

文章编号: 1004-7271(2004)01-0072-03

·研究简报·

四种黄颡鱼乳酸脱氢酶同工酶电泳的研究

Studies on lactate dehydrogenase isozymes in four species of *Pelteabagrus*

肖调义¹, 陈清华¹, 陈开健¹, 唐湘北¹, 苏建明¹, 章怀云²

(1. 湖南农业大学动物科技学院, 湖南 长沙 410128;

2. 中南林学院生命科学与技术学院, 湖南 株洲 412006)

XIAO Tiao-yi¹, CHEN Qing-hua¹, CHEN Kai-jian¹

TANG Xiang-bei¹, SU Jian-ming¹, ZHANG Huai-yun²

(1. College of Animal and Science and Technology, HAU, Changsha 410128, China;

2. College of Life Science and Technology, CSFU, Zhuzhou 412006, China)

关键词: 黄颡鱼; 乳酸脱氢酶; 聚丙烯酰胺凝胶电泳

Key words: *Pelteabagrus*; lactate dehydrogenase; polyacrylamide gel electrophoresis

中图分类号: S917 文献标识码: A

黄颡鱼(*Pelteabagrus*)又名“黄姑子”、黄腊丁、黄鼓鱼等,在湖南被称为“黄鸭叫”,隶属于鲶形目鲶科,为广布性鱼类,在我国各大水系均有分布,特别是在长江中下游的湖泊更为集中。黄颡鱼喜栖息于水底层,夜间则游至水上层觅食。其肉质细嫩、味道鲜美,已逐渐成为一特种淡水养殖鱼类,其养殖规模有迅速扩大之势。有关黄颡鱼的研究较多,但主要仅集中于生态研究^[1-4],发育研究^[5,6]和疾病的防治^[7-10]等,对黄颡鱼生理生化、亲缘关系等的研究未见报道极少^[11]。鱼类同工酶差异是鱼种间不同生化遗传结构的反映,因此我们对分布于洞庭湖区四种黄颡鱼[普通黄颡鱼(*Pelteabagrus eupogon*)、长须黄颡鱼(*Pelteabagrus fulcidraco*)、光泽黄颡鱼(*Pelteabagrus nifielus*)和瓦氏黄颡鱼(*Pelteabagrus vachelli*)]的乳酸脱氢酶同工酶(LDH)进行了初步研究,以了解黄颡鱼属的生化遗传特性,来探讨四种黄颡鱼种间的亲缘关系,为系统演化发育生物学及遗传育种提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 血清及组织样品的制备

实验用黄颡鱼均采样于汨罗江,每种取样 10 尾,体重 35~125g,体长 85~134mm,2~3 龄。于臀鳍上方尾动脉处抽取血液 2mL,在离心机(4℃,10000r/min)中离心 5min,取上层血清备用。在冰浴条件下,取肌肉、肝脏各 2g,以 0.85% 生理盐水洗净后,在冰上剪碎,然后按 1:5(g/mL)用 4℃ 生理盐水匀浆,匀浆液在离心机(4℃,12000r/min)中离心 30min,取上清液作电泳用。

收稿日期: 2003-05-16

基金项目: 湖南省自然科学基金资助项目(00JJY2021)和湖南省科技厅资助项目(00NQY1009-2)

作者简介: 肖调义(1964-),男,副教授,在职博士生,从事鱼类增养殖学研究。Tel: 0731-4617969, E-mail: xiaoyixiao@hunan.net

1.2 电泳方法

采用聚丙烯酰胺凝胶电泳,电泳在直立方形槽中进行。电泳缓冲液为 pH8.3 的 Tris-Gly 缓冲液,在 4℃ 冰箱中,电压 300V 电泳 90 ~ 110min。

1.3 染色、固定

参照李永通^[12]配制染色液的方法,略加改进。染色液组成为:1mol/L 乳酸钠 3.0mL, NAD 3.0mL, 0.1mol/L NaCl 3.0mL, 5mmol/L MgCl₂ 23.0mL, 0.5mol/L 磷酸缓冲液 7.5mL, NBT 7.5mL, PMS 0.75mL。电泳结束后将凝胶取下,在 37℃ 染色液中避光染色 30min,显色完成后,用 7.5% 的冰醋酸固定 24h,再进行拍片。

1.4 迁移率计算

根据已显示的酶谱带型,按如下公式^[13]计算各酶带的迁移率。

$$\text{酶带迁移率}(R_f) = \frac{\text{酶带迁移距离}(x_2)}{\text{指示剂的迁移距离}(x_1)}$$

2 结果与分析

2.1 四种黄颡鱼组织 LDH 酶的电泳图谱

普通黄颡鱼、瓦氏黄颡鱼、光泽黄颡鱼和长须黄颡鱼,三种组织的乳酸脱氢酶(LDH)同工酶的电泳。结果如图 1,酶谱带数统计对比见表 1,四种黄颡鱼各组织的酶谱带数有差异。其中,光泽黄颡鱼的酶谱较之其它三种黄颡鱼有最为明显的差异,其血液和肌肉组织中 LDH 酶带分别有 5 条,而其它三种黄颡鱼,除了普通黄颡鱼的血液组织为 1 条外都为 2 条。尤其在光泽黄颡鱼的肝脏组织的 LDH 酶带中出现了第六条带,即靠近阴极的特异性“C 带”。瓦氏黄颡鱼、长须黄颡鱼和普通黄颡鱼表现不出明显的种间特异性和组织特异性。

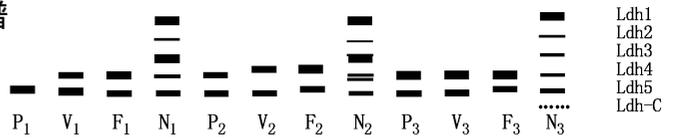


图 1 四种黄颡鱼血液、肌肉、肝脏 LDH 酶带示意图

Fig. 1 Sketch maps of LDH-bands of four species of *Pelteabagrus*

- P₁ - N₁: 普通黄颡鱼、瓦氏黄颡鱼、长须黄颡鱼、光泽黄颡鱼血液 LDH 酶谱;
- P₂ - N₂: 普通黄颡鱼、瓦氏黄颡鱼、长须黄颡鱼、光泽黄颡鱼肌肉 LDH 酶谱;
- P₃ - N₃: 普通黄颡鱼、瓦氏黄颡鱼、长须黄颡鱼、光泽黄颡鱼肝脏 LDH 酶谱。

表 1 四种黄颡鱼血液、肌肉、肝脏 LDH 酶带比较

Tab.1 Comparison of numbers in LDH band of four species of *Pelteabagrus*

组织	瓦氏黄颡鱼	光泽黄颡鱼	长须黄颡鱼	普通黄颡鱼
血液	2	5	2	1
肌肉	2	5	2	2
肝脏	2	6	2	2

注:表中数字为“酶谱带数”。

2.2 四种黄颡鱼各组织 LDH₅ 的迁移率

四种黄颡鱼 LDH₅ 的迁移率表现出了明显的差异,见表 2。种间特异性和组织特异性都很明显,各个样品 LDH₅ 的迁移率范围在 22.20 ± 0.90 到 30.60 ± 0.50 之间,范围跨度较大。在血液、肌肉、肝脏三种组织中,瓦氏黄颡鱼的 LDH₅ 的迁移率分别为 24.95 ± 0.35、22.80 ± 0.10、22.65 ± 0.05,这与普通黄颡鱼三种组织 LDH₅ 的迁移率最为相似,它们分别为 25.00 ± 0.20、22.95 ± 0.25、22.20 ± 0.30。

表 2 四种黄颡鱼血液、肌肉、肝脏 LDH₅ 的迁移率Tab.2 Rf of LDH₅ in the tissues of four species of *Pelteabagrus*

组织	瓦氏黄颡鱼	长须黄颡鱼	光泽黄颡鱼	普通黄颡鱼
血液	24.95 ± 0.35	24.65 ± 0.05	22.25 ± 0.15	25.00 ± 0.20
肌肉	22.80 ± 0.10	30.60 ± 0.50	22.25 ± 0.15	22.95 ± 0.25
肝脏	22.65 ± 0.05	25.80 ± 0.20	24.45 ± 0.25	22.20 ± 0.90

注:表中数字为“迁移率范围”。

3 讨论

根据试验结果,四种黄颡鱼 LDH 相同组织 LDH₅ 泳动率不同,说明控制 LDH₅ 的 A 基因所构成多聚体 A₄ 的不同。瓦氏黄颡鱼和普通黄颡鱼 LDH₅ 的迁移率最为接近,说明它们有着较为接近的亲缘关系。光泽黄颡鱼血液、肌肉、肝脏中 LDH 酶谱型和迁移率与另三种黄颡鱼都有着明显的差异,这说明光泽黄颡鱼与其他三种黄颡鱼在生化遗传水平上有明显的分化,因此认为该种可能起源不同。在酶谱型方面,除了普通黄颡鱼的血液只有一条酶带 LDH₅ 外,普通黄颡鱼、长须黄颡鱼和瓦氏黄颡鱼其余各组织中 LDH 带数与带型基本上相同,这也表明三种黄颡鱼有着近的起源,由于在栖息环境上有所差异,导致生活习性不同,在酶带上表现为各相同酶带含量稍有差异,但无可否认,这三种黄颡鱼有着较为紧密的亲缘关系。

在普通黄颡鱼的血液组织中,只有 LDH₅ 这一条酶带,即 A₄ 同工酶, A₄ 同工酶具有无氧酵解的特性,而其它组织也只有 LDH₅ 和 LDH₄ 两条酶带,长须黄颡鱼和瓦氏黄颡鱼各组织中也都有两条同工酶带,即 LDH₅ 和 LDH₄ 两条带,这可能与它们不善于凶猛捕食,相对温顺的生活习性有关。在四种黄颡鱼三种组织的 LDH 酶带中,只有光泽黄颡鱼的肝脏组织显现出特异的 C 带。C 带是由 LDH-C 和 LDH-X 编码组成的同源单体亚基 C 组成的四聚体,即 C₄ 带^[14]。LDH-C 基因仅在光泽黄颡鱼的肝脏中特异的表达,这与代谢旺盛的肝脏相适应。光泽黄颡鱼生性活泼,对氧的变化敏感,能在上下水层迅猛捕食,LDH-C₄ 基因的出现,正是其大量能量来源的手段之一,解决了其对能量的要求问题。然而,光泽黄颡鱼肝脏 LDH-C 带在凝胶中比其他各酶带明显要弱,显示 C 亚基含量较之 A、B 亚基含量而言要低得多。

参考文献:

- [1] 陈 琴,章太卓,徐夏声,等.黄颡鱼耗氧率与窒息点的初步研究[J].广西水产科技,2001(1):14-17.
- [2] 吴 萍,曹振华.pH 对黄颡鱼生存和生长的影响[J].水利渔业,2001,21(6):3-4,6.
- [3] 邱春刚,张国强.汤河水库黄颡鱼的生物学及其资源利用[J].水产科学,2000,19(2):28-30.
- [4] 郑小真,林丹军.性成熟黄颡鱼精巢的年周期变化 I.生精部的周年变化[J].福建师范大学学报(自然科学版),2000,16(2):97-101.
- [5] 魏 刚,吕麟华,黄 林,等.光泽黄颡鱼胚胎发育研究[J].西南师范大学学报(自然科学版),2002,27(4):567-571.
- [6] 黄 臻.瓦氏黄颡鱼的生物学特性及亲本的引种、驯化和培育[J].河北渔业,2002(5):13-14.
- [7] 张志华.黄颡鱼疾病防治技术[J].河北渔业,2002(5):39-40.
- [8] 李文祥,姚卫建.黄颡鱼寄生蠕虫的群落生态研究[J].鱼类病害研究,2001,23(3):69-70.
- [9] 李 果.黄颡鱼常见疾病及防治[J].内陆水产,2001,26(10):34.
- [10] 方建平,戴必胜.黄颡鱼肠道内寄生棘头虫位置分布的研究[J].动物学杂志,2000,35(5):9-12.
- [11] 宋 平,胡珈瑞,向 筑.黄颡鱼 RAPD 标记及其遗传多样性的初步分析[J].武汉大学学报(自然科学版),2001,47(2):233-237.
- [12] 李永通,向应海,杨应勤,等.中国大鲵及鳖不同组织 LDH 同工酶的比较研究[J].动物学杂志,1992,27(1):28-31.
- [13] 胡能书,万贤国.同工酶技术及其应用[M].长沙:湖南科学技术出版社,1985:41.
- [14] Markert C L. Evolution of a gene. Multiple genes for LDH isozymes provide a model of evolution of gene structure function, and regulation[J]. Science, 1975, 189:102-113.