

◆ 生物科学 ◆

北海竹林盐场极端嗜盐真菌的多样性及其抑菌活性研究^{*}李海艳, 陆春菊, 张耿思, 周冬梅, 苏志维, 高程海, 徐新亚^{**}, 刘永宏^{**}

(广西中医药大学海洋药物研究院, 广西南宁 530200)

摘要:为探讨北海竹林盐场极端嗜盐真菌的物种多样性及其抑菌活性,采用高盐培养基分离盐场饱和盐度采样点的可培养真菌,并基于 ITS 基因序列进行菌株鉴定;使用耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA)、表皮葡萄球菌(*Staphylococcus epidermidis*, SE)、无乳链球菌(*Streptococcus agalactiae*, SA)和海豚链球菌(*Streptococcus iniae*, SI)作为指示菌,利用 96 孔板法评价真菌发酵提取物的抑菌活性。本研究分离得到可培养极端嗜盐真菌 16 株,鉴定为 6 科 6 属 12 种,其中枝孢菌属(*Cladosporium*, 3 种)、黑孢霉属(*Nigrospora*, 3 种)和镰刀菌属(*Fusarium*, 3 种)是优势属。菌株 *F. incarnatum* GXIMD00527 和 *F. chlamydosporum* GXIMD00541 的发酵产物对 4 种指示菌有较强的抑菌活性[90% Minimal Inhibitory Concentration (MIC₉₀) < 6.25 μg/mL], *Alternaria alternata* GXIMD00532、*Cladosporium cladosporioides* GXIMD00533 和 *Curvularia hawaiiensis* GXIMD00538 的发酵产物对 MRSA 有抑菌活性(MIC₉₀ ≤ 25 μg/mL)。本研究丰富了广西嗜盐海洋真菌的物种多样性,为北部湾海洋微生物资源的开发利用奠定了基础。

关键词:极端嗜盐真菌;生物多样性;抑菌活性;北海竹林盐场;耐甲氧西林金黄色葡萄球菌

中图分类号:Q93, P735 文献标识码:A 文章编号:1005-9164(2023)03-0478-07

DOI:10.13656/j.cnki.gxkx.20230710.006

高浓度的结晶盐类(NaCl)会限制微生物生长,通常认为极端的高盐环境如盐田、盐湖或高浓度盐溶液食物中只存在原核生物。直到 2000 年左右, Buchalo 等^[1]和 Gunde-Cimerman 等^[2]从高盐环境

中分离得到真菌之后,高盐生态系统及其真菌物种多样性才引起人们的注意。具有代表性的高盐生态系统有美国大盐湖,以色列、巴勒斯坦、约旦交界处的死海,以及中国新疆、青海、内蒙古等地的盐湖等^[1,3]。

收稿日期:2022-05-26

修回日期:2022-08-22

^{*}国家自然科学基金项目(42066006,41606186,U20A20101),广西科技计划项目人才专项(桂科 AD19245116),广西自然科学基金-粤桂联合基金项目(2021GXNSFDA075010),广西八桂学者专项经费项目(05019055),广东海洋药物重点实验室开放课题(LMM2021-3),广西创新团队项目(2020GXNSFGA297002),广西研究生教育创新计划项目(YCSW2021241),自治区级学位与研究生教育改革课题(JGY2022181)和中药学广西一流学科项目(桂教科研[2018]12号)资助。

【第一作者简介】

李海艳(1997-),女,在读硕士研究生,主要从事海洋微生物多样性研究,E-mail:1833681329@qq.com。

【**通信作者】

徐新亚(1981-),男,博士,副研究员,硕士研究生导师,主要从事海洋天然产物化学研究,E-mail:xuxy@gxtemu.edu.cn。

刘永宏(1972-),男,博士,研究员,主要从事海洋药物研究,E-mail:yonghongliu@scsio.ac.cn。

【引用本文】

李海艳,陆春菊,张耿思,等.北海竹林盐场极端嗜盐真菌的多样性及其抑菌活性研究[J].广西科学,2023,30(3):478-484.

LI H Y, LU C J, ZHANG G S, et al. Diversity and Antibacterial Activity of Extremely Halophilic Fungi from Beihai Zhulin Salt Field [J]. Guangxi Sciences, 2023, 30(3): 478-484.

生存在深海沉积物、盐湖、盐田、盐土和海水等高盐环境中的微生物统称嗜盐微生物。陈星宇等^[4]根据不同盐度下的生长情况,把微生物划分为不同类型:非嗜盐菌($< 1.17\%$ NaCl)、轻度嗜盐菌($1.17\% - 2.93\%$ NaCl)、中等嗜盐菌($2.93\% - 14.63\%$ NaCl)、极端嗜盐菌($14.63\% - 30.40\%$ NaCl)、耐盐菌($1.17\% - 14.63\%$ NaCl)。我国已报道的常见嗜盐真菌有青霉属(*Penicillium*)^[5,6]、曲霉属(*Aspergillus*)^[5,6]、镰刀菌属(*Fusarium*)^[7,8]、枝孢属(*Cladosporium*)^[7,8]等类群。我国有绵延的海岸线,大多地势平坦,滩涂广阔,很适合建滩晒盐。因此,北起辽东半岛,南至海南岛,我国分布有大大小小超过1 000个盐湖/盐场。但是,我国高盐环境下的微生物多样性研究关注度还不足,相关研究仍然较少。

嗜盐耐盐真菌次生代谢产物丰富,包括酚类^[9]、甾醇类^[9]、核酸类^[10]、醌类^[10]、生物碱^[11]等单体化合物,这些化合物结构新颖,且部分具有良好的抗菌、抗肿瘤活性等。在研究耐盐真菌 *P. chrysogenum* HK14-01 的次生代谢产物中,曲鹏等^[12]发现化合物(2*S*,3*R*)-oxaline、(Z)-*N*-(4-hydroxystyryl) formamide 和(E)-*N*-(4-hydroxystyryl) formamide 对大肠杆菌(*Escherichia coli*)表现出抑菌活性,化合物(2*S*,3*R*)-oxaline 和 emodin 对金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)表现出抑菌活性,化合物 emodin 还能微弱地抑制小鼠白血病悬浮细胞(P388)的增殖。对于耐盐真菌 *Wallemia sebi* PXP-89, Peng 等^[11]发现其次生代谢产物对产气肠杆菌(*Enterobacter aerogenes*)具有抗菌活性,最小抑菌浓度为 $76.7 \mu\text{mol/L}$ 。刘培培等^[13]从内蒙古盐湖的沉积物中筛选出一株耐盐真菌 *Aspergillus varicolor* B-17,其具有明显的细胞毒活性(小鼠乳腺癌细胞株 tsFT210)和海虾(*Artemia salina* Leach)致死活性;从该菌发酵产物的石油醚层提取物中分离出的3个单体化合物[2-(*E*-1-庚烯基)-3,6-二羟基-5-(3-甲基-2-丁烯基)苯甲醛、2-庚基-3,6-二羟基-5-(3-甲基-2-丁烯基)苯甲醛、2-(*E*,*E*-3,5-庚二烯基)-3,6-二羟基-5-(3-甲基-2-丁烯基)苯甲醛],对 P388、A549、HL-60 和 BEL-7402 肿瘤细胞表现出弱的细胞增殖抑制活性,半抑制浓度 IC_{50} 值分别为 88、68、66、65 $\mu\text{mol/L}$, 9、99、110、84 $\mu\text{mol/L}$ 以及 77、147、93、203 $\mu\text{mol/L}$ 。

北海竹林盐场是广西最大的海晶盐生产基地,制盐历史悠久。陈显强等^[14]于2019年5月从北海竹林盐场的海盐田中分离得到26株嗜盐真菌,鉴定为

3科4属11种,其中青霉菌属菌株为优势菌群;菌株 *Epicoccum sorghinum* GXIMD02001 具有靶向 FG-FR2 抗肿瘤作用, *Aspergillus versicolor* GX-IMD02004 和 *Penicillium citrinum* GXIMD02009 等具有抑制乳腺癌细胞增殖的作用。为研究冬季北海海盐田嗜盐真菌的物种多样性,本课题组于2020年11月底从广西北海竹林盐场的饱和盐水区域采集样品,采用两种高盐培养基——高盐虎红培养基和高盐马铃薯葡萄糖培养基进行菌株筛选分离;同时,使用4种致病菌[耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA)、表皮葡萄球菌(*Staphylococcus epidermidis*, SE)、无乳链球菌(*Streptococcus agalactiae*, SA)和海豚链球菌(*Streptococcus iniae*, SI)]作为指示菌,对嗜盐真菌发酵提取物的抗菌活性进行评价,从而得到具有潜在抗菌活性的菌株,为北部湾嗜盐真菌资源的开发利用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 培养基

培养基均经 $121 \text{ }^\circ\text{C}$ 高温高压灭菌 30 min 后使用,配方如下。

(1)分离培养基

高盐虎红培养基(RBM):蛋白胨 5.0 g,葡萄糖 10.0 g, KH_2PO_4 1.0 g, MgSO_4 0.5 g,孟加拉红 0.033 g,琼脂粉 15.0 g,氯霉素 0.1 g,含 10%海盐的人工海水 1 000 mL。

高盐查氏琼脂培养基(CDA): NaNO_3 3.0 g, K_2HPO_4 1.0 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5 g, KCl 0.5 g, FeSO_4 0.01 g,蔗糖 30.0 g,琼脂粉 15.0 g,氯霉素 0.1 g,含 10%海盐的人工海水 1 000 mL。

(2)纯化培养基

高盐马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA):马铃薯提取粉 6.0 g,葡萄糖 20.0 g,琼脂粉 15.0 g,含 10%海盐的人工海水 1 000 mL。

(3)发酵培养基

高盐马铃薯葡萄糖培养基(PD):马铃薯提取粉 6.0 g,葡萄糖 20.0 g,含 10%海盐的人工海水 1 000 mL。

1.1.2 采样信息

2020年11月27日在广西北海竹林盐场选取6个饱和盐度的采样点进行采样(表1),采集的样品放

入无菌袋中, 无菌袋放入装有冰袋的隔温箱里带回实验室, 当天进行菌株分离。

表 1 采样地点坐标以及样品来源

Table 1 Coordinates of sampling locations and sources of samples

序号 Serial number	北纬 Northern latitude	东经 East longitude	样品来源 Sample source
1	21°26'35"	109°16'22"	Salt field drainage pool water
2	21°26'35"	109°16'22"	Sediments of salt drainage ponds
3	21°26'35"	109°16'23"	Salt field water
4	21°26'35"	109°16'23"	Sediments of salt field
5	21°26'35"	109°16'23"	Sediments of salt field ditch
6	21°26'35"	109°16'23"	Salt field ditch water

1.1.3 指示菌

指示菌包括两种人类致病菌——耐甲氧西林金黄色葡萄球菌和表皮葡萄球菌, 两种水产养殖致病菌——无乳链球菌和海豚链球菌, 均由华南农业大学海洋学院张晓勇副教授惠赠。

1.2 方法

1.2.1 真菌分离

沉积物样品取约 2 g, 加入 2 mL 无菌水, 研磨混匀, 即为样品原液; 水池水/盐田水直接作为样品原液。用无菌海水将样品原液稀释成 1:10、1:100 的样品悬液。各取 100 μ L 两种浓度样品悬液涂布于分离培养基中, 置于 25 $^{\circ}$ C 恒温培养箱培养 12 d。用灭菌竹签挑取形态不同的单菌落接种于 PDA 培养基上, 纯化菌株。

1.2.2 真菌鉴定

在超净工作台中从培养平板上刮取一定量的菌丝体和孢子, 放入无菌的 1.5 mL 离心管中。离心管中加入 0.2% NaOH 溶液, 沸水浴 5 min, -80 $^{\circ}$ C 条件下冷冻 10 min。取破壁后的菌液进行 PCR 扩增, 扩增体系为 25 μ L, 其中模板 DNA 0.5 μ L, Buffer (含 Mg^{2+}) 2.5 μ L, dNTP 1 μ L, Easy taq 酶 0.2 μ L, 引物 ITS1 和 ITS4 各 0.5 μ L, ddH₂O 补足至 25 μ L。PCR 扩增程序: 预变性 94 $^{\circ}$ C 4 min; 94 $^{\circ}$ C 45 s, 55 $^{\circ}$ C 45 s, 72 $^{\circ}$ C 1 min, 30 个循环; 修复延伸 72 $^{\circ}$ C 10 min; 终止反应 4 $^{\circ}$ C 10 min。取 5 μ L 扩增产物使用 1% 琼脂凝胶电泳检验, 并用 Bio-RDS 凝胶成像仪观察电泳结果。将有荧光反应的 PCR 扩增产物进行

ITS-rDNA 测序。所有 ITS 测序结果使用 Seqman 软件分析剪切, 之后将剪切后的 ITS 序列上传至 NCBI 核酸序列数据库与已知序列进行比对, 选择相似性高的序列进行分析。使用 MEGA-7 软件, 采用邻接法 (Neighbor-Joining, N-J) 构建系统发育树。将形态学观察结果与序列对比结果相结合进行分类、排重, 将具有代表性的真菌 ITS 序列上传到 GenBank, 获取登录号。

1.2.3 菌株发酵提取物的制备

将纯培养所得菌株接种于 PD 培养基中, 28 $^{\circ}$ C、180 r/min 振荡培养 7 d。将等体积乙酸乙酯加入真菌 PD 培养基中, 40 kHz 超声提取 20 min, 真空抽滤, 静置分层并弃去水层, 将乙酸乙酯层减压浓缩后得到提取物。使用二甲基亚砜 (Dimethyl Sulfoxide, DMSO) 作为助溶剂, 将提取物溶解成 1.28 mg/mL 的药液, 备用。

1.2.4 抑菌活性的测定

采用 96 孔板法测定菌株发酵提取物对 MASA、SE、SA 和 SI 4 种指示菌的抑菌活性^[15]。活化后的指示菌接种于 LB 培养基, 30 $^{\circ}$ C、180 r/min 振荡培养至对数生长期, 调整指示菌悬液浓度为 1×10^6 CFU/mL。96 孔板中加入 195 μ L 指示菌悬液, 再加入 5 μ L 药液, 混匀, 使用二倍稀释法将药液稀释。每个孔混匀密封后, 于 37 $^{\circ}$ C 培养箱中培养 24 h, 使用酶标仪于 600 nm 处测定 OD 值。青霉素 G 和氯霉素为两种阳性对照, 初浓度都为 1 mg/mL, 同时设置阴性对照 (DMSO) 和空白对照 (LB 培养基)。每个样品设置 3 个平行样, 样品抑菌活性结果用最小抑菌浓度表示, 最小抑菌浓度为抑制 90% 受试菌所需要的最低药物浓度 (90% Minimal Inhibitory Concentration, MIC₉₀)。抑制率 (%) = (阴性对照吸光值 - 样品吸光值) / 阴性对照吸光值 \times 100%。

2 结果与分析

2.1 可培养真菌的分离结果

对采集的饱和盐度样品进行分离纯化, 得到 16 株可培养极端嗜盐真菌, 1 至 6 号采样地点菌株数量分别为 2、6、0、4、3、1 株。其中, 在盐田排水池沉积物中分离得到的真菌数量最多。

2.2 可培养真菌的多样性

从竹林盐场中分离得到 16 株真菌, 根据菌落形态特征差异进行分类后, 对其中 12 株具有代表性的真菌进行 DNA 提取和 PCR 扩增, 将菌株的 ITS 序

列经 BALST 比对, 找到与其相似度达 97% 以上的匹配序列。比对检索结果得到 12 种极端嗜盐真菌, 分属于 6 科 6 属, 其中丛梗孢科 (Moniliaceae) 枝孢菌属 (*Cladosporium*) 3 种, 黑粉菌科 (Ustilaginaceae) 黑孢霉属 (*Nigrospora*) 3 种, 瘤座孢科 (Tuberculari-

aceae) 镰刀菌属 (*Fusarium*) 3 种, 格孢腔菌科 (Pleosporaceae) 链格孢属 (*Alternaria*) 1 种, 暗色孢科 (Dematiaceae) 弯孢属 (*Curvularia*) 1 种, 隔孢假壳科 (Didymosphaeriaceae) *Paraphaeosphaeria* 属 1 种 (表 2, 图 1)。

表 2 基于 ITS 序列分析鉴定的北海竹林盐场真菌

Table 2 Fungus identification of Beihai Zhulin Salt Field based on ITS sequence analysis

序号 Serial number	菌株编号 Strain number	最相近菌株 (BLAST) Closest strain (BLAST)	相似度 / % Similarity / %	GenBank 登录号 GenBank accessing number
1	GXIMD00527	<i>Fusarium incarnatum</i>	99.44	ON287016
2	GXIMD00528	<i>Fusarium</i> sp. LD-12	100.00	ON287017
3	GXIMD00529	<i>Paraphaeosphaeria</i> sp. QTYC50	100.00	ON287018
4	GXIMD00531	<i>Nigrospora oryzae</i>	99.80	ON287019
5	GXIMD00532	<i>Alternaria alternata</i>	99.81	ON287020
6	GXIMD00533	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	100.00	ON287021
7	GXIMD00534	<i>Cladosporium dominicanum</i>	100.00	ON287022
8	GXIMD00535	<i>Cladosporium oxysporum</i>	99.80	ON287023
9	GXIMD00536	<i>N. sphaerica</i>	99.22	ON287024
10	GXIMD00538	<i>Curvularia hawaiiensis</i>	99.22	ON287025
11	GXIMD00540	<i>Nigrospora</i> sp. JS3	99.61	ON287026
12	GXIMD00541	<i>F. chlamydosporum</i>	99.44	ON287027

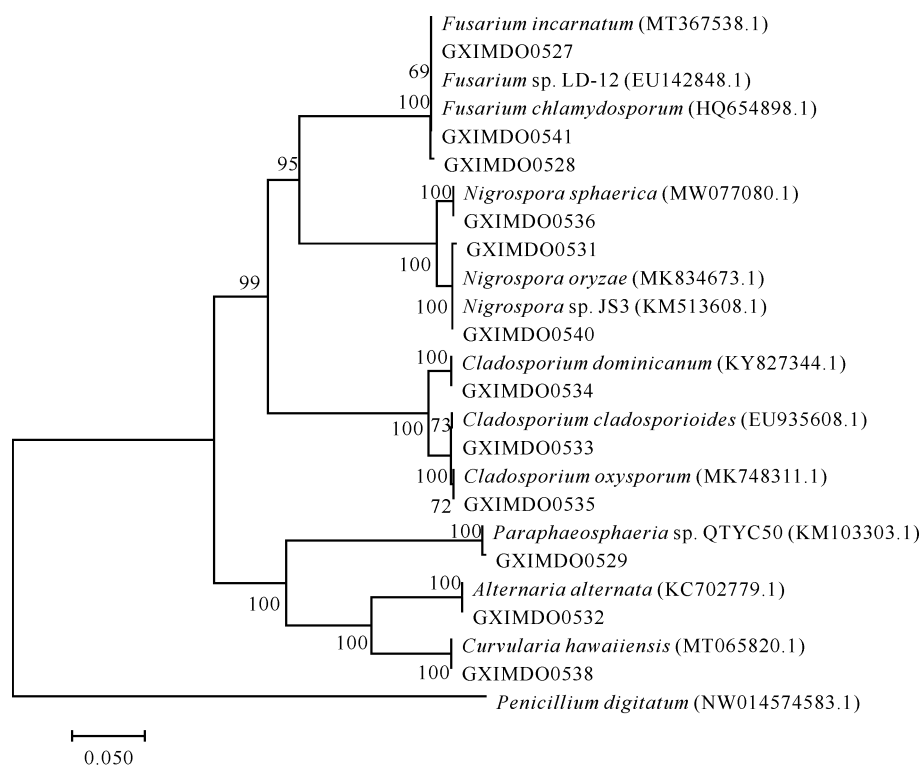


图 1 基于 N-J 法构建的系统发育树

Fig. 1 Phylogenetic tree based on the N-J method

2.3 抑菌活性结果

真菌发酵提取物抗 MASA、SE、SA 和 SI 活性结果如表 3 所示, 其中 *F. incarnatum* GXIMD00527 的发酵提取物对 4 种指示菌都具有极强的抑菌活性 ($MIC_{90} < 3.125 \mu\text{g/mL}$), 其活性作用与阳性对照氯霉素相当; 真菌 *F. chlamyosporum* GXIMD00541 发酵提取物对 4 种指示菌的抑菌活性较好 ($MIC_{90} <$

$6.25 \mu\text{g/mL}$); 真菌 *Alternaria alternata* GX-IMD00532、*Cladosporium cladosporioides* GX-IMD00533、*Curvularia hawaiiensis* GXIMD00538 发酵产物对 MRSA 有一定的抑菌活性 ($MIC_{90} \leq 25 \mu\text{g/mL}$), 对其他 3 种指示菌表皮葡萄球菌、海豚链球菌和无乳链球菌抑菌活性较弱 ($MIC_{90} > 25 \mu\text{g/mL}$)。

Table 3 Antibacterial activity of ethyl acetate extracts of fungal fermentation products

Unit: $\mu\text{g/mL}$

菌株编号 Number of strain	MIC_{90}			
	耐甲氧西林 金黄色葡萄球菌 MRSA	表皮葡萄球菌 SE	无乳链球菌 SA	海豚链球菌 SI
GXIMD00527	<3.125	<3.125	<3.125	<3.125
GXIMD00532	25	>25	>25	>25
GXIMD00533	25	>25	>25	>25
GXIMD00538	12.5	>25	>25	>25
GXIMD00541	<6.25	<6.25	<6.25	<6.25
Chloramphenicol	<3.125	3.125	3.125	3.125
Penicillin	<0.781 25	<0.781 25	1.562 5	>25

Note: chloramphenicol and penicillin are positive controls.

3 讨论

为了研究北海竹林盐场极端嗜盐真菌的物种多样性, 本课题组于 2020 年 11 月在广西北海竹林盐场饱和盐度采样地采集样品, 分离得到可培养极端嗜盐真菌 16 株, 鉴定为 6 科 6 属 12 种。陈显强等^[14]从 2019 年 5 月采集的北海竹林盐场海盐田样品中分离得到 26 株嗜盐真菌, 鉴定为 3 科 4 属 11 种, 其中青霉菌属和曲霉属为优势种属, 占比分别达到 55% 和 27%。本研究所得嗜盐真菌物种与陈显强等^[14]的报道相比, 两者均分离得到链格孢属 (*Alternaria*) 菌株。但不同的是, 本研究分离得到的极端嗜盐真菌物种更丰富, 并且优势种属不同, 为枝孢菌属 (3 种)、黑孢霉属 (3 种)、镰刀菌属 (3 种)。上述结果表明, 不同季节的北海竹林盐场极端嗜盐真菌物种多样性不同。在培养基不变的条件, 增加采样季节, 可以更系统地研究北海海盐田极端嗜盐真菌的物种多样性。

本研究发现两株抗菌活性显著的镰刀菌属真菌 *F. incarnatum* GXIMD00527 和 *F. chlamyosporum* GXIMD00541。镰刀菌属真菌广泛分布于土壤和有机体内, 研究者从不同地域、样品中分离、鉴定出大量的镰刀菌属真菌^[16]。该属真菌常常产生有毒物质, 如镰刀菌毒素会污染食物或牲畜饲料, 引发

人类或动物的疾病^[17]。镰刀菌属真菌除了产生有毒物质外, 还拥有较为丰富的次生代谢产物, 如生物碱、肽类、酰胺类、萜类、醌类、吡喃酮等, 这些代谢产物具有抗肿瘤、抗菌等活性, 因此该属真菌具有探索天然活性代谢产物的价值^[18]。

嗜盐真菌为了适应极端环境, 进化出了特殊的代谢途径。长期生存在高盐环境下, 嗜盐真菌有着与普通环境中真菌不一样的生理特性: 高盐环境中的 Na^+ 对嗜盐真菌细胞膜的结构稳定、细胞壁的结构完整和功能起着重要的作用。此外, 嗜盐真菌细胞存在质膜、色素、 H^+ 泵、酶, 使得嗜盐真菌具有在高盐极端环境下生存的能力^[1]。特殊的生理机制造就了嗜盐真菌次生代谢产物丰富、结构新颖、活性优良的特点。本研究中镰刀菌属嗜盐真菌 *F. incarnatum* GXIMD00527、*F. chlamyosporum* GXIMD00541 的乙酸乙酯粗提物具有极好的抑菌活性, 目前的研究仅仅局限于粗提物的活性测定, 今后将以抑菌活性为导向, 探讨两株镰刀菌属嗜盐真菌的具体活性成分。

4 结论

本研究分离得到可培养极端嗜盐真菌 16 株, 鉴定为 6 科 6 属 12 种。枝孢菌属、黑孢霉属、镰刀菌属、弯孢属、*Paraphaeosphaeria* 属为首次从北海竹

林盐场中分离得到,丰富了北海竹林盐场嗜盐真菌的物种多样性。本研究考察了北海竹林盐场嗜盐真菌的抑菌活性,其中镰刀菌属真菌 *F. incarnatum* GX-IMD00527、*F. chlamydosporum* GXIMD00541 的发酵产物对 4 株测试细菌均表现出显著的抑菌活性,后续可进一步扩大发酵研究,探究其活性成分。本研究丰富了嗜盐真菌的物种多样性,为北部湾嗜盐真菌资源的进一步开发利用提供了菌种支持。

参考文献

- [1] BUCHALO A S, NEVO E, WASSER S P, et al. Fungal life in the extremely hypersaline water of the Dead Sea: first records [J]. *Proceedings: Biological Sciences*, 1998, 265(1404):1461-1465.
- [2] GUNDE-CIMERMAN N, ZALAR P, DE HOOG S, et al. Hypersaline waters in salterns - natural ecological niches for halophilic black yeasts [J]. *Fems Microbiology Ecology*, 2000, 32(3):235-240.
- [3] MA Y, GALINSKI E A, GRANT W D, et al. Halophiles 2010: life in saline environments [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2010, 76(21):6971-6981.
- [4] 陈星宇, 马信, 孙长龙, 等. 嗜盐微生物的研究进展[J]. *盐科学与化工*, 2019, 48(2):1-4.
- [5] 曲佳, 刘开辉, 丁小维, 等. 南海局部海洋沉积物中真菌多样性及产酶活性[J]. *微生物学报*, 2014, 54(5):552-562.
- [6] 李治滢, 李绍兰, 杨丽源, 等. 云南三个盐矿盐卤沉淀池耐盐真菌的活性研究[J]. *天然产物研究与开发*, 2013, 25(11):1485-1488, 1532.
- [7] 王芳. 嗜盐耐盐真菌的分类及系统分类学研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2013.
- [8] 代东梅. 嗜盐耐盐真菌的分类及分子系统学研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2013.
- [9] 林婷婷, 李铭刚, 丁章贵, 等. 昆明盐矿真菌次生代谢产物的分离与鉴定[J]. *云南大学学报(自然科学版)*, 2017, 39(6):1065-1072.
- [10] ZHANG S Y, LI Z L, BAI J, et al. A new perylenequinone from a halotolerant fungus, *Alternaria* sp. M6 [J]. *Chinese Journal of Natural Medicines*, 2012, 10(1):68-71.
- [11] PENG X P, WANG Y, LIU P P, et al. Aromatic compounds from the halotolerant fungal strain of *Wallenia sebi* PXP-89 in a hypersaline medium [J]. *Archives of Pharmacal Research*, 2011, 34(6):907-912.
- [12] 曲鹏, 刘培培, 付鹏, 等. 黄河三角洲耐盐真菌 *Penicillium chrysogenum* HK14-01 的次生代谢产物[J]. *微生物学报*, 2012, 52(9):1103-1112.
- [13] 刘培培, 王文良, 顾谦群, 等. 耐盐真菌 *Aspergillus varicolor* B-17 产生的烃基苯甲醛衍生物及其细胞毒活性[J]. *中国海洋大学学报*, 2008, 38(4):585-589.
- [14] 陈显强, 邢楠楠, 黄亮华, 等. 嗜盐真菌多样性及其抗肿瘤活性研究[J]. *广西科学*, 2020, 27(5):526-531.
- [15] 陆春菊, 陆孜霖, 刘昕明, 等. 广西涠洲岛柳珊瑚共附生真菌多样性及其抑菌活性[J]. *热带海洋学报*, 2021, 40(5):45-52.
- [16] 王世伟, 王卿惠, 李小鹏, 等. 镰刀菌分子鉴定与重要应用的研究进展[J]. *微生物学通报*, 2018, 45(4):907-919.
- [17] 张向民. 镰刀菌属分类学研究历史与现状[J]. *菌物研究*, 2005, 3(2):59-62.
- [18] LI M Z, YU R L, BAI X L, et al. *Fusarium*: a treasure trove of bioactive secondary metabolites [J]. *Natural Product Reports*, 2020, 37(12):1568-1588.

Diversity and Antibacterial Activity of Extremely Halophilic Fungi from Beihai Zhulin Salt Field

LI Haiyan, LU Chunju, ZHANG Gengsi, ZHOU Dongmei, SU Zhiwei, GAO Chenghai, XU Xinya^{**}, LIU Yonghong^{**}

(Institute of Marine Drugs, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning, Guangxi, 530200, China)

Abstract: In order to investigate the species diversity and antibacterial activity of extremely halophilic fungi in Beihai Zhulin Salt Field, high salt medium was used to isolate culturable fungi from saturated salinity sam-

pling points in salt field, and the strains were identified based on ITS gene sequence. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Staphylococcus epidermidis* (SE), *Streptococcus agalactiae* (SA) and *Streptococcus iniae* (SI) were used as indicator bacteria to evaluate the antibacterial activity of fungal fermentation extracts by 96-well plate method. In this study, 16 strains of culturable extreme halophilic fungi were isolated and identified as 12 species, 6 genera and 6 families. Among them, *Cladosporium* (3 species), *Nigrospora* (3 species) and *Fusarium* (3 species) were the dominant genera. The fermentation products of *F. incarnatum* GXIMD00527 and *F. chlamydosporum* GXIMD00541 had strong antibacterial activity against four indicator bacteria (90% Minimal Inhibitory Concentration, $MIC_{90} < 6.25 \mu\text{g/mL}$). The fermentation products of *Alternaria alternata* GXIMD00532, *Cladosporium cladosporioides* GXIMD00533 and *Curvularia hawaiiensis* GXIMD00538 had antibacterial activity against MRSA ($MIC_{90} \leq 25 \mu\text{g/mL}$). This study enriches the species diversity of halophilic marine fungi in Guangxi and lays a foundation for the development and utilization of marine microbial resources in Beibu Gulf.

Key words: extremely halophilic fungi; biodiversity; antibacterial activity; Beihai Zhulin Salt Field; MRSA

责任编辑:米慧芝



微信公众号投稿更便捷

联系电话:0771-2503923

邮箱:gxxk@gxas.cn

投稿系统网址:<http://gxxk.ijournal.cn/gxxk/ch>