

于均帅,代娜,聂啟玉,等.转化有机废弃物的亮斑扁角水虻虫粉饲喂斑马鱼和大鼠的安全性研究[J].华中农业大学学报,2022,41(4):56-63.
DOI:10.13300/j.cnki.hnlkxb.2022.04.008

转化有机废弃物的亮斑扁角水虻虫粉饲喂斑马鱼 和大鼠的安全性研究

于均帅¹,代娜²,聂啟玉^{1,3},蔡珉敏¹,张吉斌¹,范明霞²

1.农业微生物学国家重点实验室/华中农业大学生命科学技术学院,武汉 430070;
2.武汉大学人民医院,武汉 430060; 3.农业农村部微生物产品质量监督检验测试中心,武汉 430070

摘要 为对亮斑扁角水虻转化不同物料获得的虫粉的安全性作出评估,探究饲喂亮斑扁角水虻转化不同有机废弃物获得的虫粉后斑马鱼和大鼠生理、生化和组织病理指标的差异。将斑马鱼和大鼠均分为4组:①对照组(斑马鱼对照组,CK1:投喂绿藻粉;大鼠对照组,CK2:投喂常规鼠饲料);②鸡粪饲养组(鸡粪组,A组):投喂鸡粪饲养的亮斑扁角水虻虫粉;③餐厨垃圾饲养组(餐余组,B组):投喂餐厨垃圾饲养的亮斑扁角水虻虫粉;④农副产品饲养组(饲料组,C组):投喂农副产品饲养的亮斑扁角水虻虫粉。斑马鱼孵化后喂养15 d、大鼠喂养28 d后测生理、生化和组织病理指标。结果显示,除鸡粪组外其他各组对斑马鱼生理、生化指标并无显著影响;对照组、餐余组和饲料组水虻虫粉对斑马鱼和大鼠组织病理无显著影响;各组水虻虫粉对大鼠的生理生化指标虽有个别显著影响但均维持在正常值。结果表明,完全以亮斑扁角水虻转化餐厨垃圾和农副产品饲料获得的虫粉可作为高营养的斑马鱼开口饲料和大鼠短期饲养的饲料。

关键词 亮斑扁角水虻;虫粉;动物饲料;安全性;斑马鱼;大鼠;有机废弃物

中图分类号 S816.69; X174 文献标识码 A 文章编号 1000-2421(2022)04-0056-08

亮斑扁角水虻(*Hermertia illucens* L.),是一种双翅目水虻科扁角水虻属、幼虫营腐食性的完全变态昆虫^[1]。由于其免疫力强、取食范围广、生长迅速、繁殖能力强,已成为食源性昆虫研究的热点。利用亮斑扁角水虻转化禽畜粪便、餐厨垃圾等作为动物饲料不仅有极高的环境保护价值而且能产生较为可观的经济效益^[2]。

目前针对亮斑扁角水虻虫粉已有诸多研究。Singh等^[3]进行了亮斑扁角水虻处理多种类型餐厨垃圾的研究,发现亮斑扁角水虻对混合餐厨垃圾的处理率高达72%,生物量转化率也达到25%。李俊波等^[4]采用猪粪和鸡粪喂养亮斑扁角水虻,发现其蛋白质含量达到52%,粗脂肪含量达到15%。Xiao等^[5]研究发现以亮斑扁角水虻虫粉替代25%鱼粉的饲料所喂养的黄颡鱼的生长性能(增重率提高29.1%)和免疫指标(血清溶菌酶活性提高31.9%)最高。虽然亮斑扁角水虻虫粉具有部分替代鱼粉的潜力,但完

全以亮斑扁角水虻替代传统饲料喂养动物的研究鲜有报道,有关亮斑扁角水虻虫粉的安全性研究较为薄弱。王国霞等^[6]利用餐厨垃圾饲养获得脱脂亮斑扁角水虻替代鱼粉饲养黄颡鱼,结果发现,替代60%(虫粉添加比例17.85%)及以下的鱼粉饲养对其幼鱼无显著不良影响;未脱脂亮斑扁角水虻替代25%(虫粉添加比例16.9%)及以下的鱼粉饲养黄颡鱼幼鱼对其也无显著不良影响。Dumas等^[7]使用脱脂亮斑扁角水虻虫粉完全替代虹鳟饲料中的鱼粉(虫粉添加比例20%),结果显示除虹鳟体内脂肪含量显著增加外,灰分和蛋白质等含量与对照组并无显著差异。黄文庆等^[8]使用亮斑扁角水虻替代40%以下鱼粉饲养草鱼对其终末体质量、特定生长率、饲料系数和增重率没有显著影响,替代20%鱼粉饲养草鱼可提高草鱼血清T-AOC和T-SOD活性,而替代不同比例(20%、40%、60%)的鱼粉对于草鱼胃肠淀粉酶、胰脏蛋白酶和脂肪酶等消化酶活性均无显著影响。

收稿日期:2021-12-27

基金项目:湖北省科技厅科技创新条件共享平台项目(2018BEC481)

于均帅,E-mail:1497258285@qq.com

通信作者:范明霞,E-mail:fanmingxia@whu.edu.cn

本研究以亮斑扁角水虻转化不同物料得到的虫粉作为饲料喂养实验动物(斑马鱼和大鼠),探究其对实验动物生长发育指标的影响并对其安全性进行评估,为水虻转化不同有机废弃物获得的虫粉作为水产和畜禽饲料奠定安全基础。

1 材料与方法

1.1 实验动物

80只SPF级SD大鼠,雌雄各半,4周龄,雌性体质量约90g,雄性体质量约100g,购于湖南斯莱克景达实验动物有限公司(SCXK(湘)2019-0004)。饲养于武汉大学人民医院动物实验中心(SYXK(鄂)2015-0027)。饲养期间各组大鼠自由饮食,饲喂普通维持饲料由北京科澳协力饲料有限公司(SCXK(京)2019-0003)提供;饲喂特殊饲料由课题组提供原料,北京科澳协力饲料有限公司加工制作而成。饲养环境:昼夜各半循环照明,湿度恒定,温度控制在22~25℃。所有操作均符合实验动物伦理委员会要求(审批号:WDRM动(福)第20190909号)。

20条SPF级健康成年野生型AB系斑马鱼,雌雄各半,体长约5cm,购于国家斑马鱼资源中心(武汉),饲养于华中农业大学基因楼(SCXK(鄂)2020-0019)。成鱼饲养于循环水系统:水温为(28±0.5)℃,pH值为7.6±0.1,每天连续光照14h,用孵化的丰年虫投喂3次。斑马鱼卵自然受精后在28℃恒温过滤水中孵化,孵化后第5天取约350尾健康有活力的幼鱼转移至恒温培养箱28℃恒温饲养。

1.2 试验方法

1)动物分组及试验设计。斑马鱼幼鱼随机分为4组:①对照组1(CK1):投喂绿藻粉(粗脂肪含量约8%,购自武汉古木生物科技有限公司);②鸡粪饲养组(鸡粪组,A组):投喂鸡粪(取自湖北省鄂州市某养鸡场,粉碎后控制含水量为65%~70%)饲养的亮斑扁角水虻虫粉;③餐厨垃圾饲养组(餐余组,B组):投喂餐厨垃圾(取自湖北省武汉市,粉碎后控制含水量为65%~70%)饲养的亮斑扁角水虻虫粉;④农副产品饲料饲养组(饲料组,C组):投喂农副产品饲料(麸皮:次粉=1:2,含水量65%~70%)饲养的亮斑扁角水虻虫粉。每组80尾,分为4缸,饲养密度为40条/L,每日连续光照14h,恒温28℃,自由饮食,24h换水1次,连续喂养15d^[9]。

大鼠随机分为4组:①对照组2(CK2):投喂常规鼠饲料;②鸡粪饲养组(鸡粪组,A组):投喂鸡粪饲养

的亮斑扁角水虻虫粉;③餐厨垃圾饲养组(餐余组,B组):投喂餐厨垃圾饲养的亮斑扁角水虻虫粉;④农副产品饲料饲养组(饲料组,C组):投喂农副产品饲料饲养的亮斑扁角水虻虫粉。每组20只,雌、雄各10只,饲养密度为5只/笼,自由饮食,连续喂养27d,第28天禁食不禁水。鸡粪、餐厨垃圾和农副产品饲料同斑马鱼试验。

2)形态指标测试及取材。喂养15d后各组随机取20尾斑马鱼用游标卡尺测量体长;每组随机取10条斑马鱼,使用100mg/L的MS-222溶液麻醉^[10]后切断头后脊椎处死,解剖取肝脏置于-80℃保存,用于超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)活性测定;每组另取10尾斑马鱼麻醉后解剖取肝脏、脑和肠道投入4%多聚甲醛溶液中固定^[11],用于切片制作进行组织病理学检查。

记录各组大鼠的摄食量和体质量。喂养27d后,采用代谢笼法收集24h内大鼠的尿液,用于尿液检查;喂养28d后麻醉大鼠,大鼠失去知觉后腹主动脉采血^[12],用于血液学和血生化检查。

3)斑马鱼抗氧化酶活性测定。使用超氧化物歧化酶测定试剂盒采用WST-1法测定斑马鱼肝脏组织超氧化物歧化酶活性^[13]。使用过氧化氢酶测定试剂盒采用可见光法测定斑马鱼肝脏组织过氧化氢酶活性^[14]。

4)大鼠尿液指标。取大鼠尿液进行尿常规检查,检查项目包括相对密度、pH。

5)大鼠血液学检查。取大鼠血液进行血常规检查,检查项目包括嗜中性粒细胞(NEUT)、淋巴细胞(LYMPH)、单核细胞(MONO)、白细胞(WBC)、红细胞(RBC)、血红蛋白浓度(HGB)、红细胞压积(HTC)和血小板(PLT)。大鼠血生化检查:取大鼠血液进行血生化检查,检查项目包括谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、谷氨酰转肽酶(GGT)、碱性磷酸酶(ALP)、总蛋白(TP)、白蛋白(Alb)、尿素(Urea)、肌酐(Cre)、血糖(Glu)、总胆固醇(TCh)、甘油三酯(TG)、氯(Cl)、钾(K)和钠(Na)^[15]。

6)大鼠病变及组织病理学检查^[16]。根据检查结果,按照病变由轻到重的程度进行打分,分别标记为1、2、3、4分,无明显病变记为0分,极轻度病变记为0.5分^[17]。

采血后处死大鼠,迅速解剖取胸腺、心脏、肝脏、脾脏、肾上腺、肾脏和睾丸(雄鼠)观察有无肉眼可见病变,称取湿质量并计算脏/体比值^[18]。

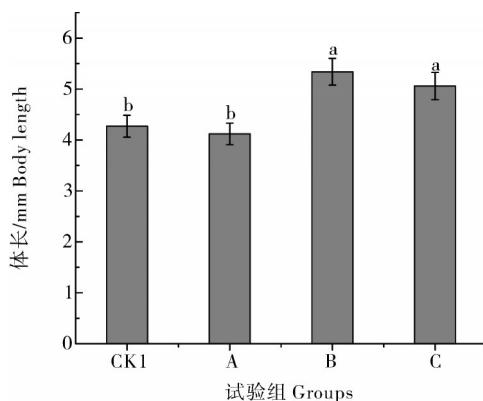
1.3 数据处理

试验结果用“平均值±标准差”表示。所有数据均用Excel和Origin软件处理,多组间比较使用单因素方差分析,两组间比较采用独立样本t检验。 $P<0.05$ 表示差异显著, $P<0.01$ 表示差异极显著。

2 结果与分析

2.1 不同水虻虫粉对斑马鱼体长的影响

试验B组斑马鱼体长值最高,A组最低。CK1与A组间、B组与C组间均无显著性差异;B组和C组较CK1和A组均显著升高($P<0.05$)(图1)。结果表明3种虫粉均不会对斑马鱼体长增长造成明显负面影响,并且餐余组和饲料组虫粉可显著促进斑马鱼体长增长。这可能是由于亮斑扁角水虻虫粉所含氨基酸和微量元素种类较之小球藻干粉更贴合斑马鱼生长所需。经检测,3组亮斑扁角水虻虫粉的粗脂肪含量均超过30%,由于斑马鱼对脂肪的高吸收率和利用率,亮斑扁角水虻虫粉相较于绿藻粉(粗脂肪含量约8%)更能促进斑马鱼体长增长。



CK1:斑马鱼对照组,投喂绿藻粉 The control group of zebrafish, algae powder; A:鸡粪组 Chicken excrement; B:餐余组 Kitchen waste; C:农副产品饲料组 Agricultural by-product。不同小写字母表示同一指标在2组样品间存在显著差异。Different small letters indicate that the same index has significant differences between the two groups of samples.

图1 不同试验组的斑马鱼体长

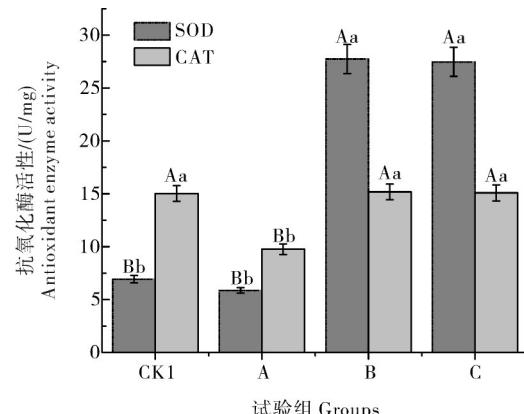
Fig. 1 Body length of zebrafish of different test groups

2.2 不同水虻虫粉对斑马鱼抗氧化酶活性的影响

B组斑马鱼肝脏超氧化物歧化酶(SOD)活性最高,A组最低。CK1和A组、B组和C组间没有显著性差异;B组和C组较CK1和A组超氧化物歧化酶活性极显著升高($P<0.01$)(图2)。结果表明餐余组和饲料组虫粉对斑马鱼超氧化物歧化酶活性有明显增强作用,可作为斑马鱼饲料喂养斑马鱼以提高斑

马鱼的抗氧化能力,鸡粪组亮斑扁角水虻虫粉未能显著提高斑马鱼肝脏SOD活性还可能是由于其中Pb²⁺含量较高,Pb²⁺与SOD的巯基结合使SOD无法结合超氧阴离子自由基($\cdot\text{O}_2^-$),从而导致SOD活性下降。

B组斑马鱼肝脏过氧化氢酶(CAT)活性最高,A组最低。CK1、B组和C组间两两比较,各组间无显著性差异;相较CK1、B组和C组,A组的CAT活性极显著降低($P<0.01$)(图2)。结果表明,鸡粪组虫粉会显著降低斑马鱼的CAT活性,不适合长期作为斑马鱼饲料,餐余组和饲料组虫粉对斑马鱼过氧化氢酶活性几乎没有影响,可作为饲料喂养斑马鱼。



不同小写字母表示同一指标在2组样品间存在显著差异;不同大写字母表示同一指标在2组样品间存在极显著差异。下同。Different small letters indicate that the same index has significant differences between the two groups of samples; different capital letters indicate that the same index has extremely significant differences between the two groups of samples. The same as below.

图2 不同试验组的斑马鱼的抗氧化酶活性

Fig.2 Antioxidant enzyme activity of zebrafish of different test groups

2.3 斑马鱼的组织病理学检查

组织病理检查结果显示,各组斑马鱼均出现少量极轻度病变和个别轻度变异,主要表现为肝细胞脂肪轻度变性、少数肠黏膜细胞增生和大脑组织白质轻微水肿(图3)。CK、A、B、C各组斑马鱼内脏总病变指数分别为 0.395 ± 0.122 、 0.407 ± 0.137 、 0.435 ± 0.125 和 0.435 ± 0.125 ,病变程度之间并无显著性差异。结果表明,试验期间各组虫粉未对斑马鱼造成明显组织病理损伤。

2.4 不同水虻虫粉对大鼠生长和尿液指标的影响

由表1可见,雌性中B组大鼠体质量增加值最高,C组最低,各组之间无显著性差异;雄性中A组大

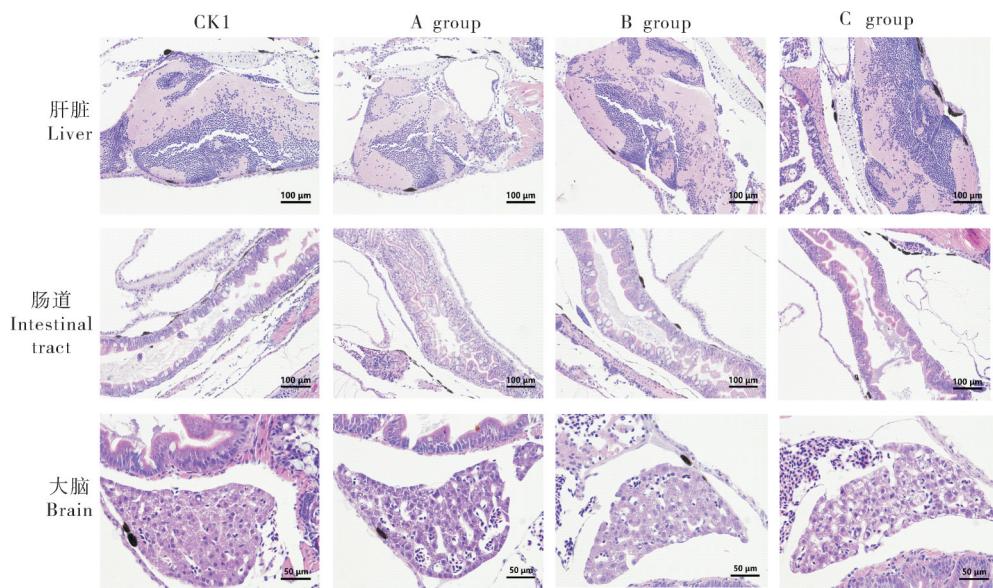


图3 斑马鱼肝脏、肠道和大脑的组织病理图

Fig.3 Histopathological detection of liver, intestinal tract and brain of zebrafish

鼠体质量增加值最高,CK2最低,各组间均无显著性差异。结果表明,各组虫粉与常规商业饲料效果相同,对大鼠体质量增长均无显著影响。雌性和雄性大鼠各组的相对尿液密度无显著差异;雌性和雄性大鼠各组的尿液pH均无显著差异。各组水虻虫粉对大鼠尿液相对密度和pH的影响与农副产品饲料组相同,可替代常规商业饲料喂养大鼠。

表1 大鼠的体质量和尿液指标

Table 1 Body weight and urine index of rats

性别	试验组	体质量增加/g	尿液相对密度	尿液pH
Sex	Groups	Weight increment	Urine density	Urine pH
	CK2	245.60±10.60a	1.02±0.003a	7.45±0.55a
雌	A	242.60±14.80a	1.02±0.002a	7.60±0.21a
Fe ⁻	B	247.20±13.20a	1.02±0.003a	7.50±0.56a
male	C	233.60±12.90a	1.02±0.005a	7.55±0.50a
	CK2	141.20±8.80a	1.02±0.005a	7.20±0.26a
雄	A	152.80±17.10a	1.02±0.003a	7.60±0.39a
Male	B	146.10±12.50a	1.02±0.341a	7.60±0.39a
	C	142.60±10.80a	1.02±0.006a	7.45±0.50a

注 Note: CK2:大鼠对照组,饲喂常规鼠饲料 The control group of rats, traditional rat diet; A: 鸡粪组 Chicken excrement; B: 餐余组 Kitchen waste; C: 农副产品饲料组 Agricultural by-product. 下同 The same as below.

2.5 不同水虻虫粉对大鼠血常规指标的影响

表2为不同水虻虫粉喂养大鼠后的血常规检查结果。血液中的嗜中性粒细胞、淋巴细胞和单核细胞反映大鼠体内的炎症和感染情况。对于雌性大鼠的各组淋巴细胞数,B组与C组有显著差异

($P<0.05$);对于雄性大鼠的各组淋巴细胞数,A组较CK2显著降低($P<0.05$);红细胞含量和血红蛋白含量反映大鼠血液运送氧气和二氧化碳的能力;血小板含量反映大鼠遭遇损伤时的凝血能力,过高易导致血栓。对于雌性大鼠的各组红细胞,C组与A组有显著差异($P<0.05$),其他指标各组之间差异不显著;对于雄性大鼠的各组红细胞,A组与C组差异极显著($P<0.01$),其他指标各组间差异不显著(表3)。结果表明,各组水虻虫粉喂养的大鼠血常规各项指标较对照组仅个别项目存在显著差异,其他项目与对照组之间均无显著差异。各组水虻虫粉均满足动物饲料用的营养需求。

2.6 不同水虻虫粉对大鼠血生化指标的影响

对于雌性大鼠,各组谷草转氨酶(AST)活性对比发现,B组较CK2显著升高($P<0.05$),A组较CK2极显著升高($P<0.01$);各组碱性磷酸酶(ALP)活性对比发现,B组较CK2极显著升高($P<0.01$),A组较CK2显著升高($P<0.05$);各组肌酐(Cre)含量相比,B组较CK2极显著降低($P<0.01$),A组较CK2显著升高($P<0.05$)。对于雄性大鼠,各组谷草转氨酶(AST)活性对比发现,A组、B组较CK2极显著升高($P<0.01$);各组碱性磷酸酶(ALP)活性对比发现,C组较CK2显著升高($P<0.05$)(表3)。谷丙转氨酶、谷草转氨酶、谷氨酰转肽酶等的检查结果表明各组水虻虫粉喂养的大鼠的肝脏功能较对照组未受到负面影响,验证了水虻虫粉的安全性;血糖、总蛋白、甘油三酯等的检查结果显示各组水虻虫粉具有

表2 大鼠的血常规指标情况
Table 2 Blood routine indexes of rats

性别 Sex	试验组 Groups	嗜中性粒细胞/(10 ⁹ /L) NEUT	淋巴细胞/(10 ⁹ /L) LYMPH	单核细胞/(10 ⁹ /L) MONO	白细胞/(10 ⁹ /L) WBC	红细胞/(10 ¹² /L) RBC	血红蛋白含量/(g/L) HGB	红细胞压积/% HTC	血小板/(10 ⁹ /L) PLT
雌 Female	CK2	0.59±0.10a	0.97±0.46a	0.36±0.16a	1.93±0.65a	5.95±0.27ab	138.70±5.50a	38.60±1.20a	1 075.10±100.00a
	A	0.49±0.17a	0.76±0.43ab	0.23±0.11a	1.51±0.56a	5.38±0.37b	109.90±33.70a	35.11±2.90a	1 132.00±147.00a
	B	0.75±0.38a	1.64±0.80a	0.49±0.27a	2.92±0.39a	5.71±1.04b	133.60±26.40a	38.80±6.70a	932.90±287.00a
	C	0.43±0.21a	0.48±0.18b	0.22±0.10a	1.13±0.44a	5.98±0.33a	136.20±11.40a	40.49±2.40a	980.30±51.20a
	CK2	1.03±0.36a	2.16±0.88a	0.60±0.26a	3.81±1.47a	6.04±0.38aAB	146.70±9.80a	40.80±3.20a	1 073.10±164.10a
	雄 Male	1.06±0.48a	1.02±0.36b	0.40±0.12a	2.57±1.01a	5.42±0.23bB	129.50±10.60a	37.40±2.10a	1 090.20±187.90a
	B	0.63±0.31a	1.15±0.52a	0.38±0.25a	2.17±1.02a	5.53±0.78abAB	132.60±20.90a	39.60±5.10a	942.40±272.10a
	C	0.88±0.33a	1.07±0.24ab	0.46±0.23a	2.42±0.62a	6.06±0.32aA	141.40±7.80a	42.60±1.80a	1036.50±70.10a

与常规商业饲料接近的营养价值,可满足大鼠的营养需求;尿素和肌酐的检查结果显示试验组大鼠对蛋白质的代谢能力与对照组不存在明显差异;血液中氯、钠和钾含量的测定结果表明各组大鼠的电解质代谢不存在明显问题。

2.7 大鼠的大体病理学检查

对大鼠进行大体病理学检查发现,所有脏器均未出现肉眼可见病变,大鼠脏/体比值结果见表4。对于雌性大鼠,B组的心/体比值相较CK2和C组显著增加($P<0.05$),其他各指标组间差异不显著;对于雄性大鼠,各项指标组间差异不显著。各组水虻虫粉均未对大鼠各脏器造成显著负面影响,说明食用水虻虫粉的大鼠未发生明显的内脏充血和水肿,也未发生萎缩等退行性改变。这在一定程度上证明3种水虻虫粉具备饲养大鼠的安全性条件。

3 讨 论

3.1 水虻虫粉对斑马鱼和大鼠生理指标的影响

各组水虻虫粉对斑马鱼和大鼠的生理指标均未产生显著负面影响,其他研究中也有类似结果。例如,St-Hilaire等^[19]采用亮斑扁角水虻虫粉以不同比例替代虹鳟饲料中的鱼粉成分,对虹鳟的各项生理指标进行检测,结果表明亮斑扁角水虻虫粉对虹鳟的饲料转化率和生长发育均无显著影响。本研究中,餐余组和饲料组水虻虫粉与对照组相比,显著促进了斑马鱼的生长,而鸡粪组水虻虫粉喂养的斑马鱼体长值低于对照组,但差异不显著,这主要是由于餐余组和饲料组水虻虫粉蛋白质和脂肪等营养成分含量高于对照组的绿藻粉,鸡粪组水虻虫粉为何没有显著促进斑马鱼生长还有待进一步研究。各组水虻虫粉喂养的大鼠的体质量间无显著差异,这主要

是由于各组水虻虫粉营养物质含量与大鼠常规饲料间并无显著差异。除鸡粪组雄性大鼠的淋巴细胞数较对照组显著降低,这可能导致大鼠免疫力下降,其他各试验组的各项指标之间虽存在个别差异,但与对照组相比并无显著差异。各组大鼠尿液密度和pH与对照组间均无显著性差异。这主要是由于各组水虻虫粉的理化性质与大鼠常规饲料间并无显著差异。以上结果表明,除鸡粪组外,其他试验组水虻虫粉对斑马鱼和大鼠生理指标没有显著影响。

3.2 水虻虫粉对斑马鱼和大鼠生化指标的影响

餐余组和饲料组斑马鱼的肝脏超氧化物歧化酶活性较对照组极显著升高,鸡粪组低于对照组斑马鱼肝脏超氧化物歧化酶活性,但没有显著差异。餐余组和饲料组斑马鱼肝脏过氧化氢酶活性较对照组没有显著差异,鸡粪组斑马鱼肝脏过氧化氢酶活性较对照组显著降低,这可能导致斑马鱼机体抗氧化能力下降,内脏易遭受代谢过程中产生的过氧化氢毒害。大鼠血生化检查结果显示,虽然各组各个项目间偶有显著差异,但几乎所有检查项目的指标均在正常范围内^[20]。以上结果表明,除鸡粪组外,其他试验组水虻虫粉对斑马鱼生化指标没有显著影响;各组水虻虫粉对大鼠均没有致病影响。

3.3 水虻虫粉对斑马鱼和大鼠病理的影响

亮斑扁角水虻转化不同物料获得的虫粉对斑马鱼和大鼠内脏组织病理均无显著影响。这初步证明了利用亮斑扁角水虻转化有机废弃物所得的虫粉生产动物饲料的安全性。

本研究表明,短期内使用餐厨垃圾和谷物饲料喂养的水虻虫粉作为饲料喂养斑马鱼和大鼠效果均优于常规的商业饲料,生理、生化以及病理检测的各项指标检测结果表明餐余组和饲料组水虻虫粉作为

表3 大鼠的血生化指标结果

Table 3 Blood biochemical indices of rats

性别 Sex	试验组 Groups	谷丙转氨酶/ (U/L) ALT		谷草转氨酶/ (U/L) AST		碱性磷酸酶/ (U/L) GGT		总蛋白/ (U/L) TP		白蛋白/ (U/L) Alb		尿素/(U/L) Urea		肌酐/(mmol/L) Cre		血糖/(mmol/L) Glu		总胆固醇/ (mmol/L) TC		甘油三酯/ (mmol/L) TG		Cl/(mmol/L)		K/(mmol/L)		Na/(mmol/L)				
		U/L	(U/L)	U/L	(U/L)	U/L	(U/L)	U/L	(U/L)	U/L	(U/L)	U/L	(U/L)	U/L	(U/L)	U/L	(U/L)	U/L	(U/L)	U/L	(U/L)	U/L	(U/L)	U/L	(U/L)	U/L	(U/L)	U/L	(U/L)	
雌 Female	CK2	26.30±5.25a (19.99~39.05)	100.90± 14.81bB (88.82~196.34)	1.60±0.52a (0.0~2.3)	103.25± 24.74bB (43~102)	57.08±1.85aA (57.23~75.73)	34.97±1.60aA (31.55~43.75)	7.99±2.52a (5.74~11.18)	29.90± 5.88cAB (36.78~67.08)	6.31±0.33a (4.60~7.14)	1.83±0.26a (0.89~1.92)	0.39±0.15a (0.23~1.21)	105.49± 1.29bB (100.8~106.2)	4.12±0.35ab (5.89~7.33)	144.22± 1.074a (147.0~151.1)															
	A	30.30±7.70a (19.99~39.05)	148.90± 23.02aA (88.82~196.34)	1.33±0.87a (0.0~2.3)	144.89± 13.91abAB (43~102)	53.64± 1.88bAB (57.23~75.73)	34.01± 1.45aAB (31.55~43.75)	7.10±1.63a (5.74~11.18)	33.30±5.79aA (36.78~67.08)	5.56±0.60a (4.60~7.14)	1.79±0.26a (0.89~1.92)	0.27±0.06a (0.23~1.21)	105.13±1.88b (100.8~106.2)	3.95±0.31b (5.89~7.33)	141.34± 1.206B (147.0~151.1)															
	B	30.50±8.91a (19.99~39.05)	137.10± 32.29aAB (88.82~196.34)	2.00±0.67a (0.0~2.3)	150.45± 46.35aA (43~102)	50.74±2.50eB (57.23~75.73)	32.15±1.80bB (31.55~43.75)	7.33±0.98a (5.74~11.18)	29.10±3.78bB (36.78~67.08)	5.25±0.64a (4.60~7.14)	1.80±0.26a (0.89~1.92)	0.30±0.08a (0.23~1.21)	107.56±1.48a (100.8~106.2)	4.40±0.53a (5.89~7.33)	142.88± 1.51abAB (147.0~151.1)															
	C	28.30±11.07a (19.99~39.05)	118.40± 17.48aB (88.82~196.34)	1.40±0.52a (0.0~2.3)	129.76± 30.70bAB (43~102)	55.27±2.80aA (57.23~75.73)	35.07±1.40aA (31.55~43.75)	6.40±0.58a (5.74~11.18)	33.20±3.16aA (36.78~67.08)	5.90±0.30a (4.60~7.14)	1.93±0.41a (0.89~1.92)	0.30±0.06a (0.23~1.21)	106.36±1.54a (100.8~106.2)	4.16±0.30ab (5.89~7.33)	144.20± 0.89aA (147.0~151.1)															
	CK2	28.30±3.95a (22.50~43.70)	106.20± 18.58bb (81.52~190.66)	1.80±0.42a (0.0~2.3)	180.17±50.15b (96~174)	50.28±1.41a (54.71~69.53)	30.82±1.21bB (28.60~40.60)	6.10±0.90a (4.30~9.78)	25.60± 2.99aAB (34.59~62.61)	6.24±0.53aA (4.32~7.26)	1.54±0.19a (0.97~1.83)	0.36±0.12a (0.42~1.24)	105.36±0.66a (99.6~106.1)	4.33±0.18a (5.65~7.76)	143.86±0.83a (143.4~153.9)															
	A	33.50±6.39a (22.50~43.70)	151.13± 15.49aA (81.52~190.66)	1.75±0.71a (0.0~2.3)	133.95± 31.44ab (96~174)	52.68±2.24a (54.71~69.53)	32.73± 1.54aAB (28.60~40.60)	5.16±0.58a (4.30~9.78)	23.00±3.02B (34.59~62.61)	5.07±0.34bB (4.32~7.26)	1.48±0.19a (0.97~1.83)	0.49±0.20a (0.42~1.24)	106.25±2.02a (99.6~106.1)	4.34±0.30a (5.65~7.76)	143.69±1.10a (143.4~153.9)															
	B	35.20±6.81a (22.50~43.70)	147.20± 29.36aa (81.52~190.66)	1.80±0.42a (0.0~2.3)	239.99±54.03a (96~174)	51.92±1.04a (54.71~69.53)	32.67±0.96aA (28.60~40.60)	5.51±1.52a (4.30~9.78)	24.80± 3.36abAB (34.59~62.61)	5.66± 0.73abAB (4.32~7.26)	1.57±0.23a (0.97~1.83)	0.44±0.09a (0.42~1.24)	104.89±1.35a (99.6~106.1)	4.24±0.24a (5.65~7.76)	143.95±0.76a (143.4~153.9)															
	C	35.70±7.82a (22.50~43.70)	116.90± 24.70bB (81.52~190.66)	1.60±0.52a (0.0~2.3)	251.47±37.61a (96~174)	51.78±1.76a (54.71~69.53)	32.91±1.03aA (28.60~40.60)	6.29±0.93aA (4.30~9.78)	28.20±2.49aA (34.59~62.61)	5.92±0.51aAB (4.32~7.26)	1.70±0.16a (0.97~1.83)	0.39±0.13a (0.42~1.24)	106.35±1.44a (99.6~106)	4.41±0.24a (5.65~7.76)	144.94±0.95a (143.4~153.9)															

注:括号内为95%参考值范围。Note: 95% normal value ranges in brackets.

表4 大鼠的脏/体比值

Table 4 Dirty-body ratio of rats

性别 Sex	试验组 Groups	胸腺/体 Thymus/body	心/体 Heart/body	肝/体 Liver/body	脾/体 Spleen/body	肾/体 Kidney/body	睾丸/体 Testis/body	%
雌 Female	CK2	0.23±0.05a	0.31±0.02b	2.92±0.17a	0.24±0.03a	0.70±0.06a	/	/
	A	0.23±0.03a	0.32±0.02b	2.99±0.12a	0.25±0.02a	0.90±0.03a		
	B	0.23±0.04a	0.33±0.03a	3.06±0.26a	0.25±0.05a	0.68±0.06a		
	C	0.21±0.04a	0.32±0.03b	2.90±0.16a	0.24±0.04a	0.68±0.04a		
雄 Male	CK2	0.21±0.03a	0.32±0.03a	2.80±0.16a	0.28±0.03a	0.70±0.04a	0.99±0.11a	/
	A	0.19±0.04a	0.31±0.02a	2.87±0.17a	0.27±0.03a	0.73±0.06a	0.92±0.09a	
	B	0.18±0.03a	0.32±0.04a	2.94±0.17a	0.25±0.03a	0.72±0.06a	0.93±0.08a	
	C	0.18±0.03a	0.33±0.03a	2.88±0.09a	0.24±0.05a	0.72±0.06a	0.90±0.13a	

斑马鱼和大鼠饲料是较为安全的。通过鸡粪组水虻虫粉喂养条件下斑马鱼超氧化物歧化酶和过氧化氢酶活性以及大鼠淋巴细胞数的变化判断,鸡粪组水虻虫粉对斑马鱼和大鼠的生长和代谢有明显的负面影响,因此不适合作为斑马鱼和大鼠的饲料,具体原因有待进一步探究。本研究观测的动物饲养周期较短且实验动物种类少,因此,能否使用水虻虫粉完全替代常规商业饲料长期作为动物饲料还需进一步探究。

参考文献 References

- [1] 胡芮绮,张连帅,张吉斌.亮斑扁角水虻[J].生物资源,2017,39(4):314.HU R Q, ZHANG L S, ZHANG J B. *Hermertia illucens* L. [J]. Biotic resources, 2017, 39(4):314 (in Chinese).
- [2] ZHANG J B, ZHANG J, LI J H, et al. Black soldier fly: a new vista for livestock and poultry manure management[J]. Journal of integrative agriculture, 2021, 20(5):1167-1179.
- [3] SINGH A, SRIKANTH B H, KUMARI K. Determining the black soldier fly larvae performance for plant-based food waste reduction and the effect on biomass yield [J]. Waste management, 2021, 130:147-154.
- [4] 李俊波,陈吉红,赵智勇.亮斑扁角水虻对鸡粪、猪粪的利用以及水虻作为蛋白质、能量饲料资源的营养价值评价研究[J].猪业观察,2019(S1):73-75.LI J B, CHEN J H, ZHAO Z Y. Research on the utilization of chicken manure and pig manure and the nutritional value evaluation of stratiomyiid as protein and energy feed resources[J]. Swine industry outlook, 2019(S1):73-75 (in Chinese).
- [5] XIAO X P, JIN P, ZHENG L Y, 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.
- [6] 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.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 (in Chinese with English abstract).
- [7] DUMAS A, RAGGI T, BARKHOUSE J, et al. The oil fraction and partially defatted meal of black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*) affect differently growth performance, feed efficiency, nutrient deposition, blood glucose and lipid digestibility of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. Aquaculture, 2018, 492:24-34.
- [8] 黄文庆,黄燕华,米海峰,等.3种动物蛋白资源替代鱼粉对草鱼生长性能、肌肉营养成分、消化酶活性、血清生化和抗氧化指标的影响[J].动物营养学报,2019,31(5):2187-2200.HUANG W Q, HUANG Y H, MI H F, et al. Effects of fishmeal replacement by three animal protein sources on growth performance, muscle nutritional components, digestive enzyme activities and serum biochemical and antioxidant indices of *Ctenopharyngodon idellus* [J]. Chinese journal of animal nutrition, 2019, 31(5):2187-2200 (in Chinese with English abstract).
- [9] 柯贤福,胡慧颖,吴立仁,等.实验用斑马鱼养殖地方标准的初步探讨[J].中国比较医学杂志,2014,24(8):75-78.KE X F, HU H Y, WU L R, et al. Preliminary study on Zhejiang Provincial standard of laboratory zebrafish breeding [J]. Chinese journal of comparative medicine, 2014, 24 (8): 75-78 (in Chinese with English abstract).
- [10] 周桑,吴豫,宋婧文,等.三卡因浓度对斑马鱼心脏手术模型麻醉的影响[J].现代生物医学进展,2018,18(5):822-825.ZHOU S, WU Y, SONG J W, et al. Effects of three-cardin concentration on anesthesia in zebrafish cardiac surgery [J]. Progress in modern biomedicine, 2018, 18(5):822-825 (in Chinese with English abstract).
- [11] 黄宏森,张超,郭晓珍,等.不同固定液及固定时间对小鼠肝组织结构的影响[J].广州医学院学报,2007,35(2):65-68.HUANG H S, ZHANG C, GUO X Z, et al. The effects of different fixatives and different fixing duration on the structure preserving of mouse liver [J]. Academic journal of Guangzhou Medical College, 2007, 35(2):65-68 (in Chinese with English abstract).
- [12] 姜龙.小动物麻醉药物及麻醉技术研究进展[J].动物医学进展,2021,42(5):101-107.JIANG L. Progress on anaesthetic drugs and techniques for small animals [J]. Progress in veterinary medicine, 2021, 42(5):101-107 (in Chinese with English abstract).
- [13] PESKIN A V, WINTERBOURN C C. Assay of superoxide dismutase activity in a plate assay using WST-1 [J]. Free radical biology and medicine, 2017, 103:188-191.
- [14] HADWAN M H. New method for assessment of serum catalase

- activity [J/OL]. Indian journal of science and technology, 2016, 9 (4): 1-5.
- [15] 赵安莎, 孙于兰, 周蓉, 等. SD大鼠30天喂养试验血液学指标和血清生化指标参考值探讨 [J]. 中国比较医学杂志, 2003, 13 (1): 13-15. ZHAO A S, SUN Y L, ZHOU R, et al. Study of normal value ranges for hematology and biochemical indexes in serum of SD rat in 30 days feeding test [J]. Chinese journal of comparative medicine, 2003, 13(1): 13-15 (in Chinese with English abstract).
- [16] 郑伟, 严继舟. 斑马鱼组织石蜡切片质量的优化 [J]. 江苏农业科学, 2013, 41(11): 260-263. ZHENG W, YAN J Z. Optimization of the quality of paraffin sections from zebrafish tissue [J]. Jiangsu agricultural sciences, 2013, 41(11): 260-263 (in Chinese).
- [17] 董姗姗, 章嫡妮, 张振华, 等. 转 *mCry1Ac* 基因玉米BT799对斑马鱼的生态毒理学效应 [J]. 应用生态学报, 2019, 30(8): 2845-2853. DONG S S, ZHANG D N, ZHANG Z H, et al. Ecotoxicological effects of transgenic *mCry1Ac* maize (BT799) on zebrafish [J]. Chinese journal of applied ecology, 2019, 30(8): 2845-2853 (in Chinese with English abstract).
- [18] 陈华, 李春海, 贺苏兰, 等. 性别因素对大鼠部分血液学、血液生化指标和脏器系数的影响 [J]. 实验动物科学与管理, 1996, 13 (1): 21-23. CHEN H, LI C H, HE S L, et al. The influences of sex on some index of hematology, blood biochemistry and organ weights of rat [J]. Laboratory animal science and administration, 1996, 13(1): 21-23 (in Chinese with English abstract).
- [19] ST-HILAIRE S, SHEPPARD C, TOMBERLIN J K, et al. Fly prepupae as a feedstuff for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* [J]. Journal of the world aquaculture society, 2007, 38(1): 59-67.
- [20] 蒋中仁, 徐薇, 金伟, 等. SD大鼠血液学指标、血生化指标及脏体比正常值范围探讨 [J]. 预防医学情报杂志, 2011, 27(10): 789-791. JIANG Z R, XU W, JIN W, et al. Normal ranges for hematology, biochemical indexes and organ-body ratios of SD rats [J]. Journal of preventive medicine information, 2011, 27(10): 789-791 (in Chinese with English abstract).

Safety of insect powder feeding zebrafish and rats from *Hermertia illucens* L. transformed with organic wastes

YU Junshuai¹, DAI Na², NIE Qiyu^{1,3}, CAI Minmin¹, ZHANG Jibin¹, FAN Mingxia²

1. State Key Laboratory of Agricultural Microbiology/College of Life Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China;
2. Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, China;
3. The Supervision, Inspection & Testing Center of Microbial Products Quality Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Wuhan 430070, China

Abstract The safety of feeding zebrafish and rats with insect powder obtained from different materials transformed by *Hermertia illucens* L. was evaluated to compare the differences in physiological, biochemical and histopathological indicators of zebrafish and rats. Zebrafish and rats were divided into four groups including the control group made up of zebra fish fed with algae powder (CK1) and rats fed with traditional rat diet (CK2), chicken excrement feeding group fed with *Hermertia illucens* L. powder reared with chicken excrement (A group), kitchen waste feeding group fed with *Hermertia illucens* L. powder reared with kitchen waste (B group), and agricultural by-product feeding group fed with *Hermertia illucens* L. reared with agricultural by-product (C group). The physiological, biochemical and histopathological indicators of zebrafish and rats were measured on 15 days and 28 days after feeding, respectively. The results showed that except for the A group, other groups had no significant effect on the physiological and biochemical indicators of zebrafish. The control, B and C group had no significant effect on the histopathology of zebrafish and rats. The insect powder in each group had significant effects on the physiological and biochemical indicators of rats, but they were all maintained at normal values. It is indicated that insect powder obtained entirely from the transformation of the kitchen waste and agricultural by-products by *Hermertia illucens* L. can serve as the open feed with high-nutrient for zebrafish and feed for short-term feeding of rats.

Keywords *Hermertia illucens* L.; insect powder; animal feed; safety; zebrafish; rat; organic wastes

(责任编辑:赵琳琳)