

1.3 电泳

采用不连续垂直板状聚丙烯酰胺凝胶电泳，胶厚1mm，分离胶浓度为7.5%，pH值8.9；浓缩胶浓度为4%，pH值6.8，电极缓冲液为Tris-Gly(pH值8.3)。LDH、ADH上样量为20 μ l，EST加样量为10 μ l。电泳起始电压100V，指示剂移到分离胶后调至150V，4℃，恒压电泳3~4 h。

1.4 染色

同工酶的染色方法参照文献[9]。LDH染液：25mg NAD(辅酶I)+15mg NBT(氮兰四唑)+1mg PMS(N-甲基吩嗪甲基硫酸盐)+0.5ml 10 mol/L 乳酸钠+2.6ml 0.1mol/L NaCl+7.5ml 0.5 mol/L Tris-Cl(pH值7.5)+50ml 双蒸水；EST染液：0.06g α -醋酸萘酯+0.06g β -醋酸萘酯+0.06g 固蓝盐B+40ml 0.067mol/L 磷酸缓冲液(pH值6.5)；ADH染液：20mg NAD+15mg NBT+1mg PMS+7ml 0.2 mol/L Tris-Cl(pH值8.0)+2ml 95%乙醇+41ml 双蒸水。染色后的凝胶用重蒸水洗涤后拍照，绘图并计算相对迁移率(Rf)。

2 结果与分析

2.1 LDH 同工酶

泰国蛤蚧LDH有5带型(肺)，7带型(肠)，8带型(肌肉、肝、胃、性腺、肾)，10带型(心)；广西蛤蚧LDH有4带型(肠)，5带型(肌肉、心、肝、肺、胃、

肾)，6带型(性腺)；越南蛤蚧均为5带型(见图1和表1)。由图1可知广西种群和越南种群的LDH同工酶谱带在肌肉、心脏、肝脏、肺、胃和肾组织中完全相同。但广西种群在肠组织中缺乏P₄和P₇带，而出现P₂带。性腺组织中也比越南种群多出1条带(P₁)。泰国种群各种组织中的LDH同工酶与广西和越南种群相比差异较大，主要表现在有较多的亚带，3个不同地理种群的8种组织几乎均表现出明显的5条LDH同工酶主带，即P₃、P₄、P₇、P₉和P₁₀。但不同种群不同组织的谱带着色深浅不同，说明酶活性不同。其中心的LDH活性均最强，肾次之。泰国蛤蚧的P₄和P₇上均存在亚带，心、胃的LDH₁上也具有特异亚带。显然，不同地理种群的蛤蚧的POD具有一定的种群地理特异性。

2.2 EST 同工酶

对比各组织EST同工酶活性，3个不同地理种群中，均以肾组织中的EST同工酶活性最高，且都具有7条酶带。肝的EST同工酶活性相对也较高。3个群体心脏组织表现出来的酶活性都较弱(见图2和表2)。由表2可知，P₉、P₁₀为各组织共有的带，P₁带为性腺特有。泰国蛤蚧EST有2带型(肌肉)，4带型(肺、肝)，5带型(心、肠)；6带型(胃、性腺)，7带型(肾)；广西蛤蚧EST有2带型(肌肉)，6带型(心、肝、肺、肠、性腺)，7带型(胃、肾)；越南蛤蚧EST有5带型(肌肉、心、肺、性腺)，6带型(肝)，7带型(胃、肠、肾)。

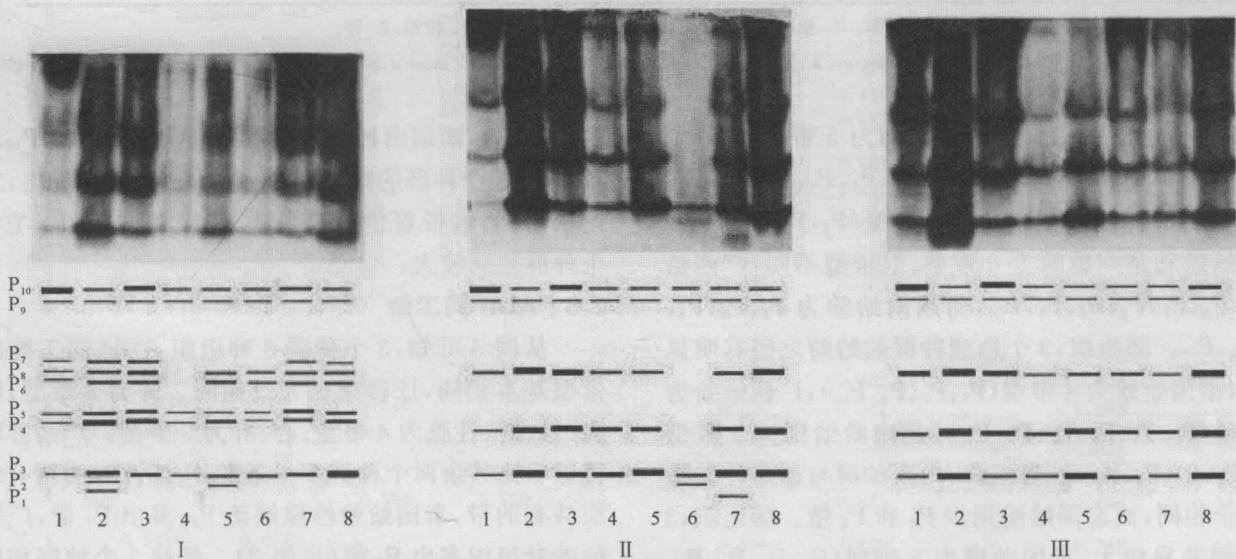


图1 3个种群蛤蚧各组织中LDH同工酶谱比较

Fig. 1 Electrophoretogram of the LDH in various tissues of *Gekko gecko*

P₁~P₁₀表示从正极到负极的酶带，表示方法下同。I. 泰国群体，II. 广西群体，III. 越南群体。1. 肌肉；2. 心；3. 肝；4. 肺；5. 胃；6. 肠；7. 性腺；8. 肾。

P₁~P₁₀ represents the enzyme bands from positive pole to negative pole, the express method is the same as below. I. Thailand population, II. Guangxi population, III. Viet Nam population. 1 to 8 represents muscle, heart, liver, lungs, stomach, intestine, sex gland and kidney.

