



Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego

w Warszawie

Instytut Nauk o Zwierzętach

Wiktoria Cieśla

**Optymalizacja żywienia okonia pospolitego
(*Perca fluviatilis*) z wykorzystaniem
innovacyjnego źródła białka w warunkach
akwakultury**

Optimisation of perch (*Perca fluviatilis*) nutrition using
an innovative protein source under aquaculture conditions

Rozprawa doktorska

Doctoral thesis

Rozprawa doktorska wykonana pod kierunkiem

dr hab. Macieja Kamaszewskiego, prof. SGGW

Katedra Biologii Środowiska Zwierząt

Promotor pomocniczy

dr hab. Dobrochna Adamek-Urbańska, prof. SGGW

Katedra Biologii Środowiska Zwierząt

Warszawa, 2026 rok

**Oświadczenie promotora rozprawy doktorskiej
przygotowanej przez doktoranta Szkoły Doktorskiej SGGW**

Oświadczam, że **rozprawa doktorska autorstwa Wiktorii Cieśli została przygotowana pod moim kierunkiem na podstawie badań realizowanych w ramach kształcenia w Szkole Doktorskiej SGGW i stwierdzam, że spełnia warunki do przedstawienia jej w postępowaniu o nadanie stopnia naukowego doktora.**

Data 27.04.2026 Czytelny podpis promotora 

**Oświadczenie autora rozprawy doktorskiej
będącego doktorantem Szkoły Doktorskiej SGGW**

Świadom/a odpowiedzialności prawnej, w tym odpowiedzialności karnej za złożenie fałszywego oświadczenia, oświadczam, że **niniejsza rozprawa doktorska została przygotowana przeze mnie samodzielnie na podstawie badań realizowanych w ramach kształcenia w Szkole Doktorskiej SGGW i nie zawiera treści uzyskanych w sposób niezgodny z obowiązującymi przepisami prawa, w szczególności z ustawą z dnia 4 lutego 1994 r. o prawie autorskim i prawach pokrewnych (tj. z dnia 28 października 2022 r., Dz.U. z 2022 r. poz. 2509 ze zm.)**

Oświadczam, że przedstawiona rozprawa nie była wcześniej podstawą żadnej procedury związanej z uzyskaniem stopnia naukowego doktora.

Oświadczam ponadto, że niniejsza wersja rozprawy jest identyczna z załączoną wersją elektroniczną.

Przyjmuję do wiadomości, że rozprawa doktorska poddana zostanie procedurze antyplagiatowej.

Data 27.04.2026 Czytelny podpis autora rozprawy 

Spis treści

Streszczenie	7
Summary.....	9
Wykaz publikacji stanowiących rozprawę doktorską.....	11
Wykaz stosowanych skrótów:	13

Opis pracy

1. Wstęp.....	16
2. Hipotezy badawcze i cel pracy	20
3. Materiały i metody	21
3.1. Doświadczenie I (Wiechetek i in., 2025)	21
3.1.1. Warunki odchowu	21
3.1.2. Pobieranie prób, parametry ciała i wskaźniki odchowu	23
3.1.3. Biochemia krwi	24
3.1.4. Analiza histologiczna	24
3.1.5. Analiza ekspresji genów	25
3.1.6. Analiza statystyczna	27
3.2. Doświadczenie II (Cieśla i in., 2026).....	28
3.2.1. Warunki odchowu	28
3.2.2. Pobieranie próbek, parametry ciała i wskaźniki odchowu	30
3.2.3. Biochemia krwi	30
3.2.4. Analiza histologiczna	30
3.2.5. Analiza ekspresji genów	31
3.2.6. Analiza aktywności enzymów wątrobowych	32
3.2.7. Analiza statystyczna	32
4. Omówienie najważniejszych wyników badań	33
4.1. Doświadczenie I (Wiechetek i in., 2025)	33
4.1.1. Podstawowe parametry hodowlane i skład mięśni	33
4.1.2. Analiza parametrów biochemicznych krwi	33
4.1.3. Analiza histologiczna układu pokarmowego.....	34
4.1.4. Analiza ekspresji genów	36
4.2. Doświadczenie II (Cieśla i in., 2026).....	37
4.2.1. Podstawowe parametry i skład mięśni	37
4.2.2. Analiza parametrów biochemicznych krwi	38
4.2.3. Analiza histologiczna układu pokarmowego.....	38
4.2.4. Analiza ekspresji genów	40

4.2.5.	Analiza aktywności enzymów wątrobowych.....	41
5.	Dyskusja	42
6.	Wnioski.....	50
7.	Literatura:	51
8.	Kopie opublikowanych artykułów w ramach cyklu wraz z oświadczeniami współautorów	59

Streszczenie

Rosnące znaczenie akwakultury wymaga opracowywania skutecznych oraz zrównoważonych strategii żywienia ryb. Dotyczy to zwłaszcza gatunków drapieżnych, u których udział białka w paszy jest kluczowy. Okoń europejski (*Perca fluviatilis*) jest uznawany za gatunek perspektywiczny w chowie, jednak jego żywienie nadal przeprowadzane jest wg ogólnych wytycznych, a dotychczasowe badania nie precyzują tak kluczowych aspektów jak zapotrzebowanie na główne składniki odżywcze. W praktyce istotnym problemem pozostaje określenie optymalnego poziomu białka w paszy dla tego gatunku ryb. Aktualnie równie ważne staje się poszukiwanie alternatywnych źródeł białka w paszy, tak aby ograniczyć udział mączki rybnej przy ich formułowaniu. Celem niniejszej pracy było określenie optymalnego poziomu białka w diecie oraz możliwość zastosowania mączki konopnej (HM) w żywieniu okonia europejskiego. Badania przeprowadzono w dwóch doświadczeniach żywieniowych na młodocianych osobnikach okonia europejskiego utrzymywanego w akwakulturowym systemie recyrkulacyjnym (RAS).

W doświadczeniu I oceniono wpływ trzech izoenergetycznych pasz zawierających 41,3%, 46,0% i 50,5% białka, przy czym mączka rybna stanowiła jedyne źródło białka. W doświadczeniu II analizowano możliwość częściowego zastąpienia mączki rybnej mączką konopną na poziomie 10, 20 i 30%. W obu doświadczeniach oceniono wskaźniki wzrostu i wykorzystania paszy, skład mięśni, parametry biochemiczne osocza, obraz histologiczny jelit i wątroby oraz ekspresję wybranych genów związanych z odpornością i metabolizmem. W doświadczeniu II dodatkowo oznaczono aktywność wybranych enzymów wątrobowych. W wyniku przeprowadzenia doświadczenia I wykazano, że poziom białka istotnie wpływał na wyniki produkcyjne oraz na wybrane wskaźniki fizjologiczne ryb. Najbardziej korzystna dla ryb była dieta zawierająca około 46% białka. Wariant ten zapewniał najlepsze wyniki wzrostu i wykorzystania paszy oraz sprzyjał niższej zawartości tłuszczu w mięśniach. Jednocześnie najwyższy poziom białka nie przyczyniał się do poprawienia efektu produkcyjnego, a wiązał się z mniej korzystnym obrazem części parametrów histologicznych i molekularnych, zwłaszcza w obrębie wątroby. W doświadczeniu II wykazano, że częściowe zastąpienie mączki rybnej HM nie pogarszało przeżywalności, wzrostu, składu mięśni ani parametrów biochemicznych osocza. Najbardziej obiecujący był wariant z 20% udziałem HM, w którym uzyskano najkorzystniejsze wskaźniki

produkcyjne przy jednocześnie prawidłowym obrazie parametrów histologicznych, enzymatycznych i molekularnych.

Uzyskane wyniki wskazują, że optymalizacja żywienia okonia europejskiego powinna uwzględniać nie tylko efektywność wzrostu, lecz także wskaźniki homeostazy organizmu. W warunkach przeprowadzonych badań najbardziej uzasadnione były rozwiązania pośrednie, tj. dieta zawierająca około 46% białka oraz dieta z 20% udziałem HM. Wyniki pracy potwierdzają, że zarówno poziom białka, jak i dobór komponentów białkowych mają istotne znaczenie dla wydajności produkcyjnej i stanu fizjologicznego ryb okoniowatych.

Słowa kluczowe: białko roślinne, homeostaza organizmu, RAS, ryby okoniokształtne, żywienie ryb

Summary

The growing importance of aquaculture requires the development of effective and sustainable fish feeding strategies. This is particularly important for predatory species, in which the protein content of the diet is crucial. European perch (*Perca fluviatilis*) is regarded as a promising species for aquaculture; however, its nutrition is still based on general guidelines, and the studies conducted so far have not clarified such key aspects as the requirement for major nutrients. In practice, an important challenge remains the determination of the optimal dietary protein level for this fish species. At present, it is equally important to search for alternative protein sources in feed formulations in order to reduce the inclusion of fish meal. The aim of the present study was to determine the optimal protein level in the diet and to evaluate the possibility of using hemp meal (HM) in the nutrition of European perch. The study consisted of two feeding experiments conducted on juvenile European perch reared in a recirculating aquaculture system (RAS).

In Experiment I, the effects of three isoenergetic diets containing 41,3%, 46,0%, and 50,5% protein were evaluated, with fish meal as the sole protein source. In Experiment II, the possibility of partially replacing fish meal with hemp meal at inclusion levels of 10, 20, and 30% was investigated. In both experiments, growth performance and feed utilization indices, muscle composition, plasma biochemical parameters, histological characteristics of the intestine and liver, and the expression of selected genes related to immunity and metabolism were assessed. In Experiment II, the activity of selected liver enzymes was additionally determined. The results of Experiment I demonstrated that dietary protein level significantly affected production performance as well as selected physiological indices of the fish. The diet containing approximately 46% protein proved to be the most beneficial for the fish.

This variant provided the best growth performance and feed utilization, while also promoting a lower fat content in the muscles. At the same time, the highest protein level did not improve production results and was associated with a less favorable pattern of certain histological and molecular parameters, particularly in the liver. In Experiment II, it was demonstrated that the partial replacement of fish meal with HM did not adversely affect survival, growth, muscle composition, or plasma biochemical parameters. The most promising treatment was the one containing 20% HM, in which the most favorable production indices were obtained while maintaining normal histological, enzymatic, and molecular parameters.

The obtained results indicate that the optimization of European perch nutrition should take into account not only growth performance, but also indicators of physiological homeostasis. Under the conditions of the present study, the intermediate solutions appeared to be the most justified, namely a diet containing approximately 46% protein and a diet with 20% HM inclusion. The findings confirm that both dietary protein level and the selection of protein components are of major importance for the production performance and physiological status of percid fish.

Keywords: plant protein, physiological homeostasis, RAS, percid fish, fish nutrition

Wykaz publikacji stanowiących rozprawę doktorską

1. **Wiechetek W**, Kasprzak R*, Adamek-Urbańska D, Gomułka P, Wójcik M, Bochenek J, Bober H, Woźniak M, Śliwiński J, Szczepański A, Szudrowicz H, Wild R, Kawalski K, Martynow J, Bujarski P, Król J, Kamaszewski M. Effects of dietary protein levels on growth and physiology of domesticated European perch (*Perca fluviatilis*) reared in a recirculating aquaculture system. 2025. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 34(2): 284–296. DOI: 10.22358/jafs/194203/2024. (100 pkt MNiSW, IF: 1,4)

2. **Cieśla W***, Adamek-Urbańska D, Kasprzak R*, Gomułka P, Wójcik M, Bochenek J, Bober H, Kawalski K, Martynow J, Szczepański A, Szudrowicz H, Woźniak M, Śliwiński J, Palińska-Żarska K, Żarski D, Krejszeff S, Król J, Kamaszewski K. Hemp meal (*Cannabis sativa*) as an alternative dietary protein source for European perch (*Perca fluviatilis*). 2026. *Animals*, 16(4), 649. <https://doi.org/10.3390/ani16040649>. (100 pkt MNiSW, IF: 2,7)

* autor korespondencyjny

Łączny IF publikacji stanowiących rozprawę doktorską: 4,1; łączna liczba punktów: 200.

Punktacja została podana na podstawie wykazu czasopism naukowych, Impact Factor (IF) według Journal Citation Reports zgodnie z rokiem opublikowania.

Wykaz stosowanych skrótów:

AB-PAS (*alcian blue - periodic acid-Schiff*) – błękit alcjański i reakcja Schiffa z kwasem nadjodowym

AEH (*anterior intestine, enterocyte height*) – wysokość enterocytów w przednim odcinku jelita

AFH (*posterior intestine, fold height*) – wysokość fałdów w przednim odcinku jelita

ALB (*albumin*) – albuminy

ALP (*alkaline phosphatase*) – fosfataza alkaliczna

ALT (*alanine transaminase*) – aminotransferaza alaninowa

AOAC (*The Association of Official Analytical Chemists*) – Stowarzyszenie Urzędowych Chemików Analitycznych

ASH (*anterior intestine, enterocyte supranuclear height*) – wysokość nadjądrowa enterocytów w przednim odcinku jelita

AST (*aspartate transaminase*) – aminotransferaza asparaginianowa

AWLP (*anterior intestine, width of the lamina propria*) – szerokość blaszki właściwej błony śluzowej w przednim odcinku jelita

cDNA (*complementary DNA*) – komplementarny DNA

CHOL (*cholesterol*) – cholesterol

CO₂ (*carbon dioxide*) – dwutlenek węgla

CREA (*creatinine*) – kreatynina

FAO (*Food and Agriculture Organization of the United Nations*) – Organizacja Narodów Zjednoczonych Do Spraw Wyżywienia i Rolnictwa

FBW (*final body weight*) – końcowa masa ciała

FCL (*final caudal length*) – długość standardowa

FCR (*feed conversion ratio*) – współczynnik wykorzystania paszy

FM (*fish meal*) – mączka rybna

GD (*glycogen deposition*) – depozycja glikogenu

GE (*gross energy*) – energia całkowita

GLOB (*globulins*) – globuliny

GLU (*glucose*) – glukoza

GPX (*glutathione peroxidase*) – peroksydaza glutationowa

HA (*total area of hepatocytes*) – całkowita powierzchnia hepatocytów

HCA (*cytoplasmic area of hepatocytes*) – obszar powierzchni zajmowanej przez cytoplazmę w hepatocytach

HE (*hematoxylin and eosin*) – hematoksylina i eozyna

HM (*hemp meal*) – mączka konopna

HNA (*nuclear area of hepatocytes*) – powierzchnia jądra komórkowego hepatocytu

HNI (*hepato-nuclear index*) – indeks hepato-jądrowy

HSI (*hepatosomatic index*) – wskaźnik hepatosomatyczny

IBW (*initial body weight*) – początkowa masa ciała

K (*Fulton's condition factor*) – indeks kondycji ryb wg Fultona

LD (*lipid deposition*) – depozycja lipidów

mRNA (*messenger rybonucleic acid*) – informacyjny kwas rybonukleinowy

NFE (*nitrogen-free extract*) – ekstrakt bezazotowy

NH₃ (*ammonia*) – amoniak

NO₂ (*nitrogen dioxide*) – dwutlenek azotu

NO₃ (Nitrate) – azotany

PEH (*posterior intestine, enterocyte height*) – wysokość enterocytów w tylnym odcinku jelita

PER (*protein efficiency ratio*) – współczynnik efektywności białka

PFH (*posterior intestine, fold height*) – wysokość fałdów jelitowych w odcinku tylnym

PO₄ (*phosphate ions*) – fosforany

PSH (*posterior intestine, enterocyte supranuclear height*) – wysokość nadjądrowa enterocytów w tylnym odcinku jelita

PWLP (*posterior intestine, width of the lamina propria*) – szerokość blaszki właściwej błony śluzowej w tylnym odcinku jelita

RAS (*recirculating aquaculture systems*) – recyrkulacyjne systemy akwakultury

RNA (*ribonucleic acid*) – kwas rybonukleinowy

RT-qPCR (*Quantitative reverse transcription PCR*) – ilościowy PCR z odwrotną transkrypcją

SD (*standard deviation*) – odchylenie standardowe

SGR (*specific growth rate*) – współczynnik specyficznego tempa wzrostu

SOD (*superoxide dismutase*) – dysmutaza ponadtlenkowa

TBIL (*total bilirubin*) – bilirubina całkowita

TC (*total cholesterol*) – cholesterol całkowity

TP (*total protein*) – białko całkowite

TRIG/TG (*triglycerides*) – trójglicerydy

qPCR (*quantitative polymerase chain reaction*) – ilościowa reakcja łańcuchowa polimerazy

VSI (*viscerosomatic index*) – indeks wiscerosomatyczny

1. Wstęp

Ćwierć wieku temu na łamach „Nature”, Naylor i in. (2000) opisali akwakulturę jako potencjalne rozwiązanie narastającej presji na dzikie populacje ryb. Badacze podkreślili, że rozwój tego sektora może odegrać istotną rolę nie tylko w ograniczaniu eksploatacji zasobów naturalnych, ale także w zapewnieniu bezpieczeństwa żywnościowego rosnącej populacji ludzkiej. Jednocześnie zasygnalizowali konieczność zrównoważonego rozwoju, aby uniknąć przeniesienia presji środowiskowej na inne obszary. Po 23 latach artykuł Crona i in. (2023) uzupełnił oraz wzmocnił wcześniejsze argumenty dotyczące kluczowej roli akwakultury w zaspokajaniu rosnącego popytu na żywność. Autorzy analizując założenia inicjatywy dotyczącej tzw. niebieskiej żywności pochodzenia zwierzęcego, wskazali na jej istotne znaczenie w globalnym systemie żywnościowym. Podkreślili, że może stanowić cenne źródło kluczowych składników odżywczych, a jednocześnie być alternatywą dla żywności pochodzącej z produkcji lądowej. Zwrócili również uwagę na potencjał tego sektora w ograniczaniu presji środowiskowej związanej z wytwarzaniem żywności, szczególnie w kontekście efektywności wykorzystania zasobów oraz emisji. W artykule tym zaakcentowano znaczenie niebieskiej żywności dla bezpieczeństwa żywieniowego, a także jej możliwą rolę w adaptacji systemów żywnościowych do skutków obserwowanych zmian klimatycznych.

W 2022 roku globalna produkcja akwakultury osiągnęła poziom 185 mln ton, z czego około 164,6 mln ton (89%) przeznaczono na żywność dla ludzi, co odpowiadało średniemu spożyciu rzędu 20,7 kg na osobę rocznie. Warto także podkreślić, że w tym samym roku przewyższyła ona pod względem wielkości produkcji światowe połowy dziko żyjących ryb, stając się głównym źródłem ryb i owoców morza na świecie (FAO, 2024). Dane te potwierdzają, że sektor ten odgrywa coraz większą rolę w globalnym systemie żywnościowym. Pomimo zauważalnego wzrostu dostępności pożywienia pochodzenia wodnego oraz lądowego, nie nadążają one za wzrostem populacji ludzkiej (Tacon i Shumway, 2024). Rozwój akwakultury jest wynikiem oddziaływania składowych zarówno po stronie popytu, jak i podaży. Do najważniejszych czynników popytowych zaliczyć można wzrost liczby ludności, wzrost dochodów oraz zmieniające się preferencje konsumentów. Coraz większe znaczenie ma także wzrost zainteresowania

żywnością postrzeganą jako zdrowa i bogata w białko, w tym ryby i inne organizmy wodne. Z kolei po stronie podaży istotną rolę odgrywają czynniki takie jak postęp technologiczny, rozwój nowoczesnych metod chowu oraz poprawa dostępności i jakości pasz. Czynniki te wspólnie przyczyniają się do intensyfikacji produkcji, ale jednocześnie zwiększają znaczenie badań nad efektywnością żywienia, dobrostanem zwierząt oraz opłacalnością chowu (FAO, 2024; Bjørndal i in., 2024).

Okoń europejski (*P. fluviatilis*) jest jedną z najczęściej występujących ryb słodkowodnych w Europie. Występuje w różnego typu siedliskach wodnych, od jezior i rzek po estuaria. Wraz z wiekiem zmienia się jego sposób żerowania, od zooplanktonu, przez bezkręgowce, aż po inne ryby (Ning i in., 2025). Dzięki dużej plastyczności ekologicznej oraz rosnącemu zainteresowaniu konsumentów, jest uznawany za jeden z obiecujących gatunków w akwakulturze (Teletchea i Fontaine, 2014). Pierwsze badania nad potencjałem hodowlanym okonia europejskiego miały miejsce pod koniec lat 80 XX wieku (Fontaine i Teletchea, 2019). Po około 30 latach prac hodowlanych przyjęto, że niektóre stada tego gatunku osiągnęły czwarty poziom udomowienia, co potwierdza możliwość prowadzenia zamkniętego cyklu życiowego w warunkach intensywnej hodowli (Palińska-Żarska i in., 2020). Ponadto okoń jest jednym z nielicznych słodkowodnych gatunków w Europie, który występuje w stadach hodowlanych, jak i populacjach dzikich. Z tego względu stał się on cennym modelem w badaniach nad domestykacją ryb (Palińska-Żarska i in., 2021).

Pomimo wieloletniego rozwoju akwakultury okonia europejskiego, wciąż występują problemy związane m.in. z jakością narybku czy wysoką śmiertelnością powiązana z kanibalizmem czy problemami z pęcherzem pławnym (Żarski i in., 2015; Król i Zieliński, 2015). Według Organizacji Narodów Zjednoczonych Do Spraw Wyżywienia i Rolnictwa (FAO)(2019) w 2017 roku całkowita produkcja okonia i sandacza w Europie przekraczała 46 000 ton, z czego większość pochodziła z połowów (głównie Rosji, Finlandii, Szwecji, Estonii, Polski i Ukrainy). Produkcja akwakultury tych gatunków od 2000 roku (~490 ton) wzrosła niemalże trzykrotnie osiągając ok. 1400 ton rocznie. W tym kontekście, obok barier związanych z materiałem obsadowym i przeżywalnością, istotnymi aspektami determinującymi opłacalność stają się uwarunkowania ekonomiczne produkcji. Podobnie jak w innych sektorach chowu zwierząt, w akwakulturze koszty żywienia stanowią jedną z głównych składowych nakładów finansowych produkcji i mogą sięgać nawet 50% całkowitych wydatków

(Craig i in., 2017; Bochert, 2020). Pomimo rozwoju tego sektora, wciąż brakuje na rynku paszy dostosowanej do potrzeb żywieniowych okonia europejskiego. Hodowcy od wielu lat stosują mieszanki przeznaczone dla ryb łososiowatych (Bochert, 2020) lub innych gatunków ryb morskich (Stejskal i in., 2010), jednakże nie jest to pasza odpowiadająca dokładnemu zapotrzebowaniu żywieniowemu tego gatunku. W 2015 roku Geay i Kestemont (2015) na podstawie zebranych danych, zaproponowali następujące wymagania żywieniowe dla okonia europejskiego: 43-50% białka, 13-18% tłuszczu i 10-15% węglowodanów jako zapotrzebowanie na składniki odżywcze. Mimo to w kolejnych latach nie opracowano szerzej dostępnych, dedykowanych karm dla tego gatunku. Przełom nastąpił dopiero w maju 2020 r., kiedy francuska firma Le Gouessant Aquaculture wprowadziła nową linię pasz dedykowanych dla okonia europejskiego. Pomimo tego wymagania żywieniowe tego gatunku nadal pozostają niewystarczająco sprecyzowane, a producenci w praktyce często opierają się na własnym doświadczeniu (Bochert, 2020).

Dotychczas podstawowym surowcem białkowym wykorzystywanym w akwakulturze była mączka rybna (FM). Wynika to z jej korzystnego profilu aminokwasowego oraz wysokiej zawartości niezbędnych kwasów tłuszczowych, nukleotydów, fosfolipidów, składników mineralnych i witamin. Przez długi czas odpowiadała ona za około 68% globalnej podaży białka w paszach dla ryb (Galkanda-Arachchige i in., 2020). Jednocześnie malejąca dostępność FM, wynikająca m.in. z presji na dzikie populacje ryb oraz oddziaływań związanych ze zmianami klimatycznymi, przyczynia się do wzrostu jej ceny i ogranicza potencjalne możliwości wykorzystania w dalszym rozwoju akwakultury. W konsekwencji coraz większe znaczenie przypisuje się poszukiwaniu alternatywnych, zrównoważonych źródeł białka do pasz dla ryb. Obejmują one surowce pochodzenia roślinnego, jak i zwierzęcego (w tym owadów), a także pochodzenia mikrobiologicznego (Glencross i in., 2020; Mugwanya i in., 2023; Tran i in., 2023). Wprowadzenie wysokiego udziału komponentów roślinnych w paszy wiąże się z istotnymi ograniczeniami. Należą do nich przede wszystkim obecność substancji antyodżywczych, mniej korzystny profil aminokwasowy oraz gorsza strawność i biodostępność składników pokarmowych w porównaniu z mączką rybną, co odgrywa istotną rolę u gatunków drapieżnych (Carvalho i in., 2023; Hussain i in., 2024). W praktyce nadmierny udział takich surowców może pogarszać wyniki

produkcyjne oraz negatywnie wpływać na przewód pokarmowy, prowadząc m.in. do zmian histologicznych i reakcji zapalnych jelit (Serra i in., 2024; Su i in., 2025).

Równocześnie rośnie zainteresowanie produktami wytwarzanymi z nasion konopi (*Cannabis sativa*), w tym mączkę konopną (HM), jako potencjalnymi komponentami paszowymi. Wynika to z rosnącego znaczenia konopi przemysłowych jako surowca wykorzystywanego w przemyśle spożywczym, paszowym, tekstylnym i budowlanym. Ponadto ich uprawa jest postrzegana jako korzystna dla środowiska, m.in. ze względu na zdolność wiązania CO₂, ograniczania erozji gleby oraz niskie zapotrzebowanie na środki ochrony roślin (European Commission, 2026). W żywieniu zwierząt szczególne znaczenie mają produkty przetwórstwa nasion, takie jak makuchy czy HM, które mogą stanowić wartościowy komponent paszowy. Surowce te charakteryzują się wysoką wartością odżywczą, w tym znaczną zawartością białka i wielonienasyconych kwasów tłuszczowych, a także obecnością związków bioaktywnych. Wśród nich wyróżnić można m.in. polifenole oraz terpenoidy, wykazujące właściwości przeciwutleniające i przeciwzapalne oraz substancje o potencjale immunomodulującym (Sirangelo i in., 2025; Kamle i in., 2024). Ponadto skład chemiczny produktów konopnych może się różnić w zależności od odmiany, warunków uprawy i sposobu przetwarzania, co ma istotne znaczenie przy ocenie ich przydatności w formulacji pasz dla zwierząt, w tym także ryb (Sirangelo i in., 2025).

Włączenie nasion konopi do paszy dla skalnika prążkowanego (*Morone saxatilis*) dało obiecujące rezultaty, a korzyści ze stosowania białka i oleju konopnego przyniosło również innym, komercyjnie dostępnym gatunkom ryb, takim jak kobia (*Rachycentron canadum*), karp pospolity (*Cyprinus carpio*) i tilapia nilowa (*Oreochromis niloticus*) (Lunger i in., 2006; Saoud i in., 2017; Mały i in., 2018; Sample, 2022). Konopie stanowią, więc interesujący i obiecujący komponent paszowy, który może być wykorzystywany w akwakulturze na szerszą skalę.

2. Hipotezy badawcze i cel pracy

Hipotezy badawcze

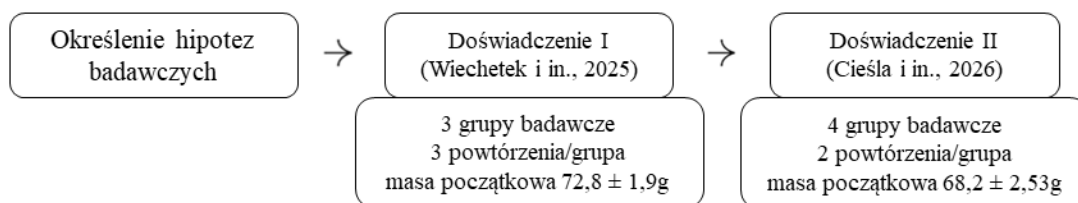
1. Żywienie ryb okoniowatych dostępnymi na rynku paszami komercyjnymi nie zapewnia optymalnego dla nich dobrostanu i wydajności produkcyjnej, ze względu na udział białka oraz skład komponentów paszowych niedostosowany do potrzeb tych ryb.
2. Mączka konopna stanowiąca alternatywny komponent paszowy w żywieniu ryb okoniowatych może zastąpić częściowo mączkę rybną nie wpływając negatywnie na parametry produkcyjne.

Cel pracy

Celem pracy była weryfikacja powyższych hipotez poprzez ustalenie optymalnego poziomu białka w diecie okonia europejskiego (*P. fluviatilis*), a także ocena możliwości zastosowania mączki konopnej jako alternatywnego źródła białka w paszy dla ryb okoniowatych.

3. Materiały i metody

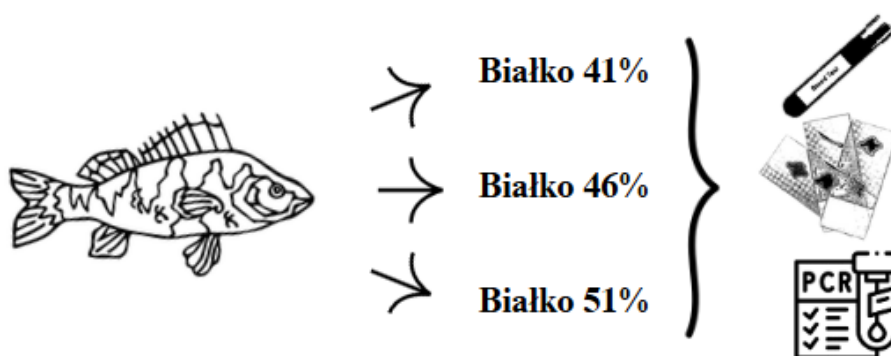
W celu weryfikacji postawionych hipotez przeprowadzono dwa doświadczenia z udziałem okonia europejskiego (*P. fluviatilis*) (rycina 1). Wyniki uzyskane z przeprowadzonych badań opublikowano jako dwa oddzielne artykuły naukowe.



Rycina 1. Schemat prac badawczych zrealizowanych w ramach rozprawy doktorskiej.

3.1. Doświadczenie I (Wiechetek i in., 2025)

Biorąc pod uwagę stały wzrost produkcji okonia europejskiego w światowej akwakulturze (Tran i in., 2024), niezbędna staje się optymalizacja istniejących strategii żywieniowych i dostosowanie ich do konkretnych warunków hodowli. Dlatego celem niniejszego badania była ocena formułowanych pasz o różnej zawartości białka dla młodocianych osobników okonia europejskiego utrzymywanych w recyrkulacyjnym systemie akwakultury (RAS). Schemat przeprowadzonego doświadczenia przedstawiono na rycinie 2.



Rycina 2. Schemat doświadczenia I (na podstawie Wiechetek i in., 2025).

3.1.1. Warunki odchowu

Przeprowadzono 12 tygodniowe doświadczenie żywieniowe z udziałem 675 młodocianych osobników okonia europejskiego (średnia początkowa masa ciała, IBW = $72,8 \pm 1,9$ g). Ryby pozyskano z Ośrodka Zarybieniowego Żurawia z Białej Rawskiej. Po okresie kwarantanny ryby zważono i rozmieszczono po 75 sztuk w 9 zbiornikach

hodowlanych (każdy zbiornik o objętości 0,3 m³) podłączonych do pojedynczego systemu RAS. Parametry wody (tabela 1) były mierzone codziennie na wylocie głównego zbiornika. Zbiorniki przypisano losowo do trzech grup eksperymentalnych, z trzema powtórzeniami na grupę.

Tabela 1. Parametry wody w systemie RAS.

Parametr	Wartość
Temperatura	20,6 ± 1,4°C
Rozpuszczony O ₂	10,4 ± 1,1 mg/dm ³
pH	7,0 ± 0,10 (6,92-7,15)
Całkowity amoniak	0,005 ± 0,001 mg/dm ³
NO ₃	0,20 ± 0,02 mg/dm ³
NO ₂	0,002 ± 0,001 mg/dm ³
PO ₄	0,005 ± 0,001 mg/dm ³

Dla potrzeb planowanych badań opracowano trzy izoenergetyczne pasze o zróżnicowanej zawartości białka (P41, P46 i P51), w których mączka rybna była jedynym źródłem białka i stanowiła odpowiednio: 44, 52 i 60% FM, zapewniająca ok. 41,3, 46,0 oraz 50,5% białka w paszy (tabela 2). Dzienna dawka pokarmu wynosiła 1% biomasy ryb. Skład pasz opracował zespół naukowców z Instytutu Rybactwa Śródlądowego im. Stanisława Sakowicza oraz Instytutu Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności Polskiej Akademii Nauk w Olsztynie, a za ich przygotowanie odpowiadali pracownicy Katedry Ichtiologii i Akwakultury, Wydziału Bioinżynierii Zwierząt, Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie.

Tabela 2. Skład komponentów izoenergetycznych pasz doświadczalnych różniących się pod względem zawartości mączki rybnej jako głównego źródła białka, g/kg.

Składniki	Pasze eksperymentalne		
	P41	P46	P51
Mączka rybna ¹	440	520	600
Mąka pszenna ²	340	260	180
Olej rybny ³	200	200	200
Premix ⁴	20	20	20

¹ mączka rybna (70-72% białka; FF Skagen, Dania); ² mąka pszenna (Polskie Młyny, Polska); ³ olej rybny wyprodukowany (ROL-PASZ, Polska); ⁴ dolmix Pstrąg 1,5%, (DOLFOS, Polska)

Analizy składu proksymalnego pasz (tabela 3) przeprowadzono zgodnie z zaleceniami Association of Official Agricultural Chemists (AOAC) (2016). Zawartość

suchej masy oceniono poprzez suszenie w piecu w temperaturze 105°C przez 24 h. Białko surowe i tłuszcz surowy mierzono odpowiednio metodą Kjeldahla i Soxhleta. Popiół surowy określono wagowo poprzez pomiar utraty masy po spaleniu w piecu muflowym w temperaturze 550 °C przez 12 h. Włókno surowe oszacowano metodą AOAC 973.18. Zawartość węglowodanów (tj. ekstraktu wolnego od azotu, NFE) obliczono przez odjęcie zawartości wilgoci, białka, tłuszczu, popiołu i błonnika od 100%. Energię brutto (GE) oszacowano według wzoru:

$$GE = 0,01 \times (2,385 \times \text{białko} + 3,891 \times \text{tłuszcz} + 1,715 \times \text{NFE})$$

Tabela 3. Skład proksymalny izoenergetycznych pasz doświadczalnych różniących się pod względem zawartości mączki rybnej jako głównego źródła białka, g/kg.

Składniki odżywcze	Pasze eksperymentalne		
	P41	P46	P51
Sucha masa	917	931	928
Białko*	413	460	505
Tłuszcz *	227	220	220
Popiół*	84	103	119
Włókno*	7	5	3
Bezazotowe substancje wyciągowe [NFE]*	269	212	153
GE [MJ]	23,3	23,2	23,2

* obliczone na podstawie suchej masy.

3.1.2. Pobieranie prób, parametry ciała i wskaźniki odchowu

Po zakończeniu eksperymentu ryby umieszczono w buforowanym roztworze 0,3‰ MS-222 (MilliporeSigma, USA) w celu przeprowadzenia eutanazji. Następnie wykonano pomiary morfometryczne końcowej masy ciała (FBW) oraz długości standardowej (FCL). W dalszej kolejności ryby zostały wypatroszone i losowo przydzielone do pobrania próbek w celu oceny składu mięśni (n=9), analizy biochemii osocza krwi (n=15), analiz histologicznych (n=8), a także ekspresji genów w przewodzie pokarmowym (n=10). Wskaźniki wydajności wzrostu określono przy użyciu następujących parametrów: współczynnika kondycji Fultona (K), indeksu wiscerosomatycznego (VSI), współczynnika specyficznego tempa wzrostu (SGR), współczynnika wykorzystania paszy (FCR), współczynnika konwersji paszy (FCR) oraz współczynnika efektywności białka (PER). Do obliczeń zastosowano poniższe wzory:

$$F=100 \times (\text{FBW} \times \text{FCL}^{-3})$$

$$\text{VSI}=100 \times (\text{masa przewodu pokarmowego} \times \text{FBW}^{-1})$$

$$\text{SGR}=100 \times [(\ln \text{IBW}) \text{liczba dni doświadczenia}^{-1}]$$

$$\text{FCR}=\text{spożycie paszy} \times \text{przyrost masy ciała}^{-1}$$

$$\text{PER}=\text{przyrost masy ciała} \times \text{białko surowe w paszy}^{-1}$$

W celu analizy składu proksymalnego mięśni (sucha masa, białko surowe, tłuszcz i popiół) poddano eutanazji 15 ryb z każdego zbiornika. Próbkę, po odfiletowaniu i oskórowaniu, analizowano zgodnie ze standardowymi metodami, analogicznie do procedur zastosowanych przy ocenie składu paszy.

3.1.3. Biochemia krwi

Próbki krwi pobrano od pięciu ryb z każdego zbiornika ($n = 15$ na grupę) z żyły ogonowej natychmiast po eutanazji. Próbkę odwirowywano (StatSpin; Beckman, USA; 30 s, 15 800 obr/min), a uzyskane osocze analizowano za pomocą analizatora Catalyst Dx Chemistry Analyzer (Idexx Laboratories, USA) z użyciem dedykowanych szkiełek testowych. Oznaczono: białko całkowite (TP), albuminy (ALB), globuliny (GLOB), glukozę (GLU), cholesterol (CHOL), trójglicerydy (TRIG), bilirubinę całkowitą (TBIL), kreatyninę (CREA), amoniak (NH_3), aminotransferazę alaninową (ALT), aminotransferazę asparaginianową (AST) oraz fosfatazę alkaliczną (ALP). Próbkę rozmrożono jednokrotnie w temperaturze pokojowej, a wszystkie analizy przeprowadzono w jednej sesji analitycznej w celu uniknięcia błędów wynikających z wielokrotnych cykli zamrażania/rozmrężania.

3.1.4. Analiza histologiczna

Wycinki jelita przedniego i tylnego, a także fragmenty wątroby ($n = 8$ na grupę dla każdej tkanki) utrwalono w płynie Bouin'a i poddano rutynowej procedurze odwadniania, przeprowadzenia przez płyny pośrednie i zatopienia w parafinie. Przygotowane preparaty zostały poddane skrawaniu na mikrotomie rotacyjnym ustawionym na grubość 6 μm . Skrawki tkanek barwiono hematoksyliną i eozyną (HE) oraz metodą AB-PAS (błękit alcjański z dodatkiem odczynnika Schiffa), umożliwiającą identyfikację glikogenu w wątrobie oraz typów komórek śluzowych w jelicie (kwaśne,

obojętne, mieszane). Analizę histomorfometryczną przeprowadzono z użyciem mikroskopu Nikon Eclipse Ni-E wyposażonego w oprogramowanie do analizy obrazu NIS Elements (Nikon Corporation, Japonia). Zarówno w przednim jak i końcowym odcinku jelita analizowano: wysokość fałdu jelita (AFH, PFH), szerokość blaszki właściwej (AWLP, PWLP), wysokość enterocytów (AEH, PEH) oraz wysokość nadjądrową enterocytów (ASH, PSH). Dla każdego parametru wykonano 20 pomiarów dla 8 osobników w każdej grupie. Ponadto określono całkowitą powierzchnię hepatocytów (HA), powierzchnię zajmowaną przez cytoplazmę w hepatocycie (HCA) i powierzchnię jądra hepatocytu (HNA) wykonując 100 pomiarów dla 1 osobnika ($n = 8$ na grupę). Na podstawie tych danych obliczono wskaźnik jądrowy (HNI) zgodnie ze wzorem:

$$HNI=100 \times (HNA/HA)$$

3.1.5. Analiza ekspresji genów

Informacyjny kwas rybonukleinowy (mRNA) z przedniego i końcowego odcinka jelita oraz wątroby ($n = 10$ dla każdej tkanki na grupę) izolowano przy użyciu zestawu NucleoSpin RNA (MachereyNagel, Niemcy) zgodnie z instrukcjami producenta. Ilość kwasu rybonukleinowego (RNA) oszacowano za pomocą spektrofotometru (NanoDrop Technologies, USA), a jego integralność określono za pomocą elektroforezy w 1% żelu agarozowym z bromkiem etydyny. Syntezę pierwszej nici komplementarnego DNA (cDNA) przeprowadzono z wykorzystaniem 1 μ g całkowitego RNA, przy użyciu zestawu Maxima First Strand cDNA Synthesis Kit for RT-qPCR (ThermoFisher Scientific, USA). Specyficzne startery do oznaczania ekspresji czterech genów referencyjnych (*actb2*, *gapdh*, *bglb*, *hprt1*) i sześciu genów docelowych (*il1b*, *il6*, *tnfb*, *slc15a1b*, *slc27a4*, *pparaa*) zaprojektowano w Primer-Blast (National Library of Medicine, USA), a następnie zsyntetyzowano przez firmę Nextbio (Polska). Pełne nazwy i sekwencje starterów przedstawiono w tabeli 4.

Tabela 4. Sekwencje starterów oligonukleotydowych do RT-PCR.

Nazwa skrócona genu	Pełna nazwa genu	Sekwencja 5'→3'	Długość amplikonu (bp)
<i>il1b</i>	interleukina 1 beta	TGACTTCGACCTGTCTCAAGC ATCCTGAACGTCCGTTGTGT	94
<i>il6</i>	interleukina 6	GAGTACCCCGGCAACTCAAT GCCACGGTTTCTCATCTTTCG	90
<i>tnfb</i>	czynn timer martwicy nowotworów beat (TNF-β, członek nadrodziny TNF)	CACTGCTGAGAAAGATCCCCA CTTGCATACTCTCGCCGTCT	104
<i>slc15a1b</i>	członek 1b rodziny 15 przenośników substancji rozpuszczalnych (SLC)	GAGCACTGTAGGTCAAGCGA AGGTAATCCTCATTGGCCCTG	111
<i>slc27a4</i>	członek 4 rodziny 27 przenośników substancji rozpuszczalnych (SLC)	TATCTTCGAGGGGACTGGGG CCACCACGTCACCATCCTTA	110
<i>pparaa</i>	receptor aktywowany przez proliferatory peroksysomów alfa typu a	GAGAGTTTCAGCCCCCTCAA CTTCTGAAGAAACCCTTGCAGC	107
Geny referencyjne			
<i>actb2</i>	aktyna beta 2	CTGCGGAATCCATGAGACCA CTGGTGGGGCAATAATCTTGA	188
<i>gapdh</i>	dehydrogenaza aldehyde 3- fosfoglicerynowego	GGGACCCCGCTAACATCAAA CCTTCAAGTGAGCAGAAGCC	102
<i>gusb</i>	beta- glukuronidaza	GGCATCGCAGATAGTCGCAG AGAGGCATGGTTCTTGTCCC	96
<i>hprt1</i>	fosforybozylotransferaza hipoksantynowo- guaninowa 1	TTGACGGGCAAGAATGTCCT CTGGTCGGTAGCCAACACTT	157

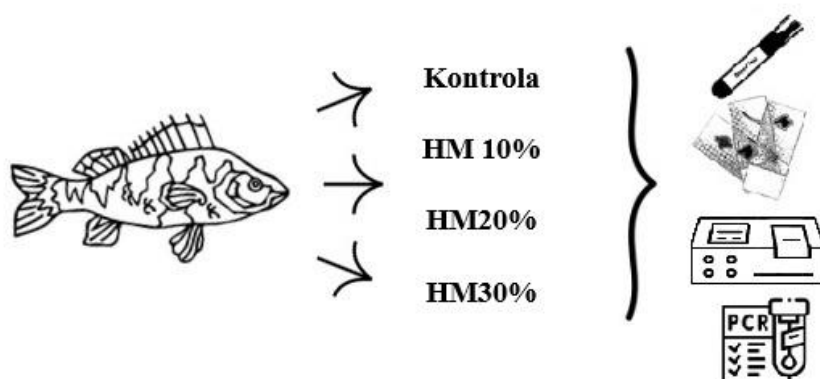
Reakcje ilościowej reakcji łańcuchowej polimerazy (qPCR) przeprowadzono przy użyciu zestawu HOT FIREPol EvaGreen qPCR Mix Plus (bez ROX; Solis BioDyne, Estonia) oraz starterów oligonukleotydowych klasy HPLC w termocyklerze Rotor Gene 6000 (Corbett Research, Australia). Zastosowano następujące warunki amplifikacji: denaturacja kwasu nukleinowego (95°C, 15 min), następnie 35 cykli (denaturacja 95°C -10 s, hybrydyzacja 59°C- 20 s, elongacja 72°C- 10 s), końcowe wydłużanie (72°C, 7 min). Krzywą topnienia wygenerowano w zakresie 70-95°C co 0,5°C. Kontrole negatywne bez matrycy cDNA oraz sekwencjonowanie produktów (Nextbio, Polska) potwierdziły specyficzność reakcji. Do normalizacji badanych genów wykorzystano średnie poziomy ekspresji genów referencyjnych.

3.1.6. Analiza statystyczna

Wstępną ocenę danych przeprowadzono pod kątem normalności z użyciem testu Shapiro-Wilka oraz jednorodności wariancji testem Levene'a. W zależności od spełnienia założeń, dane analizowano przy użyciu testu Kruskala-Wallisa (dla składu mięśni, parametrów biochemicznych krwi oraz ekspresji genów) lub jednokierunkowej ANOVA z testem post hoc Fishera (dla pozostałych parametrów). Różnice uznawano za istotne statystycznie przy $P < 0,05$. Analizy statystyczne przeprowadzono przy użyciu oprogramowania STATISTICA 13 (TIBCO Software, USA).

3.2. Doświadczenie II (Cieśla i in., 2026)

Dotychczasowe badania wskazują, że produkty konopne mogą stanowić obiecujący komponent paszowy także dla ryb, dlatego też celem badania była ocena możliwości wykorzystania HM jako alternatywnego źródła białka w paszy ekstrudowanej dla okonia europejskiego (*P. fluviatilis*). Schemat doświadczenia przedstawiono na rycinie 3.



Rycina 3. Schemat doświadczenia II (na podstawie Cieśla i in., 2026).

3.2.1. Warunki odchowu

Do 10 tygodniowego eksperymentu wykorzystano 400 udomowionych osobników okonia europejskiego o średniej początkowej masie ciała 68,1 g uzyskano z gospodarstwa stawowego Rybackiego Zakładu Doświadczalnego w Żabieńcu. Ryby rozmieszczono w ośmiu zbiornikach (0,3 m³) RAS i podzielono na cztery grupy żywieniowe, po dwa zbiorniki w każdej. Parametry wody (tabela 5) kontrolowano codziennie w miejscu odpływu ze zbiornika magazynowego.

Tabela 5. Parametry wody w systemie RAS.

Parametr	Wartość
Temperatura	20,6 ± 0,9°C
Rozpuszczony O ₂	9,22 ± 0,98 mg L ⁻¹
pH	7,0 ± 0,12 (6,88-7,12)
Całkowity amoniak	< 0,05 mg L ⁻¹
NO ₂	< 0,001 mg L ⁻¹

Grupy nazwano na podstawie poziomu zawartości HM w podawanej paszy: HM0, HM10, HM20 i HM30. Dzienna dawka pokarmowa stanowiła 1% szacowanej biomasy

ryb. Cztery izoenergetyczne, ekstrudowane pasze (tabela 6) zostały opracowane oraz przygotowane w Katedrze Ichtiologii i Akwakultury, Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie.

Tabela 6. Skład komponentów izoenergetycznych pasz doświadczalnych różniących się poziomem włączenia HM, % suchej masy.

Składniki	Pasze eksperymentalne			
	HM0	HM10	HM20	HM30
Mączka konopna	0	10,0	20,0	30,0
Mączka rybna	39,5	32,3	28,2	17,7
Soja PC	9,5	10,0	4,0	3,5
Mąka pszenna	20,0	18,0	17,0	15,8
Olej rybi	13,3	13,0	12,5	12,5
Gluten	4,0	4,0	4,6	5,5
Proglobulina	4,0	4,0	5,0	6,0
Posilek krwawy	4,0	4,0	4,0	5,4
Mieszanka wstępna	5,7	4,7	4,7	3,7

Analiza składu pasz (tabela 7) doświadczalnych została określona zgodnie ze znormalizowaną metodyką AOAC, analogicznie jak w doświadczeniu I. Oceniono zawartość suchej masy, białka surowego, tłuszczu surowego, popiołu surowego, włókna surowego oraz NFE, a następnie obliczono wartość GE w suchej masie.

Tabela 7. Skład izoenergetycznych pasz doświadczalnych różniących się pod względem zawartości mączki rybnej jako głównego źródła białka, % mokrej masy

Składniki odżywcze	Pasze eksperymentalne			
	HM0	HM10	HM20	HM30
Sucha masa	92,6	92,7	92,6	92,6
Białko	46,0	46,0	46,0	46,0
Tłuszcz	18,0	18,0	18,0	18,0
Popiół	9,1	7,7	7,2	5,4
Blonnik	0,7	2,7	4,4	6,3
NFE 1	18,8	18,3	17,0	16,9
GE 2 [MJ kg⁻¹]	21,2	21,1	20,9	20,9

3.2.2. Pobieranie próbek, parametry ciała i wskaźniki odchowu

Po zakończeniu eksperymentu ryby umieszczono w roztworze propofolu i poddano analizie morfometrycznej (FBW oraz FCL). Wskaźniki efektywności wzrostu i wykorzystania paszy w tym: K, VSI, HSI, SGR, FCR oraz PER obliczono analogicznie jak w doświadczeniu I. Dodatkowo określono indeks hepatosomatyczny (HSI) według poniższego wzoru:

$$HSI=100 \times (\text{masa wątroby} \times FBW^{-1})$$

Do proksymalnej analizy mięśni wykorzystano po 15 ryb z każdego zbiornika. Po wyfiletowaniu i usunięciu skóry mięśnie pięciu ryb łączono w jedną próbkę, uzyskując trzy próby na zbiornik ($n = 6$). W mięśniach oznaczono zawartość suchej masy, białka surowego, tłuszczu i popiołu, stosując standardowe metody analityczne wykorzystane wcześniej do oceny składu paszy.

3.2.3. Biochemia krwi

Oznaczenia parametrów biochemicznych osocza wykonano u pięciu ryb z każdego zbiornika ($n = 10$), zgodnie z metodyką zastosowaną w doświadczeniu I. Zakres tych analiz obejmował analizę TP, ALB, GLOB, GLU, cholesterolu całkowitego (TC), trójglicerydów (TG), ALT, AST oraz ALP.

3.2.4. Analiza histologiczna

Pobór i przygotowanie próbek wycinków wątroby oraz przedniego i tylnego fragmentu jelita do analiz histologicznych, ekspresji genów i aktywności enzymatycznej przeprowadzono zgodnie z metodyką zastosowaną w doświadczeniu I. Próby pobrano od pięciu ryb z każdego zbiornika ($n = 10$). Preparaty zabarwiono metodą AB-PAS, a dodatkowo wykonano barwienie PAS, które wykorzystano do oceny nagromadzenia glikogenu w wątrobie. Ocena parametrów histomorfometrycznych wycinków jelit oraz wątroby przebiegała analogicznie jak w przypadku doświadczenia I. Obejmowała ona pomiary AFH, PFH, AWLP, PWLP, AEH, PEH, ASH i PSH w badanych fragmentach jelit oraz HA i HNA w wątrobie, a także obliczenie wskaźnika HNI. W doświadczeniu II analizę wykonano u 10 osobników w grupie (20 pomiarów parametrów jelitowych oraz 100 pomiarów parametrów komórkowych dla 1 osobnika). Zakres pomiarów rozszerzono o automatyczną ilościową ocenę depozycji lipidów (LD) i glikogenu (GD) w wątrobie z użyciem programu ImageJ v. 1.53k.

3.2.5. Analiza ekspresji genów

Izolację całkowitego mRNA z wycinków pochodzących z przedniego i końcowego odcinka jelita oraz wątroby, ocenę ilości, a także integralności oraz syntezę cDNA przeprowadzono zgodnie z metodyką opisaną dla doświadczenia I. Startery zaprojektowano w programie Primer-BLAST, a następnie zsyntetyzowano w firmie Nexbio (Polska). Zestawienie analizowanych genów oraz sekwencji starterów użytych w doświadczeniu II, przedstawiono w tabeli 8.

Tabela 8. Sekwencje starterów oligonukleotydowych do RT-PCR.

Nazwa skrócona genu	Pełna nazwa genu	Sekwencja 5'→3'	Długość amplikonu (bp)
Geny badane			
<i>il1b</i>	interleukina 1 beta	TGACTTCGACCTGTCTCAAGC ATCCTGAACGTCGTTGTGT	94
<i>il6</i>	interleukina 6	GAGTACCCCGGCAACTCAAT GCCACGGTTTCTCATCTTTCG	90
<i>slc15a1b</i>	członek 1b rodziny 15 przenośników substancji rozpuszczalnych (SLC)	GAGCACTGTAGGTCAAGCGA AGGTAATCCTCATTGGCCCTG	111
<i>slc27a4</i>	członek 4 rodziny 27 przenośników substancji rozpuszczalnych (SLC)	TATCTTCGAGGGGACTGGGG CCACCACGTCACCATCCTTA	110
<i>pparaa</i>	receptor aktywowany przez proliferatory peroksysomów alfa typu a	GAGAGTTTCAGCCCCCTCAA CTTCTGAAGAAACCCTTGCAGC	107
<i>fads2</i>	desaturaza kwasów tłuszczowych 2	CCATGATTTCCCGCCGTCAG CGTGACTCTCCAAATCCTGATGA	141
<i>leptin-like</i>	Podobny do leptyny	TGCTGCACGTTTTGAGTGTG GACCAGTAGGGACCTGGAAA	133
Geny referencyjne			
<i>actb2</i>	aktyna beta 2	CTGCGGAATCCATGAGACCA CTGGTGGGGCAATAATCTTGA	188
<i>gapdh</i>	dehydrogenaza aldehyde 3-fosfoglicerynowego	GGGACCCCGCTAACATCAAA CCTTCAAGTGAGCAGAAGCC	102
<i>gusb</i>	beta- glukuronidaza	GGCATCGCAGATAGTCGCAG AGAGGCATGGTTCTTGTCCC	96

<i>hprt1</i>	fosforybozylotransferaza hipoksantynowo- guaninowa 1	TTGACGGGCAAGAATGTCCT	157
		CTGGTCGGTAGCCAACACTT	
<i>b2m</i>	beta-2-mikroglobuliny	CTCAACAGCCAAAGAATCGCC	92
		CACGTGACAGATGAGGGTGT	

Reakcje ilościowego PCR z odwrotną transkrypcją (RT-qPCR) przeprowadzono z użyciem zestawu HOT FIREPol EvaGreen qPCR Mix Plus (Solis BioDyne) w termocyklerze Rotor-Gene 6000. Uwzględniono kontrole negatywne, a produkty amplifikacji zweryfikowano sekwencjonowaniem bezpośrednim. Wyniki normalizowano względem średniej ekspresji genów referencyjnych.

3.2.6. Analiza aktywności enzymów wątrobowych

Wycinki wątroby przeznaczone do analiz enzymatycznych, zamrożono w ciekłym azocie bezpośrednio po pobraniu i przechowywano w temperaturze -80°C . Następnie zostały one zhomogenizowane w wodzie destylowanej i odwirowane ($14\,000 \times g$, 10 min, 4°C). Z uzyskanych homogenatów oznaczono aktywność ALP z użyciem zestawu SPINREACT (Girona, Hiszpania) oraz aktywność peroksydazy glutationowej (GPX) i dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) z zastosowaniem dedykowanych zestawów RANDOX (Crumlin, Wielka Brytania). Całkowite stężenie białka oznaczono metodą Lowry’ego, w celu standaryzacji aktywności enzymatycznej. Oznaczenia wykonano zgodnie z instrukcjami producentów, w trzech powtórzeniach dla każdej próbki, w temperaturze 37°C . Analizy przeprowadzono na płytkach 96-dołkowych z użyciem spektrofotometru Infinite 200 Pro (Tecan, Austria).

3.2.7. Analiza statystyczna

Uzyskane dane poddano ocenie normalności rozkładu z zastosowaniem testu Shapiro–Wilka oraz jednorodności wariancji, testem Levene’a. W celu identyfikacji różnic statystycznie istotnych między grupami ($p < 0,05$) zastosowano test Kruskala–Wallisa z testem Dunna do porównań wielokrotnych w przypadku: składu mięśni, parametrów biochemicznych osocza, ekspresji genów czy aktywności enzymów wątrobowych. W przypadku wskaźników wydajności wzrostu oraz parametrów histologicznych posłużono się jednoczynnikową analizą wariancji ANOVA z testem post hoc Fishera. Wszystkie analizy wykonano w programie STATISTICA v. 13 (TIBCO Software, USA).

4. Omówienie najważniejszych wyników badań

4.1. Doświadczenie I (Wiechetek i in., 2025)

4.1.1. Podstawowe parametry hodowlane i skład mięśni

W wyniku przeprowadzonego doświadczenia zaobserwowano statystycznie istotne różnice we wzroście i efektywności wykorzystania paszy (tabela 9). W grupie o najniższej zawartości białka w diecie, odnotowano niższą końcową masę ciała oraz słabszy przyrost. Stwierdzono również istotne różnice w wartościach indeksów VSI oraz K, które były najniższe w grupie P51. Nie wykazano natomiast istotnych różnic między grupami w zakresie wskaźników wykorzystania paszy (SGR, FCR, PER), choć najmniej korzystne wartości tych parametrów obserwowano w grupie P41.

Tabela 9. Parametry ciała i wskaźniki hodowlane okonia europejskiego żywionego dietami eksperymentalnymi.

Wskaźnik	Grupa doświadczalna		
	P41	P46	P51
FBW [g]	103,62 ^b ± 21,08	114,64 ^a ± 28,53	113,70 ^b ± 26,96
FCL [cm]	16,93 ^b ± 0,91	17,01 ^b ± 1,03	17,59 ^a ± 1,16
K	2,11 ^b ± 0,24	2,28 ^a ± 0,33	2,06 ^b ± 0,21
VSI [%]	15,08 ^a ± 4,39	14,23 ^a ± 2,89	12,78 ^b ± 2,26
SGR [%/dzień]	0,47 ± 0,04	0,62 ± 0,01	0,63 ± 0,05
FCR	1,83 ± 0,31	0,97 ± 0,22	0,97 ± 0,10
PER	0,65 ± 0,16	1,55 ± 0,47	1,44 ± 0,22

W składzie chemicznym mięśni nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic pomiędzy grupami, z wyjątkiem zawartości tłuszczu surowego. W grupie P51 zawartość tłuszczu w mięśniach była istotnie niższa w porównaniu do pozostałych dwóch grup.

4.1.2. Analiza parametrów biochemicznych krwi

Zastosowane w doświadczeniu pasze nie wpłynęły na analizowane parametry biochemiczne osocza (TP, ALB, GLOB, GLU, CHOL, TRIG, TBIL, CREA, NH₃, ALT, AST, ALP). Zaobserwowano jednak tendencje wskazujące na odmienny profil metaboliczny (tabela 10). W grupie P41 notowano niższe średnie wartości TP, ALB

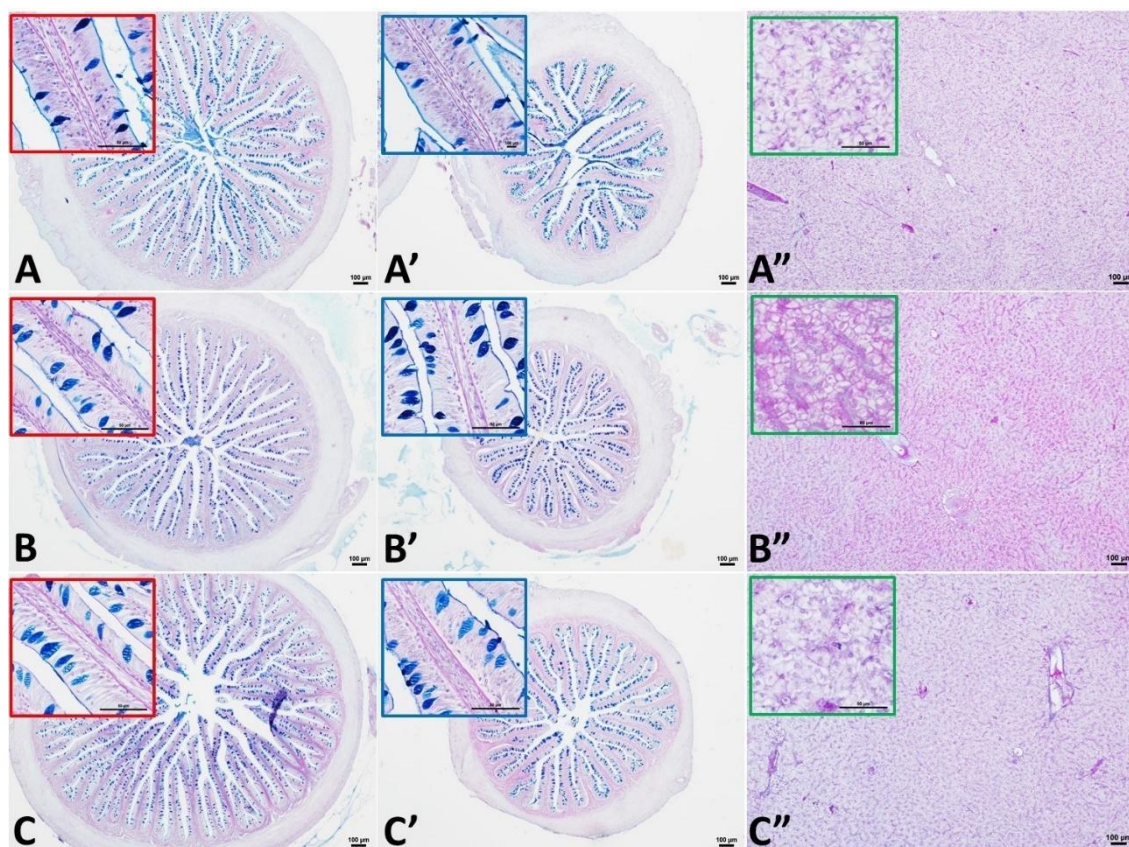
i GLOB oraz najwyższe wartości GLU oraz CHOL, a także najwyższą średnią aktywność ALT, AST i ALP. W grupie P46 stwierdzono najwyższe średnie wartości TP, ALB i GLOB oraz najniższe wartości CHOL, TRIG i CREA, przy jednocześnie najniższej aktywności ALT, AST i ALP.

Tabela 10. Wskaźniki osocza krwi u okonia europejskiego żywionego dietami eksperymentalnymi.

Parametr	Grupa doświadczalna		
	P41	P46	P51
TB [g/l]	46.27 ± 9.12	52.00 ± 6.44	49.30 ± 7.63
ALB [g/l]	14.55 ± 2.38	16.20 ± 1.92	15.60 ± 3.24
GLOB [g/l]	31.73 ± 6.87	35.80 ± 4.55	33.70 ± 4.81
GLU [mmol/l]	10.37 ± 10.19	7.27 ± 6.48	6.56 ± 4.82
CHOL [mmol/l]	5.41 ± 1.70	4.67 ± 0.93	5.04 ± 0.86
TRIG [mmol/l]	3.13 ± 0.93	2.81 ± 0.52	3.18 ± 0.78
TBIL [μmol/l]	5.91 ± 3.88	5.60 ± 3.36	4.80 ± 3.68
CREA [μmol/l]	17.18 ± 15.85	11.80 ± 3.56	16.33 ± 14.46
NH3 [μmol/l]	155.67 ± 67.42	150.33 ± 63.03	156.11 ± 65.32
ALT [U/l]	78.87 ± 58.52	46.00 ± 18.88	61.10 ± 55.42
AST [U/l]	195.13 ± 129.06	113.00 ± 38.40	140.60 ± 99.19
ALP [U/l]	70.00 ± 37.01	43.38 ± 16.92	54.20 ± 25.78

4.1.3. Analiza histologiczna układu pokarmowego

Nie zaobserwowano wyraźnych różnic morfologicznych w ogólnej budowie przewodu pokarmowego pomiędzy badanymi grupami w doświadczeniu I. Różnice dotyczyły głównie warstwy błony śluzowej w przednim i tylnym odcinku jelita (rycina 4). W przednim odcinku jelita u ryb z grup P41 i P46 przeważały komórki śluzowe kwaśne, podczas gdy w grupie P51 obserwowano mieszany profil komórek śluzowych.



Rycina 4. Budowa histologiczna badanych odcinków jelita oraz wątroby okonia europejskiego żywionego dietami o różnej zawartości białka: P41 (A, A', A''), P46 (B, B', B'') i P51 (C, C', C''). Jelito przednie: A–C; jelito tylne: A'–C'; miąższ wątroby: A''–C''. Barwienie AB-PAS, skale: A–C'' 100 μm, w powiększeniach 50 μm.

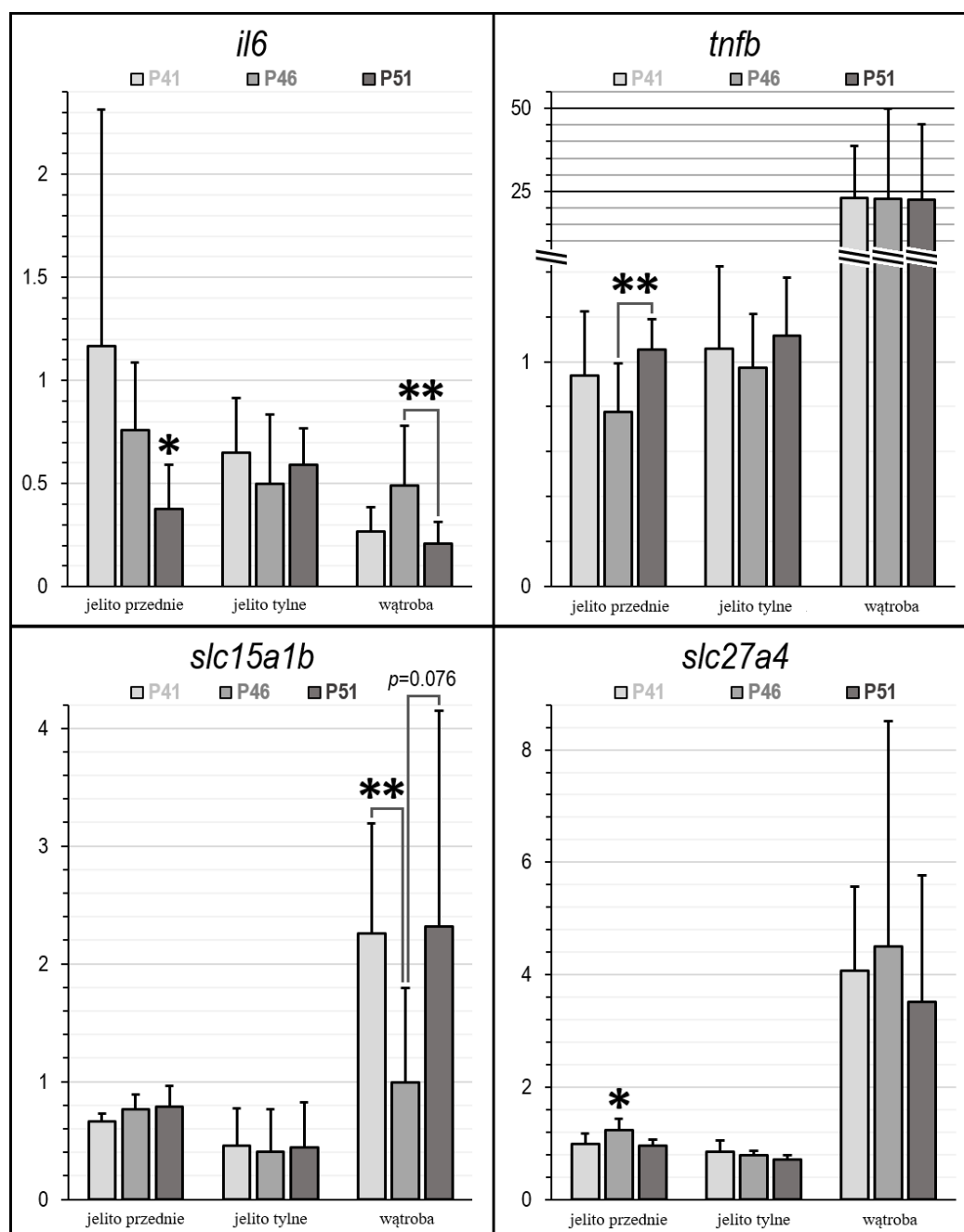
We wszystkich badanych grupach nie wykazano statystycznie istotnych różnic dla AFH oraz PFH czy PSH (tabela 11). Stwierdzono natomiast istotne różnice dla pozostałych analizowanych parametrów jelitowych. W jelicie przednim AEH zmniejszała się wraz ze wzrostem poziomu białka w diecie, natomiast AWLP zwiększała się i była najwyższa w grupie P51. W jelicie tylnym grupa P41 charakteryzowała się niższą PEH, a w grupie P51 stwierdzono niższe wartości PWLP w porównaniu z grupami P41 i P46.

Tabela 11. Parametry histomorfometryczne narządów trawiennych okonia europejskiego żywno eksperymentalnie. Wszystkie wyniki przedstawiono jako średnie $\pm$ odchylenie standardowe (SD).

Parametr	Grupa doświadczalna		
	P41	P46	P51
Jelito przednie			
AFH [μm]	818.16 $\pm$ 164.50	816.35 $\pm$ 173.43	815.96 $\pm$ 91.09
AEH [μm]	30.32 ^a $\pm$ 3.75	28.12 ^b $\pm$ 2.87	26.53 ^c $\pm$ 2.58
ASH [μm]	16.11 ^b $\pm$ 1.90	15.09 ^c $\pm$ 1.93	17.18 ^a $\pm$ 2.19
AWLP [μm]	8.61 ^c $\pm$ 2.22	10.84 ^b $\pm$ 2.33	13.04 ^a $\pm$ 2.04
Jelito tylne			
PFH [μm]	553.08 $\pm$ 74.02	547.98 $\pm$ 78.18	583.09 $\pm$ 124.20
PEH [μm]	34.64 ^b $\pm$ 6.55	37.03 ^a $\pm$ 5.80	37.24 ^a $\pm$ 5.45
PSH [μm]	17.08 $\pm$ 2.68	17.41 $\pm$ 3.10	17.70 $\pm$ 3.01
PWLP [μm]	14.69 ^a $\pm$ 3.72	14.71 ^a $\pm$ 4.63	12.11 ^b $\pm$ 2.74
Hepatocyty			
HA [μm^2]	215.304 ^a $\pm$ 68.91	210.54 ^a $\pm$ 72.97	149.08 ^b $\pm$ 35.16
HCA [μm^2]	196.95 ^a $\pm$ 67.08	190.24 ^b $\pm$ 70.84	131.39 ^c $\pm$ 34.00
HNA [μm^2]	18.48 ^b $\pm$ 4.59	20.29 ^a $\pm$ 4.97	17.69 ^c $\pm$ 2.94
HNI [%]	10.17 ^c $\pm$ 3.62	11.65 ^b $\pm$ 3.80	14.11 ^a $\pm$ 3.30

4.1.4. Analiza ekspresji genów

Zmienny udział białka w paszach doświadczalnych nie wpływał istotnie na większość analizowanych markerów ekspresji genów. U ryb z grupy P51 stwierdzono niższą ekspresję genu *il6* w jelicie przednim oraz w wątrobie w porównaniu z grupą P46 (rycina 5). Jednocześnie w grupie P51 stwierdzono wyższą ekspresję genu *tnfb* w przednim odcinku jelita niż w grupie P46. Ekspresja genu *slc15a1b* w wątrobie była niższa w grupie P46 niż w grupie P41, natomiast ekspresja genu *slc27a4* w jelicie przednim była wyższa w grupie P46 niż w pozostałych grupach.



Rycina 5. Znormalizowana ekspresja genów *il6*, *tnfb*, *slc15a1b*, *slc27a4* w trzech badanych narządach trawiennych okonia europejskiego. Wyniki przedstawiono w jednostkach arbitralnych, jako stosunek ekspresji genu docelowego do średniej ekspresji wszystkich czterech genów referencyjnych.

4.2. Doświadczenie II (Cieśla i in., 2026)

4.2.1. Podstawowe parametry hodowlane i skład mięśni

Zastosowanie pasz doświadczalnych nie spowodowały istotnych statystycznie różnic w zakresie FBW oraz FCL (tabela 12). Istotne różnice odnotowano natomiast w przypadku wybranych wskaźników somatycznych. Ryby z grup HM20 i HM30 charakteryzowały się wyższym współczynnikiem K niż osobniki z grupy HM10 oraz

wyższymi wartościami indeksu VSI niż ryby z grupy HM0. Z kolei w grupach HM0 i HM10 stwierdzono wyższe wartości HSI w porównaniu z grupami HM20 i HM30. Wraz ze wzrostem udziału HM w diecie wartości wskaźników SGR, FCR i PER zmieniały się nieliniowo. Najwyższe wyniki uzyskano w grupie HM20, natomiast najniższe w grupie HM30

Tabela 12. Parametry ciała i wskaźniki hodowlane okonia europejskiego żywionego eksperymentalnymi dietami o różnej zawartości mączki konopnej.

Wskaźnik	Grupa doświadczalna			
	HM0	HM10	HM20	HM30
FBW [g]	94,9 ± 0,1	92,4 ± 1,2	94,8 ± 0,6	94,9 ± 4,0
FCL [cm]	16,7 ± 0,1	16,8 ± 0,0	16,7 ± 0,0	16,9 ± 0,4
K	1,99 ± 0,05 ^{ab}	1,98 ± 0,04 ^b	2,06 ± 0,08 ^a	2,06 ± 0,05 ^a
VSI [%]	8,33 ± 0,54 ^b	8,95 ± 0,2 ^{ab}	9,42 ± 1,16 ^a	9,47 ± 0,06 ^a
HSI [%]	2,44 ± 0,16 ^a	2,19 ± 0,53 ^a	1,76 ± 0,14 ^b	1,56 ± 0,26 ^b
SGR [%/dzień]	0,49 ± 0,04	0,46 ± 0,01	0,51 ± 0,04	0,40 ± 0,02
FI [g]	2632 ± 88	2757 ± 9	2687 ± 126	2870 ± 195
FCR	2,55 ± 0,50	2,45 ± 0,21	2,20 ± 0,28	3,30 ± 0,99
PER	0,86 ± 0,17	0,90 ± 0,09	0,99 ± 0,11	0,70 ± 0,22

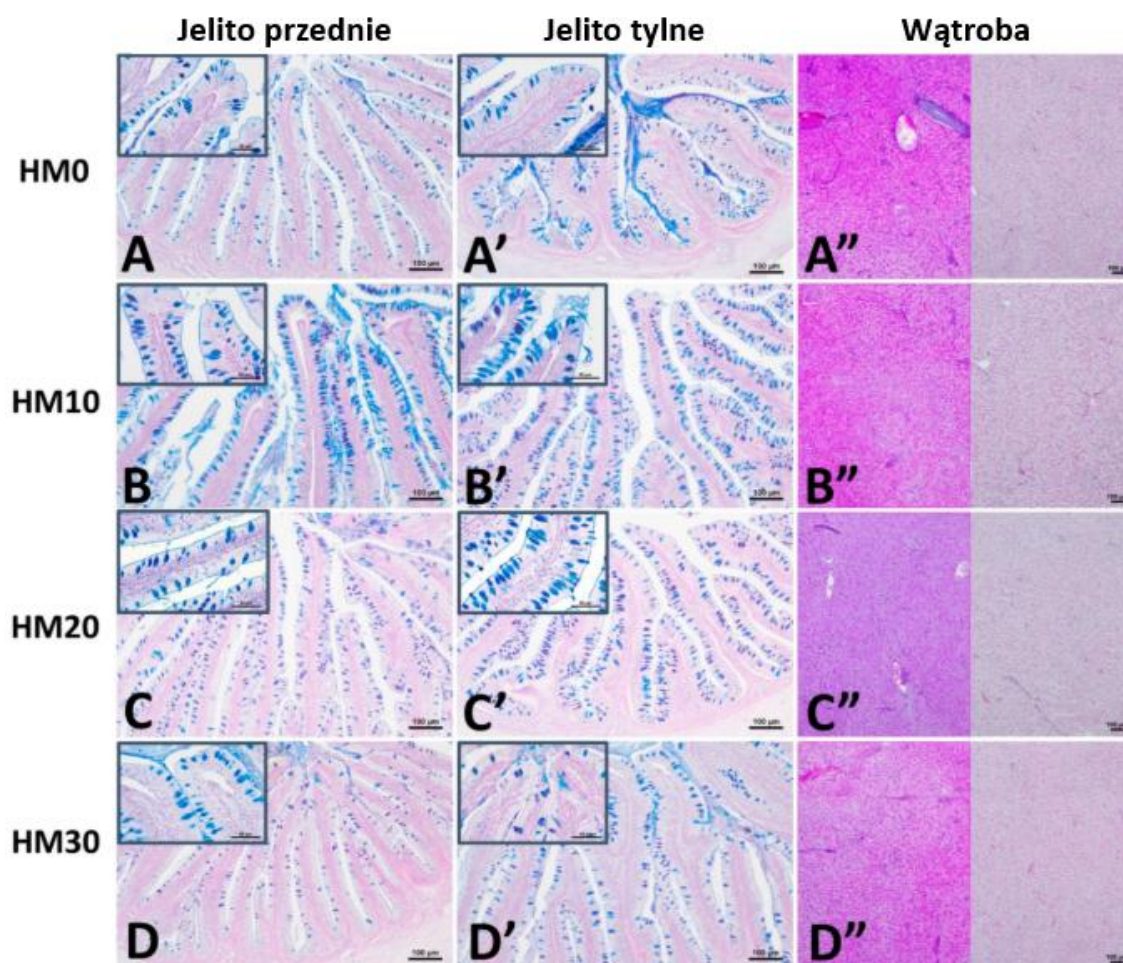
W przypadku składu chemicznego mięśni nie stwierdzono różnic istotnych statystycznie pomiędzy grupami.

4.2.2. Analiza parametrów biochemicznych krwi

Zastosowane pasze doświadczalne nie miały istotnego wpływu na wartości badanych parametrów krwi, a na podstawie uzyskanych wyników nie zaobserwowano także żadnych widocznych tendencji.

4.2.3. Analiza histologiczna układu pokarmowego

W przednim odcinku jelita stwierdzono istotne różnice w budowie histologicznej pomiędzy grupami. Nie obserwowano rozległych zmian histopatologicznych, jednak w grupach HM20 i HM30 występowały miejscowe zmiany zwyrodnieniowe na szczytach fałdów jelitowych oraz mniejsza liczba komórek śluzowych rozmieszczonych w fałdach jelita (rycina 6).



Rycina 6. Budowa histologiczna jelita przedniego (A–D), jelita tylnego (A'–D') i wątroby (A''–D'') okonia europejskiego żywionego dietami o różnym udziale mączki konopnej. Wstawki przedstawiają powiększony obraz nabłonka jelitowego z widocznymi komórkami śluzowymi. W wątrobie uwidoczniono odkładanie glikogenu (magenta) oraz lipidów (obszary niewybarwione). Barwienie AB-PAS A–D', barwienie PAS A''–C'', skala 100 µm, w powiększeniach 50 µm.

W grupach HM10–HM30 stwierdzono wyższe wartości AFH oraz niższe wartości AEH niż w HM0, natomiast ASH było niższe w HM20 i HM30 (tabela 13). W tylnym odcinku jelita najwyższe wartości PFH, PEH i PSH stwierdzono w grupie HM10, podczas gdy najwyższe wartości PWLP obserwowano w grupach HM10 i HM20. W obrębie wątroby wykazano duże zróżnicowanie w odkładaniu lipidów i glikogenu (rycina 6). Grupa HM20 charakteryzowała się najwyższymi wartościami HA oraz najniższymi HNI, natomiast w HM30 stwierdzono najniższe wartości LD, a w HM0 najwyższe wartości GD.

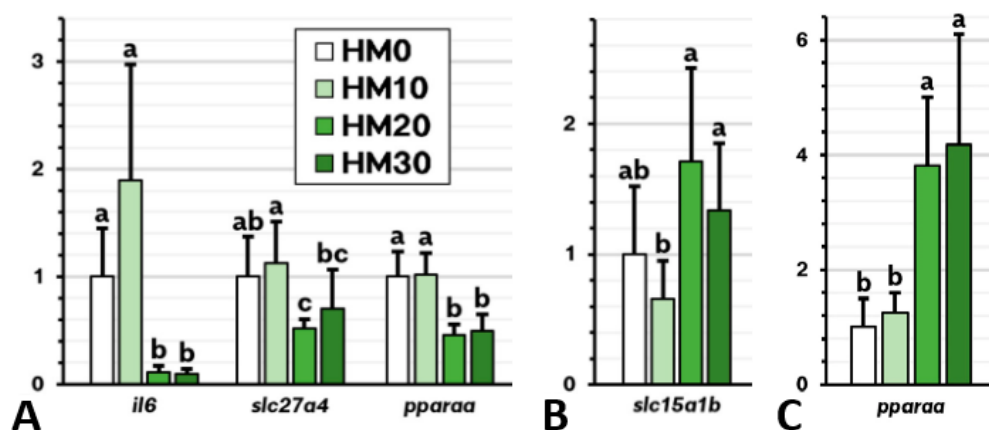
Tabela 13. Parametry histomorfometryczne narządów trawiennych okonia europejskiego żywnionego dietami o różnym udziale mączki konopnej. Wszystkie wyniki przedstawiono jako średnie $\pm$ SD.

Parametr	Grupa doświadczalna			
	HM0	HM10	HM20	HM30
Jelito przednie				
AFH [μm]	695,56 $\pm$ 81,43 ^b	816,51 $\pm$ 96,15 ^a	822,64 $\pm$ 97,17 ^a	805,93 $\pm$ 114,83 ^a
AEH [μm]	37,28 $\pm$ 3,16 ^a	33,91 $\pm$ 2,65 ^b	33,63 $\pm$ 3,50 ^{bc}	32,66 $\pm$ 3,16 ^c
ASH [μm]	18,30 $\pm$ 2,40 ^a	18,52 $\pm$ 2,24 ^a	15,97 $\pm$ 2,12 ^b	15,65 $\pm$ 2,26 ^b
AWLP [μm]	15,54 $\pm$ 5,38 ^a	10,80 $\pm$ 3,10 ^d	12,74 $\pm$ 3,60 ^c	13,96 $\pm$ 2,62 ^b
Jelito tylne				
PFH [μm]	487,15 $\pm$ 90,12 ^c	693,46 $\pm$ 77,71 ^a	621,73 $\pm$ 96,36 ^b	515,77 $\pm$ 80,33 ^c
PEH [μm]	38,96 $\pm$ 4,44 ^b	41,71 $\pm$ 3,84 ^a	37,54 $\pm$ 3,15 ^c	37,94 $\pm$ 3,34 ^c
PSH [μm]	17,05 $\pm$ 2,64 ^c	19,51 $\pm$ 2,67 ^a	17,35 $\pm$ 1,77 ^c	18,10 $\pm$ 3,46 ^b
PWLP [μm]	12,05 $\pm$ 2,01 ^b	13,13 $\pm$ 1,98 ^a	13,60 $\pm$ 2,36 ^a	11,16 $\pm$ 4,09 ^c
Hepatocyty				
HA [μm^2]	230,47 $\pm$ 81,38 ^b	224,79 $\pm$ 61,96 ^b	258,21 $\pm$ 105,23 ^a	200,87 $\pm$ 106,02 ^c
HNI [%]	12,37 $\pm$ 5,57 ^a	12,27 $\pm$ 4,52 ^a	10,80 $\pm$ 4,59 ^b	11,76 $\pm$ 4,78 ^a
LD [%]	43,62 $\pm$ 9,38 ^a	46,76 $\pm$ 13,21 ^a	47,21 $\pm$ 11,10 ^a	36,65 $\pm$ 6,76 ^b
GD [%]	34,66 $\pm$ 4,63 ^a	23,69 $\pm$ 3,15 ^c	30,17 $\pm$ 4,07 ^b	30,72 $\pm$ 3,40 ^b

4.2.4. Analiza ekspresji genów

W przednim odcinku jelita stwierdzono istotne różnice w ekspresji wybranych genów (rycina 7). Ekspresja genów *il6* oraz *pparaa* była niższa w grupach HM20 i HM30. Z kolei poziom ekspresji genu *slc27a4* była wyższa w grupie HM10 oraz HM0.

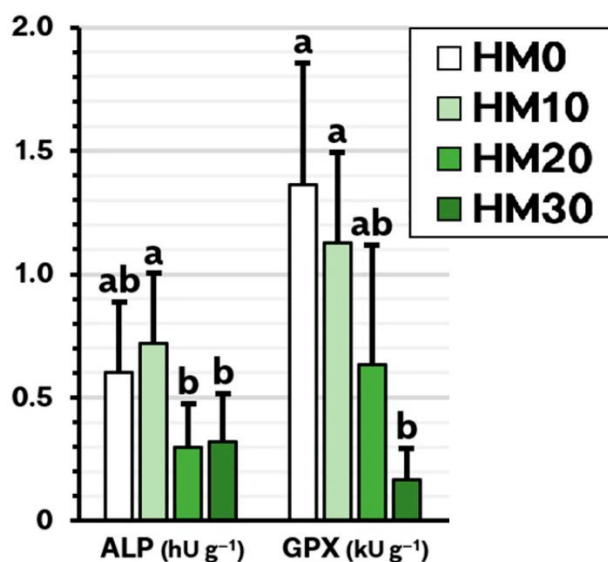
W końcowym odcinku jelita ekspresja *slc15a1b* była wyraźnie wyższa niż poziomy transkryptów pozostałych badanych genów. W grupie HM10 jego ekspresja była jednak niższa niż w grupach HM20 i HM30. W wątrobie istotne różnice stwierdzono w przypadku ekspresji genu *pparaa*, która była niższa w grupach HM0 i HM10.



Rycina 7. Znormalizowana ekspresja genów w diecie okonia europejskiego z różną zawartością mączki konopnej: w jelicie przednim (A), w jelicie tylnym (B), w wątrobie (C) w stosunku do średniej dla grupy HM0. Średnie oznaczone różnymi literami w indeksie górnym różnią się istotnie statystycznie ($p < 0,05$).

4.2.5. Analiza aktywności enzymów wątrobowych

Zastosowane pasze doświadczalne wpłynęły na aktywność ALP i GPX w wątrobie (rycina 8). Aktywność ALP była niższa w grupach HM20 i HM30, natomiast aktywność GPX była najniższa w HM30.



Rycina 8. Aktywność enzymatyczna w wątrobie okonia europejskiego żywionego dietami o różnym udziale mączki konopnej. Średnie oznaczone różnymi literami w indeksie górnym różnią się istotnie statystycznie ($p < 0,05$).

5. Dyskusja

W kontekście wzmocnienia pozycji sektora akwakultury w zaspokajaniu potrzeb żywnościowych ludności, w ostatnich latach coraz większe znaczenie zyskują badania dotyczące żywienia ryb. Jego rozwój wynika z rosnącego zapotrzebowania na żywność wysokobiałkową oraz ograniczeń związanych z połowami dziko żyjących ryb. Jednocześnie dalszy postęp tego sektora wymaga zwiększania efektywności produkcji przy równoczesnym ograniczaniu obciążeń środowiskowych. Szczególne znaczenie ma tu optymalizacja żywienia, ponieważ pasza stanowi najwyższy koszt w produkcji ryb (Craig i in., 2017; Bochart, 2020). Dodatkowo mączka rybna, będąca kluczowym komponentem pasz dla ryb drapieżnych, staje się trudno dostępna, a jej cena wzrasta. Z tego względu rośnie zainteresowanie alternatywnymi źródłami białka pochodzenia roślinnego, zwierzęcego (w tym owadów), a także mikrobiologicznego (Glencross i in., 2020; Mugwanya i in., 2023; Tran i in., 2023). Zagadnienie to ma szczególne znaczenie w odniesieniu do gatunków drapieżnych, których żywienie opiera się na paszach o wysokiej zawartości białka zwierzęcego. W ich przypadku zarówno poziom, jak i źródło protein w diecie może istotnie wpływać nie tylko na tempo wzrostu, ale również na homeostazę organizmu (Cieśla i in., 2026). W niniejszej pracy przedstawiono cykl badań poświęconych optymalizacji żywienia okonia europejskiego. W pierwszym etapie (Wiechetek i in., 2025) oceniono wpływ zróżnicowanego poziomu białka w paszy na wyniki produkcyjne oraz stan fizjologiczny ryb. Wyniki te stanowiły punkt wyjścia do drugiego etapu badań (Cieśla i in., 2026), w którym oceniono możliwość częściowego zastąpienia mączki rybnej mączką konopną jako alternatywnym źródłem białka.

W pierwszym etapie badań oceniono wpływ zróżnicowanego poziomu białka na wzrost i stan fizjologiczny okonia europejskiego (*P. fluviatilis*) utrzymywanego w systemie RAS (Wiechetek i in., 2025). W doświadczeniu tym zastosowano trzy izoenergetyczne pasze, w których mączka rybna stanowiła jedyne źródło białka. Decyzja ta była związana z ograniczeniem wpływu innych, potencjalnych surowców białkowych i skupiono się wyłącznie na ilościowym aspekcie żywienia. Wyniki uzyskane po 12 tygodniowym doświadczeniu wskazują, że poziom białka istotnie różnicował odpowiedź organizmu ryb. Najśłabsze wyniki hodowlane odnotowano u okoni żywionych paszą o najniższym udziale białka, natomiast za najbardziej korzystny wariant

autorzy uznali dietę P46. To właśnie 46% poziom białka został wskazany jako optymalny dla wzrostu oraz wykorzystania paszy w warunkach przeprowadzonego doświadczenia. Uzyskane wyniki pokrywają się z zalecanym zakresem 43–50% udziału białka w diecie okonia europejskiego, podany przez Geay’a i Kestemonta (2015). Jednocześnie zakres ten jest niższy niż wartości sugerowane dla innych ryb okoniowatych, w tym sandacza (*Sander lucioperca*), u którego za optymalny poziom tego składnika uznano 55–59% (Schulz i in., 2007; Kamaszewski i Ostaszewska, 2014). W przypadku okonia chińskiego (*Siniperca chuatsi*) najlepsze wyniki wzrostu i wykorzystania składników pokarmowych uzyskiwano przy pośrednim stosunku białka do energii, a nie przy wartościach skrajnych (Zhang i in., 2024). Niestety obecnie dostępne doniesienia dotyczące okonia europejskiego nie są jednoznaczne. Część wcześniejszych badań wskazywała na korzystny wzrost ryb już na poziomie białka liczącym około 40% (Mathis i in., 2003), inne sugerowały dietę zawierającą 45% białka (Bochert, 2020). W literaturze można znaleźć również wyniki wskazujące, że zwiększenie poziomu białka z 51 do 58% nie przynosi dodatkowych korzyści (Fiogbé i in., 1996). W praktyce oznacza to, że zapotrzebowanie okonia na udział białka w diecie ma charakter progowy, a nie liniowy. Po osiągnięciu poziomu pokrywającego potrzeby metaboliczne tego gatunku ryby, dalszy wzrost udziału białka nie przekłada się na zwiększenie efektu produkcyjnego. Ponadto należy pamiętać, że w formulacji paszy poza zawartością białka, równie ważna jest dostępność składników pokarmowych, a także ich skład chemiczny, zwłaszcza profil aminokwasowy. Możliwe jest również, że różnice pomiędzy dostępnymi danymi literaturowymi wynikają częściowo z odmiennych wymagań żywieniowych ryb dzikich i udomowionych/ hodowlanych.

Poziom białka w paszach doświadczalnych nie wpływał istotnie na zawartość białka w ciele ryb. Przy najwyższym jego udziale obserwowano jednak niewielką tendencję spadkową. Taki kierunek zmian jest zgodny z wynikami badań nad przedstawicielami innych gatunków ryb okoniokształtnych, gdzie w warunkach optymalnego żywienia nie obserwowano zmian w zawartości białka w ciele ryb (Nyina-Wamwiza i in., 2005) lub notowano jedynie niewielki wzrost (Yang i in., 2002; Schulz i in., 2007). Z kolei nadmierna podaż białka wiązała się ze spadkiem jego zawartości w całym ciele (Alam i in., 2019). Wyraźne różnice obserwowano natomiast w zawartości tłuszczu tuszy badanych okoni. W grupie P46 poziom tłuszczu w mięśniach był istotnie niższy niż w grupach P41 i P51. Podobne wyniki odnotowano w porównywalnych

warunkach eksperymentalnych (Yang i in., 2002; Alam i in., 2019). Należy jednak podkreślić, że różnice w zawartości tkanki tłuszczowej w organizmie okonia europejskiego uzyskane w doświadczeniu I były istotnie większe, niż udokumentowano we wcześniejszych doniesieniach literaturowych. Można to wytłumaczyć faktem, że dieta P46 sprzyjała bardziej zrównoważonemu wykorzystaniu energii i ograniczała odkładanie lipidów w tkankach. Hipoteza ta jest zgodna z wynikami badań na okoniu europejskim, w których wykazano wpływ relacji białko/energia oraz podaży lipidów w diecie na skład ciała i jakość tuszy, a także na magazynowanie lipidów w narządach wewnętrznych (Xu i Kestemont, 2002; Mathis i in., 2003).

W składzie mięśni ryb badanych w doświadczeniu I różnica dotyczyła zawartości tłuszczu surowego. W grupie P46 poziom ten wynosił 5%, podczas gdy w P41 i P51 odpowiednio 11,2% i 12,2%. Można przez to rozumieć, że dieta uznana za najkorzystniejszą dla wzrostu nie sprzyjała jednocześnie nadmiernemu odkładaniu tłuszczu w tkance mięśniowej. Jest to wynik istotny z punktu widzenia stanu fizjologicznego ryb, a także bardziej racjonalnego wykorzystania energii i składników pokarmowych. Ponadto zawartość lipidów w mięśniach ma znaczenie technologiczne, ponieważ utlenianie lipidów (i powiązane z nim utlenianie białek) jest związane z jakością filetów podczas przechowywania, gdzie proces jęlczenia obniża jakość produktu (Hematyar i in., 2021).

Ponadto w doświadczeniu I uzyskano niejednoznaczny obraz w odniesieniu do parametrów biochemicznych osocza. Pomiędzy badanymi grupami nie wykazano różnic istotnych statystycznie. Jednakże można zaobserwować wyraźne tendencje świadczące o lepszej kondycji ryb z grupy P46. W tej grupie notowano wyższe wartości TP, ALB i GLOB, które są zwykle uznawane za markery dobrej kondycji organizmu (Çiçek i Özoğul, 2021; Zakaria i in., 2022). Jednocześnie ryby z tej samej grupy charakteryzowały się niższymi wartościami CREA, ALT, AST oraz ALP. Podwyższony poziom CREA w surowicy może wskazywać na zaburzenia funkcji nerek lub pogorszenie stanu mięśni, natomiast ALT, AST i ALP jest kojarzony z zaburzeniami funkcjonowania wątroby (Shahjahan i in., 2022; Bavia i in., 2024). Pomimo braku istotności statystycznej, zaobserwowana tendencja zmian była spójna z uzyskanymi w doświadczeniu I wynikami i sugeruje korzystniejszy stan fizjologiczny ryb w grupie P46.

Parametry histomorfometryczne jelita są często wykorzystywane do oceny wpływu diety na funkcjonowanie przewodu pokarmowego. Podwyższone wartości parametrów takich jak wysokość fałdów jelitowych czy enterocytów, zwykle uznaje się za korzystny. Mogą wskazywać na zwiększoną powierzchnię chłonną błony śluzowej, podczas gdy poszerzenie blaszki właściwej może sygnalizować występowanie stanu zapalnego (Urán i in., 2008; Ferreira i in., 2024). W doświadczeniu I, zróżnicowany poziom białka nie wpływał na AFH oraz PFH. Natomiast badane parametry enterocytów wykazywały zróżnicowane tendencje zmian. W przednim fragmencie jelita ich wysokość malała wraz ze wzrostem udziału białka w diecie. W jelicie tylnym obserwowano natomiast trend przeciwny, choć uzyskane wartości w grupach P46 i P51 były zbliżone. Dodatkowo w grupie P46 stwierdzono najmniejszą wartość ASH, co utrudnia jednoznaczne sformułowanie wniosków na podstawie tych kontrastujących wyników. Różnice dotyczące parametrów histologicznych jelit można uznać za subtelne, w porównaniu do zmian obserwowanych w innych analizowanych obszarach. W grupie P51 obserwowano mniejszą HA, HCA, HNA, a także najwyższe wartości HNI. Wyniki te wskazują na silniejszą reakcję wątroby w porównaniu do jelita na wysoki poziom białka w diecie. Wielkość hepatocytów i obszarów cytoplazmatycznych może odzwierciedlać magazynowanie lipidów i glikogenu w wątrobie (de Mello i in., 2022). Ponadto, HNA pośrednio wskazuje na poziom aktywności transkrypcyjnej, a jej zmniejszenie może świadczyć o mniej korzystnym stanie odżywienia lub obniżonej aktywności metabolicznej komórek (Marthinsen i in., 2025).

Uzupełnieniem dotychczasowych wyników z doświadczenia I była analiza ekspresji genów związanych z odpornością nieswoistą oraz transportem składników pokarmowych. Zmiany genów kodujących cytokiny prozapalne, takich jak *il1b*, *il6* i *tnfb*, mogą odzwierciedlać stan odporności nieswoistej, a także funkcjonowania bariery śluzówki przewodu pokarmowego (Baloch i in., 2021; Stosik i in., 2023). W tym kontekście niższy poziom ekspresji *il6* w grupie P51 może wskazywać na osłabienie wybranych mechanizmów odporności wrodzonej. Za potwierdzenie tej tezy można wskazać opracowanie zespołu Sakai i in. (2021), gdzie potwierdzono istotną rolę tej cytokiny w odpowiedzi immunologicznej ryb. Niższa ekspresja *tnfb* w jelicie przednim u ryb z grupy P46, w porównaniu z P51, może natomiast być interpretowana pozytywnie, ponieważ podwyższony poziom *tnf* w literaturze jest związany z procesami prozapalnymi oraz proapoptotycznymi u ryb (Li i in., 2021). Z drugiej strony, Yousefi i in. (2024)

wskazali, że niski poziom ekspresji *il1b* i *tnfa* w jelicie pstrąga tęczowego (*Oncorhynchus mykiss*) korelował z poprawą wzrostu i utrzymaniem homeostazy przewodu pokarmowego. W przeprowadzonym doświadczeniu I, ekspresja *slc15a1b* w jelicie pozostawała stabilna między grupami, natomiast w wątrobie była wyraźnie niższa w grupie P46. Gen ten koduje jelitowy transporter di- i tripeptydów PepT1b, przez co jest powszechnie traktowany jako wskaźnik aktywności wchłaniania białka oraz zmian fizjologicznych zachodzących w jelicie (Vacca i in., 2023). Doniesienia umożliwiające szerszą interpretację tego wyniku są jednak nadal ograniczone. W przypadku genu *slc27a4*, kodującego FATP4, aktywność różniła się jedynie w przednim odcinku jelita i była najwyższa w grupie P46. Wynik ten może wskazywać na sprawniejszy wychwyt lipidów przez enterocyty w tym wariancie żywienia (Stojanović i in., 2021). Wzrost ekspresji *pparaa* wraz ze wzrostem udziału białka może wskazywać na nasilenie przemian lipidowych w wątrobie, a zwłaszcza szlaków związanych z utlenianiem kwasów tłuszczowych. Możliwe jest, że wynik ten koreluje z mniejszym rozmiarem hepatocytów u ryb z grupy P51. Rolę *pparaa* w regulacji metabolizmu lipidów w wątrobie opisywano również u bassy wielkogębowego (*Micropterus salmoides*) (Zhang i in., 2021). Podsumowując wyniki analiz ekspresji genów można stwierdzić, że poziom białka nie indukował silnej odpowiedzi zapalnej w narządach trawiennych okonia europejskiego, a wariant P46 mógł nawet sprzyjać bardziej korzystnemu profilowi wrodzonej odporności.

Wyniki uzyskane w doświadczeniu I wskazały, że w żywieniu okonia europejskiego najbardziej korzystny był pośredni poziom białka, wynoszący około 46%. Ustalenie tego poziomu stanowiło podstawę do kolejnego etapu badań, w którym oceniono możliwość częściowego zastąpienia mączki rybnej mączką konopną. Kierunek podjętych badań wydaje się zasadny w związku z coraz większym zainteresowaniem produktami konopnymi, w kontekście potencjalnych komponentów paszowych. Panel ds. Dodatków oraz Produktów lub Substancji Wykorzystywanych w Paszach dla Zwierząt (FEEDAP) Europejskiego Urzędu ds. Bezpieczeństwa Żywności (EFSA) wyraził opinię, że nasiona konopi (i makuch) mogą być stosowane w żywieniu zwierząt, jednak dane dotyczące wykorzystania takich surowców w żywieniu ryb są nadal ograniczone (Cieśla i in., 2026). Wysoka zawartość białka, wielonienasyconych kwasów tłuszczowych oraz związków bioaktywnych o potencjalnym działaniu przeciwutleniającym, przeciwzapalnym i immunomodulującym, sprzyja interesowaniem

HM jako potencjalnym komponentem pasz dla gatunków drapieżnych (Kamle i in., 2024; Papatzimos i in., 2024).

Na podstawie obserwacji przeprowadzonych w doświadczeniu II wykazano, że włączenie HM do diety poniżej 30% nie wpływało istotnie na przeżywalność ani podstawowe parametry wzrostu okonia europejskiego. Ponadto, wskaźniki hodowlane, takie jak SGR, FCR i PER, osiągały najkorzystniejsze wartości w grupie HM20. Wyniki te sugerują, że odpowiedź ryb na udział HM miała charakter nieliniowy. Podobne obserwacje wpływu dodatku produktów konopnych opisywano u m.in.: karpia pospolitego, skalnika i kobii (Lunger et al., 2007; Mały i in., 2018; Sample, 2018). Z drugiej strony, wyniki innych doświadczeń wskazują, że reakcja na dodatek HM może być gatunkowo swoista i zależeć nie tylko od poziomu dodatku, lecz także od sposobu przetworzenia surowca, w tym jego odtłuszczenia (Eckhardt i in., 2024). Na tym tle wynik uzyskany dla grupy HM20 można uznać za szczególnie interesujący, ponieważ wskazuje on na możliwość częściowego ograniczenia udziału mączki rybnej bez pogorszenia efektu produkcyjnego. Ryby z grup o co najmniej 20% udziale HM, charakteryzowały się wyższymi wartościami K i VSI, natomiast niższą wartością HSI, co można interpretować jako lepszą ogólną kondycję somatyczną przy jednoczesnym innym sposobie rozmieszczenia rezerw energetycznych. U okonia chińskiego zastąpienie mączki rybnej, wysokim udziałem mączki z produktów ubocznych drobiu prowadziło do wzrostu HSI i VSI, co interpretowano jako przejaw obciążenia metabolicznego, czemu towarzyszyła akumulacja lipidów w wątrobie (Tang i in., 2025).

W doświadczeniu II nie stwierdzono istotnego wpływu HM na stężenie TP, ALB, GLOB, GLU, TC czy TG w osoczu krwi. W tym kontekście wydaje się, że włączenie alternatywnego źródła białka do diety ani nie poprawiło, ani nie pogorszyło stanu okonia europejskiego. Taki wniosek wydaje się uzasadniony, ponieważ analizy biochemiczne osocza są powszechnie wykorzystywane do wstępnej oceny stanu odżywienia i funkcji narządów u ryb. Ponadto w badaniach z wykorzystaniem komponentów konopnych nie zawsze obserwuje się istotne zmiany w wartościach badanych parametrów (Saoud i in., 2018).

Analizy histologiczne wykazały, że u badanych młodych osobników okonia europejskiego (*P. fluviatilis*) AFH i PFH w grupie HM10 i HM20 były dłuższe, co mogło zwiększać powierzchnię chłonną błony śluzowej (Aidos i in., 2023). Jednocześnie nie

stwierdzono rozległych zmian histopatologicznych. Choć w części parametrów, zwłaszcza AEH, PEH, obserwowano drobne zmiany pomiędzy badanymi osobnikami, to całościowo wyniki jelitowe można uznać za korzystne dla grup żywionych dodatkiem HM. Warto podkreślić, że podobne zależności opisywano również u innych ryb żywionych dietami o zwiększonym udziale komponentów roślinnych, chociaż odpowiedź jelita na takie modyfikacje pozostaje złożona i nie zawsze jest jednoznaczna (Aidos i in., 2023; Ferreira i in., 2023). W wątrobie natomiast, nie stwierdzono występowania zmian histopatologicznych, mimo że część parametrów hepatocytów w grupie HM20 wskazywała na mniej korzystną tendencję. Grupa kontrolna cechowała się najwyższą wartością GD, natomiast istotne obniżenie LD zaobserwowano dopiero w grupie HM30. Sugeruje to, że odpowiedź wątroby na zastosowanie HM była bardziej złożona niż odpowiedź jelita. Uzyskane wyniki nie wskazują jednak na poważne zaburzenie homeostazy, lecz raczej na zmianę sposobu magazynowania i wykorzystywania składników energetycznych, jak wspomniano we wcześniejszej części pracy.

Analiza ekspresji genów dopełniła obraz możliwości wykorzystania HM w diecie okonia europejskiego. Uzyskane w doświadczeniu II wyniki nie wykazały różnicy w ekspresji *il1b*, natomiast poziom ekspresji *il6* był niższy w przednim odcinku jelita ryb z grup HM20 - HM30, a słabsza tendencja spadkowa występowała także w końcowym odcinku jelita. Podobne zależności opisywano również u innych gatunków ryb żywionych dietami o zwiększonym udziale komponentów roślinnych, gdzie odpowiedź immunologiczna jelita na modyfikacje żywieniowe pozostaje złożona i zależy od gatunku oraz rodzaju zastosowanego surowca (Aidos i in., 2023; Stosik i in., 2023). Ponadto u ryb żywionych co najmniej 20% udziałem HM, zaobserwowano wzrost ekspresji *slc15a1b* w końcowym fragmencie przewodu pokarmowego, co może wskazywać na intensyfikację transportu peptydów oraz aktywność absorpcyjną błony śluzowej. Z kolei ekspresja genów *slc27a4* i *pparaa* w początkowym odcinku jelita była niższa w grupach HM20 oraz HM30, co może być powiązane z ograniczeniem tempa wchłaniania lipidów przy wyższym udziale HM. W wątrobie jedyną zaobserwowaną różnicą istotną statystycznie była wyższa ekspresja *pparaa* w grupach HM20 - HM30. Połączenie wyników analizy ekspresji genów i danych histologicznych mogą wskazywać na adaptacyjną przebudowę metabolizmu lipidów, a nie na zmiany o charakterze patologicznym

W prezentowanych badaniach własnych istotnym elementem są także wyniki dotyczące aktywności enzymów wątrobowych. W grupach żywionych paszami z co najmniej 20% udziałem HM obniżeniu ulegała aktywność ALP i GPX, podczas gdy aktywność SOD pozostawała względnie stała. Wyniki te można uznać za korzystny wpływ HM na homeostazę wątroby (Król i in., 2021; Zhao i in., 2025). Przemawia za tym także brak niekorzystnych zmian w parametrach osocza czy wyraźnych nieprawidłowości w obrazie histologicznym.

Uzyskane wyniki doświadczenia I potwierdzają znaczenie optymalizacji poziomu białka w diecie okonia europejskiego, wskazując że zawartość białka na poziomie 460 g/kg paszy korzystnie wpływa na morfologię i fizjologię ryb. Z kolei wyniki doświadczenia II wskazują, że częściowe zastąpienie 20% mączki rybnej, mączką konopną umożliwia utrzymanie korzystnych parametrów wzrostu, bez istotnych zmian w wybranych wskaźnikach homeostazy badanych ryb. Obserwacje te wpisują się w działania zmierzające do opracowania bardziej zrównoważonych strategii żywienia ryb okoniowatych.

6. Wnioski

1. Przeprowadzone badania pozwoliły określić optymalny poziom białka w diecie młodocianego okonia europejskiego oraz ocenić możliwość częściowego zastąpienia mączki rybnej mączką konopną.
2. Poziom białka w paszy istotnie wpływa na wyniki produkcyjne oraz wybrane wskaźniki fizjologiczne okonia europejskiego. Spośród przebadanych wariantów za najkorzystniejszą dietę wskazano tę zawierającą około 46% białka.
3. Odpowiedź okonia na poziom białka w paszy ma charakter progowy. Dieta o zbyt niskiej zawartości białka ograniczała wzrost, natomiast od pewnego etapu nie przyniosło wyraźnej poprawy efektu produkcyjnego i homeostazy.
4. Wykazano, że mączka konopna może stanowić częściowy zamiennik mączki rybnej w paszach dla okonia europejskiego, bez istotnego pogorszenia wzrostu i podstawowych wskaźników fizjologicznych.
5. Spośród badanych wariantów najbardziej korzystny był dodatek 20% mączki konopnej, który zapewniał najkorzystniejsze wskaźniki produkcyjne oraz niezaburzony obraz parametrów histologicznych, enzymatycznych i molekularnych.
6. Uzyskane wyniki wskazują, że optymalizacja żywienia okonia europejskiego powinna uwzględniać zarówno poziom białka w paszy, jak i jakość zastosowanych komponentów białkowych.

7. Literatura:

1. Aidos, L., Mirra, G., Pallaoro, M., Herrera Millar, V.R., Radaelli, G., Bazzocchi, C., Modina, S. C., Di Giancamillo, A. (2023). How do alternative protein resources affect the intestine morphology and microbiota of Atlantic salmon? *Animals*, 13(12), 1922. <https://doi.org/10.3390/ani13121922>
2. Alam, M.S., Liang, X.F., Liu, L., He, S., Kuang, Y., Hoseinifar, S.H., Dawar, F.U. (2019). Growth and metabolic response of Chinese perch to different dietary protein-to-energy ratios in artificial diets. *International Journal of Molecular Sciences*, 20, 5983. <https://doi.org/10.3390/ijms20235983>
3. Bavia, L., da Silva, A.P., Carneiro, M.C., Kmecick, M., Pozzan, R., Esquivel-Muelbert, J., Isaac, L., Prodocimo, M.M. (2024). Health status biomarkers and hemato-biochemical indices in Nile tilapia. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 7, 200168. <https://doi.org/10.1016/j.cirep.2024.200168>
4. Bjørndal, T., Dey, M., Tusvik, A. (2024). Economic analysis of the contributions of aquaculture to future food security. *Aquaculture*, 578, 740071. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2023.740071>
5. Bochert, R. (2020). Comparative performance, biochemical composition, and fatty acid analysis of Eurasian perch (*Perca fluviatilis*) during grow-out in RAS fed different commercial diets. *Journal of Applied Aquaculture*, 34, 208–222. <https://doi.org/10.1080/10454438.2020.1828217>
6. Bojarski, B., Witeska, M. (2020). Blood biomarkers of herbicide, insecticide, and fungicide toxicity to fish: A review. *Environmental Science and Pollution Research*, 27, 19236–19250. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-08248-8>
7. Carvalho, M., Torrecillas, S., Montero, D., Sanmartín, A., Fontanillas, R., Fariás, A., Moutou, K., Velásquez, J.H., Izquierdo, M. (2023). Insect and single-cell protein meals as replacers of fish meal in low fish meal and fish oil diets for gilthead sea bream (*Sparus aurata*) juveniles. *Aquaculture*, 566, 739215. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.739215>
8. Çiçek, S., Özoğul, F. (2021). Effects of selenium nanoparticles on growth performance, hematological, serum biochemical parameters, and antioxidant status in fish. *Animal Feed Science and Technology*, 281, 115099. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2021.115099>

9. Craig, S., Helfrich, L.A., Kuhn, D., Schwarz, M.H. (2017). *Understanding fish nutrition, feeds, and feeding*. Virginia Cooperative Extension. <https://vtechworks.lib.vt.edu/bitstream/handle/10919/80712/FST-269.pdf> [dostęp 10.03.2026]
10. Crona, B.I., Wassénius, E., Jonell, M., Koehn, J.Z., Short, R., (...) Wabnitz, C.C.C. (2023). Four ways blue foods can help achieve food system ambitions across nations. *Nature*, 616, 104–112. <https://doi.org/10.1038/s41586-023-05737-x>
11. de Mello, P.H., Araujo, B.C., Marques, V.H., Branco, G.S., Honji, R.M., Moreira, R.G., Rombenso, A.N., Portella, M.C. (2022). Long-chain polyunsaturated fatty acids n-3 (n-3 LC-PUFA) as phospholipids or triglycerides influence on *Epinephelus marginatus* juvenile fatty acid profile and liver morphophysiology. *Animals*, 12(8), 951. <https://doi.org/10.3390/ani12080951>
12. Eckhardt, L., Bu, F., Franczyk, A., Michaels, T., Ismail, B.P. (2024). Hemp (*Cannabis sativa* L.) protein: Impact of extraction method and cultivar on structure, function, and nutritional quality. *Current Research in Food Science*, 8, 100746. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2024.100746>
13. European Commission. (2026, March 12). *Hemp*. https://agriculture.ec.europa.eu/farming/crop-productions-and-plant-based-products/hemp_en
14. FAO. (2019). *The state of the world's aquatic genetic resources for food and agriculture*. <https://www.proquest.com/openview/c450c9806dacad710e4684727f40a229/1> [dostęp 13.03.2026]
15. FAO. (2024). *The State of World Fisheries and Aquaculture 2024: Blue transformation in action*. <https://doi.org/10.4060/cd0683en>
16. Ferreira, M., Sousa, V., Oliveira, B., Canadas-Sousa, A., Abreu, H., Dias, J., Kiron, V., Valente, L.M.P. (2023). An in-depth characterisation of European seabass intestinal segments for assessing the impact of an algae-based functional diet on intestinal health. *Scientific Reports*, 13, 11686. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-38826-y>
17. Fiogbé, E.D., Kestemont, P., Mélard, C., Micha, J.C. (1996). The effects of dietary crude protein on growth of the Eurasian perch *Perca fluviatilis*. *Aquaculture*, 144, 239–249. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(96\)01293-8](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(96)01293-8)

18. Fontaine P., Teletchea F. (2019). Domestication of the Eurasian Perch (*Perca fluviatilis*). In: F. Teletchea (Editor). *Animal Domestication*. IntechOpen Ltd. London (United Kingdom), <https://doi.org/10.5772/INTECHOPEN.85132>
19. Galkanda-Arachchige, H.S., Wilson, A.E., Davis, D.A. (2020). Success of fishmeal replacement through poultry by-product meal in aquaculture feed formulations: A meta-analysis. *Reviews in Aquaculture*, 12(3), 1624–1636. <https://doi.org/10.1111/raq.12401>
20. Geay, F., Kestemont, P. (2015). Feeding and nutrition of percid fishes during ongrowing stages. In P. Kestemont, K. Dabrowski, & R. Summerfelt (Eds.), *Biology and culture of percid fishes* (pp. 587–622). Springer. https://doi.org/10.1007/978-94-017-7227-3_22
21. Glencross, B.D., Baily, J., Berntssen, M.H., Hardy, R., MacKenzie, S., Tocher, D.R. (2020). Risk assessment of the use of alternative animal and plant raw material resources in aquaculture feeds. *Reviews in Aquaculture*, 12(2), 703–758. <https://doi.org/10.1111/raq.12347>
22. Hematyar, N., Mraz, J., Stejskal, V., Sampels, S., Linhartová, Z., Prokesova, M., Vacha, F., Krizek, M., Dadakova, E., Søndergård Møller, H., Dalsgaard, T.K. (2021). Comparison of quality changes in Eurasian perch (*Perca fluviatilis* L.) fillets originated from two different rearing systems during frozen and refrigerated storage. *Foods*, 10, 1405. <https://doi.org/10.3390/foods10061405>
23. Hussain, S.M., Bano, A.A., Ali, S., Rizwan, M., Adrees, M., Zahoor, A.F., (...) Naeem, A. (2024). Substitution of fishmeal: Highlights of potential plant protein sources for aquaculture sustainability. *Heliyon*, 10(4). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e26573>
24. Kamaszewski, M., Ostaszewska, T. (2014). The effect of feeding on morphological changes in intestine of pike-perch (*Sander lucioperca* L.). *Aquaculture International*, 22, 245–258. <https://doi.org/10.1007/s10499-013-9693-y>
25. Kamle, M., Mahato, D.K., Sharma, B., Gupta, A., Shah, A.K., Mahmud, M.M.C., Agrawal, S., Singh, J., Rasane, P., Shukla, A. C., Kumar, P. (2024). Nutraceutical potential, phytochemistry of hemp seed (*Cannabis sativa* L.) and its application in food and feed: A review. *Food Chemistry Advances*, 4, 100671. <https://doi.org/10.1016/j.focha.2024.100671>
26. Król, J., Hilawa, P., Woźniak, M., Stabińska-Ułas, A., Krejszeff, S., Stabiński, R., Czesny, S.J. (2021). Effect of various commercial diets on rearing performance, body

- chemical and fatty acid composition, liver histology and vertebral column anomalies in Eurasian perch (*Perca fluviatilis* L.) post-larvae. *Aquaculture Reports*, 20, 100690. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2021.100690>
27. Król, J., Zieliński, E. (2015). Effects of stocking density and weaning age on cannibalism, survival and growth in European perch *Perca fluviatilis* larvae. *Polish Journal of Natural Sciences*, 30(4), 403–415.
 28. Li, K., Qiu, H., Yan, J., Shen, X., Wei, X., Duan, M., Yang, J. (2021). The involvement of TNF- α and TNF- β as proinflammatory cytokines in lymphocyte-mediated adaptive immunity of Nile tilapia by initiating apoptosis. *Developmental & Comparative Immunology*, 115, 103884. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2020.103884>
 29. Lunger, A.N., McLean, E., Craig, S.R. (2007). The effects of organic protein supplementation upon growth, feed conversion and texture quality parameters of juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). *Aquaculture*, 264, 342–352. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.12.012>
 30. Malý, O., Mareš, J., Palisek, O., Poštulková, E. (2018). Use of by-products from hemp processing in the nutrition of common carp (*Cyprinus carpio* L.). In *Proceedings of the 25th International PhD Students Conference (MendelNet 2018)* (pp. 165–170). Brno, Czech Republic.
 31. Marthinsen, J.L., Reitan, K. I., Kjørsvik, E., Bardal, T., Li, K., Nunes, B., Vassbotn, A.M., Olsen, R.E. (2025). Liver development in Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) larvae: Histomorphological analysis of biliary ABC transporters and hepatic vacuolization. *Fish Physiology and Biochemistry*, 52(1), 4. <https://doi.org/10.1007/s10695-025-01623-7>
 32. Mathis, N., Feidt, C., Brun-Bellut, J. (2003). Influence of protein/energy ratio on carcass quality during the growing period of Eurasian perch (*Perca fluviatilis*). *Aquaculture*, 217, 453–464. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(02\)00122-9](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(02)00122-9)
 33. Mugwanya, M., Dawood, M.A., Kimera, F., 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. <https://doi.org/10.1111/raq.12701>
 34. Naylor, R.L., Goldburg, R.J., Primavera, J.H., Kautsky, N., Beveridge, M.C., Clay, J., Folke, C., Lubchenco, J., Mooney, H., Troell, M. (2000). Effect of aquaculture on world fish supplies. *Nature*, 405(6790), 1017–1024. <https://doi.org/10.1038/35016500>

35. Ning, N., Barlow, C., Baumgartner, L.J., Baumgartner, L.J., Bretzel, J.B., Doyle, K.E., Duffy, D., Price, A., Vu, A.V. (2025). A global review of the biology and ecology of the European perch, *Perca fluviatilis*. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 35, 587–618. <https://doi.org/10.1007/s11160-025-09924-z>
36. Nyina-wamwiza, L., Xu, X.L., Blanchard, G., Kestemont, P. (2005). Effect of dietary protein, lipid and carbohydrate ratio on growth, feed efficiency and body composition of pikeperch *Sander lucioperca* fingerlings. *Aquaculture Research*, 36, 486–492. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2005.01233.x>
37. Palińska-Żarska, K., Król, J., Woźny, M., Kamaszewski, M., Szudrowicz, H., Wiechetek, W., Brzuzan, P., Fopp-Bayat, D., Żarski, D. (2021). Domestication affected stress and immune response markers in *Perca fluviatilis* in the early larval stage. *Fish & Shellfish Immunology*, 114, 184–198. <https://doi.org/10.1016/J.FSI.2021.04.028>
38. Palińska-Żarska, K., Woźny, M., Kamaszewski, M., Szudrowicz, H., Brzuzan, P., Żarski, D. (2020). Domestication process modifies digestion ability in larvae of Eurasian perch (*Perca fluviatilis*), a freshwater Teleostei. *Scientific Reports*, 10, 2211. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-59145-6>
39. Sakai, M., Hikima, J., Kono, T. (2021). Fish cytokines: Current research and applications. *Fish Science*, 87, 1–9. <https://doi.org/10.1007/s12562-020-01476-4>
40. Sample, A. (2022). *Evaluation of hemp seed meal as a fish meal replacement through growth and digestibility trials in striped bass (Morone saxatilis)*. Master's Thesis, Bowling Green State University, Bowling Green, OH, USA, 2018. Theses & Dissertations. 2405.
41. Saoud, I.P., Babikian, J., Nasser, N., Monzer, S. (2018). Effect of cannabis oil on growth performance, haematology and metabolism of Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture Research*, 49, 809–815. <https://doi.org/10.1111/are.13512>
42. Schulz, C., Böhm, M., Wirth, M., Rennert, B. (2007). Effect of dietary protein on growth, feed conversion, body composition and survival of pike perch fingerlings (*Sander lucioperca*). *Aquaculture Nutrition*, 13, 373–380. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2007.00487.x>
43. Serra, V., Pastorelli, G., Tedesco, D.E.A., Turin, L., Guerrini, A. (2024). Alternative protein sources in aquafeed: Current scenario and future perspectives. *Veterinary and Animal Science*, 25, 100381. <https://doi.org/10.1016/j.vas.2024.100381>

44. Shahjahan, M., Islam, M.J., Hossain, M.T., Mishu, M.A., Hasan, J., Brown, C. (2022). Blood biomarkers as diagnostic tools: An overview of climate-driven stress responses in fish. *Science of the Total Environment*, 843, 156910. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.156910>
45. Sirangelo, T.M., Diretto, G., Fiore, A., Felletti, S., Chenet, T., Catani, M., Spadafora, N.D. (2025). Nutrients and bioactive compounds from *Cannabis sativa* seeds: A review focused on omics-based investigations. *International Journal of Molecular Sciences*, 26, 5219. <https://doi.org/10.3390/ijms26115219>
46. Stejskal, V., Tran, H.Q., Prokesova, M., Gebauer, T., Giang, P.T., Gai, F., Gasco, L. (2020). Partially defatted *Hermetia illucens* larva meal in diet of Eurasian perch (*Perca fluviatilis*) juveniles. *Animals*, 10, 1876. <https://doi.org/10.3390/ani10101876>
47. Stojanović, O., Altirriba, J., Rigo, D., Spiljar, M., Evrard, E. (2021). Dietary excess regulates absorption and surface of gut epithelium through intestinal PPAR α . *Nature Communications*, 12, 7031. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-27133-7>
48. Stosik, M., Tokarz-Deptuła, B., Deptuła, W. (2023). Immunity of the intestinal mucosa in teleost fish. *Fish & Shellfish Immunology*, 133, 108572. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2023.108572>
49. Su, Z., Zhang, Y., Wei, C., Zhang, F., Wang, L., Li, Y., Zhang, Z., Xu, J., Dong, Z., Mu, H. (2025). Effects of replacing fishmeal with soybean meal on intestinal histology, antioxidation, endoplasmic reticulum stress, inflammation, tight junction and microbiota in olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Animals*, 15, 2895. <https://doi.org/10.3390/ani15192895>
50. Tacon, A.G.J., Shumway, S. E. (2024). Critical need to increase aquatic food production and food supply from aquaculture and capture fisheries: Trends and outlook. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, 32(3), 389–395. <https://doi.org/10.1080/23308249.2024.2324321>
51. Tang, S., Ma, H., Hua, X., Wang, L., Yun, B., Zhu, X., Qian, X. (2025). Effects of fish meal replacement with poultry by-product meal on growth performance, lipid metabolism, hepatic–intestinal health and ammonia nitrogen stress in *Siniperca chuatsi*. *Fishes*, 10(2), 78. <https://doi.org/10.3390/fishes10020078>
52. Teletchea, F., Fontaine, P. (2014). Levels of domestication in fish: Implications for the sustainable future of aquaculture. *Fish and Fisheries*, 15(2), 181–195. <https://doi.org/10.1111/faf.12006>

53. Tran, H.Q., Nguyen, T.T., Prokešová, M.D., Matoušek, J., Tomčala, A., Van Doan, H., Kiljunen, M., Stejskal, V. (2023). Insight into bioavailability of various insect meals for European perch (*Perca fluviatilis*): A nutritional and stable isotopic evaluation. *Aquaculture*, 563, 738912. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.738912>
54. Tran, H.Q., von Siebenthal, E.W., Luce, J.B., Nguyen, T.T., Tomčala, A., Stejskal, V., Janssens, T. (2024). Complementarity of insect meal and poultry by-product meal as replacement for fishmeal can sustain the production performance of European perch (*Perca fluviatilis*), reduce economic fish-in fish-out ratio and food-feed competition, and influence the environmental indices. *Aquaculture*, 579, 740166. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2023.740166>
55. Vacca, F., Gomes, A.S., De Gennaro, M., Rønnestad, I., Bossi, E., Verri, T. (2023). The teleost fish PepT1-type peptide transporters and their relationships with neutral and charged substrates. *Frontiers in Physiology*, 14, 1186475. <https://doi.org/10.3389/fphys.2023.1186475>
56. Xu, X., Kestemont, P. (2002). Lipid metabolism and FA composition in tissues of Eurasian perch *Perca fluviatilis* as influenced by dietary fats. *Lipids*, 37, 297–304. <https://doi.org/10.1007/s11745-002-0894-2>
57. Yang, S.D., Liou, C.H., Liu, F. G. (2002). Effects of dietary protein level on growth performance, carcass composition and ammonia excretion in juvenile silver perch (*Bidyanus bidyanus*). *Aquaculture*, 213, 363–372. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(02\)00120-5](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(02)00120-5)
58. Yousefi, M., Hoseini, S.M., Kulikov, E.V., Kharlitskaya, E.V., Petukhov, N.V., Khomenets, N.G. (2024). Dietary propionate administration improves growth performance, hepatic lipid deposition, and intestinal activity of digestive enzymes, inflammation, bacterial population, and antioxidant capacity in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, 578, 740099. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2023.740099>
59. Zakaria, M.K., Kari, Z.A., Van Doan, H., Kabir, M.A., Che Harun, H., Mohamad Sukri, S.A., Goh, K.W., Wee, W., Khoo, M.I., Wei, L.S. (2022). Fermented soybean meal (FSBM) in African catfish (*Clarias gariepinus*) diets: Effects on growth performance, fish gut microbiota analysis, blood haematology, and liver morphology. *Life*, 12, 1851. <https://doi.org/10.3390/life12111851>

60. Zhao, J., Liu, Y., Sun, Z., Wang, L., Fan, Z., Liu, T., Zhang, K., Xu, Y., Zheng, X., Lu, C. (2025). Effects of different protein and lipid levels on the growth performance, intestinal health and intestinal microflora of pikeperch (*Sander lucioperca*) juvenile, 43, 102945. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2025.102945>
61. Zhang, Q., Li, J., Ding, L., Zhang, Y., Qian, Z., Liang, X.F. (2024). Effects of dietary protein level on growth performance, plasma parameters, nutritional metabolism, and mTOR pathway of Chinese perch (*Siniperca chuatsi*). *Aquaculture Reports*, 39, 102390. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2024.102390>
62. Zhang, Y.Y., Wang, J.-X., Ren, J., Wang, J., Qiao, F., Zhang, M.L., Du, Z.Y. (2021). Activation of peroxisome proliferator-activated receptor- α stimulated lipid catabolism in liver of largemouth bass, *Micropterus salmoides*. *Aquaculture Nutrition*, 27, 2749–2758. <https://doi.org/10.1111/anu.13400>
63. Źarski, D., Horváth, A., Held, J.A., Kucharczyk, D. (2015). Artificial reproduction of percid fishes. In *Biology and culture of percid fishes: Principles and practices* (pp. 123–161). Springer. https://doi.org/10.1007/978-94-017-7227-3_4

8. Kopie opublikowanych artykułów w ramach cyklu wraz z oświadczeniami współautorów

Effects of dietary protein levels on growth and physiology of domesticated European perch (*Perca fluviatilis*) reared in a recirculating aquaculture system

W. Wiechetek¹, R. Kasprzak^{1,*}, D. Adamek-Urbańska¹, P. Gomułka², M. Wójcik³, J. Bochenek³,
H. Bober², M. Woźniak⁴, J. Śliwiński¹, A. Szczepański¹, H. Szudrowicz¹, R. Wild¹, K. Kawalski¹,
J. Martynow¹, P. Bujarski¹, J. Król⁵ and M. Kamaszewski¹

¹ Warsaw University of Life Sciences, Institute of Animal Science, Department of Ichthyology and Biotechnology in Aquaculture, 02-787 Warsaw, Poland

² University of Warmia and Mazury, Faculty of Animal Bioengineering, Department of Ichthyology and Aquaculture, 10-719 Olsztyn, Poland

³ The Kielanowski Institute of Animal Physiology and Nutrition, Polish Academy of Sciences, Department of Genetic Engineering, 05-110 Jabłonna, Poland

⁴ University of Warmia and Mazury, Faculty of Geoengineering, Department of Tourism, Recreation and Ecology, 10-719 Olsztyn, Poland

⁵ National Inland Fisheries Research Institute, Department of Salmonid, 10-719 Olsztyn, Poland

KEY WORDS: blood plasma parameters, European perch, gene expression, histology of digestive system, muscle composition, nutrition

Received: 29 June 2024

Revised: 30 September 2024

Accepted: 7 October 2024

* Corresponding author:
e-mail: robert_kasprzak@sggw.edu.pl

ABSTRACT. This study investigated the effects of dietary protein levels on the growth and physiology of domesticated European perch (*Perca fluviatilis*) reared in a recirculating aquaculture system (RAS). Perch fingerlings (initial body weight of 72.8 ± 1.9 g) were divided into three groups (P41, P46 and P51; 275 fish each), and fed isoenergetic diets with varying levels of fish meal inclusion: 44, 52 or 60%, corresponding to 41.3, 46, and 50.5% protein in the diet, respectively. The experiment lasted 12 weeks. The level of dietary protein significantly influenced the specific growth rate, feed conversion ratio, and protein efficiency ratio, with group P41 performing significantly worse than other groups. Moreover, fish from group P46 had lower muscle fat content (5%) than P41 (11.2%) and P51 (12.2%), as well as decreased blood plasma creatinine levels, and alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase activity. Furthermore, histological analysis revealed alterations in hepatocyte parameters (reduced cytoplasmic and nuclear areas) in group P51. Fish from group P51 also had a significantly lower expression level of the interleukin 6 gene when compared to P46, both in the anterior intestine and liver. Group P46 showed a significantly lower expression level of the solute carrier family 15 member 1b gene in the liver. So, the recommended dietary protein proportion for maximising the growth and feed utilisation was determined at 46% (group P46). The current findings contribute to the optimisation of feed formulation for domesticated European perch and provide valuable insights for the sustainable development of RAS-based perch aquaculture.

Introduction

Aquaculture has recently emerged as the fastest-growing branch of the food industry. Owing

to a dramatic increase in the production volume, the global consumption per capita of aquaculture products has more than doubled, increasing from 9.9 kg to 20.2 kg since the 1960s (FAO, 2022).

This growth has largely been facilitated by new technologies and various optimisations (Føre et al., 2017; Pedersen and Wik, 2020; Szczepanski et al., 2022; Yue and Shen, 2022). Consequently, aquaculture is progressively being relied upon as a solution to the pressing issue of growing global demand for food (Béné et al., 2015; 2016), not only as a mean to intensify, but also diversify food production. However, as in other sectors of the global economy, aquaculture development is constrained by a number of phenomena. These factors include problems of disease control (Granada et al., 2015) due to the expansion of new (mainly viral and bacterial) pathogens in fish farming facilities (Bigarré et al., 2017; Way et al., 2017; Adamek and Kasprzak, 2018), environmental alterations (Polcar et al., 2019), accelerating climate change (FAO, 2022), or the need to reduce the use of products sourced from increasingly impoverished aquatic ecosystems, such as fish oil (FO) and fish meal (FM), for feed formulation (Vilhelmsson et al., 2004; Zaid et al., 2023).

To some extent, the development of the aquaculture industry has relied on domestication efforts centred around a limited number of commonly farmed species (FAO, 2019; Sicuro, 2021; Teletchea, 2021). Domestication itself is a fairly difficult process to define precisely. Broadly, a population's adaptation to man-made environments drives numerous genetic and behavioural alterations that are passed on in successive generations (Price, 1984; 1999). For fish, this is a lengthy and dynamic process that begins with the transfer of wild-caught individuals from natural conditions to controlled culture settings (Milla et al., 2021; Podgorniak et al., 2022). A fish population is considered domesticated only when it completes its entire life cycle in captivity, regardless of the ontogenic stage at which founding specimens were introduced (i.e., eggs, larvae or juveniles) (Teletchea, 2021). Teletchea and Fontaine (2012) proposed a five-level domestication scale for wild fish populations, starting with acclimation to an artificial environment (level 1) and ending with selective breeding programmes, targeting traits such as growth rate or meat quality (level 5).

In the late 1980s and early 1990s, European researchers began evaluating the aquaculture potential of the European perch (*Perca fluviatilis*) (Fontaine and Teletchea, 2019). After approximately 30 years of breeding of this species, it has been assumed that some stocks can be classified at level 4 of domestication. This claim was supported by the completion of a closed life cycle under intensive culture conditions, without selective breeding programmes (Palińska-Żarska et al., 2020). The European perch

is also one of the few freshwater fish in Europe for which researchers have convenient access to both-domesticated strains and various wild populations. It could even be considered a model species for studies on fish domestication as its breeding in recirculating aquaculture systems (RAS) has been well-documented over several generations (Palińska-Żarska et al., 2021). In addition, recent consumer interest has increased its commercial production potential (Fontaine and Teletchea, 2019).

Similar to other sectors of intensive livestock farming industry, aquaculture relies heavily on feed expenditures to maintain production levels, and these expenses account for up to 50% of total fish production costs (Craig et al., 2017; Bochert, 2020). As global fish and seafood catch rates have stabilised and most major fishing areas have reached their maximum potential (FAO, 2022), ensuring an optimal supply of FM and FO is becoming increasingly challenging. Therefore, more cost-effective and readily available alternatives are being sought, including plant-based (Kamaszewski et al., 2010; Szczepański et al., 2022) and animal-derived (Kamaszewski and Ostaszewska, 2014) protein sources.

In the wild, the European perch is an opportunistic, schooling predator whose diverse diet ranges from zooplankton to fish (Thorpe, 1977). Researchers have studied the species' dietary preferences and acclimation to cultured environments, including various maintenance parameters (Strand et al., 2007) and the type (live/dry) of administered food (Kestemont et al., 1996). In 2015, Geay and Kestemont analysed previous studies, comparing basic production parameters, such as specific growth rate (SGR), feed conversion ratio (FCR) and feed efficiency (FE), as well as the protein/energy ratio. In conclusion, they proposed the following dietary requirements for the European perch: 43–50% protein, 13–18% fat and 10–15% carbohydrates. These guidelines enabled an optimisation of the nutritional composition of perch feed for successive life stages. However, until recently, a dedicated feed was not available on the market, leading perch farmers to frequently utilise pellets designed for salmonids (Bochert, 2020) or other marine fish species (Stejskal et al., 2010). In May 2020, the French company Le Gouessant Aquaculture introduced a new range of perch feeds, including one specifically for fingerlings weighing 10–15 g (55% protein, 10% fat) and another for juveniles weighing 15–400 g (49% protein, 12% fat). Nevertheless, the nutritional requirements of cultured perch remain inadequately defined, and producers often must rely on their own

experience and, to a large extent, on the uncertain results of ongoing experiments (Bochert, 2020).

Considering the steady increase in the production of European perch in global aquaculture (Tran et al., 2024), it becomes essential to optimise existing feeding strategies and tailor them to specific culture conditions. Therefore, the purpose of the present experiment was to evaluate formulated feeds with varying protein contents for adult perch maintained in RAS. We hypothesised that the proportion of protein in the feed that approaches or even falls below the typically recommended minimum levels could improve weight gain, feed utilisation and other parameters important in fish farming, while also exerting a beneficial effect on various physiological parameters of the digestive tract.

Material and methods

Experimental design

According to the opinion of the Local Ethics Committee for Animal Experiments in Olsztyn (LKE 34/2022, dated 08/11/2022), the experimental design was standard for nutritional studies ending with tissue collection for analysis, and therefore not requiring approval from the Local Ethics Committee.

Three isoenergetic feeds with different protein contents, with fish meal as the sole protein source (Table 1), were formulated at the Stanisław Sakowicz Institute of Inland Fisheries and the Institute of

Animal Reproduction and Food Research of the Polish Academy of Sciences, both located in Olsztyn. The feeds were then prepared at the Department of Ichthyology, Faculty of Animal Bioengineering, University of Warmia and Mazury in Olsztyn. The proximate composition of the feeds was determined using standard methods (AOAC International, 2016). Dry matter (DM) content was determined by drying in an oven at 105 °C for 24 h. Total protein content was measured using Kjeldahl's method, and crude fat content by Soxhlet's method. Crude ash content was determined gravimetrically by measuring the mass loss after combusting the sample in a muffle furnace at 550 °C for 12 h, while crude fibre was estimated using the standard AOAC 973.18 method. Carbohydrate content (nitrogen free extract, NFE) was calculated by subtracting moisture, protein, fat, ash and fibre contents from 100%. Finally, gross energy (GE) contained in DM (MJ/kg) was calculated using the following formula: $GE = 0.01 \times (2.385 \times \text{protein} + 3.891 \times \text{fat} + 1.715 \times \text{NFE})$.

For the feeding experiment, a total of 675 domesticated juvenile perches (average initial body weight, IBW = 72.8 ± 1.9 g) were obtained from the Żurawia Stocking Center (Biała Rawska, Poland). The fish were evenly distributed into 9 tanks (75 fish/tank; each tank with a volume of 0.3 m³), all of which were part of a singular RAS. Water parameters were measured daily at the outlet of the main storage tank and were as follows: temperature = 20.6 ± 1.4 °C, dissolved O₂ = 10.4 ± 1.1 mg/dm³, pH = 7.0 ± 0.10 (6.92–7.15), total ammonia = 0.005 ± 0.001 mg/dm³, NO₃ = 0.20 ± 0.02 mg/dm³, NO₂ = 0.002 ± 0.001 mg/dm³ and PO₄ = 0.005 ± 0.001 mg/dm³. Three experimental groups, replicated in three tanks, were fed one of the three aforementioned feeds differing in FM inclusion levels, designated as P41, P46 and P51 (i.e., 44, 52 and 60% FM, providing approx. 41.3, 46.0 and 50.5% protein in the feed, respectively). The daily feed dosage was set at 1% of the fish biomass, and the experiment lasted 12 weeks.

Sampling, body parameters and rearing indices

Upon completion of the experiment, all fish were placed in a buffered solution of 0.3% MS-222 (MilliporeSigma, Burlington, VT, USA) for euthanasia. They were subsequently subjected to morphometric measurements of final body weight (FBW), and final caudal length (FCL). Afterwards, the fish were eviscerated and randomly assigned for sample collection to assess muscle composition, blood

Table 1. Composition of isoenergetic experimental feeds differing in fish meal content as the main protein source, g/kg

Ingredients	Diets		
	P41	P46	P51
Fish meal ¹	440	520	600
Wheat flour ²	340	260	180
Fish oil ³	200	200	200
Premix ⁴	20	20	20
Nutrients			
Dry matter	917	931	928
Crude protein*	413	460	505
Crude fat*	227	220	220
Ash*	84	103	119
Crude fibre*	7	5	3
Nitrogen-free extract*	269	212	153
Gross energy*, MJ/kg	23.3	23.2	23.2

P41, P46 and P51 isoenergetic diets with varying fish meal inclusion levels: 44%, 52% or 60%, respectively (41.3/46/50.5% protein in diet);

¹ fish meal (70–72% protein; FF Skagen, Denmark); ² wheat flour (Polskie Młyny, Poland); ³ fish oil produced (ROL-PASZ, Poland);

⁴ dolmix Pstrag 1.5%, (DOLFOS, Poland); * calculated based on dry matter

plasma biochemistry, histology and gene expression in the digestive tract.

Growth performance indices were determined using the following formulas:

- Fulton's condition factor (F) = $100 \times \text{FBW} \times \text{FCL}^{-3}$;
- Viscerosomatic index (VSI ; %) = $100 \times (\text{digestive tract weight} \times \text{FBW}^{-1})$;
- Specific growth rate (SGR ; %/days) = $100 \times [(\ln \text{FBW} - \ln \text{IBW}) \text{ days of study}^{-1}]$;
- Feed conversion ratio (FCR) = feed intake $\times$ weight gain $^{-1}$;
- Protein efficiency ratio (PER) = weight gain $\times$ crude protein fed $^{-1}$.

Muscle proximate composition

To analyse muscle composition, 15 fish from each tank were euthanised, filleted, skinned, and pooled (3 samples per tank; 9 per group) for laboratory assays. The proximate composition of the muscles (DM, crude protein, fat and ash) was determined using standard methods, as previously described for feed composition analysis.

Blood plasma parameters

Blood samples were collected from five fish per tank ($n = 15$ per group) via the caudal vein immediately after euthanasia using a syringe. Samples were centrifuged (StatSpin; Beckman Coulter, Brea, CA, USA) for 30 s at 15800 rpm, and the resulting plasma was analysed using a Catalyst Dx Chemistry Analyzer (Idexx Laboratories, Westbrook, ME, USA) with custom-panel test slides. The following biochemical assays were performed: total protein (TP; g/l), albumin (ALB; g/l), globulins (GLOB; g/l), glucose (GLU; mmol/l), cholesterol (CHOL; mmol/l), triglycerides (TRIG; mmol/l), total bilirubin (TBIL; $\mu\text{mol/l}$), creatinine (CREA; $\mu\text{mol/l}$), ammonia (NH_3 ; $\mu\text{mol/l}$), alanine aminotransferase (ALT; U/l), aspartate aminotransferase (AST; U/l) and alkaline phosphatase (ALP; U/l). Each plasma sample was thawed only once at room temperature, and all analyses were conducted in a single session to avoid multiple freeze/thaw cycles.

Histological analysis

Sections of the anterior and posterior intestine, and liver parenchyma ($n = 8$ each tissue per group), were fixed in Bouin's solution and processed using a standard paraffin-embedding histological protocol. Tissue sections (6 μm) were cut and stained with haematoxylin and eosin (HE), and Alcian blue with periodic acid Schiff's reagent (AB-PAS method) to identify glycogen in the liver and distinguish

mucous cells with different secretion profiles (acidic, neutral, mixed) in the intestine.

Histomorphometric evaluation was performed on the stained slides using a Nikon Eclipse Ni-E microscope equipped with NIS Elements image analysis software (Nikon Corporation, Tokyo, Japan). The following parameters were analysed: intestinal fold height in the anterior (AFH) and posterior (PFH) sections, *lamina propria* width in the anterior (AWLP) and posterior (PWLP) sections, enterocyte height in the anterior (AEH) and posterior (PEH) sections, and enterocyte supranuclear height in the anterior (ASH) and posterior (PSH) sections. For each parameter, 20 measurements were taken from 8 individuals per group. In addition, hepatocyte total area (HA), cytoplasmic area (HCA) and nuclear area (HNA) were determined, with 100 measurements taken per individual ($n = 8$ per group). These data allowed for the calculation of the hepato-nuclear index (HNI) using the formula: $\text{HNI} (\%) = 100 \times (\text{HNA}/\text{HA})$.

Gene expression analysis

Total mRNA from the anterior and posterior intestine and liver ($n = 10$ each tissue per group), was extracted using the NucleoSpin RNA kit (Macherey-Nagel, Düren, Germany) according to the manufacturer's instructions. The yield of isolated RNA was estimated spectrophotometrically (NanoDrop Technologies, Wilmington, NC, USA), and its integrity was evaluated electrophoretically by separation on a 1% agarose gel containing ethidium bromide. First-strand cDNA synthesis was conducted with 1 μg of total RNA using the Maxima First Strand cDNA Synthesis Kit for RT-qPCR, which included dsDNase (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). Specific primers for determining the expression of four housekeeping genes (actin, beta 2; glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase; glucuronidase, beta; hypoxanthine phosphoribosyltransferase 1) and six target genes (interleukin 1, beta (*il1b*); interleukin 6 (*il6*); tumour necrosis factor b (*tnfb*); solute carrier family 15 member 1b (*slc15a1b*); solute carrier family 27 member 4 (*slc27a4*); peroxisome proliferator-activated receptor alpha a (*pparaa*)) were designed using Primer-Blast software (National Library of Medicine, Bethesda, MD, USA) and synthesised by Next-bio (Lublin, Poland). The full names and primer sequences of all genes under study were listed in Table 2. Real-time PCR reactions were performed using the HOT FIREPol EvaGreen qPCR Mix Plus (no ROX; Solis BioDyne, Tartu, Estonia) and HPLC-grade oligonucleotide primers. All reactions were performed in a total volume of 15 μl

Table 2. Oligonucleotide primer sequences for real-time PCR

Short name	Full name of gene	GenBank acc. no	Sequence 5'→3'	Amplicon size, bp
<i>il1b</i>	interleukin 1, beta	XM_039779729.1	TGACTTCGACCTGTCTCAAGC ATCCTGAACGTCCTGTGTGT	94
<i>il6</i>	interleukin 6 (interferon, beta 2)	XM_039821186.1	GAGTACCCCGGCAACTCAAT GCCACGGTTTCTCATCTTTTCG	90
<i>tnfb</i>	tumour necrosis factor b (TNF superfamily, member 2)	XM_039804706.1	CACTGCTGAGAAAGATCCCCA CTTGCACTACTCTCGCCGTCT	104
<i>slc15a1b</i>	solute carrier family 15 member 1b	XM_039793389.1	GAGCACTGTAGGTCAAGCGA AGGTAATCCTCATTGGCCCTG	111
<i>slc27a4</i>	solute carrier family 27 member 4	XM_039780588.1	TATCTTCGAGGGGACTGGGG CCACCACGTACCATCCTTA	110
<i>pparaa</i>	peroxisome proliferator-activated receptor alpha a	XM_039791719.1	GAGAGTTTCAGCCCCCTCAA CTTCTGAAGAAACCCTTGACAGC	107
Housekeeping genes				
<i>actb2</i>	actin, beta 2	XM_039824642.1	CTGCGGAATCCATGAGACCA CTGGTGGGGCAATAATCTTGA	188
<i>gapdh</i>	glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	XM_039805259.1	GGGACCCCGCTAACATCAAA CCTTCAAGTGAGCAGAAGCC	102
<i>gusb</i>	glucuronidase, beta	XM_039777627.1	GGCATCGCAGATAGTCGCAG AGAGGCATGGTTCTTGTCCT	96
<i>hprt1</i>	hypoxanthine phosphoribosyltransferase 1	XM_039813961.1	TTGACGGGCAAGAATGTCCT CTGGTCGGTAGCCAACACTT	157

containing 3 µl of Master Mix, 10.05 µl of RNase free water, 2×0.225 µl of each primer (0.225 mM) and a 1.5 µl of cDNA template. Amplification was performed using a Rotor Gene 6000 thermocycler (Corbett Research, Mortlake, Australia) according to the following protocol: one cycle at 95 °C for 15 min (enzyme activation), followed by 35 cycles of: 95 °C for 10 s (denaturation), 59 °C for 20 s (annealing) and 72 °C for 10 s (elongation), and a final extension at 72 °C for 7 min (product stabilisation). The melting curve was generated between 70–95 °C at 0.5 °C intervals. Negative controls without cDNA template were included in each reaction, and specificity of PCR amplification was confirmed by direct sequencing of the products (Nextbio, Lublin, Poland). The average expression levels of the housekeeping genes were used to normalise the expression of genes of interest.

Statistical analysis

The numerical datasets were assessed for normality using the Shapiro-Wilk test and for homogeneity of variances using Levene's test. Depending on these results, statistical analyses were conducted using either the nonparametric Kruskal-Wallis test (for muscle composition, blood plasma indices and gene expression) or the parametric one-way ANOVA followed by Fisher's post hoc test (for remaining

parameters). Statistically significant differences between groups were reported at $P < 0.05$. All calculations were conducted using STATISTICA 13 software (TIBCO Software, Palo Alto, CA, USA).

Results

Body parameters and rearing indices

Statistically significant differences occurred between the experimental groups in terms of individual body parameters, with each differing parameter having one group distinct from the other two, while no significant differences were observed for tank-based rearing indices (Table 3). Specifically, FBW in group P41 was lower compared to groups P46 and P51, while FCL was larger in group P51 than in the other two groups. The K factor was higher in P46 compared to P41 and P51, while the VSI was lower in P51 than in the remaining groups. Although rearing indices did not show statistically significant differences, clearly the worst values for all three parameters were obtained for group P41. In particular, SGR was approximately 25% lower than in P46 and P51, while FCR was almost twice as high as in those groups, resulting in an almost 60% lower PER.

Table 3. Body parameters and rearing indices of perch fed experimental diets

Parameters	Diets		
	P41	P46	P51
FBW, g	103.62 ^b ± 21.08	114.64 ^a ± 28.53	113.70 ^a ± 26.96
FCL, cm	16.93 ^b ± 0.91	17.01 ^b ± 1.03	17.59 ^a ± 1.16
K	2.11 ^b ± 0.24	2.28 ^a ± 0.33	2.06 ^b ± 0.21
VSI, %	15.08 ^a ± 4.39	14.23 ^a ± 2.89	12.78 ^b ± 2.26
SGR, %/day	0.47 ± 0.03	0.62 ± 0.01	0.63 ± 0.05
FCR	1.83 ± 0.31	0.97 ± 0.22	0.97 ± 0.10
PER	0.65 ± 0.16	1.55 ± 0.47	1.44 ± 0.40

P41, P46 and P51 isoenergetic diets with varying fish meal inclusion levels: 44%, 52% or 60%, respectively (41.3/46/50.5% protein in diet); FBW – final body weight, FCL – final caudal length, K – Fulton's condition coefficient, VSI – viscerosomatic index, SGR – specific growth rate, FCR – feed conversion ratio, PER – protein efficiency ratio; all results are presented as means ± SD; ^{ab} – means within a row with different superscripts are significantly different at $P < 0.05$

Proximate composition of muscles

There were no statistically significant differences between the groups in muscle composition parameters, except for the crude fat content in group P46, which was significantly lower when compared to group P51 (Table 4). Additionally, the crude protein content was slightly lower in P51 than in the other two groups.

Table 4. Proximate composition of muscles of perch fed experimental diets, g/kg wet weight

Parameters	Diets		
	P41	P46	P51
Dry matter	222.9 ± 3.0	221.4 ± 3.5	219.9 ± 2.5
Crude protein	202.5 ± 1.2	202.7 ± 4.9	189.5 ± 0.4
Crude fat	11.2 ^{ab} ± 0.8	5.0 ^b ± 2.4	12.2 ^a ± 1.1
Ash	13.6 ± 1.0	12.5 ± 0.6	12.6 ± 0.4

P41, P46 and P51 isoenergetic diets with varying fish meal inclusion levels: 44%, 52% or 60%, respectively (41.3/46/50.5% protein in diet); all results are presented as means ± SD; ^{ab} – means within a row with different superscripts are significantly different at $P < 0.05$

Blood plasma parameters

No statistically significant differences were found between the groups in the twelve blood indices analysed (Table 5), which could partly result from relatively high standard deviations in many of the biochemical analyses. Nevertheless, some trends could still be observed in the data. Fish from group P41 had lower plasma TP, ALB and GLOB levels, but the highest GLU and CHOL values. Group P46 showed the highest average values of TP, ALB and GLOB and lowest of CHOL, TRIG and CREA, while for P51 the lowest GLU and TBIL levels were

Table 5. Blood plasma indices of perch fed experimental diets

Indices	Diets		
	P41	P46	P51
TP, g/l	46.27 ± 9.12	52.00 ± 6.44	49.30 ± 7.63
ALB, g/l	14.55 ± 2.38	16.20 ± 1.92	15.60 ± 3.24
GLOB, g/l	31.73 ± 6.87	35.80 ± 4.55	33.70 ± 4.81
GLU, mmol/l	10.37 ± 10.19	7.27 ± 6.48	6.56 ± 4.82
CHOL, mmol/l	5.41 ± 1.70	4.67 ± 0.93	5.04 ± 0.86
TRIG, mmol/l	3.13 ± 0.93	2.81 ± 0.52	3.18 ± 0.78
TBIL, µmol/l	5.91 ± 3.88	5.60 ± 3.36	4.80 ± 3.68
CREA, µmol/l	17.18 ± 15.85	11.80 ± 3.56	16.33 ± 14.46
NH ₃ , µmol/l	155.67 ± 67.42	150.33 ± 63.03	156.11 ± 65.32
ALT, U/l	78.87 ± 58.52	46.00 ± 18.88	61.10 ± 55.42
AST, U/l	195.13 ± 129.06	113.00 ± 38.40	140.60 ± 99.19
ALP, U/l	70.00 ± 37.01	43.38 ± 16.92	54.20 ± 25.78

P41, P46 and P51 isoenergetic diets with varying fish meal inclusion levels: 44%, 52% or 60%, respectively (41.3/46/50.5% protein in diet); TP – total protein, ALB – albumin, GLOB – globulins, GLU – glucose, CHOL – cholesterol, TRIG – triglycerides, TBIL – total bilirubin, CREA – creatinine, NH₃ – ammonia, ALT – alanine aminotransferase, AST – aspartate aminotransferase, ALP – alkaline phosphatase; all results are presented as means ± SD; $P > 0.05$

recorded. Additionally, the average activities of the three enzymes tested (ALT, AST and ALP) were highest in group P41 and lowest in P46 (Table 5).

Histological analysis

The overall structure of the gastrointestinal tract was generally consistent in all three fish groups, with structural differences observed mainly in the mucosa layer, both in the anterior and posterior sections (Figure 1). In the anterior intestine of fish from groups P41 and P46, mucous cells were predominantly of the acidic subtype, while in group P51, they showed a mixed profile. Although there were no significant differences in terms of intestinal fold height in either of intestinal sections (AFH and PFH), most of the enterocyte and *lamina propria* parameters differed statistically between the groups (Table 6). These changes were more pronounced in the anterior intestine, where enterocyte height (AEH) progressively decreased with higher dietary protein levels ($P < 0.05$), while supranuclear height (ASH) was the lowest in group P46 and highest in P51. Conversely, group P41 had significantly smaller enterocytes in the posterior intestine (PEH), while their supranuclear height (PSH) remained similar in all groups. Lastly, *lamina propria* width showed an opposite trend in the two intestinal sections, as AWLP increased significantly with higher dietary protein inclusion (the widest in P51), while the PWLP was significantly narrower in P51 compared to the other two groups (Figure 1; Table 6).

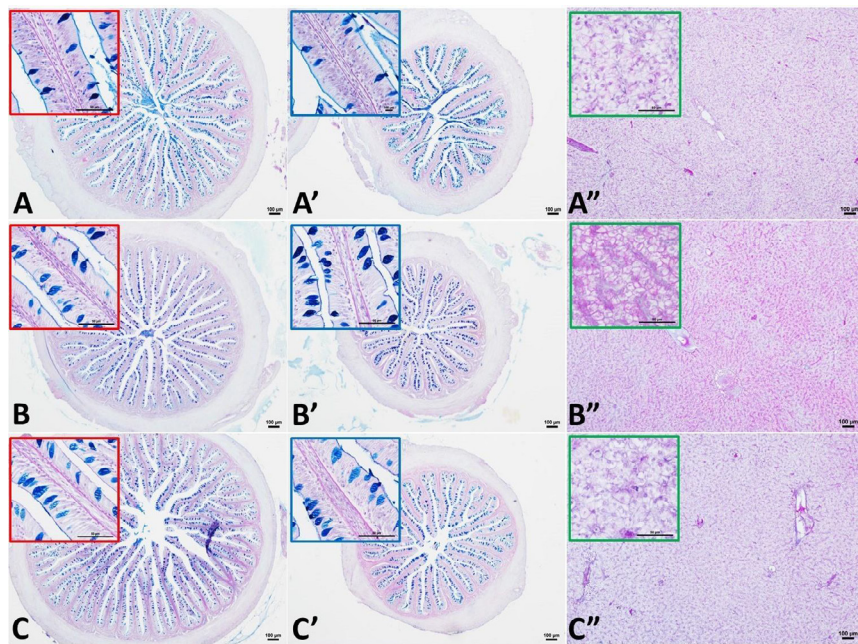


Figure 1. Histological structure of the digestive organs of perch: anterior intestine (A, B, C), posterior intestine (A', B', C') and liver parenchyma (A'', B'', C''). Fish were fed diets with different protein levels: P41 (A, A', A''), P46 (B, B', B'') and P51 (C, C', C''). AB-PAS staining; scale bars: 100 µm (A–C') and 500 µm (A''–C''). The insets represent blow-ups of specific areas from the respective panels, magnified 10-fold

The histological structure of hepatocytes exhibited high variability depending on their localisation in relation to blood vessels. In groups P41 and P46, these cells were relatively large and were characterised by low glycogen deposition but significant lipid accumulation (Figure 1). In contrast, the total hepatocyte area (HA) and cytoplasmic area (HCA) were significantly smaller in group P51 (approx. 30% smaller than in the other two groups), as was the nuclear area (HNA) (Table 6). Thus, an increase in the proportion of fish meal in the perch diet was associated with a reduction in hepatocyte and cytoplasmic size, resulting in a corresponding increase in the HNI values.

Gene expression analysis

In most instances, the expression of the studied genes remained unaffected by varying dietary protein levels, as exemplified by *il1b* and *pparaa*, whose expression was comparable between all experimental groups in each of the three organs studied (Figure 2). Nevertheless, a few statistically significant differences were observed. Specifically, the expression of *il6* in the anterior intestine decreased with rising dietary protein levels and was significantly lower ($P < 0.05$) in group P51, while in the liver it was significantly lower ($P < 0.01$) in P51 when compared to P46. Conversely, *tnfb* transcription in the anterior intestine was significantly higher ($P < 0.01$) in P51 than in P46. Additionally, the expression of the *slc15a1b* gene varied only in the liver, where group P46 displayed significantly lower

Table 6. Histomorphometric parameters of digestive organs of perch fed experimental diets

	Diets		
	P41	P46	P51
Anterior intestine			
AFH, µm	818.16 ± 164.50	816.35 ± 173.43	815.96 ± 91.09
AEH, µm	30.32 ^a ± 3.75	28.12 ^b ± 2.87	26.53 ^c ± 2.58
ASH, µm	16.11 ^b ± 1.90	15.09 ^c ± 1.93	17.18 ^a ± 2.19
AWLP, µm	8.61 ^c ± 2.22	10.84 ^b ± 2.33	13.04 ^a ± 2.04
Posterior intestine			
PFH, µm	553.08 ± 74.02	547.98 ± 78.18	583.09 ± 124.20
PEH, µm	34.64 ^b ± 6.55	37.03 ^a ± 5.80	37.24 ^a ± 5.45
PSH, µm	17.08 ± 2.68	17.41 ± 3.10	17.70 ± 3.01
PWLP, µm	14.69 ^a ± 3.72	14.71 ^a ± 4.63	12.11 ^b ± 2.74
Liver parenchyma (hepatocytes)			
HA, µm ²	215.304 ^a ± 68.91	210.54 ^a ± 72.97	149.08 ^b ± 35.16
HCA, µm ²	196.95 ^a ± 67.08	190.24 ^b ± 70.84	131.39 ^c ± 34.00
HNA, µm ²	18.48 ^b ± 4.59	20.29 ^a ± 4.97	17.69 ^c ± 2.94
HNI, %	10.17 ^c ± 3.62	11.65 ^b ± 3.80	14.11 ^a ± 3.30

P41, P46 and P51 isoenergetic diets with varying fish meal inclusion levels: 44%, 52% or 60%, respectively (41.3/46/50.5% protein in diet); AFH – anterior intestine, fold height, AEH – anterior intestine, enterocyte height, ASH – anterior intestine, enterocyte supranuclear height, AWLP – anterior intestine, width of the lamina propria, PFH – posterior intestine, fold height, PEH – posterior intestine, enterocyte height, PSH – posterior intestine, enterocyte supranuclear height, PWLP – posterior intestine, width of the lamina propria, HA – total area of hepatocytes, HCA – cytoplasmic area of hepatocytes, HNA – nuclear area of hepatocytes, HNI – hepato-nuclear index; all results are presented as means ± SD; ^{abc} – means within a row with different superscripts are significantly different at $P < 0.05$

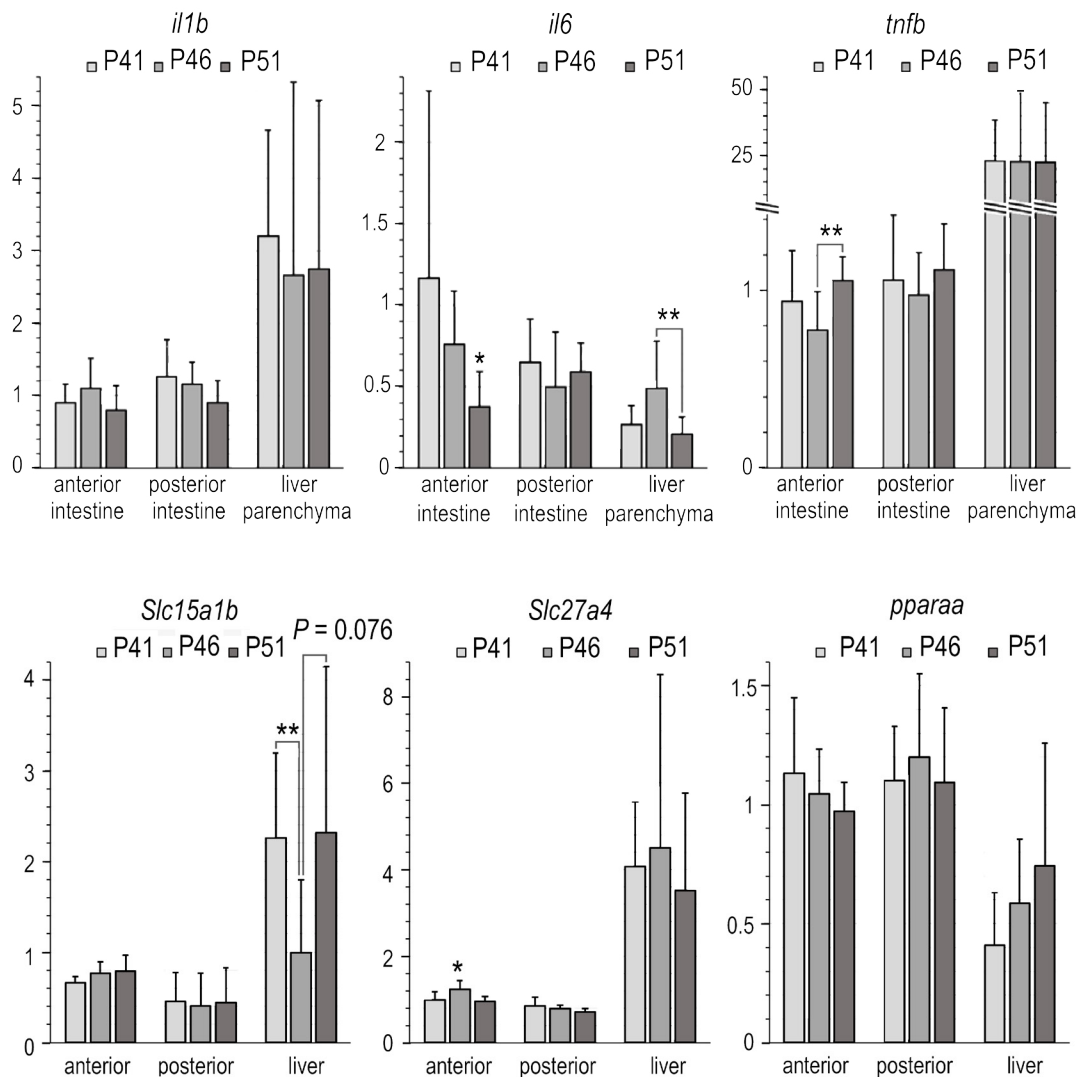


Figure 2. Normalised gene expression of *il1b*, *il6*, *tnfb*, *slc15a1b*, *slc27a4* and *pparaa* in three digestive organs of European perch fed diets with different protein levels (groups FM44, FM52 and FM60). Results are presented in arbitrary units, as the ratio of target gene expression to the mean expression of all four housekeeping genes.

il1b – interleukin 1, beta; *il6* – interleukin 6 (interferon, beta 2), *tnfb* – tumour necrosis factor b (TNF superfamily, member 2), *slc15a1b* – solute carrier family 15 member 1b, *slc27a4* – solute carrier family 27 member 4, *pparaa* – peroxisome proliferator-activated receptor alpha a

($P < 0.01$) relative mRNA levels than group P41 and almost significantly lower ($P = 0.076$) levels compared to P51. Lastly, the expression of *slc27a4* in the anterior intestine was significantly higher ($P < 0.05$) in group P46 than in the other groups.

Discussion

In our experiment, the highest body weight and best production indices for European perch were obtained with diets containing 46% and 50.5% protein. This appears to be consistent with the generally recommended protein content in the feed for *P. fluviatilis*, i.e., ranging between 43–50%, which is lower than the 50–54% threshold suggested for other percids (Geay and Kestemont, 2015).

For instance, the closely related pikeperch (*Sander lucioperca*) reaches optimal production metrics on feeds containing 55–59% protein (Schulz et al., 2007; Kamaszewski and Ostaszewska, 2014). Furthermore, marine perciform species such as striped bass (*Morone saxatilis*) (Millikin, 1982) and Malabar grouper (*Epinephelus malabaricus*) (Teng et al., 1978) have also been shown to grow optimally on diets containing at least 50% protein. However, the scientific literature provides rather conflicting information about the effects of dietary protein content on European perch. For instance, Mathis et al. (2003) observed the most favourable growth at lower protein levels, up to 40%, while Bochert (2020) reported optimal growth at protein levels exceeding 45%. Similarly to the latter study, it was observed that

European perch fed a diet containing 45% protein showed a greater weight gain compared to an isoenenergetic group fed 53% protein (Yang et al., 2002). Conversely, Fiogbé et al. (1996) found that a diet with 51% protein led to better growth than a 40% protein feed, though a further increase to 58% protein did not yield additional benefits. Thus, it should be noted that the availability of feed components and their chemical composition, in particular the amino acid composition, are important aspects of fish feed formulation, often more important than the gross protein content of the ration. Additionally, wild and domesticated fish may also have different nutritional demands, likely contributing to inconsistencies among the discussed studies.

The dietary protein level did not significantly affect whole-body protein content of the perch, although there was a slight decrease observed for feed with 50.5% protein. This outcome aligns with research on other perciforms, where optimally fed fish either showed no change in whole-body protein (Nyina-Wamwiza et al., 2005) or slight increases (Yang et al., 2002; Schulz et al., 2007), while excessive dietary protein in fact reduced whole-body protein levels (Alam et al., 2019). However, there was a significant difference in terms of whole-body lipid contents, as group P46 showed markedly lower whole-body fat levels (5%) than fish from groups P41 and P51 (11 and 12% fat, respectively). Similar findings have been reported under comparable experimental conditions (Yang et al., 2002; Alam et al., 2019). Nevertheless, it should be emphasised that the differences in whole-body fat content obtained in our study were significantly greater than previously documented.

In our study, although no significant differences were found for any of the evaluated serum parameters, there were indicators suggesting an improved condition of perch from group P46. Most notably, this group showed elevated levels of TP, ALB, and GLOB, markers that typically indicate good health status of the experimental fish (Çiçek and Özoğul, 2021; Zakaria et al., 2022). Moreover, raised serum CREA levels are a marker of kidney dysfunction and muscular deterioration, while increased activity of enzymes such as ALT, AST and ALP is associated with hepatic disorders (Alam et al., 2019; Bojarski and Witeska, 2020; Shahjahan et al., 2022). Therefore, the lower levels of those four parameters found in group P46 collectively suggest a more favourable health status of these fish, further highlighting the beneficial effects of the 46% protein feed diet.

Histomorphometric analyses of intestinal parameters are commonly applied in aquaculture research, with increased metrics such as fold or enterocyte height generally interpreted as positive, implying enhanced absorptive capacity of the mucosa. Conversely, an enlarged *lamina propria* is often an indicator of inflammation (Urán et al., 2008; Vatsos, 2021). For example, increased enterocyte supranuclear height was described in pikeperch fed a diet rich in linseed and peanut oils (Kowalska et al., 2010). In the present study, varying dietary protein content did not affect the height of intestinal folds, either anteriorly or posteriorly. However, enterocyte parameters showed varied trends of changes, as their height in the anterior intestine decreased with increasing dietary protein content, while the opposite relationship occurred in the posterior intestine (although groups P46 and P51 had similar averages). Interestingly, group P46 had the smallest supranuclear area in anterior enterocytes, making it challenging to form reliable conclusions from these contrasting results. Overall, intergroup differences in intestinal histology were less pronounced than in other measured parameters, such as serum enzyme activity or hepatocyte metrics (discussed below). In summary, it appears that the intestinal histology of the perch studied remained relatively unaffected by differences in dietary protein contents administered to each of the three feeding groups.

The size of fish hepatocytes and the proportion of cytoplasmic eosinophilic areas indicate either glycogen or lipid storage, indicating ongoing intestinal absorption and hepatic accumulation (Castro et al., 2015; Rašković et al., 2016). The hepatocyte nuclear area is an indirect marker of gene transcription rates, with reduced nuclear size likely implying nutritional deficiencies (Wold et al., 2009; Kasprzak et al., 2019; 2021). Lin et al. (2018) demonstrated that a diet rich in starch (>18%) increased hepatic glycogen content in largemouth bass (*Micropterus salmoides*). In our three formulated diets, the proportion of wheat flour decreased with increasing protein content. However, the livers of perch from groups P41 and P46, which were fed diets with a high proportion of wheat (34% and 26%, respectively), showed low glycogen deposition but visible fat accumulation, with relatively large hepatocytes compared to those in group P51. These observations may indicate a healthy nutritional status of the fish from these two experimental groups, rather than malnutrition (Ostaszewska et al., 2010). Moreover, the largest nuclei observed in hepatocytes of fish from group P46 points to enhanced hepatic protein

synthesis, contrasting with likely reduced synthesis in group P51 (Emiroğlu and Tarkan, 2012).

Alterations in gene expression patterns of inflammatory cytokines such as interleukin 1 beta (IL-1 β), interleukin 6 (IL-6) and tumour necrosis factor b (TNF) may be related to the disruption of non-specific defence mechanisms, particularly the protective effect of intestinal mucus (Baloch et al., 2021). In this context, the lower expression of the *il6* gene in group P51 could be a sign of reduced levels of innate immunity, as IL-6 has been demonstrated to promote phagocyte proliferation in rainbow trout (Costa et al., 2011). Finally, the significantly lower expression of *tnfb* in the anterior intestine of fish from group P46 (compared to P51) seems to be a positive sign, as elevated TNF levels, with their strong pro-apoptotic and pro-inflammatory effects, are associated with various pathologies (Zou et al., 2016). On the other hand, Yousefi et al. (2024) reported that low expression levels of *il1b* and *tnfa* in the gut of rainbow trout coincided with improved fish growth and gastrointestinal homeostasis. In summary, the expression patterns of these three cytokines confirm that the 46% protein diet (group P46) had the most beneficial effect on the gastrointestinal immunity of the studied perch.

The solute carrier family 15 member 1b (PepT1b, encoded by the *slc15a1b* gene) is an amino acid membrane transporter that is a highly sensitive marker of intestinal physiology (Verri et al., 2017). In the present study, although intestinal *slc15a1b* expression was consistent between the experimental groups, there was a marked 2-fold reduction in the liver expression level in group P46. Unfortunately, there is limited literature to contextualise these findings. Meanwhile, transcript abundance of the second soluble carrier gene studied, *slc27a4*, encoding the solute carrier family 27 member 4 (long-chain fatty acid transport protein 4, FATP4), differed only in the anterior intestine, with group P46 having a significantly higher expression levels than the other groups. A comparable pattern was observed in the intestine (but not the liver) of Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*) fed diets enriched with arachidonic acid (Xu et al., 2017). In zebrafish (*Danio rerio*), however, FATP4 expression showed high variability, both in the intestine and liver, when subjected to starvation, diets with varying lipid concentrations, and their different sources (Wang et al., 2019). These results suggest an improved lipid uptake across the cellular membrane of enterocytes in fish from group P46, likely due to the specific proportions of ingredients in this dietary formulation.

Interestingly, relative transcription levels of both *slc15a1b* and *slc27a4* were significantly higher in the liver than in the intestinal segments, contrary to previous reports on teleost fish (Romano et al., 2014; Wang et al., 2017; Xu et al., 2017; Zhao et al., 2022). The last of the genes examined, *pparaa*, encodes the nuclear peroxisome proliferator-activated receptor alpha a (PPAR- α), a regulator of the metabolism of fatty acids and their derivatives (Burri et al., 2010). In the current study, hepatic expression of *pparaa* increased progressively with rising dietary protein levels. According to Jin et al. (2015), who analysed PPAR- γ transcription in the liver, this increase could indicate reduced insulin sensitivity, which might partly explain the appearance of significantly smaller hepatocytes in the livers of P51 fish. Furthermore, hepatic *pparaa* expression was similarly elevated in Atlantic salmon (*Salmo salar*) showing early or advanced symptoms of fatty liver disease (Rojas et al., 2024). Overall, considering all results of gene expression analyses, it can be concluded that varying dietary protein levels did not induce significant inflammatory responses in digestive organs of European perch, and may have even provided a minor improvement of innate immunity in group P46.

Conclusions

The present study demonstrated that, of the three dietary protein levels tested, the feed containing 46% protein was the optimal choice for domesticated juvenile perches maintained under recirculating aquaculture system conditions. This diet had a favourable effect on growth rate, as well as the morphology and physiology of internal organs, without causing any serious pathological or metabolic alterations. This conclusion marks an important step towards refining rearing protocols for *Perca fluviatilis*, a species anticipated to play an increasingly important role in European aquaculture in the coming years.

Funding

This study was conducted as part of the project titled “Diversification of pond-based production through semi-intensive aquaculture of Eurasian perch, *Perca fluviatilis*” (Grant agreement no 00002-6521.1-OR1400004/17/20, acronym: PRO-PERCH), financially supported by Polish Operational Programme “PO RYBY 2014–2020” within the European Maritime and Fisheries Fund.

Conflict of interest

The Authors declare that there is no conflict of interest.

References

- Adamek A., Kasprzak A., 2018. Insulin-like growth factor (IGF) system in liver diseases. *Int. J. Mol. Sci.* 19, 1308, <https://doi.org/10.3390/IJMS19051308>
- AOAC International, 2016. Official methods of analysis of AOAC International. 20th Edition, https://www.techstreet.com/standards/official-methods-of-analysis-of-aoac-international-20th-edition-2016?product_id=1937367 (accessed 02.14.24)
- Alam M.S., Liang X.F., Liu L., He S., Kuang Y., Hoseinifar S.H., Dawar F.U., 2019. Growth and metabolic response of chinese perch to different dietary protein-to-energy ratios in artificial diets. *Int. J. Mol. Sci.*, 20, 5983, <https://doi.org/10.3390/ijms20235983>
- Baloch A.A., Abdelsalam E.E.E., Piačková V., 2021. Cytokines studied in carp (*Cyprinus carpio* L.) in response to important diseases. *Fishes* 7, 3, <https://doi.org/10.3390/fishes7010003>
- Béné C., Arthur R., Norbury H. et al., 2016. contribution of fisheries and aquaculture to food security and poverty reduction: assessing the current evidence. *World Dev.* 79, 177–196, <https://doi.org/10.1016/J.WORLDDEV.2015.11.007>
- Béné C., Barange M., Subasinghe R., Pinstrup-Andersen P., Merino G., Hemre G.I., Williams M., 2015. Feeding 9 billion by 2050 – Putting fish back on the menu. *Food Secur.* 7, 261–274, <https://doi.org/10.1007/s12571-015-0427-z>
- Bigarré L., Plassiart G., de Boissésion C., Pallandre L., Pozet F., Ledoré Y., Fontaine P., Lieffrig F., 2017. Molecular investigations of outbreaks of *Perch perhabdovirus* infections in pike-perch. *Dis. Aquat. Organ.* 127, 19–27, <https://doi.org/10.3354/DAO03177>
- Bochert R., 2020. Comparative performance, biochemical composition, and fatty acid analysis of Eurasian perch (*Perca fluviatilis*) during grow-out in RAS fed different commercial diets. *J. Appl. Aquac.* 34, 208–222, <https://doi.org/10.1080/10454438.2020.1828217>
- Bojarski B., Witeska M., 2020. Blood biomarkers of herbicide, insecticide, and fungicide toxicity to fish—a review. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 27, 19236–19250, <https://doi.org/10.1007/s11356-020-08248-8>
- Burri L., Thoresen G.H., Berge R K., 2010. The role of PPARα activation in liver and muscle. *PPAR Res.* 2010, 542359, <https://doi.org/10.1155/2010/542359>
- Castro C., Couto A., Pérez-Jiménez A., Serra C.R., Díaz-Rosales P., Fernandes R., Corraze G., Panserat S., Oliva-Teles A., 2016. Effects of fish oil replacement by vegetable oil blend on digestive enzymes and tissue histomorphology of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. *Fish Physiol. Biochem.* 42, 203–217, <https://doi.org/10.1007/s10695-015-0130-1>
- Çiçek S., Özoğul F., 2021. Effects of selenium nanoparticles on growth performance, hematological, serum biochemical parameters, and antioxidant status in fish. *Anim. Feed Sci. Technol.* 281, 115099, <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2021.115099>
- Costa M.M., Maehr T., Diaz-Rosales P., Secombes C.J., Wang T., 2011. Bioactivity studies of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) interleukin-6: effects on macrophage growth and antimicrobial peptide gene expression. *Mol. Immunol.* 48, 1903–1916, <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2011.05.027>
- Craig S., Helfrich L.A., Kuhn D., Schwarz M.H., 2017. Understanding Fish Nutrition, Feeds, and Feeding, <https://vtechworks.lib.vt.edu/bitstream/handle/10919/80712/FST-269.pdf> (accessed 04.05.23)
- Emiroğlu Ö., Tarkan A.S., Top N., Baskurt S., Sulun S., 2012. Growth and life history traits of a highly exploited population of non-native gibel carp, *Carassius gibelio* from a large eutrophic lake (Lake Uluabat, NW Turkey): is reproduction the key factor for establishment success? *Turkish J. Fish. Aquat. Sci.* 12, 925–936, https://doi.org/10.4194/1303-2712-v12_4_20
- FAO (Food and Agriculture Organization), 2019. The state of the world's aquatic genetic resources for food and agriculture [WWW Document]. Rome FAO Comm. Genet. Resour. Food Agric. assessments, <https://www.proquest.com/openview/c450c9806dacad710e4684727f40a229/1?pq-origsite=gscholar&cbl=237326> (accessed 04.05.23)
- FAO (Food and Agriculture Organization), 2022. The State of World Fisheries and Aquaculture 2022. Towards Blue Transformation. Rome (Italy), <https://doi.org/10.4060/cc0461en>
- Fiogbé E.D., Kestemont P., Mélard C., Micha J.C., 1996. The effects of dietary crude protein on growth of the Eurasian perch *Perca fluviatilis*. *Aquac.* 144, 239–249, [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(96\)01293-8](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(96)01293-8)
- Fontaine P., Teletchea F., 2019. Domestication of the Eurasian Perch (*Perca fluviatilis*). In: F. Teletchea (Editor). *Animal Domestication*. IntechOpen Ltd. London (United Kingdom), <https://doi.org/10.5772/INTECHOPEN.85132>
- Føre M., Frank K., Norton T. et al., 2017. Precision fish farming: A new framework to improve production in aquaculture. *Biosyst. Eng.* 173, 176–193, <https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2017.10.014>
- Fulton T.W. (Editor), 1911. The sovereignty of the sea: An historical account of the claims of England to the domination of the British seas and of the evolution of the theoretical waters: with special reference to the rights of the fishing and the naval salute. W. Blackwood and Sons. Edinburgh (United Kingdom), p. 777, <https://doi.org/10.5962/bhl.title.19744>
- Geay F., Kestemont P., 2015. Feeding and nutrition of percoid fishes during ongrowing stages. In: P. Kestemont, K. Dabrowski, R. Summerfelt (Editors). *Biology and Culture of Percid Fishes*. Springer. Dordrecht (Netherlands), pp. 587–622, https://doi.org/10.1007/978-94-017-7227-3_22
- Granada L., Sousa N., Lopes S., Lemos M.F., 2015. Is integrated multitrophic aquaculture the solution to the sectors' major challenges? – a review. *Rev. Aquac.* 8, 283–300, <https://doi.org/10.1111/raq.12093>
- Jin Y., Tian L.X., Xie S.W., Guo D.Q., Yang H.J., Liang G.Y., Liu Y.J., 2015. Interactions between dietary protein levels, growth performance, feed utilization, gene expression and metabolic products in juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Aquac.* 437, 75–83, <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.11.031>
- Kamaszewski M., Napora-Rutkowski Ł., Ostaszewska T., 2010. Effect of feeding on digestive enzyme activity and morphological changes in the liver and pancreas of pike-perch (*Sander lucioperca*). *Isr. J. Aquac.* 62, 225–236
- Kamaszewski M., Ostaszewska T., 2014. The effect of feeding on morphological changes in intestine of pike-perch (*Sander lucioperca* L.). *Aquac. Int.* 22, 245–258, <https://doi.org/10.1007/s10499-013-9693-y>
- Kasprzak R., Grzeszkiewicz A.B., Górecka A., 2021. Performance of co-housed neon tetras (*Paracheirodon innesi*) and glowlight rasboras (*Trigonostigma hengeli*) fed commercial flakes and lyophilized natural food. *Animals* 11, 3520, <https://doi.org/10.3390/ani11123520>

- Kasprzak R., Ostaszewska T., Kamaszewski M., 2019. Effects of feeding commercial diets on the development of juvenile crucian carp *Carassius carassius*: digestive tract abnormalities. *Aquat. Biol.* 28, 159–173, <https://doi.org/10.3354/ab00717>
- Kestemont P., Mélard C., Fiogbé E., Vlavonou R., Masson G., 1996. Nutritional and animal husbandry aspects of rearing early life stages of Eurasian perch *Perca fluviatilis*. *J. Appl. Ichthyol.* 12, 157–165, <https://doi.org/10.1111/J.1439-0426.1996.TB00082.X>
- Kowalska A., Zakęś Z., Jankowska B., Siwicki A., 2010. Impact of diets with vegetable oils on the growth, histological structure of internal organs, biochemical blood parameters, and proximate composition of pikeperch *Sander lucioperca* (L.). *Aquac.* 301, 69–77, <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.01.028>
- Lin S.M., Shi C.M., Mu M.M., Chen Y.J., Luo L., 2018. Effect of high dietary starch levels on growth, hepatic glucose metabolism, oxidative status and immune response of juvenile largemouth bass, *Micropterus salmoides*. *Fish Shellfish Immunol.* 78, 121–126, <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.04.046>
- Mathis N., Feidt C., Brun-Bellut J., 2003. Influence of protein/energy ratio on carcass quality during the growing period of Eurasian perch (*Perca fluviatilis*). *Aquac.* 217, 453–464, [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(02\)00122-9](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(02)00122-9)
- Milla S., Pasquet A., El Mohajer L., Fontaine P., 2021. How domestication alters fish phenotypes. *Rev. Aquac.* 13, 388–405, <https://doi.org/10.1111/RAQ.12480>
- Millikin M.R., 1982. Effects of dietary protein concentration on growth, feed efficiency, and body composition of age-0 striped bass. *Trans. Am. Fish. Soc.* 111, 373–378, [https://doi.org/10.1577/1548-8659\(1982\)111<373:EODPCO>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1577/1548-8659(1982)111<373:EODPCO>2.0.CO;2)
- Nyina-wamwiza L., Xu X.L., Blanchard G., Kestemont P., 2005. Effect of dietary protein, lipid and carbohydrate ratio on growth, feed efficiency and body composition of pikeperch *Sander lucioperca* fingerlings. *Aquac. Res.* 36, 486–492, <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2005.01233.x>
- Ostaszewska T., Dabrowski K., Kamaszewski M., Grochowski P., Verri T., Rzepkowska M., Wolnicki J., 2010. The effect of plant protein-based diet supplemented with dipeptide or free amino acids on digestive tract morphology and PepT1 and PepT2 expressions in common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Comp. Biochem. Physiol. Part A Mol. Integr. Physiol.* 157, 158–169, <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2010.06.162>
- Palińska-Żarska K., Król J., Woźny M., Kamaszewski M., Szudrowicz H., Wiechetek W., Brzuzan P., Fopp-Bayat D., Żarski D., 2021. Domestication affected stress and immune response markers in *Perca fluviatilis* in the early larval stage. *Fish Shellfish Immunol.* 114, 184–198, <https://doi.org/10.1016/J.FSI.2021.04.028>
- Palińska-Żarska K., Woźny M., Kamaszewski M., Szudrowicz H., Brzuzan P., Żarski D., 2020. Domestication process modifies digestion ability in larvae of Eurasian perch (*Perca fluviatilis*), a freshwater Teleostei. *Sci. Rep.* 10, 2211, <https://doi.org/10.1038/s41598-020-59145-6>
- Pedersen S., Wik T., 2020. A comparison of topologies in recirculating aquaculture systems using simulation and optimization. *Aquac. Eng.* 89, 102059, <https://doi.org/10.1016/J.AQUAENG.2020.102059>
- Podgorniak T., Dhanasiri A., Chen X., Ren X., Kuan P.F., Fernandes J., 2022. Early fish domestication affects methylation of key genes involved in the rapid onset of the farmed phenotype. *Epigenetics* 17, 1281–1298, <https://doi.org/10.1080/15592229.4.2021.2017554>
- Polcar T., Schaefer F.J., Panana E., Meyer S., Teerlinck S., Toner D., Żarski D., 2019. Recent progress in European percid fish culture production technology—tackling bottlenecks. *Aquac. Int.* 27, 1151–1174, <https://doi.org/10.1007/S10499-019-00433-Y>
- Price E.O., 1984. Behavioral Aspects of Animal Domestication. *Q. Rev. Biol.* 59, 1–32, <https://doi.org/10.1086/413673>
- Price E.O., 1999. Behavioral development in animals undergoing domestication. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 65, 245–271, [https://doi.org/10.1016/S0168-1591\(99\)00087-8](https://doi.org/10.1016/S0168-1591(99)00087-8)
- Rašković B., Čirić M., Koko V., Stanković M., Živić I., Marković Z., Poleksić V., 2016. Effect of supplemental feeds on liver and intestine of common carp (*Cyprinus carpio*) in semi-intensive rearing system: histological implications. *Biologia* 71, 212–219, <https://doi.org/10.1515/biolog-2016-0017>
- Rojas I., Caballero-Solares A., Vadboncoeur É., Sandrelli R.M., Hall J.R., Clow K.A., Parrish C.C., Rise M.L., Swason A.K., Gamperl A.K., 2024. Prolonged cold exposure negatively impacts atlantic salmon (*Salmo salar*) liver metabolism and function. *Biology* 13, 494, <https://doi.org/10.3390/biology13070494>
- Romano A., Barca A., Storelli C., Verri T., 2014. Teleost fish models in membrane transport research: the PEPT1 (SLC15A1) H⁺ – oligopeptide transporter as a case study. *J. Physiol.* 592, 881–897, <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2013.259622>
- Schulz C., Böhm M., Wirth M., Rennert B., 2007. Effect of dietary protein on growth, feed conversion, body composition and survival of pike perch fingerlings (*Sander lucioperca*). *Aquac. Nutr.* 13, 373–380, <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2007.00487.x>
- Shahjahan M., Islam M.J., Hossain M.T., Mishu M.A., Hasan J., Brown C., 2022. Blood biomarkers as diagnostic tools: An overview of climate-driven stress responses in fish. *Sci. Total Environ.* 843, 156910, <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.156910>
- Sicuro B., 2021. World aquaculture diversity: origins and perspectives. *Rev. Aquac.* 13, 1619–634, <https://doi.org/10.1111/raq.12537>
- Stejskal V., Tran H.Q., Prokesova M., Gebauer T., Giang P.T., Gai F., Gasco L., 2010. Partially defatted *Hermetia illucens* larva meal in diet of eurasian perch (*Perca fluviatilis*) Juveniles. *Animals* 10, 1876, <https://doi.org/10.3390/ani10101876>
- Strand Å., Alanärrä A., Staffan F., Magnhagen C., 2007. Effects of tank colour and light intensity on feed intake, growth rate and energy expenditure of juvenile Eurasian perch, *Perca fluviatilis* L. *Aquac.* 272, 312–318, <https://doi.org/10.1016/J.AQUACULTURE.2007.08.052>
- Szczepański A., Adamek-Urbańska D., Kasprzak R., Szudrowicz H., Śliwiński J., Kamaszewski M., 2022. Lupin: A promising alternative protein source for aquaculture feeds? *Aquac. Rep.* 26, 101281, <https://doi.org/10.1016/J.AQREP.2022.101281>
- Teletchea F., 2021. Fish domestication in aquaculture: 10 unanswered questions. *Anim. Front.* 11, 87–91, <https://doi.org/10.1093/AF/VFAB012>
- Teletchea F., Fontaine P., 2012. Levels of domestication in fish: implications for the sustainable future of aquaculture. *Fish Fish.* 15, 181–195, <https://doi.org/10.1111/faf.12006>
- Teng S.K., Chua T.E., Lim P.E., 1978. Preliminary observation on the dietary protein requirement of estuary grouper, *Epinephelus salmoides* Maxwell, cultured in floating net-cages. *Aquaculture* 15, 257–271, [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(78\)90036-4](https://doi.org/10.1016/0044-8486(78)90036-4)
- Thorpe J.E., 1977. Daily ration of adult perch. *Perca fluviatilis* L. during summer in Loch Leven, Scotland. *J. Fish Biol.* 11, 55–68, <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1977.tb04098.x>

- Tran H.Q., von Siebenthal E.W., Luce J.B., Nguyen T.T., Tomčala A., Stejskal V., Janssens T., 2024. Complementarity of insect meal and poultry by-product meal as replacement for fishmeal can sustain the production performance of European perch (*Perca fluviatilis*), reduce economic fish-in fish-out ratio and food-feed competition, and influence the environmental indices. *Aquac.* 579, 740166, <https://doi.org/10.1016/J.AQUACULTURE.2023.740166>
- Urán P.A., Gonçalves A.A., Taverne-Thiele J.J., Schrama J.W., Verreth J.A.J., Rombout J.H.W.M., 2008. Soybean meal induces intestinal inflammation in common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Fish Shellfish Immunol.* 25, 751–760, <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2008.02.013>
- Vatsos I.N., 2021. Planning and reporting of the histomorphometry used to assess the intestinal health in fish nutrition research—suggestions to increase comparability of the studies. *Front. Vet. Sci.* 8, 666044, <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.666044>
- Verri T., Barca A., Pisani P., Piccinni B., Storelli C., Romano A., 2017. Di- and tripeptide transport in vertebrates: the contribution of teleost fish models. *J. Comp. Physiol. B* 187, 395–462, <https://doi.org/10.1007/s00360-016-1044-7>
- Vilhelmsson O.T., Martin S.A.M., Médale F., Kaushik S.J., Houlihan D.F., 2004. Dietary plant-protein substitution affects hepatic metabolism in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Br. J. Nutr.* 92, 71–80, <https://doi.org/10.1079/BJN20041176>
- Wang J., Yan X., Lu R., Meng X., Nie G., 2017. Peptide transporter 1 (PepT1) in fish: A review. *Aquac. Fish.* 2, 193–206, <https://doi.org/10.1016/j.aaf.2017.06.007>
- Wang Y., Meng R., Xu X., Liao K., Ran Z., Xu J., Cao J., Wang Y., Wang D., Xu S., Yan X., 2019. Effects of nutritional status and diet composition on fatty acid transporters expression in zebrafish (*Danio rerio*). *Aquac. Res.* 50, 904–914, <https://doi.org/10.1111/are.13965>
- Way K., Haenen O., Stone D. et al., 2017. Emergence of carp edema virus (CEV) and its significance to European common carp and koi *Cyprinus carpio*. *Dis. Aquat. Organ.* 126, 155–166, <https://doi.org/10.3354/DAO03164>
- Wold P.A., Hoehne-Reitan K., Cahu C.L., Infante J.Z., Rainuzzo J., Kjorsvik, E., 2009. Comparison of dietary phospholipids and neutral lipids: effects on gut, liver and pancreas histology in Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) larvae. *Aquac. Nutr.* 15, 73–84, <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2008.00569.x>
- Xu H., Zhang Y., Wang C., Wei Y., Zheng K., Liang M., 2017. Cloning and characterization of fatty acid transport proteins in Japanese seabass *Lateolabrax japonicus*, and their gene expressions in response to dietary arachidonic acid. *Aquac. Res.* 48, 5718–5728, <https://doi.org/10.1111/are.13395>
- Yang S.D., Liou C.H., Liu F.G., 2002. Effects of dietary protein level on growth performance, carcass composition and ammonia excretion in juvenile silver perch (*Bidyanus bidyanus*). *Aquac.* 213, 363–372, [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(02\)00120-5](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(02)00120-5)
- Yousefi M., Hoseini S.M., Kulikov E.V., Kharlitskaya E.V., Petukhov N.V., Khomenets N.G., 2024. Dietary propionate administration improves growth performance, hepatic lipid deposition, and intestinal activity of digestive enzymes, inflammation, bacterial population, and antioxidant capacity in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquac.* 578, 740099, <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2023.740099>
- Yue K., Shen Y., 2022. An overview of disruptive technologies for aquaculture. *Aquac. Fish.* 7, 111–120, <https://doi.org/10.1016/j.aaf.2021.04.009>
- Zaid M.Z.A., Ramiah S.K., Jamein E.S., Zulkifli I., Lokman I.H., Amirul F.M.A., Fadzlin S.A.A., Mohd Zamri S., Jayanegara A., Hassim H.A., 2023. Potential use of black soldier fly, *Hermetia illucens* larvae in chicken feed as a protein replacer: a review. *J. Anim. Feed Sci.* 32, 341–353, <https://doi.org/10.22358/jafs/162066/2023>
- Zakaria M.K., Kari Z.A., Van Doan H., Kabir M.A., Che Harun H., Mohamad Sukri S.A., Goh K.W., Wee W., Khoo M.I., Wei L.S., 2022. Fermented soybean meal (FSBM) in African catfish (*Clarias fariensis*) diets: effects on growth performance, fish gut microbiota analysis, blood haematology, and liver morphology. *Life* 12, 1851, <https://doi.org/10.3390/life12111851>
- Zhao L.L., Wang D.X., Liao Z.B., Bi Q.Z., Ma Q., Wei Y.L., Liang M.Q., Qiao X.T., Cheng Z.Y., Xu H.G., 2022. Tissue distribution and nutritional regulation of fatty acid transport protein *Scophthalmus maximus* and *Takifugu rubripes*. *Chin. J. Anim. Nutr.* 34, 6620–6633
- Zou Y., Wang X., Chen Z., Yao W., Ai Y., Liu Y., Hayat T., Alsaedi A., Alharbi N.S., Wang X., 2016. Superior coagulation of graphene oxides on nanoscale layered double hydroxides and layered double oxides. *Environ. Pollut.* 219, 107–117, <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.10.052>

Warszawa, 30.03.2026

mgr inż. Wiktoria Cieśla
Katedra Biologii Środowiska Zwierząt
Instytut Nauk o Zwierzętach
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie
ul. Ciszewskiego 8
02-786 Warszawa
wiktoria_wiechetek1@sggw.edu.pl

**Rada Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo
Szkoły Główniej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie**

OŚWIADCZENIE O WSPÓŁAUTORSTWIE

Jako jeden ze współautorów deklaruję, że w pracy:

Wiechetek W, Kasprzak R, Adamek-Urbańska D, Gomułka P, Wójcik M, Bochenek J, Bober H, Woźniak M, Śliwiński J, Szczepański A, Szudrowicz H, Wild R, Kawalski K, Martynow J, Bujarski P, Król J, Kamaszewski M. Effects of dietary protein levels on growth and physiology of domesticated European perch (*Perca fluviatilis*) reared in a recirculating aquaculture system. 2025. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 34(2): 284–296. DOI: 10.22358/jafs/194203/2024.

mój indywidualny wkład obejmował opracowywanie koncepcji badań, przeprowadzenie analizy formalnej, wyszukiwanie i krytyczną ocenę piśmiennictwa naukowego, analizę i interpretację danych statystycznych oraz uczestniczenie w przygotowaniu pierwotnej wersji manuskryptu.

Indywidualny wkład pracy w publikację wynosi: 65%.

.....*W. Cieśla*.....
mgr inż. Wiktoria Cieśla

Warszawa, 26.03.2026

dr Robert Kasprzak
Katedra Biologii Środowiska Zwierząt
Instytut Nauk o Zwierzętach
Szkola Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie
ul. Ciszewskiego 8
02-786 Warszawa
robert_kasprzak@sggw.edu.pl

**Rada Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo
Szkoly Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie**

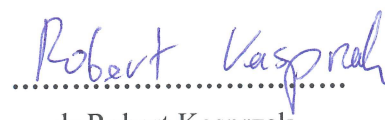
OŚWIADCZENIE O WSPÓŁAUTORSTWIE

Jako jeden ze współautorów deklaruję, że w pracy:

Wiechetek W, Kasprzak R, Adamek-Urbańska D, Gomułka P, Wójcik M, Bochenek J, Bober H, Woźniak M, Śliwiński J, Szczepański A, Szudrowicz H, Wild R, Kawalski K, Martynow J, Bujarski P, Król J, Kamaszewski M. Effects of dietary protein levels on growth and physiology of domesticated European perch (*Perca fluviatilis*) reared in a recirculating aquaculture system. 2025. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 34(2): 284–296. DOI: 10.22358/jafs/194203/2024.

mój indywidualny wkład obejmował analizę i interpretację danych, redagowanie tekstu, przygotowanie wizualizacji przedstawiających uzyskane wyniki.

Indywidualny wkład pracy w publikację wynosi: 6%.


.....
dr Robert Kasprzak

Warszawa, 30.03.2026

dr hab. Dobrochna Adamek-Urbańska, prof. SGGW
Katedra Biologii Środowiska Zwierząt
Instytut Nauk o Zwierzętach
Szkola Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie
ul. Ciszewskiego 8
02-786 Warszawa
dobrochna_adamek@sggw.edu.pl

**Rada Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo
Szkoly Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie**

OŚWIADCZENIE O WSPÓLAUTORSTWIE

Jako jeden ze współautorów deklaruję, że w pracy:

Wiechetek W, Kasprzak R, Adamek-Urbańska D, Gomułka P, Wójcik M, Bochenek J, Bober H, Woźniak M, Śliwiński J, Szczepański A, Szudrowicz H, Wild R, Kawalski K, Martynow J, Bujarski P, Król J, Kamaszewski M. Effects of dietary protein levels on growth and physiology of domesticated European perch (*Perca fluviatilis*) reared in a recirculating aquaculture system. 2025. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 34(2): 284–296. DOI: 10.22358/jafs/194203/2024.

mój indywidualny wkład obejmował opracowanie metodologii, nadzór nad wykonywanymi analizami, wyszukiwanie i krytyczną ocenę piśmiennictwa naukowego, analizę i interpretację danych, przygotowanie tekstu oraz opracowanie wizualizacji przedstawiających uzyskane wyniki.

Indywidualny wkład pracy w publikację wynosi: 6%.



dr hab. Dobrochna Adamek-Urbańska,
prof. SGGW

Warszawa, 30.03.2026

dr hab. Piotr Gomułka, prof. UWM
Katedra Ichtiologii i Akwakultury
Wydział Bioinżynierii Zwierząt
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski
ul. Oczapowskiego 5/345
10-719 Olsztyn
pgomulka@uwm.edu.pl

**Rada Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo
Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie**

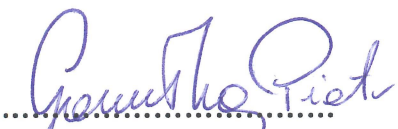
OŚWIADCZENIE O WSPÓŁAUTORSTWIE

Jako jeden ze współautorów deklaruję, że w pracy:

Wiechetek W, Kasprzak R, Adamek-Urbańska D, Gomułka P, Wójcik M, Bochenek J, Bober H, Woźniak M, Śliwiński J, Szczepański A, Szudrowicz H, Wild R, Kawalski K, Martynow J, Bujarski P, Król J, Kamaszewski M. Effects of dietary protein levels on growth and physiology of domesticated European perch (*Perca fluviatilis*) reared in a recirculating aquaculture system. 2025. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 34(2): 284–296. DOI: 10.22358/jafs/194203/2024.

mój indywidualny wkład w powstanie pracy obejmował opracowanie koncepcji badań, administracyjne zarządzanie projektem oraz pozyskanie środków finansowych na jego realizację.

Indywidualny wkład pracy w publikację wynosi: 3%.


.....
dr hab. Piotr Gomułka, prof. UWM

Warszawa, 30.03.2026

mgr inż. Maciej Wójcik
Zakład Inżynierii Genetycznej
Instytut Fizjologii i Żywienia Zwierząt
im. Jana Kielanowskiego PAN
ul. Instytucka 3
05-110 Jabłonna
m.wojcik@ifzz.pl

**Rada Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo
Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie**

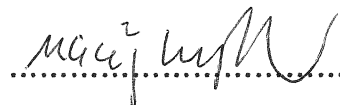
OŚWIADCZENIE O WSPÓLAUTORSTWIE

Jako jeden ze współautorów deklaruję, że w pracy:

Wiechetek W, Kasprzak R, Adamek-Urbańska D, Gomułka P, Wójcik M, Bochenek J, Bober H, Woźniak M, Śliwiński J, Szczepański A, Szudrowicz H, Wild R, Kawalski K, Martynow J, Bujarski P, Król J, Kamaszewski M. Effects of dietary protein levels on growth and physiology of domesticated European perch (*Perca fluviatilis*) reared in a recirculating aquaculture system. 2025. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 34(2): 284–296. DOI: 10.22358/jafs/194203/2024.

mój indywidualny wkład obejmował metodologię oraz analizę formalną.

Indywidualny wkład pracy w publikację wynosi: 1%.


mgr inż. Maciej Wójcik

Warszawa, 30.03.2026

mgr Joanna Bochenek
Zakład Inżynierii Genetycznej
Instytut Fizjologii i Żywienia Zwierząt
im. Jana Kielanowskiego PAN
ul. Instytucka 3
05-110 Jabłonna
j.bochenek@ifzz.pl

**Rada Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo
Szkoly Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie**

OŚWIADCZENIE O WSPÓLAUTORSTWIE

Jako jeden ze współautorów deklaruję, że w pracy:

Wiechetek W, Kasprzak R, Adamek-Urbańska D, Gomułka P, Wójcik M, Bochenek J, Bober H, Woźniak M, Śliwiński J, Szczepański A, Szudrowicz H, Wild R, Kawalski K, Martynow J, Bujarski P, Król J, Kamaszewski M. Effects of dietary protein levels on growth and physiology of domesticated European perch (*Perca fluviatilis*) reared in a recirculating aquaculture system. 2025. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 34(2): 284–296. DOI: 10.22358/jafs/194203/2024.

mój indywidualny wkład obejmował analizę formalną oraz wyszukiwanie i ocenę informacji naukowej.

Indywidualny wkład pracy w publikację wynosi: 1%.


mgr Joanna Bochenek

Warszawa, 30.03.2026

mgr Helena Bober
Katedra Ichtiologii i Akwakultury
Wydział Bioinżynierii Zwierząt
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski
ul. Oczapowskiego 5/345
10-719 Olsztyn
helena.bober@uwm.edu.pl

**Rada Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo
Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie**

OŚWIADCZENIE O WSPÓLAUTORSTWIE

Jako jeden ze współautorów deklaruję, że w pracy:

Wiechetek W, Kasprzak R, Adamek-Urbańska D, Gomułka P, Wójcik M, Bochenek J, Bober H, Woźniak M, Śliwiński J, Szczepański A, Szudrowicz H, Wild R, Kawalski K, Martynow J, Bujarski P, Król J, Kamaszewski M. Effects of dietary protein levels on growth and physiology of domesticated European perch (*Perca fluviatilis*) reared in a recirculating aquaculture system. 2025. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 34(2): 284–296. DOI: 10.22358/jafs/194203/2024.

mój indywidualny wkład obejmował analizę formalną oraz wyszukiwanie i ocenę informacji naukowej.

Indywidualny wkład pracy w publikację wynosi: 1%.



mgr Helena Bober

Warszawa, 30.03.2026

dr hab. Małgorzata Woźniak, prof. UWM
Katedra Turystyki, Rekreacji i Ekologii
Wydział Nauk o Środowisku
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski
ul. Oczapowskiego 5
10-719 Olsztyn
mawoz@uwm.edu.pl

**Rada Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo
Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie**

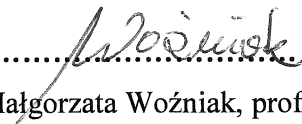
OŚWIADCZENIE O WSPÓŁAUTORSTWIE

Jako jeden ze współautorów deklaruję, że w pracy:

Wiechetek W, Kasprzak R, Adamek-Urbańska D, Gomułka P, Wójcik M, Bochenek J, Bober H, Woźniak M, Śliwiński J, Szczepański A, Szudrowicz H, Wild R, Kawalski K, Martynow J, Bujarski P, Król J, Kamaszewski M. Effects of dietary protein levels on growth and physiology of domesticated European perch (*Perca fluviatilis*) reared in a recirculating aquaculture system. 2025. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 34(2): 284–296. DOI: 10.22358/jafs/194203/2024.

mój indywidualny wkład obejmował metodologię oraz wyszukiwanie i ocenę informacji naukowej.

Indywidualny wkład pracy w publikację wynosi: 1%.

.....

dr hab. Małgorzata Woźniak, prof. UWM

Warszawa, 30.03.2026

dr Jerzy Śliwiński
Katedra Biologii Środowiska Zwierząt
Instytut Nauk o Zwierzętach
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie
ul. Ciszewskiego 8
02-786 Warszawa
jerzy_sliwinski@sggw.edu.pl

**Rada Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo
Szkoły Główniej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie**

OŚWIADCZENIE O WSPÓŁAUTORSTWIE

Jako jeden ze współautorów deklaruję, że w pracy:

Wiechetek W, Kasprzak R, Adamek-Urbańska D, Gomułka P, Wójcik M, Bochenek J, Bober H, Woźniak M, Śliwiński J, Szczepański A, Szudrowicz H, Wild R, Kawalski K, Martynow J, Bujarski P, Król J, Kamaszewski M. Effects of dietary protein levels on growth and physiology of domesticated European perch (*Perca fluviatilis*) reared in a recirculating aquaculture system. 2025. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 34(2): 284–296. DOI: 10.22358/jafs/194203/2024.

mój indywidualny wkład obejmował analizę formalną oraz wyszukiwanie i ocenę informacji naukowej.

Indywidualny wkład pracy w publikację wynosi: 1%.


.....
dr Jerzy Śliwiński

Warszawa, 30.03.2026

mgr inż. Adrian Szczepański
Katedra Biologii Środowiska Zwierząt
Instytut Nauk o Zwierzętach
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie
ul. Ciszewskiego 8
02-786 Warszawa
adrian_szczepanski@sggw.edu.pl

**Rada Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo
Szkoły Główniej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie**

OŚWIADCZENIE O WSPÓŁAUTORSTWIE

Jako jeden ze współautorów deklaruję, że w pracy:

Wiechetek W, Kasprzak R, Adamek-Urbańska D, Gomułka P, Wójcik M, Bochenek J, Bober H, Woźniak M, Śliwiński J, Szczepański A, Szudrowicz H, Wild R, Kawalski K, Martynow J, Bujarski P, Król J, Kamaszewski M. Effects of dietary protein levels on growth and physiology of domesticated European perch (*Perca fluviatilis*) reared in a recirculating aquaculture system. 2025. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 34(2): 284–296. DOI: 10.22358/jafs/194203/2024.

mój indywidualny wkład obejmował analizę formalną oraz wyszukiwanie i ocenę informacji naukowej.

Indywidualny wkład pracy w publikację wynosi: 1%.

A. Szczepański.....

mgr inż. Adrian Szczepański

Warszawa, 30.03.2026

dr Hubert Szudrowicz
Katedra Biologii Środowiska Zwierząt
Instytut Nauk o Zwierzętach
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie
ul. Ciszewskiego 8
02-786 Warszawa
hubert_szudrowicz@sggw.edu.pl

**Rada Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo
Szkoły Główniej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie**

OŚWIADCZENIE O WSPÓŁAUTORSTWIE

Jako jeden ze współautorów deklaruję, że w pracy:

Wiechetek W, Kasprzak R, Adamek-Urbańska D, Gomułka P, Wójcik M, Bochenek J, Bober H, Woźniak M, Śliwiński J, Szczepański A, Szudrowicz H, Wild R, Kawalski K, Martynow J, Bujarski P, Król J, Kamaszewski M. Effects of dietary protein levels on growth and physiology of domesticated European perch (*Perca fluviatilis*) reared in a recirculating aquaculture system. 2025. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 34(2): 284–296. DOI: 10.22358/jafs/194203/2024.

mój indywidualny wkład obejmował analizę formalną oraz wyszukiwanie i ocenę informacji naukowej.

Indywidualny wkład pracy w publikację wynosi: 1%.

..........
dr Hubert Szudrowicz

Warszawa, 30.03.2026

mgr inż. Rafał Wild
Katedra Biologii Środowiska Zwierząt
Instytut Nauk o Zwierzętach
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie
ul. Ciszewskiego 8
02-786 Warszawa
rafal_wild@sggw.edu.pl

**Rada Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo
Szkoły Główniej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie**

OŚWIADCZENIE O WSPÓŁAUTORSTWIE

Jako jeden ze współautorów deklaruję, że w pracy:

Wiechetek W, Kasprzak R, Adamek-Urbańska D, Gomułka P, Wójcik M, Bochenek J, Bober H, Woźniak M, Śliwiński J, Szczepański A, Szudrowicz H, Wild R, Kawalski K, Martynow J, Bujarski P, Król J, Kamaszewski M. Effects of dietary protein levels on growth and physiology of domesticated European perch (*Perca fluviatilis*) reared in a recirculating aquaculture system. 2025. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 34(2): 284–296. DOI: 10.22358/jafs/194203/2024.

mój indywidualny wkład obejmował analizę formalną oraz wyszukiwanie i ocenę informacji naukowej.

Indywidualny wkład pracy w publikację wynosi: 1%.


.....
mgr inż. Rafał Wild

Warszawa, 30.03.2026

mgr inż. Kacper Kawalski
Katedra Biologii Środowiska Zwierząt
Instytut Nauk o Zwierzętach
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie
ul. Ciszewskiego 8
02-786 Warszawa
kacper_kawalski@sggw.edu.pl

 Rada Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo
Szkoły Główniej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

OŚWIADCZENIE O WSPÓŁAUTORSTWIE

Jako jeden ze współautorów deklaruję, że w pracy:

Wiechetek W, Kasprzak R, Adamek-Urbańska D, Gomułka P, Wójcik M, Bochenek J, Bober H, Woźniak M, Śliwiński J, Szczepański A, Szudrowicz H, Wild R, Kawalski K, Martynow J, Bujarski P, Król J, Kamaszewski M. Effects of dietary protein levels on growth and physiology of domesticated European perch (*Perca fluviatilis*) reared in a recirculating aquaculture system. 2025. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 34(2): 284–296. DOI: 10.22358/jafs/194203/2024.

mój indywidualny wkład obejmował analizę formalną oraz wyszukiwanie i ocenę informacji naukowej.

Indywidualny wkład pracy w publikację wynosi: 1%.



mgr inż. Kacper Kawalski

Warszawa, 30.03.2026

mgr inż. Jakub Martynow
Katedra Biologii Środowiska Zwierząt
Instytut Nauk o Zwierzętach
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie
ul. Ciszewskiego 8
02-786 Warszawa
jakub_martynow@sggw.edu.pl

**Rada Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo
Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie**

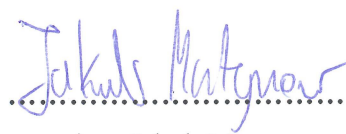
OŚWIADCZENIE O WSPÓLAUTORSTWIE

Jako jeden ze współautorów deklaruję, że w pracy:

Wiechetek W, Kasprzak R, Adamek-Urbańska D, Gomułka P, Wójcik M, Bochenek J, Bober H, Woźniak M, Śliwiński J, Szczepański A, Szudrowicz H, Wild R, Kawalski K, Martynow J, Bujarski P, Król J, Kamaszewski M. Effects of dietary protein levels on growth and physiology of domesticated European perch (*Perca fluviatilis*) reared in a recirculating aquaculture system. 2025. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 34(2): 284–296. DOI: 10.22358/jafs/194203/2024.

mój indywidualny wkład obejmował analizę formalną oraz wyszukiwanie i ocenę informacji naukowej.

Indywidualny wkład pracy w publikację wynosi: 1%.


mgr inż. Jakub Martynow

Warszawa, 30.03.2026

mgr inż. Patryk Bujarski
Katedra Biologii Środowiska Zwierząt
Instytut Nauk o Zwierzętach
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie
ul. Ciszewskiego 8
02-786 Warszawa

**Rada Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo
Szkoły Główniej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie**

OŚWIADCZENIE O WSPÓŁAUTORSTWIE

Jako jeden ze współautorów deklaruję, że w pracy:

Wiechetek W, Kasprzak R, Adamek-Urbańska D, Gomułka P, Wójcik M, Bochenek J, Bober H, Woźniak M, Śliwiński J, Szczepański A, Szudrowicz H, Wild R, Kawalski K, Martynow J, Bujarski P, Król J, Kamaszewski M. Effects of dietary protein levels on growth and physiology of domesticated European perch (*Perca fluviatilis*) reared in a recirculating aquaculture system. 2025. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 34(2): 284–296. DOI: 10.22358/jafs/194203/2024.

mój indywidualny wkład obejmował analizę formalną oraz wyszukiwanie i ocenę informacji naukowej.

Indywidualny wkład pracy w publikację wynosi: 1%.


mgr inż. Patryk Bujarski

Warszawa, 30.03.2026

dr hab. inż. Jarosław Król, profesor Instytutu
Zakład Hodowli Ryb Łososiowatych
Instytut Rybactwa Śródlądowego
Państwowy Instytut Badawczy
Oczapowskiego 10
10-719 Olsztyn
j.krol@infish.com.pl

**Rada Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo
Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie**

OŚWIADCZENIE O WSPÓŁAUTORSTWIE

Jako jeden ze współautorów deklaruję, że w pracy:

Wiechetek W, Kasprzak R, Adamek-Urbańska D, Gomułka P, Wójcik M, Bochenek J, Bober H, Woźniak M, Śliwiński J, Szczepański A, Szudrowicz H, Wild R, Kawalski K, Martynow J, Bujarski P, Król J, Kamaszewski M. Effects of dietary protein levels on growth and physiology of domesticated European perch (*Perca fluviatilis*) reared in a recirculating aquaculture system. 2025. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 34(2): 284–296. DOI: 10.22358/jafs/194203/2024.

mój indywidualny wkład obejmował udział w opracowaniu koncepcji badań i metodologii, administracyjne zarządzanie projektem oraz pozyskanie środków finansowych na realizację badań.

Indywidualny wkład pracy w publikację wynosi: 4%.

Elektronicznie podpisany
przez Jarosław Król

Data: 2026.03.27 05:59:57
+01'00'

.....

dr hab. inż. Jarosław Król,
profesor Instytutu

Warszawa, 30.03.2026

dr hab. Maciej Kamaszewski, prof. SGGW
Katedra Biologii Środowiska Zwierząt
Instytut Nauk o Zwierzętach
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie
ul. Ciszewskiego 8
02-786 Warszawa
maciej_kamaszewski@sggw.edu.pl

**Rada Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo
Szkoły Główniej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie**

OŚWIADCZENIE O WSPÓŁAUTORSTWIE

Jako jeden ze współautorów deklaruję, że w pracy:

Wiechetek W, Kasprzak R, Adamek-Urbańska D, Gomułka P, Wójcik M, Bochenek J, Bober H, Woźniak M, Śliwiński J, Szczepański A, Szudrowicz H, Wild R, Kawalski K, Martynow J, Bujarski P, Król J, Kamaszewski M. Effects of dietary protein levels on growth and physiology of domesticated European perch (*Perca fluviatilis*) reared in a recirculating aquaculture system. 2025. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 34(2): 284–296. DOI: 10.22358/jafs/194203/2024.

mój indywidualny wkład obejmował udział w opracowaniu koncepcji badań, administracyjne zarządzanie projektem, pozyskanie środków finansowych na realizację badań, przygotowanie tekstu oraz nadzór merytoryczny nad realizacją pracy.

Indywidualny wkład pracy w publikację wynosi: 5%.



dr hab. Maciej Kamaszewski,
prof. SGGW

Article

Hemp Meal (*Cannabis sativa*) as an Alternative Dietary Protein Source for European Perch (*Perca fluviatilis*)

Wiktoria Cieśla ^{1,*} , Dobrochna Adamek-Urbańska ¹ , Robert Kasprzak ^{1,*} , Piotr Gomułka ² ,
Maciej Wójcik ³ , Joanna Bochenek ³ , Helena Bober ² , Kacper Kawalski ¹, Jakub Martynow ¹,
Adrian Szczepański ¹, Hubert Szudrowicz ¹, Małgorzata Woźniak ⁴, Jerzy Śliwiński ¹, Katarzyna Palińska-Żarska ⁵,
Daniel Żarski ⁶, Sławomir Krejszeff ⁷, Jarosław Król ⁸ and Maciej Kamaszewski ¹ 

- ¹ Department of Animal Environment Biology, Institute of Animal Science, Warsaw University of Life Sciences, Ciszewskiego 8, 02-786 Warsaw, Poland; dobrochna_adamek@sggw.edu.pl (D.A.-U.); kacper_kawalski@sggw.edu.pl (K.K.); jakub_martynow@sggw.edu.pl (J.M.); adrian_szczepanski@sggw.edu.pl (A.S.); hubert_szudrowicz@sggw.edu.pl (H.S.); jerzy_sliwinski@sggw.edu.pl (J.Ś.); maciej_kamaszewski@sggw.edu.pl (M.K.)
 - ² Department of Ichthyology and Aquaculture, Faculty of Animal Bioengineering, University of Warmia and Mazury, Oczapowskiego 2, 10-719 Olsztyn, Poland; pgomulka@uwm.edu.pl (P.G.); helena.boberr@gmail.com (H.B.)
 - ³ Department of Genetic Engineering, The Kielanowski Institute of Animal Physiology and Nutrition, Polish Academy of Sciences, Instytutka 3 Street, 05-110 Jabłonna, Poland; m.wojcik@ifzz.pl (M.W.); j.bochenek@ifzz.pl (J.B.)
 - ⁴ Department of Tourism, Recreation and Ecology, University of Warmia and Mazury, 10-718 Olsztyn, Poland; mawoz@uwm.edu.pl
 - ⁵ Department of Ichthyology, Hydrobiology and Aquatic Ecology, National Inland Fisheries Research Institute, Oczapowskiego 10, 10-719 Olsztyn, Poland; k.palinska-zarska@infish.com.pl
 - ⁶ Department of Gametes and Embryo Biology, Institute of Animal Reproduction and Food Research, Polish Academy of Sciences, Trylińskiego 18, 10-683 Olsztyn, Poland; d.zarski@pan.olsztyn.pl
 - ⁷ Department of Aquaculture, National Inland Fisheries Research Institute, Oczapowskiego 10, 10-719 Olsztyn, Poland; s.krejszeff@infish.com.pl
 - ⁸ Department of Salmonid Research, The Stanisław Sakowicz Inland Fisheries Institute, Oczapowskiego 10, 10-719 Olsztyn, Poland; j.krol@infish.com.pl
- * Correspondence: wiktoria_wiechetek1@sggw.edu.pl (W.C.); robert_kasprzak@sggw.edu.pl (R.K.)

Simple Summary

The production of European perch is becoming increasingly advanced. Unfortunately, it is still associated with high costs due to the high proportion of fish meal required in the feed. We investigated whether hemp meal could replace it without harming the health of the fish. For ten weeks, the perch were fed a diet containing 0, 10, 20 or 30% hemp meal. The study revealed that there were no negative effects on growth, physical condition, muscle composition, blood parameters, or digestive organ structure. The diet containing 20% hemp meal provided the best overall growth and feed utilization. Fish receiving hemp meal also showed mainly beneficial changes in the intestinal lining, which aids digestion and nutrient absorption. Overall, hemp meal can safely replace some of the animal protein in the diet of perch, with around 20% inclusion appearing to be the most promising. The use of hemp meal can reduce feed costs, improve sustainability and reduce dependence on fish meal in fish farming.

Abstract

The production of European perch (*Perca fluviatilis*) has become notably refined, with numerous physiological and nutritional studies conducted in recent years. However, it is still an expensive undertaking due to the high amount of animal protein required in the feed. Therefore, we investigated the possibility of using hemp meal (HM) as an alternative source of protein in extruded feed for perch reared in recirculating aquaculture systems



Academic Editors: Antonio Jesús Vizcaino Torres and Francisco Javier Alarcón López

Received: 19 January 2026

Revised: 12 February 2026

Accepted: 15 February 2026

Published: 18 February 2026

Copyright: © 2026 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 \(CC BY\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/) license.

(RASs). Perch fry (initial body weight of 68.1 g) was divided into four groups (HM0, HM10, HM20, HM30; 100 fish in each) and fed with diets containing different levels of HM (0, 10, 20 or 30%, respectively) for 10 weeks. Overall, dietary inclusion of HM did not affect body parameters, muscle composition, or blood parameters, nor did it cause any serious histopathological lesions. Nonetheless, basic production indices (SGR, FCR, PER) all peaked in the HM20 group, and predominantly positive changes in intestinal mucosa were found in all three HM-inclusion groups. Furthermore, the expression patterns of several genes in the intestine and liver were different in groups HM20-30 than in HM0-10. Lastly, hepatic activities of alkaline phosphatase (ALP) and glutathione peroxidase (GPX) diminished with increasing dietary HM inclusion levels. In summary, there were no negative effects of HM on the homeostasis of studied fish or, more specifically, the physiology of their digestive organs. When accounting for minor tendencies in the results, the dietary inclusion of hemp meal at 20% turned out to be the most promising fish meal alternative for the European perch.

Keywords: blood biochemistry; digestive enzymes; fish meal replacement; gene expression; histology; plant protein

1. Introduction

The aquaculture industry remains the leading global consumer of fish meal (FM), even despite its decreasing use in fish and shellfish feed in recent decades [1]. Traditionally, FM has accounted for about 68% of the global supply of protein for aquafeed formulation, mostly due to its favorable amino acid profile, but also the contents of essential fatty acids, nucleotides, phospholipids, minerals, as well as water- and fat-soluble vitamins. All of this contributes to increased palatability and digestibility of feed [2]. However, FM is becoming decreasingly available because it originates from catch fisheries, where the overexploitation of wild stocks along with ongoing climate change (e.g., increasing frequency of the El Niño phenomenon) not only limit the final yield, but also drive the cost of FM. Therefore, it is essential for the future development of aquaculture to search for long-term sustainable, alternative sources of protein, and incorporate them in produced feed [3]. They can come from both plants and animals (e.g., insects [4]), and there are also possibilities to use bacteria or fungi [5]. The relevance of such dietary ingredients, however, depends on their chemical composition and how it matches the nutritional demands of each species. Nevertheless, there are other risks that must be accounted for to enable the production of safe, sustainable and functional aquafeed [5].

At the turn of the millennium, the search concentrated mainly on ingredients derived from terrestrial plants [6], and significant progress in terms of incorporating them in fish feed had already been made before 2006, especially for omnivores [7]. Back then, they were the preferred replacement for FM due to their much lower prices. Unfortunately, dietary plant protein can impair the health and overall performance of fish, mainly due to anti-nutritional factors contained therein. It also upsets the balance of macronutrients and trace elements in which FM is rich [7]. Naturally, in order to achieve sustainable and efficient fish production, it is crucial to formulate diets that result in high growth rates and good health but also have low environmental impacts. However, this is especially difficult when substituting FM with unconventional and novel ingredients [8].

Industrial hemp (*Cannabis sativa*) is becoming a significant part of agriculture worldwide, with an expected compound annual growth rate of 16.1% through 2034 [9]. Its cultivated area in the European Union alone increased by 75% between 2015 and 2019. In

terms of environmental impact, hemp is valued for its prominent CO₂ binding capacity, but also for preventing soil erosion, enhancing local biodiversity, and having low pesticide requirements. Hemp fiber is used in textiles, construction, biofuel production, and many new, innovative applications, while its seeds are used for human and animal consumption. In the context of aquaculture, the inclusion of hemp seeds in striped bass (*Morone saxatilis*) feed yielded promising results [10], and there were also benefits from the use of hemp protein and oil for other commercial species, such as cobia (*Rachycentron canadum*), common carp (*Cyprinus carpio*), and Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) [11–13].

Hence, it should be acknowledged that industrial hemp is currently among the plants which are of greatest interest to aquafeed producers. Following that line of reasoning, the purpose of this study was to test the feasibility of using hemp meal (HM) as an alternative source of protein in an extruded feed for the European perch (*Perca fluviatilis*), which is an omni-carnivorous freshwater species [14] that shows high promise in the context of European aquaculture diversification [15–18].

2. Materials and Methods

2.1. Experimental Design, Feed and Fish

Hemp protein powder (defatted, milled, and sifted hemp seed cake) was the key dietary component used for experimental feed formulation (Table 1). Four isoenergetic (isoproteinous and isolipidous) extruded feeds with different HM inclusion levels (0%, 10%, 20%, 30%; Table 2) were developed and prepared at the Department of Ichthyology and Aquaculture (University of Warmia and Mazury in Olsztyn, Poland), and their proximate composition was determined with the use of standardized methodology [19]. Dry matter was assessed by drying in an oven at 105 °C for 24 h. Crude protein and fat were measured using Kjeldahl's and Soxhlet's methods, respectively. Crude ash was determined gravimetrically by measuring the loss of mass after combustion in a muffle furnace at 550 °C for 12 h. Crude fiber was estimated using the AOAC 973.18 method. Carbohydrate content (i.e., nitrogen free extract, NFE) was calculated by subtracting the five already determined components from 100%. Gross Energy (GE) in dry matter was then calculated accordingly: $GE = 0.01 \times (2.385 \times \text{protein} + 3.891 \times \text{fat} + 1.715 \times \text{NFE})$.

Table 1. Proximate composition (% of wet matter) and producers/suppliers of feed ingredients.

	Protein	Fat	Fiber	Ash	Carboh.	Product	Producer/Supplier
Hemp meal	50.0	11.2	-	-	26.6	hemp protein powder	Allive Europe, Lithuania
Fish meal	70–72	<12.0	-	10–18	28.2	FF Classic	FF Skagen, Denmark
Soybean PC	56.0	2.0	3.5	7.0	23.5	HP 300 protein concentrate	Hamlet Protein, Denmark
Wheat flour	12.0	1.5	-	-	71.0	Szymanowska (type 480)	Polskie Młyny, Poland
Fish oil	-	-	-	-	-	marine fish byproducts	ROL-PASZ, Poland
Gluten	79.4	6.0	0.0	-	6.3	made from wheat	Barentz Polska, Poland
Proglobulin	78.0	2.0	-	9.0	-	dried blood plasma protein	Darling Ingredients, USA
Blood meal	>90.0	<2.0	-	<4.0	<5.0	made from poultry	Darling Ingredients, USA
Premix	-	-	-	-	-	Dolmix Pstrag 1.5%	DOLFOS, Poland

For the experiment, 400 domesticated European perches with an average initial body weight (IBW) of 68.1 g were obtained from the pond farm of the Fishery Experimental Plant in Żabieniec (Poland). They were evenly distributed into eight tanks (0.3 m³) of a recirculating aquaculture system (RAS) and divided into four feeding groups, two tanks each (i.e., 2 × 50 fish; mean IBW for tanks ranged 65.4–74.6 g). Water parameters were controlled

daily at the outflow from the storage tank ($T = 20.6 \pm 0.9$ °C, $O_2 = 9.22 \pm 0.98$ mg L⁻¹, pH = 7.0 ± 0.12 , total ammonia < 0.05 mg L⁻¹, NO₂ < 0.001 mg L⁻¹). The groups were named according to the dietary inclusion level of HM in the administered feed: HM0, HM10, HM20, and HM30. The daily feeding rate equaled 1% of the estimated biomass. The experiment lasted for 10 weeks.

Table 2. Formulations and proximate composition of the experimental diets.

	HM0	HM10	HM20	HM30
Ingredients (% of dry matter)				
Hemp meal	0	10.0	20.0	30.0
Fish meal	39.5	32.3	28.2	17.7
Soybean PC	9.5	10.0	4.0	3.5
Wheat flour	20.0	18.0	17.0	15.8
Fish oil	13.3	13.0	12.5	12.5
Gluten	4.0	4.0	4.6	5.5
Proglobulin	4.0	4.0	5.0	6.0
Blood meal	4.0	4.0	4.0	5.4
Premix	5.7	4.7	4.7	3.7
Proximate composition (% of wet matter)				
Dry matter	92.6	92.7	92.6	92.6
Protein	46.0	46.0	46.0	46.0
Fat	18.0	18.0	18.0	18.0
Ash	9.1	7.7	7.2	5.4
Fiber	0.7	2.7	4.4	6.3
NFE ¹	18.8	18.3	17.0	16.9
GE ² (MJ kg⁻¹)	21.2	21.1	20.9	20.9

¹ nitrogen free extract; ² gross energy.

2.2. Sampling, Growth Indices and Proximate Composition

After the experimental period, the fish were placed in propofol solution and subjected to morphometric analysis (final body weight, FBW, and final caudal length, FCL).

Growth performance indices were determined as follows:

- Fulton's condition factor (K) = $100 \times (\text{FBW} \times \text{FCL}^{-3})$;
- Viscerosomatic index (VSI) = $100 \times (\text{weight of viscera} \times \text{FBW}^{-1})$;
- Hepatosomatic index (HSI) = $100 \times (\text{weight of liver} \times \text{FBW}^{-1})$;
- Specific growth rate (SGR) = $100 \times [(\ln \text{ mean FBW} - \ln \text{ mean IBW}) \times \text{days}^{-1}]$;
- Feed conversion ratio (FCR) = $\text{feed intake} \times \text{weight gain}^{-1}$;
- Protein efficiency ratio (PER) = $\text{weight gain} \times \text{crude protein fed}^{-1}$.

Then, tissue samples were obtained for different analyses and fixed accordingly.

For the proximate analysis of muscles, 15 fish from each tank were fileted and skinned. The muscles of five fish were then pooled to constitute one sample (three per tank, $n = 6$). The dry matter, crude protein, fat, and ash contents of muscles were all determined using standard methods, as described above for feed composition analysis.

For blood biochemistry, blood samples from five fish per tank ($n = 10$) were collected from the caudal vein using a syringe, then immediately centrifuged for 30 s at 15,800 rpm and the supernatant was frozen in -80 °C. Meanwhile, different pieces of liver, anterior

and posterior intestine were collected from five fish per tank ($n = 10$) for histological, gene expression and enzymatic analyses. Tissues for histology were fixed in Bouin's fluid for 24 h, then kept 70% ethanol in 4 °C. Lastly, samples for both genetic and enzymatic analyses were immediately frozen in liquid nitrogen, and were stored in −80 °C.

2.3. Blood Biochemistry

Blood plasma was analyzed using a Catalyst Dx chemical analyzer (Idexx Laboratories, Westbrook, ME, USA) on dedicated test slides (custom panels). The following parameters were assessed: total protein (TP), albumin (ALB), globulins (GLOB), glucose (GLU), total cholesterol (TC), triglycerides (TG), alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), and alkaline phosphatase (ALP). Each plasma sample was thawed only once at room temperature, and all measurements were performed simultaneously to eliminate multiple freeze/thaw cycles.

2.4. Histological Analysis of Digestive Organs

Intestinal and hepatic samples were subjected to standard histological processing, and the prepared paraffin blocks were cut to a thickness of 6 µm. The slides were then stained using AB-PAS (Alcian blue combined with periodic acid and Schiff's reagent) for identification of hepatic lipid deposition, as well as identification of acidic and neutral mucous cells in the intestine [20], as well as with PAS only, for assessment of accumulated hepatic glycogen. The stained slides were used for histomorphometric evaluation using a Nikon Eclipse Ni-E microscope with NIS Elements v. 5.30.00 image analysis software (Nikon Corporation, Tokyo, Japan).

The following parameters were measured manually in the intestine: the height of mucosal folds of the anterior (AFH) and posterior (PFH) sections, the width of middle lamina in the anterior (AWLP) and posterior (PWLP) sections, the height of enterocytes in the anterior (AEH) and posterior (PEH) sections, and the height of their supranuclear part in the anterior (ASH) and posterior (PSH) sections [21]. The parameters were measured 20 times in each of the 10 sampled individuals per group ($n = 200$).

In the liver, hepatocyte area (HA) and nuclear area (HNA) were measured by taking 100 measurements from each of the 10 individuals per group ($n = 1000$). The hepato-nuclear index (HNI) was also calculated for each measured cell [22]. Meanwhile, the quantification of lipid and glycogen deposits was performed automatically using ImageJ v. 1.53k [23]. Ten images of each hepatic parenchyma were taken uniformly using the same optical settings and magnification (field of view size of 0.084 mm²); this principle was applied to both the AB-PAS and PAS-stained slides ($n = 100$ for each). A common threshold for white areas was established using AB-PAS images (lipid deposition, LD), and the same was done separately for the magenta color in the PAS-stained images (glycogen deposition, GD). The results of both analyses were expressed as % values of the entire field of view.

2.5. Gene Expression Analysis of Digestive Organs

Total mRNA was extracted from enteric and hepatic samples using a NucleoSpin RNA kit (Macherey-Nagel, Düren, Germany, cat. 740955.50). The yield of isolated RNA was estimated spectrophotometrically (NanoDrop Technologies, Wilmington, DE, USA), and its integrity was evaluated electrophoretically (separation on a 1% agarose gel with ethidium bromide). Afterwards, 1 µg of total RNA was used as starting material for cDNA synthesis (Maxima First Strand cDNA Synthesis Kit for RT-qPCR, with dsDNase; Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). The expression levels of five housekeeping genes (*actb*, *gapdh*, *gusb*, *hprt1* and *b2m*), six genes of interest in the intestine (*il1b*, *il6*, *slc15a1b*, *slc27a4*, *pparaa* and *fads2*) and five in the liver (*slc15a1b*, *slc27a4*, *pparaa*, *fads2* and *leptin-like*) were assessed using primers specifically designed in the Primer-Blast online

software, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>, accessed on 14 February 2026; (National Library of Medicine, Bethesda, MD, USA), which were synthesized by Nexbio (Lublin, Poland). All necessary information about the studied genes and primers was compiled in Table 3. Real-time qPCR was carried out using components from a kit (HOT FIREPol EvaGreen qPCR Mix Plus, no ROX; Solis BioDyne, Tartu, Estonia, cat. 08-25-00020) and HMLC-grade oligonucleotide primers. The total reaction volume of 15 µL contained: 3 µL Master Mix, 2 × 0.225 µL primers (0.225 mM), 10.05 µL RNase free water and 1.5 µL of cDNA template. A Rotor Gene 6000 thermocycler (Corbett Research, Mortlake, Australia) was used and the amplification was carried out using the following protocol: (1) one cycle at 95 °C for 15 min (enzyme activation); (2) 35 cycles of 95 °C for 10 s (denaturation), 59 °C for 20 s (annealing) and 72 °C for 10 s (elongation); (3) one cycle at 72 °C for 7 min (product stabilization). The melting curve was performed over 70–95 °C at 0.5 °C intervals. Negative controls (no cDNA template) were included for each reaction, and the identities of PCR products were confirmed through direct sequencing (Nexbio). The mean expression of all five housekeeping genes was used to normalize the expression of the analyzed genes of interest.

Table 3. Oligonucleotide primer sequences for RT-qPCR.

Gene	Full name of Gene	GenBank No.	Sequence 5' → 3'	Amplicon bp
<i>il1b</i>	interleukin 1, beta	XM_039779729.1	TGACTTCGACCTGTCTCAAGC ATCCTGAACGTCGTTGTGT	94
<i>il6</i>	interleukin 6,	XM_039821186.1	GAGTACCCCGGCAACTCAAT GCCACGGTTTCTCATCTTTCG	90
<i>slc15a1b</i>	solute carrier family 15 member 1b	XM_039793389.1	GAGCACTGTAGGTCAAGCGA AGGTAATCCTCATTGGCCCTG	111
<i>slc27a4</i>	solute carrier family 27 member 4	XM_039780588.1	TATCTTCGAGGGGACTGGGG CCACCACGTCACCATCCTTA	110
<i>pparaa</i>	peroxisome proliferator-activated receptor alpha a	XM_039791719.1	GAGAGTTTCAGCCCCCTCAA CTTCTGAAGAAACCCTTGCAGC	107
<i>fads2</i>	fatty acid desaturase 2	XM_039808830.1	CCATGATTTCGCCGTCAG CGTGACTCTCCAAAATCCTGATGA	141
<i>leptin-like</i>	leptin-like	XM_039809530.1	TGCTGCACGTTTGTAGTGTG GACCAGTAGGGACCTGGAAG	133
Housekeeping genes				
<i>actb2</i>	actin, beta 2	XM_039824642.1	CTGCGGAATCCATGAGACCA CTGGTGGGGCAATAATCTTGA	188
<i>gapdh</i>	glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	XM_039805259.1	GGGACCCCGCTAACATCAAA CCTTCAAGTGAGCAGAAGCC	102
<i>gusb</i>	glucuronidase, beta	XM_039777627.1	GGCATCGCAGATAGTCGCAG AGAGGCATGTTCTTGTCCC	96
<i>hprt1</i>	hypoxanthine phosphoribosyltransferase 1	XM_039813961.1	TTGACGGGCAAGAATGTCCT CTGGTCGGTAGCCAACACTT	157
<i>b2m</i>	beta-2-microglobulin-like	XM_039791199.1	CTTCAACAGCCAAAGAATCGCC CACGTGACAGATGAGGGTGT	92

2.6. Analysis of Hepatic Enzymes

Frozen liver samples were homogenized in distilled water and centrifuged at 14,000 g for 10 min at 4 °C. The activity of alkaline phosphatase (ALP) was tested with a SPINRE-ACT (Girona, Spain, cat. 41242) kit, while glutathione peroxidase (GPX) and superoxide

dismutase (SOD) were tested with RANDOX (Crumlin, United Kingdom, cat. S504 and D125) kits. To standardize enzymatic activity, the total protein concentration of the samples was measured according to the common Lowry method. Enzymatic activity measurements were carried out according to the instructions provided. Each sample was analyzed in triplicate at 37 °C, and enzyme activity was expressed as the number of micromoles of reaction product per minute in one gram of protein (U g^{-1} of protein). The analyses were performed in 96-well plates using an Infinite 200 Pro spectrophotometer (Tecan, Grödig, Austria).

2.7. Statistical Analysis

The obtained datasets were subjected to normality (Shapiro–Wilk) and homogeneity (Levene) tests. Consequently, the Kruskal–Wallis test with Dunn’s test for multiple comparisons (muscle composition, blood plasma indices, gene expression, hepatic enzymes) or One-Way ANOVA with Fisher’s post hoc test (FBW, FCL, K, VSI, HSI and all histological parameters) were used to identify statistically significant differences between groups (at $p < 0.05$). The STATISTICA v. 13 software (TIBCO Software, USA) was used to perform all analyses.

3. Results

3.1. Basic Parameters and Muscle Composition

The individual fish body parameters were compiled in Table 4. Final fish size was similar in all experimental groups, as there were no significant differences in FBW and FCL. However, fish from groups HM20 and Hm30 had a significantly higher K factor than those in HM10 ($p = 0.0372$ and 0.0496 , respectively) and a significantly higher VSI than fish from HM0 ($p = 0.0385$ and 0.0306 , respectively). In contrast, fish from HM0 and HM10 had a significantly higher HSI than their counterparts in HM20 ($p = 0.0002$ and 0.0150 , respectively) and –HM30 ($p < 0.0001$ and $p = 0.0005$, respectively).

Table 4. Body parameters of European perch fed diets with different hemp meal contents.

	HM0	HM10	HM20	HM30
IBW¹ (g)	67.3 ± 2.1	67.0 ± 0.6	66.4 ± 1.4	71.9 ± 3.8
FBW² (g)	94.9 ± 0.1	92.4 ± 1.2	94.8 ± 0.6	94.9 ± 4.0
FCL³ (cm)	16.7 ± 0.1	16.8 ± 0.0	16.7 ± 0.0	16.9 ± 0.4
K factor⁴	1.99 ± 0.05 ^{ab}	1.98 ± 0.04 ^b	2.06 ± 0.08 ^a	2.06 ± 0.05 ^a
VSI⁵ (%)	8.33 ± 0.54 ^b	8.95 ± 0.2 ^{ab}	9.42 ± 1.16 ^a	9.47 ± 0.06 ^a
HSI⁶ (%)	2.44 ± 0.16 ^a	2.19 ± 0.53 ^a	1.76 ± 0.14 ^b	1.56 ± 0.26 ^b

¹ initial body weight; ² final body weight; ³ final caudal length; ⁴ Fulton’s condition factor; ⁵ viscerosomatic index; ⁶ hepatosomatic index; Results are presented as means ± SEM. ^{a,b} means with differing superscript letters are significantly different at $p < 0.05$.

The final survival rate was relatively high in all groups (93–97%) (Table 5). When accounting for the survival rate and IBW, it became apparent that the inclusion of HM in the diet affected the SGR, FCR and PER of perch in a peak-and-drop manner, as the highest values of the three indices occurred in group HM20, while the lowest occurred in HM30 (Table 5).

Lastly, there were no statistically significant differences in terms of proximate composition of muscles (Table 6).

Table 5. Growth indices of European perch fed diets with different hemp meal contents.

	HM0	HM10	HM20	HM30
Survival (%)	93.0 ± 1.4	97.0 ± 1.4	96.0 ± 0.0	95.0 ± 7.1
SGR¹ (% day⁻¹)	0.49 ± 0.04	0.46 ± 0.01	0.51 ± 0.04	0.40 ± 0.02
FI² (g)	2632 ± 88	2757 ± 9	2687 ± 126	2870 ± 195
FCR³	2.55 ± 0.50	2.45 ± 0.21	2.20 ± 0.28	3.30 ± 0.99
PER⁴	0.86 ± 0.17	0.90 ± 0.09	0.99 ± 0.11	0.70 ± 0.22

¹ specific growth rate; ² feed intake; ³ feed conversion ratio; ⁴ protein efficiency ratio. Results are presented as means ± SEM.

Table 6. Proximate composition [% of wet weight] of muscles of European perch fed diets with different hemp meal contents.

	HM0	HM10	HM20	HM30
Dry matter	23.2 ± 0.0	23.9 ± 0.0	24.1 ± 0.4	24.0 ± 0.6
Protein	20.9 ± 0.6	21.3 ± 0.5	20.9 ± 0.3	21.3 ± 0.1
Fat	1.1 ± 0.0	1.1 ± 0.0	1.1 ± 0.1	1.2 ± 0.1
Ash	1.5 ± 0.0	1.6 ± 0.0	1.6 ± 0.0	1.6 ± 0.1

3.2. Results of Blood Biochemistry

There were no statistically significant differences between groups of the studied blood parameters, and there were no emerging trends within the data (Table 7).

Table 7. Blood plasma indices of European perch fed diets with different hemp meal contents.

	HM0	HM10	HM20	HM30
TP¹ (g L⁻¹)	53.0 ± 8.6	52.4 ± 5.9	53.9 ± 7.0	53.2 ± 6.4
ALB² (g L⁻¹)	16.2 ± 3.0	16.4 ± 3.0	17.0 ± 2.8	16.6 ± 3.2
GLOB³ (g L⁻¹)	36.8 ± 7.0	36.0 ± 5.7	36.9 ± 6.6	36.5 ± 5.5
ALB/GLOB	0.5 ± 0.1	0.5 ± 0.2	0.5 ± 0.2	0.5 ± 0.2
GLU⁴ (mmol L⁻¹)	6.4 ± 2.8	5.4 ± 1.9	6.8 ± 2.9	5.8 ± 2.0
TC⁵ (mmol L⁻¹)	6.2 ± 1.0	5.8 ± 0.8	6.2 ± 0.9	5.9 ± 0.8
TG⁶ (mmol L⁻¹)	9.0 ± 2.9	8.8 ± 2.8	9.0 ± 2.8	7.9 ± 2.6
ALT⁷ (U L⁻¹)	33.5 ± 27.8	25.8 ± 26.9	39.3 ± 34.6	31.8 ± 32.5
AST⁸ (U L⁻¹)	155 ± 85	144 ± 115	170 ± 122	152 ± 111
ALP⁹ (U L⁻¹)	16.6 ± 10.6	13.7 ± 7.5	15.7 ± 8.8	15.4 ± 8.4

¹ total protein; ² albumin; ³ globulins; ⁴ glucose; ⁵ total cholesterol; ⁶ triglycerides; ⁷ alanine aminotransferase; ⁸ aspartate aminotransferase; ⁹ alkaline phosphatase. Results are means ± SD.

3.3. Results of Histological Analysis of Digestive Organs

Histological analysis revealed significant changes in the structure of the anterior intestine. No extensive histopathological changes were found, but in the HM20 and HM30 groups local degenerative changes occurred at the apexes of intestinal folds, and epithelial mucous cells were less abundant (Figure 1A–D). Compared to HM0, the AFH of the HM10–30 groups was significantly higher (all $p < 0.0001$), while their AEH was concurrently smaller (all $p < 0.0001$), and the ASH was also smaller in groups HM20 and HM30 than in HM0 and HM10 (all $p < 0.0001$). The significantly widest AWLP was found

in individuals from the HM0 group (all $p < 0.0001$), while the narrowest was found in the HM10 group (all $p < 0.0001$), with HM20 and HM30 showing intermediate values (Table 8).

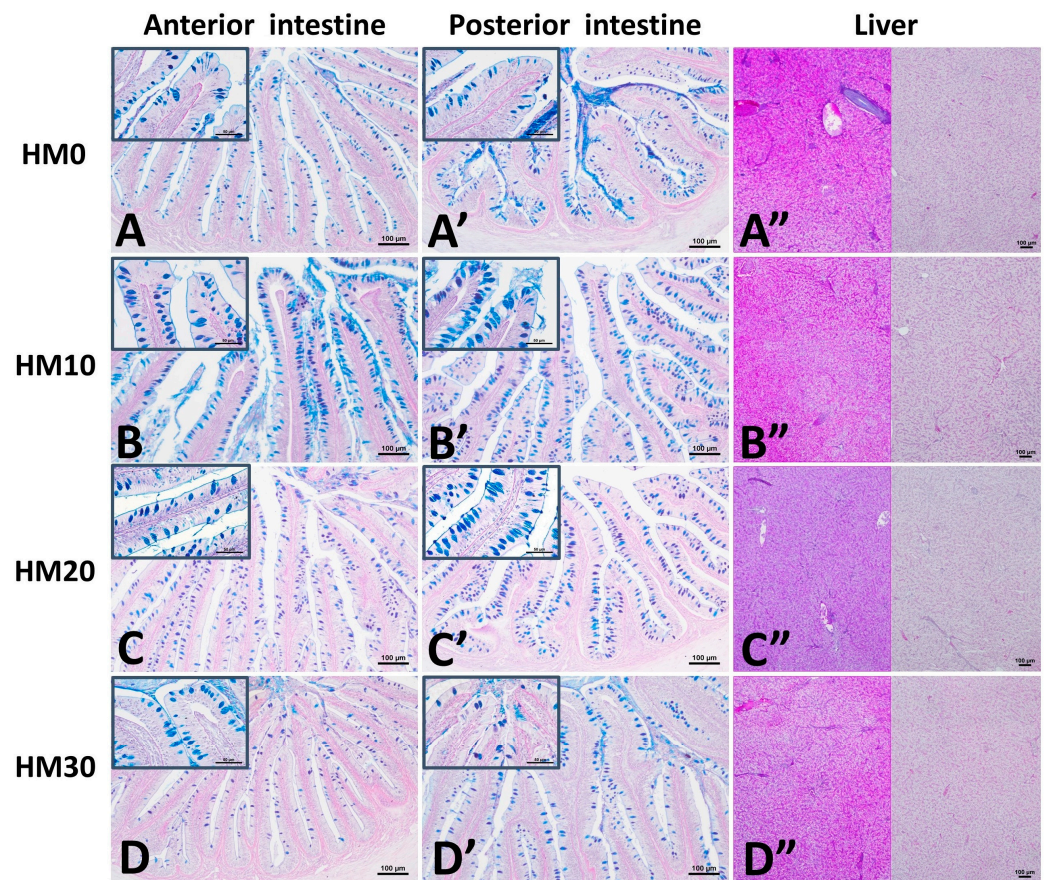


Figure 1. Histological structure of the anterior intestine (A–D), posterior intestine (A'–D') and liver (A''–D'') of European perch fed diets with different hemp meal contents. The magnified inset images reveal the structure of the intestinal epithelium with pronounced mucous cells (from light blue to dark blue). The images of the liver visualize glycogen deposition (left, magenta) and lipid deposition (right, non-stained) in the hepatic parenchyma. PAS staining (left halves of A''–D''), AB-PAS staining (all remaining images). Scale bars = 100 µm (50 µm in inlets).

The intestinal fold structure in the posterior section was like that in the anterior section (Figure 1A'–D'). The lowest PFH was found in the HM0 and HM30 groups (all $p < 0.0001$), while the highest was found in group HM10 (all $p < 0.0001$), the fish group which was also characterized by the largest PEH and PSH, as compared to HM0 ($p = 0.0016$ and $p < 0.0001$, respectively), HM20 (both $p < 0.0001$) and HM30 ($p < 0.0001$ and $p < 0.0029$). The widest PWLP occurred in HM10 and HM20, when compared to HM0 ($p = 0.0057$ and $p < 0.0001$, respectively) and HM30 (both $p < 0.0001$) (Table 8).

The livers of studied fish were characterized by highly variable deposition of both lipids and glycogen (Figure 1A''–D''). The HA found in HM20 was larger than in the other groups (all $p < 0.0001$) (Table 9). In contrary, group HM10 had a larger HN than HM20 ($p = 0.0006$). The HNI of group HM20 was lower than that of HM0 ($p < 0.0001$), HM10 ($p < 0.0001$) and HM30 ($p = 0.0052$). Meanwhile, the LD of group HM30 was lower than in HM0 ($p = 0.0002$), HM10 ($p < 0.0001$) and HM20 ($p < 0.0001$). Lastly, the GD was the highest in HM0 (all $p < 0.0001$), while in HM10 it was also lower than in HM20 and HM30 (both $p < 0.0001$) (Table 9).

Table 8. Histological parameters of intestines of European perch fed diets with different hemp meal contents.

	HM0	HM10	HM20	HM30
AFH ¹ (μm)	695.56 ± 81.43 ^b	816.51 ± 96.15 ^a	822.64 ± 97.17 ^a	805.93 ± 114.83 ^a
AEH ² (μm)	37.28 ± 3.16 ^a	33.91 ± 2.65 ^b	33.63 ± 3.50 ^{bc}	32.66 ± 3.16 ^c
ASH ³ (μm)	18.30 ± 2.40 ^a	18.52 ± 2.24 ^a	15.97 ± 2.12 ^b	15.65 ± 2.26 ^b
AWLP ⁴ (μm)	15.54 ± 5.38 ^a	10.80 ± 3.10 ^d	12.74 ± 3.60 ^c	13.96 ± 2.62 ^b
PFH ⁵ (μm)	487.15 ± 90.12 ^c	693.46 ± 77.71 ^a	621.73 ± 96.36 ^b	515.77 ± 80.33 ^c
PEH ⁶ (μm)	38.96 ± 4.44 ^b	41.71 ± 3.84 ^a	37.54 ± 3.15 ^c	37.94 ± 3.34 ^c
PSH ⁷ (μm)	17.05 ± 2.64 ^c	19.51 ± 2.67 ^a	17.35 ± 1.77 ^c	18.10 ± 3.46 ^b
PWLP ⁸ (μm)	12.05 ± 2.01 ^b	13.13 ± 1.98 ^a	13.60 ± 2.36 ^a	11.16 ± 4.09 ^c

Parameters of anterior intestine: ¹ fold height, ² enterocyte height, ³ enterocyte supranuclear height, ⁴ width of the lamina propria; parameters of posterior intestine: ⁵ fold height, ⁶ enterocyte height, ⁷ enterocyte supranuclear height, ⁸ width of the lamina propria; Results are presented as means ± SD. ^{a,b,c} means with differing superscript letters are significantly different at $p < 0.05$.

Table 9. Histological parameters of the liver of perch fed diets with different hemp meal contents.

	HM0	HM10	HM20	HM30
HA ¹ (μm ²)	230.47 ± 81.38 ^b	224.79 ± 61.96 ^b	258.21 ± 105.23 ^a	200.87 ± 106.02 ^c
HN ² (μm ²)	25.29 ± 5.81 ^{ab}	25.81 ± 6.86 ^a	24.34 ± 5.45 ^b	24.93 ± 5.58 ^{ab}
HNI ³ (%)	12.37 ± 5.57 ^a	12.27 ± 4.52 ^a	10.80 ± 4.59 ^b	11.76 ± 4.78 ^a
LD ⁴ (%)	43.62 ± 9.38 ^a	46.76 ± 13.21 ^a	47.21 ± 11.10 ^a	36.65 ± 6.76 ^b
GD ⁵ (%)	34.66 ± 4.63 ^a	23.69 ± 3.15 ^c	30.17 ± 4.07 ^b	30.72 ± 3.40 ^b

¹ total area of hepatocytes, ² nuclear area of hepatocytes, ³ hepato-nuclear index, ⁴ lipid deposition, ⁵ glycogen deposition. Results are presented as means ± SD. ^{a,b,c} means with differing superscript letters are significantly different at $p < 0.05$.

3.4. Results of Gene Expression Analysis of Digestive Organs

In the anterior intestine, the expressions of the *il6* and *ppara* genes were significantly lower in groups HM20 and HM30 than in HM0 ($p = 0.0089$ and 0.0012 for HM20; $p = 0.0015$ and 0.0030 for HM30) and HM10 ($p = 0.0007$ and 0.0003 for HM20; $p = 0.0001$ and 0.0008 for HM30) (Figure 2A). The expression of *slc27a4* was also significantly higher in HM10 than in HM20 ($p = 0.0002$) and HM30 ($p = 0.0247$), and in HM0 it was also higher than in HM20 ($p = 0.0030$). In the posterior intestine, the expression of *slc15a1b* was several-fold higher in all four groups when compared to the transcript levels of the remaining studied genes, and it was significantly lower in group HM10 than in HM20 ($p = 0.0032$) and HM30 ($p = 0.0466$) (Figure 2B).

The hepatic expression of *ppara* was significantly lower in HM0 and HM10 when compared to HM20 ($p = 0.0009$ and 0.0143 , respectively) and HM30 ($p = 0.0003$ and 0.0067 , respectively) (Figure 3A).

3.5. Results of Analysis of Hepatic Enzymes

The activity of ALP was significantly lower in groups HM20 ($p = 0.0031$) and HM30 ($p = 0.0109$) when compared to HM10 (Figure 3B). The activity of GPX was lower in HM30 than in HM0 ($p = 0.0003$) and HM10 ($p = 0.0033$). The activity of SOD remained similar.

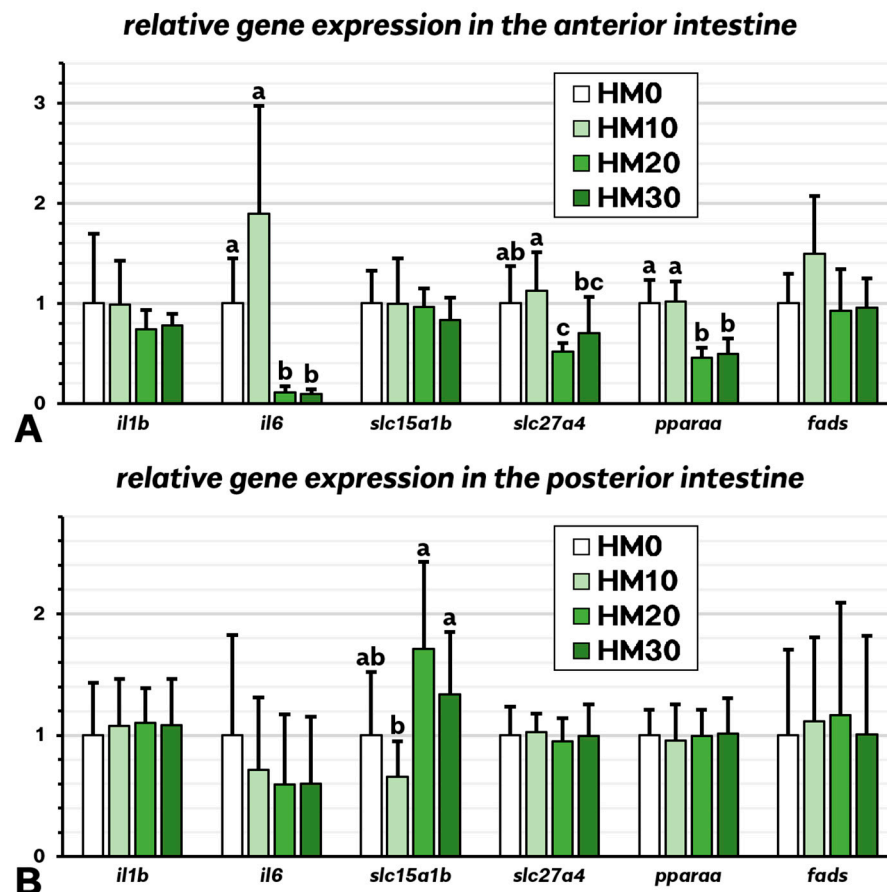


Figure 2. Normalized gene expression of European perch fed diets with different hemp meal contents: (A) in the anterior intestine, (B) in the posterior intestine, relatively to the mean of group HM0. ^{a,b} means with differing superscript letters are significantly different at $p < 0.05$.

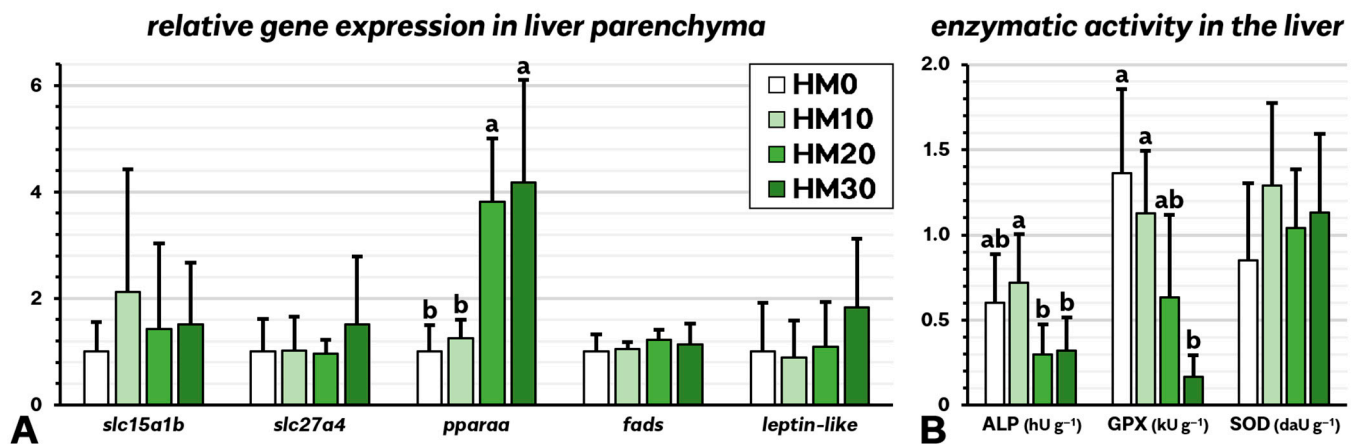


Figure 3. Normalized gene expression, relatively to the mean of group HM0 (A) and enzymatic activity (B) in the liver of European perch fed diets with different hemp meal contents. ^{a,b} means with differing superscript letters are significantly different at $p < 0.05$.

4. Discussion

Due to its alleged beneficial properties, industrial hemp has recently attracted the attention of feed producers, and the European Food Safety Authority's (EFSA) Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed (FEEDAP) opinionated that hemp seed (and cake) can be used in animal nutrition [24]. In fact, many relevant studies were already carried out on livestock, e.g., broiler chickens [25], but there is little

available data when it comes to the use of hemp products in fish diets. Hemp seeds are indeed a rich source of essential amino acids (especially arginine), and contain significant amounts of vitamin E, magnesium, phosphorus, potassium, iron, or zinc. By weight, hemp flour has high carbohydrate (50%) and protein (35%), and low fat (10%) contents, while further processed hemp meal (post oil extraction) can contain up to 70% protein [26]. *Cannabis sativa* seeds also contain cannabinoids, alkaloids, polyphenols and flavonoids, all of which contribute to their high antioxidant, anti-inflammatory, antimicrobial and immunomodulatory properties. Hemp seed-based diets improve animal memory and expression levels of anti-aging genes, while their polyunsaturated and omega-3 fatty acids contribute to lower cholesterol levels, preventing heart disease [27].

Dietary HM inclusion at up to 30% did not significantly affect the survival or growth rates of the European perch in the current study; however, the rearing indices (SGR, FER, PER) peaked for the 20% HM diet. In comparable experiments performed on juvenile fish, similar improvements were found for common carp fed a 10% hemp cake diet [12], striped bass given a 13% HM diet (20% FM replacement) [10], and cobia fed a 37.5% HM diet (40% FM replacement) [11]. In contrast, a 20% HM diet slightly restricted the growth of hybrid striped bass (*Morone chrysops* × *M. saxatilis*), but its proximate composition of muscles was unaffected [28], exactly as in the studied *P. fluviatilis*. Intriguingly, perch fed with the 20–30% FM feeds were characterized by higher VSI and K indices, and lower HSI. In the cobia study [11], the HSI and fat contents (muscle and whole-body) were raised due to the 37.5% HM diet, while protein and ash contents were reduced. In comparison, striped bass which were given a 13% HM diet showed slightly higher HSI and whole-body protein, and lower fat content [10]. All these contradictory results suggest that dietary HM affects basic body parameters of fish in a species-specific manner, rather than following a consistent pattern, implying that the underlying mechanisms are more complicated than initially presumed. However, HM processing, such as defatting, could also be the reason for such differing outcomes.

Biochemical analysis of blood serum is a preliminary diagnostic tool, which allows us to assess the physiological and nutritional state of fish [29]. Serum proteins have a wide range of functions, which is why total protein is a very revealing blood parameter [30], whereas triglyceride and cholesterol levels also reflect metabolic alterations [31]. Meanwhile, activity spikes of enzymes such as ALT, AST, or ALP point towards impaired liver function [32]. In this context, it appears that dietary inclusion of HM neither improved nor worsened the condition of European perch, as it did not have any significant effects on the studied plasma parameters [13,33,34].

Imbalanced nutrition and/or anti-nutritional factors in the diet change the morphology of intestinal mucosa of fish, impeding nutrient digestion and absorption, which can be assessed using histological methods. Common negative markers include: (a) height decreases in intestinal folds and supranuclear areas of enterocytes, (b) the widening of lamina propria, (c) an increase in the numbers of mucosal cells, and (d) an infiltration of immune cells into the epithelium [35]. In the studied perch juveniles, intestinal folds became longer in both the anterior and posterior sections in the two groups fed diets with 10% and 20% HM inclusion. In consequence, their mucosal surface likely became augmented, which usually improves feed utilization by enhancing the breakdown and pickup of nutrients [36,37]. Similar changes were observed in the posterior intestine of sharpsnout sea bream (*Diplodus puntazzo*) fed diets containing up to 48% pea protein concentrate [38]. This is truly important, because shortening of mucosal folds in the posterior intestine would have indicated an inflammatory state, as that part of the tract has additionally prominent immune functions [36]. In contrast, intestinal fold height was unaffected by high inclusion levels of soybean protein in the diets of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [39],

meagre (*Argyrosomus regius*) [40], and gilthead seabream (*Sparus aurata*) [41]. Meanwhile, even though the absorptive supranuclear area of enterocytes in the anterior intestine was much diminished in the HM20-30 groups, it was improved in the posterior intestine in groups HM10 and HM30. The latter observation opposes the results of the rainbow trout study [39], as well as those of a feeding experiment on Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) with lupin-containing diets [42]. Furthermore, shorter ASH was also found in our previous study on perch juveniles fed a FM diet containing 46% protein [43], which ultimately was deemed the most adequate of the tested compositions, with the current dietary formulations completed in accordance with those conclusions. Hence, it can be stated that the results of histological measurements in the intestine were generally favorable for the HM-containing feeding groups.

Histological measurements of hepatocytes are indirect markers of the liver's condition, with changes in cellular area being a result of lipid and/or glycogen accumulation levels [44], and with larger nuclei being an implication of improved total gene transcription rates [45]. In this context, the changes which occurred in the studied perch livers due to dietary HM inclusion were not severe; however, the changes in hepatocyte nuclear and cellular areas trended negatively in the HM20 group. Notably, the control group HM0 had the highest level of accumulated glycogen, while the lipid levels were significantly reduced only in the HM30 group. In comparison, hepatocyte glycogen storage increased in yellow perch (*Perca flavescens*) when a wheat gluten protein-based diet was supplemented with a lysine-glycine dipeptide, yet diminished (and lipid storage too) when both amino acids were added freely to the diet [46].

Increased expression of genes encoding pro-inflammatory cytokines, such as *il1b* and *il6*, relates to the activation of innate immunity in response to, e.g., infections, but also commonly occurs in fish fed low-FM diets [47]. However, in our study, there were no differences in the expression of *il1b*, while the *il6* expression was significantly reduced in the anterior (groups HM20-30) and also slightly in the posterior (HM10-30) parts of the intestines of fish fed diets with lower FM contents than the control group HM0. These observations are very consistent with *il1b* and *il6* levels reported in the anterior intestine of gilthead seabream offered a diet based on a mixture of plant meals [47]. On the other hand, diets based on raw or fermented soybeans brought an increase in the expression of pro-inflammatory cytokines in the posterior intestine of turbot (*Scophthalmus maximus*) [48]. Meanwhile, the expression of *slc15a1b*, encoding the membrane-bound peptide transporter PEPT1b, which plays an important role in intestinal absorption [49], was raised in the posterior intestine in perch groups fed with diets containing 20-30% HM. Similarly, this gene's expression increased in both the anterior and posterior intestine of rainbow trout four hours after feeding with a low FM diet [50], although a plant meal-based diet slightly reduced the expression of this gene in the anterior intestine of gilthead seabream [47]. Meanwhile, the expression of two genes important for the metabolism of fatty acids, *slc27a4* and *ppara* [51,52], decreased in the anterior intestines of fish from groups HM20-30, suggesting that their absorption rate of lipids diminished due to the higher HM inclusion in their diets. In comparison, the expression of both these genes increased in the pyloric caeca of Atlantic salmon (*Salmo salar*) post-smolts offered a diet with plant meal and supplementary soy saponin [53]. Moreover, there were no differences between perch groups in both intestinal and hepatic expression of the fatty acid desaturase-encoding gene *fads*, contrasting with the results of studies on the gilthead seabream and Atlantic cod (*Gadus morhua*), both of which were given diets with 100% vegetable oils [54,55]. Furthermore, a diet composed entirely of plant protein and oil increased the intestinal and hepatic expression of *fads* in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) [56]. In perch livers, the only significant difference among the studied genes occurred for the expression of *ppara*, which was raised

in groups HM20–30. In reference, although the hepatic *ppara* levels of the Atlantic salmon fed with a plant-based diet were not altered, its *slc27a4* expression did increase [53], similar to the trend observed in our study in the HM30 group.

In the liver, antioxidative enzymes such as GPX and SOD, as well as the metabolic-oriented ALP, are negative markers of inflammation and stress [57,58]. For example, in common carp, increasing dietary supplementation levels with a crude leaf extract of *C. sativa* reversely lowered the hepatic activity of ALP [59], while the dietary addition of lactic acid reduced the activity of GPX [60]. Hence, as the hepatic ALP and GPX activities decreased in perch groups fed with the 20–30% HM-containing diets, and SOD remained relatively constant throughout, it can be concluded that the dietary addition of HM was beneficial in terms of this organ's homeostasis.

5. Conclusions

In summary, based jointly on the results of all performed analyses, it was concluded that the dietary addition of hemp meal did not impede the development of juvenile European perch and had no profoundly negative effects on the homeostasis of its digestive organs. Undeniably, further research is still required to assess the effects of such dietary plant protein on this generally carnivorous species, for instance when administered during its different life stages. Different feed components (e.g., lipid sources) should also be tested in combination with the hemp meal. Nevertheless, the trends observed within the data suggest that the 20% inclusion level of hemp meal in the feed (approx. 30% fish meal replacement rate) was the most adequate for the species among the tested dietary formulations. It is worth noting that this approach could also potentially reduce feed costs, as demonstrated for intensively cultured common carp [61]. It also aligns with a broader trend of using agricultural and food industry by-products as feed ingredients (i.e., following the principles of circular economy), and would also reduce the pressure exerted on wild fish stocks [62]. However, the use of such raw materials requires strict quality control (e.g., nutritional profile, assessment of antinutrients and chemical contaminants), as their composition and safety can vary significantly depending on their origin and processing technology [63].

Author Contributions: Conceptualization, W.C., P.G., K.P.-Ż., D.Ż., S.K., J.K. and M.K.; Methodology, D.A.-U., M.W. (Maciej Wójcik), M.W. (Małgorzata Woźniak), and J.K.; Formal analysis, W.C., D.A.-U., M.W. (Maciej Wójcik), J.B., H.B., K.K., J.M., A.S., H.S. and J.Ś.; Investigation, W.C., D.A.-U., J.B., H.B., K.K., J.M., A.S., H.S., M.W. (Małgorzata Woźniak), J.Ś. and K.P.-Ż.; Resources, J.K., M.K. and S.K.; Data curation, W.C., D.A.-U., R.K. and D.Ż.; Writing—original draft preparation, W.C., D.A.-U. and M.K.; Writing—review and editing, R.K.; Visualization, D.A.-U. and R.K.; Supervision, M.K.; Project administration, J.K. and M.K.; Funding acquisition, P.G., J.K. and M.K. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This study was a part of the project titled “Diversification of the productive function of earthen ponds based on semi-intensive rearing of *Perca fluviatilis*—PROPERCH” (project no. 00002-6521.1-OR1400004/17/20), founded by the European Union through the Operational Program “Fisheries and Sea (2014–2020)”, The Agency for Restructuring and Modernization of Agriculture (ARMA) of Poland.

Institutional Review Board Statement: The animal study protocol was approved by the Local Ethical Committee for Animal Experiments in Olsztyn (Poland) (LKE 34/2022, dated 8 November 2022).

Data Availability Statement: The raw data supporting the conclusions of this article will be made available by the authors on request.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflicts of interest.

References

1. Stadtländer, T.; Tschudi, F.; Seitz, A.; Sigrist, M.; Refardt, D.; Leiber, F. Partial Replacement of Fishmeal with Duckweed (*Spirodela polyrrhiza*) in Feed for Two Carnivorous Fish Species, Eurasian Perch (*Perca fluviatilis*) and Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquac. Res.* **2023**, *2023*, 6680943. [\[CrossRef\]](#)
2. Galkanda-Arachchige, H.S.C.; Wilson, A.E.; Davis, D.A. Success of fishmeal replacement through poultry by-product meal in aquaculture feed formulations: A meta-analysis. *Rev. Aquac.* **2020**, *12*, 1624–1636. [\[CrossRef\]](#)
3. Mugwanya, M.; Dawood, M.A.O.; Kimera, F.; Sewilam, H. Replacement of fish meal with fermented plant proteins in the aquafeed industry: A systematic review and meta-analysis. *Rev. Aquac.* **2023**, *15*, 62–88. [\[CrossRef\]](#)
4. Tran, H.Q.; Nguyen, T.T.; Prokešová, M.D.; Matoušek, J.; Tomčala, A.; Van Doan, H.; Kiljunen, M.; Stejskal, V. Insight into bioavailability of various insect meals for European perch (*Perca fluviatilis*): A nutritional and stable isotopic evaluation. *Aquaculture* **2023**, *563*, 738912. [\[CrossRef\]](#)
5. Glencross, B.D.; Baily, J.; Berntssen, M.H.G.; Hardy, R.; MacKenzie, S.; Tocher, D.R. Risk assessment of the use of alternative animal and plant raw material resources in aquaculture feeds. *Rev. Aquac.* **2020**, *12*, 703–758. [\[CrossRef\]](#)
6. Aragão, C.; Gonçalves, A.T.; Costas, B.; Azeredo, R.; Xavier, M.J.; Engrola, S. Alternative Proteins for Fish Diets: Implications beyond Growth. *Animals* **2022**, *12*, 1211. [\[CrossRef\]](#)
7. Hardy, R.W. Utilization of plant proteins in fish diets: Effects of global demand and supplies of fishmeal. *Aquac. Res.* **2010**, *41*, 770–776. [\[CrossRef\]](#)
8. Langeland, M. Nutrition of Arctic Charr (*Salvelinus alpinus*) and Eurasian Perch (*Perca fluviatilis*) and Evaluation of Alternative Protein Sources. Ph.D. Thesis, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Sweden, 2014.
9. Trivedi, P. *Cannabidiol Market Size, Share, Trends, & Industry Analysis Report by Product (CBD Oil, CBD Isolates), by Application, by Source, by Region—Market Forecast, 2025–2034*; Polaris Market Research: Dover, DE, USA, 2025.
10. Sample, A. Evaluation of Hemp Seed Meal as a Fish Meal Replacement Through Growth and Digestibility Trials in Striped Bass (*Morone saxatilis*). Master's Thesis, Bowling Green State University, Bowling Green, OH, USA, 2018.
11. Lunger, A.N.; McLean, E.; Craig, S.R. The effects of organic protein supplementation upon growth, feed conversion and texture quality parameters of juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). *Aquaculture* **2007**, *264*, 342–352. [\[CrossRef\]](#)
12. Malý, O.; Mareš, J.; Palisek, O.; Sorf, M.; Poštulková, E. Use of by-products from hemp processing in the nutrition of common carp (*Cyprinus carpio* L.). In Proceedings of the 25th International PhD Students Conference (Mendelnet 2018), Brno, Czech Republic, 7–8 November 2018; pp. 165–170.
13. Saoud, I.P.; Babikian, J.; Nasser, N.; Monzer, S. Effect of cannabis oil on growth performance, haematology and metabolism of Nile Tilapia *Oreochromis niloticus*. *Aquac. Res.* **2018**, *49*, 809–815. [\[CrossRef\]](#)
14. Ning, N.; Barlow, C.; Baumgartner, L.J.; Bretzel, J.B.; Doyle, K.E.; Duffy, D.; Price, A.; Vu, A.V. A global review of the biology and ecology of the European perch, *Perca fluviatilis*. *Rev. Fish Biol. Fish.* **2025**, *35*, 587–618. [\[CrossRef\]](#)
15. Palińska-Żarska, K.; Król, J.; Woźny, M.; Kamaszewski, M.; Szudrowicz, H.; Wiechetek, W.; Brzuzan, P.; Fopp-Bayat, D.; Żarski, D. Domestication affected stress and immune response markers in *Perca fluviatilis* in the early larval stage. *Fish Shellfish Immunol.* **2021**, *114*, 184–198. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
16. Bochert, R. Comparative performance, biochemical composition, and fatty acid analysis of Eurasian perch (*Perca fluviatilis*) during grow-out in RAS fed different commercial diets. *J. Appl. Aquac.* **2022**, *34*, 208–222. [\[CrossRef\]](#)
17. Hakuć-Błażowska, A.; Turkowski, K.; Czarkowski, T.K.; Żarski, D.; Krejszeff, S.; Król, J.; Kupren, K. Optimizing Eurasian Perch Production: Innovative Aquaculture in Earthen Ponds Using RAS and RAMPS—Economic Perspective. *Animals* **2024**, *14*, 3100. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
18. Pěnka, T.; Tellbüscher, A.A.; Mráz, J.; Policar, T.; Roy, K. Aquaculture nutrition of perch and pikeperch: An analysis for European percid aquaculture. *Aquaculture* **2025**, *606*, 742589. [\[CrossRef\]](#)
19. AOAC INTERNATIONAL. *Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL*, 22nd ed.; Latimer, G.W., Jr., Ed.; Oxford University Press: New York, NY, USA, 2023.
20. Adamek-Urbańska, D.; Kasprzak, R.; Tyszkiewicz, M.; Fisher, K.; Dabrowski, K. Negative effects of artificial diets on growth and the digestive tract of 1-month-old Redhead cichlid (*Vieja melanura*, Günther, 1862). *Aquac. Res.* **2021**, *52*, 4889–4896. [\[CrossRef\]](#)
21. Szczepański, A.; Adamek-Urbańska, D.; Kasprzak, R.; Cieśla, W.; Szudrowicz, H.; Piotrowska, I.; Gomułka, P.; Kawalski, K.; Martynow, J.; Łosiewicz, B.; et al. Effects of a 1.5-year dietary inclusion of white lupin meal (*Lupinus albus*) on Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) performance. *J. Anim. Feed Sci.* **2025**, *34*, 476–490. [\[CrossRef\]](#)
22. Kasprzak, R.; Ostaszewska, T.; Kamaszewski, M. Effects of feeding commercial diets on the development of juvenile crucian carp *Carassius carassius*: Digestive tract abnormalities. *Aquat. Biol.* **2019**, *28*, 159–173. [\[CrossRef\]](#)
23. Kasprzak, R.; Kamiński, R.; Sikorska, J.; Kamaszewski, M.; Wolnicki, J.; Adamek-Urbańska, D.; Szudrowicz, H.; Cieśla, W.; Balicki, A.; Frankowska-Lukawska, J.; et al. Growth performance, deformity rate, body composition and digestive organ morphology of juvenile common carp fed dry diet enriched with hydrochloric, citric or acetic acid. *Anim. Feed Sci. Technol.* **2025**, *330*, 116528. [\[CrossRef\]](#)

24. Aquilina, G.; Bories, G.; Brantom, P.; Chesson, A.; Cocconcelli, P.S.; De Knecht, J.; Dierick, A.; Gralak, A.; Gropp, J.; Halle, I.; et al. Scientific Opinion on the safety of hemp (*Cannabis* genus) for use as animal feed. *EFSA J.* **2011**, *9*, 2001. [\[CrossRef\]](#)
25. Sopian, Y.; Sivapirunthep, P.; Chaosap, C. Effect of hempseed products on growth performance, carcass yield, omega-3, and omega-6 fatty acids in broiler: A meta-analysis. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*; IOP Publishing: Bristol, UK, 2024; Volume 1377, p. 012081.
26. Papatzimos, G.; Kasapidou, E. Review of Hemp Components as Functional Feed and Food Ingredients: Impact on Animal Product Quality Traits and Nutritional Value. *Explor. Foods Foodomics* **2024**, *2*, 626–650. [\[CrossRef\]](#)
27. Kamle, M.; Mahato, D.K.; Sharma, B.; Gupta, A.; Shah, A.K.; Mahmud, M.M.C.; Agrawal, S.; Singh, J.; Rasane, P.; Shukla, A.C.; et al. Nutraceutical potential, phytochemistry of hemp seed (*Cannabis sativa* L.) and its application in food and feed: A review. *Food Chem. Adv.* **2024**, *4*, 100671. [\[CrossRef\]](#)
28. Webster, C.D.; Thompson, K.R.; Morgan, A.M.; Grisby, E.J.; Gannam, A.L. Use of hempseed meal, poultry by-product meal, and canola meal in practical diets without fish meal for sunshine bass (*Morone chrysops* × *M. saxatilis*). *Aquaculture* **2000**, *188*, 299–309. [\[CrossRef\]](#)
29. Assem, H.; Khalifa, A.; ELSalhia, M. Physiological and microbiological indices as indicators of evaluating dietary fungi degraded date pits as a probiotic for cultured Nile tilapia *Oreochromis niloticus* fingerling and its effect on fish welfare. *Egypt. J. Aquat. Res.* **2014**, *40*, 435–441. [\[CrossRef\]](#)
30. Esmaeili, N. Blood performance: A new formula for fish growth and health. *Biology* **2021**, *10*, 1236. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
31. Yarahmadi, P.; Miandare, H.K.; Hoseinifar, S.H.; Gheysvandi, N.; Akbarzadeh, A. The effects of stocking density on hemato-immunological and serum biochemical parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquac. Int.* **2015**, *23*, 55–63. [\[CrossRef\]](#)
32. Nasr, M.A.F.; Reda, R.M.; Ismail, T.A.; Moustafa, A. Growth, hemato-biochemical parameters, body composition, and myostatin gene expression of clarias gariepinus fed by replacing fishmeal with plant protein. *Animals* **2021**, *11*, 889. [\[CrossRef\]](#)
33. Sopian, Y.; Sartsook, A.; Arjin, C.; Lumsangkul, C.; Sringarm, K.; Sivapirunthep, P.; Chaosap, C. Dietary supplementation of *Cannabis sativa* residues in broiler chickens affects performance, carcass characteristics, intestinal morphology, blood biochemistry profile and oxidative stability. *Poult. Sci.* **2024**, *103*, 104117. [\[CrossRef\]](#)
34. Bień, D.; Michalczyk, M.; Jóźwik, A.; Matuszewski, A.; Konieczka, P. Effects of *Cannabis sativa* extract on growth performance, meat physicochemical properties, and oxidative status in chickens challenged with *Clostridium perfringens* and lipopolysaccharide. *Anim. Sci. Pap. Rep.* **2024**, *42*, 81–108. [\[CrossRef\]](#)
35. Urán, P.A.; Gonçalves, A.A.; Taverne-Thiele, J.J.; Schrama, J.W.; Verreth, J.A.J.; Rombout, J.H.W.M. Soybean meal induces intestinal inflammation in common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Fish Shellfish Immunol.* **2008**, *25*, 751–760. [\[CrossRef\]](#)
36. Willora, F.P.; Vatsos, I.N.; Mallioris, P.; Bordignon, F.; Keizer, S.; Martinez-Llorens, S.; Sørensen, M.; Hagen, Ø. Replacement of fishmeal with plant protein in the diets of juvenile lumpfish (*Cyclopterus lumpus*, L. 1758): Effects on digestive enzymes and microscopic structure of the digestive tract. *Aquaculture* **2022**, *561*, 738601. [\[CrossRef\]](#)
37. El-Sayed, A.F.M.; Fagnon, M.S.; Hamdan, A.M.; Chabrilat, T.; Araujo, C.; Bouriquet, J.; Kerros, S.; Zeid, S.M.S. Dietary Effect of a Plant-Based Mixture (Phyto AquaMeric) on Growth Performance, Biochemical Analysis, Intestinal Histology, Gene Expression and Environmental Parameters of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Fishes* **2024**, *9*, 358. [\[CrossRef\]](#)
38. Nogales-Mérida, S.; Tomás-Vidal, A.; Moñino-López, A.; Jover-Cerdá, M.; Martínez-Llorens, S. Pea protein concentrate in diets for sharpsnout sea bream (*Diplodus puntazzo*): Effects on growth and health status. *Arch. Anim. Nutr.* **2016**, *70*, 488–502. [\[CrossRef\]](#)
39. Escaffre, A.M.; Kaushik, S.; Mambrini, M. Morphometric evaluation of changes in the digestive tract of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) due to fish meal replacement with soy protein concentrate. *Aquaculture* **2007**, *273*, 127–138. [\[CrossRef\]](#)
40. Ribeiro, L.; Moura, J.; Santos, M.; Colen, R.; Rodrigues, V.; Bandarra, N.; Soares, F.; Ramalho, P.; Barata, M.; Moura, P.; et al. Effect of vegetable based diets on growth, intestinal morphology, activity of intestinal enzymes and haematological stress indicators in meagre (*Argyrosomus regius*). *Aquaculture* **2015**, *447*, 116–128. [\[CrossRef\]](#)
41. Kokou, F.; Sarropoulou, E.; Cotou, E.; Kentouri, M.; Alexis, M.; Rigos, G. Effects of graded dietary levels of soy protein concentrate supplemented with methionine and phosphate on the immune and antioxidant responses of gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.). *Fish Shellfish Immunol.* **2017**, *64*, 111–121. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
42. Szczepański, A.; Adamek-Urbańska, D.; Kasprzak, R.; Wiechetek, W.; Szudrowicz, H.; Ostaszewska, T.; Piotrowska, I.; Gomułka, P.; Kozłowski, M.; Woźniak, M.; et al. The feasibility of using white lupin meal in the feed of juvenile Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*). *Ann. Anim. Sci.* **2025**, *25*, 695–707. [\[CrossRef\]](#)
43. Wiechetek, W.; Kasprzak, R.; Adamek-Urbańska, D.; Gomułka, P.; Wójcik, M.; Bochenek, J.; Bober, H.; Woźniak, M.; Śliwiński, J.; Szczepański, A.; et al. Effects of dietary protein levels on growth and physiology of domesticated European perch (*Perca fluviatilis*) reared in a recirculating aquaculture system. *J. Anim. Feed Sci.* **2025**, *34*, 284–296. [\[CrossRef\]](#)
44. Rašković, B.; Ćirić, M.; Koko, V.; Stanković, M.; Živić, I.; Marković, Z.; Poleksić, V. Effect of supplemental feeds on liver and intestine of common carp (*Cyprinus carpio*) in semi-intensive rearing system: Histological implications. *Biologia* **2016**, *71*, 212–219. [\[CrossRef\]](#)

45. Kasprzak, R.; Grzeszkiewicz, A.B.; Górecka, A. Performance of Co-Housed Neon Tetras (*Paracheirodon innesi*) and Glowlight Rasboras (*Trigonostigma hengeli*) Fed Commercial Flakes and Lyophilized Natural Food. *Animals* **2021**, *11*, 3520. [\[CrossRef\]](#)
46. Ostaszewska, T.; Dabrowski, K.; Kamaszewski, M.; Kwasek, K.; Grodzik, M.; Bierła, J. The effect of dipeptide, Lys-Gly, supplemented diets on digestive tract histology in juvenile yellow perch (*Perca flavescens*). *Aquac. Nutr.* **2013**, *19*, 100–109. [\[CrossRef\]](#)
47. Estruch, G.; Collado, M.C.; Monge-Ortiz, R.; Tomás-Vidal, A.; Jover-Cerdá, M.; Peñaranda, D.S.; Pérez Martínez, G.; Martínez-Llorens, S. Long-term feeding with high plant protein based diets in gilthead seabream (*Sparus aurata*, L.) leads to changes in the inflammatory and immune related gene expression at intestinal level. *BMC Vet. Res.* **2018**, *14*, 302. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
48. Li, C.; Zhang, B.; Liu, C.; Zhou, H.; Wang, X.; Mai, K.; He, G. Effects of dietary raw or *Enterococcus faecium* fermented soybean meal on growth, antioxidant status, intestinal microbiota, morphology, and inflammatory responses in turbot (*Scophthalmus maximus* L.). *Fish Shellfish Immunol.* **2020**, *100*, 261–271. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
49. Verri, T.; Barca, A.; Pisani, P.; Piccinni, B.; Storelli, C.; Romano, A. Di- and tripeptide transport in vertebrates: The contribution of teleost fish models. *J. Comp. Physiol. B* **2016**, *187*, 395–462. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
50. Calo, J.; Comesaña, S.; Fernández-Maestú, C.; Blanco, A.M.; Morais, S.; Soengas, J.L. Impact of feeding diets with enhanced vegetable protein content and presence of umami taste-stimulating additive on gastrointestinal amino acid sensing and feed intake regulation in rainbow trout. *Aquaculture* **2024**, *579*, 740251. [\[CrossRef\]](#)
51. Kersten, S. Integrated physiology and systems biology of PPAR α . *Mol. Metab.* **2014**, *3*, 354–371. [\[CrossRef\]](#)
52. Xu, H.; Zhang, Y.; Wang, C.; Wei, Y.; Zheng, K.; Liang, M. Cloning and characterization of fatty acid transport proteins in Japanese seabass *Lateolabrax japonicus*, and their gene expressions in response to dietary arachidonic acid. *Aquac. Res.* **2017**, *48*, 5718–5728. [\[CrossRef\]](#)
53. Gu, M.; Kortner, T.M.; Penn, M.; Hansen, A.K.; Krogdahl, Å. Effects of dietary plant meal and soya-saponin supplementation on intestinal and hepatic lipid droplet accumulation and lipoprotein and sterol metabolism in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Br. J. Nutr.* **2014**, *111*, 432–444. [\[CrossRef\]](#)
54. Seiliez, I.; Panserat, S.; Corraze, G.; Kaushik, S.; Bergot, P. Cloning and nutritional regulation of a $\Delta 6$ -desaturase-like enzyme in the marine teleost gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol.* **2003**, *135*, 449–460. [\[CrossRef\]](#)
55. Tocher, D.R.; Zheng, X.; Schlechtriem, C.; Hastings, N.; Dick, J.R.; Teale, A.J. Highly unsaturated fatty acid synthesis in marine fish: Cloning, functional characterization, and nutritional regulation of fatty acyl $\Delta 6$ desaturase of atlantic cod (*Gadus morhua* L.). *Lipids* **2006**, *41*, 1003–1016. [\[CrossRef\]](#)
56. Geay, F.; Santigosa I Culi, E.; Corporeau, C.; Boudry, P.; Dreano, Y.; Corcos, L.; Bodin, N.; Vandeputte, M.; Zambonino-Infante, J.L.; Mazurais, D.; et al. Regulation of FADS2 expression and activity in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L.) fed a vegetable diet. *Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol.* **2010**, *156*, 237–243. [\[CrossRef\]](#)
57. Flohé, L.; Toppo, S.; Orian, L. The glutathione peroxidase family: Discoveries and mechanism. *Free Radic. Biol. Med.* **2022**, *187*, 113–122. [\[CrossRef\]](#)
58. Islam, M.N.; Rauf, A.; Fahad, F.I.; Emran, T.B.; Mitra, S.; Olatunde, A.; Shariati, M.A.; Rebezov, M.; Rengasamy, K.R.R.; Mubarak, M.S. Superoxide dismutase: An updated review on its health benefits and industrial applications. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **2022**, *62*, 7282–7300. [\[CrossRef\]](#)
59. Audu, B.S.; Adamu, K.M.; Ofojekwu, P.C. Biochemical parameters of common carp (*Cyprinus carpio*) exposed to crude leaf extract of *Cannabis sativa*. *Jordan J. Biol. Sci.* **2014**, *7*, 147–151. [\[CrossRef\]](#)
60. Hoseini, S.M.; Yousefi, M.; Afzali-Kordmahalleh, A.; Pagheh, E.; Mirghaied, A.T. Effects of Dietary Lactic Acid Supplementation on the Activity of Digestive and Antioxidant Enzymes, Gene Expressions, and Bacterial Communities in the Intestine of Common Carp, *Cyprinus carpio*. *Animals* **2023**, *13*, 1934. [\[CrossRef\]](#)
61. Voicea, I.; Nenciu, F.; Popa, L.D.; Onisei, T.; Rascol, M.; Vlaicu, P.A.; Vlăduț, N.V.; Matache, M.G.; Oncescu, T.A.; Oprescu, M. Valorizing Hempseed Meal as a Circular Bio-Ingredient for Sustainable Fisheries Development. *Sustainability* **2025**, *17*, 10656. [\[CrossRef\]](#)
62. Bertocci, F.; Mannino, G. Can Agri-Food Waste Be a Sustainable Alternative in Aquaculture? A Bibliometric and Meta-Analytic Study on Growth Performance, Innate Immune System, and Antioxidant Defenses. *Foods* **2022**, *11*, 1861. [\[CrossRef\]](#)
63. Hussain, S.M.; Bano, A.A.; Ali, S.; Rizwan, M.; Adrees, M.; Zahoor, A.F.; Sarker, P.K.; Hussain, M.; Arsalan, M.Z.U.H.; Yong, J.W.H.; et al. Substitution of fishmeal: Highlights of potential plant protein sources for aquaculture sustainability. *Heliyon* **2024**, *10*, e26573. [\[CrossRef\]](#)

Disclaimer/Publisher’s Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

Warszawa, 30.03.2026

mgr inż. Wiktoria Cieśla
Katedra Biologii Środowiska Zwierząt
Instytut Nauk o Zwierzętach
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie
ul. Ciszewskiego 8
02-786 Warszawa
wiktoria_wiechetek1@sggw.edu.pl

**Rada Dyscypliny Zootechniki i Rybactwo
Szkoły Główniej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie**

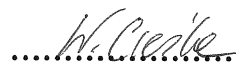
OŚWIADCZENIE O WSPÓŁAUTORSTWIE

Jako jeden ze współautorów deklaruję, że w pracy:

Cieśla W, Adamek-Urbańska D, Kasprzak R, Gomułka P, Wójcik M, Bochenek J, Bober H, Kawalski K, Martynow J, Szczepański A, Szudrowicz H, Woźniak M, Śliwiński J, Palińska-Żarska K, Żarski D, Krejszeff S, Król J, Kamaszewski K. Hemp meal (*Cannabis sativa*) as an alternative dietary protein source for European perch (*Perca fluviatilis*). 2026. *Animals*, 16(4), 649. <https://doi.org/10.3390/ani16040649>.

mój indywidualny wkład obejmował opracowywanie koncepcji badań, przeprowadzenie analizy formalnej, wyszukiwanie i krytyczną ocenę piśmiennictwa naukowego, analizę i interpretację danych statystycznych oraz uczestniczenie w przygotowaniu pierwotnej wersji manuskryptu.

Indywidualny wkład pracy w publikację wynosi: 62%.

..........
mgr inż. Wiktoria Cieśla

Warszawa, 30.03.2026

dr hab. Dobrochna Adamek-Urbańska, prof. SGGW
Katedra Biologii Środowiska Zwierząt
Instytut Nauk o Zwierzętach
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie
ul. Ciszewskiego 8
02-786 Warszawa
dobrochna_adamek@sggw.edu.pl

**Rada Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo
Szkoły Główniej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie**

OŚWIADCZENIE O WSPÓŁAUTORSTWIE

Jako jeden ze współautorów deklaruję, że w pracy:

Cieśla W, Adamek-Urbańska D, Kasprzak R, Gomułka P, Wójcik M, Bochenek J, Bober H, Kawalski K, Martynow J, Szczepański A, Szudrowicz H, Woźniak M, Śliwiński J, Palińska-Żarska K, Żarski D, Krejszeff S, Król J, Kamaszewski K. Hemp meal (*Cannabis sativa*) as an alternative dietary protein source for European perch (*Perca fluviatilis*). 2026. *Animals*, 16(4), 649. <https://doi.org/10.3390/ani16040649>.

mój indywidualny wkład obejmował opracowanie metodologii, nadzór nad wykonywanymi analizami, wyszukiwanie i krytyczną ocenę piśmiennictwa naukowego, analizę i interpretację danych, przygotowanie tekstu oraz opracowanie wizualizacji przedstawiających uzyskane wyniki.

Indywidualny wkład pracy w publikację wynosi: 6%.



dr hab. Dobrochna Adamek-Urbańska,
prof. SGGW

Warszawa, 26.03.2026

dr Robert Kasprzak
Katedra Biologii Środowiska Zwierząt
Instytut Nauk o Zwierzętach
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie
ul. Ciszewskiego 8
02-786 Warszawa
robert_kasprzak@sggw.edu.pl

**Rada Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo
Szkoły Główniej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie**

OŚWIADCZENIE O WSPÓŁAUTORSTWIE

Jako jeden ze współautorów deklaruję, że w pracy:

Cieśla W, Adamek-Urbańska D, Kasprzak R, Gomułka P, Wójcik M, Bochenek J, Bober H, Kawalski K, Martynow J, Szczepański A, Szudrowicz H, Woźniak M, Śliwiński J, Palińska-Żarska K, Żarski D, Krejszeff S, Król J, Kamaszewski K. Hemp meal (*Cannabis sativa*) as an alternative dietary protein source for European perch (*Perca fluviatilis*). 2026. *Animals*, 16(4), 649. <https://doi.org/10.3390/ani16040649>.

mój indywidualny wkład obejmował analizę i interpretację danych, redagowanie tekstu, przygotowanie wizualizacji przedstawiających uzyskane wyniki.

Indywidualny wkład pracy w publikację wynosi: 6%.


.....
dr Robert Kasprzak

Warszawa, 30.03.2026

dr hab. Piotr Gomułka, prof. UWM
Katedra Ichtiologii i Akwakultury
Wydział Bioinżynierii Zwierząt
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski
ul. Oczapowskiego 5/345
10-719 Olsztyn
pgomulka@uwm.edu.pl

**Rada Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo
Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie**

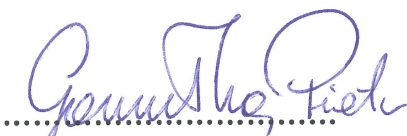
OŚWIADCZENIE O WSPÓŁAUTORSTWIE

Jako jeden ze współautorów deklaruję, że w pracy:

Cieśla W, Adamek-Urbańska D, Kasprzak R, Gomułka P, Wójcik M, Bochenek J, Bober H, Kawalski K, Martynow J, Szczepański A, Szudrowicz H, Woźniak M, Śliwiński J, Palińska-Żarska K, Żarski D, Krejszeff S, Król J, Kamaszewski K. Hemp meal (*Cannabis sativa*) as an alternative dietary protein source for European perch (*Perca fluviatilis*). 2026. *Animals*, 16(4), 649. <https://doi.org/10.3390/ani16040649>.

mój indywidualny wkład obejmował opracowanie koncepcji badań, administracyjne zarządzanie projektem oraz pozyskanie środków finansowych na jego realizację.

Indywidualny wkład pracy w publikację wynosi: 6%.


.....
dr hab. Piotr Gomułka, prof. UWM

Warszawa, 30.03.2026

mgr inż. Maciej Wójcik
Zakład Inżynierii Genetycznej
Instytut Fizjologii i Żywienia Zwierząt
im. Jana Kielanowskiego PAN
ul. Instytucka 3
05-110 Jabłonna
m.wojcik@ifzz.pl

**Rada Dyscypliny Zootechniki i Rybactwo
Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie**

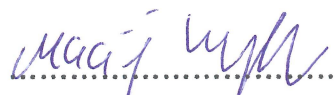
OŚWIADCZENIE O WSPÓLAUTORSTWIE

Jako jeden ze współautorów deklaruję, że w pracy:

Cieśla W, Adamek-Urbańska D, Kasprzak R, Gomułka P, Wójcik M, Bochenek J, Bober H, Kawalski K, Martynow J, Szczepański A, Szudrowicz H, Woźniak M, Śliwiński J, Palińska-Żarska K, Żarski D, Krejszeff S, Król J, Kamaszewski K. Hemp meal (*Cannabis sativa*) as an alternative dietary protein source for European perch (*Perca fluviatilis*). 2026. *Animals*, 16(4), 649. <https://doi.org/10.3390/ani16040649>.

mój indywidualny wkład obejmował metodologię oraz analizę formalną.

Indywidualny wkład pracy w publikację wynosi: 1%.



mgr inż. Maciej Wójcik

Warszawa, 30.03.2026

mgr Joanna Bochenek
Zakład Inżynierii Genetycznej
Instytut Fizjologii i Żywienia Zwierząt
im. Jana Kielanowskiego PAN
ul. Instytucka 3
05-110 Jabłonna
j.bochenek@ifzz.pl

**Rada Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo
Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie**

OŚWIADCZENIE O WSPÓLAUTORSTWIE

Jako jeden ze współautorów deklaruję, że w pracy:

Cieśla W, Adamek-Urbańska D, Kasprzak R, Gomułka P, Wójcik M, Bochenek J, Bober H, Kawalski K, Martynow J, Szczepański A, Szudrowicz H, Woźniak M, Śliwiński J, Palińska-Żarska K, Żarski D, Krejszeff S, Król J, Kamaszewski K. Hemp meal (*Cannabis sativa*) as an alternative dietary protein source for European perch (*Perca fluviatilis*). 2026. *Animals*, 16(4), 649. <https://doi.org/10.3390/ani16040649>.

mój indywidualny wkład obejmował analizę formalną oraz wyszukiwanie i ocenę informacji naukowej.

Indywidualny wkład pracy w publikację wynosi: 1%.

..........

mgr Joanna Bochenek

Warszawa, 30.03.2026

mgr Helena Bober
Katedra Ichtiologii i Akwakultury
Wydział Bioinżynierii Zwierząt
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski
ul. Oczapowskiego 5/345
10-719 Olsztyn
helena.bober@uwm.edu.pl

**Rada Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo
Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie**

OŚWIADCZENIE O WSPÓŁAUTORSTWIE

Jako jeden ze współautorów deklaruję, że w pracy:

Cieśla W, Adamek-Urbańska D, Kasprzak R, Gomułka P, Wójcik M, Bochenek J, Bober H, Kawalski K, Martynow J, Szczepański A, Szudrowicz H, Woźniak M, Śliwiński J, Palińska-Żarska K, Żarski D, Krejszeff S, Król J, Kamaszewski K. Hemp meal (*Cannabis sativa*) as an alternative dietary protein source for European perch (*Perca fluviatilis*). 2026. *Animals*, 16(4), 649. <https://doi.org/10.3390/ani16040649>.

mój indywidualny wkład obejmował analizę formalną oraz wyszukiwanie i ocenę informacji naukowej.

Indywidualny wkład pracy w publikację wynosi: 1%.



mgr Helena Bober

Warszawa, 30.03.2026

mgr inż. Kacper Kawalski
Katedra Biologii Środowiska Zwierząt
Instytut Nauk o Zwierzętach
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie
ul. Ciszewskiego 8
02-786 Warszawa
kacper_kawalski@sggw.edu.pl

**Rada Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo
Szkoły Główniej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie**

OŚWIADCZENIE O WSPÓŁAUTORSTWIE

Jako jeden ze współautorów deklaruję, że w pracy:

Cieśla W, Adamek-Urbańska D, Kasprzak R, Gomułka P, Wójcik M, Bochenek J, Bober H, Kawalski K, Martynow J, Szczepański A, Szudrowicz H, Woźniak M, Śliwiński J, Palińska-Żarska K, Żarski D, Krejszeff S, Król J, Kamaszewski K. Hemp meal (*Cannabis sativa*) as an alternative dietary protein source for European perch (*Perca fluviatilis*). 2026. *Animals*, 16(4), 649. <https://doi.org/10.3390/ani16040649>.

mój indywidualny wkład obejmował analizę formalną oraz wyszukiwanie i ocenę informacji naukowej.

Indywidualny wkład pracy w publikację wynosi: 1%.



mgr inż. Kacper Kawalski

Warszawa, 30.03.2026

mgr inż. Jakub Martynow
Katedra Biologii Środowiska Zwierząt
Instytut Nauk o Zwierzętach
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie
ul. Ciszewskiego 8
02-786 Warszawa
jakub_martynow@sggw.edu.pl

**Rada Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo
Szkoły Główniej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie**

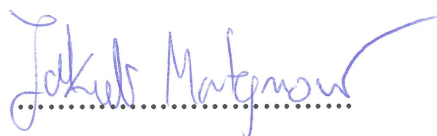
OŚWIADCZENIE O WSPÓLAUTORSTWIE

Jako jeden ze współautorów deklaruję, że w pracy:

Cieśla W, Adamek-Urbańska D, Kasprzak R, Gomułka P, Wójcik M, Bochenek J, Bober H, Kawalski K, Martynow J, Szczepański A, Szudrowicz H, Woźniak M, Śliwiński J, Palińska-Żarska K, Żarski D, Krejszeff S, Król J, Kamaszewski K. Hemp meal (*Cannabis sativa*) as an alternative dietary protein source for European perch (*Perca fluviatilis*). 2026. *Animals*, 16(4), 649. <https://doi.org/10.3390/ani16040649>.

mój indywidualny wkład obejmował analizę formalną oraz wyszukiwanie i ocenę informacji naukowej.

Indywidualny wkład pracy w publikację wynosi: 1%.



mgr inż. Jakub Martynow

Warszawa, 30.03.2026

mgr inż. Adrian Szczepański
Katedra Biologii Środowiska Zwierząt
Instytut Nauk o Zwierzętach
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie
ul. Ciszewskiego 8
02-786 Warszawa
adrian_szczepanski@sggw.edu.pl

**Rada Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo
Szkoły Główniej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie**

OŚWIADCZENIE O WSPÓŁAUTORSTWIE

Jako jeden ze współautorów deklaruję, że w pracy:

Cieśla W, Adamek-Urbańska D, Kasprzak R, Gomułka P, Wójcik M, Bochenek J, Bober H, Kawalski K, Martynow J, Szczepański A, Szudrowicz H, Woźniak M, Śliwiński J, Palińska-Żarska K, Żarski D, Krejszeff S, Król J, Kamaszewski K. Hemp meal (*Cannabis sativa*) as an alternative dietary protein source for European perch (*Perca fluviatilis*). 2026. *Animals*, 16(4), 649. <https://doi.org/10.3390/ani16040649>.

mój indywidualny wkład obejmował analizę formalną oraz wyszukiwanie i ocenę informacji naukowej.

Indywidualny wkład pracy w publikację wynosi: 1%.

A. Szczepański
.....

mgr inż. Adrian Szczepański

Warszawa, 30.03.2026

dr Hubert Szudrowicz
Katedra Biologii Środowiska Zwierząt
Instytut Nauk o Zwierzętach
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie
ul. Ciszewskiego 8
02-786 Warszawa
hubert_szudrowicz@sggw.edu.pl

**Rada Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo
Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie**

OŚWIADCZENIE O WSPÓŁAUTORSTWIE

Jako jeden ze współautorów deklaruję, że w pracy:

Cieśla W, Adamek-Urbańska D, Kasprzak R, Gomułka P, Wójcik M, Bochenek J, Bober H, Kawalski K, Martynow J, Szczepański A, Szudrowicz H, Woźniak M, Śliwiński J, Palińska-Żarska K, Żarski D, Krejszeff S, Król J, Kamaszewski K. Hemp meal (*Cannabis sativa*) as an alternative dietary protein source for European perch (*Perca fluviatilis*). 2026. *Animals*, 16(4), 649. <https://doi.org/10.3390/ani16040649>.

mój indywidualny wkład obejmował analizę formalną oraz wyszukiwanie i ocenę informacji naukowej.

Indywidualny wkład pracy w publikację wynosi: 1%.



dr Hubert Szudrowicz

Warszawa, 30.03.2026

dr hab. Małgorzata Woźniak, prof. UWM
Katedra Turystyki, Rekreacji i Ekologii
Wydział Nauk o Środowisku
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski
ul. Oczapowskiego 5
10-719 Olsztyn
mawoz@uwm.edu.pl

**Rada Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo
Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie**

OŚWIADCZENIE O WSPÓŁAUTORSTWIE

Jako jeden ze współautorów deklaruję, że w pracy:

Cieśla W, Adamek-Urbańska D, Kasprzak R, Gomułka P, Wójcik M, Bochenek J, Bober H, Kawalski K, Martynow J, Szczepański A, Szudrowicz H, Woźniak M, Śliwiński J, Palińska-Żarska K, Żarski D, Krejszeff S, Król J, Kamaszewski K. Hemp meal (*Cannabis sativa*) as an alternative dietary protein source for European perch (*Perca fluviatilis*). 2026. *Animals*, 16(4), 649. <https://doi.org/10.3390/ani16040649>.

mój indywidualny wkład obejmował metodologię oraz wyszukiwanie i ocenę informacji naukowej.

Indywidualny wkład pracy w publikację wynosi: 1%.



dr hab. Małgorzata Woźniak, prof. UWM

Warszawa, 30.03.2026

dr Jerzy Śliwiński
Katedra Biologii Środowiska Zwierząt
Instytut Nauk o Zwierzętach
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie
ul. Ciszewskiego 8
02-786 Warszawa
jerzy_sliwinski@sggw.edu.pl

**Rada Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo
Szkoły Główniej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie**

OŚWIADCZENIE O WSPÓŁAUTORSTWIE

Jako jeden ze współautorów deklaruję, że w pracy:

Cieśla W, Adamek-Urbańska D, Kasprzak R, Gomułka P, Wójcik M, Bochenek J, Bober H, Kawalski K, Martynow J, Szczepański A, Szudrowicz H, Woźniak M, Śliwiński J, Palińska-Żarska K, Żarski D, Krejszeff S, Król J, Kamaszewski K. Hemp meal (*Cannabis sativa*) as an alternative dietary protein source for European perch (*Perca fluviatilis*). 2026. *Animals*, 16(4), 649. <https://doi.org/10.3390/ani16040649>.

mój indywidualny wkład obejmował analizę formalną oraz wyszukiwanie i ocenę informacji naukowej.

Indywidualny wkład pracy w publikację wynosi: 1%.



dr Jerzy Śliwiński

Warszawa, 30.03.2026

dr Katarzyna Palińska-Żarska
Zakład Ichtiologii, Hydrobiologii i Ekologii Wód
Instytut Rybactwa Śródlądowego
Oczapowskiego 10
10-719 Olsztyn
k.palinska-zarska@infish.com.pl

**Rada Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo
Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie**

OŚWIADCZENIE O WSPÓŁAUTORSTWIE

Jako jeden ze współautorów deklaruję, że w pracy:

Cieśla W, Adamek-Urbańska D, Kasprzak R, Gomułka P, Wójcik M, Bochenek J, Bober H, Kawalski K, Martynow J, Szczepański A, Szudrowicz H, Woźniak M, Śliwiński J, Palińska-Żarska K, Żarski D, Krejszeff S, Król J, Kamaszewski K. Hemp meal (*Cannabis sativa*) as an alternative dietary protein source for European perch (*Perca fluviatilis*). 2026. *Animals*, 16(4), 649. <https://doi.org/10.3390/ani16040649>.

mój indywidualny wkład obejmował udział w opracowaniu koncepcji badań oraz wyszukiwanie i ocenę informacji naukowej.

Indywidualny wkład pracy w publikację wynosi: 1%.



dr Katarzyna Palińska-Żarska

Warszawa, 30.03.2026

dr hab. Daniel Żarski, prof. Instytutu
Zespół Rozrodu i Rozwoju Ryb
InLife Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności PAN
ul. Trylińskiego 18
10-683 Olsztyn
d.zarski@pan.olsztyn.pl

**Rada Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo
Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w
Warszawie**

OŚWIADCZENIE O WSPÓŁAUTORSTWIE

Jako jeden ze współautorów deklaruję, że w pracy:

Cieśla W, Adamek-Urbańska D, Kasprzak R, Gomułka P, Wójcik M, Bochenek J, Bober H, Kawalski K, Martynow J, Szczepański A, Szudrowicz H, Woźniak M, Śliwiński J, Palińska-Żarska K, Żarski D, Krejszeff S, Król J, Kamaszewski K. Hemp meal (*Cannabis sativa*) as an alternative dietary protein source for European perch (*Perca fluviatilis*). 2026. *Animals*, 16(4), 649.
<https://doi.org/10.3390/ani16040649>.

mój indywidualny wkład obejmował udział w opracowaniu koncepcji badań oraz analizę otrzymanych danych.

Indywidualny wkład pracy w publikację wynosi: 1%.



Warszawa, 30.03.2026

dr inż. Sławomir Krejszeff
Zakład Akwakultury
Instytut Rybactwa Śródlądowego
Oczapowskiego 10
10-719 Olsztyn
s.krejszeff@infish.com.pl

**Rada Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo
Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie**

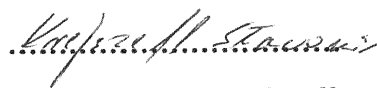
OŚWIADCZENIE O WSPÓLAUTORSTWIE

Jako jeden ze współautorów deklaruję, że w pracy:

Cieśla W, Adamek-Urbańska D, Kasprzak R, Gomułka P, Wójcik M, Bochenek J, Bober H, Kawalski K, Martynow J, Szczepański A, Szudrowicz H, Woźniak M, Śliwiński J, Palińska-Żarska K, Żarski D, Krejszeff S, Król J, Kamaszewski K. Hemp meal (*Cannabis sativa*) as an alternative dietary protein source for European perch (*Perca fluviatilis*). 2026. *Animals*, 16(4), 649. <https://doi.org/10.3390/ani16040649>.

mój indywidualny wkład obejmował udział w opracowaniu koncepcji badań oraz zapewnienie zasobów niezbędnych do ich realizacji.

Indywidualny wkład pracy w publikację wynosi: 1%.


dr inż. Sławomir Krejszeff

Warszawa, 30.03.2026

dr hab. inż. Jarosław Król, profesor Instytutu
Zakład Hodowli Ryb Łososiowatych
Instytut Rybactwa Śródlądowego
Państwowy Instytut Badawczy
Oczapowskiego 10
10-719 Olsztyn
j.krol@infish.com.pl

**Rada Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo
Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie**

OŚWIADCZENIE O WSPÓŁAUTORSTWIE

Jako jeden ze współautorów deklaruję, że w pracy:

Cieśla W, Adamek-Urbańska D, Kasprzak R, Gomułka P, Wójcik M, Bochenek J, Bober H, Kawalski K, Martynow J, Szczepański A, Szudrowicz H, Woźniak M, Śliwiński J, Palińska-Żarska K, Żarski D, Krejszeff S, Król J, Kamaszewski K. Hemp meal (*Cannabis sativa*) as an alternative dietary protein source for European perch (*Perca fluviatilis*). 2026. *Animals*, 16(4), 649. <https://doi.org/10.3390/ani16040649>.

mój indywidualny wkład obejmował udział w opracowaniu koncepcji badań i metodologii, administracyjne zarządzanie projektem oraz pozyskanie środków finansowych na realizację badań.

Indywidualny wkład pracy w publikację wynosi: 4%.

Elektronicznie podpisany przez
Jarosław Król
Data: 2026.03.27 06:00:35 +01'00'

.....

dr hab. inż. Jarosław Król,
profesor Instytutu

Warszawa, 30.03.2026

dr hab. Maciej Kamaszewski, prof. SGGW
Katedra Biologii Środowiska Zwierząt
Instytut Nauk o Zwierzętach
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie
ul. Ciszewskiego 8
02-786 Warszawa
maciej_kamaszewski@sggw.edu.pl

**Rada Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo
Szkoły Główniej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie**

OŚWIADCZENIE O WSPÓŁAUTORSTWIE

Jako jeden ze współautorów deklaruję, że w pracy:

Cieśla W, Adamek-Urbańska D, Kasprzak R, Gomułka P, Wójcik M, Bochenek J, Bober H, Kawalski K, Martynow J, Szczepański A, Szudrowicz H, Woźniak M, Śliwiński J, Palińska-Żarska K, Żarski D, Krejszeff S, Król J, Kamaszewski K. Hemp meal (*Cannabis sativa*) as an alternative dietary protein source for European perch (*Perca fluviatilis*). 2026. *Animals*, 16(4), 649. <https://doi.org/10.3390/ani16040649>.

mój indywidualny wkład obejmował udział w opracowaniu koncepcji badań, administracyjne zarządzanie projektem, pozyskanie środków finansowych na realizację badań, przygotowanie tekstu oraz nadzór merytoryczny nad realizacją pracy.

Indywidualny wkład pracy w publikację wynosi: 6%.



dr hab. Maciej Kamaszewski,
prof. SGGW