

热提羊栖菜多糖对黑腹果蝇生长的影响*

Effects of Polysaccharides from *Sargassum fusiforme* on Growth of *Drosophila melanogaster*

张亚,肖保衡,吴明江**

ZHANG Ya, XIAO Baoheng, WU Mingjiang

(温州大学生命与环境科学学院,浙江温州 325035)

(School of Life and Environmental Science, Wenzhou University, Wenzhou, Zhejiang, 325035, China)

摘要:【目的】研究经热提醇沉得到的羊栖菜多糖(SFPs)对黑腹果蝇生长的影响。【方法】采用85℃热水煮提,乙醇沉淀,氯化钙去除褐藻淀粉等多种工序提取羊栖菜多糖,并分析其化学性质;以黑腹果蝇为实验对象,研究羊栖菜多糖浓度对黑腹果蝇幼虫体型、体重和羽化的影响。【结果】经热提醇沉得到的羊栖菜多糖纯度较高,总糖含量高达81.93%,分子量和单糖组成较稳定。与对照组相比,经羊栖菜多糖处理后,黑腹果蝇在体型和体重上均有增加。实验组0.1%♀和1.5%♀与对照组CK♀存在显著差异($P < 0.05$),0.5%♀组与对照组CK♀存在极显著差异($P < 0.01$);实验组0.1%♂、0.5%♂、1.5%♂与对照组CK♂存在显著差异,但实验组之间并没有显著差异,其中1.5%♂组增重最为明显。实验组与对照组在幼虫孵化率上存在显著差异;对照组黑腹果蝇从卵至羽化为5~8 d,0.1%和0.5%组为6~9 d,1.5%组为6~10 d。0.1%♀、1.5%♀、0.1%♂组与相对应的对照组相比,羽化数量存在显著差异;对比羽化成虫雌雄比例,只有1.5%组与CK组存在显著差异。【结论】经热提醇沉法提取的羊栖菜多糖性质稳定,能降低黑腹果蝇幼虫羽化率,延长幼虫羽化时间,对果蝇后代的雌雄比例略有影响,同时可以增大成虫体型,增加成虫体重。

关键词:羊栖菜多糖(SFPs) 黑腹果蝇 羽化率 体型 体重

中图分类号:R284.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1005-9164(2016)03-0234-07

Abstract:【Objective】The effects of different concentrations of *Sargassum fusiforme* polysaccharides (SFPs) extracted by heat extraction and alcohol precipitation on growth of *Drosophila melanogaster* were investigated. 【Methods】The SFPs were extracted through 85℃ hot boiled extract, ethanol precipitation, calcium chloride to remove impurities and other processes. The effects on larval emergence, weight and body size of *Drosophila melanogaster* were explored in different concentrations of the SFPs in the media. 【Results】The SFPs obtained by heat extraction and alcohol precipitation had high purity, total sugar content as high as 81.93%, molecular weight and monosaccharide composition revealed more stable. *Drosophila melanogaster* increased in size and weight after treatment with SFPs. Compared with the control group, There was statistical difference in 0.1%♀ and 1.5%♀ groups ($P < 0.05$) and there was significantly different between 0.5%♀ and control group; The experimental groups of 0.1%♂, 0.5%♂ and 1.5%♂ revealed significant differences

收稿日期:2016-04-10

作者简介:张亚(1990-),女,在读硕士研究生,主要从事糖生物学方面的研究。

* 国家自然科学基金项目(31470430,31200266,31070322)和温州市海洋环境与生物资源技术创新团队自主项目(C20120007-10)资助。

** 通讯作者:吴明江(1963-),男,教授,博士,主要从事糖生物学方面的研究, E-mail:wmj@wzu.edu.cn.

weight and monosaccharide composition revealed more stable. *Drosophila melanogaster* increased in size and weight after treatment with SFPs. Compared with the control group, There was statistical difference in 0.1%♀ and 1.5%♀ groups ($P < 0.05$) and there was significantly different between 0.5%♀ and control group; The experimental groups of 0.1%♂, 0.5%♂ and 1.5%♂ revealed significant differences

with the control group, but no significant difference between them, of which weight gain was most evident in 1.5% ♂ group. There were significant differences in the larvae hatching between experimental group and control group; The phase from egg to feathering was 5~8 d in control group, 6~9 d in both 0.1% and 0.5% groups, and 6~10 d in 1.5% group. There was a significant difference in emergence rate in 0.1% ♀, 1.5% ♀ and 0.1% ♂ groups compared with the corresponding control group. Considering the proportion of male and female adult emergence, only 1.5% group significantly differed with CK group. **【Conclusion】**The SFPs obtained by heat extraction and alcohol extraction are stable. They can reduce the larval emergence rate and prolong larval emergence time. They have a little effect on the proportion of male and female, and can increase the adult body and weight.

Key words: SFPs, *Drosophila melanogaster*, emergence rate, body size, weight

0 引言

【研究意义】羊栖菜(*Sargassum fusiforme*)隶属于褐藻门马尾藻科马尾藻属,北起辽东半岛,南至雷州半岛,以浙江沿海最多。它是一种营养丰富的食用藻,享有“长寿菜”的盛誉。羊栖菜多糖包括褐藻酸(alginic acid)、褐藻多糖硫酸酯(fucoidan, FCD)及褐藻淀粉(laminaran),其中褐藻多糖硫酸酯活性研究最为广泛。近年研究揭示,羊栖菜多糖不仅是一种非常有潜力的天然抗氧化剂,而且在治疗肿瘤、心血管疾病、降低血糖和延缓衰老等方面都有一定的效果,具有广阔开发前景,日本已有相关饮品和保健品等销售^[1]。**【前人研究进展】**羊栖菜多糖具有抗肿瘤、抗氧化^[2-4]、增强免疫活性^[5-6]等功能。目前羊栖菜多糖提取纯化技术已在多个实验室进行,通过水提醇沉方法提取羊栖菜粗多糖,纯化后测定其含量高达45%~65%(文献^[7])。黑腹果蝇作为繁殖速度快,培养周期短的优势模式生物,可用于验证羊栖菜多糖对动物羽化过程的影响。据报道,高浓度多糖可能对果蝇羽化过程存在一定的损伤作用^[8],提高培养基渗透压,高糖情况下也会降低果蝇羽化率^[9-11]。**【本研究切入点】**目前,国内多个实验室对羊栖菜多糖功能的研究主要集中在抗肿瘤、抗氧化和增强免疫活性等方面,而对其抗衰老活性的研究却鲜有报道。**【拟解决的关键问题】**提取成分稳定的羊栖菜多糖,并研究其对黑腹果蝇生长的影响,为进一步探讨羊栖菜多糖抗衰老作用的研究提供实验基础。

1 材料与方法

1.1 材料

羊栖菜(*Sargassum fusiforme*)采自浙江省温州市洞头沿海海岸。

野生型黑腹果蝇(*Drosophila melanogaster*)由广西科学 2016年6月 第23卷第3期

温州大学生命与环境科学学院遗传学实验室提供。

基本培养基:蔗糖 26 g,琼脂粉 3 g, ddH₂O 300 mL,玉米粉 34 g,酵母粉 1 g,丙酸 2 mL。

果汁培养基:葡萄汁 150 mL, ddH₂O 50 mL,琼脂粉 4 g,丙酸 2 mL。

仪器:1525 高效液相色谱仪(Waters 科技有限公司),包括 2487 紫外可见光检测器、717plus 自动进样器及 Breeze 工作站;MS105DU 电子天平(梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司);HH-2 数显恒温水浴锅(江阴市保利科研器械有限公司);Milli-Q 超纯水仪(MILLIPORE 公司);体视显微镜(北京泰克仪器有限公司)。

试剂:L-鼠李糖(L-Rha)和D-半乳糖醛酸(D-GalA)购自国药集团化学试剂有限公司;D-甘露糖(D-Man)和D-木糖(D-Xyl)购自中国药品生物制品鉴定所;D-葡萄糖醛酸(D-GlcA, SIGMA 公司);D-葡萄糖(D-Glc, TCI 公司);D-半乳糖(D-Gal)和L-阿拉伯糖(L-Ara)购自 Dr Ehrenstorfer GmbH;L-岩藻糖(L-Fuc, Fluka BioChemika 公司);1-苯基-3-甲基-5-吡唑啉酮(PMP, ACROS 公司);色谱纯甲醇和乙腈(Honeywell Burdick & Jackson 公司)。其它试剂均为分析纯。

1.2 方法

1.2.1 羊栖菜多糖的提取

参照文献^[12],采摘新鲜羊栖菜,烘干至恒重,粉碎机粉碎后,筛网过滤,除去未粉碎杂质。称取粉末 500 g,放入 300 mL 无水乙醇中,于旋蒸仪上 80℃水浴回流 3 次,每次 2 h。收集滤渣,加入 15 L 蒸馏水,85℃蒸煮 3 遍,时间依次为 4 h, 3 h, 2 h。两层纱布过滤,收集滤液,65℃旋蒸浓缩至 5 L,离心收集上清液,继续浓缩至总体积为 3 L。浓缩液加入无水乙醇使含醇量达 80%,醇沉过夜。收集醇沉上清液,4 800 r/min 离心 10 min。收集离心上清液,加入 4 mol/L

氯化钙至不再产生沉淀为止,离心取上清液,80%乙醇(V/V)醇沉过夜,取沉淀进行常规干燥、真空干燥,得到羊栖菜多糖。

1.2.2 总糖含量测定

采用苯酚-硫酸法测定羊栖菜多糖总糖含量^[13]。精确称取分析纯葡萄糖 20 mg,用蒸馏水定容至 500 mL,分别吸取 0.0 mL、0.2 mL、0.4 mL、0.6 mL、0.8 mL、1.0 mL、1.2 mL,各补水至 2.0 mL,然后加入 1.0 mL 6%(V/V)的苯酚溶液,振荡。再加入 5.0 mL 浓硫酸,迅速振荡摇匀,置于沸水浴中加热 15 min 后冷却,于波长 490 nm 下测定吸光值。以水做空白对照,绘制标准曲线。精确称取羊栖菜多糖样品 5 mg,加少量热水溶解后定容至 100 mL。精确量取 1.0 mL,按上述步骤操作,测定其吸光值,试验重复 3 次。根据葡萄糖标准曲线计算多糖含量。

1.2.3 糖醛酸含量测定

采用间羟基联苯法测定羊栖菜多糖中的糖醛酸含量^[14]。称取 10 mg D-半乳糖醛酸,溶解于蒸馏水中,并定容到 100 mL 容量瓶中,摇匀备用。移液器分别量取 0.1 g/L D-半乳糖醛酸标准溶液 0 μ L、50 μ L、100 μ L、200 μ L、300 μ L、400 μ L 转于玻璃试管中,加蒸馏水补至 400 μ L,每个浓度 3 个重复。向每支试管中加入氨基磺酸试剂 40 μ L,摇匀,再向各管加入浓硫酸 2.5 mL,振荡均匀,沸水浴煮沸 20 min。冷却至室温后,向各管中加入间羟基联苯试剂 40 μ L,摇匀,室温放置 15 min。在 $\lambda=525$ nm 处测定吸光度 A。以吸收度 A 为纵坐标,D-半乳糖醛含量(μ g)为横坐标,得标准曲线。取浓度 0.1 g/L 左右的样品溶液 400 μ L,按标准曲线制备方法操作,测定吸收度,根据标准曲线和样品浓度计算其中的糖醛酸含量。

1.2.4 蛋白含量测定

采用 Bradford 法羊栖菜多糖中的测定蛋白质含量。精确称取 0.1 g 牛血清蛋白(BSA),配置成 10 mg/mL 的 BSA 母液 10 mL。分别吸取 0.10 mL、0.08 mL、0.06 mL、0.04 mL、0.02 mL、0.00 mL,各补水至 1.0 mL,然后在不同倍数稀释液中各自吸取 0.1 mL,补水至 1.0 mL。配置成终浓度为 0.10 mg/mL、0.08 mg/mL、0.06 mg/mL、0.04 mg/mL、0.02 mg/mL、0.00 mg/mL 的稀释液。各吸取 20 μ L 于 96 孔板中,每组 3 个平行,每孔加入 200 μ L 考马斯亮蓝(G-250),静置 10 min,酶标仪测定 595 nm 下吸光值,绘制标准曲线。精确称取羊栖菜多糖样品 5 mg,加少量热水溶解后定容至 100 mL。精确量取 1.0 mL,按上述步骤操作,测定其吸光值,试验重复 3

次。根据 BSA 标准曲线计算蛋白质含量。

1.2.5 羊栖菜多糖分子量测定

准确称取无水硫酸钠 14.204 g,ddH₂O 溶解,并完全转移至 1 L 容量瓶中,定容,摇匀备用。准确称取分子量分别为 2 000 000,133 800,84 400,21 400,7 100 和 180 的右旋糖酐标准品 5 mg,溶于 1 mL 0.1 mol/L 硫酸钠中,用 0.22 μ L 过滤膜过滤,所得即为待测标准样品。准确称取已纯化的样品各 5 mg 溶于 1 mL 0.1 mol/L 硫酸钠中,10 000 r/min 离心后用 0.22 μ L 过滤膜过滤,所得即为待测样品。样品采用 HPLC 测定^[15],通过 HPLC 中标准样品的洗脱时间和相对分子量等数据计算,获得分子量标准曲线,再通过洗脱时间或洗脱体积计算出各组分配系数(K_{av}),然后带入标准曲线回归方程,计算出羊栖菜多糖的分子量对数并转换成分子量。

1.2.6 单糖含量测定

称取羊栖菜多糖样品 4 mg,加入 2 mol/L 三氟乙酸,120℃水解 1 h,加入少量乙醇,45℃水浴干燥,重复 3~5 次,完全蒸除三氟乙酸。向完全酸水解后获得的干燥样品中加入 0.5 mL PMP 试剂和 0.5 mL 0.3 mol/L 的 NaOH 溶液,待样品充分溶解后取 0.1 mL 于离心管中,70℃水浴 30 min。10 000 r/min 离心 5 min 后,加入 0.05 mL 0.3 mol/L 盐酸溶液和 0.05 mL 蒸馏水,充分混匀。加入 1 mL 氯仿,混匀后抽提剩余的 PMP 试剂,吸去氯仿层,保留水层。用 0.22 μ m 滤膜过滤后,加入适量蒸馏水稀释,待 HPLC 检测。色谱条件:色谱柱为 Hypersil ODS-3(4.6 mm×250 mm),流动相为 83.0%(V/V),磷酸缓冲盐溶液(PBS,0.1 mol/L,pH 值为 6.9)和 17.0%乙腈(V/V),流速为 0.8 mL/min,进样量为 20 μ L,检测波长为 254 nm。以标准品 D-葡萄糖(D-Glc)、D-半乳糖(D-Gal)、L-阿拉伯糖(L-Ara)、L-鼠李糖(L-Rha)、D-木糖(D-Xyl)、D-甘露糖(D-Man)、L-岩藻糖(L-Fuc)、D-半乳糖醛酸(D-Gal A)、D-葡萄糖醛酸(D-Glc A)进行对照^[12]。

1.2.7 羊栖菜多糖浓度对黑腹果蝇形态的影响

收集在基本培养基中 8 h 内新羽化的黑腹果蝇,雌雄分开,随机分为 8 组(每组为 100 只雌性或雄性黑腹果蝇)。其中,两个对照组(CK♀和 CK♂)加入不含羊栖菜多糖的基本培养基,其余 6 组(实验组 0.1%♀、0.5%♀、1.5%♀、0.1%♂、0.5%♂、1.5%♂)分别加入浓度为 0.1%、0.5%、1.5%的羊栖菜多糖(每 100 mL 培养基中所含有的羊栖菜多糖的克数)的基本培养基。每组设置 3 个平行组。培养箱中每 3 天换一次培养基,培养 30 d 后,体视显微镜观察

体型变化,分析天平称取体重(每 15 只黑腹果蝇为一组)并分析其变化。

1.2.8 羊栖菜多糖对黑腹果蝇幼虫羽化的影响

随机选取 10 瓶(约 1 000 只)黑腹果蝇,放入孵化箱,随机交配。配置果汁培养基,收集黑腹果蝇卵。用 PBS 清洗黑腹果蝇卵,按照每瓶 0.5 g 黑腹果蝇卵(湿重)接种于对照组和实验组培养基中,每组设置 3 个平行。20 d 内观察黑腹果蝇卵羽化情况,包括结蛹数量,羽化雌雄比例,总羽化天数,总羽化量以及 F1 黑腹果蝇羽化 3 d 后成虫体重变化情况。

1.2.9 数据处理

实验数据采用 SPSS16.0 软件处理,以 $\bar{x} \pm s$ 表示,各组均数间差异采用 LSD-t 检验, $P < 0.05$ 表示差异有显著性, $P < 0.01$ 表示差异有极显著性。

2 结果与分析

2.1 羊栖菜多糖得率及纯度

本试验从 500 g 羊栖菜粉末中提取多糖,干燥后多糖净重 26.57 g,羊栖菜多糖提取率为 5.31%。总糖、糖醛酸和蛋白质含量回归方程分别为 $Y = 6.7596X - 0.0023$, $R^2 = 0.9990$; $Y = 3.5272X + 0.002$, $R^2 = 0.9987$; $Y = 0.01134X - 0.00241$, $R^2 = 0.9908$ 。在标准曲线范围内,5 mg/L 的多糖浓度与吸光值之间呈现出良好的线性关系。对照标准曲线,将吸光度值代入方程,计算出羊栖菜多糖中总糖含量较高,达 81.93%;糖醛酸含量较低,仅为 4.27%,表明热提羊栖菜多糖为酸性多糖;蛋白质含量较低,仅为 3.81%,羊栖菜多糖中的蛋白质可能不是游离蛋白质,而是与多糖结合的糖蛋白。这说明所提取的羊栖菜多糖纯度相对较高。

2.2 羊栖菜多糖分子量及单糖组成

分子量回归方程为 $Y = -0.3160X + 2.0196$, $R^2 = 0.9967$,分子量计算结果见表 1。由图 1a 可看出 9 种单糖分离度相对较高,图 1b 是羊栖菜多糖分

离结果,与 9 种单糖标准品的保留时间对照以确定其单糖组成,其结果见表 1。实验结果表明,经过热提醇沉法提取到的羊栖菜多糖有较稳定的分子量和单糖组成。

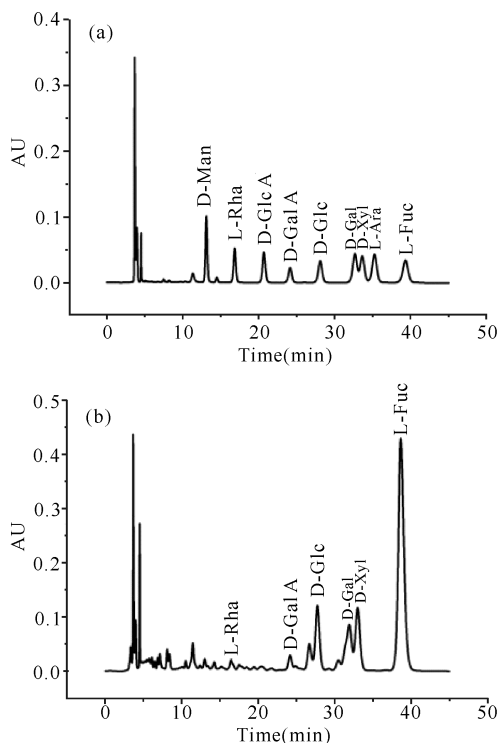


图 1 单糖标准品及热提羊栖菜多糖 HPLC 分析

Fig. 1 Standard monosaccharides and the analysis of SF-Ps by HPLC

2.3 羊栖菜多糖对黑腹果蝇形态的影响

与对照组(CK)相比,添加羊栖菜多糖的实验组中,黑腹果蝇在体型和体重上都偏大(图 2 和图 3)。其中,雌黑腹果蝇(♀)以 0.5%♀和 1.5%♀两组的体型增大更加显著,经过多重比较发现,0.1%♀和 1.5%♀组与对照组存在显著差异,0.5%♀组与对照组存在极显著差异;雄黑腹果蝇(♂)以 1.5%♂组体型和体重变化最明显,多重比较发现,实验组与对照组存在显著差异,但实验组之间没有显著差异。

Table 1 The molecular weight and monosaccharide composition of polysaccharides from *Sargassum fusiforme*

样品 Sample	分子量 Molecular weight(Da)			单糖组成 Monosaccharide composition(%)								
	Mw ₁	Mw ₂	Mw ₃	D-Man	L-Rha	D-Glc A	D-GalA	D-Glc	D-Gal	D-Xyl	L-Ara	L-Fuc
SFPs 1	2.4×10 ⁵	5.26×10 ⁴	5.8×10 ³	3.45	1.75	1.01	2.55	11.03	11.50	12.00	—	49.98
SFPs 2	2.3×10 ⁵	5.29×10 ⁴	5.9×10 ³	3.52	1.79	0.91	2.89	11.45	11.59	12.34	—	54.23
SFPs 3	2.5×10 ⁵	5.25×10 ⁴	5.9×10 ³	3.53	1.77	1.40	2.39	11.50	11.44	11.96	—	54.46
均值 Mean	2.4×10 ⁵	5.27×10 ⁴	5.9×10 ³	3.50	1.77	1.11	2.61	11.33	11.51	12.10	—	52.89

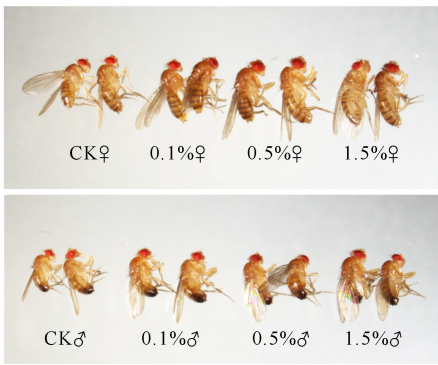


图2 羊栖菜多糖对黑腹果蝇体型的影响

Fig. 2 The effects of polysaccharides on size of *Drosophila melanogaster*

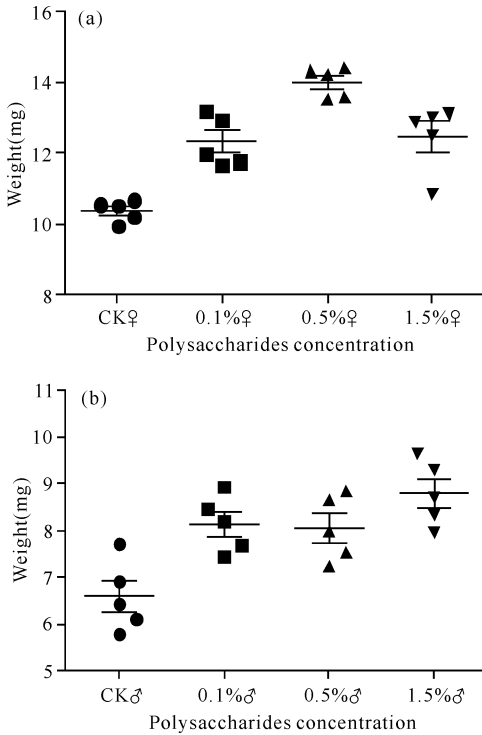


图3 羊栖菜多糖对黑腹果蝇体重的影响

Fig. 3 The effects of polysaccharides on weight of *Drosophila melanogaster*

2.4 羊栖菜多糖对黑腹果蝇羽化过程的影响

由图4可知,实验组黑腹果蝇幼虫结茧时间都较长于对照组,且数量上也比较少。对照组和实验组在幼虫孵化率上存在明显差异,实验组在同一时期的幼虫数量随浓度升高呈下降趋势,即羊栖菜多糖浓度越高,幼虫数量越少,结茧数量也随之下降。由图5可知,随着羊栖菜多糖浓度增加,黑腹果蝇羽化时间逐渐延长,对照组黑腹果蝇从卵至羽化高峰为5~8 d,0.1%和0.5%组为6~9 d,1.5%组为6~10 d,且经羊栖菜多糖处理的实验组相较于对照组,其首只子代黑腹果蝇孵育时间推迟约3 d。

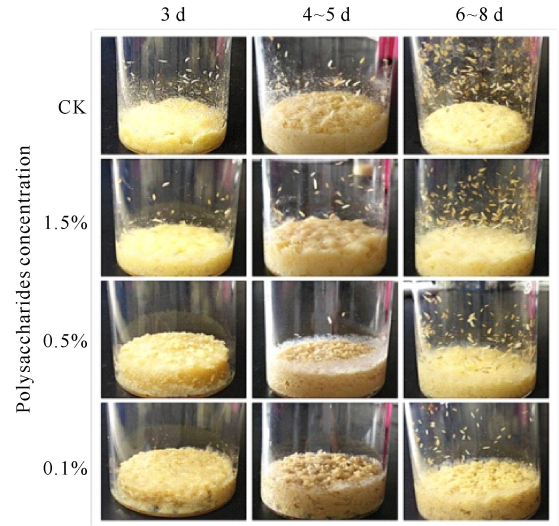


图4 羊栖菜多糖对黑腹果蝇幼虫羽化过程的影响

Fig. 4 The effects of polysaccharides on larval emergence process

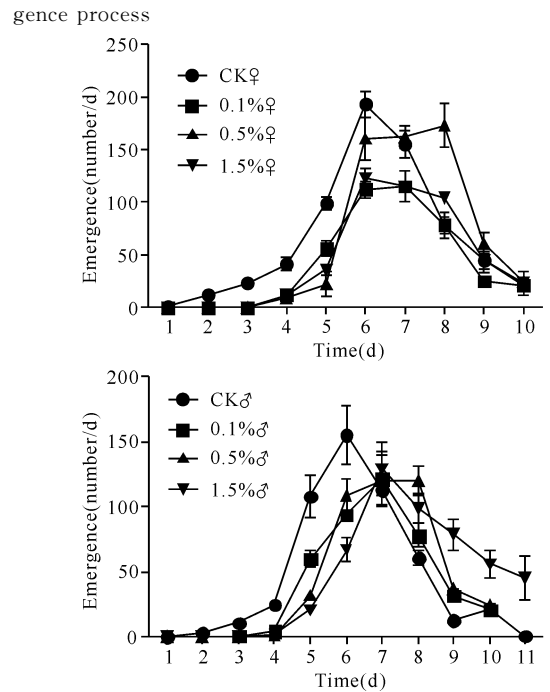


图5 羊栖菜多糖对F1代黑腹果蝇幼虫羽化时间的影响

Fig. 5 The effects of polysaccharides on emergence time for F1 generation

2.5 羊栖菜多糖对黑腹果蝇羽化结果的影响

表2结果表明,实验组0.1%♀和1.5%♀与CK♀组相比,羽化数量存在显著差异,0.5%♀组也较CK♀组略有下降;与CK♂组相比,0.1%♂组羽化数量显著下降,0.5%♂和1.5%♂组则下降不明显。对比羽化成虫雌雄比例,0.5%组最高(1.34),1.5%组最低(1.02),与CK组存在显著差异。可见,经过羊栖菜多糖处理后黑腹果蝇的羽化数量减少,其性别比例也受到一定影响。

由图6可知,0.5%组黑腹果蝇体重最重,15只

表 2 羊栖菜多糖对黑腹果蝇羽化结果的影响 ($x \pm s$)

Table 2 The effects of polysaccharides from *Sargassum fusiforme* on emergency in *Drosophila melanogaster* ($x \pm s$)

组别 Group	多糖浓度 Concentration(%)	羽化雌蝇(只) Female quantity(No.)	羽化雄蝇(只) Male quantity(No.)	雌雄比例 Sex ratio	羽化总数(只) Total(No.)
CK	0	636.00±33.05	511.67±11.02	1.24±0.08	1147.67±28.02
EXP	0.1	490.67±62.31*	428.33±15.18*	1.15±0.16	919.00±60.51*
	0.5	595.67±13.31	466.33±19.22	1.34±0.07	1042.00±20.78
	1.5	482.00±21.93*	474.33±22.59	1.02±0.01*	956.33±44.06*

注:与 CK 组相比, * $P < 0.05$, 存在显著差异

Note: Compared with CK group, * $P < 0.05$, significantly different

黑腹果蝇平均值高达 10.50 mg(♀)和 9.10mg(♂), 0.1%和 1.5%组黑腹果蝇体重也相应增加,与 CK 组相比,均存在显著差异。

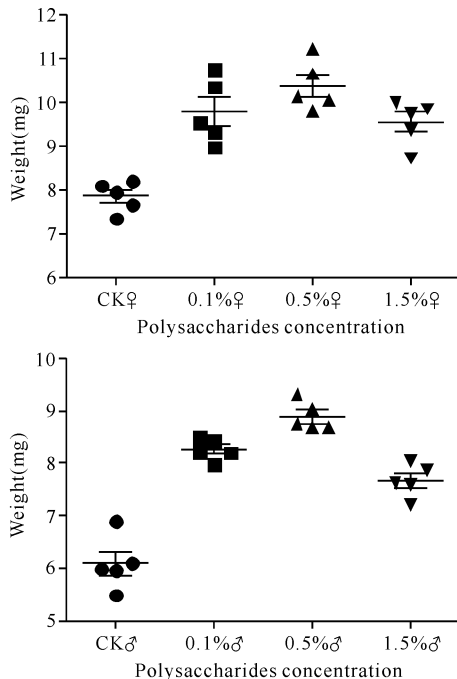


图 6 羊栖菜多糖对羽化黑腹果蝇体重的影响

Fig. 6 The effects of polysaccharides on weight of *Drosophila melanogaster*

3 结论

本研究采用热提醇沉方法得到性质稳定的羊栖菜多糖,并以黑腹果蝇为模式生物,研究羊栖菜多糖对其生长的影响。结果表明,羊栖菜多糖能明显增加黑腹果蝇的体型和体重,并且随着羊栖菜多糖浓度的升高,黑腹果蝇体型和体重也随之增加;推迟羽化时间,对羽化率有一定损害;对黑腹果蝇后代个体中雌雄性别比例有一定影响。

参考文献:

[1] 张展,刘建国.羊栖菜的研究评述[J].海洋水产研究,2002,9(23):67-69.

ZHANG Z,LIU J G. Study review of *Hizikia fusiformis*

[J]. Marine Fisheries Research,2002,9(23):67-69.

[2] WANG W,LU J B,WANG C,et al. Effects of *Sargassum fusiforme* polysaccharides on antioxidant activities and intestinal functions in mice[J]. International Journal of Biological Macromolecules,2013,58(1):127-132.

[3] WU M J,WU Y,QU M,et al. Evaluation of antioxidant activities of water-soluble polysaccharides from brown alga *Hizikia fusiformis* [J]. International Journal of Biological Macromolecules,2013,56(3):28-33.

[4] ZHOU J,HU N,WU Y L,et al. Preliminary studies on the chemical characterization and antioxidant properties of acidic polysaccharides from *Sargassum fusiforme* [J]. Journal of Zhejiang University Science B,2008,9(1):721-727.

[5] CHEN X M,NIE W J,YU G Q,et al. Antitumor and immunomodulatory activity of polysaccharides from *Sargassum fusiforme* [J]. Food and Chemical Toxicology,2012,50(3/4):695-700.

[6] CHEN X M,NIE W J,FAN S R,et al. A polysaccharide from *Sargassum fusiforme* protects against immunosuppression in cyclophosphamide-treated mice[J]. Carbohydrate Polymers,2012,90(2):1114-1119.

[7] 王培培,于广利,杨波,等.选育羊栖菜与野生羊栖菜中褐藻胶与褐藻糖胶组成分析[J].中国海洋药物杂志,2009,28(3):39-43.

WANG P P,YU G L,YANG B,et al. Comparison analysis of alginate and fucoidan between artificial and wild brown alga *Hizikia fusiforme* [J]. Chinese Journal of Marine Drugs,2009,28(3):39-43.

[8] 赵晓俊,李雅娟,顾蔚.对羟基苯甲酸乙酯对雄果蝇的生殖毒性[J].卫生研究,2014,43(2):265-269.

ZHAO X J,LI Y J,GU W. Reproductive toxicity of ethylparaben on male *Drosophila melanogaster* [J]. Journal of Hygiene Research,2014,43(2):265-269.

[9] 王华.高压对果蝇的诱变及作用机理的研究[D].长春:吉林大学,2011.

WANG H. The Effects and Mechanism of Action of High Hydrostatic Pressure on *Drosophila melanogaster* [D]. Changchun:Jilin University,2011.

- [10] 卞立红,袁红梅,汪洋,等.不同配方培养基对果蝇生长和繁殖的影响[J].天津农业科学,2012,18(3):144-146.
BIAN L H, YUAN H M, WANG Y, et al. Effect of different culture medium on growth and reproduction of *Drosophila* [J]. Tianjin Agricultural Sciences, 2012, 18(3):144-146.
- [11] 王贵民,董振红,郝再彬.甜叶菊糖苷对果蝇生长和繁殖的影响[J].昆虫知识,2009,46(1):129-131.
WANG G M, DONG Z H, HAO Z B. Effect of steviol glycosides on growth and reproduction of *Drosophila melanogaster* [J]. Chinese Bulletin of Entomology, 2009, 46(1):129-131.
- [12] 李伟,张旭,吴明江. HPLC 法分析羊栖菜与铜藻多糖的单糖组成[J].高师理科学刊,2015,35(7):49-51.
LI W, ZHANG X, WU M J. Analysis of the monosaccharide composition of polysaccharides from *Sargassum fusiforme* and *Sargassum horneri* by HPLC [J]. Journal of Science of Teachers' College and University, 2015, 35(7):49-51.
- [13] 司晓喜,袁智泉,邱贺媛,等.海藻有效成分的提取分离研究进展[J].延边大学学报:自然科学版,2011,37(2):103-104.
SI X X, YUAN Z Q, QIU H Y, et al. Advance of separation and purification techniques for active components from algae[J]. Journal of Yanbian University: Natural Science, 2011, 37(2):103-104.
- [14] 汲晨锋,季宇彬,吴涛.羊栖菜多糖含量测定及多糖组分分析[J].世界科学技术-中医药现代化,2006,8(5):48-52.
JI C F, JI Y B, WU T. Analysis of the monosaccharide composition of polysaccharides from *Sargassum fusiforme* [J]. World Science and Technology/Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica, 2006, 8(5):48-52.
- [15] HAN C, CAO X, YU J J, et al. Arsenic speciation in *Sargassum fusiforme* by microwave-assisted extraction and LC-ICP-MS[J]. Chromatographia, 2009, 69(5):587-591.

(责任编辑:陆雁)