

斑啄木鸟和绿啄木鸟的几项生化指标观察初报*

赵小凡 王金星

(山东大学生物系)

斑啄木鸟 (*Dendrocopus major cabanisi*) 和绿啄木鸟 (*Picus canus zimmermanni*) 隶属于鸢形目 (*Piciformes*) 啄木鸟科 (*Picidae*), 分属于两个不同的属^[2]。本文报道了这两种鸟的血清、肌浆、肝和心肌的乳酸脱氢酶同工酶 (LDH) 以及血清和肝的酯酶同工酶 (Est), 并进行了肌浆蛋白 SDS-电泳。

(一) 材料和方法 斑啄木鸟雌雄各 1 只, 绿啄木鸟雄性 1 只, 均采自济南市郊。

用心脏穿刺法取出血液, 静置两小时后离心, 3500 转/分, 取血清备用。分别取出胸大肌、肝和心肌各 0.25 克, 每种组织加入 5 毫升 20% 蔗糖液, 匀浆, 离心, 3500 转/分, 取上清液备用。

采用连续的聚丙烯酰胺凝胶电泳, 三-甘氨酸缓冲系统 (pH8.3)。进行同工酶电泳的凝胶浓度为 5.7%, 电流: 2 毫安/管, 电压: 180—200 伏, 电泳时间 2 小时左右。乳酸脱氢酶同工酶的染色见文献^[3]; 酯酶同工酶染色参照 Brewer^[4] 的方法进行。两种同工酶的加样量均为每管 100 微升。肌浆蛋白的 SDS-电泳参照 Laemmli^[5] 的方法进行, 凝胶浓度为 10%, 3 毫安/管, 150—200 伏, 电泳时间 3 小时, 每管加样量为 50 微升。

(二) 结果 斑啄木鸟雌性与雄性个体的各项实验结果基本相同。

两种啄木鸟的肌浆 LDH 同工酶表型略有不同, 斑啄木鸟呈现明显的 3 条带, 绿啄木鸟亦为 3 条带, 但中间带很细, 不易分辨。在血清、心肌和肝等 3 种组织中, 两种啄木鸟的 LDH 均表现为 1 条带, 仅在含量和活性上表现出微小的差异 (见图 1, 其模式图根据相对迁移率绘制)。

斑啄木鸟和绿啄木鸟的酯酶同工酶差异显著, 在同种鸟的不同组织中也有显著差异。斑啄木鸟的肝酯酶为两条带, 血清酯酶表现出 3 条带; 绿啄木鸟的肝酯酶表现出 3 条带, 血清酯酶为 4 条带 (见图 2, 3)。

肌浆蛋白 SDS-电泳的结果在两种间表现出较大的差异。斑啄木鸟为 16 条带, 绿啄木鸟为 19 条带。为了叙述方便, 可将肌浆蛋白的电泳图谱分成三个区段, 从正极向负极分别为: I 区段, II 区段, III 区段。在 I 区段, 斑啄木鸟为 4 条带, 绿啄木鸟为 5 条带, 比前者多了 1 条弱带; 在 II 区段, 斑啄木鸟为 6 条带, 其中有 3 条粗带, 而绿啄木鸟为 5 条带, 只有 2 条粗带; 在 III 区段, 斑啄木鸟有 6 条带, 靠负极端的 1 条带较粗, 其余各带粗细较均匀, 绿啄木鸟有 9 条带, 其中有 3 条很细的带夹杂在较粗的带之间 (见图 4)。

* 本文承王庆国同志采集标本, 在此表示感谢。

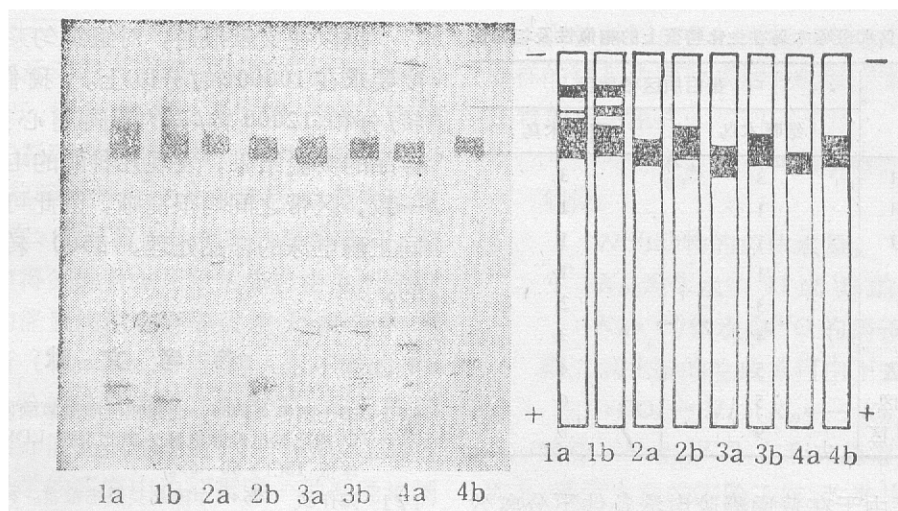


图1 乳酸脱氢酶 (LDH) 同工酶谱

a. 绿啄木鸟 b. 斑啄木鸟 1 肌浆 LDH 2 血清 LDH 3 心肌 LDH 4 肝 LDH

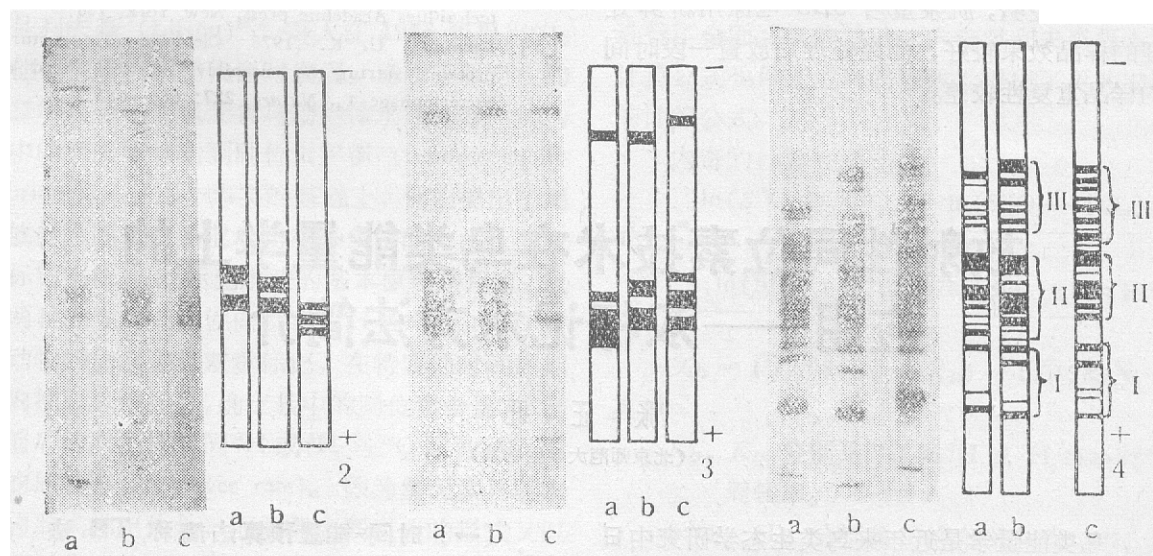


图2 肝酯酶

图3 血清酯酶

图4 肌浆蛋白 SDS-电泳图谱

a 斑啄木鸟(♀) b 斑啄木鸟(♂) c 绿啄木鸟(♂)

讨论

从所做的几项生化指标看,两种啄木鸟表现出一定的差异,如血清酯酶、肝酯酶和肌浆蛋白等。并且,在种内不同组织间酯酶也表现出明显差异。两种鸟的 LDH 同工酶表现出较多的一致性。性别对上述几项生化指标影响不明显。两种啄木鸟在生化特征上的相似和相异性列于下表(表1)。

根据 Wilson 等人(1964)的研究,大部分高等鸟类的 LDH 同工酶的泳动率属于慢的泳动类型(转引自李士鹏^[1]),这可能是由于 LDH 等电点集中在一个较为狭窄的 pH 范围内,所以用一般电泳方法分离时,其同工酶区带所载电荷相应少些,各区带之间的电荷差异更少,于是泳动速率慢,彼此之间的泳动率差异不大,难于分离。因此隶属于鸛形目的两种啄木鸟血清、心肌和肝组织的 LDH 同工酶均为1条区

表 1 绿啄木鸟和斑啄木鸟在生化特征上的相似性及相异性

生化指标	蛋白质区带数目	
	绿啄木鸟	斑啄木鸟
肌浆 LDH	3	3
血清 LDH	1	1
心肌 LDH	1	1
肝 LDH	1	1
肝 Est	3	2
血清 Est	4	3
肌浆蛋白 I 区	5	4
肌浆蛋白 II 区	5	6
肌浆蛋白 III 区	9	6

带,可能是由于在普通凝胶电泳条件下分离效果差造成的。在骨骼肌中 LDH 同工酶仍可分离出 3 条区带。

根据经验,肌浆蛋白 SDS-电泳用新鲜处理的样品效果较好,而经处理后放置一段时间的样品重复性较差。

据以往文献报道,对组织匀浆液的离心速度要求在 10000 转/分以上。我们对比 3500 转/分和 12000 转/分的不同离心速度处理的样品的实验结果,发现几种酶的电泳结果完全一致,区带之间均很清晰,因此可以认为用于同工酶电泳的样品处理,3500 转/分是可行的。

参 考 文 献

- [1] 李士鹏等 1986 北京鸭乳酸脱氢酶同工酶的研究: I. 薄层等电聚焦电泳分离北京鸭 LDH 同工酶. 遗传学报 13(1) 60—65.
- [2] 郑作新 1964 中国鸟类系统检索. 科学出版社, 77—84.
- [3] 赵小凡等 1986 黑线姬鼠华北亚种与长江亚种几项生化指标的比较观察. 兽类学报 6(1): 57—62.
- [4] Brewer, G. J. 1970 An introduction to isozyme techniques Academic press, New York, 186.
- [5] Laemmli, U. K. 1970 Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T₄. Nature, 227: 680—685.