

He-Ne 激光照射奥利亚罗非鱼对其生长和生化特性的影响

谢瑞生 章之蓉 胡夏阳*

(中国科学院南海海洋研究所, 广州 510301)

关键词 激光照射, 罗非鱼, 酶, 体长, 体重

近几年, 我们研究了激光对水生生物繁殖、生长、抗病、遗传的影响。希望为水产养殖新技术提供理论依据。本文探讨了激光照射罗非鱼后对其体长、体重及三种酶的影响。

实验材料与方法

1. 照射方法

取同批同胎奥利亚罗非鱼 (*Tilapia aurea*) 仔鱼, 平均体长 12.5mm, 平均体重 0.07g。将罗非鱼随机分为四组, 每组各 60 条鱼, 量长称重, 饲养四天后, 开始分组用 He-Ne 激光(波长为 6328 Å)照射。鱼放在特制的器具中, 激光束经导向仪在固定距离下进行照射, 保证照射部位为头部、侧线部。功率为 0mW, 8mW, 12mW, 15mW (即 B_0, B_1, B_{12}, B_{15}), 持续时间均为 1min。照射次数为每隔 5 天一次, 共 90 天, 每隔 10 天测体长、体重, 求平均值。在整个实验中, 投饵量、光照、温度、充氧等饲养条件一致。

2. 激光器

He-Ne 激光器有效光斑直径为 0.6 cm, 最大输出功率 38mW, 输出功率可通过管腔准直微调调节。He-Ne 为连续激光, 稳定度高, 照射 4 小时不发生明显改变。

3. 生化研究方法

经激光照射, 饲养 90 天后的罗非鱼, 迅速冷冻于低温冰箱, 以备生化研究。

(1) 细胞色素 c 的制备及产率测定: 按文献

[1]。产率测定用铁氰化钾法; 蛋白质测定用 Folin 酚法。产率定为每克鲜组织中所含细胞色素 c 的毫克数 (mg/g)^[1]。

(2) 过氧化物酶的制备及活力测定: 将捣碎组织用蒸馏水低温搅拌抽提, 硫酸铵分级盐析、透析等。测定用愈创木酚法^[2] (1活力单位=每分钟 OD₄₇₀ 增加 0.001 所需酶量)。

(3) 碱性磷酸酶的制备及活力测定: 将罗非鱼加 0.01mol/L Tris-HCl, pH7.5 缓冲液捣碎, 加入 20% (V/V) 正丁醇匀浆抽提, 硫酸铵分级盐析、透析后用于分析测定。活力测定采用磷酸苯二钠-氨基萘替比林法^[3-4]。[1活力单位=1分钟内转化 1 分子底物(酚)所需酶量]。

(4) He-Ne 激光直接照射碱性磷酸酶: 取碱性磷酸酶匀浆液及透析液(纯化约 100 倍) 0.5ml, 置于短试管中, 试管固定于冰浴中, 激光以一定角度由上射入。

实验结果

1. 体长和体重

不同时期、不同功率激光照射与未照射组体长差异的结果见表 1, 其体重的差异结果见表 2。从表 1、表 2 看出, 激光照射组鱼的体长、体重比未照射组增长显著, 进行显著性检验, 结果全部通过 [$F_{(29, 29)}(0.05)=$

* 89 级硕士研究生毕业, 现在广州市医药工业研究所。

- 1989; 71—161
- 2 方允中, 李文杰编: 自由基与酶, 北京: 科学出版社, 1989; 193—303
 - 3 Pryor W A, Castle L. *Method in Enzymology*, New York: Acad Press, 1984; 105: 293
 - 4 Duan Y J et al. *J Biol Chem*, 1988; 263: 19003
 - 5 Wendel A. *Method in Enzymology* New York: Acad Press, 1981; 77: 325
 - 6 Habig W H et al. *J Biol Chem*, 1974; 249: 7130
 - 7 邹国林, 生物物理与生物化学进展, 1986; 4: 71
 - 8 Lowry O H et al. *J Biol Chem*, 1951; 193: 265
 - 9 Mills G C. *J Biol Chem*, 1957; 229: 189
 - 10 Rotruck J T et al. *Science*, 1973; 179: 588
 - 11 Booth J et al. *Biochem J*, 1961; 79: 516
 - 12 Prohaska J R, Ganther H F. *Biochem Biophys Res Commun*, 1977; 76: 437
 - 13 Mccord J M, Fridovich I J. *J Biol Chem*, 1969; 244: 6049
 - 14 李芳生. 中国地方病学杂志, 1985; 4: 1

[本文于 1990 年 1 月 31 日收到, 4 月 20 日修回]

表 1 不同功率激光照射罗非鱼体长的差异

时间(d)	功率	B ₀	B ₈	B ₁₂	B ₁₅
	体长(mm)	L±σ	L±σ	L±σ	L±σ
		(n = 30)	(n = 30)	(n = 30)	(n = 30)
0		12.8±2.2	11.1±2.1	12.9±2.1	12.8±2.3
10		13.7±2.3	16.4±2.8	15.1±2.8	15.5±2.9
20		19.3±4.2	20.2±3.9	19.3±3.9	19.9±4.2
30		25.9±5.2	25.9±4.9	25.0±5.0	25.1±5.3
40		33.1±5.9	36.3±5.9	35.0±4.2	36.0±6.0
50		37.1±6.1	41.0±6.1	40.2±4.4	40.3±6.2
60		40.1±6.1	40.2±6.1	45.0±4.5	45.8±6.2
70		41.2±6.2	46.8±6.1	45.9±4.6	46.0±6.2
80		42.0±6.2	47.3±6.1	46.2±4.7	46.7±6.3
90		43.0±6.2	48.3±6.2	47.0±5.0	48.0±6.3

表 2 不同功率激光照射罗非鱼体重的差异

时间(d)	功率	B ₀	B ₈	B ₁₂	B ₁₅
	均重(g)	W±σ	W±σ	W±σ	W±σ
		(n = 30)	(n = 30)	(n = 30)	(n = 30)
0		0.07±0.01	0.07±0.01	0.07±0.01	0.07±0.09
10		0.10±0.01	0.10±0.01	0.10±0.01	0.10±0.01
20		0.11±0.01	0.61±0.05	0.99±0.02	1.00±0.01
30		0.22±0.03	0.98±0.80	1.09±0.04	1.11±0.04
40		1.09±0.08	1.98±0.15	2.01±0.08	2.11±0.09
50		1.78±0.19	3.12±0.20	3.24±0.17	3.44±0.22
60		2.21±0.29	4.77±0.33	4.60±0.27	4.79±0.37
70		2.50±0.37	5.17±0.42	4.88±0.37	4.91±0.48
80		2.52±0.41	5.73±0.5	4.98±0.40	5.22±0.55
90		2.70±0.5	5.80±0.6	5.24±0.48	5.49±0.67

表 3 过氧化物酶和碱性磷酸酶活性及细胞色素 c 产率的测定结果

指标	功率	B ₀	B ₈	B ₁₂	B ₁₅
过氧化物酶		1.28±0.01	2.07±0.23	2.11±0.19	1.98±0.15
碱性磷酸酶		0.73±0.08	0.21±0.10	0.12±0.06	0.14±0.07
细胞色素 c		0.12±0.01	0.28±0.02	0.27±0.01	0.22±0.02

1.87; $t_{(38)}(0.01) = 2.66$]. 我们取 B₈ 与 B₀ 比较, B₈ 比 B₀ 体长增加 13.94%, B₈ 比 B₀ 体重增加 114.81%, 实验结果表明激光促进了鱼的生长.

2. 酶活力测定结果

(1) 细胞色素 c 产率、过氧化物酶、碱性磷酸酶活性测定结果见表 3.

表 3 中的数据表明经激光照射饲养 90 天的实验

组与对照组相比, 三种酶蛋白质活力或产率均有显著差异.

(2) 激光照射碱性磷酸酶液结果

碱性磷酸酶 (AKP) 制备提纯各步骤蛋白含量及活力变化见表 4.

我们选取提纯 1 倍的匀浆液和提纯 100 倍经透析处理的酶溶液分别用激光照射, 功率为 8mW, 时间从

表4 奥利亚罗非鱼 AKP 提纯结果

	总体积 (ml)	总蛋白 (mg)	蛋白浓度 (mg/ml)	总活力 ($\mu\text{mol}/\text{min}$)	比活力 ($\mu\text{mol}/\text{min} \cdot \text{mg}$)	提纯倍数	回收
匀 浆	750	18075	24.1	155.445	8.6×10^{-3}	1.0	100
正丁醇处理	350	998.50	2.85	131.80	0.132	15.35	84.49
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 盐析 40% 饱和度	285	498.75	1.75	107.23	0.215	25	68.98
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 盐析 75% 饱和度	95	61.75	0.63	51.87	0.84	100	33.37

表5 激光照射匀浆液及经透析处理的酶溶液后 AKP 酶活力的变化(激光功率为 8mW)

照射时间 (min)	0	1	2	10	60
匀 浆 液 ($\times 10^{-3}$)	8.6 ± 0.3	7.1 ± 0.2	6.5 ± 0.2	1.0 ± 0.3	0.0 ± 0.2
经透析处理的溶液	1.03 ± 0.3	1.45 ± 0.5	1.78 ± 0.6	0.51 ± 0.06	0.35 ± 0.11

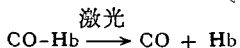
1min 到 60min 不等,其结果见表 5。

通过统计检验,表明含有较多杂蛋白的匀浆液用 He-Ne 激光照射后,活力显著下降,8mW 经 60min 照射后,活力几乎为零。提纯 100 倍经透析处理的碱性磷酸酶液其活力随时间延长无显著下降呈单峰值曲线。

讨 论

从实验看来,He-Ne 低功率激光照射罗非鱼,能促进鱼生长。过高和过低辐照功率,照射时间过长和过短效果都不佳。本文是 8mW,1min 组最好。我们认为对不同生物不同时期通过实验探求最佳辐照功率和辐照时间具有实际应用意义。

He-Ne 激光照射奥利亚罗非鱼比未经照射的鱼生长的快,说明激光刺激使鱼的内在功能发生了变化。我们认为酶引起代谢变化影响生长可能是原因之一。过氧化物酶与细胞色素 c 属于血红素类蛋白质,在细胞代谢的氧化还原过程中起重要作用。一氧化碳能够与血红素蛋白形成衍生物 CO-Hb,用激光可切断配位键使其光解而激活血红素类蛋白^[5-7]。



激光可以通过光解 CO 而使血红素类蛋白——细

胞色素类和过氧化物酶类等激活。从实验结果看,激光照射后的罗非鱼,细胞色素 c、过氧化物酶的活性都有所提高,激光确实使血红素类蛋白激活而增加了新陈代谢,我们认为这是促进鱼类生长的原因之一。碱性磷酸酶降解核苷酸酶。实验结果表明活体激光照射和酶液照射后 AKP 酶均呈现下降趋势。也许它的减少使鱼体某些代谢调节物 cAMP 或辅酶产生变化从而影响鱼的生长和发育。

激光对水生生物的作用机理是复杂的,有待于进一步实验和探讨。

参 考 文 献

- 1 Margoliash E. *Biochem J*, 1954; **56**:529
- 2 Keilin D. *Biochem J*, 1951; **49**:88
- 3 Aisa E. *Comp Biochem J*, 1982; **151**:291
- 4 喻冲云. 生化检验单一试剂选, 沈阳: 辽宁科技出版社, 1987: 57—63
- 5 Noe L T. *Proc Nat Acad Sci USA*, 1978; **75**:573
- 6 Eisert W C. *Biophys Journal*, 1977; **25**:455
- 7 Erecinska M. *Biochim Biophys Acta*, 1972; **226**: 81

[本文于 1990 年 1 月 4 日收到, 6 月 4 日修回]