



黑水虻虫粉替代鱼粉对杂交鳢血清免疫抗氧化、肠道功能和抗病力的影响

谢雨桐^{1,2}, 黄文庆^{1,3}, 李诗洋^{1,2}, 黄燕华^{3,4},
刘春⁴, 许丰孟³, 王国霞^{1*}

- (1. 广东省农业科学院动物科学研究所, 广东省畜禽育种与营养研究重点实验室, 广东省农业科学院水产研究中心, 广东广州 510640;
2. 广东海洋大学水产学院, 广东湛江 524088;
3. 广州飞禧生物科技有限公司, 广东广州 510640;
4. 仲恺农业工程学院动物科技学院, 健康养殖创新研究院, 广东广州 510225)

摘要: 为了研究饲料中黑水虻虫粉替代鱼粉对杂交鳢 [斑鳢 (*Channa maculate*, ♀) × 乌鳢 (*C. argus*, ♂)] 免疫抗氧化、肠道菌群和抗病力的影响。实验采用黑水虻虫粉 (black soldier fly larvae meal, BSFLM) 分别替代基础配方中鱼粉的 7.5% (BSFLM7.5)、15.0% (BSFLM15)、22.5% (BSFLM22.5) 和 30.0% (BSFLM30) (对应添加 48.8、97.6、146.4 和 195.2 g/kg 的 BSFLM 干物质) 配制 5 种等氮等脂的饲料。选取 525 尾均重为 (10.84±0.01) g 的杂交鳢, 随机分成 5 组, 每组 3 个重复, 每个重复 35 尾, 养殖周期为 56 d。结果显示, BSFLM22.5 和 BSFLM30 组血清碱性磷酸酶 (AKP) 显著高于 BSFLM7.5 和 FM 组, BSFLM22.5 组丙二醛 (MDA) 含量显著低于 FM 组, 各组血清中、过氧化氢酶 (CAT)、超氧化物歧化酶 (SOD)、总抗氧化能力 (T-AOC)、溶菌酶 (LZM)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 活性无显著差异。肠道内容物菌群 BSFLM15~BSFLM30 实验组 Sobs、Chao、Ace、Shannon、Simpson 指数显著低于 FM 和 BSFLM7.5 组, 物种多样性减少; 衣原体门、变形菌门、螺旋体门、假单胞菌属和罗尔斯通菌属相对丰度实验组低于 FM 组。BSFLM30 组后肠菌群 Sobs 指数、Chao 指数和 Ace 指数显著高于 FM 组和其他实验组, 厚壁菌门、拟杆菌门、沉积菌属和紫单胞菌属相对丰度增加, 各实验组后肠螺旋体门、假单胞菌属和罗尔斯通菌属相对丰度降低。用舒氏气单胞菌感染, BSFLM7.5、BSFLM15 和 BSFLM22.5 组的杂交鳢 7 d 累计死亡率显著低于 FM 组的。综上所述, 黑水虻虫粉部分替代鱼粉可以改善杂交鳢免疫抗氧化能力, 调节肠道内容物菌群结构, 增强抗舒氏气单胞菌感染的能力, 替代量以不超过 22.5% (146.4 g/kg) 为宜。

关键词: 杂交鳢; 黑水虻虫粉; 免疫抗氧化; 肠道微生物; 舒氏气单胞菌; 抗病力

中图分类号: S 963.7

文献标志码: A

鱼粉为水产饲料的常用动物蛋白, 价格昂贵, 进口依存度高达 80%, 已制约我国养殖业的健康

发展, 寻求新的蛋白原替代鱼粉成为现在水产养殖业的迫切需要。黑水虻 (*Hermetia illucens*) 是昆

收稿日期: 2023-05-21 修回日期: 2023-12-10

资助项目: 广东省现代农业产业技术体系创新团队建设项目 (2022KJ115, 2023KJ115)

第一作者: 谢雨桐 (照片), 从事水产动物营养与饲料研究, E-mail: 741527843@qq.com;

黄文庆, 从事水产动物营养与饲料研究, E-mail: 94574184@qq.com

通信作者: 王国霞, 从事水产动物营养与饲料研究, E-mail: wanggx78@126.com



虫类动物性蛋白^[1], 因来源广、饲养成本低且营养价值高的优点被关注开发^[2]。幼虫可降解转化食物垃圾、牲畜粪便等有机废物为自身的蛋白质和脂肪, 且营养组成有可塑性, 可通过调节幼虫食物改变体内某种特定营养素含量, 优势显著^[3-4]。在水产饲料中, 黑水虻常用制剂有干幼虫粉、鲜幼虫、脱脂幼虫粉和酶解幼虫浆等^[5]。其中黑水虻虫粉 (black soldierfly larvae meal, BSFLM) 因蛋白质含量高, 氨基酸组成平衡, 富含甲壳素、月桂酸 (C12:0)、棕榈酸和抗菌肽等生物活性成分成为热点^[6-7]。已有草鱼 (*Ctenopharyngodon idella*)^[8]、大西洋鲑 (*Salmo salar*)^[9]、日本花鲈 (*Lateolabrax japonicus*)^[10]、黄颡鱼 (*Pelteobagrus fulvidraco*)^[11]、建鲤 (*Cyprinus carpio* var. *jian*)^[12] 等相关实验证明水产饲料中黑水虻虫粉可适量替代鱼粉, 对水生动物生长性能、营养物质沉淀率、机体免疫抗氧化能力以及抗病力等无显著不良影响, 并在大黄鱼 (*Larimichthys crocea*)^[13] 中表现出良好的促进作用, 因此, 黑水虻虫粉不仅是优质饲料蛋白原, 也被认为是具有良好发展前景的功能性饲料原料^[14]。

杂交鳢是斑鳢 (*Channa maculate*, ♀) 和乌鳢 (*C. argus*, ♂) 的杂交后代, 又名生鱼, 体大肉厚, 抗病力强, 生长速率较双亲更优, 是我国主要特色淡水养殖鱼类之一。而舒氏气单胞菌 (*Aeromonas schubertii*) 为革兰氏阴性细菌, 是引起鳢科 (Channidae) 鱼类内脏类结节病的主要病原菌之一^[15]。由于同时也可以引起动物和人类多种疾病 (肠炎和败血症等), 成为一种对我国水产养殖业、畜牧业乃至人类健康具有潜在危害的人-畜-鱼共患的条件性致病菌^[16]。

目前黑水虻虫粉替代鱼粉对杂交鳢血清免疫抗氧化、肠道菌群和抗病力等的影响未见报道。因此, 本实验在饲料中添加不同剂量的黑水虻虫粉替代鱼粉饲养杂交鳢, 研究其对杂交鳢免疫抗氧化、肠道菌群和抗舒氏气单胞菌感染的影响, 为黑水虻虫粉在杂交鳢配合饲料中的应用提供理论依据和参考。

1 材料与方法

1.1 实验饲料

用鱼粉、豆粕和菜粕等蛋白源和鱼油、豆油及大豆磷脂油为脂肪源配制了 5 种等蛋白质 (45%) 和等脂肪 (10%) 饲料, 其组成和营养成分见

<https://www.china-fishery.cn>

表 1, 氨基酸、脂肪酸组成见表 2、表 3, 检测方法参考胡俊茹等^[17]的报道。对照组基础饲料 (FM) 添加 35% 鱼粉, 实验组分别添加 7.5% (BSFLM7.5)、15.0% (BSFLM15)、22.5% (BSFLM22.5) 和 30.0% (BSFLM30) 的 BSFLM 替代鱼粉配制成等氮等脂的饲料, 对应基础饲料中分别添加 48.8、97.6、146.4 和 195.2 g/kg 的 BSFLM 干物质。能量由氧弹量热仪 (Parr 6400) 测定。微调鱼粉和大豆磷脂油等配平营养水平。实验饲料使用实验室双螺杆挤出机 (SLX-80, 华南理工大学科技实业总厂机械分厂) 挤出, 切成 3 mm 的颗粒, 55 °C 干燥, -20 °C 保存至使用。

1.2 实验设计与饲养管理

养殖实验在广东省农业科学院动物科学研究所白云实验基地循环系统玻璃缸中进行, 杂交鳢鱼苗购于广州市锦龙渔业有限公司。经过 1 周暂养后, 选取初始体重为 (10.84±0.01) g 的健康杂交鳢 525 尾, 随机分为 5 组, 每组 3 个重复, 每缸 35 尾, 圆柱形玻璃纤维缸大小为直径 80 cm×高 70 cm, 容积为 350 L。每天 09:00 和 16:00 两次投喂至明显饱足状态, 饲养 56 d。养殖期间水质条件: 溶解氧>5 mg/L, 水温 24.0~29.0 °C, pH 值 7.6~7.9, 氨氮≤0.1 mg/L, 亚硝酸盐≤0.2 mg/L。实验过程中操作人员严格遵守动物伦理规范, 并按照实验动物福利及伦理各项规章制度执行。

1.3 舒氏气单胞菌感染实验

饲养实验结束后, 从每一实验组随机挑选 30 尾杂交鳢, 用舒氏气单胞菌菌悬液 (采用稀释涂布法确定浓度后用生理盐水配制成) 于玻璃鱼缸 (20 L) 中进行浸泡感染实验, 每次 10 尾实验鱼, 3 次重复。感染条件为 30 °C 浸泡 2 h, 菌液浓度为 2×10⁶ CFU/mL, 2 h 后将实验鱼转移至另一个同样大小的鱼缸中养殖, 用加热棒加热保持 30 °C 水温, 气石充氧保证溶解氧充足, 不投喂实验饲料, 观察并记录杂交鳢 0、24、48、96 和 168 h 内各组死亡情况, 计算 168 h (7 d) 内的累积死亡率。

1.4 样品采集与指标测定

血清生化指标测定 投喂实验结束后, 禁食 24 h 后取样。每个缸随机选取 6 尾实验鱼, 用 1 mL 无菌注射器在鱼尾进行静脉取血, 3 500 r/min 离心 (80-2 台式电动离心机) 10 min, 取上清液保存于 -80 °C 冰箱, 用商业试剂盒 (南京建成

表 1 实验饲料组成及营养水平 (干物质基础)

Tab. 1 Ingredients and proximate composition of the experiment diets (DM)

项目 items	饲料 diets				
	FM	BSFLM7.5	BSFLM15	BSFLM22.5	BSFLM30
原料 ingredients					
鱼粉/% fish meal	35.00	32.37	29.75	27.13	24.50
黑水虻虫粉/% black soldier fly larvae meal ¹⁾	0	4.88	9.76	14.64	19.52
豆粕/% soybean meal	16.00	16.00	16.00	16.00	16.00
菜粕/% rapeseed meal	8.00	8.00	8.00	8.00	8.00
花生麸/% peanut meal	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
鸡肉粉/% chicken powder	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
高精面粉/% high-precision flour	19.38	19.38	19.38	19.38	19.38
鱼油/% fish oil	1.00	1.00	1.00	1.00	0
豆油/% soybean oil	1.50	1.50	1.50	1.50	0
大豆磷脂油/% soybean lecithin	3.50	2.00	0.50	0	0
磷酸二氢钙/% Ca(H ₂ PO ₄) ₂	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
氯化胆碱50% choline chloride 50%	0.50	0.50	0.05	0.50	0.50
维生素C磷酸酯/% vitamin C phosphate	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
维生素预混料/% vitamin premix ²⁾	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
矿物质预混料/% mineral premix ³⁾	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
微晶纤维素/% microcrystalline cellulose	3.32	2.57	1.81	1.05	0.3
共计/% total	100	100	100	100	100
营养水平 nutrient levels⁴⁾					
水分/% moisture	6.31	7.12	5.99	5.25	6.50
粗蛋白质/% crude protein	44.73	46.09	45.50	45.42	44.49
粗脂肪/% crude lipid	10.96	10.21	10.79	10.68	10.78
灰分/% ash	8.88	9.00	9.12	9.25	9.37
能量/(kJ/g) gross energy	18.93	19.01	18.92	18.84	18.85

注: 1)黑水虻幼虫由广州飞禧特生物科技有限公司提供, 由喂食餐厨垃圾的8日龄幼虫经高温烘干磨碎而得, 虫粉化学成分包含粗蛋白质48.3%、粗脂肪19.6%、灰分11.5%和甲壳素6%; 2) 维生素预混料为每千克饲料提供VD 2 000 IU, VE 50 IU, VK 1 mg, VB₁ 1 mg, VB₂ 6 mg, 胆碱 choline 1 000 mg, VB₆ 5 mg, 烟酸 10 mg, VA 2 500 IU, 生物素 0.14 mg, D-泛酸钙 20 mg, 叶酸 1 mg, VC 50 mg; 3) 矿物质预混料每千克饲料提供 FeSO₄·H₂O 13 mg, ZnSO₄·H₂O 60 mg, NaCl 1 200 mg, MnSO₄·H₂O 32 mg, CuSO₄·H₂O 7 mg, KI 8 mg; 4) 营养水平为实测值。
Notes: 1) the larvae were obtained from 8-day-old larvae fed on kitchen waste by drying and grinding at high temperature. The chemical composition of the meal consisted of crude protein 48.3%, crude fat 19.6%, ash 11.5% and chitin 6%; 2) vitamin premix provided the following per kilogram of diets contain VD 2 000 IU, VE 50 IU, VK 1 mg, VB₁ 1 mg, VB₂ 6 mg, choline 1 000 mg, VB₆ 5 mg, nicotinic acid 10 mg, VA 2 500 IU, biotin 0.14 mg, D-calcium pantothenate 20 mg, folic acid 1 mg, VC 50 mg; 3) mineral premix provided the following per kilogram of diets, FeSO₄·H₂O 13 mg, ZnSO₄·H₂O 60 mg, NaCl 1 200 mg, MnSO₄·H₂O 32 mg, CuSO₄·H₂O 7 mg, KI 8 mg; 4) nutrient levels were measured values.

生物工程研究所) 测定免疫抗氧化酶活性: 丙二醛 (MDA) 含量、过氧化氢酶 (CAT)、超氧化物歧化酶 (SOD)、溶菌酶 (LZM)、碱性磷酸酶 (AKP)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 活性和总抗氧化能力 (T-AOC)。

肠道菌群 每个缸随机取 2 尾实验鱼, 取腹腔后肠样本和肠道内容物样本, 分别装入 2.0 mL 的冷冻管置于液氮中, 保存在 -80 °C 备用。

提取肠道和肠道内容物总 DNA, 对其数量和质量进行检测评估, 使用引物 (正向引物: 5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCA-3'; 反向引物: 5'-GGAC TACHVGGGTWTCTAAT-3') 测序区域 V3 + V4, PCR 扩增, Illumina HiSeq 2500 (北京百迈客生物科技有限公司) 测序。在 97% 的相似度水平下操作分类单元 (OTU) 聚类分析和物种分类学分析。

表 2 实验饲料氨基酸组成

Tab. 2 Amino acid composition of experimental diets

%

项目 items	FM	BSFLM7.5	BSFLM15	BSFLM22.5	BSFLM30
必需氨基酸 essential amino acid					
组氨酸 histidine	1.05	0.99	0.99	0.98	0.93
苏氨酸 threonine	1.66	1.87	1.88	1.85	1.76
精氨酸 arginine	2.54	2.96	2.91	2.94	2.89
酪氨酸 tyrosine	0.94	1.32	1.36	1.33	1.34
缬氨酸 valine	2.54	2.50	2.47	2.70	2.70
蛋氨酸 methionine	0.78	0.83	0.79	0.83	0.75
苯丙氨酸 phenylalanine	1.86	2.13	2.13	2.09	2.00
异亮氨酸 isoleucine	1.91	1.81	1.80	1.80	1.78
亮氨酸 leucine	2.27	2.55	2.61	2.59	2.48
赖氨酸 lysine	3.45	2.97	2.89	2.85	2.73
非必需氨基酸 non-essential amino acid					
谷氨酸 glutamic	8.11	8.07	7.71	7.74	7.51
甘氨酸 glycine	2.33	2.42	2.49	2.54	2.46
天冬氨酸 aspartic	4.07	3.82	3.77	3.69	3.62
丙氨酸 alanine	1.96	2.38	2.50	2.54	2.52
丝氨酸 serine	1.90	2.07	2.08	2.11	2.06

表 3 实验饲料脂肪酸组成 (g/100 g 总脂肪酸)

Tab. 3 Fatty acid composition (g/100 g of total fatty acids) of experimental diets

项目 items	FM	BSFLM7.5	BSFLM15	BSFLM22.5	BSFLM30
C10:0	0.00	0.01	0.02	0.03	0.04
C12:0	0.02	0.29	0.55	0.81	1.01
C14:0	0.23	0.28	0.33	0.38	0.37
C16:0	1.53	1.62	1.77	1.94	1.95
C16:1n-9	0.23	0.25	0.27	0.30	0.26
C18:0	0.44	0.44	0.46	0.47	0.45
C18:1n-9	1.84	1.98	2.19	2.33	2.11
C18:2n-6	2.57	2.35	2.23	1.93	1.82
C18:3n-3	0.30	0.27	0.25	0.21	0.02
C20:5	0.43	0.39	0.38	0.36	0.00
C22:6n-6	0.32	0.29	0.28	0.27	0.02
饱和脂肪酸总量 Σ SFA	2.38	2.79	3.27	3.77	3.94
单不饱和脂肪酸总量 Σ MUFA	2.16	2.31	2.54	2.71	2.43
多不饱和脂肪酸总量 Σ PUFA	3.70	3.39	3.23	2.86	2.55
n-3多不饱和脂肪酸总量 Σ n-3 PUFA	0.30	0.27	0.25	0.21	0.17
n-6多不饱和脂肪酸总量 Σ n-6 PUFA	2.90	2.65	2.51	2.20	2.06

1.5 数据分析

实验数据均用平均值 \pm 标准误 (mean \pm SE) 表示, 采用 IBM SPSS Statistics22 软件中的单因素方差分析 (One-Way ANOVA) 和 Duncan 氏法进行组间多重比较进行处理。先对数据进行方差齐性检验, 若不满足方差齐性则采用 Dunnett-T3 检验法进行多重比较, $P < 0.05$ 表示显著差异。

2 结果

2.1 杂交鳢血清免疫抗氧化指标

血清免疫抗氧化指标结果显示, BSFLM22.5 和 BSFLM30 组 AKP 显著高于 BSFLM7.5 和 FM 组 ($P < 0.05$); BSFLM22.5 组丙二醛含量显著低于 FM 组 ($P < 0.05$); 各组 LZM、SOD、CAT、MDA、

T-AOC 和 GSH-Px 无显著差异 ($P>0.05$)(表 4)。

2.2 杂交鳢肠道微生物

肠道内容物菌群测序结果显示, BSFLM15~BSFLM30 实验组 Sobs、Chao、Ace、Shannon、Simpson 指数显著低于 FM 和 BSFLM7.5 组 ($P<0.05$), 物种多样性和物种丰度均减少 (表 5)。

后肠菌群测序结果显示, BSFLM30 组后肠菌群 Sobs、Shannon、Chao 和 Ace 指数显著高于 FM 组和其他实验组 ($P<0.05$)(表 6)。

OTU 聚类分析和物种分类学分析肠道内容物

结果显示, BSFLM7.5 厚壁菌门 (Firmicutes) 相对丰度高于对照组 ($P>0.05$), 实验组衣原体门 (Chlamydiae)、变形菌门 (Proteobacteria)、螺旋体门 (Spirochaetes)、假单胞菌属 (*Pseudomonas*) 和青枯菌属 (*Ralstonia*) 相对丰度降低 ($P>0.05$)。后肠 BSFLM30 组厚壁菌门、拟杆菌门 (Bacteroidetes) 相对丰度增加 ($P>0.05$), 实验组螺旋体门相对丰度降低 ($P>0.05$) (图 1)。

2.3 杂交鳢抗舒氏气单胞菌感染的结果

用舒氏气单胞菌感染后, 实验组杂交鳢死亡

表 4 黑水虻虫粉替代鱼粉对杂交鳢血清免疫抗氧化指标的影响

Tab. 4 Effects of replace fish meal with BSFLM on serum biochemical indexes of hybrid snakehead

项目 items	FM	BSFLM7.5	BSFLM15	BSFLM22.5	BSFLM30
溶菌酶/(mg/mL) LZM	6.00±1.17	6.49±1.49	4.95±1.68	4.70±1.68	5.72±1.54
碱性磷酸酶/(U/L) AKP	1.39±0.27 ^a	1.37±0.27 ^a	2.49±0.28 ^{ab}	3.37±0.69 ^b	3.10±0.71 ^b
过氧化氢酶/(U/mL) CAT	28.15±3.99	18.67±4.49	27.25±5.25	19.58±6.21	12.42±1.13
超氧化歧化酶/(U/mL) SOD	12.82±2.48	12.87±0.30	12.53±1.24	9.91±0.46	13.75±1.71
总抗氧化能力/(mmol/mL) T-AOC	0.38±0.02	0.42±0.01	0.49±0.05	0.39±0.05	0.43±0.04
谷胱甘肽过氧化物酶/(U/mL) GSH-Px	214.67±13.36	156.45±28.65	208.89±20.09	204.00±21.17	172.44±12.54
丙二醛/(mmol/mL) MDA	7.69±0.81 ^b	6.34±1.26 ^{ab}	5.79±0.65 ^a	5.19±0.28 ^a	8.47±1.36 ^{bc}

注: 同行数据肩标不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$), 下同。

Notes: In the same row, values with different lowercase letters superscripts mean significant difference ($P<0.05$), the same below.

表 5 黑水虻虫粉替代鱼粉对杂交鳢肠道内容物菌群的影响

Tab. 5 Effects of replace fish meal with BSFLM on intestinal contents flora of hybrid snakehead

项目 items	物种多样性 community diversity				物种丰度 species richness	
	Sobs	Shannon	Simpson	coverage/%	Chao	Ace
FM	79.00±6.00 ^b	1.94±0.17 ^b	0.60±0.05 ^b	100±0	84.85±10.65 ^b	86.36±9.89 ^b
BSFLM7.5	69.00±1.73 ^b	1.48±0.35 ^b	0.40±0.17 ^b	99.99±0.01	77.24±2.73 ^b	76.25±3.39 ^b
BSFLM15	30.00±2.31 ^a	0.46±0.12 ^a	0.14±0.04 ^a	100±0.01	39.61±6.63 ^a	35.48±4.50 ^a
BSFLM22.5	30.67±3.84 ^a	0.53±0.21 ^a	0.13±0.09 ^a	100±0	37.94±4.01 ^a	38.82±3.71 ^a
BSFLM30	25.00±1.00 ^a	0.32±0.10 ^a	0.08±0.03 ^a	100±0.01	44.17±10.92 ^a	42.62±8.69 ^a

表 6 黑水虻虫粉替代鱼粉对杂交鳢后肠菌群的影响

Tab. 6 Effects of replace fish meal with BSFLM on end gut flora of hybrid snakehead

项目 items	物种多样性 community diversity				物种丰度 species richness	
	Sobs	Shannon	Simpson	coverage/%	Chao	Ace
FM	58.00±6.00 ^a	1.48±0.28 ^{ab}	0.51±0.12	99.99±0.01	59.14±5.47 ^{ab}	61.06±5.26 ^a
BSFLM7.5	67.33±10.41 ^a	0.66±0.18 ^a	0.21±0.06	99.99±0.01	78.77±13.70 ^{ab}	81.99±13.45 ^{ab}
BSFLM15	130.50±10.50 ^b	1.47±0.37 ^{ab}	0.44±0.12	99.99±0.01	120.28±26.72 ^b	119.54±22.79 ^b
BSFLM22.5	44.33±9.24 ^a	0.87±0.52 ^a	0.38±0.24	99.99±0.01	49.41±9.11 ^a	49.43±8.58 ^a
BSFLM30	274.50±25.50 ^c	3.30±1.63 ^b	0.68±0.24	99.99±0.01	283.39±19.36 ^c	284.99±20.49 ^c

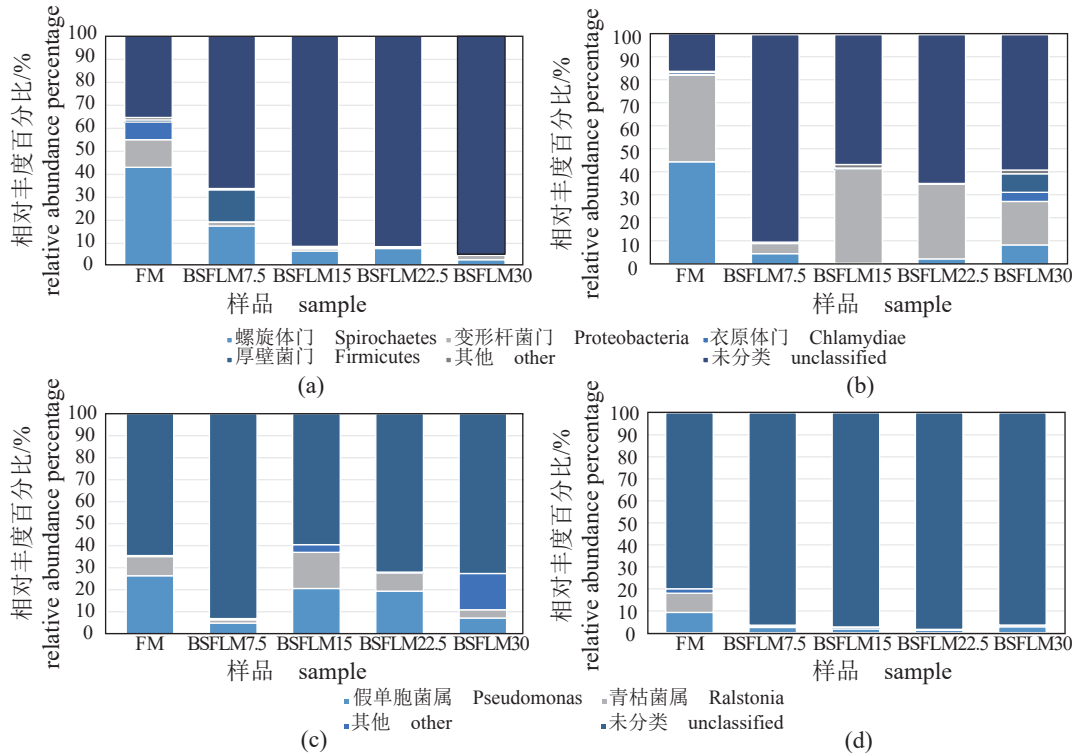


图 1 肠道内容物/肠道中微生物在门和属中的物种分布图

(a) 肠道内容物门的物种占比, (b) 后肠门的物种占比, (c) 后肠属的物种占比, (d) 肠道内容物属的物种占比。

Fig. 1 Map of species distribution of intestinal contents/microorganisms in the gut in phylum and genera

(a) proportion of species in the intestinal contents phylum, (b) proportion of species in the end gut phylum, (c) proportion of species in the end gut genus, (d) proportion of species in the intestinal contents genera.

率均低于对照组的, 其中 BSFLM7.5、BSFLM15 和 BSFLM22.5 组的死亡率显著低于 FM 组 ($P < 0.05$) (图 2)。

3 讨论

3.1 黑水虻虫粉替代鱼粉对杂交鳢免疫抗氧化的影响

动物机体内 CAT、SOD、GSH-Px 等酶类活性决定了动物机体抗氧化能力, MDA 是脂质过氧化的最终产物, 是表达动物机体过氧化的指标^[18]。LZM 和 AKP 是常见的判断机体免疫能力的指标^[19]。鱼体内 AKP 参与物质转运和离子分泌, 是衡量免疫防御和消化吸收的重要指标, AKP 活性上升, 说明鱼体代谢能力增强或免疫调节功能增强^[20]。本实验血清免疫指标也显示 BSFLM22.5 (146.4 g/kg BSFLM) 显著增加 AKP 活性, 降低 MDA 含量, 增强免疫力, 减少氧化损伤。而尖吻鲈 (*Lates calcarifer*)^[21] 实验中 221 g/kg BSFLM 替代 30% 鱼粉后其免疫基因 *IL-1β* 和 *IL-10* 的表达显著增加,

证明在饲料中添加黑水虻虫粉有助于刺激免疫相关通路的基因表达。猜测黑水虻虫粉对鱼类免疫抗氧化的影响与甲壳素相关, 实验在饲料中用 BSFLM 替代 22.5% 鱼粉 (146.4 g/kg BSFLM), 甲壳素含量高达 8.78 g/kg (甲壳素全部源于黑水虻虫粉)。在同样富含甲壳素的黄粉虫 (*Tenebrio molitor*) 虫粉饲养斑鳃 (*Siniperca scherzeri*)^[22] 实验中也出现相似的结果, 饲料添加 300g/kg 黄粉虫虫粉替代 30% 鱼粉, 其血清 LZM 和 GPx 活性显著上升。胡晓伟等^[23] 在日本花鲈实验中发现, 在饲料中添加 2 g/kg 壳寡糖可显著提高日本花鲈血清中的 AKP、SOD 活性, 说明甲壳素中的壳寡糖有提高机体免疫抗氧化的能力。

3.2 黑水虻虫粉替代鱼粉对杂交鳢肠道微生物的影响

肠道菌群与宿主相互影响^[24], 在调节宿主的消化吸收、代谢和免疫应答等方面起着关键作用^[25-26], 是评价肠道健康的重要指标。Alpha 多样性分析可以反映肠道微生物物种多样性和物种丰

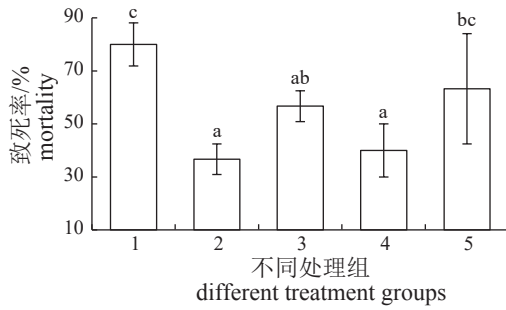


图2 黑水虻虫粉替代鱼粉对杂交鳢抗舒氏气单胞菌感染的影响

1. BSFLM0, 2. BSFLM7.5, 3. BSFLM15, 4. BSFLM22.5, 5. BSFLM30; 柱形图上方字母为差异显著性。

Fig. 2 Effects of replace fish meal with BSFLM on challenge test of *A. schubertii*

1. BSFLM0, 2. BSFLM7.5, 3. BSFLM15, 4. BSFLM22.5, 5. BSFLM30; the letters above the bar graph indicate significant difference.

度。本实验结果表明, BSFLM 替代鱼粉, 杂交鳢后肠内容物菌群多样性和丰度减少, BSFLM30 (195.2 g/kg BSFLM) 后肠菌群多样性和丰度剧增, 推测可能为高剂量 BSFLM 引起免疫过激反应。衣原体门为专性寄生菌^[27]; 假单胞菌属细菌为条件致病菌^[28-29], 变形菌门相对丰度增加是菌群失调、疾病风险的潜在标志^[30]。本实验中 BSFLM 各组后肠内容物变形菌门、衣原体门、假单胞菌属较 FM 组相对丰度降低, 说明添加黑水虻虫粉改善杂交鳢肠道菌群结构, 可降低疾病风险。同时也有其他实验发现, 105.2 g/kg BSFLM 替代 5% 鱼粉饲养黄鳢 (*Monopterus albus*)^[31], 其肠道微生物的丰富度和多样性显著改善。可能是黑水虻中壳寡糖的效用, 有实验证明, 饲料中添加 20 mg/kg 壳寡糖, 虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*) 肠道假单胞菌属相对丰度降低, 与本实验结果一致^[32]。

3.3 黑水虻虫粉替代鱼粉对杂交鳢抗病力的影响

本实验中 BSFLM7.5~BSFLM22.5 (48.8~146.4 g/kg BSFLM) 组的杂交鳢被舒氏气单胞菌感染后的 7 d 累积死亡率降低, 在本实验室其他实验中, 也有类似的结果, 饲料中添加 18 g/kg 黑水虻虫浆饲喂杂交鳢, 同样显著降低了被舒氏气单胞菌感染 7 d 的累计死亡率, 许丰孟^[33]也曾报道在大口黑鲈 (*Micropterus salmoides*) 饲料中添加 DM 10 g/kg 黑水虻虫浆可以减少嗜水气单胞菌 (*A. hydrophila*) 感染累计死亡率。饲料中黑水虻的添加有效提高宿主抗病抑菌能力, 推测可能与 C12:0 和甲壳素

成分相关。本实验随着饲料中黑水虻添加量增加, 饲料中 C12:0 含量从 0.2 g/kg 上升至 8.1 g/kg。张文阁^[34]研究证明饲喂 C12:0 和其衍生物能够减少沙门氏菌 (*Salmonella*) 在小鼠 (*Mus musculus*) 肠道定植, 有效减缓细菌入侵导致的肠道损伤。杂交鳢抗病力的提高可能还与昆虫中的甲壳素有关, 在罗氏沼虾 (*Macrobrachium rosenbergii*) 实验中, 饲料中添加 12% 的黄粉虫实验组表现对格氏乳球菌 (*Lactococcus garvieae*) 和嗜水气单胞菌的抵抗力的增强, 且生长性能、免疫参数的也表现出相应的提高^[35]。Gopalakannan 等^[36]更是在鲤 (*C. carpio*) 实验中证明, 添加 10g/kg 甲壳素可显著提高实验动物对嗜水气单胞菌的抵抗力, 且血清 LZM 活性和白细胞数有显著增加。本实验血清免疫抗氧化指标也表明, 饲料中添加适量 (22.5%) 的黑水虻虫粉有助于提高机体免疫抗氧化的能力, 与抗舒氏气单胞菌能力的增强相吻合。

本实验在 BSFLM30(195.2 g/kg BSFLM) 舒氏气单胞菌感染后杂交鳢死亡率较 BSFLM22.5 (146.4 g/kg BSFLM) 有上升趋势, 可能是由于添加黑水虻虫粉过量, 机体抗病力降低, 在后肠菌群中, 我们也观察到高剂量 BSFLM (195.2 g/kg BSFLM) 引起菌群多样性和丰度剧增。且在 BSFLM30 组, MDA 含量显著上升, 抗氧损伤较 BSFLM22.5 组显著增高。大口黑鲈实验中添加 30~50 g/kg DM 酶解黑水虻虫浆报道也有相似结果, 饲料中过高剂量的黑水虻添加引起机体抗病力降低^[33]。

4 结论

本实验用黑水虻虫粉替代鱼粉可以改善杂交鳢免疫抗氧化能力, 调节肠道内容物菌群结构, 降低致病菌菌群丰度进而提高肠道功能, 增强抗舒氏气单胞菌感染的能力, 替代量不要超过 22.5% (146.4 g/kg BSFLM)。

(作者声明本文无实际或潜在的利益冲突)

参考文献 (References):

- [1] 杨再华, 杨燕, 魏濂蒙, 等. 中国水虻科名录 [M]. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2008.
- Yang Z H, Yang Y, Wei L M, et al. Directory of the Pteranidae in China[M]. Beijing: China Agricultural Sci-

- ence and Technology Press, 2008 (in Chinese).
- [2] 姜慧敏, 王文霞, 任苗苗, 等. 黑水虻转化厨余垃圾过程中病原菌灭活规律的研究与综合评价 [J]. 环境科学学报, 2020, 40(3): 1011-1022.
- Jiang H M, Wang W X, Ren M M, *et al.* An investigation and comprehensive evaluation on the pathogen inactivation process during the degradation of kitchen waste by the larvae of black soldier fly[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2020, 40(3): 1011-1022 (in Chinese).
- [3] 黄超, 沈侨, 朱定, 等. 黑水虻幼虫氨基酸组成及营养价值评估 [J]. 广东饲料, 2018, 27(9): 22-24.
- Huang C, Shen Q, Zhu D, *et al.* Amino acid composition and nutritional value of larva of *Hermetia illucens*[J]. *Guangdong Feed*, 2018, 27(9): 22-24 (in Chinese).
- [4] Diener S, Zurbrügg C, Tockner K. Conversion of organic material by black soldier fly larvae: establishing optimal feeding rates[J]. *Waste Management & Research*, 2009, 27(6): 603-610.
- [5] 谢雨桐, 彭凯, 胡俊茹, 等. 黑水虻在水产饲料中的应用进展 [J]. 广东海洋大学学报, 2022, 42(1): 144-150.
- Xie Y T, Peng K, Hu J R, *et al.* Review on application of black soldier fly (*Hermetia illucens* Linnaeus) in aquatic feed[J]. *Journal of Guangdong Ocean University*, 2022, 42(1): 144-150 (in Chinese).
- [6] Liu X, Chen X, Wang H, *et al.* Dynamic changes of nutrient composition throughout the entire life cycle of black soldier fly[J]. *PLoS One*, 2017, 12(8): e0182601.
- [7] 陈柏宇, 李楚君, 胡斌, 等. 黑水虻幼虫饲用价值 [J]. 饲料工业, 2020, 41(10): 9-15.
- Chen B Y, Li C J, Hu B, *et al.* Value of black soldier fly larvae as feed[J]. *Feed Industry*, 2020, 41(10): 9-15 (in Chinese).
- [8] 黄文庆, 黄燕华, 米海峰, 等. 3 种动物蛋白质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 idella*[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2019, 31(5): 2187-2200 (in Chinese).
- [9] Belghit I, Liland N S, Waagbø R, *et al.* Potential of insect-based diets for Atlantic salmon (*Salmo salar*)[J]. *Aquaculture*, 2018, 491: 72-81.
- [10] 彭凯, 萧鸿发, 莫文艳, 等. 黑水虻幼虫粉替代鱼粉对加州鲈生长性能、形体指标、体成分及营养物质沉积率的影响 [J]. 动物营养学报, 2021, 33(11): 6340-6348.
- Peng K, Xiao H F, Mo W Y, *et al.* Effects of replacing fish meal with black soldier fly larvae meal on growth performance, physical indexes, body composition and nutrient retention rates of *Micropterus salmoides*[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2021, 33(11): 6340-6348 (in Chinese).
- [11] 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).
- [12] Li S L, Ji H, Zhang B X, *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] 韩星星, 叶坤, 王志勇, 等. 脱脂黑水虻虫粉替代鱼粉对大黄鱼幼鱼生长、体成分、血清生化指标及抗氧化能力的影响 [J]. 中国水产科学, 2020, 27(5): 524-535.
- Han X X, Ye K, Wang Z Y, *et al.* Effect of substitution of fish meal with defatted black soldier fly larvae meal on growth, body composition, serum biochemical parameters, and antioxidant capacity of juvenile large yellow croaker (*Larimichthys crocea*)[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2020, 27(5): 524-535 (in Chinese).

- [14] Maulu S, Langi S, Hasimuna O J, *et al.* Recent advances in the utilization of insects as an ingredient in aquafeeds: a review[J]. *Animal Nutrition*, 2022, 11: 234-249.
- [15] 刘春, 曹际振, 张德锋, 等. 舒氏气单胞菌研究进展 [J]. *动物医学进展*, 2021, 42(4): 95-99.
Liu C, Cao J Z, Zhang D F, *et al.* Advance in *Aeromonas schubertii*[J]. *Progress in Veterinary Medicine*, 2021, 42(4): 95-99 (in Chinese).
- [16] 莫金凤, 姜兰, 吴灶和. 乌鳢源舒氏气单胞菌生物学特性及其药物敏感性分析 [J]. *水产学报*, 2016, 40(3): 484-494.
Mo J F, Jiang L, Wu Z H. Biological characteristics and drug susceptibility of *Aeromonas schubertii* WL-4 isolated from snakehead[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2016, 40(3): 484-494 (in Chinese).
- [17] 胡俊茹, 何飞, 莫文艳, 等. 采食不同有机废弃物黑水虻幼虫饲料价值分析 [J]. *中国饲料*, 2017(15): 24-27.
Hu J R, He F, Mo W Y, *et al.* The feed value of black soldier fly *Hermetia illucens* larvae fed with different organic wastes[J]. *China Feed*, 2017(15): 24-27 (in Chinese).
- [18] 邓希海, 黄进, 刘哲. 不同脂肪源对杂交鲟鱼生长性能、养分表观消化率、血清生化指标和抗氧化指标的影响 [J]. *中国饲料*, 2022(14): 61-64.
Deng X H, Huang J, Liu Z. Effects of different fat sources on growth performance, apparent nutrient digestibility, serum biochemical indexes and antioxidant indexes of hybrid sturgeon[J]. *China Feed*, 2022(14): 61-64 (in Chinese).
- [19] Yeh S P, Chen Y N, Hsieh S L, *et al.* Immune response of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, after a concurrent infection with white spot syndrome virus and infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2009, 26(4): 582-588.
- [20] 王一泽, 孙敬锋, 刘军锋, 等. 养殖半滑舌鳎肝胰、中肾、鳃、头肾、脾和心中酸性磷酸酶、碱性磷酸酶和过氧化物酶的组织化学定位 [J]. *中国组织化学与细胞化学杂志*, 2017, 26(3): 229-234.
Wang Y Z, Sun J F, Liu J F, *et al.* Histochemical localization of acid phosphatase, alkaline phosphatase and peroxidase in the hepatopancreas, mid-kidney, gill, head kidney, spleen and heart of cultured *Cynoglossus sem-*
- ilaevis* Günther[J]. *Chinese Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 2017, 26(3): 229-234 (in Chinese).
- [21] Hender A, Siddik M, Howieson J, *et al.* Black soldier fly, *Hermetia illucens* as an alternative to fishmeal protein and fish oil: impact on growth, immune response, mucosal barrier status, and flesh quality of juvenile barramundi, *Lates calcarifer* (Bloch, 1790)[J]. *Biology*, 2021, 10(6): 505.
- [22] Sankian Z, Khosravi S, Kim Y O, *et al.* Effects of dietary inclusion of yellow mealworm (*Tenebrio molitor*) meal on growth performance, feed utilization, body composition, plasma biochemical indices, selected immune parameters and antioxidant enzyme activities of mandarin fish (*Siniperca scherzeri*) juveniles[J]. *Aquaculture*, 2018, 496: 79-87.
- [23] 胡晓伟, 上官静波, 黎中宝, 等. 饲料中添加壳寡糖对花鲈 (*Lateolabrax japonicus*) 幼鱼的生长、消化和血清生化指标的影响 [J]. *海洋学报*, 2018, 40(2): 69-76.
Hu X W, Shangguang J B, Li Z B, *et al.* Effects of dietary chitosan oligosaccharide on the performance, digestion and serum biochemical indexes of the juvenile Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*)[J]. *Haiyang Xuebao*, 2018, 40(2): 69-76 (in Chinese).
- [24] Tang W H W, Kitai T, Hazen S L. Gut microbiota in cardiovascular health and disease[J]. *Circulation Research*, 2017, 120(7): 1183-1196.
- [25] Wang A R, Ran C, Ringø E, *et al.* Progress in fish gastrointestinal microbiota research[J]. *Reviews in Aquaculture*, 2018, 10(3): 626-640.
- [26] Ray A K, Roy T, Mondal S, *et al.* Identification of gut-associated amylase, cellulase and protease-producing bacteria in three species of Indian major carps[J]. *Aquaculture Research*, 2010, 41(10): 1462-1469.
- [27] 李鹏, 端青, 宋立华. 衣原体最新分类体系与分类鉴定方法研究进展 [J]. *中国人兽共患病学报*, 2014, 30(12): 1262-1266.
Li P, Duan Q, Song L H. Recent advances on chlamydial taxonomy and identification[J]. *Chinese Journal of Zoonoses*, 2014, 30(12): 1262-1266 (in Chinese).
- [28] 饶秋华, 刘洋, 黎露, 等. 大黄鱼内脏白点病的病原分离鉴定及致病性 [J]. *福建农林大学学报 (自然科学版)*, 2022, 51(6): 800-808.

- Rao Q H, Liu Y, Li L, *et al.* Isolation, identification and pathogenicity of the pathogen of visceral white spot disease of *Larimichthys crocea*[J]. Journal of Fujian Agriculture and Forestry University (Natural Science Edition), 2022, 51(6): 800-808 (in Chinese).
- [29] 许斌福, 陈秀锦, 池洪树, 等. 大黄鱼变形假单胞菌的遗传学和血清学聚类特征初步分析 [J]. 福建农业学报, 2022, 37(9): 1109-1116.
- Xu B F, Chen X J, Chi H S, *et al.* A preliminary study on genetic and serological clustering of pathogenic *Pseudomonas plecoglossicida* in *Larimichthys crocea*[J]. Fujian Journal of Agricultural Sciences, 2022, 37(9): 1109-1116 (in Chinese).
- [30] Shin N R, Whon T W, Bae J W. Proteobacteria: microbial signature of dysbiosis in gut microbiota[J]. *Trends in Biotechnology*, 2015, 33(9): 496-503.
- [31] Hu Y J, Huang Y H, Tang T, *et al.* Effect of partial black soldier fly (*Hermetia illucens* L.) larvae meal replacement of fish meal in practical diets on the growth, digestive enzyme and related gene expression for rice field eel (*Monopterus albus*)[J]. *Aquaculture Reports*, 2020, 17: 100345.
- [32] 蔡雪峰, 罗琳, 战文斌, 等. 壳寡糖对虹鳟幼鱼肠道菌群影响的研究 [J]. 中国海洋大学学报, 2006, 36(4): 606-610.
- Cai X F, Luo L, Zhan W B, *et al.* Effects of chitooligosaccharides on intestinal bacterial flora of juvenile rainbow trout[J]. Periodical of Ocean University of China, 2006, 36(4): 606-610 (in Chinese).
- [33] 许丰孟. 酶解黑水虻虫浆对大口黑鲈生长、免疫和肠道菌群的影响 [D]. 广州: 华南农业大学, 2022.
- Xu F M. Effects of dietary zymolytic black soldier fly (*Hermetia illucens*) pulp on growth performance, immune indexes and intestinal flora of largemouth bass (*Micropterus salmoides*)[D]. Guangzhou: South China Agricultural University, 2022 (in Chinese).
- [34] 张文阁. 月桂酸体外抑菌作用机理及对沙门氏菌感染小鼠肠道组织的影响 [D]. 南京: 南京农业大学, 2020.
- Zhang W G. Inhibitory mechanism of lauric acid *in vitro* and its effect on intestinal tissue of mice infected with *Salmonella*[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2020 (in Chinese).
- [35] Feng P F, He J Z, Lv M, *et al.* Effect of dietary *Tenebrio molitor* protein on growth performance and immunological parameters in *Macrobrachium rosenbergii*[J]. *Aquaculture*, 2019, 511: 734247.
- [36] Gopalakannan A, Arul V. Immunomodulatory effects of dietary intake of chitin, chitosan and levamisole on the immune system of *Cyprinus carpio* and control of *Aeromonas hydrophila* infection in ponds[J]. *Aquaculture*, 2006, 255(1-4): 179-187.

Effects of replacing fish meal with black soldier fly larvae meal on serum immune antioxidant indices, intestinal function and disease resistance of hybrid snakehead (*Channa maculata* ♀ × *Channa argus* ♂)

XIE Yutong^{1,2}, HUANG Wenqing^{1,3}, LI Shiyang^{1,2}, HUANG Yanhua^{3,4},
LIU Chun⁴, XU Fengmeng³, WANG Guoxia^{1*}

(1. Collaborative Innovation Center of Aquatic Sciences, Guangdong Key Laboratory of Animal Breeding and Nutrition, Institute of Animal Science, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510640, China;

2. College of Fisheries, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, China;

3. Guangzhou Fishtech Biotechnology Co. Ltd., Guangzhou 510640, China;

4. Innovative Institute of Animal Healthy Breeding, College of Animal Sciences and Technology, Zhongkai University of Agriculture and Engineering, Guangzhou 510225, China)

Abstract: Fish meal is a prevalent source of animal protein in aquatic feed, yet its high cost and an import reliance of up to 80% have hindered the sustainable growth of aquaculture in our country. Thus, it is imperative to identify alternative proteins to replace fish meal. This study aimed to assess the impact of substituting fish meal with black soldier fly larvae meal (BSFLM) on the immune antioxidant status, intestinal flora and disease resistance of hybrid snakehead fish. Five isonitrogenous and isolipid diets were formulated, with fish meal replaced by 7.5% (BSFLM7.5), 15.0% (BSFLM15), 22.5% (BSFLM22.5) and 30.0% (BSFLM30) BSFLM, corresponding to 48.8, 97.6, 146.4 and 195.2 g/kg BSFLM, respectively. A total of 525 hybrid snakeheads with an average body weight of (10.84±0.01) g were randomly assigned to 5 groups, each with 3 replicates 35 fish per replicate. The results indicated that the alkaline phosphatase (AKP) activity in the BSFLM30 group was higher than in the BSFLM7.5 and fish meal (FM) groups ($P<0.05$). The malondialdehyde (MDA) levels in the BSFLM22.5 group were lower than those in the FM group ($P<0.05$). No significant differences were observed in the activities of lysozyme (LZM), catalase (CAT), superoxide (SOD), total antioxidant capacity (T-AOC), and glutathione peroxidase (GSH-Px) among all groups ($P>0.05$). The richness estimators Sobs, Chao, Ace, as well as Shannon and Simpson diversity indices of the intestinal content flora in the BSFLM15-BSFLM30 groups, were lower than those in the FM and BSFLM7.5 groups ($P<0.05$), indicating a decrease in species diversity. The relative abundance of *Chlamydiae*, *Proteobacteria*, *Spirochaetes*, *Ralstonia* and *Pseudomonas* in the experimental groups was lower than in the control group ($P>0.05$). Conversely, the BSFLM30 group exhibited higher Sobs, Chao, and Ace indices of intestinal flora compared to the FM and other experimental groups ($P<0.05$). The relative abundance of *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Paludibacter* and *Sedimentibacter* was greater in the BSFLM30 group than in the other groups ($P>0.05$). The relative abundance of *Spirochaetes*, *Proteobacteria* and *Ralstonia* was lower in the experimental group than that in the control group ($P>0.05$). The mortality rate following *Aeromonas schubertii* infection was significantly lower in the BSFLM7.5, BSFLM15 and BSFLM22.5 groups than in the FM and BSFLM30 groups ($P<0.05$). In conclusion, dietary supplementation with BSFLM can enhance immune antioxidant capacity, microbial structure of intestinal contents, increase microbial diversity, improve intestinal function, and bolster resistance to *A. schubertii* infection. However, the replacement levels should not exceed 22.5%.

Key words: hybrid snakehead; black soldier fly larvae meal; immune antioxidant; intestinal microbes; *Aeromonas schubertii*; disease resistance

Corresponding author: WANG Guoxia. E-mail: wanggx78@126.com

Funding projects: Guangdong Modern Agricultural Industry Technology System Innovation Team Construction Project (2022KJ115, 2023KJ115)