

野菊花水提物对果蝇热耐受能力的影响

Effect of water extract from *Flos Chrysanthemi Indici* on heat tolerance of *drosophila melanogaster*

郑艺欣 李奕君 林 埔 孔祥佳 谢 勇

ZHENG Yi-xin LI Yi-jun LIN Pu KONG Xiang-jia XIE Yong

(福建中医药大学药学院, 福建 福州 350122)

(School of Pharmacy, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou, Fujian 350122, China)

摘要:为了研究野菊花对机体热耐受能力的影响,选取 1%, 3%, 5% 和 7% 浓度的野菊花水提物(WE-FCI)喂养果蝇,进行热暴露试验和热适应试验。结果表明:在热暴露试验中,不同浓度的野菊花水提物均可显著延长雌性果蝇的半数致死时间(LT_{50})、平均存活时间(T)及最高存活时间(T_{max}),当 WE-FCI 浓度 $\geq 3\%$ 时才能提高雄性果蝇的热耐受能力;在热适应试验中,不同浓度 WE-FCI 对果蝇热耐受指标的影响无明显规律,整体上 3% WE-FCI 能够稳定提高果蝇的 LT_{50} 、 T 及 T_{max} 。说明野菊花具有提高机体热耐受能力的作用,该结果为野菊花消暑饮料的研发提供了科学依据。

关键词:野菊花;水提物;热暴露试验;热适应试验;果蝇

Abstract: In order to investigate the effect of water extract from *Flos Chrysanthemi Indici* (WE-FCI) on the heat tolerance of organism, *drosophila melanogaster* was feed with 1%, 3%, 5%, 7% WE-FCI, respectively, to conduct heat exposure test and heat acclimatization test. The results showed: In heat exposure test, WE-FCI could significantly prolong the median lethal time (LT_{50}), the average survival time (T) and the maximum survival time (T_{max}) of female *drosophila melanogaster*, which were compared to HE-control group; When the concentration of WE-FCI was $\geq 3\%$, it would improve the heat tolerance of male *drosophila melanogaster*. Under heat acclimatization test, different concentrations of WE-FCI influencing the *drosophila melanogaster*'s heat tolerance index had no obvious regulation; In the whole, 3% WE-FCI could stably improve the LT_{50} , T and T_{max} of *drosophila melanogaster*. It suggested that FCI can increase the heat tolerance of *drosophila melanogaster* exposed to high temperature environment, which can provide scientific basis for the research and development of FCI heat-relieving drink.

Keywords: *Flos Chrysanthemi Indici*; water extract; heat tolerance;

基金项目:福建省科技厅高校产学研合作项目(编号:2016Y4006)
作者简介:郑艺欣,男,福建中医药大学在读本科生。
通讯作者:谢勇(1976—),男,福建中医药大学副教授,博士。
E-mail: xieyong824@126.com
收稿日期:2016—06—06

heat exposure test; *drosophila melanogaster*

野菊花(*Flos Chrysanthemi Indici*, FCI)是可药食两用的菊科植物,味苦辛、性凉,富含黄酮、绿原酸以及挥发性化合物等活性物质,具有抗氧化、抗炎免疫、抗肿瘤等功效^[1-3]。传统医学认为野菊花具有疏风清热、消肿解毒、清火解暑的功效^[4],常用于配制解暑的凉茶。然而,关于野菊花“解暑作用”的药理研究尚未见报道,急需进一步研究与验证。目前,消暑功能的评价主要是通过动物试验,以提高动物热耐受能力为指标。果蝇具有繁殖速度快、生命周期短以及可大规模筛选等优点^[5-6],常用于热耐受(解暑)动物模型的研究^[7]。例如,张玖等^[7]研究表明金银花及其水提物可以显著提高果蝇的热耐受能力,证实其防暑作用;郭俊生等^[8]研究热暴露和热习服(热适应)对果蝇寿命和 HSP70 的影响,其结果中提及苦丁茶和红茶提取液可以显著提高热暴露果蝇的存活时间(增幅 22.13%, 18.85%);李向辉等^[9]将苦丁茶与微量元素、维生素复合制成强化苦丁茶饮料,其具有提高热暴露果蝇耐热力的作用,为研制新型防暑饮料提供依据。因此,本研究拟以野生型黑腹果蝇为试验对象,开展热暴露试验(Heat Exposure, HE)和热适应(Heat Acclimatization, HA)试验,研究野菊花水提物(Water Extract from FCI, WE-FCI)对果蝇热耐受能力的影响,以期进一步完善对野菊花功效的认识。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

果蝇(W[1118]; P{w[tmc]y[tmDint2]=Ep 8y23} EY05008):由厦门海洋三所提供;
野菊花、玉米粉、蔗糖:市售;
琼脂粉、丙酸、酵母粉等均为分析纯;
基础培养基:玉米粉 17 g,蔗糖 13 g,琼脂粉 1.5 g,蒸馏水 130 mL,酵母粉 1.5 g,丙酸 0.8 mL。

1.2 培养基的制备

采用热水浸提法制备 1%,3%,5%,7% 野菊花水提取物(按干物质计),浸提时间为 30 min。分别将基础培养基中 130 mL 蒸馏水等量替换不同浓度的菊花水提取物,对应 1% WE-FCI 组、3% WE-FCI 组、5% WE-FCI 组和 7% WE-FCI 组。以基础培养基为空白对照组。

1.3 热暴露试验

随机选取 10 h 内羽化未交配的果蝇,雌雄分开,移入基础培养基中培养,3 d 后分别移入各组培养基继续培养 3 d。培养条件:温度 26 ℃,湿度 50%,暗:光=12 h:12 h,50 只/瓶。将 7 日龄果蝇移入空瓶后暴露于(36±1)℃ 高温中,每隔 15 min 观察并记录果蝇的存活情况,计算半数致死时间(LT_{50})、平均存活时间(T)和最高存活时间(T_{max})^[8,10]。

- (1) LT_{50} : 每组中果蝇死亡数量达到一半所用的时间;
- (2) T : 每组全部果蝇死亡时间的加权平均值;
- (3) T_{max} : 每组最后 30 min 内果蝇死亡时间的加权平均值。

1.4 热适应试验

随机选取 10 h 内羽化未交配的果蝇,雌雄分开,移入基础培养基中培养,3 d 后分别移入各组培养基中培养 3 d,除 HE-空白对照组外其余各组果蝇每天于(36±1)℃ 高温中热适应 30 min。培养条件:温度 26 ℃,湿度 50%,暗:光=12 h:12 h,50 只/瓶。随后,将果蝇移入空瓶中暴露于(36±1)℃ 高温中,每隔 15 min 观察并记录果蝇的存活情况,计算 LT_{50} 、 T 和 T_{max} ^[9]。

1.5 数据统计与分析

上述试验平行测定 6 次,试验数据以平均值±标准差表示,单因素方差分析采用 DPS 软件 LSD 法,使用 Excel 作图。

2 结果与分析

试验过程中,试验组与对照组果蝇精神状态良好,未见不良反应或异常死亡现象。这说明野菊花水提取物(WE-FCI)对果蝇健康无危害,可以继续下一步研究。

2.1 热暴露试验

图 1~3 分别为野菊花水提取物(WE-FCI)对热暴露试验中果蝇 LT_{50} 、 T 及 T_{max} 值的影响。就雌性果蝇而言,随着 WE-FCI 浓度的增大,高温下果蝇 LT_{50} 和 T 呈先升后降的趋势,浓度为 5% 时达到最大,分别是 HE-空白对照组的 1.38 倍和 1.45 倍;与 HE-空白对照组相比,不同浓度的 WE-FCI 均可显著提高果蝇的 T_{max} ,但是浓度≥3% 后各试验组组间差异不显著($P>0.05$)。就雄性果蝇而言,相比于 HE-空白对照组,WE-FCI 浓度为 1% 时,不影响果蝇的 LT_{50} 、 T 及 T_{max} 值;其浓度≥3% 才对果蝇的热耐受指标产生显著影响($P<0.05$),浓度为 7% 处达到最大,分别比 HE-空白对照高出 13.46%,14.16%,24.19%。另外,与雌性果蝇相比,WE-FCI 雄性果蝇存活时间的增幅作用较小。这可能与机体本身的性别差异有关,研究^[11]表明,在高温或低温下生物的热耐受能力会降低,但是雌性果蝇的热耐受能力高于雄性果蝇。

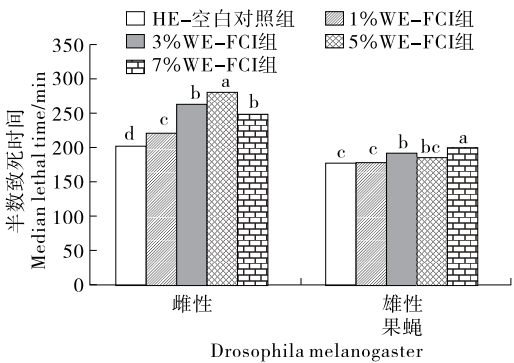


图 1 野菊花水提取物对热暴露试验中果蝇 LT_{50} 的影响
Figure 1 Effect of WE-FCI on LT_{50} of *Drosophila melanogaster* in heat exposure test

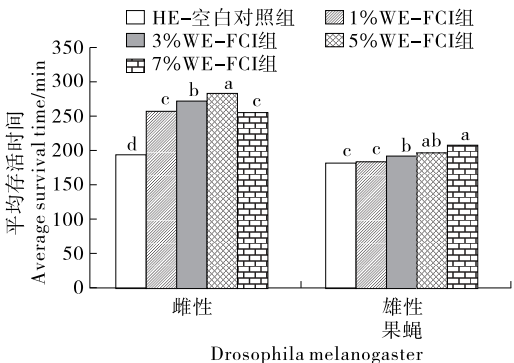


图 2 野菊花水提取物对热暴露试验中果蝇 T 的影响
Figure 2 Effect of WE-FCI on T of *Drosophila melanogaster* in heat exposure test

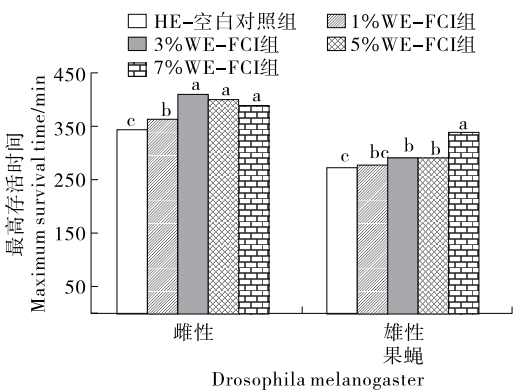


图 3 野菊花水提取物对热暴露试验中果蝇 T_{max} 的影响
Figure 3 Effect of WE-FCI on T_{max} of *Drosophila melanogaster* in heat exposure test

综上所述,相比于 HE-空白对照组,不同浓度的 WE-FCI 可显著延长热应激下雌性果蝇的寿命,浓度≥3% 的 WE-FCI 对雄性果蝇的存活时间具有提高作用。结果表明,一定剂量的野菊花水提取物具有提高机体热耐受能力的作用,提示其具有开发野菊花消暑饮料的潜力。

2.2 热适应试验

生物对不利生存环境应力的适应性对物种的生存和进

化至关重要。研究^[11-12]表明,热适应作用可以增强果蝇的适应性能力,前期热适应处理果蝇能够提高热应激下果蝇的存活率,甚至延长果蝇的寿命或降低衰老速率。图 4~6 分别为野菊花水提物对热适应试验中果蝇 LT_{50} 、 T 及 T_{max} 的影响,结果显示,热适应处理的雌性果蝇(HA-空白对照组)

的 LT_{50} 、 T 及 T_{max} 明显高于未热适应处理的雌性果蝇(HE-空白对照组),表明热适应处理能够提高机体的适应性能力,降低热应激下果蝇的死亡率,这与上述的论述一致;但是,对雄性果蝇来说,对照组与空白组的热耐受指标的差异不显著($P>0.05$),表明热适应处理不会影响热应激下雄性果蝇的热耐受能力,引起该现象的原因有待进一步研究。

另外,由图 4 可知,相比于 HA-空白对照组,WE-FCI 浓度为 1% 时,对果蝇的 LT_{50} 值影响不显著;浓度为 3%、5% 时,可以显著提高果蝇的 LT_{50} 值;浓度为 7% 时,对雌性果蝇的 LT_{50} 值有提高作用,对雄性果蝇的 LT_{50} 值无显著性影响($P>0.05$)。WE-FCI 对果蝇 T 值的影响(图 5)与 LT_{50} 值的相似,与 HA-空白对照组相比,WE-FCI 浓度高于 3% 时可以显著提高果蝇的 T 值($P<0.05$)。图 6 显示,1%~7% WE-FCI 可以显著延长雌性果蝇的 T_{max} ,但是没有明显的剂量一效应关系,3% 和 7% WE-FCI 的效果较好,分别比 HA-空白对照组高出 11.51% 和 12.39%;相比于 HA-空白对照组,1% WE-FCI 未能延长雄性果蝇的 T_{max} ,3% WE-FCI 对雄性果蝇 T_{max} 的影响最为显著,但随着浓度的增大,其影响作用减弱。

综上,相比于 HA-空白对照组,在热适应作用下,3% WE-FCI 能够显著提高果蝇的热耐受能力,浓度过低或过高其作用效果减弱。认为,在热适应试验中,不同浓度的 WE-FCI 对果蝇 LT_{50} 、 T 及 T_{max} 的影响与热暴露试验的结果有所出入,可能与热适应改变其影响果蝇热耐受能力的作用途径有关,具体的作用机制尚未明确。

3 结论

热暴露试验和热适应试验结果表明:一定浓度的 WE-FCI 可以延长果蝇的存活时间,具有提高果蝇热耐受能力的作用,浓度过低或过高其作用效果减弱。在热适应作用下,不同浓度的 WE-FCI 对果蝇 LT_{50} 、 T 及 T_{max} 的影响与热暴露试验结果有所不同,可能与其作用途径改变有关。WE-FCI 影响果蝇热耐受能力的作用机制尚未明确,有待进一步探讨与研究。

参考文献

[1] LI Xi-can, HU Qiu-ping, JIANG Shu-xia, et al. Flos *Chrysanthemi Indici* protects against hydroxyl-induced damages to DNA and MSCs via antioxidant mechanism [J]. Journal of Saudi Chemical Society, 2015, 19(4): 454-460.

[2] 曹小燕, 杨海涛. 野菊花总黄酮清除自由基的活性[J]. 江苏农业科学, 2014(10): 307-309.

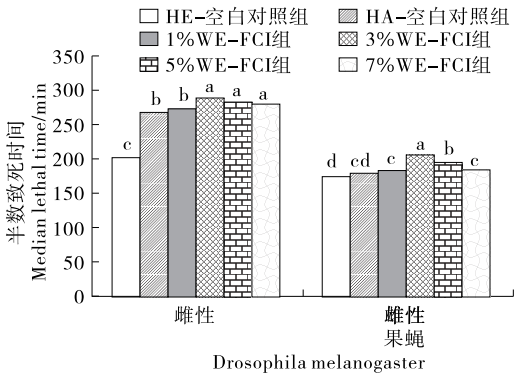
[3] 施剑明, 殷娉娉, 殷明, 等. 野菊花总黄酮联合顺铂对人骨肉瘤 MG-63 细胞抑制作用[J]. 中成药, 2014, 36(10): 2 013-2 017.

[4] 江苏新医学编. 中药大辞典[S]. 上海: 上海科学技术出版社, 1986: 2 128.

[5] 万永奇, 谢维. 生命科学与人类疾病研究的重要模型——果蝇[J]. 生命科学, 2006(5): 425-429.

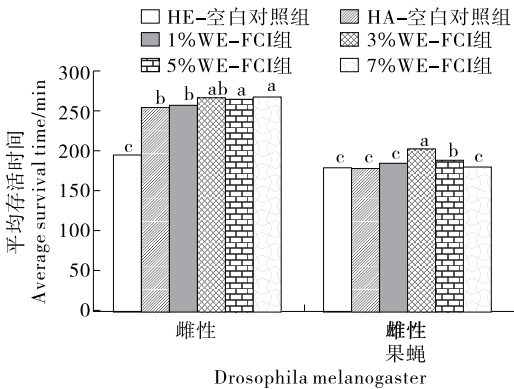
[6] PARKASH R, RANGA P, AGGARWAL D D. Developmental acclimation to low or high humidity conditions affect starvation and heat resistance of *Drosophila melanogaster* [J]. Comparative Biochemistry and Physiology, 2014, 175: 46-56.

(下转第 171 页)



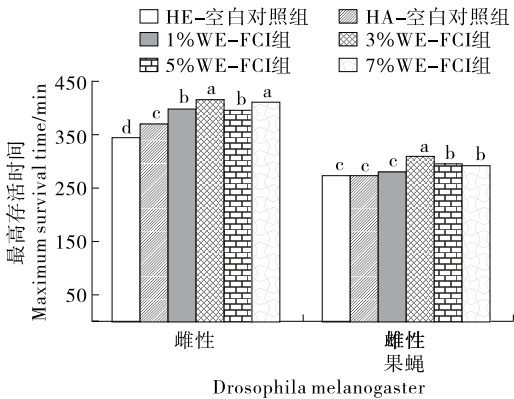
同一列中字母不同表示差异性显著, $P<0.05$

图 4 野菊花水提物对热适应试验中果蝇 LT_{50} 的影响
Figure 4 Effect of WE-FCI on LT_{50} of *Drosophila melanogaster* in heat hardening test



同一列中字母不同表示差异性显著, $P<0.05$

图 5 野菊花水提物对热适应试验中果蝇 T 的影响
Figure 5 Effect of WE-FCI on T of *Drosophila melanogaster* in heat hardening test



同一列中字母不同表示差异性显著, $P<0.05$

图 6 野菊花水提物对热适应试验中果蝇 T_{max} 的影响
Figure 6 Effect of WE-FCI on T_{max} of *Drosophila melanogaster* in heat hardening test

69 min,平菇多糖的平均得率为 36.71%。与传统方法相比,本试验方法不仅大幅提高了多糖得率,缩短了提取时间,还能节能减排,可为平菇多糖的开发利用及其工业化生产提供参考。

本研究提供了一种平菇多糖超声协同酶法辅助提取的高效方法,但该方法所得平菇多糖的纯化、结构鉴定及其生物活性还有待进一步研究。

参考文献

[1] LOWE J B, MARTH J D. A genetic approach to Mammalian glycan function[J]. Annual Review of Biochemistry, 2003, 72 (1): 643-691.

[2] 林俊,李萍,陈靠山. 近 5 年多糖抗肿瘤活性研究进展[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(8): 1 116-1 125.

[3] 薛菁,吴晓彤,王颖超,等. 超声波辅助提取口蘑菌丝体多糖工艺优化[J]. 食品与机械, 2016, 32(1): 172-174.

[4] 朱彩平,李波. 超声波辅助提取平菇多糖的工艺研究[J]. 中药材, 2009, 32(10): 1 620-1 622.

[5] BAO Xing-feng, WANG Xue-song, DONG Qun, et al. Structural features of immunologically active polysaccharides from Ganoderma lucidum[J]. Phytochemistry, 2002, 59(2): 175-181.

[6] CARBONERO E R, GRACHER A H P, KOMURA D L, et al. Lentinus edodes heterogalactan: Antinociceptive and anti-

inflammatory effects[J]. Food Chemistry, 2008, 111(3): 531-537.

[7] WASSER S. Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides[J]. Applied Microbiology & Biotechnology, 2002, 60(3): 258-274.

[8] YANG Qi, HUANG Bo, LI Hui-yan, et al. Gastroprotective activities of a polysaccharide from the fruiting bodies of Pleurotus ostreatus in rats[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2012, 50(5): 1 224-1 228.

[9] 王金玺. 平菇多糖分离纯化、结构表征与修饰及抗氧化性的研究[D]. 扬州: 扬州大学, 2013.

[10] 朱彩平,高贵田,李建科,等. 相应曲面法优化微波辅助提取平菇多糖工艺研究[J]. 食品科学, 2010, 31(4): 68-72.

[11] 朱彩平,惠乐乐,柳小林,等. 酶法提取平菇多糖工艺研究[J]. 中成药, 2011, 33(8): 1 435-1 438.

[12] 常双艳,蓝炎阳,王少峰. 多糖提取纯化方法及其生物活性研究进展[J]. 福建热作科技, 2013, 38(4): 34-38.

[13] 王亚飞,毕红梅. 超声波法提取香菇多糖的研究[J]. 内蒙古科技与经济, 2004(S1): 124-125.

[14] 曹雁平,刘佐才. 植物成分超声浸取研究现状[J]. 化工进展, 2005, 24(11): 1 249-1 252.

[15] 郭丹琼,郑威,马海乐,等. 超声波辅助提取樟芝菌丝体活性物质的工艺研究[J]. 食品与机械, 2016, 32(1): 158-161, 178.

[16] 张立娟,于国萍,周国华. 黑木耳多糖酶法提取条件的研究[J]. 食品研究与开发, 2005, 26(3): 89-91.

(上接第 90 页)

参考文献

[1] 中研普华公司. 2014-2018 中国净水器行业市场深度调研及投资价值分析研究报告 [EB/OL]. (2014-05-24) [2016-05-21]. <http://www.chinairn.com/report/20140524/110133553.html>.

[2] 徐春中,邱月堂,胡文慧. 谈生活饮用水水质问题[J]. 水利天地, 1998(6): 37-39.

[3] 徐广伟,郭元生,陈继华. 刍议我国水域污染反弹问题的根治措施[J]. 水利发展研究, 2004, 4(11): 27-29.

[4] 孙海林,李巨峰,朱媛媛,等. 我国水质在线监测系统的发展与展望[J]. 中国环保产业, 2009(2): 14-19.

[5] 邓谊柏,徐勇,苏志辉,等. 基于 ATmega16L 的净水机控制系统的设计[J]. 硬件纵横, 2010(7): 13-17.

[6] 施娟琴. 可监测水质的净水机: 中国, 200420043312.2[P]. 2005-02-23.

[7] 冯勋. 基于 CDMA2000 的水质远程智能化监测系统[D]. 西安: 西安邮电大学, 2015: 9-10.

(上接第 143 页)

[7] 张玖,戴艳玲. 金银花及其水提取物对果蝇耐热能力的影响[J]. 中国野生植物资源杂志, 1997(3): 33-34.

[8] 郭俊生,赵法,王枫,等. 热暴露对果蝇寿命及热应激蛋白(Hsp70)含量的影响[J]. 解放军预防医学杂志, 1998(4): 247-249.

[9] 李向辉,郭俊生,赵法,等. 强化苦丁茶提高热耐受能力的观察[J]. 解放军预防医学杂志, 2001, 19(2): 92-94.

[10] VILLEPONTEAU B, MATSAGAS K, NOBLES A C, et al. Herbal supplement extends life span under some environmental

[8] 中国卫生部,中国国家标准委员会. GB5749—2006 生活饮用水卫生标准[S]. 北京: 中国标准出版社, 2006.

[9] 王芳. 热电阻式温度传感器的测量原理及应用[J]. 黑龙江冶金, 2007(2): 33-35.

[10] 李新娥. 一种新型的电容式压力传感器研究[J]. 兵工学报, 2011(4): 38-42.

[11] 张学庆. 流量测量意义及流量传感器现状[J]. 石油化工自动化, 2005(5): 120-122.

[12] 吴巍. 基于电导率机理的智能化水质检测仪设计[Z]. 杭州: 浙江大学系统工程研究所, 2006: 39-41.

[13] 王学艳,张忠萍. 基于电导率与 TDS 及全盐量的关系研究[J]. 黑龙江水利科技, 2008, 36(1): 7.

[14] 王翥,郝晓强,魏德宝. 基于 WSN 和 GPRS 网络的远程水质监测系统[D]. 哈尔滨工业大学, 2010: 48-50.

[15] 蔡志明,卢传富,李立夏. 精通 Qt4 编程[M]. 2 版. 北京: 电子工业出版社, 2013: 241-278.

conditions and boosts stress resistance[J]. PLoS One, 2015, 10 (4): 0 119 068-0 119 087.

[11] STEPHANIE S B, VANESSA K, NEDA N M, et al. Temperature and photoperiod affect stress resistance traits in Drosophila melanogaster[J]. Physiological Entomology, 2014, 39(3): 237-246.

[12] LETICIA N A, PABLO S, ALEJANDRA C S, et al. Survival of heat stress with and without heat hardening in Drosophila melanogaster: interactions with larval density [J]. The Journal of Experimental Biology, 2012, 215(13): 2 220-2 225.