

镍对蚕豆根尖细胞的遗传毒性效应

刘文海, 冯 涛, 何 艳, 彭喜旭, 王海华

(湖南科技大学生命科学学院, 湖南 湘潭 411201)

摘 要:采用蚕豆根尖细胞微核试验,研究了不同浓度硝酸镍($5\sim5\,000\,\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)对蚕豆根尖生长、细胞有丝分裂指数(MI)、微核率以及染色体畸变的影响,以此评价镍的遗传毒性和蚕豆根尖微核技术应用于镍污染检测的可行性。结果表明, $5\,\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 镍显著促进根的生长,提高有丝分裂指数,对微核形成和染色体畸变无明显影响。在 $10\sim5\,000\,\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 镍浓度范围,蚕豆根的生长受阻,有丝分裂指数下降,表现出明显的剂量-效应关系;微核率和染色体畸变率先升高,且呈明显的剂量-效应关系,分别于 $100\,\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $50\,\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 达到最大值;随着镍浓度的增加,两者均下降,但仍显著高于对照。镍引起的染色体畸变以染色体断片和落后染色体为主。这些结果表明,镍能诱导蚕豆根尖细胞微核的产生和染色体畸变,具有一定的遗传毒性;同时表明,在 $5\sim500\,\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度范围内,蚕豆根尖微核检测体系可应用于镍污染的监测。

关键词:镍;遗传毒性;微核;有丝分裂指数;染色体畸变;蚕豆

中图分类号:X503.231 **文献标识码:**A **文章编号:**1672-2043(2008)05-1951-05

Genotoxic Effects of Nickel on Root Tip Cells of *Vicia faba* L.

LIU Wen-hai, FENG Tao, HE Yan, PENG Xi-xu, WANG Hai-hua

(School of Life Sciences, Hunan University of Science and Technology, Xiangtan 411201, China)

Abstract: Nickel is one of the most toxic environmental pollutants affecting genetically the various organisms. In order to evaluate the genotoxicity of nickel and the feasibility of nickel pollution detection by *Vicia faba*-micronucleus test, we examined the growth, mitotic index, rate of micronuclei formation and chromosome aberrations in root tip cells of *Vicia faba* L. after exposure to different concentrations of nickel nitrate ranging from 5 to 5 000 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$. The results showed that nickel enhanced significantly the growth of root tip cells and mitotic index, but had no evident effects on the formation of micronuclei and chromosome aberrations at low concentration of 5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$. However, higher concentrations of $10\sim5\,000\,\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ nickel decreased the growth of root tip cells and mitotic index with significant dose-effect relationship. The rate of micronuclei and chromosome aberrations was increased dose-dependently, reaching the maximum values at $100\,\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ and $50\,\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, respectively, followed by a drop with the increase of nickel concentrations, however, both higher than those of the control. Fragmental and lagging chromosomes were predominant in chromosome aberrations caused by nickel. These results indicate that nickel exerts genotoxicity to root tip cells of *Vicia faba* L. to a certain degree, as shown by micronucleus formation and chromosome aberrations. The results also indicate that *Vicia faba*-micronucleus test is feasible for detection of nickel pollution in environment at certain concentrations ranging from 5 to 500 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$.

Keywords: nickel; genotoxicity; micronucleus; mitotic index; chromosome aberration; *Vicia faba* L.

镍是对环境具有潜在毒性的重金属,广泛应用于钢铁合金、电镀、电池、油脂加氢催化等工业,工厂的废水与废渣对周围的土壤、水体造成不同程度的污染;另外,土壤风化、化石燃料的燃烧、大气降水、含镍

废水灌溉和农田施肥也加剧了土壤镍污染的范围与程度^[1,2]。目前,人们对植物遭受镍毒害的生理研究较多。植物最普遍的镍毒害形态和生理症状是叶片失绿,光合作用和呼吸作用速率下降,营养吸收和氮素利用水平降低,生长和种子萌发受抑,细胞氧化损伤^[1,3]。生长在重金属污染土壤的植物可以积累不同化学形式的重金属,通过食物链传递给人和动物。镍具有潜在的致癌性,长期接触镍的人群易患鼻腔癌和肺癌^[4]。资料表明,镍的致癌性可能与遗传毒性有关。在人和动

收稿日期:2008-01-12

基金项目:国家 863 计划资助项目(2005AA219040)

作者简介:刘文海(1967—),男,实验师,主要从事遗传学与实验技术的研究。

通讯作者:王海华 E-mail:haihuaawxt@163.com

物中,镍能影响细胞的正常分裂,诱发 DNA 单链断裂、DNA 与蛋白交联,姊妹染色单体交换,使染色体在复制过程中产生损伤,出现微核、染色体断片、染色体桥等变异^[5-7]。但镍对植物细胞遗传毒性的研究尚不多见。

微核主要由细胞分裂过程中落后的染色体和染色体断片所形成。因此,微核率的高低可反映遗传损伤的程度。目前,微核检测技术已成为评价包括重金属在内的环境污染物毒性的有效方法^[8]。常见的微核检测体系有动物细胞体系(如人外周血淋巴细胞、鼠骨髓细胞体系)和植物细胞体系(如紫露草四分体、蚕豆根尖细胞和大蒜根尖细胞)。蚕豆根尖细胞微核技术因材料方便、培养简单、技术容易掌握等优点,已成为可替代动物细胞体系检测环境污染物毒性的标准方法^[9]。国内外学者运用该体系对 Cd、Hg、Zn、Mn、Cu、Cr 和铀(U)等重金属的遗传毒性和污染监测进行了探讨^[8,10-13],但未见该体系用于镍遗传毒性和污染效应检测的报道。为此,本文研究不同浓度镍对蚕豆根尖细胞有丝分裂指数、微核率以及染色体畸变的影响,以此评价镍的遗传毒性和污染效应,为蚕豆根尖微核技术应用于镍污染检测提供一定的理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料与试剂

普通高产黄皮蚕豆(*Vicia faba* L.),购自湘潭市种子公司。Ni(NO₃)₂ 为国产分析纯。

1.2 材料培养与处理

挑选子粒完整无损、大小均匀的蚕豆种子,用自来水冲洗干净,蒸馏水浸种 2 d(每 8 h 换一次水),置于 25 ℃、90%~95%湿度的人工气候箱中培养(黑暗)。待根尖生长到 1~2 cm 时,将其分成 8 组,分别用不同浓度的 Ni(NO₃)₂(表 1)和蒸馏水浸泡处理 4 h,然后用蒸馏水冲洗 3 遍,去除根尖表面 Ni(NO₃)₂ 残余,恢复培养 24 h,测量各组根的长度。

表 1 实验分组与 Ni²⁺处理浓度

Table 1 The concentration of Nickel and experimental grouping

组别	I (对照组)	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
Ni ²⁺ 浓度/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	0	5	10	50	100	500	1 000	5 000

1.3 制片与观察

切取根尖(2 cm),用卡诺氏固定液固定 24 h。随后,用 90%、80%和 70% 3 个梯度浓度的乙醇漂洗。采用根尖染色体压片法,经过水解、漂洗、软化、漂洗、染

色、压片、制片等过程将各组蚕豆根尖分别制成永久装片。每组观察 10 个根尖,每个根尖观察 1 000 个细胞,统计分裂指数(MI)、微核千分率和染色体畸变率。用 NDM-2003 数码显微镜互动系统对微核和发生染色体畸变的细胞进行显微摄影。

1.4 统计方法

采用 SPSS 11.5 软件进行方差分析,Microsoft Excel 2003 作图。

2 结果与分析

2.1 镍对蚕豆根的生长与有丝分裂指数(MI)的影响

镍处理恢复培养 24 h 后对蚕豆根的长度进行了测量,结果见图 1A。不同浓度镍对蚕豆根生长的影响不同。5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 镍显著促进根的生长($P<0.05$);10~5 000 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 镍抑制根的生长,其中 10 和 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 镍与对照无显著差异,随着镍浓度的增大(500~5 000 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$),根的生长极显著受阻($P<0.01$)。

图 1B 表明,随镍浓度的增加,根尖细胞 MI 先快速上升,然后逐渐下降。当镍浓度为 5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,MI 极显著上升($P<0.01$);当镍浓度达到 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,MI 开始下降;随着镍浓度继续增加,MI 显著减低(50~100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, $P<0.05$;500~5 000 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, $P<0.01$);到 5 000 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,基本上看不到分裂相细胞。MI 的降低表现出明显的剂量效应。这表明镍能阻止根尖细胞进入有丝分裂态,抑制细胞的分裂。

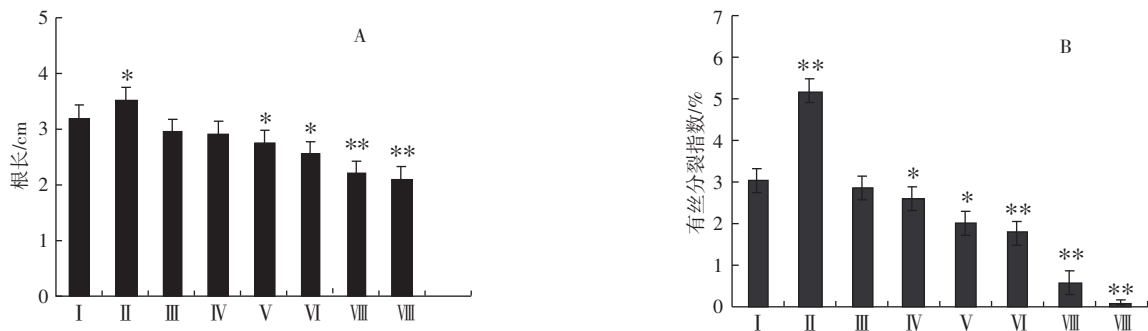
从图 1 还可以看出,镍处理下根的生长与有丝分裂指数的变化趋势类似,统计分析表明,两者呈显著正相关,回归方程为: $y(\text{根长})=0.310\ 3x(\text{MI})+2.249\ 1$, $r=0.981\ 1$, $df=7$, $P<0.01$ 。

2.2 镍对蚕豆根尖细胞微核形成的影响

图 2A 表明,5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 镍处理的蚕豆根尖细胞微核率与对照无显著差异。随着镍浓度增大,其余各组的微核率上升,与对照比均呈极显著差异($P<0.01$),这表明当浓度超过一定范围时,镍明显诱导了蚕豆根尖细胞微核的发生。在 10~500 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 镍浓度范围,微核率的上升呈现明显的剂量-效应关系。镍浓度为 500 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,微核率至最大值;当镍浓度分别为 1 000 和 5 000 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,微核率反而下降。

镜检发现,在镍处理的细胞中,有不同分裂时期的微核出现(图 3 A-E),也有部分细胞出现双微核(图 3 F),微核以间期居多,其次是前期与中期,后期和末期出现较少。

2.3 镍对蚕豆根尖细胞染色体畸变的影响



I-VIII为各组处理,见表1。*,** 分别表示与对照有 $P<0.05$, $P<0.01$ 的显著差异,下同。

I-VIII indicate the groups of treatments as shown in table 1. *,** represent significant difference from the control at $P<0.05$, $P<0.01$, respectively.

图 1 镍对蚕豆根的生长(A)与根尖细胞有丝分裂(B)的影响

Figure 1 The effect of nickel on root growth and mitosis index of root tip cells in *Vicia faba* L.

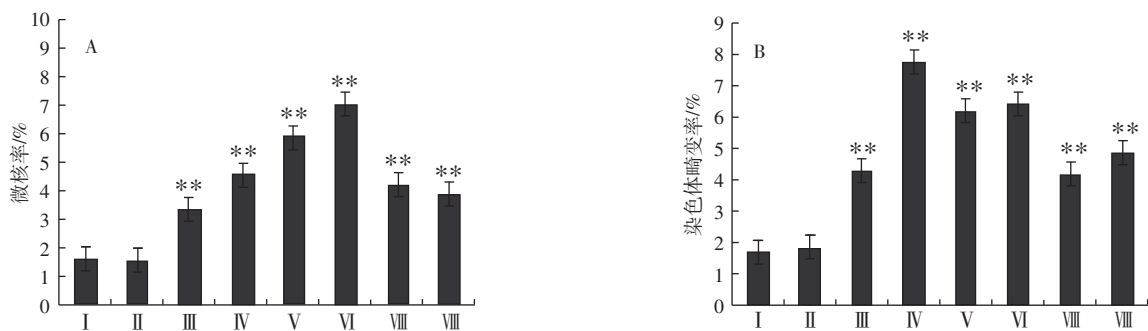


图 2 镍对蚕豆根尖细胞微核率(A)和染色体畸变率(B)的影响

Figure 2 The effect of nickel on the rate of micronucleus (A) and chromosome aberration (B) in root tip cells of *Vicia faba* L.

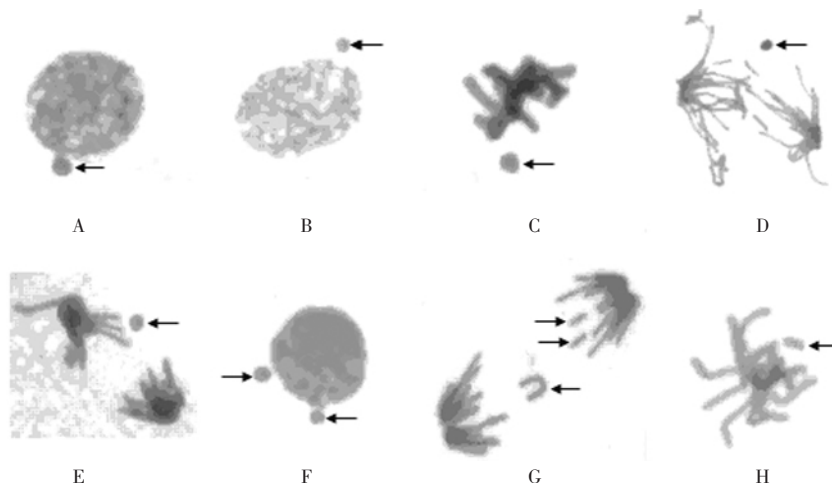
图 2B 反映了染色体畸变率随镍浓度变化的趋势。可以看出,不同浓度镍对细胞染色体畸变率的影响不同。 $5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 镍的染色体畸变率与对照无统计学差异 ($P>0.05$),其余各组处理均极显著诱导染色体畸变的发生 ($P<0.01$)。由此可见,镍对蚕豆根尖细胞具有较大的遗传毒害作用。当镍为 $50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,染色体畸变率最大。随着镍浓度的增大,染色体畸变率下降,至 1000 、 $5000 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 镍浓度时,染色体畸变率降至 $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 镍的水平 ($P>0.05$)。而且还发现,在 $100 \sim 5000 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 镍浓度范围内,染色体畸变率与处理浓度不相关; 100 与 $500 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 之间、以及 1000 与 $5000 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 之间均无显著差异 ($P>0.05$)。

镍诱发蚕豆根尖细胞的染色体畸变主要包括染色体断片、落后染色体(图 3G, H),其中染色体断片出现的几率最高,其次是落后染色体、染色体桥,也有染色体多极分布、染色体粘连、染色体解旋不正常和染色体加倍等情况(结果未显示)。

3 讨论

镍是高等植物的必需微量元素,在一定的浓度范围内促进植物的生长发育;超过此范围,可能导致植物生理紊乱,从而阻滞植物的生长^[3]。本实验的结果表明,不同浓度镍对幼根生长的影响效果不同。 $5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理能显著促进幼根的生长,而 $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 以上的镍抑制幼根的生长,这与水稻^[14]和玉米^[15]中得到的结论是一致的。在 $10 \sim 5000 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 镍范围内,蚕豆根尖细胞有丝分裂指数明显降低,可能与重金属延长细胞分裂周期、或/和干扰蛋白质合成有关^[10]。我们还发现,在供试的镍浓度范围内,有丝分裂指数与根生长的变化趋势有很好的一致性,统计分析表明,两者呈极显著正相关 ($r=0.9811$, $P<0.01$)。这很容易理解,因为根尖的生长是细胞分裂的宏观表现, $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 以上的镍降低蚕豆根尖分裂指数,阻止细胞分裂,根尖的生长自然受到抑制。

微核率的大小可以直接表征染色体 DNA 受损伤



A, 间期微核; B, 前期微核; C, 中期微核; D, 后期微核; E, 末期微核; F, 间期双微核; G, 染色体断片与落后染色体; H, 染色体断片。

图3 镍诱导蚕豆根尖细胞的微核与染色体畸变

Figure 3 Micronuclei and chromosome aberrations induced by nickel in in root tip cells of *Vicia faba* L.

程度。本实验中, $10 \sim 5\,000 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 镍处理下蚕豆根尖细胞微核率极显著升高 ($P < 0.01$), 表明超过一定浓度范围, 镍对染色体 DNA 有较强的损伤作用。这与用动物细胞微核检测体系得到的结论是一致的^[16,17], 说明蚕豆根尖细胞微核实验同样可用于镍的遗传毒性和污染效应检测。同时注意到在 $10 \sim 500 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 镍浓度范围内, 微核的发生与处理浓度呈正相关 ($r = 0.772\,0, P < 0.05$); 但随着浓度的增大, 微核率反而下降。这是因为高浓度镍强烈抑制了细胞的分裂, 使分裂细胞显著减少, 那些不分裂细胞的染色体畸变不能表现为微核, 致使微核率降低。一般说来, 诱变剂的遗传毒性是在细胞分裂间期的 DNA 和染色体复制过程中产生的, 没有细胞的分裂活动, 就无法用微核等细胞遗传学手段检测遗传毒性^[10]。另外, 据污染等级的划分标准^[18], 诱变剂浓度越大, 污染指数 (处理的微核率/对照的微核率 $\times 100\%$) 应该越高, 即只有微核率与诱变剂的浓度呈线性关系时, 才可以用微核率来表示污染指数, 提示镍浓度在 $5 \sim 500 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 范围内, 微核率正确反映了镍的遗传毒性和污染程度。无疑, 在一定浓度范围内, 可以运用蚕豆微核技术检测环境中的镍污染。但是, 微核检测应在合理的剂量效应范围内, 否则可能得出与实际不符、甚至相反的结论。当检测物浓度较高时, 应将样品适当稀释, 再进行微核检测。

染色体畸变是微核形成的主要原因^[8]。但是, 微核形成的原因是多元的^[10]。在 $10 \sim 50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 镍浓度范

围内, 微核率与染色体畸变率随镍浓度的增大而上升, 两者之间有较好的相关性; 但当镍浓度超过此范围时, 两者没有相关性, 甚至负相关, 再一次说明用蚕豆根尖微核检测体系测定镍的遗传毒性和污染效应时, 应控制合适的镍浓度范围 ($10 \sim 50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)。 $100 \sim 5\,000 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 镍下, 染色体畸变率与镍浓度不呈线性关系, 提示此时用染色体畸变率代替微核率来表示镍的遗传毒性和污染指数也是不合适的。

在动物中, 镍诱发的细胞癌变、染色体畸变、细胞微核、DNA 和蛋白分子交联等细胞遗传毒性与活性氧 (Reactive Oxygen Species, ROS) 积累以及脂质过氧化密切相关^[2,5,6,19,20]。越来越多的证据显示, 在植物中, 过量镍导致抗氧化系统功能失衡, 引起活性氧积累和脂质过氧化损伤, 是镍生理毒性的重要原因^[1,3]。我们推测, 镍对蚕豆的遗传毒性主要是间接的, 可能通过镍诱导 H_2O_2 、 $\cdot\text{OH}$ 等 ROS 积累, 攻击 DNA、蛋白质 (如纺锤体微管蛋白、DNA 修复相关酶) 和膜脂等生物大分子, 从而引起染色体 DNA 断裂、染色体滞留和染色体桥等畸变的发生和微核形成, 但有待进一步证实。

参考文献:

- [1] Gomes-Junior R A, Moldes C A, Delite F S, et al. Nickel elicits a fast antioxidant response in *Coffea arabica* cells[J]. *Plant Physiol Biochem*, 2006, 44: 420-429.
- [2] Chen C, Wang Y, Lin Y. Nickel-induced oxidative stress and effect of antioxidants in human lymphocytes[J]. *Arch Toxicol*, 2003, 77: 123-130.
- [3] Seregin I V, Kozhevnikova A D. Physiological role of nickel and its toxic

effects on higher plants[J]. *Russ J Plant Physiol*, 2006, 53(2):257–277.

- [4] Goyer RA. Toxic effects of metals[M]//Amdur M O, Doull J, Klaassen C D, eds. Casarett and Doull's Toxicology, The Basic Science of Poisons (4th ed.). New York, USA: Pergamon Press, 1991. 623–680.
- [5] Chen C Y, Wang Y F, Huang W R, et al. Nickel induces oxidative stress and genotoxicity in human lymphocytes[J]. *Toxicol Appl Pharm*, 2003, 189:153–159.
- [6] M' Bemba-Meka P, Lemieux N, Chakrabarti S K. Nickel compound-induced DNA single-strand breaks in chromosomal and nuclear chromatin in human blood lymphocytes in vitro: Role of oxidative stress and intracellular calcium[J]. *Mut Res*, 2005, 586:124–137.
- [7] Ohshima S. Induction of aneuploidy by nickel sulfate in V79 Chinese hamster cells[J]. *Mut Res*, 2001, 492:39–50.
- [8] Ünyayar S, Çelik A, Çekiç F Ö, Gözel A, et al. Cadmium-induced genotoxicity, cytotoxicity and lipid peroxidation in *Allium sativum* and *Vicia faba*[J]. *Mutagenesis*, 2006, 21(1):77–81.
- [9] Shahin S A, El-Amoodi K H. Induction of numerical chromosome aberrations during using the fungicides nimrod and rubigan-4 in root tips of *Vicia faba* L.[J]. *Mutat Res*, 1991, 261:169–176.
- [10] 段昌群, 王焕校. 重金属对蚕豆的细胞遗传学毒理作用和对蚕豆根尖微核技术的探讨[J]. 植物学报, 1995, 37(1):14–24.
- DUAN Chang-qun, WANG Huan-xiao. Cytogenetical toxic effects of heavy metals on *Vicia faba* and inquires into the Vicia-micronucleus[J]. *Acta Bot Sin*, 1995, 37(1):14–24.
- [11] 张莉, 刘登义, 王友保. 利用蚕豆根尖细胞微核技术检测 Cu、As 污染的诱变性[J]. 应用生态学报, 2001, 12(5):777–779.
- ZHANG Li, LIU Deng-yi, WANG You-bao. Utilization of micronucleus test in *Vicia faba* root tips cell to detect the mutability of Cu and As pollution[J]. *Chinese J Appl Ecol*, 2001, 12(5):777–779.
- [12] 钱晓薇. 重铬酸钾对蚕豆根尖细胞致畸效应的研究[J]. 遗传, 2004, 26(3):337–342.
- QIAN Xiao-wei. Study on teratogenic effect of potassium dichromate on *Vicia faba* root tip cells[J]. *Hereditas (Beijing)*, 2004, 26(3):337–342.
- [13] 易 俗, 王瑞兰, 冯 涛, 等. 铀尾矿浸出液对蚕豆 (*Vicia faba*) 早期生长的影响[J]. 湖南科技大学学报(自然科学版), 2007, 22(4):113–116.
- YI Su, WANG Rui-lan, FENG Tao, et al. Effects of uranium tailings Lixivium on early growth of *Vicia Faba*[J]. *Journal of Hunan University of Science & Technology (Natural Sci Ed)*, 2007, 22(4):113–116.
- [14] 王 煜, 扶惠华, 田廷亮. 镍对水稻种子萌发的影响及生理生化背景研究[J]. 华中师范大学学报(自然科学版), 1998, 32(4):486–489.
- WANG Yu, FU Hui-hua, TIAN Ting-liang. A study on the effects of nickel on germination of rice and its physiological and biochemical background[J]. *Journal of Huazhong Normal University (Natural Sci Ed)*, 1998, 32(4):486–489.
- [15] 王海华, 蒋明义, 康健, 等. 低浓度镍处理下玉米种子的萌发与活性氧代谢的关系[J]. 作物学报, 2003, 29(4):601–605.
- WANG hai-hua, JIANG Ming-yi, KANG Jian, et al. Relationship between seed germination and active oxygens metabolism in maize treated with low nickel concentration[J]. *Acta Agronom Sin*, 2003, 29(4):601–605.
- [16] Hong Y C, Paik S R, Lee H J, et al. Magnesium inhibits nickel-induced genotoxicity and formation of reactive oxygen[J]. *Environ Health Perspect*, 1997, 105(7):744–748.
- [17] 吕晓云, 蒲晓丽, 朱玉真, 等. 扶正解毒汤对硫酸镍诱导 16HBE 细胞微核形成的抑制作用[J]. 癌变·畸变·突变, 2007, 19(4):309–312.
- LÜ Xiao-yun, PU Xiao-li, ZHU Yu-zhen, et al. Inhibitory effect of Fuzheng jiedu decoction on micronuclei formation induced by nickel sulfate in 16HBE cells[J]. *Carcinogenesis, Eratogenesis & Mutagenesis*, 2007, 19(4):309–312.
- [18] 国家环境保护总局. 水和废水监测分析方法[M](第四版). 北京: 中国环境科学出版社, 2002.
- State Environmental Protection Administration of China. The detection methods of water and waste water(4th ed.)[M]. Beijing: China Environmental Science Press. 2002.
- [19] Doreswamy K, Shrilatha B, Rajeshkumar T, et al. Nickel-induced oxidative stress in testis of mice: evidence of DNA damage and genotoxic effects[J]. *J Andrology*, 2004, 25(6):996–1003.
- [20] Sidhu P, Garg M L, Dhawan D K. Protective role of zinc in nickel induced hepatotoxicity in rats[J]. *Chem-Biol Interact*, 2004, 150:199–209.

致谢: 2003 级本科生彭量辉、张伟参与了部分实验, 致以谢忱!