

DOI: 10.3969/j.issn.1000-3142.2012.01.027

罗汉果根多糖的分离纯化、结构鉴定及抗肿瘤活性研究

颜小捷^{1,2}, 卢凤来¹, 陈换莹^{1,2}, 李典鹏^{1*}

(1. 广西植物功能物质研究与利用重点实验室(广西植物研究所), 广西 桂林 541006;

2. 广西师范大学 生命科学学院, 广西 桂林 541004)

摘要: 采用水提醇沉法提取、DEAE-52 纤维素柱粗分离罗汉果根粗多糖(CPS), 纸层析结合高效液相色谱分析 CPS 的单糖组成; 同时研究 CPS 对小鼠 H22 皮下种植性肿瘤的影响。结果表明: 采用 DEAE-52 纤维素柱粗分离得到 5 个多糖组分; CPS 的单糖组成为: 葡萄糖、阿拉伯糖、木糖, 其中以葡萄糖为主; 与模型对照组比较, CPS 各剂量组无明显的抑制肿瘤生长作用(抑瘤率均低于 50%); 与模型对照组比较, CPS 各剂量组小鼠的胸腺指数显著提高, 差异极显著($P < 0.01$); 而脾脏指数显著降低, 差异极显著($P < 0.01$)。

关键词: 罗汉果根; 多糖; 分离纯化; 单糖组成分析; 抗肿瘤

中图分类号: Q539 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2012)01-0138-05

Studies on isolation, purification, structural identification and its antitumor activity of polysaccharides from *Momordica grosvenori* swingle's root

YAN Xiao-Jie^{1,2}, LU Feng-Lai¹, CHEN Huan-Ying^{1,2}, LI Dian-Peng^{1*}

(1. Guangxi Key Laboratory of Functional Phytochemicals Research and Utilization, Guangxi Institute of Botany, Guilin 541006, China; 2. College of life science, Guangxi Normal University, Guilin 541004, China)

Abstract: Polysaccharide(CPS) of *Momordica grosvenori* swingle's roots was extracted by water extracting-alcohol precipitating method, and then was purified by DEAE-52 cellulose. Their compositions were analyzed by paper chromatography and high performance liquid chromatography(HPLC). And the effect of CPS on H22 subcutaneous planting of mice was studied. Results: CPS was isolated into five fractionates by DEAE-52 cellulose column chromatography, its simple sugars composition included glucose, arabinose and xylose. Compared with model group, each dose group had no significant functions in suppressing tumor growth(inhibition rate < 50%); Besides, Compared with model group, each dose group had improved influence on the index of thymus($P < 0.01$), but had reduced influence on the index of spleen($P < 0.01$).

Key words: *Momordica grosvenori* swingle's root; polysaccharides; isolation and purification; structural identification; antitumor

收稿日期: 2011-07-05 修回日期: 2011-10-08

基金项目: 中国科学院“西部之光”人才培养计划专项(科发人教字[2009]24号); 药用资源化学与药物分子工程教育部重点实验室资助(桂科能07109001-13); 广西植物研究所基本业务费(桂科植1003) [Supported by West Light Doctoral Foundation of the Chinese Academy of Sciences(2009); Key Laboratory for the Chemistry and Molecular Engineering of Medicinal Resources (Guangxi Normal University), Ministry of Education of China (07109001-13); Fundamental Research Fund of Guangxi Institute of Botany(1003)]

作者简介: 颜小捷(1985-), 女, 广西玉林人, 硕士, 主要从事植物资源开发与利用研究, (E-mail) xiaojie128@126.com.

* 通讯作者: 李典鹏, 男, 博士, 研究员, 主要从事中药、天然药物和天然植物的化学研究, (E-mail) ldp@gxib.cn.

罗汉果(*Momordica grosvenori*)又名拉汉果、假苦瓜、光果木鳖、罗汉表、苦人参等,是葫芦科罗汉果属草质藤本植物(卜春文等,2004;张更秋,2004;刘丽华等,2009);其营养丰富,保健效果好,经济价值高,是我国传统出口创汇药材之一,在港澳地区,日本、东南亚和欧美等国家久负盛名,颇受欢迎,有“长寿之果”和“东方神果”之称(陈全斌等,2003;杨华等,2011)。

已往人们对罗汉果的开发研究,仅局限于对其果实的提取分离和应用,未考虑其根的开发与利用。罗汉果根肥大,味苦、性微寒,有清热祛湿、通络止痛、抗炎、解疼、降酶等作用,对风湿性关节炎的疗效较为显著,对口腔细菌转糖链球菌有较强的抑菌活性,其罗汉果酸乙成分在体外具明显的抗肿瘤活性(斯建勇等,1999)。植物多糖来源广泛,毒副作用低,安全性好,无致癌作用,具有增强免疫、抗肿瘤、抗栓、抗氧化、抗衰老、降血糖、降血压、降血脂及活血等生物功能,其中增强机体免疫是大多数活性多糖的共同特性;多糖对机体具有双向调节作用,适当浓度的多糖能提高机体的特异性和非特异性免疫功能,其作为免疫调节剂具有良好的应用前景(Wang, 2001; Hu 等, 2006; Chen 等, 2009; Cho 等, 2010; Priyadharshini 等, 2010)。其中,罗汉果多糖具有清除羟自由基的能力,可调节免疫系统自由基水平,对机体的细胞免疫、体液免疫和非特异性免疫均有明显的免疫增强作用(李俊等,2008a;张玲等,2009);而罗汉果根含有大量的多糖类物质,但由于缺乏人们的关注,所以缺少对其专门的、较深入的研究,导致每年大量的罗汉果根被废弃,造成自然资源极大的浪费。为此,笔者以天然植物分离方法结合现代药理学实验阐明罗汉果根多糖的活性组分及其抗肿瘤活性,以求为其进一步的开发提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

干燥罗汉果根(采自桂林市永福县,室内阴干后60℃下烘干);昆明种小白鼠(SPF级,雌雄各半,体重20~22g,由广西医科大学动物实验中心提供,证号:SCXK桂2003-0003);H22腹水种植瘤(购自中国典型培养物保藏中心,由桂林医学院药理教研室传代培养)。

1.2 方法

1.2.1 罗汉果根粗多糖的提取 称取500g干燥罗汉果根,按w/v=1:8加水煎煮1.5h后用纱布和棉花过滤,残渣中再加4L水煎煮1.5h后用纱布和棉花过滤,合并两次所得滤液,4000r/min,离心10min,所得上清液于旋转蒸发仪70℃下减压浓缩至800mL。接着加入200mL体积比为4:1的三氯甲烷/正丁醇混合液,超声震荡10min,4000r/min,离心10min取水相部分,重复该操作3次去除杂蛋白。所得水相部分,于旋转蒸发仪70℃下减压浓缩至200mL(浓缩液),浓缩液中加入无水乙醇至含醇量达到80%,边加边搅拌,得灰白色絮状沉淀。4℃下隔夜静置,倾出上层清液,余下部分4000r/min,离心10min得沉淀,回收上层乙醇溶液。沉淀部分用少量无水乙醇洗涤4次,60℃下烘干即得罗汉果根粗多糖(CPS),称重。

多糖得率(%)=所得粗多糖质量(g)/所用干燥罗汉果根质量(g)×100

1.2.2 多糖含量测定 (1)供试品溶液的制备:精密称取CPS20mg,先加去离子水5mL溶解,然后加入6mol/L磷酸5mL,置沸水浴中冷凝回流水解1h,冷却后滴加1滴酚酞指示剂,用6mol/L氢氧化钠溶液调至微红,定量转移至100mL容量瓶中,用去离子水稀释至刻度,摇匀,离心,所得上清液备用。(2)标准曲线的制作:精密称取105℃下真空干燥至恒重的无水葡萄糖100.0mg,置100mL容量瓶中加入去离子水溶解并稀释至刻度,摇匀,得浓度为1mg/mL的对照品储备液。精密移取1mL对照品储备液置于10mL容量瓶中,用去离子水稀释至刻度,摇匀,得浓度为0.1mg/mL的对照品溶液。分别精密吸取0、0.1、0.2、0.4、0.6、0.8mL对照品溶液于试管中,加去离子水稀释至2mL,摇匀,加入5%的苯酚1mL,混匀,迅速垂直加入浓硫酸5mL,振荡混匀,静置30min,冷至室温,以去离子水管作为空白对照,490nm波长下测定吸光度,以葡萄糖含量为横坐标,以其吸光度值为纵坐标,得葡萄糖含量测定标准曲线,并得到回归方程。

1.2.3 罗汉果根粗多糖的分离纯化 (1)DEAE-52树脂和透析袋的预处理:树脂处理方法同文献(梁丽君,2008);透析袋置于去离子水煮沸10min后,60℃去离子水洗冲洗2min,最后置4℃去离子水中待用。(2)上柱分离:称取3gCPS用适量去离子水超声溶解上样,依次用去离子水,0.1、0.2、0.5mol/

L 氯化钠溶液, 0.5 mol/L 氢氧化钠溶液洗脱, 流速约为 60 mL/h, 分部收集, 每 100 mL 收集 1 份, 每份取 0.4 mL 采用苯酚-硫酸法检测其多糖的含量, 以分部收集的洗脱体积为横坐标, 其吸光度值为纵坐标, 分别作出多糖的洗脱曲线。柱层析分出的各组分的高峰部分分别合并, 各组分减压浓缩至 100 mL 左右后装入透析袋中, 自来水透析 24 h, 去离子水透析 48 h, 每 4~6 h 换一次水。离心除去不溶性杂质, 旋转蒸发仪 60 °C 下减压浓缩, 最后真空冷冻干燥得纯化多糖 CPS-H、CPS-0.1、CPS-0.2、CPS-0.5、CPS-0.5H, 分别称重。

1.2.4 罗汉果根粗多糖的单糖组成分析 (1) 纸色谱分析: 新华中速色谱滤纸, 展开剂系统为正丁醇-吡啶-水, 显色剂系统为苯胺-邻苯二甲酸-正丁醇。称取 CPS 200 mg, 溶于 6 mL 浓度为 3 mol/L 硫酸中, 置沸水浴中冷凝回流水解 8 h, 水解液以饱和碳酸钡溶液中和, 4 000 r/min, 离心 10 min, 上清液 70 °C 下减压浓缩得浓缩液, 进行纸色谱分析(用常见标准单糖作对照: 分别称取标准单糖样品于 60 °C 烘干至质量恒定, 用超纯水配制成浓度为 10.0 g/L 的对照液)。(2) 高效液相色谱分析: 样品预处理(同纸色谱分析处理), 取 10 mL 浓缩液, 同时加入 0.8 g HY-M2007 强碱性阴离子树脂, 0.4 g HY-M1001 强酸性阳离子树脂和 0.02 g 活性炭进行脱盐净化, 不断搅拌, 直至电导率低于 5 $\mu\text{s}/\text{cm}$; 滤纸过滤, 滤液过 0.45 μm 微孔滤膜, 超声振荡 5 min 后进行高效液相色谱分析(用常见标准单糖作对照)。色谱条件: Waters 510 高效液相色谱仪, 410 示差折光检测器; 色谱柱: BC-100 碳水化合物 Ca^{2+} 柱; 流动相: 超纯水; 流速: 1 mL/min; 柱温: 80 °C。

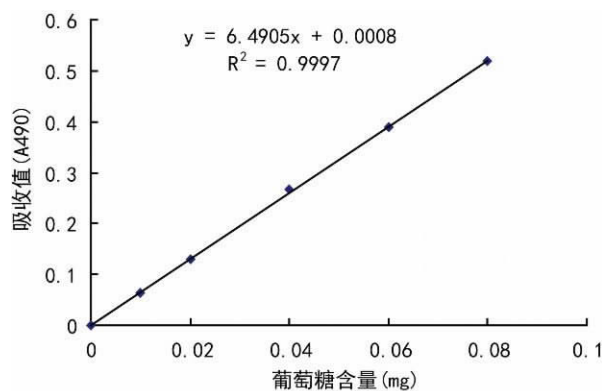
1.2.5 罗汉果根粗多糖对小鼠 H22 皮下种植性肿瘤的影响 (1) 小鼠皮下种植瘤模型的建立: 无菌条件下, 于小鼠腹腔接种 H22 细胞株 (1×10^6 个细胞/mL) 0.4 mL, 形成腹水后抽取腹水, 生理盐水稀释, 1 000 rpm/min 离心 5 min, 洗涤细胞 2 次, 调整 H22 细胞浓度为 5×10^6 个/mL, 于小鼠右腋部进行皮下无菌接种, 接种量每只为 0.2 mL。(2) 罗汉果根粗多糖对移植瘤模型小鼠瘤组织的影响: 取接种 H22 腹水瘤 24 h 后模型小鼠 50 只, 随机分为 5 组, 每组 10 只, 分别为模型对照组、环磷酰胺组 (20.0 mg/kg)、CPS 组 (600.0、300.0、150.0 mg/kg), 环磷酰胺组腹腔注射给药, 其余各组灌胃给药, 一天 1 次, 连续 10 d (环磷酰胺组隔天给药), 末次给药后次

日小鼠称重并处死, 剥取瘤组织、胸腺和脾脏, 电子天平称重, 按下列公式计算抑瘤率、胸腺指数和脾脏指数(李学臣等, 2010; 郝习等, 2011): 抑瘤率 = [(对照组瘤重 - 给药组瘤重) / 对照组瘤重] $\times 100\%$; 胸腺指数 = 小鼠的胸腺重 (mg) / 小鼠的体重 (g); 脾脏指数 = 小鼠的脾脏量 (mg) / 小鼠体重 (g)。(3) 统计学处理: 应用 SPSS 统计软件分析, 实验数据以表示, 各组实验数据用 t 检验。

2 结果与分析

2.1 葡萄糖标准曲线的制作

制作葡萄糖标准曲线如图 1 所示。



4 图 1 葡萄糖标准曲线

Fig. 1 Standard curve of Glucose

2.2 DEAE-52 纤维素柱对罗汉果块根粗多糖的分离

采用传统的水提醇沉法, 从 500 g 罗汉果块根中提取得 CPS 16.8 g, 得率为 3.36%, CPS 经 DEAE-52 柱分离纯化后, 去离子水洗脱部分得到一个纯化多糖组分 CPS-H (771.82 mg), 不同浓度氯化钠梯度洗脱得到三个纯化多糖组分 CPS-0.1 (363.07 mg)、CPS-0.2 (219.8 mg)、CPS-0.5 (254.97 mg), 氢氧化钠洗脱部分得到一个纯化多糖组分 CPS-0.5H (440.88 mg); 其洗脱曲线分别见图 2, 图 3 和图 4。

2.3 罗汉果根粗多糖的单糖组成分析

2.3.1 纸色谱分析 分析结果如图 5 所示, 从左到右依次为: 乳糖、果糖、阿拉伯糖、半乳糖、鼠李糖、木糖、甘露糖、葡萄糖、CPS; 其中, 阿拉伯糖、木糖显紫红色, 其余标准单糖多呈棕色, 鼠李糖在该展开剂条件下未展出; 根据 R_f 值和显色一致性, 结果: CPS 中检出阿拉伯糖、葡萄糖、甘露糖三组分。

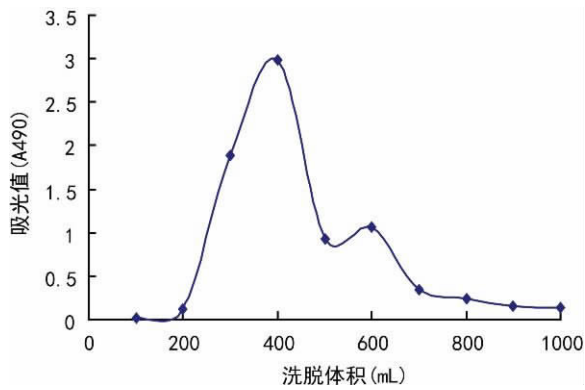


图 2 CPS 的 DEAE-52 水洗脱曲线

Fig. 2 The water elution curve of CPS on DEAE-52

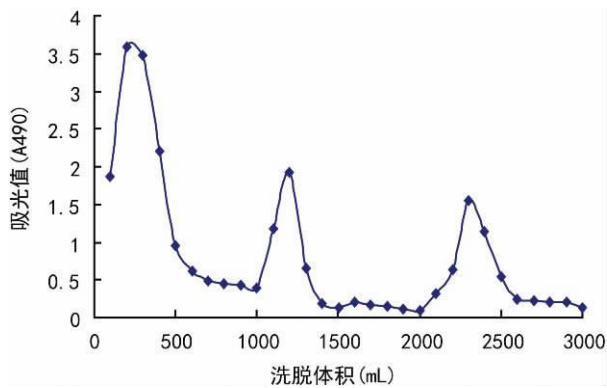


图 3 CPS 的 DEAE-52 氯化钠梯度洗脱曲线

Fig. 3 The sodium chloride gradient elution curve of CPS on DEAE-52

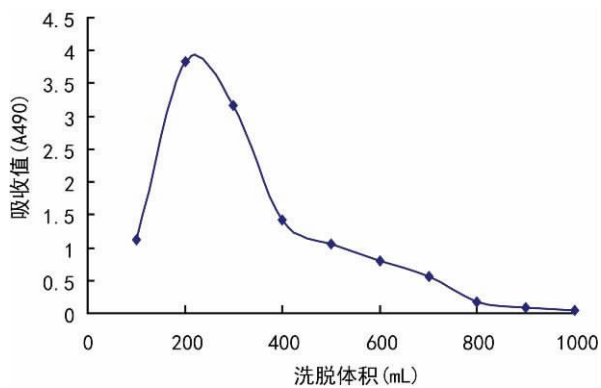


图 4 CPS 的 DEAE-52 氢氧化钠洗脱曲线

Fig. 4 The sodium hydroxide elution curve of CPS on DEAE-52

2.3.2 高效液相色谱分析 将常见标准单糖制备后逐个进入 HPLC 检测,保留时间分别为葡萄糖(glucose)11.742 min,甘露糖(mannose)12.213 min,木糖(xylose)13.546 min,阿拉伯糖(arabilllose)

15.543 min,果糖(fructose)15.613 min。CPS 按 1.2.4 项处理后经 HPLC 检测,结果如图 6 所示,根据各峰保留时间与标准单糖保留时间的一致性,确定 CPS 中含有低聚糖(峰 1)、葡萄糖(峰 2)、木糖(峰 3)、阿拉伯糖(峰 4)。其中以葡萄糖为主,5 号峰可能为甘油类物质。

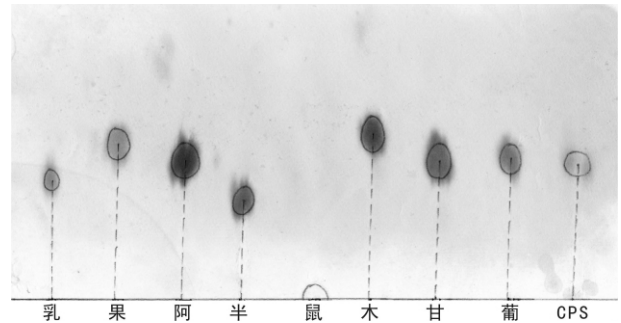


图 5 CPS 的纸色谱分析

Fig. 5 The paper chromatographic analysis of CPS

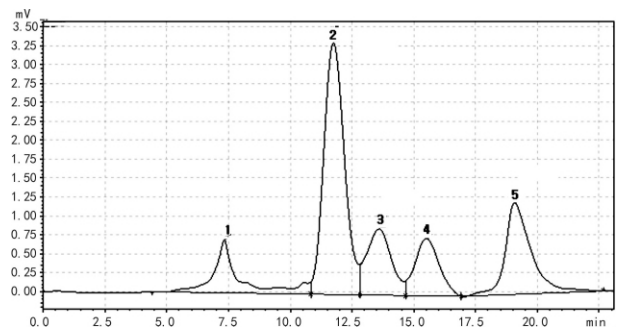


图 6 CPS 的高效液相色谱分析

Fig. 6 The HPLC analysis of CPS

2.4 罗汉果根粗多糖对移植瘤模型小鼠瘤组织的影响

表 1 结果显示:与模型对照组比较,环磷酰胺组的肿瘤重量差异显著($P < 0.05$),胸腺指数和脾脏指数的差异不显著($P > 0.05$);CPS 各剂量组的肿瘤重量没有显著差异($P > 0.05$),但胸腺指数和脾脏指数的差异极显著($P < 0.01$),即 CPS 各剂量组无明显的抑制肿瘤生长作用(抑瘤率均低于 50%),但可显著提高小鼠的胸腺指数,并显著降低小鼠的脾脏指数。

3 结论与讨论

(1)CPS 经 DEAE-52 纤维素柱分离,得到 5 个纯化多糖组分: CPS-H (771.82 mg), CPS-0.1 (363.07 mg)、CPS-0.2 (219.8 mg)、CPS-0.5

(454.97 mg), CPS-0.5H(240.88 mg); (2) 在纸层析色谱中, CPS 各单糖组分分离效果不是很好, 推测其原因可能是: 样品中各单糖含量差别较大, 其某一单糖含量远高于其它单糖组分的含量, 从而影响到其它单糖组分的分离; 进一步的试验中, 根据各单糖的螯合分配系数不同采用高效液相色谱分析, 发现其中葡萄糖含量较高(从实验中发现, 甘露糖和葡萄糖两者在纸层析中 Rf 值相近, 且两者在 HPLC

中的保留时间亦相近, 根据 HPLC 保留时间 12 min 左右呈一左右对称单峰, 且葡萄糖为最为常见的单糖组分, 判断其最可能为葡萄糖); 因此: 用纸层析结合高效液相色谱分析 CPS 的单糖组分, 其单糖组成为: 葡萄糖、木糖、阿拉伯糖; 其中以葡萄糖为主; (3) 与模型对照组比较, CPS 各剂量组都能抑制小鼠 H22 皮下种植性肿瘤的生长, 且随剂量的增加其抑制率有增加趋势, 高、中、低三个剂量组的抑瘤率分

表 1 CPS 对 H22 移植瘤模型小鼠瘤组织的影响

Table 1 Effect of CPS on H22 subcutaneous planting of mice ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别 Group	剂量 Dose (g/kg)	肿瘤重量 Tumor weight (g)	抑瘤率 Inhibition rate (%)	胸腺指数 Thymus index	脾脏指数 Spleen index
模型对照组	—	0.67±0.11	0.0	2.67±0.37	6.73±0.44
环磷酸胺组	0.02	0.29±0.05*	56.72	1.23±0.21	6.70±0.79
多糖高剂量组	0.60	0.46±0.09	31.34	14.8±1.58**	2.66±0.47**
多糖中剂量组	0.30	0.49±0.08	26.87	12.8±0.96**	3.35±0.33**
多糖低剂量组	0.15	0.57±0.19	14.93	12.7±1.52**	2.49±0.47**

注: * 与模型对照组比较 $P < 0.05$, ** 与模型对照组比较 $P < 0.01$ 。

Not: * Comparison with model group $P < 0.05$, ** Comparison with model group $P < 0.01$.

别为 31.34%、26.87% 和 14.39%; 同时 CPS 各剂量组小鼠的胸腺指数显著提高, 差异极显著 ($P < 0.01$), 而脾脏指数显著降低, 差异极显著 ($P < 0.01$)。CPS 各剂量组对小鼠胸腺指数显著提高而对脾脏指数显著降低, 这一结果和已报道的罗汉果多糖显著提高小鼠胸腺指数和脾脏指数(张玲等, 2009)的结果有所不同, 分析其原因可能是: 首先, 罗汉果多糖的单糖组分为阿拉伯糖、鼠李糖、半乳糖、木糖、葡萄糖和葡糖醛酸(李俊等, 2008b), 与罗汉果块根单糖组分不同, 故推测两者多糖的作用机理可能不同; 其次, 实验中所用的 CPS 为粗提物, 其可能含有少量免疫抑制剂成分(可使脾脏、胸腺萎缩), 而胸腺是中枢免疫器官, 脾脏为外周淋巴器官, 两者的生理功能和结构有所不同, 同一抑制剂对两者的抑制机理不同。这与文献报道相似: 与肿瘤对照组相比, CY 治疗组对小鼠的胸腺重量及胸腺指数具有显著升高影响, 而 CY 治疗组脾脏重量和脾脏指数低于对照组(王永斌等, 2010)。今后我们将进一步对罗汉果根多糖进行纯化, 鉴定其不同组分多糖的分子量、单糖组成、抗肿瘤活性及对小鼠免疫功能等药理研究的影响。

参考文献:

李学臣, 张涛, 魏晓东. 2010. 三棱提取物对 H22 荷瘤小鼠的抑瘤作用[J]. 黑龙江医药科学, 33(5):78
Bo CW(卜春文), Sun JF(孙金凤). 2004. The application of *Mo-*

mordica grosvenori swingle in yogurt(罗汉果在酸奶中的应用研究)[J]. *Food Sci Tech* (食品科技), 2:72-74
Chen QB(陈全斌), Chen HY(陈海燕), Li J(李俊), et al. 2003. By reved-phase HPLC relative molecular mass of *Momordica grosvenori* swingle polysaccharide(HPLC 法测定罗汉果多糖的相对分子质量)[J]. *Chin Trad Herb Drug* (中草药), 34(12): 1 075-1 076
Chen HX, Wang ZS, Qu ZS, et al. 2009. Physicochemical characterization and antioxidant activity of a polysaccharide isolated from Oolong tea[J]. *Eur Food Res Tech*, 229:629-635
Cho ML, Chen Y, Sang MK, et al. 2010. Molecular characterization and biological activities of water-soluble sulfated polysaccharides from *Enteromorpha prolifera*[J]. *Food Sci Bio*, 19(2):525-533
Hao X(郝习), Zhao MY(赵明耀), Yang HY(杨红艳), et al. 2011. Effects of *Lycium barbarum* polysaccharides on immune function of H22 tumor bearing mice(枸杞多糖对荷 H22 肝腹水瘤小鼠免疫功能的影响)[J]. *J Zhengzhou Univ: Med Sci*, 46(2): 242-245
Hu SH, Wang JC, Lien JL, et al. 2006. Antihyperglycemic effect of polysaccharide from fermented broth of *Pleurotus citrinopileatus* [J]. *Appl Microbiol Biot*, 70:107-113
Li J(李俊), Huang Y(黄艳), Liao RQ(廖日权), et al. 2008a. Effect of *Siraitia grosvenorii* polysaccharide on immunity of mice(罗汉果多糖对小鼠免疫功能的影响)[J]. *Chin Pharm Bull* (中国药理学通报), 24(9):1 237-1 240
Li J(李俊), Huang Y(黄艳), He XC(何星存), et al. 2008b. Study on the structure of polysaccharide from the fruits of *Siraitia grosvenorii*(罗汉果多糖的结构研究)[J]. *Sci Tech Food Indus* (食品工业科技), 29(8):169-172
Liang LJ(梁丽君). 2008. Studies on the extraction, purification (下转第 76 页 Continue on page 76)

- component and its diversity of wild *Humulus scandens* in Nan-chong(南充地区野生葎草构件性状多样性分析)[J]. *Acta Pratacultural Sci*(草业科学), **26**(8):68—71
- Mckinney ML, Lockwood JL. 1999. Biotic homogenization; a few winners replacing many losers in the next mass extinction[J]. *Trends Ecol Evol*, **14**:451—453
- Pan YM(潘玉梅), Tang SC(唐赛春), Pu GZ(蒲高忠), et al. 2009. Module biomass structure of the alien invasive plant *Conyza canadensis* (外来入侵植物小飞蓬种群构件生物量结构特征)[J]. *Guihaia*(广西植物), **29**(4):476—480
- Pimentel D, Lach L, Zuniga R, et al. 2000. Environmental and economic costs of non-indigenous species in the United States[J]. *Bioscience*, **50**(1):53—65
- Pu GZ(蒲高忠), Tang SC(唐赛春), Pan YM(潘玉梅), et al. 2010. Phenotypic plasticity and modular biomass of invasive *Parthenium hysterophorus* in different habitats in south China (入侵植物银胶菊在不同生境下表型可塑性和构件生物量)[J]. *Guihaia*(广西植物), **30**(5):641—646
- Qi SY(齐淑艳), Xu WD(徐文铎), Wen Y(文言). 2006. Biomass structure of exotic invasive plant *Galinsona parviflora* (外来入侵植物牛膝菊种群构件生物量结构)[J]. *Chin J Appl Ecol* (应用生态学报), **17**(12):2 283—2 286
- Wesselingh RA, Peter GL, et al. 1997. Threshold size for flowering in different habitats: effects of size-dependent growth and survival [J]. *Ecology*, **78**(7):2 118—2 132
- Sala OE, Chapin FS, Armesto JJ, et al. 2000. Global biodiversity scenarios for the year 2100[J]. *Science*, **287**(5459):1 770—1 774
- Su M(苏梅), Qi W(齐威), Yang M(阳敏), et al. 2009. Altitudinal differences in flower traits and reproductive allocation of *Delphinium pylzowii* (Ranunculaceae) at east Qinhai Tibetan Plateau(青藏高原东部大通翠雀花的花特征和繁殖分配的海拔差异)[J]. *J Lanzhou Univ*(兰州大学学报), **45**(2):61—65
- Sugiyama S, Bazzaz FA. 1998. Size dependence of reproductive allocation: the influence of resource availability, competition and genetic identity[J]. *Funct Ecol*, **12**(2):280—288
- Sultan, SE. 1995. Phenotypic plasticity and plant adaptation[J]. *Acta Bot Neerl*(Special Jubilee Symposium Volume), **44**:363—383
- Tang SC(唐赛春), Lü SH(吕仕洪), He CX(何成新), et al. 2008. Distribution and harmful effects of alien invasive plant *Parthenium hysterophorus* in Guangxi(外来入侵植物银胶菊在广西的分布与危害)[J]. *Guihaia*(广西植物), **28**(2):197—200
- Thébaud C, Simberloff D. 2001. Are plants really larger in their introduced ranges?[J]. *Am Nat*, **157**:231—236
- Vitousek PM, D'Antonio CM, Loope LL, et al. 1996. Biological invasions as global environmental change[J]. *Am Sci*, **84**:218—228
- Weiner J, Lesley GC, Joan P, et al. 2009. The allometry of reproduction within plant populations[J]. *J Ecol*, **97**(6):1 220—1 233
- Weiner J. 1988. The influence of competition on plant reproduction[M]//Lovett Donst J, L Lovett Donst(eds). *Plant reproductive ecology: Patterns and Strategies*[M]. New York:Oxford University Press:228—245
- Yang YF(杨允菲), Zhang BT(张宝田). 2006. Phenotype Plasticity and Regulations of Reproductive Modules on *Glycyrrhiza uralensis* Population in Meadow Habitat in Songnen Plain, China (松嫩平原草甸生境甘草种群生殖构件表型可塑性及变化规律)[J]. *Acta Pratacult Sin*(草业学报), **15**(2):14—20
- Yang YF(杨允菲), Li JD(李建东). 2003. Growth strategies of different age classes of ramets in *Kalimeris integrifolia* population at the Songnen Plains of China(松嫩平原全叶马兰种群不同龄级分株的生长策略)[J]. *Chin J Appl Ecol*(应用生态学报), **14**(12):2 171—2 175
- Zhang DY, Jiang XH. 2002. Size-dependent resource allocation and sex allocation in herbaceous perennial plants[J]. *J Evol Biol*, **15**(1):74—83
- Zhang FJ(张凤娟), Li JQ(李继泉), Xu XY(徐兴友), et al. 2009. Influence of environmental factors on seed germination of *Flavera bidentis* (环境因子对黄顶菊种子萌发的影响)[J]. *Acta Ecol Sin*(生态学报), **29**(4):1 947—1 953
- Zhao F(赵方), Yang YP(杨永平). 2008. Reproductive allocation in a dioecious perennial *Oxyria sinensis* (Polygonaceae) along altitudinal gradients(中华山蓼不同海拔居群的繁殖分配研究)[J]. *J Syst Evol*(植物分类学报), **46**(6):830—835



(上接第 142 页 Continue from page 142)

- and bioactive functionality of the Garlic polysaccharide(大蒜多糖的提取纯化及生物功能活性研究)[D]. Nan Chang Univ(南昌大学)
- Liu LH(刘丽华), Ma XJ(马小军), Sun JJ(孙晶晶), et al. 2009. Establishment and optimization of SRAP reaction system in *Siraitia grosvenorii*(罗汉果 SRAP 反应体系的建立与优化)[J]. *Guihaia*(广西植物), **29**(6):894—898
- Priyadharshini R, Marimuthu J, Moon HJ, et al. 2010. Antitumor activity of methyl polysaccharide derivatives[J]. *Bio Lett*, **32**:891—895
- Si JY(新建勇), Chen DH(陈迪华), Chen LG(沈连钢), et al. 1999. Chemical constituents of *Siraitia grosvenorii*——a special local product of Guangxi(广西特产植物罗汉果根的化学成分研究)[J]. *Acta Pharm Sin*(药学学报), **34**(12):918—920
- Wang J, Gong XG. 2001. Advances in the studies on the antitumor activity and immunomodulating action of polysaccharides [J]. *Chin J Bio Pharm*, **22**(1):52—54
- Wang YB(王永斌), Wang YX(王允祥). 2010. Antitumor effect and immune function of extracellular polysaccharide by *Pholiota squarrosa* AS 5. 245 in S180-bearing mice(翘鳞伞胞外多糖的抗肿瘤活性和对荷瘤小鼠免疫功能的影响)[J]. *Chin J Trop Crop*(热带作物学报), **31**(9):1 621—1 624
- Yang H(杨华), Li HM(李惠敏), Qin PS(覃屏生), et al. 2011. Transferring disease resistance gene *NPR1* into *Siraitia grosvenorii*(罗汉果转抗病基因 *NPR1* 的研究)[J]. *Guihaia*(广西植物), **31**(2):250—254
- Zhang GQ(张更秋). 2004. The small files of *Momordica grosvenori* swingle(罗汉果小档案)[J]. *Food Sci*(饮食科学), **12**:29
- Zhang L(张玲), Huang YF(黄友防), Lu CN(陆春妮), et al. 2009(增刊). *Siraitia grosvenorii* polysaccharide separation extraction and immune pharmacological effects of preliminary studies(罗汉果多糖分离提取及免疫药理作用的初步研究)[J]. *Chin J Trad Veter Sci*(中兽医学杂志), 121—125