

孤雌生殖卤虫多倍体 IDH 同工酶 基因的表达特征*

侯 林

邹 向 阳

(辽宁师范大学海洋资源研究所, 大连 116029)

(大连医科大学生物教研室, 大连 116027)

堵 南 山 赖 伟

(华东师范大学生物系, 上海 200062)

关键词 孤雌生殖卤虫 多倍体 异柠檬酸脱氢酶

1 引言

孤雌生殖卤虫(*Artemia parthenogenetica*)广泛分布于沿海盐田和内陆盐湖中, 其种群中多倍体所占比例较高. 王壬学等^[1]观察到天津黄骅产卤虫种群中有 17.7% 的五倍体个体, 而山东羊口盐场五倍体个体高达 22%. 杨光等^[2]也发现新疆巴里坤盐湖卤虫种群 39.3% 为四倍体个体、31.8% 为五倍体个体. 有关二倍体卤虫同工酶基因的表达情况侯林等^[3, 4]已进行了较详细的报道, 国外学者 Abreu - Grobois 等^[5]对欧洲产卤虫的三、四、五倍体的同工酶基因的表达进行了研究, 而对有关中国孤雌生殖卤虫多倍体同工酶基因的表达, 仅见王壬学等^[1]和侯林等^[6]简单的报道. 中国孤雌生殖卤虫多倍体异柠檬酸脱氢酶同工酶基因表达的分析, 国内外还未见报道. 为了揭示孤雌生殖卤虫品系中多倍体异柠檬酸脱氢酶同工酶基因的表达特征, 本文对我国孤雌生殖卤虫品系的多倍体卤虫个体克隆的异柠檬酸脱氢酶同工酶基因的表达特征进行了研究.

2 材料和方法

2.1 材料

研究所用卤虫卵采自新疆巴里坤盐湖(XB)、天津塘沽盐场(TG)、辽宁营口盐场(YK)、辽宁复州湾盐场(FZW). 卤虫无节幼体的获得见文献[2, 3]. 单个体克隆化后, 检测各克隆的倍

本文于 1997-11-01 收到, 修改稿于 1998-11-11 收到.

* 辽宁省科学技术基金资助项目 (编号: 962058).

第一作者简介: 侯 林, 男, 41 岁, 副研究员, 博士, 从事甲壳动物分子生物学及分子群体遗传学研究.

性,淘汰二倍体克隆. 本文共研究了 90 个克隆,每个克隆取 2 个个体进行电泳. 共研究了 180 个成体卤虫(表 1).

2.2 方法

酶液的提取、聚丙烯酰胺凝胶的制备、电泳方法、酶的染色、等位基因分析见文献[3,4].

3 结果

3.1 中国孤雌生殖卤虫多倍体 IDH 同工酶基因的表达

中国孤雌生殖卤虫三倍体、四倍体、五倍体个体的 IDH 均为二聚体酶,为一个座位,a、b、c 3 个等位基因编码,本研究共发现 10 种基因型: 1. cccc, 2. aab 或 abb, 3. aabb, 4. aacc, 5. aaabb 或 aabbb, 6. aaacc 或 aaccc, 7. aac 或 acc, 8. bbcc, 9. aabc, 10. aabcc. 5 种表现型. 品系间和品系内克隆间存在多态现象(图 1).

3.2 各品系多倍体克隆 IDH 同工酶基因型的分布情况

各品系多倍体克隆 IDH 同工酶主要基因型的分布情况: cccc、bbcc 为 1.11%, aab 或 abb 为 11.11%, aabb 为 11.11%, aacc 为 21.11%, aaabb 或 aabbb 为 10%, aaacc 或 aaccc 为 28.89%, aac 为 11.11%, aabc 和 aabcc 均为 2.23%.

3.3 各多倍体 IDH 同工酶基因型特征

TG 和 FZW 品系中三倍体在群体中所占比例较小,所以在筛选多倍体克隆时没有发现 TG、FZW 品系有三倍体个体,其四倍体个体均以 aacc 基因型为主,五倍体个体以 aaacc、aaccc 基因型为主. XB 品系克隆三倍体主要基因型为 aab、abb,四倍体个体主要基因型为 aabb,五倍体个体 IDH 同工酶的基因型以 aaabb、aabbb 为主(表 2).

表 1 研究的品系及克隆数量

品系	3n	4n	5n
XB	10	10	10
TG		10	10
YK	10	5	5
FZW		10	10

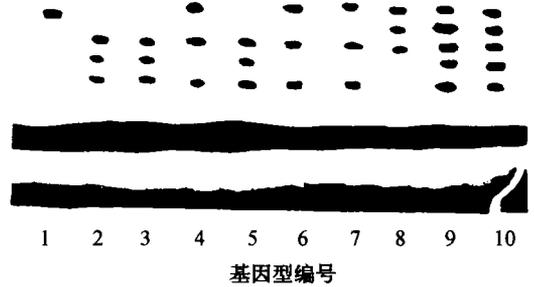


图 1 研究中所发现的多倍体卤虫的异柠檬酸脱氢酶的表现型和基因型

表 2 各品系卤虫克隆 IDH 同工酶基因型分布

基因型编号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
XB	3n	1.00								
	4n			0.800				0.100	0.100	
	5n					0.900				0.100
TG	3n									
	4n				1.00					
	5n			0.200			0.800			
YK	3n						1.00			
	4n				0.100					
	5n	0.100				0.900				
FZW	3n									
	4n				0.80				0.200	
	5n						0.900			0.100

4 讨论

4.1 与二倍体卤虫 IDH 同工酶谱比较(表 3)

可以看出,二倍体和多倍体个体的 IDH 同工酶均由一座位, a、b、c 3 个等位基因编码. 从理论上讲二倍体个体仅能出现 aa、ab、ac、bb、bc、cc 6 种基因型、6 种表现型, 但三倍体个体可产生 10 种基因型, 7 种表现型; 四倍体个体能产生 15 种基因型, 7 种表现型; 五倍体个体能产生 21 种基因型, 7 种表现型. 由于多倍体在共显性等位基因 IDHa、b、c 的指导下产生不同的酶亚基并自由组合, 因此会出现含有 a、b、c 3 种亚基的基因型和表现型, 产生区别于二倍体酶谱的 5 条酶带的特殊带型, 多倍体的重复基因表达. 二倍体中 2 个亚基的组合, 只能产生 aa、ab、ac、bb、bc、cc 的基因型和表现型, 而不会产生含有 a、b、c 3 个亚基的 5 条酶带的表现型. 这一点也是二倍体与多倍体 IDH 同工酶基因表达的最主要的区别, 如多倍体不出现 5 条酶带的表现型即不出现 aabcc, 则为功能二倍体, 这一点在本实验中已得以证实. 实验中由于所测定的个体数较少, 所以没有得到理论上应出现的全部基因型.

表 3 二倍体、三倍体、四倍体、五倍体 IDH 同工酶谱的比较

多倍体	酶带数	基因型及理论上应出现的频率							
2n	1	aa	1/9	bb	1/9	cc	1/9		
	3	ab	2/9						
	3	ac	2/9						
	3	bc	2/9						
	5		—						
3n	1	aaa	1/18	bbb	1/18	ccc	1/18		
	3	aab	2/18	abb	2/18				
	3	bbc	2/18	bcc	2/18				
	3	aac	2/18	acc	2/18				
	5	abc	3/18						
4n	1	aaaa	1/36	bbbb	1/36	cccc	1/36		
	3	aaab	2/36	aabb	3/36	abbb	2/36		
	3	bbbc	2/36	bbcc	3/36	bccc	2/36		
	3	aaac	2/36	aacc	3/36	accc	2/36		
	5	aabc	4/36	abbc	4/36	abcc	4/36		
5n	1	aaaaa	1/60	bbbbb	1/60	ccccc	1/60		
	3	aaaab	2/60	aaabb	3/60	aabbb	3/60	abbbb	2/60
	3	bbbbc	2/60	bbbcc	3/60	bbccc	3/60	bcccc	2/60
	3	aaaac	2/60	aaacc	3/60	aaccc	3/60	acccc	2/60
	5	aaabc	4/60	aabbc	5/60	aabcc	5/60	abbbc	4/60
		abbcc	5/60	abccc	4/60				

4.2 由表3可以看出, 虽然不同倍性个体的 IDH 同工酶的某一表现型是相同的, 但其基因型是不同的, 而且酶带强度也极为不同, 如 aab、abb、aaab、aabb、abbb、aaaab、aaabb、aabbb、abbbb 的表现型是相同的, 均为 3 条酶带, 然而酶带强度却不同, 基因型 ab 的 3 条酶带 aa、ab、bb 的强度分别为 1、2、1, aaabd 3 条酶带强度却为 9、6、1. 在实际工作中, 只根据酶带强度去推测多倍体个体的基因型往往是不准确的, 由于这种技术手段的限制, 阻碍了一些基因型的遗传学测

定. 根井正利^[7]在论述象虫属(*Otiorrhynchus*)孤雌生殖三倍体、四倍体的同工酶基因型时,也提到多倍体个体基因型分析的困难性. 在本研究中,基因型的确定也极为困难,如3条酶带含有a、b两个亚基的表现型只能确定为aab或abb,更准确的基因型确定方法还有待于进一步研究.

4.3 多倍性往往与孤雌生殖方式相联系. Lokki^[8]曾认为孤雌生殖动物的生态和分布往往是成功的,而广泛分布的能力比二倍体个体要强的多,但 Abatzopoulos 等^[9]认为这是非常错误的. 他们认为孤雌生殖动物没有进化的潜在可能性,它们走进了进化的死胡同. 但就孤雌生殖卤虫的分布来看由于卤虫生活于高盐水体中,其生活环境极为恶劣,为适应这种不良环境,卤虫通过多倍化增加遗传物质,通过转录、翻译使同工酶和其他对维持生命活动有重要作用的蛋白质成倍增加,从而加强了个体的生存能力. 另外,从形态学的观点来看,多倍体个体的卵径、无节幼体、成体都明显大于二倍体个体,抗饥饿和抗低温的能力较二倍体都要强的多. 在各种不同的生物中通过多倍化来增加遗传物质具有重要的进化意义^[10,11],但同时其较少的遗传变异和有害基因的积累必然造成种群中遗传自动调节的丧失,也必将会限制其进化的速度. 有关多倍体个体产生的遗传学机理有待进一步研究.

4.4 Abreu - Grobois^[5]在研究土耳其孤雌生殖卤虫三倍体个体、西班牙的四倍体卤虫品系、保加利亚的五倍体卤虫个体的 IDH 同工酶时曾报道,三倍体有4条酶带(IDH - 1¹⁰⁵、IDH - 2⁸⁹、IDH - 2⁹⁸、IDH - 2¹⁰⁰),四倍体、五倍体为5条酶带(IDH - 1⁹⁸、IDH - 1¹⁰⁵、IDH - 2⁸⁹、IDH - 2⁹⁸、IDH - 2¹⁰⁰). 结合本研究结果可以认为 Abreu - Grobois 所得到的三倍体个体的4条带与我们所得到的aac或acc表现型相同,而四倍体和五倍体的表现型与aabcc、aabcc相同. 不同之处在于 Abreu - Grobois 报道 IDH 有两个基因座位. 这一点可能与我们研究的品系不同、分析方法不同或所使用的电泳系统不同有关.

参考文献

- 1 王壬学,蔡亚能,李嘉泳. 华北盐场孤雌生殖卤虫克隆及其染色体的研究. 海洋与湖沼,1991, 22(1):1~7
- 2 杨光,蔡含筠,侯林. 中国六个盐湖卤虫品系生物学特征的研究. 海洋湖沼通报,1995, (3):39~47
- 3 侯林,蔡含筠,邹向阳. 中国十个地理品系卤虫同工酶的研究. 动物学报,1993, 39(1): 30~37
- 4 侯林,蔡含筠,邹向阳等. 中国两性生殖卤虫同工酶基因的表达及分类地位. 动物学报,1997, 43(2):184~191
- 5 Abreu - Grobois F A, Beardore J A. Genetic characterization and intra - generic relationships of *Artemia monica* Verrill and *A. urmiana* Gunther. Hydrobiologia, 1991, 212, 151~168
- 6 侯林,蔡含筠,邹向阳. 我国卤虫(*Artemia*)两种同工酶的研究. 辽宁师范大学自然科学学报,1991, 14(2):128~132
- 7 根井正利. 分子群体遗传学与进化论. 北京:农业出版社,1983, 133~138
- 8 Lokki J. Protein variation and the origin of parthenogenetic forms. In: Oxford G S, Bollinson D: eds. Protein Polymorphism: Adaptive and Taxonomic Significance. London: Academic Press, 1983, 223~235
- 9 Abatzopoulos Th, Triantaphyllidis C, Kastritsis C. Genetic polymorphism in two parthenogenetic *Artemia* populations from Northern Greece. Hydrobiologia, 1993, 250, 73~80
- 10 Ohno S. Evolution by Gene Duplication. New York: Springer Verlag, 1970
- 11 Buth D G. Duplicate gene expression in tetraploid fishes of the tribe Moxostomatini (*Cypriniformes*, *Catostomidae*). Comp. Biochem. Physiol. 1979, 63B, 7~12

Expression characterizations of isocitrate dehydrogenase isozymic genes of polyploids of *Artemia parthenogenetica* Strains from China

Hou Lin,¹ Zou Xiangyang,² Du Nanshan,³ Lai Wei³

1. *Institute of Marine Resources, Liaoning Normal University, Dalian 116029*

2. *Department of Biology, Dalian Medical University, Dalian 116027*

3. *Department of Biology, East China Normal University, Shanghai 200062*

Key words *Artemia parthenogenetica*, polyploids, isocitrate dehydrogenase, isozyme