



Open Access

引用格式:冯婷,梁振益,陈红军,等.红树林内生真菌 *Phomopsis asparagi* DHS-48 与 *Pestalotiopsis* sp. HHL-101 共培养次级代谢产物研究[J].海南大学学报(自然科学版中英文),DOI:10.65658/j.hndk.2025113001.

Citation:FENG Ting, LIANG Zhenyi, CHEN Hongjun, et al. Investigation of Secondary Metabolites from the Co-cultivation of the Mangrove Endophytic Fungi *Phomopsis asparagi* DHS-48 and *Pestalotiopsis* sp. HHL-101[J]. Natural Science of Hainan University, DOI:10.65658/j.hndk.2025113001.

红树林内生真菌 *Phomopsis asparagi* DHS-48 与 *Pestalotiopsis* sp. HHL-101 共培养次级代谢产物研究

冯 婷,梁振益,陈红军,岑举人,徐 静✉

(海南大学化学化工学院/海南大学生态文明协同创新中心,海南 海口 570228)

摘 要:【目的】研究来源于海南红树林植物大红树(*Rhizophora mangle*)内生真菌 *Phomopsis asparagi* DHS-48 与红海榄(*Rhizophora stylosa*)内生真菌 *Pestalotiopsis* sp. HHL-101 共培养体系的次级代谢产物。【方法】通过平板对峙实验与扫描电镜(SEM)观察菌株间的竞争性相互作用及微观形态变化;利用 HPLC 图谱分析单一培养与共培养发酵粗提物的代谢差异;采用正相硅胶柱层析、反相 ODS 柱层析、Sephadex LH-20 凝胶柱层析及半制备高效液相色谱等多种色谱技术,对其共培养发酵产物的乙酸乙酯提取物进行分离纯化;运用核磁共振波谱、质谱等波谱学方法,并结合文献数据比对,鉴定化合物的结构。【结果】平板对峙实验与 SEM 结果显示,两菌在接触区形成色素带,且菌丝致密缠绕在交界处两者细胞膜相融合,表明在共培养体系中存在激烈的竞争性相互作用。代谢分析显示,共培养体系的 HPLC 图谱发生变化,其特征色谱峰的强度明显增强,且色谱峰数量增多,表明共培养提升了代谢产物的丰度与多样性。从该共培养体系中分离得到 12 个化合物,分别鉴定为:2-苯乙基- β -D-吡喃葡萄糖苷(1)、对羟基苯乙醇(2)、4-羟基苯乙基乙酸酯(3)、对羟基苯甲醛(4)、对羟基苯甲酸(5)、3-氯龙胆醇(6)、2'-O-甲基尿苷(7)、2'-脱氧胸腺嘧啶核苷(8)、胸腺嘧啶(9)、cyclo(L-Hyp-L-Ala)(10)、(1R,2R,4R)-三羟基薄荷烷(11)和麦角甾醇(12)。其中,经文献比对确认,化合物 6 和 11 为首次从拟茎点霉属(*Phomopsis*)与拟盘多毛孢属(*Pestalotiopsis*)真菌中分离得到。【结论】从 *Phomopsis asparagi* DHS-48 与 *Pestalotiopsis* sp. HHL-101 的共培养体系中成功分离并鉴定了 12 个次级代谢产物,为芳香族类、核苷类、单萜、环二肽类及甾体等多种结构类型,并发现 2 个化合物为该两属真菌的首次分离报道,丰富了上述属真菌次级代谢产物的结构多样性。

关键词:红树林内生真菌;拟茎点霉属;拟盘多毛孢属;共培养;次级代谢产物

中图分类号:G232 文献标志码:A

DOI:10.65658/j.hndk.2025113001 CSTR:32403.14.hndk.2025113001

Investigation of Secondary Metabolites from the Co-cultivation of the Mangrove Endophytic Fungi *Phomopsis asparagi* DHS-48 and *Pestalotiopsis* sp. HHL-101

FENG Ting, LIANG Zhenyi, CHEN Hongjun, CEN Juren, XU Jing✉

(College of Chemistry and Chemical Engineering, Collaborative Innovation Center of Ecological Civilization, Hainan University,
Hainan University, Haikou, Hainan 570228, China)

Received: 2025-11-30; Revised: 2026-02-25; Accepted: 2026-02-27;

✉ Corresponding author(s): XU Jing, E-mail: happyjing3@163.com

冯婷等.红树林内生真菌 *Phomopsis asparagi* DHS-48 与 *Pestalotiopsis* sp. HHL-101 共培养次级代谢产物研究

Natural Science of Hainan University (ISSN 1004-1729)

<https://hndk.hainanu.edu.cn>

Abstract: 【 **Objective** 】 To investigate the secondary metabolites produced by the co-culture system of two mangrove endophytic fungi: *Phomopsis asparagi* DHS-48 (isolated from *Rhizophora mangle*) and *Pestalotiopsis* sp. HHL-101 (isolated from *Rhizophora stylosa*). 【 **Methods** 】 Interspecific competitive interactions and micromorphological changes were observed using plate confrontation assays and scanning electron microscopy (SEM). Metabolic differences between the crude extracts of mono-cultures and the co-culture were analyzed using HPLC profiling. The ethyl acetate extract from the co-culture fermentation was isolated and purified using various chromatographic techniques, including normal-phase silica gel column chromatography, reversed-phase ODS column chromatography, Sephadex LH-20 gel column chromatography, and semi-preparative high-performance liquid chromatography (HPLC). The structures of the isolated compounds were identified using spectroscopic methods, including NMR and MS, in combination with literature data comparison. 【 **Results** 】 Plate confrontation assays and SEM results revealed the formation of a pigmented line in the contact zone, accompanied by dense mycelial coiling and cell membrane fusion at the interface, indicating intense competitive interactions within the co-culture system. Metabolic analysis demonstrated changes in the HPLC profile of the co-culture, characterized by significantly enhanced intensity of characteristic peaks and an increased number of peaks, suggesting that co-cultivation improved both the abundance and diversity of metabolic products. Twelve compounds were isolated from the co-culture system and identified as: 2-phenylethyl- β -D-glucopyranoside (**1**), tyrosol (**2**), 4-hydroxyphenethyl acetate (**3**), 4-hydroxybenzaldehyde (**4**), 4-hydroxybenzoic acid (**5**), 3-chlorogentisyl alcohol (**6**), 2'-O-methyluridine (**7**), 2'-deoxythymidine (**8**), thymine (**9**), cyclo(L-Hyp-L-Ala) (**10**), (1*R*,2*R*,4*R*)-trihydroxymenthane (**11**), and ergosterol (**12**). Notably, compounds **6**, **9**, and **11** were isolated from the genera *Phomopsis* and *Pestalotiopsis* for the first time. 【 **Conclusion** 】 Twelve secondary metabolites were successfully isolated and identified from the co-culture of *Phomopsis asparagi* DHS-48 and *Pestalotiopsis* sp. HHL-101, encompassing diverse structural types such as aromatic derivatives, nucleosides, monoterpenes, cyclic dipeptides, and sterols. The discovery of three compounds reported for the first time from these two genera enriches the structural diversity of secondary metabolites known to be produced by them.

Keywords: Mangrove endophytic fungi; *Phomopsis* sp.; *Pestalotiopsis* sp.; Co-culture; Secondary metabolites

0 引 言

红树林作为分布于热带及亚热带海岸潮间带的特殊木本植物群落^[1-2],其独特的生态环境塑造了其内生真菌特殊的遗传背景与代谢特征^[3-4]。由于长期适应高盐、高湿、周期性缺氧等极端环境胁迫,红树林内生真菌已成为发掘结构新颖以及活性独特天然产物的重要宝库^[5-6]。然而,基因组学研究揭示,在常规实验室培养条件下,红树林内生真菌的代谢潜能未被激活,其体内绝大多数生物合成基因簇(BGCs)处于“沉默”或低表达状态^[7-8]。

为激活微生物中“沉默”的生物合成基因簇,目前已发展出多种策略,主要包括改变培养基组分与培养条件、微生物共培养、表观遗传调控、全局调控因子干预、代谢途径重构、启动子工程与异源表达等^[9]。其中,共培养技术因诱导效果稳定以及无需预先获取基因组信息等优势,成为激活微生物次级代谢潜力的重要策略。该技术通过模拟自然生态环境中的微生物复杂的相互作用,从而激活在单培养条件下处于“沉默”状态的生物合成基因簇,获得新型次级代谢产物^[8,10]。已有研究报道红树林内生真菌通过共培养策略丰富了次级代谢产物的多样性。通过红树林来源的真菌 *Phomopsis* sp. K38 与 *Alternaria* sp. E33 共培养,分离得到三种新型代谢产物,包括二酰亚胺衍生物^[11]、咕吨酮衍生物^[12]及多取代苯甲醛化合物^[13],其

中部分次级代谢产物表现出细胞毒性或抑菌活性。Ebada 等人^[14]通过共培养两株海洋藻类来源的 *Aspergillus* 菌株 (BM-05 和 BM-05ML), 成功诱导产生了一种新的环三肽 psychrophilin E。

Phomopsis 和 *Pestalotiopsis* 均为红树林生态系统中的优势内生真菌属, 因其广泛的环境适应性、丰富的次生代谢产物合成潜力以及对宿主植物的多种生物学功能而受到广泛关注^[15-16]。本研究选用的 *Phomopsis asparagi* DHS-48 菌株分离自大红树 (*Rhizophora mangle*) 根部组织, 前期研究表明该菌株具有丰富的次级代谢潜能, 能够产生多种结构新颖的色酮类化合物^[17-18] 及细胞松弛素类化合物^[18-19]。为进一步挖掘其代谢潜力, 本研究将 DHS-48 与分离自红海榄 (*Rhizophora stylosa*) 的内生真菌 *Pestalotiopsis* sp. HHL-101 进行共培养。首先, 通过平板对峙实验与扫描电子显微镜观察, 分析了两菌株间的竞争性相互作用及其微观形态变化。其次, 通过 HPLC 图谱分析了单培养与共培养发酵粗提物的代谢差异。在此基础上, 运用正相硅胶柱层析、反相 ODS 柱层析、Sephadex LH-20 凝胶柱层析及半制备高效液相色谱等技术, 对共培养体系的乙酸乙酯提取物进行分离与纯化, 最终获得 12 个代谢产物。通过核磁共振波谱、质谱等波谱学方法, 结合文献数据比对, 鉴定其结构分别为芳香族类: 对羟基苯乙醇(2)、4-羟基苯乙基乙酸酯(3)、对羟基苯甲醛(4)、对羟基苯甲酸(5)、3-氯龙胆醇(6); 核苷碱基类: 2'-O-甲基尿苷(7)、2'-脱氧胸腺嘧啶核苷(8); 单萜类: (1R,2R,4R)-三羟基薄荷烷(11); 环二肽类: cyclo(L-Hyp-L-Ala)(10); 糖苷类: 2-苯乙基- β -D-吡喃葡萄糖苷(1); 甾体类: 麦角甾醇(12), 结构如图 1 所示。

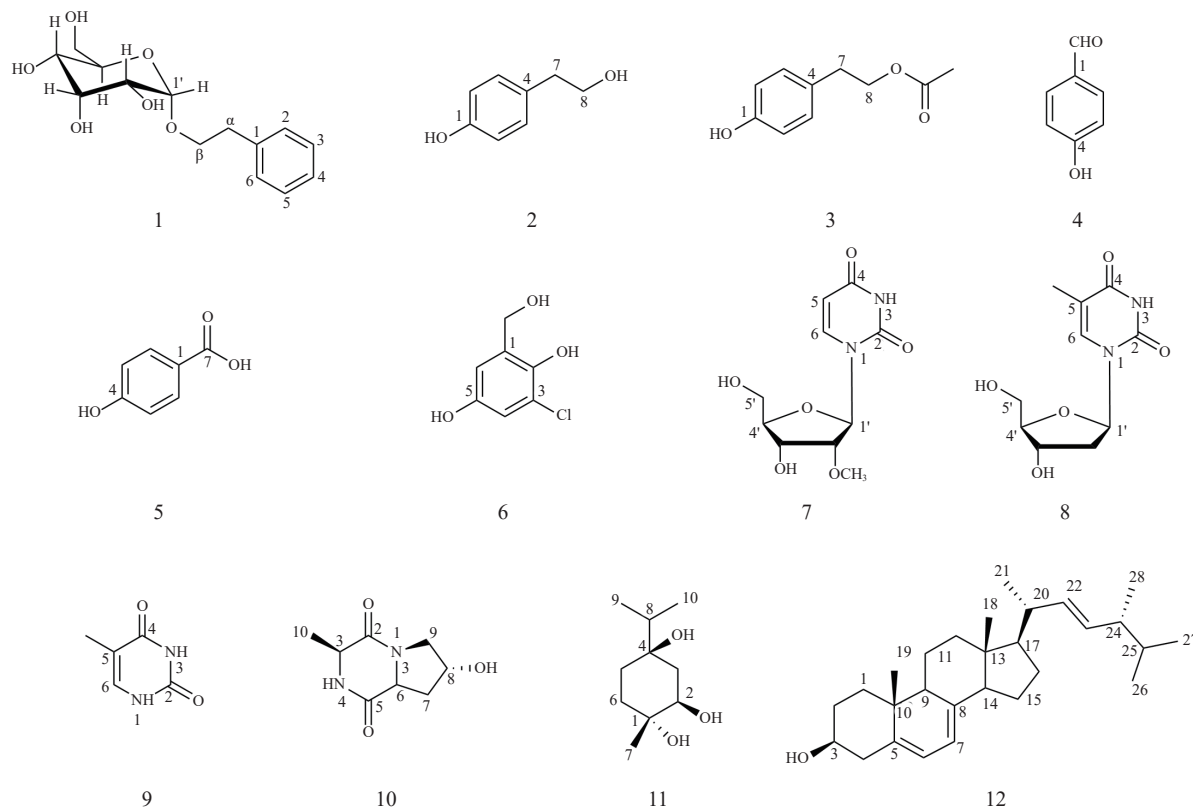


图 1 化合物 1-12 结构式

1 材料与方法

1.1 主要材料和设备 在材料与试剂方面, 大米购自福州稻花香公司; 石油醚、甲醇(分析纯与色谱纯)、乙酸乙酯以及二氯甲烷(分析纯)均购自广东西陇化工有限公司。此外, 薄层色谱(TLC)硅胶板(GF254, 200–300 μ m)与柱色谱硅胶(60–80 μ m)均购自青岛海洋化工有限公司, Sephadex LH-20 凝胶购自瑞典 Pharmacia 公司, ODS 反相填料购自日本京都 Nacalai 公司。

在仪器与设备方面, 核磁共振波谱仪(AVANCE III 400 MHz)与高分辨电喷雾质谱仪(MicroTOF-Q II)

均产自德国 Bruker 公司。紫外-可见分光光度计(UV-2550)和旋光仪(MCP5100)分别产自日本 Shimadzu 公司与奥地利 Anton Paar 公司。同时,使用美国安捷伦公司的半制备高效液相色谱(Agilent 1200, 配备 C18 反相色谱柱, 250 mm × 10 mm, 5 μm), 以及美国 Thermo Fisher 公司的场发射扫描电子显微镜。

1.2 菌种来源 本研究采用的菌株 *Phomopsis asparagi* DHS-48 和 *Pestalotiopsis* sp. HHL-101 均分离自中国海南岛东寨港红树林自然保护区, 分别来源于大红树(*Rhizophora mangle*)新鲜根部组织和红海榄(*Rhizophora stylosa*)的健康枝条, 经形态学及 ITS 基因序列分析鉴定为天门冬拟茎点霉(*Phomopsis asparagi*) (编号 DHS-48; GenBank 登录号: MT126606)和拟盘多毛孢属真菌(*Pestalotiopsis* sp.) (编号 HHL-101; GenBank 登录号: EF451799)。上述两株菌种保藏于海南大学李运强理工实验大楼 B417 室。

1.3 *Phomopsis asparagi* DHS-48 与 *Pestalotiopsis* sp HHL-101 共培养竞争相互作用分析以及形态学观察 将 *Phomopsis asparagi* DHS-48 与 *Pestalotiopsis* sp HHL-101 分别于 28℃ 条件下在 PDA 培养基上培养 7 天。共同培养时, 将两种真菌各取 1 平方厘米琼脂块, 间隔 2.25 厘米置于直径 9 厘米的琼脂平板上。共生培养物于 28℃ 条件下培养 13 天。同时在相同条件下, 为每株菌种建立单一菌落培养。13 天后, 别切取 DHS-48 单培养、HHL-101 单培养以及两者共培养体系中的菌丝体琼脂块, 置于 4℃ 的 2.5% 戊二醛溶液中固定 4 小时, 随后用磷酸盐缓冲盐水(PBS)彻底冲洗三次(每次 15 分钟)。样本经梯度乙醇系列(50%、70%、80%、90% 及 100%)分三次脱水处理(每次 30 分钟), 随后进行冷冻干燥、导电凝胶基底固定、IB-3 离子镀膜设备进行 30 秒镀金处理, 最终使用 Thermo Fisher Verios 扫描电子显微镜进行观察。

1.4 小规模大米固态发酵的单培养与共培养体系 HPLC 分析 分别挑取 DHS-48 或 HHL-101 的 1 cm² 单菌落, 接种于新鲜制备的琼脂平板中央(培养基体积 15 mL, 直径 9 cm), 28℃ 静置培养 7 天。培养结束后, 切取约 1 cm² 的菌块, 分别或共同接种至 250 mL 锥形瓶中, 进行单培养或共培养的小规模发酵。每瓶装有 25 g 大米与 0.3% 人工海水 25 mL 配制的固体培养基, 于 28℃ 静置培养 20 天。发酵完成后, 每瓶样品采用 100 mL 乙酸乙酯萃取 3 次, 每次间隔 24–48 h, 合并浓缩有机相, 得到小规模发酵提取物。所有培养组均设 3 次重复。乙酸乙酯提取物经高效液相色谱分析, 洗脱流速为 0.8 mL · min⁻¹, 总运行时间 60 分钟。流动相为水(A)和甲醇(B), 梯度程序如下: 0–5 min, 25% B; 5–15 min, 25%–30% B; 15–30 min, 30%–55% B; 30–40 min, 55%–75% B; 40–50 min, 75%–90% B; 50–60 min, 90%–100% B。柱温 25℃, 紫外检测波长 210 nm。

1.5 发酵与提取 本研究首先将菌株 DHS-48 与 HHL-101 分别接种于 PDA 培养基(组成: 马铃薯浸出粉 200 g/L, 葡萄糖 20 g/L, 琼脂 15 g/L, 氯霉素 0.1 g/L)中进行活化培养。随后, 分别取约 1 cm² 的菌块接种至 160 个 1 L 锥形瓶中进行大规模发酵, 每瓶装有 100 g 大米与 100 mL 0.3% 人工海水配制的固体培养基, 于 28℃ 静置培养 30 天。发酵结束后, 每瓶发酵产物采用 400 mL 乙酸乙酯萃取 3 次, 每次间隔 24–48 h, 合并萃取液, 减压浓缩后得到总浸膏 90 g。该浸膏经减压硅胶柱层析初步分离, 以二氯甲烷-甲醇系统进行梯度洗脱(二氯甲烷:甲醇体积比依次为 100:0、100:1、100:2、100:4、100:8、100:16、100:32、100:64 及 0:100), 共收集得到五个主要组分(Fr. 1–Fr. 5)。Fr. 1 通过正相硅胶柱层析, 以二氯甲烷-乙酸乙酯(6:1, v/v)等度洗脱, 进一步划分为六个亚组分(Fr. 1.1–1.6。其中, Fr. 1.3 经 Sephadex LH-20 凝胶柱(洗脱系统为二氯甲烷:甲醇 = 1:1)纯化, 获得化合物 12(6 mg); Fr. 1.5 经相同凝胶柱纯化, 得化合物 11(3 mg)。Fr. 2 采用正相硅胶柱等度洗脱(二氯甲烷:乙酸乙酯 = 5:1), 分为六个亚组分(Fr. 2.1–2.6)。Fr. 2.2 经 Sephadex LH-20 凝胶柱(二氯甲烷:甲醇 = 1:1)处理, 得到化合物 6(6 mg)。Fr. 2.3 依次经 ODS 反相柱层析[甲醇-水(70:100 → 100:0, v/v)梯度洗脱]及半制备高效液相色谱(甲醇:水 = 80:20, 流速 2 mL/min, 检测波长 210 nm)分离, 得到化合物 5(3 mg)与化合物 2(6 mg)。Fr. 3 经正相硅胶柱梯度洗脱(二氯甲烷:乙酸乙酯体积比依次为 6:1、5:1、4:1、3:1、2:1、1:1、1:2、1:3), 划分为八个亚组分(Fr. 3.1–3.8)。Fr. 3.2 经 Sephadex LH-20 凝胶柱(二氯甲烷:甲醇 = 1:1)纯化, 得化合物 3(10 mg)。Fr. 3.4 依次经 ODS 反相柱[甲醇-水(40:100 → 100:0)梯度洗脱]及半制备高效液相色谱(甲醇:水 = 60:40, 流速 2 mL/min, 检测波长 210 nm)分离, 获得化合物 1(4 mg), 化合物 7(5 mg)和化合物 8(4 mg)。Fr. 4 经正相硅胶柱等度洗脱(二氯甲烷:乙酸乙酯 = 1:1)划分为五个亚组分(Fr. 4.1–4.5)。Fr.

4.5 通过 Sephadex LH-20 凝胶柱(二氯甲烷:甲醇 = 1:1)纯化,得到化合物 **4** (5 mg)。Fr. 5 经正相硅胶柱等度洗脱(二氯甲烷:乙酸乙酯 = 1:1)划分为六个亚组分(Fr. 5.1–5.6)。Fr. 5.4 依次经 Sephadex LH-20 凝胶柱(二氯甲烷:甲醇 = 1:1)及反相高效液相色谱(甲醇:水 = 40:60, v/v)纯化,最终获得化合物 **10** (4 mg)与化合物 **9** (5 mg)。

1.6 生物活性评价

1.6.1 体外细胞毒活性测定 采用 MTT 法^[20] 评价化合物对 HepG2 和 A549 两种肿瘤细胞株的体外增殖抑制作用。首先,将处于对数生长期的细胞以 5 000 个/孔的密度接种于 96 孔板(100 μ L/孔)。待细胞贴壁(培养 24 h)后,弃去原培养基,换为含有待测化合物(终质量浓度 10 μ g/mL)的新鲜培养基,同时设置溶剂对照组(含等体积分数 DMSO 的完全培养基,含细胞)及空白组(仅含培养基和 DMSO,无细胞),每组设置 3 个重复孔。将培养板置于培养箱中继续孵育 24 h。随后,弃去含药培养基,每孔补加 100 μ L 新鲜培养基及 20 μ L 质量浓度为 5 mg/mL 的 MTT 溶液。在 37 $^{\circ}$ C 的 CO₂ 培养箱中避光反应 4 h。最后,吸去上清液,加入纯 DMSO,并使用酶标仪在 570 nm 波长处测量其吸光度(OD 值)。

1.6.2 免疫抑制活性测定 采用 CCK-8 法^[21] 来评估化合物对小鼠脾细胞的潜在毒性,并进一步探究其对刀豆蛋白 A (ConA)诱导的 T 淋巴细胞增殖的抑制效果^[22]。脾细胞毒性评估:将制备好的小鼠脾细胞悬浮液(1×10^7 mL⁻¹)按 100 μ L/孔加入 96 孔板中,并在培养箱中静置 4 h 以使细胞稳定。实验组加入 100 μ L 经 RPMI-1 640 完全培养基稀释的化合物溶液(终质量浓度 10 μ g/mL);空白对照组则加入 100 μ L 含有 0.2% DMSO (体积分数)的完全培养基。每组均设 3 个复孔。培养板在培养箱中孵育 72 h 后,向每孔添入 20 μ L CCK-8 试剂,继续孵育 4 h。最后,使用酶标仪在 450 nm 处检测吸光度。ConA 诱导的 T 细胞增殖抑制实验:将小鼠脾细胞悬液(5×10^6 mL⁻¹)以 100 μ L/孔接种于 96 孔板。细胞稳定后,设置 ConA 组(加入 100 μ L 含 5 μ g/mL ConA 的培养基)与药物组(加入 100 μ L 同时含有 5 μ g/mL ConA 及单体化合物的培养基)。将培养板置于 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ (体积分数)的培养箱中处理 48 h。培养结束后,每孔加入 20 μ L CCK-8 试剂,继续孵育 4 h,并于 450 nm 波长处测定其吸光度。

2 结果与分析

2.1 共培养条件下 *Phomopsis asparagi* DHS-48 与 *Pestalotiopsis* sp. HHL-101 的竞争相互作用分析

采用平板对峙培养法对 *Phomopsis asparagi* DHS-48 与 *Pestalotiopsis* sp. HHL-101 在共培养条件下的竞争相互作用进行了分析。如图 2 所示,分别于接种后第 4、7、10 及 13 天记录菌株在 PDA 培养基上的对峙培养形态特征。结果显示在培养第 4 天时,DHS-48 的菌丝呈白色棉絮状向外扩展,而 HHL-101 的菌丝表现为白色绒毛状生长,两者菌落边缘开始接触且生长形态呈现不规则状。培养第 7 天时,两菌株的径向生长速率均减缓,接触区域的菌丝出现卷曲现象。接种第 10 天时,两菌落几乎完全接触,同时培养基颜色明显加深。第 13 天时,在对峙区形成一条清晰的色素带,该现象可能与两菌在竞争过程中次级代谢产物的生物合成有关^[23]。

2.2 *Phomopsis asparagi* DHS-48 与 *Pestalotiopsis* sp. HHL-101 共培养体系的形态学特征 共培养策略能够改变真菌菌丝体形态,这些变化常被用作评估其次级代谢产物生物合成潜力的重要参考因素^[24]。本研究采用扫描电子显微镜(SEM),对 *Phomopsis*

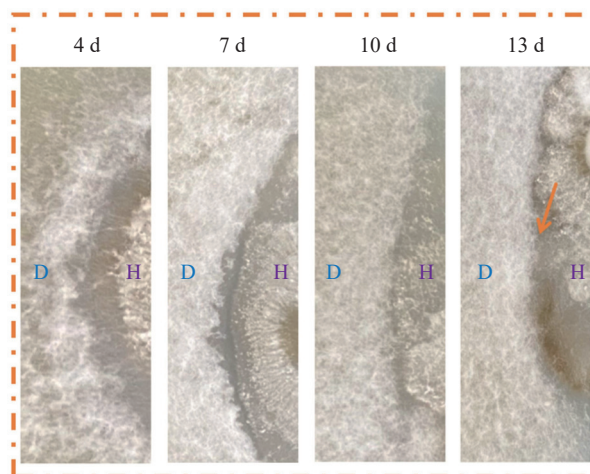


图 2 共培养条件下 *Phomopsis asparagi* DHS-48 与 *Pestalotiopsis* sp. HHL-101 的拮抗作用。两菌株分别接种于 PDA 平板两侧,接种点距离平板边缘 22.5 mm,在接种后第 4、7、10 及 13 天观察相互作用。图中 D 代表 DHS-48, H 代表 HHL-101。

图中橙色箭头指示在对峙区形成的色素带,表明该色素带可能来源于两菌竞争过程中次级代谢产物合成有关。

asparagi DHS-48 与 *Pestalotiopsis* sp. HHL-101 在单一培养及共培养条件下的菌丝微观结构进行了观察。结果显示,在接种第 13 天,单培养的 DHS-48 菌丝相对粗壮(图 3A),而 HHL-101 的菌丝则较为纤细(图 3B)。在共培养体系中(图 3C, D),两者菌丝相互缠绕,形成致密交织的菌丝网垫;尤其在菌丝接触区域,可观察到细胞膜融合现象,这种现象可能有利于菌株间代谢物的交流^[25]。上述形态学变化表明,共培养可能通过调节菌丝的形态结构,进而影响其次级代谢产物的生物合成途径。

2.3 *Phomopsis asparagi* DHS-48 与 *Pestalotiopsis* sp. HHL-101 共培养体系的代谢分析 为探究 *Phomopsis asparagi* DHS-48 与 *Pestalotiopsis* sp. HHL-101 共培养对其次级代谢产物的影响,本研究采用大米小量固态发酵并通过高效液相色谱(HPLC)分析单培养及共培养的乙酸乙酯提取物。结果显示(图 4A–C),共培养提取物在多个保留时间段(0–6 min、15–17 min、33–35 min 及 37–43 min)

的色谱峰强度均明显高于单培养,表明对应代谢产物的合成得到提高。此外,在 22.5–27.5 min 区间,共培养体系检测到更为丰富的色谱峰,表明代谢多样性有所增加。这些变化说明共培养可能激活了在单培养条件下处于沉默状态的生物合成基因簇。

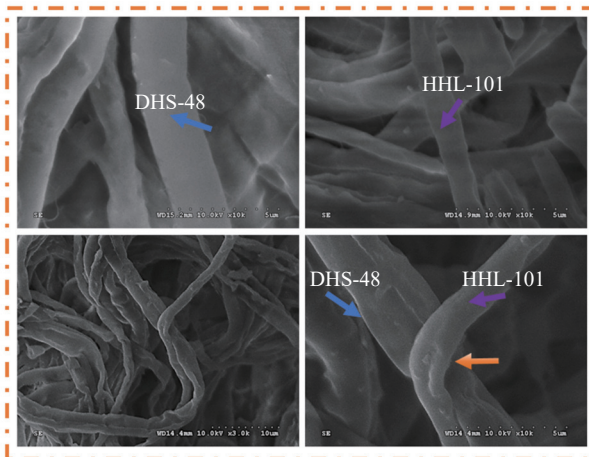


图 3 *Phomopsis asparagi* DHS-48 与 *Pestalotiopsis* sp. HHL-101 在 PDA 培养基上单培养与共培养扫描电子显微镜图像:(A) DHS-48 单培养($\times 10\,000$ 放大倍数), (B) HHL-101 单培养($\times 10\,000$ 放大倍数), (C) DHS-48 与 HHL-101 共培养菌丝交织形态($\times 3\,000$ 放大倍数)。 (D) 为(C)中共培养界面区域的放大视图($\times 10\,000$ 放大倍数)。彩色箭头示意如下:蓝色代表 DHS-48;紫色代表 HHL-101;橙色代表两菌株细胞膜融合区域。

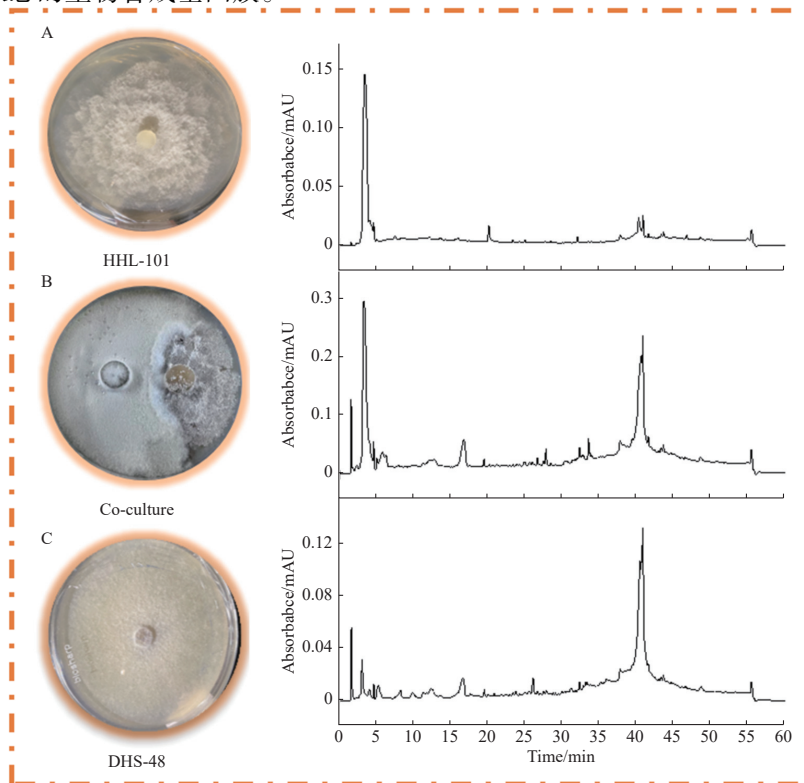


图 4 DHS-48 与 HHL-101 在大米固体发酵下(A–C)单培养及共培养的乙酸乙酯提取物 HPLC 谱图。

色谱条件: C18 色谱柱(Waters, 5 μm , 10 $\times$ 150 mm)。流动相: A 为水, B 为甲醇。线性梯度: 0–5 min, 25% B; 5–15 min, 25%–30% B; 15–30 min, 30%–55% B; 30–40 min, 55%–75% B; 40–50 min, 75%–90% B; 50–60 min, 90%–100% B。柱温: 25 $^{\circ}\text{C}$; 流速: 0.8 mL/min; 检测波长: 210 nm。样品浓度均一化为 1.0 mg/mL, 进样量 5 μL 。

为明确上述代谢变化,在相同色谱条件下测定了分离得到的 12 个单体化合物的保留时间(图 5),并将其与共培养图谱的差异区间进行指认。比对分析结果显示,化合物 7(RT 4.8 min)、9(RT 5.1 min)及 8(RT 5.8 min)对应 0–6 min 的色谱峰增强区间;化合物 1(RT 16.5 min)与 10(RT 16.1 min)对应于 15–17 min 的增强峰;化合物 12(RT 40.4 min)对应于 37–43 min 处增高的主峰,这证实共培养策略有效促进了代谢产物的合成与积累。更为重要的是,化合物 6(RT 24.0 min)及化合物 11(RT 27.2 min)的保留时间与共培养图谱中 22.5–27.5 min 的新峰相对应,推测化合物 6 和 11 可能是共培养条件下诱导的代谢产物。由此可见,共培养策略在提高了代谢产物的产量的同时,亦激活了处于沉默状态的生物合成基因簇,从而丰富了次级代谢产物的结构多样性。

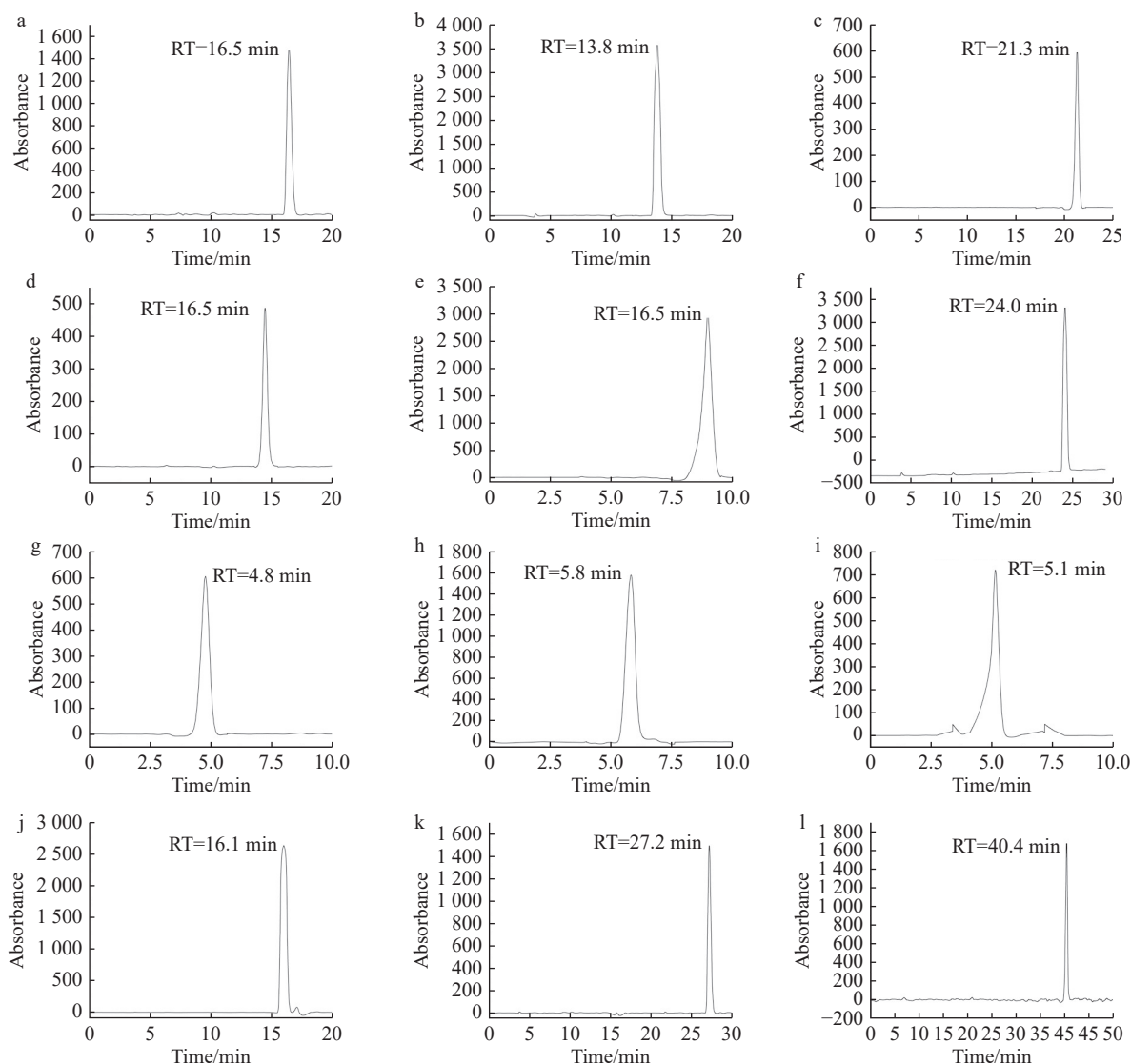


图 5 分离得到的单体化合物 1–12 的 HPLC 色谱图。色谱条件: C18 色谱柱 (Waters, 5 μ m, 10 $\times$ 150 mm)。流动相: A 为水, B 为甲醇。线性梯度: 0–5 min, 25% B; 5–15 min, 25%–30% B; 15–30 min, 30%–55% B; 30–40 min, 55%–75% B; 40–50 min, 75%–90% B; 50–60 min, 90%–100% B。柱温: 25 $^{\circ}$ C; 流速: 0.8 mL/min; 检测波长: 210 nm。

2.4 化合物结构鉴定 化合物 1 为无色胶状物。[α] $^{20}_D$ -20 (c 0.01, MeOH)。经正源高分辨质谱 (HRESIMS) 测得准分子离子峰质荷比 m/z 为 285.133 0 [M + H] $^{+}$ (理论值 C₁₄H₂₁O₆, 285.133 3)。 ^1H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ_{H} : 7.25 (5H, m, H-2, 3, 4, 5, 6), 4.34 (1H, d, J = 7.6 Hz, H-1'), 4.11 (2H, m, H- β), 3.88 (1H, td, J = 14.1, 1.4 Hz, H-6'), 3.73 (1H, dd, J = 11.6, 5.6 Hz, H-3'), 3.68 (1H, td, J = 10.6, 7.2 Hz, H-5'), 3.36 (1H, m, H-2'), 3.25 (1H, m, H-4'), 2.97 (2H, t, J = 7.4 Hz, H- α)。 ^{13}C NMR (100 MHz, CD₃OD) δ_{C} : 140.3 (C-1),

130.0 (C-3, 5), 129.4 (C-2, 6), 127.2 (C-4), 100.1 (C-1'), 75.1 (C-3'), 73.7 (C-5'), 71.7 (C-2'), 70.1 (C-4', C-β), 62.5 (C-6'), 37.1 (C-α)。以上波谱数据与文献^[26]报道数据基本一致,因此鉴定化合物 **1** 为 2-苯乙基-β-D-吡喃葡萄糖苷。

化合物 **2** 为白色粉末。经正源高分辨质谱 (HRESIMS) 测得准分子离子峰质荷比 m/z 为 161.059 2 $[M + Na]^+$ (理论值 $C_8H_{10}O_2Na$, 161.057 3)。¹H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ_H : 7.02 (2H, d, $J = 8.2$ Hz, H-2, 6), 6.68 (2H, d, $J = 8.2$ Hz, H-3, 5), 3.67 (2H, t, $J = 6.9$ Hz, H-8), 2.70 (2H, t, $J = 7.1$ Hz, H-7)。¹³C NMR (100 MHz, CD_3OD) δ_C : 156.8 (C-4), 131.0 (C-1), 130.9 (C-2, 6), 116.1 (C-3, 5), 64.6 (C-8), 39.4 (C-7)。以上波谱数据与文献^[27]报道数据基本一致,因此鉴定化合物 **2** 为对羟基苯乙醇。

化合物 **3** 为白色粉末。经正源高分辨质谱 (HRESIMS) 测得准分子离子峰质荷比 m/z 为 203.067 7 $[M + Na]^+$ (理论值 $C_{10}H_{12}O_3Na$, 203.067 9)。¹H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ_H : 7.02 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-2, 6), 6.78 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-3, 5), 4.22 (2H, t, $J = 7.1$ Hz, H-8), 2.83 (2H, t, $J = 7.1$ Hz, H-7), 2.03 (3H, s, H-10)。¹³C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ_C : 172.0 (C-9), 154.6 (C-4), 129.8 (C-2, 6), 129.0 (C-1), 115.3 (C-3, 5), 65.5 (C-8), 33.9 (C-7), 20.8 (C-10)。以上波谱数据与文献^[28]报道数据基本一致,因此鉴定化合物 **3** 为 4-羟基苯乙基乙酸酯。

化合物 **4** 为黄色结晶。经正源高分辨质谱 (HRESIMS) 测得准分子离子峰质荷比 m/z 为 145.026 9 $[M + Na]^+$ (理论值 $C_7H_6O_2Na$, 145.026 0)。¹H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ_H : 7.10 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, H-2, 6), 6.70 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, H-3, 5)。¹³C NMR (100 MHz, CD_3OD) δ_C : 131.2 (C-2, 6), 116.0 (C-3, 5)。以上波谱数据与文献^[29]报道数据基本一致,因此鉴定化合物 **4** 为对羟基苯甲醛。

化合物 **5** 为白色固体。经负源高分辨质谱 (HRESIMS) 测得准分子离子峰质荷比 m/z 为 137.024 4 $[M - H]^-$ (理论值 $C_7H_5O_3$, 137.024 4), 推断其分子式为 $C_7H_5O_3$ 。¹H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ_H : 7.85 (2H, d, $J = 8.7$ Hz, H-2, 6), 6.77 (2H, d, $J = 8.7$ Hz, H-3, 5)。¹³C NMR (100 MHz, CD_3OD) δ_C : 170.3 (C-7), 162.2 (C-4), 132.7 (C-2, 6), 123.0 (C-1), 115.66 (C-3, 5)。以上波谱数据与文献^[30]报道数据基本一致,因此鉴定化合物 **5** 为对羟基苯甲酸。

化合物 **6** 为红色固体。经负源高分辨质谱 (HRESIMS) 测得准分子离子峰质荷比 m/z 为 173.001 0 $[M - H]^-$ (理论值 $C_7H_6ClO_3$, 173.001 1), 推断其分子式为 $C_7H_7ClO_3$ 。¹H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ_H : 6.74 (1H, d, $J = 2.8$ Hz, H-6), 6.67 (1H, d, $J = 2.8$ Hz, H-4), 4.63 (2H, s, H-7)。¹³C NMR (100 MHz, CD_3OD) δ_C : 151.8 (C-2), 144.3 (C-5), 132.1 (C-3), 121.9 (C-1), 115.4 (C-4), 114.5 (C-6), 61.1 (C-7)。以上波谱数据与文献^[31]报道数据基本一致,因此鉴定化合物 **6** 为 3-氯龙胆醇。

化合物 **7** 为白色粉末。 $[\alpha]_D^{20} + 40$ (c 0.01, MeOH)。经正源高分辨质谱 (HRESIMS) 测得准分子离子峰质荷比 m/z 为 259.092 5 $[M + H]^+$ (理论值 $C_{10}H_{15}N_2O_6$, 259.092 5)。¹H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ_H : 8.08 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-6), 5.93 (1H, d, $J = 3.6$ Hz, H-1'), 5.68 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-5), 4.23 (1H, m, H-3'), 3.96 (1H, m, H-4'), 3.84 (2H, m, H-5'), 3.75 (1H, dd, $J = 12.0, 4.0$ Hz, H-2'), 3.51 (3H, s, $-OCH_3$)。¹³C NMR (100 MHz, CD_3OD) δ_C : 166.2 (C-4), 152.2 (C-2), 142.5 (C-6), 102.5 (C-5), 88.9 (C-1'), 86.1 (C-4'), 85.0 (C-2'), 69.8 (C-3'), 61.6 (C-5'), 58.8 ($-OCH_3$)。以上波谱数据与文献^[32]报道数据基本一致,因此鉴定化合物 **7** 为 2'-O-甲基尿苷。

化合物 **8** 为白色针状结晶。 $[\alpha]_D^{20} + 20$ (c 0.01, MeOH)。经正源高分辨质谱 (HRESIMS) 测得准分子离子峰质荷比 m/z 为 243.097 5 $[M + H]^+$ (理论值 $C_{10}H_{15}N_2O_5$, 243.097 5)。¹H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ_H : 7.81 (1H, d, $J = 1.1$ Hz, H-6), 6.27 (1H, m, H-1'), 4.39 (1H, m, H-3'), 3.90 (1H, dd, $J = 6.7, 3.4$ Hz, H-4'), 3.80 (1H, dd, $J = 12.0, 3.2$ Hz, H-5'a), 3.72 (1H, dd, $J = 12.0, 3.7$ Hz, H-5'b), 2.22 (2H, m, H-2'), 1.87 (3H, d, $J = 1.1$ Hz, 5- CH_3)。¹³C NMR (100 MHz, CD_3OD) δ_C : 166.4 (C-4), 152.4 (C-2), 138.2 (C-6), 111.5 (C-5), 88.8 (C-4'), 86.3 (C-1'), 72.2 (C-3'), 62.8 (C-5'), 41.2 (C-2'), 12.4 (5- CH_3)。以上波谱数据与文献^[33]报道数据基本一致,因此鉴定化合物 **8** 为 2'-脱氧胸腺嘧啶核苷。

化合物 **9** 为白色无定型粉末。经正源高分辨质谱 (HRESIMS) 测得准分子离子峰质荷比 m/z 为 127.050 1 $[M + H]^+$ (理论值 $C_5H_7N_2O_2$, 127.050 2)。¹H NMR (400 MHz, $DMSO-d_6$) δ_H : 10.92 (1H, br s, NH),

10.60 (1H, br s, NH), 7.23 (1H, s, H-6), 1.70 (3H, s, H₃-7)。¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ_c : 164.9 (C-4), 151.3 (C-2), 137.7 (C-6), 107.7 (C-5), 11.8 (C-7)。以上波谱数据与文献^[34]报道数据基本一致,因此鉴定化合物 **9** 为胸腺嘧啶。

化合物 **10** 为白色晶体。[α]_D²⁰-100 (c 0.01, MeOH)。经正源高分辨质谱 (HRESIMS) 测得准分子离子峰质荷比 m/z 为 185.092 0 [M + H]⁺ (理论值 C₈H₁₃N₂O₃, 185.092 1)。¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ_H : 4.49 (1H, m, H-8), 4.43 (1H, t, J = 3.5 Hz, H-6), 4.20 (1H, dd, J = 14.0, 7.0 Hz, H-3), 3.64 (1H, d, J = 13.0 Hz, H-9a), 3.40 (1H, d, J = 12.0 Hz, H-9b), 2.25 (1H, m, H-7a), 2.05 (1H, m, H-7b), 1.35 (3H, d, J = 7.0 Hz, H-10)。¹³C NMR (100 MHz, CD₃OD) δ_c : 172.9 (C-5), 169.2 (C-2), 69.1 (C-8), 58.9 (C-6), 55.2 (C-9), 52.1 (C-3), 38.2 (C-7), 15.7 (C-10)。以上波谱数据与文献^[35]报道数据基本一致,因此鉴定化合物 **10** 为 cyclo(L-Hyp-L-Ala)。

化合物 **11** 为白色针晶。[α]_D²⁰-30 (c 0.01, MeOH)。经正源高分辨质谱 (HRESIMS) 测得准分子离子峰质荷比 m/z 为 211.135 9 [M + Na]⁺ (理论值 C₁₀H₂₀O₃Na, 211.130 5)。¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ_H : 3.51 (1H, m, H-2), 1.96 (1H, m, H-6b), 1.94 (1H, m, H-3b), 1.85 (1H, dd, J = 12.8, 3.0 Hz, H-5b), 1.59 (1H, dd, J = 13.8, 3.0 Hz, H-3a), 1.56 (1H, d, J = 6.9 Hz, H-8), 1.41 (1H, dd, J = 12.8, 3.0 Hz, H-5a), 1.34 (1H, m, H-6a), 1.23 (3H, s, H-7), 0.92 (3H, d, J = 6.9 Hz, H-10), 0.90 (3H, d, J = 6.9 Hz, H-9)。¹³C NMR (100 MHz, CD₃OD) δ_c : 75.7 (C-2, C-4), 72.0 (C-1), 39.0 (C-8), 34.8 (C-3), 30.4 (C-5), 30.3 (C-6), 27.1 (C-7), 17.2 (C-9), 17.1 (C-10)。以上波谱数据与文献^[36]报道数据基本一致,因此鉴定化合物 **11** 为 (1*R*,2*R*,4*R*)-三羟基薄荷烷。

化合物 **12** 为白色粉末。[α]_D²⁰-120 (c 0.01, MeOH)。经正源高分辨质谱 (HRESIMS) 测得准分子离子峰质荷比 m/z 为 419.320 5 [M + Na]⁺ (理论值 C₂₈H₄₄ONa, 419.328 4)。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ_H : 5.57 (1H, dd, J = 5.5, 2.2 Hz, H-6), 5.38 (1H, m, H-7), 5.22 (1H, m, H-22), 5.18 (1H, m, H-23), 3.64 (1H, m, H-3), 1.04 (3H, d, J = 6.6 Hz, H-21), 0.95 (3H, s, H-19), 0.92 (3H, d, J = 6.8 Hz, H-28), 0.83 (3H, d, J = 6.4 Hz, H-27), 0.81 (3H, d, J = 6.4 Hz, H-26), 0.63 (3H, s, H-18)。¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ_c : 141.3 (C-8), 139.8 (C-5), 135.5 (C-23), 132.0 (C-22), 119.6 (C-6), 116.3 (C-7), 70.3 (C-3), 55.8 (C-17), 54.5 (C-14), 46.3 (C-9), 42.8 (C-13), 42.8 (C-24), 40.8 (C-4), 40.3 (C-20), 39.3 (C-12), 38.4 (C-1), 37.0 (C-10), 33.1 (C-25), 32.0 (C-2), 28.2 (C-16), 23.0 (C-15), 21.1 (C-11), 21.1 (C-21), 19.9 (C-27), 19.6 (C-26), 17.6 (C-28), 16.3 (C-19), 12.0 (C-18)。以上波谱数据与文献^[37]报道数据基本一致,因此鉴定化合物 **12** 为麦角甾醇。

2.5 化合物的体外生物活性评价 本研究采用 MTT 法和 CCK-8 法,分别评价了化合物 **1-12** 对人肝癌细胞(HepG2)、人肺癌细胞(A549)的体外细胞毒活性,以及对刀豆蛋白 A(ConA)诱导的小鼠脾脏 T 淋巴细胞增殖的免疫抑制活性(表 1)。初筛结果显示,在 10 μ g/mL 的测试浓度下,所有化合物对上述三种细胞模型的增殖抑制率均低于 50%,在该条件下未表现出显著的体外生物活性。

表 1 化合物 1-12 对 HepG2, A549, ConA 的抑制率

Table 1 Inhibition rates of compounds 1-12 against HepG2, A549, and ConA

化合物	HepG2抑制率%	A549抑制率%	ConA抑制率%
1	11.13	9.96	11.03
2	7.76	7.03	14.09
3	7.23	12.5	26.12
4	16.76	16.16	7.50
5	12.66	21.4	13.20
6	13.54	20.24	16.68
7	15.87	23.92	9.34
8	14.13	28.6	10.17
9	24.07	27.81	16.98
10	15.71	16.94	14.14
11	16.63	21.99	18.80
12	25.81	16.65	17.77

3 讨论与小结

在常规实验室条件下,红树林内生真菌中的多数生物合成基因簇(BGCs)通常处于“沉默”状态。为激活其代谢潜能,本研究采用共培养策略,对分离自大红树(*Rhizophora mangle*)的内生真菌 *Phomopsis asparagi* DHS-48 和来自红海榄(*Rhizophora stylosa*)的内生真菌 *Pestalotiopsis* sp. HHL-101 进行共培养。HPLC 图谱在保留时间 22.5–27.5 min 等区间内出现了新的色谱峰,且原有组分的响应信号强度明显增强,表明共培养提升了代谢产物的丰富度与多样性。基于此,本研究从共培养发酵产物中分离鉴定了 12 个化合物,其中 3-氯龙胆醇(**6**)和(1*R*,2*R*,4*R*)-三羟基薄荷烷(**11**)是首次从两属真菌中分离报道,表明共培养能激活沉默基因。SEM 观察到的菌丝致密缠绕及细胞膜融合现象,这种直接的物理接触是激活沉默基因簇的重要因素。Schroek 等的研究表明,真菌间的物理接触可诱导组蛋白乙酰化从而激活常规条件下不表达的基因^[42]。Chen 等证实对羟基苯乙醇(**2**)是真菌种群内的感应分子,能调控菌丝形态及生物膜形成^[43],推测化合物 **2** 在此共培养体系中充当了种间通讯的信号分子,协调两株真菌适应竞争压力。依据 Bertrand 等提出的共培养“竞争防御假说”^[44],本研究在拮抗区观察到的色素带本质上是菌株为应对种间竞争而构建的“化学防御屏障”。化合物 **2** (对羟基苯乙醇)对大肠杆菌(*Escherichia coli*)具有抑菌作用^[38],并表现出细胞分裂素样活性^[39];化合物 **5** (对羟基苯甲酸)具有抗菌、抗藻、抗诱变、降血糖、抗炎及抗氧化等多种药理潜力^[40];化合物 **10**(cyclo(L-Hyp-L-Ala))对腐皮镰刀菌(*Fusarium solani*)等植物病原真菌具有抗真菌活性^[35];化合物 **12** (麦角甾醇)作为真菌特征成分,在抗炎及抗糖尿病肾病等方面亦被报道^[41]。这些化合物在共培养体系中的富集,说明菌株通过分泌化学分子构建防御屏障以竞争有限的营养物质和生存空间。研究结果表明,共培养是挖掘红树林内生真菌化学多样性、发现新结构化合物及潜在活性分子的重要策略。

参考文献:

- [1] 徐静. 红树林微生物天然产物化学研究 [M]. 北京: 科学出版社, 2015: 1–8.
XU J. Chemistry of Natural Products from Mangrove Microorganisms[M]. Beijing: Science Press, 2015: 1–8. (查阅网上资料,未找到本条文献英文翻译,请确认)
- [2] 陈必婷, 吴炜城, 周董董, 等. 两株海南红树植物内生真菌的生物活性成分 [J]. 深圳大学学报(理工版), 2022, 39(3): 245–252.
CHEN B T, WU W C, ZHOU D D, et al. Bioactive components of endophytic fungi from two Hainan mangrove plants[J]. Journal of Shenzhen University (Science and Engineering), 2022, 39(3): 245–252.
- [3] XU J, EBADA S S, PROKSCH P. *Pestalotiopsis* a highly creative genus: chemistry and bioactivity of secondary metabolites[J]. Fungal Diversity, 2010, 44(1): 15–31.
- [4] XU J, YANG X B, LIN Q. Chemistry and biology of *Pestalotiopsis*-derived natural products[J]. Fungal Diversity, 2014, 66(1): 37–68.
- [5] XU J Z, YI M Q, DING L J, et al. A review of anti-inflammatory compounds from marine fungi, 2000–2018[J]. Marine Drugs, 2019, 17(11): 636.
- [6] LIN W H, LI G Q, XU J. Bio-active products from mangrove ecosystems[J]. Marine Drugs, 2023, 21(4): 239.
- [7] TIWARI P, BAE H. Endophytic fungi: key insights, emerging prospects, and challenges in natural product drug discovery[J]. Microorganisms, 2022, 10(2): 360.
- [8] RUTLEDGE P J, CHALLIS G L. Discovery of microbial natural products by activation of silent biosynthetic gene clusters[J]. Nature Reviews Microbiology, 2015, 13(8): 509–523.
- [9] 吕建明, 曹志秦, 黄嘉华, 等. 真菌沉默基因簇激活策略研究进展 [J]. 药学进展, 2022, 46(3): 173–183.
LYU J M, CAO Z Q, HUANG J H, et al. Research progress in strategies for activating fungal silent gene clusters[J]. Progress in Pharmaceutical Sciences, 2022, 46(3): 173–183.
- [10] HUANG S, DING W J, LI C Y, et al. Two new cyclopeptides from the co-culture broth of two marine mangrove fungi and

- their antifungal activity[J]. *Pharmacognosy Magazine*, 2014, 10(40): 410–414.
- [11] LI C Y, DING W J, SHAO C L, et al. A new diimide derivative from the co-culture broth of two mangrove fungi (strain No. E33 and K38)[J]. *Journal of Asian Natural Products Research*, 2010, 12(9): 809–813.
- [12] LI C Y, ZHANG J, SHAO C L, et al. A new xanthone derivative from the co-culture broth of two marine fungi (strain No. E33 and K38)[J]. *Chemistry of Natural Compounds*, 2011, 47(3): 382–384.
- [13] WANG J H, DING W J, LI C Y, et al. A new polysubstituted benzaldehyde from the co-culture broth of two marine fungi (strains Nos. E33 and K38)[J]. *Chemistry of Natural Compounds*, 2013, 49(5): 799–802.
- [14] EBADA S S, FISCHER T, HAMACHER A, et al. Psychrophilin E, a new cyclotriptide, from co-fermentation of two marine alga-derived fungi of the genus *Aspergillus*[J]. *Natural Product Research*, 2014, 28(11): 776–781.
- [15] ZHANG Y, JIN Y, YAN W S, et al. New pyranone derivatives and sesquiterpenoid isolated from the endophytic fungus *Xylaria* sp. Z184[J]. *Molecules*, 2024, 29(8): 1728.
- [16] XU Z Y, WU X, LI G, et al. Pestalotiopsis B, a new isocoumarin derivative from the mangrove endophytic fungus *Pestalotiopsis* sp. HHL101[J]. *Natural Product Research*, 2020, 34(7): 1002–1007.
- [17] WEI C W, SUN C X, FENG Z, et al. Four new chromones from the endophytic fungus *Phomopsis asparagi* DHS-48 isolated from the Chinese mangrove plant *Rhizophora mangle*[J]. *Marine Drugs*, 2021, 19(6): 348.
- [18] FENG T, WEI C W, DENG X L, et al. Epigenetic manipulation induced production of immunosuppressive chromones and cytochalasins from the mangrove endophytic fungus *Phomopsis asparagi* DHS-48[J]. *Marine Drugs*, 2022, 20(10): 616.
- [19] FENG Z, ZHANG X X, WU J W, et al. Immunosuppressive cytochalasins from the mangrove endophytic fungus *Phomopsis asparagi* DHS-48[J]. *Marine Drugs*, 2022, 20(8): 526.
- [20] 周董董, 冯婷, 徐静. 红树林内生真菌来源 dicerandrol A 及其对肝癌 HepG2 细胞的增殖抑制作用和机制的初步研究[J]. *中国抗生素杂志*, 2022, 47(5): 481–487.
- ZHOU D D, FENG T, XU J. Mangrove endophytic fungi-derived dicerandrol A and its inhibitory effects and preliminary mechanism on HepG2 cells[J]. *Chinese Journal of Antibiotics*, 2022, 47(5): 481–487.
- [21] ZHANG X X, LI G, DENG Q, et al. Vomifoliol isolated from mangrove plant *Ceriops tagal* inhibits the NFAT signaling pathway with CN as the target enzyme *in vitro*[J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2021, 48: 128235.
- [22] GUAN S, FANG B C, SONG B C, et al. Immunosuppressive activity of alpinetin on activation and cytokines secretion of murine T lymphocytes[J]. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, 2014, 36(4): 290–296.
- [23] COMBÈS A, NDOYE I, BANCE C, et al. Chemical communication between the endophytic fungus *Paraconiothyrium variabile* and the phytopathogen *Fusarium oxysporum*[J]. *PLoS One*, 2012, 7(10): e47313.
- [24] ADNANI N, CHEVRETTE M G, ADIBHATLA S N, et al. Coculture of marine invertebrate-associated bacteria and interdisciplinary technologies enable biosynthesis and discovery of a new antibiotic, keyicin[J]. *ACS Chemical Biology*, 2017, 12(12): 3093–3102.
- [25] DU Z Y, ALVARO J, HYDEN B, et al. Enhancing oil production and harvest by combining the marine alga *Nannochloropsis oceanica* and the oleaginous fungus *Mortierella elongata*[J]. *Biotechnology for Biofuels*, 2018, 11(1): 174.
- [26] KIM K H, LEE K H, CHOI S U, et al. Terpene and phenolic constituents of *Lactuca indica* L.[J]. *Archives of Pharmacal Research*, 2008, 31(8): 983–988.
- [27] 孙捍卫, 张凤梅, 韩磊, 等. 栀子的化学成分研究[J]. *中医药信息*, 2014, 31(2): 18–20.
- SUN H W, ZHANG F M, HAN L, et al. Study on chemical constituents of *Gardenia jasminoides*[J]. *Information on Traditional Chinese Medicine*, 2014, 31(2): 18–20. (查阅网上资料, 未找到本条文献英文翻译, 请确认)
- [28] 韦玮, 邓家刚, 郝二伟, 等. 黄红钻乙酸乙酯萃取部位化学成分分离鉴定[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2018, 24(21): 51–55.
- WEI W, DENG J G, HAO E W, et al. Chemical constituents from ethyl acetate extract of *Jasminum pentaneurum*[J]. *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae*, 2018, 24(21): 51–55.
- [29] 杨彩玲, 孟庆峰, 王梦娇, 等. 真菌 *Gliocladium roseum* CGMCC 3.3657 酚类次生代谢产物研究[J]. *遵义医学院学报*, 2018, 41(6): 674–677.
- YANG C L, MENG Q F, WANG M J, et al. Study on phenolic compounds of secondary metabolites isolated from fungus

- Gliocladium roseum* CGMCC 3.3657[J]. *Journal of Zunyi Medical University*, 2018, 41(6): 674–677.
- [30] 吴杰, 陈丹丹, 邓小林, 等. 海南红树林内生真菌 *Endomelanconopsis endophytica* 次级代谢产物及其体外生物活性 [J]. *广东海洋大学学报*, 2023, 43(4): 27–33.
- WU J, CHEN D D, DENG X L, et al. Secondary metabolites and their biological activity *in vitro* from Hainan mangrove-derived fungus *Endomelanconopsis endophytica*[J]. *Journal of Guangdong Ocean University*, 2023, 43(4): 27–33.
- [31] LI Y, LI X F, SON B W. Antibacterial and radical scavenging epoxycyclohexenones and aromatic polyols from a marine isolate of the fungus *Aspergillus*[J]. *Natural Product Sciences*, 2005, 11(3): 136–138.
- [32] 马小妮, 苗子, 程轩轩, 等. 深海细菌 *Psychrobacter submarinus* 1A01998 的次级代谢产物研究 [J]. *广东药学院学报*, 2016, 32(1): 25–28.
- MA X N, MIAO Z, CHENG X X, et al. Study on the secondary metabolites from the marine bacterium *Psychrobacter submarinus* 1A01998[J]. *Journal of Guangdong Pharmaceutical University*, 2016, 32(1): 25–28.
- [33] 蔡杨鹏, 刘璐璐, 闫玉霞, 等. 沙蜆 *Stomopholus meleagris* 核苷类成分研究 [J]. *中国海洋药物*, 2011, 30(4): 34–37.
- CAI Y P, LIU L L, YAN Y X, et al. Studies on nucleoside constituents of Jellyfish *Stomopholus meleagris*[J]. *Chinese Journal of Marine Drugs*, 2011, 30(4): 34–37.
- [34] 史大永, 韩丽君, 孙杰, 等. 刺状鱼栖苔化学成分研究 [J]. *中国中药杂志*, 2007, 32(11): 1035–1037.
- SHI D Y, HAN L J, SUN J, et al. Studies on chemical constituents of *Acantophora spicifera*[J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2007, 32(11): 1035–1037.
- [35] CHEN J H, LAN X P, LIU Y H, et al. The effects of diketopiperazines from *Callyspongia* sp. on release of cytokines and chemokines in cultured J774A. 1 macrophages[J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2012, 22(9): 3177–3180.
- [36] 姜宏梁, 杨学东, 张达, 等. 中药北刘寄奴的化学成分研究 [J]. *中国药理学杂志*, 2003, 38(2): 97–99.
- JIANG H L, YANG X D, ZHANG D, et al. Chemical constituents of *Siphonostegia chinensis*[J]. *Chinese Pharmaceutical Journal*, 2003, 38(2): 97–99.
- [37] 盛蒙珂, 赵莹菲, 田若丹, 等. 怀山药内生真菌 *Chaetomium* sp. 的次生代谢产物研究 [J]. *天然产物研究与开发*, 2024, 36(6): 982–985, 962.
- SHENG M K, ZHAO Y F, TIAN R D, et al. Secondary metabolites from the endophytic *Chaetomium* sp. of *Dioscorea opposita*[J]. *Natural Product Research and Development*, 2024, 36(6): 982–985, 962.
- [38] KHAFAFY E Z, LAMBOOY J P. Preparation of substituted phenethyl alcohols and a study of their bacteriostatic action in *Escherichia coli* B[J]. *Journal of Medicinal Chemistry*, 1966, 9(6): 936–940.
- [39] SERDYUK O P, SMOLYGINA L D, MUZAFAROV E N, et al. 4-Hydroxyphenethyl alcohol—a new cytokinin-like substance from the phototrophic purple bacterium *Rhodospirillum rubrum* 1R[J]. *FEBS Letters*, 1995, 365(1): 10–12.
- [40] MANUJA R, SACHDEVA S, JAIN A, et al. A comprehensive review on biological activities of p-hydroxy benzoic acid and its derivatives[J]. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 2013, 22(2): 109–115.
- [41] ZHABINSKII V N, DRASAR P, KHRIPACH V A. Structure and biological activity of ergostane-type steroids from fungi[J]. *Molecules*, 2022, 27(7): 2103.
- [42] SCHROECKH V, SCHERLACH K, NÜTZMANN H W, et al. Intimate bacterial-fungal interaction triggers biosynthesis of archetypal polyketides in *Aspergillus nidulans*[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2009, 106(34): 14558–14563.
- [43] CHEN H, FUJITA M, FENG Q H, et al. Tyrosol is a quorum-sensing molecule in *Candida albicans*[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2004, 101(14): 5048–5052.
- [44] BERTRAND S, BOHNI N, SCHNEE S, et al. Metabolite induction via microorganism co-culture: a potential way to enhance chemical diversity for drug discovery[J]. *Biotechnology Advances*, 2014, 32(6): 1180–1204.

作者贡献声明

徐静设计并指导了本研究, 构建了阐明框架, 并撰写了论文初稿和最终修订稿。冯婷进行了分离工作。梁振益协

助扫描电子显微镜操作。陈红军完成了大量发酵工作。岑举人进行了化合物生物学活性的评价。所有作者均参与了论文最终修订稿的审阅。所有作者均已阅读并同意发表论文的最终版本。

利益冲突声明

作者声明,其不存在已知的可能影响本论文所报告工作的竞争性经济利益或个人关系。

AI 使用声明

未使用。

伦理声明

不涉及此项。

电子补充材料

补充材料可在本文的在线版本中获取 <https://doi.org/10.65658/j.hndk.2025113001>。

数据可用性

支持论文结论所需的所有数据均已包含在稿件中。如需获取与本文相关的其他数据,可向通信作者提出申请。

致谢/Acknowledgements

本研究得到了国家自然科学基金项目(No. 82 160 675/81 973 229)、海南省重点研发计划(ZDYF2021SHFZ108)、海南大学协同创新中心基金(XTCX2022STB01)以及广东省海洋药物重点实验室开放基金(LMM2021-4)的联合资助。特此致谢。

This work was co-financed by grants from the National Natural Science Foundation of China (Nos. 82160675/81973229), the Key Research and Development Program of Hainan Province (ZDYF2021SHFZ108), the Collaborative Innovation Center Foundation of Hainan University (XTCX2022STB01), and the Open Fund of the Guangdong Key Laboratory of Marine Materia Medica (LMM2021-4). Their support is gratefully acknowledged.

作者简介

冯婷(1998—),女,四川绵阳人,在读博士生,研究方向为热带海洋红树林真菌中新颖结构化合物发现, E-mail: 18606164238@163.com

梁振益(1969—),男,海南海口人,高级工程师。主要从事分析化学、方法开发研究、食品安全检测、天然产物的提取与分离和环境监测及评价等工作, E-mail: 990357@hainanu.edu.cn

陈红军(1968—),男,陕西渭南人,副教授。主要从事研究教学法及土壤酶活性研究,天然产物开发研究。E-mail: hongjunch@hainanu.edu.cn

岑举人(1984—),男,海南海口人,副教授,硕士生导师。主要从事天然产物及其药理活性相关研究;天然产物生物合成途径研究, E-mail: 240729735@qq.com

徐静(1981—),女,山东青岛人,教授,博士生导师,研究方向为热带海洋红树林微生物药物研发。E-mail: happyjing3@163.com

(责任编辑:王玖琪)



This is an open access article under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC BY 4.0, <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

© The Author(s) 2026. Published by Journal Editorial Department of Hainan University.

冯婷等. 红树林内生真菌 *Phomopsis asparagi* DHS-48 与 *Pestalotiopsis* sp. HHL-101 共培养次级代谢产物研究

Natural Science of Hainan University (ISSN 1004-1729)

<https://hndk.hainanu.edu.cn>