



饲料磷水平对吉富罗非鱼营养代谢和肠道微生物的影响

罗雅静^{1,2}, 董立学¹, 田娟¹, 陆星¹, 郭忠宝³,
罗永巨³, 文华^{1*}, 蒋明^{1*}

(1. 中国水产科学研究院长江水产研究所, 湖北 武汉 430223;

2. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306;

3. 广西水产科学研究院, 广西 南宁 530021)

摘要: 为研究饲料不同磷水平对吉富罗非鱼营养代谢及肠道微生物的影响, 实验以磷酸二氢钙作为磷源, 配制成总磷含量为 0.26%(低磷组)、0.81%(适磷组)和 1.51%(高磷组)的 3 组等氮等能饲料, 每种饲料为一个处理, 每个处理设置 4 个重复, 每个重复 30 尾鱼, 用 3 种饲料分别饲喂初始体重为 (8.42±0.09) g 的吉富罗非鱼 8 周。结果显示, 适磷组吉富罗非鱼的增重率和特定生长率显著高于低磷组和高磷组, 饲料系数在适磷组最低。脏体比、肝体比和肥满度随饲料磷水平的升高呈逐渐下降趋势。随着饲料磷水平的增加, 吉富罗非鱼干物质、粗蛋白、粗脂肪、磷的表现消化率显著降低。对筛选到的差异代谢物进行 KEGG 注释和富集分析发现, 饲料磷缺乏时下调的差异代谢物主要富集的代谢通路为氨基酸代谢、葡萄糖酸酯的生物合成、丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢, 上调的差异代谢物主要富集的代谢通路为脂肪酸合成; 当饲料磷过量时下调的差异代谢物主要富集代谢通路为精氨酸和脯氨酸代谢、苯丙酸的生物合成, 上调的差异代谢物主要富集代谢通路为氨基糖和核苷酸糖的代谢。Ace、Chao1 和 Shannon 指数表明, 吉富罗非鱼肠道菌群丰度和多样性随着饲料磷水平的升高呈现升高趋势。厚壁菌门、放线菌门、变形菌门和拟杆菌门为吉富罗非鱼肠道菌群中的优势菌门。罗姆布茨菌属、鲸杆菌属等有益菌属的丰度在适磷组最高, 分枝杆菌属和拟杆菌属的丰度随饲料磷含量的增加呈下降趋势。本研究表明, 饲料中适量的磷能提高吉富罗非鱼对饲料的表现消化率, 磷缺乏和过量会抑制吉富罗非鱼的氨基酸代谢, 磷缺乏会加快脂肪酸合成进程; 饲料中适量磷可以提高菌群丰度和多样性, 有利于肠道健康。

关键词: 磷; 吉富罗非鱼; 营养代谢; 肠道微生物

中图分类号: S 963.73

文献标志码: A

磷是鱼类正常生长发育所必需的常量矿物元素之一, 是体内三磷酸腺苷、核酸、磷脂和辅酶等物质的组成成分, 在碳水化合物^[1]、脂肪^[2]和氨基酸^[3]等新陈代谢过程中起着重要作用。由于鱼类不能很好地利用水中的磷, 且水中磷的浓度较

低, 因此饲料中添加的磷就成为鱼类获取磷的主要来源。当饲料磷缺乏时, 鱼类会出现生长缓慢、饲料效率降低、骨骼异常、头部畸形、脊椎弯曲、体脂含量增加和组织器官不同程度的病理损伤等现象^[4-5]; 饲料磷过量则会减少肌肉和肝脏的脂肪

收稿日期: 2022-03-30 修回日期: 2022-08-29

资助项目: 现代农业产业技术体系专项 (CARS-46); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项 (YFI20220801)

第一作者: 罗雅静 (照片), 从事水产动物营养与饲料研究, E-mail: 1803286477@qq.com

通信作者: 文华, 从事水产动物营养与饲料研究, E-mail: wenhua.hb@163.com;

蒋明, 从事水产动物营养与饲料研究, E-mail: jiangming@yfi.ac.cn



沉积, 抑制鱼类生长^[6]。同时磷的价格相对较高, 饲料中添加过量的磷不仅增加成本, 还可能导致水体富营养化^[7]。日粮中添加磷可以调节能量生成相关酶和脂质转运蛋白的表达, 提高低温应激下暗纹东方鲀(*Takifugu obscurus*)的细胞活力、抗氧化能力、能量生成和脂质运输^[8]; 饲料磷通过抑制脂肪合成和促进脂肪转运, 减少中华绒螯蟹幼蟹(*Eriocheir sinensis*)肝胰腺的脂肪积累^[9]。研究表明, 磷能促进鱼体肠道菌群发育, 提高有益菌群的数量, 调节肠道微生态平衡, 维持肠道健康^[10]。适宜日粮无机磷水平可以通过改善暗纹东方鲀的肝脏和肠道形态、椎骨矿物质沉积和提高消化能力来促进生长^[11]。

吉富罗非鱼(GIFT *Oreochromis niloticus*)是经遗传性状改良后的品系, 具有生长快、食性杂、抗病力强、肉质细腻鲜美和易加工等优点, 现已成为我国罗非鱼养殖的主要品系。关于罗非鱼对饲料磷营养需求已有较多的研究, 蒋明等^[12]和 Yao 等^[13]分别报道了吉富罗非鱼对饲料有效磷的需求量分别为 0.85% 和 0.86%; Ribeiro 等^[14]和 Boscolo 等^[15]分别报道了尼罗罗非鱼(*O. niloticus*)幼鱼对饲料总磷的需求量为 1.10% 和 0.74%。但目前饲料磷水平对罗非鱼的营养代谢和肠道微生物的影响还鲜有报道。本实验以吉富罗非鱼为研究对象, 采用广靶代谢组学和 16S *rRNA* 高通量测序技术从营养组学的角度系统研究饲料磷缺乏和过量对罗非鱼营养代谢和肠道菌群的影响, 以期扩展对罗非鱼的饲料磷营养学认识。

1 材料与方法

1.1 实验饲料

以酪蛋白和明胶为蛋白源, 鱼油和豆油作为脂肪源, 糊精作为糖源, 磷酸二氢钙(一水)作为磷源, 配制成 3 组饲料, 其基本组成和营养成分见表 1。根据国内外已有研究结果, 罗非鱼幼鱼饲料总磷的适宜水平为 0.74%~1.10%。在此基础上, 饲料中设计添加磷的含量为 0%、0.5% 和 1.25%, 经实测其总磷水平分别为 0.26%(低磷组)、0.81%(适磷组)和 1.51%(高磷组)。将干性饲料原料粉碎后过 40 目筛, 按配方(表 1)比例称取原料, 干性原料用混合机搅拌 10 min 后, 缓慢加入鱼油和豆油继续搅拌至无明显油状颗粒, 加入 45% 蒸馏水继续搅拌 5 min, 用小型绞肉机经 1 mm 筛挤

压成条状, 用烘干机烘干后, 长条饲料经破碎机简单破碎后过 20 目筛, 筛上物置于 -20 °C 冰箱中保存备用。

表 1 实验饲料的组成及营养成分

Tab. 1 Ingredients and proximate chemical composition of the experimental diets

原料成分 ingredient	组别 groups		
	低磷组 LP	适磷 MP	高磷组 HP
酪蛋白/% casein	36.00	36.00	36.00
明胶/% gelatin	9.00	9.00	9.00
糊精/% dextrin	32.00	32.00	32.00
鱼油/% fish oil	3.50	3.50	3.50
豆油/% soybean oil	3.50	3.50	3.50
维生素预混料 ¹⁾ /% vitamin premix	1.00	1.00	1.00
矿物质预混料 ²⁾ /% mineral premix	2.00	2.00	2.00
氯化胆碱/% choline chloride	0.10	0.10	0.10
二氧化钛/% TiO ₂	0.40	0.40	0.40
磷酸二氢钙(一水)/% Ca(H ₂ PO ₄) ₂ ·H ₂ O	0.00	1.97	4.92
氯化钙/% CaCl ₂	2.17	1.30	0.00
微晶纤维素/% micro-cellulose	10.33	9.23	7.58
总计 total	100	100	100
营养成分 proximate composition			
水分/% moisture	6.86	5.90	6.09
粗蛋白/% crude protein	36.85	36.48	36.81
粗脂肪/% crude lipid	7.40	7.09	7.93
灰分/% ash	3.46	4.05	4.77
总能/(kJ/g) gross energy	19.49	20.37	21.32
总磷/% total phosphorus	0.26	0.81	1.51

注: 1) 维生素预混料可为每千克饲料提供 VA 5 000 IU, VD₃ 2 000 IU, VE 60 mg, VB₁ 5 mg, VB₂ 20 mg, VB₆ 10 mg, VC 120 mg, VK₃ 5 mg, 肌醇 400 mg, 烟酸 120 mg, 泛酸钙 10 mg, 叶酸 1 mg, 生物素 0.1 mg; 2) 矿物质预混料可为每千克饲料提供 Ca(CH₃CHOHCOO)₂ 6 540 mg, FeSO₄ 42.5 mg, MgSO₄ 1 340 mg, NaH₂PO₄ 1 744 mg, NaCl 870 mg, AlCl₃ 3 mg, KIO₃ 2.5 mg, KCl 1 500 mg, CuCl₂ 2 mg, MnSO₄ 16 mg, CoCl₂ 20 mg, ZnSO₄ 60 mg。

Notes: 1) The vitamin premix provides the following per kg of diets contain vitamin A 5 000 IU, vitamin D₃ 2 000 IU; vitamin E 60 mg; vitamin B₁ 5 mg; vitamin B₂ 20 mg; vitamin B₆ 10 mg; vitamin C 120 mg; vitamin K₃ 5 mg; inositol 400 mg; nicotinic acid 120 mg; calcium pantothenate 10 mg; folic acid 1 mg; biotin 0.1 mg; 2) The minerals premix provides the following per kg of diet contain Ca(CH₃CHOHCOO)₂ 6 540 mg; FeSO₄ 42.5 mg; MgSO₄ 1 340 mg; NaH₂PO₄ 1 744 mg; NaCl 870 mg; AlCl₃ 3 mg; KIO₃ 2.5 mg; KCl 1 500 mg; CuCl₂ 2 mg; MnSO₄ 16 mg; CoCl₂ 20 mg; ZnSO₄ 60 mg。

1.2 实验鱼和饲养管理

实验的吉富罗非鱼来源于广西国家级罗非鱼良种场, 实验鱼从南宁空运至武汉后, 在长江水产研究所室内循环水养殖系统内驯化 4 周, 驯化期间每日用基础饲料饱食投喂 3 次; 正式实验前, 停食 36 h, 选取健康活泼、规格一致的吉富罗非鱼 360 尾, 随机分在 12 个养殖桶 ($R=0.82$ m, 水

深=0.75 m)中, 每桶30尾, 分为3个实验组, 每组4个重复。每天投喂3次(8:30、12:30和16:30), 日投喂率为体重的3%~5%, 每次投喂直至达到表观饱食为止, 每2周称重1次, 根据体重变化调整投喂量, 养殖实验共8周。实验期间水温维持在28℃, 每天记录实验鱼摄食和死亡情况。每日早晚投喂前对养殖系统的过滤沙缸进行反冲洗, 同时补充约10%新水。每周检测水质参数1次, 实验期间主要水质参数为: 溶解氧>5 mg/L, pH: 6.5~7.0, 总氨氮<0.2 mg/L, 亚硝酸盐<0.05 mg/L, 自然光照周期。

1.3 样品采集与处理

养殖实验结束前2周开始收集粪便样本, 采用虹吸法在吉富罗非鱼排便高峰时间段(20:00~21:00)收集条状、新鲜的粪便。将收集到的粪便进行冷冻干燥后, 贮存在-40℃的冰箱中保存, 用于表观消化率的测定。养殖实验结束后, 禁食24 h, 以桶为单位进行计数和称重, 用于计算增重率和特定生长率。每桶取3尾鱼分别测量其体长、体重, 然后进行解剖, 取内脏、肝脏并称其质量, 用于计算肝体比、脏体比和肥满度等指标。每桶3尾鱼取部分肝脏、中肠分别放在冻存管中, 放入液氮急冻, 于-80℃冰箱中保存备用, 用于肝脏代谢组学和肠道微生物的测定。每桶3尾鱼另取部分肝脏用于组织切片的制作。

实验过程中操作人员严格遵守《中国实验动物本研究获得了中国水产科学研究院长江水产研究所实验动物管理和使用伦理委员会批准(YFI-2021-JM05), 实验过程中操作人员严格遵守中国水产科学研究院长江水产研究所伦理规范, 并按照中国水产科学研究院长江水产研究所伦理委员会制定的规章制度执行。

1.4 测定指标

生长性能测定 根据公式计算增重率(WGR)、特定生长率(SGR)、饲料系数(FCR)、肝体比(HSI)、脏体比(VSI)和肥满度(CF)。

$$\text{增重率 (WGR, \%)} = (W_t - W_0) / W_0 \times 100\%$$

$$\text{特定生长率 (SGR, \%)} = (\ln W_t - \ln W_0) / t \times 100\%$$

$$\text{饲料系数 (FCR)} = F / (W_t - W_0)$$

$$\text{肝体比 (HSI, \%)} = W_h / W_t \times 100\%$$

$$\text{脏体比 (VSI, \%)} = W_v / W_t \times 100\%$$

$$\text{肥满度 (CF, g/cm}^3\text{)} = W / L^3 \times 100$$

式中, W_t 代表末体重(g), W_0 代表初体重(g), t 为饲养天数(d), F 为投喂饲料的总质量(g), W_h 为鱼体肝脏质量(g), W_v 为鱼体内脏质量(g), W 为鱼体重(g), L 为鱼体体长(cm)。

饲料和粪便营养成分的测定方法 采用冷冻干燥法测定水分; 采用凯氏定氮法测定粗蛋白; 采用索氏提取法测定脂肪; 磷含量的测定采用磷钼酸法。

表观消化率的测定。使用TiO₂指示剂测定, TiO₂含量的测定采用分光光度计法测定。

干物质表观消化率和营养成分(粗蛋白、粗脂肪、磷)表观消化率计算公式:

$$\text{干物质表观消化率 (ADC, \%)} = (1 - \text{饲料 TiO}_2 \text{ 含量} / \text{粪便 TiO}_2 \text{ 含量}) \times 100\%;$$

$$\text{营养成分表观消化率 (ADC, \%)} = [1 - (\text{饲料 TiO}_2 \text{ 含量} \times \text{粪便营养成分含量}) / (\text{粪便 TiO}_2 \text{ 含量} \times \text{饲料营养成分含量})] \times 100\%。$$

肝脏组织切片的制作 将固定好的肝脏样品进行修剪、脱水、石蜡包埋、切片、苏木精-伊红染色(H.E染色)、脱水封片。

肝脏代谢物检测 将肝脏样本放于冰上解冻。称量50 mg样本, 加入1 000 μL预冷提取剂和钢珠, 匀浆3 min。取出钢珠, 涡旋1 min, 冰上静置15 min。之后在4℃下以12 000 r/min离心10 min, 取上清液到进样瓶内衬管中, 用于LC-MS/MS分析。利用软件Analyst 1.6.3处理质谱数据。

肠道微生物群落结构测定分析 提取吉富罗非鱼肠道样品的总DNA后, 以16S rRNA可变区V3~V4区域设计扩增引物: 338F(5'-ACTCC TACGGGAGGCAGCA-3')/806R(5'-GGACTACHV GGGTWTCTAAT-3')。将吉富罗非鱼肠道样品的扩增产物送至上海美吉生物有限公司进行Illumina Miseq高通量测序。之后对97%相似水平的可操作分类单元(operational taxonomic units, OTU)代表序列进行聚类, 根据聚类结果进行Alpha多样性分析, 并在门、属水平上对肠道菌群的组成进行统计分析。

1.5 数据分析处理

采用SPSS20.0对所得实验数据进行单因素方差分析(One-Way ANOVA), 用Duncan氏多重比较分析组间差异显著性, 所有的数据结果均以平均值±标准差(mean±SD, n=4)来表示, P<0.05表示差异显著。

2 结果

2.1 饲料磷水平对吉富罗非鱼生长性能的影响

低磷组吉富罗非鱼表现出最低的生长性能, 其增重率和特定生长率均最低。适磷组吉富罗非鱼的增重率和特定生长率显著高于低磷组和高磷组 ($P<0.05$), 实验鱼的饲料系数在适磷组最低。脏体比、肝体比和肥满度指标随饲料磷水平的升高显著下降 ($P<0.05$)(表 2)。

表 2 饲料磷水平对吉富罗非鱼生长指标的影响

Tab. 2 Effects of dietary phosphorus levels on growth indicators of GIFT *O. niloticus*

指标 items	低磷组 LP	适磷组 MP	高磷组 HP
初始体均重/g IBW	8.42±0.08	8.38±0.06	8.48±0.11
终末体均重/g FBW	51.03±1.22 ^a	79.00±1.12 ^c	66.70±0.94 ^b
增重率/% WGR	506.49±20.26 ^a	843.36±14.92 ^c	687.21±18.69 ^b
特定生长率/(%/d) SGR	3.22±0.06 ^a	4.01±0.03 ^c	3.69±0.04 ^b
饲料系数 FCR	1.46±0.04 ^c	1.00±0.02 ^a	1.19±0.03 ^b
脏体比/% VSI	9.81±0.90 ^c	8.02±0.45 ^b	7.33±0.54 ^a
肝体比/% HSI	1.77±0.04 ^c	1.24±0.08 ^{ab}	1.06±0.06 ^a
肥满度/(g/cm ³) CF	4.04±0.21 ^b	3.81±0.37 ^a	3.62±0.32 ^a

注: 同行上标字母不同代表显著性差异 ($P<0.05$); 下同。
Notes: Values with different superscript letters within the same row are different significantly ($P<0.05$); the same below.

2.2 饲料磷对吉富罗非鱼表观消化率的影响

适磷组吉富罗非鱼的干物质、粗蛋白、粗脂肪和磷的表观消化率均显著高于低磷组和高磷组 ($P<0.05$)(表 3)。

2.3 饲料磷水平对吉富罗非鱼肝脏组织结构的影响

适磷组罗非鱼的肝脏细胞结构完整, 排列紧

表 3 饲料磷水平对吉富罗非鱼表观消化率的影响

Tab. 3 Effects of dietary phosphorus levels on apparent digestibility of GIFT *O. niloticus* %

指标 items	低磷组 (LP)	适磷组 (MP)	高磷组 (HP)
干物质 dry matter	70.49±2.18 ^a	78.62±1.37 ^b	67.40±1.78 ^a
粗蛋白 crude protein	85.57±2.44 ^a	90.46±1.36 ^b	84.83±2.88 ^a
粗脂肪 crude lipid	75.38±3.34 ^a	80.04±1.31 ^b	77.51±2.17 ^a
磷 phosphorus	56.34±3.15 ^a	70.55±2.17 ^c	63.27±3.06 ^b

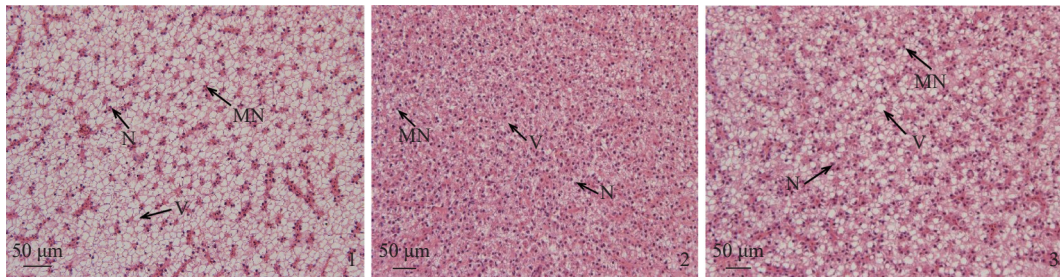
密, 未见异常。低磷组和高磷组的肝脏细胞出现不同程度的细胞体积增大、细胞空泡变性和细胞核偏移的现象 (图版)。

2.4 饲料磷水平对吉富罗非鱼肝脏非靶向代谢组的影响

正交偏最小二乘判别分析 (OPLS-DA 分析)

低磷组和适磷组, 高磷组和适磷组之间的 R^2Y 值均大于 0.9, Q^2Y 值均大于 0.7, 说明低磷组和适磷组, 高磷组和适磷组之间的吉富罗非鱼肝脏样本获得了可靠的分类, 都能被很好的区分, 具有较明显的差异 (图 1)。

差异代谢物筛选 基于 OPLS-DA 分析, 选取 VIP 值>1 的代谢物作为差异代谢物。在低磷组与适磷组的对比中共筛选出 200 个差异代谢物, 其中下调的有 174 种, 主要是氨基酸及其代谢物 (*L*-苏氨酸、*L*-苯丙氨酸、Ala-Gln、Val-Glu 等)、有机酸及其衍生物 (柠檬酸、异柠檬酸); 上调的有 26 种, 主要是脂肪酰类 (游离脂肪酸、氧化脂质)、甘油磷脂类 (LPE(20:4/0:0)、LPA(18:1/0:0)) 等 (图 2)。高磷组与适磷组共筛选出 87 个差异代谢物, 其中下调的有 75 种, 主要是氨基酸及其代谢物 (Val-Gly、Asp-Leu、Asp-Ile、Val-Thr、Val-Glu 等); 上调的有 12 种, 主要是有机酸及其衍生



图版 饲料磷水平对吉富罗非鱼肝脏组织结构的影响

1. 低磷组, 2. 适磷组, 3. 高磷组; 细胞空泡变性 (V), 核偏移 (NM), 细胞核 (N)。

Plate Effects of dietary phosphorus levels on histological section of liver in GIFT *O. niloticus*

1. low P treatment, 2. moderate P treatment, 3. high P treatment; vacuolar degeneration (V), Nuclear Migration (NM), nucleus (N).

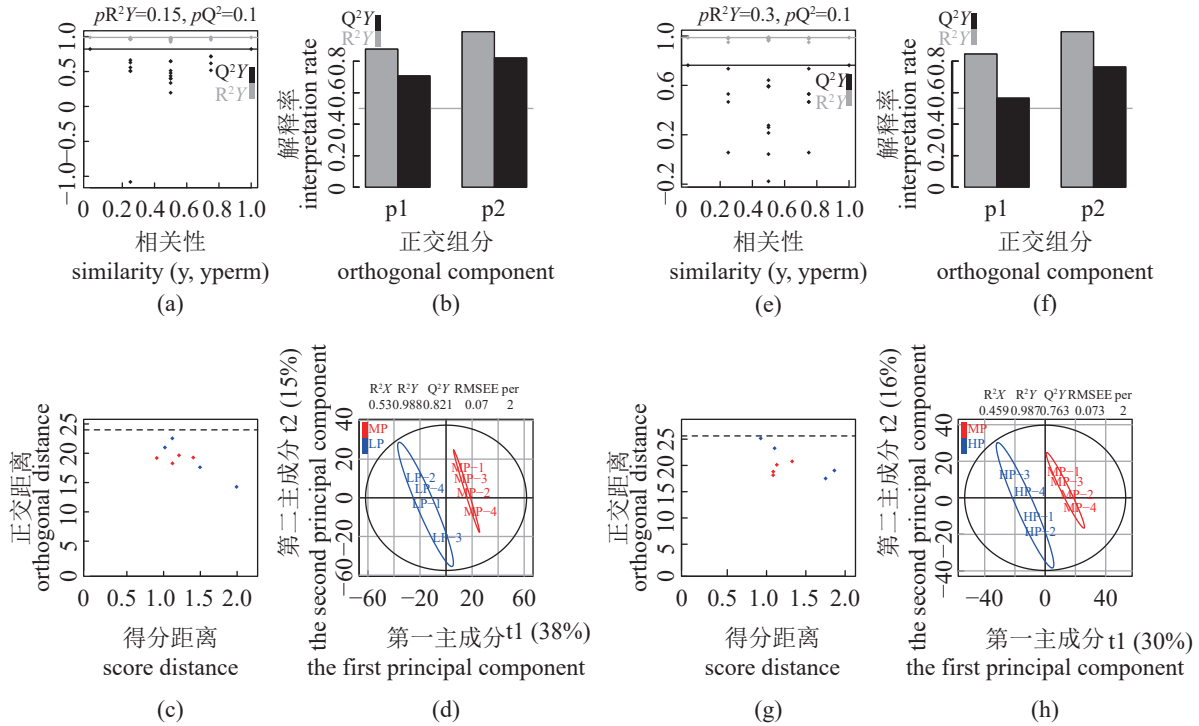


图1 OPLS-DA 得分图及模型评价图

(a) (b) (c) (d) 低磷组与适磷组 OPLS-DA 分析, (e) (f) (g) (h) 高磷组与适磷组 OPLS-DA 分析; (a) (e) 模型验证, (b) (f) 模型概述, (c) (g) 观测诊断, (d) (h) PLS-DA 得分。

Fig. 1 OPLS-DA score chart and model evaluation chart

(a) (b) (c) (d) OPLS-DA analysis for low vs. moderate phosphorus treatment, (e) (f) (g) (h) OPLS-DA analysis for high vs. moderate phosphorus treatment; (a) (e) model validation, (b) (f) model overview, (c) (g) observation diagnostics, (d) (h) PLS-DA scores.

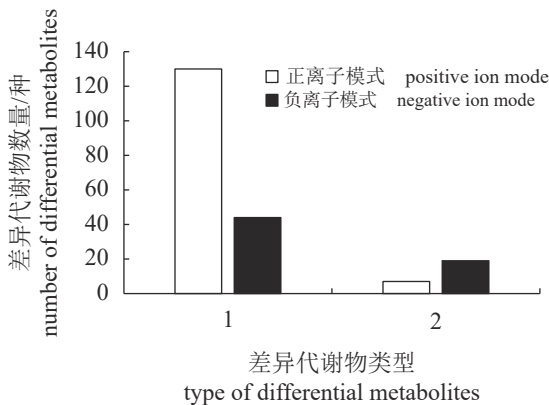


图2 低磷组和适磷组的肝脏差异代谢物数量

1. 下调, 2. 上调; 下同。

Fig. 2 Number of hepatic differential metabolites in the low and moderate phosphorus treatments

1. down, 2. up; the same below.

物(2-羟基-4-(甲硫基)丁酸、 α -酮戊二酸等)、氨基酸衍生物(己酰甘氨酸、1,3-二甲基尿酸、3-N-甲基-L-组氨酸等)(图3)。

差异代谢物 KEGG 注释分析 利用 KEGG 数据库, 对筛选到的差异代谢物进行

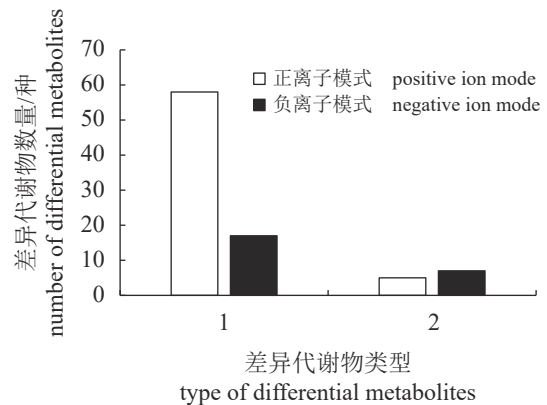


图3 高磷组和适磷组的肝脏差异代谢物数量

Fig. 3 Number of hepatic differential metabolites in the high and moderate phosphorus treatments

KEGG 注释和富集分析, 获得差异代谢物富集较多的代谢通路。低磷组和适磷组的差异代谢物主要归属的代谢通路: 氰胺酸代谢 (cyanoamino acid metabolism)、葡萄糖酸酯的生物合成 (glucosinolate biosynthesis)、丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢 (alanine, aspartate and glutamate metabolism) 和脂肪酸合成 (fatty acid biosynthesis)(图4)。高磷组和

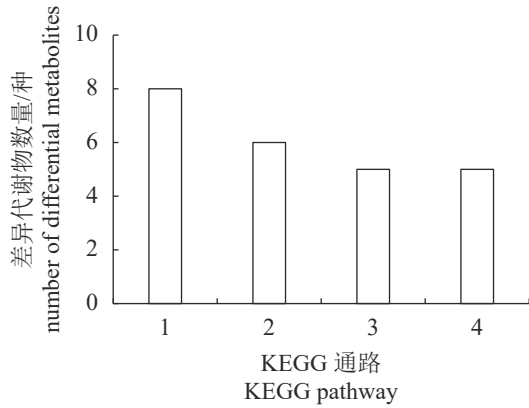


图4 低磷组和适磷组差异代谢物 KEGG 通路分布数量统计图

1. 氰胺酸代谢, 2. 葡萄糖酸酯的生物合成, 3. 丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢, 4. 脂肪酸合成。

Fig. 4 Statistics of the number of KEGG pathway distribution of differential metabolites in the low and moderate phosphorus treatments

1. cyanoamino acid metabolism, b. glucosinolate biosynthesis, c. alanine, aspartate and glutamate metabolism, d. fatty acid biosynthesis.

适磷组的差异代谢物主要归属的代谢通路: 精氨酸和脯氨酸代谢 (arginine and proline metabolism)、苯丙酸的生物合成 (phenylpropanoid biosynthesis) 和氨基糖和核苷酸糖的代谢 (amino sugar and nucleotide sugar metabolism)(图 5)。

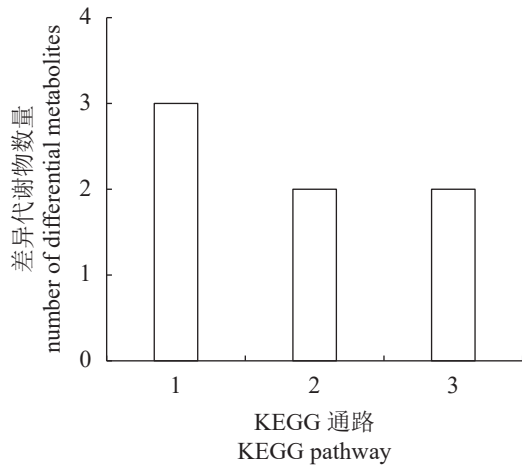


图5 高磷组和适磷组差异代谢物 KEGG 通路分布数量统计图

1. 精氨酸和脯氨酸代谢, 2. 苯丙酸的生物合成, 3. 氨基糖和核苷酸糖代谢。

Fig. 5 Statistics of the number of KEGG pathway distribution of differential metabolites in the high and moderate phosphorus treatments

1. arginine and proline metabolism, 2. phenylpropanoid biosynthesis, 3. amino sugar and nucleotide sugar metabolism.

2.5 饲料磷对吉富罗非鱼肠道微生物的影响

肠道微生物组测序结果分析 本实验样品共出现 1 782 个 OTU, 其中低磷组、适磷组和高磷组平均 OTU 数分别为 966、1 157 和 1 352 个, 每组 OTU 数量排序: 高磷组>适磷组>低磷组 (图 6)。因此, 饲料磷含量的提高增加了吉富罗非鱼肠道菌群数量。3 个实验组共有 OTU 的数量为 546 个, 其中低磷组和适磷组共有的 OTU 数为 58 个, 适磷组和高磷组共有的 OTU 数为 336 个。低磷组、适磷组和高磷组特有的 OTU 数量分别为 151、221 和 263 个。

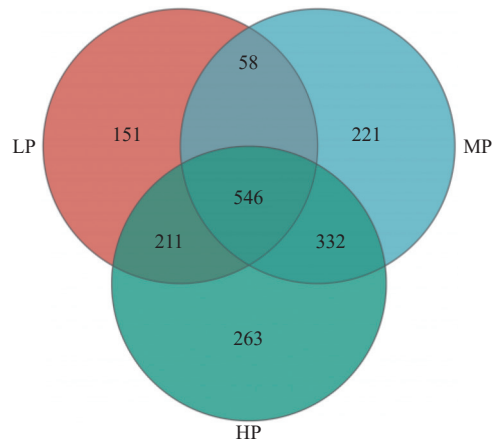


图6 三个处理组共同 OTU 的维恩图

Fig. 6 Venn diagram for the three treatments with a common OTU

肠道细菌群落的丰富度和多样性 高磷组中 Ace 指数和 Chao1 指数均显著高于适磷组和低磷组 ($P<0.05$), 高磷组的 Shannon 指数最大。吉富罗非鱼肠道菌群的丰度和多样性排序为高磷组>适磷组>低磷组 (表 5)。

表 5 各组肠道菌群的丰度和多样性统计

Tab. 5 Abundance and diversity statistics of intestinal flora in each treatment

分组 groups	Ace 指数 Ace index	Chao1 指数 Chao1 index	Shannon 指数 Shannon index
低磷组 LP	387.30±47.25 ^a	385.37±37.27 ^a	2.44±0.15 ^a
适磷组 MP	732.09±49.05 ^b	742.39±54.73 ^b	3.93±0.09 ^b
高磷组 HP	898.03±67.63 ^c	898.62±61.36 ^c	4.16±0.28 ^b

吉富罗非鱼肠道细菌群落的组成分析 在门水平上, 厚壁菌门 (Firmicutes)、放线菌门 (Actinobacteria)、变形菌门 (Proteobacteria) 和拟杆菌门 (Bacteroidota) 为吉富罗非鱼肠道菌群中的优

势菌门(图7)。在3组样本中厚壁菌门的平均相对丰度为38.49%、放线菌门为10.30%、变形菌门为14.04%、拟杆菌门为12.09%。由此可见厚壁菌门的丰度在吉富罗非鱼肠道中具有绝对优势。其中,厚壁菌门和变形菌门的丰度随着饲料磷含量的增加呈现逐渐上升的趋势;放线菌门和拟杆菌门的丰度随着饲料磷含量的增加呈现先降低后升高的趋势。

在属水平上, 罗姆布茨菌属 (*Romboutsia*)、分枝杆菌属 (*Mycobacterium*)、拟杆菌属 (*Bac-*

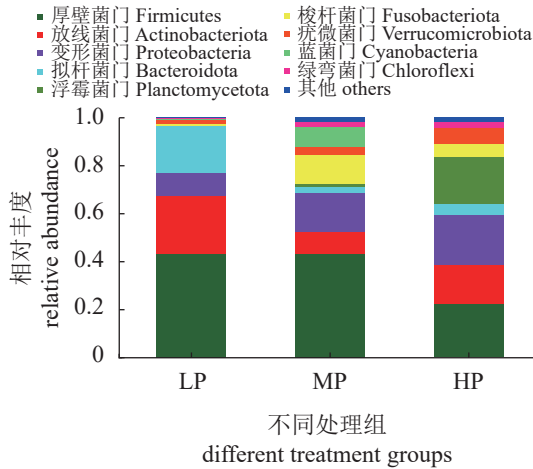


图7 门水平上吉富罗非鱼的肠道菌群结构及相对丰度图

Fig. 7 Structure and relative abundance of intestinal flora of GIFT *O. niloticus* at the phylum level

teroides) 和鲸杆菌属 (*Cetobacterium*) 为吉富罗非鱼肠道菌群中的优势菌属(图8)。在3组样本中罗姆布茨菌属的平均相对丰度为9.72%、分枝杆菌属为7.77%、拟杆菌属为6.71%、鲸杆菌属为7.38%。罗姆布茨菌属和鲸杆菌属的丰度随着饲料磷含量的增加呈现升高后降低的趋势,即在适磷组的丰度最高;分枝杆菌属和拟杆菌属的丰度随着饲料磷含量的增加呈现降低趋势。

3 讨论

3.1 饲料磷水平对吉富罗非鱼生长的影响

本研究表明, 饲料中添加适量的磷能促进吉富罗非鱼的生长, 提高饲料利用率。当饲料磷含量缺乏或过量时, 鱼体表现为生长缓慢, 对饲料的利用率较低, 这与草鱼 (*Ctenopharyngodon idella*)^[16]、翘嘴鲌 (*Culter alburnus*)^[17]、日本鲈 (*Lateolabrax japonicus*)^[18]、大黄鱼 (*Larimichthys crocea*)^[19] 等的研究结果相似。在本研究中, 吉富罗非鱼干物质、粗蛋白、粗脂肪、磷的表观消化率随饲料磷水平的增加呈现先升高后降低的趋势, 这与大口黑鲈^[20]、吉富罗非鱼^[21] 等的研究结果相似。吉富罗非鱼各营养素的表观消化率均在适磷组最高, 此时吉富罗非鱼的增重率也最高, 说明适宜的饲料磷水平可以促进吉富罗非鱼对营养物质的吸收, 从而提高其对饲料的利用率, 促进罗非鱼的生长。

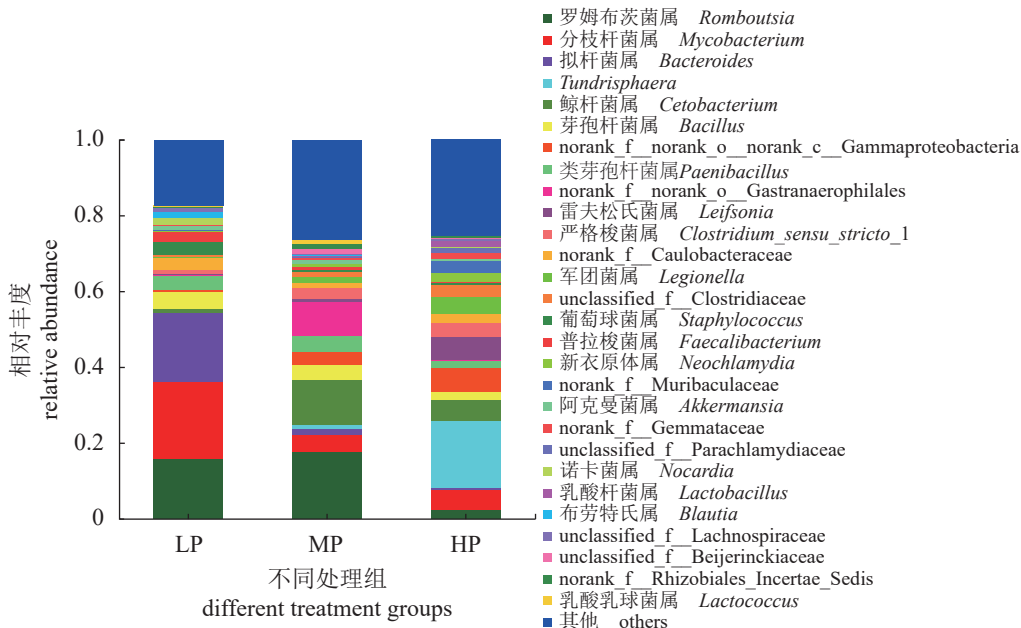


图8 属水平上吉富罗非鱼的肠道菌群结构及相对丰度图

Fig. 8 Structure and relative abundance of intestinal flora of GIFT *O. niloticus* at the genus level

再次证明饲料磷的缺乏和过量都会影响吉富罗非鱼的生长。

3.2 饲料磷对吉富罗非鱼肝脏营养代谢的影响

本研究中, 在低磷组和适磷组中筛选的差异代谢物, 下调的主要是氨基酸类和有机酸类, 即当饲料磷缺乏时, 鱼体消耗氨基酸进行供能; 上调的主要是脂肪酰类和甘油磷脂类, 即当饲料磷缺乏时, 影响了鱼体脂肪酸合成通路, 鱼体合成脂肪酸的进程加快, 造成鱼体脂肪堆积。Lu 等^[1]研究花鲈在缺磷组和适磷组的肝脏转录组之间, 大多数差异表达基因与蛋白质、脂类和碳水化合物的代谢有关, 这与本实验的结果类似。相关研究表明, 当饲料磷含量不足时, 影响鱼体对蛋白质和脂肪的蓄积比例, 从而影响鱼体的蛋白质和脂肪含量, 如在草鱼^[22]、日本鲈^[18]、大黄鱼^[19]、团头鲂 (*Megalobrama amblycephala*)^[23] 等的研究中发现饲料磷含量缺乏会导致鱼体脂肪蓄积, 而消耗蛋白质作为主要的能源物质提供能量, 本研究结果与其一致。

磷作为核酸、磷脂和辅酶等的组成成分, 参与了许多重要的代谢过程中, 如糖酵解和磷酸核糖途径等^[21, 24]。当饲料磷含量过多时, 会刺激糖异生作用, 将葡萄糖作为主要的能源物质为鱼体提供能量^[25]。在高磷组和适磷组中筛选的差异代谢物, 主要是下调的氨基酸类, 即当饲料磷过量时, 吉富罗非鱼的氨基酸代谢受到抑制。另有相关研究表明, 鲈^[26]、斑点叉尾鲷 (*Ictalurus punctatus*)^[26]、鲤 (*Myxocyprinus asiaticus*)^[3]、石斑鱼 (*Epinephelus coioides*)^[27] 等鱼体蛋白质含量也随着饲料磷含量的增加而增加, 即饲料磷含量的增加会促进吉富罗非鱼对营养物质的吸收利用, 显著提高饲料利用效率, 减少内脏脂肪蓄积。当饲料磷过量时, 多数氨基酸在肝脏中转变为葡萄糖, 为鱼体提供能量。此时, 蛋白质合成速率减小, 鱼体蛋白沉积率下降。

3.3 饲料磷对吉富罗非鱼肠道微生物的影响

鱼类肠道是营养物质消化吸收和机体免疫的器官, 极易受饲料和环境等因素变化的影响, 进而影响其肠道微生物的群落结构^[28]。本研究中, 随着饲料磷含量的增加, 吉富罗非鱼肠道微生物丰富度和多样性增加, 说明磷可以促进吉富罗非鱼的肠道健康。

在门水平上, 厚壁菌门、放线菌门、变形菌门和拟杆菌门为吉富罗非鱼肠道菌群中的优势菌属, 这与 Liu 等^[29] 的对杂交罗非鱼的研究结果相似。本研究中, 吉富罗非鱼厚壁菌门的丰度随着饲料磷含量的增加呈现逐渐上升的趋势, 拟杆菌门丰度随着饲料磷含量的增加呈现先降低后升高的趋势。研究发现, 肠道菌群的组成与机体糖代谢和脂质代谢密切相关, 其中拟杆菌门和厚壁菌门可能是影响机体能量代谢的主要菌群^[30]。拟杆菌门和厚壁菌门可以产生多糖水解酶, 进而产生单糖和短链脂肪酸, 促进鱼体对营养物质的消化吸收, 有助于维持肠道免疫系统的稳态, 保持宿主的肠道健康^[31-32]。同时拟杆菌门和厚壁菌门可以增强鱼体对碳水化合物的代谢^[33], 这可能是导致高磷组吉富罗非鱼氨基酸代谢物表达下调的原因之一。放线菌门包含的很多菌种可分泌抗生素和酶^[34-35], 在动物肠道和海洋生态系统中均有重要作用, 因此放线菌门可作为衡量动物肠道健康的部分依据^[36]。放线菌门含有多种致病菌, 如分枝杆菌。变形菌门丰度的提高可能是肠道菌群失衡的一个重要标志^[37]。本研究中, 在一定范围内随着饲料磷含量的增加, 放线菌门丰度呈现降低的趋势, 而变形菌门的丰度呈现逐渐增加的趋势, 这表明饲料磷水平的增加可能会降低吉富罗非鱼的致病率, 平衡肠道菌群, 有利于吉富罗非鱼的肠道健康。

在属水平上, 罗姆布茨菌属、分枝杆菌属、拟杆菌属和鲸杆菌属为吉富罗非鱼肠道菌群中的优势菌属。罗姆布茨菌属被认为是与肠道健康有影响的, 可以利用不同种类简单碳水化合物合成氨基酸和维生素, 促进宿主的生长^[38-39]。在本研究中罗姆布茨菌属丰度随着饲料磷含量的增加呈现升高后降低的趋势。鲸杆菌属是在淡水鱼肠道中常见的一种益生菌, 有研究表明鲸杆菌属可以产生乙酸, 可促进蛋白质及碳水化合物和脂肪的代谢, 并在生长和发育中起重要作用^[40]。在本研究中, 饲料添加适宜的磷可提高鲸杆菌属的丰度, 促进吉富罗非鱼对营养物质的吸收。拟杆菌属是发酵产生短链脂肪酸的主要菌群^[41], 在将复杂分子加工成简单分子的过程中起着重要作用, 是机体用于脂肪酸及葡萄糖从头合成的原料^[42]。本研究中, 当饲料磷含量较低时, 拟杆菌属的丰度更高, 在一定程度上可以促进吉富罗非鱼体脂肪酸的合成与沉积, 这与前文低磷组脂肪酰类和甘油

磷脂类代谢物表达上调的结果相吻合。分枝杆菌属多为潜在致病菌, 有许多菌株被证实是病原菌, 可在鱼体的皮肤、鳃、内脏、肌肉等组织中分离得到^[43]。本研究中, 分枝杆菌属的丰度随着饲料磷含量的增加呈现降低趋势, 说明饲料磷含量的增加, 可能减少吉富罗非鱼相关疾病的发生。

本研究表明, 饲料中适量的磷能提高吉富罗非鱼对干物质、粗蛋白、粗脂肪、磷的表观消化率。对筛选到的差异代谢物进行 KEGG 注释和富集分析得到, 饲料磷的缺乏或过量会影响体内营养物质的消化吸收代谢过程, 即当饲料磷缺乏时, 吉富罗非鱼的氨基酸代谢受到抑制, 脂肪酸合成进程加快; 当饲料磷过量时, 吉富罗非鱼的氨基酸代谢受到抑制。通过高通量测序技术分析发现饲料中适量的磷提高了肠道菌群中有益菌的丰度和多样性, 有利于吉富罗非鱼健康。

(作者声明本文无实际或潜在的利益冲突)

参考文献 (References):

- [1] Lu K L, Ji Z L, Rahimnejad S, *et al.* De novo assembly and characterization of seabass *Lateolabrax japonicus* transcriptome and expression of hepatic genes following different dietary phosphorus/calcium levels[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics*, 2017, 24: 51-59.
- [2] Liu X Y, Zhao T, Wei X L, *et al.* Dietary phosphorus reduced hepatic lipid deposition by activating AMPK pathway and Beclin1 phosphorylation levels to activate lipophagy in tilapia *Oreochromis niloticus*[J]. *Frontiers in Nutrition*, 2022, 9: 841187.
- [3] Yuan Y C, Yang H J, Gong S Y, *et al.* Dietary phosphorus requirement of juvenile Chinese sucker, *Myxocyprinus asiaticus*[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2011, 17(2): 159-169.
- [4] Zafar N, Khan M A. Determination of dietary phosphorus requirement of stinging catfish *Heteropneustes fossilis* based on feed conversion, growth, vertebrae phosphorus, whole body phosphorus, haematology and antioxidant status[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2018, 24(5): 1577-1586.
- [5] 谢南彬, 冯琳, 刘扬, 等. 幼建鲤磷缺乏的组织病理观察[J]. *动物营养学报*, 2010, 22(5): 1328-1333.
- Xie N B, Feng L, Liu Y, *et al.* Histopathological observation of phosphorus deficiency in Juvenile Jian Carp (*Cyprinus carpio* var. Jian)[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2010, 22(5): 1328-1333 (in Chinese).
- [6] Vielma J, Koskela J, Ruohonen K. Growth, bone mineralization, and heat and low oxygen tolerance in European whitefish (*Coregonus lavaretus* L.) fed with graded levels of phosphorus[J]. *Aquaculture*, 2002, 212(1-4): 321-333.
- [7] 李彦, 刘利平, 赵广学, 等. 基于因子分析法的罗非鱼养殖池水质影响要素的研究[J]. *上海海洋大学学报*, 2012, 21(5): 794-799.
- Li Y, Liu L P, Zhao G X, *et al.* Study on the influential factors of the water quality in tilapia culture systems based on factor analysis approach[J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2012, 21(5): 794-799 (in Chinese).
- [8] Ye C X, Wan F, Sun Z Z, *et al.* Effect of phosphorus supplementation on cell viability, anti-oxidative capacity and comparative proteomic profiles of puffer fish (*Takifugu obscurus*) under low temperature stress[J]. *Aquaculture*, 2016, 452: 200-208.
- [9] 雷永. 中华绒螯蟹幼蟹磷的营养生理研究 [D]. 上海: 华东师范大学, 2021.
- Lei Y. Study on nutritional physiology of phosphorus in juvenile Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*)[D]. Shanghai: East China Normal University, 2021 (in Chinese).
- [10] 谢南彬. 磷对幼建鲤生长性能、消化吸收功能、免疫功能和抗氧化能力的影响 [D]. 雅安: 四川农业大学, 2010.
- Xie N B. Effects of dietary phosphorus on growth performance, functions of digestion, absorption, immune and antioxidative of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian)[D]. Yaan: Sichuan Agricultural University, 2010 (in Chinese).
- [11] Liu Q Y, Wan F, Liu Y, *et al.* Effects of dietary inorganic phosphorus levels on growth, liver and intestinal morphology and digestive enzymes in fingerling obscure puffer (*Takifugu obscurus*)[J]. *Aquaculture*, 2021, 545: 737124.
- [12] 蒋明, 姚鹰飞, 文华, 等. 吉富罗非鱼成鱼对饲料中有效磷的需要量[J]. *水产学报*, 2013, 37(11): 1725-1732.
- Jiang M, Yao Y F, Wen H, *et al.* Dietary available phosphorus requirement of adult GIFT strain of *Oreochromis niloticus* reared in freshwater[J]. *Journal of Fisheries of*

- China, 2013, 37(11): 1725-1732 (in Chinese).
- [13] Yao Y F, Jiang M, Wen H, *et al.* Dietary phosphorus requirement of GIFT strain of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* reared in freshwater[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2014, 20(3): 273-280.
- [14] Ribeiro F B, Lanna E A T, Bomfim M A D, *et al.* Dietary total phosphorus levels for Nile tilapia fingerlings[J]. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 2006, 35(4): 1588-1593.
- [15] Boscolo W R, Feiden A, Bombardelli RA, *et al.* Requirements of phosphorus for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings[J]. *Acta Scientiarum-Animal Sciences*, 2005, 27(1): 87-91.
- [16] Chen K, Jiang WD, Wu P, *et al.* Effect of dietary phosphorus deficiency on the growth, immune function and structural integrity of head kidney, spleen and skin in young grass carp (*Ctenopharyngodon idella*)[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2017, 63: 103-126.
- [17] 陈建明, 叶金云, 潘茜, 等. 翘嘴鲃鱼种对磷的需求量[J]. *水生生物学报*, 2007, 31(1): 99-103.
- Chen J M, Ye J Y, Pan Q, *et al.* Dietary phosphorus requirement of *Culter alburnus* fingerling[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2007, 31(1): 99-103 (in Chinese).
- [18] Zhang C X, Mai K, Ai Q H, *et al.* Dietary phosphorus requirement of juvenile Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus*[J]. *Aquaculture*, 2006, 255(1-4): 201-209.
- [19] Mai K, Zhang C X, Ai Q H, *et al.* Dietary phosphorus requirement of large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea* R[J]. *Aquaculture*, 2006, 251(2-4): 346-353.
- [20] Wang P, Li X Q, Xu Z, *et al.* The digestible phosphorus requirement in practical diet for largemouth bass (*Micropterus salmoides*) based on growth and feed utilization[J]. *Aquaculture and Fisheries*, 2022, 7(6): 632-638.
- [21] 陈任孝. 吉富罗非鱼对实用饲料中添加磷的营养响应[D]. 重庆: 西南大学, 2013.
- Chen R X. Nutritional response of GIFT tilapia to the addition of phosphorus in practical feeds[D]. Chongqing: Southwest University, 2013 (in Chinese).
- [22] Liang J J, Liu Y J, Tian L X, *et al.* Dietary available phosphorus requirement of juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idella*)[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2012, 18(2): 181-188.
- [23] 刘汉超, 叶元土, 蔡春芳, 等. 团头鲂饲料磷需要量[J]. *动物营养学报*, 2014, 26(3): 812-818.
- Liu H C, Ye Y T, Cai C F, *et al.* Phosphorus requirement of bluntnose black bream[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2014, 26(3): 812-818 (in Chinese).
- [24] Davis D A, Gatlin III D M. Dietary mineral requirements of fish and marine crustaceans[J]. *Reviews in Fisheries Science*, 1996, 4(1): 75-99.
- [25] 徐昌义. 饲料中磷含量对尼罗罗非鱼几项生理指标的影响[J]. *西南农业学报*, 1990, 3(1): 90-94.
- Xu C Y. Effect of dietary phosphorus levels on protein and lipid contents in tilapia nilotica[J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 1990, 3(1): 90-94 (in Chinese).
- [26] Eya J C, Lovell R T. Available phosphorus requirements of food-size channel catfish (*Ictalurus punctatus*) fed practical diets in ponds[J]. *Aquaculture*, 1997, 154(3-4): 283-291.
- [27] Ye C X, Liu Y J, Tian L X, *et al.* Effect of dietary calcium and phosphorus on growth, feed efficiency, mineral content and body composition of juvenile grouper, *Epinephelus coioides*[J]. *Aquaculture*, 2006, 255(1-4): 263-271.
- [28] Spanggaard B, Huber I, Nielsen J, *et al.* The microflora of rainbow trout intestine: a comparison of traditional and molecular identification[J]. *Aquaculture*, 2000, 182(1-2): 1-15.
- [29] Liu W S, Wang W W, Ran C, *et al.* Effects of dietary scFOS and lactobacilli on survival, growth, and disease resistance of hybrid tilapia[J]. *Aquaculture*, 2017, 470: 50-55.
- [30] Theriot C M, Koenigsnecht M J, Carlson P E, *et al.* Antibiotic-induced shifts in the mouse gut microbiome and metabolome increase susceptibility to *Clostridium difficile* infection[J]. *Nature Communications*, 2014, 5(1): 3114.
- [31] Mountfort D O, Campbell J, Clements K D. Hindgut fermentation in three species of marine herbivorous fish[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2002, 68(3): 1374-1380.
- [32] Bradlow H L. Obesity and the gut microbiome: pathophysiological aspects[J]. *Hormone Molecular Biology and Clinical Investigation*, 2014, 17(1): 53-61.
- [33] 李星, 曹振辉, 林秋叶, 等. 肠道微生物及其代谢产物对动物免疫机能的影响[J]. *动物营养学报*, 2019, 31(2): 553-559.

- Li X, Cao Z H, Lin Q Y, *et al.* Effects of gut microbiota and its metabolites on animal immune function[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2019, 31(2): 553-559 (in Chinese).
- [34] Bull A T, Stach J E M, Ward A C, *et al.* Marine actinobacteria: perspectives, challenges, future directions[J]. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 2005, 87(1): 65-79.
- [35] Cundliffe E. Antibiotic production by actinomycetes: the Janus faces of regulation[J]. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 2006, 33(7): 500-506.
- [36] Turnbaugh P J, Hamady M, Yatsunenko T, *et al.* A core gut microbiome in obese and lean twins[J]. *Nature*, 2009, 457(7228): 480-484.
- [37] Shin N R, Whon T W, Bae J W. *Proteobacteria*: microbial signature of dysbiosis in gut microbiota[J]. *Trends in Biotechnology*, 2015, 33(9): 496-503.
- [38] 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(9): e3698.
- [39] Mangifesta M, Mancabelli L, Milani C, *et al.* Mucosal microbiota of intestinal polyps reveals putative biomarkers of colorectal cancer[J]. *Scientific Reports*, 2018, 8(1): 13974.
- [40] Tsuchiya C, Sakata T, Sugita H. Novel ecological niche of *Cetobacterium somerae*, an anaerobic bacterium in the intestinal tracts of freshwater fish[J]. *Letters in Applied Microbiology*, 2008, 46(1): 43-48.
- [41] Lan P T N, Sakamoto M, Sakata S, *et al.* *Bacteroides barnesiae* sp. Nov., *Bacteroides salanitronis* sp. nov. and *Bacteroides gallinarum* sp. nov., isolated from chicken caecum[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2006, 56(12): 2853-2859.
- [42] Wexler H M. *Bacteroides*: The good, the bad, and the nitty-gritty[J]. *Clinical Microbiology Reviews*, 2007, 20(4): 593-621.
- [43] Mrlik V, Slany M, Kubecka J, *et al.* A low prevalence of mycobacteria in freshwater fish from water reservoirs, ponds and farms[J]. *Journal of Fish Diseases*, 2012, 35(7): 497-504.

Effects of dietary phosphorus levels on nutrient metabolism and intestinal microbiome in GIFT tilapia (GIFT *Oreochromis niloticus*)

LUO Yajing^{1,2}, DONG Lixue¹, TIAN Juan¹, LU Xing¹, GUO Zhongbao³,
LUO Yongju³, WEN Hua^{1*}, JIANG Ming^{1*}

(1. Yangtze River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuhan 430223, China;

2. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

3. Guangxi Fisheries Research Institute, Nanning 530021, China)

Abstract: The present study was conducted to investigate the effects of dietary phosphorus levels on the nutritional metabolism and intestinal microbiome of the GIFT tilapia (GIFT *Oreochromis niloticus*). Three isonitrogenous and isoenergetic diets with total phosphorus (P) content of 0.26% (low P treatment), 0.81% (moderate P treatment) and 1.51% (high P treatment) were prepared by using calcium dihydrogen phosphate as phosphorus source. Each diet was assigned to one treatment with four replicates and 30 fish per replicate. The fish with initial weight (8.42±0.09 g) were fed with the test diets for 8 weeks in an indoor recirculating aquaculture system (RAS). The results showed as follows: weight gain rate (WGR) and specific growth rate (SGR) of tilapia in moderate P treatment were significantly higher than those in low and high P treatments ($P<0.05$), and feed conversion ratio (FCR) of tilapia in moderate P treatment was the lowest. The hepatosomatic ratio, viscerosomatic ratio and condition factor showed a gradual decrease with the increase of dietary phosphorus level. Dietary phosphorus level had a significant effect ($P<0.05$) on the apparent digestibility of dry matter, crude protein, crude lipid and phosphorus in GIFT *O. niloticus* and they showed a trend of increasing and then decreasing with increasing dietary phosphorus level. KEGG annotation and enrichment analysis of differential metabolites showed that the main metabolic pathways of down-regulated differential metabolites were cyanuric acid metabolism, biosynthesis of gluconate ester, alanine, aspartic acid and glutamate metabolism, and most of the upregulated differential metabolites were mainly enriched in the metabolic pathway of fatty acid synthesis in the fish in low P treatment compared with those in moderate P treatment; most down-regulated differential metabolites were mainly enriched in the following metabolic pathways: arginine and proline metabolism, phenylpropionic acid biosynthesis and most up-regulated differential metabolites were mainly enriched in the metabolic pathways of amino sugars and nucleotide sugars in the fish in high P treatment compared with those in moderate P treatment. Ace, Chao1 and Shannon indices showed that the abundance and diversity of GIFT *O. niloticus* intestinal flora tended to increase with increasing levels of dietary phosphorus. Firmicutes, Actinobacteria, Proteobacteria and Bacteroidota were the dominant phyla in the intestinal flora of GIFT *O. niloticus*. The abundance of beneficial genera such as *Romboutsia* and *Cetobacterium* was the highest in the moderate P treatment while the abundance of *Mycobacterium* and *Bacteroides* showed a decreasing trend with increasing phosphorus content in the feed. In conclusion, moderate phosphorus in diet could improve the apparent digestibility of feed for GIFT *O. niloticus*, and phosphorus deficiency or excess in diet would inhibit amino acid metabolism. Phosphorus deficiency would accelerate the process of fatty acid synthesis. Appropriate phosphorus in diets could improve the abundance and diversity of bacterial flora, which may be beneficial to intestinal health.

Key words: phosphorus; GIFT *Oreochromis niloticus*; nutrient metabolism; intestinal microbiome

Corresponding authors: WEN Hua. E-mail: wenhua.hb@163.com;

JIANG Ming. E-mail: jiangming@yfi.ac.cn

Funding projects: China Agriculture Research System (CARS-46); Central Public-interest Scientific Institution Basal Research Fund (YFI20220801)