

Chen Z Z, Xu Y C, Xiao K Y, *et al.* The optimal supplementation levels of micro-minerals in the diet of juvenile American eel (*Anguilla rostrata*) based on intestinal health [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2025, 49(11): 102511. [陈志泽, 徐一闯, 肖开渝, 等. 基于肠道健康的美洲鳗鲡幼鱼饲料中微量元素适宜添加水平研究 [J]. 水生生物学报, 2025, 49(11): 102511.]

基于肠道健康的美洲鳗鲡幼鱼饲料中微量元素适宜添加水平研究

陈志泽¹ 徐一闯¹ 肖开渝² 卢文标² 席峰¹ 翟少伟¹

(1. 集美大学水产学院, 鳗鲡现代产业技术教育部工程研究中心, 厦门 361021; 2. 福建深纳生物工程有限公司, 福州 350700)

摘要: 研究旨在从肠道健康相关指标变化的角度, 确定美洲鳗鲡(*Anguilla rostrata*)幼鱼饲料中无机形式微量元素(Inorganic micro-minerals, IMM)适宜添加水平。将500尾实验鱼[平均初重为(22.99±0.15) g/尾]随机分为5个处理组, 分别饲喂基础饲料中添加复合IMM预混料水平为0、600、1200、1800和2400 mg/kg的实验饲料, 每组4个重复, 每个重复25尾鱼, 实验期为70d。每千克复合IMM预混料含铜10.0 g、铁150 g、锰33 g、锌83 g、碘4.17 g、硒0.67 g和钴0.67 g。结果显示, 随着饲料中复合IMM预混料添加水平的升高, 实验鱼肠道淀粉酶、脂肪酶、蛋白酶、总超氧化物歧化酶、过氧化氢酶和谷胱甘肽过氧化物酶活性, 肠道绒毛高度、肌层厚度及微绒毛密度呈先升高后降低趋势, 均在1200 mg/kg 复合IMM预混料组数值最高; 血清D-乳酸水平、二胺氧化酶活性和肠道丙二醛水平呈先降低后升高趋势, 均在1200 mg/kg 复合IMM预混料组数值最低。在饲料中添加1200 mg/kg 复合IMM预混料有益于调节肠道菌群组成, 增加有益菌相对丰度, 抑制潜在致病菌增殖。以血清D-乳酸水平和二胺氧化酶活性及肠道绒毛高度为评价指标, 用二次回归模型得出复合IMM预混料在饲料中适宜的添加水平分别为900、1150和916 mg/kg。结合不同水平复合IMM预混料改善美洲鳗鲡幼鱼肠道健康的效果, 初步确定复合IMM预混料在饲料中适宜添加水平为900—1200 mg/kg, 即饲料中添加铜9.0—12.0 mg/kg、铁135—180 mg/kg、锰30—40 mg/kg、锌75—100 mg/kg、碘3.75—5.00 mg/kg、硒0.60—0.80 mg/kg和钴0.60—0.80 mg/kg。研究结果可为鳗鲡微量元素需要量研究及饲料科学配制提供参考。

关键词: 微量元素; 肠道健康; 适宜添加水平; 美洲鳗鲡

中图分类号: S963.7 文献标识码: A 文章编号: 1000-3207(2025)11-102511-12

doi: 10.3724/1000-3207.2025.2025.0100 CSTR: 32229.14.SSSWXB.2025.0100



微量元素指生物体内含量低于体重0.01%的元素, 其在生物体内不能产生与合成, 需由食物或环境提供^[1]。目前, 鱼类饲料中必需的微量元素主要为铁、铜、锰、锌、硒、碘、钴七种, 且以无机形式添加为主^[2]。微量元素作为鱼体内许多生物酶和蛋白质的辅助因子或结构成分, 在能量代谢、免疫应答、骨骼发育及繁殖等关键生理过程中发挥着重要作用^[1, 3, 4]。目前, 鱼类饲料中微量元素适宜添加水平的研究主要采用单一微量元素的方法, 在确定饲料中不同种类微量元素适宜添加水平后, 再以适宜水平的不同微量元素配制预混料添加在饲料中应

用^[5]。而近年来在断奶仔猪、AA肉仔鸡和罗曼褐壳蛋鸡的微量元素营养研究中发现, 以上述方法确定的各微量元素适宜添加水平配制的预混料却未获得最佳添加效果^[6-8]。这可能是因为单一微量元素的方法忽略不同微量元素间的协同或拮抗作用, 所估测某单一微量元素的“适宜”添加水平易受到其他微量元素水平的影响^[5, 6]。为考虑不同微量元素的相互作用在估测其适宜添加水平中的影响, 最近在断奶仔猪、育肥猪、黄羽肉鸡和汶上芦花鸡等陆生动物的微量元素营养研究中, 则使用添加复合微量元素预混料的方法估测微量元素的适宜添加水平, 该方

收稿日期: 2025-03-26; 修订日期: 2025-05-15

基金项目: 国家现代农业产业技术体系专项资金(CARS-46)资助 [Supported by the Earmarked Fund for China Agriculture Research System (CARS-46)]

作者简介: 陈志泽(1999—), 男, 硕士研究生; 研究方向为水产动物营养与饲料。E-mail: azer1101@163.com

通信作者: 翟少伟(1973—), 男, 博士研究生导师; 主要从事鳗鲡营养需求与饲料研究。E-mail: zhaisw@jmu.edu.cn

法得到越来越多的动物营养研究者的认可^[9-12]。

长期以来, 鱼类饲料中微量元素适宜添加水平的研究主要以生长性能(如增重率、特定生长率、饲料效率)、全鱼或组织器官(如肝脏、脊椎骨和血液等)微量元素含量作为评价指标^[3, 5]。然而, 仅依赖生长性能和鱼体或组织器官微量元素含量指标, 无法充分反映微量元素对鱼体生理健康的影响。鱼体整体生理健康以肠道、肝脏和胰脏等主要内脏器官的生理健康、组织结构与功能完整性为基础^[1]。其中, 肠道作为鱼类消化吸收、免疫防御、内分泌和代谢的重要器官, 对鱼体健康发挥至关重要的作用^[1, 3]。近年来, 越来越多的学者将研究重点聚焦于鱼类的肠道健康状况, 通常将肠道通透性、肠道黏膜组织结构、肠道菌群等作为评价指标^[13]。目前, 还未见以肠道健康有关指标评价鱼类饲料中微量元素适宜添加水平的报道。

鳗鲡(*Anguilla* spp.), 又称鳗鱼、白鳢, 属降海洄游鱼类, 是我国重要养殖经济鱼类之一^[14]。在鳗鲡养殖的主要品种中, 美洲鳗鲡(*Anguilla rostrata*)是我国南方多个省份的主导品种^[15]。目前, 还未见采用复合微量元素预混料的方法, 以肠道健康评价指标估测美洲鳗鲡幼鱼饲料中微量元素适宜添加水平的报道。因此, 本实验在美洲鳗鲡幼鱼饲料中添加不同水平IMM, 综合考虑肠道消化酶活性、抗氧化能力、通透性和组织形态相关指标及肠道菌群组成和相对丰度, 初步确定饲料中适宜的IMM添加水平, 为鳗鲡微量元素需要量的研究及饲料科学配制提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验设计

将500尾美洲鳗鲡幼鱼[平均初重为(22.99±0.15) g/尾]随机分为5个处理组, 分别饲喂基础饲料中添加复合IMM预混料水平为0 (IMM0组)、600 (IMM600组)、1200 (IMM1200组)、1800 (IMM1800组)和2400 (IMM2400组) mg/kg的实验饲料。其中, IMM1200组所添加的微量元素水平参考马德英等^[16]鳗鲡饲料微量元素推荐添加值, 即铜12.0 mg/kg、铁180 mg/kg、锰40 mg/kg、锌100 mg/kg、碘5.00 mg/kg、硒0.80 mg/kg和钴0.80 mg/kg。每组4个重复, 每个重复25尾鱼, 实验期70d。

1.2 实验饲料

实验饲料主要蛋白原料为白鱼粉(G.L.S.牌阿拉斯加低温白鱼粉)和红鱼粉(巴哈鱼粉), 其组成及营养水平见表1。饲料原料均购自福清市海美生物科技有限公司, 用超碎粉碎机(ZFJ-300, 江阴市睿总

机械制造有限公司, 中国)粉碎, 过80目筛网, 再根据饲料配方比例采用逐级混匀法混合均匀后于4℃保存备用, 具体的操作步骤与Lu等^[17]的研究一致。不同IMM处理组饲料中主要微量元素铜、铁、锰和锌的实际含量见表2。无机形式的各微量元素原

表1 实验饲料组成及营养水平

Tab. 1 Composition and nutrient levels of experimental diets					
项目Item	IMM0	IMM600	IMM1200	IMM1800	IMM2400
原料Ingredient (%)					
白鱼粉White fish meal	40.00	40.00	40.00	40.00	40.00
红鱼粉Brown fish meal	27.00	27.00	27.00	27.00	27.00
α-淀粉α-starch	25.00	25.00	25.00	25.00	25.00
酵母粉Beer yeast powder	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
膨化大豆Puffed soybean	1.85	1.85	1.85	1.85	1.85
氯化胆碱Choline chloride	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
磷酸二氢钙Ca(H ₂ PO ₄) ₂	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
七水硫酸镁MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
复合维生素预混料Multivitamin premix ¹	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40
复合IMM预混料Compound IMM premix ²	0	0.06	0.12	0.18	0.24
沸石粉Zeolite powder	0.25	0.19	0.13	0.07	0.01
合计Total	100	100	100	100	100
营养组成Nutritional composition (%)					
粗蛋白Crude protein	47.20	47.50	47.44	47.86	47.47
粗脂肪Crude lipid	6.03	6.05	6.02	6.03	6.00
灰分Ash	12.65	12.74	12.62	12.74	12.60

注: ¹每千克复合维生素预混料含: 维生素A 3333333.33 IU, 维生素D₃ 416666.67 IU, 维生素E 15.00 g, 维生素K₃ 15.00 g, 维生素B₁ 2.67 g, 维生素B₂ 5.00 g, 维生素B₆ 2.00 g, 维生素B₁₂ 0.01 g, 维生素C 33.33 g, D-泛酸10.00 g, 烟酰胺23.33 g, 叶酸0.33 g, D-生物素0.05 g, 肌醇33.33 g; ²每千克复合IMM预混料含: 17.09 g Cu₂(OH)₃Cl (铜含量58.50%)、491.80 g FeSO₄·H₂O (铁含量30.50%)、104.17 g MnSO₄·H₂O (锰含量32.00%)、238.10 g ZnSO₄·H₂O (锌含量35.00%)、6.72 g Ca(IO₃)₂ (碘含量62.00%)、1.48 g Na₂SeO₃ (硒含量45.00%)、2.02 g CoSO₄·H₂O (钴含量33.00%)、138.62 g沸石粉

Note: ¹Each kilogram of multivitamin premix contains: VA 3333333.33 IU, VD₃ 416666.67 IU, VE 15.00 g, VK₃ 15.00 g, VB₁ 2.67 g, VB₂ 5.00 g, VB₆ 2.00 g, VB₁₂ 0.01 g, VC 33.33 g, D-pantothenic acid 10.00 g, amyl nicotinate 23.33 g, folic acid 0.33 g, D-biotin 0.05 g, and inositol 33.33 g; ²Each kilogram of the compound IMM premix contains: 17.09 g Cu₂(OH)₃Cl (Cu 58.50%), 491.80 g FeSO₄·H₂O (Fe 30.50%), 104.17 g MnSO₄·H₂O (Mn 32.00%), 104.17 g ZnSO₄·H₂O (Zn 35.00%), 6.72 g Ca(IO₃)₂ (I 62.00%), 1.48 g Na₂SeO₃ (Se 45.00%), 2.02 g CoSO₄·H₂O (Co 33.00%), and 138.62 g zeolite powder

表 2 不同组饲料中各IMM实测值

Tab. 2 Measured values of IMM in diets of different groups (mg/kg)

微量元素 Micro-minerals	IMM0	IMM600	IMM1200	IMM1800	IMM2400
Cu	2.50	8.56	14.45	20.66	26.6
Fe	273.75	364.80	455.21	541.53	631.49
Mn	7.73	26.51	47.39	68.22	86.18
Zn	64.36	114.09	167.32	215.98	265.35

料由福建深纳生物工程有限公司提供。

1.3 饲养管理

在集美大学产学研水产实验基地开展养殖实验。将购自明溪县凯润达渔业有限公司的800尾实验鱼暂养在两个圆形养殖缸(直径110 cm, 高80 cm)中暂养28d, 每天将鳗鲡商业配合饲料与水按1:1.3混合搓成团状并定时(06:00和18:00)饲喂, 饲喂25min后捞出残饵和粪便。暂养28d并确认实验鱼摄食和健康状况稳定后, 将实验鱼禁食24h。挑选规格相近的健康幼鱼500尾, 随机分于20个圆形养殖缸(直径60 cm, 高100 cm, 注水量约为320 L)中, 采用循环水养殖, 每个养殖缸24h充氧。正式实验期间饲喂实验饲料, 根据实际饱食情况调整饲喂量, 饲喂30min后捞出残饵、记录摄食量和鱼死亡状况, 根据养殖缸水质情况, 每两天更换养殖缸实际水体的20%—30%。暂养及正式实验期间水温控制在25—27℃, pH维持在7.0—8.0, 溶解氧>7.7 mg/L, 氨氮浓度<0.2 mg/L。

1.4 样品采集

在70d养殖实验结束后, 将实验鱼禁食24h。每缸随机挑选14尾鱼用丁香酚(0.1 g/L)麻醉10min后进行采血。血液样本于4℃条件下过夜后进行离心(3000 r/min, 10min), 取上清液于-80℃冰箱保存。采血后的实验鱼用医用手术剪刀解剖, 取肠道备用。每缸随机取8尾鱼的肠道用于消化酶活性和抗氧化能力测定; 2尾鱼的肠道分别用多聚甲醛和电镜固定液固定, 用于肠道组织切片的制备和电镜扫描观察。取4尾鱼的肠道做菌群多样性分析。

1.5 测定指标及方法

肠道通透性指标 使用南京建成生物工程研究所生产的试剂盒测定血清D-乳酸(D-lactic acid, D-lac)水平和二胺氧化酶(Diamine oxidase, DAO)活性, 按照说明书操作步骤进行测定。

肠道总蛋白定量测定 将肠道组织样品制成匀浆后, 使用南京建成生物工程研究所的试剂盒, 通过BCA法测定蛋白浓度, 进行蛋白定量。

肠道消化酶活性 肠道蛋白酶、脂肪酶和

淀粉酶活性使用南京建成生物工程研究所生产的试剂盒, 按说明书上方法进行测定。

肠道抗氧化能力指标 采用南京建成生物工程研究所生产的试剂盒测定总超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, T-SOD)、过氧化氢酶(Catalase, CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(Glutathione peroxidase, GSH-Px)活性和丙二醛(Malondialdehyde, MDA)水平, 按照说明书步骤进行测定。

肠道组织形态及观察 将固定在多聚甲醛中的肠道取出, 脱水。对脱水后的样品依次进行石蜡包埋、切片、去除表面水分后进行烤片。使用HE(苏木精-伊红)染色并封片。具体操作步骤与Lu等^[17]一致。使用正置荧光显微镜(BX80-JPA, Olympus, Japan)观察拍照。

肠道扫描电镜样品制备具体过程参考Lu等^[17]方法, 使用扫描电子显微镜(SU8100, Hitachi, Japan)采集图像。在采集的图像中随机选取3个等面积(2.61 μm^2)区域进行微绒毛数量统计, 用于计算肠道微绒毛密度。

肠道菌群测序分析 分别选取IMM0、IMM1200和IMM2400组各8个肠道样品, 委托北京奥维森基因科技有限公司进行肠道菌群测序分析。先使用E.Z.N.A. Soil DNA Kit (Omega Bio-tek, Inc., USA)试剂盒提取美洲鳗鲡幼鱼肠道样本的基因组DNA, 提取方法参照试剂盒说明书。然后使用Nanodrop 2000 (ThermoFisher Scientific, Inc., USA)检测DNA质量和浓度。检测合格的样品在Illumina Miseq PE300高通量测序平台进行序列测定。

1.6 统计分析

实验结果以平均值±标准差表示。使用SPSS 25.0软件做单因素方差分析(One-way ANOVA), 采用邓肯法进行多重比较, $P<0.05$ 表示差异显著。使用Leica Application Suite X软件测量绒毛高度及肌层厚度; QIIME2软件计算Alpha多样性和Beta多样性, 通过Kruskal Wallis法分析肠道菌群差异。采用GraphPad Prism8软件制图。

2 结果

2.1 美洲鳗鲡幼鱼肠道通透性相关指标

由图1可知, 与IMM0组相比, IMM1200组的D-lac水平显著降低($P<0.05$), IMM600、IMM1800及IMM2400组的D-lac水平无显著变化($P>0.05$); IMM600和IMM1200组的DAO活性显著降低($P<0.05$), IMM1800及IMM2400组的DAO活性无显著变化($P>0.05$)。如图2所示, 以肠道D-lac水平和DAO活性作为评价指标, 通过二次回归模型得出饲料中复合

IMM预混料最佳添加水平分别为900和1150 mg/kg。

2.2 美洲鳗鲡幼鱼肠道消化酶活性

由表3可知,与IMM0组相比,IMM600、IMM

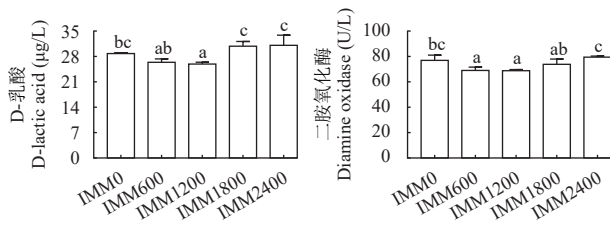


图1 不同IMM处理组的实验鱼肠道通透性相关指标

Fig. 1 Indicators related to intestinal permeability of experimental fish in different IMM treatment groups

图中字母不同表示差异显著($P<0.05$);下同

Different letters within the same row indicate significant differences ($P<0.05$); the same applies below

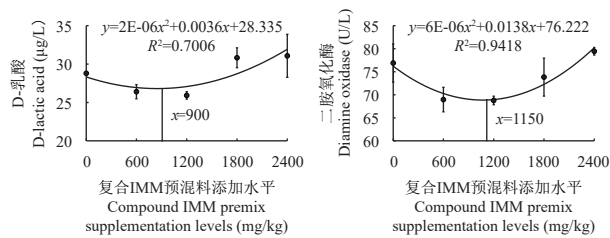


图2 饲料中复合IMM预混料添加水平与肠道通透性相关指标的关系

Fig. 2 Relationship between the levels of compound IMM premix supplemented in the diets and indicators of intestinal permeability

表3 不同IMM处理组的实验鱼肠道消化酶活性

Tab. 3 The activities of intestinal digestive enzymes of the experimental fish in different IMM treatment groups

项目Item	IMM0	IMM600	IMM1200	IMM1800	IMM2400
淀粉酶Amylase (U/mg prot)	0.41±0.07 ^a	0.66±0.12 ^b	1.04±0.11 ^c	0.63±0.09 ^b	0.44±0.09 ^a
脂肪酶Lipase (U/g prot)	25.12±0.88 ^a	46.59±4.38 ^c	56.23±2.60 ^d	36.42±1.64 ^b	22.98±3.47 ^a
蛋白酶Protease (U/mg prot)	131.99±5.45 ^b	142.44±4.99 ^c	160.76±5.90 ^d	136.86±4.09 ^{bc}	118.52±6.70 ^a

注:同行数据肩标字母不同表示差异显著($P<0.05$);下同

Note: Different letters within the same row indicate significant differences ($P<0.05$); the same applies below

表4 不同IMM处理组的实验鱼肠道抗氧化能力指标

Tab. 4 Indices of intestinal antioxidant capacity of experimental fish in different IMM treatment groups

项目Item	IMM0	IMM600	IMM1200	IMM1800	IMM2400
CAT (U/mg prot)	5.31±0.58 ^{ab}	6.49±0.87 ^{bc}	7.62±0.44 ^c	4.50±0.37 ^a	4.17±0.88 ^a
T-SOD (U/mg prot)	95.64±8.63 ^{ab}	103.88±2.31 ^{bc}	106.43±3.68 ^c	96.95±4.46 ^{ab}	88.92±5.39 ^a
GSH-Px (U/mg prot)	20.54±1.85 ^a	23.74±2.53 ^b	28.80±0.43 ^c	20.56±1.08 ^a	19.30±0.20 ^a
MDA (nmol/mg prot)	0.75±0.08 ^b	0.67±0.13 ^b	0.44±0.06 ^a	0.71±0.12 ^b	0.74±0.10 ^b

表5 不同IMM处理组的实验鱼肠道组织形态相关指标

Tab. 5 Indicators related to intestinal tissue morphology of experimental fish in different IMM treatment groups

项目Item	IMM0	IMM600	IMM1200	IMM1800	IMM2400
绒毛高度Villus height (μm)	615.52±36.33 ^b	701.76±28.49 ^c	840.68±28.36 ^c	678.14±26.73 ^c	478.03±14.63 ^a
肌层厚度Muscular thickness (μm)	77.21±4.87 ^c	82.60±3.51 ^d	89.41±1.78 ^c	63.28±2.30 ^b	46.03±1.64 ^a
微绒毛密度Microvillus density (根/μm ²)	84.58±1.73 ^{bc}	87.10±3.68 ^c	105.23±7.29 ^d	77.88±0.75 ^{ab}	74.85±2.71 ^a

1200和IMM1800组的淀粉酶及脂肪酶活性均显著升高($P<0.05$), IMM2400组的淀粉酶及脂肪酶活性无显著差异($P>0.05$); IMM600和IMM1200组的蛋白酶活性显著升高($P<0.05$), IMM1800组的蛋白酶活性无显著差异($P>0.05$), 而IMM2400组的蛋白酶活性显著降低($P<0.05$)。IMM1200组的淀粉酶、脂肪酶及蛋白酶活性显著高于其他组($P<0.05$)。

2.3 美洲鳗鲡幼鱼肠道抗氧化能力指标

如表4所示,与IMM0组相比,IMM1200组的CAT及T-SOD活性显著升高($P<0.05$), MDA水平显著降低($P<0.05$), IMM600、IMM1800及IMM2400组的CAT、T-SOD活性及MDA水平均无显著变化($P>0.05$); IMM600和IMM1200组的GSH-Px活性显著提高($P<0.05$), IMM1800和IMM2400组的GSH-Px活性无显著变化($P>0.05$)。

2.4 美洲鳗鲡幼鱼肠道组织形态

由表5、图3和图4可知,随着饲料中复合IMM预混料添加水平的升高,实验鱼肠道绒毛高度、肌层厚度和微绒毛密度呈先升高后降低趋势,在1200 mg/kg复合IMM预混料组有最大数值。如图5所示,以肠道微绒毛高度作为评价指标,通过二次回归模型得出饲料中复合IMM预混料最佳添加水平为916 mg/kg。

2.5 美洲鳗鲡幼鱼肠道菌群

由图6可知,IMM1200组的PD_whole_tree指数

均显著低于IMM0和IMM2400组($P<0.05$), 而IMM0和IMM2400组间的PD_whole_tree指数无显著差异($P>0.05$)。各处理组间的chao1、observed_species和shannon指数均无显著差异($P>0.05$)。

由图7可知, IMM0、IMM1200和IMM2400组之间样点相距较远, 各处理组之间菌群差异大。

由图8a可知, 实验鱼肠道中的优势菌门主要为厚壁菌门(Firmicutes)、变形菌门(Proteobacteria)、放线菌门(Actinobacteriota)、拟杆菌门(Bacteroidota)和酸杆菌门(Acidobacteriota)。由图8b可知, 与IMM0组相比, IMM1200组厚壁菌门相对丰度有上升趋势。IMM2400组厚壁菌门相对丰度显著低于IMM1200组($P<0.05$)。各处理组间变形菌门、放线菌门、拟杆菌门和酸杆菌门相对丰度无显著差异($P>0.05$)。

由图9a可知, 实验鱼肠道菌群中优势菌属主要为狭义梭菌属_1 (*Clostridium_sensu_stricto_1*)、邻单胞菌属 (*Plesiomonas*)、副梭菌属 (*Paraclostridium*)、罗姆布茨菌属 (*Romboutsia*)、爱德华氏菌属

(*Edwardsiella*)和不动杆菌属(*Acinetobacter*)。由图9b可知, 经LEfSe分析得出IMM0组实验鱼肠道中葡萄球菌属(*Staphylococcus*)、棒状杆菌属(*Corynebacterium*)、肠杆菌属(*Enterobacter*)和不动杆菌属相对丰度显著升高($P<0.05$); IMM1200组罗姆布茨菌属、狭义梭菌属_1和邻单胞菌属相对丰度显著升高($P<0.05$); IMM2400组短波单胞菌属(*Brevundi-*

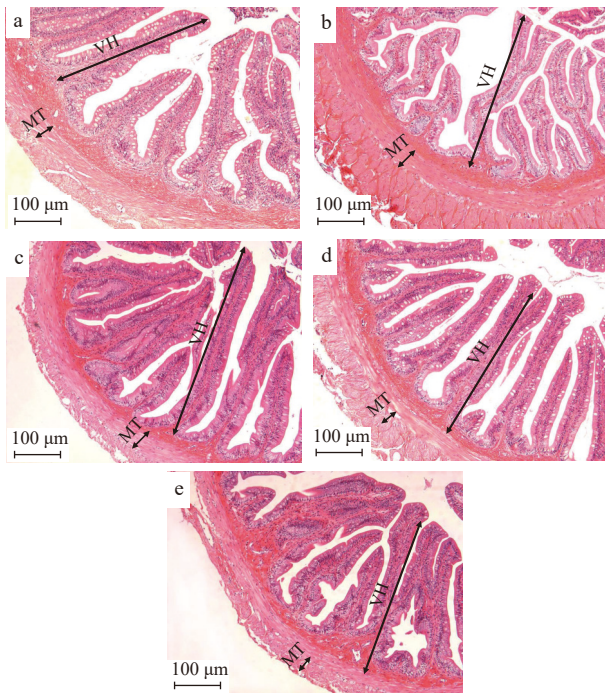


图3 不同IMM处理组的实验鱼肠道组织形态

Fig. 3 Intestinal tissue morphology of experimental fish in different IMM treatment groups

图中a—e分别表示IMM0、IMM600、IMM1200、IMM1800及IMM2400组实验鱼的肠道组织形态; VH. 绒毛高度; MT. 肌层厚度

Graphs a to e represent the intestinal tissue morphology of the experimental fish in the IMM0, IMM600, IMM1200, IMM1800, and IMM2400 groups, respectively; VH. villus height; MT. muscle layer thickness

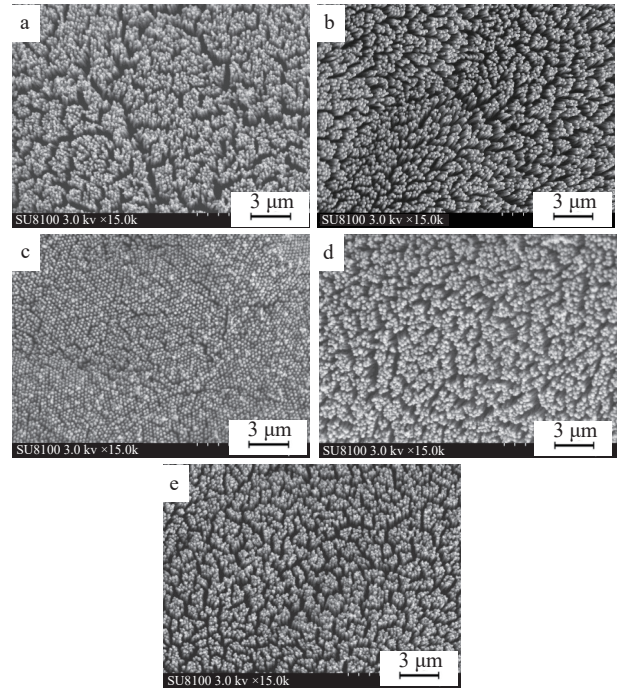


图4 不同IMM处理组的实验鱼肠道电镜扫描观察

Fig. 4 Electron microscopic scanning of the intestine of experimental fish in different IMM treatment groups

图中a—e分别表示IMM0、IMM600、IMM1200、IMM1800及IMM2400组实验鱼肠道的扫描电镜图

Graphs a to e represent the scanning electron microscope images of the intestines of experimental fish from the IMM0, IMM600, IMM1200, IMM1800, and IMM2400 groups, respectively

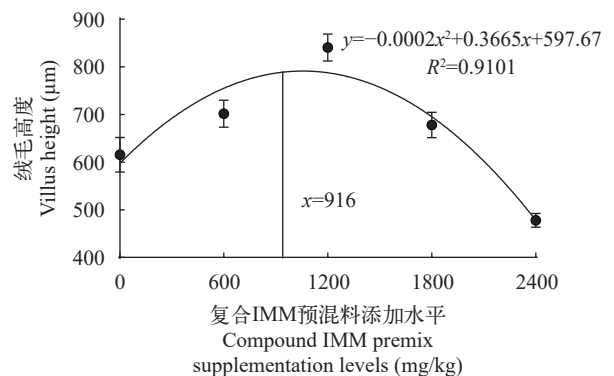


图5 饲料中复合IMM预混料添加水平与肠道绒毛高度的关系
Fig. 5 Relationship between the level of compound IMM premix supplemented in the diet and the height of intestinal passage villi

monas)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)和寡养单胞菌属(*Stenotrophomonas*)相对丰度显著升高($P<0.05$)。

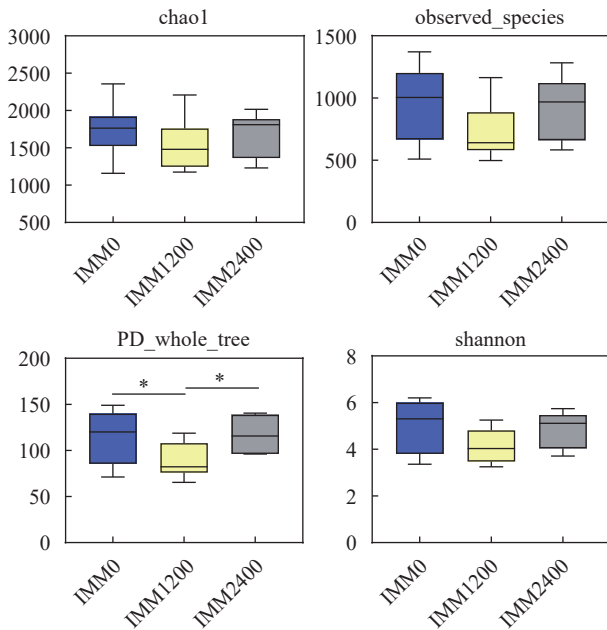


图6 不同IMM处理组的实验鱼肠道菌群Alpha多样性

Fig. 6 Alpha diversity of intestinal flora of experimental fish in the different IMM treatment groups

图中*代表有显著差异($P<0.05$)

* represents significant difference ($P<0.05$)

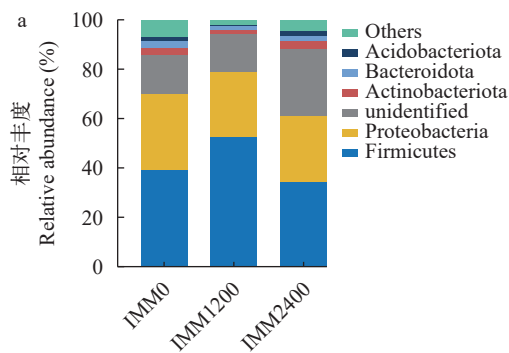


图8 不同IMM处理组的实验鱼肠道菌群组成(门水平)

Fig. 8 Intestinal flora composition of experimental fish in the different IMM treatment groups (phylum level)

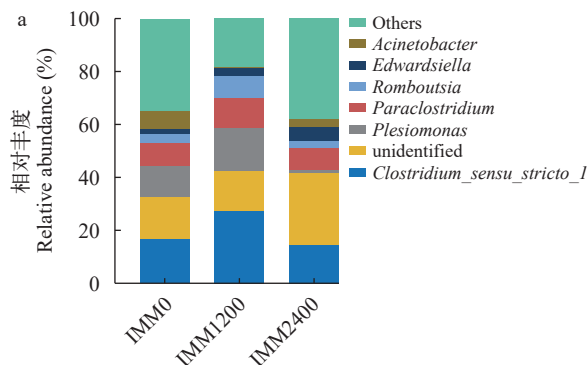


图9 不同IMM处理组的实验鱼肠道菌群组成及差异(属水平)

Fig. 9 Composition and differences in intestinal flora of experimental fish in the different IMM treatment groups (genus level)

3 讨论

3.1 饲料中添加不同水平IMM对美洲鳗鲡幼鱼肠道通透性相关指标的影响

血清D-lac水平和DAO活性是评价肠道黏膜通透性的重要指标, 血清中D-lac水平和DAO活性降

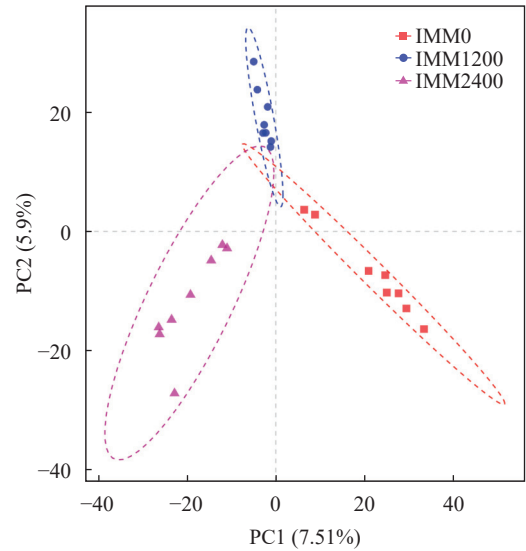
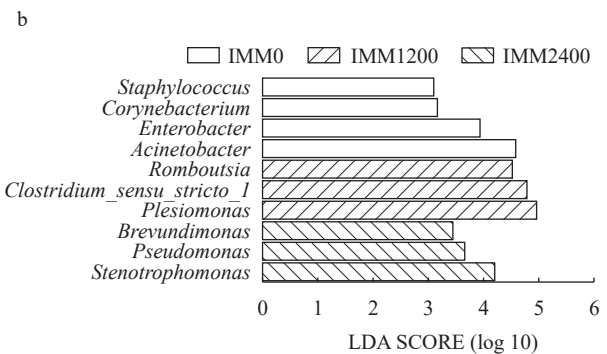
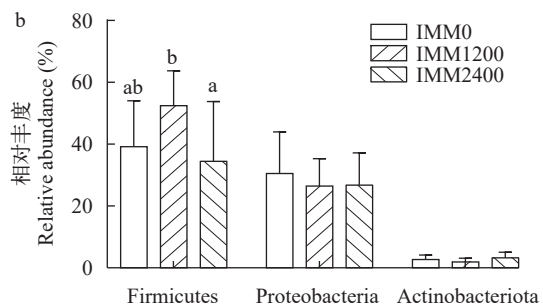


图7 不同IMM处理组的实验鱼肠道菌群Beta多样性

Fig. 7 Beta diversity of intestinal flora of experimental fish in the different IMM treatment groups



低表明肠道黏膜通透性降低^[18,19]。在本实验中, 饲料中添加不同水平复合IMM预混料显著影响血清D-lac水平和DAO活性, 且随着添加水平的升高, 二者呈先下降后上升趋势, 在1200 mg/kg复合IMM预混料组数值最低。这与美洲鳗鲡幼鱼饲料中添加不同水平包被复合IMM预混料后, 实验鱼血清D-lac水平和DAO活性的变化趋势一致^[20]。这说明饲料中添加适宜水平微量元素可降低肠道黏膜通透性, 可能有利于提高肠道屏障功能。

3.2 饲料中添加不同水平IMM对美洲鳗鲡幼鱼肠道消化酶活性的影响

鱼类消化酶主要包括淀粉酶、脂肪酶和蛋白酶等, 其活性反应鱼体对营养物质的消化能力^[1]。在本实验中, 饲料中添加不同水平复合IMM预混料显著影响实验鱼的肠道消化酶活性, 且随着添加水平的升高呈先升高后降低趋势, 在1200 mg/kg复合IMM预混料组有最高数值。这与美洲鳗鲡幼鱼和草鱼(*Ctenopharyngodon idella*)饲料中添加不同水平包被复合IMM预混料^[20,21], 尼罗罗非鱼和草鱼饲料中添加不同水平复合氨基酸微量元素螯合物预混料后肠道消化酶活性的变化趋势一致^[22,23]。这表明, 饲料中添加适宜水平微量元素可提高实验鱼肠道消化酶活性。这可能与饲料中添加适宜水平微量元素改善鱼体肠道组织形态, 肠道上皮细胞数量增加而促进了消化酶分泌有关^[24]。

3.3 饲料中添加不同水平IMM对美洲鳗鲡幼鱼肠道抗氧化能力指标的影响

鱼类的抗氧化系统主要由一系列抗氧化酶组成, 包括T-SOD、CAT和GSH-Px等关键酶^[25]。其中T-SOD是鱼体内普遍存在的金属抗氧化酶(CuZn-SOD、Mn-SOD), 可催化超氧阴离子的歧化反应, 生成H₂O₂和H₂O, 从而保护机体免受活性氧诱导的氧化应激^[26]。CAT可催化H₂O₂分解产生H₂O和O₂, 保护细胞免受进一步的氧化损伤^[27]。GSH-Px可利用还原性谷胱甘肽(GSH)催化氢过氧化物和过氧化物的还原, 有助于鱼体抵抗过量活性氧引起的氧化应激^[28]。MDA是脂质过氧化的产物之一, 可反映细胞或组织受氧化损伤的程度^[29]。在本实验中, 随着饲料中复合IMM预混料添加水平的升高, 实验鱼肠道T-SOD、CAT和GSH-Px活性均呈先升高后降低趋势, MDA水平呈先降低后升高趋势, 上述指标均在1200 mg/kg复合IMM预混料组有极值。这与美洲鳗鲡幼鱼饲料中添加不同水平包被复合IMM预混料后, 实验鱼肠道抗氧化酶活性及MDA水平变化趋势一致^[20]。在大菱鲆(*Scophthalmus maximus*)和凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)饲料中添加不

同水平复合氨基酸微量元素螯合物预混料也有类似的研究结果^[30,31]。这说明饲料中添加适宜水平微量元素有利于提高实验鱼和虾的肠道抗氧化能力。研究表明, 微量元素在抗氧化酶的组成、结构稳定和催化活性中起着重要作用, 如铜和锌是CuZn-SOD的重要组成部分, 锰是Mn-SOD的重要组成部分, 铁是CAT的辅助因子, 硒是GSH-Px的组成成分, 这些抗氧化酶能够保护细胞免受氧化应激的损伤^[3-5]。目前, 有关饲料中添加适宜水平微量元素提高抗氧化酶相关活性, 不足或过量添加抑制抗氧化酶活并导致氧化损伤发生的现象已被广泛报道^[3,24,32]。在本实验中, 美洲鳗鲡幼鱼肠道抗氧化酶活性升高可能是饲料提供的适宜水平铜、铁、锰、锌、硒共同作用的结果, 而微量元素调节抗氧化酶活性的具体作用途径还需进一步研究。

3.4 饲料中添加不同水平IMM对美洲鳗鲡幼鱼肠道组织形态的影响

肠道绒毛高度、肌层厚度和微绒毛密度与肠道的生长发育和消化吸收能力密切相关^[33]。肠道绒毛高度和微绒毛密度的增加可增大与食物的接触面积, 促进对营养物质的消化吸收; 肌层厚度增加则反应肠道的收缩能力提高, 促进食物与消化液的充分混合, 进而提高消化吸收效率^[34]。在本实验中, 饲料中添加不同水平复合IMM预混料显著影响实验鱼肠道绒毛高度、肌层厚度和微绒毛密度, 且随着添加水平的升高, 上述指标呈先升高后降低趋势, 在1200 mg/kg复合IMM预混料组数值最大。这与美洲鳗鲡幼鱼和草鱼饲料中添加不同水平包被复合IMM预混料, 尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)饲料中添加不同水平氨基酸微量元素螯合物预混料后肠道肌层厚度和绒毛高度的变化趋势类似^[20-22]。这说明饲料中添加适宜水平微量元素有利于改善实验鱼的肠道组织形态。研究表明, 微量元素如锌、铁、铜、硒和锰在维持鱼体肠道组织形态中发挥重要作用, 其中锌和铁适量添加改善实验鱼肠道肌层厚度、绒毛高度和结构完整性, 而不足或过量添加导致肠道组织形态和结构完整性受到破坏的报道较多^[24,35,36]。美洲鳗鲡幼鱼肠道组织形态得到改善可能与饲料中适宜水平的锌、铁、铜、硒和锰有关, 而微量元素改善肠道组织形态的具体作用途径还有待研究。

3.5 饲料中添加不同水平IMM对美洲鳗鲡幼鱼肠道菌群的影响

肠道微生物对维持肠道健康具有重要作用, 肠道菌群的变化与疾病的发生和发展密切相关^[37]。在鱼类肠道微生物研究中, Alpha多样性是反映肠

道菌群丰富度和多样性的综合指标, Chao1和Observed_species指数反应菌群丰富度, PD_whole_tree和shannon指数则反应菌群多样性, 上述指数数值越大表示菌群丰富度和多样性越高^[17]。在本实验中, IMM1200组PD_whole_tree指数显著低于IMM0和IMM2400组, 而各处理组间的Chao1、Observed_species和shannon指数无显著差异。这说明在饲料中添加适宜水平IMM可降低实验鱼肠道菌群多样性。在美洲鳗鲡幼鱼饲料中添加不同水平复合IMM预混料也有类似研究结果^[20]。

PLS-DA分析结果显示, 饲料添加不同水平复合IMM预混料可显著改变实验鱼肠道菌群组成。在本实验中, 实验鱼肠道菌群主要由厚壁菌门、变形菌门、放线菌门、拟杆菌门和酸杆菌门组成, 与以往研究中美洲鳗鲡的肠道菌群组成类似^[17, 38, 39]。值得注意的是, 与IMM0组相比, IMM1200组美洲鳗鲡幼鱼肠道中厚壁菌门相对丰度有升高趋势。而IMM2400组厚壁菌门相对丰度显著低于IMM1200组。研究表明, 厚壁菌门细菌可以产生多种降解膳食营养物质的酶, 分解多糖和多脂类物质, 还可刺激鱼类肠道对脂肪酸的吸收, 从而促进宿主对能量的储存, 是淡水鱼类肠道中的优势菌群^[40, 41]。

经LEfSe分析, IMM0组实验鱼肠道中葡萄球菌属、棒状杆菌属、肠杆菌属和不动杆菌属相对丰度显著升高。研究表明, 葡萄球菌属中的大多细菌均可引发皮肤感染和机体炎症的产生, 且具有较强耐药性, 是虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)和鲮(*Pagrosomus major*)肠道中常见的条件致病菌^[42, 43]。棒状杆菌属中的一些条件致病菌可分泌外毒素, 如白喉毒素, 可引起局部炎症^[44]。该菌属在人类和陆生动物中报道较多, 而在鱼类肠道中是否有类似不利影响, 还有待进一步研究。肠杆菌属细菌是水产动物中常见的条件致病菌, 在机体免疫力下降时易引起感染, 该菌属中的一些细菌对牛蛙(*Lithobates catesbeianus*)和罗氏沼虾(*Macrobrachium rosenbergii*)幼体有较强的致病性^[45, 46]。不动杆菌属中存在较多鱼类肠道中潜在的致病菌, 且具有较强的耐药性, 该菌属中已报道的养殖鳗鲡病原菌有鲁氏不动杆菌(*Acinetobacter lwoffii*)和鲍曼不动杆菌(*Acinetobacter baumannii*)^[47]。可见, 饲料中微量元素添加不足可能会导致实验鱼肠道中潜在致病菌相对丰度增加, 加大感染疾病的风险。

IMM1200组实验鱼肠道中罗姆布茨菌属、狭义梭菌属_1和邻单胞菌属相对丰度显著升高。研究表明, 罗姆布茨菌属细菌能将肠道中大分子碳水化合物代谢为短链脂肪酸, 从而降低肠道pH, 有利

于提高宿主的免疫调节能力^[48, 49], 该菌属已被报道是健康花鲈(*Lateolabrax maculatus*)、鳙(*Hypophthalmichthys nobilis*)和石斑鱼(*Epinephelus coioides*)肠道中的优势菌属^[50—52]。对小肠中氨基酸代谢细菌的研究结果表明, 狭义梭菌属_1在动物利用氨基酸的过程中发挥着重要作用^[53], 在抑制有害菌的生长、促进益生菌的繁殖方面有正面作用, 有助于保持肠道菌群的多样性^[54]。在目前报道的鱼类肠道中, 邻单胞菌属细菌多为条件致病菌^[55], 但Larsen等^[56]对蓝鳃太阳鱼(*Lepomis macrochirus*)、大口黑鲈(*Micropterus salmoides*)和斑点叉尾鲷(*Ictalurus punctatus*)的研究表明, 邻单胞菌属也是肠道中的正常菌群。本实验中IMM1200组美洲鳗鲡幼鱼未出现患病现象, 说明该菌属可能也是鳗鲡肠道中的正常菌群, 其在鳗鲡肠道中的功能还有待研究。

IMM2400组实验鱼肠道中短波单胞菌属、假单胞菌属、寡养单胞菌属相对丰度显著升高。研究表明, 短波单胞菌属细菌能诱发多种传染性疾病, 还可导致鱼类出现病理组织学损伤, 是鱼类肠道中常见的条件致病菌^[57]。假单胞菌属含有多种鱼类肠道中常见的条件致病菌, 能引起鲤(*Cyprinus carpio*)和大黄鱼(*Larimichthys crocea*)的大量急性死亡^[58, 59]。寡养单胞菌属中仅有的菌种为嗜麦芽寡养单胞菌(*Stenotrophomonas maltophilia*), 可引起斑点叉尾鲷暴发高致死性传染病, 是鱼类肠道中常见的病原菌^[60]。由此可见, 饲料中添加2400 mg/kg复合IMM预混料后, 美洲鳗鲡幼鱼肠道中上述致病菌相对丰度升高, 这可能是该复合IMM预混料添加水平下, 实验鱼肠道健康状况下降的原因之一。

3.6 美洲鳗鲡幼鱼饲料中复合IMM预混料适宜添加水平

肠道通透性和肠道黏膜组织结构相关指标常用于评价鱼类肠道健康状况^[13]。其中, 肠道绒毛高度是肠道与营养物质接触面积的重要评价指标, 反映出鱼体对营养物质消化吸收功能的强弱^[61]。而肠道通透性相关指标如血清D-lac水平和血清DAO活性, 是目前检测鱼类肠黏膜屏障功能的重要手段之一, 可反映出鱼体肠道的健康状况^[13]。在本实验中, 以血清D-lac水平、DAO活性和肠道绒毛高度为评价指标, 通过二次回归模型得出饲料中最佳的复合IMM预混料添加水平分别为900、1150和916 mg/kg。而从不同处理组实验鱼肠道健康相关指标的总体变化情况来看, 1200 mg/kg复合IMM预混料的添加效果最佳。因此, 认为美洲鳗鲡幼鱼饲料中复合IMM预混料适宜添加水平为900—1200 mg/kg。

4 结论

在本实验条件下, 综合考虑饲料中添加不同水平的复合无机微量元素预混料对美洲鳗鲡幼鱼肠道通透性、抗氧化能力、消化酶活性、组织形态及菌群的影响, 在饲料中添加900—1200 mg/kg复合微量元素预混料改善肠道健康效果较好, 即饲料中添加铜9.0—12.0 mg/kg、铁135—180 mg/kg、锰30—40 mg/kg、锌75—100 mg/kg、碘3.75—5.00 mg/kg、硒0.60—0.80 mg/kg和钴0.60—0.80 mg/kg。研究结果可为鳗鲡微量元素的营养需求及饲料科学配制提供参考。

(作者声明本文符合出版伦理要求)

参考文献:

- [1] Ye Y T, Cai C F, Wu P, *et al.* Fish Nutrition and Formula Feed [M]. 2nd ed. Beijing: Chemical Industry Press, 2023: 306-309. [叶元土, 蔡春芳, 吴萍, 等. 鱼类营养与饲料配制 [M]. 2版. 北京: 化学工业出版社, 2023: 306-309.]
- [2] Watanabe T, Kiron V, Satoh S. Trace minerals in fish nutrition [J]. *Aquaculture*, 1997, **151**(1-4): 185-207.
- [3] Mai K S. Aquatic Animal Nutrition and Feed Science [M]. 2nd ed. Beijing: China Agriculture Press, 2011: 87-98. [麦康森. 水产动物营养与饲料学 [M]. 2版. 北京: 中国农业出版社, 2011: 87-98.]
- [4] NRC. Nutrient Requirements of Fish and Shrimp [M]. Washington, DC: National Academies Press, 2011: 176-194.
- [5] Lall S P, Kaushik S J. Nutrition and metabolism of minerals in fish [J]. *Animals*, 2021, **11**(9): 2711.
- [6] Fang R J, Xiang Z F, Yang Y S, *et al.* Mineral element ideal pattern-from theory to practice [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2013, **25**(5): 891-898. [方热军, 项智锋, 杨永生, 等. 矿物元素理想模式研究—从理论到实践 [J]. *动物营养学报*, 2013, **25**(5): 891-898.]
- [7] Gajula S S, Chelasani V K, Panda A K, *et al.* Effect of supplemental inorganic Zn and Mn and their interactions on the performance of broiler chicken, mineral bioavailability, and immune response [J]. *Biological Trace Element Research*, 2011, **139**(2): 177-187.
- [8] Yao J H, Zhong Y L, An X F, *et al.* Research on balance supply of copper, ferrite, zinc, and manganese in practical diets for layers [J]. *Cereal & Feed Industry*, 2007(5): 31-33. [姚军虎, 钟乐伦, 安晓芳, 等. 对产蛋鸡实用日粮中铜、铁、锌、锰平衡供应方案的探讨 [J]. *粮食与饲料工业*, 2007(5): 31-33.]
- [9] Kim H J, Jin X H, Kang S W, *et al.* Effects of dietary trace mineral levels on physiological responses, reproductive performance, litter performance, blood profiles, and milk composition in gestating sows [J]. *Animal Bioscience*, 2023, **36**(12): 1860-1868.
- [10] Chen J, Wang H, Ma Y, *et al.* Effects of the methionine hydroxyl analog chelated microminerals on growth performance, antioxidant status, and immune response of growing-finishing pigs [J]. *Animal Science Journal*, 2022, **93**(1): e13730.
- [11] Chen C B, Qu M R, Liang H, *et al.* Effects of different levels of coated compound trace elements on serum biochemical index, antioxidant and immune ability of yellow feather broilers [J]. *Chinese Journal of Veterinary Science*, 2023, **43**(2): 418-424. [陈传斌, 瞿明仁, 梁欢, 等. 不同添加水平包被复合微量元素对黄羽肉鸡血清生化指标、抗氧化和免疫能力的影响 [J]. *中国兽医学报*, 2023, **43**(2): 418-424.]
- [12] Wang Z D, Liu W, Han H X, *et al.* Effects of compound trace elements on production performance, egg quality and serum indexes of Wenshang Luhua chickens [J]. *Shandong Agricultural Sciences*, 2025, **57**(2): 150-157. [王正东, 刘玮, 韩海霞, 等. 复合微量元素对汶上芦花鸡生产性能、蛋品质和血清指标的影响 [J]. *山东农业科学*, 2025, **57**(2): 150-157.]
- [13] Hu H L, Gao M. Research advance in intestinal barrier function and evaluation index [J]. *Chinese Journal of Animal Science*, 2012, **48**(17): 78-82. [胡红莲, 高民. 肠道屏障功能及其评价指标的研究进展 [J]. *中国畜牧杂志*, 2012, **48**(17): 78-82.]
- [14] Yuan Y, Yuan Y, Dai Y, *et al.* Development status and trends in the eel farming industry in Asia [J]. *North American Journal of Aquaculture*, 2022, **84**(1): 3-17.
- [15] Zhang X, Ye H, Wang H R, *et al.* Analysis on the development of eel industry in China [J]. *China Fisheries*, 2022(11): 40-45. [张翔, 叶翬, 王虹人, 等. 中国鳗鲡产业发展情况探析 [J]. *中国水产*, 2022(11): 40-45.]
- [16] Ma D Y, Shi Y, Chen X H, *et al.* Preliminary study on recommendation level of trace elements in eel diet [J]. *Feed Research*, 2019, **42**(5): 73-75. [马德英, 史叶, 陈学豪, 等. 鳗鲡饲料中微量元素推荐量初探 [J]. *饲料研究*, 2019, **42**(5): 73-75.]
- [17] Lu W, Yu H, Liang Y, *et al.* Evaluation of methanotroph (*Methylococcus capsulatus*, bath) bacteria protein as an alternative to fish meal in the diet of juvenile American eel (*Anguilla rostrata*) [J]. *Animals*, 2023, **13**(4): 681.
- [18] Chang X, Liu P, Feng J, *et al.* Impact of chronic exposure to the ionic liquid ([C8mim] [PF6]) on intestinal physical barrier, immunological barrier and gut microbiota in common carp (*Cyprinus carpio* L.) [J]. *Environmental Research*, 2020(189): 109919.
- [19] Ji J, Gu Z, Li H, *et al.* Cryptdin-2 predicts intestinal injury during heatstroke in mice [J]. *International Journal of Molecular Medicine*, 2018, **41**(1): 137-146.
- [20] Qu Q. In vitro evaluation of coated inorganic trace elements and its supplementation effect in diet of the American eel (*Anguilla rostrata*) [D]. Xiamen: Jimei

- University, 2023: 19-27. [瞿倩. 包被无机微量元素体外评价及其在美洲鳊饲料中添加效果研究 [D]. 厦门大学, 2023: 19-27.]
- [21] Hu K, Chen K, Zhou X Q. A comparative study: effects of the coated slow-release multi-trace elements and trace elements on growth performance, digestion and absorption capacities and growth development in the intestine of young grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) [J]. *Journal of Sichuan Agricultural University*, 2019, **37**(4): 557-565. [胡凯, 陈康, 周小秋. 包被复合微量元素与常规微量元素对生长中期草鱼生产性能、消化吸收能力和肠道生长发育的比较研究 [J]. 四川农业大学学报, 2019, **37**(4): 557-565.]
- [22] El-Sayed A M, Figueiredo-Silva C, Zeid S M S, *et al.* Metal-amino acid complexes (Zn, Se, Cu, Fe and Mn) as a replacement of inorganic trace minerals in commercial diets for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) reared under field conditions: Effects on growth, feed efficiency, gut microbiota, intestinal histology, and economic return [J]. *Aquaculture*, 2023(567): 739223.
- [23] Long X Y, Guo Y, Shi Y, *et al.* Effects of amino acid trace element chelates on growth performance, serum biochemical indexes, and trace element deposition of grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2024, **36**(3): 1806-1818. [龙辛宇, 郭勇, 石勇, 等. 氨基酸微量元素螯合物对草鱼生长性能、血清生化指标及微量元素沉积的影响 [J]. 动物营养学报, 2024, **36**(3): 1806-1818.]
- [24] Dawood M A O, Alagawany M, Sewilam H. The role of zinc microelement in aquaculture: A review [J]. *Biological Trace Element Research*, 2022, **200**(8): 3841-3853.
- [25] Tse H M, Milton M J, Piganelli J D. Mechanistic analysis of the immunomodulatory effects of a catalytic antioxidant on antigen-presenting cells: implication for their use in targeting oxidation-reduction reactions in innate immunity [J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2004, **36**(2): 233-247.
- [26] Ma F, Ma B, Zhang B, *et al.* Disturbance of oxidation/antioxidant status and histopathological damage in tsinling lenok trout under acute thermal stress [J]. *Tropical Animal Health and Production*, 2023, **55**(5): 287.
- [27] Ma X Y, Tang Z L, Chen S Q, *et al.* Impacts of early weaning on survival rate, antioxidant and digestive enzyme activities, and intestinal microbiota of juvenile largemouth bass (*Micropterus salmoides*) [J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2024, **31**(4): 403-415. [马兴宇, 唐忠林, 陈树桥, 等. 转食饲料对大口黑鲈幼鱼的存活率、抗氧化酶和消化酶活性及肠道菌群的影响 [J]. 中国水产科学, 2024, **31**(4): 403-415.]
- [28] Toppo S, Flohé L, Ursini F, *et al.* Catalytic mechanisms and specificities of glutathione peroxidases: variations of a basic scheme [J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2009, **1790**(11): 1486-1500.
- [29] Xia X, Ma X, Liang N, *et al.* Damage of polyethylene microplastics on the intestine multilayer barrier, blood cell immune function and the repair effect of *Leuconostoc mesenteroides* DH in the large-scale loach (*Paramisgurnus dabryanus*) [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2024(147): 109460.
- [30] Yang M, Li Y, Liu Y, *et al.* Effects of dietary organic trace mineral mixture levels on survival, growth performance, body composition and antioxidant capacity of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*) [J]. *Aquaculture Research*, 2020, **51**(8): 3421-3428.
- [31] Katya K, Lee S, Yun H, *et al.* Efficacy of inorganic and chelated trace minerals (Cu, Zn and Mn) premix sources in Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* (Boone) fed plant protein based diets [J]. *Aquaculture*, 2016(459): 117-123.
- [32] Kong Y X, Ma X B, Wang G Q. Research progress on biological function of iron and its application in fish [J]. *Feed Industry*, 2024, **45**(8): 56-63. [孔雨昕, 马喜波, 王桂芹. 铁的生物学功能及其在鱼类中的应用研究进展 [J]. 饲料工业, 2024, **45**(8): 56-63.]
- [33] Zheng D, Yang X, Liang J, *et al.* Effects of dietary α -ketoglutarate supplementation on growth performance, digestive enzyme activity, immune gene expression, and intestinal morphology of largemouth bass (*Micropterus salmoides*) fed high soybean diet [J]. *Aquaculture Reports*, 2025(41): 102706.
- [34] Lv W H, Wu F, Sorensen M, *et al.* Interaction between dietary zinc (Zn) and manganese (Mn) on growth performance, intestinal health and lipid metabolism in yellow catfish [J]. *Aquaculture*, 2025, **596**(2): 741809.
- [35] Guo X W, Mai H B, Chi S Y, *et al.* Effects of three kind Cu sources on growth performance, antioxidant enzymes and intestinal morphology of juvenile pearl gentian grouper (*Epinephelus lanceolatus* ♂ $\times$ *Epinephelus fuscoguttatus* ♀) [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2019, **43**(4): 739-747. [郭鑫伟, 麦浩彬, 迟淑艳, 等. 三种不同的铜源对珍珠龙胆石斑鱼生长、抗氧化酶活性及肠道形态的影响 [J]. 水生生物学报, 2019, **43**(4): 739-747.]
- [36] Guo Y L, Jiang W D, Wu P, *et al.* The decreased growth performance and impaired immune function and structural integrity by dietary iron deficiency or excess are associated with TOR, NF- κ B, p38MAPK, Nrf2 and MLCK signaling in head kidney, spleen and skin of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2017(65): 145-168.
- [37] Liu C, Zhao L P, Shen Y Q. A systematic review of advances in intestinal microflora of fish [J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2021, **47**(6): 2041-2053.
- [38] Wang Y, Chen X H, Wu X Y, *et al.* Effects of dietary supplementation of peanut skin proanthocyanidins on growth performance and lipid metabolism of the juvenile American eel (*Anguilla rostrata*) [J]. *Animals*, 2022,

- 12(18): 2375.
- [39] Chen R, Huang L, Zhai S. Effects of *Macleaya cordata* extract on growth performance, serum biochemical parameters, and intestinal health of juvenile American eel (*Anguilla rostrata*) [J]. *Fishes*, 2022, 7(5): 229.
- [40] Zhou M, Liang R, Mo J, et al. Effects of brewer's yeast hydrolysate on the growth performance and the intestinal bacterial diversity of largemouth bass (*Micropterus salmoides*) [J]. *Aquaculture*, 2018(484): 139-144.
- [41] Colston T J, Jackson C R. Microbiome evolution along divergent branches of the vertebrate tree of life: what is known and unknown [J]. *Molecular Ecology*, 2016, 25(16): 3776-3800.
- [42] Oh W T, Jun J W, Giri S S, et al. *Staphylococcus xylosus* infection in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) as a primary pathogenic cause of eye protrusion and mortality [J]. *Microorganisms*, 2019, 7(9): 330.
- [43] Weerakkody N S, Caffin N, Dykes G A, et al. Effect of antimicrobial spice and herb extract combinations on *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, and spoilage microflora growth on cooked ready-to-eat vacuum-packaged shrimp [J]. *Journal of Food Protection*, 2011, 74(7): 1119-1125.
- [44] Oliveira A, Oliveira L C, Aburjaile F, et al. Insight of genus *Corynebacterium*: ascertaining the role of pathogenic and non-pathogenic species [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2017(8): 1937.
- [45] Liu Q T, Huang Z Y, Sun Y J, et al. Isolation, identification, and drug susceptibility analysis of pathogenic *Enterobacter cloacae* in *Rana catesbeiana* [J]. *Journal of Hanshan Normal University*, 2021, 42(3): 44-49. [刘琦涛, 黄志艺, 孙延杰, 等. 牛蛙致病性阴沟肠杆菌的分离、鉴定和药敏分析 [J]. 韩山师范学院学报, 2021, 42(3): 44-49.]
- [46] Tong S Q, Gao X J, Zhang S M, et al. Identification and antibiotic sensitivity detection of pathogenic *Enterobacter aerogenes* isolated from *Macrobrachium rosenbergii* [J]. *Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2019, 51(2): 83-88. [童帅旗, 高晓建, 张双明, 等. 罗氏沼虾源产气肠杆菌分离鉴定及耐药性分析 [J]. 畜牧与兽医, 2019, 51(2): 83-88.]
- [47] Sun Y, He M W, Zhang P P, et al. Isolation, identification, and pathogenicity analysis of *Acinetobacter baumannii* in *Anguilla rostrata* [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2020, 44(9): 1561-1571. [孙云, 何明旺, 张盼盼, 等. 美洲鳗鲡致病性鲍曼不动杆菌的分离、鉴定及致病性分析 [J]. 水产学报, 2020, 44(9): 1561-1571.]
- [48] Qin R, Wang J, Chao C, et al. RS5 produced more butyric acid through regulating the microbial community of human gut microbiota [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2021, 69(10): 3209-3218.
- [49] Gerritsen J, Hornung B, Renckens B, et al. Genomic and functional analysis of *Romboutsia ilealis* CRIB (T) reveals adaptation to the small intestine [J]. *PeerJ*, 2017(5): e3698.
- [50] Liang Z L, Zhao J C, Liao M Z, et al. Structural differences in intestinal microbiota of Chinese sea bass (*Lateolabrax maculatus*) in different growth stages [J]. *Journal of Dalian Ocean University*, 2024, 39(2): 215-224. [梁祖鑫, 赵吉臣, 廖敏泽, 等. 不同生长阶段中国花鲈肠道和环境微生物群落分析 [J]. 大连海洋大学学报, 2024, 39(2): 215-224.]
- [51] Qin Z N, Xiao R M, Liang S L, et al. Diversity of gut microbiota in bighead carp and the isolation and identification of potential probiotics [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2023, 39(5): 41-52. [秦振宁, 肖睿铭, 梁书利, 等. 鳊鱼肠道菌群多样性及潜在益生菌的分离鉴定 [J]. 现代食品科技, 2023, 39(5): 41-52.]
- [52] Cai H D, Mo K L, Hu Y H, et al. Effect of composite *Bacillus* on growth, immunity, and gut microbiota of grouper (*Epinephelus coioides*) [J]. *Feed Research*, 2021, 44(21): 64-70. [蔡红丹, 莫坤联, 胡永华, 等. 饲料中添加复合芽孢杆菌对石斑鱼生长、免疫及肠道菌群的影响 [J]. 饲料研究, 2021, 44(21): 64-70.]
- [53] Fan P, Liu P, Song P, et al. Moderate dietary protein restriction alters the composition of gut microbiota and improves ileal barrier function in adult pig model [J]. *Scientific Reports*, 2017(7): 43412.
- [54] Liu B, Zhu X, Cui Y, et al. Consumption of dietary fiber from different sources during pregnancy alters sow gut microbiota and improves performance and reduces inflammation in sows and piglets [J]. *mSystems*, 2021, 6(1): e00591-20.
- [55] Yu Z, Yin X, Lu B, et al. Identification and characteristics of *Plesiomonas shigelloides* isolated from *Mastacembelus armatus* [J]. *Aquaculture Reports*, 2024(39): 102414.
- [56] Larsen A M, Mohammed H H, Arias C R. Characterization of the gut microbiota of three commercially valuable warmwater fish species [J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2014, 116(6): 1396-1404.
- [57] Zhang H, Wang L, Li J, et al. Histopathological damage of *Carassius auratus* by infection of *Brevundimonas vesicularis* [J]. *Chinese Journal of Veterinary Medicine*, 2020, 56(5): 108-110. [张桦, 王利, 李娟, 等. 泡囊短波单胞菌对鲫鱼的病理组织学损伤 [J]. 中国兽医杂志, 2020, 56(5): 108-110.]
- [58] Zou H B, Xue S Q, Lv X N, et al. Isolation, identification, and drug sensitivity test of a pathogenic strain of *Pseudomonas aeruginosa* from common carp [J]. *China Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2023, 50(11): 4703-4713. [邹昊博, 薛淑群, 吕晓楠, 等. 1株鲤源致病性铜绿假单胞菌的分离鉴定及药敏试验 [J]. 中国畜牧兽医, 2023, 50(11): 4703-4713.]
- [59] Ge M F, Xu S W, Wang W Q, et al. Analysis on the antibiotic resistance of pathogens separated from *Pseu-*

- dosciaena crocea* in Ningbo City, Zhejiang Province from 2020 to 2022 [J]. *Journal of Fisheries Research*, 2023, **45**(5): 506-512. [葛明峰, 徐胜威, 王雯琼, 等. 2020—2022年宁波市大黄鱼病原菌耐药状况分析 [J]. 渔业研究, 2023, **45**(5): 506-512.]
- [60] Xie H, Wei W Y, Wang K Y, *et al.* Genome sequencing and comparative genomics analysis of *Stenotrophomonas maltophilia* isolated from *Ictalurus punctatus* [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2019, **43**(7): 1635-1646. [谢恒, 魏文燕, 汪开毓, 等. 斑点叉尾鲷源嗜麦芽寡养单胞菌的全基因组测序及比较基因组学 [J]. 水产学报, 2019, **43**(7): 1635-1646.]
- [61] Song P, Cao S P, Tang J Z, *et al.* Effects of dietary rapeseed meal on the growth performance, intestinal morphology and microflora of grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2019, **43**(6): 1147-1154. [宋鹏, 曹申平, 唐建洲, 等. 饲料中发酵豆粕替代菜粕对草鱼生长性能、肠道形态和微生物及小肽转运相关基因表达的影响 [J]. 水生生物学报, 2019, **43**(6): 1147-1154.]

THE OPTIMAL SUPPLEMENTATION LEVELS OF MICRO-MINERALS IN THE DIET OF JUVENILE AMERICAN EEL (*ANGUILLA ROSTRATA*) BASED ON INTESTINAL HEALTH

CHEN Zhi-Ze¹, XU Yi-Chuang¹, XIAO Kai-Yu², LU Wen-Biao², XI Feng¹ and ZHAI Shao-Wei¹

(1. Engineering Research Center of Modern Industry Technology for Eel, College of Fisheries, Jimei University, Xiamen 361021, China; 2. Fujian Syno Biotech Co., Ltd., Fuzhou 350700, China)

Abstract: This trial aimed to determine the optimal supplementation level of inorganic micro-minerals (IMM) in the diet of juvenile American eel (*Anguilla rostrata*) by evaluating the intestinal health related indicators. A total of 500 fish with an average body weight of (22.99±0.15) g were randomly divided into five treatment groups, they were fed a basal diet supplemented with 0, 600, 1200, 1800, and 2400 mg/kg of a compound IMM premix, respectively. In each group, there were four replicates with 25 fish per replicate, and the trial lasted for 70d. The compound IMM premix contained Cu 10.0 g, Fe 150 g, Mn 33 g, Zn 83 g, I 4.17 g, Se 0.67 g, and Co 0.67 g. With the increasing supplementation levels of compound IMM premix, activities of intestinal amylase, lipase, protease, total superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase, intestinal villi height, the muscularis propria thickness, and the microvilli density initially increased and then decreased, with the highest values observed in the 1200 mg/kg premix group. Conversely, serum D-lactic acid levels, diamine oxidase activity, and intestinal malondialdehyde levels showed an initial decrease followed by an increase, with the lowest values in the 1200 mg/kg group. The supplementation of 1200 mg/kg compound IMM premix in the diet could beneficially regulate intestinal flora composition by increasing the relative abundance of beneficial bacteria and inhibiting potentially pathogenic bacteria. By using the serum D-lactic acid level, diamine oxidase activity, and intestinal villus height as the evaluation indices, quadratic regression model was employed to estimate the appropriate supplementation levels of the compound IMM premix as 900, 1150, and 916 mg/kg, respectively. Considering the overall effects on improving intestinal health in juvenile American eels, the appropriate supplementation level range of the compound IMM premix was 900—1200 mg/kg, which provide dietary concentrations of Cu 9.0—12.0 mg/kg, Fe 135—180 mg/kg, Mn 30—40 mg/kg, Zn 75—100 mg/kg, I 3.75—5.00 mg/kg, Se 0.60—0.80 mg/kg, and Co 0.60—0.80 mg/kg. These results might provide a reference for studying trace mineral requirements and formulating scientific diets of eels.

Key words: Micro-minerals; Intestinal health; Appropriate level; *Anguilla rostrata*