

Geliş Tarihi : 05.07.2000

## Van Yöresinde Yetiştirici Şartlarında Depolanan Kaba Yemlerde Aflatoksin Oluşumunun Saptanması<sup>(1)</sup>

Murat DEMİREL<sup>(2)</sup>

Aytekin YILDIRIM<sup>(3)</sup>

**Özet:** Van yöresinde çiftçi şartlarında depolanan kaba yemlerde aflatoksin oluşumunu belirlemek için merkeze bağlı köylerden 10 tanesinden kaba yem örnekleri alınmıştır. Kaba yemler Haziran ayında hasat edilmiştir. Haziran, Ekim ve Şubat aylarında 10'ar adet olmak üzere toplam 30 kaba yem örneği toplanmıştır. Toplanan örneklerde rutubet miktarı, toplam küf sayımı, toksijenik küflerin teşhisi ve aflatoksin analizleri yapılmıştır.

Analizler sonucu bütün örneklerde küflerin mevcut olduğu, 23 örneğin tazeliğinin bozulmadığı, 6 örneğin tazeliğinin azaldığı ve bir örneğin tazeliğinin bozulduğu gözlenmiştir. Analizler sonucu *Aspergillus* ve *Penicillium* gibi toksijenik küflere rastlanmadığı ancak bu amaçla çalışma yapılan 21 koloniden 5 koloninin *Alternaria*, 3 koloninin *Ulocladium* ve 13 koloninin *Clodosporium* türü küflere ait olduğu görülmüştür. 30 örnekten yalnızca bir örnekte 7 ppb B<sub>1</sub> ve 6 ppb G<sub>1</sub> düzeyinde aflatoksin rastlanmıştır. Örneklerdeki rutubet miktarının bölgenin meteorolojik koşullarına bağlı olarak değiştiği gözlenmiştir.

Van bölgesinde çiftçi şartlarında elde edilen ve depolanan kuru otların önemli bir mikrobiyolojik kontaminasyona ve aflatoksin oluşumuna maruz kalmadığı görülmüştür.

**Anahtar kelimeler:** Küf, kaba yem, aflatoksin.

### Determination of Aflatoxin Level of Roughage Stored in Farm Conditions in Van District

**Abstract:** In this study, roughage samples were taken from ten locations in central village in Van district in order to determine aflatoxin grown in roughage stored in farm conditions. Roughages were harvested on June.

Thirty roughage samples were collected on June, October and February. In each of those months ten samples were collected.

Determination of moisture content, mold count, identification of toxic mold and analysis of aflatoxin were performed in the collected samples. From the results of analysis, it was observed that 23 samples did not lose their freshness, freshness of 6 samples decreased and 1 sample lost its freshness. Toxigenic molds such as *Aspergillus* and *Penicillium* were not found, but of the 21 colonies studied 5 colonies were *Alternaria*, 3 colonies were *Ulocladium* and 13 colonies were *Clodosporium* species mold. Aflatoxins were obtained only in one of the 30 sample at 7 ppb B<sub>1</sub> and 6 ppb G<sub>1</sub> level. Moisture content of roughage samples varied depending on the climatic conditions of Van region.

It was observed that the roughage obtained and stored at farm conditions in Van district were not exposed to any important microbiological contamination and aflatoxin growth.

**Key words:** Mold, roughage, aflatoxin

### Giriş

Hayvansal üretimde en önemli girdilerin başında yem gelmektedir. Üretim için yapılan masrafların çoğu yem gitmektedir (Ergül, 1978). Gerek ekstansif ve gerekse entansif şartlarda yetiştiricilik yapılan işletmelerde kaba yemler ruminant hayvanların beslenmesinde hem ülkemizde hem de diğer ülkelerde önemli bir yer tutmaktadır. 1996 yılı Devlet İstatistik Enstitüsü verilerine göre ülkemizde 50 milyon ton kaliteli kaba yem ihtiyacı duyulduğu ve ihtiyacı duyulan bu kaba yemin, yaklaşık 10 milyon tonunun çayır-mera alanlarında, 5 milyon tonunun

tarla tarımı içerisinde ekilen yem bitkilerinden ve geriye kalan kısmının ise besleme değeri oldukça düşük olan sap, saman ve anızlardan karşılandığı belirtilmektedir (Ekiz, 1998). Böylesine yüksek düzeydeki ihtiyacı karşılamakta kullanılan kaba yemlerin nicel yetersizlikleri yanında, hasat, harman, depolama dönemlerinde birçok fiziksel, kimyasal ve biyolojik etmenlerle kirlenerek nitel bakımından da yetersiz duruma düşmektedir (Bakan, 1986).

<sup>(1)</sup> Bu araştırma Aytekin Yıldırım tarafından hazırlanan Yüksek Lisans tezinin bir bölümüdür.

<sup>(2)</sup> Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootehni Bölümü, Van

<sup>(3)</sup> Bartın İl Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü, Bartın

Yemlerin hijyenik kalitelerinin hayvana yararıyla ilgili yönünden önemli etkileri vardır. Mikrobiyal kirlenmeye uğramış yemlerin besin madde kayıplarına uğradığı (Pinello ve ark., 1977; Smith ve Moss, 1985), toksin türüne, alınma düzeyi ve sıklığına bağlı olarak verilen hayvanlarda verim düşüklüğü, hastalık ve hatta ölümlere neden olduğu bildirilmektedir (Kratzer ve ark., 1969; Davis ve Diener, 1978; Banwart, 1989; Dizdar ve ark., 1997). Yemlerin hijyenik kalitelerine dikkat edilmemesi sonucu yemler üzerinde varolan veya çeşitli şekillerde bulaşmış olan mikroorganizmalar bulunmaktadır (Palmgren ve Hayes, 1987; Göktaş, 1990; Ronald, 1996; Dizdar ve ark., 1997).

Bunların içinde özellikle küfler uygun koşullarda ürün üzerinde gelişerek ürünün bozulmasına neden olmakta ve çeşitli metabolitleri oluşturmaktadır (Palmgren ve Hayes, 1987). Bu metabolitler içerisinde en toksik olan aflatoksinlerdir (Liang ve ark., 1996). Bir fungusun aflatoksin üretme ve ortama bırakması, genetik potansiyeli ve çevre koşulları gibi faktörler ile fungusun substratla temas süresine bağlıdır. Bütün *Aspergillus* türlerinin aflatoksin oluşturmadığı bilinmektedir. Genellikle toksin üreten suşlar B toksini üretmekte olup, daha az miktarda G ve diğer toksinleri oluşturmaktadırlar. Toksin kompleksinin kompozisyonu oldukça değişkendir. Bu özellik suştan suşa, çevre koşulları ve substrata göre farklılık göstermektedir. Aflatoksin üretiminde sıcaklık, pH, su aktivitesi (aw), atmosferdeki gazlar ve çevrenin bağıl nemi oldukça büyük önem taşır. Belirli su aktivitesinin altında *A. flavus* ve *A. parasiticus* türü küfler gelişemedikleri gibi toksin de üretmezler (Göktaş, 1990; Ronald, 1996). Mikotoksinler materyaldeki nem düzeyi % 14-16 olduğunda oluşmaya başlar, oluşum hızı % 20-25 nem düzeyinde maksimuma ulaşır (Abramson ve ark., 1980). *Aspergillus flavus*'ün gelişmesi için minimum bağıl nemin %80'nin ve ürünün su içeriğinin %14'ün üzerinde olması, optimum gelişme için ise bağıl nemin %98 olması gerekir. Öte yandan sıcaklık, pH ve diğer gelişme koşullarından sapıldıkça söz konusu minimum su aktivitesi değerinin arttığı ve aflatoksin üretimi için minimum bağıl nemin 30°C' de %83 olduğu bildirilmektedir. *A. parasiticus*'ün gelişmesi için minimum su aktivitesi (aw): 0.82 optimum aw: 0.98, toksin üretmesi için ise minimum aw: 0.87 olduğu; optimum gelişme ısıları 30-38°C arasında değişmekle beraber, aflatoksin üretimi için sıcaklık aralığı daha geniş sınırlı olup minimum 11°C, maksimum 41°C arasında değişmektedir. Optimum gelişme sıcaklığının altındaki sıcaklıklarda ise maksimum aflatoksin üretilmekte olup bu aralığın 24-30°C olduğu bildirilmektedir (Davis ve Diener, 1978; Banwart, 1989). Havadaki nemin, %80'nin ve ürünün içerdiği suyun %14'ün üzerinde olması halinde *A. flavus*'ün aflatoksin üretmesini kolaylaştırdığı (DeWaat ve ark., 1974) ve bağıl nem ile ürün neminin artmasıyla aflatoksin oluşumunun da artacağı bildirilmektedir (Christensen ve Kaufman, 1969; Masimango ve ark., 1977; Chelkowski ve ark., 1983; Sauer ve ark., 1984; Çoksöyler ve ark., 1994). Mikotoksin

oluşumuna uygun çevre koşulları yanında yemin yapısı (Balaraman ve Gupta, 1990; Tuncer 1990; Garcia ve ark., 1991; Mir ve Ali, 1991; Purwoko ve ark., 1991; Mahmoud, 1993; Kolhe ve ark., 1995), depolama süresi (Ceran, 1987; Fernandez ve ark., 1991; Naresh ve ark., 1993; Skrinjar ve ark., 1994) ve yemlerin hasarlı olması (Davis ve Diener, 1978) gibi faktörlerin de etkili olduğu bildirilmektedir. Materyalde %90'dan fazla oranda bir tarla fungusu olan *Alternaria* bulunuyor ve hiç depo fungusuna rastlanmıyorsa, bu ürünün yeni hasat edilmiş olduğuna ve bozulmaya izin vermeyen depo koşullarında saklandığına delildir. Eğer ürün yüksek bir nem içeriğiyle depolanıyorsa birkaç hafta içinde *Alternaria* kaybolmaya ve depo fungusları artmaya başlayacaktır. Başka bir ifadeyle depo funguslarına yüksek sıklıkta rastlanması, fungus miselyumlarının iç tabakalara kadar gelişmesini sağlayacak kadar yüksek nemde ve uzun süre depolandığının göstergesi olduğu bildirilmektedir (Christensen ve Kaufman, 1969; Chelkowski ve ark., 1983; Sauer ve ark., 1984).

Van ilinde yetiştiriciler kaba yemleri hasat ettikten sonra toprak üzerinde kurutup tarlada uzun süre bırakmaktadırlar. Bu şekilde kurutulmuş kaba yemler ya açıkta yığınlar halinde veya kerpiç samanlıklarda uygun olmayan koşullarda depolanmaktadırlar. Bu çalışmada, bu şekilde üretilen ve depolanan kaba yemlerde bu süre zarfında tarlada yada depoda bulaşabilecek aflatoksinlerin saptanması için; % rutubet, küf sayımı, aflatoksijenik olabilecek küflerin izolasyonu, teşhisi ve bu küflerin toksin yapma güçlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

### Materyal ve Yöntem

Van Merkez Köylerinde toplam 10 deneme istasyonu belirlenmiş ve bu istasyonlardan hasat zamanı olan Haziran (1. Dönem), Ekim (2. Dönem) ve Şubat (3. Dönem) ayları olmak üzere üç ayrı dönemde toplam 30 adet kuru ot örneği çalışmada yem örneği olarak kullanılmıştır.

Örnek alımları zamanındaki meteorolojik şartlar, yemlerin tarlada bekleme süresi ve küflenmenin olup olmadığı gibi hususlar tespit edilmiştir. Meteorolojik bilgiler Çizelge 1'de verilmiştir.

Örnekler Anonim (1998a) ve Akyıldız (1984)'ın önerdiği şekilde alınıp, Tayfur (1991)'ün önerdiği şekilde toksin ve küf analizleri için her bir örnekten 2 paralel alınarak analizlerin yapılacağı zamana kadar Smith ve Moss (1985)'ün önerdiği şekilde derin dondurucuda saklanmıştır. Örnekler alınır alınmaz rutubet analizleri yapılmıştır (Özen ve ark., 1993).

Örneklerde küf sayımı için 10 g alınıp 90 ml serum fizyolojik ilave edilerek 30 dakika çalkalanıp Anonim (1988)'e göre dilüsyon hazırlanarak 10<sup>-5</sup>'e kadar ekim yapılmıştır. Besi yeri olarak Anonim (1980)'de önerilen 'Yem Mantar' besi yeri kullanılmıştır. Küf sayımı teşhis ve izolasyonu Samson ve ark., (1984)'nın bildirdiğine göre yapılmıştır. İnkübasyon sonucu üreyen küf kolonilerinde

makroskopik muayene yapılarak Aspergilluslar ve bunlara benzer özellikleri gösteren koloniler işaretlenmiştir. İşaretlenen koloniler yatak agara alınarak stok yapılmış ve bu stoklardan üç nokta ekim yöntemine göre 'Yem Mantar' besisi yerine ekilip Samson ve ark. (1984) ve Temiz (1994)'nın bildirişlerine göre teşhis edilmiştir. İzolatların toksin yapma güçleri YES (Yeast Extract Sucrose) besisi yeri kullanılarak belirlenmiştir (Aziz ve Moussa, 1997). Kuru otlarda aflatoksinler için ekstraksiyon, temizleme, ayırma ve ince tabaka kromatografisi ile; aflatoksin tayini, doğrulama testleri ve toksinlerin miktar tayinleri Anonim (1985)'e göre yapılmıştır. Buna göre yemlerin ekstraksiyonu ve analize hazırlanması için 80 gr örnek tartılıp üzerine 400 ml metanol, 40 ml saf su ilave edilip 15 dakika mekanik çalkalayıcıda çalkalandıktan sonra 120 ml saf su ilave edilip 15 dakika daha çalkalanmıştır. Çalkalanmadan sonra erlen içeriği süzgeç kağıdından süzülerek, süzütüden 70 ml alınıp ayırma hunisi içine konularak önce hekzan sonra diklormetanla gerekli temizleme ve ayırma işlemi yapılmıştır. Ayırma sonunda elde edilen temiz ekstrakt evaporatörde kurutularak ekim için alınmış ve vialler azot gazıyla kurutularak ekim yapılincaya kadar buzlukta saklanmıştır. İnce tabaka kromatografisi ile aflatoksin tayininde hazır ince tabakalar (Merck 5553 ) üzerine elde edilen viallerden ve standart toksinlerden 1'er cm ara ile uygulama yapılmıştır. Uygulama yapılan plakalar tek boyutta iki yönlü gelişme işlemine tabi tutularak I. yönde suyu alınmış eter tankında, II. yönde ise kloroform+aseton+su (88+12+0.2) tankında geliştirilmiştir. Gelişmesi tamamlanan plakalar tanktan alınıp kurutularak 365 nm UV lamba altında incelenmiştir. Aflatoksinler için doğrulama testlerinde üç ayrı doğrulama testi uygulanmıştır. 1.doğrulama testinde UV lamba dalga boyu değiştirilerek toksin beneklerinin floresans renk konsantrasyonlarının değişimi gözlenmiştir. 2.doğrulama testinde plaka üzerindeki standart toksin benekleri ve örnek benekleri üzerine % 25 lik H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (Sülfirik asit) püskürtülüp beneklerdeki mavi floresan rengin parlak sarıya dönüşmesi gözlenmiştir. 3.doğrulama testinde ise TFA (Triflor asetik asit) plaka üzerinde standart toksin ve örnek beneklerinin üzerine damlatılarak normal gelişme işlemine tabi tutulmuş ve gelişme sonunda TFA uygulanan beneklerin uygulanmayan beneklere oranla ¼ R<sub>f</sub> değeri göstermesi izlenerek böyle davranan beneklerin aflatoksin olduğuna karar verilmiştir.

Farklı dönemlerde alınan örneklerin rutubet oranları ve küf sayım sonuçlarının aritmetik ortalamaları ve standart hata sonuçları deskriptif istatistik yöntemine göre yapılmıştır. Bu gruplar arasındaki farklılıkların belirlenmesinde *t* testi kullanılmıştır (Kesici ve Kocabaş, 1998).

### Bulgular ve Tartışma

Van yöresinde çiftçi şartlarında depolanan kaba yemlerin aflatoksin oluşumunun saptanması amacıyla bu

çalışma yapılmıştır. Örneklerin alındığı dönemde istasyonlara ait bilgiler Çizelge 2.'de, toplanan örneklerin % rutubet düzeyleri Çizelge 3.'de, toplam küf sonuçları Çizelge 4.'de ve aflatoksin analizleri ve doğrulama sonuçları Çizelge 5.'de verilmiştir.

Çizelge 2.'ye bakıldığında biçimden sonra yemlerin 10 ila 20 gün arasında tarlada bekletildiği görülmektedir. Yemlerin tarlada bekletilme esnasında 1 nolu istasyonda biçim sonunda yağmur yağdığı, diğer istasyonlarda yağmur yağmadığı, toprak zemininin 3 ve 9 nolu istasyonlarda kısmen ıslak olduğu, 4 ve 9 nolu istasyonlarda gözlenebilen küflenme olduğu görülmektedir. Yemlerin muhafaza şekil ve metotları içerdikleri besin maddelerinin miktar ve değerlerinin korunmasında az veya çok etkili olmaktadır. Bunda ısı ve rutubet rol oynar. Yem gereği kadar kuru olmazsa içerdiği rutubet nispetinde küflenme, kızışma hatta yanma gibi sebeplerle yemin besin maddeleri muhtevasında kayıplar olur. Kurumakta olan otu güneş altında fazla tutmak daha fazla vitamin D'yi aktif hale getirmesi yönüyle yararlıdır. Bunun karşılığında ise büyük oranda karotin kaybı söz konusu olur. Kaba yemler kurutma işleminden bir gün sonra ambarda veya tarlada yığın haline getirilmelidir. Kaba yemlerin uzun süre yerde kalmasının sonucu tamamen kuruyan otların yapraklarının kolaylıkla kırılması ve aşırı güneşe maruz kalmasının karoten kaybına neden olduğu bildirilmektedir (Akyıldız, 1981; Özen ve ark., 1993).

Çizelge 1.Van Meteoroloji Bölge Müdürlüğü Verileri (Anonim, 1998b)

Aylar	Yağış Miktarı (kg/m <sup>2</sup> )	Ortalama Sıcaklık (°C)	Nispi Nem (%)
Ocak	28.9	-3.6	73.9
Şubat	39.0	-5.0	69.4
Mart	26.5	1.9	71.3
Nisan	41.6	8.7	70.7
Mayıs	36.0	14.0	67.6
Haziran	10.7	20.9	57.1
Temmuz	1.0	23.6	53.7
Ağustos	1.2	23.1	54.3
Eylül	0	18.0	61.2
Ekim	3.3	11.8	62.2
Kasım	14.9	8.8	66.8
Aralık	57.5	3.0	71.5
Yıllık Toplam	261.5	--	--
Yıllık Ortalama	--	10.4	65.0
Ocak 1999	8.1	0.3	71.5

Tarlada kurutulan kaba yemlerden alınan örneklerdeki % rutubet miktarları (Çizelge 3) incelendiğinde 1. dönemde (hasat) 2, 3 ve 10 nolu istasyonlarda sırasıyla %12.23, 12.74 ve 13.00 olup en yüksek rutubet düzeyine ulaşıldığı ve bu değerlerin kabul edilen değerlerden %1 yüksek olduğu görülmüştür. Bu değerlerin 2.dönemde sırasıyla %7.00, 7.28 ve 5.25 ve 3.dönemde ise aynı sıraya göre

%9.20, 8.32 ve 7.27 olmuştur. Aylar itibarıyla yağış dağılımına bakınca (Çizelge 1.) Haziran ayında  $10.7 \text{ kg/m}^2$ , Ekim ayında  $3.3 \text{ kg/m}^2$  ve Ocak ayında ise  $8.1 \text{ kg/m}^2$  olduğu görülmektedir. Nispi nem oranları da Haziranda %57.1, Ekimde %62.2, Ocakta %71.5 olduğu görülmektedir. % nem miktarındaki değişimin yağış ve nispi nem miktarlarındaki değişime paralel olarak değiştiği gözlenmektedir. Elde edilen değerler normal sınırlar içerisinde olup, görülen dalgalanma iklim koşullarından kaynaklanmaktadır. 1.dönemde toplanan örneklerde ortalama  $9.453 \pm 0.81$  olan nem düzeyi saptandığı, 2.dönemde ortalama  $7.066 \pm 0.40$ 'a düştüğü ve 3.dönemde

ise ortalama  $8.390 \pm 0.32$ 'ye tekrar yükseldiği görülmüştür. Yemlerin rutubet oranları açısından 1. ve 3. dönemler arasında fark önemsiz iken ( $p>0.05$ ), bu dönemler ile 2.dönem arasındaki farklılık önemli bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Üç döneme ait % rutubet sonuçları incelendiğinde 27 örneğin Anonim (1998a)'de belirtilen değerlere uygun olduğu ve aflatoksin oluşması için gerekli olan nem düzeyinin altında olduğu görülmektedir (DeWaat ve ark., 1974; Abramson ve ark., 1980; Göktan, 1990; Ronald, 1996).

Çizelge 2. Örneklerin alındığı dönemde örnek istasyonlarına ait bilgiler

Örnek No	Tarlada Bekleme Süresi (gün)	Yağmur Durumu	Toprak Zemini	Görülebilir Küflenme Durumu
1	10	B.sonu yağdı	Kuru	Yok
2	12	Yağmadı	Kuru	Yok
3	20	Yağmadı	Kısmen ıslak	Yok
4	20	Yağmadı	Kuru	Gözlendi
5	15	Yağmadı	Kuru	Yok
6	15	Yağmadı	Kuru	Yok
7	16	Yağmadı	Kuru	Yok
8	17	Yağmadı	Kuru	Yok
9	10	Yağmadı	Kısmen ıslak	Kısmen gözlendi
10	15	Yağmadı	Kuru	Yok

Çizelge 3. Farklı dönemlerde alınan örneklere ait rutubet düzeyleri (%).

Örnek No	Haziran (1.Dönem)	Ekim (2.Dönem)	Şubat (3.Dönem)
1	9.74	5,21	6,82
2	12.23	7,00	9,20
3	12,74	7,28	8,32
4	9,66	8,45	9,90
5	7,01	8,25	7,62
6	6,66	7,62	8,95
7	9,76	8,60	7,85
8	6,70	8,52	9,42
9	7,03	7,95	8,55
10	13,00	5,25	7,27
$\bar{X} \pm S \bar{X}^*$	$9.45 \pm 0.81b$	$7.41 \pm 0.40a$	$8.39 \pm 0.32b$

\*Aynı harfleri taşıyan ortalamalar arasında fark yoktur ( $P>0.05$ ).

Kaba yem örneklerinde istasyon ve dönemlere ait küf sayım sonuçları Çizelge 4.'te verilmiştir. Üç dönemde de örneklerin hepsinde %100 küfe rastlanmamıştır. 1.dönemde küf bulaşma miktarı  $9 \times 10^3$  ila  $9 \times 10^4$  ad/g arasında değişmiş olup ortalama  $2.62 \times 10^4 \pm 8.37 \times 10^3$  ad/g, 2. dönemde  $3 \times 10^3$  ila  $1 \times 10^5$  ad/g arasında ortalama  $3.23 \times 10^4 \pm 9.39 \times 10^3$  ad/g ve 3. dönemde ise  $1.1 \times 10^4$  ila  $2.6 \times 10^5$  ad/g ortalama  $9.38 \times 10^4 \pm 2.90 \times 10^4$  ad/g küf bulunmuştur. Ortalama küf sayısı bakımından 1. ve 2. dönemler arasındaki farklılık önemsiz iken ( $p<0.05$ ), bu iki dönem ile 3. dönem

arasındaki farklılık önemli bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Yemlerde üreyen küflerin oluşturdukları bütün suşların teşhis edilmesi yolunda bir çalışma yapılmamıştır. Yalnızca makroskopik koloni muayenelerinden Aspergillus olabilecek koloniler işaretlenerek teşhis edilmiştir. Teşhis sonucu Aspergillus ve Penicillium türü küflere rastlanmamış olup 5 koloninin Alternaria alternata, 3 koloninin Ulocladium chartarum ve 13 koloninin ise Cladosporium macrocarpum olduğu tespit edilmiştir. Düşük düzeyde rutubet içeren yemlerde Aspergillus ve Penicillium türü küflerin gelişmeyeceği bildirilmektedir (Smith ve Moss, 1985; Göktan, 1990; Ronald, 1996). Depo süresi uzadıkça yemlerin küf sayısında artış gözlenmiştir. Dönemlerin ilerlemesi ile yağış ve nispi nem miktarının artmasının küf sayısının artmasına etki ettiği görülmektedir. 3.dönemde sıcaklığın düşmesinin küf gelişimini olumsuz yönde etkilediği, ancak düşük sıcaklıklarda da üreyebilen küflerin bulunduğu saptanmış ve ot yığınının içindeki ısı çevre ısısına bağlı olarak fazla değişmeyeceğinden küf gelişimi artarak devam etmiştir. Çoksöyler ve ark.(1994)'nın Ankara'da yaptıkları çalışmada, yemlerin hasat döneminde %54.76'sı küfle bulaşık iken depoda bu değer %66.18 oranına çıktığı ve depo süresinin uzamasıyla küf miktarında artış olduğunu bildirmektedirler. Farklı koşullarda üretilen karma yemlerde ortalama küf sayılarının 5100 ila 8100 ad/g arasında değiştiği Dizdar ve ark. (1997), buğday samanlarının %30'unda küfle bulaşma olduğu

bildirilmektedir (Mir ve Ali, 1991). Ceran (1987)'nin yapmış olduğu çalışmada, kanatlı yemlerinde küf sayısı  $2 \times 10^5$  ad/g'dan 4 günlük depo sonucunda  $1 \times 10^6$  ad/g'a ve  $4 \times 10^3$  ad/g'dan  $5 \times 10^5$  ad/g'a çıktığını bildirmektedir. Abarca ve ark. (1994) yaptıkları çalışmada yemlerdeki küf sayılarını  $10^2$  ila  $10^8$  ad/g arasında değiştiğini, Skrinjar ve ark. (1994)'nin yaptıkları çalışmada ise yemlerin %83'ünün küfle bulaşmış olduğunu bildirmektedirler. Yemlerin depolama süresi uzadıkça oluşan küf sayısının arttığı ve

6200-85000 ad/g arasında değiştiği (Özpinar ve ark., 1993); saman örneklerinde herhangi bir küf oluşumuna rastlanmadığı bildirilmektedir (Balaraman ve Gupta, 1990). Elde edilen sonuçlar bahsedilen literatür bildirişleri ile genelde uyumlu görülmektedir. Dizdar ve ark. (1997)'nin Schmidt'den bildirdiklerine göre yemlerin hijyenik kalitelerinin küf yükü bakımından; 26 örneğin az ve orta derecede küflü, 3 örneğin çok küflü ve 1 örneğin yüksek oranda küflü olduğu görülmektedir.

Çizelge 4. Farklı dönemlerde alınan örneklerle ait toplam küf sonuçları (ad/g)

Örnek No	Haziran (1.Dönem)	Ekim (2.Dönem)	Şubat (3.Dönem)
1	$5.5 \times 10^4$	$6 \times 10^4$	$9 \times 10^4$
2	$9 \times 10^4$	$1 \times 10^5$	$2.6 \times 10^5$
3	$1.1 \times 10^4$	$9 \times 10^3$	$1.2 \times 10^4$
4	$1.5 \times 10^4$	$1.5 \times 10^4$	$1.6 \times 10^4$
5	$9 \times 10^3$	$4.7 \times 10^4$	$1.7 \times 10^5$
6	$1.1 \times 10^4$	$3.4 \times 10^4$	$1.8 \times 10^5$
7	$3 \times 10^4$	$1.8 \times 10^4$	$2 \times 10^4$
8	$1 \times 10^4$	$2.5 \times 10^4$	$1.6 \times 10^5$
9	$1.8 \times 10^4$	$1.2 \times 10^4$	$1.1 \times 10^4$
10	$1.3 \times 10^4$	$3 \times 10^3$	$1.9 \times 10^4$
$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}^*$	$2.62 \times 10^4 \pm 8.37 \times 10^3$ a	$3.23 \times 10^4 \pm 9.39 \times 10^3$ a	$9.38 \times 10^4 \pm 2.90 \times 10^4$ b

\* Aynı harfleri taşıyan ortalamalar arasında fark yoktur ( $P > 0.05$ ).

Belirlenen istasyonlardan alınan örneklerden 1. ve 2. dönemlerde tespit edilebilir herhangi bir aflatoksine rastlanmamıştır. 3. dönemdeki yem örneklerine ait

aflatoxin analiz ve doğrulama sonuçları Çizelge 5'de verilmiştir.

Çizelge 5. Üçüncü dönem örneklerinde aflatoksine analizleri ve doğrulama sonuçları

Örnek No	B <sub>1</sub> Ppb	B <sub>2</sub> Ppb	G <sub>1</sub> Ppb	G <sub>2</sub> Ppb	Doğrulama (%25H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	Doğrulama (TFA)
1	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-
6	7	Eser	6	Eser	+	+
7	-	-	-	-	-	-
8	-	-	-	-	-	-
9	-	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-	-

Çizelge 5. incelendiğinde yalnızca bir istasyona ait yem örneğinde 7 ppb B<sub>1</sub>, 6 ppb G<sub>1</sub>, eser miktarda B<sub>2</sub> ve G<sub>2</sub> toksine rastlanmış ancak bu yem örneğinde toksin yapıcı küfe rastlanmamıştır. Bir yemde küflerin bulunması onların toksin ürettiğinin güvencesi olmadığı, ayrıca küflerin toksin oluşturduktan sonra ortam koşulları uygun olmadığı durumlarda varlıklarını sürdürmeyecekleri ancak oluşan toksinlerin üründe kalabileceği bildirilmektedir (Smith ve Moss, 1985). Yemlerin depolama süreleri uzadıkça toksin oluşumu gerçekleşmiştir. Nitekim yapılan bir çalışmada, birinci yılda toksine rastlanmazken 2. ve 3. yılda 5.16 ppb

B<sub>1</sub>'e (Skrinjar ve ark., 1994); ilk yıl %5.8 olan aflatoxin düzeyi ikinci yılda %11.6'ya çıktığı bildirilmektedir (Fernandez ve ark., 1991). Başlangıçta 7 ppb olan aflatoxin miktarı 20 gün sonunda 27.9 ppb'ye yükseldiği bildirilmektedir (Ceran, 1987). Aflatoxin oluşumu sıcaklık, nispi nem ve depolama süresine bağlı olarak değişmektedir. Naresh ve ark. (1993)'ün yaptıkları çalışmada, 22-24 °C ve %76-80 nispi nemde depolama süresinin uzaması ile toksin miktarının 7 ppb'den 11600 ppb'ye kadar yükseldiğini bildirmektedirler. Yapılan çeşitli çalışmalarda da yemlerde büyük bir problem

oluşturmayacak kadar aflatoksinle rastlandığı bildirilmektedir (Bakan, 1986; Özpınar ve ark.,1993; Dizdar ve ark., 1997). Bir yığının farklı bölgelerinden alınan örneklerde mikotoksinlerin yığında heterojen dağılım göstermediği gibi aynı yığına ait çok farklı değerlerde elde edilebileceği bildirilmektedir (Campbell ve ark., 1986).

### Sonuç

Van İli yetiştirici şartlarında elde edilen ve depolanan kaba yemlerdeki aflatoksin oluşumu ile toksijenik küf gelişimi ve toksin oluşumu açısından; kaba yem örneklerinin yüzde nem içeriklerinin, yıllık yağış ortalamasının, sıcaklık ve nisbi nem ortalamalarının olumsuz bir sonuç oluşturmadığı görülmüştür. Yığın içerisindeki yemlerde aflatoksinin bulaşmış olması yağmur sularının içeriye sızmasından kaynaklanan lokal bir bölge olabileceği gibi, kurutma esnasında tarla yüzeyinde bir veya birkaç ot balyasında toksijenik küfler de gelişmiş olabilir. Aflatoksijenik olmayan diğer küfler yönünden değerlendirildiğinde; depolama süresince bunların gelişmelerine devam ettiği görülmektedir. Bunlar toksijenik karakterde olmasa bile yemin çürümesine, kalitesinin düşmesine ve çeşitli besleme hastalıkları gibi olumsuzluklara neden olabilmektedir. Bu nedenle yemlerin hasat edilme aşamasında yemlerin iyice kurutulması, mikroorganizma kontaminasyonuna maruz kalabilecek şartların giderilmesi ve yemlerin içerisine yağış sularının sızmayacağı uygun depo ortamlarında depolanması küflenmeyi büyük ölçüde güvence altına alacaktır.

### Kaynaklar

- Abarca, M. L., M. R. Bragulat, G. Castella and F. J. Cabanes, 1994. Mycoflora and aflatoxin-producing strains in animal mixed feeds. *Nutrition Abstracts and Reviews. Series B.*, 64 (8):511.
- Abramson, D., R. N. Sinha and J. T. Mills, 1980. Mycotoxins and odor formation in moist cereal grain during granary storage. *Cereal Chem.*, 57: 346-351
- Akyıldız, A. R.,1981. *Yemler Bilgisi ve Teknolojisi*. Ank. Üniv. Zir. Fak. Yay., Yay.No:974, Ankara.410s.
- Akyıldız, A. R., 1984. *Yemler Bilgisi Laboratuvar Kılavuzu*. Ank. Üniv. Zir. Fak. Yay.,Yay.No: 895, Ankara. 236s
- Anonim, 1980. (6 Ağustos 1980 tarih ve 17070 sayılı Resmi Gazete) *Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Tebliği*. Yem maddeleri ve karma yemlerde bulunan bakteri ve mantarların seyreltme metoduyla kültür sayımları. Ankara.
- Anonim, 1985. *Aflatoksinlerin Tayini Metotları-Yağlı Kuru Meyvelerde*. Türk Standartları Enstitüsü, TS-4672. Ankara.18s.
- Anonim, 1988. *Mikrobiyoloji – Mikrobiyolojik Muayeneler İçin Dilüsyonlar Hazırlanmasına Dair*

*Genel Kurallar*. Türk Standartları Enstitüsü, TS – 6235:5s. Ankara.

- Anonim, 1998a. *Yem Kanunu Yem Yönetmeliği ve Tebliğler*. Tarım ve Köy işleri Bakanlığı Geliştirilmiş Baskı, 106s. Ankara.
- Anonim, 1998b. Van Meteoroloji Bölge Müdürlüğü Kayıtları Basılmamış)
- Aziz, N. H. and L. A. E. Moussa., 1997. Influence of white light, near-uv irradiation and other environmental conditions on production of aflatoxin B<sub>1</sub> by *Aspergillus flavus* and ochratoxin A by *Aspergillus ochraceus*. *Nahrung*, 41 (3):150-154.
- Bakan, A., 1986. Yem fabrikaları, bayileri ve tavukçuluk işletmelerinden alınan kanatlı karma yemleri örneklerinde mycotoxin (aflatoksin) kalıntılarının kromotografik yöntemlerle saptanması ve analiz sonuçlarının yedirme denemeleriyle doğrulanması üzerine araştırmalar. *İ.Ü. Veteriner Fakültesi Dergisi*, 12 (2): 77-91.
- Balaraman, N. and H. K. Gupta, 1990. Occurrence of aflatoxin in the livestock feeds of sikkim. *Indian Journal of Animal Nutrition*, 7(2): 143-146.
- Banwart, G. J., 1989. *Basic Food Microbiology*. Second Edition, New York. 299-320.
- Campbell, A. O., T. B. Whitaker, A. E. Pohland, J. W. Dickens and. D. L. Park, 1986. Sampling, sample preparation, and sampling plans for foodstuffs for mycotoxin analysis. *Appl. Chem.* 58 (2): 305-314.
- Ceran, G., 1987. Karma yemlerde, yem ham maddelerinde mikotoksinler ve alınması gereken önlemler. *Yem Sanayi Dergisi*, 54: 17-22.
- Chelkowski, J., K. Trojaniwska and M. Wiewiorowska, 1983. Mycotoxins in cereal grain Part VIII. Microbiological Evaluation of Cereal Grain Quality, *Connected with Mycotoxins occurrence.*, 27 (4): 31-318.
- Christensen, C. M. and H. H. Kaufman, 1969. *Grain Storage* University of Minnesota press, Minneapolis.
- Çoksöyler, N., Ş. Özkaya, H. Boncuk, E. Taydaş, C. Yaralı ve S. Karagöz, 1994. *Buğdaylarda Hasat Sonrası ve Depolama Döneminde Küf Gelişimi ve Mikotoksin Oluşumunun İncelenmesi*. İl Kontrol Laboratuvar Yayınları, No: 17 (4): 31s.
- DeWaat, J., C. Van Zadelhat and A. Eldelbrook, 1974. Aflatoksin *Alimenta*, 13:35-43.
- Davis, M. D. and Y. L. Diener, 1978. *Mycotoxins: Food and Beverage Mycology*, Ed.: L. R. Beuchat AVI Publishig Company Inc. 397-435.
- Dizdar, G., V. Karaaslan, Y. Atayeter, G. Öcal, S. Özkaya, A. Başaran, N. Çoksöyler ve S. Günal, 1997. *Farklı üretim koşullarında üretilen karma yemlerin mikroorganizma yükünün ve mikotoksin durumlarının saptanması*. İl Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü Yayınları, 47 (34): 39s

- Ekiz, H., 1998. Kaba yem üretiminin geliştirilmesi. Hayvansal üretim araştırmada yeni yaklaşımlar konulu sempozyum. *T.C. Ziraat Bankası Kültür Yayını*, 34.: 157-164.
- Ergül, M., 1978. Karma yemlerde kaliteye ilişkin sorunlar. *Yem Bülteni*, 1(5): 36-39.
- Fernandez, P. V. E., G. Vaamonde, S. B. Brizzio. and N. Apro, 1991. Aflatoxin production in soybean varieties grown in Argentina. *Journal of Food Protection*, 54 (7): 542-545.
- Göktaş, D., 1990. Gıdaların mikrobiyal ekolojisi. *EÜ. Mühendislik Fakültesi Yayınları*, 21: 292s.
- Garcia, I., L. Quiros and F. Hernandez, 1991. Aflatoxin content in sorghum and maize used as animal feed in Costa Rica., *Nutrition Abstracts and Reviews. Series B*, 61 (9): 629.
- Kesici, T. ve Z. Kocabaş 1998. *Biyoistatistik*. Ank. Üniv. Ecz. Fak Yay., Yay.No.:79, Ankara. 559s. 22.
- Kolhe, A. S., R. J. Verma and H. C. Dube, 1995. Aflatoxin contamination in oil cakes. *Nutrition Abstracts and Reviews. Series B*, 65 (11): 835.
- Kratzer, F. H., D. Bandy, M. Wiley and A. W. Boot, 1969. Aflatoxin effect in poultry. Proc. Sec. Exptl. *Biol. Med.*, 131: 1281-1284
- Liang, S.H.D., C. Skory and J. E. Linz, 1996. Characterization of the function of the ver-1A and ver-1B genes, involved in aflatoxin biosynthesis in *Aspergillus parasiticus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 62(12): 4568-4575.
- Mahmoud, A. L. E., 1993. Toxigenic fungi and mycotoxin content in poultry feedstuff ingredient. *Journal of Basic Microbiology*, 33 (2): 101-104.
- Mir, F. A. and A. Ali, 1991. Fungal contamination of commonly available feedstuffs in Pakistan. *Nutrition Abstracts and Reviews. Series B*, 61 (1): 17.
- Masimango, N., J. L. Renaut and J. Remacle, 1977. Aflatoxines at champignons toxigenes dans de denrees alimantaires Zairoises. Rev.Fermant. Industr *Aliment, Belg.*, 32 (6): 164-170.
- Naresh J., S. K. Mahipal and N. K. Mahajan, 1993. Occurrence of aflatoxin in compound poultry feeds in Haryana and effect of different storage conditions on its production. *Indian Journal of Anim. Sci.*, 63 (1), 71-73.
- Özen, N., A. Çakır, S. Haşımoğlu ve A. Aksoy, 1993. *Yemler Bilgisi ve Yem Teknolojisi*. A. Ü, Zir. Fak. Yay., Yay.No.:50,. Erzurum. 254s
- Özpinar, H., R. Kahraman, H. S. Şenel, R. Dietrich ve G. Terplam, 1993. Yem maddeleri ve fabrika yemlerinde aflatoxin B<sub>1</sub>, okrotoksin A ve zeralenon miktarının enzim immunolojik yöntemle saptanması. *Veterinary and Animal Sciences*, 17: 239-244
- Palmgren, M. S. and A. V. Hayes, 1987. *Aflatoxin in Food: Mycotoxin in Food*. Academic Press Inc., London . 65-83.
- Pinello, C.B., J. L. Riçharrrd and R. H. Rigdon, 1977. Mycoflora of a turkey confinement brooder house. *Poultry Sci.*, 56:1920-1926.
- Purwoko, H. M., B. Hald and J. Wolstrup, 1991. Aflatoxin content and number of fungi in poultry feedstuffs from Indonesia. *Nutrition Abstracts and Reviews. Series B*, 61 (11): 839.
- Ronald, R. M., 1996. Effects of molds and their toxins on livestock performance: A western Canadian Perspective. *Anim. Feed Sci. and Tech.*, 58:77-89.
- Samson, R. A., E. S. Hoerstra and C. A. N. Orschot, 1984. *Introduction to Food Borne Fungi*. Second Edition ,Centraalbureau voor schimmelcultures, 248p Holland.
- Sauer, D. B., C. L. Storey and D. E. Walker, 1984. Fungal populations in U.S.farm-stored grain and their relationship to moisture, stroge time, Regions, and Insect Infestation. *Phytopathology*, 74 (9): 1050-1053.
- Skrinjar, M., R. D. Stubblefield, I. F. Vujicic and E. Stojanovic, 1994. Distribution of aflatoxin-producing moulds and aflatoxins in dairy cattle feed and raw milk.. *Nutrition Abstracts and Reviews. Series B*, 64 (1): 13.
- Smith, J. E. and M. O. Moss, 1985. *Mycotoxins: Formation, Analysis and Signiticance*. Printed in Great Briterin, Sons, Ltd., 143p.
- Şahin, K. ve M. Sarı, 1996. Elazığ yöresinde yaygın olarak kullanılan yemlerin bakteri ve mantar florası üzerine bir araştırma. *FÜ. Sağlık Bil. Der*, 10(2): 251-258.
- Tayfur, M., 1991. Tüketim aşamasındaki bulgur örneklerinde aflatoxin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub> ve okrotoksin A taraması üzerine bir araştırma. H.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi Ankara.
- Temiz, A., 1994. *Genel Mikrobiyoloji Uygulama Teknikleri*. Ders Kitabı, Ankara. 266s
- Tuncer, N., 1990. Konya civarında bulunan yem fabrikalarında üretilen yem ve yem maddelerinde aflotoksin B<sub>1</sub> ve okrotoksin A rezidülerinin araştırılması. *Veterinarium*, 1 (1): 14-17.