DOI: 10.3969/j.issn.2095-9869.20250308001　　http://www.yykxjz.cn/

王庆彬, 雷柯柯, 商谭, 崔培, 孙金辉, 王庆奎, 程镇燕. 饲料补充后生元对氨氮胁迫下珍珠龙胆石斑鱼抗氧化能力、免疫应答、肠道形态及肠道微生物的影响. 渔业科学进展, 2026, 47(1): 93–105

WANG Q B, LEI K K, SHANG T, CUI P, SUN J H, WANG Q K, CHENG Z Y. Effects of dietary supplementation with postbiotics on antioxidative ability, immune response, gut morphology, and microbiota of hybrid grouper (*Epinephelus fuscoguttatus* ♀×*Epinephelus lanceolatus* ♂) under ammonia-nitrogen stress. Progress in Fishery Sciences, 2026, 47(1): 93–105

饲料补充后生元对氨氮胁迫下珍珠龙胆石斑鱼抗氧化能力、免疫应答、肠道形态及肠道微生物的影响*

王庆彬[1]　雷柯柯[1]　商　谭[2]　崔　培[1]　孙金辉[1]　王庆奎[1]　程镇燕[1①]

(1. 天津农学院水产学院　天津市水产生态与养殖重点实验室　天津　300392；
2. 赛多美(北京)农业科技有限公司　北京　100027)

摘要　后生元作为一种新兴饲料添加剂，在水产养殖中正受到越来越多的关注。本研究以初始体重为(31.30±0.64) g 的珍珠龙胆石斑鱼(*Epinephelus fuscoguttatus* ♀×*Epinephelus lanceolatus* ♂)为研究对象，评估后生元营养强化对氨氮胁迫下石斑鱼免疫和肠道健康的影响。在基础饲料中分别添加 0、0.25、0.75 和 2.0 mL/kg 后生元(本研究所用后生元为液体，浓度为 30%)，形成 1 个对照组(N0)和 3 个实验组(N250、N750 和 N2000)，饲喂 8 周后，进行氨氮胁迫(5 mg/L) 1 周。结果显示，在氨氮胁迫后，N750 和 N2000 实验组存活率高于 N0 组(P<0.05)。后生元组肝脏超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、酸性磷酸酶(ACP)、碱性磷酸酶(AKP)和溶菌酶(LZM)活性均显著高于 N0 组(P<0.05)，丙二醛(MDA)含量显著降低(P<0.05)。后生元组肠道蛋白酶活性剂量依赖性显著提升，而脂肪酶活性剂量依赖性显著下降(P<0.05)。与 N0 组相比，饲料补充后生元提升了肠道绒毛吸收面积，且 N2000 组提升了肠道肌层厚度(P<0.05)。此外，饲料补充后生元提高了肠道内容物的厚壁菌门(Firmicutes)和拟杆菌门(Bacteroidetes)相对丰度，降低了变形菌门(Proteobacteria)相对丰度。在属水平上，弧菌属(*Vibrio*)和青枯菌(*Ralstonia*)相对丰度随着饲料后生元含量增加呈先下降后上升的趋势，在 N750 组达到最小值(分别约 1%和 3%)。PICRUSt 功能预测表明，N750 组氨基酸代谢、辅因子合成及次级代谢产物等通路上调，N2000 组环境适应相关通路上调。综上，后生元营养强化能够改善氨氮胁迫环境下石斑鱼的肠道菌群结构以及抗氧化和非特性免疫能力，并提高石斑鱼的存活率。0.75 mL/kg 后生元在优化菌群结构[如拟杆菌(Bacteroidetes)、普氏菌(Prevotella)]和功能(氨基酸、辅因子代谢激活)，及机体抗氧化能力方面效果最佳。

关键词　后生元；珍珠龙胆石斑鱼；氨氮胁迫；非特异性免疫；肠道健康

中图分类号　S963.73+9　**文献标识码**　A　**文章编号**　2095-9869(2026)01-0093-13

益生菌在改善水产动物生长健康方面的作用得到大量研究证实(Kerry *et al*, 2018; Brugman *et al*, 2018)。但作为饲料添加剂，其功能和质量受饲料加工过程中高温的影响颇大。随着研究的不断深入，研

* 国家自然基金(31402313)和天津市海水养殖产业技术体系创新团队(ITTMRS2021000)共同资助。王庆彬，Email: w18820108763@163.com

① 通信作者：程镇燕，副教授，Email: chengzhenyan2005@126.com

收稿日期: 2025-03-08, 收修改稿日期: 2025-04-11

究人员发现，益生菌的死菌体及其代谢产物也具有多种功能活性，能够刺激组织发育，影响机体的营养水平和生理功能(Teame *et al*, 2020; Cuevas-González *et al*, 2020; Hernández-Granados *et al*, 2020)。Tsilingiri等(2012)首次将这种无生命死菌体及其成分称为“后生元”。2021 年国际益生菌和益生元科学协会在全球范围发布了后生元的共识声明，将后生元定义为对宿主健康有益的、遗传背景明确的灭活微生物和或菌体成分，包括或不包括其代谢产物(Salminen *et al*, 2021)。后生元具有多种功能特性，包括增强免疫调节、促进新陈代谢、增强肠道上皮屏障功能、抗氧化、抗癌、抗炎和平衡肠道菌群(Moradi *et al*, 2021)。与益生菌相比，后生元还有稳定性高、安全性高、作用靶点多和易被肠道吸收的优点。

水产中使用的后生元通常通过热处理(如巴氏杀菌、灭菌)、脱水技术(如冷冻干燥、喷雾干燥)或非热处理方法(如紫外线照射、超声灭活)等方法灭活益生菌，同时保留其代谢产物和细胞成分(王业华等, 2025)。肠道菌群是维系肠道健康重要的角色，影响鱼类营养代谢、免疫反应等(于沁彤等, 2025)。后生元的生物活性成分包括细胞壁碎片、胞外多糖和细胞裂解物等，对水产动物生长和肠道健康发挥重要作用(Kieser *et al*, 2017; Graziano *et al*, 2016; Russo *et al*, 2019)。对罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)的研究表明，后生元可调节肠道有益菌群、增加肠道粘膜厚度和绒毛长度，加强机体的自然防御机制，从而维持胃肠道健康(Dawood *et al*, 2019)。对加州鲈(*Micropterus salmoides*)的研究表明，后生元可以提高肠道绒毛长度，改善加州鲈肠道形态(赵敏等, 2025)。对斜带石斑鱼(*Epinephelus coioides*)的研究表明，后生元可以提高消化酶活性，促进鱼体生长(胡曦等, 2018)。此外，在饲料中添加后生元还可提高真鲷(*Pagrus major*)的抗氧化能力和体表黏液溶菌酶活性以及其耐低盐胁迫能力(Dawood *et al*, 2015)。最近的一项研究表明，在高豆粕饲料中添加后生元，能改善斜带石斑鱼的抗氧化能力和非特异性免疫以及肠道菌群构成(Zhang *et al*, 2024)。

珍珠龙胆石斑鱼(*Epinephelus fuscoguttatus* ♀× *Epinephelus lanceolatus* ♂)又称龙虎斑或珍珠斑，因其肉质细嫩、成长快速、抗病力强，已成为我国主要的经济鱼类之一，市场前景广阔(张现红等, 2025)。然而，随着高密度集约化养殖的迅猛发展，养殖密度增大、残饵和粪便积聚更快等造成水体中氨氮大量累积，导致水产养殖动物肝损伤，影响免疫酶活性，破坏肠道形态和肠道菌群，降低消化酶活性等(Xu *et al*, 2024; Liu *et al*, 2023)。本研究旨在通过测定珍珠龙胆石斑鱼理化指标、免疫力、肠道组织结构及肠道菌群的变化，评估在饲料中添加后生元对石斑鱼抗氨氮胁迫能力的影响，为石斑鱼的健康养殖及优质环保饲料配方的优化提供数据支撑。

1 材料与方法

1.1 实验饲料

本研究所用添加剂 Lumensa^{TM} (AAFCO36.11/36.12)是一种由 Cytozyme Laboratories Inc.(盐湖城，美国)提供的嗜酸乳杆菌(*Lactobacillus acidophilus*)发酵产品，液体浓度为 30%。该产品通过多级发酵工艺生产，螯合灭活酵母，发酵产物经灭活处理，保留菌体残骸及代谢产物，符合 ISAPP 对后生元的定义，以下统称为“后生元”。本后生元产品包括有机酸、肽聚糖、胞外多糖、磷壁酸、蛋白质和肽等代谢产物，以水为主要载体(7%粗蛋白)。在商用石斑鱼饲料[由三通生物工程(潍坊)有限公司生产，主要成分：粗蛋白≥48%，粗脂肪≥10%，粗纤维≤2%，灰分≤17%，赖氨酸≥2.5，总磷 1.5%~3.0%]的基础上，分别添加 0、0.25、0.75 和 2 mL/kg 的后生元，形成 4 种实验饲料，分别记为 N0、N250、N750 和 N2000。实验饲料现用现制，取 4 份商品饲料(每份 1 kg)平铺于不锈钢托盘中；将 0、0.25、0.75 和 2 mL 后生元产品分别用纯净水稀释至 50 mL 后，用喷雾器均匀喷洒至平铺的商品饲料表面，待后生元溶液被饲料充分吸收后，50 ℃烘箱中烘至水分约为 10%，冷却至室温后投喂石斑鱼。

1.2 实验设计与管理

石斑鱼由天津立达海水资源开发有限公司提供。选择 480 尾体格健壮、规格均匀的珍珠龙胆石斑鱼，初始体重为(31.30±0.64) g，随机分配于流水养殖系统的 12 个养殖桶(300 L)中，每桶 40 尾。每组饲料随机饲喂 3 个养殖桶，每天投喂 2 次(09:00 和 17:00)，日投喂量为体重的 2%。持续饲养 8 周后，每个桶随机取 25 尾鱼放置到 24 h 持续充气的静水养殖系统的 12 个养殖桶(300 L)中，进行为期 7 d 的氨氮胁迫实验，氨氮浓度为 5 mg/L (预实验得出半数致死浓度，用氯化铵试剂配制)，非离子氨浓度为 1.9 mg/L。胁迫实验期间，每天投喂 2 次，日投喂量为体重的 1%。胁迫实验期间不换水，仅补充排污的损耗。每次喂食完 30 min 后，使用虹吸法清理残饵和粪便，使用预先配制的氨氮浓度为 5 mg/L 的溶液将养殖桶的水补充至 280 L，补水后测定氨氮浓度。实验期间，水体盐度为 31.0±0.4，温度为(26.50±0.05) ℃，溶氧为(5.3±

0.2) mg/L，pH 为 8.8±0.1，氨氮为 5.1~5.2 mg/L。

1.3　样品采集

氨氮胁迫实验结束后，饥饿 12 h，对每个桶中的鱼进行计数和称重。然后，每桶随机取 9 尾鱼于冰盘上迅速解剖，分离出肠道和肝脏。其中，2 尾鱼的中肠固定于中性福尔马林中，5 尾鱼的中肠和肝脏于–20 ℃保存用于酶活指标分析，2 尾鱼的全肠及内容物于–80 ℃保存用于肠道菌群分析。

$$存活率(SR, \%)=(N_0–N_t)/N_0×100\% \quad (1)$$

式中，N_0 和 N_t 分别表示氨氮胁迫实验初始和终末存活鱼的数量。

1.4　样品分析

1.4.1　*肝脏抗氧化及免疫相关酶测定*　准确称取 0.1 g 样品，加入 9 倍体积的生理盐水，冰水浴条件下机械匀浆，制成体积分数为 10%的组织匀浆液。然后，将匀浆液离心 10 min (2 500 r/min，4 ℃)，取上清液测定总蛋白(TP)、丙二醛(MDA)含量和超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、酸性磷酸酶(ACP)、碱性磷酸酶(AKP)活性。另外，取 0.1 g 肝组织，加入 19 倍体积的生理盐水，冰水浴条件下机械匀浆，制成体积分数为 5%的组织匀浆液。4 ℃ 8 000 r/min 离心 10 min 后，取上清液测定溶菌酶活性(LZM)。以上试剂盒均购自南京建成生物工程有限公司，严格按照试剂盒的操作步骤进行测定。

1.4.2　*肠道消化酶测定*　准确称取 0.1 g 样品，加入 9 倍体积的生理盐水，冰水浴条件下机械匀浆，制成体积分数为 10%的组织匀浆液。将匀浆液 2 500 r/min 4 ℃离心 10 min，取上清液。使用购自南京建成生物工程有限公司的试剂盒测定肠道蛋白含量和脂肪酶(Lipase)、淀粉酶(Amylase)活性。肠道蛋白酶(Protease)活性的测定依据 Natalia 等(2004)的方法进行，适宜的缓冲液 pH 为 7.5。

1.4.3　*肠道组织苏木精–伊红(HE)染色观察*　肠道样品在福尔马林溶液中固定 12 h，再依次经过石蜡包埋、切片和脱蜡程序后，使用 HE 溶液染色和中性胶密封。使用光学显微镜(Nikon Ni-U, 日本)对肠道切片进行拍照。每张片子随机选取 10 个黏膜褶皱，测量其高度和宽度。以等间隔选取 10 个点测量肌层厚度。根据 Ferreira 等(2016)的方法，计算肠道每个绒毛的吸收表面积(ASA)。

$$ASA = (绒毛高度×绒毛宽度)/(绒毛宽度/2)^2 \quad (2)$$

1.4.4　*肠道内容物 16S 微生物分析*　采用 CTAB (十六烷基三甲基溴化铵，hexadecyl trimethyl ammonium bromide)法提取肠道内容物样本的基因组 DNA，利用 1%琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 的纯度和浓度。使用无菌水稀释样品至 1 ng/μL 后，使用细菌 16S rDNA V3~V4 区间特异引物(341F：CCTAYGGGRBG CASCAG；806R：GGACTACNNGGG TATCTAAT)、New England Biolabs 公司的 Phusion® High-Fidelity PCR Master Mix with GC Buffer 和高效高保真酶进行 PCR 扩增。使用 New England Biolabs 公司的 NEB Next® Ultra™ DNA Library Prep Kit for Illumina 构建文库，经过 Qubit 定量和文库检测合格后，在诺和致源公司的 HiSeq 平台测序。原始数据去除 Barcode 和引物序列后，依次使用 FLASH (Version 1.2.11, http://ccb.jhu.edu/software/FLASH/)和 fastp 软件(Version 0.23.1)对 reads 进行拼接和过滤得到高质量的 Tags 数据(clean tags)。然后，与物种注释数据库(Silva database https://www.arb-silva.de/for 16S/18S, Unite database https://unite.ut.ee/for ITS)进行比对，检测并去除嵌合体序列，得到最终的有效数据(effective tags)。使用 QIIME2 软件中的 DADA2 模块对有效数据降噪并过滤掉丰度小于 5 的序列，获得扩增子序列变异(amplicon sequence variants, ASVs)。使用 QIIME2 软件中的 classify-sklearn 模块将 ASVs 与 Silva138.1 数据库比对，得到每个 ASV 的物种信息。在诺和云平台(https://magic.novogene.com/customer/main#/loginNew)完成微生物物种组成(R Version 3.5.3)、α 多样性(qiime2-2020.6)、LEfSe 多级判别(LEfSe 软件，Version 1.0)、PICRUSt 功能预测和与环境因子的相关性(Spearman 法，R Version 2.15.3)等交互分析。

1.5　数据统计

所有数据均采用平均值±标准差(Mean±SD)表示。采用 SPSS 25 软件对实验数据进行单因素方差分析(one-way ANOVA)，再用 Duncan 法进行组间多重比较，显著性水平设为 $P<0.05$。

2　结果

2.1　后生元营养强化对氨氮胁迫下石斑鱼存活率的影响

如图 1 所示，氨氮胁迫下，石斑鱼的存活率呈随饲料后生元含量增加而升高的趋势，N750 和 N2000 组显著高于 N0 组($P<0.05$)，两组之间差异不显著。

2.2　后生元营养强化对氨氮胁迫下石斑鱼消化酶活性的影响

如表 1 所示，各组肠道淀粉酶活性无显著性差异($P>0.05$)。肠道蛋白酶活性随饲料后生元含量增加而

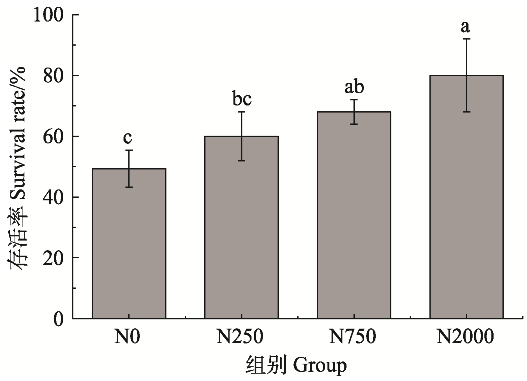

图 1 饲料补充后生元对氨氮胁迫下石斑鱼存活率的影响
Fig.1 Effect of dietary supplementation with postbiotics on the survival rate of grouper under ammonia-nitrogen stress

图中标有不同字母者表示组间有显著性差异(P<0.05)。
Different letters above the bars indicate significant differences between groups (P<0.05).

显著升高(P<0.05)，而肠道脂肪酶活性随饲料后生元含量增加而显著降低(P<0.05)。

2.3 后生元营养强化对氨氮胁迫下石斑鱼肠道组织结构的影响

由图 2 和表 2 可知，N2000 组的肠道肌层厚度显著高于 N0 组(P<0.05)，N250 和 N2000 组的肠道绒毛高度显著高于 N0 组(P<0.05)。肠道绒毛宽度随饲料后生元含量增加呈先上升后下降的趋势(P<0.05)，N250 组显著高于 N0 组(P<0.05)，而 N750 和 N2000 组则显著低于 N0 组(P<0.05)。与 N0 组相比，饲料补充后生元(250~2 000 mL/t) 显著提升了肠道吸收面积(P<0.05)；其中，N2000 组的吸收面积显著高于 N250 和 N750 组(P<0.05)。

2.4 后生元营养强化对氨氮胁迫下石斑鱼肝脏抗氧化酶和非特异性免疫酶活性的影响

如表 3 所示，N250、N750 和 N2000 组的肝脏 SOD 和 CAT 活性均显著高于 N0 组(P<0.05)，而 MDA 含量则显著低于 N0 组(P<0.05)。其中，N750 组肝脏 SOD 活性显著高于 N250 组和 N2000 组(P<0.05)，N2000 组 MDA 含量显著低于 N250 组和 N750 组(P<0.05)。此外，ACP 和 AKP 活性随饲料后生元含量增加而显著升高(P<0.05)。相似的，LZM 活性随饲料后生元含量增加而升高，N750 组和 N2000 组显著高于 N0 组(P<0.05)。

2.5 后生元营养强化对氨氮胁迫下石斑鱼肠道菌群的影响

2.5.1 α 多样性分析 如表 4 所示，所有测序样本的平均覆盖度均达到 99%以上，表明所获微生物组数据具有充分的深度和代表性，能够准确反映珍珠龙胆石斑鱼肠道内容物的微生物群落特征。各组的 OTU 数量、Chao1 指数、香农指数和辛普森指数差异不显著(P>0.05)。

2.5.2 物种组成分析 如图 3A 所示，各组共有 OTU 仅为 66 个，低于各组特有的 OTU 数目。在门水平上(图 3B)，肠道菌群主要由变形菌门(Proteobacteria)、厚壁菌门(Firmicutes)、拟杆菌门(Bacteroidetes)及梭杆菌门(Fusobacteriota)组成。随着饲料后生元含量升

表 1 饲料补充后生元对氨氮胁迫下石斑鱼的肠道消化酶活性的影响
Tab.1 Effects of dietary postbiotics on intestinal digestive enzyme activities of grouper under ammonia-nitrogen stress

指标 Indexes	N0	N250	N750	N2000
淀粉酶 Amylase/(U/mg prot)	4.70±0.11	5.29±0.37	5.44±1.41	4.48±0.04
脂肪酶 Lipase/(U/g prot)	1.28±0.02^{a}	1.17±0.04^{b}	0.98±0.02^{c}	0.86±0.08^{d}
蛋白酶 Protease/(U/mg prot)	344.75±3.75^{d}	472.24±2.82^{c}	1 013.88±8.06^{b}	2 024.35±8.30^{a}

注：同行中标有不同字母者表示组间有显著性差异(P<0.05)。下同。
Note: Different superscript letters in the same row indicate significant differences between groups (P<0.05). The same below.

表 2 饲料补充后生元对氨氮胁迫下石斑鱼肠道组织形态的影响
Tab.2 Effects of dietary supplementation with postbiotics on intestinal histomorphology of grouper under ammonia-nitrogen stress

指标 Indexes	N0	N250	N750	N2000
肌层厚度 MLT/μm	140.71±25.78^{b}	121.10±26.63^{c}	154.23±36.70^{ab}	159.00±19.65^{a}
绒毛高度 VLH/μm	519.00±38.98^{c}	662.49±65.72^{a}	519.01±50.83^{c}	568.15±44.18^{b}
绒毛宽度 VLW/μm	75.82±6.59^{b}	83.39±10.94^{a}	68.87±9.43^{c}	56.61±8.28^{d}
吸收面积 ASA/mm^2	25.61±5.06^{c}	32.14±4.19^{b}	30.91±6.37^{b}	40.92±6.27^{a}

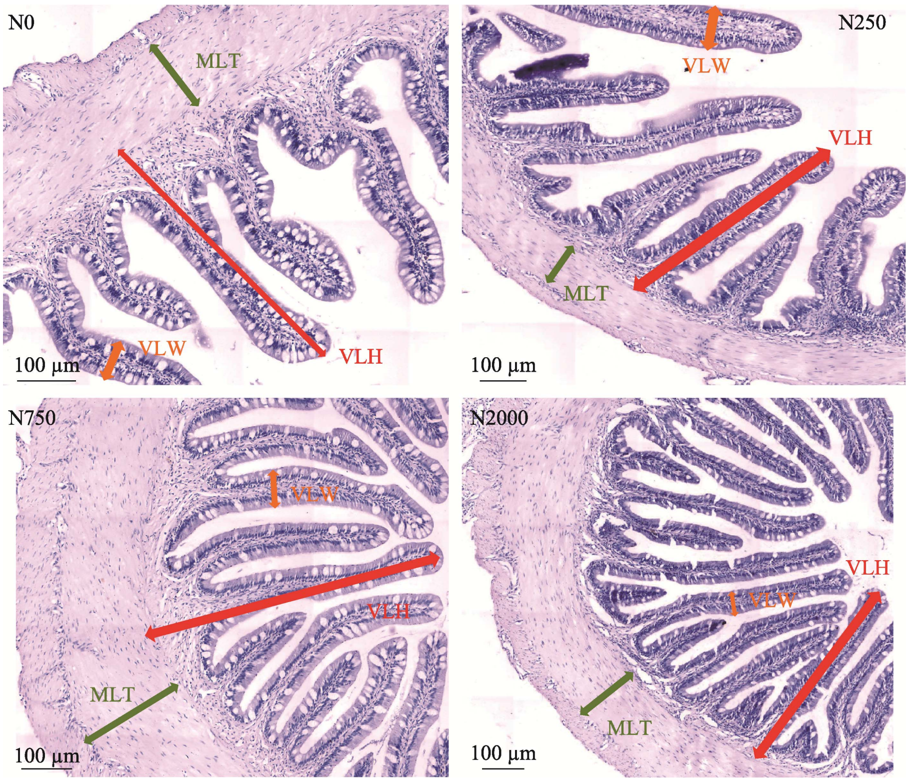

图 2　饲料补充后生元对氨氮胁迫下石斑鱼中肠组织形态的影响

Fig.2　Effects of dietary supplementation with postbiotics on intestinal histomorphology of grouper under ammonia-nitrogen stress

红线为绒毛高度(VLH)，橙线为绒毛宽度(VLW)，绿色为肌层厚度(MLT)。

The red line represents villus height (VLH), the orange line represents villus width (VLW), and the green line represents muscular layer thickness (MLT).

表 3　饲料补充后生元对氨氮胁迫下石斑鱼肝脏的抗氧化酶和非特异性免疫酶活性的影响

Tab.3　Effects of dietary supplementation with postbiotics on the activity of antioxidant enzymes and non-specific immune enzymes in the liver of grouper under ammonia-nitrogen stress

指标 Indexes	N0	N250	N750	N2000
超氧化物歧化酶 SOD/(U/mg prot)	31.43±0.46^{c}	38.51±0.25^{b}	56.06±1.39^{a}	38.46±0.61^{b}
丙二醛 MDA/(nmol/mg prot)	9.61±0.40^{a}	4.94±0.21^{b}	5.01±0.12^{b}	1.97±0.05^{c}
过氧化氢酶 CAT/(U/mg prot)	13.57±0.22^{b}	29.99±5.37^{a}	25.93±2.41^{a}	25.74±1.44^{a}
酸性磷酸酶 ACP/(金氏单位/g prot)	12.58±2.29^{d}	31.49±1.57^{c}	53.55±2.83^{b}	70.05±6.77^{a}
碱性磷酸酶 AKP/(金氏单位/g prot)	6.68±1.68^{d}	19.19±1.07^{c}	34.47±2.80^{b}	48.00±4.97^{a}
溶菌酶 LZM/(U/mg prot)	0.50±0.18^{c}	0.84±0.12^{bc}	1.53±0.41^{b}	2.96±0.25^{a}

表 4　饲料补充后生元对氨氮胁迫下石斑鱼肠道菌群 α 多样性的影响

Tab.4　Effect of dietary supplementation with postbiotics on the alpha diversity of the intestinal flora of grouper under ammonia-nitrogen stress

指标 Indexes	N0	N250	N750	N2000
OTU 数目 Observed_OTUs	689.00±137.00	643.67±110.00	613.33±98.00	478.67±124.00
Chao1 指数 Chao1	727.69±208.89	661.24±188.30	622.12±145.85	483.40±124.30
香农指数 Shannon	5.92±0.33	5.93±0.64	6.23±1.91	6.33±0.99
辛普森指数 Simpson	0.92±0.01	0.93±0.02	0.81±0.02	0.94±0.03
覆盖率 Coverage	0.99±0.01	0.99±0.01	0.99±0.01	0.99±0.01

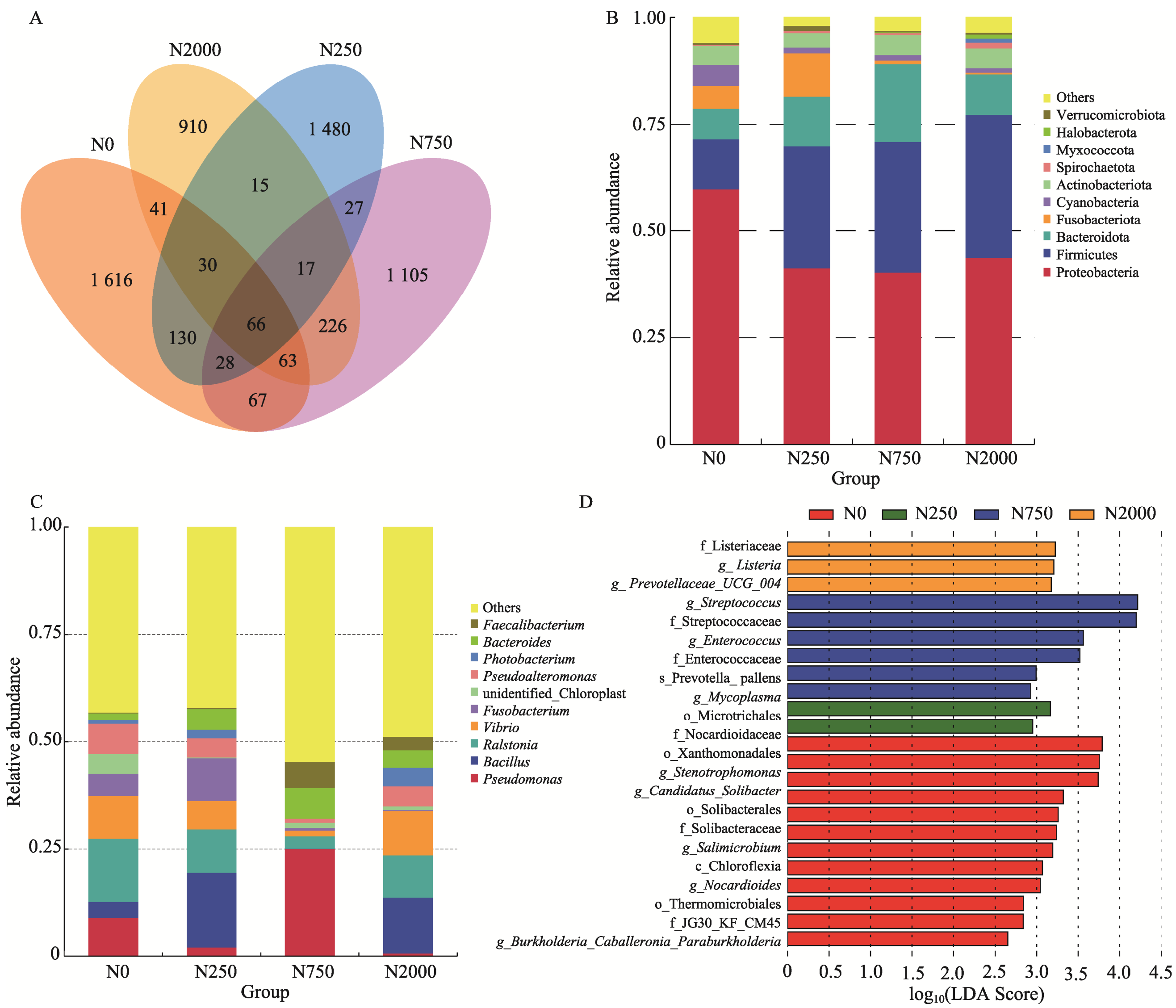

图 3 饲料补充后生元对氨氮胁迫下石斑鱼肠道微生物组成的影响

Fig.3 Effect of dietary supplementation with postbiotic on the gut microbial composition of grouper under ammonia-nitrogen stress

A：韦恩图；B：门水平相对丰度柱状图；C：属水平相对丰度柱状图；D：LEfSe 多级判别分析图。
A: Venn diagram; B: Phylum-level relative abundance bar plot; C: Genus-level relative abundance bar plot; D: LEfSe cladogram.

高，变形菌门的相对丰度呈先降低后升高的趋势，在 N750 组达到最低值(40%)；而拟杆菌门的丰度则具有相反的变化趋势，在 N750 组达到峰值(18%)。厚壁菌门的相对丰度随着饲料后生元含量升高则持续上升，在 N2000 组达到峰值(34%)。此外，梭杆菌门表现出非线性响应特征，其相对丰度在 N250 处理组达到最高值(10%)。在属水平上(图 3C)，各组的菌群组成差异较大。N0 组主要由弧菌(*Vibrio*)、假单胞菌(*Pseudomonas*)和青枯菌(*Ralstonia*)组成，N250 组主要由芽孢杆菌属(*Bacillus*)、梭杆菌属(*Fusobacterium*)和青枯菌组成，N750 组主要由假单胞菌、拟杆菌(*Bacteroides*)和粪杆菌(*Faecalibacterium*)组成，N2000 组主要由芽孢杆菌、青枯菌和弧菌组成。弧菌属和青枯菌相对丰度随着饲料后生元含量的增加呈先下降后上升的趋势，在 N750 组达到最小值(分别约 1%和 3%)。N250 组和 N2000 组芽孢杆菌相对丰度较高(约 13%~17%)，而 N0 相对丰度较低(约 4%)。LEfSe 多级判别分析表明(图 3D)，N0 组特征菌群为热微菌门(Thermotogae)、黄单胞菌目(Xanthomonadales)及黄单胞菌科(Xanthomonadaceae)；N250 组为链球菌科(Streptococcaceae)、链球菌属(*Streptococcus*)、粪肠球菌(*Enterococcus faecalis*)及肠球菌科(Enterococcaceae)；N750 组为芽孢杆菌纲(Bacilli)和普氏菌属 UCG_004(*Prevotella UCG-004*)；N2000 组为微杆菌目

(Micrococcales)和类诺卡氏菌科(Nocardioidaceae)。

2.5.3　功能预测分析　通过 PICRUS 对各组菌群进行功能预测后，基于 KEGG level 2 的 Heatmap 聚类分析显示(图 4A)，N0、N250 和 N2000 聚为一支，而 N750 单独聚为一支。相较于其他各组，N0 组的信号转导、感染性疾病、脂质代谢、神经退行性疾病、外源物生物降解与代谢、其他氨基酸代谢及萜类与聚酮代谢呈现上调趋势，而碳水化合物代谢、复制与修复、翻译、核苷酸代谢及转录通路则下调；N250 组的糖胺聚糖生物合成与代谢、细胞过程与信号传导、遗传信息处理、基础代谢及膜转运通路明显上调；N750 组的氨基酸代谢、辅因子与维生素代谢、细胞生长与死亡、其他次级代谢产物生物合成及信号分子与互作通路的特异性激活，同时信号转导、感染性疾病、脂质代谢、外源物生物降解与代谢及其他氨基酸代谢通路受到显著抑制；N2000 组的细胞运动、内分泌系统、酶家族、环境适应及转运与分解代谢通路呈上调趋势。

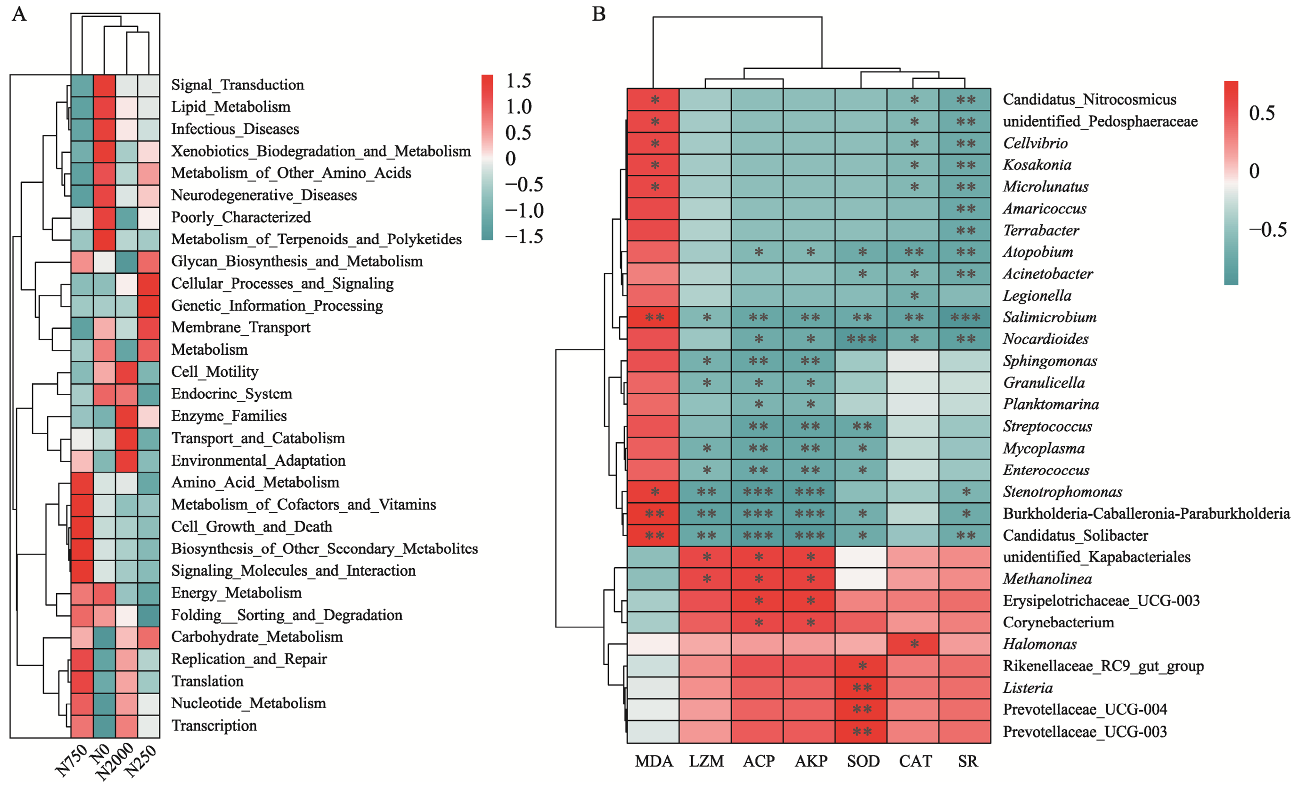

图 4　各组石斑鱼肠道微生物的功能预测和相关性分析

Fig.4　Functional prediction and correlation analysis of gut microbiota in grouper after ammonia-nitrogen stress

A：基于 KEGG 2 级通路的 PICRUS 功能丰度聚类热图；B：肠道菌群与肝脏抗氧化和免疫相关酶活性的 Spearman 相关分析。*表示 $P < 0.05$，**表示 $P < 0.01$，***表示 $P < 0.001$。

A: Clustered heatmap of PICRUSt-predicted functional abundance based on KEGG level 2 pathways;
B: Spearman correlation analysis between gut microbiota and hepatic antioxidant/immune-related enzyme activities.
*: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$, ***: $P < 0.001$.

2.5.4　相关性分析　由图 4B 可知，候选硝化球菌属(*Candidatus_ Nitrocosmicus*)、未鉴定的壤球形菌科成员、纤维弧菌属(*Cellvibrioi*)、柯萨科尼亚菌属(*Kosakonia*)、微月菌属(*Microlunatus*)、盐微菌属(*Salimicrobium*)和候选壤杆菌属的相对丰度与石斑鱼的 CAT 活性和存活率显著负相关，与 MDA 显著正相关(P<0.05)。链球菌属、*Mycoplasma*、粪肠球菌、窄食单胞菌属(*Stenotrophomonas*)和伯克霍尔德菌属-卡贝勒罗尼亚菌属-副伯克霍尔德菌属(*Burkholderia-Caballeronia-Paraburkholderia*)等机会致病菌的相对丰度也与 AKP、ACP、LZM 呈显著负相关(P<0.05)。未鉴定的卡帕杆菌目成员和甲烷鬃菌属(*Methanolinea*)的相对丰度与 AKP、ACP 和 LZM 活性呈显著正相关(P<0.05)。丹毒丝菌科_UCG-003 与棒状杆菌属(*Corynebacterium*)的相对丰度与 ACP 和 AKP 活性呈显著正相关(P<0.05)。理研菌科_RC9_肠道菌群、李斯特菌属(*Listeria*)、普雷

沃氏菌科_UCG-004和普雷沃氏菌科_UCG-003的相对丰度与SOD活性呈显著正相关(P<0.05)。

3 讨论

3.1 饲料补充后生元对氨氮胁迫下石斑鱼的肠道消化功能、抗氧化能力和免疫应答的影响

随着高密度集约化养殖的迅猛发展，养殖系统中大量残饵、粪便聚集以及水产动物代谢等过程产生的氨氮成为损害水产动物生长和健康的主要环境胁迫因子。Jin等(2018)研究表明，饲粮中添加酵母水解物和啤酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)可作为免疫刺激剂，增强对虾对氨氮胁迫的抵抗力。本研究中，氨氮胁迫7 d后，N0组的存活率仅为49.3%。饲料补充750 mL/t和2 000 mL/t后生元，显著提升了石斑鱼短期氨氮胁迫后的存活率(70%~80%)。肠道与外界环境直接接触，既是行使消化、吸收功能的重要器官，又是重要的免疫防线。其组织结构的完整性是其发挥消化、吸收和免疫功能的物质基础，绒毛长度、绒毛宽度和肌层厚度是反映肠道形态结构优良的常用指标(王奇桢等, 2024)。对罗非鱼的研究表明，后生元可增加肠道粘膜厚度和绒毛长度，加强机体的自然防御机制(Dawood *et al*, 2019)。本研究表明，在饲料中添加后生元提高了石斑鱼肠道的吸收面积。经过2.0 mL/kg 后生元营养强化的石斑鱼，其肠道肌层厚度显著高于其他各组。同样，在加州鲈的研究表明，后生元可以提高肠道绒毛长度，改善加州鲈肠道形态(赵敏等, 2025)。此外，后生元对肠道结构的有益作用在鲤鱼(*Cyprinus carpio*)、虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)、鲳鱼(*Trachinotus ovatus*)和草鱼(*Ctenopharyngodon idella*)也得到了证实(Akter *et al*, 2019; Omidi *et al*, 2024; Hoang *et al*, 2024; Luo *et al*, 2024)。本研究用的后生元由嗜酸乳杆菌和酵母多级发酵而成，主要包含有机酸、肽聚糖、胞外多糖、磷壁酸、蛋白质和肽等代谢产物。一些研究表明，嗜酸乳杆菌的代谢产物和酵母菌体成分(核苷酸和β-葡聚糖)可以改善鱼体肠道形态结构(Akter *et al*, 2019; Gil, 2002; Hoang *et al*, 2024)。同时，肠道的消化功能也是反映健康程度的重要指征。本研究表明，饲料补充后生元剂量依赖性地提高了石斑鱼肠道蛋白酶活性，这与本文中的肠道结构、生长和饲料利用率数据一致。对斜带石斑鱼的也研究表明，饲料补充后生元改善了消化酶活性和鱼体生长(胡曦等, 2018)。这一结果提示，饲料补充益生元有助于石斑鱼在氨氮胁迫环境下维持较好的营养状态。一般来说，营养状态良好的鱼类会有较强的抵抗环境应激的能力。因此，推测饲料补充益生元可以改善胁迫环境下的石斑鱼的营养状态和肠道机械屏障，这或许能为石斑鱼提供更多的能量储备以应对氨氮胁迫。

氨氮胁迫能诱导水产动物体内活性氧水平上升，造成氧化应激损伤(Abdel-Latif *et al*, 2022; 周钱森等, 2022; 孟振等, 2020)。已有研究表明，酵母核苷酸和热灭活的嗜酸乳杆菌可以提升水产动物的抗氧化能力，缓解氧化应激损伤(Cerezuela *et al*, 2012; 王羽慧, 2024; Xia *et al*, 2024)。例如，Dawood等(2015)研究表明，饲料中添加后生元还可提高真鲷的抗氧化能力和体表黏液溶菌酶活性，进而增强其耐低盐胁迫能力。Qiu 等(2025)研究发现，嗜酸乳杆菌脂蛋白能调节斑马鱼(*Danio rerio*)非特异性免疫，改善斑马鱼的LZM和AKP活性。Zhang等(2024)研究表明，在高豆粕饲料中添加后生元，能改善斜带石斑鱼的抗氧化能力和非特异性免疫以及肠道菌群构成。肝脏是鱼类重要的营养代谢和免疫器官。本研究中，饲料后生元剂量依赖性地提高了石斑鱼肝脏SOD和CAT活性，降低了MDA含量。同时，饲料后生元也提高了AKP、ACP和LZM的活性，且N2000实验组各免疫酶活性最高。这与对加州鲈和凡纳对虾(*Penaeus vannamei*)的研究结果是一致的(王羽慧, 2024; Ayiku *et al*, 2020)。这一结果提示，后生元可能通过激活抗氧化–免疫网络，提升石斑鱼氨氮胁迫适应能力。后生元可以通过自身组分直接或菌群代谢产物的介导作用间接提升抗氧化能力和免疫力。本研究所用后生元产品还包括一些菌体成分。研究表明，这些菌体成分对促进水生动物非特异性免疫具有积极作用(寻广祥, 2024)。后生元还可通过调节肠道菌群代谢物(如肽聚糖)激活TLR2/MyD88、Nrf2/Keap1等信号通路，进而诱导肝脏的免疫应答(Tao *et al*, 2024)。在本研究中，后生元是通过哪些成分或者哪些信号网络改善石斑鱼的免疫和抗氧化能力有待进一步探究。

3.2 饲料补充后生元对氨氮胁迫下石斑鱼的肠道微生物组成的影响

肠道微生物群落与宿主免疫功能和氧化应激状态的动态互作是水生动物健康调控的重要机制。在本实验中，各组共有OTU (66个)低于各组特有的OTU数目，且基于KEGG level 2的Heatmap聚类分析表明N0、N250和N2000聚为一支(且N250和N2000聚为一亚支)，而N750单独聚为一支，这在一定程度上反映了肠道菌群受饲料后生元浓度的影响较大。一般情况下，珍珠龙胆石斑鱼肠道优势菌群为拟杆菌门、

厚壁菌门、变形菌门和放线菌门(Actinobacteria)等(Lu *et al*, 2024)。厚壁菌门负责膳食纤维和其他未消化食物残渣的代谢，通过改善脂质代谢为机体提供能量(王少群, 2021)。拟杆菌门与多糖降解能力有关。本研究中，厚壁菌门丰度随添加剂量的增加呈现持续上升趋势，在 2 000 mg/kg 组达到 34%。变形菌门与拟杆菌门的拮抗性波动(N750 组分别达最低 40%、峰值 18%)，可能反映了后生元中功能性成分(如细菌裂解物或代谢产物)的选择性调控作用。变形菌门丰度的降低可能与其包含的弧菌属、假单胞菌属等潜在致病菌被抑制有关，而拟杆菌门的富集可能通过增强多糖降解能力改善宿主能量获取。王少群(2021)研究表明，饲料补充低聚木糖可以提高珍珠龙胆石斑鱼氨氮胁迫后肠道厚壁菌门的丰度，为机体提供更多的能量以应对环境压力。提示饲料补充后生元可以通过提高石斑鱼氨氮胁迫下肠道厚壁菌门和拟杆菌的丰度，为机体提供更为充足的能量以应对环境压力。此外，属水平分析也显示，后生元浓度显著重塑了肠道微生物群落，其调控效应呈现剂量依赖性特征。N0 组中弧菌属和假单胞菌属的富集可能与其在氨氮胁迫下的环境适应性相关，这一现象与 Hou 等(2025)报道的氨氮暴露导致对虾肠道致病菌增殖的机制相符。随着后生元浓度的升高(N250~N750)，芽孢杆菌属和拟杆菌属逐渐占据优势。推测后生元的功能性代谢产物(如短链脂肪酸、肽聚糖、胞外多糖)可能通过抑制病原菌定植增强肠道屏障功能(Tao *et al*, 2024)。

菌群功能模块与宿主生理指标的网状关联揭示了跨剂量调控的复杂性。LEfSe 分析表明，N250 组的机会致病菌链球菌科和肠球菌科富集，这些菌与 AKP、ACP 等免疫酶活性显著负相关，提示链球菌和肠球菌对 0.25 mL/kg 后生元提供的多糖类物质具有较强的利用能力，或者氨诱导的黏膜免疫损伤有利于该兼性厌氧菌繁殖，进而对本地益生菌形成短暂抑制。此外，普氏菌科 UCG-004 和理研菌科_RC9_肠道菌群与 SOD 活性具有正相关性，N750 组中普氏菌属 UCG_004 显著富集。该菌属已被证实具有降解复杂多糖和调控宿主免疫的功能(Ley, 2016; Betancur-Murillo *et al*, 2022)，提示 0.75 mL/kg 后生元可能通过激活宿主–菌群互作途径激活宿主抗氧化系统，减轻氨氮诱导的氧化损伤(Jin *et al*, 2018; Tao *et al*, 2024)。PICRUSt 功能预测进一步表明，N750 组特异性激活氨基酸代谢、辅因子合成及次级代谢产物通路，这可能与其核心菌群普氏菌属 UCG-004 的纤维素降解和维生素 B_{12} 合成功能密切相关(Ley, 2016; Betancur-Murillo *et al*, 2022)，为后生元缓解氨氮诱导的代谢紊乱提供了分子层面的解释。同时，N750 组萜类代谢通路的抑制与外源物降解能力的降低，可能与其降低氨氮毒性代谢产物积累的协同效应相关。此外，N2000 组微球菌目的显著富集，可能与其高环境胁迫耐受性有关，该目细菌的硝酸盐还原酶系统可能参与后生元介导的氮代谢调控网络。PICRUSt 功能预测还表明，N2000 组环境适应相关通路上调，反映了微球菌目可能通过增强硝酸盐还原能力应对高氮环境的生存策略(李卫平等, 2019)。然而，N2000 组虽维持了较优的芽孢杆菌丰度，但弧菌属的反弹(与 N0 组相近)及丹毒丝菌科_UCG-003 等磷酸酶相关菌群的减少，提示过量添加可能破坏菌群稳态。以上结果表明，750 mL/kg 可能是实现致病菌抑制、有益菌增殖与宿主生理平衡的适宜阈值，而更高剂量需权衡代谢负荷与生态稳定性风险。未来研究应结合宏基因组和代谢组学技术，解析后生元活性成分(如细菌裂解物中的脂磷壁酸)与特定菌群代谢通路(如维生素 B_{12} 合成)的分子互作机制，并建立基于菌群功能模块的后生元精准投喂策略。

4　结论

本研究条件下，在饲料中添加后生元能够改善氨氮胁迫环境下珍珠龙胆石斑鱼抗氧化和非特性免疫能力以及肠道菌群结构，并提高珍珠龙胆石斑鱼在对抗氨氮胁迫情况下的存活率。0.75 mL/kg 后生元可以优化菌群结构(拟杆菌、普氏菌优势)和代谢功能(氨基酸、辅因子代谢激活)，在维持肠道稳态与宿主抗氧化能力方面表现出最佳效果。

参　考　文　献

胡曦, 杨红玲, 孙云章. 饲料中添加芽孢杆菌细胞壁对斜带石斑鱼生长、消化酶活性及免疫功能的影响. 饲料与畜牧, 2018(5): 45–48 [HU X, YANG H L, SUN Y Z. Effects of *Bacillus* cell wall added to feed on growth, digestive enzyme activity and immune function of *Epinephelus coioides*. Animal Agriculture, 2018(5): 45–48]

李卫平, 郝梦影, 敬双怡, 等. SMBBR 处理焦化废水性能及菌群结构响应关系. 中国环境科学, 2019, 39(8): 3332–3339 [LI W P, HAO M Y, JING S Y, *et al*. Performance and flora structure response relation in the SMBBR treatment of the coking wastewater. China Environmental Science, 2019, 39(8): 3332–3339]

孟振, 张鸿丽, 刘新富, 等. 氨氮急性胁迫对大菱鲆幼鱼的毒性效应. 渔业科学进展, 2020, 41(2): 51–60 [MENG Z, ZHANG H L, LIU X F, *et al*. Toxic effects of acute ammonia stress on young turbot *Scophthalmus maximus*.

Progress in Fishery Sciences, 2020, 41(2): 51–60]

王奇桢, 于海霞, 李杰, 等. 短小芽孢杆菌 SE5 肽聚糖和脂磷壁酸联合添加对斜带石斑鱼免疫、抗氧化和肠道形态的影响. 饲料研究, 2024, 47(21): 62–66 [WANG Q Z, YU H X, LI J, *et al*. Effects of combined supplementation of *Bacillus pumilus* SE5 peptidoglycan and lipoteichoic acid on immune, antioxidant capacity, and intestinal morphology of *Epinephelus coioides*. Feed Research, 2024, 47(21): 62–66]

王少群. 低聚木糖对珍珠龙胆石斑鱼生长性能、抗氨氮胁迫能力及肠道菌群的影响. 海南大学硕士研究生学位论文, 2021 [WANG S Q. Effects of xylooligosaccharides on growth performance, ammonia stress and intestinal microbiota of juvenile hybrid grouper (*Epinephelus lanceolatus*♂ × *Epinephelus fuscoguttatus*♀). Master's Thesis of Hainan University, 2021]

王业华, 马艳艳, 闫舟, 等. 后生元及其在动物养殖中的应用研究进展. 黑龙江畜牧兽医, 2025(1): 30–36 [WANG Y H, MA Y Y, YAN Z, *et al*. Research progress on postbiotics and their application in animal breeding. Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine, 2025(1): 30–36]

王羽慧. 酵母核苷酸饲料对加州鲈生长、生理机能和肌肉品质的影响. 武汉轻工大学硕士研究生学位论文, 2024 [WANG Y H. Effects of a yeast nucleotide diet on growth, physiological function and muscle mass of largemouth bass (*Micropterus salmoides*). Master's Thesis of Wuhan Polytechnic University, 2024]

寻广祥. 饲料中添加黄芩和甘露寡糖对仿刺参的生长、肠道消化酶和非特异性免疫酶活性的影响. 华中农业大学硕士研究生学位论文, 2024 [XUN G X. Effects of dietary *Scutellaria baicalensis* and mannan oligosaccharides on the growth, activities of intestinal digestive enzymes and non-specific immune enzymes of sea cucumber (*Apostichopus japonicus*). Master's Thesis of Huazhong Agricultural University, 2024]

于沁彤, 张依雯, 谭北平, 等. 高糖饲料中补充二甲双胍对珍珠龙胆石斑鱼生长性能、糖酵解酶活性和肠道健康的影响. 渔业科学进展, 2025, 46(5): 85–98 [YU Q T, ZHANG Y W, TAN B P, *et al*. Effects of dietary metformin supplementation on growth performance, glycolytic enzyme activities, and gut health in hybrid grouper (*Epinephelus lanceolatus*♂ × *E. fuscoguttatus*♀) fed high-carbohydrate diets. Progress in Fishery Sciences, 2025, 46(5): 85–98]

张现红, 李文洋, 刘宝良, 等. 密度胁迫对珍珠龙胆石斑鱼生长和生理的影响. 渔业科学进展, 2025, 46(1): 71–81 [ZHANG X H, LI W Y, LIU B L, *et al*. Effects of density stress on the growth and physiology of pearl gentian grouper. Progress in Fishery Sciences, 2025, 46(1): 71–81]

赵敏, 周良星, 种金豆, 等. 低鱼粉饲料中添加酵母水解物对加州鲈生长性能、肠道发育及肝脏健康的影响. 中国饲料, 2025(1): 112–116 [ZHAO M, ZHOU L X, CHONG J D, *et al*. Effects of yeast hydrolysate in low fish meal diet on growth performance, intestinal development and liver health of *Micropterus salmoides*. China Feed, 2025(1): 112–116]

周钱森, 任宪云, 徐垚, 等. 氨氮胁迫对锦绣龙虾代谢酶和抗氧化酶活力的影响. 渔业科学进展, 2022, 43(2): 147–156 [ZHOU Q S, REN X Y, XU Y, *et al*. Effects of ammonia stress on metabolic and antioxidant enzyme activities in *Panulirus ornatus*. Progress in Fishery Sciences, 2022, 43(2): 147–156]

ABDEL-LATIF H M R, SHUKRY M, ABD-ELAZIZ R A. Clinico-pathological findings and expression of inflammatory cytokines, apoptosis, and oxidative stress-related genes draw mechanistic insights in Nile tilapia reared under ammonia-N exposure and *Aeromonas hydrophila* challenge. Fish & Shellfish Immunology, 2022, 127: 1–12

AKTER M N, HASHIM R, SUTRIANA A, *et al*. Effect of *Lactobacillus acidophilus* supplementation on growth performances, digestive enzyme activities and gut histomorphology of striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus* Sauvage, 1878) juveniles. Aquaculture Research, 2019, 50(3): 786–797

AYIKU S, SHEN J F, TAN B P, *et al*. Effects of dietary yeast culture on shrimp growth, immune response, intestinal health and disease resistance against *Vibrio harveyi*. Fish & Shellfish Immunology, 2020, 102: 286–295

BETANCUR-MURILLO C L, AGUILAR-MARÍN S B, JOVEL J. *Prevotella*: A key player in ruminal metabolism. Microorganisms, 2022, 11(1): 1

BRUGMAN S, IKEDA-OHTSUBO W, BRABER S, *et al*. A comparative review on microbiota manipulation: Lessons from fish, plants, livestock, and human research. Frontiers in Nutrition, 2018, 5: 80

CAGGIANIELLO G, KLEEREBEZEM M, SPANO G. Exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria: From health-promoting benefits to stress tolerance mechanisms. Applied Microbiology and Biotechnology, 2016, 100(9): 3877–3886

CEREZUELA R, FUMANAL M, TAPIA-PANIAGUA S T, *et al*. Histological alterations and microbial ecology of the intestine in gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) fed dietary probiotics and microalgae. Cell and Tissue Research, 2012, 350(3): 477–489

CUEVAS-GONZÁLEZ P F, LICEAGA A M, AGUILAR-TOALÁ J E. Postbiotics and paraprobiotics: From concepts to applications. Food Research International, 2020, 136: 109502

DAWOOD M A O, KOSHIO S, ISHIKAWA M, *et al*. Effects of heat killed *Lactobacillus plantarum* (LP20) supplemental diets on growth performance, stress resistance and immune response of red sea bream, *Pagrus major*. Aquaculture, 2015, 442: 29–36

DAWOOD M A O, MAGOUZ F I, SALEM M F I, *et al*. Modulation of digestive enzyme activity, blood health, oxidative responses and growth-related gene expression in GIFT by heat-killed *Lactobacillus plantarum* (L-137). Aquaculture, 2019, 505: 127–136

FERREIRA P M F, CALDAS D W, SALARO A L, *et al*. Intestinal and liver morphometry of the Yellow Tail *Tetra* (*Astyanax altiparanae*) fed with oregano oil. Anais da Academia Brasileira de Ciencias, 2016, 88(2): 911–922

GIL A. Modulation of the immune response mediated by dietary nucleotides. European Journal of Clinical Nutrition, 2002, 56(S3): S1–S4

HERNÁNDEZ-GRANADOS M J, FRANCO-ROBLES E. Postbiotics in human health: Possible new functional ingredients? Food Research International, 2020, 137: 109660

HOANG D H, THI THANH THUY N, KY P X. A synergistic effect of dietary β-glucan and mannan oligosaccharide on growth performance, haematology, body composition, nutrient utilisation, and intestinal morphology in pompano, *Trachinotus ovatus*. Regional Studies in Marine Science, 2024, 73: 103494

HOU D W, LI H Y, WANG S, *et al*. Ammonia nitrogen stress induces dysbiosis of the intestinal bacterial community and facilitates the enrichment of pathogenic bacteria in intestines of shrimp. Aquaculture, 2025, 595: 741510

JIN M, XIONG J, ZHOU Q C, *et al*. Dietary yeast hydrolysate and brewer’s yeast supplementation could enhance growth performance, innate immunity capacity and ammonia nitrogen stress resistance ability of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). Fish & Shellfish Immunology, 2018, 82: 121–129

KERRY R G, PATRA J K, GOUDA S, *et al*. Benefaction of probiotics for human health: A review. Journal of Food and Drug Analysis, 2018, 26(3): 927–939

KIESER K J, KAGAN J C. Multi-receptor detection of individual bacterial products by the innate immune system. Nature Reviews Immunology, 2017, 17(6): 376–390

LEY R E. Gut microbiota in 2015: *Prevotella* in the gut: Choose carefully. Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology, 2016, 13(2): 69–70

LIU S Y, LUO L, ZUO F Y, *et al*. Ammonia nitrogen stress damages the intestinal mucosal barrier of yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*) and induces intestinal inflammation. Frontiers in Physiology, 2023, 14: 1279051

LU X, TAN K, GONG Q F, *et al*. Positive effects of *Lithospermum erythrorhizon* extract added to high soybean meal diet on growth, intestinal antioxidant capacity, intestinal microbiota, and metabolism of pearl gentian grouper. Aquaculture Reports, 2024, 39: 102500

LUO W J, ZHANG L N, ZHU Y T, *et al*. Effects of combined application of nucleotides and β-glucan on intestinal health and flesh quality in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). Aquaculture Reports, 2024, 39: 102497

MORADI M, MOLAEI R, GUIMARÃES J T. A review on preparation and chemical analysis of postbiotics from lactic acid bacteria. Enzyme and Microbial Technology, 2021, 143: 109722

NATALIA Y, HASHIM R, ALI A, *et al*. Characterization of digestive enzymes in a carnivorous ornamental fish, the Asian bony tongue *Scleropages formosus* (Osteoglossidae). Aquaculture, 2004, 233(1/2/3/4): 305–320

OMIDI A H, ADEL M, BAHRI A H, *et al*. Synergistic dietary influence of fermented red grape vinegar and *Lactobacillus acidophilus* on growth performance, carcass composition, and intestinal morphology of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture Reports, 2024, 36: 102122

QIU H Y, WANG H Y, HUANG L, *et al*. Effects of water supplementation with *Lactobacillus acidophilus* AC on the antioxidant, immune, intestinal flora and resistance to *Aeromonas hydrophila* of adult zebrafish (*Danio rerio*). Aquaculture, 2025, 594: 741466

RUSSO E, GIUDICI F, FIORINDI C, *et al*. Immunomodulating activity and therapeutic effects of short chain fatty acids and tryptophan post-biotics in inflammatory bowel disease. Frontiers in Immunology, 2019, 10: 2754

SALMINEN S, COLLADO M C, ENDO A, *et al*. Publisher correction: Publisher correction: The international scientific association of probiotics and prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of postbiotics. Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology, 2021, 18(9): 671

TAO L T, LU H, XIONG J, *et al*. The application and potential of postbiotics as sustainable feed additives in aquaculture. Aquaculture, 2024, 592: 741237

TEAME T, WANG A R, XIE M X, *et al*. Paraprobiotics and postbiotics of probiotic lactobacilli, their positive effects on the host and action mechanisms: A review. Frontiers in Nutrition, 2020, 7: 570344

TSILINGIRI K, BARBOSA T, PENNA G, *et al*. Probiotic and postbiotic activity in health and disease: Comparison on a novel polarised *ex-vivo* organ culture model. Gut, 2012, 61(7): 1007–1015

XIA M, LI C, WU D G, *et al*. Benefits of heat-killed *Lactobacillus acidophilus* on growth performance, nutrient digestibility, antioxidant status, immunity, and cecal microbiota of rabbits. Frontiers in Veterinary Science, 2024, 11: 1361908

XU G F, PAN Y C, GU W, *et al*. Evaluation of the acute toxic effects of ammonia on juvenile Ussuri cisco (*Coregonus ussuriensis*) based on histopathology, antioxidant enzyme activity, immune response and the integrated biomarker response. Marine Pollution Bulletin, 2024, 209: 117215

ZHANG B Y, NIE Q J, XU J M, *et al*. Preventive and reparative potentials of heat-inactivated and viable commensal *Bacillus pumilus* SE5 in ameliorating the adverse impacts of high soybean meal in grouper (*Epinephelus coioides*). Fish & Shellfish Immunology, 2024, 153: 109846

(编辑 马偕艳)

Effects of Dietary Supplementation with Postbiotics on Antioxidative Ability, Immune Response, Gut Morphology, and Microbiota of Hybrid Grouper (*Epinephelus fuscoguttatus* ♀×*Epinephelus lanceolatus* ♂) Under Ammonia-Nitrogen Stress

WANG Qingbin[1], LEI Keke[1], SHANG Tan[2], CUI Pei[1], SUN Jinhui[1], WANG Qingkui[1], CHENG Zhenyan[1①]

(1. *Tianjin Key Laboratory of Aquatic Ecology and Aquaculture, College of Fisheries, Tianjin Agricultural University, Tianjin* 300392, *China*; 2. *Cytozyme* (*Beijing*) *Agricultural Technology Co., Ltd., Beijing* 100027, *China*)

Abstract The rapid development of high-density intensive aquaculture, driven by increased stocking densities and accelerated accumulation of residual feed and fecal matter from cultured organisms, has resulted in excessive ammonia-nitrogen accumulation in aquatic systems. This environmental stressor induces hepatic damage, suppresses immune enzyme activity, disrupts intestinal morphology and microbiota balance, and reduces digestive enzyme activity in aquatic species. Postbiotics—defined as inactivated microorganisms and/or microbial components with well-characterized genetic backgrounds that confer health benefits to their hosts, with or without their metabolites—have emerged as a novel feed additive in aquaculture. Studies have demonstrated their multifunctional properties, including immunomodulation, metabolic enhancement, intestinal epithelial barrier reinforcement, antioxidant activity, anticancer effects, anti-inflammatory responses, and gut microbiota regulation. However, the efficacy of dietary postbiotics in enhancing ammonia-nitrogen stress resistance in hybrid tiger grouper (*Epinephelus fuscoguttatus*♀×*Epinephelus lanceolatus* ♂; initial body weight: 31.30±0.64 g) remains underexplored. This study evaluated the effects of postbiotic supplementation on antioxidant capacity, immune response, intestinal morphology, and gut microbiota of hybrid grouper under ammonia-nitrogen stress. Four experimental diets were formulated by supplementing a basal diet with 0 (N0, control), 0.25 (N250), 0.75 (N750), and 2.0 mL/kg (N2000) of liquid postbiotics (30% concentration). A total of 480 fish were randomly allocated to 12 flow-through culture tanks (300 L each; 40 fish/tank), with three tanks per dietary group. Fish were fed twice daily (09:00 and 17:00) at 2% body weight for 8 weeks, followed by a 1-week ammonia-nitrogen challenge (5 mg/L) in aerated static systems (25 fish/tank). Post-challenge survival rates in the N750 and N2000 groups were significantly higher than those in the N0 group (P<0.05). Postbiotic supplementation significantly enhanced hepatic activities of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), acid phosphatase (ACP), alkaline phosphatase (AKP), and lysozyme (LZM), while reducing malondialdehyde (MDA) levels (P<0.05). Intestinal protease activity exhibited dose-dependent increases in postbiotic groups, whereas lipase activity decreased proportionally with dosage (P<0.05). Histological improvements included expanded intestinal villus

① Corresponding author: CHENG Zhenyan, Email: chengzhenyan2005@126.com

absorption areas across all postbiotic groups, with the N2000 group displaying significantly thickened muscular layers (P<0.05). Postbiotics modulated gut microbiota by increasing the relative abundances of *Firmicutes* and *Bacteroidetes* while suppressing that of *Proteobacteria*. At the genus level, pathogenic *Vibrio* and *Ralstonia* abundances followed a biphasic trend—decreasing initially, then increasing with higher postbiotic doses—reaching minimal levels in the N750 group (approximately 1% and 3%, respectively). PICRUSt functional predictions revealed upregulated pathways related to amino acid metabolism, cofactor synthesis, and secondary metabolite production in the N750 group, alongside enhanced environmental adaptation pathways in the N2000 group. These findings demonstrate that postbiotic supplementation improves gut microbiota structure, antioxidant capacity, and non-specific immunity in grouper under ammonia-nitrogen stress, while enhancing survival rates. The 0.75 mL/kg postbiotic dosage optimized gut microbiota structure (enriched *Bacteroides* and *Prevotella*) and metabolic functions (activated amino acid/cofactor metabolism), while maximizing antioxidant capacity.

Key words　Postbiotics; Hybrid grouper; Ammonia-nitrogen stress; Non-specific immunity; Gut health