

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 4 h。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。 Email: yslin@xmu.edu.cn

收稿日期: 2001-08-27; 修回日期: 2002-05-30

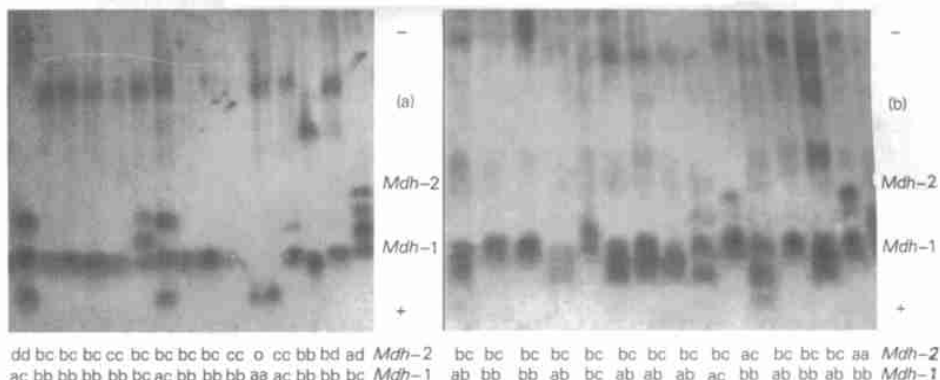


图1 中华哲水蚤MDH同工酶的基因型、表现型图谱
a: 台湾海峡; b: 黄海东南部

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. 厦门大学报, 1964, 11(3): 93~109
- 3 陈清朝等. 中华哲水蚤的繁殖、性比率和个体大小的研

- 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)

福建沿海牙鲆池塘养殖试验

FLOUNDER CULTURE TEST IN FUJIAN COASTAL POOL

欧俊新¹ 林祥志²

(¹福建省莆田县水产技术推广站 351100)

(²福建省莆田市海洋与渔业局 351100)

关键词 池塘, 牙鲆养殖, 生长速度, 饵料系数, 病害

牙鲆 (*Paralichthys olivaceus* T. & S.) 属鲽形目, 鲆科, 牙鲆属。南方俗称左口鱼、皇帝鱼、比目鱼, 其肉质鲜美, 营养丰富, 为大型名贵海产鱼类, 经济价值很高, 是我国主要养殖品种之一。近几年牙鲆养殖在福建方兴未艾, 但还存在许多问题, 如夏季水温过高难以度夏, 而利用地下水进行工厂化养殖投资大、成本高, 经济效益不理想。因此, 作者于1998年利用深水沙质底池塘进行牙鲆养殖试验, 成功解决度夏问题, 取得了满意结果。

1 材料与方 法

1.1 池塘条件

选择福建省莆田县南日岛垦区内池塘一个, 面积6.7 ha, 南北走向, 底质沙质, 平均水深3 m, 最大水深6 m, 最小水深1.5 m。南北各设一独立的进、排水闸门, 纳潮方便, 水质清新, 最大日换水量达50%以上。

1.2 苗种来源

1998年5月15日放养从本海区收购的野生苗种9 000尾, 全长在4.3~5.2 cm。1998年6月5日放养本省宁德三都澳育苗室人工繁育苗60 000尾, 全长在2.5~3.0 cm, 两批合计放养69 000尾。

1.3 池塘清理、消毒

1998年1月份, 将池内积水排干净, 封闸晒池至

龟裂, 清理池底表层污物、四周的淤泥, 安装进水滤网, 进水至1.0 m对池塘进行浸泡和冲刷两遍, 后安装暂养围网并进水0.3 m, 施生石灰225 g/m²浸泡消毒15 d, 杀灭病原体及敌害。

1.4 培养基础生物饵料

放苗前20天经过滤网进水0.3 m, 按N:P:Si=10:1:0.5的比例施 2×10^6 CO(NH₂)₂, 0.2×10^6 CaHPO₄, 0.1×10^6 Na₂SiO₃, 连续3次, 并逐渐添水至0.7 m, 使池水呈黄绿色, 透明度达0.3 m, 基础生物饵料丰富。

1.5 暂养

选购周鳍透明, 体形椭圆, 贴壁集群, 体表无伤, 花纹清晰, 活泼健壮的牙鲆苗种; 入池时用 10×10^6 高锰酸钾、 5×10^6 呋喃唑酮混合溶液药浴10 min, 杀灭寄生虫、细菌, 防止鱼体运输中机械损伤感染。

在池塘内用6.0 cm网目的无结节聚乙烯网分别

第一作者: 欧俊新, 出生于1962年, 海水养殖工程师, 从事海水增养殖工作。联系电话: 0594-2293643

收稿日期: 2002-04-17; 修回日期: 2002-05-28