

Ai Y R, Hu Y, Zhang J Z, *et al.* Sodium butyrate addition to low fishmeal diets on growth performance, serum immunity, and intestinal health of catfish *Pelteobagrus fulvidraco* [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2025, 49(11): 102509. [艾业睿, 胡毅, 张俊智, 等. 低鱼粉饲料中添加丁酸钠对黄颡鱼生长性能、血清免疫及肠道健康的影响 [J]. 水生生物学报, 2025, 49(11): 102509.]

低鱼粉饲料中添加丁酸钠对黄颡鱼生长性能、血清免疫及肠道健康的影响

艾业睿¹ 胡毅¹ 张俊智¹ 蔡明浪¹ 王绍¹ 常翠维² 谢永宏³ 钟蕾¹

(1. 湖南农业大学水产学院, 长沙 410128; 2. 湖南普菲克生物科技有限公司, 长沙 410153; 3. 中国科学院亚热带农业生态研究所, 亚热带农业生态过程重点实验室, 洞庭湖湿地生态系统观测研究站, 长沙 410125)

摘要: 实验旨在探究饲料中添加不同浓度丁酸钠对黄颡鱼(*Pelteobagrus fulvidraco*)生长性能、血清生化指标、肠道抗氧化和消化酶的影响。实验设置含20%鱼粉和0棉籽蛋白饲料为高鱼粉饲料组(正对照组), 含18.4%棉籽蛋白和10%鱼粉饲料为低鱼粉饲料组(负对照组), 在低鱼粉饲料基础上分别添加0.1%和0.15%的丁酸钠, 通过调整鸡肉粉、猪肉粉、玉米蛋白粉和豆粕含量制成4组等氮等脂的实验饲料。选取初始体重为11 g的黄颡鱼, 将其随机划分成4个组, 每组设置3个重复, 且每个重复中饲养40尾黄颡鱼, 并分别投喂4种试验饲料, 试验期为56d。结果表明: 与高鱼粉组相比, 低鱼粉组黄颡鱼的末均重、增重率、碱性磷酸酶(AKP)、脂肪酶(LPS)、超氧化物歧化酶(SOD)活性、抗炎因子*IL-10*表达和肠道绒毛的长度及假单胞菌属和甲基杆菌属含量均显著下降($P<0.05$), 而血清中谷丙转氨酶(GPT)、谷草转氨酶(GOT)和肠道丙二醛(MDA)的含量显著上升($P<0.05$), 肠道促炎因子*TNF- α* 、促凋亡基因*P53*和*Caspase-3*表达显著上调($P<0.05$), 肠道中厚壁菌门的水平显著上升($P<0.05$)。在低鱼粉的饲料里添加丁酸钠之后, 与低鱼粉组相比, 黄颡鱼的末均重和增重率均呈现出显著升高的态势($P<0.05$), 添加0.10%丁酸钠组的黄颡鱼血清谷丙转氨酶(GPT)和谷草转氨酶(GOT)含量显著下降($P<0.05$), 而碱性磷酸酶(AKP)、酸性磷酸酶(ACP)和尿素氮(BUN)的水平显著上升($P<0.05$), 添加丁酸钠组的LPS、AMS和SOD水平均会显著性提升($P<0.05$), MDA水平显著降低($P<0.05$), 添加0.15%丁酸钠组的过氧化氢酶(CAT)含量显著升高($P<0.05$)。添加丁酸钠组*TNF- α* 、*P53*和*Caspase-3*的表达下调($P<0.05$), *IL-10*和*Occludin*的表达显著上调($P<0.05$), 肠道绒毛高度显著提高($P<0.05$), 0.15%丁酸钠组显著降低肠道假单胞菌属的水平($P<0.05$)。由此可见, 饲料中添加适量丁酸钠可显著提高黄颡鱼生长性能, 提高肠道抗氧化能力并缓解肠道炎症的发生, 增加肠道绒毛高度, 抑制有害菌群的增殖, 从而维护肠道菌群的稳态。

关键词: 丁酸钠; 生长; 肠道; 抗氧化; 菌群; 黄颡鱼

中图分类号: S965.1 文献标识码: A 文章编号: 1000-3207(2025)11-102509-12

doi: 10.3724/1000-3207.2025.2025.0009 CSTR: 32229.14.SSSWXB.2025.0009



鱼粉是水产养殖中重要的饲料蛋白质来源, 其氨基酸种类齐全, 富含维生素、矿物质、必需脂肪酸等鱼类生长发育所需物质, 且有较好的适口性和消化率^[1]。但近年来水产养殖业的快速发展及鱼粉价格不断攀升导致饲料成本不断增加, 鸡肉粉和猪肉粉等动物蛋白成本较高, 使得植物蛋白替代鱼粉

成为新的发展趋势。国内玉米和豆粕产量难以满足水产饲料行业不断增长的生产需要, 这也导致价格逐年上涨, 考虑到水产养殖业的可持续发展及对低成本膳食配方的需求, 挖掘利用更经济的蛋白质来源成为亟待解决的问题。研究表明鸡肉粉替代40%鱼粉不会对凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)

收稿日期: 2025-01-07; 修订日期: 2025-04-16

基金项目: 湖南省揭榜挂帅项目: 洞庭湖总磷污染防治关键技术研究及示范(2024QK3001)资助 [Supported by the Research and Demonstration of Key Technologies for the Prevention and Control of Total Phosphorus Pollution in Dongting Lake (2024QK3001)]

作者简介: 艾业睿(2000—), 男, 硕士研究生; 研究方向为水产动物营养与饲料。E-mail: 2109937234@qq.com

通信作者: 钟蕾, 教授, 博士生导师; E-mail: zhonglei-5@163.com

生长及体组成产生显著影响^[2], Zhang等^[3]对鲤的研究表明, 当肉粉替代 20% 的鱼粉, 其生长性能没有显著差异。用 21% 的豆粕替代平绸(*Rhabdosargus sarba*)饲料中 25% 的鱼粉对鱼生长无显著影响^[4]。因此, 少量减少鸡肉粉、猪肉粉和豆粕的含量对鱼体生长无显著性影响。棉籽蛋白是由棉籽经过剥绒、剥壳, 在低温下一次性浸油、沥干后再经过脱除有毒物质后制成的高蛋白质产品, 不溶性纤维大部分被脱除, 游离棉酚含量降低, 且拥有较为均衡的氨基酸比例^[5]。棉籽蛋白可部分替代鱼粉不会影响鱼类生长性能, 但摄食高棉籽蛋白饲料严重损伤肠黏膜, 降低肠道消化酶活性和营养物质消化吸收能力, 最终影响鱼类生长性能^[6-8]。研究表明, 日粮中棉籽蛋白替代比为 14.4% 时, 大口黑鲈的增重率和特定生长率显著下降, 替代比例为 18.61% 时, 下调肠道紧密连接蛋白基因 *Claudin-1* 的表达水平^[9, 10]。因此, 寻求缓解高棉籽蛋白造成负面影响的营养策略迫在眉睫。短链脂肪酸(Short Chain Fatty Acids, SCFAs)可影响机体的生理功能, 能促进和维持肠道健康, 参与免疫调节。SCFAs 通过为肠道提供能源和作为肠道微生物组与免疫系统之间通信的中介, 产生的信号通过游离脂肪酸受体在免疫细胞中转移, 通过 G 蛋白偶联受体(GPCRs)的活化从而导致细胞增殖或分化激活相关的肠道免疫反应, 从而调节肠道稳态^[11]。丁酸被认定为是厌氧细菌在发酵碳水化合物过程中所产生的短链脂肪酸之一^[12, 13]。丁酸钠(Sodium butyrate)是一种有机化合物, 外观为白色或类白色粉末, 有特殊奶酪酸败样的脂臭味, 有吸湿性, 易溶于水和乙醇, 可以在动物肠道内形成丁酸。已有研究表明, 在饲料中添加丁酸钠提高了水产动物的生长性能^[14, 15]和抗氧化能力^[16]、刺激消化酶分泌^[17, 18], 提高肠绒毛高度^[19]和肠道微生物组成^[20]。

黄颡鱼(*Pelteobagrus fulvidraco*), 鲶形目、鲶科、黄颡鱼属, 其肉质鲜美, 营养价值高, 是我国重要的经济杂食性淡水鱼。黄颡鱼上关于丁酸的应用还较少。因此, 本次实验通过棉籽蛋白替代鱼粉饲料中添加丁酸钠, 研究其对黄颡鱼生长性能、血清免疫及肠道健康的影响, 来探究其能否缓解高棉籽蛋白饲料对鱼类造成的负面问题, 进而为丁酸钠在水产配合饲料中的应用提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

50% 饲料级丁酸钠由湖南普菲克生物科技有限公司提供, 试验所用的黄颡鱼购自西洞庭鱼苗场。

1.2 试验饲料

基础饲料组成及营养水平见表 1。根据黄颡鱼商品饲料的配比, 以鱼粉、鸡肉粉、猪肉粉、玉米蛋白粉、棉籽蛋白和豆粕作为主要蛋白来源, 以鱼油和大豆油作为主要脂肪来源。设置含 20% 鱼粉和 0 棉籽蛋白饲料为高鱼粉饲料组(正对照组), 含 18.4% 棉籽蛋白和 10% 鱼粉饲料为低鱼粉饲料组(负对照组), 在低鱼粉饲料组基础上分别添加 0.1% 和 0.15% 的丁酸钠, 通过调整鸡肉粉、猪肉粉、玉米

表 1 基础饲料组成及营养水平(% , 干物质基础)

Tab. 1 Composition and nutrient levels of basal diet (% , dry matter basis)

原料Ingredient	组别Group			
	D1	D2	D3	D4
鱼粉Fish meal	20.00	10.00	10.00	10.00
鸡肉粉Poultry by-product meal	13.00	12.00	12.00	12.00
猪肉粉Pork meat powder	10.00	8.00	8.00	8.00
玉米蛋白粉Corn gluten meal	4.00	3.50	3.50	3.50
棉籽蛋白Cottonseed protein	0.00	18.40	18.40	18.40
豆粕Soybean meal	20.00	14.00	14.00	14.00
面粉Wheat flour	19.00	24.00	24.00	24.00
微晶纤维素Microcrystalline cellulose	7.96	2.36	2.26	2.21
鱼油Fish oil	0.00	0.95	0.95	0.95
大豆油Soybean oil	3.00	3.00	3.00	3.00
磷酸二氢钙Ca(H ₂ PO ₄) ₂	1.50	2.00	2.00	2.00
预混料Vitamin and mineral premix ¹	1.00	1.00	1.00	1.00
赖氨酸Lysine	0.00	0.10	0.10	0.10
蛋氨酸Methionine	0.00	0.15	0.15	0.15
丁酸钠 Sodium butyrate	0.00	0.00	0.10	0.15
胆碱Choline	0.50	0.50	0.50	0.50
抗氧化剂Antioxidant ²	0.01	0.01	0.01	0.01
防霉剂Mould inhibitor ³	0.03	0.03	0.03	0.03
合计Total	100.00	100.00	100.00	100.00
营养成分Nutrient level ⁴				
粗蛋白质Crude protein	40.03	40.20	40.62	40.57
粗脂肪Crude lipid	9.87	9.28	9.12	9.68
灰分Ash	8.93	8.90	8.82	8.68

注: ¹预混料为每千克饲料提供Premix provides the following per kg of the diet: VA 150000 IU; VD₃ 110,000 IU; VE 4000 mg; VK₃ 4000 mg. VB₁ 800 mg; VB₂ 1450 mg; VB₆ 2500 mg; VB₁₂ 3 mg; VC、VC 16000 mg; 泛酸 D 钙 1250 mg; 烟酰胺 8000 mg; 叶酸 250 mg。叶酸 250 mg; D-生物素 10 mg; 肌醇 6000 mg; Magnesium 6000 mg; Zinc 4300 mg; Manganese 650 mg; Copper 410 mg; Ferrous 5900 mg; Cobalt 100 mg; Iodine 75 mg; Selenium 25 mg; 水分<10%; 载体: 沸石粉、马铃薯糠;²抗氧化剂主要成分是乙氧基喹啉The main component of antioxidant is ethoxyquinoline;³防霉剂主要成分是丙酸钙The main component of mould inhibitor is calcium propionate;⁴营养水平为测定值Nutritional levels are measured values

蛋白粉和豆粕含量制成4组等氮等脂的实验饲料, 标记为D1、D2、D3和D4。将饲料原料进行粉碎处理, 并过60目筛。将各饲料原料充分混合均匀, 再加入一定比例鱼油、豆油和蒸馏水在V型搅拌机中充分混匀, 最后利用膨化机挤压制成直径为2.0 mm的膨化饲料。

1.3 养殖管理

养殖实验在湖南省常德市西洞庭实验基地开展, 网箱尺寸为1.50 m×2.00 m×1.00 m。将黄颡鱼暂养2周, 期间投喂高鱼粉组饲料(对照组)。在正式实验前, 禁食24h, 挑选初始体重处于(11.00±0.03) g的黄颡鱼, 并随机分成4组, 每组3个重复, 共12个网箱, 每网箱饲养40尾黄颡鱼。在实验期间, 每日投喂2次(4:00—5:00, 19:00—20:00), 投喂量为鱼体重的3.00%—5.00%, 每3日调整1次投喂量, 养殖周期为8周。为了确保水质稳定, 实验期间每周监测水体的氨氮、pH、溶解氧和温度等指标。养殖期间平均水温(31.20±4.65)℃、氨氮含量小于0.05 mg/L、亚硝酸盐含量小于0.01 mg/L、pH 7.8—8.2。

1.4 样品收集

在养殖实验结束后需停食24h。每个网箱记录黄颡鱼的数量和总重用于计算存活率、饲料系数、增重率。每组重复中随机选取4尾黄颡鱼, 测体长、体重、内脏重和肝重, 用于计算肝体比、脏体比和肥满度。选择3尾全鱼, -20℃冰箱保存, 用于体成分测定。再随机选取5尾进行尾静脉采血, 在4℃环境中将血液静置12h, 以3500 r/min的速度离心10min, 取上清液, 置于-80℃保存待测。随机挑选6尾, 其中3尾肠道组织用多聚甲醛进行固定, 另外3尾肠道组织及内容物存于1.5 mL无酶离心管并置于-80℃保存待测。

1.5 指标测定

饲料营养成分分析 依据AOAC (1984)的方法检测饲料里各营养成分含量。水分含量以105℃烘干并达到干燥恒重的方法来确定, 粗蛋白质通过凯氏定氮法测定, 测定粗脂肪通过索氏抽提法测定, 粗灰分含量则采用550℃高温马弗炉灰化法测定。

生长性能及形体指标

成活率(%)=(末个体数/初个体数)×100;

增重率(%)=[(末均重(g)-初均重(g))/初均重(g)]×100;

特定生长率(%/d)=100×[(Ln末均重-Ln初均重)/养殖天数];

饲料系数(FCR)=总投饲量(g)/[终总重(g)-初总重(g)+死亡个体重(g)];

肝体比(HSI)=100×肝脏总重(g)/试验鱼体重(g);

脏体比(VSI)=100×内脏团重(g)/试验鱼体重(g);
肥满度(CF, g/cm³)=100×终末鱼重(g)/鱼体长³(cm³);

血清生化及免疫指标 血清生化指标与免疫指标的检测均借助试剂盒(南京建成生物工程研究所)完成。测定指标: 甘油三酯(TG)、谷丙转氨酶(GPT)、谷草转氨酶(GOT)、碱性磷酸酶(AKP)、酸性磷酸酶(ACP)及尿素氮(BUN)。

肠道抗氧化和消化酶指标 取出样本后在冰盒上解冻, 样本取出复融后, 以1:9的比例加入生理盐水匀浆。匀浆后低温超速离心取上清进行指标的测定。指标使用南京建成生物工程研究所的试剂盒检测, 操作过程参照试剂盒说明书。测定指标: 总蛋白含量(TP)、淀粉酶(AMS)、脂肪酶(LPS)、超氧化物歧化酶(SOD)活性、过氧化氢酶(CAT)及丙二醛(MDA)。

采用南京建成生物工程研究所试剂盒进行测定, 计算公式:

$$\text{蛋白浓度}(\mu\text{g/mL}) = \frac{\text{测定OD值} - \text{空白OD值}}{\text{标准OD值} - \text{空白OD值}} \times \text{标准品浓度}(0.563 \mu\text{g/mL}) \times \text{稀释倍数}$$

$$\text{MDA含量}(\text{nmol/mg prot}) = \frac{\text{测定OD值} - \text{对照OD值}}{\text{标准OD值} - \text{空白OD值}} \times \text{标准品浓度}(10 \text{ nmol/mL}) \div \frac{\text{待测样本蛋白浓度}(\text{mg prot/mL})}{\text{反应液体积}(\text{mL})}$$

$$\text{总SOD活力}(\text{U/mg prot}) = \frac{\text{对照OD值} - \text{测定OD值}}{\text{对照OD值}} \div 50\% \times \frac{\text{反应液体积}(\text{mL})}{\text{取样量}(\text{mL})} \div \frac{\text{待测样本蛋白浓度}(\text{mg prot/mL})}{\text{反应液体积}(\text{mL})}$$

$$\text{CAT活力}(\text{U/mg prot}) = (\text{对照OD值} - \text{测定OD值}) \times 271 \times \frac{1}{60 \times \text{取样量}} \div \frac{\text{待测样本蛋白浓度}(\text{mg prot/mL})}{\text{反应液体积}(\text{mL})}$$

$$\text{AMS活力}(\text{U/mg prot}) = \frac{\text{空白吸光度} - \text{测量吸光度}}{\text{空白吸光度}} \times \frac{\text{底物浓度} \times \text{底物体积}}{10} \times \frac{30}{7.5 \text{ min}} \div \frac{\text{待测样本蛋白浓度}(\text{mg prot/mL})}{\text{反应液体积}(\text{mL})}$$

$$\text{LPS活力}(\text{U/mg prot}) = \frac{\text{样本吸光度} - \text{空白吸光度}}{\text{标准吸光度} - \text{空白吸光度}} \times \frac{\text{标准液浓度}}{\text{待测样本蛋白浓度}(\text{mg prot/mL})}$$

肠道组织结构观察 取出固定液中的肠道组织, 乙醇梯度脱水, 石蜡包埋, 组织切片机切片, 苏木素和伊红染色(HE染色), 中性树胶封片。光镜

下观察,并拍照。之后使用Image-Pro Plus 6软件对每个切片进行观测,选取6根肠道绒毛,测量绒毛长度、宽度、肌层厚度,计算肠道结构变化情况。

肠道基因相关表达 RNA提取检测及cDNA的合成均参照试验室前期试验步骤进行^[21]。用Primer Premier 5软件设计特异性引物,由擎科生物有限公司合成。BIO-RADCFX96™ Real-Time System为本实验使用的荧光定量PCR仪,荧光定量PCR反应根据MonAmp™ Fast SYBR® Green qPCR Mix试剂盒进行。反应程序:设置95℃,30s预变性;40个循环(95℃,5s;58℃,30s)扩增;终止反应。 β -肌动蛋白为内参基因(β -actin)作为本实验内参,每个待测样品设3个技术重复,使用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法测定目的基因的相对表达量。基因引物序列详见表2。

肠道菌群分析 将存放在-80℃环境下的装有肠道内容物的离心管取出,并送至测序平台进行分析。针对下机数据,首先,使用FLASH 1.2.7软件对样品数据进行拼接和过滤,以获取高质量的标签数据。接着,按照QIIME流程对这些标签数据进行质量控制,以获得有效数据,并通过Uparse 7.0.1001软件进行聚类分析,以97%的一致性标准把序列聚类为可操作分类单元(OUT)。在此基础上,针对OUT开展诸如Chao1、Observed、Shannon等多种多样性指数分析及Alpha多样性指数组间差异分析。上述相关工作均委托给上海派森诺生物科技股份有限公司来完成。

1.6 数据统计

实验结果采用SPSS 18.0软件进行统计分析,先进行单因素方差分析(ANOVA),当组间差异显著时用Tukey检验进行多重比较。当 $P<0.05$ 时,认为差异显著,数据以“平均值±标准误”表示。

表2 qPCR的引物设计

Tab. 2 Primer sequences for qPCR

基因名称 Gene name	序列 Sequence (5'—3')
β -actin	TTCGCTGGAGATGATGCT CGTGCTCAATGGGGTACT
TNF- α	ATAACCCACGCCTATGACTG GGCTATGACTCGCAACACTT
IL-10	TCCTGCTTTCTTTGCTGACA GAATAGTGCGGTGTCCAGGT
Occludin	AGGAGGCTATGGCTCAAACA CAAGGACAGAATCGCACAGA
P53	TGGGAAAACGAAGAGCAAAT ATCGGAGGTGACAGGGACA
Caspase-3	CTCATTTGTTTGC GTTTC CACTGGGATTTTCATCGAATTATCT

2 结果

2.1 低鱼粉饲料添加丁酸钠对黄颡鱼生长性能和形体指标的影响

由表3可知,与高鱼粉组相比,低鱼粉组黄颡鱼的末均重及增重率均显著下降($P<0.05$),而在添加丁酸钠之后,黄颡鱼的末均重和增重率显著提高($P<0.05$)。添加丁酸钠对黄颡鱼的特定生长率、饲料系数、存活率、肝体比和脏体比无显著性影响($P>0.05$)。

2.2 低鱼粉饲料添加丁酸钠对黄颡鱼体成分的影响

由表4可知,饲料中添加丁酸钠对黄颡鱼体成分无显著性影响($P>0.05$)。

2.3 低鱼粉饲料添加丁酸钠对黄颡鱼血清生化和免疫指标的影响

由表5可知,与高鱼粉组相比,低鱼粉组黄颡鱼血清中谷丙转氨酶(GPT)和谷草转氨酶(GOT)的含量显著上升($P<0.05$)。与低鱼粉组相比,添加0.10%丁酸钠的黄颡鱼血清GPT和GOT含量显著下降($P<0.05$),而碱性磷酸酶(AKP)、酸性磷酸酶(ACP)和

表3 饲料添加丁酸钠对黄颡鱼生长性能和形体指标的影响

Tab. 3 Effects of sodium butyrate on growth performance and body indexes of *Pelteobagrus fulvidraco*

项目Item	组别Group			
	D1	D2	D3	D4
初均重IBM (g)	11.01±0.20	10.86±0.24	11.11±0.12	10.72±0.05
末均重FBW (g)	54.83±0.83 ^b	51.33±1.00 ^a	52.23±0.16 ^{ab}	53.62±0.98 ^{ab}
增重率WGR (%)	427.48±15.83 ^b	378.39±5.56 ^a	419.69±18.85 ^b	410.76±7.79 ^b
特定生长率SGR (%/d)	2.89±0.09	2.79±0.02	2.85±0.11	2.87±0.04
饲料系数FCR	1.26±0.09	1.33±0.02	1.27±0.09	1.26±0.03
存活率SR (%)	81.25±3.75	91.25±6.25	87.50±2.50	86.25±3.75
肝体比HSI	2.68±0.21	2.88±0.07	2.56±0.13	2.79±0.26
脏体比VSI	21.52±0.41	20.77±1.87	21.72±0.48	19.63±1.01
肥满度CF (g/cm ³)	1.28±0.22 ^a	1.75±0.01 ^b	1.46±0.19 ^{ab}	1.73±0.06 ^b

表4 饲料添加丁酸钠对黄颡鱼体成分的影响(干物质)

Tab. 4 Effect of sodium butyrate on body composition of *Pelteobagrus fulvidraco* (dry matter)

项目Item (%)	组别Group			
	D1	D2	D3	D4
粗蛋白质 Crude protein	51.01±0.20	50.66±0.36	51.45±0.64	50.47±1.01
粗脂肪 Crude lipid	31.35±1.48	30.92±1.06	31.55±1.41	31.32±0.08
水分Moisture	73.38±0.37	73.43±0.40	72.47±0.91	71.55±2.27
灰分Ash	13.70±0.64	13.02±0.51	13.53±0.57	12.86±0.56

尿素氮(BUN)的水平显著上升($P<0.05$),且在丁酸钠添加量在0.1%时, GOT和ACP与高鱼粉组无显著性差异($P>0.05$)。

2.4 低鱼粉饲料添加丁酸钠对黄颡鱼肠道抗氧化和消化酶指标的影响

由表6可知,与高鱼粉组相比,低鱼粉组脂肪酶(LPS)和超氧化物歧化酶(SOD)活性显著降低($P<0.05$),而丙二醛(MDA)含量显著上升($P<0.05$)。与低鱼粉组相比,添加丁酸钠均会显著性提升LPS、淀粉酶(AMS)和SOD活性($P<0.05$),而MDA水平显著降低($P<0.05$)。

2.5 低鱼粉饲料添加丁酸钠对黄颡鱼肠道基因表达的影响

如图1所示,与高鱼粉组相比,低鱼粉组黄颡鱼促炎因子 $TNF-\alpha$ 、促凋亡基因 $P53$ 和 $Caspase-3$ 表达显著上调($P<0.05$),而抗炎因子 $IL-10$ 表达显著降低($P<0.05$)。与低鱼粉组相比,添加丁酸钠 $TNF-\alpha$ 、 $P53$ 和 $Caspase-3$ 的表达均显著下调($P<0.05$),而 $IL-10$ 和肠道紧密结合蛋白相关基因 $Occludin$ 显著上调($P<0.05$)。

2.6 黄颡鱼肠道切片

由图2可知,高鱼粉组肠道组织结构完整;低

鱼粉组部分绒毛脱落;添加丁酸钠组肠绒毛形态正常。由表7可知,与高鱼粉组相比,低鱼粉组黄颡鱼肠道绒毛的高度显著降低($P<0.05$),添加丁酸钠后显著提高($P<0.05$)。丁酸钠添加对黄颡鱼中肠的绒

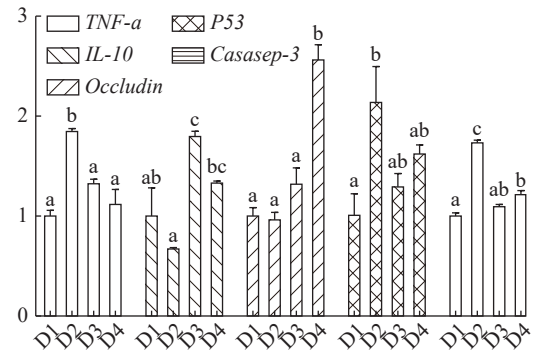


图1 黄颡鱼肠道基因表达

Fig. 1 Intestinal gene expression in *Pelteobagrus fulvidraco*

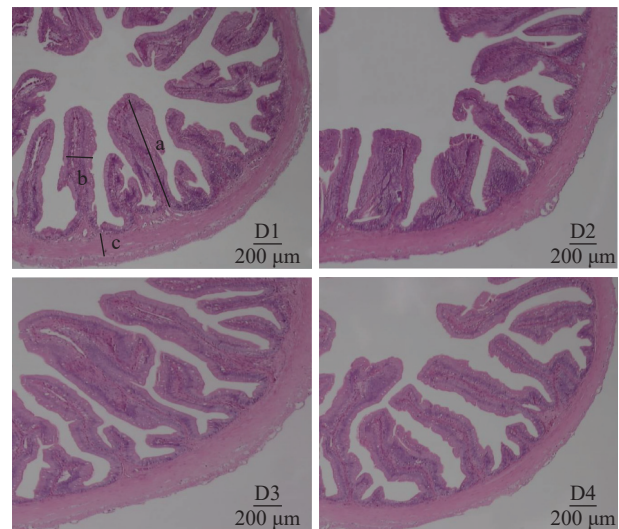


图2 黄颡鱼肠道形态

Fig. 2 Intestinal morphology of *Pelteobagrus fulvidraco*

a、b、c分别为肠道绒毛高度, 绒毛宽度和肌层厚度

a, b, and c represent intestinal villus length, villus width, and muscularis propria thickness, respectively

表5 饲料添加丁酸钠对黄颡鱼血清生化和免疫指标的影响

Tab. 5 Effects of dietary sodium butyrate on serum biochemical and immune markers of *Pelteobagrus fulvidraco*

项目Item	组别Group			
	D1	D2	D3	D4
谷丙转氨酶GPT (U/L)	2.87±0.33 ^a	6.83±0.27 ^c	4.54±0.23 ^b	6.03±0.45 ^c
谷草转氨酶GOT (U/L)	74.51±4.03 ^a	90.37±6.20 ^b	73.74±2.09 ^a	86.27±2.60 ^{ab}
酸性磷酸酶ACP (U/mg protein)	98.77±6.28 ^b	75.64±1.15 ^{ab}	101.74±11.87 ^b	66.41±3.74 ^a
碱性磷酸酶AKP (U/mg protein)	4.83±0.75 ^a	4.20±0.22 ^a	7.34±0.51 ^b	5.90±0.88 ^{ab}
甘油三酯TG (mmol/L)	4.35±0.25	4.25±0.32	4.84±0.03	4.29±0.11
尿素氮BUN (mmol/L)	0.58±0.00 ^a	0.59±0.02 ^a	1.06±0.06 ^b	0.53±0.02 ^a

表6 饲料添加丁酸钠对黄颡鱼肠道抗氧化和消化酶指标的影响

Tab. 6 Effects of dietary sodium butyrate on intestinal antioxidant and digestive enzyme indexes of *Pelteobagrus fulvidraco*

项目Item	组别Group			
	D1	D2	D3	D4
脂肪酶LPS (U/mg protein)	10.59±0.88 ^b	7.67±0.31 ^a	14.43±0.39 ^c	15.48±0.81 ^c
淀粉酶AMS (U/mg protein)	0.68±0.05 ^a	0.66±0.04 ^a	1.50±0.02 ^b	1.47±0.04 ^b
超氧化物歧化酶SOD (U/mg protein)	37.22±0.24 ^d	24.22±0.77 ^a	26.64±0.04 ^b	32.98±0.39 ^c
丙二醛MDA (mmol/mg protein)	3.70±0.39 ^{ab}	5.67±0.05 ^c	4.32±0.04 ^b	3.34±0.03 ^a
过氧化氢酶CAT (U/mg protein)	83.10±0.33 ^d	42.66±0.55 ^b	40.72±0.26 ^a	47.87±1.38 ^c

表7 丁酸钠对黄颡鱼肠道绒毛高度、绒毛宽度及肌层厚度的影响

Tab. 7 Effect of sodium butyrate on the height and width of intestinal villi, and thickness of muscularis propria in *Pelteobagrus fulvidraco*

项目Item (μm)	组别Group			
	D1	D2	D3	D4
绒毛高度Villus height	286.05±10.95 ^b	213.62±5.50 ^a	313.3±13.90 ^b	284.02±4.03 ^b
绒毛宽度Villus width	61.26±1.19	59.03±0.22	58.43±1.84	61.61±1.08
肌层厚度Muscular thickness	64.58±1.48	64.09±0.90	62.88±2.63	63.46±0.69

毛宽度和肌层厚度无显著性影响($P>0.05$)。

2.7 低鱼粉饲料添加丁酸钠对黄颡鱼肠道菌群多样性分析

由图 3 可知, Chao1 指数和 Observed 观测数结果显示黄颡鱼菌群丰富度有下降的趋势但无显著性差异($P>0.05$); Shannon 指数观测结果说明添加丁酸钠对肠道菌群多样性无显著性影响($P>0.05$)。高鱼粉组、低鱼粉组、0.1% 丁酸钠组和 0.15% 丁酸钠组共有 OUT 为 94 个, 高鱼粉组特有 OUT 为 1210 个, 低鱼粉组特有 OUT 为 903 个, 0.10% 丁酸钠 D3 组特有 OUT 为 727 个, 0.15% 丁酸钠 D4 组特有 OUT 为 921 个。

2.8 低鱼粉饲料添加丁酸钠对黄颡鱼肠道菌群结构组成的影响

由图 4a 可知, 基于门水平的肠道微生物群落物种丰度分析丰度最高的 4 个菌门依次是变形菌门(Proteobacteria)、放线菌门(Actinobacteria)、厚壁菌门(Firmicutes)、拟杆菌门(Bacteroidetes)。由表 8 可知, 低鱼粉组与高鱼粉组相比较, 变形菌门的水平显著降低($P<0.05$), 而厚壁菌门的水平显著上升($P<0.05$)。与低鱼粉组相比, 添加丁酸钠的变形菌

门的水平显著上升($P<0.05$), 而厚壁菌门水平显著降低($P<0.05$)。

由图 4b 可知, 基于属水平的肠道微生物群落物种丰度分析丰度最高的 4 个菌属依次是假单胞菌属(*Pseudomonas*)、分枝杆菌属(*Mycobacterium*)、棒形杆菌属(*Clavibacter*)、甲基杆菌属(*Methylobacterium*)。由表 9 可知, 低鱼粉组与高鱼粉组相比, 假单胞菌属和甲基杆菌属含量显著降低($P<0.05$)。与低鱼粉相比, 0.10% 丁酸钠的假单胞菌属显著上升($P<0.05$), 而 0.15% 丁酸钠组显著降低($P<0.05$)。

3 讨论

3.1 低鱼粉饲料添加丁酸钠对黄颡鱼生长性能的影响

在本实验中, 高棉籽蛋白低鱼粉组黄颡鱼生长性能降低。这与石斑鱼^[22]、大黄鱼(*Larimichthys crocea*)^[23]和牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)^[24]结果相同。棉籽蛋白中未除去的游离棉酚等有毒物质会被动物吸收沉积, 诱发鱼类肠道炎症^[25]。低鱼粉饲料中存在缺乏某些功能性物质及营养成分不平衡等问

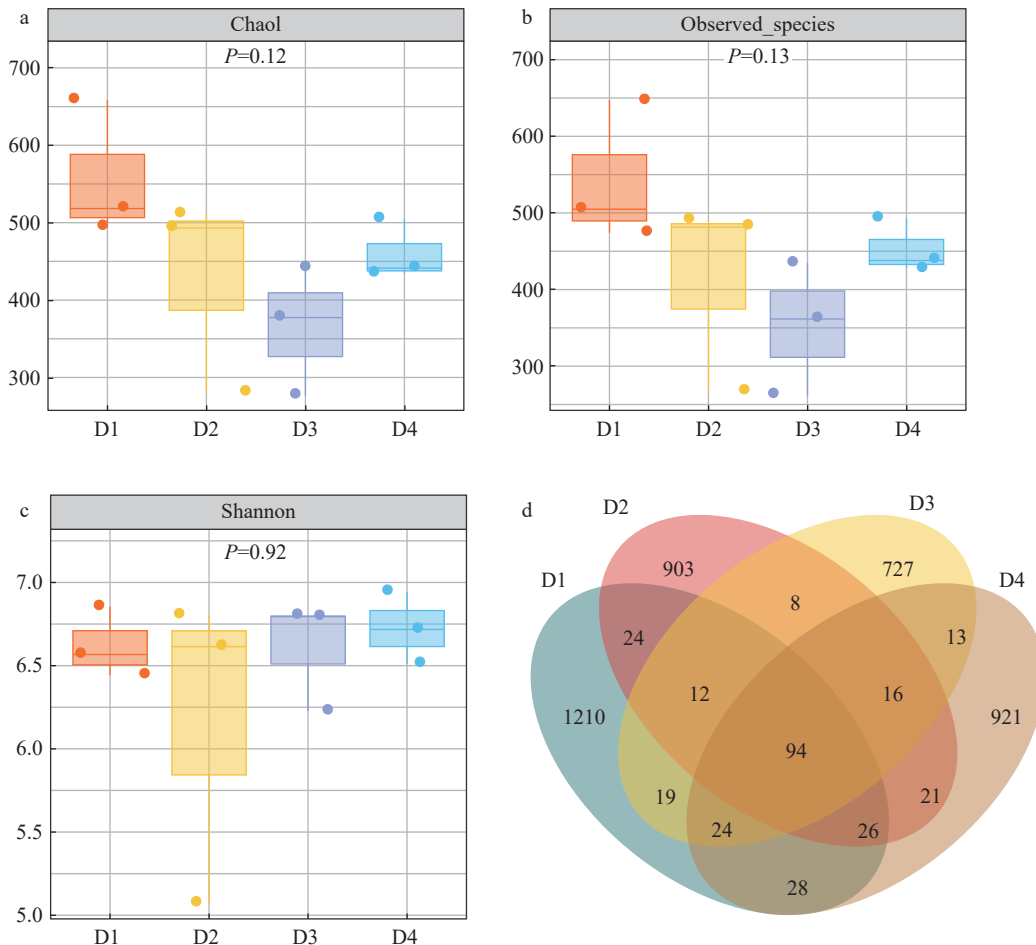


图 3 肠道菌群阿尔法(Alpha)多样性和肠道微生物分类OUT的venn图

Fig. 3 Alpha diversity of intestinal flora of *Pelteobagrus fulvidraco* in different treatments

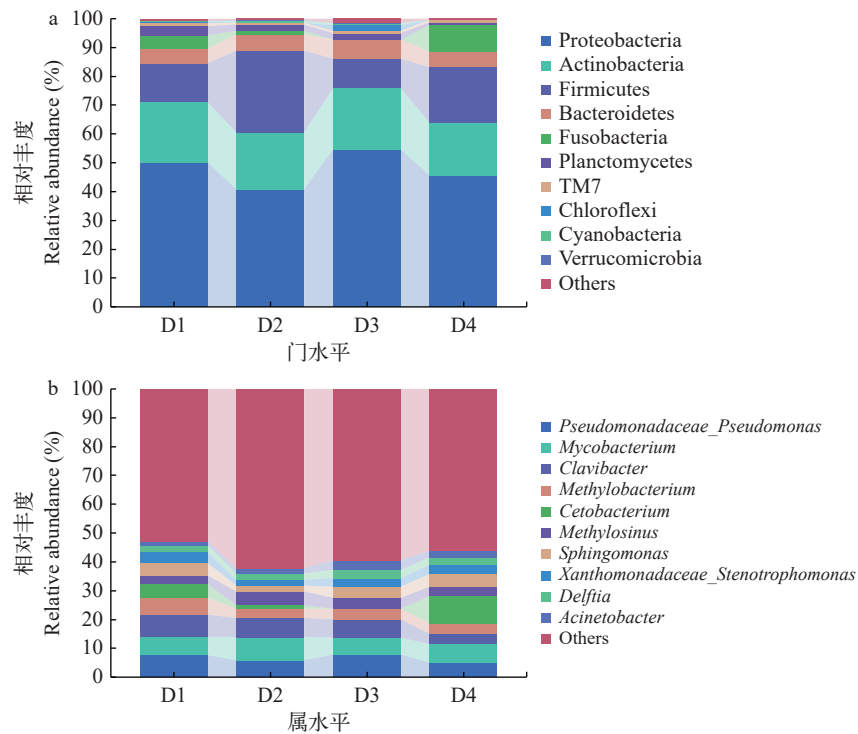


图 4 黄颡鱼肠道菌群门水平和属水平结构组成

Fig. 4 Structural composition of intestinal flora of *Pelteobagrus fulvidraco* at phylum and genus level

表 8 黄颡鱼肠道菌群门水平丰度前4结构组成

Tab. 8 Top 4 structural components of gut microbiota phylum abundance at the portal level in *Pelteobagrus fulvidraco* (%)

项目Item	组别Group			
	D1	D2	D3	D4
变形菌门	50.13±	40.82±	54.65±	45.65±
Proteobacteria	3.55 ^{ab}	3.54 ^a	3.48 ^b	3.26 ^{ab}
放线菌门	21.02±	19.54±	21.20±	18.32±
Actinobacteria	3.09	2.57	2.18	1.19
厚壁菌门	13.33±	22.37±	10.31±	19.12±
Firmicutes	0.90 ^{ab}	1.62 ^c	0.70 ^a	3.13 ^b
拟杆菌门	5.02±	5.68±	6.57±	5.40±
Bacteroidetes	0.43	0.46	0.51	1.00

表 9 黄颡鱼肠道菌群属水平丰度前4结构组成

Tab. 9 Top 4 structural components of gut microbiota abundance at the genus level in *Pelteobagrus fulvidraco* (%)

项目Item	组别Group			
	D1	D2	D3	D4
假单胞菌属	7.75±	5.90±	7.89±	4.98±
<i>Pseudomonas</i>	0.28 ^c	0.31 ^{ab}	1.24 ^c	0.38 ^a
分枝杆菌属	6.09±	7.99±	5.80±	6.55±
<i>Mycobacterium</i>	1.04	1.97	0.30	1.71
棒形杆菌属	7.84±	6.55±	6.36±	3.61±
<i>Clavibacter</i>	1.34	0.84	1.68	0.98
甲基杆菌属	6.37±	3.19±	3.64±	3.64±
<i>Methylobacterium</i>	0.51 ^b	0.58 ^a	0.46 ^a	0.77 ^a

题^[26, 27], 会导致鱼类消化吸收率降低及生长性能下降等问题。添加丁酸钠黄颡鱼的增重率显著上升。研究表明, 在饲料中添加丁酸钠可以提高罗非鱼、大菱鲂(*Scophthalmus maximus*)^[28]和尖吻鲈(*Lateolabrax*)^[29]的生长性能。丁酸钠可为肠上皮细胞提供能量, 提高肠道绒毛长度、宽度和肌层厚度, 并刺激肠道内相关酶的产生来改善肠道消化和吸收^[30]。肠道微绒毛的扩张和肠绒毛高度和宽度的增加可以增强肠道的吸收面积, 提高营养吸收效率^[31]。在本实验中, 低鱼粉组肠道绒毛高度显著降低。这与棉籽蛋白过量替代鱼粉导致石斑鱼肠道受损的研究结果一致^[22]。添加丁酸钠提高了黄颡鱼肠道绒毛高度。此前试验证明, 在低鱼粉日粮中添加0.20%丁酸钠, 能维持鲈肠道的正常形态^[32], 增加了鲈肠道绒毛的长度和密度^[33]。鱼类消化吸收受消化酶活性的影响。本实验结果表明, 低鱼粉组中脂肪酶的活性受到抑制, 这与在大黄鱼的研究结果一致^[34], 表明饲料中过量添加棉籽蛋白会改变肠道消化酶的活性, 影响肠道消化功能。在本实验中, 黄颡鱼脂肪酶和淀粉酶活性在饲料中添加丁酸钠显著增加。与在尖吻鲈^[25]、草鱼^[18]和卵形鲳鲹(*Rachinotus ovatus*)^[20]肠道消化酶也显著上升, 这可能是丁酸钠促进黄颡鱼生长的重要原因之一。

3.2 低鱼粉饲料添加丁酸钠对黄颡鱼血清生化和免疫指标的影响

碱性磷酸酶(AKP)对机体的免疫系统有着重大意义, 能破坏并清理侵入机体的异物, 酸性磷酸酶(ACP)是溶酶体的一种标志酶, 参与吞噬细胞的胞内消化和胞饮作用和蛋白质的代谢、免疫调节、

信号传导等重要生命活动,在免疫防御反应和细胞损伤与修复过程中发挥重要作用。在本实验中,低鱼粉组与高鱼粉组相比ACP显著降低。这和使用棉粕替代鱼粉的饲料投喂乌苏里鲶的结果一致^[35]。可能是高水平的棉籽蛋白替代鱼粉时,游离棉酚对鱼体产生损伤,引起水生动物非特异性免疫力的下降^[36]。本实验表明,添加0.1%丁酸钠组与低鱼粉组相比,血清AKP和ACP显著升高。这与在凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)^[37]和黄颡鱼^[38]的结果相似。血清中GOT和GPT是鱼体中2种重要的转氨酶。肝细胞受损会使血清中GOT和GPT活性升高,血清中2种酶活性可作为评价肝脏功能损伤程度的重要指标^[39, 40]。本研究显示,低鱼粉与高鱼粉相比,血清GOT和GPT活性上升。这与Liu等^[41]在虹鳟幼鱼的结果一致。这可能是高棉籽蛋白替代鱼粉组使肝脏组织出现胶原沉积,发展为肝纤维,肝脏持续性慢性损伤^[10]。本研究显示,丁酸钠添加组与低鱼粉组相比,血清GOT和GPT活性显著降低,与此前对黄颡鱼和草鱼研究一致^[42]。由此推测饲料添加丁酸钠有助于保护黄颡鱼肝脏功能和提高血清非特异性免疫。

3.3 低鱼粉饲料添加丁酸钠对黄颡鱼肠道抗氧化指标的影响

超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)在机体抗氧化中起关键作用,可清除活性氧(ROS)来保护生物免受氧化损伤^[43]。丙二醇(MDA)是由自由基引发脂质过氧化反应产生的,其能间接反映机体损伤程度与抗氧化能力,含量越高表明机体受到的损害越厉害^[44]。本实验发现,高水平棉籽蛋白替代鱼粉时,黄颡鱼抗氧化能力均显著性下降。这与Yin等^[45]使用浓缩棉籽蛋白替代鱼粉的饲料投喂石斑鱼的结果一致。这可能是棉籽蛋白中的游离棉酚引发氧化应激反应,导致抗氧化酶活性降低,诱导机体产生过量的超氧阴离子^[46]。本实验发现,在低鱼粉组中添加丁酸钠,肠道SOD和CAT活性均显著提高,MDA含量显著降低。与在美洲鳗鲡(*Anguilla japonica*)^[47]和虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)^[48]的结果一致。由此可见,丁酸钠能够凭借对自身抗氧化能力的调节,强化机体清除自由基的效能,进而降低组织与细胞所遭受的损伤。

3.4 低鱼粉饲料添加丁酸钠对黄颡鱼肠道基因表达的影响

机体通过调节抗炎因子(如IL-10)或促炎因子(如TNF- α)的产生来维持炎症反应的平衡,从而减少对组织和器官的损害^[49]。本研究发现,棉籽蛋白替代鱼粉后黄颡鱼肠道促炎因子TNF- α 显著上升并

且抗炎因子IL-10显著下降。已有研究表明,棉籽蛋白高比例替代饲料鱼粉会导致虹鳟、大口黑鲈等肉食性鱼类肠道促炎因子(TNF- α)表达量的显著升高^[41, 50]。在本实验中,肠道TNF- α 基因的表达在添加适量的丁酸钠后显著下调,同时也上调了抗炎细胞因子IL-10基因表达。这与丁酸钠在鲤肠道^[18]的结果一致。这表明丁酸钠能够缓解鱼类肠道炎症反应,可能与丁酸钠通过抑制NF- κ B-P65炎症信号通路,一定程度上起到保护肠黏膜的作用。紧密连接蛋白在维持肠上皮屏障功能中发挥重要作用^[51],其中Occludin等^[52]相互作用形成强交联,与细胞内信号蛋白共同激活相关通路以维持屏障完整性。本研究发现,棉籽蛋白替代鱼粉后,黄颡鱼肠道Occludin基因表达下调,与棉籽蛋白替代鱼粉时,会显著降低大口黑鲈肠道紧密结合蛋白基因相对表达量^[53]的结果相似。高水平棉籽蛋白使肠道屏障受损,有害细菌和其他有害物质进入肠道细胞,这可能引起肠道炎症加重。本实验表明,添加适宜量的丁酸钠上调了Occludin基因表达。与草鱼幼鱼^[54]结果一致。这可能是丁酸钠在肠道内产生的丁酸修复肠道损伤,减缓肠道炎症。Caspase-3在线粒体途径中能够介导细胞凋亡^[55],本研究发现,饲料中添加丁酸钠后显著降低了黄颡鱼Caspase-3基因表达,表明丁酸钠能够抑制鱼类肠道细胞凋亡^[56]。

3.5 低鱼粉饲料添加丁酸钠对黄颡鱼肠道菌群结构组成的影响

微生物在肠道内富集与肠道互作而形成共生关系,并形成稳定的微生物群落^[57]。肠道微生物具有促进肠道消化吸收营养物质的作用,还具有促进免疫系统发育和调节的作用^[58]。高棉籽蛋白替代鱼粉会影响肠道微生物的组成和多样性。但Jesus等^[28]发现罗非鱼肠道菌群的丰度不能在饲料添加300 mg/kg的丁酸钠时提高,这可能与丁酸钠对肠道菌群丰度的影响存在剂量反应效应有关。本实验结果可知添加丁酸钠后变形菌门、放线菌门、厚壁菌门为优势种。与在断奶羔羊料中添加丁酸钠后,发现空肠中厚壁菌门、放线菌门、拟杆菌门是优势种^[59]一致。假单胞菌为革兰氏阴性杆菌,假单胞菌属中的一些种是宿主受到胁迫时引起疾病的条件致病菌,对罗氏沼虾(*Macrobrachium rosenbergii*)有毒害作用^[60]。本实验结果显示,在10%鱼粉组中添加0.15%丁酸钠可显著降低假单胞菌属的水平,丁酸钠可能对防治假单胞菌有影响。石泽^[61]研究发现,在饲料中添加有机酸盐可造成饲料中pH在一定程度上变化,而饲料pH可能影响肠道pH来影响菌群变化,抑制有害菌的繁殖,这可能是丁酸

钠对肠道菌群产生影响的原因之一。

4 结论

在本实验条件下,棉籽蛋白高水平替代鱼粉使黄颡鱼生长性能、血清免疫和肠道抗氧化能力降低,肠道炎症加重;添加丁酸钠能提高黄颡鱼的生长性能,增强抗氧化和免疫能力,改善肠道组织形态,调节肠道微生物组成。

(作者声明本文符合出版伦理要求)

参考文献:

- [1] Lu D J. Function and evaluation of fish meal in aquatic feed [J]. *Chinese Journal of Animal Husbandry and Veterinary Medicine*, 2019(8): 161. [路典敬. 鱼粉在水产饲料中的作用与评价 [J]. 畜牧兽医科技信息, 2019(8): 161.]
- [2] Qiu H, Li Y, Hou Y M, *et al.* Effects of partial replacement of fish meal by poultry by-product meal or pork meat powder on growth performance, feed utilization and serum biochemical indexes of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2015, **27**(9): 2784-2792. [邱红, 李弋, 侯迎梅, 等. 鸡肉粉或猪肉粉部分替代鱼粉对凡纳滨对虾生长性能、饲料利用及血清生化指标的影响 [J]. 动物营养学报, 2015, **27**(9): 2784-2792.]
- [3] Zhang C, Mai K, Ai Q, *et al.* Dietary phosphorus requirement of juvenile Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus* [J]. *Aquaculture*, 2006, **255**(1/2/3/4): 201-209.
- [4] Fowler L G. Poultry by-product meal as a dietary protein source in fall Chinook salmon diets [J]. *Aquaculture*, 1991, **99**(3/4): 309-321.
- [5] Kumar M, Tomar M, Punia S, *et al.* Cottonseed: a sustainable contributor to global protein requirements [J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2021(111): 100-113.
- [6] He T. Study on the application of low-gossypol cottonseed meal in laying hen diets [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2016: 53-56. [何涛. 脱酚棉籽蛋白对鸡蛋品质的影响及其机理 [D]. 北京: 中国农业科学院, 2016: 53-56.]
- [7] Shen J F, Liu H Y, Tan B P, *et al.* Effects of replacement of fishmeal with cottonseed protein concentrate on the growth, intestinal microflora, haematological and antioxidant indices of juvenile golden pompano (*Trachinotus ovatus*) [J]. *Aquaculture Nutrition*, 2020, **26**(4): 1119-1130.
- [8] Li M, Chen B, Peng K, *et al.* Effects of cottonseed protein on growth performance, serum biochemical indices, antioxidant enzyme activities, and intestinal and hepatic morphology and structure of American black bass (*Micropterus salmoides*) [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2024, **36**(12): 7915-7929. [李敏, 陈冰, 彭凯, 等. 棉籽蛋白对大口黑鲈生长性能、血清生化指标、抗氧化酶活性及肠道和肝脏形态结构的影响 [J]. 动物营养学报, 2024, **36**(12): 7915-7929.]
- [9] Zhou X M, He G L, Xu Z C, *et al.* Effects of cottonseed protein source on growth, body composition and health of *Micropterus salmoides* [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2021, **45**(10): 1703-1714. [周兴梅, 何光伦, 许志城, 等. 棉籽蛋白源对大口黑鲈生长、体组成及健康的影响 [J]. 水产学报, 2021, **45**(10): 1703-1714.]
- [10] Sun H, Tang J W, Yao X H, *et al.* Partial substitution of fish meal with fermented cottonseed meal in juvenile black sea bream (*Acanthopagrus schlegelii*) diets [J]. *Aquaculture*, 2015(446): 30-36.
- [11] Zheng H L, Sun J H, Cui P, *et al.* Research and application progress of short chain fatty acids in aquaculture [J]. *China Feed*, 2024(1): 108-112. [郑海玲, 孙金辉, 崔培, 等. 短链脂肪酸在水产养殖中的应用研究进展 [J]. 中国饲料, 2024(1): 108-112.]
- [12] Ng W K, Koh C B. The utilization and mode of action of organic acids in the feeds of cultured aquatic animals [J]. *Reviews in Aquaculture*, 2017, **9**(4): 342-368.
- [13] Bedford A, Gong J. Implications of butyrate and its derivatives for gut health and animal production [J]. *Animal Nutrition*, 2018, **4**(2): 151-159.
- [14] Hamer H M, Jonkers D, Venema K, *et al.* Review article: the role of butyrate on colonic function [J]. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 2008, **27**(2): 104-119.
- [15] Monier M N, Abd El-Naby A S, Samir F, *et al.* Positive effects of dietary nanosized sodium butyrate on growth performance, immune, antioxidant indices, and resistance of Nile Tilapia to waterborne copper toxicity [J]. *Aquaculture Reports*, 2022(26): 101323.
- [16] Wang C Q, Li B S, Sun Y Z, *et al.* Effects of coated sodium butyrate on growth performance, digestive capacity, antioxidant capacity and related gene mRNA expression of large-size sea cucumber (*Apostichopus japonicus*) [J]. *Journal of Guangdong Ocean University*, 2023, **43**(6): 28-36. [王成强, 李宝山, 孙永智, 等. 包膜丁酸钠对大规格刺参生长性能、消化、抗氧化和相关基因表达的影响 [J]. 广东海洋大学学报, 2023, **43**(6): 28-36.]
- [17] Ke L, Qin Y, Song T, *et al.* Dietary sodium butyrate administration alleviates high soybean meal-induced growth retardation and enteritis of orange-spotted groupers (*Epinephelus coioides*) [J]. *Frontiers in Marine Science*, 2022(9): 1029397.
- [18] Tian L, Zhou X Q, Jiang W D, *et al.* Sodium butyrate improved intestinal immune function associated with NF- κ B and p38MAPK signalling pathways in young grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2017(66): 548-563.
- [19] Lin X, Zhang C, Cao K, *et al.* Dietary sodium butyrate changed intestinal histology and microbiota of rainbow

- trout (*Oncorhynchus mykiss*), but did not promote growth and nutrient utilization [J]. *Aquaculture Nutrition*, 2023, **2023**(1): 3706109.
- [20] Zhou C, Lin H, Huang Z, *et al.* Effect of dietary sodium butyrate on growth performance, enzyme activities and intestinal proliferation-related gene expression of juvenile golden pompano *Trachinotus ovatus* [J]. *Aquaculture Nutrition*, 2019, **25**(6): 1261-1271.
- [21] Tong Z F, Ge L R, Hu Y Z *et al.* Cloning and tissue expression analysis of *MHC II α* gene cDNA in Chinese soft-shelled turtle (*Pelodiscus sinensis*) [J]. *Progress in Fishery Sciences*, 2021, **42**(6): 102-108. [童正飞, 葛玲瑞, 胡亚洲, 等. 中华鳖*MHC II α* 基因cDNA的克隆及组织表达分析 [J]. 渔业科学进展, 2021, **42**(6): 102-108.]
- [22] Chen G, Yin B, Liu H, *et al.* Effects of fishmeal replacement with cottonseed protein concentrate on growth, digestive proteinase, intestinal morphology and microflora in pearl gentian grouper (φ *Epinephelus fuscoguttatus* $\times$ σ *Epinephelus lanceolatus*) [J]. *Aquaculture Research*, 2020, **51**(7): 2870-2884.
- [23] Gatlin III D M, Barrows F T, Brown P, *et al.* Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: a review [J]. *Aquaculture Research*, 2007, **38**(6): 551-579.
- [24] Wang P, Zhou Q, Feng J, *et al.* Effect of dietary fermented soybean meal on growth, intestinal morphology and microbiota in juvenile large yellow croaker, *Larimichthys crocea* [J]. *Aquaculture Research*, 2019, **50**(3): 748-757.
- [25] Aalamifar H, Soltanian S, Vazirzadeh A, *et al.* Dietary butyric acid improved growth, digestive enzyme activities and humoral immune parameters in Barramundi (*Lates calcarifer*) [J]. *Aquaculture Nutrition*, 2020, **26**(1): 156-164.
- [26] Jannathulla R, Rajaram V, Kalanjiam R, *et al.* Fishmeal availability in the scenarios of climate change: Inevitability of fishmeal replacement in aquafeeds and approaches for the utilization of plant protein sources [J]. *Aquaculture Research*, 2019, **50**(12): 3493-3506.
- [27] Wu K L, Gong Y Y, Yu K, *et al.* Research progress of taurine application in low-fishmeal aquatic feed [J]. *Feed Research*, 2024, **47**(16): 177-181. [吴坤岚, 龚洋洋, 于凯, 等. 牛磺酸在低鱼粉水产饲料中的应用研究进展 [J]. 饲料研究, 2024, **47**(16): 177-181.]
- [28] Jesus G F A, Pereira S A, Owatari M S, *et al.* Protected forms of sodium butyrate improve the growth and health of Nile *Tilapia* fingerlings during sexual reversion [J]. *Aquaculture*, 2019(499): 119-127.
- [29] Liu Y, Chen Z, Dai J, *et al.* Sodium butyrate supplementation in high-soybean meal diets for turbot (*Scophthalmus maximus* L.): Effects on inflammatory status, mucosal barriers and microbiota in the intestine [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2019(88): 65-75.
- [30] Li X, He J H, Pan C M, *et al.* Research progress on effects of sodium butyrate on intestinal digestion and absorption of fish [J]. *China Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2022, **49**(1): 131-139. [李祥, 何金环, 潘春梅, 等. 丁酸钠对鱼类肠道消化吸收的影响研究进展 [J]. 中国畜牧兽医, 2022, **49**(1): 131-139.]
- [31] Dawood M A O, Eweedah N M, Elbially Z I, *et al.* Dietary sodium butyrate ameliorated the blood stress biomarkers, heat shock proteins, and immune response of Nile *Tilapia* (*Oreochromis niloticus*) exposed to heat stress [J]. *Journal of Thermal Biology*, 2020(88): 102500.
- [32] Rimoldi S, Finzi G, Ceccotti C, *et al.* Butyrate and taurine exert a mitigating effect on the inflamed distal intestine of European sea bass fed with a high percentage of soybean meal [J]. *Fisheries and Aquatic Sciences*, 2016(19): 40.
- [33] Abdel-Mohsen H H, Wassef E A, El-Bermawy N M, *et al.* Advantageous effects of dietary butyrate on growth, immunity response, intestinal microbiota and histomorphology of European Seabass (*Dicentrarchus labrax*) fry [J]. *Egyptian Journal of Aquatic Biology and Fisheries*, 2018, **22**(4): 93-110.
- [34] Tian S, Wu Y, Yuan J, *et al.* Replacement of dietary fishmeal by cottonseed protein concentrate on growth performance, feed utilization and protein metabolism of large yellow croaker *Larimichthys crocea* [J]. *Aquaculture Reports*, 2022(26): 101313.
- [35] Bu X, Chen A, Lian X, *et al.* An evaluation of replacing fish meal with cottonseed meal in the diet of juvenile Ussuri catfish *Pseudobagrus ussuriensis*: Growth, antioxidant capacity, nonspecific immunity and resistance to *Aeromonas hydrophila* [J]. *Aquaculture*, 2017(479): 829-837.
- [36] Yin B, Liu H, Tan B, *et al.* Preliminary study of mechanisms of intestinal inflammation induced by plant proteins in juvenile hybrid groupers (φ *Epinephelus fuscoguttatus* $\times$ σ *E. lanceolatus*) [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2020(106): 341-356.
- [37] Zhang X X, Wang D, Tian X L, *et al.* Effects of coated sodium butyrate on growth performance and serum non-specific immunity enzymes of *Litopenaeus vannamei* [J]. *Periodical of Ocean University of China*, 2017, **47**(S1): 27-34. [张晓晓, 汪多, 田相利, 等. 包膜丁酸钠对凡纳滨对虾生长和血清非特异性免疫酶活性的影响 [J]. 中国海洋大学学报(自然科学版), 2017, **47**(S1): 27-34.]
- [38] Wang H R, Hu J R, Zhao H X, *et al.* Effects of dietary sodium butyrate on non-specific immune, antioxidant indices and intestinal mucosal morphology of juvenile yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*) [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2021, **33**(9): 5379-5390. [王海瑞, 胡俊茹, 赵红霞, 等. 饲料中添加丁酸钠对黄颡鱼幼鱼非特异性免疫、抗氧化指标及肠道黏膜形态的影响 [J]. 动物营养学报, 2021, **33**(9): 5379-5390.]
- [39] Hoseini S M, Taheri Mirghaed A, Iri Y, *et al.* Effects of

- dietary cineole administration on growth performance, hematological and biochemical parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *Aquaculture*, 2018(495): 766-772.
- [40] Suárez M D, Trenzado C E, García-Gallego M, *et al.* Interaction of dietary energy levels and culture density on growth performance and metabolic and oxidative status of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *Aquacultural Engineering*, 2015(67): 59-66.
- [41] Liu Y, Ma S, Lv W, *et al.* Effects of replacing fishmeal with cottonseed protein concentrate on growth performance, blood metabolites, and the intestinal health of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *Frontiers in Immunology*, 2022(13): 1079677.
- [42] Zhao H, Peng K, Wang G, *et al.* Metabolic changes, antioxidant status, immune response and resistance to ammonia stress in juvenile yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*) fed diet supplemented with sodium butyrate [J]. *Aquaculture*, 2021(536): 736441.
- [43] Bagnyukova T V, Storey K B, Lushchak V I. Induction of oxidative stress in *Rana ridibunda* during recovery from winter hibernation [J]. *Journal of Thermal Biology*, 2003, **28**(1): 21-28.
- [44] Martínez-Alvarez R M, Hidalgo M C, Domezain A, *et al.* Physiological changes of sturgeon *Acipenser naccarii* caused by increasing environmental salinity [J]. *The Journal of Experimental Biology*, 2002, **205**(23): 3699-3706.
- [45] Yin B, Liu H, Tan B, *et al.* Cottonseed protein concentrate (CPC) suppresses immune function in different intestinal segments of hybrid grouper ♀ *Epinephelus fuscoguttatus* × ♂ *Epinephelus lanceolatus* via TLR-2/MyD88 signaling pathways [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2018(81): 318-328.
- [46] Li M, Lyu D, Chen B, *et al.* Research progress on the nutritional value of cottonseed protein and its application in animal feed [J]. *China Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2024, **51**(9): 3867-3877. [李敏, 吕旦, 陈冰, 等. 棉籽蛋白的营养价值及其在动物饲料中的应用研究进展 [J]. 中国畜牧兽医, 2024, **51**(9): 3867-3877.]
- [47] Zhang S L, Chang J B, Ye J D, *et al.* Effects of sodium butyrate on feeding, growth performance and antioxidant capacity of *Anguilla rostrata* [J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2011, **26**(4): 549-551. [张淞琳, 常建波, 叶继丹, 等. 丁酸钠对美洲鳗鲡摄食、生长性能和抗氧化能力的影响 [J]. 福建农业学报, 2011, **26**(4): 549-551.]
- [48] Mirghaied A T, Yarahmadi P, Soltani M, *et al.* Dietary sodium butyrate (Butirex® C4) supplementation modulates intestinal transcriptomic responses and augments disease resistance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2019(92): 621-628.
- [49] Wang T, Secombes C J. The cytokine networks of adaptive immunity in fish [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2013, **35**(6): 1703-1718.
- [50] Li L, Liu X, Wang Y, *et al.* Effects of alternate feeding between fish meal and novel protein diets on the intestinal health of juvenile largemouth bass (*Micropterus salmoides*) [J]. *Aquaculture Reports*, 2022(23): 101023.
- [51] Paradis T, Bègue H, Basmaciyan L, *et al.* Tight junctions as a key for pathogens invasion in intestinal epithelial cells [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, **22**(5): 2506.
- [52] Chelakkot C, Ghim J, Ryu S H. Mechanisms regulating intestinal barrier integrity and its pathological implications [J]. *Experimental & Molecular Medicine*, 2018, **50**(8): 1-9.
- [53] He G, Zhang T, Zhou X, *et al.* Effects of cottonseed protein concentrate on growth performance, hepatic function and intestinal health in juvenile largemouth bass, *Micropterus salmoides* [J]. *Aquaculture Reports*, 2022(23): 101052.
- [54] Wu P, Tian L, Zhou X Q, *et al.* Sodium butyrate enhanced physical barrier function referring to Nrf2, JNK and MLCK signaling pathways in the intestine of young grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2018(73): 121-132.
- [55] Edelstein C L. Mammalian target of rapamycin and caspase inhibitors in polycystic kidney disease [J]. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 2008, **3**(4): 1219-1226.
- [56] Cummings J H, MacFarlane G T. Role of intestinal bacteria in nutrient metabolism [J]. *Clinical Nutrition*, 1997, **16**(1): 3-11.
- [57] Gao Q X, Wu T X, Wang J B. Advance in research on symbiotic relationship between intestinal bacterial and their host [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2010, **22**(3): 519-526. [高权新, 吴天星, 王进波. 肠道微生物与寄主的共生关系研究进展 [J]. 动物营养学报, 2010, **22**(3): 519-526.]
- [58] Chen X, Yi H, Liu S, *et al.* Probiotics improve eating disorders in mandarin fish (*Siniperca chuatsi*) induced by a pellet feed diet via stimulating immunity and regulating gut microbiota [J]. *Microorganisms*, 2021, **9**(6): 1288.
- [59] Zuo L J. Effects of sodium butyrate on growth performance, gastrointestinal development and intestinal microorganism of weaned lambs [D]. Daqing: Heilongjiang Bayi Agricultural University, 2020: 36-55. [左丽君. 丁酸钠对断奶羔羊生长性能、胃肠道发育及肠道微生物的影响 [D]. 大庆: 黑龙江八一农垦大学, 2020: 36-55.]
- [60] Ramalingam K, Ramarani S. Effect of *Pseudomonas aeruginosa* on the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*-histopathological and electron microscopic study [J]. *Journal of Environmental Biology*, 2007, **28**(3): 627-635.
- [61] Shi Z. Effects of proteases and organic acids on the

growth and nutrient utilization of allogynogenetic silver crucian carp (*Carassius auratus gibelio*) and Jian carp

(*Cyprinus carpio* var. Jian) [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2016.

SODIUM BUTYRATE ADDITION TO LOW FISHMEAL DIETS ON GROWTH PERFORMANCE, SERUM IMMUNITY, AND INTESTINAL HEALTH OF CATFISH *PELTEOBAGRUS FULVIDRACO*

AI Ye-Rui¹, HU Yi¹, ZHANG Jun-Zhi¹, CAI Ming-Lang¹, WANG Shao¹, CHANG Cui-Wei²,
XIE Yong-Hong³ and ZHONG Lei¹

(1. College of Aquatic Sciences, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China; 2. Perfly-Bio, Changsha 410153, China;
3. Dongting Lake Station for Wetland Ecosystem Research, Key Laboratory of Agro-ecological Processes in Subtropical Region, Institute of Subtropical Agriculture, Chinese Academy of Sciences, Changsha 410125, China)

Abstract: The experiment was designed to investigate the effects of sodium butyrate addition at different concentrations to the feed on growth performance, serum biochemical indices, intestinal antioxidant, and digestive enzymes in *Pelteobagrus fulvidraco*. A high-fishmeal diet (20% fishmeal and 0 cottonseed protein; positive control) and a low-fishmeal diet (10% fishmeal, 18.4% cottonseed protein; negative control) were formulated. Sodium butyrate was added to the low fishmeal diet group at 0.1% and 0.15%, respectively, resulting in four isonitrogenous and isofat experimental feeds by adjusting chicken meal, pork meal, maize protein meal, and soya bean meal. *Pelteobagrus fulvidraco* with an initial weight of 11 g was selected and randomly divided into four groups with three replicates (40 fish/replicate) and fed diets for a period of 56d. The results showed that compared with the high fishmeal group, the average final weight, weight gain rate, alkaline phosphatase (AKP), lipase (LPS), superoxide dismutase (SOD) activity, expression of the anti-inflammatory factor *IL-10*, and the length of intestinal villi, as well as the contents of *Pseudomonas* spp. and *Methylobacillus* spp. of *Pelteobagrus fulvidraco* in the low-fishmeal group were all significantly decreased ($P<0.05$), whereas serum ghrelin transaminase (GPT), ghrelintransaminase (GOT), and intestinal malondialdehyde (MDA) levels were significantly increased ($P<0.05$), the expression of intestinal pro-inflammatory factor *TNF- α* , pro-apoptotic genes *P53*, and *Caspase-3* was significantly up-regulated ($P<0.05$), and the level of *Pseudomonas* spp. and *Methylobacillus* spp. in the intestines was significantly increased ($P<0.05$). After the addition of sodium butyrate to the feed with low fishmeal, the final mean weight as well as the weight gain rate showed a significant increase ($P<0.05$) compared to the low fishmeal group. The serum glutamate transaminase (GPT) and glutamate oxaloacetate transaminase (GOT) levels of *Pelteobagrus fulvidraco* in the group with 0.10% sodium butyrate were significantly decreased ($P<0.05$), whereas the serum levels of alkaline phosphatase (AKP), acid phosphatase (ACP), and urea nitrogen (BUN) levels were significantly increased ($P<0.05$), LPS, AMS, and SOD levels were significantly elevated ($P<0.05$) and MDA levels were significantly decreased ($P<0.05$) in the group supplemented with sodium butyrate, and peroxidase (CAT) content was significantly elevated ($P<0.05$) in the group supplemented with 0.15% sodium butyrate. The expression of *TNF- α* , *P53*, and *Caspase-3* was down-regulated ($P<0.05$), the expression of *IL-10* and *Occludin* was significantly up-regulated ($P<0.05$), the height of intestinal villi was significantly increased ($P<0.05$) in the group of added sodium butyrate, and the level of *Pseudomonas* spp. in the intestines was significantly reduced ($P<0.05$) in the group of 0.15% sodium butyrate. In conclusion, dietary sodium butyrate supplementation improve growth performance, enhance intestinal antioxidant capacity, alleviate intestinal inflammation, promote villi development, and suppress harmful flora microbiota in *Pelteobagrus fulvidraco*, thereby maintaining the homeostasis of the intestinal flora.

Key words: Sodium butyrate; Growth; Intestine; Antioxidant; Bacterial flora; *Pelteobagrus fulvidraco*