

## 春季树麻雀体内几种消化酶活性研究

徐兴军<sup>1</sup>, 邵淑丽<sup>1\*</sup>, 张伟伟<sup>1</sup>, 王维禹<sup>1</sup>, 李旭艳<sup>1</sup>, 柳劲松<sup>2</sup>, 吕建伟<sup>1</sup>, 李铁<sup>1</sup>, 李怀永<sup>1</sup>

(1. 齐齐哈尔大学生命科学与农林学院, 黑龙江齐齐哈尔 161006; 2. 温州大学生命与环境科学学院, 浙江温州 325027)

**摘要:**应用酶学分析法测定了树麻雀 *Passer montanus* 春季的腺胃、肌胃、小肠、大肠、肝脏和胰脏组织中淀粉酶、蛋白酶和纤维素酶的活力。结果表明,不同组织中的消化酶活力差异显著,淀粉酶和蛋白酶以胰脏中活力最高,腺胃次之,纤维素酶均较低;同一组织中不同消化酶的活力差异显著,淀粉酶活性最高,蛋白酶次之,纤维素酶活力最低。这些差异提示消化酶活力大小与器官分化有关,并受食物组成的影响,因此产生了不同的酶活力分布。这是树麻雀长期适应东北地区寒冷环境的生存策略之一。

**关键词:** 树麻雀; 淀粉酶; 蛋白酶; 纤维素酶

**中图分类号:** Q959.7; Q55 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-7083(2012)05-0782-04

## Digestive Enzyme Activities of Tree Sparrows in Spring

XU Xing-jun<sup>1</sup>, SHAO Shu-li<sup>1\*</sup>, ZHANG Wei-wei<sup>1</sup>, WANG Wei-yu<sup>1</sup>, LI Xu-yan<sup>1</sup>, LIU Jin-song<sup>2</sup>,

LÜ Jian-wei<sup>1</sup>, LI Tie<sup>1</sup>, LI Huai-yong<sup>1</sup>

(1. College of Life Science, Agriculture & Forestry, Qiqihar University, Qiqihar, Heilongjiang Province 161006, China;

2. School of Life and Environmental Sciences, Wenzhou University, Wenzhou, Zhejiang Province 325027, China)

**Abstract:** The activity level of protease, amylase and cellulase from glandular stomach, gizzard, small intestine, large intestine, liver and pancreas of tree sparrows was analyzed respectively with enzyme analytical method. The results showed that the activity level of same digestive enzymes from different organs was distinguishing; the activity level of amylase and protease appeared the highest in pancreas, followed by glandular; the activity level of different digestive enzymes of the same organ was obviously diversified, the activity of amylase presented to be the highest, followed by protease, the lowest in cellulase. It has been suggested by the authors that the different activity level of the digestive enzyme is influenced by food composition and the living environment.

**Key words:** tree sparrow; protease; amylase; cellulase

自然生境中能量收支平衡是动物生存及繁殖成功的关键。消化道是处理、消化、吸收及获取能量的主要器官之一(Zhao & Wang, 2009),其形态结构与食性、食物质量及相关能量营养吸收有着密切联系(McWillimas & Karasov, 2001),而其容纳和处理食物的能力以及消化吸收营养物质的能力是理解动物生活史进化和最优资源分配理论的关键(Piersma & Drent, 2003; Liu & Wang, 2007)。与哺乳动物相比,鸟类的消化系统占体重的比例较小,从而使其消化道的适应调节变化在鸟类生理及能量代谢需求的适应中占有重要的地位,消化系统的优化进一步成为其有效获得能量与营养吸收的关键(Enoki & Morimoto, 2000)。消化道的适应调节变化包括形态结构

变化和消化吸收功能的变化,而消化道中消化酶的种类和活力是影响消化吸收功能的重要因素。目前国内外许多学者(柳劲松等, 2004; 韩芬茹, 2006; 李铭, 柳劲松, 2008)对鸟类消化道形态特征进行了研究,但对消化系统消化酶的研究报道较少。笔者对黑龙江省齐齐哈尔周边地区春季树麻雀体内消化酶的活性进行了初步研究,旨在探讨小型鸟类消化酶活性与能量获取的关系,加深对动物食物能量获取的理解,以揭示小型鸟类在长期进化过程中应对环境条件变化及能量代谢需求而形成的消化道适应策略。

### 1 材料与方法

#### 1.1 实验材料

收稿日期:2012-05-05 接受日期:2012-06-26

基金项目:黑龙江省教育厅科学技术项目(No. 11541387, 12511611);齐齐哈尔大学青年教师科研启动项目(2011K-M38)

作者简介:徐兴军(1969~),男,硕士,教授,研究方向:动物生理生态学, E-mail: xxj0605@163.com

\*通讯作者 Corresponding author, E-mail: shshl32@163.com

8 只树麻雀于 2011 年 5 月捕自黑龙江省齐齐哈尔市扎龙国家级自然保护区(123°47' ~ 124°37'E, 46°52' ~ 47°32'N), 标记并分笼(每笼 1 只)饲喂于齐齐哈尔大学动物饲养实验室, 自由取食和饮水, 温度为室温  $23^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ , 光照条件为自然光照。平均体重  $17.4 \text{ g} \pm 0.2 \text{ g}$ 。

## 1.2 粗酶提取

将动物带回实验室, 称重后进行解剖。取出肝脏、胰脏和完整的消化道, 小心去除结缔组织和脂肪, 分离出腺胃、肌胃、小肠和大肠。然后用剪刀将消化道各器官剖开, 用  $4^{\circ}\text{C}$  蒸馏水冲洗, 滤纸吸干, 称重, 冰浴匀浆, 以  $5000 \text{ r/min}$  的速度  $4^{\circ}\text{C}$  离心  $15 \text{ min}$ , 取上清液置于  $-20^{\circ}\text{C}$  下保存备用,  $24 \text{ h}$  内分析完毕。

## 1.3 酶活力的测定

**1.3.1 蛋白酶** 采用福林-酚试剂法, 略有改动。取  $0.5 \text{ mL}$   $1\%$  的酪蛋白溶液加入相应 pH 值的缓冲液  $2 \text{ mL}$ , 混匀,  $40^{\circ}\text{C}$  水浴预热  $5 \text{ min}$ , 加入  $0.5 \text{ mL}$  预热的粗酶液,  $40^{\circ}\text{C}$  充分反应  $15 \text{ min}$ 。立即加入  $1.5 \text{ mL}$   $10\%$  的三氯乙酸终止反应后, 静置  $15 \text{ min}$ , 对照管在加入  $10\%$  三氯乙酸后再加酶液。过滤, 取滤液  $1 \text{ mL}$ , 加  $0.55 \text{ mol/L}$  的  $\text{Na}_2\text{CO}_3$   $5 \text{ mL}$ , 福林-酚试剂  $1 \text{ mL}$ , 摇匀。在  $30^{\circ}\text{C}$  水浴中显色  $15 \text{ min}$ 。在  $680 \text{ nm}$  处测光吸收值。以  $40^{\circ}\text{C}$  下每分钟水解酪蛋白产生  $1 \mu\text{g}$  酪氨酸作为 1 个酶活力单位。

**1.3.2 淀粉酶** 采用 3,5-二硝基水杨酸比色法, 略

有改动。取  $0.5 \text{ mL}$  预测粗酶液加入相应 pH 值的缓冲液  $1 \text{ mL}$ , 混匀,  $40^{\circ}\text{C}$  预热  $5 \sim 10 \text{ min}$ , 同时对照组在  $100^{\circ}\text{C}$  沸水中煮  $5 \text{ min}$ (使酶失活), 加入已预热的  $1\%$  的淀粉溶液  $1 \text{ mL}$ , 摇匀,  $40^{\circ}\text{C}$  反应  $20 \text{ min}$ , 加入  $2 \text{ mL}$  的 3,5-二硝基水杨酸, 摇匀。  $100^{\circ}\text{C}$  显色  $5 \text{ min}$ , 流水冷却, 在  $490 \text{ nm}$  处测光吸收值。以  $40^{\circ}\text{C}$  下每分钟水解淀粉产生  $1 \mu\text{g}$  麦芽糖作为 1 个酶活力单位。

**1.3.3 纤维素酶** 采用羧甲基纤维素钠水解法。取  $1.0 \text{ mL}$  酶液加入相应 pH 值的缓冲液  $2.0 \text{ mL}$ ,  $0.5\%$  羧甲基纤维素钠溶液  $1 \text{ mL}$ , 蒸馏水  $0.6 \text{ mL}$ , 混匀  $40^{\circ}\text{C}$  水浴  $30 \text{ min}$ , 沸水浴  $15 \text{ min}$ , 对照组先置于沸水浴中使酶失活, 其余步骤相同。取  $0.5 \text{ mL}$  糖化液加 3,5-二硝基水杨酸  $1.5 \text{ mL}$ , 沸水浴  $15 \text{ min}$ , 冷却, 加蒸馏水  $3 \text{ mL}$ , 在  $550 \text{ nm}$  处测吸光值。以  $40^{\circ}\text{C}$  每分钟催化纤维素生成  $1 \mu\text{g}$  葡萄糖为 1 个酶活力单位。

## 1.4 数据处理

同种酶在不同组织中活力分布和各种酶在同一组织中的活力差异的数据用 SPSS 16.0 软件包单因子方差分析(One-Way ANOVA)和 Tukey's 多重比较处理, 全文描述性统计值用平均值  $\pm$  标准误, 显著性水平设置在  $\alpha = 0.05$ 。

## 2 结果

春季树麻雀体内消化道不同部位几种消化酶活力测定结果见表。

表 春季树麻雀体内几种消化酶活力比较 ( $\times 10^3$  单位 U,  $M \pm SE$ ,  $n = 8$ )  
Table Compare with the activities of several digestive enzymes of tree sparrows in spring ( $\times 10^3$  unit U,  $M \pm SE$ ,  $n = 8$ )

	腺胃	肌胃	小肠	大肠	肝脏	胰脏
淀粉酶	$2.55 \pm 0.34^a$	$0.43 \pm 0.09^b$	$0.87 \pm 0.17^c$	$1.37 \pm 0.03^d$	$0.83 \pm 0.15^e$	$9.79 \pm 0.23^e$
蛋白酶	$2.89 \pm 0.40^a$	$0.08 \pm 0.02^b$	$0.24 \pm 0.05^c$	$0.51 \pm 0.09^c$	$0.95 \pm 0.21^c$	$5.03 \pm 1.78^d$
纤维素酶	$0.39 \pm 0.02^a$	$0.40 \pm 0.03^a$	$0.68 \pm 0.12^b$	$0.44 \pm 0.03^a$	$0.48 \pm 0.04^a$	$0.39 \pm 0.02^a$

注: 表中同一行数据右上角字母相同表示差异不显著, 不相同表示差异显著 (Tukey's 检验,  $P < 0.05$ )

Note: The superscripts with the same letter on the same line mean insignificant difference, while the different letters mean significant difference (Tukey's test,  $P < 0.05$ )

### 2.1 不同组织中同种酶活力

春季树麻雀体内不同组织中同种酶活力经单因子方差分析表明: 淀粉酶活力差异极显著 ( $F_{5,18} = 331.676$ ,  $P = 0.000 < 0.01$ ), 由图 1 可知, 树麻雀消化系统中淀粉酶活力以胰脏最高, 显著高于其他部位 ( $P < 0.05$ ), 在消化道中, 腺胃淀粉酶高于大肠、小肠, 其中肌胃淀粉酶活性最低。蛋白酶活力差异极显著 ( $F_{5,18} = 6.806$ ,  $P = 0.001 < 0.01$ ), 由图 2 可知, 树麻雀消化系统中蛋白酶活力以胰脏最高, 显著高于其他部位 ( $P < 0.05$ ), 其次是腺胃, 小肠、大肠

和肝脏间蛋白酶活力差异不显著 ( $P > 0.05$ ), 肌胃蛋白酶活力最低。纤维素酶活力差异显著 ( $F_{5,18} = 4.049$ ,  $P = 0.012 < 0.05$ ), 由图 3 可知, 纤维素酶活力以小肠最高, 显著高于其他部位 ( $P < 0.05$ ), 腺胃、肌胃、大肠、肝胰脏间纤维素酶活力差异不显著 ( $P > 0.05$ )。

### 2.2 各种酶在同一组织中活力差异

由表及单因子方差分析和 Tukey's 多重比较处理可知: 在树麻雀腺胃中, 3 种酶活力差异极显著 ( $F_{2,9} = 19.889$ ,  $P = 0.000 < 0.01$ ), Tukey's 检验显示

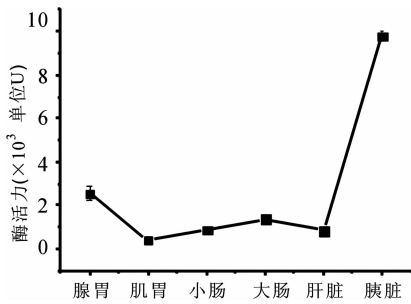


图 1 消化道各组织中淀粉酶活性变化

Fig. 1 Changes of amylase activity in the digestive tract tissue

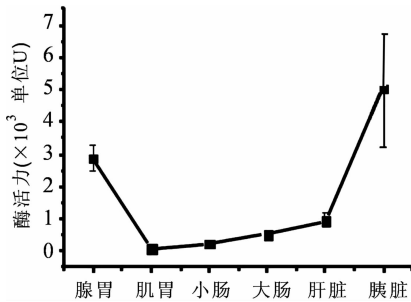


图 2 消化道各组织中蛋白酶活性变化

Fig. 2 Changes of protease activity in the digestive tract tissue

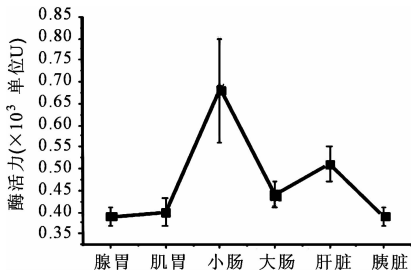


图 3 消化道各组织中纤维素酶活性变化

Fig. 3 Changes of cellulase activity in the digestive tract tissue

蛋白酶 > 淀粉酶 > 纤维素酶; 在肌胃中 3 种酶活力差异极显著 ( $F_{2,9} = 10.597, P = 0.004 < 0.01$ ), Tukey's 检验显示淀粉酶 > 纤维素酶 > 蛋白酶; 在小肠中 3 种酶活力差异显著 ( $F_{2,9} = 6.857, P = 0.016 < 0.05$ ), Tukey's 检验显示淀粉酶 > 纤维素酶 > 蛋白酶; 在大肠中 3 种酶活力差异极显著 ( $F_{2,9} = 87.007, P = 0.000 < 0.01$ ), Tukey's 检验显示淀粉酶 > 蛋白酶 > 纤维素酶; 在肝脏中 3 种酶活力差异不显著 ( $F_{2,9} = 2.132, P = 0.175$ ), Tukey's 检验显示蛋白酶 > 淀粉酶 > 纤维素酶; 在胰脏中 3 种酶活力差异极显著 ( $F_{2,9} = 20.514, P = 0.000 < 0.01$ ), Tukey's 检验显示淀粉酶 > 蛋白酶 > 纤维素酶。

### 3 讨论

鸟类为了维持高体温、飞翔、换羽、迁徙和繁殖等生命活动需要维持稳定的高水平能量代谢, 然而鸟类获能受到许多环境和生理因子的影响。在春季

随着气温回升, 鸟类为维持体温消耗的能量相对减少, 但仍然存在食物短缺的情况。Derting (1993) 曾提出了消化道对能量需求的增长所产生的代偿性反应是分阶段的连续过程的假设。若限食幅度较小, 动物可以通过提高消化道的吸收效率增加能量摄入, 通过调整代谢率和活动行为调节能量支出, 从而维持能量平衡和体重稳定。然而当限食程度增加, 动物不能通过能量摄入和支出的调节来弥补限食或饥饿导致的食物缺乏, 从而表现为消化道大小和形态的变化和体重降低 (Alvarenge *et al.*, 2005; Sucajty-Szulc *et al.*, 2008; Zhang & Wang, 2008), 揭示在未受到十分严峻的能量胁迫的情况下, 动物并不需付出昂贵代价去增加消化器官的长度 (徐金会等, 2003)。因此, 在食物资源不确定的情况下, 鸟类首先通过改变体内消化酶的活性或消化酶的分泌量来应对食物的变化, 食物是动物消化酶活力最直接的影响因子 (Platel & Srinivasan, 2000)。本实验研究表明, 在树麻雀消化道和消化腺各组织均存在淀粉酶、蛋白酶和纤维素酶, 其中淀粉酶和蛋白酶的活性高于纤维素酶。树麻雀为杂食性鸟类, 冬季和早春以杂草种子和野生禾本科植物的种子为食, 与蛋白和纤维素相比淀粉含量较高, 所以其体内淀粉酶活性最高。在对其它脊椎动物及一些水产无脊椎动物的研究表明, 生物适应不同的食物组成, 形成不同的酶种类水平, 这种不同的酶水平差异也是对食物的适应 (Le *et al.*, 2001)。

动物体内消化酶组成状况与其器官结构和功能密切相关, 不同器官的结构和功能不同, 其酶的组成也不同。本研究结果显示, 树麻雀消化腺和消化道各组织的消化酶活力存在差异, 这与朱联九等 (2008) 对牛蛙主要消化酶分布的研究结果一致。其中春季树麻雀体内淀粉酶和蛋白酶活力均为胰脏最高, 这与鸟类的生理特征相符, 因为胰脏是主要的消化腺, 所分泌的胰液中含有大量的胰淀粉酶和胰蛋白酶, 这些消化酶在小肠内对食物有重要的消化水解作用, 所以酶的活力特别强。肝脏的功能复杂, 分泌的胆汁参与蛋白质和糖类的分解和代谢。这与孙建礼等 (2003) 对北草蜥和中国石龙子体内几种消化酶的研究结果一致。鸟类的胃肠道是营养物质消化吸收的主要部位。本研究表明在树麻雀腺胃和大肠中检测到很高淀粉酶活性, 同时在树麻雀腺胃中检测到较高的蛋白酶活性, 说明腺胃对蛋白质具有较高的消化能力, 其原因是腺胃中能分泌盐酸和胃蛋

白酶,对食物进行初步的消化和吸收。小肠是食物消化和营养吸收的主要场所,由肝脏、胰脏和小肠粘膜所分泌的各种消化酶及缓冲液在胃内容物——食糜的移动刺激作用下进入小肠,对食物进行消化和吸收。所以小肠本身的淀粉酶和蛋白酶的活性比肝胰脏、腺胃和大肠低。本实验在树麻雀肌胃内检测到了淀粉酶、蛋白酶和纤维素酶的活性,但活性较低。因为肌胃的主要功能是机械性地研磨食物,同时利用腺胃分泌的消化液对食物进行酶和酸的水解。

总之,动物消化酶活性的高低决定动物对营养物质消化吸收的能力。环境条件的改变可引起动物本身内分泌机能发生变动,随着季节的变化动物消化酶的活力和组成也有一定的变化,进而影响动物对能量的获取,导致生长状态的变化。关于树麻雀体内消化酶的季节性变化规律还有待进一步研究。

#### 4 参考文献

- 韩芬茹. 2006. 10 种鸟类消化系统的比较研究[J]. 经济动物学报, 10(1): 35 ~ 38.
- 李铭, 柳劲松. 2008. 4 种雀形目鸟类消化道形态特征[J]. 动物学杂志, 43(1): 116 ~ 121.
- 柳劲松, 宋春光, 王小恒, 等. 2004. 燕雀和树麻雀代谢产热及消化道形态特征的比较[J]. 动物学杂志, 39(3): 2 ~ 7.
- 孙建礼, 贾守菊, 陈盛想, 等. 2003. 北草蜥和中国石龙子几种消化酶活力比较研究[J]. 四川动物, 22(3): 137 ~ 139.
- 徐金会, 安书成, 邵发道. 2003. 棕色田鼠消化道形态变化与能量需求的关系[J]. 动物学报, 49(1): 32 ~ 39.

(上接第 777 页)

另外灰喜鹊具有在巢周围树上鸣叫炫耀或者观察环境的习性,这就影响着灰喜鹊对距巢树最近树高度的选择。灰喜鹊筑巢期间,通过在巢近处树上大声鸣叫来炫耀自我或是警告其他同类,在育雏期间,灰喜鹊进出巢时会在巢周围的树上停留,观察巢的周边环境。因此巢周围的小生境是灰喜鹊成功育雏必不可少的条件。

#### 5 参考文献

- 胡箭. 2006. 灰喜鹊生态学研究进展[J]. 林业调查规划, 31(5): 57 ~ 60.
- 李守杰, 刘宁, 王桂英. 2008. 聊城大学校园灰喜鹊营巢特征调查[J]. 野生动物杂志, 29(2): 84 ~ 86.
- 汝少国, 侯文礼, 刘云, 等. 1998. 灰喜鹊的繁殖生态和巢位选择 II. 巢位选择[J]. 生态学杂志, 17(5): 11 ~ 13.
- 赛道建, 孙海基, 史瑞芳. 1997. 济南城市绿地鸟类群落生态研究[J]. 山东林业科技, (1): 1 ~ 4.
- 赛道建. 1988. 济南近郊、鸟类群落数量多样性和均匀性的研究[J].

- 朱联九, 朱升学, 程文娟, 等. 2008. 牛蛙主要消化酶的分布及 pH 和温度对消化酶活力的影响[J]. 激光生物学报, 17(4): 496 ~ 501.
- Alvarenga TAF, Andersen ML, Papale LA, et al. 2005. Influence of long-term food restriction on sleep pattern in male rats[J]. Brain Res, 1057: 49 ~ 56.
- Enoki Y, Morimoto T. 2000. Gizzard myoglobin contents and feeding habits in avian species[J]. Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol, 125(1): 33 ~ 43.
- Le Vay L, Jones DA, Puello-Cruz AC, et al. 2001. Digestion in relation to feeding strategies exhibited by crustacean larvae[J]. Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol, 128(3): 623 ~ 630.
- Liu QS, Wang DH. 2007. Effects of diluted diet on phenotypic flexibility of organs morphology and digestive function in Mongolian gerbils (*Meriones unguiculatus*) [J]. J Comp Physiol B, 177: 509 ~ 518.
- McWilliams SR, Karasov WH. 2001. Phenotypic flexibility in digestive system structure and function in migratory birds and its ecological significance [J]. Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol, 128(3): 579 ~ 593.
- Platel K, Srinivasan K. 2000. Influence of dietary spices and their active principles on pancreatic digestive enzymes in albino rats[J]. Nahrung, 44(1): 42 ~ 46.
- Sucajtyś-Szulc E, Goyke E, Korczynska J, et al. 2008. Chronic food restriction differentially affects NPY mRNA level in neurons of the hypothalamus and in neurons that innervate liver[J]. Neurosc Lett, 433: 174 ~ 177.
- Zhang LN, Wang DH. 2008. Effects of food restriction and refeeding on energy balance regulation in Mongolian gerbils (*Meriones unguiculatus*) [J]. BFDGA bstrscts/Appetite, 51: 751 ~ 764.
- Zhao ZJ, Wang DH. 2009. Plasticity in the physiological energetics of Mongolian gerbils is associated with diet quality[J]. Physiol Biochem Zool, 82(5): 504 ~ 511.

山东师大学报, (3): 89 ~ 97.

- 赛道建. 1994. 济南自然景观变迁对鸟类群落的影响[J]. 山东师大学报, (2): 70 ~ 76.
- 尚玉昌, 李留彬, 王飞, 等. 1994. 灰喜鹊的行为生态学研究 I. 生殖行为[J]. 应用生态学报, 5(3): 263 ~ 268.
- 石春芳, 赵明华. 2005. 鸟类——城市生态环境的指示种[J]. 内蒙古科技与经济, (3): 125 ~ 126.
- 史荣耀, 李茂义, 秦军, 等. 2007. 灰喜鹊繁殖习性的初步观察[J]. 四川动物, 26(1): 165 ~ 166.
- 赵匠, 邓文洪, 高玮. 2002. 山地次生林破碎化对喜鹊繁殖功效的影响[J]. 动物学研究, 23(3): 220 ~ 225.
- 郑光美. 1984. 北京及其附近地区夏季鸟类的生态分布[J]. 动物学研究, 5(1): 20 ~ 40.
- Navjot S Sodhi, Clive Briffett, Lily Kong, et al. 1999. Bird use of linear areas of a tropical city: implications for park connector design and management[J]. Landscape and Urban Planning, 45(2): 123 ~ 130.
- Susan E Smittkamp, Durham Dianne. 2004. Contributions of age, cochlear integrity, and auditory environment to avian cochlear nucleus metabolism[J]. Hearing Research, 195(2): 79 ~ 89.