

一株中度嗜盐细菌 whb45 的鉴定及其抗菌 与抗肿瘤活性筛选

陈雷^{1,2,3} 王光玉² 卜同^{1,3} 张允斌² 刘明¹ 张军⁴ 林秀坤^{1*}

(1. 中国科学院海洋研究所实验海洋生物学重点实验室 山东 青岛 266071)

(2. 哈尔滨工业大学(威海)海洋学院 山东 威海 264209)

(3. 中国科学院研究生院 北京 100039)

(4. 山东省医药工业设计院 山东 济南 250013)

摘要: 从盐场中分离鉴定中度嗜盐细菌并对其潜在的抗菌和抗肿瘤活性进行评价。从山东威海的鹿道口盐场分离嗜盐细菌, 对菌株 whb45 进行形态学和生理生化特性研究, 测定其 16S rRNA 序列并通过同源性比对进行系统发育分析, 采用抗菌和细胞毒模型进行活性筛选。试验结果表明, 菌株 whb45 为中度嗜盐细菌, whb45 与 *Halobacillus trueperi* 在形态和生理生化特征方面最接近, 16S rRNA 序列相似性为 99%。whb45 的粗提物对多种细菌、真菌和肿瘤细胞的生长都具有较强的抑制作用, 可以作为发现生物活性物质的潜在的新来源。

关键词: 中度嗜盐细菌, 鉴定, 喜盐芽孢杆菌属, 抗菌活性, 抗肿瘤活性

Identification of a Moderately Halophilic Bacterium whb45 and Screening of Its Antimicrobial and Antitumor Activity

CHEN Lei^{1,2,3} WANG Guang-Yu² BU Tong^{1,3} ZHANG Yun-Bin² LIU Ming¹
ZHANG Jun⁴ LIN Xiu-Kun^{1*}

(1. Key Laboratory of Experimental Marine Biology, Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao, Shandong 266071, China)

(2. College of Marine Science, Harbin Institute of Technology at Weihai, Weihai, Shandong 264209, China)

(3. Graduate School, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China)

(4. Shandong Province Design Institute of Pharmaceutical Industry, Jinan, Shandong 250013, China)

Abstract: The aim of this study was to isolate and identify moderately halophilic bacteria from solar saltern and to investigate their potential antimicrobial and antitumor activities. Halophilic bacteria were isolated from Ludaokou Solar Saltern in Weihai of Shandong Province. The identification of the strain whb45 was determined by their morphological characteristics, physiological and biochemical tests and phylogenetic analysis based on 16S rRNA sequence comparison. The antimicrobial activity and cytotoxic activity were screened. Our results showed that the strain whb45 was belonged to moderately halophilic bacterium. Phylogenetic analysis showed the strain whb45 had a 99% homology with *Halobacillus trueperi*. The crude ex-

tract from whb45 showed stronger antimicrobial activities which could inhibit the growth of several bacteria and fungi. MTT analysis revealed that the strain possessed potent anticancer activity with the stronger inhibitory effect on several human cancer cells. Our results suggested that the moderately halophilic bacterium whb45 may be developed as a potential new source for the discovery of novel bioactive substances.

Keywords: Moderately halophilic bacteria, Identification, *Halobacillus*, Antimicrobial activity, Antitumor activity

嗜盐芽孢杆菌属(*Halobacillus*)是一类产芽孢、革兰氏阳性(G^+)、中度嗜盐细菌,是在 1996 年由 Spring 等人定义的属,同时他还发现了 *Halobacillus litoralis* 和 *Halobacillus trueperi* 两个新种,之后又陆续有 *Halobacillus dabanensis* 和 *Halobacillus yeomjeoni* 等 *Halobacillus* 属的 11 个新种被发现^[1-3]。嗜盐细菌具有独特的代谢和生理特征,因此具有能够产生特殊代谢产物的潜力。中度嗜盐菌具有较广泛的盐度适应能力,有着更加吸引人的工业化应用前景,现在已经从 *Halobacillus* 属的细菌中分离得到了许多有用的物质,如各种嗜盐酶、胡萝卜素、相容性溶质(Compatible solute)等^[4-9],但是将这个属的细菌用于药物筛选的研究还很少。本研究主要是对从海边盐场中分离纯化到的 *Halobacillus* 属的菌株 whb45 进行分类鉴定,研究其代谢产物,利用抗微生物和抗肿瘤模型进行活性筛选,作为新的生物活性物质的来源。

1 材料和方法

1.1 菌株的分离纯化和形态观察

样品取自山东省威海市鹿道口盐场晒盐池的底泥和海水。嗜盐细菌的分离和纯化使用 Gibbons 改良培养基^[10],用从盐场带回的海盐调节培养基的终盐度为 10%、15%、20% (W/V), 28°C 恒温培养 2-3 d。观察菌落特征,纯化的菌株 whb45 经革兰氏染色后观察染色结果,用透射电子显微镜观察菌体形态和大小,菌株于 4°C 冰箱或 -70°C 的 30% 甘油中保存。

1.2 菌株的生理特征测定

用液体培养的方法,测定嗜盐细菌 whb45 在不同盐度、pH 和温度条件下生长后的菌悬液浊度,用来表示细菌的生长状况。盐度试验梯度为 0、3.0%、5.0%、7.5%、10.0%、15.0%、20.0% 和 25.0% (W/V), pH 试验梯度为 5、6、7、8、9、10 和 11, 温度梯度为 4°C、10°C、22°C、28°C、34°C、40°C、50°C、60°C。

1.3 菌株的生化鉴定

依据《常见细菌系统鉴定手册》^[11]和《伯杰氏细菌鉴定手册(第 9 版)》^[12]进行常规生化鉴定。

1.4 菌株的 16S rRNA 的序列测定及系统发育分析

采收处于静止期的菌体细胞,于 10000 r/min 离心 20 min。使用细菌基因组提取试剂盒(Axyprep Bacterial Genomic DNA Miniprep Kit, Axygen, 美国)提取基因组 DNA。应用通用引物 16F27 (5'-AGAG TTTGATCCTGGCTCAG-3')和 16R1492 (5'-GGTTA CCTTGTTACGACTT-3') (根据 *E. coli* 16S rRNA 进行的编号)进行 PCR 反应扩增 16S rRNA 基因。PCR 扩增产物使用凝胶回收试剂盒(TaKaRa, Agarose Gel DNA Purification Kit Ver 2.0)进行回收。回收片段用 30 μ L 无菌双蒸水重悬后与 pMD 18-T 载体(TaKaRa)进行连接,然后转入经 $CaCl_2$ 处理的 *E. coli* DH5 α 感受态细胞中,使用选择性平板进行阳性克隆的筛选。提取阳性克隆菌落的质粒 DNA 后送测序,测序由上海生工完成。

测序后的 16S rRNA 序列与 GenBank 数据库进行 BLAST 比对。选取同源性比较高(> 97%)的 16S rRNA 序列作为参比对象,构建系统进化树。使用 Clustal X1.83 软件进行多序列比对,然后采用邻位相接法(Neighbour-joining)利用 MEGA4.0 绘制系统进化树。菌株 whb45 的 16S rRNA 序列已提交到 NCBI 的 GenBank 数据库,序列号为 FJ444991。

1.5 细菌发酵产物粗提物的制备

从嗜盐细菌 whb45 斜面上取一环接种到 20 mL Gibbons 改良培养基(盐度 7.5%)中, 28°C 摇床(180 r/min)培养 12 h,然后将 20 mL 种子液接种到 180 mL 相同的培养基中, 28°C 摇床培养 3 d; 发酵液经 10000 r/min 离心 20 min, 发酵液上清用乙酸乙酯提取 3 次,收集乙酸乙酯相,旋转蒸发仪 45°C 减压蒸干。用 1%二甲亚砜(Dimethyl sulfoxide, DMSO)溶解粗提物, 4°C 保存,用于抗菌和细胞毒活性检测。未接种的培养基用相同的方法提取和配制溶液,

作为抗菌和抗肿瘤试验的阴性对照。

1.6 抗菌活性的测定

抗菌活性的测定采用纸片法^[13], 通过观察嗜盐细菌 whb45 对指示细菌和指示真菌生长的抑制来筛选抗菌活性。指示菌包括 3 株细菌(大肠杆菌 *Escherichia coli*、荧光假单胞菌 *Pseudomonas fluorescens* 和枯草芽孢杆菌 *Bacillus subtilis*)和 9 株真菌(白假丝酵母 *Candida albicans*、青霉 *Penicillium ochrochloron*、绿色木霉 *Trichoderma viride*、黑曲霉 *Aspergillus niger*、黄曲霉 *Aspergillus flavus*、棉花黄萎病菌 *Verticillium dahliae*、黄瓜枯萎镰刀病菌 *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*、苹果炭疽病菌 *Colletotrichum gloeosporioides* 和番茄早疫病病菌 *Alternaria solani*)。指示细菌和指示真菌分别用牛肉膏-蛋白胨培养基和查氏(Czapek)培养基进行培养。用氨苄西林(50 μg)、链霉素(50 μg)和两性霉素 B (20 μg)作为抗菌试验的阳性对照。通过测定在纸片周围产生的抑菌圈大小来决定其抗菌活性, 试验重复 3 次, 数据表示为 $\bar{x} \pm s$ 。

1.7 抗肿瘤活性的测定

采用 MTT[四氮唑盐, 3-(4,5-di-methylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide]法检测嗜盐细菌 whb45 粗提物对各种细胞增殖的抑制作用, 这些细胞包括人肝癌细胞株 Bel 7402、人结肠癌细胞株 RKO、人宫颈癌上皮细胞 HeLa、人脑胶质瘤细胞 TJ905、人脐静脉内皮细胞 HUVEC 和小鼠胚胎成纤维细胞 NIH3T3。在 96 孔细胞板中培养测试用的细胞, 每孔 180 μL , 细胞接种 24 h 后加入 20 μL 不同浓度的嗜盐细菌 whb45 的粗提液, 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 5-氟尿嘧啶作为阳性对照, 每个浓度设有 3 个复孔, 继续培养 48 h。然后每孔加入 20 μL MTT, 37 $^{\circ}\text{C}$ 作用 4 h 后, 再加入 150 μL DMSO, 室温下振荡 10 min, 用酶标仪在 490 nm 波长下测定吸光度 OD 值。根据 OD 值计算抑制率, 再根据粗提物各浓度的抑制率, 计算半数抑制浓度 IC_{50} , 试验重复 3 次, 数据表示为 $\bar{x} \pm s$ 。

2 结果与分析

2.1 菌株 whb45 的形态特征

从盐场晒盐池的底泥和海水样品中共分离纯化出 45 株嗜盐细菌。经初步的抗菌和抗肿瘤活性筛选,

选取活性均较强的菌株 whb45 作为研究对象。嗜盐细菌 whb45 的菌落较大, 黄色, 圆形, 边缘整齐, 表面凸起, 不透明, 湿润, 有光泽。在光学显微镜下, 菌体的革兰氏染色为 G^+ , 菌体可以产芽孢, 可以运动。在电子显微镜下菌体呈长杆状, 菌体大小为 $(0.4-0.5) \mu\text{m} \times (1.4-1.6) \mu\text{m}$, 单个或者成对排列(图 1)。

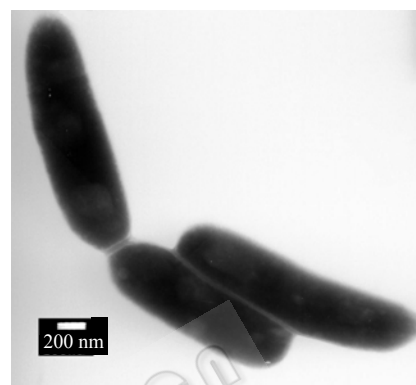


图 1 嗜盐细菌 whb45 的透射电镜照片($\times 20\text{K}$)

Fig. 1 Transmission electron micrograph of halophilic bacterial strain whb45 ($\times 20\text{K}$)

2.2 菌株 whb45 的生理特征

盐度试验结果(图 2)表明, 菌株 whb45 在 0–25% 之间均可以生长, 生长最适盐度范围为 5%–10%, 最适盐度为 7.5%, 在低盐($< 3\%$)或高盐($> 20\%$)的条件下生长相对比较缓慢, 菌的生长量仅能达到最适生长时的 50%以下, 因此 whb45 属于中度嗜盐菌。whb45 生长的温度范围为 4 $^{\circ}\text{C}$ –40 $^{\circ}\text{C}$, 最适生长温度为 34 $^{\circ}\text{C}$ 。在 pH 6–10 均能生长, 最适生长 pH 7–9。

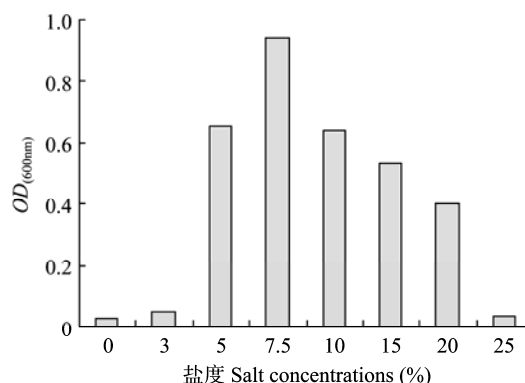


图 2 盐度对嗜盐细菌 whb45 生长的影响

Fig. 2 Growth of halophilic bacterial strain whb45 under different salt concentrations

2.3 菌株 whb45 的生化鉴定结果

菌株 whb45 的生化试验结果见表 1。

表 1 嗜盐细菌 whb45 的生化试验结果
Table 1 Biochemical tests of halophilic bacterial strain whb45

鉴定特征	Characteristics	whb45
硝酸盐还原	Nitrate reduction	-
H ₂ S生成	H ₂ S production	+
酶活性	Enzyme activities :	
接触酶	Catalase	+
氧化酶	Oxidase	+
苯丙氨酸脱氨酶	Phenylalanine deaminase	+
脲酶	Urease	-
水解	Hydrolysis of :	
淀粉	Starch	-
酪蛋白	Casein	-
Tween 80		-
明胶	Gelatin	+
酪氨酸	Tyrosine	-
产酸	Acid production from :	
D-葡萄糖	D-Glucose	+
蔗糖	Sucrose	+
D-果糖	D-Fructose	+
D-半乳糖	D-Galactose	+
麦芽糖	Maltose	+
D-木糖	D-Xylose	-
D-甘露醇	D-Mannitol	-

2.4 嗜盐细菌 whb45 的系统发育分析

16S rRNA 序列分析显示(图 3), whb45 被聚类在 *Halobacillus* 这个组内。从系统进化树中可以看到 whb45 与 *Halobacillus trueperi* DSM10404^T (AJ310149)被分在一个分支中, 它们的 16S rRNA 序列相似性达到 99%, 因此判断 whb45 与 *Halobacillus trueperi* 最接近。

2.5 抗菌活性筛选结果

抗菌试验结果表明嗜盐细菌 whb45 的粗提物对枯草芽孢杆菌和多种真菌都具有很强的抑制作用(表 2)。whb45 对革兰氏阳性的枯草芽孢杆菌的抑制能力很强, 抑菌圈的直径为 17.33 mm。whb45 对革兰氏阴性的假单胞菌有一定的抑制作用, 但是对革兰氏阴性的大肠杆菌却没有抑制。对各种指示真菌的抑制能力大小分别为: 黄曲霉 > 黑曲霉 > 青霉 > 棉花黄萎病菌 > 黄瓜枯萎镰刀病菌 > 番茄早疫病菌, 其中 whb45 抑制黄曲霉的能力最强,

抑菌圈的直径为 17.49 mm, 对其余 5 株真菌的抑制能力也较强, 抑菌圈的直径多在 12 mm 以上。

2.6 抗肿瘤活性筛选结果

用 MTT 法检测嗜盐细菌 whb45 粗提物的细胞毒活性结果表明(表 3), 其粗提物对多种人或小鼠的肿瘤细胞和正常细胞的增殖具有选择性抑制作用, 其中对 3 种人肿瘤细胞(肝癌细胞 Bel 7402、结肠癌细胞 RKO 和宫颈癌上皮细胞 HeLa)的生长具有明显的抑制作用, 其 IC₅₀ 均小于 100 μg/mL; 对人脑胶质瘤细胞 TJ905、人脐静脉内皮细胞 HUVEC 和小鼠胚胎成纤维细胞 NIH3T3 的增殖也分别有一定的抑制作用。而阴性对照对各种细胞均未显示出细胞毒作用。

表 2 嗜盐细菌 whb45 的抗菌活性筛选结果
Table 2 Antimicrobial activity of crude extract from halophilic bacterial strain whb45

指示菌	抑菌圈 (mm)
Indicator strains	Inhibition zone
<i>Escherichia coli</i>	-
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	11.42 ± 0.47
<i>Bacillus subtilis</i>	17.33 ± 0.23
<i>Candida albicans</i>	-
<i>Penicillium ochrochloron</i>	13.68 ± 0.44
<i>Trichoderma viride</i>	-
<i>Aspergillus niger</i>	14.97 ± 0.56
<i>Aspergillus flavus</i>	17.49 ± 0.78
<i>Verticillium dahliae</i>	12.60 ± 0.38
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cucumerinum</i>	12.21 ± 0.45
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	-
<i>Alternaria solani</i>	11.97 ± 0.67

注: 纸片直径为 6 mm; - : 没有抑制。

Notes: The diameter of paper is 6 mm. - : No inhibition.

表 3 MTT 检测的嗜盐细菌 whb45 粗提物的细胞毒活性筛选结果

Table 3 Cytotoxic activity of crude extract from halophilic bacterial strain whb45 by MTT assay

细胞株	IC ₅₀
Cell lines	(μg/mL)
Bel 7402	15.66 ± 0.23
RKO	78.23 ± 0.53
HeLa	54.26 ± 0.48
TJ905	178.88 ± 0.56
HUVEC	229.22 ± 0.47
NIH3T3	355.22 ± 0.82

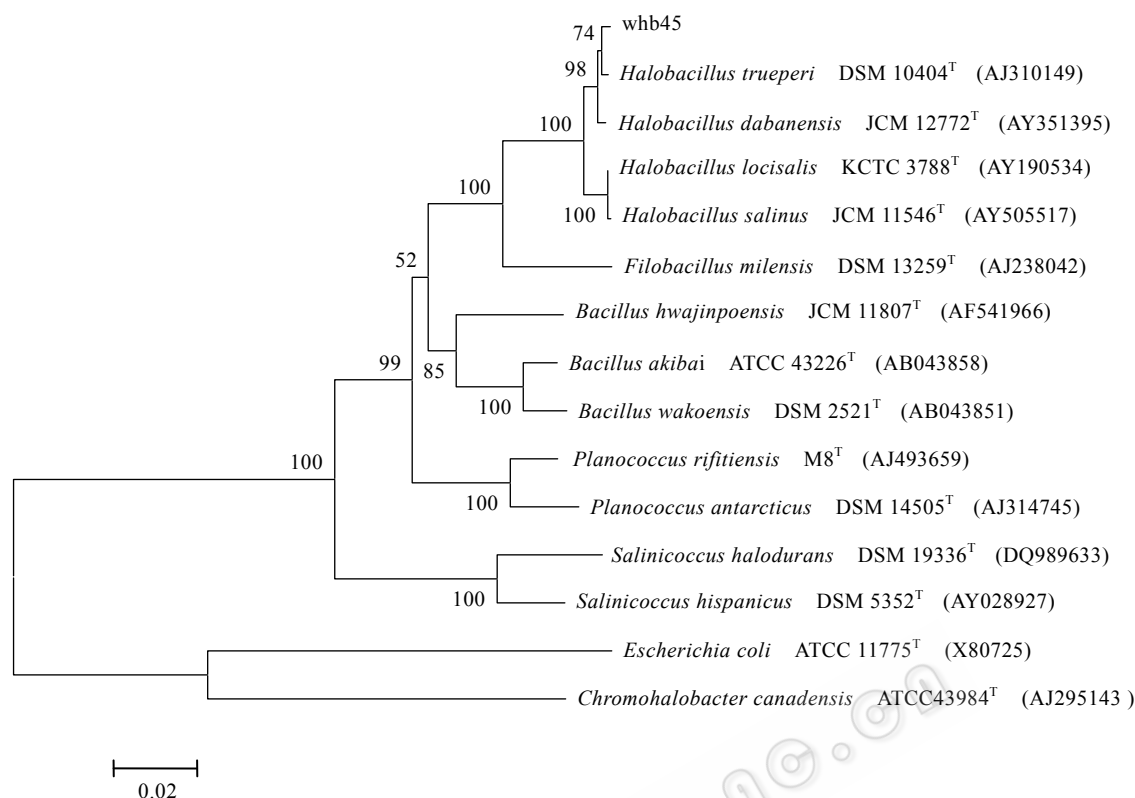


图3 嗜盐细菌 whb45 及其相关属种的 16S rRNA 序列构建的系统发育树
Fig. 3 Phylogenetic tree derived from an analysis of the 16S rRNA sequences of bacterial strain whb45 and their relative species

3 讨论

嗜盐菌的特点是生长在高盐环境中, 生长过程对盐度有需求。根据它们对盐度需求的不同, 嗜盐菌可以分为 3 类^[14]。轻度嗜盐菌可以在 1%–3% (0.2–0.5 mol/L) 的盐度下快速生长; 中度嗜盐菌最适生长盐度为 3%–15% (0.5–2.5 mol/L); 极端嗜盐菌, 一般属于古菌域, 可以在 15%–30% (2.5–5 mol/L) 盐度下快速生长。嗜盐细菌 whb45 在 0–25% 之间均可以生长, 生长最适盐度范围为 5%–10%, 因此属于中度嗜盐菌。

嗜盐细菌 whb45 经 16S rRNA 序列同源性比较可将其划分到 *Halobacillus* 属。在 NCBI 的 GenBank 数据库中进行 BLAST 比对, whb45 的 16S rRNA 序列与 *Halobacillus trueperi* DSM 10404^T 最接近^[1]。whb45 的菌体和菌落形态与这个标准菌株相同, 两者的大部分生理生化特征也相同; 只是在生长的最低温度、盐度范围、蔗糖和葡萄糖产酸、Tween 80

水解等方面存在一些细微的差别。这说明来自于不同生境的微生物为了适应其生存环境在一些基本的生理过程中已经进化出了某些适宜于环境的生理变化^[15]。这些变化可通过 16S–23S rRNA 区间序列分析、GC 含量、DNA 分子杂交等方法加以进一步的分析和鉴定^[16–17]。

嗜盐微生物可以作为生物活性物质的新来源^[18–19], 已经从一些轻度和极端嗜盐微生物中发现一些具有抗菌或抗肿瘤活性的物质, 如嗜盐菌素就是从一些极端嗜盐古菌中发现的一种蛋白类抗生素^[20]。然而, 中度嗜盐菌用于活性物质筛选的研究报道还很少, 如从海洋沉积物中分离到的 *Halobacillus litoralis* YS3106 中分离到几种具有抗真菌作用的环肽^[21]; Sadfi-Zouaoui 等从不同地区的高盐土壤中分离到的 *Bacillus cereus*、*B. lentimorbus* 和 *B. licheniformis* 具有能够在体内和体外抑制植物病原真菌 *Botrytis cinerea* 和 *Fusarium roseum* var. *sambucinum* 的能力^[22]; Imamura 等从 G⁻ 的嗜盐菌新

种 *Pelagibacter variabilis* 发酵液中分离到一组吩嗪类化合物 Pelagiomcins A-C 具有明显的细胞毒性^[23]。

本研究以从盐场分离得到的中度嗜盐细菌 whb45 为研究对象, 研究了其对多种指示菌的抗性以及对多种肿瘤细胞的抑制作用, 将嗜盐细菌应用于药用活性物质的筛选。研究表明, whb45 具有较广且很强的抗菌和抗肿瘤活性, 可作为发现新颖生物活性物质的潜在资源。以后还需要进一步研究嗜盐细菌中这些具有生物活性物质的化学成分结构和作用机理, 为其应用做好基础性的工作。

参 考 文 献

- [1] Spring S, Ludwig W, Marquez MC, *et al.* *Halobacillus* gen. nov., with descriptions of *Halobacillus litoralis* sp. nov. and *Halobacillus trueperi* sp. nov., and transfer of *Sporosarcina halophila* to *Halobacillus halophilus* comb. nov.. *Int J Syst Evol Microbiol*, 1996, **46**(2): 492–496.
- [2] Liu W, Zeng J, Wang L, *et al.* *Halobacillus dabanensis* sp. nov. and *Halobacillus aidingensis* sp. nov., isolated from salt lakes in Xinjiang, China. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2005, **55**(5): 1991–1996.
- [3] Yoon J, Kang S, Lee C, *et al.* *Halobacillus yeomjeoni* sp. nov., isolated from a marine solar saltern in Korea. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2005, **55**(6): 2413–2417.
- [4] Lu W, Zhang B, Zhao B, *et al.* Cloning and characterization of the genes encoding a glycine betaine ABC-type transporter in *Halobacillus trueperi* DSM10404^T. *Curr Microbiol*, 2007, **54**(2): 124–130.
- [5] Karbalaie-Heidari HR, Amoozgar MA, Hajighasemi M, *et al.* Production, optimization and purification of a novel extracellular protease from the moderately halophilic bacterium *Halobacillus karajensis*. *J Ind Microbiol Biotechnol*, 2009, **36**(1): 21–27.
- [6] Köcher S, Breitenbach J, Müller V, *et al.* Structure, function and biosynthesis of carotenoids in the moderately halophilic bacterium *Halobacillus halophilus*. *Arch Microbiol*, 2009, **191**(2): 95–104.
- [7] Namwong S, Hiraga K, Takada K, *et al.* A halophilic serine proteinase from *Halobacillus* sp. SR5-3 isolated from fish sauce: purification and characterization. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2006, **70**(6): 1395–1401.
- [8] Saum SH, Sydow JF, Palm P, *et al.* Biochemical and molecular characterization of the biosynthesis of glutamine and glutamate, two major compatible solutes in the moderately halophilic bacterium *Halobacillus halophilus*? *J Bacteriol*, 2006, **188**(19): 6808–6815.
- [9] 赵轶男, 张苓花, 永田进一, 等. 一株渗透压补偿溶质 Ectoine 生成菌的分离及其分子生物学鉴定. *食品科技*, 2006(8): 24–27.
- [10] Del Moral A, Prado B, Quesada E, *et al.* Numerical taxonomy of moderately halophilic gram-negative rods from an inland saltern. *Microbiology*, 1988, **134**(3): 733–741.
- [11] 东秀珠, 蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册. 北京: 科学出版社, 2001: 242–244, 259–266.
- [12] Holt JG, Krieg NR, Sneath PHA, *et al.* *Bergey's manual of determinative bacteriology*. 9th ed.. Baltimore: Williams & Wilkins, 1994: 175–187.
- [13] Al-Fatimi M, Wurster M, Schröder G, *et al.* Antioxidant, antimicrobial and cytotoxic activities of selected medicinal plants from Yemen. *J Ethnopharmacol*, 2007, **111**(3): 657–666.
- [14] Olliver B, Caumette P, Garcia JL, *et al.* Anaerobic bacteria from hypersaline environments. *Microbiol Mol Biol Rev*, 1994, **58**(1): 27–38.
- [15] 冯玮, 向文良, 郭建华, 等. 四川大公古盐井中可培养中度嗜盐菌的初步分析. *微生物学通报*, 2008, **35**(11): 1691–1697.
- [16] Ripka K, Denner E, Michaelsen A, *et al.* Molecular characterisation of *Halobacillus* strains isolated from different medieval wall paintings and building materials in Austria. *Int Biodeterior Biodegrad*, 2006, **58**(3/4): 124–132.
- [17] Kuisienė N, Raugalas J, Čitavičius D. Comparative sequence analysis of 16S-23S rRNA internal transcribed spacers of the genus *Geobacillus*. *Biologija*, 2008, **54**(1): 1–6.
- [18] Caton TM, Witte LR, Ngyuen HD, *et al.* Halotolerant aerobic heterotrophic bacteria from the Great Salt Plains of Oklahoma. *Microb Ecol*, 2004, **48**(4): 449–462.
- [19] Ventosa A, Nieto JJ, Oren A. Biology of moderately halophilic aerobic bacteria. *Microbiol Mol Biol Rev*, 1998, **62**(2): 504–544.
- [20] O'Connor EM, Shand RF. Halocins and sulfobacins: The emerging story of archaeal protein and peptide antibiotics. *J Ind Microbiol Biotechnol*, 2002, **28**(1): 23–31.
- [21] Yang L, Tan R, Wang Q, *et al.* Antifungal cyclopeptides from *Halobacillus litoralis* YS3106 of marine origin. *Tetrahedron Lett*, 2002, **43**(37): 6545–6548.
- [22] Sadfi-Zouaoui N, Essghaier B, Hajlaoui MR, *et al.* Ability of moderately halophilic bacteria to control grey mould disease on tomato fruits. *J Phytopathol*, 2008, **156**(1): 42–52.
- [23] Imamura N, Nishijima M, Takadera T. New anticancer antibiotics pelagiomcins, produced by a new marine bacterium *Pelagibacter variabilis*. *J Antibiot*, 1997, **50**(1): 8–12.