

高空气球搭载实验对普通鸡冠花 抗氧化作用的诱变效应

翁德宝¹ 汪海峰²

(1. 江苏教育学院生物化学教研室, 江苏 南京 210013; 2. 南京财经大学粮油食品检测中心, 江苏 南京 210003)

摘要: 利用高空气球搭载黄色普通鸡冠花(*Celosia argentea* L.) (yellow flower)种子, 进行空间诱变处理。飞行高度为40.112 km, 飞行时间近4 h, 回收后播种栽培, 采收子一代(SP₁)的花序和叶片。采用比色法研究搭载组和对照组花序、叶片水提液对超氧阴离子自由基(O₂⁻)和羟自由基(•OH)的清除作用, 并测定分析了样品的VC, 黄酮醇的含量和SOD活力。结果表明, 搭载组和对照组花序和叶片水提液均能降低•OH引发的还原型细胞色素C[Cyt•C(II)]氧化作用和O₂⁻对羟胺的氧化作用, 而搭载组样品水提取液清除活性氧的能力均比对照组显著提高, 这与其自由基清除剂含量和活力的增高有关。这说明高空环境诱变处理对鸡冠花中抗氧化活性物质的合成和抗氧化功能产生了显著效应。

关键词: 高空气球; 鸡冠花; 抗氧化作用

中图分类号: Q693

文献标识码: A

文章编号: 1005-3395(2004)04-0341-04

The Effect of High Altitude Treatment on Antioxidation Activity of Water Extract from *Celosia argentea* L. (Yellow Flower)

WENG De-bao¹ WANG Hai-feng²

(1. Department of Biochemistry, Jiangsu Education College, Nanjing 210013, China;

2. Anal & Test Center of Oil & Foodstuffs, Nanjing University of Finance & Economics, Nanjing 210003, China)

Abstract: The seeds of *Celosia argentea* L. (yellow flower) were carried by a high altitude balloon (CHAB) at an altitude of 40.112 km above sea level for about 4 hours. After the balloon returned on the ground, the treated seeds were stored for 8 months at 4°C and then sowed. The inflorescences and leaves of the first generation were used for water extraction. The effects of water extracts from inflorescences and leaves of treated and control plants on scavenging of superoxide radical (O₂⁻) and hydroxyl radical (•OH) were studied by colorimetric method, and the contents of Vitamin C, flavonol and the activity of SOD of all samples were determined. The results showed that the water extracts could reduce •OH induced oxidation of reductive Cyt•c (II) and inhibit O₂⁻ induced oxidation of hydroxylamine. The effects of water extracts from treated plants on scavenging active oxygen were more significant than those from the control, indicating that high altitude condition treatment could increase antioxidation activity in cockscombs.

Key words: High altitude balloon; *Celosia argentea* L.; Antioxidation

20世纪60年代以后, 国际上空间科学技术的发展日新月异, 随之也开创了空间植物学这一新兴的科学领域, 产生了一批诱变育种的科研成果。宇宙空间存在特殊的物理条件, 如高能重离子辐射、

超真空、微重力、超洁净等, 当植物种子经空间搭载、回收、种植后, 其形态、生理和遗传性状等均会发生不同程度的变化。目前, 有关卫星搭载农作物、花卉植物种子开展植物形态解剖、生长发育、遗传

收稿日期: 2003-09-01 接受日期: 2003-12-29

基金项目: 江苏省资源生物技术重点实验室开放研究基金资助

变异研究的报道较多^[1-3]。国内也曾报道利用高空气球搭载多种农作物种子,进行高空环境诱变处理,探索诱变育种的新途径^[4-7]。而通过高空气球搭载药用植物的种子,研究高空环境对药用植物体内次生代谢产物及其生物活性作用影响的报道尚未见到。

鸡冠花(*Celosia argentea* L.)为苋科青葙属一年生草本植物,原产非洲、亚洲热带地区,能入药也可供食用。我们长期开展了鸡冠花药食兼用的植物资源研究利用工作^[8-10]。在中国科学院空间科学与应用研究中心的支持协助下,我们选择了多个鸡冠花栽培品种的种子,搭载高空气球飞行,返地后进行培植,以探索高空环境对鸡冠花的诱变影响,曾研究了其植株内黄酮类化合物、籽油脂肪酸组分等次生代谢产物的变化^[11-13]。

现代营养科学更为重视食物的生理调节功能,尤其关注食物营养成分与抗肿瘤、抗衰老机理的相关联系,食物本身的抗氧化能力已成为评价食物营养保健价值的重要指标之一^[14]。目前,普遍认为能有效清除自由基的物质有两类,一类是抗氧化酶类,如超氧化物歧化酶(SOD),过氧化氢酶(CAT),谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)等,植物是天然 SOD 的良好来源;另一类是非酶类天然抗氧化剂,如 VC、VE、 β -胡萝卜素、黄酮类化合物等营养素和活性物质^[14]。

鸡冠花作为新型蔬菜的开发利用成果已经在农业生产中推广应用^[10],为了进一步选育具有较强抗氧化作用能力和良好营养保健价值的应用新品种,本实验研究高空气球搭载实验对鸡冠花抗氧化作用和抗氧化活性物质合成的诱变效应。

1 材料和方法

材料和处理 1997 年秋于江苏教育学院园地采集成熟的黄色普通鸡冠花(*Celosia argentea* L.) (yellow flower)种子。经精选后,于 1998 年 9 月 2 日随中国和德国空间科学合作项目:中德合作微重力试验搭载高空气球。试验种子用纸袋包装放置于 0.8 m×0.8 m×0.8 m 气球吊舱内并悬挂于 4×10⁵ m³ 高空气球下。舱内温度:-5~26℃。起飞地点:东经 114.68°,北纬 38.29°;降落地点:东经 114.85°,北纬 37.86°;平行飞行高度 40.112 km。飞行时间 3 h 54 min。此高度的大气结构参数为:气温 255~258 K,空气密度:3.972×10⁻³~3.443×10⁻³ kg m⁻³,压力 3.03 hPa^[15],地磁

刚度(GV)9.4,辐射流强为 0.6 e m⁻²s⁻¹[15]。该处重力加速度(g)为 9.67 m s⁻¹。

以地面 4℃保存的部分精选种子作对照组,播种前储藏了 8 个月。

培植 搭载种子落地回收后于 4℃储藏了 8 个月,次年春季将搭载组及对照组种子分别播种在江苏教育学院园地内进行育苗。5 月下旬取苗移栽,搭载组和对照组秧苗分植于 3 个重复小区,每小区移栽 30 株,生长期观察并记录其形态变化(另文报道),于 10 月中旬采收各组子一代(SP₁)鸡冠花的花序、叶片,除去花序中种子,自来水洗净后自然干燥,粉碎备用。

样品处理 分别取搭载组、对照组的花序、叶片各 2.00 g 干品,用 40 ml 双蒸水 35℃加热 2 h,浸提 3 次,合并浸提液,1 000×g 离心 20 min,取上清液,过滤,定容于 25 ml 容量瓶中,制成 4 种 8%的样品水提取液(每 ml 相当于 80 mg 样品),置于 4℃下备用。

实验方法 样品液对抗坏血酸体系产生的·OH 自由基的清除作用,按比色法^[16]测定。由于·OH 可使红色的还原型细胞色素 C[Cyt·C(II)]氧化褪色,根据褪色程度用比色法来衡量·OH 的含量。以样品液竞争性抑制·OH 引发的 Cyt·C(II)氧化作用的效应表示其清除·OH 的能力,测定 550 nm 处的吸光度 A 值。空白组以双蒸水代替样品液,对照组以双蒸水代替样品液、硫酸铜溶液和抗坏血酸溶液。清除效应(%)=(A_{样品}-A_{空白})/(A_{对照}-A_{空白})×100%。样品液对黄嘌呤-黄嘌呤氧化酶系统产生的 O₂⁻ 的清除作用,按羟胺氧化反应比色法^[17]测定。O₂⁻ 与盐酸羟胺反应生成 NO₂⁻,NO₂⁻ 再与对氨基苯磺酸和 α -萘胺产生显色反应,在 530 nm 处测定吸光度 A 值,根据 A 值的变化,检测样品液竞争性抑制 O₂⁻ 引发的羟胺氧化作用的效应,以表示其清除 O₂⁻ 的能力。空白组以双蒸水代替样品液。清除效应(%)=(A_{空白}-A_{样品})/A_{空白}×100%。根据不同用量的样品液对·OH、O₂⁻ 的清除率,分别绘制抑制效应曲线图(图 1),求出 CL₅₀(达到清除率 50%的用量)。样品液 SOD 活性测定采用亚硝酸盐法^[18]。蛋白质含量测定采用考马斯亮蓝法^[19],抗坏血酸(VC)含量的测定采用比色法^[19]。以上实验均采用南京建成生物工程研究所提供的试剂盒测定。样品黄酮醇含量测定采用 HPLC 法^[20]。上述各项实验,均 3 次重复,取平均值。

2 结果和分析

2.1 清除活性氧的能力

本实验中，利用抗坏血酸体系产生·OH自由基，利用黄嘌呤系统产生O₂⁻。图1表明，黄色普通鸡冠花搭载组和对照组的花序、叶片水提液均能抑制·OH引发的还原型细胞色素C[Cyt·C(II)]氧化

反应和O₂⁻对羟胺的氧化作用而引起的显色反应。随着样品水提液用量的增大，清除·OH和O₂⁻的效果也随之增强。搭载组的花序、叶片水提液对活性氧的清除能力均分别比对照组提高。从表1可以看出，在清除·OH和O₂⁻的有效功能方面，搭载组水提液的CI₅₀均比对照组低。显然，搭载组的两种样品水提液的有效抗氧化活性更为显著。

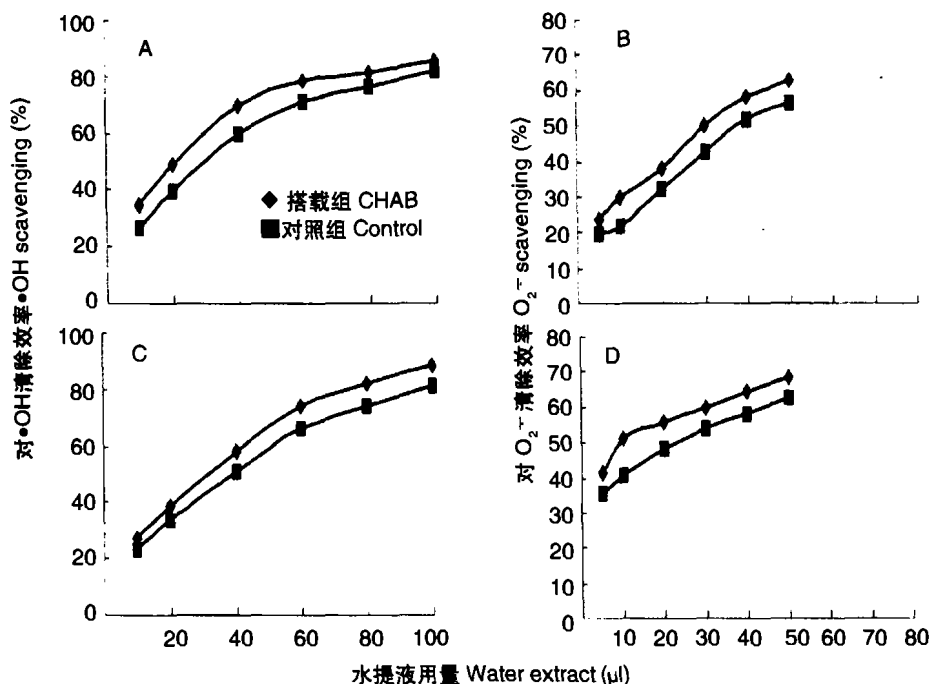


图1 鸡冠花花序(A、B)、叶片(C、D)水提液对自由基的清除效应

Fig.1 Scavenging effects of water extracts from *C. argentea* (yellow flower) inflorescences (A, B) and leaves (C, D) on ·OH and O₂⁻

CHAB: The seeds were carried by the high altitude balloon; Control: The seeds were kept on the ground.

表1 清除率达到50%的水提液用量(CI₅₀) (µl)

Table 1 Amount (µl) of water extract from inflorescences or leaves for half scavenging of ·OH and O₂⁻

样品水提液 Extracts	清除·OH Scavenging·OH		清除O ₂ ⁻ Scavenging O ₂ ⁻	
	搭载组 CHAB	对照组 Control	搭载组 CHAB	对照组 Control
花序 Inflorescence	23.1(1848)	32.6(2608)	30.2(2416)	40.1(3208)
叶 Leaf	32.5(2600)	39.8(3184)	9.6(768)	23.7(1896)

括号内数值为相当的样品重(µg)。The value in parentheses is the weight of sample, which unit is µg.

For CHAB see Fig. 1.

2.2 鸡冠花花序、叶水提液中抗氧化活性物质的比较

表2表明，黄色普通鸡冠花搭载组花序水提液的SOD活力比对照组增加了13.1%(p<0.05)，VC含量提高9.2%，黄酮醇含量(0.971%)比对照组(0.450%)增加了115.8%，达极显著差异(p<0.01)。鸡冠花搭载组叶片水提液SOD活力比对照组提高了21.9%，增幅较大(p<0.05)，VC含量比对照组增加了25.6%，增幅明显(p<0.05)，黄酮醇含量(0.197%)比对

照组(0.169%)提高了16.6%(p<0.05)。由此可见，搭载组样品水提液对活性氧的清除能力显著增强，和样品中天然抗氧化剂含量变化存在正相关的关系。

3 结论

实验结果表明，黄色普通鸡冠花对照组花序、叶片水提液显示一定的抗氧化作用(图1)。鸡冠花种

表 2 黄色普通鸡冠花抗氧化活性和含量
Table 2 The contents of Vitamin C, flavonol and SOD activity in cockscomb extracts

		SOD(U mg ⁻¹ protein)	VC(mg g ⁻¹ FW)	黄酮醇 Flavonol(%)
花序 Inflorescence	搭载组 CHAB	790.92±32.15a	0.0670±0.0041	0.971±0.034b
	对照组 Control	699.73±38.26	0.0613±0.0038	0.450±0.025
叶 Leaf	搭载组 CHAB	748.65±37.19a	0.1306±0.0063a	0.197±0.017a
	对照组 Control	614.05±31.09	0.1040±0.0055	0.169±0.019

a: P<0.05, b: P<0.01; For CHAB see Fig. 1.

子经高空气球搭载处理以后,其子一代植株内抗氧化活性物质 SOD、VC、黄酮类化合物的合成受到高空环境条件的诱变作用,其含量均有较明显的增加,从而进一步提高了鸡冠花花序、叶片清除活性氧的有效功能。作者先前的研究已经证实,由于空间生物学效应,搭载后的鸡冠花子一代植株花序中黄酮醇甙元的含量、子一代籽油中不同脂肪酸的合成均有明显变化^[11-13]。结合本研究的结果,可进一步确认,高空环境诱变处理能促使植物体内次生代谢产物,化学成分发生明显改变。这对于提高植物性食物的营养保健价值和生理调节功能以及药用植物有效药用成分含量,显然是一种有效技术。

致谢 中国科学院空间科学与应用研究中心对本项研究给予了宝贵支持和帮助,谨致谢意。

参考文献

- [1] Liu S H(刘世华), Zhao S P(赵淑萍), Xu Z X(徐昭玺). Progress in space botany research [J]. *ZiRan ZaZhi(自然杂志)*, 1999, 21(1): 19-23.(in Chinese)
- [2] Li J G(李金国), Wang P S(王培生), Zhang J(张健), et al. Development and prospect of plant mutation breeding induced by aviation and spaceflight in China [J]. *Space Med Med Eng(航天医学与医学工程)*, 1999, 12(6):464-468.(in Chinese).
- [3] Xue H(薛淮), Liu M(刘敏). Research progress in space plant mutagenetic biological effect and breeding [J]. *Bull Biol(生物学通报)*, 2002, 37(11):7-8.(in Chinese)
- [4] Chen F Y(陈芳远), Jiang X C(蒋兴邨), Lu S A(卢升安), et al. Effect of high space condition on rice genetic characters [J]. *Chin J Rice Sci(中国水稻科学)*, 1994, 8(1):1-8. (in Chinese)
- [5] Li J G(李金国), Wang P S(王培生), Han D(韩东), et al. Mutation effect of high altitude balloon flight on rice and green pepper seeds [J]. *Space Med Med Eng(航天医学与医学工程)*, 1997, 10(2): 79-83.(in Chinese)
- [6] Xu J L(徐建龙), Lin Y Z(林贻滋), Xi Y A(奚永安), et al. Study on space mutation breeding of rice [J]. *Acta Agri Nucl Sin(核农学报)*, 1997, 11(1):9-14.(in Chinese)
- [7] Li J G(李金国), Jiang G Y(姜国勇), Wang P S(王培生), et al. Studies on hereditary variations of millet seeds after high altitude balloon flight [J]. *Space Med Med Eng(航天医学与医学工程)*, 1999, 12(5):346-350.(in Chinese)
- [8] Weng D B(翁德宝), Guan D(管笛), Xu Y J(徐颖洁), et al. The analyses of nutritional components of *Celosia cristata* L. [J]. *Acta Nutri Sin(营养学报)*, 1995, 17(1):59-62.(in Chinese)
- [9] Weng D B(翁德宝), Xu Y J(徐颖洁). Evaluation on the protein quality of cockscomb seeds [J]. *J Trop Subtrop Bot(热带亚热带植物学报)*, 1999, 7(2):169-172.(in Chinese)
- [10] Weng D B(翁德宝). The developing and using achievement of *Celosia argentea* L.: fengyong greens [J]. *Chin Acad Med Mag Organ(中国医学生物技术应用杂志)*, 2002, 2(3):302-303. (in Chinese)
- [11] Weng D B(翁德宝), Wang H F(汪海峰). Effect of high altitude balloon flight on seed yield and fatty acid composition in seed oil of *Celosia cristata* L. [J]. *Chin J Trop Crops(热带作物学报)*, 2001, 22(3):78-84.(in Chinese)
- [12] Weng D B(翁德宝), Wang H F(汪海峰), Weng J Y(翁佳颖). Effect of the carrying test by high space balloon on flavonoids in the inflorescence of *Celosia cristata* L. [J]. *Acta Bot Boreal-Occid Sin(西北植物学报)*, 2002, 22(5):1158-1164.(in Chinese)
- [13] Wang H F(汪海峰), Weng D B(翁德宝). Effect of high-altitude environment on the fat content and fat acid compositions in *Celosia cristata* L. seed [J]. *J Chin Cereals Oils Assoc(中国粮油学报)*, 2002, 17(1):59-62.(in Chinese)
- [14] Yu S Y(于守洋), Wang Y L(王雅凌), Yu Y L(余永龙). *Nutriology and Healthy Foods* [M]. Haerbing: Heilongjiang People Press, 1996. 162-167, 184-186.(in Chinese)
- [15] 陈芳允, 贾乃华. 卫星测控手册 [M]. 北京: 科学出版社, 1992. 64.
- [16] Wang C L(王成莲), Liu L(刘莉). Colorimetric determination of hydroxyl radicals from ascorbate reaction system [J]. *Progr Biochem Biophys(生物化学与生物物理进展)*, 1989, 16(6):473-475.(in Chinese)
- [17] Wang A G(王爱国), Luo G H(罗广华). Quantitative relation between the reaction of hydroxylamine and superoxide anion radicals in plants [J]. *Plant Physiol Comm(植物生理学通讯)*, 1990, (6):55-57.(in Chinese)
- [18] Ji J P(季建平), Wu Z B(吴再彬), Liu Q S(刘岐山), et al. An ultramicroanalytic and rapid method for determination of superoxide dismutase activity [J]. *J Nanjing Railway Med Coll(南京铁道医学院学报)*, 1991, 10(1):27-30.(in Chinese)
- [19] Li J W(李建武), Xiao N G(萧能庚), Yu R Y(余瑞元), et al. *Biochemistry Experiment Principles and Methods* [M]. Beijing: Beijing University Press, 1994. 174-176, 302-304. (in Chinese)