

Laktik Asit Bakteri ve Laktik Asit Bakteri+Enzim Karışımı Silaj İnokulantlarının Mısır Silajı Üzerine Etkileri

İsmail FİLYA

Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootečni Bölümü, Bursa-TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 24.04.2001

Özet: Bu çalışma silaj katkı maddesi olarak kullanılan laktik asit bakteri ve laktik asit bakteri+enzim karışımı inokulantların, mısır (*Zea mays*) silajlarının fermentasyon, aerobik stabilite, hücre duvarı kapsamı ve *in situ* rumen parçalanabilirlik özellikleri üzerindeki etkilerinin saptanması amacı ile düzenlenmiştir. Laktik asit bakteri inokulantı olarak H/M F Inoculant No. 9927 (Medipharm, USA), laktik asit bakteri+enzim karışımı inokulant olarak ise Sil-All (Alltech, UK) kullanılmıştır. İnokulantlar silajlara 10^6 cfu g⁻¹ düzeyinde katılmışlardır. Mısır, hamur olum döneminde hasat edilmiş ve yalnızca gaz çıkışına olanak tanıyan, 1,5 litrelik özel kavanozlara silolanmıştır. Kavanozlar laboratuvar koşullarında $25\pm 2^\circ\text{C}$ ' de depolanmışlardır. Silolamadan sonraki 2, 4, 8, 15 ve 50. günlerde her gruptan 3'er kavanoz açılarak silajlarda kimyasal ve mikrobiyolojik analizler yapılmıştır. Silolama döneminin sonunda (50. gün) açılan tüm silajlara 5 gün süre ile aerobik stabilite testi uygulanmıştır. Ayrıca bu silajların, rumen parçalanabilirlikleri saptanmıştır. Sonuç olarak her iki inokulant da, mısır silajlarının fermentasyon özellikleri ile *in situ* rumen kuru ve organik madde parçalanabilirliklerini artırmış ancak aerobik stabilitelerini düşürmüştür. Laktik asit bakteri+enzim karışımı inokulant, silajların nötr ve asit deterjanda çözünmeyen lif kapsamını düşürürken, *in situ* rumen parçalanabilirliklerini artırmıştır.

Anahtar Sözcükler: Silaj katkı maddeleri, Laktik asit bakteri inokulantları, Enzim, Fermentasyon, Aerobik stabilite, Hücre duvarı kapsamı, *in situ* rumen parçalanabilirliği

The Effects of Lactic Acid Bacteria and Lactic Acid Bacteria+Enzyme Mixture Silage Inoculants on Maize Silage

Abstract: This study was carried out to determine the effects of lactic acid bacteria and lactic acid bacteria+enzyme mixture inoculants as silage additives, on the fermentation, aerobic stability, cell wall content, and *in situ* rumen degradability of maize (*Zea mays*) silage. H/M F Inoculant No. 9927 (Medipharm, USA), and Sil-All (Alltech, UK) were used as lactic acid bacteria and lactic acid bacteria+enzyme mixture inoculants. Inoculants were applied to 10^6 cfu g⁻¹ silage levels. Maize was harvested at dent stages of maturity and ensiled in 1.5 liter special jars equipped with a lid that enabled gas release only. The jars were stored at $25\pm 2^\circ\text{C}$ under laboratory conditions. Three jars from each group were sampled for chemical and microbiological analyses on days 2, 4, 8, 15, and 50 after ensiling. All jars were opened at the end of the ensiling period (50 days) and subjected to an aerobic stability test for 5 days. In addition, rumen degradabilities of these silages were determined. Both inoculants increased characteristics of fermentation and *in situ* rumen dry and organic matter degradabilities but impaired aerobic stability of maize silages. Lactic acid bacteria+enzyme mixture inoculant decreased neutral and acid detergent fiber content and increased *in situ* rumen degradabilities of silages.

Key Words: Silage additives, Lactic acid bacterial inoculants, Enzyme, Fermentation, Aerobic stability, Cell wall content, *in situ* rumen degradability

Giriş

Silaj fermentasyonunda katkı maddesi olarak laktik asit bakteri (LAB) inokulantlarının (bakteriyal kültür) kullanıldığı çoğu çalışmada, inokulantların silajların pH, asetik asit, bütrik asit, amonyak-azotu ve etanol düzeylerini düşürüp, lactobacilli, laktik asit ve laktik:asetik asit oranını artırarak silaj fermentasyonunu geliştirdiği saptanmıştır (1-5). Bunun yanı sıra LAB inokulantları bazı çalışmalarda silajların aerobik stabilitelerini (aerobik koşullara dayanıklılık ve silo ömrü) artırırlarken (6, 7), bazılarında ise etkilememiş (5) veya düşürmüşlerdir (1,

2). Ayrıca LAB inokulantları, ruminantlardaki kuru madde (KM) tüketimini artırmakta (8), KM tüketimindeki bu artıştan silajların sindirilebilirliği de olumlu yönde etkilenmektedir (9, 10).

Bolsen and Heidker (11), LAB inokulantlarının özellikle enzimlerle birlikte bir karışım halinde silaj katkı maddesi olarak kullanılabilirliğini bildirmişlerdir. Nitekim LAB ile birlikte kullanılan sellülaz, hemisellülaz ve pektinaz gibi hücre duvarını parçalayıcı enzimler ile amilaz gibi nişastayı parçalayan enzim, katıldıkları silajlarda LAB faaliyeti için ilave bir substrat açığa çıkararak silaj

fermantasyonunu geliştirirlerken (1, 2, 5), silajların nötr deterjanda çözünmeyen lif (NDF), asit deterjanda çözünmeyen lif (ADF), asit deterjanda çözünmeyen lignin (ADL), hemisellüloz ve sellüloz içeriklerini düşürmekte (3, 4, 5), KM, organik madde (OM), NDF ve ADF parçalanabilirliklerini artırmakta (3, 9, 10), aerobik stabiliteelerini ise etkilememekte (5) veya düşürerek gözle görülür bir küflenme ve yoğun bir karbondioksit gazı (CO₂) üretimine neden olmaktadır (1, 2).

Mısır, yapısal ve yapısal olmayan karbonhidrat içeriği oldukça yüksek bir bitkidir. Bu nedenle bu çalışmada, mısırın içerdiği karbonhidratların LAB ve özellikle LAB+Enzim karışımı inokulantlar tarafından ne düzeyde fermente edildiği ve bunun silajların fermentasyon, aerobik stabilite, hücre duvarı kapsamı ve *in situ* rumen parçalanabilirliklerini nasıl etkilediği araştırılmıştır.

Materyal ve Metot

Silaj materyali: Silaj materyali olarak, Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde yetiştirilen mısır (*Zea mays*) bitkisi kullanılmıştır.

Silajların hazırlanması: Araştırmada kullanılan mısır hamur olum döneminde hasat edilmiştir. Hasattan hemen sonra parçalama makinesinde yaklaşık 2.0 cm uzunluğunda parçalanmıştır. Parçalanmış materyaller 1.5 litre kapasiteli ve yalnızca gaz çıkışına olanak tanıyan özel cam kavanozlara (Le Parfait, France) 3' er paraleli olarak silolanmışlardır. Araştırmada her grup için (kontrol, LAB ve LAB+Enzim karışımı) 15' er kavanoz olmak üzere toplam 45 kavanoz silaj yapılmıştır. Kavanozlar laboratuvar ortamında 25±2°C sıcaklıkta tutulmuşlardır. Her muamele grubundan 3' er kavanoz, silolandıktan sonraki 2, 4, 8, 15 ve 50. günlerde açılarak kimyasal ve mikrobiyolojik analizler yapılmıştır. 50. gün açılan son dönem silajlara 5 gün süre ile aerobik stabilite testi uygulanmıştır.

Kullanılan inokulantlar:

1. İnokulum A: H/M F Inoculant No. 9927 (Medipharm, USA). Üretici firmanın bildirdiğine göre, *Pediococcus acidilactici*, *Lactobacillus plantarum* ve *Enterococcus faecium* içermekte olup, Rogosa agar üzerinde sayılan mikroorganizma sayısı 5.0x10⁹g⁻¹'dir.

2. İnokulum B: Sil-All (Alltech, UK). Üretici firmanın bildirdiğine göre, *Pediococcus acidilactici*, *Lactobacillus*

plantarum ve *Streptococcus faecium* ile birlikte sellüloz, hemisellüloz, pentozanaz ve amilaz içermektedir (ürünün içerdiği mikroorganizma sayısı üretici firma tarafından belirtilmemiştir).

İnokulantların kullanım şekli:

1. grup kontrol grubu olup inokulant içermemektedir.

2. grupta, H/M F Inoculant No. 9927 (Medipharm, USA) kullanılmıştır. 10kg parçalanmış taze materyal 1x4m temiz bir alana yayılmıştır. İnokulanttan 2.0g tartılarak üzerine 20ml çeşme suyu konmuş ve iyice karışması sağlandıktan sonra taze materyal üzerine homojen bir şekilde püskürtülmüştür. Böylece taze mısır 10⁶ koloniform ünite (cfu) g⁻¹ LAB katılmıştır.

3. grupta, Sil-All (Alltech, UK) kullanılmıştır. 0.1g inokulant, 2. grupta açıklandığı gibi taze materyale uygulanmıştır. Böylece taze mısır 10⁶cfu g⁻¹ LAB ile birlikte enzim karışımları katılmıştır.

Kimyasal ve mikrobiyolojik analizler: Taze ve silolanmış mısırın ham besin maddeleri içerikleri Weende analiz sistemine göre; laktik, asetik ve bütrik asit içerikleri Lepper yöntemine göre saptanmıştır (12). SEK içeriklerinin saptanmasında fenol sülfürik asit yöntemi (13); etanol içeriklerinin saptanmasında Anonymous (14); NDF, ADF ve ADL içeriklerinin saptanmasında ise Van Soest (15) tarafından geliştirilen analiz yöntemleri kullanılmıştır. Hemisellüloz ve sellüloz hesap yolu ile bulunmuştur. Silajların aerobik stabilite testlerinde Ashbell ve ark. (16) tarafından geliştirilen yöntem kullanılırken, silajlardaki görsel küflenmenin saptanmasında Filya ve ark. (7) tarafından geliştirilen değerlendirme yöntemi kullanılmıştır.

Taze materyal ve silajların içerdiği lactobacilli, maya ve küf gibi mikrobiyal populasyonlar Filya ve ark. (7) tarafından tanımlanan mikrobiyolojik analiz yöntemlerine göre; enterobacteria, Weinberg ve ark. (2), clostridia ise Spoelstra (17) tarafından tanımlanan yöntemlere göre belirlenmiştir.

Rumen parçalanabilirlik özellikleri: Silolamanın son döneminde (50. gün) açılan silajların rumende 48 saatlik KM, OM, NDF ve ADF parçalanabilirlikleri Mehrez ve Ørskov (18) tarafından bildirilen *in situ* naylon kese yöntemi ile saptanmıştır. Yöntemin uygulanması sırasında 9x14cm boyutlarında ve gözenek aralıkları 40 mikron olan dakron kumaştan imal edilen özel naylon keseler kullanılmıştır. Silaj örnekleri öncelikle 65°C' de 48 saat süre ile kurutulmuştur. Rumen parçalanabilirliği

saptanacak her örnek yem değirmeninde 2.5mm boyutlarında parçalanmıştır. Daha sonra her örnekten yaklaşık 4g tartılarak naylon keselere konulmuştur. 30-35cm' lik plastik hortumlara bağlanan keseler 48 saat süre ile rumen inkubasyonuna bırakılmışlardır. İnkubasyon sonucunda naylon keseler önce 20dk soğuk suyun altına bırakılmış daha sonra ise çamaşır makinesinde 20dk soğuk su ile yıkanmışlardır. Yıkama işlemi tamamlanan naylon keseler 65 °C' de 48 saat süre ile kurutulmuştur. Ayrıca her örnek için yıkama kaybı da hesaplanmıştır. Bu amaçla içerisinde 4g yem örneği bulunan naylon keseler 39-40°C' deki su banyosunda 1 saat tutulduktan sonra çamaşır makinesinde 20dk soğuk su ile yıkanmış ve daha sonra 65°C' de 48 saat kurutulmuşlardır. Yöntemin uygulanmasından elde edilen verilere göre silajların rumen parçalanabilirlikleri, Ørskov ve McDonald (19) tarafından geliştirilen $p=a + b (1-e^{-ct})$ eksponensiyel denkleminde göre Neway bilgisayar programında hesaplanmıştır.

İstatistik analizler: Araştırmadan elde edilen verilerin istatistiki olarak değerlendirilmesinde varyans analizi, ortalamalar arasında görülen farklılıkların önem seviyesinin kontrolünde ise Duncan çoklu karşılaştırma testinden yararlanılmıştır (20).

Bulgular

Taze ve silolanmış mısırın kimyasal analiz sonuçları Tablo 1' de verilmiştir.

Araştırmada kullanılan her iki inokulant da fermentasyonun başlarından itibaren mısır silajlarının pH' larını önemli düzeyde düşürürken, SEK içeriklerini önemli düzeyde artırmıştır ($p<0.05$; Tablo 1). Ayrıca her iki inokulant da silajların amonyak-azotu, ham protein ve ham kül içeriklerini etkilemezken, daha fermentasyonun başlarından itibaren laktik asit içeriklerini önemli düzeyde artırmış, silolamanın son döneminde ise asetik asit, bütrik asit ve etanol içeriklerini önemli düzeyde düşürmüştür ($p<0.05$). Silolamanın 15 ve 50. günlerinde LAB+Enzim karışımı inokulant içeren silajların SEK ve laktik asit içerikleri, LAB inokulantı içeren silajlarından önemli düzeyde yüksek bulunmuştur ($p<0.05$).

Taze ve silolanmış mısırın mikrobiyolojik analiz sonuçları Tablo 2' de verilmiştir.

Her iki inokulant da silajların lactobacilli içeriklerini fermentasyonun 2. gününden itibaren önemli düzeyde artırırken ($p<0.05$), maya içeriklerini etkilememiştir (Tablo 2). Kontrol grubu da dahil tüm silajlarda silolamanın son dönemine kadar küf, enterobacteria ve

Tablo 1. Silajlara ait kimyasal analiz sonuçları ($\bar{X} \pm S\bar{X}$).

Günler	Uygulama	pH	KM	SEK	NH ₃ -N	HP	HK	LA	AA	BA	Etanol
0	Taze	5.6±0.03	36.4±3.84	8.3±0.35	0	6.4±0.25	7.3±0.13	1.3±0.05	0	0	0
2	Kontrol	5.4±0.02 ^a	36.8±3.56	6.0±0.30	0	6.4±0.18	7.2±0.15	1.5±0.07 ^b	0	0	0
	LAB	4.5±0 ^b	36.3±3.25	7.1±0.25	0	6.4±0.20	7.1±0.12	3.4±0.26 ^a	0	0	0
	LAB+E	4.6±0.02 ^b	36.5±2.78	7.4±0.32	0	6.5±0.23	7.2±0.14	3.3±0.20 ^a	0	0	0
4	Kontrol	5.2±0.02 ^a	37.1±2.63	3.9±0.56 ^b	0	6.2±0.19	7.4±0.16	1.9±0.12 ^b	0.2±0.03	0	0
	LAB	4.2±0.01 ^b	37.0±3.19	6.3±0.40 ^a	0	6.6±0.20	7.7±0.10	4.9±0.28 ^a	0	0	0
	LAB+E	4.2±0 ^b	36.7±3.50	6.8±0.34 ^a	0	6.5±0.15	7.3±0.13	5.2±0.37 ^a	0	0	0
8	Kontrol	4.9±0.02 ^a	36.6±2.88	2.8±0.51 ^b	0	6.1±0.22	7.3±0.15	2.7±0.30 ^b	0.9±0.10	0	0
	LAB	4.0±0.02 ^b	37.1±2.93	5.7±0.45 ^a	0	6.5±0.15	7.5±0.17	6.7±0.45 ^a	0	0	0
	LAB+E	4.1±0 ^b	36.8±3.65	6.2±0.37 ^a	0	6.6±0.23	7.4±0.11	6.8±0.61 ^a	0	0	0
15	Kontrol	4.6±0.03 ^a	36.5±4.27	1.1±0.13 ^c	0	5.8±0.21	7.5±0.10	3.4±0.36 ^c	1.2±0.15	0	0
	LAB	3.8±0.02 ^b	36.5±4.50	3.3±0.34 ^b	0	6.5±0.17	7.3±0.13	7.9±0.59 ^b	0.2±0.08	0	0
	LAB+E	3.8±0.03 ^b	36.6±3.41	6.0±0.46 ^a	0	6.5±0.19	7.6±0.15	11.3±0.40 ^a	0	0	0
50	Kontrol	3.7±0	35.3±3.66	1.3±0.18 ^c	0.9±0.04	6.0±0.24	7.2±0.14	3.8±0.36 ^c	4.2±0.54 ^a	5.7±2.20 ^a	4.4±0.44 ^a
	LAB	3.6±0	35.9±3.00	3.0±0.25 ^b	0.4±0.02	6.4±0.20	7.3±0.10	9.4±0.58 ^b	0.3±0.06 ^b	0.6±0.28 ^b	0.8±0.36 ^b
	LAB+E	3.6±0	37.3±3.85	5.7±0.46 ^a	0.1±0.02	6.4±0.22	7.5±0.15	13.6±0.51 ^a	0.3±0.08 ^b	0.3±0.15 ^b	0.7±0.30 ^b

KM, kuru madde; SEK, suda eriyebilir karbonhidrat; NH₃-N, amonyak-azotu; HP, ham protein; HK, ham kül; LA, laktik asit; AA, asetik asit; BA, bütrik asit; LAB, laktik asit bakteri inokulantı; LAB+E, laktik asit bakteri+enzim karışımı inokulant.

KM ve pH dışındaki tüm özelliklere ait analiz sonuçları KM' de % olarak verilmiştir.

^{a-b} Aynı sütunda belirtilen günlerde farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki farklılıklar önemlidir ($p<0.05$).

Tablo 2. Silajlara ait mikrobiyolojik analiz sonuçları ($\bar{X} \pm S\bar{x}$; log cfu g⁻¹ KM).

Günler	Uygulama	Lactobacilli	Maya	Küf	Enterobacteria	Clostridia
0	Taze	5.7±0.45	6.3±0.30	3.0±0.87	2.3±0.75	0
2	Kontrol	5.8±0.36 ^b	7.1±0.84	0	0	0
	LAB	7.2±0.40 ^a	6.5±0.75	0	0	0
	LAB+E	7.3±0.48 ^a	6.8±0.66	0	0	0
4	Kontrol	6.1±0.37 ^b	6.9±0.64	0	0	0
	LAB	8.9±0.85 ^a	6.7±0.60	0	0	0
	LAB+E	8.7±0.76 ^a	7.0±0.55	0	0	0
8	Kontrol	6.5±0.58 ^b	7.3±0.69	0	0	0
	LAB	10.6±1.15 ^a	7.2±0.61	0	0	0
	LAB+E	10.3±1.02 ^a	7.2±0.65	0	0	0
15	Kontrol	6.9±0.44 ^b	6.8±0.57	0	0	0
	LAB	11.5±1.35 ^a	6.7±0.53	0	0	0
	LAB+E	11.5±1.20 ^a	6.5±0.62	0	0	0
50	Kontrol	7.3±0.62 ^b	7.0±0.60	4.8±0.83 ^a	2.4±0.46 ^a	3.0±0.80 ^a
	LAB	12.4±1.56 ^a	6.9±0.58	1.0±0.45 ^b	0.2±0.05 ^b	0.8±0.36 ^b
	LAB+E	12.6±1.27 ^a	6.5±0.65	1.3±0.52 ^b	0.2±0.07 ^b	0.5±0.18 ^b

Log cfu, logaritma koloniform ünite; KM, kuru madde; LAB, laktik asit bakteri inokulantı; LAB+E, laktik asit bakteri+enzim karışımı inokulant.

^{a-b} Aynı sütunda belirtilen günlerde farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki farklılıklar önemlidir (p<0.05).

clostridia görülmezken, silolamanın son döneminde ise her iki inokulant da bu mikroorganizmaların silajlardaki miktarlarını önemli düzeyde düşürmüştür (p<0.05).

Silolamanın son döneminde açılan silajlara ait 5 günlük aerobik stabilite testi sonuçları Tablo 3' de verilmiştir.

Her iki inokulant da hava ile temas ettikleri bu 5 günlük süre içerisinde, silajların pH' larını etkilemezken, maya ve küf popülasyonu ile CO₂ üretimini önemli düzeyde artırmıştır (p<0.05; Tablo 3).

Taze ve silolanmış mısırın hücre duvarı kapsamına ilişkin analiz sonuçları Tablo 4' de verilmiştir.

Tablo 4'de de görüldüğü gibi, özellikle fermentasyonun 4. gününden itibaren LAB+Enzim karışımı inokulant içeren silajların NDF, ADF ve sellüloz içerikleri, kontrol ve LAB inokulantı içeren diğer silajlara göre önemli düzeyde düşük bulunurken (p<0.05), ADL ve hemisellüloz içeriklerinde görülen düşüş ise önemsiz düzeyde bulunmuştur (p>0.05).

Silajların 48 saatlik inkubasyon sonucundaki rumen KM, OM, NDF ve ADF parçalanabilirlikleri Tablo 5' de verilmiştir.

Her iki inokulant da, silajların KM ve OM parçalanabilirliklerini kontrol grubuna göre önemli

düzeyde artırmıştır (p<0.05; Tablo 5). LAB+Enzim karışımı inokulant içeren silajlardaki NDF ve ADF parçalanabilirliği ise kontrol ve LAB inokulantı içeren diğer silajlarınkinden önemli düzeyde yüksek bulunmuştur (p<0.05).

Tartışma

Araştırmada kullanılan LAB ve LAB+Enzim karışımı inokulantlar fermentasyonu geliştirerek, silajların kimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerini olumlu yönde etkilemişlerdir. Bunda mısırın silaj fermentasyonu açısından yeterli düzeyde SEK içermesi etkili olmuştur. Nitekim Tablo 1' de de görüldüğü gibi, silajlarda temel fermentasyon ürünü laktik asit olurken, özellikle inokulant içeren silajlarda ortamda yoğun olarak bulunan LAB' nin SEK' i kullanarak laktik asit üretmeleri sonucu bu silajlarda görülen laktik asit miktarı kontrol grubuna göre önemli düzeyde yüksek olurken, pH' ları da önemli düzeyde düşmüştür (p<0.05). LAB+Enzim karışımı inokulantların içerdiği enzimlerin mısırdaki hücre duvarını (Tablo 3) ve nişastayı parçalaması sonucu açığa çıkan ilave substratların LAB tarafından fermente edilmesi sonucu bu silajlarda diğer silajlara göre daha yüksek düzeyde laktik asit üretimi olmuştur (p<0.05). Ayrıca açığa çıkan ilave

Uygulama	pH	CO ₂	Maya*	Küf*	Görsel küflenme**
Kontrol	4.0±0.17	12.3±2.26 ^c	4.8±1.25 ^c	5.3±0.87 ^c	2
LAB	3.8±0.13	18.8±4.66 ^b	7.2±2.73 ^b	8.6±3.04 ^b	3
LAB+E	3.8±0.12	23.6±5.48 ^a	9.9±3.91 ^a	11.1±4.25 ^a	3

Tablo 3. Silajların aerobik stabilite testi sonuçları ($\bar{X} \pm S\bar{X}$).

CO₂, karbondioksit (g kg⁻¹ KM); LAB, laktik asit bakteri inokulantı; LAB+E, laktik asit bakteri+enzim karışımı inokulant.

*Maya ve küf log cfu g⁻¹ KM olarak verilmiştir.

**Silajların küflenme durumlarının görsel olarak 1' den 5' e kadar olan sayılarla değerlendirilmesidir. 1: hiç küf içermeyen bir silaj, 2: noktalar halinde çok çok az düzeyde küf içeren bir silaj, 3: noktalar halinde yüzeye yayılmış bir şekilde küf içeren bir silaj, 4: yüzeyi kısmen küf ile kaplı, bölge bölge küflenmiş yüzeyleri olan bir silaj, 5: yüzeyi tamamen küf ile kaplı, ağır bir kokuya sahip ve partikülleri birbirine yapışmış bir silaj. Bu değerlendirmeler üç kişi tarafından yapılmakta ve daha sonra üçünün ortalaması alınmaktadır.

^{a-b} Aynı sütunda farklı harfler ile gösterilen ortalamalar arasındaki farklılıklar önemlidir (p<0.05).

Tablo 4. Silajların hücre duvarı kapsamına ilişkin analiz sonuçları ($\bar{X} \pm S\bar{X}$; % KM).

Günler	Uygulama	NDF	ADF	ADL	Hemisellüloz*	Sellüloz**
0	Taze	52.6±3.15	27.4±0.86	4.5±0.45	25.2±1.45	22.9±0.90
2	Kontrol	52.9±3.46	27.5±1.78	4.5±0.38	25.4±1.38	23.0±0.87
	LAB	53.0±4.35	27.4±1.93	4.5±0.43	25.6±1.40	22.9±0.93
	LAB+E	52.2±3.12	27.0±2.04	4.4±0.24	25.2±1.46	22.6±1.02
4	Kontrol	52.2±3.36 ^a	26.7±1.90 ^a	4.7±0.37	25.5±1.41	22.0±1.00 ^a
	LAB	52.8±3.25 ^a	27.0±1.79 ^a	4.4±0.40	25.8±1.39	22.6±0.95 ^a
	LAB+E	49.0±3.00 ^b	24.1±2.05 ^b	4.2±0.40	24.9±1.44	19.9±1.11 ^b
8	Kontrol	52.4±4.42 ^a	27.8±1.75 ^a	4.4±0.26	24.6±1.35	23.4±0.86 ^a
	LAB	52.0±3.35 ^a	27.5±1.72 ^a	4.5±0.21	24.5±1.43	23.0±0.79 ^a
	LAB+E	48.3±3.28 ^b	23.9±1.96 ^b	4.0±0.33	24.4±1.50	19.9±0.98 ^b
15	Kontrol	53.2±3.52 ^a	28.6±1.68 ^a	4.5±0.25	24.6±1.41	24.1±0.74 ^a
	LAB	52.9±3.26 ^a	26.9±1.78 ^a	4.7±0.32	26.0±1.36	22.2±0.85 ^a
	LAB+E	47.4±3.41 ^b	23.1±1.90 ^b	4.3±0.28	24.3±1.42	18.8±0.91 ^b
50	Kontrol	52.0±3.13 ^a	27.2±1.62 ^a	4.3±0.22	24.8±1.40	22.9±0.71 ^a
	LAB	52.5±4.09 ^a	27.1±1.85 ^a	4.6±0.27	25.4±1.37	22.5±0.81 ^a
	LAB+E	46.2±4.27 ^b	22.4±2.05 ^b	4.1±0.31	23.8±1.54	18.3±1.26 ^b

KM, kuru madde; NDF, nötr deterjanda çözünmeyen lif; ADF, asit deterjanda çözünmeyen lif; ADL, asit deterjanda çözünmeyen lignin; LAB, laktik asit bakteri inokulantı; LAB+E, laktik asit bakteri+enzim karışımı inokulant.

* Hemisellüloz = NDF - ADF

** Sellüloz = ADF - ADL

^{a-b} Aynı sütunda belirtilen günlerde farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki farklılıklar önemlidir (p<0.05).

Uygulama	Parçalanabilirlik			
	KM	OM	NDF	ADF
Kontrol	55.6±2.62 ^b	57.8±3.55 ^b	41.4±2.57 ^b	34.5±2.61 ^b
LAB	63.7±3.75 ^a	65.4±3.88 ^a	40.6±2.43 ^b	35.7±3.35 ^b
LAB+E	64.5±4.17 ^a	66.0±4.26 ^a	48.3±4.03 ^a	42.8±5.20 ^a

Tablo 5. Silajların *in situ* rumen parçalanabilirlik özellikleri ($\bar{X} \pm S\bar{X}$, %).

KM, kuru madde; OM, organik madde; NDF, nötr deterjanda çözünmeyen lif; ADF, asit deterjanda çözünmeyen lif; LAB, laktik asit bakteri inokulantı; LAB+E, laktik asit bakteri+enzim karışımı inokulant.

^{a-b} Aynı sütunda farklı harfler ile gösterilen ortalamalar arasındaki farklılıklar önemlidir ($p < 0.05$).

substratların fermente olması sonucu, SEK' in bir bölümü kullanılmadan kalmış ve silolama döneminin sonunda bu silajların SEK içerikleri diğer silajlarınkinden önemli düzeyde daha yüksek olmuştur ($p < 0.05$). Bununla birlikte inokulant kullanılan silajların (özellikle LAB+Enzim karışımı içeren) amonyak-azotu düzeyleri önemsizde olsa bir miktar düşmüştür ($p > 0.05$). Bunda, bu silajlarda gerçekleşen homolaktik fermantasyon ve daha az düzeydeki protein parçalanmasının etkili olduğu düşünülmektedir. Nitekim Filya ve ark. (21) hücre duvarını parçalayıcı enzim kullanılan yonca silajlarında SEK' ların LAB tarafından fermente edilmesiyle, silajların pH ve amonyak-azotu düzeyinin düştüğünü ve ayrıca silajlardaki protein parçalanmasının azaldığını ve protein geri kazanımının arttığını saptamışlardır. Diğer yandan her iki inokulant da silolamanın son döneminde silajların asetik asit, bütrik asit ve etanol içeriklerini önemli düzeyde düşürmüşlerdir ($p < 0.05$). Silaj ortamında LAB' nin dominant mikroflora olması nedeniyle bu asidik ortamda asetik ve bütrik asit üreten mikroorganizmaların faaliyet gösteremediği söylenebilir.

Meeske ve ark. (1) süt olum sonunda hasat edilen sorgumda LAB ve LAB+Enzim inokulantının kullanıldığı çalışmada, silolamanın 31. gününde açılan silajların bütrik asit içeriklerini kontrol, LAB ve LAB+Enzim gruplarında sırasıyla KM' de % 0.2, 0 ve 0; amonyak-azotu içeriklerini 0.9, 1.0 ve 0.8 olarak saptarlarken, inokulant kullanılan gruplarda silaj pH' larının hızla düştüğünü ve gruplardaki SEK içeriğinin kontrol grubundan daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Weinberg ve ark. (2) başlangıç pH' sı sırasıyla 5.9 ve 6.1 olan mısır ve sorgum üzerinde bir LAB inokulantının etkilerini araştırmışlar ve silolamanın 45. günündeki silajlarda pH' nın kontrol ve inokulant grubunda sırasıyla mısırdaki 3.5 ve 3.5,

sorgumda 3.9 ve 3.8; SEK' ların mısırdaki KM' de % 1.4 ve 1.8, sorgumda 5.9 ve 6.4; laktik asitin mısırdaki 9.0 ve 4.1, sorgumda 4.8 ve 5.9; asetik asitin mısırdaki 0.8 ve 0, sorgumda 1.5 ve 0.7; bütrik asitin mısırdaki 0 ve 0, sorgumda 0.9 ve 0; etanolün ise mısırdaki 0 ve 0.1, sorgumda 2.1 ve 7.3 olduğunu belirlemişlerdir. Tengerdy ve ark. (3) başlangıç pH' sı 6.1 olan soldurulmuş yonca üzerinde LAB+Enzim inokulantının etkilerini araştırdıkları çalışmaları sonucunda, silolamanın 55. günündeki silajlarda pH' nın kontrol ve LAB+Enzim grubunda sırasıyla 5.3 ve 4.3; laktik asitin KM' de % 3.5 ve 5.8; asetik asitin 3.9 ve 1.5 olduğunu saptamışlardır. Stokes ve Chen (4) başlangıç pH' sı 5.0 olan mısır üzerinde LAB+Enzim inokulantının etkilerini incelemişler ve silolamanın 56. günündeki silajlarda pH' nın kontrol ve LAB+Enzim gruplarında sırasıyla; 3.7 ve 3.7 olduğunu; başlangıç materyalinde hiç bulunmayan laktik asitin ise sırasıyla; KM' de % 5.5 ve 5.7 olduğunu bildirmişlerdir. Filya ve ark. (5) süt olum döneminde hasat edilen ve başlangıç pH' sı 6.1 olan sorgum üzerinde LAB ve LAB+Enzim inokulantlarının etkilerini inceledikleri çalışma sonucunda, silolamanın 60. günündeki silajlarda pH' nın kontrol, LAB ve LAB+Enzim gruplarında sırasıyla 4.5, 3.8 ve 3.8; SEK' in KM' de % 4.0, 6.0 ve 6.0; başlangıç materyalinde KM' de % 1.0 olan laktik asitin sırasıyla 5.0, 8.0 ve 8.0; 0.4 olan asetik asitin 3.0, 1.0 ve 1.0; başlangıç materyalinde hiç bulunmayan bütrik asitin 2.0, 0 ve 0; etanolün 9.0, 9.0 ve 9.0 olduğunu belirlemişlerdir.

Araştırmada kullanılan inokulantlar, fermantasyonun 2. gününden itibaren silajların lactobacilli içeriklerini önemli düzeyde artırmışlardır ($p < 0.05$; Tablo 2). Bu silajlarda LAB' nin dominant mikroflora olması ve ortamda yeterli düzeyde SEK bulunması nedeniyle bunun

beklenen bir gelişme olduğu söylenebilir. İnokulantlar silajlardaki maya popülasyonunu etkilememişlerdir. Silajlara fermantasyon sırasında herhangi bir şekilde hava girişi mümkün olmadığı için, silajlarda görülen düşük düzeydeki maya popülasyonunun başlangıç (taze) materyalinde bulunan mayalar olabileceği düşünülmektedir. Silajlarda bulunan mayaların aktivitesi sonucunda son dönemde açılan silajlarda etanol oluşmuştur (Tablo 1). Ancak her iki inokulant da silajların etanol içeriklerini önemli düzeyde düşürmüştür ($p<0.05$). Buna özellikle araştırmada kullanılan inokulantların içerdiği homofermantatif LAB' nin temel fermantasyon ürünü olarak laktik asit üretmelerinin yol açtığı düşünülmektedir. Diğer yandan silolamanın son döneminde inokulant kullanılan silajlarda, LAB' nin dominant mikroflora olup asidik bir ortam yaratmaları sonucunda, silajların küf, enterobacteria ve clostridia içerikleri önemli düzeyde azalmıştır ($p<0.05$).

Meeske ve ark. (1) silolamanın 31. gününde açılan sorgum silajlarının maya içeriklerinin kontrol, LAB ve LAB+Enzim gruplarında sırasıyla 7.0, 6.7 ve 6.0cfu g⁻¹ KM olduğunu ve inokulant kullanılan silajlarda küf, enterobacteria ve clostridia görülmediğini bildirmişlerdir. Weinberg ve ark. (2) silolamanın 45. gününde açılan mısır silajlarının lactobacilli içeriklerini kontrol ve inokulant grubunda sırasıyla 4.0 ve 5.5, sorgum silajlarınınkini ise 9.6 ve 9.7cfu g⁻¹ KM olarak saptamışlardır. Tengerdy ve ark. (3) silolamanın 55. gününde açılan yonca silajlarının lactobacilli içeriklerini kontrol ve LAB+Enzim gruplarında sırasıyla 1.0 ve 2.6cfu g⁻¹ KM olarak belirlerken, inokulant kullanılan silajlardaki maya ve küf düzeyinin çok düşük olduğunu bildirmişlerdir. Filya ve ark. (5) silolamanın 60. gününde açılan sorgum silajlarının lactobacilli içeriklerini kontrol, LAB ve LAB+Enzim gruplarında sırasıyla 7.7, 9.5, 9.2; küf içeriklerini 2.1, 0 ve 0, enterobacteria içeriklerini 0.4, 0 ve 0cfu g⁻¹ KM olarak saptamışlardır.

Silajların kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri ile ilgili olarak araştırmadan elde edilen bulgular, benzer konularda yapılan araştırma bulguları ile uyumludur (1-5).

Araştırma sonucunda tüm silajların aerobik stabiliteyi düşük bulunmuştur. Her iki inokulant da, silajlardaki maya ve küf popülasyonu ile CO₂ üretimini önemli düzeyde artırmıştır ($p<0.05$; Tablo 3). LAB+Enzim karışımı inokulant içeren silajlardaki maya ve

küf popülasyonu ile CO₂ üretimi, LAB inokulantı içeren silajlardakinden önemli düzeyde yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Dolayısıyla başta LAB+Enzim karışımı inokulant olmak üzere her iki inokulant da silajların aerobik stabiliteyi düşürmüştür. Özellikle silaj ortamında bulunan mayaların bu aerobik dönemde yoğun bir şekilde CO₂ üreterek silajların aerobik stabiliteyi düşürdüğü söylenebilir.

Meeske ve ark. (1) 5 gün süre ile aerobik stabilite testine tabi tutulan sorgum silajlarının CO₂ üretimlerini kontrol, LAB ve LAB+Enzim gruplarında sırasıyla 15.5, 48.8 ve 37.1g kg⁻¹ KM; maya içeriklerini ise 9.2, 10.1 ve 9.9cfu g⁻¹ KM olarak saptamışlardır. Weinberg ve ark. (2) 5 gün süre ile aerobik stabilite testine tabi tutulan mısır silajlarındaki CO₂ üretiminin kontrol ve inokulant gruplarında sırasıyla 0 ve 8.6, sorgum silajlarında ise 2.1 ve 23.1g kg⁻¹ KM olduğunu; maya içeriklerinin ise mısır silajlarında sırasıyla 6.6 ve 8.5, sorgum silajlarında 6.9 ve 9.3cfu g⁻¹ KM olduğunu saptamışlardır. Seale (22), silajlarda bu dönemde görülen CO₂ üretiminin başlıca nedeninin mayalar olduğunu bildirmiştir. Filya ve ark. (5), LAB inokulantlarının kullanıldığı silajların lactobacilli içeriklerinin yüksek olmasından dolayı bu tür silajlarda yoğun bir laktik asit üretimi olduğunu ve burada oluşan laktatların bazı mayalar tarafından besin maddesi olarak kullanılması sonucu, silajların bu dönemdeki maya popülasyonlarının arttığını ve bununda silajlarda CO₂ üretimine yol açtığını bildirmişlerdir. Özellikle en düşük aerobik stabilitenin LAB+Enzim karışımı inokulant içeren silajlarda gerçekleşmesi, bu inokulantın içerdiği enzimlerin mısırdaki yapısal ve yapısal olmayan karbonhidratları parçalaması sonucu diğer gruplara göre daha fazla fermente olabilir karbonhidrat açığa çıkmasına ve ortamdaki mayaların bunları kullanarak yoğun bir şekilde CO₂ üretmelerine bağlanabilir.

Silajların aerobik stabiliteyi ile ilgili olarak araştırmadan elde edilen bulgular, benzer konularda yapılan araştırma bulguları ile uyumludur (1, 2).

LAB+Enzim karışımında bulunan enzimler, fermantasyonun başlarından itibaren aktivitelerini göstermeye başlamış ve silajların hücre duvarı kapsamını azaltmışlardır. Fermantasyonun 4. gününden itibaren LAB+Enzim karışımı içeren silajların NDF, ADF ve sellüloz içerikleri diğer silajlarınkilere göre önemli düzeyde azalırken ($p<0.05$), ADL ve hemisellüloz içerikleri de azalmış, ancak bu azalma önemsiz düzeyde olmuştur ($p>0.05$; Tablo 4). Dolayısıyla LAB+Enzim karışımı

inokulantların içerdiği enzimlerin mısırdaki nişastanın yanı sıra hücre duvarını da parçalayarak LAB için ilave bir substrat ortaya çıkardığı açıkça görülmektedir (Tablo 1). Nitekim Tengerdy ve ark. (3) silolamanın 90. gününde açılan yonca silajlarının NDF içeriklerini kontrol ve LAB+Enzim gruplarında sırasıyla KM' de % 41.0 ve 38.7; ADF içeriklerini 31.9 ve 31.4 olarak belirlemişlerdir. Stokes ve Chen (4) silolamanın 56. gününde açılan mısır silajlarının NDF içeriklerini kontrol ve LAB+Enzim gruplarında sırasıyla KM' de % 53.1 ve 46.7; ADF içeriklerini 28.9 ve 25.5; hemisellüloz içeriklerini 24.3 ve 21.1; sellüloz içeriklerini ise 25.7 ve 22.3 olarak saptamışlardır. Filya ve ark. (5) silolamanın 60. gününde açılan sorgum silajlarının kontrol, LAB ve LAB+Enzim gruplarında NDF içeriklerini sırasıyla KM' de % 59.0, 59.0 ve 58.0; ADF içeriklerini 30.0, 29.0 ve 29.0; ADL içeriklerini ise 4.0, 4.0 ve 4.0 olarak belirlemişlerdir.

Silajların hücre duvarı kapsamları ile ilgili olarak araştırmadan elde edilen bulgular, benzer konuda yapılan araştırma bulguları ile uyumludur (3, 4, 5).

Her iki inokulant da silajların rumen KM ve OM parçalanabilirliklerini önemli düzeyde artırmıştır ($p<0.05$; Tablo 5). Silajlarda temel fermentasyon ürünü laktik asit olmuştur (Tablo 1). Oluşan bu laktik asitin rumende fermente olup ruminantlar tarafından değerlendirilmesi sonucu, silajların rumen KM ve OM parçalanabilirliklerinin arttığı düşünülmektedir. Nitekim Weinberg ve Muck (23), silaj fermentasyonunda kullanılan LAB' nin ürettikleri laktik asitin rumende yüksek bir düzeyde fermente olduğunu ve bununla rumendeki mikrobiyal büyümeyi

teşvik ettiğini bildirmişlerdir. Flores ve ark. (9) LAB inokulantı kullanılarak yapılan İngiliz çimi silajının süt sığırlarındaki KM parçalanabilirliğini kontrol ve inokulant gruplarında sırasıyla % 58.0 ve 60.3; OM parçalanabilirliğini ise 67.1 ve 67.9 olarak saptamışlardır. Kleinmans ve Hooper (10) LAB inokulantı kullanılarak yapılan mısır silajının OM parçalanabilirliğini kontrol ve inokulant gruplarında sırasıyla % 74.0 ve 77.3 olarak belirlemişlerdir. Bunun yanı sıra LAB+Enzim karışımı inokulant, mısır silajının rumendeki NDF ve ADF parçalanabilirliğini diğer silajlara göre önemli düzeyde artırmıştır ($p<0.05$). Bu inokulantın içerdiği hücre duvarını parçalayıcı enzimlerin, mısırın hücre duvarını parçalaması sonucu NDF ve ADF parçalanabilirliğini artırdığı düşünülmektedir. Nitekim Tengerdy ve ark. (3) silolamanın 90. gününde açılan yonca silajlarındaki toplam lif (ham sellüloz) sindirilebilirliğini kontrol ve LAB+Enzim gruplarında sırasıyla 58.9 ve 61.2 olarak saptamışlardır.

Silajların *in situ* rumen parçalanabilirlikleri ile ilgili olarak araştırmadan elde edilen bulgular, benzer konuda yapılan araştırma bulguları ile uyumludur (9, 10, 3).

Sonuç olarak mısırın silolanması sırasında kullanılan LAB ve LAB+Enzim karışımı inokulantlar, mısır silajlarının fermentasyon özellikleri ile *in situ* rumen KM ve OM parçalanabilirliklerini artırırken, aerobik stabiliteyi düşürmüşlerdir. Diğer yandan LAB+Enzim karışımı inokulantlar silajların NDF ve ADF içeriklerini azaltırken, *in situ* NDF ve ADF parçalanabilirliklerini artırmıştır.

Kaynaklar

1. Meeske, R., Ashbell, G., Weinberg, Z.G., Kipnis, T.: Ensiling Forage Sorghum at Two Stages of Maturity with the Addition of Lactic Acid Bacterial Inoculants. Anim. Feed Sci. Technol. 1993; 43: 165-175.
2. Weinberg, Z.G., Ashbell, G., Hen, Y., Azrieli, A.: The Effect of Applying Lactic Acid Bacteria Ensiling on the Aerobic Stability of Silages. J. Appl. Bacteriol. 1993; 75: 512-518.
3. Tengerdy, R.P., Weinberg, Z.G., Szakacs, G., Wu, M., Linden, J.C., Johnson, D.E.: Ensiling Alfalfa with Additives of Lactic Acid Bacteria and Enzymes. J. Sci. Food Agric. 1991; 55: 215-228.
4. Stokes, M., Chen, J.: Effects of an Enzyme-Inoculant Mixture on the Course of Fermentation of Corn Silage1. J. Dairy Sci. 1994; 77: 3401-3409.
5. Filya, İ., Karabulut, A., Kalkan, H., Sucu, E.: Bakteriyal İnokulantların Sorgum Silajlarının Fermentasyon, Aerobik Stabilitite ve Rumen Parçalanabilirlik Özellikleri Üzerine Etkileri. Ankara Üniv. Zir. Fak. Tarım Bil. Derg. 2001; 7: 112-119.
6. Moran, J., Weinberg, Z.G., Ashbell, G., Hen, Y., Owen, T.R.: The Effect of a Bacterial Inoculant on the Fermentation and Aerobic Stability of Whole Crop Wheat Silage. In: Proc. 11th International Silage Conference. Aberystwyth, Wales, 1996. pp. 164-165.
7. Filya, İ., Ashbell, G., Hen, Y., Weinberg, Z.G.: The Effect of Bacterial Inoculants on the Fermentation and Aerobic Stability of Whole Crop Wheat Silage. Anim. Feed Sci. Technol. 2000; 88: 39-46.
8. Rooke, J.A., Kafizadeh, F.: The Effect Upon Fermentation and Nutritive Value of Silages Produced After Treatment by Three Different Inoculants of Lactic Acid Bacteria Applied Alone or in Combination. Grass Forage Sci. 1994; 49: 324-333.

9. Flores, G., Castro, J., Arraez, A.G., Amil, A., Brea, T., Warleta, M.G.: Effect of a Bacterial Additive on Silage Fermentation, Digestibility, Ruminant Degradability, Intake and Performance of Lactating Dairy Cattle in Galicia (NW Spain). In: Proc. 12th International Silage Conference. Uppsala, Sweden, 1999. pp. 181-182.
10. Kleinmans, J., Hooper, P.: The Effect of a Commercial Silage Inoculant (Pioneer® brand 1188) on Animal Performance. In: Proc. 12th International Silage Conference. Uppsala, Sweden, 1999. pp. 319-320.
11. Bolsen, K.K., Heidker, J.L.: Silage Additives USA. Chalcombe Publ. Church Lane, Kingston, Canterbury, Kent, UK, 1985.
12. Akyıldız, A.R.: Yemler Bilgisi Laboratuvar Klavuzu. Ankara Üniv. Zir. Fak. No:895, Ankara, 1984.
13. Dubois, M., Giles, K.A., Hamilton, J.K., Rebes, P.A., Smith, F.: Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. Anal. Chem. 1956; 28: 350-356.
14. Anonymous.: Gıda Maddeleri Muayene ve Analiz Yöntemleri. T.O.K.B. Gıda İşleri Genel Müdürlüğü. No:65, Ankara, 1983.
15. Van Soest, P.J.: Analytical Systems for Evaluation of Feeds. In: P.J. Van Soest (Editor), Nutritional Ecology of the Ruminant. Cornell University Press. Chapter 6, pp. 75-94. Ithaca, NY, 1982.
16. Ashbell, G., Weinberg, Z.G., Azrieli, A., Hen, Y., Horev, B.: A Simple System to Study the Aerobic Deterioration of Silages. Canadian Agric. Eng. 1991; 33: 391-393.
17. Spoelstra, S.F.: Some Methods to Evaluate the Role of Clostridia in Silage. Institute for Livestock Feeding and Nutrition Research. 1984. Internal Report No:168, Lelystad, The Netherlands.
18. Mehrez, A.Z., Ørskov, E.R.: A Study of the Artificial Fibre Bag Technique for Determining the Digestibility of Feeds in the Rumen. J. Agric. Sci. 1977; 88: 645-650.
19. Ørskov, E.R., McDonald, I.: The Estimation of Protein Degradability in the Rumen From Incubation Measurements Weighed According to Rate of Passage. J. Agric. Sci. 1979; 92: 499-503.
20. SAS.: Statistical Analysis System®. User's Guide: Statistics, Version 6 Edition. 1988. SAS Inst. Inc. Cary, NC.
21. Filya, İ., Ashbell, G., Weinberg, Z.G., Hen, Y.: Hücre Duvarını Parçalayıcı Enzimlerin Yonca Silajlarının Fermantasyon, Hücre Duvarı Kapsamı ve Aerobik Stabiliteleri Üzerine Etkileri. Ankara Üniv. Zir. Fak. Tarım Bil. Derg. 2001; (Basımda).
22. Seale, D.R.: Bacterial Inoculants as Silage Additives. J. Appl. Bacteriol. 1986; 61: 9-26.
23. Weinberg, Z.G., Muck, R.E.: New Trends and Opportunities in the Development and Use of Inoculants for Silage. FEMS Microbiology Reviews. 1996; 19: 53-68.