

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2016.16112

蚯蚓粉替代鱼粉对大鳞副泥鳅生长、肌肉成分、血清生化指标及免疫性能的影响

范涛¹, 刘毅¹, 明伟², 林荣楠², 温安祥²

1. 四川农业大学 动物科技学院, 四川 成都 611130;

2. 四川农业大学 生命科学学院, 四川 雅安 625014

摘要: 以初始体重为(3.86±0.23) g 的大鳞副泥鳅(*Paramisgurnus dabryanus*)为试验对象, 研究蚯蚓(*Eisenia foetida*)粉替代鱼粉对其生长、肌肉成分、血清生化指标及免疫性能的影响。以 0 代替鱼粉为对照组, 用蚯蚓粉替代 25%、50%、75%、100% 的鱼粉配制成 5 组等氮等能饲料, 在网箱中进行 10 周的养殖试验。结果显示, 饲料中的蚯蚓粉替代鱼粉对大鳞副泥鳅的存活率无显著影响; 随着替代水平的升高, 饲料系数、增重率升高($P<0.05$), 肥满度、肝体比降低($P<0.05$)。各组间脾体比、特定生长率均无显著性差异; 75% 和 100% 替代组肌肉粗脂肪含量显著高于对照组($P<0.05$), 100% 替代组粗蛋白和水分含量显著低于对照组($P<0.05$)。随着饲料中蚯蚓粉水平的上升, 鱼体肌肉蛋白质的精氨酸、胱氨酸、天门冬氨酸含量升高($P>0.05$), 脯氨酸、组氨酸、蛋氨酸、苏氨酸、苯丙氨酸含量显著降低($P<0.05$); 各组间血清谷丙转氨酶活力、高密度脂蛋白胆固醇含量、脂肪酶和淀粉酶活性均无显著性差异($P>0.05$)。随着代替水平的上升, 血清甘油三酯和总胆固醇含量显著升高($P<0.05$), 谷草转氨酶显著降低($P<0.05$); 随着替代水平的继续上升, 肝胰脏过氧化氢酶、谷胱甘肽过氧化物酶、溶菌酶活力下降, 肝胰脏丙二醛含量、碱性磷酸酶活力、攻毒后的发病率和死亡率上升。各组间的肝胰脏总超氧化物歧化酶活力和总抗氧化能力均无显著性差异($P>0.05$)。研究表明, 本实验条件下, 蚯蚓粉可部分替代(22%)饲料鱼粉而不影响大鳞副泥鳅的生长和存活, 且能提高鱼体肌肉成分, 有效预防肝胰脏损伤和过氧化, 但显著降低了鱼类免疫性能($P<0.05$)。

关键词: 大鳞副泥鳅; 蚯蚓粉; 鱼粉替代; 生长; 肌肉成分; 血清生化; 免疫性能

中图分类号: S96

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2016)06-1320-12

鱼粉是营养品质最好的水产动物蛋白源之一, 可利用率高的氨基酸含量配比均衡, 维生素和矿物质丰富。然而, 随着产业的不断发展扩大, 鱼粉供应量有增无减, 价格攀升, 使水产养殖成本持续上涨, 探索鱼粉替代品已成为当前动物营养与水产养殖研究领域的重点议题之一。其他蛋白源具有易开发、来源广及价格低等优势, 替代鱼粉的首选。在吉富罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)^[1]、虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)^[2]、波斯鲟(*Acipenser persicus*)^[3]、太平洋蓝鳍金枪鱼(*Thunnus orientalis*)^[4]等鱼类上研究显示, 其他蛋白源可部分或

全部代替鱼粉。鱼类大多具有将蛋白质酶解为游离氨基酸和小肽而被组织利用的能力^[4]。故此, 对大部分鱼类而言, 饲料中添加其他蛋白源一般不会明显影响鱼类生长、消化和脂代谢能力^[5]。

蚯蚓粉(earthworm meal, EW)含有 65%~80% 粗蛋白, 10%~20% 粗脂肪, 除了含有丰富的常量元素外(如 Ca, K, Na, Mg 等), 还含有丰富均衡的微量元素(如 Fe, Zn, Cu, Co 等), 被认定为鱼粉的替代品之一^[2]。蚯蚓(*Lampito mauritii*)几乎分布于世界每个地区, 其具有适应性强和繁殖快等特点^[6], 蚯蚓粉资源相当充裕。近年来, 蚯蚓粉的加工技

收稿日期: 2016-04-08; 修订日期: 2016-05-13.

基金项目: 四川省教育厅资助项目(11ZA292).

作者简介: 范涛(1988-), 男, 硕士, 研究方向为水生动物营养与免疫. E-mail: aibidtno@yeah.net

通信作者: 温安祥, 教授, 博士生导师. E-mail: 2960657740@qq.com

术简单且成熟,完全实现了个人或工业化生产,价格低。因此,蚯蚓粉的应用前景广阔。蚯蚓粉富含精氨酸、赖氨酸、苏氨酸等必需氨基酸,这是其他蛋白源很难相比的^[7]。蚯蚓粉在饲料上的应用相当广泛,无论是陆生动物,还是水生动物^[8]。

大鳞副泥鳅(*Paramisgurnus dabryanus*)属鲤形目(Cypriniformes),鳅科(Cobtidae),副泥鳅属(*Paramisgurnus*),俗称黄板鳅,是一种小型鱼类^[9]。大鳞副泥鳅具有适应性强、生长速度快、营养价值高^[10]及抗病力强^[11]等特点,是中国养殖潜力最好的特种经济鱼类之一^[10]。

本研究以大鳞副泥鳅为研究对象,探究蚯蚓(*Eisenia fetida*)粉替代饲料中鱼粉对其生长、肌肉成分、血清生化指标和免疫性能的影响,评估蚯蚓粉替代鱼粉的可行性及其适宜代替水平,以期 为蚯蚓粉在水产饲料中的应用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

以豆粕、鱼粉为主要蛋白源,菜籽油为主要脂肪源,配制粗蛋白含量为 36.22%,粗脂肪含量为 4.79%的基础饲料。在此基础上,用蚯蚓粉分别代替基础饲料中 0%、25%、50%、75%、100%的鱼粉,配制成 5 组等氮等能的试验饲料,命名依次为 A 组、B 组、C 组、D 组、E 组,饲料配方及营养组成见表 1,鱼粉、蚯蚓粉及各组饲料氨基酸组成见表 2。饲料原料粉碎过 80 目过筛,按比例称量鱼粉和蚯蚓粉混匀后,装袋室温保存备用,每次饲喂前,加入一定比例的菜籽油和蒸馏水,制成直径为(2.5±0.2) cm 圆球形饵料。

1.2 饲养管理与样品采集

养殖试验在四川农业大学动物科技学院水产养殖试验基地开展。试验鱼由四川农业大学生命科学技术学院实验室自养自繁所得,试验开始前,试验鱼在水泥池中暂养 1 周,选取体质健壮、规格整齐的大鳞副泥鳅幼鱼[初始体重(3.86±0.23) g],随机放养在 15 个网箱中(长×宽×高=80 cm×80 cm×40 cm),网箱悬挂于室外的水泥池中(长×宽×高=280 cm×150 cm×150 cm,水深 130 cm 左右),每个网箱 26 尾,每种饲料随机投饲 3 个网箱。每天投

表 1 饲料配方组成及营养水平(风干基础)

Tab. 1 Composition and levels of nutrition of the 5 experimental diets (air dry basis) %

原料 ingredient	级别 group				
	A	B	C	D	E
蚯蚓粉 ¹⁾ earthworm meal ¹⁾	0	7.25	14.5	21.75	29
鱼粉 ²⁾ fishmeal ²⁾	29	21.75	14.5	7.25	0
豆粕 ³⁾ soybean meal ³⁾	30	30	30	30	30
小麦 ⁴⁾ wheat ⁴⁾	5	5	5	5	5
麦麸 ⁵⁾ wheat bran ⁵⁾	6	6	6	6	6
菜粕 ⁶⁾ rapeseed meal ⁶⁾	4	4	4	4	4
菜籽油 colza oil	2	2	2	2	2
玉米 ⁷⁾ corn ⁷⁾	18	18	18	18	18
Ca(H ₂ PO ₄) ₂	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
预混料 ⁸⁾ premix ⁸⁾	3	3	3	3	3
黏合剂 ⁹⁾ adhesive ⁹⁾	1	1	1	1	1
食盐 NaCl	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
合计 total	100	100	100	100	100
营养水平 nutrition level					
粗蛋白 crude protein	36.216	36.208	36.101	35.557	35.011
粗脂肪 crude fat	4.86	4.84	4.86	4.90	4.91
粗灰分 crude ash	5.902	5.862	5.827	5.806	5.784
水分 moisture	11.15	9.35	8.00	6.30	5.28
总钙 total calcium	1.539	1.518	1.502	1.528	1.569
总磷 total phosphorus	1.343	1.352	1.389	1.402	1.436
总能 ¹⁰⁾ /(MJ·kg ⁻¹) gross energy ¹⁰⁾	13.69	13.66	13.63	13.62	13.59

注: 1) 蚯蚓粉: 粗蛋白 65.50%, 粗脂肪 12.68%; 2) 鱼粉: 粗蛋白 66.70%, 粗脂肪 8.12%; 3) 豆粕: 粗蛋白 45.52%, 粗脂肪 1.39%; 4) 小麦: 粗蛋白 16.33%, 粗脂肪 1.64%; 5) 麦麸: 粗蛋白 12.40%, 粗脂肪 1.03%; 6) 菜粕: 粗蛋白 36.52%, 粗脂肪 11.83%; 7) 玉米: 粗蛋白 8.5%, 粗脂肪 3.4%; 8) 每千克预混料中包含: VA 400000 IU, VD 50000 IU, VC 750 mg, VE 200 mg, VB₁ 15 mg, VB₂ 75 mg, VB₆ 22 mg, VK₃ 65 mg, 烟酸 76 mg, 泛酸钙 350 mg, 生物素 550 mg, 肌醇 100 mg, Fe 156 mg, Cu 2.6 mg, Zn 70 mg, Mn 17 mg, Mg 300 mg, Co 0.2 mg, I 0.25 mg, Se 0.3 mg; 9) 黏合剂: 淀粉; 10) 总能为计算值。

Note: 1) earthworm meal: crude protein 65.50%, crude fat 12.68%; 2) fishmeal: crude protein 66.70%, crude fat 8.12%; 3) soybean meal: crude protein 45.52%, crude fat 1.39%; 4) wheat: crude protein 16.33%, crude fat 1.64%; 5) wheat bran: crude protein 12.40%, crude fat 1.03%; 6) rapeseed meal: crude protein 36.52%, crude fat 11.83%; 7) corn: crude protein 8.5%, crude fat 3.4%; 8) this premix in per kg diets supports compositions: VA 400000 IU, VD 50000 IU, VC 750 mg, VE 200 mg, VB₁ 15 mg, VB₂ 75 mg, VB₆ 22 mg, VK₃ 65 mg, Niacin 76 mg, calcium pantothenate 350 mg, biotin 550 mg, inositol 100 mg, Fe 156 mg, Cu 2.6 mg, Zn 70 mg, Mn 17 mg, Mg 300 mg, Co 0.2 mg, I 0.25 mg, Se 0.3 mg; 9) adhesive: starch; 10) gross energy is a calculated value.

表 2 蚯蚓粉、鱼粉和饲料氨基酸组成¹⁾
Tab. 2 Composition of amino acid in earthworm meal, fishmeal and trial diets¹⁾

n=3; $\bar{x} \pm SD$; %

氨基酸 amino acid	蚯蚓粉 earthworm meal	鱼粉 fishmeal	组别 group				
			A	B	C	D	E
必需氨基酸 EAA ²⁾							
苯丙氨酸 Phe	4.40±0.03	4.30±0.03	4.62±0.04	4.46±0.02	5.51±0.03	5.83±0.04	6.20±0.03
赖氨酸 Lys	5.50±0.07	5.02±0.06	6.01±0.05	5.90±0.08	6.51±0.08	6.67±0.05	7.01±0.04
组氨酸 His	3.36±0.03	2.05±0.02	2.16±0.02	2.45±0.03	3.02±0.03	3.58±0.03	3.96±0.04
精氨酸 Arg	8.01±0.05	5.58±0.02	6.12±0.04	6.50±0.05	6.95±0.04	7.33±0.06	7.87±0.06
苏氨酸 Thr	1.02±0.02	2.01±0.02	2.41±0.03	2.55±0.03	2.50±0.03	2.58±0.02	2.56±0.03
缬氨酸 Val	4.00±0.01	3.81±0.02	3.20±0.02	4.10±0.03	4.31±0.02	4.51±0.03	4.67±0.03
蛋氨酸 Met	0.82±0.02	2.80±0.02	3.20±0.01	2.83±0.02	2.24±0.03	1.87±0.02	1.02±0.02
异亮氨酸 Ile	4.80±0.04	3.21±0.03	3.51±0.04	3.05±0.02	3.59±0.03	3.68±0.04	3.79±0.03
亮氨酸 Leu	6.71±0.06	5.01±0.04	4.91±0.04	5.79±0.05	6.56±0.06	7.12±0.05	7.56±0.04
非必需氨基酸 NEAA ³⁾							
天门冬氨酸 Asp	10.68±0.27	10.54±0.22	8.97±0.25	9.65±0.21	12.00±0.19	14.16±0.26	16.66±0.28
丝氨酸 Ser	4.03±0.05	2.40±0.02	3.20±0.02	3.07±0.03	3.26±0.04	3.18±0.03	3.81±0.04
谷氨酸 Glu	11.80±0.32	12.03±0.11	11.92±0.24	13.00±0.36	13.11±0.30	13.19±0.34	13.40±0.36
脯氨酸 Pro	2.56±0.04	2.09±0.02	2.56±0.07	2.36±0.05	2.18±0.03	2.10±0.02	2.00±0.01
甘氨酸 Gly	0.85±0.01	3.05±0.02	3.02±0.04	2.61±0.03	2.91±0.04	2.88±0.04	3.10±0.04
丙氨酸 Ala	3.50±0.03	3.00±0.02	3.31±0.04	3.56±0.03	3.80±0.07	3.72±0.06	4.00±0.05
胱氨酸 Cys	0.80±0.01	0.88±0.01	0.96±0.02	0.90±0.02	0.88±0.03	0.83±0.03	0.76±0.03
酪氨酸 Tyr	3.18±0.03	3.04±0.02	2.92±0.04	3.31±0.04	3.18±0.05	3.01±0.04	2.89±0.05

注: 1) 以每 100 g 蛋白中的含量来计算; 2) EAA 为必需氨基酸; 3) NEAA 为非必需氨基酸。
Note: 1) At 100 g protein base; 2) EAA means essential amino acid; 3) NEAA means nonessential amino acid.

喂 2 次(08:00、18:00), 日投喂量为鱼体重的 3%~4%, 据摄食情况调整投喂量, 投喂结束后 40 min 捞残饵, 烘干称重, 计算残饵量。控制溶氧量>5 mg/L, pH 7.0~7.3, NO₂⁻-N<0.2 mg/L, NH₄⁺-N<0.2 mg/L。试验周期 70 d。

试验结束后, 鱼体饥饿 1 d。称总重后, 每个网箱随机取 5 尾, 以备常规分析, 另随机取 10 尾鱼称重, 尾静脉取血, 分离肝胰脏、脾, 称重并制成组织匀浆待用, 取背肌, 样品-20℃保存, 待测。血样 4℃静置 2 h 后, 离心(4000 r/min, 10 min, 4℃), 取上清液, -20℃保存待测。剩余的鱼用浓度为 1.62×10⁹ CFU/mL 的嗜水气单胞菌(*Aeromonas hydrophila*, 由湖南农业大学动物科学学院惠赠)进行攻毒试验。

1.3 样品分析

饲料及组织样品水分测定采用 105℃烘干恒重法测定(GB/T 6435-2006); 粗蛋白采用全自动凯氏定氮仪(德系 KDN-103F)测定; 粗脂肪采用索氏抽提法测定(GB/T 6433-2006); 粗灰分采用

马福炉灼烧法(550℃); 失水率参考任泽林等^[12]的方法测定; 饲料与样品的氨基酸均用酸水解法, 以氨基酸自动测定分析仪(日系 835-50 型)测定。

血清谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、甘油三酯(TG)、总胆固醇(TCHO)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)测定; 肝胰脏总超氧化物歧化酶(T-SOD)、溶菌酶(LZM)、过氧化氢酶(CAT)、总抗氧化能力(TAOC)、碱性磷性酶(AKP)、丙二醛(MDA)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、脂肪酶(LPS)、淀粉酶(AMS)测定均采用南京建成生物工程研究所试剂盒。

T-SOD 活力单位定义: 1 mg 蛋白在 1 mL 反应液中 SOD 抑制率达 50%时所对应的 SOD 量为一个 SOD 活力单位; CAT 活力单位定义: 每克组织蛋白每秒分解 1 μmol 的 H₂O₂ 的量为 1 个活力单位; T-AOC 能力单位定义: 37℃时, 1 mg prot/min 使反应体系的 OD 值, 每增加 0.01 时, 为 1 个 T-AOC 能力单位; AKP 活力单位定义: 每克组织蛋白在

37℃与基质作用 15 min 产生 1 mg 酚为 1 个金氏单位; GSH-Px 活力单位定义: 1 mg 蛋白质, 1 min 扣除非酶反应的作用, 使反应体系中 GSH 浓度降低 1 μmol/L 为 1 个酶活力单位。

1.4 计算公式

相关参数按下列公式计算:

存活率(SR)= 成活尾数/总尾数×100%;

肥满度(CF, g/cm³)= 体重/体长³×100;

增重率(WGR)=[末体重(g)-初体重(g)]/初体重(g)× 100%;

特定生长率(SGR, %/d) = [ln 末体重(g)-ln 初体重(g)]/时间(d)×100%;

饲料系数(FCR)=摄食总量(g)/[末体重(g)-初体重(g)]×100;

肝体比(HSI)=肝胰脏重(g)/末体重(g)×100%;

脾体比(SI)=脾重(g)/末体重(g)×100%;

发病率(morbidity)=攻毒后发病尾数/攻毒前总数×100%;

死亡率(DR)=攻毒后死亡尾数/攻毒前总数× 100%.

1.5 数据处理与分析

用 SPSS 19.0 软件进行单因素方差检验(One-way ANOVA)进行分析, 差异显著, 则采用 Duncan’s 进行多重检验, 显著水平为 0.05, 并进行回归分

析。结果数据采用平均数±标准差($\bar{x} \pm SD$)的形式表示。

2 结果与分析

2.1 蚯蚓粉替代鱼粉对大鳞副泥鳅生长性能的影响

由表 3 可知, 试验鱼存活率(SR)为 90.81%~ 95.12%, 各组间差异不显著($P>0.05$); 饲料系数(FCR)随替代水平的升高而升高, 替代组显著高于 A 组($P<0.05$); 末增重和增重率(WGR)都随着代替水平的升高, 而呈现先上升后下降的趋势, B 组显著高于 A 组($P<0.05$); 肥满度(CF)和肝体比(HSI)随着替代水平的升高而降低, D、E 两组均显著低于 A 组($P<0.05$); 特定生长率(SGR)和脾体比(SI)随着替代水平的升高而降低, 但均与 A 组无显著差异($P>0.05$)。

2.2 蚯蚓粉替代鱼粉对大鳞副泥鳅肌肉成分的影响

由表 4 可知, 粗蛋白质和水分含量随着替代水平的升高而下降, E 组显著低于 A 组($P<0.05$); 粗脂肪和灰分含量随着替代水平的上升而提高, D、E 两组均显著高于 A 组($P<0.05$); 各组间的失水率无显著差异($P>0.05$)。

表 3 蚯蚓粉替代鱼粉对大鳞副泥鳅生长及形体指数的影响
Tab. 3 Effects of substitution fishmeal with earthworm meal on growth performance and body index in *Paramisgurnus dabryanus*

指标 index	组别 group				
	A	B	C	D	E
初体重/g IBW	3.86±0.23	3.86±0.23	3.86±0.23	3.86±0.23	3.86±0.23
末增重/g FGW	2.65±0.21 ^a	2.82±0.48 ^b	2.67±0.29 ^a	2.70±0.49 ^a	2.59±0.41 ^a
增重率 WGR	68.14±1.61 ^a	72.92±0.82 ^b	68.27±1.21 ^b	68.83±1.80 ^a	66.46±1.56 ^a
肥满度/(g·cm ⁻³) CF	0.37±0.01 ^a	0.33±0.13 ^a	0.30±0.02 ^a	0.23±0.03 ^b	0.027±0.01 ^c
特定生长率/(%·d ⁻¹) SGR	0.64±0.02	0.65±0.03	0.68±0.01	0.67±0.03	0.62±0.09
饲料系数 FCR	2.43±0.09 ^a	3.21±0.08 ^b	2.69±0.06 ^a	3.01±0.06 ^b	3.27±0.04 ^b
存活率 SR	94.86±1.16	95.12±2.06	92.60±2.12	92.17±2.20	90.81±1.89
肝体比/% HSI	1.99±0.20 ^a	1.93±0.17 ^a	1.73±0.19 ^a	1.48±0.09 ^b	1.35±0.23 ^b
脾体比/% SI	0.46±0.06	0.41±0.09	0.49±0.16	0.43±0.05	0.41±0.06

注: 同一行上标注字母不同表示差异显著($P<0.05$).
Note: Means in each row with different superscripts show significant difference ($P<0.05$).

表 4 蚯蚓粉替代鱼粉对大鳞副泥鳅肌肉成分的影响
Tab. 4 Effects of substitution fishmeal with earthworm meal on muscle composition in *Paramisgurnus dabryanus*
%, 鲜重 wet basis; n=3; $\bar{x} \pm SD$

项目 item	组别 group				
	A	B	C	D	E
粗蛋白质 crude protein	17.68±0.43 ^a	17.80±0.51 ^a	17.46±0.49 ^a	16.88±0.50 ^b	16.23±0.56 ^b
粗脂肪 crude fat	1.18±0.22 ^a	1.19±0.20 ^a	1.21±0.33 ^a	1.26±0.44 ^b	1.34±0.38 ^b
灰分 ash	1.02±0.10 ^a	1.06±0.10 ^a	1.12±0.21 ^a	1.18±0.34 ^b	1.16±0.42 ^b
水分 moisture	78.69±0.45 ^a	78.89±0.57 ^a	78.10±0.66 ^a	77.86±0.59 ^a	77.31±0.58 ^b
失水率 driage	10.93±0.40	11.05±0.11	11.15±0.56	11.62±0.53	10.73±0.41

注：同一行上标注字母不同表示差异显著(P<0.05).
Note: Means in each row with different superscripts show significant difference (P<0.05).

2.3 蚯蚓粉替代鱼粉对大鳞副泥鳅的肌肉氨基酸组成的影响
Asp、Cys 含量显著高于其他组(P<0.05), 其中 A 组 Met 含量显著高于其他组(P<0.05); 各组间的 TAA、EAA、DAA 含量均无显著性差异(P>0.05)。
由表 5 可知, E 组 Phe、Met、His、Thr、Pro 含量显著低于其他处理组(P<0.05), 而 E 组 Arg、

表 5 蚯蚓粉替代鱼粉对大鳞副泥鳅肌肉氨基酸组成的影响
Tab. 5 Effects of substitution fishmeal with earthworm meal on muscle amino acid composition in *Paramisgurnus dabryanus*
%, 干物质基础 dry basis; n=3; $\bar{x} \pm SD$

项目 item	组别 group				
	A	B	C	D	E
必需氨基酸 EAA					
苯丙氨酸 Phe	3.37±0.42 ^a	3.28±0.50 ^a	3.22±0.44 ^a	3.20±0.36 ^a	3.11±0.49 ^b
赖氨酸 Lys	7.55±0.53	7.51±0.50	7.56±0.63	7.56±0.51	7.61±0.59
组氨酸 His	2.20±0.08 ^a	2.17±0.11 ^a	2.16±0.09 ^a	2.10±0.13 ^a	2.03±0.16 ^b
精氨酸 Arg	4.48±0.61 ^a	4.51±0.71 ^a	4.51±0.66 ^a	4.55±0.82 ^a	4.61±0.79 ^b
苏氨酸 Thr	3.89±0.08 ^a	3.91±0.06 ^a	3.83±0.11 ^a	3.81±0.13 ^a	3.76±0.22 ^b
缬氨酸 Val	4.31±0.61	4.28±0.50	4.26±0.55	4.25±0.66	4.21±0.62
蛋氨酸 Met	3.25±0.16 ^a	3.22±0.21 ^a	3.16±0.28 ^a	3.08±0.20 ^b	3.01±0.33 ^b
异亮氨酸 Ile	3.76±0.71	3.79±0.76	3.78±0.85	3.75±0.86	3.69±0.89
亮氨酸 Leu	6.91±1.02	6.88±0.92	6.85±0.87	6.84±0.96	6.84±1.05
非必需氨基酸 NEAA					
天门冬氨酸 Asp*	8.37±1.10 ^a	8.39±1.16 ^a	8.38±1.09 ^a	8.42±1.03 ^a	8.49±1.24 ^b
丝氨酸 Ser	3.60±0.45	3.58±0.55	3.51±0.46	3.53±0.60	3.52±0.53
谷氨酸 Glu*	14.77±2.61	14.39±2.50	14.53±2.79	14.66±2.76	14.78±2.84
脯氨酸 Pro	2.36±0.42 ^a	2.37±0.56 ^a	2.42±0.58 ^a	2.44±0.61 ^a	2.53±0.72 ^b
甘氨酸 Gly*	4.02±0.07	3.98±0.08	3.90±0.11	3.95±0.18	3.88±0.26
丙氨酸 Ala*	5.13±0.91	5.12±0.93	5.08±0.87	5.01±0.98	4.92±1.08
胱氨酸 Cys	0.58±0.03 ^a	0.59±0.02 ^a	0.62±0.04 ^a	0.65±0.06 ^a	0.76±0.18 ^b
酪氨酸 Tyr	2.45±0.06	2.44±0.05	2.47±0.08	2.46±0.06	2.45±0.93
总必需氨基酸 TAA	80.76±9.87	80.35±10.12	80.23±10.50	80.40±10.91	80.47±12.92
必需氨基酸 EAA	39.48±4.22	39.49±4.27	39.32±4.48	39.28±4.63	39.14±5.14
鲜味氨基酸 DAA	32.29±4.69	31.80±84.67	31.89±4.86	32.04±4.95	32.07±5.42

注：*为鲜味氨基酸; 同一行上标注字母不同表示差异显著(P<0.05).
Note: * means delicious amino acid. Means in each row with different superscripts show significant differences (P<0.05).

2.4 蚯蚓粉替代鱼粉对大鳞副泥鳅血清生化指标的影响

由表 6 可知, 蚯蚓粉替代鱼粉对大鳞副泥鳅谷丙转氨酶(ALT)含量、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、脂肪酶(LPS)和淀粉酶(AMS)均无显著性影响 ($P>0.05$); 甘油三酯(TG)和总胆固醇(TCHO)随着替代水平的升高而显著上升($P<0.05$), B组与A组差异不显著($P>0.05$); 谷草转氨酶(AST)含量随着替代水平的升高而明显下降($P<0.05$)。

2.5 蚯蚓粉替代鱼粉对大鳞副泥鳅免疫性能的影响

由表 7 可知, 蚯蚓粉代替鱼粉对大鳞副泥鳅肝胰脏总超氧化物歧化酶(TSOD)和总抗氧化能

力(TAOC)的活力均无显著性影响($P>0.05$); 攻毒后的发病率(morbidity)和死亡率(DR)、丙二醛(MDA)含量、碱性磷酸酶(AKP)活力随着替代水平的升高而上升, E组显著高于A组($P<0.05$), B组与A组差异不显著($P>0.05$); 过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)和溶菌酶(LZM)活力随着替代水平的升高而降低, E组显著低于A组($P<0.05$), 替代组之间A组高于其他组($P>0.05$), 其中, B组谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性显著高于A组($P<0.05$)。

2.6 回归分析蚯蚓粉代替鱼粉对大鳞副泥鳅各项性能的影响

由表 8 可知, 从生长性能、肌肉成分、血清

表 6 蚯蚓粉替代鱼粉对大鳞副泥鳅血清生化指标的影响
Tab. 6 Effects of substitution fishmeal with earthworm meal on plasma performances in *Paramisgurnus dabryanus*
n=3; $\bar{x} \pm SD$

指标 index	组别 group				
	A	B	C	D	E
甘油三酯/(mmol·L ⁻¹) TG	2.27±0.15 ^a	2.28±0.26 ^a	2.81±0.20 ^b	3.97±0.22 ^c	4.46±0.26 ^d
总胆固醇/(mmol·L ⁻¹) TCHO	4.34±0.30 ^a	3.76±0.14 ^a	4.47±0.38 ^a	5.54±0.79 ^b	8.73±0.42 ^c
高密度脂蛋白胆固醇/(mmol·L ⁻¹) HDLC	0.76±0.43	1.04±0.27	1.07±0.17	1.09±0.12	0.90±0.16
谷丙转氨酶/(U·L ⁻¹) ALT	6.37±1.28	6.32±5.15	6.28±6.89	6.12±6.75	6.07±5.15
谷草转氨酶/(U·L ⁻¹) AST	9.75±1.94 ^a	5.62±1.92 ^b	4.50±1.35 ^b	7.87±3.89 ^b	3.37±0.10 ^c
淀粉酶/(U·mg prot ⁻¹) AMS	0.37±0.07	0.72±0.08	0.50±0.15	0.58±0.05	0.70±0.30
脂肪酶/(U·mg prot ⁻¹) LPS	0.16±0.03	0.19±0.02	0.19±0.02	0.39±0.27	0.19±0.01

注: 同一行上标注字母不同表示差异显著($P<0.05$).
Note: Means in each row with different superscripts show significant difference ($P<0.05$).

表 7 蚯蚓粉替代鱼粉对大鳞副泥鳅免疫性能的影响
Tab. 7 Effects of substitution fishmeal with earthworm meal on immunity performances in *Paramisgurnus dabryanus*
n=3; $\bar{x} \pm SD$

指标 index	组别 group				
	A	B	C	D	E
过氧化氢酶/(U·mg prot ⁻¹) CAT	118.57±32.48 ^a	42.69±14.48 ^b	45.87±20.50 ^b	52.10±18.85 ^b	85.68±26.42 ^c
碱性磷酸酶/(金氏单位·g prot ⁻¹) AKP	0.087±0.013 ^a	0.142±0.034 ^a	0.182±0.047 ^{ab}	0.230±0.111 ^{ab}	0.460±0.324 ^b
谷胱甘肽过氧化物酶/(酶活力单位)GSH-Px	114.9±29.7 ^a	157.4±32.9 ^b	121.4±6.1 ^a	98.1±5.4 ^c	94.3±15.4 ^c
溶菌酶/(μg·mg prot ⁻¹) LZM	10.83±0.14 ^a	6.25±0.01 ^b	3.57±0.01 ^c	3.12±0.02 ^c	2.50±0.02 ^c
丙二醛/(nmol·mg prot ⁻¹) MDA	0.098±0.011 ^a	0.642±0.213 ^a	0.703±0.279 ^b	1.112±0.37 ^c	1.484±0.123 ^c
总抗氧化能力/(U·mg prot ⁻¹) TAOC	1.250±0.003	1.112±0.008	1.194±0.002	1.151±0.004	1.190±0.002
总超氧化物歧化酶/(U·mg prot ⁻¹) TSOD	19.61±4.87	18.83±3.39	17.69±2.95	17.91±4.06	17.33±4.15
发病率/% morbidity	43.33±5.72 ^a	53.33±5.61 ^{ab}	53.33±11.54 ^{ab}	63.33±5.70 ^b	83.33±5.77 ^c
死亡率/% DR	16.66±5.40 ^a	23.32±5.21 ^a	26.67±5.80 ^{ab}	23.33±5.13 ^a	25.34±8.34 ^b

注: 同一行上标注字母不同表示差异显著($P<0.05$).
Note: Means in each row with different superscripts show significant difference ($P<0.05$).

表 8 回归分析蚯蚓粉代替鱼粉对大鳞副泥鳅各项性能的影响
Tab. 8 Regression analysis effects of substitution fishmeal with earthworm meal on each performance in *Paramisgurnus dabryanus*

性能 performance	回归方程 regression equation	R^2	P	$X_{\max}$
生长性能 growth performance	$Y=-0.158X^2+7.14X+19.408$	1.12	>0.05	22.74
肌肉成分 muscle composition	$Y=-0.062X^2+2.38X+21.73$	1.42	>0.05	19.19
血清生化 serum biochemistry	$Y=0.133X^2-1.458X+5.081$	0.013	>0.05	5.48
免疫性能 immunity performance	$Y=0.738X^2-9.814X+44.428$	0.004	>0.05	6.65
综合各项性能 evaluating per performance	$Y=-0.2057X^2+3.769X+34.436$	1.05	>0.05	9.16
生长、肌肉成分和免疫性能 evaluating all but serum biochemistry	$Y=1.819X^2-26.066X+62.981$	0.006	>0.05	10.96
生长和肌肉性能 evaluating growth and muscle performance	$Y=-0.0056X^2+0.242X+22.68$	0.008	>0.05	21.60

生化和免疫性能进行评估, 建议蚯蚓粉替代大鳞副泥鳅饲料中鱼粉水平为 5.48%~22.74%, 其中, 以生长性能代替水平最高($P>0.05$); 综合全部评估性能, 建议蚯蚓粉可替代鱼粉水平为 9.16%; 从生长性能、肌肉成分和免疫性能评估, 建议蚯蚓粉可替代鱼粉水平为 10.96%; 从生长性能和肌肉成分评估, 建议蚯蚓粉可替代鱼粉水平为 21.60%。

3 讨论

3.1 蚯蚓粉替代鱼粉对大鳞副泥鳅生长性能的影响

本研究发现, 蚯蚓粉可部分替代鱼粉(22.74%)而不影响大鳞副泥鳅的生长和存活, 但替代过高(超过 25%)则会抑制生长。Rawling 等^[13]用蚯蚓粉替代镜鲤(*Cyprinus carpio*)饲料中 15%~25%的鱼粉饲喂后, 发现不显著影响生长存活, 但替代 25%则会显著降低其生长。Dedeke 等^[14]在非洲鲶(*Clarias gariepinus*)上也显示, 用蚯蚓粉代替饲料中 25%的鱼粉明显能促进生长, 但超过 50%则会显著抑制生长。Johannes 等^[15]认为, 在饲料必需氨基酸得到满足的情况下, 蚯蚓粉可替代草鱼(*Ctenopharyngodon idella*)饲料中 50%~100%的鱼粉而不影响生长。本试验中, 随蚯蚓粉替代鱼粉水平的升高, 饲料系数呈上升趋势而肥满度呈下降趋势, 这说明饲料中添加蚯蚓粉降低了大鳞副泥鳅对饲料的利用率, 这可能与饲料 Met 含量的降低有关。饲料中氨基酸特别是 Met 对鱼类营养物质的消化与吸收具有促进作用^[16]。Chiu 等^[17]在用发酵蚯蚓粉替代鱼粉饲料中添加 Met 显著提高了凡纳滨对虾(*Penaeus vannamei*)生长性能和

饲料利用率; Nordrum 等^[16]在大西洋鲑(*Salmo salar*)上研究表明, Met 能够提高小鱼与成鱼脂肪酶、蛋白酶的活性。含硫氨基酸 Met 与其转化成的半胱氨酸对鱼类蛋白质合成、饲料利用相当重要^[18]。饲料原料中 Met 含量有限, 补充适量的 Met 才能保证鱼类的正常生长和发育^[18-19]。不同鱼类对 Met 的需求不同, 幼建鲤(*Cyprinus carpio* var. *jian*)需求量为 0.088%^[19], 幼金鲳(*Trachinotus ovatus*)需求量为 0.106%~0.127%^[20], 幼团头鲂(*Megalobrama amblycephala*)需求量为 0.084%~0.085%^[21], 奥尼罗非鱼(*Oreochromis niloticus*×*Oreochromis mossambicus*)需求量为 0.125%^[22], 大鳞副泥鳅 Met 需求量未见有报道。研究认为, 鱼类摄入过多植物性蛋白源会造成体内 Met 含量下降而抑制生长^[17]。本试验中, 蚯蚓粉中富含 Lys, 而较缺乏 Met, 随着蚯蚓粉替代水平的升高, Met 含量显著降低, 各组饲料 Met 含量分别为 0.115%、0.101%、0.080%、0.067%和 0.036%。由此推测, 在本试验条件下, 大鳞副泥鳅对 Met 的需求量可能不低于 0.101%。由于饲料 Met 含量降低造成大鳞副泥鳅生长受阻及饲料利用率降低, 但其对 Met 需求量及机理还有待进一步研究。

3.2 蚯蚓粉替代鱼粉对大鳞副泥鳅肌肉成分的影响

本研究结果显示, 蚯蚓粉替代鱼粉(19.19%)显著提高肌肉脂肪含量, 其原因可能是蚯蚓粉中含有丰富的脂肪(高达 14%~20%)^[23-24], 破坏饲料多不饱和脂肪酸(PUFA)的比例, 从而使细胞膜对脂肪的转运能力减弱, 脂肪在肌肉中沉积加快而含量升高。同时, 由于蚯蚓粉中缺乏 Met, 在一定

程度上减弱了鱼类对饲料中脂肪的消化与吸收, Met 能促进脂质的分解^[16], 这与蚯蚓粉替代鱼粉后在革胡子鲶(*Clarias gariepinus*)^[25]、镜鲤(*Cyprinus carpio*)^[13]、鲤鱼(*Cyprinus carpio*)^[26]、肉用仔鸡(broiler chicken)^[27]上发现的相一致。研究表明, 蚯蚓粉代替鱼粉后会降低鱼体肌肉粗蛋白^[23, 25]含量, 在本试验条件下, 随着替代水平的升高, 鱼体肌肉蛋白含量显著降低, 这说明了饲料中添加蚯蚓粉降低了大鳞副泥鳅的蛋白沉积率(PDR), 推测这与饲料中 Met 含量下降相关。Met 的生物学功能除直接参与蛋白质合成之外, 还可转化成 Cys 间接参与蛋白质合成^[18]。在莫桑比克罗非鱼(*Tilapia mossambica*)^[28]、鲤鱼^[19]、虹鳟^[29]上研究显示, Met 能够提高鱼体蛋白质沉积率; 实验发现, 蚯蚓粉代替鱼粉后会降低氨基酸含量^[7], 本次研究显示各替代水平的肌肉蛋白质中总氨基酸、必需氨基酸和鲜味氨基酸含量均无显著影响, 这可能是实验误差掩盖了其原有的变化趋势。大量研究表明, 鱼体水分含量与鱼类的饲料蛋白源、饲料利用率有关, 即植物蛋白源比例上升、鱼类饲料利用率越高则鱼体肌肉水分含量会升高^[30]。试验鱼体肌肉水分随着替代水平的升高而显著降低, 推测这可能是因为蚯蚓粉替代水平过量后, 其饲料利用率和植物蛋白比均出现下降, 进而导致饲料中水分含量减少和鱼类对饲料中水分的利用率下降, 具体相关机制还需更进一步研究。

3.3 蚯蚓粉替代鱼粉对大鳞副泥鳅血清生化指标的影响

一般情况下, 鱼体血清生化指标的变化反映了鱼体细胞或组织的健康状况及脂代谢能力。谷丙转氨酶(ALT)和谷草转氨酶(AST)广泛存在血浆和肝中的两种转氨酶, 前者主要在胞浆内, 后者主要在线粒体内。当细胞或组织受到损伤或中毒时, 两者在血清的浓度便会急骤上升, 反之, 两者在肝中活性会下降^[31]。本试验中, 随替代水平的升高, 两种转氨酶有显著的下降趋势, 表明蚯蚓粉的添加对大鳞副泥鳅的肝可能有保护作用, 由于蚯蚓粉富含铁元素^[23, 45], Fe 对血清转氨酶有显著的影响^[32], 具体机理有待进一步研究。血清总胆固醇(TCHO)和甘油三酯(TG)含量随替代水

平升高而上升, 这可能与多不饱和脂肪酸比例失衡有关, 有研究显示, 多不饱和脂肪酸有下调血清胆固醇含量的功能^[33]。同时也可能与 Met 含量下降相关, 有研究称, Met 有促进肝脂代谢作用^[28], 而甘油三酯浓度与肝脂含量成正相关^[34], 这与用蚕蛹^[35]、复合植物蛋白源^[5]、蝇蛆粉^[36]替代鱼类饲料中的鱼粉后所呈现的规律一致。血清脂肪酶(LPS)和淀粉酶(AMS)在一定程度上可能反映动物胰腺生理或病理上的变化, 当胰腺受到损伤时, 血清消化酶的浓度会迅速上升^[37]。本试验中, 大鳞副泥鳅血清淀粉酶和脂肪酶均无显著性差异, 这说明蚯蚓粉的添加不影响大鳞副泥鳅肝胰脏分泌消化酶的功能。

3.4 蚯蚓粉代替鱼粉对大鳞副泥鳅免疫性能的影响

耗氧生物体在氧化还原循环中会产生大量的活性氧, 如羟自由基(OH)、过氧化氢(H₂O₂)等, 远超过了生物所需而造成生物体内的一系列氧化损伤。抗氧化系统的主要生物学作用是清除体内过多的活性氧而使细胞免受氧化损害, 其中酶类抗氧化剂的研究较多, 主要包括过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽过氧化酶(GSH-Px)、超氧化物歧化酶(SOD)等。丙二醛(MAD)是动物脂质过氧化效应的产物之一, 可以反映细胞和组织受损伤的程度。本研究结果显示, 大鳞副泥鳅的肝胰脏总抗氧化能力(TAOC)和总超氧化物歧化酶(TSOD)活力均无显著性变化, 这说明蚯蚓粉的添加对大鳞副泥鳅细胞和组织有一定的保护功能, 这可能是由于蚯蚓粉富含 Cu 元素^[23]。Cu 对组织超氧化物歧化酶活力的影响较大^[38]。在本试验条件下, 替代水平超过 25%后, 鱼体的谷胱甘肽过氧化物酶和过氧化氢酶活力均显著下降, 同时丙二醛含量显著上升, 推测这可能是因为替代组中 Fe 元素的浓度逐渐增加(蚯蚓粉 Fe 含量约为鱼粉的 7 倍^[23])而导致鱼类组织抗氧化能力下降^[39], 淡水鱼类 Fe 需要量一般为 150~300 mg/kg^[40], 目前有关大鳞副泥鳅的 Fe 需要量还未见报道, 同时, Fe 为血红蛋白四级结构的中心体, 间接提高了活性氧的浓度^[41]。溶菌酶(LZM)是一类由单核细胞和粒细胞分泌的抗菌酶。本研究中, 随着替代水平的上升,

溶菌酶含量显著降低,这可能与替代组饲料污染程度有关,溶菌酶含量因溶解细菌细胞壁而降低,Loh 等^[42]指出蚯蚓粉代替鱼粉水平越高,饲料被沙门氏菌、大肠杆菌污染的发生率就越大。碱性磷酸酶(AKP)在水解磷酸单酯和转移磷酸基团中起着极为重要的催化作用,本次我们发现蚯蚓粉的添加对大鳞副泥鳅碱性磷酸性酶有显著促进作用,推测这可能是由于饲料中 Zn 的含量(蚯蚓粉 Zn 含量为鱼粉的 3~4 倍^[43])上升而提高鱼类碱性磷酸酶,研究表明,鱼类饲料中添加适宜的 Zn 能显著高 AKP 活力^[44]。发病率(morbidity)和死亡率(DR)是直接反映动物综合免疫性能的两个指标。在本试验条件下,随着替代水平的上升,大鳞副泥鳅发病率和死亡率显著升高,推测这可能是由于除了鱼类机体抗氧化能力减弱外,还可能是由于蚯蚓含有多种对革兰氏阳性和革兰氏阴性细菌敏感的抗菌蛋白,如 Fetdins、Lysenins 及 Eiseniapore 等多种蛋白体,间接减少了动物血液中的白细胞数量^[45],这些因素均可造成机体免疫力下降。

4 小结

本实验条件下,蚯蚓粉可部分替代(22%)饲料鱼粉而不影响大鳞副泥鳅的生长和存活,且能提高鱼体肌肉成分,有效预防肝胰脏损伤和过氧化,但显著降低了鱼类免疫性能。

参考文献:

- [1] Jing T, Li H Q, Luo L, et al. Effects of substitution fishmeal with meat and bone meal on growth, body composition, digestion and non-specific immunity capacity in *Oreochromis niloticus*[J]. Freshwater Fishery, 2013, 43(6): 51–56. [敬婷, 李洪琴, 罗莉, 等. 肉骨粉替代鱼粉对吉富罗非鱼生长、体组成、消化和非特异性免疫能力的影响[J]. 淡水渔业, 2013, 43(6): 51–56.]
- [2] Hernández A J, Roman D. Phosphorus and nitrogen utilization efficiency in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed diets with lupin (*Lupinus albus*) or soybean (*Glycine max*) meals as partial replacements to fish meal[J]. Czech J Anim Sci, 2016, 61(2): 67–74.
- [3] Mohamad R I, Tahere B. Effects of replacing fish meal by soybean meal along with supplementing phosphorus and magnesium in diet on growth performance of Persian sturgeon, *Acipenser persicus*[J]. Fish Physiol Biochem, 2012, 38(2): 521–528.
- [4] Amal B, Biswajit K B, Junichi I, et al. Soybean meal can partially replace enzyme-treated fish meal in the diet of juvenile Pacific bluefin tuna *Thunnus orientalis*[J]. Fish Sci, 2011, 77(4): 615–621.
- [5] Dai W W, Mai K S, Xu W, et al. Effects of substitution fishmeal with mixed vegetable protein source on growth, physiology and biochemistry index and intestinal characteristic in *Cynoglossus semilaevis* Güntuer[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2016, 23(1): 125–137. [代伟伟, 麦康森, 徐玮, 等. 复合植物蛋白源替代鱼粉对半滑舌鳎生长、生理生化指标和肠组织结构的影响[J]. 中国水产科学, 2016, 23(1): 125–137.]
- [6] Essam K. Fibrinolytic Bacterial Enzymes with Thrombolytic Activity[M]. Amsterdam: Springer, 2012: 1–74.
- [7] Istiqomah L, Sofyan A, Damayanti E, et al. Amino acid profile of earthworm and earthworm meal (*Lumbricus rubellus*) for animal feedstuff[J]. J Indones Trop Anim Agr, 2009, 34(4): 253–257.
- [8] Hasanuzzaman A F, Hossian Sk Z, Das M. Nutritional potentiality of earthworm (*Perionyx excavatus*) for substituting fishmeal used in local feed company in Bangladesh[J]. Mesopot J Mar Sci, 2010, 25(2): 25–30.
- [9] Zhu M, Liu F. Mitochondrial genome sequence of *Paramisgurnus dabryanus* from the Yellow River estuary: implication for Cobitidae phylogeny[J]. Mitochondrial DNA, 2015, 10(6): 1–2.
- [10] Liu Y F. Preliminary study of method of species identification and gynogenesis in *Paramisgurnus dabryanus* and *Misgurnus anguillicaudatus*[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2015. [刘永富. 大鳞副泥鳅(*Paramisgurnus dabryanus*)与泥鳅(*Misgurnus anguillicaudatus*)的种类鉴别方法及雌核发育初步研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2015.]
- [11] Ai Y J, Zou Y M, Tang W H, et al. Effects of microecologies on growth performance, body composition and immunity activity in loach *Misgurnus anguillicaudatus*[J]. Freshwater Fishery, 2013, 43(1): 81–84. [艾炎军, 邹叶茂, 汤文浩, 等. 微生物制剂对泥鳅生长性能, 体成分和免疫活性的影响[J]. 淡水渔业, 2013, 43(1): 81–84.]
- [12] Ren Z L, Li A J. Effects of feed composition on collagen, myofibril and driage in muscle tissue in *Fenneropenaeus chinensis*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 1998, 5(2): 40–44. [任泽林, 李爱杰. 饲料组成对中国对虾肌肉组织中胶原蛋白, 肌原纤维和失水率的影响[J]. 中国水产科学, 1998, 5(2): 40–44.]

- [13] Rawling M D, Merrifield D L, Kühlwein H, et al. Dietary modulation of immune response and related gene expression profiles in mirror carp (*Cyprinus carpio*) using selected exotic feed ingredients[J]. Aquaculture, 2014, 418(3): 177–184.
- [14] Dedeke G A, Owa S O, Olurin K B, et al. Partial replacement of fish meal by earthworm meal (*Libyodrilus violaceus*) in diets for African catfish, *Clarias gariepinus*[J]. Internat J Fish Aqu, 2013, 5(9): 229–233.
- [15] Johannes P, Tuan N N, Trinh T Y, et al. Earthworm meal as fishmeal replacement in plant based feeds for common carp in semi-intensive aquaculture in rural Northern Vietnam[J]. Turk J Fish Aqu Sci, 2014, 14(2): 557–565.
- [16] Nordrum S N, Åshild K, Camilla R, et al. Effects of methionine, cysteine and medium chain triglycerides on nutrient digestibility, absorption of amino acids along the intestinal tract and nutrient retention in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) under pair-feeding regime[J]. Aquaculture, 2000, 186(3): 341–360.
- [17] Chiu S T, Wong S L, Shiu Y L, et al. Using a fermented mixture of soybean meal and earthworm meal to replace fish meal in the diet of white shrimp, *Penaeus vannamei* (Boone)[J]. Aquac Res, 2015, 46(5): 1279–1291.
- [18] Eduardo G A, Carlos D, Daniela C, et al. The use of stable isotopes to investigate the effects of supplemental lysine and methionine on protein turnover and amino acid utilization in pacu, *Piaractus mesopotamicus*, juveniles[J]. Aquaculture, 2014, 433(5): 119–124.
- [19] Sheng Y K, Wei W X, Lin F, et al. Effects of graded levels of dietary methionine hydroxy analogue on immune response and antioxidant status of immune organs in juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. *jian*)[J]. Fish Shellfish Immunol, 2012, 32(5): 629–636.
- [20] Niu J, Du Q, Lin H Z, et al. Quantitative dietary methionine requirement of juvenile golden pompano *Trachinotus ovatus* at a constant dietary cystine level[J]. Aquac Nutr, 2013, 19(5): 677–686.
- [21] Liao Y J, Ren M C, Liu B, et al. Dietary methionine requirement of juvenile blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*) at a constant dietary cystine level[J]. Aquac Nutr, 2014, 20(6): 741–752.
- [22] Figueiredo S C, Lemme A, Sangsue D, et al. Effect of DL-methionine supplementation on the success of almost total replacement of fish meal with soybean meal in diets for hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus*×*Oreochromis mossambicus*)[J]. Aquac Nutr, 2015, 21(2): 234–241.
- [23] Ronaldo C C, Rodrigo Q P, Björn G, et al. An alternative fish feed based on earthworm and fruit meals for tilapia and carp postlarvae[J]. Revista Brasileira de Biociências, 2015, 13(1): 65–77.
- [24] Wood J D, Enser M, Fisher A V, et al. Fat deposition, fatty acid composition and meat quality: A review[J]. Meat Sci, 2008, 78(4): 343–358.
- [25] Dedeke G A, Owa S O, Olurin K B, et al. Partial replacement of fish meal by earthworm meal (*Libyodrilus violaceus*) in diets for African catfish, *Clarias gariepinus*[J]. Internat J Fish Aqu, 2013, 5(9): 229–233.
- [26] Johannes P, Tuan N N, Trinh T Y, et al. Earthworm meal as fishmeal replacement in plant based feeds for common carp in semi-intensive aquaculture in rural Northern Vietnam[J]. Turk J Fish Aqu Sci, 2014, 14(3): 557–565.
- [27] Patrícia I M, Dirleise P, Taida J A, et al. Earthworm meal in jundiá juveniles diets[J]. Pesquisa Agropecuária Tropical, 2014, 44(2): 151–157.
- [28] Lin S M, Mai K S, Tan B P. Effects of practical diets supplement crystalline methionine on growth and body composition in *Tilapia mossambica*[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2008, 32(5): 741–749. [林仕梅, 麦康森, 谭北平. 实用饲料中添加结晶蛋氨酸对罗非鱼生长、体组成的影响[J]. 水生生物学报, 2008, 32(5): 741–749.]
- [29] Ikram B, Sandrine S C, Inge G, et al. Dietary methionine availability affects the main factors involved in muscle protein turnover in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. Brit J Nutr, 2014, 112(4): 493–503.
- [30] Yi R Y, Qi C Z. Effect of replacing soybean meal with cottonseed meal on growth, feed utilization, and hematological indexes for juvenile hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus*×*O. aureus*[J]. Aquaculture, 2008, 284(1): 185–189.
- [31] Kouba A, Velišek J, Stará A, et al. Supplementation with sodium selenite and selenium-enriched microalgae biomass show varying effects on blood enzymes activities, antioxidant response, and accumulation in common barbel (*Barbus barbus*)[J]. Biomed Res Internat, 2014, 2014(1): 143–146.
- [32] An P, Wang H, Wu Q, et al. Elevated serum transaminase activities were associated with increased serum levels of iron regulatory hormone hepcidin and hyperferritinemia risk[J]. Sci Rep, 2015, 1038(5): 13106.
- [33] Céline D, Evelyne M D, Patrice D C, et al. Gut microbial metabolites of polyunsaturated fatty acids correlate with specific fecal bacteria and serum markers of metabolic syndrome in obese women[J]. Lipids, 2014, 49(4): 397–402.
- [34] Mao P, Hu Y, Li J L, et al. Effects of substitution fishmeal with soybean meal on growth and physiology and biochemistry index in *Carpe noire*[J]. Freshwater Fishery, 2013,

- 43(5): 50–56. [毛盼, 胡毅, 李金龙, 等. 豆粕替代鱼粉对青鱼幼鱼生长及生理生化指标的影响[J]. 淡水渔业, 2013, 43(5): 50–56.]
- [35] Wang S W, Huang X Z, Luo L, et al. Effects of fishmeal replacement by silkworm chrysalis meal on growth performance, body composition and serum biochemistry index in *Oreochromis niloticus*[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2015, 27(9): 2774–2783. [王淑雯, 黄先智, 罗莉, 等. 蚕蛹替代鱼粉对吉富罗非鱼生长性能, 体成分及血清生化指标的影响[J]. 动物营养学报, 2015, 27(9): 2774–2783.]
- [36] Wen Y H, Cao J M, Huang Y H, et al. Effects of substitution fishmeal with dried-powder of housefly larvae on growth performance, body composition and plasma biochemistry index in juvenile *Pelteobagrus fulvidraco*[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2013, 25(1): 171–181. [文远红, 曹俊明, 黄燕华, 等. 蝇蛆粉替代鱼粉对黄颡鱼幼鱼生长性能, 体组成和血浆生化指标的影响[J]. 动物营养学报, 2013, 25(1): 171–181.]
- [37] Dhiraj Y, Albert B L. The Epidemiology of Pancreatitis and Pancreatic Cancer[J]. Gastroenterology, 2013, 144(6): 1252–1261.
- [38] Arredondo M, Gerardo Weisstaub G, Medina M, et al. Assessing chaperone for Zn, Cu-superoxide dismutase as an indicator of copper deficiency in malnourished children[J]. J Trac Elem Med Biol, 2014, 28(1): 23–27.
- [39] Zhao L, Wang Y, Wang Z J, et al. Effects of dietary resveratrol on excess-iron-induced bone loss via antioxidative character[J]. J Nutr Biochem, 2015, 26(11): 1174–1182.
- [40] Ye Y T, Cai C F, et al. Fish nutrition and feed formulation[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2013: 285. [叶元士, 蔡春芳, 等. 鱼类营养与饲料配制[M]. 北京: 化学工业出版社, 2013: 285.]
- [41] Ray P D, Huang B W, Tsuji Y. Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling[J]. Cell Sign, 2012, 24(5): 981–990.
- [42] Loh T C, Fong L Y, Foo H L, et al. Utilisation of earthworm meal in partial replacement of soybean and fish meals in diets of broilers[J]. J Appl Anim Res, 2009, 36(1): 29–32.
- [43] Stafford E A, Tacon A G J. Nutritive value of the earthworm, *Dendrodrilus subrubicundus*, grown on domestic sewage, in trout diets[J]. Agr Wast, 1984, 9(4): 249–266.
- [44] Dong M, Feng L, Kuang S Y, et al. Growth, body composition, intestinal enzyme activities and microflora of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. *jian*) fed graded levels of dietary valine[J]. Aquac Nutr, 2013, 19(1): 1–14.
- [45] Rawling M D, Merrifield D L, Snellgrove D L, et al. Haemato-immunological and growth response of mirror carp (*Cyprinus carpio*) fed a tropical earthworm meal in experimental diets[J]. Fish Shellfish Immunol, 2012, 32(6): 1002–1007.

Effects of substituting fishmeal with earthworm (*Eisenia foetida*) meal on growth, muscle composition, serum biochemistry index and immunity performance in the loach *Paramisgurnus dabryanus*

FAN Tao¹, LIU Yi¹, MING Wei², LIN Rongnan², WEN Anxiang²

1. College of Animal Science & Technology, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China;

2. College of Life Science, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, China

Abstract: This study evaluates the effects of substituting fishmeal with earthworm meal on the growth, muscle composition, and biochemistry index in serum and immunity performance in the loach *Paramisgurnus dabryanus* with an average initial body weight of (3.86±0.23) g. Five experimental diets with the same nitrogen and energy content were formulated to replace fishmeal using 0 (as the control group), 25%, 50%, 75% and 100% of earthworm meal. The experimental fish were fed the alternative diets in net cages for 10 weeks. Results showed that dietary fishmeal replacement with earthworm meal had no significant effect on the survival rate of loach. The feed conversion ration (FCR) and weight gain rate (WGR) increased ($P<0.05$), and the condition factor (CF) and hepatosomatic index (HSI) decreased ($P<0.05$), as levels of substitution rose to the maximum. There was no significant difference in splenic index (SI) or specific growth rate (SGR) in any of the groups. The content of fat in the flesh at levels of 75% and 100% replacement was significantly higher compared with the control group ($P<0.05$); and the content of flesh crude protein and moisture in the 100% replacement diet was significantly lower than in the control group ($P<0.05$). As the content of earthworm meal rose, the content of Arg, Cys and Asp in flesh protein also increased ($P>0.05$), but that of Pro, His, Met, Thr and Phe in flesh protein decreased significantly ($P<0.05$). There was no significant difference ($P>0.05$) in the vitality of alanine aminotransferase (ALT), lipase (LPS) and amylase (AMS), or in the content of high density lipoprotein cholesterol (HDL-C) in the serum of treatment groups. As the fishmeal content dropped, triglyceride (TG) and total cholesterol (TCHO) increased ($P<0.05$), but aspartate aminotransferase (AST) decreased significantly ($P<0.05$). As levels of substitution increased up to the maximum, the vitality of catalase, glutathion peroxidase (GSH-Px) and lysozyme (LZM) in the hepatopancreas decreased; the content of malonaldehyde (MDA) and the vitality of alkaline phosphatase (AKP) in the hepatopancreas increased; and morbidity and death rate after bacterium *Aeromonas hydrophila* challenge also increased. There was no significant difference in the vitality of total superoxide dismutase (TSOD) and total antioxidant capacity in the hepatopancreas of treatment groups ($P>0.05$). This study demonstrated that replacing 22% of the fishmeal in the diet by earthworm meal had no significant effect on growth and survival, and could promote muscle composition. It could also effectively protect the hepatopancreas from damage and peroxidation by reactive oxygen; however, it would significantly inhibit loach immunity performance.

Key words: *Paramisgurnus dabryanus*; earthworm meal; substituting fishmeal; growth; muscle composition; serum biochemistry; immunity performance

Corresponding author: WEN Anxiang. E-mail: 2960657740@qq.com