

# 海洋微生物活性产物及研究方法

倪志华<sup>1,2</sup>, 张玉明, 刘龙, 马懿<sup>3</sup> (1. 河北大学生命科学学院, 河北保定071002; 2. 河北省生物工程技术中心, 河北保定071002; 3. 河北大学医学部基础医学教研室, 河北保定071000)

**摘要** 海洋多变复杂的环境导致了海洋微生物的多样性。近年来, 在对海洋微生物的研究中发现了许多独特的生物活性物质。通过对这些生物活性物质的提取、药理研究, 为新药的开发和各种疑难疾病的治愈提供了新的希望。就海洋微生物活性物质的几种重要生物活性, 如抗肿瘤、抗菌、酶及酶抑制剂活性分别进行概述, 同时概括了海洋微生物活性物质的研究方法以及存在的问题。

**关键词** 海洋微生物; 活性物质; 代谢产物; 筛选方法

中图分类号 Q93 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2009)07-02839-03

## Bioactive Products and Research Methods of Marine Microorganism

N Zhi-hua et al (College of Life Sciences, Hebei University, Baoding, Hebei 071002)

**Abstract** The environment of sea is changeable and complex, which causes the diversity of marine microorganism. In recent years, many unique bioactive materials were found in the researches of marine microorganism. The extraction and pharmacology of these bioactive materials were studied, which provide new hope for the development of new medicines and the cure of different diseases. Several kinds of important bioactivity of active materials from marine microorganism were introduced, such as anti-tumor, antibacterial, enzyme and enzyme inhibitor activity. And the research methods and existing problems of active materials from marine microorganism were summarized.

**Key words** Marine microorganism; Bioactive materials; Metabolite; Method of screening

海洋是生命的起源地, 不仅占地球表面积的71%, 而且包含着地球80%的生物资源。海洋环境的多样性和特殊性共同造就了海洋生物种类的多样性和特殊性, 其中, 海洋微生物种类就多达100万种以上, 而目前所研究和鉴定过的海洋微生物还占不到总量的5%<sup>[1]</sup>, 已发现的活性物质只占总数的1%<sup>[2]</sup>。经过大量研究得出, 从海洋微生物中发现的生物活性物质包括胺及酰胺类、吡啶生物碱类、乙酰配基类、环肽类及聚丙烯酸酯类, 其生物活性包括抗菌、抗肿瘤、抗微生物、抗病毒、酶及酶的抑制活性等<sup>[3]</sup>。海洋微生物作为活性物质的新来源, 正日益被海洋研究者、化学研究者以及生物医药工作者所重视。

### 1 海洋微生物代谢产生的重要生物活性

**1.1 抗肿瘤活性** 海洋微生物的代谢产物有多种活性, 其中以抗肿瘤活性最为重要。近年来, 科研人员对来自海洋细菌、海洋真菌、海洋放线菌的抗肿瘤活性物质作了较多研究。从海洋微生物中筛选的抗肿瘤活性物质的种类包括含氮类、内酯类、酮类、醌类、多糖类<sup>[4]</sup>; 按其来源又可分为海洋细菌的抗肿瘤活性物质、海洋放线菌的抗肿瘤活性物质及海洋真菌的抗肿瘤活性物质。

**1.1.1 海洋细菌的抗肿瘤活性物质。** 海洋中常见的细菌主要属于以下几个系统类群: 变形细菌(*Proteobacteria*)类群、革兰氏阳性细菌类群、噬纤维菌属-黄杆菌(*Cytophaga-Flavobacterium*)类群、浮霉状菌(*Planctomyxales*)/衣原体类群、疣微菌(*Verrucomicrobiales*)类群等。海洋细菌是海洋微生物抗肿瘤活性物质的一个重要来源, 主要集中在假单胞菌属、弧菌属(*Vibrio*)、微球菌属、芽孢杆菌属、肠杆菌属(*Enterobacterium*)、交替单胞菌属(*Aeromonas*)、链霉菌属、钦氏菌属、黄杆菌属和小单孢菌属(*Micromonospora*)。

1966年, Burkholder 第1次从海洋细菌——假单胞菌中分离得到具抗癌作用的硝吡咯菌素(Pyrolitriin)。此后对海

洋细菌的研究一直较少, 直到20世纪末, 人们才对海洋细菌的筛选、培养及代谢产物的研究重视起来, 以期从中得到新的特效抗癌药物。日本冈见分离到一株黄杆菌属的海洋细菌代谢产生杂多糖 Marinactan, 能够增强免疫功能和抑制动物移植肿瘤, 并成为化疗药物治疗肿瘤的佐剂<sup>[5]</sup>。Custafson 等从海洋细菌中分离到大环内酯类化合物 Macro-lactins, 它由24元内酯环、吡型葡萄糖和一个开链的酸构成, 其中 macrolactin A 组分是一种配糖体母体, 具有抗肿瘤、抗病毒、抗菌等功能<sup>[3]</sup>。与海洋生物共生或寄生的很多海洋细菌也是抗肿瘤药物的重要来源。海绵体内的微生物最多可占其体重的70%, 海绵能产生多种抗菌、抗肿瘤活性成分, 从而引起国内外对于海绵生物活性成分研究的热潮。海绵中存在着复杂的微生物群落, 海绵中的抗癌物质是由海绵中共生共栖的细菌所产生的, 从这些细菌中可以分离出抗白血病、抗鼻咽癌的活性成分。Canedo 等从加勒比海海鞘(*Ecteinascidia turbinata*)及土耳其海岸 Polychitoni de 属海鞘中分离到2株土壤杆菌, 并从脂溶性代谢产物中分离得到2个有显著抗肿瘤活性的生物碱类化合物 Sesbarinide A 和 C, 对肿瘤细胞 L1210 的 IC<sub>50</sub> 达 0.8 μg/L。

**1.1.2 海洋放线菌的抗肿瘤活性物质。** 海洋放线菌主要包括链霉菌属(*Streptomyces*)、小单孢菌属(*Micromonospora*)、红球菌(*Rhodococcus*)、诺卡氏菌(*Nocardia*)以及游动放线菌(*Actinoplanetes*)等稀有属种。海洋放线菌主要分布在海底沉积物、海洋生物表面以及游离于海水中。海洋放线菌的生活环境十分特殊, 如高盐度、高压、低营养、低温等。在这些所谓生命的极限环境中, 海洋放线菌已发展出独特的代谢方式, 同时也提供了产生独特的生物活性物质的潜力。

中国海洋大学药物与食品研究所、军事医学科学院毒物药物研究所的科研人员对海洋放线菌 S1001 发酵产物进行了分离和研究, 并用理化手段综合分析了其中的抗肿瘤活性成分, 取得了较为满意的结果<sup>[6]</sup>。有报道称, 从我国台湾海峡采集的海洋植物、动物的表面、表皮和内部分离得到多株放线菌, 其中有 20.60% 的放线菌对肿瘤细胞 P388 有细胞毒

**作者简介** 倪志华(1979-), 女, 河北唐山人, 讲师, 从事生物化学与分子生物学研究。

收稿日期 2008-12-10

性,18.60%的菌株对KB细胞有毒性,此外还有2.96%的菌株具有可诱导的抑菌和抑肿瘤活性<sup>[7]</sup>。Neomai none 是从海洋放线菌分离到的含倍半萜的新萘醌类抗生素,在体外对肿瘤细胞HCT116有中等细胞毒性( $IC_{50}=0.8\text{ ng/L}$ ),对美国国立癌症研究所(NCI)的60个人类肿瘤细胞群 $GI_{50}$ 平均值为 $10\text{ }\mu\text{mol/L}$ 。海洋放线菌常产生结构奇特的大环内酯类化合物<sup>[8]</sup>,这些化合物都具有很好的抗肿瘤活性。

**1.1.3 海洋真菌的抗肿瘤活性物质。**海洋真菌是海洋微生物的一个主要分支。根据Kohmeyer等调查,已经发现321种海洋真菌,包括255种子囊菌,6种担子菌,60种无性态的真菌。随着新的菌体的发现和描述,海洋真菌数量还在不断地增大。近几年,人们对研究海洋真菌的次级代谢产物的兴趣激增,有不少文章对海洋真菌进行了实证研究,表明从海洋真菌分离出的次级代谢物中约70%~80%具有生物活性<sup>[9]</sup>。

日本的Shigenori从海鱼Apogon endekatanum中分离到1株真菌Pericillium fellutanum,并从其发酵物中得到2种肽类物质fellutanum A和B。药理试验发现,它们在体外均对鼠白血病细胞P388有细胞毒性 $IC_{50}$ 分别为0.2和0.1 ng/L,对人类表皮样瘤KB细胞有类似作用( $IC_{50}$ 分别为0.5和0.7 g/L)<sup>[10]</sup>。Mercedes Cueto等从海藻Arainvillea sp.中分离出镰孢属真菌Fusarium sp.,并从其发酵液中分离得到1个环五肽化合物N-methylsarsalvanide,对NCI人类癌细胞株具有增殖抑制活性( $GI_{50}$ 为 $8.3\text{ }\mu\text{mol/L}$ ),而与其结构类似的sarsalvanide在NCI人类癌细胞株筛选中表现出中等程度的增殖抑制活性( $GI_{50}$ 为 $3.6\text{ }\mu\text{mol/L}$ )<sup>[11]</sup>。Kupha等报道,海洋担子菌中分离的干蠕孢菌素Siccayne是一个单异戊二烯基的氢醌,对革兰氏阳性菌和一些真菌有生理活性。Siccayne还能抑制核苷前体进入DNA和RNA的表达,在小鸡成纤维细胞试验中有细胞毒性作用,表现出抗艾氏腹水癌细胞的生理作用<sup>[12]</sup>。

**1.2 抗菌活性** 在当今抗生素普遍应用的年代,科学界对细菌的耐药性的迅速出现显得措手不及,因此迫切需要新类型的抗生素快速持续地开发,以适应细菌抗生素敏感性改变的速度。对海洋微生物产生的多样的活性物质的研究从一定程度上为解决这个难题提供了新思路。

日本近年来对海洋微生物进行了广泛研究,发现约有27%的海洋微生物具有抗菌活性,并且许多成分是陆地生物中不存在的,这为人工合成抗菌药物提供了新颖的先导化合物<sup>[13]</sup>。1996年,Burkholder从海洋含溴假单胞菌中分离到抗生素硝吡咯菌素(pyrolitricin),随后有多种海洋微生物所产生的抗生素被发现。刘金永等从海洋细菌中分离到广谱抗真菌物质,对人体病原性念珠菌有较强的抑菌作用。来源于多种链霉菌的Telocidin B亦为一种强抗菌药物,药理试验表明,其对革兰阳性菌有较强的抑菌活性<sup>[14]</sup>。Istanycin是从一株新的海洋放线菌中分离得到的新型抗生素,属于氨基糖苷类化合物,对革兰氏阳性和阴性细菌,包括对原有的氨基糖苷类抗生素有耐药性的细菌都有极强的作用,很有可能成为实际应用的抗感染药物<sup>[15]</sup>。

**1.3 酶活性** 近20年来,随着科学技术的发展和人们对开发海洋资源意识的增强,有关海洋微生物产生新型生物酶的

报道逐渐增多,海洋微生物成为开发新型酶制剂的重要来源。目前,国外已经从海洋细菌、放线菌、真菌等微生物体内分离到多种具有特殊活性和工业化开发潜力的酶制剂,部分产品已经开始了工业化生产。

1960年,丹麦首先利用地衣芽孢杆菌生产碱性蛋白酶,并将其用于生产加酶洗涤剂。20世纪70年代初,Nobuo Kato从海洋嗜冷杆菌中获得一种新型的海洋碱性蛋白酶。海洋船蛆Deshayes腺体内的共生细菌ATCC39867可以产生碱性蛋白酶,该酶具有较强的去污活性,在50℃可以加速提高磷酸盐洗涤剂的去污效果,在工业清洗方面有一定的应用价值。日本、美国曾报道,从冷海水区域分离得到的微生物能够产生耐低温的脂肪酶。1995年,戴继勋等由海带、裙带菜病烂部位分离得到褐藻胶降解菌别单胞菌,利用发酵得到的褐藻胶酶对海带、裙带菜进行细胞解离,获得了大量的单细胞和原生质体。海藻单细胞在海藻养殖工业中具有重要的科研和应用价值<sup>[16]</sup>,并可作为单细胞饵料用于扇贝养殖,可明显促进扇贝的性腺发育和成熟,促进幼体的发育。

**1.4 酶抑制剂活性** 酶抑制剂作为有用的工具,之所以越来越受到重视,不仅是因为它可用于研究酶的结构和反应机理,而且还由于它们有可能用于药理学研究。海洋环境的特征显著不同于陆地环境,海洋微生物是酶抑制剂重要的新来源。

从日本宫城县的小鹿半岛采集的海水中分离出一株海洋细菌芽生杆菌SANK 71894,在菌株培养清液中,提纯出一种新的内皮素转化酶抑制剂-90063。现已证明,-90063可强烈抑制人类和大鼠的内皮素转化酶,这种抑制剂可望用于高血压和血管病的防治。从上海市沿海采集到的海洋沉积样品中,分离出一种阳性菌株,现已利用标准分类方法将这个菌株鉴定为链霉菌。相关学者已经从这个菌株的培养液中分离出一种新的抑制吡齐诺的抑制素<sup>[17]</sup>,这种抑制剂有可能用于阐明焦谷氨基酶引发的各种疾病的机理。

## 2 海洋微生物活性物质的研究方法

有报道称,现在已发现约5000种新的海洋天然活性物质,但只有1500多种海洋微生物的活性代谢物得到了详细的生理药理研究,海洋中还存在着上百万种海洋微生物等待进一步的深入研究与开发<sup>[18]</sup>。海洋中存在大量至今未被研究开发的新种属微生物和特殊生态系统的微生物,它们存在产生大量新型天然活性物质的潜力,但相应的研究开发工作尚处于初级阶段。因此,近几年许多国家的实验室、研究所都加强了对此领域的深入研究工作。这些研究工作带动了海洋生物技术相关学科的发展,促进了海洋微生物天然活性物质的开发、生产和应用。

### 2.1 海洋微生物活性物质的分离筛选方法

**2.1.1 高通量筛选法。**海洋微生物天然活性物质的筛选首先是海洋微生物的分离筛选。筛选时不仅要考虑到海洋微生物的多种来源,而且还要考虑到微生物的种类,以及特定的生长环境。由于产生特定活性物质的微生物是从海洋的不同区域中采集的大量微生物菌株样品中筛选出来的,需要大量工作才有可能得到有价值的菌株,因此需要有一套有效的快速培养筛选方法,研究常用快捷有效的自动化高通量药

物筛选方法(HIS)或快速分子筛选方法进行筛选。例如美国 Cyanamid 公司的研究人员运用独特分子筛选技术,对从世界各地采集的海洋微生物进行测试,以找到有抗菌、抗病毒或抗癌征兆或作为治疗心血管、神经系统疾病苗头的药物。日本 Sanryo 公司利用细菌发酵培养,寻找抗细菌和抗真菌的药物,得到许多有药用前景的活性物质。

中国海洋大学海洋药物教育部重点实验室<sup>[10]</sup>在已有 ts-FIT210 细胞的流式细胞术筛选模型基础上,利用研究室现有条件建立了海虾生物致死法筛选模型,并通过组合使用这 2 种模型,探讨了海虾生物致死法一级初筛和对初筛活性菌株利用流式细胞术模型二级复筛的分级组合筛选模式对源于青岛海域的海泥和海洋动植物样品的 162 株微生物进行了组合筛选,结果发现,靶点机制单一的活性筛选模型与既经济又能覆盖所需活性的广谱简易初筛模型结合使用来开展活性菌株的分级组合筛选,将会降低成本、提高效率,有很大的实际利用价值。

**2.1.2 海洋微生物开发中的 BIA 筛选法。**此方法多用于海洋微生物中抗肿瘤物质的筛选。虽然抗肿瘤物质筛选方法很多,但试验证明,在体外模型中 BIA 法以其独特的筛选机制显示出不可忽视的优势。它是利用遗传学方法构建的一株具有 -lacZ 片段的溶源性 E. coli 为指示菌,该菌株在正常条件下不表达 -半乳糖苷酶,但当培养介质中含有能作用于 DNA 的化合物时,菌株就会被诱导产生 -半乳糖苷酶。因此,通过检测是否有 -半乳糖苷酶产生就可初步确定样品中是否含有能够作用于肿瘤细胞 DNA 的物质。由于天然药物中不少是通过使肿瘤细胞 DNA 受损伤起作用,因此,可利用此法检测天然产物中具有这种作用机理的抗肿瘤活性物质<sup>[11]</sup>。海洋微生物中也存在不少能作用于 DNA 的物质,可由此法进行快速、特异筛选。

**2.1.3 海洋微生物活性产物的其他筛选法。**目前,在海洋微生物中筛选活性药物的技术中,高通量筛选方法的应用和完善,提供了在短时间内筛选大量化合物的能力,而这又使得从海洋微生物分离提取各种化合物成为发现活性物质的关键环节<sup>[12]</sup>。所以,扩大海洋生物的化学研究将是海洋抗肿瘤物质研究的主要课题,同时也将会形成一个新的热潮。组合化学技术的应用,为海洋抗肿瘤活性物质的研究拓宽了领域。海洋是一个多样化化合物的世界,分离所获得的大量小分子化合物为组合化学技术提供了难得的材料,使我们有可能将这些化合物重新组合成数目更为巨大的新化合物,为进一步寻找抗肿瘤先导物提供更为广泛的资源基础。同时,为海洋药物开发中的难点——药源问题提供方法支持,使得海洋药物产业化问题变得更为现实。

**2.2 海洋微生物天然活性物质开发生产的产业化** 对于筛选到的含有活性物质的微生物,还存在有效成分含量低、难分泌到胞外、培养生物量低、培养难度大等问题,这都限制了海洋微生物天然活性物质生产的工业化和临床应用。采用现代生物技术是最好的解决途径。

海洋生物技术涉及基因工程、细胞工程、蛋白质工程和发酵工程等,相关学科的发展将大大繁荣海洋药物的研究与

开发,从多方面解决海洋抗肿瘤药物研制中遇到的难题。利用基因工程对原微生物菌株的改良或将天然活性物质的基因克隆到其他易于培养、生长繁殖迅速或代谢物易分泌到胞外的微生物,以提高天然活性物质的含量和产量,大大降低生产成本。利用细胞工程可实现不同种属生物间的融合杂交,从而改良菌种来提高活性物质含量,或增强细胞分泌机制从而简化提取工艺,达到大量生产所需天然活性物质的目的。但是,由于海洋生物共附生微生物的人工培养条件很难完全模拟其生存环境,使其代谢产物的规模化生产受到一定的限制,因此,人们正在把注意力转向海洋微生物的培养与发酵技术的研究上。海洋生物所产生的生物活性物质,能通过发酵进行胞外生产,与现代的微生物技术相结合,较容易实现工业化生产<sup>[18]</sup>。利用微生物发酵技术的成熟工艺、后处理工艺、分离纯化技术及高度自动化生物反应器等实现海洋微生物天然活性物质生产的工业化并不断降低生产成本,加速从研究开发到产品化的过程。

### 3 结语

随着陆生微生物药用资源的日益淘尽和获新率严重下降,目前对海洋微生物活性物质的研究已成为国内外研究的热点领域。近年来,我国在海洋微生物活性物质和海洋药物方面取得了一定的成绩,分离和鉴定海洋微生物天然产物的报道越来越多,发现了不少具有明确生物活性的新化合物,有些具有良好的药用前景。并且很多学者把工作重点集中在对海洋微生物特别是非可培养微生物培养条件的研究上,通过研究方法的革新,很多新的活性物质被发现。但是总体而言,我国海洋微生物资源的开发研究和综合利用还不够,有关科研成果亟待快速有效产业化。

海洋为我们提供了丰富的资源和广阔的研究空间,相信随着科研技术的进步以及海洋微生物资源开发利用的深入,会有更多的海洋微生物生物活性物质被发现并应用到生产生活中。可以预计,在不远的将来,利用基因技术结合发酵工程可实现海洋微生物活性代谢产物的规模化生产,达到提高其生物活性物质含量、降低生产成本的目的,使海洋微生物成为新药开发的重要资源宝库。

### 参考文献

- [1] 周世水,丁金国,姚汝华.海洋微生物药物的开发和应用[J].工业微生物,2002,32(2):48-51.
- [2] KNIGHT V, SANGICR J J, DTULLIO D, et al. Diversifying microbial natural products for drug discovery[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2003, 62: 446-458.
- [3] 胡艳红,张庆林,王正平.海洋微生物生物活性代谢物研究进展及技术问题[J].科学技术与工程,2004,4(2):160-163.
- [4] 阎莉萍,洪葵.海洋微生物合成的抗肿瘤活性物质[J].国外医药抗生素分册,2003,24(5):213-217.
- [5] 王正平,张庆林,胡艳红.海洋微生物抗肿瘤活性物质的研究进展[J].化学工程师,2004(4):41-42,57.
- [6] 刘睿,朱天骄,朱伟明,等.海洋放线菌 S1001 中抗肿瘤活性成分的研究[J].中国抗生素杂志,2006,31(1):36-38.
- [7] 刘妍,李志勇.海洋放线菌研究的新进展[J].生物技术通报,2005(6):34-39.
- [8] INGO H H, PAUL R J, WILLIAMS F. Nonantibiotic and new cytotoxic marine derivatives produced by a marine filamentous bacterium (*Actinomyces*) [J]. Tetrahedron Lett, 2000, 41(13):2073.
- [9] RIZM MA, SHAMEEL M. Studies on the bioactivity and identification of marine algae from the coast of Karachi, Pakistan [J]. Phytother Res, 2004, 18(11):865-872.

延长,SOD 和 POD 活性到达峰值后开始下降,清除能力降低,活性氧自由基大量产生,细胞膜脂过氧化程度加剧,导致膜脂过氧化产物 MDA 含量大幅增加。在高温胁迫处理中,经 SA 预处理的幼苗,MDA 含量显著低于对照,表明其受伤害程度较轻,具有较强的耐热性。这一结论仍然与在黄瓜、葡萄、番茄、百合、玉米等植物<sup>[12-16]</sup> 上的研究结果一致。

高温胁迫下可溶性蛋白含量与植物的耐热性密切相关。在高温胁迫下,蛋白质合成速率下降,分解加快,参与调节植物生长代谢的各种酶活性钝化。同时,高温条件下膜脂过氧化产物又可能与蛋白质结合成复合体,并产生使 Rubisco 酶失活的有毒产物而抑制蛋白质合成<sup>[21]</sup>。在大白菜、番茄、小麦、水稻、月季、黄瓜等植物<sup>[22-23,26,30-33]</sup> 上的研究发现:可溶性蛋白含量与上述植物种内品种间耐热能力相一致,其耐热品种在高温胁迫下蛋白质降解较慢。试验结果表明:高温胁迫下,西葫芦幼苗可溶性蛋白质含量总体上呈现下降趋势,这与在黄瓜、大白菜、银杏等植物<sup>[22-23,34]</sup> 上的研究结论一致。其中,经水杨酸预处理的幼苗比对照能保持相对较高的可溶性蛋白质含量,标志其具有较强的耐热性。

综上所述,SA 预处理在高温胁迫中提高了西葫芦幼苗的 SOD、POD 活性,抑制了 MDA 的增加,延缓了可溶性蛋白的降解,从而提高了西葫芦幼苗的耐热性。

#### 参考文献

- [1] 李灵芝,李海平,梁二妮.水杨酸对黄瓜种子萌发和幼苗生长的影响[J].安徽农业科学,2008,36(10):3983-3984.
- [2] 尹玲莉,侯晓杰.植物抗性信号分子——水杨酸研究进展[J].中国农学通报,2007,23(1):338-342.
- [3] KLESSIG DF, DRUNER J, NOAD R, et al. Nitric oxide and salicylic acid signaling in plant defense[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2000, 97: 8849-8855.
- [4] AL-HAKIM A M, HAMADA A M. Counteraction of salinity stress on wheat plants by grain soaking in ascorbic acid, thianin or sodium salicylate[J]. Bd Part, 2001, 44: 253-261.
- [5] JANDA T, SZALAI G, TARI I, et al. Hypoosmotic treatment with salicylic acid decreases the effects of chilling injury in maize (*Zea mays* L.) plants[J]. Horta, 1999, 208: 175-180.
- [6] MONKA N, TIBOR J, ESZIER H, et al. Exogenous salicylic acid increases polyamine content but decrease drought tolerance in maize[J]. Horta Science, 2002, 162: 569-574.
- [7] HO MMIN K, MIKAL E S. Chilling tolerance of maize, cucumber and rice seedling leaves and roots are differentially affected by salicylic acid[J]. Physiologia Plantarum, 2002, 115: 571-576.
- [8] AGARWAL S, SARAM R K, SRIVASTAVA G C, et al. Changes in antioxidant enzymes activity and oxidative stress by abscisic acid and salicylic acid in wheat genotypes[J]. Biologia Plantarum, 2005, 49: 541-550.
- [9] KANG G Z, WANG C H, SUN G H, et al. Salicylic acid changes activities of  $H_2O_2$  metabolizing enzymes and increases the chilling tolerance of banana seedlings[J]. Environ Exp Bot, 2003, 50: 9-15.
- [10] 孙群,胡景江.植物生理学研究技术[M].杨凌:西北农林科技大学出版社,2005.
- [11] 高俊凤.植物生理学实验技术[M].西安:世界图书出版公司,2000.
- [12] 孙艳,王鹏.水杨酸对黄瓜幼苗抗高温胁迫能力的影响[J].西北植物学报,2003,23(11):2011-2013.
- [13] 王利军,黄卫东,战吉成,等.水杨酸和高温锻炼与葡萄抗热性及抗氧化的关系[J].园艺学报,2003,30(4):452-454.
- [14] 万正林.水杨酸、表油菜素内酯诱导番茄幼苗抗高温机理的研究[D].重庆:西南大学,2007.
- [15] 陈秋明,尹慧,李晓艳,等.高温胁迫下外源水杨酸对百合抗氧化系统的影响[J].中国农业大学学报,2008,13(2):44-48.
- [16] 杜朝昆,李忠光.水杨酸诱导的玉米幼苗适应高温和低温胁迫的能力与抗氧化酶系统的关系[J].植物生理学通讯,2005,41(1):19-22.
- [17] RAO M V, PALLIYATH G, ORMROD P, et al. Influence of salicylic acid on  $H_2O_2$  production, oxidation stress, and  $H_2O_2$  metabolizing enzymes[J]. Part Physiology, 1997, 115: 113-149.
- [18] 李兆亮,原永兵,刘成连,等.黄瓜细胞中水杨酸的信号传导研究[J].植物学报,1998,40(4):356-361.
- [19] 何亚丽,刘友良,陈权,等.水杨酸和热锻炼诱导的高羊茅幼苗的耐热性与抗氧化的关系[J].植物生理与分子生物学报,2002,28(2):89-95.
- [20] 刘悦萍,黄卫东,张俊环.钙-钙调素对水杨酸诱导葡萄幼苗耐热性的影响及抗氧化的关系[J].园艺学报,2005,32(3):381-386.
- [21] 冯兆忠,王静.三唑酮对离体黄瓜子叶膜系统的影响[J].西北植物学报,2002,22(3):651-655.
- [22] 庞金安,马德华,张延军.高温处理对黄瓜幼苗蛋白质含量的影响[J].天津农业科学,2001,7(1):10-13.
- [23] 叶陈亮,柯玉琴,陈伟.大白菜耐热性的生理研究.叶片水分和蛋白质代谢与耐热性[J].福建农业大学学报,1996,25(4):490-493.
- [24] CHENS Y. Membrane lipid peroxidation plant stress[J]. Chinese Bulletin of Botany, 1989, 6(4): 211-278.
- [25] CHAOU A, MAZHOU S, GHORBAL M H. Cadmium and zinc induction of lipid peroxidation and effects on antioxidant enzyme activities in bean[J]. Part Sci, 1997, 127: 139-147.
- [26] 蒋昌华,胡永红,秦俊.高温胁迫对月季品种部分生理指标的影响研究[J].种子,2008,27(6):31-34.
- [27] 姚元干,石雪晖,杨建国,等.辣椒耐热性与叶片质膜透性及几种生化物质含量的关系[J].湖南农业大学学报,2000,26(2):97-99.
- [28] 李良霞,李建龙,张强.高温胁迫对高羊茅细胞膜及其核DNA伤害的影响[J].贵州农业科学,2008,36(1):37-39.
- [29] 李衍素,高俊杰,陈民生.高温胁迫对豇豆幼苗叶片膜伤害与保护性物质的影响[J].山东农业大学学报:自然科学版,2007,38(3):378-382.
- [30] 张桂莲,陈立云,张顺堂,等.高温胁迫对水稻剑叶氮代谢的影响[J].杂交水稻,2007,22(4):57-61.
- [31] 尹贤贵,罗庆熙,王文强,等.番茄耐热性鉴定方法研究[J].西南农业学报,2001,14(2):62-65.
- [32] 徐如强,孙其信,张树榛.小麦耐热性研究现状与展望综述[J].中国农业大学学报,1998,3(3):33-40.
- [33] 孟焕文,张彦峰,程智慧,等.黄瓜幼苗对热胁迫的生理反应及耐热鉴定指标筛选[J].西北农业学报,2000,9(1):96-99.
- [34] 郁万文,曹福亮.高温胁迫下银杏叶片部分渗透调节物质的动态变化[J].福建林业科技,2008,35(2):126-128.
- [10] 温占波,裴月湖,田黎.海洋真菌药用活性物质研究进展[J].海洋科学进展,2004,22(3):371-375.
- [11] 张亚鹏,朱伟明,顾谦群,等.源于海洋真菌抗肿瘤活性物质的研究进展[J].中国海洋药物杂志,2006,25(1):54-58.
- [12] 梁剑光,王晓飞,陈义勇,等.海洋真菌及其活性代谢产物研究进展[J].氨基酸和生物资源,2004,26(4):1-3.
- [13] 胡萍,王雪青.海洋微生物抗菌物质的研究进展[J].食品科学,2004,25(11):397-400.
- [14] 陈建国,李国明.海洋生物抑菌物质的研究进展[J].国际检验医学杂志,2006,27(9):820-822.
- [15] CHO D H, SHINS, PARKI K. Characterization of antimicrobial agents extracted from *Asterina pectinifera*[J]. Int J Anti Microb Agents, 1999, 11(1): 65-68.
- [16] 郭琪,王静雪.海洋微生物酶的研究概况[J].水产科学,2005,24(12):41-44.
- [17] 汪开治.几种具有重要的药物学用途的海洋微生物酶抑制剂[J].生物技术通报,2006(3):104-106.
- [18] 周世水,姚汝华.海洋微生物天然活性物质的开发应用进展[J].微生物学杂志,2002,22(2):42-43.

(上接第2841页)