

文章编号:1000-2367(2022)05-0124-07

DOI:10.16366/j.cnki.1000-2367.2022.05.017

# 基于宏基因组学研究怀地黄对鲤鱼肠道微生物群落组成的影响

常绪路,康美如,冯军厂,张建新

(河南师范大学 水产学院;河南省水产动物养殖工程技术研究中心,河南 新乡 453007)

**摘要:**鲤鱼(*Cyprinus carpio* L.)是我国淡水养殖鱼类的主要品种之一,其养殖过程中病害给养殖业带来重大经济损失.已有研究表明怀地黄(*Rehmannia glutinosa*, RG)作为饲料添加剂,具有提高鲤鱼免疫力和抵抗病害的功能,但机制尚不明确.利用宏基因组技术研究饲料中添加4%(质量分数)怀地黄对鲤肠道微生物群落组成的影响.结果表明梭杆菌门(*Fusobacteria*),变形杆菌门(*Proteobacteria*),拟杆菌门(*Bacteroidetes*),广古菌门(*Euryarchaeota*),奇古菌门(*Thaumarchaeota*),短尾噬菌体(*Siphoviridae*),肌尾噬菌体(*Myoviridae*),长尾噬菌体(*Podoviridae*),子囊菌门(*Ascomycota*)和担子菌门(*Basidiomycota*)是鲤肠道主要微生物类群.怀地黄可以增加鲤鱼肠道中益生菌、短链脂肪酸产生菌和产甲烷古菌的丰度,同时降低一些鱼类病毒的丰度.研究结果表明,饲料中添加怀地黄可以改善鲤鱼肠道微生物组成,提高有益菌的丰度而降低有害微生物的含量.研究结果为解析怀地黄增强鲤鱼免疫力的机制奠定了基础.

**关键词:**怀地黄;鲤鱼;肠道微生物组;宏基因组

**中图分类号:**S963.73

**文献标志码:**A

水产品养殖规模的扩大以及集约化养殖的出现,带来经济效益的同时也导致了水产动物各种疾病的发生<sup>[1]</sup>.大量化学类药物和抗生素的使用对水产动物病害防治起到了一定作用,但也产生了一系列的其他问题,例如药物残留、耐药性产生、环境污染等<sup>[2]</sup>.为实现绿色无公害水产养殖生产,维持水产养殖业健康可持续发展,寻找抗生素替代品是一个重要途径.中草药作为一种天然药物添加剂,具有绿色环保、无抗药性等特点,已逐渐成为替代抗生素、其他化学合成药物的新一代添加剂<sup>[3]</sup>.

中草药含有多种有效成分,例如生物碱、多糖类、有机酸、色素、糖蛋白和氨基酸等.已有研究表明中草药可以促进养殖动物生长、增强机体免疫力和抗菌能力<sup>[4-7]</sup>.目前已有多种中草药做为饲料添加剂应用于水产动物养殖中,并取得较好效果<sup>[5-6]</sup>.其中,地黄作为一种传统中草药,含有地黄多糖和环烯醚萜苷等多种活性物质,并具有抗炎、抗疲劳、抗肿瘤、降血糖和免疫调节等多种生理活性<sup>[8]</sup>.在鲤鱼基础饲料中添加质量分数为4%怀地黄粉可以调节鲤鱼免疫相关基因表达,增强鲤鱼免疫力,提高鲤鱼生长性能<sup>[9]</sup>.本团队前期研究发现鲤鱼基础饲料中添加怀地黄多糖可以增强鲤鱼非特异性免疫力和抗氧化活性,提高鲤鱼对病原菌的抵抗力<sup>[6]</sup>.因此,怀地黄可作为鲤鱼免疫增强剂的理想原料.怀地黄作为鲤鱼免疫增强剂经口服进入体内,不可避免地会与鲤鱼肠道接触,其是否会对鲤鱼肠道微生态产生影响,目前未见报道.因此本研究以鲤鱼和怀地黄为材料,针对鲤鱼肠道微生物组进行剖析,利用宏基因组技术研究怀地黄对鲤肠道微生物群落结构的影响,为解析怀地黄免疫增强剂的调控机理,指导怀地黄添加剂在鲤鱼养殖实际应用提供科学依据.

收稿日期:2021-02-03;修回日期:2021-03-16.

基金项目:国家自然科学基金(31902361)

作者简介:常绪路(1987-),男,山东泰安人,河南师范大学副教授,研究方向为水产微生物资源与应用,E-mail:changxulu@whu.edu.cn.

通信作者:张建新,E-mail:jxzhanghtu@163.com.

## 1 材料与方法

### 1.1 实验鱼与饲养管理

从河南省新乡市原阳水产养殖场购买个体均匀、外观无疾病症状的鲤鱼,置于河南师范大学水产养殖基地鱼塘中暂养2周。饥饿处理24 h后,挑选规格整齐的180尾鲤鱼( $(31.42 \pm 0.83)$  g)随机分为2组,分别饲喂以下两种饲料:对照组(0%(质量分数)怀地黄+基础饲料),实验组(4%(质量分数)熟怀地黄粉+基础饲料),每组设3个重复,每个重复30尾鱼。其中基础饲料购置于河南通威饲料公司,配方和营养水平见附表 I。饲养实验在河南师范大学水产养殖基地循环养殖系统中完成,每天投喂2次,投喂时间分别是8:00和18:00。投喂方法采用饱食投喂并根据鲤鱼食情况加以调整。养殖期间,水温控制在 $26.0 \sim 28.0$  °C,溶氧不低于 $6.5$  mg/L, pH  $7.1 \sim 7.4$ 。实验持续80 d。

### 1.2 基因组 DNA 提取和测序

饲喂周期结束后分别从对照组和实验组的每个水槽中随机抽取3尾鲤鱼,用70%(体积分数)乙醇进行体表消毒,再用灭菌生理盐水冲洗数遍,无菌条件下将肠道取出,收集得到的肠道内容物用DNA提取试剂盒(Mobio,美国)提取总DNA。利用超微量分光光度计(NanoDrop,美国)测定DNA质量。宏基因组测序由上海美吉生物医药科技有限公司利用高通量测序仪 HiSeq®4000 System(Illumina,美国)完成。

### 1.3 生物信息学分析

先对下机原始数据进行质量控制,通过拆分、剪切以及去除污染序列等方法得到优化处理后的序列。优化序列利用 SOAP denovo(<http://soap.genomics.org.cn>, Version 1.06)进行组装。随后利用 CD-HIT(<http://www.bioinformatics.org/cd-hit/>)构建非冗余基因目录。接着使用 MetaGene(<http://metagene.cb.k.u-tokyo.ac.jp/>)基因预测软件从组装结果中预测开放阅读框架(ORFs)<sup>[10]</sup>。将预测基因与 NCBI(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)的非冗余数据库(NR)进行比对,进行物种注释及分类。

### 1.4 数据分析

本实验所有的数据分析使用 SPSS statistics 22(IBM, Armonk, NY, USA)软件,用平均值±标准误(Mean±SE)表示。各组之间的差异分析使用单因素方差分析(One-way ANOVA),影响显著时再进行 Duncan 多重比较。利用 R 软件包中的 Kruskal-Wallis 分析确定两组微生物种群是否存在显著性差异。 $P < 0.05$  表示差异显著。

## 2 结果与分析

### 2.1 测序数据分析

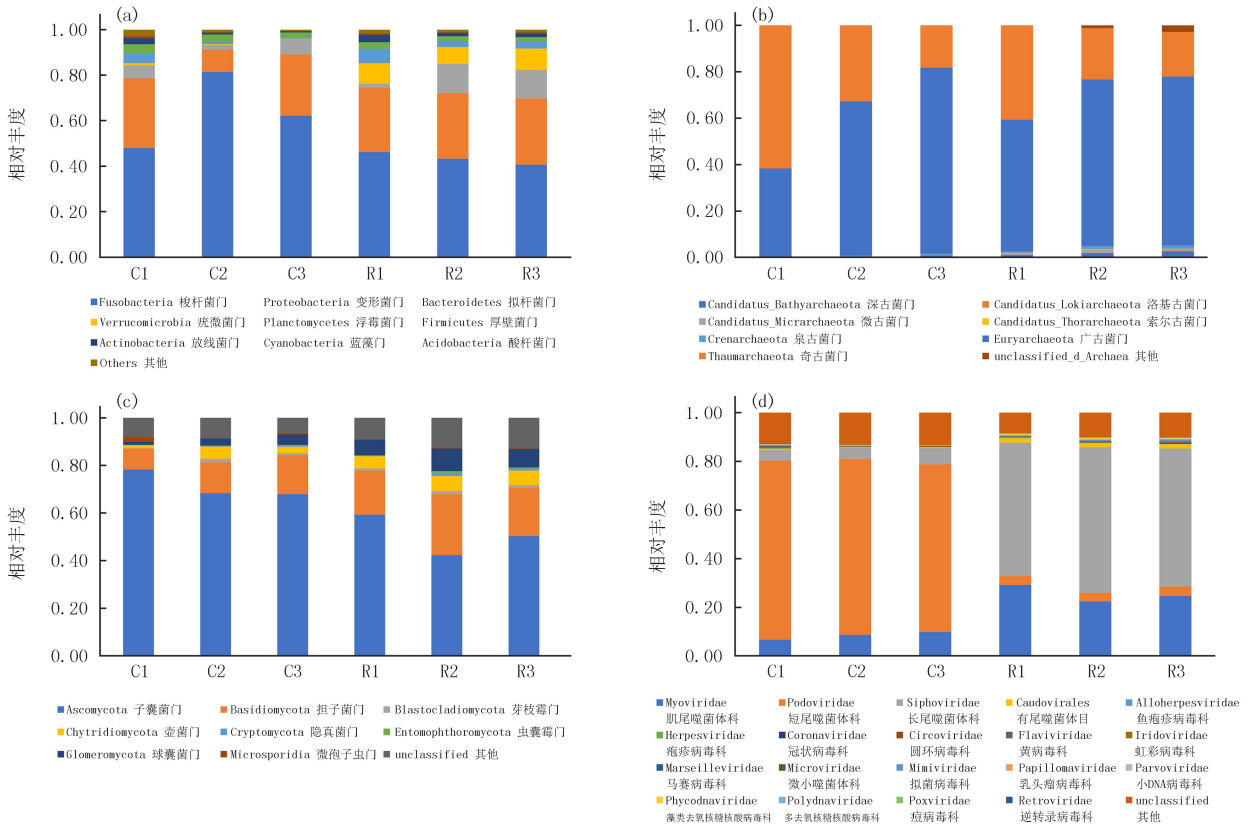
根据各个样品引物标签序列识别各自的双末端序列,经过双末端拼接、去除引物、质量控制和去除嵌合体序列后,共产生了约  $2.83 \times 10^9$  Gb 的原始数据。采用 SOAP denovo 软件对下机数据进行组装,通过双末端序列组装,6个样品共获得 6 733 347 条 contigs,其中每个样品得到的 contigs 数量范围从 1 091 219 到 1 150 464 条不等(附表 II)。使用 MetaGene 共鉴定得到 3 030 851 个开放阅读框架(ORFs)。

### 2.2 鲤鱼肠道细菌、古菌、病毒和真菌的组成

将基因预测结果与 NR 数据库进行 Blastp 比对,得到对应的物种注释信息。结果显示,鲤鱼肠道微生物主要包括细菌、古菌、真核微生物和病毒等。其中,细菌与真菌含量较多,而古菌与病毒丰度较低(附图 I)。

根据测序数据,在两组鲤鱼肠道中共检测到 74 个细菌门。对照组鲤鱼肠道细菌主要由梭杆菌门 Fusobacteria(65.43%),变形杆菌门 Proteobacteria(23.80%),拟杆菌门 Bacteroidetes(5.87%)和厚壁菌门 Firmicutes(2.32%)组成。在饲喂怀地黄鲤鱼肠道中,梭杆菌门 Fusobacteria(42.79%),变形杆菌门 Proteobacteria(28.93%)、拟杆菌门 Bacteroidetes(12.24%)和疣微菌门 Verrucomicrobia(7.94%)是主要类群(图 1(a))。在鲤鱼肠道中共检测到 7 个古细菌门(图 1(b)),分别属于广古菌门 Euryarchaeota(70.59%)、奇古菌门 Thaumarchaeota(24.12%)、深古菌门 Candidatus\_Bathyarchaeota(1.65%)、泉古菌门 Crenarchaeota(1.10%)、微古菌门 Candidatus\_Micrarchaeota(1.05%)、洛基古菌门 Candidatus\_Lokiarchaeota(0.16%)和雷神古菌门

Candidatus\_Thorarchaeota(0.14%).在鲤鱼的肠道中检测得到 19 个病毒科.对照组和怀地黄组中病毒群落组成存在差异(图 1(c)).在饲喂怀地黄组中,丰度较高的病毒类群包括长尾噬菌体 *Siphoviridae*(57.14%),肌尾噬菌体 *Myoviridae*(25.45%)和短尾噬菌体 *Podoviridae*(3.70%).而对照组的优势病毒类群为短尾噬菌体 *Podoviridae*(71.55%),肌尾噬菌体 *Myoviridae*(8.45%)和长尾噬菌体 *Siphoviridae*(5.29%).本研究结果显示饲喂怀地黄组和对照组鲤鱼肠道中主要真菌类群列均为子囊菌门 *Ascomycota*(50.62%,71.56%)和担子菌门 *Basidiomycota*(21.56%,12.72%)(图 1(d)).



注:细菌(a),古菌(b),真菌(c)和病毒(d),丰度小于1%的物种用“Others”表示.

图1 怀地黄对鲤鱼肠道微生物群落组成的影响

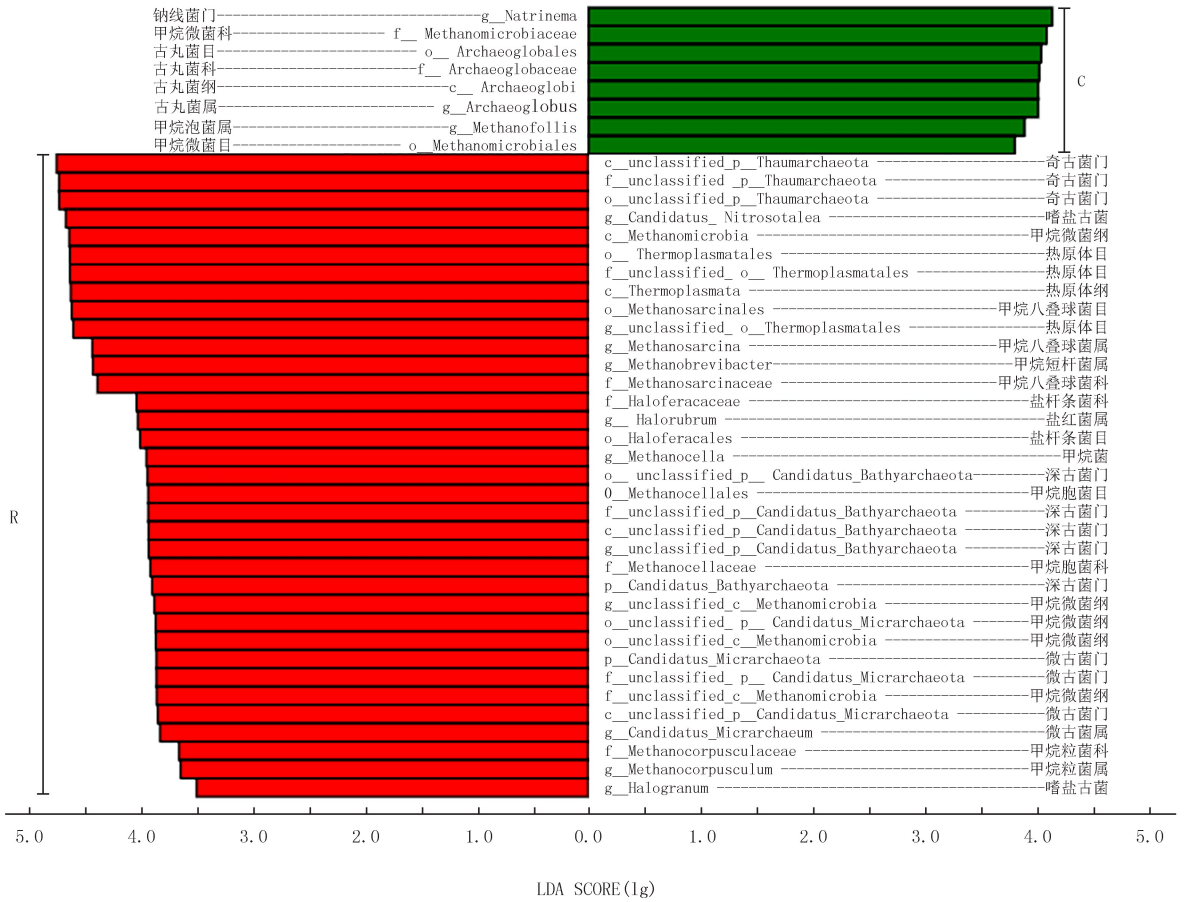
Fig.1 Effects of *Rehmannia glutinosa* on intestinal microbial community composition of common carp

### 2.3 怀地黄对鲤鱼肠道细菌、古菌、病毒和真菌组成的影响

测序结果表明饲料中添加怀地黄显著提高了鲤鱼肠道中疣微菌门 *Verrucomicrobia*( $P=0.000\ 39$ ),浮霉菌门 *Planctomycete*( $P=0.019\ 31$ )和放线菌门 *Actinobacteria* 细菌的丰度( $P=0.049\ 08$ ).此外,测序结果显示饲喂怀地黄后鲤鱼肠道中益生菌,例如阿克曼菌 *Akkermansia*,红假单胞菌 *Rhodopseudomonas*,外硫红螺菌 *Ectothiorhodospira*,红酵母 *Rhodotorula* 和酿酒酵母 *Saccharomyces* 的丰度显著增加( $P<0.05$ )(附表 III).另外,饲喂怀地黄的鲤鱼肠道中短链脂肪酸产生菌,如粪便杆菌属 *Faecalibacterium*,拟杆菌属 *Bacteroides* 和梭状杆菌属 *Clostridium* 的丰度有所增加,但与对照组相比差异不显著( $P>0.05$ )(附表 III).

两组鲤鱼肠道中古菌群落组成存在一定差异.测序结果显示广古菌门(*Euryarchaeota*),深古菌门(*Candidatus\_Bathyarchaeota*)和微古菌门(*Candidatus\_Micrarchaeota*)在饲喂怀地黄组鲤鱼肠道中的相对丰度显著高于对照组鲤鱼( $P<0.05$ )(图 2).同时发现,鲤鱼肠道中的优势古菌类群为产甲烷菌(48.15%),主要包括甲烷细菌(*Methanobacteria*),甲烷球菌(*Methanococci*)和甲烷微菌(*Methanomicrobia*)等.研究发现,饲喂怀地黄组鲤鱼肠道中甲烷细菌(*Methanobacteria*)的相对丰度显著高于对照组( $P<0.05$ ).另外怀地黄组鲤鱼肠道中甲烷球菌(*Methanococci*)和甲烷微菌(*Methanomicrobia*)的相对丰度也比对照组高,但没有表现出显

著差异( $P>0.05$ )(附表Ⅲ)。通过对宏基因组测序数据中病毒序列分析发现,对照组鲤鱼肠道中短尾噬菌体(*Podoviridae*)的相对丰度显著高于怀地黄组( $P<0.05$ )(附表Ⅲ)。



注:C代表对照组丰度较高,R代表怀地黄组丰度较高, (LDA>2,  $P<0.05$ )。

图2 线性判别耦合效应分析

Fig.2 Linear discriminant analysis coupled with effect size

上述结果表明,饲料中添加怀地黄改变了鲤鱼肠道细菌、古菌、病毒和真核微生物群落的组成.主坐标分析(PCoA)结果同样显示出对照组和饲喂怀地黄组鲤鱼肠道微生物群落组成之间存在明显差异(图3)。同样,属水平的系统聚类热图分析表明,两个组之间微生物群落结构存在明显差异(附图Ⅱ)。

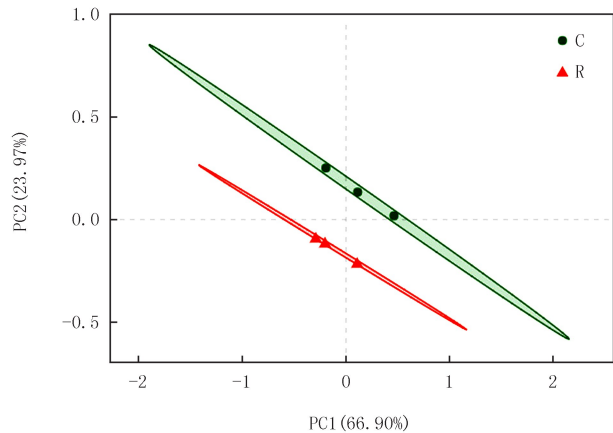


图3 PCoA分析

Fig.3 PCoA analysis

### 3 讨论

疾病是水产养殖业健康



发展的主要制约因素。为防治病害,大量的化学药品和抗生素被长期、过量使用,这虽然对水产动物病害防治起到了一定作用,但也产生了不容忽视的毒副作用。中草药作为一种天然的、无抗药性的新兴“绿色添加剂”,受到国内外饲料行业生产者和研究者的广泛重视,已逐渐成为替代抗生素、其他化学合成药物和激素的新一代饲料添加剂。研究表明,中草药具有促进生长、提高免疫力、增强食欲和抗应激的作用<sup>[10-11]</sup>。但是,关于中草药对水产养殖动物肠道微生物影响的研究较少。已有研究表明,怀地黄作为饲料添加剂可以促进鲤鱼的生长并增强其免疫能力,这说明了怀地黄可能是鲤鱼养殖过程中的具有应用前景的饲料添加剂<sup>[10]</sup>。本研究利用宏基因组学方法揭示怀地黄对鲤鱼肠道菌群组成的影响。

宏基因组测序数据表明鲤鱼肠道微生物由细菌、古菌、真核微生物和病毒等组成,数据分析结果显示鲤鱼肠道中细菌和真核微生物占主导地位,而古菌和病毒仅占很小部分。与其他鱼类的研究结果相似<sup>[12]</sup>,本研究发现鲤鱼肠道中优势细菌包括梭杆菌门、变形杆菌门、拟杆菌门。进一步分析发现鲤鱼肠道中梭杆菌门的丰度最高。已有研究表明,梭杆菌门是草鱼(*Ctenopharyngodon idella*)<sup>[13]</sup>等其他鱼类肠道中的优势细菌。本研究发现怀地黄可以显著提高鲤鱼肠道中疣微菌门的丰度。研究证实疣微菌门广泛地定植于肠道黏液层,其代表性菌株 *Akkermansia muciniphila* 对宿主的营养代谢、疾病抵抗和机体免疫等方面发挥着重要作用<sup>[14]</sup>。由以上可以推断饲料中添加怀地黄制剂可对宿主产生有益效果。研究发现红假单胞菌(*Rhodopseudomonas*),外硫红螺菌(*Ectothiorhodospira*),酿酒酵母(*Saccharomyces*)和红酵母(*Rhodotorula*)等细菌和酵母菌是水产养殖中广泛使用的益生菌<sup>[15]</sup>。本研究发现饲喂怀地黄的鲤鱼肠道中,这些益生菌的相对丰度显著高于对照组,这表明饲料中添加怀地黄可以增加鲤鱼肠道中益生菌的丰度,这将有利于增强鲤鱼免疫力,提高鲤鱼对疾病的抵抗能力。

短链脂肪酸(SCFA)是肠道细菌发酵膳食纤维需产生的代谢产物,主要包括丁酸、丙酸和乙酸等。研究证实 SCFA 在能源提供、改善肠屏障功能、抗炎以及保护宿主免受病原菌入侵等方面起着重要作用<sup>[16]</sup>。本研究发现饲喂怀地黄组鲤鱼肠道中一些 SCFA 产生细菌(费氏杆菌(*Faecalibacterium*),拟杆菌(*Bacteroides*)和梭状芽孢杆菌(*Clostridium*))的丰度显著高于对照组。其中费氏杆菌(*Faecalibacterium*)代谢产生丁酸盐可以调节肠道激素的分泌,抑制促炎细胞因子的产生和控制有害细菌的生长,从而利于宿主健康。推测饲喂怀地黄可以增加鲤鱼肠道中短链脂肪酸产生菌的丰度,提高肠道中 SCFAs 的含量,从而利于改善肠道健康状况,增强鲤鱼对疾病的抵抗能力。

关于肠道古菌的研究受到人们广泛关注。研究表明古菌和其它微生物共生于肠道,在宿主的健康方面发挥着重要作用<sup>[17]</sup>。本研究发现古菌在鲤鱼肠道微生物组中占比较少,产甲烷古菌是鲤鱼肠道中丰度最高的一类古菌。产甲烷古菌能够将氢还原为甲烷,从而促进多糖发酵细菌的生长,提高饮食的能量利用率。因此推测,怀地黄作为饲料添加剂通过提高鲤鱼肠道内产甲烷古菌的丰度而提高其营养与能量的利用能力,从而有益于鲤鱼生长。

目前,关于鲤鱼肠道病毒群落的研究未见报道。本研究发现怀地黄组鲤鱼肠道中长尾噬菌体科和肌尾噬菌体的相对丰度显著高于对照组,这其中的原因有待进一步研究。值得注意的是,一些感染鱼类的病毒(例如 $\epsilon$ 逆转录病毒 *Epsilonretrovirus*)仅在对照组鲤鱼肠道中检测到,而在怀地黄组鲤鱼肠道内未发现该病毒的存在。由以上结果推断怀地黄可能具有抗病毒的能力,从而增强鲤鱼对疾病的抵抗能力。

综上所述,本研究发现饲料中添加4%(质量分数)怀地黄可以显著改变鲤鱼肠道细菌、古菌、病毒和真菌的组成,提高有益微生物的丰度而降低有害微生物的丰度。

## 附 录

附表、附图见电子版(DOI:10.16366/j.cnki.1000-2367.2022.05.017)。

## 参 考 文 献

- [1] CHANG X L, FENG J C, GUO X R, et al. Dietary supplementation with *Rehmannia glutinosa* affects the composition of intestinal microorganisms in common carp[J]. Journal of Basic Microbiology, 2018, 58(12): 1023-1032.
- [2] LEE J S, DAMTE D, LEE S J, et al. Evaluation and characterization of a novel probiotic *Lactobacillus pentosus* PL11 isolated from Japa-

- nese eel(*Anguilla japonica*) for its use in aquaculture[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2015, 21(4): 444-456.
- [3] 张建新, 李梦, 郭祥瑞, 等. 产酸芽孢杆菌的筛选与生物学特性研究[J]. 河南师范大学学报(自然科学版), 2021, 49(5): 96-103.  
ZHANG J X, LI M, GUO X R, et al. Screening and biological characteristics of an Acid Producing *Bacillus* strain[J]. *Journal of Henan Normal University(Natural Science Edition)*, 2021, 49(5): 96-103.
- [4] CHOI W M, MO W Y, WU S C, et al. Effects of traditional Chinese medicines (TCM) on the immune response of grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) [J]. *Aquaculture International*, 2014, 22(2): 361-377.
- [5] LIN D J, HUA Y N, ZHANG Q Z, et al. Evaluation of medicated feeds with antiparasitical and immune-enhanced Chinese herbal medicines against *Lchthyophthirius multifiliis* in grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) [J]. *Parasitology Research*, 2016, 115(6): 2473-2483.
- [6] FENG J C, CAI Z L, ZHANG X P, et al. The effects of oral *Rehmannia glutinosa* polysaccharide administration on immune responses, antioxidant activity and resistance against *Aeromonas hydrophila* in the common carp, *Cyprinus carpio* L [J]. *Frontiers in Immunology*, 2020, 11: 904.
- [7] AWAD E, AWAAD A. Role of medicinal plants on growth performance and immune status in fish [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2017, 67: 40-54.
- [8] 谢永生, 李勇莉, 杨全中, 等. 怀地黄内生真菌 HR-1 产生的红色素稳定性及抗菌活性研究[J]. 河南农业大学学报, 2019, 53(5): 777-782.  
XIE Y S, LI Y L, YANG Q Z, et al. Study on the stability and antibacterial activity of red pigment produced by an endophytic fungus HR-1 from *Rehmannia glutinosa* [J]. *Journal of Henan Agricultural University*, 2019, 53(5): 777-782.
- [9] WANG J L, MENG X L, LU R H, et al. Effects of *Rehmannia glutinosa* on growth performance, immunological parameters and disease resistance to *Aeromonas hydrophila* in common carp (*Cyprinus carpio* L.) [J]. *Aquaculture*, 2015, 435: 293-300.
- [10] NOGUCHI H, PARK J, TAKAGI T. MetaGene: prokaryotic gene finding from environmental genome shotgun sequences [J]. *Nucleic Acids Research*, 2006, 34(19): 5623-5630.
- [11] HAI N V. The use of medicinal plants as immunostimulants in aquaculture; a review [J]. *Aquaculture*, 2015, 446: 88-96.
- [12] LI T T, LONG M, GATESOUE F J, et al. Comparative analysis of the intestinal bacterial communities in different species of carp by pyrosequencing [J]. *Microbial Ecology*, 2015, 69(1): 25-36.
- [13] ZHANG J, XIONG F, WANG G T, et al. The influence of diet on the grass carp intestinal microbiota and bile acids [J]. *Aquaculture Research*, 2017, 48(9): 4934-4944.
- [14] DERRIEN M, BELZER C, DE VOS W M. *Akkermansia muciniphila* and its role in regulating host functions [J]. *Microbial Pathogenesis*, 2017, 106: 171-181.
- [15] WEN C Q, XUE M, LIANG H F, et al. Beneficial effects of *Ectothiorhodospira shaposhnikovii* WF on larval cultivation of *Litopenaeus vannamei* [J]. *Beneficial Microbes*, 2015, 6(4): 525-533.
- [16] BLACHER E, LEVY M, TATIROVSKY E, et al. Microbiome-modulated metabolites at the interface of host immunity [J]. *Journal of Immunology*, 2017, 198(2): 572-580.
- [17] WAMPACH L, HEINTZ-BUSCHART A, HOGAN A, et al. Colonization and succession within the human gut microbiome by archaea, bacteria, and microeukaryotes during the first year of life [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8: 738.

## Metagenomic insights into the effects of dietary *Rehmannia glutinosa* on the intestinal microbial composition of common carp

Chang Xulu, Kang Meiru, Feng Junchang, Zhang Jianxin

(College of Fisheries; Engineering Technology Research Center of Henan Province for Aquatic Animal Cultivation, Henan Normal University, Xinxiang 453007, China)

**Abstract:** The common carp (*Cyprinus carpio* L.) is the most widely farmed freshwater fish in China. However, the intensive rearing of this fish has generated a potential environmental stress, which leads to a high susceptibility of the fish to various disease agents. Therefore, various infectious diseases erupt and lead to huge economic losses in aquaculture. Previous studies have indicated that dietary supplementation with *Rehmannia glutinosa* (RG) preparations has the potential to promote growth performance, regulate immune response and prevent pathogenic infection in common carp. In this study, metagenomics approach was used to investigate the effects of 4% RG on the microbial community composition in the gut of common carp. The dominated microorganisms in the gut of common carp were Fusobacteria, Proteobacteria, Bacteroidetes, Euryarchaeota, Thaumarchaeota, *Siphoviridae*, *Myoviridae*, *Podoviridae*, Ascomycota and Basidiomycota. Compared with the common carp fed a control diet, the common carp fed an RG-supplemented diet contained a higher content of probiotics, short-chain fatty acid

(SCFA)-producing bacteria and methanogenic archaea, but contained a lower content of fish viruses. The results of the study showed that diet with RG could improve intestinal microbes of common carp, thereby promoting the health of common carp. The results of this study lay the foundation for the release of the mechanism of RG improve the immunity of common carp.

**Keywords:** *Rehmannia glutinosa*; common carp; intestinal microorganisms; metagenomic

[责任编辑 刘洋 杨浦]

(上接第 109 页)

## Diagnosis of ecological security of cultivated land in Henan Province based on PSR model

Deng Tunan<sup>1</sup>, Lu Chunyang<sup>2,3</sup>

- (1. Faculty of Innovation and Design, City University of Macau, Macao 999078, China; 2. School of Surveying and Urban Spatial Information, Henan University of Urban Construction, Pingdingshan 467036, China;  
3. Faculty of Geomatics, East China Institute of Technology, Nanchang 330013, China)

**Abstract:** Cultivated land security is a major issue related to regional and national food security, economic development and social stability. This paper uses the analytic hierarchy process and the PSR (pressure-state-response) model to construct a cultivated land ecological security evaluation index system, and comprehensively analyzes the cultivated land security and regional differences in Henan Province from 2008 to 2018. The results showed that during the study period, the ecological security of cultivated land in Henan Province was generally poor, and the cultivated land resources of 10 prefecture-level cities were still in a critically safe state. At the same time, the index weight value reflects that the natural population growth rate, urbanization rate and cultivated land reclamation rate are the main factors of the comprehensive security index of cultivated land. In the future, it is necessary to implement differentiated cultivated land protection policies, combining with cultivated land rotation and cultivated land pilots, and explore the establishment of a scientific and effective cultivated land ecological protection compensation mechanism.

**Keywords:** cultivated land; ecological security; PSR model; diagnosis; Henan Province

[责任编辑 赵晓华 陈留院]

附表 I 饲料配方和营养水平

Attached Tab. I Composition and nutrient of the experimental diets

分类	项目	质量分数/%
原料	鱼粉	20
	豆粕	20
	面粉	20
	酪蛋白	19
	棉籽	5
	豆油	3
	羧甲基纤维素钠	10
	维生素	0.1
	矿物质	1
	盐	0.4
	磷酸二氢钙	1.5
营养水平	粗蛋白	34.6
	粗脂肪	7.2
	粗纤维	8.6

注:每千克饲料中各种维生素含量:维生素 A 22.5 mg;维生素 D 5 mg;维生素 E 4 500 mg;维生素 K<sub>3</sub> 220 mg;维生素 B<sub>1</sub> 320 mg;维生素 B<sub>2</sub> 1 090 mg;维生素 B<sub>3</sub> 2 000 mg;维生素 B<sub>6</sub> 500 mg;维生素 B<sub>12</sub> 1 090 mg;维生素 C 5 000 mg;泛酸 1 000 mg;叶酸 165 mg;每千克饲料中矿物质的含量:铜 1 000 mg;铁 18 000 mg;锰 2 500 mg;锌 3 500 mg;硒 16 mg.

附表 II 组装结果统计

Attached Tab. II Satatistic of assembly results

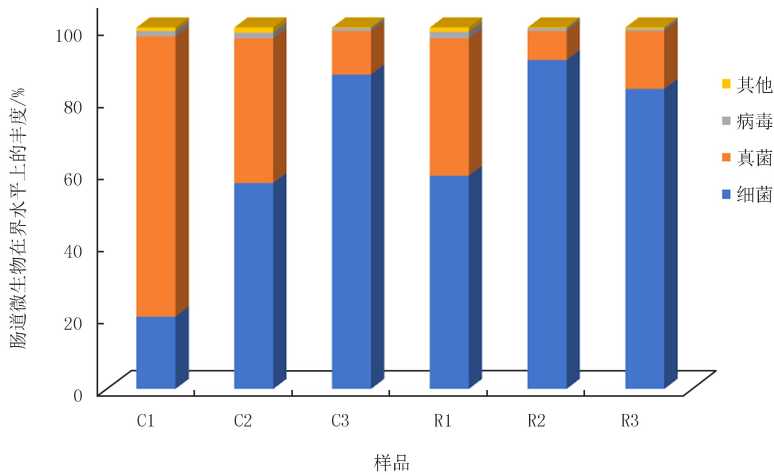
样品	组装序列	碱基数	样品	组装序列	碱基数
C1	1 150 464	855 501 642	R1	1 091 219	737 532 705
C2	1 134 713	832 240 822	R2	1 114 368	718 305 542
C3	1 095 148	748 427 153	R3	1 147 435	796 132 284



附表Ⅲ 两组间差异性微生物种类

Attached Tab. Ⅲ Differences in microbial species between the two groups

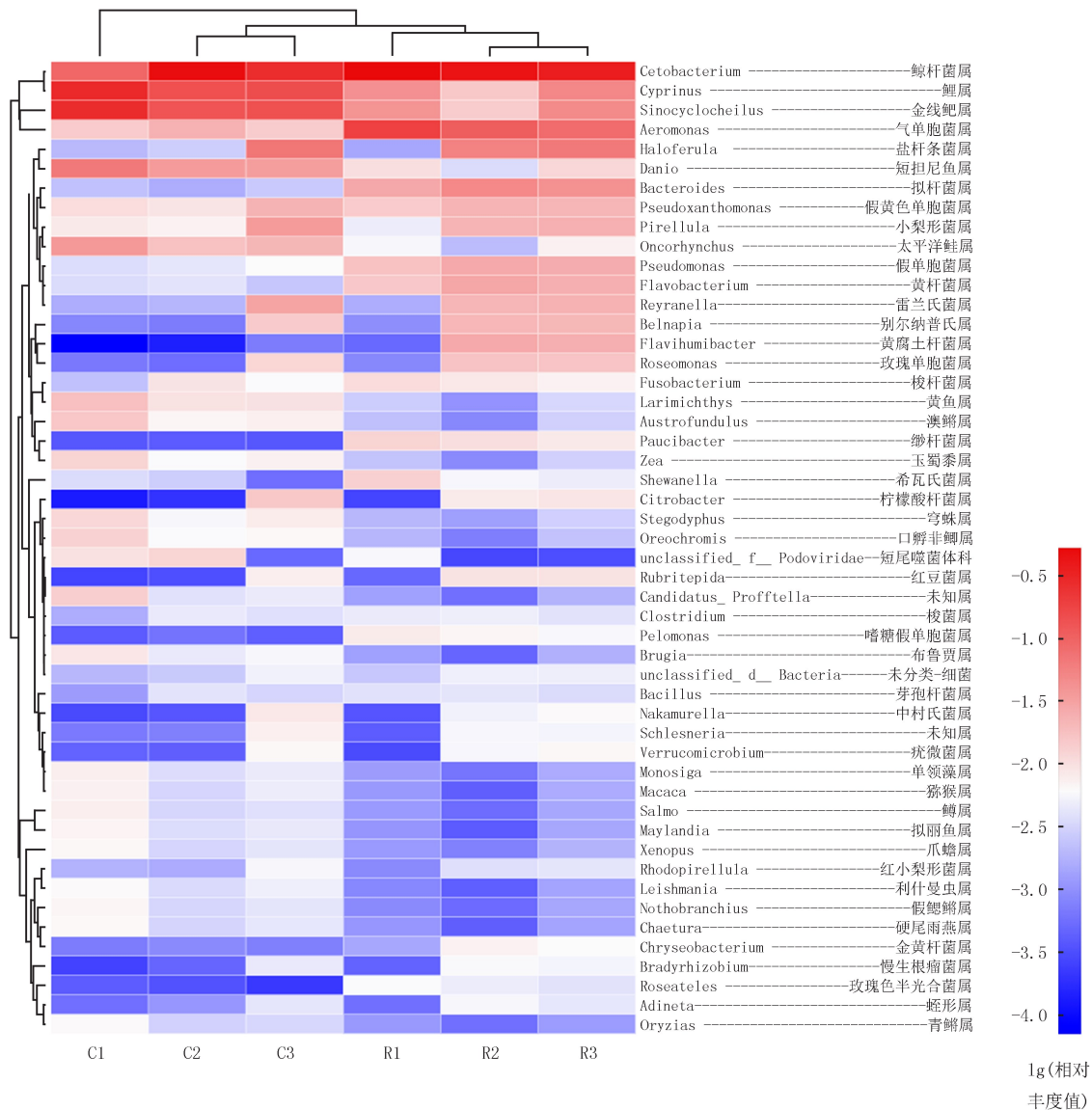
物种名	对照组均值/%	对照组标准差/%	地黄组均值/%	地黄组标准差/%	P 值
外硫红螺菌 <i>Ectothiorhodospira</i>	0.000 654 7	0.000 288	0.003 007	0.000 506	0.002 19
阿克曼菌 <i>Akkermansia</i>	0.006 274	0.002 396	0.092 57	0.009 372	0.000 10
红假单胞菌 <i>Rhodopseudomonas</i>	0.001 849	0.001 77	0.044 42	0.004 433	0.000 10
粪杆菌 <i>Faecalibacterium</i>	0.004 722	0.007 562	0.013 54	0.011 4	0.326 70
梭菌 <i>Clostridium</i>	0.389 6	0.180 7	0.408 2	0.035 07	0.869 50
拟杆菌 <i>Bacteroides</i>	1.284	1.761	3.235	2.54	0.335 70
短尾噬菌体 <i>Podoviridae</i>	1.916	0.846	0.028 25	0.015 46	0.018 09
红酵母 <i>Rhodotorula</i>	0.000 312 1	0.000 540 5	0.001 24	0.000 484 8	0.091 23
酿酒酵母 <i>Saccharomyces</i>	0	0	0.000 047 78	0.000 082 76	0.373 90
甲烷微 <i>Methanomicrobia</i>	0.014 04	0.005 842	0.025 37	0.003 506	0.044 93
甲烷球菌 <i>Methanococci</i>	0.013 62	0.006 249	0.009 526	0.001 439	0.330 90
甲烷杆 <i>Methanobacteria</i>	0.006 209	0.002 328	0.009 634	0.000 108 5	0.063 59



附图I 鲤鱼肠道微生物的组成与丰度

Attached Fig.I Composition and relative abundance of the microbial community in the samples at the domain level

Heatmap analysis 热图分析



附图 II 丰度前50的菌属系统聚类热图

Attached Fig. II Heatmap of the 50 most abundant genera detected from the two groups