



激光照射对罗氏沼虾眼柄软组织及各组织器官中过氧化物酶同工酶的影响

EFFECTS ON PEROXIDASE ISOZYMES IN THE EYESTALK CELLS AND SEVERAL KINDS OF TISSUES OF *MACROBRACHIUM ROSENBERGII* RADIATED WITH LASER

姚 泊

(中山大学生命科学学院, 广州 510275)

YAO Po

(School of Life Science, Zhongshan University, Guangzhou 510275)

程惠贞 林慧贤 任少芬

(广州师范学院生物系, 510400)

CHENG Hui-Zhen, LIN Hui-Xian, REN Shao-Fen

(Department of Biology, Guangzhou Teachers' College, 510400)

关键词 激光, 罗氏沼虾, 眼柄软组织, 过氧化物酶同工酶

KEYWORDS laser, *Macrobrachium rosenbergii*, eyestalk cells, peroxidase isozymes

中图分类号 S917

自1970年 Adiyodi 发现甲壳类动物眼柄的神经分泌细胞分泌一种卵巢抑制激素(gonad-inhibiting hormone, GIH)能影响卵巢的发育和成熟,并在一种长臂虾(*Leander seratus*)证实了这一点以来[Adiyodi K G 和 Adiyodi R G 1983],一些学者[Lin 和 Ting 1986]对斑节对虾(*Penaeus monodon*)进行了切除眼柄实验研究.发现这种手段能够诱导虾的性腺成熟和提早产卵,但产卵量低和死亡率高.因此,有人[Yao 1989,虞冰如等 1990,赵维信等 1996]利用外源性激素诱导虾的卵巢发育成熟或者用外源激素激光照射青虾(*Macrobrachium nipponense*)或者罗氏沼虾(*Macrobrachium rosenbergii*)的眼柄,诱导虾的卵巢发育成熟和提前产卵获得明显效果.罗氏沼虾是水产养殖的主要淡水经济虾类.本文以其为材料,用激光照射虾的眼柄.研究其

对眼柄软组织及其某些组织器官的过氧化物酶(oxidase, POD)同工酶的影响。

1 材料与方 法

(1)实验材料。以市售健康雌性罗氏沼虾(卵巢为Ⅳ-Ⅴ)为实验材料,经循环水族箱充氧培养7天后再进行实验。照射激光7天后,进行组织样品制备。

(2)激光处理。采用半导体激光器,输出波长 $\lambda=1060\text{nm}$,单脉冲能量为1焦耳,脉宽约300 000nms,光斑直径 $\leq 5\text{mm}$,照射时用 He-Ne 激光瞄准虾眼柄,每只眼柄用单脉冲激光照射一次,每次照射时间为200微秒。先后用104只罗氏沼虾分成四组照射和四组对照。用脉冲 YAG 激光照射眼柄。

(3)样品制备。取实验组和对照组虾的眼柄软组织、卵巢、肝胰腺、心脏和肌肉,分别用0.1M, pH 8.0的磷酸缓冲液冰浴匀浆。7500rpm,离心10分钟。以上清液加蔗糖混匀作电泳样品。样品平均含蛋白量为12.8mg/mL 酶液。

(4)电泳。电泳方法为聚丙烯酰胺凝胶电泳法,电极缓冲液为低离子浓度的 Tris-Gly 系统, pH 8.3。点样量500 μl /管。在0~4℃低温连续电泳约3h。电泳中总电压控制在250~300V 之间,电流为2mA/管。

(5)染色。用醋酸联苯胺法。岛津 CS-930双波长薄层扫描仪记录实验结果。

(6)蛋白质测定,采用 Folin-酚法。

2 结 果

实验结果显示,罗氏沼虾的眼柄软组织、卵巢、肝胰腺、心脏和肌肉的 POD 同工酶酶谱具有组织特异性。经激光照射眼柄后,眼柄软组织及组织器官的 POD 同工酶酶谱均发生不同程度的变化。其结果如图所示。

图1显示眼柄软组织 POD 酶带,A 组有4条 POD 酶带(酶带从阳极至阴极依次编号为1,2,3,4……(下同))。B 组有6条 POD 酶带。激光照射后,A 组中的优势同工酶1带消失,而在2带前出现了一条较宽的新酶带 a 带(新出现的酶带由阳极至阴极依次编号为 a, b, c……(下同))。在2带和3带之间出现了 b 带,在4带后则出现了新的优势同工酶 c 带。

图2显示卵巢 POD 酶带,A 组,B 组均有5条 POD 酶带。激光组照射后,A 组中的优势同工酶4带消失。而在2带和3带之间出现了一条较宽的新酶带 a 带,5带的峰值明显上升。

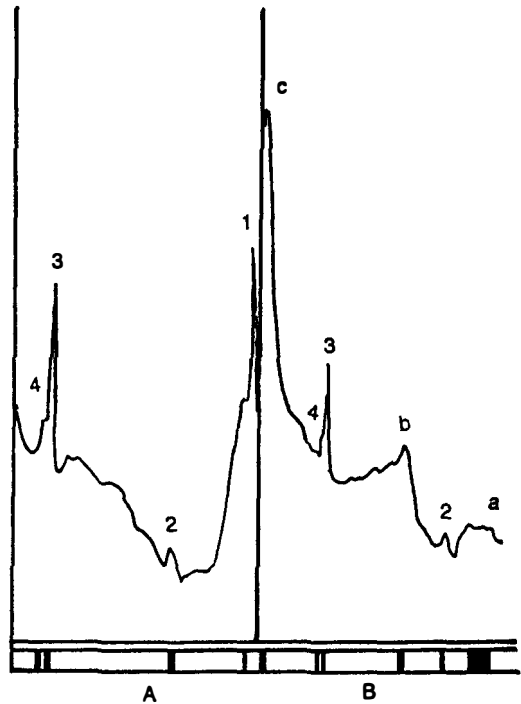


图1 激光对罗氏沼虾眼柄软组织 POD 的影响
Fig. 1 Effect on peroxidase isozyme in eyestalk cells of *M. rosenbergii* radiated with laser
A. 对照组 B. 激光照射组

图3显示肝胰腺 POD 酶带,A 组有7条 POD 酶带.B 组有5条酶带.激光照射后,一些较弱的酶带2带,4带,5带,6带均消失.在1带前及原4带和5带之间均出现新的酶带 a 带和 b 带.1带的峰值明显下降,3带则峰值上升.

图4显示心脏 POD 酶带,A 组有2条 POD 酶带,B 组有3条 POD 酶带.经激光照射后,在2带后出现了一条新的酶带 a 带.但1带和2带的峰值均无明显的变化.

图5显示肌肉 POD 酶带,A 组有5条 POD 酶带,经激光照射后,B 组有4条 POD 酶带.4带消失.1带的峰值下降,2,3,5带的峰值无明显变化.

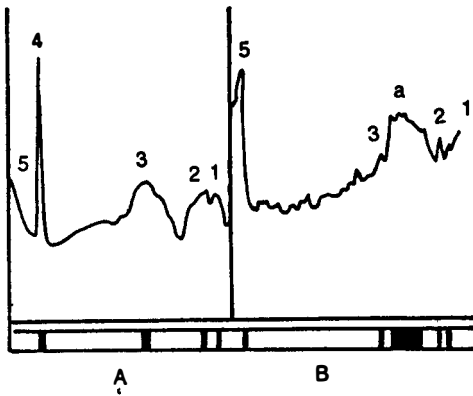


图2 激光对罗氏沼虾卵巢 POD 的影响
Fig. 2 Effect on peroxidase isozyme in ovary of *M. rosenbergii* radiated with laser
A. 对照组 B. 激光照射组

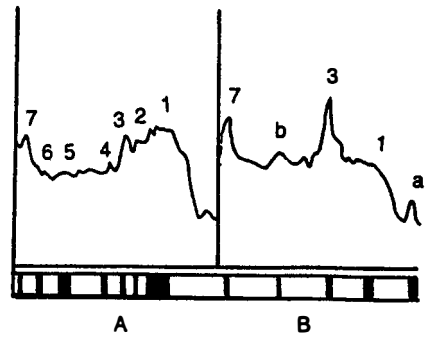


图3 激光对罗氏沼虾肝脏 POD 的影响
Fig. 3 Effect on peroxidase isozyme in liver of *M. rosenbergii* radiated with laser
A. 对照组 B. 激光照射组

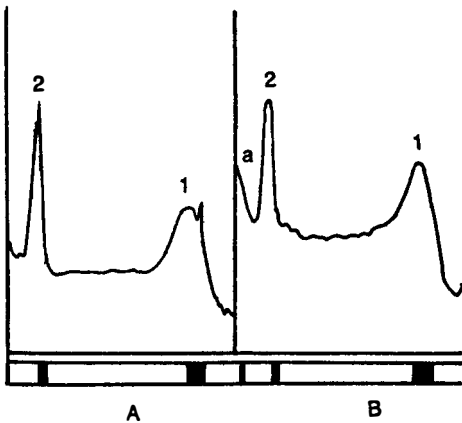


图4 激光对罗氏沼虾心脏 POD 的影响
Fig. 4 Effect on peroxidase isozyme in heart of *M. rosenbergii* radiated with laser
A. 对照组 B. 激光照射组

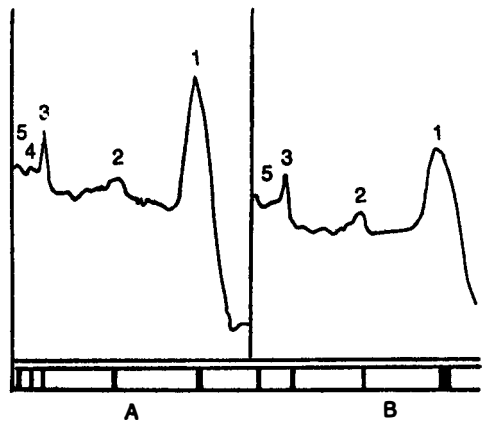


图5 激光对罗氏沼虾肌肉 POD 的影响
Fig. 5 Effect on peroxidase isozyme in muscle of *M. rosenbergii* radiated with laser
A. 对照组 B. 激光照射组

3 讨论

用激光照射罗氏沼虾眼柄后,一般能提前10天产卵。这与虞冰如等[1990]的实验结果相类似。以上这两个实验结果可以表明用激光照射虾的眼柄后,其卵巢发育成熟较快和能产生生理上的变化。姚 泊等[1998]用脉冲 YAG 激光照射罗氏沼虾眼柄,电镜观察表明经激光照射后的神经分泌细胞,在核膜、质膜和高尔基体、线粒体等细胞器均出现不同程度的损伤。程惠贞等[1997]用激光照射罗氏沼虾眼柄后,发现眼柄软组织、脑神经节、卵巢、肝胰腺、心脏和肌肉组织细胞的酯酶同工酶酶带均发生不同程度的变化。

过氧化物酶是一种含铁卟啉的氧化酶。在细胞代谢中起着重要的作用,它对外界不良环境条件的刺激反应十分敏感。同工酶的酶谱具有组织特异性,不同组织的同工酶分布不同。其变化是由于基因调控的改变所引起的。在一定时期,一定场所下,控制各种同工酶的基因其作用得以表达或受到控制。其表现为一些原有的酶带消失,另出现了一些新的酶带。由于虾的眼柄中神经分泌细胞分泌的激素能影响卵巢以及身体其它器官。所以激光虽然仅照射眼柄,但是卵巢、肝胰腺、新脏和肌肉的 POD 同工酶酶谱均发生不同程度的变化。

参 考 文 献

- 赵维信, 贾 江, 安 苗. 1996. 外源激素和眼柄提取物对罗氏沼虾卵母细胞的离体诱导作用. 上海水产大学学报, 5(4): 221~225.
- 姚 泊, 马彦洪, 张永亮. 1998. 脉冲 YAG 激光照射罗氏沼虾眼柄神经分泌细胞的电镜观察. 激光生物学报. 7(2): 108~109.
- 程惠贞, 姚 泊, 林慧贤等. 1997. 激光照射对罗氏沼虾酯酶同工酶的影响. 激光生物学报, 6(1): 978~982.
- 虞冰如, 沈 屹, 范志志等. 1990. 人工诱导青虾成熟和产卵. 水产科学情报, 17(3): 66~69.
- Adiyodi K G, Adiyodi R G. 1983. Reproductive biology of invertebrates. Wileyinter science publicatoin. U. S. A. 443~497.
- Lin Min-Nan, Ting Yun-Yuan. 1986. Observations of Poor Hatching in the Unilateral Eyestalk-ablated Females of *Penaeus monodon* Fabricius. 52(2): 355.
- Yao Po. 1989. The injection of the brain or thorctic extract (*M. rosenbergii*) induces ootheca mature research. Fish World (Taiwan), 10:47.