

DOI: 10.12264/JFSC2025-0013

饲料中添加海藻多糖对大口黑鲈幼鱼生长及肠道健康的影响

李鸿伟, 周萌, 孙淼, 董烨玮, 游翠红*

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: 为探讨饲料中添加海藻多糖(藻维它 913)对鱼类生长和肠道健康的影响, 本研究在大口黑鲈商品饲料中分别添加 0%、1%、2%、3%海藻多糖(D0~D3 组), 同时也设立添加 2%酵母细胞壁组的阳性对照组(D4)。用这 5 组饲料投喂大口黑鲈(*Micropterus salmoides*)幼鱼 8 周。结果显示, D2 组鱼的增重率、特定生长率最高, 显著高于对照组(D0)和 D4 组($P<0.05$), 其饲料系数、肝体比、脏体比显著低于对照组($P<0.05$); 各组鱼在全鱼体成分和前肠消化酶活性上没有显著性差异($P>0.05$); D2 和 D3 组鱼的前肠绒毛完整性好于 D0 组, D2 组的肌层厚度和杯状细胞数量显著高于 D0 组($P<0.05$); 在前肠中, D2 和 D3 组的溶菌酶(LZM)活性、D1 和 D2 组的过氧化氢酶(CAT)活性显著高于 D0 组($P<0.05$); D2 和 D3 组鱼前肠的 *zo-1*、*occludin*、*mucin-2*、*tlr4*、*hif*、*il-10* mRNA 表达水平显著升高($P<0.05$), 而 D1~D4 组的 *il-1 β* 和 *il-6* 和 D2 组的 *nf-kb* mRNA 表达水平显著降低($P<0.05$)。肠道内容物的短链脂肪酸组成显示, D3 组的异丁酸含量和 D4 组的乙酸含量显著高于 D0 组($P<0.05$)。肠道菌群结构中, PCA 分析显示 D0、D1、D3 组聚在一起, 而 D2 与 D4 组的相似性高; D2 和 D4 组的假单胞菌属(*Pseudomonas*)和鲸杆菌属(*Cetobacterium*)的丰度显著降低, 罗尔斯通氏菌属(*Ralstonia*)、范菌属(*Pantoea*)的丰度显著升高($P<0.05$); D1 组的潜在致病菌含量显著降低($P<0.05$)。上述结果表明, 在饲料中添加2%海藻多糖, 可以提高大口黑鲈幼鱼的生长性能, 改善肠绒毛完整性, 提高肠道免疫力和抗氧化能力, 改善肠道菌群结构, 有益于肠道健康。结合增重率、特定生长率和饲料系数, 推荐大口黑鲈幼鱼配合饲料中海藻多糖的适宜添加量分别为 1.76‰、1.77‰、1.74‰。

关键词: 大口黑鲈; 海藻多糖; 生长性能; 肠道健康

中图分类号: S963

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2025)08-1123-15

大口黑鲈(*Micropterus salmoides*), 俗称加州鲈, 隶属于鲈形目(Perciformes)、太阳鱼科(Centrarchidae)、黑鲈属(*Micropterus*)。大口黑鲈是一种肉食性淡水鱼类, 养殖周期短, 肉质鲜嫩, 无肌间刺, 具有较高的经济价值和养殖潜力, 被称为我国的“第五大家鱼”。2022 年, 我国大口黑鲈养殖产量高达 80.25 万 t。然而, 随着养殖规模和养殖密度的增加, 大口黑鲈养殖业面临各种疾病风险挑战, 如肠炎、烂身、烂鳃、病毒感染、诺卡氏菌等疾病频繁发生^[1], 造成重大的经济损失。嗜水气单胞菌感染、不合营养需求的饲料等

都会引发大口黑鲈肠炎^[2-3], 大口黑鲈在整个养殖周期均易患肠炎。因此, 寻找绿色健康的饲料添加剂以维护大口黑鲈肠道健康尤为重要。

大型海藻包括红藻(Rhodophyta)、褐藻(Phaeophyta)、绿藻(Chlorophyta)等, 生长在潮间带或浅海海底的岩礁上, 或漂浮生长。大型海藻含有丰富的碳水化合物, 其中, 多糖含量占海藻干重的 50%以上^[4]。海藻多糖具有多种生理功能, 包括促进动物生长^[5]、抗氧化^[6]、抗癌^[7]、抗炎、提高免疫及发挥益生元活性^[6, 8-9]等。因此, 海藻多糖有望成为改善动物生长和健康的理想的饲料

收稿日期: 2025-02-22; 修订日期: 2025-05-30.

基金项目: 广东省自然科学基金项目(2020A1515011252); 青岛海兴源生物科技有限公司科技合作项目(D121222C8); 广东省中央引导地方科技发展资金项目(2023B0208010004).

作者简介: 李鸿伟(1997—), 男, 硕士研究生, 研究方向为水产动物营养与饲料. E-mail: 1341816094@qq.com

通信作者: 游翠红, 副教授, 研究方向为水产动物营养与饲料. E-mail: youcuihong@zhku.edu.cn

添加剂。Zuo 等^[10]用海藻多糖部分替代饲料中鸡肉粉可以提高杂交鳢(*Channa maculatus*♀×*Channa argus*♂)在高浓度氨胁迫下的存活率。冯鹏霏等^[11]在饲料中添加 0.60%马尾藻多糖可以显著提高杂交黄颡鱼(*Pelteobagrus fulvidrao*♀×*Pelteobagrus vachelli*♂)的生长性能、饲料转化率和抗氧化能力,降低肝脏损伤。Bakky 等^[12]发现龙须菜(*Gracilaria lemaneiformis*)多糖可以作为黄斑蓝子鱼(*Siganus canaliculatus*)的生长促进剂和免疫刺激剂,在饲料中添加 0.15%时效果最好。Abdelrhman 等^[13]用添加 2%和 3%海藻多糖的饲料饲喂红罗非鱼杂种(*Oreochromis mossambicus*♀×*Oreochromis niloticus*♂)12 周,能够显著提高其生长性能和肠道脂肪酶活性,对胃、肠、肝的组织形态没有显著影响。Huang 等^[14]在大口黑鲈仔鱼配合饲料中添加 0%~0.2%海藻多糖,发现 0.05%海藻多糖组大口黑鲈的生长性能最高,但与对照组相比差异不显著,0.05%~0.10%海藻多糖能够提高肝脏的抗氧化和免疫能力。不同种海藻多糖具有不一样的应用效果,海藻多糖对维护大口黑鲈肠道健康的应用研究也罕见报道。

本研究以大口黑鲈幼鱼为研究对象,以青岛海兴源生物科技有限公司提供的海藻多糖产品藻维它 913 作为饲料添加剂,研究饲料中添加不同水平的海藻多糖对大口黑鲈的生长性能、肠道健康的影响,并探究其在配合饲料中适宜的添加量,为海藻多糖在水产动物养殖业中的推广应用提供理论支撑。

1 材料与方法

1.1 实验饲料

根据大口黑鲈的营养需求,以广东恒兴饲料实业股份有限公司的大口黑鲈 2 号商品饲料(50.0%蛋白,13.6%脂肪)作为基础饲料,分别添加 0‰、1‰、2‰、3‰海藻多糖和 2‰酵母细胞壁,记为 D0、D1、D2、D3 和 D4,其中 D0 为对照组,D4 组(含有 2‰酵母细胞壁)作为阳性对照组。由该公司生产这 5 组实验饲料。海藻多糖是由青岛海兴源生物科技有限公司提供的商品藻维它 913,是从海带、麒麟菜、石莼中提取的海藻多糖混合物,

为粉末状固体。酵母细胞壁是从安琪酵母股份有限公司购置的普通酵母细胞壁。

1.2 实验鱼与养殖管理

实验鱼大口黑鲈幼鱼(平均体重约 6 g)购自于广东梁氏水产种业有限公司。养殖实验在广东省农业科学院白云实验基地水产实验基地的室内循环水养殖系统中进行,养殖缸体积为 300 L。在放鱼前 3 天,使用 0.01%高锰酸钾溶液将养殖系统浸泡过夜进行消毒。将 2000 尾实验鱼放至室内循环水养殖缸中暂养一周,期间使用对照组饲料进行投喂,每天投喂 2 次,分别在早上 8 点和下午 4 点,饱食投喂,使鱼能够适应室内养殖环境。在正式养殖实验开始时,将实验鱼饥饿 24 h 后进行分鱼,每缸放鱼 40 尾,正式养殖实验共有 5 组,每组 4 个平行缸,共 20 个养殖缸。养殖期间每缸每天换水 2/3 体积,每周清理 1 次养殖缸,每两周定期给循环水系统用聚维酮碘消毒,保持水温 24~30 ℃,pH 6.8~7.8,氨氮浓度<0.5 mg/L,溶解氧>6.0 mg/L。每天记录各缸实验饲料的投喂量,观察实验鱼的健康状况和摄食情况,记录死鱼数量并称量死鱼体重。养殖周期为 8 周。

1.3 样品采集

在养殖实验进行 8 周、最后一次投喂实验饲料后 6 h,每缸取 4 尾鱼,收集肠道内容物。实验鱼用 50 mg/L 间氨基苯甲酸乙酯甲磺酸盐(MS-222)麻醉后,称重,鱼体表面用 75%的酒精棉球进行擦拭,然后解剖打开鱼腹腔,用无菌镊子和剪刀将完整的肠道从鱼体腔移出,置于无菌棉布上。用无菌镊子将鱼前肠至后肠的全部内容物小心挤出,转入 2 mL 无菌离心管。用一次性注射器吸取 1 mL 无菌的磷酸盐缓冲液(PBS)冲洗肠道,将肠道所有残留的肠道内容物冲洗到无菌离心管中。将装有肠道内容物的离心管于液氮中速冻后,置于-80 ℃冰箱保存备用。

在养殖实验进行 8 周、最后一次投喂实验饲料后 24 h,将各缸鱼称量总重量,统计活鱼数量。另外,每缸取 12 尾鱼,用 MS-222 麻醉后取样,其中,2 尾全鱼置于-20 ℃冰箱保存用于测定全鱼体成分,10 尾鱼分别称量体长、体重等生长性能指标。此外,将称重的 6 尾鱼使用 1 mL 一次性注

射器从尾静脉处采血, 采血后置于冰盘上进行无菌解剖, 分离肠道组织, 采集前肠样本: 取前肠前段用液氮速冻后置于 -80°C 冰箱保存用于测定酶活等指标; 取前肠后段用液氮速冻后置于 -80°C 冰箱保存用于基因表达的测定。抽取的血液样品在 4°C 放置 2 h 后, 3000 r/min 离心 10 min, 吸取上层血清于 1.5 mL 离心管中, 置于 -80°C 保存备用。另外, 每缸取 2 条称重未抽血的鱼, 解剖取前肠置于 4%多聚甲醛中保存, 制作肠组织切片。

鱼体生长性能和形体指标的计算公式如下:

增重率(WG, %)= $100\% \times (\text{终末平均体重} - \text{初始平均体重}) / \text{初始平均体重}$;

特定生长率(SGR, %/d)= $100\% \times [\ln(\text{终末平均体重}) - \ln(\text{初始平均体重})] / \text{养殖天数}$;

饲料系数(FCR)=总摄食量干重/(终末体重+死鱼体重-初始体重);

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

脏体比(VSI, %)= $100\% \times \text{内脏团重量} / \text{体重}$;

肝体比(HSI, %)= $100\% \times \text{肝脏重量} / \text{体重}$;

存活率(SUR, %)= $100\% \times \text{实验结束鱼尾数} / \text{起始鱼尾数}$ 。

1.4 营养成分测定

实验饲料和全鱼营养成分的测定采用常规方法, 水分的测定采用恒温干燥法, 用电热恒温干燥箱在 105°C 中烘干至恒重; 粗蛋白的测定采用凯氏定氮法; 粗脂肪的测定采用索氏抽提法; 粗灰分的测定用马弗炉在 550°C 下灼烧至恒重。

1.5 血清生理生化指标测定

血清中总胆固醇(cholesterol, CHOL)、甘油三酯(triglyceride, TG)、总蛋白(total protein, TP)、白蛋白(ALB, albumin)、血糖(glucose, GLU)、谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)、低密度脂蛋白(low density lipoprotein cholesterol, LDL-C)、高密度脂蛋白(high density lipoprotein cholesterol, HDL-C)由广东省广州市新海医院采用日立 7600 全自动生化分析仪检测。血清游离脂肪酸(free fatty acid, FFA)的测定采用上海酶联科技有限公司的试剂盒, 具体实验操作按照说明书进行。

1.6 肠道消化酶的测定

将前肠样品分别与生理盐水按 1 : 9 (w/v)混合匀浆破碎, 离心(3000 r/min, 10 min)后, 收集上清液。前肠的脂肪酶、 α -淀粉酶和胰蛋白酶的测定采用南京建成生物工程研究所的试剂盒, 具体实验操作按照说明书进行。

1.7 肠道免疫指标及抗氧化酶活的测定

前肠的过氧化氢酶(catalase, CAT)、总超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)、酸性磷酸酶(acid phosphatase, ACP)、溶菌酶(lysozyme, LZM)、补体 3 (complement 3, C3)、补体 4 (complement 4, C4)、免疫球蛋白 M (immunoglobulin M, IgM)和免疫球蛋白 A (immunoglobulin A, IgA)的测定采用上海酶联科技有限公司的试剂盒, 具体实验操作方法按照说明书进行。

1.8 短链脂肪酸的测定

每组取 6 尾鱼的肠道内容物, 送青岛亿信检测技术服务有限公司测定短链脂肪酸组成, 采用赛默飞世尔 GCMS ISQ LT 气相色谱仪, 分别用乙酸、丙酸、异丁酸、正丁酸、异戊酸、正戊酸标准品制作标准曲线, 用乙醚萃取样本中的脂肪, 进样到气相色谱仪中, 参照脂肪酸标准品的保留时间和峰面积, 获得样本中各种短链脂肪酸的含量。

1.9 肠道组织切片 HE 染色

每组取 6 尾鱼的 4%多聚甲醛保存的前肠样本, 在乙醇中进行梯度脱水, 后经二甲苯平衡, 石蜡包埋; 用切片机切出 $4\text{ }\mu\text{m}$ 厚度切片, 采用苏木精和伊红进行染色(H.E.)。用装配有相机功能的光学显微镜(Axiocam 506, Zeiss, Germany)对切片进行观察和拍照, 并用图像采集软件(ZEN 2, Zeiss, Germany)进行分析。每张肠道切片平均划分 8 个区域进行测定, 测量前肠的肠壁厚度、肌层厚度、黏膜下层厚度、绒毛高度、绒毛宽度、绒毛数量、杯状细胞数量等指标。

1.10 RNA 提取及基因表达测定

采用 BioFast simple P Total RNA Extraction kit (BioFlux, China)从前肠组织提取总 RNA。取

1 μg 总 RNA, 使用 PrimeScript RT reagent Kit 和 gDNA Eraser (TaKaRa, China)试剂盒合成第一链 cDNA, 将获得的 cDNA 保存在-80℃备用。采用 CFX Connect Real-Time System 荧光定量 PCR 仪 (广州昊洋贸易有限公司)测定各基因的 mRNA 表达。内参基因 β -actin 和目的基因的特异性引物使用 NCBI 引物设计软件进行设计, 并由上海生工生物技术有限公司合成, 见表 1。通过梯度稀释前肠单个样品的 cDNA 作为扩增模板, 分别构建 β -actin 和目的基因扩增的标准曲线, 确定每对引物的标准方程和相关系数, 以检测各对引物扩

增的特异性和效率。实时荧光定量 PCR (qPCR) 反应的总体积为 10 μL, 包括 5 μL Taq Pro Universal SYBR qPCR Master Mix*试剂, 1 μL cDNA, 0.5 μL 引物(10 μmol/L)和 3 μL 灭菌蒸馏水。qPCR 反应程序: 95 ℃预变性 5 min; 95 ℃变性 30 s, 目标温度退火 20 s, 72 ℃延伸 20 s, 扩增 40 个循环; 从 65 ℃以每秒升温 0.1 ℃逐步升至 95 ℃以构建溶解曲线。每组分别取 6 尾鱼的前肠 cDNA 作为 qPCR 扩增模板, 每个 cDNA 模板操作 3 个复孔。前肠中, 靶基因相对内参 β -actin 基因的相对 mRNA 表达量采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算。

表 1 用于实时定量 PCR (qPCR)的引物
Tab. 1 Primers used for real-time quantitative PCR (qPCR)

引物名称 primer name	引物序列(5'-3') sequence (5'-3')	产物大小/bp qPCR product size	登录号 accession number
β -actin	F: GTGCTGTCCCTGTATGCCTCTG R: CGGCTGTGGTGGTGAAGGAG	199	XM_038695351.1
<i>hif</i>	F: ACGACTTGGACCTGGAGATGTTG R: CTGTGCGACTGCCTGGTGAG	189	XM_038729572.1
<i>tlr4</i>	F: CCGTGCTGCTGCTTGTCATTG R: TTCTAGTGGTGCGAGTCTTGCTG	200	XM_038725039.1
mucin-2	F: CATCAACATATTCCACGCTTCATCC R: GGTTCAGGCTGACATAGACTTG	111	XM_038706087.1
<i>il-6</i>	F: TGCAAGGTGTCAGTCAACAA R: GTGTGTAGATGCTCGCTAT	82	XM_038732985.1
<i>il-10</i>	F: CGGCACAGAAATCCCAGAGC R: CAGCAGGCTCACAAAATAAACATCT	119	XM_038696252.1
<i>il-8</i>	F: GCTGCAGAGGTTGAATGACTAC R: TCCAATGGGCCTTTTCTCCT	189	XM_038713529.1
<i>tnfa</i>	F: TGTGACGGAGACCAGATGAC R: CAGACCGGCTTCAACAAACA	186	XM_038699437.1
<i>nf-kb</i>	F: GCGAGCCCCCTTCATAGAGAT R: ACCAATGAGATGCGAACACG	182	XM_038730801.1
<i>zo-1</i>	F: ATCTCAGCAGGGATTCGACG R: CTTTTCGCGGTGGCGTTGG	208	XM_038700548.1
occludin	F: ATGTGCCAGAACCTGTACCA R: GTTTCCTGTAACGCCAGATC	208	XM_038715419.1
claudin-1	F: CCAGGGAAGGGGAGCAATG R: GCTCTTTGAACCAAGTGCGAC	106	XM_038713307.1
<i>il-1β</i>	F: TTCAAAGTGCAGGCCATCAC R: CAGCTTTACCGCCTTCCATG	166	XM_038733429.1

1.11 肠道菌群 16S rRNA 基因测序与结构分析

每组取 8 尾鱼的肠道内容物, 送诺禾致源采用 16S rRNA 基因测序来测定各尾鱼的肠道菌群

组成。OTUs、 α 多样性(Chao1 指数、Shannon 和 ACE)和 β 多样性(PCA)分析采用 QIIME(v1.7.0)软件, 并用 R 软件(v2.15.3)显示。组间 α 多样性和 β

多样性的统计性差异采用 Tukey 检验和 Wilcoxon 检验, 采用 UPGMA 对样本进行分层聚类。

1.12 数据分析

数据均以平均值±标准误($\bar{x} \pm SD$)表示。使用 SPSS 19.0 (Armonk, NY, USA)对实验结果进行统计学分析, 采用单因素方差分析 (one-way ANOVA)和 Duncan 多重比较法检验各组间的显著性差异, 显著性差异水平设置为 0.05。

2 结果与分析

2.1 饲料中添加海藻多糖对大口黑鲈生长性能的影响

大口黑鲈幼鱼用实验饲料饲喂 8 周后, 各组

鱼的成活率均为 100%, 如表 2 所示, D1 和 D2 组的增重率、特定生长率显著高于 D0 对照组和 D4 组($P<0.05$), 其中, D2 组的增重率和特定增长率最高; D2 组的饲料系数最低, 显著低于对照组和 D4 组($P<0.05$); D1~D3 组的摄食量比对照组高, 其中, D1 和 D3 组的摄食量显著高于对照组和 D4 组($P<0.05$); D1~D3 组的肝体比、脏体比显著低于对照组和 D4 组($P<0.05$), 且 D1 组的肝体比和脏体比最低。D4 组在各项指标上与对照组未呈现显著性差异($P>0.05$)。通过对大口黑鲈幼鱼的增重率、特定生长率、饲料系数进行一元二次方程曲线回归分析可知, 饲料中海藻多糖的适宜添加量分别为 1.76‰、1.77‰、1.74‰ (图 1)。

表 2 养殖 8 周后大口黑鲈幼鱼生长性能
Tab. 2 Growth performance of juvenile *Micropterus salmoides* fed with the experimental diets for 8 weeks

指标 item	组别 group				
	D0	D1	D2	D3	D4
初始体质量/g IBW	6.91±0.10	6.92±0.33	6.67±0.01	7.04±0.09	7.04±0.09
终末体质量/g FBW	60.31±0.82 ^b	65.33±2.05 ^a	64.37±1.21 ^a	64.69±3.35 ^a	60.50±2.65 ^b
增重率/% WGR	772.53±22.75 ^c	844.17±25.35 ^{ab}	865.50±17.75 ^a	817.95±39.27 ^{bc}	774.50±33.50 ^c
特定生长率/(%/d) SGR	3.87±0.05 ^c	4.01±0.05 ^{ab}	4.05±0.03 ^a	3.96±0.08 ^{bc}	3.87±0.07 ^c
饲料系数 FCR	0.90±0.04 ^a	0.87±0.01 ^{ab}	0.85±0.01 ^b	0.88±0.03 ^{ab}	0.91±0.03 ^a
摄食量/kg food consumption	1.93±0.05 ^b	2.03±0.07 ^a	1.96±0.01 ^{ab}	2.03±0.06 ^a	1.95±0.03 ^b
肝体比/% HSI	3.73±0.76 ^a	2.92±0.71 ^c	2.96±0.75 ^c	3.31±0.97 ^b	3.70±0.92 ^a
脏体比/% VSI	8.96±0.78 ^a	7.92±0.79 ^b	8.01±0.76 ^b	8.38±1.06 ^b	8.97±1.48 ^a
肥满度/(g/cm ³) CF	2.31±0.21	2.26±0.21	2.28±0.16	2.28±0.23	2.27±0.20
成活率/% SR	100±0.00	100±0.00	100±0.00	100±0.00	100±0.00

注: D0 是未添加海藻多糖的对照组, D1~D3: 添加 1‰、2‰、3‰海藻多糖的实验组, D4 为添加 2‰酵母细胞壁的阳性对照组; 同行数据上标不同字母表示组间差异显著($P<0.05$)。
Note: D0 is the control group without seaweed polysaccharides in diets, groups D1~D3 represent experimental groups with 1‰, 2‰ and 3‰ seaweed polysaccharides in diets, and group D4 is the positive control group with 2‰ yeast cell wall in diets. Values in the same row with different superscripts are significantly different ($P<0.05$).

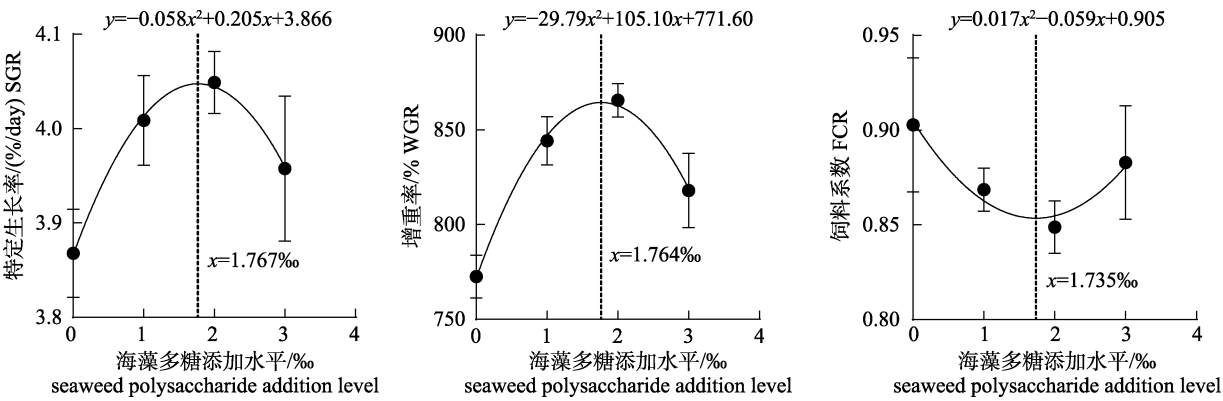


图 1 饲料中添加不同水平海藻多糖对大口黑鲈生长性能的回归分析
Fig. 1 Regression analysis of growth performance of *Micropterus salmoides* juveniles fed with the experimental diets with different seaweed polysaccharides addition level

2.2 饲料中添加海藻多糖对大口黑鲈全鱼体成分的影响

大口黑鲈幼鱼用实验饲料饲喂 8 周后, 全鱼的营养成分见表 3, 结果显示, D3 组全鱼的粗蛋白含量显著高于对照组($P<0.05$)。在全鱼的水分、粗脂肪和粗灰分上, 各组与对照组相比未表现出显著性差异($P>0.05$)。

2.3 饲料中添加海藻多糖对大口黑鲈血清生化指标的影响

如表 4 所示, 用实验饲料饲喂 8 周后, D4 组

血清的谷草转氨酶含量显著低于对照组($P<0.05$), D1 组的游离脂肪酸含量显著低于对照组($P<0.05$)。此外, 在血清的总胆固醇、总蛋白、血糖、甘油三酯、白蛋白、HDL 和 LDL 含量上, 各组与对照组相比未有显著性差异($P>0.05$)。

2.4 饲料中添加海藻多糖对大口黑鲈前肠消化酶活性的影响

如表 5 所示, 用实验饲料饲喂 8 周后, 各组大口黑鲈前肠的胰蛋白酶、脂肪酶和淀粉酶活性与对照组相比, 未表现出显著性差异($P>0.05$)。

表 3 养殖 8 周后大口黑鲈幼鱼全鱼的营养成分(湿重)
Tab. 3 The nutritional composition of the whole body of juvenile *Micropterus salmoides* fed with the experimental diets for 8 weeks (wet weight)

指标 item	组别 group					%
	D0	D1	D2	D3	D4	
水分 moisture	70.59±1.06	71.76±1.02	71.00±1.49	71.00±1.00	71.23±0.47	
粗蛋白 crude protein	16.53±0.06 ^b	16.85±0.27 ^{ab}	16.72±0.18 ^{ab}	17.21±0.10 ^a	16.77±0.11 ^{ab}	
粗脂肪 crude fat	6.45±0.28	6.05±0.39	6.18±0.35	5.84±0.05	6.39±0.24	
粗灰分 crude ash	3.39±0.09 ^{ab}	3.04±0.15 ^b	3.27±0.09 ^{ab}	3.48±0.11 ^a	3.18±0.10 ^{ab}	

注: D0 是未添加海藻多糖的对照组, D1-D3: 添加 1‰、2‰、3‰海藻多糖的实验组, D4 为添加 2‰酵母细胞壁的阳性对照组; 同行数据上标不同字母表示组间差异显著($P<0.05$)。
Note: D0 is the control group without seaweed polysaccharides in diets, groups D1 to D3 represent experimental groups with 1‰, 2‰ and 3‰ seaweed polysaccharides addition in diets, and group D4 is positive control group with 2‰ yeast cell wall addition in diets. Values in the same row with different superscripts are significantly different ($P<0.05$).

表 4 养殖 8 周后大口黑鲈幼鱼血清生化指标
Tab. 4 Serum biochemical indices of juvenile *Micropterus salmoides* fed with the experimental diets for 8 weeks

指标 item	组别 group				
	D0	D1	D2	D3	D4
总胆固醇/(mg/dL) TC	12.24±1.21	12.28±0.97	12.80±0.41	12.84±0.98	12.29±0.24
谷草转氨酶/(U/L) AST	12.31±1.74 ^{ab}	10.64±1.88 ^{abc}	9.81±3.42 ^{bc}	13.64±2.17 ^a	8.39±2.68 ^c
总蛋白/(g/L) TP	89.86±18.58	115.03±31.02	103.17±30.35	107.00±12.87	102.69±9.46
血糖/(mg/dL) GLU	37.48±2.29	38.21±0.67	37.79±2.54	41.03±3.14	38.59±1.72
甘油三酯/(mg/L) TG	6.19±1.77	6.76±4.02	6.25±1.85	5.42±1.09	5.57±0.79
白蛋白/(g/L) ALB	16.74±2.13 ^{abc}	14.84±1.31 ^{bc}	13.61±2.47 ^c	17.00±1.87 ^{ab}	19.52±4.19 ^a
高密度脂蛋白胆固醇/(mg/dL) HDL	5.21±0.34	4.88±0.15	5.05±0.20	5.20±0.73	4.83±0.18
低密度脂蛋白胆固醇/(mg/dL) LDL	4.43±0.32	4.34±0.23	4.45±0.19	4.39±0.25	4.32±0.14
谷丙转氨酶/(U/L) ALT	1.35±0.13 ^{ab}	1.33±0.08 ^{ab}	1.46±0.10 ^a	1.36±0.14 ^{ab}	1.29±0.08 ^b
游离脂肪酸/(mg/L) FFA	11.94±1.48 ^a	9.60±0.63 ^b	10.52±1.56 ^{ab}	11.21±1.47 ^{ab}	11.77±2.04 ^a

注: D0 是未添加海藻多糖的对照组, D1-D3: 添加 1‰、2‰、3‰海藻多糖的实验组, D4 为添加 2‰酵母细胞壁的阳性对照组; 同行数据上标不同字母表示组间差异显著($P<0.05$)。
Note: D0 is the control group without seaweed polysaccharides in diets, groups D1 to D3 represent experimental groups with 1‰, 2‰ and 3‰ seaweed polysaccharides addition in diets, and group D4 is positive control group with 2‰ yeast cell wall addition in diets. Values in the same row with different superscripts are significantly different ($P<0.05$).

表 5 养殖 8 周后大口黑鲈幼鱼前肠消化酶活性

Tab. 5 Digestive enzymatic activities in the foregut of juvenile *Micropterus salmoides* fed with the experimental diets for 8 weeks

指标 indicator	组别 group				
	D0	D1	D2	D3	D4
胰蛋白酶(U/mg prot) trypsin	7.84±1.08	7.69±0.63	7.64±0.71	7.77±1.50	8.14±0.86
脂肪酶(U/mg prot) lipase	0.70±0.15	0.66±0.16	0.64±0.22	0.75±0.16	0.73±0.26
淀粉酶(U/mg prot) amylase	0.73±0.15	0.78±0.12	0.73±0.05	0.72±0.15	0.75±0.07

注: D0 是未添加海藻多糖的对照组, D1~D3: 添加 1%、2%、3%海藻多糖的实验组, D4 为添加 2%酵母细胞壁的阳性对照组。
Note: D0 is the control group without seaweed polysaccharides in diets, groups D1 to D3 represent experimental groups with 1%, 2% and 3% seaweed polysaccharides addition in diets, and group D4 is positive control group with 2% yeast cell wall addition in diets.

2.5 饲料中添加海藻多糖对大口黑鲈肠道组织结构的影响

对各组前肠的组织切片进行 H.E.染色, 结果显示, 对照组 D0 组肠绒毛破损, 绒毛固有层较宽, 肠黏膜上皮中杯状细胞数量较少; 在 D2 组和 D3 组, 肠绒毛完整性得到改善, 杯状细胞数量增多(图 2)。对各组前肠的组织形态参数进行统计, 结

果如表 6 所示, 与对照组相比, D2~D4 组的肌层厚度显著升高($P<0.05$), 但是, D1 组的肠壁厚度和肌层厚度却显著降低($P<0.05$); D2 和 D3 组的黏膜下层厚度、D1~D4 组的肠绒毛宽度都显著低于对照组($P<0.05$), 均以 D2 组最低; D2 组的杯状细胞数量最多, 显著高于对照组($P<0.05$); 各组的肠绒毛数量未表现出显著性差异($P>0.05$)。

表 6 养殖 8 周后大口黑鲈幼鱼前肠组织形态学指标

Tab. 6 Histomorphological indices of the foregut of juvenile *Micropterus salmoides* fed with the experimental diets for 8 weeks

指标 item	组别 group				
	D0	D1	D2	D3	D4
肠壁厚度/ μm intestinal wall thickness	57.78±12.66 ^{ab}	48.17±13.61 ^c	57.97±14.23 ^{ab}	53.47±17.32 ^b	58.92±15.28 ^a
肌层厚度/ μm thickness of muscular layer	40.63±9.78 ^b	32.60±10.25 ^c	41.48±11.88 ^a	41.48±11.89 ^a	41.48±11.90 ^a
黏膜下层厚度/ μm thickness of mucosal layer	5.63±1.35 ^a	5.37±1.62 ^{abc}	4.91±1.51 ^c	5.08±1.56 ^{bc}	5.46±1.76 ^{ab}
绒毛高度/ μm villus height	233.65±79.37 ^a	208.00±81.83 ^b	216.70±83.82 ^{ab}	229.57±85.27 ^a	232.29±91.08 ^a
绒毛宽度/ μm villus width	67.19±7.28 ^a	52.27±7.17 ^b	47.92±7.49 ^c	52.55±12.63 ^b	52.70±8.12 ^b
绒毛数量/个 number of villi	30.67±4.62	29.80±1.64	31.40±4.88	32.17±2.64	29.67±2.25
杯状细胞数量/个 number of cup cells	49.53±10.55 ^{bc}	54.53±10.10 ^{ab}	58.53±10.29 ^a	46.53±10.02 ^c	43.53±10.54 ^c

注: D0 是未添加海藻多糖的对照组, D1~D3: 添加 1%、2%、3%海藻多糖的实验组, D4 为添加 2%酵母细胞壁的阳性对照组; 同行数据上标不同字母表示组间差异显著($P<0.05$)。
Note: D0 is the control group without seaweed polysaccharides in diets, groups D1 to D3 represent experimental groups with 1%, 2% and 3% seaweed polysaccharides addition in diets, and group D4 is positive control group with 2% yeast cell wall addition in diets. Values in the same row with different superscripts are significantly different ($P<0.05$).

2.6 饲料中添加海藻多糖对大口黑鲈肠道免疫和抗氧化指标的影响

如图 3 所示, 随着饲料中海藻多糖添加水平的升高, 前肠的 ALP、LZM 活性呈逐渐上升的趋势, 其中, D2 和 D3 组的 LZM 活性显著高于对照组($P<0.05$); D3 和 D4 组的 C3 含量显著高于对照组($P<0.05$)。但是, D2 和 D4 组的 C4 含量、D1 组的 IgM 含量都低于对照组($P<0.05$); D1 和 D2 组的 CAT 和 D4 组的 GSH-Px 活性都显著高于对照组($P<0.05$)。但是, D1 组的 MDA 含量显著高于

对照组($P<0.05$), 而 D2~D4 组的 MDA 含量与对照组相比无显著性差异($P>0.05$)。

2.7 饲料中添加海藻多糖对大口黑鲈肠道短链脂肪酸组成的影响

如表 7 所见, 在大口黑鲈的肠道内容物中, 短链脂肪酸乙酸的含量最高, 其次为丙酸。饲料中添加不同水平海藻多糖后, 各组在丙酸、正丁酸、异戊酸和正戊酸含量上未表现出显著性差异($P>0.05$)。D3 组的异丁酸含量显著高于对照组($P<0.05$), D4 组的乙酸含量显著高于对照组($P<0.05$)。

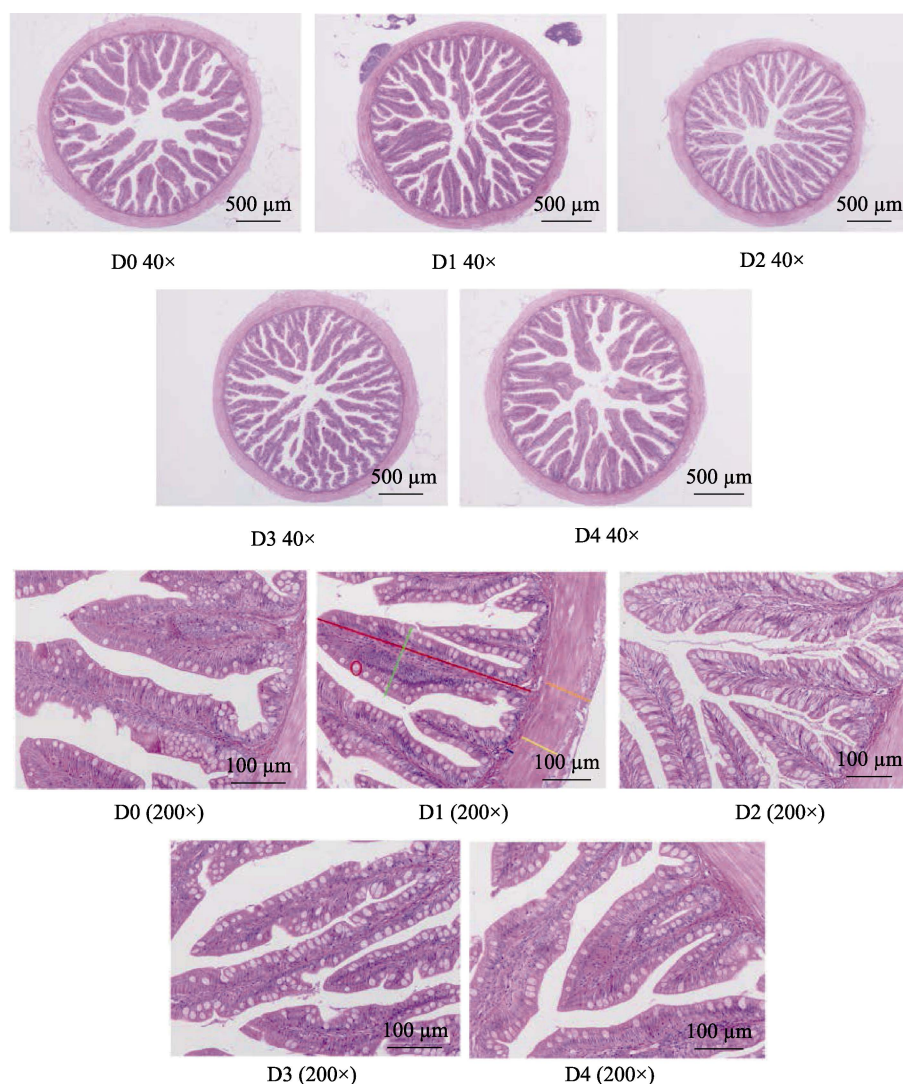


图 2 养殖 8 周后大口黑鲈幼鱼的前肠组织

D0 是未添加海藻多糖的对照组, D1~D3: 添加 1‰、2‰、3‰海藻多糖的实验组, D4 为添加 2‰酵母细胞壁的阳性对照组。

红色线条为绒毛高度, 绿色线条为绒毛宽度, 橙色线条为肠壁厚度, 黄色线条为肌层厚度, 蓝色线条为黏膜下层厚度, 红圈为杯状细胞。

Fig. 2 The foregut of the juvenile *Micropterus salmoides* fed with the experimental diets for 8 weeks
D0 is the control group without seaweed polysaccharides in diets, groups D1 to D3 represent experimental groups with 1‰, 2‰ and 3‰ seaweed polysaccharides addition in diets, and group D4 is positive control group with 2‰ yeast cell wall addition in diets. The red line indicates villus height, the green line indicates villus width, the orange line indicates intestinal wall thickness, the yellow line indicates thickness of muscular layer, the blue line indicates thickness of mucosal layer, and the red circle indicates a goblet cell.

2.8 饲料中添加海藻多糖对大口黑鲈肠道屏障与炎症相关基因表达的影响

如图 4 所示, D2、D3 组的肠道屏障相关基因 *zo-1*、*occludin*、*mucin-2*、脂多糖膜受体 *tlr4* 和低氧诱导因子 *hif* 的 mRNA 表达量显著高于对照组 ($P < 0.05$)。D1~D4 组的致炎因子 *il-6* 和 *il-1 β* 和 D2 组的 *nf- κ b* 的表达量都显著低于对照组 ($P <$

0.05); D2~D4 组的抗炎因子 *il-10* 表达量显著高于对照组 ($P < 0.05$), 其中 D2 组的 *il-10* 表达量最高, 也显著高于 D3~D4 组 ($P < 0.05$); 各组的 *tnfa*、*il-8* 表达量没有显著性差异 ($P > 0.05$)。

2.9 饲料中添加海藻多糖对大口黑鲈肠道菌群结构的影响

取各组肠道内容物进行微生物 16S 基因测序,

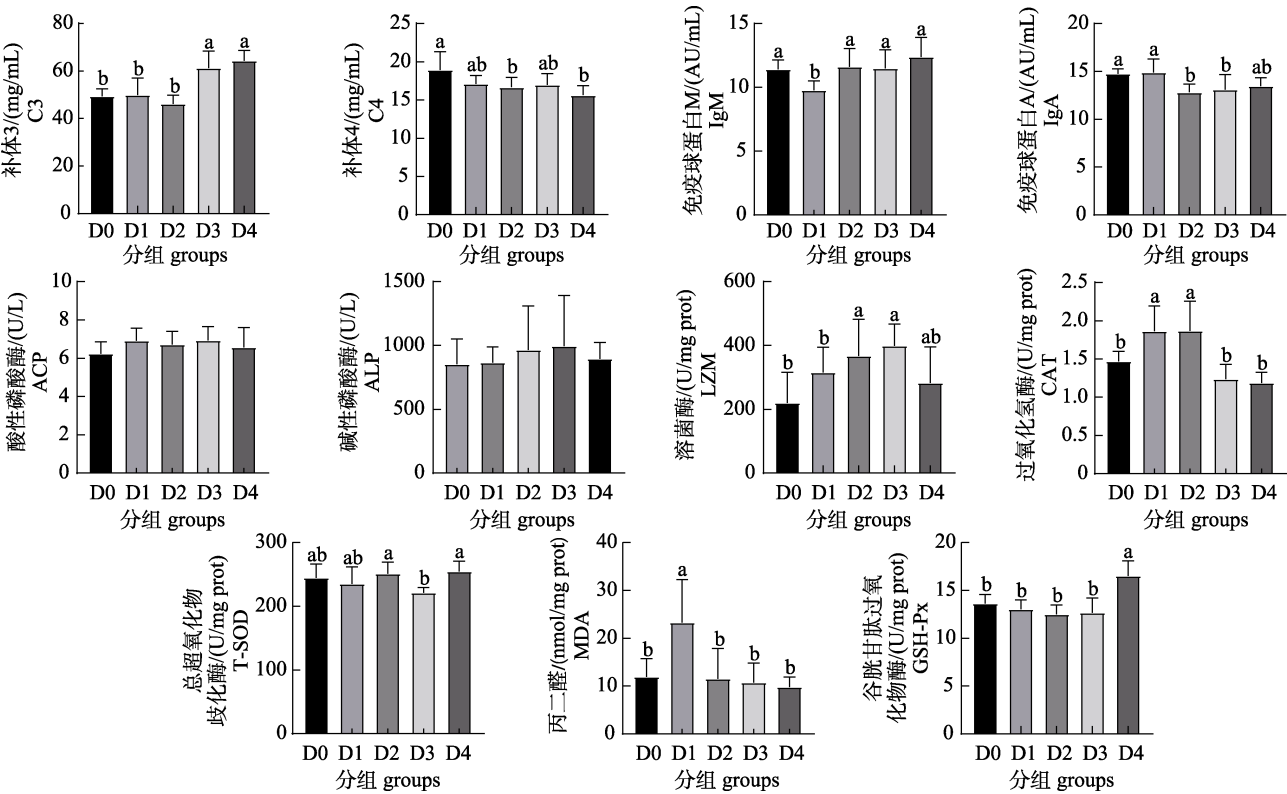


图 3 养殖 8 周后大口黑鲈幼鱼肠道免疫指标与抗氧化酶活性
D0 是未添加海藻多糖的对照组, D1–D3: 添加 1‰、2‰、3‰海藻多糖的实验组, D4 为添加 2‰酵母细胞壁的阳性对照组; 同一柱形图上不同字母标注表示组间差异显著 ($P<0.05$).

Fig. 3 Intestinal immune indices and antioxidant enzyme activities in juvenile *Micropterus salmoides* fed the experimental diets for 8 weeks
D0 is the control group without seaweed polysaccharides in diets, groups D1 to D3 represent experimental groups with 1‰, 2‰ and 3‰ seaweed polysaccharides in diets, and group D4 is positive control group with 2‰ yeast cell wall in diets. In each panel, different letters above the column indicate significant difference ($P<0.05$) between groups.

表 7 养殖 8 周后大口黑鲈幼鱼肠道内容物短链脂肪酸组成

指标 indicator	组别 group				
	D0	D1	D2	D3	D4
乙酸/(μg/g) acetic acid	18.10±4.52 ^b	18.63±1.16 ^b	21.07±5.45 ^{ab}	16.12±4.34 ^b	25.44±1.51 ^a
丙酸/(μg/g) propionic acid	4.32±0.65	3.46±1.33	4.01±0.79	4.84±1.29	4.46±1.73
异丁酸/(μg/g) isobutyric acid	1.62±0.55 ^b	2.25±0.57 ^{ab}	2.06±0.42 ^{ab}	2.40±0.71 ^a	2.22±0.37 ^{ab}
正丁酸/(μg/g) n-butyric acid	0.90±0.24	0.91±0.21	0.94±0.19	0.81±0.13	0.99±0.29
异戊酸/(μg/g) isovaleric acid	1.69±1.16	2.00±0.45	2.64±0.97	1.49±0.91	3.04±2.99
正戊酸/(μg/g) n-valeric acid	0.51±0.31	0.56±0.28	0.60±0.06	0.47±0.21	0.52±0.13

注: D0 是未添加海藻多糖的对照组, D1–D3: 添加 1‰、2‰、3‰海藻多糖的实验组, D4 为添加 2‰酵母细胞壁的阳性对照组; 同行数据上标不同字母表示组间差异显著 ($P<0.05$).
Note: D0 is the control group without seaweed polysaccharides in diets, groups D1 to D3 represent experimental groups with 1‰, 2‰ and 3‰ seaweed polysaccharides in diets, and group D4 is positive control group with 2‰ yeast cell wall in diets. Values in the same row with different superscripts are significantly different ($P<0.05$).

结果如表 8 所示, D2 组肠道微生物的 OTUs、Chao1、ACE 指数最高, 物种丰富度最高。在门水平, 变形菌门 (Proteobacteria) 和厚壁菌门 (Firmicutes) 为大口黑鲈肠道的优势菌门(图 5a)。

在属水平,假单胞菌属(*Pseudomonas*)是大口黑鲈肠道的优势菌属(图 5c&5d)。D2 和 D3 组的厚壁菌门丰度显著高于对照组($P<0.05$)(图 5a)。D2 和 D4 组的假单胞菌属(*Pseudomonas*)和鲸杆菌属(*Cetobacterium*)的相对丰度低于对照组($P<0.05$),但是,其罗尔斯通氏菌属(*Ralstonia*)、范菌属(*Pantoea*)的相对丰度高于对照组

($P<0.05$)(图 5c)。PCA 主成分分析显示,D0、D1、D3 组聚在一起,而 D2 与 D4 组的肠道菌群相似度最高(图 5b)。如图 6 所示,在饲料中添加不同水平的海藻多糖对大口黑鲈肠道的革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌含量没有显著性影响($P>0.05$),但是,D1 组的潜在致病菌含量显著降低($P<0.05$)。

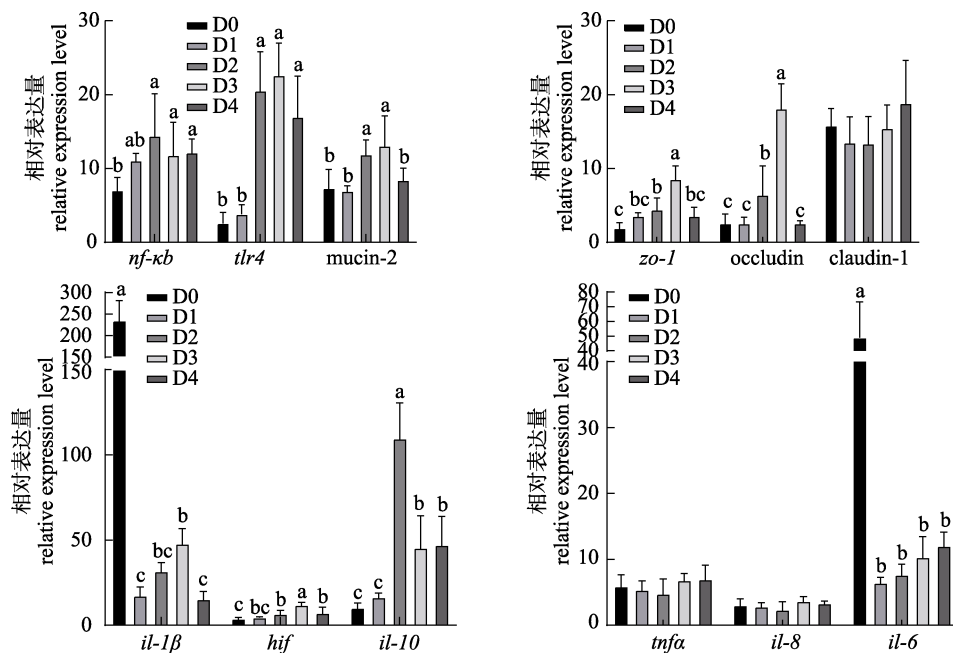


图 4 养殖 8 周后大口黑鲈幼鱼肠道屏障与炎症因子基因表达

D0 是未添加海藻多糖的对照组, D1–D3: 添加 1%、2%、3%海藻多糖的实验组, D4 为添加 2%酵母细胞壁的阳性对照组; 同一柱形图上不同字母标注表示组间差异显著($P<0.05$)。

Fig. 4 The expression of intestinal barrier and inflammatory related genes in juvenile *Micropterus salmoides* fed with the experimental diets for 8 weeks

D0 is the control group without seaweed polysaccharides in diets, groups D1 to D3 represent experimental groups with 1%, 2% and 3% seaweed polysaccharides in diets, and group D4 is positive control group with 2% yeast cell wall in diets. In each panel, different letters above the column indicate significant difference ($P<0.05$) between groups.

表 8 养殖 8 周后大口黑鲈幼鱼肠道菌群 α 多样性指数

Tab. 8 α-diversity indices of intestinal microbiota of juvenile *Micropterus salmoides* fed the experimental diets for 8 weeks

指标 indicator	组别 group				
	D0	D1	D2	D3	D4
OTUs	839.00±138.60 ^a	473.40±172.65 ^c	918.40±156.65 ^a	763.40±99.13 ^{ab}	668.40±236.56 ^{bc}
Chao1	799.74±102.88 ^b	678.38±217.05 ^b	1152.52±131.07 ^a	867.44±110.90 ^b	809.62±283.00 ^b
ACE	805.57±102.93 ^b	694.07±221.81 ^b	1185.84±139.35 ^a	895.30±98.79 ^b	817.98±291.03 ^b
Shannon	4.18±1.63 ^{ab}	3.55±0.62 ^b	5.26±1.44 ^a	5.76±0.82 ^a	5.22±0.75 ^a

注: D0 是未添加海藻多糖的对照组, D1–D3: 添加 1%、2%、3%海藻多糖的实验组, D4 为添加 2%酵母细胞壁的阳性对照组; 同行数据上标不同字母表示组间差异显著($P<0.05$)。

Note: D0 is the control group without seaweed polysaccharides in diets, groups D1 to D3 represent experimental groups with 1%, 2% and 3% seaweed polysaccharides in diets, and group D4 is positive control group with 2% yeast cell wall in diets. Values in the same row with different superscripts are significantly different ($P<0.05$).

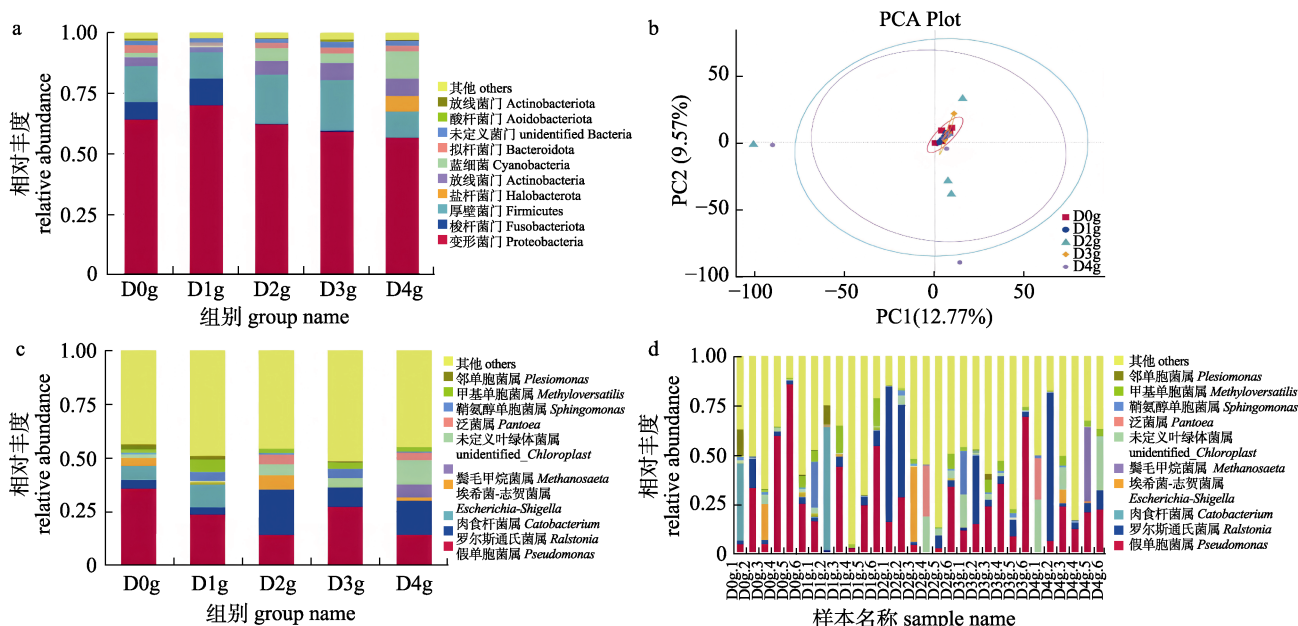


图 5 养殖 8 周后大口黑鲈幼鱼在门(a)和属(c-d)水平上肠道菌群组成和主成分分析(PCA) (b)

仅显示最丰富的前 10 个细菌门和属(基于相对丰度), 其他门和属都被指定为“其他”。D0g (D0): 未添加海藻多糖的对照组, D1g–D3g (D1–D3): 添加 1%、2%、3%海藻多糖的实验组, D4g (D4): 添加 2%酵母细胞壁阳性对照组。

Fig. 5 Intestinal bacterial composition at the phylum (a) and genus (c-d) level and principal component analysis (PCA) (b) of juvenile *Micropterus salmoides* fed the experimental diets for 8 weeks

Only the top 10 most abundant bacterial phyla and genera (based on relative abundance) are shown, and other phyla and genera are designated as "others". D0g (D0) is the control group without seaweed polysaccharides in diets, groups D1g to D3g (D1 to D3) represent experimental groups with 1%, 2% and 3% seaweed polysaccharides in diets, and group D4g (D4) is positive control group with 2% yeast cell wall in diets.

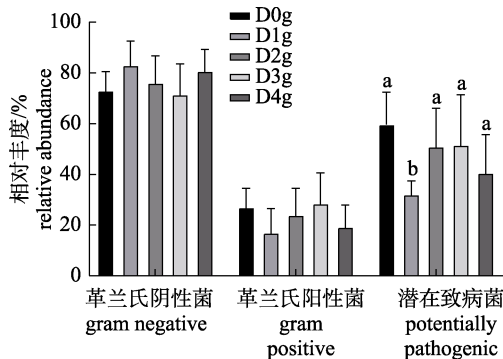


图 6 养殖 8 周后大口黑鲈肠道的革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌以及潜在致病菌组成

D0g (D0): 未添加海藻多糖的对照组, D1g–D3g (D1–D3): 添加 1%、2%、3%海藻多糖的实验组, D4g (D4): 添加 2%酵母细胞壁阳性对照组; 同一柱形图上不同字母标注表示组间差异显著($P<0.05$)。

Fig. 6 Gram-positive, gram-negative and potentially pathogenic bacterial composition of the intestinal microbiota of *Micropterus salmoides* fed with the experimental diets for 8 weeks

D0g (D0) is the control group without seaweed polysaccharides in diets, groups D1g to D3g (D1 to D3) represent experimental groups with 1%, 2% and 3% seaweed polysaccharides in diets, and group D4g (D4) is positive control group with 2% yeast cell wall in diets. In each panel, different letters above the column indicate significant difference ($P<0.05$) between groups.

3 讨论

3.1 饲料中添加适量的海藻多糖促进大口黑鲈幼鱼生长

大型海藻多糖包括褐藻的褐藻胶和岩藻聚糖及海带多糖、红藻的卡拉胶和琼胶、绿藻的水溶性硫酸多糖等, 具有抗氧化、抗肿瘤、抗菌、提高免疫等多种生理功能^[4-9]。在本研究中, 三个海藻多糖组的生长性能均高于未添加海藻多糖的对照组, 其中, 1%和 2%海藻多糖组的增重率和特定生长率显著高于对照组和 2%酵母细胞壁组, 以 2%海藻多糖组大口黑鲈的生长性能最高。Huang 等发现用添加 0.05%~0.2%海藻多糖的配合饲料投喂大口黑鲈仔鱼 7 周, 没有提高其生长性能^[14]。可能与使用的海藻多糖种类及大口黑鲈所处的生长阶段有关。研究发现, 饲料中添加适量的海藻多糖对黄颡鱼、罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)、牙鲈(*Paralichthys olivaceus*)、凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)、斑节对虾(*Penaeus*

monodon)、罗氏沼虾(*Macrobrachium rosenbergii*)、鲮 (*Mugil cephalus*)、笛鲷(*Lutjanus stellatus*)、真鲷(*Pagrus major*)、大黄鱼(*Larimichthys crocea*)、珍珠龙胆石斑鱼(*Epinephelus fuscoguttatus* ♀ × *E. lanceolatus* ♂)^[5,11,15-17]等多种水产动物都具有类似的促生长效果。虽然绝大多数海藻多糖不能被鱼类消化,但海藻多糖可以被鱼类肠道特定的微生物发酵,产生乙酸、丙酸、丁酸等短链脂肪酸,并提高产乙酸和丙酸的拟杆菌门、产丁酸的厚壁菌门等益生菌的丰度^[18-19]。丁酸是结肠上皮细胞的主要能量来源,能够促进肠道上皮细胞增殖和增强上皮细胞紧密连接^[20]。丙酸具有增强饱腹感、减少肝脏脂肪合成和降低炎症的作用^[18]。乙酸是海藻多糖如褐藻胶、海带多糖经微生物发酵的主要代谢产物,可以对抗肠致病菌感染,还可以减轻炎症^[18]。本研究结果也揭示乙酸是大口黑鲈肠道中主要的短链脂肪酸,2‰海藻多糖组和2‰酵母细胞壁组肠道中乙酸的含量明显高于对照组;2‰和3‰海藻多糖组肠道中厚壁菌门的丰度也显著高于对照组,2‰海藻多糖组还显著降低了易引发感染的假单胞菌属(*Pseudomonas*)丰度^[21],1‰海藻多糖组也显著降低了肠道潜在致病菌丰度。厚壁菌门主要包含梭状芽孢杆菌属,可以发酵多糖类碳水化合物和蛋白胨产生基于丁酸盐的代谢物^[22]。本研究结果证实海藻多糖能够发挥益生元作用,饲料中添加适量的海藻多糖可通过改善肠道菌群结构及产生短链脂肪酸代谢产物对宿主发挥积极影响,进而促进水产动物生长^[5,18]。此外,饲料中添加海藻多糖增加了饲料的稳定性和适口性,减缓了饲料通过消化道的速度,确保更多营养被吸收利用,可提高饲料利用率^[5]。在本研究中,三个海藻多糖组大口黑鲈的摄食量都比对照组高,与此结论一致。由于海藻多糖大多属于非淀粉多糖,水产动物的消化道中缺乏降解非淀粉多糖的消化酶,饲料中添加过多的海藻多糖会对水产动物的生长产生抑制作用^[5]。在本研究中,结合增重率、特定生长率和饲料系数,推荐大口黑鲈幼鱼配合饲料中海藻多糖的适宜添加量分别为1.76‰、1.77‰、1.74‰。

在本研究中,以添加与预期的海藻多糖适宜添加量相同剂量的2‰酵母细胞壁作为阳性对照组。酵母细胞壁含有85%~80%多糖,主要包含β-葡聚糖和甘露聚糖^[23]。β-葡聚糖能够与中性粒细胞、巨噬细胞等免疫细胞表面的树凝素-1(Dectin-1)受体结合,通过细胞内信号传导激活NF-κB,进而刺激产生细胞因子、吞噬作用和呼吸爆发^[23]。因此,β-葡聚糖也被称为免疫多糖。甘露聚糖可以与病原菌的外源凝聚素相结合,阻碍病原菌在肠壁上的吸附和在肠腔中定植;并且,可以通过氢键等分子间作用力吸附多种霉菌毒素;还可以作为双歧杆菌、乳酸杆菌的碳源能量来源,促进其新陈代谢和增殖,产生乙酸、乳酸等,降低肠道pH,抑制有害菌的增殖^[24]。酵母细胞壁在提高水产动物免疫力、增强病害抵抗力和生长性能上展现良好的应用效果^[25]。在本研究中,在添加相同剂量下,2‰海藻多糖组大口黑鲈的生长性能显著高于2‰酵母细胞壁组,暗示海藻多糖在促生长方面的效果好于酵母细胞壁。

3.2 饲料中添加适量的海藻多糖改善大口黑鲈幼鱼肠道组织结构

肠道是动物消化、吸收营养物质的重要器官,也是抵御病原体感染和毒素的屏障^[18]。正常的肠道形态是保障肠道功能和维持肠道稳态的基础。肠绒毛高度的增加可以增加肠的吸收面积,增强营养物质的吸收^[26]。肠肌层厚度的增加会促进肠道蠕动,有助于肠道食糜的混匀、消化和排空^[27]。肠绒毛宽度和黏膜下层的增加提示肠上皮固有层可能发生炎症细胞的浸润^[28]。分布于上皮细胞之间的杯状细胞能够产生黏蛋白,形成黏液覆盖在上皮细胞上^[28]。Yao等^[29]指出褐藻多糖可以减轻肠道氧化应激来维持肠上皮的完整性,并能降低紧密连接功能障碍和肠道通透性,增加黏蛋白的表达。用海藻多糖预处理24 h,能逆转大肠杆菌对猪肠上皮细胞(IPEC-J2)的感染,上调紧密连接蛋白Occludin、Claudin-1和ZO-1的mRNA和蛋白水平的表达,增加跨上皮电阻(trans epithelial electrical resistance, TEER)值,提示海藻多糖预处理能够减轻大肠杆菌诱导的肠上皮屏障功能障碍

和肠道通透性^[30]。在本研究中, 未添加海藻多糖的对照组呈现出肠绒毛破损、断裂、粘连, 而 2‰海藻多糖组前肠绒毛形态得到改善, 并且增加了肠上皮的肌层厚度和杯状细胞数量, 降低了肠绒毛宽度和黏膜下层厚度。此外, 2‰和 3‰海藻多糖组的相关基因 *zo-1*、*occludin* 和黏蛋白 *mucin-2* 的表达量显著升高。这些结果证实, 饲料中添加 2‰海藻多糖有助于改善肠上皮组织结构, 维护肠上皮细胞间的紧密连接和肠上皮屏障, 降低肠道通透性。

3.3 饲料中添加适量的海藻多糖增强大口黑鲈幼鱼肠道的抗氧化和免疫能力

海藻多糖具有抗氧化功能^[5-6]。动物通过体内抗氧化酶系统消除自由基, 避免过多的自由基对机体造成氧化损伤。Huang 等^[14]发现配合饲料中添加 0.05%~0.1%海藻多糖能够提高大口黑鲈仔鱼肝脏的 CAT 活性。在本研究中, 2‰海藻多糖组前肠的 CAT 活性显著高于对照组, 其 SOD 和 GSH-Px 活性及 MDA 含量与对照组相比没有显著性差异, 揭示海藻多糖有助于增强大口黑鲈清除自由基的能力。在非特异性免疫中, 单核细胞和巨噬细胞等受抗原刺激产生 TNF α 和 IL-8 等, 它们会招募中性粒细胞等白细胞到炎症部位, 诱导 IL-1 β 、IL-6 等促炎因子和 IL-10 等抗炎因子的表达^[31-33]。白细胞介素 IL-1 β 可以激活 NF- κ B 和 p38 MAPK 途径, IL-6 可以激活 JAK-STAT3 途径, NF- κ B、p38 MAPK 和 JAK-STAT3 途径被激活后, 会诱导 IL-6、TNF α 、IL-1 β 等促炎因子表达^[34]。Guo 等^[30]指出, 海藻多糖预处理 IPEC-J2 细胞 24 h, 能够阻止大肠杆菌诱发的 NF- κ B 途径的激活, 降低了 IL-6、TNF- α 的表达, 阻止大肠杆菌的粘附和侵袭。在本研究中, 三个海藻多糖组前肠的 *il-6* 和 *il-1 β* 和 2‰海藻多糖组 *nf- κ b* 的 mRNA 表达量都显著降低, 2‰海藻多糖组的 *il-10* 和 *hif* mRNA 表达量及溶菌酶活性显著升高。低氧诱导因子 HIF 是肠道稳态的重要调节因子, 其可通过增加肠道上皮黏液中抗菌肽的生成来调节肠道菌群平衡^[35]。溶菌酶是一种抗菌肽, 通过破坏革兰氏阳性菌细胞壁中的肽聚糖来发挥杀菌作用^[36]。

上述结果表明, 饲料中添加 2‰海藻多糖有助于降低大口黑鲈幼鱼肠道炎症, 提高免疫力。

4 结论

上述研究结果表明, 在饲料中添加 2‰海藻多糖, 可以提高大口黑鲈幼鱼的生长性能, 改善肠道组织形态和肠道菌群结构, 提高肠道抗氧化能力和降低炎症, 有益于肠道健康。结合增重率、特定生长率和饲料系数, 推荐大口黑鲈幼鱼的配合饲料中海藻多糖的适宜添加量分别为 1.76‰、1.77‰、1.74‰。研究结果揭示, 海藻多糖可以作为一种有益的水产饲料添加剂, 其促进鱼类生长和肠道健康的效果强于相同剂量的酵母细胞壁, 可以在水产动物养殖业中推广应用。

参考文献:

- [1] Zhang H, Deng J, Ma H Y, et al. Research progress on related diseases and control techniques of largemouth bass[J]. Hebei Fisheries, 2022(2): 38-44. [张晗, 邓捷, 马红英, 等. 大口黑鲈相关疾病及防治技术研究进展[J]. 河北渔业, 2022(2): 38-44.]
- [2] Ouyang P, Huang S H, Wei W Y, et al. Cinnamaldehyde treats largemouth bass non-lethal bacterial enteritis by regulating gut morphology, barrier, inflammation, microbiota and serum biochemistry[J]. Aquaculture, 2024, 581: 740463.
- [3] Huang X L, Zhong L, Kang Q, et al. A high starch diet alters the composition of the intestinal microbiota of largemouth bass *Micropterus salmoides*, which may be associated with the development of enteritis[J]. Frontiers in Microbiology, 2021, 12: 696588.
- [4] Lin X Z, Tang Y, Zhang Y M, et al. Composing and spectrum analysis of algal polysaccharides[J]. Chemistry, 2005, 68(12): 911-917. [林晓芝, 唐渝, 张渊明, 等. 海藻多糖的组成及结构光谱分析[J]. 化学通报, 2005, 68(12): 911-917.]
- [5] Siddik M A B, Francis P, Rohani M F, et al. Seaweed and seaweed-based functional metabolites as potential modulators of growth, immune and antioxidant responses, and gut microbiota in fish[J]. Antioxidants, 2023, 12(12): 2066.
- [6] Qiu S M, Aweya J J, Liu X J, et al. Bioactive polysaccharides from red seaweed as potent food supplements: A systematic review of their extraction, purification, and biological activities[J]. Carbohydrate Polymers, 2022, 275: 118696.
- [7] Fedorov S N, Ermakova S P, Zvyagintseva T N, et al. Anticancer and cancer preventive properties of marine polysaccharides: Some results and prospects[J]. Marine Drugs, 2013, 11(12): 4876-4901.
- [8] de Sousa A K, Araujo A S M L, da Silva T M L, et al. Polysaccharides from macro algae: Anti-inflammatory actions against systemic inflammatory process and in the

- gastrointestinal tract[J]. Journal of Applied Phycology, 2023, 35(1): 381-395.
- [9] Cholaraj R, Venkatachalam R. The effect of polysaccharide from *Padina boergesii* on *Aeromonas hydrophila* resistance and growth, biochemical, digestive enzymes, non-specific immune response in *Oreochromis niloticus*[J]. Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre, 2023, 30: 100357.
- [10] Zuo Z H, Wang S D, Wang Q J, et al. Effects of partial replacement of dietary flour meal with seaweed polysaccharides on the resistance to ammonia stress in the intestine of hybrid snakehead (*Channa maculatus* ♀ × *Channa argus* ♂)[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2022, 127: 271-279.
- [11] Feng P F, Pan C Y, Ma H W, et al. Effects of *Sargassum* polysaccharide on growth performance, serum biochemical indexes, digestive enzyme activity and antioxidant capacity of hybrid *Pelteobagrus fulvidraco*[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2023, 35(7): 4485-4494. [冯鹏菲, 潘传燕, 马华威, 等. 饲料中添加马尾藻多糖对杂交黄颡鱼生长性能、血清生化指标、消化酶活性和抗氧化能力的影响[J]. 动物营养学报, 2023, 35(7): 4485-4494.]
- [12] Bakky M A H, Tran N T, Zhang Y S, et al. Effects of dietary supplementation of *Gracilaria lemaneiformis*-derived sulfated polysaccharides on the growth, antioxidant capacity, and innate immunity of rabbitfish (*Siganus canaliculatus*)[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2023, 139: 108933.
- [13] Abdelrhman A M, Ashour M, Al-Zahaby M A, et al. Effect of polysaccharides derived from brown macroalgae *Sargassum dentifolium* on growth performance, serum biochemical, digestive histology and enzyme activity of hybrid red tilapia[J]. Aquaculture Reports, 2022, 25: 101212.
- [14] Huang D Y, Gu J Z, Liang H L, et al. Effects of seaweed polysaccharide on the growth and physiological health of largemouth bass, *Micropterus salmoides*[J]. Antioxidants, 2025, 14(1): 52.
- [15] Vidhya Hindu S, Chandrasekaran N, Mukherjee A, et al. A review on the impact of seaweed polysaccharide on the growth of probiotic bacteria and its application in aquaculture[J]. Aquaculture International, 2019, 27(1): 227-238.
- [16] Wu Z L, Zhao J P, An H M, et al. Effects of laminarin on growth performance and resistance against *Pseudomonas plecoglossicida* of large yellow croaker (*Larimichthys crocea*)[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2024, 144: 109271.
- [17] Lin J B, Liang P, Zhu Q G, et al. Effect of laminarin on growth and immunity of pearl gentian grouper[J]. Fujian Journal of Agricultural Sciences, 2017, 32(1): 17-21. [林建斌, 梁萍, 朱庆国, 等. 海带多糖对珍珠龙胆石斑鱼生长性能和免疫力的影响[J]. 福建农业学报, 2017, 32(1): 17-21.]
- [18] Sedgwick H, Gibson G, Adams J, et al. Seaweed-derived bioactives: Gut microbiota targeted interventions for immune function[J]. Journal of Functional Foods, 2025, 125: 106696.
- [19] Huang Q Q, Zhang Y H, Chu Q, et al. The influence of polysaccharides on lipid metabolism: Insights from gut microbiota[J]. Molecular Nutrition & Food Research, 2024, 68(1): e2300522.
- [20] Zhu T, Wang G Y, Wang G H. Metabolism, mechanism and physiological action of butyric acid in animals[J]. Feed Research, 2022, 45(10): 146-150. [朱滔, 王国英, 王根虎. 丁酸在动物体内的代谢、作用机理及生理作用[J]. 饲料研究, 2022, 45(10): 146-150.]
- [21] Kim H, Jang J H, Jung I Y, et al. Novel genetically engineered probiotics for targeted elimination of *Pseudomonas aeruginosa* in intestinal colonization[J]. Biomedicine, 2023, 11(10): 2645.
- [22] Ma J, Shah A M, Wang Z S, et al. Comparing the gastrointestinal barrier function between growth-retarded and normal yaks on the Qinghai-Tibetan Plateau[J]. PeerJ, 2020, 8: e9851.
- [23] Leng X J. Research and application of yeast culture in aquatic feeds[J]. Feed Industry, 2023, 44(22): 1-7. [冷向军. 酵母培养物在水产饲料中的研究与应用[J]. 饲料工业, 2023, 44(22): 1-7.]
- [24] Liao C Q, Zhou X H, Xu Y Q, et al. Origin, mechanism and application of yeast cell wall in animal culture[J]. China Feed, 2024(7): 168-172. [廖灿青, 周小辉, 徐云强, 等. 酵母细胞壁来源、作用机理及在动物养殖中的应用[J]. 中国饲料, 2024(7): 168-172.]
- [25] Zhu Z M, Zhu W M, Lan H B, et al. Research development of *Saccharomyces cerevisiae*: Nutritional manipulation and application in aqua feed[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2014, 26(12): 3550-3560. [朱志明, 朱旺明, 蓝汉冰, 等. 酿酒酵母营养调控功能及其在水产饲料中的应用研究进展[J]. 动物营养学报, 2014, 26(12): 3550-3560.]
- [26] Thuekeaw S, Angkanaporn K, Nuengjamnong C. Microencapsulated basil oil (*Ocimum basilicum* Linn.) enhances growth performance, intestinal morphology, and antioxidant capacity of broiler chickens in the tropics[J]. Animal Bioscience, 2022, 35(5): 752-762.
- [27] Zhai S W, Shi Q C, Chen X H. Effect of dietary antimicrobial peptides-surfactin supplementation on parameters of intestinal health indices of genetically improved farmed tilapia(GIFT, *Oreochromis niloticus*)[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2016, 40(4): 823-829. [翟少伟, 史庆超, 陈学豪. 饲料中添加抗菌肽 Surfactin 对吉富罗非鱼肠道健康的影响[J]. 水生生物学报, 2016, 40(4): 823-829.]
- [28] Zhang Y W, Guo S N. Research progress on the effects of natural polysaccharides on inflammatory bowel diseases[J]. Guangdong Journal of Animal and Veterinary Science, 2024, 49(2): 46-51. [张樱文, 郭世宁. 天然多糖对炎症性肠炎作用的研究进展[J]. 广东畜牧兽医科技, 2024, 49(2): 46-51.]
- [29] Yao W Z, Kong Q H, You L J, et al. Polysaccharides from brown seaweed: Physicochemical properties, absorption in the intestine, and beneficial effects on intestinal barrier[J]. Food Frontiers, 2023, 4(4):
- [30] Guo X B, Chen J, Yang J, et al. Seaweed polysaccharide mitigates intestinal barrier dysfunction induced by enterotoxigenic *Escherichia coli* through NF-κB pathway suppression in porcine intestinal epithelial cells[J]. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 2021, 105(6): 1063-1074.

- [31] Nguyen T T T, Nguyen H T, Wang P C, et al. Identification and expression analysis of two pro-inflammatory cytokines, TNF- α and IL-8, in cobia (*Rachycentron canadum* L.) in response to *Streptococcus dysgalactiae* infection[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2017, 67: 159-171.
- [32] Zou J, Secombes C J. The function of fish cytokines[J]. Biology, 2016, 5(2): 23.
- [33] da Costa Maranduba C M, De Castro S B R, de Souza G T, et al. Intestinal microbiota as modulators of the immune system and neuroimmune system: Impact on the host health and homeostasis[J]. Journal of Immunology Research, 2015, 2015(1): 931574.
- [34] Wu Z M, Zhang T, Ma X F, et al. Recent advances in anti-inflammatory active components and action mechanisms of natural medicines[J]. Inflammopharmacology, 2023, 31(6): 2901-2937.
- [35] Zhang Z, Ran C, Ding Q W, et al. Ability of prebiotic polysaccharides to activate a HIF1 α -antimicrobial peptide axis determines liver injury risk in zebrafish[J]. Communications Biology, 2019, 2: 274.
- [36] Khorshidian N, Khanniri E, Koushki M R, et al. An overview of antimicrobial activity of lysozyme and its functionality in cheese[J]. Frontiers in Nutrition, 2022, 9: 833618.

Effects of dietary seaweed polysaccharides on growth and intestinal health of juvenile *Micropterus salmoides*

LI Hongwei, ZHOU Meng, SUN Miao, DONG Yewei, YOU Cuihong*

College of Animal Sciences and Technology, Innovative Institute of Animal Healthy breeding, Zhongkai University of Agriculture and Engineering, Guangzhou 510225, China

Abstract: To explore the effects of dietary seaweed polysaccharides (Algaevita 913) on the growth and intestinal health in fish, this study added 0‰, 1‰, 2‰ and 3‰ seaweed polysaccharides (D0–D3) to the commercial feed of largemouth bass (*Micropterus salmoides*) and set up a positive control with 2‰ yeast cell wall (D4). The five diets were used to feed the juvenile *M. salmoides* for 8 weeks. The results showed that the weight gain rate (WGR) and specific growth rate (SGR) in group D2 were the highest, which were significantly higher than those in the control group (D0) and D4 ($P<0.05$). Moreover, the feed conversion ratio (FCR), hepatosomatic index, and viscerosomatic index were significantly lower in D2 than in D0 ($P<0.05$). There was no significant difference in the whole fish body composition and digestive enzyme activity in the foregut of each group ($P>0.05$). The integrity of the foregut villi in D2 and D3 was better than that in D0, and the thickness of the muscle layer and the number of goblet cells in D2 were significantly higher than those in D0 ($P<0.05$). The lysozyme (LZM) activity in both D2 and D3 and catalase (CAT) activity in both D1 and D2 were significantly higher than those in D0 in the foregut ($P<0.05$). The expression levels of *zo-1*, occludin, mucin-2, *tlr4*, *hif*, and *il-10* mRNA in the foregut of fish in D2 and D3 were increased ($P<0.05$), while the expression levels of *il-1 β* and *il-6* in D1–D4 and *nf-kb* mRNA in D2 significantly decreased ($P<0.05$). The composition of short-chain fatty acids in the intestinal contents showed that the contents of isobutyric acid in D3 and acetic acid in D4 were significantly higher than those in D0 ($P<0.05$). In terms of the intestinal microbiota structure, D0, D1, and D3 were clustered together, while D2 and D4 were highly similar based on the PCoA analysis. In D2 and D4, the abundance of *Pseudomonas* and *Cetobacterium* significantly decreased while the abundance of *Ralstonia* and *Pantoea* significantly increased ($P<0.05$). The content of potential pathogenic bacteria in D1 was significantly lower than that in D0 ($P<0.05$). The above results showed that adding 2‰ seaweed polysaccharides to the feed could improve the growth performance, intestinal villi integrity, intestinal immunity, antioxidant capacity, and improve the intestinal microbial structure, which was beneficial to intestinal health. For the WGR, SGR, and FCR, the optimum levels of seaweed polysaccharides in the feed of largemouth bass juveniles are 1.76‰, 1.77‰, and 1.74‰, respectively.

Key words: *Micropterus salmoides*; seaweed polysaccharides; growth performance; intestinal health

Corresponding author: YOU Cuihong. E-mail: youcuihong@zhku.edu.cn