南麂岛海洋沉积物抑菌真菌的筛选及其代谢产物特性的初步研究

李书平[1]，刘辉辉[1]，吕凤麟[1]，李劲松[2]，刘佳明[1]，赵淑江[1]

(1. 温州医学院 环境与公共卫生学院，浙江 温州 325035; 2. 温州医学院 生命科学学院，浙江 温州 325035)

摘要：以 7 种水产病原菌为指示菌，采用菌饼法对分离自南麂岛海域的 15 个沉积物样品中的 78 株海洋真菌进行抑菌活性初筛，获得了对至少一种病原指示菌有抑菌活性的菌株 19 株。采用打孔扩散法对这 19 株真菌的发酵液进行抑菌活性复筛，共有 9 个菌株的次级代谢产物对一种或者几种病原指示菌有抑制作用，其中菌株 NJ0104 的次级代谢产物对除灿烂弧菌(*Vibrio splendidus*)之外的 6 种指示菌均有抑制作用，尤以对副溶血弧菌(*Vibrio parahaemolyticus*)的抑制活性为最强。对菌株 NJ0104 次级代谢产物中抑菌活性物质的初步研究表明，抑菌活性物质在 80 ℃以下、紫外照射 40 min 时稳定性良好，pH 稳定范围在 4.0~7.0 之间，能较好地溶解于正丁醇中。结果表明：南麂岛海域的沉积物中分布着丰富的真菌资源，分离得到的海洋真菌 NJ0104 具有较高的研究价值，值得深入研究其活性成分及抑菌机理。

关键词：南麂岛；海洋沉积物；海洋真菌；抑菌活性；理化性质

中图分类号：X172; Q939.5　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：1000-3096(2011)02-0058-06

海洋真菌因其能够产生结构新颖、功能多样的生物活性物质而备受关注，不少研究者都对海洋真菌及其活性代谢产物做了大量的研究[1~3]，但这些研究多集中在共生真菌方面，对海底沉积物来源的真菌研究较少。海底沉积物中含有大量的有机质，为海洋真菌提供了良好的生境，沉积物真菌多吸附在海泥微粒上生长[4]。近几年，已有研究者对海洋沉积物真菌的分离及其代谢产物进行了研究，结果发现，海洋沉积物来源的真菌能够产生多种生物活性代谢产物，如溶血活性、抗菌、抗肿瘤、以及抗氧化性化合物等[5-9]。

南麂岛位于我国浙江沿岸海域，距离大陆 30 多海里，海域底质以粉砂质黏土为主，该海域为台湾暖流和沿岸流相互交汇和交替消长的区域，成为海洋生物生长栖息的良好场所，具有丰富的海洋生物多样性，被誉为“贝藻王国”，南麂岛海洋自然保护区是我国建立的第一个海岛海域生态系自然保护区。近年来，虽然不同海域沉积物真菌的报道日益增多，但对南麂岛海域海洋真菌资源的研究却鲜有报道。另外，目前对海洋真菌抑菌活性的研究多集中于人类致病菌上，而在防治水产养殖病原菌方面的报道甚少。弧菌属细菌的致病特点为传播快、传染率高，已成为海水鱼类养殖最大的危害，对海洋生物弧菌病的防治已经引起了广泛关注。黄耀坚等[10]从厦门海区潮间带分离到 287 株真菌，其中有 20 株能够抑制鳗弧菌的生长。马欣悦等[11]从大连海区的海藻中获得了 21 株对费氏弧菌有拮抗作用的附生真菌。尽管并未进行深入的研究，但这些成果足以证明海洋真菌在防治水产病原菌方面有着巨大潜力。

本实验对采自南麂岛海域的 15 个沉积物样品中的真菌进行了较为系统的分离，从中筛选出对 7 种水产病原指示菌有抑制作用的海洋真菌，并初步研究了活性菌株代谢产物中抑菌活性物质的理化性质，旨在发掘有潜在应用价值的活性菌株，为南麂岛药用海洋真菌资源的开发奠定基础。

1 材料与方法

1.1 样品采集

样品采集自南麂岛海域 5 个采样站位(图 1)，共 15 个沉积物样品。图中 M1 站位在养殖区，M2、M3、M4、M5 站位位于远离养殖区的海域。

样品采集后，立即装入无菌塑料袋内，置于放

收稿日期：2010-02-23；修回日期：2010-06-14

基金项目：温州市科技计划资助项目(Y20080092)；浙江省科技厅面上项目(2009C33004)

作者简介：李书平(1984-)，女，河南南阳人，硕士，主要研究方向：海洋微生物活性物质的提取应用，E-mail: lishuping19841006@126.com; 赵淑江，通信作者，电话：0577-86699553, E-mail: zsj62@163.com

有冰块的保温箱内暂存，次日送回实验室进行处理。

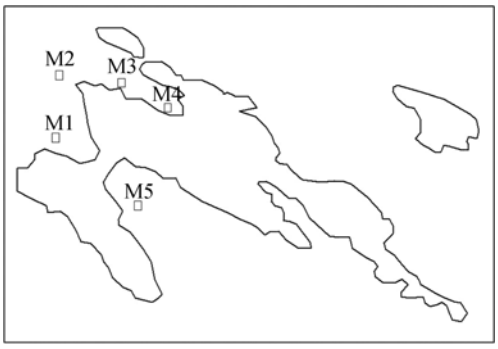

图 1　南麂岛海域采样站位

Fig. 1　Sampling stations in the Nanji islands

1.2　病原指示菌

副溶血弧菌(*Vibrio parahaemolyticus*)、溶藻弧菌(*V. alginolycis*)、哈维氏弧菌(*V. harveyi*)、创伤弧菌(*V. vulnificus*)、鳗弧菌(*V. anguillarum*)、灿烂弧菌(*V. splendidus*)、恶臭假单胞菌(*Pseudomonas putida*)。

1.3　培养基及试剂

1.3.1　真菌分离培养基

察氏培养基(CA)成分：葡萄糖 30 g，硝酸钠 2 g，磷酸氢二钾 1 g，氯化钾 0.5 g，硫酸镁 0.5 g，硫酸亚铁 0.01 g，琼脂 18 g，陈海水 1 000 mL, pH 7.2±0.2。

沙氏培养基(SDAY)成分：蛋白胨 10 g，葡萄糖 40 g，琼脂 18 g，陈海水 1000 mL, pH 7.2±0.2。

马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA)成分：马铃薯 200 g，葡萄糖 20 g，琼脂 18 g，陈海水 1 000 mL, pH 7.2±0.2。

上述真菌分离培养基均采用与样品同一采集地点的海水和底泥浸出液配制，两者的体积比为 9:1。配制好的培养基，121℃高压灭菌 30 min，待冷却至 50~60℃时，加入抗生物青霉素和链霉素，终质量浓度均为 30 mg/L。

底泥浸出液的制作方法为：称取与样品同一采集地点的底泥 1 000 g，加入海水 1 000 mL，煮沸 30 min，暗处放置 2 d，取上清液，海水定容至 1 000 mL 备用。

1.3.2　真菌发酵培养基

改良 CA 液体培养基(A)成分：葡萄糖 15 g，淀粉 15 g，蛋白胨 5 g，硝酸钠 2 g，磷酸二氢钠 1 g，氯化钾 0.5 g，硫酸镁 0.5g，硫酸亚铁 0.01 g，硫酸铵 1 g，陈海水 1 000 mL, pH 7.2±0.2。

改良 PDA 液体培养基(B)成分：马铃薯 200 g，葡萄糖 15g，陈海水 1000 mL, pH 7.2±0.2。

1.3.3　指示菌培养基

营养琼脂培养基成分：蛋白胨 10 g，牛肉膏 3 g，氯化钠 5 g，琼脂 18 g，陈海水 1 000 mL，pH 为 7.2±0.2。不加琼脂即为营养琼脂液体培养基。

1.3.4　磷酸盐缓冲液(pH 7.0)

0.2 mol/L NaH_2PO_4: 31.2 g $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ 溶于 1 000 mL 蒸馏水中，为 A 液; 0.2 mol/L Na_2HPO_4: 71.7 g $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$ 溶于 1000 mL 蒸馏水中，为 B 液; A 液和 B 液的体积比为 39 : 61。

1.4　菌株分离

将采回的沉积物样品放在无菌操作台上，用灭菌刀片刮去与外界接触的表面部分，将 1.0 g 沉积物样品放入盛有 10 mL 无菌海水的三角烧瓶内，加入分散剂聚山梨酯–80(浓度 1/20 000)[12]，于漩涡混合振荡器上振荡 3~5 min，使其充分混匀，静置，取上清液作为原液，然后用无菌海水依次稀释成 10^{-1}、10^{-2}、10^{-3} 三个浓度梯度。

采用常规的平板涂布法。用移液枪分别吸取 10^{-2}、10^{-3} 稀释度的 100 μL 样品液到相应的真菌分离培养基平板上，用无菌涂布器在平板上涂布均匀，于 28℃恒温培养箱中培养 5~7 d。待菌丝长出后，挑取形态各异的单菌落纯化，保存在 SDAY 斜面上。

1.5　活性菌株的筛选

1.5.1　指示菌菌液的制备

从已活化好的营养琼脂斜面培养基上挑取一环指示菌，接入到营养琼脂液体培养基中，28℃培养 24 h，即得指示菌菌液。采用平板菌落计数法测定指示菌液所含活菌数，并将其稀释成密度为 1×10^5 CFU/mL 的菌液，备用。

1.5.2　活性菌株的初筛

采用菌饼法[13]。用直径 8 mm 的打孔器分别在生长 7 d 的海洋真菌菌落边缘和空白真菌培养基上制备菌饼，然后将菌饼分别置于涂有病原指示菌的营养琼脂固体培养基上，以空白真菌培养基的菌饼作对照，于 28℃培养 24 h，观察抑菌圈的有无，以初步筛选抑菌活性菌株。

1.5.3　海洋真菌发酵液的获得

挑取初筛具有抑菌活性的菌株，用 SDAY 斜面培养基活化后，分别接种至 200 mL 改良 CA、PDA 真菌发酵培养基中，于 28℃、140 r/min 的摇床上振

荡培养 10 d 后取出, 5 000 r/min 离心 10 min, 除去菌丝体即得发酵液, 0.22 μm 微孔滤膜过滤除菌后备用。

1.5.4 活性菌株的复筛

采用打孔扩散法[14]。用移液枪吸取指示菌菌液(1×10^5 CFU/mL)100 μL, 涂布于营养琼脂固体培养基上, 用直径 8 mm 的打孔器在培养基上打孔, 向孔中注入 200 μL 过滤后的海洋真菌发酵液, 28℃培养 24 h, 游标卡尺测量抑菌圈大小, 以空白发酵培养液为对照。

1.6 菌株 NJ0104 抑菌活性物质部分理化性质

为了分离纯化 NJ0104 菌株次级代谢产物中的抑菌活性物质, 有必要对其理化性质进行初步研究。取 NJ0104 菌株的改良 PDA 发酵培养液适量, 5 000 r/min 离心 10 min 后, 分别收集上清液和菌丝体, 备用。

1.6.1 抑菌活性物质萃取实验

取 10 mL 上清液 5 份, 分别加入 10 mL 极性大小不同的正丁醇、乙酸乙酯、氯仿、环己烷和石油醚, 置磁力搅拌器上缓慢搅拌均匀后静置过夜, 分别收集有机相、水相。用氮吹仪分别将有机相、水相浓缩(除去有机溶剂)后, 无菌水定容至原上清液的体积, 测定抑菌活性, 以副溶血弧菌为指示菌, 未加任何有机溶剂的原上清液为对照。

菌丝体用 30 mL 丙酮提取过夜, 离心后取上清液, 用氮吹仪浓缩(除去丙酮)后, 无菌水调整至原上清液的体积, 测定抑菌活性, 以副溶血弧菌为指示菌, 未加任何有机溶剂的原上清液为对照。

1.6.2 热稳定性试验

取 10 mL 上清液 18 份, 随机分为 6 组, 每组设 3 个重复, 其中 5 组分别在 40、60、80、100℃的水浴中加热 30 min 及 121℃高压处理 30 min, 冷却后测定抑菌活性, 以副溶血弧菌为指示菌, 未经加热的原上清液为对照组。

1.6.3 紫外稳定性试验

取 10 mL 上清液 21 份, 随机分为 7 组, 每组设 3 个重复, 其中 6 组分别置于直径为 9 cm 的培养皿中, 在 20 W 紫外灯下约 60 cm 处分别照射 10、20、30、40、50、60 min 后测定抑菌活性, 以副溶血弧菌为指示菌, 未经紫外照射处理的原上清液为对照组。

1.6.4 pH 稳定性试验

取 10 mL 上清液 39 份, 随机分为 13 组, 每组设 3 个重复, 其中 12 组用 1 mol/L 的 HCl 或 NaOH 溶液分别调整 pH 值至 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12, 4℃放置 1 d 后, 调回 pH 值至 7.0, 并用 pH 7.0 的磷酸盐缓冲液调整每份至等体积后测定抑菌活性, 以副溶血弧菌为指示菌, 未经 pH 调整的原上清液为对照组。

1.7 数据分析与处理

实验数据用统计软件 11.5 进行单因素方差分析, 差异显著者再做 LSD 多重比较, 显著水平为 $P<0.05$, 数据结果以均数加减标准误差($\bar{x}\pm S$)表示, Origin 8.0 作图。

2 结果与分析

2.1 海洋真菌的分离

从 15 个海洋沉积物样品中共分离到真菌 78 株, 其中从 M1 站位中分离到的海洋真菌数量最多, 占总数量的 37.2%; M3 次之, 分离比例为 25.4%; M2、M4 和 M5 共计为 37.4%。分析其原因可能是养殖区饵料的残留、生物体代谢废物及尸体相对集中, 形成了该区丰富的腐殖质, 并随潮汐扩散到养殖区附近区域, 为海洋真菌的生存和繁殖提供了充足的营养物质。

2.2 抑菌活性菌株的筛选

采用菌饼法对分离到的海洋真菌菌株进行抑菌活性初筛, 共有 19 株真菌对一种或者几种病原指示菌有抑制作用, 占分离总数的 24.4%。采用 A、B 两种培养基发酵培养上述具抑菌活性的菌株, 打孔扩散法进行活性测定, 结果表明: 共有 9 株真菌的代谢产物对至少一种病原指示菌有抑菌活性(表 1), 其中有 5 株真菌可抑制至少 3 种指示菌; 菌株 NJ0101、NJ0104 同时对副溶血弧菌、创伤弧菌、鳗弧菌、恶臭假单孢菌有抑制作用, 具有较广的抑菌谱。相同培养条件下, 同一菌株经两种不同培养基发酵后, 表现出的抑菌活性有显著的差异, 菌株 NJ0104 在 B 培养基中产生抑菌活性次级代谢产物, 发酵液表现出较强的抑菌能力, 相同培养条件下在 A 培养基中的发酵液并无抑菌活性; 菌株 NJ0124 在 A 培养基中的发酵液有抑菌活性; NJ0101、NJ0137 等 7 个菌株在 A、B 两种培养基中均能产生抑菌活性代谢产物, 但其抑菌谱及抑菌活性强弱不同。

海洋真菌 NJ0104 在 B 培养基中产生的次级代谢产物对除灿烂弧菌之外的 6 种指示菌均有抑制作用,

尤其对副溶血弧菌具有很强的抑制活性，抑菌圈直径达到 25.70 mm(图 2)。

表 1　海洋真菌发酵液对几种不同指示菌的抑菌活性

Tab. 1　Antibacterial activities of fungal fermentation broths against different indicator bacteria

海洋真菌	VP		VAL		VH		VV		VAN		PP		VS	
	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
NJ0101	++	–	–	–	–	–	+	+++	+	–	++	–	–	–
NJ0104	–	+++	–	++	–	+	–	++	–	+++	–	++	–	–
NJ0111	–	–	–	–	–	–	–	–	+	–	–	–	–	+
NJ0124	+	–	–	–	–	+	–	–	–	–	–	+	–	–
NJ0137	–	–	–	–	+++	+	+	–	–	–	–	+	–	–
NJ0156	–	–	–	–	–	–	–	–	++	–	–	+	–	–
NJ0161	–	–	–	–	+	+	–	–	+	–	–	–	–	–
NJ0165	–	–	–	–	–	++	–	–	+	+	–	–	–	+
NJ0187	–	–	–	–	–	+	+	–	–	–	–	–	++	–

注: 1. +++: 抑菌圈≥17mm; ++: 17mm>抑菌圈≥12mm;　+ : 12mm>抑菌圈≥8mm; –: 无抑菌圈

2. VP: 副溶血弧菌; VAL: 溶藻弧菌; VH: 哈氏弧菌; VV: 创伤弧菌; VAN: 鳗弧菌; PP: 恶臭假单胞菌; VS: 灿烂弧菌

3. A: 改良 CA 液体培养基, B: 改良 PDA 液体培养基

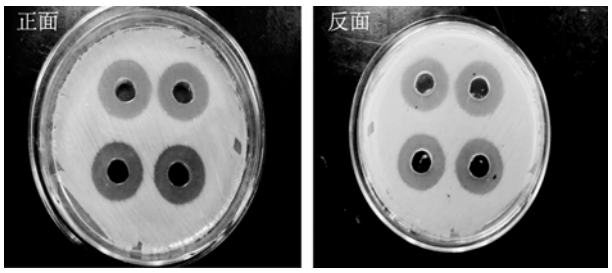

图 2　海洋真菌 NJ0104 对副溶血弧菌的抑制作用

Fig. 2　The inhibition of *V. parahaemolyticus* by marine fungi NJ0104

2.3　菌株 NJ0104 发酵液中抑菌活性物质的部分理化性质

2.3.1　抑菌活性物质萃取实验

采用石油醚、环己烷、正丁醇、氯仿、乙酸乙酯萃取抑菌活性物质，结果如表 2 所示。

表 2　有机相和水相的抑菌圈直径

Tab. 2　Inhibitory zone diameters of the organic phase and aqueous phase

萃取溶剂	抑菌圈直径(mm)	
	有机相	水相
石油醚	0.00	24.11
环己烷	0.00	24.32
氯仿	0.00	25.01
乙酸乙酯	9.10	23.71
正丁醇	27.52	8.92
原上清液	–	25.61

注: “ – ”表示无“ 有机相 ”。

该物质难溶于极性较小的有机溶剂如石油醚、环己烷和氯仿，微溶于乙酸乙酯，正丁醇能较好地萃取抑菌活性物质，故可采用正丁醇为萃取溶剂以提取抑菌活性物质。

用丙酮对菌丝体进行提取，提取液不显示抑菌活性，表明抑菌活性物质不存在于菌丝体中。

2.3.2　热稳定性

统计分析结果显示，温度对活性物质的抑菌能力有显著影响(P＜0.01)，与 0℃(对照组)相比，40℃时抑菌圈直径没有明显变化，无显著差异(P=0.214)，其他处理组的抑菌圈直径均明显变小，且差异极显著(P＜0.01)，各处理组之间也存在极显著差异(P＜0.01)。

活性物质的热稳定性如图 3 所示，当温度为 60℃时，抑菌圈直径为 24.87 mm，残留活性仍能达到 96%以上；当温度超过 80℃以上时对活性物质的稳定性影响较大，抑菌效果变差，在 121℃时彻底失去活性。表明抑菌活性物质在 80℃以下具有良好的热稳定性。

2.3.3　紫外稳定性

统计分析结果显示，紫外照射对抑菌活性物质的稳定性有显著影响(P＜0.01)。与对照组相比，各处理组的抑菌圈直径有明显下降，且差异显著(P＜0.01)；各处理组之间也存在显著差异(P＜0.01)。

如图 4 所示，当照射时间为 30 min 时，活性物质的抑菌能力基本稳定，仍能达到 80%以上，但在

40 min 后，活性明显下降，紫外照射 50 min 时彻底失去活性。表明抑菌活性物质在紫外照射 40 min 内具有良好的稳定性。

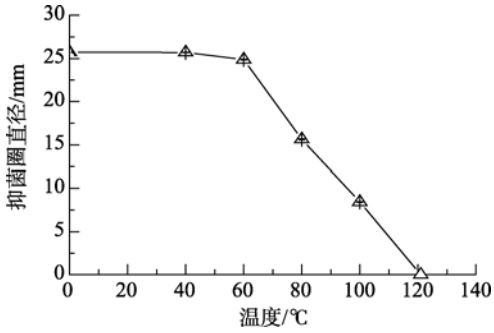

图 3　抑菌活性物质的热稳定性

Fig. 3　Thermal stability of antibacterial substances

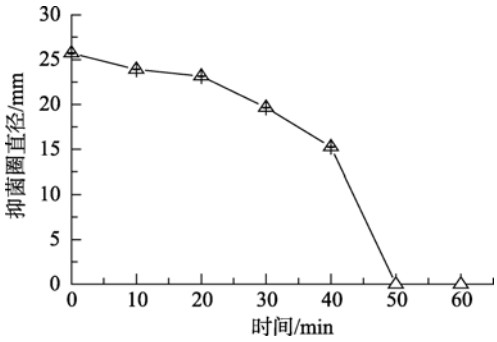

图 4　抑菌活性物质的紫外稳定性

Fig. 4　Stability of antibacterial substances after incubation under UV light for different times

2.3.4　pH 稳定性

统计分析结果表明，在不同 pH 条件下，活性物质的抑菌能力有显著差异(P＜0.01)。与对照相比，pH 值为 7.0 时，抑菌活性无显著差异(P=0.401)；在其他的 pH 条件下，抑菌能力明显下降，且差异极显著(P＜0.01)；各处理组之间也存在极显著差异(P＜0.01)。

活性物质的 pH 稳定性如图 5 所示，抑菌活性随着 pH 值的变化呈现先增大后减小的改变，pH 4.0 时抑菌圈直径为 21.62 mm，与对照组接近，pH 7.0 时最强，pH 10.0 时活性完全丧失。说明活性物质在 pH 4.0~7.0 条件下相对稳定，对强酸和碱比较敏感，分离纯化时应避免强酸和碱性环境。

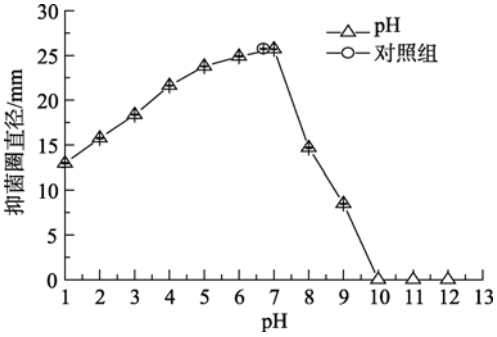

图 5　抑菌活性物质的 pH 稳定性

Fig. 5　Stability of antibacterial substances at different pHs

3　讨论

3.1　适当的前处理及合适的培养基可以增加微生物的种类和数量[15]。目前分离海洋真菌的培养基主要是借鉴陆地真菌的常用分离培养基。杨远航等[12]认为，加入底泥浸出液的培养基所培养出来的真菌数量高于不加底泥浸出液的培养基。因此本实验采用添加有海洋真菌生境的海泥浸出液的培养基来分离真菌，同时采用聚山梨酯–80 做分散剂，以促使海洋真菌从沉积物样品中释放出来。

3.2　对不同海域沉积物中海洋真菌的抑菌活性代谢产物的研究国内已有一些报道[16,7]。本实验对分离自南麂岛海域沉积物样品中的 78 株真菌的抑菌活性测定结果表明，9 株真菌的次级代谢产物对一种或者几种指示菌有抑菌活性，尤其值得注意的是有些菌株显示很高抑菌活性，表明该海域的沉积物中分布着丰富的真菌资源，是开发抗菌药物的天然宝库。在这些产抑菌活性次级代谢产物的海洋真菌中，有 7.8%的菌株对鳗弧菌有抑制作用，3.8%的菌株对副溶血弧菌有抑制作用，这与黄耀坚和 Christophersen 的研究结果基本一致[10,17]。

3.3　复筛所得的抑菌活性菌株的数量远低于初筛，造成此结果的主要原因可能有以下两点：(1)初筛过程中，一些菌株的抑菌现象是由于营养或空间竞争造成的假阳性结果[18]；(2)菌株在所试的发酵培养基及培养条件下不产生抑菌活性物质或产生的抑菌活性物质浓度太低在所试的条件下观察不到抑菌现象。发酵培养基不仅会影响菌体的生长，还会改变微生物代谢产物的产量和类型[19-20]。如在活性筛选时，同样条件下，菌株 NJ0104 采用 B 培养基发酵时显示较强的抑菌活性，但采用 A 培养基发酵时没有活性。可见，不同的发酵培养基对海洋沉积物真菌活性代谢产物的合成有较大的影响。因此在后期的筛选工作中将选择多种培养基同时进行发酵，以提高活性菌株的筛选得率。

3.4　抗生素药物的长期滥用导致了病原菌耐药性增强，使常规抗生素在治疗相关性疾病时失效、水产品药物残留问题日益突出，从天然产物中寻找安全有

效地防治海洋生物弧菌病的替代药物已是迫在眉睫。本研究筛选出能够产生抑制病原指示菌次级代谢产物的海洋真菌 9 株，其中菌株 NJ0104 的次级代谢产物不但抑菌谱广，而且对副溶血弧菌的抑菌活性极其明显，对海洋生物弧菌病的防治具有一定的意义。菌株 NJ0104 的抑菌活性物质在 80℃以下、紫外线照射 40 min 时稳定性良好，pH 稳定范围在 4.0~7.0 之间，能较好地溶解于正丁醇中，其抑菌机理以及具体活性成分的分析仍需要进一步研究。

参考文献:

[1] Li X, Yao Y H, Zhang Y N, et al. Structure elucidation of actinopyrone A and C isolated from marine fungus *Penicillium* sp.[J]. Chinese Journal of Magnetic Resonance, 2007, 24(3): 275-280.

[2] Zhu F, Chen G Y, Lin Y C. Structural determination of three sphingolipids from two marine-derived mangrove endophytic fungal strains[J]. Marine Science Bulletin, 2007, 9(1): 20-25.

[3] Qi S H, Xu Y, Xiong H R, et al. Antifouling and antibacterial compounds from a marine fungus *Cladosporium* sp. F14[J]. World J Microbiol Biotechnol, 2009, 25: 399-406.

[4] 王书锦，胡江春，薛德抹，等. 中国黄、渤海、辽宁近海地区海洋微生物资源的研究[J]. 锦州师范学院学报(自然科学版), 2001, 22(1): 1-5.

[5] Khudyakova Y V, Pivkin M V, Kuznetsova T A, et al. Fungi in sediments of the sea of Japan and their biologically active metabolites[J]. Microbiology, 2000, 69(5): 608-611.

[6] Bugni T S, Ireland C M. Marine-derived fungi: a chemically and biologically diverse group of microorganisms[J]. Natural Product Reports, 2004, 21: 143-163.

[7] 熊枫，郑忠辉，黄耀坚，等. 从深海沉积物中筛选具有抗菌、抗肿瘤活性的海洋真菌[J]. 厦门大学学报(自然科学版), 2006, 45(3): 419-423.

[8] 阎雪芬，黄丹虹，代宇博，等. 海洋真菌抗氧化活性物质的初步研究[J]. 厦门大学学报(自然科学版), 2007, 46(3): 418-421.

[9] 郭江，祖国仁，孔繁东，等. 一株海洋真菌菌株 M-401 产抑菌物质发酵条件研究[J]. 微生物学杂志, 2007, 27(1): 76-79.

[10] 黄耀坚，陈连兴，郑忠辉，等. 厦门海区潮间带海洋动植物共附生拮抗微生物的分布[J]. 海洋通报，1998, 17(2): 37-41.

[11] 马悦欣，孙田，王海燕，等. 大连海区潮间带海藻附生真菌的抗微生物活性[J]. 大连水产学院学报，2004, 19(1): 6-9.

[12] 杨远航，许忠能，林小涛，等. 人工底泥与水体真菌培养基的筛选[J]. 暨南大学学报(自然科学版)，2008, 29(5): 510-515.

[13] 苏印泉，朱红薇，马希汗，等. 杜仲内生真菌的抑菌活性筛选[J]. 西北植物学报，2005, 25(6): 1 153-1 157.

[14] 暴增海，孔德平，王增池，等. 抗弧菌海洋细菌的分离筛选及其抗菌作用测定[J]. 水产科学, 2009, 28(1): 24-27.

[15] 鲍时翔，黄慧琴. 海洋微生物学[M]. 青岛：中国海洋大学出版社, 2008: 166-172.

[16] 王骁勇，黄耀坚，郑忠辉，等. 舟山群岛近海底栖真菌及其抗生活性初筛研究[J]. 厦门大学学报(自然科学版), 2006, 45(4): 558-562.

[17] Christophersen C, Crescente O, Frisvad J C, et al. Antibacterial activity of marine-derived fung[J]. Mycopathologia, 1999, 143: 135-138.

[18] 郝树站，王素英，王璐. 具抗植物病原真菌活性海洋霉菌的筛选与鉴定[J]. 亚热带农业研究，2006, 2(1): 45-48.

[19] 彭琛，郑忠辉，杜希萍，等. 培养基对海藻真菌 PT2 菌株的生长及活性代谢产物合成的影响[J]. 台湾海峡, 2005, 24(1): 90-96.

[20] Miao L, Kwong T F, Qian P Y. Effect of culture conditions on mycelial growth, antibacterial activity, and metabolite profiles of the marine-derived fungus *Arthrinium* c.f. *saccharicola*[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2006, 72: 1 063-1 073.

(下转第 71 页)