

doi: 10.7541/2023.2022.0476

低鱼粉饲料中黑水虻幼虫粉替代鱼粉对合方鲫生长性能、消化能力、血浆生化指标及相关基因表达的影响

肖扬波¹ 曹申平¹ 敖青¹ 黄康¹ 莫郁坚¹ 张欣然¹ 郑欣怡¹ 童晓念¹
毛庄文¹ 樊均德² 刘臻¹ 唐建洲¹

(1. 长沙学院生物与化学工程学院, 水生动物营养与品质调控湖南省重点实验室, 长沙 410022;

2. 岳阳渔美康生物科技有限公司, 岳阳 414100)

摘要: 实验以合方鲫2号幼鱼(31.50±0.50) g为实验对象, 研究黑水虻幼虫粉(HM)替代饲料鱼粉(0、20%、40%、60%和80%)对合方鲫生长性能、饲料利用、消化能力、血浆生化指标及相关基因表达的影响。实验设计5组等氮(30%)等能(18.50 MJ/kg)等脂(6%)饲料, 每组3次重复, 每个重复25尾鱼, 养殖时间74d。结果表明: 增重率和特定生长率随饲料HM含量的升高呈现先升高后降低趋势, 且在替代水平为20%时最大; 饲料系数呈先降低后升高的趋势, 20%替代组显著小于60%和80%替代组($P<0.05$)。肥满度和脏体比均呈现先升高后降低趋势, 且均在40%替代组最大; 80%替代组肝体比显著高于0、20%和60%替代组($P<0.05$), 但与40%替代组无显著差异。全鱼水分和灰分无显著变化; 20%和60%替代组粗蛋白显著低于0组($P<0.05$); 粗脂肪呈先升高后降低的变化趋势, 在20%替代组达到最大值。血浆葡萄糖、总胆固醇含量及谷丙转氨酶、谷草转氨酶活性无显著差异; 血氨含量呈上升趋势, 80%替代组显著高于0组; 20%替代组血浆总氨基酸含量显著高于其他各处理组($P<0.05$); 60%和80%替代组血浆丙二醛含量显著低于20%替代组($P<0.05$)。20%替代组肠道中*lat2*、*pept1*和*cdx2*基因的表达量均高于其他各处理组, *asct2*基因表达水平则在替代水平为40%时最大; 肝脏中*tor*和*igf1*基因表达量均在40%替代组最大, *gh*和*ghr*基因表达水平则均在替代水平为60%时最高。黑水虻幼虫粉替代饲料中鱼粉的0—40%不影响合方鲫的生长, 且在20%替代水平时可获得最大生长速率。

关键词: 黑水虻幼虫粉; 低鱼粉饲料; 生长性能; 基因表达; 合方鲫

中图分类号: S965.1

文献标识码: A

文章编号: 1000-3207(2023)09-1363-11



随着人民生活水平的不断提高, 人类对鱼类蛋白的需求也持续增加。1961—2018年, 人均鱼类食用量以约1.5%的增长率持续增长^[1]。为了满足人类持续增长的鱼产品消费需求, 水产养殖成为水产与渔业行业的主要发展方向。鱼类生长需要高含量蛋白质, 蛋白原料的稳定供给是水产养殖业快速发展的基础之一, 然而, 传统的优质饲料蛋白源——鱼粉的产量由于资源有限和需求量大等原因已逐渐无法满足水产养殖业持续增长的鱼粉需求, 开发低鱼粉饲料和寻找合适的替代蛋白源成为水产研究的热点^[2]。

昆虫是世界上最大动物群体, 种类约有100万种,

且广泛存在于自然水体中, 是鱼类天然食谱的重要组成部分。目前, 关于昆虫的营养价值已有诸多研究, 其蛋白质含量为9.3%—76%, 脂肪含量为7.9%—40%, 昆虫的营养价值与昆虫的种类、发育时期及昆虫粉的加工方式等因素显著相关^[3]。在众多昆虫种类中, 黑水虻(*Hermetia illucens*)是目前最具商业前景的昆虫种类之一, 已存在用于工业化生产的大规模饲养技术^[4]。

黑水虻是双翅目水虻科昆虫, 又名亮斑扁角水虻, 其幼虫可将动物粪便、腐烂的有机物如腐肉和植物性垃圾等转化为高质量蛋白质^[4], 虫体营养组成根据幼虫的食物组成而存在一定差异, 黑水虻幼

收稿日期: 2022-11-28; 修订日期: 2023-01-09

基金项目: 湖南省水产产业技术体系岗位专家项目资助 [Supported by Hunan Provincial Aquaculture Industry Technology System Post Expert Project]

作者简介: 肖扬波(1998—), 男, 硕士研究生; 主要从事鱼类营养学研究。E-mail: xyb9877@163.com

通信作者: 唐建洲, E-mail: 49071398@qq.com

虫干物质中平均蛋白质含量为55%,必需氨基酸组成平衡,脂肪含量约为35%,通过脱脂处理可将其降至9%甚至5%^[5],若给黑水虻幼虫饲喂富含 ω -3多不饱和脂肪酸的食物如鱼内脏等,可增加幼虫多不饱和脂肪酸含量,使其更适合鱼类的营养需求^[6]。目前,关于黑水虻粉在饲料中的应用已在黄颡鱼(*Pelteobagrus fulvidraco*)^[7]、虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)^[8]、欧洲鲈(*Dicentrarchus labrax*)^[9]、大菱鲆(*Psetta maxima*)^[10]、南美白对虾(*Litopenaeus vannamei*)^[11]和建鲤(*Cyprinus carpio* var. Jian)^[12]等水产动物中有所报道,但主要集中在特种鱼类,而在大宗淡水鱼类中的研究较少。

鲫(*Carassius auratus*)是我国大宗淡水鱼类之一,以其肉质鲜嫩、大小适中的特点而广受市场欢迎。然而,由于水域污染、养殖水域缩小、过量捕捞及竞争生物的盲目引入等原因,鲫乃至整个渔业资源面临极大的威胁,因此种质资源的保护和良种培育对于水产养殖业的可持续发展十分必要^[13]。合方鲫(Hefang crucian carp, HCC)为湖南师范大学淡水鱼类发育生物学国家重点实验室通过多步育种法培育的二倍体新品种鲫^[13, 14],具有生长快、抗逆性强和肉质鲜嫩等优点^[15],对于鲫种质资源保护和良种培育具有重要意义。本文旨在研究低鱼粉饲料中黑水虻幼虫粉(*Hermetia illucens* larvae meal, HM)替代鱼粉对合方鲫生长、消化、抗氧化能力及相关基因表达的影响,以期合方鲫的推广应用和新型鲫鱼饲料的开发与应用提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 实验饲料

实验以鱼粉、豆粕和菜粕作为主要蛋白源,以鱼油和豆油1:1混合作为主要脂肪源,以面粉和玉米淀粉为主要糖原,配制了基础饲料(SP0)。用黑水虻幼虫粉(岳阳渔美康)分别替代基础饲料中20%(SP20)、40%(SP40)、60%(SP60)和80%(SP80)的鱼粉,共配制5组等氮(30%)等能(18.50 MJ/kg)等脂(6%)的实验饲料。具体配方及化学组成见表1。饲料原料经粉碎后过40目筛,充分混匀后,经制粒机(中国江苏正昌集团有限公司SZLH200)制成2 mm的颗粒饲料,风干后装入密封袋于阴凉干燥处保存。

1.2 实验鱼及饲养管理

实验用合方鲫2号来自于湖南师范大学省部共建淡水鱼类发育生物学国家重点实验室。在养殖实验开始前,将实验鱼暂养2周。在暂养期间,使用基础饲料于每天9:00和15:00对实验鱼进行饲喂。实验前将鱼饥饿处理24h,选取生理健康、规格均

表1 饲料配方及化学组成(%干物质)

Tab. 1 formula and chemical composition of diets (% dry matter)

原料Ingredients (%)	SP0	SP20	SP40	SP60	SP80
鱼粉 Fish meal	10.00	8.00	6.00	4.00	2.00
豆粕 Soybean meal	32.00	32.00	32.00	32.00	32.00
菜粕 Rapeseed meal	16.30	16.30	16.30	16.30	16.30
黑水虻幼虫粉 HM	0	3.30	6.60	9.90	13.20
鱼油 Fish oil	2.95	2.50	2.05	1.57	1.12
豆油 Soybean oil	2.95	2.50	2.05	1.57	1.12
玉米淀粉 Corn starch	8.00	8.50	9.10	10.00	10.50
面粉 Flour	18.00	18.00	18.00	18.00	18.00
胆碱 Choline	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
多维多矿预混物 Premix ¹	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
羧甲基纤维素 Carboxymethyl cellulose	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
纤维素 Cellulose	4.30	3.40	2.40	1.16	0.26
化学组成 Chemical composition					
水分 Moisture (%)	8.38	8.77	8.84	9.23	8.73
灰分 Ash (%)	8.06	7.81	7.38	7.54	7.44
粗脂肪 Crude lipid (%)	5.39	5.44	5.57	5.81	6.79
粗蛋白 Crude protein (%)	30.40	29.80	30.10	28.80	29.00
能量 Energy (MJ/kg)	18.51	18.50	18.50	18.53	18.51

注: ¹多维多矿预混物 (mg/kg饲料): 维生素B₁₂, 0.02; 叶酸, 5; 泛酸钙, 50; 肌醇, 100; 烟酸, 100; 生物素, 0.1; 维生素B₁, 20; 维生素B₂, 20; 维生素B₆, 20; 维生素A, 11; 维生素D, 2; 维生素E, 50; 维生素K, 10; 维生素C, 100; 纤维素, 3412; 磷酸二氢钙, 7650.6; 硫酸亚铁, 2286.2; 乳酸钙, 1750.0; 硫酸锌, 178.0; 氯化钠, 500.0; 硫化镁, 8155.6; 磷酸二氢钠, 12500.0; 磷酸二氢钾, 16000.0; 硫酸锰, 61.4; 硫酸铜, 15.5; 硫酸钴, 0.91; 碘化钾, 1.5; 亚硒酸钠, 0.60; 玉米淀粉, 899.7

Note: ¹Premix (mg/kg diet): Vitamin B₁₂, 0.02; folic acid, 5; calcium pantothenate, 50; inositol, 100; niacin, 100; biotin, 0.1; Vitamin B₁, 20; Vitamin B₂, 20; Vitamin B₆, 20; Vitamin A, 11; Vitamin D, 2; Vitamin E, 50; Vitamin K, 10; Vitamin C, 100; cellulose, 3412; CaH₂PO₄·2H₂O, 7650.6; FeSO₄·7H₂O, 2286.2; C₆H₁₀CaO₆·5H₂O, 1750.0; ZnSO₄·7H₂O, 178.0; NaCl, 500.0; MgSO₄·7H₂O, 8155.6; NaH₂PO₄·2H₂O, 12500.0; KH₂PO₄, 16000.0; MnSO₄·H₂O, 61.4; CuSO₄·5H₂O, 15.5; CoSO₄·7H₂O, 0.91; KI, 1.5; Na₂SeO₃, 0.60; corn starch, 899.7

匀的个体(31.50±0.50) g,称重后随机放入15个养殖缸(水体积100 L)中,每缸25尾实验鱼。实验共设置5个处理,每个处理3个平行。养殖实验在湖南省长沙市长沙学院的室内循环水养殖系统中进行,实验期间水温24—26.5℃,溶氧>7.5 mg/L,氨氮<0.1 mg/L, pH为6.0—7.0,光照周期为12L/12D。实验期间,每天于9:00和15:00饲喂实验鱼至表观饱食,养殖时间74d。

1.3 样品采集

在实验结束后,禁食24h,分别捞出每缸实验鱼,经60 mg/L MS-222麻醉后准确称量每缸实验鱼总

重, 记录实验鱼尾数; 每缸取2尾鱼抹干称重后于 -20°C 保存以待全鱼常规营养成分分析; 每缸取2尾鱼抹干称重后, 测量体长和体重, 计算肥满度; 将2尾鱼分别解剖后分离出内脏团和肝脏组织并称重, 计算脏体比和肝体比; 使用2 mg/mL肝素钠溶液润洗注射器和离心管, 每缸取6尾鱼使用注射器于冰上通过尾静脉抽血并贮存于经肝素钠润洗过的1.5 mL离心管中, 在 4°C 条件下4500 r/min离心10 min获取血浆样品, 将离心管中的血浆分装在0.2 mL的离心管中用于血浆成分分析; 每缸取2尾鱼于冰上解剖, 依次分离出肝胰脏和肠道组织并立即置于液氮中暂存, 取样结束后放于 -80°C 保存以待相关酶活性检测和相关基因表达分析。

1.4 常规营养成分检测

全鱼预处理: 对实验鱼称重后将其放入高压蒸汽灭菌锅中于 121°C 蒸煮20 min, 冷却后捣碎, 再于 75°C 烘干, 称重并计算全鱼水分含量, 然后用粉碎机粉碎, 以用于全鱼常规营养成分检测。

实验饲料与实验鱼的常规营养组成参照AOAC (2000)方法进行测定: 水分含量采用 105°C 干燥恒重法进行测定; 灰分含量采用马弗炉 550°C 灼烧法测定; 粗脂肪含量采用索氏提取法进行测定; 粗蛋白含量采用凯氏定氮法进行测定。

1.5 肠道酶活与血浆生化成分检测

肠道中碱性磷酸酶(AKP)、胰蛋白酶活性, 血浆中葡萄糖(GLU)、血氨(PA)、总氨基酸(TAA)、总蛋白(TP)、甘油三酯(TG)、总胆固醇(T-CHO)、丙二醛(MDA)含量及谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)活性均采用南京建成生物工程研究所的试剂盒测定, 检测方法请参见相关试剂盒说明书。

1.6 基因表达分析

组织中各基因表达水平使用实时荧光定量PCR (qRT-PCR, Bio-Rad, Hercules, USA)进行分析。使用AG RNAex Pro Reagent试剂盒(湖南艾科瑞生物工程有限公司)提取肠道和肝脏组织总RNA, 使用全波长读数仪(Thermo Fisher Scientific Inc., USA)检测RNA浓度和纯度, 使用Evo M-MLV RT Mix Kit试剂盒(湖南艾科瑞生物工程有限公司)对RNA进行逆转录以获得cDNA。实验以 β -actin作为内参基因, 根据NCBI数据库中各基因序列, 使用Primer Premier 5软件分别设计引物, 委托擎科生物科技有限公司合成引物, 引物序列见表2。qRT-PCR反应体系(16 μL)如下: $2\times$ SYBR[®] Green ProTaq HS Premix (湖南艾科瑞生物工程有限公司) 8 μL , 正反引物各0.64 μL , cDNA模板1 μL , ROX Reference Dye (20 $\mu\text{mol/}$

L) 0.32 μL , ddH₂O 5.4 μL 。扩增程序: 95°C 预变性10 min; 95°C 15 s, 60°C 1 min, 进行40个循环。qRT-PCR数据使用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 方法^[16]进行分析。

1.7 计算公式

鱼体增重率(Weight gain rate, WGR)、特定生长率(Specific growth rate, SGR)、饲料系数(Feed conversion ratio, FCR)、摄食率(Feeding rate, FR)、存活率(Survival rate, SR)、肥满度(Condition factor, CF)、肝体比(Hepatopancreas somatic index, HSI)、脏体比(Viscerosomatic index, VSI)、氮储存效率(Nitrogen retention efficiency, NRE)和总氮排放量(Total nitrogen waste, TNW)等指标的计算方法参照如下:

增重率(%)=(终末体重-初始体重)/初始体重 $\times 100$;

特定生长率(%/d)= $100\times[\ln(\text{终末体重})-\ln(\text{初始体重})]/\text{投喂天数}$;

饲料系数(FCR)=饲料摄入量/(终末体重-初始体重);

摄食率(%BW/d)= $100\times\text{饲料摄入量}/[\text{投喂天数}\times(\text{初始体重}+\text{终末体重})/2]$;

存活率(%)= $100\times\text{实验终末鱼体数}/\text{实验初始鱼体数}$;

肥满度(g/cm^3)= $100\times\text{终末体重}/\text{终末体长}^3$;

肝体比= $100\times\text{肝胰脏重}/\text{鱼体重}$;

表2 实时荧光定量PCR扩增引物序列

Tab. 2 qRT-PCR primer sequence

基因Gene	引物序列Primer sequence (5'—3')
β -actin	GAAACTGGAAAGGGAGGTAGC
	CTGTGAGGGCAGAGTGGTAGA
tor	TCAGGGTTGTCAGCGTATTG
	AGGGTTTTATGGGCTAGTGC
igf1	ATTGCCCGCATCTCATCCTC
	TGACCGCTAGACATCCCCCTT
gh	CGCGTCTCTTTTCGCCTTATT
	TGCCTGGATGAGCACACTGA
ghr	ACCCACAACACGCAAGTCT
	GTTTACTGCCCTGTGCTCC
asct2	GAACACTGTGCTGTCTGGAGGTA
	CTTGGGTTGGTCGTTTGAATC
pept1	CAGGTTTGTGAATGGCTTTACC
	TGTGGATGTCGTTCCGGGTTA
lat2	TCTGTTCCCCACCTGCTTCC
	CCCTGTAGAAATGCTAATGCG
cdx2	GAACCCTCAGAATTTTGTACCCG
	R: GGTAATTCAGGGACGTGATG

脏体比=100×内脏重/鱼体重;

氮储存效率(%)=100×(终末体重×终末鱼体粗蛋白含量-初始体重×初始鱼体粗蛋白含量)/(饲料摄入量×饲料粗蛋白含量);

总氮排放量(g/kg增重)=1000×(饲料摄入量×饲料粗蛋白含量)×(1-NRE)/[(终末体重-初始体重)×6.25]。

1.8 统计分析

使用SPSS 19.0软件对实验数据进行单因素方差分析(One-way ANOVA), 通过Levene检验对数据进行方差同质性分析, 然后使用Duncan氏法进行多重比较, $P<0.05$ 表示差异显著; 实验结果均采用“平均值±标准误”(mean±SE)表示。

2 结果

2.1 生长性能

饲料中黑水虻幼虫粉添加水平对实验鱼存活率无影响; 增重率和特定生长率随饲料中黑水虻幼虫粉替代鱼粉比例的升高呈现先升高后降低的趋势, 且在SP20组有最大值; 饲料系数呈先降低后升

高的趋势, SP20组有最小值, 且SP20组饲料系数显著小于SP60和SP80处理组($P<0.05$)。各组摄食率相对SP0组均有上升趋势, 在SP40组有最大值(表3)。

2.2 形体指标

在本实验中, 实验鱼的肥满度随饲料中黑水虻幼虫粉添加比例的升高而先升高后降低, 肥满度在SP40组达到最大值, 而在SP80组有最小值, SP60和SP80组肥满度显著低于SP40组($P<0.05$); 脏体比呈先升高后降低趋势, SP40组有最大值且显著高于SP0组; 在SP0至SP60组间, 实验鱼肝体比随饲料中黑水虻幼虫粉添加比例增加呈现先升高后降低趋势, 但随着黑水虻幼虫粉进一步的提高, SP80组肝体比显著高于SP60、SP20和SP0组($P<0.05$; 表4)。

2.3 全鱼常规营养成分

随着饲料中黑水虻幼虫粉替代鱼粉比例的增加, 各处理组实验鱼的水分和灰分含量无显著影响; SP20和SP60组实验鱼粗蛋白显著低于SP0组($P<0.05$); 粗脂肪呈先升高后降低的变化趋势, 且在SP20组有最大值, 在SP80组有最小值, SP20组显著高于SP0和SP80组($P<0.05$; 表5)。

表3 黑水虻幼虫粉替代鱼粉对合方鲫生长性能的影响

Tab. 3 Effects of substituting fish meal with HM on growth performance of HCC

指标Index	SP0	SP20	SP40	SP60	SP80
初重IBW (g/尾)	31.60±0.29	31.30±0.23	31.43±0.43	31.93±0.18	31.17±0.23
末重FBW (g/尾)	50.23±0.52	50.57±1.20	50.27±0.94	49.43±0.52	49.27±1.39
增重率WGR (%)	59.00±2.65	61.52±2.68	59.80±0.89	54.81±1.83	58.01±4.05
特定生长率SGR (%/d)	0.63±0.02	0.65±0.02	0.64±0.01	0.59±0.02	0.62±0.03
饲料系数FCR	2.67±0.08 ^{ab}	2.61±0.03 ^a	2.79±0.06 ^{ab}	2.85±0.05 ^b	2.85±0.07 ^b
摄食率FR (%BW/d)	1.64±0.05	1.66±0.03	1.74±0.04	1.65±0.02	1.72±0.05
存活率SR (%)	100±0.00	100±0.00	100±0.00	100±0.00	100±0.00

注: 表中数据表示为平均值±标准误, 同行数值不同上标英文字母表示差异显著($P<0.05$); 下同

Note: Data are means±SE. Values in the same row with different superscript letters are significantly different ($P<0.05$); the same applies below

表4 黑水虻幼虫粉替代鱼粉对合方鲫形体指标的影响

Tab. 4 Effects of substituting fish meal with HM on morphology indexes of HCC

指标Index	SP0	SP20	SP40	SP60	SP80
肥满度CF (g/cm ³)	3.44±0.06 ^{ab}	3.43±0.12 ^{ab}	3.63±0.05 ^b	3.29±0.04 ^a	3.32±0.10 ^a
脏体比VSI	14.09±0.27 ^a	15.52±1.03 ^{ab}	16.90±0.19 ^b	15.67±1.09 ^{ab}	15.51±0.12 ^{ab}
肝体比HSI	3.20±0.28 ^a	3.49±0.28 ^{ab}	4.51±0.46 ^{bc}	3.94±0.12 ^{ab}	5.33±0.53 ^c

表5 黑水虻幼虫粉替代鱼粉对合方鲫鱼体常规营养成分的影响

Tab. 5 Effects of substituting fish meal with HM on body composition of HCC

指标Index	SP0	SP20	SP40	SP60	SP80
水分Moisture (%)	70.48±0.23	70.83±0.85	70.65±1.00	72.65±0.43	71.65±1.44
灰分Ash (%)	3.25±0.18	3.05±0.11	3.16±0.10	3.23±0.03	3.09±0.02
粗蛋白Crude protein (%)	15.46±0.65 ^c	13.33±0.50 ^a	14.42±0.22 ^{abc}	13.68±0.22 ^{ab}	14.85±0.07 ^{bc}
粗脂肪Crude lipid (%)	8.36±0.21 ^a	11.64±0.69 ^b	10.78±1.55 ^{ab}	9.00±0.03 ^{ab}	7.79±1.28 ^a

2.4 肠道消化酶活性

肠道碱性磷酸酶活性随饲料中黑水虻幼虫粉替代鱼粉比例的升高呈现升高趋势, 但各处理组间无显著差异; 胰蛋白酶活性在各组间的差异不显著(表 6)。

2.5 血浆生化指标

各组间血浆葡萄糖、总胆固醇含量及谷丙转氨酶、谷草转氨酶活性无显著差异; 血氨含量随饲料中黑水虻幼虫粉替代鱼粉比例的升高而持续增加; 血浆总氨基酸含量在SP20组有最大值, 且SP20组显著高于其他各处理组($P<0.05$); 血浆总蛋白含量在SP0组最高, 且SP0组显著高于各实验组($P<0.05$); 甘油三酯出现先升高后降低趋势, SP40组显著高于SP80组($P<0.05$); 血浆中丙二醛含量在高水平黑水虻幼虫粉组也出现下降趋势, SP60和SP80组

丙二醛含量显著低于SP20组($P<0.05$), 但各实验组与SP0组间的差异均不显著($P>0.05$, 表 7)。

2.6 肠道与肝脏基因表达分析

黑水虻幼虫粉替代饲料中鱼粉显著影响实验鱼肠道基因表达(图 1)。SP40组肠道中谷氨酰胺转运白2(Alanine, Serine, Cysteine transporter 2, *asct2*)基因表达水平显著高于SP0组($P<0.05$), 而SP20、SP60和SP80组与SP0组无显著差异; L型氨基酸转运蛋白2(L-type amino acid transporter 2, *lat2*)基因在SP20组有最高表达量, 其次是SP40组; 小肽转运蛋白1(Oligopeptide transporter 1, *pept1*)基因表达水平在SP20组最高, SP20、SP40和SP60组*pept1*表达量显著高于SP0组($P<0.05$); 尾型同源盒基因(Caudal-related homeobox 2, *cdx2*)在SP20组的表达量最高, SP20组显著高于SP0和SP40组($P<0.05$)。

表 6 黑水虻幼虫粉替代鱼粉对合方鲫肠道消化酶活性的影响

Tab. 6 Effects of substituting fish meal with HM on intestinal digestive enzyme activity of HCC

指标Index	SP0	SP20	SP40	SP60	SP80
碱性磷酸酶AKP (U/g prot)	363.03±31.69	365.26±161.73	379.58±44.62	412.52±20.64	495.63±75.43
胰蛋白酶Trypsin (U/mg prot)	1448.71±88.66	1579.63±309.92	1422.57±111.28	1858.94±283.33	1561.56±218.77

表 7 黑水虻幼虫粉替代鱼粉对合方鲫血浆生化指标的影响

Tab. 7 Effects of substituting fish meal with HM on plasma biochemical indexes of HCC

指标Index	SP0	SP20	SP40	SP60	SP80
葡萄糖GLU (mmol/L)	2.60±0.14	2.45±0.20	2.02±0.07	2.23±0.35	2.66±0.32
血氨PA (μmol/L)	323.29±25.31 ^a	360.35±15.09 ^{ab}	376.23±9.40 ^{ab}	378.54±31.80 ^{ab}	427.74±28.51 ^b
总氨基酸TAA (μmol/mL)	62.23±4.04 ^a	202.81±23.05 ^b	47.83±3.33 ^a	45.65±7.17 ^a	47.7±6.82 ^a
总蛋白TP (mg/mL)	31.46±1.29 ^b	26.06±1.63 ^a	21.39±1.75 ^a	23.62±0.55 ^a	24.60±1.67 ^a
甘油三酯TG (mmol/L)	1.36±0.09 ^{ab}	1.47±0.05 ^{ab}	1.78±0.28 ^b	1.22±0.16 ^{ab}	1.02±0.27 ^a
总胆固醇T-CHO (mmol/L)	6.50±0.53	6.95±0.14	7.16±1.51	5.15±0.84	5.03±0.49
丙二醛MDA (nmol/mL)	8.98±0.88 ^{ab}	10.46±0.80 ^b	9.17±1.53 ^{ab}	6.39±1.05 ^a	6.11±0.58 ^a
谷丙转氨酶ALT (U/L)	2.93±0.55	3.69±0.26	2.82±0.34	3.44±0.74	2.93±0.49
谷草转氨酶AST (U/L)	12.87±3.53	12.86±1.30	12.28±1.31	17.48±3.47	17.93±1.78

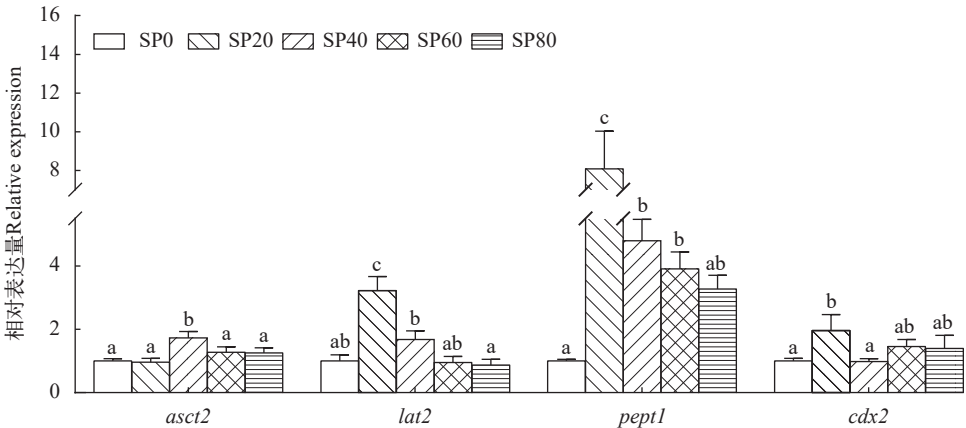


图 1 黑水虻幼虫粉替代鱼粉对合方鲫肠道基因表达的影响

Fig. 1 Effects of substituting fish meal with HM on intestinal genes expression of HCC

肝脏中生长相关基因表达水平也显著受到饲料中黑水虻幼虫粉水平的影响(图2)。雷帕霉素靶蛋白(Target of rapamycin, *tor*)基因表达水平呈现先升高后降低趋势, SP40组有最高表达水平, 且显著高于SP0组($P<0.05$); 胰岛素样生长因子I(Insulin-like growth factor I, *igf1*)基因在SP40组有最高表达量, 且SP40组显著高于SP60和SP80组($P<0.05$); 肝脏中生长激素(Growth hormone, *gh*)和生长激素受体(Growth hormone receptor, *ghr*)基因的表达量变化趋势相似, 均在SP60组有最大值, 且显著高于SP0组($P<0.05$)。

2.7 氮储存效率及总氮排放量

SP60组氮储存效率相对SP0组显著降低($P<0.05$), SP20、SP40和SP80组与SP0组无显著差异($P>0.05$); 各实验组总氮排放量与SP0组均无显著差异($P>0.05$), SP40和SP60组总氮排放量显著高于SP80组($P<0.05$; 图3)。

3 讨论

3.1 黑水虻幼虫粉对合方鲫生长性能和形体指标的影响

增重率、特定生长率等指标是水产营养学研

究中用于评价水产动物生长速率的重要指标。在本实验中, 合方鲫增重率和特定生长率随饲料中黑水虻幼虫粉替代鱼粉比例的升高呈现先升高后降低的趋势。这与Xiao等^[17]在黄颡鱼中的研究结果相似, 即在适宜范围内提高饲料黑水虻幼虫粉添加比例可提高鱼体的生长速率, 而超过适宜范围, 饲料中过高含量的黑水虻幼虫粉会抑制鱼体的生长。这种效果可能与不同黑水虻幼虫粉含量饲料之间的营养利用率差异有关^[9]。蛋白质和脂肪是鱼类饲料中的主要营养素, 饲料的氨基酸组成和脂肪酸组成可显著影响鱼体对饲料营养的利用效率。一些研究表明, 黑水虻幼虫粉的必需氨基酸组成均衡, 甚至接近鱼粉^[18], 但在非必需氨基酸方面, 黑水虻幼虫粉中的牛磺酸含量较低, 并不能满足鱼体营养需要^[19]。脂肪酸组成较差是限制黑水虻幼虫粉在饲料中大规模应用的一个主要因素, 尤其是其n-3多不饱和脂肪酸的含量, 远不能满足鱼体生长的需要, 而饲料中n-3多不饱和脂肪酸缺乏将导致鱼体生长受抑^[20]。除了饲料营养组成平衡性因素的影响外, 黑水虻幼虫粉中昆虫外壳的存在是影响饲料营养素在鱼体中利用率的另一重要因素, 昆虫外壳中存在较高含量几丁质和难消化蛋白质^[21], 饲料中

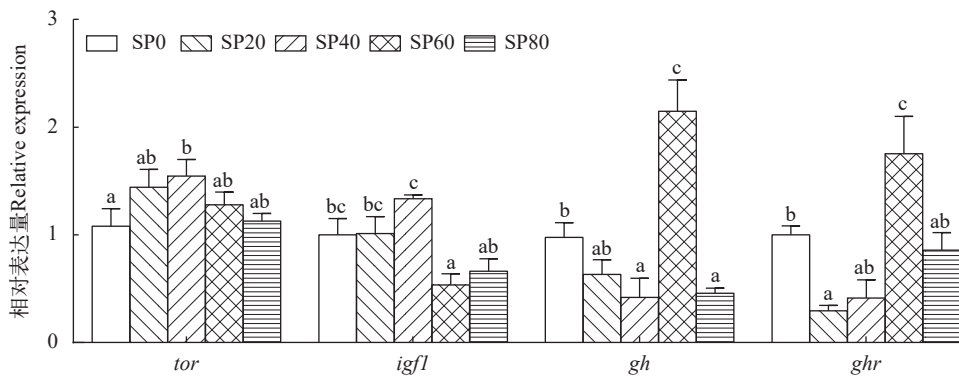


图2 黑水虻幼虫粉替代鱼粉对合方鲫肝脏基因表达的影响

Fig. 2 Effects of substituting fish meal with HM on liver genes expression of HCC

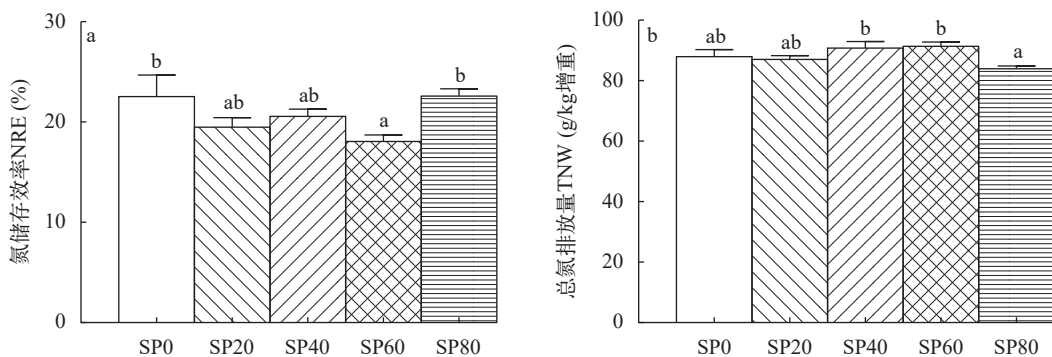


图3 黑水虻幼虫粉替代鱼粉对合方鲫氮储存效率(a)及总氮排放量(b)的影响

Fig. 3 Effects of substituting fish meal with HM on NRE(a) and TNW(b) of HCC

黑水虻幼虫粉含量提高后, 几丁质和难消化蛋白质含量也随之升高, 从而使饲料中可消化蛋白含量降低, 这也可能是本实验中SP60和SP80组生长速率相对于对照组呈下降趋势的主要原因之一。

昆虫是肉食性和杂食性鱼类天然食谱的重要组成部分, 特别是在鱼类的幼体和鱼种阶段, 因此, 昆虫含有“天然诱食剂”成分, 可能增加饲料对于鱼类的适口性^[3]。本实验中SP20—SP80组实验鱼的摄食率相对于SP0组均有上升趋势, 可能表明黑水虻幼虫粉对于合方鲫这一杂食性鱼类而言具有较好的诱食作用。

肥满度、脏体比和肝体比等是评价鱼体形体的常用指标, 可在一定程度上反映鱼体的脂肪沉积状态和健康水平。在本研究中, 合方鲫肥满度和脏体比随饲料中黑水虻幼虫粉替代鱼粉比例的升高呈现先升高后降低的趋势, 相似结果也出现在Xiao等^[17]和Li等^[12]的研究中。高黑水虻幼虫粉水平组肥满度和脏体比的降低可能与饲料中几丁质的含量有关, 因为几丁质中含有高水平壳聚糖, 已有研究表明壳聚糖在鱼类中具有降低胆固醇、影响鱼体脂肪沉积的特性^[22, 23]。在SP0—SP60组, 肝体比与肥满度和脏体比呈现同步变化趋势, 但在SP80组显著升高, 这可能与SP80组实验饲料中脂肪含量较高有关, 尽管根据计算, 各组的实验饲料所含能量是相等的。

3.2 黑水虻幼虫粉对合方鲫全鱼常规营养成分的影响

水产养殖业产业链的下游是市场, 除了增加养殖鱼类的生长速率以节约养殖成本和保障水产品更快更好地走向市场外, 获得更高的鱼体营养物质蓄积量也是水产养殖业主要追求的效益之一。在本实验条件下, 合方鲫的水分和灰分含量不受饲料中黑水虻幼虫粉含量的影响, 实验组粗蛋白相对于对照组均有降低趋势, 粗脂肪则随饲料中黑水虻幼虫粉含量增加呈现先升高后降低趋势。Xiao等^[17]在黄颡鱼的研究中, 使用黑水虻幼虫粉分别替代饲料中13%—100%的鱼粉, 黄颡鱼体蛋白含量在0—68%替代组呈下降趋势, 但无显著差异, 而85%和100%替代组黄颡鱼体蛋白显著低于0替代组, 各实验组黄颡鱼体脂肪相对0组也存在不同程度降低; 其认为影响因素可能来自于不同处理组饲料中不同含量的甲壳素, 较高含量的甲壳素可能影响了实验鱼的摄食量、营养物质利用率和生长性能等^[11]。在胡俊茹等^[24]的研究中, 各实验组鲈体脂肪相对于对照组均出现不同程度上升, 其认为这可能是由于

实验组饲料中脂肪含量较高, 而这也可能是本实验中SP20和SP40组实验鱼体脂肪含量较高的原因。在本实验中, 黑水虻幼虫粉未经脱脂处理, 制成的实验饲料中脂肪含量相对于对照组有所升高, 这可能导致SP20和SP40组合方鲫脂肪沉积量增加, 而在SP80组, 合方鲫体脂肪可能由于饲料中较高含量甲壳素的影响而相对于SP20组显著降低。具体机制还有待进一步分析。

3.3 黑水虻幼虫粉对合方鲫肠道消化酶和血浆生化的影响

肠道胰蛋白酶和碱性磷酸酶是关联肠道基本消化吸收功能的标志性关键酶^[12, 25], 其活性高低可反映鱼体对营养物质的消化吸收情况。在本研究中, 合方鲫肠道胰蛋白和碱性磷酸酶活性在各处理组间均无显著变化。Li等^[12]在建鲤的实验中, 发现使用黑水虻幼虫粉替代饲料中0—100%的鱼粉对肠道胰蛋白酶等消化酶活性无显著影响, 与本实验的结果一致。这可能说明, 黑水虻幼虫粉对鱼体的消化吸收能力无影响, 也可能暗示着高替代组合方鲫生长速率的下降是由于营养物质的利用效率受到了影响。

鱼类血液指标可反映鱼体的生理代谢、营养状况及健康状态等, 是重要的生理、病理学指标^[26]。血糖是评价鱼体营养状况优劣的重要指标, 含量较高时表现为鱼类积极摄食, 健康状态良好^[27]。本研究发现黑水虻幼虫粉对各组实验鱼葡萄糖无显著影响, 表明各组实验鱼营养状态良好。鱼体中血氨主要来自于各组织中氨基酸代谢分解和肠道吸收, 当机体氨氮排泄受到抑制时, 表现为血氨持续升高, 到达临界值后会对鱼体产生严重的毒害作用^[28]。本实验中各组血氨浓度均高于SP0组, 且在SP80组达到最大值, 表明饲料中黑水虻幼虫粉含量过高可能会降低合方鲫氨氮调控和排泄能力。饲料中蛋白质经肠道消化酶代谢分解为小肽和氨基酸后进入血液, 通过血液运输到各组织中重新被利用^[29]。本研究中SP20组血浆总氨基酸含量显著高于SP0组, 表明在SP20组合方鲫体内, 通过血液供给鱼体各组织重新利用的氨基酸量高于SP0组合方鲫, 这可能表明饲料中添加适宜比例的黑水虻幼虫粉有助于鱼体对饲料氨基酸营养的吸收。血浆总蛋白是血浆中白蛋白和球蛋白的总和, 是反映机体蛋白质代谢状况的重要指标^[30]。血浆总蛋白含量的改变可能与生存环境压力的改变、转氨途径的氨基酸合成以及作为尿蛋白或其他功能小肽的存在有关^[31, 32], 其含量增加可促进机体蛋白质沉积。在本实验中,

各实验组合方鲫血浆总蛋白均低于SP0组,表明饲料中黑水虻幼虫粉的存在可能会对机体蛋白质沉积有负面作用,这也可能是实验组合方鲫全鱼粗蛋白均低于SP0组的原因,如上文所述, Xiao等^[17]认为这可能是由于黑水虻幼虫粉中甲壳素的存在。血浆甘油三酯和总胆固醇的浓度可反映机体脂肪代谢和沉积状况^[7]。本实验中血浆甘油三酯和总胆固醇浓度均呈现先升高后降低的变化趋势,与全鱼粗脂肪含量的变化趋势相同,胡俊茹等^[24]也发现了相似的结果,这表明高替代组中黑水虻幼虫粉可能是通过抑制鱼体的脂肪代谢和沉积能力来降低鱼体脂肪含量。肝脏是氨基酸代谢的主要场所,谷丙转氨酶和谷草转氨酶是肝细胞中活性最强的转氨酶,在动物机体蛋白质代谢中起重要作用^[30]。当肝脏受损时,肝细胞中谷丙转氨酶和谷草转氨酶会进入到血液中,导致血液中谷丙转氨酶和谷草转氨酶浓度升高。此外,血浆丙二醛含量升高也是肝脏组织损伤的重要指标^[33]。Li等^[12]研究发现,黑水虻幼虫粉替代建鲤饲料中的鱼粉对血清中谷丙转氨酶和谷草转氨酶活性无显著影响。相似的,本研究中各处理组合方鲫血浆中谷丙转氨酶和谷草转氨酶活性无显著差异,丙二醛含量呈先升高后降低趋势,但与SP0组均相比无显著变化,这表明在本实验的条件下,黑水虻幼虫粉替代饲料中0—100%的鱼粉对合方鲫肝脏组织结构完整性无负面影响。

3.4 黑水虻幼虫粉对合方鲫肠道和肝脏基因表达的影响

肠道是动物机体吸收氨基酸和小肽的主要场所,小肽和氨基酸通过转运蛋白从肠道细胞外进入到细胞内,从而被机体吸收和重新利用^[29]。*asct2*、*lat2*和*pept1*是肠道中氨基酸和小肽吸收的主要转运载体,*cdx2*是一种肠特异性的核转录因子,可调节肠上皮细胞的增殖和分化,并通过介导*pept1*对小肽的转运来影响蛋白质的吸收^[34]。在本实验中,肠道中*lat2*、*pept1*和*cdx2*基因的表达水平均在SP20组达到最大,而*asct2*基因在SP40组中呈现最高表达水平,表明SP20组合方鲫对于饲料蛋白质的吸收效果较好,这与本实验中血浆氨基酸指标的结果一致。Cardinaletti等^[35]报道,使用黑水虻幼虫粉替代饲料(蛋白水平为42%,复合植物蛋白添加量为57.9%)中60%的复合植物蛋白可显著提高虹鳟消化道中胃蛋白酶原基因*peps*和氨基酸转运蛋白*b0at1*的表达水平,*pept1*基因表达水平相比基础饲料组呈上升趋势但无显著差异。*pept1*的表达和活性可能取决于饲料中小肽的组成和浓度,以及肠道中可能影响营养物质吸收的其他成分^[29]。此外,游离氨基酸的

摄取可能受到小肽吸收的调控^[29],这可以部分解释本研究中*asct2*、*lat2*、*pept1*和*cdx2*等基因表达水平的上调,但具体机制还有待进一步研究。

鱼类的生长在很大程度上取决于蛋白质的沉积,而蛋白质的沉积取决于蛋白质合成与降解之间的平衡,蛋白质代谢的研究表明,*tor*信号通路在鱼类和哺乳动物的蛋白质合成代谢中起着关键作用,而*gh-igf1*轴通过激活*tor*通路高度调节鱼体生长^[36]。在本研究中,SP40组合方鲫肝脏中*tor*和*igf1*表达量最高,而SP20组*tor*和*igf1*表达水平与SP0组无显著差异,相比生长结果,合方鲫肝脏中生长关键基因表达水平表现出一定的滞后性。相似的,崔锡帅^[37]发现,使用黑水虻幼虫粉替代基础饲料(鱼粉比例为42%)中8%的鱼粉可显著提高暗纹东方鲀(*Taki-fugu obscurus*)肝脏中*tor*的表达水平。韩星星^[38]在大黄鱼(*Larimichthys crocea*)中的研究中也获得了相似的结果,但适宜比例为100%(饲料鱼粉比例为42%)。实验结果的差异可能与实验鱼的种类、食性、饲料配方及黑水虻幼虫粉的营养成分等因素有关。

3.5 黑水虻幼虫粉对合方鲫氮储存效率及总氮排放量的影响

现代水产养殖业的发展依赖于水产饲料技术的发展,水产饲料的大规模使用是水产养殖业快速发展的基础。然而,饲料的大量使用导致氮、磷元素等大量进入,诱发水体富营养化^[39]。开发优质环保饲料,降低养殖鱼类氮排放量,提高鱼体氮储存效率,是减少水体富营养化的有效途径之一。郭伊田等^[40]报道,黑水虻幼虫粉替代大口黑鲈(*Micropterus salmoides*)饲料(鱼粉比例为40%)中鱼粉蛋白的比例达到75%会显著降低鱼体的氮保留效率,同时引起氮排放显著增加。Li等^[12]研究也发现,使用脱脂黑水虻幼虫粉替代建鲤饲料(鱼粉比例为10%)中0—100%的鱼粉对蛋白质效率无显著影响。本实验中SP20、SP40和SP80组合方鲫氮储存效率与SP0组无显著差异,所有实验组总氮排放量与SP0组均无显著差异,表明黑水虻幼虫粉替代饲料鱼粉对合方鲫氮储存能力无显著影响。

4 结论

在本实验条件下,黑水虻幼虫粉替代饲料中0—40%的鱼粉对合方鲫的生长、形体及氮储存能力等无显著影响,当黑水虻幼虫粉替代20%鱼粉蛋白时,合方鲫有最大生长速率。

本研究的结果将为鲫饲料原料的开发与应用

提供一定的数据参考。同时,一些科学问题还待进一步研究: (1)不同品质(来源和加工工艺等)的黑水虻幼虫粉在饲料中应用的比较研究; (2)黑水虻幼虫粉在不同食性鱼类中适用性的比较研究; (3)鱼类的规格对黑水虻幼虫粉在饲料中应用的影响。

参考文献:

- [1] FAO. The State of World Fisheries and Aquaculture 2020 [M]. Rome, 2020: 1-5.
- [2] Leng X J. The research and application of low fish meal diets in aquaculture [J]. *Feed Industry*, 2020, **41**(22): 1-8. [冷向军. 低鱼粉水产饲料的研究与应用 [J]. 饲料工业, 2020, **41**(22): 1-8.]
- [3] Nogales-Mérida S, Gobbi P, Józefiak D, et al. Insect meals in fish nutrition [J]. *Reviews in Aquaculture*, 2019, **11**(4): 1080-1103.
- [4] van Huis A. Potential of insects as food and feed in assuring food security [J]. *Annual Review of Entomology*, 2013(58): 563-583.
- [5] Bußler S, Rumpold B A, Jander E, et al. Recovery and techno-functionality of flours and proteins from two edible insect species: Meal worm (*Tenebrio molitor*) and black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae [J]. *Heliyon*, 2016, **2**(12): e00218.
- [6] St-Hilaire S, Cranfill K, McGuire M A, et al. Fish offal recycling by the black soldier fly produces a foodstuff high in Omega-3 fatty acids [J]. *Journal of the World Aquaculture Society*, 2007, **38**(2): 309-313.
- [7] Wang G X, Chen B, Sun Y P, et al. Effects of replacing fish meal with defatted black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae meal on growth performance, nutrient retention, serum biochemical parameters and digestive enzymes activity of juvenile *Pelteobagrus fulvidraco* [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2020, **44**(6): 987-998. [王国霞, 陈冰, 孙育平, 等. 脱脂亮斑扁角水虻幼虫粉替代鱼粉对黄颡鱼幼鱼生长性能、营养素沉积率、血清生化指标和消化酶活性的影响 [J]. 水产学报, 2020, **44**(6): 987-998.]
- [8] Sealey W M, Gaylord T G, Barrows F T, et al. Sensory analysis of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, fed enriched black soldier fly prepupae, *Hermetia illucens* [J]. *Journal of the World Aquaculture Society*, 2011, **42**(1): 34-45.
- [9] Magalhães R, Sánchez-López A, Leal R S, et al. Black soldier fly (*Hermetia illucens*) pre-pupae meal as a fish meal replacement in diets for European seabass (*Dicentrarchus labrax*) [J]. *Aquaculture*, 2017(476): 79-85.
- [10] Kroeckel S, Harjes A, Roth I, et al. When a turbot catches a fly: Evaluation of a pre-pupae meal of the black soldier fly (*Hermetia illucens*) as fish meal substitute-growth performance and chitin degradation in juvenile turbot (*Psetta maxima*) [J]. *Aquaculture*, 2012(364/365): 345-352.
- [11] Cummins V C Jr, Rawles S D, Thompson K R, et al. Evaluation of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae meal as partial or total replacement of marine fish meal in practical diets for Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) [J]. *Aquaculture*, 2017(473): 337-344.
- [12] Li S, Ji H, Zhang B, et al. Defatted black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae meal in diets for juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian): growth performance, antioxidant enzyme activities, digestive enzyme activities, intestine and hepatopancreas histological structure [J]. *Aquaculture*, 2017(477): 62-70.
- [13] Liu S J, Wang J, Luo K K. Hefang crucian carp [J]. *China Fisheries*, 2018(1): 63-65. [刘少军, 王静, 罗凯坤. 合方鲫 [J]. 中国水产, 2018(1): 63-65.]
- [14] Wang J, Xiao J, Zeng M, et al. Genomic variation in the hybrids of white crucian carp and red crucian carp: evidence from ribosomal DNA [J]. *Science China Life Sciences*, 2015, **58**(6): 590-601.
- [15] Liu Q F, Wang J, Xiao J, et al. Muscle nutrient of *Carassius auratus cuvieri* (♀)×*Carassius auratus* red var. (♂) and its parents [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2017, **41**(7): 1133-1139. [刘庆峰, 王静, 肖军, 等. 合方鲫及其亲本肌肉营养成分分析 [J]. 水产学报, 2017, **41**(7): 1133-1139.]
- [16] Livak K J, Schmittgen T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method [J]. *Methods*, 2001, **25**(4): 402-408.
- [17] Xiao X P, Jin P, Zheng L, et al. Effects of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae meal protein as a fishmeal replacement on the growth and immune index of yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*) [J]. *Aquaculture Research*, 2018, **49**(4): 1569-1577.
- [18] Henry M, Gasco L, Piccolo G, et al. Review on the use of insects in the diet of farmed fish: past and future [J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2015(203): 1-22.
- [19] El-Sayed A F M. Is dietary taurine supplementation beneficial for farmed fish and shrimp? A comprehensive review [J]. *Reviews in Aquaculture*, 2014, **6**(4): 241-255.
- [20] Yang G, Jiang W, Chen Y, et al. Effect of oil source on growth performance, antioxidant capacity, fatty acid composition and fillet quality of juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) [J]. *Aquaculture Nutrition*, 2020, **26**(4): 1186-1197.
- [21] Jonas-Levi A, Martinez J J I. The high level of protein content reported in insects for food and feed is overestimated [J]. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2017(62): 184-188.
- [22] Chen Y, Zhu X, Yang Y, et al. Effect of dietary chitosan on growth performance, haematology, immune response, intestine morphology, intestine microbiota and disease resistance in gibel carp (*Carassius auratus gibelio*) [J].

- Aquaculture Nutrition*, 2014, **20**(5): 532-546.
- [23] Khoushab F, Yamabhai M. Chitin research revisited [J]. *Marine Drugs*, 2010, **8**(7): 1988-2012.
- [24] Hu J R, Wang G X, Mo W Y, *et al.* Effects of fish meal replacement by black soldier fly (*Hermetia illucens* L.) larvae meal on growth performance, body composition, plasma biochemical indexes and tissue structure of juvenile *Lateolabrax japonicus* [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2018, **30**(2): 613-623. [胡俊茹, 王国霞, 莫文艳, 等. 黑水虻幼虫粉替代鱼粉对鲈鱼幼鱼生长性能、体组成、血浆生化指标和组织结构的影响 [J]. *动物营养学报*, 2018, **30**(2): 613-623.]
- [25] Xiao Y P, Hong Q H, Liu X T, *et al.* Effects of glutamine on growth performance, apparent digestibility of nutrients, jejunal alkaline phosphatase activity and expression of genes related to intestinal health in weaner piglets [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2012, **24**(8): 1438-1446. [肖英平, 洪奇华, 刘秀婷, 等. 谷氨酰胺对断奶仔猪生长性能、营养物质表观消化率、空肠碱性磷酸酶活性及与肠道健康相关因子基因表达的影响 [J]. *动物营养学报*, 2012, **24**(8): 1438-1446.]
- [26] Zhou Y, Guo W C, Yang Z G, *et al.* Advances in the study of hematological indexes of fish [J]. *Journal of Shanghai Fisheries University*, 2001, **10**(2): 163-165. [周玉, 郭文场, 杨振国, 等. 鱼类血液学指标研究的进展 [J]. *上海水产大学学报*, 2001, **10**(2): 163-165.]
- [27] Lu Y, Yang Y H, Wang Y Y, *et al.* Effects of different replacement ratio of fish meal by extruded soybean meal on growth, body composition and hematology indices of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2010, **22**(1): 221-227. [陆阳, 杨雨虹, 王裕玉, 等. 不同比例膨化豆粕替代鱼粉对虹鳟生长、体成分及血液学指标的影响 [J]. *动物营养学报*, 2010, **22**(1): 221-227.]
- [28] Lu G Z, Yao Z L, Lai Q F, *et al.* Growth performance, blood parameters, and texture characteristics of juvenile largemouth bass (*Micropterus salmoides*) exposed to highly saline-alkaline water [J]. *Progress in Fishery Sciences*, 2022, **43**(4): 1-11. [逯冠政, 么宗利, 来琦芳, 等. 高盐碱环境下大口黑鲈幼鱼生长性能、血液生理指标与质构特征研究 [J]. *渔业科学进展*, 2022, **43**(4): 1-11.]
- [29] Gilbert E R, Wong E A, Webb K E, Jr. Board-invited review: peptide absorption and utilization: implications for animal nutrition and health [J]. *Journal of Animal Science*, 2008, **86**(9): 2135-2155.
- [30] Chen X Y, Hu J R, Wang G X, *et al.* Effects of fish meal replacement by black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae meal on growth performance, serum biochemical indices and meat quality of juvenile yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*) [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2019, **31**(6): 2788-2799. [陈晓瑛, 胡俊茹, 王国霞, 等. 黑水虻幼虫粉替代鱼粉对黄颡鱼幼鱼生长性能、肌肉品质及血清生化指标的影响 [J]. *动物营养学报*, 2019, **31**(6): 2788-2799.]
- [31] Perazzolo L M, Gargioni R, Ogliairi P, *et al.* Evaluation of some hemato-immunological parameters in the shrimp *Farfantepenaeus paulensis* submitted to environmental and physiological stress [J]. *Aquaculture*, 2002, **214**(1/2/3/4): 19-33.
- [32] Carver J D, Allan Walker W. The role of nucleotides in human nutrition [J]. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 1995, **6**(2): 58-72.
- [33] Xie D Z, Chen H Y, Xu C, *et al.* Effects of compounded animal and vegetable protein feeds on growth performance, muscle quality and nitrogen and phosphorus emissions of *Micropterus salmoides* [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2021, **33**(5): 2836-2847. [谢帝芝, 陈汉毅, 徐超, 等. 复合动植物蛋白质饲料对大口黑鲈生长性能、肌肉品质及氮、磷排放的影响 [J]. *动物营养学报*, 2021, **33**(5): 2836-2847.]
- [34] Song P, Cao S P, Tang J Z, *et al.* Effects of dietary rapeseed meal on the growth performance, intestinal morphology and microflora of grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2019, **43**(6): 1147-1154. [宋鹏, 曹申平, 唐建洲, 等. 饲料中发酵芝麻粕替代菜粕对草鱼生长性能、肠道形态和微生物及小肽转运相关基因表达的影响 [J]. *水生生物学报*, 2019, **43**(6): 1147-1154.]
- [35] Cardinaletti G, di Marco P, Daniso E, *et al.* Growth and welfare of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in response to graded levels of insect and poultry by-product meals in fishmeal-free diets [J]. *Animals*, 2022, **12**(13): 1698.
- [36] Rolland M, Dalsgaard J, Holm J, *et al.* Dietary methionine level affects growth performance and hepatic gene expression of GH-IGF system and protein turnover regulators in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed plant protein-based diets [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 2015(181): 33-41.
- [37] Cui X S. Effects of fishmeal replacement by poultry by-product meal, black soldier fly larvae meal and *Clostridium autoethanogenum* protein on growth performance, protein metabolism and related gene expression for juvenile obscure pufferfish (*Takifugu obscurus*) [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2022. [崔锡师. 鸡肉粉、黑水虻幼虫粉和乙醇梭菌蛋白替代鱼粉对暗纹东方鲀生长性能、蛋白代谢及相关基因表达的影响 [D]. 上海: 上海海洋大学, 2022.]
- [38] Han X X. Study on the application of defatted black soldier fly larvae meal in the formulated diets for juvenile large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) [D]. Xiamen: Jimei University, 2019. [韩星星. 脱脂黑水虻虫粉在大黄鱼幼鱼配合饲料中的应用研究 [D]. 厦门: 集美大学, 2019.]
- [39] Bouwman A F, Beusen A H W, Overbeek C C, *et al.*

- Hindcasts and future projections of global inland and coastal nitrogen and phosphorus loads due to finfish aquaculture [J]. *Reviews in Fisheries Science*, 2013, **21**(2): 112-156.
- [40] Wu Y, Wang J, Kong L, *et al.* Effects of defatted black soldier fly meal on growth performance, nitrogen and phosphorus utilization and liver antioxidant capacity of largemouth bass (*Micropterus salmoides*) [J]. *Feed Industry*, 2022, **43**(22): 55-59. [郭伊田, 王迦源, 孔琳惠, 等. 脱脂黑水虻虫粉对大口黑鲈生长性能, 氮磷利用及肝脏抗氧化力的影响 [J]. 饲料工业, 2022, **43**(22): 55-59.]

REPLACING FISH MEAL WITH *HERMETIA ILLUCENS* LARVAE MEAL ON GROWTH PERFORMANCE, DIGESTIVE CAPACITY, PLASMA BIOCHEMICAL INDEXES AND RELATED GENES EXPRESSION IN HEFANG CRUCIAN CARP

XIAO Yang-Bo¹, CAO Shen-Ping¹, AO Qing¹, HUANG Kang¹, MO Yu-Jian¹, ZHANG Xin-Ran¹, ZHENG Xin-Yi¹, TONG Xiao-Nian¹, MAO Zhuang-Wen¹, FAN Jun-De², LIU Zhen¹ and TANG Jian-Zhou¹

(1. Hunan Provincial Key Laboratory of Nutrition and Quality Control of Aquatic Animals, Department of Biological and Chemical Engineering, Changsha University, Changsha 410022, China; 2. Yueyang Yumeikang Biotechnology Co., Ltd., Yueyang 414100, China)

Abstract: To investigate the effects of dietary replacement fishmeal protein with *Hermetia illucens* larvae meal (HM) on growth performance, digestive capacity, plasma biochemical indexes and related genes expression in Hefang crucian carp (*Carassis auratus*), five isonitrogenous (30%), isolipidic (6%) and isoenergetic (18.50 MJ/kg) diets were formulated to contain graded levels of fishmeal protein replacement by HM (0, 20%, 40%, 60% and 80% respectively) for a 74-day feeding trial. Each treatment was randomly assigned to triplicate groups of 25 fish [initial body weight of (31.50±0.50) g] per aquarium. Fish were fed twice daily to apparent satiation. Results showed that the weight gain rate (WGR) and specific growth rate (SGR) first increased and then decreased with the increased proportion of HM in diets, with a maximum in the 20% substitution group. Feed conversion ratio (FCR) showed an initial decrease followed by an increase, and the 20% substitution group was significantly less than 60% and 80% substitution groups ($P<0.05$). With the increased proportion of HM in diets, condition factor (CF) and viscerosomatic index (VSI) first increased and then decreased, with a maximum in the 40% substitution group. The hepatopancreas somatic index (HSI) of 80% substitution group was significantly higher than those in 0, 20% and 60% substitution groups ($P<0.05$), but there was no significant difference between 40% and 80% substitution group. The moisture and ash of fish body expressed no significant difference. However, crude protein of body in 20% and 60% substitution group was significantly lower than that in 0 group ($P<0.05$). Crude lipid of body showed an initial increase followed by a decrease, and the highest value was seen in 20% substitution group. There was no significant difference in plasma glucose concentration, total cholesterol concentration, alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase activity, but blood ammonia content showed an upward trend, the blood ammonia of 80% substitution group was significantly higher than that of 0 substitution group. Total plasma amino acid in the 20% substitution group was significantly higher than those in the other treatments ($P<0.05$). Plasma malondialdehyde was significantly lower in 60% and 80% substitution groups than that in 20% substitution group ($P<0.05$). The expression of *lat2*, *pept1* and *cdx2* genes in the intestine reached to the highest level in 20% substitution group, while *asct2* gene showed the highest expression in 40% substitution group. The expression of *tor* and *igf1* genes in liver was the highest in 40% substitution group, while the highest expression of *gh* and *ghr* genes were seen in 60% substitution group. These results suggested that 0—40% of fish meal in the diet of HCC could be substituted by HM, and 20% was the optimal optimum proportion.

Key words: *Hermetia illucens* larvae meal (HM); Low fish meal diet; Growth performance; Gene expression; Hefang crucian carp