

背景意义

菲律宾蛤仔 (*Ruditapes philippinarum*) 隶属于软体动物门、双壳纲、帘蛤目、帘蛤科、缀锦亚科、蛤仔属, 是我国重要的滩涂经济贝类之一。菲律宾蛤仔的表面壳色、花纹丰富多彩, 具有壳色多态性, 该特征作为经济贝类的一个重要指标, 在选育过程中发挥着重要的作用。研究表明, 在耐受性、抗逆性和生长速率等方面, 不同壳色蛤仔之间的表达有显著差异, 并且能稳定遗传给下一代, 但关于其具体的作用机制还尚不明确。因此, 通过对贝壳色素的相关实验进行研究, 可以阐述壳色的形成机理。本研究是从不同壳色菲律宾蛤仔的贝壳和外套膜中提取黑色素并测定含量。我们用酸解法成功分离出黑色素, 经分光光度计法对黑色素样品进行测量, 得到菲律宾蛤仔黑色素的吸收光谱并在 350nm 处发现黑色素的吸收峰。结果显示, 两种不同深浅壳色菲律宾蛤仔的贝壳、外套膜中黑色素含量均有显著差异, 四种不同壳色蛤仔亦是如此。此外, 我们发现外套膜中的黑色素含量均高于贝壳中黑色素含量。为了进一步探究黑色素合成机制, 我们对菲律宾蛤仔外套膜中的酪氨酸酶 (TYR)、酪氨酸羟化酶 (TH)、多巴脱羧酶 (DDC)、N-乙酰基转移酶 (NAT)、N-β-丙酰多巴胺 (NBAD) 的活性进行测定, 结果表明前四种酶的活性与黑色素含量呈正向关系, 而 N-β-丙酰多巴胺则呈负向关系, 初步证实了这些酶参与菲律宾蛤仔黑色素合成通路的调控。这些工作为后续菲律宾蛤仔遗传机制和选育研究提供了有价值的信息。

结果

1. 样本采集

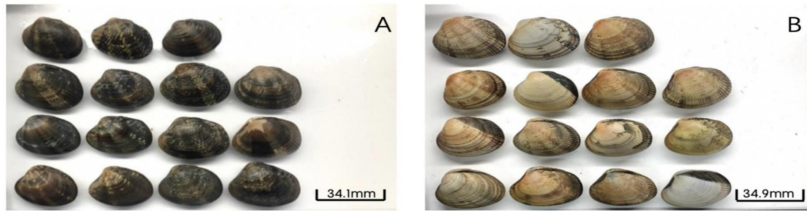


图1.不同壳色蛤仔外观 (A) 深壳色; (B) 浅壳色

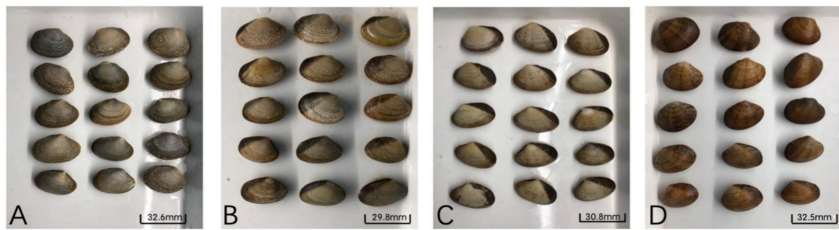


图2.四种不同壳色蛤仔外观 (A) 斑马蛤; (B) 白斑马蛤; (C) 白蛤; (D) 橙蛤

2. 黑色素吸收光谱

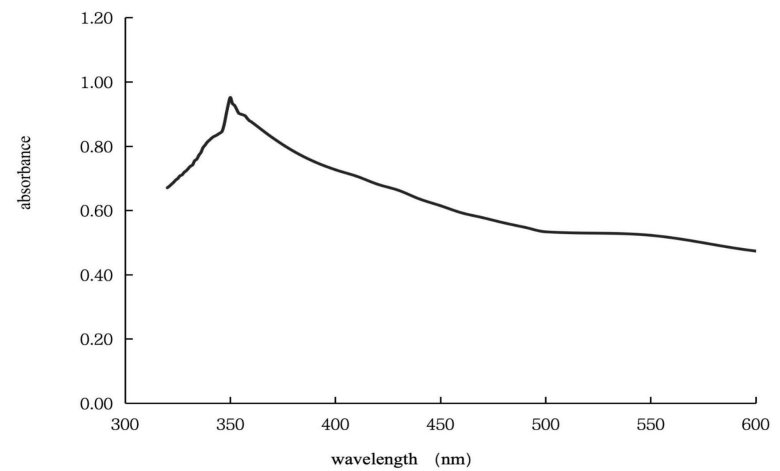


图3.菲律宾蛤仔贝壳中黑色素吸收光谱

3. 不同壳色蛤仔黑色素吸光度值

Table 1. The absorbance of shell and mantle of different shell color *R. philippinarum*

Different shell color <i>R. philippinarum</i>	Absorbance	
	Shell	Mantle
Dark strain	1.136±0.004 ^a	1.233±0.003 ^c
Light strain	0.780±0.003 ^b	0.837±0.003 ^d
Zebra strain	1.037±0.007 ^a	1.124±0.003 ^d
White zebra strain	0.904±0.003 ^b	1.025±0.002 ^a
White strain	0.757±0.003 ^c	0.857±0.003 ^c
Orange strain	1.119±0.004 ^d	1.223±0.003 ^f

Note: Lowercase letters indicated significant differences in the shell and mantle of absorbance ($P < 0.05$)

表1.不同壳色蛤仔贝壳、外套膜的吸光度值

4. 不同壳色蛤仔的黑色素含量

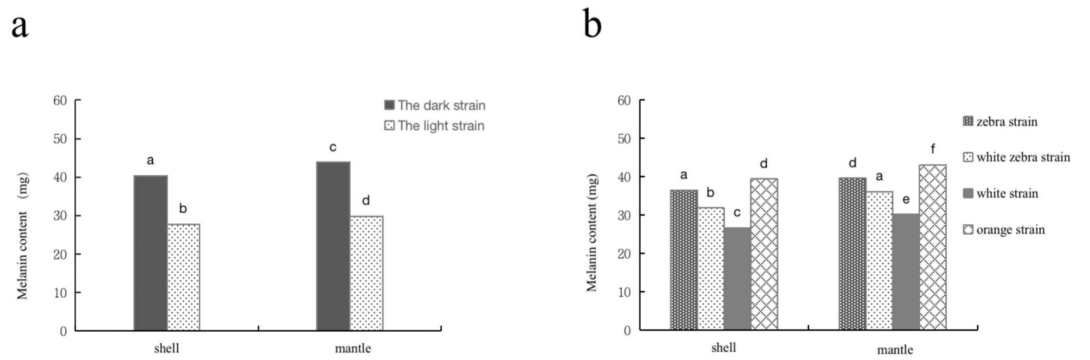


图4.不同壳色蛤仔的贝壳、外套膜中黑色素含量

5. 不同壳色菲律宾蛤仔黑色素合成通路相关酶的活性测定

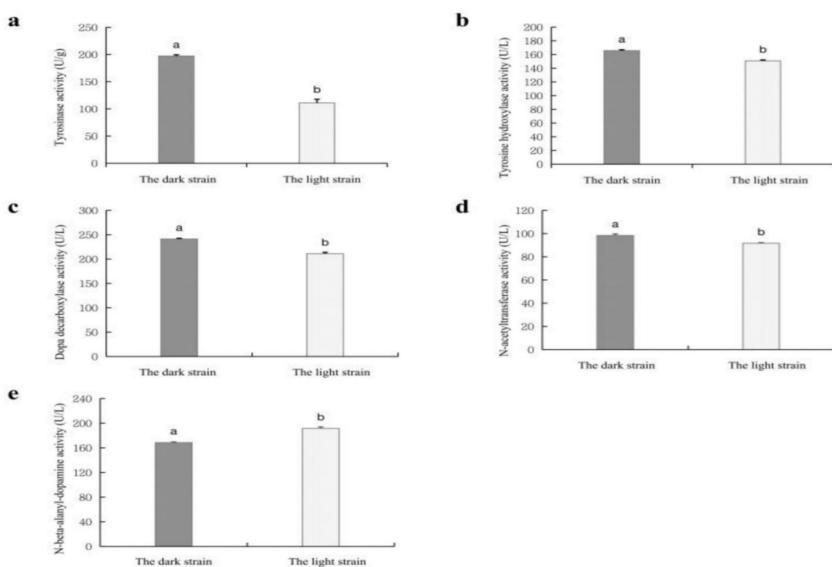


图5.两种不同深浅壳色蛤仔的酪氨酸酶 (TYR)、酪氨酸羟化酶 (TH)、多巴脱羧酶活性 (DDC)、N-乙酰基转移酶 (NAT)、N-β-丙酰多巴胺 (NBAD) 活性分析

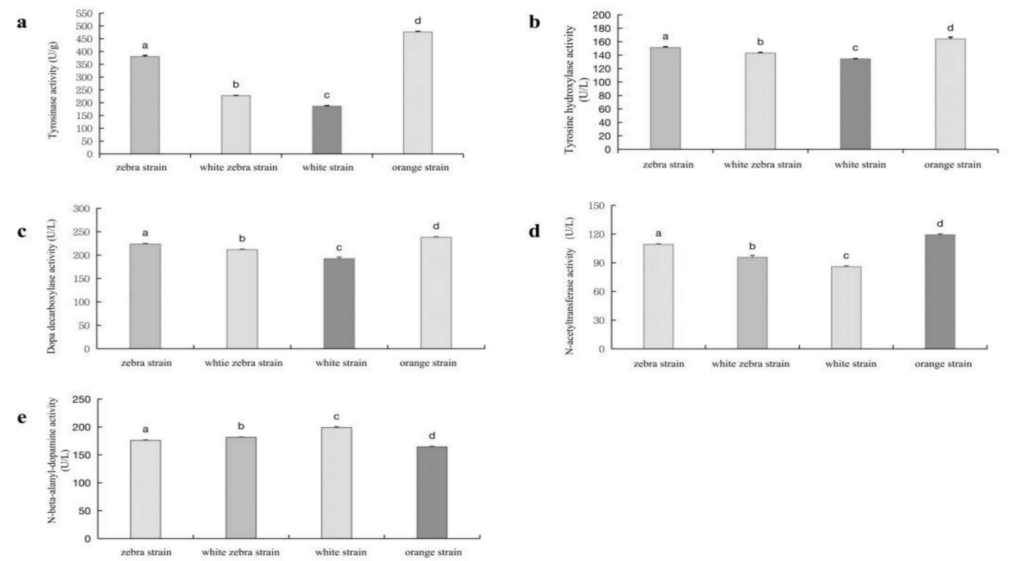


图6.四种不同壳色蛤仔的酪氨酸酶 (TYR)、酪氨酸羟化酶 (TH)、多巴脱羧酶活性 (DDC)、N-乙酰基转移酶 (NAT)、N-β-丙酰多巴胺 (NBAD) 活性分析

结论

我们成功从菲律宾蛤仔的贝壳和外套膜中分离出黑色素, 并且通过分光光度计法得出蛤仔黑色素的吸收光谱。研究结果表明, 深浅壳色的两种菲律宾蛤仔中深壳色蛤仔的黑色素含量高, 四种不同壳色菲律宾蛤仔中黑色素含量从高到低依次是橙蛤、斑马蛤、白斑马蛤、白蛤。酶活相关研究结果表明, 酪氨酸酶、酪氨酸羟化酶、多巴脱羧酶、N-乙酰基转移酶的这四种酶的活性高低和黑色素含量的多少是一致的, 而 N-β-丙酰多巴胺活性高低和黑色素含量的多少却是相反的。由此可以推断, 酪氨酸酶、酪氨酸羟化酶、多巴脱羧酶、N-乙酰基转移酶这四种酶在菲律宾蛤仔黑色素合成通路中起正相关调控作用, 而 N-β-丙酰多巴胺则起负相关调控作用。本研究为探究菲律宾蛤仔黑色素合成通路调控机制提供新思路。关于菲律宾蛤仔壳色多态性的研究有待进一步的研究。