两种海藻内生菌的分离及其抗氧化活性研究

冯书珍，谢广燕，刘南英，徐 畅，卢宇凤，冯学珍*

（广西科技大学 医学部，广西 柳州 545006）

摘要：为研究不同海藻不同内生菌（细菌、真菌）的抗氧化活性差异，并筛选出抗氧化活性较好的菌株。选取广西北部湾海域绿藻门石莼（*Ulva lactuca* L.）与褐藻门裙带菜（*Undaria pinnatifida Suringar*）为研究对象，以其清除 DPPH、羟基自由基与超氧阴离子的能力综合评价体外抗氧化活性，在抗氧化能力都较强的前 12 株菌株中进一步遴选出石莼与裙带菜内生细菌与内生真菌各 3 株进行深入检测。石莼与裙带菜的内生细菌、真菌对 DPPH、羟基自由基与超氧阴离子的清除活性均随质量浓度增加而升高；不同藻类的石莼与裙带菜的内生菌抗氧化活性之间存在显著差异（$P<0.05$）；同种藻类内生菌间，除裙带菜内生真菌外，整体表现为，石莼与裙带菜的内生细菌对 DPPH、羟基自由基与超氧阴离子的半抑制浓度 IC_{50} 值均显著高于内生真菌，说明石莼与裙带菜内生细菌的抗氧化活性显著低于内生真菌。其中，石莼内生真菌 SZ-5 菌株清除 DPPH、羟基自由基与超氧阴离子的综合能力相对最强，IC_{50} 依次为（0.59±0.06）、（1.30±0.36）、（1.14±0.35）mg/mL；经分子鉴定为短梗霉菌属真菌 *Aureobasidium* spp.。

关键词：海藻内生菌；抗氧化活性；DPPH；羟基自由基；超氧阴离子

中图分类号：Q 93　**文章编号：**1673-1689(2020)06-0099-07　**DOI：**10.3969/j.issn. 1673-1689.2020.06.014

Isolation and Antioxidative Activities of Algal Endophytes

FENG Shuzhen, *XIE Guangyan*, *LIU Nanying*, *XU Chang*, *LU Yufeng*, *FENG Xuezhen**

(Medical College, Guangxi University of Science and Technology, Liuzhou 545006, China)

Abstract: The study compared the antioxidative activities of typical algal endophytes in *Ulva lactuca* L. and *Undaria pinnatifida Suringar* from Beibu Gulf in Guangxi and screened out the better ones. Among the first 12 strains with stronger antioxidative activities, 9 potent strains were screened out for the further study. Results indicated that the scavenging activities of algal endophytes on DPPH, hydroxyl radical and superoxide anions increased with concentrations. There was a significant difference in the antioxidative activity between *Ulva lactuca* L. and *Undaria pinnatifida Suringar* ($P<0.05$). The semi-inhibition concentrations (IC_{50}) of endophytic bacteria from *Ulva lactuca* L. and *Undaria pinnatifida Suringar* for DPPH, hydroxyl radical and superoxide anions were significantly higher than those of endophytic fungi, indicating that the antioxidative activities of endophytic bacteria were significantly lower than those of endophytic fungi. SZ-5 strain from *Ulva*

收稿日期：2018-09-23

基金项目：广西高校中青年教师基础能力提升计划项目（2017KY0363）；国家级大学生创新创业训练计划项目（201710594051）；广西科技大学自然科学培育计划项目（0318101307）；广西科技大学博士基金项目（校科博 17Z05）。

作者简介：冯书珍（1987—），女，博士，副教授，主要从事生物化学与分子生物学研究。E-mail：fengshuzhenbest@126.com

* **通信作者：**冯学珍（1981—），女，硕士，副教授，主要从事药学研究。E-mail：fengxuezhenbest@163.com

lactuca L. had the strongest potency to scavenge DPPH, hydroxyl and superoxide anions, and the IC_{50} was (0.59±0.06), (1.30±0.36) mg/mL and (1.14±0.35) mg/mL, respectively. SZ-5 was identified as *Aureobasidium spp.*

Keywords: algal endophyte, antioxidant activity, DPPH, hydroxyl radical, superoxide anion

香山科学会议第 396 次学术讨论会与《全国海洋经济发展“十三五”规划》中明确指出,海洋微生物将是今后获得创新药物的重要资源[1-2]。海藻作为海洋中最大的植物类群,其内生细菌与真菌是海洋微生物的重要组成部分[3]。近年研究表明,内生菌的生理活性物质因具有抗氧化[4-6]、抗菌[7]、抗凝血[8]、抗炎[9]、抑制癌细胞[10]等作用,渐成为筛选与研究的热点;其中,抗氧化对于预防许多由自由基引起的生物衰老及相关疾病如心血管疾病及癌症等非常重要[11]。董玉洁等[4]从黄渤海衔接处的长岛海洋生物中分离内生真菌,通过清除二苯代苦味酰基自由基(DPPH:2,2-二苯基-1-苦肼基自由基,2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)能力的抗氧化活性进而筛选获得阿尔茨海默病(Alzhei-mer's disease,AD)活性菌株;Zheng 等[5]从 *Artemisia annua* L.中分离筛选内生细菌(*Bacillus cereus* SZ-1),其清除 DPPH 自由基的能力超过 50%;Huang 等[6]在 29 种植物如夹竹桃等中分离内生菌大多内生菌都能产生抗氧化物质,但不同种植物内生菌具有种群多样性,且同一种植物不同微生物种群间亦呈现多样性。目前,关于海藻内生菌的研究大多集中于单一物种类型,不同海藻内生菌间及内生细菌与内生真菌间抗氧化活性的差异研究还较少;这对于在海洋中正确遴选高生物活性的海藻内生菌具有重要意义。

作者以广西北部湾绿藻门石莼(*Ulva lactuca* L.)与褐藻门裙带菜(*Undaria pinnatifida Suringar*)为研究对象,分离其内生细菌与内生真菌,并通过清除 DPPH、羟基自由基、超氧阴离子的能力指征其体外抗氧化活性,探讨不同海藻内生菌间及内生细菌与内生真菌间抗氧化活性的差异,最终筛选抗氧化活性较高的菌株并加以鉴定,以期为海藻内生菌的筛选及其抗氧化的天然生物活性成分研究提供指导。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 海藻样品的采集与鉴定 于 2018 年 1 月采自广西北部湾海域(20°54′10″-21°40′30″ N,109°05′20″-109°11′35″ E),经大连海洋大学邢坤副教授依次鉴定为绿藻门石莼属黑石礁石莼(*Ulva lactuca* L.)、褐藻门裙带菜属裙带菜(*Undaria pinnatifida Suringar*)。

1.1.2 培养基 马铃薯葡萄糖琼脂(Potato dextrose agar,PDA)培养基,LB(Luria-Bertani)琼脂培养基分别用于海藻内生真菌及细菌的分离;同时,选取去琼脂的液体培养基用于发酵与培养。

1.2 方法

1.2.1 海藻内生菌的分离 将采集的海藻样品用蒸馏水冲洗去掉表面的泥沙,用无菌滤纸吸干样品表面的水分。海藻样品用质量分数为 0.1% 的 Tween-20 浸泡 5 min,无菌水冲洗干净。体积分数 75%的酒精浸泡 5 min,无菌水冲洗 3 次将表面的酒精冲洗干净。用体积分数 2%的次氯酸钠消毒 5 min,无菌水冲洗 3 次(保留最后 1 次冲洗海藻样品的无菌水,作为对照)。将海藻样品进行研磨,在研钵中加入一定量的无菌蒸馏水,静置后吸取 200 μL 涂布于 PDA 与 LB 平板上,倒置恒温培养箱中培养[11-12]。

1.2.2 海藻内生菌的保存与发酵 从平板培养基中挑取单菌落置 1.5 mL 装有液体培养基的离心管,摇床培养 8~10 h,将菌液与体积分数 50%已灭菌的甘油 1:1 等体积混合,于-20 ℃冰箱内保存(有效期 1 年,如需长期保藏进而划线培养)。为获得发酵液,可将保藏液再次转接入新的液体培养基中,200 r/min 摇床振荡培养 7~14 d。

1.2.3 海藻内生菌样品溶液的制备 获得的发酵液,双层滤纸过滤后得到上清液,用等体积的乙酸乙酯萃取 3 次,浓缩置于真空干燥箱中干燥,4 ℃保存。分别精密称取干燥恒重的乙酸乙酯提取物 5 mg,甲醇溶解并定容 100 mL,即 5.0 mg/mL 的母液,备用。

1.2.4 海藻内生菌抗氧化活性的研究

1)对 DPPH 自由基清除能力的测定 参照冯

学珍等[13]方法,略作修改。精确称取 DPPH·粉末用体积分数 80%乙醇配制成 8 mg/mL 的溶液,避光保存。取海藻内生菌样品溶液 125 μL 加入 125 μL DPPH·溶液,涡旋混合均匀,反应一定时间后在 517 nm 处的吸光度,作为样品组(A_i);125 μL DPPH·溶液加上 125 μL 体积分数 80%乙醇作为对照组(A_0);以 125 μL 相同质量浓度的样品和 125 μL 体积分数 80%乙醇混合作为空白组(A_{max});维生素 C 作为阳性对照。计算如下式(1):

$$清除率=(1-\frac{A_i-A_0}{A_{max}})\times 100\% \quad (1)$$

2)对羟基自由基(·OH^-)清除能力的测定 参照张婧涵等[14]方法,稍做修改。在 1.5 mL 离心管中依次加入 6 mmol/L 硫酸亚铁溶液 300 μL,6 mmol/L 水杨酸—乙醇溶液 300 μL 后,把海藻内生菌样品溶液 300 μL 分别加入试管中,然后加入体积分数 0.1%的过氧化氢溶液 300 μL,摇匀后 37 ℃水浴 30 min,7 000 r/min 离心 3 min,在 510 nm 处测定吸光度值 A_i;以相应溶剂代替样本作为空白对照,吸光度为 A_{max};相应样品溶液的吸光度 A_0;维生素 C 作为阳性对照。计算如下式(2):

$$·OH^-清除率=(1-\frac{A_i-A_0}{A_{max}})\times 100\% \quad (2)$$

3)对超氧阴离子自由基(·O_2^-)清除能力的测定参照陈玫等[15]及韩少华等[16]方法,稍做修改。1.5 mL 离心管中依次加入,900 μL pH = 8 的 0.05 mol/L 磷酸盐缓冲液放入 25 ℃水浴中加热 20 min,分别加入 200 μL 海藻内生菌样品溶液和 80 μL 25 mmol/L 邻苯三酚溶液,混匀后于 25 ℃水浴中反应 5 min,加入 80 mmol/L HCl 200 μL 终止反应,并摇匀,反应 3 min,7 000 r/min 离心 3 min,在波长 420 nm 处测吸光度 A_i;以相应溶剂代替样品作为空白对照,测吸光度为 A_{max};相应样品溶液的吸光度 A_0;维生素 C 作为阳性对照。计算如下式(3):

$$·O_2^-清除率=(1-\frac{A_i-A_0}{A_{max}})\times 100\% \quad (3)$$

1.2.5 分子生物学鉴定 由于获得的菌株较多,在经抗氧化活性差异分析后,对清除 DPPH、羟基自由基与超氧阴离子的综合能力相对最强的菌株进行分子生物学鉴定(最终筛选为石莼内生真菌)。提取内生菌 DNA 后进行 18S rDNA PCR 扩增,引物为 Fung(5′-GTAGTCAT ATGCTTGTCTC-3′)和 NSI(5′-ATTCCCCGTTACC CGTTG-3′)。PCR 反应体系均为 25 μL,其组成为:引物各 1 μL、2×Taq PCR MasterMix(TIANGEN,China)10 μL、内生菌 DNA 模板 1 μL、加 ddH_2O 至总体积 25 μL。PCR 循环参数如下:95 ℃ 15 min、95 ℃ 1 min、57 ℃ 1 min、72 ℃ 2 min、35 个循环;68 ℃ 延伸保育 10 min 后冷却至 4 ℃。PCR 产物于 1.0 g/dL 的琼脂糖电泳检测后用于测序(诺禾致源),将测序结果基于 NCBI 数据库(NCBI:https://www. ncbi.nlm.nih.gov/)与已知序列进行 Blast 比对分析并绘制进化树。

1.3 数据分析

采用 Excel 2010、Origin 8.0、SPSS (SPSS 20.0 Windows,SPSS Inc,Chicago,USA)、R 语言 (The R Project for Statistical Computing)对数据进行统计分析与作图,根据统计结果计算海藻多糖体外抗氧化活性的半数清除或抑制浓度(IC_{50}),并计算标准误差,结果以“平均值±标准差($\overline{X}$±SD)”表示;分别对海藻内生细菌与真菌的体外抗氧化活性进行单因素方差分析 (One-way ANOVA, 置信水平 95%、99%),处理间的多重比较用 S-N-K 法;基于内生菌的抗氧化活性进行非度量多维尺度分析 (Non-metric Multidimensional scaling,NMDS), 并利用 ANOSIM 统计组间差异显著性。

2 结果与分析

2.1 海藻内生菌的初步分离

经海藻内生菌的平板培养,共筛选获得石莼内生细菌单菌落 153 个,内生真菌单菌落 75 个;裙带菜内生细菌单菌落 219 个,内生真菌单菌落 15 个。

2.2 海藻内生菌抗氧化活性的初步测定

将获得的内生菌进行抗氧化活性的测定,综合 DPPH、羟基自由基、超氧阴离子的清除能力都较强的前 12 株菌株进行下一步的筛选。由图 1 可知,石莼及裙带菜内生细菌与真菌均有一定的抗氧化活性,但不同藻类的细菌与真菌间存在一定差异。其中,对 3 种自由基的清除作用均表现较好的菌株,分别为石莼的内生细菌 SX-2、SX-5、SX-12,内生真菌 SZ-5、SZ-7、SZ-8;裙带菜的内生细菌 QX-1、QX-6、QX-8,内生真菌 QZ-4、QZ-6、QZ-9。

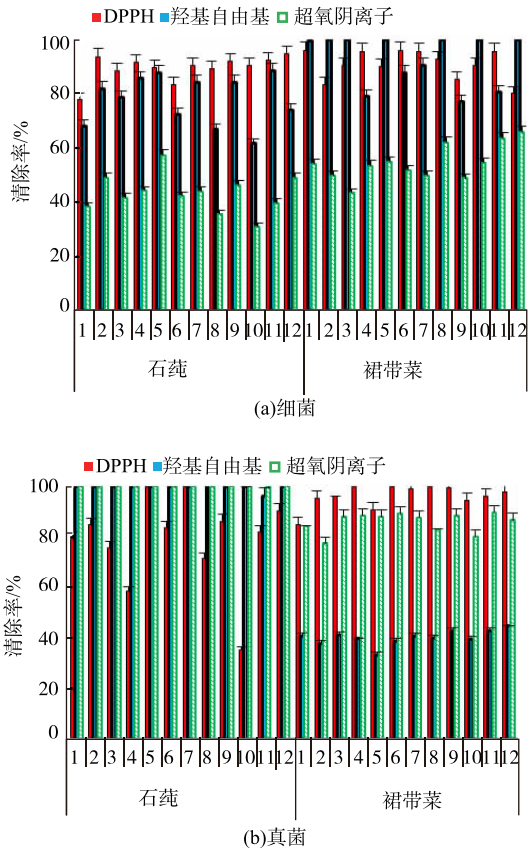
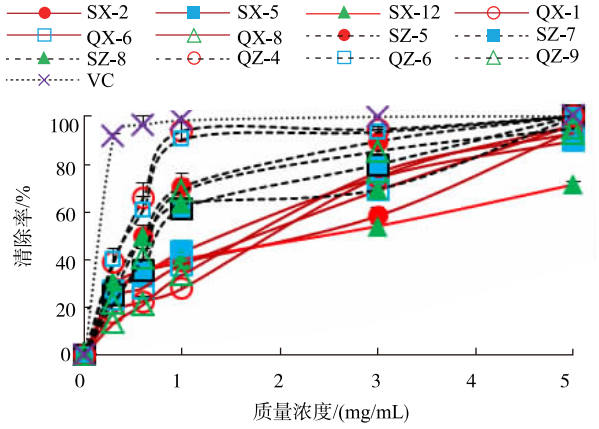


图 1 海藻内生细菌与真菌抗氧化活性的初步测定

Fig. 1 Preliminary determination of antioxidant activities of endophytic bacteria and fungi

2.3 已筛选的海藻内生菌抗氧化活性测定

2.3.1 *对 DPPH 自由基的清除作用* 不同藻类不同内生菌的不同质量浓度对清除 DPPH 自由基的活性分析,结果见图 2,可知:石莼与裙带菜的内生细菌、真菌对 DPPH 的清除活性均随质量浓度增加而升高;除裙带菜内生细菌 QX-8 外,当质量浓度为 5.0 mg/mL 时,其清除率均可达到 80%以上。其中,石莼与裙带菜的内生细菌对 DPPH 的清除 IC_{50} 均显著高于内生真菌($P<0.05$),说明内生细菌的抗氧化活性显著低于内生真菌;且裙带菜内生真菌 QZ-4、QZ-6 的 IC_{50} 分别为 (0.37±0.03) mg/mL、(0.39±0.07)mg/mL,显著高于其他 10 株菌株($P<0.05$)(表 1)。除裙带菜内生细菌 QX-8 外,当质量浓度为 5.0 mg/mL 时,其清除率均可达到 80%以上。



VC 代表阳性对照维生素 C,SX 代表石莼内生细菌,QX 代表裙带菜内生细菌,SZ 代表石莼内生真菌,QZ 代表裙带菜内生真菌,编号为图 1 中遴选出 3 种自由基清除能力综合较强的菌株;石莼与裙带菜分别用实线与虚线表示,内生细菌与真菌分别用实心图形与空心图形表示;误差线为标准差(std. deviation)。下同。

图 2 海藻内生菌对 DPPH 的清除能力

Fig. 2 Scavenging capacity of algal endophytes on DPPH

表 1 海藻内生菌对自由基清除的半抑制浓度(IC_{50})

Table 1 IC_{50} for free radical-scavenging capacity

海藻内生菌			清除 IC_{50}/(mg/mL)		
			DPPH	羟自由基	超氧阴离子
石莼	细菌	SX-2	1.14±0.05^{a}	2.42±0.06^{b}	7.60±1.03^{a}
		SX-5	1.02±0.05^{a}	1.91±0.06^{c}	5.94±0.89^{a}
		SX-12	1.69±0.16^{a}	2.71±0.35^{b}	9.12±1.58^{a}
	真菌	SZ-5	0.59±0.06^{b}	1.30±0.36^{c}	1.14±0.35^{c}
		SZ-7	0.78±0.07^{b}	1.18±0.34^{c}	1.14±0.24^{c}
		SZ-8	0.66±0.18^{b}	1.02±0.29^{c}	1.46±0.41^{c}
裙带菜	细菌	QX-1	1.29±0.06^{a}	1.26±0.31^{c}	6.69±1.56^{a}
		QX-6	1.14±0.12^{a}	1.14±0.42^{c}	7.92±1.89^{a}
		QX-8	1.31±0.22^{a}	1.29±0.60^{c}	2.54±0.57^{b}
	真菌	QZ-4	0.37±0.03^{c}	6.86±1.52^{a}	2.24±0.63^{b}
		QZ-6	0.39±0.07^{c}	10.20±2.31^{a}	1.69±0.35^{b}
		QZ-9	0.73±0.12^{b}	5.59±1.08^{a}	1.66±0.42^{b}

注:不同小写字母表示不同海藻内生菌 IC_{50} 间具有显著差异($P<0.05$)。

2.3.2 对羟基自由基的清除作用 由图 3 可知,12 株内生菌对·OH^-自由基的清除作用均随质量浓度的升高而增强。石莼内生真菌与裙带菜内生细菌在 5.0 mg/mL 时对·OH^-自由基的清除作用可达到 92% 以上,经计算 IC_{50} 为((1.02±0.29)~(1.30±0.36)) mg/mL(表 1);其次是石莼内生细菌 SX-2、SX-5、SX-12,5.0 mg/mL 时对·OH^-自由基的清除率分别可达 82%、88%、75%;裙带菜的内生真菌 QZ-4、QZ-6、QZ-9 对·OH^-自由基的清除能力相对较弱,在最大质量浓度 5.0 mg/mL 时清除率仅为(38~45)%,经计算 IC_{50} 分别为 (6.86±1.52)、(0.20±2.31)、(5.59±1.08) mg/mL。

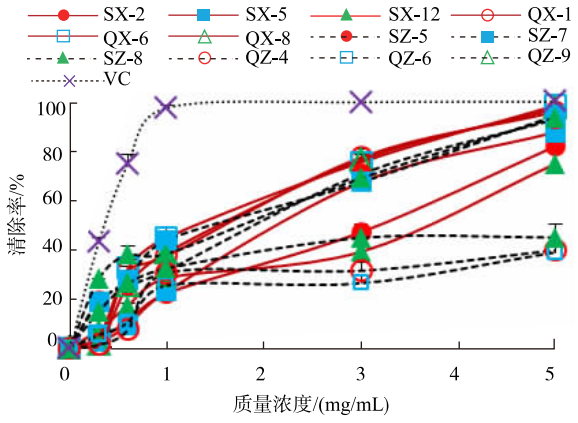


图 3 海藻内生菌对羟基自由基的清除能力

Fig. 3 Scavenging capacity of algal endophytes on hydroxyl radical

2.3.3 对超氧阴离子的清除作用 石莼与裙带菜内生细菌与真菌对·O_2^-自由基的清除作用表现为质量浓度越高,作用越强(图 4)。其中,石莼真菌 SZ-5、SZ-7、SZ-8 在最高质量浓度 5.0 mg/mL 时对·O_2^-自由基的清除率都几近 100%,IC_{50} 分别为 (1.14±0.35)、(1.14±0.24)、(1.46±0.41) mg/mL,其清除率显著其他菌株(表 1;$P<0.05$);其次,裙带菜真菌QZ-4、QZ-6、QZ-9 在质量浓度为 5.0 mg/mL 时清除率可分别达 88%、89%、88%,IC_{50} 分别为 (2.24±0.63)、(1.69±0.35)、(1.66±0.42) mg/mL;在质量浓度为 5.0 mg/mL 时,石莼与裙带菜内生细菌的清除率均低于 60%。整体来说,石莼与裙带菜的内生细菌其 IC_{50} 值均显著高于内生真菌($P<0.05$),说明石莼与裙带菜内生细菌对超氧阴离子的清除作用显著低于内生真菌。

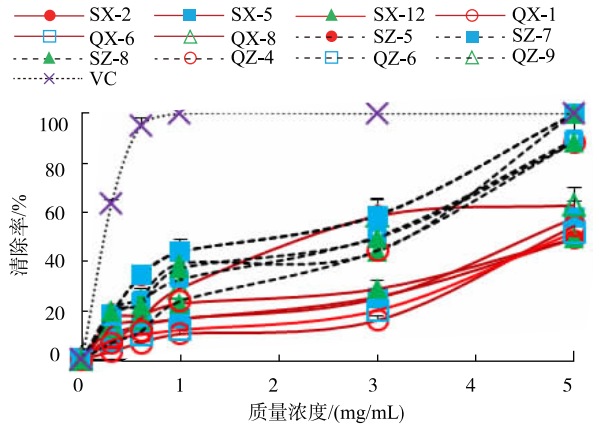


图 4 海藻内生菌对超氧阴离子的清除能力

Fig. 4 Scavenging capacity of algal endophytes on superoxide anion

2.4 海藻内生菌间抗氧化活性的差异分析

以表 1 计算所得的 IC_{50} 值进行下一步的组间分析,非度量多维尺度分析 NMDS 与 ANOSIM 统计结果可知(图 5):不同藻类,石莼与裙带菜内生菌的抗氧化活性之间能较好的分开,且差异显著(globe test:$P<0.05$);同种藻类不同内生菌之间可表现为:石莼内生真菌与内生细菌的抗氧化活性之间差异显著(globe test:$P<0.05$);裙带菜内生真菌与内生细菌间亦能较好的分开,差异显著 (globe test:$P<0.01$)。

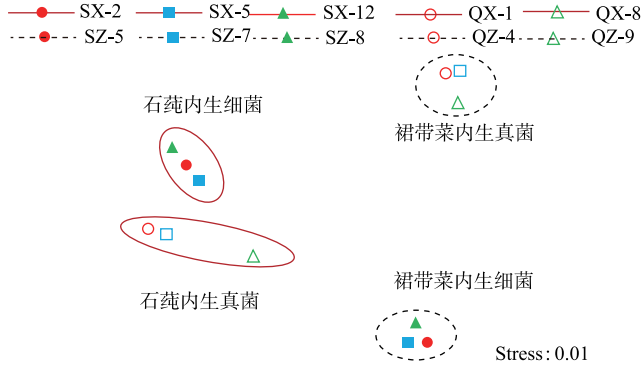


图 5 海藻内生菌间抗氧化活性的 NMDS 分析

Fig. 5 Non-metric multidimensional scaling of the algal entophytes

2.5 抗氧化活性菌株的分子鉴定

综上,石莼内生真菌 SZ-5 菌株在最高质量浓度时的清除 DPPH、羟基自由基与超氧阴离子的综合能力相对最强,因此对其进行下一步的分子鉴定。以 SZ-5 菌株 DNA 为模板进行 PCR 扩增,其产物纯化后进行 Sanger 测序,并基于 NCBI 数据库与

已知序列进行 Blast 比对分析。结果显示(图 6),菌株 SZ-5 的 18S rDNA 序列与 NCBI 中出芽短梗霉(*Aureobasidium pullulans*)JX303663.1 的 18S 序列,相似度较高;初步确定该分离的菌株为短梗霉菌属真菌。

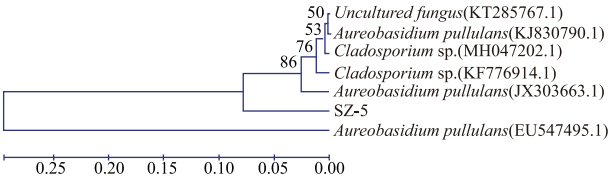


图 6 SZ-5 菌株同源性比较的进化树

Fig. 6 Homology comparison of 18S rDNA gene from SZ-5 strains

3 结 语

抗氧化活性主要是对生物在外界条件胁迫下产生的活性氧的消除作用[17]。现有关海藻内生菌的研究多集中在其抗菌方面:孙好芬等[18]对青岛海域松节藻、多管藻、裙带菜中分离纯化出 18 株内生真菌,均具有较好的抑菌活性;孙杰等[19]对烟台浅海处鼠尾藻、裙带菜、海带中分离内生真菌并检测其抑菌活性,结果表明均有>50%的抑菌活性;但是相对于抗氧化活性的研究还较少。广西北部湾海域绿藻门石莼、褐藻门裙带菜的内生细菌与真菌,均对 DPPH 自由基、羟基自由基、超氧阴离子具有一定的清除能力,大部分具有良好的抗氧化活性,清除活性均随浓度增加而升高,说明海藻内生菌是抗氧化活性产物寻找的良好资源。

石莼与裙带菜的内生菌抗氧化活性之间存在显著差异,说明不同藻类内生菌存在抗氧化活性的种群多样性。孙剑秋等[20]对北京植物园 4 科 6 种药用植物的研究结果,也同样发现不同植物中内生真菌种类存在显著差异。这可能是由于:植物内生菌具有丰富的生物多样性,宿主植物不同,则分离得到的内生菌种类、数目均有差异[18];其抗氧化活性也可能存在差异。目前,宿主与内生菌的选择性和多样性机制尚未阐明,但已有研究表明,内生菌大多能产生与宿主相似或相同的生物活性[21-22]。课题组前期研究表明[13],广西北部湾石莼等多糖均具有较好的抗氧化活性(DPPH),作者试图将内生菌与宿主间建立耦合关系,结果并不理想,仍需深入研究。

同种藻类内生菌间,除裙带菜内生真菌外,整体表现为,石莼与裙带菜的内生细菌对 DPPH、羟基自由基与超氧阴离子的半抑制浓度 IC_{50} 值均显著高于内生真菌,说明石莼与裙带菜内生细菌对超氧阴离子的清除作用显著低于内生真菌。石莼与裙带菜的内生真菌整体来说其抗氧化活性显著高于内生细菌,指示在海藻内生菌的抗氧化活性物质筛选中可以将内生真菌作为优先研究的对象。其中,石莼内生真菌 SZ-5 菌株在最高质量浓度时的清除 DPPH、羟基自由基与超氧阴离子的综合能力相对最强,按真菌形态分类鉴定方法进行鉴定为短梗霉菌属真菌 *Aureobasidium* spp.,可以作为进一步实验研究的对象,从而为抗氧化药物的研究与开发奠定基础。

参考文献:

[1] 白雪瑞, 熊国祥. 香山科学会议第 396-400 次学术讨论会简述[R]. 中国基础科学·香山红叶, 2011, 13(5): 27-33.
[2] 国家发展改革委, 国家海洋局. 全国海洋经济发展“十三五规划”公布 [J]. 珠江水运, 2017(9):1-2.
[3] SUN H, GAO S S, LI X M, et al. Chemical constituents of marine mangrove derived endophytic fungus alternariate nussima EN-192[J]. **Chinese Journal of Oceanology and Limnology**, 2013, 31(2): 464-470.
[4] 董玉洁, 朴美子, 王懋存, 等. 长岛海洋生物内生真菌的分离及其抗老年痴呆活性筛选[J]. 中国食品学报,2012, 12(4): 43-47.
[5] ZHENG L P, ZOU T, MA Y J, et al. Antioxidant and DNA damage protecting activity of exopolysaccharides from the endophytic bacterium *Bacillus cereus* SZ1[J]. **Molecules**, 2016, 21(2): 174.
[6] HUANG W Y, CAI Y Z, XING J, et al. A potential antioxidant resource: endophytic fungi from medicinal plants[J]. **Economic Botany**, 2007, 61(1): 14-30.
[7] 殷海兴, 林家富, 褚以文. 附子内生放线菌 EA12432 抗真菌次级代谢产物研究[J]. 中国抗生素杂志, 2016, 41(9): 653-657.
[8] 杨志军, 邓毅, 曼琼, 等. 内生菌在天然药物研究中的研究进展[J]. 中国临床药理学杂志, 2018, 34(5): 593-596.
[9] 郝帅, 秦玉, 王成涛. 功能食品藻蓝蛋白的生理活性研究进展[J]. 食品与生物技术学报, 2017, 12:1233-1240.

[10] 陈金印. 华重楼内生真菌 RPF8 发酵产物抗肿瘤作用研究[D]. 杭州: 浙江中医药大学, 2013: 30-41.
[11] 刘雅莉, 黄一泓, 武文斌, 等. 蒺藜内生真菌抗氧化活性菌株的筛选[J]. 天然产物研究与开发, 2013, 25(4): 435-439, 478.
[12] 王霞, 薛林贵, 张晓华, 等. 菘蓝内生细菌的分离、筛选和鉴定[J]. 生物技术通报, 2018, 34(3):163-169.
[13] 冯学珍, 伍善广, 孔靖. 超声辅助提取石莼多糖工艺优化及其清除 DPPH·自由基活性研究[J]. 中药材, 2013, 36(11): 1870 1872.
[14] 张婧涵, 姚忠, 孙芸, 等. 桑木耳多糖提取工艺优化及其抑菌活性和抗氧化活性评价[J]. 现代食品科技, 2018, 34(4): 143-149.
[15] 秦铭铭, 耿燕, 栾雪, 等. 药食用真菌提取物抗氧化活性研究[J]. 食品与生物技术学报, 2017, 36(1): 80-86.
[16] 韩少华, 朱靖博, 王妍妍. 邻苯三酚自氧化法测定抗氧化活性的方法研究[J]. 中国酿造, 2009, 28(6): 155-157.
[17] 陈金阳, 陆儒涵, 王 玲, 等. 药用植物内生菌抗氧化活性研究进展[J]. 中草药, 2016, 47(20): 3720-3726.
[18] 孙好芬, 刘金虎, 王朝玺, 等. 青岛海域 18 株海藻内生真菌生物活性初探[J]. 青岛理工大学学报, 2017, 38(1): 83-86.
[19] 孙杰, 杨润亚, 任晓明. 三种海藻内生真菌的分离及其抑菌活性研究[J]. 食品科学, 2007, 28(11): 357-359.
[20] 孙剑秋, 郭良栋, 臧威, 等. 药用植物内生真菌多样性及生态分布[J]. 中国科学 C 辑: 生命科学, 2008, 38(5): 475-484.
[21] STROBEL G, DAISY B, CASATILLO U, et al. Natural products from endophytic microorganisms[J]. **Journal of Natural Products**, 2004, 67(2): 257-268.
[22] ZHAO J, SHAN T, MOU Y, et al. Plant-derived bioactive compounds produced by endophytic fungi[J]. **Mini Reviews in Medicinal Chemistry**, 2011, 11(2): 159－168
[23] 王志伟, 纪燕玲, 陈永敢. 植物内生菌研究及其科学意义[J]. 微生物学通报, 2015, 42(2): 349-363.
[24] 吕艳娜, 孙小萌, 赵芮, 等. 药用植物内生细菌多样性及其生物学作用[J]. 中国野生植物资源, 2017, 36(6): 45-49.

科　技　信　息

欧盟评估珍珠岩作为反刍动物和家禽添加剂的安全性和有效性

2020 年 5 月 20 日,据欧盟食品安全局(EFSA)消息,欧盟动物饲料添加剂和产品(FEEDAP)研究小组评估了申请人提交关于珍珠岩(perlite)(硅酸钾钠(sodium potassium aluminium silicate))作为反刍动物和家禽添加剂的数据。

经过评估,由于申请人未能提供补充信息。专家小组无法就添加剂珍珠岩作为反刍动物和家禽添加剂的安全性和有效性发表科学意见。

[信息来源]食品伙伴网. 欧盟评估珍珠岩作为反刍动物和家禽添加剂的安全性和有效性[EB/OL]. (2020-05-22).http://news.foodmate.net/2020/05/560898.html