

# 中国鳢科鱼类的乳酸脱氢酶 和酯酶同工酶的比较研究\*

王金星 周才武

(山东大学, 济南)

**提要** 本文利用聚丙烯酰胺凝胶盘状和板状电泳, 对中国鳢科 (Channidae) 鱼类的乳酸脱氢酶 (LDH) 和酯酶 (Es) 等进行了比较研究, 结果是: (1) 鳢科鱼类的 LDH 图谱显示出种间特异性和组织特异性, 没有发现多态现象; (2) 血清酯酶图谱在乌鳢、斑鳢、线鳢和宽额鳢均有相似之处, 即靠正极端有两条宽而着色深的主带, 月鳢则为一条主带。血清酯酶图谱中无多态现象; (3) 对鳢科鱼类属的划分问题进行了讨论。

六十年代以来, 鱼类的同工酶系统和其它功能蛋白系统已被用于对鱼类的系统分类研究。许多研究表明<sup>[2,6]</sup>, 生化分类与经典分类的结果基本一致, 可以被用来检验由形态解剖资料所建立的正确性。作者曾对中国鳢科鱼类的形态特征作过比较研究, 发现月鳢与其它鳢科鱼类有明显的差异。对于鳢科鱼类的生化特征的系统研究, 除乌鳢的血清 LDH<sup>[5]</sup> 外, 其它种类国内外尚未见报道。本文采用聚丙烯酰胺凝胶盘状和板状电泳, 对中国鳢科鱼类的乳酸脱氢酶 (LDH)、酯酶等进行了比较研究, 希望用生化分类的方法来验证从形态学特征上发现的问题。

## 一、材料与方 法

本实验所用标本均为活的鱼类, 共计 2 属 5 种, 分别采自全国各地(见表 1)。眼鳢 *Ophicephalus marulius* Hamilton 没有得到活的标本, 纹鳢 *O. punctatus* Bloch 没有采到, 材料暂缺。

### 1. 样品制备

血清制备参照周宗汉等<sup>[5]</sup>的方法, 用作电泳分析的样品, 按 1:1 (体积) 加入 20% 的蔗糖稀释。

晶状体和肌肉提取液的制备: 取出晶状体, 加入 1ml 20% 的蔗糖匀浆, 离心 (4000r/min) 20min, 取上清液备用。取背部白骨骼肌 0.5g, 加入 10ml 20% 的蔗糖匀浆, 离心条件同上, 取上清液备用。

### 2. 电泳

采用聚丙烯酰胺凝胶盘状和板状电泳。分离胶浓度为 5%, 浓缩胶浓度为 2.5%。电极缓冲液为 Tris-甘氨酸缓冲系统 (pH 8.3)。电泳在 5℃ 左右进行 2.5—3 小时, 起始电

\* 本文照片由薛凤英同志帮助拍摄。暨南大学生物系、海南岛农垦测试中心土化室、中国科学院昆明动物研究所四室为实验提供方便, 均此一并致谢。

收稿日期: 1985年3月1日。

表 1 用作生化分析的标本

种 别	体 长 (mm)	尾 数	采 集 地	1984 年采集月份
乌 鳢 <i>Ophicephalus argus</i> Cantor	224—400	11(2♀, 1♂) <sup>1)</sup>	山东、安徽	2, 6, 9
斑 鳢 <i>O. maculatus</i> (Lacépède)	128—250	8(3♀, 2♂)	广州、海南、广西	4, 6
线 鳢 <i>O. striatus</i> Bloch	202—395	7(6♀, 1♂)	西双版纳	5
宽 额 鳢 <i>O. gachua</i> Hamilton	125—199	11(4♀, 2♂)	海南、西双版纳	4, 5
月 鳢 <i>Channa asiatica</i> (Linnaeus)	136—218	7(4♀, 2♂)	海南、广西	4, 6

1) 未标明性别者,均系当时不能分辨雌、雄。

流为 1mA/管,样品进入浓缩胶后,电流加大为 2mA/管。加样量为 50 $\mu$ l/管。

LDH 同工酶染色参照朱蓝菲<sup>[1]</sup>和 Shackle 等<sup>[12]</sup>的方法。血清酯酶染色参照周宗汉等<sup>[4]</sup>的方法,略有改动。

LDH 非特异染色参照 Cooper<sup>[3]</sup>的方法,用来验证染色反应的特异性。

电泳图谱以区带数目、染色深度、迁移率及光密度扫描图象为指标进行比较分析。

## 二、结 果

### 1. 乳酸脱氢酶同工酶

分析了上述 5 种鱼的血清 LDH 同工酶和乌鳢、斑鳢及月鳢的晶状体、肌肉 LDH 同工酶。比较各种鱼之间及同种鱼的不同组织之间的 LDH 同工酶,显示出一定的种间差

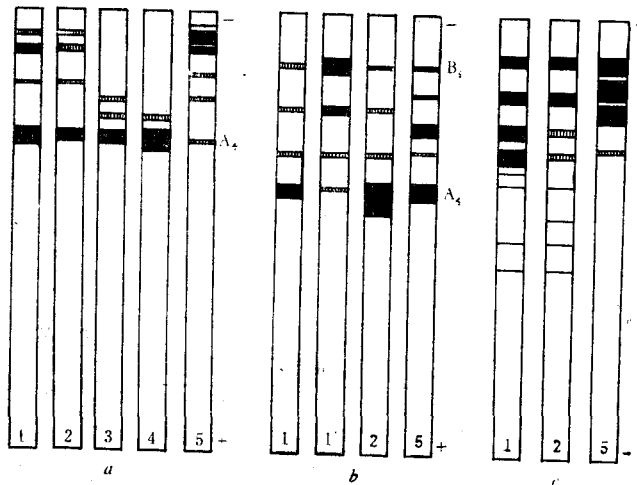


图 1 乳酸脱氢酶 (LDH) 电泳图谱

a. 血清 LDH; b. 骨骼肌和心肌 LDH; c. 晶状体 LDH。

1, 1' 乌鳢; 2, 斑鳢; 3, 线鳢; 4, 宽额鳢; 5, 月鳢。b 中 1, 2, 5 为骨骼肌; 1' 为心肌。

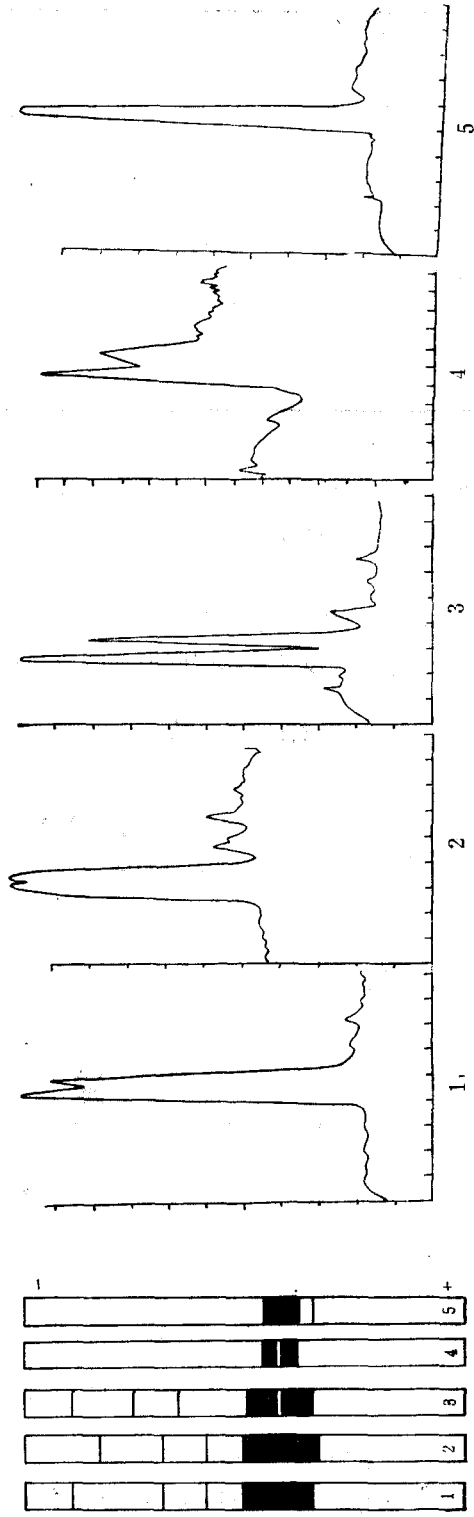


图2 血清脂酶电泳图谱  
 1. 乌鳢; 2. 斑鳢; 3. 线鳢;  
 4. 宽额鳢; 5. 月鳢。

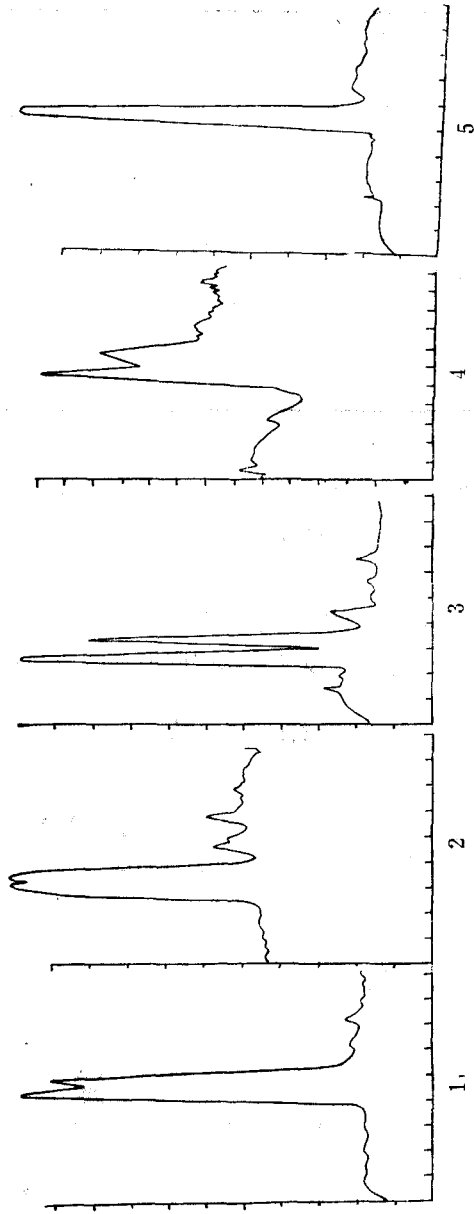


图3 血清脂酶电泳扫描图象  
 (注: 1—5 同图2)。

异性和组织特异性,没有发现多态现象(图 1, 图版 I: A—C)。

根据 5 种鱼的 LDH 同工酶图谱,可以将它们分为三个类型:

(1) 乌鳢和斑鳢的 LDH 图谱为同一类型。它们的血清、肌肉和晶状体 LDH 表型都很相似,两者的血清和肌肉 LDH 图谱均为 4 条带(图版 I: A 中斑鳢 A<sub>4</sub> 下方的一条宽带为非特异染色),且各带迁移率相同,以靠正极端的 A<sub>4</sub> 同工酶谱带宽而着色深。晶状体 LDH 均为 8 条区带,靠负极端的 4 条带着色较深,与血清和肌肉 LDH 表型相同。靠正极端的 4 条区带着色较淡,可能是眼内特有的 C 基因表型。两种鱼 LDH 表型的区别从晶状体 LDH 图谱中可以看出,在靠正极端着色淡的 4 条带中,有一条带的迁移率不同(图 1c)。

(2) 线鳢和宽额鳢为另一类型。两者的血清 LDH 分别为 3 条带和 2 条带,靠正极端的两条带迁移率相同(图 1a; 图版 I: D)。A<sub>4</sub> 同工酶谱带宽而着色深,这与第一类型相似。由于材料和条件限制,两者均缺晶状体电泳材料。

(3) 月鳢为第三种类型。其血清 LDH 为 6 条带(图 1a; 图版 I: A),以靠负极端的第 2 和第 3 条带谱带宽而着色深,两带的距离较近,有时合为一条带。最靠负极端的 A<sub>4</sub> 同工酶着色很浅,这明显地区别于上述两个类群。从肌肉和晶状体 LDH 看,月鳢与乌鳢、斑鳢的区别也较大,月鳢晶状体 LDH 表型为 4 条区带(图 1c; 图版 I: C),靠负极端的三条区带宽而着色深,靠正极端的一条带着色较浅。值得指出的是,在月鳢晶状体上没有观察到 C 基因的表型,其肌肉为 5 条区带(图 1b; 图版 I: B, D),其中有两条带与乌鳢、斑鳢的迁移率不同。

## 2. 血清酯酶同工酶

多次实验证明,5 种鱼的血清酯酶表型比较稳定,据电泳图谱可分为 3 个类型(图 2; 图版 I: E)。

(1) 乌鳢和斑鳢: 两者的表型有一致性,最靠正极端有两条主带,其距离极近,从电泳图谱中不能分辨,但通过扫描图象(图 3)可以看出两个明显的吸收峰,它们靠负极端均有 3 条弱带。

(2) 线鳢和宽额鳢的电泳图谱为一个类型,两者靠正极端都有两条主带,从电泳图谱中可以分辨,扫描图象也为两个明显的吸收峰。靠负极端线鳢有 4 条弱带,宽额鳢无弱带显示。

(3) 月鳢为另一类型,其血清酯酶表型显示为一条主带,扫描图象亦为一个吸收峰。靠近负极端无弱带显示,但在主带的正极端有一条弱带,而在其它种类主带的正极端均无弱带显示。

## 三、讨 论

1. 许多研究表明,LDH 同工酶、Es 同工酶等具有种的特异性,是进行生化分类的较好指标<sup>[5,6,11,12]</sup>。对于鱼类 LDH 同工酶的研究比较深入,硬骨鱼的 LDH 受 A, B 和 C 三个基因位点控制,其中 C 基因控制的 LDH 表型,出现在大多数硬骨鱼的眼组织内,而在鳢形目和鲤形目的某些种类,则出现在肝脏内。实验表明,在鳢科鱼类中,乌鳢和斑

鳢存在着眼内特有的 C 基因表型,而在月鳢晶状体中却没有发现,其它种类材料暂缺。

2. LDH 同工酶 A 和 B 亚基的结合受限制,这在鱼类中是普遍存在的现象,即 A 和 B 两亚基不能随机结合产生 5 种四聚体同工酶。Markert 等<sup>[7]</sup>认为,可能是这些亚基相互结合的位点在进化过程中发生了变异,使种内某些特殊的亚基结合被阻止。显然,鳢科鱼类中也存在着这种现象。本文对 LDH 同工酶的定名,尚未对其理化特性、酶反应动力学、免疫化学和分子杂交等进行测定,而是根据 LDH 同工酶在白骨骼肌中 A<sub>4</sub> 同工酶与心肌中 B<sub>4</sub> 同工酶均占优势的特性来定名的。从图版 I: B 中可以看出,骨骼肌 LDH 图谱中最靠近正极端的一条带最宽且着色最深,定名为 A<sub>4</sub> 同工酶;心肌中最靠近负极端的一条带宽而着色最深,定名为 B<sub>4</sub> 同工酶。

3. 对于乌鳢,经分析其血清、骨骼肌和心肌等的 LDH 同工酶,均显示为 4 条区带。而周宗汉等<sup>[5]</sup>分析乌鳢的血清 LDH,仅为 1 条区带,迁移率  $R_f = 0.3$ ,与本文 A<sub>4</sub> 同工酶的位置相当。据我们的经验,造成这种差异的原因,可能与加样量、样品稀释与否有关。

4. 鳢科鱼类的血清酯酶,根据主带的数目,可以明确地分为两个类型:乌鳢、斑鳢、线鳢和宽额鳢有两条主带,主带的正极端无弱带,称为乌鳢型;月鳢的酯酶图谱为一条主带,且其正极端有一条弱带,称为月鳢型。

5. Markert 等<sup>[7]</sup>通过对 LDH 基因演化的研究,认为 LDH-C 基因是由 B 基因复制而产生,复制后的基因在结构和调节上发生了变化,即进化为 C 基因。它在低等鱼类的各种组织中,为广泛性分布;而在高等鱼类,却特异地限制在某种组织(眼或肝)内。这在生化分类中,已被认为是一个重要指标。Shaklee 等<sup>[12]</sup>曾将 C 基因应用于鳢形目的分类研究。据我们的实验结果,在乌鳢和斑鳢晶状体中有靠近正极的 C 基因表型,而在月鳢的晶状体中却没有发现。从这一特征来看,月鳢明显地区别于乌鳢和斑鳢。

6. 关于鳢科鱼类的分类,至今仍存在着不同意见。Myers 等<sup>[8]</sup>认为,乌鳢属与月鳢属有一致性,应该合为一属——月鳢属 *Channa*。Nelson<sup>[9]</sup>和 Nichols<sup>[10]</sup>仍将其分为两属。通过上述生化特征的分析可以看出,月鳢血清 LDH A<sub>4</sub> 同工酶的含量与其他种类有明显差异,血清酯酶图谱差异亦较显著,并且在月鳢晶状体内没有观察到 C 基因的表型。这些结果支持了将鳢科鱼类分为两属,即乌鳢属 (*Ophicephalus*) 和月鳢属 (*Channa*) 的观点。

### 参 考 文 献

- [1] 朱蓝菲, 1982. 几种鲤科鱼类及杂种的乳酸脱氢酶同工酶的比较. 水生生物学集刊 7(4): 539—544.
- [2] 朱蓝菲、陈湘舜、王祖熊, 1983. 20 种鲤科鱼类同工酶表型分析及有关进化问题的探讨. 水产学报 7(2): 145—152.
- [3] 库珀, T. G. (徐晓利主译), 1980. 生物化学工具. 人民卫生出版社, 200—202 页.
- [4] 周宗汉、林金榜、朱婉华, 1983. 介绍鱼类组织中蛋白质及同工酶电泳方法. 淡水渔业 2: 35—40.
- [5] 周宗汉、林金榜, 1983. 血清乳酸脱氢酶同工酶圆盘电泳分离法在鱼类分类工作中的应用. 动物学杂志 5: 33—35.
- [6] Avise, J. C., 1974. Systematic value of electrophoretic data. *Systematic Zoology* 23(1): 465—481.
- [7] Markert, C. L., J. B. Shaklee and G. S. Whitt, 1975. Evolution of gene. *Science* 189(419): 102—114.
- [8] Myers, G. S. and Leo Shapovalov, 1932. On the identity of *Ophicephalus* and *Channa*, two genera of labyrinth fishes. *Peking Nat. Hist. Bull.* 6(2): 33—37.
- [9] Nelson, J. S., 1976. Fishes of the world. John Wiley & Sons Inc., pp. 290—293.
- [10] Nichols, J. T., 1943. The fresh-water fishes of China. *Nat. Hist. Centr. Asia* 9: 237—241.

- [11] Rainboth, W. J. and G. S. Whitt, 1974. Analysis of evolutionary relationships among shiners of the subgenus *Luxilus* (Teleostei, Cypriniformes Notropis) with the lactate dehydrogenase isozyme systems. *Comp. Biochem. Physiol.* **49B**: 241—252.
- [12] Shaklee, J. B. and S. W. Gregory, 1981. Lactate dehydrogenase isozymes of Gadiformes fish, divergent patterns of gene expression indicate a heterogenous taxon. *Copeia* **3**: 563—578.

## COMPARATIVE STUDIES ON THE LACTATE DEHYDROGENASE(LDH) AND ESTERASE ISOZYMES IN SNAKE-HEAD FISHES(CHANNIDAE) FROM CHINA

Wang Jinxing and Zhou Caiwu

(Shandong University, Jinan)

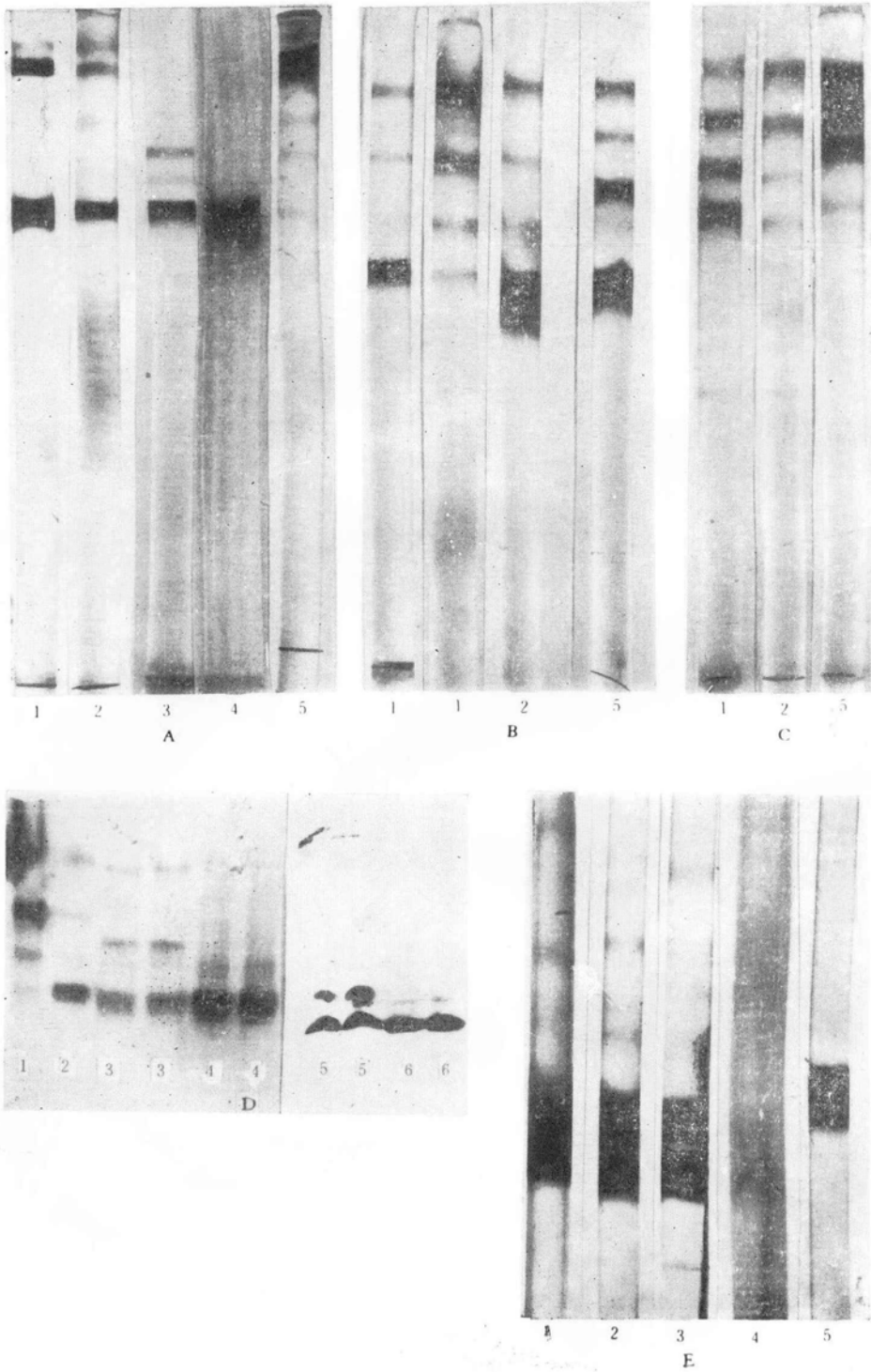
### ABSTRACT

Five species of snake-head fishes (Channidae) were compared with respect to their lactate dehydrogenase and esterase isozyme patterns by means of polyacrylamid disc and vertical slab electrophoresis. The results are as follows:

1. The electrophoretic patterns of LDH isozymes show the existence of interspecific specificity. The patterns of serum LDH in *Ophicephalus argus* and *O. maculatus* are similar with four zones. The pattern of *O. striatus* has three zones and *O. gachua* has two. The pattern of *Channa asiatica* has six zones. All of them have an active anodal A<sub>4</sub> homopolymer except *C. asiatica* which has an inactive anodal A<sub>4</sub> homopolymer.

2. The esterase isozyme patterns of snake-head fishes can be divided into three types. The first type, which appears in *O. argus* and *O. maculatus*, has two close anodal broad zones. The second type, which appears in *O. striatus* and *O. gachua*, has two widely separated anodal broad zones. The third type has only one zone and appears in *C. asiatica*.

3. The comparison of LDH isozyme and esterase isozyme between snake-head fishes shows that *Channa asiatica* is different from others. This fact conforms to the morphological observations by the authors. *Ophicephalus* and *Channa* are considered as different genera.



A. 血清 LDH 电泳图谱; B. 骨骼肌和心肌 LDH [1' 为心肌 (位于B图中的1和2间的“1”应为1')] C. 晶状体 LDH: 1.1' 乌鳢; 2.斑鳢; 3.线鳢; 4.宽额鳢; 5.月鳢。D. LDH 板电泳图谱: 1.乌鳢心肌, 2.乌鳢骨骼肌, 3.月鳢骨骼肌, 4.斑鳢骨骼肌, 5.线鳢血清, 6.宽额鳢血清。E. 血清酯酶电泳图谱: 1-5 同 A。