

企鹅珍珠贝不同组织同工酶表达的差异

余祥勇, 王梅芳, 梁飞龙, 刘永

(湛江海洋大学珍珠研究室, 广东湛江524025)

摘要:采用垂直板聚丙烯酰胺梯度凝胶电泳对企鹅珍珠贝 [*Pteria penguin* (Röding)] 的消化盲囊、鳃、外套膜、足部肌肉和闭壳肌肌肉5种组织中的过氧化物歧化酶(SOD)、酯酶(EST)、苹果酸脱氢酶(MDH)、苹果酸酶(ME)、乳酸脱氢酶(LDH)和葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(G6PDH)同工酶的表达变化进行比较研究。结果表明, 企鹅珍珠贝组织内的这6种同工酶存在不同程度的组织特异性, 其位点的表达与否和酶活性的强弱方面都表现出明显的组织差异。企鹅珍珠贝的SOD、EST同工酶在消化盲囊中有较高活性, 而MDH、ME在闭壳肌中活性较高。研究中讨论了这些差异与组织生理功能的相关性。

关键词: 企鹅珍珠贝; 同工酶; 组织特异性; 基因位点

中图分类号: Q959.215 **文献标识码:** A **文章编号:** 1005-8737-(2005)02-0201-06

企鹅珍珠贝 [*Pteria penguin* (Röding)] 是一种经济价值极高的热带海产大型贝类, 壳长可达25 cm, 可培育高品质的大型附壳珍珠并有望培育出大型高档的正圆珠, 且具有较高的食用价值。该贝生长速度快, 生命力强, 珍珠质分泌旺盛, 养殖成本低, 是培育大型高品质珍珠的理想母贝^[1-2]。目前在海南及粤西南部海区企鹅珍珠贝养殖已逐渐兴起。

有关企鹅珍珠贝的研究报道相对较少, 且主要集中在育苗养成等方面^[3-5], 而其同工酶等生化遗传方面的研究尚未见报道。本研究拟通过分析企鹅珍珠贝的消化盲囊、鳃、足、后闭壳肌和外套膜等组织中6种同工酶表达上的不同表现, 了解其同工酶酶谱特征和生化遗传结构, 累积生化遗传学资料, 为深入了解企鹅珍珠贝遗传多样性及其养殖利用和育种提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料来源

实验用贝均来自湛江流沙港湛江海洋大学珍珠研究室基地, 为海南陵水野生母贝人工繁殖的子一代。活贝运回实验室后, 随机选取34只贝龄为1.5~2.0龄的成员, 体重120~200 g, 壳长9.0~11.9 cm。

1.2 样品制备

实验贝活体剖开, 取消化盲囊、鳃、足、后闭壳肌和外套膜等组织, 按组织与双蒸水体积比为1:3比例冰浴匀浆, 放置4℃下过夜后, 在4℃、12 000 r/min下离心15 min, 上清液置

-20℃保存备用。实验用样品均为同一批处理、制备而成。

1.3 电泳方法及染色

采用垂直板聚丙烯酰胺梯度凝胶电泳, 胶的制备及SOD、EST、MDH、LDH同工酶显色法均参考朱蓝菲^[6], ME、G6PDH的染色方法参考王中仁^[7], 略作修改。于4℃冰箱中进行预电泳后, 恒压200 V继续电泳12~14 h。为了使酶带既清晰, 又易于比较不同组织酶活性强度的差异, 通过预备实验, 对上样量进行调节, 使不同组织的上样量成倍性关系。其分离胶的梯度及样品的上样量见表1, 电泳缓冲液为TVB(三羟甲基氨基甲烷0.178 mol/L, 乙二胺四乙酸二钠4.968 mmol/L, 硼酸0.178 mol/L, pH 8.4)。酶谱分析参考黄原^[8]、王中仁^[7]。电泳图谱中不同组织消化盲囊、鳃、外套膜、足、闭壳肌分别以字母d、g、m、f、a表示, 其下标数字(1, 2, 3...)为个体编号, 如d₁, g₁, m₁, f₁, a₁代表个体1的消化盲囊、鳃、外套膜、足和后闭壳肌组织。

2 结果与分析

2.1 过氧化物歧化酶(SOD, EC 1.15.1.1)

企鹅珍珠贝不同组织的SOD电泳图谱见图1-A。

企鹅珍珠贝的SOD同工酶由3个位点控制, 其在组织中的表达有明显的特异性; 消化盲囊组织中记录到2个位点, 其中Sod-3的表达微弱, 而Sod-2的表达很强; 在鳃组织中未见Sod-3的表达; 外套膜组织中3个位点均有表达, 其中Sod-2、Sod-3的表达明显; 后闭壳肌、足组织中

收稿日期: 2003-06-29; 修订日期: 2004-08-24。

基金项目: 广东省科技计划项目(2K305504N)。

作者简介: 余祥勇(1966-), 男, 博士, 主要从事贝类遗传育种及养殖。E-mail: yuxiang@tom.com

表1 电泳检测条件

Tab.1 Conditions for electrophoresis in *Pteria penguin*

同工酶 Iszyme	EC	凝胶梯度/% Gel gradient	样品量/ μL Sampling volume			
			消化盲囊 Digestive diverticula	鳃 Gill	外套膜 Mantle	闭壳肌 Adductor
过氧化物歧化酶(SOD)	EC 1.15.1.1	4-30	10	20	20	30
酯酶(EST)	EC 3.1.1.-	4-30	10	25	50	50
苹果酸脱氢酶(MDH)	EC 1.1.1.37	4-30	30	30	30	15
苹果酸酶(ME)	EC 1.1.1.40	4-15	50	50	50	25
乳酸脱氢酶(LDH)	EC 1.1.1.27	4-15	50	50	60	50
葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(G6PDH)	EC 1.1.1.49	4-15	50	50	50	50

有 *Sod-1* 的微弱表达和 *Sod-2* 的明显表达。即在 5 种组织中均有 *Sod-2* 的表达,且活性强,3 条酶带活性强度表现为 1:2:1,为二聚体酶的杂合型酶谱,而 *Sod-1*、*Sod-3* 的表达与是否存在明显的组织差异,如 *Sod-3* 只在外套膜中有明显表达。

SOD 同工酶的活性在不同组织中也有明显差异,依据消化盲囊、鳃、外套膜、足部肌肉和闭壳肌组织点样量的体积比为 1:2:2:3:3(足的上样量为 30 μL),从谱带显色的深浅可判断出:消化盲囊中活性最高,鳃、外套膜组织中次之,足部肌肉、闭壳肌组织中较低。

2.2 酯酶(EST, EC 3.1.1.1)

不同组织的 EST 酶谱见图 1-B。

企鹅珍珠贝的酯酶酶谱较为复杂,各组织间 EST 酶谱表型存在差异,共检测出 11~14 条酶带,推测相关位点的保守数至少有 7 个,其中 *Est-5* 编码二聚体酶,其余 6 个位点均编码单体酶。各组织均以 *Est-4*、*Est-5* 位点编码的酶活性最强,该酶带为 EST 同工酶的主带。

闭壳肌、足组织中,检测出 6 个位点即 *Est-1*、*Est-2*、*Est-3*、*Est-4*、*Est-5*、*Est-6* 表达的酶。其中能明显检测到 *Est-1* 编码的 1 条纯合型酶带,迁移率在个体间无明显差异。*Est-2* 编码的酶由一对等位基因决定,表现为 1 或 2 条酶带,为单体酶的纯合或杂合型。*Est-3*、*Est-4* 也均为一对等位基因决定。*Est-5* 编码的二聚体酶只表现为 1 或 2 条酶带,并未出现 3 条 1:2:1 典型的杂合型酶谱特征,缺少另一纯合酶带,与其他组织如外套膜酶谱相比较,推测可能存在哑等位基因。*Est-6* 所表达的酶为 1~2 条酶带(纯合型或杂合型),不同个体其酶带迁移率有明显差异,有 3 个等位基因参与了表达。

外套膜组织中有 4 个位点 *Est-2*、*Est-3*、*Est-4*、*Est-5* 的明显表达,其中多数个体 *Est-5* 编码的酶显示出 3 条酶带,为二聚体酶的杂合型酶谱。

鳃组织中, *Est-1*、*Est-2*、*Est-3*、*Est-4*、*Est-5*、*Est-6*、*Est-7* 七个位点均能检测到,其中, *Est-2*、*Est-6* 位点的表达较弱, *Est-7* 有微弱表达, *Est-1*、*Est-3* 的表达较强,而 *Est-4*、*Est-5* 编码的酶活性最强。

Est-5 编码的二聚体酶只检测到 2 条纯合型酶带,缺少杂合型酶带,可能是两基因表达时间上的差异而失去两亚基同聚合的机会,或异聚体不稳定、活性低而未检测到。

在消化盲囊组织中除 *Est-6* 未检测到外,其他 6 个位点 *Est-1*、*Est-2*、*Est-3*、*Est-4*、*Est-5*、*Est-7* 均有表达,其中 *Est-4*、*Est-5* 有很强的表达活性, *Est-1*、*Est-2*、*Est-3* 表达较弱, *Est-7* 则只有微弱的表达。

由此可见,EST 同工酶在不同组织中的表达方式有明显的不同:*Est-1* 位点在外套膜中无明显表达, *Est-6* 位点只在闭壳肌、足中有较强的表达, *Est-7* 的表达仅在消化盲囊和鳃组织中能检测到,外套膜的 *Est-5* 位点的表达形式(3 条带)明显不同于其他组织(2 条带)。而 *Est-2*、*Est-3*、*Est-4*、*Est-5* 位点在所测组织中均有表达,其中 *Est-4*、*Est-5* 有很强的表达活性,但其活性强弱有明显组织差异,根据消化盲囊、鳃、外套膜、足(上样量为 50 μL)和闭壳肌组织的点样量的比例(1:2.5:5:5:5)及谱带显色的深浅可判断出:在消化盲囊中的活性最强,鳃组织次之,外套膜、足和闭壳肌中的活性较弱。即 EST 同工酶在组织中的差异主要表现在位点 *Est-1*、*Est-6*、*Est-7* 的表达与否及 *Est-4*、*Est-5* 表达的活性强弱上。

2.3 苹果酸脱氢酶(MDH, EC 1.1.1.37)

不同组织的 MDH 酶谱见图 1-C。

企鹅珍珠贝的 MDH 谱带分 2 个区,由 2 个位点各编码一种二聚体酶。在各组织中 *Mdh-1*、*Mdh-2* 表达为 1~3 条酶带,根据组织点样量比例(消化盲囊、鳃、外套膜、闭壳肌的点样体积比为 2:2:2:1)及酶带深浅可知,MDH 在活性上存在组织差异:闭壳肌中活性最强,消化盲囊组织次之,鳃、外套膜组织中较低;且 2 个位点的表达能力在不同组织中有明显差异:闭壳肌中 *Mdh-1* 较 *Mdh-2* 编码的酶活性强,而在外套膜组织中 *Mdh-2* 较 *Mdh-1* 编码的酶活性强,鳃组织中以 *Mdh-1* 为主,消化盲囊中 2 个位点编码的酶活性相当。

2.4 苹果酸酶(ME, EC 1.1.1.40)

闭壳肌、外套膜组织的 MDH 酶谱见图 2-D。

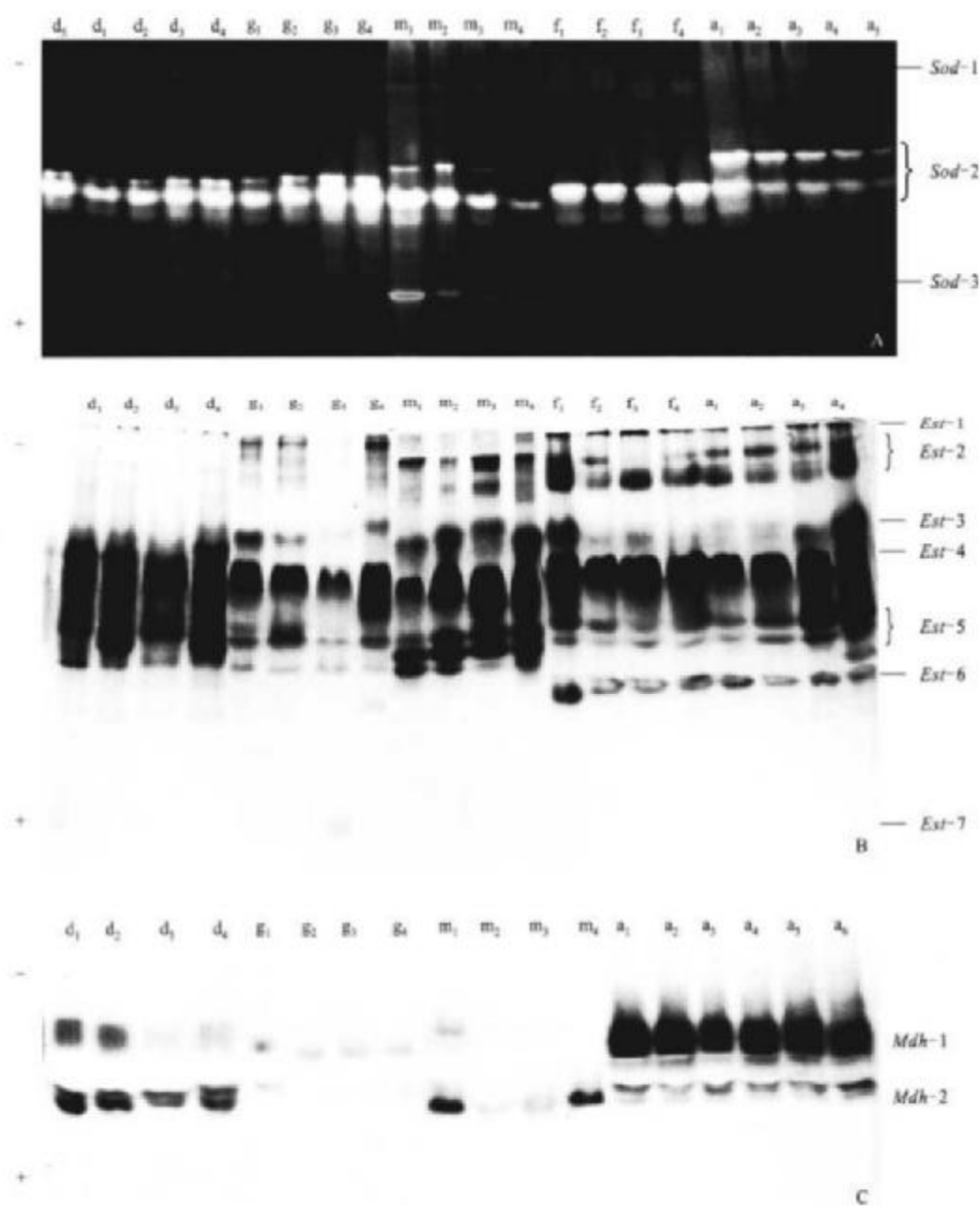


图1 企鹅珍珠贝不同组织同工酶酶谱

A: SOD 酶谱; B: EST 酶谱; C: MDH 酶谱

d-消化盲囊; g-鳃; m-外套膜; f-足; a-闭壳肌

Fig.1 Zymogram in different tissues of *Pteria penguin*

A: Zymogram of SOD; B: Zymogram of EST; C: Zymogram of MDH

d - digestive diverticula; g - gill; m - mantle; f - foot; a - adductor

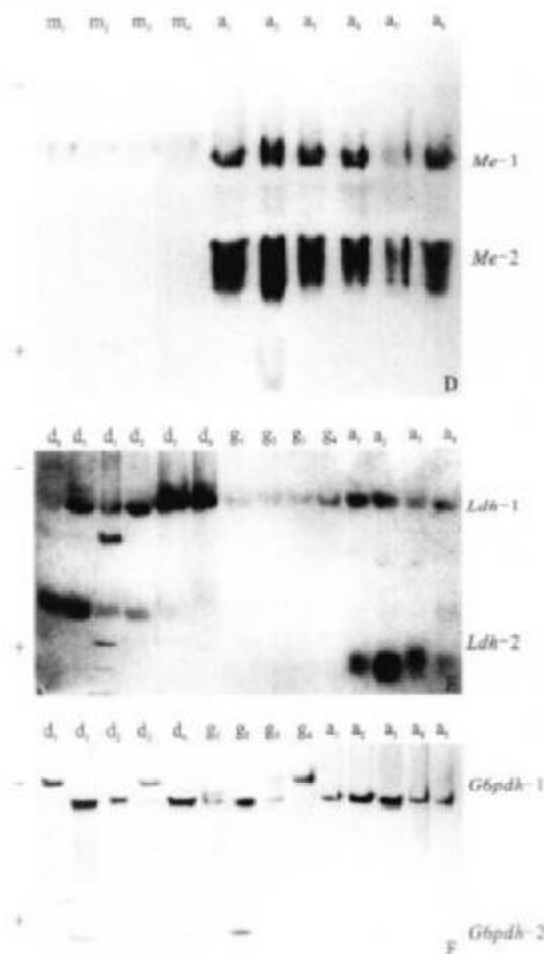


图2 企鹅珍珠贝不同组织同工酶酶谱

D: ME 酶谱; E: LDH 酶谱; F: G6PDH 酶谱

d-消化盲囊; g-鳃; m-外套膜; f-足; a-闭壳肌

Fig. 2 Zymogram in different tissues of *Pteria penguin*
D: Zymogram of ME; E: Zymogram of LDH; F: Zymogram of G6PDH
d - digestive diverticula; g - gill; m - mantle; f - foot; a - adductor

只在闭壳肌肌肉组织中检测到明显的 ME 同工酶酶带, 谱带分 2 个区, 由 2 个座位编码而成。Me-1、Me-2 编码的酶都呈现出迁移率不同的 1 条或多条酶带。

外套膜组织中只检测到 Me-1 的微弱表达。而在消化盲囊、鳃组织中未检测到酶带, 说明 ME 在这 2 种组织中活性极低或极易失活。由此可见, ME 同工酶在不同组织中的表达活性有明显的差异, 或不同组织 ME 同工酶的性质上有显著差异, 导致在相同的检测条件下不同组织有不同的表现。

2.5 乳酸脱氢酶(LDH, EC 1.1.1.27)

不同组织的 LDH 酶谱见图 2-E。

不同组织 LDH 的表达有很大差异: 在闭壳肌、消化盲囊中, Ldh-1、Ldh-2 均有表达, 多数个体两位点均表现为 1

条纯合型酶带; 鳃组织中只明显检测到 Ldh-1 的表达; 而外套膜组织中两位点的表达活性极低, 只能检测到非常微弱的酶带。依组织样品量比例(消化盲囊、鳃、闭壳肌、外套膜的点样体积比为 1:1:1:1.2)可判断出: 其活性在消化盲囊、闭壳肌组织中较强。

2.6 葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(G6PDH, EC 1.1.1.49)

不同组织的 G6PDH 酶谱见图 2-F。

不同组织的 G6PDH 同工酶的表达有差异: 消化盲囊、闭壳肌组织中两位点均有表达, 其中 G6pdh-2 表达活性均较弱, 为 1 条活性酶带或无, 有个体差异, 而 G6pdh-1 编码的酶, 活性强, 为 1 或 2 条活性带, 其不同个体、不同组织的酶带迁移率不同, 推测这些酶带至少有 3 个等位基因编码。在闭壳肌、消化盲囊组织中有较强的活性; 在外套膜组织中未检测到明显的酶带。依据 4 种组织的上样量体积比为 1:1:1:1, 可知其 G6PDH 活性在闭壳肌肌肉、消化盲囊中最高, 鳃中也有较强的表达, 而外套膜中活性极低, 未检测出酶带。

3 讨论

3.1 企鹅珍珠贝同工酶表达具有明显的组织特异性

6 种同工酶在企鹅珍珠贝不同组织中表达的座位数、异聚体形成的能力及活性的强弱都有差异, SOD 同工酶除外套膜组织表达了 3 个座位外, 其他组织只表达了 1 或 2 个座位; EST 在企鹅珍珠贝鳃中检测到 7 个座位, 闭壳肌、足、消化盲囊中有 6 个座位, 而外套膜中只有 4 个座位; Me-2 只在闭壳肌中有明显表达, 而 G6PDH 在外套膜中未检测到。Mdh-1、Mdh-2 位点虽然在 4 种组织中均有表达, 但其同工酶相对活性比有明显组织差异: 闭壳肌中 Mdh-1 较 Mdh-2 编码酶的活性强, 而在外套膜组织中恰好相反; Est-5 编码二聚体酶在异聚体形成能力方面存在明显组织差异: 在鳃和消化盲囊中未记录到杂合子的异聚体酶带。酶活性方面, SOD、EST 在消化盲囊中活性强, MDH、ME 在闭壳肌中活性最高, 而 LDH 和 G6PDH 在消化盲囊和闭壳肌两组织中活性相当。

从上述结果分析表明, 企鹅珍珠贝不同组织同工酶表达有明显的组织特异性, 其酶谱特征在不同组织中均有差异, 尤其是闭壳肌、外套膜中的 SOD、EST 和闭壳肌中 MDH 和 ME 的表达式样明显不同于其他组织。

企鹅珍珠贝同工酶组织特异性, 表现在几个方面:

(1) 位点的表达 某些位点的同工酶仅限于某种组织特有, 在其他组织中, 该同工酶不表达或活性太低而检测不出。如 Ssd-3 仅在外套膜组织中有明显的酶带, Est-6 在闭壳肌、足组织中有明显表达。这些组织特异性座位可能与其组织的某些特殊的代谢途径相关。

(2) 位点表达的程度即酶活性的强弱 一方面, 同一位点在不同组织中的相对含量或表达的数量差别很大, 如 Ssd-2、Est-4 等位点在消化盲囊中表达很强, Mdh-1、

Me-1等位点在闭壳肌肌肉组织中的相对含量较强,而这些位点在其他组织中表达较弱;另一方面,不同位点在不同组织中相对活性不同,如闭壳肌中 Mdh-1 较 Mdh-2 编码的酶活性强,而在外套膜组织中恰好相反,Mdh-2 活性高于 Mdh-1,即不同组织中有不同的酶活性表达模式,这种特异性也是胚胎发育期间组织分化的一种生理生化表现。

(3)等位基因表达上的差异 由于复等位基因的存在,不同的组织中会有不同的等位基因表达,结果同一位点上的酶谱表型在不同组织中有明显差异,如 Ldh-2 在消化盲囊和闭壳肌组织中的表达;或有时等位基因编码的亚基不一定完全表达或不能通过电泳鉴定其产物,即存在“哑等位基因”或“无效基因”,结果也导致不同组织中同一位点的酶谱表型出现差异,如 Est-5 位点,其表达形式是多样的,外套膜中检测到 3 条酶带,表现为杂合子二聚体酶的酶谱;闭壳肌组织中 2 条酶带,为二聚体酶的 1 条同聚体酶带和 1 条异聚体酶带,缺另一同聚体酶带,可能存在哑等位基因;而消化盲囊、鳃组织的 2 条均为同聚体酶带,缺异聚体酶带,这可能因基因表达时间上的差异而失去不同亚基间缔合的机会或在该组织中,异聚体不稳定、活性低而未检测到。Est-5 位点在不同组织中有不同的表达形式,与这些同工酶在不同组织中的功能差异有关。这种基因产物的表达出现时空的变异,是基因表达调控多样性进化的产物。这表明了生物体在长期的进化过程中,组织分化的过程伴随着出现了一些适应于其功能的代谢特征,导致了组织生理生化特征和同工酶表达上的特异性。

3.2 企鹅珍珠贝同工酶组织特异性与功能的相关性

不同组织同工酶活性的差异是同工酶组织特异性的一种表现,这种差异与其组织的生理功能相关。企鹅珍珠贝的 SOD、EST 同工酶在消化盲囊中活性最强,而 MDH、ME 在闭壳肌中活性最高。这与已研究过的双壳类如马氏珠母贝 (*Pinctada martensii*) (待发表)、江珧 [栉江珧 (*Atrina pectinata*)、旗江珧 (*A. vexillum*)、二色裂江珧 (*Pinna bicolor*)]^[9-11]的结果相似。这些结果可提供贝类同工酶生理生化方面研究的基础资料。

SOD 是生物体防御氧化损伤的重要酶类,能清除体内产生的自由基 $O_2^{\cdot-}$,作为贝类重要的消化吸收及解毒场所的消化盲囊,具有高水平的氧化呼吸反应,会产生大量的 $O_2^{\cdot-}$,因而,消化盲囊中高活性的 SOD 酶的存在,保证了机体免受过多 $O_2^{\cdot-}$ 的损伤。EST 催化酯类化合物水解,大量酯类化合物首先在消化盲囊中进行水解,这可能是 EST 在消化盲囊中有很高酶活性的缘故。

MDH、ME 是生物氧化的重要酶类,主要催化苹果酸与丙酮酸、草酰乙酸之间的相互转化,这些酶的大量存在,利于将物质经三羧酸循环转化为能量以供肌肉收缩所需。这两种酶在闭壳肌肌肉组织中活性最高,从而保证了其收缩功能的正常进行。

LDH、G6PDH 是糖代谢过程中的重要酶类,LDH 催化丙酮酸与乳酸间的相互转化,在闭壳肌组织中活性高,可在有

氧状态下,催化乳酸转化为丙酮酸而进入三羧酸循环,通过有氧化呼吸从而获得较多的生物能量来保证其收缩功能的正常进行。在消化盲囊中活性高,有利于糖分解和乳酸代谢。在磷酸己糖旁路代谢途径中,G6PDH 催化 6-磷酸葡萄糖转化为 6-磷酸葡萄糖酸,促进糖的分解。消化盲囊、闭壳肌组织中含有大量糖原,通过酵解途径或磷酸己糖旁路代谢途径可将大量的糖分解供能,恰与这 2 种组织中含有较高活性的 G6PDH 相适应。

在相同的检测条件下,不同组织的同工酶有不同的表现,即它们在性质上有差异,如酶的米氏常数、耐温性、最适底物浓度、对抑制剂的关系等等。有些酶如 ME、LDH、G6PDH 同工酶是三羧酸循环和糖代谢过程中的重要酶类,是生命活动不可缺少的酶,应广泛存在于各组织中,但在企鹅珍珠贝某些组织中未检测到明显的酶带,如在外套膜组织中的 LDH、G6PDH,消化盲囊、鳃组织中的 ME 等,表现出这些同工酶在性质上存在明显的组织差异,这种差异之显著已使同工酶在同样的电泳检测条件下,某些组织的同工酶不能像其他组织的酶一样被检测出来,即组织中并不是不存在这些酶,只是在这样的电泳条件下不适合于它们的检出。企鹅珍珠贝同工酶这种性质上的差异保证了各组织器官中酶能在不同发育阶段和各种外界环境条件下相应的起作用。

致谢:湛江海洋大学水产学院水产养殖系师尚丽老师、98 级黄琳琳、姚振峰同学参加部分实验,谨致谢忱。

参考文献:

- [1] 蒙钊美,李有宁,邢孔武.珍珠养殖理论与技术[M].北京:科学出版社,1996.39-40,86-100.
- [2] 符 韶,梁飞龙.企鹅珍珠贝附壳珍珠培育的中间试验[J].海洋科学,2000(2):12-14.
- [3] 余祥勇,王梅芳,叶富良.企鹅珍珠贝个体发育及人工育苗的研究[J].海南大学学报,2000(3):266-269.
- [4] 梁飞龙,符 韶,罗 杰.企鹅珍珠贝养成方式的初步研究[J].海洋科学,1998(4):16-18.
- [5] 梁飞龙,毛 勇,余祥勇.企鹅珍珠贝人工苗生长的初步观察[J].湛江海洋大学学报,2001,21(1):6-9.
- [6] 朱盛菲.鱼类同工酶和蛋白质聚丙烯酰胺梯度凝胶电泳法[J].水生生物学报,1992,16(2):183-185.
- [7] 王中仁.植物等位酶分析[M].北京:科学出版社,1996.14-36,98-100,140-144.
- [8] 黄 原.分子系统学—原理、方法及应用[M].北京:中国农业出版社,1998.258-271.
- [9] 王梅芳,余祥勇,杨树婷,等.无裂栉江珧种内同工酶表型差异的比较研究[J].热带海洋,2000,19(4):45-50.
- [10] 王梅芳,余祥勇.旗江珧不同组织中酯酶和过氧化物歧化酶同工酶的表达[J].海洋科学,2000(7):14-16.
- [11] 王梅芳,余祥勇,杨荣权,等.二色裂江珧 EST 和 SOD 同工酶组织特异性的研究[J].湛江海洋大学学报,2000,20(1):5-8.

Differentiation of isozymes from different tissues of *Pteria penguin* Röding

YU Xiang-yong, WANG Mei-fang, LIANG Fei-long, LIU Yong

(Laboratory of Pearl Research, Zhanjiang Ocean University, Zhanjiang 524025, China)

Abstract: The wing oyster (*Pteria penguin* Röding) is a kind of large-sized and commercially important bivalve species, distributing along the coast of Hainan Island, Leizhou Peninsula and other maritime regions in Southern China Sea. The farming of and trial pearl cultivating from this species was successfully developed in recent years. There was very little information about its biochemical hereditary background before.

The differentiation of five isozymes (SOD, EST, MDH, ME, LDH and G6PDH) from different adult tissues (digestive diverticula, gill, mantle, foot, adductor) of *P. penguin* were analyzed by vertical polyacrylamide gradient gel electrophoresis. The tissue specificity of these isozymes is very obvious in the results; the expression of enzyme gene loci and the activity of isozyme varied with different tissues, for example, the zymograms of SOD and EST from mantle tissue and MDH from adductor muscle distinctly contrasted to those from other tissues. The tissue-specific expressions of isozyme exhibited as follows. 1) Some isozymes expressed restrictedly to certain tissues while no expression or displaying very low activity in other tissues, for example, the bands of *Sod*-3 were distinct only in mantle tissue, the same as *Est*-6 which only expressed in foot and adductor. 2) The activities of certain isozymes obviously varied in different tissues, for example, *Sod*-2 and *Est*-4 had more strong expression in digestive diverticula than in other tissues. The physiological significance of differentiation of isozyme phenotypes was discussed in relation to the specific physiological functions of different tissues. It was supposed that the high activities of SOD (EST) in digestive diverticula and MDH (ME) in adductor muscle might meet the different physiological requirement of the two tissues respectively, that meant very high activities of EST and SOD in digestive diverticula were adapted for its physiological functions, digestion of food and protection from superoxide.

Key words: *Pteria penguin* Röding; isozyme; tissue specificity; loci