

تأثیر افزودن آنتی‌بیوتیک و پروبیوتیک به رژیم غذایی روی فراسنجه‌های زیستی کرم زرد آرد *Tenebrio molitor*

فریبا سهرابی^۱✉، حسن حبیبی^۲، سالم مرمازی^۲

^۱گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر، ایران. ^۲گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر، ایران. fsohrabi@pgu.ac.ir

پذیرش: ۱۴۰۰/۸/۱۱

بازنگری: ۱۴۰۰/۷/۱

دریافت: ۱۴۰۰/۶/۱

چکیده

کرم زرد آرد، *Tenebrio molitor*، یک منبع بسیار غنی از پروتئین و دیگر مواد غذایی است. در این تحقیق به منظور بهبود پرورش این حشره، برخی فراسنجه‌های زیستی آن با تغذیه از شانزده رژیم غذایی حاوی دزهای مختلف آنتی‌بیوتیک لینکومایسین (صفر، ۰/۰۰۵، ۰/۰۱ و ۰/۰۲ درصد) و سه نوع پروبیوتیک (فاقد پروبیوتیک (p0)، پروبیوتیک تجاری (pA)، پروبیوتیک تهیه شده از کشت لاکتوباسیلوس‌ها (pB) و پروبیوتیک حاوی مخمر تجاری (pC)) بررسی شدند. هر سه پروبیوتیک به مقدار یک درصد با غلظت CFU/gr 10^8 در رژیم غذایی مورد استفاده قرار گرفتند. تیمارهای آزمایشی روی لاروهای سن اول حشره در رژیم غذایی مبتنی بر سبوس و هویج اعمال شدند. بر اساس نتایج، در تیمار pC دز ۰/۰۱ درصد با میانگین 67.75 ± 1.16 روز، افزایش معنی‌داری در طول دوره نشوونمای لاروی نسبت به شاهد (۶۴/۱۷ \pm ۱/۰۴ روز) مشاهده شد. بیشترین میانگین وزن لاروی، ۱۴۴/۱۷ \pm ۵/۳۰ میلی‌گرم، مربوط به تیمار pA دز ۰/۰۱ درصد بود که تنها با میانگین تیمار pC دز ۰/۰۱ درصد (۱۱۷/۵۰ \pm ۳/۰۵ میلی‌گرم) دارای اختلاف معنی‌دار بود. درصد شفیرگی در دز صفر (۸۴/۴۶ \pm ۱/۷۷ درصد) به طور معنی‌داری نسبت به دزهای ۰/۰۱ و ۰/۰۰۵ درصد آنتی‌بیوتیک (به ترتیب ۸ و ۹/۳۲ درصد) کمتر بود. صفات طول دوره نشو و نمای شفیرگی، وزن شفیره‌ها، و وزن و درصد ظهور حشرات کامل تحت تأثیر رژیم‌های غذایی قرار نگرفتند. بر اساس یافته‌های این تحقیق، برهمکنش آنتی‌بیوتیک و پروبیوتیک می‌تواند برخی فراسنجه‌های رشدی و نشو و نمایی کرم زرد آرد را تحت تأثیر قرار دهد که در برنامه‌های پرورش حشره می‌تواند مد نظر قرار گیرد.

کلمات کلیدی: باکتری، پرورش انبوه، رژیم غذایی، کرم زرد آرد، لینکومایسین

Effect of dietary supplementation with antibiotic and probiotic on Biological Parameters of Yellow mealworm, *Tenebrio molitor*

Fariba Sohrabi¹✉, Hassan Habibi², Salim Moramazi²

¹Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Persian Gulf University, Bushehr, Iran. ²Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, Persian Gulf University, Bushehr, Iran. fsohrabi@pgu.ac.ir

Received: 23 August 2021

Revised: 23 September 2021

Accepted: 2 November 2021

Abstract

Yellow mealworm, *Tenebrio molitor*, is a wealthy source of proteins and other nutrients. In this study, to improve the breeding of this edible insect, some of its biological parameters were evaluated by feeding on sixteen diets containing different levels of the antibiotic lincomycin (doses of 0, 0.005, 0.01 and 0.02%) and probiotics. Probiotic levels included: 1-probiotic-free (p0), 2- commercial probiotic (pA), 3- probiotic prepared from culture of *Lactobacillus* bacteria (pB), and 4- probiotic containing commercial yeast (pC). All three probiotics were used at a dose rate of 1% (10^8 CFU/gr). Treatments were applied to first instar larvae in bran and carrot-based diet. Based on the results, a significant increase was observed in the larval life span in the treatment of pC-dose of 0.01%, with an average of 67.75 ± 1.16 days, compared to the control (64.17 ± 1.04 days). The greatest mean larval weight, 144.17 ± 5.30 mg, was related to the pA-dose of 0.01%, which was significantly different only with pC-dose of 0.01% (117.50 ± 3.05 mg). The pupation percentage at zero dose ($84.46 \pm 1.77\%$) was significantly lower than the doses of 0.01 and 0.005% of antibiotics (8 and 9.32%, respectively). Traits of pupal life span, pupal weight, adult weight and adult emergence rate were not affected by diets. Based on the findings, the interaction of antibiotics and probiotics can affect some growth and developmental parameters of the yellow mealworm that can be considered in insect breeding programs.

Keywords: Bacteria, Diet, Lincomycin, Mass Rearing, Yellow Mealworm

How to cite:

Sohrabi F, Habibi H, Moramazi S. 2022. Effect of dietary supplementation with antibiotic and probiotic on Biological Parameters of Yellow mealworm, *Tenebrio molitor*. *Journal of Applied Research in Plant Protection* 11 (3): 77-87.

مقدمه

عنوان یک غذای جدید ایمن توسط سازمان ایمنی مواد غذایی اروپا (EFSA) ارزیابی و مورد تایید واقع شده است. در حقیقت، کرم زرد آرد اولین حشره خوراکی است که در اتحادیه اروپا به این مهم دست یافته است (Moruzzo et al. 2021). تولید این لاروها به دلیل منابع کمی که برای پرورش آنها لازم است، تأثیر کمی بر محیط زیست دارد (Wang et al. 2012; Derler et al. 2021). همچنین، پرورش این حشرات در مقایسه با سایر دام-های معمولی به فضا، آب و اغلب انرژی کمتری نیاز دارد. میزان زمین مورد نیاز برای به دست آوردن یک کیلوگرم پروتئین این حشره خوراکی و گاز گلخانه‌ای تولید شده، از مرغ، گاو و خوک کمتر است (Ooninx & de Boer 2012). علاوه بر این، میزان آب مصرفی مربوط به تولید هر تن حشره (متر مکعب بر تن) قابل مقایسه با گوشت مرغ و کمتر از گوشت خوک و گاو است (Miglietta et al. 2015). آنها می‌توانند در طیف گسترده‌ای از بسترها و فرآورده‌های جانبی مشتق از صنایع غذایی پرورش داده شوند. این امر آنها را به یک ابزار عالی تبدیل زیستی تبدیل کرده است که تلفات مواد غذایی را کاهش داده و در مفهوم اقتصاد دورانی (Circular Economy) پایدار جای می‌گیرد (Moruzzo et al. 2021).

رشد و نشو و نمای حشرات و ترکیب بدن و در نتیجه کیفیت غذایی آنها را می‌توان توسط رژیم غذایی تا حدود مشخصی تغییر داد که در نتیجه امکان تنظیم میزان تولید این حشرات و همچنین ترکیب غذایی آنها با توجه به نیازهای مصرف‌کننده فراهم می‌شود (Anderson 2000; Finke 2002). در واقع، توسعه رژیم‌های غذایی با قابلیت حمایت و ترجیحا افزایش‌دهنده رشد و نشو و نمای حشرات به عنوان یکی از چالش‌های اصلی صنعت پرورش حشرات در زمینه دستیابی به تولید کارآمد، مقرون به صرفه و پایدار حشرات جهت استفاده-های غذایی شناخته شده است (Rumbos et al. 2020). در حال حاضر، رژیم‌های غذایی مورد استفاده در تولید تجاری کرم زرد آرد عمدتاً بر اساس سبوس گندم می‌باشند (Ghosh et al. 2017). در مورد کرم زرد آرد، روی توسعه رژیم‌های غذایی مصنوعی که تولید انبوه لاروهای بسیار مغذی را از طریق کاهش طول دوره نشو و نمایی آنها به حداکثر برسانند، تلاش-های قابل توجهی انجام شده‌اند (Rumbos et al. 2020; Liu et al. 2020).

پرورش حشرات همیشه خطر ابتلا به بیماری‌ها را در پی دارد. در این میان، عفونت‌های میکروبی از شایع‌ترین مشکلات هستند (Dickel et al. 2016). استفاده از تیمارهای پیش‌گیرانه

حشرات غذای طبیعی پرندگان هستند و در طبیعت منبع اصلی پروتئین برای بسیاری از جانوران می‌باشند (Lalev et al. 2020). حشرات می‌توانند به عنوان منبع بسیار خوبی برای تأمین پروتئین‌ها و چربی‌های مورد نیاز در تغذیه طیور به کار روند. آنها همچنین با داشتن انواع اسیدهای آمینه باعث افزایش رشد و بهبود فراسنجه‌های تولیدی در طیور می‌شوند (Jozefiak et al. 2016; Huis & Tomberlin 2016). به علاوه، حشرات غنی از طیف وسیعی از اجزای تقویت‌کننده سلامتی مانند کیتین، لوریک اسید و پپتیدهای ضد میکروبی هستند که می‌تواند روی رشد پرندگان تأثیر بگذارد (Chernysh et al. 2018; Kareem et al. 2018; Belghit et al. 2015). بنابراین، چنین پیچیدگی شیمیایی حشرات ممکن است مزایای زیادی برای تغذیه طیور فراهم کند. به علاوه، تقاضای بالا و در نتیجه قیمت‌های بالای منابع پروتئینی متعارف مانند غذاهای دریایی یا سویا نیز به انجام تحقیقات جدید جهت تولید پروتئین حشرات برای پرورش آبزیان، دام و طیور منجر شده است (Van Huis et al. 2013; Zhao et al. 2016).

چندین گونه از حشرات مانند کرم ابریشم (Ullah et al. 2017)، ملخ‌ها (Sun et al. 2012)، مگس‌های خانگی (Radulović et al. 2018) و کرم‌های آرد (Bovera et al. 2020; Elahi et al. 2015)، به عنوان یک ماده غذایی بالقوه برای دام و طیور مورد بررسی قرار گرفته‌اند. کرم زرد آرد (Yellow mealworm) (*Tenebrio molitor* L. (Col.: Tenebrionidae)) یکی از بزرگ‌ترین سوسک‌های آفت فرآورده‌های انباری (طول بدن حشره کامل بین ۱۲ تا ۲۰ میلی‌متر) است، خسارت‌های زیادی را به فرآورده‌های کشاورزی انبار شده در سراسر جهان وارد می‌کند (Kavallieratos et al. 2019; Rumbos et al. 2020). این حشره به عنوان یک آفت ثانویه و پوسیده‌خوار طبقه‌بندی می‌شود (Rees 2004). لاروها و حشرات کامل این آفت عمدتاً به غلات و مواد نشاسته‌ای مانند آرد، سبوس، ماکارونی و همچنین مواد جانوری (مانند گوشت و پر) حمله می‌کنند و علاوه بر تغذیه، باعث آلودگی این محصولات به مواد ترشح شده، فضولات و حشرات مرده نیز می‌شوند (Siemianowska et al. 2013; Rumbos et al. 2020). با این حال، کرم‌های زرد آرد در بسیاری از کشورها به عنوان یک منبع غنی از پروتئین و چربی در غذای ماهی‌ها و جانوران خانگی مورد استفاده قرار می‌گیرند (Park et al. 2014; Morales-Ramos et al. 2016). اخیراً، کاربرد این لاروها به

محیط طبیعی بدن تحت تأثیر روابط پیچیده بین پروبیوتیک، میکروبیوتای روده، رژیم غذایی و فیزیولوژی میزبان قرار دارد (Gomez *et al.* 2019). پروبیوتیک‌ها کاربردهای بسیاری دارند، از جمله بهینه‌سازی رشد و زنده‌مانی در گونه‌های جانوری مورد استفاده در پرورش آبزیان و کشاورزی (Chaucheyras-Durand *et al.* 2013; Pandiyan *et al.* 2009; Durand & Pandiyan *et al.* 2013). درمان عفونت‌های دستگاه گوارش در انسان (Deshpande *et al.* 2010). بیشترین میکروارگانیسم‌های مطالعه شده دارای فعالیت پروبیوتیک شامل بیفیدوباکتری‌ها (Bifidobacteria)، لاکتوباسیل‌ها (Lactobacilli)، انتروکوک‌ها (Enterococci) و مخمرها (Yeasts) می‌باشند (Varankovich *et al.* 2015). مورد استفاده از باکتری‌های مختلف به عنوان پروبیوتیک (مثلاً به عنوان مکمل غذایی لاروها یا حشرات کامل) برای حل مشکلات کیفی ناشی از اختلال در میکروب‌های همزیست روده در طول پرورش، نتایج امیدوارکننده‌ای گزارش شده است.

طبق گزارش‌های موجود، تغذیه لاروها از پروبیوتیک‌های رژیم غذایی باعث افزایش زادآوری و کاهش طول عمر حشرات کامل مگس زیتون، (*Bactrocera oleae* (Rossi) (Diptera: Tephritidae) (Sacchetti *et al.* 2014) و در مگس میوه شرقی، (*Bactrocera dorsalis* (Hendel) (Diptera: Tephritidae)، باعث افزایش نرخ زنده‌مانی و درصد ظهور حشرات کامل شد (Khan *et al.* 2019). در مطالعه انجام شده روی کرم زرد آرد، استفاده از باکتری *Pediococcus pentosaceus* mees به عنوان پروبیوتیک در رژیم غذایی، وزن و زنده‌مانی لاروها را به طور معنی‌دار افزایش داد (Lecocq *et al.* 2021).

هدف از مطالعه حاضر، بررسی اثرات حاصل از به‌کارگیری سه نوع پروبیوتیک و آنتی‌بیوتیک لینکومایسین در رژیم غذایی کرم زرد آرد روی چند فراسنجه زیستی این حشره بود تا در صورت دارا بودن نتایج موثر، در پرورش‌های آن مورد استفاده قرار گیرند.

مواد و روش‌ها

پرورش حشرات

کرم‌های زرد آرد مورد استفاده در این تحقیق از مزرعه آروین در شیراز تهیه و به آزمایشگاه حشره‌شناسی دانشگاه خلیج فارس منتقل شدند. لاروها در داخل ظروف پلاستیکی (۱۵ × ۳۰ × ۲۵ سانتی‌متر) دارای ۲ کیلوگرم سیوس گندم به عنوان منبع غذایی پرورش داده شدند. حشرات کامل ظاهر شده

آنتی‌بیوتیک در جمعیت حشرات پرورش یافته آزمایشگاهی، یک راهبرد معمول برای از بین بردن عفونت‌های میکروبی و افزایش کیفیت حشرات پرورشی به صورت انبوه است (Sorensen *et al.* 2012). کلنی‌های آزمایشگاهی بالپولکداران (Van Der Hoeven *et al.* 2008)، دوبالان (Dimou *et al.* 2010) و سخت‌بالپوشان (Lehman *et al.* 2009) با رژیم‌های غذایی مصنوعی همراه با آنتی‌بیوتیک تغذیه می‌شوند تا عفونت‌های همه‌گیری مانند آلودگی به انگل‌های اجباری (مانند میکروسپورییدیوم‌ها)، از بین بروند. اگرچه پرورش حشرات در رژیم‌های غذایی حاوی آنتی‌بیوتیک چندین دهه است که انجام می‌شود، اما آنتی‌بیوتیک‌ها می‌توانند روی فراسنجه‌های زیستی حشرات اثرات منفی نیز داشته باشند (Dickel *et al.* 2016). اثرات استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در رژیم‌های غذایی چند گونه بالپولکدار بررسی شده به شرح زیر بوده‌اند: افزایش یا کاهش وزن تر لاروها بسته به نوع و غلظت آنتی‌بیوتیک مورد استفاده، کاهش قابل توجه زنده‌مانی (Buyukguzel & Kalender 2008)؛ افزایش دوره نشو و نمای لاروی، کاهش میزان پروتئین بدن حشرات کامل در بعضی دزدهای مصرفی، کاهش درصد شفیرگی و درصد ظهور حشرات کامل (Buyukguzel & Kalender 2008)، عدم تأثیر بر زنده‌مانی لاروها، کوتاه‌تر بودن دوره نشو و نمایی لاروها در اثر تغذیه از آنتی‌بیوتیک (Thakur *et al.* 2016; Dickel *et al.* 2016)، عدم تأثیر روی وزن لاروها، ضعف ایمنی در لاروهای تیمار شده (Dickel *et al.* 2016) و کاهش زادآوری (Dickel *et al.* 2016; Kastamonuluoglu *et al.* 2020). در سخت‌بالپوشان نیز اثرات تیمار آنتی‌بیوتیک به صورت جلوگیری از تفریح تخم بدون اثر منفی بر تغذیه، زنده‌مانی، دوره زمانی پیش از تخم‌گذاری و تعداد تخم گذاشته شده توسط هر ماده (Son *et al.* 2008)، کاهش قابل توجه زنده‌مانی (Jawad *et al.* 2021)، عدم تأثیر بر زنده‌مانی لاروها، کاهش سرعت رشد لاروها (Baker & Lum 1973) و کاهش یا افزایش اندازه کل جمعیت بسته به نژاد گونه حشره مورد بررسی و نوع آنتی‌بیوتیک مورد استفاده (Stevens & Wade 1988) گزارش شده است.

پروبیوتیک‌ها در غذا به‌عنوان میکروارگانیسم‌های زنده‌ای تعریف می‌شوند که وقتی در مقادیر کافی تهیه شوند، باعث سلامتی میزبان می‌شوند (FAO/WHO 2006). پروبیوتیک‌ها چندین سازوکار عمل دارند، از جمله تولید ترکیبات ضد میکروبی، مهار ژن‌های بیماری‌زا، یا تحریک دستگاه ایمنی میزبان (Oelschlaeger 2010). عمل نهایی پروبیوتیک‌ها در

جداسازی باکتری‌های بالقوه پروبیوتیک، پس از تهیه رقت‌های متوالی، کشت در محیط اختصاصی انجام گرفت و نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور ۳۵ درجه سلسیوس (به صورت هوازی و بی هوازی) گرمخانه‌گذاری شدند. سپس، کلنی‌های رشد یافته در محیط کشت مایع اختصاصی MRS به غلظت 10^8 CFU/gr تکثیر شدند. سومین پروبیوتیک (pC) حاوی مخمر تجاری *Saccharomyces cerevisiae* var. *bouardii* با غلظت 10^8 CFU/gr از شرکت تک‌ژن ایران تهیه شد. تیمار پروبیوتیک با روش پاشیدن (در مورد دو پروبیوتیک پودری pA و pC) و یا اسپری (در مورد پروبیوتیک مایع pB) روی قطعات کوچک هویج (به اندازه تقریباً ۱ سانتی‌متر مربع) اعمال شد. پس از اعمال سطوح فاکتور پروبیوتیک، لاروها تا رسیدن به مرحله حشره کامل روی سبوس گندم و هویج فاقد پروبیوتیک پرورش داده شدند. تکه‌های هویج هر هفته دو بار با هویج‌های تازه جایگزین می‌شدند.

ترکیب‌های تیماری مورد آزمایش بر اساس سطوح مختلف آنتی‌بیوتیک (صفر، ۰/۰۰۵، ۰/۰۱ و ۰/۰۲ درصد) و پروبیوتیک (فاقد پروبیوتیک (p0)، pA، pB و pC) در رژیم غذایی به صورت زیر بودند: (۱) شاهد (بدون افزودن آنتی‌بیوتیک و پروبیوتیک)، (۲) فاقد پروبیوتیک با غلظت ۰/۰۲ درصد آنتی‌بیوتیک (p0-a0.02)، (۳) فاقد پروبیوتیک با غلظت ۰/۰۱ درصد آنتی‌بیوتیک (p0-a0.01)، (۴) فاقد پروبیوتیک با غلظت ۰/۰۰۵ درصد آنتی‌بیوتیک (p0-a0.05)، (۵) بدون آنتی‌بیوتیک (pA-a0)، (۶) pA با غلظت ۰/۰۲ درصد آنتی‌بیوتیک (pA-a0.02)، (۷) pA با غلظت ۰/۰۱ درصد آنتی‌بیوتیک (pA-a0.01)، (۸) pA با غلظت ۰/۰۰۵ درصد آنتی‌بیوتیک (pA-a0.005)، (۹) بدون آنتی‌بیوتیک (pB-a0)، (۱۰) pB با غلظت ۰/۰۲ درصد آنتی‌بیوتیک (pB-a0.02)، (۱۱) pB با غلظت ۰/۰۱ درصد آنتی‌بیوتیک (pB-a0.01)، (۱۲) pB با غلظت ۰/۰۰۵ درصد آنتی‌بیوتیک (pB-a0.005)، (۱۳) pC بدون آنتی‌بیوتیک (pC-a0)، (۱۴) pC با غلظت ۰/۰۲ درصد آنتی‌بیوتیک (pC-a0.02)، (۱۵) pC با غلظت ۰/۰۱ درصد آنتی‌بیوتیک (pC-a0.01) و (۱۶) pC با غلظت ۰/۰۰۵ درصد آنتی‌بیوتیک (pC-a0.005). برای هر تیمار چهار تکرار در نظر گرفته شد و در هر تکرار ۲۷ عدد لارو (سنین دوم تا سوم) قرار داده شد. در این تحقیق، چند فراسنجه زیستی شامل طول دوره نشوونمای لاروی و شفیرگی، وزن لاروها، وزن شفیره‌ها، وزن حشرات کامل، درصد شفیرگی و درصد ظهور حشرات کامل مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش‌ها در دمای $1 \pm$

یک هفته پس از ظهور و تخم‌گذاری، از درون ظروف پرورش برداشته و به بستر جدید منتقل می‌شدند. لاروهای سن اول تفریح شده در ظروف باقی ماندند و در این مدت غذا (سبوس گندم) در صورت نیاز برای پرورش اضافه می‌شد. دو بار در هفته، به حشرات کامل و لاروها برش‌های هویج تازه به عنوان منبع آب داده می‌شد. کلنی پرورشی در دمای ۲۶ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی 55 ± 5 درصد و تاریکی مطلق نگهداری شد.

بررسی تاثیر آنتی‌بیوتیک و پروبیوتیک بر فراسنجه‌های رشدی و نشو و نمایی

در این تحقیق برای اعمال تیمار آنتی‌بیوتیک لینکومایسین از روش توصیف شده توسط Jung et al. (2014) استفاده شد. بدین منظور، ابتدا آنتی‌بیوتیک در آب مقطر حل و سپس کاملاً با سبوس مخلوط شد. بعد از آن سبوس تیمار شده روی یک سفره پلاستیکی در آزمایشگاه پهن شد تا آب مقطر از روی سبوس‌ها تبخیر شود. دزهای آنتی‌بیوتیک استفاده شده در این آزمایش صفر، ۰/۰۲ (دز درمان)، ۰/۰۱ (دز پیشگیری) و ۰/۰۰۵ (نصف دز پیشگیری) درصد بودند. هر دز آنتی‌بیوتیک روی ۱۰۰ گرم سبوس اعمال شد. لاروهای سن اول کرم زرد آرد به مدت پنج روز درون ظروف پلاستیکی (۱۵ × ۳۰ × ۲۵ سانتی‌متر) حاوی سبوس تیمار شده با آنتی‌بیوتیک با غلظت مشخص و برش هویج تازه قرار گرفتند. برای هر غلظت آنتی‌بیوتیک از تقریباً ۵۰۰ لارو سن اول یک تا دو روزه استفاده گردید. پس از گذشت پنج روز، لاروها از بستر تغذیه جدا و به ظروف پلاستیکی کوچک (۳ × ۶ × ۱۰ سانتی‌متر) محتوی ۱۰ گرم سبوس اتوکلاو شده و برش‌های تازه هویج منتقل شدند. پس از گذشت هفت روز، تیمار پروبیوتیک به مدت پنج روز روی لاروها اعمال گردید که در آن از سه نوع پروبیوتیک با دز یک درصد (غلظت 10^8 CFU/gr) در رژیم غذایی استفاده گردید. اولین پروبیوتیک (pA) در قالب یک فرآورده پودری از شرکت دانش‌بنیان Bio-poul ایران تهیه شد که شامل ترکیبی از باکتری‌های *Lactobacillus*، *Bacillus subtilis* (Ehrenberg)، *L. plantarum* (Orla-Jensen) *acidophilus* LB و *L. casei* Zhang *rhamnusu* Gorbach-Goldin و *Bifidobacterium bifidum* (Tissier) Orla-Jensen می‌باشد. دومین پروبیوتیک (pB) شامل مخلوطی از لاکتوباسیلوس‌های جدا شده از روده لاروهای کرم زرد آرد بود. برای تهیه این نوع پروبیوتیک، ابتدا روده لاروها خارج و از محتویات درونی آن‌ها نمونه‌گیری و به سرم فیزیولوژیک انتقال داده شد. به منظور

صورت درصد از تبدیل آرک‌سینوس و برای بقیه داده‌ها از تبدیل جذری استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها به روش آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد با استفاده از نرم‌افزار SAS (SAS Institute 2003) انجام شد.

نتایج

طول دوره نشو و نمای لاروی

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر دز آنتی‌بیوتیک ($F_{3,48} = 2.93, P = 0.053$) و نوع پروبیوتیک ($F_{3,48} = 2.56, P = 0.053$) در سطح احتمال پنج درصد ولی اثر متقابل آن دو ($F_{9,48} = 5.63, P < 0.0001$) در سطح احتمال یک درصد بر طول دوره نشو و نمای لاروی معنی‌دار بود. طول این دوره در شاهد $1/0.4 \pm 64/17$ روز بود که تفاوت معنی‌داری را با تیمارهای $1/0.01$ pC-a0.01 ($67/75 \pm 1/16$ روز)، $1/0.01$ pA-a0.01 ($60/60 \pm 0/75$ روز) نشان داد. بر اساس نتایج، تیمار pC-a0.01 منجر به افزایش ۵ درصدی طول دوره نشو و نمای لاروی نسبت به شاهد شد اما در دو تیمار $1/0.01$ pA-a0.01 و $1/0.01$ pC-a0.01 طول این دوره نسبت به شاهد به ترتیب به میزان ۷ و ۵ درصد کاهش یافت (جدول ۱).

۲۶ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی 55 ± 5 درصد و تاریکی مطلق انجام شدند.

برای محاسبه وزن لاروها، سه عدد لارو سن آخر (سن بیستم) به صورت تصادفی از هر تکرار انتخاب گردیدند (در مجموع ۱۲ لارو برای هر تیمار). وزن شفیره‌ها و حشرات کامل نیز با انتخاب سه عدد شفیره و حشره کامل دو روزه از هر تکرار (در مجموع ۱۲ عدد برای هر تیمار) محاسبه شد. توزین با استفاده از ترازوی حساس (مدل GR300 AND) با دقت $0/0001$ گرم بر حسب میلی‌گرم انجام شد.

تجزیه آماری

تجزیه داده‌ها با استفاده از رویه GLM در نرم‌افزار SAS به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با دو عامل آنتی‌بیوتیک (چهار سطح) و پروبیوتیک (چهار سطح) انجام شد. با توجه به این که برای صفات وزن لاروها، شفیره‌ها و حشرات کامل در هر تکرار سه زیرنمونه به صورت تصادفی انتخاب شده بود، تجزیه واریانس به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملا تصادفی چندمشاهده‌ای انجام شد. قبل از انجام تجزیه واریانس، تست نرمالیته انجام و در صورت نیاز برای داده‌های به

جدول ۱. مقایسه میانگین (\pm SE) طول دوره نشو و نمای لاروی (روز) کرم زرد آرد، *Tenebrio molitor*، پرورش یافته روی رژیم‌های غذایی دارای آنتی‌بیوتیک و پروبیوتیک.

Table 1. Means (\pm SE) of larval duration (days) of the yellow mealworm, *Tenebrio molitor*, reared on diets containing antibiotic and probiotic.

Probiotic*	Antibiotic Concentrations (%)			
	0	0.005	0.01	0.02
p0	64.17 \pm 1.04 ^{b-e}	63.04 \pm 1.11 ^{b-f}	59.63 \pm 1.00 ^g	61.56 \pm 1.06 ^{d-g}
pA	65.60 \pm 1.20 ^{abc}	66.14 \pm 1.00 ^{ab}	60.60 \pm 0.75 ^{fg}	62.27 \pm 1.11 ^{c-g}
pB	64.43 \pm 1.08 ^{bcd}	61.02 \pm 1.00 ^{efg}	63.51 \pm 1.00 ^{b-f}	62.27 \pm 1.03 ^{c-g}
pC	63.20 \pm 1.03 ^{b-f}	61.53 \pm 1.05 ^{d-g}	67.75 \pm 1.16 ^a	63.76 \pm 1.11 ^{b-f}

Means followed by same letters are not significantly different (Duncan's multiple range test; $p \leq 0.05$).

*p0: with no probiotic, pA: commercial probiotic from Bio-poul company, pB: probiotic prepared from culture of *Lactobacillus* bacteria in the laboratory, pC: commercial probiotic containing *Saccharomyces cerevisiae*.

طول دوره نشو و نمای شفیرگی

(در pC-a0.005) تا $0/06 \pm 8/36$ روز (در p0-a0.01) متغیر بود و هیچ کدام با شاهد $0/07 \pm 8/30$ (روز) اختلاف معنی‌داری نداشتند.

وزن لاروهای سن آخر

طبق نتایج، اثر دز آنتی‌بیوتیک ($F_{3,48} = 1.41, P = 0.251$) و نوع پروبیوتیک ($F_{3,48} = 0.44, P = 0.728$) بر وزن لاروهای

طبق نتایج تجزیه واریانس، اثر دز آنتی‌بیوتیک ($F_{3,48} = 0.62, P = 0.777$)، نوع پروبیوتیک ($F_{3,48} = 0.62, P = 0.603$) و اثر متقابل آن دو ($F_{9,48} = 0.51, P = 0.866$) بر طول دوره نشوونمای شفیرگی غیرمعنی‌دار بود. طول دوره نشو و نمای شفیرگی در تیمارهای مختلف در محدوده $0/04 \pm 8/25$ روز

0.01 ($117/5 \pm 3/05$) میلی گرم) با بیشترین وزن لاروها در چهار تیمار pA-a0.01 ($144/17 \pm 5/30$) میلی گرم)، pC-a0 ($142/50 \pm 6/64$) pC-0.02، میلی گرم)، و pB-a0 ($142/50 \pm 3/28$) میلی گرم) دیده شدند (جدول ۲).

سن آخر غیرمعنی دار بود، اما اثر متقابل آن دو در سطح احتمال پنج درصد معنی دار بود ($F_{9,48} = 2.33, P = 0.030$). طبق نتایج، تغذیه از آنتی بیوتیک و پروبیوتیک وزن لاروها را در مقایسه با شاهد به طور معنی داری تحت تاثیر قرار نداد. اختلاف‌های معنی دار بین کمترین وزن لاروها در تیمار pC-

جدول ۲. مقایسه میانگین وزن لاروهای سن بیستم (\pm خطای معیار) (میلی گرم) کرم زرد آرد، *Tenebrio molitor*، پرورش یافته روی رژیم‌های غذایی دارای آنتی بیوتیک و پروبیوتیک.

Table 2. Means (\pm SE) of twentieth instar weights (mg) of the yellow mealworm, *Tenebrio molitor*, reared on diets containing antibiotic and probiotic.

Probiotic*	Antibiotic Concentrations (%)			
	0	0.005	0.01	0.02
p0	137.50 \pm 5.24 ^{ab}	135.00 \pm 6.45 ^{ab}	129.17 \pm 6.80 ^{ab}	135.83 \pm 7.33 ^{ab}
pA	125.83 \pm 3.60 ^{ab}	137.50 \pm 5.09 ^{ab}	144.17 \pm 5.30 ^a	136.67 \pm 5.27 ^{ab}
pB	142.50 \pm 3.28 ^a	135.00 \pm 5.30 ^{ab}	124.17 \pm 4.34 ^{ab}	124.17 \pm 5.30 ^{ab}
pC	143.33 \pm 3.55 ^a	127.50 \pm 5.24 ^{ab}	117.50 \pm 3.05 ^b	142.50 \pm 6.64 ^a

Means followed by same letters are not significantly different (Duncan's multiple range test; $p \leq 0.05$).

*p0: with no probiotic, pA: commercial probiotic from Bio-poul company, pB: probiotic prepared from culture of *Lactobacillus* bacteria in the laboratory, pC: commercial probiotic containing *Saccharomyces cerevisiae*.

درصد شفیرگی

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر دز آنتی بیوتیک بر درصد شفیرگی در سطح احتمال $F_{3,48} = 3.19, P = 0.032$) پنج درصد معنی دار بود، اما اثر نوع پروبیوتیک ($F_{3,48} = 1.88, P = 0.146$) و اثر متقابل آن دو ($F_{9,48} = 1.68, P = 0.120$) معنی دار نبودند. نتایج مقایسه میانگین صفت درصد شفیرگی نشان داد که دزهای مختلف آنتی بیوتیک لینکومایسین تاثیر معنی داری بر روی این صفت داشتند (جدول ۳). بر اساس نتایج به دست آمده، درصد شفیرگی در دز صفر (عدم کاربرد آنتی بیوتیک) $1/77 \pm 84/46$ درصد بود که نسبت به دزهای ۰/۰۱ و ۰/۰۵ درصد آنتی بیوتیک لینکومایسین به ترتیب ۸ و ۹/۳۲ درصد کمتر بود (جدول ۳).

وزن شفیره‌ها

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر دز آنتی بیوتیک نوع پروبیوتیک ($F_{3,48} = 0.53, P = 0.661$)، و اثر متقابل آن دو ($F_{9,48} = 0.42, P = 0.918$) بر وزن شفیره‌ها غیرمعنی دار بود. میانگین وزن شفیره‌ها در تیمارهای مختلف در محدوده $4/41 \pm 101/67$ میلی گرم (در pC-a0.01) تا $3/58 \pm 120/83$ میلی گرم (در pA-a0.01) متغیر بود و هیچ کدام از تیمارها تفاوت معنی داری نسبت به شاهد ($5/64 \pm 110$ میلی گرم) نداشتند.

وزن حشرات کامل

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر دز آنتی بیوتیک نوع پروبیوتیک ($F_{3,48} = 0.95, P = 0.422$)، و اثر متقابل آن دو ($F_{9,48} = 0.35, P = 0.953$) بر وزن حشرات کامل غیرمعنی دار بود. میانگین وزن حشرات کامل در تیمارهای مختلف در محدوده $3/51 \pm 92/5$ میلی گرم (در pB-a0.01) تا $4/60 \pm 110$ میلی گرم (در pA-a0.005) متغیر بود و هیچ کدام از تیمارها با شاهد ($4/30 \pm 92/5$ میلی گرم) اختلاف معنی داری نداشتند.

جدول ۳. مقایسه میانگین (\pm خطای معیار) تاثیر دزهای مختلف آنتی‌بیوتیک لینکومایسین بر روی صفت درصد شفیرگی کرم زرد آرد، *Tenebrio molitor* پرورش یافته روی رژیم‌های غذایی دارای آنتی‌بیوتیک و پروبیوتیک.

Table 3. Means (\pm SE) of the effect of different dose rates of the antibiotic lincomycin on the pupation percentage of the yellow mealworm, *Tenebrio molitor*, reared on diets containing antibiotic and probiotic.

Antibiotic Concentrations (%)	Pupation percentage
0	84.46 \pm 1.77 ^b
0.005	92.33 \pm 1.90 ^a
0.01	91.18 \pm 1.65 ^a
0.02	89.32 \pm 2.26 ^{ab}

Means followed by same letters are not significantly different (Duncan's multiple range test; $P \leq 0.05$).

مهره‌داران مختلف و بی‌مهرگان نیز اضافه شوند (Ptaszynska *et al.* 2016).

طبق منابع موجود، تاکنون در زمینه اثر آنتی‌بیوتیک‌ها روی فراسنجه‌های زیستی کرم زرد آرد مطالعه‌ای انجام نشده است. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که افزودن آنتی‌بیوتیک لینکومایسین به رژیم غذایی بر طول دوره لاروی حشره تاثیر قابل توجهی داشت و تغذیه لاروها از غلظت ۰/۰۱ درصد لینکومایسین به تنهایی و نیز در ترکیب با pA باعث کاهش معنی‌دار طول دوره لاروی نسبت به شاهد شد. این نتایج با یافته‌های برخی از محققین که به تاثیر مثبت افزودن آنتی-بیوتیک‌ها به رژیم غذایی بر کاهش طول دوره لاروی حشرات، از جمله لاروهای زنبور (*Pimpla turionellae* (L.) (Hym.: Ichneumonidae) (Buyukguzel & Yazgan 2002)، کرم برگ‌خوار پنبه (*Spodoptera litura* (Fabricius) (Lep.: Noctuidae) (Thakur *et al.* 2016) و (*L. (Lep.: Erebidae)* (Thakur *et al.* 2016) *Parasemia plantaginis* (Dickel *et al.* 2016) اشاره نموده‌اند، مطابقت دارد. علت تاثیر مثبت ناشی از مصرف این آنتی-بیوتیک روی طول دوره لاروی ممکن است به تداخل آنتی-بیوتیک‌ها با میکروبیوتای روده حشره و تغییر تنوع میکربی روده مربوط باشد. اجتماع باکتریایی روده در تغذیه حشرات میزبان به اشکال مختلف مانند کمک به زنده ماندن در رژیم‌های نامطلوب، بهبود کارایی گوارش، دستیابی به آنزیم‌های گوارشی، تأمین ویتامین‌ها و همچنین محافظت در برابر ترکیبات سمی و عوامل بیماری‌زا نقش دارد (Lin 2011; Thakur *et al.* 2016). با این وجود، افزایش طول دوره لاروی در حشرات تغذیه شده با رژیم غذایی دارای آنتی‌بیوتیک از جمله شب‌پره موم‌خوار بزرگ (*Galleria mellonella* (L.) (Lep.: Pyralidae) (Buyukguzel & Kalender 2008) گزارش شده است که با نتایج مطالعه حاضر در تیمار pC-a0.01

درصد ظهور حشرات کامل

طبق نتایج تجزیه واریانس، اثر دز آنتی‌بیوتیک ($F_{3,48} = 0.33, P = 0.816$)، نوع پروبیوتیک ($F_{3,48} = 0.37, P = 0.787$) و اثر متقابل آن دو ($F_{9,48} = 0.70, P = 0.711$) بر درصد ظهور حشرات کامل غیرمعنی‌دار بود. حداقل میانگین درصد ظهور حشرات کامل در تیمارهای مختلف به میزان $91/65 \pm 8/35$ درصد (در pB-a0) بود که با میانگین شاهد ($94/42 \pm 5/60$) اختلاف معنی‌داری نداشت.

بحث

عوامل بیماری‌زا یکی از چالش‌های مهم مرتبط با پرورش حشرات می‌باشند که می‌توانند به طور مستقیم روی حشرات یا به طور غیرمستقیم روی مصرف‌کننده‌های حشرات تأثیر مضر داشته باشند (Abado-Becognee *et al.* 1998). بنابراین، عوامل مختلف ضدقارچی و ضدباکتریایی برای جلوگیری از آلودگی‌های میکربی به رژیم غذایی حشرات پرورش یافته در شرایط آزمایشگاهی اضافه می‌شوند (Inglis & Cohen 2004; Zha & Cohen 2014; Buyukguzel & Buyukguzel 2016). مطالعات متعدد انجام شده روی گونه‌های مختلف حشرات نشان داده است که استفاده از ترکیبات آنتی‌بیوتیک برای بهبود کیفیت رژیم غذایی حشرات، می‌تواند فراسنجه‌های زیستی حشرات را به طور منفی تحت تاثیر قرار دهد (Buyukguzel & Kalender 2008; Dickel *et al.* 2016; Kastamonuluoglu *et al.* 2020). در این شرایط، استفاده از پروبیوتیک در رژیم غذایی می‌تواند سلامت میزبان را بهبود بخشد (Buffie & Pamer 2013). پروبیوتیک‌ها از جمله ترکیباتی هستند که توصیه می‌شود نه تنها به رژیم غذایی انسان، بلکه به غذای

در مطالعه حاضر، هیچ یک از دو عامل آنتی‌بیوتیک و پروبیوتیک بر طول دوره شفیرگی، وزن شفیره‌ها و یا حشرات کامل، و نیز درصد ظهور حشرات کامل کرم زرد آرد تأثیر معنی‌داری نداشتند.

در مورد تأثیر افزودن پروبیوتیک‌ها در رژیم غذایی بر فراسنجه‌های زیستی کرم زرد آرد مطالعات محدودی وجود دارد. مقایسه یافته‌های مختلف در یک گونه به دلیل استفاده از پروبیوتیک‌های مختلف با شرایط متفاوت آزمایشی دشوار است. افزایش قابل توجه وزن لاروهای کرم زرد آرد با تغذیه از رژیم غذایی حاوی پروبیوتیک مخمر (Davis & Sosulski 1974) و پروبیوتیک *P. pentosaceus* (Lecocq et al. 2021) نسبت به شاهد گزارش شده است که با نتایج تحقیق حاضر در مورد عدم تأثیر بکارگیری پروبیوتیک به تنهایی در رژیم غذایی بر وزن لاروها مغایرت دارد. با این حال، در مطالعه حاضر بکارگیری پروبیوتیک در ترکیب با آنتی‌بیوتیک، بسته به نوع پروبیوتیک مصرفی و غلظت آنتی‌بیوتیک، اثرات معنی‌دار افزایشی و نیز کاهش بر دو صفت طول دوره نشو و نمای لاروی و نیز وزن لاروها داشت که در بالا به آن اشاره شد. بنابراین، استفاده از پروبیوتیک در رژیم غذایی ممکن است بر برخی فراسنجه‌های زیستی حشره تأثیر بگذارد، در حالی که سایر فراسنجه‌ها تحت تأثیر قرار نگیرند.

به طور کلی، نتایج بررسی حاضر نشان داد که استفاده همزمان از آنتی‌بیوتیک لینکومایسین و سه نوع پروبیوتیک مصرفی روی برخی از صفات تاریخچه زندگی کرم زرد آرد از جمله مدت زمان رشد و وزن لاروها اثر قابل توجهی داشت. بنابراین امکان استفاده از این دو عامل در رژیم‌های غذایی مورد استفاده برای پرورش این حشره باید با دقت مورد بررسی قرار گیرد و عوارض جانبی احتمالی آن نیز در نظر گرفته شود. یافته‌های ما درک بهتر و جامع‌تری را از تیمارهای دارویی پیش‌گیرانه و مکمل برای پرورش انبوه لاروهای کرم زرد آرد ارائه می‌دهند. با این حال، انجام مطالعات تکمیلی در مورد اثرات این دو عامل و نیز دیگر انواع آنتی‌بیوتیک‌ها و پروبیوتیک‌ها روی سایر فراسنجه‌های زیستی این حشره مانند طول عمر حشرات کامل نر و ماده، زادآوری و نیز درصد تفریح تخم‌ها پیشنهاد می‌گردد.

سپاسگزاری

از معاونت پژوهشی دانشگاه خلیج فارس به دلیل پشتیبانی مالی این تحقیق سپاسگزاری می‌شود.

مطابقت دارد. در حشرات با دگرذیسی کامل، تغییر در کیفیت رژیم غذایی در طول رشد، اثرات گسترده‌ای بر بسیاری از فراسنجه‌های تاریخچه زندگی دارد (Nash & Chapman 2014). بنابراین، اثر منفی مشاهده شده در تیمار pC-a0.01 بر طول دوره لاروی، ممکن است به دلیل کیفیت پایین رژیم غذایی باشد. در این شرایط حشره برای غلبه بر کمبودهای مواد غذایی و ذخیره چربی بیشتر برای استفاده مستقیم حشرات کامل، از روش افزایش طول دوره لاروی استفاده می‌کند (Silva et al. 2016).

بر اساس نتایج، افزودن آنتی‌بیوتیک در ترکیب با پروبیوتیک تأثیر معنی‌داری بر وزن لاروها داشت. بیشترین افزایش و کاهش در وزن لاروها نسبت به شاهد به ترتیب مربوط به دو تیمار pA-a0.01 و pC-a0.01 بود، ولی تفاوت مشاهده شده معنی‌دار نبود. کاهش معنی‌دار طول دوره لاروی و در نتیجه افزایش وزن لاروی در تیمار pA-a0.01 نسبت به تیمار pC-a0.01 ممکن است به علت افزایش مصرف غذا توسط لاروها باشد. اجتماع باکتری‌های موجود در pA احتمالاً با کمک کردن به میزبان از طریق تهیه آنزیم‌های گوارشی، باعث جبران اثرات منفی ناشی از بکارگیری غلظت ۰/۰۱ درصد آنتی‌بیوتیک در رژیم غذایی بر میکرب‌های مفید روده حشره و در نتیجه بهبود کارایی گوارش و افزایش مصرف غذا توسط لاروها می‌شوند. گروهی از محققین نیز گزارش کرده‌اند که اضافه کردن آنتی‌بیوتیک فوماژیلین به رژیم غذایی لاروهای *P. plantaginis* تأثیر معنی‌داری بر افزایش وزن آن‌ها نداشت (Dickel et al. 2016) در حالی که برخی دیگر با بکارگیری انواع دیگری از آنتی‌بیوتیک‌ها، به تأثیر معنی‌دار آنها در بالا بردن و یا کاهش وزن بدن حشره اشاره نموده‌اند (Buyukguzel & Kalender 2008). تفاوت در واکنش حشرات نسبت به آنتی‌بیوتیک، ممکن است به دلیل تفاوت در گونه حشره، نوع این ترکیبات و غلظت مصرفی آنها باشد (Buyukguzel & Yazgan 2002).

در این مطالعه، بکارگیری دزهای ۰/۰۵ و ۰/۰۱ درصد لینکومایسین در رژیم غذایی منجر به افزایش معنی‌دار درصد شفیرگی نسبت به شرایط عدم کاربرد این آنتی‌بیوتیک گردید. این نتایج با یافته‌های حاصل از بررسی محققین دیگر در مورد اثر منفی آنتی‌بیوتیک استرپتومایسین سولفات بر درصد شفیرگی و ظهور حشرات کامل شب‌پره موم‌خوار بزرگ (Buyukguzel & Kalender 2008) و یا عدم تأثیر همین آنتی‌بیوتیک بر درصد شفیرگی کرم برگ‌خوار پنبه مطابقت ندارد (Thakur et al. 2016).

References

- Abado-Becognee K, Fleurat-Lessard F, Creppy EE, Melcion D, 1998. Effects of fumonisin B1 on growth and metabolism of larvae of the yellow mealworm, *Tenebrio molitor*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 86: 135–143.
- Anderson SJ, 2000. Increasing calcium levels in cultured insects. *Zoo Biology* 19: 1–9.
- Baker JE, Lum PT, 1973. Development of aposymbiosis in larvae of *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae) by dietary treatment with antibiotics. *Journal of Stored Products Research* 9 (4): 241–245.
- Belghit I, Wagbo R, Lock EJ, Liland NS, 2018. Insect-based diets high in lauric acid reduce liver lipids in freshwater Atlantic salmon. *Aquaculture Nutrition* 25 (2): 343–357.
- Bovera F, Piccolo G, Gasco L, Marono S, Loponte R, et al., 2015. Yellow mealworm larvae (*Tenebrio molitor*, L.) as possible alternative to soybean meal in broiler diets. *British Poultry Science* 56 (5): 569–575.
- Buffie CG, Pamer EG, 2013. Microbiota-mediated colonization resistance against intestinal pathogens. *Nature Reviews Immunology* 13: 790–801.
- Buyukguzel K, Yazgan S, 2002. Effects of antimicrobial agents on the survival and development of larvae of *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae) reared on an artificial diet. *Turkish Journal of Zoology* 26: 111–119.
- Buyukguzel E, Kalender Y, 2008. *Galleria mellonella* (L.) survivorship, development and protein content in response to dietary antibiotics. *Journal of Entomological Science* 43 (1): 27–40.
- Buyukguzel E, Buyukguzel K, 2016. Effects of antiviral agent, acyclovir, on the biological fitness of *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) adults. *Journal of Economic Entomology* 109: 2090–2095.
- Chaucheyras-Durand F, Durand H, 2009. Probiotics in animal nutrition and health. *Beneficial Microbes* 1: 3–9.
- Chernysh S, Gordya N, Suborova T, 2015. Insect antimicrobial peptide complexes prevent resistance development in bacteria. *PLoS One* 10 (7): e0130788.
- Cohen AC, 2003. *Insect Diets: Science & Technology*. CRC Press, London, UK. 324 pp.
- Davis GRF, Sosulski FW, 1974. Nutritional quality of oilseed protein isolates as determined with larvae of the yellow mealworm, *Tenebrio molitor* L. *The Journal of Nutrition* 104: 1172–1177.
- Derler H, Lienhard A, Berner S, Grasser M, Posch A, et al., 2021. Use them for what they are good at: Mealworms in circular food systems. *Insects* 12: 40.
- Deshpande G, Rao S, Patole S, Bulsara M, 2010. Updated meta-analysis of probiotics for preventing necrotizing enterocolitis in preterm neonates. *Pediatrics* 125: 921–930.
- Dickel F, Freitag D, Mappes J, 2016. Long-term prophylactic antibiotic treatment: effects on survival, immunocompetence and reproduction success of *Parasemia plantaginis* (Lepidoptera: Erebididae). *Journal of Insect Science* 16 (1): 46.
- Dimou I, Rempoulakis P, Economopoulos AP, 2010. Olive fruit fly [*Bactrocera (Dacus) oleae* (Rossi) (Diptera: Tephritidae)] adult rearing diet without antibiotic. *Journal of Applied Entomology* 134: 72–79.
- Elahi U, Wang J, Ma YB, Wu SG, Wu J, et al., 2020. Evaluation of yellow mealworm meal as a protein feedstuff in the diet of broiler chicks. *Animals* 10 (2): 224.
- Finke M, 2002. Complete nutrient composition of commercially raised invertebrates used as food for insectivores. *Zoo Biology* 21: 269–285.
- Food and Agriculture Organisation of the United Nations/World Health Organisation (FAO/WHO), 2006. Probiotics in food: health and nutritional properties and guidelines for evaluation. *Food and Agriculture Organization Food and Nutrition*. Rome, Italy. p. 85.
- Gomez E, Martín F, Nogacka AM, Salazar N, Alaez L, et al., 2019. Impact of probiotics on development and behaviour in *Drosophila melanogaster*—a potential in vivo model to assess probiotics. *Beneficial Microbes* 10 (2): 179–188.
- Ghosh S, Lee SM, Jung C, Meyer-Rochow VB, 2017. Nutritional composition of five commercial edible insects in South Korea. *Journal of Asia-Pacific Entomology* 20 (2): 686–694.
- Huis AV, Tomberlin JK, 2016. *Insects as Food and Feed: From Production to Consumption*. Wageningen Academic Publishers. 448 pp.
- Inglis GD, Cohen AC, 2004. Influence of antimicrobial agents on the spoilage of a meat-based entomophage diet. *Journal of Economic Entomology* 97: 235–250.
- Jawad SM, Alshukri BM, Altaee RA, Al-Bdery AS, 2021. Microcin as an insecticidal antibiotic against *Trogoderma granarium* Everts

- (Coleoptera: Dermestidae). *Annals of the Romanian Society for Cell Biology* 27: 4440–4449.
- Jozefiak D, Jozefiak A, Kieronczyk B, Rawski M, Swiatkiewicz S, *et al.*, 2016. Insects—a natural nutrient source for poultry—a review. *Annals of Animal Science* 16 (2): 297–313.
- Jung J, Heo A, Park YW, Kim YJ, Koh H, *et al.*, 2014. Gut microbiota of *Tenebrio molitor* and their response to environmental change. *Journal of Microbiology and Biotechnology* 24 (7): 888–897.
- Kareem KY, Abdulla NR, Foo HL, Zamri AN, Shazali N, *et al.*, 2018. Effect of feeding larvae meal in the diets on growth performance, nutrient digestibility and meat quality in broiler chicken. *Indian Journal of Animal Sciences* 88 (10): 1180–1185.
- Kastamonuluoglu S, Buyukguzel K, Buyukguzel E, 2020. The use of dietary antifungal agent terbinafine in artificial diet and its effects on some biological and biochemical parameters of the model organism *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Economic Entomology* 113 (3): 1110–1117.
- Kavallieratos NG, Michail EJ, Boukouvala MC, Nika EP, Skourti A, 2019. Efficacy of pirimiphos-methyl, deltamethrin, spinosad and silicoSec against adults and larvae of *Tenebrio molitor* L. on wheat, barley and maize. *Journal of Stored Products Research* 83: 161–167.
- Khan M, Seheli K, Bari MA, Sultana N, Khan SA, *et al.*, 2019. Potential of a fly gut microbiota incorporated gel-based larval diet for rearing *Bactrocera dorsalis* (Hendel). *BMC biotechnology* 19 (2): 1–10.
- Lalev M, Mincheva N, Oblakova M, Hristakieva P, Ivanova I, *et al.*, 2020. Effects of insect-and probiotic-based diets on turkeys' production, health, and immune parameters. *Bulgarian Journal of Agricultural Science* 26 (6): 1254–1265.
- Lecocq A, Natsopoulou ME, Berggreen IE, Eilenberg J, Heckmann LH, *et al.*, 2021. Probiotic properties of an indigenous *Pediococcus pentosaceus* strain on *Tenebrio molitor* larval growth and survival. *Journal of Insects as Food and Feed* 7 (6): 975–986.
- Lehman RM, Lundgren JG, Petzke LM, 2009. Bacterial communities associated with the digestive tract of the predatory ground beetle, *Poecilus chalcites*, and their modification by laboratory rearing and antibiotic treatment. *Microbial Ecology* 57: 349–358.
- Lin J, 2011. Effect of antibiotic growth promoters on intestinal microbiota in food animals: a novel model for studying the relationship between gut microbiota and human obesity? *Frontiers in Microbiology* 2: 53.
- Liu C, Masri J, Perez V, Maya C, Zhao J, 2020. Growth performance and nutrient composition of mealworms (*Tenebrio molitor*) fed on fresh plant materials-supplemented diets. *Foods*, 9 (2): 151.
- Miglietta PP, De Leo F, Ruberti M, Massari S, 2015. Mealworms for food: A water footprint perspective. *Water* 7: 6190–6203.
- Morales-Ramos JA, Rojas MG, Shelby KS, Coudron TA, 2016. Nutritional value of pupae versus larvae of *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) as food for rearing *Podisus maculiventris* (Heteroptera: Pentatomidae). *Journal of Economic Entomology* 109: 564–571.
- Moruzzo R, Riccioli F, Espinosa Diaz S, Secci C, Poli G, *et al.*, 2021. Mealworm (*Tenebrio molitor*): Potential and challenges to promote circular economy. *Animals* 11 (9): 2568.
- Nash WJ, Chapman T, 2014. Effect of dietary components on larval life history characteristics in the Medfly (*Ceratitis capitata*: Diptera, Tephritidae). *PLoS One* 9 (1): e86029.
- Oelschlaeger TA, 2010. Mechanisms of probiotic actions – A review. *International Journal of Medical Microbiology* 300, 57–62.
- Ooninx DGAB, de Boer IJM, 2012. Environmental impact of the production of mealworms as a protein source for humans—a life cycle assessment. *PLoS One* 7: e51145.
- Pandiyani P, Balaraman D, Thirunavukkarasu R, George EG, Subaramaniyan K, *et al.*, 2013. Probiotics in aquaculture. *Drug Invention Today* 5: 55–59.
- Park JB, Choi WH, Kim SH, Jin HJ, Han YS, *et al.*, 2014. Developmental characteristics of *Tenebrio molitor* larvae (Coleoptera: Tenebrionidae) in different instars. *International Journal of Industrial Entomology* 28 (1): 5–9.
- Ptaszyńska AA, Borsuk G, Zdybicka-Barabas A, Cytryńska M, Małek W, 2016. Are commercial probiotics and prebiotics effective in the treatment and prevention of honeybee noseosis C?. *Parasitology Research* 115 (1): 397–406.
- Radulovic S, Pavlovic M, Sefer D, Katoch S, Hadzi-Milic M, *et al.*, 2018. Effects of housefly larvae (*Musca domestica*) dehydrated meal on production performances and sensory properties of broiler meat. *The Thai Journal of Veterinary Medicine* 48 (1): 63–70.

- Rees D, 2004. *Insects of Stored Products*. Manson Publishing, London, UK. 181 pp.
- Rumbos CI, Karapanagiotidis IT, Mente E, Psafakis P, Athanassiou CG, 2020. Evaluation of various commodities for the development of the yellow mealworm, *Tenebrio molitor*. *Scientific Reports* 10 (1): 1–10.
- Sacchetti P, Ghiardi B, Granchietti A, Stefanini FM, Belcari A, 2014. Development of probiotic diets for the olive fly: evaluation of their effects on fly longevity and fecundity. *Annals of Applied Biology* 164 (1): 138–150.
- Silva TR, Almeida AC, Moura TD, Silva AR, Freitas SD, *et al.*, 2016. Effect of the flavonoid rutin on the biology of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Acta Scientiarum. Agronomy* 38: 165–70.
- Siemianowska E, Kosewska A, Aljewicz M, Skibniewska KA, Polak-Juszczak L, *et al.*, 2013. Larvae of mealworm (*Tenebrio molitor* L.) as European novel food. *Agricultural Sciences* 4 (6): 287–291.
- Sorensen JG, Addison MF, Terblanche JS, 2012. Mass-rearing of insects for pest management: challenges, synergies and advances from evolutionary physiology. *Crop Protection* 38: 87–94.
- Son Y, Luckhart S, Zhang X, Lieber MJ, Lewis EE, 2008. Effects and implications of antibiotic treatment on *Wolbachia*-infected vine weevil (Coleoptera: Curculionidae). *Agricultural and Forest Entomology* 10 (2): 147–155.
- Stevens L, Wade MJ, 1988. Effect of antibiotics on the productivity of genetic strains of *Tribolium confusum* and *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Environmental entomology* 17 (1): 115–119.
- Sun T, Long RJ, Liu ZY, Ding WR, Zhang Y, 2012. Aspects of lipid oxidation of meat from free-range broilers consuming a diet containing grasshoppers on alpine steppe of the Tibetan Plateau. *Poultry Science* 91 (1): 224–231.
- Thakur A, Dhammi P, Saini HS, Kaur S, 2016. Effect of antibiotic on survival and development of *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae) and its gut microbial diversity. *Bulletin of Entomological Research* 106 (3): 387–394.
- Ullah R, Khan S, Hafeez A, Sultan A, Khan NA, *et al.*, 2017. Silkworm (*Bombyx mori*) meal as alternate protein ingredient in broiler finisher ration. *Pakistan Journal of Zoology* 49 (4): 1463–1470.
- Van Der Hoeven R, Betrabet G, Forst S, 2008. Characterization of the gut bacterial community in *Manduca sexta* and effect of antibiotics on bacterial diversity and nematode reproduction. *FEMS Microbiology Letters* 286: 249–256.
- Van Huis A, Van Itterbeeck J, Klunder H, Mertens E, Halloran A, *et al.*, 2013. Edible insects: future prospects for food and feed security. *Food and Agriculture Organization Forestry*. Rome, Italy. p. 171.
- Varankovich NV, Nickerson MT, Korber DR, 2015. Probiotic-based strategies for therapeutic and prophylactic use against multiple gastrointestinal diseases. *Frontiers in Microbiology* 6: 685.
- Wang HC, Liao HY, Chen HL, 2012. *Tenebrio* small-scale ecological farming feasibility study. *Advanced Materials Research* 356: 267–270.
- Zha C, Cohen, A, 2014. Effects of anti-fungal compounds on feeding behavior and nutritional ecology of tobacco budworm and painted lady butterfly larvae. *Entomology Ornithology and Herpetology* 3: 120.
- Zhao X, Vazquez-Gutierrez JL, Johansson DP, Landberg R, Langton M, 2016. Yellow mealworm protein for food purposes-extraction and functional properties. *PLoS One* 11 (2): e0147791.

