



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



**YÜKSEK KALİTELİ PROTEİN KAYNAĞI YENİLEBİLİR
LARVALARIN İN VİTRO RUMEN VE İN VİTRO RUMİNANT
DIŞKI ORTAMLARINDA KULLANIMININ FERMENTATİF VE
SİNDİRİLEBİLİRLİK ETKİSİ**

İsra ALHAMAD

**HAYVAN BESLEME VE BESLENME HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Gültekin YILDIZ**

**ANKARA
2025**

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK KALİTELİ PROTEİN KAYNAĞI YENİLEBİLİR
LARVALARIN İN VİTRO RUMEN VE İN VİTRO RUMİNANT
DIŞKI ORTAMLARINDA KULLANIMININ FERMENTATİF
VE SİNDİRİLEBİLİRLİK ETKİSİ**

İsra ALHAMAD

**HAYVAN BESLEME VE BESLENME HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Gültekin YILDIZ**

**ANKARA
2025**

ETİK BEYAN

Ankara Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne

Doktora Tezi olarak hazırlayıp sunduğum “Yüksek Kaliteli Protein Kaynağı Yenilebilir Larvaların *In Vitro* Rumen ve *In Vitro* Ruminant Dışkı Ortamlarında Kullanımının Fermentatif ve Sindirilebilirlik Etkisi” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım Prof. Dr. Gültekin YILDIZ ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: İsra ALHAMAD

Tarih:

İmza:

KABUL VE ONAY

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalında
İSRA ALHAMAD tarafından hazırlanan
“Yüksek Kaliteli Protein Kaynağı Yenilebilir Larvaların İn Vitro Rumen ve İn Vitro
Ruminant Dışkı Ortamlarında Kullanımının Fermentatif ve Sindirilebilirlik Etkisi” adlı tez
çalışması aşağıdaki jüri tarafından DOKTORA TEZİ olarak OY BİRLİĞİ/OY
ÇOKLUĞU ile kabul/ret edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 09.07.2025

İmza

Prof. Dr.
.....Üniversitesi
Jüri Başkanı

İmza

Prof. Dr.
.....Üniversitesi
Danışman

İmza

Prof. Dr.
.....Üniversitesi
Üye

İmza

Prof. Dr.
.....Üniversitesi
Üye

İmza

Prof. Dr.
.....Üniversitesi
Üye

Tez hakkında alınan jüri kararı, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.

İmza

Prof. Dr.
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ÖZET

Yüksek Kaliteli Protein Kaynağı Yenilebilir Larvaların İn Vitro Rumen ve İn Vitro Ruminant Dışkı Ortamlarında Kullanımının Fermentatif ve Sindirilebilirlik Etkisi

Bu çalışmada, yüksek kaliteli ve maliyetli protein kaynaklarına alternatif olarak süt sığırları için rasyona eklenen siyah asker sineği larvalarının (*Hermetia illucens*), *in vitro* anaerobik fermentasyon parametreleri ve sindirim verimliliği üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. Bu amaçla, kanüllü iki inekten dışkı ve rumen sıvısı toplanmıştır. Rasyonda kaba yem ile konsantre yem oranı 50:50 düzeyinde tutulmuş, kurutulmuş siyah asker sineği larvaları %0, %0,01, %0,02 ve %0,1 oranlarında rasyona ilave edilmiştir. Denemeler üç farklı mikrobiyal ortamda yürütülmüştür: rumen sıvısı, taze dışkı ve - 20 °C’de dondurulmuş dışkı. Değerlendirilen biyolojik parametreler; toplam gaz üretimi, metan üretimi, amonyak konsantrasyonu, pH değeri, *Lactobacillus* sayım, *in vitro* organik madde sindirilebilirliği (IVOMD) ve uçucu yağ asitleri (VFA) düzeyleridir. İstatistiksel analizler tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve duncan çoklu karşılaştırma testi ile gerçekleştirilmiştir. Rumen sıvısı ortamında, BSFL katkısının ölçülen tüm parametreler üzerinde belirgin etkileri gözlemlenmiştir. Orta düzeydeki konsantrasyon (%0,02), gaz üretimini anlamlı şekilde artırmış ve bu artış, kırk sekiz saatte maksimum seviyeye ulaşmıştır. Metan üretimi açısından en yüksek değer kontrol grubunda gözlenirken, en düşük değer %0,01’lik konsantrasyonda kaydedilmiştir. Bu durum, yüksek dozun metanojenik aktiviteyi baskıladığını göstermektedir. Amonyak konsantrasyonu ise larva düzeyine paralel olarak artmış, %0,1 düzeyinde en yüksek değere ulaşmıştır; bu da protein parçalanmasının arttığını göstermektedir. pH değeri zamanla değişmiş, kırk sekiz saatte anlamlı farklılıklar kaydedilmiş, en yüksek pH değeri ise %0,1’lik grupta belirlenmiştir. Bu sonuç, asidik ürünlerin üretiminde azalma veya mikrobiyal aktivitenin baskılandığına işaret etmektedir. Sindirim açısından değerlendirildiğinde, IVOMD, IVTD ve IVTDNDF gibi sindirim göstergelerinde doz arttıkça düşüş gözlenmiş; bu da yüksek dozların özellikle lif fraksiyonlarının sindirimi üzerinde olumsuz etkiler yaratabileceğini göstermektedir. Uçucu yağ asitlerinin sonuçları da önemli değişiklikler göstermiş; yüksek dozlarda asetat ve propiyonat düzeylerinde düşüş, izobütirik asit hafif artış gözlemlenmiştir; bu durum, aşırı protein parçalanmasına işaret edebilir. *Lactobacillus* sayıları ise doğrusal bir tepki göstermemiş; %0,01 ve %0,02 dozlarında azalma görülürken, %0,1 düzeyinde tekrar artış kaydedilmiştir. Taze dışkı ortamında fermentasyonun geciktiği görülmüş; ilk üç saatte gaz üretimi kaydedilmemiştir. Ancak altı saatten itibaren gruplar arasında farklılıklar belirginleşmiş, gaz üretimi yirmi dört saate kadar %0,02 ve %0,1 gruplarında en yüksek seviyelere ulaşmıştır. Kırk sekiz saatte ise %0,1 grubunda gaz üretiminde belirgin düşüş olmuş ve kontrol grubu en yüksek değeri göstermiştir; bu durum, yüksek dozun geç etki eden bir baskılayıcı özelliği olduğunu düşündürmektedir. Metan üretimi %0,02 düzeyinde en yüksek, %0,1 düzeyinde en düşük bulunmuş; bu da mikrobiyal yanıtın doğrusal olmayan ve karmaşık bir yapı sergilediğini göstermektedir. Amonyak düzeyi doza bağlı olarak artmış, %0,02 dozundan itibaren istatistiksel olarak anlamlı hale gelmiştir; bu da orta ve yüksek dozlarda protein parçalanmasının teşvik edildiğini göstermektedir. pH değeri ise kırk sekiz saate kadar kademeli olarak artmış ve en yüksek pH %0,1 dozunda gözlenmiştir; bu durum, asit üretiminin azaldığını veya mikrobiyal aktivitenin gerilediğini düşündürmektedir. Sindirim parametreleri açısından en yüksek değerler %0,01 grubunda kaydedilmiş, %0,1 dozunda ise belirgin düşüşler görülmüştür. Uçucu yağ asitler açısından, bütirik ve izovalerik asit yüksek BSFL dozlarda sayısal artışlar kaydedilmiştir; ancak bu artışlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. *Lactobacillus* sayıları açısından, %0,01 dozunda anlamlı bir artış gözlenmiş; bu da düşük dozun probiyotik bakteriler üzerinde teşvik edici bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Daha yüksek dozlarda bu etkinin azaldığı belirlenmiştir. Dondurulmuş dışkı ortamında fermentasyon süreci ciddi şekilde gecikmiş, ilk altı saatte gaz üretimi veya pH değişimi kaydedilmemiştir. Dokuz saatten itibaren gruplar arası farklılıklar yavaşça ortaya çıkmaya başlamış, %0,02 ve %0,1 gruplarında gaz üretimi artmış ve kırk sekiz saatte maksimum seviyeye ulaşmıştır. Ancak gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar gözlenmemiştir; bu da zamanla etkilerin birbirine yaklaştığını düşündürmektedir. Bu ortamda metan üretimi tamamen gözlenmemiştir; bu da donmanın metanojenik mikroorganizmaları tamamen inhibe ettiğini göstermektedir. Amonyak düzeyi, yüksek dozlarda belirgin şekilde artmış ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur; bu da zayıf mikrobiyal çevreye rağmen proteinlerin parçalanmaya devam ettiğini göstermektedir. pH değeri kırk sekiz saatte anlamlı farklılıklar göstermiş,

%0,02 grubunda en düşük pH değeri gözlenmiş; bu da bu grup için en yüksek fermentatif aktiviteye işaret etmektedir. IVTDNDF değeri yüksek dozlarda belirgin şekilde azalmış, buna karşın IVTDOM değeri artış göstermiştir; bu da larvalardaki yağlar ve enzimlerin, güçlü mikrobiyal aktivite olmadan bile organik maddeyi parçalamaya katkı sağladığını göstermektedir. VFAs düzeyleri genel olarak sınırlı değişiklik göstermiştir; ancak bütirik asit ve izovalerik asit artış kaydedilmiştir. Bu ortamda *Lactobacillus* sayıları belirlenememiştir; bu durum, genel mikrobiyal aktivitenin dondurma nedeniyle zayıf olduğunu düşündürmektedir. Sonuç olarak, Siyah Asker Sineği larvaları, *in vitro* koşullarda fermentasyon ve sindirim süreçlerini geliştirme potansiyeline sahip etkili bir katkı maddesi olarak değerlendirilmektedir. Ancak etkinliği, kullanılan mikrobiyal ortam ve ilave edilen BSFL miktarına bağlı olarak önemli ölçüde değişkenlik göstermektedir.

Anahtar Sözcükler: Kara asker sineği larvaları, metan, rumen fermentasyonu, sığır, yüksek kaliteli protein kaynağı



SUMMARY

The Fermentative and Digestibility Effects of Using Edible Larvae as a High-Quality Protein Source in In Vitro Rumen and In Vitro Ruminant Fecal Media

In this study, the effects of supplementing dairy cattle rations with black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*) as an alternative to high-quality and expensive protein sources were evaluated in terms of in vitro anaerobic fermentation parameters and digestibility efficiency. For this purpose, feces and rumen fluid were collected from two cannulated cows. The forage-to-concentrate ratio in the diet was maintained at 50:50, and dried black soldier fly larvae were added to the rations at inclusion levels of 0%, 0,01%, 0,02%, and 0,1%. The experiments were conducted in three different microbial environments: rumen fluid, fresh feces, and feces frozen at - 20 °C. The biological parameters evaluated included: total gas production, methane production, ammonia concentration, pH value, *Lactobacillus* count, in vitro organic matter digestibility (IVOMD), and volatile fatty acid (VFA) concentrations. Statistical analyses were carried out using one-way analysis of variance (ANOVA) and Duncan's multiple range test. In the rumen fluid environment, BSFL supplementation had a clear impact on all measured parameters. The medium dose (0,02%) significantly increased gas production, which peaked at 48 hours of fermentation. Regarding methane production, the highest level was observed in the control group, while the lowest was recorded at the 0,01% inclusion level, indicating a potential suppressive effect of higher doses on methanogenic activity. Ammonia concentration increased proportionally with larval dose and peaked at 0,1%, reflecting an elevated rate of protein degradation. The pH value varied over time and showed significant differences at 48 hours, with the highest pH recorded in the 0,1% group. This suggests a decrease in acid production or suppression of microbial activity. In terms of digestibility, IVOMD, IVTD, and IVTDNDF values decreased with increasing doses, indicating that higher doses may negatively affect fiber digestion efficiency. Volatile fatty acids' results also showed notable changes; acetate and propionate levels decreased at higher doses, while a slight increase in isobutyric acid was observed, possibly reflecting excessive protein breakdown. *Lactobacillus* counts did not show a linear response; while counts decreased at 0,01% and 0,02%, they increased again at the 0,1% level. In the fresh feces environment, fermentation was delayed, with no gas production recorded in the first three hours. However, from six hours onward, group differences became apparent, and gas production peaked at 24 hours in the 0,02% and 0,1% groups. By 48 hours, a significant decline in gas production was observed in the 0,1% group, while the control group recorded the highest value, suggesting a delayed inhibitory effect of the high dose. Methane production was highest at 0,02% and lowest at 0,1%, indicating a nonlinear and complex microbial response. Ammonia levels increased with the dose and became statistically significant from 0,02% onwards, indicating that protein degradation was stimulated at medium and high doses. The pH value gradually increased until 48 hours, reaching the highest level at 0,1%, suggesting reduced acid production or microbial activity. Digestibility parameters were highest in the 0,01% group, while significant reductions were observed at the 0,1% dose. In terms of VFAs, numerical increases in butyric and isovaleric acids were recorded at high BSFL levels, though these were not statistically significant. *Lactobacillus* counts showed a significant increase at 0,01%, indicating a stimulatory effect at low doses, while this effect diminished at higher inclusion levels. In the frozen feces environment, fermentation was markedly delayed, with no gas production or pH changes recorded during the first six hours. From the ninth hour onward, differences among the groups began to emerge gradually, with gas production increasing in the 0,02% and 0,1% groups and peaking at 48 hours. However, no statistically significant differences were observed between groups at this point, suggesting a convergence of effects over time. Methane production was entirely absent in this environment, indicating complete inhibition of methanogenic microorganisms due to freezing. Ammonia levels increased significantly at higher doses and reached statistical significance, suggesting that protein degradation continued despite the suppressed microbial environment. At 48 hours, the pH value showed significant differences, with the lowest pH recorded in the 0,02% group, indicating the highest fermentative activity. IVTDNDF decreased markedly at high doses, whereas IVTDOM increased, suggesting that the fats and enzymes in the larvae contributed to organic matter degradation even in the absence of strong microbial activity. VFA concentrations showed generally limited statistical variation; however, increases were recorded in butyric and isovaleric acids.

No *Lactobacillus* counts were detected in this environment, likely due to the overall suppression of microbial activity caused by freezing. In conclusion, black soldier fly larvae can be considered an effective additive for improving fermentation and digestion processes under in vitro conditions. However, their effectiveness varies significantly depending on the microbial environment used and the amount of BSFL included.

Keywords: Black soldier fly larvae, cattle, high-quality protein source, methane gas, rumen fermentation



İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	ii
Kabul ve Onay	iii
Özet	iv
Summary	vi
İçindekiler	viii
Önsöz	xii
Simgeler ve Kısaltmalar	xiv
Şekiller	xvi
Çizelgeler	xvii
1. GİRİŞ	1
1.1. İnsan Beslenmesinde Protein	1
1.2. Hayvan Beslenmesinde Protein	2
1.3. Sürdürülebilir Protein Kaynaklarına Olan Talep	2
1.4. Geleneksel Protein Üretiminin Zorlukları	3
1.4.1. Geleneksel Protein Kaynaklarına Alternatifler	4
1.4.2. Daha Sürdürülebilir Bir Gıda Sistemine Doğru	4
1.5. Ticari Üretim Potansiyeli Araştırılan Yenilebilir Larva Türlerinin İncelenmesi	5
1.5.1. Kara Asker Sineği (<i>Hermetia illucens</i>)	5
1.5.2. Un Kurdu (<i>Tenebrio molitor</i>)	6
1.5.3. İpekböceği (<i>Bombyx mori</i>)	6
1.5.4. Ev Sineği Larvaları (<i>Musca domestica</i>)	7
1.5.5. Dev Un Kurtları (<i>Zophobas morio</i>)	7
1.5.6. Cırcır Böcekleri (<i>Acheta domesticus</i> , <i>Gryllos sigillatus</i>)	7
1.6. Alternatif Bir Protein Kaynağı Olarak Yenilebilir Larvalar	7
1.7. Kara Asker Sineği Larvaları (BSFL) (<i>Hermetia illucens</i> L.; <i>Diptera: Stratiomyidae</i>)	8
1.7.1. Kara Asker Sineği Larvaları: Temel Bilgiler	11
1.7.1. Kara Asker Sineği Larvalarının Besin Bileşimi	11
1.7.1.1. Yüksek Kaliteli Protein	12
1.7.1.2. Faydalı Yağ Asitleri	13
1.7.1.3. Vitaminler ve Mineraller	15
1.7.1.4. Kitin	16
1.7.2. Kara Asker Sineği Larvalarının Protein Sindirilebilirliği	16
1.7.2.1. Protein Yapısı	17
1.7.2.2. İşleme Yöntemleri	17
1.7.2.3. Kurutma ve Öğütme	17
1.7.2.4. Ekstrüzyon	17
1.7.2.5. Düşük Anti-Besin Faktörleri	17
1.8. Protein Ekstraksiyonu İçin Yenilebilir Larvaların Güncel Yetiştirme ve İşleme Teknikleri	18
1.8.1. Yetiştirme Yöntemleri	18
1.8.1.1. Kontrollü Ortamda Yetiştirme	18
1.8.1.2. Substrat Optimizasyonu	18
1.8.1.3. Otomatik Besleme Sistemleri	18
1.8.2. İşleme Teknikleri	19
1.8.2.1. Kurutma ve Öğütme	19
1.8.2.2. Ekstrüzyon	19
1.8.2.3. Çözücü ile Ekstraksiyon	19
1.8.2.4. Enzimatik Hidroliz	19

1.8.3. Fermentasyon	20
1.9. Geviş Getirenlerde Protein Kullanımı: Önemi ve Zorluklar	20
1.9.1. Geviş Getirenlerde Proteinin Önemi	20
1.9.2. Protein Gereksinimlerinin Karşılansındaki Zorluklar	21
1.9.2.1. Yem Bitkilerinin Düşük Protein İçeriği	21
1.9.2.2. Rumen Protein Yıkımı	21
1.9.2.3. Mikrobiyal Protein Sentezi	21
1.9.2.4. Yönetim ve İşleme Stratejileri	22
1.9.2.5. Protein Takviyelerinin Maliyeti ve Erişilebilirliği	22
1.9.2.6. Aşırı Protein Beslemesinin Çevresel Etkileri	22
1.9.2.7. Azot Atılımı ve Çevresel Kirlilik	23
1.9.2.8. Su Kirliliği	23
1.9.2.9. Hava Kirliliği	23
1.9.2.10. Sera Gazı Emisyonları	23
1.9.2.11. oprak Asitlenmesi	23
1.9.2.12. İnsan Sağlığı Üzerindeki Riskler	23
1.9.2.13. Biyoçeşitlilik Kaybı	24
1.9.3. Amonyak Emisyonları ve Çevresel Etkileri	24
1.9.3.1. Hava Kirliliği ve İnce Partikül Oluşumu	24
1.9.3.2. Çevresel Asitleşme	24
1.9.3.3. Ötrofikasyon (Besin Aşırı Yükleme)	24
1.9.3.4. Azot Çökeltisi ve Ekosistem Değişimleri	25
1.9.3.5. Dolaylı İklimsel Etkiler	25
1.9.3.6. Sera Gazı Emisyonları	25
1.9.3.7. Arazi Kullanımı ve Ormansızlaşma	25
1.9.4. Çevresel Etkinin Azaltılmasına Yönelik Stratejiler	26
1.9.4.1. Hassas Besleme	26
1.9.4.2. Alternatif Protein Kaynakları	26
1.9.4.3. Dışkı Yönetimi	26
1.9.4.4. Agroekolojik Yaklaşımlar	27
1.10. İnekl, koyun ve keçi gibi geviş getiren hayvanların beslenmesinde kullanılan mevcut protein kaynakları ve bu kaynakların sınırlılıkları	27
1.10.1. Mevcut Protein Kaynaklarının Sınırlılıkları	29
1.10.1.1. Maliyet ve Erişilebilirlik	29
1.10.1.2. Antibesinsel Faktörler	29
1.10.1.3. Çevresel Etkiler	29
1.10.1.4. Besin Dengesizlikleri	30
1.10.1.5. Sürdürülebilirlik Kaygıları	30
1.10.1.6. Alternatif Protein Kaynakları	30
1.10.1.7. Protein Değerlendirme ve Formülasyon	30
1.11. Yenilebilir Böcek Larvalarının Geviş Getiren Hayvanlar İçin Protein Kaynağı Olarak Kullanılma Potansiyeli	31
1.11.1. Geleneksel Kaynaklarla Besin Değeri Karşılaştırması	31
1.11.2. Dışkı Mikrobiyotası Temelli Probiyotikler	32
1.12. Geviş Getiren Hayvanlarda Dışkı Kaynaklı Probiyotiklerin Varlığını ve Kompozisyonunu Etkileyen Faktörler	34
1.12.1. Yaş Faktörü	35
1.12.2. Yem Türü ve Kompozisyonu	35
1.12.3. Hayvanın Sağlık Durumu	35
1.12.4. İlaç Tedavileri ve Antibiyotik Kullanımı	36
1.12.5. Çevresel ve Yönetimsel Faktörler	36
1.12.6. Genetik Yapı ve Tür Spesifikliği	36

1.13. Hayvan Beslenmesinde Larva Takviyesinin Dışkı Kaynaklı Probiyotikler Üzerindeki Etkisi	37
1.13.1. Mikrobiyal Çeşitlilik ve Kompozisyonundaki Değişiklikler	37
1.13.3. Hayvan Performansı ve Sağlığı Üzerine Etkiler	38
2. GEREÇ VE YÖNTEM	39
2.1. Numune Materyali	39
2.1.1. Yenilebilir Larvalar ve Diyet Uygulamaları	39
2.2. Kuru Madde Tayini	40
2.2.1. Hazırlık ve Kurutma Prosedürleri	40
2.3. Ham Protein Miktarının Belirlenmesi	41
2.4. Ham Yağ İçeriğinin Tayini	42
2.5. Ham Kül İçeriğinin tayini	43
2.6. Ham Selüloz tayini	44
2.7. Hayvansal Materyal	45
2.8. Yem Materyalleri	45
2.9. Laboratuvar Ortamında Gaz Üretim Tekniği (İn Vitro)	46
2.9.1. Üç Deneysel Ortamda pH Değerinin Belirlenmesi	48
2.9.2. Üç Farklı Deneme Ortamında Amonyak Azotu (NH ₃ -N) Konsantrasyonunun Belirlenmesi	48
2.9.2.1. Örnek Toplama ve İlk Hazırlık	49
2.9.2.2. Örneklerin Saklanması ve Analiz Öncesi Çözülmesi	49
2.9.2.3. NH ₃ -N Konsantrasyonunun Kimyasal Analizi	49
2.9.2.4. Laboratuvar Koşullarında Gerçekleştirilen Fermentasyon Sürecinde Açığa Çıkan Metan Gazı Konsantrasyonunun Belirlenmesi	50
2.9.3. Üç Farklı Fermentasyon Ortamında Uçucu Yağ Asitleri (VFA) Analizi	51
2.5.3.1. Örnek Toplama ve Analize Hazırlık	52
2.9.3.2. Gaz Kromatografisi (GC) Analizi	52
2.9.3.3. Analitik Prosedür	53
2.9.3.4. Veri Analizi ve Yorumlama	53
2.9.4. İn Vitro Rumen Sindirilebilirliğinin Belirlenmesi	53
2.9.5. Drop Plate Tekniği Kullanılarak Rumen Sıvısında ve Taze dışkıda Lactobacillus Sayım	56
2.9.5.1. İn Vitro Damla Plaka Tekniği: Lactobacillus Bakterilerinin Sayımında Uygulanan Yöntem.	56
2.9.5.2. Örnek Hazırlığı ve Seyreltme İşlemleri	56
2.9.5.3. Besiyeri Hazırlığı (MRS Agar)	57
2.9.5.4. Damlatma Aşaması	57
2.9.5.5. İnkübasyon (Kuluçka Süreci)	57
2.9.5.6. Koloni Sayımı ve Hesaplama	58
2.9.6. İstatistiksel Analiz	58
3. BULGULAR	59
3.1. Yem Değeri Analizleri	59
3.2. Yem Bileşimi ve Besin Değerleri	59
3.3. İn Vitro İnkübasyon Sonucu Oluşan Gaz Üretim Değerleri	60
3.3.1. Rumen Sıvısı Ortamında	60
3.3.2. Taze Dışkı Ortamında	62
3.4. İn-Vitro İnkübasyon Sonucu pH değerleri	68
3.4.1. Rumen Sıvısı Ortamında	68
3.4.2. Taze Dışkı Ortamında	70
3.4.3. Dondurulmuş Dışkı Ortamında	71
3.5. İn-Vitro Fermantasyonun Amonyak Üretimine Etkisi	73
3.5.1. Rumen Sıvısı Ortamında	73

3.5.2. Taze Dışkı Ortamında	75
3.5.3. Dondurulmuş Dışkı Ortamında	77
3.6. İn-Vitro İnkübasyon Sonucu Metan Üretim Değerleri	81
3.6.1. Rumen Sıvısı Ortamında	81
3.6.2. Taze Dışkı Ortamında	82
3.6.3. Dondurulmuş Dışkı Ortamında	84
3.7. İn-Vitro İnkübasyon Sonunda Ölçülen Uçucu Yağ Asitleri	86
3.7.1. Rumende Sıvı Ortamda	86
3.7.2. Taze Dışkı Ortamında	88
3.7.3. Dondurulmuş Dışkı Ortamında	91
3.8. İn-Vitro Rumen Sindirilebilirliğinin Belirlenmesi	95
3.8.1. Rumen Sıvısı Ortamında	95
3.8.2. Taze Dışkı Ortamında	97
3.8.3. Dondurulmuş Dışkı Ortamında	99
3.9. Drop Plate Tekniği Kullanılarak Lactobacillus Sayım	103
3.9.1. Rumen Sıvısında	103
3.9.2. Taze Dışkıda	104
4. TARTIŞMA	107
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	112
KAYNAKLAR	114
ÖZGEÇMİŞ	126

ÖNSÖZ

Ruminant beslenmesinde sürdürülebilir protein alternatifleri arayışı, artık yalnızca ekonomik bir tercih olmaktan çıkmış; artan küresel zorluklar ışığında çevresel ve etik bir zorunluluk haline gelmiştir. Geleneksel yem endüstrisi, büyük ölçüde yüksek maliyetli protein kaynaklarına soya küspesi ve balık unu gibi dayanmaktadır. Ancak bu kaynaklar, ormansızlaşma, aşırı su tüketimi ve üretim ile taşımacılıkla ilişkili sera gazı emisyonlarının artışı gibi ciddi çevresel sorunlarla yakından ilişkilidir. Ayrıca, insan gıdası ile hayvan yemi için kullanılan tarımsal ürünler arasındaki rekabet, küresel gıda sisteminin verimliliği ve uzun vadeli sürdürülebilirliği konusunda önemli sorular doğurmaktadır.

Bu bağlamda, özellikle kara asker sineği (*Black Soldier Fly*) larvaları gibi böcek larvaları, çok yönlü avantajlarıyla umut verici alternatifler olarak öne çıkmaktadır. Bu larvalar, protein ve yağ açısından zengindir ve organik atıklar ya da tarımsal artıklar kullanılarak büyük ölçekte üretilebilir; böylece kaynak geri dönüşümüne katkı sağlar ve gıda kayıplarını azaltır. Bu larvaların geniş getiren hayvanların rasyonlarına dahil edilmesi, özellikle de bu çalışmada olduğu gibi bilimsel araştırmalar, sindirim verimliliğini artırma ve metan emisyonlarını azaltma potansiyelini doğruluyorsa, sınırlı doğal kaynaklara olan bağımlılığı azaltmak ve hayvansal üretimin karbon ayak izini düşürmek açısından yeni olanaklar sunabilir.

Bu tür alternatiflerin benimsenmesi, yalnızca hayvansal üretimin performans ve maliyet hedeflerine hizmet etmekle kalmaz; aynı zamanda yakın gelecekte daha çevre dostu ve sürdürülebilir tarımsal sistemlere yönelik somut bir adım anlamına gelir.

Bu tez de, bu umut verici araştırma alanına, mütevazı da olsa, bir katkı sunma amacıyla hazırlanmıştır. Azim ve zorluklarla dolu uzun bir akademik yolculuğun ürünü olan bu çalışma, saygın bir akademik ortamda yürütülmüş ve karşılaşılan her türlü engelde öğrenme ve başarıya olan inanç, bana yol göstermeye devam etmiştir.

Bu noktada, çalışmamın tamamlanmasında büyük pay sahibi olan, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı'ndaki kıymetli danışmanım Prof. Dr. Gültekin YILDIZ, Arş. Gör. Atakan BUNDUR, Vet. Hek. Elif V. ŞİMŞEK, Uğur ÇARLI ve hocalarıma, verdikleri sınırsız destek, rehberlik ve bilimsel katkıları için en içten teşekkür ve şükranlarımı sunuyorum. Aynı bölümdeki meslektaşlarıma ve Gıda Hijyeni ve Teknolojisi

Anabilim Dalı'ndaki öğretim üyesi Prof. Dr. U. Tansel ŞİRELİ ve arkadaşlarıma da süreç boyunca gösterdikleri değerli iş birliği ve destek için ayrıca teşekkür ederim.

Uzakta olmama rağmen duaları ve manevi destekleriyle her zaman yanımda olan, en büyük güç kaynağım olan sevgili aileme derin bir minnettarlık duyuyorum. Akademik yolculuğumun her aşamasında yanımda yürüyen dostlarıma da gönülden teşekkür ederim.

Ve son olarak, bu başarıyı kendime adıyorum. Gurbette yalnızlığa rağmen yılmayan, zorluklara ve baskılara direnen, her düşüşten sonra daha güçlü kalkarak bilim yolculuğuna devam eden o kadına. Bu başarı onun bitmek bilmeyen emeğinin bir meyvesidir ve yol ne kadar uzun olursa olsun, insanın hedefine olan inancının daima yolu aydınlatacağına dair bir kanıttır.

SİMGELER ve KISALTMALAR

ADF	Asit Deterjan Lifi
BSE	Süngerimsi Beyin Hastalığı
BSF	Siyah Asker Sineği
BSFL	Kara Asker Sineği Larvaları
BSFO	Kara Asker Sineği Larvası Yağı
CaCl ₂ . 2H ₂ O	Kalsiyum Klorid Dihidrat
Cfu	Koloni Oluşturan Birim
CH ₄	Metan
CO ₂	Karbondioksit
CoCl ₂ . 6H ₂ O	Kobalt Klorür Heksahidrat
CSBM	Geleneksel Soya Unu
DDGS	Kurutulmuş Damıtık Tahıl Posası
Df	Yağsız
FAO	Gıda ve Tarım Örgütü
FCR	Yemden Yararlanma Oranını
FeCl ₂ . 6H ₂ O	Demir II Klorür Hekzahidrat
Ff	Tam Yağlı
FID	Alev İyonizasyon Dedektörü
Fm	Balık Unu
Fmt	Dışkı Mikrobiyota Transplantasyonu
GC	Gaz Kromatografi
H ₂ SO ₄	Sülfürik Asit
H ₃ BO ₃	Borik Asit
IVTD	<i>İn Vitro</i> Gerçek Sindirilebilirlik
IVTDKM	<i>İn Vitro</i> Gerçek Kuru Sindirilebilirliği
IVTDNDF	<i>İn Vitro</i> Gerçek Nötral Deterjan Lif Sindirilebilirliği
IVTDOM	<i>İn Vitro</i> Gerçek Organik Madde Sindirilebilirliği
KH ₂ PO ₄	Potasyum Dihidrojen Fosfat
KM	Kuru Madde
Kob/ g	Koloni Oluşturan Birim/ Gram

MgSO ₄	Magnezyum Sülfat
MnCl ₂ .4H ₂ O	Manganez Klorid Tetrahidrat
MUFA	Tekli Doymamış Yağ Asitleri
Na ₂ HPO ₄	Sodyum Dihidrojen Fosfat
NaCl	Sodyum Klorürün
NaHCO ₃	Sodyum Bikarbonat
NaOH	Sodyum Hidroksit
NDF	Nötral Deterjan Lif
NFC	Lifli Olmayan Karbonhidratlar
(NH ₄) HCO ₃	Amonyum Bikarbonat
NH ₃	Amonyak
NRC	National Research Council (Ulusal Araştırma Konseyi)
OM	Organik Madde
PUFA	Çoklu Doymamış Yağ Asitleri
RDP	Rumende Parçalanabilir Protein
RUP	Rumende Parçalanmayan Protein
SCFA	Kısa Zincirli Yağ Asitleri
SFA	Doymuş Yağ Asitleri
TVFA	Toplam Uçucu Yağ Asitleri
UYA	Uçucu Yağ Asitleri
VFA	Uçucu Yağ Asitleri
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
WPC	Peynir Altı Suyu Protein Konsantresi

ŞEKİLLER

Şekil 2.1. Kurutulmuş kara asker sineği (<i>Hermetia illucens</i>) larvaları	39
Şekil 2.2. Daisy II inkübatörü (Ankom Teknoloji Şirketi, Fairport, New York, NY, ABD)	54
Şekil 3.1. Rumen Sıvısı ortamında gaz üretimi (BSFL ile)	61
Şekil 3.2. Taze dışkı ortamında gaz üretimi (BSFL ile)	64
Şekil 3.3. Dondurulmuş dışkı ortamında gaz üretimi (BSFL ile)	66
Şekil 3.4. Sıvı rumen ortamında pH değişimi (3, 6, 48. saat)	69
Şekil 3.5. Taze dışkı ortamında pH değişimi (3, 6, 48. saat)	71
Şekil 3.6. Donmuş dışkı ortamında pH değişimi (3, 6, 48. saat)	72
Şekil 3.7. Rumen sıvısında amonyak üretimi.	75
Şekil 3.8. Taze dışkıda amonyak üretimi	77
Şekil 3.9. Donmuş dışkıda amonyak üretimi	79
Şekil 3.10. Rumen sıvısında metan üretimi	82
Şekil 3.11. Taze dışkıda metan üretimi	83
Şekil 3.12. İnkübasyonun 48. saati sonunda rumen sıvısı ortamda UYA üretim değerlerindeki değişim (%)	87
Şekil 3.13. İnkübasyonun 48. saati sonunda taze dışkı UYA üretim değerlerindeki değişim (%)	90
Şekil 3.14. İnkübasyonun 48. saati sonunda donmuş dışkıda UYA üretim değerlerindeki değişim (%)	92
Şekil 3.15. Rumen sıvısı ortamında farklı yüzdelerde larva içeriği ile IVTD parametreleri	97
Şekil 3.16. Taze dışkı ortamında farklı yüzdelerde larva içeriği ile IVTD parametreleri	99
Şekil 3.17. Dondurulmuş dışkı ortamında farklı yüzdelerde larva içeriği ile IVTD parametreleri	101

ÇİZELGELER

Çizelge 1.1. Kara asker sineği larvalarının amino asit bileşimi (g/Kg kuru maddede)	13
Çizelge 1.2. Kara asker sineği larvalarının yağlı asit bileşimi (g/Kg kuru madde)	14
Çizelge 1.3. Kara asker sineği larvalarının mineral bileşimi (g/Kg kuru madde)	15
Çizelge 2.1. İn-vitro gaz üretiminde kullanılan kimyasal solüsyonların içeriği	47
Çizelge 2.2. Amonyak analizde kullanılan solüsyonlar	49
Çizelge 3.1. Larva weende analiz değerleri (KM'de, %)	59
Çizelge 3.2. Kullanılan konsantre ve kaba yemin bileşimi	59
Çizelge 3.3. Farklı siyah asker sineği larvası (<i>Hermetia illucens</i>) konsantrasyonlarının rumen sıvısında farklı zamanlarda ölçülen in-vitro gaz üretimi (ml) üzerine etkisi (ortalama ± standart hata)	61
Çizelge 3.4. Farklı siyah asker sineği larvası (<i>Hermetia illucens</i>) konsantrasyonlarının taze dışkı ortamında farklı zamanlarda ölçülen in-vitro gaz üretimi (ml) üzerine etkisi (ortalama ± standart hata)	63
Çizelge 3.5. Farklı siyah asker sineği larvası (<i>Hermetia illucens</i>) konsantrasyonlarının dondurulmuş dışkı ortamında farklı zamanlarda ölçülen in-vitro gaz üretimi (ml) üzerine etkisi (ortalama ± standart hata)	65
Çizelge 3.6. Rumen sıvısı ortamında inkübasyonun 3, 6 ve 48. saatinde gruplarda pH değişimi	69
Çizelge 3.7. Taze dışkı ortamında inkübasyonun 3, 6 ve 48. saatinde gruplarda pH değişimi	70
Çizelge 3.8. Donmuş dışkı ortamında inkübasyonun 3, 6 ve 48. saatinde gruplarda pH değişimi	72
Çizelge 3.9. İnkubasyonun 48. saatinde gruplarda rumen sıvısında amonyak düzeyi (%)	75
Çizelge 3.10. İnkubasyonun 48. saatinde gruplarda taze dışkıda amonyak üretimi (%)	77
Çizelge 3.11. İnkubasyonun 48. saatinde gruplarda donmuş dışkıda amonyak üretimi (%)	78
Çizelge 3.12. İnkubasyonun 48. saatinde gruplarda rumen sıvısında metan üretimi	82
Çizelge 3.13. İnkubasyonun 48. saatinde gruplarda taze dışkıda metan üretimi	83
Çizelge 3.14. İnkubasyonun 48. saatinde gruplarda donmuş dışkıda metan üretimi	84
Çizelge 3.15. Rumen sıvısında gruplarda uçucu yağ asitleri değeri (mmol/L)	86
Çizelge 3.16. Gruplarda taze dışkı uçucu yağ asitleri değeri (mmol/L)	89
Çizelge 3.17. Gruplarda donmuş dışkıda uçucu yağ asitleri değeri (mmol/L)	92
Çizelge 3.18. Yem gruplarında sindirilebilirlik (%) – Rumen sıvısı deneyi	96
Çizelge 3.19. Yem gruplarında sindirilebilirlik değerleri – Taze dışkı ortamı (%)	98
Çizelge 3.20. Yem gruplarında sindirilebilirlik değerleri –Donmuş dışkı ortamı (%)	100
Çizelge 3.21. Drop plate tekniği kullanılarak rumen sıvısında lactobacillus sayım	103
Çizelge 3.22. Drop plate tekniği kullanılarak taze dışkıda lactobacillus sayım	106

1. GİRİŞ

Protein, temel makro besin öğelerinden biridir ve hem insan hem de hayvanların büyümesi ile genel sağlığının korunmasında hayati bir rol oynamaktadır. Önemi, dokuların, enzimlerin, hormonların ve bağışıklık sistemine ait öğelerin yapısında yer alması gibi çok yönlü biyolojik işlevlerinden kaynaklanmaktadır. Proteinler, belirli dizilimlerle birbirine bağlanan amino asitlerden oluşur ve bu dizilimler, kendine özgü yapılar ve işlevlerle sonuçlanır. İnsan ve hayvan beslenmesinde proteinin oynadığı hayati rol, büyüme, metabolizma ve genel sağlık üzerindeki etkisini açıkça ortaya koymaktadır (Smith, 2020).

1.1. İnsan Beslenmesinde Protein

Protein, doku yapımı ve onarımı açısından vazgeçilmezdir; vücut yapılarının gelişimi ve yenilenmesi için temel bir bileşen görevi görür. Kaslar, deri, saç, tırnaklar ve iç organların oluşumu ve korunması için gereklidir. Özellikle çocukluk ve ergenlik gibi büyüme dönemlerinde ve yaralanmalardan sonraki iyileşme süreçlerinde, protein gereksinimi artar; bu dönemlerde yeterli miktarda protein alımı, doku yenilenmesini etkin bir şekilde desteklemek açısından kritiktir. Ayrıca protein, enzim ve hormon sentezinde merkezi bir rol oynar. Enzimler, vücut içindeki çeşitli kimyasal tepkimeleri hızlandıran biyolojik katalizörlerdir; hormonlar ise fizyolojik süreçleri düzenleyerek iç dengeyi sağlar. Birçok enzim ve hormonun protein yapısında olması, proteinin vücut sistemlerinin düzgün çalışmasındaki temel rolünü pekiştirir (Brown ve Johnson, 2018).

Protein aynı zamanda bağışıklık fonksiyonları açısından da hayati öneme sahiptir. Bağışıklık sisteminin temel bileşenlerinden olan antikorlar, protein yapısındadır ve vücudu enfeksiyonlara ve hastalıklara karşı korur. Bu nedenle, yetersiz protein alımı, bağışıklık yanıtının zayıflamasına neden olabilir ve vücudu hastalıklara karşı daha savunmasız hale getirebilir (Doe, 2015).

Karbonhidratlar ve yağlar birincil enerji kaynakları olarak bilinse de, protein de enerji üretiminde kullanılabilir. Özellikle diğer enerji kaynaklarının sınırlı olduğu durumlarda vücut proteinleri enerji kaynağı olarak kullanır. Ancak bu proteinin asıl işlevi değildir; proteine bu amaçla başvurulması, kas yıkımı gibi olumsuz sağlık sonuçlarına yol açabilir ve vücuttaki yapısal ve düzenleyici işlevlerinin aksamasına neden olabilir (WHO, 2007).

1.2. Hayvan Beslenmesinde Protein

İnsanlarda olduğu gibi, protein hayvanların büyümesi ve gelişimi açısından vazgeçilmezdir. Yavru köpekler veya buzağılar gibi genç hayvanların hızlı büyüme dönemlerini desteklemek için yeterli miktarda proteine ihtiyaçları vardır. Üreme açısından da protein gereklidir; yeterli protein alımı, sağlıklı embriyoların gelişimini ve doğurganlık oranlarının artmasını sağlar. Süt veren hayvanlar, örneğin inekler veya emziren köpekler, yavrularına kaliteli süt sağlayabilmek için daha yüksek düzeyde proteine ihtiyaç duyar (Smith, 2020).

Aynı zamanda protein, hayvanlarda kas kütlelerinin korunması için gereklidir. Özellikle et veriminin önemli olduğu hayvancılık sektöründe, kas kütlelerinin korunması yüksek kaliteli et üretimi açısından kritik öneme sahiptir. Protein genellikle hayvan yemlerinin en pahalı bileşenlerinden biridir. Bu nedenle, hayvan yemlerinde doğru protein dengesini sağlamak, üretim verimliliğini artırmak ve maliyetleri azaltmak açısından büyük önem taşır (Doe, 2015).

İnsan ve hayvan beslenmesinde, protein alımında denge sağlanması son derece önemlidir. Protein eksikliği; büyüme geriliği, kas erimesi, bağışıklık zayıflığı gibi çeşitli sağlık sorunlarına neden olabilir. Öte yandan, aşırı protein alımı böbrekleri zorlayabilir, obeziteye katkıda bulunabilir ve metabolik dengesizliklere yol açabilir (Brown ve Johnson, 2018).

Sonuç olarak, protein hem insan hem de hayvan beslenmesinde yaşamın yapı taşıdır. Büyüme, sağlık korunumu, metabolik süreçler ve bağışıklık savunması gibi çok yönlü rolleri, onun biyolojik değerini gözler önüne sermektedir. Yeterli ve dengeli protein alımının sağlanması, sağlık ve esenliğin artırılması için elzemdir ve bu nedenle protein konusu, insan ve hayvan beslenmesi alanlarında sürekli araştırılan ve ilgiyle takip edilen bir konudur (Brown ve Johnson, 2018).

1.3. Sürdürülebilir Protein Kaynaklarına Olan Talep

2050 yılına kadar dünya nüfusunun 9 milyara ulaşması beklenmektedir ve bu durum, protein açısından zengin diyetlere yönelik küresel talebin eşi görülmemiş bir hızla artmasına neden olmaktadır. Geleneksel hayvansal tarımın, yüksek kaynak gereksinimleri ve çevreye olan kirlетici etkileri nedeniyle, bu artan talebi çevresel zararlara yol açmadan karşılamada ciddi zorluklarla karşılaşacağı öngörülmektedir (Smith ve Johnson, 2020).

Bu bağlamda, alternatif ve sürdürülebilir protein kaynaklarına duyulan acil ihtiyacı vurgulayan çeşitli etmenler ortaya çıkmıştır. Bu etmenlerin başında, hayvansal üretimin çevresel etkilerine dair artan farkındalık gelmektedir. Geleneksel hayvancılık, sera gazı salınımı, ormansızlaşma ve su kirliliği gibi çevre sorunlarının başlıca sebeplerindendir. Tüketiciler arasında bu konularda artan bilinç, daha düşük karbon ayak izine ve çevresel etkiye sahip protein kaynaklarına yönelimin gerekliliğini ortaya koymaktadır (Williams ve Brown, 2019).

Beslenme ve sağlık açısından değerlendirildiğinde, sürdürülebilir protein kaynakları çoğunlukla daha sağlıklı beslenme modelleriyle ilişkilendirilmektedir. Örneğin, bitkisel proteinler doymuş yağ oranı açısından daha düşüktür ve çeşitli temel besin öğelerini içerir; bu da onları hem besleyici hem de çevre dostu bir seçenek haline getirmektedir (Robinson ve Fuller, 2021).

Ayrıca etik kaygılar da önemli bir rol oynamaktadır. Hayvan refahına ilişkin endişeler, birçok bireyi geleneksel hayvancılık uygulamalarına dayanmayan protein alternatiflerini araştırmaya yöneltmiştir. Bu tüketici davranışındaki değişim, hayvansal kaynaklı gıdalara ilişkin kültürel ve etik yaklaşımlarda meydana gelen daha geniş çaplı bir dönüşümü yansıtmaktadır (Robinson ve Fuller, 2021).

1.4. Geleneksel Protein Üretiminin Zorlukları

Geleneksel hayvancılık, büyük miktarda arazi, su ve yem gibi kaynaklara ihtiyaç duymakta, bu da ekosistemler üzerinde ciddi baskı oluşturmakta ve birçok bölgede kaynak kıtlığını derinleştirmektedir. Ayrıca, hayvansal üretim metan ve diazot monoksit gibi güçlü sera gazlarının başlıca kaynağıdır ve bu gazlar iklim değişikliği üzerinde önemli etkiler yaratmaktadır (FAO, 2020).

Hayvancılık için mera açmak veya yem üretmek amacıyla arazilerin dönüştürülmesi, ormansızlaşmaya ve doğal yaşam alanlarının yok olmasına neden olmakta; bu da biyolojik çeşitliliği tehdit etmekte ve ekosistemlerin dengesini bozmaktadır. Öte yandan, hayvancılık hem hayvanların sulanması hem de yem bitkilerinin sulanması için büyük miktarda su tüketimine neden olmaktadır. Hayvancılıktan kaynaklanan yüzey akıntıları ise, aşırı besin maddeleri ve atıklar nedeniyle su kaynaklarının kirlenmesine yol açmaktadır (Herrero vd., 2015).

Endiše yaratan bir diğerk unsur, yoğun hayvansal üretim sistemlerinde antibiyotiklerin yaygın kullanımınıdır. Bu ilaçların aşırı kullanımı, antibiyotiklere dirençli patojenlerin ortaya çıkmasına neden olmuş ve hem insan hem de hayvan sağlığı açısından ciddi bir tehdit oluşturmuştur. Ayrıca, bitkisel yemlerin hayvansal proteine dönüştürülmesi süreci görece verimsizdir. Bu dönüşüm, yüksek oranda kalori ve besin ögesi kaybına yol açmakta, yeterli miktarda hayvansal protein üretmek için daha fazla arazi ve tarımsal kaynak ihtiyacını doğurmaktadır (FAO, 2020).

1.4.1. Geleneksel Protein Kaynaklarına Alternatifler

Bu zorluklar karşısında, geleneksel protein kaynaklarına yönelik çeşitli umut vadeden alternatifler gündeme gelmiştir. Örneğin, baklagiller, soya fasulyesi ve kinoa gibi bitkisel proteinler; besin değeri yüksek ve çevresel etkileri düşük olduğu için artan bir ilgi görmektedir. Bununla birlikte, gelişmiş teknolojilerle laboratuvar ortamında et ve hayvansal ürünlerin üretildiği hücresel tarım da, geleneksel hayvancılığın çevresel yükünü azaltma potansiyeli taşıyan yenilikçi bir çözüm olarak değerlendirilmektedir (Lynch ve Johnston, 2019).

Benzer şekilde, böcek yetiştiriciliği de yüksek verimlilik ve üretim açısından güçlü bir alternatif olarak öne çıkmaktadır. Cırcır böceği ve un kurdu gibi türler, geleneksel hayvancılığa kıyasla çok daha az arazi, su ve yem ile üretilebilmekte ve sürdürülebilirlik açısından önemli avantajlar sunmaktadır. Ayrıca, algler ve bazı mikroorganizmalar da yüksek protein içeriğine sahip biyokütle üretimi açısından umut vaat eden protein kaynaklarıdır ve düşük kaynak kullanımıyla sürdürülebilir bir şekilde yetiştirilebilmektedirler (Verma ve Nanda, 2022).

1.4.2. Daha Sürdürülebilir Bir Gıda Sistemine Doğru

Bu alternatiflere yönelik küresel talebin artması, tüketim kalıplarında çevresel farkındalık temelinde köklü bir değişimi yansıtmaktadır. Bu değişim, yalnızca etik bir sorumluluğu değil, aynı zamanda gezegenimiz ve canlı yaşamı için uzun vadeli bir vizyonu da beraberinde getirmektedir. Bu bağlamda, gıda sistemlerimizi ve tarımsal uygulamalarımızı yeniden gözden geçirme, bitkisel proteinler, alternatif kaynaklar ve sürdürülebilir tarım yöntemlerinde inovasyonu teşvik etme ihtiyacı kaçınılmaz hale gelmiştir. Bu dönüşüm, artan nüfusun beslenme ihtiyaçlarını karşılarken aynı zamanda doğal kaynakların korunmasını ve çevrenin sürdürülebilirliğini garanti altına almanın temel yoludur (Tuomisto ve Teixeira de Mattos., 2011).

1.5. Ticari Üretim Potansiyeli Araştırılan Yenilebilir Larva Türlerinin İncelenmesi

Son yıllarda dünya genelinde hızla artan nüfus, protein talebinde büyük bir artışa neden olmuştur. Bu büyüme, hayvan yemlerinde kullanılan bitkisel protein kaynaklarının yetersizliği ve hayvansal proteinlerin yemlerde kullanımına getirilen yasaklarla birleştiğinde, araştırmacıları yeni alternatif protein kaynakları aramaya yöneltmiştir. Bu bağlamda, yenilebilir böcekler giderek artan bir ilgi görmektedir (Lynch ve Johnston, 2019).

Ticari üretim potansiyeli açısından çeşitli yenilebilir larva türleri araştırılmıştır. Bu türler, farklı besin değerleri sunmaları, çevresel açıdan sürdürülebilir olmaları ve küresel gıda güvenliğine yönelik sorunlara çözüm olabilecek potansiyele sahip olmaları nedeniyle önemlidir. Aşağıda, bu potansiyeli taşıyan bazı belirgin örneklerle yer verilmiştir. Bu örnekler, üzerinde çalışılan yenilebilir larva türlerinin yalnızca bir kısmını temsil etmektedir. Alternatif protein kaynaklarına ve sürdürülebilir gıda sistemlerine yönelik artan ilgiyle birlikte, yenilebilir larvaların pazarının genişlemesi ve gıda üretimi ile inovasyona yeni olanaklar sunması beklenmektedir (Tuomisto ve Teixeira de Mattos, 2011).

1.5.1. Kara Asker Sineği (*Hermetia illucens*)

Kara asker sineği larvaları (BSFL), en çok araştırılan ve kullanılan yenilebilir böcek türlerinden biridir. Protein ve esansiyel amino asitler bakımından zengin olan bu larvalar, organik atıkları verimli bir şekilde biyokütleyle dönüştürebilme yeteneğine sahiptir. BSFL, hayvan yemi üretiminde ve bazı bölgelerde insan tüketimi için kullanılmaktadır. Hızlı büyüme oranı ve çok çeşitli hammaddelere uyum sağlayabilme kapasitesi sayesinde, ticari üretim açısından önemli bir potansiyele sahiptir (Schiavone vd., 2017).

BSFL, göreceli olarak kolay yetiştirilebilmekte ve bitki kalıntıları, hayvan gübresi, gıda atıkları, tarımsal artıklar ve saman gibi çeşitli organik atıklarla üretilmektedir. Her ne kadar BSFL, kümes hayvanları beslenmesinde soya küspesinin yerini tamamen alamasa da, yapılan çalışmalar, yemlere %20'ye kadar BSFL ilavesinin büyüme, kan biyokimyası ve et kalitesi üzerinde olumsuz bir etki yaratmadığını göstermiştir (De Souza Vilela vd., 2021; Fiorilla vd., 2024).

Domuz beslenmesinde yapılan çalışmalar da, BSFL takviyesinin üretim performansı ve et kalitesi üzerinde olumsuz bir etkisi olmadığını ortaya koymuştur. Aksine, yemden yararlanma oranını (FCR) iyileştirdiği belirlenmiştir. Ancak, özellikle sütten kesilmiş domuzlar ve besi domuzlarında BSFL kullanımıyla ilgili araştırmalar hala sınırlıdır. Özellikle anaç domuzlarda optimum besleme düzeylerinin belirlenmesi konusunda daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır (Newton vd., 1977).

Şu ana kadar BSFL'nin geniş getiren hayvanların beslenmesinde kullanımıyla ilgili herhangi bir bilimsel kanıt bulunmamaktadır; bu da gelecekteki araştırmalar için önemli bir alanı işaret etmektedir. Maliyet, ürün temini, yasal düzenlemeler ve tüketici kabulü gibi bazı zorluklara rağmen, BSFL'nin hayvan yemlerinde kullanımı umut vaat eden bir çözüm olarak değerlendirilmektedir. Yem proteini kaynaklarının sınırlı olduğu günümüzde, BSFL'nin yüksek besin değeri göz önünde bulundurularak hayvansal üretimdeki potansiyel rolünün araştırılması hem güncel hem de gereklidir (Oonincx ve De Boer, 2012).

1.5.2. Un Kurdu (*Tenebrio molitor*)

Un kurtları, ticari üretim açısından kapsamlı bir şekilde araştırılmış bir diğer yaygın yenilebilir larva türüdür. Yüksek protein, yağ ve temel besin öğeleri içeriği sayesinde hem insan hem de hayvan tüketimine uygundur. Tahıllar ve gıda atıkları gibi çeşitli organik alt tabakalarda yetiştirilebilen un kurtları, genellikle evcil hayvan mamalarında, çiftlik hayvanlarının yemlerinde ve insan tüketimine yönelik protein barları ve atıştırmalıklar gibi ürünlerde kullanılmaktadır (Gasco vd., 2019).

1.5.3. İpekböceği (*Bombyx mori*)

İpek üretimiyle tanınan ipekböceği larvaları, bazı kültürlerde aynı zamanda gıda kaynağı olarak da tüketilmektedir. Özellikle ipekböceği pupaları, protein ve diğer besin öğeleri bakımından oldukça zengindir. Kara asker sineği veya un kurdu kadar yaygın olarak ticari üretimde yer almasa da, ipekböceği özellikle geleneksel olarak tüketildiği bölgelerde alternatif bir protein kaynağı potansiyeline sahiptir (Payne vd., 2016; Van Huis vd., 2013).

1.5.4. Ev Sineği Larvaları (*Musca domestica*)

Halk arasında “maggot” olarak bilinen ev sineği larvaları da protein kaynağı olarak değerlendirilmiştir. Organik atıklar üzerinde yetiştirilebilen bu larvalar, yüksek protein içeriğine sahiptir. Ancak hijyen ve hastalık bulaşma riskiyle ilgili endişeler nedeniyle, ticari üretimde diğer türlere kıyasla daha sınırlı bir kullanım alanı bulmuştur (Ghosh ve Lee, 2018; Payne vd., 2016).

1.5.5. Dev Un Kurtları (*Zophobas morio*)

Kral un kurdu veya morio kurdu olarak da bilinen bu larvalar, un kurtlarıyla yakından ilişkilidir ve yüksek protein içeriği nedeniyle yetiştirilmektedir. Un kurtlarına göre daha büyük olan bu larvalar, benzer besin profiline sahiptir. Genellikle sürüngenler ve kuşlar için yem olarak kullanılmakta, ayrıca insan tüketimine yönelik böcek bazlı protein takviyelerinde değerlendirilmektedir (Payne vd., 2016).

1.5.6. Cırcır Böcekleri (*Acheta domesticus*, *Grylloides sigillatus*)

Teknik olarak larva olmasalar da, cırcır böceği nimfleri de yüksek besin değeri nedeniyle sıklıkla tüketilen bir böcek türüdür. Protein, vitamin ve mineraller bakımından zengin olan cırcır böcekleri, sürdürülebilir bir gıda kaynağı olarak öne çıkmaktadır. Protein tozları, enerji barları ve atıştırmalıklar gibi çeşitli ürünlerde kullanılan bu böceklerin hızlı üreme kapasiteleri ve yüksek yem dönüşüm oranları sayesinde ticari üretim açısından önemli bir potansiyele sahip oldukları değerlendirilmektedir (Payne vd., 2016).

1.6. Alternatif Bir Protein Kaynağı Olarak Yenilebilir Larvalar

Kara asker sineği larvaları (BSFL), un kurdu larvaları (*Tenebrio molitor L.*) ve cırcır böcekleri (*Orthoptera: Gryllidae*) gibi böcekler, umut vadeden protein kaynakları olarak öne çıkmakta olup, halihazırda kümes hayvanları ve domuzlar için alternatif yem bileşenleri olarak kullanılmaktadır. Bu durum, büyük ölçüde bu böceklerin neredeyse %100'e yakın yenilebilir protein içeriğine sahip olmalarından kaynaklanmaktadır (Oonincx vd., 2012; Schiavone vd., 2017). Bu türler arasında, kara asker sineği, un kurdu ve cırcır böceklerine kıyasla üstün bir yem dönüşüm oranına sahiptir. Ayrıca, beslenme

rejimi değişse bile hayatta kalma oranı ile azot ve fosfor bileşimi nispeten sabit kalmaktadır. Kara asker sineği, etkili yem dnüşüm kabiliyeti, kısa üreme dngüsü ve zengin besin içeriği ile dikkat çekmektedir (Oonincx vd., 2015).

BSFL gübresinin en önemli avantajlarından biri, sürdürülebilirliğidir. Organik atık akışları kullanılarak büyük miktarlarda üretilebilmekte ve çevresel ayak izi, geleneksel protein kaynaklarına kıyasla çok daha düşüktür (Meneguz vd., 2018; Tian vd., 2020). Yapılan çok sayıda çalışma, BSFL biyokütlesinin hem insan tüketimi hem de hayvan yemi olarak kullanılabileceğini göstermiştir; bu da küresel gıda güvenliği sorunlarına potansiyel bir çözüm sunmaktadır. Bununla birlikte, BSFL besin açısından insan tüketimi için uygun olsa da, birçok tüketici, böcek tüketimine karşı psikolojik bir isteksizlik nedeniyle bu kaynağın hayvan yeminde kullanılmasını tercih etmektedir (Bukkens vd., 1997; Nyakeri vd., 2017).

BSFL ile desteklenen diyetlerin, hem domuzlarda hem de kümes hayvanlarında büyüme performansını ve besin maddelerinin sindirilebilirliğini artırdığı ve yaygın olarak kullanılan diğer protein kaynaklarına kıyasla üstün sonuçlar verdiği bulunmuştur (Veldkamp ve Bosch, 2015; Zuki vd., 2021). Schiavone vd. (2018) tarafından yürütölen bir çalışmada, etlik piliçlerin rasyonlarında soya yağı yerine %50 ila %100 oranında tam yağlı BSFL kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlar, büyüme performansı, kan biyokimyasal parametreleri, bağışıklık göstergeleri veya bağırsak sağlığı üzerinde herhangi bir olumsuz etki göstermemiştir. Buna ek olarak, BSFL'nin domuz gübresindeki hacmi ve besin maddesi yükünü azaltarak çiftlik hijyenini artırdığı ve bu etkinliğin, kanatlı gübresinde gözlemlenen düzeyle karşılaştırılabilir olduğu kanıtlanmıştır (Nguyen vd., 2015; Zhou vd., 2013). Bu durum, zararlı kontrolüne katkı sağlamakta ve besin maddesi atıklarına bağlı çevresel kirliliği azaltmaktadır (Mallin ve Cahoon, 2003).

1.7. Kara Asker Sineği Larvaları (BSFL) (*Hermetia illucens* L.; *Diptera: Stratiomyidae*)

Kara asker sineği larvaları (BSFL), başta bitki kalıntıları, hayvan gübresi, gıda atıkları, tarımsal yan ürünler ve saman gibi organik atıklarla beslenen böceklerdir (Banks vd., 2014). Hem insanlar hem de hayvanlar için mükemmel bir protein kaynağı olarak kabul edilirler. Ayrıca, organik atıkları biyolojik olarak parçalama yetenekleri çevresel kirliliğin azaltılmasında önemli bir rol oynar (Erickson vd., 2004; Purba vd., 2021). Bozunma süreci sırasında BSFL, organik maddeyi amino asitler, peptitler, proteinler, yağlar, kitin ve

vitaminler gibi değerli bileşenlere dönüştürür. Aynı zamanda, *Salmonella* ve *Escherichia coli* gibi zararlı bakterilerin yanı sıra bazı zararlıları da baskı altına alma yetenekleri bulunmaktadır. Bu özellikleri sayesinde, tıpta, kimyada ve özellikle evcil hayvanlar, domuzlar ve kümes hayvanları için hayvan yemi uygulamalarında yaygın olarak kullanılmaktadırlar (Erickson vd., 2004; Liu vd., 2008).

Güney Amerika savanalarına özgü olan BSFL, günümüzde ılıman, subtropikal ve tropikal bölgelerde geniş bir yayılım göstermektedir. En iyi 25 °C ile 30 °C arasındaki sıcaklıklarda gelişirler (Singh ve Kumari, 2019; Üstüner vd., 2003). Ancak soğuğa duyarlı olmaları nedeniyle, kuzeybatı Avrupa gibi sıcaklıkların 5 °C'nin altına düştüğü bölgelerde hayatta kalamazlar. BSFL, Diptera takımına ait Hermetiinae alt familyasına mensup olup *Patagiomysia*, *Chaetosargus*, *Notohermetia*, *Chaetohermesia* ve *Hermetia* olmak üzere beş cinse ayrılır; bunlar arasında *H. illucens* en yaygın olanıdır (James, 1935; Shumo vd., 2019). Bu sinekler iri ve ince yapılı olup, siyah renkteki vücutları baş, göğüs ve karın olmak üzere üç bölüme ayrılır. Kahverengi kanatlara ve baş kısmından çıkan belirgin antenlere sahiptirler (Shumo vd., 2019). Karın bölgelerinde beyaz benekli beş segment bulunur. Erkekler dişilerden genellikle daha uzun olsa da, daha küçük genital yapılara ve daha kısa kanatlara sahiptirler. Dişilerin boyu genellikle 12–20 mm arasında olup, kanat açıklıkları 8–14,8 mm arasında değişmektedir (Shumo vd., 2019).

Kara asker sineğinin yaşam döngüsü yumurta, larva, prepupa, pupa ve ergin olmak üzere beş evreden oluşur. Larva ve pupa evreleri, besin içeriği açısından en yoğun evrelerdir ve bu değer büyük ölçüde beslenme substratının kalitesine bağlıdır. Larvalar %18–33 arasında yağ ve %32–53 arasında protein içerebilir (Chippindale vd., 2004; Yu vd., 2009). Tüm yaşam süresi yaklaşık 20–22 gün sürer; bunun 6–8 günü pupa evresi, yaklaşık 14 günü ise ergin evredir (Diener vd., 2009; Diener, 2010). Ergin kara asker sinekleri ağız, sindirim sistemi ve sokucu organlara sahip değildir; dolayısıyla diğer canlılara zararsızdır (Park, 2015). İnsanlara veya taze gıdalara ilgi göstermedikleri için hastalık taşıyıcı olarak kabul edilmezler (Sheppard vd., 2002).

BSFL ile atık işleme verimliliğini değerlendirmek için kullanılan başlıca göstergelerden biri biyodönüşüm oranıdır (Gold vd., 2020; Lalander vd., 2019). Bu oran; sindirilebilir besin maddeleri, protein, yağ, lif, pH düzeyi ve besleme hızı gibi faktörlerin

yanı sıra substratın yoğunluğu ve nem içeriği gibi parametrelere bağlıdır (Banks vd., 2014; Dortmans vd., 2017). İdeal nem içeriği %60 ile %80 arasında değişir; minimum eşik yaklaşık %40'tır (Bortolini vd., 2020). Dünya genelinde hayvan gübresi yönetimiyle ilgili daha sıkı düzenlemeler yürürlüğe girmektedir (Paengkoum vd., 2021; Siddiqui vd., 2022). Yapılan çalışmalar, BSFL'nin hayvan yemine dahil edilmesinin gübre üretimini %60'a kadar azaltabileceğini göstermiştir. Ayrıca larvalar, tavuk gübresinin %50'sinden fazlasını parçalayarak yüksek kaliteli amino asitler, proteinler ve yağlara dönüştürebilir; bu da onları ekonomik açıdan etkili bir hayvan yemi haline getirir (Siddiqui vd., 2022).

Besin değerlerine ek olarak, BSFL mineraller ve kitin bakımından da zengindir; antioksidan özellikler gösterir ve bağışıklık sistemini destekler. Tüm bu avantajlar göz önüne alındığında, BSFL; soya küspesi ve balık unu gibi geleneksel protein kaynaklarına etkili bir alternatif olarak değerlendirilmektedir. Bu çalışma, BSFL'nin besin değerini, hayvan performansı, sindirim ve bağışıklık üzerindeki etkilerini ve hayvan yemlerinde kullanımına ilişkin mevcut zorlukları kapsamlı şekilde ele almaktadır (Paengkoum vd., 2021).

Yenilebilir böcek larvaları, besinsel verimlilik ile çevresel sürdürülebilirliği bir araya getiren umut verici bir protein kaynağı olarak öne çıkmaktadır. Bu larvaların üretimi, geleneksel hayvancılıkla karşılaştırıldığında çok daha az arazi, su ve yem gerektirmekte olup, sera gazı emisyonlarının ve doğal kaynak tüketiminin azaltılmasına katkı sağlamaktadır. Ayrıca, yüksek yem dönüşüm oranları sayesinde birçok çiftlik hayvanına kıyasla daha verimli bir şekilde protein üretmeleri, tarımsal kaynaklar üzerindeki baskının hafiflemesine yardımcı olmaktadır (Gold vd., 2020).

Larva yetiştiriciliği, geleneksel hayvan yetiştiriciliğine kıyasla daha az atık ve çevresel kirlilik üretmekte, bu da su ve toprak kirliliği riskini azaltmaktadır. Aynı zamanda doğal yaşam alanlarının tahribatı ve biyolojik çeşitliliğin kaybı açısından daha az olumsuz etki yaratmakta, kapalı sistemlerde dikey tarıma olanak sağlayarak iklim koşullarından bağımsız olarak yıl boyunca üretim yapılmasına imkan tanımaktadır (Purba vd., 2021).

Her ne kadar bazı kültürlerde böceklerin gıda olarak kabulü bir zorluk teşkil etse de, birçok toplumun geleneksel mutfağında böcekler yer almakta; yemek teknolojilerindeki ilerlemeler ise böcek temelli yemeklerin daha geniş kitlelerce kabul görmesini ve cazip hale

gelmesini sağlamaktadır. Bu faktörler ışığında, böcek larvaları, protein açısından zengin ve çevresel etkisi düşük bir gıda seçeneği sunarak, geleneksel protein üretim sistemlerinin yarattığı zorluklarla mücadelede umut verici bir çözüm ve daha sürdürülebilir bir gıda geleceğine katkı olarak değerlendirilmektedir (Liu vd., 2008).

1.7.1. Kara Asker Sineği Larvaları: Temel Bilgiler

Kara asker sineği larvaları (BSFL), çeşitli çevre koşullarında gelişebilen doğal böceklerdir. Bu larvalar, organik atıkları verimli bir şekilde değerli biyokütleye dönüştürme yetenekleri sayesinde önemli bir ilgi odağı haline gelmiştir. Hızlı büyüme döngüleri, çevresel esneklikleri ve düşük kaynak ihtiyaçları, onları sürdürülebilir protein üretimi için ideal bir aday yapmaktadır (Council, 2012).

1.7.1. Kara Asker Sineği Larvalarının Besin Bileşimi

Kara asker sineği larvaları (BSFL), alternatif bir protein kaynağı olarak dikkate değer bir potansiyele sahiptir ve organik atıkları yüksek verimle değerli proteine dönüştürme yetenekleri sayesinde çevresel sürdürülebilirliğe önemli katkılar sunar. Bu dönüşüm süreci, atık miktarını azaltmakta ve çöp sahaları üzerindeki baskıyı hafifletmektedir. Gıda artıkları ve tarımsal atıklar ile beslenmeleri, kaynakların daha etkin kullanımını teşvik ederken, tarıma elverişli araziler üzerindeki rekabeti de azaltmaktadır. Ayrıca, BSFL yetiştiriciliği geleneksel hayvancılığa kıyasla çok daha düşük sera gazı emisyonları üretmekte olup, çevre dostu bir seçenek olarak öne çıkmaktadır (Bosch vd., 2014).

Bu larvalar, atıkları geri dönüştürerek faydalı proteinlere çeviren ve israfi asgariye indiren kapalı döngü bir üretim sistemi aracılığıyla döngüsel ekonomi modelini desteklemektedir. Kullanım alanlarının çeşitliliği de onları değerli kılmaktadır; hayvan yemi, su ürünleri yetiştiriciliği ve hatta insan tüketimi için yüksek protein içeriğine sahip bir besin bileşeni olarak değerlendirilebilmektedir (Ghaly ve Alkoik, 2009; Spranghers vd., 2017a).

Ayrıca, BSFL yetiştiriciliği geniş arazi gerektirmemekte, bu da doğal yaşam alanlarının tahribatını ve biyolojik çeşitlilik kaybını azaltmaktadır. Kontrollü çevrelerde dikey tarım sistemleri içerisinde yetiştirilebilmeleri, dış iklim koşullarından bağımsız olarak yıl boyunca üretime olanak tanımaktadır (Finke, 2013).

Kara asker sineği larvalarının potansiyel faydalarına ilişkin farkındalığın artmasıyla birlikte, bu organizmalar protein tüketimine dair anlayışımızı kökten değiştirme kapasitesine sahiptir ve gıda üretiminde daha dirençli ve sürdürülebilir bir geleceğin önünü açmaktadır. Yenilebilir kara asker sineği larvaları, olağanüstü besin değerleri ile öne çıkar ve geleneksel protein kaynaklarına uygun bir alternatif oluşturur (Council, 2012). Larvaların besin içeriği şu şekilde özetlenebilir:

1.7.1.1.Yüksek Kaliteli Protein

Kara asker sineği larvaları, kuru madde bazında genellikle %40'ı aşan yüksek protein içeriği ile tanınır. Bu protein, yüksek biyolojik değere sahip olup, organizmanın çeşitli işlevleri için gerekli olan temel amino asitleri içermektedir.

Yapılan araştırmalar, BSFL proteinlerinin temel amino asitler bakımından zengin bir profili olduğunu göstermektedir. Özellikle, bitkisel protein kaynaklarında sınırlı bulunan löysin, metiyonin ve treonin gibi amino asitler açısından zengindirler. Bu durum, BSFL proteinlerini amino asit eksikliklerini gidermek açısından değerli bir kaynak haline getirmektedir (Crosbie vd., 2020).

Hem tam yağlı hem de yağı alınmış BSFL, amino asit içeriği bakımından oldukça zengindir ve bu yönüyle geleneksel soya küspesi veya balık unu gibi protein kaynaklarına kıyasla daha sürdürülebilir bir alternatiftir (Crosbie vd., 2020). Çalışmalarda yer alan BSFL'nin amino asit bileşimi Çizelge 1.1'de detaylandırılmıştır. Temel amino asitler arasında, löysin (ortalama 44,6 g/kg, 27,8–78,3 g/kg aralığında), lizin (ortalama 38,8 g/kg, 23,0–68,2 g/kg aralığında) ve valin (ortalama 40,1 g/kg, 28,2–67,9 g/kg aralığında) en yüksek oranlarda bulunmuştur. Bu üç amino asit, soya küspesinden daha yüksek seviyelerde, valin ise balık unundan daha fazla konsantrasyonda tespit edilmiştir (Council, 2012).

Metiyonin ve triptofan en az bulunan temel amino asitlerdir. Bu iki amino asidin seviyeleri, soya küspesiyle benzer olup, balık ununa göre oldukça düşüktür. Histidin içeriği 9,8 ile 48 g/kg arasında değişirken, izölöysin seviyesi 17,7 ile 48 g/kg arasında bulunmuştur. Her iki amino asit de soya ve balık unundakine kıyasla biraz daha yüksek seviyelerdedir. Fenilalanin 16,4–77,6 g/kg ve treonin 16,2–45 g/kg aralığında değişmekte olup, her ikisi de soya ve balık unuyla benzer seviyelerdedir. Ancak, arjinin ve histidin, soya ve balık ununa kıyasla daha düşük oranlarda bulunmuştur (Council, 2012).

Çizelge 1.1. Kara asker sineği larvalarının amino asit bileşimi (g/kg kuru maddede) (Spranghers vd., 2017a)

				BLSF				CSBM	FM
Esansiyel amino asitler									
	FF	DF	FF	FF	FF	FF	FF		
Arjinin	19,9	20,7	21,1	54,7	62	21,9	18,7	35,7	41
Histidin	13,8	16,3	13,5	32,5	48	9,8	13,7	14,2	15,4
İzölöysin	19,1	24	17,3	48	48	19,1	20,6	22,1	27,3
Löysin	30,6	36,7	27,8	78,3	77	32,1	29,4	38,6	47,7
Lizin	23	25,2	28,1	68,2	74	27,2	25,9	31,1	48,7
Metiyonin	7,1	8,56	8	6,1	6	6	7,1	6,8	18,5
Fenilalanin	16,4	21,8	16,4	77,6	62	18,3	18,7	25,5	
Treonin	16,2	21,8	16,3	44,3	45	16,7	19,3	19,6	27,5
Triptofan	5,4					5,6	5,6	6,6	6,7
Valin	28,2	34,5	25	67,9	67	28,7	28,8	21,7	32,7
Esansiyel olmayan amino asitler									
Alanin	27,8	43,7	25,6	82,1		62	26,6	21,6	41,9
Aspartik asit	36,9	48,8	38,7	73		103	35,6	55	57,7
Sistein	2,2	0,2	3,5	7,6		5	4,2	3,2	6,5
Glisin	25,2	30,3	24,6	61,5		54	26,8	21,3	50,3
Glutamik asit	45,8	63,7	46,1	131		102	38,4	88,6	84,1
Prolin	25,1	32,7	23,6	66,8		62	23,1	27,4	30,5
Serin	15,9	26,8	17,6	48,3		41	15,2	24,1	25,9
Tirozin		34,1		67,1		60	26,5	15,2	20,1

CSBM = Geleneksel soya unu, DF= Yağı alınmış, FF= Tam yağlı, FM = Balık unu

1.7.1.2. Faydalı Yağ Asitleri

Bu larvalar, kardiyovasküler sağlık, inflamasyonun düzenlenmesi ve beyin fonksiyonları açısından temel rol oynayan omega-3 ve omega-6 yağ asitleri de dahil olmak üzere faydalı yağlar bakımından zengindir. Çizelge 1.2, BSFL'nin yağ asidi bileşimini göstermektedir. Doymuş yağ asitleri arasında, laurik asit (C12:0) en çok bulunan asittir ve konsantrasyonu 75 ile 575 g/kg arasında değişmektedir; bazı çalışmalarda bu değer 6 g/kg

olarak da rapor edilmiştir. Diğer temel doymuş yağ asitleri arasında, 23 ile 98,7 g/kg arasında değişen miristik asit (C14:0); 10,3 ile 192,0 g/kg arasında değişen palmitik asit (C16:0); ve 9,8 ile 69,0 g/kg arasında bulunan stearik asit (C18:0) yer almaktadır (Daszkiewicz vd., 2022; Spranghers vd., 2017a).

Tekli doymamış yağ asitleri (MUFA) açısından, oleik asit (c9C18:1) en yaygın olanıdır ve konsantrasyonu 79,7 ile 266,0 g/kg arasında değişmektedir. Ayrıca, palmitoleik asit (C16:1) de dikkate değer miktarda bulunur ve bu değer 10,3 ile 192,0 g/kg arasında değişmektedir (Nayohan vd., 2022).

Çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) açısından, linoleik asidin (C18:2n6) konsantrasyonu 38,0 ile 314,0 g/kg arasında; alfa-linolenik asidin (C18:3n3) konsantrasyonu ise 9,8 ile 36,0 g/kg arasında değişmektedir (Rabani vd., 2019).

Çizelge 1.2. Kara asker sineği larvalarının yağ asitleri bileşimi (g/kg kuru madde) (Daszkiewicz vd., 2022; Spranghers vd., 2017a)

Tip	FF	FF	FF	FF	FF	FF
C10:0	20,3		8,6	14,3		8,6
C12:0	575,6	75	459,7	526	468,6	407,9
C14:0	71,4	23	87	85,4	98,7	65,6
C15:0			1,5		143,8	1,3
C16:0	10,3	192	122,1	109	143,8	162,7
C18:0	9,8	69	25,3	15,3	17,9	14,3
SFA	782,9	362	707,2	750	742,4	664,2
C16:1	33,4	8	19,1	19,8	27,8	23,6
c9C18:1	79,7	266	112,4	61,6	77,3	182,4
c11C18:1	1,2			2,4		
MUFA	119,9	287	134,1	85,5	115,8	218,8
C18:2n-6	78,3	314	38	116	127,7	100,7
n-6 PUFA	80	314	142,2	119	106	100,9
C18:3n-3	11	36	16,5	10,1	9,8	16
C18:4n-3	0,5					
C20:5n-3	2,3					
C22:6n-3	0,1					0,2
n-3 PUFA	14,3	36	16,5	10,1	9,8	16,2
MUFA / SFA, %	15,3	79,3	18,9	11,4	15,6	32,9
n-3 PUFA/ n-6 PUFA, %	17,9	11,5	11,6	8,5	9	16,1

FF= Tam yağlı, MUFA= Tekli doymamış yağ asidi, PUFA= Çoklu doymamış yağ asidi, SFA= Doymuş yağ asidi

Genel olarak, BSFL'deki toplam tekli doymuş yağ asidi içeriği 362,0 ile 782,9 g/kg arasında değişmektedir. MUFA seviyeleri özel olarak 85,5 ile 287,0 g/kg arasında; n-6 PUFA konsantrasyonu 80 ile 314 g/kg arasında; n-3 PUFA düzeyleri ise 9,8 ile 36,0 g/kg arasında değişmektedir. Tekli doymamış yağ asitlerinin doymuş yağ asitlerine oranı %11,4 ile %79,3 arasında; n-3 ve n-6 yağ asitleri oranı ise %8,5 ile %17,9 arasında değişmektedir (Ewald vd, 2020).

1.7.1.3. Vitaminler ve Mineraller

Kara asker sineği larvaları, enerji metabolizması, sinir sistemi sağlığı ve bağışıklık fonksiyonları açısından hayati önem taşıyan B12, B6 ve B5 gibi B grubu vitaminleri başta olmak üzere temel vitaminleri sağlar. Ayrıca, demir (Fe), çinko (Zn) ve kalsiyum (Ca) gibi çeşitli fizyolojik süreçlerde rol oynayan önemli mineraller açısından da zengindir (Petlum vd., 2019).

Çizelge 1.3 BSFL'nin mineral bileşimini göstermektedir. Bu larvalar özellikle Ca bakımından zengindir; Ca içeriği 1,2 ile 35,7 g/kg arasında değişmektedir. Bakır (Cu) konsantrasyonları 0,1 ile 15 g/kg, Fe ise oldukça geniş bir aralıkta, 0,1 ile 191 g/kg arasında bulunur. Magnezyum (Mg) miktarı 1,0 ile 3,5 g/kg arasında, manganez (Mn) ise 0,2 ile 166,0 g/kg arasında değişmektedir. Fosfor (P) 1,0 ile 10,3 g/kg, potasyum (K) 1,7 ile 15,4 g/kg, sodyum (Na) 0,7 ile 15,6 g/kg, Zn ise 0,7 ile 103,0 g/kg arasında değişen oranlarda bulunur.

Çizelge 1.3. Kara asker sineği larvalarının mineral bileşimi (g/kg kuru madde)

Tip	FF	DF	FF	FF	FF
Kalsiyum (Ca)	1,2	13	1,9	34,6	35,7
Bakır (Cu)	0,1	15	0,6	10,7	0,7
Demir (Fe)	0,1	125	2,1	191	14
Magnezyum (Mg)	2,1	3	1	3,5	3,4
Manganez (Mn)	0,2	45	0,3	166	33,5
Fosfor (P)	4,1	8	1	10,3	7
Potasyum (K)	6	11	1,7	15,4	9,2
Sodyum (Na)	0,7	0,7	3,3	1,7	15,6
Çinko (Zn)	0,7	90	0,9	103	9

DF= Yağı alınmış, FF= Tam yağlı

Ancak bu yararlı minerallerin yanı sıra, BSFL atıkları baryum (Ba), civa (Hg) ve molibden (Mo) gibi potansiyel olarak toksik elementleri de biyolojik olarak biriktirebilir (Smets vd., 2020). Bu durum, hayvan yemleri ve bunlardan elde edilen gıda ürünlerinin güvenliğini sağlama açısından önemli bir zorluk teşkil etmektedir (Petlum vd., 2019; Yildirim-Aksoy vd., 2020).

1.7.1.4. Kitin

Kara asker sineği larvaları, yalnızca protein açısından değil, aynı zamanda yüksek düzeyde mineral ve kitin içeriğiyle de dikkat çekmektedir. Bu larvalar, antioksidan özellikleri ve bağışıklık sistemini güçlendirici etkileriyle bilinmektedir. BSFL'nin ortalama kitin içeriği yaklaşık 61,7 g/kg olup, bildirilen değerler 38,7 ile 72,1 g/kg arasında değişmektedir. Kitinin aktif bileşeni olan kitosan, önemli bir polisakkarittir. Yapısal olarak, (1-4) N-asetil-D-glukozamin'den oluşan doğrusal bir polimer olan kitin, (1-4) D-glukopiranoz ünitelerinden oluşan selüloza oldukça benzemektedir (Finke, 2007).

Her ne kadar kitin sindirilemeyen bir lif olarak kabul edilse de, hayvanlarda bağışıklık fonksiyonunu artırdığı gösterilmiştir (Li vd., 2013; Swiatkiewicz vd., 2015). BSFL'deki ham lif miktarı, larvaların gelişim evresine bağlı olarak değişiklik gösterebilir; larvalar pupa evresine yaklaştıkça lif içerikleri artma eğilimindedir (Wang vd., 2020). Bu gelişimsel farklılık nedeniyle, farklı çalışmalar BSFL'de değişen seviyelerde kitin bildirmiştir.

1.7.2. Kara Asker Sineği Larvalarının Protein Sindirilebilirliği

Protein sindirilebilirliği, bir proteinin vücut tarafından ne ölçüde emilip kullanılabileceğini belirleyen temel bir besin değeridir. BSFL'den elde edilen proteinlerin sindirilebilirliğinin yüksek olduğu saptanmıştır; bu proteinler sindirim sistemi tarafından kolaylıkla parçalanarak gerekli amino asitlerin salınmasına olanak tanır (Bosch vd., 2014; Rumpold ve Schlüter, 2013).

Kara asker sineği larvası proteinlerinin yüksek sindirilebilirliğine katkıda bulunan faktörler aşağıda açıklanmıştır.

1.7.2.1. Protein Yapısı

Bazı bitkisel proteinlerle veya bağ dokusundaki yapısal proteinlerle karşılaştırıldığında, BSFL proteinleri daha az karmaşık üç boyutlu yapılara sahiptir (Rumpold ve Schlüter, 2013). Bu sade yapı, sindirim enzimlerinin protein moleküllerine daha etkin şekilde ulaşmasına ve bunları amino asitlere dönüştürmesine olanak tanır.

1.7.2.2. İşleme Yöntemleri

Larvaların nasıl işlendiği (örneğin kurutma, öğütme) proteinlerin fiziksel yapısını ve dolayısıyla sindirilebilirliğini etkileyebilir. Uygun işleme teknikleri, proteinlerin biyoyararlanımını artırabilir.

1.7.2.3. Kurutma ve Öğütme

Doğru kurutma koşulları, protein yapısını korurken nemi uzaklaştırır; öğütme ise proteinlerin yüzey alanını artırarak sindirim enzimlerinin ulaşılabilirliğini kolaylaştırır (Gasco vd., 2019).

1.7.2.4. Ekstrüzyon

Isı ve basınç uygulanan bu işlem, protein yapısını değiştirerek sindirilebilirliği ve lezzeti artırır (Bruno vd., 2025).

1.7.2.5. Düşük Anti-Besin Faktörleri

BSFL, birçok bitkisel protein kaynağına kıyasla daha düşük düzeyde anti-besin bileşenleri içerir. Fitatlar ve proteaz inhibitörleri gibi bileşikler, protein sindirimini ve mineral emilimini engelleyebilir. Ancak BSFL bu tür bileşenleri çok daha düşük seviyelerde içerdiğinden, sindirimi olumsuz etkileme potansiyeli oldukça düşüktür (Rumpold ve Schlüter, 2013).

BSFL, yüksek kaliteli protein içeriğinin yanı sıra, kalp sağlığını destekleyen ve bağışıklık sistemi üzerinde olumlu etkileri olan omega-3 ve omega-6 gibi çoklu doymamış yağ asitleri açısından da zengin bir kaynaktır (Kim vd., 2020; Sealey ve Gaylord, 2016).

Sonuç olarak, yüksek protein içeriği, dengeli amino asit profili ve düşük anti-besin faktörü seviyesi sayesinde BSFL proteinleri, hem insanlar hem de hayvanlar için umut vadeden ve verimli bir besin kaynağıdır.

1.8. Protein Ekstraksiyonu İçin Yenilebilir Larvaların Güncel Yetiştirme ve İşleme Teknikleri

Yenilebilir larvalardan protein ekstraksiyonu amacıyla yürütülen yetiştirme ve işleme süreçleri, verimlilik, sürdürülebilirlik ve besin kalitesini en üst düzeye çıkarmayı hedefleyen çeşitli teknikleri içermektedir (Makkar vd., 2014; Makkar vd., 2022).

1.8.1.Yetiştirme Yöntemleri

1.8.1.1. Kontrollü Ortamda Yetiştirme

Kara asker sineği larvaları (BSFL) ve un kurtları gibi birçok yenilebilir larva, böcek çiftlikleri veya kapalı tesisler gibi kontrollü ortamlarda yetiştirilmektedir. Bu ortamlar, sıcaklık, nem ve diğer çevresel faktörlerin hassas bir şekilde kontrol edilmesine olanak tanıyarak larva gelişiminin optimize edilmesini sağlar (Barragan Fonseca vd., 2017; Oonincx vd., 2015).

1.8.1.2. Substrat Optimizasyonu

Larvalar, genellikle temel besin öğelerini sağlayan ve optimal büyümeyi destekleyen belirli substratlar üzerinde yetiştirilir. Yaygın olarak kullanılan substratlar arasında gıda artıkları, tarımsal yan ürünler ve bira fabrikası atıkları yer almaktadır. Güncel araştırmalar, larva büyümesi ve besin içeriğini artırmak için substrat bileşiminin ve ön işleme tekniklerinin geliştirilmesine odaklanmaktadır (Bruno vd., 2025; Oonincx vd., 2015).

1.8.1.3. Otomatik Besleme Sistemleri

Büyük ölçekli böcek üretiminde, larvalara yem sağlamak için otomatik besleme sistemleri kullanılmaktadır. Bu sistemler, sabit yemleme oranlarını garanti ederken iş gücü ihtiyacını azaltarak böcek üretim süreçlerinin ölçeklendirilmesini destekler (Makkar vd., 2014).

1.8.2. İşleme Teknikleri

1.8.2.1. Kurutma ve Öğütme

Larvalar istenilen büyüklük ve olgunluk seviyesine ulaştığında, genellikle yüksek protein içerikli tozlar veya yemler üretmek amacıyla kurutulup öğütülür. Kurutma işlemi, larvalardaki nemi uzaklaştırarak raf ömrünü uzatır ve mikrobiyal gelişimi engeller. Öğütme ise parçacık boyutunu küçülterek yüzey alanını artırır ve protein ekstraksiyonunu kolaylaştırır (Gasco vd., 2019).

1.8.2.2. Ekstrüzyon

Ekstrüzyon, larvaların yüksek sıcaklık ve basınca maruz bırakılarak daha sindirilebilir ve tüketilebilir ürünler elde edilmesini sağlayan bir tekniktir. Ekstrüde edilmiş larva ürünleri doğrudan hayvan yemi olarak kullanılabilir ya da insan tüketimine uygun protein açısından zengin bileşenlere dönüştürülebilir (Sealey ve Gaylord, 2016).

1.8.2.3. Çözücü ile Ekstraksiyon

Larva biyokütlesinden protein izole etmek amacıyla çözücü ekstraksiyon yöntemleri kullanılmaktadır. Etanol veya hekzan gibi organik çözücüler, yağları ve protein dışı bileşenleri çözerek geride protein açısından zengin özütler bırakır. Bu özütler, çeşitli uygulamalarda kullanılmak üzere protein izolatlarına veya konsantrelerine dönüştürülebilir (Rumpold ve Schlüter, 2013).

1.8.2.4. Enzimatik Hidroliz

Bu yöntem, proteinleri daha küçük peptitler ve amino asitlere ayırmak için proteolitik enzimlerin kullanılmasını içerir. Enzimatik hidroliz, proteinlerin sindirilebilirliğini ve biyoyararlanımını artırır ve özel fonksiyonel özelliklere sahip protein hidrolizatlarının üretiminde kullanılabilir (Bosch vd., 2014).

1.8.3. Fermentasyon

Fermentasyon teknolojileri, larva proteinlerinin besin kalitesini ve fonksiyonel özelliklerini artırmak için araştırılmaktadır. Fermentasyon, protein sindirilebilirliğini artırabilir, anti-besin faktörlerini azaltabilir ve biyoaktif bileşiklerin üretimini teşvik ederek larva kaynaklı ürünlerin toplam değerini yükseltebilir (Ghosh ve Lee, 2018).

Tüm bu önemli ilerlemelere rağmen, çeşitli zorluklar devam etmektedir. Bu zorluklar arasında maksimum verim ve kalite için yetiştirme koşullarının optimize edilmesi, sürdürülebilir yem substratlarının geliştirilmesi, işleme verimliliğinin artırılması ve yasal düzenlemeler ile tüketici kabulü gibi faktörlerin ele alınması yer almaktadır (Mlček vd., 2014).

Gelecekteki araştırmalar, alternatif yem girdilerinin kullanımı ve larvaların besin profillerini iyileştirmek için genetik modifikasyonların keşfi gibi yeni yetiştirme tekniklerine odaklanacaktır. Ayrıca, gelişmiş ekstraksiyon yöntemleri ve sürdürülebilir üretim uygulamaları gibi işleme teknolojilerindeki yenilikler, yenilebilir böcek endüstrisinin büyümesine katkıda bulunacaktır (Payne vd., 2016).

1.9. Geviş Getirenlerde Protein Kullanımı: Önemi ve Zorluklar

Protein, büyüme, üreme, süt üretimi, bağışıklık fonksiyonu ve genel metabolik süreçlerde hayati rol oynayan, geviş getiren hayvanların beslenmesinde temel bir bileşendir. Sığır, koyun ve keçi gibi geviş getiren hayvanlar, dört bölmeli mide yapısıyla karakterize edilen özel bir sindirim sistemine sahiptir. Bu yapı, lifli bitkisel materyalleri verimli bir şekilde değerlendirmelerini sağlar. Geviş getirenlerin diyetlerinde proteinin önemi ve protein gereksinimlerinin karşılanmasında karşılaşılan zorlukların anlaşılması, hayvan sağlığı ve verimliliğinin optimize edilmesi açısından kritik öneme sahiptir (Beegle ve Meisinger, 1988).

1.9.1. Geviş Getirenlerde Proteinin Önemi

Protein, dokuların büyümesi, yenilenmesi ve sürdürülmesi için vazgeçilmezdir. İskelet kaslarının gelişimi, organ fonksiyonlarının desteklenmesi ve genel vücut bütünlüğünün korunmasında rol oynar. Laktasyon dönemindeki hayvanlarda, süt üretimi için gereklidir; çünkü protein, sütün temel yapısal bileşenidir. Yetersiz protein alımı, süt verimi ve kalitesinde düşüşe neden olabilir. Ayrıca, proteinler üreme işlevlerinde de

kritik rol oynar; östrus döngüsünün düzenlenmesi, embriyo oluşumu ve fertilitenin sağlanması bu sürece bağlıdır. İmmün sistemin yapısal temelini oluşturan proteinler, antikorlar, sitokinler ve diğer bağışıklık moleküllerinin sentezinde görev alır. Karbonhidrat alımı yetersiz olduğunda, protein karaciğerde glukoneogenez yoluyla enerji kaynağı olarak kullanılır (Davidson ve Kanter, 2014).

1.9.2. Protein Gereksinimlerinin Karşılanmasındaki Zorluklar

1.9.2.1. Yem Bitkilerinin Düşük Protein İçeriği

Geviş getirenler genellikle protein bakımından düşük olan kaba yemlerle beslenir. Özellikle hızlı büyüme, gebelik veya laktasyon dönemlerinde yalnızca kaba yemle yeterli protein sağlanması zordur (Beegle ve Meisinger, 1988).

1.9.2.2. Rumen Protein Yıkımı

Rumen, mikrobiyal popülasyonların besinsel proteinleri mikrobiyal proteine ve uçucu yağ asitlerine parçaladığı en büyük mide bölümüdür. Ancak protein miktarı kadar, protein kalitesi ve esansiyel amino asit dengesi de önemlidir. Geviş getiren hayvanlar esansiyel amino asitleri sentezleyemedikleri için, bunları dışarıdan almak zorundadırlar. Diyetle lizin, metiyonin ve treonin gibi amino asitlerin yeterli düzeyde bulunması, büyüme, süt üretimi ve üreme performansı açısından gereklidir. Amino asit dengesizlikleri protein sentezini sınırlandırabilir, bu da hayvan sağlığını ve verimliliği olumsuz etkiler (Hayakawa vd., 2004).

1.9.2.3. Mikrobiyal Protein Sentezi

Geviş getiren hayvanlar, lifli yem maddelerini parçalamak için iştikembedeki mikrobiyal fermentasyona bağımlıdır. Bu süreçte sadece karbonhidratlar değil, rumende parçalanabilir protein (RDP) gibi azot kaynakları kullanılarak mikrobiyal protein de sentezlenir. Mikrobiyal protein, hayvan için önemli bir amino asit kaynağıdır. Ancak bu sentezin etkinliği; rasyon bileşimi, ruminal pH'ı, mikrobiyal çeşitlilik ve yem işleme yöntemlerinden etkilenir. Diyet formülasyonundaki dengesizlikler veya iştikembede olumsuz koşullar, mikrobiyal protein üretimini azaltabilir (Kronzucker ve Siddiqi, 2001).

RDP ile rumende parçalanmayan protein (RUP) arasındaki denge, proteinin etkin kullanımını optimize etmek için kritiktir. RDP, rumen mikrobiyal büyümesi için azot sağlar; sentezlenen mikrobiyal protein daha sonra alt sindirim kanalında sindirilir ve emilir. Ancak, enerjiye göre aşırı RDP alımı rumen ortamında toksik olabilen amonyak birikimine yol açabilir. Tersine, enerjiye göre yetersiz RDP, mikrobiyal protein sentezini sınırlayabilir. Bu nedenle, uygun RDP:RUP oranının korunması gerekir. Çoğu üretim durumunda önerilen ideal oran: %60 RDP %40 RUP. Bu oran, rumende mikrobiyal protein sentezini desteklerken aynı zamanda ince bağırsakta sindirilip emilebilecek yeterli düzeyde bypass protein (RUP) sağlar. Böylece protein kullanım verimliliği artırılarak hayvan sağlığı ve verimliliği optimize edilir (NRC, 2001; Van Soest, 1994).

1.9.2.4. Yönetim ve İşleme Stratejileri

Rumen fonksiyonunu optimize etmek ve yeterli RDP alımını sağlamak, mikrobiyal protein sentezini artırmak ve hayvan performansını desteklemek açısından gereklidir. Rasyon formülasyonu, pH yönetimi ve yem katkı maddeleri kullanımı gibi stratejiler, protein kullanımını geliştirmeye katkı sağlar (Webb vd., 2015).

1.9.2.5. Protein Takviyelerinin Maliyeti ve Erişilebilirliği

Soya küspesi veya pamuk tohumu küspesi gibi ticari protein takviyeleri pahalı olabilir ve piyasa dalgalanmalarına açıktır. Bazı bölgelerde, kaliteli protein kaynaklarına erişim kısıtlı olabilir (Aneja vd., 2019).

1.9.2.6. Aşırı Protein Beslemesinin Çevresel Etkileri

Geniş getiren hayvanlara aşırı protein verilmesi, idrar ve dışkıyla fazla azot atılımına yol açarak nitrat sızıntısı, amonyak salınımı ve sera gazı emisyonları gibi çevre sorunlarına neden olabilir. Bu nedenle, protein alımının besinsel ihtiyaçlarla dengelenmesi çevresel sürdürülebilirlik açısından gereklidir (Sutton vd., 2013).

1.9.2.7. Azot Atılımı ve Çevresel Kirlilik

Geviş getiren hayvanlar, protein metabolizması sırasında karaciğerde sentezlenen üre yoluyla azot atarlar. Diyetteki fazla protein, idrar ve dışkıda artan azot atılımına neden olur. Azot açısından zengin gübre, tarım arazilerine uygulandığında, yer altı sularına azot sızmasına ve içme suyu kaynaklarının kirlenmesine neden olabilir (Beegle ve Meisinger, 1988).

1.9.2.8. Su Kirliliği

Gübreten kaynaklanan azotun yer altı sularına sızması, ötrofikasyon (alg patlaması, oksijen azalması, ekosistem çöküşü) riskini artırır (Hayakawa vd., 2004).

1.9.2.9. Hava Kirliliği

Gübreten salınan amonyak, atmosferde ince partikül madde (PM_{2.5}) ve sekonder aerosol oluşturur. Bu parçacıklar, solunum sağlığını tehdit eder ve hava kalitesini düşürür (Schlesinger, 2009).

1.9.2.10. Sera Gazı Emisyonları

Azot oksit (N₂O), protein metabolizması sonucu oluşan güçlü bir sera gazıdır ve küresel ısınma potansiyeli oldukça yüksektir. Toprakta gerçekleşen mikrobiyal süreçlerle oluşur (Davidson ve Kanter, 2014; Van Groenigen vd., 2010).

1.9.2.11. Toprak Asitlenmesi

Azot fazlalığı, toprak pH'ını düşürür ve alüminyum gibi toksik elementlerin çözünürlüğünü artırarak bitki gelişimini olumsuz etkiler (Galloway vd., 2008).

1.9.2.12. İnsan Sağlığı Üzerindeki Riskler

Yüksek nitrat seviyeleri, özellikle bebekler, hamile kadınlar ve bağışıklık sistemi zayıf bireyler için sağlık riski taşır. Uzun süreli maruziyet, methemoglobinemiye (mavi bebek sendromu) yol açabilir (NRC, 2001).

1.9.2.13. Biyoçeşitlilik Kaybı

Fazla azot birikimi, besin döngüsünü, tür bileşimini ve ekolojik işlevleri bozarak yerel türleri dezavantajlı hale getirir, yaşam alanlarının parçalanmasına ve biyoçeşitliliğin azalmasına neden olur (Kronzucker ve Siddiqi, 2001).

1.9.3. Amonyak Emisyonları ve Çevresel Etkileri

Geniş getiren hayvanların yetiştiriciliğinde ortaya çıkan amonyak (NH_3) emisyonları, çevresel kirliliğin başlıca kaynaklarından biri olarak kabul edilmektedir. Bu emisyonlar, özellikle idrar ve dışkı yoluyla atılan ürenin hayvan vücudu dışında mikrobiyal parçalanmaya uğraması sonucu atmosfere salınır (Webb vd., 2015). Amonyak emisyonlarının yalnızca tarımsal üretimle sınırlı olmayan, hava kalitesinden ekosistem dengesine kadar uzanan çok boyutlu çevresel ve sağlıkla ilişkili etkileri vardır.

1.9.3.1. Hava Kirliliği ve İnce Partikül Oluşumu

Atmosfere salınan amonyak, sülfür dioksit (SO_2) ve azot oksitler (NO_x) gibi diğer kirleticilerle reaksiyona girerek amonyum sülfat ve amonyum nitrat gibi ince partikülleri ($\text{PM}_{2.5}$) oluşturur. Bu partiküller, smog oluşumunu artırır ve hava kalitesini düşürür. Ayrıca solunum yollarına nüfuz ederek dolaşım sistemine geçebilir; bu da astım, bronşit ve kardiyovasküler hastalık riskini artırır (Aneja vd., 2009; Paulot vd., 2014).

1.9.3.2. Çevresel Asitleşme

Amonyakın atmosferdeki dönüşümüyle oluşan amonyum iyonları (NH_4^+), zamanla toprağa ve su kaynaklarına çökerek çevresel asitleşmeye yol açar. Bu durum, topraktaki besin dengesini bozar, mikrobiyal faunayı değiştirir, bitki gelişimini sınırlar ve sucul ekosistemlerde bozulmalara neden olur (Misselbrook ve Chadwick, 2013; Sutton vd., 2013).

1.9.3.3. Ötrofikasyon (Besin Aşırı Yükleme)

Amonyak kaynaklı azot çökeltisi, sucul ortamlarda aşırı alg gelişimini teşvik ederek ötrofikasyona neden olur. Bu süreç, çözünmüş oksijenin tükenmesine, balık ölümlerine, biyolojik çeşitliliğin azalmasına ve su kalitesinin ciddi şekilde bozulmasına yol açar (de Vries vd., 2013).

1.9.3.4. Azot Çökeltisi ve Ekosistem Değişimleri

Atmosferik azot birikimi, ormanlar ve meralar gibi hassas ekosistemlerde bitki kompozisyonlarını değiştirerek besin döngüsünü ve toprak kimyasını bozar. Bu da biyolojik çeşitlilik kaybına, istilacı türlerin yayılımına ve iklim değişikliğine karşı duyarlılığın artmasına neden olabilir (Bouwman vd., 1997; Erisman vd., 2008).

1.9.3.5. Dolaylı İklimsel Etkiler

Amonyak kaynaklı aerosoller, bulutların yansıtma ve soğurma özelliklerini ve ömürlerini değiştirerek bölgesel iklim dinamiklerini ve yağış düzenlerini etkiler. Ayrıca, bu bileşikler atmosferin radyatif dengesini değiştirerek iklim hassasiyetini artırır (Aneja vd., 2009; Sutton vd., 2013).

Sonuç olarak, geniş getiren hayvanlardan kaynaklanan amonyak emisyonları yalnızca hayvancılık sektörüyle sınırlı olmayan, insan sağlığından iklim dengesine kadar geniş bir alanda etkili olan karmaşık bir çevresel sorundur (Erisman vd., 2008; Webb vd., 2015).

1.9.3.6. Sera Gazı Emisyonları

Geniş getiren hayvan üretim sistemleri, başta metan (CH_4) ve diazot monoksit (N_2O) olmak üzere, güçlü sera gazlarının (GHG) başlıca kaynaklarındandır. Bu gazlar küresel ısınmayı ve iklim değişikliğini önemli ölçüde artırmaktadır. Metan, özellikle lifli yem materyallerinin anaerobik sindirimi sırasında enterik fermantasyon sürecinde üretilir (NRC, 2001; Van Soest vd., 1994). Öte yandan, diazot monoksit, gübre, toprak ve tarım ekosistemlerindeki azot dönüşüm süreçlerinden, özellikle nitrifikasyon ve denitrifikasyondan kaynaklanır (Dijkstra vd., 1997).

1.9.3.7. Arazi Kullanımı ve Ormansızlaşma

Yoğun hayvansal üretim sistemleri, özellikle soya fasulyesi ve mısır gibi yem bitkilerinin yetiştirilmesi, ormansızlaşmaya ve arazi dönüşümüne neden olabilmektedir. Bu durum, habitat kaybı, biyolojik çeşitlilikte azalma ve ekosistem bozulmasıyla sonuçlanır (Van

Soest, 1994). Yem üretimi amacıyla ormanların yok edilmesi, karbon sekestrasyon kapasitesinin azalmasına ve temel ekosistem hizmetlerinin bozulmasına yol açmaktadır.

1.9.4. Çevresel Etkinin Azaltılmasına Yönelik Stratejiler

Protein, geniş getiren hayvanların beslenmesinde temel bir besin ögesidir. Ancak bu hayvanların protein gereksinimlerini karşılamak; yem kalitesi, işkembe fermantasyonunun dinamikleri, besin dengesinin sağlanması, maliyet etkinliği ve çevresel sürdürülebilirlik gibi birçok zorluk içermektedir (NRC, 2001; Schwab vd., 2003). Bu zorlukların üstesinden gelmek için, geniş getiren hayvanların besin ihtiyaçlarının kapsamlı bir şekilde anlaşılması ve protein kullanımını optimize ederken atıkları ve çevresel zararı en aza indiren stratejik besleme uygulamalarının benimsenmesi gerekmektedir (Reynolds vd., 2001).

1.9.4.1. Hassas Besleme

Yakın kızılötesi spektroskopi ve gerçek zamanlı izleme sistemleri gibi hassas besleme teknolojilerinin uygulanması, yemlerdeki protein içeriğinin ve bileşiminin daha doğru şekilde kontrol edilmesini sağlar. Bu durum, aşırı azot salınımını ve buna bağlı çevresel kirlenmeyi azaltabilir (Reynolds vd., 2006).

1.9.4.2. Alternatif Protein Kaynakları

Geleneksel protein takviyelerine (örneğin soya küspesi) olan bağımlılığı azaltmak amacıyla, böcek unu, algler, tek hücreli proteinler ve mikrobiyal biyokütle gibi alternatif protein kaynaklarının araştırılması giderek önem kazanmaktadır. Bu alternatifler, yem bitkisi üretiminin, arazi kullanım değişikliğinin ve ormansızlaşmanın çevresel etkilerini azaltabilir (NRC, 2001).

1.9.4.3. Dışkı Yönetimi

Anaerobik fermantasyon, kompostlama ve besin yönetim planlaması gibi en iyi dışkı yönetim uygulamalarının benimsenmesi, amonyak emisyonlarını azaltabilir, kötü koku oluşumunu önleyebilir ve besin geri dönüşümünün verimliliğini artırarak çevresel kirlenmeyi ve kaynak tükenmesini azaltabilir (Dijkstra vd., 1997).

1.9.4.4. Agroekolojik Yaklaşımlar

Tarla-hayvancılık entegrasyonu, rotasyonel otlatma, agrosilvikültür ve bütüncül besin yönetimi gibi agroekolojik ilkelerin benimsenmesi, ekosistemlerin dayanıklılığını artırabilir, biyolojik çeşitliliğin korunmasını destekleyebilir ve geniş getiren hayvan üretim sistemlerinin çevresel ayak izini azaltabilir (Van Soest, 1994).

Bu stratejilerin uygulanması ve çevresel yönetişimi, kaynak verimliliğini ve toplumsal sorumluluğu önceleyen sürdürülebilir geniş getiren hayvan üretim sistemlerinin teşvik edilmesi yoluyla, hayvancılık sektörü çevresel ayak izini azaltabilir ve iklim değişikliğiyle mücadele, biyolojik çeşitliliğin korunması ve sürdürülebilir kalkınma hedeflerinin gerçekleştirilmesi yönünde küresel çabalara anlamlı katkılarda bulunabilir.

1.10. İnek, Koyun ve Keçi Gibi Geviş Getiren Hayvanların Beslenmesinde Kullanılan Mevcut Protein Kaynakları ve Bu Kaynakların Sınırlılıkları

Geviş getiren hayvanların beslenmesinde, özellikle mera ve geleneksel sistemlerde, rasyonların temelini doğal çayırlar ve yonca (*Medicago sativa*) gibi baklagiller oluşturmaktadır. Bu kaba yemler, içerdiği yüksek lif oranı sayesinde işkembenin sağlıklı çalışmasını destekleyerek işkembe hareketliliğini uyarır ve mikrobiyal aktiviteyi teşvik eder. Ayrıca, bu yemler orta düzeyde protein, mineral ve vitamin sağlayarak sindirim sistemi işlevlerinin sürdürülmesine ve besin maddeleri dengesinin sağlanmasına yardımcı olur. Özellikle baklagiller, çayırlara kıyasla daha yüksek protein içeriğine sahiptir ve kalsiyum ile A ve K vitaminleri bakımından zengindir. Ulusal Araştırma Konseyi'nin (NRC, 2001) raporunda ve Mertens (1997)'in çalışmalarında belirtildiği üzere, bu tür kaba yemlerin günlük rasyonlara dahil edilmesi sindirim verimliliğini artırmakta ve süt verimini, ayrıca sütün yağ ve protein bileşimini olumlu yönde etkilemektedir.

Buna karşılık, yoğun üretim sistemlerinde, kaba yemlerin tek başına hayvanın tüm besin ihtiyaçlarını karşılamadığı durumlarda, yoğun yemler tamamlayıcı bir rol üstlenir. Mısır, arpa ve buğday gibi tahıllar, sindirimi kolay ve enerji açısından zengin olmalarına rağmen genellikle düşük protein içeriğine sahiptir. Bu nedenle, bu yemlerin besin değerini artırmak için soya küspesi, kanola küspesi ve ayçiçeği küspesi gibi bitkisel kaynaklı proteinlerle takviye

edilmeleri yaygındır. Bu eklemeler, yüksek protein oranları ve elverişli amino asit profilleri sayesinde rasyonun kalitesini ve besin verimliliğini artırmada etkilidir. Ayrıca, gıda sanayi yan ürünleri olan kurutulmuş damıtık tahıl posası (DDGS) ve yağsız soya küspesi gibi maddeler de yüksek sindirilebilir protein, lif ve enerji içeriği sayesinde rasyonlarda kullanılmaktadır. Schingoethe (2007) araştırmalarına göre, DDGS'nin süt ineklerinin rasyonlarına katılması, sindirimi veya yem tüketimini olumsuz etkilemeden süt üretimini artırabilmektedir.

Hayvansal kaynaklı proteinler ise sağlıkla ilgili kaygılar nedeniyle sınırlı ölçüde ve sıkı düzenleyici gözetim altında kullanılmaktadır. Özellikle sığır süngerimsi beyin hastalığı (BSE) gibi hayvansal artıklarla besleme sonucu ortaya çıkan hastalıkların ardından bu proteinlerin kullanımı dikkatle kontrol edilmektedir. Bununla birlikte, bu tür protein kaynakları bazı özel durumlarda, örneğin hızlı büyüme dönemlerinde veya yüksek düzeyde sindirilebilir proteine ihtiyaç duyulan durumlarda rasyonlara dahil edilebilmektedir. Et-kemik unu, kan unu ve balık unu gibi hayvansal proteinler, yüksek protein oranları ve sindirilebilirliklerinin yanı sıra, bitkisel protein kaynaklarında eksik olabilecek löysin ve metiyonin gibi temel amino asitleri içermeleri bakımından değerlidir. Ayrıca, bu ürünler kalsiyum ve fosfor gibi kemik gelişimi ve süt üretimi için hayati öneme sahip mineralleri de yüksek oranlarda içerir. Stern vd. (1994)'ne göre, hayvansal protein kaynaklarının rasyona dahil edilmesi, azot kullanım verimliliğini artırabilir ve özellikle genç hayvanlarda ya da yoğun besi dönemlerinde büyüme hızını olumlu yönde etkileyebilir.

Bunun yanında, peynir altı suyu (*whey*), peynir altı suyu protein konsantresi (WPC) ve yağsız süt tozu gibi süt endüstrisi yan ürünleri, özellikle buzağılar ve genç geviş getiren hayvanlar için yüksek kaliteli protein kaynakları olarak önem taşır. Bu ürünler, hızlı sindirilebilen proteinlerin yanı sıra gerekli amino asitleri yüksek oranlarda içerir ve aynı zamanda enerji kaynağı olarak işlev gören laktoz ile kalsiyum ve magnezyum gibi temel mineralleri sağlar. Yeni doğan buzağılarının beslenme programlarında bu ürünlerin kullanımı, büyüme, bağışıklık gelişimi ve yemden yararlanma verimliliği açısından önemlidir. Hill vd. (2016) süt ikame ürünlerinde WPC kullanımının günlük canlı ağırlık artışı anlamlı şekilde artırdığını ve sağlık üzerinde olumsuz bir etkisinin olmadığını göstermiştir.

Geviş getiren hayvanlar için dengeli rasyonların oluşturulması, özellikle protein kaynakları olmak üzere, her bileşenin besin özelliklerine dair kapsamlı bir anlayışı gerektirir. Protein miktarı ile kalitesi arasında hassas bir denge sağlanmalı, iştahındaki sindirilebilirlik, amino asitlerin mevcudiyeti ve enerjiyi sağlayan diğer kaynaklarla olan etkileşimler göz önünde bulundurulmalıdır.

1.10.1. Mevcut Protein Kaynaklarının Sınırlılıkları

1.10.1.1. Maliyet ve Erişilebilirlik

Bazı protein kaynakları, özellikle balık unu ve süt ürünleri yan ürünleri gibi yüksek kaliteli hayvansal proteinler, oldukça pahalı olabilir ve ciddi fiyat dalgalanmalarına maruz kalabilir. Ayrıca, belirli bölgelerde veya talebin yoğun olduğu dönemlerde protein takviyelerine ulaşmak zor olabilir; bu durum hem erişilebilirliklerini hem de ekonomik uygulanabilirliklerini olumsuz yönde etkileyebilir (NRC, 2001).

1.10.1.2. Antibesinsel Faktörler

Soya küspesi ve pamuk tohumu küspesi gibi bazı bitkisel kaynaklı proteinler, proteaz inhibitörleri, lektinler ve fitatlar gibi antibesinsel bileşikler içerebilir. Bu bileşikler, besin maddelerinin sindirimini ve emilimini engelleyebilir, yemden yararlanma oranını düşürebilir ve yeterince işlenmediği veya rasyonda uygun şekilde dengelenmediği takdirde hayvan performansını olumsuz etkileyebilir (Van Soest, 1994).

1.10.1.3. Çevresel Etkiler

Geviş getiren hayvanların beslenme sistemlerinde kullanılan protein kaynaklarının üretimi ve kullanımı, arazi kullanım değişikliği, ormansızlaşma, habitat tahribatı ve sera gazı emisyonları gibi önemli çevresel sonuçlara yol açabilir. Özellikle soya fasulyesi ve yağlı tohumlar gibi protein açısından zengin bitkilerin ekimi, ekolojik olarak hassas bölgelerdeki ormanların yok edilmesiyle ilişkilendirilmekte ve bu da biyolojik çeşitliliğin kaybına ve habitatların bozulmasına neden olmaktadır (Reynolds vd., 2019).

1.10.1.4. Besin Dengesizlikleri

Geviş getiren hayvanların beslenme sistemleri; protein, enerji, lif, vitaminler ve mineraller arasında uygun bir dengenin sağlanması amacıyla dikkatle formüle edilmelidir. Belirli protein kaynaklarına aşırı bağımlılık ya da yetersiz dengelenmiş rasyonlar, rumen fermentasyonu, mikrobiyal aktivite ve genel hayvan sağlığı ile verimliliği olumsuz etkileyebilecek besin dengesizliklerine yol açabilir (Huntington, 1997; Mertens, 1994; Tamminga, 2006).

1.10.1.5. Sürdürülebilirlik Kaygıları

Geviş getiren hayvanların diyetlerinde kullanılan protein kaynaklarının sürdürülebilirliği giderek artan bir inceleme altındadır. Kaynak kullanım verimliliği, çevresel etki ve sosyal sorumluluk gibi unsurlar daha fazla önem kazanmaktadır. Özellikle ithal protein yemlerine büyük ölçüde bağımlı olan yoğun hayvancılık üretim sistemleri, kaynakların tükenmesine, çevre kirliliğine ve sosyal eşitsizliklere katkıda bulunabilir. Bu durum, daha dayanıklı ve sürdürülebilir besleme stratejilerine duyulan ihtiyacı vurgulamaktadır (NRC, 2001; Reynolds vd., 2019).

1.10.1.6. Alternatif Protein Kaynakları

Böcek unu, algler, tek hücreli proteinler ve mikrobiyal biyokütle gibi alternatif protein kaynaklarının araştırılması, geviş getiren hayvanların beslenme sistemlerinin çeşitlendirilmesi, geleneksel protein bileşenlerine olan bağımlılığın azaltılması ve protein üretiminin çevresel etkisinin hafifletilmesi açısından umut verici bir fırsat sunmaktadır. Bu yeni protein kaynakları, yüksek besin kalitesi, kaynakların etkin kullanımı ve daha düşük ekolojik etki gibi potansiyel avantajlara sahiptir (Brouwer, 1965; Van Soest, 1994).

1.10.1.7. Protein Değerlendirme ve Formülasyon

Rasyona dahil edilen protein kaynaklarının sindirilebilirliği ve azot fraksiyonlarının bilinmesi gereklidir. Bu kapsamda standardize edilmiş analiz yöntemleri kullanılmalıdır (Licitra vd., 1996). Ayrıca protein ve enerji kaynakları arasındaki etkileşimler dikkate alınmalıdır (Tamminga, 2006).

1.11. Yenilebilir Böcek Larvalarının Geviş Getiren Hayvanlar İçin Protein Kaynağı Olarak Kullanılma Potansiyeli

1.11.1. Geleneksel Kaynaklarla Besin Değeri Karşılaştırması

Hayvansal protein üretim sektörünün karşı karşıya olduğu çevresel ve ekonomik baskıların artmasıyla birlikte, yenilebilir böcek larvaları, geviş getiren hayvanların beslenmesinde yenilikçi ve sürdürülebilir bir alternatif protein kaynağı olarak öne çıkmaktadır. Özellikle kara asker sineği larvaları (*Black Soldier Fly Larvae - BSFL*), un kurdu (*Tenebrio molitor*) ve ev sineği larvaları bu bağlamda en umut verici seçenekler arasında yer almakta olup, yüksek protein içerikleri, üretim kolaylıkları ve yem dönüşüm verimlilikleri ile dikkat çekmektedir. Araştırmalar, bu larvaların kuru madde bazında ham protein içeriğinin %40 ile %60 arasında değiştiğini göstermekte olup, bu oranlar çoğu zaman soya küspesi veya balık unu gibi geleneksel protein kaynaklarıyla kıyaslanabilir ya da bu kaynakları aşabilmektedir (Makkar vd., 2014; Schiavone vd., 2017; 2018).

Böcek kökenli proteini farklı kılan sadece miktarı değil, aynı zamanda kalitesidir. Larva proteinleri, geviş getiren hayvanların besin ihtiyaçlarıyla uyumlu olan lizin, metiyonin ve sistein gibi çok sayıda esansiyel amino asidi içermektedir. Bu doğal amino asit dengesi, biyolojik değeri yüksek bir protein kaynağı sunmakta olup, büyüme, laktasyon ve üreme gibi fizyolojik olarak talepkar dönemlerde büyük önem arz etmektedir (Gasco vd., 2019).

Koyun ve keçi gibi geviş getiren hayvanlar üzerinde yürütülen çalışmalar, böcek proteinlerinin biyoyararlanımının yüksek olduğunu ve sindirim, besin ögesi kullanım oranı ile büyüme ve üretim performansında iyileşmelere yol açabildiğini, ayrıca rumen mikrobiyal popülasyonu veya hayvan sağlığı üzerinde olumsuz bir etki yaratmadığını ortaya koymuştur (El-Sayed, 2020; Jayanegara vd., 2017a). Bu bulgular, böcek proteinlerinin yoğun ve sürdürülebilir hayvancılık sistemlerine entegre edilmesinin uygulanabilirliğini desteklemektedir.

Çevresel sürdürülebilirlik açısından değerlendirildiğinde, böcek yetiştiriciliği, soya fasulyesi veya balık unu üretimine kıyasla çok daha az arazi ve su gerektirmektedir. Ayrıca larvalar, gıda atıkları ve organik artıklar üzerinde yetiştirilebildiği için besin maddelerinin geri dönüşümüne katkı sağlamakta ve karbon salımını azaltmaktadır. Bu yönüyle, böcek larvaları hem yüksek kaliteli bir protein kaynağı hem de etkili bir organik atık biyodönüşüm aracı olarak

çevre dostu bir çözüm sunmaktadır (Surendra vd., 2016; Van Huis vd., 2013). Larva çiftlikleri, dikey tarım sistemleri veya akıllı konteyner üniteleri kullanılarak kurulabilir ve yıl boyunca sürekli ve yüksek verimli üretim sağlanabilir. Bu model, iklim değişikliği veya küresel tedarik zinciri kesintileri karşısında protein tedarikinin güvenliğini desteklemektedir.

Soya ve balık gibi geleneksel protein kaynakları ile karşılaştırıldığında, larva üretimi sürdürülebilirlik açısından birçok avantaj sunmaktadır. Daha az arazi, su ve yem girdisine ihtiyaç duyması ve organik atıkların yem hammaddesi olarak kullanılabilmesi gibi özellikler bu avantajlar arasında yer alır. Böcek yetiştiriciliği sistemleri, daha düşük çevresel ayak izi ile besin geri dönüşümüne ve atık azaltımına katkı sağlar. Bu özellikleriyle larvalar, geviş getiren hayvan yemlerinde çevre dostu protein üretim alternatifleri arasında öne çıkmaktadır (Van Huis vd., 2013).

Lalander vd. (2015) BSFL'nin besin kompozisyonunu ve dışkı atığını işleme potansiyelini araştıran bir çalışma yürütmüşlerdir. Araştırmacılar, protein içeriği, amino asit profili ve diğer besinsel parametreleri analiz ederek BSFL'nin organik atıklardan besin öğelerinin geri kazanımı ve geri dönüşümü açısından uygun olduğunu tespit etmişlerdir. Bu bulgular, BSFL'nin yüksek protein içeriğini ve besinsel potansiyelini ortaya koyarak, bu larvaların geviş getiren hayvanlar dahil olmak üzere hayvan yemlerinde sürdürülebilir protein kaynağı olarak kullanım potansiyeline işaret etmektedir.

Benzer şekilde, Newton vd. (1977) tarafından yürütülen bir başka çalışmada, kurutulmuş BSFL ununun domuz rasyonlarında yem katkı maddesi olarak kullanımı değerlendirilmiştir. Araştırmacılar, larva ununun besinsel kalitesi, sindirilebilirliği ve büyüme performansı üzerindeki etkilerini, geleneksel protein kaynaklarıyla karşılaştırmalı olarak incelemişlerdir. Elde edilen sonuçlar, BSFL ununun yüksek sindirilebilirliğe sahip olduğunu ve büyüme oranları ile yemden yararlanma açısından soya küspesi ve balık unu ile benzer performans sağladığını ortaya koymuştur. Bu çalışma, böcek ununun hayvan beslemesinde uygun bir protein kaynağı olduğunu destekleyen kanıtlar sunmakta ve geviş getiren hayvan beslemesinde de uygulanabilirliğine işaret etmektedir.

1.11.2. Dışkı Mikrobiyotası Temelli Probiyotikler

Dışkı mikrobiyotası temelli probiyotikler, hayvan bilimi alanında gelişmekte olan bilimsel bir kavram olup, sağlıklı hayvanların dışkısından izole edilen faydalı mikroorganizmaların, aynı türden diğer bireylerin sindirim sağlığını ve genel

performansını artırmak amacıyla kullanılmasını esas almaktadır. Bu yaklaşım, insan tıbbında_özellikle kolit gibi bağırsak bozukluklarının dışkı mikrobiyota transplantasyonu (FMT) ile tedavisinde—başarıyla uygulanmış ve şimdi, rumen ve bağırsakta bulunan karmaşık mikrobiyal ekosistemler nedeniyle, geviş getiren hayvanların üretim sistemlerinde artan bir ilgi görmeye başlamıştır. Biyolojik olarak güvenli ve yenilikçi bir strateji olan dışkı kökenli probiyotikler, hayvan sağlığı ve verimliliğini artırma potansiyeli sunmaktadır. Ancak, bu yaklaşımın başarıyla uygulanabilmesi, hassas laboratuvar izolasyon süreçlerine, hayvan deneyleriyle güvenlik ve etkinlik doğrulamasına ve hedef türe uygun suş seçimine bağlıdır (Kumar vd., 2020).

Geviş getiren hayvanlarda rumen, bakteri, mantar ve arkea gibi birçok mikroorganizmanın oluşturduğu zengin ve karmaşık bir ekosisteme ev sahipliği yapar ve bu mikroorganizmalar, bitkisel lifleri parçalayıp uçucu yağ asitlerine (VFAs) dönüştürerek hayvanın temel enerji ihtiyacını karşılar. Ancak yem değişiklikleri, hızlı besi uygulamaları veya çevresel stres gibi etmenler bu dengeyi bozarak rumen asidozu ve düşük yemden yararlanma gibi sindirim bozukluklarına neden olabilir. Bu bağlamda, dışkıdan elde edilen probiyotikler, sindirim sistemine faydalı mikroorganizmaların yeniden kazandırılması yoluyla mikrobiyal dengenin sağlanmasında etkili bir araç olarak öne çıkmaktadır. Bu probiyotikler genellikle *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus* gibi cinslere ait bakterilerle birlikte, *Saccharomyces cerevisiae* gibi faydalı mayaları içermektedir. Bu mikroorganizmalar yem fermentasyonunu artırma ve mukozal bağışıklığı destekleme konularındaki rolleriyle bilinmektedir (Chaucheyras-Durand ve Fonty, 2009).

Sağlık açısından bakıldığında, dışkı mikrobiyotası temelli probiyotikler, bağırsak mukozasını güçlendirerek patojenik bakterilerin epitel dokulara tutunmasını engellemekte ve böylece bağışıklık sistemini desteklemektedir. Birçok çalışma, dışkı kökenli probiyotiklerin ruminant diyetine dahil edilmesinin özellikle buzağılarda ishal sıklığını azalttığını göstermiştir. Nitekim Uyeno vd. (2015) buzağı dışkısından izole edilen probiyotiklerin ilavesinin, laktik asit gibi organik asitlerin üretimiyle bağırsak pH'ını düşürerek zararlı bakterilere (örneğin *E. coli*) karşı bağırsak direncini artırdığını ortaya koymuştur.

Üretim performansı açısından, dışkı kaynaklı probiyotikler, liflerin daha hızlı parçalanmasını ve uçucu yağ asitleri üretimini artırarak yemden yararlanma oranını yükseltebilir. Süt ineklerine dışkı kökenli probiyotiklerin verilmesinin süt verimi ve yem dönüşüm oranını anlamlı şekilde artırdığını bildirmiştir (AlZahal vd., 2008).

Benzer şekilde, Kumar vd. (2020) tarafından Hindistan’da yapılan bir çalışmada, sağlıklı buzağı dışkılarından izole edilen *Lactobacillus* suşlarının verilmesiyle canlı ağırlık kazancında belirgin bir artış kaydedilmiş; bu da bu suşların rumen ortamına fizyolojik olarak adapte olduğunu göstermiştir.

Ayrıca, antibiyotik büyüme destekleyicilerinin küresel ölçekte giderek daha fazla kısıtlandığı günümüzde, dışkı mikrobiyotası temelli probiyotikler, antibiyotiklere alternatif olarak da öne çıkmaktadır. Bu durum, söz konusu probiyotiklerin bağırsak mikrobiyotasını antibiyotik direncine neden olmadan düzenleme kapasitesine dayanmaktadır. Chaucheyras-Durand ve Fonty (2009) *Saccharomyces cerevisiae* mayası ve dışkı kökenli bakterilerin kullanımının rumen pH’ının dengelenmesine ve fermentasyon koşullarının iyileştirilmesine katkı sağladığını; bu etkinin bazı konvansiyonel antibiyotiklerden bile üstün olabileceğini göstermiştir.

Bununla birlikte, dışkı probiyotiklerinin uygulanması bazı zorluklar da barındırmaktadır. Bu mikroorganizmaların depolama süresince ve çiftlikte pratik kullanım sırasında canlılığını ve metabolik aktivitesini koruyabilmesi kritik bir husustur. Gerek yem aracılığıyla gerekse doğrudan oral yolla verildiğinde, probiyotiklerin hayatta kalabilmesi büyük önem taşır. Ayrıca, bu probiyotikler tür özgüllüğü gösterebilir; yani sığırlardan izole edilen mikroorganizmalar koyun veya keçilerde aynı düzeyde etkili olmayabilir. Bu da, uygulamada tür-spesifik suş seçiminin önemine işaret etmektedir (Kumar vd., 2020; Uyeno vd., 2015).

1.12. Geviş Getiren Hayvanlarda Dışkı Kaynaklı Probiyotiklerin Varlığını ve Kompozisyonunu Etkileyen Faktörler

Geviş getiren hayvanlarda dışkı kökenli probiyotiklerin (yani dışkıdan izole edilen yararlı bağırsak mikroorganizmalarının) varlığı ve mikrobiyal kompozisyonu, hem içsel hem de dışsal birçok karmaşık faktör tarafından belirlenmektedir. Bu faktörler; hayvana özgü biyolojik özelliklerin yanı sıra çevresel koşullar, beslenme düzeni ve işletme yönetimi gibi unsurları da içermektedir. Bu etkenlerin doğru anlaşılması, dışkı kaynaklı probiyotiklere verilen yanıtların neden farklılık gösterdiğini açıklamak ve etkili probiyotik suşların tasarlanarak tamamlayıcı olarak kullanılabilmesini sağlamak açısından büyük önem taşımaktadır (Malmuthuge vd., 2015).

1.12.1. Yaş Faktörü

Yaş, dışkı mikrobiyotasının yapısını belirleyen en önemli etkenlerden biridir. Yeni doğan buzağılarda mikrobiyal çeşitlilik sınırlıdır ve doğum kanalı ile temas ve kolostrum alımı gibi erken dönemdeki faktörlerden etkilenir. Zamanla çevresel mikroorganizmalar ve katı yemlerle karşılaşma sonucunda mikrobiyal çeşitlilik artmaya başlar. Özellikle sütten kesilme sonrası, diyetin süt ağırlıklı yapıdan kaba ve yoğun yemlere geçişi, mikrobiyota üzerinde önemli bir değişime yol açar. Malmuthuge vd. (2015) sütten kesilmenin dışkı mikrobiyotasında Firmicutes ve Bacteroidetes gibi lif sindiriminde görev alan bakterilerin artışına neden olduğunu göstermiştir.

1.12.2. Yem Türü ve Kompozisyonu

Hayvanın tükettiği yem tipi ve besin içeriği, dışkıdaki yararlı mikroorganizmaların çeşitliliğini ve yoğunluğunu etkileyen başlıca dışsal faktörlerdendir. Silaj ve kuru ot gibi lif bakımından zengin rasyonlarla beslenen geviş getirenlerde, yüksek nişasta içeren yoğun yemlerle beslenenlere kıyasla farklı mikrobiyal topluluklar gözlemlenmektedir. Lifli rasyonlar, Ruminococcus ve Fibrobacter gibi selüloz parçalayan bakterilerin çoğalmasına olanak tanırken, yüksek nişasta içerikli rasyonlar ise şeker fermentasyonuna eğilimli Prevotella ve Streptococcus gibi bakterilerin artmasına neden olur. Rumen florasındaki bu değişiklikler, doğrudan bağırsak mikrobiyotasına ve sonuç olarak dışkı kaynaklı probiyotiklerin yapısına yansımaktadır. Petri vd. (2013) yaptığı bir çalışmada, yem değişikliklerinin yalnızca birkaç gün içinde dışkı mikrobiyotasında ciddi değişimlere yol açtığı bildirilmiştir.

1.12.3. Hayvanın Sağlık Durumu

Hayvanın genel sağlık durumu da dışkı mikrobiyotasını doğrudan etkilemektedir. İshal ya da enterit gibi sindirim sistemi bozuklukları yaşayan geviş getirenlerde, mikrobiyal çeşitlilik ve yoğunluk ciddi oranda değişiklik gösterir. Örneğin, *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* gibi yararlı bakteri türlerinin sayısı azalırken, *Escherichia Coli* ve *Clostridium perfringens* gibi patojen mikroorganizmaların yoğunluğu artabilir. Kronik inflamasyonlar ise bağırsak ortamında pH değişimleri ve mukus kompozisyonunda bozulmalara neden olarak yararlı mikrobiyal toplulukların stabilitesini zayıflatabilir. Kanada'da süt buzağıları üzerinde yapılan bir çalışmada, sık ishal geçiren bireylerde sağlıklı buzağılara kıyasla dışkı mikrobiyal çeşitliliğinin önemli ölçüde azaldığı gösterilmiştir (Slanzon, 2022).

1.12.4. İlaç Tedavileri ve Antibiyotik Kullanımı

Antibiyotiklere maruz kalma, dışkı mikrobiyotasında geniş çaplı bozulmalara yol açmakta, yararlı bakteri türlerini seçici olmayan bir şekilde ortadan kaldırmaktadır. Bu durum, doğal probiyotik çeşitliliğinin azalmasına ve antibiyotiklere dirençli bakterilerin bağırsakta çoğalma riskinin artmasına neden olur. Özellikle tetrasiklin gibi bazı antibiyotikler, faydalı anaerobik bakterileri daha fazla etkilemektedir. Kim (2012) tarafından süt inekleri üzerinde yürütülen bir çalışmada, antimikrobiyal tedavilerin rumen ve bağırsak mikrobiyotasında önemli değişimlere neden olduğu ve bu etkinin tedavi sona erdikten sonra haftalarca sürdüğü tespit edilmiştir.

1.12.5. Çevresel ve Yönetsel Faktörler

Sıcaklık, nem, ahır hijyeni ve barınak yapısı gibi çevresel faktörler de mikrobiyota dengesi üzerinde önemli rol oynar. Hijyenik olmayan ya da sürekli nemli ortamlarda barındırılan hayvanlar, patojen mikroorganizmalarla daha fazla temas ettikleri ve çevresel mikrobiyal çeşitlilikten yoksun kaldıkları için mikrobiyota dengesizliklerine daha yatkındır. Kapalı ve yoğun üretim sistemlerinde yetiştirilen hayvanlar, açık alan ya da organik sistemlerde yetiştirilenlere kıyasla çevresel mikrobiyal çeşitlilikten daha az faydalanırlar. Bir çalışmada, organik açık sistemlerde yetiştirilen geviş getirenlerin dışkı mikrobiyotasının, konvansiyonel yoğun sistemlerde yetiştirilenlere göre daha çeşitli ve stabil olduğu gösterilmiştir (Zeineldin, 2019).

1.12.6. Genetik Yapı ve Tür Spesifikliği

Genetik faktörler ve hayvan türüne özgü özellikler de bağırsak mikrobiyotasının kompozisyonunu etkileyen unsurlardır. Örneğin, bazı sığır ırklarının belirli mikrobiyal türleri taşıma konusunda genetik eğilim gösterdiği bilinmektedir. Genom dizileme teknikleri kullanılarak yapılan araştırmalar, aynı çevresel ve beslenme koşullarında yetiştirilen farklı sığır ırkları arasında bile dışkı mikrobiyotasında belirgin farklılıklar olduğunu ortaya koymuştur. Ayrıca, sığır, koyun ve keçi gibi türler arasındaki sindirim fizyolojisi ve anatomik farklılıklar da dışkı probiyotiklerinin kompozisyonunu etkilemektedir. Örneğin, keçi gibi küçük geviş getiren hayvanlar, genellikle sığırlara kıyasla daha az çeşitli bir bağırsak mikrobiyotasına sahiptir (Malmuthuge ve Guan, 2017).

1.13. Hayvan Beslenmesinde Larva Takviyesinin Dışkı Kaynaklı Probiyotikler Üzerindeki Etkisi

Özellikle geviş getiren hayvanlarda, larva takviyesinin dışkı kaynaklı probiyotikler üzerindeki etkisini araştıran çalışmalar halen devam etmektedir. Bununla birlikte, birçok çalışma bu gelişmekte olan alana dair önemli bulgular sunmuştur (Cutrim vd., 2020).

1.13.1. Mikrobiyal Çeşitlilik ve Kompozisyonundaki Değişiklikler

Hayvan rasyonlarına larva eklenmesinin dışkı mikrobiyotasının çeşitliliği ve yapısı üzerinde etkili olabileceği gösterilmiştir. Örneğin, kanatlılar üzerinde yapılan araştırmalar, larva unu içeren yem takviyelerinin Firmicutes ve Bacteroidetes gibi bazı bakteri filumlarının bolluğunda değişikliklere neden olabileceğini ortaya koymuştur; bu gruplar bağırsak sağlığı ve besin metabolizması açısından kritik öneme sahiptir (Cutrim vd., 2020).

Benzer şekilde, domuzlar üzerine yapılan çalışmalar, diyetlerine larva unu eklendikten sonra dışkı mikrobiyotasında değişiklikler gözlemlendiğini bildirmiştir. Bu değişiklikler, mikrobiyal toplulukların yeni besin substratlarına uyum sağlamasını ve larvalardan türetilen proteinlerin ve metabolitlerin mikrobiyal aktivite üzerindeki etkilerini yansıtabilir (Newton vd., 1977).

1.13.2. Mikrobiyal Metabolizma ve Fonksiyon Üzerine Etkiler

Larvalara dayalı yem takviyelerinin, bağırsak mikrobiyotasının metabolik işleyişi ve fonksiyonel aktiviteleri üzerinde etkili olduğu gösterilmiştir. Örneğin, domuzlar üzerinde yapılan çalışmalar, dışkıdaki metabolit profillerinde, özellikle kısa zincirli yağ asitleri (SCFA) konsantrasyonlarında değişiklikler meydana geldiğini ortaya koymuştur. Bu durum, mikrobiyal fermantasyon düzenlerinde ve besin maddesi kullanımında kaymalar olduğunu göstermektedir (Renna vd., 2017).

Ayrıca, larvalardan türetilen biyolojik olarak aktif proteinlerin ve bileşiklerin, yararlı bakterilerin büyümesini teşvik ederek ve patojenlerin çoğalmasını baskılayarak mikrobiyal faaliyetleri düzenleyebileceği öne sürülmektedir. Bu etkiler, larvalara dayalı diyetlerle beslenen hayvanlarda bağırsak sağlığını iyileştirebilir ve bağışıklık fonksiyonlarını destekleyebilir (Gobbi vd., 2019).

1.13.3. Hayvan Performansı ve Sağlığı Üzerine Etkiler

Larva takviyesinin yalnızca mikrobiyota değil, aynı zamanda hayvanların genel performansı ve sağlığı üzerindeki etkileri de çeşitli çalışmalarda incelenmiştir. Kanatlılar, domuzlar ve balıklar üzerinde yürütülen araştırmalarda, larva bazlı yemlerin büyüme performansı, yemden yararlanma oranı ve hastalıklara karşı direnç açısından farklı sonuçlar verdiği bildirilmiştir (Cutrim vd., 2020; Renna vd., 2017; Salahuddin vd., 2024).

Bazı çalışmalar olumlu etkiler bildirirken, diğerleri geleneksel yemleme sistemleriyle karşılaştırıldığında anlamlı bir fark gözlemlememiştir. Larva türü, yem formülasyonu, besleme uygulamaları ve çevresel koşullar gibi faktörler bu sonuçları etkileyebilir ve daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir (Vasta vd., 2021).

Mevcut araştırmalar, hayvan rasyonlarına larva unu eklenmesinin mikrobiyal çeşitliliği, metabolizmayı ve bağırsak fonksiyonlarını etkileyebileceğini göstermektedir. Ancak, bu etkilerin altında yatan mekanizmaların netleştirilmesi ve hayvan sağlığı ile verimliliğini artırmaya yönelik larva bazlı besleme stratejilerinin optimize edilmesi için ilave çalışmalara ihtiyaç vardır.

Bu çalışmanın temel amacı, kara asker sineği larvalarının (*Hermetia illucens*) süt sığırlarının rasyonlarına alternatif protein kaynağı olarak eklenmesinin, farklı mikrobiyal ortamlar (rumen sıvısı, taze dışkı, dondurulmuş dışkı) üzerindeki etkilerini in vitro koşullarda değerlendirmektir. Özellikle larva katkısının fermentasyon parametreleri (gaz, metan, amonyak üretimi, pH) ile sindirilebilirlik ve uçucu yağ asidi profili üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Deneyin bir diğer amacı, larvaların içerdiği protein, yağ ve enzimlerin mikrobiyal aktiviteyle olan etkileşimini ortaya koymaktır. Böylece hem sindirime katkı düzeyi hem de çevresel açıdan önemli olan metan salınımı üzerindeki etkisi anlaşılmak istenmiştir. Ayrıca, alternatif mikrobiyal kaynak olarak dışkı kullanımının geçerliliği ve BSFL'nin bu ortamlardaki işlevselliği incelenmiştir. Bu sayede, hem ekonomik hem de sürdürülebilir yem katkıları konusunda bilimsel dayanak sağlanması hedeflenmiştir. Sonuçlar, ruminant beslemede yenilikçi ve çevre dostu çözümler geliştirmeye katkı sağlayabilir.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Numune Materyali

Bu çalışmada kullanılan kara asker sineği larvalarına Şekil 2.1’de yer verilmiştir.



Şekil 2.1. Kurutulmuş kara asker sineği (*Hermetia illucens*) larvaları

2.1.1. Yenilebilir Larvalar ve Diyet Uygulamaları

Bu çalışmada, geviş getiren hayvanlardaki sindirim süreçlerini taklit eden in vitro fermentasyon üzerindeki etkilerini değerlendirmek amacıyla, hayvansal protein için alternatif bir kaynak olarak kara asker sineği (*Hermetia illucens*) larvaları seçilmiştir. Denemede, larva içermeyen bir kontrol grubunun yanı sıra, her biri farklı oranlarda larva unu içeren üç deney grubu oluşturulmuştur: HFT fermentasyon şırıngasına sırasıyla %0,01, %0,02 ve %0,1 düzeyinde larva ilave edilmiştir. Bu düşük seviyedeki ilave oranları, anaerobik fermentasyon sistemlerinde larvaların etkili olabileceği en düşük düzeyi belirlemeyi amaçlayan önceki çalışmalar temel alınarak seçilmiştir.

Larva unu, larvaların 60 °C sıcaklıkta sabit bir etüvde 48 saat boyunca kurutulmasıyla hazırlanmış ve nem oranı %10'un altına düşürülmüştür. Tamamen kuruyan larvalar, yüksek devirli elektrikli bir öğütücü kullanılarak ince ve homojen bir toz haline getirilmiştir. Diyet grupları arasında eşit dağılım sağlamak amacıyla, her bir miktar hassas bir terazi ile titizlikle tartılmıştır.

2.2. Kuru Madde Tayini

2.2.1. Hazırlık ve Kurutma Prosedürleri

Bu çalışma, kara asker sineği (*Hermetia illucens*) larvalarının ruminant diyetine eklenmesinin üç farklı mikrobiyal ortamda (rumen sıvısı, taze dışkı ve dondurulmuş dışkı) fermantasyon aktivitesi üzerindeki etkisini değerlendirmeyi amaçlamıştır. Besin değerlerinin standardizasyonunu sağlamak ve farklı ortamlar arasında doğru karşılaştırmalar yapabilmek adına, öncelikli ve temel bir adım olarak kuru madde (KM) analizi gerçekleştirilmiştir.

Larva yem ile karıştırıldıktan sonra her ortamdan üç temsili örnek hazırlanmıştır. Her bir örnek yaklaşık 0,5 gram olacak şekilde tartılmış ve porselen krozelere yerleştirilmiştir. Numuneler, tüm nem içeriğinin uzaklaştırılması amacıyla 105 °C sıcaklıktaki etüvde 24 saat boyunca kurutulmuştur. Kurutma işlemi tamamlandıktan sonra krozeler desikatöre alınarak sabit ağırlığa ulaşınca kadar bekletilmiş ve ardından hassas terazi ile tartılmıştır. Kuru madde yüzdesi aşağıdaki denklem kullanılarak hesaplanmıştır:

$$\% \text{ KM} = ((K - D) / NM) \times 100$$

Burada:

K = Kurutma sonrası numuneyle birlikte krozenin ağırlığı

D = Boş krozenin ağırlığı

NM = Kurutma öncesi yaş numunenin ağırlığı

Aynı işlem, rumen sıvısı ve dondurulmuş dışkı ortamlarından alınan örnekler için de uygulanmıştır. Dondurma işleminin nem dağılımı ve kuruma verimliliği üzerindeki olası etkileri göz önünde bulundurulmuştur.

Her ortam için ortalama kuru madde yüzdesi hesaplanmış ve bu değerler, gaz üretimi, amonyak, metan, sindirilebilirlik verimliliği ve uçucu yağ asitleri konsantrasyonuna ilişkin sonuçların yorumlanmasında kullanılmıştır. Bu aşama, larva ilavesinin mikrobiyal aktivite ve fermentatif tepkimeler üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesinde kritik bir rol oynamaktadır.

2.3. Ham Protein Miktarının Belirlenmesi

Toplam azot içeriğini belirlemek amacıyla klasik üç aşamalı Kjeldahl yöntemi (yaş yakma, distilasyon ve titrasyon) kullanılmış ve elde edilen azot miktarı uygun bir dönüşüm katsayısı ile ham protein içeriğine çevrilmiştir.

Yaş yakma aşamasında, organik bileşikler parçalamak ve azotu amonyum formunda açığa çıkarmak için Gerhardt VAPODEST 45s Carousel cihazı kullanılmıştır. Her örnek için üç tekerrür yapılmış ve her Kjeldahl tüpüne 1 gram kurutulmuş kara asker sineği (*Hermetia illucens*) larvası yerleştirilmiştir. Ayrıca her tüpe bir adet Gerhardt katalizör tableti ve 25 mL derişik sülfürik asit (H_2SO_4) eklenmiştir. Tüpler, çözeltinin berraklaşmasına kadar yüksek sıcaklıkta sindirim ünitesinde ısıtılmış, bu da organik maddenin tamamen parçalandığını göstermektedir.

Sindirim tamamlandıktan sonra tüpler, distilasyon ve titrasyon aşamalarının gerçekleştirildiği Gerhardt Kjeldatherm cihazına aktarılmıştır. Distilasyon aşamasında, yaş yakma sonucunda oluşan amonyum sülfat, güçlü sodyum hidroksit (NaOH) çözeltisi eklenerek amonyak gazına dönüştürülmüş ve bu gaz, borik asit (H_3BO_3) çözeltisinde tutulmuştur. Elde edilen çözeltideki amonyak miktarı, belirli derişimdeki sülfürik asit (H_2SO_4) ile titrasyon yapılarak belirlenmiştir. Bu işlem sırasında %40 NaOH, %4 borik asit (göstergeli) ve 0,25 N sülfürik asit gibi reaktifler dikkatle kullanılmıştır.

Ham protein miktarı, AOAC (2000) yönergelerinde belirtilen ve kuru madde bazında ifade edilen aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır:

$$\% \text{ Ham Protein} = (\text{Toplam Titrant Tüketimi} \times 1,2495) / \text{Numune Miktarı (g)}$$

TS (Toplam Titrant Tüketimi): Titrasyonda kullanılan sülfürik asit hacmi (mL).

NM (Numune Miktarı): Tüp başına konulan örnek miktarı (gram olarak), bu çalışmada 1 gramdır.

Bu prosedür, kara asker sineği larvası örneklerinden alınan üç tekerrür için tekrarlanmış ve elde edilen ortalama değer, larvalardaki ölçülebilir protein miktarının kesin bir göstergesi olarak hesaplanmıştır. Bu değer, larvaların geniş getiren hayvanların beslenmesinde protein kaynağı olarak kullanım potansiyelinin değerlendirilmesinde temel bir parametre olarak kabul edilmektedir.

2.4. Ham Yağ İçeriğinin Tayini

Ham yağ oranını belirlemek amacıyla, AOAC (2000) yöntemine uygun olarak Gerhardt SOX-416 otomatik yağ ekstraksiyon cihazı kullanılarak bir deney gerçekleştirilmiştir.

Öncelikle, boş ekstraksiyon beherleri hassas bir şekilde tartılmış ve tara ağırlıkları (B) belirlenmiştir. Her beher içerisine Soxhlet ekstraksiyon kartuşları yerleştirilmiştir. Daha önce etüvde kurutulmuş olan siyah asker sineği (*Hermetia illucens*) larvalarından üç temsili örnek alınmıştır. Her örnekten yaklaşık 0,5 gram (örneğin: 0,502 g, 0,498 g, 0,504 g) tartılarak ilgili kartuşlara konulmuştur. Daha sonra her üniteye çözücü olarak 150 mL eter ilave edilmiştir.

Cihaz, yağın tam ekstraksiyonunu sağlamak amacıyla 39 °C sıcaklıkta ve sirkülasyon modunda 8 saat boyunca çalıştırılmıştır. Ekstraksiyon işlemi tamamlandıktan sonra beherler 105 °C sıcaklıkta bulunan kurutma fırınına aktarılmış ve çözücünün tamamen buharlaştırılması için iki saat boyunca fırında tutulmuştur. Ardından beherler desikatöre alınarak ortam neminden etkilenmeden sabit ağırlığa ulaşması sağlanmıştır.

Son olarak, beherler yeniden tartılmış ve analiz sonrası nihai ağırlık (ABA) belirlenmiştir. Ham yağ yüzdesi aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır:

$$\% \text{ HY} = ((\text{ABA} - \text{B}) / \text{NM}) \times 100$$

ABA = Analiz sonrası beherin ağırlığı

B = Boş beherin tara ağırlığı

NM = Kullanılan numunenin ağırlığı

Eterin tamamen uzaklaştırılması, doğru kurutma ve hassas tartım işlemleri, sonuçların güvenilirliğini sağlamak açısından büyük önem taşımaktadır. Bu adımlar tüm numuneler için tekrarlanmış ve siyah asker sineği larvalarındaki ham yağ oranını belirlemek üzere ortalama

değerler hesaplanmıştır. Elde edilen bu değer, larvaların enerji ve yağ açısından zengin bir yem katkı maddesi olarak değerlendirilmesinde temel bir gösterge niteliğindedir.

2.5. Ham Kül İçeriğinin Tayini

Organik maddelerin uzaklaştırılması ve örnekte kalan mineral içeriğinin nicel olarak belirlenmesi amacıyla kuru yakma yöntemi uygulanmıştır. İlk olarak, üç adet porselen kroze dikkatlice temizlenmiş, tamamen kurutulmuş ve analitik terazi ile hassas bir şekilde tartılarak boş ağırlıkları kaydedilmiştir. Her bir kroze yaklaşık 0,5 gram kurutulmuş siyah asker sineği (*Hermetia illucens*) larva tozu eklenmiş ve kroze ile birlikte toplam ağırlık yaklaşık 33,80 gram olacak şekilde hazırlanmıştır; bu değerler örnekler arasında küçük farklılıklar gösterebilir.

Hazırlanan örnekler, Protherm PLF 110/6 model kül fırınına yerleştirilmiş ve sıcaklık 600 °C'ye ayarlanmıştır. Yaklaşık 5 ile 6 saat süresince sürekli olarak gerçekleştirilen bu işlemde, tüm organik bileşiklerin tamamen parçalanması sağlanmış ve sadece sabit ağırlıkta inorganik mineral kalıntıları kül şeklinde elde edilmiştir. Yakma işleminin tamamlanmasının ardından, krozeler fırın içinde oda sıcaklığına kadar yavaşça soğutulmuş, ardından dikkatlice çıkarılarak tekrar tartılmıştır. Son ağırlıktan krozenin başlangıçtaki boş ağırlığı çıkarılarak, elde edilen kül miktarı hesaplanmış ve böylece siyah asker sineği larvalarının ham kül içeriği belirlenmiştir.

Kuru örnekteki ham kül yüzdesi aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır:

$$\% \text{ HK} = ((K - D) / NM) \times 100$$

K = Yakma işleminden sonra kül ile birlikte krozenin ağırlığı

D = Örnek eklenmeden önce krozenin boş ağırlığı

NM = Yakma öncesi kullanılan örnek miktarı (gram)

Bu sonuç, yakma işleminden sonra kalan kuru maddenin önemli bir bölümünün inorganik minerallerden oluştuğunu göstermektedir. Bu durum, hazırlık aşamasında siyah asker sineği larvalarının yüksek kül içeriğine sahip olduğunu ortaya koymaktadır. Elde edilen bu veriler, larvaların yem katkı maddesi olarak besin ve mineral değerinin değerlendirilmesi açısından temel öneme sahiptir.

2.6. Ham Selüloz Tayini

Yem numunelerindeki ham selüloz (Ham Selüloz) içeriğini belirlemek amacıyla AOAC (2000) resmi yöntemi uygulanmıştır. Bu kapsamda üç temsili numune analiz edilmiştir. Yaklaşık 0,5 gram numune her bir örnekten özenle tartılarak cam tüplere konulmuştur. Daha sonra her tüpe 12,5 mL glasiyel asetik asit ile 2,5 mL konsantre nitrik asit ilave edilmiştir. Organik maddelerin çözünmesini sağlamak amacıyla tüpler, 30 dakika boyunca kaynar su banyosunda bekletilerek ısıtılmıştır.

Soğutma işleminin ardından tüplerin içeriği Gooch porselen krozeleri kullanılarak süzölmüş ve çözünmeyen lif kalıntıları bu krozelerde tutulmuştur. Kalıntılar, kalan asitleri uzaklaştırmak için sıcak saf su ile iyice yıkanmış, ardından hızlı kuruma ve çözünür kalıntıların giderilmesi amacıyla birkaç kez aseton ile yıkanmıştır. Daha sonra krozeler 105 °C’de kurutma fırınına yerleştirilmiş ve sabit ağırlığa ulaşana kadar bekletilmiştir. Kurutma sonrası, krozeler desikatöre alınarak soğutulmuş ve ardından kurutma sonrası kütleleri (K) belirlenmiştir.

Bir sonraki aşamada, kurutulmuş kalıntıyı içeren krozeler 600 °C sıcaklıktaki kül fırınına yerleştirilerek 2 ile 3 saat boyunca yakılmıştır. Bu işlemle organik içerik tamamen uzaklaştırılmıştır. Krozeler tekrar desikatörde soğutulmuş ve yakma sonrası kütleleri (KN) hassas şekilde tartılmıştır. Başlangıçtaki numune miktarı (NM=0,5 gram) dikkate alınarak kuru madde bazında ham selüloz oranı aşağıdaki formöl ile hesaplanmıştır:

$$\% HS = ((K - KN) / NM) \times 100$$

K = Kurutma sonrası krozenin ve numunenin toplam ağırlığı

KN = Yakma sonrası krozenin ve kalan külün toplam ağırlığı

NM = Başlangıçta kullanılan numunenin miktarı (0,5 gram)

Bu yöntem, numunedeki sindirilemeyen lif miktarının belirlenmesini sağlar ve hayvanların yemden yararlanma potansiyelinin değerlendirilmesinde önemli bir parametre olarak kabul edilir. Siyah asker sineği larvalarının alternatif protein kaynağı olarak kullanım bağlamında, ham selüloz içeriğinin belirlenmesi; larva ilavesinin rasyonun lif yapısına ve genel sindirilebilirliğine etkisinin değerlendirilmesine katkı sunar.

2.7. Hayvansal Materyal

Bu çalışmada kullanılan rumen sıvısı, Türkiye Tarım ve Orman Bakanlığı'na bağlı olan ve hayvancılık alanında araştırma ve eğitim faaliyetleri yürüten uluslararası nitelikteki Lalahan Hayvancılık Araştırma ve Eğitim Merkezi'nde kalıcı kanüllere sahip Holstein ırkı ineklerden elde edilmiştir. Rumen sıvısı, sabah yemlemesinden bir saat sonra, mikrobiyal canlılığın korunması amacıyla önceden 39 °C'ye kadar ısıtılmış ve steril edilmiş termoslara doğrudan kanülden alınarak toplanmıştır. Alınan örnekler, laboratuvar çalışmalarının gecikmeden başlatılması için en kısa sürede Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı'ndaki laboratuvara taşınmıştır.

Bu deneyde, fermentasyon ortamı için mikrobiyal inokulum kaynağı olarak 30 mL rumen sıvısı kullanılmış ve anaerobik fermentasyonu destekleyen kararlı bir ortam sağlamak amacıyla Menke ve Steingass (1988) protokolüne uygun olarak hazırlanan tampon çözeltisi ile 1:2 oranında karıştırılmıştır.

2.8. Yem Materyalleri

Bu çalışmada kullanılan yem örnekleri, laboratuvar koşullarında rumen fizyolojisini gerçeğe en yakın şekilde taklit edebilmek amacıyla kanüllü süt ineklerine günlük olarak verilen rasyondan temin edilmiştir. Deneme rasyonu, enerji ve lif dengesini sağlamak amacıyla süt inekleri için yaygın olarak kullanılan bir formülasyon olan %50 konsantre yem ve %50 kaba yem oranından oluşmuştur. Kaba ve konsantre yemlerin besin madde içerikleri, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı'nda yapılan kimyasal analizlerle tespit edilmiştir. Analizlerde klasik Weende yöntemi uygulanmış olup, kuru madde, ham protein, ham selüloz, ham kül ve ham yağ (eter ekstraktı) gibi parametreler incelenmiştir.

Çalışmada, deneysel yem karışımına kurutulmuş siyah asker sineği (*Hermetia illucens*) larvalarının üç farklı düzeyde ilavesi yapılmıştır: %0,01, %0,02 ve %0,1 (her 200 mL fermentasyon ortamı başına). Ayrıca, hiçbir larva içermeyen bir kontrol grubu (%0) oluşturulmuştur. Bu miktarlar, %50 konsantre ve %50 kaba yem karışımıyla homojen şekilde karıştırılarak her grupta eşit dağılım sağlanmıştır. Bu uygulama, siyah asker sineği larvalarının farklı düzeylerde eklenmesinin biyogaz üretimi, amonyak, metan, uçucu yağ asitleri (UYA),

pH değeri ve sindirilebilirlik verimliliği üzerindeki etkilerini; üç farklı fermentasyon ortamında (doğal rumen sıvısı, taze dışkı ve dondurulmuş dışkı) değerlendirmeyi amaçlamaktadır.

2.9. Laboratuvar Ortamında Gaz Üretim Tekniği (In Vitro)

Bu çalışmada rumen koşullarını taklit etmek amacıyla laboratuvar ortamında yapılan bir in vitro fermentasyon tekniği uygulanmıştır. Fermentasyon, her biri 100 mL hacminde olan cam şişelerde gerçekleştirilmiş ve şişelere 30 mL fermentasyon sıvısı eklenmiştir.

Fermentasyon ortamı, temel bir yem rasyonu ile birlikte, her deneme grubuna göre belirlenen miktarda böcek larvası unu içermekteydi. Mikrobiyal inokulum kaynağı olarak rumen sıvısı veya dışkı kullanılmıştır. Rumen sıvısı, kanülü bulunan geviş getiren hayvanlardan elde edilerek iri partiküllerin uzaklaştırılması amacıyla çift katlı gazlı bezden süzölmüştür. Paralel yürütölen deneylerde, aynı hayvanlardan elde edilen taze dışkı ve -20 °C’de dondurulmuş dışkı örnekleri alternatif mikrobiyal kaynak olarak kullanılmıştır. Taze dışkı bir saat içinde kullanılırken, dondurulmuş dışkı örnekleri yavaşça çözöndürölerek deneylere dahil edilmiştir. Bu yöntem, üç farklı mikrobiyal ortamın (rumen sıvısı, taze dışkı ve dondurulmuş dışkı) fermentasyon sürecindeki etkinliğini karşılaştırmayı amaçlamaktadır.

Rumen sıvısı veya dışkı materyali, fermentasyon süresince pH’nın sabit kalmasını sağlamak amacıyla özel olarak hazırlanmış bir tampon çözelti ile 1:2 oranında (bir kısım inokulum, iki kısım tampon) karıştırılmıştır. Tampon çözeltisi (Çizelge 2.1); sodyum bikarbonat (9,8 g/L), monopotasyum fosfat (0,57 g/L), sodyum klorür (0,47 g/L) ve magnezyum sülfat (0,12 g/L) içermekte olup, mikrobiyal büyümeyi destekleyen ve anaerobik fermentasyonu teşvik eden stabil bir ortam sağlamaktadır.

Çizelge 2.1. İn-vitro gaz üretimininde kullanılan kimyasal solüsyonların içeriği

Solüsyon	İçerik
Makro mineral solüsyonu	5,7 gram sodyum dihidrojen fosfat (Na_2HPO_4) 6,2 gram Potasyum dihidrojen fosfat (KH_2PO_4) 0,6 gram Magnezyum sülfat (MgSO_4) 1 lt'ye dH ₂ O ile tamamlanır.
Mikro mineral solüsyonu	13,2 g Kalsiyum klorid dihidrat ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 10 g Manganez klorid tetrahidrat ($\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) 1,0 g Kobalt Klorür Heksahidrat ($\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) 0,8 g Demir II Klorür heksahidrat ($\text{FeCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) 1 lt' ye dH ₂ O ile tamamlanır.
Tampon solüsyonu	35 g Sodyum bikarbonat (NaHCO_3) 4 g Amonyum bikarbonat ($(\text{NH}_4)\text{HCO}_3$) 1 lt' ye dH ₂ O ile tamamlanır.
Resazurin solüsyonu	100 ml' ye 100 mg resazurin

Fermentasyon şişeleri, 39 °C sıcaklığa ayarlanmış çalkalamalı bir inkübatöre yerleştirilmiş ve rumen motilitesini taklit etmek amacıyla 50 devir/dakika hızında sürekli hareket halinde tutulmuştur. Fermentasyon süreci tamamen anaerobik koşullar altında gerçekleştirilmiş, şişeler sıkıca kapatılmış ve içlerindeki oksijen uzaklaştırılmıştır. İnkübasyon süresi toplam 48 saat sürmüştür.

Fermentasyon süresince mikrobiyal aktiviteyi değerlendirmek amacıyla çeşitli parametreler ölçülmüştür. Belirli zaman noktalarında toplam gaz ve metan üretimi, enjektörler veya hassas basınç sensörleri kullanılarak kaydedilmiştir. Fermentasyon gazlarının bileşimini analiz etmek için gaz kromatografisi cihazı kullanılmış; özellikle metan miktarı, organik maddenin mikrobiyal parçalanma etkinliğini değerlendirmek amacıyla izlenmiştir.

Fermentasyonun sonunda, ortamın pH değeri dijital bir pH metre ile derhal ölçülmüştür. Amonyak ($\text{NH}_3\text{-N}$) analizi için örnekler 0,2 M hidroklorik asit ile sabitlenmiş ve absorbans değerleri 625 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak analiz edilmiştir. Ayrıca, asetik, propiyonik ve bütirik asit gibi uçucu yağ asitleri (VFA), %25'lik derişik sülfürik asit ile korunarak -20 °C'de saklanmış ve analizleri gaz kromatografisi ile gerçekleştirilmiştir.

2.9.1. Üç Deneysel Ortamda pH Değerinin Belirlenmesi

pH, geviş getiren hayvanlarda fermentasyon verimliliğini ve mikrobiyal stabiliteyi değerlendirmek için kullanılan hayati bir biyolojik göstergedir. Yem bileşenlerinin çözünürlüğü, besin maddelerinin biyoyararlanımı ve sindirim ortamındaki mikrobiyal denge üzerinde doğrudan etkili olup, optimal fermentasyon koşullarında rumen sıvısının pH değeri genellikle 6,0 ile 7,0 arasında tutulur. Bu aralık, etkili mikrobiyal aktivitenin devamını sağlar ve rumen asidozu veya alkalozu gibi sindirim bozukluklarının önüne geçer.

Bu çalışmada, siyah asker sineği larvalarının eklenmesinin pH stabilitesi üzerindeki etkisini değerlendirmek amacıyla, üç farklı fermentasyon ortamında (rumen sıvısı, taze dışkı ve dondurulmuş dışkı) pH ölçümleri periyodik olarak gerçekleştirilmiştir. Ölçümler sırasında, her ortamın mikrobiyal özellikleri arasındaki farkların karşılaştırılması da hedeflenmiştir.

Her fermentasyon ortamından örnekler, belirlenmiş inkübasyon sürelerinde (3, 6, 12, 24 ve 48 saat) alınmış ve örneklerin atmosferik oksijene maruz kalmasını en aza indirmek için sıkı anaerobik koşullar sağlanmıştır. Aksi takdirde, pH üzerinde yanıltıcı değişiklikler meydana gelebilirdi.

Tüm ölçümler için cam kombine elektrot ile donatılmış yüksek hassasiyetli bir pH metre kullanılmıştır. Ölçümlerden önce, cihaz pH 4,00, 7,00 ve 10,00 tampon çözeltileri ile kalibre edilerek veri doğruluğu güvence altına alınmıştır. Her bir örnek, fermentasyon şişesinden çıkarıldıktan hemen sonra elektrotla daldırılmış ve pH değerleri anında kaydedilmiştir (Henderson vd., 2015).

2.9.2. Üç Farklı Deneme Ortamında Amonyak Azotu ($\text{NH}_3\text{-N}$) Konsantrasyonunun Belirlenmesi

Rumen sıvısı, taze dışkı ve dondurulmuş dışkı gibi farklı mikrobiyal ortamlardan elde edilen laboratuvar örneklerinde amonyak azotu ($\text{NH}_3\text{-N}$) konsantrasyonunun ölçülmesi, geviş getiren hayvanlarda protein metabolizması etkinliği ve azot kullanımının değerlendirilmesinde temel bir adımdır. Bu parametre, diyetle alınan protein, mikrobiyal protein sentezi ve azotun dışkı ya da uçucu formlarda kaybı arasındaki dengeyi yansıtır. Ayrıca, kara asker sineği larvaları unu gibi yem katkılarının etkisini değerlendirmede önemli bir göstergedir.

2.9.2.1.Örnek Toplama ve İlk Hazırlık

Fermentasyon denemeleri, 39 °C'de 48 saat süren anaerobik inkübasyondan sonra üç farklı ortamdan (rumen sıvısı, taze dışkı, -20 °C'de saklanan dondurulmuş dışkı) örneklerin toplanmasıyla gerçekleştirilmiştir. Her 5 mL'lik plastik tüpe örnek alımından hemen sonra %98 derişimli sülfürik asitten 2–3 damla eklenerek amonyak düzeylerinin sabitlenmesi ve mikrobiyal aktivitenin ya da azot uçuculuğunun devam etmesi önlenmiştir.

2.9.2.2. Örneklerin Saklanması ve Analiz Öncesi Çözülmesi

Asitle sabitlenen tüm örnekler, azot bileşiklerinin stabilitesini korumak amacıyla -20 °C'de muhafaza edilmiştir. Kimyasal analiz öncesinde örnekler, kimyasal yapılarını korumak ve tüm tekrarlar arasında sıcaklık farkını en aza indirmek amacıyla +4 °C'de yavaşça çözündürülmüştür.

2.9.2.3. NH₃-N Konsantrasyonunun Kimyasal Analizi

NH₃-N belirlemesi, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda, UV-Vis spektrofotometre (Shimadzu UV-1208) cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Tepkime ürünlerinin absorbansı yüksek hassasiyetle ölçülmüştür.

Amonyak konsantrasyonu, indofenol mavisi reaksiyonuna dayanan kolorimetrik yöntemle belirlenmiştir. Çözdürülmüş örnekten küçük bir hacim, fenol ve sodyum nitroprusit içeren bir reaktif ile karıştırılmış (Çizelge 2.2); ardından alkali hipoklorit çözeltisi eklenerek amonyanın reaktifle tepkimeye girip mavi renkli bir bileşik oluşturması sağlanmıştır.

Çizelge 2.2. Amonyak analizde kullanılan solüsyonlar

Solüsyon	İçerik
Solüsyon 1	106 mmol/L Fenol (9,9976 g/L) 0,17 mmol/L Sodyum Nitroprusid (0,051 g/L) 1 lt' ye dH ₂ O ile tamamlanır
Solüsyon 2	125 mmol/L NaOH (5 g/L) 10 ml/L Sodyum hipoklorit (%5 klorlu) 1 lt' ye dH ₂ O ile tamamlanır.
Standart solüsyon	5 mmol/L Amonyum kloñir (0,267 g/L) 1 lt' ye dH ₂ O ile tamamlanır.

Amonyak konsantrasyonu aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır:

$$\text{mmol/L Amonyak} = (\text{Absorbans} \times 5) / \text{Std.}$$

Bu mavi bileşiğin optik yoğunluğu 546 nm dalga boyunda spektrofotometre ile ölçülmüştür. Elde edilen mavi rengin yoğunluğu, örnekteki NH₃-N konsantrasyonu ile doğru orantılıdır.

2.9.2.4. Laboratuvar Koşullarında Gerçekleştirilen Fermentasyon Sürecinde Açığa Çıkan Metan Gazı Konsantrasyonunun Belirlenmesi

Bu çalışmada, siyah asker sineği (*Hermetia illucens*) larvalarının farklı oranlarda ilavesinin metan gazı üretimi üzerindeki etkilerini değerlendirmek amacıyla, üç farklı mikrobiyal ortamda (rumen sıvısı, taze dışkı ve donmuş dışkı) metan gazı üretimi ölçülmüştür.

2.9.2.1.1. Gaz Örneklemesi

48 saat süren inkübasyon periyodunun sonunda, her bir fermentasyon şırıngasının üst boşluk kısmından 10 mL gaz, gaz geçirmez bir enjektör ile çekilmiştir. Elde edilen gaz örnekleri, gaz bileşiminin bozulmasını veya kontaminasyonunu önlemek amacıyla hava geçirmez tüplere ya da özel gaz şırıngalarına aktarılmıştır. Bu işlem, tüm deneysel ortamlarda standartlaştırılmış koşullar altında aynı şekilde uygulanmıştır.

2.9.2.1.2. Gaz Kromatografisi (GC) ile Metan Analizi

Toplanan gaz örnekleri, uygun bir kolon ve dedektörle donatılmış gaz kromatografisi (GC) cihazı kullanılarak analiz edilmiştir. Bu çalışmada, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı'nda bulunan Shimadzu marka bir GC sistemi kullanılmıştır. Ölçümler için Carboxen-1006 PLOT tipi analitik kolon (30 m × 0,53 mm) tercih edilmiş, cihaz analiz öncesinde Fluka marka standart metan çözeltisi ile kalibre edilerek doğruluk sağlanmıştır.

2.9.2.1.3. GC Analiz Prosedürü

Cihazın hazırlanmasının ardından, gaz örnekleri gaz geçirmez enjektör veya otomatik enjeksiyon ünitesi ile GC kolonuna enjekte edilmiştir. Kolon (Çizelge 2.3) içerisinden geçen gaz bileşenleri, tutunma sürelerine bağlı olarak ayrılmış; ardından metan molekülleri, alev

iyonizasyon dedektörü (FID) aracılığıyla tespit edilmiştir. FID, metan konsantrasyonuna orantılı elektriksel sinyal üretmiş ve bu sinyaller metana ait karakteristik kromatogram pikleri olarak kaydedilmiştir. Pik alanları ve yükseklikleri, daha önce oluşturulmuş kalibrasyon eğrisiyle karşılaştırılarak numunelerdeki metan konsantrasyonları hesaplanmıştır.

Metan konsantrasyonları kalibrasyon eğrisine göre hesaplanmış ve uygun birimlerle (örneğin: ppm veya mikrogram/gram) ifade edilmiştir. Daha sonra, siyah asker sineği larvalarının farklı dozlarda ilave edildiği deney grupları ile larva eklenmemiş kontrol grubu arasındaki metan üretim değerleri; rumen sıvısı, taze dışkı ve donmuş dışkı ortamlarında karşılaştırılmıştır. İşlemler arasında gözlenen farkların istatistiksel olarak anlamlı olup olmadığını belirlemek amacıyla tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve Duncan çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır.

Çizelge 2.3. Metan analizinde gaz kromatografi belirlemeye yönelik teknik veriler

Cihaz	(Shimadzu, 2010)
Kolon Uzunluğu	30 m
Dolgu Malzemesi	Carboxen-1006 PLOT, 30 m x 0,53 mm kolon
Sıcaklık	220 °C
Dedektör	FID (220)
Enjeksiyon Bloğu	200 °C
Taşıyıcı gaz	Helyum Akış hızı: 11,15 ml/dak
Basınç	49,0 kPa

2.9.2.1.4. Veri Analizi ve Yorumlama

2.9.3. Üç Farklı Fermentasyon Ortamında Uçucu Yağ Asitleri (VFAs) Analizi

Bu çalışmada, üç farklı mikrobiyal ortamdan—rumen sıvısı, taze dışkı ve dondurulmuş dışkı—elde edilen örneklerde uçucu yağ asitleri analizi gerçekleştirilmiştir. Amaç, siyah asker sineği larvalarının (*Hermetia illucens*) yemlere eklenmesinin her bir ortamda VFA üretimi üzerindeki etkisini değerlendirmektir.

2.9.3.1. Örnek Toplama ve Analize Hazırlık

Rumen sıvısı örnekleri, hem larva katkılı hem de katkısız yemlerle inkübe edilen in vitro fermentasyon şişelerinden alınmıştır. Benzer şekilde, daha önce -20 °C'de saklanmış olan taze ve dondurulmuş dışkı örnekleri, deneysel yemle karıştırılarak laboratuvar ortamında fermente edildikten sonra toplanmıştır. VFA bileşiklerinin kimyasal stabilitesini korumak ve bozulmalarını önlemek amacıyla tüm örnekler analiz zamanına kadar -20 °C'de muhafaza edilmiştir. Analiz günü, örnekler kimyasal bütünlüklerini koruyacak şekilde 5 °C'de yavaşça çözündürülmüştür.

2.9.3.2. Gaz Kromatografisi (GC) Analizi

Hazırlanan örnekler, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı'nda yer alan Shimadzu marka gaz kromatografi (GC) cihazı kullanılarak (Çizelge 2.4) analiz edilmiştir. Numune enjeksiyonundan önce cihaz, asetat, propiyonat ve bütirat gibi temel uçucu yağ asitlerini içeren standart bir VFA karışımı kullanılarak kalibre edilmiştir. Bu işlem, her bir asit için kalibrasyon eğrileri oluşturularak kantitatif ölçümlerin doğruluğunu sağlamayı amaçlamıştır.

Çizelge 2.4. UYA analizinde gaz kromatografi belirlemeye yönelik teknik veriler

Cihaz	
Kolon Uzunluğu	30 m
Kolon Malzemesi	Teknokroma TRB-FFAP Part Number TR-150535 30 m x 0,50 µm
Sıcaklık	220 °C
Dedektör	FID (250)
Enjeksiyon Bloğu	230 °C
Taşıyıcı gaz	Helyum Akış hızı: 11,15 ml/dak
Basınç	49,0 kPa
Volatile Free Acid Mix standardı	Her biri 10 mm derişiminde olacak şekilde, 100 mL saf su içerisinde hazırlanmış Accustandard standard çözeltisi
Kat no	FAMQ-004

2.9.3.3. Analitik Prosedür

Hazırlanan örnekler, bölünmüş enjeksiyon (split injection) tekniği ile GC kolonuna enjekte edilmiştir. Kolon içerisinde VFA bileşenleri, tutulma sürelerine bağlı olarak ayrılmıştır. Ayrıştırılan asitler, alev iyonizasyon detektörü (FID) ile tespit edilmiş ve her bir asidin oluşturduğu pik alanı veya yüksekliği kaydedilmiştir. Her bir VFA'nın konsantrasyonu, elde edilen kromatografik veriler kalibrasyon eğrileri ile karşılaştırılarak hesaplanmıştır.

2.9.3.4. Veri Analizi ve Yorumlama

Her fermentasyon ortamı (rumen sıvısı, taze dışkı, dondurulmuş dışkı) için her bir VFA'nın konsantrasyonu belirlenmiş ve toplam uçucu yağ asitleri (TVFA) miktarı hesaplanmıştır. Daha sonra, her ortamda larva katkılı gruplarla kontrol grubu arasındaki farklar incelenmiş; ayrıca üç farklı mikrobiyal ortam arasında çapraz karşılaştırmalar yapılmıştır. Böylece hem ortamın tipi hem de eklenen larva miktarlarının VFA üretimine etkisi değerlendirilmiştir.

Farklı larva düzeyleri arasındaki anlamlı farkları belirlemek amacıyla, istatistiksel analizlerde tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve Duncan çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır. Bu analizler, fermentasyon aktivitesi ile besin kullanım verimliliği üzerindeki etkilerin bilimsel açıdan değerlendirilmesine imkan tanımıştır.

2.9.4. In Vitro Rumen Sindirilebilirliğinin Belirlenmesi

Bu çalışmada, Robinson vd. (1999) tarafından tanımlanan yönteme uygun olarak, ANKOM DAISY II sistemi (Şekil 2.2) kullanılarak kuru madde (KM), organik madde (OM) ve nötr deterjan lif (NDF) bozunma düzeylerini belirlemek amacıyla in vitro rumen sindirilebilirliği analizi gerçekleştirilmiştir.

Analizlerde, 25 mikrondan büyük partikülleri tutabilme özelliğine sahip polyester/poliyeten karışımı ANKOM F57 filtre poşetleri kullanılmıştır. Mikrobiyal aktiviteyi etkileyebilecek kalıntıların giderilmesi amacıyla bu poşetler önceden aseton ile yıkanmış, ardından kurutulmuş ve her biri ayrı ayrı tartılarak boş ağırlıkları kaydedilmiştir.

Her bir deneme grubuna ait yem örneklerinden 0,5 g alınarak, kara asker sineği (*Hermetia illucens*) larvalarının yem ağırlığına göre farklı düzeylerde (%0, %0,01, %0,02 ve %0,1) dahil edildiği örnekler hazırlanmış ve ANKOM protokolüne uygun şekilde poşetlere yerleştirilmiştir. Her inkübasyon kavanozu için toplam 24 kese hazırlanmış ve her kavanoza, kurutma veya yakma sonrası poşet ağırlığını düzeltmek için kapalı bir boş poşet eklenmiştir. Bu protokol, üç farklı mikrobiyal ortam için bağımsız olarak uygulanmıştır:

Rumen sıvısı denemesinde, taze alınmış ve filtrelenmiş rumen sıvısı mikrobiyal inokulum olarak kullanılmış, farklı larva düzeyleri içeren deneme yemi ile karıştırılmıştır. Ardından bu karışım, özel olarak hazırlanmış fermentasyon tampon solüsyonu (A ve B çözeltileri) (Çizelge 2.5) ile 5:1 oranında (1600 mL tampon + 400 mL rumen sıvısı) karıştırılarak inkübatör sistemine aktarılmıştır.



Şekil 2.2. Daisy II inkübatörü (Ankom Teknoloji Şirketi, Fairport, New York, NY, ABD)

Çizelge 2.5. inkübasyonda kullanılan tampon çözeltiler

Çözelti	İçerik
Tampon Çözeltisi A	10 g mono potasyum fosfat (KH_2PO_4),
	0,5 g magnezyum sülfat heptahidrat ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$),
	0,5 g sodyum klorür (NaCl)
	0,1 g kalsiyum klorür dihidrat ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)
	0,5 g üre (reaktif)
	1 lt'ye dH_2O ile tamamlanır.
Tampon Çözeltisi B	5 g sodyum karbonat (Na_2CO_3)
	1,0 g sodyum sülfür nonahidrat ($\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$)
	1 lt'ye dH_2O ile tamamlanır

Taze dışkı denemesinde, aynı işlemler uygulanmış, ancak mikrobiyal kaynak olarak taze dışkı kullanılmıştır. Dışkı, kaba partiküllerin uzaklaştırılması için gazlı bezden süzölmüştür.

Donmuş dışkı denemesinde, önceden -20 °C'de dondurulmuş dışkı numuneleri oda sıcaklığında çözödürölerek kullanılmış, aynı protokol izlenmiş ve olası mikrobiyal aktivite azalması dikkate alınmıştır.

Poşetler inkübasyon kavanozlarına yerleştirildikten sonra, her kavanoz 30 saniye boyunca CO₂ gazı ile yıkanarak anaerobik ortam sağlanmış, ardından sıkıca kapatılmış ve 39 °C'de 48 saat süreyle inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda poşetler çıkarılarak akan su altında iyice yıkanmış ve nihai analiz yapılana kadar -20 °C'de saklanmıştır. Analizler ANKOM Fiber Analyzer cihazı ile gerçekleştirilmiştir.

Sindirim parametrelerinin hesaplanmasında aşağıdaki formöller kullanılmıştır:

%IVTD: Genel *in vitro* gerçek sindirilebilirlik

%IVTDDM: Kuru madde oranına göre düzeltilmiş *in vitro* gerçek sindirilebilirlik

%IVTDOM: *İn vitro* gerçek organik madde sindirilebilirliği

%IVTDNDF: Nötr deterjan lif (NDF) sindirilebilirliği

Hesaplama formölleri:

$$\%IVTD = 100 - ((W3 - (W1 \times C1)) \times 100 / W2)$$

$$\%IVTDDM = [100 - ((W3 - (W1 \times C1)) \times 100) / W2] \times (KM / 100)$$

$$\%IVTDOM = 100 - ((W2 \times NDF / 100) - ((W3 - (W1 \times C1)) / W2 \times NDF / 100))$$

$$\%IVTDNDF = 100 - ((W2 \times W4) - ((W3 - (W1 \times C2)) \times OM / 100)) / (W2 \times W4)$$

Değişkenler:

W1: Boş poşetin ağırlığı

W2: Numune ağırlığı

W3: Ekstraksiyon sonrası ağırlık

W4: Organik madde miktarı (poşetlerin yakılmasıyla belirlenen ağırlık kaybı)

C1: Kurutma sonrası düzeltme katsayısı (etüv sonrası ağırlık / ilk boş poşet ağırlığı)

C2: Yakma sonrası kül düzeltme katsayısı (yakım sonrası ağırlık / ilk boş poşet ağırlığı)

KM: Yemin kuru madde oranı

Bu prosedürler her üç mikrobiyal ortam için titizlikle tekrarlanmış ve elde edilen veriler, mikrobiyal kaynak ve larva düzeylerinin sindirilebilirlik ve bozunma verimliliği üzerindeki etkilerini karşılaştırmak amacıyla istatistiksel analizlere tabi tutulmuştur.

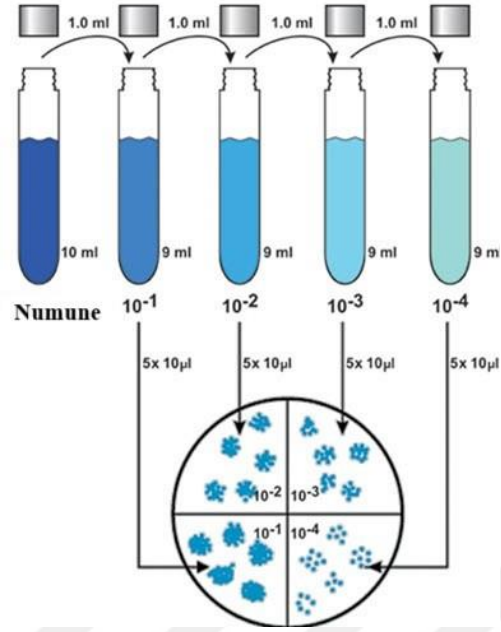
2.9.5. Drop Plate Tekniği Kullanılarak Rumen Sıvısında ve Taze Dışkıda Lactobacillus Sayım

2.9.5.1. In Vitro Damla Plaka Tekniği: Lactobacillus Bakterilerinin Sayımında Uygulanan Yöntem.

Damla plaka tekniği, mikrobiyolojik analizlerde yaygın olarak kullanılan, özellikle Lactobacillus spp. gibi yararlı bakterilerin sayımında etkili, pratik ve maliyet açısından avantajlı bir yöntemdir. Bu teknik, işkembe sıvısı veya taze dışkı gibi biyolojik materyallerdeki canlı bakteri yoğunluğunu belirlemek amacıyla tercih edilmektedir.

2.9.5.2. Örnek Hazırlığı ve Seyreltme İşlemleri

Analiz edilecek biyolojik örnekten (örneğin 1 g dışkı veya 1 ml rumen sıvısı) alınan belirli miktar, 9 ml steril fizyolojik tuz çözeltisinde (%0,85 NaCl) homojenize edilmiştir. Elde edilen süspansiyon, vortex cihazı veya benzeri bir karıştırıcı yardımıyla 1–2 dakika boyunca çalkalanmıştır. Ardından, bu süspansiyondan seri onluk seyreltmeler (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} vb.) hazırlanmıştır (Şekil 2.3). Bu adım, sayılabilir düzeyde koloni elde edilebilmesi için kritik öneme sahiptir (Herigstad vd., 2001).



Şekil 2.3. Standart Yöntem için sulandırma serisini takiben damla plaklama tekniği

2.9.5.3. Besiyeri Hazırlığı (MRS Agar)

Lactobacillus türlerinin selektif olarak üremesini destekleyen MRS agar besiyeri hazırlanmıştır. Bu ortam; glikoz, pepton, maya özütü ve sodyum asetat gibi Lactobacillus'un gelişimini destekleyen özel içerikler barındırmaktadır. Besiyeri steril Petri kutularına dökülerek katılaştırılmış ve uygulama için hazır hale getirilmiştir (De Man vd., 1960).

2.9.5.4. Damlatma Aşaması

Steril mikropipet yardımıyla, her seyreltmeden 0,5 mikrolitrelik (μL) hacimde örnek alınarak agar yüzeyine dikkatlice damlatılmıştır. Genellikle aynı Petri kutusuna 3 ile 5 farklı seyreltmeden damlalar uygulanmıştır. Damlalar arasında yeterli mesafe bırakılmasına dikkat edilmiş; bu, kolonilerin üst üste binmesi engellenmiştir.

2.9.5.5. İnkübasyon (Kuluçka Süreci)

Hazırlanan petri kapları, 37 °C'de 38 saat süreyle, anaerobik koşullarda inkübe edilmiştir. Lactobacillus spp. için anaerobik veya düşük oksijenli ortamlar en uygun gelişim koşulları sağlanmıştır. Anaerobik ortam, özel inkübasyon, anaerobik kavanozlar yardımıyla sağlanmıştır.

2.9.5.6. Koloni Sayımı ve Hesaplama

İnkübasyon süresinin ardından, her bir damla ayrı ayrı incelenerek görünür koloni sayısı kaydedilmiştir. Sayım sonuçları, seyreltme katsayısı ile çarpılmış ve örnekteki toplam canlı bakteri yoğunluğu CFU/gr veya CFU/ml cinsinden hesaplanmıştır. Kullanılan temel formül şu şekildedir:

$$\text{CFU/g} = \text{ortalama koloni sayısı} \times 20 \times \text{Seyreltme katsayısı}$$

2.9.6. İstatistiksel Analiz

Laboratuvar ortamında yürütülen fermentasyon deneylerinden elde edilen verilerin analizinde SPSS istatistik programı (versiyon 18,0, Inc., Chicago, IL, ABD) kullanılmıştır. Bu çalışmada üç farklı mikrobiyal ortamda—rumen sıvısı, taze dışkı ve dondurulmuş dışkı—toplam gaz üretimi, metan gazı üretimi, amonyak (NH₃) konsantrasyonu, pH değeri, in vitro organik madde sindirilebilirliği (IVOMD) ve uçucu yağ asitleri (VFA) konsantrasyonu gibi bir dizi biyolojik parametre değerlendirilmiştir. Kara asker sineği larvalarının farklı konsantrasyonlarının etkilerini karşılaştırmak amacıyla, her bir mikrobiyal ortam için ayrı ayrı tek yönlü varyans Analizi (One-Way ANOVA) yapılmıştır. İstatistiksel analizlerde Dawson'un (2001) belirttiği yöntem temel alınmıştır.

3. BULGULAR

3.1.Yem Değeri Analizleri

Kara asker sineği larvalarının besin madde içeriğine ait analizler, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda Weende yöntemi ile yapılmış olup, elde edilen sonuçlar izelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Larva Weende analiz değerleri (KM'de, %)

İçerik	%
Ham Protein	34,32
Ham Yağ	44,06
Ham Selüloz	4,84
Ham Kül	8,11
Kuru Madde	91,89
Organik Madde	83,78

3.2. Yem Bileşimi ve Besin Değerleri

In vitro anaerobik fermentasyon ve gaz üretim tekniğinde, Türkiye Cumhuriyeti Tarım ve Orman Bakanlığı'na bağlı Lalahan'da bulunan Uluslararası Hayvancılık Araştırma ve Eğitim Merkezi'nde tutulan rumen kanlasyonlu hayvanlara rutin olarak verilen yem maddeleri kullanılmıştır. Temel yem bileşenleri; kuru buğday samanı, kuru fiğ samanı ve konsantre yemden oluşmuştur. Bu yemler öğütlerek %50 kaba yem ve %50 konsantre yem oranında bir rasyon hazırlanmış ve çalışmada kullanılmıştır. Kullanılan konsantre ve kaba yemin bileşimi izelge 3.2'de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Kullanılan konsantre ve kaba yemin bileşimi

%	Konsantre Yem	Kaba Yem
Kuru Madde	91,99	93,55
Ham Protein	17,09	7,57
Ham Yağ	0,51	0,47
Ham Selüloz	4,78	22,10
Ham Kül	7,25	6,50
NDF	42,62	

3.3. İn Vitro İnkübasyon Sonucu Oluşan Gaz Üretim Değerleri

3.3.1. Rumen Sıvısı Ortamında

Çizelge 3.3 ve Şekil 3.1, siyah asker sineği larvalarının farklı oranlarda yeme eklenmesinden sonra in vitro rumen sıvısı ile gerçekleştirilen inkübasyon sürecinde oluşan kümülatif gaz üretim miktarlarını yansıtmaktadır. Gaz üretimi; 3, 6, 9, 12, 24 ve 48 saat olmak üzere altı farklı inkübasyon zamanında değerlendirilmiştir.

Üçüncü saatte, tüm gruplarda ortalama gaz üretimi nispeten düşük bulunmuş, değerler yaklaşık olarak 7,3 ile 17,4 mL arasında değişmiştir. Tek yönlü varyans analizi (ANOVA) gruplar arasında son derece anlamlı bir fark olduğunu göstermiştir ($F=36,754$, $p=0,001$). Duncan çoklu karşılaştırma testi, %0,01 oranında larva ilave edilen grup ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir. Ancak %0,02 ve %0,1 oranlarında larva eklenen gruplarda gaz üretiminin anlamlı derecede arttığını ortaya koymuştur. Bu durum, fermantasyonun başlangıç aşamasında yüksek larva konsantrasyonlarının gaz üretimini kayda değer şekilde teşvik ettiğini ortaya koymaktadır.

Altıncı saatte, tüm gruplarda özellikle %0,02 ve %0,1 konsantrasyonlarında gaz üretiminde önemli bir artış gözlemlenmiş, ortalama değer yaklaşık 41,3 mL'ye ulaşmıştır. ANOVA analizi çok yüksek düzeyde anlamlı bir fark göstermiştir ($F=13,294$, $p<0,001$). Duncan testi, yüksek konsantrasyon gruplarının (%0,02 ve %0,1) birbirine benzer, ancak kontrol ve %0,01 grubundan istatistiksel olarak farklı olmadığını göstermiştir. Bu durum, larva konsantrasyonundaki artışın bu aşamada fermantasyon ve gaz üretimini önemli ölçüde desteklediğini göstermektedir.

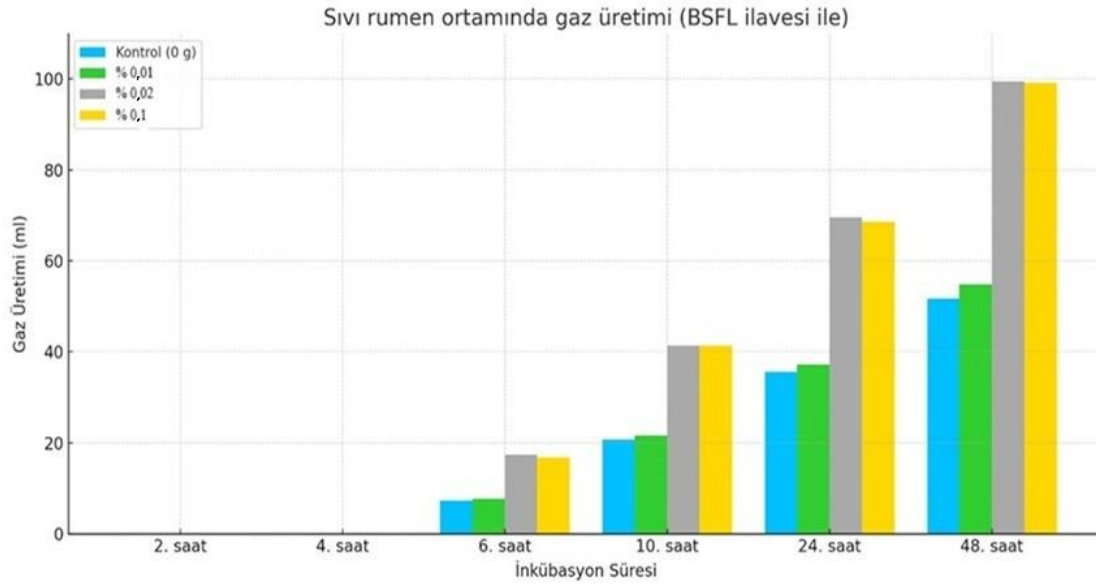
Dokuzuncu saatte, gruplar arasındaki farklılıklar devam etmiştir ancak fark, önceki zaman noktasına kıyasla biraz daha az belirgin bulunmuştur ($F=6,966$, $p=0,001$). Kontrol ve %0,01 gruplarında gaz üretim değerleri (36–37 mL) daha düşük kalırken, %0,02 ve %0,1 gruplarında gaz üretimi belirgin biçimde artarak yaklaşık 68–69 mL'ye ulaşmıştır. Duncan testi, düşük ve yüksek konsantrasyon grupları arasında anlamlı fark olduğunu doğrulamış, böylece yüksek larva oranlarının fermantasyon aktivitesi ve gaz üretimi üzerinde etkisinin sürdüğünü göstermiştir.

Çizelge 3.3. Farklı siyah asker sineği larvası (*Hermetia illucens*) konsantrasyonlarının rumen sıvısında farklı zamanlarda ölçülen in-vitro gaz üretimi (ml) üzerine etkisi (ortalama $\pm$ standart hata)

Gruplar	Üç saat	Altı saat	Dokuz saat	Oniki saat	Yirmidört saat	Kırksekiz saat
Kontrol (%0)	7,33 $\pm$ 0,44 b	20,78 $\pm$ 2,1 7 b	35,67 $\pm$ 4,5 4 b	51,78 $\pm$ 7,49 b	72,00 $\pm$ 11,65 b	92,22 $\pm$ 16,59
Larva (%0,01)	7,78 $\pm$ 0,49 b	21,67 $\pm$ 2,7 5 b	37,22 $\pm$ 5,0 8b	54,78 $\pm$ 8,37 b	75,67 $\pm$ 12,02 b	95,89 $\pm$ 17,00
Larva (%0,02)	17,44 $\pm$ 1,3 4 a	41,33 $\pm$ 3,8 7 a	69,56 $\pm$ 9,4 7 a	99,44 $\pm$ 16,1 2 a	133,56 $\pm$ 23,9 9 a	162,33 $\pm$ 29,7 1
Larva (%0,1)	16,78 $\pm$ 0,7 8 a	41,33 $\pm$ 3,6 5a	68,56 $\pm$ 8,2 3a	99,11 $\pm$ 13,9 8a	132,00 $\pm$ 21,5 1a	161,00 $\pm$ 28,7 4
P-değeri	0,001	0,001	0,001	0,007	0,026	0,061
n	9	9	9	9	9	9

a,b; Ortalama değerler farklı harflerle temsil edildiğinde, aralarındaki farkların istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir. Her grupta fermentasyonun 48. saatinde fermentasyon ortamında bulunan gaz üretimi yoğunluğu ortalaması ($\bar{x}$) ve standart hata ($S\bar{x}$) değerleri gösterilmektedir. Değerler her bir grup için belirtilen saatlerde in-vitro gaz üretiminin ortalamasını ve standart hata değerini göstermektedir.

Deneyde kullanılan yem karışımı %50 kaba yem ve %50 konsantre yemden oluşmaktadı



Şekil 3.1. Rumen sıvısı ortamında gaz üretimi (BSFL ile)

On ikinci saatte, gruplar arasındaki anlamlı farklılıklar devam etmiş ($F=4,863$, $p=0,007$) ve %0,02 ile %0,1 gruplarında gaz üretimi 99 mL'nin üzerine çıkmıştır. Buna karşılık, kontrol grubunda ortalama değer yaklaşık 51 mL olarak kalmıştır. Duncan analizi, yüksek ve düşük konsantrasyonlar arasında güçlü bir istatistiksel fark olduğunu doğrulamıştır. Bu durum, larva oranı arttıkça fermentasyonun daha da güçlendiğini göstermektedir.

Yirmi dördüncü saatte, gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($F=3,523$, $p=0,026$). Kontrol ve %0,01 katkılı larva grubu ile benzer bulunurken, %0,02 ve %0,1 larva içeren gruplar birbiri ile benzer bulunmuştur. Bu durum dokuzuncu saat, on ikinci saat ve yirmidördüncü saatte fermentasyon seyrinin benzer olduğunu göstermektedir. Bu aşamada, %0,02 ve %0,1 larva içeren grupların gaz üretim değerleri birbirine yaklaşmış ve zamanla fermentasyon aktivitesinin daha homojen hale geldiği gözlemlenmiştir.

Kırk sekizinci saatte gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark tespit edilememiştir ($F=2,720$, $p=0,061$). Ancak, %0,02 ve %0,1 gruplarında gaz üretimi 160 mL'nin üzerine çıkarak yüksek seviyede kalmıştır. Duncan testi, tüm gruplar arasında istatistiksel bir yakınsama olduğunu göstermiştir. Bu sonuçlar, fermentasyon sürecinin bir doygunluk noktasına ulaştığını ve larva konsantrasyonundaki ek artışların artık gaz üretiminde belirgin farklılıklara yol açmadığını göstermektedir.

3.3.2. Taze Dışkı Ortamında

Siyah asker sineği larvalarının farklı konsantrasyonlarının gaz üretimi üzerindeki etkisini değerlendirmek amacıyla gerçekleştirilen in vitro deneyde, üçüncü saatte elde edilen sonuçlar tüm gruplarda gaz üretiminin tamamen yok olduğunu ortaya koymuştur (Çizelge 3.4). Ortalama üretim sıfır olarak kaydedilmiş ve herhangi bir standart sapma gözlenmemiştir. Bu durum, mikrobiyal aktivitenin henüz başlamadığını ve taze dışkıdaki fermentasyon ortamının, rumen sıvısına kıyasla daha uzun bir aktivasyon süresine ihtiyaç duyduğunu göstermektedir.

Altıncı saate gelindiğinde, fermentasyon belirtileri kademeli olarak ortaya çıkmaya başlamış ve gruplar arasında belirgin bir gaz üretimi farkı gözlenmiştir. Kontrol grubunda ortalama gaz hacmi 0,11 mL iken, en yüksek larva konsantrasyonu (%0,1) uygulanan grupta bu değer 3,11 mL'ye ulaşmıştır. ANOVA analizleri gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar olduğunu göstermiş, Duncan testi ise larva konsantrasyonu arttıkça etkinin de kademeli olarak arttığını doğrulamıştır. Bu da katkı maddesinin fermentasyon sürecini belirgin şekilde uyardığını ortaya koymaktadır.

Dokuzuncu saatte gaz üretimi artmaya devam etmiş, en yüksek konsantrasyon grubunda ortalama 8,33 mL'ye ulaşırken, kontrol grubunda bu değer 3,67 mL olmuştur. Yapılan istatistiksel analizler anlamlı farklar ortaya koymuş, Duncan testler %0,1 konsantrasyonunun diğerlerine kıyasla belirgin şekilde daha etkili olduğunu göstermiştir.

İlginç bir şekilde, %0,01'lik konsantrasyonda gaz üretiminde beklenmedik bir düşüş gözlenmiş, bu durum söz konusu aşamada doğrusal olmayan bir yanıtın olabileceğine işaret etmektedir.

On ikinci saatte gruplar arasındaki farklar daha da belirginleşmiştir. %0,1'lik larva grubu 11,89 mL gaz üretirken, kontrol grubu 5,00 mL üretmiştir. İstatistiksel testler anlamlı farkları doğrulamış ve en yüksek konsantrasyon, inkübasyonun ilk yarısında fermentasyonu en güçlü şekilde destekleyen grup olmuştur. Bu da yüksek konsantrasyonların fermentasyon etkinliği açısından avantaj sağladığını göstermektedir.

Yirmi dördüncü saate ulaşıldığında, artış eğilimi devam etmiş ancak gruplar arasındaki farklar azalmaya başlamıştır. Yüksek konsantrasyon gruplarında gaz üretimi 15,89 ml'ye kadar çıkarken, kontrol grubunda bu değer 8,78 ml olarak ölçülmüştür ($p=0,122$). Bu durum fermentatif ortamın stabilleşmeye başladığını, bunun da substratların tükenmesi veya mikrobiyal aktivitenin doygunluğa ulaşması ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir.

Çizelge 3.4. Farklı siyah asker sineği larvası (*Hermetia illucens*) konsantrasyonlarının taze dışkı ortamında farklı zamanlarda ölçülen in-vitro gaz üretimi (ml) üzerine etkisi (ortalama $\pm$ standart hata)

Gruplar	Üç saat	Altı saat	Dokuz saat	Oniki saat	Yirmidört saat	Kırksekiz saat
Kontrol (%0)	0,00 $\pm$ 0,00	0,11 $\pm$ 0,11 c	3,67 $\pm$ 0,83 b	5,00 $\pm$ 1,04 b	8,78 $\pm$ 1,94	12,20 $\pm$ 1,11 a
Larva (%0,01)	0,00 $\pm$ 0,00	0,44 $\pm$ 0,24b c	2,78 $\pm$ 0,57 b	4,22 $\pm$ 0,86 b	8,78 $\pm$ 1,98	8,20 $\pm$ 0,66 b
Larva (%0,02)	0,00 $\pm$ 0,00	1,67 $\pm$ 0,41b	4,78 $\pm$ 0,83 b	7,33 $\pm$ 1,36 b	11,44 $\pm$ 2,40	8,60 $\pm$ 0,40 b
Larva (%0,1)	0,00 $\pm$ 0,00	3,11 $\pm$ 0,79 a	8,33 $\pm$ 1,59 a	11,89 $\pm$ 2,18 a	15,89 $\pm$ 2,86	1,80 $\pm$ 0,37 c
P-değeri	-	0,000	0,003	0,003	0,122	0,000
n	9	9	9	9	9	5

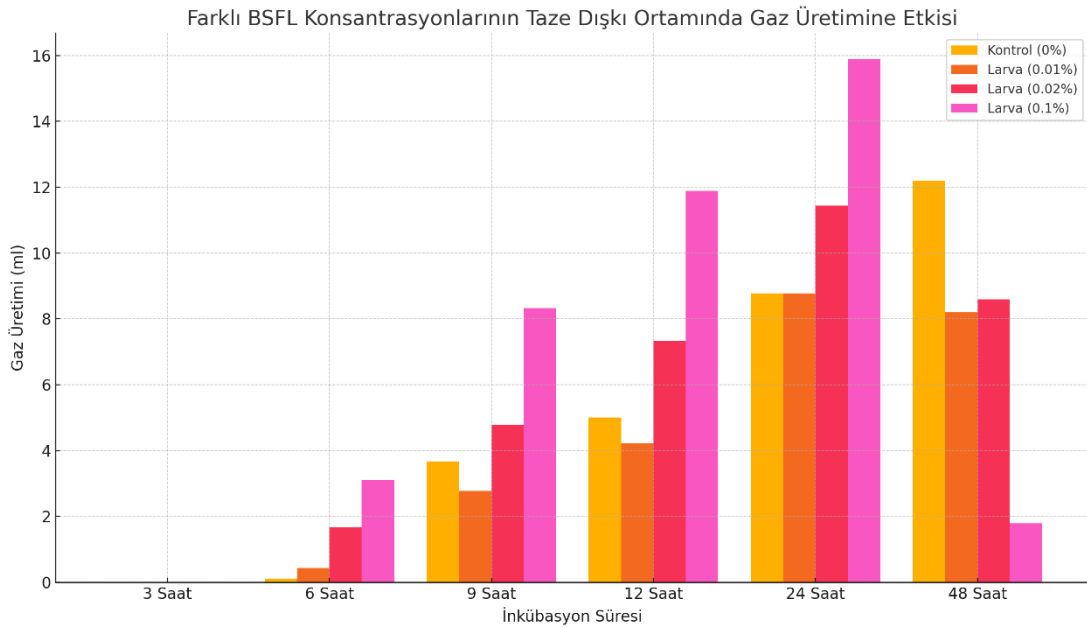
a,b,c; Ortalama değerler farklı harflerle temsil edildiğinde, aralarındaki farkların istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir. Her grupta fermentasyonun 48. saatinde fermentasyon ortamında bulunan gaz üretimi yoğunluğu ortalaması ($\bar{x}$) ve standart hata ($S\bar{x}$) değerleri gösterilmektedir.

($P>0,05$) Gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir.

Kırk sekizinci saatte ise fermentasyon deseninde belirgin bir değişim gözlenmiştir. Şaşırtıcı bir şekilde kontrol grubu 12,20 mL ile en yüksek ortalama gaz üretimini gösterirken, %0,1'lik larva grubunda üretim keskin bir şekilde düşerek yalnızca 1,80 mL olmuştur. Bu

belirgin düşüş ANOVA'ya göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş ve Duncan testi, en yüksek konsantrasyonun gaz üretimi bakımından en düşük etkiyi gösterdiğini doğrulamıştır. Bu bulgular, yüksek larva konsantrasyonlarının gecikmeli olumsuz etkileri olabileceğine; örneğin inhibitör bileşiklerin birikmesi, sindirilebilir organik maddelerin tamamen tükenmesi ya da mikrobiyal dengenin bozulması gibi durumlara işaret etmektedir.

Genel olarak, bu çalışma siyah asker sineği larvalarının taze dışkıya eklenmesinin ilk 24 saat içinde gaz üretimini teşvik ettiğini göstermektedir. Özellikle %0,1'lik konsantrasyon, fermentasyonun erken evrelerinde en etkili sonuçları vermiştir. Ancak inkübasyon süresinin 48 saate uzatılması, yüksek konsantrasyonların ters etkiler yaratabileceğini ortaya koymuştur. Bu durum, fermentasyon verimliliğinin hem inkübasyon süresine hem de kullanılan ortamın özelliklerine bağlı olduğunu göstermektedir. Sonuçlar, biyolojik atık yönetimi uygulamalarında hedeflenen fermentasyon süresine göre larva konsantrasyonunun dikkatle ayarlanmasının önemli olduğunu ortaya koymaktadır.



Şekil 3.2. Taze dışkı ortamında gaz üretimi (BSFL ile)

3.3.3. Dondurulmuş Dışkı Ortamında

Bu deneyde, -20 °C'de muhafaza edilen dondurulmuş sığır dışkısı, laboratuvar koşullarında siyah asker sineği larvalarının farklı konsantrasyonlarının 48 saatlik bir inkübasyon süresince gaz üretimi üzerindeki etkisini araştırmak amacıyla kullanılmıştır. Üçüncü saatte, dört deney grubunun hiçbirinde gaz üretimi tespit edilmemiştir; (Çizelge 3.4)

tüm değerler sıfır olarak kaydedilmiş ve herhangi bir varyasyon gözlenmemiştir. Bu durum, dondurulmuş dışındaki mikrobiyal aktivitenin inkübasyonun başlangıcında tamamen pasif olduğunu ve mikrobiyal hücrelerin donma sürecinden etkilenecek fermentasyona hemen başlayamadıklarını göstermektedir (Şekil 3.3).

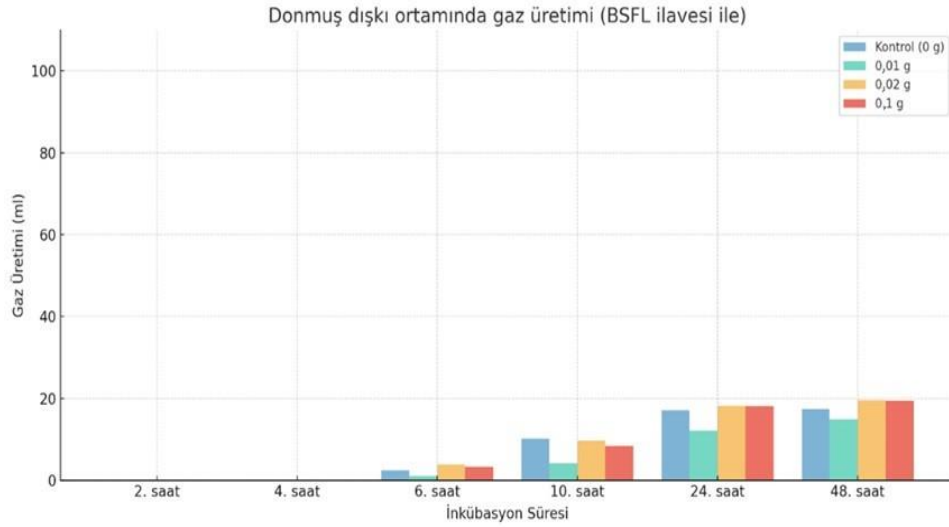
Altıncı saate gelindiğinde, gruplarda hala herhangi bir gaz üretimi gözlenmemiştir. Bu bulgu, dondurulmuş dışının mikrobiyal yeniden aktivasyon için daha uzun bir süreye ihtiyaç duyduğu veya mikrobiyal topluluğun bir kısmının dondurma sonrası fermentasyon kapasitesini kaybetmiş olabileceği hipotezini desteklemektedir. Tüm gruplarda değerler sıfırda kalmış, standart sapma ya da gözle görülür bir fark oluşmamıştır. ANOVA testi de gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığını ortaya koymuştur.

Çizelge 3.5. Farklı siyah asker sineği larvası (*Hermetia illucens*) konsantrasyonlarının dondurulmuş dışı ortamında farklı zamanlarda ölçülen in-vitro gaz üretimi (ml) üzerine etkisi (ortalama $\pm$ standart hata)

Gruplar	Üç saat	Altı saat	Dokuz saat	Oniki saat	Yirmidört saat	Kırksekiz saat
Kontrol (%0)	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	2,43 $\pm$ 0,611b	10,11 $\pm$ 2,09	17,11 $\pm$ 3,58	17,39 $\pm$ 3,66
Larva (%0,01)	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	1,00 $\pm$ 0,31 c	4,22 $\pm$ 1,13	12,11 $\pm$ 2,78	14,89 $\pm$ 3,57
Larva (%0,02)	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	3,86 $\pm$ 0,34 a	9,67 $\pm$ 1,86	18,22 $\pm$ 3,74	19,56 $\pm$ 3,93
Larva (%0,1)	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	3,29 $\pm$ 0,47 ab	8,44 $\pm$ 1,66	18,11 $\pm$ 3,93	19,44 $\pm$ 4,26
P-değeri	-	-	0,001	0,084	0,568	0,538
n	9	9	9	9	9	5

a,b,c; Birbirinden farklı harf taşıyan ortalama değerler arasındaki farklılıklar istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur. Her grupta fermentasyonun 48. saatinde fermentasyon ortamında bulunan gaz üretimi yoğunluğu ortalaması ($\bar{x}$) ve standart hata ($S\bar{x}$) değerleri gösterilmektedir.

Dokuzuncu saatte, fermentasyon aktivitesinin ilk belirtileri gözlenmiştir. Kontrol grubunda ortalama gaz üretimi 2,43 mL olarak kaydedilmiştir. Diğer gruplarda ise gaz üretimi biraz daha yüksek olmakla birlikte hala düşüktür: %0,02 grubunda 3,86 mL, %0,1 grubunda 3,29 mL ve en düşük değer %0,01 grubunda 1,00 mL olarak ölçülmüştür. ANOVA sonuçları gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar olduğunu göstermiştir. Duncan testi, %0,02 konsantrasyonunun en yüksek gaz üretimini sağladığını, %0,01 konsantrasyonunun ise en düşük üretimi verdiğini ortaya koymuştur. Bu durum, donma işleminin özellikle düşük konsantrasyonlardaki gruplarda mikrobiyal yanıtı azaltmış olabileceğini düşündürmektedir.



Şekil 3.3. Dondurulmuş dışkı rument ortamında gaz üretimi (BSFL ile)

On ikinci saatte, tüm gruplarda gaz üretimi belirgin şekilde artmıştır. Kontrol grubunda ortalama üretim 10,11 mL'ye ulaşırken, %0,01, %0,02 ve %0,1 gruplarında sırasıyla 4,22 mL, 9,67 mL ve 8,44 mL değerleri kaydedilmiştir ($p>0,05$). Ancak Duncan testi, gruplar arasında kademeli bir ayrışmanın başladığını göstermiştir. Bu bulgular, dondurulmuş dışkı ortamındaki fermentasyon sürecinin diğer ortamlardaki aktivite düzeyine yaklaşmakta olduğunu fakat bu sürecin daha yavaş ilerlediğini göstermektedir.

Yirmi dördüncü saatte, gruplarda göreceli olarak maksimum gaz üretim değerlerine ulaşılmıştır: kontrol grubunda 17,11 mL, %0,01 grubunda 12,11 mL, %0,02 grubunda 18,22 mL ve %0,1 grubunda 18,11 mL. Bu sonuçlar, larva ilavesinin kümülatif etkisinin özellikle yüksek konsantrasyonlarda daha belirgin hale geldiğini göstermektedir. Bu da, mikrobiyal aktivitenin doyumluğa ulaşması veya fermentasyon ortamının dengelenmesi nedeniyle üretim değerlerinin birbirine yakınlaştığını göstermektedir.

Kırk sekizinci saatte, tüm gruplarda deney süresince en yüksek gaz üretimi gözlenmiştir. Kontrol grubunda 17,39 mL, %0,01 grubunda 14,89 mL, %0,02 grubunda 19,06 mL ve %0,1 grubunda 19,44 mL değerleri kaydedilmiştir. Yüksek ve birbirine yakın bu değerler, fermentasyon ortamının dengelenmiş bir duruma ulaştığını göstermektedir. İstatistiksel analizler (ANOVA ve Duncan) gruplar arasında anlamlı fark olmadığını ortaya koymuştur. Bu durum, dondurulmuş dışkı ortamında larva konsantrasyonlarının gaz üretimi üzerindeki etkisinin zamanla azaldığını göstermektedir. Bu eğilim, çevresel stabilizasyondan sonra mikrobiyal yanıtların homojenleşmesiyle açıklanabilir.

Genel olarak, dondurulmuş dışkı ortamı, taze dışkı veya rumen sıvısına kıyasla gaz üretiminde daha geç bir başlangıç sergilemiştir; bu durum özellikle fermentasyonun ilk altı saatinde belirgindir. Ancak 24 ile 48 saat sonrasında gaz üretimi kademeli olarak artmış ve anlamlı seviyelere ulaşmıştır. Siyah asker sineği larvalarının konsantrasyonlarının etkisi, özellikle fermentasyonun orta evrelerinde daha belirgin olmakla birlikte, zamanla bu farklar azalmaktadır. Donma işlemi mikrobiyal topluluğun yapısını bozarak fermentasyon sürecinde gecikme veya yavaşlamaya neden olmuş olabilir, ancak biyolojik ortam dengelendikçe bu etkilerin azaldığı görülmektedir ($p>0,05$).

Deneyler üç farklı ortamda gerçekleştirilmiştir—rumen sıvısı, taze dışkı ve dondurulmuş dışkı—arasında gaz üretim sonuçları ayrı ayrı karşılaştırıldığında, fermentasyonun seyri ve hızı bakımından belirgin farklılıklar ortaya çıkmaktadır. Rumen sıvısı, deneyin en erken aşamalarından itibaren en yüksek gaz üretim verimliliğini göstermiştir. Fermentatif aktivite üçüncü saat gibi erken bir zamanda başlamış ve 48. saate kadar düzenli bir artış göstermiştir. Bu durum, rumen sıvısının sahip olduğu aktif ve dengeli mikrobiyal ortamın bir yansımasıdır. Söz konusu üstün performans, fermentasyonu etkili bir şekilde başlatıp sürdürebilecek canlı ve işlevsel bir mikrobiyal topluluğun varlığına atfedilmektedir.

Buna karşılık, taze dışkı gaz üretiminde daha yavaş bir başlangıç sergilemiştir. Üçüncü saatte herhangi bir fermentatif aktivite tespit edilmemiş, aktivite altıncı saatten sonra kademeli olarak görünmeye başlamıştır. Özellikle 9. ile 24. saatler arasında, siyah asker sineği larvaları eklenen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar gözlenmiştir. Ancak, 48. saate gelindiğinde yüksek larva konsantrasyonlarında olumsuz etkiler kaydedilmiştir. Bu durum, fermentasyon yan ürünlerinin birikimiyle oluşabilecek inhibitör etkiler ya da mikrobiyal dengede meydana gelen bozulmalarla açıklanabilir.

Dondurulmuş dışkı ise üç ortam arasında en yavaş tepkiyi göstermiştir. Altıncı saate kadar gaz üretimi gözlenmemiş, dokuzuncu saatte ilk ölçülebilir fermentasyon aktivitesi kaydedilmiştir. Her ne kadar gaz üretimi zamanla kademeli olarak artmış olsa da, genel fermentasyon hızı diğer ortamlara kıyasla daha düşük kalmıştır.

Bu farklılıklar açıkça göstermektedir ki, rumen sıvısı fermentasyonun hızlı ve etkili bir şekilde başlatılması ve sürdürülmesi için en uygun ortamdır. Taze dışkı, fermentasyonu destekleyebilme kapasitesine sahip olmakla birlikte, daha uzun bir adaptasyon süresine ihtiyaç

duymakta ve eklenen katkı maddelerinin türü ve konsantrasyonuna karşı daha hassas bir yapı sergilemektedir. Öte yandan, dondurulmuş dışkı, donma işlemi nedeniyle mikrobiyal yapıda meydana gelen bozulmalardan kaynaklı olarak fermentasyonun ilk evrelerinde belirgin bir inhibisyona uğramakta ve fermentatif işlevselliğini geri kazanabilmek için daha uzun bir süreye ihtiyaç duymaktadır.

3.4. İn-Vitro İnkübasyon Sonucu pH Değerleri

3.4.1. Rumen Sıvısı Ortamında

Siyah asker sineği larvalarının farklı konsantrasyonlarının ilave edildiği yemlerin, mikrobiyal inokulum olarak rumen sıvısı kullanılarak fermente edildiği bu çalışmada, zamanla pH değerlerinde kademeli bir değişim gözlenmiş; bu durum, laboratuvar ortamında yürütülen mikrobiyal fermentasyonun varlığını yansıtmaktadır.

Fermentasyonun 12. saatinde, pH değerleri 6,75 ile 6,95 arasında değişmiştir. En yüksek pH değeri ikinci grupta (%0,01) ölçülmüş; bunu sırasıyla kontrol grubu (%0), üçüncü (%0,02) ve dördüncü (%0,1) gruplar takip etmiştir. Gruplar arasında ortalama değerlerde bazı küçük farklılıklar olmasına rağmen, bu zaman noktasında yapılan ANOVA analizi istatistiksel olarak anlamlı bir fark ortaya koymamıştır. Bu durum, larva konsantrasyonlarının fermentasyonun ilk 12 saatinde ortamın asitliğine belirgin bir etkisi olmadığını göstermektedir.

Bununla birlikte, özellikle 48. saat gibi daha ileri zaman noktalarında sonuçlar farklı bir yönelim sergilemiştir. ANOVA analizine göre gruplar arasında oldukça anlamlı farklar belirlenmiştir ($p < 0,000$). Bu bulgu, larva konsantrasyonlarının etkisinin zaman ilerledikçe daha belirgin hale geldiğini göstermektedir. Duncan testi, en yüksek larva konsantrasyonuna (%0,1) sahip grubun en yüksek pH değerine (6,85) sahip olduğunu; en düşük pH'ın ise %0,02'lik grupta (6,55) gözleendiğini ortaya koymuştur (Çizelge 3.6) (Şekil 3.4). Bu durum, yüksek larva konsantrasyonlarının asit üretimini azaltmış ya da mikrobiyal fermentasyon aktivitesini geciktirmiş olabileceğini, dolayısıyla ortamın daha az asidik kaldığını düşündürmektedir.

Bu sonuçlara dayanarak, siyah asker sineği larvalarının pH üzerindeki kümülatif etkisinin fermentasyon süresi ilerledikçe daha belirgin hale geldiği söylenebilir. Örneğin, 12. saat gibi erken aşamalarda anlamlı bir fark gözlenmezken, 48. saatteki farklılıklar dikkat çekici

düzeyde olmuştur. Bu durum, yem katkılarının mikrobiyal fermentasyon üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesinde zaman faktörünün ne denli önemli olduğunu vurgulamaktadır.

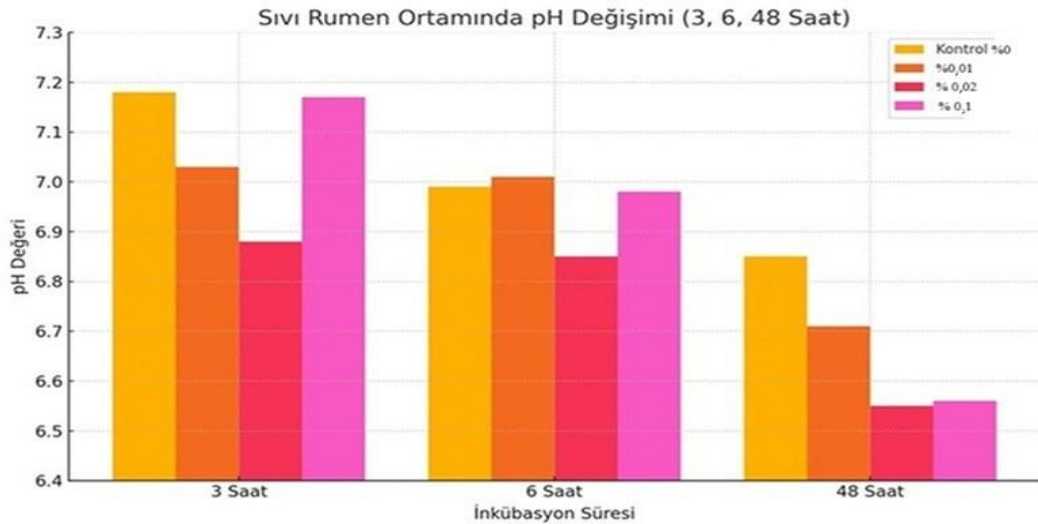
pH değerlerindeki farklılıklar, siyah asker sineği larvalarının yüksek protein ve yağ içeriğine sahip olmasından kaynaklanıyor olabilir. Bu durum, fermentasyon profilini değiştirerek organik asit üretimini azaltabilir ve pH değerinin yükselmesine neden olabilir. Ayrıca, larvaların içerdiği laurik asit gibi bazı bileşikler, asit üreten bakterilerin aktivitesini baskılayabilir ve bu da ortamın asiditesini azaltabilir. Bununla birlikte, yem formülasyonunun (%50 kaba yem ve %50 konsantre yem) larva ilavesiyle birlikte mikrobiyal lif parçalama kapasitesini etkilemiş olması da olasıdır; bu da asit üretimini azaltarak pH'nın zamanla kademeli olarak yükselmesine yol açmış olabilir.

Çizelge 3.6. Rumen sıvısı ortamında inkübasyonun 3, 6 ve 48. saatinde gruplarda pH değişimi

Grup / Yem	Kontrol (%0)	%0,01	%0,02	%0,1	P değeri
pH 3saat	7,18 ± -	7,03 ± -	6,88 ± -	7,17 ± -	>0,05
pH 6 saat	6,99 ± -	7,01 ± -	6,85 ± -	6,98 ± -	>0,05
pH 48 saat	6,85 ± 0,36 a	6,71 ± 0,26 b	6,55 ± 0,41 c	6,56 ± 0,34 c	0,000

a,b,c; Birbirinden farklı harflerle gösterilen ortalama değerler arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Her grupta fermentasyonun 48. saatinde fermentasyon ortamında bulunan pH değişimi yoğunluğu ortalaması ($\bar{x}$) ve standart hata ($S\bar{x}$) değerleri gösterilmektedir.

pH 3 ve 6 saatlerdeki değerler her grupta tek örnekle ölçüldüğü için standart sapma yoktur. pH 48 saatlik veriler, her grup için 5 tekrarlı olup, ortalama $\pm$ standart sapma şeklinde verilmiştir.



Şekil 3.4. Sıvı rumen ortamında pH değişimi (3, 6, 48. saat)

3.4.2. Taze Dışkı Ortamında

Elde edilen sonuçlar, %50 konsantre ve %50 kaba yem içeren bir rasyona farklı konsantrasyonlarda siyah asker sineği larvası ilavesinin, taze dışkı içeren bir ortamda pH değeri üzerindeki etkisini araştıran çalışmaya aittir. Ölçümler laboratuvar koşullarında 3, 6, 12, 24 ve 48. saatlerde gerçekleştirilmiştir. Deneysel tasarım, daha önce rumen sıvısı kullanılarak yapılan çalışmamız ile birebir aynı olup, bu durum her iki mikrobiyal ortam arasında karşılaştırma yapılmasına imkan tanımaktadır.

Fermentasyonun 48. saatinde, dört deney grubundaki pH değerleri 7,39 ile 7,65 arasında değişmiştir ($p<0,000$). Bu durum, farklı larva konsantrasyonlarının bu zaman noktasında taze dışkı ortamında pH üzerine belirgin bir etkisinin olduğunu göstermektedir.

Çizelge 3.7. Taze dışkı ortamında inkübasyonun 3, 6 ve 48. saatinde gruplarda pH değişimi

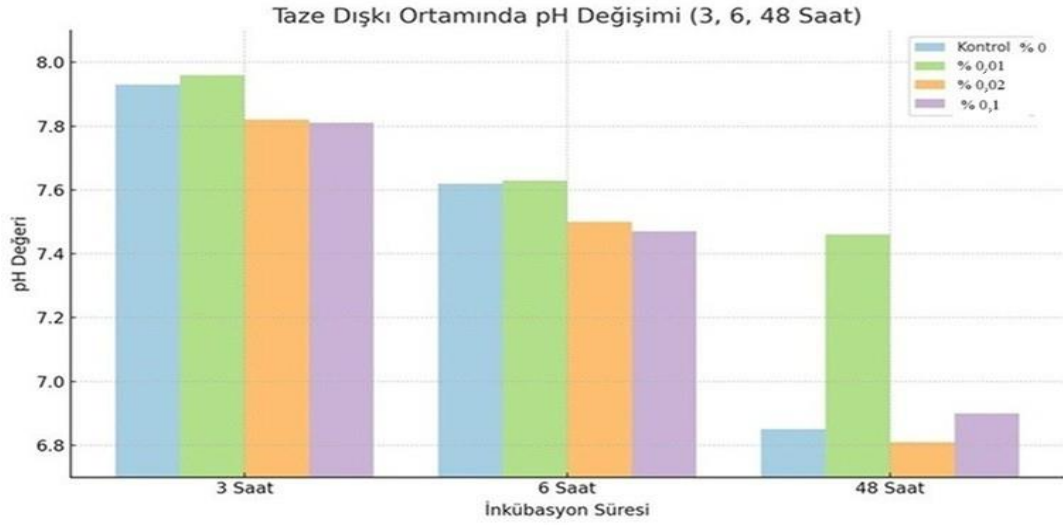
Grup / Yem	Kontrol (%0)	%0,01	%0,02	%0,1	p değeri
pH 3 saat	7,93 ± -	7,96 ± -	7,82 ± -	7,81 ± -	>0,05
pH 6 saat	7,62 ± -	7,63 ± -	7,50 ± -	7,47 ± -	>0,05
pH 48 saat	7,39± 0,19 c	7,46 ± 0,35 bc	7,49± 0,23 b	7,65± 0,22 a	0,000

a,b,c; Birbirinden farklı harf taşıyan ortalama değerler arasındaki farklılıklar istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur. Her grupta fermentasyonun 48. saatinde fermentasyon ortamında bulunan pH değişimi yoğunluğu ortalaması ($\bar{x}$) ve standart hata ($S\bar{x}$) değerleri gösterilmektedir.

pH 3 ve 6 saatlik değerler her grupta tek ölçüm olduğu için standart sapma sıfırdır.

pH 48 saatlik değerler her grup için 5 tekrarlı ölçümle alınmış, ortalama ± standart sapma olarak sunulmuştur.

Duncan testi, en yüksek larva konsantrasyonuna (%0,1, 4. grup) sahip grubun en yüksek pH değerini (7,65) verdiğini, kontrol grubunun (1. grup) ise en düşük değeri (7,39) kaydettiğini göstermiştir (Çizelge 3.7; Şekil 3.5). Bu sonuçlar, larva ilavesinin asit üretimini azaltmış olabileceğini ya da mikrobiyal ortamı daha az asidik bileşiklerin oluşumunu destekleyecek şekilde değiştirmiş olabileceğini düşündürmektedir.



Şekil 3.5. Taze dışkı ortamında pH değişimi (3, 6, 48. saat)

3.4.3. Dondurulmuş Dışkı Ortamında

Taze dışkının dondurulmuş hali kullanılarak yapılan pH ölçüm deneyinin sonuçları, kara asker sineği larvalarının farklı dozlarda ilavesinin inkübasyonun ilk saatlerinde (3, 6, 12 ve 24. saatlerde) belirgin bir etki oluşturmadığını göstermektedir. ANOVA analizine göre bu sürelerde gruplar arasında anlamlı bir fark tespit edilmemiştir ($p>0,05$). Bu durum, mikrobiyal aktivitenin başlangıçta düşük olduğunu ya da dondurma işlemi nedeniyle baskılandığını ve bu nedenle organik asit üretiminin sınırlı kaldığını düşündürmektedir.

Ancak inkübasyonun 48. saatinde gruplar arasındaki farklar belirginleşmiştir. ANOVA sonucunda anlamlı farklılık gözlenmiş ($p=0,003$) ve bu da larva dozlarının pH üzerindeki etkisinin ancak yeterli sürede ortaya çıktığını göstermiştir. Muhtemelen ortam sıcaklığında geçen zamanla birlikte mikrobiyal aktivite kademeli olarak yeniden başlamış ve fermentasyon ürünleri oluşmaya başlamıştır.

Duncan testi sonuçlarına göre %0,02 larva içeren grup en düşük pH değerini (6,77) göstermiş ve bu da yüksek mikrobiyal aktivite ve artan asit üretimi ile ilişkilendirilebilir. Buna karşılık, %0,01'lik dozla beslenen grup en yüksek pH değerini (6,93) vermiş ve istatistiksel olarak diğer gruplardan farklılık göstermiştir (Çizelge 3.8; Şekil 3.6). Bu durum, bu dozda asit üretiminin daha sınırlı olduğunu veya mikrobiyal aktivitenin daha zayıf kaldığını düşündürmektedir.

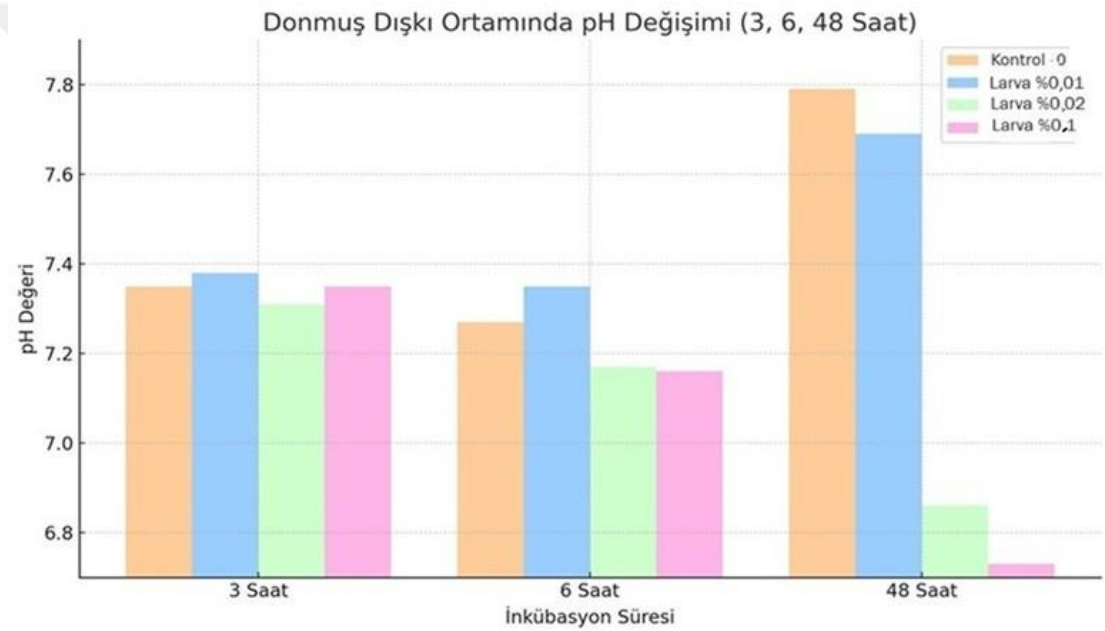
Çizelge 3.8. Donmuş dışkı ortamında inkübasyonun 3, 6 ve 48. saatinde gruplarda pH değişimi

Grup / Yem	Kontrol (%0)	%0,01	%0,02	%0,1	P değeri
pH 3saat	7,63 ± -	7,51 ± -	7,34 ± -	7,41 ± -	>0,05
pH 6 saat	7,31 ± -	7,08 ± -	7,03 ± -	7,15 ± -	>0,05
pH 48 saat	6,82 ± 0,17 b	6,93 ± 0,42 a	6,76 ± 0,12 b	6,81 ± 0,24 b	0,003

a,b,c; Birbirinden farklı harf taşıyan ortalama değerler arasındaki farklılıklar istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur. Her grupta fermentasyonun 48. saatinde fermentasyon ortamında bulunan pH değişimi yoğunluğu ortalaması ($\bar{x}$) ve standart hata ($S\bar{x}$) değerleri gösterilmektedir

İlk 3 ve 6 saatlerde ölçümler tek tekrar üzerinden yapıldığı için standart sapma sıfırdır.

48. saatteki değerler ortalama ± standart sapma şeklinde, 5 tekrardan elde edilmiştir.



Şekil 3.6. Donmuş dışkı ortamında PH değişimi (3, 6, 48. saat)

Sonuç olarak, kara asker sineği larvalarının dondurulmuş dışkı ortamında pH üzerine olan etkisinin erken dönemlerde belirgin olmadığı, ancak inkübasyon süresi ilerledikçe anlamlı hale geldiği görülmektedir. Özellikle %0,02'lik doz, fermentasyonu uyararak asit üretimini artırma açısından en etkili seviye olarak öne çıkmaktadır. Bu durum, doz-yanıt ilişkisini anlamak adına ileri araştırmalara ihtiyaç olduğunu göstermektedir.

Üç farklı deneyde -rumen sıvısı, taze dışkı ve dondurulmuş dışkının- mikrobiyal kaynak olarak kullanıldığı laboratuvar koşullarındaki metan gazı üretimi karşılaştırıldığında, siyah asker sineği larvalarının ilavesine verilen yanıtlarda belirgin farklar gözlemlenmiştir.

Rumen sıvısı kullanılan deneyde larva etkisi zamanla kademeli olarak ortaya çıkmış ve farklar giderek belirginleşmiştir; özellikle yüksek konsantrasyonlar, mikrobiyal aktiviteye bağlı olarak metan üretimini artırıcı ya da azaltıcı yönde etki göstermiştir.

Taze dışkı kullanılan deneyde ise benzer bir eğilim izlenmiş; ancak pH değerlerinin nispeten daha yüksek olması, gaz üretiminde rumen sıvısına kıyasla biraz daha düşük verimlilikte farklı bir mikrobiyal aktiviteye işaret etmektedir. Buna karşılık, dondurulmuş dışkı ile yapılan deneyde fermentasyonun ilk saatlerinde mikrobiyal aktivitenin donma nedeniyle zayıflaması sonucu tepkime gecikmeli başlamış; ancak 48. saatte larva konsantrasyonları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar oluşmuş ve larva etkisi belirgin hale gelmiştir. Bu durum, donmanın fermentasyonu tamamen engellemediğini ancak başlangıcını geciktirdiğini göstermektedir.

Genel olarak değerlendirildiğinde, metan üretimini en fazla teşvik eden ve en hızlı yanıt veren ortamın rumen sıvısı olduğu görülmektedir. Onu taze dışkı takip ederken, dondurulmuş dışkı daha düşük bir etkinlik sergilemiş ancak zamanla performansında iyileşme gözlemlenmiştir.

3.5. İn-Vitro Fermantasyonun Amonyak Üretimine Etkisi

3.5.1. Rumen Sıvısı Ortamında

Siyah asker sineği larvalarının, rumen sıvısı içeren laboratuvar ortamında ruminant rasyonlarına ilavesiyle gerçekleştirilen bu çalışmada, elde edilen sonuçlar ANOVA ve Duncan testleriyle istatistiksel olarak güçlü bir şekilde desteklenmiştir. Larvaların farklı konsantrasyonlarını içeren dört grup (%0, %0,01, %0,02, %0,1) arasında çok anlamlı farklar gözlenmiştir. ANOVA analizi, gruplar arasında istatistiksel olarak yüksek düzeyde anlamlı fark olduğunu ortaya koymuştur ($F=23,478$, $p<0,000$); bu da larva ilavesinin amonyak üretimi üzerinde doğrudan ve etkili bir etkisi olduğunu göstermektedir. Ayrıca, doğrusal ilişki analizinde elde edilen sonuçlar ($F=67,147$, $p<0,001$), larva konsantrasyonundaki artışla birlikte amonyak üretiminde de orantılı bir artış olduğunu göstermiştir. Doğrusallıktan sapma testinde anlamlı bir fark gözlenmemesi ($F=1,644$, $p=0,224$), bu ilişkinin düzenli ve sapmasız bir eğilim izlediğini göstermekte ve yapılan çıkarımların sağlamlığını güçlendirmektedir.

Duncan testi sonuçları, gruplar arasında anlamlı farklılıklar bakımından açık bir sıralama ortaya koymuştur. Kontrol grubu (%0 larva) en düşük amonyak üretimini göstermiş, bunu %0,01'lik grup takip etmiştir. En yüksek amonyak değerleri %0,02 ve %0,1 gruplarında kaydedilmiş olup, bu iki grup arasında değerler birbirine oldukça yakın bulunmuştur. Bu artan sıralama, larva konsantrasyonlarının üretim üzerindeki kademeli ve yükselen etkisini yansıtmakta ve varyans analizinin bulgularını güçlü biçimde desteklemektedir.

Tanımlayıcı istatistiklerin ayrıntılı incelenmesi, gruplar arasındaki ortalama amonyak üretimi değerlerinde tutarlı farklılıklar olduğunu ortaya koymuştur. Kontrol grubunda ortalama değer 17,60 mg/L iken, %0,1 larva içeren grupta bu değer 27,02 mg/L'ye yükselmiştir (Çizelge 3.9) (Şekil 3.7). Bu durum, larva konsantrasyonu ile uyumlu olarak kademeli ve anlamlı bir artışa işaret etmektedir. Standart sapma değerleri açısından en yüksek varyasyon %0,02'lik grupta (3,56) gözlenmiş, buna karşılık kontrol ve %0,1 gruplarında değerler daha homojen bir dağılım göstermiştir. Ayrıca, gruplara ait %95 güven aralıklarının bazı durumlarda birbirleriyle örtüşmemesi, bu gruplar arasında gerçek istatistiksel farklılıkların bulunduğunu desteklemektedir.

Tüm bu bulgular ışığında, siyah asker sineği larvalarının ruminant rasyonlarına ilavesinin, rumen sıvısı kullanılarak gerçekleştirilen in vitro ortamda amonyak üretimini anlamlı ve doza bağlı şekilde artırdığı sonucuna varılabilir. Bu artış, protein parçalanmasının hızlanmasından ya da amonyak üretiminden sorumlu mikrobiyal aktivitenin teşvik edilmesinden kaynaklanıyor olabilir. Elde edilen veriler, bu larvaların ruminant beslemesinde fermentatif süreçleri düzenleme potansiyeline sahip besin katkı maddeleri olarak değerlendirilebileceğini göstermektedir.

Siyah asker sineği larvalarının farklı konsantrasyonları (%0, %0,01, %0,02, %0,1) kullanılarak rumen sıvısında amonyak üretimi sonuçları Şekil 3.7'de gösterilmiştir. Larva konsantrasyonu arttıkça amonyak miktarında belirgin ve düzenli bir artış gözlemlenmiştir.

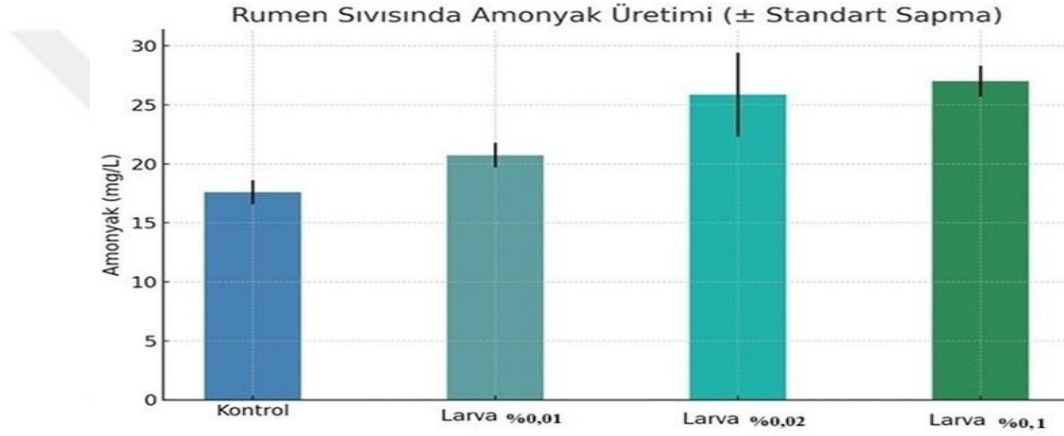
Çizelge 3.9. İnkubasyonun 48. saatinde gruplarda rumen sıvısında amonyak düzeyi (%)

Grup / Yem	Kontrol	Larva %0,01	Larva %0,02	Larva %0,1	P-değeri
Rumen sıvısı	17,60 ± 0,46 c	20,73 ± 0,47 b	25,85 ± 1,59 a	27,02 ± 0,59 a	0,000

a,b,c; harfleriyle gösterilen gruplar arasında, ortalama değerler bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulunmuştur. Her grupta fermentasyonun 48. saatinde fermentasyon ortamında bulunan amonyak düzeyi yoğunluğu ortalaması ($\bar{x}$) ve standart hata ($S\bar{x}$) değerleri gösterilmektedir.

Her bir sütun, grup içindeki dağılımı göstermek amacıyla standart hata ($\pm$) ile birlikte sunulmuştur.

Elde edilen veriler, $p=0,001$ değeriyle istatistiksel olarak anlamlı ve doğrusal (lineer) bir ilişkiyi ortaya koymaktadır.



Şekil 3.7. Rumen sıvısında amonyak üretimi

3.5.2. Taze Dışkı Ortamında

Taze dışkı ortamında siyah asker sineği larvalarının farklı konsantrasyonlarda kullanıldığı bu deneyin sonuçları, amonyak üretimi üzerinde belirgin bir etki ortaya koymuştur. ANOVA testi ile yapılan istatistiksel analiz, dört grup arasında yüksek düzeyde anlamlı farklar olduğunu göstermiştir ($F=12,075$, $p<0,001$). Bu durum, yeme eklenen larva konsantrasyonlarının üretilen amonyak miktarında gerçek ve anlamlı farklılıklara yol açtığını ortaya koymaktadır. Doğrusal eğilim analizi, larva konsantrasyonu ile amonyak üretimi arasında düzenli ve artan bir ilişki olduğunu göstermiştir ($F=31,529$, $p<0,001$). Doğrusallıktan sapma testinin anlamsız çıkması ($p=0,128$), bu artışın sabit ve öngörülebilir bir doğrusal modele uygun olduğunu ve sistemin biyolojik yanıtında düzensiz dalgalanmalar olmadığını göstermektedir.

Duncan çoklu karşılaştırma testi, grup ortalamaları arasında belirgin farklılıklar ortaya koymuştur. Kontrol grubu (%0 larva) ile %0,01 larva içeren ikinci grup, istatistiksel olarak aynı kategoride yer almış ve benzer ortalamalar göstermiştir (sırasıyla 10,01 ve 9,60 mg/L); bu iki grup arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Buna karşın, üçüncü grup (%0,02 larva) belirgin bir artış göstererek ortalama 14,16 mg/L amonyak üretmiş ve istatistiksel olarak farklı bir düzeyde sınıflanmıştır. Dördüncü grup (%0,1 larva) ise en yüksek değeri kaydetmiş (17,33 mg/L) ve larva konsantrasyonunun mikrobiyal parçalanma aktivitesi üzerindeki kademeli etkisini açıkça ortaya koymuştur.

Tanımlayıcı istatistikler de bu çıkarımları desteklemektedir. Ortalama değerler, larva konsantrasyonu arttıkça amonyak üretiminde açık bir artış eğilimi göstermiştir. %0,01’lik ikinci gruptaki hafif düşüş, düşük konsantrasyonlarda düzensiz bir biyolojik yanıtla ilişkilendirilebilir. Standart sapma, en yüksek değeri %0,02 grubunda göstermiştir; bu durum, mikrobiyal aktivitenin yeni başladığı ancak henüz kararlılık kazanmadığı bir aşamaya işaret edebilir. Buna karşılık, %0,1 grubunda ölçümler daha homojen olup, varyasyon düşüktür; bu da sonuçların güvenilirliğini artırmaktadır. %95 güven aralıklarının analizinde de daha düşük konsantrasyonlu gruplarla açık örtüşmelerin olmaması, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulunduğunu desteklemektedir.

Bu bulgular doğrultusunda, siyah asker sineği larvalarının taze dışkı ortamında amonyak üretimini teşvik edici etkisinin, %0,02 ve üzeri konsantrasyonlarda açıkça ortaya çıktığı söylenebilir. Düşük konsantrasyon (%0,01) anlamlı bir yanıt oluşturmazken, daha yüksek düzeylerdeki katkılar mikrobiyal parçalanma mekanizmalarının—özellikle bakteri aktivasyonu ya da enzimatik süreçlerin—uyarılmasına katkı sağlamaktadır. Bu düzenli doğrusal etki, siyah asker sineği larvalarının hayvan besleme sistemlerinde protein kaynağı veya mikrobiyal uyarıcı olarak kullanılabileceğini, ancak biyolojik yanıtın başlaması için gerekli etkin dozun sağlanması gerektiğini göstermektedir.

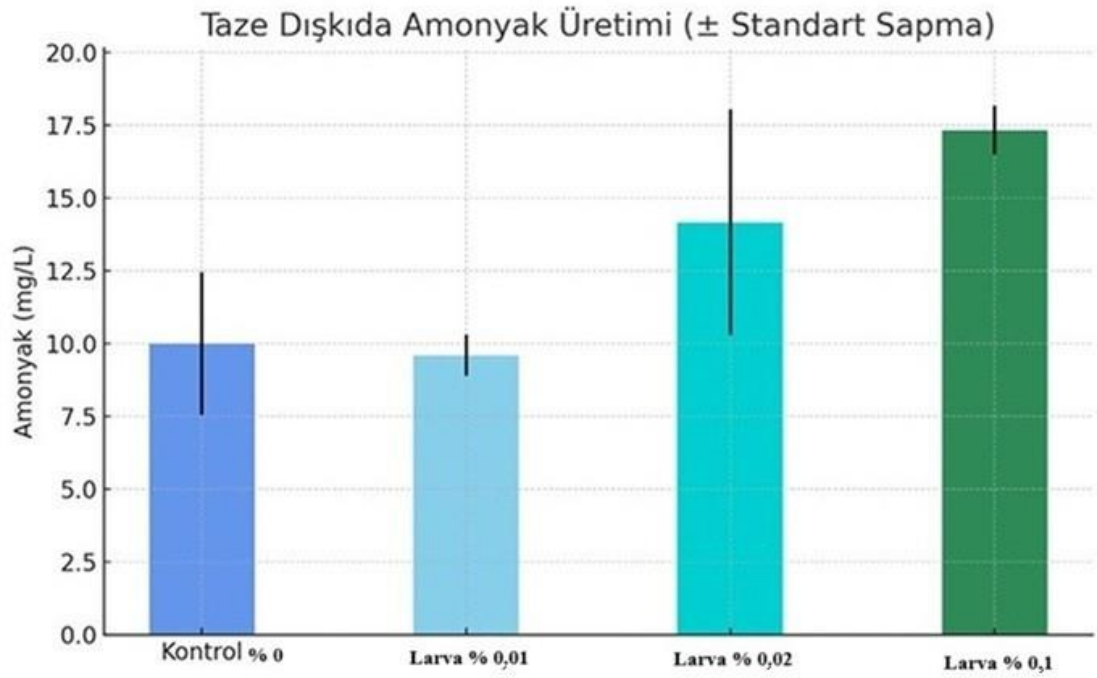
Siyah asker sineği larvalarının farklı konsantrasyonları (%0, %0,01, %0,02, %0,1) kullanılarak taze dışkıda amonyak üretimi sonuçları Çizelge 3.10 ve Şekil 3.8’de verilmiştir. Larva konsantrasyonu arttıkça, özellikle %0,02’den sonra, amonyak üretiminde kademeli bir artış gözlemlenmiştir.

Çizelge 3.10. İnkubasyonun 48. saatinde gruplarda taze dışkıda amonyak üretimi (%)

Grup / Yem	Kontrol (%0)	Larva %0,01	Larva %0,02	Larva %0,1	p-değeri
Taze Dışkı	10,01 ± 1,10 ab	9,60 ± 0,32 b	14,16 ± 1,74 ab	17,33 ± 0,38 a	0,000

a,b; harfleriyle gösterilen gruplar arasında, ortalama değerler bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulunmuştur. Her grupta fermantasyonun 48. saatinde fermantasyon ortamında bulunan amonyak üretimi yoğunluğu ortalaması ($\bar{x}$) ve standart hata ($S\bar{x}$) değerleri gösterilmektedir. Her bir sütun, grup içindeki değerlerin dağılımını göstermek amacıyla standart sapma ($\pm$) ile birlikte sunulmuştur.

En yüksek konsantrasyon olan %0,1, en yüksek ve en istikrarlı amonyak üretimini sağlamıştır.



Şekil 3.8. Taze dışkıda amonyak üretimi

3.5.3. Dondurulmuş Dışkı Ortamında

Muhafaza edilen -20 °C’de dondurulmuş dışkı ortamında siyah asker sineği larvalarının farklı konsantrasyonlarda kullanıldığı deneyin sonuçları, amonyak üretimi üzerinde açık ve anlamlı bir etki ortaya koymuştur. ANOVA testiyle yapılan istatistiksel analiz, dört grup arasında yüksek derecede anlamlı farklılıklar olduğunu göstermiştir ($F=23,478$, $p<0,001$). Bu durum, yeme eklenen larva konsantrasyonunun amonyak miktarını önemli ölçüde etkilediğini ve bu farkların rastlantısal olmadığını göstermektedir. Doğrusal ilişki testi (Linear Term) güçlü ve düzenli bir ilişki olduğunu ortaya koymuştur ($F=67,147$, $p<0,001$); doğrusal olmayan sapma testinde anlamlı bir fark gözlenmemesi ($p=0,224$),

sistemin artan konsantrasyonlara karşı öngörülebilir ve istikrarlı bir tepki verdiğini teyit etmektedir.

Gruplar arasındaki farklılıkları belirlemeye yönelik Duncan testi de istatistiksel olarak anlamlı bir dağılım ortaya koymuştur. Kontrol grubu (%0) en düşük ortalama amonyak üretimini göstermiştir (17,60 mg/L); bunu %0,01'lik grup takip etmiş ve ortalama 20,73 mg/L ile başlangıç düzeyinde bir yanıt vermiştir. %0,02 ve %0,1 larva içeren gruplar ise en yüksek seviyeleri kaydetmiş (sırasıyla 25,85 ve 27,02 mg/L) ve farklı bir istatistiksel sınıfta yer almışlardır. Bu durum, %0,02 konsantrasyonundan itibaren güçlü bir biyolojik yanıtın ortaya çıktığını ve yüksek konsantrasyonların daha etkili olduğunu göstermektedir. Elde edilen veriler, siyah asker sineği larvalarının yalnızca canlı mikrobiyal ortamlarda değil, aynı zamanda dondurulmuş ortamlarda da yeterli konsantrasyonlarda kullanıldığında etkili olabileceğini göstermektedir.

Çizelge 3.11. İnkubasyonun 48. saatinde gruplarda donmuş dışkıda amonyak üretimi (%)

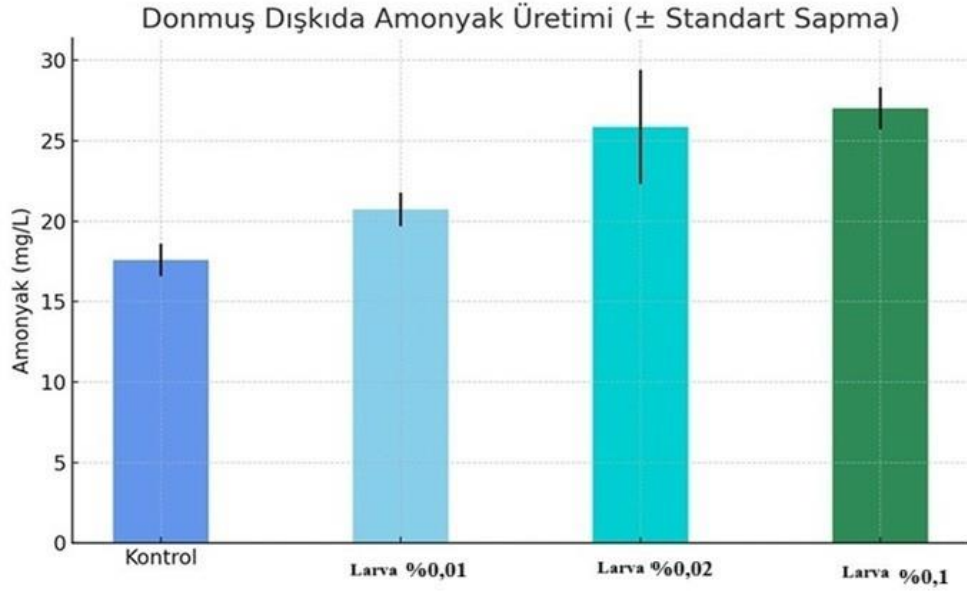
Grup / Yem	Kontrol (%0)	Larva %0,01	Larva %0,02	Larva %0,1	P-değeri
Donmuş Dışkı	17,60 ± 0,48 c	20,73 ± 0,47 b	25,85 ± 1,59 a	27,02 ± 0,59 a	0,000

a,b,c; Birbirinden farklı harf taşıyan ortalama değerler arasındaki farklılıklar istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur. Her grupta fermantasyonun 48. saatinde fermantasyon ortamında bulunan amonyak üretimi yoğunluğu ortalaması ($\bar{x}$) ve standart hata ($S\bar{x}$) değerleri gösterilmektedir.

Her bir çubuk, grup içindeki varyasyonu göstermek amacıyla standart sapma ($\pm$) ile birlikte sunulmuştur.

%0,1'luk konsantrasyon, en yüksek ve en istikrarlı amonyak üretimini sağlamıştır.

SPSS programı ile yapılan tanımlayıcı analiz, her grubun istatistiksel dağılımına ilişkin ayrıntılı bir tablo sunmuştur. Ortalama değerler, larva konsantrasyonu arttıkça kademeli bir şekilde yükselmiş; kontrol grubunda 17,60 mg/L olan ortalama, en yüksek konsantrasyonda 27,02 mg/L'ye ulaşmıştır. Standart sapmalar, ilk iki grupta düşük bulunmuş (1,02 ve 1,05), bu da ölçümlerde yüksek bir homojenliğe işaret etmektedir. Üçüncü grup (%0,02) ise 3,56 değeriyle en yüksek varyasyonu göstermiştir; bu durum, bazı deneme birimlerinde aktif fakat henüz dengelenmemiş mikrobiyal yanıtların başlamış olabileceğini düşündürmektedir.



Şekil 3.9. Donmuş dışkıda amonyak üretimi

Öte yandan, %95 güven aralıkları da gruplar arasındaki farkların gerçekliğini teyit etmektedir. En yüksek konsantrasyon grubunun alt sınırı ile kontrol grubunun üst sınırı arasında örtüşme olmaması, farklılıkların istatistiksel olarak anlamlı olduğunu göstermektedir. Gruplar içerisindeki en düşük ve en yüksek değerler de bu eğilimi desteklemiştir: üçüncü grup (%0,02) en yüksek bireysel değeri (29,85 mg/L), kontrol grubu ise en düşük değeri (16,53 mg/L) kaydetmiştir.

Tüm bu bulgular doğrultusunda, dondurulmuş dışkının mikrobiyal kaynak olarak kullanılması, siyah asker sineği larvalarının etkili bir şekilde çalışmasını engellememektedir. Aksine, elde edilen veriler, bu larvaların donma nedeniyle pasif hale gelmiş ortamlarda bile mikrobiyal aktiviteyi teşvik edebildiğini göstermektedir. Bu uyarıcı etkinin doğrudan uygulanan larva miktarına bağlı olduğu anlaşılmaktadır: düşük konsantrasyonlar belirgin bir etki yaratmazken, yüksek konsantrasyonlar amonyak üretimini anlamlı şekilde artırmıştır. Bu sonuçlar, siyah asker sineği larvalarının steril veya uzun süreli muhafaza edilmiş ortamlarda fermentatif süreçleri iyileştirmek amacıyla kullanılabileceğini, ancak etkili bir biyolojik yanıt için optimum dozun sağlanmasının gerekli olduğunu göstermektedir.

Donmuş dışkıda siyah asker sineği larvalarının farklı konsantrasyonları (%0, %0,01, %0,02, %0,1) kullanılarak yapılan amonyak üretimi sonuçları Çizelge 3.11 ve Şekil 3.9'da özetlenmiştir. Larva konsantrasyonu arttıkça amonyak üretiminde kademeli bir artış gözlemlenmiştir.

Üç farklı denemenin sonuçları karşılaştırıldığında, siyah asker sineği larvalarının ilavesine yönelik mikrobiyal ortamların amonyak üretimi açısından verdiği tepkilerde belirgin farklılıklar gözlemlenmiştir. Bu durum, mikrobiyal aktivite düzeylerinin ve yem ile larvaların bileşenleriyle etkileşime girme kapasitelerinin ortamlar arasında farklılık gösterdiğini ortaya koymaktadır. Rumen sıvısı kullanılan deneyde tepki en güçlü şekilde gözlenmiş; %0,1 larva konsantrasyonunda en yüksek amonyak üretimi kaydedilmiştir (27,02 mg/L). Bu farklar son derece anlamlı bulunmuş ($F=23,478$, $p<0,001$) ve güçlü bir doğrusal ilişki ortaya konmuştur ($F=67,147$, $p<0,001$). Bu ortam, yüksek düzeyde mikrobiyal aktiviteye sahip olup, larva ilavesine bağlı olarak protein yıkımı için ideal bir ortam oluşturmuştur. Etkiler, düşük konsantrasyonlarda dahi belirgin şekilde gözlemlenmiştir.

Taze dışkı ortamında ise anlamlı farklar gözlenmiş olmakla birlikte ($F=12,075$, $p<0,001$), yanıt görece daha zayıf olmuştur. %0,01 konsantrasyonunda kontrol grubuna göre anlamlı bir fark saptanmamış, bu da düşük düzeydeki katkının mikrobiyal aktiviteyi uyarmada yetersiz kaldığını göstermektedir. Anlamlı farklılıklar yalnızca %0,02 ve %0,1 konsantrasyonlarında ortaya çıkmış, bu da biyolojik yanıtın belirli bir eşik dozdan itibaren başladığını düşündürmektedir. Bazı gruplarda gözlenen yüksek standart sapmalar, tekrarlar arasında mikrobiyal aktivitenin değişkenlik gösterdiğine işaret etmektedir.

Dondurulmuş dışkı ortamında $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de yürütülen deneyde ise, önceki donmaya rağmen anlamlı farklar kaydedilmiştir ($F=23,478$, $p<0,001$) ve artan konsantrasyonlarla açık bir doğrusal ilişki tespit edilmiştir ($F=67,147$, $p<0,001$). Bu sonuçlar, dondurulmuş dışkı ortamının işlem ve larva gibi besin açısından zengin bir kaynakla desteklendiğinde mikrobiyal aktivitesini yeniden kazanabildiğini göstermektedir. Amonyak üretimine dair son değerler, özellikle %0,1 konsantrasyonunda, rumen sıvısında elde edilen değerlerle benzerlik göstermiştir. Bu da siyah asker sineği larvalarının, daha önce inaktive edilmiş ortamlarda dahi, enzim veya zorlu çevresel koşullara dayanıklı özel bakteriler sağlayarak fermantatif süreçleri yeniden canlandırabileceğini göstermektedir.

Genel olarak değerlendirildiğinde, mikrobiyal kaynak olarak en etkili ortam rumen sıvısı olurken, onu sırasıyla dondurulmuş dışkı ve taze dışkı takip etmiştir. Ayrıca %0,02'lik konsantrasyon, belirgin bir biyolojik yanıtın başladığı eşik olarak öne çıkarken, %0,1'lik düzey tüm ortamlarda amonyak üretimini en yüksek düzeye çıkarmıştır. Bu sonuçlar, siyah asker sineği larvalarının geviş getiren hayvanların besleme sistemlerinde doğal bir mikrobiyal uyarıcı olarak kullanılabileceğini ve bu etkinin uygun ortam ve doğru doz seçimiyle optimize edilebileceğini güçlü biçimde desteklemektedir.

3.6. İn-Vitro İnkübasyon Sonucu Metan Üretim Değerleri

3.6.1. Rumen Sıvısı Ortamında

Bu laboratuvar deneyinin sonuçları, siyah asker sineği (BSF) larvalarının yeme ilavesinin, rumen sıvısı kullanılan bir fermentasyon ortamında metan gazı üretimi üzerinde belirgin bir etki yarattığını göstermektedir. Deneyde hayvanlar dört gruba ayrılmıştır: birinci grup kontrol grubu olarak hiçbir larva ilavesi almamış, diğer gruplara ise sırasıyla %0,01, %0,02 ve %0,1 oranlarında BSF larvaları eklenmiştir. Tüm gruplarda yem formülasyonu sabit tutulmuş olup, yem %50 kaba yem ve %50 konsantre yemden (kurutulmuş BSF larvalarından elde edilen) oluşmuştur.

Tanımlayıcı istatistiklere göre en yüksek ortalama metan üretimi kontrol grubunda kaydedilmiştir (33,74 mL). Bunu üçüncü grup (%0,02) 32,95 mL ile takip etmiştir. İkinci grup (%0,01) daha düşük bir ortalama olan 24,19 mL üretmiş, dördüncü grup (%0,1) ise sadece 10,10 mL ile en düşük metan üretimini göstermiştir (Çizelge 3.12; Şekil 3.10). Bu farklılıklar, eklenen larva konsantrasyonuna bağlı olarak biyolojik yanıtın değiştiğini ortaya koymakta ve yüksek konsantrasyonların metan üretimini baskılayıcı etki oluşturabileceğine işaret etmektedir.

ANOVA testi, gruplar arasında yüksek düzeyde anlamlı farklar olduğunu ortaya koymuştur ($F=29,173$, $p<0,001$). Bu sonuçlar, gözlemlenen farkların rastlantısal değil, uygulanan deneysel işlemlerden kaynaklandığını göstermektedir. Ayrıca, doğrusal, ağırlıklı ve ağırlıksız bileşenlere ilişkin analizler de tüm karşılaştırmalarda istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar vermiş; bu durum, larva ilavesinin metan üretimini azaltma yönünde doğrusal ve kümülatif bir etki gösterdiğini doğrulamaktadır.

Duncan çoklu karşılaştırma testi, grupları ortalama değerlerine göre üç homojen sınıfa ayırmıştır. Dördüncü grup (%0,1) belirgin düşük metan üretimi nedeniyle tek başına en alt kategoriye yerleştirilmiştir. İkinci grup (%0,01) ara bir sınıf oluştururken, kontrol grubu ile üçüncü grup (%0,02) arasında anlamlı fark bulunmamış, değerler söz konusu iki grubun mikrobiyal tepkilerinde belirgin bir benzerlik olduğunu göstermektedir.

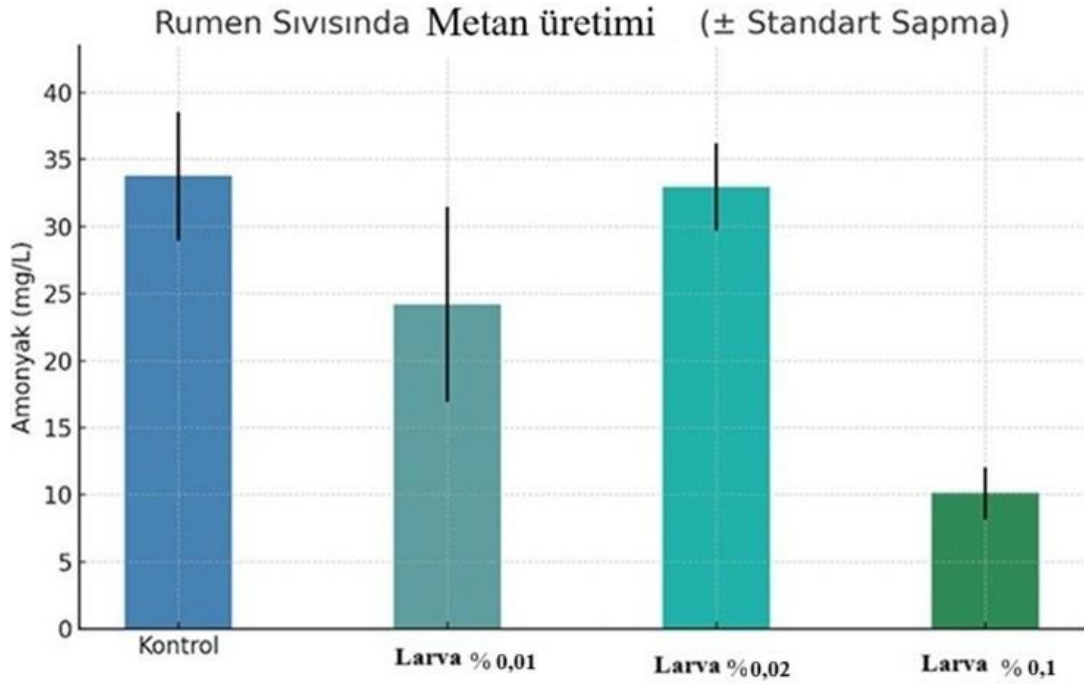
Sonuç olarak, yüksek konsantrasyonda (%0,1) siyah asker sineği larvası ilavesi, rumen sıvısı ortamında metan üretimini istatistiksel olarak anlamlı ve etkili bir biçimde azaltmaktadır. Bu etki, metanojenik arkeaların aktivitesini baskılayan ya da rumen mikrobiyotasının genel

dengeğini etkileyen larvaların biyokimyasal özelliklerinden kaynaklanıyor olabilir. Düşük konsantrasyonlarda ise benzer bir baskılayıcı etki gözlenmemiştir; bu da metan üretimi üzerindeki bu inhibe edici etkinin doz bağımlı olduğunu ortaya koymaktadır.

Çizelge 3.12. İnkubasyonun 48. saatinde gruplarda rumen sıvısında metan üretimi, %.

Grup / Yem	Kontrol (%0)	Larva %0,01	Larva %0,02	Larva %0,1	p-değeri
Rumen sıvısı	33,75 ±2,15 a	24,19 ±3,65 b	32,95 ±1,46 a	10,10 ±0,88 c	0,000

a,b,c; Birbirinden farklı harf taşıyan ortalama değerler arasındaki farklılıklar istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur. Her grupta fermentasyonun 48. saatinde fermentasyon ortamında bulunan metan üretimi yoğunluğu ortalaması ($\bar{x}$) ve standart hata ($S\bar{x}$) değerleri gösterilmektedir. Her bir grup için standart sapma ($\pm$) değeri belirtilmiş olup, bu değerler gruplar içindeki içsel varyasyonu yansıtmaktadır.



Şekil 3.10. Rumen sıvısında metan üretimi

3.6.2. Taze Dışkı Ortamında

Tanımlayıcı tablo verileri, en yüksek metan üretimi ortalamasının %0,02 oranında siyah asker sineği larvası eklenen üçüncü grupta kaydedildiğini göstermektedir (12,12 mL) (Çizelge 3.13; Şekil 3.11). Bunu, ikinci grup (%0,01) 8,86 mL ile, kontrol grubu ise 4,39 mL ile takip etmiştir. En düşük üretim ise yalnızca 2,94 mL ile en yüksek larva oranına (%0,1) sahip olan dördüncü grupta gözlemlenmiştir. Bu dağılım, gaz üretiminin, rumen sıvısı

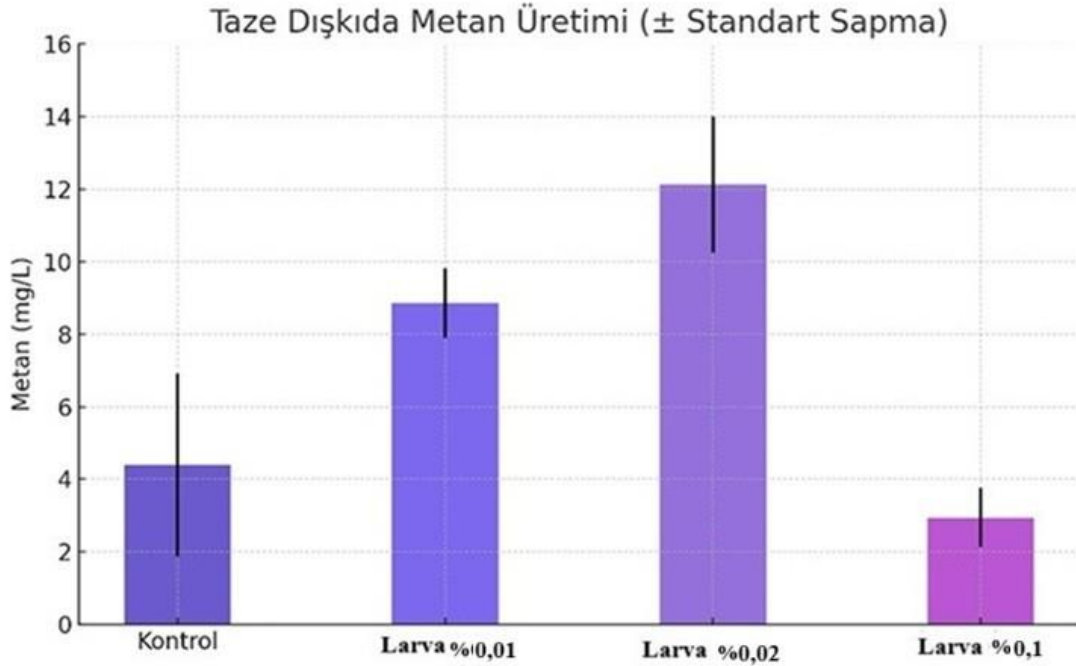
deneyinde olduğu gibi basit bir doğrusal desen izlemediğini, aksine daha karmaşık ve doğrusal olmayan bir yanıt biçimi sergilediğini göstermektedir.

ANOVA testi, gruplar arasında anlamlı farklar olduğunu ortaya koymuştur ($F=30,458$; $p<0,001$). Bu sonuç, metan üretimindeki farklılıkların tesadüfi değil, larva ilavesinin gerçek etkisine dayandığını göstermektedir. Ayrıca, doğrusal eğilim analizinde anlamlılık gözlemlenmemiştir ($p=0,753$); bu da, larva konsantrasyonu ile metan üretimi arasındaki ilişkinin doğrusal olmadığını ve rumen sıvısı ortamındaki sonuçlardan farklılık gösterdiğini ortaya koymaktadır.

Çizelge 3.13. İnkubasyonun 48. saatinde gruplarda taze dışkıda metan üretimi

Grup / Yem	Kontrol (%0)	Larva %0,01	Larva %0,02	Larva %0,1	p-değeri
Taze Dışkı	4,40±1,13 c	8,86±0,43 b	12,12±0,84 a	2,94±0,37 c	0,001

Birbirinden farklı harflerle (**a, b, c**) gösterilen ortalama değerler arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Her grupta fermentasyonun 48. saatinde fermentasyon ortamında bulunan metan değerleri ortalaması ($\bar{x}$) ve standart hata ($S\bar{x}$) değerleri gösterilmektedir.



Şekil 3.11. Taze dışkıda metan üretimi

Duncan'ın çoklu karşılaştırma testi, grupları üç homojen alt kümeye ayırmıştır. Dördüncü grup (%0,1) ile kontrol grubu, en düşük metan üretim seviyesinde birlikte sınıflandırılmıştır. İkinci grup (%0,01) orta düzeyde yer alırken, üçüncü grup (%0,02) en

yüksek üretim seviyesinde yer almıştır. Bu bulgular, metan üretimini baskılayıcı etkinin yalnızca en yüksek konsantrasyonda (%0,1) ortaya çıktığını, ancak %0,02'lik konsantrasyonun tersine gaz üretimini artırdığını göstermektedir.

Bu sonuçlara dayanarak, siyah asker sineği larvalarının taze dışkı ortamında metan üretimi üzerindeki etkisinin kullanılan konsantrasyona bağlı olduğu, ancak bu etkinin doğrusal bir desen izlemediği söylenebilir. En yüksek konsantrasyon (%0,1) belirgin bir azalmaya yol açarken, orta düzeydeki konsantrasyon (%0,02) açık bir artışa neden olmuştur. Bu durum, taze dışkı ortamında rumen sıvısına kıyasla farklı mikrobiyal ya da kimyasal etkileşimlerin mevcut olabileceğini ve bu nedenle yanıt deseninin farklılık gösterdiğini düşündürmektedir.

Larva ilavesinin taze dışkı ortamında metan üretimini azaltma potansiyeli taşımasına rağmen, bu etkinin rumen sıvısı deneyine kıyasla daha az düzenli ve daha az belirgin olduğu anlaşılmaktadır.

Siyah asker sineği larvalarının farklı konsantrasyonları (%0, %0,01, %0,02, %0,1) kullanılarak taze dışkıda metan gazı üretimi sonuçları aşağıda özetlenmiştir:

%0,02'lik larva konsantrasyonuna sahip grup, en yüksek metan üretimini göstermiştir.

%0,1'luk konsantrasyona sahip grup ise en düşük metan üretimini sağlamış olup, bu durum yüksek dozlarda baskılayıcı bir etki olabileceğini düşündürmektedir.

3.6.3. Dondurulmuş Dışkı Ortamında

Eksi (-) 20 °C'de dondurulmuş sığır dışkısı kullanılarak gerçekleştirilen bu deneyin sonuçları, kontrol grubu dahil olmak üzere kara asker sineği larvalarının farklı konsantrasyonlarının (%0, %0,01, %0,02, %0,1) eklendiği tüm gruplarda metan gazı üretiminin tamamen gerçekleşmediği görülmektedir (Çizelge 3.14).

Çizelge 3.14. İnkubasyonun 48. saatinde gruplarda donmuş dışkıda metan üretimi

Grup / Yem	Kontrol (%0)	Larva %0,01	Larva %0,02	Larva %0,1	p-değeri
Donmuş Dışkı	-	-	-	-	-

Bu sonuçlara dayanarak, -20 °C’de dondurulmuş dışkının, metan gazı üretiminden sorumlu mikrobiyal aktiviteyi tamamen inhibe ettiği söylenebilir. Eklenen kara asker sineği larvası miktarından bağımsız olarak bu inhibisyon devam etmiştir. Muhtemelen dondurma işlemi, organik maddenin fermentasyonundan ve gaz üretiminden sorumlu olan anaerobik mikroorganizmaları öldürmüş veya işlevsiz hale getirmiştir. Bu da biyolojik sistemin tamamen pasif kalmasına ve hiçbir tepkime göstermemesine yol açmıştır.

Donmuş dışkıda metan gazı üretimi sonuçları, kontrol grubu ve farklı larva konsantrasyonlarına sahip gruplar (%0,01, %0,02, %0,1) dahil olmak üzere tüm gruplarda üretimin tamamen olmadığını göstermektedir.

Bu durum, büyük olasılıkla dondurma işleminin mikroorganizmalar üzerindeki etkisinden kaynaklı olarak, bu ortamda metan üretiminden sorumlu mikrobiyal aktivitenin tamamen yok olduğunu yansıtmaktadır.

Siyah asker sineği larvalarının metan gazı üretimi üzerindeki etkisini değerlendirmek amacıyla farklı mikrobiyal ortamlar (rumen sıvısı, taze dışkı ve dondurulmuş dışkı) kullanılarak yürütülen üç deneyin sonuçları karşılaştırıldığında, bu ortamlar arasında tepki bakımından belirgin farklılıklar olduğu görülmektedir. Rumen sıvısı kullanılan deneyde, larva ilavesinin özellikle %0,1 düzeyinin metan üretiminde keskin ve istatistiksel olarak anlamlı bir azalmaya yol açtığı gözlemlenmiş, bu da bu ortamın larvaların neden olduğu mikrobiyal ve besinsel değişikliklere karşı yüksek hassasiyet gösterdiğini ortaya koymuştur. Buna karşılık, taze dışkı kullanılan deneyde doğrusal olmayan bir tepki deseni gözlenmiştir; metan üretimi %0,02’lik orta düzeyde önemli ölçüde artarken, %0,1’lik daha yüksek düzeyde tekrar azalmıştır. Bu durum, taze dışkının katkı maddeleriyle etkileşimde daha az kararlı ve daha değişken bir mikrobiyal ortam sunduğunu, muhtemelen farklı mikrobiyal etkileşimler tarafından şekillendiğini düşündürmektedir. Öte yandan, dondurulmuş dışkı kullanılan deneyde larva konsantrasyonundan bağımsız olarak hiçbir metan üretimi kaydedilmemiştir; bu da -20 °C’deki dondurmanın mikrobiyal aktiviteyi tamamen baskıladığını ve fermentasyonun gerçekleşmediğini göstermektedir. Tüm bu bulgular birlikte değerlendirildiğinde, rumen sıvısının, yem katkılarının metan üretimi üzerindeki etkilerini değerlendirmede en duyarlı ve etkili ortam olduğu ortaya çıkmaktadır. Buna karşın, dondurulmuş dışkı bu tür değerlendirmeler için kesinlikle uygun değildir; taze dışkının ise yanıtları ruminal ortama kıyasla daha orta düzeyde ve düzensizdir.

3.7. İn-Vitro İnkübasyon Sonunda Ölçülen Uçucu Yağ Asitleri

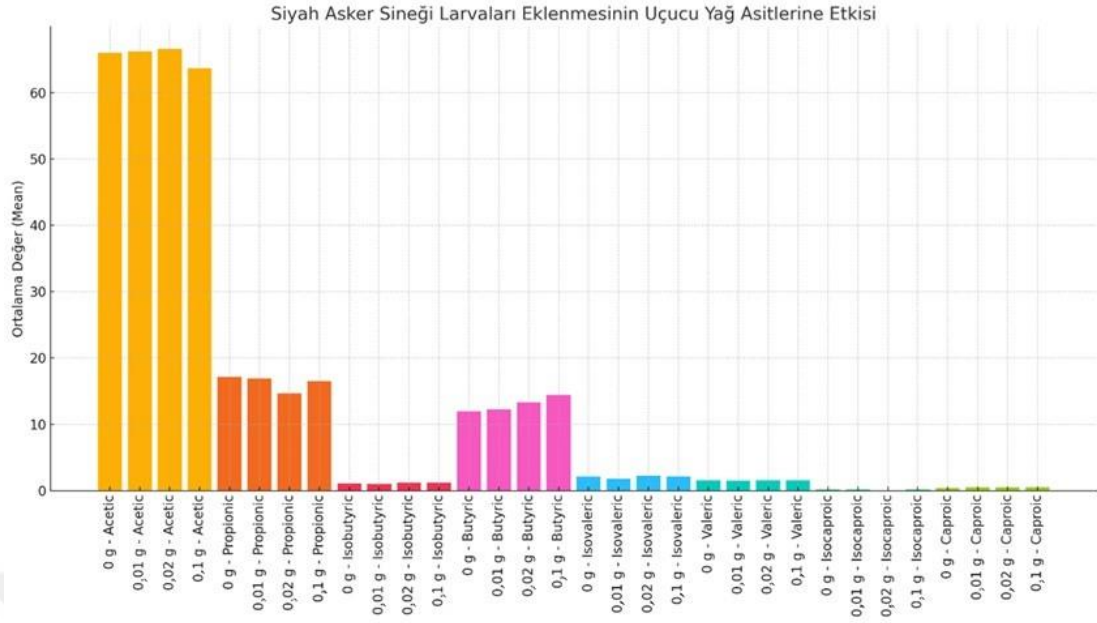
3.7.1. Rumende Sıvı Ortamda

Siyah asker sineği larvalarının rasyonlara ilavesinin rumen sıvısı ortamında yapılan in vitro denemede bazı uçucu yağ asitlerinin üretimi üzerinde anlamlı etkiler yarattığı gözlemlenmiştir. İstatistiksel analiz sonuçlarına göre, özellikle asetik asit düzeylerinde belirgin bir değişiklik saptanmıştır. Larva ilavesi yapılan %0,1 grubunda asetik asit ortalaması 63,71 olarak kaydedilmiş, bu değer %0,02 larva ilavesi yapılan gruptaki 66,63 ortalamasına kıyasla anlamlı derecede daha düşük bulunmuştur ($p=0,030$). Bu düşüş, yüksek larva dozunun fermentasyon dengesini etkileyerek selüloz gibi lifli karbonhidratların yıkımından sorumlu mikrobiyal aktiviteyi azaltmış olabileceğine işaret etmektedir. Duncan testi sonuçlarına göre, %0,1 larva ilavesi yapılan grup, istatistiksel olarak diğer gruplardan farklı bir grup oluşturmuş ve bu durum, bu dozajın asetik asit üretimini anlamlı düzeyde azalttığını göstermiştir (Çizelg 3.15).

Çizelg 3.15. Rumen sıvısında gruplarda uçucu yağ asitleri değeri (mmol/L)

Grup	Asetik Asit	Propiyonik Asit	İzobütirik Asit	Bütirik Asit	İzovalerik Asit	Valerik Asit	İzokaproik Asit	Kaproik Asit
Kontrol	66,04±0,44a	17,15±0,54a	0,99±0,09	11,93±0,43	1,87±0,18	1,50±1,58	0,09±0,01	0,42±0,1
Larva %0,01	66,18±0,80a	16,91±0,18a	0,99±0,52	12,09±0,39	1,77±0,12	1,51±1,37	0,09±0,01	0,45±0,1
Larva %0,02	66,63±0,15a	14,66±0,25b	1,19±0,38	13,14±0,21	2,23±0,08	1,57±0,05	0,08±0,01	0,49±0,01
Larva %0,1	63,71±0,97b	16,49±0,28a	1,18±0,64	14,40±1,44	2,08±1,6	1,51±0,39	0,10±0,02	0,52±0,11
P değeri	0,030	0,000	0,084	0,139	0,140	0,995	0,423	0,814

a,b; Birbirinden farklı harf taşıyan ortalama değerler arasındaki farklılıklar istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur. Her grupta fermentasyonun 48. saatinde fermentasyon ortamında bulunan uçucu yağ asitleri değeri yoğunluğu ortalaması ($\bar{x}$) ve standart hata ($S\bar{x}$) değerleri gösterilmektedir.



Şekil 3.12. İnkübasyonun 48. saati sonunda rumen sıvısı ortamda UYA üretim değerlerindeki değişim (%)

Benzer şekilde, propiyonik asit düzeylerinde de belirgin bir farklılık gözlenmiştir. Kontrol grubunda ortalama propiyonik asit düzeyi 17,15 iken, %0,02 larva eklenen grupta bu değer 14,66'ya kadar düşmüştür. Bu fark yüksek derecede anlamlı bulunmuştur ($p < 0,001$). Duncan testine göre, %0,02'lik grup diğer gruplardan istatistiksel olarak farklı bir alt grupta yer almış ve bu durum, bu dozun propiyonat üreten mikroorganizmaların aktivitesini baskılamış olabileceğini düşündürmektedir. Bilindiği üzere, propiyonik asit karaciğerde glikoz sentezinde kullanılarak hayvanda enerji verimliliğini artırır; dolayısıyla bu düşüş, enerji kullanımında potansiyel bir azalmaya işaret edebilir.

İzobütirik asit açısından değerlendirildiğinde, larva dozu arttıkça ortalama düzeylerde kademeli bir artış kaydedilmiştir (0,99'dan 1,18'e). Bu artış gözlemlenmiş olsa da, istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p = 0,084$). Bu asit, valin gibi dallanmış zincirli aminoasitlerin fermentasyonu sonucu oluşmakta olup, larva kaynaklı protein miktarının artışı ile hafif düzeyde bir mikrobiyal fermentasyon uyarısı meydana gelmiş olabilir. Ancak gruplar arası varyasyonun fazla olması nedeniyle bu farklılık istatistiksel olarak doğrulanamamıştır.

Bütirik asit değerleri de larva dozu ile birlikte artış göstermiştir (11,93'ten 14,40'a), ancak bu artış da anlamlı kabul edilmemiştir ($p = 0,139$). Yine de artış yönündeki eğilim, bütirat üretiminde rol oynayan mikroorganizmalarda biyolojik bir yanıt olabileceğini düşündürmektedir. Bütiratın rumen epitelyum hücreleri için enerji kaynağı olarak kritik önemi göz önüne alındığında, bu değişim rasyonel bir etkiye işaret edebilir.

İzovalerik asit düzeylerinde ise 1,77 ile 2,23 arasında anlamlılığa oldukça yakın bir artış gözlenmiştir ($p=0,140$). Bu asit, löysin amino asidinin mikrobiyal fermentasyonu ile oluşmakta olup, bu sonuçlar larva kaynaklı protein takviyesinin çözünür aminoasit oranlarını ve metabolizmasını etkileyerek üretimini artırmış olabileceğini göstermektedir.

Buna karşılık, daha düşük konsantrasyonlarda ölçülen valerik, izokaproik ve kaproik asit düzeylerinde gruplar arasında herhangi bir istatistiksel fark gözlenmemiştir (p sırasıyla 0,995, 0,423 ve 0,814). Bu asitlerin tüm gruplarda ortalama düzeylerinin birbirine oldukça yakın olması, larva ilavesinin bu spesifik metabolitlerin üretimini etkilemediğini veya bu asitlerin oluşum düzeylerinin ölçüm aralığı içerisinde yeterince belirgin olmadığını göstermektedir.

Genel olarak değerlendirildiğinde, siyah asker sineği larvalarının rumen ortamına katılımı, özellikle asetik ve propiyonik asit üretimi üzerinde anlamlı etkiler göstermiştir. Diğer bazı uçucu yağ asitlerinde (izobütirik, bütirik, izovalerik) ise anlamlı olmasa da artış yönünde eğilimler kaydedilmiştir. Bu durum, larvaların içerdiği protein, yağ ve potansiyel biyolojik bileşenlerin rumen mikrobiyotasını ve fermentasyon rotalarını etkileyerek uçucu yağ asidi profillerini değiştirdiğine işaret etmektedir.

3.7.2. Taze Dışkı Ortamında

Asetik asit: Tanımlayıcı istatistiklere göre asetik asit düzeyleri 54,31 ile 60,67 arasında değişmiştir; en düşük değer %0,02 larva ilavesi yapılan grupta (54,86), en yüksek değer ise kontrol grubunda (60,67) ölçülmüştür. Bu sayısal farklara rağmen, varyans analizi sonucunda gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir ($p=0,526$). Duncan testi de tüm grupların aynı istatistiksel alt grupta yer aldığını göstermektedir. Biyolojik olarak değerlendirildiğinde, asetik asit genellikle lifli bileşiklerin fermentasyonu sonucu oluşur. Bu nedenle, anlamlı bir değişikliğin gözlenmemesi, larva ilavesinin dışkı ortamında selüloz yıkımından sorumlu mikrobiyal faaliyet üzerinde belirgin bir etkisinin olmadığını düşündürmektedir (Çizelge 3.16; Şekil 3.13).

Propiyonik asit: Gruplar arasında belirli düzeyde değişkenlik gözlenmiş olup, %0,02 larva ilavesi yapılan grupta ortalama değer 25,80'e düşmüş, kontrol grubunda ise 31,29 olarak ölçülmüştür. Ancak bu fark istatistiksel açıdan anlamlı değildir ($p=0,357$). Duncan testi sonuçları da tüm grupların benzer düzeyde olduğunu göstermektedir. Biyolojik olarak

propiyonik asit, çözünebilir karbonhidratların fermantasyonunun bir ürünüdür ve karaciğerde glukoneogenez yoluyla enerji üretiminde kritik rol oynar. Bu nedenle %0,02 grubundaki düşüş, fermantasyon yollarında hafif bir sapmayı işaret edebilir, ancak bu fark istatistiksel anlamda yeterince güçlü değildir.

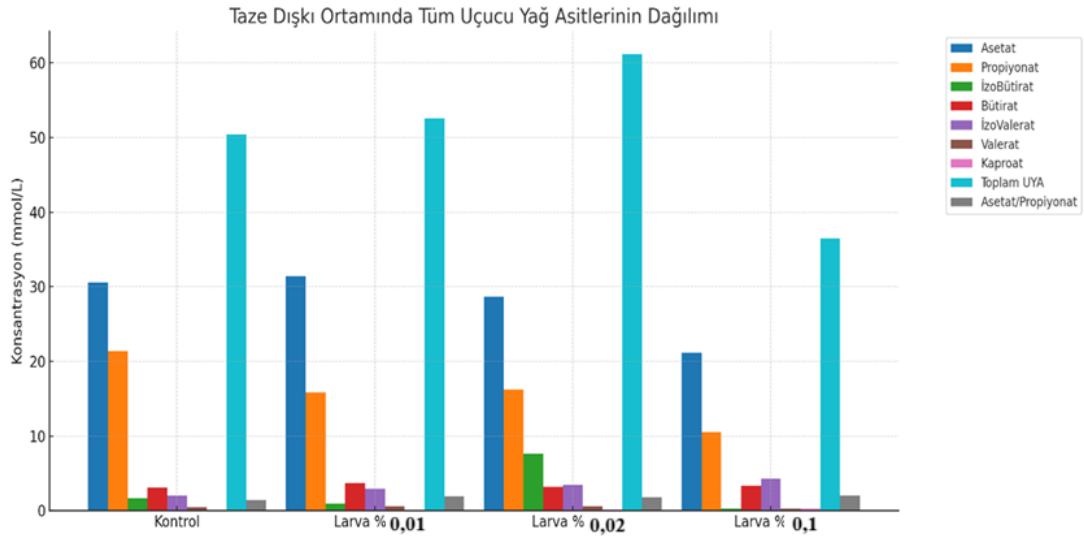
Çizelge 3.16. Gruplarda taze dışkı uçucu yağ asitleri değeri (mmol/L)

Grup	Asetik Asit	Propiyonik Asit	İzobütirik Asit	Bütirik Asit	İzovalerik Asit	Valerik Asit	İzokaproik Asit	Kaproik Asit
Kontrol	60,67±1,32	31,29±0,80	0,32±0,08	6,15±0,44	0,38±0,12 b	0,92±0,08	0,17±0,01	0,10±0,02
Larva %0,01	54,32±4,60	27,58±2,80	8,77±8,25	7,52±0,85	0,51 ±0,09ab	1,02±0,17	0,18±0,04	0,10±0,01
Larva %0,02	54,87±5,60	25,80±2,58	0,47±0,04	7,65±0,87	0,65 ±0,12ab	1,08±0,13	0,47±0,31	9,02±8,89
Larva %0,1	60,64±3,06	27,15±1,98	0,72±0,07	9,01±1,21	0,97±0,24 a	0,72±0,21	0,36±0,18	0,42±0,27
P değeri	0,526	0,357	0,417	0,199	0,076	0,403	0,594	0,426

a,b; Birbirinden farklı harf taşıyan ortalama değerler arasındaki farklılıklar istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur. Her grupta fermantasyonun 48. saatinde fermantasyon ortamında bulunan uçucu yağ asitleri değeri yoğunluğu ortalaması ($\bar{x}$) ve standart hata ($S\bar{x}$) değerleri gösterilmektedir.

İzobütirik asit: Gruplar arasında dikkat çekici düzeyde dalgalanmalar gözlemlenmiştir. Kontrol grubunda ortalama 0,31 iken, %0,01 grubunda bu değer 8,76'ya kadar çıkmıştır. Bu yüksek varyasyona rağmen, yapılan varyans analizi sonuçlarına göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir ($p=0,417$). Duncan testi de gruplar arası istatistiksel ayrım göstermemiştir. Bu asit, dallanmış zincirli aminoasitlerin mikrobiyal yıkımı ile oluşur ve bu büyük artış, larvalardan gelen proteinlerin fermantasyonundaki bireysel varyasyonlara bağlı olabilir.

Bütirik asit: Bütirik asit düzeyleri, kontrol grubundaki 6,15'ten başlayarak %0,1 grubunda 9,01'e kadar artış göstermiştir. Bu artış eğilimi dikkat çekici olsa da istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0,199$). Duncan testi, ortalamalar arasında kademeli bir yükseliş olduğunu göstermektedir. Biyolojik açıdan, bütirik asit rumen epiteli hücrelerinin enerji kaynağıdır ve epitel gelişiminde önemli rol oynar. Bu nedenle, larva katkısının bazı mikrobiyal türleri uyarak bu asidin üretimini artırmış olabileceği düşünülmektedir.



Şekil 3.13. İnkübasyonun 48. saati sonunda taze dışkı UYA üretim değerlerindeki değişim (%)

İzovalerik asit: İzovalerik asit düzeyleri kontrol grubunda 0,37'den başlayarak %0,1 grubunda 0,97'ye kadar yükselmiştir. Bu artış istatistiksel anlamlılık sınırına oldukça yaklaşmıştır ($p=0,076$) ve Duncan testi de gruplar arasında bir farklılık eğilimi olduğunu göstermektedir. Bu asit, löysin aminoasidinin mikrobiyal fermentasyonu sonucu oluşur ve larvalardan gelen aminoasitlerin artışı bu üretimi artırmış olabilir.

Valerik asit: Tüm gruplarda çok yakın değerler gözlemlenmiş (0,71 – 1,07 arası) ve varyans analizi sonucunda anlamlı fark bulunmamıştır ($p=0,403$). Duncan testi de grupların aynı istatistiksel alt grupta olduğunu göstermektedir. Valerik asidin üretim düzeyinin düşük olması ve grup ortalamalarının birbirine çok yakın seyretmesi, larva ilavesinin bu parametre üzerinde etkili olmadığını düşündürmektedir.

İzokaproik asit: Ortalama değerler 0,17 ile 0,47 arasında değişmiş, İstatistiksel açıdan anlamlı bir fark tespit edilememiştir ($p=0,594$). Duncan testi sonuçları da bu durumu desteklemektedir. Bu sonuçlar, izokaproik asidin üretiminin larva ilavesinden etkilenmediğini veya bu etkinin ancak daha yüksek protein seviyelerinde ortaya çıkabileceğini düşündürmektedir.

Kaproik asit: %0,02 grubunda 9,02 gibi oldukça yüksek bir değer gözlenmiş, diğer gruplarda ise değerler 0,10 ila 0,42 arasında kalmıştır. Bu fark sayısal olarak belirgin olsa da istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0,426$). Bu durum, muhtemelen tek bir örnekte

görülen sıra dışı bir mikrobiyal yanıtın sonucu olup, diğer tekrarlarla tutarlılık göstermediği için genel bir anlam ifade etmemektedir. Duncan testi de yalnızca bir grupta fark olduğunu göstermiştir.

Bu bulgular genel olarak değerlendirildiğinde, siyah asker sineği larvalarının taze sığır dışkısı ortamında uçucu yağ asidi üretimi üzerinde istatistiksel olarak sınırlı bir etkisi olduğu görülmektedir. Çoğu parametrede anlamlı fark saptanmamış olsa da bütirik ve izovalerik asit gibi bazı bileşenlerde yükselme eğilimleri dikkat çekmiştir. Ayrıca, bazı gruplarda gözlenen biyolojik yanıtların homojen olmaması, mikrobiyal dengenin veya protein fermentasyonu seviyesinin larva katkısına farklı şekillerde yanıt verebildiğini düşündürmektedir.

3.7.3. Dondurulmuş Dışkı Ortamında

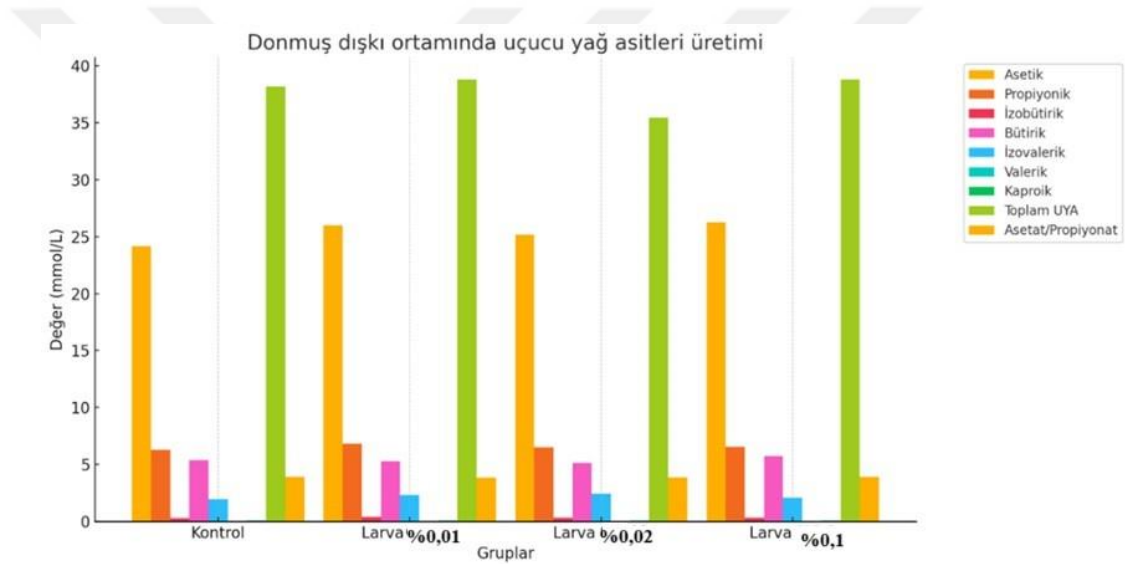
Asetik asit: Ortalama değerler incelendiğinde, asetik asit düzeylerinin %0,02'lik grupta en düşük (61,67), %0,01'lik grupta ise en yüksek (67,15) olduğu görülmektedir. Kontrol grubundaki değer ise 63,66 olarak kaydedilmiştir (Çizelge 3.17; Şekil 3.14). Bu sayısal farklılıklara rağmen, ANOVA analizine göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0,052$). Ancak Duncan testi, %0,01 grubunun diğer gruplardan hafifçe ayrılma eğiliminde olduğunu göstermektedir. Biyolojik olarak, asetik asit liflerin mikrobiyal fermentasyonu sonucu oluşur ve bu varyasyonlar, larvaların içerdiği bileşenlerin mikrobiyal flora dengesinde küçük değişikliklere neden olabileceğini düşündürmektedir. Ancak dışkının dondurulmuş olması, selülozu fermente eden bakterilerin aktivitesini azaltmış ve bu nedenle anlamlı farklılıkların oluşmasını engellemiş olabilir.

Propiyonik asit: Propiyonik asit düzeyleri %0,1 grubunda 13,89 ile en düşük, %0,02 grubunda ise 17,84 ile en yüksek seviyededir. %0,01 grubunda da benzer şekilde 17,53'lük bir değer gözlemlenmiştir. Bu sayısal farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (ANOVA, $p=0,356$) ve Duncan testine göre tüm gruplar aynı istatistiksel alt kümede yer almaktadır. Propiyonik asit, çözünür karbonhidratların anaerobik fermentasyonu ile oluşur ve enerji üretiminde önemli bir rol oynar. %0,1 grubunda gözlenen düşüş, bu fermentasyon yolunun kısmen baskılanmış olabileceğini göstermektedir. Bu durum, larvaların içerdiği yağ veya protein fraksiyonlarının mikrobiyal kompozisyonu etkilemesinden kaynaklanmış olabilir, ancak bu etki istatistiksel olarak anlamlı düzeyde tutarlı değildir.

Çizelge 3.17. Gruplarda donmuş dışkıda uçucu yağ asitleri değeri (mmol/L)

Grup	Asetik asit	Propiyonik asit	İzobütirik asit	Bütirik asit	İzovalerik asit	Valerik asit	İzokaproik asit	Kaproik asit
Kontrol	63,66±0,92 ab	16,59±0,43	0,78±0,23	17,34±0,56	1,11± 0,07	0,09±0,01	0,23±0,01	0,22±0,02
Larva %0,01	67,15± 1,07a	17,54±1,95	0,44±0,05	13,90±1,58	0,55±0,06	0,04±0,01	0,19±0,02	0,20±0,02
Larva %0,02	61,67±1,71 b	17,84±0,76	4,06±3,31	14,34±3,94	0,97± 0,28	0,08±0,02	0,20±0,04	0,84±0,62
Larva %0,1	64,21 ±1,23ab	13,89±2,56	0,74±0,10	18,57±3,09	1,39±0,26	0,26±0,22	0,48±0,30	0,46±0,21
P değeri	0,052	0,356	0,391	0,488	0,060	0,485	0,510	0,503

a,b; Farklı harfler taşıyan ortalama değerler arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Her grupta fermentasyonun 48. saatinde fermentasyon ortamında bulunan uçucu yağ asitleri değeri yoğunluğu ortalaması ($\bar{x}$) ve standart hata ($S\bar{x}$) değerleri gösterilmektedir



Şekil 3.14. İnkübasyonun 48. saati sonunda donmuş dışkıda UYA üretim değerlerindeki değişim (%)

İzobütirik asit: En yüksek izobütirik asit düzeyi %0,02 grubunda (4,05) görülürken, %0,01 grubunda bu değer 0,43 ve kontrol grubunda 0,78 olarak kaydedilmiştir. Bu belirgin sayısal artışa rağmen, ANOVA sonuçlarına göre fark anlamlı değildir ($p=0,391$) ve Duncan testi gruplar arasında istatistiksel olarak bir ayırım göstermemektedir. İzobütirik asit, valin aminoasidinin fermentasyonu ile oluşur. Larvaların eklenmesiyle bu yolun bireysel örneklerde geçici olarak aktive edilmiş olabileceği düşünülmektedir; ancak dondurma işlemi mikrobiyal dengenin homojenliğini bozmuş olabilir.

Bütirik asit: Ortalama değerler %0,01 grubunda 13,89'dan başlayarak, %0,1 grubunda 18,57'ye kadar kademeli bir artış göstermektedir. Kontrol grubunda bu değer 17,34'tür. ANOVA testine göre gözlemlenen artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0,488$), ancak biyolojik olarak, larva ilavesinin bütirik asit üreten mikroorganizmaların aktivitesini

teşvik etmiş olabileceği yönünde bir eğilim gözlemlenmektedir. Bütirik asit, rumen epitelyum hücreleri için önemli bir enerji kaynağıdır. Bu artış, yüksek sindirilebilirliğe sahip bir protein kaynağı olan larvaların, anaerobik ayrışmayı desteklemiş olabileceğine işaret etmektedir.

İzovalerik asit: Değerler %0,01 grubunda 0,55 iken, %0,1 grubunda 1,38'e ulaşmıştır. ANOVA analizinde $p=0,060$ olarak kaydedilmiş ve istatistiksel anlamlılık sınırına oldukça yaklaşmıştır. Duncan testi ise gruplar arasında bir ayrışma eğilimini göstermektedir. İzovalerik asit löysin aminoasidinin mikrobiyal yıkımıyla oluşur. Bu sonuçlar, artan larva dozlarının protein fermentasyon yollarını aktive ettiğini düşündürmektedir. Her ne kadar istatistiksel anlamlılık sağlanmamış olsa da biyolojik yanıt belirgindir.

Valerik asit: Değerler oldukça düşüktür ve 0,03 ile 0,26 arasında değişmektedir. ANOVA analizine göre fark anlamlı değildir ($p=0,485$) ve Duncan testi de gruplar arasında istatistiksel farklılık olmadığını göstermektedir. Valerik asit genellikle ikincil bir metabolittir ve bazı protein ya da lipid türevlerinin parsiyel fermentasyonu sonucu oluşur. Larvaların bu spesifik yol üzerindeki etkisi deneysel koşullar altında anlamlı düzeyde görülmemiştir.

İzokaproik asit: Ortalama değerler 0,19 ile 0,47 arasında değişmekte olup, ANOVA sonucu istatistiksel anlamlılık göstermemektedir ($p=0,510$). Duncan testi de gruplar arasında bir farklılık ortaya koymamıştır. Bu bulgular, izokaproik asidin üretim yollarının larva ilavesinden sistematik olarak etkilenmediğini düşündürmektedir.

Kaproik asit: %0,02 grubunda 0,84 ile yüksek bir değer görülmüş, diğer gruplarda bu değer 0,19–0,46 arasında kalmıştır. ANOVA sonucu istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0,503$), ancak bu gruptaki belirgin artış dikkat çekicidir. Kaproik asit genellikle yağ asitlerinin metabolizmasından elde edilir ve larvalardaki yağ bileşenlerinin bazı mikrobiyal toplulukları geçici olarak aktive etmiş olabileceği düşünülmektedir. Ancak bu tepki homojen olmadığı için istatistiksel olarak tutarlı bir sonuca ulaşılamamıştır (Çizelge 3.17).

Bu çalışmanın bulguları, dondurulmuş dışkı ortamının, siyah asker sineği larvalarının fermentatif etkilerini değerlendirmek açısından sınırlayıcı bir ortam olduğunu göstermektedir. Çoğu uçucu yağ asidinde istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamakla birlikte, izovalerik ve bütirik asit gibi bazı bileşiklerde yukarı yönlü biyolojik eğilimler gözlemlenmiştir. Dondurma işleminin anaerobik mikroorganizmaların canlılığını azaltarak fermentasyon hassasiyetini düşürdüğü düşünülmektedir. Bu nedenle, dışkı bazlı in vitro çalışmalar için taze veya daha az

işlenmiş ortamların tercih edilmesi, yem katkılarının etkilerini daha doğru şekilde yansıtacaktır.

Siyah asker sineği larvalarının farklı ortamlarda (rumen sıvısı, taze dışkı ve dondurulmuş dışkı) yem rasyonuna ilavesine dayanan deneysel sonuçlara göre, uçucu yağ asitlerinin üretiminde her bir ortamın biyolojik ve istatistiksel düzeyde farklı tepkiler verdiği açıkça görülmüştür.

Rumen sıvısı ortamında, fermentasyon yanıtı üç ortam arasında en yüksek düzeyde gerçekleşmiştir. Bu ortamda başta gelen uçucu yağ asitlerinde anlamlı farklılıklar gözlemlenmiştir. Asetik asit konsantrasyonu, en yüksek larva dozunda (%0,1) istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşmüş ($p=0,030$) ve bu durum, liflerin fermentasyonundan sorumlu mikrobiyal aktivitede bir değişime işaret etmiştir. Benzer şekilde, propiyonik asitte de anlamlı bir düşüş ($p=0,001$) kaydedilmiş, özellikle %0,02 dozunda belirgin azalma gözlemlenmiştir. Bu durum, larva katkısının enerji üretim yolları üzerinde doğrudan etkili olduğunu göstermektedir. Öte yandan, izobüirik, bütirik ve izovalerik asitlerde istatistiksel anlamlılık sağlanmamış olsa da, düzenli artışlar kaydedilmiş ve bu artışlar, larvaların içerdiği protein ve dallanmış zincirli aminoasitlerin mikrobiyal fermentasyonu uyardığını düşündürmektedir. Genel olarak rumen sıvısı, yüksek mikrobiyal çeşitliliğe ve canlılığa sahip bir ortam olarak, yem katkılarının etkilerini hızlı ve belirgin biçimde yansıtabilme kapasitesine sahiptir.

Taze dışkı ortamında, fermentatif yanıt orta düzeyde kalmış, uçucu yağ asitlerinin hiçbirinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark belirlenmemiştir ($P > 0,05$). Bununla birlikte, özellikle yüksek larva dozlarında bütirik ve izovalerik asit düzeylerinde belirgin artışlar gözlemlenmiştir. Özellikle izovalerik asit için p değeri anlamlılık sınırına oldukça yaklaşmış ($p=0,076$), bu da aminoasit metabolizmasına ilişkin fermentasyon yollarının kısmen aktive olduğunu göstermektedir. Sayısal artışlara rağmen istatistiksel anlamlılık sağlanamamış olması, taze dışkı ortamının rumen sıvısına kıyasla daha düşük mikrobiyal yoğunluğa sahip olduğunu, fakat yine de fermentatif aktiviteyi sürdürdüğünü göstermektedir. Bu durum, taze dışkının deneysel koşullarda rumen sıvısına alternatif bir model ortam olarak kullanılabileceğini, ancak daha büyük örneklem büyüklüğü veya daha fazla tekrar ile desteklenmesi gerektiğini ortaya koymaktadır.

Dondurulmuş dışkı ortamı ise, uçucu yağ asitlerinin üretiminde en zayıf yanıt vermiştir. Tüm asitlerde istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. Bazı asitlerde (örneğin izobütirik asit: 4,05 $\mu\text{mol/mL}$, kaproik asit: 0,83 $\mu\text{mol/mL}$ – her ikisi de 0,02 g dozda) dikkat çekici sayısal farklılıklar kaydedilmiş olsa da, bu farklılıklar ANOVA testlerinde anlamlılık düzeyine ulaşmamıştır. Bu bulgular, dondurma işleminin anaerobik mikroorganizmaların canlılığını önemli ölçüde azalttığını ve bu nedenle dışkı ortamının fermentatif yanıt verme kapasitesini sınırladığını göstermektedir.

Sonuç olarak, siyah asker sineği larvalarının rasyona eklenmesiyle ortaya çıkan mikrobiyal fermentasyon değişimleri açısından rumen sıvısı en duyarlı ve en uygun ortam olarak öne çıkmaktadır. Taze dışkı, daha zayıf ama yine de belirli biyolojik sinyaller veren bir alternatif ortamdır. Buna karşılık, dondurulmuş dışkı, mikrobiyal aktiviteyi yetersiz düzeyde yansıttığı için bu tür in vitro çalışmalar açısından uygun bir ortam olarak değerlendirilemez. Bu bulgular, yem katkılarının etkilerini araştıran laboratuvar çalışmaları için uygun ortam seçiminin kritik önem taşıdığını açıkça ortaya koymaktadır.

3.8. İn-Vitro Rumen Sindirilebilirliğinin Belirlenmesi

3.8.1. Rumen Sıvısı Ortamında

Laboratuvar koşullarında rumen sıvısı mikrobiyal kaynak olarak kullanılarak yapılan sindirilebilirlik deneyi sonuçlarına göre, BSFL'nin farklı dozlarda yemlere eklenmesinin sindirilebilirlik üzerine anlamlı etkileri olduğu belirlenmiştir. Çalışmada dört grup yer almıştır: larva içermeyen kontrol grubu ile sırasıyla %0,01, %0,02 ve %0,1 BSFL ilave edilen üç deney grubu. DeneySEL rasyonlar %50 kaba yem ve %50 BSFL içeren konsantre yemden oluşmuştur.

Toplam kuru madde sindirilebilirliği (IVTD) değerleri incelendiğinde, en yüksek ortalama kontrol grubunda (%93,1) gözlenmiştir. Larva miktarındaki artışa bağlı olarak sindirilebilirlik değerlerinde kademeli bir azalma meydana gelmiş; %0,01 grubunda %74,83, %0,02 grubunda %75,53 ve %0,1 grubunda %72,88 değerleri elde edilmiştir. ANOVA testi gruplar arasında çok yüksek derecede anlamlı farklar olduğunu göstermiştir ($p < 0,001$). Duncan testi ise kontrol grubunun diğer gruplardan istatistiksel olarak anlamlı şekilde ayrıldığını ortaya koymuştur. Bu durum, BSFL ilavesinin toplam kuru madde sindirilebilirliğini olumsuz etkilediğini göstermektedir.

Kül giderilmiş kuru madde sindirilebilirliği (IVTDKM) bakımından da benzer bir eğilim gözlemlenmiştir. Kontrol grubunda en yüksek ortalama (%92,63) tespit edilirken, larva miktarının artmasıyla birlikte sırasıyla %73,34, %74,52 ve %70,71 değerlerine ulaşılmıştır. ANOVA testi bu değişimlerin de istatistiksel olarak oldukça anlamlı olduğunu göstermiştir ($p<0,001$). Duncan analizine göre, özellikle kontrol grubu ile %0,1 grubu arasında belirgin farklılıklar bulunmakta olup, yüksek larva konsantrasyonlarının sindirilebilirliği azalttığı sonucuna varılmıştır.

Nötral deterjan lif sindirilebilirliği (IVTDNDF) parametresi larva ilavesinden en fazla etkilenen ölçüt olmuştur. Kontrol grubunda %83,97 gibi yüksek bir sindirilebilirlik değeri saptanırken, %0,1 grubunda bu oran %28,38'e kadar düşmüştür. %0,01 ve %0,02 gruplarında ise sırasıyla %41,22 ve %43,10 oranlarında orta düzeyde sindirilebilirlik değerleri kaydedilmiştir. Bu bulgular, yüksek oranda BSFL ilavesinin lif sindiriminden sorumlu mikrobiyal aktiviteyi baskılayarak yemlerin kaba fraksiyonunun sindirilebilirliğini olumsuz etkilediğini göstermektedir. Duncan testi, gruplar arasında açık şekilde ayrım olduğunu doğrulamıştır.

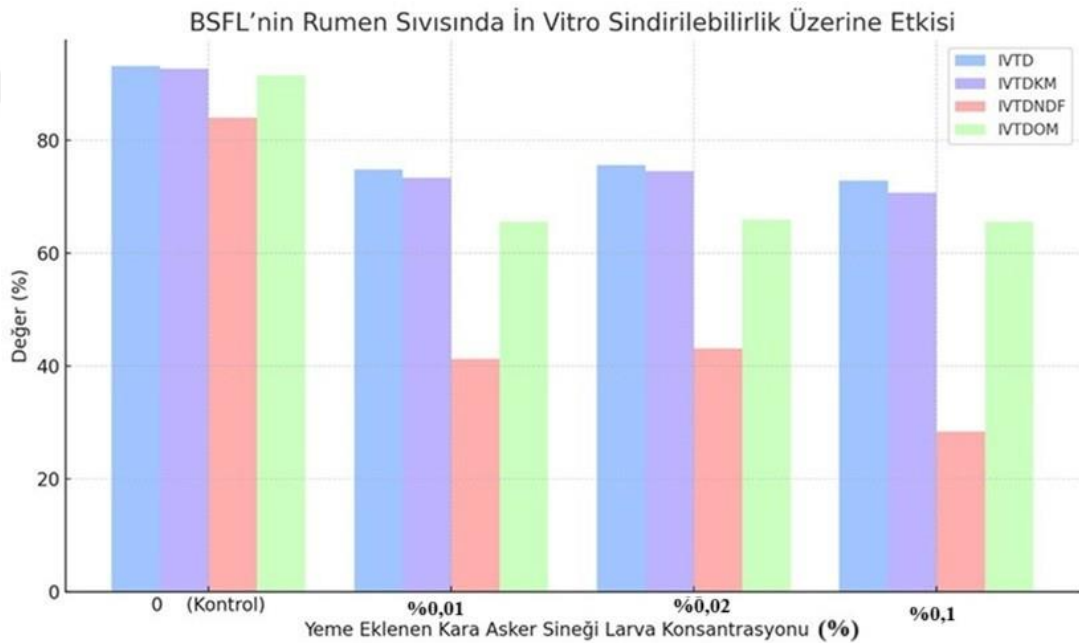
Organik madde sindirilebilirliği (IVTDOM) açısından da en yüksek değer kontrol grubunda (%91,46) gözlenmiş olup, deney gruplarında bu değerler %65,48 ile %65,96 arasında değişmiştir. Hem ANOVA hem de Duncan testleri, kontrol grubunun diğer gruplardan anlamlı şekilde ayrıldığını ortaya koymuştur. Deney grupları arasında ise belirgin farklılıklar saptanmamıştır (Çizelge 3.18).

Çizelge 3.18. Yem gruplarında sindirilebilirlik (%) – Rumen sıvısı deneyi

Grup / Yem	IVTD	IVTDKM	IVTDNDF	IVTDOM
Kontrol (0%)	93,17± 0,44a	92,63 ±0,47a	83,97±1,02 a	91,46± 0,74a
Larva %0,01	74,84±0,71 b	73,34± 0,76bc	41,23±1,67 b	65,55±0,83 b
Larva %0,02	75,53±0,97 b	74,52±0,01 b	43,11±2,26 b	65,96±1,08 b
Larva %0,1	72,88 ±0,82b	70,72± 0,89c	28,38±2,17 c	65,48± 0,89b
P-değeri	0,000	0,000	0,000	0,000

a,b,c; Birbirinden farklı harf taşıyan ortalama değerler arasındaki farklılıklar istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur. Her grupta fermentasyonun 48. saatinde fermentasyon ortamında bulunan Sindirilebilirliğinin Belirlenmesi yoğunluğu ortalaması ($\bar{x}$) ve standart hata ($S\bar{x}$) değerleri gösterilmektedir.

Tüm bu bulgular değerlendirildiğinde, özellikle %0,1 oranında BSFL ilavesinin rumen sıvısı kullanılarak yapılan in vitro ortamda sindirilebilirlik parametreleri üzerinde olumsuz etkiler oluşturduğu söylenebilir. Elde edilen veriler, bu etkinin yalnızca kuru maddeyle sınırlı kalmayıp lif ve organik madde gibi sindirim açısından kritik bileşenleri de kapsadığını ortaya koymaktadır. Her ne kadar düşük konsantrasyonlardaki (%0,01– %0,02) BSFL ilavesi daha az olumsuz etki gösterse de, kontrol grubuna kıyasla bu farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Dolayısıyla, BSFL'nin ruminant beslemesinde protein kaynağı olarak kullanımı planlandığında, sindirim verimliliğini koruyacak uygun dozun dikkatle belirlenmesi gerekmektedir.



Şekil 3.15. Rumen sıvısı ortamında farklı yüzdelerde larva içeriği ile IVTD parametreleri

3.8.2. Taze Dışkı Ortamında

Kuru Madde Sindirilebilirliği (IVTD): ANOVA sonuçlarına göre, farklı larva oranları arasında istatistiksel olarak yüksek düzeyde anlamlı farklar gözlenmiştir ($p < 0,001$). Duncan testi sonuçları, %0,01 oranında larva ilavesi yapılan grubun (73,97) en yüksek kuru madde sindirilebilirliği değerine sahip olduğunu ve diğer gruplardan anlamlı şekilde farklılaştığını göstermektedir. En düşük değer ise %0,1 larva ilavesi yapılan grupta kaydedilmiştir. Bu durum, düşük konsantrasyonun sindirimi artırıcı etkisi olduğunu, yüksek konsantrasyonun ise olumsuz etki yaratabileceğini ortaya koymaktadır.

Organik Madde Sindirilebilirliği (IVTDKM): Organik madde sindirimi açısından da benzer bir eğilim gözlenmiştir. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu ANOVA testi ile belirlenmiştir ($p<0,001$). Duncan testi sonuçlarına göre, %0,01 oranında larva içeren grup (72,42), en yüksek ortalamayı göstermiş ve istatistiksel olarak diğer gruplardan ayrılmıştır. Bu bulgu, düşük dozda larva katkısının dışkı ortamındaki mikrobiyel aktiviteyi olumlu yönde etkileyerek organik madde sindirimini artırdığını göstermektedir.

Nötral Detergent Fiber Sindirilebilirliği (IVTDNDF): Lif sindirimi açısından değerlendirildiğinde, gruplar arasında istatistiksel olarak son derece anlamlı farklılıklar belirlenmiştir ($p<0,001$). En düşük sindirilebilirlik değeri (19,90), %0,1 larva katkılı grupta gözlenmiş olup, bu durum yüksek konsantrasyonun lif sindirimini baskılayabileceğini düşündürmektedir. En yüksek değer ise %0,01 larva içeren grupta kaydedilmiştir (39,20). Bu durum, yüksek miktarda larva ilavesinin dışkıdaki mikrobiyal dengeyi bozarak liflerin ayrışmasını olumsuz etkileyebileceğine işaret etmektedir.

Gerçek Organik Madde Sindirilebilirliği (IVTDOM): Bu parametre açısından da istatistiksel olarak anlamlı farklar saptanmıştır ($p=0,001$). %0,01 larva ilavesi yapılan grup, en yüksek sindirim oranına (67,99) ulaşmıştır. Kontrol grubu (%0 larva) ise en düşük ortalamaya (60,86) sahiptir. Elde edilen sonuçlar, düşük düzeyde larva katkısının mikrobiyal fermentasyon potansiyelini artırarak gerçek organik madde sindirilebilirliğini iyileştirdiğini göstermektedir (Çizelge 3.19).

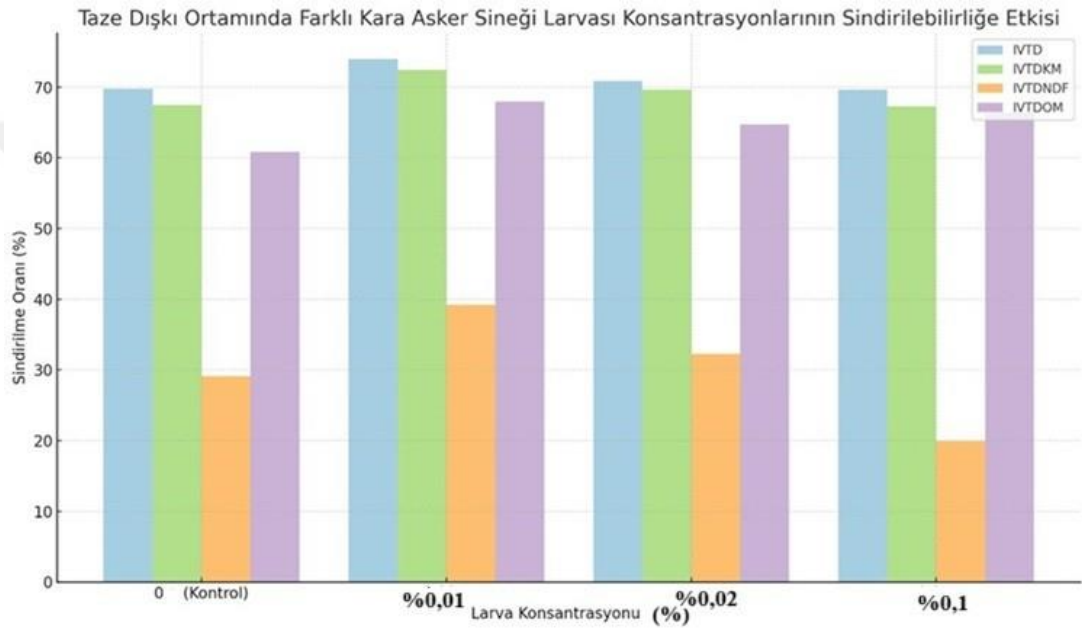
Çizelge 3.19. Yem gruplarında sindirilebilirlik değerleri – Taze dışkı ortamı (%)

Grup / Yem	IVTD	IVTDKM	IVTDNDF	IVTDOM
Kontrol (0%)	69,79±1,12 b	67,43±1,21 b	29,12±2,63 b	60,86±2,09 c
Larva %0,01	73,97±0,29 a	72,43± 0,31a	39,21±0,68 ab	67,99±0,86 a
Larva %0,02	70,87 ±0,89b	69,67±0,93 b	32,28±2,07 b	64,72± 0,93b
Larva %0,1	69,67± 0,42b	67,25±0,45b	19,91±1,11 c	66,41±0,44 ab
P değeri	0,000	0,000	0,000	0,001

a,b,c; Birbirinden farklı harf taşıyan ortalama değerler arasındaki farklılıklar istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur. Her grupta fermentasyonun 48. saatinde fermentasyon ortamında bulunan sindirilebilirlik ortalamaları ($\bar{x}$) ve standart hata ($S\bar{x}$) değerleri gösterilmektedir.

Değerler her bir grupta in-vitro gaz üretim metodu ile belirlenen ortalama sindirilebilirlik yüzdeleri ve standart sapmalarını göstermektedir. $p<0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı farkları göstermektedir.

Tüm parametreler birlikte değerlendirildiğinde, %0,01 düzeyinde kara asker sineği larvası ilavesinin taze dışkı ortamında sindirim üzerine en olumlu etkiyi gösterdiği söylenebilir. Bu dozaj, kuru madde, organik madde, lif ve gerçek organik madde sindirimi açısından en yüksek değerlere ulaşılmasını sağlamıştır. Buna karşılık, yüksek dozlarda (özellikle %0,1) gözlenen düşüşler, fazla miktarda larva ilavesinin içerdiği yağ ve protein gibi bileşenlerin mikrobiyal dengeyi olumsuz etkileyebileceğini düşündürmektedir. Sonuçlar, larva katkısının potansiyel yem katkı maddesi olarak değerlendirilebilmesi için optimum dozajın dikkatle belirlenmesi gerektiğini göstermektedir.



Şekil 3.16. Taze dışkı ortamında farklı yüzdelerde larva içeriği ile IVTD parametreleri

3.8.3. Dondurulmuş Dışkı Ortamında

IVTD – Kuru Madde Sindirilebilirliği: Ortalama değerler %67,26 (%0,01 grubunda) ile %70,56 (kontrol grubunda) arasında değişmekle birlikte, ANOVA analizi gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermemiştir ($p=0,076$) (Çizelge 3.20). Bu durum, kara asker sineği larvalarının farklı dozlarda eklenmesinin, dondurulmuş dışkı ortamında kuru madde sindirimi üzerinde belirgin bir etkisi olmadığını ortaya koymaktadır. Aynı şekilde, Duncan testi sonuçlarına göre de gruplar arasında istatistiksel anlamda homojen bir dağılım olduğu görülmüştür; bu da uygulanan farklı dozların benzer sindirim etkileri gösterdiğini düşündürmektedir.

IVTDKM – Organik Madde Sindirilebilirliği: En düşük sindirim değeri %65,31 ile %0,01 grubunda, en yüksek değer ise %68,25 ile kontrol grubunda kaydedilmiştir. Ancak yapılan ANOVA analizi sonucunda bu farklılıkların istatistiksel açıdan anlamlı olmadığı tespit edilmiştir ($p=0,149$). Bu sonuç, dondurulmuş dışkı ortamında organik madde sindiriminin larva ilavesinden belirgin biçimde etkilenmediğini göstermektedir. Bu durum, düşük sıcaklık koşullarının mikrobiyal aktiviteyi baskılaması ya da donma işleminin bazı mikroorganizmaların biyolojik işlevlerini kısıtlamasından kaynaklanmış olabilir.

IVTDNDF – Nötral Detergent Lif Sindirilebilirliği: Bu parametre, diğerlerine kıyasla anlamlılığa yakın bir istatistiksel fark göstermiştir ($p=0,044$) ve bu bağlamda deneydeki en dikkate değer sonuçlardan biridir. En yüksek sindirim oranı kontrol grubunda (%30,92), en düşük değer ise %0,1 larva içeren grupta (%20,46) gözlenmiştir. Duncan testi sonuçlarına göre, yüksek konsantrasyon grubundaki sindirim oranı diğer gruplardan anlamlı biçimde düşük bulunmuştur. Bu bulgu, yüksek düzeyde larva katkısının liflerin mikrobiyal parçalanmasını olumsuz etkileyebileceğini ve dondurulmuş ortamda lif sindirimini sınırlandırabileceğini göstermektedir.

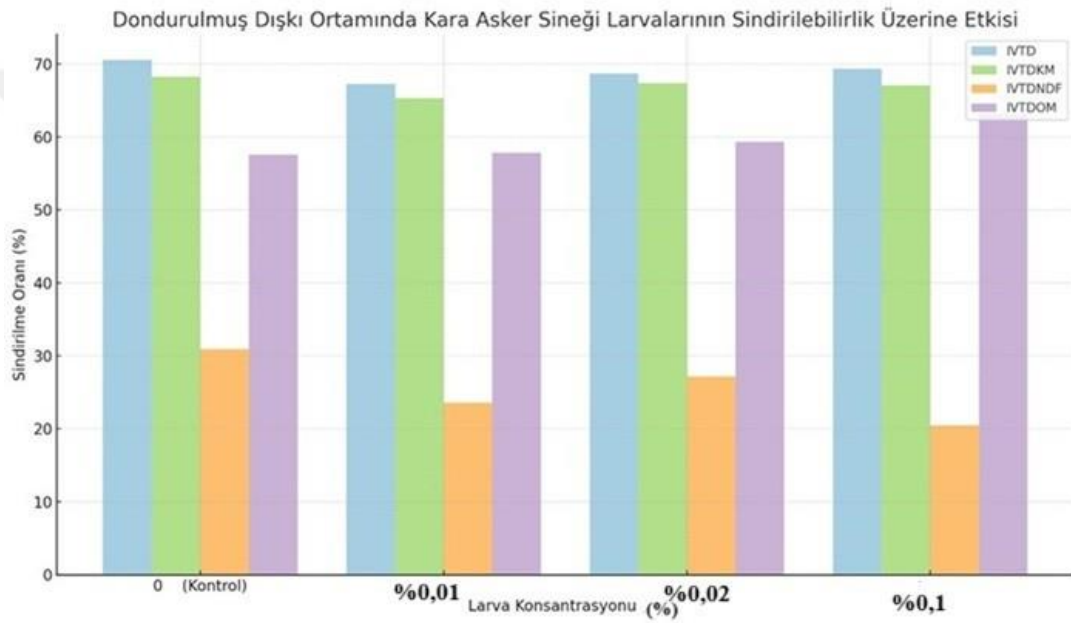
IVTDOM – Gerçek Organik Madde Sindirilebilirliği: Bu gösterge, deneyde anlamlı farklılıklar ortaya koyan bir diğer parametre olmuştur ($p=0,002$). Larva konsantrasyonu arttıkça sindirim oranlarında da belirgin bir artış gözlenmiştir. En yüksek değer %63,11 ile %0,1 grubunda, en düşük değer ise %57,59 ile kontrol grubunda ölçülmüştür. Duncan testine göre %0,1 konsantrasyon grubu, diğerlerinden istatistiksel olarak anlamlı biçimde farklılaşmıştır. Bu sonuç, larvaların içerdiği bazı bileşenlerin örneğin lipidler ya da amino asitler mikrobiyal fermentasyonu uyarak gerçek organik madde sindirimi üzerinde olumlu bir etki yaratmış olabileceğini düşündürmektedir.

Çizelge 3.20. Yem gruplarında sindirilebilirlik değerleri –Donmuş dışkı ortamı (%)

Grup / Yem	IVTD	IVTDKM	IVTDNDF	IVTDOM
Kontrol (0%)	70,56±0,53 a	68,26±0,57	30,93±1,25 a	57,59±1,78 b
Larva %0,01	67,26±0,48 b	65,32±0,51	23,54±1,12 ab	57,86±0,51 b
Larva %0,02	68,69±0,71 ab	67,35±0,73	27,17±1,64 ab	59,32±0,78 b
Larva %0,1	69,352±0,82 ab	67,08±0,96	20,47±2,87 b	63,12±1,32 a
P değeri	0,076	0,149	0,044	0,002

a,b; Birbirinden farklı harf taşıyan ortalama değerler arasındaki farklılıklar istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur. Her grupta fermentasyonun 48. saatinde fermentasyon ortamında bulunan Sindirilebilirliğinin Belirlenmesi yoğunluğu ortalaması ($\bar{x}$) ve standart hata ($S\bar{x}$) değerleri gösterilmektedir.

Dondurulmuş dışkı ortamında yürütülen bu çalışmada, lif sindirilebilirliği (IVTDNDF) ve gerçek organik madde sindirilebilirliği (IVTDOM) dışında, diğer sindirim parametreleri arasında anlamlı farklar gözlenmemiştir. Bu durum, donma işleminin mikrobiyal denge ve fermentatif aktivite üzerinde baskılayıcı bir etki oluşturabileceğini ve bu nedenle özellikle düşük larva dozlarında sindirim tepkilerinin zayıf kalabileceğini göstermektedir. Öte yandan, yüksek konsantrasyonda (%0,1) uygulanan larva katkısı, IVTDOM açısından belirgin bir iyileşme sağlamış; ancak aynı doz IVTDNDF üzerinde olumsuz etki göstermiştir. Bu bulgular, larva katkısının sindirime etkisinin hem doz hem de ortam koşullarına bağlı olarak değişkenlik gösterebileceğini ortaya koymaktadır.



Şekil 3.17. Dondurulmuş dışkı ortamında farklı yüzdelerde larva içeriği ile IVTD parametreleri

Üç farklı ortamda (rumen sıvısı, taze dışkı ve dondurulmuş dışkı) gerçekleştirilen in vitro sindirilebilirlik deneyleri sonucunda, kara asker sineği larvalarının (BSFL) farklı konsantrasyonlarda yemlere eklenmesinin sindirim parametreleri üzerindeki etkileri belirgin bir şekilde farklılık göstermiştir.

Rumen sıvısı ortamında, özellikle yüksek konsantrasyonda (%0,1) BSFL ilavesi tüm sindirim parametrelerini olumsuz yönde etkilemiştir. Kuru madde (IVTD) ve organik madde (IVTKM) sindirilebilirliği belirgin şekilde düşerken, nötral deterjan lif sindirilebilirliği (IVTDNDF) %83,97'den %28,38'e kadar azalmıştır. Benzer şekilde, gerçek organik madde sindirilebilirliği (IVTDOM) de kontrol grubuna göre anlamlı şekilde gerilemiştir. ANOVA ve

Duncan analizleri bu farklılıkların istatistiksel olarak son derece anlamlı olduğunu ortaya koymuştur. Bu durum, BSFL ilavesinin rumen mikrobiyotasında fermentasyonu gerçekleştiren mikroorganizmalar üzerinde baskılayıcı etki yaratarak sindirim verimliliğini düşürdüğünü göstermektedir.

Taze dışkı ortamında ise düşük dozda (%0,01) yapılan BSFL ilavesi, sindirilebilirlik açısından en olumlu sonuçları vermiştir. Bu grupta hem kuru madde hem de organik madde sindirilebilirliği en yüksek seviyelere ulaşmış, lif ve gerçek organik madde sindirimi de benzer şekilde artış göstermiştir. Buna karşın, %0,1'lık yüksek dozlarda belirgin düşüşler gözlenmiştir. ANOVA ve Duncan testleri, düşük dozların sindirim performansını artırdığına, yüksek dozların ise mikrobiyel dengeyi bozarak olumsuz etkiler oluşturduğuna işaret etmektedir. Bu sonuçlar, BSFL'nin düşük düzeyde katkı sağladığında taze dışkıdaki mikrobiyel fermentasyon kapasitesini desteklediğini ortaya koymaktadır.

Dondurulmuş dışkı ortamında ise sindirilebilirlik üzerindeki etkiler sınırlı düzeyde kalmıştır. IVTD ve IVTDKM parametrelerinde gruplar arası farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bu durum, dondurmanın mikrobiyal aktiviteyi baskılayarak sindirim kapasitesini sınırladığına işaret edebilir. Bununla birlikte, lif sindirimi (IVTDNDF) parametresi $p=0,044$ ile istatistiksel önemli bulunmuştur; özellikle %0,1 grubunda lif sindirimi belirgin şekilde düşmüştür. Öte yandan, gerçek organik madde sindirimi (IVTDOM) en yüksek değere yine %0,1 grubunda ulaşmış ve bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Bu sonuç, BSFL'nin içerdiği bazı biyoyararlı bileşiklerin belirli mikrobiyel yolları uyarak organik madde sindirimini artırabileceğini düşündürmektedir.

Genel olarak değerlendirildiğinde, BSFL katkısının sindirim üzerindeki etkisinin kullanılan ortamın mikrobiyolojik yapısına ve katkı dozajına bağlı olarak önemli ölçüde değiştiği görülmektedir. Rumen sıvısı ortamında yüksek konsantrasyonlar sindirimi baskılayarak, taze dışkı ortamında düşük konsantrasyonlar olumlu etkiler göstermiştir. Dondurulmuş dışkı ortamında ise bu etkiler daha sınırlı kalmıştır. Dolayısıyla, BSFL'nin yem katkı maddesi olarak ruminant beslemesinde kullanımı planlanırken, uygun dozajın ve uygulanacağı ortam koşullarının dikkatle belirlenmesi gerekmektedir.

3.9. Drop Plate Tekniği Kullanılarak Lactobacillus Sayım

3.9.1. Rumen Sıvısında

Bu çalışma kapsamında, kara asker sineği larvalarının (BSFL) farklı konsantrasyonlarda eklenmesiyle rumen sıvısında Lactobacillus popülasyonu üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir. Denemede dört grup oluşturulmuştur:

Kontrol Grubu (%0 Larva): Kontrol grubuna ait beş örnekten bakteriyel ekim işlemi gerçekleştirilmiştir. Her bir örnekten altı farklı ondalık seyreltme hazırlanmış ve bunlardan dört tanesi uygun besiyerlerine ekim için seçilmiştir. Her seyreltme, iki ayrı petri kabına paralel olarak ekilerek işlemler tekrarlanmış ve böylece sonuçların doğruluğu garanti altına alınmıştır. İnkübasyon süresi sonunda laboratuvarında koloni oluşturan birim sayısı (CFU) hesaplanmış ve ortalama değer $3,4 \times 10^4$ CFU/g olarak belirlenmiştir.

İkinci Grup (%0,01 larva): %0,01 oranında kara asker sineği larvası ilave edilen gruptan beş örnek alınarak aynı prosedür izlenmiştir. Her örnekten altı ondalık seyreltme hazırlanmış, bunlardan dördü uygun besiyerlerine ekilmiş ve her biri iki farklı petri kabında paralel şekilde çoğaltılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda laboratuvarında ölçülen ortalama koloni sayısı $2,2 \times 10^4$ CFU/g olarak kaydedilmiştir.

Üçüncü Grup (%0,02 larva): Bu grupta %0,02 oranında larva katkısı yapılmıştır. Beş farklı örnekten hazırlanan altı ondalık seyreltmeden dördü seçilerek uygun besiyerlerine ekilmiş, her seyreltme iki petri kabında paralel şekilde tekrarlanmıştır. Otuz sekiz saatlik inkübasyon süresi sonunda yapılan sayımda ortalama koloni sayısı $1,3 \times 10^4$ CFU/g olarak belirlenmiştir.

Çizelge 3.21. Drop plate tekniği kullanılarak rumen sıvısında lactobacillus sayım

Gruplar	CFU/ g	CFU/ g	CFU/ g	CFU/ g	CFU/ g
Kontrol % 0	30000	10000	10000	30000	90000
Larva % 0,01	30000	20000	10000	30000	
Larva % 0,02	10000	10000	20000		
Larva % 0,1	10000	20000	70000	20000	

Dördüncü Grup (%0,1 larva): %0,1 oranında larva ilavesi yapılan gruptan alınan beş örnekle bakteriyel ekim işlemi gerçekleştirilmiştir. Her örnekten altı farklı seyreltme hazırlanmış, dört tanesi uygun besiyerlerine ekilmiş ve her biri iki ayrı petri kabında paralel olarak işlenmiştir. İnkübasyon süreci sona erdikten sonra laboratuvarında gerçekleştirilen sayım sonucunda, ortalama koloni sayısı $3,0 \times 10^4$ CFU/g olarak belirlenmiştir (Çizelge 3.21).

Elde edilen veriler, bu etkinin doğrusal bir desen izlemediğini ve larva katkısının rumendeki mikrobiyal dengeyi konsantrasyona bağlı olarak karmaşık şekilde etkileyebileceğini ortaya koymaktadır. %0,01 ve %0,02 larva konsantrasyonlarında Lactobacillus bakterilerinin sayısında azalma kaydedilmiş olsa da, en yüksek konsantrasyon olan %0,1'de göreceli bir iyileşme gözlemlenmiş ve bakteri sayısı kontrol grubuna yakın bir seviyeye ulaşmıştır. Bu durum, rumen ortamında "tatmin edici bir ilerleme" olarak değerlendirilmektedir. Zira yüksek konsantrasyonda bakteri popülasyonunun nispeten sabit kalması, bazı bakteri suşlarının larva içeriğine belirli düzeylerde uyum sağlayabildiğini ya da bu bileşenlerden faydalanabildiğini göstermektedir.

3.9.2. Taze Dışkıda

Bu çalışma kapsamında, kara asker sineği larvalarının (BSFL) farklı konsantrasyonlarda eklenmesiyle taze dışkıda Lactobacillus popülasyon üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir. Denemede dört grup oluşturulmuştur:

Kontrol Grubu (%0 larva): Kontrol grubuna ait beş örnek kullanılarak bakteriyel ekim işlemi gerçekleştirilmiştir. Her örnekten altı ondalık seyreltme hazırlanmış ve bu seyreltmelerden dördü, uygun besiyerlerine ekim için seçilmiştir. Her bir seyreltme, iki ayrı petri kabında paralel olarak tekrarlanmış ve böylece sonuçların doğruluğu güvence altına alınmıştır. İnkübasyon süresi sonunda laboratuvarında koloni oluşturan birim sayısı (CFU) hesaplanmış ve genel ortalama $1,5 \times 10^5$ CFU/g olarak bulunmuştur.

İkinci Grup (%0,01 larva): %0,01 oranında larva ilavesi yapılan gruptan beş örnek alınarak bakteriyel ekim işlemi uygulanmıştır. Her örnekten altı ondalık seyreltme hazırlanmış, bunlardan dördü uygun besiyerlerine ekilmiştir. Her seyreltme iki petri kabında paralel şekilde tekrarlanarak güvenilirlik artırılmıştır. İnkübasyon süreci sonunda laboratuvarında ortalama koloni sayısı $3,2 \times 10^6$ CFU/g olarak belirlenmiştir.

Üçüncü Grup (%0,02 larva): Bu grupta %0,02 oranında larva katkısı yapılmıştır. Beş farklı örnekten altı ondalık seyreltme hazırlanmış ve her örnekte dört seyreltme uygun besiyerlerine ekilmiştir. Her seyreltme iki petri kabında paralel olarak çoğaltılmıştır. 38 saatlik inkübasyonun ardından laboratuvarında CFU değeri hesaplanmış ve ortalama koloni sayısı $1,0 \times 10^6$ CFU/g olarak kaydedilmiştir.

Dördüncü Grup (%0,1 larva): %0,1 oranında larva ilavesi yapılan gruptan alınan beş örnekle bakteriyel ekim gerçekleştirilmiştir. Her örnekten altı farklı ondalık seyreltme hazırlanmış ve bunlardan dört tanesi uygun besiyerlerine ekilmiştir. Her seyreltme iki farklı petri kabına paralel şekilde ekilerek işlem tekrarlanmıştır. İnkübasyon süresi sonunda laboratuvarında koloni oluşturan birim sayısı ortalama $4,0 \times 10^5$ CFU/g olarak tespit edilmiştir. Bu değerin, kontrol grubunda kaydedilen değerin yaklaşık beş katı olduğu gözlemlenmiştir.

Kara asker sineği larvalarının (BSFL) farklı konsantrasyonlarda yemlere ilave edilmesinin, taze dışkı ortamındaki *Lactobacillus* spp. bakterilerinin popülasyonu üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir. Elde edilen bulgular, larva ilavesinin mikrobiyal yapıda belirgin değişimlere neden olabileceğini ortaya koymuştur.

Kontrol grubunda *Lactobacillus* sayısı ortalama olarak $1,5 \times 10^5$ CFU/g düzeyindeyken, %0,01 oranında larva ilavesi yapılan grupta bu değer dikkat çekici şekilde artarak $3,2 \times 10^6$ CFU/g seviyesine ulaşmıştır. Bu anlamlı artış, düşük düzeydeki larva ilavesinin *Lactobacillus* türlerinin gelişimini teşvik edebileceğini düşündürmektedir. Bu etkinin, larvaların içerdiği biyolojik olarak aktif bileşenlerin probiyotik benzeri özellikler göstermesi yoluyla söz konusu bakteri grubunu desteklemesinden kaynaklanmış olabileceği öne sürülebilir.

Bununla birlikte, larva konsantrasyonunun artmasıyla birlikte bu olumlu etkinin sürdürülemediği gözlemlenmiştir. Nitekim, %0,02 larva ilavesi yapılan grupta bakteri sayısı $1,0 \times 10^6$ CFU/g'ye, %0,1 ilave edilen grupta ise $4,0 \times 10^5$ CFU/g'ye düşmüştür. Bu durum, larva katkısının etkisinin lineer bir şekilde artmadığını, aksine yüksek konsantrasyonlarda *Lactobacillus* gelişiminin kısmen baskılanabileceğini göstermektedir. Bu olumsuzluk, muhtemelen yüksek larva dozlarında açığa çıkan bazı antimikrobiyal bileşikler veya sindirim ürünlerinin mikrobiyal dengeyi bozmasından kaynaklanmaktadır (Çizelge 3.22).

Genel olarak değerlendirildiğinde, düşük miktarda BSFL katkısının faydalı Lactobacillus bakterilerinin gelişimini olumlu yönde etkileyebileceği; buna karşın, yüksek dozlarda bu etkinin zayıfladığı ya da tersine döndüğü söylenebilir. Bu durum, BSFL'nin potansiyel bir probiyotik veya prebiyotik olarak etkisinin doza bağımlı olduğunu ve maksimum biyolojik etkinin sağlanabilmesi için optimum konsantrasyonun dikkatle belirlenmesi gerektiğini ortaya koymaktadır.

Biyolojik ve istatistiksel açıdan bakıldığında yanıt oldukça belirgindi. Özellikle %0,01 larva grubunda Lactobacillus sayısında çok belirgin bir artış gözlemlendi; bu artış, kontrol grubuna kıyasla 2 log birimi kadar fark oluşturdu ($1,5 \times 10^5$ 'ten $3,2 \times 10^6$ CFU/g'ye). Bu artış, özellikle düşük konsantrasyonda larva ilavesinin bu ortamdaki faydalı bakteriler üzerinde güçlü bir olumlu etkisi olduğunu göstermektedir. Ancak bu pozitif etki daha yüksek konsantrasyonlarda devam etmemiş; %0,02 ve %0,1 düzeylerinde bakteri sayısı kademeli olarak azalmış, yine de kontrol grubunun üzerinde kalmıştır.

Çizelge 3.22. Drop plate tekniği kullanılarak taze dışkıda lactobacillus sayım

Gruplar	CFU/g	CFU/g	CFU/g	Ortalama
Kontrol % 0	100000	110000	260000	156666
Larva % 0,01	1300000	900000	7400000	3200000
Larva % 0,02	1000000		1000000	1000000
Larva % 0,1	700000		100000	400000

Elde edilen bu bulgular, BSFL'nin Lactobacillus bakterilerinin gelişimini teşvik edici etkisinin, büyük ölçüde kullanılan çevresel ortamın türüne ve uygulanan doz konsantrasyonlarına bağlı olduğunu göstermektedir. Özellikle taze dışkı ortamında düşük konsantrasyonda belirgin ve etkili bir yanıt elde edilirken, işkembe sıvısı ortamındaki yanıt daha düzensiz seyretmiş ve yalnızca yüksek konsantrasyonda sınırlı bir artış gözlemlenmiştir. Bu veriler, kara asker sineği larvalarının belirli koşullar altında probiyotik ya da prebiyotik bir rol üstlenebileceği yönündeki hipotezi desteklemektedir. Ayrıca, en iyi etkinin sağlanabilmesi için doz-yanıt ilişkisi ile çevresel etkileşimlerin birlikte değerlendirilmesi gerektiğini ortaya koymaktadır.

4. TARTIŞMA

Son yıllarda beslenme alternatifleri içinde Siyah asker sineği ön plana çıkmaktadır. Bu türün özellikle ilgi çekici olmasının bir nedeni, ergin sineğin beslenmemesi ve dolayısıyla hastalık bulaştırıcı bir vektör olmamasıdır (Tomberlin vd., 2002). Larvaları beslenmeyi bıraktıklarında, diğer sinek larvalarından daha fazla yağ barındırırlar (Čičková vd., 2015). Bir çok araştırmacı (Liland vd., 2017; Rumpold ve Schlüter, 2013; Spranghers vd., 2017b; Wang ve Shelomi, 2017) siyah asker sineklerinin ortalama % 40-43 ham protein, % 33 yağ içeriğine sahip olduğunu bildirmişlerdir. Salahuddin vd. (2024) BSFL'deki protein seviyelerini büyüme aşamasına ve diyetle göre %32 ila %53 arasında değişebildiğini bildirmiştir.

Çalışmamızda da kullandığımız siyah asker sineği larvaları % 34,32 ham protein ve %44,06 ham yağ içerikleri nedeniyle söz konusu araştırmacıların bildirimlerinden daha düşük protein ve buna karşın daha yüksek yağ içermektedir.

Meyve, sebze ve hayvanlardan gelen düşük değerli organik yan ürün atıklarını besin kaynaklarına etkili bir şekilde dönüştürebilen böceklerin biyokütlesi hayvan yemi olarak kullanmada önemli avantajlara sahiptir. Böceklerin hızla büyümesi, daha az toprak ve su gerektirmesi ve diğer canlılardan daha az gaz üretmesi onların alternatif kaynaklar olarak ele alınması gerektiğini ortaya koymaktadır. Yağ bakımından, özellikle de orta zincirli yağ asitleri 12: 0 laurik asit bakımından zengin olan doymuş yağ asitlerine sahiptirler (Sealey vd., 2011). Çalışmalar, Siyah Asker Sineği prepupa'sının, birçok hayvan türü için kabul edilebilir bir besin olduğunu göstermiştir (Bondari ve Sheppard, 1981; Newton vd., 1977).

Hayvansal ürünler şu anda dünya çapındaki gıda tüketiminin yaklaşık %70'ini oluşturmaktadır (OECD, 2022). Amerikan Yem Kontrol Yetkilileri Birliği, larvaların kümes hayvanları, domuzlar ve bazı balıklar için yem olarak kullanılmasını onaylamıştır. Avrupa Birliği'nde Avrupa Komisyonu, BSFL'nin kümes hayvanları ve domuzlar için yem olarak kullanılmasını onaylamıştır. Avrupa Birliği yayınında (EC) 2017/893, 24 Mayıs 2017) böceklerin balık yemi olarak kullanımının önünü açmıştır. 20 Ocak 2025 tarihli ve 2025/89 sayılı Komisyon Uygulama Tüzüğü, UV ile işlenmiş bütün Tenebrio molitor larvalarının (sarı un kurdu) tozunun yeni bir gıda olarak piyasaya sürülmesini yetkilendirmiş ve 2017/2470 sayılı Uygulama Tüzüğüne değiştirmiştir.

Avrupa Birliği 2017/893 sayılı Yönetmelik (EC, 2017), su kültürü hayvanlarına geviş getirmeyen işlenmiş hayvan proteini verilmesine izin vermektedir. Ek II, kürkly hayvanlar dışındaki çiftlik hayvanları için yem üretimine yönelik çiftlik böceklerinden elde edilen işlenmiş hayvan proteinini listelemiştir. Şimdiye kadar sadece yedi türün kullanımına izin verilmiştir: ev cırcır böceği (*Acheta domesticus*), şeritli cırcır böceği (*Gryllodes sigillatus*), tarla cırcır böceği (*Gryllus assimilis*), sarı un kurdu (*Tenebrio molitor*), küçük un kurdu (*Alphitobius beziinus*), kara asker sineği (*Hermetia illucens*) ve ev sineği (*Musca domestica*); Yönetmelik ayrıca böcekler için yem olarak kullanılmasına izin verilen substratları da belirtmektedir (EC, 2017).

Böcekler yüksek protein (%42-63) ve yağ (%10-40) içerikleri bazı hayvanların (kümes hayvanları, balık ve domuzlar) diyetlerinde kullanılmıştır. Geviş getiren hayvanlarda değerlendirilmeler hala sınırlıdır ve bu alandaki araştırma alanları henüz başlangıç aşamasındadır. Yüksek protein ve yağ içeriğine sahip yenilebilir larvaların rumen fermentasyonu üzerinde herhangi bir olumsuz etkisinin olmayacağı düşünülmektedir. Bu larvaların sindirime etkisinin in vitro olarak da bir değerlendirmesi düşünülmüştür.

Ruminantların diyetlerinde geleneksel yüksek kaliteli pahalı protein kaynaklarının bir örneği olarak yenilebilir larvaların kullanımını burada in vitro çalışmada değerlendirilmiştir. Ruminantlarda sindirimin son ürünü ve atığı dışkıdır. Normal besleme şartlarında dışkıda besin maddeleri ve mikroorganizmalar bulunmaktadır. Larvaların dışkı ilaveli invitro ortamda etkisi incelenmiştir. Aynı zamanda rumen sıvısı ortamı olmadan dışkı ile hazırlanan invitro fermentasyon ortamı incelenmiştir.

Çalışmada larvaların yüksek sindirilebilirliğe etkisinin olacağı ihtimali üzerine çalışılmıştır. Yenilebilir larvaların bu yüksek protein ve yağ içeriğinin fermentasyon ve sindirimin son ürünü olan dışkıda etkisinin, ruminant dışkısı mikroorganizma varlığının invitro ortama ilavesi ve ortama ilave edilen larvaların sindirilebilirlik durumu araştırılmıştır.

Omurgasızlardan elde edilen yemlerin ve yağların çiftlik hayvanlarına daha fazla uygulanması ve bunların büyüme performansı, metabolik tepkisi ve gastrointestinal mikrobiyota üzerindeki etkisi ele alınmıştır.

Çalışma sonuçlarına göre, kara asker sineği larvalarının (BSFL) eklenmesinin organik madde sindirilebilirliği üzerindeki etkisi kullanılan fermentasyon ortamına göre belirgin şekilde değişiklik göstermiştir. Donmuş dışkı ortamında, larva miktarındaki

artıŖla birlikte sindirilebilirlikte hafif ama istatistiksel olarak anlamsız bir dūŖuŖ gözlenmiŖtir. Bu dūŖuŖ, larvalarda bulunan ve mikrobiyal fermentasyonu engelleyebilecek kompleks, zor sindirilen bir lif olan kitin içeriğine bağlanmaktadır (Altmann vd., 2023; Cullere vd., 2019). Öte yandan, rumen sıvısı ortamında dūŖuk seviyelerdeki (%0,01 ve %0,02) BSFL eklemelerinde anlamlı bir farklılık gözlenmemiŖtir. Bu durum, Lu vd. (2025) tarafından keçiler üzerinde yapılan alıŖmayla da kısmen örtüŖmektedir. Bahsi geçen alıŖmada yüksek oranlarda (%15) BSFL verildiğinde kuru madde ve organik madde sindirilebilirliğinde belirgin bir azalma rapor edilmiŖtir. Bu tür farklılıklar, hayvan türüne, deney ortamına ve yem içeriğine bağlı olarak diyet takviyelerine verilen yanıtların eŖitlilik gösterebileceğini ortaya koymaktadır (Jian vd., 2022).

Benzer Ŗekilde, Prachumchai vd., (2025) kara asker sineği larvası yağı (BSFO) ilavesinin dūŖuk seviyelerde sindirilebilirliği artırdığını, ancak daha yüksek oranlarda (%4) yağın yem partiküllerini kaplayarak mikrobiyal etkileŖimi engellediğini ve sindirilebilirliği azalttığını belirtmiŖtir. Bizim bulgularımız da bu eğilimi yansıtmaktadır: dūŖuk konsantrasyonlarda farklar küçükken, %0,1 seviyesinde daha belirgin hale gelmiŖtir. Bu durum, ilave oranı ile sindirim verimliliği arasındaki dengenin önemini ortaya koymaktadır.

Monteiro dos Santos vd., (2023) alıŖmalarında, FF-BSFL'nin ham protein ve enerji açısından görünür sindirim oranları %88'in üzerinde bulunmuŖ ve bu, oldukça olumlu bir sonuç olarak deėerlendirilmiŖtir. Ayrıca, kitosan (kitin) içeriğine rağmen yaė sindirimi oranı %95'i aŖmıŖtır. Buna karŖılık, mevcut alıŖmada özellikle donmuŖ dıŖkı ortamında kitinin geviŖ getirenlerde organik madde sindirimi üzerinde hafif ama baskılayıcı bir etkisi olduğu gözlemlenmiŖ, bu da sindirilebilirliğin istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir Ŗekilde dūŖmesine neden olmuŖtur. Öte yandan, dūŖuk larva dozlarının uygulandığı rumen sıvısı ortamında ise olumsuz bir etki tespit edilmemiŖtir.

alıŖmalar, kitinin farklı hayvan türlerinde farklı etkiler gösterebileceğini ortaya koymaktadır. Örneğin, Tambaqui balığında kitin emilimi oldukça sınırlı olmasına (%16,4) rağmen, bu durum büyüme performansını veya genel verimi olumsuz yönde etkilememiŖtir. Bu, söz konusu balığın sindirim sistemine özgü fizyolojik adaptasyonlarla (örneğin çok sayıda mide çıkıntısına sahip olması gibi) açıklanabilir. GeviŖ getiren hayvanlarda ise kitinin etkisi, büyük ölçüde rumen veya dıŖkı ortamındaki mikrobiyal populasyonun yapısına ve aktivitesine bağlı kalmaktadır.

Gaz üretimi açısından değerlendirildiğinde, deneyimizde BSFL konsantrasyonu arttıkça, özellikle rumen sıvısı ve taze dışkı ortamlarında (%0,02 ve %0,1) gaz hacminde belirgin bir artış gözlemlenmiştir. Bu bulgular, Kahraman vd. (2023) ve Jayanegara vd. (2017a) gibi önceki çalışmalarla uyumludur. Bu çalışmalarda, BSFL'nin yüksek oranda nişasta ve glikojen gibi kolay fermente olabilen karbonhidratlar içermesi nedeniyle mikrobiyal gaz üretimini artırdığı belirtilmiştir (Fischer vd., 2020). Buna karşılık, bazı çalışmalarda yağ ve kitin oranının yüksek olması nedeniyle gaz üretiminde azalma bildirilmiştir; çünkü yağlar yem partiküllerini kaplayarak mikropların erişimini engelleyebilmektedir (Ahmed ve Nishida, 2019; Jayanegara vd., 2017a).

Hayvansal nişasta olarak bilinen glikojen, asidik hidroliz sırasında glikoza dönüşür ve BSFL kuru maddesinin yaklaşık %8'ini oluşturur (Fischer vd., 2021). NDF, ADF, selüloz ve lignin gibi yapısal yem bileşenlerinin gaz üretimini azalttığı; çözünebilir karbonhidratlar, nişasta ve proteinin ise artırdığı bilinmektedir (Meneguz vd., 2018).

Uçucu yağ asitleri açısından, BSFL ilavesi sonrasında dikkate değer değişiklikler gözlenmiştir. Rumen sıvısı ortamında, asetik asit düzeyi azalırken, propiyonik asit düzeyi artmıştır. Bu değişim, BSFL'nin içerdiği kitin, protein ve yağın fermentasyon yolları üzerindeki etkisine ve *Faecalibacterium* ve *Ruminococcus* gibi propiyonat üreten mikroorganizmaların çoğalmasına bağlanmaktadır (Jayanegara vd., 2017b). Aynı araştırmacılar, %20 BSFL içeren bir rasyonun %40 BSFL içeren bir rasyona göre daha fazla toplam VFA ürettiğini bildirmiştir. Benzer şekilde Ahmed ve Nishida (2023), rasyonun %30'unun BSFL ile değiştirilmesiyle toplam VFA üretiminde düşüş gözlemlenmiştir. Bu bulgular, kitin ve ham proteinin rumen mikrobiyal aktivitesini değiştirebileceğini düşündürmektedir. Ayrıca, önceki çalışmalar yağların selüloz parçalayan bakterileri baskılayabileceğini ve kitinin mikrobiyal sindirime oldukça dirençli olduğunu göstermiştir (Bach ve Gutnick, 2005; Fischer vd., 2021; Palmquist ve Jenkins, 2017).

Amonyak (NH₃-N) konsantrasyonu ile ilgili olarak, BSFL seviyesi arttıkça belirgin bir artış kaydedilmiştir. Bu durum, Lu vd., (2025) ve Kahraman vd. (2023) çalışmalarındaki bulgularla da örtüşmemektedir. Artma nedeni, BSFL'nin rumende yüksek oranda parçalanabilir proteine (RDP) sahip olmasından kaynaklanmaktadır. Mikrobiyal topluluklar üzerindeki etki, kullanılan ortama ve larva dozuna göre değişmiştir; özellikle yüksek dozlar faydalı bakterilerin gelişimini desteklemiştir.

Mikrobiyal aktivite açısından, taze dışkı ortamında özellikle %0,01 BSFL seviyesinde *Lactobacillus* gibi yararlı mikroorganizmaların artışı gözlenmiştir. Bu durum, olası bir probiyotik etkiye işaret etmektedir. Sonuçlar, Jian vd. (2022) ile de uyum göstermektedir; ancak tek mideliler ile geniş getirenlerde mikrobiyal yanıt farklılık gösterebilir. Benzer şekilde, Prachumchai vd. (2025), BSFO ilavesinin rumendeki protozoa popülasyonunu azalttığını ve bu etkinin, yağda bulunan ve antiprotozoal özelliğe sahip laurik asitten kaynaklandığını belirtmiştir. Bu gözlem, bizim çalışmamızda da doğrulanmış ve BSFL'nin hem probiyotik hem de prebiyotik etkiler taşıyabileceği hipotezini desteklemiştir.

Metan üretimi açısından, rumen sıvısında propiyonik asit düzeyinin artışıyla birlikte CH₄ üretiminde anlamlı bir azalma gözlenmiştir. Bu durum, propiyonat üreten mikroorganizmalar ile metanojenler arasında hidrojen için oluşan rekabete bağlanmaktadır. Bu bulgular, Prachumchai vd. (2025)'in %4 BSFO ilavesiyle metan salınımında düşüş gözlemlediği çalışmayla paralellik göstermektedir.

pH açısından bakıldığında, deneyimizde değerler bir rumen ortam için optimal aralıkta (6,5–7,0) kalmıştır. Bu durum, mikrobiyal fermantasyonun sağlıklı bir şekilde sürdüğünü göstermektedir. Sonuçlarımız, BSFO ilavesine rağmen pH'nın sabit kaldığını bildiren Prachumchai vd. (2025) ile uyumludur. Yine de bazı çalışmalar, asetik asit yerine propiyonik asitteki artışın pH değerinde hafif bir düşüşe yol açabileceğini belirtmektedir (Kahraman, 2023; Lu vd., 2025); bu nedenle yüksek BSFL seviyelerinde pH dikkatle takip edilmelidir.

Uygulamalı açıdan bakıldığında, elde edilen bu bulgular ve daha önceki araştırmalar, ruminant diyetlerinde BSFL için optimal katkı oranının belirlenmesinin gerekliliğini ortaya koymaktadır. Yağ alma veya kitin uzaklaştırma gibi ön işleme yöntemleri, besin madde kullanılabilirliğini artırabilir (Altmann vd., 2023; Cullere vd., 2019; Jian vd., 2022; Kahraman, 2023). Kitinin sindirilebilirlik üzerindeki etkisinin her zaman olumsuz olmadığı, yem formülasyonu ve kaba yem/karma yem oranı gibi faktörlere bağlı olarak değişebileceği bildirilmiştir (Jayanegara, 2017; Pinho vd., 2019). Ayrıca, böcek katkısı yoluyla artan yağ miktarı, lif partiküllerini kaplayarak mikrobiyal selüloz parçalanmasını engelleyebilir.

Bazı çalışmalar, yüksek VFA seviyelerinin pH'yı düşürerek NDF sindirilebilirliğini azaltabileceğini göstermiştir. Özellikle yüksek NFC/NDF oranına sahip rasyonlar, selülozu parçalayan mikrobiyal popülasyonun büyümesini olumsuz etkileyebilir (Buccioni vd., 2012; Sung vd., 2007). Bu nedenle, yem kompozisyonu ile katkı oranları arasındaki denge, geniş getiren hayvanların performansını en üst düzeye çıkarmak için kritik öneme sahiptir.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmada, geviş getiren hayvanların rasyonlarına farklı konsantrasyonlarda BSFL ilavesinin etkisi, üç farklı mikrobiyal ortamda (rumen sıvısı, taze dışkı ve dondurulmuş dışkı) in vitro inkübasyon koşullarında değerlendirilmiştir. Bulgular, hem kullanılan mikrobiyal ortamın hem de eklenen larva miktarının fermentasyon ve sindirim etkinliğini belirlemede kritik rol oynadığını ortaya koymuştur.

Rumen sıvısı ortamında, özellikle yüksek dozda (%0,1) BSFL ilavesi, kuru madde sindirimi (IVTD), nötr deterjan lif sindirimi (IVTDNDF) ve organik madde sindirimi (IVTDOM) üzerinde belirgin ve istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,001$) olumsuz etkiler göstermiştir. Ayrıca, en yüksek konsantrasyonda (%0,1) metan üretiminin önemli ölçüde azaldığı gözlemlenmiş, bu da BSFL'nin metan azaltıcı yem katkı maddesi olarak potansiyelini göstermektedir. Düşük düzeydeki BSFL konsantrasyonunun (%0,01) asetat ve propiyonat üretimini dengeli bir şekilde sürdürdüğünü, bunun da mikrobiyal aktiviteyi bozmadan dengeli bir fermentasyon verimliliğine işaret ettiğini ortaya koymuştur. Orta düzeydeki konsantrasyon (%0,02), en yüksek asetat üretimine karşılık propiyonat seviyelerinde düşüşe neden olmuş, bu durum ise hızlı fermente olan karbonhidratlar yerine lifli maddelerin fermentasyonunun teşvik edildiğini göstermektedir. Öte yandan, yüksek dozda larva ilavesi (%0,1) belirgin olumsuz etkiler yaratmış; asetat üretimini azaltırken, izovalerat ve kaproat gibi dallanmış zincirli yağ asitlerinin seviyelerinde artış gözlemlenmiştir. Bu da proteinlerin aşırı parçalanmasına veya mikrobiyal denge bozukluğuna işaret edebilir.

Taze dışkı ortamında benzer bir eğilim gözlenmiş ancak etkiler rumen sıvısına göre daha hafif seyretmiştir. Sindirim parametrelerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar tespit edilmiş, en iyi sonuçlar %0,02 konsantrasyonunda elde edilmiştir. Ancak %0,1 konsantrasyonunda bazı parametrelerde hafif bir düşüş gözlenmiş, bu durum daha az dinamik mikrobiyal ortamda sindirimi zor bileşenlerin birikmesine bağlanabilir.

Buna karşın, dondurulmuş dışkı ortamı, IVTD, IVTDKM ve IVTDNDF gibi çoğu sindirim göstergesinde anlamlı farklılık göstermemiştir; gruplar arasında değerler birbirine oldukça yakın seyretmiştir. Ancak IVTDOM değeri, aktif bir mikrobiyal topluluk olmamasına rağmen, BSFL ilavesi ile belirgin şekilde artış göstermiştir. Bu durum, larvalardan kaynaklanan enzim, protein ve yağ gibi bileşenlerin organik madde çözünmesine mikrobiyal

aktiviteden bağımsız doğrudan katkı sağladığını düşündürmektedir. Bu sonuçlara dayanarak aşağıdaki önerilerde bulunulabilir:

Optimal dozun belirlenmesi: Elde edilen bulgular, %0,01 ile %0,02 arasındaki BSFL konsantrasyonlarının mikrobiyal dengeyi bozmadan sindirim üzerinde olumlu etki sağladığını göstermektedir. Daha yüksek dozlar ise fermentasyon süreçleri üzerinde olumsuz etkiler yaratabilir.

Uygun biyolojik ortamın seçilmesi: Rumen sıvısı, yem katkı maddelerinin etkisini gözlemlemek için en uygun ortam olarak öne çıkarken, taze dışkı kısıtlı ölçüde uygunluk göstermiştir. Dondurulmuş dışkı ise mikrobiyal yapının donma nedeniyle zarar görmesi sebebiyle en düşük yanıtı vermiştir.

Larvaların ön işleme tabi tutulması: BSFL'nin sindirilebilirliğini artırmak amacıyla, kitin gibi sindirimi zor bileşenleri azaltacak şekilde, yağ giderme veya kısmi fermentasyon gibi fiziksel ya da kimyasal ön işlemlerin uygulanması önerilmektedir.

Canlı hayvanlar üzerinde deneyler yapılması: Bu çalışma laboratuvar koşullarında gerçekleştirilmiş olup, BSFL takviyelerinin metan üretimi, sindirim sistemi verimliliği ve hayvan performansı üzerindeki tüm etkilerini değerlendirebilmek için canlı hayvanlar üzerinde ilave deneylerin yapılması gerekmektedir. Özellikle besi sığırlarında et verimi ve sütçü ineklerde süt üretimi gibi üretim performansına yönelik etkilerin belirlenmesi açısından, larva ilavesinin canlı hayvanlardaki gerçek etkisinin ortaya konması büyük önem taşımaktadır.

Sonuç olarak, BSFL, sahip olduğu besin değeri ve fermentatif özellikleri sayesinde geniş getiren hayvanların beslenmesinde umut vadeden bir yem katkı maddesi olarak değerlendirilebilir. Ancak bu etkinin tam olarak ortaya çıkabilmesi, uygun doz seçimi ve uygulanacak mikrobiyal ortamın özelliklerine bağlıdır.

KAYNAKLAR

- Ahmed, E. and Nishida, T. (2019). Effect of insect meal substitution for soybean meal on gas production, fermentation characteristics, and digestibility in vitro. *Animal Feed Science and Technology*, 247, 37-45. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2018.10.008>.
- Ahmed E., and Nishida, T. (2023). Optimal inclusion levels of cricket and silkworm as alternative ruminant feed: A Study on their impacts on rumen fermentation and gas production. *Sustainability*, 15:1415. doi: 10.3390/su15021415.
- Altmann, B.A., Geisler, S., Morthorst, F., Angeli, S., Bortolini, S., Gauly, M., Hummel, J., Sünder, A., Mörlein, D., Traulsen, I. & Ammer, S. (2023). Animal performance and meat quality of two slow-growing chicken genotypes fed insects reared on municipal organic waste. *Journal of Insects as Food and Feed*, 9(11), pp.1445-1459.
- AlZahal, O., Kebreab, E., France, J. & McBride, B. W. (2008). A mathematical approach to evaluating the synergistic effects of fibrolytic enzymes and yeast on ruminal fermentation. *Journal of Dairy Science*, 91 (1), 177-187. <https://doi.org/10.3168/jds.2007-0259>.
- Aneja, V. P., Schlesinger, W. H., Erisman, J. W. & Behera, S. N. (2009). Effects of agriculture upon the air quality and climate: research, policy, and regulations. *Environmental Science & Policy*, 12 (6), 689-699.
- AOAC (2000). Official Methods of Analysis. 17th Edition, *The Association of Official Analytical Chemists*, Gaithersburg, MD, USA.
- Bach H, and Gutnick D.L. (2005). Engineering Bacterial Biopolymers for the Biosorption of Heavy Metals. *Handbook of Carbohydrate Engineering. 1st Edition*. CRC Press
- Banks, I.J.; Gibson, W.T. & Cameron, M.M.(2014). Growth rates of black soldier fly larvae fed on fresh human faeces and their implication for improving sanitation. *Trop. Med. Int. Health*, 19, 14–22.
- Barragan-Fonseca, K. B., Dicke, M. & van Loon, J. J. (2017). Nutritional value of the black soldier fly (*Hermetia illucens* L.) and its suitability as animal feed—a review. *Journal of Insects as Food and Feed*, 3 (2), 105-120.
- Beegle, D. B. and Meisinger, J. J. (1988). Nitrogen management for conservation of water quality. In *Advances in soil science*, 8: 1-75.
- Bondari K, Sheppard DC. (1987). Soldier Fly, *Hermetia illucens* L. Larvae As Feed for Channel Catfish, *Ictalurus Punctatus* (Rafinesque), And Blue Tilapia, *Oreochromis aureus* (Steindachner). *Aquaculture Research*, 18(3),209-220.
- Bortolini, S., Macavei, L.I., Saadoun, J.H., Foca, G., Ulrici, A., Bernini, F., Malferrari, D., Setti, L., Ronga, D. & Maistrello, L. (2020). *Hermetia illucens* (L.) larvae as chicken manure management tool for circular economy. *J. Clean. Prod.*, 262, 121289.

- Bosch, G., Zhang, S., Oonincx, D. G. & Hendriks, W. H. (2014). Protein quality of insects as potential ingredients for dog and cat foods. *Journal of Nutritional Science*, 3, e29. doi:10.1017/jns.2014.23.
- Bouwman, A. F., Lee, D. S., Asman, W. A., Dentener, F. J., Van Der Hoek, K. W., & Olivier, J. G. (1997). A global high-resolution emission inventory for ammonia. *Global Biogeochemical Cycles*, 11 (4), 561-587.
- Brouwer, E. (1965). Report of sub-committee on constants and factors. Proceedings of the 3rd Symposium on Energy Metabolism, European Association for Animal Production, Troon, Scotland, 441-443.
- Brown, L. K. and Johnson, R. D. (2018). The role of protein in animal nutrition and production. *Animal Science Journal*, 89 (3), 345-354. <https://doi.org/10.1111/asj.12996>.
- Bruno, D., Orlando, M., Testa, E., Miino, M.C., Pesaro, G., Miceli, M., Pollegioni, L., Barbera, V., Fasoli, E., Draghi, L. & Baltrocchi, A.P.D. (2025). Valorization of organic waste through black soldier fly: On the way of a real circular bioeconomy process. *Waste Management*, 191, 123-134.
- Buccioni, A., Decandia, M., Minieri, S., Molle, G., Cabiddu, A. (2012). Lipid Metabolism in the rumen: new insights on lipolysis and biohydrogenation with an emphasis on the role of endogenous plant factors. *Animal Feed Science and Technology* 174, 1–25.
- Bukkens, S.G. (1997). The nutritional value of edible insects. *Ecol. Food Nutr.* 36, 287–319.
- Chaucheyras-Durand, F. and Fonty, G. (2009). Influence of probiotics on the development of the rumen microbial ecosystem. *Animal*, 3 (7), 1022–1034. <https://doi.org/10.1017/S1751731109004271>.
- Chippindale, A.K., Leroi, A.M., Kim, S.B. & Rose, M.R. (2004). Phenotypic plasticity and selection in *Drosophila* life-history evolution. I. Nutrition and the cost of reproduction. In *Methuselah Flies: A Case Study in the Evolution of Aging*; *World Scientific: Singapore*, pp. 122–144.
- Cickova, H., Newton, G.L., Lacy, R.C., Kozanek, M. (2015). The use of fly larvae for organic waste treatment. *Waste Manag.* 35 (0), 68e80.
- Council, N.R. (2012). Nutrient Requirements of Swine; *Natl Acad Press: Washington, DC, USA*, 2012.
- Crosbie, M., Zhu, C., Shoveller, A.K. & Huber, L.-A. (2020). Standardized ileal digestible amino acids and net energy contents in full fat and defatted black soldier fly larvae meals (*Hermetia illucens*) fed to growing pigs. *Transl. Anim. Sci.* 4, txaa104.
- Cullere, M., Schiavone, A., Dabbou, S., Gasco, L., & Dalle Zotte, A. (2019). Meat quality and sensory traits of finisher broiler chickens fed with black soldier fly (*Hermetia illucens* L.) larvae fat as alternative fat source. *Animals*, 9 (4), 140.
- Cutrim, M. V., Júnior, M. B. D., Oliveira, R. L., Silva, C. A. R. D., da Silva, D. C. J., de Lima, M. A. B., & da Silva, J. H. S. (2020). Performance and carcass characteristics of feedlot lambs fed diets containing black soldier fly larvae meal. *Animal Production Science*, 60 (2), 250-255.

- Daszkiewicz, T., Murawska, D., Kubiak, D. & Han, J. (2022). Chemical composition and fatty acid profile of the pectoralis major muscle in broiler chickens fed diets with full-fat black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae meal. *Animals*, 12, 464.
- Davidson, E. A. and Kanter, D. (2014). Inventories and scenarios of nitrous oxide emissions. *Environmental Research Letters*, 9 (10), 105012.
- Dawson, B. (2001). Probability & related topics for making inferences about data. Dawson B. ve Trapp RG (Eds.) *Basic&Clinical Biostatistics*.
- de Man, J.C., Rogosa, M. & Sharpe, M.E. (1960). A medium for the cultivation of lactobacilli. *Journal of Applied Bacteriology*, 23 (1), 130–135.
- de Souza Vilela J, Alvarenga TIRC, Andrew NR, McPhee M, Kolakshyapati M, Hopkins DL, Ruhnke I. (2021). Technological Quality, Amino Acid and Fatty Acid Profile of Broiler Meat Enhanced by Dietary Inclusion of Black Soldier Fly Larvae. *Foods*, 10(2), 297. doi: 10.3390/foods10020297
- de Vries, W., Kros, J., Kroeze, C. & Seitzinger, S. P. (2013). Assessing planetary and regional nitrogen boundaries related to food security and adverse environmental impacts. *Current Opinion in Environmental Sustainability*, 5 (3-4), 392-402.
- Diener, S. (2010). Valorisation of Organic SolidWaste Using the Black Soldier Fly, *Hermetia illucens*, in Low and Middle-Income Countries. *Eth Zurich*.
- Diener, S., Zurbrügg, C. & Tockner, K. (2009). Conversion of organic material by black soldier fly larvae: establishing optimal feeding rates. *Waste Management & Research*, 27 (6), 603–610. doi:10.1177/0734242X09337672.
- Dijkstra, J., France, J. & Dhanoa, M. S. (1997). Predicting metabolizable protein supply of dairy cows from dietary characteristics. *Journal of Dairy Science*, 80 (11), 2449-2461.
- Doe, A. B. (2015). Protein and immunity in livestock: Mechanisms, implications, and future directions. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 167 (1–2), 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2015.06.007>.
- Dortmans, B., Diener, S., Bart, V. & Zurbrügg, C. (2017). Black Soldier Fly Biowaste Processing: A Step-by-Step Guide; Eawag: Dübendorf, Switzerland.
- El-Sayed, M. (2020). Use of Black Soldier Fly larvae as a sustainable protein source in ruminant diets: effects on rumen fermentation and nutrient digestibility. *Livestock Science*, 242, 104274.
- Erickson, M.C., Islam, M., Sheppard, C., Liao, J. & Doyle, M.P. (2004). Reduction of Escherichia coli O157: H7 and Salmonella enterica serovar Enteritidis in chicken manure by larvae of the black soldier fly. *J. Food Prot.* 67, 685–690.
- Erisman, J. W., Sutton, M. A., Galloway, J., Klimont, Z., & Winiwarter, W. (2008). How a century of ammonia synthesis changed the world. *Nature Geoscience*, 1 (10), 636-639.

- Ewald, N., Vidakovic, A., Langeland, M., Kiessling, A., Sampels, S. & Lalander, C. (2020). Fatty acid composition of black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*)—Possibilities and limitations for modification through diet. *Waste Manag.* 102, 40–47.
- FAO (2020). Food and Agriculture Organization of the United Nations. Protein Sources for the Animal Feed Industry. *FAO Animal Production and Health Guidelines No. 15*.
- Finke, M. D. (2013). Complete nutrient content of four species of feeder insects. *Zoo Biology*, 32 (1), 27–36. doi:10.1002/zoo.21005.
- Finke, M.D. (2007). Estimate of chitin in raw whole insects. *Zoo Biol. Publ. Affil.* 26(2), 105–115.
- Fiorilla, E., Ferrocino, I., Gariglio, M., Gai, F., Zambotto, V., Ozella, L., Franciosa, I., Giribaldi, M., Antoniazzi, S., Raspa, F. & Cappone, E.E. (2024). Black soldier fly larvae: a one health approach to investigate gut, and organ health and meat quality response in slow-growing chickens. *BMC Veterinary Research*, 20(1), p.580.
- Fischer, C., Lindner, J. P., & Schmitt, J. (2020). Evaluation of glycogen content in black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*). *Journal of Applied Entomology*, 144 (5), 458-464. <https://doi.org/10.1111/jen.12756>.
- Fischer, H., Romano, N., & Sinha, A. K. (2021). Conversion of spent coffee and donuts by black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae into potential resources for animal and plant farming. *Insects*, 12 (4), 332.
- Galloway, J.N., Townsend, A.R., Erismann, J.W., Bekunda, M., Cai, Z., Freney, J.R., Martinelli, L.A., Seitzinger, S.P. & Sutton, M.A. (2008). Transformation of the nitrogen cycle: recent trends, questions, and potential solutions. *Science*, 320(5878), pp.889-892.
- Gasco, L., Balsamo, G., & Barroeta, A. C. (2019). Insect as poultry feed: A systematic review. *Animal Feed Science and Technology*, 254, 1-17.
- Ghaly, A. E. and Alkoik, F. N. (2009). The yellow mealworm as a novel source of protein. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences*, 4 (4), 319–331. doi:10.3844/ajabssp.2009.319.331.
- Ghosh, S. and Lee, S. M. (2018). Effects of edible insects on the trace element contents of selected food products. *Foods*, 7 (4), 58.
- Gobbi, P., Pultrini, A., Ramos, N., Nunes, R. V., de Moraes, M. G., & Carciofi, A. -C. (2019). Performance, digestibility, and serum metabolites of goats fed diets with increasing levels of inclusion of *Hermetia illucens* larvae meal. *Journal of Animal Science and Technology*, 61 (1), 36-44.
- Gold, M., Cassar, C.M., Zurbrugg, C., Kreuzer, M., Boulos, S., Diener, S. & Mathys, A. (2020). Biowaste treatment with black soldier fly larvae: Increasing performance through the formulation of biowastes based on protein and carbohydrates. *Waste Manag.* 102, 319–329.

- Hayakawa, K., Sudo, S., Nagano, M., Saito, M., Higuchi, M., Kimura, M., & Ohta, H. (2004). Nitrogen leaching from grazed pasture on a volcanic ash soil: Effect of dairy cattle stocking rate and supplementary feed level. *Grassland Science*, 50 (2), 183-191.
- Henderson, G., Cox, F., Ganesh, S., Jonker, A., Young, W. & Janssen, P.H. (2015). Rumen microbial community composition varies with diet and host, but a core microbiome is found across a wide geographical range. *Scientific Reports*, 5(1), p.14567.
- Herigstad, B., Hamilton, M., & Heersink, J. (2001). How to optimize the drop plate method for enumerating bacteria. *Journal of Microbiological Methods*, 44 (2), 121–129.
- Herrero, M., Wirsenius, S., Henderson, B., Rigolot, C., Thornton, P., Havlík, P., De Boer, I. & Gerber, P.J. (2015). Livestock and the environment: what have we learned in the past decade?. *Annual Review of Environment and Resources*, 40(1), pp.177-202.
- Hill, T.M., Quigley, J.D., Bateman II, H.G., Suarez-Mena, F.X., Dennis, T.S. & Schlotterbeck, R.L. (2016). Effect of milk replacer program on calf performance and digestion of nutrients in dairy calves to 4 months of age. *Journal of Dairy Science*, 99(10), pp.8103-8110.
- Huntington, G. B. (1997). Starch utilization by ruminants: From basics to the bunk. *Journal of Animal Science*, 75 (3), 852-867.
- James, M.T. (1935). The genus *Hermetia* in the United States (Diptera: Stratiomyidae). *Bull. Brooklyn Entomol. Soc*, 30, 165–170.
- Jayanegara, A., Novandri, B., Yantina, N., & Ridla, M. (2017a). Use of black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*) to substitute soybean meal in ruminant diet: An in vitro rumen fermentation study. *Veterinary World*, 10 (12), 1439–1446. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2017.1439-1446>.
- Jayanegara, A., Yantina, N., Novandri, B., Laconi, E. B., Nahrowi, N., & Ridla, M. (2017b). Evaluation of some insects as potential feed ingredients for ruminants: chemical composition, in vitro rumen fermentation and methane emissions. *Journal of the Indonesian Tropical Animal Agriculture*, 42 (4), 247–254. <https://doi.org/10.14710/jis.v.%i.%Y.564-578>.
- Jian, S., Zhang, L., Ding, N., Yang, K., Xin, Z., Hu, M., Zhou, Z., Zhao, Z., Deng, B. & Deng, J. (2022). Effects of black soldier fly larvae as protein or fat sources on apparent nutrient digestibility, fecal microbiota, and metabolic profiles in beagle dogs. *Frontiers in Microbiology*, 13, 1044986.
- Kahraman, O., Gülşen, N., İnal, F., Alataş, M.S., İnanç, Z.S., Ahmed, İ., Şişman, D. & Küçük, A.E. (2023). Comparative analysis of in vitro fermentation parameters in Total mixed rations of dairy cows with varied levels of defatted black soldier Fly larvae (*Hermetia illucens*) as a substitute for soybean meal. *Fermentation*, 9(7), p.652.
- Kim M. (2012). Impact of antibiotics on the gut microbiome of dairy cows. *Journal of Dairy Science* 95 (10), 4999–5004. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-5482>.
- Kim, J. S., Lee, S. H., Song, J. H., Choi, W. H., Han, S. K., & Choi, Y. S. (2020). Effects of dietary inclusion level of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae oil on meat quality and fatty acid composition of broiler meat. *Animals*, 10 (6), 1051.

- Kronzucker, H. J. & Siddiqi, M. Y. (2001). Nitrogen regulation in root ion transport in plants. *Journal of Experimental Botany*, 52 (354), 891-899.
- Kumar, S., Sahoo, A. & Singh, V. (2020). Fecal microbiota-derived *Lactobacillus* improves nutrient utilization and immune response in calves. *Indian Journal of Animal Sciences*, 90 (12), 1730–1736.
- Lalander, C., Diener, S., Magri, M. E., Zurbrugg, C. & Lindström, A. (2015). Faecal sludge management with the larvae of the black soldier fly (*Hermetia illucens*)—From a hygiene aspect. *Science of the Total Environment*, 458, 312-318.
- Lalander, C., Diener, S., Zurbrugg, C. & Vinnerås, B. (2019). Effects of feedstock on larval development and process efficiency in waste treatment with black soldier fly (*Hermetia illucens*). *J. Clean. Prod.* 208, 211–219.
- Li, J. Shi, B., Yan, S., Jin, L., Guo, Y., Xu, Y., Li, T. & Guo, X. (2013). Effects of dietary supplementation of chitosan on humoral and cellular immune function in weaned piglets. *Anim. Feed Sci. Technol.* 186, 204–208.
- Licitra, G., Hernandez, T. M., & Van Soest, P. J. (1996). Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology*, 57 (4), 347-358.
- Liland, N.S., Biancarosa, I., Araujo, P., Biemans, D., Bruckner, C.G., Waagbø, R., Torstensen, B.E., Lock, E.-J. (2017). Modulation of nutrient composition of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae by feeding seaweed-enriched media. *PloS One* 12 (8), e0183188.
- Liu, Q., Tomberlin, J.K., Brady, J.A., Sanford, M.R. & Yu, Z. (2008). Black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae) larvae reduce *Escherichia coli* in dairy manure. *Environ. Entomol.* 2008, 37, 1525–1530.
- Lu, S., Paengkoum, S., Chen, S., Long, Y., Niu, X., Thongpea, S., Taethaisong, N., Meethip, W. & Paengkoum, P. (2025). Impact of dietary supplementation of black soldier fly larvae (*Hermetia illucens* L.) on nutrient digestibility, serum antioxidants, ruminal volatile fatty acids, and abundance of microbial dominant flora in goats. *Animal Nutrition* (In Press). <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2025.02.008>.
- Lynch, H. and Johnston, D. (2019). The Environmental Impacts of Insect Farming as a Protein Source for Animal Feed: A Life Cycle Assessment. *Journal of Cleaner Production*, 222, 170–179.
- Makkar, H. P. S., Tran, G., Heuzé, V., & Ankers, P. (2014). State-of-the-art on use of insects as animal feed. *Animal Feed Science and Technology*, 197, 1–33.
- Makkar, H.P.S., Tran, G., Heuzé, V., & Ankers, P. (2022). The potential of black soldier fly (*Hermetia illucens*) as a protein source in ruminant diets. *Animal Feed Science and Technology*, 276, 114900. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2021.114900>.
- Mallin, M.A. and Cahoon, L.B. (2003). Industrialized animal production—a major source of nutrient and microbial pollution to aquatic ecosystems. *Popul. Environ.* 24, 369–385.

- Malmuthuge N and Guan L L. (2017). Understanding the gut microbiome of dairy calves: Opportunities to improve early-life gut health. *Journal of Dairy Science* 100 (7), 5996–6005. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-12056>.
- Malmuthuge, N., Li, M., Goonewardene, L. A., Oba, M., & Guan, L. L. (2015). Effect of calf starter feeding on gut microbial diversity and expression of genes involved in host immune responses in dairy calves. *Journal of Dairy Science*, 98 (9), 5998–6008. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9547>.
- Meneguz, M., Schiavone, A., Gai, F., Dama, A., Lussiana, C., Renna, M. & Gasco, L. (2018). Effect of rearing substrate on growth performance, waste reduction efficiency and chemical composition of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae. *J. Sci. Food Agric.* 98, 5776–5784.
- Menke, K. H. and Steingass, H. (1988). Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid. *Animal Research and Development*, 28, 7-55.
- Mertens, D. R. (1994). Regulation of forage intake. In Forage quality, evaluation, and utilization (pp. 450-493). *American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America*.
- Mertens, D.R. (1997). Creating a System for Meeting the Fiber Requirements of Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 80 (7), 1463–1481.
- Misselbrook, T. H. and Chadwick, D. R. (2013). Opportunities for reducing environmental pollution from phosphorus and nitrogen losses from livestock manures in the UK. *Soil Use and Management*, 29 (S1), 90-100.
- Mlčák, J., Rop, O., Borkovcová, M., Bednářová, M., & Bartošová, A. (2014). Edible insects—Species suitable for entomophagy under condition of Czech Republic. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*, 62 (2), 495-505.
- Monteiro dos Santos, D.K.; Rodrigues de Freitas, O.; Oishi, C.A.; Leão da Fonseca, F.A.; Parisi, G.; Uribe Gonçalves, L. (2023). Full-Fat Black Soldier Fly Larvae Meal in Diet for Tambaqui, *Colossoma macropomum*: Digestibility, Growth Performance and Economic Analysis of Feeds. *Animals*, 13, 360. <https://doi.org/10.3390/ani13030360>
- Nayohan, S., Susanto, I., Permata, D., Pangesti, R.T., Rahmadani, M. & Jayanegara, A. (2022). Effect of dietary inclusion of black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*) on broiler performance: A meta-analysis. *Proc. E3S Web Conf.* 335, 00013.
- Newton, G. L., Booram, C. V., Barker, R. W., & Hale, O. M. (1977). Dried *Hermetia illucens* larvae meal as a supplement for swine. *Journal of Animal Science*, 44 (3), 395-400.
- Nguyen, T.T. Tomberlin, J.K. & Vanlaerhoven, S. (2015). Ability of black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae) larvae to recycle food waste. *Environ. Entomol.* 2015, 44, 406–410.
- NRC (National Research Council). (2001). Nutrient Requirements of Dairy Cattle: *Seventh Revised Edition*, 2001. Washington, DC: The National Academies Press.

- Nyakeri, E., Ogola, H. & Ayieko, M. (2017). Amimo, F. An open system for farming black soldier fly larvae as a source of proteins for smallscale poultry and fish production. *J. Insects Food Feed.* 3, 51–56.
- OECD (2022, 1 Haziran). Food and Agriculture Organization of the United Nations. *OECD-FAO Agricultural Outlook* (Edition 2022). <https://www.oecd-ilibrary.org/content/data/13d66b76-en>.
- Oonincx, D.G. and De Boer, I.J. (2012). Environmental impact of the production of mealworms as a protein source for humans—a life cycle assessment. *PLoS ONE* 2012, 7, e51145.
- Oonincx, D. G., van Broekhoven, S., van Huis, A., van Loon, J. J., & van Boekel, M. A. (2015). Feed conversion, survival and development, and composition of four insect species on diets composed of food by-products. *PLoS ONE*, 10 (12), e0144601. doi:10.1371/journal.pone.0144601.
- Paengkoum, S., Petlum, A., Purba, R.A.P. & Paengkoum, P. (2021). Protein-binding affinity of various condensed tannin molecular weights from tropical leaf peel. *J. Appl. Pharm. Sci.* 2021, 11, 114–120.
- Palmquist D. L. and Jenkins T. C. (2017). A 100-Year Review: Fat feeding of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 100, 10061-10077
- Park, H.H. (2016). Black Soldier Fly Larvae Manual. <https://scholarworks.umass.edu/server/api/core/bitstreams/57381598-8fc2-471f-b3c1-e1f4ed402287/content>.
- Paulot, F., Jacob, D. J., Henze, D. K., & Scenarios, C. M. I. P. S. (2014). Ammonia emissions in the United States, European Union, and China derived by high-resolution inversion of ammonium wet deposition data: Interpretation with a new agricultural emissions inventory (MASAGE_NH3). *Journal of Geophysical Research: Atmospheres*, 119 (7), 4343-4367.
- Payne, C. L. R., Scarborough, P., Rayner, M., & Nonaka, K. (2016). A systematic review of nutrient composition data available for twelve commercially available edible insects, and comparison with reference values. *Trends in Food Science & Technology*, 47, 69-77.
- Petlum, A., Paengkoum, P., Liang, J., Vasupen, K. & Paengkoum, S. (2019). Molecular weight of condensed tannins of some tropical feed-leaves and their effect on in vitro gas and methane production. *Anim. Prod. Sci.* 59, 2154–2160.
- Petri, R.M., Schwaiger, T., Penner, G.B., Beauchemin, K.A., Forster, R.J., McKinnon, J.J. & McAllister, T.A. (2013). Characterization of the core rumen microbiome in cattle during transition from forage to concentrate as well as during and after an acidotic challenge. *PLoS one*, 8(12), p.e83424.
- Pinho, R., Santos, E.M., de Oliveira, J.S., de Carvalho, G.G., Alves, J.P., Macêdo, A.J.D.S., Pereira, G.A., Pereira, D.M., Perazzo, A.F. & Zanine, A.D.M. (2019). Relationship between forage neutral detergent fiber and non-fibrous carbohydrates on ruminal fermentation products and neutral detergent fiber digestibility in goats. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 32(2), pp.126-138.
- Prachumchai, R., Suntara, C., Kanakai, N., & Cherdthong, A. (2025). Inclusion of Black Soldier Fly Larval Oil in Ruminant Diets Influences Feed Consumption, Nutritional Digestibility,

- Ruminal Characteristics, and Methane Estimation in Thai-Indigenous Steers. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 109(3), 812-820. doi: 10.1111/jpn.14101.
- Purba, R.A.P., Yuangklang, C., Paengkoum, S., & Paengkoum, P. (2021). Piper oil decreases in vitro methane production with shifting ruminal fermentation in a variety of diets. *Int. J. Agric. Biol*, 25, 231–240.
- Rabani, V. Cheatsazan, H. & Davani, S. (2019). Proteomics and lipidomics of black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae) and blow fly (Diptera: Calliphoridae) larvae. *J. Insect Sci.* 2019, 19, 29.
- Renna, M., Schiavone, A., Gai, F., Dabbou, S., Lussiana, C., Malfatto, V., Prearo, M., Capucchio, M.T., Biasato, I., Biasibetti, E. & De Marco, M. (2017). Evaluation of the suitability of a partially defatted black soldier fly (*Hermetia illucens* L.) larvae meal as ingredient for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) diets. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 8, 1-13.
- Reynolds, C. K., Crompton, L. A., & Mills, J. A. (2001). Improving the efficiency of energy and protein utilization in cattle. *Animal Science*, 73 (1), 79-88.
- Reynolds, C. K., Kristensen, N. B., & Beever, D. E. (2006). Research perspectives on the regulation of feed intake in ruminants. *Journal of Dairy Science*, 89 (4), 1302-1321.
- Reynolds, C. K., Kristensen, N. B., & Kebreab, E. (2019). Conceptual framework for predicting nutrient partitioning, digesta passage and efficiency of nutrient use in ruminants. *Animal Production Science*, 59 (8), 1445-1461.
- Robinson, E. L. and Fuller, M. F. (2021). Animal Nutrition: Protein and Amino Acid Requirements in Animals. *CAB Reviews*, 16 (1), 1–12.
- Robinson, P, Mathews, MC. & Fadel, J. (1999). Influence of storage time and temperature on in vitro digestion of neutral detergent fibre at 48 h, and comparison to 48 h in sacco neutral detergent fibre digestion. *Animal Feed Science and Technology*, 80 (3-4), 257-266.
- Rumpold, B. A. and Schlüter, O. K. (2013). Nutritional composition and safety aspects of edible insects. *Molecular Nutrition & Food Research*, 57 (5), 802-823.
- Salahuddin, M., Abdel-Wareth, A.A.A., Hiramatsu, K., Tomberlin, J.K., Luza, D., & Lohakare, J. (2024). Flight toward sustainability in poultry nutrition with black soldier fly larvae. *Animals*, 14 (3), 510. <https://doi.org/10.3390/ani14030510>.
- Schiavone, A., Dabbou, S., De Marco, M., Cullere, M., Biasato, I., Biasibetti, E., Capucchio, M., Bergagna, S., Dezzutto, D. & Meneguz, M. (2018). Black soldier fly larva fat inclusion in finisher broiler chicken diet as an alternative fat source. *Animal* 2018, 12, 2032–2039.
- Schiavone, A., De Marco, M., Martínez, S., Dabbou, S., Renna, M., Madrid, J., Hernandez, F., Rotolo, L., Costa, P. Gai, F. & Gasco L. (2017). Nutritional value of a partially defatted and a highly defatted black soldier fly larvae (*Hermetia illucens* L.) meal for broiler chickens: Apparent nutrient digestibility, apparent metabolizable energy and apparent ileal amino acid digestibility. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* 8, 51.

- Schingoethe, D.J. (2007). Feeding corn distillers grains to dairy cattle. In Ontario Dairy Symposium for Large Herd Operators, London, Ontario, Canada. *Ontario Large Herd Operators, Elora, Ontario, Canada* (pp. 15-28).
- Schlesinger, W. H. (2009). On the fate of anthropogenic nitrogen. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106 (1), 203-208.
- Schwab, C. G., Broderick, G. A., & Wagner, D. G. (2003). A 100-year review: Protein and amino acid nutrition in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 96 (7), 4959-4977.
- Sealey WM, Gaylord TG, Barrows FT, Tomberlin JK, McGuire MA, Ross C, StHilaire S, 2011. Sensory Analysis of Rainbow Trout, *Oncorhynchus Mykiss*, Fed Enriched Black Soldier Fly Prepupae, *Hermetia Illucens*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 42(1):34-45.
- Sealey, W. M., and Gaylord, T. G. (2016). Black soldier fly larvae meal and oil: Impact of diet on fatty acid composition. *Journal of Insects as Food and Feed*, 2 (2), 103-115.
- Sheppard, D.C., Tomberlin, J.K., Joyce, J.A. & Kiser, B.C. (2002). Sumner, S.M. Rearing methods for the black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae). *J. Med. Entomol.* 39, 695–698.
- Shumo, M., Khamis, F.M., Tanga, C.M. & Fiaboe, K.K. ,Subramanian, S., Ekesi, S., Van Huis, A. & Borgemeister, C. (2019). Influence of temperature on selected life-history traits of black soldier fly (*Hermetia illucens*) reared on two common urban organic waste streams in Kenya. *Animals* 9, 79.
- Siddiqui, S.A., Ristow, B., Rahayu, T., Putra, N.S., Yuwono, N.W., Mategeko, B., Smetana, S., Saki, M., Nawaz, A. & Nagdalian, A. (2022). Black soldier fly larvae (BSFL) and their affinity for organic waste processing. *Waste Manag.* 140, 1–13.
- Singh, A. and Kumari, K. (2019). An inclusive approach for organic waste treatment and valorisation using Black Soldier Fly larvae: A review. *J. Environ. Manag.* 251, 109569.
- Slanzon G S. (2022). Microbial profiles of healthy and diarrheic neonatal calves before and after antibiotic treatment. *Scientific Reports* 12 (1), 5782. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-09882-2>.
- Smets, R., Verbinnen, B., Van De Voorde, I., Aerts, G., Claes, J. & Van Der Borght, M. (2020). Sequential extraction and characterisation of lipids, proteins, and chitin from black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae, prepupae, and pupae. *Waste Biomass Valorization* 11, 6455–6466.
- Smith, J. A. (2020). Protein and human health: A comprehensive review. *Journal of Nutritional Science*, 10, e25. <https://doi.org/10.1017/jns.2020.20>.
- Smith, J. A., and Johnson, B. R. (2020). The Role of Protein in Human Nutrition: A Comprehensive Review. *Journal of Nutritional Science*, 15, e30.
- Sprangers, T., Ottoboni, M., Klootwijk, C., Olyn, A., & Deboosere, S. (2017a). Nutritional composition of black soldier fly (*Hermetia illucens*) prepupae reared on different organic waste substrates. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97 (8), 2594–2600. doi:10.1002/jsfa.8119.

- Spranghers, T.; Noyez, A.; Schildermans, K.; De Clercq, P. (2017b). Cold hardiness of the black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae). *J. Econ. Entomol.*, 110, 1501–1507
- Stern, M. D., Bach, A., & Calsamiglia, S. (1994). Alternative Techniques for Measuring Nutrient Digestion in Ruminants. *Journal of Animal Science*, 72 (10), 2855–2876.
- Sung H, Kobayashi Y, Chang J, Ha A, Hwang I, Ha J. (2007). Low Ruminal pH Reduces Dietary Fiber Digestion via Reduced Microbial Attachment. *Anim Biosci*, 20(2):200-207. doi: <https://doi.org/10.5713/ajas.2007.200>
- Surendra, K.C., Olivier, R., Tomberlin, J.K., Jha, R. & Khanal, S.K. (2016). Bioconversion of organic wastes into biodiesel and animal feed via insect farming. *Renewable Energy*, 98, 197-202.
- Sutton, M.A., Bleeker, A., Howard, C.M., Bekunda, M., Grizzetti, B., de Vries, W., Van Grinsven, H.J.M., Abrol, Y.P., Adhya, T.K., Billen, G. & Davidson, E.A. (2013). Our nutrient world: the challenge to produce more food and energy with less pollution. *NERC/Centre for Ecology & Hydrology*.
- Swiatkiewicz, S., Swiatkiewicz, M., Arczewska-Wlosek, A. & Jozefiak, D. (2015). Chitosan and its oligosaccharide derivatives (chitoooligosaccharides) as feed supplements in poultry and swine nutrition. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 99, 1–12.
- Tamminga, S. (2006). Protein evaluation for ruminants. In Sustainable ruminant livestock farming (pp. 27-51). *Wageningen Academic Publishers*.
- Tian, X., Lu, Q., Paengkoum, P. & Paengkoum, S. (2020). Effect of purple corn pigment on change of anthocyanin composition and unsaturated fatty acids during milk storage. *J. Dairy Sci.* 103, 7808–7812.
- Tomberlin JK, Sheppard DC, Joyce JA, 2002. Selected Life-History Traits of Black Soldier Flies (Diptera:Stratiomyidae) Reared on Three Artificial Diets. *Annals of the Entomological Society of America*, 95(3):379-386.
- Tuomisto, H. L., and Teixeira de Mattos, M. J. (2011). Environmental Impacts of Cultured Meat Production. *Environmental Science & Technology*, 45 (14), 6117–6123.
- Uyeno, Y., Sekiguchi, Y., & Kamagata, Y. (2015). Impact of probiotics on gut microbiota in ruminants. *Animal Science Journal*, 86 (3), 298–305. <https://doi.org/10.1111/asj.12320>.
- Üstüner, T., Hasbenlí, A. & Rozkošný, R. (2003). The first record of *Hermetia illucens* (Linnaeus, 1758) (Diptera, Stratiomyidae) from the Near East. *Studia Dipterol.* 1, 0945-3954.
- Van Groenigen, J. W., Velthof, G. L., Oenema, O., Van Groenigen, K. J., & Van Kessel, C. (2010). Towards an agronomic assessment of N₂O emissions: a case study for arable crops. *European Journal of Soil Science*, 61 (6), 903-913.
- Van Huis, A., Van Itterbeeck, J., Klunder, H., Mertens, E., Halloran, A., Muir, G., & Vantomme, P. (2013). Edible insects: Future prospects for food and feed security. FAO Forestry Paper 171. *Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO)*.

- Van Soest, P. J. (1994). Nutritional ecology of the ruminant (2nd ed.). Cornell University Press.
- Vasta, V., Daghighi, M., Luciano, G., Monahan, F. J., Priolo, A., & Sañudo, C. (2021). Black soldier fly larvae meal in ruminant diet: A review. *Animal Feed Science and Technology*, 280, 115024.
- Veldkamp, T. and Bosch, G. (2015). Insects: A protein-rich feed ingredient in pig and poultry diets. *Anim. Front.* 5, 45–50.
- Verma, M., and Nanda, A. S. (2022). Sustainable Protein Production for Food Security and Environmental Protection: Challenges and Opportunities. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 6, 796432.
- Wang, H., ur Rehman, K., Feng, W., Yang, D., ur Rehman, R., Cai, M., Zhang, J., Yu, Z. & Zheng, L. (2020). Physicochemical structure of chitin in the developing stages of black soldier fly. *Int. J. Biol. Macromol.*, 149, 901–907.
- Wang YS, Shelomi M. Review of Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) as Animal Feed and Human Food. *Foods*. 6(10), 91. doi: 10.3390/foods6100091.
- Webb, J., Mench, J., & Hristov, A. N. (2015). Ammonia emissions from dairy production in California. *Journal of Dairy Science*, 98 (9), 6225-6237.
- Williams, E. A., and Brown, K. H. (2019). Protein intake and Human Health: A review. *Nutrients*, 11 (5), 1106.
- WHO. (2007). Protein and amino acid requirements in human nutrition: Report of a joint FAO/WHO/UNU expert consultation.
- Yildirim-Aksoy, M., Eljack, R. & Beck, B.H. (2020). Nutritional value of frass from black soldier fly larvae, *Hermetia illucens*, in a channel catfish, *Ictalurus punctatus*, diet. *Aquac. Nutr.* 26, 812–819.
- Yu, G., Chen, Y., Yu, Z. & Cheng, P. (2009). Research progress on the larvae and prepupae of black soldier fly *Hermetia illucens* used as animal feedstuff. *Chin. Bull. Entomol.* 46, 41–45.
- Zeineldin M M. (2019). The microbiome of the cow: Rumen and beyond. *Animal Frontiers* 9 (1): 44–50. <https://doi.org/10.1093/af/vfy030>.
- Zhou, F., Tomberlin, J.K., Zheng, L., Yu, Z. & Zhang, J. (2013). Developmental and waste reduction plasticity of three black soldier fly strains (Diptera: Stratiomyidae) raised on different livestock manures. *J. Med. Entomol.* 50, 1224–1230.
- Zuki, N.M., Ibrahim, N., Mat, K., Rusli, N., Harun, H., Mahmud, M., Samat, N. & Al-Amsyar, S. (2021). Hybrid treatment of black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*) as a sustainable and efficient protein source in poultry diets. *IOP Conf. Series: Earth Environ. Sci.* 756, 012031.