

食物单宁和皂苷对小白鼠食物选择的影响

李婷婷^{①②} 刘丙万^① 肖治术^{②*}

(^① 东北林业大学野生动物资源学院 哈尔滨 150040;

^② 中国科学院动物研究所 农业虫鼠害综合治理研究国家重点实验室 北京 100101)

摘要: 通过饲喂自然种子及人工饲料块等单宁和皂苷含量不同的食物,研究了食物中单宁或皂苷水平对小白鼠(*Mus musculus domesticus*)食物选择的影响,以及取食经历在其食物选择中的作用。结果表明,(1)无论有无取食经历,小白鼠均优先取食次生物质含量低的锥栗(*Castanea henryi*)或花生(*Arachis hypogaea*),而很少取食单宁含量高的栓皮栎(*Quercus variabilis*)或皂苷含量高的油茶(*Camelia oleifera*);(2)小白鼠的取食经历能增强其对种子中单宁或皂苷水平的识别,从而减少其摄入;(3)小白鼠的食物摄入量随单宁或皂苷含量的增加而显著降低。本研究说明单宁或皂苷均可显著影响动物的食物选择,且取食经历能增强动物对食物的识别能力。

关键词: 小白鼠;单宁;皂苷;食物选择;取食经历

中图分类号:Q948.12 文献标识码:A 文章编号:0250-3263(2010)05-54-07

Effects of Food Tannin and Saponin on Diet Selection of Mice

LI Ting-Ting^{①②} LIU Bing-Wan^① XIAO Zhi-Shu^{②*}

(^① College of Wildlife Resources, Northeast Forestry University, Harbin 150040;

^② State Key Laboratory of Integrated Management of Pest Insects and Rodents in Agriculture, Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China)

Abstract: We tested the effects of food tannin and saponin on diet selection of mice (*Mus musculus domesticus*) by using natural seeds and artificial food with different amount of tannin or saponin. We also investigated the effects of feeding experiences on diet selection. The results showed that: (1) regardless of feeding experiences, mice preferred to consume more seeds with lower tannin (i. e. *Castanea henryi*) or saponin (i. e. *Arachis hypogaea*) over those with high tannin (i. e. *Quercus variabilis*) or saponin (i. e. *Camelia oleifera*); (2) feeding experiences for mice could enhance its ability to identify tannin or saponin levels in seeds, resulting in less food intake; and (3) food intake of mice significantly decreased with the increase of food tannin or saponin level. Our study indicates that food tannin or saponin can highly influence food selection by animals and feeding experiences can promote the animals to identify and use different kinds of food.

Key words: Mice; Tannins; Saponins; Diet selection; Feeding experiences

在长期进化过程中,动物演化了一些机制来选择取食或贮藏所遇见的食物(如植物种子):这种决策的效率越高,动物将越可能实现存活和繁殖^[1-2]。同时,植物种子也进化出一些特征来防止动物的过度捕食并促进动物对其贮藏和扩散^[3]。单宁和皂苷是常见的植物次

基金项目 国家基础规划项目“973”(No. 2007CB109102),中国科学院知识创新工程青年人才领域前沿项目;

* 通讯作者,E-mail: xiaozs@ioz.ac.cn;

第一作者介绍 李婷婷,女,硕士研究生;研究方向:动物生态学;E-mail: tingtingmuzi@163.com。

收稿日期:2010-05-17,修回日期:2010-07-01

生物质,对许多动物的食物喜好和生理等产生重要影响^[4-13]。单宁普遍存在于多数植物的各个器官(包括果实和种子),由酚类化合物组成,常与蛋白质或消化酶形成络合物,从而降低消化道内消化酶的活性以及蛋白质的吸收,造成肝、肾功能的衰竭,并导致体重下降、内源性氮流失、甚至死亡^[3,14-17]。皂苷属萜类化合物,普遍存在于多种植物中(如山茶属 *Camellia*)。取食皂苷含量高的食物可影响心和肝功能,降低动物体重,严重时可导致动物死亡^[6,18-20]。由于植物次生物质对动物行为和生理产生诸多不利影响,因此动物在取食过程中如何选择并利用所遭遇的食物,对保证个体存活和种群繁衍有重要作用。一些研究认为单宁与皂苷可能存在交互影响,同时取食含一定比例的单宁和皂苷的食物可减弱或消除它们各自对动物产生的不利影响^[6]。因此动物可通过摄入多种含不同种类次生物质的食物,从而避免因过量取食某一种次生物质所造成的毒害作用。此外,动物的取食经历能增强对食物的识别能力,有助于有效利用各种食物资源,同时避免或减少各种有害物质的摄入^[21-24]。

在我国亚热带常绿阔叶林中,栎属 (*Quercus*) 橡子和山茶属种子(如油茶 *C. oleifera*) 等是啮齿类等野生动物的重要食物来源,但它们分别含有较高水平的单宁或皂苷等次生物质。研究表明小泡巨鼠 (*Leopoldamys edwardsi*)、针毛鼠 (*Niviventer fulvescens*) 和赤腹松鼠 (*Callosciurus erythraeus*) 等野生啮齿动物优先取食单宁含量低的锥栗 (*Castanea henryi*) 种子,而很少取食但贮藏了更多的单宁含量高的栓皮栎 (*Q. variabilis*) 种子^[12-13,25]。研究也发现小泡巨鼠等不喜好取食皂苷含量高的油茶种子,但喜好贮藏油茶种子^[25-28]。在野外条件下,研究野生鼠的食物选择及其行为、生理等特征常有一定的局限性,如动物个体间常存在较大差异,其生存环境和遗传等背景难于一致,因此得出的结论差异较大。本研究拟在实验室较为稳定的条件下用模式动物——小白鼠 (*Mus musculus domesticus*) 作为实验对象,严格控制其

遗传背景和相关生理指标(年龄、体重等),研究食物单宁和皂苷对其食物选择的影响,以期验证驯化过程是否影响小白鼠对单宁和皂苷的识别,为进一步探讨植物次生物质对动物行为和生理的作用机制提供参考依据。

本研究主要通过饲喂自然种子及人工饲料块等单宁及皂苷含量不同的食物来研究单宁和皂苷等次生物质对小白鼠食物选择的影响,同时了解取食经历在小白鼠食物选择中的作用。根据以往野外研究的结果,我们预测食物单宁和皂苷对小白鼠食物选择有如下影响:(1) 小白鼠喜好取食含次生物质低的食物,而很少或避免取食含次生物质高的食物;(2) 取食经历能增强小白鼠对单宁或皂苷的识别能力;(3) 随着单宁或皂苷含量的增加,小白鼠将减少其食物摄入量。

1 材料与方 法

实验用的种子为栓皮栎、锥栗、油茶和花生 (*Arachis hypogaea*)。栓皮栎、锥栗和油茶采自四川省都江堰地区,花生从市场上购买。在本研究中,以栓皮栎为高单宁类食物,含量为 11.7%,显著高于锥栗种子(0.6%),而以油茶为高皂苷类食物,含量为 11.8%,并以花生作为对照,其几乎不含次生物质。锥栗与栓皮栎或油茶与花生的其他营养成分则大致相似(表 1)。实验中,锥栗与栓皮栎均选用 2~3 g 左右的种子,而油茶与单仁花生则选用 0.5~1.0 g 左右的种子。

1.1 小白鼠的取食经历在自然种子选择中的作用 选取 20 只同龄健康 ICR 小白鼠(10 ♀、10 ♂)为实验对象,购于北京维通利华实验动物技术有限公司,约 6 月龄,它们均没有对上述种子的取食经历。采用维持期饲料喂养,自由采食和饮水,光照周期为 12L:12D(光照时间 8:00~20:00 时)。实验前,所有实验用鼠均经历 7 d 单笼的适应性饲养。然后,将实验用鼠随机分为 2 个处理组,每组 10 只(5 ♀、5 ♂):第 1 组饲喂锥栗、栓皮栎各 10 粒;第 2 组饲喂花生、油茶各 10 粒。连续测试 3 d,随后改用正

表 1 锥栗、栓皮栎、花生和油茶 4 种种子的特征

Table 1 Seed traits of *Castanea henryi*, *Quercus variabilis*, *Arachis hypogaea* and *Camelia oleifera*

种子 Seed species	粗蛋白 (%) Crude protein	粗脂肪 (%) Crude fat	粗纤维 (%) Crude fiber	单宁 (%) Tannin	皂苷 (%) Saponin
锥栗 <i>Castanea henryi</i> ^[12]	7.05	1.11	2.31	0.6	-
栓皮栎 <i>Quercus variabilis</i> ^[25]	5.92	3.94	2.87	11.7	-
花生 <i>Arachis hypogaea</i> [*]	25.80	50.10	5.50	-	-
油茶 <i>Camelia oleifera</i> ^[29]	6.23	57.76	2.39	0.1	11.80

* 为本研究测定;“-”表示种子中不含单宁或皂苷。* Measured by this study;“-”No tannins or saponins in seeds.

常维持期饲料喂至 60 d 时,对上述动物进行再次测试。每次测试时间为 16 h,即 17:00 ~ 18:00 时放入种子,第 2 天 9:00 ~ 10:00 时清查动物的取食情况。种子状态按取样 (sampled) 和取食 (eaten) 进行记录:若种子表面有咬痕或种仁被取食定义为取样;而种仁若有超过 5% 被消耗定义为取食 (eaten)。数据采用每天取样和取食分别占所提供种子数量的比例来进行分析。

1.2 食物单宁和皂苷水平对小白鼠食物摄入量的影响 通过在正常维持期饲料中添加不同比例的单宁或皂苷来制备人工饲料块。实验用的单宁为天津市光复精细化工研究所出品的分析纯样品;皂苷则购于东京化成工业株式会社。先将饲料研磨成粉,然后加入不同比例的单宁或皂苷,和水搅匀,用饮料瓶瓶盖作为模具将饲料成型,60℃ 烘干 48 h。每个饲料块约重 4 g。单宁组设 0、2.5% TA、5% TA、10% TA、20% TA 5 个水平梯度;皂苷组设 0、2% SA、4% SA、8% SA 4 个水平梯度。

选取 40 只同龄健康 ICR 小白鼠 (20 ♀、20 ♂,约 6 月龄) 作为实验对象 (实验条件如 1.1) 随机分成 5 个处理组,每组 8 只,雌雄各 4 只,其中对照组饲喂不添加单宁或皂苷的饲料块,其他 4 组分别饲喂含 2.5%、5%、10% 和 20% 单宁的饲料块。实验持续 5 d。为了让小白鼠适应人工饲料块,第 1 天和第 2 天分别投喂不添加单宁或皂苷的饲料块 2 块或 5 块。第 3 天更换巢料,5 个处理组分别投喂含不同单宁的饲料块,每个个体各 5 个已知重量的饲料块,24 h 后收回剩余饲料并 60℃ 烘干 48 h 后称重。第 4 天随机选 32 只 (雌雄各 16 只) 饲喂不添加

单宁或皂苷的饲料块,每个个体 5 块。第 5 天将所选 32 只个体随机分为 4 个处理组,雌雄各 4 只,分别投喂含不同梯度皂苷的饲料块,每个个体各 5 块。投喂前更换新巢料,剩余饲料处理方法同单宁实验。食物摄入量 = 投入实物量 - 剩余实物量。由于小白鼠个体之间重量存在一定差异,本研究用单位体重食物摄入量 (= 食物摄入量 / 体重) 进行统计分析。

1.3 数据分析 采用 SPSS 13.0 软件包进行数据统计与分析。用 1 Sample Kolmogorov-Smirnov Test 分析小白鼠食物摄入量的分布是否为正态分布。分析前,用反正玄函数对百分数数据进行转化。用独立样本 *t*-检验先分析各处理组中雌雄个体之间有无显著差异。分析表明,雌雄个体间均无显著差异,因此本研究中,雌雄个体的数据合并进行有关分析。Repeated Measures ANOVA 用于检验取食经历对小白鼠选择种子有无显著影响;One-way ANOVA 用于分析单宁或皂苷梯度对小白鼠的食物摄入量有无显著差异,并用 LSD 比较不同处理组间是否存在显著差异。

2 结果与分析

2.1 小白鼠的取食经历在自然种子选择中的作用 小白鼠取样和取食低单宁锥栗种子的比例均显著高于高单宁的栓皮栎种子 (取样: $F_{1,18} = 16.323, P < 0.001$; 取食: $F_{1,18} = 94.335, P < 0.001$, 图 1)。相对于皂苷含量高的油茶种子,小白鼠取样和取食了更多花生 (取样: $F_{1,18} = 12.048, P < 0.001$; 取食: $F_{1,18} = 93.682, P < 0.001$, 图 2)。小白鼠能有效识别单宁或皂苷含量低的种子,并大量取食,且随着取食经历

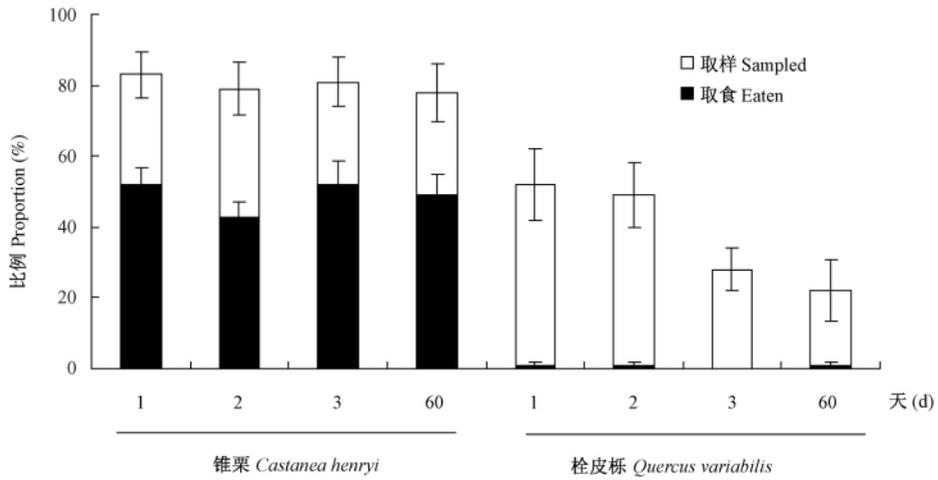


图 1 小白鼠对锥栗和栓皮栎的取食选择 (Mean ± SE , n = 10)

Fig. 1 Feeding preference to seeds from *Castanea henryi* and *Quercus variabilis*

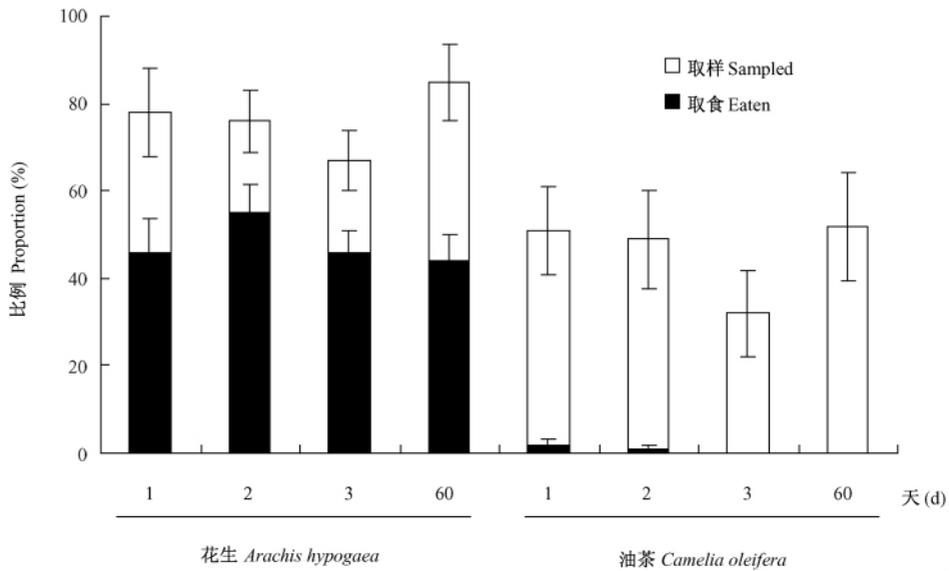


图 2 小白鼠对花生和油茶种子的取食选择 (Mean ± SE , n = 10)

Fig. 2 Feeding preference to seeds from *Arachis hypogaea* and *Camelia oleifera*

的增加 其对种子的识别能力得到增强 几乎不取食或取样本宁或皂苷含量高的种子。

2.2 食物单宁和皂苷水平对小白鼠食物摄入量的影响 小白鼠的单位体重食物摄入量随食物单宁水平的增加而显著降低 ($F_{3,39} = 31.844, P < 0.001$): 0、2.5% TA 和 5% TA 低单宁处理组间无显著差异 ($P > 0.05$), 但它们与高单宁处理组间 (即 10% TA 和 20% TA) 存

在极显著的差异 ($P < 0.001$) (图 3)。与单宁组相似, 小白鼠单位体重摄入量亦随食物皂苷水平的增加而显著降低 ($F_{3,31} = 18.079, P < 0.001$): 0 和 2% SA 低皂苷处理组间无显著差异 ($P > 0.05$), 但它们与高皂苷处理组间 (即 4% SA 和 8% SA) 存在极显著的差异 ($P < 0.001$) (图 4)。

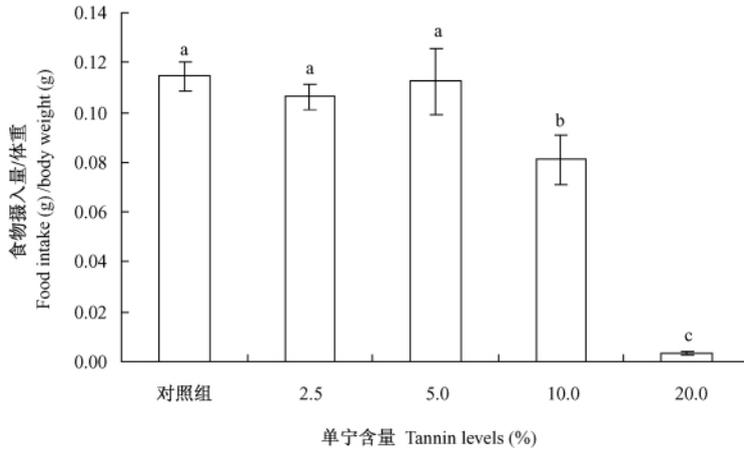


图3 食物单宁水平对小白鼠食物摄入量的影响

Fig. 3 Effects of the content of food tannin on food intake of mice

图中字母 a, b, c 表示处理组间是否有差异, 相同字母表示组间无差异 $P > 0.05$ (LSD 检验)。

Bars with the same letters are not significantly different ($P > 0.05$; LSD test).

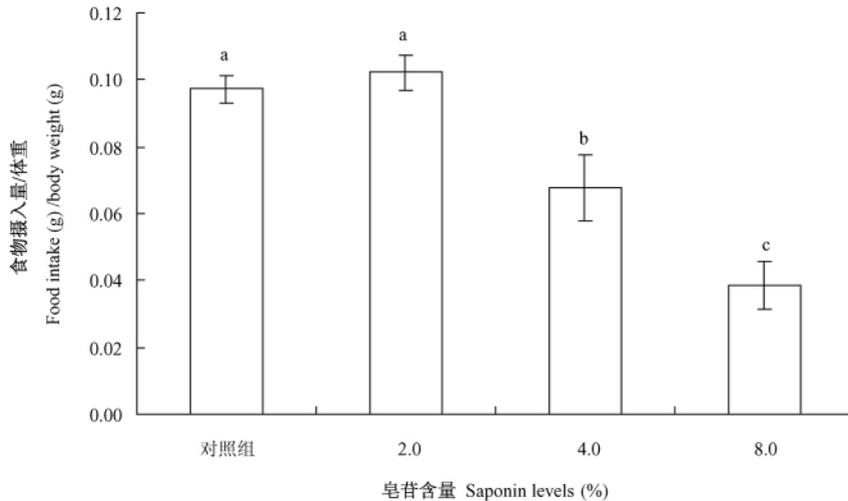


图4 食物皂苷水平对小白鼠食物摄入量的影响

Fig. 4 Effects of the content of food saponin on food intake of mice

图中字母 a, b, c 表示处理组间是否有差异, 相同字母表示组间无差异 $P > 0.05$ (LSD 检验)。

Bars with the same letters are not significantly different ($P > 0.05$; LSD test).

3 讨论

研究表明, 小白鼠优先取食单宁或皂苷含量低的种子(如锥栗或花生), 而很少或不取食单宁或皂苷含量高的种子(如栓皮栎或油茶), 这与预测结果相一致。也与在都江堰林区小泡巨鼠、针毛鼠和赤腹松鼠等野生鼠的研究结果相一致^[12-13, 25, 28]。Shimada 等^[10]发现

大林姬鼠(*Apodemus speciosus*)优先取食单宁含量低的柞栎(*Q. serrata*) 橡子(2.7%), 而很少取食单宁含量高的蒙古栎(*Q. mongolica* var. *grosseserrata*) 橡子(8.5%)。Barthelmess^[30]的研究也表明, 灰松鼠(*Sciurus carolinensis*)优先选择低单宁的食物, 但食物中蛋白质含量的高低对食物选择没有影响。此外, 我们也发现小白鼠的食物摄入量随食物单宁或皂苷含量的增

加而显著降低。当单宁或皂苷含量低时,食物摄入量与对照组没有显著差异,说明低含量的次生物质对动物的食物摄入量影响较小。但当单宁含量增加到 10% 或皂苷含量增加到 4% 时,小白鼠的食物摄入量明显减少,说明次生物质的存在显著影响动物的食物摄入量。

尽管有无取食经历不影响小白鼠对食物单宁或皂苷的选择,但研究表明,取食经历能增强动物对种子的识别能力。在取食过程中,小白鼠常常试探性抽样所遭遇的食物(如种子),并在含次生物质较高的种子表面留下咬痕(标示取样),但极少取食这些种子。随着取食经历的增加,小白鼠对种子的识别能力也有所增强,所以对含次生物质较高的种子的取样亦有所减少。Shimada 等^[31]的研究表明,取食经历能增强大林姬鼠对短柄枹的识别能力。Bonal 等^[24]研究显示,取食经历能增强初生的地中海小家鼠(*Mus spretus*)识别虫蛀种子和完好种子的能力。这些研究进一步说明取食经历对动物识别和认识所遭遇的食物有非常重要的作用^[21-24],可保证其获得更多有益于自身的食物,并减少有害物质的摄入和吸收。

本研究在实验室条件下进一步验证了单宁和皂苷对啮齿动物食物选择的影响:无论有无取食经历,动物优先取食次生物质含量低的种子,而很少取食次生物质含量高的种子,且动物的取食经验能增强其对种子中单宁和皂苷水平的识别,从而减少有害物质的摄入和吸收。在野外条件下,动物的食物选择常常受当地食物种类(包括所含营养物质、次生物质等)、食物丰富度以及其他环境因子等的影响。在实验室稳定条件下,驯化的小白鼠对高单宁/皂苷食物的选择与野生鼠表现一致,说明驯化没有导致其丧失对食物单宁或皂苷的识别。然而,在自然界中,许多动物均需取食大量含各种次生物质的种子或其他食物,它们如何从行为和生理上选择并利用这些食物资源仍有待进一步的深入研究。

参 考 文 献

- [1] Smith C C, Reichman O J. The evolution of food caching by birds and mammals. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 1984, 15: 329 - 351.
- [2] Vander Wall S B. *Food Hoarding in Animals*. Chicago: Chicago University Press, 1990.
- [3] Vander Wall S B. The evolutionary ecology of nut dispersal. *The Botanical Review*, 2001, 67: 74 - 117.
- [4] Rhoades D F, Cates B. A general theory of plant anti-herbivore chemistry // Wallace J, Mansell R L. *Biochemical Interaction between Plants and Insects*. Recent Advances in Phytochemistry vol 10. New York: Plenum Press, 1976, 168 - 213.
- [5] Swain T. Tannins and lignins // Rosen G A, Janzen D H. *Herbivores: Their Interaction with Secondary Plant Metabolism*. New York: Academic Press, 1979, 657 - 682.
- [6] Freeland W J, Calcott P H, Anderson L R. Tannins and saponin: interaction in herbivore diets. *Biochemical Systematics and Ecology*, 1985, 13(2): 189 - 193.
- [7] Smallwood P D, Peters W D. Grey squirrel food preferences: the effect of tannin and fat concentration. *Ecology*, 1986, 67: 168 - 174.
- [8] Johnson W C, Thomas L, Adkisson C S. Dietary circumvention of acorn tannins by blue jays. *Oecologia*, 1993, 94: 159 - 164.
- [9] Chapman C A, Chapman L J. Foraging challenges of red colobus monkeys: influence of nutrients and secondary compounds. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 2002, 133: 861 - 875.
- [10] Shimada T, Saitoh T. Negative effects of acorns on the wood mouse *Apodemus speciosus*. *Population Ecology*, 2003, 45: 7 - 17.
- [11] Rogosic J, Estell R E, Skobic D, et al. Influence of secondary compound complementarity and species diversity on consumption of Mediterranean shrubs by sheep. *Applied Animal Behaviour Science*, 2007, 107: 58 - 65.
- [12] Xiao Z S, Chang G, Zhang Z B. Testing the high-tannin hypothesis with scatter-hoarding rodents: experimental and field evidence. *Animal Behaviour*, 2008, 75: 1235 - 1241.
- [13] Xiao Z S, Gao X, Jiang M M, et al. Behavioral adaptation of Pallas' s squirrels to germination schedule and tannins in acorns. *Behavioral Ecology*, 2009, 20: 1050 - 1055.
- [14] Lindroth R L, Batzli G O. Plant phenolics as chemical defense effects of natural phenolics on survival and growth of prairie voles (*Microtus ochrogaster*). *Journal of Chemical Ecology*, 1984, 10: 229 - 244.
- [15] Bulter L G. Effects of condensed tannin on animal

- nutrition// Hemingway C R W , Karchesy J J. Chemistry and Significance of Condensed Tannins. New York: Plenum Press , 1989 , 391 - 402.
- [16] Robbins C T , Hagerman A E , Austin P J , et al. Variation in mammalian physiological responses to a condensed tannin and its ecological implications. *Journal of Mammalogy* , 1991 , 72 : 480 - 486.
- [17] Shimada T , Saitoh T. Re-evaluation of the relationship between rodent populations and acorn masting: a review from the aspect of nutrients and defensive chemicals in acorns. *Population Ecology* , 2006 , 48 : 341 - 352.
- [18] Cheeke P R , Kinzell J H , Pedersen M W. Influence of saponins on alfalfa utilization by rats , rabbits and swine. *Journal of Animal Science* , 1977 , 45 : 476 - 481.
- [19] Mali S , Borges R M. Phenolics , fibers , alkaloids , saponins , and cyanogenic glycosides in a seasonal cloud forest in India. *Biochemical Systematics and Ecology* , 2003 , 31 : 1221 - 1246.
- [20] Kim J H , Hahm D H , Yang D C , et al. Effect of crude saponin of Korean red ginseng on high-fat diet-induced obesity in the rat. *Journal of Pharmacological Sciences* , 2005 , 79 (1) : 124 - 131.
- [21] Estes J A , Riedman M L , Staedler M M , et al. Individual variation in prey selection by sea otters: patterns , causes and implications. *Journal of Animal Ecology* , 2003 , 72 : 144 - 155.
- [22] Darmaillacq A S , Dickel L , Chichery M P , et al. Rapid taste aversion learning in adult cuttlefish , *Sepia officinalis*. *Animal Behaviour* , 2004 , 68 : 1291 - 1298.
- [23] Villalba J J , Provenza F D , Han G D. Experience influences diet mixing by herbivores: implications for plant biochemical diversity. *Oikos* , 2004 , 107 : 100 - 109.
- [24] Munoz A , Bonal R. Seed choice by rodents: learning or inheritance. *Behavioral Ecology and Sociobiology* , 2008 , 62 : 913 - 922.
- [25] 肖治术 , 张知彬 , 王玉山. 小泡巨鼠对森林种子选择和贮藏的观察. *兽类学报* , 2003 , 23 (3) : 208 - 213.
- [26] Xiao Z S , Zhang Z B , Wang Y S. Impacts of scatter-hoarding rodents on restoration of oil tea *Camellia oleifera* in a fragmented forest. *Forest Ecology and Management* , 2004 , 196 : 405 - 412.
- [27] Xiao Z S , Wang Y S , Marvin H , et al. Spatial and temporal variation of seed predation and removal of sympatric large-seeded species in relation to innate seed traits in a subtropical forest , Southwest China. *Forest Ecology and Management* , 2006 , 222 : 46 - 54.
- [28] 肖治术 , 张知彬. 都江堰林区小型兽类取食林木种子的调查. *兽类学报* , 2004 , 24 (2) : 121 - 124.
- [29] 侯如燕 , 王巧珍 , 宛晓春. 油茶皂苷的几种粗提工艺比较. *中国农学通报* , 2006 , 22 (2) : 107 - 109.
- [30] Barthelmess E L. The effects of tannin and protein on food preference in eastern grey squirrels. *Ethology , Ecology & Evolution* , 2001 , 13 : 115 - 132.
- [31] Shimada T , Takahashi A. Selective consumption of acorns by the Japanese wood mouse according to tannin content: a behavioral countermeasure against plant secondary metabolites. *Ecological Research* , 2007 , 23 : 1033 - 1038.