塔里木兔和家兔的消化酶活性比较

张建萍^① 惠晓红^② 杨丽丽^① 王 强^①

① 塔里木大学生命科学学院,新疆生产建设兵团塔里木盆地生物资源保护利用重点实验室 阿拉尔 843300;

② 塔里木大学动物科学学院 阿拉尔 843300

摘要:为比较塔里木兔(Lepus yarcandensis)和家兔(Oryctolagus curiculus)消化能力的差异,探索塔里木兔对野外生存环境食物的适应机制,测定了塔里木兔和家兔胰腺及肠道的消化酶活性,包括淀粉酶(碘-淀粉比色法)、纤维素酶(3,5-二硝基水杨酸法)、脂肪酶(比浊法)及胰蛋白酶(紫外线吸收法)。用 SPSS 15.0 软件对实验数据进行统计学分析。采用 one-way AVNOVA 和多因素方差分析对比分析了塔里木兔和家兔消化酶活性。结果表明:1)塔里木兔肠道的淀粉酶活性明显高于家兔。其中,塔里木兔十二指肠、空肠及回肠的淀粉酶活性极显著高于家兔(P < 0.01)。淀粉酶活性在塔里木兔和家兔空肠最高。2)塔里木兔肠道的纤维素酶活性极显著高于家兔(P < 0.05)。纤维素酶活性在塔里木兔和家兔空肠最高。3)家兔胰腺和肠道的脂肪酶活性显著高于家兔(P < 0.05)。纤维素酶活性在塔里木兔和家兔盲肠最高。3)家兔胰腺和肠道的脂肪酶活性明显高于塔里木兔。其中,家兔胰腺、十二指肠、空肠及回肠的脂肪酶活性显著高于塔里木兔(P < 0.05)。与消化道相比,脂肪酶活性在家兔和塔里木兔胰腺最高,肠道中空肠的脂肪酶活性最高。4)家兔胰腺和肠道的胰蛋白酶活性在家兔和塔里木兔胺及四肠中二指肠的胰蛋白酶活性显著高于塔里木兔(P < 0.05)。胰蛋白酶活性在家兔和塔里木兔球岛大鸡蛋鸡肠毒。可见,与家兔相比,塔里木兔对淀粉类、纤维类物质有较强的消化能力,对脂肪类的消化能力较弱。其中,淀粉酶活性和纤维素酶活性升高,脂肪酶活性和胰蛋白酶活性降低。这可能是塔里木兔适应贫瘠、匮乏的食物环境的重要原因之一。

关键词: 塔里木兔; 家兔; 淀粉酶; 纤维素酶; 脂肪酶; 胰蛋白酶

中图分类号: Q955 文献标识码: A 文章编号: 0250-3263 (2016) 01-33-06

Comparison on Digestive Enzymatic Activities between Yarkand Hares (Lepus yarcandensis) and Domestic Rabbits (Oryctolagus curiculus)

ZHANG Jian-Ping[®] HUI Xiao-Hong[®] YANG Li-Li[®] WANG Qiang[®]

① College of Life Sciences, Tarim University, Xinjiang Production & Construction Corps Key Laboratory of Protection and Utilization of Biological Resources in Tarim Basin, Alar 843300; ② College of Animal Sciences, Tarim University, Alar 843300, China

Abstract: To investigate the differences in digestive ability between yarkand hares (*Lepus yarcandensis*) and domestic rabbits (*Oryctolagus curiculus*), and hence to explore the mechanism underlying the adaptability to

基金项目 国家自然科学基金项目 (No. 31460563);

第一作者介绍 张建萍, 女, 副教授; 研究方向: 动物生理生化; E-mail: jpz2008@126.com。

food environment in yarkand hares, we assayed the following digestive enzyme activities: amylase activity by Iodine starch colorimetric method, cellulose enzyme activity by 3, 5-two nitro salicylic acid method, lipase activity by turbidity method and trypsin activity by ultraviolet absorption method, with the samples taken from pancreas and intestinal tract of six yarkand hares and six domestic rabbits as control. The experimental data were statistically analyzed by SPSS 15 software. We made a comparison on digestive enzymatic activities between Yarkand Hares and Domestic Rabbits by one-way AVNOVA and multi factor analysis of variance. The results demonstrated that: 1) The amylase activity in intestinal tract of yarkand hares was significantly higher than that of domestic rabbits (Table 1). The amylase activity in duodenum, jejunum, ileum of yarkand hares was extremely significantly higher than that of domestic rabbits (P < 0.01). The amylase activity was the maximal in jejunum of yarkand hares and domestic rabbits. 2) The cellulase activity in intestinal tract of yarkand hares was higher than that of domestic rabbits (Table 2). The cellulase activity in cecum of yarkand hares was extremely significantly higher than that of domestic rabbits (P < 0.01), the cellulase activity in ileum of yarkand hares was significantly higher than those of domestic rabbits (P < 0.05). The cellulase activity was maximal in cecum of yarkand hares and domestic rabbits. 3) The lipase activity in pancreas and intestinal tract of domestic rabbits was significantly higher than that of yarkand hares (Table 3). The lipase activity in pancreas, duodenum, jejunum, ileum of domestic rabbits was significantly higher than that of yarkand hares (P < 0.05). Compared with the digestive tract, the lipase activity was maximal in pancreas of domestic rabbits and yarkand hares, and the lipase activity of jejunum was the highest in intestinal tract. 4) The trypsin activity in pancreas and intestinal tract of domestic rabbits was higher than that of yarkand hares (Table 4). The trypsin activity in duodenum and jejunum of domestic rabbits was significantly higher than that of yarkand hares (P < 0.05). The trypsin activity was maximal in jejunum of domestic rabbits and yarkand hares. In conclusion, yarkand hares have strong abilities to digest starch and cellulose, but their digestion ability for fat is weak. The amylase and cellulase activities of yarkand hares are higher than those of domestic rabbits, and the lipase and trypsin activities of yarkand hares are lower than those of domestic rabbits, which could be one of the important factors that yarkand hares adapt to the barren and deficient food environment.

Key words: Yarkand hare *Lepus yarcandensis*; Domestic rabbits *Oryctolagus curiculus*; Amylase; Cellulase; Lipase; Trypsin

塔里木兔(Lepus yarcandensis),又名南疆兔、莎车兔、叶尔羌兔,典型的荒漠栖息小型兽类,隶属哺乳纲(Mammalia)兔形目(Lagomorpha)兔科(Leporidae)兔属。塔里木兔为塔里木盆地的特有物种(高耀亭 1985),其生存环境——塔里木盆地具有极度干旱的大陆性特点,降水稀少,盆地内植物的种类极为贫乏。2006年,世界自然保护联盟物种红色名录中将塔里木兔列为近危(NT)种(李维东2011)。由于长期适应恶劣的生态环境,塔里木

兔形态高度特化。目前,对该物种适应荒漠生态环境机制的研究相对较少,仅见水通道蛋白在塔里木兔适应干旱环境中的作用(张建萍等2013)和分析塔里木兔的解剖特点及部分生理指标对荒漠恶劣生态环境的适应(惠晓红等2013)。目前,有关兔(*Oryctolagus curiculus*)消化酶的研究主要集中在不同类型的日粮添加物对獭兔(高振华等2009,董兵等2011)、力克斯兔(张建云等2005)、幼兔(崔文典2005,董兵等2006,朱克华2012)、肉兔(晁洪雨等

2007, 宋中齐等 2013) 消化酶活性的影响。本研究通过对比分析塔里木兔与家兔胰腺和肠道中消化酶活性的变化规律及差异,探讨塔里木兔适应营养贫乏食物环境的可能原因,旨在从消化能力角度和蛋白质水平来揭示其适应荒漠环境的相关机理,进而为开展塔里木兔的保护生物学研究提供理论支持。

1 材料与方法

1.1 实验动物

塔里木兔6只(3雄,3雌),体重(1.5±0.3) kg,2014年12月捕于塔里木盆地西北部阿克苏地区沙雅县境内(39°31′N,81°45′E),该地区地处沙漠边缘,降水稀少,气候干燥,植被稀疏,植物种类贫乏。年龄相近的健康家兔6只(3雄,3雌),由塔里木大学动物科技学院试验站提供,平均体重(1.8±0.4) kg。

1.2 实验方法

- 1.2.1 组织处理 因为塔里木兔很难室内饲养,所以需要尽快取材,实验前让供试兔空腹48 h。兔耳缘静脉注射 20%乌拉坦溶液麻醉,按照体重注射剂量为 0.4 ml/kg,打开腹腔后迅速解剖,取出胰腺,立即用硫酸纸包好,放入液氮。取出肠道,分离十二指肠、空肠、回肠及盲肠,分别结扎,取出内容物装入无菌袋中,放入液氮内 30 min 后取出,放入 30℃冰箱中冷冻备用。取肠道内容物 0.3 g 按重量体积比为1:4 的比例加入 0.8%的生理盐水,放入匀浆器(IKA@T18,上海乔枫实业有限公司),冰浴匀浆后,4℃ 2 500 r/min 离心 10 min,取上清液测定肠消化酶活性。胰腺上清液的制备方法同上。
- **1.2.2 样品蛋白含量测定** 样品蛋白含量 (g/L) 用考马斯亮蓝法测定。
- 1.2.3 淀粉酶活力测定 采用碘-淀粉比色法,测定仪器为 723 型可见分光光度计(德国 Bruker)。采用南京建成生物工程研究所的淀粉酶活力测定试剂盒,测定时,取 0.1 ml 胰腺和肠道内容物的上清液,添加底物缓冲液,碘应

用液。酶活力的计算公式为淀粉酶活力(U/mg) = [(空白吸光度-样品吸光度)/空白吸光度] × [(0.4×0.5)/10] ×(30/7.5)/(取样量 × 待测样本蛋白浓度)。

- **1.2.4 纤维素酶活力测定** 采用 3,5-二硝基水 杨酸 (3,5-two nitro salicylic acid method, DNS) 法测定还原糖的方法。取试管 A 和 B 分别加入 0.5 ml 肠道内容物的上清液, 先将 B 于沸水浴 中煮沸 10 min, 纯化纤维素酶使其失活, 此试 管 B 作为空白对照。然后将 1 cm × 6 cm 滤纸 条卷成小卷分别放进试管内, 各加入 0.5 ml 稀 释酶液及 2 ml 0.1 mol/L 柠檬酸缓冲液 (pH = 4.8), 置于 50℃水浴中恒保温 1 h, 取出后加入 DNS 试剂 2.5 ml, 摇匀, 再在沸水浴中加热 5 min,取出后于冷水浴中冷却至室温。若酶液 浓度过高,则应进行适当的稀释。将处理好的 酶液及空白对照在分光光度计 540 nm 波长比 色, 记录吸光度 A 值。根据葡萄糖标准曲线, 求出葡萄糖含量,计算酶活值。酶活力的计算 公式为纤维素酶活力(U/g) = ($G \times B/0.5$) × 60, 式中, G 为样品中葡萄糖含量, B 为酶液 稀释倍数。
- 1.2.5 脂肪酶活力测定 采用比浊法。采用南京建成生物工程研究所的脂肪酶活力测定试剂 盒,测定时,取 0.025 ml 胰腺和肠道内容物的上清液,添加底物缓冲液。酶活力的计算公式为脂肪酶活力(U/g)= {[$(A_1-A_2)/A_s$]×标准管溶液的浓度×(反应液总体积/取样量)/反应时间}/待测样本蛋白含量,式中,标准管溶液的浓度为 454 μ mol/L,反应液总体积为 2.05 ml,取样量为 0.025 ml,反应时间为 10 min, A_1 为反应 30 s 时吸光度值, A_2 为反应 10 min 30 s 时吸光度值, A_s 为底物缓冲液的吸光度值。
- 1.2.6 胰蛋白酶活力测定 采用紫外线吸收法,测定仪器为紫外分光光度计(TU-1810,北京普析通用仪器有限责任公司)。采用南京建成生物工程研究所的胰蛋白酶活力测定试剂盒,测定时,取 0.015 ml 胰腺和肠道内容物的

上清液,添加底物反应液。酶活力的计算公式为胰蛋白酶活力(U/mg)={[样本(A_1 - A_2)一空白(A_1 - A_2)]/(反应时间×0.003)}×(反应总体积/样本取样量)/(待测样本蛋白含量×样本取样量),式中,反应时间 20 min,反应总体积 1.515 ml,样本取样量 0.015 ml, A_1 为反应 30 s 时吸光度值, A_2 为反应 10 min 30 s 时吸光度值。

1.3 统计学分析

用 SPSS 15.0 软件进行统计学分析。对比 塔里木兔和家兔消化酶(淀粉酶、纤维素酶、脂肪酶、胰蛋白酶)活性时采用 one-way AVNOVA 分析;对比不同类型消化酶活性时采用多因素方差分析。显著水平为 P < 0.05,极显著水平为 P < 0.01,数据以平均值 \pm 标准误表示。

2 结果

2.1 塔里木兔和家兔的淀粉酶活性比较

塔里木兔肠道的淀粉酶活性明显高于家兔 (表1)。其中, 塔里木兔十二指肠、空肠及回 肠的淀粉酶活性极显著高于家兔(*P* < 0.01)。 淀粉酶活性在塔里木兔和家兔均为空肠最高。

2.2 塔里木兔和家兔肠道的纤维素酶活性比 较

塔里木兔肠道的纤维素酶活性高于家兔 (表 2)。其中,塔里木兔盲肠的纤维素酶活性 极显著高于家兔 (P < 0.01),其回肠的纤维素酶活性显著高于家兔 (P < 0.05)。纤维素酶活性无塔里木兔和家兔均为盲肠最高。

2.3 塔里木兔和家兔的脂肪酶活性比较

家兔胰腺和肠道的脂肪酶活性明显高于塔里木兔(表3)。其中,家兔十二指肠和空肠的脂肪酶活性极显著高于塔里木兔(P<0.01),其胰腺和回肠的脂肪酶活性显著高于塔里木兔(P<0.05)。脂肪酶活性在家兔和塔里木兔胰腺最高,其次为空肠。

2.4 塔里木兔和家兔的胰蛋白酶活性比较

家兔胰腺和肠道的胰蛋白酶活性高于塔里木兔(表 4)。其中,家兔空肠的胰蛋白酶活性极显著高于塔里木兔(P<0.01),其十二指肠

表 1 塔里木兔和家兔的淀粉酶活性比较(U/g)

Table 1 The comparison of amylase activity between yarkand hares and domestic rabbits (U/g)

组织 Organ	塔里木兔 Lepus yarcandensis	家兔 Oryctolagus curiculus	P 值 P value
胰腺 Pancreas	19.87 ±1.37	21.11 ±3.43	0.072
十二指肠 Duodenum	$50.48 \pm 3.91^{**}$	44.55 ±4.77	0.010
空肠 Jejunum	$106.80 \pm 7.67^{**}$	95.32 ± 8.64	0.005
回肠 Ileum	$91.16 \pm 8.67^{**}$	68.46 ± 8.32	0.001
盲肠 Cecum	74.15 ± 5.08	62.70 ± 4.44	0.648

以家兔为对照进行方差分析,*P<0.05,**P<0.01。Compared with domestic rabbits, *P<0.05, **P<0.01.

表 2 塔里木兔和家兔的纤维素酶活性比较(U/g)

Table 2 The comparison of cellulase activity between yarkand hares and domestic rabbits (U/g)

组织 Organ	塔里木兔 Lepus yarcandensis	家兔 Oryctolagus curiculus	P 值 P value
十二指肠 Duodenum	45.07 ±4.87	43.66 ±3.56	0.241
空肠 Jejunum	65.18 ± 5.19	61.17 ± 5.71	0.115
回肠 Ileum	$55.39 \pm 4.05^*$	45.59 ± 5.49	0.025
盲肠 Cecum	90.85 ±3.56**	74.87 ± 4.17	0.001

以家兔为对照进行方差分析,* P < 0.05, ** P < 0.01。Compared with domestic rabbits, * P < 0.05, ** P < 0.01.

表 3	塔里木兔和家兔的脂肪酶活性比较	(IJ/g)

Table 3 The comparison of lipase activity between yarkand hares and domestic rabbits (U/g)

组织 Organ	塔里木兔 Lepus yarcandensis	家兔 Oryctolagus curiculus	P 值 P value
胰腺 Pancreas	$73.67 \pm 11.52^*$	90.66 ± 12.05	0.014
十二指肠 Duodenum	44.79 ±9.69**	73.88 ± 9.56	0.001
空肠 Jejunum	$65.63 \pm 14.53^{**}$	88.17 ± 15.44	0.009
回肠 Ileum	$41.09 \pm 5.59^*$	68.28 ± 16.45	0.016
盲肠 Cecum	34.87 ± 11.84	37.92 ± 12.71	0.663

以家兔为对照进行方差分析,*P<0.05,**P<0.01。Compared with domestic rabbits, *P<0.05, **P<0.01.

表 4 塔里木兔和家兔的胰蛋白酶活性比较(U/g)

Table 4 The comparison of trypsin activity between yarkand hares and domestic rabbits (U/g)

组织 Organ	塔里木兔 Lepus yarcandensis	家兔 Oryctolagus curiculus	P 值 P value
胰腺 Pancreas	3.81 ± 0.62	4.24 ± 0.39	0.054
十二指肠 Duodenum	$4.73 \pm 0.82^*$	$6.25\ \pm0.60$	0.021
空肠 Jejunum	$5.07 \pm 0.48^{**}$	7.58 ± 0.44	0.007
回肠 Ileum	3.57 ± 0.66	3.59 ± 0.73	0.944
盲肠 Cecum	1.87 ± 0.53	2.01 ± 0.42	0.421

以家兔为对照进行方差分析,*P<0.05,**P<0.01。Compared with domestic rabbits, *P<0.05, **P<0.01.

的胰蛋白酶活性显著高于塔里木兔(*P*<0.05)。 胰蛋白酶活性在家兔和塔里木兔空肠最高。

2.5 多因素分析

多因素方差分析结果显示,兔的种类对消化酶(淀粉酶、纤维素酶、脂肪酶、胰蛋白酶)活性具有极显著性影响(P < 0.01),而性别以及兔的种类与性别交互作用对消化酶活性的影响仅达到了显著性水平(P < 0.05)。兔的种类单因素对淀粉酶、纤维素酶、脂肪酶、胰蛋白酶活性的 F 统计量值分别为 525.987、460.636、126.275、7.157(P < 0.01),表明不同种类兔消化酶活性有极显著差异。

3 讨论与结论

消化酶是生物体内催化各种生化反应的一类特殊的蛋白质,其主要作用是对生物所摄取的食物进行消化和分解,将分子结构复杂的食物,水解为分子结构简单的营养素,为生物生长和发育提供营养。消化酶根据消化对象的不

同可分为淀粉酶、纤维素酶、脂肪酶及蛋白酶 等。肠道淀粉酶是消化碳水化合物的主要酶之 一,当动物进食含有较多碳水化合物的食物时, 其胰腺和肠道的淀粉酶活性也相应增强 (Corring et al. 1987, Makkink et al. 1994)。有 研究指出,饲粮中不同纤维源会对消化酶的活 性产生不同的影响(Low 1985)。已有的实验 证明,肉兔饲粮的纤维水平及来源都能影响盲 肠内纤维素酶的活性(Varel et al. 1984, Varel 1987)。也有研究报道,随着饲粮中纤维水平的 增加盲肠纤维素酶的活性也显著增加(Gidenne et al. 2002)。本研究发现,塔里木兔胰腺和肠 道的淀粉酶和纤维素酶的活性都明显高于家 兔,脂肪酶和胰蛋白酶都低于家兔,表明塔里 木兔对淀粉类、纤维类物质的消化能力明显强 于家兔,对脂肪类的消化能力弱于家兔,这可 能与塔里木兔的食性相适应。塔里木盆地土壤 有机质含量极少, 盐碱地的面积较广, 植被稀 疏,且植物的种类极为贫乏,主要是菊科、藜 科的植物,禾本科、豆科植物较少(惠晓红2013)。夏季塔里木兔还以灌木、半灌木的外皮,幼嫩枝条、绿草、苜蓿(Medicago sativa)、瓜类等为食。到了冬季仅有的植物也已干枯,只能以芦苇(Phragmites australis)、罗布麻(Apocynum venetum)、甘草(Glycyrrhiza uralensis)、骆驼刺(Alhagi sparsifolia)等植物的根为食(王惠娥2009)。家兔的饲粮中富含粗脂肪、粗蛋白等营养,生活条件优越,水源充足,食物营养丰富。可见,塔里木兔为了适应营养匮乏贫瘠的野外食物环境,其消化酶活性产生了适应性,增强了对淀粉类、纤维类物质的消化能力。

同时,本研究发现,同一种消化酶在塔里木兔肠道的不同肠段中,其活性表现不相同。淀粉酶活性、脂肪酶活性及胰蛋白酶活性均为空肠高于其他肠段。空肠消化酶活性大,表明塔里木兔空肠对营养物质的消化能力强,其空肠是营养物质消化吸收的主要场所。这与已有学者报道的獭兔消化道消化酶活性的变化规律是一致的(高振华等 2009)。纤维素酶活性在塔里木兔盲肠最高。塔里木兔盲肠发达,在腹腔呈螺旋状,粗且长,全长 50~60 cm,容积是整个胃的 10 倍,约占整个胃肠道的 40%(惠晓红 2013)。塔里木兔盲肠纤维素酶活性大和发达的盲肠可以很好地将植物粗纤维发酵分解,是塔里木兔适应恶劣的营养条件的结果。

参考文献

- Corring T, Chayvialle J A. 1987. Diet composition and the plasma levels of some peptides regulating pancreatic secretion in the pig. Reproduction Nutrition Development, 27(6): 967–977.
- Gidenne T, Jehl N, Segura M, et al. 2002. Microbial activity in the caecum of the rabbit around weaning: impact of a dietary fibre deficiency and of intake level. Animal Feed Science and Technology, 99(1/4): 107–118.
- Low A G. 1985. The role of dietary fiber in digestion, absorption and metabolism//Proceedings of the 3rd International Seminar on

- Digestive Physiology in the Pig. Copenhagen: AGRIS, 157–179.

 Makkink C A, Berntsen P J, op den Kamp B M, et al. 1994. Gastric
- protein breakdown and pancreatic enzyme activities in response to two different dietary protein sources in newly weaned pigs.

 Journal of Animal Science, 72(11): 2843–2850.
- Varel V H. 1987. Activity of fiber-degrading microorganisms in the pig large intestine. Journal of Animal Science, 65(2): 488–496.
- Varel V H, Pond W G, Yen J T. 1984. Influence of dietary fiber on the performance and cellulase activity of growing-finishing swine. Journal of Animal Science, 59(2): 388–393.
- 晁洪雨,李福昌. 2007. 日粮 ADF 水平对生长肉兔氮平衡、免疫及消化酶活性的影响. 中国饲料, (15): 18-20, 23.
- 崔文典. 2005. 日粮不同蛋白质和粗纤维水平对幼兔血液生化指标、消化酶活性的影响. 保定: 河北农业大学硕士学位论文, 20-25.
- 董兵, 谷子林, 高振华. 2006. 不同营养类型日粮添加外源酶对断 奶仔兔内源消化酶活性的影响. 河北农业大学学报, 29(1): 77-81.
- 董兵, 谷子林, 高振华. 2011. 不同水平大蒜素对獭兔生产性能及 内源消化酶活性的影响. 华北农学报, 26(1): 157-161.
- 高耀亭. 1985. 中国塔里木兔考察简报. 兽类学报, 5(1): 77-79.
- 高振华,李英,赵国先,等. 2009. 獭兔消化道 pH 及主要消化酶变化规律研究. 动物营养学报, 21(1): 72-77.
- 惠晓红,赵明飞. 2013. 塔里木兔适应荒漠生态的特性分析. 当代 畜牧,(5):43-44.
- 李维东. 2011. 中国特有物种——塔里木兔. 动物学杂志, 46(1): 134-135
- 宋中齐, 干友民, 谭剑蓉, 等. 2013. 白三叶对肉兔肠黏膜形态、肠道消化酶活性和盲肠发酵的影响. 动物营养学报, 25(8): 1878-1885
- 王惠娥. 2009. 塔里木兔的生物学特性和开发利用. 中国草食动物, 29(4): 65.
- 张建萍, 李树伟, 于伟江. 2013. 塔里木兔肾脏水通道蛋白在适应 干旱环境中的作用. 兽类学报, 33(4): 377-382.
- 张建云, 计成, 邱文革. 2005. 大豆胰蛋白酶抑制因子对力克斯兔消化酶活性的影响. 中国畜牧兽医, 32(11): 16–19.
- 朱克华. 2012. 酸化饮水对断奶幼兔生长性能、消化酶活性及肠道 环境的影响. 杨凌: 西北农林科技大学硕士学位论文, 12-24.