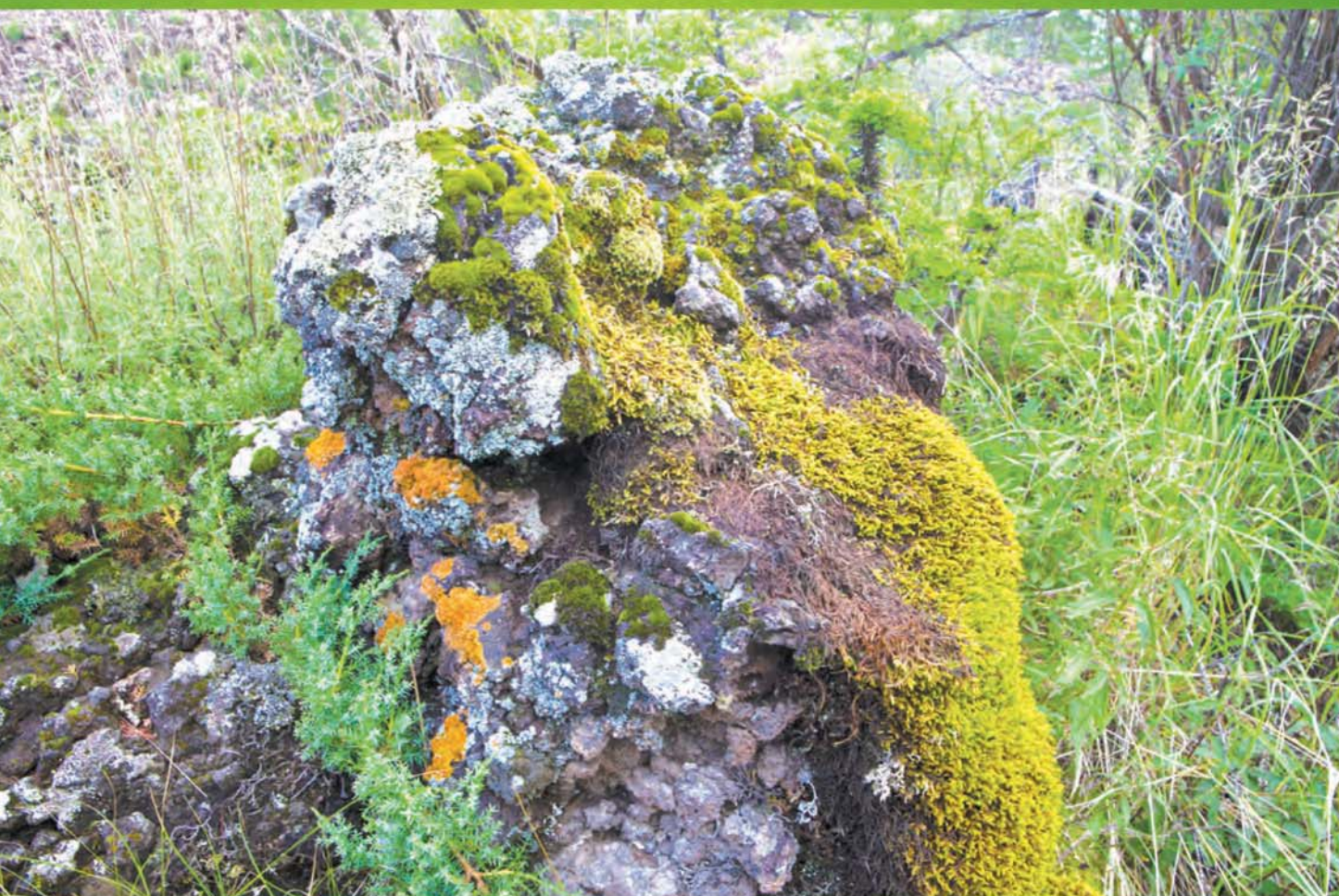


ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q

生态学报

Acta Ecologica Sinica



第32卷 第6期 Vol.32 No.6 **2012**

中国生态学学会
中国科学院生态环境研究中心
科学出版社

主办
出版



中国科学院科学出版基金资助出版

生态学报

(SHENGTAI XUEBAO)

第 32 卷 第 6 期

2012 年 3 月 (半月刊)

目 次

高原草被退化程度的遥感定量监测——以甘肃省玛曲县为例.....	周坚华,魏怀东,陈芳,等 (1663)
基于着生藻类的太子河流域水生态系统健康评价.....	殷旭旺,渠晓东,李庆南,等 (1677)
哀牢山常绿阔叶林水源涵养功能及其在应对西南干旱中的作用.....	杞金华,章永江,张一平,等 (1692)
青岛沿岸水体原生生物群落与水质状况的关系.....	杨金鹏,姜勇,胡晓钟 (1703)
增温对青藏高原高寒草甸生态系统固碳通量影响的模拟研究.....	亓伟伟,牛海山,汪诗平,等 (1713)
三峡水库消落带植物叶片光合与营养性状特征.....	揭胜麟,樊大勇,谢宗强,等 (1723)
三峡库区澎溪河鱼类时空分布特征的水声学特性.....	任玉芹,陈大庆,刘绍平,等 (1734)
强壮前沟藻化感物质分析.....	冀晓青,韩笑天,杨佰娟,等 (1745)
饥饿对中间球海胆 MYP 基因转录表达的影响.....	秦艳杰,孙博林,李霞,等 (1755)
贺兰山牦牛冬春季的生境选择.....	赵宪南,苏云,刘振生,等 (1762)
利用元胞自动机研究一类捕食食饵模型中的斑块扩散现象.....	杨立,李维德 (1773)
转 <i>Cry1Ab</i> 和 <i>Cry1Ac</i> 融合基因型抗虫水稻对田间二化螟和大螟种群发生动态的影响.....	李志毅,隋贺,徐艳博,等 (1783)
光谱和光强度对西花蓟马雌虫趋光行为的影响.....	范凡,任红敏,吕利华,等 (1790)
荧光素对舞毒蛾核型多角体病毒不同地理品系的增效与光保护作用.....	王树娟,段立清,李海平,等 (1796)
不同利用强度下绿洲农田土壤微量元素有效含量特征.....	李海峰,曾凡江,桂东伟,等 (1803)
稻田温室气体排放与土壤微生物菌群的多元回归分析.....	秦晓波,李玉娥,石生伟,等 (1811)
黄土高原典型区域土壤腐殖酸组分割面分布特征.....	党亚爱,李世清,王国栋 (1820)
紫色土菜地生态系统土壤 N_2O 排放及其主要影响因素.....	于亚军,王小国,朱波 (1830)
中国亚热带典型天然次生林土壤微生物碳源代谢功能影响因素.....	王芸,欧阳志云,郑华,等 (1839)
基于 K-均值算法模型的区域土壤数值化分类及预测制图.....	刘鹏飞,宋轩,刘晓冰,等 (1846)
淹水条件下秸秆还田的面源污染物释放特征.....	杨志敏,陈玉成,张赞,等 (1854)
推迟拔节水对小麦氮素积累与分配和硝态氮运移的影响.....	王红光,于振文,张永丽,等 (1861)
江苏省冬小麦渍害的风险区划.....	吴洪颜,高苹,徐为根,等 (1871)
草原植物根系起始吸水层深度测定方法及其在不同群落状态下的表现.....	郭宇然,王炜,梁存柱,等 (1880)
亚热带 6 种树种细根序级结构和形态特征.....	熊德成,黄锦学,杨智杰,等 (1888)
高寒草原植物群落种间关系的数量分析.....	房飞,胡玉昆,张伟,等 (1898)
菊花近缘种属植物幼苗耐阴特性分析及其评价指标的确定.....	孙艳,高海顺,管志勇,等 (1908)
南方菟丝子寄生对喜旱莲子草生长及群落多样性的影响.....	王如魁,管铭,李永慧,等 (1917)
基于 cDNA 克隆的亚热带阔叶林和针叶林生态系统担子菌漆酶基因多样性及其群落结构研究.....	陈香碧,苏以荣,何寻阳,等 (1924)
细柄阿丁枫和米槠细根寿命影响因素.....	黄锦学,凌华,杨智杰,等 (1932)
基于 TM 遥感影像的森林资源线性规划与优化配置研究.....	董斌,陈立平,王萍,等 (1943)
基于 CFD 的城市绿地空间格局热环境效应分析.....	刘艳红,郭晋平,魏清顺 (1951)
专论与综述	
生态补偿效率研究综述.....	赵雪雁 (1960)
研究简报	
黄河三角洲石油生产对东营湿地底栖动物群落结构和水质生物评价的影响.....	陈凯,肖能文,王备新,等 (1970)
期刊基本参数: CN 11-2031/Q * 1981 * m * 16 * 316 * zh * P * ¥ 70.00 * 1510 * 34 * 2012-03	

封面图说: 植物生命演进石——这不是一块普通的火山岩,而是一块集中展示植物“原生演替”过程最有价值的石头。火山熔岩冷却后的玄武岩是无生命无土壤的真正“裸石”,风力使地衣的孢子传入,在一定温湿度环境下,开始出现了壳状地衣,壳状地衣尸体混合了自然风化的岩石碎屑提供的条件使叶状、枝状地衣能够侵入,接着苔藓侵入,是它们启动了土壤的形成,保持了土壤的湿度,并使营养物质反复循环。于是蕨类定居,草丛长了起来,小灌木出现,直到树木生长,最终形成森林。

彩图提供: 陈建伟教授 北京林业大学 E-mail: cites.chenjw@163.com

DOI: 10.5846/stxb201101290150

秦艳杰, 孙博林, 李霞, 王雪, 金迪. 饥饿对中间球海胆 MYP 基因转录表达的影响. 生态学报, 2012, 32(6): 1755-1761.

Qin Y J, Sun B, Li X, Wang X, Jin D. Effect of starvation on expression patterns of the MYP gene in *Strongylocentrotus intermedius*. Acta Ecologica Sinica, 2012, 32(6): 1755-1761.

饥饿对中间球海胆 MYP 基因转录表达的影响

秦艳杰*, 孙博林, 李霞, 王雪, 金迪

(大连海洋大学, 农业部北方海水增养殖重点实验室, 海洋生物资源可持续利用重点实验室, 辽宁 大连 116023)

摘要:应用实时定量 PCR 技术对主要卵黄蛋白 (Major yolk protein, MYP) 基因在不同饥饿时期中间球海胆的体腔细胞、性腺、肠、胃中的转录表达差异进行了分析。结果表明, 在正常状态下, MYP 基因在体腔细胞、性腺、肠、胃等不同组织中的转录表达差异明显, 肠中的表达量最高, 其他组织中的表达量均较低。随饥饿时间的延长, MYP 基因在体腔细胞中的表达量先迅速下降, 而后稳定在较低水平, 实验结束时下降至对照组的 1.58%; 在性腺中的表达量持续上升, 实验结束时上升至对照组的 679.75%; 在肠中的表达量持续下降, 实验结束时下降至对照组的 33.33%; 在胃中的表达量呈上升趋势, 实验结束时上升至对照组的 106.52 倍。综合来看, 饥饿状况下, 中间球海胆肠中的 MYP 表达量持续下降, 但仍是 MYP 的主要合成部位; 性腺中 MYP 表达量持续上升, 致使其 MYP 表达比重上升; 胃、体腔细胞中表达量在饥饿过程中虽有变化, 但总表达量很少, 对 MYP 的整体表达影响不大。

关键词:中间球海胆; MYP 基因; 饥饿; 转录表达

Effect of starvation on expression patterns of the MYP gene in *Strongylocentrotus intermedius*

QIN Yanjie*, SUN Bolin, LI Xia, WANG Xue, JIN Di

Key Laboratory of North Mariculture, Ministry of Agriculture, Key Laboratory of Marine Bio-resources Sustainable Utilization, Dalian Ocean University, Dalian 116023, China

Abstract: The major yolk protein (MYP) can be found in both genders of sea urchins. Both the immature ovary and testis contain a similar amount of MYP (about 9% of wet mass), constituting about 80% of total protein. This presumably acts as a nutrient reserve during gametogenesis. To determine its main production site and the mechanisms for adapting to starvation in *Strongylocentrotus intermedius*, MYP mRNA expression levels in intestine, stomach, gonad and coelomocytes were analyzed using real time reverse-transcription polymerase chain reaction. Urchins were starved for 15 days and groups of five individuals were sampled at 5, 10 and 15 days. MYP mRNA was detected in all tissues in nonstarved urchins and the amounts expressed between tissues differed widely. The content was greatest in the intestine, 28.94-fold of that measured in coelomocytes and 39.26-fold of that measured in immature gonads. MYP expression in the stomach—1.83% of that in coelomocytes—was the lowest among the four tissues studied. MYP expression levels decreased sharply after starvation in coelomocytes to 1.29%, 33.33% and 1.58% of the controls (nonstarved) after 5, 10 and 15 days, respectively. MYP mRNA levels increased in the gonads during starvation, to 2.93-, 4.07- and 6.80-fold that of the control group, respectively, but the extent of increase slowed with extended time of fasting. The expression rate during the first 5 days increased by 192.82% but this reduced to 38.98% and 67.01% in the second and third 5-day periods. MYP

基金项目:国家自然科学基金项目(30800849); 辽宁省高校杰出青年学者成长计划(LJQ2011077); 大连市科学技术基金(2007J23JH024)

收稿日期:2011-01-29; **修订日期:**2011-06-07

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: qin_tina@163.com

mRNA expression levels in the stomach increased to 25.81-, 23.43- and 106.52-fold of controls at 5, 10 and 15 days of starvation, respectively. By contrast, levels in the intestine declined continuously during starvation to 67.60%, 50.87% and 33.33% of the control, respectively. Thus, MYP mRNA could be expressed in the intestine, stomach, gonads and coelomocytes in *S. intermedius*. The intestine was the main site of production, which could be explained from the lack of any large alimentary gland in sea urchins. During starvation, the MYP mRNA expression level decreased in coelomocytes and increased in the stomach, but these levels were still minor compared with the amounts in the intestine and gonads. Interestingly, although MYP synthesis was suppressed in the intestine during starvation, the MYP mRNA expression levels were not declined but increased in gonads during starvation. Thus, the gonads, followed the intestine, provide a second main site of MYP production during starvation. Before the initiation of gametogenesis in sea urchins, the gonads increase in size by accumulating nutrients such as proteins, lipids and carbohydrates in nutritive phagocytes that fill the gonadal lumina. Therefore, it appears that the MYP mRNA expression level does not decline during starvation but increase continuously to provide nutrition for gametogenesis in resisting transient food deprivation.

Key Words: *Strongylocentrotus intermedius*; major yolk protein; starvation; expression

由于食物分布不均、自然界环境复杂多变等原因,动物在饥饿或营养不足的情况下会表现出特殊的生理变化。近些年有关限食对水产动物生长影响的研究逐渐受到人们的重视,但主要集中在鱼类、贝类、虾类的研究^[1-7]。在棘皮动物方面,尤其是中间球海胆(*Strongylocentrotus intermedius*)报道较少^[8-9]。

海胆的主要卵黄蛋白(MYP)因其在海胆卵中较丰富而得名,分子量在 160—180 kDa^[10-13]。与其他卵生动物仅雌性拥有卵黄蛋白原(Vitellogenin, Vg)或卵黄蛋白(Yolk protein, Yps)明显不同,海胆的卵巢和精巢都含有 MYP^[14-16]。MYP 分为两种,人们把存在于体腔液中可流动的 MYP 称为 CFMYP;把存在于卵中母源性的 MYP 称之为 EGMYP^[17]。有研究认为 MYP 是一种铁输送蛋白,与海胆生殖细胞的形成密切相关,但具体功能尚不十分清楚,因此对其功能的研究也是目前海胆研究的一个热点^[18-21]。

实时荧光定量 PCR(Real-time RT-PCR)技术以其快速、准确等特点近年来在医疗及动植物基因表达差异的研究方面得到迅速的推广和应用,已经成为了 mRNA 检测的重要方法之一^[22]。目前,RT-PCR 技术在水产动物上的应用也逐年增加。Minokawa 等^[23]研究了 SpFoxb、SpHes、SpKrl 和 SpNkl 基因在海胆(*S. purpuratus*)发生过程中的表达模式;周遵春等^[24]分析了 MYP 基因在中间球海胆及杂交海胆(*S. intermedius* ♀ × *S. nudus* ♂)生殖腺不同发育时期的转录表达差异;Hamdouna 等^[25]对紫球海胆(*S. purpuratus*)efflux transporter 基因在卵的受精过程中的表达差异进行了研究。本研究通过提取不同饥饿时期中间球海胆的体腔细胞、性腺、肠及胃 4 种组织的 RNA,以 18S rRNA 做参照基因,对其正常与饥饿状态下各组织中 MYP 基因的表达差异进行了研究,揭示中间球海胆 MYP 的可能合成途径,并探讨饥饿状态下海胆 MYP 基因的表达规律及海胆的饥饿适应机制。

1 材料和方法

1.1 材料

试验用材料为人工养殖 1 龄中间球海胆,壳径约为 2.0—2.5 cm,取自大连龙王塘地区。海胆采回后置于室内控温水族箱中饲育,连续充气培养,每天 1/2 的海胆换水 1 次,水温 18 ℃,期间充分投喂新鲜海带。在这种条件下暂养 1 周后开始实验。

1.2 方法

1.2.1 饥饿设置及取材

自 2010 年 9 月实验正式开始,共取中间球海胆 20 只,从停食开始每天观察粪便产生状况,一旦观察到粪便排出量明显减少,即取样 5 只做为对照组,以此时作为饥饿实验正式开始。之后在饥饿 5, 10, 15 d 分别取样 5 只。每次取样每只海胆分别取其新鲜体腔液,4 ℃, 4500 r/min 离心 10 min,去上清,体腔细胞迅速浸入液

氮中冷冻。同时,每只海胆分别取性腺、肠、胃 3 种组织并直接放入液氮中快速冷冻。

1.2.2 RNA 的提取

TRIzol 法,分别提取对照组及不同饥饿时期的肠、胃、体腔细胞、性腺的总 RNA。用 RNase-Free DNase I 除去 DNA 污染,用紫外分光光度计检测其纯度并计算浓度,并进行琼脂糖凝胶电泳检测其完整性。

1.2.3 引物的筛选

引物选取已发表的中间球海胆 MYP cDNA 片段的引物^[24]。引物序列为 F: 5'-ACCATATGGACTGACGT-3', R: 5'-GGGTTCTACCTCGGAGTTGAC-3', 预计扩增片段长度 224 bp; 18S rRNA 片段的引物序列为 F: 5'-GTTCGAAGGCGATCAGATAC-3', R: 5'-CTGTCAATCCTCACTGTGTC-3', 预计扩增片段长度 251bp。

1.2.4 反转录

反转录按照 PrimeScript® RT reagent Kit (Perfect Real Time) 试剂盒 (TaKaRa) 的步骤,在 Eppendorf Mastercycler gradient 型 PCR 仪上进行。

反转录反应体系如下:5×PrimeScript Buffer 2 μL; PrimeScript RT Enzyme Mix I 0.5 μL; Oligo dT Primer (50 μM) 0.5 μL; Random 6 mers (100 μmol/L) 0.5 μL; Total RNA 500 ng; RNase Free d H₂O 补齐 (总反应体系 10 μL)。

反应条件:37 °C 15 min (反转录反应); 85 °C 5s (反转录酶的失活反应)。反应产物立即用于 PCR 反应。

1.2.5 Real-time RT-PCR

利用 Mx3005P (Stratagene, USA) 实时荧光定量 PCR 仪,按照 SYBR® Premix Ex Taq™ II (Perfect Real Time) 试剂盒 (TaKaRa) 的操作步骤,进行 RT-PCR 反应。

反应体系:SYBR Premix Ex Taq™ II (2×) 10.0 μL (内含 TaKaRa Ex Taq HS, dNTP Mixture, Mg²⁺, SYBR® Green I 等); 正向引物 0.8 μL, 反向引物 0.8 μL; cDNA 模板 2.0 μL; d H₂O 6.0 μL (总反应体系 20.0 μL)。

反应条件:采用两步法,95 °C 10s; 95 °C 5s; 60 °C 35 s, 40 个循环。

计算方法:采用 2^{-ΔΔCT} 法分析 MYP 基因相对表达量。共进行 2 次反应,每次反应 2 个平行,计算结果取平均值。

2 结果与分析

2.1 实时荧光定量 PCR 结果

反应的融解曲线表明,18S rRNA 在 88.1 °C、MYP 基因在 84.9 °C 处分别形成单一的特异峰,峰值之前曲线平滑,说明没有引物二聚体及非特异性扩增产物出现,无论哪一种浓度的模板都能够得到单一的 PCR 扩增产物。且计算出 MYP 和 18S rRNA 的平均 C_T 值以及 ΔC_T 值,通过 cDNA 浓度梯度的 log 值对 ΔC_T 值作图,所得直线斜率是 0.0329,绝对值接近于 0,说明目标基因和参照基因的扩增效率相同,可以通过 2^{-ΔΔCT} 法进行相对定量,满足实验要求。

2.1 MYP 基因在正常状态下中间球海胆各组织中的表达

在正常状态下,中间球海胆的体腔细胞、性腺、肠、胃中 MYP 基因的相对表达量 (以 18S rRNA 为参照) 差异明显,在海胆肠中的表达量最高,为体腔细胞中表达量的 28.94 倍,为性腺中表达量的 39.26 倍;性腺及体腔细胞中表达量均较低,其中性腺中的表达量为体腔细胞中表达量的 73.71%;胃中的表达量最低,仅为体腔细胞中表达量的 1.83% (图 1)。综合来看,正常状况下,中间球海胆 MYP 主要在肠中表达,性腺、体腔液和胃中的表达量很少。

2.2 饥饿过程中 MYP 基因的表达

饥饿后海胆体腔细胞 MYP 表达量迅速下降,并随饥饿时间的延长维持在一个较低的水平,分别为对照组的 1.29%、33.33%、1.58%;海胆性腺组织饥饿后 MYP 表达量呈稳步升高趋势,饥饿 5、10、15 d 后其性腺组织中 MYP 表达量分别为对照组的 2.93、4.07、6.80 倍;随着饥饿时间的延长,性腺中 MYP 基因表达量的增长速率明显减慢,饥饿前 5d 的增长率为 192.82%,饥饿 6—10 d 和饥饿 11—15 d 的增长率分别为 38.98% 和

67.01%; 饥饿后海胆肠中 MYP 表达量持续下降降低, 饥饿 5、10、15 d 分别为对照组的 67.60%、50.87%、33.33%; 饥饿后海胆胃中 MYP 表达量有所上升, 分别为对照组的 25.81、23.43、106.52 倍(图 2)。

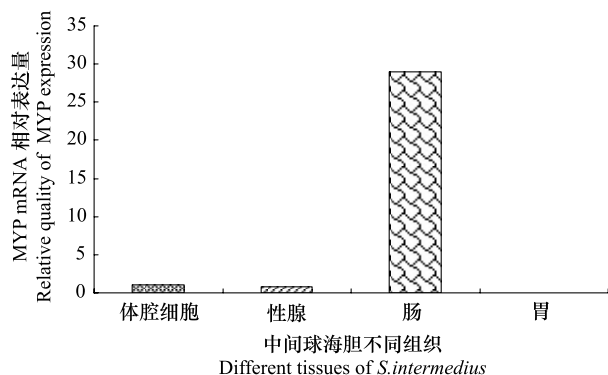


图 1 中间球海胆正常状态下各组织中 MYP 基因的相对表达量 (以 18S rRNA 为参照)

Fig. 1 Relative quantity of MYP gene expressions in the different tissues of *S. intermedius* under normal condition (standardized to 18S rRNA)

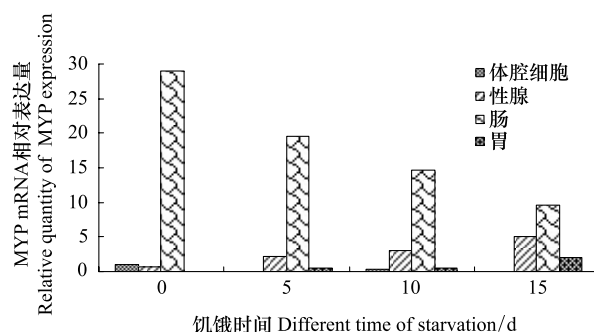


图 2 不同饥饿时期中间球海胆各组织中 MYP 基因的相对表达量 (以 18S rRNA 为参照)

Fig. 2 Relative quantity of MYP gene expressions in the four tissues of *S. intermedius* with different time of starvation (standardized to 18S rRNA)

综合来看, 饥饿过程中中间球海胆 MYP 基因主要在肠和性腺中表达。与对照组相比, 随着饥饿时间的延长, 肠组织中 MYP 基因表达量下降, 但依然是 MYP 的主要合成部位; 而性腺组织中该基因的表达量稳步增加, 体腔细胞和胃组织中该基因表达量有限, 饥饿过程中的变化对 MYP 的整体表达量影响较小(图 3)。

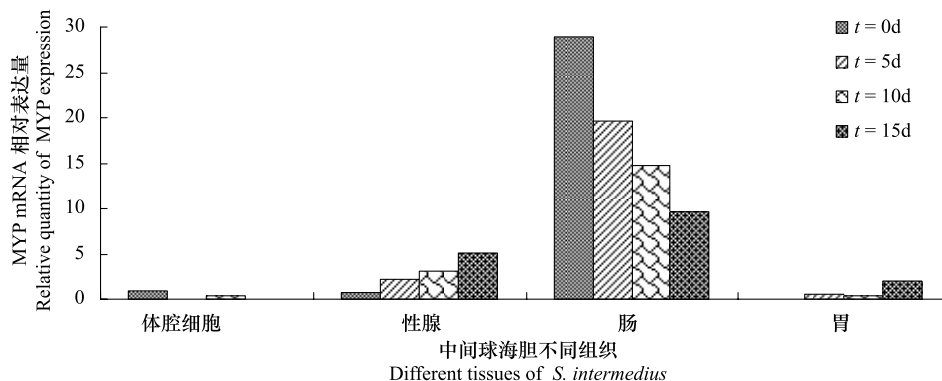


图 3 中间球海胆各组织在不同饥饿时期的 MYP 基因相对表达量

Fig. 3 Expressions of MYP mRNA in the four tissues at different times of starvation in *S. intermedius*

3 讨论

3.1 正常状态下中间球海胆各组织中 MYP 基因的表达

海胆的主要卵黄蛋白(MYP)大量存在于海胆卵中^[10-13]。与其他卵生动物仅雌性拥有卵黄蛋白原或卵黄蛋白不同, 海胆的卵巢和精巢都含有 MYP, 且二者 MYP 表达量不存在显著差异^[14-16]。根据其存在和合成时期的差异, MYP 可分为 CFMYP (存在于体腔液中) 和 EGMYP (存于卵中, 母源性), 二者均由同一基因编码^[17]。经比对发现, 海胆 MYP 的 cDNA 序列, 与其他物种的卵黄蛋白原序列并不具有同源性, 而与一些铁传递家族蛋白具有较高同源性, 因此有研究认为 MYP 是一种铁输送蛋白, 与海胆生殖细胞的形成密切相关。近期 Unuma 等在对 *Pseudocentrotus depressus* 的原位杂交试验中得出: CFMYP 在海胆幼体的发育时期可能也具有相同的锌离子传递功能^[17-21]。

Shyu 等和 Unuma 等研究表明, 海胆 (*S. purpuratus* 和 *P. depressus*) 主要由消化道和性腺合成

MYP^[14,18],在消化道中合成的 MYP 需经体腔液运送到卵巢,被卵母(精母)细胞以内吞作用吸收、并且包装储存在卵黄小体中^[14,19]。而对于中间球海胆 MYP 的研究,仅周遵春等报道了中间球海胆及杂交海胆(中间球海胆♀×光棘球海胆♂)不同发育时期性腺组织中 MYP 基因的表达^[24]。关于 MYP 在中间球海胆其他部位及特殊生理状况下的表达研究仍属空白。

本研究通过 Real-time RT-PCR 技术,在中间球海胆体腔细胞、性腺、肠、胃这四大组织中均发现了 MYP 基因的表达,可见中间球海胆 MYP 基因的表达不仅局限于消化道和性腺,体腔细胞中也会表达,这一研究结果与 Unuma 等在海胆(*P. depressus*)中的研究结果相似^[17]。MYP 基因在肠中的表达量远远高于其他 3 个组织,说明肠是海胆合成 MYP 的主要场所,这也是与海胆的结构特点相适应的。海胆没有任何大型的消化腺,因此肠必然是食物的消化、吸收及大量体成分合成的主要场所,这与 Unuma 的研究结果相似^[27]。本研究中 MYP 的表达量在体腔细胞和性腺中均较少且二者表达量接近。而 Unuma 研究发现 2 龄海胆(*P. depressus*)配子发生期性腺中 MYP 的表达量明显高于体腔细胞,该研究与本研究结果不同。有报道表明海胆 MYP 具有两种功能,一是做为卵黄蛋白的前体,二是具有转铁蛋白的功能,研究认为体腔液中的 MYP 起到将铁转运至性腺以促进雌雄配子的形成的作用^[14,16]。因此体腔液中的 MYP 可能与海胆的年龄、生活环境、生理状况等密切相关,由于本研究所涉及的海胆种类、年龄、生理状态等与 Unuma 的研究不尽相同,因此其表达量会有所不同,具体原因尚需进一步研究。

3.2 饥饿对中间球海胆各组织中 MYP 基因表达的影响

由本实验结果可知,中间球海胆肠中 MYP 基因的表达量在其饥饿过程中逐渐下降,饥饿 5、10 d 和 15 d 时其表达量为对照组的 67.60%、50.87%、33.33%。体腔细胞中 MYP 表达量迅速下降并维持在较低水平,胃中 MYP 的表达量明显升高,而性腺中 MYP 的表达量呈稳步上升趋势。由图 1 可知,肠是中间球海胆 MYP 基因的主要表达场所,饥饿胁迫下,肠合成 MYP 将减少,因此性腺发育势必会受到影响,这与李霞等的研究结果相似^[9]。但饥饿时,消化道中并未由于没有食物而停止 MYP 基因的转录表达,这与海胆抗饥饿能力强相呼应。Lares^[28]提出饥饿早期,海胆(*Lytechinus variegates*)肠上皮结构首先受到影响,肠上皮高度降低。李霞^[8]等研究结果表明,中间球海胆饥饿 1—4 d 以停食之前食物储藏为能量来源,饥饿 5—9 d 开始消耗肠上皮中的蛋白。本研究推测饥饿 5—15 d 时,海胆可能通过消耗肠上皮提供能量,用以保证正常的生命活动以及 MYP 的合成,但其合成受到饥饿的影响而降低。

各组织相比,海胆体腔细胞在饥饿后 MYP 基因表达量变化最明显,其表达量在饥饿 5 d 时便迅速下降,随着饥饿时间的延长一直维持在非常低的水平。一方面,饥饿导致营养不足,因此体腔细胞中合成 MYP 的能量和物质来源受限,因此 MYP 基因表达量降低。另一方面,海胆的体腔液承担着营养输送、协助排泄、免疫等功能^[29]。推测饥饿后海胆体腔液中营养输送活动减少,而海胆体腔液主要进行生理功能的调整,因此 MYP 基因的转录表达能力暂时下降。

中间球海胆性腺中 MYP 基因的表达量随着饥饿时间的延长逐步升高,实验结束时达到对照组的 6.80 倍,并没有因为饥饿的影响而显著下降。但增长的速率明显减慢,饥饿前 5 d 的增长率为 192.82%,饥饿 6—10 d 及 11—15 d 的增长率分别为 38.98% 和 67.01%,明显低于前 5 d 的增长率。有研究表明,饥饿对生殖细胞数量的影响与饥饿开始时生殖细胞的发育程度有关^[28]。性腺中 MYP 主要由营养吞噬细胞合成^[19],本实验开始时,雌雄海胆性腺均已处于生长期,即已经积累了大量的营养吞噬细胞,此时合成 MYP 所需能量及物质主要来源于营养吞噬细胞的积累,因此饥饿 5—15 d 性腺中的 MYP 基因表达量未受影响且继续升高。李霞等曾报道中间球海胆短期饥饿过程中,性腺的发育不受影响,但是较长时间饥饿会影响卵(精)母细胞的生长,致使性腺的发育减缓或停滞^[9]。本实验结果呈现出性腺中 MYP 基因表达量逐步升高,但升高速率逐步减慢的规律,与此观点保持一致。

References:

- [1] Cui Y B, Wang S M, Chen S L. Rates of metabolism and nitrogen excretion in starving grass carp in relation to body weight. *Acta Hydrobiologica*

- Sinica, 1993, 17(4): 375-376.
- [2] Zhang B, Xie X J. Starvation metabolism in the southern catfish (*Silurus meridionalis*). *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2000, 31(5): 480-483.
- [3] Jiang Z Q, Jia Z M, Han Y B. The compensatory growth and its mechanism of red drum, *Sciaenops ocellatus*, after food deprivation. *Journal of Fisheries of China*, 2002, 26(1): 67-72.
- [4] Carefoot T H, Qian P Y, Taylor B E. Effect of starvation on energy reserves and metabolism in the Northern abalone, *Haliotis kamtschatrana*. *Aquaculture*, 1993, 118: 315-325.
- [5] He J X, Zhou X R, Tang J Q, Huang C. Compensatory growth and physiological index change of *Procambarus clarkii* after multi-periodic starvation. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2009, 37(34): 16890-16893.
- [6] Lin X T, Zhang Q M, Xu Z N, Ji X L. Advancement of the study on respiratory metabolism of decapod crustaceans. *Journal of Fisheries of China*, 2000, 24(6): 575-279.
- [7] Wen X B, Chen L Q, Ai C X, Zhou Z L, Jiang H B. Study on starvation metabolism in juvenile Chinese mitten-handed crab (*Eriocheir sinensis*). *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 2001, 7(5): 443-446.
- [8] Li X, Qin Y J, Li Y Y. Metabolism of sea urchin *Strongylocentrotus intermedius* during starvation. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2004, 11(4): 302-306.
- [9] Li X, Qin Y J, Xin L. Effects of starvation and refeeding on gonadal development in sea urchin (*Strongylocentrotus intermedius*). *Journal of Dalian Fisheries University*, 2007, 22(1): 6-10.
- [10] Harrington F E, Easton D P. A putative precursor to the major yolk protein of the sea urchin. *Developmental Biology*, 1982, 94(2): 505-508.
- [11] Kari B E, Rottmann W L. Analysis of changes in a yolk glycoprotein complex in the developing sea urchin embryo. *Developmental Biology*, 1985, 108(1): 18-25.
- [12] Yokota Y, Kato K H. Degradation of yolk proteins in sea urchin eggs and embryos. *Cell Differentiation*, 1988, 23(3): 191-199.
- [13] Scott L B, Lennarz W J. Structure of a major yolk glycoprotein and its processing pathway by limited proteolysis are conserved in echinoids. *Developmental Biology*, 1989, 132(1): 91-102.
- [14] Shyu A B, Raff R A, Blumenthal T. Expression of the vitellogenin gene in female and male sea urchin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1986, 83(11): 3865-3869.
- [15] Unuma T, Suzuki T, Kurokawa T, Yamamoto T, Akiyama T. A protein identical to the yolk protein is stored in the testis in male red sea urchin, *Pseudocentrotus depressus*. *Biological Bulletin*, 1998, 194(1): 92-97.
- [16] Brooks J M, Wessel G M. Selective transport and packaging of the major yolk protein in the sea urchin. *Developmental Biology*, 2003, 261(2): 353-370.
- [17] Unuma T, Ikeda K, Yamano K, Moriyama A, Ohta H. Zinc-binding property of the major yolk protein in the sea urchin-implications of its role as a zinc transporter for gametogenesis. *The FEBS Journal*, 2007, 274: 4985-4998.
- [18] Unuma T, Okamoto H, Konishi K, Ohta H, Mori K. Cloning of cDNA encoding vitellogenin and its expression in red urchin, *Pseudocentrotus depressus*. *Zoological Science*, 2001, 18(4): 559-565.
- [19] Shyu A B, Blumenthal T, Raff R A. A single gene encoding vitellogenin in the sea urchin *Strongylocentrotus purpuratus*; sequence at the 5' end. *Nucleic Acids Research*, 1987, 15(24): 10405-10417.
- [20] Yokota Y, Unuma T, Moriyama A, Yamano K. Cleavage site of a major yolk protein (MYP) determined by cDNA isolation and amino acid sequencing in sea urchin, *Hemicentrotus pulcherrimus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 2003, 135(1): 71-81.
- [21] Brooks J M, Wessel G M. The major yolk protein in sea urchins is a transferrin-like, iron binding protein. *Developmental Biology*, 2002, 245(1): 1-12.
- [22] Bustin S A. Absolute quantification of mRNA using real-time reverse transcription polymerase chain reaction assays. *Journal of Molecular Endocrinology*, 2000, 25(2): 169-193.
- [23] Minokawa T, Rast J P, Arenas-Mena C, Franco C B, Davidson E H. Expression patterns of four different regulatory genes that function during sea urchin development. *Gene Expression Patterns*, 2004, 4(4): 449-456.
- [24] Zhou Z C, Bao Z M, Dong Y, Wang L M, He C B, Liu W D. MYP gene expressions at transcription level in different stages of gonad of sea urchin *Strongylocentrotus intermedius* and hybrids. *Hereditas*, 2008, 30(11): 1453-1458.
- [25] Hamdouna A M, Cherr G N, Roepke T A, Epel D. Activation of multidrug efflux transporter activity at fertilization in sea urchin embryos (*Strongylocentrotus purpuratus*). *Developmental Biology*, 2004, 276(2): 452-462.
- [26] Walker C W. Nutrition of gametes//Jangoux M, Lawrence J M, eds. *Echinoderm Nutrition*. Rotterdam: Balkema, 1982: 449-468.

- [27] Unuma T, Nakamura A, Yamano K, Yokota Y. The sea urchin major yolk protein is synthesized mainly in the gut inner epithelium and the gonadal nutritive phagocytes before and during gametogenesis. *Molecular Reproduction and Development*, 2010, 77(1): 59-68.
- [28] Lares M T, Pomory C M. Use of body components during starvation in *Lytechinus variegates* (lamarck) (Echinodermata; Echinoidea). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 1998, 225(1): 99-106.
- [29] Ding J, Chang Y Q, Wang C H, Li H F, Yu Y N, Cao X B. Coelomocyte types and enzyme activities of coelomic fluid in sea urchins. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2006, 13(1): 33-38.

参考文献:

- [1] 崔奕波, 王少梅, 陈少莲. 饥饿状态下草鱼的代谢率和氮排泄率及其与体重的关系. *水生生物学报*, 1993, 17(4): 375-376.
- [2] 张波, 谢小军. 南方鲇的饥饿代谢研究. *海洋与湖沼*, 2000, 31(5): 480-484.
- [3] 姜志强, 贾泽梅, 韩延波. 美国红鱼继饥饿后的补偿生长及其机制. *水产学报*, 2002, 26(1): 67-72.
- [5] 何金星, 周雪瑞, 唐建清, 黄成. 多重周期饥饿后克氏原螯虾的补偿生长及生理指标变化. *安徽农业科学*, 2009, 37(34): 16890-16893.
- [6] 林小涛, 张秋明, 许忠能, 计新丽. 虾蟹类呼吸代谢研究进展. *水产学报*, 2000, 24(6): 575-580.
- [7] 温小波, 陈立侨, 艾春香, 周忠良, 江洪波. 中华绒螯蟹幼蟹饥饿代谢研究. *应用与环境生物学报*, 2001, 7(5): 443-446.
- [8] 李霞, 秦艳杰, 李颖逾. 中间球海胆饥饿代谢研究. *中国水产科学*, 2004, 11(4): 302-306.
- [9] 李霞, 秦艳杰, 辛丽. 饥饿和再投喂对中间球海胆性腺发育的影响. *大连水产学院学报*, 2007, 22(1): 6-10.
- [24] 周遵春, 包振民, 董颖, 王丽梅, 赫崇波, 刘卫东. MYP 基因在中间球海胆及杂交海胆生殖腺不同发育时期的转录表达差异. *遗传*, 2008, 30(11): 1453-1458.
- [29] 丁君, 常亚青, 王长海, 李海芳, 于亚男, 曹学彬. 不同种海胆体腔细胞类型及体液中的酶活力. *中国水产科学*, 2006, 13(1): 33-38.

ACTA ECOLOGICA SINICA Vol. 32, No. 6 March, 2012 (Semimonthly)

CONTENTS

Quantitatively monitoring undergoing degradation of plateau grassland by remote sensing data; a case study in Maqu County, Gansu Province, China	ZHOU Jianhua, WEI Huaidong, CHEN Fang, et al (1663)
Using periphyton assemblages to assess stream conditions of Taizi River Basin, China	YIN Xuwang, QU Xiaodong, LI Qingnan, et al (1677)
Water-holding capacity of an evergreen broadleaf forest in Ailao Mountain and its functions in mitigating the effects of Southwest China drought	QI Jinhua, ZHANG Yongjiang, ZHANG Yiping, et al (1692)
The relationship between protistan community and water quality along the coast of Qingdao	YANG Jinpeng, JIANG Yong, HU Xiaozhong (1703)
Simulation of effects of warming on carbon budget in alpine meadow ecosystem on the Tibetan Plateau	QI Weiwei, NIU Haishan, WANG Shiping, et al (1713)
Features of leaf photosynthesis and leaf nutrient traits in reservoir riparian region of Three Gorges Reservoir, China	JIE Shenglin, FAN Dayong, XIE Zongqiang, et al (1723)
Spatio-temporal distribution of fish in the Pengxi River arm of the Three Gorges reservoir	REN Yuqin, CHEN Daqing, LIU Shaoping, et al (1734)
Analysis on allelochemicals in the cell-free Filtrates of <i>Amphidinium carterae</i>	JI Xiaoqing, HAN Xiaotian, YANG Baijuan, et al (1745)
Effect of starvation on expression patterns of the MYP gene in <i>Strongylocentrotus intermedius</i>	QIN Yanjie, SUN Bolin, LI Xia, et al (1755)
Habitat selection of feral yak in winter and spring in the Helan Mountains, China	ZHAO Chongnan, SU Yun, LIU Zhensheng, et al (1762)
Using cellular automata to study patchy spread in a predator-prey system	YANG Li, LI Weide (1773)
Effects of insect-resistant transgenic <i>Bt</i> rice with a fused <i>Cry1Ab+Cry1Ac</i> gene on population dynamics of the stem borers, <i>Chilo suppressalis</i> and <i>Sesamia inferens</i> , occurring in paddyfield	LI Zhiyi, SUI He, XU Yanbo, et al (1783)
Effect of spectral sensitivity and intensity response on the phototaxis of <i>Frankliniella Occidentalis</i> (Pergande)	FAN Fan, REN Hongmin, LU Lihua, et al (1790)
The synergistic action and UV protection of optical brightener on three different geographic isolates of Asian Gypsy Moth Nucleopolyhedrovirus (LdMNPV)	WANG Shujuan, DUAN Liqing, LI Haiping, et al (1796)
The availability of trace elements in an oasis soil under different utilization intensity in an arid area in China	LI Haifeng, ZENG Fanjiang, GUI Dongwei, et al (1803)
Multivariate regression analysis of greenhouse gas emissions associated with activities and populations of soil microbes in a double-rice paddy soil	QIN Xiaobo, LI Yu'e, SHI Shengwei, et al (1811)
Distribution characteristics of humus fraction in soil profile for the typical regions in the Loess Plateau	DANG Ya'ai, LI Shiqing, WANG Guodong (1820)
N ₂ O emissions from vegetable farmland with purple soil and the main factors influencing these emissions	YU Yajun, WANG Xiaoguo, ZHU Bo (1830)
Relationships between carbon source utilization of soil microbial communities and environmental factors in natural secondary forest in subtropical area, China	WANG Yun, OUYANG Zhiyun, ZHENG Hua, et al (1839)
Numerical soil classification using fuzzy K-means algorithm and predictive soil mapping at regional scale	LIU Pengfei, SONG Xuan, LIU Xiaobing, et al (1846)
Releasing characteristics of nonpoint source pollutants from straws under submerging condition	YANG Zhimin, CHEN Yucheng, ZHANG Yun, et al (1854)
Effects of delayed irrigation at jointing stage on nitrogen accumulation and its allocation, and NO ₃ -N migration in wheat	WANG Hongguang, YU Zhenwen, ZHANG Yongli, et al (1861)
Risk division on winter wheat suffering from spring wet damages in Jiangsu Province	WU Hongyan, GAO Ping, XU Weigen, et al (1871)
Determination of the initial depth of water uptake by roots of steppe plants in restored and overgrazed communities, Inner Mongolia, China	GUO Yuran, WANG Wei, LIANG Cunzhu, et al (1880)
Fine root architecture and morphology among different branch orders of six subtropical tree species	XIONG Decheng, HUANG Jinxue, YANG Zhijie, et al (1888)
Numerical analysis of inter-specific relationships in Alpine steppe community in Bayanbulak	FANG Fei, HU Yukun, ZHANG Wei, et al (1898)
Analysis of shade-tolerance and determination of evaluation indicators of shade-tolerance in seedlings of <i>Chrysanthemum grandiflorum</i> and its closely related genera	SUN Yan, GAO Haishun, GUAN Zhiyong, et al (1908)
Effect of the parasitic <i>Cuscuta australis</i> on the community diversity and the growth of <i>Alternanthera philoxeroides</i>	WANG Rukui, GUAN Ming, LI Yonghui, et al (1917)
Diversity and community structure of basidiomycete laccase gene from subtropical broad-leaved and coniferous forest ecosystems based on cDNA cloning	CHEN Xiangbi, SU Yirong, HE Xunyang, et al (1924)
Fine root longevity and controlling factors in subtropical <i>Alingia grilipes</i> and <i>Castanopsis carlesii</i> forests	HUANG Jinxue, LING Hua, YANG Zhijie, et al (1932)
Linear programming and optimal distribution of the forest resources based on TM remote sensing images	DONG Bin, CHEN Liping, WANG Ping, et al (1943)
Urban green space landscape patterns and thermal environment investigations based on computational fluid dynamics	LIU Yanhong, GUO Jinping, WEI Qingshun (1951)
Review and Monograph	
Review of the ecological compensation efficiency	ZHAO Xueyan (1960)
Scientific Note	
The effects of petroleum exploitation on water quality bio-assessment and benthic macro-invertebrate communities in the Yellow River Delta wetland, Dongying	CHEN Kai, XIAO Nengwen, WANG Beixin, et al (1970)

《生态学报》2012 年征订启事

《生态学报》是中国生态学学会主办的自然科学高级学术期刊,创刊于 1981 年。主要报道生态学研究原始创新性科研成果,特别欢迎能反映现代生态学发展方向的优秀综述性文章;研究简报;生态学新理论、新方法、新技术介绍;新书评介和学术、科研动态及开放实验室介绍等。

《生态学报》为半月刊,大 16 开本,280 页,国内定价 70 元/册,全年定价 1680 元。

国内邮发代号:82-7 国外邮发代号:M670 标准刊号:ISSN 1000-0933 CN 11-2031/Q

全国各地邮局均可订阅,也可直接与编辑部联系购买。欢迎广大科技工作者、科研单位、高等院校、图书馆等订阅。

通讯地址:100085 北京海淀区双清路 18 号 电 话:(010)62941099; 62843362

E-mail: shengtaixuebao@rcees.ac.cn 网 址: www.ecologica.cn

编辑部主任 孔红梅 执行编辑 刘天星 段 靖

生 态 学 报

(SHENGTAI XUEBAO)

(半月刊 1981 年 3 月创刊)

第 32 卷 第 6 期 (2012 年 3 月)

ACTA ECOLOGICA SINICA

(Semimonthly, Started in 1981)

Vol. 32 No. 6 2012

编 辑	《生态学报》编辑部 地址:北京海淀区双清路 18 号 邮政编码:100085 电话:(010)62941099 www.ecologica.cn shengtaixuebao@rcees.ac.cn	Edited by	Editorial board of ACTA ECOLOGICA SINICA Add:18, Shuangqing Street, Haidian, Beijing 100085, China Tel:(010)62941099 www.ecologica.cn Shengtaixuebao@rcees.ac.cn
主 编	冯宗炜	Editor-in-chief	FENG Zong-Wei
主 管	中国科学技术协会	Supervised by	China Association for Science and Technology
主 办	中国生态学学会 中国科学院生态环境研究中心 地址:北京海淀区双清路 18 号 邮政编码:100085	Sponsored by	Ecological Society of China Research Center for Eco-environmental Sciences, CAS Add:18, Shuangqing Street, Haidian, Beijing 100085, China
出 版	科 学 出 版 社 地址:北京东黄城根北街 16 号 邮政编码:100071	Published by	Science Press Add:16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China
印 刷	北京北林印刷厂	Printed by	Beijing Bei Lin Printing House, Beijing 100083, China
发 行	科 学 出 版 社 地址:东黄城根北街 16 号 邮政编码:100717 电话:(010)64034563 E-mail:journal@cspg.net	Distributed by	Science Press Add:16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China Tel:(010)64034563 E-mail:journal@cspg.net
订 购	全国各地邮局	Domestic	All Local Post Offices in China
国外发行	中国国际图书贸易总公司 地址:北京 399 信箱 邮政编码:100044	Foreign	China International Book Trading Corporation Add:P. O. Box 399 Beijing 100044, China
广告经营 许 可 证	京海工商广字第 8013 号		



ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q

国内外公开发行

国内邮发代号 82-7

国外发行代号 M670

定价 70.00 元