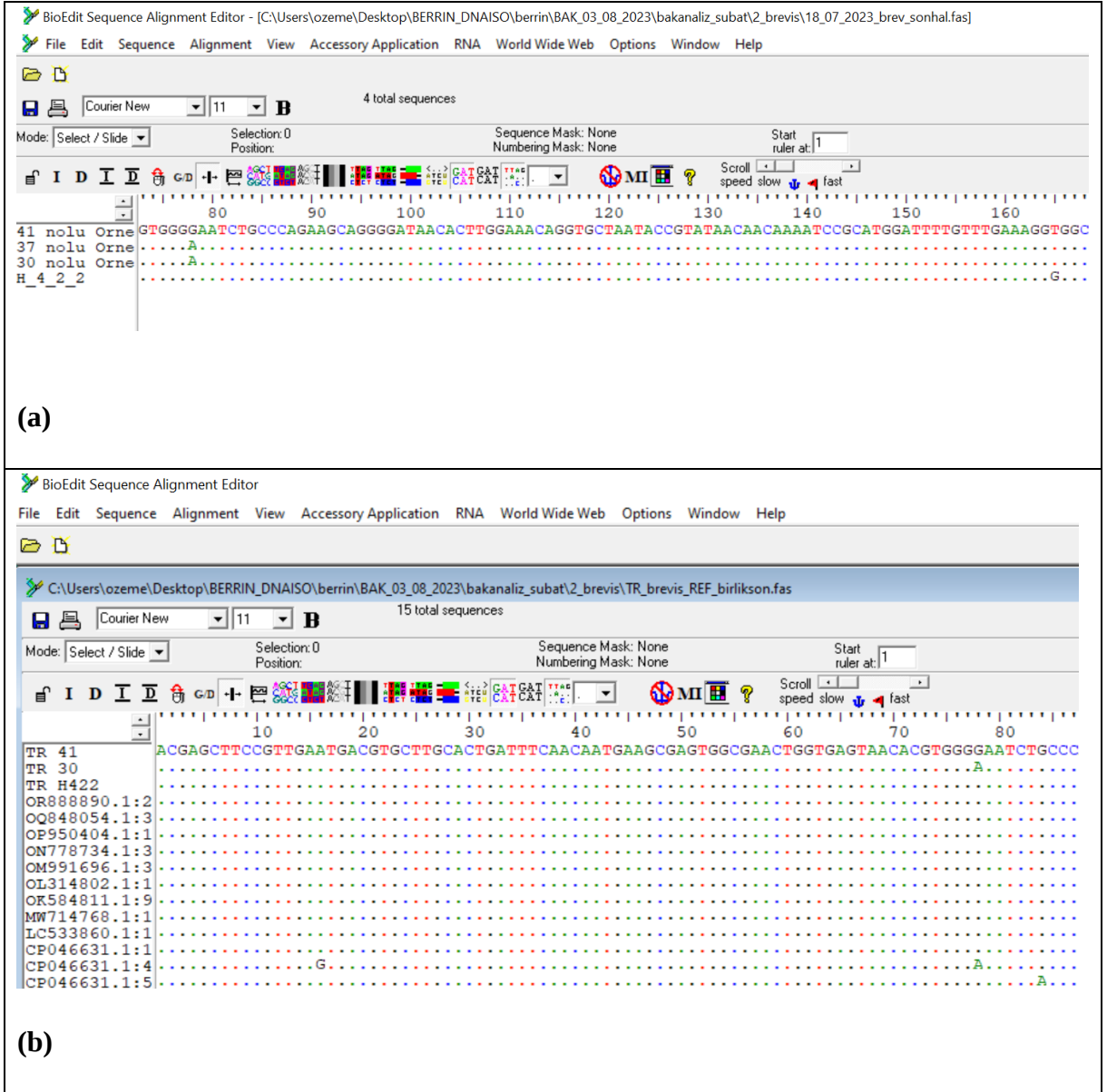
Lactobacillus plantarum izolat grubunda (n=7 izolat) hizalama sonrası taze sorgum ve sorgum silaj örneklerinden izole edilen örneklerde değişimin olmadığı tüm izolatların 16S rRNA gen bölgesi diziliminin (~850 bç) birbiri ile aynı olduğu gözlemlenmiştir. (Şekil 3.45.a). Dizinin referans veriler ile karşılaştırılması sonrasında aynı dizinin mevcut olduğu

örnekler olmakla birlikte farklılıkların görüldüğü şuşlarında yaygın olduğu görülmektedir (Şekil 3.45.b).



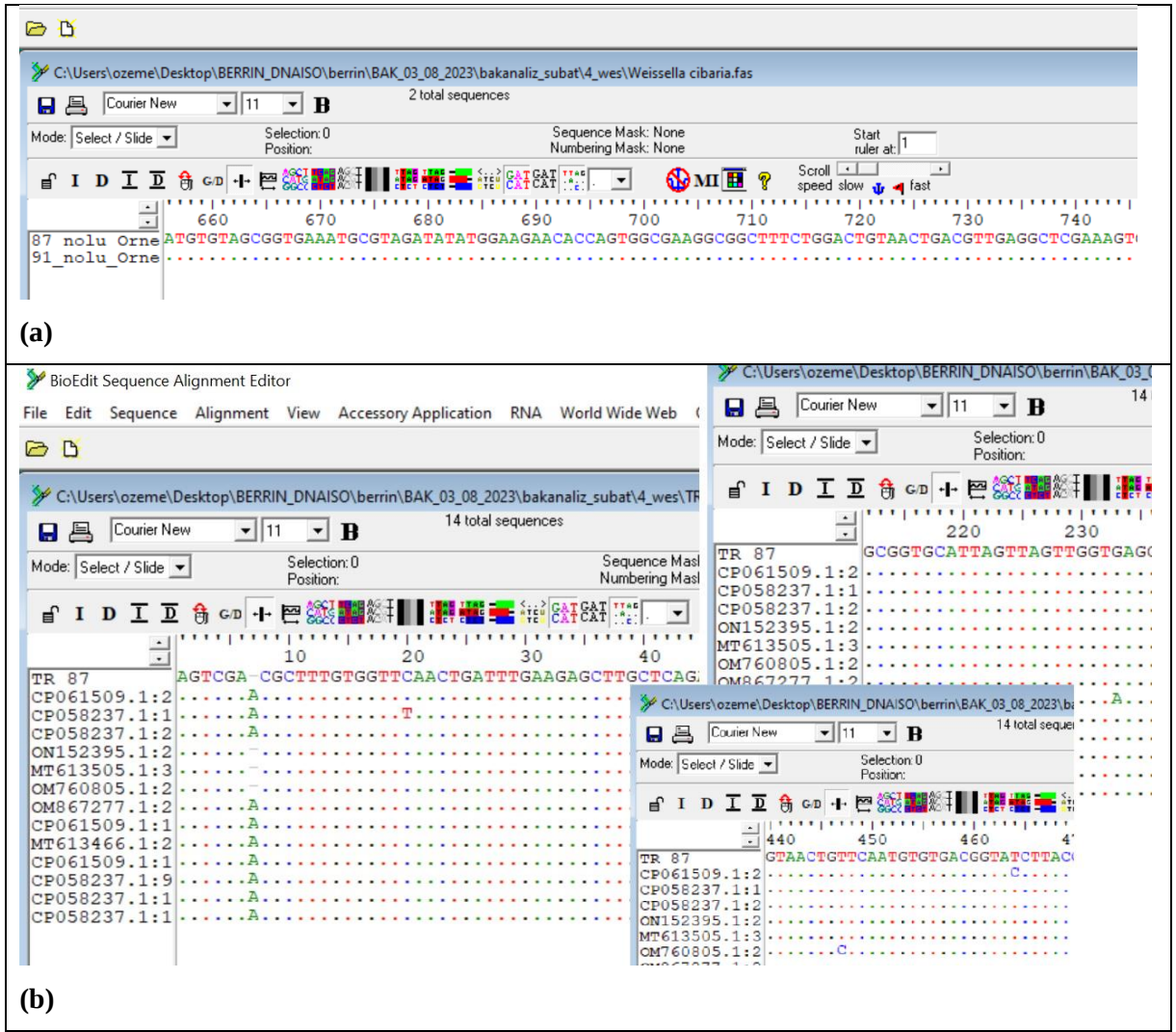
Şekil 3.45. a) Sorgum örneklerindeki *Lactobacillus plantarum* izolat grubu içerisinde 16S rRNA gen bölgesi görüntüsü. b) Çalışmamızda sorgum örneklerinde gözlemlenen tek dizinin referans veriler ile karşılaştırılma görüntüsü

Lactobacillus brevis izolat grubunda (n=4 izolat) hizalama sonrası 78. nükleotidte G yerine A nükleotid değişiminin (n=2 izolatta) görüldüğü, aynı zamanda diğer bir izolattada 165. nükleotidte T yerine G nükleotidi değişiminin (n=1 izolatta) görüldüğü belirlenmiştir (Şekil 3.46.a). Farklılık gösteren dizilerin referans veriler ile karşılaştırılması sonrasında benzer değişimin olduğu örneklerin bulunduğu (Şekil 3.46.b) görülmektedir. Hizalama sonuçlarının incelenmesi sonrasında çalışmamızda *Lactobacillus brevis* şuşlarında yaygın olan grubun (G) ve (T) nükleotidini içeren grubun olduğu, A ve G nükleotidini içerenlerin ise sayısal olarak daha az olduğu görülmektedir.



Şekil 3.46. a) Sorgum örneklerindeki *Lactobacillus brevis* izolat grubu içerisinde 16S rRNA gen bölgesi görüntüsü. b) Çalışmamızda sorgum örneklerinde gözlemlenen tek dizinin referans veriler ile karşılaştırılma görüntüsü

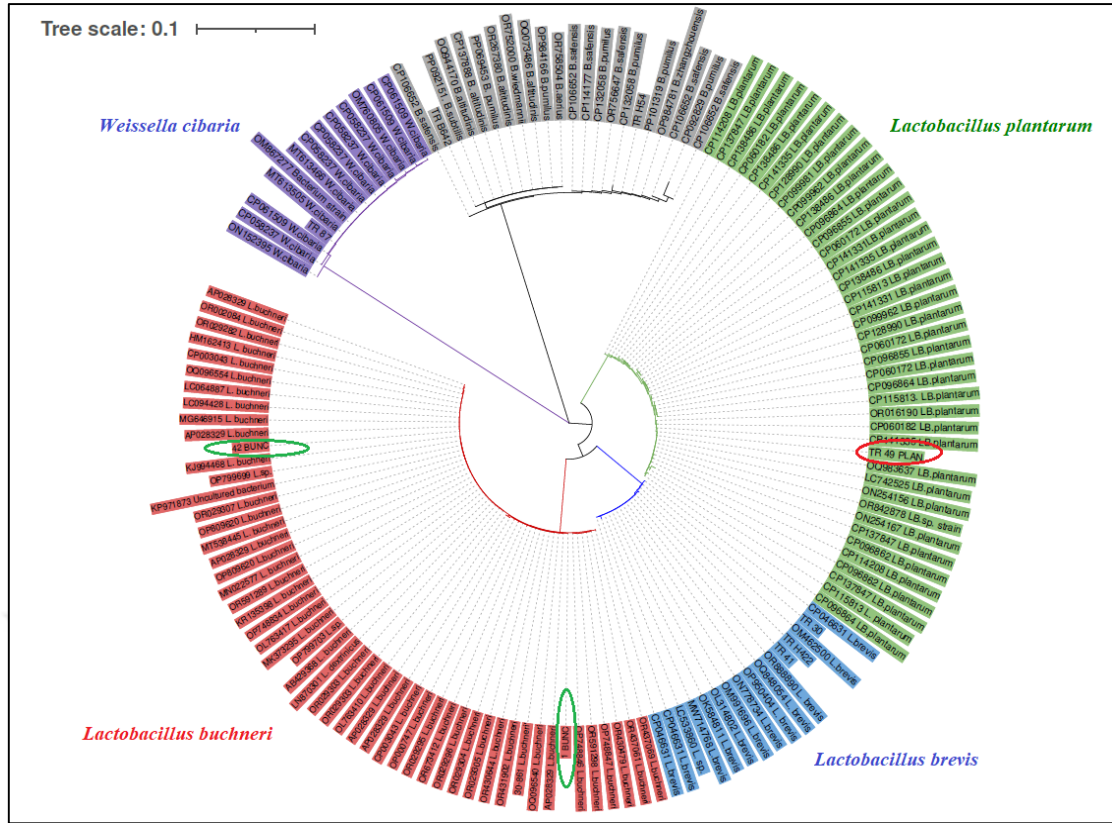
Taze sorgum bitkisinden izole edilen epifitik *Weissella cibaria* izolat grubunda (n=2 izolat) hizalama sonrası örneklerde hiçbir değişimin olmadığı her iki suşun 16S rRNA gen bölgesi diziliminin (~850 bp) birbiri ile aynı olduğu gözlemlenmiştir. (Şekil 3.47.a). Dizinin referans veriler ile karşılaştırılması sonrasında aynı dizinin mevcut olduğu örnekler olmakla birlikte bazı noktalarda nükleotid farklılıklarının görüldüğü şuşların olduğu görülmektedir (Şekil 3.47.b).



Şekil 3.47. a) Sorgum bitkisi örneklerindeki *Weissella cibaria* suşu 16S rRNA gen bölgesi görüntüsü. b) Çalışmamızda sorgum bitkisi örneklerinde gözlemlenen tek dizinin referans veriler ile karşılaştırılma görüntüsü.

Çalışmada sorgum silajı örneklerinde izole edilen *Bacillus* türündeki suşlar LAB'si grubunda olmaması nedeni ile ayrıntılı değişimler irlenmemiştir. Ancak referans veriler ile karşılaştırılması sonrasında *Bacillus safensis*, *Bacillus pumilus* ve *Bacillus zhangzhouensis* türündeki bakteriler ile özdeşleştiği (%99-100 arası) belirlenmiştir.

Çalışmada elde edilen verilerin hizalanması ve referans veriler ile karşılaştırılması sonrasında farklı türler arasındaki genetik ilişkilerin ortaya konması amacıyla filogenetik ağaç çizimi yapılmıştır. Filogenetik ağaçlar, farklı taksonlar (örneğin türler veya diziler) arasındaki evrimsel ilişkileri göstermektedir. Elde edilen veriler ile oluşturulan filogenetik ağaç incelendiğinde, tüm izolatların yüksek seviyede ayrılmış olduğu ve referans suşlar ile 5 farklı grupta toplandıkları görülmüştür (Şekil 3.48).



Şekil 3.48. Taze sorgum ve sorgum silajı örneklerinden izole edilen LAB'lerinin 16S rRNA gen bölgesi dizilerine dayanan NJ (neighbour-joining) filogenetik ağacı.

4. TARTIŞMA

Silaj kalitesine ilişkin araştırmaların iki ana hedefi yemdeki besin maddesi kaybını en aza indirmek ve aerobik stabiliteyi iyileştirmektir. Bu hedefleri gerçekleştirmek için, fungal gelişimi engelleyen ve silajda ikincil fermantasyonun neden olduğu bozunmaya karşı koruma sağlayacak uygun katkı maddelerinin seçilmesi oldukça önemlidir. Silaj kalitesinin artırılması için çeşitli katkı maddeleri geliştirilmiştir. Başta mikrobiyal katkı maddeleri olmak üzere biyolojik katkı maddeleri, LA fermantasyonunu teşvik etmek, pH'daki azalmayı hızlandırmak ve silajın korunmasını artırmak amacıyla silolamada sıklıkla kullanılmaktadır. Bu çalışmada, sorgum silajı için ideal bir LAB bulmak amacıyla, homofermentatif/heterofermentatif LAB suşlarının tek veya kombinasyonlarının ilavesinin sorgum silajlarının besin maddeleri bileşimine, fermantasyon özelliklerine, mikrobiyal yapı, aerobik stabilite ve hücre duvarı bileşenleri ile *in vitro* kuru madde ve organik madde sindirilebilirliği üzerine olan etkileri araştırılmıştır.

Silolama öncesi sorgum bitkilerinin (BMR Gold 2, Es Hyperion, Greengo) KM içerikleri sırasıyla 327,24; 315,65 ve 327,23 g/kg olarak belirlenmiştir. McDonald ve arkadaşları (1991), silolanan yemde yeterli fermantasyonun sağlanabilmesi için en uygun KM içeriğinin 300-350 g/kg arasında olması gerektiğini bildirmektedirler. Abdelhadi ve Tricarico (2009), tane sorgumun silolanmasını değerlendirdikleri çalışmalarında, ortalama KM içeriğini 295 g/kg, Cattani vd. (2016), farklı sorgum hibritlerini değerlendirdikleri çalışmalarında ise tane, yemlik ve tatlı sorgum hibritleri için KM içeriğini sırasıyla 324, 245 ve 247 g/kg olarak bildirmişlerdir. Perazzo vd. (2014), Brezilya'nın yarı kurak bölgesinde yetiştirilen 32 sorgum çeşidinin (*Sorghum bicolor* (L). Moench) agronomik özelliklerini inceledikleri çalışmalarında KM içeriklerinin 193,8 ile 332,5 g/kg arasında değiştiğini bildirmektedir. Teller vd. (2021), 3 olgunluk döneminde (süt olum, hamur olum, tam olum) hasat ettiği 6 farklı sorgum çeşitlerinin KM içerikleri 222-327 g/kg arasında değiştiğini, 120 günlük fermantasyon sonrasında sorgum silajlarının KM içeriklerinin 214-310 g/kg arasında olduğunu belirlemişlerdir. Pupo vd. (2022), 2008'den 2019'a kadar Florida'da yetiştirilen 437 çeşit sorgum bitkisinin besin maddeleri ve verimlilik üzerine etkilerini inceledikleri çalışmalarında, KM içerikleri ilkbahar ve yaz ayları için sırasıyla 309 ve 289 g/kg, yemlik sorgum ve sorgum-sudan otu için 300 ve 297 g/kg, BMR ve BMR olmayan özellikler için ise 297 ve 301 g/kg olduğunu bildirmektedirler. Sorgum silajlarının KM içerikleri 292,41-327,45 g/kg arasında değişmiştir. Fermantasyonun tüm dönemlerinde BMR GOLD 2 grubuna ait silajlarda en

yüksek, Es Hyperion grubu silajlarda ise en düşük KM içeriğine sahip olduğu belirlenmiştir ($P<0,05$). Laktik asit bakteri inokulantlarının fermentasyonun 16. günü hariç diğer açım günlerinde sorgum silajının KM içeriğini etkilemediği görülmektedir ($P>0,05$). Kaplan (2013) hamur olum döneminde hasat ettikleri beş sorgum çeşidini altmış günlük fermentasyon sonrasında elde edilen silajların KM içeriklerinin 209,3 ile 307,5 g/kg arasında olduğunu saptamıştır. Assis Pires vd. (2023)'nin ^{HM+HT}LAB (*L. plantarum* ve *L. buchneri*) ve dos Anjos vd. (2018) ^{HM}LAB (*L. plantarum* ve *P. acidipropionici*) inokulant ilave edilen sorgum silajlarının KM içeriğini etkilemediğini belirlemişlerdir. Bu çalışmada, fermentasyon ilerledikçe silajdaki mikroorganizmaların faaliyetleri nedeniyle KM içerikleri silolama öncesinden daha düşük seviyelerde olduğu belirlenmiştir. Konuya ilişkin benzer bulgular Wang vd. (2012) ve Teller vd. (2021) tarafından yapılan çalışmalarda da gözlenmiştir.

Silolama öncesi sorgum bitkilerinin (BMR Gold 2, Es Hyperion, Greengo) pH'sı sırasıyla 5,62; 5,70 ve 6,14 olarak bulunurken, fermentasyonun 2. gününden itibaren tüm silajların pH'sı azalmaya başlamıştır. Fermentasyonun 2. gününde silajların pH'sı 4,23-4,73 arasında değişmiştir. Tüm silajların pH'sı fermentasyonun 4., 8., 16. ve 60. günlerinde de düşmeye devam etmiştir. Sorgum silajı düşük tamponlama kapasitesine sahiptir (Ferrero vd., 2018), bu da fermentasyonun ilk günlerinde pH'nın hızlı bir şekilde düşmesini sağlar. Silaj fermentasyonu için en kritik zaman aralığının silolamanın birinci haftası olduğunu belirten McDonald vd. (1991), ortamdaki O₂'nin tükenmesi ile birlikte istenilen düşük pH değerlerine ulaşıldığında silajın stabil döneme girdiğini ifade etmişlerdir. Kung ve Shaver (2001) kaliteli bir silajda optimum pH'nın 3,7 ile 4,2 aralığında bulunması gerektiğini belirtmektedir. Nitekim her üç çeşit sorgum silajının pH değerleri kaliteli bir silaj için gerekli olan ortam pH'sına ulaşıldığını, en düşük pH değerinin Es Hyperion sorgum silajında belirlenmiştir. Fermentasyon süresince sorgum silajlarının pH'sında meydana gelen azalma, ^{HM}LAB inokulantlarının kullanıldığı silajlarda daha fazla olmuştur ($P<0,05$). Fermentasyonun 8., 16. ve 60. günlerinde ^{HT}LAB grubu silajlarının pH'sı kontrol grubu ile ^{HM}LAB ve ^{HM+HT}LAB grubundaki silajlardan daha yüksek bulunmuştur ($P<0,05$). Bu durum ^{HT}LAB'nin ^{HM}LAB'ne göre daha az miktarda LA üretmesiyle açıklanabilir. Nitekim fermentasyon dönemi boyunca ^{HT}LAB inokulantlarının kullanıldığı silajlardaki LA düzeyleri bu olguyu destekler niteliktedir (Çizelge 3.9). Kleinschmit ve Kung (2006) ile Oude Elferink vd. (2001), ^{HT}LAB kullanılan silajların LA'ı AA, 1,2-propandiol (1,2PD) ve etanole dönüştürmesi nedeniyle genellikle kontrol grubu silajından 0,1-0,2 birim pH değerinin daha yüksek olduğunu bildirmektedirler. Konuyla ilgili yürütülen çeşitli çalışmalarda ^{HT}LAB inokulantlarının genellikle silajların

pH'sını daha geç düşürdüğü (Danner vd., 2003; Ranjit vd., 2002), ^{HM}LAB inokulantlarının ise pH'yı daha hızlı düşürdüğü belirtilmektedir (Filya vd., 2004a; Kim vd., 2005).

Silolama öncesi sorgum bitkilerinin (BMR Gold 2, Es Hyperion, Greengo) SÇK içeriği sırasıyla 201,64; 278,51 ve 230,42 g/kg KM olarak saptanmıştır. Laktik asit üretiminden sorumlu LAB'nin gelişimini destekleyerek pH değerinin azalmasına (Kung vd., 2018) neden olan önemli düzeyde SÇK'a (Ferrero vd., 2018) sahiptir. Horvey (2003), iyi bir silaj fermentasyonu için en az 60 ile 120 g/kg KM arasında SÇK bulunması gerektiğini bildirmiştir. Bu çalışmada, tüm sorgum çeşitlerinin başlangıçtaki SÇK miktarı Horvey (2003) tarafından bildirilen aralıktan (60-120 g/kg KM) daha yüksek düzeyde olduğu görülmektedir. Suda çözünebilir karbonhidratlar, bitkilerde bulunan fruktoz, glukoz, sukroz ve fruktozanlar gibi şekerleri içermektedir (Kung, 2000). Şeker ve nişastadan elde edilen çözünebilir karbonhidratlara, fermentasyon sürecinde LA üretmek için LAB tarafından da ihtiyaç duyulmaktadır (Downing vd., 2008; Kung, 2000). Homofermentatif ve heterofermentatif mikroorganizmalar tarafından fermentasyon sırasında büyüme için enerji kaynağı olarak SÇK kullanılır (Kung, 2000). Sorgum silajlarının SÇK içerikleri fermentasyon dönemi içerisinde 27,62-255,3 g/kg KM arasında değişmiştir. Fermentasyonun tüm dönemlerinde yapılan silajların SÇK içerikleri düşme eğilimi göstermiştir. Laktik asit bakterileri SÇK'yı LA'e dönüştürerek ortamın pH değerini düşürür (Wang vd., 2020). Taze sorgum bitkisinin SÇK içerikleri ile karşılaştırıldığında sorgum silajlarında kalıntı SÇK önemli miktarda azalmıştır. Silolama süresinin sonunda (60. gün), ^{HT}LAB silajlarının ise SÇK içeriklerinin diğer silajlara göre daha hızlı düşürdüğü ve ^{HM}LAB silajlarının da daha fazla kalıntı SÇK içerdiği görülmüştür. Filya (2002a) ^{HM}LAB ilavesinin mısır silajının SÇK içeriğini yükselttiğini bildirirken, Kleinschmit ve Kung (2006a) ^{HT}LAB ilavesinin, Filya vd., (2004a, 2006) ise ^{HM}LAB ilavesinin silajların SÇK içeriklerini etkilemediğini belirtmişlerdir.

Silolama öncesi sorgum bitkilerinin (Bmr Gold 2, Es Hyperion, Greengo) HK içeriği sırasıyla 52,79; 51,10 ve 64,25 g/kg KM olarak saptanmıştır. Asbell vd. (2001), farklı olgunlaşma dönemlerinde hasat edilen yemlik sorgumun HK içeriklerini çiçeklenme, süt ve hamur olum döneminde sırasıyla 58, 60 ve 48 g/kg KM olarak bildirmektedirler. Ayup vd. (2012) yedi farklı sorgum çeşidinin HK içeriklerini 83,0-96,0 g/kg arasında saptamışlardır. Behling Neto vd. (2017) altı adet farklı amaçla yetiştirilen sorgum çeşitlerinin (dane, yemlik ve tatlı sorgum) HK içeriklerinin 77,0-109,4 g/kg arasında değiştiğini bildirmektedirler. Harmini vd. (2022) dört farklı sorgum çeşitlerinin HK içeriklerini 82,5-91,1 g/kg arasında

bulmuşlardır. Bu çalışmada HK içeriklerine ilişkin elde edilen sonuçlar Asbell vd. (2001)'in bildirimleriyle uyumlu olurken, Ayup vd. (2012), Behling Neto vd. (2017) ile Harmini vd. (2022)'nin bildirimlerinden daha düşük bulunmuştur. Sorgum silajlarının HK içerikleri sırasıyla 50,17–66,59 g/kg KM arasında değişmiştir. Behling Neto vd. (2017) altı adet farklı amaçla yetiştirilen sorgum çeşitlerinden (dane, yemlik ve tatlı sorgum) elde ettikleri silajların HK içeriklerinin 64,7-93,5 g/kg arasında değiştiğini bildirmektedirler. Sorgum silajında fermentasyonun 2. ve 16. gününde ^{HT}LAB grubunda ve 60. gününde ise ^{HT}LAB ve ^{HM+HT}LAB kullanılan silajlarda HK içerikleri diğer silajlara göre daha yüksek saptanmıştır. Bu durum ^{HT}LAB inokulantının yüksek kül içeriğine sahip olmasından kaynaklanmaktadır. Konuya ilişkin benzer bulgular Kung ve Muck (1997), Sucu ve Filya (2006) tarafından yapılan çalışmalarda da elde edilmiştir. Söz konusu araştırmalarda da ^{HT}LAB inokulantlarının sorgum silajlarının HK içeriklerinde artışa, fermentasyonun ileri günlerinde ^{HM}LAB inokulantlarının silajların HK içeriklerinde artış meydana getirdiği belirlenmiştir.

Silolama öncesi sorgum bitkilerinin (BMR Gold 2, Es Hyperion, Greengo) HP içeriği sırasıyla 67,49; 60,83 ve 60,45 g/kg KM olarak saptanmıştır. Teller vd. (2021), 3 farklı olgunluk döneminde (süt olum, hamur olum, tam olum) hasat ettiği 6 farklı sorgum çeşitlerinin ortalama HP içeriklerinin 60,3-85,1 g/kg arasında değiştiğini bildirmektedirler. Pupo vd. (2022), ilkbaharda hasat edilen BMR ve BMR olmayan yemlik sorgum çeşitleri için ortalama HP içeriklerini sırasıyla 76,3 ve 66,8 g/kg KM, yazın hasat edilenler için ise 70,5 ve 67,7 g/kg KM olduğunu bildirmektedirler. McCollum vd. (2005), BMR hibritlerinin BMR olmayan hibritlere göre yaklaşık %0,6 birim daha fazla HP içeriğine sahip olduğunu, çünkü BMR bitkilerinin sorgumda HP'nin ana kaynağı olan yaprak oranının daha yüksek olduğunu bildirmiştir. Sorgum silajlarının HP içerikleri sırasıyla 52,22–62,48 g/kg KM arasında değişmiştir. Fermentasyonun tüm dönemlerinde BMR GOLD 2 diğer çeşitlerden daha yüksek HP içeriğine sahip olmuştur. Pinho vd. (2015), hamur olum dönemi başlangıcında hasat ettikleri 5 farklı sorgum çeşitlerinden elde ettikleri silajların HP içeriklerinin 49,1 ile 69,4 g/kg KM arasında olduğunu saptamışlardır. Bu çalışmada HP içeriklerine ilişkin elde edilen sonuçlar benzer konuda yapılan çalışmalar ile uyumlu bulunmuştur (McCollum vd., 2005; Pinho vd., 2015). Bu çalışmada, LAB inokulantlarının HP içerikleri üzerindeki etkileri fermentasyonun 4. ve 8. günlerinde kontrol silajına göre önemsiz bulunmuş, fermentasyonun 2. ve 16. gününde ^{HT}LAB grubunda ve 60. gününde ise ^{HT}LAB ve ^{HM+HT}LAB kullanılan silajlarda HP içerikleri diğer silajlara göre daha yüksek saptanmıştır. Konuya ilişkin benzer bulgular Kung ve Muck (1997), Sucu ve Filya (2006) tarafından yapılan çalışmalarda da elde

edilmiştir. Söz konusu araştırmalarda da ^{HT}LAB inokulantlarının sorgum silajlarının HP içeriklerinde artış, ancak fermentasyonun ileri günlerinde ^{HM}LAB inokulantlarının silajların HP içeriklerinde artış meydana getirdiği belirlenmiştir.

Bitkinin hasat edilmesinden sonra gerçekleşen en önemli aktivite proteoliz sürecidir. Bu süreçte bitkide bulunan proteinler proteaz enzimleri aracılığıyla başta amino asitler ve amonyak olmak üzere peptid ve amidlere kadar parçalanırlar (Filya, 2001). Bu nedenle silajlarda NH₃-N oluşumu proteinlerin parçalanma düzeylerini ortaya koyan önemli bir göstergedir. Sorgum silajlarının NH₃-N miktarları 16,56-69,40 g/kg TN arasında değişmiş ve fermentasyon süresinin ilerlemesine bağlı olarak silajlarının NH₃-N içerikleri de yükselme eğilimi göstermiştir. Fermentasyonun tüm dönemlerinde en düşük NH₃-N içerikleri ^{HM}LAB silajında olurken, en yüksek NH₃-N içerikleri kontrol silajında saptanmıştır. ^{HT}LAB ve ^{HM+HT}LAB ilave edilen silajların NH₃-N içerikleri kontrol silajından düşük, ^{HM}LAB silajından ise yüksek bulunmuştur. ^{HM}LAB grubu silajında pH'nın diğer gruplara göre daha hızlı düşmesi, bitki proteaz aktivitesini ve silajda istenmeyen *Clostridial* mikroorganizmaların gelişimini engellemiştir. Sonuç olarak, azalan proteoliz ile birlikte ^{HM}LAB grubu silajında daha düşük NH₃-N oluşumu gözlenmiştir. McDonald vd. (1991) kaliteli bir silajda NH₃-N içeriklerinin 100 g/kg TN'in üzerinde olmaması gerektiğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada silajların tümünde NH₃-N miktarları söz konusu sınır değerinin altında bulunmuş ve bu parametre bakımından iyi kalitede oldukları tespit edilmiştir.

Laktik asit silajın korunmasında önemli bir asit olup iyi korunmuş bir silajda baskın olmalıdır (Kung ve Stokes, 2005). Kaliteli bir silajda başlıca fermentasyon ürünü LA'dır ve toplam silaj asitlerinin en az %65 ila 70'ini LA oluşturmalıdır. Bu asit silajdaki diğer asitlerden (AA, PA ve BA) daha güçlü olduğundan genellikle silaj pH'sındaki düşüşün önemli bir bölümünden sorumludur. Ayrıca, LA üreten fermentasyonlar, silolama sırasında bitkide en az KM ve enerji kaybına neden olur. Silolama öncesi sorgum bitkilerinin (BMR Gold 2, Es Hyperion, Greengo) LA içerikleri sırasıyla 15,03; 28,15 ve 21,78 g/kg KM olarak saptandığı araştırmada, fermentasyon süresince silajların LA miktarları 29,70–254,47 g/kg KM arasında değişmiştir. Kung vd. (2018), düşük KM'li silajlarda LA içeriklerinin daha yüksek olabileceğini bildirmektedir. Nitekim, Es Hyperion çeşidinde KM içeriğinin diğer çeşitlerden daha düşük olması homolaktik LAB gelişimine yol açarak daha fazla LA oluşumunu desteklemiştir. Bu çalışmada, ^{HM}LAB inokulantları ortamda bulunan SÇK'ları fermente ederek daha fazla LA üretmiş ve daha asidik bir ortam yaratmışlardır. Laktik asit miktarındaki

artış toplam asit miktarına da yansımaktadır. Çünkü LA, LAB tarafından üretilen ana asittir (Kung vd., 2018). Heterofermentatif LAB ile inoküle edilen silajlardaki en düşük LA konsantrasyonu, ^{HT}LAB ve ^{HM}LAB'nin metabolik farklılıklarının bir sonucu olabilir. *Lactobacillus plantarum* (^{HM}LAB) glikozun fermentasyonu ile silajda gelişen ve LA üretebilen fakültatif heterofermentatif suşlara sahiptir (Kung vd., 2018). Zorunlu heterofermentatif olan *L. buchneri* (^{HT}LAB)'in ise LA üretimi daha az olurken, AA üretimi daha fazladır. Nishino vd. (2003) yaptıkları çalışmalarında ^{HT}LAB kullanılan mısır silajlarında LA miktarlarında fermentasyon süresinin ilerlemesiyle düşme eğilimi olduğunu tespit etmişlerdir. Araştırmacılar, fermentasyonun 60. gününde kontrol grubu ve ^{HT}LAB mısır silajlarda LA içeriklerinin sırasıyla 74,2 ve 50,4 g/kg KM, 120. gününde ise 61,1 ve 37,3 g/kg KM olarak belirlemişlerdir. Filya vd. (2004) ve Alhaag vd. (2019), sorgum silajına ^{HM}LAB (*L. plantarum*) uygulamasının LA içeriğini önemli düzeyde artırdığını bildirmiştir. Paradhita vd. (2019), iki sorgum sudan otu çeşidine (SX-17 ve Speed-up) ^{HM+HT}LAB (*L. buchneri*+*L. plantarum*) kullandıkları çalışmalarında, fermentasyonun 60. gününde kontrol grubu ve ^{HM+HT}LAB kullanılan SX-17 çeşidi sorgum sudan otu silajında sırasıyla 20,8 ve 1,81 g/kg KM, Speed-up çeşidi sorgum sudan otu silajında ise 18,9 ve 18,1 g/kg KM olduğunu tespit etmişlerdir. Araştırmacılar silajlarda ^{HM+HT}LAB kullanımının LA içeriklerini önemli düzeyde düşürdüğünü bildirmektedir. Benzer düşüşler Diepersloot vd. (2021) tarafından da tespit edilmiş olup, sorgum silajının LA miktarları kontrol grubu ve ^{HM+HT}LAB (*L. buchneri*+*L. plantarum*+*L. diolivorans*) kullanılan silajlarda sırasıyla 90 ve 84 g/kg KM olarak belirlenmiştir.

Selgar (2003), fermentasyonun erken dönemlerinde anaerobik heterofermentatif bakterilerinin az miktarda AA ürettiğini bildirmektedir. Ancak üretilen AA içerikleri bitkinin olgunluğuna, KM'sine ve hasat edilen bitkideki epifitik bakteri popülasyonuna bağlıdır (Seglar, 2003). Silolama öncesi sorgum bitkilerinin (BMR Gold 2, Es Hyperion, Greengo) AA içerikleri sırasıyla 8,75; 4,88 ve 7,56 g/kg KM olarak saptandığı çalışmada, fermentasyon süresince silajların AA miktarları 29,70–254,47 g/kg KM arasında değişmiştir. Laktik asit bakterilerinin fermentasyonu ile SÇK'lar, başta LA olmak üzere AA, etanol ve CO₂'e dönüşürler. Bunlardan ^{HM}LAB glukoz ve diğer 6 karbonlu şekerleri %85'in üzerinde bir oranda LA'ye fermente ederken (Limsowtin vd., 2003), ^{HT}LAB ve/veya arzu edilmeyen diğer bakterilerin fermentasyonu (Kung vd., 2018); LA'lerin AA ve 1,2-propandiole (Oude Elferink vd., 2001) ya da etanolün AA'ye dönüştürülmesiyle (Bruning ve Yokoyama, 1988) oluşabilmektedir. Bu nedenle, ^{HM}LAB inokulantlarının fermentasyon süresince daha az AA

üretmiş olmaları ve ^{HT}LAB inokulantlarının AA üretimini artırmış olmaları beklenen bir sonuçtur. Adesogan ve Salawu (2004)'nın bezelye+buğday silajında ile Kleinschmit ve Kung (2006)'nin mısır silajında ^{HT}LAB (*L. buchneri*) uygulamasının silajların AA miktarlarını kontrol grubuna göre artırdığını belirlemişlerdir. Bu çalışmada AA içeriklerine ilişkin elde edilen sonuçlar benzer konuda yapılan çalışmalar ile uyumlu bulunmuştur (Davies, 1996; Driehuis vd., 1999; Kung vd., 2007; Pinho vd., 2015; Shayan vd., 1996).

Araştırmada fermantasyon süresince kontrol grubu da dahil olmak üzere silajların hiçbirinde BA oluşumu saptanmamıştır. Maya, küf, enterobakteriler ve basiller gibi silajın bozulmasına neden olan mikroorganizmaların gelişimi, silaj fermantasyonunun son ürünleri (organik asitler) tarafından engellenir. Silaj fermantasyonu sonucu oluşan organik asitlerin (AA, PA ve BA) maya ve küfler gelişimini engelleyici etkileri asidin zincir uzunluğu arttıkça artar (Woolford, 1975). Silaj fermantasyonu sırasında üretilen başlıca uçucu yağ asitlerinden, dört karbonlu bir bileşik olan BA silajın bozulmasına neden olan mikroorganizmalar üzerinde LA, AA veya PA'lerden daha büyük bir önleyici etkiye sahiptir. Bununla birlikte, artan BA üretimi proteinlerin ve amino asitlerin *Clostridia* tarafından besleme değeri daha düşük çeşitli ürünlere parçalanmasının bir yansımasıdır ve bu nedenle kötü kaliteli bir silajın ayırt edici özelliğidir (McDonald 1981; Woolford 1984; 1991). Bu tür silajların çözünür protein içerikleri de yüksek olabilmektedir. Ayrıca hayvan performansını olumsuz etkilediği gösterilen amin adı verilen küçük protein bileşiklerini içermektedirler. Silajın yüksek oranda BA (>5.0 g/kg KM) içermesi, *Clostridia* fermantasyonu geçirdiğinin bir göstergesidir. Bütirik asit oranı yüksek silajların besin değeri genellikle düşüktür ve çözünebilir besin maddelerinin çoğu parçalandığı için ADF ve NDF seviyeleri de daha yüksek olmaktadır. Araştırmada fermantasyon süresince kontrol grubu da dahil olmak üzere silajların hiçbirinde BA oluşumu saptanmamıştır. Silajlarda BA oluşmamış olması fermantasyonun ilk günlerinden itibaren solunum olayının tamamen durduğunu ve anaerobik koşulların sağlandığını göstergesidir.

Silolama öncesi sorgum bitkilerinin (BMR Gold 2, Es Hyperion, Greengo) PA içerikleri sırasıyla 0,10; 0,15 ve 0,10 g/kg KM olarak saptandığı araştırmada, fermantasyon süresince silajların PA miktarları 0,10–0,70 g/kg KM arasında değişmiştir. Moon (1993), PA'in aside toleranslı mayaların büyümesini AA'ten daha fazla engellediğini ve bu asitlerin bir kombinasyonunun daha etkili olduğunu göstermiştir. Diğer yandan söz konusu ürünlerin silajlarda her zaman gözlenemediği veya çok düşük miktarlarda (3-5 g/kg KM) *Clostridial* fermantasyonun (*Clostridium propionicum*) bir sonucu olarak bulunduğu belirtilmektedir.

(Kung vd., 2018). Propiyonik asit özellikle KM içeriği yüksek silajlarda tespit edilememektedir. Nitekim silajların tümünde PA miktarı söz konusu değerlerin altında saptanmıştır. Asetik asit ile karşılaştırıldığında, silajın aerobik stabilitesini kayda değer ölçüde iyileştirmek için PA miktarlarının genellikle çok düşük olduğunu bildirmektedir. Ancak ^{HT}LAB (*L. buchneri*) kullanılan silajlarda 1-propanol ve PA'nın oluşabileceği kaydedilmiştir (Driehuis vd., 1999; Oude-Elferink vd., 2001). Bu nedenle Holzer vd. (2003) *L. buchneri* ve *L. parabuchneri*'nin metabolizmaları ile ilgili daha detaylı araştırmaların yapılması gerektiği belirtmektedir.

Bu çalışmada ^{HM}LAB (*L. plantarum*), ^{HT}LAB (*L. buchneri*) ve ^{HM+HT}LAB (*L. plantarum*+ *L. buchneri*) inokulantının sorgum silajının mikrobiyolojisi üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Silolama öncesi sorgum bitkilerinin (BMR Gold 2, Es Hyperion, Greengo) *Lactobacilli* popülasyonu sırasıyla 6,00; 6,04 ve 5,29 kob/g KM olarak saptandığı araştırmada, fermantasyon süresince silajların *Lactobacilli* popülasyonu 6.12-8.72 kob/g KM arasında değişmiştir. BMR Gold sorgum silajlarda *Lactobacilli* popülasyonu silolama süresi ile birlikte kademeli olarak artmış, daha sonra azalmış ve en yüksek değer silolamanın 8. gününde ortaya çıkmıştır. Es Hyperion ve Greengo sorgum silajlarında ise en yüksek *Lactobacilli* popülasyonu fermantasyonun 2. gününde tespit edilmiş ve daha sonrasında azalma eğilimi göstermiştir. Bu durum Dong vd. (2020)'nın sorgum silajlarında fermantasyonun 14. gününden itibaren *Lactobacilli* popülasyonunun azaldığını bildirdikleri çalışmaları ile uyumlu bulunmuştur. Silolama sonunda (60. gün), en yüksek *Lactobacilli* sayısı BMR Gold 2 (6,82 kob/g KM) ve Es Hyperion (6,81 kob/g KM) silajında saptanmıştır. Bu çalışmada, fermantasyon süresince ^{HM}LAB inokulantlarının kullanıldığı silajların *Lactobacilli* popülasyonu diğer silajlardan daha yüksek bulunmuştur. Nitekim, ^{HM}LAB inokulantları silolamanın başlangıcından itibaren LAB'nin hızlı bir şekilde aktif hale gelmesini sağlayarak SÇK'ın fermantasyonunu artırmış ve LA üretimini teşvik etmiştir. Diğer yandan ilk 16 günlük fermantasyon süresince ^{HT}LAB inokulantlarının etkinlikleri diğer silajlara göre daha düşük bulunmuştur. Bunun sebebi fermantasyon döneminin başında ^{HT}LAB inokulantlarının ortam pH'sını daha yavaş düşürmeleri ve bunun sonucunda da daha düşük miktarda LA üretmeleridir. Nitekim Muck (2008), ^{HT}LAB (*L. buchneri*)'nin gelişiminin fermantasyonun erken dönemlerinde oldukça yavaş olduğunu, ancak fermantasyonun ilerleyen günlerinde aktivitesinin arttığını bildirmektedir. Araştırmacı, silolamanın sonunda (60. gün), ^{HM}LAB inokulantı (*L. pentosus* hariç) kullanıldığı silajların *Lactobacilli* popülasyonu kontrol grubundan ve diğer inokulantların kullanıldığı silajlardan daha yüksek

olduğu tespit etmiştir. Bu çalışmada, silolamanın 60. gününde açılan tüm silajların *Lactobacilli* popülasyonu, fermentasyonun erken dönemlerine göre daha düşük olduğu saptanmıştır. Bu durumun nedeni, 60. günde SÇK'nın kısmen azalmış olması, silajlardaki LA üretiminin artması ve ortam pH'sının istenen değerlere düşmüş olmasıdır. Silolama sonunda (60. gün) en fazla *Lactobacilli* gelişimi ^{HM}LAB kullanılan silajlarda olduğu belirlenirken, en az *Lactobacilli* gelişimi ise ^{HT}LAB kullanılan silajlarda olduğu gözlenmiştir. Filya vd. (2006), ^{HM}LAB inokulantlarının mısır silajının (yaklaşık %33,8 KM) *Lactobacilli* popülasyonunu (7,38–7,51 kob/g) artırdığını, ^{HT}LAB inokulantlarının (6,16–6,21 kob/g) ise düşürdüğünü belirlemişlerdir. Wang vd. (2014), ^{HM}LAB ve ^{HT}LAB inokulantlarını tek başına veya birlikte kullandığı kırbaç otu silajlarında, *Lactobacilli* popülasyonunu tüm silajlarda fermentasyonun 2 ile 8. günleri arasında arttığını ve 15 ile 90. günler arasında ise azaldığını bildirmektedirler. Araştırmacılar ^{HM}LAB kullanılan silajlarda, fermentasyon süresi boyunca diğer uygulamalara göre daha yüksek *Lactobacilli* popülasyonuna sahip olduğunu belirtmişlerdir. Sorgum silajların *Lactobacilli* popülasyonu ilgili olarak bu araştırmadan elde edilen bulgular, benzer konuda yapılan çalışmalarla da uyumlu bulunmuştur (Filya, 2006; Wang vd., 2014). Bu sonuçlardan farklı olarak ^{HT}LAB inokulantlarının sorgum silajının *Lactobacilli* popülasyonunu artırdığını gösteren çalışmalara da rastlanmıştır (Driehuis vd., 1999; Kung vd., 2007).

Silolama öncesi sorgum bitkilerinin (BMR Gold 2, Es Hyperion, Greengo) maya popülasyonu sırasıyla 7,99; 7,80 ve 6,39 kob/g KM olarak saptandığı araştırmada, fermentasyon süresince silajların maya sayıları 6,03-8,87 kob/g KM arasında değişmiştir. Middlehoven ve van Baalen (1988) iyi fermente olmuş silajlarda 1,0 kob/g, bozulmuş silajlarda ise 12 kob/g düzeyinde mayaların bulunduğunu bildirmiştir. Fermentasyon süresi boyunca maya sayıları tüm sorgum silajlarında 4. güne kadar artış gözlenirken, 8. günden itibaren azalma eğilimi göstermiştir. Bitkinin parçalanması ve siloya doldurulmasından sonra özellikle aerobik dönemde (fermentasyonun ilk günlerinde) solunum olayı görülmektedir. Bu olay sırasında silo içerisinde ve bitki bünyesinde kalan oksijen kullanılarak, ortamdaki şekerler parçalanmaya başlar (Filya, 2001). Fermentasyonun erken dönemlerinde gözlenen maya popülasyonundaki artışın sebebi, solunum olayı ve taze materyalde var olan mayalar olabilir. Fermentasyon 2. gününde kontrol ve ^{HM}LAB inokulantının kullanıldığı silajlar ile 4. ve 8. günlerde ^{HM}LAB inokulantının kullanıldığı silajda maya sayıları diğer silajlara göre daha yüksek bulunmuştur. İyi silaj yapımında gerekli olan iki temel faktör, silolamanın başlangıcında havanın yem kütlesinden hızla uzaklaştırılması ve silolama sırasında havanın

silaj kütlesinden uzaklaştırılmaya devam edilmesidir. Fermantasyonun başlangıcında havaya aşırı maruz kalma, havada gelişen istenmeyen mikroorganizmaların metabolizmasını uzatır ve LA üreten yararlı bakterilerin gelişimini yavaşlatır. Bu durum istenmeyen fermantasyonlara ve besleyici değerde kayba yol açabilir. Silolama sırasında içeri giren hava miktarı maya florası kompozisyonunu etkileyebilir. Woolford (1984) düşük pH değerlerde (pH 3,50–3,65) bile gelişebilen maya türlerin mevcut olduğunu bildirmektedir. Jonsson ve Pahlow (1984) silajda anaerobik koşulların sağlanması ve sürdürülmesi halinde fermentatif ancak LA asimile etmeyen *Saccharomyces cerevisiae*'nin baskın olduğunu, silolama sırasında silajın içine hava girmesi halinde ise *Candida* ve *Hansenula* (= *Pichia*) cinsi LA asimile eden mayaların baskın olduğunu tespit etmiştir. Fermantasyon süresince yüksek LA oluşumu ile elde edilen düşük pH ve NH₃-N içeriği sayesinde silaj ortamında istenmeyen mikroorganizmalar (maya, küf, *Enterobacteria*, *Clostridia* vb.) için olumsuz koşullar sağlamaktadır (Filya 2003; Sucu 2010). Silolama süresi boyunca O₂'siz koşulların derecesi ve organik asitlerin miktarları mayaların canlı kalmasını etkileyen önemli faktörlerdir. Jonsson ve Pahlow (1984) O₂ varlığının mayaların canlılığını sürdürmesini ve gelişmesini arttırdığını, yüksek AA seviyesinin ise silolama süresi boyunca canlılıklarını azalttığını belirtmiştir. Sorgum gibi SÇK içeriğinin yüksek olduğu bitkilerde *Candida lambica* ve *C. krusei* gibi maya varyetelerinin fermantasyon sırasında gelişebildikleri ve düşük düzeyde de olsa LA'ı ve karbonhidratları asimile edebildikleri bildirilmiştir (McDonald vd., 1991). Silolamanın sonunda (60. gün) açılan tüm silajların maya populasyonları, fermantasyonun erken dönemlerine (2., 4., 8. ve 16. günler) göre daha düşük olmuştur. Sorgum silajlarında en düşük maya sayısı kontrol silajında (6,40 kob/g KM) belirlenmiştir. Katkı maddeleri içerisinde ise ^{HT}LAB (6,64 kob/g KM) inokulantının kullanıldığı silajların maya sayıları ^{HM}LAB ve ^{HM+HT}LAB (sırasıyla 6,76 ve 6,72 kob/g KM) silajlarından önemli düzeyde daha düşük bulunmuştur. Muck (1996), ^{HT}LAB inokulantlarının antimikrobiyal özellikleri ile fermantasyon sırasında oluşturdukları metabolitler (AA ve PA vb) istenmeyen epifitik mikroorganizma gelişimini engellediğini belirtmektedir. Dolayısıyla ^{HT}LAB inokulantların kullanıldığı silajlarda fermantasyonun erken dönemde oluşan yüksek AA içerikleri maya populasyonunu azaltmaktadır. Nitekim ^{HT}LAB (Kung vd., 2007; Ranjit ve Kung 2002; Taylor ve Kung 2002) ve ^{HM+HT}LAB (Filya 2003, Filya vd., 2004a) inokulantlarının kullanıldığı silajlarda maya populasyonlarının diğer silajlara göre daha düşük olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte, ^{HT}LAB uygulaması, LA'ın AA ve PA'e dönüşümü nedeniyle pH değerinde bir artış göstermektedir (Elferink vd., 2001; Danner vd., 2003; Joo vd., 2018). Ayrıca, Oliveira vd. (2017) ^{HT}LAB inokulantlarının silajın aerobik stabilitesi üzerinde olumsuz bir etkisi olmadan maya populasyonunu artırabildiğini

ifade etmiştir. Araştırmamızdan elde edilen bulgular ile söz konusu araştırmacıların sonuçlarıyla da uyumlu bulunmuştur.

Genel olarak taze sorgum bitkisi ile yapılan silajların hiçbirisinde küf oluşumuna gözlenmemiştir. Küfler, silaj fermentasyonuna olumsuz etkide bulunarak silaj bünyesindeki fermente olabilir karbonhidratları ve bu karbonhidratların son ürünlerini tüketip LAB ile rekabet ederler (Filya, 2001). McDonald vd. (1991), iyi bir şekilde kapatılmış ve düşük pH ile anaerobik koşulların sağlandığı silajlarda küf gelişimi için uygun bir ortam olmadığını bildirmişlerdir. Bu çalışmada, yapılan tüm silajlarda *Lactobacilli*'lerin baskın mikroflora olması, fermentasyonun erken aşamalarından başlayarak düşük pH'nın sağlanmış olması ve silajların içerisine hava girişinin kontrol altında tutulması yani anaerobik koşulların çok iyi sağlanması, küflerin fermentasyonda etkin rol almalarını engellemiştir.

Silolama öncesi sorgum bitkilerinin (BMR Gold 2, Es Hyperion, Greengo) *Enterobacteria* popülasyonu sırasıyla 8,43; 7,15 ve 7,28 kob/g KM olarak saptandığı araştırmada, fermentasyon süresince silajların *Enterobacteria* popülasyonu 0,00-5,03 kob/g KM arasında değişmiştir. *Enterobacteria* ailesinin üyeleri normal koşullarda pH'ın 6-7 arasında olduğu ortamlarda aktif iken, büyük çoğunluğu pH'ın 5'in altındaki ortamlarda etkili olamamaktadır. Bu nedenle silolamanın ilk 12-36 saati içinde bitkide genellikle yoğun bir *Enterobacteria* popülasyonu bulunmaktadır. Daha sonra fermentasyon döneminin ilk birkaç gününde pH azalmaya başladıkça bu mikroorganizmaların sayısı hızla azalmakta ve herhangi bir soruna yol açmamaktadırlar. Nitekim araştırmamızda da fermentasyonun erken dönemlerinde (2. ve 4. günler) *Enterobacteria* tespit edilmiş olup, fermentasyonun 8. gününden itibaren hiçbir silajda *Enterobacteria* bulunmamıştır.

Nötr Deterjan Lif, çözünebilir proteinler, lignin, selüloz ve hemiselülozu kapsamakta olup, yemlerin yapısını ve değerlendirilebilme özellikleri bakımından bilgi veren iyi bir göstergedir (Kutlu, 2008). Yemlerin NDF içerikleri yem tüketimi ile ilgilidir. Silolama öncesi sorgum bitkilerinin (BMR Gold 2, Es Hyperion, Greengo) NDF içerikleri sırasıyla 464,21; 412,82 ve 494,35 g/kg KM olarak saptandığı araştırmada, fermentasyon süresince silajların NDF içerikleri 411,67-553,64 g/kg KM arasında değişmiştir. Fermentasyon süresi boyunca en yüksek NDF içeriği BMR Gold 2 sorgum silajında, en düşük NDF içeriği ise Es Hyperion sorgum silajında saptanmıştır. Magalhães vd. (2010) tarafından sorgum çeşitlerinde NDF içeriğini 520-703 g/kg KM ile Machado vd. (2012)'nin BRS 610 ve BRS 655 yemlik sorgum çeşitleri için NDF içeriklerini sırasıyla 549 ve 528 g/kg KM olarak bildirmektedir. Von Pinho

vd. (2007) sorgum silajının NDF içeriklerini 429 g/kg KM, Tutar ve Kökten (2023) 10 farklı sorgum x sudan otu melezi çeşitlerinden yapılan silajların NDF içeriklerini 373,0-503,3 g/kg KM ve Moura vd. (2016) 12 farklı silajlık sorgum genotipinden yapılan silajların NDF içeriklerini ortalama 677,9 g/kg KM (549,6-761,3 g/kg KM) olarak bildirmektedirler. Bu çalışmada, tüm uygulamalar için 60. gündeki NDF içerikleri Von Pinho vd. (2007) ile Tutar ve Kökten (2023) tarafından bildirilen aralıkta yer alırken, Moura vd. (2016)'nın bildirdiği değerlerden daha düşük bulunmuştur. Bu araştırmada elde edilen daha düşük NDF değerlerinin muhtemel nedenleri, KM'deki salkım veya başak oranının daha fazla, sap ve yaprak oranının ise daha düşük olması ve dolayısıyla silajdaki lif içeriklerinin azalması olabilir. Yemlerin NDF içeriği bitkilerin genotipi (Di Marco vd. 2009) veya yaprak ayası:gövde+kılıf oranı (Elseed, Eldaim ve Amasaib, 2007) ile ilişkili olabilir. Silolama döneminin başlangıcı ile silolama sonu arasında NDF içeriklerinin önemli düzeyde arttığı görülmüştür. Bu çalışmada fermentasyonun 2. gününde ^{HT}LAB (425,45 g/kg KM) kullanılan silajların NDF içerikleri diğer silajlara göre daha düşük bulunurken, 60. günde ise en düşük NDF içeriği ^{HM}LAB (460,33 g/kg KM) kullanılan silajlarda saptanmıştır. Söz konusu değerler ^{HT}LAB (493,18 g/kg KM) kullanılan silajlarda daha yüksek bulunmuştur. Silolamanın sonunda (60. gün) ^{HM}LAB inokulantı kullanılan silajlarda NDF içeriğindeki azalmanın ana nedeni fermentasyonun başlarından itibaren gerçekleşen düşük ortam pH'sıdır. Nitekim silolama süresince en düşük pH değerleri ^{HM}LAB kullanılan silajda belirlenmiştir. Sucu (2009) silaj pH değerinin düşük olmasının hücre duvarı bileşenleri üzerinde etkili olabileceğini, Rook ve Hatfield (2003) ise ortam pH'sının hızlı düşmesiyle hidrojen iyonlarındaki artışın hücre duvarı bileşenlerini azalttığını bildirmektedirler. Filya vd. (2007), solunum ve fermentasyon sırasında oluşan KM kaybının, hücre duvarı bileşenlerini artırabileceğini ifade etmektedir. Nitekim fermentasyonun süresinde en yüksek KM kaybı ^{HT}LAB inokulantının kullanıldığı silajlarda gözlenmiştir. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar söz konusu bildirimle uyumlu bulunmuştur. Yemdeki lif içeriği ne kadar az olursa, hayvanın rumeninde hızla enerjiye dönüştürülen çözünebilir karbonhidratların kullanılabilirliği de o kadar yüksek olur; öte yandan, yüksek NDF seviyeleri düşük çözünebilir karbonhidrat düzeylerine ve KM tüketiminin azalmasına neden olur (Siqueira, 2012).

Yemlerdeki ADF içeriği arttıkça, yemin sindirilebilirliği azalmakta ve daha az enerji içermektedir (McDonald vd., 1991). ADF içeriği, yemin sindirilme oranının önemli bir göstergesi olup hayvanın enerji alımı hakkında fikir verir. Yemlerin enerji yoğunluğunun hesaplanmasında önemli bir faktördür (Garcia vd., 2003). Silolama öncesi sorgum bitkilerinin

(BMR Gold 2, Es Hyperion, Greengo) ADF içerikleri sırasıyla 307,32; 246,37 ve 324,31 g/kg KM olarak saptandığı araştırmada, fermentasyon süresince silajların ADF içerikleri 219,89-319,35 g/kg KM arasında değişmiştir. Fermentasyon süresi boyunca en yüksek ADF içeriği BMR Gold 2 ve Greengo sorgum silajında, en düşük ADF içeriği ise Es Hyperion sorgum silajında saptanmıştır. Molina vd. (2002) danelik, yemlik ve çift amaçlı sorgum çeşitlerinin ortalama ADF içeriklerini sırasıyla 238,5; 299,0 ve 311,5 g/kg KM, Neumann vd. (2004) yemlik ve çift amaçlı sorgum çeşitleri için ortalama ADF içeriklerini sırasıyla 351,9 ve 318,4 g/kg KM, Tutar ve Kökten (2023) 10 farklı sorgum x sudan otu melezi çeşitlerinden yapılan silajların ADF içeriklerini 258,3-397,3 g/kg KM arasında saptamışlardır. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar söz konusu bildirimle uyumlu bulunmuştur. Araújo vd. (2007) beş farklı olgunlaşma döneminde hasat edilen üç sorgum çeşidinden yapılan silajlarda ve tarafından 344,8 ile 386,7, Machado vd. (2012)'nin üç sorgum çeşidinde farklı olgunlaşma dönemlerinde (süt olum, hamur olum, dane) yapılan silajlarda ADF içeriklerinin 328,9 ile 374,5 g/kg KM arasında değiştiğini bildirmektedirler. Bu çalışmada saptanan ADF içerikleri, Araújo vd. (2007) ile Machado vd. (2012) bildirdikleri değerlerden daha düşük bulunmuştur. Yüksek ADF, KM sindirilebilirliği ile negatif bir korelasyona sahiptir ve dolayısıyla silaj kalitesinin önemli parametrelerinden biri olan lignoselüloz gibi hayvan tarafından kullanılamayan maddelerin varlığını gösterdiğinden istenmeyen bir özelliktir (Oliveira vd., 2010). Bu sindirilemeyen lif, sindirim sisteminde yer kaplayarak geçiş hızını ve tüketimi azaltır (Zanine vd., 2006). Bu çalışmada, fermentasyonun 2. gününde ^{HT}LAB (257,35 g/kg KM) kullanılan silajların ADF içerikleri kontrol ve ^{HM}LAB inokulantı kullanılan silajlara göre daha düşük bulunurken, diğer günlerde ise LAB inokulantı kullanımı sorgum silajlarının ADF içeriklerini etkilememiştir. Fonseca (2000), 60 farklı sorgum çeşidi silajının ADF içeriklerinin 232,6-403,3 g/kg, Rezende (2001) tarafından yürütülen bir araştırmada 18 farklı sorgum çeşidi silajının ADF içeriklerinin 265-406 g/kg KM arasında değiştiğini bildirmektedirler. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar söz konusu bildirimle uyumlu bulunmuştur.

Silolama öncesi sorgum bitkilerinin (BMR Gold 2, Es Hyperion, Greengo) ADL içerikleri sırasıyla 47,57; 25,19 ve 42,77 g/kg KM olarak saptandığı araştırmada, fermentasyon süresince silajların ADL içerikleri 21,94-49,49 g/kg KM arasında değişmiştir. Fermentasyon süresinin ilk 16 gününde Greengo sorgum silajında ADL içeriği daha yüksek olurken, en düşük değerler ise Es Hyperion sorgum silajında saptanmıştır. Silolamanın sonunda (60. gün), BMR Gold 2 sorgum silajında ADL içeriği diğer sorgum çeşidi silajlarına göre daha yüksek düzeyde bulunmuştur. Tutar ve Kökten (2023) 10 farklı sorgum x sudan otu

melezi çeşitlerinden yapılan silajların ADL içeriklerini 60,6-130,0 g/kg KM arasında değiştiğini bildirmektedirler. Bu çalışmada saptanan ADL içerikleri, Skonieski vd. (2010) yemlik sorgum çeşidinden yapılan silajların lignin içeriğini 52 g/kg KM ve çift amaçlı sorgum çeşitlerinden yapılan silajlarda 48 g/kg KM olarak bildirdikleri değerler ile benzerlik gösterirken, Tutar ve Kökten (2023)'in bildirdikleri değerlerden daha düşük bulunmuştur. Yem bitkisinin lignin içeriği, hücre duvarındaki polisakkaritleri sararak bakterilerin ulaşmasını engellediği ve yem bitkilerinin hem sindirilme hızını hem de kapsamını azalttığından dolayı sindirilebilirliği sınırlayan ana faktördür (Jung vd., 1997; Van Soest 1994). Lignin, bitkilerin hücre duvarında bulunan ve öncelikle yapısal bütünlüğü koruyan polifenolik bir bileşiktir, ancak aynı zamanda besin maddesi taşınması gibi ikincil işlevler de sağlar (Liu vd., 2018). Bu nedenle, süt hayvancılığı rasyonlarında lignin içeriğinin azaltılması oldukça önemli bir konudur çünkü sindirilebilirliği, yem tüketimini ve toplam enerji alımını arttırarak olumlu faydalar sağlayabilmektedir (Jung vd., 2011).

Silolama öncesi sorgum bitkilerinin (BMR Gold 2, Es Hyperion, Greengo) hemiselüloz içerikleri sırasıyla 156,89; 166,45 ve 170,04 g/kg KM olarak saptandığı araştırmada, fermantasyon süresince silajların hemiselüloz içerikleri 137,30-218,10 g/kg KM arasında değişmiştir. Fermantasyonun 60. gününde en düşük hemiselüloz içeriği Greengo (155,71 g/kg KM) sorgum silajında olurken, en yüksek hemiselüloz BMR Gold 2 (225,17 g/kg KM) sorgum silajında saptanmıştır ($P<0,001$). Skonieski vd. (2010) yemlik sorgum çeşidinden yapılan silajların hemiselüloz içeriğini 213 g/kg KM ve çift amaçlı sorgum çeşitlerinden yapılan silajlarda 245 g/kg KM olarak bildirmektedirler. Fermantasyonun ilk günlerinde LAB inokulantı kullanımının sorgum silajlarının hemiselüloz içerikleri üzerindeki etkileri önemsiz bulunmuştur ($P<0,001$). Muck (1996), silolama süresinin uzamasıyla birlikte oluşan asidik koşulların silajların hemiselüloz içeriğini azalttığını bildirilmektedir. Fermantasyonun 60. gününde en yüksek hemiselüloz ^{HT}LAB (206,18 g/kg KM) kullanılan silajlarda olurken, en düşük değerler ise ^{HM}LAB (175,27 g/kg KM) inokulantı kullanılan silajlarda saptanmıştır ($P=0,030$).

Silolama öncesi sorgum bitkilerinin (BMR Gold 2, Es Hyperion, Greengo) selüloz içerikleri sırasıyla 259,75; 221,18 ve 281,54 g/kg KM olarak saptandığı araştırmada, fermantasyon süresince silajların selüloz içerikleri 211,80-284,72 g/kg KM arasında değişmiştir. Skonieski vd. (2010) yemlik sorgum çeşidinden yapılan silajların selüloz içeriğini

239 g/kg KM ve çift amaçlı sorgum çeşitlerinden yapılan silajlarda 253 g/kg KM olarak bildirdikleri değerler ile benzerlik göstermektedir.

Tanenler genellikle sıcak iklimlere adapte olmuş geniş yapraklı bitkilerde daha yüksek konsantrasyonlarda bulunur. Bir dizi geniş yapraklı yem bitkilerinin ürettiği bir grup kimyasal bileşik olan tanenler proteinleri mikrobiyal parçalanmadan koruma özelliğine sahip bir grup doğal maddedir (Mueller-Harvey, 2006). Tanenler ve proteinler arasındaki bu etkileşim, tanenlerin proteinlerle bağ kurmasını kolaylaştıran çoklu fenolik hidroksil gruplarının varlığıyla mümkün olmaktadır. Bağların doğası ve stabilitesi, moleküler ağırlık, üçüncül yapı, izoelektrik nokta ve bağlanma bölgelerinin uyumluluğu açısından hem tanenlerin hem de proteinlerin özelliklerine bağlıdır (Reed, 1995). Sorgum önemli bir tanen içeriğine sahiptir. Tanen içeriği ile KMS ve HPS arasında negatif bir korelasyon olduğu için silaj yapımında kullanılan sorgumlarda düşük tanen içeriğine sahip genotipler seçilmelidir (Zago, 1991). Sorgumun silaj yapımında kullanılmasının önündeki en büyük kısıtlama, tane olgunlaştığında kuş saldırısına maruz kalması ve silajın protein oranını önemli ölçüde düşürmesidir. Bu saldırıyı önleme stratejisi, tanede daha yüksek KT içeriğine sahip genetik materyalleri bir araya getirerek kuşlar için lezzetini azaltmak olmuştur. Ancak, KT'in silaj kalitesi üzerindeki olumsuz etkilerine ilişkin şüpheler hala mevcuttur (Carneiro vd., 2006). Silolama öncesi sorgum bitkilerinin (BMR Gold 2, Es Hyperion ve Greengo) KT içerikleri sırasıyla 8,54; 11,80 ve 6,96 g/kg KM; TF içerikleri aynı sıra ile 8,83; 5,88 ve 8,03 olarak saptanmıştır. Dong vd. (2019) bitkilerde bulunan tanenlerin spesifik türü ve konsantrasyonunun çeşitli LAB suşları üzerinde farklı inhibitör etkiler gösterebileceğini bildirmektedir. Araştırmalar, düşük tanen içeriklerinin LAB'nin büyümesini teşvik ederken, daha yüksek tanen içerikleri ise LAB'nin büyümesini engellemeye hizmet edebileceğini göstermiştir (Chen vd. 2023). Yapılan çalışmalar 20-40 g/kg KM altındaki KT içeriğinin ruminantlarda silajların KM ve HPS ile yem tüketimini olumsuz etkilemediğini göstermektedir (Min vd., 2003). Araştırmamızda kullanılan sorgum çeşitlerinin KT içerikleri söz konusu değerlerin altında belirlenmiştir. Fermantasyon süresi sonunda silajların KT içerikleri 4,72-12,96 g/kg KM arasında değişmiştir. En yüksek KT içeriği Es Hyperion (10.76 g/kg KM) sorgum silajında, en düşük ise Greengo (7,04 g/kg KM) sorgum silajında saptanmıştır. Benzer bir sonuç, Carneiro vd. (2006) tarafından elde edilmiş ve 10 farklı çeşitin kullanıldığı sorgum silajlarında KT içeriklerini 1,54-10,62 g/kg KM olduğunu belirlemişlerdir. Araştırmada ^{HT}LAB (*L. buchneri*) kullanılan sorgum silajlarının KT içerikleri ^{HM}LAB ve kontrol silajına göre daha düşük bulunmuştur ($P<0,001$). Nasyatul-Ekma vd. (2018) akasya silajına LAB inokulantı ilavesinin,

KT içeriklerini kontrol grubuna kıyasla %40 oranında azalttığını bildirmektedirler. He vd. (2018) LAB uygulanan *Neolamarckia cadamba* yaprakları silajlarında KT içeriklerinin azaldığını ve LAB uygulamasının mikroorganizmaların çoğalmasını etkileyerek dolaylı olarak daha fazla tanenaz salgılanmasını teşvik edebileceğini belirtmektedir. Araştırmamızdan elde edilen bulgular ile söz konusu araştırmacıların sonuçlarıyla da uyumlu bulunmuştur.

Nispi yem değeri, SKM ve KMT'den yola çıkılarak elde edilen, yemin enerji değerini ve tüketimini tahmin etmede kullanılan bir indeks olup (Lithourgidis vd. 2006), verim ile kaliteyi bir arada görebilmemizi sağlayan özelliklerden biridir. Yemlerin hücre duvarı bileşenlerinin artması ile hayvanların fiziksel olarak tokluk hissettiği, dolayısıyla yem tüketimlerini azalttığı bildirmektedir (Van Soest, 1994). Araştırmada sorgum silajlarının SKM değerleri %64,07-69,23, KMT değerleri %2,17-2,92 ve NYD değerleri 109,11-156,69 arasında değişmiştir. Sorgum silajlarında en yüksek SKM (%68,08) Es Hyperion sorgum silajında elde edilmiştir ($P<0,001$). Bu çalışmada SKM oranı ile ilgili elde edilen bulgular, Canbolat (2012) sorgum hasıllarının SKM oranını %63,9 ile Tutar ve Kökten (2023) sorgum silajlarının SKM oranlarını %57,93-68,76 arasında tespit ettikleri değerler ile benzer, Özmen (2017)'nin ortalama %56,02 (%50,23-60,17) olarak tespit ettikleri değerlerden daha yüksek bulunmuştur. Sorgum silajlarında en yüksek KMT (%2,71) Es Hyperion ve Greengo (%2,65) sorgum silajında elde edilmiştir. Bu çalışmada KMT oranı ile ilgili elde edilen bulgular, Canbolat (2012) sorgum hasıllarının KMT oranını %2,1 ile Tutar ve Kökten (2023) sorgum silajlarının KMT oranlarını %2,40-3,20 arasında tespit ettikleri değerler ile benzer, Özmen (2017)'nin ortalama %1,89 (%1,74-2,15) olarak tespit ettikleri değerlerden daha yüksek bulunmuştur. Sorgum silajlarında en yüksek NYD Es Hyperion (143,08) sorgum silajında elde edilmiştir. Bu çalışmada NYD ile ilgili elde edilen bulgular, Tutar ve Kökten (2023) sorgum silajlarının NYD'ni 117,26-171,53 arasında tespit ettikleri değerler ile benzer, Canbolat (2012) sorgum hasıllarının NYD 107,4 ile Özmen (2017)'nin ortalama 82,48 (61,39-99,87) olarak tespit ettikleri değerlerden daha yüksek bulunmuştur. Kontrol grubu ve LAB inokulantı kullanılan sorgum silajlarının SKM oranı üzerindeki etkileri önemsiz bulunmuştur. En yüksek KMT oranı ve NYD sırasıyla %2,64 ve 135,67 ile ^{HM}LAB inokulantı kullanılan sorgum silajlarında belirlenirken, en düşük KMT oranı ve NYD sırasıyla %2,46 ve 109,11 ile ^{HT}LAB kullanılan sorgum silajlarından bulunmuştur. Sorgum silajlarında ^{HM}LAB inokulantı *Lactobacilli* ve bazı anaerobik bakterilerin sayılarını artırarak pH değerindeki düşüşü hızlandırdığı ve silajların NDF ve ADF parçalanabilirliğini artırarak KMT oranı ve NYD üzerinde olumlu etkide bulunduğu düşünülmektedir. Solunum ve fermantasyon sırasında

oluşan KM kaybının da NDF ve ADF içeriklerini artırabildiği bildirilmektedir (Filya, 2007). Nitekim en yüksek KM kaybının gerçekleştiği ^{HT}LAB silajında KMT oranı ve NYD'nin düşük çıkması benzer konuda yapılan araştırma sonuçlarıyla da uyumlu bulunmuştur.

Sindirilebilirlik, yemin hayvan tarafından besin maddelerinin az ya da çok kullanılmasına dair sahip olduğu potansiyelin bir tahminidir. Yem söz konusu olduğunda, özellikle protein içeriğindeki azalma ve artan hücre duvarı lignifikasyonu nedeniyle besin maddelerinin sindirilebilirliği üzerinde olumsuz bir etki yaratan bitkinin olgunluğu başta olmak üzere çeşitli faktörler yemin sindirilebilirlik oranına etki edebilir. Silva vd. (2011)'na göre lignin, mikrobiyal tutunmayı engelleyen ve selüloz ile hemiselülozun enzimatik hidrolizini önleyen bir bariyer oluşturarak potansiyel olarak parçalanabilen yapısal karbonhidratların kullanılamamasına ve KMS ile OMS'nin azalmasına neden olmaktadır. Silolama öncesi sorgum bitkilerinin (BMR Gold 2, Es Hyperion, Greengo) KMS sırasıyla 599,00; 645,92 ve 592,18 g/kg, OMS aynı sırayla 564,37; 652,73 ve 586,10 g/kg KM olarak saptanmıştır. Silolamanın sonunda (60. gün) silajların KMS değerleri 518,64-655,71 g/kg KM, OMS 507,68-647,58 arasında değişmiştir. Fermantasyonun 60. gününde en yüksek KMS ve OMS Es Hyperion (651,26 ve 640,90 g/kg KM) sorgum silajında olurken, en düşük KMS ve OMS ise BMR Gold 2 (538,67 ve 526,20 g/kg KM) sorgum silajında saptanmıştır. Genel olarak, silolama KMS ve OMS'de çok az iyileşme sağlamış ya da hiç sağlamamıştır. White vd. (1988) 80 farklı sorgum çeşidinin silajlarını değerlendirdiği çalışmalarında KMS'ni 446-621g/kg KM arasında olduğunu tespit etmişlerdir. Gontijo Neto vd. (2002), dört farklı yemlik sorgum hibriti ile bir çift amaçlı hibriti değerlendirdikleri çalışmalarında KMS'ni yemlik sorgum hibritleri için 529,7-546,1 g/kg arasında ve çift amaçlı hibrit için ise 616,9 g/kg olarak belirlemiştir. Jayme vd. (2007) beş sorgum otu melezinden (*Sorghum bicolor* x *Sorghum sudanense*) elde edilen silajların KMS'ni 412,6-601,8 g/kg arasında değiştiğini bildirmektedirler. Skonieski vd. (2010) yemlik ve çift amaçlı sorgum silajlarının yem değerini belirledikleri çalışmalarında KMS'ni sırasıyla 535,7 ve 527,4 g/kg olarak bulmuşlardır. Tolentino vd. (2016) 24 farklı sorgum çeşidi silajında KMS'nin 504,6-741,8 arasında değiştiğini belirlemişlerdir. Behling Neto vd. (2017) farklı amaçla yetiştirilen sorgum çeşitlerinden elde edilen silajlarının yem değerini belirledikleri çalışmalarında KMS'ni sırasıyla 537,5-644,5 g/kg arasında bulmuşlardır. Sorgum silajlarının *in vitro* KMS ile ilgili olarak bu araştırmadan elde edilen bulgular benzer konularda yapılan araştırma bulguları ile uyumludur (Behling Neto vd., 2017; Gontijo Neto vd., 2002; Jayme vd., 2007; Skonieski vd., 2010; Tolentino vd., 2016; White vd., 1988). Meeske vd. (1993), sert hamur aşamasında hasat

edilen sorgumların *in vitro* OMS'ni 676 g/kg olarak bulmuşlardır. Rao vd. (2012), kahverengi orta damar alellerine (BMR1 ve BMR7) sahip on farklı sorgum çeşidinde yem değerini belirledikleri çalışmalarında *in vitro* OMS'nin 529-545 g/kg arasında değiştiğini belirlemişlerdir. Wahyono vd. (2022) farklı sorgum çeşidi ve soldurma işleminin silaj kalitesi ve *in vitro* OMS üzerindeki etkisini inceledikleri çalışmalarında, başlangıç materyallerinin OMS'nin 486,9-566,1 g/kg arasında, 30 günlük fermentasyon sonrasında sorgum silajlarının *in vitro* OMS ise 460,9-534,1 g/kg arasında değiştiğini gözlemlemişlerdir.

Muck (1993) hayvanlarda KM sindirilebilirliği ile performans arasındaki korelasyonun yüksek olduğunu ifade etmiştir. Dolayısıyla araştırmada kullanılan LAB inokulantlarının (^{HM}LAB, ^{HT}LAB ve ^{HM+HT}LAB) sorgum silajının KMS ve OMS artırması, hayvanların performansında gelişme sağlayabilir. Filya (2003) ^{HM}LAB ve/veya ^{HT}LAB (*L. Plantarum* ve/veya *L. buchneri*), Khota vd. (2017) ^{HM}LAB (*L. plantarum* veya *L. casei*), Diaz vd. (2020) ^{HM}LAB (*L. plantarum*)'nin sorgum silajının *in situ* ve *in vitro* KMS ve OMS'ni etkilemediğini bildirmişlerdir. Diğer yandan Paradhipta vd. (2019) ^{HM+HT}LAB (*L. plantarum*+ *L. buchneri*) sorgum silajının *in vitro* KMS'ni kontrol silajına göre önemli düzeyde artırdığını belirlemişlerdir.

Silajların rumende zamana bağlı *in vitro* gaz ve metan üretim değerlerine ilişkin bulgular Çizelge 4.6 ve Şekil 4.8' de verilmiştir. Araştırmada hem çeşit (BMR Gold 2, Es Hyperion, Greengo hem de kullanılan ^{HM}LAB (*L. plantarum*), ^{HT}LAB (*L. buchneri*) ve ^{HM+HT}LAB (*L. Plantarum* ve *L. buchneri*) inokulantlarının sorgum silajının *in vitro* gaz ve metan üretim değerini farklı düzeyde etkiledikleri gözlenmiştir. Bu çalışmada, gaz ve metan üretim değerleri inkübasyon süresi boyunca (24-72 saat) kademeli olarak artış gösterdiği belirlenmiştir. Inkübasyonun 24., 48. ve 72. saatlerde BMR Gold 2 (sırasıyla 36,80; 44,72 ve 48,09 mL) ve Greengo (sırasıyla 35,09; 41,59 ve 45,88 mL) sorgum silajının *in vitro* gaz üretim değerini ES Hyperion grubuna göre (24., 48. ve 72. saatlerde sırasıyla 43,9; 50,84 ve 56,25 mL) önemli düzeyde düşürdüğü belirlenmiştir. Inkübasyonun 12–72. saatleri arasında inokulantların sorgum silajının *in vitro* gaz üretim değeri üzerindeki etkilerinin ise önemsiz olduğu görülmüştür. Inkübasyon süresince ^{HT}LAB uygulanan (^{HT}LAB ve ^{HM+HM}LAB) sorgum silajının *in vitro* gaz üretim değerini kontrol ve ^{HM}LAB silajına göre önemsiz düzeyde düşürdüğü gözlenmiştir. Araştırmada sorgum silajının LA içeriklerini artıran ^{HM}LAB inokulantının aynı zamanda sorgum silajının *in vitro* gaz üretim değerini de en fazla artıran olduğu tespit edilmiştir. Bunun nedeni, silaj fermentasyonu sırasında oluşan LA'nın rumen

mikroorganizmaları tarafından iyi bir şekilde değerlendirilmesi sonucu *in vitro* gaz üretiminin artmasıdır. Silajların metan üretimi incelendiğinde ise inkübasyonun 24., 48. ve 72. saatlerde BMR Gold 2 (sırasıyla 1,87; 2,96 ve 3,50 mL) ve Greengo (sırasıyla 1,90; 2,62 ve 3,20 mL) sorgum silajının metan üretim değerini ES Hyperion grubuna göre (24., 48. ve 72. saatlerde sırasıyla 2,42; 3,36 ve 4,15 mL) önemli düzeyde düşürdüğü belirlenmiştir. Toplam gaz üretimindeki artışı metan üretimi takip etmiştir. Daha yüksek toplam gaz üretimi daha yüksek metan üretimine neden olmuştur. İnkübasyonun 12–72. saatleri arasında inokulantların sorgum silajının metan üretim değeri üzerindeki etkilerinin ise önemsiz olduğu görülmüştür. İnkübasyon süresince ^{HM}LAB uygulanan (^{HM}LAB ve ^{HM+HM}LAB) sorgum silajının *in vitro* gaz üretim değerini kontrol ve ^{HT}LAB silajına göre önemsiz düzeyde düşürdüğü gözlenmiştir. Rumen fermantasyonu sonucunda ortaya çıkan son ürünler mikrobiyal hücre, asit fermantasyonu ve gaz oluşumudur. Bu nedenle gaz üretimi rumendeki mikrobiyal ve metabolik aktiviteler hakkında bilgiler vermektedir. Yemlerin sindirebilirlikleri ile gaz üretim değerleri arasında yüksek düzeyde ilişki olduğu bildirilmektedir. (Duan vd., 2006). Bununla beraber ruminantlarda kullanılan yemlerin besleme değeri takdirinde, farklı inkübasyon sürelerine göre elde edilen gaz üretim değerlerinin iyi bir parametre olduğu belirtilmektedir (Menke vd., 1979).

Araştırmada kullanılan sorgum çeşitleri (BMR Gold 2, Es Hyperion, Greengo) ve inokulantlar (^{HM}LAB, ^{HT}LAB ve ^{HM+HT}LAB) sorgum silajının aerobik stabilitesini farklı düzeyde etkilemiştir. Uygulanan 5 günlük aerobik stabilite testi sonucunda BMR Gold 2 sorgum silajında CO₂ üretimini ve maya popülasyonu ES Hyperion ile Greengo sorgum silajına göre önemli düzeyde yüksek bulunmuştur. En düşük silaj pH'sı Es Hyperion sorgum grubunda saptanırken, KM içeriği çeşit farklılığından etkilenmemiştir. Heterofermantatif LAB inokulantları (^{HT}LAB ve ^{HM+HT}LAB) ise sorgum silajının CO₂ üretimini ve maya popülasyonunu düşürmüşlerdir. Sorgum silajlarının pH'sı kontrol ve ^{HM+HT}LAB grubunda önemli düzeyde düşük bulunmuştur. Diğer yandan inokulant uygulamasının sorgum silajında KM içeriğini kontrol grubuna göre etkilemediği görülmüştür. Mevcut çalışmadaki sonuçlar, ^{HT}LAB (*L. buchneri*)'nin tek başına veya ^{HM}LAB ile birlikte inokülasyonunun sorgum silajlarının aerobik stabilitesini geliştirdiğini açıkça göstermektedir. Beklendiği gibi, ^{HT}LAB (*L. buchneri*) uygulaması ile kontrol ve ^{HM}LAB grubundaki silajlarına göre maya popülasyonlarını azaltmıştır. Bunun nedeni, antifungal etkiye sahip olan (Moon, 1983), silolama aşamasında mayaların hayatta kalmasını azaltan ve silaj silaj havayla temas ettiğinde büyümelerini engelleyen AA seviyelerindeki artıştır (Driehuis vd., 1999; Kung Jr. vd., 2021).

Mayalar aerobik bozulmada rol oynayan ana mikroorganizmalardır, bazı türler asidik ortamlara karşı toleranslıdır ve havayla temas ettiğinde LA büyüme için bir substrat olarak kullanılabilir (Pahlow vd., 2003). Jobim vd. (2007), silajın açıldıktan sonraki kullanım süresi boyunca aerobik stabilitesini en çok etkileyen parametrelerin kalıntı SÇK ve organik asit miktarları olduğunu bildirmektedir. Sorgum silajlarında kalıntı SÇK içeriklerinin yüksek olması bu silajların aerobik stabilitesini tehlikeye atmaktadır. Bu çalışmada, ^{HT}LAB ve ^{HM+HT}LAB inoküle edilmiş silajların kontrol ve ^{HM}LAB inoküle edilmiş silajlardan daha yüksek AA içerdiği belirlenmiştir. *Lactobacillus buchneri*, *L. plantarum* varlığında bile sorgum silajlarının aerobik stabilitesini koruyabilmiştir. *L. buchneri*'nin aerobik stabiliteyi artırıcı etkisini mayaların aktivitesinin bozulmasıyla açıklamak mümkündür. Bu bulgular Driehuis vd. (1999), Kung ve Ranjit (2001), Oude Elferink vd. (2001), Ranjit vd. (2002), Filya (2003) ve Weinberg vd. (2002) buğday, sorgum ve mısır silajları ile yaptıkları çalışmalarla uyumludur.

Laktik asit bakterileri yem bitkilerinde, silajlarda, süt ürünlerinde ve gıdalarda doğal olarak bulunan bakterilerdir. Bu bakterilerin tanımlanmaları endüstriyel, teknolojik, ekolojik ve özellikle silajın kalitesinin belirlenmesini amaçlayan bilimsel açıdan gittikçe daha fazla önem kazanan bir konu haline gelmiştir (Rademaker ve De Bruijn 2000). Birçok izolat kaba yemlerden ve silajdan *Lactobacillus* olarak tanımlanmıştır. Daha önceki çalışmalar, *Lactobacillus*'un yem bitkileri ve silajda baskın mikrobiyal popülasyonlardan biri olduğunu göstermiştir (Cai, Suyanandana, vd., 1999; Cai, Benno vd., 1999). Yapılan çalışmalarda silajlardan elde edilen LAB suşları fenotipik ve genotipik olarak tanımlanmıştır (Aksu 2020; Chahrour vd., 2013; Ni vd., 2015; Pang vd., 2011; You vd., 2021). Çalışma kapsamında sorgum silajlarından elde edilen LAB suşları fenotipik olarak incelenmiştir. Gram pozitif, katalaz negatif ve farklı hücre morfolojilerine göre ayrılan suşlar muhtemel LAB olarak kabul edilmiştir. Çalışmada sorgum silajından elde edilen LAB izolatları fenotipik olarak %81,27 oranında gram pozitif, %95,84 oranında katalaz negatif, hücre morfolojilerine göre ise %61,10 kısa çubuk, %34,27 çubuk ve %4,63 kok şeklinde tanımlanmıştır. Ni vd. (2015) yaptıkları çalışmada çeltik silajından 126 LAB suşu izole edilmiş ve fenotipik özelliklerine göre 99 izolatı Gram-pozitif ve katalaz-negatif (%78,57) olarak değerlendirirken, hücre morfolojisine göre izolatları %13,13 çubuk ve %86,87 kok olarak belirlemişlerdir. Alhaag vd. (2019) ise sorgum silajından doğal LAB suşlarını fenotipik olarak Gram pozitif, katalaz negatif (%100), homofermentatif (%100), kok (%33,33) ve çubuk (%66,67) şeklinde

tanımlanmıştır. Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar benzer çalışmalar ile uyumlu bulunmuştur.

Morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal testler kullanarak türler arasında ayırım yapmak zordur. Morfolojik yöntemler sonucunda LAB'nin tanımlanması ilk aşama da yararlı görülse de çok daha kesin sonuca ulaşabilmek için moleküler yöntemlerin kullanılması önerilmektedir (Huys vd., 2003; Tabasco vd., 2007; You vd., 2021). Bu nedenle çalışma kapsamında morfolojik özelliklere göre ayırım yapılmış olan LAB'nde moleküler bazlı (16S rRNA dizilemesi) tanımlama yapılmıştır. Çalışmada sorgum bitkisi ve sorgum silajlarından 16S rRNA dizilemesi sonrasında elde edilen DNA dizi verilerinin (~850 bç), NCBI gen bankasında bulunan referans dizi verileri ile Blast taraması sonrası karşılaştırılması sonucunda tanımlanan izolatların tür düzeyinde dağılımı *Lactobacillus buchneri* (%85,06), *Lactobacillus plantarum* (%8,05), *Lactobacillus brevis* (%4,60), *Weissella cibaria* (%2,29) şeklinde olduğu gözlemlenmiştir.

Sorgum bitkilerinde; BMR GOLD 2 (ST) çeşidinde *Lactobacillus buchneri* (%100), Es Hyperion çeşidinde *Lactobacillus buchneri* (%75) ve *Weissella cibaria* (%25), Greengo çeşidinde ise *Lactobacillus buchneri* (%75) ve *Weissella cibaria* (%25) tanımlanmıştır. Silo açım dönemindeki silajlarda; *Lactobacillus buchneri* (%78,05), *Lactobacillus plantarum* (%12,19), *Lactobacillus brevis* (%9,76), beş günlük aerobik stabilite sonrası silajlarda *Lactobacillus buchneri* (%94,59), *Lactobacillus plantarum* (%5,41), şeklinde olduğu gözlemlenmiştir. Sorgum bitkisi ve sorgum silajlarında en yaygın gözlemlenen LAB'sinin *Lactobacillus buchneri* olduğu dikkat çekmektedir

Sorgum bitkisi ve sorgum silajlarında en yaygın gözlemlenen LAB'sinin *Lactobacillus buchneri* olduğu dikkat çekmektedir. Bu suşlar farklı silajlardan izole edilen ve tanımlanan suşlar ile benzerlik göstermektedir (Pang vd., 2011; Tohno vd., 2012; Alhaag vd., 2019). Çalışma kapsamında taze sorgumdan epifitik olarak *Lactobacillus buchneri* ve *Weissella cibaria* LAB suşları tanımlanmıştır. Bitkinin içerdiği başlangıç epifitik LAB'leri silaj kalitesini ve silajda bulunan LAB etkilendiği bilinmektedir (Cai vd., 1998; McDonald vd., 1991). Cai vd. (1998) yaptıkları çalışmada genel olarak heterofermentatif *Weissella*'nın silaj kalitesini iyileştirmediğini ve aslında bir miktar fermentasyon kaybına neden olabileceğini bildirmiştir. Ancak Pang vd. (2011) süt çiftliklerinde hazırlanan mısır (*Zea mays* L.), çeltik (*Oryza sativa* L.), sorgum (*Sorghum bicolor* L.) ve yonca (*Medicago sativa* L.) silajlarından izole edilen 16S rRNA gen dizileme sonrası izolatları *Weissella cibaria* (%36,4), *Weissella*

confusa (%9,1), *Leuconostoc citreum* (%5,3), *Leuconostoc lactis* (%4,9), *Leuconostoc pseudomesenteroides* (%8,0), *Lactococcus lactis subsp. lactis* (%4,5), *Lactobacillus paraplantarum* (%4,5) ve *Lactobacillus plantarum* (%27,3) olarak tanımlamışlardır. Aynı çalışmada *Weissella* türlerinin silaj ortamında iyi gelişebileceğini ve silaj fermantasyonu ve silaj kalitesini arttırabileceğini bildirilmiştir.

Bu çalışma kapsamında silajlara katkı maddesi olarak; biyolojik kompozisyonunda *Lactobacillus buchneri* bakterisi içeren Pioneer 11A44 (Pioneer Hi-Bred International, Des Moines, IA) inokulant olarak kullanılmıştır. *Lactobacillus buchneri*, son yıllarda silaj inokulantı olarak sıklıkla çalışılan zorunlu heterofermentatif LAB türlerinden biridir (Blajman vd., 2018). Bu tür, Brezilya'nın güneyindeki Minas Gerais'te üretilen mısır silajlarında sıklıkla izole edilmiştir (Santos vd., 2019). Rossi ve Dellaglio (2007) ve Ávila vd. (2010) da yaptıkları çalışmalarda yonca, mısır ve şeker kamışı silajlarında yüksek *L. buchneri* popülasyonu bulmuştur. Heterofermentatif bakteriler genellikle silaj sırasında daha uzun süre direnç gösterir ve daha uzun depolama süreleri boyunca fermantasyona hakim olur (Blajman vd., 2018; Carvalho vd., 2016). Çalışma kapsamında sorgum silajında kontrol ve uygulama gruplarında baskın olan tür *Lactobacillus buchneri* (%78,05) olmuştur. Beş günlük aerobik stabilite sonrası silajlarda; kontrol ve uygulama gruplarında yine yaygın olan tür *Lactobacillus buchneri* (%94,59) olduğu saptanmıştır. Holzer vd. (2003) silolama periyodunun dördüncü gününden sonra fermantasyon süreci ilerledikçe mikrobiyotada baskınlık *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus plantarum* ve özellikle *Lactobacillus Buchneri* olduğunu bildirmiş elde edilen sonuçlar çalışmamızla uyumlu bulunmuştur.

Lactobacillus brevis silaj aşılama ajanlarında yaygın olarak kullanılan bir başka heterofermentatif LAB'dir. Holzer vd. (2001) ve Zheng vd. (2017) yaptıkları çalışmalarda *Lactobacillus brevis* izolatının silolamanın sadece erken döneminde rol oynadığını bildirmişlerdir. Ancak farklı çalışmalarda silolamanın ilerleyen aşamalarında *Lactobacillus brevis* 'in tanımlandığı bildirilmektedir (Chahrour vd., 2013; Tohno vd., 2011; Zhang ve Yu 2017). Benzer şekilde çalışma kapsamında sorgum silajında kontrol, ^{HM}LAB ve ^{HM+HT}LAB gruplarında *Lactobacillus brevis* (%9,76) tanımlanmıştır. Araştırmamızdan elde edilen bulgular ile söz konusu araştırmacıların sonuçlarıyla uyumlu bulunmuştur.

Bu çalışma kapsamında silajlara katkı maddesi olarak; biyolojik kompozisyonunda *Lactobacillus plantarum* bakterilerini içeren LACTOSIL (Centro Sperimentale Del Latte (CSL), Persico, Italy) inokulant olarak kullanılmıştır. *Lactobacillus plantarum* silajlarda LA

fermantasyonunu geliştirerek ve zararlı epifitik mikropları inhibe ederek silolanmış yemlerin besin kalitesini korumak için kullanılan en yaygın mikroorganizmadır (McDonald vd., 1991; Oliveira vd., 2017). Alhaag vd. (2019) yaptıkları çalışmada sorgum silajından doğal LAB suşlarını genetik olarak 16S rRNA'nın dizilenmesi sonucunda 3 suşu; *Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus acidilactici* ve *Pediococcus claussenii* olarak tanımlamışlardır. Zhang ve Yu (2017) yaptıkları çalışmada Çin'deki bozkırlarda hazırlanan *Lactobacillus chinensis* silajından izole ettikleri LAB suşlarını *Lactobacillus plantarum* (%44,9), *Lactobacillus brevis* (%40,7), *Lactobacillus casei* (%6,6), *Weissella hellenica* (%2,4), *Enterococcus faecium* (%1,2), *Enterococcus faecalis* (%1,2), *Enterococcus mundtii* (%1,2), *Enterococcus durans* (%0,6), *Enterococcus sulphreus* (%0,6) ve *Lactococcus garvieae* (%0,6) olarak bildirmişlerdir. Çalışmada sorgum silajlarında ^{HM}LAB grubunda tanımlanan *Lactobacillus plantarum* (%12,16) olurken, aerobik stabilize sonrası silajlarda *Lactobacillus plantarum* (%5,41) daha düşük düzeyde tespit edilmiştir.

Bacillus sp. toprakta yaygın olarak bulunan, genellikle bitkileri bitki patojenlerine karşı etkili bir şekilde korumak için biyolojik kontrol ajanları olarak kullanılan bakteridir. *Bacillus sp.* morfolojik özelliklerine göre gram pozitif gram bakterilerdir (Arrebola vd., 2010). Çalışma kapsamında izolatların fenotipik ayrımında bu bakterilerin gram pozitif ve çubuk olması nedeniyle muhtemel LAB olduğu düşünülmüştür. Çalışmanın ilk aşamasında yapılan dizi analiz sonrasında M17 besi yerinde geliştirilen bakterilerden elde edilen 11 izolatın LAB grubunda olmadığı, *Bacillus sp.* suşları olduğu tespit edilmiştir. *B. subtilis*'in silajlarda kullanımını bildiren çalışmalar da mevcuttur. Lara vd. (2018) ve Bai vd. (2020), yaptıkları çalışmalarda, silajlarda kullanılan *B. subtilis*'in fermentasyon kalitesini iyileştirdiğini ve aerobik bozulmayı önlediğini bulmuşlardır.

16S rRNA dizi analizi yöntemi, organizmaları cins ve türlere göre kolayca tanımlayabilir (Ennahar vd. 2003). Bu çalışmada, BLAST programı (blast.ncbi.nlm.nih.gov) kullanılarak GenBank veri kütüphanesinde dizi benzerliği aramaları yapılmıştır. Çalışma kapsamında gözlemlenen LAB suşları (*Lactobacillus buchneri*, *Weissella cibaria*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus plantarum*)'na ait DNA dizileri NCBI'dan alınan referans veriler ile birlikte değerlendirildiğinde her bir tür için özdeşlik oranlarının %99,88-100 arasında değiştiği görülmüştür. Benzer çalışmalarda silajlardan elde edilen LAB suşların GenBank veri kütüphanesinde dizi benzerliği aramaları yapılmış ve özdeşlik oranları %95-

100 arasında olduğu bildirilmiş ve çalışmamızla uyumlu bulunmuştur (Aksu, 2020; Ni vd., 2015; Pang vd., 2011; You vd., 2021).

Çalışmada sorgum silajından tanımlanan, *Lactobacillus buchneri* izolat grubunda hizalama sonrası 235. nükleotidde T yerine C nükleotidi değişiminin görüldüğü, toplamda 2 farklı dizilimin söz konusu olduğu görülmektedir. Farklılık gösteren 2 dizinin referans veriler ile karşılaştırılması sonrasında benzer nükleotid değişiminin görüldüğü örnekler bulunmaktadır (Peng vd., 2015; Watanabe vd., 2009). *Lactobacillus plantarum* izolat grubunda hizalama sonrası taze sorgum ve sorgum silaj örneklerinden izole edilen örneklerde değişimin olmadığı tüm izolatların 16S rRNA gen bölgesi diziliminin birbiri ile aynı olduğu gözlemlenmiştir. Dizinin referans veriler ile karşılaştırılması sonrasında aynı dizinin mevcut olduğu örnekler olmakla birlikte farklılıkların görüldüğü şuşlarında yaygın olduğu görülmektedir (Ram vd., 2019; Ryu vd., 2023). *Lactobacillus brevis* izolat grubunda hizalama sonrası 78. nükleotidde G yerine A nükleotid değişiminin görüldüğü, aynı zamanda diğer bir izolatada 165. nükleotidde T yerine G nükleotidi değişiminin görüldüğü belirlenmiştir. Farklılık gösteren dizilerin referans veriler ile karşılaştırılması sonrasında benzer değişimin olduğu örneklerin bulunduğu görülmektedir (Pino vd., 2022). Taze sorgum bitkisinden izole edilen epifitik *Weissella cibaria* izolat grubunda hizalama sonrası örneklerde hiçbir değişimin olmadığı her iki suşun 16S rRNA gen bölgesi diziliminin birbiri ile aynı olduğu gözlemlenmiştir. Dizinin referans veriler ile karşılaştırılması sonrasında aynı dizinin mevcut olduğu örnekler olmakla birlikte bazı noktalarda nükleotid farklılıklarının görüldüğü şuşların olduğu görülmektedir (Surachat vd., 2022; Tada vd., 2013).

Çalışmada elde edilen verilerin hizalanması ve referans veriler ile karşılaştırılması sonrasında farklı türler arasındaki genetik ilişkilerin ortaya konması amacıyla filogenetik ağaç çizimi yapılmıştır. Filogenetik ağaçlar, farklı taksonlar (örneğin türler veya diziler) arasındaki evrimsel ilişkileri göstermektedir. Elde edilen veriler ile oluşturulan filogenetik ağaç incelendiğinde, tüm izolatların yüksek seviyede ayrılmış olduğu ve referans suşlar ile 5 farklı grupta toplandıkları görülmüştür. Çalışmamıza benzer şekilde, farklı silajlardan izole edilen ve tanımlanan suşların 16S rRNA gen bölgesi dizilimini sonrası farklı türler arasındaki genetik ilişkilerin ortaya konması için filogenetik ağaç çizimi yapılmıştır. (Alhaag vd., 2019; Ni vd., 2015; Sifeeldein vd., 2018; Tohno vd., 2012).

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma ile üç çeşit sorgum bitkisi ve farklı içeriklere sahip LAB inokulantlarının kullanımının sorgum silajının besin madde içeriklerini ve kalitesini etkilediğini ortaya konmuştur. Silolama süresinin sonunda (60. gün) en düşük pH ile KM, NDF, ADF ve selüloz içerikleri , en yüksek NH₃-N, SÇK, LA, AA, NYD, *in vitro* OMS, ME ve NEL içerikleri Es Hyperion silajlarında olduğu gözlenmiştir. Sonuçlar, Es Hyperion sorgum çeşidinin Tekirdağ ve benzeri ekolojik koşullar için uygun olabileceğini ortaya koymuştur. ^{HM}LAB (*L. plantarum*) inokulantı sorgum silajlarının pH, NH₃-N içeriklerini azaltırken, LA içerikleri ve *Lactobacilli* popülasyonunu artırmıştır. Buna karşın sorgum silajlarında CO₂ üretimini artırarak silajların aerobik stabilitelerini düşürmüştür. ^{HT}LAB (*L. buchneri*) inokulantı sorgum silajların LA ve PA içeriklerini azaltırken, AA, HK ve HP içeriğini artırmışlardır. Aerobik dönemde ise CO₂ üretimini diğer silajlara göre önemli düzeyde düşürerek aerobik stabiliteyi geliştirmişlerdir. ^{HM+HT}LAB (*L. plantarum*+ *L. buchneri*) inokulantı ise sorgum silajlarının LA, AA, HK, HP içeriklerini ve maya popülasyonunu artırırken, sorgum silajlarında CO₂ üretimini azaltarak silajların aerobik stabilitelerini iyileştirmişlerdir. Tüm çeşitlerde katkı maddesi kullanımı sorgum silajlarının KM ve HY içeriklerini etkilememiştir. Katkı maddesi kullanılmadan yapılan sorgum silajlarının fermentasyon özellikleri incelendiğinde yüksek SÇK ve düşük tamponlama kapasitesi nedeniyle sorgumdan kaliteli silaj elde edilebileceği kanıtlanmıştır.

Sorgum bitkisi ve sorgum silajından elde edilen LAB'nin 16S rRNA gen bölgesi dizi analiz yöntemiyle moleküler tanımlanması sonrasında sorgum bitkisi ve sorgum silajlarında en yaygın gözlemlenen LAB'sinin *Lactobacillus buchneri* olduğu dikkat çekmektedir. Silaj yapılacak bitkinin epifitik mikrobiyal topluluğunun silaj fermentasyonunda etkili olduğu gözlemlenmiştir. ^{HM}LAB (*L. plantarum*) inokulantı kullanılan silajlardan düşük düzeyde de olsa *Lactobacillus plantarum* tanımlanmış olup baskın olan türün *Lactobacillus buchneri* olduğu belirlenmiştir.

KAYNAKLAR

- Abdelhadi, L. O., & Tricarico, J. M. (2009). Effects of stage of maturity and microbial inoculation at harvest on nutritive quality and degradability of grain sorghum whole-plant and head-chop silages. *Animal feed science and technology*, 152(3-4), 175-185.
- Abdelhadi, L.O. and Santini, F.J. (2006) Corn Silage versus Grain Sorghum Silage as a Supplement to Growing Steers Grazing High Quality Pastures: Effects on Performance and Ruminal Fermentation. *Animal Feed Science and Technology*, 127, 33-43. <http://dx.doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2005.08.01>
- Açıkgöz, E. (2001). Yem Bitkileri. U.Ü. Güçlendirme Vakfı Yayın No: 182. Vipaş A.Ş. Yayın No:58, 584 s., Bursa.
- Açıkgöz, E., Turgut, İ., ve Filya, İ. (2002). Silaj Bitkileri Yetiştirme ve Silaj Yapımı. Hasat Yayincılık, Bursa.
- Addah, W., Baah, J., Okine, E. K., & McAllister, T. A. (2012). A third-generation esterase inoculant alters fermentation pattern and improves aerobic stability of barley silage and the efficiency of body weight gain of growing feedlot cattle1. *Journal of animal science*, 90(5), 1541-1552.
- Adesogan, A. T. (2008). Effect of applying bacterial inoculants to corn silage on the performance of dairy cattle. Lallemand Animal Nutrition Internal Report. Lallemand Animal Nutrition, Milwaukee, WI.
- Adesogan, A. T., and M. B. Salawu. (2004). Effect of applying formic acid, heterolactic bacteria or homolactic and heterolactic bacteria on the fermentation of bi-crops of peas and wheat. *J. Sci. Food Agric.* 84:983–992.
- Adıgüzel, G., (2008). Fermente Türk Sucugundan İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Fenotipik ve Genotipik Yöntemlerle Karakterizasyonu. Atatürk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Erzurum.
- Agarussi, M. C. N., Pereira, O. G., Pimentel, F. E., Azevedo, C. F., da Silva, V. P., & e Silva, F. F. (2022). Microbiome of rehydrated corn and sorghum grain silages treated with microbial inoculants in different fermentation periods. *Scientific Reports*, 12(1), 16864.
- Akin, D. E. (1989). Histological and physical factors affecting digestibility of forages. *Agron. J.* 81:17-25.
- Aksu, F. (2020). Buğdaygil Silajlarından İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Moleküler Tanımlanması Ve Karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kahramanmaraş.
- Aksu, T., Baytok, E., & Bolat, D. (2004). Effects of a bacterial silage inoculant on corn silage fermentation and nutrient digestibility. *Small Ruminant Research*, 55(1-3), 249-252.
- Akyıldız, A. R. (1984). Yemler Bilgisi Laboratuvar Klavuzu. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, No:859, 236, Ankara.

- Albrecht, K. A., and Muck, R. E. (1991). Proteolysis in ensiled forage legumes that vary in tannin concentration. *Crop Sci.*, 31:464–469.
- Alçıçek, A. (1988). İkinci Ürün ve Artıklarının Yem Değerleri Üzerine Araştırmalar. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Zootekni Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, s. 81, İzmir.
- Alhaag, H., Yuan, X., Mala, A., Bai, J., & Shao, T. (2019). Fermentation characteristics of *Lactobacillus plantarum* and *Pediococcus* species isolated from sweet sorghum silage and their application as silage inoculants. *Applied Sciences*, 9(6), 1247.
- Ali, M. F., and Tahir, M. (2021). An overview on the factors affecting water-soluble carbohydrates concentration during ensiling of silage. *Journal of Plant and Environment*, 3 (01):63-80.
- Amaral, R. C., Carvalho, B. F., Costa, D. M., Morenz, M. J. F., Schwan, R. F., & da Silva Ávila, C. L. (2020). Novel lactic acid bacteria strains enhance the conservation of elephant grass silage cv. BRS Capiapu. *Animal feed science and technology*, 264, 114472.
- Anonymous, (1986). *The Analysis of Agricultural Material*, Reference Book: 427. London, Pp. 428.
- AOAC. (1990). *Official methods of analysis* (15th ed.). Washington DC: Association of Official Analytical Chemist.
- Aragon YA, Jatkauskas J, Vrotniakien V. (2012). The effect of a silage inoculant on silage quality, aerobic stability, and meat production on farmscale. *İSRN Veterinary Science* 2012: 1-6.
- Arıoğlu, H. H. (2000). Yağ Bitkileri Yetiştirme ve Islahı. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ders Notları, Yayın No:A-70, Adana.
- Arrebola, E., Jacobs, R., & Korsten, L. J. J. O. A. M. (2010). Iturin A is the principal inhibitor in the biocontrol activity of *Bacillus amyloliquefaciens* PPCB004 against postharvest fungal pathogens. *Journal of applied microbiology*, 108(2), 386-395.
- Arriola, K. G., Queiroz, O. C. M., Romero, J. J., Casper, D., Muniz, E., Hamie, J., & Adesogan, A. T. (2015). Effect of microbial inoculants on the quality and aerobic stability of bermudagrass round-bale haylage. *Journal of Dairy Science*, 98(1), 478-485.
- Arriola, K., Kim, S. and Adesogan, A. (2011). Effect of applying inoculants with heterolactic or homolactic and heterolactic bacteria on the fermentation and quality of corn silage. *J Dairy Sci* 94, 1511–1516.
- Ashbell, G., Weinberg, Z. G., Azrieli, A., Hen, Y., and Horev, B. (1991). A Simple System to Determine the Aerobic Determination of Silages. *Can. Agric. Eng.*, 33: 391–395.
- Ashbell, G., Weinberg, Z. G., Hen, Y. and Filya, I. (2002). The effects of temperature on the aerobic stability of wheat and corn silages. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, 28:261-263.

- Ashraf, Y., Nagre, S.A. and Gillani, A. H. (1995). Micromineral contents of fodder as affected by varieties and harvesting intervals. *J. Agric. Res.*, 33:421-425.
- Auerbach, H. (1996). Verfahrensgrundlagen zur Senkung des Risikos eines Befalls von Silagen mit *Penicillium roqueforti* und einer Kontamination mit Mykotoxinen dieses Schimmelpilzes. *Landbauforschung Völkenrode, Sonderheft 168*, p. 1-167, Ph.D. diss. Universität Hohenheim, Germany
- Auerbach, H., Nadeau, E. (2013). Effects of chemical additives on whole-crop maize silage traits. In *Proceedings of the 22nd International Grassland Congress*, Sydney, NSW, Australia, 15–19 September.
- Aufrere, J. and Cartailier, D. (1988). Mise au point d'une méthode de laboratoire de prévision de la dégradabilité des protéines alimentaires des aliments concentrés dans le rumen. *Annales de Zootechnie*, 37(4), 255-270.
- Avila CL, Bravo Martins CE, Schwan RF. (2010). Identification and characterization of yeasts in sugarcane silages. *J Appl Microbiol.* Nov;109(5):1677-86. doi: 10.1111/j.1365-2672.2010.04796.x. Epub 2010 Jul 5. PMID: 20618886.
- Ayub M, Khalid M, Tariq M, Elahi M, Nadeem MA (2012). Comparison of sorghum genotypes for forage production and quality. *The Journal of Animal & Plant Sciences*, 22(3): 733-737.
- Bai, J., Xu, D., Xie, D., Wang, M., Li, Z., & Guo, X. (2020). Effects of antibacterial peptide-producing *Bacillus subtilis* and *Lactobacillus buchneri* on fermentation, aerobic stability, and microbial community of alfalfa silage. *Bioresource technology*, 315, 123881.
- Basmacioğlu H., Ergül M. (2002). Silaj Mikrobiyolojisi. *Hayvansal Üretim* 43(1): 12-24
- Bean, B., and M. Marsalis. (2012). Corn and sorghum silage production considerations. 2012 High Plains Dairy Conference., Amarillo, Texas.
- Beasley SS and Saris PEJ, (2004). Nisin-producing *Lactococcus lactis* strains from human milk. *Appl. Environ. Microbiol.*, 70: 5051- 5053
- Behling Neto A, Reis RHP, Cabral LS, Abreu JG, Sousa DP, Sousa FG. (2017). Nutritional value of sorghum silage of different purposes. *Ciência e Agrotecnologia* 41(3):288–299.
- Bely, M., Stoeckle, P., Masneuf-Pomarède, I., & Dubourdieu, D. (2008). Impact of mixed *Torulaspora delbrueckii*–*Saccharomyces cerevisiae* culture on high-sugar fermentation. *International journal of food microbiology*, 122(3), 312-320.
- Ben-Dov E, Shapiro OH, Siboni N, Kushmaro A. (2006). Advantage of using inosine at the 3'termini of 16S rRNA gene universal primers for the study of microbial diversity. *Appl Environ Microbiol* 72:6902–6906.
- Bilal, M. Q., Abdullah, M. and M. Lateef. (2001). Effect of mott dwarf elephant grass (*Pennisetum purpureum*) silage on dry matter intake, milk production, digestibility and

- rumen characteristics in Nili-Ravi buffaloes. In: Proc. 54th Annual Reciprocal Meat Conference (Vol. II). Indianapolis Indiana, USA, July 24-28.
- Blajman J. E., Vinderola G., Páez R. B. and. Signorini M. L (2020). The role of homofermentative and heterofermentative lactic acid bacteria for alfalfa silage: a meta-analysis. *The Journal of Agricultural Science*, 158(1-2):1-12.
- Blajman, J. E., Paez, R. B., Vinderola, C. G., Lingua, M. S., & Signorini, M. L. (2018). A meta-analysis on the effectiveness of homofermentative and heterofermentative lactic acid bacteria for corn silage. *Journal of Applied Microbiology*, 125(6), 1655-1669.
- Bolsen, K. K., Ashbell, G., and Weinberg, Z. G. (1996). Silage fermentation and silage additives-Review. *Asian-Australas J. Anim. Sci.*, 9:483-494.
- Bolsen, K. K., Lin, C., Brent, B.E., Feyerherm, A. M., Urban, J. E., and Aimutis, W. R. (1992). Effects of silage additives on the microbial succession and fermentation process of alfalfa and corn silages. *J Dairy Sci.* 75:3066-3083.
- Borreani G, Tabacco E, Schmidt RJ, Holmes BJ and Muck RE. (2018). Silagereview: factors affecting dry matter and quality losses in silages. *Journal of Dairy Science* 101, 3952–3979.
- Borrell, A. K., & Hammer, G. L. (2000). Nitrogen dynamics and the physiological basis of stay-green in sorghum. *Crop science*, 40(5), 1295-1307.
- Bovo, B., Giacomini, A., and Corich, V. (2011). Effects of grape marcs acidification treatment on the evolution of indigenous yeast populations during the production of grappa. *J. Appl. Microbiol.* 111, 382–388. doi: 10.1111/j.1365-2672.2011.05060.x
- Brady, C.J. (1961). The leaf proteases of *Trifolium repens*. *Biochemical Journal*, 78: 631-640.
- Bremner, P.M., Preston G.K., and Fazekas de St. Groth C. (1986). A field comparison of sunflower (*Helianthus annuus*) and sorghum (*Sorghum bicolor*) in a long drying cycle. I. Water extraction. *Aust. J. Agric. Res.*, 37:483–493.
- Broberg, A., K. Jacobsson, K. Ström, and J. Schnürer. (2007). Metabolite profiles of lactic acid bacteria in grass silage. *Appl. Environ. Microbiol.* 73:5547–5552.
- Bulut, Ç. (2023). Isolation and Molecular Characterization of Lactic Acid Bacteria From Cheese. Master of Science, İzmir Institute of Technology, İzmir.
- Cai, J., I. N. Roberts, and M. D. Collins. (1996). Phylogenetic relationships among members of the ascomycetous yeast genera *Brettanomyces*, *Debaryomyces*, *Dekkera*, and *Kluyveromyces* deduced by small-subunit rRNA gene sequences. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 46:542–549.
- Cai, Y., Y. Benno, M. Ogawa, S. Ohmomo, S. Kumai, and T. Nakase. (1998). Influence of *Lactobacillus* spp. from an inoculant and of *Weissella* and *Leuconostoc* spp. from forage crops on silage fermentation. *Appl. Environ. Microbiol.* 64:2982-2987.

- Cai, Y., Suyanandana, P., Saman, P., & Benno, Y. (1999). Classification and characterization of lactic acid bacteria isolated from the intestines of common carp and fresh water prawns. *Journal of General & Applied Microbiology*, 45, 177–184.
- Cândido, E. P., Pimenta Filho, E. C., Gonzaga Neto, S., Santos, E. M., Moura, J. F. P. D., & Bispo, S. V. (2014). Sorghum silage production system in Cariri, Paraíba. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 43, 336-342.
- Carpintero, C. M., Henderson, A. R., and McDonald, P. (1979). The effect of some pre-treatments on proteolysis during the ensiling of herbage. *Grass Forage Science*, 34: 311-315.
- Carvalho B.F., C.L.S. Ávila, T.F. Bernardes, M.N. Pereira, C. Santos, R.F. Schwan. (2017). Fermentation profile and identification of lactic acid bacteria and yeasts of rehydrated corn kernel silage, *Journal of Applied Microbiology*, Volume 122, Issue 3, 1 March 2017, Pages 589–600, <https://doi.org/10.1111/jam.13371>
- Carvalho BF, Ávila CL, Krempser PM, Batista LR, Pereira MN, Schwan RF. (2016). Occurrence of mycotoxins and yeasts and moulds identification in corn silages in tropical climate. *J Appl Microbiol.* 2016 May;120(5):1181-92. doi: 10.1111/jam.13057. Epub 2016 Apr 4. PMID: 26787003.
- Cattani, M., Sartori, A., Bondesan, V., & Bailoni, L. (2016). Degradability, Gas Production, and Energy Value of Different Hybrids of Sorghum after Storage in Mini-Silos. *Annals of Animal Science*, 16(3), 769-777.
- Centeno JA, Menendez S, Rodríguez-Otero JL, (1996). Main microbial flora present as natural starters in Cebreiro raw cow's-milk cheese (Northwest Spain). *International Journal of Food Microbiology* Volume 33, Issues 2–3, December 1996, Pages 307-313.
- Chahrour, W., Merzouk, Y., Henni, J. E., Haddaji, M., & Kihal, M. (2013). Screening and identification of lactic acid bacteria isolated from sorghum silage processes in west Algeria. *African Journal of Biotechnology*, 12(14).
- Chakravorty S, Helb D, Burday M, Connell N, Alland D. (2007). A detailed analysis of 16S ribosomal RNA gene segments for the diagnosis of pathogenic bacteria. *J Microbiol Methods.* 2007 May;69(2):330-9. doi: 10.1016/j.mimet.2007.02.005. Epub 2007 Feb 22. PMID: 17391789; PMCID: PMC2562909.
- Chang, H. C., S. N. Leaw, A. H. Huang, T. L. Wu, and T. C. Chang. (2001). Rapid identification of yeasts in positive blood cultures by a multiplex PCR method. *J. Clin. Microbiol.* 39:3466–3471.
- Chen L, Wang Y, Li X, MacAdam JW and Zhang Y (2023) Interaction between plants and epiphytic lactic acid bacteria that affect plant silage fermentation. *Front. Microbiol.* 14:1164904.
- Chen, J., Stokes, M. R., and Wallace, C. R. (1994). Effects of Enzyme-Inoculant Systems on Preservation and Nutritive Value of Hay Crop and Corn Silages, *J. Dairy Sci.*, 77: 501-512.

- Chilson, J. M., Rezamand, P., Drewnoski, M. E., Price, W., & Hunt, C. W. (2016). Effect of homofermentative lactic acid bacteria and exogenous hydrolytic enzymes on the ensiling characteristics and rumen degradability of alfalfa and corn silages. *The Professional Animal Scientist*, 32(5), 598-604.
- Collins CH. ve Layne PM. (1984). *Microbiological Methods*. Butterworth and Co Ltd., 450 p, London.
- Comino L, Tabacco E, Righi F, Revello-Chion A, Quarantelli A, Borreani G. (2014). Effects of an inoculant containing a *Lactobacillus buchneri* that produces ferulate-esterase on fermentation products, aerobic stability, and fibre digestibility of maize silage harvested at different stages of maturity. *Anim. Feed Sci. Technol.* 198: 94–106. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2014.10.001
- Contreras-Govea, F. E., Marsalis, M. A., Lauriault, L. M., and Bean, B. W. (2010). Forage sorghum nutritive value: A review. Online. *Forage and Grazinglands* doi:10.1094/FG-2010-0125-01-RV.
- Contreras-Govea, F. E., R. E. Muck, D. R. Mertens, and P. J. Weimer. (2011). Microbial inoculant effects on silage and in vitro ruminal fermentation, and microbial biomass estimation for alfalfa, BMR corn, and corn silages. *Anim. Feed Sci. Technol.* 163:2–10
- Corte, L., Di Cagno, R., Groenewald, M., Roscini, L., Colabella, C., Gobbetti, M., & Cardinali, G. (2015). Phenotypic and molecular diversity of *Meyerozyma guilliermondii* strains isolated from food and other environmental niches, hints for an incipient speciation. *Food microbiology*, 48, 206-215.
- Cothren JT, Matocha JE, Clark LE. (2000). “Integrated crop management for sorghum,” in *Sorghum: Origin, History, Technology, and Production*, eds C. W. Smith and R. A. Frederiksen (New York, NY: John Wiley and Sons), doi: 10.1017/s0021859699237847
- Cox, M. J., Cookson, W. O., & Moffatt, M. F. (2013). Sequencing the human microbiome in health and disease. *Human molecular genetics*, 22(R1), R88-R94.
- Cummins, D.G. (1981), Yield and Quality Changes with Maturity of Silage-Type Sorghum Fodder†. *Agron. J.*, 73: 988-990.
- Çebi Kılıçoğlu M, Özkoç İ. (2008). Fungal sistematiikteki moleküler gelişmeler. *OMÜ Zir Fak Dergisi*, 23(1): 65-72.
- da Silva, É. B., Savage, R. M., Biddle, A. S., Polukis, S. A., Smith, M. L., & Kung Jr, L. (2020). Effects of a chemical additive on the fermentation, microbial communities, and aerobic stability of corn silage with or without air stress during storage. *Journal of Animal Science*, 98(8), skaa246.
- Da Silva, T. C., Smith, M. L., Barnard, A. M., and L. Kung, Jr. (2015). The effect of a chemical additive on the fermentation and aerobic stability of high-moisture corn. *J. Dairy Sci.*, 98:8904-8912.

- Dann HM, Grant RJ, Cotanch KW, Thomas ED, Ballard CS, Rice R. (2008). Comparison of brown midrib sorghum-sudangrass with corn silage on lactational performance and nutrient digestibility in Holstein dairy cows. *J. Dairy Sci.* 91, 663–672. doi: 10.3168/jds.2007-0521
- Danner, H., Holzer, M., Mayrhuber, E., and Braun R. (2003). Acetic acid increases stability of silage under aerobic conditions. *Appl. Environ. Microbiol.*, 69:562-567.
- de Assis Pires, F. P. A., Tomich, T. R., Pereira, L. G. R., Machado, F. S., Campos, M. M., de Oliveira, A. F., Menezes, G. L., de Menezes, R. A., de Sousa, P. G., Jayme, D. G., & Gonçalves, L. C. (2023). Effect of the *Lactiplantibacillus plantarum* and *Lentilactobacillus buchneri* on corn and sorghum silage quality and sheep energy partition under tropical conditions. *Grass and Forage Science*, 78(1), 224–235.
- Deák, T., (2008). *Handbook of Food Spoilage Yeasts*. CRC Press, Boca Rotan, London, New York
- Denek, N., Can, A., Tüfenk, Ş. (2004). Mısır, sorgum ve ayçiçeği hasıllarına değişik katkı maddeleri katılmasının silaj kalitesi ve in vitro kurumadde sindirimine etkisi. *HR. Ü. Z. F. Dergisi*, 2004, 8 (2): 1-10.
- Der Bedrosian, M. C., K. E. Nestor, and L. Kung. (2012). The Effects of Hybrid, Maturity, and Length of Storage on the Composition and Nutritive Value of Corn Silage. *J. Dairy Sci.* 95:5115-5126.
- Diepersloot, E. C., Pupo, M. R., Ghizzi, L. G., Gusmão, J. O., Heinzen Jr, C., McCary, C. L., & Ferraretto, L. F. (2021). Effects of microbial inoculation and storage length on fermentation profile and nutrient composition of whole-plant sorghum silage of different varieties. *Frontiers in Microbiology*, 12, 660567.
- Driehuis F, Oude Elferink SJWH, Spoelstra SF. (1999). Anaerobic lactic acid degradation during ensilage of whole crop maize inoculated with *Lactobacillus buchneri* inhibits yeast growth and improves aerobic stability. *Journal of Applied Microbiology*. 87(4):583–594. doi:10.1046/j.1365-2672.1999.00856.x.
- Driehuis, F., & Elferink, S. O. (2000). The impact of the quality of silage on animal health and food safety: a review. *Veterinary Quarterly*, 22(4), 212-216.
- Driehuis, F., S. J. W. H. Oude Elferink, and P. G. Van Wikselaar. (2001). Fermentation characteristics and aerobic stability of grass silage inoculated with *Lactobacillus buchneri*, with or without homofermentative lactic acid bacteria. *Grass Forage Sci.* 56:330–343.
- Drouin P, Ferrero F. (2020). Testing selectivity of bacterial and fungal culture media compared to original silage samples using next generation sequencing. *J Microbiol Methods*. 179:106088. Epub 2020 Oct 20. PMID: 33091456.
- Druvefors, U. A., Passoth, V., & Schnürer, J. (2005). Nutrient effects on biocontrol of *Penicillium roqueforti* by *Pichia anomala* J121 during airtight storage of wheat. *Applied and environmental microbiology*, 71(4), 1865-1869.

- Duan, Z.Y., W.J. Yan, Y.M. Wu, J.A. Ye and J.X. Liu, (2006). Comparison of gas test system basen on the syringe with the reading pressure technique. *Journal of Anim. and Feed Sci and Tech.* 15:121-129.
- Dumlu Gül, Z. (2014). Farklı ayçiçeği populasyonlarının silaj performansı üzerine hasat dönemi ve katkı maddelerinin etkisi. Doktora tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Duniere L, Xu S, Long J, Elekwachi C, Wang Y, Turkington K, Forster R, McAllister TA. (2017). Bacterial and fungal core microbiomes associated with small grain silages during ensiling and aerobic spoilage. *BMC Microbiol.* PMID: 28253864; PMCID: PMC5335695.
- Dunière, L., Sindou, J., Chaucheyras-Durand, F., Chevallier, I., and Thévenot-Sergentet, D. (2013). Silage processing and strategies to prevent persistence of undesirable microorganisms. *Anim Feed Sci Technol.*,182:1–15.
- Dzierzanowska-Fangrat, K., Romanowska, E., Gryniewicz-Kwiatkowska, O., Migdał, M., Witulska, K., Ryżko, J., ... & Dzierzanowska, D. (2014). Candidaemia in a Polish tertiary paediatric hospital, 2000 to 2010. *Mycoses*, 57(2), 105-109.
- Ebling, T. L., and L. Kung. (2004). A comparison of processed conventional corn silage to unprocessed and processed brown midrib corn silage on intake, digestion, and milk production by dairy cows. *J. Dairy Sci.* 87: 2519-2527.
- Ennahar S., Cai Y., Fujita Y. (2003). Phylogenetic Diversity of Lactic Acid Bacteria Associated with Paddy Rice Silage as Determined by 16S Ribosomal DNA Analysis. *Applied And Environmental Microbiology*, Jan. 2003, p. 444–451
- Ensminger, M. E., Olentine Jr, C. G. (1978). *Feeds and Nutrition. Complete.* Clovis, California.
- Er, M. (2018). Karabuğday Bitkisinin Kuru Otu ya da Silajının Besin Değeri İle Süt Keçilerinde Süt Verimine Etkilerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Aydın.
- Ergün, A., Tuncer, Ş. D., Çolpan, İ., Yalçın, S., Yıldız, G., Küçükersan, M. K., Küçükersan, S. Şehu, A., ve Saçaklı, P. (2013). Yemler, yem hijyeni ve teknolojisi. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Genişletilmiş 5. Baskı, Ankara.
- Fabiszewska, A. U., Zielińska, K. J., & Wróbel, B. (2019). Trends in designing microbial silage quality by biotechnological methods using lactic acid bacteria inoculants: a minireview. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 35, 1-8.
- Farré, I., Faci, J.M., (2006). Comparative response of maize (*Zea mays L.*) and sorghum (*Sorghum bicolor L. Moench*) to deficit irrigation in a Mediterranean environment. *Agricultural Water Management*, 83(1): 135-143. doi: 10.1016/j.agwat.2005.11.001.
- Feichtinger, M., S. Mayrhofer, W. Kneifel, and K. J. Domig. (2016). Tetracycline resistance patterns of *Lactobacillus buchneri* group strains. *J. Food Prot.* 79:1741–1747.

- Fernandez-Espinar MT, Martorell R, De Llanos R, Querol A. (2006). Molecular methods to identify and characterize yeasts in foods and beverages. In: Yeasts in Food and Beverages ed: Querol A. and Fleet G (eds), Springer-Verlag, Berlin, Germany, pp: 55-82. 28.
- Ferrero, F., Piano, S., Tabacco, E., & Borreani, G. (2019). Effects of conservation period and *Lactobacillus hilgardii* inoculum on the fermentation profile and aerobic stability of whole corn and sorghum silages. Journal of the Science of Food and Agriculture, 99(5), 2530-2540.
- Filya, İ. (2006). Silaj yapımı, teknolojisi ve kullanımı. Süttaş. Hayvancılık serisi:2. Bursa.
- Filya, I. (2003). Nutritive value of whole crop wheat silage harvested at three stages of maturity. Anim Feed Sci Technol 103, 85–95.
- Filya, I. (2003). The Effect of *Lactobacillus buchneri* and *Lactobacillus plantarum* on the Fermentation, Aerobic Stability, and Ruminal Degradability of Low Dry Matter Corn and Sorghum Silages. J. Dair. Sci., 86: 3575-3581.
- Filya, I., & Sucu, E. (2007). Effect of a chemical preservative on fermentation, aerobic stability and nutritive value of whole-crop wheat silage. Journal of Applied Animal Research, 32(2), 133-138.
- Filya, I., E. Sucu, and A. Karabulut. (2006). The effect of *Lactobacillus buchneri* on the fermentation, aerobic stability and ruminal degradability of maize silage. J. Appl. Microbiol. 101:1216–1223.
- Filya, İ. (2000). Silaj fermantasyonunda katkı maddeleri kullanımı. Ondokuz Mayıs Üniv. Ziraat Fak. Dergisi, 15 (3): 118-125.
- Filya, İ. (2001). Silaj Teknolojisi. Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootečni Bölümü, 16059, Görükle, Bursa.
- Filya, İ. (2005). Silaj Yapımı, Teknolojisi ve Kullanımı. Süt Hayvancılığı Eğitim Merkezi Yayınları, Hayvancılık Serisi: 8 Yetiştirici El Kitabı, Karacabey, Bursa.
- Filya, İ. (2002a). Laktik asit bakteri ve laktik asit bakteri+enzim karışımı silaj inokulantlarının mısır silajı üzerine etkileri. Türk J Vet Anim Sci. 26:679-687.
- Filya, İ. (2002b). Laktik asit bakteri inokulantlarının mısır ve sorgum silajlarının Fermantasyon, aerobik stabilite ve in situ rumen parçalanabilirlik özellikleri üzerine etkileri. Türk J Vet Anim Sci. 26:815-823.
- Filya, İ., Sucu, E., Hanoğlu, H. (2004). Biyolojik silaj katkı maddeleri kullanılarak yapılan küçük plastik balya mısır silajlarının kalite özellikleri, yem değeri ve kuzu besisinde kullanımı üzerine bir araştırma. A.Ü. Zir. Fak. Tarım Bilimleri Dergisi. 10 (2) 158-162
- Finley, J. W., Pallavicini, C., and Kohle, R. G. O. (1980). Partial isolation and characterization of *Medicago sativa* leaf proteases. Journal of the Science of Food and Agriculture, 31: 156-161

- Fukuda, K., Ogawa, M., Taniguchi, H., & Saito, M. (2016). Molecular approaches to studying microbial communities: targeting the 16S ribosomal RNA gene. *Journal of UOEH*, 38(3), 223-232.
- Gallagher D, Parker D, Allen DJ, Tsesmetzis N. (2018). Dynamic bacterial and fungal microbiomes during sweet sorghum ensiling impact bioethanol production. *Bioresour Technol.* 2018 Sep;264:163-173. doi: 10.1016/j.biortech.2018.05.053. Epub 2018 May 26. PMID: 29803086.
- Ganzorig, O., F. Sumisa, B. Batdorj, and T. Yoshida. (2016). Isolation and identification of new lactic acid bacteria with potent biological activity and yeasts in airag, a traditional Mongolian fermented beverage. *Food Sci. Technol. Res.* 22:575–582.
- Garcia, A.D., Thex, N., Kalscheur, K.F. and Tjardes, K. (2003). Interpreting corn silage analysis. Cooperative Extension Services. South Dakota, USA.
- Garvie E.I., (1984). Taxonomy and Identification of Bacteria Important in Cheese and Fermented Dairy Products, in *Advances in The Microbiology and Biochemistry of Cheese and Fermented Milk*, edited by F. L. Davies and B. A. Law pp.35-67.
- Getachew, G., Putnam, D. H., De Ben, C. M., & De Peters, E. J. (2016). Potential of sorghum as an alternative to corn forage. *American Journal of Plant Sciences*, 7(7), 1106-1121.
- Giaveno, C., Ferrero, J., (2003). Introduction of tropical maize genotypes to increase silage production in the central area of Santafe. *Journal of Crop Breed Appl Biotechnol*, 3(2):89–94.
- Gleadow, R. M., Ottman, M. J., Kimball, B. A., Wall, G. W., Pinter Jr, P. J., LaMorte, R. L., & Leavitt, S. W. (2016). Drought-induced changes in nitrogen partitioning between cyanide and nitrate in leaves and stems of sorghum grown at elevated CO₂ are age dependent. *Field Crops Research*, 185, 97-102.
- Goering, H.K., and Van Soest, P. J. (1983). Forage Fiber Analyses. *Agricultural Handbook*, No 379, Washington.
- Gontijo Neto, M. M.; Obeid, J. A.; Pereira, O. G.; Cacon, P. R.; Candido, M. J. D.; Miranda, L. F. (2002). Híbridos de sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) cultivados sob níveis crescente de adubação. Rendimento, proteína bruta e digestibilidade in vitro. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, MG, v. 31, p. 1640-1647,
- Gram, C. (1884). The Differential Staining of Schizomycetes in Tissue Sections and in Dried Preparations. *Fortschritte der Medicine* 2: 185-189.
- Guan H, Yan Y, Li X, Li X, Shuai Y, Feng G, Ran Q, Cai Y, Li Y, Zhang X. (2018). Microbial communities and natural fermentation of corn silages prepared with farm bunker-silo in Southwest China. *Bioresour Technol.*;265:282-290.. PMID: 29908496.
- Günaydın, T., Akbay, F., Arıkan, S., Kızılsımsek, M. (2023). Effects Of Different Lactic Acid Bacteria Inoculants On Alfalfa Silage Fermentation And Quality. *Journal Of Agricultural Sciences*, 29(2), 555-560.

- Haigh, P. M., and Parker, J. W. G. (1985). Effect of Silage Additives and Wilting on Silage Fermentation, Digestibility and Intake and on Liveweight Change of Young Cattle. *Grass and Forage Science*, 40:429-436.
- Hall, T. (2011). BioEdit: An important software for molecular biology. *GERF Bull. Biosci.*
- Hammes, W. P., and C. Hertel. (2009). Genus *Lactobacillus beijerinck* 1901, 212AL. The Firmicutes. Pages 465–490 in *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. 2nd Ed. Vol. 3. NY.
- Harmini H, Fanindi A, Sutedi E, Herdiawan I, Sajimin S (2022). Nutritional content, performance and ratooning ability of four sorghum genotypes. *E3S Web of Conferences* 335, 00020.
- Hasan SA, Rabei SH, Nada RM, Abogadallah GM. (2017). Water use efficiency in the drought-stressed sorghum and maize in relation to expression of aquaporin genes. *Biol. Plant.* 61, 127–137. doi: 10.1007/s10535-016-0656-9.
- He L, Zhou W, Wang Y, Wang C, Chen X, Zhang Q. (2018). Effect of applying lactic acid bacteria and cellulase on the fermentation quality, nutritive value, tannins profile and in vitro digestibility of *Neolamarckia cadamba* leaves silage. *J Anim Physiol Anim Nutr.* 2018;102:1429–1436.
- Henderson, N. (1993). Silage additives. *Animal Feed Science and Technology*. 45: 35- 56.
- Henning, J. C., Lacefield, G. D., and Amaral-Philips, D. (2000). Interpreting forage quality reports. Cooperative Extension Service. ID-101.
- Hibberd, C. A., D. G. Wagner, R. L. Schemm, E. D. Mitchell, R. L. Hintz, and D. E. Weibel. (1982). Nutritive characteristics of different varieties of sorghum and corn grains. *J. Anim. Sci.* 55: 665-672.
- Hitchener, B. J., Egan, A. F., Rogers, P. J., (1982), Characteristics of lactic acid bacteria isolated from vacuum-packaged beef, *Journal of Applied Microbiology*, 52(1), 31-37.
- Holzapfel WH., Haberer P., Geisen R., Björkroth J., Schillinger U., (2007). The American Society for Nutr., *J. Nutr.*, 137, 838S-846S.
- Holzer, M., Mayrhuber, E., Kramer, W., Mathies, E., & Raab, L. (2003). Influence of bonsilage plus on fermentation quality of silage, feed intake and milk yield of dairy cows [Conference poster].
- Horvey, R. (2003). Making good silage. Ag-Info Centre. Alberta Agriculture and Rural Development. www.agric.gov.ab.ca
- Howell, T. A., Evett, S. R., Tolk, J. A., Copeland, K. S., Colaizzi, P. D., and Gowda, P. H. (2008). Evapotranspiration of corn and forage sorghum for silage. *Wetting Front Newsletter*. Vol. 10 No. 1., USDA-ARS, Bushland, TX
- Hu, W., Schmidt, R. J., McDonell, E. E., Klingerman, C. M., and Kung L. Jr. (2009). The effect of *Lactobacillus buchneri* 40788 or *L. plantarum* MTD-1 on the fermentation

and aerobic stability of corn silages ensiled at two dry matter contents. J. Dairy Sci., 92:3907–3914.

- Huys G, Pearson M, Kämpfer P, Denys R, Cnockaert M, Inglis V, Swings J, (2003). *Aeromonas hydrophila* ssp. *ranae* ssp. nov., isolated from septicemic farmed frogs in Thailand. International journal of systematic and evolutionary microbiology, 53, 3, 885-91.
- Janda, J. M., & Abbott, S. L. (2007). 16S rRNA gene sequencing for bacterial identification in the diagnostic laboratory: Pluses, perils, and pitfalls. Journal of Clinical Microbiology, 45(9), 2761–2764. <https://doi.org/10.1128/JCM.01228-07>
- Jayme, D. G.; Pires, D. A. A.; Guimaraes, Junior, R.; Gonçalves, L. C.; Rodrigues, J. A. S.; Rodriguez, N. M.; Borges, A. L. C. C.; Borges, I.; Saliba, C. O. S.; Jayme, C. G. (2007). Composição bromatológica e perfil de fermentação das silagens de cinco híbridos de capim-sudão (*Sorghum bicolor* x *Sorghum sudanense*) Revista Brasileira de Milho e Sorgo, Sete Lagoas, v. 6, p. 351-363.
- Jobim CC, Nussio LG, Reis RA, Schmidt P. (2007). Avanços metodológicos na avaliação da qualidade da forragem conservada. Rev Bras de Zootec. 36:101–119. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982007001000013>.
- Johanningsmeier, S. D., and R. F. McFeeters. (2013). Metabolism of lactic acid in fermented cucumbers by *Lactobacillus buchneri* and related species, potential spoilage organisms in reduced salt fermentations. Food Microbiol. 35:129–135
- Johnson, J.S., Spakowicz, D.J., Hong, BY. et al. (2019). Evaluation of 16S rRNA gene sequencing for species and strain-level microbiome analysis. Nat Commun 10, 5029 <https://doi.org/10.1038/s41467-019-13036-1>
- Johnson, L. M., J. H. Harrison, D. Davidson, W. C. Mahanna, K. Shinnors, and D. Linder. (2002). Corn silage management: effects of maturity, inoculation, and mechanical processing on pack density and aerobic stability. J. Dairy Sci. 85:434-444.
- Jones, R. (1995). Role of Biological Additives in Crop Conservation. In: Biotechnology in the Feed Industry, 465:479.
- Jonsson, A., and Pahlow, G. (1984). Systematic classification and biochemical characterization of yeasts growing in grass silage inoculated with *Lactobacillus* cultures. Anim. Res. Dev., 20:7–22.
- Jonsson, A., Pahlow, G. (1984). Systematic classification and biochemical characterization of yeasts growing in grass silage inoculated with *Lactobacillus* cultures. Animal research and development, 20, pp 7–22.
- Junges, D., Schmidt, P., Novinski, C. O., & Daniel, J. L. P. (2013). Additive containing homo and heterolactic bacteria on the fermentation quality of maize silage. Acta Scientiarum. Animal Sciences, 35, 371-377.
- Junior M., Retore M, Manarelli DM, Souza FB, Ledesma LLM, Orrico ACA. (2015). Forage potential and silage quality of four varieties of saccharine sorghum. Pesq. agropec. bras., Brasília, v.50, n.12, p.1201-1207, DOI: 10.1590/S0100-204X2015001200010

- Kabadjova, P., Dousset, X., Le Cam, V., & Prevost, H. (2002). Differentiation of closely related *Carnobacterium* food isolates based on 16S-23S ribosomal DNA intergenic spacer region polymorphism. *Applied and environmental microbiology*, 68(11), 5358–5366.
- Kaplan, M. (2013). The effect of variety on the chemical composition and ensiling characteristics of sorghum plant. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Doğa Bilimleri Dergisi*, 16(2), 34-38.
- Keleş G., Yazgan O. (2005). Bakteriyel inokulantların silaj fermentasyonu ve hayvan performansına etkileri. *Hayvancılık Araştırma Dergisi* (2005) 15, 1: 26–34.
- Kephart, K.D., Buxton, D.R., (1993). Forage Quality Responses of C3 and C4 Perennial Grasses to Shade. *Crop Sci.*, 33: 831-837.
- Keshri, J., Chen, Y., Pinto, R., Kroupitski, Y., Weinberg, Z. G., & Sela, S. (2018). Microbiome dynamics during ensiling of corn with and without *Lactobacillus plantarum* inoculant. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 102, 4025-4037.
- Kılıç, A. (1986). Silo Yemi (Öğretim, Öğrenim ve Uygulama Önerileri), Bilgehan Basımevi, Bornova-İzmir, 327 s.
- Kıran F., Osmanağaoğlu Ö. (2011). Laktik Asit Bakterilerinin (LAB) İdentifikasyonunda/Tiplendirmesinde Kullanılan Moleküler Yöntemler. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 27(1): 62-74(2011).
- Kırtok, Y. (1998). Mısır Üretimi ve Kullanımı. Kocaelik Basım ve Yayınevi, İstanbul, 445 s.
- Kızılsimşek, M., & Günaydın, T. (2020). Lactic Acid Bacteria Isolation and Determination of Their Silage Fermentation Capabilities. *Türk Tarım Ve Doğa Bilimleri Dergisi*, 7(1), 66-72.
- Kızılsimşek, M., Erol, A., Ertekin, İ., Dönmez, R., ve Katrancı, B. (2016). Silaj Mikro Florasının Birbirleriyle İlişkileri, Silaj Fermentasyonu ve Kalitesi Üzerine Etkileri. *KSÜ Doğa Bil. Derg.*, 19 (2), 136-140.
- Kim, H.K., Luquet, D., van Oosterom, E., Dingkuhn, M., Hammer, G., (2010a). Regulation of tillering in sorghum, genotypic effects. *Annual Botanical*, 106(1): 69-78. doi:org/10.1093/aob/mcq080.
- Kim, H.K., van Oosterom, E., Dingkuhn, M., Luquet, D., Hammer, G., (2010b). Regulation of tillering in sorghum, environmental effects. *Annual Botanical*, 106(1): 57-67. doi:org/10.1093/aob/mcq079.
- Kim, J. G., Ham, J. S., Chung, E. S., Sed, S., & Lee, J. K. (2005). Effect of new microbial strain as an inoculant on the quality of maize silage. In XXth International Grassland Congress (p. 478).
- Kleinschmit, D. and Kung Jr, L. (2006). A meta-analysis of the effects of *Lactobacillus buchneri* on the fermentation and aerobic stability of corn and grass and small-grain silages. *Journal of Dairy Science*, 89 (10), 4005-4013. doi:10.3168/jds.S0022-0302(06)72444-4.

- Kleinschmit, D. H., Schmidt, R. J., and Kung, L. (2005). The effects of various antifungal additives on the fermentation and aerobic stability of corn silage. *Journal of Dairy Science*, 88 (6): 2130–2139.
- Knický, M. (2005). Possibilities to improve silage conservation - effects of crop, ensiling technology and additives. Doctoral thesis. ISSN 1652-6880, ISBN 91-576-6961-9.
- Koç, F., and Coşkuntuna, L. (2003). Silo Yemlerinde Organik Asit Belirlemede İki Farklı Metodun Karşılaştırılması. *Journal of Animal Production*, 44(2): 37-47.
- Kozelov LK, Iliev F, Hristov AN, Zaman S, McAllister TA. (2008). Effect of fibrolytic enzymes and an inoculant on in vitro degradability and gas production of low-dry matter alfalfa silage. *J Sci Food Agric* 2008; 88:2568-75.
- Köppen, S., Reinhardt, G., & Gärtner, S. (2009). Assessment of energy and greenhouse gas inventories of Sweet Sorghum for first and second generation bioethanol. *FAO Environmental and natural resources service series*, 30.
- Kraut, C. J. et al. (2016). Temporal and spatial assessment of microbial communities in commercial silages from bunker silos. *Appl. Microbiol. Biot.* 100, 6827–6835
- Kristensen, N. B., K. H. Sloth, O. Højberg, N. H. Spliid, C. Jensen, and R. Thøgersen. (2010). Effects of microbial inoculants on corn silage fermentation, microbial contents, aerobic stability, and milk production under field conditions. *J. Dairy Sci.* 93:3764–3774.
- Kumar, S.; Stecher, G.; Tamura, K. (2016). MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Mol. Biol. Evol.* 2016, 33, 1870–1874.
- Kung Jr, L., Savage, R. M., Da Silva, E. B., Polukis, S. A., Smith, M. L., Johnson, A. C. B., & Miller, M. A. (2021). The effects of air stress during storage and low packing density on the fermentation and aerobic stability of corn silage inoculated with *Lactobacillus buchneri* 40788. *Journal of Dairy Science*, 104(4), 4206-4222.
- Kung Jr, L., Sheperd, A. C., Smagala, A. M., Endres, K. M., Bessett, C. A., Ranjit, N. K., & Glancey, J. L. (1998). The effect of preservatives based on propionic acid on the fermentation and aerobic stability of corn silage and a total mixed ration. *Journal of Dairy Science*, 81(5), 1322-1330.
- Kung L Jr, Ranjit N. (2001). The effect of *Lactobacillus buchneri* and other additives on the fermentation and aerobic stability of barley silage. *Journal of Dairy Science* 84: 1149–1155.
- Kung L Jr, Shaver RD, Grant RJ, Schmidt RJ. (2018). Silage Review: Interpretation of chemical, microbial, and organoleptic components of silage. *J. Dairy Sci.* 101: 4020–4033.
- Kung L, Savage RM, da Silva EB, Polukis SA, Smith ML, Johnson ACB, Miller MA. (2021). The effects of air stress during storage and low packing density on the fermentation and aerobic stability of corn silage inoculated with *Lactobacillus buchneri* 40788. *Journal of Dairy Science*. 104(4):4206–4222. doi:10.3168/jds.2020-19746.

- Kung, L. and Stokes, M.R., (2005). Analyzing silages for fermentation end products. University of Delaware. Delaware, USA.
- Kung, L., and Shaver, R. (2001). How Good Is Your Silage Making? *Hoard's Dairyman*, 146:597.
- Kung, L., Stokes, M.R., Lin, C. (2003). Silage additives. in *Silage science and technology*, 305-360.
- Kung, L., Tung, R.S., Maciorowski, K.G., Buffum, K., Knutsen, K., and Aimutis, W.R. (1991). Effects of plant cell-wall-degrading enzymes and lactic acid bacteria on silage fermentation and composition. *Journal of Dairy Science*, 74 (12): 4284-4296.
- Kurtzman, C. P. (1992). rRNA Sequence comparisons for assessing phylogenetic relationships among yeasts. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 42:1–6.
- Lee, S. S., Paradhipta, D. H., Joo, Y. H., Lee, H. J., Kwak, Y. S., Han, O. K., & Kim, S. C. (2018). Effects of selected inoculants on chemical compositions and fermentation indices of rye silage harvested at dough stage. *Journal of the Korean Society of Grassland and Forage Science*, 38(2), 99-105.
- Li D, Ni K, Pang H, Wang Y, Cai Y, Jin Q. (2015). Identification and antimicrobial activity detection of lactic Acid bacteria isolated from corn stover silage. *Asian-Australas J Anim Sci.* (5):620-31.
- Li M, Zhou S, Tang X, Liao C, Li P, Xie Y, Cheng Q, Chen C. (2023). Effect of co-inoculation of *Lactobacillus plantarum* and *Lentilactobacillus buchneri* on aerobic stability and microbial community composition of perennial sorghum silage. *Biomass and Bioenergy* 173 106801.
- Li, D. X., Ni, K. K., Zhang, Y. C., Lin, Y. L., & Yang, F. Y. (2018). Influence of lactic acid bacteria, cellulase, cellulase-producing *Bacillus pumilus* and their combinations on alfalfa silage quality. *Journal of Integrative Agriculture*, 17(12), 2768-2782.
- Li, Y. and Nishino, N. (2011) Effects of inoculation of *Lactobacillus rhamnosus* and *Lactobacillus buchneri* on fermentation, aerobic stability and microbial communities in whole corn silage. *Grassl Sci* 57, 184–191.
- Lin, Y., Du, Z., Xiong, Y., Wang, N., Wang, X., Zhou, X., Yang, F., & Ni, K. (2022). Genotypic and Phenotypic Characterization of Lactic Acid Bacteria Associated with Silage Fermentation of Pineapple Residue. *Diversity*.
- Liu M, Wang Y, Wang Z, Bao J, Zhao M, Ge G, Jia Y, Du S. (2022). Effects of Isolated LAB on Chemical Composition, Fermentation Quality and Bacterial Community of *Stipa grandis* Silage. *Microorganisms*.10(12):2463.
- Liu, C., Lai, Y. J., Lu, X. N, Guo, P. T., and Luo, H. L. (2016). Effect of lactic acid bacteria inoculants on alfalfa (*Medicago sativa* L.) silage quality: assessment of degradation (in situ) and gas production (in vitro). *Journal of Integrative Agriculture*, 15(12), 2834-2841. doi:10.1016/S2095-3119(16)61424-7.

- Liu, S., Skory, C., Qureshi, N., and Hughes, S. (2016). The *yajC* gene from *Lactobacillus buchneri* and *Escherichia coli* and its role in ethanol tolerance. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 43, 441–450.
- Madigan, M.T., Martinko, J.M., (2010). *Brock Mikroorganizmaların Biyolojisi*, Palme Yayın Evi 942 S, Ankara
- Mari, L. J., R. J. Schmidt, L. G. Nussio, C. M. Hallada, and L. Kung Jr. (2009). An evaluation of the effectiveness of *Lactobacillus buchneri* 40788 to alter fermentation and improve the aerobic stability of corn silage in farm silos. *J. Dairy Sci.* 92:1174–1176.
- Marsalis, M. A., Angadi, S., Contreras-Govea, F. E., Kirksey, R. E., (2009). Harvest timing and byproduct addition effects on corn and forage sorghum silage grown under water stress. *Agric. Exp. Stn. Bull.* 799. New Mexico State Univ., Las Cruces, NM.
- Martins, A.D.S., Oliveira, J.R., Lederer, M.L., Moletta, J.L., Galetto, S.L., Pedrosa, V.B., (2014). Níveis de inclusão de glicerol nas silagens de milho e girassol. *Ciência Agrotecnologia*, 38(5): 497-505.
- McAllister TA, Dunière L, Drouin P, Xu S, Wang Y, Munns K, Zaheer R. (2018). Silage review: Using molecular approaches to define the microbial ecology of silage. *J Dairy Sci.* 101(5):4060-4074. PMID: 29685277.
- McCollum, T., McCuiston, K., & Bean, B. (2005). Brown midrib and photoperiod sensitive forage sorghums. In *Proceedings of the 2005 plains nutrition council spring conference* (pp. 05-20). Amarillo, TX: Texas A&M University Agricultural Research and Extension Center.
- McDonald P, Henderson A, Heron S, (1991). Chapter 2: Crops for silage. In *The Biochemistry of Silage*; Chalcombe Publications: Southampton, UK.
- McDonald, P. (1981). *The Biochemistry of Silage*. John Wiley & Sons. Chalcombe Publications, 226 pp
- McDonald, P., Henderson, N., and Heron, S. (1991). *The biochemistry of silage*. 2nd ed. Marlow, UK: Chalcombe Publishers.
- Meeske, R., & Basson, H. M. (1998). The effect of a lactic acid bacterial inoculant on maize silage. *Animal Feed Science and Technology*, 70(3), 239-247.
- Meeske, R., Ashbell, G., Weinberg, Z. G., & Kipnis, T. (1993). Ensiling forage sorghum at two stages of maturity with the addition of lactic acid bacterial inoculants. *Animal Feed Science and Technology*, 43(3-4), 165-175.
- Menke, K.H, L., Raab, A., Salewski, H. Steingass, D. Fritz and W. Schneider, (1979). The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor in vitro. *J. Agric. Sci. Camb.* 93:217-222.
- Metzker, M., (2010). “Sequencing technologies — the next generation”, *Nature Rev. Genet.*, vol. 11, pp. 31–46 ,

- Mignard S, Flandrois JP. (2006). 16S rRNA sequencing in routine bacterial identification: a 30-month experiment. *J Microbiol Methods*. Dec;67(3):574-81.. Epub 2006 Jul 21. PMID: 16859787.
- Min, B. R., T. N. Barry, G. T. Attwood, and W. C. McNabb. (2003). The effect of condensed tannins on the nutrition and health of ruminants fed fresh temperate forages: a review. *Anim. Feed Sci. Technol.* 106:3 – 19.
- Moon, S. H., Enishi, O., & Hirota, H. (1993). The Effect of Concentrate Supplementation on Voluntary Intake, Digestibility and Composition of Rumen Fluid of Goats Fed on Rye (*Secale cereale* L.) Silage. *Japanese Journal of Grassland Science*, 39(2), 206-215.
- Moore, J. E., and Undersander, D. J. (2002). Relative Forage Quality: An alternative to relative feed value and quality index. In “Proceedings of the 13th Annual Florida Ruminant Nutrition Symposium”, 10-11 January, Gainesville.
- Muck RE (2010). Silage microbiology and its control through additives. *R. Bras. Zootec.*, v.39, p.183-191.
- Muck RE, Nadeau EMG, McAllister TA, Contreras FE, Govea MC Santos, Kung, LJr. (2018). Silage review: Recent advances and future uses of silage additives. *J. Dairy Sci.* 101:3980–4000.
- Muck, R. (1996). Silage Inoculation. Inoculation of silage and its effects on silage quality. Dairy Forage Center, 1996 Informational Conference with Dairy and Forage Industries. 43:51.
- Muck, R. E. (1988). Factors influencing silage quality and their implications for management. *Journal of Dairy Science*, 71(11), 2992-3002.
- Muck, R. E. (1996). A lactic acid bacteria strain to improve aerobic stability of silages. *US Dairy Forage Research Center*, 42-43.
- Muck, R. E. (2004). Effects of corn silage inoculants on aerobic stability. *Trans. ASAE* 47:1011–1016.
- Muck, R. E., and Kung, L. Jr. (1997). Effects of silage additives on ensiling. Pages 187-199 in *Silage: field to feedbunk*. Ithaca: Northeast Regional Agricultural Engineering Service. New York, US.
- Muck, R. E., Kung Jr, L., & Collins, M. (2020). Silage production. *Forages: The Science of Grassland Agriculture*, 2, 767-787.
- Muck, R. E., Moser, L. E., & Pitt, R. E. (2003). Postharvest factors affecting ensiling. *Silage science and technology*, 42, 251-304.
- Müller G, Weber H, (1996). *Mikrobiologie der Lebensmittel: Grundlagen*, Behr's Verlag DE
- Nasyatul-Ekma, M.H., Mohd Rosly, S., Marini, A.M., Nor-Idayusni, Y. dan Hazirah, A. (2018). Lactic acid bacteria as microbial inoculant for *Acacia mangium* silage. *Malaysian Journal of Animal Science* 21(2): 91 – 97.

- Naumann, C., and Bassler, R. (1993). Die Chemische Untersuchung von Futtermitteln. VDLUFA-Methodenbuch, Band III. 3. Erg., Verlag Naumann, Melsungen.
- Neelakanta, G. and Sultana, H., (2013). The use of metagenomic approaches to analyze changes in microbial communities, *Microbiolgy insights*, 16(6), 37-48.
- Neves, A. L. A., Santos, R. D., Pereira, L. G. R., Oliveira, G. F., Scherer, C. B., Verneque, R. S., & McAllister, T. (2015). Agronomic characteristics, silage quality, intake and digestibility of five new Brazilian sorghum cultivars. *The Journal of Agricultural Science*, 153(2), 371-380.
- Ni K, Minh TT, Tu TT, Tsuruta T, Pang H, Nishino N. (2017). Comparative microbiota assessment of wilted Italian ryegrass, whole crop corn, and wilted alfalfa silage using denaturing gradient gel electrophoresis and next-generation sequencing. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2017 Feb;101(4):1385-1394. PMID: 27722778.
- Ni, K., Wang, Y., Li, D., Cai, Y., & Pang, H. (2015). Characterization, identification and application of lactic acid bacteria isolated from forage paddy rice silage. *PloS one*, 10(3), e0121967.
- Nishino, N., & Touno, E. (2005). Ensiling characteristics and aerobic stability of direct-cut and wilted grass silages inoculated with *Lactobacillus casei* or *Lactobacillus buchneri*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85(11), 1882-1888.
- Nishino, N., Yoshida, M., Shiota, H., & Sakaguchi, E. (2003). Accumulation of 1, 2-propanediol and enhancement of aerobic stability in whole crop maize silage inoculated with *Lactobacillus buchneri*. *Journal of Applied Microbiology*, 94(5), 800-807.
- Nogales B, Moore ER, Llobet-Brossa E, Rossello-Mora R, Amann R, Timmis KN. (2001). Combined use of 16S ribosomal DNA and 16S rRNA to study the bacterial community of polychlorinated biphenyl-polluted soil. *Appl Environ Microbiol* 2001; 67(4): 1874-84.
- NRC (1989). Nutrient Requirements of Dairy Cattle. Washington, D.C., 157s.
- O'Kiely, P. (1992). Silage Production as a Pollutant: New ways to reduce its environmental impact. In: *Biotechnology in The Feed Industry*. Edit By T.P. Lyons, 151:161.
- Ohmomo, S., Tanaka, O., Kitamoto, H. K., & CAI, Y. (2002). Silage and microbial performance, old story but new problems. *Japan Agricultural Research Quarterly: JARQ*, 36(2), 59-71.
- Okoye, C. O., Wei, Z., Jiang, H., Wu, Y., Wang, Y., Gao, L., & Jiang, J. (2023). Metagenomics analysis reveals the performance of homo-and heterofermentative lactic acid bacteria in alfalfa silage fermentation, bacterial community, and functional profiles. *Journal of Animal Science*, 101, skad163.
- Oliveira, A. S., Weinberg, Z. G., Ogunade, I. M., Cervantes, A. A., Arriola, K. G., Jiang, Y., ... & Adesogan, A. T. (2017). Meta-analysis of effects of inoculation with homofermentative and facultative heterofermentative lactic acid bacteria on silage

- fermentation, aerobic stability, and the performance of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 100(6), 4587-4603.
- Orla-Jensen, S., In S. Orla-Jensen (Ed.), (1919). *The lactic acid bacteria*, pp. 1-196, Copenhagen: A.F. Host and Son,
- Ota-Tsuzuki, C., Brunheira, A. T. P., & Mayer, M. P. A. (2008). 16S rRNA region based PCR protocol for identification and subtyping of *Parvimonas micra*. *Brazilian Journal of Microbiology*, 39, 605-607.
- Oude Elferink, S. J. W. H., J. Krooneman, J. C. Gottschal, S. F. Spoelstra, F. Faber, and F. Driehuis. (2001). Anaerobic conversion of lactic acid to acetic acid and 1,2-propanediol by *Lactobacillus buchneri*. *Appl. Environ. Microbiol.* 67:125–132.
- Ozduven, M.L., Koç, F., and Akay, V. (2017). Effects of bacterial inoculants and enzymes on the fermentation, aerobic stability and in vitro organic matter digestibility characteristics of sunflower silages. *Pakistan Journal of Nutrition*, 16(1):22-27.
- Ozduven, M.L., ve Öğün, S. (2006). Yaş bira posası-ayçiçeği hasılı karışım silajlarında fermantasyon özellikleri ve toklularda ham besin maddelerinin sindirilebilirliği üzerine etkileri. *Journal of Tekirdag Agricultural Faculty*, 3(3): 245-252.
- Özbay, O. (2007). *Silaj Yapım Tekniği*. T.C Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Tarımsal Üretim ve Geliştirme Genel Müdürlüğü Yayınları.
- Özdüven, M. L. (2002). Yaş Bira Posası ve Anason Posası ile Bazı Hasıllardan Elde Edilen Silajların Yem Değerlerinin Farklı Analiz Teknikleri ile Belirlenmesi. *Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Tekirdağ*.
- Özdüven, M.L. & A. Çelebi Çam. (2017). The effects of bacterial inoculants and/or enzymes on the fermentation characteristics and aerobic stability of alfalfa ensiled at different stages of maturity. *International Journal of Current Research*, 9 (2): 45983-45988.
- Pahlow, G., Muck, R. E., Driehuis, F., Oude Elferink, S. J. W. H., and Spoelstra, S. F. (2003). Microbiology of ensiling. In: D.R. Buxton, R.E. Muck, J.H. Harrison (Eds.), *Silage Science and Technology*. 1st ed. Madison, WI: American Society of Agronomy, pp. 31–94.
- Paiva, J. A. J., Pizarro, E. A., Rodriguez, N. M., & Wiana, J. A. C. (2013). Silage quality in the metallurgical region of Minas Gerais, Brazil. *National Agricultural Library*, 30(1), 81-88.
- Pang, H., Qin, G., Tan, Z., Li, Z., Wang, Y., & Cai, Y. (2011). Natural populations of lactic acid bacteria associated with silage fermentation as determined by phenotype, 16S ribosomal RNA and recA gene analysis. *Systematic and Applied Microbiology*, 34(3), 235-241.
- Paradhipta, D.H.V., Joo, Y.H., Lee, H.J., Lee, S.S., Kim, D.H., Kim, J.D., Kim, S.C., (2019). Effects of inoculant application on fermentation quality and rumen digestibility of high moisture sorghum-sudangrass silage. *J. Appl. Anim. Res.* 47, 486–491.

- Peng, M., Reichmann, G., & Biswas, D. (2015). *Lactobacillus casei* and its byproducts alter the virulence factors of foodborne bacterial pathogens. *Journal of Functional Foods*, 15, 418-428.
- Perazzo, A. F., Carvalho, G. G. P. D., Santos, E. M., Pinho, R. M. A., Campos, F. S., Macedo, C. H. O., & Tabosa, J. N. (2014). Agronomic evaluation of 32 sorghum cultivars in the Brazilian semi-arid region. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 43, 232-237.
- Philippeau, C., & Michalet-Doreau, B. (1998). Influence of genotype and ensiling of corn grain on in situ degradation of starch in the rumen. *Journal of dairy science*, 81(8), 2178-2184.
- Philippeau, C., C. Martin, and B. Michalet-Doreau. (1999). Influence of grain source on ruminal characteristics and rate, site, and extent of digestion in beef steers. *J. Anim. Sci.* 77:1587-1596.
- Pınarkara, Y. (2023). Çeşitli Starter Ve Probiyotik Kültürlerin Mikrobiyolojik, İmmünolojik Ve Moleküler Yöntemlerle Karakterizasyonu. Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya.
- Pincus, D. H., Orenge, S., Chatellier, S., (2007). Yeast identification- past, present, and future methods. *Medical Mycology*, 45 (2): 97-121.
- Pinho, R.M.A., Santos, E.M., Oliveira, J.S.D., Bezerra, H.F.C., Freitas, P.M.D.D., Perazzo, A.F., Ramos R.C.D.S., Silva, A.P.G.D., (2015). Sorghum cultivars of different purposes silage. *Ciência Rural*, 45(2): 298-303. doi: 10.1590/0103- 8478cr20131532.
- Pino, A.; Russo, N.; Solieri, L.; Sola, L.; Caggia, C.; Randazzo, C.L. (2022). Microbial Consortia Involved in Traditional Sicilian Sourdough: Characterization of Lactic Acid Bacteria and Yeast Populations. *Microorganisms*, 10,283.
- Pinter, L., Burucs, Z., and Szieberth, D. (1993). The possibility of maize-soybean and maize-sunflower intercropping as a tool for improving protein content and feeding value of silage in Central-Europe Carpathian basin. *Novenytermeles* 42, 37–47.
- Playne MJ, Mc Donald P. (1966). The Buffering Constituent of Herbage and of Silage, *J. Sci. Food. Agric*, 17:264-268.
- Polat, C., Yurtman, İ.Y., Koç, F., Coşkuntuna, L., Özdüven, M.L. (1998). Mikrobiyal katkı maddesi kullanımının I. ve 2. ürün mısır, fiğ-tahıl karışımı, ayçiçeği silajlarında fermentasyon gelişimi ve aerobik stabilite üzerine etkileri. Kesin Rapor, Tübitak, Proje No: VHAG- 1238, Tekirdağ, 79 s.
- Pot, B., and E. Tsakalidou. (2009). Taxonomy and metabolism of *Lactobacillus*. Pages 3–58 in *Lactobacillus Molecular Biology: From Genomics to Probiotics*, 1st ed. Å. Ljungh and T. Wadström, ed. Caister Academic Press, Poole, UK.
- Puntillo M, Peralta GH, Bürgi MDM, Huber P, Gaggiotti M, Binetti AG, Vinderola G. (2022). Metaprofiling of the bacterial community in sorghum silages inoculated with lactic acid bacteria. *J Appl Microbiol.* Oct;133(4):2375-2389.. Epub 2022 Aug 3. PMID: 35778976.

- Queiroz, V. A. V., Dizlek, H., de Barros, F. A. R., Tardin, F. D., Figueiredo, J. E. F., & Awika, J. M. (2022). Baking process effects and combined cowpea flour and sorghum bran on functional properties of gluten-free cookies. *Plant Foods for Human Nutrition*, 77(4), 552-559.
- Rabelo, C. H. S., Lara, E. C., Basso, F. C., Härter, C. J., & Reis, R. A. (2018). Growth performance of finishing feedlot lambs fed maize silage inoculated with *Bacillus subtilis* and lactic acid bacteria. *The Journal of Agricultural Science*, 156(6), 839-847.
- Rademaker, J.L.W., De Bruijn, F.J., (2000). Characterization and classification of microbes by rep-PCR genomic fingerprinting and computer-assisted pattern analysis.
- Ramirez-Diaz, Roselia; Pinto-Ruiz, René; Medina-Jonapa, Francisco Y Guevara-Hernandez, Francisco. (2020). Effect of inoculants and additives on fractions of ruminal fermentation and in vitro degradation in sorghum silage (*Sorghum* sp). *CienciaUAT* [online]., vol.15, n.1, pp.172-179.
- Ranjit, N. K., and Kung, Jr. L. (2000). The effects of *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus plantarum*, or a chemical preservative on the fermentation and aerobic stability of corn silage. *J. Dairy Sci.* 83: 526-535.
- Ranjit, N. K., Taylor, C. C., and Kung, Jr. L. (2002). Effect of *Lactobacillus buchneri* 40788 on the fermentation, aerobic stability and nutritive value of maize silage. *Grass and Forage Science*. 57:73-81.
- Rao SP, Despande S, Blummel M, Reddy BVS, Hash T (2012). Characterization of Brown midrib mutants of sorghum (*Sorghum bicor* (L.) Moench). *Eur J Plant Sci Biotechnol* 6: 71–75.
- Reich, L. J., and L. Kung Jr. (2010). Effects of combining *Lactobacillus buchneri* 40788 with various lactic acid bacteria on the fermentation and aerobic stability of corn silage. *Anim. Feed Sci. Technol.* 159:105–109
- Rogosa, M., Wiseman, R. F., Mitchell, J. A., Disraely, M. N., Beaman, A. J., (1953). Species differentiation of oral lactobacilli from man including description of *Lactobacillus salivarius* nov spec and *Lactobacillus cellobiosus* nov spec, *Journal of Bacteriology*, 65(6), 681-699.
- Romero, J. J., M. Castillo, and J. C. Burns. (2015). Forage conservation techniques: silage and haylage production. NC State Extension. Accessed June. 23, 2017.
- Rooke, J. A., & Kafilzadeh, F. (1991). The voluntary intake and digestibility by sheep of grass silages treated with different silage inoculants. *Proceedings of the British Society of Animal Production* (1972), 1991, 82-82.
- Rossi, F., and F. Dellaglio. (2007). Quality of silages from Italian farms as attested by number and identity of microbial indicators. *J. Appl. Microbiol.* 103:1707–1715.
- Ruxton, G. D. & Gibson, G. J. (1993). A critical introduction to mathematical modelling of the aerobic deterioration of silage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 62(3), pp 209–217.

- Ryu, S., Doo, H., Kim, E. S., Keum, G. B., Kwak, J., Pandey, S., ... & Lee, J. H. (2023). Complete genome sequence of *Lactiplantibacillus plantarum* strain GA_C_14 with potential characteristics applicable in the swine industry. *Journal of Animal Science and Technology*.
- Santos, A. D. O. D., Dias Junior, G. S., Pereira, M. N., Schwan, R. F., & Ávila, C. L. D. S. (2019). A survey of whole-plant corn silages from Minas Gerais dairy farms. *Scientia Agricola*, 77, e20180080.
- Santos, M. C., & Kung Jr, L. (2016). The effects of dry matter and length of storage on the composition and nutritive value of alfalfa silage. *Journal of Dairy Science*, 99(7), 5466-5469.
- Santos, M. C., Golt, C., Joerger, R. D., Mechor, G. D., Mourão, G. B., & Kung Jr, L. (2017). Identification of the major yeasts isolated from high moisture corn and corn silages in the United States using genetic and biochemical methods. *Journal of Dairy Science*, 100(2), 1151-1160.
- Sarıççek, Z.B., Ayan, İ., Garipoğlu, A. V. (2002). Mısır ve bazı baklagillerin tek ve karışık ekilmelerinin silaj kalitesine etkisi. *OMÜ Ziraat fakültesi Dergisi*, 17 (3): 1-5, Samsun.
- Sarwar, M., Khan, M. A. and Iqbal, Z. (2002). Feed resources for livestock in Pakistan. *Int. J. Agric. Biol.*, 4:186-192.
- Savage, R. M., E. B. da Silva, M. L. Smith, S. A. Polukis, K. M., Pacer, A. E. Laubach, and L. Kung, Jr. (2016). The effects of air and heat stress on the aerobic stability of silage treated with a chemical additive. *J. Anim. Sci.*, 94(Suppl. 5):327-327.
- Schillinger, U., Lücke, F. K., (1987). Identification of lactobacilli from meat and meat products, *Food Microbiology*, 4(3), 199-208.
- Schmid, A. R., Goodrich, R. D., Jordan, R. M., Marten, G. C., and Meiske, J. C. (1976). Relationships among agronomic characteristics of corn and sorghum cultivars and silage quality. *Agron. J.* 68:403-406.
- Schmidt, R. J., W. Hu, J. A. Mills, and L. Kung Jr. (2009). The development of lactic acid bacteria and *Lactobacillus buchneri* and their effects on the fermentation of alfalfa silage. *J. Dairy Sci.* 92:5005–5010.
- Seale, D.R., Pahlow, G., Spoelstra, S.F., Lindgren, S., Dellaglio, F. and Lowe, J.F. (1990). Methods for the microbiological analysis of silage. Paper presented at the Eurobac Conference. Uppsala, Sweden. Access link: <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=SE9211078>
- Seglar, B., (2003). Fermentation analysis and silage quality testing. *Global Agronomy and Nutritional Sciences. Proceedings of the Minnesota Dairy Health Conference. College of Veterinary Medicine. University of Minnesota, USA.*
- Seppälä A, Heikkilä T, Mäki M and Rinne M (2016). Effects of additives on the fermentation and aerobic stability of grass silages and total mixed rations. *Grass and Forage Science*, doi: 10.1111/gfs.12221.

- Shayan, J. V., Vov, S. O., & Kartavi, A. S. (1996). Effect of Biological Additive on Quality of Maize Silage and Performance of Silage-Fed Steers. In Proc. 11th Int. Silage Conference, Aberystwyth, Wales (pp. 174-175).
- Sifeeldein A, Yuan Z, Dong Z, Li J, Youns H and Shao T. (2018). Characterization and identification of lactic acid bacteria by 16S rRNA gene sequence and their effect on the fermentation quality of Elephant Grass (*Pennisetum purpureum*) Silage. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 24, 123–130.
- Silva V. P., Pereira O. G., Leandro E. S., Paula R. A., Agarussi M. C. N. and Ribeiro K. G. (2020). Selection of Lactic Acid Bacteria from Alfalfa Silage and Its Effects as Inoculant on Silage Fermentation. *Agriculture* 2020, 10, 518; doi:10.3390/agriculture10110518
- Silva, E. B. (2018). The effects of a combination of sodium benzoate, potassium sorbate, and sodium nitrite on the composition of the microbial community, fermentation, and aerobic stability of whole plant corn silage and high moisture corn.
- Sipiczki, M. (2003). *Candida zemplinina* sp. nov., an osmotolerant and psychrotolerant yeast that ferments sweet botrytized wines. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 53(6), 2079-2083.
- Skonieski, F. R., Nornberg, J. L., Azevedo, E. B., David, D. B., Kessier, J. D., & Menegas, A. L. (2010). Produção, caracterização nutricional e fermentativa de silagens de sorgo forrageiro e sorgo duplo propósito. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, 32(1), 27-32.
- Slottner, D., and Bertilsson, J. (2006). Effect of ensiling technology on protein degradation during ensilage. *Animal Feed Science Technology*, 127, (1–2): 101–111.
- Soysal, M. İ. (1998). *Biyometrinin Prensipleri (İstatistik I ve II Ders Notları)*, Yayın No:95, Ders Kitabı No:64, T.Ü. Tekirdağ Ziraat Fakültesi, s.331, Tekirdağ.
- Spoelstra, S.F. (1983). Inhibition of clostridial growth by nitrate during the early phase of silage fermentation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 34 (2): 145–152.
- SPSS (2007). *SPSS 15 for Windows*. SPSS Inc.
- Stanojevic, D., Comic, L., Stefanovic, O., and Solujic-Sukdolak, S. (2009). Antimicrobial effects of sodium benzoate, sodium nitrite and potassium sorbate and their synergistic action in vitro. *Bulg J Agric Sci J.*, 15:307-11.
- Ström, K., J. Sjögren, A. Broberg, and J. Schnürer. (2002). *Lactobacillus plantarum* MiLAB 393 produces the antifungal cyclic dipeptides cyclo(L-Phe-L-Pro) and cyclo(L-Phe-trans-4-OH-L-Pro) and 3-phenyllactic acid. *Appl. Environ. Microbiol.* 68:4322–4327.
- Sucu E, Kalkan H, Canbolat Ö, Filya İ. (2016). Effects of ensiling density on nutritive value of maize and sorghum silages. *Revista Brasileira de Zootecnia* 45(10):596-603.
- Sucu, E., & Filya, I. (2006). The effects of bacterial inoculants on the fermentation, aerobic stability and rumen degradability characteristics of wheat silages. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 30(2), 187-193.

- Sullivan, M. L., and Zeller W. E. (2013). Efficacy of various naturally occurring caffeic acid derivatives in preventing post-harvest protein losses in forages. *J. Sci. Food Agric.*, 93:219–226. <https://doi.org/10.1002/jsfa.5781>.
- Sun, Z., J. Yu, T. Dan, W. Zhang, and H. Zhang. (2014). Phylogenesis and Evolution of lactic acid bacteria. Pages 1–101 in *Lactic Acid Bacteria, Fundamentals and Practice*. H. Zhang and Y. Cai, ed. Springer Science+Business Media, New York, NY.
- Supelco (1998). Analyzing fatty acids by packed column gas chromatography, Sigma-Aldrich Corp, Bulletin 856, Bellefonte, PA.
- Surachat, K., Kantachote, D., Deachamag, P., & Wonglapsuwan, M. (2022). In silico genomic analysis of *Rhodopseudomonas palustris* strains revealed potential biocontrol agents and crop yield enhancers. *Biological Control*, 176, 105085.
- Tabacco, E., S. Piano, A. Revello-Chion, and G. Borreani. (2011). Effect of *Lactobacillus buchneri* LN4637 and *Lactobacillus buchneri* LN40177 on the aerobic stability, fermentation products, and microbial populations of corn silage under farm conditions. *J. Dairy Sci.* 94:5589–5598.
- Tabasco R, Paarup T, Janer C, Peláez C, Requena T, (2007). Selective enumeration and identification of mixed cultures of *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *L. acidophilus*, *L. paracasei* ssp. *paracasei* and *Bifidobacterium lactis* in fermented milk. *International Dairy Journal*, 17, 9, 1107-14.
- Tada, T., Miyoshi-Akiyama, T., Kato, Y., Ohmagari, N., Takeshita, N., Hung, N. V., & Kirikae, T. (2013). Emergence of 16S rRNA methylase-producing *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* isolates in hospitals in Vietnam. *BMC infectious diseases*, 13(1), 1-6.
- Tanizawa Y, Tohno M, Kaminuma E, Nakamura Y, Arita M. (2015). Complete genome sequence and analysis of *Lactobacillus hokkaidonensis* LOOC260(T), a psychrotrophic lactic acid bacterium isolated from silage. *BMC Genomics*. 25;16(1):240. PMID: 25879859; PMCID: PMC4377027.
- Taylor, C. C., and L. Kung Jr. (2002). The effect of *Lactobacillus buchneri* 40788 on the fermentation and aerobic stability of high moisture corn in laboratory silos. *J. Dairy Sci.* 85:15
- Teller, R. S., Schmidt, R. J., Whitlow, L. W., and L. Kung Jr. (2012). Effect of physical damage to ears of corn before harvest and treatment with various additives on the concentration of mycotoxins, silage fermentation, and aerobic stability of corn silage. *J. Dairy Sci.*, 95:1428–1436.
- Temiz, A. (2008). Genel Mikrobiyoloji Uygulama Teknikleri. Hatiboğlu Yayınları: 96, Yükseköğretim Dizisi, 29:90-93, Ankara.
- Tennant RK, Sambles CM, Diffey GE, Moore KA, Love J. (2017). Metagenomic Analysis of Silage. *J Vis Exp*. 2017 Jan 13;(119):54936. doi: 10.3791/54936. PMID: 28117801; PMCID: PMC5352169.

- Thomas, M. E., Foster, J. L., McCuiston, K. C., Redmon, L. A., & Jessup, R. W. (2013). Nutritive value, fermentation characteristics, and in situ disappearance kinetics of sorghum silage treated with inoculants. *Journal of Dairy Science*, 96(11), 7120-7131.
- Thompson J.D., Higgins.D.G. and Gibson J.J. (1994). CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucl. Acids Res.*, 11, 4673-4680.
- Tjandraatmadja, M., MacRae, I.C. & Norton, B.W., (1993). Intake and digestibility of sorghum silage by goats. *Anim. Feed Sci. Technol.* 41,171-179.
- Tohno, M., Kobayashi, H., Nomura, M., Kitahara, M., Ohkuma, M., Uegaki, R., & Cai, Y. (2012). Genotypic and phenotypic characterization of lactic acid bacteria isolated from Italian ryegrass silage. *Animal Science Journal*, 83(2), 111-120.
- Tolentino, D.C.; Rodrigues, J.A.S.; Pires, D.A.A.; Veriato, F.T.; Lima, L.O.B.; Moura, M.M.A. The quality of silage of different sorghum genotypes. *Acta Sci. Anim. Sci.* 2016, 38, 143–149.
- Tosun, F. (1996). Türkiye’de kaba yem üretiminde çayır-mera ve yem bitkileri yetiştiriciliğinin dünü, bugünü ve yarını. Türkiye III. Çayır- Mera ve Yem bitkileri Kong., 17-19 Haziran, s. 1-4, Erzurum.
- Treu, L., Campanaro, S., Nadai, C., Toniolo, C., Nardi, T., Giacomini, A., & Corich, V. (2014). Oxidative stress response and nitrogen utilization are strongly variable in *Saccharomyces cerevisiae* wine strains with different fermentation performances. *Applied microbiology and biotechnology*, 98, 4119-4135.
- Tudisco, R., Morittu, V. M., Musco, N., Grossi, M., Iommelli, P., D’Aniello, B., & Lombardi, P. (2021). Effects of Sorghum silage in lactating buffalo cow diet: biochemical profile, milk yield, and quality. *Agriculture*, 11(1), 57.
- TÜİK (2022). Türkiye İstatistik Kurumu, Bitkisel Üretim İstatistikleri. <http://tuikapp.tuik.gov.tr/bitkiselapp/bitkisel.zul>
- TÜİK (2023). Türkiye İstatistik Kurumu, Bitkisel Üretim İstatistikleri. <http://tuikapp.tuik.gov.tr/bitkiselapp/bitkisel.zul>
- Turan MK, Günay ÖC, Kayış SA, Çörtük M. (2018). Mikrobiyotada 16S rRNA ve Basit Biyoinformatik Analizler. *J Biotechnol and Strategic Health Res.* Nisan 2018;2(1):23-34.
- Twarużek, M., Dorszewski, P., Grabowicz, M., Szterk, P., Grajewski, J., & Kaszkowiak, J. (2016). Effect of additives on the fermentation profile, microbial colonization and oxygen stress of alfalfa silages. *Journal of Elementology*, 21(4).
- Valdez, F.R., Harrison, J.H., and Fransen. S.C. (1988). Effect of feeding cornsunflower silage on milk production and rumen fermentation of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 71:2462-2469.

- Valerio, F., P. Lavermicocca, M. Pascale, and A. Visconti. (2004). Production of phenyllactic acid by lactic acid bacteria: An approach to the selection of strains contributing to food quality and preservation. *FEMS Microbiol. Lett.* 233:289
- Van Der Vossen JMBM, Rahaoui H, De Nijs MWCM, Hartog BJ. (2003). PCR methods for tracing and detection of yeasts in the food chain. In: *Yeasts in Food*, Boekhout T, Robert V (eds), Bayerlein GmbH, Neuss, Germany, pp. 123-137.
- Van Dyke, N.J., and Anderson, P. M. (2000). Interpreting a Forage Analysis. Alabama Cooperative Extension. Circular ANR-890.
- Vaneechoutte, M., (1996). DNA fingerprinting techniques for microorganisms. A proposal for classification and nomenclature, *Mol. Biotech.*, 6, 115-142,
- Vieira-Dalodé, G., Jespersen, L., Hounhouigan, J., Moller, P. L., Nago, C. M., & Jakobsen, M. (2007). Lactic acid bacteria and yeasts associated with gowé production from sorghum in Bénin. *Journal of Applied Microbiology*, 103(2), 342-349.
- Virtanen, A. I. (1993). The AIV. method of preserving fresh fodder. *Empire Journal of Experimental Agriculture*, 1: 143-155.
- Wang H, Hao W, Ning T, Zheng M, Xu C. (2018). Characterization of culturable yeast species associating with whole crop corn and total mixed ration silage. *Asian-Australas J Anim Sci.* 2018 Feb;31(2):198-207. PMID: 28728388; PMCID: PMC5767501.
- Wang S, Dong Z, Li J, Chen L, Shao T. (2018). Effects of storage temperature and combined microbial inoculants on fermentation end products and microbial populations of Italian ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam.) silage. *J Appl Microbiol.* Epub ahead of print. PMID: 30133082.
- Wang S, Yuan X, Dong Z, Li J, Guo G, Bai Y, Zhang J, Shao T. (2017). Characteristics of isolated lactic acid bacteria and their effects on the silage quality. *Asian-Australas J Anim Sci.* Jun;30(6):819-827. doi: 10.5713/ajas.16.0589. Epub 2016 Oct 19. PMID: 27764915; PMCID: PMC5411845.
- Wang T, Teng K, Cao Y, Shi W, Xuan Z, Zhou J, Zhang J, Zhong J. (2020). Effects of *Lactobacillus hilgardii* 60TS-2, with or without homofermentative *Lactobacillus plantarum* B90, on the aerobic stability, fermentation quality and microbial community dynamics in sugarcane top silage. *Bioresour Technol.* doi: 10.1016/j.biortech.2020.123600. Epub 2020 May 30. PMID: 32531735.
- Wang T., Teng K., Cao Y., Shi W., Xuan Z., Zhou J., Zhang J., Zhong J. (2020). Effects of *Lactobacillus hilgardii* 60TS-2, with or without homofermentative *Lactobacillus plantarum* B90, on the aerobic stability, fermentation quality and microbial community dynamics in sugarcane top silage, *Bioresour. Technol.* 312, 123600, <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123600>.
- Wang, C., Esteve-Zarzoso, B., & Mas, A. (2014). Monitoring of *Saccharomyces cerevisiae*, *Hanseniaspora uvarum*, and *Starmerella bacillaris* (synonym *Candida zemplinina*) populations during alcoholic fermentation by fluorescence in situ hybridization. *International Journal of Food Microbiology*, 191, 1-9.

- Wang, M., Yang, C., Jia, L., & Yu, K. (2014). Effect of *Lactobacillus buchneri* and *Lactobacillus plantarum* on the fermentation characteristics and aerobic stability of whipgrass silage in laboratory silos. *Grassland Science*, 60(4), 233-239.
- Wang, W., Zhuang, X., Yuan, Z., Yu, Q., Qi, W., Wang, Q., & Tan, X. (2012). High consistency enzymatic saccharification of sweet sorghum bagasse pretreated with liquid hot water. *Bioresource technology*, 108, 252-257.
- Watanabe, K., Fujimoto, J., Tomii, Y., Sasamoto, M., Makino, H., Kudo, Y., & Okada, S. (2009). *Lactobacillus kisonensis* sp. nov., *Lactobacillus otakiensis* sp. nov., *Lactobacillus rapi* sp. nov. and *Lactobacillus sunkii* sp. nov., heterofermentative species isolated from sunki, a traditional Japanese pickle. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 59(4), 754-760.
- Weinberg ZG, Ashbell G, Hen Y, Azrieli A, Szakacs G, Filya I. (2002). Ensiling whole-crop wheat and corn in large containers with *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus buchneri*. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 28: 7–11.
- Weinberg ZG, Ashbell G, Hen Y, Azrieli A. (1993). The effect of applying lactic acid bacteria at ensiling on the aerobic stability of silages. *Journal of Applied Microbiology*, 75: 512–518.
- Weinberg ZG, Muck RE. (1996). New trends and opportunities in the development and use of inoculants for silage. *FEMS Microbiology Reviews* 19, 53–68.
- Weinberg, Z. G., G. Szakacs, G. Ashbell, and Y. Hen. (1999). The effect of *Lactobacillus buchneri* and *L. plantarum*, applied at ensiling, on the ensiling fermentation and aerobic stability of wheat and sorghum silages. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 23:218–222.
- Weinberg, Z. G., Muck, R. E., Weimer, P. J., Chen, Y., and Gamburg, M. (2004). Lactic acid bacteria used in inoculants for silage as probiotics for ruminants. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 118, 001–010.
- Weinberg, Z. G., Shatz, O., Chen, Y., Yosef, E., Nikbahat, M., Ben-Ghedalia, D., & Miron, J. (2007). Effect of lactic acid bacteria inoculants on in vitro digestibility of wheat and corn silages. *Journal of dairy science*, 90(10), 4754-4762.
- White, J. S.; Bolsen, K.; Kirch, B.; Pfaff, L. Selecting forage sorghum cultivars for silage. Manhattan: Kansas Agricultural Experimental Station, (1988). 8 p. (KSU. Report of Progress, 539).
- White, T. J., T. Bruns, S. Lee, and J. W. Taylor. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. Pages 315–322 in *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*. M. A. Innis, D. H. Gelfand, J. J. Sninsky, and T. J. White, ed. Academic Press Inc., New York, NY.
- Williams, J. G., Kubelik, A. R., Livak, K. J., Rafalski, J. A., & Tingey, S. V. (1990). DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic acids research*, 18(22), 6531–6535.

- Wilson, J. R. (1993). Organization of forage plant tissues. Pages 1-32 in: Forage Cell Wall Structure and Digestibility. H. G. Jung, D. R. Buxton, R. D. Hatfield, and J. Ralph, eds. ASA-CSSA-SSSA, Madison, WI. USA.
- Winters, A. L., Cockburn, J. E., Dhano A, M. S., and Merry, R. J. (2000). Effect of lactic acid bacteria in inoculants on changes in amino acid composition during ensilage of sterile and non-sterile ryegrass. *Journal of Applied Microbiology*, 89:442-451.
- Wohlt, J. E. (1989). Use of a silage inoculant to improve feeding stability and intake of a corn silage-grain diet. *Journal of dairy science*, 72(2), 545-551.
- Woolford, M. K. (1975). Microbiological screening of the straight chain fatty acids (C1–C12) as potential silage additives. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 26 (2): 219–228.
- Woolford, M. K. (1990). The detrimental effects of air on silage. *J. Appl. Microbiol.*, 68:101-116.
- Woolford, M. K. (1984). *The silage fermentation*. Marcel Dekker, Inc..
- Wu B, Hu Z, Wei M, Yong M, Niu H. (2022). Effects of inoculation of *Lactiplantibacillus plantarum* and *Lentilactobacillus buchneri* on fermentation quality, aerobic stability, and microbial community dynamics of wilted *Leymus chinensis* silage. *Front Microbiol*. 2022 Jul 29;13:928731. PMID: 35966710; PMCID: PMC9372395.
- Xu Z, He H, Zhang S, Kong J. (2017). Effects of inoculants *Lactobacillus brevis* and *Lactobacillus parafarraginis* on the fermentation characteristics and microbial communities of corn stover silage. *Scientific Reports* | 7: 13614 |
- Xu, D., Ding, W., Ke, W., Li, F., Zhang, P., & Guo, X. (2019). Modulation of metabolome and bacterial community in whole crop corn silage by inoculating homofermentative *Lactobacillus plantarum* and heterofermentative *Lactobacillus buchneri*. *Frontiers in Microbiology*, 9, 3299.
- Yalçın, H. T. Ö., 2007. Beyaz Peynirlerde Bozulmaya Neden Olan *Yarrowia lipolytica* ve *Debaryomyces hansenii*'nin Fenotipik ve Genotipik _dentifikasyonu. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, İzmir.
- Yamada, Y., M. Matsuda, K. Maeda, and K. Mikata. (1994). The phylogenetic relationships of species of the genus *Dekkera* van der Walt based on the partial sequences of 18S and 26S ribosomal RNAs (Saccharomycetaceae). *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 58:1803–1808.
- Yan, Y., Li, X., Guan, H., Huang, L., Ma, X., Peng, Y., & Zhang, X. (2019). Microbial community and fermentation characteristic of Italian ryegrass silage prepared with corn stover and lactic acid bacteria. *Bioresource Technology*, 279, 166-173.
- Yang, B., Wang, Y. & Qian, PY. (2016). Sensitivity and correlation of hypervariable regions in 16S rRNA genes in phylogenetic analysis. *BMC Bioinformatics* 17, 135

- Yavuz, T., Kır, H., Gül, V. (2020). Türkiye ve kırşehir ilinin kaba yem üretim potansiyeli; kırşehir ili örneği. Türkiye Tarımsal Araştırmalar Dergisi, 7(3), 345- 352. doi:10.19159/tutad.728119
- You, S., Du, S., Ge, G., Wan, T., & Jia, Y. (2021). Selection of lactic acid bacteria from native grass silage and its effects as inoculant on silage fermentation. *Agronomy Journal*, 113(4), 3169-3177.
- Yuan, X.J., Wen, A.Y., Desta, S.T., Wang, J., and Shao, T. (2017). Effects of sodium diacetate on the fermentation profile, chemical composition and aerobic stability of alfalfa silage. *Asian-Australas J. Anim. Sci.*, 30: 804-810.
- Yuan, X.J., Wen, A.Y., Wang, J., Desta, S.T., Dong, Z.H., and Shao, T. (2016). Effects of four short-chain fatty acids or salts on fermentation characteristics and aerobic stability of alfalfa (*Medicago sativa* L.) silage. *J. Sci. Food Agric.*; 98: 328–335
- Zhang T, Li L, Wang X, Zeng Z, Hu Y and Cui Z. (2009). Effects of *Lactobacillus buchneri* and *Lactobacillus plantarum* on fermentation, aer-obic stability, bacteria diversity and ruminal degradability of alfalfa silage. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 25, 965–971.
- Zhang, Q., & Yu, Z. (2017). Characterization, identification and application of lactic acid bacteria isolated from *Leymus chinensis* silage. *Grassland science*, 63(2), 111-117.
- Zhang, Q., Wu, B., Nishino, N., Wang, X., and Yu, Z. (2016). Fermentation and microbial population dynamics during the ensiling of native grass and subsequent exposure to air. *Anim. Sci. J.* 87, 389–397.
- Zhang, Q., Yu, Z., & Wang, X. (2015). Isolating and evaluating lactic acid bacteria strains with or without sucrose for effectiveness of silage fermentation. *Grassland science*, 61(3), 167-176.
- Zielinska, K., A. Fabiszewska, M. Swiatek, and D. SzymanowskaPowalowska. (2017). Evaluation of the ability to metabolize 1,2-propanediol by heterofermentative bacteria of the genus *Lactobacillus*. *Electron. J. Biotechnol.* 26:60–83
- Zielińska, K., Fabiszewska, A., & Stefańska, I. (2015). Different aspects of *Lactobacillus* inoculants on the improvement of quality and safety of alfalfa silage. *Chilean journal of agricultural research*, 75(3), 298-306.