

◆ 生物科学 ◆

北部湾广西海域海洋真菌多样性及其生物活性研究^{*}李正媛¹, 陈琼¹, 唐振洲¹, 黄炳耀¹, 高程海¹, 刘永宏¹, 柴玲^{2**}, 林霄^{1**}

(1. 广西中医药大学海洋药物研究院, 广西南宁 530200; 2. 广西中医药研究院, 广西中药质量标准研究重点实验室, 广西南宁 530022)

摘要:本研究从北部湾广西海域采集的海绵、珊瑚、沉积物等样品中分离真菌,旨在挖掘北部湾的海洋真菌资源,筛选出具有潜在抗肿瘤或抗菌活性的菌株。采用稀释涂布法和基于内转录间隔区基因序列(ITS)的系统发育树法分析海洋真菌的多样性信息,并通过滤纸片琼脂扩散法和MTT比色法评价菌株的抗菌、抗肿瘤活性。分离得到45株海洋真菌,隶属17属。其中青霉属(*Penicillium*)和曲霉属(*Aspergillus*)为优势种群,分别占总菌株种类的26.7%和24.4%。此外,获得一株潜在的新种菌株 *Myrothecium gramineum* GX-IMD01018。活性筛选结果发现菌株 *Aspergillus japonicus* GXIMD01014、*Penicillium oxalicum* GX-IMD01021、*Talaromyces purpureogenus* GXIMD01024等6株真菌的次级代谢产物对人结直肠癌细胞具有较显著的细胞毒活性,菌株 *T. purpureogenus* GXIMD01024的代谢粗提物具有一定的抗耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA)活性。本研究为发掘海洋来源的抗肿瘤、抗菌新型药物先导化合物提供科学依据。

关键词:北部湾;海洋真菌;生物多样性;抗肿瘤;抗耐甲氧西林金黄色葡萄球菌;抗甘蔗梢腐镰刀菌

中图分类号:P745 文献标识码:A 文章编号:1005-9164(2023)04-0706-07

DOI:10.13656/j.cnki.gxkx.20230928.009

海洋真菌是指生活在海洋环境中的真菌,按来源可分为动物来源、红树林来源、海藻来源、珊瑚礁来源、海水来源及沉积物来源等^[1]。由于长期处在高

盐、高压、寡营养等独特的海洋生境下,海洋真菌形成了独特的代谢途径和防御机制。与海洋细菌相比,海洋真菌的生命层次更高,具有更复杂的代谢能力,能

收稿日期:2022-07-14

修回日期:2022-08-26

* 广西自然科学基金项目(2020GXNSFAA297221),广西科技基地和人才专项(AD19110112),国家自然科学基金项目(82160669),广西中医药大学博士科研启动基金项目(2019BS019),广西中医药大学第二批岐黄工程高层次人才团队培育项目(2021004),广西八桂学者专项(05019055)和广西中医药大学桂派中医药传承创新团队项目(2022A007)资助。

【第一作者简介】

李正媛(1998-),女,在读硕士研究生,主要从事海洋天然产物的发现及活性研究。

【**通信作者】

柴玲(1986-),女,副研究员,主要从事天然产物化学及其活性研究,E-mail:cicichai001@163.com。

林霄(1981-),男,副研究员,主要从事海洋天然产物的发现及活性研究,E-mail:linxiaolegend@163.com。

【引用本文】

李正媛,陈琼,唐振洲,等.北部湾广西海域海洋真菌多样性及其生物活性研究[J].广西科学,2023,30(4):706-712.

LI Z Y, CHEN Q, TANG Z Z, et al. Study on the Biodiversity and Biological Activity of Marine Fungi Isolated from Guangxi Beibu Gulf [J]. Guangxi Sciences, 2023, 30(4): 706-712.

产生大量骨架多样、结构新颖的代谢产物,具有抗肿瘤、抗菌、抗病毒等多种生物活性^[2-4]。因此,海洋真菌一直以来都是化学和药学等领域研究的焦点,是药物研发新型先导化合物的重要资源宝库^[5-7]。

广西管辖的北部湾海域位于中国南海的西北部,地处热带和亚热带,海域面积 2.8 万平方千米,分布有红树林、珊瑚礁和海草床三大典型海洋生态系统,是海洋微生物生长的理想温床^[8,9]。虽然蕴含着丰富的海洋微生物资源,但是关于北部湾广西海域海洋真菌的物种多样性及其生物活性潜力的研究起步较晚。徐新亚等^[10]统计显示北部湾已发现海洋细菌 1 843 种,而真菌仅 197 种,且这些真菌绝大部分来源于红树林植物及其根际土壤,针对海绵、海藻和珊瑚等海洋生物相关的微生物研究相对较少^[11,12]。近年来,卢护木等^[13]从涠洲岛珊瑚和海藻等生物样本中分离获得了 40 株海洋真菌,其中 5 株真菌具有丰富的次生代谢产物和显著的抗耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 (*Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus*, MRSA) 活性。陆春菊等^[14]采用 4 种培养基从 10 个涠洲岛柳珊瑚样本中分离得到 191 株共附生真菌,其中 11 种真菌具有抑菌活性,尤其是 7 种真菌可抑制表皮葡萄球菌 (*Staphylococcus epidermidis*) 生物被膜形成。上述研究表明北部湾广西海域中的微生物资源有着广阔的开发前景。基于此,本研究对北部湾广西海域海绵、珊瑚和沉积物等样品的真菌进行分离,并对其抗肿瘤、抗菌能力进行评估,为发现海洋来源的新型药物先导化合物奠定材料基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 样本来源

海底沉积物、海绵、海螺和珊瑚等样品分别采集于涠洲岛(21.028 939 89°N, 109.075 839 17°E)、沙田镇(21.503 406 99°N, 109.619 726 78°E)及北海附近(21.559 623 72°N, 108.928 553 71°E)的海域(图 1),样品于水下装入无菌封口袋密封,置于冰盒中保存,运输至实验室后于 4 °C 冰箱中低温保藏并用于真菌的分离。

1.1.2 仪器与试剂

MLS-3781L-PC 高压蒸汽灭菌锅(SANYO 公司),N-1300 旋转蒸发仪(日本东京理化器械株式会社),KQ-800DE 超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司),SHP-250 生化培养箱(上海精宏实验设

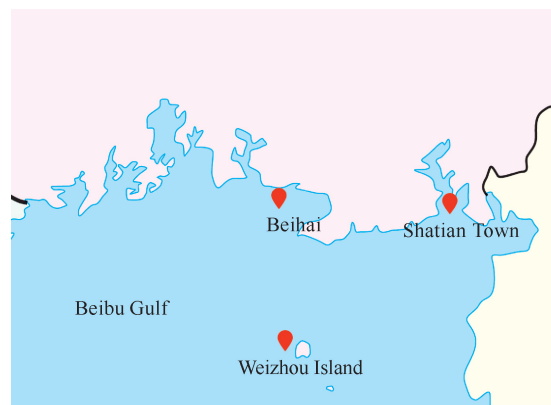


图 1 采样区域位置示意图

Fig. 1 Schematic diagram of sampling location

备有限公司),C1002 PCR 扩增仪(美国 Bio-Rad 公司),DYY-6D 核酸电泳仪(北京六一生物技术有限公司),ZWYR-2102 立式恒温培养振荡器(上海智诚分析仪器制造有限公司)。Lysis Buffer for Microorganism to Direct PCR 试剂盒[宝日医生物技术(北京)有限公司],buffer、ITS1/ITS4 引物、Taq 酶[生工生物(上海)工程股份有限公司],提取用试剂乙酸乙酯、甲醇等均为分析纯(广东光华科技股份有限公司),细胞培养级二甲基亚砜(DMSO,北京索莱宝科技有限公司)。

1.1.3 培养基

真菌分离马铃薯葡萄糖琼脂(PDA)培养基:马铃薯提取粉 6.0 g,葡萄糖 20.0 g,琼脂粉 20.0 g,海盐 20.0 g,萘啶酮酸 0.025 g,新生霉素 0.025 g,蒸馏水 1 L,置 121 °C 高压灭菌 20 min,待温度降至 60 °C 以下,于超净工作台中倒平板,冷却后待用。

马铃薯葡萄糖肉汤(PDB)培养基:马铃薯提取粉 6.0 g,葡萄糖 20.0 g,海盐 20.0 g,蒸馏水 1 L,置 121 °C 高压灭菌 20 min 后待用。

大米培养基:于 1 L 的三角瓶中加入大米 80.0 g,海盐 2.0 g,蒸馏水 120 mL,透气膜封口后,置于 121 °C 高压灭菌 20 min 后待用。

溶菌肉汤(LB)培养基:胰蛋白胨 10.0 g,酵母提取物 5.0 g,琼脂粉 20.0 g,蒸馏水 1 L,置 121 °C 高压灭菌 20 min,待温度降至 60 °C 以下,于超净工作台中倒平板,冷却后待用。

1.1.4 指示菌及细胞株

病原菌:表皮葡萄球菌(*Staphylococcus epidermidis*),金黄色葡萄球菌(*S. aureus*),耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(*Methicillin-Resistant S. aureus* ATCC-25923, MRSA),甘蔗梢腐镰刀菌(*Fusarium*

sp. LD-12)。

细胞:人结直肠癌细胞 SW480,人结直肠癌细胞 HT29,人正常肝细胞 LO-2。

1.2 方法

1.2.1 样品预处理及真菌的分离培养

海洋生物样品:在超净台取海绵、珊瑚、海螺样品的新鲜组织,剪成约 1 cm × 1 cm 大小的碎片;用无菌人工海水洗涤后,在研钵中充分研磨;采用无菌人工海水按 1 : 10 的比例逐级稀释。沉积物:称量海绵样品 1.0 g,加入 1 mL 无菌人工海水按 1 : 10 的比例逐级稀释。

取不同稀释度(原浆, 10^{-1} , 10^{-2})的菌悬液 200 μ L 分别均匀涂布于分离 PDA 平板上,每个稀释度涂布 3 个平板,于 28 $^{\circ}$ C 培养箱中倒置培养 3 - 10 d。待平板上菌落长出后,挑取形态、颜色不同的单菌落至无苯胺酮酸和新生霉素的 PDA 平板中继续纯化培养。将纯化好的菌株一份接入斜面培养基,存放于 4 $^{\circ}$ C 冰箱;另一份接入含 20% 甘油的液体培养基中,于 -80 $^{\circ}$ C 冰箱保藏。

1.2.2 海洋真菌的分子鉴定

用无菌牙签挑取少量真菌菌丝体,置于 1.5 mL 离心管中,采用 Lysis Buffer for Microorganism to Direct PCR 试剂盒对菌体进行裂解,采用真菌通用引物 ITS1(5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3')和 ITS4(5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3')进行 PCR 扩增^[15]。PCR 反应条件:94 $^{\circ}$ C 预变性 4 min;94 $^{\circ}$ C 变性 45 s,55 $^{\circ}$ C 退火 45 s,72 $^{\circ}$ C 延伸 1 min,共 30 个循环;最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min。扩增产物用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测。基因测序委托生工生物工程(上海)股份有限公司完成。将测序结果在美国国家生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information,NCBI)数据库中进行基本局部比对搜索工具(Basic Local Alignment Search Tool, BLAST)分析,根据检索序列的相似性初步鉴定菌株的种属。结合形态学观察和序列比对结果对真菌进行排重,采用 Mega-X 构建系统发育树。

1.2.3 真菌发酵粗提物的制备

将纯化培养所得的菌株接种于 PDB 培养基中。

透气封口膜封口后置于摇床中,28 $^{\circ}$ C、180 r/min 条件下活化 3 - 5 d。取 10 mL 菌液接种至大米培养基中,室温下静置发酵 30 d。发酵结束后,将大米培养基捣碎,加入 600 mL 乙酸乙酯,40 kHz 超声提取 3 次,每次 1 h。真空抽滤,合并滤液,减压浓缩后得到发酵粗提物。粗提物用 DMSO 溶液溶解,配置成 10 mg/mL 的供试品溶液,备用。

1.2.4 粗提物的抑菌活性测试

采用滤纸片琼脂扩散法测试粗提物对表皮葡萄球菌、金黄色葡萄球菌、耐甲氧西林金黄色葡萄球菌、甘蔗稍腐镰刀菌的抑菌活性。将上述指示菌均匀涂布到 LB 培养基上,并用镊子将直径为 6 mm 的无菌滤纸片贴于培养基表面,轻按固定。用移液器吸取粗提物供试品溶液 3 μ L 于滤纸片上,并以氨苄霉素或青霉素作为阳性对照,DMSO 为阴性对照。加药后的平板于 28 $^{\circ}$ C 的恒温培养箱倒置培养 12 - 24 h,观察有无抑菌圈产生。

1.2.5 粗提物的细胞毒活性测试

采用 MTT 比色法^[16]测试粗提物对人结直肠癌细胞 SW480、HT29 和人正常肝细胞 LO-2 的细胞毒活性。将真菌发酵粗提物供试品溶液稀释至 100 μ g/mL 并给药,以 0.1% DMSO 作为阴性对照,实验设 3 个重复。给药 72 h 后,用酶标仪测定 490 nm 处的吸光度(OD 值),计算各组细胞增殖抑制率。抑制率(%) = $[(OD_{\text{阴性}} - OD_{\text{粗提物}}) / OD_{\text{阴性}}] \times 100\%$ 。

2 结果与分析

2.1 菌株鉴定结果及多样性分析

从来源于北部湾广西海域的 7 份海绵、2 份珊瑚、1 份海螺和 2 份沉积物样品中分离得到 54 株海洋真菌,经菌落形态差异排重后得到 45 株。基于 N-J 法的系统发育树(图 2)显示 45 株真菌分布在 17 个属(表 1),其中青霉属(*Penicillium*)和曲霉属(*Aspergillus*)为优势种群,分别占 26.7% 和 24.4%,其次为木霉属(*Trichoderma*),占 11.1%。此外,菌株 *Myrothecium gramineum* GXIMD01018 与其近缘菌株 ITS 基因的最高相似度低于 97%,推测其是潜在的新种。



图 2 基于 ITS 测序的系统发育树

Fig. 2 Phylogenetic tree based on ITS sequences

表 1 海洋真菌菌株的物种鉴定

Table 1 Species identification of marine fungal stains

菌株编号 Strain code	鉴定结果 Identification results	ITS 序列相似度/% ITS sequence similarity/%	GeneBank 登录号 GeneBank accession numbers	真菌来源 Source of fungi
GXIMD01002	<i>Aspergillus hiratsukae</i>	100.00	OP303266	Coral 1
GXIMD01003	<i>Penicillium oxalicum</i>	100.00	OP303267	Coral 1
GXIMD01004	<i>P. oxalicum</i>	100.00	OP303268	Coral 1
GXIMD01005	<i>P. citrinum</i>	99.61	OP303269	Coral 1
GXIMD01006	<i>P. oxalicum</i>	100.00	OP303270	Coral 1
GXIMD01007	<i>Penicillium</i> sp.	99.46	OP303271	Coral 2
GXIMD01009	<i>Trichosporon asahii</i>	100.00	OP303272	Coral 2
GXIMD01010	<i>T. asahii</i>	100.00	OP303273	Coral 2
GXIMD01011	<i>Talaromyces</i> sp.	99.78	OP303274	Sponge 1
GXIMD01012	<i>Aspergillus niger</i>	100.00	OP303275	Sponge 1
GXIMD01013	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	99.78	OP303276	Sponge 1
GXIMD01014	<i>Aspergillus japonicus</i>	100.00	OP303277	Sponge 1

续表

Continued table

菌株编号 Strain code	鉴定结果 Identification results	ITS序列相似度/% ITS sequence similarity/%	GeneBank 登录号 GeneBank accession numbers	真菌来源 Source of fungi
GXIMD01015	<i>A. hiratsukae</i>	100.00	OP303278	Sponge 2
GXIMD01016	<i>Trichoderma asperellum</i>	100.00	OP303279	Sponge 2
GXIMD01017	<i>Penicillium brefeldianum</i>	100.00	OP303280	Sponge 2
GXIMD01018	<i>Myrothecium gramineum</i>	96.06	OP303281	Sponge 2
GXIMD01019	<i>Aspergillus assiutensis</i>	100.00	OP303282	Sponge 2
GXIMD01020	<i>A. fumigatus</i>	100.00	OP303283	Sponge 2
GXIMD01021	<i>Penicillium oxalicum</i>	100.00	OP303284	Sponge 2
GXIMD01022	<i>Nigrospora oryzae</i>	100.00	OP303285	Sponge 2
GXIMD01024	<i>Talaromyces</i> sp.	99.79	OP303286	Sponge 3
GXIMD01025	<i>Paraphaeosphaeria</i> sp.	100.00	OP303287	Sponge 3
GXIMD01026	<i>Trichoderma</i> sp.	100.00	OP303288	Sponge 3
GXIMD01027	<i>Penicillium</i> sp.	100.00	OP303289	Sponge 3
GXIMD01028	<i>Aspergillus tabacinus</i>	100.00	OP303290	Sponge 3
GXIMD01029	<i>Talaromyces verruculosus</i>	100.00	OP303291	Sponge 3
GXIMD01030	<i>Phaeosphaeria spartinae</i>	100.00	OP303292	Sponge 3
GXIMD01031	<i>Sarocladium zeae</i>	100.00	OP303293	Sponge 4
GXIMD01033	<i>Penicillium oxalicum</i>	100.00	OP303294	Sponge 4
GXIMD01034	<i>Fusarium solani</i>	100.00	OP303295	Sponge 4
GXIMD01035	<i>Nigrospora oryzae</i>	100.00	OP303296	Sponge 4
GXIMD01036	<i>Trichoderma harzianum</i>	100.00	OP303297	Sponge 5
GXIMD01037	<i>Trichoderma</i> sp.	100.00	OP303298	Sponge 5
GXIMD01038	<i>Trichoderma</i> sp.	100.00	OP303299	Sponge 5
GXIMD01039	<i>Penicillium</i> sp.	100.00	OP303300	Sponge 6
GXIMD01040	<i>Aspergillus tabacinus</i>	100.00	OP303301	Sponge 6
GXIMD01041	<i>A. austroafricanus</i>	100.00	OP303302	Sponge 6
GXIMD01042	<i>Penicillium oxalicum</i>	100.00	OP303303	Sponge 7
GXIMD01044	<i>Aspergillus versicolor</i>	100.00	OP303304	Conch
GXIMD01045	<i>Penicillium oxalicum</i>	98.67	OP303305	Sediment 1
GXIMD01046	<i>Xylariales</i> sp.	99.30	OP303306	Sediment 1
GXIMD01047	<i>Aspergillus clavatonanicus</i>	100.00	OP303307	Sediment 1
GXIMD01048	<i>Curvularia</i> sp.	100.00	OP303308	Sediment 1
GXIMD01049	<i>Peniophora</i> sp.	100.00	OP303309	Sediment 1
GXIMD01050	<i>Pleosporales</i> sp.	100.00	OP303310	Sediment 2

2.2 细胞毒活性筛选

45株真菌大米发酵后的乙酸乙酯粗提物对人结直肠癌细胞 SW480、HT29 及人正常肝细胞的细胞毒活性见表 2。结果表明菌株 *Penicillium oxalicum* GXIMD01021 对 SW480 和 HT29 两种人结直肠癌细胞均有显著的细胞毒活性,抑制率大于 79%,且对正常细胞(LO-2)的毒性较低(抑制率 < 50%); *Aspergillus japonicus* GXIMD01014、*Talaromyces*

purpureogenus GXIMD01024、*Trichoderma* sp. GXIMD01026、*Fusarium solani* GXIMD01034、*Trichoderma* sp. GXIMD01038 对 SW480 具有较显著的细胞毒活性; 菌株 *Penicillium oxalicum* GXIMD01004、*Aspergillus niger* GXIMD01012、*Paraphaeosphaeria* sp. GXIMD01025、*Sarocladium* sp. GXIMD01031 对癌细胞和正常细胞均有毒性。

表 2 海洋真菌大米发酵产物的细胞毒性筛选结果

Table 2 Screening results of cytotoxic activity of fermentation products of marine fungus rice

菌株编号 Strains code	抑制率/% Inhibition ratio/%			菌株编号 Strains code	抑制率/% Inhibition ratio/%		
	SW480	HT29	LO-2		SW480	HT29	LO-2
GXIMD01003	71.38	<50.00	<50.00	GXIMD01025	83.41	74.57	75.94
GXIMD01004	86.97	86.36	81.93	GXIMD01026	84.63	<50.00	<50.00
GXIMD01006	78.73	<50.00	<50.00	GXIMD01030	76.28	<50.00	<50.00
GXIMD01007	68.93	<50.00	<50.00	GXIMD01031	87.19	82.58	70.90
GXIMD01012	86.75	76.30	89.71	GXIMD01034	83.96	<50.00	<50.00
GXIMD01014	86.75	62.12	<50.00	GXIMD01038	82.85	<50.00	<50.00
GXIMD01018	74.61	<50.00	<50.00	GXIMD01045	78.62	<50.00	<50.00
GXIMD01021	85.97	79.55	<50.00	GXIMD01047	76.50	<50.00	<50.00
GXIMD01024	79.62	55.30	<50.00	Others	<50.00	<50.00	<50.00

2.3 抑菌活性筛选

测试 45 株真菌大米发酵后的粗提物对金黄色葡萄球菌、耐甲氧西林金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌及甘蔗梢腐致病菌的抑制作用,共筛选出 6 株真菌对至少一种病原菌具有一定的抑菌作用,其中菌株 *Talaromyces purpureogenus* GXIMD01024 和菌株 *Penicillium oxalicum* GXIMD01004 的发酵产物分别对 MRSA 菌株、甘蔗梢腐镰刀菌具有一定的抑制作用(表 3)。

表 3 海洋真菌大米发酵产物的抑菌活性筛选结果

Table 3 Screening results of antibacterial activity of fermentation products of marine fungus rice

菌株编号 Strains code	金黄色葡萄球菌 <i>S. aureus</i>	耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 MRSA	表皮葡萄球菌 <i>S. epidermidis</i>	甘蔗梢腐镰刀菌 <i>Fusarium</i> sp.
GXIMD01004	-	-	-	++
GXIMD01006	-	-	-	+
GXIMD01010	-	-	-	+
GXIMD01024	+	++	-	-
GXIMD01025	+	-	+	-
GXIMD01048	+	-	+	+
Others	-	-	-	-
Blank	-	-	-	-
Positive	+++	+++	+++	+++

Note:“-”indicates inactive,“+”indicates weak activity,“++”indicates medium activity,“+++”indicates significant activity.

3 结论

本研究采用稀释分离法从北部湾广西海域采集的海绵、珊瑚等样品中,分离纯化获得 45 株真菌,其中 *Myrothecium gramineum* GXIMD01018 是一潜在新种。通过滤纸片琼脂扩散法和 MTT 法对菌株代谢产物的抗菌、抗肿瘤活性进行初步筛选,发现菌株 *Penicillium oxalicum* GXIMD01021 对两种人结

直肠癌细胞均具有显著的细胞毒活性,*Aspergillus japonicus* GXIMD01014 等 5 株菌株对人结直肠癌细胞 SW480 具有显著的细胞毒活性,菌株 *Talaromyces purpureogenus* GXIMD01024 的发酵产物具有一定的抗 MRSA 活性,*P. oxalicum* GXIMD01004 对甘蔗梢腐镰刀菌具有一定的抑制效果。然而,目前仅对菌株的发酵粗提物进行了活性研究,菌株中具体的药效物质仍需要进行系统的化学和生物活性评价研究。后续将对上述菌株的次级代谢产物进行深入研究,为北部湾广西海域来源的新型药物先导化合物的发现提供理论基础和参考依据。

参考文献

- [1] 马丽丽,田新朋,李桂菊,等. 海洋微生物来源天然产物研究现状与态势[J]. 热带海洋学报, 2021, 40(5): 134-146.
- [2] 王庆琳,陈水浩,陈冬妮,等. 中国南海海洋真菌资源及其活性次级代谢产物研究评述[J]. 生物资源, 2020, 42(5): 505-514.
- [3] 吴泽宏,马民,陈建良. 海洋真菌活性次级代谢产物研究进展[J]. 广东药科大学学报, 2017, 33(5): 687-699.
- [4] 付逸群,于颖敏,马瑞遥,等. 海洋来源真菌生物活性物质研究进展[J]. 山东化工, 2019, 48(22): 63-65, 67.
- [5] CARROLL A R, COPP B R, DAVIS R A, et al. Marine natural products [J]. Natural Product Reports, 2019, 36(1): 122-173.
- [6] 张善文,黄洪波,桂春,等. 海洋药物及其研发进展[J]. 中国海洋药物, 2018, 37(3): 77-92.
- [7] 冯贻东,冯汉林. 现代海洋药物研发进展与浅析[J]. 应用海洋学学报, 2021, 40(2): 366-371.
- [8] 王盟. 广西北部湾海洋环境现状及治理对策思考[J]. 南方国土资源, 2017(11): 40-42, 45.
- [9] 于清武. 北部湾(广西海域)海洋微生物多样性研究现状

- 与对策[J]. 南方农业学报, 2014, 45(12): 2293-2296.
- [10] 徐新亚, 杨宏, 宁小清, 等. 北部湾海洋微生物物种多样性与化学多样性研究进展[J]. 广西科学, 2020, 27(5): 433-450, 461.
- [11] 王聪, 苏艳, 高谕康, 等. 广西北部湾来源抗菌活性真菌菌株的分离筛选及活性产物鉴定[J]. 国际药学研究杂志, 2019, 46(4): 270-276.
- [12] 高程海, 夏家朗, 梁考云, 等. 北部湾海洋植物及其共生微生物次级代谢产物研究进展[J]. 广西植物, 2022, 42(8): 1259-1272.
- [13] 卢护木, 詹振宇, 李蜜, 等. 涠洲岛珊瑚礁海洋真菌的分离鉴定及其抗 MRSA 活性筛选[J]. 广西科学, 2020, 27(5): 520-525.
- [14] 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.
- [15] ZHAO G, ZHAI H, YUAN Q, et al. Rapid and sensitive diagnosis of fungal keratitis with direct PCR without template DNA extraction [J]. *Clinical Microbiology and Infection*, 2014, 20(10): 776-782.
- [16] DENIZOT F, LANG R. Rapid colorimetric assay for cell growth and survival: modifications to the tetrazolium dye procedure giving improved sensitivity and reliability [J]. *Journal of Immunological Methods*, 1986, 89(2): 271-277.

Study on the Biodiversity and Biological Activity of Marine Fungi Isolated from Guangxi Beibu Gulf

LI Zhengyuan¹, CHEN Qiong¹, TANG Zhenzhou¹, HUANG Bingyao¹, GAO Chenghai¹,
LIU Yonghong¹, CHAI Ling^{2**}, LIN Xiao^{1**}

(1. Institute of Marine Drugs, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning, Guangxi, 530200, China; 2. Guangxi Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Quality Standards, Guangxi Institute of Traditional Medical and Pharmaceutical Sciences, Nanning, Guangxi, 530022, China)

Abstract: In this study, fungi were isolated from sponges, corals, sediments and other samples collected from Guangxi Beibu Gulf, aiming to explore the marine fungal resources in Beibu Gulf and screen out strains with potential anti-tumor or antibacterial activity. The diversity information of marine fungi was analyzed by dilution coating method and phylogenetic tree method based on Internal Transcribed Spacer (ITS) gene sequence. The antibacterial and antitumor activities of the strains were evaluated by filter paper agar diffusion method and MTT colorimetry. 45 strains of marine fungi were isolated, belonging to 17 genera. Among them, *Penicillium* and *Aspergillus* were the dominant species, accounting for 26.7% and 24.4% of the total strains, respectively. In addition, a potential new strain *Myrothecium gramineum* GXIMD01018 was obtained. The results of activity screening showed that the secondary metabolites of *Aspergillus japonicus* GXIMD01014, *Penicillium oxalicum* GXIMD01021 and *Talaromyces purpureogenus* GXIMD01024 had significant cytotoxic activity against human colorectal cancer cells. The crude extract of strain *T. purpureogenus* GXIMD01024 had certain activity against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). This study provides a scientific basis for the discovery of new anti-tumor and anti-bacterial lead compounds from marine sources.

Key words: Beibu Gulf; marine fungi; biodiversity; antitumor; anti-Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (anti-MRSA); anti-*Fusarium* sp.

责任编辑: 陆媛峰