

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

张文争^{1,2}, 杨立^{1,2}, 姚俊杰^{1,2}, 蒙庆米^{1,2}, 纪达^{1,2}

1. 贵州大学渔业资源与环境研究中心, 贵州 贵阳 550025

2. 贵州大学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

摘要: 稻田金背鲤 (*Cyprinus carpio* var. *Jinbei*) 是经过多个世代自然选择和人工选择生活于稻田的鲤鱼。为推广金背鲤-稻田养殖模式, 为该模式下的良种选育提供数据支撑, 以池塘养殖的金背鲤为对照组, 采用组织学、酶学及分子生物学方法分析了其尾柄肌纤维及相关代谢酶与基因表达, 探究了稻田金背鲤尾柄肌肉在稻田浅水生态条件下生长的适应性特征。结果显示: 在水稻扬花期和渔获期, 尾柄肌纤维直径稻田组均大于池塘组, 并存在显著性差异 ($P < 0.05$); 在水稻扬花期和渔获期, 尾柄肌纤维横截面积稻田组大于池塘组, 在渔获期存在显著性差异 ($P < 0.05$); 尾柄肌纤维密度稻田组均小于池塘组, 在渔获期存在显著性差异 ($P < 0.05$); 在水稻扬花期和渔获期, 代谢酶中的乳酸脱氢酶 (LDH)、过氧化氢酶 (CAT) 和 Ca^{2+} -ATP 酶活性稻田组均高于池塘组; 在水稻扬花期, 稻田组的过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 辅助激活因子 α (*PGC-1 α*) 基因表达量显著高于池塘组 ($P < 0.05$), 而稻田组的腺苷酸活化蛋白激酶 (*AMPK*)、沉默信息调节因子 1 (*SIRT1*) 基因表达量在水稻扬花期和渔获期均显著低于池塘组 ($P < 0.05$)。研究显示, 稻田金背鲤尾柄肌肉有更大的肌纤维直径和横截面积, 尾柄肌肉呈现较高的 LDH 和 Ca^{2+} -ATP 酶活性, 这是其适应稻田浅水生活的特点; 稻田金背鲤的尾柄抗阻运动会引起肌肉肥大, 与其激活蛋白质合成通路有关, 而池塘金背鲤通常进行长时间的耐力运动, 与其线粒体生物合成有关; 在水稻扬花期, 稻田金背鲤 *PGC-1 α* 基因表达量较高, 可能与此阶段水稻开花、稻田中昆虫增多、生物多样性增加以及生物量增加有关。

关键词: 稻田金背鲤; 尾柄肌纤维; 代谢酶; 基因表达

中图分类号: S 917.4

文献标志码: A

开放科学 (资源服务) 标识码 (OSID):



Study on muscle fiber characteristics, metabolic enzymes and gene expression of caudal stalk of golden-backed carp (*Cyprinus carpio* var. *Jinbei*)

ZHANG Wenzheng^{1,2}, YANG Li^{1,2}, YAO Junjie^{1,2}, MENG Qingmi^{1,2}, JI Da^{1,2}

1. Research Center of Fishery Resources and Environment, Guizhou University, Guiyang 550025, China

2. Key Laboratory of Animal Genetics and Breeding and Reproduction of Plateau and Mountain Animals of Guizhou University, Guiyang 550025, China

Abstract: Golden-backed carp (*Cyprinus carpio* var. *Jinbei*) is a common carp that has lived in rice fields for many generations through long-term natural and artificial selection. In order to promote its paddy field breeding model and provide data supports for the breeding of improved varieties by this model, we analyzed the caudal stalk muscle fibers, related metabolic enzymes and gene expressions by using histology, enzymology and molecular biology methods, and explored the adaptive characteristics of caudal stalk muscle growth under the shallow ecological conditions of rice field. The results show that the diameter of caudal stalk muscle fiber in paddy field group was larger than that in pond group at flowering stage and harvest stage with significant

收稿日期: 2022-12-22; 修回日期: 2023-02-12

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)

作者简介: 张文争 (1995—), 女, 硕士研究生, 研究方向为水生生物发育与繁殖生物学。E-mail: 2682792491@qq.com

通信作者: 姚俊杰 (1968—), 男, 教授, 博士, 研究方向为水生生物发育与繁殖生物学。E-mail: junjieyao@163.com

differences ($P < 0.05$). The cross-section area of caudal stalk muscle fiber in paddy field group was larger than that in pond group at flowering stage and harvest stage, with significant differences at harvest stage ($P < 0.05$), while the density of caudal stalk muscle fiber in paddy field group was smaller than that in pond group. There were significant differences at harvest stage ($P < 0.05$). The activities of lactate dehydrogenase (LDH), catalase (CAT) and Ca^{2+} -ATPase in metabolic enzymes were higher in paddy field group than in pond group at flowering stage and harvest stage. The expression level of peroxisome proliferation-activated receptor γ -coactivator α (PGC-1 α) gene in paddy field group was significantly higher than that in pond group ($P < 0.05$). The results reveal that the expression levels of adenylate activated protein kinase (AMPK) and silence-regulating factor 1 (SIRT1) gene in paddy field group were significantly lower than those in pond group at flowering stage and harvest stage ($P < 0.05$). The resistance movement of the caudal stalk of golden-backed carp in rice field caused muscle hypertrophy, which was related with the activation of protein synthesis pathway, while its endurance exercise, was related with the mitochondrial biosynthesis. The higher PGC-1 α expression level of golden-backed carp in rice flowering stage may be related with the increase of rice flowering, insects, biodiversity and biomass.

Keywords: Golden-backed carp (*Cyprinus carpio* var. *Jinbei*); Caudal stalk muscle fiber; Metabolic enzymes; Gene expression

鱼类在长期演化和进化过程中为适应不断变化的环境, 逐渐在生活习性和外表形态上发生分化, 形成了不同的形态结构和生态类型^[1]。形态作为鱼类的一个重要性状, 在分类学上具有重要意义, 通过形态差异分析能区分近缘物种或不同种群^[2]。在不同栖息环境中, 鱼类具有适应不同水环境特性的形态特征, 如大多栖息在水流较湍急地方的鱼类身体呈纺锤形, 生活在水流较缓静水域的鱼类身体呈侧扁型, 而善于藏于水底砂泥中的鱼类呈圆筒型^[3]。同一物种生活在不同环境下, 形态也会产生明显差异。郭梁等^[4]通过对比分析从江田鱼 (*Cyprinus congjiangensis*)、青田田鱼 (*C. carpio qingtianensis*) 与其他鲤的形态学, 发现这两种鲤在形态上明显区别于其他鲤, 最主要表现在尾鳍上; 刘雨婷等^[5]分析池塘与稻田养殖鲤的生物学指数, 发现稻田鲤的尾柄长/尾柄高极显著高于池塘鲤 ($P < 0.01$)。鱼类在捕食过程中靠尾鳍的摆动提供动力, 其尾柄相对面积越大, 捕食效率越高^[6]。在鱼类完成不同形式的运动过程中, 肌肉会在肌纤维形态、肌肉能量代谢酶活性及关键基因表达等方面产生适应性变化^[7]。

腺苷酸活化蛋白激酶 (AMPK)、沉默信息调节因子 1 (SIRT1) 和过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 辅助激活因子 α (PGC-1 α) 构成一个调节细胞能量输出的信号网络, 即能量感应网络, 共同调节机体的能量代谢、线粒体功能^[8]。AMPK、SIRT1 和 PGC-1 α 构成的能量感应网络见图 1。不同强度和时间的运动对肌肉能量感应网络 AMPK/SIRT1/PGC-1 α 的激活程度不同^[9]。AMPK/SIRT1/PGC-1 α 通路的激活

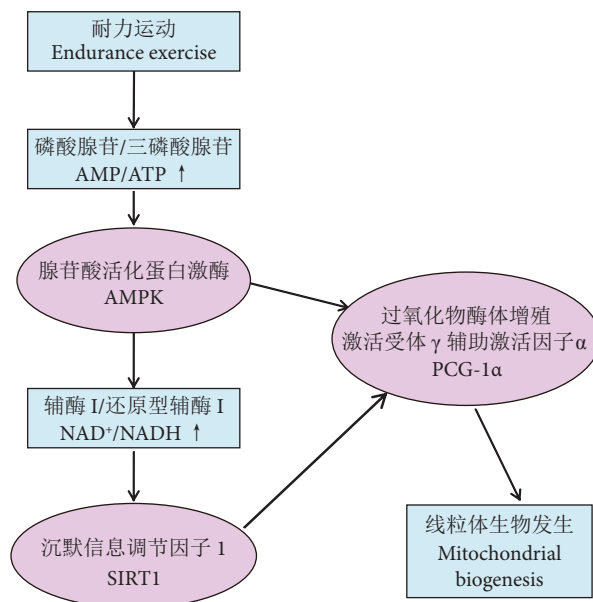


图1 耐力运动激活能量感应网络 AMPK/SIRT1/PGC-1 α 信号通路

Fig. 1 Endurance exercise activates AMPK/SIRT1/PGC-1 α signaling pathway in energy sensing network

途径为: 运动会刺激肌细胞内磷酸腺苷/三磷酸腺苷 (AMP/ATP) 升高, 进而激活腺苷酸活化蛋白激酶 AMPK, AMPK 通过增加细胞内 NAD^+ (烟酰胺腺嘌呤二核苷酸, 简称辅酶 I) 水平来增强 SIRT1 的活性, 导致 SIRT1 下游靶点 PGC-1 α 的去乙酰化以及活性调节, 其中 AMPK 的激活也能直接促使 PGC-1 α 发生磷酸化, 启动并活化 PGC-1 α ^[10]。

贵州省稻田养鱼历史悠久, 多地至今仍保持稻田养鱼的传统。2011 年, 贵州省“从江侗乡稻鱼鸭复合系统”被联合国粮农组织认定为“全球重要农业文化遗产”。稻田金背鲤 (*C. carpio* var. *Jinbei*)

是贵州一种世代生活于稻田的土著鱼类, 属鲤科、鲤亚科、鲤属, 因在背鳍两侧有2条金色条纹、头部有类似金色蝴蝶图案而得名^[11]。金背鲤经历了长期的自然和人工选择与驯化, 已形成了适应稻田环境的特点, 不喜逃逸、耐低氧、生长缓慢, 在水中缓慢游动时, 背部金色条纹会露出水面, 受到惊吓后喜欢将头部埋入土中, 俗称“乖乖鲤”“埋头鲤”“金边鲤”。金背鲤在摄食和快速游泳过程中会驱使尾柄快速摆动, 导致鱼类形态特征的改变^[12]。目前关于金背鲤的研究报道较少, 主要集中于遗传多样性^[13]、水稻-金背鲤共生模式^[14], 而有关金背鲤在稻田环境下的生长适应性尚未见报道。本文以稻田金背鲤的尾柄肌肉为研究对象, 以池塘养殖的金背鲤为对照组, 运用石蜡切片法、酶活测定以及实时荧光PCR法研究了稻田金背鲤尾柄肌肉形态、代谢酶活性及关键基因的表达, 探究了金背鲤尾柄在稻田环境下的适应特点, 为更好地推广金背鲤-稻田养殖模式, 保护贵州土著金背鲤资源和人工选育提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验方法

1.1.1 样品采集

实验养殖基地位于贵州省黄平县, 在插秧后2周(2022年6月27日)将同一批金背鲤幼鱼放入稻田和池塘中, 分别于实验开始时、水稻扬花期(2022年8月27日)和实验结束时(2022年9月30日)进行样品采集。在每个采样时期, 稻田实验组和池塘对照组各随机挑选15尾鱼, 抽取原池水, 充氧后快速带回实验室进行测定。首先, 每组取6尾鱼, 用抹布擦去表面水分, 测量体长(14.15~16.52、15.71~21.52、21.24~25.73 cm)、体质量(63.28~117.76、151.59~225.38、235.22~499.56 g)、尾柄长(2.41~2.60、3.51~4.55、3.68~4.78 cm)、尾柄高(1.86~2.24、2.15~3.64、2.94~3.82 cm)、尾柄宽(0.54~0.66、0.71~1.12、1.27~1.58 cm)。随后, 每组分别取3尾规格接近的鲤, 采取尾柄肌肉置于组织固定液中, 用于制作石蜡组织切片; 另取3尾鱼置于冰盘上, 用灭菌后的剪刀、镊子剪取尾柄肌肉置于2 mL无酶离心管中, 液氮速冻后于-80℃冰箱保存, 部分用于提取总RNA, 部分用于代谢酶活性测定。

实验期间稻田不施肥、不喷洒农药, 金背鲤在稻田中自然生长, 池塘组每日投喂一次饲料, 饲料为鱼用配合饲料127(常德通威生物科技有限公司), 日投喂量约为鱼体质量的2%。共养殖95 d。

1.2 实验方法

1.2.1 尾柄肌纤维组织学特性的测定

肌肉组织在取材并固定后, 采用苏木精-伊红(HE)染色法制作切片。每张切片随机选择3~5个视野拍摄取图, 保证每个视野内至少包含100根肌纤维。用Image-Pro Plus 6.0软件进行肌纤维直径、密度、横截面积的测量。

1) 肌纤维直径: 测量每根肌纤维横截面最长两点距离作为长轴, 垂直于长轴的最短两点距离作为短轴, 多次测量求其平均值。

2) 单个肌纤维横切面积: 每张切片测量5个视野中的肌纤维总面积, 计数每个视野中的肌纤维总数, 再以肌纤维总面积除以肌纤维总数, 取其平均值。

3) 肌纤维密度: 计算每个视野的面积, 并统计每个视野内肌纤维的根数, 将其换算成每平方米毫米的根数。

1.2.2 代谢酶活测定

Na⁺/K⁺-ATP酶、Ca²⁺-ATP酶、乳酸脱氢酶(LDH)、琥珀酸脱氢酶(SDH)、苹果酸脱氢酶(MDH)、过氧化氢酶(CAT)活性采用南京建成生物工程研究所试剂盒进行测定。

1.2.3 总RNA提取及cDNA合成

采用TRIzol提取各时期样品的总RNA, 使用超微量分光光度计测定RNA的浓度并根据A_{260 nm}/A_{280 nm}值确定RNA纯度, 再依据逆转录试剂盒说明书合成cDNA。反应体系为20 μL: RNA模板1 μL、Oligo(dT)₂₀ Primer 1 μL, 5×RT Mix 4 μL, M-MLV4 1 μL, RNase-free Water 13 μL。反应条件为50℃孵育30 min, 85℃加热15 min。结束后在超微量紫外分光光度计下进行浓度和纯度检测。cDNA产物置于-20℃冰箱保存。

1.2.4 AMPK、PGC-1α和SIRT1基因实时荧光定量表达与分析

以β-actin为内参基因, 使用Premier 5.0软件设计荧光定量引物, 引物信息见表1。对所采集的各时期样品荧光定量PCR采用SYBR Green I法, 参照2×T5 Fast qPCR Mix试剂盒说明书(北京擎科)进行测定。PCR反应体系为10 μL: 2×RealStar

Green Fast Mixture 5 μL , 正、反向引物各 0.5 μL , cDNA 模板 1 μL , ddH₂O 3 μL 。反应条件为 95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 2 min; 95 $^{\circ}\text{C}$ 15 s, 60 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 循环 40 次后进行溶解曲线分析, 实验的每个样品

检测做 3 个重复, 取平均值。采用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法分析 AMPK、PGC-1 α 和 SIRT1 基因在各时期的相对表达量。

表1 本实验所需引物
Table 1 Primers for this study

引物 Primer	序列 (5'—3') Sequence (5'—3')	长度 Length/bp	温度 Temperature/ $^{\circ}\text{C}$	应用 Application
AMPK-F	CGGAGACACACTAGGAGTGG	141	60	qPCR
AMPK-R	ATCTCGCGTCGAATCTTCCC	141	60	qPCR
PGC-1 α -F	TCTCCATACTCCCGCTCCG	230	60	qPCR
PGC-1 α -R	TCAGCCCTCTCACATTCTCGTT	230	60	qPCR
SIRT1-F	GGCAGCTATGGTCAGCCTAC	135	60	qPCR
SIRT1-R	TGCTTGAGGACAGGACTTACAC	135	60	qPCR
β -actin-F	AAAACCAACCATGTGCGACG	238	60	qPCR
β -actin-R	CCGTGCTCAATGGGGTACTT	238	60	qPCR

1.3 统计分析

采用 SPSS Statistics 25.0 软件的单因素方差分析和独立样本 t 检验分析差异显著性, $P < 0.05$ 和 $P < 0.01$ 分别表示显著和极显著差异。实验数据以“平均值 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$)”表示。

2 结果

2.1 金背鲤的尾柄肌纤维直径、密度和横截面积

2.1.1 尾部肌纤维组织形态

稻田生长和池塘养殖金背鲤的尾柄肌肉组织学形态见图 2。稻田组的尾柄部肌纤维形态见图 2-a、2-b、2-d。同一批幼鱼, 放入池塘进行养殖对照, 池塘组尾柄部肌纤维形态见图 2-e、2-f。

切面中, 肌纤维大小不一。在具体的一条肌纤维的横切面中, 肌纤维直径分长轴和短轴, 分别用 LA、SA 表示 (图 2-a)。图 2-c 为稻田组尾柄肌纤维在 400 倍下横切面的形态。肌纤维由许多大小不等、形状不规则的肌纤维构成, 且细胞核多数位于细胞的边缘。稻田金背鲤肌细胞排列紧密, 肌浆染色均匀, 核清晰, 肌原纤维排列有序; 池塘养殖金背鲤肌细胞排列松散, 结缔组织减少或消失, 细胞间隙增大。

2.1.2 肌纤维直径测量

总体来看, 稻田组的尾柄部肌纤维直径大于池塘组。同一批幼鱼分别放入稻田和池塘一段时间后, 在水稻扬花期稻田组的尾柄肌纤维直径 (图 2-b)

大于池塘组 (图 2-e), 在渔获期稻田组的尾柄肌纤维直径 (图 2-d) 大于池塘组 (图 2-f)。

从稻田生长的金背鲤来看, 水稻扬花期其尾柄肌纤维直径 (图 2-b) 比幼鱼入田时显著增大 ($P < 0.05$) (图 2-a), 而到渔获期其尾柄肌纤维直径 (图 2-d) 大于水稻扬花期 (图 2-b)。

金背鲤肌纤维直径测量结果见表 2。

2.1.3 肌纤维横截面积测量

金背鲤肌纤维横截面积测量统计结果见表 3, 总体上稻田组的尾柄肌纤维横截面积大于池塘养殖金背鲤。在水稻扬花期, 稻田组的尾柄肌纤维横截面积大于池塘组, 但差异不显著 ($P > 0.05$); 在渔获期, 稻田组的尾柄肌纤维横截面积显著大于池塘组 ($P < 0.05$)。稻田组, 水稻扬花期的肌纤维横截面积比入田时增长了 61%, 渔获期比扬花期增长了 66%。

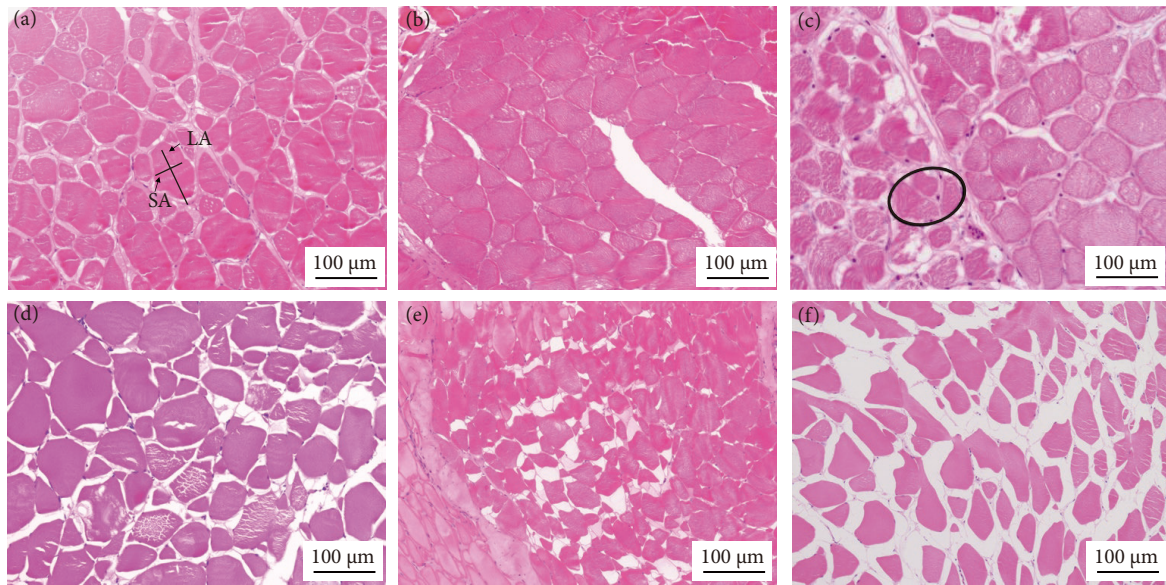
2.1.4 肌纤维密度测量

金背鲤肌纤维密度测量统计结果见表 4, 总体上稻田组的尾柄部肌纤维密度小于池塘组。在水稻扬花期和渔获期稻田组的尾柄肌纤维密度均小于池塘组, 在渔获期达到显著性差异 ($P < 0.05$)。稻田组的肌纤维密度在水稻扬花期比入田时减少约 44%, 在渔获期比水稻扬花期减少约 50%。

2.2 金背鲤代谢酶活性

2.2.1 稻田组和池塘组肌肉中代谢酶活性

稻田组和池塘组肌肉中代谢酶活性见图 3。稻



LA. 肌纤维直径长轴; SA. 肌纤维直径短轴; 椭圆表示簇聚的肌纤维。
 LA. Long axis of muscle fibers; SA. Short axis of muscle fibers; Ellipse indicates the grouping of muscle fibers.

图2 稻田和池塘金背鲤尾柄肌纤维 HE 染色图

注: a. 稻花前稻田金背鲤尾柄肌纤维 (200×); b. 水稻扬花期稻田金背鲤尾柄肌纤维 (200×); c. 水稻扬花期稻田金背鲤尾柄肌纤维 (400×); d. 渔获期稻田金背鲤尾柄肌纤维 (200×); e. 水稻扬花同时期池塘金背鲤尾柄肌纤维 (200×); f. 渔获期池塘金背鲤尾柄肌纤维 (200×)。

Fig. 2 HE staining of muscle fibers of caudal stalk of golden-backed carps in paddy fields and ponds

Note: a. Caudal stalk muscle fibers of golden-backed carp before rice flower (200×); b. Caudal stalk muscle fibers (200×) of golden-backed carp in rice field during flowering period; c. Caudal stalk muscle fibers (400×) of golden-backed carp in rice field during flowering period; d. Caudal stalk muscle fibers (200×) of golden-backed carp in paddy field; e. Caudal stalk muscle fibers of pond golden-backed carp (200×) at the same period of rice flowering; f. Caudal stalk muscle fibers of pond golden-backed carp (200×) at the harvest stage.

表2 金背鲤尾柄肌纤维直径
 Table 2 Muscle fiber diameter of caudal stalk of golden-backed carps μm

采样时期 Sampling period	稻田实验组 Paddy field experimental group	池塘对照组 Pond control group
稻花前期 Before flowering period	31.88±4.41 ^a	31.88±4.41
水稻扬花期 Flowering period	54.88±10.31 ^{b*}	41.68±4.42
渔获期 Harvest period	62.98±4.92 ^{bc*}	46.00±2.69

注: 不同上标字母表示数据间有显著性差异 ($P < 0.05$); *表示同一行数据间有显著性差异 ($P < 0.05$)。稻花前期指同一批幼鱼未投放到稻田和池塘阶段。后表同此。

Note: Different superscript letters indicate significant differences between the data ($P < 0.05$); *. Significant difference between the data within the same row ($P < 0.05$). Before flowering period indicates the stage when the same batch of juvenile fish had not been released into paddy fields and ponds yet. The same case in the following tables.

表3 金背鲤尾柄肌纤维横截面积
 Table 3 Cross-sectional area of muscle fibers of caudal stalk of golden-backed carps μm²

采样时期 Sampling period	稻田实验组 Paddy field experimental group	池塘对照组 Pond control group
稻花前期 Before flowering period	1 065.99±549.36 ^a	1 065.99±549.36
水稻扬花期 Flowering period	1 711.76±748.25 ^a	1 327.79±600.17
渔获期 Harvest period	2 845.43±70.82 ^{b*}	1 360.62±393.08

表4 金背鲤尾柄肌纤维密度
 Table 4 Muscle fiber density of caudal stalk of golden-backed carps 根·mm⁻²

采样时期 Sampling period	稻田实验组 Paddy field experimental group	池塘对照组 Pond control group
稻花前期 Before flowering period	1 252.56±916.11	1 252.56±916.11
水稻扬花期 Flowering period	702.45±406.78	845.10±306.00
渔获期 Harvest period	351.59±8.88 [*]	781.40±244.04

田组的 SDH、MDH、Na⁺/K⁺-ATP 酶活性低于池塘组, 而 LDH、CAT、Ca²⁺-ATP 酶活性则高于池塘组。

水稻扬花期: 稻田组的尾柄肌肉 LDH 活性 [(3 586.13±627.16) U·g⁻¹] 高于池塘组 [(3 277.42±

701.91) U·g⁻¹], CAT 活性 [(3 072.22±1 577.38) U·g⁻¹] 高于池塘组 [(1 642.41±298.54) U·g⁻¹] 且差异

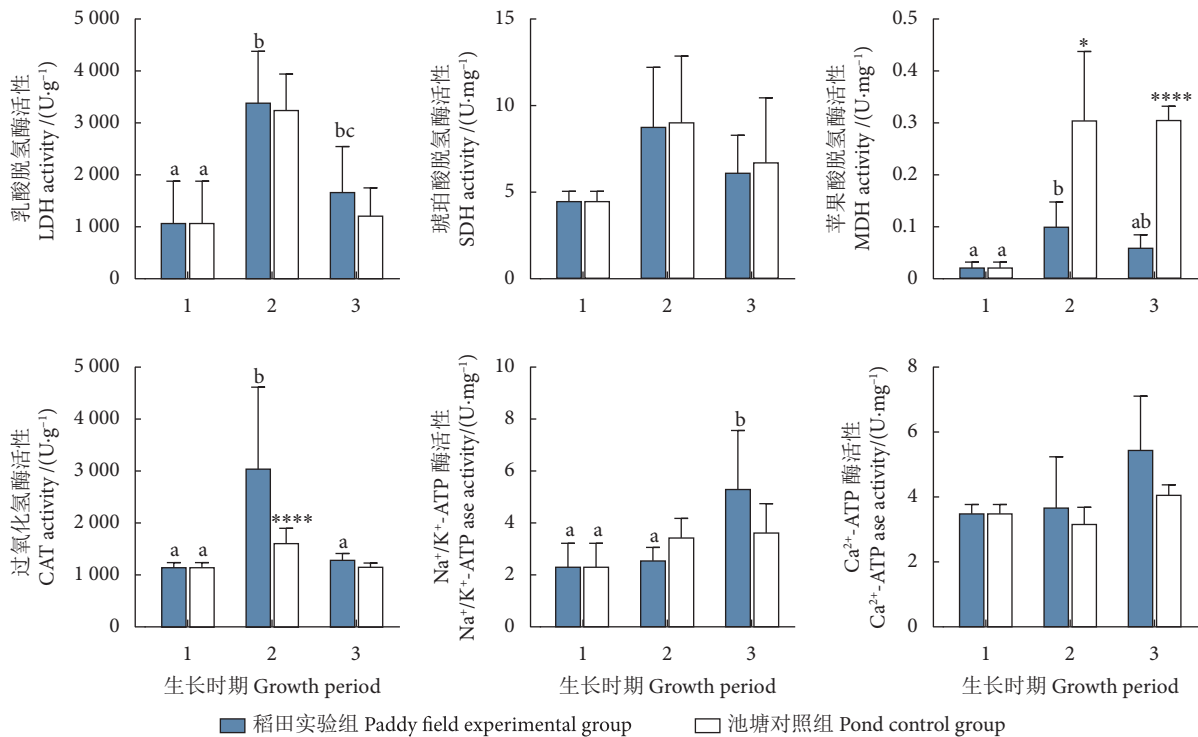


图3 稻田和池塘金背鲤生长过程中主要代谢酶活性变化

注: 1. 稻花前期; 2. 水稻扬花期; 3. 渔获期; 每个数据表示3个重复; 不同的小写字母表示相同组别(稻田组)不同采样时间点的酶活性差异显著 ($P < 0.05$), ****表示不同处理组在相同采样点上有极显著性差异 ($P < 0.01$)。

Fig. 3 Changes of main metabolic enzymes during growth of golden-backed carp in paddy fields and ponds

Notes: 1. Before rice flowering period; 2. Flowering period of rice; 3. Harvest period; Values are $\bar{X} \pm SD1$ ($n=3$). Different letters indicate a significant difference ($P < 0.05$) among different growth periods in rice field; ****. Extremely significant difference ($P < 0.01$) between the two groups at the same sampling site.

达到极显著性水平 ($P < 0.01$), Ca^{2+} -ATP 酶活性 [$(3.73 \pm 2.34) U \cdot mg^{-1}$] 高于池塘组 [$(3.22 \pm 1.06) U \cdot mg^{-1}$]。渔获期: 稻田组尾柄肌肉 LDH 活性 [$(1696.57 \pm 889.96) U \cdot g^{-1}$] 高于池塘组 [$(1243.62 \pm 547.78) U \cdot g^{-1}$], CAT 活性 [$(1321.64 \pm 134.52) U \cdot g^{-1}$] 高于池塘组 [$(1189.76 \pm 84.51) U \cdot g^{-1}$], Ca^{2+} -ATP 酶活性 [$(5.53 \pm 1.52) U \cdot mg^{-1}$] 也高于池塘组 [$(2.12 \pm 0.45) U \cdot mg^{-1}$]。

2.2.2 金背鲤不同生长时期的代谢酶活性

进入稻田后, 稻田金背鲤的 LDH、SDH、MDH 和 CAT 活性总体上呈先上升后下降的趋势, 在水稻扬花期达到最高; 而 Na^{+}/K^{+} -ATP 酶和 Ca^{2+} -ATP 酶活性则呈持续上升趋势 (图 3)。

2.3 金背鲤 AMPK、SIRT1 和 PGC-1 α 基因表达

在插秧后 2 周将金背鲤幼鱼放入稻田和池塘中, 稻田组和池塘组 AMPK、SIRT1 基因表达变化趋势较为一致, 均为先升高后降低, 在水稻扬花期达到最高; 稻田组的 PGC-1 α 表达呈先上升后下降趋势, 池塘组则一直呈上升趋势 (图 4)。

稻田组 AMPK 基因表达量在水稻扬花期和渔

获期均显著低于同期的池塘组 ($P < 0.05$), 分别约为池塘组的 43% 和 21%; 稻田组 SIRT1 基因表达量在水稻扬花期和渔获期也均显著低于同期的池塘组 ($P < 0.05$), 分别约为池塘组的 0.7% 和 8%; 而稻田组 PGC-1 α 基因表达量在水稻扬花期显著高于同期池塘组 ($P < 0.05$), 在渔获期则显著低于同期池塘组 ($P < 0.05$)。

3 讨论

3.1 金背鲤适应稻田生活的形态特点

不同生物由于生存环境和运动方式的不同, 其对能量的需求也有差异, 肌纤维在适应不同的运动方式下呈现出不同的特点^[15]。急性运动与低氧抗阻运动都会使肌纤维直径和横断面积增加, 肌纤维出现肥大^[16]。研究表明, 短跑、拳击、举重等速度快、爆发性强的运动员, 其肌肉的肌纤维直径增大, 横截面积增粗, 收缩力量强、速度快, 但易疲劳; 而长跑、竞走等力量小、时间长的运动员, 其肌肉的肌纤维直径较小, 但抗疲劳能力强^[17]。

研究发现, 虽然南方鲇 (*Silurus meridionalis*)

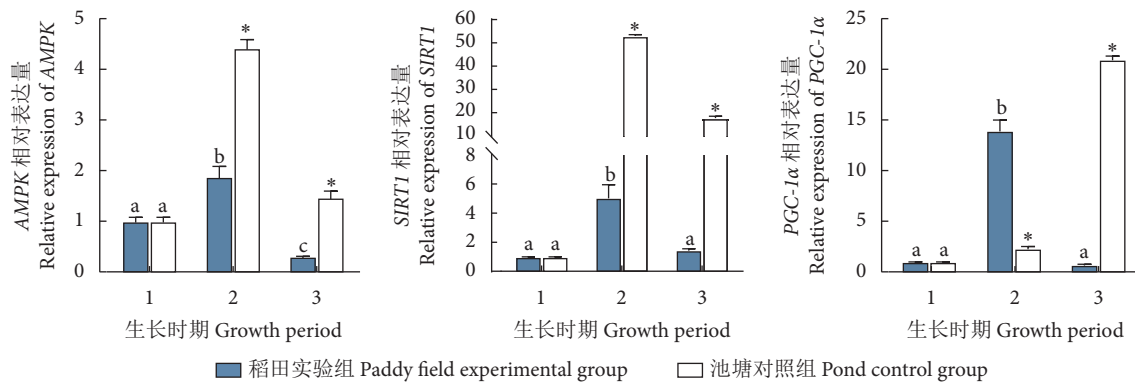


图4 稻田和池塘养殖的金背鲤不同生长时期 AMPK、SIRT1 和 PGC-1α 基因的相对表达量

注: 1. 稻花前期; 2. 水稻扬花期; 3. 渔获期; 每个数据表示 3 个重复; 不同的小写字母表示稻田组在不同生长时间点基因表达量差异显著 ($P < 0.05$), 而*表示不同处理组在相同采样点上有显著差异 ($P < 0.05$)。

Fig. 4 Relative expression of AMPK, SIRT1 and PGC-1α gene in different growth periods of golden-backed carps in paddy field and pond

Note: 1. Before flowering period; 2. Flowering period of rice; 3. Harvest period. Values are Mean±SD ($n=3$).

Different letters indicate significant differences in paddy field in each growth period ($P < 0.05$).

*. Significant differences between the two groups at the same sampling time ($P < 0.05$).

不喜欢运动, 游动缓慢, 营底栖生活, 但其肌纤维发达, 肌纤维横截面积可达到 $4\ 200\ \mu\text{m}^2$, 这与其伏击性取食相适应^[18-19], 鳊 (*Siniperca chuatsi*) 也有类似的现象^[20]。团头鲂 (*Megalobrama amblycephala*) 是一种觅食活动较为频繁的草食性鱼类, 其肌纤维直径较小, 无氧代谢的能力较弱, 在爆发运动时只能小幅度地提升其流速^[21]。有研究报道, 在低氧条件下的抗阻训练比在常氧条件下能更快地增加肌纤维横截面积、提高肌肉力量和诱导肌肉肥大, 通过低氧条件下的训练, 其肌纤维横截面积从 (25.6 ± 2.6) 增加到 $(27.5 \pm 3.9)\ \mu\text{m}^2$, 比常氧条件提高了 6.18%^[16]。对比稻田和池塘养殖的瓦式黄颡鱼 (*Pelteobagrus vachelli*) 生长性能发现, 优良的稻田水质环境中黄颡鱼肌肉肥大, 单个肌纤维面积增大而密度变小^[22]。

金背鲤对稻田的浅水条件具有适应性。金背鲤在稻田浅水中生活, 其摄食时腹部贴着稻田底泥, 依靠身体的摆动向前游动; 当遇到鸟类等天敌时需要在浅水中急速游动。经过多个世代的稻田生活, 金背鲤出现了明显的形态特点。有研究比较了传统稻田鲤与非稻田鲤的形态学, 发现最主要的差异于尾部, 稻田鲤的尾部长度占身体长度的比例小, 尾柄高/尾柄长这一形态学指标为 $0.7 \sim 0.8$ ^[4], 黄河鲤 (*C. carpio*) 为 0.65 ^[23], 建鲤 (*C. carpio* var. *Jian*) 为 0.68 ^[24]。本研究中, 通过将金背鲤幼鱼分别在稻田与池塘养殖 3 个月, 其在尾柄肌纤维直径、横截面积仍呈现出一定差异。池塘条件下, 其水体较深,

有饲料投喂, 金背鲤尾柄肌肉适应稻田浅水的功能出现了退化, 形态上也出现肌纤维一定程度的弱化。本研究揭示, 尾部肌肉中更宽的肌纤维直径和更大的横截面积是金背鲤适应稻田生活的形态特点。

3.2 金背鲤适应稻田生活的生理特点

不同的外部环境会影响水生动物的生长状态和机体代谢酶活的变化, 进而影响其生长、摄食和健康^[25]。水生生物在运动时, 肌肉需要有足够的能量供给, 而运动能量供应与肌肉中代谢酶的活性有关^[26-27]。LDH 分布在细胞内, 参与糖的无氧代谢, 是无氧代谢终产物乳酸的直接催化酶, 因此 LDH 活性高低代表着肌纤维糖无氧酵解能力的大小。如优秀短跑、投掷运动员肌纤维中 LDH 活性较高, SDH 活性较低; 而长跑运动员的 SDH 活性较高, LDH 活性较低^[28]。鱼类在不同水流速度下, 其代谢酶活性不同。斑马鱼 (*Danio rerio*) 遇到急流时会做爆发式无氧运动, LDH 活性升高 38.07%, 显著高于正常流速^[29]; 运动训练显著提高了鲤幼鱼白肌中的 LDH 活性^[30]。稻田金背鲤在稻田浅水中生活, 并常在浅水处摄食, 由于在浅水处无法正常游泳, 其主要靠尾部的摆动推动身体前进。因此, 本研究认为, 稻田金背鲤尾柄肌纤维较高的 LDH 活性是长期适应稻田浅水环境的结果。

肌肉收缩受 Ca^{2+} 的调控, 其收缩快慢主要取决于 Ca^{2+} -ATP 酶和能量的释放速度。 Ca^{2+} -ATP 酶是细胞膜和细胞器膜上一种重要的钙调素 (CaM)

依赖酶,可以调节能量的相互转换^[31-32]。在细胞传递收缩信号后,肌质网会打开 Ca^{2+} 通道,使肌质网内部的 Ca^{2+} 流出,从而激活肌原纤维粗丝上的ATP酶,形成 Ca^{2+} -ATP酶,ATP在 Ca^{2+} -ATP酶的催化下释放能量^[33]。金背鲤在稻田摄食昆虫、水稻上的虫卵或稻花时,经常要进行快速运动和跳跃动作,这需要靠尾部快速提供能量,保证肌肉的快速收缩,因此,尾部肌纤维有较高的 Ca^{2+} -ATP酶活性是稻田金背鲤适应稻田生活的另一个特点。

3.3 金背鲤尾部肌肉能量感应网络 AMPK、PGC-1 α 、SIRT1 的特点

运动促使肌纤维发生适应性变化,不同的运动方式诱导肌纤维产生的适应性改变不同。抗阻运动刺激肌原纤维蛋白质增加,骨骼肌肥大,肌肉力量增加;耐力运动增强肌纤维线粒体生物合成,肌糖原和血糖的利用减慢,脂肪氧化增强,乳酸生成减少^[34]。有研究指出,人体在应对抗阻运动时会选择性激活蛋白质合成代谢的Akt/mTOR信号通路,而耐力运动则会选择性激活蛋白质分解代谢的AMPK/PGC-1 α 信号通路^[35-36]。AMPK被称为机体的“能量感受器”或“能量开关”,在肌肉能量代谢方面起着关键的调控作用,它能感知能量状态,促进葡萄糖和脂肪酸的代谢利用,并在许多重要组织和器官中介导有益的细胞适应^[37]。饮食、运动和温度等因素都可以激活AMPK^[38]。一旦被激活,AMPK就会开启蛋白质分解代谢途径来产生ATP,同时关闭消耗能量的合成代谢过程^[10]。

本研究中,稻田环境下生长的金背鲤AMPK基因表达量低于池塘养殖组,这是由于稻田是浅水环境,金背鲤在稻田中的运动阻力大于池塘,运动量增加,导致尾柄肌肉力量增强,尾柄肌肉肥大,是应对浅水环境的标志性适应,肌纤维横截面积增加,是多次急性或短期抗阻运动产生的累积效应^[39];而抗阻运动过程中会独立激活与蛋白质合成相关的信号通路,池塘环境的金背鲤进行的耐力运动会激活线粒体生物合成AMPK/PGC-1 α 信号通路^[36];因此相较于池塘环境的金背鲤,稻田金背鲤在AMPK/PGC-1 α 信号通路中的关键基因表达量降低。

SIRT1作为NAD⁺依赖的类组蛋白脱乙酰基酶,参与调控能量代谢、线粒体生物合成与维持线粒体正常功能。有研究指出,当运动或肌肉收缩

时,AMPK可以激活SIRT1乙酰化,SIRT1脱乙酰PGC-1 α ,变成激活形式的PGC-1 α ,去乙酰化的PGC-1 α 进入细胞核,从而提高线粒体生物合成水平^[40]。稻田环境的金背鲤AMPK、SIRT1基因表达量均显著低于池塘养殖的,笔者推测这与稻田环境中金背鲤的蛋白质合成能力增强而AMPK磷酸化线粒体的生物合成能力减弱有关。水稻扬花期稻田金背鲤PGC-1 α 基因表达量显著高于池塘养殖的,表明AMPK和SIRT1基因表达量高时,PGC-1 α 基因表达量不一定高。PGC-1 α 基因的表达受很多因素的影响,比如运动应激时最大摄氧量、食物、饥饿等^[41]。水稻扬花期的稻田金背鲤PGC-1 α 基因表达量较高,推测是由于此阶段水稻开花、稻田中昆虫增多、生物多样性增加以及生物量增加所致。具体原因仍需进一步研究。

4 结论

尾柄部肌肉具有较大的肌纤维直径和横截面积是稻田金背鲤适应稻田生活的特点之一,尾柄肌纤维具有较高的LDH活性和 Ca^{2+} -ATP酶活性则是金背鲤适应稻田的另一特点。金背鲤在稻田浅水条件下运动,其尾柄进行抗阻运动使尾柄肌肉肥大,这与激活蛋白质合成通路有关,而在池塘环境中的金背鲤通常进行长时间的耐力运动,选择性激活的是线粒体生物合成AMPK/PGC-1 α 信号通路。在水稻扬花期稻田金背鲤PGC-1 α 基因表达量较高,应与此阶段水稻开花、稻田中昆虫增多、生物多样性上升以及生物量增加有关。本研究结果可为稻田金背鲤尾柄在稻田环境下的适应特点研究提供基础数据和理论依据,为更好地保护贵州土著金背鲤资源和其人工选育提供基础资料。

参考文献:

- [1] 周伟,刘应聪.云南绿汁江鱼类的形态特征及其适应意义[J].四川动物,1999(1):10-13.
- [2] 沈伟良,吴雄飞,申屠基康,等.同饵料及养殖环境对大黄鱼(*Larimichthys crocea*)形态差异的影响[J].渔业科学进展,2017,38(6):70-77.
- [3] 孟庆闻,缪学祖,俞泰济.鱼类学:形态·分类[M].上海:科学技术出版社,1989:8-14.
- [4] 郭梁,任伟征,胡亮亮,等.传统稻鱼系统中“田鲤鱼”的形态特征[J].应用生态学报,2017,28(2):665-672.
- [5] 刘雨婷,黄世玉,李榴佳,等.池塘与稻田养殖鲤鱼生物学指数和肌肉营养价值的比较[J].中国农学通报,2022,38(4):159-

- 164.
- [6] MOODY E K, LOZANO-VILANO M L. Predation drives morphological convergence in the *Gambusia panuco* species group among lotic and lentic habitats[J]. *J Evol Biol.* 2018, 31(4): 491-501.
- [7] 孙冰, 侯艳茹, 徐丽媛, 等. 不同饲养方式下苏尼特羊肌纤维组成和羊肉品质的比较研究[J]. *食品工业科技*, 2022, 43(11): 96-103.
- [8] 文超越, 段叶辉, 李颖慧, 等. 能量感应网络 AMPK/SIRT1/PGC-1 α 对骨骼肌纤维类型转化调节[J]. *动物营养学报*, 2016, 28(1): 57-63.
- [9] 沈文清, 何标, 丁树哲. AMPK——运动调控骨骼肌糖脂代谢的重要激酶[J]. *生命科学*, 2022, 34(6): 631-643.
- [10] CANTÓ C, AUWERX J. PGC-1 α , SIRT1 and AMPK, an energy sensing network that controls energy expenditure[J]. *Curr Opin Lipidol*, 2009, 20(2): 98-105.
- [11] JI D, SU X, YAO J 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 (Basel)*, 2022, 12(11): 1377.
- [12] 闫冠杰, 曹振东, 彭姜岚, 等. 运动锻炼对鲤鱼幼鱼形态参数的影响[J]. *重庆师范大学学报(自然科学版)*, 2011, 28(3): 18-21.
- [13] 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.
- [14] 曾宪文, 余长生, 吴正武, 等. 水稻—金背鲤共生模式与技术[J]. *作物研究*, 2022, 36(2): 176-179.
- [15] 王伟, 杨又兵, 曾珍珍, 等. 两个黄河鲤鱼群体肌纤维特性及肌肉营养成分分析[J]. *黑龙江畜牧兽医*, 2017(11): 239-243, 299.
- [16] NISHIMURA A, SUGITA M, KATO K, et al. Hypoxia increases muscle hypertrophy induced by resistance training[J]. *Int J Sports Physiol Perform*, 2010, 5(4): 497-508.
- [17] 解长青. 肌纤维类型与运动训练[J]. *南京体育学院学报(自然科学版)*, 2012, 11(2): 34-35.
- [18] 李凤杰. 不同营养状态下南方鲂幼鱼大侧肌和心肌的适应性变化研究[D]. 重庆: 西南大学, 2012: 27-31.
- [19] YAN G J, HE X K, CAO Z D, et al. Effects of fasting and feeding on the fast-start swimming performance of southern catfish *Silurus meridionalis*[J]. *J Fish Biol*, 2015, 86(2): 605-614.
- [20] 乔云贵, 黄洪亮, 黄妙芬, 等. 不同淡水鱼类游泳速度的初步研究[J]. *湖南农业科学*, 2012(15): 116-119.
- [21] 朱峰磊, 张敬敬, 龙静, 等. 游泳加速模式对南方鲂和团头鲂运动后代谢恢复的影响[J]. *淡水渔业*, 2020, 50(3): 65-71.
- [22] 吕敏, 甘晖, 陈田聪, 等. 瓦氏黄颡鱼在稻田和池塘养殖中的生长性能和肌肉品质比较[J]. *水产学杂志*, 2022, 35(1): 75-81.
- [23] 明俊超, 董在杰, 梁政远, 等. 6个不同鲤群体的形态差异分析[J]. *广东海洋大学学报*, 2009, 29(6): 1-6.
- [24] 余科, 李长贵, 安苗, 等. 从江稻田鲤与国内7种鲤的形态学差异研究[J]. *贵州畜牧兽医*, 2022, 46(3): 11-16.
- [25] 谭春明, 赵旺, 马振华, 等. 红腹海参消化道指标、组织学和酶活性的季节变化[J]. *南方水产科学*, 2022, 18(5): 39-45.
- [26] 李丹丹, 陈丕茂, 朱爱意, 等. 黑鲟幼鱼力竭运动后代谢酶活性的恢复水平[J]. *南方水产科学*, 2018, 14(6): 59-65.
- [27] GRUNOW B, STANGE K, BOCHERT R, et al. Histological and biochemical evaluation of skeletal muscle in the two salmonid species *Coregonus maraena* and *Oncorhynchus mykiss*[J]. *PLoS One*, 2021, 16(8): e0255062.
- [28] 沈德功. 人体肌纤维类型与运动训练[J]. *西藏体育*, 1996(1): 49-52.
- [29] 刘明镜, 王志坚. 斑马鱼对无氧运动训练的适应性变化[J]. *动物学研究*, 2013, 34(3): 190-195.
- [30] 夏伟. 运动训练对鲤鱼(*Cyprinus carpio*)幼鱼游泳能力的影响及其代谢机制探讨[D]. 重庆: 重庆师范大学, 2012: 1-9.
- [31] 宋洪建, 刘伟, 王继隆, 等. 镉对大麻哈鱼稚鱼生长发育及肌肉ATP酶活性的影响[J]. *水产学杂志*, 2013, 26(4): 23-28.
- [32] 殷中专, 田元勇, 徐晔焱, 等. 鱼贝类肌肉品质变化与能量代谢关联[J]. *水产学报*, 2022, 46(7): 1143-1153.
- [33] MEIS L D. Energy interconversion by the sarcoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase: ATP hydrolysis, Ca²⁺ transport, ATP synthesis and heat production[J]. *An Acad Bras Cienc*, 2000, 72(3): 365-379.
- [34] 李春艳, 肖艳芬. 抗阻/耐力训练诱导骨骼肌分子响应的比较研究[J]. *湖北体育科技*, 2010, 29(4): 427-429.
- [35] VISSING K, MCGEE S, FARUP J, et al. Differentiated mTOR but not AMPK signaling after strength vs endurance exercise in training-accustomed individuals[J]. *Scand J Med Sci Sports*, 2013, 23(3): 355-366.
- [36] 田浩楠, 汪军, 张锋, 等. 有氧和力量同期训练对骨骼肌肥大的影响及其分子机制[J]. *中国体育科技*, 2022, 58(10): 81-89.
- [37] SPAULDING H R, YAN Z. AMPK and the adaptation to exercise[J]. *Annu Rev Physiol*, 2022, 84: 209-227.
- [38] 王宇, 袁倩, 王柏辉, 等. 腺苷酸活化蛋白激酶活性及其级联效应对肉品质影响研究进展[J]. *食品科学*, 2018, 39(17): 298-304.
- [39] BAAR K. Training for endurance and strength: lessons from cell signaling[J]. *Med Sci Sports Exerc*, 2006, 38(11): 1939-1944.
- [40] CANTÓ C, GERHART-HINES Z, FEIGE J N, et al. AMPK regulates energy expenditure by modulating NAD⁺ metabolism and SIRT1 activity[J]. *Nature*, 2009, 458(7241): 1056-1060.
- [41] RUDERMAN N B, XU X J, NELSON L, et al. AMPK and SIRT1: a long-standing partnership?[J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2010, 298(4): 751-760.