Sari Agriculture Sciences and Natural Resources University

Research on Animal Production, Vol. 17, Issue 1, 2026 p: 45-53

OPEN ACCESS

Research Paper

Effects of Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) Larvae and Pupae Meal on Meat Quality and Expression of some Genes Related to Muscle Development in Ross 308 Broiler Chickens

Elliyeh Yahyapoor[1], Zarbakht Ansari Pirsaraei[2], Essa Dirandeh[1] and Mohammad Kazemifard[1]

1- Department of Animal Science, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran
2- Department of Animal Science, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran, (Corresponding author: z.ansari@sanru.ac.ir)

Received: 28 July, 2025 Revised: 15 October, 2025 Accepted: 16 November, 2025

Extended Abstract

Background: The limited food resources in the world and in Iran have increased attention to the use of alternative feeds. Insect farming is one of the proposed methods to improve food security for humans and animals. Insects grow and reproduce quickly and, because they are cold-blooded, have a good feed conversion ratio. They are also able to convert agricultural residues into biomass with suitable energy and protein value; hence, there is great interest today in using insects in livestock and poultry nutrition. Soldier flies are found in tropical and subtropical regions of the world. Larvae can grow in several waste streams, including fruit and vegetable waste, human feces, and animal manure, resulting in significant waste reduction and biomass of high nutritional quality for the insect. Larvae reach their maximum size after two weeks under optimal temperature and nutritional conditions. The soldier fly is not a pest and is not known to carry disease. The soldier fly is not attracted to human habitats and does not cause any nuisance. These characteristics make the soldier fly an attractive insect species for animal feeding. The present study aims to investigate the Effects of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae and pupae meal on meat quality and expression of some genes related to muscle development and lipid metabolism in Ross 308 broiler chickens.

Methods: At the beginning of the research period, 280 male chicks of the Ross 308 strain were randomly divided into seven treatments and four replications between experimental units (ten pieces for each experimental unit). Before assigning the chickens to the experimental units, they were weighed to determine their average weight, and then were assigned to the cages based on this parameter. Experimental treatments were a control group (without additives), L0.5- a diet containing 0.5% black soldier fly larvae meal, L1- a diet containing 1.0% black soldier fly larvae meal, L1.5- a diet containing 1.5% black soldier fly larvae meal, P0.5- a diet containing 0.5% black soldier fly pupae meal, P1- a diet containing 1.0% black soldier fly pupae meal, and P1.5- a diet containing 1.5% black soldier fly pupae meal. The total experimental period was 35 days. At the end of the experiment, 28 chickens (one bird per replicate) were randomly selected and slaughtered to collect samples for mRNA expression. Samples were placed in liquid nitrogen, transferred to the laboratory, and then stored at -80 °C. Total RNA was extracted using an RNA extraction kit, and after conversion to cDNA, the relative expression of genes was measured using Real Time-PCR using gene-specific primers. Relative mRNA expression levels of acetyl-CoA carboxylase (ACC), fatty acid synthase (FAS), myogenic differentiation (MyoD), and myogenic factor 5 (MyF5) were evaluated at breast and liver tissues. Meat tenderness was measured by a texture analyzer. A compression test with a dental probe was used to measure meat tenderness, and a cylindrical probe was used to analyze the texture composition. Hardness and deformation parameters in hardness were measured in the compression test. The data were finally analyzed using the GLM procedure with the SAS statistical software version 9.1. The means of the treatments were compared using Duncan's multiple range test at an error probability level of 0.05.

Results: The supplementation of dietary treatments with black soldier fly larvae and pupae meal had a significant effect on breast muscle hardness as measured by the compression test. The hardness of the samples from 0.5% and 1.0 % BSF meal (larvae and pupae) groups was double that of the 1.5 BSF meal and control. Based on the compression method, the 1.5% BSF meal meat

Copyright ©2026 Yahyapoor et al. Published by Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University.
This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 Unported License which allows users to read, copy, distribute and make derivative works for non-commercial purposes from the material, as long as the author of the original work is cited properly.

exhibited the lowest hardness, followed by the control broiler samples ($P < 0.05$). Liver FAS expression decreased with the inclusion of black soldier fly larvae and pupae meal compared to the control group; conversely, breast MyoD and MyF5 expression and liver ACC were increased by the inclusion of black soldier fly larvae and pupae meal compared to the control group ($P < 0.05$). The highest expression of MyoD and MyF5 genes in breast tissue was observed in chickens that used pupae at a level of 1.5%.

Conclusion: In general, the results of the present study show a positive effect of using black soldier fly larvae and pupae on the expression of genes effective in muscle growth, with a decrease in the expression of key genes effective in fat production in the liver of broiler chickens, without a negative effect on meat quality. Thus, it can be investigated as a protein source to increase efficiency in broiler chicken breeding.

Keywords: Broiler, Insect, Meat, Gene expression

How to Cite This Article: Elliyeh Yahyapoor, E., Ansari Pirsaraei, Z., Dirandeh, E., & Kazemifard, M. (2026). Effects of Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) Larvae and Pupae Meal on Meat Quality and Expression of some Genes Related to Muscle Development in Ross 308 Broiler Chickens. *Res Anim Prod,* 17(1), 45-53. DOI: 10.61882/rap.2026.1537

دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

مقاله پژوهشی

تاثیر تغذیه لارو و شفیره مگس سرباز سیاه (*Hermetia illucens*) بر کیفیت گوشت و بیان برخی ژن‌های مرتبط با رشد ماهیچه در جوجه‌های گوشتی سویه راس ۳۰۸

علیه یحیی پور[۱]، زربخت انصاری پیرسرائی[۲]، عیسی دیرنده[۱] و محمد کاظمی فرد[۱]

۱- گروه علوم دام، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران
۲- گروه علوم دام، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران، (نویسنده مسوول: z.ansari@sanru.ac.ir)

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۵/۰۶ تاریخ ویرایش: ۱۴۰۴/۰۷/۲۳ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۸/۲۵
صفحه ۴۵ تا ۵۳

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: محدودیت منابع خوراکی در سطح جهان و کشور ما توجه به استفاده از خوراک‌های جایگزین را افزایش داده است. پرورش حشرات یکی از شیوه‌های پیشنهادشده به‌منظور ارتقای امنیت غذایی برای انسان و حیوانات است. حشرات به سرعت رشد کرده، تکثیر می‌شوند و به‌دلیل خونسرد بودن، ضریب تبدیل غذایی مناسبی دارند. آن‌ها همچنین قادرند پس ماندهای کشاورزی را به زیست توده‌ای با ارزش انرژی و پروتئین مناسب تبدیل نمایند؛ از این‌رو، امروزه علاقه زیادی برای استفاده از حشرات در تغذیه دام و طیور وجود دارد. مگس سرباز در نواحی گرمسیری و نیمه‌گرمسیری دنیا وجود دارد. لاروها می‌توانند در چندین جریان زباله‌ای، شامل زباله‌های میوه‌ها و سبزیجات، مدفوع انسانی و کودهای حیوانی، رشد کنند که منجر به کاهش قابل توجه زباله و زیست‌توده دارای کیفیت تغذیه‌ای بالای حشره می‌شود. لاروها بعد از دو هفته تحت شرایط دمایی و تغذیه ای مطلوب به بالاترین مقدار می‌رسند. مگس سرباز یک آفت نیست و به‌عنوان حامل بیماری‌ها شناخته نشده است. مگس سرباز جذب بومگاه‌های انسانی نمی‌شود و موجب مزاحمت نمی‌شود. این ویژگی‌ها مگس سرباز را یک گونه حشره جذاب برای تغذیه حیوانی کرده‌اند. لذا، هدف از پژوهش حاضر بررسی تاثیر تغذیه لارو و شفیره مگس سرباز سیاه (*Hermetia illucens*) بر کیفیت گوشت و بیان برخی از ژن‌های مرتبط با رشد ماهیچه در بافت سینه و ژن‌های مرتبط با سوخت و ساز چربی در کبد جوجه‌های گوشتی سویه راس ۳۰۸ بود.

مواد و روش‌ها: در ابتدای دوره پژوهش، از ۲۸۰ قطعه جوجه خروس از سویه راس ۳۰۸ استفاده شد که به‌صورت تصادفی در هفت تیمار و چهار تکرار بین واحدها آزمایشی تقسیم شدند (ده قطعه برای هر واحد آزمایشی). قبل از اختصاص دادن جوجه‌ها به واحدهای آزمایشی، جوجه‌ها وزن شدند تا میانگین وزن آن‌ها مشخص شود و بر اساس آن به قفسه‌ها اختصاص داده شدند. تیمارهای آزمایشی عبارت بودند از گروه شاهد (بدون افزودنی)، جیره دارای ۰/۵ درصد لارو مگس سرباز سیاه، جیره دارای ۱/۰ درصد لارو مگس سرباز سیاه، جیره دارای ۱/۵ درصد لارو مگس سرباز سیاه، جیره دارای ۰/۵ درصد شفیره مگس سرباز سیاه، جیره دارای ۱/۰ درصد شفیره مگس سرباز سیاه، و جیره دارای ۱/۵ درصد شفیره مگس سرباز سیاه. کل دوره آزمایش ۳۵ روز بود. برای بررسی کیفیت گوشت و بیان نسبی mRNA استیل CoA-کربوکسیلاز (ACC) اسید چرب سنتاز (FAS)، فاکتور تمایز میوژنیک (MyoD) و فاکتور میوژنیک ۵ (MyF5)، دو جوجه از هر تکرار که نزدیک به میانگین وزن گروه بودند انتخاب، توزین و کشتار شدند. از جگر و ماهیچه سینه به‌منظور بررسی بیان نسبی ژن‌ها نمونه‌گیری شد. نمونه‌های برداشت شده برای بررسی بیان ژن در نیتروژن مایع قرار گرفتند و سپس در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. با استفاده از کیت استخراج RNA، RNAی کل استخراج شد و پس از تبدیل به cDNA، بیان نسبی ژن‌ها با استفاده از دستگاه Real Time-PCR و با استفاده از آغازگرهای اختصاصی مورد بررسی قرار گرفت. تردی گوشت توسط دستگاه تجزیه و تحلیل بافت اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری تردی گوشت از تست فشاری با پروپ دندانی و برای تست تجزیه و تحلیل ترکیب بافت از پروپ استوانه‌ای استفاده شد. در تست فشاری، فراسنجه‌های سختی و تغییر شکل در سختی اندازه‌گیری شدند. تجزیه و تحلیل نهایی داده‌ها با استفاده از رویه GLM، توسط نرم‌افزار آماری SAS نسخه ۹/۱ انجام گرفت. مقایسه میانگین تیمارها نیز با استفاده از آزمون چنـددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال خطای ۰/۰۵ انجام شد.

نتایج: تغذیه جوجه‌های گوشتی با لارو مگس سرباز سیاه و شفیره تاثیر قابل توجهی بر سختی عضله سینه که توسط تست فشرده سازی اندازه گیری شد داشت ($P < ۰/۰۵$). سختی نمونه‌ها در گروه‌های ۰/۵ و ۱ درصد لارو و شفیره دو برابر گروه کنترل بود ($P < ۰/۰۵$). بر اساس روش فشرده‌سازی، تیمار یک درصد لارو و شفیره کمترین سختی را نشان داد ($P < ۰/۰۵$). بر اساس روشTPA، بین تیمارهای آزمایشی در سختی عضله سینه، چسبندگی، انعطاف پذیری، انسجام، خاصیت فنری، صمغ بودن و قابلیت جویدن تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ($P < ۰/۰۵$). بیان ژن FAS کبدی با افزودن لارو و شفیره مگس سرباز سیاه نسبت به گروه کنترل به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. برعکس بیان ژن ACC کبدی در گروه‌های دریافت کننده لارو و شفیره به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($P < ۰/۰۵$). بیان ژن‌های MyoD و MyF5 در بافت سینه با تغذیه لارو و شفیره مگس سرباز سیاه در مقایسه با گروه کنترل به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($P < ۰/۰۵$). بیشترین بیان ژن MyoD و MyF5 در بافت سینه در جوجه‌هایی دیده شد که از شفیره در سطح ۱/۵ درصد استفاده کردند ($P < ۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهند که استفاده از لارو و شفیره مگس سرباز سیاه با تاثیر مثبت بر بیان ژن‌های موثر در رشد ماهیچه و کاهش بیان ژن کلیدی موثر در ساخت چربی در کبد جوجه‌های گوشتی و بدون تاثیر منفی بر کیفیت گوشت می‌تواند به‌عنوان منبع پروتئینی در جهت افزایش راندمان در پرورش جوجه‌های گوشتی مورد بررسی قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: بیان ژن، جوجه گوشتی، حشره، گوشت

مقدمه

یکی از مهم‌ترین مشکلات صنعت طیور کشور، کمبود منابع خوراکی مورد نیاز طیور به‌ویژه در شرایط تنگناهای اقتصادی و محدودیت واردات است. لذا، بررسی امکان استفاده از منابع خوراکی جدید داخلی از اولویت‌های تحقیقات علوم دامی کشور به شمار می‌رود. از بین مواد خوراکی جدید، حشرات می‌توانند به دلایل ذیل خوراک خوبی برای طیور باشند: الف) رشد سریعی دارند و در زمان کوتاه مقادیر قابل توجهی زیست‌توده تولید می‌کنند. ب) به راحتی از بقایای کشاورزی به عنوان غذا استفاده می‌کنند. ج) به لحاظ انرژی و پروتئین ارزش غذایی بالایی دارند و غذای طبیعی پرندگان به شمار می‌روند (Sogari *et al.*, 2019). حشرات حدود یک میلیون گونه از ۱/۴ میلیون گونه

جانوری توصیف‌شده بر روی زمین را تشکیل می‌دهند. بر خلاف باور عمومی، از یک میلیون گونه حشره، تنها حدود ۵۰۰۰ گونه از آن‌ها برای محصولات کشاورزی، دام و انسان مضر هستند (Van Lenteren, 2006). منابع پروتئینی مهم در تغذیه دانه سویا هستند که در رقابت با محصولات غذایی استفاده می‌شوند و مصرف ماهی که دسترسی آن به شکل فزاینده‌ای به خاطر استفاده بیش از حد از منابع آبی محدود شده است (Masuda & Goldsmith, 2009). هزینه‌های این محصولات غذایی به سرعت در حال افزایش است که به خصوص روی کشاورزان دارای منابع ضعیف اثر می‌گذارد. جستجو برای منابع قابل دسترس منجر به رشد علاقمندی به حشرات در بخش تغذیه شده است (Van Huis, 2013). حشرات دارای سطوح بالای پروتئین هستند و تولید آن‌ها اثرات اکولوژیکی کمی به جا می‌گذارد. در بین حشرات، مگس سرباز سیاه (*Hermetia illucens*) حشره‌ای متعلق به خانواده Stratiomyidae و احتمالا بومی آمریکای جنوبی است که البته در حال حاضر در بسیاری از مناطق حاره‌ای جهان گسترش یافته است. از آن‌جا که این حشره برای جفت‌گیری نیاز به سطح بالای اشعه فرابنفش و دمای بالای ۲۴ درجه سانتی‌گراد دارد، در مناطق سردتر به عنوان یک گونه غیر مهاجم به شمار می‌آید. این حشرات از تماس با انسان اجتناب نموده، عموما آفت یا عامل بیماری‌زا محسوب نمی‌شوند (Khan *et al*., 2018). لارو این حشره به‌طور طبیعی در فضولات دام و طیور یافت می‌شود و می‌تواند بر روی پس‌ماندهای آلی مانند تفاله دانه قهوه، سبزیجات، تفاله گوجه فرنگی و ضایعات گوشت و ماهی رشد کند و به گفته برخی محققان به طور طبیعی دارای آنتی‌بیوتیک است (Newton *et al*., 2005a,b). مقدار ماده خشک لارو تازه این حشره نسبتا بالا (بین ۳۵ تا ۵۰ درصد) است که این موضوع خشک‌کردن آن را نسبت به سایر فرآورده‌های تازه حاصل از حشرات ساده‌تر می‌نماید (Newton *et al*., 2005a,b). آنالیز تقریبی لارو مگس سرباز سیاه نشانگر وجود ۴۱/۱ تا ۴۳/۶ درصد پروتئین خام، ۱۵/۰ تا ۳۴/۸ درصد عصاره اتری، ۷/۰ درصد فیبر خام، ۱۴/۶ تا ۲۸/۴ درصد خکستر و حدود ۵۲۷۸ کیلوکالری در کیلوگرم انرژی خام بر اساس ماده خشک بود (Arango-Gutierrez *et al*., 2004). در پژوهش‌های مختلف، مقدار کلسیم لارو این حشره بسته به مرحله زندگی متغیر است و از ۹۸/۰–۸۰/۰ (Maurer *et al*., 2016) تا ۸–۵ درصد ماده خشک (Arango-Gutierrez *et al*., 2004) گزارش شده است. در بین حشرات، احتمالا بیشترین پژوهش‌ها برای استفاده در تغذیه طیور روی این گونه انجام شده‌اند و سابقه آن به حدود نیم قرن پیش بر می‌گردد که در آن نرخ رشد جوجه‌های تغذیه‌شده با لارو مگس سرباز سیاه به‌عنوان جایگزین کامل کنجاله سویا تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد نداشت (Hale, 1973). در پژوهش‌های جدیدتر، ارزش غذایی لارو مگس سرباز سیاه برای طیور قابل رقابت با پودر ماهی بود و از برخی جنبه‌ها برتر از کنجاله سویا بود (Oluokun, 2000). این پژوهشگر پیشنهاد نمود که جایگزینی کامل پودر لارو این مگس با پودر ماهی در جیره بدون هر گونه اثر منفی بر صفات عملکردی جوجه‌های گوشتی مانند افزایش وزن، مصرف خوراک و ضریب تبدیل غذایی امکان پذیر بود. در پژوهش مارر و همکاران (Maurer *et al.,* 2016) پودر چربی‌گیری‌شده لارو مگس سرباز سیاه، به مقدار ۵۰ یا ۱۰۰ درصد جایگزین کنجاله سویا در جیره مرغ‌های تخم‌گذار شد (۱۲ و ۲۴ درصد کل جیره). در پایان سه هفته آزمایش، بین گروه‌های دریافت‌کننده لارو مگس و شاهد، تفاوت معنی داری از نظر تولید و وزن تخم مرغ، مقدار خوراک مصرفی و بازده وجود نداشت. در پژوهش دیگر، استفاده از ۱۰ یا ۱۵ درصد لارو مگس سرباز سیاه در جیره (به‌ترتیب جایگزین ۲۸ درصد روغن سویا + ۲۵ درصد کنجاله سویای جیره) هیچ گونه اثر منفی بر افزایش وزن، خوراک مصرفی، ضریب تبیل غذایی و تلفات جوجه بلدرچین‌ها نداشت (Cullere *et al*., 2016). در پژوهشی تازه‌تر، از سطوح صفر (شاهد)، ۵، ۱۰ و ۱۵ درصد پودر مگس سرباز سیاه چربی‌گیری شده در جیره جوجه‌های گوشتی در دوره ۱ تا ۳۵ روزگی استفاده شد (Dabbou *et al*., 2018). در پایان آزمایش مذکور، بالاترین وزن زنده و مناسب‌ترین ضریب تبدیل غذایی به‌ترتیب در تیمارهای دارای ۱۰ و ۵ درصد لارو مگس سرباز مشاهده شدند. با توجه به موارد گفته شده، هدف از پژوهش حاضر بررسی تاثیر تغذیه لارو و شفیره مگس سرباز سیاه (*Hermetia illucens*) بر کیفیت گوشت و بیان برخی از ژن‌های مرتبط با رشد ماهیچه در جوجه‌های گوشتی سویه راس ۳۰۸ بود.

مواد و روش‌ها

در ابتدای دوره پژوهش، از ۲۸۰ قطعه جوجه خروس از سویه راس ۳۰۸ استفاده شد که به‌صورت تصادفی در هفت تیمار و چهار تکرار بین واحدها آزمایشی تقسیم شدند (ده قطعه برای هر واحد آزمایشی). قبل از اختصاص دادن جوجه‌ها به واحدهای آزمایشی، جوجه‌ها وزن شدند تا میانگین وزن آن‌ها مشخص شود و بر اساس آن به قفسه‌ها اختصاص داده شدند. تیمارهای آزمایشی عبارت بودند از گروه شاهد (بدون افزودنی)، جیره دارای ۰/۵ درصد لارو مگس سرباز سیاه، جیره دارای ۱/۰ درصد لارو مگس سرباز سیاه، جیره دارای ۱/۵ درصد لارو مگس سرباز سیاه، جیره دارای ۰/۵ درصد شفیره مگس سرباز سیاه، جیره دارای ۱/۰ درصد شفیره مگس سرباز سیاه، و جیره دارای ۱/۵ درصد شفیره مگس سرباز سیاه. در این طرح، جیره‌ها بر پایه ذرت و سویا، بر اساس احتیاجات سویه راس ۳۰۸ و با استفاده از نرم‌افزار بر اساس حداقل قیمت تنظیم شدند. از سن یک تا۱۰روزگی (دوره آغازین) جوجه‌ها با جیره توصیه‌شده نژاد سویه راس تغذیه شدند. جیره‌های دوره رشد و پایانی به‌ترتیب برای سنین ۱۰ تا ۲۴ روزگی و ۲۵ تا ۴۲ روزگی تنظیم شدند.

به‌منظور تعیین تاثیر تیمارهای آزمایشی بر کیفیت گوشت و بیان نسبی ژن‌های مرتبط با رشد ماهیچه، از هر واحد آزمایشی دو قطعه جوجه خروس انتخاب و کشتار شدند. نمونه‌های بیان ژن در۴۲ روزگی از جگر و سینه جدا و در دمای ۸۰– درجه سانتی‌گراد به منظور استخراج RNA نگهداری شدند.

بیان ژن

مقدار ۵۰ تا ۱۰۰ میلی‌گرم از بافت‌های سینه و جگر جدا و درون بوته چینی انداخته شد. با استفاده از ازت، بافت‌ها به خوبی

کوبیده و پودر شدند. سپس ۱۰۰۰ میکرولیتر از محلول استخراج RNA (سیناکلون، ایران) به نمونه اضافه شد و توسط سمپلر به میکروتیوپ‌های ۱/۵ میلی‌لیتری ریخته شدند. میکروتیوپ‌های دارای محلول به‌مدت ۱۵ ثانیه ورتکس و سپس ۵ دقیقه روی یخ ژل قرار داده شدند.

جداسازی

دویست میکرولیتر کلروفرم به محلول هموژنیزه شده اضافه شد. میکروتیوپ‌ها به مدت ۱۵ ثانیه تکان داده شدند و سپس به مدت ۱۵ دقیقه در چهار درجه سانتی‌گراد و ۱۲۰۰۰ دور سانتریفیوژ شدند. بعد از سانتریفیوژ سه فاز تشکیل شد (بالاترین لایه بی‌رنگ همان لایه‌ای بود که RNA در آن قرار داشت).

رسوب RNA

بخش بالایی مایع به میکروتیوپ ۱/۵میلی‌لیتری جدید انتقال داده شد. هم حجم مقدار مایع به آن ایزوپروپیل اضافه و سپس به‌مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. هر چند دقیقه نمونه‌ها اینورت شدند تا به‌خوبی مخلوط شوند. سپس به‌مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و ۱۲۰۰۰ دور سانتریفیوژ شدند. رسوب RNA در کف میکروتیوپ ایجاد می‌گردد و غالبا دیده نمی‌شود.

شستن

بعد از سانتریفیوژ محلول، رسوب به آرامی خارج شد و سپس ۱۰۰۰ میکرو لیتر اتانول ۷۵٪ به آن اضافه شد. نمونه‌ها در ۴ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۸ دقیقه و ۷۵۰۰ دور ساتریفیوژ شدند و سپس محلول دور ریخته شد (در این قسمت هنگام خارج کردن محلول رسوب نباید خارج شود).

حل‌کردن دوباره RNA

پس از دور ریختن محلول، میکروتیوپ‌ها به‌صورت وارونه روی دستمال قرار گرفتند تا تقریباً خشک شدند. سپس ۵۰ میکرولیتر DEPC به آن‌ها اضافه شد و به‌منظور کمک به حل بهتر، به‌مدت ۵ تا ۱۰ دقیقه در حمام آب با دمای ۶۰-۵۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند.

تبدیل RNA به cDNA

واکنش‌های RT (Reverse Transcriptase)

تبدیل RNA به CDNA با استفاده از کیت DNASE شرکت سیناکلون انجام شد. ابتدا RNAها یخ‌گشایی شدند و سپس ۸/۵ میکرولیتر RNA ،۱ میکرولیتر بافر و ۰/۵ میکرولیتر Dnase به درون میکرو تیوپ‌ها ریخته شدند. پس از مینی‌فیوژ درون دستگاه PCR قرار داده شدند و برنامه Dnase.1 (دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به‌مدت۳۰ دقیقه) اعمال شد. سپس، یک میکرولیتر EDTA به آن اضافه شد و مجددا مینی‌فیوژ شدند و درون PCR قرار گرفتند و برنامه cDNA (۶۲درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۰ دقیقه اعمال شد).

این مرحله توسط کیت سنتز cDNA شرکت یکتا تجهیز انجام شد (محتویات کیت شامل بافر، Oligo dt،dNTP،Rnasin و M-MLV بودند). طبق راهنمای کیت، ۶۱ میکرو لیتر DEPC water به درون ویال Oligo اضافه شد. سپس، ۱۱ میکرو لیتر RNA ۱ میکرولیتر از Oligo و ۱/۴ میکرولیتر DEPC water درون تیوپ ریخته شدند. پس از مینی‌فیوژ درون دستگاه PCR برنامه YEKTA87 (۷۰ درجه سانتی‌گراد ۵ دقیقه) اعمال شد. سپس ۴ میکرولیتر بافر، یک میکرولیتر dNTP، ۰/۵ میکرولیتر Rnasin و یک میکرولیتر M-MLV به آن اضافه شدند و مجددا درون دستگاه PCR با برنامه YEKTA88(۴۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۶۰ دقیقه و ۷۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت پنج دقیقه قرار داده شدند. پس از اتمام کار، نمونه‌های خارج شده از دستگاه PCR (۲۰ میکرولیتر cDNA) در دمای ۸۰- درجه نگهداری شدند.

جدول ۱-آغازگرهای استفاده شده در مطالعه حاضر

Table 1. Primers used in the present study

Gene	Bond length (bp)	Sequence	Gene Bank no	
ACC	447	CACTTCGAGGCGAAAAACTG	J03541	Forward
		GGAGCAAATCCATGACCACT		Reverse
FAS	423	GGAGTCAAACTAGTTATCCATGGCC	J04482	Forward
		AAAGGAGATTCCAGCATCGTGCAGC		Reverse
MYOD	385	GGAGTCAAACTAGTTATCCATGGCC	J04482	Forward
		AAAGGAGATTCCAGCATCGTGCAGC		Reverse
Myf 5	106	CTTCGAGGCGGGCTACTG	NM-001030363	Forward
		AGAGAGGCGGTCCACGAT		Reverse
GAPDH	182	TGAAAGTCGGAGTCAACGGAT	K01458	Forward
		ACGCTCCTGGAAGATAGTGAT		Reverse

مرحله Real-Time PCR

اجزای تشکیل‌دهنده واکنش در Real-Time PCR

به‌منظور استفاده بهینه از کیت، واکنش برای حجم ۱۵ میکرولیتر تنظیم شد: مستر میکس سایبر گرین (۲ x SYBER Green PCR Master Mix)، ۷/۵ میکرولیتر، cDNA، ۲/۰ میکرولیتر، جفت آغازگر اختصاصی (جدول ۱)، ۱ میکرولیتر، آب بدون RNA، ۴/۵ میکرولیتر. برای هر نمونه ژن هدف یک نمونه GAPDH در نظر گرفته شد. سپس، ژن هدف و GAPDH در دستگاه ROTOR GENE6000 از شرکت CORBETT قرار داده شدند.

بافت گوشت

تردی گوشت توسط دستگاه تجزیه و تحلیل بافت اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری تردی گوشت از تست فشاری با پروپ دندانی و برای تست تجزیه و تحلیل ترکیب بافت از پروپ استوانه‌ای استفاده شد. در تست فشاری، سختی و تغییر شکل در سختی اندازه‌گیری شد. بسیاری از پژوهشگران تمایل دارند تا از ابزاری استفاده کنند که بافت و تغییرات بافت را اندازه‌گیری کند. انجام این تست تجزیه و تحلیل ترکیب بافت، فشار به بافت نمونه وارد می‌کند و تغییرات مکانیکی شامل سختی، به‌هم‌پیوستگی، الاستیسیته،

قابلیت جویدن، ویژگی صمغی و چسبندگی را لندازه‌گیری می‌کند. تست تجزیه و تحلیل ترکیب بافت، تجزیه و تحلیل بافت را انجام می‌دهد و نشان می‌دهد که تا چه اندازه گوشت و محصولات آن برای مصرف کننده دلپذیر و دلچسب است و همبستگی مثبتی با دیگر ویژگی‌های حسی گوشت دارد (Bourne, 1987).

این تست‌ها حرکات جویدن را در انسان تقلید می‌کنند. نمونه‌هایی که در ۴۲ روزگی برای تجزیه لاشه انتخاب شدند از سینه سمت راست جمع شدند و در داخل کیسه‌های پلاستیکی به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه قرار داده شدند تا فرآیند جمود نعشی اتفاق بیافتد. پس از ۲۴ ساعت، نمونه سینه به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۰ درجه جوشانده شد. از سمت راست گوشت از کاتر ۲×۲×۲ برای تست اندازه‌گیری بافت نمونه استفاده شد و برای تست فشاری از کاتر ۲×۴×۲ استفاده گردید. همچنین، از پروپ استوانه‌ای TA25 برای تست لندازه‌گیری بافت نمونه و از پروپ دندانی TA7 برای تست فشاری استفاده شد.

آنالیز آماری

تجزیه و تحلیل نهایی داده‌ها با استفاده از رویه GLM توسط نرم‌افزار آماری SAS نسخه ۹/۱ (SAS, 2001) انجام گرفت. مقایسه میانگین تیمارها نیز با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال خطای ۰/۰۵ انجام شد (Duncan, 1955). مدل آماری طرح به‌صورت زیر است:

$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$

در این رابطه، Y_{ij}: مقدار هر مشاهده، μ: میانگین کل مشاهدات، T_i: اثر تیمار و e_{ij}: اثرات خطای آزمایشی هستند.

نتایج و بحث

افزایش وزن روزانه (گرم) و ضریب تبدیل (گرم) در بین تیمارها در دوره‌های مختلف (۰–۱۰ روز، ۱۱–۲۱ روز، ۲۲–۳۵ روز و ۱–۳۵ روز) مشابه بودند. مصرف خوراک (گرم در پرنده) در ۲۲–۳۵ روز و ۱–۳۵ روز تحت تأثیر تیمارها قرار گرفت و در گروه‌هایی که بیشترین مقدار لارو و شفیره را دریافت کردند کمترین مقدار بود.

تغذیه جوجه‌های گوشتی با لارو مگس سرباز سیاه و شفیره اثر قابل‌توجهی بر سختی عضله سینه که توسط تست فشرده‌سازی اندازه‌گیری شد داشت ($P < ۰/۰۵$، جدول ۲). سختی نمونه‌ها در گروه‌های ۰/۵ و ۱ درصد لارو و شفیره دو برابر گروه کنترل بود ($P < ۰/۰۵$، جدول ۲). بر اساس روش فشرده‌سازی، تیمار یک درصد کمترین سختی را نشان داد ($P < ۰/۰۵$، جدول ۲). این تنوع در نتایج احتمالاً ناشی از تفاوت در محتوای کلاژن کل بین ماهیچه‌ها است که پتانسیل تأثیرگذاری بر ویژگی‌های بافت و سختی گوشت را دارد. بر اساس روش TPA، بین تیمارهای آزمایشی در سختی عضله سینه، چسبندگی، انعطاف‌پذیری، انسجام، فنری، صمغ بودن و قابلیت جویدن تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ($P > ۰/۰۵$، جدول ۲).

هیچ مطالعه منتشرشده‌ای در مورد بررسی کیفیت گوشت در جوجه‌های گوشتی یا سایر گونه‌های طیور تغذیه شده با جیره‌های غذایی که در آن تیمارهای غذایی لارو یا شفیره مگس سرباز سیاه با یکدیگر و با جیره شاهد مقایسه می‌شوند، وجود ندارد و بنابراین بحث در مورد یافته‌های حاضر محدود است.

سختی، صمغی، جویدنی، چسبندگی، چسبندگی و فنری بودن شاخص‌های فیزیکی هستند که برای ارزیابی بافت عضلانی استفاده می‌شوند. هر چه سختی بیشتر باشد، توانایی مقاومت در برابر نیش دندان و فنری بیشتر است. چسبندگی برای توصیف پارامترهای جریان یک جسم تحت تأثیر نیرو استفاده می‌شود. جویدن در سختی، انسجام و فنری بودن ضرب می‌شود (Bovera *et al*., 2016). نتایج آزمون فشرده‌سازی در این تحقیق نشان دادند که سختی گوشت در تیمارهای ۰/۵ و ۱ درصد مگس سرباز سیاه نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت، اما این افزایش باعث بهبود سختی گوشت شد.

ارزیابی کیفیت گوشت برای تعیین سختی و سایر عوامل، همبستگی مثبت را بین سختی و مقبولیت کلی آن نشان داد؛ سختی زیاد کیفیت آن را کاهش می‌دهد (Mehdizadeh *et al*., 2022). هر چه مقدار پروتئین در محصول بیشتر باشد، خاصیت سختی، چسبندگی، جویدن و صمغی بودن آن بیشتر می‌شود. افزایش چربی، از جمله چربی‌های شکمی، زیر جلدی و داخل عضلانی، طعم، آبداربودن و لطافت گوشت را افزایش می‌دهد. از آنجایی که میوزین عملکردی‌ترین پروتئین ماهیچه‌ای است، هرگونه تغییر در مولکول میوزین بر بافت و ظرفیت نگهداری آب آن تأثیر می‌گذارد. افزایش رطوبت منجر به کاهش سختی می‌شود. همچنین، سختی با انسجام و جویدن همبستگی دارد. با کاهش سختی در تیمارها، انسجام بافت و جویدن نیز کاهش می‌یابد، به این معنی که نیروی کمتری برای پاره‌شدن بافت مورد نیاز است. تغییرات در ظرفیت نگهداری آب بر انسجام گوشت تأثیر می‌گذارد. از دست دادن بیش از حد آب ممکن است منجر به کاهش توانایی گوشت در حفظ ساختار خود شود. علاوه بر این، دناتوره شدن پروتئین، به ویژه آن چیزی که به ساختار فیبر عضلانی نسبت داده می‌شود، مانند اکتین و میوزین، منجر به نمره انسجام کمتری خواهد شد. در این پژوهش، انسجام به‌طور قابل توجهی تحت تاثیر مگس سرباز سیاه قرار نگرفت (Mir *et al*., 2017).

جایگزینی پروتئین کنجاله سویا با کنجاله لارو مگس سرباز سیاه پرچرب در جیره جوجه‌های گوشتی بیش از ۵۰ درصد به‌طور قابل‌توجهی عملکرد رشد پرندگان و لاشه و کیفیت گوشت را به خطر انداخت. گوشت جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با جیره مگس سرباز سیاه ۱۰۰ با بالاترین مقدار نیروی برشی مشخص شد. همچنین بیشترین نرمی و کمترین مقدار نیروی برشی در گوشت جوجه های گوشتی تغذیه شده با جیره مگس سرباز سیاه مشاهده شدند. آزمایش‌های مربوط به کبک‌های بربری نشان داد که گنجاندن لارو مگس سرباز سیاه در رژیم غذایی هیچ اثر نامطلوبی بر کیفیت لاشه یا کیفیت گوشت نداشت، به جز تغییرات در پروفایل اسیدهای چرب (Loponte *et al*., 2017).

جدول ۲-تاثیر تیمارهای غذایی بر بافت ماهیچه سینه جوجه های گوشتی

Table 2. Effects of dietary treatments on breast muscle texture of broiler chickens

	Treatments							SEM	P-value
	C	L 0.5	L 1	L 1.5	P 0.5	P 1	P 1.5		
HardnessTA7 (N)	470.7^{bc}	609.8^{abc}	708.0^{ab}	333.3^{c}	809.8^{ab}	844.3^{a}	346.3^{c}	108.38	0.011
HardnnessTA25 (N)	5686	3574	5575	4693	6113	6113	4182	977.13	0.28
AdhesivenessT25 (mJ)	0.066	0.025	0.233	0.305	0.175	0.150	0.150	0.15	0.44
ResilienceT25 (mJ)	0.160	0.133	0.143	0.115	0.180	0.125	0.112	0.01	0.08
Cohesiveness T25 (ratio)	0.403	0.366	0.390	0.327	0.422	0.335	0.332	0.02	0.17
SpringinessT25 (ratio)	5.24	5.05	5.56	4.43	5.58	5.04	4.36	0.31	0.07
GumminessT25 (g)	2272.3	1328.7	2226.0	1541.3	2633.3	1002.0	1474.0	454.60	0.20
ChewinessT25 (N·mm)	117.1	66.3	122.1	126.7	143.6	174.2	166.9	573.24	0.68

a–c Means in the same row with different superscript letters are significantly different by Tukey's multiple comparison method (P < 0.05). C-control diet; L0.5- a diet containing 0.5% black soldier fly Larve meal; L1- a diet containing 1.0% black soldier fly Larve meal; L1.5- a diet containing 1.5% black soldier fly Larve meal; P0.5- a diet containing 0.5% black soldier fly pupae meal; P1- a diet containing 1.0% black soldier fly pupae meal; P1.5- a diet containing 1.5% black soldier fly pupae meal
TA7- probe of compression test; TA25- probe of TPA test

بیان ژن FAS کبدی با افزودن لارو و شفیره مگس سرباز سیاه نسبت به گروه کنترل کاهش یافت. برعکس، بیان ژن ACC کبدی در گروه‌های دریافت کننده لارو و شفیره افزایش یافت (P < ۰/۰۵، جدول ۳). بیان MyoD و MyF5 در بافت سینه با تغذیه لارو و شفیره مگس سرباز سیاه در مقایسه با گروه کنترل افزایش یافت (P < ۰/۰۵، جدول ۳). کبد محل اصلی سوخت و ساز چربی و کلسترول در طیور است. متابولیسم مقدار تجمع چربی و کلسترول را در بافت‌های بدن تعیین می‌کند (Roncarati *et al*., 2015). آنزیم‌ها این فرآیند را در هر مرحله واکنش تنظیم می‌کنند که تحت تأثیر بیان ژن است. دو ژن FAS و ACC آنزیم‌های کلیدی دخیل در ساخت لیپید هستند. در تولید لیپیدها این دو آنزیم محدودکننده سرعت هستند (Sanchez-Muos *et al*., 2014). در پژوهش حاضر، فراوانی ژن ACC در گروه‌های دریافت‌کننده لارو و شفیره مگس سرباز سیاه به‌صورت افزایشی تنظیم شد. افزایش بیان ACC در تیمارهای شفیره بیشتر از تیمارهای لارو بود و بیشترین مقدار در تیمار ۰/۵ درصد شفیره مگس سرباز سیاه مشاهده شد.

اسید چرب سنتاز، که آخرین مرحله را در مسیر لیپوژنیک کاتالیز می‌کند، یک آنزیم تعیین‌کننده کلیدی برای حداکثر ظرفیت بافت برای ساخت اسید چرب است. در شرایط فیزیولوژیکی طبیعی، عوامل تغذیه‌ای مانند رژیم غذایی پرچرب و هورمون‌ها می‌توانند فعالیت آنزیم و بیان ژن FAS را تنظیم کنند (Schiavone *et al*., 2017a). بیان ژن FAS در پژوهش حاضر در گروه‌های لارو و شفیره مگس سرباز سیاه کمتر از گروه کنترل بود و این کاهش در تیمارهای دریافت کننده لارو وابسته به دوز بود. ژن‌های ساخت و تجزیه اسیدهای چرب همگی تنظیم شدند، که ممکن است به‌دلیل عدم تعادل اسیدهای چرب ناشی از افزودن بیش از حد مگس سرباز سیاه باشد. بنابر این، متابولیسم اسیدهای چرب بدن برای سازگاری با متابولیسم لیپیدها بهبود یافت.

غربالگری‌های ژنتیکی متعددی که روی موش‌ها، دروزوفیلا و ماهی‌ها انجام شده‌اند، نشان می‌دهند که عوامل تنظیم‌کننده میوژنیک در همجوشی میوبلاست دخیل هستند. فاکتورهای تنظیم‌کننده میوژنیک (MRFs) شامل چهار فاکتور رونویسی خاص بافت هستند: فاکتور تمایز میوژنیک ۱ (MyoD1)، MyF5 (فاکتور میوژنیک ۵)، میوژنین و MRF4 (فاکتور تنظیم‌کننده میوژنیک ۴). اعضای این خانواده ژن یک شبکه رونویسی تنظیمی تعاملی را تشکیل می‌دهند که تعیین و تمایز انتهایی میوبلاست‌ها را کنترل می‌کند (Secci *et al.,* 2018). MyoD1 و MyF5 به عنوان تنظیم‌کننده‌های ضروری تعیین دودمان عضله اسکلتی در مهره داران در نظر گرفته می‌شوند، در حالی که میوژنین و MRF4 در تمایز عضلانی درمراحل بعد نقش دارند (Secci *et al*., 2018). MyoD به عنوان یکی از عوامل تعیین‌کننده برای رشد عضلات اسکلتی جنینی و بزرگسالان عمل می‌کند که هم رونویسی را القا می‌کند و هم باعث ایجاد میوژنز در عضله اسکلتی جنینی می‌شود و متعهد به تعیین انعطاف‌پذیری عضلانی در عضله اسکلتی بزرگسالان است (Sirri *et al*., 2009).

جدول ۳-تاثیر تیمارهای غذایی بر بیان ژن‌ها (تغییرات مقدار ام آر ان ای)

Table 3. Effects of dietary treatments on genes expression (fold change)

	Treatments							SEM	P-value
	C	L 0.5	L 1	L 1.5	P 0.5	P 1	P 1.5		
Liver									
ACC	0.99^{d}	1.82^{d}	3.81^{c}	3.48^{c}	7.49^{a}	5.82^{b}	5.33^{b}	0.070	< 0.0001
FAS	0.99^{a}	0.75^{b}	0.43^{c}	0.28^{d}	0.30^{d}	0.32^{d}	0.32^{d}	0.010	< 0.0001
Breast									
MyoD	1.03^{c}	2.65^{b}	2.76^{b}	2.91^{b}	3.14^{b}	3.00^{b}	4.73^{a}	0.058	< 0.0001
MyF5	1.04^{d}	2.20^{c}	4.08^{b}	3.89^{b}	3.06^{b}	3.95^{b}	4.64^{a}	0.044	< 0.0001

a–c Means in the same row with different superscript letters are significantly different by Tukey's multiple comparison method (P < 0.001). C-control diet; L0.5- a diet containing 0.5% black soldier fly Larve meal; L1- a diet containing 1.0% black soldier fly Larve meal; L1.5- a diet containing 1.5% black soldier fly Larve meal; P0.5- a diet containing 0.5% black soldier fly pupae meal; P1- a diet containing 1.0% black soldier fly pupae meal; P1.5- a diet containing 1.5% black soldier fly pupae meal
ACC, acetyl-CoA carboxylase; FAS, fatty acid synthase; MyoD, myogenic differentiation; MyF5, myogenic factor 5.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهند که استفاده از لارو و شفیره مگس سرباز سیاه با تاثیر مثبت بر بیان ژن‌های موثر در رشد ماهیچه و کاهش بیان ژن کلیدی موثر در ساخت چربی در کبد جوجه‌های گوشتی و بدون تاثیر منفی بر کیفیت گوشت

می‌تواند به عنوان منبع پروتئینی در جهت افزایش راندمان در پرورش جوجه‌های گوشتی مورد بررسی قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

این پژوهش با حمایت مالی اتاق بازرگانی مازندران و در قالب طرح پسادکتری (با شماره طرح ۱۴۰۳/۵۱۶۵) دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری انجام شد.

References

Arango-Gutierrez, G.P., Vergara-Ruiz, R.A., & Mejia-Velez, H. (2004). Compositional, microbiological and protein digestibility analysis of larval meal of Hermetia illucens (Diptera: Stratiomyidae) at Angelopolis –Antioquia, Colombia. *Revista Facultad Nacional de Agronomia Medellin*, 57, 2491-2499.

Bourne, M. C. (1978). Texture profile analysis. *Food Technology*, 33, 62–66.

Bovera, F., Loponte, R., Marono, S., Piccolo, G., Parisi, G., Iaconisi, V., Gasco, L., & Nizza, A. (2016). Use of Tenebrio molitor larvae meal as protein source in broiler diet: effect on growth performance, nutrient digestibility, and carcass and meat traits. *Journal of Animal Science*, 94, 639-647.

Cullere, M., Tasoniero, G., Giaccone, V., Miotti-Scapin, R., Claeys, E., De Smet, S., & Dalle Zotte, A. (2016). Black soldier fly as dietary protein source for broiler quails: apparent digestibility, excreta microbial load, feed choice, performance, carcass and meat traits. *Animal*, 10(12), 1923-1930.

Dabbou, S., Gai, F., Biasato, I., Capucchio, M.T., Biasibetti, E., Dezzutto, D., Meneguz, M., Placha, I., Gasco, L., & Schiavone, A. (2018). Black soldier fly defatted meal as a dietary protein source for broiler chickens: effects on growth performance, blood traits, gut morphology and histological features. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 9, 49.

Hale, O.M. (1973). Dried *Hermetia illucens* larvae (Stratiomyidae) as a feed additive for poultry. *Georgia Entomological Society*, 8, 16-20.

Khan, M., Chand, N., Khan, S., Khan, R.U., & Sultan, A. (2018). Utilizing the house fly (Musca Domestica) larva as an alternative to soybean meal in broiler ration during the starter phase. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 20, 9-14.

Loponte R, Nizza S, Bovera F, De Riu N, Fliegerova K, Lombardi P, Vassalottu, G., Masrtellone, V., Nizzam A., & Moniello, G. (2017). Growth performance, blood profiles and carcass traits of barbary partridge (Alectoris barbara) fed two different insect larvae meals (Tenebrio molitor and Hermetia illucens). *Research in Veterinary Science*, 115,183–8.

Maurer, V., Holinger, M., Amsler, Z., Früh, B., Wohlfahrt, J., Stamer, A., & Leiber, F. (2016). Replacement of soybean cake by Hermetia illucens meal in diets for layers. *Journal of Insects as Food and Feed*, 2, 89–90.

Masuda, T., & Goldsmith, P.D. (2009). World soybean production: Area harvested, yield, and long-term projections. *International Food and Agribusiness Management Review,* 12, 143-161.

Mehdizadeh, F., Ansari Pirsaraei, Z., Jafari Sayadi, A., & Deldar, H (2022). Study of meat quality and some genes expression associated with growth in three strains of Ross, Arian and Cobb based on a basal diet. *Agricultural Biotechnology Journal*, 14 (3), 193-222.

Newton, G. L., Sheppard, D. C., Watson, D. W., Burtle, G. J., Dove, C. R., Tomberlin, J. K., & Thelen, E. E. (2005a). The black soldier fly, Hermetia illucens, as a manure management/resource recovery tool. In: Proceedings of the Symposium State of the Science, Animal Manure and Waste Management, January 5-7 2005, San Antonio, TX, USA.

Newton, L., Sheppard, C., Watson, D. W., & Burtle, G. (2005b). Using the black soldier fly, Hermetia illucens, as a value-added tool for the management of swine manure. Report for Mike Williams, Director of the Animal and Poultry Waste Management Centre, North Carolina State University, Raleigh, NC, USA. http://tinyurl.com/mxam64v.

Oluokun, J.A. (2000). Upgrading the nutritive value of full-fat soybeans meal for Broiler production with either fishmeal or black soldier fly larvae meal (*Hermetia illucens*). *Nigerian Journal of Animal Science*, 3, 51-61.

Roncarati, A., Gasco, L., Parisi, G., & Terova, G. (2015). Growth performance of common catfish (Ameiurus melas Raf.) fingerlings fed Tenebrio molitor meal diet. *Journal of Insects as Food and Feed*, 233-40.

Sanchez-Muos, M.J., Barroso, F.G., & Manzano-Agugliaro, F. (2014). Insect meal as renewable source of food for animal feeding: a review. *Journal Cleaner Production*, 65, 16-27.

Schiavone, A., Cullere, M., De Marco, M., Meneguz, M., Biasato, I., Bergagna, S., Dwzzutto, D., Gai, F., Dabbou, S., Gasco, L., & Dalle Zotte, A. (2017a). Partial or total replacement of soybean oil by black soldier larvae (*Hermetia illucens* L.) fat in broiler diets: effect on growth performances, feed-choice, blood traits, carcass characteristics and meat quality. *Italian Journal of Animal Science*, 16:93–100.

Secci, G., Moniello, G., Gasco, L., Bovera, F., & Parisi, G. (2018). Barbary partridge meat quality as affected by Hermetia illucens and Tenebrio molitor larva meals in feeds. *Food Research International*, 112, 291–298.

Sirri, F., Bianchi, M., Petracci, M., & Meluzzi, A. (2009). Influence of partial and complete caponization on chicken meat quality. *Poultry Science*, 88, 1466–1473.

Sogari, G., Amato, M., Biasato, I., Chiesa, S., & Gasco, L. (2019). The potential role of insects as feed: a multi –perspective review. *Animals*, 9(4), 119.

Van Huis, A. (2013). Potential of insects as food and feed in assuring food security. *Annual Review of Entomology,* 58, 563-583.

Van Lenteren, J.C. (2006). Ecosystem services to biological control of pests: why are they ignored? *Proceedings of the Netherlands Entomological Society Meeting*, 17, 103-111.