

贝类同工酶研究进展

Advances of studies on isozyme of shellfish

王冬群, 李太武, 苏秀榕

(宁波大学 生命科学与生物工程学院, 浙江 宁波 315211)

中图分类号: Q55 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2004)11-0072-05

同工酶是存在于生物的同一种属或同一个体的不同组织, 甚至同一组织或同一细胞中, 催化同一种化学反应, 但酶分子结构有所不同的一组酶。它是由染色体上的不同的基因位点或同一位点的等位基因编码的, 是基因型的生化表现型, 它反映了编码酶蛋白的 DNA 序列信息, 酶谱的变化反映了等位基因和位点的变化。Buth 等^[1]认为利用凝胶电泳技术, 能够得到具有较好的同源性和可比性的同工酶谱, 通过对酶谱的进一步分析, 可以较深入、直接地了解物种的遗传信息, 是分析生物的发育、遗传、系统进化和生理过程的有效探针。

1 细胞分化与个体发育

细胞核的基因调控着酶的构成及其表达的时空顺序, 分析不同胚胎发育时期酶的表达能揭示基因活动与细胞分化的关系。许多研究工作证明, 基因在不同类型细胞或同类细胞的各个不同发育阶段有着不同的表达, 而基因活动的一些形态学规律, 则可根据胚胎发育过程中同工酶的不同来测定。Markert 等^[2]认为在胚胎发育过程中, 选择某一酶系统的同工酶类进行比较研究对于探求基因活动和抑制等不同调节作用是很有效的方法。分析同工酶的遗传控制, 可探讨贝类早期发育阶段基因正常及混乱表达的机制以及基因剂量的补偿效应, 进而可探讨基因如何控制发育过程以及基因如何对发育过程作出应答, 也就能把细胞分化的生理标记与基因的调控作用联系起来, 阐明生物发育的机理。国内在贝类方面同类的研究起步较晚, 所见报道不多。

1.1 发育中同工酶的出现与功能的关系

发育是指由单细胞受精卵产生一个复杂的成体

的过程, 这种过程的主要特征是细胞组织分化, 由此产生了许多细胞类型, 每一类细胞都有其自己特有的体征和代谢特性, 从而使成体具有既分工又统一的整体功能。作为基因产物的同工酶, 性质方面的任何差异, 都可能在决定酶的功能中是重要的, 而酶的功能是与所在组织和细胞的功能相联系的。李清漪等^[3]对大瓶螺 (*Ampullaria gigas*) 的幼螺期、中螺期和成螺期的 4 种同工酶研究表明, 4 种同工酶在不同的生长发育期, 都分别表现出不同数量的谱带差异, 此种差异反映了在细胞生长分化时各种同工酶相应基因的活化作用的动力学过程。同时也表明不同生长期同工酶是具有时间特异性的。

1.2 发育中同工酶的表达

同工酶是生物有机体的天然标记, 不同发育时期的同工酶具有显著的差异性, 可反映出在生长发育过程中基因如何表达。胚胎发育早期蛋白质合成完全是利用卵子发生过程中从母体得来的 mRNA, 所以胚胎早期发育过程中的重要蛋白质 (包括同工酶) 基本由母体 mRNA 指导合成并保持恒定或缓慢下降, 其后, 随着胚胎发育到一定时期, 需要合子基因新的转录, 此时, 这些同工酶逐渐被新合成的酶分子所代替。范学铭等^[4]对褐云玛瑙螺 (*Achatina fulica*) 胚胎发育的

收稿日期: 2002-10-18; 修回日期: 2003-09-15

基金项目: 宁波市科技局重点资助项目 (00N0100-01)

作者简介: 王冬群 (1976-), 从事水产动物遗传育种与病害防治研究, E-mail: wdq1213@sohu.com; 李太武, 通讯作者,

E-mail: Litaiwu@hotmail.com



不同时间酯酶同工酶进行了分析, 结果表明依不同发育时间, 同工酶谱带呈逐渐递增趋势。对二色裂江珧 (*Pinna bicolor*) 的研究中发现同工酶的表达及活性与个体发育阶段有关, 在其电泳图谱中, EST- 6、9 酯酶和 s- SOD 的 BB 酶带的表达总是和个体较小的 3 个二色裂江珧有关, 由此认为这 3 条酶带可能只在低龄中出现, 随着个体的发育, 其活性降低或不表达, 相关基因的表达表现出一定的时序变化^[5]。

2 组织特异性研究

分化的组织和细胞具有特异性的结构和代谢特征, 而同工酶在不同组织中存在着一系列差异, 不同基因的表达产生了组织特异性的酶谱; 组织特异性分析是进行种群遗传结构和遗传变异分析的重要的基础性工作。李广丽等^[6]对合浦珠母贝 (*Pinctada martensii*) 的外套膜、闭壳肌、鳃、肝脏等 5 种组织 15 种同工酶的组织特异性进行了研究, 结果所测组织中未检出 a 磷酸甘油脱氢酶 (a- GPDH) 和醇脱氢酶 (ADH), 腺苷酸激酶 (AK)、淀粉酶 (AMY)、磷酸葡萄糖变位酶 (PGM)、碱性磷酸酶 (ALP)、谷氨酸脱氢酶 (GDH) 和乳酸脱氢酶 (LDH) 只在肝脏中表达。而苹果酸酶 (ME)、超氧化物歧化酶 (SOD)、酯酶 (EST)、苹果酸脱氢酶 (MDH)、葡萄糖- 6- 磷酸脱氢酶 (G6PD)、6- 磷酸葡萄糖酸脱氢酶 (6PGD) 和天冬转氨酶 (AAT) 则有较广泛的组织分布。王梅芳等^[5]对二色裂江珧的消化盲囊、肾脏、后闭壳肌肌肉、外套膜、鳃等 5 种组织的 EST 和 SOD 同工酶的组织特异性进行了研究, 结果, EST 和 SOD 存在不同程度的组织特异性。

3 种质研究

同工酶是一种相对稳定的基因组标记, 酶谱上所揭示的酶蛋白质的多态性被看作是对整个基因组的随机取样, 通过分析酶蛋白质的表现型, 就可算出等位基因频率或基因型频率, 这样在空间上可以了解种群间的遗传变异, 推断它们之间的基因交流和生殖隔离情况; 在时间上还可以通过种群间或种内同工酶变异情况的比较, 推断种群间的历史情况、迁徙方向, 最终测量出种群的遗传变异性, 对种群的遗传学结构作出估计。

3.1 基因座位多态性

与其它海洋生物相比, 海洋贝类的多态座位比例在不同物种之间和同一物种的不同种群之间均有较

大的差异。据报道, 脊椎动物多态座位比例为 15% ~ 30%, 海洋贝类多态位点比例平均为 0.46。利用多态性基因座位的不同基因型及等位基因频率作为生化指标, 可以对种群的遗传结构进行分析。利用多态性基因座位作为遗传标记, 将不同基因型的纯合体采用不同的组合进行人工交配, 有望筛选出具有优良性状的后代, 进而定向地建立稳定的人工优良繁殖品系。沈琪等^[7]对欧洲牡蛎 (*Ostrea edulis*) 的 2 个群体研究表明, 2 群体的多态位点比例分别达到了 57.9%, 42.1%。薛钦昭等^[8]对 6 个种群的海湾扇贝 (*Argopecten irradians*) 的磷酸葡萄糖变位酶的基因位点进行了分析, 共发现了 7 个等位基因。在泥蚶 (*Tegillarca granosa*)^[9]、魁蚶 (*Scapharca broughtonii*)^[10]、毛蚶 (*Scapharca subcrenata*)^[11]、栉孔扇贝 (*Chlamys farreri*)^[12]等方面都有相关的报道。

3.2 种质鉴定

Blanc^[13]通过对 2 个牡蛎种 *Ostre angasi* 和 *O. edulis* 的同工酶研究, 发现这 2 个种共享全部的等位基因变异, 并指出这 2 个“种”不应该是 2 个种。杨锐^[14]对山东沿海褶牡蛎 (*Crassostrea plicatula*) 与太平洋牡蛎 (*Crassostrea gigas*) 等位基因酶的遗传变异研究, 认为太平洋牡蛎与褶牡蛎是同一种。日本学者横川浩治^[15]利用同工酶技术对无裂栉江珧 (*Atrina pectinata*) 种内差异进行了研究, 通过等位基因频率计算不同类型间的遗传距离, 认为栉江珧应重新区分为有棘和无棘的 2 个种。王梅芳等^[16]利用 SOD、EST、MDH、LDH、ME 等五种酶对 4 种不同类型的无裂栉江珧进行了研究, 结果表明, SOD、MDH 的酶谱表型差异明显, 其特征谱带可作为区别无裂栉江珧种内差异的一种分子标记。

3.3 种间差异

王梅芳等^[17]利用 EST、SOD 对江珧科的三种江珧进行研究, 结果表明, 不同种间的个体其酶谱表型有稳定的差异, 同属的种间差异小于不同属的种间差异, 即酶谱的差异程度与形态分类学中的亲缘关系相关, 可利用其酶谱表型具有种特异性作为一种蛋白质标记。

3.4 进化分析

物种是以种群形式存在的, 进化也是以种群为基本单位的, 只有研究种或种群的遗传学组成及分布状



况,才可以掌握种群的遗传学结构。进化研究,重在测算物种之间的亲缘关系。通过对同工酶资料进行遗传学计算,用遗传相似度和遗传距离对种群间的亲缘关系给出一个定量的指标,进而可以了解种系发生的结构。由于编码酶蛋白的基因比较容易变化,当类群间亲缘关系较远时,在电泳图谱表型上有完全不同或大多数不同的基因位点,因而失去了测量亲缘关系远近的能力。为此也应该结合使用形态、化石、免疫、染色体和 DNA 等资料,对建立系统树才是更为有用的。所以在利用同工酶电泳技术进行各种水平的系统演化研究时,应选择那些各类群具相同或相异的性状和特征来衡量它们之间的关系,这样才具有实际意义。

3.5 地理种群的差异

遗传变异是生物进化的基础和必要条件,对适应环境有利的遗传变异与不太有用的变异相比,能更好的生存和产生更多的子代,结果适应变异的频率将逐代增加,而适应较差的变异将逐代减少,结果是生物体很好的适应它们所处的环境,Ayala 等^[18]指出,生物群体中遗传变异的大小与其进化速率成正比,也就是说,在群体中可变的基因位点越多,每个可变基因位点上等位基因越多,其适应环境的能力越强,进化速率也越大。也就是说地理种群差异的产生是种群对其生活环境中生态因素的适应和调整的结果。了解不同地理种群的遗传结构和比较种群遗传变异水平,可以为病害发生以及选育优良品种提供遗传生化指标。

基因交流的地理屏障可导致群体发生遗传分化。刘仁沿等^[19]对中国北方 5 个群体的菲律宾蛤仔 (*Ruditapes philippinarum*) 进行同工酶分析发现,5 个群体具有明显的地理群体特异性。Allendorf 等^[20]指出利用等位基因频率的变异可描述种群地理单位间隔离和交流的模式,喻子牛^[9]、杨锐^[14]、陈再忠^[21]等都有类似的研究。

3.6 野生与养殖群体遗传分化

一般来说,人工条件下的封闭群体比自然群体容易发生自交和瓶颈效应,从而引起遗传多样性的降低和衰退。人工繁育养殖群体的遗传变异水平的下降,人工繁育养殖群体中遗传多样性的丧失,将导致种质资源的遗传同质化程度的加剧,增大某些劣质隐性基因的纯合化的几率,最终将导致群体的适合度下降,具体表现在种质资源生产性状的衰退、抗病力差、繁

殖力减弱。在贝类上,Patrick 等^[22]通过对黑珍珠牡蛎 (*Pinctada margaritifera*) 的 18 个蛋白编码位点的电泳分析发现,与野生原种种群相比,人工繁育养殖群体的第二代、第三代等位基因的数目分别下降了 17%、18%;在总共 45 个等位基因中有 7 个没有在野生种群中发现,认为在养殖群体中出现新的基因是适应环境的结果。Berzie 等^[23]采用等位酶分析发现人工培育的大砗磲 (*Tridacna gigas*) 群体比野生群体的遗传多样性程度低,接有明显的基因频率偏斜。Wada^[24]、Hedgecock 等^[25]在牡蛎上也有类似的报道。

但在少数的研究报道中,养殖群体的遗传多样性与自然群体的遗传多样性比较并没有明显的变化。澳大利亚于 50 年前从日本引进长牡蛎 (*Crassostrea gigas*),引进的长牡蛎已经在澳大利亚的自然海域中形成种群。English 等^[14]利用同工酶技术,分析日本原种的 2 个自然群体,澳大利亚自然海域的 4 个群体和 3 个养殖群体,研究结果表明,3 种类型的太平洋牡蛎遗传多态性高 (70.6%~73.5%),并且无论是澳大利亚自然海域的牡蛎群体还是养殖群体,遗传多样性比较日本自然群体变化不大,引进的群体的遗传结构总体变化不大。李刚等^[27]用淀粉凝胶电泳测定了合浦珠母贝养殖群体和野生群体的 8~13 个蛋白或同工酶座位的遗传变异。两个群体每个座位观察到的平均等位基因数都为 2.63,多型座位 ($P < 0.001$) 的比例也相同,为 0.750。但养殖贝的平均杂合度比野生贝高近一倍,分别为 0.223 和 0.113。这 2 个群体标本都有杂合子缺失现象,经分析认为可能是由自然选择和 Wahlund 效应所引起的。

4 物种倍性检测

同工酶电泳技术在多倍体贝类中的应用还刚起步,在国内相关的报道较少。Allen 等^[28]在砂海螂中进行了多倍体倍性鉴定的初步尝试。王昭萍等^[29]对三倍体太平洋牡蛎多态位点的基因表达研究表明,根据杂合位点上各等位基因表达的剂量不同或酶带数目不同,可以区分出二倍体与三倍体。认为 Ah₂ 位点上 3 条酶带的出现可以准确的判断三倍体个体。三倍体的检出率高达 96%~98%。合浦珠母贝三倍体的 3 个基因座位 (*Lap-3*, *Pt-5*, *Sod-1*) 的平均杂合度都高于野生贝或养殖贝。第一极体处理组中的三倍体 (0.653) 和二倍体 (0.584) 的平均杂合度分别高于第二极体处理组中的三倍体 (0.5) 和二倍体 (0.423)。但



三倍体的单个基因座位杂合度却不一定高于同胞二倍体^[30,31]。通过三倍体诱导四倍体的实验中产生的三倍体和二倍体的基因杂合度如何, 还未见报道。

5 遗传育种

Stanley^[32]认为通过电泳手段检测的遗传变异型在育种工作中具有潜在的实际意义, 利用这些多态性基因座位的不同基因型及等位基因频率作为生化指标, 可以对天然种群及亚种群的遗传结构进行分析。在此基础上通过比较遗传结构不同的种群之间在生长性状、存活率、繁殖能力以及抗逆性等方面的差异, 可望从中筛选出具有某一优良性状甚至综合优良性状的天然繁殖种群, 更重要的是, 利用多态性基因座位作为遗传标记, 将不同基因型的纯合体采用不同的组合进行人工交配, 结合人工雄核发育及雌核发育技术有可能筛选出能产生具有优良性状的子代的交配组合, 进而定向地建立稳定的人工优良繁殖品系。在贝类方面, 目前这方面的研究较少。李刚等^[33]对合浦珠母贝 (*Pinctada fucata* Gould) 长耳珠母贝 (*P. chinensis* Philippi) 和大珠母贝 (*P. Maxima* Jameson) 以及 3 种杂交组合杂种的同工酶谱分析表明, 它们都不是真正的杂种, 没有出现“杂交酶带”或“互补酶带”, 同工酶谱完全与合浦珠母贝一样。

6 病理研究和诊断

同工酶是生物机体中可以反映机体内各种变化的天然标记, 作为病理诊断指标具有特异性强、灵敏度高等优点。李太武等^[16]进行了鲍鱼 (*Haliotis discus Hannai*) 脓疱病的同工酶研究, 结果表明乳酸脱氢酶、苹果酸脱氢酶、酯酶和酸性磷酸酶四种酶差异明显且谱带稳定, 即应用这几种酶方法可提前 1-2 周发现脓疱病, 然后对其采取隔离、药浴等方法防治该病, 可大大降低死亡率。邵建忠^[35]对淡水三角帆蚌 (*Hyriopsis cumingii* Lea) 的 11 种组织的 16 种同工酶的表现型进行了分析, 证明了三角帆蚌具有与高等动物相类似的基本代谢途径和调节方式, 通过对病蚌组织同工酶系统的研究发现其酯酶和 α -磷酸甘油脱氢酶两酶系发生紊乱, 影响了脂类代谢的正常进行, 使机体的能量代谢失衡、解毒功能下降。

7 环境监测研究

程惠贞等^[36]进行了诱变剂 NaN_3 对河蚌 (*Anodonota woodiana*) 肝的 2 种同工酶影响的研究, 结

果表明随着 NaN_3 浓度的提高, 肝脏酯酶和过氧化物同工酶谱带数依次逐渐减少。为利用同工酶法监测诱变剂污染提供了一条新途径。Moraga 等^[37]对菲律宾蛤仔 (*Ruditapes philippinarum*) 的基因型和重金属污染的关系进行了研究。认为同工酶可以作为蛋白质标记去监测在不同种群中重金属污染所产生的影响。

8 研究方向

通过过去几十年的研究, 同工酶分析作为一种不断发展成熟的技术, 现已形成了种类众多, 分类齐全, 检测方便的蛋白质分析手段, 并广泛应用于物种及杂种鉴定、物种倍性鉴定、物种间亲缘关系比较及系统分类、分析病理以及遗传育种等方面; 基因研究如果以同工酶研究作为前期的筛选手段, 可收到事半功倍的效果, 而且同工酶与基因研究能相互检验, 相辅相成, 提高研究效率及可靠性, 这样对科学理论研究和渔业生产都有重要意义。随着人们对同工酶技术认识的加深和使用水平的提高, 该技术将能适用于更多新的研究领域, 发挥更大的作用。

参考文献:

- [1] Bath D G, Dowling T E, Gold J R. Molecular and cytological investigation [A]. Winfield I J, Nelson J S. Cyprinid fishes systematics, biology and exploitation [C], London: Chapman and Hall, 1991. 83- 118.
- [2] Market C L, Ursprung H. developmental genetic [M]. New Jersey: Prentice-hall Inc, 1971. 214.
- [3] 李清漪, 刘 堰. 大瓶螺四种同工酶的电泳分析 [J]. 水产学报, 19(2): 184- 186.
- [4] 范学铭, 孙仲平, 汪清胤. 褐云玛瑙螺胚胎发育不同时间酯酶同工酶分析 [J]. 生物技术, 1995, 2: 32- 34.
- [5] 王梅芳, 余祥勇, 杨荣权, 等. 二色裂江珧 EST 和 SOD 同工酶组织特异性研究 [J]. 湛江海洋大学学报, 2000, 20(1): 5- 8.
- [6] 李广丽, 杜晓东, 叶富良. 合浦珠母贝同工酶的电泳分析 [J]. 中国水产科学, 2001, 8(2): 17- 22.
- [7] 沈 琪, Andy R Beutnont. 欧洲牡蛎两个种群的遗传变异 [J]. 热带海洋, 1999, 18(3): 45- 50.
- [8] 薛钦昭, Sheila Stiles, 张福绥, 等. 海湾扇贝不同种群在磷酸葡萄糖变位酶基因位点的遗传结构与性状 [J]. 海洋与湖沼, 1999, 30(4): 381- 390.
- [9] 喻子牛, 孔晓瑜, 杨 锐, 等. 泥蚶等位基因酶遗传变异研究 [J]. 中国水产科学, 1997, 4(5): 15- 21.
- [10] 喻子牛, 杨 锐, 孔晓瑜, 等. 青岛近海魁蚶群体等位基因酶遗传变异研究 [J]. 海洋湖沼通报, 1997, 3:



- 33- 39.
- [11] 喻子牛, 孔晓瑜, 杨 锐, 等. 青岛近海毛蚶群体等位基因酶遗传变异 [J] . 青岛海洋大学学报, 1997, 27(4): 471- 476.
- [12] 李太武, 孙修勤, 刘 艳, 等. 栉孔扇贝种群的遗传变异分析[J]. 高技术通讯, 2001, 4: 25- 27.
- [13] Blanc F, Jaziri H. Variation of allozymic polymorphism in *Ostrea angasi* and *O. edulis* [J] . **Aquaculture**, 1990, 85: 331- 332.
- [14] 杨 锐, 喻子牛, 陈再忠, 等. 山东沿海褶牡蛎与太平洋牡蛎等位基因酶的遗传变异 [J] . 水产学报, 2000, 24(2): 130- 133.
- [15] 横川浩治. 2 型的遗传的分化 [J] . 贝杂 VENUS, 1996, 55(1): 25- 39.
- [16] 王梅芳, 余祥勇, 杨书婷, 等. 无裂栉江珧种内同工酶表型差异的比较研究[J] . 热带海洋, 2000, 19(4): 45- 50.
- [17] 王梅芳, 叶富良, 余祥勇. 3 种江珧同工酶遗传标记 [J] . 湛江海洋大学学报, 2000, 20(2): 1- 5.
- [18] Ayala F J, Valentine J W. *Evolving: The theory and progress of organic evolution*. Menlo Park: Benjamin - Cummings, 1979.
- [19] 刘仁沿, 梁玉波, 张喜昌, 等. 中国北方菲律宾蛤仔同工酶电泳的初步分析比较 [J] . 海洋环境科学, 1999, 18(2): 24- 28.
- [20] Allendorf F W, Phelps S R. Use of allelic frequencies to describe population structure [J] . **Can J Fish Aquat Sci**, 1981, 38: 1 507- 1 514.
- [21] 陈再忠, 喻子牛, 孔晓瑜, 等. 栉孔扇贝三个自然群体遗传多样性的初步研究 [A] . 贝类学论文集 (第 IX 辑). 北京: 海洋出版社, 2001. 53- 58.
- [22] Patrick D, Katsuhiko T, Wada, Françoise B. Genetic variation in wild and hatchery stocks of the black pearl oyster, *Pinctada margaritifera*, from Japan [J] . **Aquaculture**, 1993, 110: 27- 40.
- [23] Bezie J A H, William S T. Limitation in the genetic variation of hatchery produced batches of the giant clam *Tridacna gigas* [J] . **Aquaculture**, 1996, 139: 225- 241.
- [24] Wada K T. Genetic selection for shell traits in the Japanese pearl oyster, *Pinctada fucata* Martensii [J] . **Aquaculture**, 1986, 57: 171- 176.
- [25] Hedgecock D, Sly F. Genetic drift and effective population size of hatchery propagated stock of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* [J] . **Aquaculture**, 1990, 88: 21- 28.
- [26] English L J, Maguire G B, Ward R D. Genetic variation of wild and hatchery populations of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* (Thunberg), in Australia [J] . **Aquaculture**, 2000, 187: 283- 298.
- [27] 李 刚, 金启增, 姜卫国, 等. 合浦珠母贝和长耳珠母贝的生化遗传变异 [J] . 遗传学报, 1985, 12(3): 204- 212.
- [28] Allen S K, Gagnon P S, Hidi H. Induced triploidy in the soft-shell clam (*Mya arenaria*): cytogenic and allozymic confirmation [J] . **J of Heredity**, 1982, 73: 421- 428.
- [29] 王昭萍, 郭希明. 三倍体太平洋牡蛎多态位点的基因表达与倍性判别 [J] . 贝类学论文集 (第 IX 辑). 北京: 海洋出版社, 2001. 42- 47.
- [30] 李 刚, 姜卫国, 沈 琪. 合浦珠母贝三倍体和二倍体三个基因杂合度与生长的比较 [J] . 热带海洋, 1992, 11(4): 84- 88.
- [31] Jiang W G, Li G, Xu G Q, et al. Growth of the induced triploid pear oyster, *Pinctada mertensii* [J] . **Aquaculture**, 1993, 111: 245- 253.
- [32] Stanley J G, Tamaru C S. Production of hybrid, androgenetic, and gynogenetic grass carp and carp Trans [J] . **Am Fish Soc**, 1976, 105(1): 10- 16.
- [33] 李 刚, 姜卫国, 魏贝尧. 合浦珠母贝、长耳珠母贝和大珠母贝种间人工杂交的研究: II 同工酶谱的比较研究 [J] . 热带海洋, 1983, 2(4): 321- 328.
- [34] 李太武, 丁明进, 王世宏, 等. 用同工酶法早期诊断皱纹盘鲍脓疱病的研究 [J] . 海洋科学, 1997, 2: 68- 69.
- [35] 邵健忠, 项黎新, 华志华, 等. 三角帆蚌十六种同工酶系统的类型及其在瘟病蚌中的病理变化 [J] . 水产学报, 1993, 17(3): 199- 208.
- [36] 程惠贞, 林慧贤, 程 舸, 等. 诱变剂 NaN_3 对河蚌肝两种同工酶的影响 [J] . 广州师范学院 (自然科学版), 1996, 1: 39- 43.
- [37] Moraga D, Mdelgi- Las ram E, Romdhane M S, et al. Genetic responses to metal contamination in two clams: *Ruditapes decussatus* and *Ruditapes philippinarum* [J] . **Marin Environmental Research**, 2002, 54: 521- 525.

(本文编辑: 张培新)