



University of Guilan with collaboration of Iranian
Aquaculture Society



Aquatic Animals Nutrition

Vol. 11, No. 1, 2025, pages: 67-88
DOI: 10.22124/janb.2025.29776.1276

RESEARCH PAPER

OPEN ACCESS

Effects of dietary replacement of fish meal by yellow larval mealworm (*Tenebrio molitor*) on growth performance, some blood and liver parameters in Beluga (*Huso huso*)

Seyed Aliasghar Bagheri Khamkhaneh, Abolghasem Esmacili Fereidouni*, Sakineh

Yeganeh, Hossein Oraji

Department of Fisheries, Faculty of Animals Sciences and Fisheries, Sari Agricultural Sciences and Natural Resource University, Sari, Mazandaran, Iran

Received 18 January
2025

Revised 08 March
2025

Accepted 10 March
2025

Published online 02 June
2025

KEYWORDS ABSTRACT

Insects meal
Protein
Hematology
Liver
enzymes
Sturgeon

Introduction: Aquaculture is the fastest-growing source of animal protein globally and currently provides nearly half of the world's seafood consumption. Due to the limited fishery resources from ocean catches, this shortfall must be addressed through the aquaculture industry. To tackle the issues of fishmeal shortages in recent decades, special attention has been given to the use of alternatives such as insects in aquaculture feed. Insects are one of the most diverse animal groups in the world, with some species possessing suitable nutritional value. Among insects, the yellow mealworm *Tenebrio molitor* stands out due to its high protein and fat contents. It also contains considerable amounts of bioactive compounds and chitin with antioxidant potential, antibacterial peptides, and other immune stimulants that enhance immunity and improves hematological parameters in various aquatic species. In this study, the effects of replacing fishmeal with the yellow mealworm larvae meal were investigated on blood parameters, serum biochemical composition, and liver enzymes in Beluga, *Huso huso*.

Materials and methods: A total of 360 fish with an average weight of approximate 112.9 ± 8.0 g were randomly distributed to polyethylene circular tanks with a capacity of 1500 liters. The experimental treatments (each with three replicates) included the replacement of 0% (control), 20%, 40%, 60%, 80%, and 100% of yellow larval mealworm (MW) meal with fish meal. At the end of the trial, blood sampling was performed using a syringe from the fish's caudal fin. The counting of red blood cells and white blood cells was done using

a hemocytometer (Neubauer), and the hematocrit was measured through the microhematocrit method, while the hemoglobin concentration was measured by the cyanmethemoglobin method using a spectrophotometer at a wavelength of 540 nm in grams per deciliter. Liver enzyme levels including alkaline phosphatase (ALP), aspartate aminotransferase (AST), and alanine aminotransferase (ALT) were measured using the α -ketoglutarate method. Lactate dehydrogenase (LDH) was tested using the lactate-pyruvate method to determine the possibility of tissue damage. Data analysis was performed using One-Way ANOVA and Duncan's multiple range comparison tests were performed at a significance level of $P < 0.05$.

Results: According to the results of growth indices, the highest body weight gain and specific growth rate were achieved in treatments substituted with 40% and 60% MW ($P < 0.05$). The survival rate of the fish did not show a significant difference between the treatments ($P > 0.05$). The number of white blood cells, red blood cells, hemoglobin, and hematocrit decreased as mealworm powder increased in diet, with the lowest values observed in 100% MW ($P > 0.05$). The values of MCH and MCHC significantly decreased with 100% MW replacement ($P > 0.05$). Lymphocyte numbers were significantly higher in 40% and 60% MW groups compared to the 20% ($P > 0.05$). The values of albumin and total protein improved with dietary replacement of MW powder, except for the 100% replacement ($P < 0.05$). The concentration of triglycerides in group with 20% MW was similar to that of the control ($P < 0.05$); however, it decreased as the MW replacement increased ($P < 0.05$). Hepatic enzymes such as AST, ALT, and ALP decreased with the inclusion of MW in the diet ($P < 0.05$).

Discussion: Total protein and albumin play an important role in immune responses, and the improvement of these parameters in the current study may indicate enhanced immunity in beluga after replacing fishmeal with MW. Additionally, diets containing insect meal improve the microbial composition of the digestive system, ultimately affecting fish immunity and health. Chitin also regulates fat metabolism by preventing the hepatic circulation of bile acids and interfering with the natural digestion and absorption of fats in the intestine and the biosynthesis of fatty acids in the liver.

Conclusion: Based on the results, it is not feasible to completely replace MW meal with fishmeal, and a 20% replacement level is suggested as the optimal for beluga. However, substitution levels up to 40-60% may also be considered with caution.

*Corresponding author: a.esmaeili@sanru.ac.ir





"مقاله پژوهشی"

اثرات جایگزینی پودر لارو سوسک زرد (*Tenebrio molitor*) به جای پودر ماهی بر عملکرد رشد، برخی پارامترهای خون و کبد فیل ماهی (*Huso huso*)

سید علی اصغر باقری خامخانه، ابوالقاسم اسماعیلی فریدونی^{*}، سکینه یگانه، حسین اورجی
گروه شیلات، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، مازندران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۰/۲۹ تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۱۲/۱۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۲/۲۰ تاریخ انتشار: ۱۴۰۴/۰۳/۱۲

کلمات کلیدی

چکیده

با توجه به محدودیت تولید پودر ماهی، استفاده از جایگزین‌های تأمین‌کننده پروتئین از جمله پودر حشرات اهمیت بالایی در آبی‌پروری پایدار دارد. این مطالعه با هدف بررسی اثرات جایگزینی سطوح مختلف پودر لارو سوسک زرد (میلورم) (*Tenebrio molitor*) به جای پودر ماهی بر رشد، فرآیندهای خونی، شاخص‌های بیوشیمیایی سرم و آنزیم‌های کبدی فیل ماهی (*Huso huso*) انجام شد. تعداد ۳۶۰ فیل ماهی (9 ± 112 گرم) به طور کاملاً تصادفی در ۶ تیمار (هر کدام با سه تکرار) توزیع و با جیره‌های حاوی سطوح صفر (شاهد)، ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰٪ پودر میلورم به جای پودر ماهی به مدت ۸ هفته تغذیه شدند. نتایج نشان داد که بالاترین افزایش وزن بدن و نرخ رشد ویژه در تیمارهای ۴۰ و ۶۰٪ پودر لارو سوسک زرد حاصل می‌شود ($P < 0.05$). بازماندگی ماهیان تفاوت معنی‌داری بین تیمارها نشان نداد ($P > 0.05$). کمترین میزان ضریب تبدیل غذایی در ماهیان تغذیه شده بین سطوح جایگزینی ۲۰ تا ۶۰٪ پودر میلورم و بالاترین مقدار آن در ماهیان گروه شاهد دیده شد ($P < 0.05$). شاخص‌های خونی شامل تعداد گلبول سفید، گلبول قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت با افزایش سطح جایگزینی پودر میلورم کاهش یافته و کمترین میزان در جایگزینی کامل با پودر میلورم حاصل شد ($P < 0.05$). بجز گروه ۱۰۰٪، میزان آلبومین و پروتئین تام در دیگر گروه‌ها در مقایسه با گروه شاهد بهبود یافت ($P < 0.05$). کمترین میزان گلوکز و کلسترول خون در گروه شاهد مشاهده شد. غلظت تری‌گلیسرید در گروه ۲۰٪ پودر میلورم اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد نداشت ($P > 0.05$)، ولی در سطوح بالاتر از آن به شدت کاهش یافت ($P < 0.05$). مقادیر آنزیم‌های کبدی AST، ALT و ALP با گنجاندن پودر میلورم کاهش یافت ($P < 0.05$). بر اساس نتایج، امکان جایگزینی کامل پودر میلورم به جای پودر ماهی در جیره فیل ماهی وجود نداشته و سطح جایگزینی ۲۰٪ به عنوان سطح بهینه پیشنهاد می‌شود.

مقدمه

تولید متراکم و فوق متراکم آبزیان در صنعت آبی پروری وابستگی بالایی به تأمین پودر ماهی به عنوان منبع مهم پروتئینی حیوانی در جیره دارد که میزان گنجاندن آن در جیره ماهیان همه چیزخوار و گوشت خوار به ترتیب در محدوده ۴۵-۳۵٪ و ۵۵-۴۵٪ برآورد شده است (Halver and Hardy, 2002). حدود ۳۰٪ از کل صید آبزیان از دریاها و اقیانوس‌ها برای تولید پودر و روغن ماهی مصرف می‌شود (New and Wijksto, 2002). سالانه تقریباً ۲۰ میلیون تن از ماهیان برای تولید پودر ماهی استفاده شده که حدود ۷۰٪ از آن به طور مستقیم در آبی پروری و بقیه در تولید خوک، مرغ و دیگر کاربردها مصرف می‌شود (Cashion et al. 2017). با وجود این، تهیه پودر ماهی به دلایلی مانند افزایش تقاضا، تغییرات شرایط آب و هوایی و نوسانات صید به مهم‌ترین چالش تغذیه‌ای آبزیان بدل شده است. برای مرتفع کردن کمبود پودر ماهی توجه خاصی به سمت کاربرد دیگر منابع پروتئینی جانوری از جمله محصولات فرعی کشتارگاه‌های دام و طیور، ضایعات آبی پروری، پودر کرم-های کم‌تار (کرم سفید) و پرتار (کرم نرئیس)، پودر کرم‌خونی و توبیفکس، سخت‌پوستان (زی‌توده آرتمیا، پودر گاماروس، کریل و میگو) و پودر حشرات (خشکی‌زی و آبی) شده است (Belghit et al. 2019; Fall et al. 2020; Nogales- Merida et al. 2019).

در دو دهه اخیر، تولید انبوه و تجاری حشرات خشکی‌زی (Terrestrial insects) و استفاده از آنها به صورت زنده و یا خشک شده برای تغذیه آبزیان، پرندگان، حیوانات خانگی و حتی انسان افزایش یافته است (Barroso et al. 2014; Sánchez-Muros et al. 2014; Scaffardi and Formici, 2022). در مقیاس تجاری در کشورهای اروپایی، میزان تولید پروتئین حشرات برای استفاده به عنوان غذا در سال ۲۰۲۵ در حدود ۶۰ هزار تن و تا سال ۲۰۳۰ به رقم تقریبی ۲۰۰ هزار تن تخمین زده می‌شود. همچنین، پیش‌بینی شده که تولید جهانی پروتئین حشرات تا سال ۲۰۳۰ به رقم نیم میلیون تن خواهد رسید (Tran et al. 2022). پودر حشرات (Insects meal) به واسطه دارا بودن مقادیر بالای پروتئین و چربی، ویتامین‌ها (بیوتین،

ریبوفلاوین، اسید فولیک و B₁₂)، مواد معدنی (روی، سلنیوم، فسفر و ازت)، ترکیبات زیست‌فعال (با توان بالقوه ضد اکسایشی) و پپتیدهای ضدباکتریایی (با خاصیت محرک ایمنی) و غنی‌بودن از تائورین و هیدروکسی پرولین (حتی به اندازه پودر ماهی) می‌تواند جایگزین امیدبخشی از منابع پروتئینی حیوانی در جیره آبزیان باشد (Ribeiro et al. 2018; Alfiko et al. 2022; Singh et al. 2024). سوسک زرد (*Tenebrio molitor*; Linnaeus, 1758) با نام تجاری میلورم زرد (Yellow mealworm) از شاخه بندپایان (Arthropoda)، رده حشرات (Insecta)، راسته قاب‌بالان (Coleoptera) و خانواده Tenebrionidae یکی از مهم‌ترین گونه‌های حشرات برای تولید تجاری محسوب می‌شود (Makkar et al. 2014; Raghuvaran et al. 2024). مطالعات نشان دادند که بستر کشت، کمیت و کیفیت غذا، مراحل رشد حشره، عوامل محیطی پرورش و نوع روش خشک کردن به شدت بر ترکیب بیوشیمیایی بدن لاروها و کیفیت پودر خشک میلورم تأثیر دارند (Langston et al. 2024; Zunzunegui et al. 2024). در لارو زنده سوسک زرد میزان پروتئین، چربی، فیبر و رطوبت به ترتیب ۲۰، ۱۳، ۲ و ۶۲٪ و در پودر خشک میلورم به ترتیب ۵۳، ۲۸، ۶ و ۵٪ با قابلیت هضم ظاهری پروتئین و چربی به ترتیب در محدوده ۹۲-۸۰٪ و ۹۷-۸۳٪ است (Nogales- Merida et al. 2019). سوسک زرد بسته به شیوه تولید از قیمت بالاتری (۲ الی ۵ یورو به ازای هر کیلوگرم) در مقایسه با پودر ماهی (۱/۴۸ یورو به ازای هر کیلوگرم) برخوردار است (Arru et al. 2019). اگرچه در حال حاضر قیمت تولید آن بالاتر از پودر ماهی است ولی تولید انبوه آن در مقیاس کلان تجاری می‌تواند سبب کاهش قیمت آن در مقایسه با پودر ماهی و مقرون به صرفه بودن تولید آن از نظر اقتصادی در آینده شود (Gasco et al. 2020).

بررسی مطالعات قبلی نشان می‌دهند که امکان جایگزینی جزئی و یا کامل پودر لارو سوسک زرد (میلورم) به جای پودر ماهی و یا دیگر منابع پروتئینی در جیره آبزیان وجود دارد، ولی میزان جایگزینی به شدت به نوع و نیازهای تغذیه‌ای گونه آبی، رژیم غذایی و شرایط پرورش لارو سوسک زرد وابسته است (Iaconisi et al. 2018; Józefiak et al. 2019;)

خاویاری گزارش شده، ولی مطالعه‌ای در این زمینه در فیل ماهی (*Huso huso*) وجود ندارد (Józefiak et al. 2019; Caimi et al. 2020a,b; Rawski et al. 2020). با توجه به رژیم گوشت‌خواری و نیاز به گنجاندن سطوح بالایی از پودر ماهی در جیره فیل ماهی و تغذیه این گونه از انواع حشرات در طبیعت، امکان استفاده از پودر حشرات خشکی‌زی در جیره فیل ماهی در شرایط پرورشی محتمل است. بر همین اساس در مطالعه حاضر اثرات جایگزینی پودر ماهی با پودر لارو سوسک زرد (میلورم) بر رشد، فراسنجه‌های خونی، ترکیب بیوشیمیایی سرم و آنزیم‌های کبدی برای تعیین سطح یا سطوح بهینه از جایگزینی در فیل ماهی بررسی شد.

مواد و روش‌ها

تهیه ماهی و سازگاری

این مطالعه در مرکز تکثیر و پرورش ماهیان استخوانی شهید رجایی (سمسکنده ساری، مازندران) از تیر تا شهریور سال ۱۴۰۳ به مدت ۸ هفته انجام شد. تمام فیل ماهیان از تکثیر یک مولد پرورشی تهیه و برای سازگاری به مدت دو هفته به مخزن‌های مدور پلی‌اتیلنی (با ظرفیت دو متر مکعب) منتقل و روزانه ۴ نوبت در روز و به میزان ۸٪ از زی‌توده وزنی کل ماهیان تغذیه شدند. فراسنجه‌های کیفی آب در شرایط پرورشی شامل دمای ۲۰-۲۲ درجه سانتی‌گراد و میزان اکسیژن محلول در محدوده ۶/۲-۶ میلی‌گرم در لیتر همراه با تعویض دائمی آب بود.

تهیه و آماده‌سازی جیره‌های آزمایشی

محتویات و اجزای اولیه خوراک و ترکیبات شیمیایی جیره‌ها شامل پودر ماهی (حاوی ۵۲/۵٪ پروتئین و ۱۹/۷٪ چربی)، پودر لارو سوسک زرد، روغن ماهی و سویا، کنجاله سویا، آرد گندم، گلوتن ذرت، مخلوط ویتامینی و مواد معدنی و منوکلسیم‌فسفات از شرکت‌های خصوصی معتبر تهیه شد. پودر میلورم مطالعه حاضر از مزرعه آروین (بخش خصوصی) به‌صورت خشک تهیه شد. ترکیب بیوشیمیایی و انرژی خام پودر میلورم در مطالعه حاضر شامل میزان پروتئین ۵۳/۵٪،

در گونه‌های مختلف ماهیان، میزان گنجاندن پودر میلورم در جیره در محدوده‌های متفاوتی گزارش شده، به طوری که گنجاندن از سطح ۱۴٪ در قزل‌آلای رنگین‌کمان (Jeong et al. 2020)، ۱۵٪ در تاسماهی سبیری (Józefiak et al. 2019)، ۲۰٪ در قزل-آلای دریایی (Hoffmann et al. 2020) و ۲۵٪ در باس دریایی اروپایی (Gasco et al. 2016) منجر به بهبود عملکرد رشد و شاخص‌های ایمنی شده است. این در حالی است که گنجاندن سطوح بالاتر پودر میلورم در جیره بیشتر ماهیان منجر به کاهش عملکرد رشد و سلامت عمومی ماهیان شده، به طوری که گنجاندن ۵۰٪ پودر میلورم در جیره سیم دریایی (*Sparus aurata*) (Piccolo et al. 2017) و جایگزینی ۱۰۰٪ در جیره گربه‌ماهی آفریقایی (*Clarias gariepinus*) (Ng et al. 2001) منجر به کاهش عملکرد رشد و قابلیت هضم غذا و کاهش فاکتورهای سلامت و ایمنی ماهیان شد.

به طور کلی ارتباط واضحی بین محتویات خام و ترکیبات ریزمغذی در جیره با شاخص‌های خونی-سرمی، فاکتورهای ایمنی و مقاومت در برابر بیماری‌ها در ماهیان وجود دارد که چنین اثراتی با گنجاندن پودر حشرات در جیره نیز گزارش شده است (Sankian et al. 2018; Taufek et al. 2016). یافته‌های مطالعات قبلی به وضوح نشان می‌دهند که استفاده از سطوح مناسب پودر حشرات سبب تغییر در فعالیت آنزیم‌های هضمی و آنزیم‌های سوخت و ساز کبدی و همچنین بهبود ظرفیت ضداکسایشی در ماهیان می‌شود (Taufek, 2016; Li et al. 2017; Chen et al. 2023; Habte-Tsion et al. 2024). با وجود این، بالا بودن میزان چربی، افزایش احتمال فساد اکسایشی و میزان فیبر خام و کیتین بالا از معایب بزرگ پودر حشرات به شمار می‌رود. در ماهیان ارتباط واضحی بین آسیب‌های کبدی با محتویات جیره‌های غذایی گزارش شده است و اندازه‌گیری آنزیم‌های کبدی (آلانین ترانس آمیناز، آسپارات ترانس آمیناز و آلکالین فسفاتاز) می‌تواند شاخص مطلوبی در ارزیابی عملکرد کبد باشد (Chen et al. 2023; Su et al. 2022).

تاکنون داده‌های محدودی در زمینه گنجاندن و جایگزینی جزیی و یا کامل پودر حشرات به جای پودر ماهی در ماهیان

جیره‌ها به صورت ماهانه ساخته شد و بلافاصله بعد از آماده سازی به درون پلاستیک‌های زیپ‌کیپ منتقل و در فریزر با دمای -20°C درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. در مطالعه حاضر، میزان پروتئین، چربی و انرژی در جیره‌های آزمایشی به ترتیب 40.5% ، 20.5% و 18.98% کیلوژول بر گرم تنظیم شد. محتویات و مقادیر خام جیره‌های آزمایشی در تیمارهای مختلف در جدول ۱ آمده است.

چربی 20.6% ، خاکستر 5.8% ، کیتین 6.7% و انرژی خام 22.83 کیلوژول بر گرم بود.

برای تهیه هر جیره ابتدا اجزای خام جیره‌ها با توجه به فرمول توزین و به طور کامل با یکدیگر مخلوط شده و با چرخ گوشت دارای روزنه خروجی 2 میلی‌متر به صورت رشته‌ای درآمده و روی پارچه تمیزپهن تا در مجاورت هوای گرم خشک شوند. قطر ذرات غذا در تمامی مراحل غذادهی $2.5-2$ میلی‌متر بود.

جدول ۱ اقلام و مقادیر محتویات جیره‌های آزمایشی (%)

Ingredients (g/kg)	Replacement levels (%)					
	0 (Control)	20	40	60	80	100
Fish meal	50	40	30	20	10	0
<i>T. molitor</i> meal	0	10	20	30	40	50
Meat meal	5	5	5	5	5	5
Soybean meal	10	10	10	10	10	10
Corn gluten	2	3	4	5	6	7
Wheat flour	14	14.75	15.5	16.25	17	17.75
Fish oil	6	5	4	3	2	1
Soybean oil	6	5	4	3	2	1
Mineral premix ¹	2	2	2	2	2	2
Vitamin premix ²	2	2	2	2	2	2
Monocalcium phosphate	1	1.25	1.5	1.75	2	2.25
Binder	2	2	2	2	2	2
Proximate composition (%)						
Dry matter	8.4	8.13	8.57	8.07	8.4	8.0
Crude protein	40.26	40.41	41.27	40.11	40.62	40.26
Crude lipid	21.55	21.27	20.86	21.30	20.23	20.28
Ash	10.64	10.93	9.83	9.11	8.65	8.25
Total carbohydrate ³	27.55	27.39	28.04	29.48	30.4	31.20
Energy (Kj/g) ⁴	19.01	18.92	19.03	19.10	18.94	18.96

1- Contained (g/kg mix): $\text{MgSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 127.5; KCl , 50; NaCl , 60; $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 727.8; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 25.0; $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 5.5; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 0.785; $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 2.54; $\text{CoSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 0.478; $\text{Ca}(\text{IO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 0.295; $\text{CrCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 0.128.

2- Vitamin premix contained the following vitamins (each per a kilogram of diet): vitamin A, 10,000 IU; vitamin D₃, 2000 IU; vitamin E, 100 mg; vitamin K, 20 mg; vitamin B₁, 400 mg; vitamin B₂, 40 mg; vitamin B₆, 20 mg; vitamin B₁₂, 0.04 mg; biotin, 0.2 mg; choline chloride, 1200 mg; folic acid, 10 mg; inositol, 200 mg; niacin, 200 mg; pantothenic calcium, 100 mg.

3- Total carbohydrate = $100 - [(\text{lipid} (\%) + \text{protein} (\%) + \text{ash} (\%))]$

4- Calculated energy content using the factors: carbohydrate, 11 kJ/g; protein, 20.9 kJ/g; and lipid, 35.1 kJ/g (Brafield, 1985).

در این مطالعه، ابتدا زیست‌سنجی ماهیان پس از دوره سازگاری انجام شد و ماهیان در قالب ۶ تیمار (هر کدام در

تیمارهای آزمایشی و تغذیه ماهیان

میلی گرم بر لیتر، pH در محدوده ۷-۷/۲ و میزان آمونیاک کل کمتر از ۰/۳ میلی گرم در لیتر بود.

اندازه‌گیری شاخص‌های رشد

برای تعیین شاخص‌های رشدی ماهیان در طول دوره پرورش، عملیات زیست‌سنجی ماهیان در ابتدا (قبل از توزیع در مخازن) و انتهای دوره آزمایش انجام شد. برای زیست‌سنجی در انتهای دوره، قطع غذاهای در ماهیان ۲۴ ساعت بعد از آخرین وعده غذادهی انجام شد. شاخص‌های رشد ماهیان شامل درصد افزایش وزن بدن (Weight growth rate; WGR)، نرخ رشد ویژه (Specific growth rate; SGR)، ضریب تبدیل غذایی (Feed conversion ratio; FCR)، فاکتور وضعیت (Condition factor; CF) و میزان بازماندگی (Survival rate; SR) در پایان دوره پرورش بر اساس روابط زیر محاسبه شد:

$$WGR (\%) = [(W_f - W_i) / W_i] \times 100$$

$$SGR (\%/day) = [(\ln W_f - \ln W_i) / T] \times 100$$

$$FCR = [\text{افزایش وزن تر بدن بر حسب گرم} / \text{کل غذای خورده شده بر حسب گرم}]$$

$$SR (\%) = 100 \times (\text{تعداد کل ماهی اولیه ذخیره‌سازی شده} / \text{تعداد کل ماهی سالم زنده باقی مانده})$$

دمای ۴ درجه سانتی‌گراد) جداسازی و در درون ریزلوله‌های مخصوص در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد تا انجام آزمایش‌های مربوطه نگهداری شدند. برای تعیین شاخص‌های خونی شامل شمارش گلبول‌های قرمز (Red blood cell; RBC) و گلبول‌های سفید (White blood cell; WBC) از لام هماسیتومتر (نئوبار)، مقدار هماتوکریت (Hematocrit; Hct) از روش میکروهماتوکریت و غلظت هموگلوبین خون (Hemoglobin concentration; Hb) از روش سیانومت‌هموگلوبین با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۴۰ نانومتر برحسب گرم در دسی‌لیتر اندازه‌گیری شدند (Blaxhall and Daisley, 1973). شمارش افتراقی گلبول‌های سفید پس از تهیه گسترش خون و رنگ‌آمیزی با گیمسا انجام شد. شاخص‌های گلبول‌های قرمز خون شامل حجم متوسط گلبول‌های قرمز (Mean

سه تکرار) شامل جایگزینی سطوح صفر (شاهد)، ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰٪ پودر میلورم به جای پودر ماهی قرار گرفتند (Belforti et al. 2015; Józefiak et al. 2019). تعداد ۳۶۰ قطعه فیل ماهی با میانگین وزن اولیه $(9 \pm 112/8)$ گرم) به طور کاملاً تصادفی در ۱۸ مخزن مدور پلی‌اتیلنی (با ظرفیت مفید ۱۵۰۰ لیتر) با تراکم ذخیره‌سازی ۲۰ قطعه در هر مخزن توزیع شدند. ماهیان روزانه در ۵ وعده (۴ بار در روز و یک بار در شب در ساعات ۷، ۱۱، ۱۵، ۱۸ و ۲۲) به میزان ۸٪ از زی‌توده وزنی کل ماهیان در هر مخزن به مدت ۸ هفته با جیره‌های آزمایشی تغذیه شدند. تعویض آب در مخزن‌ها به طور دائمی و جریان‌دار بوده و سیفون کردن آب کف هر مخزن در یک مرحله قبل از وعده غذایی صبح انجام شد تا فضولات و غذاهای خورده نشده خارج شوند. فراسنجه‌های کیفی آب شامل درجه حرارت و میزان اکسیژن محلول به طور روزانه و میزان pH و آمونیاک کل به صورت هفتگی در طی دوره پرورش اندازه‌گیری شدند. دمای آب در محدوده ۲۲-۲۰ درجه سانتی‌گراد، میزان اکسیژن محلول در محدوده ۶-۲/۶

که در این روابط، W_i و W_f به ترتیب میانگین وزن نهایی و اولیه بدن ماهیان و T طول کل دوره پرورش بود.

فراسنجه‌های خونی

در پایان دوره پرورش و برای بررسی فراسنجه‌های خونی و شاخص‌های بیوشیمیایی سرم ماهیان، خون‌گیری با استفاده از سرنگ از ناحیه باله دمی ماهیان و پس از ۲۴ ساعت از قطع غذادهی انجام شد. برای شاخص‌های خونی و پس از خون‌گیری از سیاهرگ ساقه دمی، بخشی از خون به داخل لوله‌های از قبل برچسب‌گذاری شده آغشته به ماده ضد انعقاد خون (هپارین) منتقل و بخش دیگر برای تعیین شاخص‌های سرمی و آنزیم‌های کبدی به ظروف غیرهپارینه از قبل برچسب‌گذاری شده وارد شدند. سپس، سرم خون با روش سانتریفیوژ سرد (۲۵۰۰ دور در دقیقه در مدت ۱۰ دقیقه و

هموگلوبین گلبول قرمز (Mean corpuscular hemoglobin concentration; MCHC) با روابط زیر تعیین شدند (Campbell and Ellis, 2007):

$$\begin{aligned} \text{MCV} (\mu\text{m}^3) &= [\text{Hct} / \text{RBC (million)}] \times 10 \\ \text{MCH (pg/cell)} &= [\text{Hb} / \text{RBC (million)}] \times 10 \\ \text{MCHC (g/dL)} &= (\text{Hb} / \text{Hct}) \times 100 \end{aligned}$$

این تحقیق در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. بعد از بررسی نرمال بودن داده‌ها با آزمون شاپیروویلک، سنجش داده‌ها با استفاده از روش آنالیز واریانس یک طرفه (One-Way ANOVA) و آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح معنی‌داری ۵٪ انجام شد. برای تحلیل آماری داده‌ها و ترسیم نمودارها به ترتیب از نرم‌افزارهای SPSS و Excel استفاده شد.

نتایج

عملکرد رشد

نتایج عملکرد رشد فیل ماهیان در طی ۸ هفته از پرورش در جدول ۲ نشان داد که بالاترین وزن نهایی بدن در ماهیان تغذیه شده با سطح جایگزینی ۲۰٪ پودر میلووم دیده شد ($P < 0.05$)، ولی اختلاف معنی‌داری در وزن نهایی بدن در ماهیان تغذیه شده از سطوح بالاتر (بین ۴۰ تا ۱۰۰٪ جایگزینی) با گروه شاهد مشاهده نشد ($P > 0.05$). همچنین، تفاوت معنی‌داری در درصد افزایش وزن بدن و نرخ رشد ویژه ماهیان در تیمارهای جایگزین شده بین سطوح ۲۰ تا ۸۰٪ مشاهده نشد ($P > 0.05$). با وجود این، بیشترین مقادیر هر دو شاخص در سطوح جایگزینی ۴۰ و ۶۰٪ و کمترین مقادیر در گروه شاهد به ثبت رسید ($P < 0.05$).

کمترین میزان ضریب تبدیل غذایی (۱/۳-۱/۳۸) در ماهیان تغذیه شده بین سطوح جایگزینی ۲۰ تا ۶۰٪ پودر میلووم به ثبت رسید ($P > 0.05$)، ولی بالاترین مقدار آن (۱/۶) در ماهیان گروه شاهد دیده شد ($P < 0.05$). این در حالی است که میزان ضریب تبدیل غذایی ماهیان با افزایش سطح جایگزینی تا سطح ۶۰٪ پودر میلووم روند کاهشی داشته، ولی با افزایش سطح به بالاتر از آن (۸۰-۱۰۰٪ جایگزینی) به تدریج روند افزایشی نشان داد. تفاوت معنی‌داری در میزان

غلظت میانگین (corpuscular volume; MCV)، غلظت میانگین هموگلوبین در گلبول قرمز (Mean corpuscular hemoglobin; MCH) و تغییرات غلظت متوسط

شاخص‌های بیوشیمیایی سرم

آلبومین و پروتئین کل با روش Biuret and bromocresol green (BCG) dye-binding method، اندازه‌گیری شدند. در این روش در شرایط قلیایی یون‌های کوبریک با اتم‌های کربونیل اکسیژن و آمید نیتروژن یک کمپلکس آبی مایل به بنفش ایجاد کرده که شدت رنگ حاصل متناسب با مقدار پروتئین موجود در نمونه سرم است. شدت جذب نور در طول موج ۵۴۰ نانومتر اندازه‌گیری و برحسب میزان جذب نوری OD و سطح پروتئین استاندارد و بر اساس فرمول ارائه شده در کاتالوگ کیت (پارس آزمون) محاسبه شد. استاندارد پروتئین تام نیز به‌طور جداگانه تهیه شد (Doumas et al. 1971). همچنین، غلظت گلوکز با روش گلوکز اکسیداز، تری‌گلیسرید با روش آنزیمی لیپاز و کلسترول به روش کلسترول اکسیداز سنجش شدند (Borges et al. 2004).

اندازه‌گیری آنزیم‌های کبدی و تست LDH

مقادیر آنزیم‌های کبدی شامل سطوح آلکالین فسفاتاز (alkaline phosphatase; ALP)، آسپارات آمینوترانسفراز (aspartate aminotransferase; AST)، آلانین آمینوترانسفراز (alanine aminotransferase; ALT) و لاکتات دهیدروژناز (lactate dehydrogenase; LDH) با قرار دادن کیت‌های تجاری شرکت پارس آزمون در دستگاه اتوآنالایزر (Technicon, RA 1000) و قرائت در طول موج ۳۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شدند (McClatchey, 2002).

سنجش آماری

بازماندگی ماهیان (۱۰۰٪) در بین تیمارهای آزمایشی دیده نشد ($P > 0.05$).

فراسنجه‌های خونی

نتایج بررسی اثرات جایگزینی پودر میلورم به جای پودر ماهی بر فراسنجه‌های خونی فیل ماهیان در طی ۸ هفته در جدول ۳ ارائه شده است. به غیر از سه شاخص MCV، مونوسیت و ائوزینوفیل، دیگر فراسنجه‌های خونی در ماهیان تغذیه شده با جیره‌های حاوی پودر میلورم تفاوت معنی‌داری بین تیمارها نشان دادند ($P < 0.05$). بیشترین مقادیر گلبول‌های سفید و قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت در ماهیان گروه شاهد دیده شد و این مقادیر با افزایش سطح جایگزینی پودر میلورم کاهش معنی‌دار داشتند، به طوری که کمترین مقدار آن در ماهیان تغذیه شده با ۱۰۰٪ پودر میلورم به ثبت رسید ($P < 0.05$). کمترین مقادیر فاکتورهای MCH و MCHC در ماهیان تغذیه شده با جایگزینی کامل پودر میلورم دیده شد ($P < 0.05$). میزان لنفوسیت خون در ماهیان تغذیه شده با سطوح جایگزینی ۸۰ تا ۴۰٪ به مراتب بالاتر از دیگر گروه‌های تغذیه‌ای بود ($P < 0.05$).

فراسنجه‌های بیوشیمیایی

اثرات جایگزینی پودر میلورم به جای پودر ماهی بر فراسنجه‌های بیوشیمیایی سرم در فیل ماهیان در طی ۸ هفته در جدول ۴ آمده است. کمترین میزان گلوکز خون در ماهیان تغذیه شده در گروه شاهد دیده شد، ولی با افزودن پودر میلورم روند تدریجی افزایشی به خصوص در جایگزینی بالاتر از ۶۰٪ دیده شد ($P < 0.05$). مقادیر آلبومین و پروتئین تام در تیمارهای حاوی پودر میلورم (به استثنای ۱۰۰٪ جایگزینی) در مقایسه با شاهد بهبود یافتند ($P < 0.05$). با افزایش سطح جایگزینی میلورم در جیره مقدار کلسترول به خصوص در سطح جایگزینی بالاتر از ۶۰٪ به شدت افزایش یافت ($P < 0.05$) و کمترین میزان در ماهیان شاهد به ثبت رسید. غلظت تری‌گلیسرید در ماهیان تغذیه کرده در گروه شاهد و جایگزینی ۲۰٪ پودر میلورم فاقد اختلاف معنی‌دار بود ($P > 0.05$) ولی روند کاهشی معنادار با افزایش سطح جایگزینی دیده شد ($P < 0.05$).

نتایج آنزیم‌های کبدی (شکل ۱) نشان داد که مقادیر آنزیم AST در ماهیان تغذیه کرده از سطوح بالاتر از ۲۰٪ پودر میلورم کاهش معنی‌دار داشت ($P < 0.05$)؛ درحالی‌که میزان آنزیم ALT تا سطح جایگزینی ۶۰٪ روندی کاهشی و سپس در سطوح بالاتر افزایش معنی‌دار نشان داد ($P < 0.05$). همچنین، بالاترین مقدار آنزیم ALP در ماهیان تغذیه کرده در گروه شاهد و کمترین مقدار در تیمارهای جایگزینی ۶۰ و ۱۰۰٪ پودر میلورم به ثبت رسید ($P < 0.05$). بالاترین نسبت AST/ALT در ماهیان تغذیه شده با ۶۰٪ جایگزینی دیده شد که با دیگر گروه‌ها اختلاف معنی‌دار نشان داد ($P < 0.05$). همچنین، بالاترین میزان آنزیم LDH در ماهیان تغذیه کرده از ۱۰۰٪ پودر میلورم مشاهده شد و این میزان با کاهش سطح جایگزینی روند معنی‌دار کاهشی نشان داد ($P < 0.05$), به طوری‌که این میزان در ماهیان تغذیه کرده در گروه شاهد و سطح جایگزینی ۲۰٪ اختلاف معنی‌داری نشان نداد ($P < 0.05$).

جدول ۲ عملکرد رشد و میزان بازماندگی فیل ماهیان (*Huso huso*) تغذیه شده با سطوح مختلف پودر لارو سوسک زرد (*Tenebrio molitor*) به جای پودر ماهی طی ۸ هفته

Table 2 Growth performance and survival rate of beluga (*Huso huso*) fed with different replacement levels of fish meal by yellow larval mealworm (*Tenebrio molitor*) for 8 weeks

Parameters	Replacement levels (%)					
	0 (Control)	20	40	60	80	100
Initial weight (g)	121.66 ± 2.51	121.66 ± 3.78	105.33 ± 10.15	105.33 ± 13.32	110.33 ± 8.57	116.1 ± 6.2
Final weight (g)	391.86 ± 24.53 ^b	451.80 ± 23.40 ^a	424.53 ± 18.41 ^{ab}	416.80 ± 28.23 ^{ab}	409.8 ± 16.25 ^{ab}	415.26 ± 11.37 ^{ab}
Weight gain (g)	271.2 ± 6.37 ^b	331.16 ± 4.70 ^a	320.8 ± 6.82 ^{ab}	311.48 ± 7.4 ^{ab}	300.42 ± 8.12 ^{ab}	298.54 ± 5.04 ^{ab}
WGR (%)	221.41 ± 15.44 ^c	271.77 ± 27.06 ^{ab}	304.83 ± 14.51 ^a	297.62 ± 29.45 ^a	273.33 ± 16.90 ^{ab}	256.98 ± 9.80 ^b
SGR (%/day)	2.07 ± 0.08 ^c	2.34 ± 0.12 ^{ab}	2.5 ± 0.06 ^a	2.47 ± 2.47 ^a	2.37 ± 0.08 ^{ab}	2.27 ± 0.04 ^b
FCR	1.60 ± 0.12 ^b	1.30 ± 0.09 ^a	1.34 ± 0.07 ^a	1.38 ± 0.13 ^a	1.42 ± 0.08 ^{ab}	1.43 ± 0.05 ^{ab}
Survival rate (%)	100 ± 0.00 ^a	100 ± 0.00 ^a	100 ± 0.00 ^a	100 ± 0.00 ^a	100 ± 0.00 ^a	100 ± 0.00 ^a

Data expressed as mean ± S.D., n = 3 (each replicate tank was stocked with 20 fish).

Values along rows with different superscripts differ significantly (P<0.05).

جدول ۳ فراسنجه های خونی فیل ماهیان (*Huso huso*) تغذیه شده با سطوح مختلف پودر لارو سوسک زرد (*Tenebrio molitor*) به جای پودر ماهی طی ۸ هفته

Table 3 Hematological indices of beluga (*Huso huso*) fed with different replacement levels of fish meal by yellow larval mealworm (*Tenebrio molitor*) for 8 weeks

Parameters	Replacement levels (%)					
	0 (Control)	20	40	60	80	100
RBC (×10 ⁶ /mm ³)	0.75 ± 0.02 ^a	0.68 ± 0.02 ^b	0.64 ± 0.02 ^{cd}	0.67 ± 0.02 ^{bc}	0.62 ± 0.01 ^d	0.57±0.02 ^e
Hb (g/dL)	4.59 ± 0.13 ^a	4.36 ± 0.28 ^{ab}	3.86 ± 0.25 ^c	3.69 ± 0.22 ^c	4.04 ± 0.19 ^{bc}	2.63 ± 0.11 ^d
Hct (%)	27 ± 1 ^a	25 ± 1 ^b	23.66 ± 0.57 ^b	23.23 ± 0.57 ^b	23.66 ± 1.15 ^b	21 ± 1 ^c
MCV (fL)	385.5 ± 13.7 ^a	366.18 ± 22.6 ^a	366.1 ± 13.7 ^a	347.7 ± 16.97 ^a	378.3 ± 24.7 ^a	364.4 ± 18.6 ^a
MCH (pg/cell)	61.03 ± 1.37 ^{ab}	63.98 ± 5.57 ^a	59.81 ± 5.24 ^{ab}	55.01 ± 2.28 ^b	64.64 ± 4.21 ^a	45.69 ± 3.55 ^c
MCHC (g/dL)	17.04 ± 0.9 ^a	17.45 ± 0.45 ^a	16.31 ± 0.85 ^a	15.85 ± 1.15 ^a	17.09 ± 0.63 ^a	12.56 ± 1.14 ^b
WBC (×10 ³ /mm ³)	21.03 ± 0.56 ^a	19.28 ± 0.5 ^b	18.51 ± 0.3 ^{bc}	18.06 ± 0.49 ^c	17.96 ± 0.68 ^c	16.23 ± 0.3 ^d
Lymphocyte (%)	81.66 ± 1.65 ^b	80.33 ± 3.05 ^b	85.66 ± 3.05 ^a	86.00 ± 2.64 ^a	84.7 ± 1.65 ^{ab}	81.66 ± 1.52 ^b
Neutrophil (%)	14.33 ± 1.15 ^a	14.66 ± 2.51 ^a	10 ± 2 ^b	9.33 ± 1.52 ^b	10 ± 1 ^b	14 ± 1 ^a
Monocytes (%)	3.66 ± 1.52 ^a	4 ± 1 ^a	4 ± 1.1 ^a	4.33 ± 1.52 ^a	5.33 ± 0.57 ^a	4 ± 1 ^a
Eosinophil (%)	0.33 ± 0.57 ^a	1 ± 0.1 ^a	0.33 ± 0.57 ^a	0.33 ± 0.57 ^a	0.01 ± 0.00 ^a	0.33 ± 0.57 ^a

Data expressed as mean ± S.D., n = 3 (each replicate tank was stocked with 20 fish).

Values along rows with different superscripts differ significantly (P<0.05).

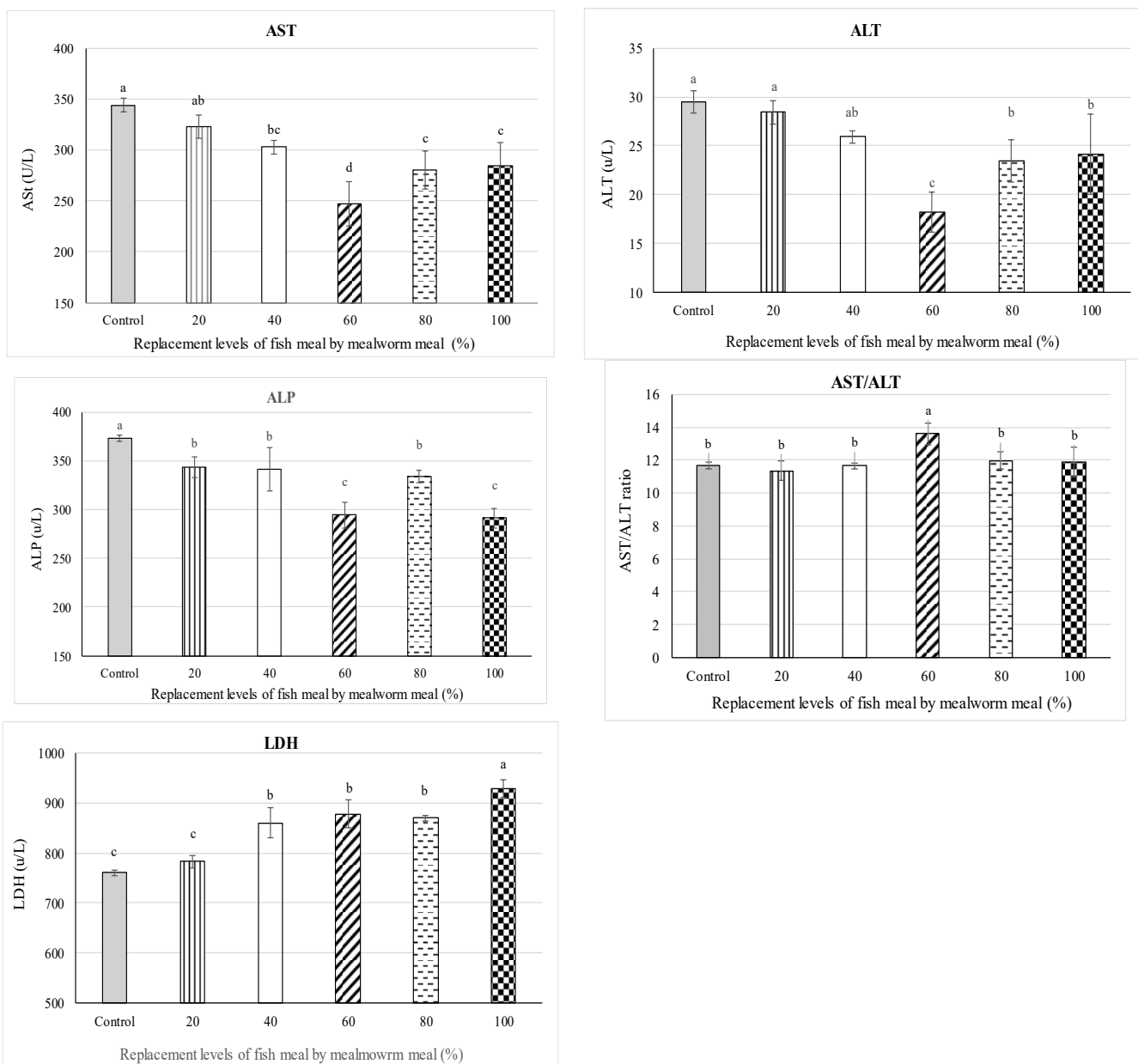
جدول ۴ فراسنجه‌های بیوشیمیایی سرم در فیل ماهیان (*Huso huso*) تغذیه شده با سطوح مختلف پودر لارو سوسک زرد (*Tenebrio molitor*) به جای پودر ماهی طی ۸ هفته

Table 4 Serum biochemical indices in beluga (*Huso huso*) fed with different replacement of fish meal by yellow larval mealworm (*Tenebrio molitor*) for 8 weeks

Parameters	Replacement levels (%)					
	0 (Control)	20	40	60	80	100
Glucose (mg/dL)	47.16 ± 1.72 ^d	55.36 ± 2.05 ^b	50.5 ± 0.96 ^c	57.63 ± 1.60 ^b	65.86 ± 2.14 ^a	67.66 ± 0.40 ^a
Albumin (g/dL)	0.95 ± 0.01 ^{dc}	1.24 ± 0.05 ^a	1.11 ± 0.04 ^b	0.99 ± 0.01 ^{cd}	1.05 ± 0.07 ^{bc}	0.91 ± 0.01 ^c
Total protein (g/dL)	2.87 ± 0.05 ^d	4.13 ± 0.05 ^a	3.65 ± 0.23 ^b	3.38 ± 0.1 ^{bc}	4.40 ± 0.25 ^a	3.16 ± 0.21 ^{cd}
Cholesterol (mg/dL)	45.7 ± 3.9 ^d	51.5 ± 1.96 ^c	53.9 ± 1.57 ^c	63.33 ± 2.05 ^b	72.46 ± 3.23 ^a	68.6 ± 2.92 ^a
Triglyceride (mg/dL)	818 ± 7.93 ^a	854.33 ± 9.86 ^a	683.66 ± 24.19 ^c	701.66 ± 3.51 ^{bc}	746.33 ± 14.75 ^b	654.33 ± 58.59 ^c

Data expressed as mean ± S.D., n = 3 (each replicate tank was stocked with 20 fish).

Values along rows with different superscripts differ significantly (P<0.05).



شکل ۱ مقادیر آنزیم‌های کبدی و میزان آنزیم لاکتات دهیدروژناز سرم در فیل ماهیان (*Huso huso*) تغذیه شده با سطوح مختلف جایگزینی پودر لارو سوسک زرد (*Tenebrio molitor*) به جای پودر ماهی طی ۸ هفته

Figure 1 Liver enzymes and lactat dehydrogenase enzymes content in beluga (*Huso huso*) fed with different replacement of fish meal by yellow larval mealworm (*Tenebrio molitor*) for 8 weeks

بحث

انواع حشرات از جمله گروه‌های Diptera و Coleoptera بخشی از رژیم غذایی طبیعی ماهیان خاویاری در طبیعت را به خود اختصاص می‌دهند (Pyka and Kolman, 2003; Xu et al. 2019). به نظر می‌رسد که استفاده از پودر حشرات به دلیل داشتن مقادیر بالایی از پروتئین و چربی همراه با داشتن ترکیب نسبتاً مناسبی از اسیدهای آمینه و اسیدهای چرب احتمالاً از نظر تغذیه‌ای می‌تواند برای بسیاری از گونه‌های پرورشی از جمله ماهیان خاویاری امکان‌پذیر باشد. مطالعات قبلی در کاربرد پودر حشرات نشان می‌دهند که نوع پودر حشره، ارزش غذایی پودر، گونه ماهی و نیازهای تغذیه‌ای ماهی به وضوح بر عملکرد رشد و شاخص‌های تغذیه‌ای تأثیرگذار هستند (Hoffmann et al. 2020; Liland et al. 2021; Rawski et al. 2021). در مطالعه حاضر، جایگزینی پودر ماهی با پودر لارو سوسک زرد (میلورم) در تمام سطوح در جیره فیل ماهیان منجر به بهبود شاخص‌های رشد (افزایش وزن بدن و نرخ رشد ویژه) در مقایسه با گروه شاهد شد، ولی جایگزینی‌ها در سطوح بالاتر از ۶۰٪ به تدریج سبب کاهش عملکردها شدند. از طرف دیگر، هیچ تلفاتی در طی دوره پرورش در فیل ماهیان مطالعه حاضر در سطوح مختلف جایگزینی مشاهده نشد که نشان می‌دهد جایگزینی‌ها اثرات منفی بر بازماندگی ماهیان نداشت. همچنین، میزان ضریب تبدیل غذایی در ماهیان تغذیه‌شده با سطوح ۲۰، ۴۰ و ۶۰٪ جایگزینی نسبت به گروه شاهد بهبود یافت. در تجمیع شاخص‌های رشدی و تغذیه‌ای می‌توان بیان کرد که امکان جایگزینی تا ۶۰٪ پودر میلورم به جای پودر ماهی در فیل ماهی وجود دارد، ولی سطح ۲۰٪ به عنوان بهترین سطح از نظر اقتصادی پیشنهاد می‌شود. همچنین جایگزینی در سطوح بالا (۸۰-۱۰۰٪) منجر به کاهش عملکردهای رشد و بدتر شدن ضریب تبدیل غذایی در فیل ماهی شد. چنین نتایجی قبلاً در گونه‌های مختلف ماهیان از جمله ماهیان خاویاری گزارش شده است. برای مثال، Józefiak و همکاران (۲۰۱۹) در تاسماهی سبیری (*Acipenser baerii*) بیان کردند که افزودن پودر سوسک سبب تقویت تکثیر باکتری‌های پروبیوتیکی در دستگاه گوارش شده و ارتباط مثبتی بین میکروبیوم با رشد و سلامت میزبان برقرار می‌کند. آنها بیان

کردند که جایگزینی پودر ماهی با ۱۵٪ پودر لارو سوسک زرد سبب افزایش تعداد باکتری‌های دستگاه گوارش مانند *Eubacterium rectale*، *Clostridium coccoides*، *Bacillus spp.* و *Carnobacterium spp.* شد که برخی از آنها در ارتقای دستگاه گوارش، جذب بهتر مواد مغذی و نهایتاً عملکرد رشد نقش مثبتی ایفا می‌کنند. همچنین، Sankian و همکاران (۲۰۱۸) نشان دادند که سرعت رشد و کارایی مصرف غذا در ماهی ماندارین (*Siniperca scherzeri*) با افزایش سطح جایگزینی پودر میلورم به جای پودر ماهی تا سطح ۲۰٪ افزایش یافته، ولی در سطح ۳۰٪ به شدت کاهش یافت. به طور مشابه، Rawski و همکاران (۲۰۲۱) شواهدی مبنی بر افزایش اندازه پرز روده و بهبود هضم و جذب مواد مغذی با افزودن سطوح ۱۵-۱۰٪ پودر کاملاً چربی‌زدایی شده مگس سرباز سیاه در جیره ماهی خاویاری سبیری گزارش کردند. در مطالعه دیگر، Valipour و همکاران (۲۰۱۹) سطح جایگزینی ۲۵٪ پودر میلورم به جای پودر ماهی را به عنوان سطح بهینه در بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان از نظر عملکرد رشد و ضریب تبدیل غذایی معرفی کردند. آنها گزارش کردند که استفاده از سطوح بالای حشرات در جیره به دلیل تأثیر منفی بر هضم‌پذیری مواد غذایی سبب کاهش عملکرد رشد ماهیان می‌شود. با وجود این، Harsij و همکاران (۲۰۱۹) سطح گنجاندن ۶۰٪ کرم زنده سوسک زرد را در بهبود فراسنجه‌های رشد و بهره‌وری غذایی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان متأثر از تحریک ترشح آنزیم‌های گوارشی با افزودن پودر لارو سوسک زرد را گزارش کردند. همچنین، Belforti و همکاران (۲۰۱۵) نشان دادند که در سطوح صفر، ۲۵ و ۵۰٪ جایگزینی پودر لارو سوسک زرد به جای پودر ماهی تفاوتی در وزن نهایی ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان مشاهده نشد و ضریب تبدیل غذایی با افزودن پودر سوسک بهبود یافت.

دلایل احتمالی در بهبود شاخص‌های رشدی، ضریب تبدیل غذایی و نرخ رشد ویژه فیل ماهیان مطالعه حاضر (به خصوص در سطوح جایگزینی پایین) را می‌توان به عوامل مختلفی از جمله ترکیب بیوشیمیایی و ارزش غذایی مناسب پودر میلورم، بهبود احتمالی در جذب مواد مغذی و افزایش هضم‌پذیری

سرباز و پودر میلورم بر شاخص‌های خونی قزل‌آلا اثرات منفی نداشت. همچنین، Anany و همکاران (۲۰۲۳) در تیلایپای نیل (*Oreochromis niloticus*) و در تأثیر توأم پودر میلورم و مخمر (*Saccharomyces cerevisiae*) نشان دادند که گنجاندن مخمر به تنهایی سبب افزایش تعداد گلبول سفید و قرمز، میزان هموگلوبین و هماتوکریت شد، ولی پودر میلورم تأثیری بر فاکتورهای خونی نداشت. در مقابل، Feng و همکاران (۲۰۱۹) در میگوی بزرگ آب شیرین (*Macrobrachium rosenbergii*) گزارش کردند که تعداد کل یاخته‌های هموسیت با افزایش سطح جایگزینی پودر میلورم به جای پودر ماهی از ۴ به ۱۶٪ (۴، ۸، ۱۲ و ۱۶٪) افزایش یافت. در مطالعه حاضر، کاهش میزان MCH و MCHC در جایگزینی کامل پودر میلورم مشاهده شد که دلیل احتمالی آن به کم‌خونی حاصل از مهار ساخت گلبول‌های قرمز در اندام‌های خون‌ساز در ماهی نسبت داده شد (Ates et al. 2008). این امر می‌تواند به واسطه وجود مواد ضد مغذی موجود در پودر سوسک مانند کیتین باشد که در سطوح بالای جایگزینی ممکن است سبب عدم جذب برخی عناصر مانند اسید فولیک و ویتامین ب ۱۲ و در نهایت ایجاد کم‌خونی شوند.

لنفوسیت‌ها مهم‌ترین گروه از گلبول‌های سفید خون برای دفاع در برابر عوامل بیماری‌زا محسوب می‌شوند و کاهش آنها ممکن است نقش مهمی در سلامت ماهیان داشته باشد (Falahatkar et al. 2017). در مطالعه حاضر، به‌رغم روند کاهشی در تعداد گلبول‌های سفید با افزایش سطح جایگزینی، بالاترین تعداد یاخته‌های لنفوسیت (به عنوان گلبول‌های سفید اصلی موجود در خون ماهیان) در سطح ۶۰-۴۰٪ دیده شد. به نظر می‌رسد که دلایل احتمالی کاهش تعداد گلبول‌های قرمز و سفید خون ممکن است متأثر از وجود ترکیبات دیگر موجود در پودر میلورم باشد که روشن شدن این موضوع به بررسی‌های دقیق‌تر در آینده نیاز دارد. از این نظر برخی از یافته‌های مطالعه حاضر به‌رغم اختلافات در گونه ماهی، نوع پودر حشره، سطوح گنجاندن و عوامل محیطی پرورش با برخی از مطالعات قبلی هم‌خوانی دارد (Anany et al. 2023).

(نیاز به تحقیق در مطالعات آینده) و افزایش جمعیت باکتری‌های پروبیوتیکی (نیاز به تحقیق در مطالعات آینده) نسبت داد که این موارد باید در تحقیقات آینده ارزیابی دقیق در فیل ماهی شوند.

اندازه‌گیری شاخص‌های خونی و فاکتورهای بیوشیمیایی سرم در ماهیان ایزاری مناسب برای ارزیابی وضعیت سلامت عمومی، عملکرد کبد و پاسخ‌های استرس فیزیولوژیک در ماهیان تغذیه شده با جیره‌های فرموله در نظر گرفته می‌شوند. مطالعات محدودی در زمینه تأثیر جایگزینی پودر میلورم در ماهیان خاویاری انجام شده و به همین دلیل مقایسه داده‌های مطالعه حاضر با گونه‌های دیگر ماهیان انجام شده است. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که گنجاندن پودر میلورم در جیره بر فراسنجه‌های هماتولوژیک فیل ماهی تأثیر گذاشت، به طوری که تعداد گلبول‌های قرمز و سفید، میزان هموگلوبین و هماتوکریت با افزایش سطح جایگزینی پودر میلورم کاهش یافتند. با وجود این، بیشتر فراسنجه‌های خونی در سطوح گنجاندن بالا تحت تأثیر پودر میلورم قرار گرفتند و در سطوح پایین اختلاف معنی‌دار با گروه شاهد نداشتند. اگرچه مقادیر فراسنجه‌های خونی به شدت به نوع غذا، گونه، سن و وزن ماهی، استرس و عوامل محیطی وابسته‌اند (Falahatkar et al. 2017)، ولی مقادیر داده‌های خونی مطالعه حاضر در فیل ماهی تا حدود زیادی در محدوده متعارف گزارش شده توسط دیگر محققان قرار داشت و گنجاندن پودر میلورم در مطالعه حاضر اثرات منفی بر عملکرد کلی فاکتورهای خونی نداشت (Bahmani et al. 1999; Binaii et al. 2014). با وجود این، جایگزینی پودر حشره به جای پودر ماهی حتی در سطوح پایین اثرات منفی بر شاخص‌های خونی در برخی از یافته‌های قبلی ایجاد نکرد که از این نظر نتایج مطالعه حاضر با آنها مطابقت ندارد. برای مثال، Valipour و همکاران (۲۰۱۹) نشان دادند که جایگزینی ۲۵٪ پودر میلورم منجر به افزایش هموگلوبین و هماتوکریت در قزل‌آلا شد، اما افزایش سطح جایگزینی به ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰٪ منجر به کاهش مقادیر مربوطه شد که چنین روندی در مطالعه حاضر دیده شد. با وجود این، Melenchón و همکاران (۲۰۲۱) نشان دادند که جایگزینی سطوح ۱۵ و ۳۰٪ پودر ماهی با پودر دو حشره مگس سیاه

بافت‌شناسی کبد نداشت که علت آن را عمدتاً به فرآیند چربی‌زدایی پودر حشره نسبت دادند. وجود چربی و فیبر خام بالا در پودر حشرات ممکن است عامل مؤثری بر نکرز و آپوپتوزیس یاخسته‌های کبدی در ماهی باشد (Sánchez-Muros et al. 2016). از آنجا که در ماهیان خاویاری بیشینه جذب مواد مغذی در روده خلفی (دریچه مارپیچی) انجام می‌شود، لذا بررسی شاخص‌هایی مانند ارتفاع پرزهای روده و تعداد یاخسته‌های جامی شکل (Goblet cell) (که افزایش آنها بیانگر نوعی واکنش ایمنی التهابی است) در مطالعات آینده به‌خصوص با پودر میلورم چربی‌زدایی شده در فیل‌ماهی ضروری است.

از نظر مقادیر آنزیم‌های کبدی، کاهش میزان آنزیم‌های AST, ALT و ALP به‌خصوص در سطوح بین ۶۰-۴۰٪ جایگزینی در کنار بالاتر بودن معنی‌دار نسبت AST/ALT (در سطح جایگزینی ۶۰٪) ممکن است نشان از بی‌ضرر بودن این سطوح از جایگزینی پودر میلورم بر عملکرد کبد باشند. از طرفی، فعالیت بالای ALT پلاسما نشان‌دهنده آسیب یا تضعیف عملکرد طبیعی کبد است که در مطالعه حاضر این مقدار تا سطح جایگزینی ۶۰٪ روند معنی‌دار کاهشی و سپس روند معنی‌دار افزایشی را به‌خصوص در سطح جایگزینی ۸۰-۱۰۰٪ داشت. همچنین، افزایش میزان آنزیم‌های کبدی و LDH در جایگزینی کامل پودر میلورم ممکن است نشان‌دهنده عدم کارایی حذف کامل پودر ماهی در جیره فیل‌ماهی باشد. گمان می‌رود که جایگزینی کامل پودر میلورم با برهم‌زدن تعادل اسیدهای چرب، ایجاد مازاد اسیدهای چرب اشباع و اختلال در هضم چربی‌ها اثرات منفی بر عملکرد کبد و مقادیر آنزیم‌های کبدی اعمال کند (Finke, 2002). اسید اولئیک یکی از اسیدهای چرب غالب در ترکیب پودر میلورم است، درحالی‌که مقادیر کمی از اسیدهای چرب بلند زنجیره غیراشباعی در آن وجود دارد (Finke, 2002). غالبیت اسید اولئیک سبب تولید تری‌اسیدگلیسرول در کبد می‌شود و آنزیم‌های کبدی را به‌خصوص در سطوح بالاتر تحت تأثیر قرار می‌دهد، به طوری که Li و همکاران (۲۰۱۷) گزارش کردند که استفاده از سطوح بالاتر از ۷۰٪ موجب نکرز کبدی در کپور معمولی می‌شود. در مقابل، Hoffmann و همکاران (۲۰۲۰) اختلاف معنی‌دار در جایگزینی ۲۰٪ پودر میلورم و

از نظر فراسنجه‌های بیوشیمیایی سرم خون، غلظت گلوکز با افزودن پودر میلورم به جیره فیل‌ماهیان افزایش یافت که این امر ممکن است به تولید انرژی از مسیر گلوکونئوزن مرتبط باشد و از آنجا که آنزیم‌های کبدی به طور منفی تحت تأثیر قرار نگرفتند، می‌توان گفت که افزایش گلوکز ناشی از اختلال در عملکرد کبدی نیست. مقادیر پروتئین تام و آلبومین در پاسخ‌های ایمنی مؤثر بوده و افزایش آنها نمایانگر تحریک دستگاه ایمنی در ماهی است (Wiegertjes et al. 1996). به طور کلی، نقش پودر حشرات به عنوان تنظیم‌کننده چربی و کلسترول در مطالعات Xia و همکاران (۲۰۱۰) بیان شده است. در مطالعه حاضر غلظت تری‌گلیسرید با گنجاندن پودر میلورم تقلیل یافت، ولی این فرضیه در مورد کلسترول صدق نمی‌کند. افزایش میزان کلسترول و کاهش تری‌گلیسرید در ماهیان تغذیه کرده از سطوح مختلف پودر میلورم ممکن است به وجود مقادیر بالاتر اسیدهای چرب اشباع و کاهش اسیدهای چرب غیراشباع بلند زنجیره در پودر میلورم مرتبط باشد (Caimi et al. 2020b). برخلاف یافته‌های مطالعه حاضر، کاهش قابل ملاحظه مقادیر گلوکز، کلسترول و تری‌گلیسرید در ماهی باس دریایی اروپایی (*Dicentrarchus labrax*) تغذیه کرده از سطوح مختلف پودر میلورم توسط Mastoraki و همکاران (۲۰۲۰) گزارش شد. همچنین، Khosravi و همکاران (۲۰۱۸) روند کاهشی در میزان تری‌گلیسرید را در صخره‌ماهی (*Sebastes schlegeli*) جوان تغذیه شده با افزایش سطوح جایگزینی ۸، ۱۶، ۲۴ و ۳۲٪ پودر میلورم گزارش کردند که نشان از مطابقت نتایج مطالعه حاضر با یافته‌های این محققان به‌رغم اختلاف در سطوح جایگزینی دارد. برعکس، نتایج مطالعه حاضر، Sankian و همکاران (۲۰۱۸) نشان دادند که بین سطوح گنجاندن ۱۰، ۲۰ و ۳۰٪ پودر میلورم در ماهی ماندارین، مقادیر کلسترول کل پلاسما و تری‌گلیسرید در سطح ۳۰٪ نسبت به دیگر سطوح کاهش یافت، ولی مقادیر پروتئین تام، آلبومین و آنزیم‌های کبدی متأثر از سطوح جایگزینی قرار نگرفت. با وجود این، Caimi و همکاران (۲۰۲۰) در تاسماهی سبیری گزارش کردند که سطح جایگزینی تا ۳۷/۵٪ از پودر کاملاً چربی‌زدایی شده مگس سرباز سیاه به جای پودر ماهی اثرات منفی بر ساختار

جذب طبیعی چربی در روده و تولید اسیدهای چرب در کبد تنظیم کند (Xia et al. 2010; Henry et al. 2018). بیشتر مطالعات انجام شده در زمینه جایگزینی پودر ماهی با پودر حشرات از جمله پودر میلورم بر شاخص‌های رشد و تغذیه آبزیان بدون اطلاع از مکانیسم‌های نهفته در اثرات دقیق آنها متمرکز شده است (Alfiko et al. 2022). با وجود این، عوامل اصلی محدودکننده در گنجاندن سطوح بالاتر پودر حشرات به کاهش قابلیت هضم پروتئین، پروفایل نامتعادل اسیدهای آمینه، بالا بودن چربی و نوسانات مقادیر اسیدهای چرب به‌خصوص بالابودن اسیدهای چرب اشباع عنوان شد. بر این اساس، سطح بهینه گنجاندن ۳۰-۲۵٪ از پودر میلورم به عنوان بیشینه سطح قابل قبول بدون اثرات منفی بر عملکرد کلی آبزیان در جیره در مطالعات Liland و همکاران (۲۰۲۱) و Willora و همکاران (۲۰۲۵) پذیرفته شده است. بر این اساس، بررسی نحوه عمل، هضم و جذب واقعی و فعالیت‌های سوخت و سازی پودر میلورم در دستگاه گوارش گونه‌های مختلف آبی‌پروری به‌خصوص در ماهیان خاویاری از جمله فیل‌ماهی با استفاده از ژنتیک مولکولی و رویکردهای ژنومی در آینده ضروری است (Terova et al. 2021).

نتیجه‌گیری نهایی

مطالعه حاضر از نظر شاخص‌های رشد و تغذیه نشان داد که جایگزینی بالاتر از ۶۰٪ پودر میلورم به جای پودر ماهی منجر به کاهش تدریجی عملکرد رشد و بدتر شدن ضریب تبدیل غذایی در فیل‌ماهی شده و سطح جایگزینی ۲۰٪ به عنوان بهترین سطح از نظر اقتصادی پیشنهاد می‌شود. اگرچه جایگزینی پودر میلورم به جای پودر ماهی در کلیه سطوح سبب کاهش برخی از فراسنجه‌های خونی در فیل‌ماهیان شد، ولی مقادیر بیشتر این فراسنجه‌ها در محدوده مناسب گزارش شده برای فیل‌ماهی قرار داشت. به نظر می‌رسد که سطوح پایین جایگزینی اثرات منفی بر شاخص‌های سرمی و آنزیم‌های کبدی فیل‌ماهی ندارد. از جمع‌بندی کلی داده‌های رشد، هماتولوژی و آنزیم‌های کبدی در فیل‌ماهی می‌توان نتیجه گرفت که امکان جایگزینی کامل پودر میلورم به جای پودر ماهی وجود ندارد و سطح جایگزینی ۲۰٪ به عنوان سطح بهینه پیشنهاد می‌شود. با وجود این، توان بالقوه‌ای در قابلیت

پودر هیدرولیز شده میلورم به جای پودر ماهی بر مقادیر آنزیم‌های کبدی AST و ALT در قزل‌آلای دریایی (*Salmo trutta m. trutta*) مشاهده نکردند. همچنین، در جایگزینی سطوح ۵۰ و ۱۰۰٪ پودر چربی‌زدایی شده میلورم اختلافی در میزان ALT و ALP پلاسمای ماهی قزل‌آلا در مطالعه Habte-Tsion و همکاران (۲۰۲۴) دیده نشد. پودر حشرات دارای مقادیر پائینی از کربوهیدرات (کمتر از ۲۰٪ از وزن خشک) و کیتین بالاست. میزان کیتین در پودر حشرات در بین گونه‌ها و مراحل مختلف رشد حشره متفاوت (مقادیر بالاتر از ۱۰٪ تا کمتر از ۱٪ از وزن خشک) گزارش شد. با توجه به وجود ۶/۷٪ کیتین در ترکیب بیوشیمیایی پودر میلورم مطالعه حاضر، گنجاندن سطوح مختلف جایگزینی انجام شده در جیره‌های آزمایشی فیل‌ماهیان توانسته سهم قابل قبولی از کیتین از کل میزان جیره را به خود اختصاص دهد. با توجه به اینکه بیشتر ماهیان به دلیل نداشتن آنزیم کیتیناز قادر به هضم و جذب کیتین نیستند، با وجود این، برخی از گونه‌ها مانند *Sebastolobus* و *Sebastes diploproa*، *alascanus* و *Anoplopoma fimbria* به واسطه فعالیت آنزیم کیتیناز می‌توانند از جیره‌های حاوی مقدار کم کیتین استفاده کنند (Gutowska et al. 2004). به طور کلی پذیرفته شده است که کیتین به عنوان یک فاکتور محدودکننده سبب محدودیت در استفاده از پودر حشرات می‌شود. با وجود این، افزودن مقادیر کم از کیتین در جیره اثرات منفی بر عملکرد ماهیان نداشته است، به طوری که افزودن ۱٪ کیتین و کیتوزان در جیره اثرات مثبتی در بهبود فراسنجه‌های خونی، افزایش عملکرد میکروبیوتای دستگاه گوارش در هضم و جذب مواد مغذی و مقاومت در برابر عوامل بیماری‌زا در آبزیان شد (Gopalakannan and Arul, 2006; Harikrishnan et al. 2012; Barrett et al. 2024). نتایج مشابهی نیز توسط Valipour و همکاران (۲۰۱۹) در قزل‌آلا گزارش شد که وجود کیتین در حشرات یک محرک ایمنی و تقویت‌کننده دستگاه دفاعی در ماهی عنوان شد. از نظر فیزیولوژیک، کیتین ممکن است متابولیسم چربی‌ها را به دلیل ممانعت از گردش کبدی اسیدهای صفراوی، تداخل با

جایگزینی تا سطوح ۴۰-۶۰٪ (با رعایت دامنه احتیاطی) در جیره فیل ماهی وجود دارد که نیاز به آزمایش‌های تکمیلی و بررسی دقیق‌تر بافت‌شناسی، آنزیم‌های هضمی، میکروبیوتای دستگاه گوارش و بیان ژن را ضروری می‌کند.

منابع

- Alfiko, Y., Retno, D.X., Astuti, 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.
- Anany, E.M., Ibrahim, M.A., El-Razek, I.M.A., El-Nabawy, E.S.M., Amer, A.A., Zaineldin, A.I., Gewaily, M.S., Dawood, M.A. 2023. Combined effects of yellow mealworm (*Tenebrio molitor*) and *Saccharomyces cerevisiae* on the growth performance, feed utilization intestinal health, and blood biomarkers of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed fish meal-free diets. *Probiotics and Antimicrobial Proteins* 32: 1-12. DOI: 10.1007/s12602-023-10199-8.
- Arru, B., Furesi, R., Gasco, L., Madau, F.A., Pulina, P. 2019. The introduction of insect meals into fish diet: The first economic analysis on European sea bass farming. *Sustainability* 11: 1697. DOI: 10.3390/su11061697.
- Ates, B., Orun, I., Talas, Z.S., Durmaz, G., Yilmaz, I. 2008. Effects of sodium selenite on some biochemical and hematological parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) exposed to Pb^{2+} and Cu^{2+} . *Fish Physiology and Biochemistry* 34: 53-59. DOI: 10.1007/s10695-007-9146-5.
- Bahmani, M., Kazemi, R., Donskaya, P. 1999. Comparative study of biochemical and hematological features in reared sturgeons. *Iranian Journal of Fisheries Science* 1: 61-73. DOI: 20.1001.1.15622916.1999.1.2.6.2.
- Barrett, M., Godfrey, R.K., Schnell, A., Fischer, B. 2024. Farmed yellow mealworm (*Tenebrio molitor*; Coleoptera: Tenebrionidae) welfare: species-specific recommendations for a global industry. *Journal of Insects as Food and Feed* 10: 903-948. DOI: 10.1163/23524588-20230104.
- Barroso, F.G., de Haro, C., Sanchez-Muros, M.J., Venegas, E., Martínez-Sanchez, A., Perez-Banon, C. 2014. The potential of various insect species for use as food for fish. *Aquaculture* 422-423: 193-201. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2013.12.024.
- Belforti, M., Gai, F., Lussiana, C., Renna, M., Malfatto, V., Rotolo, L., De Marco, M., Dabbou, S., Schiavone, A., Zoccarato, I., Gasco, L. 2015. *Tenebrio molitor* meal in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) diets: effects on animal performance, nutrient digestibility and chemical composition of fillets. *Italian Journal of Animal Science* 14: 670-676. DOI: 10.4081/ijas.2015.4170.
- Belghit, I., Liland, N.S., Gjesdal, P., Biancarosa, I., Menchetti, E., Li, Y., Waagbø, R., Kroghdahl, Å., Lock, E.J. 2019. Black soldier fly larvae meal can replace fish meal in diets of sea-water phase Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* 503: 609-619. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2018.12.032.
- Binaii, M., Ghiasi, M., Farabi, S. M. V., Pourgholam, R., Fazli, H., Safari, R., Alavi, E., Taghavi, M.J., Bankehsaz, Z. 2014. Biochemical and hemato-immunological parameters in juvenile beluga (*Huso huso*) following the diet supplemented with nettle (*Urtica dioica*). *Fish and Shellfish Immunology* 36: 46-51. DOI: 10.1016/j.fsi.2013.10.001.
- Blaxhall, P., Daisley, K. 1973. Routine haematological methods for use with fish

- blood. *Journal of Fish Biology* 5: 771-781. DOI: 10.1111/j.1095-8649.1973.tb04510.x.
- Borges, A., Scotti, L.V., Siqueira, D.R., Jurinitz, D.F., Wassermann, G.F. 2004. Hematologic and serum biochemical values for jundiá (*Rhamdia quelen*). *Fish Physiology and Biochemistry* 30: 21-25. DOI: 10.1007/s10695-004-5000-1.
- Brafield, A.E. 1985. Laboratory studies on energy budgets. In: *Fish Energetics: New Perspectives*. Tytler, P., Calow, P. (Eds.). Croom Helm, London, 257-281.
- Caimi, C., Renna, M., Lussiana, C., Bonaldo, A., Gariglio, M., Meneguz, M., Dabbou, S., Schiavone, A., Gai, F., Elia, A.C., Prearo, M., Gasco, L. 2020a. First insights on black soldier fly (*Hermetia illucens* L.) larvae meal dietary administration in Siberian sturgeon (*Acipenser baerii* Brandt) juveniles. *Aquaculture* 515: 734539. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2019.734539.
- Caimi, C., Gasco, L., Biasato, I., Malfatto, V., Varello, K., Prearo, M., Pastorino, P., Bona, M.C., Francese, D.R., Schiavone, A., Elia, A.C., Dörr, A.J.M., Gai, F. 2020b. Could dietary black soldier fly meal inclusion affect the liver and intestinal histological traits and the oxidative stress biomarkers of Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) juveniles? *Animals* 10: 155. DOI: 10.3390/ani10010155.
- Campbell, T.W., Ellis, C.K. 2007. *Avian and Exotic Animal Hematology and Cytology*. 3rd edn. Blackwell Publishing, Ames. 287 p.
- Cashion, T., Le Manach, F., Zeller, D., Pauly, D. 2017. Most fish destined for fishmeal production are food-grade fish. *Fish and Fisheries* 18: 837-844. DOI: 10.1111/faf.12209.
- Chen, H., Yu, J., Ran, X., Wu, J., Chen, Y., Tan, B., Lin, S. 2023. Effects of yellow mealworm (*Tenebrio molitor*) on growth performance, hepatic health and digestibility in juvenile Largemouth Bass (*Micropterus salmoides*). *Animals* 13: 1389. DOI: 10.3390/ani13081389.
- Dumas, B.T., Watson, W.A., Biggs, H.G. 1971. Albumin standards and the measurement of serum albumin with bromocresol green. *Clinica Chimica Acta* 31: 87-96. DOI: 10.1016/0009-8981(71)90365-2.
- Dumas, A., Raggi, T., Barkhouse, J., Lewis, E., Weltzien, E. 2018. The oil fraction and partially defatted meal of black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*) affect differently growth performance, feed efficiency, nutrient deposition, blood glucose and lipid digestibility of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 492: 24-34. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2018.03.038.
- Falahatkar, B., Alaf Noveirian, H., Ghafouri, H., Babakhani, A. 2017. Effect of different temperature regimes on blood parameters of *Acipenser ruthenus* during a simulated transport experiment. *Journal of Animal Research (Iranian Journal of Biology)* 30: 225-236. DOI: 10.1001.1.23832614.1396.30.2.10.1.
- Fall, S.K.L., Fall, J., Loum, A., Sagne, M., Jatta, S., Ndong, D., Diouf, M., Sheen, S.S. 2020. Effects of partial substitution of fish meal by Crustacean (*Callinassa*) meal on the growth performance, feed efficiency and survival rate of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Biology and Life Science* 11: 207-217. DOI: 10.5296/jbls.v11i1.16700.
- Feng, P., He, J., Lv, M., Huang, G., Chen, X., Yang, Q., Wang, J., Wang, D., Ma, H. 2019. Effect of dietary *Tenebrio molitor* protein on growth performance and immunological parameters in *Macrobrachium rosenbergii*. *Aquaculture* 511: 734247. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2019.734247.
- Finke, M.D. 2002. Complete nutrient composition of commercially raised

- invertebrates used as food for insectivores. *Zoo Biology* 21: 269-285. DOI: 10.1002/zoo.10031.
- 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.
- Gasco, L., Acuti, G., Bani, P., Dalle Zotte, A., Danieli, P.P., De Angelis, A. 2020. Insect and fish by-products as sustainable alternatives to conventional animal proteins in animal nutrition. *Italian Journal of Animal Science* 19: 360-372. DOI: 10.1080/1828051X.2020.1743209.
- Gopalakannan, A., Arul, V. 2006. Immunomodulatory effects of dietary intake of chitin, chitosan and levamisole on the immune system of *Cyprinus carpio* and control of *Aeromonas hydrophila* infection in ponds. *Aquaculture* 255: 179-187. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2006.01.012.
- Gutowska, M.A., Drazen, J.C., Robison, B.H. 2004. Digestive chitinolytic activity in marine fishes of Monterey Bay, California. *Comparative Biochemistry and Physiology* 139A: 351-358. DOI: 10.1016/j.cbpb.2004.09.020.
- Habte-Tsion, H.M., Hawkyard, M., Sealey, W.M., Bradshaw, D., Meesala, K.M., Bouchard, D.A. 2024. Effects of fishmeal substitution with mealworm meals (*Tenebrio molitor* and *Alphitobius diaperinus*) on the growth, physiobiochemical response, digesta microbiome, and immune genes expression of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture Nutrition* 1: 1-21. DOI: 10.1155/2024/6618117.
- Halver, J.E., Hardy, R.W. 2002. *Fish Nutrition*. Elsevier, Amsterdam, Netherlands, 839 p.
- Harikrishnan, R., Kim, J.S., Balasundaram, C., Heo, M.S. 2012. Dietary supplementation with chitin and chitosan on haematology and innate immune response in *Epinephelus bruneus* against *Philasterides dicentrarchi*. *Experimental Parasitology* 131: 116-124. DOI: 10.1016/j.exppara.2012.03.020.
- Harsij, M., Adineh, H., Maleknejad, R., Jafariyan, H., Asadi, M. 2019. The use of live mealworm (*Tenebrio molitor*) in diet of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): effect on growth performance and survival, nutritional efficiency, carcass compositions and intestinal digestive enzymes. *Journal of Fisheries Science and Technology* 8: 137-143. DOI: 20.1001.1.23225513.1398.8.3.3.3.
- Henry, M.A., Gai, F., Enes, P., Perez-Jimenez, A., Gasco, L. 2018. Effect of partial dietary replacement of fish meal by yellow mealworm (*Tenebrio molitor*) larvae meal on the innate immune response and intestinal antioxidant enzymes of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish and Shellfish Immunology* 83: 308-313. DOI: 10.1016/j.fsi.2018.09.040.
- Hoffmann, L., Rawski, M., Nogales-Merida, S., Mazurkiewicz, J. 2020. Dietary inclusion of *Tenebrio molitor* meal in sea trout larvae rearing: Effects on fish growth performance, survival, condition, and GIT and liver enzymatic activity. *Annals of Animal Science* 20: 579-598. DOI: 10.2478/aoas-2020-0002.
- Iaconisi, V., Bonelli, A., Pupino, R., Gai, F., Parisi, G. 2018. Mealworm as dietary protein source for rainbow trout: Body and fillet quality traits. *Aquaculture* 484: 197-204. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2017.11.034.

- Jeong, S.M., Khosravi, S., Mauliasari, I.R., Lee, S.M. 2020. Dietary inclusion of mealworm (*Tenebrio molitor*) meal as an alternative protein source in practical diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fry. Fisheries and Aquatic Sciences 23: 1-8. DOI: 10.1186/s41240-020-00158-7.
- Józefiak, A., Nogales-Mérida, S., Rawski, M., Kierończyk, B., Mazurkiewicz, J. 2019. Effects of insect diets on the gastrointestinal tract health and growth performance of Siberian sturgeon (*Acipenser baerii* Brandt, 1869). BMC Veterinary Research 15: 348. DOI: 10.1186/s12917-019-2070-y.
- Khosravi, S., Kim, E., Lee, Y.S., Lee, S.M. 2018. Dietary inclusion of mealworm (*Tenebrio molitor*) meal as an alternative protein source in practical diets for juvenile rockfish (*Sebastes schlegeli*). Entomological Research 48: 214-221. DOI: 10.1111/1748-5967.12306.
- Langston, K., Selaledi, L., Tanga, C., Yusuf, A. 2024. The nutritional profile of the yellow mealworm larvae (*Tenebrio molitor*) reared on four different substrates. Future Foods 9: 100388. DOI: 10.1016/j.fufo.2024.100388.
- 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.
- Liland, N.S., Araujo, P., Xu, X.X., Lock, E.J., Radhakrishnan, G., Prabhu, A.J.P., Belghit, I. 2021. A meta-analysis on the nutritional value of insects in aquafeeds. Journal of Insects Food Feed 7: 743-759. DOI: 10.3920/JIFF2020.0147.
- 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. DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2014.07.008.
- Mastoraki, M., Mollá Ferrándiz, P., 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.
- McClatchey, K.D. 2002. Clinical Laboratory Medicine, 2nd edn. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, 1936 p.
- Melenchón, F., Larrán, A.M., De Mercado, E., Hidalgo, M.C., Cardenete, G., Barroso, F.G., Fabrikov, D., Lourenço, H.M., Pessoa, M.F., Tomás-Almenar, C. 2021. Potential use of black soldier fly (*Hermetia illucens*) and mealworm (*Tenebrio molitor*) insect meals in diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture Nutrition 27: 491-505. DOI: 10.1111/anu.13201.
- New, M.B., Wijksto, M.U.N. 2002. Use of Fish meal and Fish Oil in Aquafeeds: Further Thoughts on the Fishmeal Trap. FAO Fisheries Circular No. 975 FIPP/C975. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.
- Ng, W., Liew, F., Ang, L., Wong, K. 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.
- 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.
- Pyka, J., Kolman, R. 2003. Feeding intensity and growth of Siberian sturgeon *Acipenser baerii* Brandt in pond cultivation. Archives of Polish Fisheries 11: 287-294. DOI: 10.11/APS-1201-8.
- Raghuvaran, N., Varghese, T., Jana, P., Angela Brighty, R.J., Muthiah Sethupathy, A., Sudarshan, S., Alrashdi, Y.B.A., Ibrahim, A.E., El Deeb, S. 2024. Current status and global research trend patterns of insect meal in aquaculture from scientometric perspective: (2013-2022). Aquaculture Nutrition 1: 1-20. DOI: 10.1155/2024/5466604.
- Rawski, M., Mazurkiewicz, J., Kierończyk, B., Józefiak, D. 2020. Black soldier fly full-fat larvae meal as an alternative to fish meal and fish oil in Siberian sturgeon nutrition: The effects on physical properties of the feed, animal growth performance, and feed acceptance and utilization. Animals 10: 2119. DOI: 10.3390/ani10112119.
- Rawski, M., Mazurkiewicz, J., Kieronczyk, B., Józefiak, D. 2021. Black soldier fly full-fat larvae meal is more profitable than fish meal and fish oil in Siberian sturgeon farming: The effects on aquaculture sustainability, economy and fish GIT development. Animals 11: 604. DOI: 10.3390/ani11030604.
- Ribeiro, N., Abelho, M., Costa, R. 2018. A review of the scientific literature for optimal conditions for mass rearing *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae). Journal of Entomological Science 53: 434-454. DOI: 10.18474/JES17-67.1.
- Sánchez-Muros, M.J., de Haro, C., Sanz, A., Trenzado, C.E., Villareces, S., Barroso, F.G. 2016. Nutritional evaluation of *Tenebrio molitor* meal as fishmeal substitute for tilapia (*Oreochromis niloticus*) diet. Aquaculture Nutrition 22: 943-955. DOI: 10.1111/anu.12313.
- 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.
- Scaffardi, L., Formici, G. 2022. Novel Foods and Edible Insects in the European Union: An Interdisciplinary Analysis. Springer, Amsterdam, 181 p.
- Singh, S.K., Pawar, L., Thomas, A.J., Debbarma, R., Biswas, P., Ningombam, A., Devi, A.G., Waikhom, G., Patel, A.B., Meena, K.D., Chakraborty, G. 2024. The current state of research and potential applications of insects for resource recovery and aquaculture feed. Environmental Science and Pollution Research 31: 62264-62282. DOI: 10.1007/s11356-023-29068-6.
- Su, J., Gong, Y., Cao, S., Lu, F., Han, D., Liu, H., Jin, J., Yang, Y., Zhu, X., Xie, S. 2017. Effects of dietary *Tenebrio molitor* meal on the growth performance, immune response and disease resistance of yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*). Fish and Shellfish Immunology 69: 59-66. DOI: 10.1016/j.fsi.2017.08.008.
- Su, J., Liu, Y., Xi, L., Lu, Q., Liu, H., Jin, J., Yang, Y., Zhu, X., Han, D., Xie, S. 2022. The effect of dietary *Tenebrio molitor* meal inclusion on growth performance and liver health of largemouth bass (*Micropterus salmoides*). Journal of

- Insects as Food and Feed 8: 1297-1309. DOI: 10.3920/JIFF2021.0033.
- Taufek, N.M., Aspani, F., Muin, H., Raji, A.A., Razak, S.A. Alias, Z. 2016. The effect of dietary cricket meal (*Gryllus bimaculatus*) on growth performance, antioxidant enzyme activities, and haematological response of African catfish (*Clarias gariepinus*). Fish Physiology and Biochemistry 42: 1143-1155. DOI: 10.1007/s10695-016-0204-8.
- Terova, G., Gini, E., Gasco, L., Moroni, F., Antonini, M., Rimoldi, S. 2021. Effects of full replacement of dietary fishmeal with insect meal from *Tenebrio molitor* on rainbow trout gut and skin microbiota. Journal of Animal Science and Biotechnology 12: 1-14. DOI: 10.1186/s40104-021-00551-9.
- Tran, H.Q., Nguyen, T.T., Prokesova, M., Gebauer, T., Doan, H.V., Stejskal, V. 2022. Systematic review and meta-analysis of production performance of aquaculture species fed dietary insect meals. Reviews in Aquaculture 14: 1637-1655. DOI:10.1111/raq.12666.
- Valipour, M., Oujifard, A., Hosseini, A., Sotoudeh, E., Bagheri, D. 2019. Effects of dietary replacement of fishmeal by yellow mealworm (*Tenebrio molitor*) larvae meal on growth performance, hematological indices and some of non-specific immune responses of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Iranian Scientific Fisheries Journal 28: 13-26. DOI: 20.1001.1.10261354.1398.28.2.10.3.
- Wiegertjes, G.F., Stet, R.M., Parmentier, H.K., van Muiswinkel, W.B. 1996. Immunogenetics of disease resistance in fish: a comparative approach. Developmental and Comparative Immunology 20: 365-381. DOI: 10.1016/S0145-305X(96)00032-8.
- Willora, F.P., Farris, N.W., Ghebre, E., Zatti, K., Bisa, S., Kiron, V., Verlhac-Trichet, V., Danielsen, M., Dalsgaard, T.K., Sørensen, M. 2025. Full-fat black soldier fly larvae meal and yellow mealworm meal: Impact on feed protein quality, growth and nutrient utilization of Atlantic salmon (*Salmo salar*) post smolts. Aquaculture 595: 741648. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2024.741648.
- Xia, W., Liu, P., Zhang, J., Chen, J. 2010. Biological activities of chitosan and chitooligosaccharides. Food Hydrocolloid 25: 170-179. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2010.03.003.
- Xu, G., Xing, W., Li, T., Xue, M., Ma, Z., Jiang, N., Luo, L. 2019. Comparative study on the effects of different feeding habits and diets on intestinal microbiota in *Acipenser baeri* Brandt and *Huso huso*. BMC Microbiology 19: 297. DOI: 10.1186/s12866-019-1673-6.
- Zunzunegui, I., Martín-García, J., Santamaría, O., Poveda, J. 2024. Analysis of yellow mealworm (*Tenebrio molitor*) frass as a resource for a sustainable agriculture in the current context of insect farming industry growth. Journal of Cleaner Production 460: 142608. DOI: 10.1016/j.jclepro.2024.142608.