

杨立, 蒙庆米, 白天泉, 等. 海拔对稻田金背鲤肠道结构、消化酶活性和肠道菌群的影响 [J]. 华南农业大学学报, 2024, 45(6): 898-907.
YANG Li, MENG Qingmi, BAI Tianquan, et al. Effects of altitude on gut structure, digestive enzyme activity and gut microbiota of *Cyprinus carpio* var. *Jinbei* in rice field[J]. Journal of South China Agricultural University, 2024, 45(6): 898-907.

海拔对稻田金背鲤肠道结构、消化酶活性和 肠道菌群的影响

杨立¹, 蒙庆米¹, 白天泉², 李嘉尧³, 姚俊杰¹, 马兰¹

(1 贵州大学 渔业资源与环境研究中心/高原山地动物遗传育种与繁殖教育部重点实验室, 贵州 贵阳 550025; 2 独山县
养殖业发展中心, 贵州 独山 558200; 3 上海海洋大学 农业农村部稻渔综合种养生态重点实验室, 上海 201306)

摘要:【目的】探究在不同海拔下稻田金背鲤 *Cyprinus carpio* var. *Jinbei* 的肠道结构、消化酶活性和肠道菌群特征。【方法】以低 (580 m)、中 (830 m) 和高 (1340 m) 3 个不同海拔的稻田金背鲤为研究对象, 采用组织学、酶学以及分子生物学等方法比较分析其肠道的组织结构、消化酶活性和肠道菌群特征。【结果】低海拔组金背鲤肠道的绒毛高度 (521.04 μm) 显著高于中海拔组 (438.01 μm) 和高海拔组 (419.39 μm)($P < 0.05$) ; 中海拔组金背鲤肠道的胰蛋白酶活性 (4541.65 U/mg) 显著高于低海拔组 (4023.72 U/mg) 和高海拔组 (3722.10 U/mg)($P < 0.05$) ; 放线菌门、厚壁菌门、变形菌门、绿弯菌门和软壁菌门是稻田金背鲤肠道的主要菌群门类。【结论】不同海拔对稻田金背鲤的肠道形态组织结构、消化酶活性和肠道菌群产生影响。虽然稻田金背鲤的肠道菌群在不同海拔下出现相应的变化, 但是, 仍保持以放线菌门为主的相对稳定菌群, 说明金背鲤的肠道具有对稻田生态环境的适应性。

关键词: 海拔; 稻田; 金背鲤; 肠道; 消化酶; 肠道菌群

中图分类号: S917.4

文献标志码: A

文章编号: 1001-411X(2024)06-0898-10

Effects of altitude on gut structure, digestive enzyme activity and gut microbiota of *Cyprinus carpio* var. *Jinbei* in rice field

YANG Li¹, MENG Qingmi¹, BAI Tianquan², LI Jiayao³, YAO Junjie¹, MA Lan¹

(1 Fishery Resources and Environment Research Center, Guizhou University/Key Laboratory of Genetic Breeding and Reproduction of Highland Mountain Animals, Ministry of Education, Guiyang 550025, China; 2 Dushan County Aquaculture Development Center, Dushan 558200, China; 3 Key Laboratory of Rice-Fishery Integrated Breeding and Ecology, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: 【Objective】In order to explore the gut structure, digestive enzyme activity and gut microbiota characteristics of *Cyprinus carpio* var. *Jinbei* at different altitudes. 【Method】*C. carpio* var. *Jinbei* in rice fields at low (580 m), middle (830 m) and high (1340 m) altitudes were taken as the research objects. The histology, enzymology and molecular biology methods were used to compare and analyze the gut tissue structure, digestive

收稿日期: 2024-06-27 网络首发时间: 2024-09-18 17:18:01

首发网址: <https://link.cnki.net/urlid/44.1110.S.20240918.1501.004>

作者简介: 杨立, 硕士研究生, 主要从事水产动物繁殖与发育生物学研究, E-mail: 2659551978@qq.com; 通信作者: 姚俊杰, 教授, 博士, 主要从事水产动物繁殖与发育生物学研究, E-mail: junjieyao@163.com

基金项目: 贵州省农业重大产业科学研究攻关项目 (黔教合 KY 字 [2019]013); 农业农村部稻渔综合种养生态重点实验室开放课题 (2023-1)

enzyme activity and gut microbiota characteristics. 【Result】The villus height of *C. carpio* var. *Jinbei* of the low altitude group (521.04 μm) was significantly higher than those of the middle altitude group (438.01 μm) and high altitude group (419.39 μm) ($P < 0.05$). The trypsin activity of *C. carpio* var. *Jinbei* of the middle altitude group (4541.65 U/mg) was significantly higher than those of the low altitude group (4023.72 U/mg) and high altitude group (3722.10 U/mg) ($P < 0.05$). Actinobacteria, Firmicutes, Proteobacteria, Chloroflexi and Tenericutes were the main gut microbiota of *C. carpio* var. *Jinbei* in rice field. 【Conclusion】Different altitudes affect the intestinal morphology, digestive enzyme activity, and gut microbiota structure of *C. carpio* var. *Jinbei* in rice field. Although the gut microbiota of *C. carpio* var. *Jinbei* in rice field changes at different altitudes, it still maintains a relatively stable gut microbiota dominated by Actinobacteria, indicating that *C. carpio* var. *Jinbei* gut has been adapted to the ecological environment in rice field.

Key words: Altitude; Rice field; *Cyprinus carpio* var. *Jinbei*; Intestine; Digestive enzyme; Gut microbiota

稻田养鱼是水产养殖和种植的有机结合, 可以实现一水多用、一田多收、稻鱼双赢、稳粮增效^[1]。稻田中的鱼类可以直接或间接地利用杂草、底栖动物、昆虫、浮游生物碎屑等, 大大降低农药的使用量^[2]。此外, 鱼类的粪便可以为水稻提供营养, 减少化肥的使用, 降低生产成本^[3]。中国是稻田养鱼最早的国家^[4]。贵州是中国传统的稻鱼养殖大省, 其稻鱼养殖的历史可追溯至东汉时期^[5]。2011年, 贵州省从江侗乡“稻鱼鸭农业生态系统”被联合国粮农组织列为全球重要农业文化遗产 (Globally important agricultural heritage systems, GIAHS)^[6], 这是我国继2005年浙江青田“稻鱼共生系统”被联合国粮农组织列为首批全球重要农业文化遗产^[7]之后, 第二个关于稻渔综合种养的全球重要农业文化遗产。

金背鲤 *Cyprinus carpio* var. *Jinbei* 属鲤科、鲤亚科、鲤属, 俗称乖乖鲤、埋头鲤、金边鲤、花背鲤等, 是贵州传统稻田鱼, 世世代代生活在稻田中。经历了长期的自然和人工选择与驯化, 金背鲤已形成性情温顺、不喜逃逸、耐低氧、耐饥饿、易存活和对温度变化的耐受力强等适应稻田环境的特点^[8-10], 同时因其背鳍两侧有2条稳定遗传的金色条纹、头部有类似金色蝴蝶图案而得名^[11]。

不同自然环境条件可能对生物体及其整体生物学特性有显著影响, 动物在不同的栖息地可能受到环境的适应性选择^[12]。随着海拔高度的增加, 大气压力显著下降, 造成低压缺氧^[13]。这些变化可以通过抑制有氧代谢来影响主要的能量产生过程。为了适应不同的地理环境, 动物进化出了许多方式来应对这些环境中的生活。为了克服恶劣的环境条件, 生活在高海拔地区的动物进化出形态、生理和遗传适应, 如改变体质量、提高代谢率等^[14-15]。

鱼类肠道作为营养物质消化和吸收、免疫调节等的主要场所, 对生长有着重要的影响。肠道的结构、消化酶活性关系到食物的消化和吸收。肠道中的微生物, 参与鱼类的营养物质消化吸收、维持肠道免疫等过程^[16]。据报道, 肠道微生物群落结构差异的原因是宿主及其环境的强烈选择和共同进化^[17], 动物的肠道微生物群可能支持宿主适应不同的环境^[18]。例如高海拔环境下的反刍动物的肠道微生物群中能量代谢相关基因发生了变化^[19]。不同地理环境下食物资源的可得性是可变的, 因此地理环境显著影响宿主肠道菌群的多样性和组成^[18]。海拔是调节动物肠道微生物群落结构和多样性的重要因素^[20]。有报道称, 高海拔和低氧浓度对小鼠肠道微生物群具有影响, 这支持了环境变化调节肠道微生物群组成和代谢过程的观点^[21]。在不同海拔对尼罗罗非鱼 *Oreochromis niloticus* 的肠道细菌微生物群的影响的研究中, 低海拔样品具有更大的 α 多样性, 主坐标分析 (PCoA) 结果显示, 不同湖泊样品间存在显著差异; 结果揭示了海拔对肠道菌群的间接影响, 海拔高度有可能调节尼罗罗非鱼的肠道微生物群组成和多样性^[22]。

本研究拟通过探究稻田金背鲤在不同海拔条件下其肠道结构、消化酶活性和肠道菌群特征, 进一步了解金背鲤的生物学及生态学特点, 为对稻田金背鲤种质资源的保护与利用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验设计

试验在贵州省麻江县开展。麻江县最高海拔1 862 m, 最低海拔576 m, 稻田养鱼区域的海拔普遍在576~1 400 m, 2022年, 全县稻田养鱼面积共533.33 hm²。根据稻田养鱼的海拔范围, 将其分为低

海拔组、中海拔组、高海拔组 3 个组, 每个组设 3 个重复, 每个重复 1 块稻田。以宣威镇翁东村稻田为低海拔组 (580 m), 该村稻田养鱼 22.67 hm², 随机选取 3 块稻田进行试验, 面积分别为 0.100、0.101、0.099 hm²。以金竹街道桐子园村稻田为中海拔组 (830 m), 该村稻田养鱼 14.00 hm², 随机选取 3 块稻田进行试验, 面积分别为 0.083、0.067、0.115 hm²。以坝芒镇乐坪村稻田为高海拔组 (1 340 m), 该村稻田养鱼 26.67 hm², 随机选取 3 块稻田进行试验, 面积分别为 0.078、0.097、0.085 hm²。

在插秧 2 周后 (2022 年 6 月 24 日) 按 225 kg/hm² 的密度将体质量为 (131.30±8.06) g、体长为 (16.10±0.31) cm 稻田金背鲤投放入田中。试验期间稻田不使用农药, 稻田金背鲤不投喂任何人工饵料, 自由摄食稻田中天然饵料。试验周期为 93 d, 9 月 25 日试验结束。

1.2 样品采集

试验结束后, 将 3 组试验稻田的水放干采集金背鲤样品。在每块稻田采集到的 12 尾金背鲤中, 各随机抓取 5 尾鱼, 共 45 尾, 测量体长、体质量后放入充氧袋中, 装取稻田水, 活体运输至贵州大学动物科学学院实验室。金背鲤样品带回学校后, 9 块稻田的鱼样分别放入 9 个养殖箱中暂养, 禁食 24 h 之后进行取样。洗净鱼体, 用无菌水冲洗体表、口腔及鱼鳃, 用 MS222 将金背鲤麻醉后, 使用无菌剪刀将金背鲤腹部剖开, 用无菌镊子将肠道分离。把肠道从腹腔中分离出来, 再用 PBS 缓冲液进行冲洗。1) 3 个试验组: 每组 3 块稻田, 在每块稻田采集到的 12 尾金背鲤中, 各随机取 3 尾样品鱼, 取其全肠的肠道内容物混为一管, 放置在 10 mL 的无菌离心管中, 采用液氮速冻, 于 -80 °C 保存, 用于肠道微生物的测定; 2) 每组 3 块稻田, 在每块稻田采集到的 12 尾金背鲤中, 各随机取 1 尾样品鱼, 取其前肠中间部位 1 cm 肠道组织, 用 PBS 缓冲液将肠道内容物清洗干净, 分别使用体积分数为 4% 甲醛溶液固定后放置在 50 mL 离心管中, 用于组织形态学的观察。3) 每组 3 块稻田, 在每块稻田采集到的 12 尾金背鲤中, 各随机取 1 尾样品鱼, 取其全肠内容物分别放置于 10 mL 无菌离心管中, 于 -80 °C 保存, 用于消化酶活性的测定。

1.3 肠道组织切片处理

取出经体积分数为 4% 甲醛溶液固定好的稻田金背鲤肠道; 用不同浓度梯度的乙醇溶液进行脱水处理; 经过二甲苯透明; 把透明组织进行石蜡包埋处理; 切片厚度为 4 μm, 苏木精-伊红染色; 染色后

的切片经纯乙醇脱水; 经二甲苯使切片透明; 最后用中性树胶封固。

1.4 肠道形态组织观察测定

采用 Eclipse Ci-L 正向白光摄影显微镜 (Nikon, 日本), 对小肠组织分别进行 40×和 100×成像; 使用 Image-Pro Plus 6.0 分析软件 (Media Cybernetics, 美国) 分析; 在 40×视野下, 测量 5 根完整肠绒毛指标; 在 100×视野下, 观察肠道内的杯状细胞数量。

1.5 肠道消化酶活性检测

准确称取适量肠道样本, 每 1 g 的肠道样本中加入 9 mL 的无菌生理盐水, 在冰水浴下机械匀浆, 4 °C、2 500 r/min 离心 10 min, 离心后收集上清液备用。

淀粉酶、脂肪酶、胰蛋白酶和纤维素酶根据试剂盒 (南京建成生物科技有限公司) 说明书测定酶活性。

1.6 肠道菌群总 DNA 提取及分子生物学分析

从稻田金背鲤肠道内容物中提取 DNA, 并使用 Nanodrop 进行精确的定量, 最后通过 12 g/L 琼脂糖凝胶电泳来评估提取的 DNA 的质量。PCR 反应体系: 5 μL Reaction buffer、5 μL GC buffer、2 μL dNTP(2.5 mmol/L)、1 μL 上游引物 3'-ACTCCTACGGGA GGCAGCA -5'(10 μmol/L)、1 μL 下游引物 3'-GGACTTACHVGGGTWTCTAAT-5'(10 μmol/L)、2 μL DNA 模板、8.75 μL ddH₂O 与 0.25 μL Q5DNA 聚合酶。使用 ABI PCR 仪进行 PCR 扩增, 反应条件: 98 °C 预变性 2 min, 98 °C 变性 15 s、55 °C 退火 30 s、72 °C 延伸 30 s, 设置 30 个循环, 72 °C 终延伸 5 min。

采用 18 g/L 琼脂糖凝胶电泳, 将纯化后的产物转移至成都诺米代谢生物科技有限公司的 Illumina MiSeq 平台, 以实现高通量测序。

1.7 数据处理

用 SPSS 26.0 软件 (SPSS, 美国) 对消化酶活性的结果进行分析, 结果用平均值±标准差表示, 采用 Duncan's 法进行不同组的差异显著性分析。使用 GraphPad Prism 7.0 进行绘图。肠道微生物分析中, Alpha 多样性分析 (Chao1、Shannon、Simpson 和 Coverage) 使用 QIIME2 软件进行计算。

2 结果与分析

2.1 金背鲤生长情况

金背鲤在稻田中, 经过 93 d 的水稻生长周期, 生长情况见表 1。金背鲤苗种为同一批孵化的鱼苗, 投放时 3 组金背鲤体质量为 131.36 g, 体长为 16.10 cm。采样时, 样品体质量、体长、增质量率均

表 1 不同海拔稻田金背鲤的生长情况¹⁾Table 1 Growth status of *Cyprinus carpio* var. *Jinbei* in rice fields at different altitudes

海拔 Altitude	初始体质量/g Initial body weight	初始体长/cm Initial body length	采样体质量/g Sample body weight	采样体长/cm Sample body length	增质量率/% Weight gain rate
低 Low	131.36±8.06a	16.10±0.31a	178.87±10.88a	25.89±0.46a	44.21±8.28a
中 Middle	131.36±8.06a	16.10±0.31a	166.26±7.46b	22.32±0.68a	34.31±5.68b
高 High	131.36±8.06a	16.10±0.31a	152.51±13.05c	18.27±0.33a	21.42±4.78c

1) 表中数据为3次重复的平均值±标准差, 同列数据后的不同小写字母表示差异显著(Duncan's法, $P < 0.05$)。

1) The data in the table is the mean ± standard deviation of three replicates, and different lowercase letters after the same column indicate significant differences (Duncan's method, $P < 0.05$).

体现为低海拔组的最高, 其次是中海拔组, 高海拔组最低。低海拔组的采样体质量和增质量率显著高于中、高海拔组 ($P < 0.05$)。

2.2 不同海拔稻田金背鲤的肠道组织结构特征

稻田金背鲤不同海拔的肠道组织结构见图 1。从整体来看, 不同海拔的稻田金背鲤肠道结构相对完整、绒毛完整、清晰。低海拔组的肠道绒毛高度较高, 排列紧密, 所形成的皱襞面积较大, 游离端的纹状缘光滑且排列整齐(图 1A); 中海拔组黏膜皱襞排列整齐, 皱襞间质宽度大(图 1B); 高海拔组黏膜皱襞排列疏松, 皱襞长度较短, 皱襞间质变宽(图 1C)。

2.3 不同海拔稻田金背鲤肠道组织形态性状

不同海拔稻田金背鲤肠道组织形态性状测定

见表 2。从绒毛高度来看, 低海拔组 (521.04 μm) 最高, 高海拔组 (419.39 μm) 最低。低海拔组显著高于中海拔组和高海拔组 ($P < 0.05$)。中海拔组和高海拔组差异不显著。

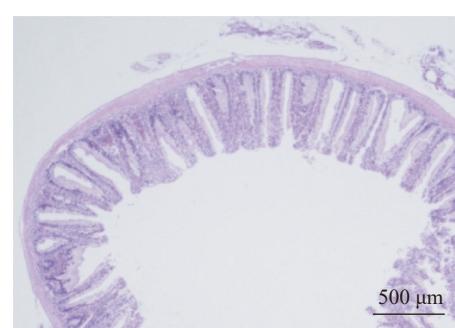
从肌层厚度来看, 低海拔组 (127.26 μm) 最高, 中海拔组 (71.68 μm) 最低。低海拔组显著高于中海拔组和高海拔组 ($P < 0.05$)。中海拔组和高海拔组差异不显著。3个组别的绒毛宽度、隐窝深度和杯状细胞数量均差异不显著。

2.4 不同海拔稻田金背鲤肠道消化酶活性

低、中和高海拔组稻田金背鲤肠道中淀粉酶、脂肪酶、胰蛋白酶和纤维素酶活性测定结果如表 3 所示。3个海拔组中淀粉酶、脂肪酶和纤维素酶活



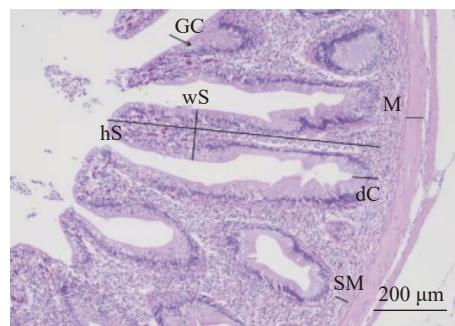
A: 低海拔
A: Low altitude



B: 中海拔
B: Middle altitude



C: 高海拔
C: High altitude



D: 测定指标
D: Measurement indicators

图 D 中, hS: 绒毛高度, wS: 绒毛宽度, dC: 隐窝深度, SM: 黏膜下层, M: 肌层厚度, GC: 杯状细胞。

In figure D, hS: Fluff height, wS: Fluff width, dC: Crypt depth, SM: Submucosa, M: Muscle thickness, GC: Goblet cell.

图 1 不同海拔稻田金背鲤肠道显微结构

Fig. 1 Microscopic structure of *Cyprinus carpio* var. *Jinbei* gut in rice fields at different altitudes

表2 不同海拔稻田金背鲤肠道组织形态性状¹⁾Table 2 Morphological traits of gut tissue of *Cyprinus carpio* var. *Jinbei* in rice fields at different altitudes

海拔 Altitude	绒毛高度/ μm Fluff height	绒毛宽度/ μm Fluff width	隐窝深度/ μm Crypt depth	肌层厚度/ μm Muscle thickness	杯状细胞数量 Number of goblet cells
低 Low	521.04±69.42a	127.39±14.29a	63.10±11.80a	127.26±32.86a	32.47±22.31a
中 Middle	438.01±38.25b	130.03±9.76a	53.48±4.47a	71.68±15.27b	7.33±1.25a
高 High	419.39±20.02b	178.10±51.15a	62.68±8.19a	80.64±29.21b	12.47±2.17a

1) 表中数据为3次重复的平均值±标准差, 同列数据后的不同小写字母表示差异显著(Duncan's法, $P < 0.05$)。

1) The data in the table is the mean ± standard deviation of three replicates, and different lowercase letters after the same column indicate significant differences (Duncan's method, $P < 0.05$).

表3 不同海拔稻田金背鲤消化酶活性¹⁾Table 3 Digestive enzyme activity of *Cyprinus carpio* var. *Jinbei* in rice fields at different altitudes

U/mg

海拔 Altitude	淀粉酶 Amylase	脂肪酶 Lipase	胰蛋白酶 Trypsin	纤维素酶 Cellulase
低 Low	1.37±0.54a	210.39±29.12a	4 023.72±164.68b	28.06±1.11a
中 Middle	0.86±0.37a	213.34±42.19a	4 541.65±62.57a	32.22±3.34a
高 High	0.95±0.43a	143.22±31.25a	3 722.10±494.01b	26.67±1.84a

1) 表中数据为3次重复的平均值±标准差, 同列数据后的不同小写字母表示差异显著(Duncan's法, $P < 0.05$)。

1) The data in the table is the mean ± standard deviation of three replicates, and different lowercase letters after the same column indicate significant differences (Duncan's method, $P < 0.05$).

性差异不显著。中海拔组胰蛋白酶活性(4 541.65 U/mg)最高, 低海拔组(4 023.72 U/mg)次之, 高海拔组胰蛋白酶活性(3 722.10 U/mg)最低; 中海拔组胰蛋白酶活性显著高于低海拔组和高海拔组($P < 0.05$), 低海拔组胰蛋白酶活性与高海拔组差异不显著。

2.5 不同海拔稻田金背鲤肠道菌群的测序结果和多样性

Illumina MiSeq测序共获得有效序列1 250 059条, 按照100%序列相似度对非重复序列(不含单序列)进行ASV(AmpliSeq sequence variants)聚类, 经过过滤和注释后聚为5 178个ASVs。不同海拔高度稻田金背鲤肠道菌群样本中ASV数量从高到低为中海拔组>高海拔组>低海拔组。低海拔组有1 495个ASVs, 中海拔组有2 407个ASVs, 而高海拔组有1 792个ASVs。3个组别稻田金背鲤肠道菌群间共享ASVs为71个, 占比1.37%。3个海拔组之间, 中海拔组和低海拔组共享ASVs最多, 为262个, 而低海拔组和高海拔组之间共享ASVs最少, 仅116个。中海拔组独有ASVs最多, 有2 007个, 高海拔组次之, 为1 485个, 低海拔组最少, 仅为1 241个。不同海拔对肠道菌群造成了明显的影响。

稻田金背鲤低、中和高海拔组肠道菌群Alpha

多样性见图2。每个样本的群落覆盖率为超过99.93%, 说明采集样品未被测序的概率很低。结果

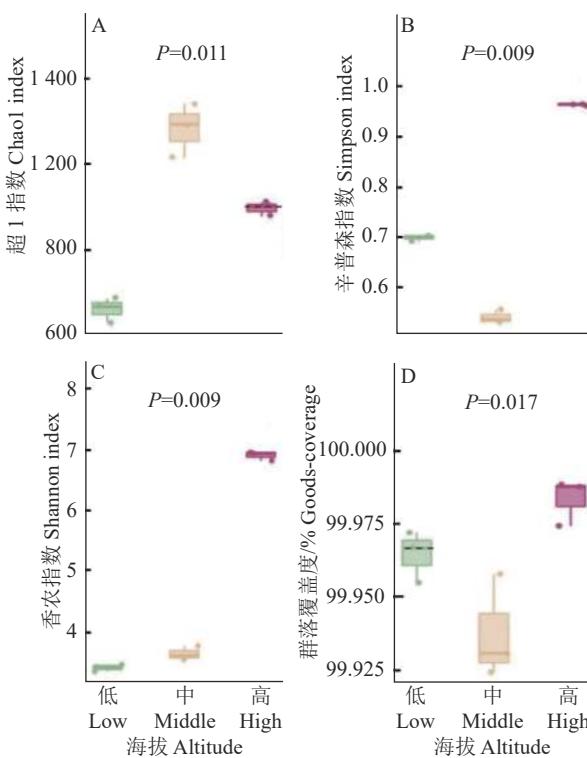


图2 不同海拔稻田金背鲤肠道菌群Alpha多样性

Fig. 2 Alpha diversity of gut microbiota of *Cyprinus carpio* var. *Jinbei* in rice fields at different altitudes

显示, 3 组稻田金背鲤的 Chao1、Shannon 和 Simpson 指数以及群落覆盖度 (Goods-coverage) 均具有显著性差异 ($P<0.05$)。中海拔组的 Chao1 指数最高, 其次是高海拔组, 最低的是低海拔组。高海拔组的 Shannon 指数最高, 最低的是低海拔组。

PCoA 相似矩阵进行 Beta 多样性分析见图 3。3 个组别的距离较远且没有重叠, 说明 3 个组别之间肠道菌群存在差异。

2.6 不同海拔稻田金背鲤肠道微生物群落组成

不同海拔金背鲤肠道菌群在门水平的相对丰度见图 4。共鉴定出 40 个门。将相对丰度最高的前 3 个菌门定义为优势菌门。3 个组别中, 低海拔组的优势菌门为厚壁菌门 Firmicutes、放线菌门 Actinobacteria、变形菌门 Proteobacteria; 中海拔组的优势菌门为软壁菌门 Tenericutes、变形菌门、放线菌门; 高海拔组的优势菌门为放线菌门、软壁菌门、梭杆菌门 Fusobacteria。其中放线菌门是 3 种不同海拔金背鲤的共同优势菌门。

不同海拔在属水平的肠道菌群相对丰度见图 5。将相对丰度最高的前 3 个菌属定义为优势菌属。3 个组别中, 低海拔组的优势菌属为链球菌属 *Streptococcus*、肠球菌属 *Enterococcus*、放线菌属 *Actinomyces*; 中海拔组的优势菌属为链球菌属、放线菌属、红细菌属 *Rhodobacter*; 高海拔组的优势菌

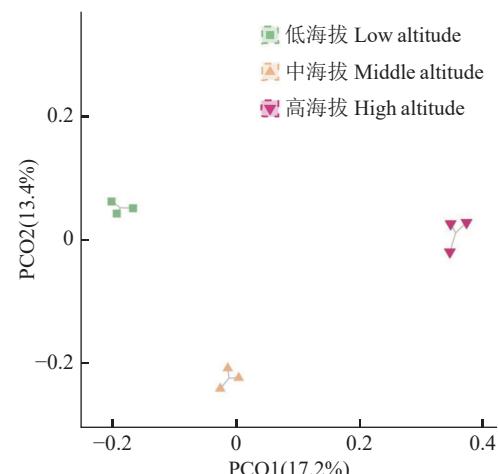


图 3 不同海拔稻田金背鲤 Beta 多样性的 PCoA 分析

Fig. 3 PCoA analysis of Beta diversity of *Cyprinus carpio* var. *Jinbei* in rice fields at different altitudes

属为鲸杆菌属 *Cetobacterium*、甲基弯曲菌属 *Methylosinus*、链球菌属。

2.7 不同海拔稻田金背鲤肠道主要菌群分析

相对丰度大于 0.1% 的共有主要菌属见表 4。将主要菌群定义为低、中和高海拔组共有的菌群。经过分析, 相对丰度大于 0.1% 的共有主要菌群有 19 个属, 这些菌属隶属于 5 个菌门, 主要分布在放线菌门、变形菌门和厚壁菌门, 也有少部分分布在绿弯菌门 Chloroflexi 和软壁菌门。

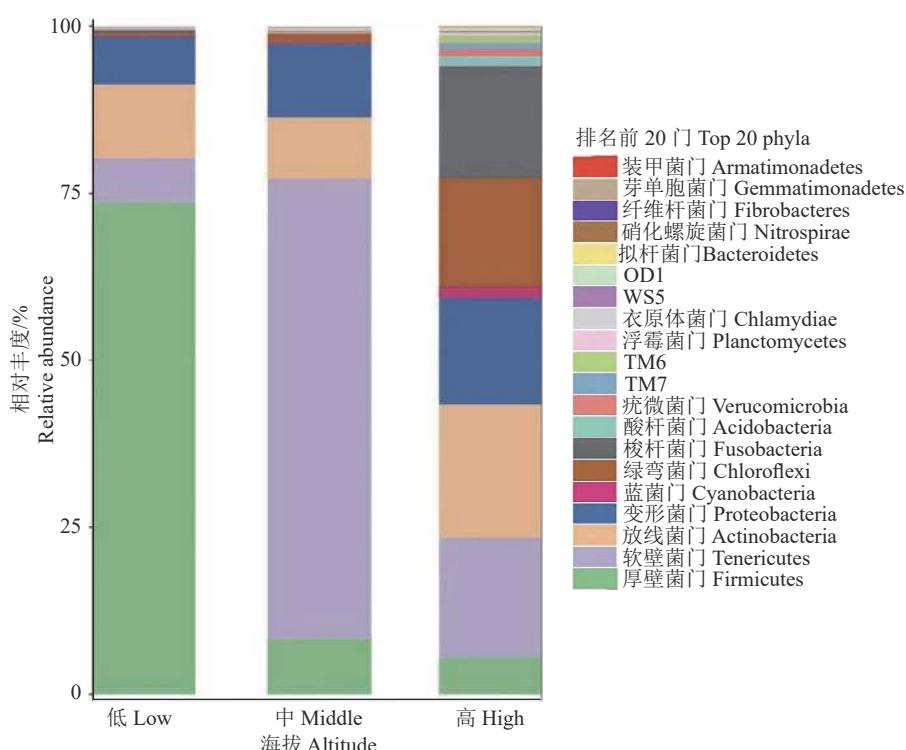


图 4 不同海拔高度稻田金背鲤肠道菌群在门水平的相对丰度

Fig. 4 Relative abundance of gut microbiota of *Cyprinus carpio* var. *Jinbei* in rice fields at the phylum level at different altitudes

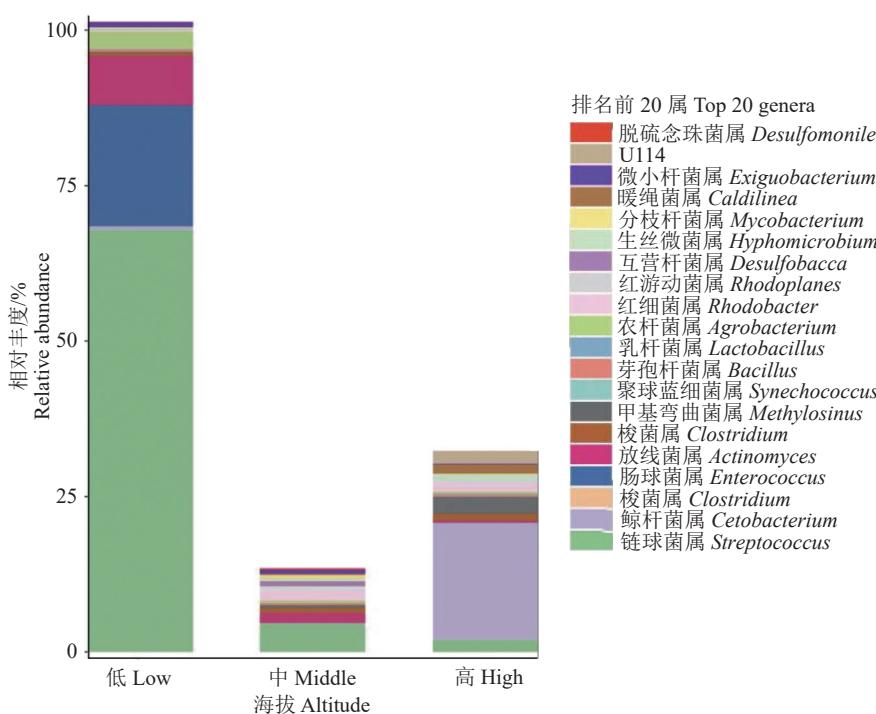


图 5 不同海拔高度稻田金背鲤肠道菌群在属水平的相对丰度

Fig. 5 Relative abundance of gut microbiota of *Cyprinus carpio* var. *Jinbei* in rice fields at the genus level at different altitudes

表 4 不同海拔稻田金背鲤相对丰度大于 0.1% 的共有主要菌属

Table 4 Common primary bacterial genera with above 0.1% relative abundance of *Cyprinus carpio* var. *Jinbei* in rice fields at different altitudes

门 Phylum	分类 Classification	不同海拔占比 Proportion at different altitudes		
		低 Low	中 Middle	高 High
放线菌门 Actinobacteria	放线菌属 <i>Actinomyces</i>	6.28	1.23	0.24
	放线菌目 Actinomycetales	0.12	1.33	5.53
	土壤红杆菌目 Solirubrobacterales	0.29	0.70	0.81
	间孢囊菌科 Intrasporangiaceae	0.14	0.10	0.63
	类诺卡氏菌科 Nocardioidaceae	0.28	0.35	0.15
	Gaiellaceae 科 Gaiellaceae	0.11	0.18	0.11
变形菌门 Proteobacteria	根瘤菌目 Rhizobiales	0.30	2.12	3.80
	土壤杆菌属 <i>Agrobacterium</i>	2.19	0.31	0.24
	甲基弯曲菌属 <i>Methylosinus</i>	0.11	0.39	2.22
	生丝微菌科 Hyphomicrobiaceae	0.20	0.80	0.47
	生丝微球菌属 <i>Hyphomicrobium</i>	0.11	0.29	0.82
	红游动菌属 <i>Rhodoplanes</i>	0.20	0.61	0.25
厚壁菌门 Firmicutes	链球菌属 <i>Streptococcus</i>	54.29	3.67	1.58
	梭菌属 <i>Clostridium</i>	0.46	0.67	0.90
	艰难肝菌科 Mogibacteriaceae	0.23	0.20	0.59
	芽孢杆菌属 <i>Bacillus</i>	0.34	0.24	0.28
	消化链球菌科 Peptostreptococcaceae	0.15	0.14	0.24
软壁菌门 Tenericutes	柔膜菌纲 Mollicutes	6.52	68.47	14.77
绿弯菌门 Chloroflexi	Ellin6529纲 Ellin6529	0.14	0.49	12.32

3 讨论

3.1 不同海拔对稻田金背鲤肠道结构及消化酶活性的影响

本研究结果显示,低海拔组稻田金背鲤的肠绒毛纤长,排列较为整齐,数量多,较为紧密,皱襞面积较大。而高海拔组的肠绒毛相对于低海拔组和中海拔组高度最矮,排列整齐,完整度较差。低海拔组(521.04 μm)绒毛高度显著高于中海拔组(438.01 μm)和高海拔组(419.39 μm)($P < 0.05$)。研究结果说明海拔影响稻田金背鲤肠道结构。海拔会影响水体溶解氧的含量,随着海拔的升高,水中氧含量降低^[23]。金背鲤生活在传统的浅水稻田中,昼夜温差大,早、中、晚的天气变化也大。在高海拔下,当温度上升时,水中的氧含量相应减少,此时的金背鲤处于应激状态,会钻进泥土中躲避太阳,减少寻找食物的时间。肠绒毛没有接收到食物的信号刺激,发育较慢,从而影响金背鲤的生长。低海拔组的稻田中氧气含量丰富,使得稻田金背鲤的肠绒毛较为发达,从而更好地利用稻田中的生物,这是其生长较快的原因。

本研究中,中海拔组胰蛋白酶活力(4 541.65 U/mg)最高,低海拔组(4 023.72 U/mg)次之,高海拔组胰蛋白酶活力(3 722.10 U/mg)最低。通常情况下,海拔越高,温度越低,在地球表面,海拔每上升100 m,温度下降0.6 °C^[24]。本研究中,高海拔组(1 340 m)比中海拔组(830 m)高510 m,说明二者温度相差3.06 °C;中海拔组(830 m)比低海拔组(580 m)高250 m,说明二者温度相差1.5 °C。而金背鲤作为变温动物,水温过高、过低都不利于其健康生长。鱼体内的活性物质,如酶、蛋白质等会因为高温丧失本身的特性,同时也会因为低温而抑制其酶活性^[25]。结果表明海拔通过影响温度而间接影响稻田金背鲤的消化酶活性,中海拔组的金背鲤消化蛋白类饵料能力最强。金背鲤在稻田生长时期基本上是夏季。进入夏季,水温升高,金背鲤新陈代谢功能不断强化,耗氧量也在持续增大。与此同时,较高的水温能够有效促进各种动植物的生长,使得稻田金背鲤的饵料增加。但稻田水位较低,贵州的昼夜温差较大,高海拔组的消化酶活性波动较大,不利于稻田金背鲤的健康生长。

3.2 不同海拔对稻田金背鲤肠道菌群多样性的 影响

各种研究表明,动物肠道菌群的组成受到海拔的影响^[13, 21, 26-28]。气压会随着海拔的升高而下降,气

压下降可能会影响水中溶解氧的含量,从而影响微生物群落。此外,温度随海拔的升高也会产生类似的影响,已有研究表明水温可能影响鱼类肠道微生物群落^[29]。

据报道,肠道菌群的多样性在宿主环境适应中起着至关重要的作用^[27, 30]。本研究结果显示,中海拔的 Chao1 指数最高,即其肠道菌群的丰富度最高,其次是高海拔组,最低的是低海拔组。高海拔组的 Shannon 指数最高,即群落的多样性最丰富,其次是中海拔组,最低的是低海拔组。结果表明海拔对稻田金背鲤的肠道微生物有影响。中海拔的 Chao1 指数最高,说明中海拔组肠道微生物的丰富度最高,表明中海拔组的稻田环境适宜微生物的繁殖与生存。随着海拔的升高,Shannon 指数越大,说明海拔影响肠道微生物群落的多样性,而且随着海拔的升高,群落多样性越丰富。

更为多样化的肠道微生物群被认为是一个强健的微生物群的证据^[31]。多样性证明了丰富的微生物群落可能有助于宿主吸收不同的饮食。因此,具有最丰富多样性的高海拔组稻田金背鲤可能有更大的潜力利用各种食物来源,并支持满足其在这一特定栖息地的饮食需求。

3.3 不同海拔的稻田金背鲤肠道主要菌群的稳 定性

研究结果显示,放线菌门、厚壁菌门、变形菌门、绿弯菌门和软壁菌门是稻田金背鲤的肠道的主要菌群门类,说明稻田金背鲤在不同海拔下,仍能保持相对稳定的肠道菌群。已有研究表明海拔会影响动物肠道微生物的组成^[28],金背鲤世世代代都生活在稻田中,对稻田的环境产生了适应性,虽然稻田金背鲤的肠道菌群在不同海拔下出现相应的变化,但是,仍保持以放线菌门为主的相对稳定菌群,说明金背鲤的肠道具有对稻田生态环境的适应。

本研究中,放线菌门是3组稻田金背鲤的共同优势菌门,同时也是3组的肠道的主要菌群门类,说明放线菌门在稻田金背鲤的肠道微生物群中占主导地位。放线菌门可能对肠道微生物群的组装和功能至关重要,这可能突出了它们对宿主性能的重要性。稻田金背鲤内共有的细菌群落可能是由于稻田中能够定植肠道的特定微生物的可用性以及肠道栖息地内的选择压力。

本研究中,厚壁菌门也是3组的肠道主要菌群门类,但3个组别的相对丰度差异较大。低海拔组的相对丰度最高,随着海拔的升高,厚壁菌门的相对丰度降低。厚壁菌门可以产生多种降解膳食营养

物质的酶,从而帮助宿主消化和吸收营养物质^[32]。从低海拔组稻田金背鲤的微生物群中厚壁菌门占很大比例,可以推断宿主可能有效地从膳食营养物质中获取能量。

与高海拔组相比,低海拔组的稻田金背鲤厚壁菌门与拟杆菌门比例更高。据报道,肠道菌群中厚壁菌门与拟杆菌门的比例较高与食物能量的有效吸收有关^[33]。低海拔组稻田金背鲤的厚壁菌门与拟杆菌门的比例更高,表明,低海拔组的稻田金背鲤可能具有高效的能量收集能力,也可能有助于它们适应环境。在陆生动物中,肉类和乳制品的消费与较高的厚壁菌门、拟杆菌门比率相关,相反,与水果和蔬菜消费相关的厚壁菌门、拟杆菌门比率较低^[3,28,34]。海拔升高导致气温降低、氧气含量减少,进而影响生物的数量和分布^[35],低海拔组拥有更多的浮游动物和大型底栖动物^[36]。

4 结论

不同海拔对稻田金背鲤的肠道形态组织结构、消化酶活性和肠道菌群产生影响。放线菌门、厚壁菌门、变形菌门、绿弯菌门和软壁菌门是稻田金背鲤肠道的主要菌群门类。虽然金背鲤的肠道菌群在不同海拔下出现相应的变化,但仍保持以放线菌门为主的相对稳定菌群。

参考文献:

- [1] 倪国彬,周捷.“一稻多渔”综合种养新模式初探[J].水产科技情报,2023,50(2): 112-115.
- [2] YUAN J, LIAO C, ZHANG T, et al. Advances in ecology research on integrated rice field aquaculture in china[J]. *Water*, 2022, 14(15): 2333.
- [3] XIE J, HU L, TANG J, et al. Ecological mechanisms underlying the sustainability of the agricultural heritage rice-fish coculture system[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2011, 108(50): E1381-E1387.
- [4] 李荣福,杜雪地,徐忠香,等.中国稻田渔业起源与历史分析[J].中国渔业经济,2023,41(3): 113-126.
- [5] 叶茂林.小议贵州出土的水塘稻田模型[J].贵州文史丛刊,1990(4): 32-37.
- [6] 吴寿昌,龙慧蕊,吴德军.和谐共生的千年高坡田探访全球重要农业文化遗产贵州从江侗乡稻鱼鸭复合系统[J].中国民族,2023(6): 45-49.
- [7] 王思明,卢勇.中国的农业遗产研究:进展与变化[J].中国农史,2010,29(1): 3-11.
- [8] 纪达,许劲松,姚俊杰,等.贵州省 5 个金背鲤 (*Cyprinus carpio* var. *Jinbei*) 地理种群的遗传多样性与遗传结构分析[J].水产学杂志,2022,35(5): 8-17.
- [9] 张文争.稻田养殖金背鲤肌肉生长及 pi3k/akt 通路的研究[D].贵阳:贵州大学,2023: 82.
- [10] 张文争,杨立,姚俊杰,等.稻田金背鲤尾柄肌纤维特征及相关代谢酶与基因表达研究[J].南方水产科学,2023,19(4): 77-85.
- [11] JI D, SU X, YAO J, et al. Genetic diversity and genetic differentiation of populations of golden-backed carp (*Cyprinus carpio* var. *Jinbei*) in traditional rice fields in guizhou, china[J]. *Animals*, 2022, 12(11): 1377.
- [12] BUNDSCHUH M, MESQUITA-JOANES F, RICO A, et al. Understanding ecological complexity in a chemical stress context: A reflection on recolonization, recovery, and adaptation of aquatic populations and communities [J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2023, 42(9): 1857-1866.
- [13] ZHANG W, LI N, TANG X, et al. Changes in intestinal microbiota across an altitudinal gradient in the lizard *Phrynocephalus vlangalii*[J]. *Ecology and Evolution*, 2018, 8(9): 4695-4703.
- [14] HUTCHISON V H, HAINES H B, ENGBRETSON G. Aquatic life at high altitude: respiratory adaptations in the lake titicaca frog, *Telmatobius culeus*[J]. *Respiration Physiology*, 1976, 27(1): 115-129.
- [15] WILLIAMS C M, SZEJNER-SIGAL A, MORGAN T J, et al. Adaptation to low temperature exposure increases metabolic rates independently of growth rates[J]. *Integrative and Comparative Biology*, 2016, 56(1): 62-72.
- [16] XIAO F, ZHU W, YU Y, et al. Host development overwhelms environmental dispersal in governing the ecological succession of zebrafish gut microbiota[J]. *NPJ Biofilms and Microbiomes*, 2021, 7(1): 5.
- [17] SHAPIRA M. Gut microbiotas and host evolution: Scaling up symbiosis[J]. *Trends in Ecology & Evolution*, 2016, 31(7): 539-549.
- [18] ZHOU X, JIANG X, YANG C, et al. Cecal microbiota of Tibetan chickens from five geographic regions were determined by 16S rRNA sequencing[J]. *Microbiology-Open*, 2016, 5(5): 753-762.
- [19] WU D D, YANG C P, WANG M S, et al. Convergent genomic signatures of high-altitude adaptation among domestic mammals[J]. *National Science Review*, 2020, 7(6): 952-963.
- [20] ZHAO J, YAO Y, LI D, et al. Characterization of the gut microbiota in six geographical populations of Chinese *rhesus* macaques (*Macaca mulatta*), implying an adaptation to high-altitude environment[J]. *Microbial Ecology*, 2018, 76(2): 565-577.
- [21] ZHANG W, JIAO L, LIU R, et al. The effect of exposure to high altitude and low oxygen on intestinal microbial communities in mice[J]. *PLoS One*, 2018, 13(9): e203701.
- [22] BEREDEN N K, ABEBE G B, FANTA S W, et al. The gut bacterial microbiome of nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) from lakes across an altitudinal gradient[J]. *BMC Microbiology*, 2022, 22(1): 87.

- [23] 段玲, 罗涵, 陈章. 高原缺氧与胃肠道屏障功能关系的研究进展[J]. 西南军医, 2015, 17(2): 179-182.
- [24] 吴文明, 张方信, 张盼, 等. 高原缺氧条件对大鼠肠黏膜组织及缺氧诱导因子-1 α 、诱导型一氧化氮合酶表达的影响[J]. 解放军医学杂志, 2010, 35(5): 592-594.
- [25] 李大鹏. 环境因子对史氏鲟生长的影响及其调控机制的研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2003: 182.
- [26] FAN Q, WANAPAT M, YAN T, et al. Altitude influences microbial diversity and herbage fermentation in the rumen of yaks[J]. *BMC Microbiology*, 2020, 20(1): 370.
- [27] MA Y, MA S, CHANG L, et al. Gut microbiota adaptation to high altitude in indigenous animals[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2019, 516(1): 120-126.
- [28] WU Y, YAO Y, DONG M, et al. Characterisation of the gut microbial community of rhesus macaques in high-altitude environments[J]. *BMC Microbiology*, 2020, 20(1): 68.
- [29] RUBINO T, PAROLARO D. The impact of exposure to cannabinoids in adolescence: Insights from animal models[J]. *Biological Psychiatry*, 2016, 79(7): 578-585.
- [30] GIATSIS C, SIPKEMA D, SMIDT H, et al. The impact of rearing environment on the development of gut microbiota in tilapia larvae[J]. *Scientific Reports*, 2015, 5: 18206.
- [31] PETERSEN C, ROUND J L. Defining dysbiosis and its influence on host immunity and disease[J]. *Cellular Microbiology*, 2014, 16(7): 1024-1033.
- [32] 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.
- [33] MURPHY E F, COTTER P D, HEALY S, et al. Composition and energy harvesting capacity of the gut microbiota: Relationship to diet, obesity and time in mouse models[J]. *Gut*, 2010, 59(12): 1635-1642.
- [34] SPRINGER A, FICHTEL C, AL-GHALITH G A, et al. Patterns of seasonality and group membership characterize the gut microbiota in a longitudinal study of wild Verreaux's sifakas (*Propithecus verreauxi*)[J]. *Ecology and Evolution*, 2017, 7(15): 5732-5745.
- [35] 张京理, 许玲, 李鑫, 等. 陇县不同海拔烟田昆虫群落的多样性研究[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2010, 38(11): 173-180.
- [36] LI X, ZHOU L, YU Y, et al. Composition of gut microbiota in the gibel carp (*Carassius auratus gibelio*) varies with host development[J]. *Microbial Ecology*, 2017, 74(1): 239-249.

【责任编辑 庄 延】