

西芹水提液对蚕豆根尖微核率的影响

秦永燕, 刘瑞祥, 铁军, 杨丽婷

(长治学院 生物科学与技术系, 山西 长治 046011)

摘要:以蚕豆为试材,采用根尖细胞微核试验方法,研究了不同浓度的西芹水提液与未添加和添加环磷酰胺溶液对蚕豆根尖微核率的影响。结果表明:未添加环磷酰胺溶液时,不同浓度的西芹水提液对蚕豆根尖细胞微核率的产生没有诱导作用,平均微核率无明显变化,微核指数保持在1.3左右;添加环磷酰胺溶液时,西芹水提液对环磷酰胺诱导的蚕豆根尖微核率的抑制作用较明显,抑制率为52%~72%,且与其浓度存在剂量-反应关系,相关系数 $r=0.9048$,其抑制作用随着西芹水提液浓度的增大而增强,表明西芹水提液具有一定的抗突变作用。

关键词:西芹;水提液;蚕豆;微核率;环磷酰胺

中图分类号:S 436.341 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)20-0108-03

西芹(*Apium graveolens*)属伞形科二年生草本植物,又名西洋芹菜,是从欧美引进的新品种。其植株紧

凑粗大,叶柄宽厚、实心,质地脆嫩,有芳香气味^[1];营养丰富,富含蛋白质、碳水化合物、矿物质、多种维生素及芹菜油,具有较高的营养价值和保健价值,深受人们喜欢^[2]。

蚕豆根尖微核技术是以蚕豆为材料,运用细胞生物学手段,利用细胞微核率来表示材料受损伤程度的一种监测遗传毒物的方法。微核(micronucleus, MCN)是指

第一作者简介:秦永燕(1979-),女,山西黎城人,硕士,实验师,现主要从事遗传学等教学与科研工作。E-mail:qyy429@126.com。

基金项目:长治学院校级科研资助项目(201415);第六批高等学校特色专业建设资助项目(TS11920)。

收稿日期:2014-03-13

参考文献

- [1] 戴思兰. 中国菊花史略[J]. 湖南林业, 2007(11):31.
- [2] 陈俊愉. 中国菊花过去和今后对世界的贡献[C]//中国风景园林学会菊花研究专业委员会. 2007 中国(中山小榄)国际菊花研讨会论文集. 中国风景园林学会菊花研究专业委员会, 2007:6.
- [3] 齐向英, 郑丹, 张超, 等. 菊花组织培养研究[J]. 江苏农业科学, 2009(5):63-64.
- [4] 肖志坚, 纪艳, 刘德江, 等. 菊花的组织培养技术[J]. 园艺与种苗, 2012(3):21-23.
- [5] 周洲, 李永丽, 姜玲, 等. 菊花‘绿鹦哥’的组织培养和快速繁殖[J]. 北

方园艺, 2009(10):110-112.

- [6] 陈黎, 万志兵, 曹玲玲. 黄山贡菊组织培养与快速繁殖技术研究[J]. 黄山学院学报, 2013(5):63-65.
- [7] 张月娇. 菊花“神马”组织培养快繁技术研究[J]. 林业勘察设计, 2012(1):139-142.
- [8] 袁成志, 李波, 杨蔚然, 等. 激素对菊花愈伤组织诱导和丛生芽分化的影响[J]. 北方园艺, 2010(1):162-164.
- [9] 于红芳, 许刚, 李永华, 等. 菊花品种唐宇金秋组织培养研究[J]. 河南农业科学, 2009(11):114-117.

Tissue Culture and Rapid Propagation of *Dendranthema morifolium* ‘Qiandaiji’

SHI Min¹, YANG Hong-yu², ZHANG Guo-bin², CHEN Qian¹, YAN Bo¹

(1. College of Landscape Architecture, Southwest Forestry University, Kunming, Yunnan 650051; 2. College of Life Science and Technology, Kunming University, Kunming, Yunnan 650214)

Abstract: Taking leaf of *Chrysanthemum morifolium* ‘Qiandaiji’ as material, tissue culture conditions and media for callus induction, cluster buds propagation and rooting were studied in this article. The results showed that the proper medium of callus induction was SH+0.5 mg/L 6-BA+1.0 mg/L NAA and resulted in an induction efficiency of 100%. The cluster buds well grow in MS+2.0 mg/L 6-BA+0.2 mg/L NAA. And the appropriate rooting medium was 1/2MS+0.1 mg/L NAA. All three types of media were contained 30 g/L sucrose and 6.0 g/L agar with pH 5.8. The culture conditions were optimized to 2 500 lx light intensity, 25°C temperature and 12 h light/12 h dark circle.

Keywords: *Chrysanthemum morifolium* ‘Qiandaiji’; tissue culture; hormone combination; optimization

位于细胞质中独立于主核、直径为主核 1/3~1/20、完全与主核分开的圆形或椭圆形的微小核^[3]。微核形成频率可直接反映细胞遗传物质损伤程度,而遗传物质损伤又是机体癌变的一种原因^[4]。目前对西芹的研究主要集中在提取物降血脂与抗氧化的功能^[5],关于西芹抗突变的相关研究尚鲜见报道。因此,现通过蚕豆根尖微核试验研究西芹的抗突变作用,以期以西芹作为保健食品的开发和利用提供一定的科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试西芹(*Apium graveolens*)购于长治市东博源超市;蚕豆(*Vicia faba*)购于长治市种子分公司。环磷酰胺(Cyclophosphamide)购于山西普德药业有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 西芹水提液的制备 称取洗净的西芹叶柄 100 g,加入 1 000 mL 蒸馏水,煮沸提取 1 h,然后过滤,保留滤液。同时滤渣加水 500 mL 重提 2 次,过滤。将 3 次提取的滤液合并(约 600 mL),于沸水浴中浓缩至 70~80 mL,然后冷却后定容至 100 mL,得 1.0 g/mL 的西芹水提液,作为母液,4℃冰箱保存备用。

1.2.2 蚕豆根尖微核率的测定 用蒸馏水将浓度为 1.0 g/mL 的西芹水提液进行梯度稀释,分别配成 6 个不同浓度(0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 g/mL)的处理液作为试验组 1 处理蚕豆根尖;以 6 个不同浓度的处理液分别与 5 mg/mL 环磷酰胺混合液作试验组 2,分别以蒸馏水作阴性对照,以 5 mg/mL 环磷酰胺处理蚕豆根尖作阳

性对照。每个浓度检测 5 个根尖,每个根尖观察约 1 000 个细胞,统计观察到的微核数。微核指数=样本微核率/阴性对照微核率;平均微核率(‰)=测试样品的微核数/测试样品观察的细胞数×1 000;抑制率(%)=(阳性对照微核率-试验样品微核率)/阳性对照微核率×100%,各试验结果均为重复试验测得的平均值。

1.3 数据分析

试验数据采用 SPSS 11.5 软件进行计算处理,并做相应的 *T* 检验。

2 结果与分析

2.1 西芹水提液对蚕豆根尖微核率的影响

由表 1 可知,西芹水提液的浓度为 0.1~1.0 g/mL 时,蚕豆根尖的微核率均在 4.00‰左右,无明显影响,微核指数在 1.30 左右(阳性对照为 3.79)。研究指出用蚕豆根尖微核试验对样本的微核率变化结果进行微核指数计算,发现只要微核指数在 1.50 以上即可认为试验样本具有致突变作用^[5]。因此,试验结果表明西芹水提液无致突变作用,它对蚕豆根尖微核率的产生没有诱导作用,其中不含或含有很少能引起微核率增高的成分。各组数据的标准差均小于 0.35,且变异系数均小于 0.1,说明其重复性较好。将各试验组与阴性对照的微核率进行 *T* 检验,结果表明除西芹水提取液为 0.6 g/mL 以外的其余处理浓度均与阴性对照组有显著差异($P<0.05$),特别是浓度为 0.2、0.8 g/mL 时概率均为 0,与阴性对照存在极显著差异($P<0.01$)。

表 1 西芹水提液对蚕豆根尖微核率的影响

Table 1 MCN of *Vicia faba* root tip cells dealed with the water abstracted of *Apium graveolens*

西芹水提液 Water extract of <i>Apium graveolens</i> /(g·mL ⁻¹)	平均微核率 Average micronucleus rate/‰	微核指数 Micronucleus index	变异系数 Coefficient of variation	T 检验 <i>T</i> test	
				<i>t</i>	<i>P</i>
0.1	3.90±0.26	1.27	0.07	3.085	0.037 *
0.2	4.27±0.07	1.40	0.02	20.446	0.000 **
0.4	4.18±0.32	1.37	0.08	2.948	0.042 *
0.6	4.05±0.31	1.32	0.08	2.627	0.058
0.8	3.85±0.08	1.26	0.02	14.224	0.000 **
1.0	4.45±0.33	1.45	0.07	4.229	0.013 *
阴性对照(蒸馏水)Negative controls (distilled water)	3.06±0.08	1.00	0.03	—	—
阳性对照(5 mg/mL 环磷酰胺)Positive control(cyclophosphamide)	11.59±0.92	3.79	0.08	—	—

注: * 表示差异显著($P<0.05$); ** 表示差异极显著($P<0.01$)。下同。

Note: * shows significant difference ($P<0.05$); ** shows very significant difference ($P<0.01$). The same below.

2.2 西芹水提液对环磷酰胺诱导的蚕豆根尖微核率的影响

环磷酰胺是一种染色体断裂剂,可使遗传物质损伤产生染色体片段即微核等异常现象,很多对突变的研究都采用其作阳性对照^[6-7]。由表 2 可知,在试验浓度范围内,随着西芹水提液的浓度的增加,环磷酰胺诱导的蚕豆根尖

微核率从 11.59‰降到 3.26‰;微核指数由 3.79 降到 1.07;抑制率从 52.46%上升到 71.87%。将各试验组与阳性对照的微核率进行 *T* 检验,结果表明各浓度的西芹水提取液与阳性对照组之间均有极显著的统计学差异($P<0.01$)。表明西芹水提液能明显抑制环磷酰胺诱导蚕豆根尖微核率的增加。而且环磷酰胺诱导的蚕豆根

表 2

西芹水提液对环磷酰胺诱导的蚕豆根尖微核率的影响

Table 2

MCN of *Vicia faba* root tip cells by cyclophosphamide and the water abstracted of *Apium graveolens*

西芹水提液+环磷酰胺 (5 mg/mL)	平均微核率	微核指数	抑制率	T 检验 T test	
Water extract of <i>Apium graveolens</i> with cyclophosphamide/(g · mL ⁻¹)	Average micronucleus rate/%	Micronucleus index	Inhibition rate/%	t	P
0.1	5.51±0.12	1.80	52.46	-6.108	0.004**
0.2	5.29±0.14	1.73	54.36	-7.764	0.001**
0.4	4.21±0.25	1.38	63.68	-8.402	0.001**
0.6	4.03±0.35	1.32	65.23	-6.225	0.003**
0.8	4.39±0.29	1.43	62.12	-11.012	0.000**
1.0	3.26±0.09	1.07	71.87	-8.665	0.001**
阴性对照(蒸馏水)Negative controls (distilled water)	3.06±0.08	1.00	100*	—	—
阳性对照(5 mg/mL 环磷酰胺) Positive control (cyclophosphamide)	11.59±0.92	3.79	0*	—	—

注: * 表示理论值。

Note: * shows the theoretical value.

尖微核的抑制率与西芹水提液浓度存在剂量-反应关系, 相关方程式为 $y = 3.4823x + 49.432$, 相关系数 $r = 0.9048$, 说明二者的相关性较好。

3 结论

试验结果表明, 0.1~1.0 g/mL 西芹水提液对蚕豆根尖微核率的产生没有诱导作用, 微核率保持在 4% 左右, 说明西芹水提液中不含或含有很少能引起蚕豆根尖微核率增高的成分。此外, 西芹水提液对环磷酰胺诱导的蚕豆根尖微核率的抑制作用显著, 且抑制率与其浓度之间存在剂量-反应关系, $r = 0.9048$, 且抑制作用随西芹水提液浓度的升高而增强, 证明西芹水提液具有抑制遗传毒性的作用。因此, 西芹可作为抗突变保健品进一步开发利用。

参考文献

- [1] 李素珍. 西芹优质高产栽培技术[J]. 现代农业, 2009(1): 9.
- [2] 郭振东. 芹菜的保健功能[J]. 山东食品科技, 2003(7): 19.
- [3] 曹佳, 林真, 余争平. 微核试验-原理、方法及其在人群监测和毒性评价中的应用[M]. 北京: 军事医学科学出版社, 2000: 1-9.
- [4] 王兆慧. 蚕豆根尖细胞微核技术监测水体污染的研究[J]. 能源及环境, 2006, 21(5): 33-37.
- [5] 严建刚, 张名位, 杨公明, 等. 芹菜提取物的降血脂与抗氧化作用的研究[J]. 中国食品学报, 2005, 5(3): 1-4.
- [6] 丁晓雯, 李红, 王海燕. 环磷酰胺对蚕豆根尖细胞微核率的影响[J]. 食品科学, 2010, 31(1): 194-197.
- [7] 夏玲, 陈静, 丁晓雯. 葛花水提取液对蚕豆根尖细胞微核率的影响[J]. 食品与药品, 2008, 10(7): 13-15.

Effect of Water Extract of *Apium graveolens* on Micronucleus Rate of *Vicia Faba* Root Tip Cells

QIN Yong-yan, LIU Rui-xiang, TIE Jun, YANG Li-ting

(Department of Biological Science and Technology, Changzhi University, Changzhi, Shanxi 046011)

Abstract: Taking *Vicia faba* as experimental materials, using the method of micronucleus test in root tip cells, effect of water extract of *Apium graveolens* on micronucleus rate of *Vicia faba* root tips treated with cyclophosphamide and without cyclophosphamide were studied. The results showed that without cyclophosphamide, different concentrations of water extract of *Apium graveolens* did not induce the formation of micronucleus of *Vicia faba* root tips, average micronucleus rate had no significant change, the micronucleus index kept at around 1.3; with cyclophosphamide, water extract of *Apium graveolens* could effectively inhibit micronucleus rate of *Vicia faba* root tip cells induced by cyclophosphamide and the rate of inhibitions was 52% — 72%, which was in dose-effect relationship with the concentration of water extract of *Apium graveolens*, $r = 0.9048$. The inhibitory action of the water extract of *Apium graveolens* could be strengthened along with the increasing concentrations of itself, which indicated the water extract of *Apium graveolens* had some antimutation function.

Keywords: *Apium graveolens*; water extract; *Vicia faba*; micronucleus; cyclophosphamide