

根田鼠基础代谢率对单宁酸反应的格局^{*}

李俊年^{1,2} 刘季科² 陶双伦¹

(1 中国科学院西北高原生物研究所, 青海, 西宁, 81000)

(2 浙江大学生命科学学院, 浙江, 杭州, 310029)

摘要: 采用 Kalabukhov-skvortsov 封闭式流体压力计测定根田鼠基础代谢率对食物单宁酸的反应格局。在食物蛋白质为 10% 条件下, 摄入 3% 单宁酸食物的根田鼠在第 5 天、第 10 天和 20 天的基础代谢率分别较第 0 天增高 10.94%、23.82% 及 23.54%; 摄入 6% 单宁酸食物的根田鼠在第 5 天、第 10 天和第 20 天的基础代谢率分别较第 0 天增高 18.67%、29.07% 及 27.71%。当食物蛋白质为 20% 时, 摄入 3% 单宁酸食物的根田鼠在第 5 天、第 10 天和 20 天的基础代谢率分别较第 0 天增高 6.67%、10.63% 及 11.21%; 摄入 6% 单宁酸食物的根田鼠在第 5 天、第 10 天和 20 天的基础代谢率分别较第 0 天增高 9.01%、14.50% 及 16.09%。说明, 食物单宁酸能显著地增加根田鼠的基础代谢率, 充分检验了单宁酸使植食性小哺乳动物基础代谢率增高的假设。

关键词: 根田鼠; 基础代谢率; 单宁酸; 蛋白质

中图分类号: Q 142.9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-1050(2001)02-0116-07

在植食性动物与植物长期协同进化过程中, 植物形成一系列的防卫机制, 以抵御植食性动物对植物的采食, 而植食性动物则进化形成相应的适应对策^[1]。许多高等植物含有次生化合物, 以防卫植食性动物对其选择^[2,3]。由于食性泛化的植食性哺乳动物对食物次生化合物负作用的耐受程度不同^[4], 因此, 有关植物次生化合物对食性泛化的植食性哺乳动物食物摄入量 and 消化率作用的模式和效应有所差异^[5~7]。

在一定条件下, 植食性动物将摄入的植物次生化合物限制在引起机体病理或死亡的水平之下^[8], 然而, 即使次生化合物的摄入量在引起动物中毒的水平以下, 亦会影响动物对营养成分的利用, 从而, 使植食性哺乳动物为之付出显著的营养代价 (nutritive cost)^[9,10]。

在长期的进化过程中, 植食性动物为维持其存活和繁殖, 不仅要忍受植物次生化合物对动物食物摄入和消化的负作用, 更要为处理吸收入体内的植物次生化合物支付一定的能量, 致使动物的静止代谢率 (rest metabolic rate, RMR) 或基础代谢率 (basic metabolic rate, BMR) 升高^[11]。因此, 从营养生态学的角度探讨动物处理吸收入体内的植物次生化合物所付出的能量代价具有重要的理论意义。

根田鼠 (*Microtus oeconomus*) 为食性泛化的植食性小哺乳动物, 栖息于低温、低

* 基金项目: 中国科学院“九五”重大项目及特别支持项目 (土壤系统分类 49131020, KZ951-A1-204, KZ951-A1-301, KZ95T-04, KZ95T-06); 中国生态系统网络研究监测资助项目

作者简介: 李俊年 (1964-), 男, 博士, 主要从事动物营养生态学和进化生态学研究。

收稿日期: 2000-06-28; 修回日期: 2000-12-22

氧、辐射强、昼夜温差大、植物生长期短的高寒环境, 其所食的植物项目含有多种次生化合物。具有独特的能学特征^[12~14]。如根田鼠的夏季 BMR 为期望值的 235 %^[12]。迄今为止, 尚无有关根田鼠 BMR 对植物次生化合物反应模式的报道。

本研究旨在检验单宁酸能引起植食性小哺乳动物 BMR 增加的假设, 进而, 探讨植物次生化合物对植食性小哺乳动物能量学代谢特征的作用机制。

1 材料和方法

1.1 实验动物

实验动物为中国科学院西北高原生物研究所动物生态学实验室饲养的根田鼠, 其初始种群 1998 年 5 月捕获于中国科学院海北高寒草甸生态系统定位站地区。将捕获的健康个体按年龄配对, 置于 TPX-CP-4 (464 cm × 314 cm × 200 cm) 聚丙烯不锈钢网罩的塑料笼, 笼内铺垫锯末, 以脱脂棉作为覆盖物, 供给充足食物和饮水。饲料为繁育型兔颗粒饲料 (中国北京 - 澳大利亚兔颗粒饲料公司), 其主要成分为, 粗蛋白 18 %、粗脂肪 4.1 %、粗纤维 10 % ~ 15 %、灰分 9 %, 附加一定数量的胡萝卜。室温控制在 20 ± 1 °C, 光照周期为 14L : 10D^[14]。

1.2 试验食物

通常, 植物组织的单宁酸含量为 1 % ~ 5 %^[15]。因此, 将实验食物中的单宁酸浓度设置为 0 %、3 % 和 6 %。为测定单宁酸与蛋白质的相互作用, 将食物中蛋白质的浓度设置为 10 % 和 20 %。实验食物的能量、纤维素等营养成分控制在同一水平, 以消除其它营养因子对实验个体 BMR 的影响。

将粉碎的食物与单宁酸充分混合, 应用颗粒饲料机制成直径为 4 mm, 长 2 ~ 3 cm 的颗粒状饲料, 将颗粒饲料机的温度控制在 40 °C 左右, 以防单宁酸变性, 制成的颗粒饲料置于干燥阴凉处。

1.3 代谢测定

将年龄、体重相近的 30 只雌性实验个体随机分为 6 组, 每组 5 只, 分配到 1 ~ 6 处理食物 (表 1), 在第 0 天, 第 5 天, 第 10 天, 第 20 天分别测定实验个体的 BMR。

表 1 实验食物成分与营养价值

Table 1 The ingredients and nutritive value of experiment diets

成分 (%) Ingredients (%)	食物 1 Food 1	食物 2 Food 2	食物 3 Food 3	食物 4 Food 4	食物 5 Food 5	食物 6 Food 6
玉米 Corn	39.0	36.0	32.0	11.0	0	0
麸皮 Wheat bran	0	0	0	2.0	0	0
豆饼 Soybean	0	0.5	10.0	26.0	29.0	29.0
草粉 Hay powder	60.5	60.0	60.0	60.5	58.5	55.5
矿物质 Minerals	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
单宁酸 Tannic acid	0	3	6	0	3	6
淀粉 Starch	0	0	0	0	9	9
CP	10	10	10	20	20	20
DE (kJ/g)	2.19	2.20	2.15	2.14	2.16	2.18
CF	18.19	18.20	18.6	18.7	19	18.9

注 Note: CP: 粗蛋白 Crude protein; CF: 粗纤维 Crude fiber; DE: 消化能 Digestible energy

采用 Kalabukhov-skvortsov 的封闭式流体压力呼吸计测定实验个体的气体代谢, 由水浴锅控制温度 (± 1), 测定时, 以 KOH 吸收实验个体产生的 CO_2 , 以干燥硅胶吸收水分, 将动物禁食 4h, 测定静止时的代谢率, 实验前与实验后分别测定实验个体体重 ($\pm 0.1\text{g}$) 及肛温 (± 1)。在呼吸室适应 40 min, 连续测定 30 ~ 40 min, 每隔 5 min 记数 1 次, 测定 BMR 的呼吸室温度为 30 ^[16,17]。

1.4 统计分析

不同处理数据的差异显著性检验以 systat 软件, 采用双因素 ANOVA 测定单宁酸和蛋白质对根田鼠 BMR 的独立作用及其交互作用。

2 结果

食物单宁酸和蛋白质对雌性根田鼠 BMR 的双因素 ANOVA 结果 (表 2) 表明, 在第 5 天、第 10 天及第 20 天, 单宁酸及蛋白质对根田鼠 BMR 的独立作用极为显著 ($P < 0.001$), 二者的交互作用亦极显著 ($P < 0.01$)。

表 2 单宁酸和蛋白质对雌性根田鼠 BMR 的双因素 ANOVA

Table 2 Two-way ANOVAs for the effects of tannic acid and protein on BMR in root voles

来源 Source	SS	SM	df	F	P
第 0 天 Day 0					
单宁酸 Tannic acid	0.0005	0.0002	2	0.023	0.9774
蛋白质 Protein	0.0000	0.0000	1	0.003	0.9604
交互作用 Interaction	0.0002	0.0001	2	0.012	0.9883
残差 Error	0.2420	0.0101			
总和 Total	0.2427	0.0104	29		
第 5 天 Day 5					
单宁酸 Tannic acid	1.2211	0.6106	2	45.608	0.0000
蛋白质 Protein	0.2232	0.2232	1	16.676	0.0004
交互作用 Interaction	0.1333	0.0667	2	4.981	0.0155
残差 Error	0.3213	0.0134	24		
总和 Total	1.8989	0.9139	29		
第 10 天 Day10					
单宁酸 Tannic acid	3.2280	1.6140	2	199.731	0.0000
蛋白质 Protein	0.0228	0.8228	1	101.822	0.0000
交互作用 Interaction	0.4153	0.2076	2	25.697	0.0000
残差 Error	0.1939	0.0081	24		
总和 Total	4.6600	2.6525	29		
第 20 天 Day 20					
单宁酸 Tannic acid	3.4866	1.7433	2	101.95	0.0000
蛋白质 Protein	0.6607	0.6607	1	38.642	0.0000
交互作用 Interaction	0.3385	0.1692	2	9.898	0.0000
残差 Error	0.4103	0.0171	24		
总和 Total	4.8961	2.5903	29		

当食物蛋白质含量为 10% 时, 饲喂含 3% 单宁酸食物的根田鼠, 第 5 天 BMR 较第 0 天高 10.94%, 第 10 天与第 20 天的 BMR 之间差异不显著, 但较第 0 天分别升高

23.82 % 和 23.54 % , 而饲喂含 6 % 单宁酸食物的根田鼠 , 第 5 天的 BMR 较第 0 天增高 18.68 % , 第 10 天和第 20 天的差异不显著 ($P > 0.05$) , 较第 0 天分别增高 29.07 % 和 27.71 % (表 3) 。

表 3 不同食物条件下根田鼠的 BMR ($M \pm 1SE$) ($ml\ O_2 \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$)

Table 3 BMR ($M \pm 1SE$) ($mlO_2 \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$) of root voles fed different diets

样本数 Sample size	代谢体重 (g) MB (g)	第 0 天 Day 0	第 5 天 Day 5	第 10 天 Day 10	第 20 天 Day 20	
10 % 蛋白质 10 % Protein						
对照组 Control	5	10.53 \pm 2.03	3.610 \pm 0.326	3.618 \pm 0.501	3.620 \pm 0.447	3.602 \pm 0.544
3 % 单宁酸 3 % Tannic acid	5	11.22 \pm 1.98	3.610 \pm 0.622	3.988 \pm 0.553	4.455 \pm 0.415	4.616 \pm 0.335
6 % 单宁酸 6 % Tannic acid	5	10.88 \pm 2.55	3.598 \pm 0.572	4.270 \pm 0.714	4.570 \pm 0.655	4.681 \pm 0.345
20 % 蛋白质 20 % Protein						
对照组 Control	5	10.73 \pm 2.65	3.602 \pm 0.467	3.604 \pm 0.536	3.621 \pm 0.364	3.604 \pm 0.458
3 % 单宁酸 3 % Tannic acid	5	11.63 \pm 2.46	3.595 \pm 0.569	3.835 \pm 0.478	3.977 \pm 0.521	3.988 \pm 0.601
6 % 单宁酸 6 % Tannic acid	5	11.25 \pm 1.96	3.604 \pm 0.633	3.930 \pm 0.617	4.127 \pm 0.647	4.184 \pm 0.588

注 Note: MB: metabolic body mass

在蛋白质含量为 20 % 的食物条件下 , 饲喂 3 % 单宁酸食物的根田鼠 , 第 5 天 BMR 较第 0 天高 6.67 % , 第 10 天和第 20 天之间差异不显著 ($P > 0.05$) , 且较第 0 天分别增高 10.63 % 和 11.21 % 。饲喂含 6 % 单宁酸食物的根田鼠 , 第 5 天较第 0 天高 9.05 % , 第 10 天及第 20 天分别较第 0 天高 14.50 % 和 16.09 % 。

3 讨论

被动物吸收的酚类化合物首先通过氧化、还原和水解等转化为水溶性的极性集团^[2,18,19] , 再与葡萄糖醛酸、氨基酸等结合形成络合物排出体外。第一过程直接需要能量 , 第二过程可增加代谢物通过葡萄糖醛酸循环的流动 , 故必须合成三磷酸腺苷酸产物 , 从而 , 增加机体的能量代谢价^[20~22] 。

本项研究结果表明 , 单宁酸能增加根田鼠的 BMR。处理组个体基础代谢率的升高并非操作原因所致 , 因为在不同时间 , 对照组个体的 BMR 并无显著变化 (表 2) 。当食物蛋白质为 10 % 时 , 摄入 3 % 单宁酸食物的根田鼠 , 第 5 天的 BMR 较第 0 天高 , 而摄入 6 % 单宁酸食物的根田鼠 , 第 5 天的 BMR 较第 0 天高。当食物蛋白质为 20 % 时 , 随食物单宁酸含量的升高 , 根田鼠的 BMR 变化趋势与摄入食物蛋白质含量为 10 % 者的变化趋势相近 , 表明食物单宁酸浓度的增加 , 能引起根田鼠 BMR 增高。由于动物机体通过降解、络合及排泄等途径 , 降低单宁酸对机体的负作用 , 因而 , 这些解毒过程增强动物的肝脏、肾脏等解毒器官的代谢活动 , 引起机体 BMR 增加。单宁酸对根田鼠

BMR 的影响还依食物蛋白质的含量而异。在食物蛋白质含量为 10 % 时, 6 % 的单宁酸使根田鼠 BMR 的增加幅度变大。如表 2 所示, 根田鼠的 BMR 随着其摄入单宁酸时间的延长而增高。单宁酸可降低动物的食物摄入量和消化率^[9, 23], 使植食性哺乳动物自食物获得的能量下降, 而动物为处理吸收入体内的单宁酸, 则从尿中排出大量的葡萄糖醛酸, 降低动物的能量利用率, 同时, 随机体解毒器官活动加强, 致使动物的能量呈负平衡状态, 动物只有降解和氧化体内储存的脂肪, 满足其对能量的需求, 而动物对贮存脂肪的降解和氧化, 又进一步使机体的 BMR 增高。

此与 Thomas 用含 6 % 的没食子酸食物饲喂草甸田鼠 (*Microtus pennsylvanicus*), 使其 BMR 增高 13.6 % ~ 22.6 % 的结果相近^[24]。而 Michael 等^[25]采用含 4 % 单宁酸的食物饲喂草原田鼠 (*Microtus ochrogaster*), 测定哺乳期草原田鼠和幼仔在第 1 天和第 2 天时的 RMR, 发现处理组者与对照组者无显著差异。由于 Thomas^[24]未设置饲喂草原田鼠食物的蛋白质含量, 而单宁酸可与食物中的蛋白质结合形成络合物, 从而减少动物对单宁酸的吸收量^[15, 23]。另外, Thomas^[24]和本文实验都证明, 酚类化合物使草甸田鼠和根田鼠 BMR 增高的作用随摄入酚类化合物时间的延长而加强。而 Micheal^[25]则仅测定草原田鼠摄入 4 % 单宁酸第 1 天和第 2 天的 RMR, 故其结果尚不可靠。

在自然条件下, 若田鼠类动物具有有效的解毒系统, 那么, 它们对植物次生化合物作用的反应模式将较为相似。当草原田鼠食物含有栎皮酮时, 其尿液中的尿酸高出对照组 21 ~ 53 倍^[4], 当卷尾袋貂 (*Pseudocheirus peregrinus*) 摄入含酚类或萜类化合物的食物时, 其尿中葡萄糖醛酸和氨态氮均比对照组高^[26]。由于酚类和萜类化合物与蛋白质及葡萄糖等营养成分形成络合物, 可从动物尿液排泄, 因之, 可使其含量降低。这种解毒方式意味着食物中的大部分能量, 不能被动物利用。因此, 尽管田鼠类和其他植食性动物能够耐受食物中次生化合物的负作用, 但未表现出明显的生理应激特征, 但其解毒的能量代价 (energy cost) 更大。

植物次生化合物还能以其他方式影响植食性动物的 BMR^[6]。对草原田鼠及实验小鼠饲喂次生化合物, 均可使其肝脏及肾脏等组织增大和受损。肝脏和肾脏是动物主要的解毒场所, 此类组织的体积增大、受损及修复可显著地增大动物的 BMR。

上述结果充分地检验了本文提出的单宁酸等显著地增加植食性哺乳动物 BMR 的假设, 显示出单宁酸对植食性哺乳动物能学特征的作用随单宁酸摄入时间的延长而加强。

参考文献:

- [1] Chung - Maccoubrey, Hagerman A E, Kirkpatrick R L. Effects of tannins on digestion and detoxification activity in gray squirrel [J]. *Phys Zool*, 1997, 70: 270 - 277.
- [2] Freeland W J, Janzen D H. Strategy in herbivory by mammals: the role of plant secondary compounds [J]. *Am Nat*, 1974, 108: 269 - 289.
- [3] Rhoades D F. Offensive defensive interactions between herbivores and plants: their relevance in herbivore population dynamics and ecological theory [J]. *Am Nat*, 1985, 125: 205 - 238.
- [4] Lindroth R L, Batzli G O. Detoxification of some natural occurring phenolics by prairie voles: a rapid assay of glucuronidation metabolism. *Biochem [J]. Syst Ecol*, 1983, 11: 405 - 409.
- [5] Lindroth R L, Batzli G O, Avvidsen S I. *Lepedeza* phenolics and *Penstemon* alkaloids effects on digestion efficiencies

- and growth of voles [J]. *J Chem Ecol*, 1986, 12: 713 - 728.
- [6] Bergeron J M, Jodoin L, Jean Y. Pathology voles fed with plant extracts [J]. *J Mamm*, 68: 73 - 79.
- [7] Jean Y, Bergeron J M. Can voles be poisoned by secondary metabolites of commonly eaten foods [J]? *Can J Zool*, 1986, 64: 158 - 162.
- [8] Karasov W H. Nutritional bottleneck in a herbivore, the desert wood rat (*Neotoma lepida*) [J]. *Phys Zool*, 1989, 1351 - 1382.
- [9] Glick Z, Joslyn M A. Food intake depression and other metabolic effects of tannic acid in the rat [J]. *J Nutr*, 1970a, 509 - 515.
- [10] Glick Z, Joslyn M A. Effects of tannic acid and related compounds on the absorption and utilization of proteins in the rat [J]. *J Nutr*, 1970b, 516 - 520.
- [11] Robbins C T, Hagerman A E, Austin P J, Mcarthar, Hanley T A. Variation in mammalian physiological responses to a condensed tannin and its ecological implications [J]. *J Mamm*, 1991, 72, 480 - 486.
- [12] 王祖望, 曾缙祥, 韩永才. 高原鼠兔和中华鼯鼠气体代谢的研究 [J]. *动物学报*, 225: 75 - 85.
- [13] 贾西西, 孙儒泳. 根田鼠静止代谢率特征的研究 [J]. *动物学报*, 1986, 32: 280 - 287.
- [14] 梁杰荣, 曾缙祥, 王祖望, 韩永才. 根田鼠生长和发育的研究 [J]. *高原生物学集刊*, 1982, 195 - 208.
- [15] Feeny P. Plant appearance and chemical defense [J]. *Rec Adv Phytochem*, 1976, 10: 1 - 40.
- [16] 王祖望, 孙儒泳. 陆地生态系统次级生产力的研究 (): 呼吸量及其测定方法 [J]. *动物学杂志*, 1982, (3): 59 - 63.
- [17] Gorecki A. Klabukhovskvorstsov respirometer and resting metabolic rate measurement [A]. In: Grondzinsky W eds. IBP Handbook 24 (methods for ecological bio - energetic) [C]. Blookwell Scientific press, Oxford. 1975. 309 - 313.
- [18] Scheline R R. Handbook of mammalian metabolism of plant compounds [M]. CRC. Boca Raton. Fla. 1991.
- [19] Eberhard I H, MacNamara J, Pearse R J, Southwell I A. Ingestion and excretion of Eucalyptus punctata and its essential oil by the koala (*Pbscolarctos cinernus*) [J]. *Aust J Zool*, 1975, 23: 169 - 179.
- [20] Cork S J, Hume I D, Dawson I J. Digestion and metabolism of natural foliar diet (*Eucalyptus punctata*) by an arboreal marsupial, the koala (*Pbscolarctos cinernus*) [J]. *J Comp Phys*, 1983, 153: 181 - 190.
- [21] Foley W S, Mclean S, Cork S J. Consequences of biotransformation of plant secondary metabolites on acid-base metabolism in mammals. a final common pathway [J]. *J Chem Ecol*, 1995, 21: 721 - 743.
- [22] Williams R T. Detoxification mechanisms [M]. New York: Wiley, 1959.
- [23] Lindroth R L, Batzli G O. Plant phenolics as chemical defenses effects of natural phenolics on survival and growth of prairie voles (*Microtus ochrogaster*) [J]. *J Chem Ecol*, 1984, 10: 229 - 244.
- [24] Thomas D W, Samson C, Bergeron J M. Metabolic costs associated with the ingestion of plant phenolics by *Microtus pennsylvanicus* [J]. *J Mamm*, 1988, 69: 512 - 515.
- [25] Michael W M, Christopher R. The effect of chronic acid on intake of prairie vole (*Microtus ochrogaster*) reproduction [J]. *J Chem Ecol*, 1993, 19: 1577 - 158
- [26] Foley W J. Nitrogen and retention and acid-base status in the common ringtail possum: evidence of the effects of allelochemicals [J]. *Phys Zool*, 1992, 65: 403 - 427.

RESPONSIVE PATTERNS OF ROOT VOLES TO TANNIC ACID

LI Junnian^{1,2} LIU Jike² TAO Shuanglun¹

(1 *Norwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Science, Qinghai, Xining, 810001*)

(2 *College of life science Zhejiang University, Zhejiang, Hangzhou, 310029*)

Abstract : BMR of the root voles fed 3 % tannic acid diet at day 5 , day 10 and day 20 were higher than that of the voles at day 0 by 10.94 % , 23.82 % and 23.54 % , respectively ; and BMR of root voles fed 6 % tannic acid diet at day 5 , day 10 and day 20 were higher than that of the voles at day 0 by 18.67 % , 29.07 % and 27.71 % on the 10 % level protein diet , respectively. BMR of the root voles fed 3 % tannic acid diet at day 5 , day 10 and day 20 were higher than that of the voles at day 0 by 6.67 % , 10.63 % and 11.214 % , respectively ; and BMR of root voles fed 6 % tannic acid diet at day 5 , day 10 and day 20 were higher than that of the voles at day 0 by 9.01 % , 14.50 % and 16.09 % on the 10 % level protein diet , respectively. These primary results indicated that dietary tannic acid could significantly increased BMR of root voles (*Microtus oeconomus*) , and strongly supported the hypotheses that tannic acid could significantly increased BMR of small mammalian herbivores.

Key words : Root voles (*Microtus oeconomus*) ; Tannic acid ; BMR ; Protein