مقاله علمی – پژوهشی:

تأثیر جایگزینی آرد ماهی با پودر شفیره کرم ابریشم (*Bombyx mori*) در جیره غذایی بر شاخص‌های رشد، فراسنجه‌های خونی و شاخص‌های بیوشیمیایی بچه فیل‌ماهی (*Huso huso*)

طاهره باقری*[۱و۲]، رقیه صفری*[۳]، محمود بهمنی[٤]، محمود حافظیه[٤]، عیسی شریف‌پور[٤]، عباسعلی آقایی‌مقدم[۱]، طاهر پورصوفی[۱]، اسمعیل پقه[۱]، سید امین میرهاشمی رستمی[۱]، ذبیح‌اله پژند[٥]، رضا صفری عیسی خندقی[٦]، متین شکوری[٦]، سیدرضا خالقی[۳]، عبدالسلام حاتمی[۳]، حبیب‌اله سنچولی[۳]، رضا صورتی زنجانی[۷]، رحیم عبدالهی مصباح[۷]

*bagheri1360@gmail.com; fisheriessafari@yahoo.com

۱- مرکز تحقیقات ذخایر آبزیان آبهای داخلی، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، ترویج و آموزش کشاورزی، گرگان، ایران

۲- مرکز تحقیقات شیلاتی آبهای دور، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، چابهار، ایران

۳- گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده علوم شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

٤- مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

٥- انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران

٦-پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ساری، ایران

۷- مرکز تحقیقات ابریشم کشور، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، گیلان، ایران

تاریخ دریافت: مرداد ۱٤۰۳ تاریخ پذیرش: مهر ۱٤۰۳

چکیده

به منظور استفاده از منابع پروتئینی جدید، پایدار و سودمند در جیره غذایی، آزمایشی بر بچه فیل ماهیان پرورشی با میانگین وزن ۰/۲±۵ گرم (انحراف استاندارد±میانگین) به مدت ۶۰ روز اجرا شد. فیل ماهیان با جیره‌های غذایی آزمایشی که در آن شفیره کرم ابریشم به عنوان منبع پروتئینی، به میزان ۵، ۱۰ و ۱۵ درصد جایگزین آرد ماهی در جیره غذایی، تغذیه شدند. جیره‌های غذایی مورد استفاده شامل سطوح ۰ درصد (T0)، ۵ درصد (T5)، ۱۰ درصد (T10) و ۱۵ درصد (T15) شفیره کرم ابریشم به جای آرد ماهی بود. داده‌های به‌دست آمده از شاخص‌های رشد و تولید نشان داد که میزان افزایش وزن در تیمارهای پودر شفیره کرم ابریشم بیشتر بوده است و افزایش معنی‌دار در تیمار(T15) نشان داده شد (p<۰/۰۵). همچنین شاخص وضعیت و میزان رشد ویژه مقدار بیشتری را نسبت به تیمار شاهد نشان دادند.،اگرچه این افزایش معنی‌دار نبود (p<۰/۰۵). ضریب تبدیل غذایی تفاوت معنی‌داری را با تیمار شاهد نشان داد و بهترین نتیجه در (T15) به‌دست آمد که بر کیفیت بهتر پودرشفیره در تبدیل خوراک به گوشت دلالت دارد. سطح آنزیم‌های کبدی در تیمارهای شفیره کرم ابریشم (T5، T10 و T15) میزان کمتری را نسبت به تیمار شاهد نشان دادند که این کاهش سطح در آنزیم آلانین ترانس آمیناز معنی‌دار نبود، اما آنزیم‌های آسپارتات ترانس آمیناز و آلکالین فسفاتاز کاهش معنی‌داری را در (T15) نشان دادند (p<۰/۰۵). همچنین میزان پروتئین کل، ایمونوگلوبولین و لیزوزیم سرم نسبت به تیمار شاهد افزایش معنی‌داری را در (T10) و (T15) نشان دادند (p<۰/۰۵). نتایج خون‌شناسی، درصد هماتوکریت و غلظت هموگلوبین را در (T15) به طور معنی‌داری باللاتر نشان داد، ولی تعداد گلبول‌های سفید در (T5)، (T10) و (T15) کاهش معنی‌داری یافت (p<۰/۰۵)، اگرچه میزان آن در (T10)کمترین سطح بود. نتایج این تحقیق نشان داد که شفیره کرم ابریشم به میزان ۱۵ درصد در جیره غذایی فیل ماهی یک منبع پروتئینی مناسب است و علاوه بر افزایش رشد، شاخص‌های خونی و آنزیم‌های کبدی را بهبود می‌بخشد.

لغات کلیدی: پودر شفیره کرم ابریشم، جایگزینی آرد ماهی، عملکرد رشد، شاخص‌های خونی، فیل ماهی

*نویسنده مسئول

Copyright: © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

مقدمه

گسترش سریع آبزی‌پروری در دهه اخیر مصرف صنایع خوراک دام به‌ویژه آرد ماهی را در مقیاس جهانی افزایش داده است (Tacon, 2020). آرد ماهی به طور سنتی به عنوان بهترین پروتئین جیره غذایی در فرمولاسیون غذای آبزیان استفاده می‌شود (Tacon and Metian, 2008). با این‌حال، امروزه کاهش اتکا به پودرماهی برای توسعه پایدار صنعت آبزی‌پروری یک چالش بزرگ و یک عامل محدودکننده برای رشد پایدار پرورش ماهی شده است (Tacon, 2020). کاهش میزان آرد ماهی یا حتی عدم استفاده از آن در فرمولاسیون جیره غذایی، بدون کاهش عملکرد ماهی، می‌تواند تأثیر مثبت بر سودآوری تولید ماهی تجاری داشته باشد (Mugwanya *et al.*, 2023). پروتئین‌های گیاهی به طور گسترده‌ای به عنوان منبع پروتئین مناسب برای فرمولاسیون غذای آبزیان مورد بررسی قرار گرفته‌اند. اگرچه منابع پروتئین‌های گیاهی مقرون به‌صرفه‌تر از پروتئین حیوانی هستند، اما دارای اشکالات متعددی هستند که از جمله می‌توان به پروفایل اسید آمینه ضروری نامتعادل، عدم خوش طعمی، عوامل ضد تغذیه و رقابت با سایر بخش‌های صنایع خوراکی که نمی‌توان آنها را نادیده گرفت، اشاره نمود (Imanpoor and Bagheri, 2012). این امر متخصصان تغذیه را تشویق نموده است که بر بهبود ارزش تغذیه‌ای پروتئین‌های گیاهی تمرکز کنند و برای سایر جایگزین‌های قوی مواد پروتئین حیوانی مانند محصولات جانبی کشتارگاه و پودر حشرات تحقیق نمایند (Rahimnejad *et al.*, 2019). از دیدگاه تغذیه‌ای، پروتئین‌های حیوانی نسبت به پروتئین‌های گیاهی، تشابه بیشتری به آرد ماهی دارند و می‌توانند به عنوان کاندیدای مناسب‌تری در نظر گرفته شوند (Henry *et al.*, 2015). تا به امروز، طیف گسترده‌ای از پروتئین‌های حیوانی (محصولات جانبی طیور، پودر پر هیدرولیز شده، پودر گوشت و استخوان و پودر خون)، در فرمولاسیون غذای آبزیان استفاده شده است (Zhu *et al.*, 2011).

حشرات به دلیل داشتن محتوای پروتئین با کیفیت و کمیت بالا بدون فشار از بخش غذای انسانی و ردپای محیطی، کمتر به عنوان یک ماده غذایی بالقوه در فرمولاسیون خوراک جانوران شناخته شده‌اند (Alfiko *et al.*, 2022). حشرات را می‌توان با استفاده از ضایعات مواد غذایی ارگانیک رشد داد و این ضایعات را به زیست‌توده غنی از پروتئین و چربی تبدیل کرد. علاوه‌براین، تولید حشرات رویکرد مشکلات زیست‌محیطی مربوط به استفاده مجدد از ضایعات مواد غذایی را کاهش می‌دهد (Hameed *et al.*, 2022). اگرچه مشخصات مواد مغذی پودر حشرات با توجه به گونه، بسترهای مورد استفاده برای پرورش و روش فرآوری آنها، متغیر است، محتوای پروتئین بالا (۸۰-۶۰ درصد) به همراه پروفایل اسید آمینه‌ای نسبتاً متوازنی دارند (Sánchez-Muros *et al.*, 2014). شفیره کرم ابریشم یکی از محصولات جانبی فرایند برداشت ابریشم است که به دلیل ارزش غذایی بالا و ترکیبات زیستی فعال در مناطق تولیدکننده ابریشم به‌ویژه هند، کره و ژاپن مورد توجه قرار دارند. در واقع، پرورش کرم ابریشم یکی از فعالیت‌های تولیدی جنبی کشاورزی است. ویژگی‌هایی نظیر کوتاه بودن دوره پرورش، سرمایه‌گذاری اندک و درآمدزایی مناسب برای روستاییان به‌خصوص در اوقات فراغت آنها، به آن جلوه‌ای خاص بخشیده است. شفیره کرم ابریشم غنی از پروتئین، چربی و قند، مواد معدنی، ویتامین‌ها، ترکیبات پلی‌فنلی، کیتوزان و انواع مواد مغذی دیگر هستند (Zhou *et al.*, 2022; Mahanta *et al.*, 2023). پروتئین خام و محتوای شفیره خشک چربی به‌ترتیب ۷۰-۵۰ درصد و ۳۳-۲۴ درصد بوده و ترکیب مواد مغذی آن با آرد ماهی قابل مقایسه است (Rahimnejad *et al.*,2019). پژوهش‌های زیادی در زمینه اثربخشی مثبت شفیره کرم ابریشم در جیره غذایی آبزیان گزارش شده است که شامل گربه ماهی (Oso and Iwalaye, 2014)، خیار دریایی (Sun *et al.*, 2014)، کپور (Wan Alex *et al*., 2017; Zhou *et al*., 2017)، میگوی وانامی (Rahimnejad *et al.*, 2019) و کوسه رنگین کمان (Raja *et al.*,2020)، هستند. با این‌حال، هیچ تحقیقی در مورد جایگزینی آرد ماهی با شفیره کرم ابریشم در رژیم غذایی فیل ماهی (*Huso huso*) وجود ندارد. بر این اساس، یک آزمایش تغذیه برای بررسی اثرات جایگزینی جزئی آرد ماهی با شفیره کرم ابریشم بر عملکرد رشد، شاخص‌های

بیوشیمیایی خون و فعالیت آنزیم‌های کبدی در فیل ماهی انجام شد.

مواد و روش کار

آماده‌سازی شرایط آزمایشی و جیره غذایی

بچه فیل ماهی با میانگین وزن ۰/۲ ±۵ گرم (انحراف استاندارد±میانگین) پس از انتقال به سالن آبزی پروری شهید فضلی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان و سازگاری با شرایط آزمایشی، در قالب یک طرح کاملاً تصادفی در چهار تیمار با تراکم ۲۰ عدد در تانک با سه تکرار در هر تیمار قرار داده شدند. تیمارهای آزمایشی شامل تیمار شاهد که با جیره غذایی محتوی آرد ماهی به عنوان تنها منبع پروتئینی تغذیه شدند (T0) و تیمارهای تغذیه شده با جیره‌های محتوی شفیره کرم ابریشم (با درصدهای ۵، ۱۰، ۱۵) که به اختصار با کدهای (T5، T10 و T15) معرفی می‌گردند. جهت انجام آزمایش از مخازن فایبر گلاس مدور ۵۰۰ لیتری پر شده با آب شیرین چاه جهت پرورش استفاده شد. جیره‌های غذایی مطابق با احتیاجات غذایی فیل ماهی و با استفاده از اقلام غذایی دردسترس و مناسب تهیه گردید (جدول ۱). ماهی‌ها به میزان دو درصد وزن بدن و در سه نوبت غذادهی شدند (Mohseni *et al.*, 2006).

جدول ۱: ترکیبات اجزای غذایی و تیمارهای آزمایشی با سطوح مختلف شفیره کرم ابریشم جهت تغذیه بچه فیل ماهی (*H. huso*) به مدت ۸ هفته در دمای ۱/۸ ± ۲۴ درجه سانتی‌گراد

Table 1: Experimental diet ingredients and composition with different level of silk worm pupa for feeding fingerling beluga sturgeon (Huso huso) in 8 weeks cultured in 24±1.8°C

Ingredients (%)	T0	T5	T10	T15
fishmeal	60	55	50	45
silkworm pupa	0	5	10	15
Gelatin	9	9	9	9
starch	14.5	14.5	15.5	15.5
fish oil	14	14	13	13
minerals and vitamine premix	2	2	2	2
Vitamine E+C	0.5	0.5	0.5	0.5
Proximate analyzing (%)				
Protein	44	43	45	46
Fat	14	14	13	12
Moisture	12	14	14	13
Fiber	2	3	3	1
Ash	14	14	12	11
Energy(kJ/kg)	3129.9	3169.9	3171.8	3173.7

عملکرد رشد و تولید

عملکرد رشد با استفاده از شاخص‌هایی مانند میزان افزایش وزن، نرخ رشد ویژه، شاخص وضعیت و نسبت تبدیل خوراک از طریق فرمول‌های ذیل محاسبه شدند:

افزایش وزن بدن = میانگین وزن نهایی – میانگین وزن ابتدایی

نرخ رشد ویژه (٪) = [(لگاریتم طبیعی وزن نهایی - لگاریتم طبیعی وزن ابتدایی)× (طول دوره پرورش)$^{-1}$]× ۱۰۰

فاکتور وضعیت = [میانگین وزن نهایی × (میانگین طول کل)$^{-3}$]×۱۰۰

ضریب تبدیل غذایی = میانگین غذای خورده شد × (میانگین وزن به دست آمده)$^{-1}$

نمونه‌برداری و آماده‌سازی نمونه‌ها

در پایان کار آزمایش تغذیه، ماهی‌های تیمار آزمایشی جهت بررسی شاخص‌های خون‌شناسی و ایمنی غیراختصاصی در پلاسمای خون، بعد از صید و بیهوش شدن در محلول یوجینول ۱۰۰ میلی گرم در لیتر، به‌وسیله سرنگ (گیج ۲۵) در مدت ۲ دقیقه (۴ میلی‌لیتر خون) از ساقه دمی جمع‌آوری شده و در میکروتیوب‌های ۱/۵ میلی‌لیتری استریل (برای جداسازی پلاسما) و ۲ میلی‌لیتری استریل (برای مطالعات خون‌شناسی) جمع‌آوری شدند. برای جدا سازی پلاسما، خون به مدت ۱۵ دقیقه در ۳۰۰۰ گرم در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد تا گلبول‌های قرمز خون ترسیب شوند. سپس پلاسما جدا شده از هر نمونه به میکرولوله‌های استریل جدید دیگری که مشخصات مربوطه به ماهی به‌وسیله برچسب روی آن نصب شده است، منتقل شدند و نمونه‌های به‌دست آمده تا زمان انجام آزمایش‌های مربوط به آنزیم‌های کبدی که [آلکالین فسفاتاز (ALP)، آسپارتات ترانس آمیناز (AST) و آلانین ترانس آمیناز (ALT)] و ترکیبات بیوشیمیایی سرم (پروتئین کل، لیزوزیم و ایمونوگلوبولین)، در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (Sheikh veisi *et al.*,2022; Zargari *et al.*, 2023). از هر تیمار آزمایشی، ۳ ماهی به طور تصادفی برای تجزیه‌وتحلیل آسیب‌های بافتی انتخاب شدند. کبد و روده به‌دقت جدا شده و در محلول فرمالین بافر خنثی ۱۰ درصد تثبیت شد. نمونه‌های خونی جهت تعیین تعداد گلبول‌های قرمز (RBC) و سفید (WBC) با استفاده از لام نئوبار با سه تکرار شمارش شدند. شمارش افتراقی گلبول‌های سفید با تهیه گسترش و شمارش درصد انواع گلبول‌های سفید انجام گرفت (Zargari *et al.*, 2023). سنجش مقدار پروتئین کل، ایمونوگلوبولین، لیزوزیم، آلکالین فسفاتاز (ALP)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) با استفاده از کیت‌های تجاری "پارس آزمون" و با کمک دستگاه اسپکتروفتومتر انجام شد.

روش تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌ها

تمام داده‌ها به صورت (میانگین± انحراف استاندارد) ارائه شده‌اند. پس از آزمون همگن بودن داده‌ها، تجزیه‌وتحلیل داده‌ها با کمک نرم‌افزار SPSS 10.0 صورت گرفت. در این بررسی اثر تغذیه با جیره محتوی شفیره کرم ابریشم (متغیر مستقل) بر رشد و فیزیولوژی بدن فیل ماهی (متغیر وابسته) با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه با آزمون دانکن در سطح اطمینان ($p<۰/۰۵$) اندازه‌گیری شد.

نتایج

شاخص‌های مربوط به رشد و تولید در جدول ۲ ارائه گردیده است. افزایش وزن در تیمار (T15) به طور معنی‌داری بالاتر از تیمار شاهد (T0) بوده و افزایش وزن در جیره‌های شفیره کرم ابریشم بیشتر از آرد ماهی بود ($p<۰/۰۵$). همچنین ضریب تبدیل غذایی در (T15) کاهش معنی‌داری نشان داد. در ضمن، تفاوت معنی‌داری در شاخص وضعیت و درصد رشد ویژه در میان تیمارهای آزمایشی مشاهده نشده بود ($p>۰/۰۵$) (جدول ۲).

جدول ۲: تأثیر سطوح مختلف شفیره کرم ابریشم در جیره غذایی بچه فیل ماهی (*Huso huso*) پس از تغذیه ۸ هفته‌ای در دمای ۱±۲۴/۸ درجه سانتی‌گراد بر شاخص‌های رشد و تولید

Table 2: Effects of different level of silk worm pupa in diets of fingerling beluga sturgeon (*H. huso*) for a period of 8 weeks cultured in 24±1.8°C on growth parameters

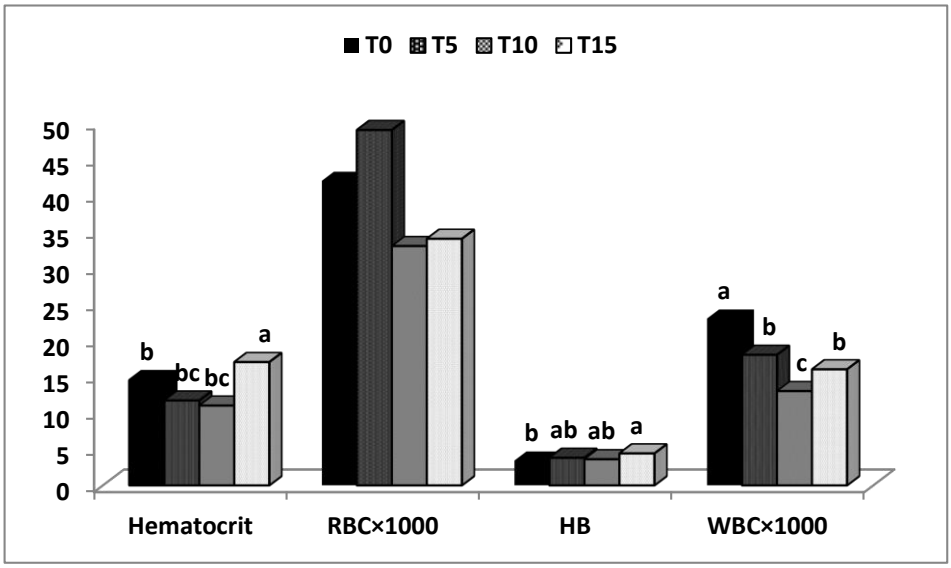
	FM	SWP5	SWP10	SWP15
WG	51.2±11.1^{b}	54.7±13.3^{ab}	60.6±12.1^{ab}	65.1±13.4^{a}
CF	0.8±.25	0.86±0.26	0.93±0.35	0.84±.16
FCR	1.52±0.27^{b}	1.5±0.39^{ab}	1.3±0.24^{ab}	1.23±0.25^{a}
SGR	1.77±1.23	1.5±0.6	1.46±0.18	1.7±0.51

میانگین‌ها در هر ردیف با حروف غیر هم نام از نظر آماری تفاوت معنی‌داری دارند ($P\leq0.05$). اعداد به صورت میانگین ± خطای استاندارد سه تکرار ارائه شده است.

Means in each row with different letters are statistically significant ($p<0.05$). Numbers are presented as mean ± standard error of three replicates.

فراسنجه‌های خون‌شناسی و شاخص‌های بیوشیمیای خون

بررسی تأثیر تغذیه با جیره‌های آزمایشی بر شاخص‌های مرتبط با شاخص‌های خونی شامل غلظت هموگلوبین، تعداد گلبول‌های سفید، درصد هماتوکریت و تعداد سلول‌های قرمز خون در شکل ۱ نشان داده شده است. درصد هماتوکریت و غلظت هموگلوبین در تیمار (T15) افزایش معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد (T0) نشان داد. گلبول سفید در میان تیمارها تفاوت معنی‌داری نشان داد و بیشترین میزان آن در تیمار شاهد (T0) و کمترین آن در تیمار (T10) بود. برخلاف گلبول‌های سفید خون، تعداد گلبول‌های قرمز در تیمارها تفاوت معنی‌داری نشان نداد (شکل ۱). میزان لیزوزیم، پروتئین کل و ایمونوگلوبولین در سرم خون تیمار (T10) و (T15) افزایش معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد (T0) و تیمار (T5) نشان داده است ($p<۰/۰۵$) (جدول ۳). همچنین میزان آنزیم‌های کبدی شامل آلکالین فسفاتاز (ALP)، آلانین ترانس آمیناز (ALT) و آسپارتات ترانس آمیناز (AST) در خون اندازه‌گیری شدند (شکل ۲ A,B, C:). آنزیم آلکالین فسفاتاز و آسپارتات ترانس آمیناز در تیمار (T15) کاهش معنی‌داری نسبت به سایر تیمارها نشان داده است ($p<۰/۰۵$) (شکل ۲: B.C). همچنین آنزیم آلانین ترانس آمیناز تفاوت معنی‌داری در میان تیمارهای آزمایشی نشان نداده‌اند ($p<۰/۰۵$) (شکل ۲: A).



شکل ۱: تأثیر سطوح مختلف شفیره کرم ابریشم در جیره غذایی بچه فیل ماهی (*Huso huso*) پس از تغذیه ۸ هفته‌ای در دمای ۱/۸±۲۴ درجه سانتی‌گراد بر شاخص‌های خون‌شناسی. حروف غیر هم نام در هر ستون از نظر آماری تفاوت معنی‌داری دارند ($p<۰/۰۵$).

Figure 1: Effects of different level of silk worm pupa in diets of fingerling beluga sturgeon (*Huso huso*) for a period of 8 weeks cultured in 24±1.8°C on hematological parameters. Each row with different letters are statistically significant (P≤0.05).

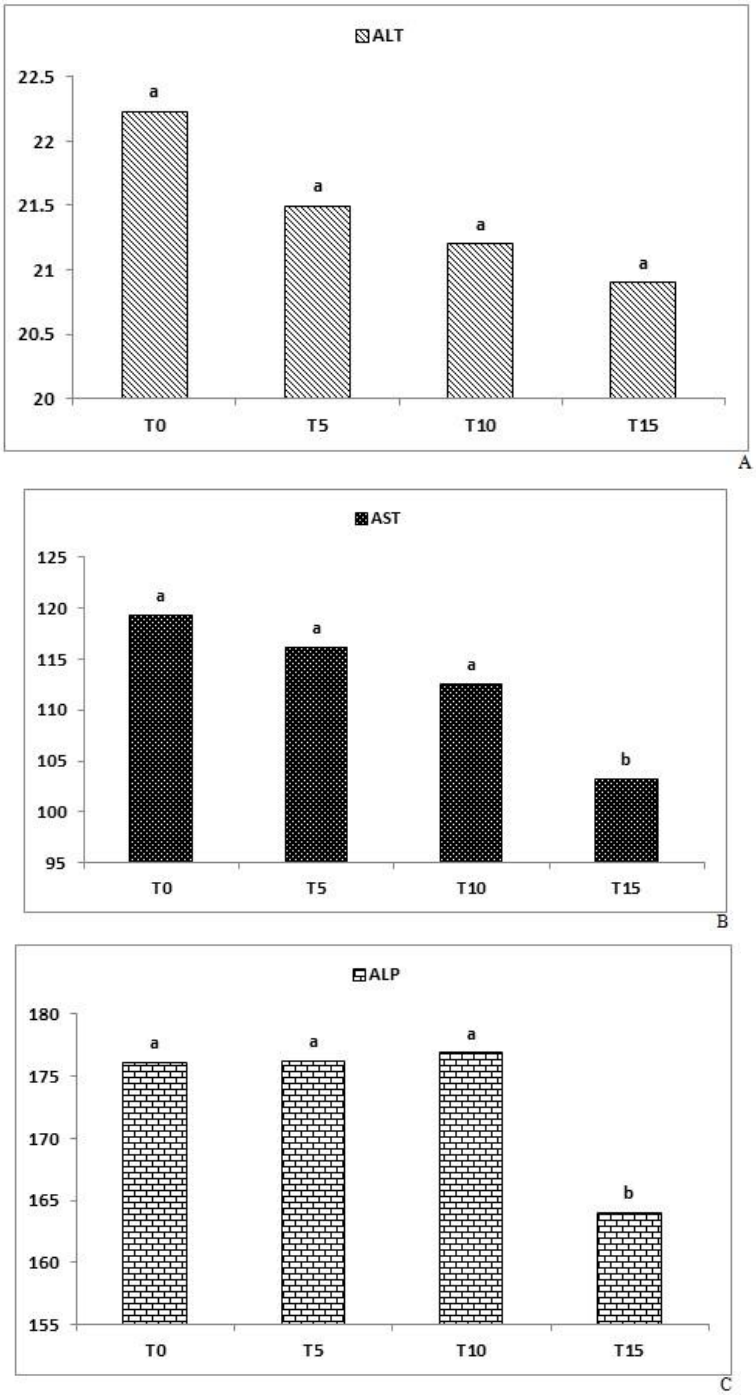
جدول ۳: تأثیر سطوح مختلف شفیره کرم ابریشم در جیره غذایی بچه فیل ماهی (*H. huso*) پس از تغذیه ۸ هفته‌ای در دمای ۱/۸±۲۴ درجه سانتی‌گراد بر شاخص‌های بیوشیمیایی خون

Table 3: Effects of different level of silk worm pupa in diets of fingerling beluga sturgeon (*Huso huso*) for a period of 8 weeks cultured in 24±1.8°C on blood biochemical factors.

	T0	T5	T10	T15
Lysosyme (U/ml/min)	28.8 ± 0.59^{b}	27.5 ± 0.36^{b}	32.6 ± 0.8^{a}	32.9 ± 1.9^{a}
Immunoglobin (mg/ml)	11.22 ± 0.17^{b}	11.7 ± 0.17^{b}	12.9 ± 0.75^{a}	$12.65\pm.8^{a}$
Total protein(g/dl)	1.8 ± 0.01^{b}	1.9 ± 0.05^{b}	2.1 ± 0.14^{a}	2.1 ± 0.11^{a}

میانگین‌ها در هر ردیف با حروف غیر هم نام از نظر آماری تفاوت معنی‌داری دارند ($p<۰/۰۵$). اعداد به صورت میانگین ± خطای استاندارد سه تکرار ارائه شده است.

Means in each row with different letters are statistically significant ($p<0.05$).Numbers are presented as mean ± standard error of three replicates.



شکل ۲: تأثیر سطوح مختلف شفیره کرم ابریشم در جیره غذایی بچه فیل ماهی (*Huso huso*) پس از تغذیه ۸ هفته‌ای در دمای ۱±۲۴/۸ درجه سانتی‌گراد بر تغییرات آنزیم‌های کبدی سرم (واحد در لیتر): الف) آلانین ترانس آمیناز. ب) آسپارتات ترانس آمیناز. ج) آلکالین فسفاتاز. حروف غیر هم نام در هر ستون از نظر آماری تفاوت معنی‌داری دارند (*p*<۰/۰۵).

Figure 2: Effects of different level of silk worm pupa in diets of fingerling beluga sturgeon (*H. huso*) for a period of 8 weeks cultured in 24±1.8°C on hepatic enzymes changes (A: Alanine transaminase; B: Aaspartate transaminase; C: Alkaline phosphatase). Each row with different letters are statistically significant (*p*<0.05).

بحث

در مطالعه حاضر، افزایش وزن در تیمار شفیره کرم ابریشم افزایش معنی‌داری به‌خصوص در تیمار (T15) داشت. نتایج آزمایش انجام شده مشابه با مطالعات انجام شده بر ماهی‌های *Clarias gariepinus*, *Cyprinus carpio*, *Epalzeorhynchos frenatum* است (Osso and Iwalaye, 2014; Wan Alex *et al.*, 2017; Raja *et al.*, 2020). همچنین ضریب تبدیل غذایی در جیره‌های محتوی سطح بیشتر شفیره (T15,T10,T5) میزان کمتری نشان داد که بر توانایی ماهی در تبدیل مؤثرتر جیره محتوی شفیره و کیفیت بهتر این جیره در تبدیل غذا به گوشت دلالت دارد. همچنین میزان ضریب رشد ویژه و شاخص وضعیت در میان تیمارها تفاوت معنی‌داری نداشت. احتمالاً بایستی سطوح بیشتری از شفیره کرم ابریشم در جیره‌های غذایی گنجانده شود تا اثرات معنی‌دار مثبت یا منفی آن آشکار گردد.

تضمین بهداشت و سلامتی ماهیان در تحقیقات مدرن تغذیه و غذادهی ماهی در آبزی‌پروری به منظور ارتقاء و پایداری در صنعت خوراک و سودآوری در آبزی‌پروری به یک اولویت تبدیل شده است. بررسی سلامت و بهداشت ماهی به‌ویژه در آزمایش‌های تغذیه‌ای با هدف ارزیابی رژیم‌های غذایی جایگزین حائز اهمیت است. چون فرمولاسیون غیر استاندارد جیره غذایی می‌تواند بر فیزیولوژی ماهی تأثیر بگذارد و باعث تأثیر منفی بر عملکرد رشد، متابولیت ها و سیستم ایمنی آنها گردد (Ciji and Akhtar, 2021). بررسی بیوشیمی خون روشی برای ارزیابی سلامت و رفاه ماهیان پرورشی مؤثر است (Donadelli *et al.*, 2024). این روش در مدیریت تولید در آبزی‌پروری اعمال می‌شود و در تحقیقات کاربردی تغذیه و غذادهی ماهی نیز ارزشمند است. چون امکان شناسایی اولیه تغییرات در شاخص‌های فیزیولوژیک مربوط به تغییرات در عملکرد اندام‌ها را قبل از بروزآسیب‌های پاتولوژیک فراهم می‌کند (Basto *et al.*, 2023).

در مطالعه حاضر، بررسی نتایج خون‌شناسی، افزایش معنی‌دار را در هموگلوبین و هماتوکریت و کاهش معنی‌دار در سلول‌های سفید خون در تیمارهای شفیره کرم ابریشم نشان دادند. برخلاف مطالعه حاضر، در مطالعه Shakoori و همکاران (۲۰۱۵) که بر قزل‌آلای رنگین‌کمان انجام گرفت و درصد گنجاندن شفیره کرم ابریشم مشابه مطالعه حاضر بوده است، هموگلوبین و گلبول‌های قرمز خون کاهش معنی‌دار و سلول‌های سفید خون افزایش را نشان داد. از آن‌جایی‌که شاخص‌های خونی متأثر از گونه، سن، شرایط فیزیولوژیک و محیطی است، تناقض در نتایج می‌تواند نشان‌دهنده این نکته باشد که ترکیبات موجود در شفیره کرم ابریشم که باعث تأثیر منفی بر اندام‌های خون‌ساز و لیز شدن سلول‌های خونی و آنمی در قزل‌آلا شدند، در فیل‌ماهی اثر سوء نداشتند. تولید سلول‌های سفید خونی در پاسخ به وجود عوامل بیماری‌زا یا عوامل مشابه آنها در محیط زندگی است. کاهش سلول‌های سفید خون در جیره‌های شفیره کرم ابریشم نشان‌دهنده عدم تحریک سیستم ایمنی در این تیمارها بوده است.

نتایج شاخص‌های بیوشیمیای خون افزایش معنی‌دار لبزوزیم، ایمونوگلوبولین و پروتیئن را در تیمارهای شفیره کرم ابربشم نشان داد. روغن موجود در شفیره کرم ابریشم دارای فعالیت ضد باکتریایی است (Zhou *et al.*,2022). همچنین پوسته شفیره کرم ابریشم سرشار از کیتین و کیتوزان است که خواص ضد باکتریایی خوبی داشته و در زمینه‌های مختلف زیست پزشکی کاربرد دارد (Jayakumar *et al.*, 2010). بررسی‌های آزمایشگاهی نشان داده‌اند که کیتوزان موجود در شفیره کرم ابریشم ۴۸ درصد کریستالی و ۶۷ درصد استیله بوده و فعالیت ضد باکتریایی و ضد قارچی کیتوزان به‌دست آمده از شفیره کرم ابریشم نسبت به کیتوزان تجاری موجود، از نظر سرعت مهار میکروب بهتر است (Battampara *et al.*, 2020).

شفیره کرم ابریشم جزو حشرات با محتوای پروتئین بالا هستند. پپتیدهای واسطه‌ای ایمنی جدید متعددی از شفیره‌های کرم ابریشم جدا و خالص‌سازی شده‌اند که این پپتیدهای فعال می‌تواند نقش مهمی در تنظیم ایمنی داشته باشد (Li *et al.*, 2019). گزارش شده است که محققان یک پپتید جدید واسطه‌ای ایمنی را با وزن مولکولی ۴۴۱/ ۰۶ دالتون و توالی اسید آمینه Asp-His-Ala-Val را از هیدرولیز پروتئین شفیره کرم ابریشم خالص‌سازی کرده‌اند که این پپتید بیان ژن‌های IL-12،IL-6، NF-B، Cyclin

D1 و کیناز ۴ وابسته به سیکلین را تحریک می‌کند (Li *et al.*, 2020). حشرات منبع مهم پپتیدهای فعال هستند و گزارش گردیده است که اثرات ایمونولوژیک آنها بر آبزیان به طور جامع گزارش شده است که با مصرف حشرات وضعیت ایمنی حیوانات آبزی بهبود می‌یابد (Mousavi *et al.*,2020). این بدان معناست که جستجو برای وجود مواد تعدیل‌کننده ایمنی در حشرات سهل بوده و در شفیره نیز یک پلی‌ساکارید فعال از نظر ایمنی شناسایی شده است که ایمنی ذاتی را در سلول‌های RAW264 و میگوهای کوچک را فعال می‌کند و منجر به افزایش میزان بقاء آنها می‌گردد (Ali *et al.*, 2018). افزایش معنی‌دار میزان ایمونوگلوبولین و پروتئین سرم و موکوس در تیمارهای شفیره کرم ابریشم می‌تواند نشان‌دهنده تحریک سیستم ایمنی در ماهیان و افزایش قدرت سیستم ایمنی در بالا بردن توان موجود زنده برای مقابله با آلودگی‌های میکروبی موجود در محیط زیست باشد. عدم مشاهده مرگ‌ومیر در طول آزمایش غذادهی می‌تواند گواهی بر قوی بودن سیستم ایمنی ماهیان در تیمارهای آزمایشی باشد. در این آزمایش میزان آنزیم‌های کبدی که شاخص آسیب‌های بافتی هستند، در تیمارهای شفیره کرم ابریشم کاهش معنی‌داری داشت و نشان‌دهنده این واقعیت است که نه‌تنها شفیره باعث آسیب بافت کبد نشده است بلکه آسیب‌دیدگی بافت کبد به حداقل رسیده بود.

به طورکلی، نتایج تحقیق نشان داد که تیمار (T15) که به میزان ۱۵ درصد شفیره کرم ابریشم در جیره غذایی گنجانده شده، اثر مثبتی بر افزایش وزن و تولید بچه فیل ماهی داشته و اثر منفی بر شاخص‌های خونی و آنزیم کبدی نداشته است که نشان‌دهنده آن است که چنانچه میزان پروتئین جیره نیازهای تغذیه‌ای بچه فیل ماهی را تأمین نماید، باعث بهبود شرایط و رشد مثبت و در نتیجه بالا رفتن تولید خواهد شد.

منابع

Alfiko, Y., Xie, D., Astuti, R.T., Wong, J. and Wang, L., 2022. Insects as a feed ingredient for fish culture: Status and trends. *Aquaculture and Fisheries*, 7(2):166-178. DOI:10.1016/j.aaf.2021.10.004

Ali, M.F.Z., Yasin, I.A., Ohta, T., Hashizume, A., Ido, A., Takahashi, T., Miura, C. and Miura, T., 2018. The silkrose of *Bombyx mori* effectively prevents vibriosis in penaeid prawns via the activation of innate immunity. *Scientific Reports*, 8:8836. DOI:10.1038/s41598-018-27241-3

Basto, A., Valente, L.M., Sousa, V., Conde-Sieira, M. and Soengas, J.L., 2023. Total fishmeal replacement by defatted Tenebrio molitor larvae meal induces alterations in intermediary metabolism of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Journal of Animal Science*, 101:040. DOI:10.1093/jas/skad040

Battampara, P., Sathish, T.N., Reddy, R., Guna, V., Nagananda, G.S., Reddy, N., Ramesha, B.S., Maharaddi, V.H., Rao, A.P., Ravikumar, H.N. and Biradar, A., 2020. Properties of chitin and chitosan extracted from silkworm pupae and egg shells. *International Journal of Biological Macromolecules*, 161:1296-1304. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2020.07.161

Ciji, A. and Akhtar, M.S., 2021. Stress management in aquaculture: A review of dietary interventions. *Reviews in Aquaculture*, 13(4):2190-2247. DOI:10.1111/raq.12565

Donadelli, V., Di Marco, P., Mandich, A., Finoia, M.G., Cardinaletti, G., Petochi, T., Longobardi, A., Tibaldi, E. and Marino, G., 2024. Effects of dietary plant protein replacement with insect and poultry by-product meals on the liver health and serum metabolites of sea bream (*Sparus aurata*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Animals*, 14(2):241. DOI:10.3390/ani14020241

Hameed, A., Majeed, W., Naveed, M., Ramzan, U., Bordiga, M., Hameed, M., Ur Rehman, S. and Rana, N., 2022. Success of aquaculture industry with new insights of using insects as feed: A review. *Fishes*, 7(6):395. DOI:10.3390/fishes7060395

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

Imanpoor, M.R. and Bagheri, T., 2012. Effects of replacing fish meal by soybean meal along with supplementing phosphorus and magnesium in diet on growth performance of Persian sturgeon, *Acipenser persicus*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 38:521-528. DOI:10.1007/s10695-011-9532-x

Jayakumar, R., Prabaharan, M., Nair, S.V. and Tamura, H., 2010. Novel chitin and chitosan nanofibers in biomedical applications. *Biotechnology Advances*, 28(1):142-150. DOI:10.1016/j.biotechadv.2009.11.001

Li, Z., Zhao, S., Xin, X., Zhang, B., Thomas, A., Charles, A., Lee, K.S., Jin, B.R. and Gui, Z., 2019. Purification and characterization of a novel immunomodulatory hexapeptide from alcalase hydrolysate of ultramicro-pretreated silkworm (*Bombyx mori*) pupa protein. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 22(3):633-637. DOI:10.1016/j.aspen.2019.04.005

Li, Z., Zhao, S., Xin, X., Zhang, B., Thomas, A., Charles, A., Lee, K.S., Jin, B.R. and Gui, Z., 2020. Purification, identification and functional analysis of a novel immunomodulatory peptide from silkworm pupa protein. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*, 26:243-249. DOI:10.1007/s10989-019-09832-4

Mahanta, D.K., Komal, J., Samal, I., Bhoi, T.K., Dubey, V.K., Pradhan, K., Nekkanti, A., Gouda, M.R., Saini, V., Negi, N. and Bhateja, S., 2023. Nutritional aspects and dietary benefits of "Silkworms": Current scenario and future outlook. *Frontiers in Nutrition*, 10:1121508. DOI:10.3389/fnut.2023.1121508

Mohseni, M., Pourkazemi, M., Bahmani, M., Falahatkar, B., Pourali, H.R. and Salehpour, M., 2006. Effects of feeding rate and frequency on growth performance of yearling great sturgeon, *Huso huso*. *Journal of Applied Ichthyology*, 22(1):278.282. DOI:10.1111/j.1439-0426.2007.00968.x

Mousavi, S., Zahedinezhad, S. and Loh, J.Y., 2020. A review on insect meals in aquaculture: The immunomodulatory and physiological effects. *International Aquatic Research*, 12(2):100-115. DOI:10.22034/IAR(20).2020.1897402.1033

Mugwanya, M., Dawood, M.A., Kimera, F. and Sewilam, H., 2023. Replacement of fish meal with fermented plant proteins in the aquafeed industry: A systematic review and meta analysis. *Reviews in Aquaculture*, 15(1):62-88. DOI:10.1111/raq.12701

Oso, J.A. and Iwalaye, O.A., 2014. Growth performance and nutrient utilization efficiency of *Clarias gariepinus* juveniles fed *Bombyx mori* (mulberry silkworm) meal as a partial replacement for fishmeal. *British Journal of Applied Science & Technology*, 4(26):3805-3812. DOI:10.9734/BJAST/2014/10681

Rahimnejad, S., Hu, S., Song, K., Wang, L., Lu, K., Wu, R. and Zhang, C., 2019. Replacement of fish meal with defatted silkworm (*Bombyx mori* L.) pupae meal in diets for Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Aquaculture*, 510:150-159. DOI:10.1016/j.aquaculture.2019.05.054

Raja, P.K., Aanand, S., Sampathkumar, J.S. and Padmavathy, P., 2020. Effect of silkworm (*Bombyx mori*) pupae on the growth and maturation of rainbow shark *Epalzeorhynchos frenatum* (Fowler, 1934) under captive rearing. *Indian Journal of Fisheries*, 67(4): 89-96. DOI:10.21077/ijf.2020.67.4.95063-11

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

Shakoori, M., Gholipour, H. and Naseri, S., 2015. Effect of replacing dietary fish meal with silkworm (*Bombyx mori*) pupae on hematological parameters of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Comparative Clinical Pathology*, 24:139-143. DOI:10.1007/s00580-013-1872-8

Sheikh Veisi, R., Hedayati, A., Mazandarani, M., Jafar Nodeh, A. and Bagheri, T., 2022. Dietary beet molasses improved the immune system of Common Carp (*Cyprinus carpio*) after exposure to titanium oxide nanoparticles, TiO2-NPs. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 108(5):969-975. DOI:10.1007/s00128-022-03507-5

Sun, Y., Chang, A.K., Wen, Z., Li, Y., Du, X. and Li, S., 2014. Effect of replacing dietary fish meal with silkworm (*Bombyx mori* L.) caterpillar meal on growth and non-specific immunity of sea cucumber *Apostichopus japonicus* (Selenka). *Aquaculture Research*, 45(7):1246-1252. DOI:10.1111/are.12068

Tacon, A.G. and Metian, M., 2008. Global overview on the use of fish meal and fish oil in industrially compounded aquafeeds: trends and future prospects. *Aquaculture*, 285:146–158. DOI:10.1016/j.aquaculture.2008.08.015

Tacon, A.G., 2020. Trends in global aquaculture and aquafeed production: 2000–2017. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, 28(1):43-56. DOI:10.1080/23308249.2019.1649634

Wan Alex, A. Donna, H.L. Snellgrove, L. and Davies, S. 2017. A comparison between marine and terrestrial invertebrate meals for mirror carp (*Cyprinus carpio*) diets. Impact on growth, haematology and health. *Aquaculture Research*, 48(9):5004-5016. DOI:10.1111/are.13318

Zargari, A., Nejatian, M., Abbaszadeh, S., Jahanbin, K., Bagheri, T., Hedayati, A. and Sheykhi, M., 2023. Modulation of

toxicity effects of $CuSO_4$ by sulfated polysaccharides extracted from brown algae (*Sargassum tenerrimum*) in *Danio rerio* as a model. *Scientific Reports*, 13(1):11429. DOI:10.1038/s41598-023-38549-0

Zhou, J.S., Chen, Y.S., Ji, H. and Yu, E.M., 2017. The effect of replacing fish meal with fermented meal mixture of silkworm pupae, rapeseed and wheat on growth, body composition and health of mirror carp (*Cyprinus carpio* var. Specularis). *Aquaculture Nutrition*, 23(4):741-754. DOI: 10.1111/anu.12441

Zhou, Y., Zhou, S., Duan, H., Wang, J. and Yan, W., 2022. Silkworm pupae: a functional food with health benefits for humans. *Foods*, 11(11):1594. DOI:10.3390/foods11111594

Zhu, H., Gong, G., Wang, J., Wu, X., Xue, M., Niu, C., Guo, L. and Yu, Y., 2011. Replacement of fish meal with blend of rendered animal protein in diets for Siberian sturgeon (*Acipenser baerii* Brandt), results in performance equal to fish meal fed fish. *Aquaculture Nutrition*, 17(2):389-395. DOI:10.1111/j.1365-2095.2010.00773.x

Effect of fishmeal replacement with silk worm (*Bombyx mori*) pupa meal on growth, hematological, and biochemical parameters of fingerling beluga Sturgeon (*Huso huso*)

Bagheri T.[1,2*]; Safari R.[3*]; Bahmani M.[4]; Hafezieh M.[4]; Sharifpour I.[4]; Aghaeimoghadam A.[1]; Poursoufi T.[1]; Paghe E. [1]; Mirhashami Rostami S.A.[1]; Pajand Z. [5]; Safari R.[6]; Shakoori M.[6]; Khaleghi S.R. [3]; Hatami A.[3]; Sanchouli H.[3]; Sourati Zanjani R.[7]; Abdolahi Mesbah R.[7]

1-Inland Waters Aquatics Resources Research Center, Iranian Fisheries Sciences Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Gorgan, Iran
2-Offshore Fisheries Research Center, Iranian Fisheries Science Research Institute (IFSRI), Agricultural Research Educations and Extension Organization (AREEO), Chabahar, Iran
3-Department of Fisheries, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan (GUASNR), Iran
4-Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Tehran, Iran
5-International Sturgeon Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, Iran
6-Caspian Sea Ecology Research Center (CSERC), Iranian Fisheries Science Research Institute (IFSRI), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Sari, Iran
7- Iran Silk Research Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Gilan, Iran

Introduction

Aquaculture development is challenged with limitation and high costs of supplying protein diets, so searching for alternative protein sources in fish diets is inevitable (Tacon, 2020). Insect meals are considered as a promising substitution protein ingredients last decades (Alfiko *et al*., 2022). Among candidates' insect meals, Silkworm is well-balanced in protein as well as lipid and can be served as feedstuff (Mahanta *et al*., 2023). A study conducted to investigate if low level of silk worm pupa inclusion in fingerling Beluga sturgeon (*Huso huso*) diet could provide a protein source replacement accompanying with high benefit for the species.

Methodology

Fingerling Beluga sturgeons (5±0.2 g, mean±SE) fed with experimental diets for a period of 8 weeks. Four experimental diets includes: no (SWP) inclusion as a control treatment (T0), 5, 10 and 15 percent (SWP) substitution referred as (T5, T10 and T15) treatments. At the end of the experiment, Weight Gain (WG), Specific Growth Rate (SGR) and Feed Conversion Ratio (FCR) calculated to assess the diets quality on fish production. Hepatic enzyme (ALP, AST, and ALT) and serum biochemical (IgM, total protein and lysozyme) analyzed for revealing the health status of fish.

Results

(SWP) treatments, in particular (T15) had a significant increase in (WG) compared to the control group (p<0.05). (SGR) as well as (CF) in (SWP) treatments showed no significant differences compare to the (T0) (p<0.05). (FCR) was significantly improved among (SWP) treatments, although the difference was not significant (p<0.05). Serum lysozyme, Serum immunoglobin and total protein in (T10) and (T15) were significantly increased compared to the control group, (T0) (p<0.05).

Discussion and conclusion

Our findings indicate the protein level adjusts and fixes with the (SWP) was efficiently enough to be replaced with fish meal in fingerling Beluga sturgeon (*H. huso*). The results of (SGR) as well as (CF) suggest that the replacement level could be changes to more to get a differently improved result. Hepatic enzymes showed that (SWP) did not affect impairment in digestive tract. What's more, blood biochemical analysis showed that (SWP) can have immunomodulatory effects on fingerling Beluga sturgeons (Zhou *et al.*, 2022)