

Jiang Y T, Zhao S S, Zhao B, et al. *Clostridium butyricum* on high temperature tolerance of juvenile *Acrossocheilus fasciatus* [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2026, 50(1): 012617. [江彦霆, 赵姗姗, 赵波, 等. 丁酸梭菌对光唇鱼幼鱼耐高温能力的影响 [J]. 水生生物学报, 2026, 50(1): 012617.]

丁酸梭菌对光唇鱼幼鱼耐高温能力的影响

江彦霆 赵姗姗 赵波 代小新 李海东 储张杰 高阳

(浙江海洋大学水产学院, 舟山 316022)

摘要: 研究旨在探讨丁酸梭菌(*Clostridium butyricum*)作为饲料添加剂对高温胁迫下光唇鱼(*Acrossocheilus fasciatus*)生理机制的影响, 试验设置4组, 分别在普通饲料中添加 0 、 5×10^7 、 5×10^8 和 1×10^9 CFU/g的丁酸梭菌, 以 $1^\circ\text{C}/24\text{h}$ 升温至 32°C 饲喂维持60d, 采集肠道组织用于肠道酶活性、代谢组学、肠道微生物多样性分析。结果显示: 饲料添加丁酸梭菌后, 光唇鱼增重率、特定生长率均显著提高, 饲料系数显著降低; 肠道过氧化氢酶、超氧化物歧化酶等抗氧化酶活性显著提升, 丙二醛含量减少; 两组光唇鱼肠道菌群在门水平上的组成无显著差异, 在属水平上相对增加了有益菌属的丰度(例如索利氏菌科细菌、假单胞菌属和紫红细菌属等有益菌属), 保证了光唇鱼的肠道健康; 差异代谢物的主要种类包括核苷酸及其衍生物、氨基酸及其衍生物等, 其中有大量脂肪酸类代谢物发生明显变化。这表明饲料添加丁酸梭菌可增强光唇鱼生长性能和抗氧化能力及通过增强嘌呤代谢和调节肠道菌群应对高温胁迫的能力。

关键词: 丁酸梭菌; 高温胁迫; 抗氧化能力; 多组学分析; 光唇鱼

中图分类号: S963.7 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2026)01-012617-15

doi: 10.3724/1000-3207.2025.2025.0197 **CSTR:** 32229.14.SSSWXB.2025.0197



光唇鱼(*Acrossocheilus fasciatus*)又名“淡水溪石斑鱼”, 属于鲤科(Cyprinidae)光唇鱼属(*Acrossocheilus*)^[1], 光唇鱼在长江水系以南广泛分布, 喜栖息于山涧溪流中^[2]。光唇鱼属于杂食性鱼类, 以溪流石上附着的藻类、昆虫和其他小型鱼类为食, 其肉质细腻、富含多种营养素, 具有营养与保健功能, 还因其独特的外观作为溪流观赏鱼^[3]。光唇鱼适宜在 $15\text{--}25^\circ\text{C}$ 的水温环境中生长, 当温度超过 28°C 时其生长和存活率会显著降低^[4]。

温度是影响鱼类生长、生理、繁殖和免疫反应的关键环境因子之一^[5]。鱼类生理过程和行为活动均受到温度的显著调控^[6]。随着全球气候变暖和水产养殖业的快速发展, 夏季高温往往会超过大部分水生生物的适宜温度范围。因此, 高温胁迫逐渐

成为当下的研究热点。光唇鱼作为溪流鱼类, 在夏季长期的高温环境下, 其生长和健康也受到高温胁迫的威胁。高温不仅会提高鱼类的基础代谢率, 增加能量消耗, 还可能通过诱导氧化应激、改变肠道微生物群落和抑制免疫功能, 对鱼类的健康和生存产生深远影响^[7]。已有研究表明, 生活在高温环境下会增加鱼类肠道易感性, 并造成肠道炎症^[8]。因此, 减少高温胁迫的负面影响对该物种的生长和生存具有重要意义。

肠道作为鱼类消化、吸收和免疫调节的核心器官, 其微生物群落和代谢状态在应对环境胁迫中扮演着关键角色^[9]。研究表明, 肠道微生物群落的组成和功能变化直接影响宿主的代谢健康和抗逆能力。丁酸梭菌(*Clostridium butyricum*)作为一种益

收稿日期: 2025-06-09; **修订日期:** 2025-07-22

基金项目: 余姚市科技计划(2023JH03010031); 温岭市团队科技特派员项目(21037006122); 浙江省农业农村厅协同创新项目(2130199)资助 [Supported by the Yuyao Municipal Science and Technology Program (2023JH03010031); Wenling Team Science & Technology Commissioner Program (21037006122); Collaborative Innovation Project of the Department of Agriculture of Zhejiang Province (2130199)]

作者简介: 江彦霆(1998—), 男, 硕士研究生; 研究方向为水产养殖。E-mail: 1344086404@qq.com

通信作者: 高阳(1982—), 男, 博士, 副教授; 研究方向为水产养殖。E-mail: gaoyang82@zjou.edu.cn

生菌,已被证实能够通过调节肠道微生物群落、增强免疫功能和改善代谢状态,提高鱼类对环境胁迫的适应能力^[10]。丁酸梭菌具有极强的环境适应能力,能够通过形成芽孢抵抗高温、低pH、胆汁酸、胃液和消化酶等恶劣条件,对多种抗生素表现出天然抗性,使其作为饲料添加剂在应对多种环境问题(如高温、低温)具有广泛的应用潜力^[11]。本研究率先将丁酸梭菌应用于鱼类高温应激调控,以光唇鱼为研究对象,通过生长、肠道抗氧化能力、肠道微生物组学和代谢组学联合分析,探讨饲料添加丁酸梭菌对光唇鱼耐高温能力的影响,解析高温胁迫下光唇鱼肠道微生物群落和代谢物谱的动态响应,揭示丁酸梭菌在调节肠道微生态平衡和代谢功能中的作用机制,为光唇鱼健康养殖和高温环境下的适应性管理提供科学支持。

1 材料与方法

1.1 实验材料

本研究使用光唇鱼来自舟山市北蝉养殖基地,光唇鱼平均体质量为 (1.05 ± 0.2) g,鱼体经过消毒、检疫后在实验室养殖缸中暂养7d,暂养温度为25℃,适应养殖条件后随机选取的360尾个体相近、体形匀称的健康个体作为试验材料,采用持续增氧方式维持水体溶氧水平。每日08:00和16:00进行两次定时饱食投喂,并收集投食1h后未吃完的饲料颗粒,干燥称量。每日检查光唇鱼喂食状态,及时捞出死鱼,用温度计测量实验水温并保持水温恒定。每天换水1次,清除养殖缸中的鱼类排泄物,换水量为总体积的33%,换水温度与养殖缸中水的温度保持一致,控制水温在31—33℃,保持氨氮低于0.4 mg/L, pH控制在6.8—7.2,溶解氧保持在6.5 mg/L以上,并且保持养殖房安静和稳定。

1.2 实验饲料

本实验设置剂量依据同为鲤科鱼类的草鱼(*Ctenopharyngodon idella*)作为参照^[12],在饲料中分别添加 1×10^7 、 1×10^8 和 1×10^9 CFU/g的丁酸梭菌,结果证明添加丁酸梭菌后草鱼的增重率和特定生长率显著提升。本研究丁酸梭菌购于青岛科微旺生物技术有限公司,丁酸梭菌浓度为 5×10^8 CFU/g,将丁酸梭菌分别以0、 5×10^7 、 5×10^8 和 1×10^9 CFU/g的剂量添加到花鲈基础饲料中(购于浙江德清鸿利生物科技有限公司),同时进行过简单预实验,最终确定以上浓度进行实验。按上述比例将配制好的溶液与饲料原料喷洒均匀混合,对照组喷洒等量无菌纯净水,使用烘箱50℃烘干,定时翻转饲料至饲料烘干后取出,按实验分组进行编号标识后,贮存

于-20℃超低温冰箱中保存备用。饲料配方见表1。

1.3 实验设计

光唇鱼耐高温正式实验前,选取360尾初始体质量为 (1.05 ± 0.2) g光唇鱼,采用完全随机设计分为4个处理组,每组3个重复,每缸30尾鱼。实验设置32℃高温对照组和3个32℃高温实验组,3个高温实验组分别饲喂 5×10^7 、 5×10^8 和 1×10^9 CFU/g丁酸梭菌的添加剂饲料,持续饲喂60d。在养殖周期结束后,对实验鱼停食24h后进行采样,对各组别存活鱼的数量进行统计并从各组别随机挑选10尾鱼,用丁香酚麻醉后,测量各个组别鱼的体质量等指标。解剖工具消毒后,采集肠道组织、肠道内容物样本后立即分装至预冷的2 mL RNase-free微量离心管中,经液氮速冻后转移至-80℃超低温冰箱长期保存。综合光唇鱼的生长性能、肠道抗氧化能力、存活率等,筛选 5×10^8 CFU/g丁酸梭菌为最佳添加剂量,选取0和 5×10^8 CFU/g的丁酸梭菌组,用于肠道菌群和代谢组学分析,样品命名为DI组和NI组,DI组表示对照组的肠道样品,NI组表示添加 5×10^8 CFU/g丁酸梭菌组的肠道样品,每5个个体混合成1个样本。

1.4 指标检测

生长性能指标 在饲养实验期间每天测定喂料重量,记录鱼体死亡情况,在养殖实验结束后测量各个组别鱼的末重、饲料消耗量,按以下计算公式求出增重率(WG)、特定生长率(SGR)和饲料系数(FCR):

$$WG = (W_t - W_0) \times 100 / W_0 \quad (1)$$

$$SGR = (\ln W_t - \ln W_0) / t \times 100 \quad (2)$$

$$FCR = F / (W_t - W_0) \quad (3)$$

式中, W_t 为光唇鱼幼鱼终末体质量(g); W_0 为光唇鱼幼鱼初始体质量(g); t 为饲养天数(d); F 为摄食量(g)。

抗氧化指标 本研究系统测定了光唇鱼肠道氧化应激水平并进行了系统评估,检测指标包括T-SOD、CAT、GSH和MDA。实验所用试剂盒购自南京建成生物工程研究所(南京,中国),具体操作

表1 基础饲料营养成分

Tab. 1 Nutrient composition of the basic feed

成分 Composition	含量 Content (%)	成分 Composition	含量 Content
粗蛋白Crude protein	≥ 49.0	钙Calcium	≥ 0.4
粗脂肪Crude lipid	≥ 4.5	总磷Total Phosphorus	≥ 0.8
粗纤维Crude Fiber	≥ 6.0	赖氨酸Lysine	≥ 23.0
粗灰分Ash	≥ 16.0	水分Moisture	≤ 10.0

步骤及数据处理严格遵循制造商提供的技术手册。将 -80°C 超低温保存的肠道组织样本取出后,置于1.5 mL无菌离心管中,按照1:9 (w/v)的比例加入预冷生理盐水,使用一次性研磨棒将混合后的组织磨碎,使用低温离心机离心后(2500 r/min, 10min, 4°C)取上清液置于 -80°C 用于后续测定。

1.5 肠道菌群分析

DNA提取与16S rRNA基因扩增 根据光唇鱼生长数据和肠道抗氧化酶活性,选取 5×10^8 CFU/g作为实验组,将所取光唇鱼肠道样品充分研磨,使用SDS方法进行提取。采用2%琼脂糖凝胶电泳检验DNA质量,使用338F和806R引物进行PCR扩增,其序列分别为5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCA-3'和5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3'。

第1次PCR扩增反应体系包括以下组分: 基因组DNA (5—50 ng)、Vn F (10 $\mu\text{mol/L}$, 0.3 μL)、Vn R (10 $\mu\text{mol/L}$, 0.3 μL)、KOD FX Neo Buffer (5 μL)、Dntp (2 mmol/L each, 2 μL)、KOD FX Neo (0.2 μL)及 ddH_2O 补至总体积至10 μL 。进行(95°C , 5min; 95°C , 30s; 50°C , 30s; 72°C , 40s) 25次循环, 72°C 延伸7min。

第2轮扩增时加入Illumina兼容性PCR引物, 第二次扩增的反应体系包含目的区域PCR纯化产物 (5 μL)、MPPI-a (2 $\mu\text{mol/L}$, 2.5 μL)、MPPI-b (2 $\mu\text{mol/L}$, 2.5 μL)和2 $\times$ Q5 HF MM (10 μL)。进行(98°C , 30s; 98°C , 30s; 65°C , 30s; 72°C , 30s)10次循环, 72°C 延伸5min。

原始数据质控 原始测序数据通过Trimomatic v0.33工具进行质量控制处理, 窗口大小设置为50 bp, 质量阈值(Q值)大于等于20。随后利用Cutadapt v1.9.1程序执行引物序列识别与剔除步骤, 设置最大错配阈值为20%, 最小覆盖阈值为80%, 从而获得去除非目标序列的纯净测序片段。经预处理的双端测序数据通过Usearch v10.0平台进行序列组装, 参数配置为最小重叠区域10个碱基, 重叠区序列一致性不低于90%, 允许最大错配碱基数为5个。最后采用UCHIME v8.1算法进行嵌合序列检测与去除, 生成可供后续分析的高可信度测序数据。

OTU/ASV分析 OTU聚类: 将相似度超过97%的序列聚类到OTU中。

ASV分析 采用DADA2算法对原始测序数据进行质量控制和去噪处理, 通过精确的错误模型校正测序误差, 最终生成扩增子序列变异体(ASV)。

多样性分析 Alpha多样性分析在QIIME2和R平台完成。Beta多样性分析基于Bray-Curtis矩阵, 采用PCoA、NMDS和UPGMA聚类揭示样本关

系。LEfSe分析(LDA score >4.0)识别组间差异类群。Spearman秩相关($|r|\geq 0.1$, $P<0.05$)构建微生物互作网络。RDA分析解析环境因子驱动作用。PICRUST2整合IMG数据库预测功能基因组。

1.6 广靶代谢组学分析

样本提取与分析 将样品从 -80°C 冰箱取出, 对钢珠、镊子等设备进行消毒灭菌处理, 保证样本处理过程的无菌条件。从中准确称取50 mg的肠道样本, 加入1 mL预冷的提取溶剂(甲醇:乙腈:水=2:2:1, v/v/v, 含内标), 立即置于涡旋振荡器上以2500 r/min剧烈震荡30s。将钢珠加入样本中, 研磨仪以45 Hz的振动频率进行10min机械破碎, 随后使用超声波细胞破碎仪10min间歇式超声处理, 提高提取效率。样本于 -20°C 静置1h使蛋白充分沉淀, 随后 4°C 条件下12000 r/min的速度离心15min。小心地取出50 μL 上清液转移至2 mL离心管, 静置于 -20°C 冰箱过夜。再以相同条件(12000 r/min, 15min, 4°C)离心去除杂质。移取120 μL 上清液, 转移至预处理的2 mL棕色玻璃进样瓶中, 采用Waters Acquity I-Class PLUS超高效液相色谱系统耦合Xevo G2-XS QTOF高分辨质谱仪进行代谢组学分析。色谱的分离条件: 98%A (0)、98%A (0.25min)、2%A (10min)、2%A (13.0min)、98%A (13.1min)和98%A (1min)。

数据处理与分析 采用Progenesis QI软件进行代谢组学数据的系统性处理与分析, 对检测到的代谢物采用多数据库联合注释, 确定各化合物的生物学分类及其参与的代谢通路, 借助Python编程语言中的生物信息学工具包, 对鉴定获得的差异代谢物进行系统性通路解析。

1.7 联合分析

肠道微生物多样性与代谢组等多组学联合分析是一种强大的研究工具, 它能够从多维度解析宿主-微生物群代谢之间相互作用, 为研究和应用提供新的视角和方法。相关性分析方法采用Pearson分析, 系数阈值0.8, 相关性P值选择0.05。

2 结果

2.1 生长性能结果

在长期高温胁迫下, 饲料中添加丁酸梭菌显著改善了光唇鱼的生长性能(表2)。相比对照组, 处理组光唇鱼的末重、特定生长率、增重率均显著提高($P<0.05$), 其中 5×10^8 CFU/g实验组的生长数据最佳。根据特定生长率制作一张二次拟合曲线图如图1所示。光唇鱼的特定生长率随着丁酸梭菌添加浓度的增加, 呈先增加后下降的趋势, 其中在

表2 丁酸梭菌对光唇鱼生长性能的影响

Tab. 2 Effect of *C. butyrum* on growth performance of *A. fasciatus*

组别浓度 Group concentration	存活 Survival rate (%)	末重 Final body weight (g)	特定生长率 Specific growth rate (%)	增重率 Weight gain rate (%)	饲料系数 Feed conversion ratio
0	65	2.75±0.44 ^a	1.60±0.32 ^a	161.29±40.46 ^a	1.65±0.13
5×10 ⁷	70	3.73±0.66 ^b	2.12±0.41 ^b	256.56±61.18 ^b	1.43±0.27
5×10 ⁸	76.66	4.24±0.35 ^c	2.33±0.48 ^b	303.97±71.33 ^c	1.27±0.23
1×10 ⁹	75	4.15±0.53 ^c	2.29±0.46 ^b	292.93±73.81 ^c	1.31±0.14

注: 单列中不同上标字母的数据表示有显著性差异($P<0.05$)

Note: Different superscript letters in the single column indicate significant differences ($P<0.05$)

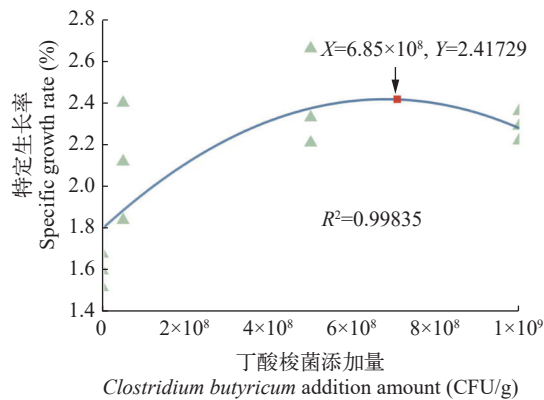


图1 丁酸梭菌添加量与光唇鱼特定生长率的关系

Fig. 1 *C. butyricum* addition amount vs. specific growth rate in *A. fasciatus*

6.85×10⁸ CFU/g达到峰值。

2.2 高温胁迫下丁酸梭菌对光唇鱼肠道抗氧化指标的影响

在长期高温胁迫下, 饲料中添加丁酸梭菌显著改善了光唇鱼肠道抗氧化能力, 相比对照组, 光唇鱼的肠道GSH活性随着丁酸梭菌添加量的提升呈上升趋势(图2A), T-SOD、CAT活性随着丁酸梭菌添加量的提升呈先升高后降低的趋势(图2B—2C), 在5×10⁸ CFU/g达到顶峰, 且GSH、CAT、T-SOD活性均显著高于对照组, MDA含量显著降低(图2D), 丁酸梭菌的添加显著改善了光唇鱼肠道的抗氧化状态。

2.3 光唇鱼肠道微生物分析结果

肠道菌群OTU及α-多样性指数 测序结果表明, 10个样本总共得到773803条有效序列, 质控后样品平均有效读数为72465条, 其中最小值为61808, 最大值为75605。

样品的α-多样性分析(表3和图3)表明, 本次高通量测序结果具有较高的可靠性(平均Q30>90%), 能够准确反映实验样本肠道微生物群落的真实组成特征。

分析表明, 两组光唇鱼肠道样品的ACE指数与Chao1指数均无显著差异($P>0.05$); 基于系统发育多

样性(PD_whole_tree)和物种多样性(Simpson/Shannon)的统计分析表明, 两组光唇鱼肠道样品的α多样性指数均未呈现统计学显著差异($P>0.05$)。丁酸梭菌添加组与对照组之间没有统计学差异, 说明高温胁迫下饲喂丁酸梭菌对光唇鱼肠道菌群多样性和丰富度未产生显著影响。

肠道菌群β-多样性指数 基于bray curtis矩阵的PCoA方法分析样品间微生物组成的差异。如图4所示, PCoA1对样品差异贡献率为30.8%, PCoA2对样品差异贡献率为24.39%, 通过主坐标分析可以实现多个样品的分类, 虽然两组样本的置信椭圆存在部分重叠区域, 但仍表现出明显的分离趋势。这说明代谢物具有显著差异性, 可用于后续差异代谢物筛选。

物种注释及分类学分析 基于门水平分类的肠道菌群组成分析显示, 实验组与对照组共检测到40个细菌门类。如图5所示, 光唇鱼肠道菌群中的主要优势菌门为变形菌门、放线菌门、厚壁菌门、梭杆菌门、拟杆菌门、绿弯菌门、酸杆菌门、蓝细菌门。与对照组相比丁酸梭菌添加组中放线菌门、梭杆菌门、绿弯菌门增加, 但两组的优势菌门无显著差异。基于属水平的肠道菌群结构分析(图6), 与对照组相比丁酸梭菌添加组中一种未分类的索利氏菌科细菌、假单胞菌属和紫红细菌属相对丰度增加。

功能基因预测分析 使用PICRUSt2算法平台, 对两组光唇鱼肠道样品的16S rRNA基因序列进行以下分析: 将序列与IMG微生物基因组数据库比对并构建系统发育树, 鉴定与特征序列最相近的参考物种; 基于这些参考物种的基因组信息(包括基因种类和丰度谱)进行功能基因预测; 并在KEGG、COG等功能数据库进行注释。

如图7所示, 图片中列出了6个KEGG一级功能分类, 两组光唇鱼肠道菌群功能基因主要富集于以下四大核心代谢途径: 碳水化合物代谢(Carbohydrate metabolism)在对照组和丁酸梭菌组的占比分别为8.85%和8.77%; 氨基酸代谢(Amino acid meta-

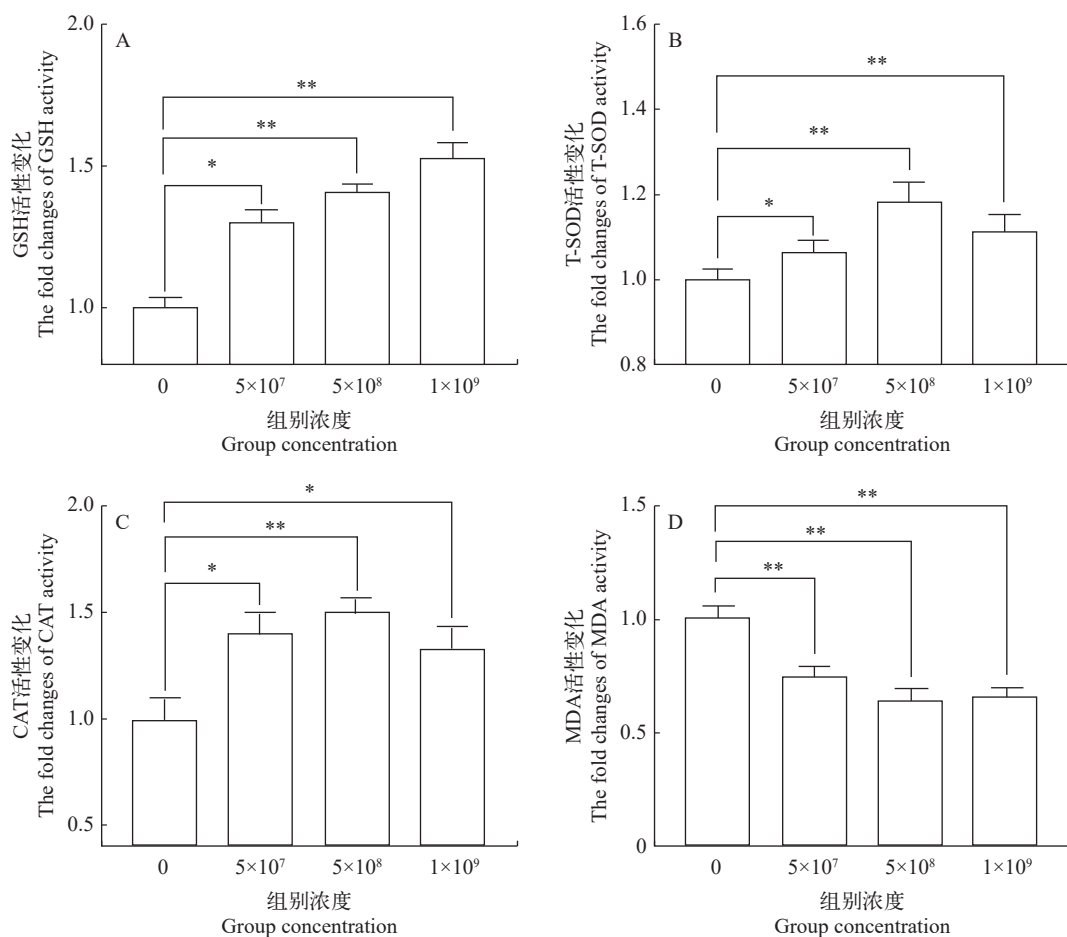


图2 丁酸梭菌对光唇鱼肠道抗氧化指标的影响

Fig. 2 Effects of *C. butyricum* on intestinal antioxidant indexes of *A. fasciatus**表示 $P<0.05$ 、**表示 $P<0.01$ * indicates $P<0.05$, ** indicates $P<0.01$

表3 两组光唇鱼肠道样品 Alpha 多样性指数统计

Tab. 3 Statistics of Alpha diversity index of *A. fasciatus* intestinal tract samples of the two groups

Sample ID	OTUs	ACE	Chao1	Simpson	Shannon	PD_whole_tree	Coverage
DI-1	1632	1653.8025	1660.8791	0.9946	8.8723	29.4309	0.9983
DI-2	1747	1772.8131	1779.1622	0.9945	8.9687	29.8903	0.9979
DI-3	2054	2063.8202	2065.7945	0.9928	8.8562	30.2213	0.9993
DI-4	2348	2349.3368	2349.3636	0.9398	7.5711	28.9959	0.9999
DI-5	2061	2065.775	2067.5517	0.9842	8.0233	15.2332	0.9994
NI-1	1806	1821.3398	1838.0508	0.9882	8.4165	28.4622	0.9988
NI-2	1774	1786.3077	1790.5584	0.9857	8.3413	35.5704	0.9991
NI-3	1783	1796.2167	1807.9375	0.9594	7.7772	28.7482	0.999
NI-4	1815	1832.3875	1843.6098	0.9906	8.6366	35.3100	0.9986
NI-5	1518	1526.5589	1530.3333	0.9909	8.4312	24.9527	0.9991
DI	1968	1981.1095 ^a	1984.5502 ^a	0.9812 ^a	8.4583 ^a	26.7543 ^a	0.9989
NI	1739	1752.5621 ^a	1762.0979 ^a	0.9829 ^a	8.3205 ^a	30.6087 ^a	0.9989

注: ACE指数. 通过丰度数据估算微生物群落中物种总数的指标, 反映样本中可能存在的物种数量上限; Chao1指数. 基于物种出现频率的经典生态学指标, 主要用于评估微生物群落的物种丰富度特征; Simpson. 侧重评估群落中优势物种分布的多样性指标; Shannon. 综合考虑物种丰富度和均匀度的多样性指标; 单列中不同上标字母的数据表示有显著性差异($P<0.05$)

Note: ACE index. An indicator that estimates the total number of species in microbial communities based on abundance data, reflecting the potential upper limit of species present in samples; Chao1 index. A classical ecological metric based on species occurrence frequency, primarily used to assess species richness characteristics of microbial communities; Simpson index. A diversity measure that emphasizes the distribution of dominant species within a community; Shannon index. A diversity index that incorporates both species richness and evenness; Different superscript letters in the single column indicate significant differences ($P<0.05$)

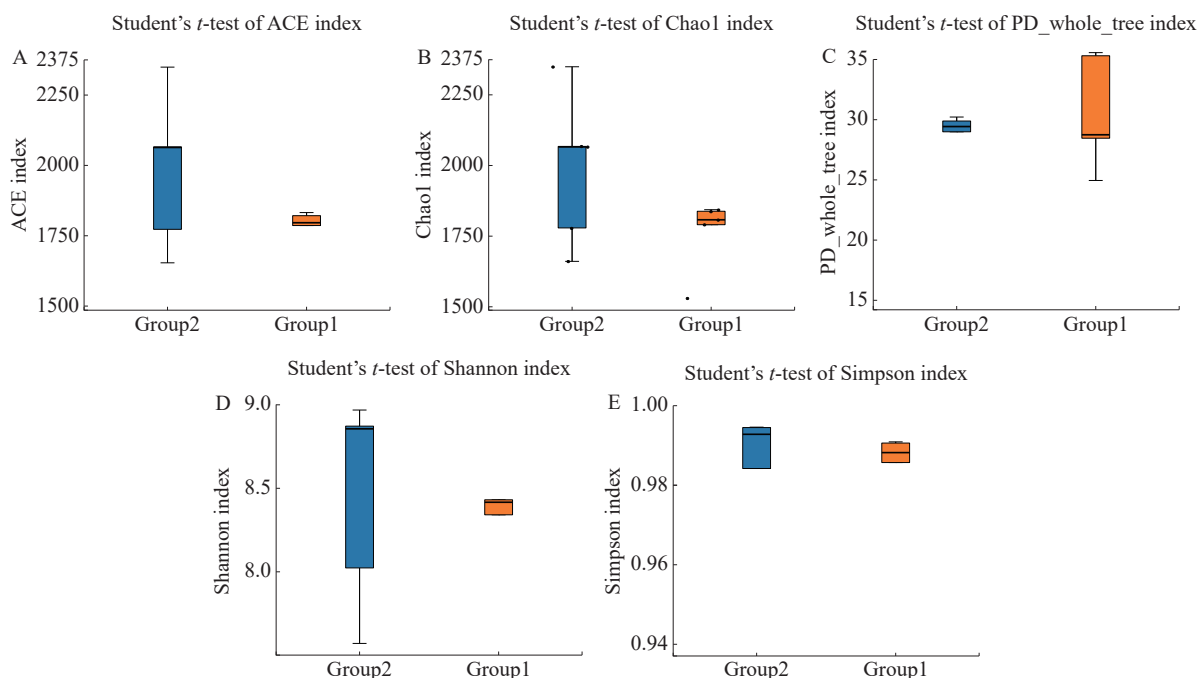


图3 Alpha多样性指数指标

Fig. 3 Alpha diversity index indicators

Group1和Group2分别代表DI和NI组

Group1 and Group2 represent DI and NI group respectively

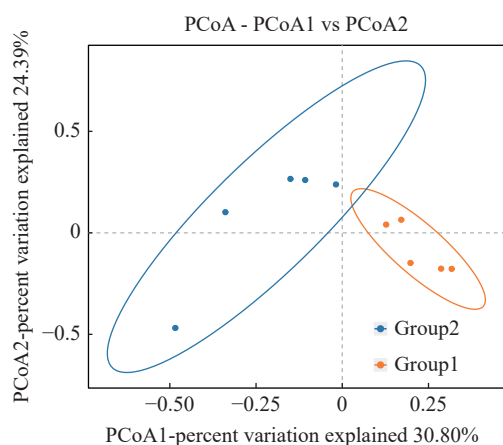


图4 bray curtis矩阵的PCoA分析图

Fig. 4 PCoA analysis diagram of Jaccard and bray curtis matrices
Group1和Group2分别代表DI和NI组 Group1 and Group2 represent DI and NI group respectively

bolism)分别为7.40%和7.61%; 能量代谢(Energy metabolism)分别为4.33%和4.38%。此外, 辅助因子和维生素代谢(Metabolism of cofactors and vitamins)在两组中的占比分别为4.06%和4.10%, 而膜转运功能(Membrane transport)则分别为3.87%和4.35%。

两组样本中相对丰度差异最显著的5种功能通路依次为心血管疾病相关代谢(Cardiovascular diseases, DI组: 0.04%; NI组: 0.03%)、DNA复制与修复系统(Replication and repair, DI组: 2.45%; NI组:

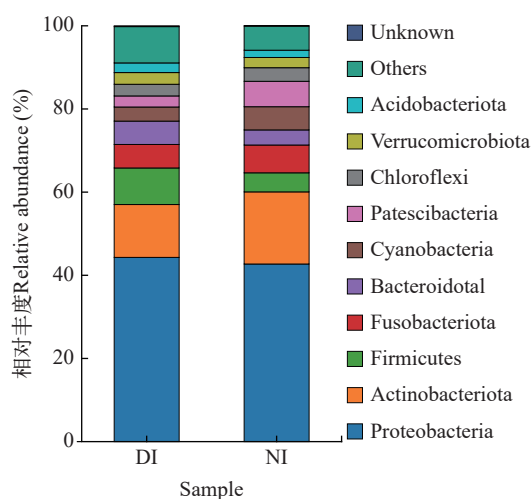


图5 两组光唇鱼肠道样品在门水平上菌群分布图

Fig. 5 Distribution of intestinal microbial communities at the phylum level in two groups of *A. fasciatus*

2.35%)、细胞运动调控(Cell motility, DI组: 0.99%; NI组: 1.70%)、原核生物细胞群体相互作用(Cellular community-prokaryotes, DI组: 1.79%; NI组: 1.91%)及跨膜转运机制(Membrane transport, DI组: 4.15%; NI组: 4.27%)。

COG功能注释分析结果见图8, 在4个一级分类水平上, 两组光唇鱼肠道菌群中共鉴定出25个功能基因在代谢通路上存在差异。主要代谢功能分

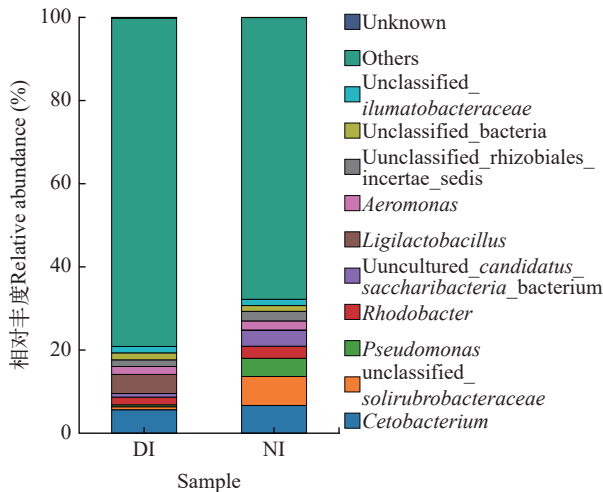


图6 两组光唇鱼肠道样品在属水平上菌群分布图

Fig. 6 Distribution of intestinal microbial communities at the genus level in two groups of *A. fasciatus*

布表现: 一般功能预测(General function prediction only)在DI和NI组的占比分别为11.71%和11.80%; 氨基酸转运与代谢(Amino acid transport and metabolism)分别为10.08%和10.49%; 功能未知类(Function unknown)分别为7.95%和7.72%; 核糖体结构与生物合成(Translation, ribosomal structure and biogenesis)分别为6.83%和6.56%; 能量代谢(Energy production and conversion)分别为6.66%和6.74%。

差异显著性分析表明, 变化最显著的5个功能类别: 细胞骨架相关功能(Cytoskeleton, DI: 0.0089%, NI: 0.0046%)、能量代谢(Energy production and conversion)、细胞周期调控(Cell cycle control, cell division, chromosome partitioning, DI: 1.02%, NI: 0.97%)、氨基酸转运与代谢(Amino acid transport and metabolism)及碳水化合物代谢(Carbohydrate transport and metabolism, DI: 6.21%, NI: 6.13%)。

2.4 肠道内容物代谢组学分析

差异代谢物分析 本研究共检测到14104个峰, 3407个代谢物被注释。

基于OPLS-DA模型分析结果, 通过变量重要性投影(VIP)值进行差异代谢物的初筛。最终筛选标准为同时满足以下3个条件: 差异倍数(fold change)≥2、VIP值≥1.0且 t 检验 P 值<0.01。本研究共鉴定出469个显著差异代谢物, 在表达差异最为显著的代谢物($|\log_2 FC| > 2$)中, 具体代谢物见表4, 核苷酸及其衍生物、氨基酸及其衍生物构成主要成分。

火山图按照 P 值前5个定性到的代谢物分别为2-(3-巯基丙基)戊二酸(2-(3-Mercaptopropyl) pentanedioic acid)、牛磺脱氧胆酸(Taurodeoxycholic acid)、缬氨酰缬氨酸(Valylvaline)、辛酸甲酯(Methyl cap-

rylate)、异亮氨酰-缬氨酰-缬氨酸(Ile-Val-Va)。其中牛磺脱氧胆酸下调, 2-(3-巯基丙基)戊二酸、缬氨酰缬氨酸、辛酸甲酯、异亮氨酰-缬氨酰-缬氨酸上调(图9)。

KEGG功能注释及富集分析 差异代谢物KEGG(图10)分析确定了受实验组条件影响的富集程度较高的关键代谢途径, 其中包括脂肪细胞中脂解的调节、嘌呤代谢、嘧啶代谢、乙醛酸和二羧酸代谢等途径。

2.5 联合分析结果

使用典范对应分析揭示菌群的分布特点并深入发现相关联的差异代谢物(图11)。箭头长度最长的5个代谢物: 3, 4-二羟基-2-羟甲基-1-吡咯烷丙酰胺(3, 4-Dihydroxy-2-hydroxymethyl-1-pyrrolidinepropanamide)、苏氨酰-异亮氨酸(Threoninyl-Isoleucine)、脱氧胞苷一磷酸(dCMP)、尿苷二磷酸-N-乙酰半乳糖胺(Uridine diphosphate-N-acetylgalactosamine)、CMP-3-脱氧-D-甘露辛酮糖酸(CMP-3-deoxy-D-manno-octulosonate)。

3 讨论

3.1 丁酸梭菌对光唇鱼生长性能的影响

高温胁迫会导致鱼类的生长性能显著下降, 增重率和特定生长率的降低^[13]。这是因为夏季高温会导致水体温度经常超过光唇鱼的耐受范围, 光唇鱼面对超出耐受的高温会表现出厌食、行动迟缓, 容易感染各种疾病^[14]。同时, 高温还会增加鱼在代谢、活动和排泄的能量需求。本研究结果表明在高温胁迫下, 丁酸梭菌可以有效缓解高温在生长性能方面带来的负面影响。根据生长数据, 实验组的光唇鱼在增重率、特定生长率相对于对照组有显著提升, 饲料系数则显著降低, 表明丁酸梭菌可能通过调节肠道微生态平衡和增强消化功能, 进而提升了鱼类的生长性能。侯廷龙等^[12]发现, 在饲料中分别添加 1×10^7 、 1×10^8 和 1×10^9 CFU/g的丁酸梭菌, 结果显示各处理组草鱼的增重率和特定生长率显著提升。覃美兰等^[15]的研究也表明, 饲料添加丁酸梭菌能显著提升吉富罗非鱼幼鱼末重、特定生长率等生长指标, 同时显著提高饲料利用率。本研究中光唇鱼的生长趋势与覃美兰等^[15]的发现一致, 这表明丁酸梭菌对不同鱼类的生长性能均具有促进作用。与他们的研究不同的是, 我们发现过高的丁酸梭菌添加量会导致光唇鱼的生长性能下降, 这可能是过量的丁酸梭菌破坏了肠道菌群的平衡状态。

3.2 丁酸梭菌对肠道抗氧化能力的影响

鱼类肠道抗氧化水平是评价肠道抗氧化应激

损伤能力的复杂系统^[16, 17], T-SOD、CAT、GSH在鱼类抗氧化防御系统中起关键作用^[18, 19], 能够保护细胞免受自由基和活性氧(ROS)损伤, MDA是评估氧化应激水平的重要指标之一。丁酸梭菌已被证明能有效提高水生动物的抗氧化能力^[20, 21], 在本实验中, 饲料添加丁酸梭菌显著提高了光唇鱼肠道的抗氧化能力, 提高了CAT、T-SOD和GSH的活性,

并降低MDA含量, 表明高温胁迫下添加丁酸梭菌有利于提升肠道抗氧化能力, 保护细胞免受氧化损伤。侯冬强等^[22]的研究中发现丁酸梭菌能够提升大口黑鲈幼鱼肠道的CAT、SOD、GSH的活性, 同时显著降低肠道MDA含量, 与本研究一致, 文献指出草鱼饲料中添加合适浓度的丁酸梭菌, 能够通过调控Keap1/Nrf2信号通路增强肠道抗氧化能力, 显

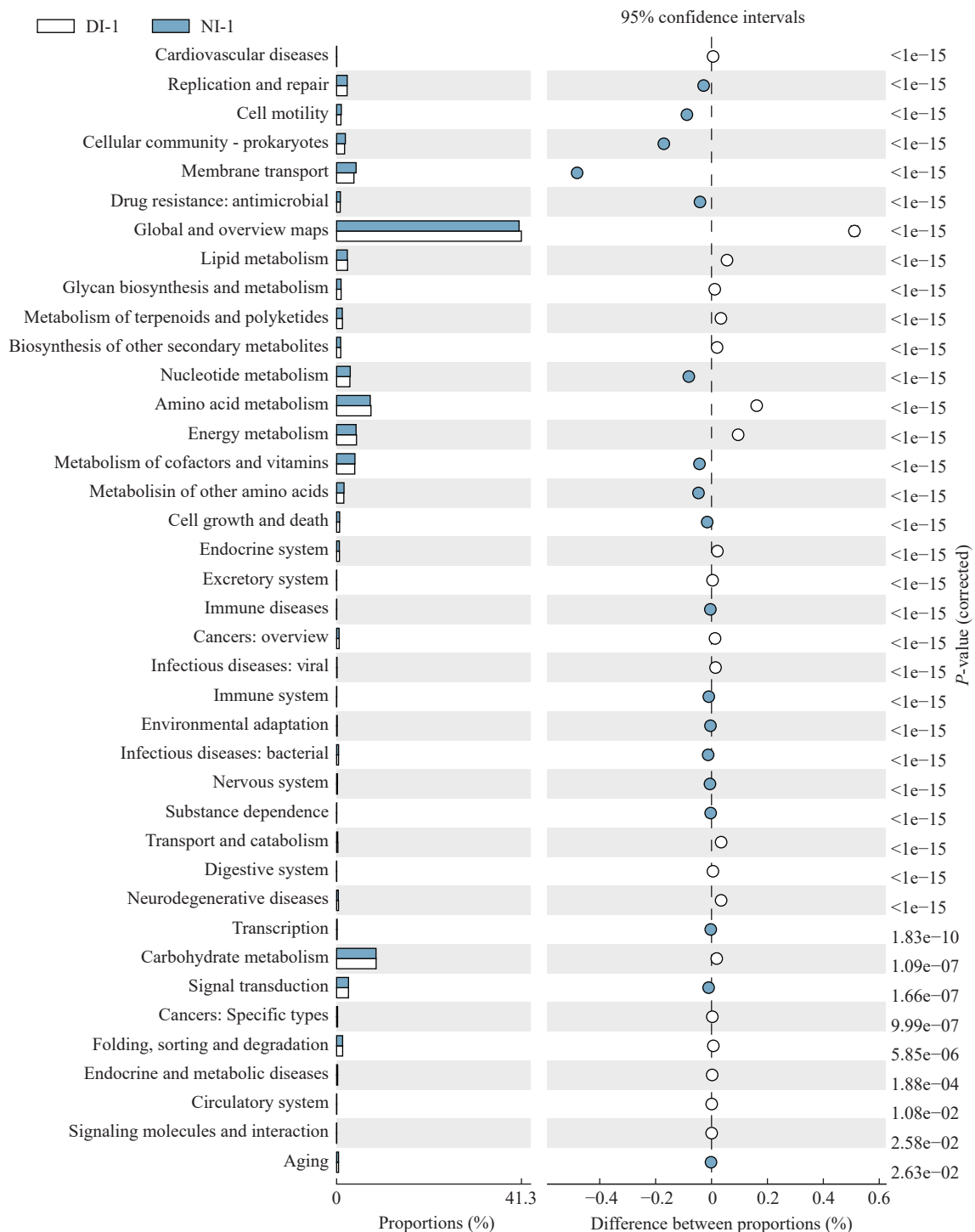


图7 组间KEGG代谢途径差异分析图

Fig. 7 Analysis of KEGG metabolic pathway differences in groups

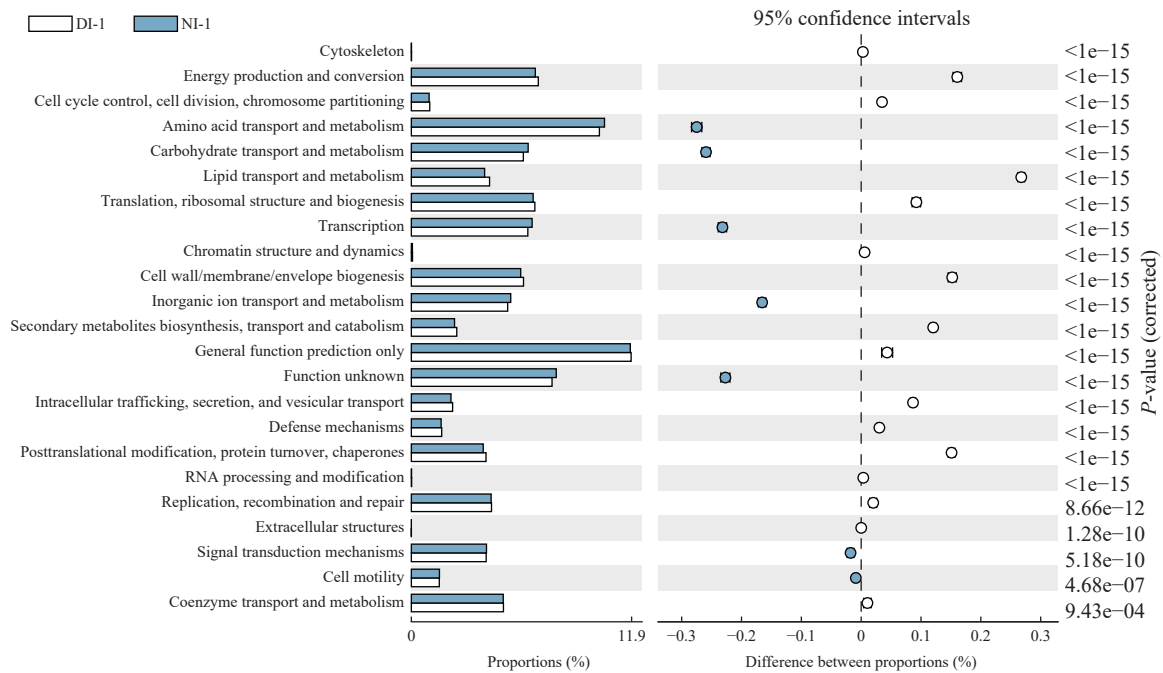


图 8 COG功能分类统计图

Fig. 8 COG function classification statistics

表 4 差异代谢物筛选结果表

Tab. 4 Results of differential metabolite screening

基因名Name	log ₂ FC	P value	VIP	调节Regulated
Sinalbin	2.968	0.003	1.63	up
dTDP-4-acetamido-4,6-dideoxy-D-galactose	2.824	0.002	1.72	up
dCMP	2.354	0.001	1.72	up
Guanosine diphosphate adenosine	2.236	0.004	1.56	up
Ribavirin monophosphate	2.369	0.003	1.54	up
GDP-4-acetamido-4,6-dideoxy-alpha-D-mannose	2.849	0.006	1.59	up
Valyllysine	4.227	0.001	1.73	up
Isochorismate	-2.844	0.001	1.74	down
ALANYL-dl-LEUCINE	2.705	0.003	1.69	up
HSO3-	3.657	0.006	1.60	up
2-Hydroxy-6-oxo-6-(2-hydroxyphenyl)-hexa-2,4-dienoate	3.107	0.002	1.69	up
5-Amino-6-ribitylamino uracil	3.392	0	1.83	up
coformycin	3.816	0.001	1.74	up
beta-Thujaplicin	3.129	0	1.83	up
4-Hydroxy-5-(3'-hydroxyphenyl)-valericacid-3'-O-sulphate	6.389	0	1.83	up
Hydroxyprolyl-Alanine	-4.214	0.001	1.75	down
2-phenylbut-2-enal	46.737	0.006	1.65	up
5-(Hydroxyphenyl)-gamma-valerolactone-O-sulphate	8.357	0.003	1.71	up
4-methylumbelliferone	48.915	0	1.82	up
2-(3-Mercaptopropyl)pentanedioic acid	3.267	0	1.82	up
Indolelactic acid	6.026	0	1.80	up
5'-Phosphoribosylglycinamide	-8.123	0.002	1.71	down
6-Carboxy-5, 6, 7, 8-tetrahydropterin	2.375	0	1.77	up
5'-(3', 4'-Dihydroxyphenyl)-gamma-valerolactone sulfate	2.246	0.004	1.64	up
4-Methoxy-2, 2'-bipyrrrole-5-carbaldehyde	-3.047	0.003	1.69	down

续表 4

基因名Name	log ₂ FC	P value	VIP	调节Regulated
(2S)-5-[Carbamimidoyl (methyl) amino]-2-(methylamino) pentanoic acid	4.239	0	1.77	up
(-)-(E)-1-(4-Hydroxyphenyl)-7-phenyl-6-hepten-3-ol	2.164	0	1.81	up
IPC 20:0;3/26:0;2	-2.487	0.009	1.58	down
5'-amino-5'-deoxyadenosine	4.892	0.001	1.77	up
Dihydrokalafungin	5.036	0.001	1.75	up
4, 21-Dehydrocorynantheine aldehyde	-3.581	0.001	1.72	down
p-Hydroxybenzylsulphoglucosinolate	2.552	0.001	1.71	up
2-Hydroxy-4-trifluoromethyl benzoic acid	3.150	0.003	1.73	up
geldanamycin	2.982	0.001	1.76	up
Caffeinol	-6.694	0.007	1.64	down
8-(2-Hydroxyethyl) theophylline	-2.720	0.003	1.72	down
6-Deoxydihydrokalafungin	2.057	0.003	1.65	up
Histidine glutamate	2.479	0.001	1.66	up
Ethofumesate	2.047	0.004	1.59	up
Protoanemonin	47.191	0.002	1.73	up
2'-Deoxyinosine	2.453	0.001	1.74	up
N5-Citryl-D-ornithine	2.808	0.005	1.57	up
3, 4-Dihydro-1H-2-benzopyran-1-one	9.138	0.008	1.60	up
Acetyllysine	-6.283	0.005	1.67	down
PA(18:0/18:1(9Z))	-3.651	0	1.78	down
Plastoquinol-1	-3.180	0	1.69	down
L-2-Amino-3-oxobutanoic acid	-3.470	0	1.79	down
N-Hydroxy-L-isoleucine	-4.748	0.001	1.76	down
2, 6-Dihydroxy-N-methylmyosmine	-2.292	0	1.80	down
Cortol	2.831	0	1.82	up
Aglepristone	2.302	0.009	1.61	up
O-methylserine	-2.942	0	1.81	down
Acipimox	2.161	0.010	1.53	up
2', 3'-Cyclic UMP	2.084	0.001	1.68	up
Diglyceride	2.602	0.003	1.65	up
Kaempferol	4.159	0	1.75	up
Guanidylic acid (guanosine monophosphate)	2.002	0.002	1.65	up
Syringic acid	-5.409	0.009	1.58	down
UDP-2-acetamido-4-(D-alanylamino)-2, 4, 6-trideoxy-alpha-D-glucose	3.306	0.007	1.60	up
5-Amino-1-(5-phospho-D-ribosyl) imidazole-4-carboxamide	4.698	0.002	1.76	up
Adenosine 2'-phosphate	2.179	0.002	1.65	up
pyridine 3-aldehyde adenine dinucleotide	2.021	0.001	1.62	up
8-Oxo-dGMP	2.289	0.001	1.69	up
AICAR	2.639	0.004	1.56	up

著提升超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)及总抗氧化能力(T-AOC)活性及相应基因表达,降低肠道丙二醛(MDA)含量^[23],进一步印证了丁酸梭菌在肠道中的抗氧化作用。

3.3 肠道菌群和代谢组学联合分析丁酸梭菌对光唇鱼耐高温的影响

结果显示,光唇鱼肠道菌群中的主要优势菌门

为变形菌门、放线菌门、厚壁菌门、拟杆菌门,这与文献中光唇鱼的肠道菌群优势菌门相同^[24]。在本研究中,两组间的 α 多样性指数、 β 多样性指数并无显著差异,这说明饲料中添加丁酸梭菌对光唇鱼肠道微生物多样性组成和丰度差异的影响较小。此外,对门和属水平的肠道菌群进行了相对丰度富集分析,结果显示,光唇鱼的肠道菌群组成在门水

平无明显差异; 在属水平上, 丁酸梭菌添加组中一种未分类的索利氏菌科细菌、假单胞菌属和紫红细菌属相对丰度增加, 假单胞菌属能够产生抗氧化酶, 清除活性氧, 维持细胞的完整性与稳定性, 从而增强光唇鱼在不良环境下的生存能力, 这表明添加

丁酸梭菌后, 一定程度上减轻高温对肠道的损失^[25]。基于KEGG和COG数据库的功能注释分析揭示, 两组光唇鱼肠道微生物在以下代谢通路呈现显著差异, 都在碳水化合物代谢、氨基酸代谢、能量代谢、膜转运、辅助因子和维生素的代谢等途径改

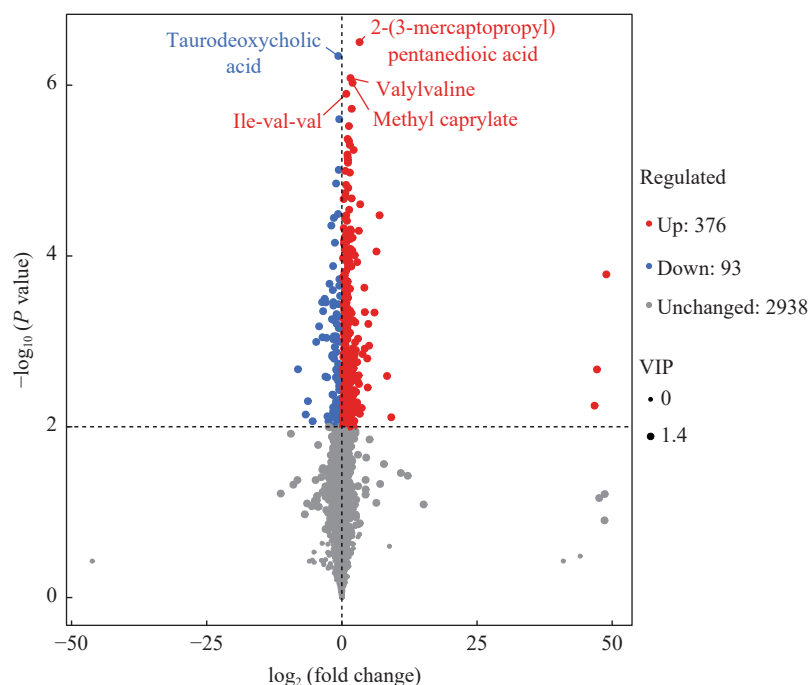


图9 差异代谢物火山图

Fig. 9 Volcanic map of differential metabolites

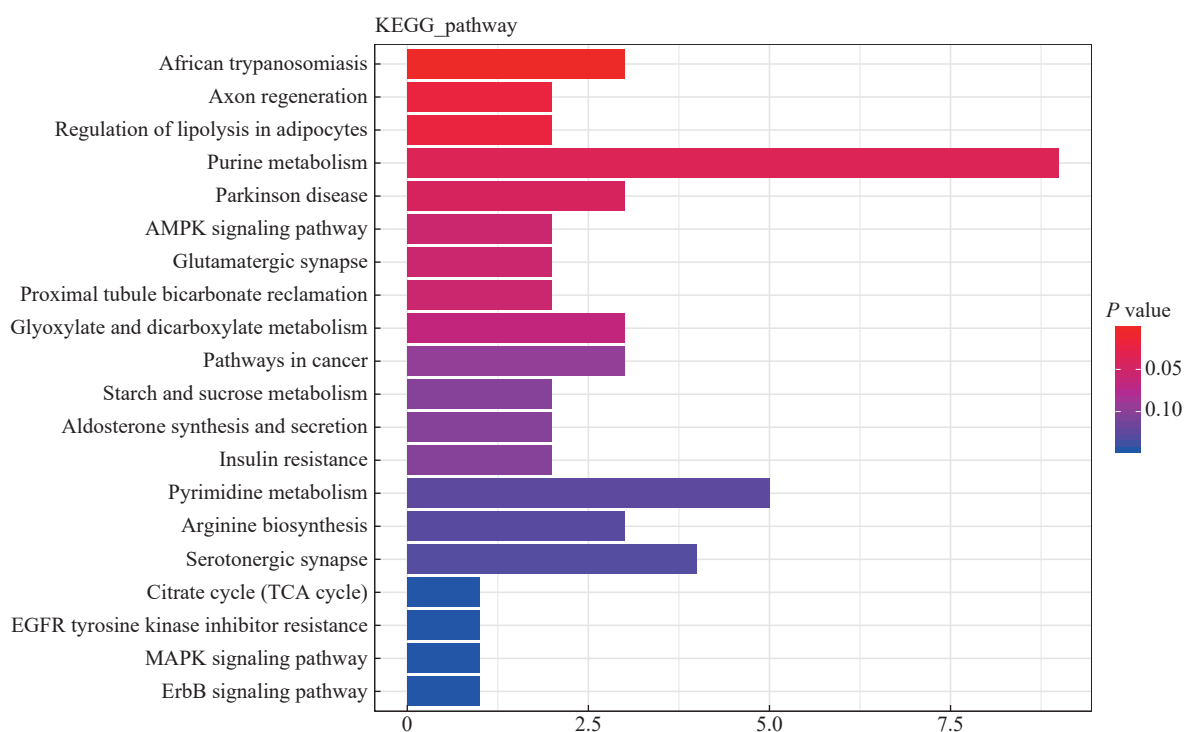


图10 差异代谢物KEGG柱状图

Fig. 10 Bubble diagram of KEGG enrichment of differential metabolites

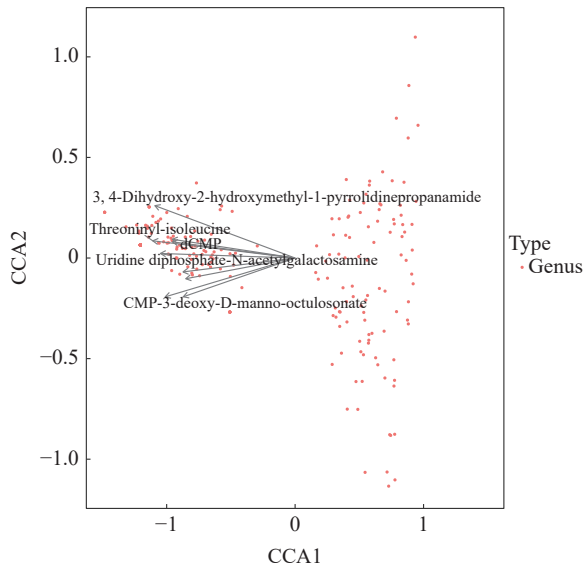


图 11 典范对应分析结果图

Fig. 11 Canonical mapping analysis results

变显著。其中膜转运代谢途径在添加丁酸梭菌后上调,物质跨膜运输作为细胞维持正常生命活动的关键基础,同时也是细胞膜发挥重要功能的主要体现之一,具有不可替代的作用^[26]。丁酸梭菌可利用碳水化合物产生丁酸等短链脂肪酸,这些物质可作为能量物质被肠道上皮细胞利用,为高温环境下的生理活动提供更多能量支持,有助于其维持正常的新陈代谢和生理功能,从而增强耐高温能力^[27]。由此推断,在高温胁迫下丁酸梭菌主要通过调节肠道微生物的代谢活动,而非显著改变微生物群落结构,进而影响光唇鱼的代谢功能。

代谢组分析结果显示,饲料添加丁酸梭菌对光唇鱼高温胁迫的影响显著。与对照组相比共鉴定出469种差异代谢物,包括核苷酸及其衍生物、氨基酸及其衍生物等。其中按照 P 值前五定性到的代谢物分别为2-(3-巯基丙基)戊二酸、牛磺脱氧胆酸、缬氨酰缬氨酸、辛酸甲酯、异亮氨酰-缬氨酰-缬氨酸。KEGG富集分析表明两组光唇鱼主要富集肠道中的代谢物主要富集在脂肪细胞中脂解的调节、嘌呤代谢、嘧啶代谢、乙醛酸和二羧酸代谢等途径。差异代谢中存在大量脂肪酸类代谢物,其中磷脂类、鞘脂类代谢物居多。鞘脂是细胞膜的重要组成部分,参与信号传导、调节炎症^[28,29]。磷脂作为生物体内的重要脂质成分,主要以甘油磷脂形式存在,构成细胞膜的基本骨架结构^[30],磷脂有维持肠道健康,促进肠道炎症调节的作用^[31]。在代谢过程中,甘油磷脂可降解生成多种具有生物活性的脂质信号分子,其中磷脂酸作为关键代谢中间体。本研究中观察到大量磷脂类代谢物发生显著

变化,高温应激可能导致光唇鱼肠道细胞膜磷脂组成发生改变,进而影响其结构完整性和生理功能,表现为膜脂质过氧化水平升高,膜流动性下降,最终可能引发肠黏膜屏障功能障碍,而添加丁酸梭菌后,通过提高不饱和脂肪酸的比例,能够缓解高温对组织的损伤。这表明饲料添加丁酸梭菌组光唇鱼耐高温能力的提升,可能源于通过改变细胞膜中的不饱和脂肪酸比例来提高细胞膜流动性,进而增强耐高温能力。在大菱鲆(*Scophthalmus maximus*)高温胁迫下脂质代谢调控的研究中有类似结果,高温胁迫导致大菱鲆体内甘油磷脂类代谢物水平显著下降,添加牛磺酸后,可显著提高磷脂分子的含量能够缓解组织损伤^[32]。

KEGG富集分析表明两组光唇鱼的肠道代谢物主要富集在嘌呤代谢、脂肪细胞中脂解的调节、嘧啶代谢、乙醛酸和二羧酸代谢等途径。高温会导致光唇鱼的能量代谢水平发生变化,嘌呤代谢对光唇鱼的免疫和抵抗环境胁迫起着重要作用,其生成的能量(如ATP和ADP)支持免疫细胞功能,使它们通过免疫反应以及细胞修复来面对温度胁迫^[33]。同时,嘌呤代谢也会参与抗氧化防御系统,能够有效防止免疫细胞受到氧化损伤,从而确保免疫功能的稳定^[34]。在高温胁迫下,调节嘌呤代谢可以调控温度对机体的应激损伤。此外,嘌呤代谢的中间产物(鸟苷酸,腺苷酸等)还参与维持细胞内的氧化还原平衡,这种调节能力有助于光唇鱼在免疫和抗高温过程中保持细胞功能的稳定,增强其适应能力^[35]。这些发现与上文中的结论一致,结果显示饲料中添加丁酸梭菌能够增强光唇鱼肠道的抗氧化能力,帮助光唇鱼抵抗高温。

在联合分析中,与菌群关联度高的代谢物,分别是-1-吡咯烷丙酰胺、苏氨酰-异亮氨酸、脱氧胞苷一磷酸(dCMP)、尿苷二磷酸-N-乙酰半乳糖胺、CMP-3-脱氧-D-甘露辛酮糖酸。文献指出dCMP是DNA合成的前体之一,由脱氧胞嘧啶和磷酸基团组成,在细胞内参与DNA的合成和修复过程^[36]。尿苷二磷酸-N-乙酰半乳糖胺作为糖基供体,参与糖蛋白和糖脂的合成,与肠道屏障功能、病原菌感染和免疫调节密切相关。苏氨酰-异亮氨酸,该二肽由苏氨酸和异亮氨酸组成,含有羟基和支链氨基酸结构。在蛋白质合成中作为氨基酸的供体,参与蛋白质的生物合成和代谢^[37],向饲料中添加一定含量异亮氨酸能提高杂交江鲮(*Pelteobagrus vachelli* × *Leiocassis longirostris*)的生长性能和肠道健康^[38]。CMP-3-脱氧-D-甘露辛酮糖酸是细菌细胞壁合成的重要中间产物,参与形成细菌细胞壁的多糖链^[39]。

CMP-3-脱氧-D-甘露辛酮糖酸可能通过参与有益菌的细胞壁合成, 维持肠道屏障功能和免疫调节, 调节宿主的代谢途径, 帮助鱼类更好地应对高温胁迫。

在高温胁迫下, 光唇鱼生长性能和抗氧化能力均受影响。丁酸梭菌的添加可改善其增重率和特定生长率, 同时增强肠道抗氧化酶活性, 降低MDA含量, 表明其通过提升抗氧化能力减轻氧化应激对生长的负面影响。在肠道菌群方面, 丁酸梭菌并未显著改变菌群组成, 但调节了菌群的代谢功能, 进而影响光唇鱼对营养物质的消化吸收及抗氧化能力。代谢组学分析显示, 丁酸梭菌可改变代谢产物, 如提高不饱和脂肪酸比例增强细胞膜流动性, 减少高温损伤, 还通过影响DNA合成、修复等代谢物和嘌呤代谢通路促进生长和抗氧化。综合来看, 丁酸梭菌通过调节肠道菌群代谢功能引发代谢产物变化, 增强细胞膜流动性、免疫调节和抗氧化能力, 改善营养吸收利用, 最终提升光唇鱼耐高温能力和生长性能。综上所述, 饲料添加 5×10^8 CFU/g丁酸梭菌提高了光唇鱼脂质代谢和膜运输途径等, 提高光唇鱼的抗菌和抗炎能力, 这可能是饲料添加丁酸梭菌组光唇鱼面对高温胁迫能力强于对照组的原因。

4 结论

试验结果表明, 饲料添加 5×10^8 CFU/g丁酸梭菌, 可显著提高光唇鱼的生长性能、肠道抗氧化能力及耐高温能力。通过肠道菌群和代谢组学分析表明, 丁酸梭菌添加有利于增加鱼体内磷脂代谢, 通过提高细胞膜流动性, 增强其耐高温能力。

(作者声明本文符合出版伦理要求)

参考文献:

- [1] Wang Y X, Zhong T X, Jiang J H, et al. Research progress and prospects of the genus *Acrossocheilus* in China [J]. *Chinese Journal of Fisheries*, 2025, **38**(3): 116-128. [汪勇翔, 钟天星, 姜建湖, 等. 中国光唇鱼属鱼类研究进展及前景展望 [J]. *水产学杂志*, 2025, **38**(3): 116-128.]
- [2] Lin G Y. Cage culture technology of *Acrossocheilus fasciatus* [J]. *Scientific Fish Farming*, 2021(7): 44-45. [林干云. 光唇鱼网箱养殖技术 [J]. *科学养鱼*, 2021(7): 44-45.]
- [3] Feng B B, Wang H D, Jiang J H, et al. Biological characteristics of *Acrossocheilus fasciatus* [J]. *Journal of Aquaculture*, 2025, **46**(4): 21-24. [冯彬彬, 王晗栋, 姜建湖, 等. 光唇鱼生物学特性 [J]. *水产养殖*, 2025, **46**(4): 21-24.]
- [4] Yin C Y, Wei Z Z, Wang Y, et al. Cloning and expression of *fads2* gene in *Acrossocheilus fasciatus* at different temperatures [J]. *Journal of Zhejiang Ocean University* (Natural Science), 2024, **43**(4): 288-295. [殷春燕, 卫贞竹, 王悦, 等. 光唇鱼 *fads2* 基因克隆及其在不同温度对比下的表达 [J]. *浙江海洋大学学报(自然科学版)*, 2024, **43**(4): 288-295.]
- [5] Wang R, Li Y, Zhang Y, et al. Exploring the adaptation process of *huso dauricus* to high temperatures based on changes in intestinal microbiota [J]. *Biology*, 2024, **13**(12): 1045.
- [6] Gamperl A K, Nati J J H, Clow K A, et al. It's a good thing that severely hypoxic salmon (*Salmo salar*) have a limited capacity to increase heart rate when warmed [J]. *The Journal of Experimental Biology*, 2025, **228**(5): JEB249594.
- [7] Kuz'mina V V, Skvortsova E G, Shalygin M V, et al. Role of peptidases of the intestinal microflora and prey in temperature adaptations of the digestive system in planktivorous and benthivorous fish [J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2015, **41**(6): 1359-1368.
- [8] Zhao C Y, Wang J, Ren W H, et al. Histological, immune, and intestine microbiota responses of the intestine of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) to high temperature stress [J]. *Aquaculture*, 2024: 740465.
- [9] Hou H X, Li L, Xu C F, et al. Research progress on functions of intestinal microbiota in freshwater fish and its applications in aquaculture [J]. *Feed Research*, 2025(2): 206-212. [侯红霞, 李林, 许长峰, 等. 淡水鱼肠道微生物的功能及其在水产养殖中的应用研究进展 [J]. *饲料研究*, 2025(2): 206-212.]
- [10] Liu Z, Bai P, Wang L, et al. *Clostridium tyrobutyricum* in Combination with chito-oligosaccharides modulate inflammation and gut microbiota for inflammatory bowel disease treatment [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2024, **72**(33): 18497-18506.
- [11] Hu N Z, Jiao G B, Ma Z Z, et al. In vitro evaluation of stress resistance characteristics of four *Clostridium butyricum* strains [J]. *Contemporary Animal Husbandry*, 2022(5): 48-51. [胡乃志, 焦国宝, 马壮壮, 等. 4株丁酸梭菌的抗逆特性体外评估 [J]. *当代畜牧*, 2022(5): 48-51.]
- [12] Hou T L, Liu H R, Tu Y F, et al. Effect of dietary *Clostridium butyricum* supplementation on grass carp growth performance, immunity, and resistance against *Aeromonas hydrophila* [J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2023, **32**(6): 1195-1204. [侯廷龙, 刘惠茹, 涂彦芳, 等. 饲料中添加丁酸梭菌对草鱼生长性能、免疫力及抗嗜水气单胞菌的影响 [J]. *上海海洋大学学报*, 2023, **32**(6): 1195-1204.]
- [13] Peng G Y, Shi X T, Xiao K, et al. Transcriptome response of growth, immunity and digestion to temperature in Dabry's sturgeon (*Acipenser dabryanus*) [J]. *China Feed*, 2025(1): 101-111. [彭光源, 史雪涛, 肖衍, 等. 基于转录组学解析水温对长江鲟仔稚鱼生长、免疫和消化的影响 [J]. *中国饲料*, 2025(1): 101-111.]
- [14] Lu K Y. Key points of culture technology of *Acrossocheilus fasciatus* [J]. *World Tropical Agriculture Information*, 2022(11): 72-73. [鲁开勇. 光唇鱼养殖技术

- 要点[J]. *世界热带农业信息*, 2022(11): 72-73.]
- [15] Qin M L, He Y Z, Tan X Y, *et al.* Effect of *Clostridium butyricum* on growth performance, serum biochemical indexes and liver antioxidant indexes of juvenile tilapia [J]. *Feed Research*, 2022, **45**(24): 47-51. [覃美兰, 何雨卓, 谭筱钰, 等. 丁酸梭菌对吉富罗非鱼幼鱼生长性能、血清生化指标及肝脏抗氧化指标的影响[J]. *饲料研究*, 2022, **45**(24): 47-51.]
- [16] Li L M, Yuan L W. Effects of probiotics combined with *Ganoderma lucidum* polysaccharides on lipid metabolism and antioxidation in hyperlipidemia mice [J]. *China Food Additives*, 2025, **36**(2): 1-9. [李利敏, 袁丽雯. 益生菌结合灵芝多糖对高血脂小鼠脂质代谢和抗氧化的影响[J]. *中国食品添加剂*, 2025, **36**(2): 1-9.]
- [17] Fang W L, Ju Z H, Huang J M, *et al.* Research progress on the peroxisome proliferator-activated receptor [J]. *Acta Ecologiae Animalis Domastici*, 2011, **32**(3): 1-5. [方文良, 鞠志花, 黄金明, 等. 过氧化物酶体增殖剂激活受体的研究进展[J]. *家畜生态学报*, 2011, **32**(3): 1-5.]
- [18] Tran N T, Li Z, Ma H, *et al.* *Clostridium butyricum*: a promising probiotic confers positive health benefits in aquatic animals [J]. *Reviews in Aquaculture*, 2020, **12**(4): 2573-2589.
- [19] Tao J, Gong Y, Chen S, *et al.* Dietary inclusion of *Clostridium butyricum* cultures alleviated impacts of high-carbohydrate diets in largemouth bass (*Micropterus salmoides*) [J]. *The British Journal of Nutrition*, 2024, **131**(8): 1308-1325.
- [20] Zhang M, Dong B, Lai X, *et al.* Effects of *Clostridium butyricum* on growth, digestive enzyme activity, antioxidant capacity and gut microbiota in farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*) [J]. *Aquaculture Research*, 2021, **52**(4): 1573-1584.
- [21] Dawood M A O, Noreldin A E, Sewilam H. Blood biochemical variables, antioxidative status, and histological features of intestinal, gill, and liver tissues of African catfish (*Clarias gariepinus*) exposed to high salinity and high-temperature stress [J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2022, **29**(37): 56357-56369.
- [22] Hou D Q, Hu J R, Chen B, *et al.* Effects of dietary supplementation with *Clostridium* butyrate or sodium butyrate on intestinal short-chain fatty acids contents, digestive enzymes activities, antioxidant indexes and intestinal structure of juvenile largemouth bass [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2024, **36**(9): 5883-5894. [侯冬强, 胡俊茹, 陈冰, 等. 饲料中添加丁酸梭菌或丁酸钠对大口黑鲈幼鱼肠道短链脂肪酸含量、消化酶活性与抗氧化指标以及肠道结构的影响[J]. *动物营养学报*, 2024, **36**(9): 5883-5894.]
- [23] Wang S, Cai M, Wang Y, *et al.* Dietary *Clostridium butyricum* metabolites mitigated the disturbances in growth, immune response and gut health status of *Ctenopharyngodon idella* subjected to high cottonseed and rapeseed meal diet [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2024(154): 109934.
- [24] Li S S, Zhang W J, Gao Y, *et al.* Correlation between the intestinal microbiota of larval and juvenile *Acrossocheilus fasciatus* and bacterial community of culture water [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2023, **47**(8): 1313-1322. [李珊珊, 张伟佳, 高阳, 等. 光唇鱼仔稚幼鱼肠道菌群与养殖水体细菌群落的相关性[J]. *水生生物学报*, 2023, **47**(8): 1313-1322.]
- [25] Wang H X, Liu H, Yang G P, *et al.* Effects of *Bacillus amyloliquefaciens* YM6 on the physiology and biochemistry of maize seedlings under salt stress [J]. *Acta Agricuturae Boreali-occidentalis Sinica*, 2020, **29**(3): 436-443. [王华笑, 刘环, 杨国平, 等. *Bacillus amyloliquefaciens* YM6对盐胁迫条件下玉米幼苗生理及生化的影响[J]. *西北农业学报*, 2020, **29**(3): 436-443.]
- [26] Zhu C H, Tao Z Y, Liu H X, *et al.* Effects of *Clostridium butyricum* and *Bacillus subtilis* on short chain fatty acids in cecal contents and transcriptome of cecal tissues in Gaoyou ducks [J]. *China Poultry*, 2022, **44**(4): 46-51. [朱春红, 陶志云, 刘宏祥, 等. 丁酸梭菌和枯草芽孢杆菌对高邮鸭盲肠内容物短链脂肪酸含量及盲肠组织转录组影响研究[J]. *中国家禽*, 2022, **44**(4): 46-51.]
- [27] Duan Y, Zhang Y, Dong H, *et al.* Effect of the dietary probiotic *Clostridium butyricum* on growth, intestine antioxidant capacity and resistance to high temperature stress in kuruma shrimp *Marsupenaeus japonicus* [J]. *Journal of Thermal Biology*, 2017(66): 93-100.
- [28] Zhang X L, Chen L, Yang J, *et al.* Vitamin D alleviates non-alcoholic fatty liver disease via restoring gut microbiota and metabolism [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2023(14): 1117644.
- [29] Chen W J, Chen M F, Li D, *et al.* Effects of dietary *Clostridium butyricum* addition on growth performance, intestinal antioxidant capacity, microbiota and metabolism of hybrid grouper [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2025, **37**(4): 2558-2575. [陈伟军, 陈铭钊, 李栋, 等. 饲料中添加丁酸梭菌对珍珠龙胆石斑鱼生长性能以及肠道抗氧化能力、菌群及代谢的影响[J]. *动物营养学报*, 2025, **37**(4): 2558-2575.]
- [30] Hishikawa D, Hashidate T, Shimizu T, *et al.* Diversity and function of membrane glycerophospholipids generated by the remodeling pathway in mammalian cells [J]. *Journal of Lipid Research*, 2014, **55**(5): 799-807.
- [31] Pan J, Chen M, Li N, *et al.* Bioactive functions of lipids in the milk fat globule membrane: a comprehensive review [J]. *Foods*, 2023, **12**(20): 3755.
- [32] Zhao T T. Study on regulation mechanism of lipid metabolism in *Scophthalmus maximus* under high temperature stress [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2022: 72-73. [赵亭亭. 高温胁迫下大菱鲆脂质代谢调控机制的探究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2022: 72-73.]
- [33] Kuo C H, Ballantyne R, Huang P L, *et al.* *Sarcodia suae* modulates the immunity and disease resistance of white shrimp *Litopenaeus vannamei* against *Vibrio alginolyticus* via the purine metabolism and phenylalanine metabolism [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2022(127): 766-777.
- [34] Gou J, Guo R J, Xing J, *et al.* Mechanism of cognitive

- growth therapy in treating mixed anxiety and depressive disorder based on metabolomics [J]. *World Chinese Medicine*, 2025, **20**(9): 1567-1577. [苟金, 郭蓉娟, 邢佳, 等. 基于代谢组学研究认知成长疗法治疗混合性焦虑抑郁障碍的作用机制 [J]. *世界中医药*, 2025, **20**(9): 1567-1577.]
- [35] Liao J Y, Xiong Z T, Li Z L, *et al.* Effects of acute cold stress and rewarming on the metabolism of gill tissue of Qingtian paddy field carp (*Cyprinus carpio* var. *qingtianensis*) [J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2024, **55**(9): 2813-2823. [廖嘉仪, 熊梓彤, 李志力, 等. 急性低温和复温对青田田鱼鳃组织代谢的影响 [J]. *南方农业学报*, 2024, **55**(9): 2813-2823.]
- [36] Xu J, Deng Y, Li Q, *et al.* STRIPE2 encodes a putative dCMP deaminase that plays an important role in chloroplast development in rice [J]. *Journal of Genetics and Genomics*, 2014, **41**(10): 539-548.
- [37] Zhou J, Zhang H D, Huo Y M, *et al.* Gas chromatography-time-of-flight mass spectrometry for analysis of metabolites in large yellow croaker roe sauce during rapid fermentation [J]. *Food Science*, 2022, **43**(24): 129-137. [周静, 张华丹, 火玉明, 等. 基于GC-TOF-MS的大黄鱼鱼卵鱼露快速发酵过程中代谢产物分析 [J]. *食品科学*, 2022, **43**(24): 129-137.]
- [38] Yin L. Effects of isoleucine on growth performance and intestinal health of hybrid bagrid catfish [D]. Ya'an: Sichuan Agricultural University, 2019: 40. [银龙. 异亮氨酸对杂交江鲢生长性能和肠道健康的影响 [D]. 雅安: 四川农业大学, 2019: 40.]
- [39] Xiong F Q, Liu X, Yang L, *et al.* In vitro antioxidant activity of carboxymethylated *Poria cocos* polysaccharide [J]. *Food and Nutrition in China*, 2017, **23**(7): 39-41. [熊芳琪, 刘欣, 杨岚, 等. 羧甲基茯苓多糖体外抗氧化活性研究 [J]. *中国食物与营养*, 2017, **23**(7): 39-41.]

CLOSTRIDIUM BUTYRICUM ON HIGH TEMPERATURE TOLERANCE OF JUVENILE ACROSSOCHEILUS FASCIATUS

JIANG Yan-Ting, ZHAO Shan-Shan, ZHAO Bo, DAI Xiao-Xin, LI Hai-Dong, CHU Zhang-Jie and GAO Yang

(College of Fisheries, Zhejiang Ocean University, Zhoushan 316022, China)

Abstract: With global warming increasing the frequency of extreme heat events, *Acrossocheilus fasciatus* aquaculture faces significant challenges. This study examined the effects of feed additive *Clostridium butyricum* on *A. fasciatus* under high-temperature stress, aiming to support its cultivation in high-temperature environments. The trial involves four groups with the bacterium added to regular feed at 0, 5×10^7 , 5×10^8 , and 1×10^9 CFU/g. After 60d feeding, water temperature was increased to 32°C at a rate of 1°C/24h, and intestinal tissues were collected to analyze digestive enzyme activity, metabolomics, and intestinal microbial diversity. Results showed that *C. butyricum*-supplemented feed significantly increased weight gain rate and specific growth rate of *A. fasciatus* while reducing the feed coefficient. Intestinal antioxidant enzyme activities (e.g., hydrogen peroxide and superoxide dismutase) increased significantly, with a concurrent decrease in malondialdehyde content. No significant differences exist in intestinal bacterial composition at phylum level between the two groups, but at the genus level, treatment groups exhibited higher relative abundance of beneficial bacteria, such as Solitrichaceae family, *Pseudomonas* genus, and *Rhodobacter* genus, which ensure the intestinal health of *A. fasciatus*. Key differential metabolites included nucleotides and their derivatives, as well as amino acids and their derivatives. Meanwhile, many fatty acid metabolites changed remarkably. The addition of *C. butyricum* to feed can enhance fish growth and antioxidant capacity, and help fish cope with heat stress by boosting purine metabolism and modulating gut microbiota.

Key words: *Clostridium butyricum*; High-temperature stress; Antioxidant capacity; Multi-omics analysis; *Acrossocheilus fasciatus*