

文章编号:1000-0615(2009)03-0503-08

## 蚯蚓与蝇蛆对中国对虾生长及 抗白斑综合征病毒感染的研究

张洪玉<sup>1,2</sup>, 张天时<sup>1</sup>, 孔 杰<sup>1</sup>, 罗 坤<sup>1</sup>, 常亚青<sup>2</sup>

(1. 中国水产科学研究院黄海水产研究所, 山东 青岛 266071;

2. 大连水产学院生命科学与技术学院, 辽宁 大连 116023)

**摘要:**以中国对虾(*Fenneropenaeus chinensis*)为实验材料,分别投喂配合饲料、蚯蚓、蛤蚧、蝇蛆等四种饵料,利用生长和抗病性指标综合评价蚯蚓和蝇蛆作为中国对虾饵料的可行性。生长实验前测定每个实验组的初始体长和体重,养殖 40 d 后再次测定生长指标,之后,分别投喂不同毒饵量进行人工感染实验。方差分析表明:投喂 4 种饵料后,蛤蚧组生长最快,其次是蚯蚓,再次是蝇蛆,最后是配合饲料,各组之间对虾体长增长差异显著( $P < 0.05$ ),体重增长差异极显著( $P < 0.01$ )。利用线性固定模型分析不同饵料及不同病毒量感染下对中国对虾存活率的影响,其中蚯蚓组存活率最高,配合饲料组存活率最低,并且蚯蚓组存活率显著高于蛤蚧组和配合饲料组( $P < 0.05$ ),蝇蛆组显著高于配合饲料组( $P < 0.05$ )。研究结果表明:蚯蚓和蝇蛆可显著提高中国对虾的生长速度,明显提高中国对虾的抗病性,是很好的对虾饵料。

**关键词:**中国对虾;蚯蚓;蝇蛆;白斑综合征病毒;人工感染

**中图分类号:**S 941.41;S 945.1

**文献标识码:**A

自从白斑综合征(white spot syndrome, WSS) 1992 年首次在台湾报道以来<sup>[1]</sup>,已经给全球对虾养殖业造成了巨大的损失,由于其传播速度快、杀伤力强,一直是导致养殖对虾死亡的头号病原,但是至今还没有找到治疗该病的有效措施,因此切断病毒的传播途径和提高对虾自身的免疫力便成为有效抑制此病爆发的关键。研究结果表明,养虾的水体及水中的生物都有可能携带病毒<sup>[2]</sup>,对虾的主要生物饵料轮虫(*Brachionus urceus*)、卤虫(*Artemia* sp.)、沙蚕(*Perinereis aibuhitensis*)、桡足类、端足类等均可检出白斑综合征病毒(white spot syndrome virus, WSSV)<sup>[3-5]</sup>,因此选择安全、优质的饵料迫在眉睫。

蚯蚓(*Eisenia fetida*)和蝇蛆(*Musca domestica*)作为一种新型的动物性高蛋白源,因其成本低,营

养丰富等特点,开始引起了各国学者们的重视<sup>[6]</sup>,蚯蚓和蝇蛆还因其特殊的生活环境造成自身体内抗逆性成分含量很高;蚯蚓在中医上称为“地龙”,具有很高的药用价值,有抗菌、抗肿瘤、抗癌等功效<sup>[7]</sup>,已经在医药、保健上等方面广泛应用。蝇蛆不仅蛋白质与氨基酸含量高,而且体内还含有抗菌肽、几丁糖等具有免疫调节功能的物质。

在传统的虾苗培育与养殖过程中投喂自然饵料多为蛤蚧,但由于蛤蚧有可能会滤食水中的病毒粒子而携带 WSSV<sup>[8]</sup>,故本实验选择蚯蚓、蝇蛆两种陆地蛋白饵料来投喂对虾,以蛤蚧与配合饲料做对照,通过生长及感染不同病毒量后的存活率来综合评价两种饵料的营养价值与抗病性,为在生产中选择安全无毒的蛋白饵料提供科学依据。

收稿日期:2008-10-17 修回日期:2008-12-22

资助项目:国家“八六三”高技术研究发展计划(2006AA10A406);中国水产科学研究院黄海水产研究所基本科研业务费专项资金项目(2060302/2-TS9)

通讯作者:孔 杰, Tel: 0532-85823291-801, E-mail: kongjie@ysfri.ac.cn

## 1 材料与方 法

### 1.1 实验材料

**中国对虾** 为保障实验材料的一致性,实验中国对虾取自养殖中期的同一个家系同一批次培育养殖的对虾,平均体长为 $(7.39 \pm 0.334)$  cm,平均体重为 $(5.43 \pm 0.552)$  g。

**实验饵料** 配合饲料为烟台大乐饲料有限公司生产的大乐牌配合饲料,蚯蚓为太平3号,购自潍坊蚯蚓养殖场,经淡水冲洗20 min后整条投喂;蝇蛆为干蝇蛆,购自莱西大地自然养殖场;蛤蜊购自鳌山卫市场,投喂前用对滚机压碎经淡水冲洗20 min后带壳投喂。

**毒饵的制备** 即墨鳌山卫市场上购得带有明显白斑的日本对虾,经巢式聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)检测呈阳性且经感染实验证实为感染WSSV的病虾。取虾头并带第一、二腹节,去除甲壳,用刀剁碎,颗粒大小略小于虾胃,即制成毒饵。

**PCR引物** PCR引物由上海生工生物工程技术服务有限公司合成,引物位置及序列参考文献[9]。

### 1.2 实验方法

**生长实验** 实验于即墨鳌山卫黄海水产研究所“海水遗传育种中心”进行,实验虾放入水泥池(3.40 m×2.70 m×1.50 m)养殖,设置4个实验组,每个实验组3个平行实验,每个平行130尾个体。4个实验组分别投喂,A<sub>1</sub>:配合饲料,A<sub>2</sub>:蚯蚓,A<sub>3</sub>:蛤蜊,A<sub>4</sub>:蝇蛆。配合饲料投喂量为对虾体重的8%~10%,蝇蛆投喂量为对虾体重的4%~5%,蛤蜊肉按 $F = 0.6301 \times W^{0.5119}$  ( $F$ :每尾虾每日摄食蛤肉克数; $W$ :体重,g)<sup>[10]</sup>计算投喂量,带壳蛤蜊与蛤蜊肉折算比例为5:1,蚯蚓与蛤蜊肉折算比例为1:1。每2 d换水1/2,饲养40 d,温度22~27℃,盐度26~30。

**人工感染实验** 投喂4种饵料40 d后,从每个实验组随机取30尾对虾,分别放入养殖水体为0.6 m<sup>3</sup>的缸中养殖。每天换水1次,每次换水1/2,水温22~23℃。饥饿24 h后分别投喂不同量的毒饵,投喂量为每个养殖缸中30尾对虾体重相应的比例,计算公式如下

$$W_{B1} = W_T \times 10\%,$$

$$W_{B2} = W_T \times 20\%,$$

$$W_{B3} = W_T \times 30\%,$$

式中, $W_{B1}$ 、 $W_{B2}$ 、 $W_{B3}$ 分别为B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、B<sub>3</sub>3个感染实验组投喂的毒饵量; $W_T$ 为每组30尾中国对虾的总体重。

每个感染实验组设置一个对照B<sub>0</sub>,对照组不投毒饵。投喂毒饵后继续投喂4种饵料至实验结束。共计48个实验组。每2小时捞取死虾一次,将死虾放入冰箱(-20℃)保存,240 h后结束实验。

**数据处理** 实验中测得 体长、体重应用SPSS 13.0软件进行单因素方差分析(one-way factorial analysis of variance, ANOVA);存活率采用线性固定模型分析,全部存活率的 $P$ 值转换成 $\theta$ 角度再进行方差分析,即 $\theta = \sin^{-1} \sqrt{P}$ <sup>[11]</sup>,将变换后的数据纳入方差分析要求的线性固定模型,

$$X_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

式中, $i = 1, 2, \dots, a$ ;  $j = 1, 2, \dots, b$ ;  $k = 1, 2, \dots, r$ ;  $\varepsilon_{ijk}$ 间相互独立,且服从 $N(0, \sigma^2)$ , $\mu$ 为总体均值, $\alpha_i$ 为第 $i$ 个饵料效应, $\beta_j$ 为第 $j$ 个病毒梯度效应, $(\alpha\beta)_{ij}$ 为饵料与病毒梯度的交互效应, $\varepsilon_{ijk}$ 为A <sub>$i$</sub> B <sub>$j$</sub> 第 $k$ 次观察的随机误差。对不同数据间采用最小显著极差数法(least significant ranges, LSR)中SSR法(shortest significant ranges, SSR)进行多重比较。

**病毒检测** DNA提取及巢式PCR检测参照邓灯等<sup>[9]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 饵料对中国对虾生长的影响

投喂中国对虾4种饵料,经过40 d的暂养后,中国对虾体长、体重都有一定的增长(表1),并且各组之间差异很大。蛤蜊组体长与体重增长最大,分别为 $(3.33 \pm 0.0203)$  cm,  $(11.07 \pm 0.3014)$  g;其次是蚯蚓组,体长增长为 $(2.81 \pm 0.1827)$  cm,体重增重为 $(8.74 \pm 0.2467)$  g;再次是蝇蛆组,体长增长为 $(2.13 \pm 0.1350)$  cm,体重增重为 $(6.30 \pm 0.4234)$  g;最后是配合饲料组,体长增长为 $(1.51 \pm 0.1127)$  cm,体重增重为 $(3.67 \pm 0.1325)$  g。在体长增量方面,各组之间差异显著( $P < 0.05$ ),体重增量各组之间差异极显著( $P < 0.01$ )。

2.2 人工感染后 4 种饵料对中国对虾存活率的影响

投喂不同病毒量的毒饵进行人工感染后,4 种饵料与病毒量两个因素对中国对虾存活率造成的差异很大(表 2),从表 2 和图 1 可以看出,蚯蚓组在 3 个病毒量下的存活率都高于其他 3 种饵料组,其存活率在 B<sub>1</sub> 为(0.266 6 ± 0.057 4),B<sub>2</sub> 为(0.211 1 ± 0.101 8),B<sub>3</sub> 为(0.200 0 ± 0.033 3); 蝇蛆组 [ B<sub>1</sub>:(0.200 0 ± 0.033 3); B<sub>2</sub>:(0.133 4 ±

0.577 4); B<sub>3</sub>:(0.111 1 ± 0.083 9)] 的存活率略低于蚯蚓组,再次是蛤蜊组 [ B<sub>1</sub>: 0.233 3 ± 0.033 3; B<sub>2</sub>: 0.200 0 ± 0.066 7; B<sub>3</sub>: 0.122 2 ± 0.693 8], 配合饲料组 [ B<sub>1</sub>:( 0.166 7 ± 0.057 4); B<sub>2</sub>:( 0.100 0 ± 0.033 3 ); B<sub>3</sub>:(0.055 5 ± 0.385 1)] 的存活率最低。对照组存活率远远高于攻毒处理组。进行方差分析(表 3) 得出,饵料与病毒梯度对存活率都存在着极显著的差异(P < 0.01)。

表 1 饵料对中国对虾体长、体重增长的影响

Tab.1 Influence of diets on length and weight of each group of *F. chinensis* mean ± SD

饵料 diets	实验前体长 (cm) body length before experiment	实验后体长 (cm) body length after experiment	平均增长 (cm) body gain	实验前体重 (g) body weight before experiment	实验后体重 (g) body weight after experiment	平均增重 (g) weight gain
A <sub>1</sub> I	7.36 ± 0.265	8.88 ± 0.461	1.51 ± 0.112 7 <sup>a2a3a4 *</sup>	5.53 ± 0.608	9.31 ± 1.286	3.67 ± 0.1325 <sup>a2a3a4 **</sup>
A <sub>1</sub> II	7.36 ± 0.231	8.67 ± 0.559		5.41 ± 0.447	8.82 ± 1.542	
A <sub>1</sub> III	7.29 ± 0.256	8.99 ± 0.387		5.40 ± 0.601	9.23 ± 1.193	
A <sub>2</sub> I	7.49 ± 0.235	10.03 ± 0.474	2.81 ± 0.1827 <sup>a1a2a3 * *</sup>	5.43 ± 0.594	13.86 ± 1.998	8.74 ± 0.2467 <sup>a1a2a3 * *</sup>
A <sub>2</sub> II	7.33 ± 0.457	10.07 ± 0.439		5.42 ± 0.546	13.99 ± 1.790	
A <sub>2</sub> III	7.24 ± 0.407	10.40 ± 0.470		5.37 ± 0.637	14.60 ± 1.651	
A <sub>3</sub> I	7.49 ± 0.337	10.82 ± 0.654	3.33 ± 0.0203 <sup>a1a2a3 * *</sup>	5.46 ± 0.538	16.78 ± 2.740	11.07 ± 0.3014 <sup>a1a2a3 * *</sup>
A <sub>3</sub> II	7.45 ± 0.236	10.75 ± 0.635		5.45 ± 0.480	15.92 ± 2.875	
A <sub>3</sub> III	7.30 ± 0.332	10.67 ± 0.638		5.30 ± 0.597	16.72 ± 2.787	
A <sub>4</sub> I	7.42 ± 0.340	9.42 ± 0.408	2.13 ± 0.1350 <sup>a1a2a3 * *</sup>	5.48 ± 0.594	10.95 ± 1.661	6.30 ± 0.4234 <sup>a1a2a3 * *</sup>
A <sub>4</sub> II	7.39 ± 0.298	9.79 ± 0.640		5.45 ± 0.563	12.04 ± 2.031	
A <sub>4</sub> III	7.59 ± 0.409	9.58 ± 0.606		5.47 ± 0.462	12.32 ± 2.220	

注:(1) A<sub>1</sub> 为投喂配合饲料组;A<sub>2</sub> 为投喂蚯蚓组;A<sub>3</sub> 为投喂蛤蜊组;A<sub>4</sub> 为投喂蝇蛆组;

(2) I、II、III 表示各平行实验组;

(3) 上标字母与 \* 表示与其对应组差异显著(P < 0.05); 上标字母与 \* \* 表示与其对应组差异极显著(P < 0.01)

Notes:(1) A<sub>1</sub> group fed on commercial feed; A<sub>2</sub> group fed on earthworm; A<sub>3</sub> group fed on clam; A<sub>4</sub> group fed on housefly larva

(2) I, II, III denote each parallel group;

(3) The superscript letters and \* mean significant difference from corresponding group (P < 0.05);

The superscript letters and \* \* mean very significant difference from corresponding group (P < 0.01)

表 2 人工感染后中国对虾存活率之间的比较

Tab.2 The comparison of *F. chinensis* survival rate after artificial infection mean ± SD

饵料 diet	梯度 gradient	存活率 survival rate	饵料 diet	梯度 gradient	存活率 survival rate
A <sub>1</sub>	B <sub>1</sub>	0.166 7 ± 0.057 4	A <sub>3</sub>	B <sub>1</sub>	0.200 0 ± 0.033 3
	B <sub>2</sub>	0.100 0 ± 0.033 3		B <sub>2</sub>	0.133 4 ± 0.577 4
	B <sub>3</sub>	0.055 5 ± 0.385 1		B <sub>3</sub>	0.111 1 ± 0.083 9
	B <sub>0</sub>	0.977 8 ± 0.192 3		B <sub>0</sub>	0.988 9 ± 0.019 2
A <sub>2</sub>	B <sub>1</sub>	0.266 6 ± 0.057 4	A <sub>4</sub>	B <sub>1</sub>	0.233 3 ± 0.033 3
	B <sub>2</sub>	0.211 1 ± 0.101 8		B <sub>2</sub>	0.200 0 ± 0.066 7
	B <sub>3</sub>	0.200 0 ± 0.033 3		B <sub>3</sub>	0.122 2 ± 0.693 8
	B <sub>0</sub>	0.988 9 ± 0.019 2		B <sub>0</sub>	1.000 0 ± 0.000 0

进一步 LSR 多重比较,结果见表 4。饵料对存活率有极显著的差异(P < 0.01), 表现在蚯蚓

组(A<sub>2</sub>)的存活率高于配合饲料组(A<sub>1</sub>)、蛤蜊组(A<sub>3</sub>)、蝇蛆组(A<sub>4</sub>),且与配合饲料组(A<sub>1</sub>)差异极

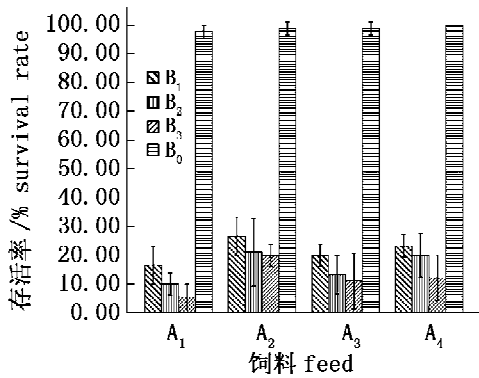


图1 4种饵料不同病毒梯度下的存活率  
 (1) A<sub>1</sub>: 配合饲料组; A<sub>2</sub>: 蚯蚓组; A<sub>3</sub>: 蛤蜊组; A<sub>4</sub>: 蝇蛆组  
 (2) B<sub>1</sub>: 毒饵量为体重10%; B<sub>2</sub>: 毒饵量为体重20%;  
 B<sub>3</sub>: 毒饵量为体重30%; B<sub>0</sub>: 对照组

Fig. 1 Survival rate of different virus gradient on four different feeds

(1) A<sub>1</sub>: group fed on commercial feed; A<sub>2</sub>: group fed on earthworm; A<sub>3</sub>: group fed on clam; A<sub>4</sub>: group fed on housefly larva  
 (2) B<sub>1</sub>: virus gradient is 10%; B<sub>2</sub>: virus gradient is 20%;  
 B<sub>3</sub>: virus gradient is 30%; B<sub>0</sub>: control group

显著 ( $P < 0.01$ ), 与蛤蜊组 (A<sub>3</sub>) 差异显著 ( $P < 0.05$ ); 蝇蛆组 (A<sub>4</sub>) 的存活率高于配合饲料组 (A<sub>1</sub>)、蛤蜊组 (A<sub>3</sub>), 且与配合饲料组 (A<sub>1</sub>) 差异极显著 ( $P < 0.01$ )。

病毒量对中国对虾存活率有显著差异 ( $P < 0.05$ ), 表现在: 对照组 B<sub>0</sub> 的存活率高于 B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、B<sub>3</sub> 3 个病毒梯度, 且存在极显著的差异 ( $P < 0.01$ ); B<sub>1</sub> 存活率高于 B<sub>2</sub>、B<sub>3</sub> 两个梯度, 且 B<sub>1</sub> 与 B<sub>2</sub> 差异显著 ( $P < 0.05$ ), B<sub>1</sub> 与 B<sub>3</sub> 差异极显著 ( $P < 0.01$ )。

2.3 人工感染后 4 种饵料对中国对虾累积死亡率的影响

投喂毒饵后, 4 种饵料各个时段的累积死亡率情况各不相同 (图 2)。除对照组外, 各实验组在投喂毒饵后经历一段潜伏期开始出现个体死亡, 经过潜伏期, 中国对虾在 5~7 d 骨内迅速死亡, 而后逐渐趋于稳定。蚯蚓组在 3 个病毒梯度下, 开始死亡时间与死亡高峰时间都比其他 3 种饵料有所延迟。以 20% 病毒梯度 120 h 为例, 配合饲料组、蚯蚓组、蝇蛆组和蛤蜊组 4 个饵料处理

表3 饵料 A 与病毒梯度 B 对中国对虾存活率影响的方差分析  
 Tab. 3 ANOVA for feed and virus gradient of *F. chinensis*

变异来源 source of variation	df	SS	MS	F	F <sub>α</sub>
饵料间 (A) between groups of feed	3	471.58	157.19	6.24 **	F <sub>0.01</sub> (3, 32) = 4.49
毒饵梯度间 (B) between groups of virus gradient	3	36 209.65	12 069.88	479.34 **	F <sub>0.01</sub> (3, 32) = 4.49
交互作用 (A × B) interaction (A × B)	9	114.87	12.76	0.51	F <sub>0.01</sub> (9, 32) = 3.03 F <sub>0.05</sub> (9, 32) = 2.90
误差 (e) error	32	805.75	25.18		
总变异 total variation	47	37 601.85			

注: \*\* 表示两数间差异极显著 ( $P < 0.01$ )  
 Notes: \*\* means very significant difference between two values ( $P < 0.01$ )

表4 饵料 A 与病毒梯度 B 的多重比较  
 Tab. 4 The multiple comparison of feed and virus gradient

因素与处理 factors and treatment	平均数 $\bar{X}$	average	$\bar{X}_i - \bar{X}_{\text{最小}}$	$\bar{X}_i - \bar{X}_{\text{次小}}$	$\bar{X}_i - \bar{X}_{\text{次大}}$
A 饵料 feed	A <sub>2</sub>	42.71	8.14 **	4.57 *	1.39
	A <sub>4</sub>	41.32	6.75 **	3.18	
	A <sub>3</sub>	38.14	3.57		
	A <sub>1</sub>	34.57			
B 病毒梯度 virus gradient	B <sub>0</sub>	86.50	66.96 **	63.37 **	58.94 **
	B <sub>1</sub>	27.56	8.02 **	4.43 *	
	B <sub>2</sub>	23.13	3.59		
	B <sub>3</sub>	19.54			

注: \* 表示两数间差异显著 ( $P < 0.05$ ); \*\* 表示两数间差异极显著 ( $P < 0.01$ )  
 Notes: \* means significant difference between two values ( $P < 0.05$ ), \*\* means very significant difference between two values ( $P < 0.01$ )

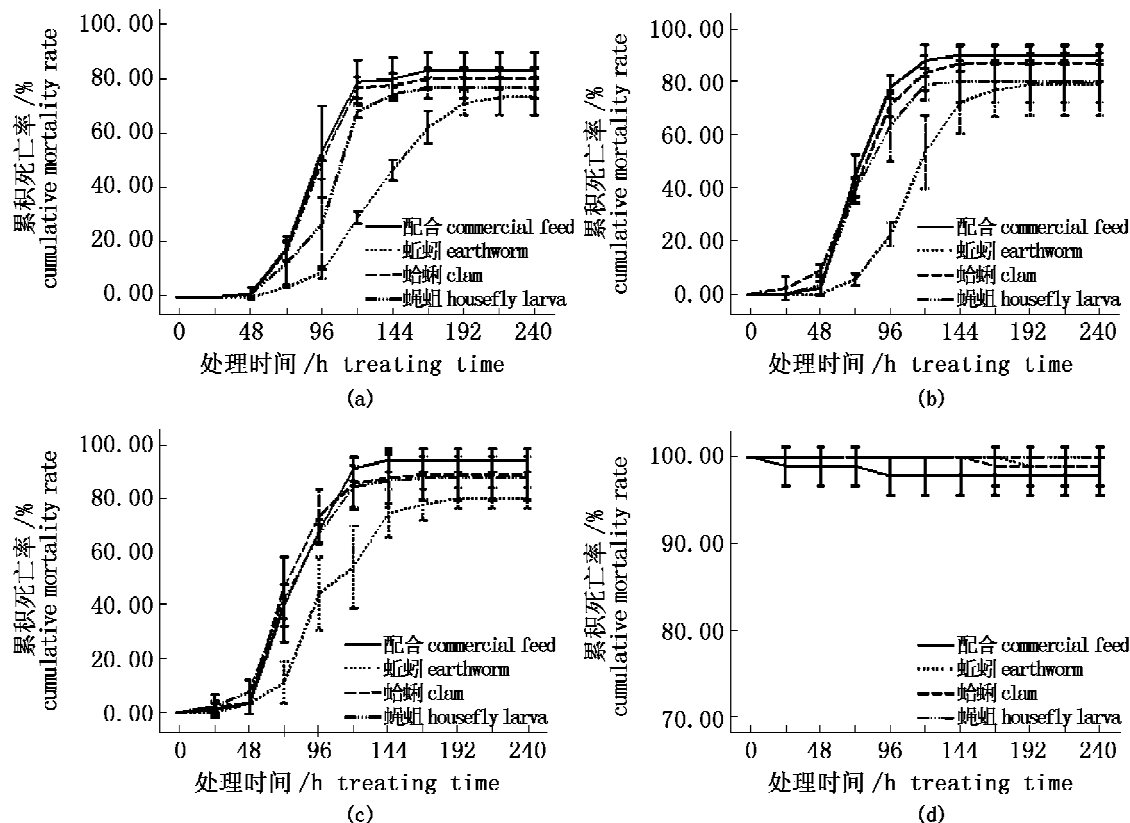


图2 不同病毒梯度下投喂4种饵料中国对虾的累积死亡率

a: 10%病毒梯度下投喂4种饵料累积死亡率; b: 20%病毒梯度下投喂4种饵料累积死亡率;  
c: 30%病毒梯度下投喂4种饵料累积死亡率; d: 对照组投喂4种饵料累积死亡率

Fig. 2 Accumulative mortality rate of *F. chinensis* feeding on different feed on different virus gradient

a: Cumulative mortality rate of 10% virus gradient on four different feed;  
b: Cumulative mortality rate of 20% virus gradient on four different feed;  
c: Cumulative mortality rate of 30% virus gradient on four different feed;  
d: Cumulative mortality rate of control group on four different feed

组平均死亡率(%)分别为(87.78 ± 2.94)、(53.33 ± 6.94)、(78.89 ± 2.94)、(83.33 ± 3.33),蚯蚓与其他3种饵料之间差异显著( $P < 0.05$ )。配合饲料对照组有2尾死亡,蚯蚓与蛤蜊对照组各有一尾死亡,其余对照组无死亡。

#### 2.4 病毒检测

利用巢式PCR技术对部分样品进行检测,PCR产物在1.5%琼脂糖凝胶上进行电泳,于Gel Doc1000上成像,部分检测结果见图3。实验前取样60尾中国对虾检测结果全部为阴性,制作毒饵的日本对虾全部呈阳性,各处理组攻毒死亡个体检测阳性率为96.94%,攻毒存活个体阳性率为97.78%,对照组存活与死亡个体全部为阴性。

### 3 讨论

#### 3.1 蚯蚓对中国对虾生长及抗病的影响

蚯蚓体内蛋白质含量丰富,且具有人体所必需的10种氨基酸,其含量和营养价值超过大豆蛋白,已成为许多国家开辟蛋白饵料的新来源。蚯蚓粉添加到蛋鸡的饲料中,不但会降低成本,还会提高产蛋量和蛋重<sup>[12]</sup>;蚯蚓粉代替部分鱼粉添加到猪、兔的饲料中,不但会促进生长,还能提高机体抗病力<sup>[13-14]</sup>;蚯蚓作为水产动物如虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*),尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)及一些难饲养鱼的饵料,都证明是一种很好的蛋白饵料<sup>[15-17]</sup>。本实验投喂蚯蚓后,中国

对虾摄食积极,生长迅速,生长速度比配合饲料和蝇蛆组要快,说明中国对虾可以很好的消化吸收蚯蚓的营养,且蚯蚓对中国对虾具有一定的诱食性。蚯蚓组的生长速度不如蛤蜊组,可能因为蛤蜊氨基酸组成与虾体的相近<sup>[18]</sup>,中国对虾能更好的消化吸收蛤蜊的营养,而蚯蚓体内营养成分与中国对虾体内成分存在一定的差异。

蚯蚓还是一种优良中草药,体内含有多种药用活性成分,临床上可用于脑血管疾病、癌症等多种疾病的治疗。在畜牧上,蚯蚓还可用于治疗猪高热,牛、马慢性肺气肿,仔猪白(黄)痢病等多种动物疾病,具有很好的抗病保健效果。刘石林等<sup>[19]</sup>研究表明蚯蚓可以提高对虾血清中的抗菌

活力、酚氧化酶活力和血细胞数量,增强对虾的免疫功能。本实验中,投喂蚯蚓组中国对虾的存活率最高,且显著高于蛤蜊组与配合饲料组;在3个病毒梯度下,投喂蚯蚓的中国对虾病毒潜伏期要比其他3组时间长,死亡高峰时间与达到平衡时间也相应延迟。出现这种结果的原因可能有,(1)中国对虾摄食蚯蚓后,增强了中国对虾的免疫力,提高了抗病性;(2)从蚯蚓中可以提取到降解病毒核酸的物质,从而可以制成杀灭病毒的生物消毒剂<sup>[20]</sup>。中国对虾摄食蚯蚓后,可能利用蚯蚓体内的某些杀毒的物质,从而会产生抗病性。其机制有待进一步的研究。

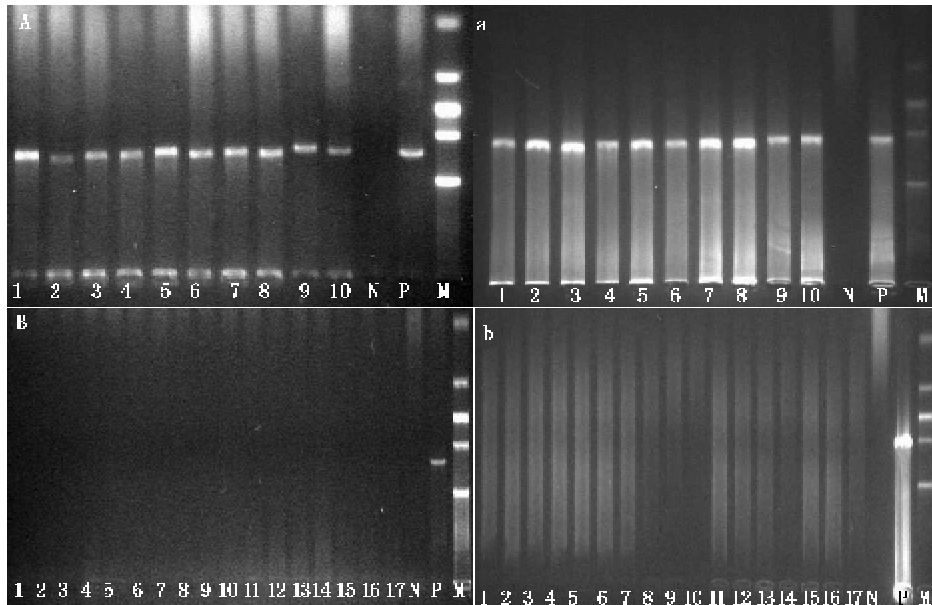


图3 人工感染中国对虾部分样品的PCR检测结果

M: Marker, DL2000 分子量标准; P: 阳性对照; N: 阴性对照

A, a: 1~2 为配合饲料组; 3~4 为蚯蚓组; 5~6 为蛤蜊组; 7~8 为蝇蛆组; 9~10 为攻毒后存活虾;

B, b: 1~4 为对照组死亡个体; 5~17 为攻毒前取样

A, B: 第一次扩增结果; a, b: 第二次扩增结果

Fig. 3 Nest PCR products of parts of *F. chinensis* infected by WSSV

M: DL2000 Maker; P: Positive control; N: Negative control

A, a: 1-2 denote group fed on commercial feed; 3-4 denote group fed on earthworm; 5-6 denote group fed on clam; 7-8 denote group fed on housefly larva; 9-10 denote survival shrimp after infection;

B, b: 1-4 denote the death of control group; 5-17 denote detective results before infection;

A, B: denote amplification of the first time; a, b: denote amplification of the second time

### 3.2 蝇蛆对中国对虾生长及抗病的影响

蝇蛆营养全面,蛋白质含量与猪肉、鸡蛋的大致相同,必需氨基酸的含量为鱼粉的2.3倍。利

用蝇蛆替代鱼粉喂养蛋鸡,既可以降低成本,还会提高产蛋量<sup>[21]</sup>。本实验在4种饵料中,蝇蛆组的生长快于配合饲料,较蛤蜊和蚯蚓慢,虽然蝇蛆对

中国对虾促生长效果没有蚯蚓与蛤蚧好,但作为饲料蛋白源,可以认为生产中投喂一定的蝇蛆也是可行的。

蝇蛆一般生活在杂菌横生的环境中,携带着多种病毒及致病菌,但其自身却不受其感染,其强大的免疫机制已成为研究的热点。已有研究表明蝇蛆中含有抗菌蛋白质、凝集素、溶菌酶等免疫活性物质,具有抗细菌和抗病毒的功效<sup>[22-24]</sup>。郎书源等<sup>[25]</sup>研究表明在饲料中添加适量蝇蛆可以增强蛋鸡的免疫功能,而蝇蛆几丁糖可以对小鼠进行免疫调节。本实验结果表明蝇蛆组存活率高于蛤蚧组和配合饲料组,且与配合饲料组差异显著。出现本实验结果的原因可能有(1)蝇蛆体内存在抗病毒的活性物质<sup>[22]</sup>,中国对虾摄食蝇蛆后,抗病毒物质有可能对 WSSV 产生了作用;(2)中国对虾摄食蝇蛆后,激活了对虾的酚氧化酶系统<sup>[23]</sup>,从而增强了对虾的免疫力,产生抗病性。

本研究从对虾的生长和抗 WSSV 方面探讨了蚯蚓与蝇蛆作为中国对虾饲料的可行性。蚯蚓可以有效地促进对虾生长,虽然在生长方面逊于蛤蚧,但从抗病性与成本上来说,利用蚯蚓来作为对虾饲料也是一种很好的选择;蝇蛆的生长效果不是很理想,但具有抗病性。

研究结果提示,蚯蚓和蝇蛆可被用来部分代替鱼粉添加到中国对虾的配合饲料中,既提高对虾抗病力,也可降低对鱼粉资源的依赖性。

#### 参考文献:

- [1] Chou H Y, Huang C Y, Wang C H, *et al.* Pathogenicity of a baculovirus infection causing white spot syndrome in cultured penaeid shrimp in Taiwan [J]. *Dis Aquat Org*, 1995, 23:165-173.
- [2] Quang N D, Hoa P T, Da T T. Persistence of white spot syndrome virus in shrimp ponds and surrounding areas after an outbreak [J]. *Environ Monit Assess*, 2008, DOI: 10.1007/s10661-008-0463-7.
- [3] Yan D C, Dong S L, Huang J, *et al.* White spot syndrome virus (WSSV) detected by PCR in rotifers and rotifer resting eggs from shrimp pond sediments [J]. *Dis Aquat Org*, 2004, 59:69-73.
- [4] Vijayan K K, Raj V S, Balasubramanian C P, *et al.* Polychaete worms-a vector for white spot syndrome virus (WSSV) [J]. *Dis Aquat Org*, 2005, 63:107-111.
- [5] 宋晓玲, 史成银, 黄 健, 等. 用 DNA 斑点杂交法检测对虾及其饲料和环境生物携带白斑综合征病毒状况的调查 [J]. *中国水产科学*, 2001, 8(4):36-40.
- [6] Ravindran V, Blair R. Feed resources for poultry production in Asia and the Pacific. III. Animal protein sources [J]. *World's Poultry Science Journal*, 1993, 49:219-235.
- [7] 韩 苇, 王克为, 张发科. 蚯蚓提取物透析组分对 MGc803 胃癌细胞 DNA 合成的抑制作用 [J]. *第四军医大学学报*, 1991, 12(4):302-303.
- [8] Canzonier W J. Accumulation and elimination of coliphage S-13 by the hard clam, *Mercuraria mercenaria* [J]. *Applied Microbiology*, 1971, 21(6):1024-1031.
- [9] 邓 灯, 张庆文, 王伟继, 等. 中国对虾几个产卵场群体携带白斑综合征病毒状况调查 [J]. *水产学报*, 2005, 29(1):74-78.
- [10] 王克行. 虾蟹类增殖学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2004:173-175.
- [11] 蔡一林, 岳永生. 水产生物统计 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2004:115.
- [12] 张桂英. 蚯蚓粉替代鱼粉对蛋鸡产蛋性能的影响 [J]. *甘肃农业大学学报*, 1995, 30(1):34-38.
- [13] 傅规玉. 蚯蚓粉代替鱼粉饲喂育肥猪的实验 [J]. *湖南畜牧兽医*, 2006, 27(3):11-12.
- [14] 马云云. 蚯蚓粉对肉兔生产性能的影响 [J]. *中国养兔杂志*, 2003, 15(2):26-27.
- [15] Pereira J Ó, Gomes E F. Growth of rainbow trout fed a diet supplemented with earthworms, after chemical treatment [J]. *Aquaculture International*, 1995, 3: 36-42.
- [16] 徐 捷, 周 玮, 胡 杰. 添加蚯蚓对尼罗罗非鱼鱼饲料配方的研究 [J]. *水产科学*, 1988, 7(1):24-27.
- [17] Mason W T, Rottmann R W, Dequine J F. Culture of earthworms for bait or fish food [J]. *Florida Cooperative Extension Service Circular*, 1992, 1053:1-4.
- [18] 荣常宽, 梁素秀, 岳炳宜. 中国对虾对 16 种饲料的蛋白质和氨基酸的消化率 [J]. *水产学报*, 1994, 18(2):131-137.
- [19] 刘石林, 刘 鹰, 杨红生, 等. 双齿围沙蚕与赤子爱胜蚓对凡纳滨对虾生长和免疫指标的影响 [J]. *中国水产科学*, 2006, 13(4):561-565.
- [20] 刘晓玲. 蚯蚓组织中一种新型 DNA 酶的制备及理化性质研究 [D]. 太原山西医科大学, 2002.
- [21] Awoniyi T A M, Aletor V A, Aina J M.

- Performance of broiler-chickens fed on maggot meal in place of fishmeal [J]. *International Journal of Poultry Science*, 2003, 2(4):271-274.
- [22] 陈艳, 吴建伟, 李金富, 等. 家蝇幼虫营养价值及抗病毒活性的初步研究[J]. *贵阳医学院学报*, 2002, 27(2):100-103.
- [23] 王妮, 冯江, 王振堂. 对虾暴发性流行病的群体感染及投饲蝇幼的抗病机制研究[J]. *应用生态学报*, 2002, 13(6):728-730.
- [24] 王远程, 左晓峰, 孙东旭, 等. 家蝇幼虫抗菌物质组成及其理化性质[J]. *微生物学报*, 1997, 37(2):148-153.
- [25] 郎书源, 国果, 洪牧, 等. 人工繁育蝇蛆对鸡免疫应答功能的影响[J]. *贵阳医学院学报*, 2004, 29(4):287-289.

## Effects of earthworm and housefly larva on growth and white spot syndrome virus arti-infection of *Fenneropenaeus chinensis*

ZHANG Hong-yu<sup>1,2</sup>, ZHANG Tian-shi<sup>1</sup>, KONG Jie<sup>1</sup>, LUO Kun<sup>1</sup>, CHANG Ya-qing<sup>2</sup>

(1. *Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071, China;*

2. *College of Life Science and Technology, Dalian Fisheries University, Dalian 116023, China)*

**Abstract:** Chinese shrimp (*Fenneropenaeus chinensis*) is one of the leading cultured species in China. But shrimp farming is currently threatened by pathogen, such as virus, bacteria, etc, among which the white spot syndrome virus (WSSV) is the most serious. The efficient method to avoid or diminish the influence of the virus may lie in the diet, as evidences had revealed the main way that the WSSV was spread in Chinese shrimp was caused by food. This study was initiated to assess the effect of earthworm and housefly larva on growth and survival rate of *F. chinensis* after WSSV infection. Commercial feed and clam were control groups, and earthworm and housefly larva were assigned into four treatment groups. Three repetitions were made for each diet treatment with 130 individuals in each repetition. The body length and the body weight were measured before and after the experiment, respectively. The survival rate was also calculated when the shrimp were challenged with different gradient WSSV by oral infection, and the dead shrimp were removed every two hours. The descending order of the gain of body weight and body length in the four diet treatment was clam, earthworm, housefly larva and commercial feed. There was significant difference between the body length ( $P < 0.05$ ) and very significant difference between the body weight of each group ( $P < 0.01$ ). Fixed linear model was applied to test the survival rate of *F. chinensis* by diet variation and different WSSV dosage. The results showed that the survival rate of *F. chinensis* fed on earthworm and housefly larva was significantly higher than that of the clam and commercial diet fed groups, and the survival rate of group fed on housefly larvae was significantly higher than that of group fed on artificial feed. The results indicated that earthworm and housefly larvae can obviously enhance the growth and disease resistance of Chinese shrimp, and are good food for Chinese shrimp. Results detected by Nest-PCR showed none of shrimp was infected by WSSV prior to the experiment, and the positive rate of 96.94% of shrimp mortality was possibly caused by infection.

**Key words:** *Fenneropenaeus chinensis*; earthworm; housefly larva; white-spot syndrome virus (WSSV); artificial infection