University of Guilan with collaboration of Iranian Aquaculture Society

**Aquatic Animals Nutrition**

Vol. 10, No. 4, 2025, pages: 19-34
DOI: 10.22124/janb.2025.29001.1261

**RESEARCH PAPER** **OPEN ACCESS**

# Effects of fish meal replacement with black soldier fly larvae meal in the diet of Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* post-larvae on growth performance and digestive enzymes activity

**Abbas Zamani*, Mohammad Jafari**
Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources and Environment, Malayer University, Malayer, Hamedan, Iran

Received 31 October 2024 Revised 16 December 2024 Accepted 18 December 2024

**KEYWORDS**
Black soldier fly
Digestive enzyme
Fish meal
Growth performance
Shrimp

**Introduction**: At present, due to the decrease in wild catch and the increase in demand, finding an alternative protein source for fish meal in aqua-feed has become one of the challenges of the aquaculture industry. One of the alternative sources is insects that are considered part of the natural food of aquatic animals, especially in the larval stage, and are rich in amino acids, fats, vitamins, and minerals. The aim of the present study was to evaluate the effect of black soldier fly larvae meal (BSFLM) in the diet of Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* post-larvae on growth performance and digestive enzyme activity.
**Materials and methods**: Four experimental diets were prepared in triplicate with replacement levels of 0 ($D_1$), 25 ($D_2$), 50 ($D_3$), and 100% ($D_4$) of fish meal with BSFLM as isonitrogenous and isocaloric diets. The effect of the prepared diets on growth performance and digestive enzyme activity in the Pacific white shrimp post larvae (weight: 4 mg) was evaluated for 70 days.
**Results and discussion**: The obtained findings showed that using BSFLM up to 50% ($D_3$) significantly increased the final BW, WG, SGR, PER, and LER, while those indices significantly decreased in shrimp fed with $D_4$ ($P<0.05$). The FCR revealed a significant decrease of up to 50% BSFLM but significantly increased in shrimp fed with $D_4$ ($P<0.05$). The digestive enzyme activity from the hepatopancreas and intestine indicated that trypsin and lipase had a significant increase in the shrimp fed with diets up to 50% BSFLM ($P<0.05$), while amylase showed no significant difference. The digestive enzymes significantly decreased in the shrimp fed with $D_4$ ($P<0.05$).
**Conclusion**: Based on the results of this study, fish meal replacement with BSFLM up to 50% had a significant effect on shrimp growth performance and digestive enzyme activity.

**Funding**: The author has no sources of funding for the present work.
**Acknowledgements**: The author would like to thank the helpful assistance offered by the staff of the Persian Gulf Aquatic Resources Restoration Center, located in Bandar Kolahi, Minab, Hormozgan.

*Corresponding author: a.zamani@malayeru.ac.ir

دانشگاه گیلان با مشارکت انجمن آبزی‌پروری ایران

**تغذیه آبزیان**

**سال دهم، شماره چهارم، دی ۱۴۰۳، صفحات ۳۴-۱۹**

DOI: 10.22124/janb.2025.29001.1261

"مقاله پژوهشی"

# تأثیر جایگزینی پودر ماهی با پودر لارو مگس سرباز سیاه (*Hermetia illucens*) در جیره غذایی پست لارو میگوی سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*) بر کارایی رشد و فعالیت آنزیم‌های گوارشی

**عباس زمانی*، محمد جعفری**

گروه علوم و مهندسی شیلات، دانشکده منابع طبیعی و محیط زیست، دانشگاه ملایر، ملایر، همدان

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۸/۱۰ تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۰۹/۲۶ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۹/۲۸

**چکیده**

در حال حاضر، یافتن منبع پروتئین جایگزین برای پودر ماهی به دلیل کاهش میزان صید جهانی و افزایش تقاضا جهت استفاده در غذای آبزیان پرورشی به یکی از چالش‌های صنعت آبزی‌پروری تبدیل شده است. یکی از منابع جایگزین، حشرات هستند که بخشی از غذای طبیعی جانوران آبزی به‌خصوص در مرحله لاروی محسوب می‌شوند. هدف از مطالعه حاضر، ارزیابی تأثیر پودر لارو مگس سرباز سیاه (*Hermetia illucens*) ($H_I$) در جیره غذایی پست لارو میگوی سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*) (وزن متوسط mg ۴) به مدت ۷۰ روز بر عملکرد رشد و آنزیم‌های گوارشی بود. چهار جیره آزمایشی با سطوح جایگزینی صفر ($D_1$)، ۲۵ ($D_2$)، ۵۰ ($D_3$)، و ۱۰۰٪ ($D_4$) پودر ماهی همسان از نظر پروتئین و انرژی با پودر $H_I$ در ۳ تکرار تهیه شد. نتایج به‌دست آمده نشان داد که با افزایش مقدار پودر $H_I$ تا ۵۰٪ (جیره $D_3$) مقادیر وزن نهایی، افزایش وزن بدن، نرخ رشد ویژه،کارایی مصرف چربی و پروتئین به‌طورمعنی‌دار افزایش، و در سطح جایگزینی بالاتر ($D_4$) به طور معنی‌دار کاهش یافت ($P<0/05$). با افزایش میزان پودر $H_I$ تا ۵۰٪ ضریب تبدیل غذایی به‌طور معنی‌دار کاهش و سپس افزایش یافت ($P<0/05$). میزان فعالیت آنزیم‌های گوارشی در هپاتوپانکراس و روده نشان داد که با افزایش سطح جایگزینی $H_I$ تا ۵۰٪ میزان فعالیت آنزیم‌های تریپسین و لیپاز در هپاتوپانکراس و روده به‌طور معنی‌دار افزایش می‌یابد و در سطوح بالای جایگزینی ($D_4$) به طورمعنی‌دار کاهش یافت ($P<0/05$). همچنین، با افزایش سطح جایگزینی $H_I$ تا ۵۰٪ میزان فعالیت آنزیم آمیلاز در هپاتوپانکراس و روده افزایش یافت، ولی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد و در سطح بالای جایگزینی ($D_4$) میزان فعالیت آنزیم به‌طور معنی‌دار کاهش یافت ($P<0/05$). براساس نتایج این مطالعه، جایگزینی پودر ماهی با پودر $H_I$ تا ۵۰٪ باعث افزایش معنی‌دار بر عملکرد رشد و فعالیت آنزیم‌های گوارشی پست لارو میگو سفید غربی شد.

**کلمات کلیدی**

آنزیم گوارشی، پودر ماهی، عملکرد رشد، مگس سرباز سیاه، میگو

نویسنده مسئول: a.zamani@malayeru.ac.ir

**مقدمه**

پرورش سخت‌پوستان یکی از بخش‌های مهم صنعت آبزی‌پروری در دنیا محسوب می‌شود، به طوری که در سال ۲۰۲۲ در حدود ۱۳/۵٪ (۱۲ میلیون و ۷۵۱ هزار تن) از تولیدات جهانی آبزی‌پروری را به خود اختصاص داده است. در بین سخت‌پوستان، میگوهای خانواده پنائیده با تولید ۷ میلیون و ۹۳۴ هزار تن حدود ۶۲/۲٪ از تولید سخت پوستان در سال ۲۰۲۲ را شامل می‌شوند که رشد ۳۱٪ را نسبت به سال ۲۰۱۸ نشان می‌دهند.

میگوی سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*) مهمترین گونه پرورشی سخت‌پوستان از خانواده پنائیده بوده که پرورش آن به دلیل تحمل طیف گسترده‌ای از شرایط پرورش مانند تراکم بالا، دامنه وسیع شوری و دما، نرخ رشد بالا و همچنین مقاومت بالا نسبت به بیماری‌ها از روند رو به رشدی برخوردار بوده است. میزان تولید این گونه در سال ۲۰۲۲ بالغ بر ۶/۸ میلیون تن گزارش شده است که آن را به عنوان مهمترین گونه پرورشی در دنیا نیز مطرح کرده است، به طوری که در بین سخت‌پوستان و میگوهای خانواده پنائیده به ترتیب ۵۳ و ۸۶٪ تولید را شامل می‌شود (FAO, 2024). در حال حاضر، جیره غذایی میگوهای پرورشی تا حد زیادی به پودر ماهی به عنوان یک منبع پروتئین مطلوب با ترکیب اسید آمینه متعادل، خوش طعم بودن و قابلیت هضم پذیری بالا برای اطمینان از رشد سریع و سلامت گونه پرورشی وابسته است. با کاهش میزان صید و افزایش تقاضا برای تهیه جیره غذایی، تأمین اقلام غذایی مانند پودر ماهی دشوار به نظر می‌رسد، به طوری که یافتن یک منبع پروتئین جایگزین به یکی از چالش‌های صنعت آبزی‌پروری تبدیل شده است (Tacon et al. 2011; He et al. 2022). در دهه‌های اخیر مطالعات متعددی در زمینه استفاده از پروتئین گیاهی در جیره غذایی میگو انجام شده است. با وجود این، ترکیبات گیاهی دارای معایبی از جمله محتوای پروتئینی نسبتاً کم، ترکیب اسید آمینه ضروری نامطلوب، خوش خوراکی اندک و وجود مواد ضد تغذیه‌ای است (Molina-Poveda et al. 2013; Hulefeld et al. 2018; Bae et al. 2020). افزون بر این، رشد سریع جمعیت انسانی، استفاده از زمین‌های زراعی را تحت فشار قرار داده و تغییر اقلیم و اثرات زیست محیطی تأمین آب و انرژی برای کشت این گیاهان را در مخاطره قرار داده است (Naylor et al. 2009). این امر موجب ترغیب محققان به جستجوی منابع جدید مانند مواد اولیه با منشاء جانوری از جمله ضایعات کشتارگاهی یا پودر حشرات شده است.

حشرات به عنوان بخشی از غذای طبیعی جانوران آبزی (به‌خصوص گونه‌های گوشتخوار و همه‌چیزخوار) در محیط‌های آب شیرین و شور به‌خصوص در مراحل لاروی محسوب شده و غنی از اسیدهای آمینه، چربی‌ها، ویتامین‌ها و مواد معدنی بوده و نیاز زیست‌محیطی کوچکی برای رشد خود دارند (Howe et al. 2014). علاوه بر این، حشرات به‌خصوص در مرحله لاروی ظرفیت زیستی بالایی را برای تبدیل مواد آلی با کیفیت پایین به پروتئین جانوری با کیفیت بالا با صرف هزینه‌های کمتر از قبیل مصرف کمتر آب، سطح کشت پایین‌تر و همچنین انتشار کمتر گازهای گلخانه‌ای نشان می‌دهند و در مقایسه با منابع پروتئین گیاهی از محتوای پروتئین نسبتاً بالاتر با ترکیب اسید آمینه متعادل‌تر و همچنین، خوش طعمی بهتر برخوردارند (Van Huis, 2013). پودر حشرات، به عنوان یک منبع غنی و امیدوار کننده از مواد مغذی، از ظرفیت بسیار بالایی برای استفاده در جیره غذایی آبزیان است و جایگزینی مناسب و مطمئن برای منابعی مانند پودر ماهی و گیاهان قلمداد می‌شود (Biasato et al. 2017; Schiavone et al. 2018). میزان پروتئین در حشرات بین ۹/۳ تا ۷۶٪ و میزان چربی بین ۷/۹ تا ۴۰٪ متغیر است؛ به طوری که تعداد زیادی از لارو حشرات غنی از پروتئین (۴۰٪) و چربی (۳۰٪) بوده و دارای فعالیت ضد قارچی و یا حاوی پپتیدهای ضد باکتریایی هستند که می‌توانند ماندگاری جیره غذایی حاوی حشرات را افزایش دهند (Nogales-Mérida et al. 2019). این مزایا نشان می‌دهد که استفاده از حشرات در جیره غذایی آبزیان (به خصوص گونه‌های گوشتخوار و همه‌چیزخوار) علاوه بر اثرات مفید تغذیه‌ای، می‌تواند در تأمین پایدار مواد اولیه برای ساخت خوراک نیز نقش ایفا کند (Magalhães et al. 2017; Barroso et al. 2019). با وجود این، در مقایسه با پودر ماهی، برخی محدودیت‌ها نیز در پودر حشرات وجود دارد که می‌توان به سطوح پایین اسیدهای چرب غیراشباع امگا ۳

به‌خصوص EPA و DHA، بالا بودن اسیدهای چرب اشباع، سطح کلسیم پایین و سطح بالای کیتین اشاره کرد (de Souza-Vilela et al. 2019). میزان کیتین در میان گونه‌های مختلف حشرات و همچنین مراحل مختلف رشدی آنها متفاوت است، ولی میزان کمینه ۱۰٪ ماده خشک در پودر حشرات گزارش شده است. بیشتر گونه‌های ماهیان قادر به جذب کیتین نیستند. با وجود این، برخی گونه‌ها مانند *Sebastolobus alascanus*، *Sebastes diploproa* و *Anoplopoma fimbria* حاوی آنزیم کیتیناز هستند که استفاده از جیره غذایی حاوی مقداری کیتین را امکان‌پذیر می‌کند (Alfiko et al. 2022).

در میان گونه‌های مختلف حشرات و همچنین مراحل زیستی آنها، لارو مگس سرباز سیاه[1] (*Hermetia illucens*) (HI) از راسته دو بالان (Diptera)، به دلیل دارا بودن سرعت رشد بالا، پرورش آسان و ارزش غذایی بالا (حاوی۴۰٪ پروتئین با ترکیب اسید آمینه نسبتاً متعادل و۳۰٪ چربی حاوی اسیدهای چرب غیراشباع) از ظرفیت مناسبی در تغذیه آبزیان برخوردار است. لارو این حشره می‌تواند روی طیف گسترده‌ای از بسترهای غنی از فیبر شامل ضایعات کشاورزی از قبیل میوه‌ها و سبزیجات رشد کند (Lu et al. 2022; Mohan et al. 2022; Eide et al. 2024). نتایج برخی مطالعات نشان می‌دهد که جایگزینی نسبی یا کامل پودر ماهی با HI در جیره غذایی آبزیانی مانند ماهی کوی (*Cyprinus carpio* var. Jian)، تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) و آزاد اقیانوس اطلس (*Salmo salar*) تأثیر مثبتی بر عملکرد رشد آنها داشته است (Li et al. 2017; Tippayadara et al. 2021; Eide et al. 2024). برخی مطالعات جایگزینی نسبی پودر ماهی با پودر HI را در جیره غذایی میگوی سفید غربی در مراحل مختلف رشد (عمدتاً میگوی جوان با وزن بالاتر از ۰/۱گرم) بررسی کردند (Richardson et al. 2021; Chen et al. 2022; Chang et al. 2025). Cummins و همکاران (۲۰۱۷) پودر HI را در جیره غذایی میگوی جوان سفید غربی (۱/۲۴ گرم) تا سطح ۱۶/۵٪ جایگزین پودر ماهی کرده و نتایج مثبتی در عملکرد رشد مشاهده شد. در مطالعه Wang و همکاران (۲۰۲۱) پودر ماهی تا سطح ۸۰٪ توسط پودر HI چربی زدایی شده در جیره غذایی میگوی جوان سفید غربی (۱/۱ گرم) جایگزین شد و نتایج نشان داد که تا سطح ۶۰٪ تأثیر منفی بر عملکرد رشد و فعالیت آنزیم‌های گوارشی (تریپسین، لیپاز و آمیلاز) ندارد. هدف از مطالعه حاضر، ارزیابی جایگزینی کامل پودر ماهی با پودر HI در جیره غذایی پست لارو میگوی سفید غربی (وزن ۴ میلی‌گرم) بر عملکرد رشد و آنزیم‌های گوارشی بود که تاکنون در دیگر مطالعات مشاهده نشده است.

## مواد و روش‌ها

### شرایط پرورش

این تحقیق در مرکز بازسازی ذخایر آبزیان خلیج فارس واقع در بندر کلاهی شهرستان میناب در استان هرمزگان در تابستان ۱۴۰۲ انجام شد. تعداد ۸۴۰ عدد پست لارو میگوی سفید غربی (PL 10) با وزن متوسط ۰/۴± ۴ میلی‌گرم در یک مخزن ۳۰۰ لیتری برای سازگاری با شرایط محیطی به مدت ۲ هفته نگهداری، و با غذای آغازین (Nitro Starter M2 شرکت INVE تایلند با مقادیر رطوبت ۱۰٪، پروتئین ۵۰٪، چربی ۱۰٪ و خاکستر ۱۸٪) تغذیه شدند. پس از پایان دوره سازگاری، میگوها در ۱۲ مخزن ۱۰۰ لیتری با تراکم ۷۰ لارو در هر مخزن که قبلاً ضدعفونی شده بودند، توزیع شدند. آب مورد استفاده ابتدا از دریا به مخزن رسوب‌گیر پمپاژ و پس از ترسیب مواد معلق و عبور از فیلتر شنی در مخزن ۳۰۰ لیتری ذخیره، و سپس بین مخازن پرورشی توزیع شد. روزانه ۲۵٪ آب هر مخزن برای رفع مواد معلق و آلودگی تعویض، و مدفوع و مواد باقیمانده سیفون شدند و هوادهی از طریق هواده مرکزی و سنگ هوا تأمین شد. آزمایش در یک سالن سرپوشیده با دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی به مدت ۷۰ روز انجام شد و میزان شوری آب ۴۰-۳۹ گرم در لیتر، pH حدود ۸-۷/۸، دما ۳۵-۳۲ درجه سانتی‌گراد و اکسیژن محلول بیش از ۶ میلی‌گرم در لیتر ثبت شد. میزان غذادهی روزانه ۳٪ وزن بدن ۴ بار در روز و در ساعت‌های ۸، ۱۲، ۱۶ و ۲۰ تا حد سیری انجام شد.

1- Black soldier fly

**تهیه جیره‌های آزمایشی**

برای ارزیابی تأثیر جایگزینی پودر $H_I$ در جیره غذایی لارو میگو، ۴ تیمار شامل جیره شاهد ($D_1$) (۱۰۰٪ پودر ماهی؛ ۰٪ $H_I$)، جیره $D_2$ (۷۵٪ پودر ماهی؛ ۲۵٪ $H_I$)، جیره $D_3$ (۵۰٪ پودر ماهی؛۵۰٪ $H_I$) و جیره $D_4$ (۰٪ پودر ماهی؛ ۱۰۰٪ HI) تهیه شد. برای جیره‌نویسی از نرم افزار WUFFDA استفاده، و فرمول غذایی مطابق با نیازهای غذایی لارو میگو انجام شد، به طوری که از نظر میزان پروتئین، چربی و انرژی همسان باشند (NRC, 2011). برای تهیه جیره‌های آزمایشی، ابتدا اقلام غذایی بر اساس جدول ۱ از بازار تهیه، و بعد از الک کردن و آسیاب کردن به صورت کاملاً پودری آماده شدند. سپس اقلام غذایی بر اساس مقادیر مورد نیاز توسط ترازو توزین و با یکدیگر مخلوط شدند و به آنها آب اضافه شد. خمیر حاصله توسط چرخ گوشت با اندازه چشمه ۲ میلی‌متر پلت شد و برای خشک کردن به مدت ۲۴ ساعت در معرض جریان هوا در دمای اتاق قرارگرفت و پلت‌های خشک شده در کیسه‌های پلاستیکی و در دمای یخچال (۴ °C) نگهداری شدند. سپس پلت‌ها متناسب با اندازه لارو در مراحل رشدی در اندازه مناسب با کمک هاون خرد شدند.

**کارایی رشد**

در انتهای دوره آزمایش برای بررسی رشد میگوها و مقایسه بین تیمارها، از شاخص‌های افزایش وزن بدن (WG)[1]، نرخ رشد ویژه (SGR)[2]، شاخص وضعیت (CF)[3]، ضریب تبدیل غذایی (FCR)[4]، نرخ بقا (SR)[5]، کارایی مصرف پروتئین (PER)[6] و کارایی مصرف چربی (LER)[7] با استفاده از روابط زیر محاسبه شد که در آنها W0 وزن اولیه (گرم)، Wt وزن نهـایی (گـرم)، t تعـداد روزهای پرورش، BW وزن نهایی بدن (گرم)، TL درازای کل (سانتی متر)، Nb (تعداد ماهیان در شروع دوره آزمایش) و Nt تعداد ماهیان در انتهای دوره آزمایش است (Hu et al. 2022).

- افزایش وزن بدن: $WG = Wt - W0$
- نرخ رشد ویژه: $SGR = [(LnWt - LnW0)/t] \times 100$
- شاخص وضعیت: $CF = [(BW/TL^3)] \times 100$
- ضریب تبدیل غذایی: $FCR = \text{Feed intake} / WG$
- نرخ بقا: $SR = (Nt/Nb) \times 100$
- کارایی مصرف پروتئین: $PER = WG / \text{total amount of protein ingested}$
- کارایی مصرف چربی: $LER = WG / \text{total amount of lipid ingested}$

**تعیین ترکیب شیمیایی جیره غذایی**

برای تعیین ترکیب شیمیایی از روش AOAC (۲۰۰۵) استفاده شد. میزان رطوبت بر اساس اختلاف وزن حاصل از قـرار دادن نمونـه‌ها بـه مـدت ۲۴ سـاعت در آون با دمـای ۱۰۵ °C به‌دست آمد. میزان پروتئین خام از روش کلدال، میزان چربی خام با استفاده از روش سوکسله و میزان خاکستر نیز با سوزاندن نمونه خشک شده در کوره الکتریکی در دمای ۵۵۰ °C و برای مدت ۵ ساعت اندازه‌گیری شد.

**تهیه عصاره و سنجش فعالیت آنزیم‌های گوارشی**

کالبد شکافی میگوها برای جداسازی روده و هپاتوپانکراس در حضور یخ انجام شد. بعد از جداسازی، نمونه‌ها توزین شده و با بافر ۵۰ میلی مولار تریس- HCl، ۸/۰ = pH (حاوی۱۰میلی مولار $CaCl_2$ و ۰/۵ مولار NaCl) با نسبت ۱ به ۱۰ مخلوط و با استفاده از هموژنایزر (مدل Hand Held WT130) همگن‌سازی در حضور یخ به مدت ۱ دقیقه در ۱۱۰۰۰ rpm انجام شد. سپس مخلوط حاصله برای۳۰ دقیقه در دمای ۴ °C در ۱۰۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شد و

1 -Weight growth
2 -Specific growth rate
3- Condition Factor
4 - Feed conversion ratio
5 - Survival rate
6 - Protein efficiency ratio
7 - Lipid efficiency ratio

محلول رویی به‌عنوان عصاره آنزیمی برای سنجش فعالیت آنزیم انتخاب شد (Nayak et al. 2003). فعالیت آنزیم تریپسین با استفاده از سوبسترای BAPNA[1] سنجش شد و جذب پارا نیتروآنیلید رهاسازی شده در طول موج ۴۱۰ نانومتر قرائت شد (Erlanger et al. 1961). سنجش آنزیم آمیلاز با استفاده از نشاسته به‌عنوان سوبسترا و دی نیتروسالیسیلیک اسید به‌عنوان معرف انجام و جذب مالتوز رهاسازی شده در طول موج ۵۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (Bernfeld, 1951). برای سنجش فعالیت آنزیم لیپاز از پارانیتروفنیل مریستات[2] به‌عنوان سوبسترا استفاده، و جذب پارانیتروفنل رهاسازی شده در طول موج ۴۰۵ نانومتر قرائت شد (Iijima et al. 1998). در تمام سنجش‌ها برای نمونه شاهد از آب مقطر به جای نمونه آنزیمی استفاده شد و قرائت نوری نمونه‌ها با کمک دستگاه اسپکتروفوتومتر (UV/VS UltroSpec2000, Pharmacia Biotech, USA) انجام شد. برای تعیین فعالیت اختصاصی آنزیم‌های مورد مطالعه، میزان پروتئین محلول در روده و هپاتوپانکراس با روش Lowry و همکاران (۱۹۵۱) سنجش شد. در این روش از آلبومین سرم گاوی با غلظت ۱ mg/mL به‌عنوان استاندارد استفاده شد.

### سنجش آماری

این مطالعه بر اساس طرح آزمایشی کاملاً تصادفی طراحی، و برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۱ استفاده شد. ابتدا نرمال بودن داده‌ها با کمک آزمون Kolmogorov-Smironov ارزیابی و آزمون همگنی واریانس نیز توسط تست Levene انجام شد. برای بررسی وجود اختلاف معنی‌دار بین شاخص‌های رشد و آنزیم‌های گوارشی در جیره‌های آزمایشی با ۳ تکرار از آنالیز واریانس یک‌طرفه استفاده شد و در صورت وجود اختلاف معنی‌دار میانگین‌ها با کمک آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ مقایسه شدند.

**جدول ۱ اجزا و ترکیب تقریبی جیره‌های آزمایشی برای تغذیه پست لارو میگوی سفید غربی (*L. vannamei*)**

**Table 1. Ingredients and proximate composition of experimental diets for feeding Pacific white shrimp (*L. vannamei*) post larvae**

| Ingredients (g/kg) | $D_1$ | $D_2$ | $D_3$ | $D_4$ |
|---|---|---|---|---|
| Fish meal | 250 | 187.5 | 125 | 0 |
| HI meal[1] | 0 | 62.5 | 125 | 250 |
| Soybean meal | 250 | 250 | 250 | 250 |
| Meal & bone meal | 70 | 70 | 70 | 90 |
| Squid meal | 50 | 50 | 50 | 50 |
| Corn gluten (60 %) | 90 | 100 | 130 | 132 |
| Wheat flour | 110 | 100 | 75 | 60 |
| Soybean oil | 32 | 32 | 30 | 30 |
| Fish oil | 50 | 50 | 47 | 40 |
| Vitamin premix[2] | 15 | 15 | 15 | 15 |
| Mineral premix[3] | 30 | 30 | 30 | 30 |
| Lecithin | 5 | 5 | 5 | 5 |
| Cholesterol | 3 | 3 | 3 | 3 |
| Antioxidant | 1 | 1 | 1 | 1 |
| Toxin binder | 29 | 29 | 29 | 29 |
| Dicalcium phosphate (DCP) | 15 | 15 | 15 | 15 |
| Proximate analysis of the experimental diets (%) | | | | |
| Moisture | 7.2 | 7.0 | 6.9 | 7.1 |

[1] -Nα-Benzoyl-DL-arginine p-nitroanilide hydrochloride

[2] - 4-Nitrophenyl myristate

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Crude protein | 48.3 | 48.0 | 47.5 | 47.9 |
| Crude fat | 8.9 | 8.7 | 8.4 | 8.5 |
| Ash | 16.6 | 17.1 | 17.7 | 18.4 |
| Carbohydrate | 19 | 19.2 | 19.5 | 18.1 |
| Gross energy (kcal/g)[4] | 4.35 | 4.24 | 4.27 | 4.25 |

۱- ترکیب شیمیایی پودر $H_I$: ۴۳٪ پروتئین، ۲۶/۵ ٪ چربی، ۸/۷ ٪ فیبر، ۱۲ ٪ خاکستر، ۹/۸٪ کربوهیدارت.

۲- Vitamin A (۷۰۰۰۰۰ IU)، Vitamin $D_3$ (۲۰۰۰۰۰ IU)، Vitamin E (۲۰۰۰۰ mg)، Vitamin K (۲۰۰۰ mg)، Vitamin $B_1$ (۱۰۰۰۰ mg)، Vitamin $B_2$ (۴۵۰۰ mg)، Vitamin $B_3$ (۱۵۰۰۰ mg)، Vitamin $B_5$ (۵۰۰۰ mg)، Vitamin $B_6$ (۳۰۰۰ mg)، Vitamin $B_7$ (۱۰۰ mg)، Vitamin $B_9$ (۹۰۰۰۰۰ mg)، Vitamin $B_{12}$ (۴ mg)، Inositol (۱۰۰۰۰ mg)، Vitamin C (۲۵۰۰۰ mg).

۳- منگنز (۳۰۰۰ mg)، مس (۵۰۰ mg)، آهن (۲۰۰۰ mg)، روی (۴۰۰۰ mg)، سلنیوم (۲۵ mg)، ید (۱۰۰ mg)، کبالت (۲۵ mg)، کولین (۵۰۰۰۰ mg).

۴- پروتئین، چربی، خاکستر و رطوبت بر حسب درصد ماده خشک است و محاسبه کربوهیدرات بر حسب رابطه (پروتئین + چربی + خاکستر+ رطوبت)- ۱۰۰ و محاسبه انرژی ناخالص بر حسب کیلوکالری بر گرم جیره از رابطه حاصل ضرب مقدار انرژی موجود در هر گرم پروتئین (kcal ۵/۶۵)، چربی(kcal ۹/۴۵) و کربوهیدرات (kcal ۴/۱۱) تعیین شده است (NRC, 2011).

## نتایج

نتایج مربوط به شاخص‌های رشد لارو میگوی سفید غربی تغذیه شده با پودر $H_I$ در جدول ۲ نشان داده شده است. تأثیر جایگزینی پودر ماهی توسط پودر $H_I$ بر مقادیر وزن نهایی و افزایش وزن بدن نشان داد که کم‌ترین و بیش‌ترین مقادیر آن‌ها به ترتیب مربوط به جیره $D_4$ و $D_3$ است و اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند و نسبت به جیره‌های $D_1$ و $D_2$ نیز این اختلاف معنی‌دار بوده است ($P<۰/۰۵$). با افزایش درصد پودر $H_I$ تا ۵۰٪ (جیره $D_3$) شاخص نرخ رشد ویژه به طور معنی‌دار افزایش و سپس کاهش یافت ($P<۰/۰۵$) و مقدار شاخص وضعیت اختلاف معنی‌دار بین جیره‌های غذایی نشان نداد. با افزایش درصد جایگزینی پودر ماهی با پودر $H_I$ تا سطح ۵۰٪ ضریب تبدیل غذایی به طور معنی‌دار کاهش و سپس افزایش یافت، به طوری که کمترین میزان آن در جیره $D_3$ و بیشترین آن در جیره $D_4$ مشاهده شد ($P<۰/۰۵$). نرخ بقا در تمام تیمارها حدود ۹۰٪ بود و اختلاف معنی‌دار با یکدیگر نشان ندادند. مقادیر کارایی مصرف چربی و کارایی مصرف پروتئین با افزایش سطوح جایگزینی $H_I$ تا ۵۰٪ به طور معنی‌دار افزایش و سپس کاهش یافت ($P<۰/۰۵$) به طوری که اختلاف معنی‌دار بین جیره‌های $D_1$ و $D_4$ برای مقدار کارایی مصرف چربی مشاهده نشد.

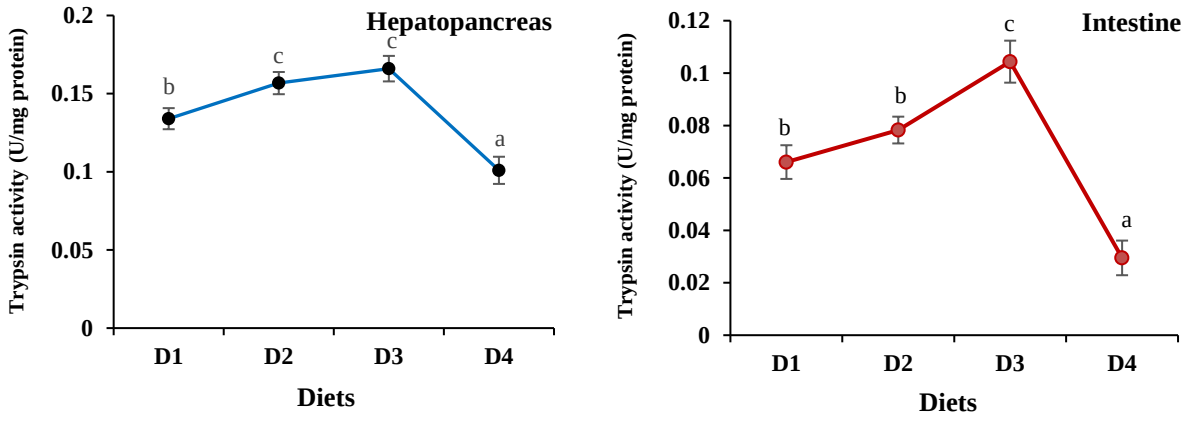
**جدول ۲ شاخص‌های رشد لارو میگوی سفید غربی (*L. vannamei*) تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی**

**Table 2 Growth performance of Pacific white shrimp (*L. vannamei*) larvae fed with experimental diets**

| | Experimental diets | | | |
|---|---|---|---|---|
| Parameters | $D_1$ | $D_4$ | $D_3$ | $D_2$ |
| Initial BW (g) | 0.004 ± 0.00 | 0.004 ± 0.00 | 0.004 ± 0.00 | 0.004 ± 0.00 |
| Final BW (g) | $1.38 \pm 0.01^{b}$ | $1.35 \pm 0.07^{a}$ | $2.22 \pm 0.18^{d}$ | $1.82 \pm 0.01^{c}$ |
| WG (g) | $1.37 \pm 0.01^{b}$ | $1.34 \pm 0.07^{a}$ | $2.21 \pm 0.18^{d}$ | $1.81 \pm 0.01^{c}$ |
| SGR (%/day) | $8.51 \pm 0.11^{b}$ | $8.44 \pm 0.17^{a}$ | $9.14 \pm 0.15^{d}$ | $8.85 \pm 0.13^{c}$ |
| CF | 0.91 ± 0.04 | 0.95 ± 0.08 | 0.91 ± 0.02 | 0.97 ± 0.05 |
| FCR | $1.32 \pm 0.04^{c}$ | $1.40 \pm 0.08^{d}$ | $1.04 \pm 0.03^{a}$ | $1.15 \pm 0.04^{b}$ |
| SR (%) | 89.14 ± 2.02 | 89.29 ± 5.05 | 90.71 ± 1.01 | 90.71 ± 3.03 |
| LER | $0.15 \pm 0.08^{a}$ | $0.14 \pm 0.07^{a}$ | $0.26 \pm 0.07^{b}$ | $0.21 \pm 0.06^{b}$ |
| PER | $0.03 \pm 0.003^{b}$ | $0.02 \pm 0.007^{a}$ | $0.05 \pm 0.004^{d}$ | $0.04 \pm 0.008^{c}$ |

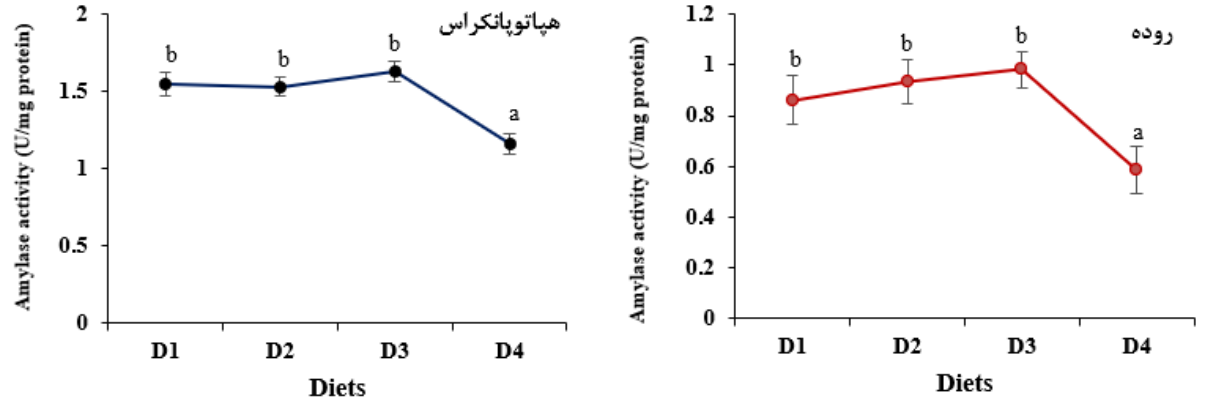
حروف کوچک غیر مشترک در هر ردیف بیان‌گر وجود اختلاف معنی‌دار است. ($\alpha = ۰/۰۵$، $n = ۳$، Mean ± SD).

نتایج بررسی فعالیت آنزیم‌های گوارشی در هپاتوپانکراس و روده لارو میگوی سفید غربی تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی در اشکال ۱ تا ۳ نشان داده شده است. با افزایش سطح جایگزینی $H_I$ تا ۵۰٪ (جیره‌های $D_1$، $D_2$ و $D_3$) میزان فعالیت آنزیم تریپسین در هپاتوپانکراس و روده به طور معنی‌دار افزایش و در سطح بالای جایگزینی (۱۰۰٪ $H_I$: $D_4$) به‌طور معنی‌دار کاهش یافت ($P<0/05$) جایی که بین جیره‌های $D_2$ و $D_3$ در هپاتوپانکراس و جیره‌های $D_1$ و $D_2$ در روده اختلاف معنی‌دار نبود (شکل ۱). همان‌طور که در شکل ۲ نشان داده شده است، با افزایش سطح جایگزینی $H_I$ تا ۵۰٪ میزان فعالیت آنزیم آمیلاز در هپاتوپانکراس و روده افزایش یافت، ولی اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد و در سطح بالای جایگزینی ($D_4$) میزان فعالیت آنزیم به طور معنی‌دار کاهش یافت ($P<0/05$). با افزایش سطح جایگزینی $H_I$ تا ۵۰٪ میزان فعالیت آنزیم لیپاز در هپاتوپانکراس و روده به طور معنی‌دار افزایش و در سطح بالای جایگزینی ($D_4$) به‌طور معنی‌دار کاهش یافت ($P<0/05$) جایی که بین جیره‌های $D_1$ و $D_2$ در هپاتوپانکراس و روده اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد (شکل ۳).



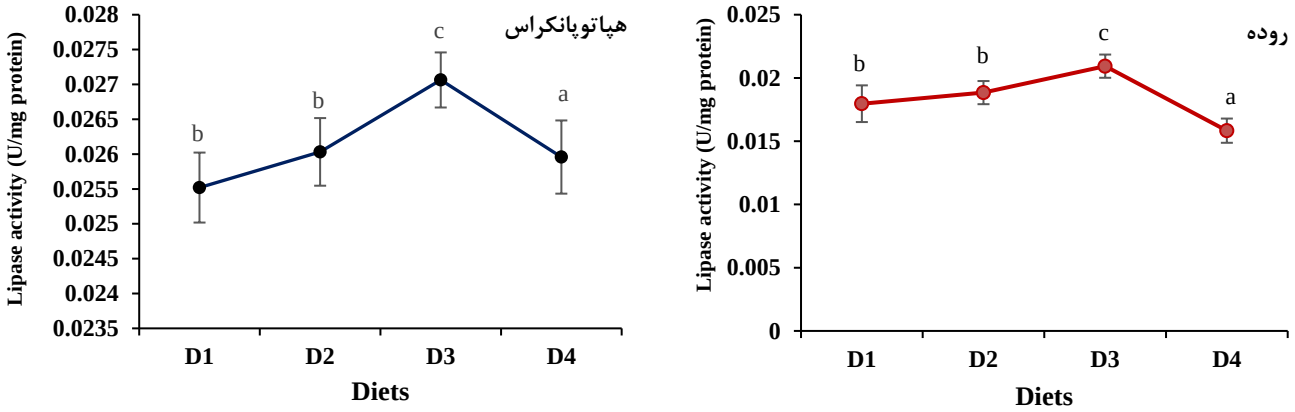

**شکل ۱ فعالیت آنزیم تریپسین از هپاتوپانکراس و روده لارو میگوی سفید غربی (*L. vannamei*) تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی. حروف کوچک متفاوت نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار است (Mean ± SD, n = 3, P<0.05).**

**Figure 1 Trypsin activity from hepatopancreas and intestine of Pacific white shrimp (*L. vannamei*) larvae fed with experimental diets. Different lower cases indicate the significant difference in enzyme activity (Mean ± SD, n = 3, P<0.05).**




**شکل ۲ فعالیت آنزیم آمیلاز از هپاتوپانکراس و روده لارو میگوی سفید غربی (*L. vannamei*) تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی. حروف کوچک متفاوت نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار است (Mean ± SD, n = 3, P<0.05).**

**Figure 1. Amylase activity from hepatopancreas and intestine of Pacific white shrimp (*L. vannamei*) larvae fed with experimental diets. Different lower cases indicate the significant difference in enzyme activity (Mean ± SD, n = 3, P<0.05).**




**شکل ۳ فعالیت آنزیم لیپاز از هپاتوپانکراس و روده لارو میگوی سفید غربی (*L. vannamei*) تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی. حروف کوچک متفاوت نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار است (Mean ± SD, n = 3, P<0.05).**

**Figure 1 Lipase activity from hepatopancreas and intestine of Pacific white shrimp (*L. vannamei*) larvae fed with experimental diets. Different lower cases indicate the significant difference in enzyme activity (Mean ± SD, n = 3, P<0.05).**

## بحث

در تحقیقات اخیر، درباره جایگزینی پودر ماهی با دیگر منابع پروتئینی در جیره غذایی آبزیان، حشرات به عنوان منابع جذاب معرفی شده‌اند و پودر لارو مگس سرباز سیاه به دلیل محتوای بالای چربی و پروتئین منبعی امیدوارکننده به نظر می‌رسد (Linh et al. 2024). بر اساس نتایج این مطالعه، جایگزینی پودر ماهی با پودر $H_I$ تا سطح ۵۰٪ تأثیر مثبتی بر عملکرد رشد لارو میگوی سفید غربی داشت، درحالی که جایگزینی کامل با پودر $H_I$ موجب کاهش عملکرد رشد و افزایش ضریب تبدیل غذایی در لاروهای مورد آزمایش شد. نتایج تحقیق حاضر با نتایج مطالعاتی که نشان می‌دهند سطوح بالای پودر حشرات موجب کاهش عملکرد رشد ماهی

و میگو می‌شوند، همخوانی دارد (Piccolo et al. 2017; Sankian et al. 2018; Reyes et al. 2020; He et al. 2022). در مطالعه Ng و همکاران (۲۰۱۹) استفاده از جیره‌های حاوی سطوح بالای سوسک زرد (۸۰٪ جایگزینی با پودر ماهی) یا تغذیه با سوسک زرد (به عنوان تنها غذای مورد استفاده) در گربه ماهی آفریقایی (*Clarias gariepinus*) موجب کاهش عملکرد رشد و همچنین کاهش کارایی مصرف غذا و پروتئین شد. تغذیه ماهی شانک (*Sparus aurata*) با استفاده از سطوح بالاتر از ۵۰٪ لارو سوسک زرد در جیره غذایی، تأثیر منفی بر قابلیت هضم مواد مغذی و مصرف خوراک داشت، ولی در سطح ۲۵٪ تأثیر منفی بر شاخص‌های رشد مشاهده نشد (Piccolo et al. 2017). نتایج مطالعه دیگر نشان داد جایگزینی پودر لارو سوسک زرد در سطح ۵۰٪ در جیره غذایی ماهی سی‌باس (*Dicentrarchus labrax*)، باعث کاهش عملکرد رشد مانند نرخ رشد ویژه و شاخص وضعیت و افزایش ضریب تبدیل غذایی شد (Reyes et al. 2020)، در حالی که جایگزینی در سطح ۳۰٪ تأثیر منفی بر شاخص‌های رشد نداشت؛ هر چند که باعث افزایش میزان ضریب تبدیل غذایی و کاهش نرخ رشد ویژه شد (Mastoraki et al. 2020). مطالعه He و همکاران (۲۰۲۲) در استفاده از لارو زنده مگس سرباز سیاه در تغذیه پست لاروهای میگوی سفید غربی نشان داد که سطح جایگزینی ۲۵٪ به جای پودر ماهی تأثیر مثبتی بر عملکرد رشد داشت، ولی در سطوح بالای جایگزینی به‌خصوص ۱۰۰٪ کاهش معنی‌دار در شاخص‌های رشد مشاهده شد. با وجود این، برخلاف نتایج مطالعه حاضر، جایگزینی ۱۰۰٪ پودر ماهی با پودر مگس سیاه هیچ تأثیر منفی بر عملکرد رشد ماهی کوی نداشت (Li et al. 2017; Linh et al. 2024). به طور کلی، نتایج مطالعات نشان می‌دهد که استفاده از سطوح بالای پودر حشرات (بالاتر از ۳۵٪) تأثیر منفی بر کارآیی مصرف غذا و پروتئین داشته و از این طریق باعث کاهش شاخص‌های رشد می‌شود. البته می‌توان به عوامل دیگر مانند اندازه آبزی مورد مطالعه، نیاز تغذیه‌ای و شرایط پرورش و تغذیه حشره مورد استفاده نیز اشاره کرد. یکی از دلایل اصلی پایین بودن قابلیت هضم پودر حشرات وجود کیتین بوده که در روده تجزیه نمی‌شود و می‌تواند بر میزان هضم‌پذیری پروتئین تأثیر بگذارد (Henry et al. 2015; Schiavone et al. 2018). در مقایسه با پودر ماهی، کمبود میزان لایزین و تریپتوفان در پودر حشرات نیز مشهود است و میزان اسید آمینه‌های ترئونین و گوگرد نیز محدود است (Sánchez-Muros et al. 2014). یکی از دلایل افزایش رشد در گونه‌هایی که با سطوح پایین پودر حشره تغذیه شده‌اند را می‌توان به بهبود کارایی استفاده از مواد مغذی توسط آبزی مورد مطالعه نسبت داد که احتمالاً به دلیل وجود مواد کیتینی در غذاست (Henry et al. 2015). به طور کلی، پودر حشرات حاوی مقدار زیادی مواد کیتنی است که در مقادیر مناسب می‌تواند میکروبیوتای دستگاه گوارش را تعدیل کرده و به‌عنوان پری‌بیوتیک عمل کرده و باعث بهبود کارایی رشد به‌خصوص در سخت پوستان شود (Marono et al. 2015; Panalikul et al. 2017; He et al. 2022; Linh et al. 2024). از طرف دیگر، کاهش میزان رشد در آبزیانی که از سطوح بالاتر پودر حشرات استفاده می‌کنند، با عوامل متعددی از جمله افزایش میزان پلی‌ساکاریدهای غیر نشاسته‌ای مانند کیتین، قابلیت هضم پایین مواد مغذی، ترکیب اسید آمینه نامتوازن و میزان کم اسیدهای چرب غیر اشباع در ارتباط است (Gasco et al. 2016). همچنین، به‌نظر می‌رسد که این نتایج متناقض را می‌توان به متفاوت بودن گونه آبزی، وزن آبزی مورد آزمایش، ارزش غذایی گونه حشره مورد استفاده، نحوه تغذیه حشرات و روش فرآوری حشره مربوط دانست. برای مثال، چربی‌زدایی پودر حشرات سبب تغییر قابل توجهی در میزان اسیدهای چرب آن نسبت به پودر ماهی می‌شود (Barroso et al. 2019).

فعالیت آنزیم‌های گوارشی می‌تواند تأثیر بالقوه‌ای بر مصرف غذا و عملکرد رشد داشته باشد. در مطالعه حاضر، افزایش سطح پودر $H_I$ در جیره غذایی تا ۵۰٪ تأثیر معنی‌داری بر افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی مورد مطالعه داشت و سطح بالای جایگزینی (۱۰۰٪) باعث کاهش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌ها شد که با عملکرد رشد در این مطالعه مطابقت داشت. مطالعات در زمینه تأثیر استفاده از پودر حشرات در جیره غذایی آبزیان بر میزان فعالیت آنزیم‌های گوارشی اندک است. در مطالعه He و همکاران (۲۰۲۲)، استفاده از لارو زنده مگس

سرباز سیاه در جیره غذایی لارو میگو تا سطح ۵۰٪ پودر ماهی باعث افزایش سطح فعالیت آنزیم‌های پروتئاز و لیپاز شد و در سطح بالای جاگزینی میزان فعالیت آنزیم‌ها به طور معنی‌دار کاهش یافت. Belghit و همکاران (۲۰۱۸) نیز گزارش کردند که جایگزینی پودر ماهی تا ۸۵٪ با پودر لارو مگس سیاه در غذای ماهی آزاد اقیانوس اطلس تأثیر معنی‌داری بر میزان فعالیت آنزیم تریپسین نداشته، در حالی که باعث کاهش فعالیت آنزیم لوسین آمینو پپتیداز شده است و علت آن‌را به میزان کیتین موجود در پودر حشره نسبت دادند که باعث تداخل در عملکرد روده شده و با ممانعت از تجزیه آنزیمی پروتئین‌ها باعث کاهش قابلیت هضم پروتئین می‌شود. مطالعات بافت شناسی نیز نشان می‌دهد که استفاده از پودر حشرات در سطوح بالا می‌تواند به خاطر میزان بالای کیتین به ساختار روده آسیب رسانده و باعث اخلال در حرکت ذرات غذا و فرایند جذب شود (Shiau et al. 1998; He et al. 2022). با وجود این، نتایج مطالعه Tseng و همکاران (۲۰۲۱) و He و همکاران (۲۰۲۲) نشان داد که سطح پایین‌تر مقادیر کیتین در جیره غذایی میگوی سفید غربی می‌تواند باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های پروتئاز هپاتوپانکراس شود. همان طور که قبلاً نیز اشاره شد، وجود کیتین در مقادیر مناسب می‌تواند میکروبیوتای دستگاه گوارش را تعدیل کرده و به‌عنوان پری‌بیوتیک عمل کرده و باعث افزایش قابلیت گوارش شود.

به طورکلی، نتایج این مطالعه نشان داد که استفاده از پودر $H_I$ به جای پودر ماهی تا سطح ۵۰٪، تأثیر معنی‌دار بر عملکرد رشد و فعالیت آنزیم‌های گوارشی (تریپسین، لیپاز و آمیلاز) لارو میگوی سفید غربی داشت و در سطوح جایگزینی ۱۰۰٪ عملکرد رشد و فعالیت آنزیم‌های مورد مطالعه در مقایسه با گروه شاهد به‌طور معنی‌دار کاهش یافت. لذا پیشنهاد می‌شود تأثیر استفاده از پودر $H_I$ در جیره غذایی دیگر مراحل رشدی میگو نیز بررسی شود تا سطوح مناسب‌تری از این منبع جانوری شناسایی شود.

## تشکر و قدردانی

نویسندگان از مجموعه کارکنان مرکز بازسازی ذخایر آبزیان خلیج فارس واقع در بندر کلاهی شهرستان میناب به خاطر همکاری در انجام مطالعه حاضر قدردانی می‌کنند.

## منابع

Alfiko, Y., Xie, D., Astuti, R.T., Wong, J., Wang, L. 2022. Insects as a feed ingredient for fish culture: Status and trends. Aquaculture and Fisheries 7: 166-178. DOI: 10.1016/j.aaf.2021. 10.004.

AOAC. Official Method 950.89 Horwitz, W., Latimer, G. (Eds). 2005. Official Methods of Analysis of AOAC International, 18th Edition, Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg, USA.

Bae, J., Hamidoghli, A., Djaballah, M.S., Maamri, S., Hamdi, A., Souffi, I., Farris, N.W., Bai, S.C. 2020. Effects of three different dietary plant protein sources as fishmeal replacers in juvenile whiteleg shrimp, *Litopenaeus vannamei*. Fisheries and Aquatic Sciences 23: 1-6. DOI: 10.1186/s 41240-020-0148-x.

Barroso, F.G., Sánchez-Muros, M.J., Rincón, M.Á., Rodriguez-Rodriguez, M., Fabrikov, D., Morote, E., Guil-Guerrero, J.L. 2019. Production of n-3-rich insects by bioaccumulation of fishery waste. Journal of Food Composition and Analysis 82: 103237. DOI: 10.1016/j.jfca.2019.103237.

Belghit, I., Liland, N.S., Waagbø, R., Biancarosa, I., Pelusio, N., Li, Y., Krogdahl, Å., Lock, E.J. 2018. Potential of insect-based diets for Atlantic salmon (*Salmo salar*). Aquaculture, 491: 72-81. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2018.03.016.

Bernfeld, P. 1951. Amylases α and β. In: *Methods in Enzymology*. Colowick, P., Kaplan, N.O. (Eds.). Vol 1. New York, Academic Press, 149-157.

Biasato, I., Gasco, L., De Marco, M., Renna, M., Rotolo, L., Dabbou, S., Capucchio, M.T., Biasibetti, E., Tarantola, M., Bianchi, C., Cavallarin, L. 2017. Effects

of yellow mealworm larvae (*Tenebrio molitor*) inclusion in diets for female broiler chickens: implications for animal health and gut histology. Animal Feed Science and Technology 234: 253-263. DOI: 10.1016/j.anifeedsci. 2017.09.014.

Chang, T., Lin, H., Han, F., Xu, C., Li, E. 2025. Impact of defatted black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae meal on health, muscle texture, and intestinal microbiota in Pacific white shrimp (*Penaeus vannamei*). Aquaculture 596: 741755. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2024.741755.

Chen, Y., Chi, S., Zhang, S., Dong, X., Yang, Q., Liu, H., Tan, B., Xie, S. 2022. Effect of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae meal on lipid and glucose metabolism of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. British Journal of Nutrition 128: 1674-1688. DOI: 10.1017/ S0007114521004670.

Cummins Jr, V.C., Rawles, S.D., Thompson, K.R., Velasquez, A., Kobayashi, Y., Hager, J., Webster, C.D. 2017. Evaluation of black soldier fly (*Hermetia illucens)* larvae meal as partial or total replacement of marine fish meal in practical diets for Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). Aquaculture 473: 337-344. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2017.02.022.

de Souza-Vilela, J., Andrew, N.R., Ruhnke, I. 2019. Insect protein in animal nutrition. Animal Production Science 59: 2029-2036. DOI: 10.1071/AN19255.

Eide, L.H., Rocha, S.D., Morales-Lange, B., Kuiper, R.V., Dale, O.B., Djordjevic, B., Hooft, J.M., Øverland, M. 2024. Black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*) meal is a viable protein source for Atlantic salmon (*Salmo salar*) during a large-scale controlled field trial under commercial-like conditions. Aquaculture 579: 740194. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2023.740194.

Erlanger, B.F., Kokowsky, N., Cohen, W. 1961. The preparation and properties of two new chromogenic substrates of trypsin. Archives of Biochemistry and Biophysics 95: 271-278. DOI: 10.1016/0003-9861(61)90145-X.

Gasco, L., Henry, M., Piccolo, G., Marono, S., Gai, F., Renna, M., Lussiana, C., Antonopoulou, E., Mola, P., Chatzifotis, S. 2016. *Tenebrio molitor* meal in diets for European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) juveniles: Growth performance, whole body composition and in vivo apparent digestibility. Animal Feed Science and Technology 220: 34-45. DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2016.07.003.

He, Y., Liu, X., Zhang, N., Wang, S., Wang, A., Zuo, R., Jiang, Y. 2022. Replacement of commercial feed with fresh black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae in Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). Aquaculture Nutrition 1: 9130400. DOI: 10.1155/2022/9130400.

Henry, M., Gasco, L., Piccolo, G., Fountoulaki, E. 2015. Review on the use of insects in the diet of farmed fish: past and future. Animal Feed Science and Technology 203: 1-22. DOI: 10.1016 /j.anifeedsci.2015.03.001.

Howe, E.R., Simenstad, C.A., Toft, J.D., Cordell, J.R., Bollens, S.M. 2014. Macroinvertebrate prey availability and fish diet selectivity in relation to environmental variables in natural and restoring north San Francisco bay tidal marsh channels. San Francisco Estuary and Watershed Science 12: DOI: 10.15447/sfews.2014v12iss1art5.

Hulefeld, R., Habte-Tsion, H.M., Lalgudi, R.S., McGraw, B., Cain, R., Allen, K., Thompson, K.R., Tidwell, J.H., Kumar, V. 2018. Nutritional evaluation of an improved soybean meal as a fishmeal replacer in the diet of Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. Aquaculture Research 49: 1414-1422. DOI: 10.1111/are.13593.

Iijima, N., Tanaka, S., Ota, Y. 1998. Purification and characterization of bile salt activated lipase from the

hepatopancreas of red sea bream. *Pagrus major*. Fish Physiology and Biochemistry 18: 59-69. DOI: 10.1023/A:1007725513389.

Li, S., Ji, H., Zhang, B., Zhou, J., Yu, H. 2017. Defatted black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae meal in diets for juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian): Growth performance, antioxidant enzyme activities, digestive enzyme activities, intestine and hepatopancreas histological structure. Aquaculture 477: 62-70. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2017.04.015.

Linh, N.V., Wannavijit, S., Tayyamath, K., Dinh-Hung, N., Nititanarapee, T., Sumon, M.A.A., Srinual, O., Permpoonpattana, P., Van Doan, H., Brown, C.L., 2024. Black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae meal: A sustainable alternative to fish meal proven to promote growth and immunity in koi carp (*Cyprinus carpio* var. Koi). Fishes 9: 53. DOI: 10.3390/fishes9020053.

Lowry, O., Rosebrough, N., Farr, A.L., Randall, R. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. Journal of Biological Chemistry 193: 265-275.

Lu, S., Taethaisong, N., Meethip, W., Surakhunthod, J., Sinpru, B., Sroichak, T., Archa, P., Thongpea, S., Paengkoum, S., Purba, R.A.P., Paengkoum, P. 2022. Nutritional composition of black soldier fly larvae (*Hermetia illucens* L.) and its potential uses as alternative protein sources in animal diets: A review. Insects 13: 831. DOI: 10.3390/insects13090831.

Magalhães, R., Sánchez-López, A., Leal, R.S., Martínez-Llorens, S., Oliva-Teles, A., Peres, H. 2017. Black soldier fly (*Hermetia illucens*) pre-pupae meal as a fish meal replacement in diets for European seabass (*Dicentrarchus labrax*). Aquaculture 476: 79-85. DOI: 10.1016/j.aquaculture. 2017.04.021.

Marono, S., Piccolo, G., Loponte, R., Di Meo, C., Attia, Y.A., Nizza, A., Bovera, F. 2015. In vitro crude protein digestibility of *Tenebrio molitor* and *Hermetia illucens* insect meals and its correlation with chemical composition traits. Italian Journal of Animal Science 14: 3889. DOI: 10.4081/ ijas.2015.3889.

Mastoraki, M., Ferrándiz, P.M., Vardali, S.C., Kontodimas, D.C., Kotzamanis, Y.P., Gasco, L., Chatzifotis, S., Antonopoulou, E. 2020. A comparative study on the effect of fish meal substitution with three different insect meals on growth, body composition and metabolism of European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). Aquaculture 528: 735511. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2020. 735511.

Mohan, K., Rajan, D.K., Muralisankar, T., Ganesan, A.R., Sathishkumar, P., Revathi, N. 2022. Use of black soldier fly (*Hermetia illucens* L.) larvae meal in aquafeeds for a sustainable aquaculture industry: A review of past and future needs. Aquaculture 553: 738095. DOI: 10.1016/ j.aquaculture.2022.738095.

Molina-Poveda, C., Lucas, M., Jover, M. 2013. Evaluation of the potential of Andean lupin meal (*Lupinus mutabilis* Sweet) as an alternative to fish meal in juvenile *Litopenaeus vannamei* diets. Aquaculture 410: 148-156. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2013.06.007.

Nayak, J., Viswanathan Nair, P.G., Ammu, K., Mathew, S. 2003. Lipase activity in different tissues of four species of fish: rohu (*Labeo rohita* Hamilton), oil sardine (*Sardinella longiceps* Linnaeus), mullet (*Liza subviridis* Valenciennes) and Indian mackerel (*Rastrelliger kanagurta* Cuvier). Journal of the Science of Food and Agriculture 83: 1139-1142. DOI: 10.1002/jsfa.1515.

Naylor, R.L., Hardy, R.W., Bureau, D.P., Chiu, A., Elliott, M., Farrell, A.P., Forster, I., Gatlin, D.M., Goldburg, R.J., Hua, K., Nichols, P.D. 2009. Feeding aquaculture in an era of finite resources. Proceedings of the National Academy of Sciences 106:

15103-15110. DOI: 10.1073/ pnas.0905235106.

Ng, W.K., Liew, F.L., Ang, L.P., Wong, K.W. 2001. Potential of mealworm (*Tenebrio molitor*) as an alternative protein source in practical diets for African catfish, *Clarias gariepinus*. Aquaculture Research 32: 273-280. DOI: 10.1046/j.1355-557x.2001.00024.x.

Nogales-Mérida, S., Gobbi, P., Józefiak, D., Mazurkiewicz, J., Dudek, K., Rawski, M., Kierończyk, B., Józefiak, A. 2019. Insect meals in fish nutrition. Reviews in Aquaculture 11: 1080-1103. DOI: 10.1111/raq.12281.

NRC (National Research Council). 2011. Nutrient Requirements of Fish. National Academy Press, Washington DC, USA.

Panalikul, P., Wongmaneeprateep, S., Doolgindachbaporn, S. 2017. Effects of chitosan levels on growth performance, feed utilization and survival rate of rice-field crab (*Esanthelphusa dugasti*). Journal of Pure and Applied Microbiology 11: 1357-1364. DOI: 0.22207/JPAM.11.3.16.

Piccolo, G., Iaconisi, V., Marono, S., Gasco, L., Loponte, R., Nizza, S., Bovera, F., Parisi, G. 2017. Effect of *Tenebrio molitor* larvae meal on growth performance, in vivo nutrients digestibility, somatic and marketable indexes of gilthead sea bream (*Sparus aurata*). Animal Feed Science and Technology 226: 12-20. DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2017.02.007.

Reyes, M., Rodríguez, M., Montes, J., Barroso, F.G., Fabrikov, D., Morote, E., Sánchez-Muros, M.J., 2020. Nutritional and growth effect of insect meal inclusion on seabass (*Dicentrarchuss labrax*) feeds. Fishes 5: 16. DOI: 10.3390/fishes5020016.

Richardson, A., Dantas-Lima, J., Lefranc, M., Walraven, M., 2021. Effect of a black soldier fly ingredient on the growth performance and disease resistance of juvenile pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). Animals 11: 1450. DOI: 10.3390/ani11051450.

Sánchez-Muros, M.J., Barroso, F.G., Manzano-Agugliaro, F. 2014. Insect meal as renewable source of food for animal feeding: a review. Journal of Cleaner Production 65: 16-27. DOI: 10.1016/ j.jclepro.2013.11.068.

Sankian, Z., Khosravi, S., Kim, Y.O., Lee, S.M. 2018. Effects of dietary inclusion of yellow mealworm (*Tenebrio molitor*) meal on growth performance, feed utilization, body composition, plasma biochemical indices, selected immune parameters and antioxidant enzyme activities of mandarin fish (*Siniperca scherzeri*) juveniles. Aquaculture 496: 79-87. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2018. 07.012.

Schiavone, A., Dabbou, S., De Marco, M., Cullere, M., Biasato, I., Biasibetti, E., Capucchio, M.T., Bergagna, S., Dezzutto, D., Meneguz, M., Gai, F. 2018. Black soldier fly larva fat inclusion in finisher broiler chicken diet as an alternative fat source. Animal 12: 2032-2039. DOI: 10.1017/S1751731117003743.

Shiau, S.Y., Yu, Y.P. 1998. Chitin but not chitosan supplementation enhances growth of grass shrimp, *Penaeus monodon*. The Journal of Nutrition 128: 908-912. DOI: 10.1093/jn/128.5.908.

Tacon, A., Hasan, M., Metian, M., 2011. Demand and Supply of Feed Ingredients for Farmed Fish and Crustaceans. Trends and Prospects. Food and Agriculture Organization of the United Nations, 24 p.

Tippayadara, N., Dawood, M.A., Krutmuang, P., Hoseinifar, S.H., Doan, H.V., Paolucci, M. 2021. Replacement of fish meal by black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae meal: Effects on growth, haematology, and skin mucus immunity of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*.

Animals 11: 193. DOI: 10.3390/ani11010193.

Tseng, D.Y., Hsieh, S.C., Wong, Y.C., Hu, S.Y., Hsieh, J.M., Chiu, S.T., Yeh, S.P., Liu, C.H. 2021. Chitin derived from *Daphnia similis* and its derivate, chitosan, promote growth performance of *Penaeus vannamei*. Aquaculture 531: 735919. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2020.735919.

Van Huis, A. 2013. Potential of insects as food and feed in assuring food security. Annual Review of Entomology 58: 563-583. DOI: 10.1146/annurev-ento-120811-153704.

Wang, G., Peng, K., Hu, J., Mo, W., Wei, Z., Huang, Y. 2021. Evaluation of defatted *Hermetia illucens* larvae meal for *Litopenaeus vannamei*: effects on growth performance, nutrition retention, antioxidant and immune response, digestive enzyme activity and hepatic morphology. Aquaculture Nutrition 27: 986-997. DOI: 10.1111/anu.13240.