مجله علوم و فنون شیلات
دوره ۱۰ شماره ۴، پاییز ۱۴۰۰، صفحات ۴۱۰ تا ۴۲۲

تاثیر جایگزینی پودر لارو سوسک زرد (*Tenebrio molitor*) در سطوح مختلف بر کارایی رشد و فعالیت آنزیم‌های پروتئازی بچه ماهی کپور گلگون (*Cyprinus rubrofuscus*)

عباس زمانی[1*] ، محمد گلی[1]

۱- گروه علوم و مهندسی شیلات، دانشکده منابع طبیعی و محیط زیست، دانشگاه ملایر، همدان، ایران.

چکـــیده

در مطالعه حاضر، تأثیر جایگزینی پودر ماهی با پودر لارو سوسک زرد (*Tenebrio molitor*) (TM) بر عملکرد رشد و فعالیت آنزیم‌های پروتئازی (تریپسین و پروتئاز قلیایی) بچه ماهی کپور گلگون (*Cyprinus rubrofuscus*) (وزن متوسط: ۰/۱۵ ±۰/۹۵) به مدت ۸ هفته بررسی شد. پنج جیره آزمایشی با سطوح جایگزینی صفر (جیره شاهد)، ۲۵ (D1)، ۵۰ (D2)، ۷۵ (D3) و۱۰۰٪ (D4) پودر ماهی همسان از نظر پروتئین و انرژی با پودر TM در ۳ تکرار تهیه گردید. بررسی شاخص‌های افزایش وزن بدن، نرخ رشد ویژه و شاخص وضعیت نشان داد با افزایش میزان پودر TM تا ۵۰٪ (جیره‌های شاهد، D1 و D2) در جیره‌های آزمایشی اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ولی در سطوح جایگزینی بالاتر از ۵۰٪ (D3 و D4) کاهش معنی‌داری در شاخص‌های ذکر شده مشاهده گردید ($P<0.05$). بالاترین میزان ضریب تبدیل غذایی در جیره‌های شاهد و D1 بود که با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری نشان داد ($P<0.05$). همچنین میزان نرخ بقاء در جیره‌های آزمایشی ۱۰۰٪ بود. شاخص‌های کارایی مصرف چربی و پروتئین در جیره‌های D1 و D2 با جیره شاهد تفاوت معنی‌داری نداشتند. میزان فعالیت آنزیم‌های تریپسین و پروتئاز قلیایی در روده بچه ماهیان تغذیه شده با جیره شاهد با جیره‌های D1 و D2 تفاوت معنی‌داری نداشت ولی نسبت به جیره‌های D3 و D4 افزایش معنی‌داری را نشان داد ($P<0.05$). براساس نتایج این تحقیق جایگزینی پودر ماهی با پودر TM تا ۵۰٪ خللی بر شاخص‌های رشد و فعالیت آنزیم‌های پروتئازی وارد نکرده و می‌تواند قابل انجام باشد.

کـــلید واژه‌ها: پودر ماهی، پروتئاز، شاخص‌های رشد، کپور گلگون، *Tenebrio molitor*

نوع مقـاله

مقاله پژوهشی اصیل

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۲/۰۵

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۹/۲۰

تاریخ چاپ الکترونیکی: ۱۴۰۰/۰۹/۳۰

***نویسنده مسول:**
a.zamani@malayeru.ac.ir

مقدمه

جیره غذایی ماهیان تا حد زیادی به پودر ماهی به عنوان یک منبع پروتئین مطلوب با ترکیب اسید آمینه متعادل و قابلیت هضم پذیری بالا جهت اطمینان از رشد سریع و سلامت ماهیان پرورشی وابسته است. با کاهش میزان صید و افزایش تقاضا برای تهیه غذای ماهیان پرورشی، تامین اقلام غذایی مانند پودر ماهی برای صنعت آبزی پروری دشوار به نظر می‌رسد. در دهه‌های اخیر تلاش‌های زیادی در زمینه استفاده از پروتئین گیاهی در جیره‌های غذایی ماهیان پرورشی شده است [۱]. با این حال ترکیبات اولیه گیاهی دارای معایبی از جمله محتوای پروتئینی نسبتاً کم، ترکیب اسید آمینه ضروری نامطلوب، خوش خوراکی اندک و وجود مواد ضد تغذیه‌ای است. افزون بر این، رشد سریع جمعیت انسانی، استفاده از زمین‌های زراعی را تحت فشار قرار داده و تغییر اقلیم و اثرات زیست محیطی تامین آب و انرژی برای کشت این گیاهان را در مخاطره قرار داده است [۲].

این امر موجب ترغیب محققین به جستجوی منابع جدید مانند مواد اولیه با منشاء جانوری از جمله ضایعات کشتارگاهی یا پودر حشرات شده است. تاکنون بررسی‌های متعددی در زمینه استفاده از حشرات به عنوان مواد تشکیل دهنده خوراک آبزیان شده است[۳-۵]. حشرات به عنوان بخشی از غذای طبیعی ماهیان (بویژه گونه‌های گوشتخوار و همه‌چیزخوار) در محیط‌های آب شیرین و شور و همچنین مراحل لاروی و انگشت‌قدی ماهیان پرورشی محسوب شده و غنی از اسیدهای آمینه، چربی‌ها، ویتامین‌ها و مواد معدنی بوده و نیاز زیست محیطی کوچکی برای رشد خود دارند [۶-۷]. علاوه بر این حشرات مخصوصا در مرحله لاروی قادرند تا بقایای مواد طبیعی را به کودهای با کیفیت تبدیل کنند بطوریکه مواد نیتروژنه و فسفره را به ترتیب به میزان۳۰-۵۰٪ و ۶۱-۷۰٪ کاهش می‌دهند و باعث کاهش بار میکروبی باکتری‌های بیماریزا در کود می‌شوند[۸-۱۰]. پودر حشرات، به عنوان یک منبع غنی و امیدوار کننده از مواد مغذی، از ظرفیت بسیار بالایی برای استفاده در جیره غذایی آبزیان به عنوان جایگزینی مناسب و مطمئن برای منابعی مانند پودر ماهی و گیاهان قلمداد می‌شوند [۱۱-۱۲]. میزان پروتئین در حشرات بین ۹/۳ تا ۷۶ ٪ و میزان چربی بین ۷/۹ تا ۴۰٪ متغیر است؛ بطوریکه تعداد زیادی از لارو حشرات غنی از پروتئین (۴۰٪) و چربی (۳۰٪) بوده و دارای فعالیت ضدقارچی و یا حاوی پپتیدهای ضد باکتریایی هستند که می‌توانند ماندگاری جیره غذایی حاوی حشرات را افزایش دهند [۱۳]. این مزایا نشان می‌دهد استفاده از حشرات در فرمولاسیون غذای ماهیان (بویژه گونه‌های گوشتخوار و همه‌چیزخوار) علاوه بر اثرات مفید تغذیه‌ای، می‌تواند در تأمین پایدار مواد اولیه برای ساخت خوراک نیز نقش ایفا نماید [۱۴-۱۸].

در میان گونه‌های مختلف حشرات و همچنین مراحل زیستی آنها، لارو سوسک زرد[1] (*Tenebrio molitor*) (TM) از راسته سخت بال پوشان (Coleoptera)، به دلیل داشتن توانایی تبدیل ضایعات زیستی به ترکیبات با ارزش مغذی مثل پروتئین، چربی و انرژی می‌تواند به عنوان یک منبع پروتئینی مورد استفاده قرار گیرد [۶]. این حشره با ترکیب مجدد اسیدهای آمینه و اسیدهای چرب موجود در کود و ضایعات قادر به بازیافت این مواد آلی در زیست توده خود هستند. معمولاً این زیست توده حاوی مقادیر بالایی پروتئین (۴۴-۶۹٪)، چربی (۲۳-۴۷٪) و فیبر (۶/۶٪) است که باعث می شود برای غذاهای جانوری مورد توجه قرار گیرند [۱۹]. مطالعاتی در زمینه استفاده از پودر لارو سوسک زرد در جیره‌های غذایی ماهیان مختلف مانند ماهی ماندارین طلایی (*Siniperca scherzeri*) [۵]، گربه ماهی آفریقایی (*Clarias gariepinus*) [۲۰]، قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) [۲۱]، تیلاپیا (*Oreochromis niloticus*) [۲۲]، سی بس اروپایی (*Dicentrarchus labrax L.*) [۲۳]، شانک سرطلایی (*Sparus aurata*) [۲۴]، شانک خال سیاه (*Pagellus bogaraveo*) [۲۵]و گربه ماهی زرد (*Pelteobagrus fulvidraco*) [۲۶] صورت گرفته است. اهمیت اقتصادی ماهیان زینتی کمتر از ماهیان خوراکی نیست، بنابراین بررسی و تحقیق جنبه‌های مختلف پرورش آنها امری مهم می‌باشد. ماهی کپور گلگون (koi) با نام علمی (*Cyprinus rubrofuscus*) واریته رنگی ماهی کپور معمولی است و یکی از مهمترین ماهیان زینتی خانواده کپور ماهیان (Cyprinidae) می‌باشد که در سطح جهان و همچنین ایران محبوبیت بالایی دارد. نیاز پروتئینی این گونه حدود ۲۵ تا ۴۵ درصد گزارش شده است و مطالعاتی نیز در زمینه استفاده از منابع پروتئین گیاهی مانند گلوتن ذرت، کلزا، بادام زمینی و پروتئین تغلیظ شده سیب زمینی در جیره غذایی ماهی کپور گلگون صورت گرفته است [۲۷-۲۸]. هدف از این پژوهش استفاده از پودر لارو سوسک زرد (*T.molitor*) در جیره غذایی بچه ماهی کپور گلگون و بررسی اثرات آن بر عملکرد رشد و آنزیم‌های پروتئازی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

پرورش ماهیان

در این تحقیق تعداد ۳۵۰ عدد بچه ماهی کپور گلگون با وزن متوسط ۰/۱۵ ± ۰/۹۵ گرم و طول متوسط ۰/۴۵ ± ۳/۶۵ سانتی متر از کارگاه تکثیر محلی تهیه و به محل آزمایش منتقل شدند. پس از سازگاری اولیه ماهیان با شرایط دمایی محل آزمایش و تغذیه با جیره غذایی کپور معمولی به

1- Yellow meal worm

مدت ۲ هفته، تعداد ۳۰۰ عدد از بچه ماهیان انتخاب و در ۱۵ عدد آکواریوم (با ابعاد ۴۰×۵۰×۸۰؛ هر یک با ظرفیت آبگیری ۱۶۰ لیتر حاوی ۲۰ عدد بچه‌ماهی) در غالب ۵ تیمار و ۳ تکرار به طور کاملاً تصادفی ذخیره سازی شدند. آب مورد استفاده برای پرورش ماهیان در طول دوره از نظر شاخص‌های فیزیکوشیمیایی شامل دما (۲۵ °C)، اکسیژن محلول (۷/۰ میلی گرم در لیتر)، پی اچ (۷/۵) و شوری (کمتر از ۱ g/L) مورد ارزیابی قرار گرفت و رژیم نوری نیز بصورت طبیعی (۱۴ ساعت روشنایی/ ۱۰ ساعت تاریکی) بود. برای حفظ کیفیت آب از فیلتر شنی و برای حفظ دما و اکسیژن آکواریوم‌ها به ترتیب از بخاری و هواده استفاده گردید. تغذیه ماهیان با جیره‌های آزمایشی تهیه شده، روزانه ۲ بار (ساعت ۹ و ۱۸) و به مدت ۸ هفته بر اساس ۵ ٪ وزن بدن انجام گرفت [۲۹، ۲۷]. در این مدت مدفوع و غذای بجای مانده در محیط پرورشی ۳۰ دقیقه بعد از اتمام غذادهی روزانه سیفون شده و روزانه با توجه به کیفیت آب ۳۰ درصد حجم کل آب تعویض گردید.

تهیه جیره‌های آزمایشی

جیره غذایی جهت بررسی اثرات جایگزینی پودر لارو سوسک زرد (TM) در ۵ تیمار شامل جیره شاهد (۱۰۰٪ پودر ماهی؛ ۰٪ TM)، جیره D1 (۷۵٪ پودر ماهی؛ ۲۵٪TM)، جیره D2 (۵۰٪ پودر ماهی؛۵۰٪TM)، جیره D3 (۲۵٪ پودرماهی؛ ۷۵٪ TM) و جیره D4 (۰٪ پودر ماهی؛۱۰۰٪ TM) مورد مطالعه قرار گرفت. برای جیره‌نویسی از نرم افزار WUFFDA استفاده شد و فرمولاسیون غذایی مطابق با نیازهای غذایی بچه‌ماهی کپور معمولی صورت گرفت بطوریکه از نظر میزان پروتئین، چربی و انرژی همسان باشند[۳۰]. جهت تهیه جیره‌های آزمایشی ابتدا اقلام غذایی بر اساس جدول ۱ از بازار تهیه شده و بعد از الک کردن و آسیاب نمودن بصورت کاملا 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 بوسیله چرخ گوشت با اندازه چشمه ۲ میلی‌متر پلت شده و برای خشک کردن بمدت 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. برای تهیه پودر لارو سوسک زرد، ابتدا لاروها از مزرعه سپید واقع در شهرستان اراک تهیه شده و بعد از انتقال به آزمایشگاه به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۰°C- نگهداری شدند و سپس به مدت ۲۰ ثانیه در آب جوش قرار گرفتند. بعد از جوشاندن، لاروها در آون در دمای ۱۰۰ °C به مدت ۵ ساعت خشک شدند. پس از خشک شدن، با کمک آسیاب پودر شده و درون کیسه‌های نایلونی بسته بندی و در دمای ۲۰°C- تا زمان استفاده نگهداری شدند. بعد از خشک شدن میزان پروتین، چربی و خاکستر بر اساس روش AOAC به ترتیب ۵۵، ۲۵ و ۶ ٪ ارزیابی گردید [۳۱].

جدول ۱. اجزا و ترکیب تقریبی جیره‌های آزمایشی جهت تغذیه بچه ماهی کپور گلگون *(C.rubrofuscus)*

اجزای جیره (گرم در کیلوگرم غذا)	شاهد	D2	D3	D4	D5
پودر ماهی	۱۰۰	۷۵	۵۰	۲۵	۰
پودر TM[۱]	۰	۲۵	۵۰	۷۵	۱۰۰
کنجاله سویا (آکوپرو)[۲]	۳۸۰	۳۹۰	۳۹۰	۴۰۵	۴۲۰
گلوتن ذرت	۸۰	۸۰	۹۰	۹۰	۹۰
آرد گندم	۳۵۰	۳۵۰	۳۴۵	۳۳۰	۳۱۵
روغن سویا	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰
روغن ماهی	۳۵	۳۵	۳۵	۳۵	۳۵
مکمل معدنی[۳]	۲/۵	۲/۵	۲/۵	۲/۵	۲/۵
مکمل ویتامینی[۴]	۵	۵	۵	۵	۵
آنتی اکسیدان	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲

اجزای جیره (گرم در کیلوگرم غذا)	شاهد	D2	D3	D4	D5
متیونین	۱/۵	۱/۵	۱/۵	۱/۵	۱/۵
ویتامین C	۲	۲	۲	۲	۲
توکسین بایندر	۵	۵	۵	۵	۵
کولین کلراید	۲	۲	۲	۲	۲
پرکننده	۱۶/۸	۶/۸	۱/۸	۱/۸	۱/۸
ترکیب تقریبی جیره‌های آزمایشی (٪)					
رطوبت	۶/۵۰	۶/۴۵	۶/۹۱	۶/۸۳	۷/۰۰
پروتئین کل	۳۵/۶۸	۳۵/۷۲	۳۵/۴۷	۳۵/۵۱	۳۵/۴۴
چربی کل	۷/۹۳	۷/۴۵	۷/۶۱	۷/۵۵	۷/۳۱
خاکستر	۶/۰۲	۵/۹۱	۵/۸۷	۵/۷۳	۵/۶۸
کربوهیدرات	۴۳/۸۷	۴۴/۴۷	۴۴/۱۴	۴۴/۳۸	۴۴/۵۷
انرژی ناخالص (kcal/g)[۵]	۴/۵۵	۴/۵۳	۴/۵۲	۴/۵۳	۴/۵۲

۱- پودر TM: حاوی ۵۵٪ پروتئین، ۲۵٪ چربی و ۶٪ خاکستر.

۲- آکوپرو (تولید شده در شرکت یسنا مهر): سویای فرآوری شده. میزان پروتئین ۵۱٪، انرژی قابل متابولیسم ۲۸۷۰ kcal/kg، رطوبت ۱۲٪، خاکستر ۷٪، چربی ۲/۸٪، فیبر خام ۴٪، نشاسته ۵٪ و قند ۹٪ است.

۳- مکمل معدنی (میلی‌گرم/کیلوگرم) : حاوی کبالت (۳۴۵ میلی گرم)، سلنیوم (۱۷۲ میلی گرم)، آهن (۲۲۰۰۰ میلی گرم)، منگنز (۱۸۰۰۰ میلی گرم)، ید (۲۰۸۰ میلی گرم)، روی (۳۵۲۰۰ میلی گرم)، مس (۲۴۰۰ میلی گرم) میباشد.

۴- مکمل ویتامینی (میلی گرم/کیلوگرم): ویتامین A (۶۷۸۰ میلی‌گرم)، ویتامین D (۸۴۸ میلی گرم)، ویتامین E (۱۶۰۰ میلی گرم)، ویتامین K (۱۲۰۰میلی گرم)، ویتامین C (۷۰۰۰۰میلی‌گرم)، تیامین (۴۰۰۰میلی گرم)، ریبوفلاوین (۴۰۰۰ میلی گرم)، پیرودوکسین (۳۶۰۰ میلی گرم)، سیانوکوبالامین(۱۶ میلی گرم) اینوزیتول (۱۶۰۰۰۰میلی‌گرم)، پانتوتنیک اسید (۱۸۰۰۰ میلی‌گرم)، فولیک اسید (۳۲۰۰ میلی‌گرم)، بیوتین (۴۰۰ میلی‌گرم)، - نیاسین (۳۰۰۰۰ میلی‌گرم)،

۵- 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 حاصلضرب مقدار انرژی موجود در هر گرم پروتئین (kcal ۵/۶۵)، چربی(kcal ۹/۴۵) و کربوهیدرات (kcal ۴/۱۱) تعیین گردید [۳۰].

کارایی رشد

در انتهای دوره آزمایش ماهیان جهت تعیین کارایی رشد، ابتدا به‌مدت ۴۸ ساعت قبل از نمونه‌برداری قطع غذا شده و بعد از بیهوشی با عصاره گل میخک با استفاده از سوزن قطع نخاع گردیدند [۳۲]. سپس شاخص‌های افزایش وزن بدن WG (Weight Growth) ، نرخ رشد ویژه SGR (Specific Growth Rate)، شاخص وضعیت CF (Condition Factor)، ضریب تبدیل غذایی FCR (Feed Conversion Ratio)، نرخ بقاء SR (Survival Rate)، کارایی مصرف پروتئین PER (Protein efficiency ratio) و کارایی مصرف چربی LER (Lipid efficiency ratio) با استفاده از روابط زیر محاسبه شد که در آنها Wo وزن اولیه (گرم)، Wt وزن نهـایی (گـرم)، t تعـداد روزهای پرورش، BW وزن نهایی بدن (گرم)، TL طول کل (سانتیمتر)، Nb (تعداد ماهیان در شروع دوره آزمایش) و Nt (تعداد ماهیان در انتهای دوره آزمایش) است [۳۳].

- افزایش وزن بدن: $WG = Wt - Wo$
- نرخ رشد ویژه: $SGR = [(LnWt - LnWo) / t] \times 100$
- شاخص وضعیت: $CF = [(BW/ TL^3)] \times 100$

- ضریب تبدیل غذایی: $FCR = Feed\ intake\ /\ WG$
- نرخ بقاء : $SR = (Nt / Nb) \times 100$
- کارایی مصرف پروتئین $PER = WG / total\ amount\ of\ protein\ ingested$
- کارایی مصرف چربی $LER = WG / total\ amount\ of\ lipid\ ingested$

تعیین ترکیب شیمیایی جیره غذایی و پودر خشک شده لارو سوسک زرد

برای تعیین ترکیب شیمیایی از روش AOAC [۳۱] استفاده گردید. میزان رطوبت بر اساس اختلاف وزن حاصل از قرار دادن نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در آون با دمای ۱۰۵°C به‌دست آمد. میزان پروتئین خام از روش کجلدال، 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 اندازه گیری گردید.

تهیه عصاره آنزیمی، سنجش فعالیت آنزیم و پروتئین محلول

ابتدا کالبد شکافی ماهیان جهت جداسازی روده در حضور یخ انجام شد. بعد از جداسازی، نمونه‌ها توزین شده و با بافر ۵۰ میلی مولار تریس-HCl، pH = ۸/۰ (حاوی۱۰میلی مولار $CaCl_2$ و ۰/۵ مولار NaCl) با نسبت ۱ به ۱۰ مخلوط شده و با استفاده از هموژنایزر (مدل Hand Held WT130) همگن سازی در حضور یخ به مدت ۱ دقیقه در ۱۱۰۰۰rpm انجام شد. سپس مخلوط حاصله برای ۳۰ دقیقه در دمای ۴°C در ۱۰۰۰۰rpm سانتریفیوژ گردید و محلول رویی به‌عنوان عصاره آنزیمی جهت سنجش فعالیت آنزیم انتخاب گردید [۳۴]. برای سنجش فعالیت آنزیم پروتئاز قلیایی از کازئین ۱٪ به عنوان سوبسترا استفاده شد و میزان جذب در طول موج۲۸۰ نانومتر قرائت شد [۳۵]. فعالیت آنزیم تریپسین با استفاده از سوبسترای BAPNA (Nα-Benzoyl-DL-arginine p-nitroanilide hydrochloride) سنجش گردید و جذب پارا نیتروآنیلید رهاسازی شده در طول موج ۴۱۰ نانومتر قرائت گردید[۳۶]. در تمام سنجش‌ها برای نمونه شاهد از آب مقطر به‌جای نمونه آنزیمی استفاده گردید و قرائت نوری نمونه‌ها با کمک دستگاه اسپکتروفوتومتر (UV/VS UltroSpec2000, Pharmacia Biotech, USA) انجام شد. جهت تعیین فعالیت اختصاصی آنزیم‌های مورد مطالعه، میزان پروتئین محلول در روده با روشLowry و همکاران [۳۷] سنجش گردید. در این روش از آلبومین سرم گاوی با غلظت ۱ mg / ml بعنوان استاندارد استفاده گردید.

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

نتایج

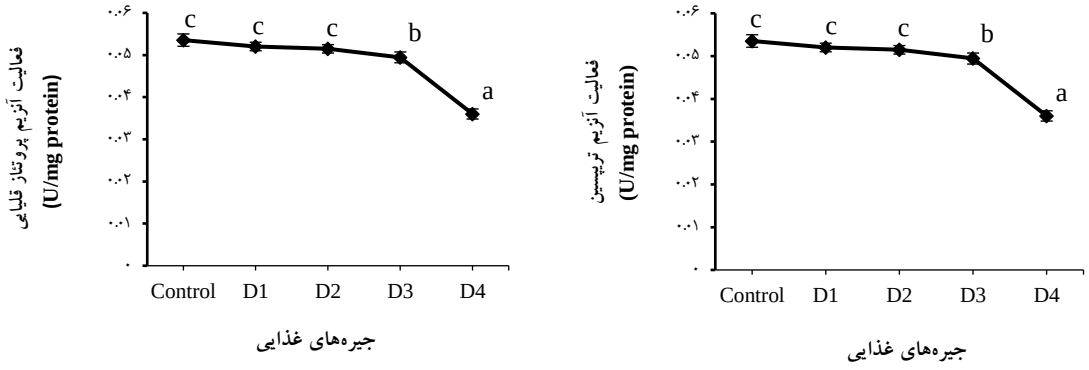
نتایج مربوط به شاخص‌های رشد بچه ماهیان کپور گلگون تغذیه شده با پودر TM در جدول ۲ نشان داده شده است. تاثیر جایگزینی پودر ماهی توسط پودر TM بر مقادیر وزن نهایی و افزایش وزن بدن نشان داد بیش‌ترین و کم‌ترین مقادیر آن‌ها به ترتیب مربوط به جیره شاهد و جیره D4 بود که جیره شاهد نسبت به جیره‌های D3 و D4 افزایش معنی‌داری داشت ($P<0.05$)؛ در حالیکه با سایر جیره‌ها این اختلاف معنی‌دار نبود ($P>0.05$). همچنین با افزایش درصد جایگزینی تا ۵۰٪ مقادیر شاخص نرخ رشد ویژه و شاخص وضعیت در جیره‌های شاهد، D1 و D2 اختلاف معنی‌داری نداشتند ($P>0.05$)؛ در حالیکه با افزایش جایگزینی تا سطوح ۷۵ ٪ (جیره D3) و ۱۰۰ ٪ (جیره D4) کاهش معنی‌داری در میزان آنها مشاهده شد ($P<0.05$). با افزایش درصد جایگزینی پودر ماهی با پودر TM ضریب تبدیل غذایی افزایش یافت؛ بطوریکه کمترین میزان آن در جیره غذایی شاهد و بیشترین آن در جیره غذایی D4 مشاهده گردید. میزان این شاخص در جیره‌های غذایی شاهد و D1 اختلاف

معنی‌داری را نشان نداد (P>0.05). میزان نرخ بقاء در ماهیان تحت آزمایش با افزایش جایگزینی پودر TM اختلاف معنی‌داری را در مقایسه با جیره شاهد نشان نداد (P>0.05). مقادیر کارایی مصرف چربی و کارایی مصرف پروتئین با افزایش سطوح جایگزینی TM کاهش یافت بطوریکه در جیره‌های غذایی شاهد، D1 و D2 اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید (P>0.05) در حالیکه در سطوح جایگزینی بالاتر (جیره‌های غذایی D3 و D4) اختلاف معنی‌دار مشاهده شد (P<0.05). نتایج بررسی فعالیت آنزیم‌های پروتئازی در روده بچه ماهی کپور گلگون تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی در شکل۱ نشان داده شده است. بالاترین میزان فعالیت آنزیم پروتئاز قلیایی در روده ماهیان تغذیه شده با جیره شاهد مشاهده شد که با جیره‌های D1 و D2 اختلاف معنی‌داری نداشت (P>0.05)ولی با جیره‌های D3 و D4 تفاوت معنی‌دار بود (P<0.05). فعالیت آنزیم تریپسین نیز نشان داد بیش‌ترین میزان آن در روده ماهیان تغذیه شده با جیره غذایی شاهد بود؛ بطوریکه با جیره‌های D1 و D2 اختلاف معنی‌دار نبود (P>0.05) ولی با جیره‌های D3 و D4 اختلاف معنی‌داری را نشان داد (P<0.05).

جدول ۲. شاخص‌های رشد بچه ماهی کپور گلگون *(C.rubrofuscus)* تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی

جیره غذایی / شاخص‌های رشد	شاهد	D1	D2	D3	D4
وزن اولیه ماهی (گرم)	۰/۹۵± ۰/۱۵	۰/۹۵± ۰/۱۵	۰/۹۵± ۰/۱۵	۰/۹۵± ۰/۱۵	۰/۹۵± ۰/۱۵
وزن نهایی ماهی (گرم)	۳/۴۸±۰/۵۴^{c}	۳/۲۱±۰/۵۷^{c}	۳/۰۵±۰/۴۸^{bc}	۲/۸۲±۰/۳۶^{b}	۲/۰۱ ±۰/۳۲^{a}
افزایش وزن بدن (گرم)	۲/۵۳±۰/۳۴^{c}	۲/۲۶±۰/۳۷^{c}	۲/۱۰±۰/۴۸^{bc}	۱/۸۷±۰/۲۹^{b}	۱/۰۶±۰/۲۲^{a}
نرخ رشد ویژه	۲/۷۱±۰/۷۸^{c}	۲/۵۳±۰/۸۴^{c}	۲/۴۳±۰/۶۵^{bc}	۲/۲۶±۰/۵۹^{b}	۱/۵۶±۰/۷۳^{a}
شاخص وضعیت	۱/۰۹±۰/۲۱^{c}	۱/۰۵±۰/۲۴^{c}	۰/۹۹±۰/۱۱^{c}	۰/۹۱±۰/۰۹^{b}	۰/۸۹±۰/۱۸^{a}
ضریب تبدیل غذایی	۱/۹۱±۰/۳۷^{a}	۱/۹۸±۰/۴۳^{a}	۲/۱۱±۰/۳۱^{b}	۲/۳۳±۰/۶۶^{b}	۲/۴۶±۰/۷۷^{c}
نرخ بقاء	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
نسبت کارایی چربی	۶/۶۱±۱/۰۸^{b}	۶/۷۷±۱/۱۲^{b}	۶/۲۲±۱/۱۱^{b}	۵/۶۸±۰/۹۸^{a}	۵/۵۶±۰/۹۱^{a}
نسبت کارایی پروتئین	۱/۴۶±۰/۴۸^{b}	۱/۴۱±۰/۵۱^{b}	۱/۳۳±۰/۴۱^{b}	۱/۲۰±۰/۴۶^{a}	۱/۱۴±۰/۳۳^{a}

حروف کوچک غیر مشترک در هر ردیف بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد. (α = ۰/۰۵ ،n = ۳ ،Mn ± SD)



شکل۱. فعالیت آنزیم‌های پروتئاز قلیایی و تریپسین از روده بچه ماهی کپور گلگون *(C.rubrofuscus)* تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی. حروف کوچک غیر مشترک بیانگر اختلاف معنی‌دار در فعالیت آنزیم می‌باشد (میانگین۳ تکرار± انحراف معیار؛ P<0.05).

بحث

استفاده از حشرات در تغذیه ماهیان یک ایده پذیرفته شده است، اما لازم است اطلاعات بیشتری در مورد خواص تغذیه‌ای منبع حشره برای استفاده واقعی آنها در آبزیان کسب شود. نتایج این مطالعه نشان داد جایگزینی پودر ماهی با پودر TM تا سطح ۵۰ درصد تأثیر منفی بر عملکرد رشد بچه ماهی کپور گلگون نداشت در حالیکه استفاده از سطوح بالاتر پودر TM موجب کاهش عملکرد رشد و ضریب تبدیل غذایی در بچه ماهیان مورد آزمایش گردید. نتایج تحقیق حاضر با نتایج مطالعاتی که نشان می‌دهند سطوح بالای پودر حشرات موجب کاهش عملکرد رشد ماهی می‌شوند همخوانی دارد[۵،۲۴،۳۸]. درمطالعه Ng و همکاران [۲۰] استفاده از جیره‌های حاوی سطوح بالای سوسک زرد (۸۰ درصد 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 گردید. تغذیه ماهی شانک (*Sparus aurata*) با استفاده از سطوح بالاتر از ۵۰٪ TM در جیره غذایی، تأثیر منفی بر قابلیت هضم مواد مغذی و مصرف خوراک داشت ولی در سطح ۲۵٪ تاثیر منفی بر شاخص‌های رشد مشاهده نشد [۲۴]. نتایج دیگر مطالعه نشان داد جایگزینی پودر TM در سطح ۵۰٪ در جیره غذایی ماهی سی‌بس (*Dicentrarchuss labrax*)، باعث کاهش عملکرد رشد مانند نرخ رشد ویژه و شاخص وضعیت و افزایش ضریب تبدیل غذایی گردید [۳۸]؛ در حالیکه جایگزینی در سطح ۳۰٪ تاثیر منفی بر شاخص‌های رشد نداشت هر چند که باعث افزایش میزان ضریب تبدیل غذایی و کاهش نرخ رشد ویژه گردید [۳۹]. همچنین مطالعه Sankian و همکاران [۵] در استفاده از پودر TM در تغذیه ماهی ماندارین (*Siniperca scherzeri*) نشان داد در سطوح پائین (تا ۲۰٪) باعث بهبود عملکرد رشد ماهیان تحت آزمایش گردید. با این حال برخلاف نتایج مطالعه حاضر، جایگزینی۱۰۰٪ پودر ماهی با پودر مگس سیاه (*Hermetia illucens*) هیچ گونه تأثیری منفی بر عملکرد رشد ماهی کپور جیان (*Cyprinus carpio* var. Jian) نداشت [۴۰]. به طور کلی، نتایج مطالعات نشان می‌دهد استفاده از سطوح بالای پودر حشرات (بالاتر از ۳۵ درصد) تاثیر منفی بر کارآیی مصرف غذا و پروتئین داشته و از این طریق باعث کاهش شاخص‌های رشد می‌شود. البته میتوان به عوامل دیگر مانند اندازه ماهی، نیاز تغذیه‌ای گونه ماهی، و شرایط پرورش و تغذیه حشره مورد استفاده نیز اشاره نمود. یکی از دلایل اصلی پائین بودن قابلیت هضم پودر حشرات وجود کیتین بوده که در روده تجزیه نمی‌شود و می‌تواند بر میزان هضم پذیری پروتئین تاثیر بگذارد [۱۲،۵]. در مقایسه با پودر ماهی، کمبود میزان لیزین و تریپتوفان در پودر حشرات نیز مشهود است و میزان اسید آمینه‌های ترئونین و گوگرد نیز محدود است [۴۱]. یکی از دلایل افزایش رشد در ماهیانی که با سطوح پائین TM تغذیه شده‌اند، می‌تواند به بهبود کارایی استفاده از مواد مغذی توسط ماهی نسبت داده شود که احتمالاً به دلیل وجود مواد کیتینی در غذا است [۵]. به طور کلی TM حاوی مقدار زیادی مواد کیتنی است که در مقادیر مناسب می‌تواند میکروبیوتای دستگاه گوارش را تعدیل کرده و بعنوان پربیوتیک عمل کرده و باعث بهبود کارایی رشد شود [۴۲]. از طرف دیگر، کاهش میزان رشد در ماهیانی که از سطوح بالاتر پودر حشرات استفاده می‌کنند با عوامل متعددی از جمله افزایش میزان پلی ساکاریدهای غیر نشاسته‌ای (NSP) مانند کیتین، قابلیت هضم پائین مواد مغذی، ترکیب اسید آمینه نامتوازن و میزان کم اسیدهای چرب غیر اشباع در ارتباط است [۲۳]. همچنین، بنظر می‌رسد این نتایج متناقض می‌تواند به دلیل متفاوت بودن گونه ماهی، وزن ماهی مورد آزمایش، ارزش غذایی گونه حشره مورد استفاده، نحوه تغذیه حشرات و روش فرآوری حشره باشد. بعنوان مثال چربی‌زدایی پودر حشرات سبب تغییر قابل توجهی در میزان اسیدهای چرب آن نسبت به پودر ماهی می‌شود [۱۷].

فعالیت آنزیم‌های گوارشی به ویژه پروتئازها می‌تواند تأثیر بالقوه‌ای بر مصرف غذا و عملکرد رشد داشته باشد. در مطالعه حاضر، اختلاف معنی‌داری در میزان فعالیت آنزیم‌های پروتئاز قلیایی و تریپسین بین بچه‌ماهیان تغذیه شده با جیره‌های غذایی شاهد، D1 و D2 مشاهده نشد ولی در سطوح بالاتر (جیره غذایی D3 و D4) کاهش معنی‌داری در میزان فعالیت این آنزیم‌ها مشاهده گردید ($P<0.05$). این نتایج به طور غیر مستقیم نشان می‌دهد جیره‌های غذایی حاوی سطوح بالاتر پودر TM ممکن است بر توانایی استفاده از خوراک ماهی تأثیرگذار باشد که مطابق با عملکرد رشد در این مطالعه بود. مطالعات در زمینه تاثیر استفاده از پودر حشرات در جیره غذایی ماهیان بر میزان فعالیت آنزیم‌های گوارشی اندک است. مطالعه Li و همکاران[۴۰] نشان داد جایگزینی پودر ماهی با پودر مگس سیاه (*H.illucens*) در سطوح ۰ تا ۱۰۰٪ در جیره غذایی ماهی کپور جیان

(*C. carpio* var. Jian) تاثیر معنی‌داری بر میزان فعالیت آنزیم تریپسین نداشت که با شاخص‌های رشد مطابقت داشت. Belghit و همکاران [۴۳] نیز گزارش کردند جایگزینی پودر ماهی تا ۸۵٪ با پودر لارو مگس سیاه در غذای ماهی آزاد اقیانوس اطلس (*Salmo salar*) تاثیر معنی‌داری بر میزان فعالیت آنزیم ترپیسین نداشت در حالیکه باعث کاهش فعالیت آنزیم لوسین آمینوپپتیداز گردید که علت آن‌را به میزان کیتین موجود در پودر حشره نسبت دادند که باعث تداخل در عملکرد روده می‌شود. وجود کیتین در حشرات باعث کاهش زمان انتقال غذا در روده و جلوگیری از تجزیه آنزیمی پروتئین‌ها گردیده و موجب کاهش قابلیت هضم پروتئین می‌گردد. از سوی دیگر، حضور پروتئازها در پودر لارو حشراتی مانند TMمی‌تواند به طور غیرمستقیم فعالیت گوارشی را نسبت به کیتین حشرات کاهش دهد [۴۳].

نتیجه‌گیری کلی

بطورکلی نتایج این مطالعه نشان داد استفاده از پودر TM بجای پودر ماهی تا سطح ۵۰٪، تاثیر سوء بر عملکرد رشد و فعالیت آنزیم‌های پروتئازی بچه ماهی کپور گلگون نداشت. درحالیکه سطوح جایگزینی بالاتر از ۵۰٪ عملکرد رشد و فعالیت آنزیم‌های پروتئازی را در مقایسه با گروه شاهد بطور معنی‌داری کاهش داده بود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از مجموعه کارکنان آزمایشگاه مرکزی و آزمایشگاه شیلات دانشگاه ملایر جهت همکاری در انجام مطالعه حاضر قدردانی می‌نمایند.

تأییدیه اخلاقی: موردی توسط نویسندگان گزارش نشده است.

تعارض منافع: موردی توسط نویسندگان گزارش نشده است.

منابع مالی: موردی توسط نویسندگان گزارش نشده است.

منابع

1. Terova G, Gini E, Gasco L, Moroni F, Antonini M, Rimoldi S. 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. 2021;12(1):1-4.

2. Naylor RL, Hardy RW, Bureau DP, Chiu A, Elliott M, Farrell AP, Forster I, Gatlin DM, Goldburg RJ, Hua K, Nichols PD. Feeding aquaculture in an era of finite resources. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2009;106(36):15103-10.

3. Van Huis A. Potential of insects as food and feed in assuring food security. Annual Review of Entomology. 2013;58:563-583.

4. Barroso FG, de Haro C, Sánchez-Muros MJ, Venegas E, Martínez-Sánchez A, Pérez-Bañón C. The potential of various insect species for use as food for fish. Aquaculture. 2014;422:193-201.

5. Sankian Z, Khosravi S, Kim YO, Lee SM. 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. 2018;496:79-87.

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

7. Howe ER, Simenstad CA, Toft JD, Cordell JR, Bollens SM. 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. 2014;12(1).

8. Gahukar, R.T. Edible Insects farming: efficiency and impact on family livelihood, food security, and environment compared with livestock and crops. In: Dossey, A.T., Morales-Ramos, J.A., Rojas,

M.G. (Eds.), Insects as Sustainable Food Ingredients: Production, Processing and Food Applications. Academic Press, San Diego, CA, USA. 2016; 85–111.
9. van Huis A, Oonincx DG. The environmental sustainability of insects as food and feed. A review. Agronomy for Sustainable Development. 2017;37(5):1-4.
10. Biancarosa I, Sele V, Belghit I, Ørnsrud R, Lock EJ, Amlund H. Replacing fish meal with insect meal in the diet of Atlantic salmon (*Salmo salar*) does not impact the amount of contaminants in the feed and it lowers accumulation of arsenic in the fillet. Food Additives & Contaminants: Part A. 2019;36(8):1191-1205.
11. Biasato I, Gasco L, De Marco M, Renna M, Rotolo L, Dabbou S, Capucchio MT, Biasibetti E, Tarantola M, Bianchi C, Cavallarin L. 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. 2017;234:253-263.
12. Schiavone A, Dabbou S, De Marco M, Cullere M, Biasato I, Biasibetti E, Capucchio MT, Bergagna S, Dezzutto D, Meneguz M, Gai F. Black soldier fly larva fat inclusion in finisher broiler chicken diet as an alternative fat source. Animal. 2018;12(10):2032-2039.
13. Nogales-Mérida S, Gobbi P, Józefiak D, Mazurkiewicz J, Dudek K, Rawski M, Kierończyk B, Józefiak A. Insect meals in fish nutrition. Reviews in Aquaculture. 2019;11(4):1080-1103.
14. Wilson RP. Amino acids and proteins. In: Halver JE, Hardy RW(eds) Fish Nutrition. Academic Press, San Diego, CA. 2002; 144-175.
15. Zhao W, Lu L, Tang Y. Research and application progress of insect antimicrobial peptides on food industry. International Journal of Food Engineering. 2010;6(6).
16. Ravi C, Jeyashree A, Devi KR. Antimicrobial peptides from insects: an overview. Research in Biotechnology. 2011;2(5):1-7.
17. Barroso FG, Sánchez-Muros MJ, Rincón MÁ, Rodriguez-Rodriguez M, Fabrikov D, Morote E, Guil-Guerrero JL. Production of n-3-rich insects by bioaccumulation of fishery waste. Journal of Food Composition and Analysis. 2019;82:103237.
18. Magalhães R, Sánchez-López A, Leal RS, Martínez-Llorens S, Oliva-Teles A, Peres H. Black soldier fly (*Hermetia illucens*) pre-pupae meal as a fish meal replacement in diets for European seabass (*Dicentrarchus labrax*). Aquaculture. 2017;476:79-85.
19. Williams, J.P; Williams, J.R; Kirabo, A.; Chester, D.; Peterson, M. Nutrient Content and Health Benefits of Insects. In Insects as Sustainable Food Ingredients; Elsevier BV: Amsterdam, The Netherlands, 2016; 61–84.
20. Ng WK, Liew FL, Ang LP, Wong KW. Potential of mealworm (*Tenebrio molitor*) as an alternative protein source in practical diets for African catfish, Clarias gariepinus. Aquaculture Research. 2001;32:273-280.
21. Belforti M, Gai F, Lussiana C, Renna M, Malfatto V, Rotolo L, De Marco M, Dabbou S, Schiavone A, Zoccarato I, Gasco L. *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. 2015;14(4):4170.
22. Sánchez-Muros M, De Haro C, Sanz A, Trenzado CE, Villareces S, Barroso FG. Nutritional evaluation of *Tenebrio molitor* meal as fishmeal substitute for tilapia (*Oreochromis niloticus*) diet. Aquaculture Nutrition. 2016;22(5):943-55.
23. Gasco L, Henry M, Piccolo G, Marono S, Gai F, Renna M, Lussiana C, Antonopoulou E, Mola P, Chatzifotis S. *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. 2016;220:34-45.

24. Piccolo G, Iaconisi V, Marono S, Gasco L, Loponte R, Nizza S, Bovera F, Parisi G. 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. 2017;226:12-20.
25. Iaconisi V, Marono S, Parisi G, Gasco L, Genovese L, Maricchiolo G, Bovera F, Piccolo G. Dietary inclusion of *Tenebrio molitor* larvae meal: Effects on growth performance and final quality treats of blackspot sea bream (*Pagellus bogaraveo*). Aquaculture. 2017;476:49-58.
26. Su J, Gong Y, Cao S, Lu F, Han D, Liu H, Jin J, Yang Y, Zhu X, Xie S. Effects of dietary *Tenebrio molitor* meal on the growth performance, immune response and disease resistance of yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*). Fish & Shellfish Immunology. 2017;69:59-66.
27. Yesilayer N, Oz M, Karsli Z, Aral O, Karaçuha A, Oz U. Growth performance and feed utilization of koi carp (*Cyprinus carpio* L., 1758) fed partial or total replacement of fish meal with hazelnut meal and soybean meal. Journal of Animal and Veterinary Advances. 2011; 10(15): 1956 - 1961
28. Haniffa MA, Benziger PA, Arockiaraj AJ, Nagarajan M, Siby P. Breeding behaviour and embryonic development of koi carp (*Cyprinus carpio*). Taiwania. 2007;52(1):93-99.
29. Mooraki N, Dadgar SH, Naderi MS. Effect of *Petroselinum sativum* on growth performance and survival of koi carp (*Cyprinus carpio* va Koi). Journal of Aquaculture Development. 2013; 8 (2):63-72. (in Persia)
30. NRC (National Research Council). Nutrient Requirements of Fish. National Academy Press, Washington DC, USA. 2011.
31. AOAC. Official Method 950.89 Horwitz, W., Latimer, G. (Eds). Official Methods of Analysis of AOAC International, 18th Edition, Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg, USA. 2005.
32. Zamani A, Khajavi M. Assessment of growth performance and proteolytic enzymes activity of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fry fed by different levels of single cell protein. Iranian Scientific Fisheries Journal. 2019; 28 (4) :103-115 (in Persia).
33. Hamza N, Mhetli M, Khemis IB, Cahu C, Kestemont P. Effect of dietary phospholipid levels on performance, enzyme activities and fatty acid composition of pikeperch (*Sander lucioperca*) larvae. Aquaculture. 2008;275(1-4):274-82.
34. Nayak J, Viswanathan Nair PG, Ammu K, Mathew S. 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. 2003;83(11):1139-42.
35. Walter HE. Proteinases: methods with hemoglobin, casein and azocoll as substrates. In: Bergmeyer, H.U. Ed. Methods of Enzymatic Analysis, vol. V. Verlag Chemie, Weinheim. 1984; 270–277.
36. Erlanger B, Kokowsky N, Cohen W. The preparation and properties of two new chromogenic substrates of trypsin. Archive Biochemistry Biophysics. 1961; 95: 271-278.
37. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. Journal of Biological Chemistry. 1951;193(1): 265-275.
38. Reyes M, Rodríguez M, Montes J, Barroso FG, Fabrikov D, Morote E, Sánchez-Muros MJ. Nutritional and growth effect of insect meal inclusion on seabass (*Dicentrarchuss labrax*) feeds. Fishes. 2020;5(2):16.
39. Mastoraki M, Ferrándiz PM, Vardali SC, Kontodimas DC, Kotzamanis YP, Gasco L, Chatzifotis S, Antonopoulou E. 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. 2020;528:735511.
40. Li S, Ji H, Zhang B, Zhou J, Yu H. 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. 2017; 477:62-70.
41. Sánchez-Muros MJ, Barroso FG, Manzano-Agugliaro F. Insect meal as renewable source of food for animal feeding: a review. Journal of Cleaner Production. 2014;65:16-27.
42. Marono S, Piccolo G, Loponte R, Di Meo C, Attia YA, Nizza A, Bovera F. 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. 2015; 14(3):3889.
43. Belghit I, Liland NS, Waagbø R, Biancarosa I, Pelusio N, Li Y, Krogdahl A, Lock EJ. Potential of insect-based diets for Atlantic salmon (*Salmo salar*). Aquaculture. 2018;491:72-81.

Journal of Fisheries Science and Technology
Volume10, Issue 4, Autumn 2021
Pages: 410-422

Effects of dietary inclusion of yellow mealworm (*Tenebrio molitor*) meal on growth performance and proteolytic enzymes activity of koi carp (*Cyprinus rubrofuscus*) juvenile

Abbas Zamani [1*], Mohammad Goli [1]

1- Fisheries Department, Faculty of Natural Resources and Environment, Malayer University, Malayer, Hamedan, Iran

A B S T R A C T

The present study was conducted to evaluate the effect of fish meal replacement with yellow meal worm (*Tenebrio molitor*) (TM) on growth performance and proteolytic enzymes activity of trypsin and alkaline protease in koi (*Cyprinus rubrofuscus*) juvenile (weight: 0.95 ± 0.15 g) for 8 weeks. Five experimental diets were prepared with replacement levels of 0 (control), with 25% (D1), 50% (D2), 75% (D3) and 100% (D4) of fish meal with TM as isonitrogenous and isoenergetic in triplicate. Parameters of body weight gain, specific growth rate and condition factor in control, D1 and D2 diets were not shown a significant difference, while these indices had a decreased amount in D3 and D4 diets significantly ($p < 0.05$). The highest amount of feed conversion ratio was indicated in control and D1 diets with a significant difference than those from other treatments ($p < 0.05$). The survival rate was 100 % in the diets. The lipid efficiency ratio and the protein efficiency ratio in diets control, D1 and D2 were significantly the higher than other treatments ($p < 0.05$). The highest activity of trypsin and alkaline protease enzymes from intestine was observed in control, D1 and D2 groups which showed a significant difference compared to D3 and D4 groups ($p < 0.05$). The findings of growth performance and protease enzymes activity were revealed that the diets containing up to 50% TM could be appropriate for koi growth.

KEYWORDS: Fish meal, Protease, Growth performance, Koi carp, *Tenebrio molitor*

ARTICLE TYPE

Original Research

ARTICLE HISTORY

Received: 21 April 2021
Accepted: 11 December 2021
ePublished: 21 December 2021

* Corresponding Author:
Email address: a.zamani@malayeru.ac.ir
Tel: +(98) 8132355330
© Published by Tarbiat Modares University
eISSN:2476-6887 pISSN:2322-5513