

拮抗辣椒疫病菌的红树内生细菌筛选 及 RS261 菌株鉴定

欧雄常¹ 柳 凤¹ 詹儒林² 胡汉桥¹ 何 红^{1*} 李信申¹ 张小媛¹ 赵艳龙²

(1. 广东海洋大学农学院 广东 湛江 524088)

(2. 中国热带农业科学院亚热带作物研究所 广东 湛江 524091)

摘要: 红树内生细菌分离及拮抗辣椒疫霉(*Phytophthora capsici*)筛选结果表明: 各红树体内均有大量的内生细菌, 不同红树种类及部位内生细菌的数量均不同, 被测定的红树内生细菌中约有 27.97% 的可培养菌株对辣椒疫霉具有拮抗作用; 其中 18 株拮抗作用较强的细菌在辣椒果上对辣椒疫病菌均有一定的抑制效果, 以来自红海榄叶片内的 RS261 菌株效果最好; 经形态、生理生化特征和分子生物学等测定分析, 将 RS261 菌株初步鉴定为解淀粉芽孢杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens*)。

关键词: 红树, RS261 菌株, 辣椒疫病菌, 拮抗作用

Screen of Mangrove Endophytic Bacteria Antagonists Against *Phytophthora capsici* and Identification of Strain RS261

OU Xiong-Chang¹ LIU Feng¹ ZHAN Ru-Lin² HU Han-Qiao¹ HE Hong^{1*}
LI Xin-Shen¹ ZHANG Xiao-Yuan¹ ZHAO Yan-Long²

(1. College of Agriculture, Guangdong Ocean University, Zhanjiang, Guangdong 524088, China)

(2. South Asia Tropical Crop Research Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Zhanjiang, Guangdong 524091, China)

Abstract: The isolation of the endophytic bacteria from mangroves and screen of the antagonistic bacteria against the *Phytophthora capsici* were studied in this paper. The results showed that there were a large number of the endophytic bacteria in the tissues of mangroves. Of the endophytic bacteria, about 27.97% strains expressed the inhibitive activities to *P. capsici*. Using the eighteen antagonistic bacteria to control pepper fruit *Phytophthora* blight showed that all the tested strains had some control efficacy to the disease. In them, strain RS261 isolated from the leaf of *Rhizophora stylosa* was found to have the best control efficacy. Based on the morphological, physiological and biochemical characteristics and on 16SrDNA sequences analysis, strain RS261 was identified as *Bacillus amyloliquefaciens*.

Keywords: Mangrove, strain RS261, *Phytophthora capsici*, Antimicrobial activities

辣椒疫病是辣椒生产中一种毁灭性的土传病害。生产实践中化学防治仍是目前控制辣椒疫病的首选措施,但综合评价其对食品和环境的污染、对人类健康潜在的危害、对非靶标生物的影响以及导致病原菌抗药性等,化学防治现已受到越来越多的质疑。因此,生物防治尤其是拮抗微生物的利用,受到普遍关注和重视,国内外学者已从土壤、植物体内等分离筛选到大量对辣椒疫霉病具有控制作用的拮抗微生物^[1-4]。海洋微生物由于其生长环境特殊,从中有可能分离筛选到一些特殊的对植物病害具有良好生防作用的微生物及其活性物质,并已有相关报道^[5-7]。红树林是一种生长在热带与亚热带海岸潮间带、具有海陆两大生态系统特性、可海陆两栖的特殊植物群落,它们不仅在海岸防护、净化沿海环境、维护沿海湿地生物多样性等方面具有重大作用,同时还具有抗菌、抗病毒、抗肿瘤、鱼毒、降血压、昆虫拒食等功效^[8]。近年来研究表明,红树体内含有大量共附(内)生海洋微生物,其中以红树植物内生海洋真菌研究较多,并从内生海洋真菌中分离到大量具有抗菌、抗肿瘤等生物学活性的新型化合物^[9,10]。关于红树植物内生细菌目前研究报道尚不多。本文对防治辣椒疫病的红树内生细菌进行了筛选,并对一株防治辣椒疫病具有较好作用的RS261菌株进行了鉴定。

1 材料与方法

1.1 供试红树种类

选广东湛江地区海域普遍生长的红树植物,如老鼠簕(*Acanthus ilicifolius*)、秋茄(*Kandelia candel*)、红海榄(*Rhizophora stylosa*)、木榄(*Bruguiera gymnorhiza*)、桐花树(*Aegiceras corniculatum*)、卤蕨(*Acrostichum aureum*)、白骨壤(*Avicennia marina*)等7种红树的根、茎、叶等组织进行内生细菌分离。

1.2 供试病原菌

辣椒疫霉(*Phytophthora capsici*)ZJ06为本实验室分离保存。

1.3 供试培养基

红树内生细菌分离用海水 NA、液体培养用 PSB(25°C, 180 r/min, 72 h); 真菌培养用 PDA, 菌株拮抗作用测定用改良 PDA, 辣椒疫霉产孢用 CA (PSB 蔗糖 20.0 g, 马铃薯 200 g, 蒸馏水 1000.0 mL, pH 7.0~7.5; CA: 胡萝卜 200 g, 琼脂 15 g, 蒸馏水,

1000 mL, pH 6.0。)

1.4 红树内生细菌的分离

取长势良好无病的红树植株,其根、茎、叶分别用自来水冲洗晾干后,各称取 3.0 g, 70%酒精表面清洗后,再用 0.1%升汞表面灭菌 1.0 min, 无菌水冲洗晾干。每样品加 5.0 mL 无菌陈海水碾碎,静置 15 min后,各取 0.1 mL 和 0.2 mL 均浆液进行涂布平板,每处理重复 3 次。以最后一次清洗的无菌陈海水为对照,检测表面灭菌是否彻底。27°C 黑暗培养 48 h~72 h, 计算菌落数。根据菌落形态、颜色等不同挑取单菌落,按常规方法纯化后保存,供筛选和测定。

1.5 拮抗辣椒疫霉菌菌株的筛选

在直径为 9 cm 的 PDA(加蛋白胨 5 g/L)平板中央接入一直径为 8 mm 的辣椒疫霉菌块,同时在平板边缘(1.5 cm 处)接入一小环(直径为 5 mm)待测细菌菌落(25°C 下,海水 NA 上培养 24 h), 27°C 下黑暗培养 5 d~7 d, 每个处理重复 3 次,分别测量抑菌圈半径大小。

1.6 细菌菌株防治辣椒果疫病测定

选无病辣椒果,用 70%酒精表面消毒后,单果分开放入塑料盒,喷雾 PSB 培养了 72 h 的细菌菌液(拮抗效果最好的前 18 个)、PSB 培养基和清水后(以果面布满液体为度),于果面液体自然晾干后 24 h 喷雾接种辣椒疫霉游动孢子囊悬浮液(10^4 个/mL),同样以果面布满雾点为度,每盒果 8 个,每处理重复 4 次,并进行两次平行实验验证效果,24°C~27°C 下保湿培养,待发病后,每天记录发病情况^[3]。

病情指数 = {[(各级病果数 × 相对级数值) /

(处理总果数 × 9) } × 100

防治效果 = [(清水病情指数 -

菌株处理病情指数) / 清水病情指数] × 100%

1.7 菌株鉴定

1.7.1 常规鉴定: 方法参见文献[11,12]。

1.7.2 16S rDNA PCR 扩增及序列测定: CTAB 法提取细菌基因组 DNA 为模板,以 F8(5'-GAGAG TTTGATCCTGGCTCAG-3')和 R1492(5'-CGGCTAC CTTGTTACGAC-3')为上下游引物扩增菌株的 16S rDNA。PCR 体系为(25 μL): 10×PCR 缓冲液 2.5 μL, dNTPs(2.5 mmol) 2.5 μL, 引物 F8/R1492 (10 μmol/L) 2 μL, 模板 DNA(约 50 mg/mL) 2 μL, Taq 酶 0.5 μL, 重蒸水 15.5 μL。PCR 扩增条件: 94°C 5 min; 94°C

1 min, 50°C 1 min, 72°C 2 min, 30 个循环; 72°C 10 min。琼脂糖凝胶电泳并回收目标 DNA 片段, 由宝生物工程(大连)有限公司完成测序, 测序结果用 Blast 软件在 GenBank 进行同源性比较, 以 Clustal X 进行多序列比对后, 用 MEGA 4.0 的 Neighbor-Joining 法构建系统发育树, 并进行 1000 次 Bootstraps 检验。

2 结果与分析

2.1 红树内生细菌的分离

红树内生细菌分离结果表明(表 1), 不同红树植物体内及其不同部位均存在大量的内生细菌, 供试红树植物内生细菌平均含量为 $4.78(0.33\sim 23.60)\times 10^3$ CFU/g(FW), 各供试红树内生细菌含量依次为白骨壤、桐花树、老鼠簕、秋茄、木榄、红海榄、卤蕨, 分别达 23.60×10^3 CFU/g(FW)、 3.42×10^3 CFU/g(FW)、 3.13×10^3 CFU/g(FW)、 1.50×10^3 CFU/g(FW)、 0.85×10^3 CFU/g(FW)、 0.60×10^3 CFU/g(FW)和 0.33×10^3 CFU/g(FW), 其中以白骨壤体内内生细菌含量最高。由表 1 还可以看出, 不同红树的不同部位, 其内生细菌的含量也有所不同, 有的叶部多, 如白骨壤、秋

茄、老鼠簕和卤蕨等; 有的根部多, 如桐花树、木榄和红海榄; 但茎部内生细菌的含量各红树均最少; 各供试红树平均以叶部的内生细菌含量最多, 达 8.69×10^3 CFU/g(FW), 其次为根和茎, 分别为 3.65×10^3 CFU/g(FW)和 1.99×10^3 CFU/g(FW)。由此可见, 红树内生细菌的含量与其种类及部位密切相关。

2.2 拮抗辣椒疫霉红树内生细菌的筛选

根据菌落形态、颜色及分离部位的不同, 从上述分离获得的内生细菌中纯化获得 143 株。平板对峙生长法测定其拮抗作用, 共获得 40 株(27.97%)对辣椒疫霉表现有拮抗作用的菌株(表 2), 分析其来源可知, 各红树体内均含有对辣椒疫霉具有拮抗作用的内生细菌, 但来自不同红树植物的内生细菌对辣椒疫霉的拮抗菌株率有所不同, 其中以来自桐花树内生细菌的拮抗菌株率最高, 达 44.00%, 卤蕨最低, 仅为 8.33%。

2.3 红树内生细菌防治辣椒果疫病测定结果

对上述表现有拮抗作用的 40 株菌株进行复筛, 获得 18 株对辣椒疫霉具有较强拮抗活性的菌株, 其抑菌带宽达 6.0 mm~11.0 mm(表 3)。为了解这 18

表 1 不同红树种类及部位内生细菌的含量

Table 1 Population of endophytic bacteria in different tissues of mangroves

不同部位 Tissues	内生细菌数量 Contents of the endophytic bacteria in mangroves [$\times 10^3$ CFU/g(FW)]							平均 Average
	白骨壤 <i>A. marina</i>	桐花树 <i>A. corniculatum</i>	老鼠簕 <i>A. ilicifolius</i>	秋茄 <i>K. candel</i>	木榄 <i>B. gymnorhiza</i>	红海榄 <i>R. stylosa</i>	卤蕨 <i>A. aureum</i>	
根 Root	8.07	9.45	3.15	1.50	2.25	0.98	0.15	3.65
茎 Stem	9.86	0.40	2.45	0.25	0.17	0.47	0.30	1.99
叶 Leaf	52.85	0.40	3.80	2.75	0.15	0.34	0.55	8.69
平均 Average	23.60	3.42	3.13	1.50	0.85	0.60	0.33	4.78

表 2 各红树中对辣椒疫霉具有拮抗作用内生细菌菌株的比例

Table 2 The percentage of endophytic bacteria from mangroves antagonism against *P. capsici*

菌株来源 Resource	测定菌株数 No. of bacteria	拮抗菌株数 No. of antagonistic bacteria	拮抗菌株率% Percentage of antagonistic bacteria
桐花树 <i>A. corniculatum</i>	25	11	44.00
白骨壤 <i>A. marina</i>	18	7	38.89
木榄 <i>B. gymnorhiza</i>	14	5	35.71
秋茄 <i>K. candel</i>	20	7	35.00
红海榄 <i>R. stylosa</i>	12	3	25.00
老鼠簕 <i>A. ilicifolius</i>	42	7	16.67
卤蕨 <i>A. aureum</i>	12	1	8.33
合计 Total	143	40	27.97(Average)

表3 各菌株对辣椒果疫病的防治效果
Table 3 Control efficacy of endophytic bacteria to the pepper *Phytophthora blight of capsicum fruits*

菌株 Strains	抑菌带宽 Inhibition zones (mm)	菌株来源 Resource	接种疫霉后时间 Days after inoculated <i>P. capsici</i> (d)							
			3		6		9		12	
			病情指数 Disease index	防效 Control efficacy (%)	病情指数 Disease index	防效 Control efficacy (%)	病情指数 Disease index	防效 Control efficacy (%)	病情指数 Disease index	防效 Control efficacy (%)
RS261	8.5	红海榄叶	0.00	100.00a	11.11	87.50a	29.17	70.83a	41.67	58.33ab
RsS3	10.0	红海榄茎	3.33	83.65d	63.33	28.75m	81.11	18.89i	95.56	4.44l
RsR5	11.0	红海榄根	5.56	72.70f	25.56	71.25g	35.56	64.44b	40.00	60.00a
BgL1	7.0	木榄叶	10.00	50.91i	25.56	71.25g	45.56	54.44d	65.56	34.44de
BgS2	6.0	木榄茎	2.22	89.10c	28.89	67.50h	62.22	37.78f	91.11	8.89jk
BgS6	7.0	木榄茎	7.41	63.62h	51.85	41.67k	79.63	20.37i	88.89	11.11j
BgR2	6.0	木榄根	3.33	83.65d	23.33	73.75fg	35.56	64.44b	41.11	58.89ab
BgR6	7.0	木榄根	0.00	100.00a	13.58	84.72b	45.68	54.32d	67.90	32.10e
AmL1	10.0	白骨壤叶	1.39	93.18b	29.17	67.18h	68.06	31.94g	91.67	8.33k
AmL3	6.0	白骨壤叶	3.70	81.84d	34.57	61.11i	61.73	38.27f	70.37	29.63f
AmS1	9.0	白骨壤茎	0.00	100.00a	17.78	80.00cd	31.11	68.89a	51.11	48.89c
AmS3	7.0	白骨壤茎	4.17	79.53e	50.00	43.75k	75.00	25.00h	83.33	16.67i
AmS5	11.0	白骨壤茎	3.70	81.84d	58.02	34.73l	90.12	9.88j	97.53	2.47lm
AiL3	6.0	老鼠勒叶	1.11	94.55b	21.11	76.25ef	45.56	54.44d	63.33	36.67d
AiR24	9.0	老鼠勒根	1.11	94.55b	18.89	78.75de	38.89	61.11c	43.33	56.67b
AcS3	9.0	桐花树茎	3.33	83.65d	52.22	41.25k	88.89	11.11i	100.00	0.00
AcS7	8.0	桐花树茎	0.00	100.00a	15.56	82.50bc	48.89	51.11e	78.89	21.11h
AaR2	7.0	卤蕨根	0.00	100.00a	43.33	51.25j	88.89	11.11j	100.00	0.00
培养基	-	-	6.67	67.26g	91.11	0.00	100.00	0.00	100.00	0.00
CK	-	-	20.37	-	88.89	-	100.00	-	100.00	-

注：同栏中的相同字母表示没有显著差异(新复极差测验 $P>0.05$)。

Note: Values followed by the same letter within a columns are not significantly different ($P>0.05$, Duncan test).

株菌株在寄主上与辣椒疫病菌互作的情况,从而达到防治效果能力,本文在室内对其防治辣椒果上疫病的效果进行了测定。结果表明(表3),各菌株对辣椒果疫病均有一定的防治效果,其防病作用主要表现为延迟发病时间和减慢病害发展速度等。接种疫霉后3 d和6 d的效果均在70%以上的菌株有9个,分别为RS261、BgL1、RsR5、BgR2、AmS1、BgR6、AiR24、AiL3、AcS7,其中RS261、AmS1、BgR6、AcS7的防效在6 d时大于80%,显著高于其它菌株。9 d时RS261、RsR5、BgR2、AmS1的防效仍有60%时,清水已完全发病。12 d时防病效果最佳的RS261、RsR5仍具有55%以上的防效。

综合上述各菌株的防病测定结果,以RS261菌株对辣椒疫病的防病效果最佳,另外,试验中还发现(资料未显示),该菌株对西瓜枯萎病菌、香蕉炭疽病等植物病害也有较好的拮抗效果,表明该菌株可

能具有一定的开发应用潜力。因此本文对该菌株进行了鉴定,以便为其利用奠定基础。

2.4 RS261 菌株鉴定

2.4.1 常规鉴定:形态观察发现,RS261菌株在NA培养基上菌落为圆形,黄色不透明,随着培养时间的延长,菌落变厚、变干,边缘锯齿状,菌落上有褶皱状突起,颜色变为浅棕黄色;菌体直杆状,周生鞭毛,革兰氏染色阳性;产芽孢、芽孢卵圆形、在菌体中央或一端形成。表明该菌株为芽孢杆菌(*Bacillus* sp.)。

菌株生理生化测定结果见表4,菌株RS261为兼性厌氧菌,生长温度范围为15°C~45°C,生长的pH范围为5.0~9.0,能够耐受7.0%的氯化钠和0.001%的溶菌酶,能利用葡萄糖、蔗糖、甘露醇、乳糖,不能利用木糖、阿拉伯糖,参照东秀珠和伯杰氏细菌鉴定手册第八版等文献,表明该菌株与解淀粉

表 4 RS261 菌株的生理生化特征
Table 4 Physical and Biochemical characteristics of strain RS261

测定指标 Index	菌株特征 Characteristics	测定指标 Index	菌株特征 Characteristics
氧化酶 Oxidase	-	生长温度 Growth at 10°C	-
接触酶 Peroxidase	+	40°C	+
甲基红 Methyl red	-	50°C	-
V-P 测定 V-P reaction	+	pH 5.7	+
H ₂ S 产生 Production of H ₂ S	-	pH 6.8	+
吲哚产生 Indole production	-	NaCl 2%	+
明胶液化 Gelatin liquefaction	+	NaCl 5%	-
纤维素水解 Hydrolysis of cellulose	-	NaCl 7%	+
淀粉水解 Amylohydrolysis	+	柠檬酸盐利用 Usage of citrate	-
七叶灵水解 Hydrolysis of esculine	+	丙二酸盐利用 Usage of malonic acid	-
硝酸盐还原 Nitrate reduction	+	厌氧生长 Anaerobic growth	+
亚硝酸盐还原 Nitrite reduction	-	苯丙氨酸脱氨酶 Phenylalanine deaminase	-
葡萄糖产酸 Glucose acid production	+	色氨酸脱氨酶 Tryptophane deaminase	-

注: +: 表示呈阳性反应; -: 表示呈阴性反应。

Note: +: Positive; -: Negative.

芽孢杆菌的特征基本相似, 因此, 菌株可能为解淀粉芽孢杆菌(*B. amyloliquefaciens*)。

2.4.2 16S rDNA 的 PCR 扩增及系统发育的分析:
提取菌株 RS261 基因组 DNA, 通过 PCR 得到菌株 1.5 kb 左右的 16S rDNA(图 1)。委托宝生物工程(大连)有限公司测得 RS261 的 16S rDNA 部分序列, 长度为 1435 bp, GenBank 登录号为 EF445123。Blast 比较发现 RS261 的 16S rDNA 序列与芽孢杆菌属细菌的 16S rDNA 相似, 调出其中已鉴定菌株的 16S rDNA, 用 Clustal W 进行多重序列对比, 用软件 MEGA 4.0 按 Neighbor-Joining 法构建系统发育树(图 2)。菌株与解淀粉芽孢杆菌(*B. amyloliquefaciens*)关

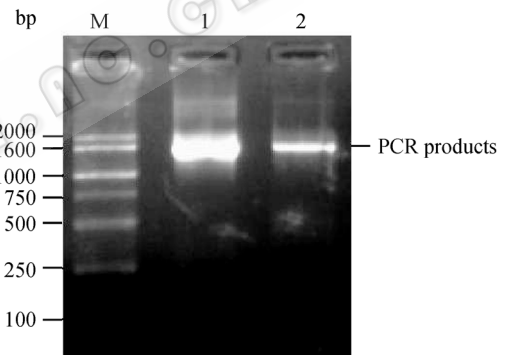


图 1 菌株 RS261 16S rDNA PCR 扩增
Fig. 1 The 16S rDNA PCR of RS261
M: Marker; 1,2: Sample.

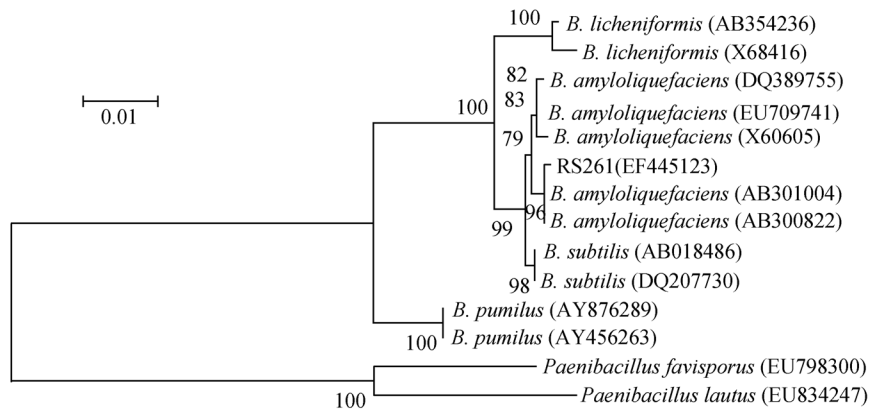


图 2 邻接法构建的 RS261 16S rDNA 序列系统发育树
Fig. 2 Phylogenetic tree based on 16S rDNA sequences of selected strains

Note: Numbers in parentheses represent the sequences' accession number in GenBank. The number at each branch point is the percentage supported by bootstrap. Bar, 1% sequence divergence.

系最紧密,位于同一分支中,同源性高达 99.6%,并与 *B. subtilis* 也有着较近的亲缘关系。结合 RS261 形态特征、培养特征及生理生化指标测定等表型鉴定结果,初步将 RS261 菌株鉴定为解淀粉芽孢杆菌。

3 讨论

关于植物内生细菌的分离,现已有许多报道,但因取样、灭菌方法、灭菌时间、培养基及操作人员等的不同,其结果存在较大差异。目前尚无统一标准的定量分析方法。本研究采用酒精和升汞表面灭菌后,碾碎植物组织,取其汁液用海水NA培养基上涂平板,对红树根、茎、叶等组织中可培养内生细菌进行了定量分离。结果表明不同红树的不同部位,其内生细菌的含量也有所不同,各供试红树均以茎中含量最少,与陈振明等^[7]曾报道的红树茎中内生细菌含量最高有所不同,存在这一区别的原因可能是红树取样地点及取样季节的不同,本实验室对红树不同季节内生细菌的研究中证实了这点,结果将另文发表。

关于植物病害生防菌的筛选,目前大部分是根据在平板拮抗效果进行筛选。本研究发现,红树内生细菌对辣椒疫霉的平板拮抗作用与其防病效果之间不存在明显相关性,平板拮抗作用强的菌株其防病效果不一定就高;具相同拮抗作用的菌株其防病效果也不一定相同,甚至差异显著(表 3)。另外,有报道发现,一些无拮抗作用的菌株,也具有较好的防病作用^[13],可能原因是拮抗作用强的菌株,产生的抗菌物质多、对病原菌的抑制作用也较强。虽然抗菌活性物质在防治植物病害中可以起重要作用,但抑制病原菌的生长发育并非是防治植物病害的唯一机制,诱导抗病、内生定殖与促进生长等机制在防治植物病害中也可起重要作用。所谓生防菌的筛选是要获得对植物病害具有良好防病效果的菌株,其防病效果的好坏是根本。因防病效果测定方法步骤较为繁琐,而拮抗作用测定方法较为简单、方便、快速,且通过拮抗作用测定可以筛选到一些高产抗菌活性物质的菌株,而抗菌活性物质在防治植物病害中起重要作用,是生防菌防治植物病害的机制之一。因此,本研究认为,拮抗作用测定可以作为植物病害候选生防菌株筛选的措施之一,但不能作为病害生防菌株筛选的唯一标准;通过拮抗测定等筛选的候选生防菌株须进一步经防病效果测定的验证,

其结果才更为准确有效。对此在相关研究中应引起注意。本研究通过拮抗作用和寄生上与病原菌互作相结合,从红树内生细菌中筛选到一株对辣椒疫霉不仅具有较强拮抗作用,且对病害具有良好而稳定防病作用的RS261 菌株。在本研究中,辣椒疫病主要是疫霉菌通过辣椒植株的茎基部进行侵染,进而蔓延到果实上,所以本试验的结果要进一步通过苗期接种进行证实。

参考文献

- [1] Tran H, Kruijt M, Raijmakers JM. Diversity and activity of biosurfactant-producing *Pseudomonas* in the rhizosphere of black pepper in Vietnam. *Journal of Applied Microbiology*, 2008, **104**(3): 839–851.
- [2] Anitha KN, Radhakrishnana NV, Manomohandasa TP. Screening of antagonistic bacteria for biological control of nursery wilt of black pepper (*Piper nigrum*). *Microbiological Research*, 2003, **158**(2): 91–97.
- [3] 邱思鑫, 何红, 阮宏椿, 等. 内生芽孢杆菌 TB2 防治辣椒疫病效果及其机理初探. *植物病理学报*, 2004, **34**(2): 173–179.
- [4] 尹敬芳, 张文华, 李健强, 等. 辣椒疫病生防菌的筛选及其抑菌机制初探. *植物病理学报*, 2007, **37**(1): 88–94.
- [5] 田黎, 顾振芳, 陈杰, 等. 海洋细菌 B-9987 菌株产生的抑菌物质及对植物病原真菌的作用. *植物病理学报*, 2003, **33**(2): 77–80.
- [6] 胡江春, 薛德林, 王书锦, 等. 大豆连作障碍研究海洋放线菌 MB297 促进连作大豆增产机理. *应用生态学报*, 2002, **13**(9): 1095–1098.
- [7] 陈振明, 何进坚, 何红, 等. 红树林内生细菌的分离及拮抗菌筛选. *微生物学通报*, 2006, **33**(3): 18–23.
- [8] 赵亚, 郭跃伟. 真红树林植物化学成分及生物活性研究概况. *中国天然药物*, 2004, **2**(3): 135–140.
- [9] 陈光英, 朱峰, 林永成, 等. 南海红树林内生真菌 1947 号次级代谢产物的研究. *化学研究与应用*, 2007, **19**(1): 98–99.
- [10] 郑忠辉, 缪莉, 黄耀坚, 等. 红树林内生真菌的抗肿瘤活性. *厦门大学学报(自然科学版)*, 2003, **42**(4): 513–516.
- [11] 东秀珠, 蔡妙英. 常见细菌鉴定手册. 北京: 科学出版社, 2001.
- [12] Buchanan(布坎南) RE, Gibbons(吉本斯) NE. 伯杰细菌鉴定手册. 第八版. 北京: 科学出版社, 1984.
- [13] 杨海莲, 孙晓璐, 宋未. 植物根际促生细菌和内生细菌的诱导抗病性的研究进展. *植物病理学报*, 2000, **30**(2): 106–110.