

温度对白条锦蛇代谢率和不同组织 ATP 酶活性的影响

赵伟民¹, 侯天德², 程昉²

(1. 青海大学生物科学系, 西宁 810016; 2. 西北师范大学生命科学院, 兰州 730070)

摘要:测定了不同温度条件下白条锦蛇 *Elaphe dione* 的代谢率以及骨骼肌、心肌和脑 3 种组织 ATP 酶的活性。结果表明, 温度从 5℃ 上升到 35℃, 白条锦蛇代谢率随着温度的升高逐渐升高; 但不同组织 ATP 酶活性在温度从 28℃ 上升到 35℃ 均逐渐下降。ATP 酶活性的最适温度为 28℃。ATP 酶最适温度与白条锦蛇所喜好的温度有很大的相关性。

关键词: 白条锦蛇; 代谢率; ATP 酶; 温度

中图分类号: Q959.6; Q493 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-7083(2010)06-0971-04

Effect of Temperature on Metabolic Rate and ATPase Activity of Different Tissues in *Elaphe dione*

ZHAO Wei-min¹, HOU Tian-de², CHENG Fang²

(1. Department of Biological Science, Qinghai University, Xining 810016, China;

2. College of Life Science, Northwest Normal University, Lanzhou 730070, China)

Abstract: The metabolic rate and ATPase activity of *Elaphe dione* at different temperatures were measured. The results showed that the metabolic rate of *E. dione* gradually increased with the increase temperature from 5℃ to 35℃, but the ATPase activity of different tissues decreased with an increase in temperature from 28℃ to 35℃. The optimum temperature of the ATPase was 28℃, and there was a close correlation between the optimum temperature of ATPase and the temperature preference of *E. dione*.

Key words: *Elaphe dione*; metabolic rate; ATPase; temperature

耗氧量是衡量代谢状况的重要指标, 通过测定动物的耗氧量可间接说明动物的基础代谢率或标准代谢率。因此研究各种环境因子(营养状况、温度等)和内在因子(年龄、生理状况等)对耗氧量的影响, 有利于了解动物代谢活动的变化规律(李永才, 黄溢明, 1984), 是动物生理学研究的主要内容。

Na⁺K⁺-ATP 酶和 Ca²⁺-ATP 酶对动物渗透压的调节、细胞内外离子平衡、膜兴奋传导、物质运输及能量代谢等方面起着重要作用(乐志培, 1997)。有关爬行类在代谢率和 ATP 酶这两方面的研究国外始于 20 世纪 60 年代(Dawson, 1963; Licht, 1965), 国内则始于 20 世纪 90 年代(李仁德, 刘迺发, 1992、1994), 但有关蛇类在这方面的研究国内的报道还很少。本研究就白条锦蛇 *Elaphe dione* 代谢率和温度的关系、ATP 酶和温度的关系进行了研究, 旨在了解白条锦蛇对环境温度变化的生理特点以及生化适应性。

1 实验动物

实验所用白条锦蛇捕获于甘肃省兰州市野外, 平均体重 96.955 g ± 15.212 g, 平均体长 0.728 m ± 0.165 m。

2 实验方法

2.1 代谢率的测定

代谢率(Metabolic rate)采用封闭式流体压力呼吸计测定, 测定的温度范围为 5~35℃, 每隔 5℃ 共选择 7 个测定温度, 恒温光照培养箱控温(±0.9℃)。呼吸室容积为 2.5 L, 用 KOH 和干燥硅胶吸收呼吸室内的水分和 CO₂。动物在实验前禁食 10 d, 然后放入呼吸室内在测定温度下驯化 2 h, 待动物安静后封闭呼吸计开始测定, 每隔 10 min 记录 1 次测定结果, 共测定 120 min; 动物在实验前后均称体重、测体长和肛温(肛温用半导体点式温度计插入肛门内 1.5 cm 处测定, 读数时间不超过 40 s)。共测

定 6 条个体,测定结果均换算成标准状态(SMR),代谢率最终以 mL_{O₂}/g · h 表示。

2.2 Na⁺K⁺-ATP 酶和 Ca²⁺-ATP 酶活性的测定

2.2.1 制备并测定组织匀浆液中无机磷的含量

用断头处死法杀死动物,迅速取出骨骼肌(1 g)、心脏和脑组织,液氮速冻后保存于超低温冰箱中。按南京建成生物工程研究所 ATP 酶测定试剂盒的测定方法先用 0.7% 的生理盐水按重量体积比 1:9 冰浴匀浆,0~4℃ 下 1500 r/min 离心 10 min,取上清液加生理盐水稀释成 2% 的匀浆,然后用 ATP 酶测定试剂盒测定 5~35℃ 范围内 3 种组织中 Na⁺K⁺-ATP 酶和 Ca²⁺-ATP 酶酶促反应中无机磷含量在 660 nm 处的吸光值。

2.2.2 组织匀浆液中蛋白质含量的测定

用南京建成考马斯亮兰蛋白测定试剂盒测定 3 种组织中 2% 组织匀浆液中蛋白质含量在 595 nm 处的吸光值。

两种 ATP 酶活性以单位时间内单位重量蛋白质催化 ATP 水解所释放无机磷微克分子数表示,即为 μmolPi/mg · min,对各组间酶活性值($\bar{x} \pm s$)的差异性进行 t 检验,以活性最高值作为相对活性 100%。

3 实验结果

3.1 温度对白条锦蛇代谢率的影响

不同温度下白条锦蛇的代谢率见图 1,白条锦蛇标准代谢率 V(mL_{O₂}/g · h)与温度 T(℃)的关系可表示为 $V = 0.0209e^T$ ($R^2 = 0.9823, n = 6$)。白条锦蛇的代谢率与环境温度呈正指数相关,显示外热

动物的典型代谢类型(陈强,1994;牛翠娟等,1998)。

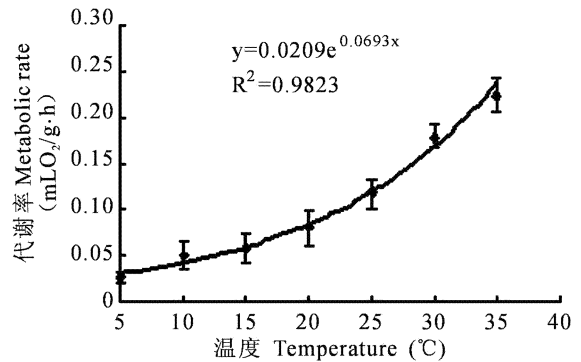


图 1 温度对白条锦蛇标准代谢率的影响
Fig 1 Effect of temperature on standard metabolic rate of *Elaphe diene*

3.2 温度对白条锦蛇 ATP 酶活性的影响

3.2.1 温度对白条锦蛇 Na⁺K⁺-ATP 酶活性的影响

由表 1、图 2 可知,白条锦蛇骨骼肌、心肌和脑 3 种组织 Na⁺K⁺-ATP 酶活性的大小都随反应温度的变化而变化,温度从 5℃ 上升到 25℃ 时,3 种组织酶活性增加不显著;从 25℃ 上升到 28℃ 时,3 种组织酶活性的曲线上升较陡,表明 3 种组织酶活性都显著增加;温度从 28℃ 上升到 35℃ 时,3 种组织酶活性曲线迅速下降,表明温度已超过酶活性的最适温度使酶活性随温度升高迅速下降。3 种组织酶活性百分数上升和下降趋势基本相同,但酶活性大小在不同反应温度下有差别。5℃、10℃、20℃ 和 25℃ 时心肌酶活性高于骨骼肌和脑组织酶活性 ($P < 0.05$),30℃ 时骨骼肌酶活性显著高于心肌酶活性 ($P < 0.05$),35℃ 时骨骼肌和心肌酶活性显著高于脑组织酶活性 ($P < 0.05$)。

表 1 白条锦蛇不同组织 Na⁺K⁺-ATPase 酶活性与温度的关系

Table 1 The relationship between the Na⁺K⁺-ATPase activity of different tissues in *Elaphe diene* and the temperature

温度 (Temp.) (°C)	动物数 N	骨骼肌 (Skeletal muscle)		心肌 (Heart muscle)		脑组织 (Brain tissue)	
		Na ⁺ K ⁺ -ATP 酶活性 (Activity of Na ⁺ K ⁺ -ATPase) (μmolPi/mg · min)	相对活性 (Relative activity) (%)	Na ⁺ K ⁺ -ATP 酶活性 (Activity of Na ⁺ K ⁺ -ATPase) (μmolPi/mg · min)	相对活性 (Relative activity) (%)	Na ⁺ K ⁺ -ATP 酶活性 (Activity of Na ⁺ K ⁺ -ATPase) (μmolPi/mg · min)	相对活性 (Relative activity) (%)
5	6	0.297 ± 0.091	11.81 ^{△△}	0.478 ± 0.138	18.87 ^{△△}	0.216 ± 0.066	9.53 ^{△△}
10	6	0.794 ± 0.032	31.68 ^{△△}	0.87 ± 0.138	34.34 ^{△△}	0.698 ± 0.01	30.81 ^{△△}
15	6	1.418 ± 0.346	56.43 ^{ns}	1.504 ± 0.221	59.38 [△]	1.397 ± 0.379	61.68 ^{ns}
20	6	1.564 ± 0.026	62.31 ^{ns}	1.684 ± 0.009	66.46 ^{ns}	1.526 ± 0.006	67.4 ^{ns}
25	6	1.88 ± 0.491	74.87 [△]	2.073 ± 0.557	81.38 ^{ns}	1.709 ± 0.358	75.45 ^{△△}
28	6	2.511 ± 0.544	100	2.533 ± 0.418	100	2.265 ± 0.233	100
30	6	2.022 ± 0.387	80.53 ^{ns}	1.587 ± 0.605	62.65 ^{△△}	1.578 ± 0.325	69.67 ^{△△}
35	6	0.746 ± 0.186	29.71 ^{△△}	0.869 ± 0.216	34.31 [△]	0.502 ± 0.119	22.21 ^{△△}

注:△示相邻相比差异显著($P < 0.05$),△△示相邻相比差异非常显著($P < 0.01$),ns 示相邻相比差异不显著($P > 0.05$)

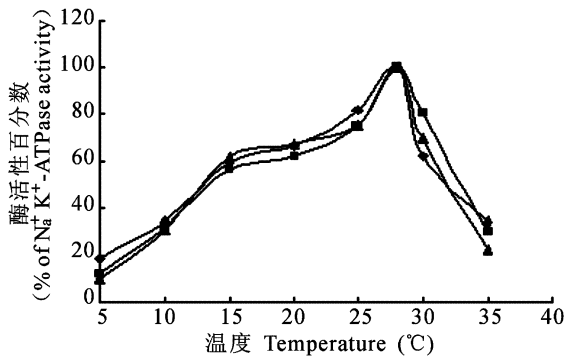


图2 温度对白条锦蛇不同组织 Na⁺K⁺-ATPase 活性的影响
Fig. 2 Influence of temperature on Na⁺K⁺-ATPase activity of different tissues in *Elaphe diene*
■骨骼肌 Skeletal muscle, ▲脑组织 Brain tissue, ◆心肌 Heart muscle

3.2.2 温度对白条锦蛇 Ca²⁺-ATP 酶活性的影响

由表 2、图 3 可知,3 种组织 Ca²⁺-ATP 酶活性随反应温度不同而异,但变化的特点不同。从 5℃ 上升到 28℃,3 种组织酶活性呈上升趋势,从 28℃ 上升到 35℃,酶活性呈下降趋势。不同组织酶活性变化的情况不尽相同,从 5℃ 上升到 15℃,脑组织酶活性上升幅度很小,15℃ 以上大幅上升,28℃ 时达到峰值,

从 28℃ 上升到 35℃ 时,酶活性大幅下降。从 5℃ 上升到 25℃,骨骼肌和心肌酶活性缓慢上升,25℃ 以后迅速上升,到 28℃ 时达到峰值,从 28℃ 继续上升到 35℃ 时,酶活性迅速下降。5℃、10℃、20℃、25℃、28℃、30℃ 和 35℃ 时心肌酶活性显著高于骨骼肌酶活性 ($P < 0.05$),10℃、15℃、20℃、25℃、28℃、30℃ 和 35℃ 时骨骼肌和心肌酶活性高于脑组织酶活性 ($P < 0.05$)。

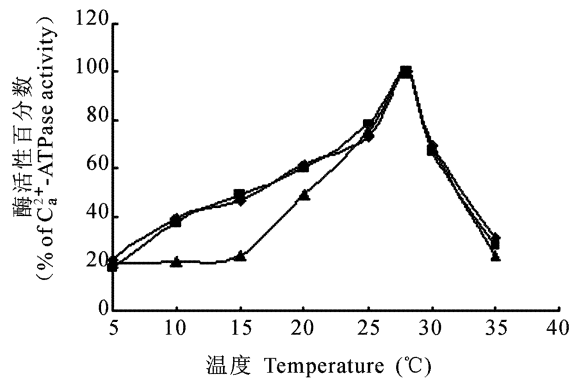


图3 温度对白条锦蛇不同组织 Ca²⁺-ATPase 活性的影响
Fig. 3 Influence of temperature on Ca²⁺-ATPase activity of different tissues in *Elaphe diene*
■骨骼肌 Skeletal muscle, ▲脑组织 Brain tissue, ◆心肌 Heart muscle

表 2 白条锦蛇不同组织 Ca²⁺-ATPase 酶活性与温度的关系
Table 2 The relationship between the Ca²⁺-ATPase activity of different tissues in *Elaphe diene* and the temperature

温度 (Temp.) (°C)	动物数 N	骨骼肌 (Skeletal muscle)		心肌 (Heart muscle)		脑组织 (Brain tissue)	
		Ca ²⁺ -ATP 酶活性 (Activity of Ca ²⁺ -ATPase) (μmolPi/mg·min)	相对活性 (Relative activity) (%)	Ca ²⁺ -ATP 酶活性 (Activity of Ca ²⁺ -ATPase) (μmolPi/mg·min)	相对活性 (Relative activity) (%)	Ca ²⁺ -ATP 酶活性 (Activity of Ca ²⁺ -ATPase) (μmolPi/mg·min)	相对活性 (Relative activity) (%)
5	6	0.55 ± 0.086	17.95 ^{△△}	0.75 ± 0.186	21.46 ^{△△}	0.438 ± 0.138	20.47 ^{ns}
10	6	1.146 ± 0.037	37.44 [△]	1.363 ± 0.064	38.99 ^{ns}	0.453 ± 0.044	21.17 ^{ns}
15	6	1.488 ± 0.397	48.62 [△]	1.624 ± 0.356	46.46 ^{△△}	0.507 ± 0.111	23.74 ^{△△}
20	6	1.827 ± 0.071	59.68 [△]	2.158 ± 0.15	61.74 [△]	1.05 ± 0.125	49.1 ^{△△}
25	6	2.403 ± 0.72	78.5 ^{ns}	2.54 ± 0.478	72.67 ^{△△}	1.611 ± 0.359	75.3 ^{△△}
28	6	3.061 ± 0.705	100	3.495 ± 0.362	100	2.139 ± 0.298	100
30	6	2.05 ± 0.57	66.99 [△]	2.414 ± 0.43	69.06 ^{△△}	1.476 ± 0.283	69.02 ^{△△}
35	6	0.847 ± 0.234	27.66 ^{△△}	1.065 ± 0.108	30.48 ^{△△}	0.508 ± 0.086	23.75 ^{△△}

注:△示相邻相比差异显著 ($P < 0.05$),△△示相邻相比差异非常显著 ($P < 0.01$),ns 示相邻相比差异不显著 ($P > 0.05$)

4 讨论

4.1 代谢率与环境温度

白条锦蛇的代谢率 (Q_{10}) 在 5 ~ 35℃ 的测定范围内基本保持在 1.2 左右,并且在 20 ~ 30℃ 范围内 $Q_{10} = 2.226$;这与大多数爬行动物随温度上升, Q_{10} 或保持恒定,或有下降趋势以及蛇在 20 ~ 30℃ 下 $Q_{10} = 2.23$ 的结果符合。白条锦蛇的标准代谢率随环境温度的升高逐渐上升,一方面体现了变温动物的代谢特点,另一方面也可能说明了在最适温度以下

随着温度的升高,动物的代谢率随着动物活动的增多而增加;在最适温度以上随着温度的升高,体内一些酶活性下降导致可直接利用的能量减少促使动物的代谢增加。

4.2 ATP 酶活性与温度的关系

白条锦蛇 Na⁺K⁺-ATP 酶活性和 Ca²⁺-ATP 酶活性依赖温度而变化,并呈现一定的组织间差异。3 种组织的两种 ATP 酶活性在 5 ~ 28℃ 范围内随温度上升而升高,其中骨骼肌和心肌的 Ca²⁺-ATP 酶活性上升较为明显,这可能与分布于兰州地区的白条锦

蛇晚出眠(4月中旬)、早入眠(10月下旬)的生态习性有关。ATP 酶活性在 28℃ 时达到最大值正好处于蛇类活动最适宜温度范围 18 ~ 30℃ 内(刘恕,曾中平,1994),说明 28℃ 是白条锦蛇的优选温度;从优选温度继续上升时,3 种组织中的两种 ATP 酶活性均急剧下降,并且到 35℃ 时都下降到最高活性的 25% 左右。酶活性开始下降的温度为变性温度。酶变性后,即使温度再降低,酶活性也不能再恢复。蛇类活动的最适宜温度范围 18 ~ 30℃ 以及蛇在 40℃ 环境中就会死亡(刘恕,曾中平,1994)的现象正好说明了超过优选温度 ATP 酶活性下降的现象,同时也说明了白条锦蛇对较高温度的耐受性较弱。

白条锦蛇在优选温度以下的心率、代谢率等生理活动随着温度升高而逐渐增强与 ATP 酶活性随温度上升而升高的关系一致,但在优选温度以上随着温度升高,心率、代谢率等生理活动继续加强。而 ATP 酶活性却下降的现象可能与超过优选温度后 ATP 酶变性引起细胞内 ATP 分解的速率减慢导致可利用的能量不足,以及细胞内外离子平衡失调有

关。

5 参考文献

- 陈强. 1994. 丽斑麻蜥和草原沙蜥静止代谢率的研究[J]. 动物学研究, 15(3): 12, 18.
- 乐志培. 1997. 生物信息胞内传递分子机理[M]. 北京: 高等教育出版社: 143 ~ 146.
- 李仁德, 刘迺发. 1992. 环境温度对荒漠沙蜥和密点麻蜥体温的影响及其对环境温度的选择[J]. 动物学研究, 13(1): 47 ~ 52.
- 李仁德, 刘迺发. 1994. 温度对蜥蜴腓肠肌 ATP 酶活性影响的研究[J]. 动物学报, 40(1): 45 ~ 50.
- 李永才, 黄溢明. 1984. 比较生理学[M]. 北京: 高等教育出版社: 123 ~ 127.
- 刘恕, 曾中平. 1994. 动物学[M]. 北京: 高等教育出版社: 356.
- 牛翠娟, 张延军, 孙濡泳. 1998. 中华鳖幼鳖的空气呼吸静止代谢率、气体交换比及其与温度的关系[J]. 动物学研究, 19(2): 114 ~ 119.
- Dawson WR. 1963. Physiological responses to temperature in the lizard *Crotophytus collaris*[J]. *Physiol Zool*, 36: 219 ~ 236.
- Licht P. 1965. Effect of temperature on heart rates of lizards during rest activity[J]. *Physiol Zool*, 38(2): 129 ~ 137.
- 赵肯堂. 1985. 中国的胎生蜥蜴[J]. 苏州铁道师范学院自然科学学报, (1): 76 ~ 77.
- 赵文阁, 等. 2008. 黑龙江省两栖爬行动物志[M]. 北京: 科学出版社: 144 ~ 147.
- 赵文阁, 董丙君, 刘鹏, 等. 2006. 胎生蜥蜴的捕食行为及其食性分析[J]. 生态学杂志, 25(12): 1520 ~ 1523.
- 赵文阁, 夏玉国, 刘琳琳, 等. 2006. 黑龙江省产胎生蜥蜴(*Lacerta vivipara*)的染色体组型研究[J]. 四川动物, 25(2): 234 ~ 236.
- Hong Li, Yan-Fu Qu, Rui-bin Hu, et al. 2008. Evolution of viviparity in cold-climate lizards: testing the maternal manipulation hypothesis[J]. *Evol Ecol*, 23: 777 ~ 790.
- Peng Liu, Wen-Ge Zhao, Zhi-Tao Liu, et al. 2008. Sexual Dimorphism and Female Reproduction in *Lacerta vivipara* in Northeast of China[J]. *Asiatic Herpetological Research*, 11: 98 ~ 104.
- 傅丽容, 洪美玲, 史海涛, 等. 2004. 四眼斑龟的泄殖系统解剖[J]. 动物学杂志, 39(3): 68 ~ 71.
- 刘鹏, 刘志涛, 李殿伟, 等. 2008. 模拟生境中胎生蜥的日活动节律和活动时间分配[J]. 生态学杂志, 27(12): 2146 ~ 2152.
- 庞启平. 1998. 巨蜥排泄和生殖系统解剖[J]. 四川动物, 17(1): 24 ~ 27.
- 王国英, 陈永国, 翟荣仙. 1985. 变色沙蜥泄殖系统的解剖及组织学观察[J]. 新疆八一农学院学报, 4: 25 ~ 30.
- 夏玉国, 赵文阁, 刘鹏. 2009. 小兴安岭北部胎生蜥春季的栖息生境[J]. 动物学杂志, 44(1): 118 ~ 121.
- 张玉霞. 2002. 鳄鱼生物学[M]. 广西: 广西师范大学出版社: 61 ~ 66.
- 赵肯堂. 1964. 沙蜥的泄殖系统及其繁殖习性[J]. 动物学杂志, 6(4): 158 ~ 159.

(上接第 970 页)