

试验证明。

2. 两表表明, 同样达到90%以上的杀菌效果, 所需照射时间差异较大。主要是因为表1的锈孢子是从锈孢子器内中间处取出, 制成孢子悬浮液, 激光照射时, 必须穿透锈孢子器外膜及其外层的锈孢子后, 光线才能达到孢子器中间的锈孢子上。故激光功率密度相同, 但因两者锈孢子受光照射条件不同, 所以, 必须采用不同的照射时间, 才能收到同样的效果。

3. 从试验中还可以看出, 激光具有一定的穿透能力。防治本病的治本办法是杀死潜伏在树干表皮内的菌丝。因此, 设法找出对红松疱锈病菌杀伤性强的激光波长和适当的功率密度, 这样对病菌不但有高效的致命作用, 而且对树木又无伤害, 不影响树木的生长、发育。在这方面我们也初步做了试验。1980年10月, 由草河口发病林内选择感病幼树30

株, 运回室内, 用激光照射处理。分为10组, 每组3株, 照射树干上的精子器及皮内菌丝, 功率密度同前。照射时间分别为0、10、20、30、40、50、60、90、120、108秒。次年5月锈孢子出现期观察结果。照射120秒以上的六株幼树全部死亡; 照射60秒、90秒的六株病树都没有出现锈孢子器及锈孢子, 其中五株生长正常, 只有一株长势衰弱; 由10秒到50秒的五组中, 14株生长正常, 一株死亡, 每一照射组都有出现锈孢子器及锈孢子; 对照组3株幼树, 因管理不善一株死亡, 一株没发病, 只有一株出现了锈孢子器及锈孢子, 故不能做出结论, 现仍在试验观察中。

(沈阳农学院 魏作全 黄桂菊

刘福全 王起超

辽宁省森林经营研究所 原戈 孙军

1982年11月22日收稿)

低功率氦-氖激光照射对大白鼠红细胞膜的影响

Abstract: The effects of He-Ne laser radiation on the red blood cell membrane of rats are studied. The results obtained by measuring the cell-electrophoresis, hemolysis and morphological change etc. show that the damage is detectable after exposing the cell to laser light for longer time.

激光对生物的损伤效应已有一些报导, 对于细胞的研究, 以研究激光对细胞内结构的影响较为常见。激光对血细胞的作用, 也有人作过调查和研究, 如广东省职防院^[1]调查了广州市40名激光工作者外周血淋巴细胞姐妹染色单体的互换率, 调查结果表明了这一互换率增高。由于细胞膜在生命活动过程中具有十分重要的意义, 所以为研究者所重视。红细胞膜具有复杂的结构和功能, 膜结构少许改变, 都可能影响细胞内外能量转换、物质运转、细胞代谢、细胞存活等一系列重要的生物学作用。红细胞膜对可见光的吸收是弱的。最近我们用低功率氦-氖激光对大白鼠红细胞进行较长时间照射, 观察和测量它对红细胞膜的作用。所用氦-氖激光器输出功率为4.2毫瓦, 未经聚焦。所用能量密度为654.5焦耳/厘米²(照射40分钟)和327.3焦耳/厘米²(照射20分钟)。在照射后我们测量了红细胞的电泳速度

变化, 在低渗NaCl溶液中的溶血现象, 形态改变和细胞膜蛋白SDS-PAG(十二烷基磺酸钠聚丙烯酰胺凝胶)电泳分析。所用健康大白鼠的体重约为200~300克, 肝素抗凝(5~10微克/毫升血)。实验条件和结果如下。

(1) 红细胞电泳速度的改变。共测量10只大白鼠, 测量条件是: 红细胞悬浮于自身血浆中, 测量温度为16°C, 采用圆柱状玻璃毛细管作为观察小室, 电压梯度为4.92伏/厘米, 泳动距离为26微米, 每个样品测量30~70个红细胞。取三份全血置于三个离心管的底部, 每份为0.02毫升, 试管浸在37°C的水浴中, 第一管照射40分钟, 第二管照射20分钟, 第三管用作对照。测量结果如下(平均值±SD, 单位为秒): 照射40分钟的红细胞, 平均电泳时间为6.80±0.13; 照射20分钟后, 其值为6.58±0.15; 而对照组的值是6.42±0.08(均有 $P < 0.001$ 。)

说明红细胞表面电荷密度有所降低。

(2) 在低渗 NaCl 溶液中的溶血现象。共测量 15 只大白鼠。先将大白鼠用乙醚麻醉,使其安静数分钟后,将血轻轻放入含有肝素的容器内。用血量表和照射条件同前,照射后,往每个试管中加入 0.45% 的低渗 NaCl 溶液至 7 毫升,在 37°C 水浴中保温 30 分钟,然后用 2000 克离心 5 分钟,吸取上层血红蛋白液,用分光光度计(751 型,上海分析仪器厂产)在波长 541 毫微米处测量其光密度值。结果如下(平均值 \pm SD):照射 40 分钟时,平均光密度值为 0.077 ± 0.028 ;照射 20 分钟时,其值为 0.068 ± 0.023 ;对照组的值为 0.061 ± 0.018 (均有 $P < 0.01$)。结果表明,经照射后,能引起红细胞的溶血作用。

(3) 红细胞的形态观察。在与上述相同的照射条件下得到的照射血样品,用等渗的 NaCl 溶液稀释 25 倍后,将少许红细胞悬浮液滴于玻片上的用凡士林围成的小方框内,盖上盖玻片,在光学显微镜下观察形态。未经激光照射的红细胞呈现正常的双凹盘形。照射 40 分钟的红细胞,有一部分形态发生改变(如图中箭头所指处),并有少量红细胞成团块状聚焦。照射 20 分钟的红细胞,形态改变的程度低于照射 40 分钟的。经自身血浆稀释后装于玻璃毛细管中的红细胞悬浮液,在低倍镜下观察时,经过照射

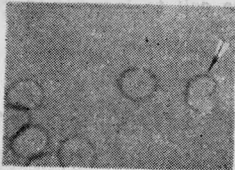


图 箭头所指的是照射 40 分钟后改变了形状的红细胞

的红细胞,较易形成团块状或缙钱状聚集,这可能是由于表面电荷密度减小,细胞间的排斥力减少所致。

(4) 红细胞膜蛋白 SDS-PAG 电泳。经激光照射 40 分钟的红细胞,其膜蛋白组分 SDS-PAG 电泳谱和未经照射的红细胞膜的蛋白组分电泳谱相比较,未见明显的变化,说明膜蛋白组分和分子量可能没有大的改变。

人们已经证实^[1],红细胞膜表面带有负电荷,并且这种负电荷主要是由 N-乙酰神经氨酸的羧基水解造成的。细胞表面这种同种电荷的存在,使细胞间形成静电排斥力,排斥力的大小依赖于细胞表面的电荷密度。当细胞表面电荷密度减少时,易促成细胞聚集。表面电荷的改变又引起跨膜电位的改变,从而进一步影响某些离子的转运,影响膜的可渗透性^[2]。因此在低渗盐溶液中,红细胞容易过度膨胀而破裂。膜渗透性改变的另一种可能的原因是红细胞的加速老化,红细胞老化时,ATP 含量降低,致使与膜收缩蛋白(spectrin)相结合的 Ca^{++} 增加,造成膜的柔性降低,脆性增加,在低渗条件下容易破裂。从实验结果我们还可认为,由于细胞膜受到某种程度的损伤,膜内外表面原有的张力平衡状态被破坏,因而导致部分红细胞形状的改变。

参 考 文 献

- [1] 李金胜;《激光》,1981,8, No. 11, 62.
- [2] E. J. Ambrose edited; Cell Electrophoresis, 1965.
- [3] R. H. Brown, Jr; *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, 1974, 28, 341.

(中国医学科学院血液学研究所 王学琦

甘午君 李延安 叶淑琴

1982 年 7 月 2 日收稿)