

研究论文

南极阿德雷岛不同基底中真菌的分离培养及初步鉴定

靳永轩^{1,2} 丛柏林^{1,2} 王能飞^{1,2} 刘胜浩^{1,2} 沈继红^{1,2} 黄晓航^{1,2}

(¹国家海洋局第一海洋研究所,山东 青岛 266061;²国家海洋局海洋生物活性物质重点实验室,山东 青岛 266061)

摘要 为了探索南极真菌的多样性,进一步揭示其生态学角色和筛选有特定酶活性的菌株,本研究对中国第 27 次南极科学考察采集自阿德雷岛的 6 份样品进行了真菌的分离培养及其胞外酶活性测定。从 6 份样品中共分离得到 168 株真菌,其中大型海藻腐烂物样品中分离到的真菌种类和数量最多,占所分离菌株总数的 34.6%;对选取的 15 株代表菌株进行了真菌 ITS1-5.8S-ITS2 序列鉴定,结果表明它们分属于 4 个纲,8 个属,其中青霉菌 5 株,假散囊菌属、地丝菌属和枝孢属各 2 株,生赤壳属、曲霉属、出芽短梗霉属和 unclassified Onygenales 各 1 株,该结果表明南极地区具有丰富的真菌物种多样性,其优势类群青霉菌。胞外酶测定显示产淀粉酶、蛋白酶和纤维素酶产生菌分别占供试菌株的 64.6%、45.1%、14.6%,产纤维素酶的菌株可能在南极物质能量循环中扮演着重要角色。

关键词 南极 阿德雷岛 真菌多样性 酶活

doi:10.3724/SP.J.1084.2013.00071

0 引言

南极是一个偏远而寒冷的大陆,是地球上最冷最干的地区,超过 99% 的地区常年被冰雪覆盖。常年低温,经常地冰水反复冻融,极少的年降水,强风,强光直射特别是紫外辐射是南极地区典型的气候特征,所有这些共同构成了限制动植物生存的显著因素。因此,与其他地区相比,能够适应极端环境的微生物成为南极地区的主要生物类群^[1]。过去的数十年中,南极生物调查主要进行了嗜冷细菌的相关研究,也有南极藻类的相关报道,但是对于南极真菌的研究报道较少,尝试解释南极真菌在这一地区的生态学角色的就更少了^[2]。

目前,对于南极罗斯海(Ross Sea)地区早期南极探险家所建造的木屋周边环境真菌的研究较多,如 Blanchette 等人^[3]调查了导致木屋腐坏的软腐真

菌种类,Held 等人^[4]研究了环境因素对木屋周边环境真菌生长影响,也有南极干谷(Dry Valleys)地区隐匿在岩石中真菌的种类和分布情况的报道(Ruissi,2007)^[5],在南极土壤真菌多样性的研究方面,Azmi 等^[6]研究了南极 Wilkes 陆地 Windmill 群岛土壤、苔藓和地衣样品中可培养真菌多样性,Bridge 等^[7]研究了南极海岸 Mars Oasis 地区土壤真菌的群落组成,但对于南极半岛土壤真菌的研究并不多见,只有 Arenz 等人^[8]调查了南极干谷、罗斯海地区和南极半岛(Antarctic Peninsula)三个无冰区土壤中真菌的多样性,并分析了影响真菌多样性及其分布的环境因素。这些研究多集中于各自国家的南极考察站附近,对于中国南极科考站周围真菌的系统调查研究不多,只有陈皓文^[9]、曾胤新^[10]、肖松昌^[11]等人在 20 世纪 90 年代的一些报道,所以采用更为准确的分子生物学手段,研究中国南极科考站周围真菌种类及分布,对于了解南极生物多样性十分必

[收稿日期] 2012 年 9 月收到来稿,2012 年 11 月收到修改稿

[基金项目] 南北极环境综合考察与评估专项项目(CHINARE2012-01-06,CHINARE2012-02-01)资助

[作者简介] 靳永轩,男,1987 年生。硕士研究生,从事海洋微生物研究

[联系作者] 丛柏林,E-mail:biolin@fio.org.cn

要。此外,过去发现的南极真菌多数是从海洋环境,如海水和海冰中筛选出来的,在无冰区土壤微生物的调查非常少^[12],在今后的岁月中,随着夏季温度的持续上升和与之相伴的冰河期的改变会导致更多的南极土壤暴露出来,因此需要对这些地区的生命活动进行持续的数据积累和研究。

阿德雷岛位于南极半岛尖端附近的南设德兰群岛的乔治王岛,与菲尔德斯半岛沙坝连接(图1),属无冰区,中国南极长城站就在其附近^[13]。该岛为企鹅聚集地,是国际南极科学研究委员会(SCAR)确定的特别生态保护区,广泛分布着各种藻类、地衣、苔藓等植被。企鹅粪便和苔藓残骸为该地区的生态系统提供了丰富的营养物质,因此该地区土壤沉积物中微生物的数量和多样性都比其他地区丰富^[14]。本研究系统分析了南极阿德雷岛不同基底中真菌的种类、数量组成等,并对该区的真菌群落进行多样性分析,旨在揭示该区域环境中真菌群落的基本特征、分布状况及物种多样性等,以期为阐明南极真菌生态学意义和南极环境保护提供依据。

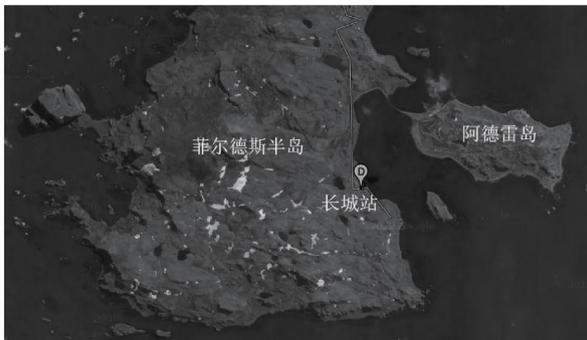


图1 阿德雷岛地理位置
Fig. 1. The location of Ardley Island

1 材料与方法

1.1 样品采集

研究样品来自中国第27次南极科学考察所取得的阿德雷岛的部分样品,6份样品采集站位如表1。土壤样品用无菌铲取0—5 cm深度的土样,装入无菌样品袋中;淡水湖沉积物用便携式沉积物-界面水采样器采取湖底表层沉积物,装入无菌样品袋中;淡水湖水样直接取淡水湖表层水,装入无菌样品瓶中。样品于4℃低温无菌保存,回实验室进行菌株的分离培养。

表1 样品采集站位及基本描述
Table 1. Sample collection stations and description

样品名	经度	纬度	采集时间	基本描述
淡水湖沉积物(FS)	58°54'W	62°11'S	2011年2月	褐色底泥
山顶棕土(PU)	58°59'W	62°11'S	2011年2月	较干燥
山脚土样(HS)	58°57'W	62°13'S	2011年2月	较湿润
雪层下 腐烂物(SS)	57°57'W	62°13'S	2011年2月	苔藓类植物 腐烂物
大型海藻 腐烂物(MS)	58°58'W	62°13'S	2011年2月	未知海藻, 深褐色
淡水湖水样(FW)	57°54'W	62°11'S	2011年2月	无微藻

1.2 培养基

(1) 土豆培养基(PDA):土豆 200 g,葡萄糖 10 g,琼脂 17 g,蒸馏水 1 000 mL,PH7.0,121℃下高压湿热灭菌 20 min,用于南极真菌的分离培养。

(2) 产酶培养基

产淀粉酶培养基:淀粉 20 g, KNO₃ 1 g, K₂HPO₄ 0.5 g, MgSO₄ · 7H₂O 0.5 g, FeSO₄ · 7H₂O 0.01 g, 纯化琼脂 17 g, 蒸馏水 1 000 mL。

产纤维素酶培养基:羧酸纤维素钠 10 g, KNO₃ 1 g, K₂HPO₄ 0.5 g, MgSO₄ · 7H₂O 0.5 g, FeSO₄ · 7H₂O 0.01 g, 纯化琼脂 17 g, 蒸馏水 1 000 mL。

产酪蛋白酶培养基:酪蛋白 4 g, KNO₃ 1 g, K₂HPO₄ 0.5 g, MgSO₄ · 7H₂O 0.5 g, FeSO₄ · 7H₂O 0.01 g, 纯化琼脂 17 g, 蒸馏水 1 000 mL。

1.3 真菌分离培养及保种

将采集的土样和腐烂物样品在8℃冰箱中自然晾干后,称取约2 g于10 mL无菌水中,振荡混匀后静置过夜;取5 mL水样加同体积无菌水后混匀静置过夜。

将预处理后的样品悬液系列稀释至10⁻¹、10⁻²,分别取100 μL涂布PDA培养基平板,于12℃培养。培养1—2周后,根据菌落形态、色素、干燥等特征,挑取形态差异较大的真菌进行划线纯化。

挑取纯化后的单菌,分别在4℃下用PDA培养基斜面 and -80℃下用20%甘油保种。

1.4 形态观察

(1) 菌落观察:用PDA固体培养基12℃培养14 d,观察菌落表面状态、颜色(正反面)、菌落直径及生长速度;

(2) 菌株显微形态观察:用插片法,先用接种环以无菌操作法从斜面菌种上挑取少量孢子,在平板培养基的一侧作来回划线接种,然后在接种线处插入无菌盖玻片,培养7 d后,将盖玻片置于载玻片上于显

显微镜下观察菌丝直径、孢子大小、分生孢子囊直径。

1.5 产胞外酶活性菌株筛选

产淀粉酶、纤维素酶和酪蛋白酶的菌株的筛选参照王南(2000)^[15]的方法进行。

1.6 南极真菌系统发育分析

真菌基因组 DNA 提取:将筛选纯化的真菌在 PDA 培养基上培养一周后,刮取约 50 mg 菌苔,于研钵中液氮研磨,参照天根生化科技(北京)有限公司的植物基因组 DNA 提取试剂盒(CB3 型离心柱)操作手册进行 DNA 提取。

真菌 ITS1-5.8SrRNA-ITS2 区段的扩增采用引物 ITS1: TCCGTAGGTGAACCTGCGG 和 ITS4: TCCTCCGCTTATTGATATGC^[16](引物由南京金斯瑞合成)。扩增反应在 Unoi I 196 孔 PCR 扩增仪(德国 BIOMETRA 公司产品)上进行。PCR 反应体系:2 × Taq PCR MasterMix (Tiangen) 25 μL,引物各 2 μL,模板 DNA 3 μL。扩增程序为 94 °C DNA 双链预变性 5 min,94 °C 变性 30 s,55 °C 退火 30 s,72 °C 延伸 40 s,共 30 个循环,最后 72 °C 延伸 10 min。取 10 μL PCR 扩增产物经 0.8% 琼脂糖凝胶电泳检测,有特异明亮条带的 PCR 产物交由上海美吉公司测序,并提交 GenBank 注册。

系统发育树构建:将所测定的真菌的 ITS rDNA 基因序列与 GenBank 数据库(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/blast.cgi>)进行 Blast 相似性比较分析,选取与实验菌株亲缘关系较近的菌株及南极常见菌株用 BioEdit 软件的多序列比对排列(Clustalw multiple alignment)进行序列比对,采用 Mega 5.1 软件的邻接法(neighbor-joining method)进行系统发育分析,构建系统发育树。

2 结果

2.1 真菌菌株的分离

从 6 份极地样品中共分离得到 168 株真菌,据菌落外部形态及孢子器、孢子梗、孢子等显微特征(图 2),结合真菌鉴定手册,初步判定其种属,根据菌落特征和孢子结构从中选取 15 株差异较为明显的代表性菌株(表 2)做进一步研究。不同基底分离得到的真菌数目和种类见表 3,其中大型海藻腐烂物(MS)中分离得到真菌种类和数目最多,可能与此处营养物质丰富有关。

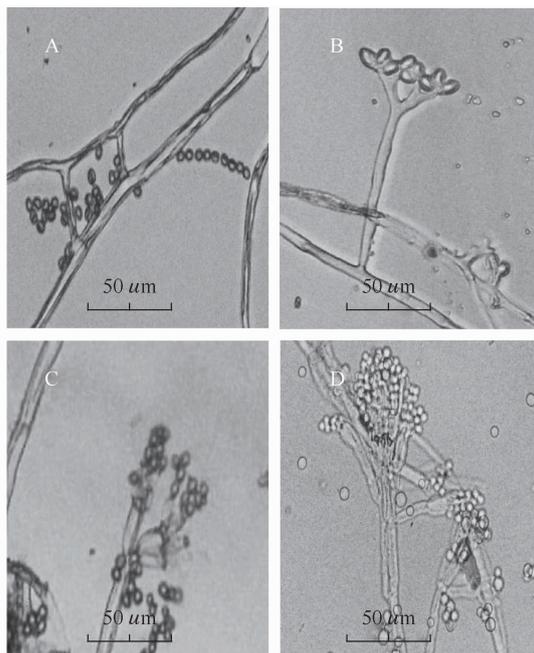


图 2 部分代表菌株显微镜检图(40 ×). A:地丝菌属;B:假散囊菌属;C:青霉菌属;D:枝孢属

Fig. 2. Representative strains microscopy figure (40 ×). A: *Geomyces*; B: *Pseudurotium*; C: *Penicillium*; D: *Cladosporium*

表 2 代表性菌株菌落及显微特征

Table 2. Colonies and microscopic characteristics of the representative strains

菌株	种属名	来源	菌落及显微特征
FS-03	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	淡水湖沉积物	正面白色反面黄色,菌丝有隔,产节孢子
PU-01	<i>Aureobasidium pullulans</i>	山顶棕土	菌落边缘菌丝黑色,辐射状,分生孢子
PU-05	<i>Penicillium</i>	山顶棕土	青霉状,菌丝有横隔,分生孢子螺旋排列
HS-07	<i>Penicillium commune</i>	山脚土样	青霉状,菌丝有横隔,分生孢子椭圆形
HS-11	<i>Pseudurotium</i>	山脚土样	正面黄白色,气生菌丝发达,子囊果杯状或盘状
SS-04	<i>Cladosporium</i>	雪层下腐烂物	菌落浅褐色,菌丝无横隔,分生孢子梗直立
SS-08	unclassified Onygenales	雪层下腐烂物	白色菌落,菌丝无横隔,子囊圆柱形,有柄
SS-10	<i>Geomyces</i>	雪层下腐烂物	正面白色,菌落直径小,菌丝无横隔
SS-13	<i>Penicillium chrysogenum</i>	雪层下腐烂物	青霉状,菌丝有横隔,分生孢子球形
MS-02	<i>Penicillium chrysogenum</i>	大型海藻腐烂物	青霉状,菌丝有横隔,分生孢子椭圆形
MS-05	<i>Bionectria ochroleuca</i>	大型海藻腐烂物	菌落白色,稀疏,基质红褐色,子囊壳散生于不发达的子座上
MS-17	<i>Pseudurotium</i>	大型海藻腐烂物	正面黄白色,菌丝无横隔
MS-19	<i>Aspergillus sydowii</i>	大型海藻腐烂物	菌落初白色,渐变为灰绿色,菌丝有隔膜,分生孢子梗不分枝,顶端膨大成球状
FW-04	<i>Penicillium polonicum</i>	淡水湖水样	正面青绿色,分生孢子散布整个平板
FW-13	<i>Geomyces</i>	淡水湖水样	正面白色,菌落直径小,孢子卵圆形

表 3 不同基底分离真菌数量和种类
Table 3. The number and species of fungi isolated from different substrates

样品名	分离真菌数(株)/ 占总数百分比	分离到真菌种类(株)
淡水湖沉积物(FS)	11/6.5%	3 个属 <i>Penicillium</i> (5)、 <i>Geomyces</i> (4)、 <i>Cladosporium</i> (2)
山顶棕土(PU)	14/8.3%	3 个属 <i>Penicillium</i> (4)、 <i>Geomyces</i> (5)、 <i>Aureobasidium</i> (5)
山脚土样(HS)	23/13.7%	5 个属 <i>Penicillium</i> (6)、 <i>Pseudeurotium</i> (5)、 <i>Geomyces</i> (7)、 <i>Cladosporium</i> (2)、 <i>Aureobasidium</i> (3)
雪层下腐烂物(SS)	35/20.8%	7 个属 <i>Pseudeurotium</i> (11)、 <i>Geomyces</i> (6)、unclassified Onygenales(4)、 <i>Bionectria</i> (3)、 <i>Penicillium</i> (9)、 <i>Cladosporium</i> (1)、 <i>Aureobasidium</i> (1)
大型海藻腐烂物(MS)	58/34.6%	8 个属 <i>Pseudeurotium</i> (9)、 <i>Geomyces</i> (7)、unclassified Onygenales(4)、 <i>Bionectria</i> (6)、 <i>Penicillium</i> (12)、 <i>Aspergillus</i> (5)、 <i>Cladosporium</i> (8)、 <i>Aureobasidium</i> (7)
淡水湖水样(FW)	27/16.1%	6 个属 <i>Pseudeurotium</i> (6)、 <i>Geomyces</i> (4)、 <i>Penicillium</i> (5)、 <i>Aspergillus</i> (3)、 <i>Cladosporium</i> (3)、 <i>Aureobasidium</i> (6)

2.2 产胞外酶活性菌株筛选

去掉了菌落形态特征一样的菌株后划线分纯得到 82 株纯培养的菌株做胞外酶活性筛选,结果表明:在纯培养的 82 株真菌中,有 53 株产生淀粉酶,37 株产生蛋白酶,有 12 株产生纤维素酶,3 株菌同时产 3 种酶。淀粉酶、蛋白酶和纤维素酶产生菌分别占供试菌株的 64.6%、45.1%、14.6%。

2.3 阿德雷岛真菌多样性

15 株代表性菌株在 PDA 平板上培养 1 周后,提取基因组进行 ITS1-5.8SrRNA-ITS2 序列扩增,获得长度约为 650 bp ITS 序列,将之提交 GenBank 注册,获得注册号分别为:JX139700、JX139701、JX139702、JX139703、JX139704、JX139705、JX139706、JX139707、JX139708、JX139709、JX139710、JX675046、JX675047、JX675048、JX675049。通过系统发育分析,将它们鉴定到属,结果显示(图 3)它们分属于 4 个纲,8 个属,分别为:锤舌菌纲(*Leotiomycetes*)中的假散囊菌属(*Pseudeurotium*)、地丝菌属(*Geomyces*)以及 unclassified Onygenales,粪壳菌纲(*Sordariomycetes*)中的生赤壳属(*Bionectria*),散囊菌纲(*Eurotiomycetes*)中的青霉属(*Penicillium*)和曲霉属(*Aspergillus*),座囊菌纲(*Dothideomycetes*)中的枝孢属(*Cladosporium*)和出芽短梗霉属(*Aureobasidium*)。15 株代表菌株中,青霉属 5 株,假散囊菌属、地丝菌属和枝孢属各 2 株,生赤壳属、曲霉属、出芽短梗霉属和 unclassified Onygenales 各 1 株,该结果表明南极地区具有丰富的真菌物种多样性。

3 讨论

南极真菌的分布与其所处的基底环境密切相

关,比如土壤、岩石、海鸟羽毛粪便堆积物、植被等基底的不同会有一些的真菌多样性差异^[17]。本研究对南极阿德雷岛 6 个不同基底采样点的真菌进行了分离培养,并根据真菌 ITS1-5.8S rRNA-ITS2 序列对代表菌株进行分子生物学分类鉴定,结果表明,六种基底中都有真菌分布,但是大型海藻腐烂物样品中分离得到的真菌种类和数量最多,占所分离菌株总数的 34.6%,可能是因为企鹅粪便和海藻残骸为该地区真菌的生长繁殖提供了丰富的营养物质^[18]。

Arenz(2011)等人^[8]采用分离培养的方法对比分析了南极干谷(Dry Valleys)、罗斯海(Ross Sea)地区和南极半岛(Antarctic Peninsula)三个南极无冰区土壤中真菌的多样性,发现南极半岛真菌种类和数量远远多于干谷和罗斯海地区,这是因为相对于干谷和罗斯海地区南极半岛土壤有机物更为丰富,且该地区广泛受到人类活动的影响。他们共鉴定出 20 多个属真菌,除生赤壳属真菌之外,基本涵盖本研究鉴定的所有种属,生赤壳属真菌作为一种内生真菌在土壤中很难分离,本研究从南极苔藓和海藻腐烂物中首次分离得到该属真菌。在对罗斯海地区早期南极探险家所建木屋及其周边环境中的真菌的研究中,Arenz(2006)^[12]采取分离培养鉴定和提取总样品基因组,采用 DGGE 的方法分析多样性两种方法同时进行,结果 DGGE 分析比分离培养多鉴定出 39.4% 的种属,而且有 4 种 ITS 相似度小于 50% 的类群;Bridge(2009)等人^[7]对取自南极 Mars Oasis 地区的土壤样品直接提取 DNA 进行 ITS1-5.8SrRNA-ITS2 扩增,鉴定出 60 多个种属的真菌,其中许多序列都是未鉴定过的或环境样,此种方法更能反映土壤真菌多样性,在较大范围真菌系统调查中值得借鉴。Baublis 等人^[19]专门研究了南极干谷

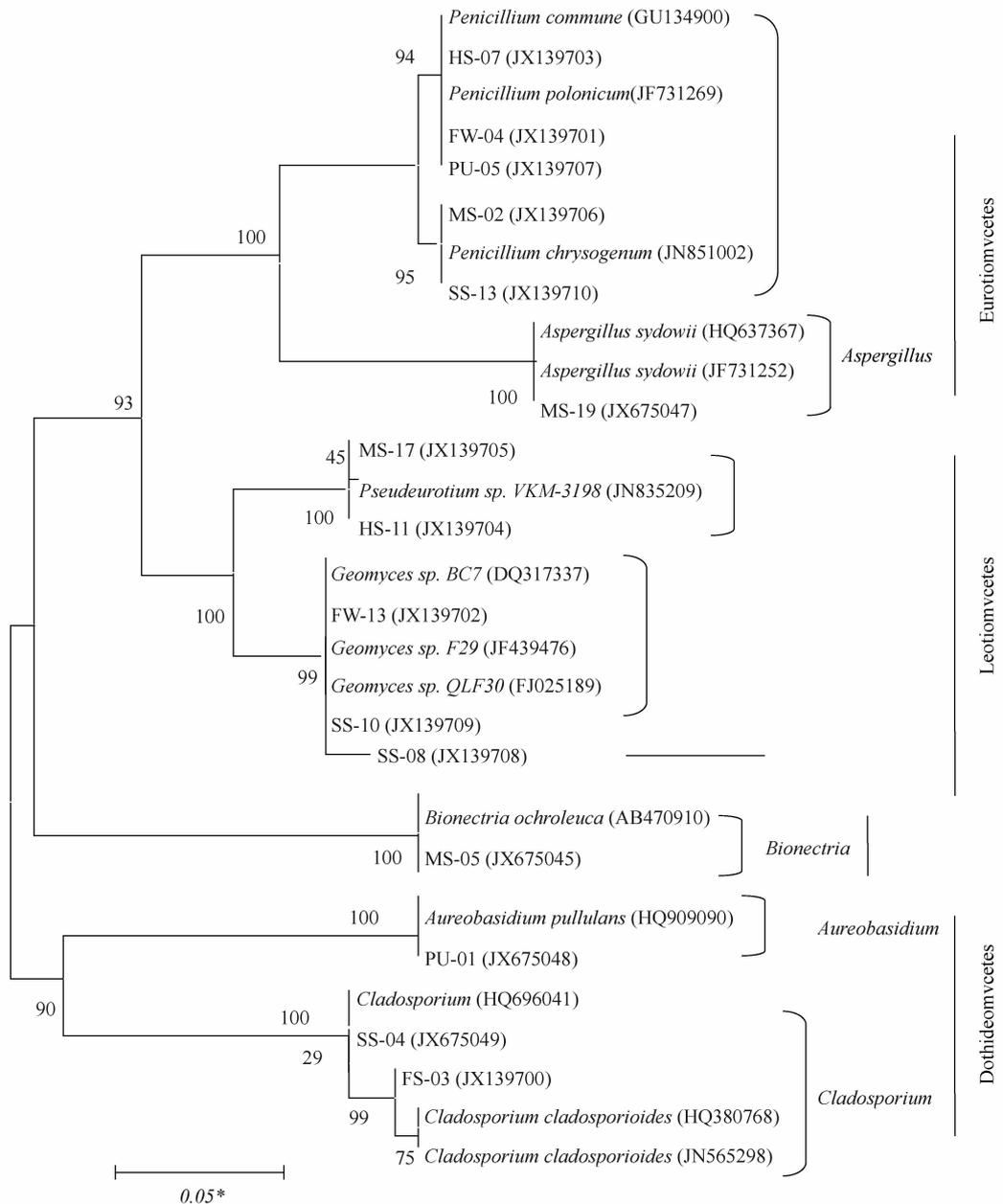


图 3 南极真菌系统进化树. 使用 NJ 法建树, 各分支上的数值为经 1 000 次 bootstrap 后的置信度值, “*”代表遗传距离, 黑体为 15 株代表菌株, 括号里面是 GenBank 登录号

Fig. 3. Phylogenetic tree of Antarctic fungi. The numbers at the nodes indicate the bootstrap values based on neighbour-joining analyses of 1 000 data sets, “*” represents the genetic distance, 15 representative strains brackets are in the blackbody, brackets are GenBank accession number

地区的真菌多样性, 分离得到了酵母和丝状真菌的不少类别, 丝状真菌中有青霉、曲霉、枝孢属和出芽短梗霉等真菌种属, 酵母菌中有隐球酵母、假丝酵母和红酵母等。之前已有学者指出隐球菌 *Cryptococcus vishniacii* 是南极干谷地区的土著种, 具有耐寒的适应特性^[20-21]。在本研究中没有鉴定到酵母菌, 可

能是因为采取的样品在转运的过程中因温度的改变或物质消耗使嗜冷真菌和部分耐冷真菌损失, 也可能是因为在培养过程中, 该类真菌因生长缓慢很难与其他真菌竞争而丧失了其多样性, 在今后的研究中会采用更加多样的方法和更有针对性的方法来筛选稀有真菌。

中国极地微生物学家对南极不同地域不同时段真菌多样性的研究也取得了一定的成果。陈皓文(2001)^[22]和吴宝铃(1998)^[23]等人系统研究了菲尔德斯半岛地区微生物主要类别,分离到的丝状真菌包括青霉菌、金孢霉、曲霉和枝孢霉等,孙华忠^[24]在乔治王岛采取的样品中分离到8个属的真菌,包括青霉、曲霉、枝孢霉、散囊菌、布鲁迪帚霉、梅林瓶霉、金孢霉和大毛霉,由于采用的是传统形态学鉴定,与本研所得到的并不完全一致,也可能是因为采样的季节特征、样品处理和培养方法不同导致真菌多样性的一定差异,但分离到的主要类群差别不大。

将上述文献所包含的南极真菌种类列于表4,可见在南极半岛上青霉、枝孢霉和地丝菌是主要类群,在诸多研究中都分离得到;在罗斯海地区和干谷地区,由于其更为恶劣的气候环境,导致真菌多样性不如南极半岛丰富,以能适应极端环境的隐球菌、*Cryptoendolithic*、*Cadophora*居多。

在南极大陆上,真菌扮演着多种生态角色,他们与地衣共生,成为南极很多地区独有的生物群落,此外植物病原菌和内生真菌也有报道^[25]。最重要的是,作为分解者南极真菌在南极生态系统碳氮循环中发挥着重要作用,如可降解纤维素或木质素的菌株^[26]。在本研究中,共筛选得到82株产低温酶的菌株,其中有12株产纤维素酶,占供试菌株的

表4 南极真菌种类及分布

Table 4. The species and distribution of Antarctic fungi

样品所在地区和来源	主要真菌种类	文献
菲尔德斯半岛土壤	青霉菌、枝孢霉、金孢霉、曲霉、散子囊菌,其中以青霉菌和枝孢霉为多	陈皓文等(1998) 曾胤新等(1999) 肖昌松等(1994) 吴宝铃(1998)
南极乔治王岛	青霉、曲霉、枝孢霉、散囊菌、布鲁迪帚霉、梅林瓶霉、金孢霉和大毛霉	孙华忠(1991)
南极半岛土壤	地丝菌、 <i>Onygenales</i> 、曲霉、假散囊菌、枝孢属、 <i>Cadophora</i> 、 <i>Thelebolaceae</i> 等	Arenz B E, et al. (2011)
罗斯海地区	<i>Chaunopycnis</i> 、地丝菌、 <i>Onygenales</i> 、隐球菌、红酵母、 <i>Cadophora</i> 、枝孢菌等	Arenz B E, et al. (2011) Arenz B E, et al. (2006) Held B W, et al. (2007) Blanchette R A, et al. (2004)
干谷地区	隐球菌、 <i>Cryptoendolithic</i> 、 <i>Thelebolaceae</i> 、 <i>Chaunopycnis</i> 、 <i>Leucosporidiella</i> 等	Arenz B E, et al. (2011) Selbmann L, et al. (2005) Ruisi S, et al. (2007) Baublis J A, et al. (1991)
Windmill群岛土壤、苔藓、地衣样品	<i>Mycelia sterilia</i> 、青霉、金孢霉、 <i>Thelebolus microsporus</i> 等	Azmi O R and Seppelt R D (1998)
Mars Oasis地区土壤	壶菌、枝孢霉、 <i>Tetracladium</i> 、 <i>Arrhenia</i> 、 <i>Omphalina</i> 等	Bridge P D and Newsham K K (2009)
阿德雷岛	假散囊菌属、地丝菌属、青霉属、枝孢属	本研究

14.6%, 这些酶的特性和降解机制需要进一步的研究。本研究为评估南极微生物资源应用潜力积累了资源。

参考文献

- Friedmann E I. Antarctic Microbiology. New York: Wiley-Liss, 1993: 634.
- Gunde-Cimerman N, Sonjak S, Zalar P, et al. Extremophilic fungi in arctic ice: a relationship between adaptation to low temperature and water activity. Physics and Chemistry of the Earth, Parts A/B/C, 2003, 28(28-32): 1273—1278.
- Blanchette R A, Held B W, Jurgens J A, et al. Wood-destroying soft rot fungi in the historic expedition huts of Antarctica. Applied and Environmental Microbiology, 2004, 70(3): 1328—1335.
- Held B W, Jurgens J A, Arenz B E, et al. Environmental factors influencing microbial growth inside the historic huts of Ross Island, Antarctica. International Biodeterioration & Biodegradation, 2005, 55(1): 45—53.
- Ruisi S, Barreca D, Selbmann L, et al. Fungi in Antarctica. Reviews in Environmental Science and Bio/Technology, 2007, 6(1-3): 127—141.
- Azmi O R, Seppelt R D. The broad-scale distribution of microfungi in the Windmill Islands region, continental Antarctica. Polar Biology, 1998, 19(2): 92—100.
- Bridge P D, Newsham K K. Soil fungal community composition at Mars Oasis, a southern maritime Antarctic site, assessed by PCR amplification and cloning. Fungal Ecology, 2009, 2(2): 66—74.
- Arenz B E, Blanchette R A. Distribution and abundance of soil fungi in Antarctica at sites on the Peninsula, Ross Sea Region and McMurdo Dry Valleys. Soil Biology and Biochemistry, 2011, 43(2): 308—315.
- 陈皓文, 袁峻嶂, 张树荣. 南极菲尔德斯半岛生物体的微生物含量分析. 南极研究, 1998, 10(4): 290—293.
- 曾胤新, 陈波. 南极低温微生物研究及其应用前景. 南极研究, 1999, 11(2): 143—152.
- 肖昌松, 刘大力, 周培瑾. 南极菲尔德斯半岛微生物总量的调查. 南极研究, 1994, 6(4): 67—72.
- Arenz B E, Held B W, Jurgens J A, et al. Fungal diversity in soils and historic wood from the Ross Sea Region of Antarctica. Soil Biology and Bio-

- chemistry, 2006, 38(10): 3057—3064.
- 13 张锐, 林念炜, 赵晶, 等. 南极阿德雷岛地表沉积物中细菌多样性及对环境的响应. 自然科学进展, 2003, 13(10): 1067—1072.
- 14 胡舜士. 南极菲尔德斯半岛南部植被类型、群落物种多样性及其保护. 植物学报, 1997, 39(10): 957—971.
- 15 王南, 沈锋, 谭琦, 等. 柱状田头菇生长发育中9种胞外酶活性的测定. 菌物系统, 2000, 19(4): 540—546.
- 16 Gardes M, Bruns T D. ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes-application to the identification of mycorrhizae and rusts. *Molecular Ecology*, 1993, 2(2): 113—118.
- 17 Pegler D N, Spooner B M, Smith R I L. Higher fungi of Antarctica, the Subantarctic zone and Falkland Islands. *Kew Bulletin*, 1980, 35(3): 499—562.
- 18 Roser D J, Seppelt R D, Ashbolt N. Microbiology of ornithogenic soils from the Windmill Islands, Budd Coast, continental Antarctica: microbial biomass distribution. *Soil Biology and Biochemistry*, 1993, 25(2): 165—175.
- 19 Baublis J A, Wharton R A Jr, Volz P A. Diversity of micro-fungi in an Antarctic dry valley. *Journal of Basic Microbiology*, 1991, 31(1): 3—12.
- 20 Baharaeen S, Vishniac H S. *Cryptococcus lupi* sp. nov., an Antarctic basidioblastomycete. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 1982, 32(2): 229—232.
- 21 Vishniac H S. *Cryptococcus socialis* sp. nov. and *Cryptococcus consortionis* sp. nov. Antarctic basidioblastomycetes. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 1985, 35(1): 119—122.
- 22 陈皓文, 袁峻峰, 曹俊杰, 等. 南极菲尔德斯半岛环境微生物含量估计. 黄渤海海洋, 2001, 19(1): 49—54.
- 23 吴宝铃, 等. 南极菲尔德斯半岛及其附近地区生态系统的研究//国家海洋局极地考察办公室. 中国南极考察科学研究成果与进展. 北京: 海洋出版社, 1998: 165—139.
- 24 孔华忠, 齐祖同. 南极乔治王岛的丝状真菌. 菌物学报, 1991, 10(1): 57—60.
- 25 Rosa L H, Almeida Vieira M de L, Santiago I F, et al. Endophytic fungi community associated with the dicotyledonous plant *Colobanthus quitensis* (Kunth) Bartl. (Caryophyllaceae) in Antarctica. *Microbiology Ecology*, 2010, 73(1): 178—189.
- 26 Garsoux G, Lamotte J, Gerday C, et al. Kinetic and structural optimization to catalysis at low temperatures in a psychrophilic cellulase from the Antarctic bacterium *Pseudoalteromonas haloplanktis*. *Biochemical Journal*, 2004, 384(2): 247—253.

ISOLATION AND PRELIMINARY IDENTIFICATION OF MICROFUNGI IN SAMPLES COLLECTED FROM ARDLEY ISLAND, ANTARCTICA

Jin Yongxuan^{1,2}, Cong Bailin^{1,2}, Wang Nengfei^{1,2}, Liu Shenghao^{1,2}, Shen Jihong^{1,2}, Huang Xiaohang^{1,2}

¹Key Laboratory of Marine Bioactive Substances, SOA, Qingdao 266061, China;

²The First Institute of Oceanography, SOA, Qingdao 266061, China)

Abstract

To explore the diversity of Antarctic fungi and their role in polar ecosystems, microfungi were isolated from six samples collected from Ardley Island during the 27th Chinese Antarctic Scientific Expedition. A total of 168 fungi were isolated from the six samples, and most of the fungi were separated from rotting macroalgae, which accounted for 34.6% of the total isolates. The Internal Transcribed Spacer (ITS) rDNA of 15 representative strains was sequenced and a phylogenetic tree was constructed using MEGA software. Results showed that these fungi belonged to four classes and eight genera. The fungi consisted of *Penicillium* (5 strains), *Pseudeurotium* (2 strains), *Geomyces* (2 strains), *Cladosporium* (2 strains), *Bionectria* (1 strain), *Aspergillus* (1 strain), *Aureobasidium* (1 strain), and unclassified Onygenales (1 strain). Analysis of extracellular enzymes indicated that 64.6%, 45.1% and 14.6% of the total strains tested could produce amylase, protease and cellulose, respectively. These enzymes secreted by fungi could play an important role in the flow of energy and the cycle of organic substances on the Antarctic continent.

Key words Antarctica, Ardley Island, fungal diversity, enzyme activity