

中华哲水蚤不同地理种群苹果酸脱氢酶(MDH)的比较*

A COMPARATIVE STUDY OF MDH IN TWO POPULATIONS OF *Calanus sinicus* (Copepod)

曹文清 杨明 谭树华 林元烧 郭东晖

(厦门大学海洋系,厦门大学亚热带海洋研究所,361005)

关键词 中华哲水蚤(*Calanus sinicus*),地理种群,苹果酸脱氢酶(MDH)

中华哲水蚤(*Calanus sinicus* Brodsky)是属于甲壳纲(Crustacea)桡足亚纲(Copepoda)哲水蚤目(Calanoida)哲水蚤属(*Calanus* Leach)的一类浮游动物,为暖温带种,广泛分布于我国渤、黄海和东海沿岸区,为这些水域的优势种^[1]。有关中华哲水蚤的研究国内有过许多报道:李少菁^[2]、陈清潮^[3]、林元烧等^[4]曾分别对该种类生活习性、摄食、生殖及生活史进行过研究,林元烧、曹文清等^[5]也曾对厦门港不同月份采集的中华哲水蚤染色体组型进行了分析。而不同地理种群和不同季节种群的中华哲水蚤同工酶的研究至今国内、外均无报道。中华哲水蚤是我国近海广域性的种类,各海区地理环境、生态条件不尽相同,栖息于各海区中的中华哲水蚤有可能在自然选择和遗传漂变过程中产生与各海域生态环境相适应的独特的基因型和遗传结构^[5]。本实验利用同工酶电泳技术对不同地理种群的中华哲水蚤进行同工酶分析,比较它们之间的异同,为使中华哲水蚤研究更加系统化,提供其遗传多样性中蛋白质多态性的研究资料。

1 材料与方 法

1.1 样品的采集与处理

本实验所用的中华哲水蚤分别于2000年10~11月和2001年3~4月采自台湾海峡(主要在厦门港海区取样)和黄海东南部。挑选成熟、活力强的中华哲水蚤作为实验样品(每个地理种群40只),蒸馏水淋洗后,置于液氮中保存运回实验室。样品处理时,单只置于萃取缓冲液(1 μ l β -巯基乙醇、1 ml Tris-HCl (0.05 mol/L pH 8.0),少量甘油)中冰浴研磨,匀浆液于4 $^{\circ}$ C保存备用。

1.2 电泳

本实验采用垂直板不连续聚丙烯酰胺凝胶电泳技

术(PAGE)对不同地理种群的中华哲水蚤的苹果酸脱氢酶(MDH)进行电泳。浓缩胶的浓度为4%(pH为6.8),分离胶的浓度为7%(pH为8.9)。在150 V电压下电泳1h后改变电压,在350 V下电泳约4h。电极缓冲液为Tris-Gly系统(pH为8.7)。染色液按王中仁^[6]的配方配制。

2 实验结果

2.1 MDH的电泳表现型比较

台湾海峡:该酶为二聚体酶,由2个基因座位编码,即迁移快的位点Mdh-1和迁移慢的位点Mdh-2。其中Mdh-1由a, b, c 3个等位基因编码,共发现6种基因型:纯合体aa, bb和cc及杂合体ab, ac和bc。Mdh-2由a, b, c, d 4个等位基因编码,表现出7种基因型:纯合体aa, bb, cc和dd及杂合体ac, bd, ad。(如图1 a所示)。

黄海东南部:电泳表现出的酶谱与台湾海峡采集的中华哲水蚤的酶谱相似,也有两个位点。在迁移率较快的Mdh-1位点也有6种基因型:纯合体aa, bb和cc及杂合体ab, ac和bc。迁移率较慢Mdh-2的位点有5种基因型:纯合型aa, bb和cc和杂合体ac和bc(如图1 b所示)。

台湾海峡与黄海东南部的样品在位点Mdh-1的基因型基本相似。但在Mdh-2两者却有着明显的差异:台湾海峡的样品在此位点表现出以纯合体cc为

* 国家自然科学基金基础研究重大课题资助项目 G1999043708号;国家自然科学基金项目 40076034号。
第一作者:曹文清,出生于1954年,副教授。E-mail: yslin@xmu.edu.cn

收稿日期:2001-08-27;修回日期:2002-05-30

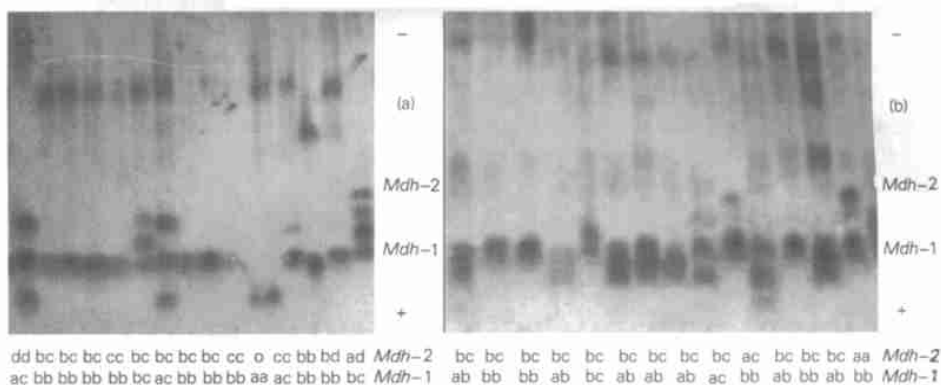


图1 中华哲水蚤 MDH 同工酶的基因型表现型图谱

a:台湾海峡;b:黄海东南部

主的类型,占总体的 63.89%;而黄海东南部的样品则以 3 条带的杂合基因型 bc 为主,占总体的 85.71%。

2.2 MDH 酶谱的遗传分析比较

为了便于比较,计算出苹果酸脱氢酶两个位点的等位基因频率(见表 1)。从表中可以看出,台湾海峡与黄海东南部样品的苹果酸脱氢酶的两个位点都是多态的(多态的标准定为最常见的等位基因频率不超过 0.95)。在 *Mdh-1* 位点都是由三个等位基因编码,在位点 *Mdh-2* 都是由四个等位基因编码。

表 1 中华哲水蚤不同地理种群 MDH 等位基因频率比较

位点	等位基因	等位基因频率(%)	
		台湾海峡	黄海东南部
<i>Mdh-1</i>	a	19.44	26.20
	b	65.28	64.29
	c	15.28	9.52
<i>Mdh-2</i>	a	8.33	7.14
	b	8.33	42.86
	c	68.06	50.00
	d	15.28	0

3 讨论

中华哲水蚤个体较小,样品单只研磨后,所得到的匀浆液相对较少,每只只能添加一次样品井,因此为了保证在染色时有足够量的有活性的酶与底物反应而显色,在实验中如样品处理、加样、电泳等过程中都应注意保持酶的活性,尽量使样品处于低温状态下;同时,尽量减少实验中不必要的耽搁时间,以便保持酶原有的活性,也利于酶带的清晰辨别及遗传学分

析。由于不同生物的酶的性质受多种因素的影响,所以在电泳的过程中,针对不同的样品选择合适浓度和 pH 值的凝胶和电极缓冲液系统及合适的染色液配方是至关重要的。在实验的过程中,曾依据真刺唇角水蚤同工酶电泳^[7]的方法,对中华哲水蚤进行电泳,但未能得到清晰的酶带。由此可以推测在低等的动物之间酶的性质差异更加明显,只有通过反复实验才能得出适合某一物种的特定的电泳方法。

两个不同地理种群的中华哲水蚤苹果酸脱氢酶的位点中,所有位点都是多态的,这与 Bucklin 等^[8]所分析的美国大西洋沿岸浮游桡足类夏唇角水蚤 4 种同工酶 6 个位点都是多态的现象趋于一致。从电泳后 MDH 酶谱来看,在 *Mdh-2* 位点两个不同的地理种群之间存在着明显的差异,台湾海峡的中华哲水蚤以基因型纯合的个体为主,占总体的 63.89%;而黄海东南部的中华哲水蚤在此位点以 3 条带的 bc 基因型为主,占总体的 85.71%,并且没有基因型纯合的类型;这种基因型的差异可能是其对所处的不同生态环境产生适应能力所引起的。本实验同工酶分析只考察了 MDH 酶多态性,由此分析结果只能停留在比较粗浅的层次上,如果要进一步度量种群的遗传多样性或者进行不同地理种群之间的遗传学关系的分析,还需对其他多种酶进行实验,获得一定数量位点的等位基因频率等数据,才能计算两个群体间诸如基因多样性指数、遗传距离等平均指标。

参考文献

- 1 郑重,李少菁,许振祖. 海洋浮游生物学. 北京:海洋出版社,1984. 310
- 2 李少菁. 厦门几种海洋浮游桡足类的食性与饵料成分的研究,厦大学学报,1964,11(3):93-109
- 3 陈清潮等. 中华哲水蚤的繁殖、性比率 and 个体大小的研

快报



EXPRESS Letters

- 究,海洋与湖沼,1964,6:272~287
- 4 林元烧、李松。厦门港中华哲水蚤生活周期的初步观察,厦门大学学报(自然科学版),1984,23(1):111~117
- 5 林元烧、曹文清、姚津津。厦门港中华哲水蚤染色体组型,厦门大学学报,2000,39(6):826~830
- 6 王中仁。植物等位酶分析。北京:科学出版社,1996。174~175
- 7 王桂忠、李少菁。厦门港海区真刺唇角水蚤不同季节种群的同工酶分析,海洋与湖沼,1992,23(6):657~662
- 8 Bucklin A, Marcus N.H.. Genetic differentiation of population of the plankton copepod *Labidocera aestiva*, Mar. Biol., 1985,84:219~224

(本文编辑:刘珊珊)