



## Lactobacillus buchneri'nin silajdaki eşsiz etkinliği

Mustafa Öno1\*, İmge Duru Öno2\*

<sup>1</sup>Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

<sup>2</sup>Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

Geliş Tarihi / Received: 29.09.2020, Kabul Tarihi / Accepted: 17.03.2021

**Özet:** Silajın daha iyi korunmasını sağlamak ve geliştirmek için çeşitli katkı maddeleri mevcuttur. Bu silaj katkıları içinde en yaygın kullanıma sahip olanlardan biri de laktik asit bakterilerini içeren mikrobiyal inokulantlardır. Havaya maruz kaldıktan sonra birkaç gün boyunca şaşırıcı şekilde sıcaklığı artmayan (aerobik kararlılık gösteren) mısır silajlarından izole edilen *Lactobacillus buchneri* bakterilerinin inokulant olarak silajlarda kullanımına ilişkin çalışmalar bu alanda son 20 yılda en ilgi çeken konulardan biri olmuştur. Günümüzde *L. buchneri*, silaj inokulantlarında kullanılan ana heterofermantatif laktik bakteridir. Bu bakteri laktik asidi asetik aside ve diğer ürünlere dönüştürebilir. Asetik asit, silajların ısınmasına ve bozulmasına neden olan mayaların ve küflerin iyi bir inhibitörüdür. Böylece *L. buchneri* silajın aerobik stabilitesini, başka bir deyişle silo ve yemlik ömrünü artırır. Bu derlemede, *L. buchneri*'nin silaj açısından öne çıkan temel özellikleri, silajın korunmasında sağladığı olumlu etkiyi oluşturma şekli ve silajda inokulant olarak kullanımında etkinliğini etkileyen etmenler hakkında bilgi vermektedir.

**Anahtar kelimeler:** Aerobik stabilite, *Lactobacillus buchneri*, Silaj

### The unique activity of *Lactobacillus buchneri* in silage

**Abstract:** A variety of additives are available to improve ensiling and to provide better protection for silage. Microbial inoculants containing lactic acid bacteria are the most widely used among these silage additives. Studies on the use of *Lactobacillus buchneri* bacteria as inoculant in silages, isolated from maize silages, whose temperature does not increase surprisingly for several days after exposure to air (indicating aerobic stability), has been one of the most interesting topics in this field over the last two decades. Today, *L. buchneri* is the main heterofermentative lactic acid bacteria used in silage inoculants. These bacteria can convert lactic acid into acetic acid and other products. Acetic acid is a good inhibitor of yeasts and molds that result in heating and spoiling of silage. In this way, *L. buchneri* increases the aerobic stability of silage, in other words, life of silo and feeder. This review gives information about the prominent characteristics of *L. buchneri* in terms of silage, the way it develops the positive effect in the preservation of silage, and the factors affecting its effectiveness when used as an inoculant in silage.

**Keywords:** Aerobic stability, *Lactobacillus buchneri*, Silage

### Giriş

Bitki yüzeylerinde, bitkilerin doğal yapısında olduğu gösterilmiş olan belirli türlerde laktik asit bakterileri bulunur. Silaj yapımı temelde bu epifitik laktik asit bakterilerine bağlıdır. Laktik asit bakterilerinin bitkiler üzerindeki rolü tam bilinmemekle birlikte hasarlı bitki kısımlarında, hasarlı olmayan bitki kısımlarından daha fazla sayıda bulunmalarından dolayı bitkileri istenmeyen mikroorganizmalardan (organik asitler, bakteriyosinler ve antifungal ajanlar gibi antagonistik bileşikler üreterek) korudukları veya çoğalmalarını sınırladıkları düşünülmektedir. Silolama sürecinde ise homofermantatif laktik asit üreten (*Lactobacillus*, *Streptococcus* ve *Pediococcus* türlerini içeren) bakteriler pH'yı düşürerek bozulmaya neden olan mikroorganizmaları baskılar (Holzer ve ark. 2003).

Silaj havaya (oksijene) maruz kaldığında, bazı fırsatçı mikroorganizmalar metabolik olarak aktif hale gelir, ısı üretir ve silajdaki besinleri (en başta laktik asidi) tüketerek bozulmaya neden olur. *Saccharomyces*, *Candida*, *Cryptococcus* ve *Pichia* gibi laktat asimile eden mayalar (laktik asidi hızla karbondioksit ve suya metabolize ettiği için) silajlarda aerobik bozulmanın birincil nedeni olarak gösterilmiştir. Ancak daha az ölçüde küfler, basiller, asetik asit bakterileri ve muhtemelen laktik asit bakterileri de bozulmada rol oynar. Bu nedenle homofermantatif laktik asit bakterilerinin silajdaki koruyucu etkinliği kalıcı değildir (Woolford, 1990).

Silolamanın ilerleyen aşamalarında mikrobiyal çeşitliliğin değişmesi (özellikle farklı laktik asit bakterilerinin, Tablo 1), farklı türlerin birbirinin yerine

geçmesi, fermantasyon dönemi boyunca gelişen ve değişen dinamik bir süreçtir (Drouin ve ark. 2019). Bitki materyali silaj yapımı için hasat edildikten, sıkıştırıldıktan ve hava almayacak şekilde kapatıldıktan sonra başlayan anaerob fermantasyon sürecinde zamana bağlı olarak baskın olan bakteri türleri farklılaşmaktadır. Heterofermentatif laktik asit bakterileri, silajdaki laktik asit bakterilerinin baskın grubudur. Silolama periyodunun dördüncü gününden sonra

fermentasyon süreci ilerledikçe mikrobiyotada baskınlık *L. brevis*, *L. plantarum* ve özellikle *L. buchneri*'ye doğru kayar (Holzer ve ark. 2003).

Bu derlemenin amacı, *L. buchneri*'nin silaj açısından öne çıkan temel özellikleri, silajın korunmasında sağladığı olumlu etkiyi nasıl oluşturduğu ve silajda inokulant olarak kullanımı sırasında etkinliğini etkileyen faktörler hakkında bilgi vermektedir.

**Tablo 1.** Silajda sık bulunan *Lactobacillus* cinsi homo- ve heterofermentatif laktik asit bakterileri (Holzer ve ark. 2003)

Laktik asit bakterileri	Baskın fermente etme özellikleri	Türler
Grup I: Obligat (zorunlu) homofermentatifler	Bu türler, heksozları Embden-Meyerhof yoluyla laktik aside dönüştürür, ancak pentozları veya glukonati fermente edemez.	<i>L. acidophilus</i> <i>L. delbrueckii</i> <i>L. helveticus</i> <i>L. farciminis</i> <i>L. lactis</i> <i>L. bovis</i>
Grup II: Fakültatif heterofermentatifler	Bu mikroorganizmalar genellikle heksozları homofermentatif olarak laktik aside fermente eder, ancak özel koşullar altında laktik asitten heterofermentatif metabolizma ile karbondioksit ve etanol (veya asetik asit) meydana gelir. Asetik asit üretimi, örneğin fruktoz veya moleküler oksijenin azaltılması yoluyla, NAD+'nin etanol oluşmadan rejenera edilebildiği koşullar altında meydana gelir. Pentozlar, fosfoketolaz yoluyla laktik ve asetik aside fermente edilir.	<i>L. alimentarius</i> <i>L. casei</i> <i>L. curvatus</i> <i>L. sakei</i> <i>L. paralimentarius</i> <i>L. plantarum</i> <i>L. pentosus</i>
Grup III: Obligat (zorunlu) heterofermentatifler	Heksozlar laktik asit, karbon dioksit ve etanole (veya alternatif bir elektron alıcısı varlığında asetik aside) fermente edilir. Pentozlar, laktik ve asetik aside dönüştürülür.	<b><i>L. buchneri</i></b> <i>L. brevis</i> <i>L. fermentum</i> <i>L. reuteri</i> <i>L. fructivorans</i> <i>L. sanfranciscensis</i>

### ***Lactobacillus buchneri*'nin temel özellikleri**

Henneberg tarafından ilk kez 1903 yılında *Bacillus buchneri* olarak bildirilen *L. buchneri*, gram pozitif, spor oluşturmeyen, anaerobik, çubuk prokaryot ve zorunlu heterofermentatif bir bakteridir. *L. buchneri* düşük ısıya duyarlıdır ve yavaş çoğalır (Vos ve ark. 2009). İnsan bağırsağı, domuz dışkısı, rumen sıvısı, biyoetanol işleme artıkları, turşu suyu, fermente salatalık, filtresiz malt bira ve silajdan izole edilmiştir (Tanizawa ve ark. 2020).

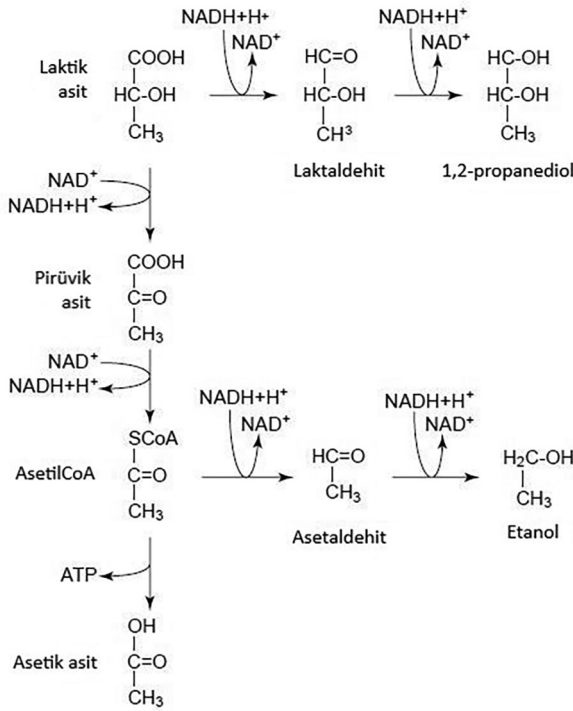
Silaj açısından *L. buchneri*'nin temel özellikleri ise (1) Laktik asidi anaerobik yıkımlaması, (2) Ferulik asit esteraz (FAE) ile (3) Bakteriyosin üretmesidir.

(1) *L. buchneri* fermantasyon süreci sırasında hem aerobik hem de anaerobik koşullar altında laktik asit ve diğer metabolitlerle birlikte bozulma mikroorganizmalarını baskılayıcı aktiviteye sahip asetik asit üretir (Danner ve ark. 2003; Eikmeyer ve ark. 2015). Anaerobik ve asidik koşullar altında laktik asidi asetik asit, etanol ve 1,2-propandiole dönüştürebilen *L. buchneri*'nin hücre canlılığının korunmasına katkıda

bulunan bu metabolik yol Şekil 1'de gösterilmiştir (Oude Elferink ve ark. 2001).

Asetik asit oluşumunu sağlama *L. buchneri*'yi silaj fermantasyonunu geliştirmek ve küf ile mayaların neden olduğu aerobik bozulmayı ve ısınmayı önlemek için çoğu çiftlikte yararlı bir inokulant haline getirmektedir. Buna karşılık, *L. buchneri* salatalık turşularının korunma süreci açısından zararlı ve bira üretiminde kirletici (kontaminant) olarak tanımlanmıştır. Bu nedenle *L. buchneri*, ekonomik ve hijyenik açıdan önemli bir gıda starteri veya bir gıda bozucusu olarak birbirine zıt aktiviteler sergiler (Tanizawa ve ark. 2020).

*L. buchneri*, 1,2-propandiolü propanol ve propiyonik aside metabolize edememekte, silajda bulunan *L. diolivorans* ve *L. reuteri* gibi *Lactobacillus*'lar bu dönüşümü yapmaktadır (Muck ve ark. 2018). Fakat yeni tür *L. buchneri* A KKP 2047 p'nin de laboratuvar koşullarında 1,2-propandiolü propiyonik aside metabolize edebildiği bildirilmiştir (Zielinska ve ark. 2017).



**Şekil 1.** *Lactobacillus buchneri*'nin laktik asidi asetik asit ve 1,2-propandiole anaerobik yıkımlama yolu (Oude Elferink ve ark. 2001)

(2) Asetik asit üretebilmenin yanı sıra bazı *L. buchneri* suşları, FAE üretebilme kapasitesi ile silajda lif sindirilebilirliğini artırma potansiyeli de taşır (Nsereko ve ark. 2008; Kang ve ark. 2009; Muck ve ark. 2018) Ferulik asit, bitki hücre duvarındaki lignin ve hemiselüloz arasındaki şekerlerle feruloil ester bağlarını oluşturur. FAE, kaba yem sindirilebilirliğinin birincil sınırlayıcı faktörlerinden biri olan bitki hücre duvarından ferulik asidin ayrılmasını sağlar ve böylece doğrudan lif sindirimini, başka bir deyişle bitki hücre duvarının selüloolitik veya ksilanatik hidrolize duyarlılığını artırır (Nsereko ve ark. 2008; Kang ve ark. 2009; Raffrenato ve ark. 2017).

Silaja inokule edilen *L. buchneri*'nin *in vitro* lif sindirilebilirliği üzerindeki etkileri ise tutarsız olmuştur (Kang ve ark. 2009; Comino ve ark. 2014; Muck ve ark. 2018). İstenilen etkiyi yaratmadaki bu tutarsızlık, silajda FAE'in etkinlik koşullarının her zaman sağlanamaması, ortamda yeterli miktarlarının bulunmaması ve *L. buchneri*'nin FAE sentezleme kabiliyetine (suşuna) bağlı olabilir (Muck ve ark. 2018).

(3) *L. buchneri*'nin bir diğer özelliği, patojenler de dahil olmak üzere bazı gram pozitif bakterilerin büyümesini engelleyen antibakteriyel peptid buchnerinin LB'yi üretebilme yeteneğine sahip olmasıdır.

Buchnerinin LB, test edilen farklı bakteri (*Listeria*, *Bacillus*, *Enterococcus*, *Micrococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* ve *Streptococcus*) türlerine karşı geniş bir inhibitör spektruma sahiptir (Yıldırım ve Yıldırım 2001, Yıldırım ve ark. 2002)

Aerobik olarak bozulmuş silajlarda gerçekleşebilen *Clostridia* sınıfı bakterilerin çoğalması riski *L. buchneri* inokulasyonu ile aerobik stabilite iyileştirilerek azaltılabilir (Tabacco ve ark. 2009). Silaj yapımı sırasındaki hatalar, fermantasyon yetersizliği ve yemleme yönetimi eksiklikleri sonucu silajda bulunabilecek patojen *Escherichia coli* (özellikle *E. coli* O157: H7) ve *Listeria monocytogenes*'e karşı *L. buchneri*'nin tek başına veya kombine inokulasyonu; sağladığı pH, asetik asit artışı ve bakteriyosin(ler) ile bu bakteriler üzerinde önemli bir baskılanma oluşturmuştur (Queiroz ve ark. 2018).

### ***Lactobacillus buchneri*'nin silajın bozulmasını geciktirmesi**

Birçok çiftlikte, silaj genellikle yemlemeden önce ve yemleme sırasında değişen düzeylerde aerobik bozulmaya maruz kalır. Örneğin, silolardan her öğün yeterli miktarda silajın çıkarılmaması, silajın iyi sıkıştırılmaması veya örtülmemesi/paketlenmemesi yemlemeden önce silajların bozulmasının yaygın nedenleridir. İşgücünü azaltmak için bazı üreticiler sadece her iki veya üç günde bir yemleme yaparak düveleri ve besi sığırlarını beslemeyi seçtiğinde veya silaj kamyonlarla satın alındığında ve taşındığında birkaç gün boyunca açıkta havaya maruz kalır. Bu gibi nedenlerle aerobik bozulmaya uğramış silajlarda kuru madde kaybı artar, besin madde değerleri düşer, bozulan silajı tüketen hayvanların verimi ve sağlığı (mikotoksin üreten küflerin veya patojenlerin gelişimi sonucu) olumsuz etkilenir ve bozuk silajdan çıkan gazlar ile bozuk kısımlarının atılması çevreye zarar verir. (Driehuis ve Oude Elferink 2000; Ranjit ve Kung 2000). Bozulmuş silaj, besin kaybına uğradığı ve bu silajla beslenen hayvanlar daha az verimli olduğu için net çiftlik gelinde düşüşe neden olur. Bu nedenle, silajların aerobik stabilitesini iyileştirmek, üreticilere ekonomik açıdan önemli artılar sağlayabilir (Kleinschmit ve Kung 2006).

Silolama/saklama ve yemleme sırasında havaya maruz kalma, silajlarda bozulmanın hızla başlamasına neden olur. Silajda bozulmanın birincil başlatıcıları olan ve laktik asidi metabolize edebilen mayalar, silaj pH'sında artışa yol açar. Silaj ortamındaki bu temel değişiklikler, fırsatçı bakteri ve mantarların da çoğalmasına yol açarak daha fazla bozulmaya neden olur (Woolford, 1990).

Çoğu bakteriyel silaj inokulantları, fermantasyon işlemi sırasında öncelikle laktik asit üretir. Silaj inokulantlarında kullanılan en yaygın laktik asit üreten bakteriler *Lactobacillus plantarum*, *L. acidophilus*, *Pediococcus cerevisiae*, *P. acidilactici* ve *Enterococcus faecium*'dur. Bu bakterilerin fermantasyon sırasında pH düşüşünü arttırdığı, silaj kuru madde kayıplarını azalttığı ve birçok durumda hayvan performansını arttırdığı gösterilmiştir. Bununla birlikte, homofermantatif bakteriyel inokulantlar tarafından üretilen silaj fermantasyon ürünleri, bazen silaj havaya maruz kaldığında inokulasyon yapılmamış silajlardan daha az stabil olan silaja neden olabilir. Çünkü homofermantatif bakteriler tarafından üretilen laktik asit, havaya maruz kalan silajda hızla çoğalan laktat asimile edici bazı maya ve küf türleri tarafından kolayca metabolize edilir (Combs ve Hoffman 2001).

Silolamada istenilen fermantasyonu kontrol etmek (laktik asidin hızlı üretimini ve bunun sonucunda pH'daki daha hızlı ve fazla azalmayı sağlamak) için kullanılan homofermantatif inokulantlar, mısır silajlarının aerobik bozulmasını arttırır (Muck 2004). Çünkü bu fermantasyonlarda silajı aerobik bozulma mikroorganizmalarına karşı korumak için yeterli uçucu yağ asidi (özellikle asetik asit) üretilmez (Moon 1983). Bu noktadan hareketle Muck (1996), *L. buchneri* inokule edilmesinin silajlar havaya maruz kaldıklarında bozulmayı geciktirebileceğini (aerobik stabilitenin artabileceğini) öne süren ilk kişidir.

Mısır silajlarına inokule edilen *L. buchneri*'nin oluşturduğu ana değişiklikler aşağıda sıralanmıştır:

**a) Laktik asit azalışı ve asetik asit artışı** (Driehuis ve ark. 1999; Filya 2003; 2006; Nishino ve ark. 2003; 2004; Kleinschmit ve ark. 2005; Kleinschmit ve Kung 2006; Hu ve ark. 2009; Kristensen ve ark. 2010; Schmidt ve Kung 2010; Queiroz ve ark. 2013; Drouin ve ark. 2019)

**b) Laktik asitin asetik asite oranında düşme** (Ranjit ve Kung 2000; Kleinschmit ve ark. 2005; Kang ve ark. 2009; Kristensen ve ark. 2010; Tabacco ve ark. 2011; Queiroz ve ark. 2013; Drouin ve ark. 2019)

**c) 1,2-Propanediol artışı** (Driehuis ve ark. 1999; Nishino ve ark. 2003; 2004; Hu ve ark. 2009; Mari ve ark. 2009; Kristensen ve ark. 2010; Schmidt ve Kung 2010)

**d) Etanol artışı** (Nishino ve ark. 2003; Filya ve ark. 2006; Kleinschmit ve ark. 2005; Hu ve ark. 2009; Kang ve ark. 2009; Schmidt ve Kung 2010)

**e) Final pH'da artış** (Driehuis ve ark. 1999; Ranjit ve Kung 2000; Filya 2003; 2006; Nishino ve ark. 2003;

2004; Kleinschmit ve Kung 2006; Hu ve ark. 2009; Kristensen ve ark. 2010; Schmidt ve Kung 2010)

**f) Maya sayısında azalma** (Driehuis ve ark. 1999; Ranjit ve Kung 2000; Filya ve ark. 2006; Kleinschmit ve ark. 2005; Kleinschmit ve Kung 2006; Hu ve ark. 2009; Kristensen ve ark. 2010; Schmidt ve Kung 2010; Tabacco ve ark. 2011)

**g) Aerobik stabilite artışı** (Driehuis ve ark. 1999; Ranjit ve Kung 2000; Filya 2003; 2006; Nishino ve ark. 2004; Kleinschmit ve ark. 2005; Kleinschmit ve Kung 2006; Hu ve ark. 2009; Kang ve ark. 2009; Mari ve ark. 2009; Kristensen ve ark. 2010; Schmidt ve Kung 2010; Tabacco ve ark. 2011; Queiroz ve ark. 2013)

**h) Kuru madde kaybında artış** (Driehuis ve ark. 1999; Filya 2003; 2006; Nishino ve ark. 2003; Kleinschmit ve Kung 2006; Hu ve ark. 2009)

*L. buchneri* inokule edilmiş mısır silajlarında laktat ve asetat konsantrasyonlarında oluşan farklılıklar, hem bakteri hem de mantar popülasyonlarını etkiler ve fermantasyon sürecinde farklı etmenlere de bağlı olarak silaj mikrobiyal popülasyon çeşitliliğinde spesifik değişiklikler oluşturur (Drouin ve ark. 2019).

Aktif fermantasyon sırasında laktik asit ve daha sonra laktik asitten bir miktar asetik asit üreten *L. buchneri*'nin silajın korunmasındaki temel rolü, silajda sağladığı asetik asit artışı ile bazı mayaların çoğalmasını baskılaması ve silajların aerobik stabilitesini (yedirmek için açıldığında oksijene maruz kalan silajın ısınmaya karşı gösterdiği direnci süre açısından) arttırması, diğer bir anlatımla silajın bozulmasını geciktirmesidir (Combs ve Hoffman 2001; Borreani ve ark. 2018).

*L. buchneri* inokule edilmiş silajdaki maya ve küf çoğalması, inokulasyon yapılmamış silajlara göre silajın açılması sonrası daha düşük olmaktadır. Sonuçta, silaj havaya maruz kaldığında *L. buchneri* inokule edilen silajın sıcaklığı kolayca yükselmez ve sıcak havalarda bile birkaç gün boyunca ortam sıcaklığına benzer olma eğilimini korur (Combs ve Hoffman 2001).

Aerobik stabilite, 23±1°C'lik bir odada havaya maruz kaldıktan sonra silaj kütlelerinin sıcaklığının 2°C artmasına kadar geçen süre (saat) olarak tanımlanır. Mısır silajına *L. buchneri* inokulasyonu aerobik stabiliteyi silolamanın 8-9. ayında 46 saatten 76 saate (Mari ve ark. 2009) ve silolamanın 120. gününde 27 saatten 44 saate (Queiroz ve ark. 2013), yine silolamanın 120. gününde 44 saatten 136 saate (Schmidt ve Kung 2010) çıkartmıştır.

Silajın aerobik olarak stabil olması durumunda *L. buchneri*'nin heterofermantatif fermantasyonuna bağlı olarak silaj kuru madde kaybı (yaklaşık %1-2), aslında *L. buchneri*'yi homofermantatif bakteriyel inokulantlara göre daha az arzu edilen bir silaj inokulantı yapabilir (Contreras-Govea ve Muck 2006; Kleinschmit ve Kung 2006; Borreani ve ark. 2018). Ancak uzun süreli depolama ve yemleme sırasında silajın aerobik stabilitesindeki iyileşmeler daha faydalıdır ve bu nedenle heterofermantasyondan kaynaklanan düşük kuru madde kayıpları daha az önemli hale gelir (Nishino ve ark. 2003; Borreani ve ark. 2018; Muck ve ark. 2018). Heterolaktik fermantasyondan kaynaklanan kuru madde kayıpları ile daha yüksek asetik asit düzeylerinin yem tüketimi üzerindeki olumsuz etkilerine ilişkin endişelerin ise yersiz olduğu kanıtlanmıştır (Muck ve ark. 2018).

### Silaj inokulantı olarak *Lactobacillus buchneri*'nin etkinliğini etkileyen etmenler

*L. buchneri*'nin ne zaman en etkili olacağı konusunda temel yaklaşım, silajda zayıf aerobik stabilite ile ilgili sorunların beklendiği koşullar altında *L. buchneri* inokulasyonunun faydalı olacağıdır. Bunlar yanında, inokulant olarak kullanımı sırasında dikkat edilmesi gereken noktalar da *L. buchneri*'nin etkinliğini değiştirebilir (Combs ve Hoffman 2001; Web 2020).

#### (a) Silajda aerobik stabilite sorunlarına yol açabilecek etmenler

- **Silo tipi:** Geniş açık yüzeylere sahip toprak üzeri basit (yığın) silolar, yan duvarları beton silolar, hendek (çukur) silolar gibi aerobik stabilite açısından daha büyük riske sahip olan silolarda *L. buchneri* uygulaması daha net sonuçlar vermektedir (Web 2020).

- **Silaj yönetimi:** Silajın yapımı ve kullanımı sırasında aerobik stabilitesini azaltabilen faktörler arasında silolanacak ürünün önerilen nem ve doğrama uzunluğunda olmaması, yetersiz sıkıştırma/yoğunluk, silaj yapımı sırasında yüksek ortam sıcaklıkları, silonun yavaş doldurulması, iyi kapatılmaması veya paketlenmemesi (sızdırmazlık), silodan düşük silaj alımı (çıkarma oranı) ve dağıtım hızı ile zayıf yemlik yönetimi (yemlikte uzun kalış süresi) yer alır. İnokulasyon yapılmamış veya laktik asit üreten bakteri(ler) inokule edilmiş silajların silodan alımı sırasında ısınma geçmişine sahip olduğu durumlarda *L. buchneri*'nin aerobik stabiliteyi iyileştirmesi olasıdır (Combs ve Hoffman 2001; Bernardes ve ark. 2018; Borreani ve ark. 2018; Web 2020).

- **Silaj çeşidi:** Mısır silajı (özellikle yüksek kuru madde mısır silajları), diğer hasıl silajları ve yüksek

nemli tane mısır silajı, havaya maruz kaldıktan sonra baklagil veya çayır silajlarından daha fazla bozulmaya karşı hassastır. Hassas olan silajlara *L. buchneri* inokulasyonu yarar sağlayabilir. Eğer aerobik stabilite bir problemse, *L. buchneri* baklagil silajına da uygulanabilir (Combs ve Hoffman 2001; Zhou ve ark. 2016; Borreani ve ark. 2018). Hibrit tohumun çeşidi de mısır silajlarına uygulanan *L. buchneri* inokulasyonunun etkinliğini değiştirmektedir (Schmidt ve Kung 2010).

- **İklimsel koşullar:** Sıcak iklimlerde, tahıl silajlarının bozulma olasılığı daha da yüksektir, çünkü aerobik mayalar yüksek sıcaklıklarda daha aktiftir (Contreras-Govea ve Muck 2006; Kristensen ve ark. 2010; Zhou ve ark. 2016; Borreani ve ark. 2018). Büyüme mevsiminin sıcak ve iklimin nemli olduğu bölgelerde yetiştirilen mısırlardaki yüksek epifitik *Lactobacillus* bakteri sayısı inokulantların etkinliğini değiştirebilir (Queiroz ve ark. 2013). Mısır silajının silolanma sürecinde *L. buchneri* büyümesi için alt sınır çevre sıcaklığı 15°C'dir. Silolama sürecinde çevre sıcaklığı 25°C olduğunda fermantasyonun 60. gününde hakim *Lactobacillus* popülasyonu *L. buchneri* olmuştur (Zhou ve ark. 2016).

- **Bitkinin olgunluk dönemi:** *L. buchneri* içeren bir inokulantın farklı olgunluk aşamalarında hasat edilen mısır silajının fermantasyon ürünleri ve aerobik stabilitesi üzerindeki etki düzeyleri birbirinden farklı bulunmuştur (Comino ve ark. 2014).

- **Silolanacak ürünün bileşimi:** Mısırın özellikle kuru madde ve suda eriyebilir karbonhidrat (şeker) içeriği silolamadaki fermantasyon akışı ve mikrobiyal popülasyon üzerinde etkilidir (Bernardes ve ark. 2018). Orta derecede yüksek kuru madde içeriğine sahip silajların sıkıştırılması daha zor olduğundan çiftlik silolarının yönetilmesi daha zordur. *L. buchneri*'nin etkisi, orta derecede yüksek kuru madde içeriğine sahip mısır silajında daha belirgindir (Hu ve ark. 2009; Comino ve ark. 2014). Yüksek miktarda nişasta veya şeker içeren mısırdan yapılan silajlar, mikrobiyal aktivite için içerdiği bol miktardaki substrat nedeniyle bozulmaya daha duyarlı olacak ve olasılıkla daha fazla maya içerecektir (Contreras-Govea ve Muck 2006). Çok düşük pH'ya direnç gösteremeyen *L. buchneri* için silolanacak mısırın %33'ün altında kuru madde içermesi uygun değildir (Jones 2019).

#### (b) İnokulant olarak kullanımı sırasında dikkat edilmesi gereken etmenler

- **Spesifik suş:** *L. buchneri*'nin silajların aerobik stabilitesini geliştirmedeki etkinliği suşa göre değişiklik gösterir. Daha etkin suş (laktik asitten asetik asit

üretebilme veya FAE sentezleme etkinliği) veya kaba yem çeşidine özgün etkin suş konuları hâlâ araştırılmaktadır (Ranjit ve Kung 2000; Muck 2004; Kleinschmit ve ark. 2005; Contreras-Govea ve Muck 2006; Eikmeyer ve ark. 2015; Silva ve ark. 2018; Tanizawa ve ark. 2020; Web 2019, 2020).

- **Etkin doz:** Silajda aerobik stabilite süresi *L. buchneri*'nin uygulanan dozuna göre değişir ve  $5 \times 10^5$  CFU/g veya daha fazla inokulasyonun mısır silajlarında en etkili olduğunu bildirilmiştir (Driehuis ve ark. 1999; Filya ve ark. 2006; Ranjit ve Kung 2000; Tabacco ve ark. 2011; Borreani ve ark. 2018). *L. buchneri* ile daha yüksek inokulasyon oranı, diğer silajlara göre mısır silajlarında daha tutarlı bir şekilde etkilidir. İnokulasyon yapılmayan mısır silajında aerobik stabilite 25 saat iken  $5 \times 10^5$  CFU/g'dan az *L. buchneri* uygulananlarda 35 saat,  $5 \times 10^5$  CFU/g'dan fazla *L. buchneri* uygulananlarda ise 503 saat olarak belirlenmiştir (Kleinschmit ve Kung 2006).

- **Silajın bekleme süresi:** Veriler *L. buchneri* tarafından laktik asidin asetik aside anaerobik dönüşümünün hızlı bir şekilde gerçekleşmediğini ve bunun belirginleşmesi için yaklaşık 30-60 gün geçmesi gerektiğini göstermektedir (Kristensen ve ark. 2010; Borreani ve ark. 2018; Muck ve ark. 2018; Silva ve ark. 2018). Queiroz ve ark. (2013) ise bu süreyi 120 gün olarak belirtmiştir.

- **İnokulantın sadece *L. buchneri* içermesi veya kombine olması:** *L. buchneri* ile birlikte birden fazla bakteri suşu içeren kombine inokulantlardaki bakterilerin silolama sürecinde farklı yararlı etkileri devam etmektedir (Driehuis ve ark. 2001; Hu ve ark. 2009; Schmidt ve Kung 2010; Borreani ve ark. 2018; Muck ve ark. 2018). Farklı bakteri türlerinin inokulantlara dahil edilme oranlarında göreceli farklılıklar ve belirli bir türün suşları arasındaki farklılıklar göz önüne alındığında, kombine inokulantlarla elde edilen sonuçlardaki değişiklikler şaşırtıcı olmamalıdır (Reich ve Kung 2010). Genel olarak kombine inokulantların başarısızlıkları, *L. buchneri* benzeri aktivite sergileyen doğal popülasyonun varlığı veya inokulanttaki *L. buchneri* suşunun herhangi bir nedenle fermantasyonun sonraki aşamalarına hakim olamaması nedeniyle ortaya çıkabilir (Muck ve ark. 2018).

- **Diğer etmenler:** İnokulantın formu (sıvı veya kuru), saklama koşulları, sulandırmada kullanılan suyun klor düzeyi, sulandırma sonrası kullanım için geçen süre, ürüne uygulanma şekli de *L. buchneri*'nin silajdaki etkinliği açısından dikkate alınması gereken etmenlerdir (Contreras-Govea ve Muck 2006).

## Sonuç

*L. buchneri*, anaerobik koşullar altında yüksek miktarlarda asetik asit üreterek silajların aerobik stabilitesini arttırmak için kullanılan heterofermentatif bir laktik asit bakterisidir (Driehuis ve ark. 1999; Rabelo ve ark. 2017). Laktik asitten ek asetik asit oluşumunu sağlama *L. buchneri* için benzersizdir. Aerobik bozulma birincil endişe olduğunda, mısır silajı için hem geleneksel homofermentatif suşlar hem de heterofermentatif *L. buchneri* içeren kombine inokulant kullanımı, fermantasyonun ilk aşamalarında pH'nın hızlı düşüşünü ve sonraki depolama aşamalarında ise asetik asit üretimini sağlar (Holzer ve ark. 2003; Borreani ve ark. 2018). Böylece, diğerlerinden üstün aerobik stabilizeye sahip yüksek kaliteli (açılan siloda ve yemlikte daha uzun süre bozulmadan veya taze kalan) silajlar elde edilir.

## Derlemede kısıtlar

Bu derlemede sadece *L. buchneri*'nin mısır silajı üzerindeki etkilerine yönelik çalışmalar irdelenmiştir. *L. buchneri*'nin (a) başka silajlar, (b) kombine inokulantlardaki etki değişimi, (c) silajın besin madde bileşimi, (d) silajın tüketimi ve sindirilebilirliği, (e) rumende probiyotik etkisi olup olmadığı, (f) verim ve çevre kirliliği üzerindeki etkileri ve (g) benzer amaçla kullanılan diğer silaj katkı maddeleri ile karşılaştırılması ele alınmamıştır.

## Kaynaklar

- Bernardes TF, Daniel JLP, Adesogan AT, McAllister TA, Drouin P, Nussio LG, Huhtanen P, Tremblay GF, Bélanger G, Cai Y. (2018) Silage review: Unique challenges of silages made in hot and cold regions. *J. Dairy Sci.* 101(5): 4001–4019. doi: 10.3168/jds.2017-13703
- Borreani G, Tabacco E, Schmidt RJ, Holmes BJ, Muck RE. (2018) Silage review: Factors affecting dry matter and quality losses in silages. *J. Dairy Sci.* 101(5): 3952–3979. doi: 10.3168/jds.2017-13837
- Combs DK, Hoffman PC. (2001) *Lactobacillus buchneri* for silage aerobic stability. *Focus on Forage*. Vol 3, No. 14. University of Wisconsin, Madison.
- 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, Muck R. (2006) Microbial inoculants for silage. *Focus on Forage*. Vol 8, No. 4. University of Wisconsin, Madison.
- Danner H, Holzer M, Mayrhuber E, Braun R. (2003) Effect of acetic acid on the aerobic stability of silages. *Appl. Environ. Microbiol.* 69(1): 562–567. doi: 10.1128/aem.69.1.562-567.2003

- Driehuis F, Oude Elferink SJWH. (2000). The impact of the quality of silage on animal health and food safety: A review. *Vet. Quart.* 22(4): 212-217. doi: 10.1080/01652176.2000.9695061
- 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. *J. Appl. Microbiol.* 87(4): 583–594. doi: 10.1046/j.1365-2672.1999.00856.x.
- Driehuis F, Oude Elferink SJWH, Van Wikselaar PG. (2001) Fermentation characteristics and aerobic stability of grass silage inoculated with *Lactobacillus buchneri*, with or without homofermentative lactic acid bacteria. *Grass Forage Sci.* 56(4): 330–343. doi: 10.1046/j.1365-2494.2001.00282.x
- Drouin P, Tremblay J, Chaucheyras-Durand F. (2019) Dynamic succession of microbiota during ensiling of whole plant corn following inoculation with *Lactobacillus buchneri* and *Lactobacillus hilgardii* alone or in combination. *Microorganisms.* 7(12): 595-616. doi: 10.3390/microorganisms7120595
- Eikmeyer FG, Heintz S, Marx H, Pühler A, Grabherr R, Schlüter A. (2015) Identification of oxygen-responsive transcripts in the silage inoculant *Lactobacillus buchneri* CD034 by RNA sequencing. *Plos One.* 10(7): e0134149. doi:10.1371/journal.pone.0134149
- Filya İ. (2003) The effect of *Lactobacillus buchneri*, with or without homofermentative lactic acid bacteria, on the fermentation, aerobic stability and ruminal degradability of wheat, sorghum and maize silages. *J. Appl. Microbiol.* 95(5): 1080–1086. doi: 10.1046/j.1365-2672.2003.02081.x
- Filya İ, Sucu E, Karabulut A. (2006) The effect of *Lactobacillus buchneri* on the fermentation, aerobic stability and ruminal degradability of maize silage. *J. Appl. Microbiol.* 101(6): 1216–1223. doi: 10.1111/j.1365-2672.2006.03038.x
- Holzer M, Mayrhuber E, Danner H, Braun R. (2003) The role of *Lactobacillus buchneri* in forage preservation. *Trends Biotechnol.* 21(6): 282-287. doi: 10.1016/S0167-7799(03)00106-9
- Hu W, Schmidt RJ, McDonnell EE, Klingerman CM, Kung Jr. L. (2009) The effect of *Lactobacillus buchneri* 40788 or *Lactobacillus plantarum* MTD-1 on the fermentation and aerobic stability of corn silages ensiled at two dry matter contents. *J. Dairy Sci.* 92(8): 3907–3914. doi: 10.3168/jds.2008-1788
- Jones LR. (2019) *L. buchneri*: The rest of the story. American Farm Products, Inc. Erişim adresi: [http://afpltd.net/wp-content/uploads/2018/02/L.BUCHNERI\\_rest-of-the-story-V4.pdf](http://afpltd.net/wp-content/uploads/2018/02/L.BUCHNERI_rest-of-the-story-V4.pdf) Erişim tarihi: 10.9.2020
- Kang TW, Adesogan AT, Kim SC, Lee SS. (2009) Effects of an esterase-producing inoculant on fermentation, aerobic stability, and neutral detergent fiber digestibility of corn silage. *J. Dairy Sci.* 92(2): 732–738. doi:10.3168/jds.2007-0780
- Kleinschmit DH, 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 *J. Dairy Sci.* 89(10): 4005–4013. doi:10.3168/jds.S0022-0302(06)72444-4
- Kleinschmit DH, Schmidt RJ, Kung Jr. L. (2005) The effects of various antifungal additives on the fermentation and aerobic stability of corn silage. *J. Dairy Sci.* 88(6): 2130–2139. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(05)72889-7
- Kristensen NB, Sloth KH, Højberg O, Spliid NH, Jensen C, Thøgersen R. (2010). Effects of microbial inoculants on corn silage fermentation, microbial contents, aerobic stability, and milk production under field conditions. *J. Dairy Sci.* 93(8): 3764–3774. doi: 10.3168/jds.2010-3136
- Mari LJ, Schmidt RJ, Nussio LG, Hallada CM, Kung Jr. L. (2009) Short communication: 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(3):1174–1176. doi: 10.3168/jds.2008-1700
- Moon NJ. (1983) Inhibition of the growth of acid tolerant yeasts by acetate, lactate and propionate and their synergistic mixtures. *J. Appl. Microbiol.* 55(3): 453–460. doi: 10.1111/j.1365-2672.1983.tb01685.x
- Muck RE. (1996) A lactic acid bacteria strain to improve aerobic stability of silages. Pages 42–43 in 1996 U.S. Dairy Forage Research Center 1996 Research Summaries. U.S. Dairy Forage Res. Ctr., Madison, WI.
- Muck RE. (2004) Effects of corn silage inoculants on aerobic stability. *Trans. ASAE* 47(4): 1011–1016. doi: 10.13031/2013.9144
- Muck RE, Nadeau EMG, McAllister TA, Contreras-Govea FE, Santos MC, Kung Jr L. (2018) Silage review: Recent advances and future uses of silage additives *J. Dairy Sci.* 101(5): 3980–4000. doi: 10.3168/jds.2017-13839
- 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*. *J. Appl. Microbiol.* 94(5): 800–807. doi: 10.1046/j.1365-2672.2003.01810.x.
- Nishino N, Wada H, Yoshida M, Shiota H. (2004) Microbial counts, fermentation products, and aerobic stability of whole crop corn and a total mixed ration ensiled with and without inoculation of *Lactobacillus casei* or *Lactobacillus buchneri*. *J. Dairy Sci.* 87(8): 2563–2570. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(04)73381-0.
- Nsereko VL, Smiley BK, Rutherford WM, Spielbauer A, Forrester KJ, Hettinger GH, Harman EK, Harman BR. (2008) Influence of inoculating forage with lactic acid bacterial strains that produce ferulate esterase on ensilage and ruminal degradation of fiber. *Anim. Feed Sci. Technol.* 145(1-4): 122–135. doi: 10.1016/j.anifeeds.2007.06.039
- Oude-Elferink SJWH, Krooneman J, Gottschal JC, Spoelstra SF, Faber F, Driehuis F. (2001) Anaerobic conversion of lactic acid to acetic acid and 1,2-propanediol by *Lactobacillus buchneri*. *Appl. Environ. Microbiol.* 67(1): 125–132. doi: 10.1128/AEM.67.1.125–132.2001
- Queiroz OCM, Arriola KG, Daniel JLP, Adesogan AT. (2013) Effects of 8 chemical and bacterial additives on the quality of corn silage. *J. Dairy Sci.* 96(9): 5836–5843. Doi: 10.3168/jds.2013-6691
- Queiroz OCM, Ogunade IM, Weinberg Z, Adesogan AT. (2018) Silage review: Foodborne pathogens in silage and their mitigation by silage additives. *J. Dairy Sci.* 101(5): 4132–4142. doi: 10.3168/jds.2017-13901
- Rabelo CHS, Basso FC, Lara EC, Jorge LGO, Härter CJ, Mari LJ, Reis RA. (2017) Effects of *Lactobacillus buchneri* as a silage inoculant or probiotic on in vitro organic matter digestibility, gas production and volatile fatty acids of low dry-matter whole-crop maize silage. *Grass Forage Sci.* 72(3): 534-544. doi: 10.1111/gfs.12273
- Raffrenato E, Fievisohn R, Cotanch KW, Grant RJ, Chase LE, Van Amburgh ME. (2017) Effect of lignin linkages with other plant cell wall components on in vitro and in vivo neutral detergent fiber digestibility and rate of digestion of grass forages. *J. Dairy Sci.* 100(10): 8119–8131. doi: 10.3168/jds.2016-12364
- Ranjit NK, Kung Jr L. (2000) The effect of *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus plantarum*, or a chemical preservative on the fermentation and aerobic stability of corn silage. *J. Dairy Sci.* 83(3): 526–535. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(00)74912-5
- Reich LJ, Kung Jr. L (2010) Effects of combining *Lactobacillus buchneri* 40788 with various lactic acid bacteria on the fermenta-

- tation and aerobic stability of corn silage. *Anim. Feed Sci. Technol.* 159(3): 105–109. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2010.06.002
- Schmidt RJ, Kung Jr. L. (2010) The effects of *Lactobacillus buchneri* with or without a homolactic bacterium on the fermentation and aerobic stability of corn silages made at different locations. *J. Dairy Sci.* 93(4): 1616–1624. doi: 10.3168/jds.2009-2555
- Silva LD, Pereira OG, Silva TC, Leandro ES, Paula RA, Santos SA, Ribeiro KG, Valadares Filho SC. (2018) Effects of *Lactobacillus buchneri* isolated from tropical maize silage on fermentation and aerobic stability of maize and sugarcane silages. 73(3): 660–670. doi: 10.1111/gfs.12360
- Tanizawa Y, Kobayashi H, Nomura M, Sakamoto M, Arita M, Nakamura Y, Ohkuma M, Tohno M. (2020) *Lactobacillus buchneri* subsp. *silagei* subsp. nov., isolated from rice grain silage. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 70(5): 3111–3116. doi: 10.1099/ijsem.0.004138
- Tabacco E, Piano S, Cavallarin L, Bernardes TF, Borreani G. (2009) Clostridia spore formation during aerobic deterioration of maize and sorghum silages as influenced by *Lactobacillus buchneri* and *Lactobacillus plantarum* inoculants. *J. Appl. Microbiol.* 107(5): 1632–1641. doi: 10.1111/j.1365-2672.2009.04344.x
- Tabacco E, Piano S, Revello-Chion A, Borreani G. (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(11): 5589–5598. doi: 10.3168/jds.2011-4286
- Yıldırım Z, Avşar YK, Yıldırım M. (2002) Factors affecting the adsorption of buchnericin LB, a bacteriocin produced by *Lactobacillus buchneri*. *Microbiol. Res.* 157(2): 103–107. doi: 10.1078/0944-5013-00134
- Yıldırım Z, Yıldırım M. (2001) Characterization of buchnericin LB produced by *Lactobacillus buchneri* LB. *Turk. J. Biol.* 25(1): 73–82.
- Web (2019) *Lactobacillus buchneri* DSM 29026. European Commission EURL Evaluation Report. Erişim adresi: [https://ec.europa.eu/jrc/sites/jrcsh/files/finrep\\_fad-2018-0093\\_lactobacillus-buchneri-dsm29026.pdf](https://ec.europa.eu/jrc/sites/jrcsh/files/finrep_fad-2018-0093_lactobacillus-buchneri-dsm29026.pdf) Erişim tarihi: 10.9.2020
- Web (2020) Buchneri inoculants to improve corn silage bunk life. Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs, Ontario. Erişim adresi: [http://www.omafra.gov.on.ca/english/crops/facts/info\\_buchneri.htm](http://www.omafra.gov.on.ca/english/crops/facts/info_buchneri.htm) Erişim tarihi: 10.9.2020
- Woolford MK. (1990) The detrimental effects of air on silage. *J. Appl. Bacteriol.* 68: 101–116. doi: 10.1111/j.1365-2672.1990.tb02554.x
- Vos PD, Garrity GM, Jones D, Krieg NR, Ludwig W, Rainey FA, Schleifer KH, Whitman WB. eds. (2009) *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 3, 2<sup>nd</sup> ed. Springer, New York. doi: 10.1007/b92997
- Zielińska K, Fabiszewska A, Świątek M, Szymanowska-Powalowska D. (2017) Evaluation of the ability to metabolize 1,2-propanediol by heterofermentative bacteria of the genus *Lactobacillus*. *Electron. J. Biotechnol.* 26: 60–63. doi: 10.1016/j.ejbt.2017.01.002
- Zhou Y, Drouin P, Lafrenière C. (2016) Effect of temperature (5–25°C) on epiphytic lactic acid bacteria populations and fermentation of whole-plant corn silage. *J. Appl. Microbiol.* 121(3): 657–671. doi: 10.1111/jam.13198