

比較台灣產淡水渦蟲五個族羣 之酯酶和蘋果酸去氫酶之電泳分析

王金源* 吳慶祥** 呂光洋

摘 要

以電泳法將五股、內湖、淡水、外雙溪和烏來等五個渦蟲族羣之酯酶 (Esterase) 和蘋果酸去氫酶 (Malate Dehydrogenase) 分析, 結果顯示出, 這些渦蟲族羣在生化上已有多型性 (polymorphism) 之現象。在這五個族羣中, 同樣生活在靜止水域之五股、內湖和淡水等三區的個體為了適應相同的環境, 彼此在生化酵素上的差別就小; 而屬於流動水域之外雙溪和烏來族羣, 因為棲息環境中, 生態因子較不穩定, 所以彼此在生化酵素上之差別與另外三個族羣間的差別都很大。由此分析結果之證據也顯示出, 尚未命名之五股和內湖之渦蟲 (*Dugesia sp.*) 與臺灣其他地區的渦蟲, 極有可能都是屬於 *Dugesia japonica*。

緒 言

渦蟲是一種生物實驗常用的動物, 有關其在臺灣分布和其他研究的資料都相當的缺乏。川勝正治等 (1979) 曾對臺灣的渦蟲做一初步的調查。筆者曾參與此項調查工作。由目前的資料研判, 臺灣目前已知可能有二種淡水產渦蟲, 一為內湖及五股蘆洲沼澤區產的 *Dugesia sp.* (尚未鑑定出) 和 *Dugesia japonica*。而後者共有二個亞種 *D. japonica japonica* 和 *D. japonica ryukyuensis*。前一亞種分布於海拔較低的區域而後者則分布在較高海拔的山區。在收集渦蟲標本的過程中, 筆者發現到, 不同地區的個體, 在體型、大小和顏色上都有極大的差別, 很顯然的 *D. japonica*, 為了適應各個的氣候因子, 在外形上就有差異。

自然界中, 多型性 (polymorphism) 的現象, 已廣泛的分佈在各類生物的族羣中 (Lewontin & Hubby, 1960; Selander et. al. 1969), 因此很有可能的, 棲息在臺灣的渦蟲, 亦有多型性的現象。酯酶 (Esterase) 和蘋果酸去氫酶 (Malate Dehydrogenase), 在各類生物體都有存在, 而且很容易因棲息地區之不同, 而發生分化, 形成多型性, 因此筆者乃將渦蟲之酯酶和蘋果酸去氫酶以電泳法

(Electrophoresis) 來分析以探討臺灣之渦蟲族羣是否已有多型性之現象。同時也可以此分析結果來做為分類學上之輔助證據。

材料及方法

渦蟲材料分別採自臺北附近之烏來、內湖、外雙溪、淡水和五股蘆洲沼澤等五個族羣。

有關區別用之酶的電泳分離步驟, 係採用 Davis (1964) 的原理和方法。應用的膠體分別為電泳膠 (Running gel), 聚集膠 (Stacking gel) 和樣品膠 (Sample gel)。樣品的處理是將渦蟲個體 20—25 隻放入研磨管 (Tissue grinder), 以研磨器將渦蟲整隻磨碎, 所得的液體即為試驗樣品的來源。電泳時的緩衝液為磷酸鹽, 酸鹼度為 8.3。電泳過程中, 所用的電流強度為 40 mA, 時間則為 2.5 小時。電泳時以渦蟲的色素當做指示劑。

電泳完畢後, 將膠體以酯酶 (Esterase) 之染料染半小時, 此時膠體上有酯酶處即成為褐色。以蒸餾水將膠體洗清一次, 最後再以酯酶之固定液保存。至於蘋果酸去氫酶 (Malate Dehydrogenase) 之處理過程與酯酶相似。但膠體以蘋果酸去氫酶之染料染色。染色時的溫度為 40°C, 而時間則為 45 分鐘, 最後再以 MDH 的固定液來保存之。

*現任教於台北縣江翠國中。

**現任教於台北市福安國中。

結果和討論

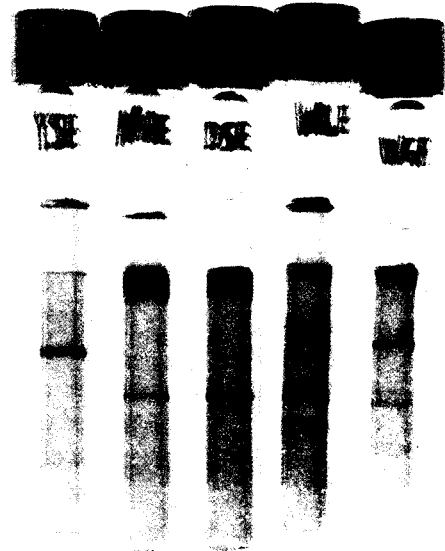
分析用之五個渦蟲族群的生態環境情況，如表 1。由表上所列的因子看來，這五個棲息環境在化學因子上的差別不大。D.O 為 9~7 ppm，而 pH 為 6.0—8.0。在物理因子方面，除海拔高度上有明顯的不同之外，烏來和外雙溪二個族群的棲息環境，是屬於流動水域的溪流，而內湖、五股和淡水等三個族群的生存環境，卻都是屬於靜止的水域之池塘或沼澤。

表 1 五個渦蟲族群之棲息環境特徵

地點	種	海拔 m	環境	酸鹼度	溶氧 PPM	體長 mm
烏來	<i>D. japonica</i>	200	流動	7.0-7.5	9	8-10
內湖	<i>Dugesia sp.</i>	40	靜止	7.0-7.5	8	7-9
外雙溪	<i>D. japonica</i>	40	流動	7.0-7.5	7	13-15
五股	<i>Dugesia sp.</i>	2	靜止	7.5-8.0	9	6-8
淡水	<i>D. japonica</i>	80	靜止	6.0-6.5	7	6-8

有關渦蟲生化上之電泳分析研究，在文獻上不易獲得，因此有關牠們酯酶之電泳基本形式尚不清楚。由圖 1 可以看出五個不同族之渦蟲，在酯酶之特質上 (quality) 已有明顯之差別。同樣的，圖 2 和圖 3，亦都顯示出相似結果出來。由圖 2 來研判，渦蟲之酯酶在電泳膠上，最多可顯現出六條出來。外雙溪 (YSE) 渦蟲族群之酯酶帶最少；僅有二條 (II、III)。內湖 (NHE) 族群，(I、II、IV)，淡水 (DSE) 族群 (I、III、IV) 和五股 (WGE) 族群相似，都僅有三條。而烏來 (WLE) 族群的顯示最多，一共有六條 (I、II、III、IV、V、VI)。比較各組所具有之條紋形式，可以看出內湖、淡水和五股的族群非常的相似，而烏來和外雙溪二者相互間的差別和另外三者的差別都很大。由上面之分析結果看來，在臺灣之渦蟲，其不同的族群，在酯酶之構造上，已有明顯分化，而形成多型性 (polymorphism) 之現象。1968 年，Semeonoff 和 Robertson，就發現到在野鼠 (Fieeld vrie) 的血清中之酯酶，已有多型性的現象。

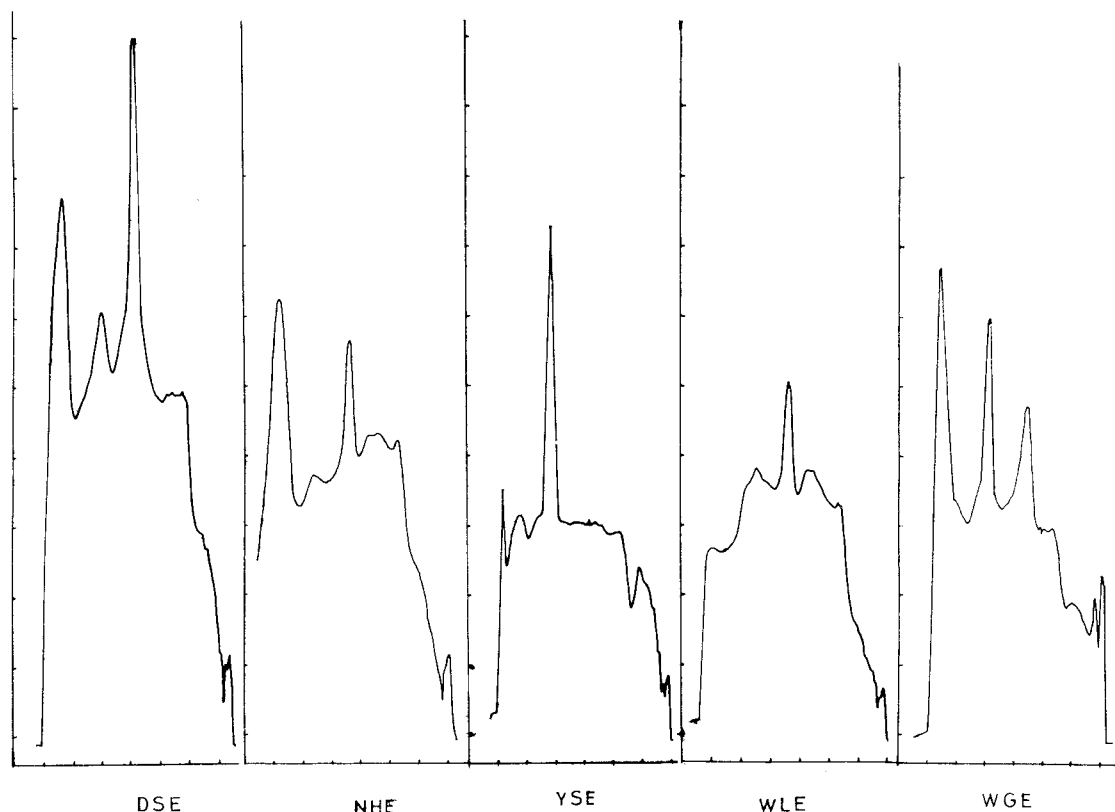
同樣的，從蘋果酸去氫酶 (MDH) 之電泳分



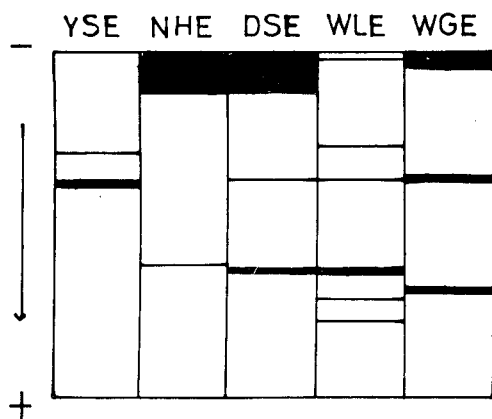
圖一：五個不同族群渦蟲酯酶 (Esterase) 之電泳分析圖，(YSE: 外雙溪, NHE: 內湖, DSE: 淡水, WLE: 烏來, WGE: 五股)

析圖 (圖 4.5)，也可以看出五個不同族群渦蟲之蘋果酸去氫酶，相互之間已有差異存在。圖 4，顯示出內湖 (NHM)，五股 (W.G.M.) 和淡水 (DSM) 族群之蘋果酸去氫酶，在電泳的過程中，速度較慢，且都偏集於負極；三者之電泳分析圖非常相似。烏來族群 (WLM) 蘋果酸去氫酶的分布較廣，從負極到正極都有；與內湖、五股和淡水族群之差異很大。至於外雙溪 (YSM) 族群之蘋果酸去氫酶的分布，亦都偏於負極，與烏來族群之負極端相似，但與其他三個族群有較明顯之差別。這項結果，也證明出，五個調查族群中之蘋果酸去氫酶，亦有分化之現象。

從上面酯酶和蘋果酸去氫酶之電泳分析，顯示出五個被分析族群之渦蟲在生物化學上，已有多型性之現象。在這些渦蟲中，五股、淡水和內湖等三個族群之相似性高，而烏來和外雙溪的族群與其他三者之差別較大。從生態學之眼光來看，淡水、五股和內湖之渦蟲棲息環境相同；都是屬於靜止的水域。這些渦蟲為了適應相同的棲息環境，所以在演



圖二：五個不同族群渦蟲酯酶 (Esterase) 之電泳分析掃描圖
 (YSE: 外雙溪, NHE: 內湖, DSE: 淡水 WLE: 烏來, WGH: 五股)

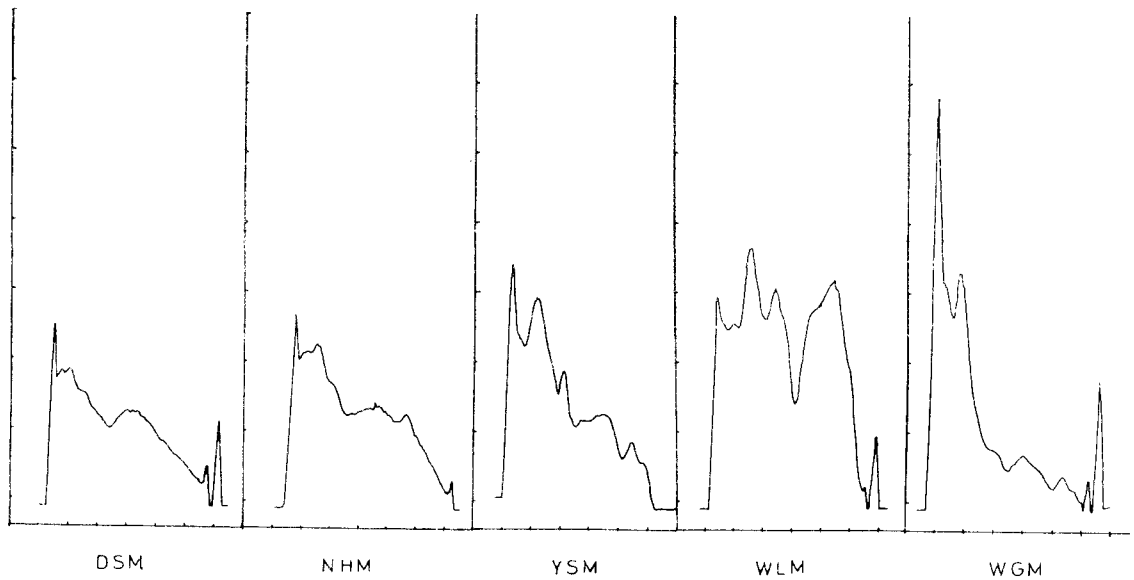


圖三：五個不同族群渦蟲酯酶 (Esterase) 電泳分析之手畫圖 (YSE: 外雙溪, NHE: 內湖, DSE: 淡水, WLE: 烏來, WGE: 五股)

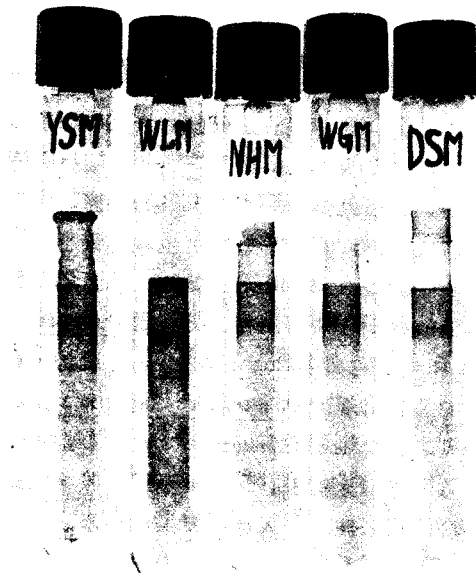
化過程中，就演化出相似的酵素系統出來；相互間之酯酶和蘋果酸去氫酶的差別就較少。反觀，外雙溪和烏來的族群，都是棲息在流動的水域中。在流動的水域中，生態因子較不穩定，而且各棲息環境間的區別也大，這就影響到水中渦蟲的適應，所以在酵素系統上，族群間的相似程度也就比較小。

由川勝正治等 (1979) 的報告，已瞭解到目前臺灣渦蟲的種類，共有兩種，分別為 *Dugesia japonica* 和未經定名之 *Dugesia sp.*。外雙溪、烏來和淡水的族群為屬於 *D. japonica japonica*，而五股和內湖之族群則屬於 *Dugesia sp.*。從酯酶和蘋果酸去氫酶的電泳結果，既然顯示出五股、內湖和淡水族群的相似性，要大於外雙溪和烏來之族群，而淡水與外雙溪和烏來之族群又屬同種 *D. japonica*，因此很有可能，五股和內湖之渦蟲也是屬於 *D. japonica*，而只是屬於不同的族群而已。

結 論



圖五：五個不同族群渦蟲蘋果酸去氫酶（MDH）電泳分析之掃描圖
（YSM：外雙溪，NHM：內湖，DSM：淡水，WLM：烏來，WGM：五股）



圖四：五個不同族群，渦蟲蘋果酸去氫酶（MDH）之電泳分析圖（YSM：外雙溪，NHM：內湖，DSM：淡水，WLM：烏來，WGM：五股）

從Esterase（酯酶）和MDH（蘋果酸去氫酶）之電泳分析結果，顯示出臺灣現存之渦蟲在酵素系統上，已有多型性（polymorphism）之現象。而此酵素上的證據，使我們瞭解到，台灣現存的渦蟲可能還是僅有Dugesia japonica一種而已。

參考文獻

1. 川勝正治，沖岩四郎，田村幸子，山吉孝雄，呂光洋、萩谷盛雄，1979，臺灣產淡水棲三岐腸類的繞報。藤女子短期大學紀要，17（2）：59 - 91。（英文、中文摘要）。
2. Davis, B.J 1964. Disc electrophoresis I. Method and application to human serum protein. Ann. N.Y. Acad Sci. 121: 404 ~ 407.
3. Lewontin., R.C. & J.L. Hubby, 1966. A molecular approach to the Study of genic heterozygosity in natural populations II. Amount of variation and degree of heterozygosity in natural populations of *Drosophila pseudoobscura*. Genetics 54:

- 595-609.
4. Selander, R.K., S.Y. Yang, and W.G. Hunt. 1969. Poly-morphism in esterase and hemoglobins in wild populations of the house mouse (*Mus musculus*) Univ. Tex. Publ. 6918: 271-338.
5. Semeonoff, R. & F.W. Robertson, 1968. A biochemical and ecological study of plasma esterase polymorphism natural population of field vole *Biochem. Genetics* 1: 205-227.

Comparative analysis of Esterase and Malate Dehydrogenase among five populations of freshwater Planarians in Taiwan.

King-Yen Wang, Ching-Shine, Wu, Kuang-Yang Lue

Abstract

Five populations of planarians from Wu-ku (五股 WG), Tanshui (淡水 DS), Nei-hoo (內湖 NH), Wu-lai (烏來 WL) and Y-shunshi (外雙溪 YS) were studied by electrophoretic methods. Two enzymes, Esterase and MDH (Malate Dehydrogenase) were analyzed. Results showed that they were polymorphic both in Esterase and MDH. Electrophoretic differences were distinct among these five populations, and they could be separated into two groups, i. e., WG, DS and NH populations in one group and WL, YS in the other. The differences within WG, DS and NH populations were less than the differences between YS and WL ones. The cause of differences were closely related to their ecological habitats. All WG, DS and NH populations were collected from ponds, while YS and WL were from streams. The finding from this research gives some supporting clues about the classification of planarians in Taiwan. The unidentified species (*Dugesia* sp.) of WG and NH populations may be belonged to the same species, *Dugesia japonica* as other populations.