

科研簡报与动态

螃蟹(*Sesarma dehaani*)血兰旦白的吸收光譜*

陈俊民 江静波 譚健明**

(生物系)

血兰旦白是无脊椎动物中最重要的呼吸色素,存在于軟體动物的头足类和一些腹足类,节足动物中的高等甲壳类,少数蜘蛛类和蟹。由于它能可逆地和氧結合,因此能够把氧从呼吸器官帶給需氧的組織。

氧合血兰旦白的吸收光譜根据动物种类而有所不同,一般吸收高峰在550—600 m μ 之間。Goodwin[1]认为,还没有迹象表明甲壳类的血兰旦白是否相同,也不知道每种甲壳类存在有几种血兰旦白。本文报告了螃蟹(*Sesarma dehaani*)血兰旦白的吸收光譜,供这方面研究的参考,也为进一步研究螃蟹血兰旦白的氧离曲线提供根据。

材料与amp;方法

螃蟹是从中山大学碼頭和附近的小河、菜畦中采集的。采回后先把体外污泥洗淨,放入玻璃缸中培养。缸中放1--2厘米高的自来水,水中浮起一块木板,板上放些飯粒或馒头碎。經常換水,螃蟹可生活一个月以上。

为了避免取血淋巴时有食物混入,先使螃蟹餓24小时,然后用水冲洗干净,抹干后将一只足在基部折断,用滴管从伤口收集血淋巴。吸取时使伤口朝下,并用力輕压甲壳,使血淋巴涌出,至血淋巴不易流出时再折断其它的足。将收集到的血淋巴注入一干净的試管中。从几只螃蟹收集血淋巴至約1.5ml后,用玻棒攪拌,促使血淋巴凝固去纖維而使血清析出。用pH7.3硼砂緩冲液稀释至8 ml。离心除去沉淀物。然后把上清分为2份,分別放入小試管中。第一管通过滴管用橡皮球把空气打入溶液中,每打5--10次后将試管放入71型光电分光光度計中,在570m μ 下测光密度,至光密度不再升高或开始下降时停止通气,就成为氧合血兰旦白,将它倒入比色管中等待测量。另一管通入气体发生器中发出而先后經過重鉻酸鉀,氢氧化鈉-焦性沒食子酸溶液和蒸馏水洗滌过的氢,不久就变成无色的还原血兰旦白,約20分钟

* 本文在中国动物学会1963年在上海召开的“实验动物学”专业学术討論会上宣讀。

** 刘耀泉、許振汉参加实验。

后将溶液倒入比色管中。为了避免与空气接触，在液面加一层石蜡油。

材料处理完毕后在71型分光光度计中，以硼砂缓冲液为0，从700m μ 至440m μ ，每隔10m μ 分别测氧合与还原血兰旦白的光密度。

实验结果

螳螂血兰旦白经十多次测定的结果，吸收高峰和最低值的波长很稳定，只是各波长光密度有所不同，因此将曲线变化较明显的结果列表于下，并按照 Redfield (1930) [2] 的做法，把氧合血兰旦白的光密度减去还原血兰旦白的光密度，而得出血兰旦白色素团本身的吸收光谱曲线。

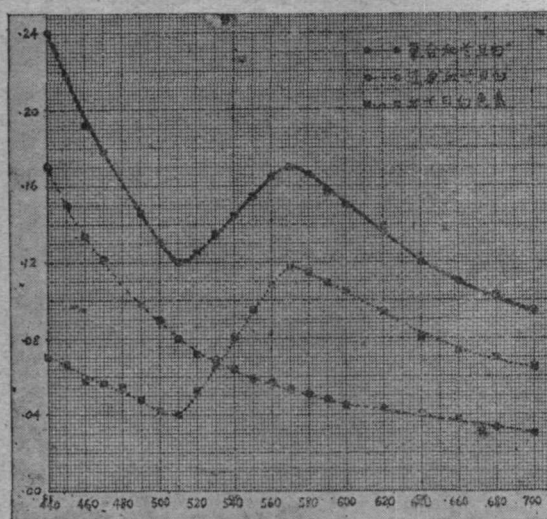
表1 螳螂血兰旦白在不同波长 (m μ) 下的光密度

波 长	440	450	460	470	480	490	500	510	520	530	540
氧合血兰旦白	0.240	0.217	0.192	0.178	0.162	0.146	0.131	0.120	0.125	0.135	0.145
还原血兰旦白	0.170	0.150	0.134	0.121	0.107	0.098	0.089	0.080	0.072	0.069	0.064
血兰旦白色素团	0.070	0.067	0.058	0.057	0.055	0.048	0.042	0.040	0.053	0.066	0.081
波 长	550	560	570	580	590	600	620	640	660	680	700
氧合血兰旦白	0.155	0.165	0.170	0.166	0.157	0.150	0.139	0.120	0.110	0.103	0.095
还原血兰旦白	0.059	0.057	0.053	0.051	0.048	0.043	0.043	0.040	0.038	0.033	0.030
血兰旦白色素团	0.095	0.108	0.117	0.115	0.109	0.105	0.094	0.080	0.072	0.070	0.065

兹将上表结果用曲线表示如下：

讨论与结论

Redfield (1930) [2] 认为氧合血兰旦白溶液对光的吸收包括两个部分：(1) 氧合血兰旦白分子的含铜部分与氧结合后所形成的色素团对光的真正的吸收，(2) 溶液中的旦白质对光的散射。他假定血兰旦白分子对光的散射不因氧合作用而改变，因此把氧合血兰旦白的光密度减去还原血兰旦白的光密度，就得出色素团本身的吸收光谱曲线。虽然不同类群动物的血兰旦白分子量相差



很大,但是經過这样校正之后,其色素团的吸收光谱曲线彼此相似。根据本試驗結果,螃蟹血兰旦白色素团的吸收光谱曲线也与 Redfield 的报告相似。

从实验結果可以看出,氧合血兰旦白在可見光部分的吸收光谱在440m μ 光密度最高,随着波长的增长光密度逐渐下降,至510m μ 达一最低值,然后逐渐回升,在570m μ 达另一高峰,然后又逐渐下降,最后降至510m μ 的最低值以下。而还原血兰旦白則随着波长的增长而不断下降。血兰旦白色素团的吸收光谱則在全段波长中以510m μ 为最低,570m μ 为最高峰,和 Redfield 的报告[2]完全一致。根据色素团的吸收高峰,在采用比色法測定螃蟹血兰旦白的氧离曲线时以选用570m μ 为最合适。由于受到所用仪器精密度的限制,我們沒有把两次测量之間的波长差距减少至10m μ 以下(Redfield 1930[2]也是如此),但是試驗結果还是可以和前人的报告相比較的。据报告, *Homarus* (Redfield, 1934[3]) 和 *Loxorhynchus grandis* (Redmond, 1955[4]) 氧合血兰旦白的吸收高峰都在570m μ , 而 *Palinurus elephas* (Rawlinson, 1955[5]) 和 *Panulirus interruptus* (Redmond, 1955[4]) 則为558m μ 。螃蟹氧合血兰旦白的吸收高峰与 *Homarus* 和 *L. grandis* 相同,而与 *P. elephas* 和 *P. interruptus* 不同。看来血兰旦白色素团部分的化学结构也与前二者較接近。

由于各次試驗所得的光密度高峯和最低点所在波长相互一致,只是绝对值有所不同。鑑于稀释剂,稀释度,通气条件及个体差异等因素对绝对值都有直接影响,而与血兰旦白的化学性质有关的主要是曲线的波形,尤其是吸收高峰与最低值所在的波长,因此沒必要采用平均值的办法。

过去有人用pH7.3硼砂缓冲液稀释血淋巴,认为对血兰旦白的吸收光谱影响最小。我們曾經用水[2]、生理盐水和0.0067N氢氧化钾[6]来稀释血淋巴,所得出的結果都不及用pH7.3硼砂缓冲液稳定。由于血兰旦白是个弱酸,并且具有缓冲能力[1],因此用pH7.3硼砂缓冲液作为稀释剂是合适的。

Redfield[2]将血兰旦白溶液置冰箱中暴露在空气中过夜,使与空气中的氧平衡而得到氧合血兰旦白。因为这种做法較费时,我們在实验中采用通入空气的办法。但是在进行初步試驗时我們在氧合血兰旦白管中通空气10--20分钟,結果虽然得到相似的吸收光曲线,但有时波形較不明显,并且其中有几次曲线低于还原血兰旦白。我們认为这可能是由于溶液受到过度的振荡而使部分血兰旦白变性,結果使仍具活性的血兰旦白含量降低,引起光密度普遍下降。后来在通气几次后在570m μ 試测一次光密度,果然发现通空气过度时能引起光密度的下降。例如經攪拌去沉淀后光密度为0.21,經過通气后逐渐升高至0.25,但繼續再通气10和20次之后則分別降为0.24及0.22。因此采用这一措施之后就能够克服上述两缺点,而得較正常的氧合血兰旦白吸收光谱曲线。

有些作者用低亚硫酸鈉($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)使血兰旦白还原。但每当我们这样做时都产生白色混浊。Redfield[1]用反复抽气和充氢的办法获得还原血兰旦白。我們改用通入气体发生器制备的氢的办法获得了滿意的結果。

摘要

1. 用71型分光光度計在可見光部分測得氧合血兰旦白的吸收光譜在440m μ 光密度最高, 随着波长的增长而下降, 至570m μ 达一最低值, 然后逐渐回升, 在570m μ 达另一高峰, 然后又逐渐降到510m μ 的最低值以下。还原血兰旦白的吸收光譜則随着波长的增长而不断下降。血兰旦白色素团的吸收光譜在全段波长中以510m μ 为最低, 570m μ 为最高峰。

2. 用pH7.3硼砂緩冲液稀释血淋巴可以得到比較正常的血兰旦白吸收光譜曲綫。水、生理盐水和0.0057N氢氧化氨不适于作稀释剂。

3. 血兰旦白去纖維并稀释后用橡皮球通过滴管打入空气, 每打气5—10次在570m μ 試测光密度一次, 直到光密度不再上升或开始下降为止, 然后倒入比色管中測量其吸收光譜。这样可以在短時間內得到氧合血兰旦白溶液, 并且可以避免因通气过度而引起光密度的降低, 因而获得比較显著与正常的吸收光譜曲綫。在稀释的血兰旦白溶液中通入氢20分钟可以得到还原血兰旦白。通氢后在液面加一层石蜡油。

参考文献

- [1] Goodwin T.W. 1960. Biochemistry of Pigments. In Waterman T.H. ed. 'The Physiology of Crustacea' Ch.3, p.p.101—140.
- [2] Redfield A.C. 1930. absorption spectra of some bloods and solutions containing hemocyanin. Biol. Bull. 58, 150—170.
- [3] — 1934. The haemocyanins. Biol. Rev. 9, 176—212.
- [4] Redmond J.R. 1955. The respiratory function of haemocyanin in Crustacea J. Cell. Comp. Physiol. 46, 209—247.
- [5] Rawlinson W.H. 1940. Crystalline haemocyanins: Some physical and chemical constants. Austral. J. Exptl. Biol. Med. Sc. 18, 131—141. (从Goodwin T.W. 1960).
- [6] Targett G.A.T. 1962. Absorption spectra of blood proteins from intermediate and non-intermediate hosts of schistosomes. J. Helminthol. 36(1/2), 201—206.

水浮蓮种子中的抑制物質与感光性休眠

傅家瑞 范培昌

(生物系)

水浮蓮种子是需光性种子。新鮮的种子首先要通过后熟期即休眠第一阶段, 在此时期中种子极难发芽或不能发芽。其后进入休眠第二阶段即感光性休眠期, 在此