

# 毫菊内生菌 BN7 的鉴定与生防促生功能研究

陆 娟<sup>1#</sup>, 唐 娟<sup>1#</sup>, 王贵生<sup>1</sup>, 余梅霞<sup>1,2</sup>, 唐 俊<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup> 阜阳师范大学生物与食品工程学院; <sup>2</sup> 环境激素与生殖发育安徽省重点实验室, 阜阳 236037

**摘要:**植物内生菌具有增强宿主植物抵抗生物和非生物胁迫的能力,也具有增强宿主植物对磷、钾等矿质元素的分解吸收,进而促进植物的生长。本文采用平板对峙法检测毫菊内生菌 BN7 对玉米弯孢病菌、黄瓜枯萎病菌、小麦赤霉病菌、串珠镰刀病菌、瓜炭疽病菌、茶叶轮斑病菌等 6 种植物病原菌的拮抗作用;测定菌株 BN7 的解磷、解钾、产生长素、降解纤维素能力和对 DPPH 的清除能力;并根据菌株形态特征、生理生化特征和 16S rDNA 序列分析对菌株 BN7 进行鉴定。结果表明:毫菊内生菌 BN7 对小麦赤霉菌等 6 种植物病原菌均有抑制作用;菌株 BN7 使有机磷和无机磷发酵液中可溶性磷分别增加了 108.38 和 68.71 mg/L,使可溶性钾增加了 32.03 mg/L,IAA 的分泌量高达 164.39 mg/L;培养 3 天菌株 BN7 羧甲基纤维素酶和滤纸酶的活力达到最高,分别为 168.78 和 79.87 U/mL;培养 7 天的上清液对 DPPH 清除率可达 82.13%;根据形态学特征、生理生化特征及 16S rDNA 序列分析,菌株 BN7 初步鉴定为巨大芽孢杆菌(*Bacillus megaterium*)。因此,毫菊内生菌 BN7 是一株具有广谱抗真菌、解磷、解钾、产 IAA 和降解纤维素能力的巨大芽孢杆菌。

**关键词:**内生菌;拮抗;促生;纤维素降解

中图分类号:Q939.96

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2021)8-1301-07

DOI:10.16333/j.1001-6880.2021.8.005

## Study on the identification, biocontrol and growth-promoting function of endophytic strain BN7 from *Chrysanthemum morifolium* Ramat ‘Boju’

LU Juan<sup>1#</sup>, TANG Juan<sup>1#</sup>, WANG Gui-sheng<sup>1</sup>, YU Mei-xia, TANG Jun<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup> School of Biotechnology and Food Engineering, Fuyang Normal University;

<sup>2</sup> Anhui Province Key Laboratory of Environmental Hormone and Reproduction, Fuyang Normal University, Fuyang 236037, China

**Abstract:** Plant endophytic bacteria can enhance not only the ability of host plants to resist biological and abiotic stresses, but also the ability of decomposition and absorption of mineral elements such as phosphorus and potassium, thus it confers to promote plants growth. In this article the antagonistic effect of endophytic strain BN7 isolated from *Chrysanthemum morifolium* Ramat ‘Boju’ was tested on six plant pathogenic fungi, including *Curvularia lunata*, *Fusarium oxysporum*, *F. graminearum*, *F. moniliforme*, *Colletotrichum lagenarium* and *Pestalotiopsis theae*. And its ability of dissolving phosphorus and potassium, producing indoleacetic acid and scavenging DPPH was tested, too. Strain BN7 was identified based on the morphological characteristics, physiological and biochemical characteristics and 16S rDNA sequence analysis. Results showed that endophytic strain BN7 had the ability to inhibit the six plant pathogens mentioned above with varying degrees. The available phosphorus in organic phosphorus fermentation broth and inorganic phosphorus fermentation broth increased to 108.38 mg/L and 68.71 mg/L, respectively. And the available potassium increased to 32.03 mg/L, IAA reached to 164.39 mg/L. The strain had the highest cellulase activity after incubation for three days. The CMC enzyme activity and FPA activity reached 168.78 and 79.87 U/mL, respectively. The DPPH scavenging rate reached 82.13% by fermentation supernatant of BN7 incubated for seven days. According to the morphological characteristics, physiological and biochemical characteristics and 16S rDNA sequence analysis, strain BN7 was identified as *Bacillus megaterium*. Therefore, strain BN7 is identified as *Bacillus megaterium* with the ability of antagonistic effect on plant pathogenic fungi, dissolving phosphorus and potassium, producing IAA, and the ability of cellulose degradation.

**Key words:** endophytic bacterium; antagonism; growth-promoting; cellulose degradation

收稿日期:2021-01-29 接受日期:2021-06-18

基金项目:横向合作项目(XDXH2016007);阜阳师范大学教研项目(2020JYXM17)

\*通信作者 Tel:86-558-2596171;E-mail:tj751@163.com

#共同第一作者

植物内生菌是指其生活史中某一阶段或整个阶段生活在健康的植物组织或细胞内并且没有引起宿主明显病害症状的一类微生物类群<sup>[1]</sup>。植物的整个生长过程就是宿主植物和内生菌共同体的生命过程<sup>[2]</sup>。内生菌与宿主植物及周围的生活环境形成了比较复杂的生态关系。内生菌可以产生与宿主相似的代谢产物，并赋予植物抵抗生物和非生物胁迫的能力<sup>[3]</sup>。在内生菌与植物长期互作过程中，内生菌表现出了增强宿主植物对磷、钾等矿质元素的分解和吸收的特性。筛选对植物病原菌具有拮抗作用又有解磷、解钾、产生长素等多功能菌株在农业中具有较大的应用潜力。

菊花具有清热消暑、抗氧化<sup>[4]</sup>的作用，同时还具有抑菌消炎<sup>[5,6]</sup>、减肥<sup>[7,8]</sup>和缓解高尿酸血相关的疾病<sup>[9]</sup>等功效。作为四大药用菊花之一的毫菊，本课题组已对它的内生真菌进行了初步研究。本试验对毫菊内生细菌 BN7 的抑菌、解磷、解钾、促生、纤维素降解和抗氧化等活性进行研究，并且对其进行初步鉴定，为丰富生物防治资源和生物菌肥的研制奠定了基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试菌株

毫菊内生菌 BN7，由阜阳师范大学王贵生等从毫菊中分离筛选获得<sup>[10]</sup>，并保存于微生物实验室。

### 1.2 供试病原菌

玉米弯孢菌 (*Curvularia lunata*) CY1、黄瓜枯萎菌 (*Fusarium oxysporum*) FH1、小麦赤霉菌 (*Fusarium graminearum*) FM1、串珠镰刀菌 (*Fusarium moniliforme*) F1、瓜炭疽菌 (*Colletotrichum lagenarium*) CG1、茶叶轮斑菌 (*Pestalotiopsis theae*) PC1，保存于阜阳师范大学微生物实验室。

### 1.3 培养基

所用培养基有 PDA 培养基、LB 细菌纯化培养基，解有机磷培养基和无机磷细菌培养基，解钾菌分离培养基<sup>[11]</sup>、解钾液体培养基<sup>[12]</sup>、含有 L-色氨酸的 R<sub>2</sub>A 培养基<sup>[13]</sup>、羧甲基纤维素钠培养基<sup>[14]</sup>、羧甲基纤维素酶活 (CMCase) 检测培养基<sup>[15]</sup> 和滤纸酶活 (FPase) 检测培养基<sup>[14]</sup>。

### 1.4 主要仪器与试剂

仪器：T6 新世纪紫外可见分光光度计（北京普析通用仪器有限责任公司，中国）；JS-680D 全自动凝胶成像分析仪（上海培清科技有限公司，中国）；T100 PCR 仪（Bio-rad 公司，美国）；ZHY-2112B 恒

温培养振荡器（上海智诚分析仪器制造有限公司，中国）；Olympus-BX53 正置荧光显微镜（奥林巴斯公司，日本）。

试剂：钼锑抗显色剂、四苯硼酸钠溶液、Salkowski 比色液、羧甲基纤维素钠 (CMC-Na)、1,1-二苯基-2-三硝基苯肼 (DPPH)、PCR 反应试剂盒、PCR 产物纯化试剂盒等均购于上海生工生物工程股份有限公司。

### 1.5 拮抗植物病原菌的测定

将毫菊内生菌 BN7 及 6 种植物病原菌分别接种 LB 和 PDA 平板进行活化培养。平板对峙培养法测定毫菊内生菌 BN7 对玉米弯孢菌 CY1 等 6 种植物病原菌的抑菌活性，以未进行对峙培养的植物病原菌为空白对照，按照下面公式计算抑菌率，具体方法参考 Wang 等<sup>[10]</sup> 的研究，抑菌率 = [ 菌落半径 (CK) - 菌落半径 (处理) ] / [ 菌落半径 (CK) - 2.5 mm ] × 100%。

### 1.6 解磷能力测定

将菌株 BN7 单菌落分别点种解有机磷、无机磷固体平板，37 °C 培养 3 天，观察并测量解磷透明圈直径。菌株 BN7 接种液体有机磷、无机磷培养基，150 rpm、28 °C 培养 3 天，钼锑抗比色法测定培养液中可溶性磷含量<sup>[16]</sup>，以不接菌培养基为空白对照，以  $y = 2.1443x + 0.0004 (R^2 = 0.998)$  为标准方程，式中  $x$  为 720 nm 处吸光值， $y$  为磷浓度。

### 1.7 解钾能力测定

将菌株 BN7 在以钾长石为唯一钾源的解钾菌分离培养基上划线，37 °C 培养，若能生长，则该菌株有解钾活性，以 *E. coli* 作为阴性对照。将菌株 BN7 接种解钾液体培养基，28 °C、160 rpm 培养 7 天，以加等量灭活种子液为空白对照，测定菌浓度 ( $OD_{600}$ )，四苯硼钠法测定培养液中水溶性钾含量<sup>[17]</sup>，以  $y = 118.68x (R^2 = 0.9919)$  为标准方程，式中  $x$  为 420 nm 处吸光值， $y$  为钾浓度。

### 1.8 产 IAA 能力测定<sup>[13]</sup>

将 BN7 菌株接种含有 L-色氨酸的 R<sub>2</sub>A 液体培养基，摇床培养 4 天，取 1 mL 菌悬液加入 1 mL Salkowski 比色液 (50 mL 35% HClO<sub>4</sub> + 1 mL 0.5 mol/L FeCl<sub>3</sub>)，以在比色液中加入 1 mL 50 mg/L 的植物生长激素 (IAA) 作为阳性对照，室温避光放置 30 min，颜色变粉红者为阳性，表示能够分泌 IAA，颜色越深表示分泌的 IAA 越多，不变色为阴性。Salkowski 比色法测定 BN7 菌株发酵液中 IAA 含量，以  $y = 0.0188x + 0.0027 (R^2 = 0.9952)$  为标准方

程,式中  $x$  为 IAA 浓度, $y$  为 530 nm 处吸光值。

### 1.9 纤维素降解能力测定

方法参考 Wang 等<sup>[10]</sup>的研究。将 BN7 菌株点种羧甲基纤维素钠培养基平板,37 °C 培养 4 天,刚果红染色,通过透明圈直径与菌落直径比值的大小定性测定 BN7 菌株纤维素降解能力的强弱。将 BN7 菌株接种 CMCase 检测培养基及 FPase 检测培养基,分别振荡培养 7 天,每隔 24 h 取样一次,DNS 法测定上清液中的葡萄糖含量,以  $y = 0.1776x + 0.0056$  ( $R^2 = 0.9985$ ) 为标准方程,式中  $y$  为葡萄糖, $x$  为 530 nm 处吸光值,定量检测 CMC 酶活及 FPase 酶活<sup>[14,15]</sup>。酶活力单位的定义:以每毫升发酵上清液酶促反应 30 min 释放 1 μg 葡萄糖的量为一个酶活单位(U)。

### 1.10 DPPH 清除能力的测定

将 BN7 接种 LB 液体培养基,37 °C、160 rpm 培养 7 天,6 000 rpm 离心 10 min,取上清液,经 0.22 μm 无菌滤膜过滤得无菌发酵液,测定并计算发酵液清除 DPPH 的能力,具体方法同文献<sup>[10]</sup>,以  $y = 9.2956x + 0.0043$  ( $R^2 = 0.9996$ ) 为标准方程,式中  $y$  为 517 nm 处吸光值, $x$  为 DPPH 浓度。

### 1.11 菌株鉴定

#### 1.11.1 形态学观察

将菌株 BN7 在 LB 平板上划线培养 24 h,观察菌落大小、颜色、形状等特征,并进行革兰氏染色、芽

孢染色。

#### 1.11.2 生理生化鉴定

参照《常用细菌系统鉴定手册》<sup>[18]</sup>和《伯杰细菌鉴定手册》<sup>[19]</sup>,对 BN7 进行生理生化鉴定,包括产酸产气试验、甲基红试验、VP 试验、淀粉水解试验、硝酸盐还原作用试验、精氨酸双水解酶和诱导产生青霉素酶试验等。

#### 1.11.3 分子生物学鉴定

采用 CTAB 法提取内生菌 BN7 总 DNA,以总 DNA 作为模板,用细菌通用引物进行 PCR 扩增,引物序列及反应体系参考 Lu 等<sup>[20]</sup>的研究。PCR 反应程序依次为 94 °C (30 s)、52 °C (30 s)、72 °C (1.5 min)、72 °C (10 min),30 个循环。反应结束后取 PCR 产物进行琼脂糖凝胶电泳检测,并将纯化的 PCR 产物送上海生工生物工程股份有限公司进行测序。根据测序结果,在 GenBank 数据库中进行 BLAST 比对,搜索同源序列,选取有代表性菌株序列利用 MEGA7.0 软件进行系统发育分析,NJ 法构建系统发育树。

## 2 结果与分析

### 2.1 菌株 BN7 抗植物病原菌的作用

毫菊内生菌 BN7 具有广谱抗菌作用,对玉米弯孢菌 CY1 等 6 种植物病原菌均有抑制作用(见图 1 和图 2),抑制率在 30%~68% 之间,且对小麦赤霉菌 FM1 的抑制作用最强,抑制率为 68.27%(见图 3)。

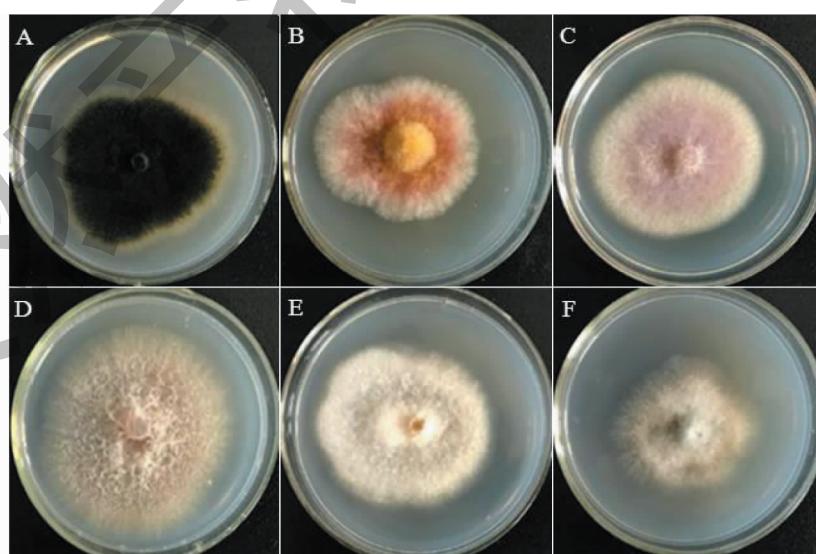


图 1 病原真菌在 PDA 平板上的培养特征

Fig. 1 Culture characteristics of pathogenic fungi on PDA plates

注:A. 玉米弯孢菌 CY1;B. 小麦赤霉菌 FM1;C. 串珠镰刀菌 F1;D. 黄瓜枯萎菌 FH1;E. 瓜炭疽菌 CG1;F. 茶叶轮斑菌 PC1;图 2、3 同。Note: A. *C. lunata* CY1; B. *F. graminearum* FM1; C. *F. moniliforme* F1; D. *F. oxysporum* FH1; E. *C. lagenarium* CG1; F. *P. theae* PC1; Same for Fig. 2 and 3.

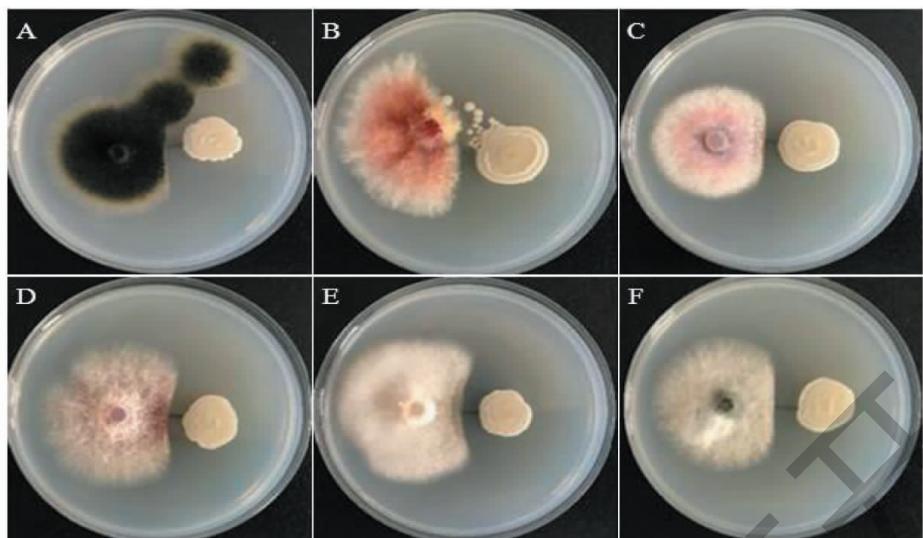


图 2 菌株 BN7 对 6 种病原真菌的拮抗作用

Fig. 2 The antagonistic activity of strain BN7 on six pathogenic fungi

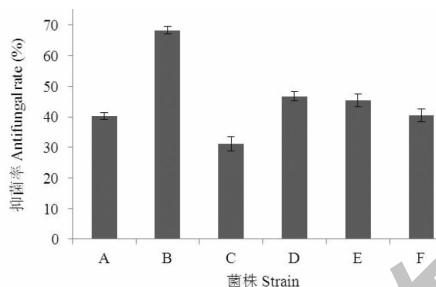


图 3 菌株 BN7 对 6 种病原菌的抑制作用

Fig. 3 The inhibition effect of

strain BN7 on six pathogenic fungi

## 2.2 菌株 BN7 解磷能力的测定

菌株 BN7 对无机磷和有机磷都有一定的溶解作用。有机磷的解磷圈(25.8 mm)比无机磷的解磷圈(17.3 mm)大,并且有机磷发酵液比无机磷发酵液中的可溶性磷含量高,分别为 108.38 和 68.71 mg/L,表明菌株 BN7 溶解有机磷效果较无机磷好。

## 2.3 菌株 BN7 解钾能力的测定

在以钾长石为钾源的分离平板上,菌株 BN7 可以正常生长(见图 4),但 *E. coli* 不能生长,表明菌株 BN7 具有解钾菌的特性;在解钾液体培养基中,菌株 BN7 比 *E. coli* 生长得好,并且菌株 BN7 发酵液的可溶性钾含量(32.03 mg/L)比 *E. coli* 发酵液高(见表 1)。

## 2.4 菌株 BN7 产 IAA 能力的测定

在加入 Salkowski 比色液后,50 mg/L 的 IAA 呈粉色,菌株 BN7 的 R<sub>2</sub>A 发酵液呈红色,表明该菌株具有分泌生长素 IAA 的能力,根据标准曲线计算得出菌株 BN7 分泌的 IAA 高达 164.39 mg/L。



图 4 解钾平板上的菌株 BN7

Fig. 4 Strain BN7 on potassium plate

## 表 1 菌株 BN7 的解钾能力

Table 1 The ability of strain BN7 to dissolve potassium

菌株 Strain	OD <sub>600</sub>	可溶性钾 Available K (mg/L)
BN7	2.791 ± 0.354	32.03 ± 2.143
<i>E. coli</i> (CK)	0.834 ± 0.022	9.66 ± 0.835

## 2.5 菌株 BN7 纤维素降解能力的测定

菌株 BN7 可以在羧甲基纤维素钠培养基上生长,经刚果红染色后产生明显的纤维素降解圈(见图 5),37 °C 培养 4 天后降解圈直径与菌落直径的比值较大( $2.17 \pm 0.582$ ),初步说明内生菌 BN7 具有较强的纤维素降解能力。菌株 BN7 接种 CMCase 和 FPase 检测培养基后发酵培养 1 周,根据葡萄糖标准曲线计算发酵上清液的还原糖生成量并计算 CMCase 和 FPase 的活力。如图 6 所示,菌株 BN7 发酵液上清的 CMCase 和 FPase 酶活都在第 3 天最高,分

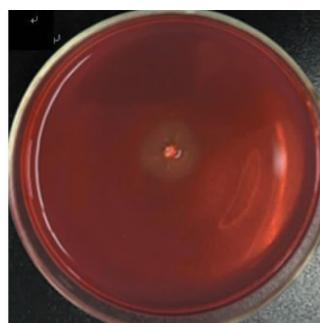


图 5 菌株 BN7 的纤维素降解能力

Fig. 5 Cellulose degradation capability of strain BN7

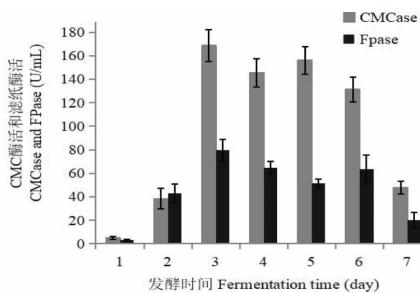


图 6 不同培养时间菌株 BN7 的 CMCase 和 FPase 活力

Fig. 6 CMCase and FPase activity of strain BN7  
at different incubation time

别为 168.78 和 79.87 U/mL。

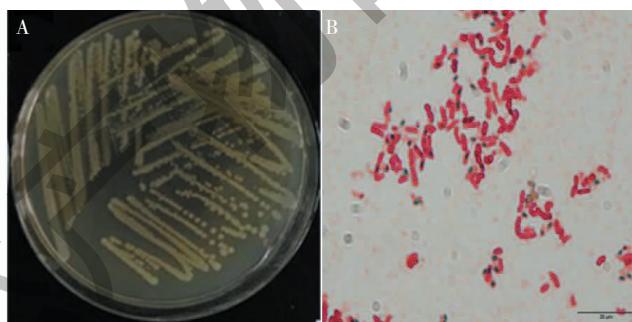


图 7 菌株 BN7 菌落形态及芽孢染色

Fig. 7 Colony morphology and spore staining of strain BN7

注:A. LB 平板上的 BN7;B. 芽孢染色。Note: A. Colony morphology of strain BN7 on LB plate; B. Spore staining of strain BN7.

通过 CTAB 法提取获得毫菊内生菌 BN7 基因组 DNA 片段,利用通用引物对其进行特异性扩增,获得长约 1 500 bp 的条带,经测序,该扩增产物的长度为 1 427 bp,根据 GenBank 数据库的基因序列构建生物进化树,菌株 BN7 与相似度为 99% 的巨大芽孢杆菌 (*Bacillus megaterium*) NBRC 15308 聚在一起,它们的亲缘关系最近(见图 8)。

因此,结合形态学观察、生理生化试验和 16S

rDNA 结果初步将菌株 BN7 鉴定为巨大芽孢杆菌,Genbank 登录号为 MW736394.1。该菌株已保存于广东省微生物菌种保藏中心,保藏号为 GDMCC No. 60467。

### 3 讨论

20 世纪 70 年代末期,Dobereiner 等<sup>[21]</sup>发现固氮螺菌可以促进非豆科植物的生长;80 年代后期加拿大的 Philom Bios 公司开始生产、销售可以使小

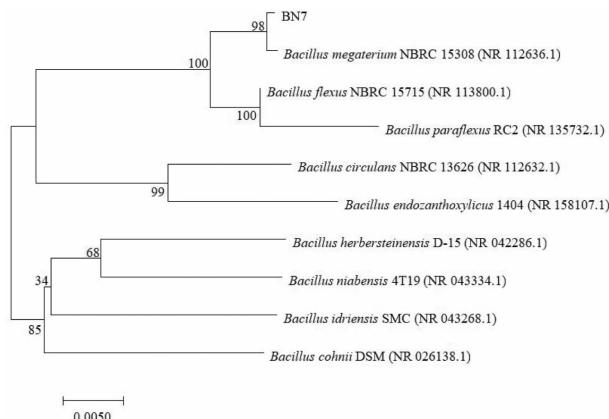


图 8 基于 NJ 法构建的菌株 BN7 系统发育树

Fig. 8 Phylogenetic tree of strain BN7 based on NJ method

麦、油菜、豌豆等作物增产 10% ~ 15% 的解磷菌剂、固氮菌剂和解磷固氮混合菌剂<sup>[22]</sup>。随后,植物内生菌逐渐成为国内外研究的热点。2009 年, Cheng 等<sup>[23]</sup>从华重楼中筛选得到一株内生菌 PCE45, 它产生的抗菌肽 PCP-1 对玉米弯孢菌 Boed、稻瘟病菌 (*Pyricularia oryzae*) Cav 等多种病原菌均具有抑制作用。2010 年,Bressan 等<sup>[24]</sup>从玉米植物组织中分离到 6 株可以产生几丁质酶的内生芽孢杆菌,它们对串珠镰刀菌都有抑制作用。2015 年,Zhao 等<sup>[25]</sup>从大豆根瘤中筛选出 36 株溶磷内生菌,其中菌株 DD291 发酵液中可溶性磷含量高达 452 mg/L,并且,部分溶磷菌株对大豆的生长具有促进作用。2015 年,Kang 等<sup>[26]</sup>研究发现苜蓿内生菌 ASR16、ALR33 均能产生植物生长激素、嗜铁素,具有溶解磷活性,对苜蓿的促生作用明显。2018 年,Gao 等<sup>[27]</sup>从尼瓦拉野生稻中分离到 57 株内生细菌,其中 44 株内生固氮菌均有产生长素的能力,25 株菌株具有不同程度的解钾能力。2018 年,Bai 等<sup>[28]</sup>从野生黄精根茎中分离得到一株内生芽孢杆菌 HJ-1,该菌对鼠伤寒沙门氏菌 (*Salmonella typhimurium*)、铜绿假单胞菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) 和苏云金芽孢杆菌 (*Bacillus thuringiensis*) 均具有显著抑菌作用。

目前,人们对毫菊内生菌的研究较少,对毫菊内生菌促生作用的研究也鲜为报道。本研究中的毫菊内生菌 BN7 对玉米弯孢菌 CY1 等 6 种植物病原菌均具有拮抗作用,对小麦赤霉菌 FM1 抑菌率最高,为 68%。该菌株还具有一定的解磷、解钾和产 IAA 的能力,分别为 108.38、32.03 和 164.39 mg/L。菌株 BN7 解无机磷的能力 (68.71 mg/L) 约是樟树内生巨大芽孢杆菌 ZS-3 (20.16 mg/L)<sup>[29]</sup> 的 3 倍,可

能与后者培养时间较短 (24 h) 有一定的关系;另外,菌株 BN7 产生长素的能力是郜晨等筛选的产生长素能力最强菌株 N8 (41.66 mg/L)<sup>[27]</sup> 的 4 倍。菌株 BN7 还具有降解纤维素的能力,它的 CMCCase 和 FPase 酶活在第 3 天分别为 168.78 U/mL 和 79.87 U/mL。除此以外它清除 DPPH 自由基活性高达 82.13%,远高于先前筛选的毫菊内生真菌 BJF10 对 DPPH 的清除率 (67.7%)<sup>[10]</sup>。根据形态学特征、生理生化试验及对 16S rDNA 序列的分析,菌株 BN7 被鉴定为巨大芽孢杆菌。因此,巨大芽孢杆菌 BN7 是一株具有拮抗植物病原菌、解磷、解钾和产生 IAA 能力的毫菊内生细菌,具有开发为生防促生菌剂的潜能。

## 参考文献

- Chen L, Liang ZN, Zhu H. Advances in endophytic research of plants [J]. Biotechnol Bull, 2015, 31(8): 30-34.
- Wang ZW. Endophytic bacteria research and its scientific significance [J]. Microbiol Bull, 2015, 42: 349-363.
- Chowdhary K, Kaushik N, Gonzalez-coloma A, et al. Endophytic fungi and their metabolites isolated from Indian medicinal plant [J]. Phytochem Rev, 2012, 11: 467-485.
- Zhou BZ, Hong H, Zhang P, et al. Study on the antioxidant activity of polysaccharides of chrysanthemum from different habitats [J]. West China J Pharm Sci (华西药学杂志), 2019, 34: 209-212.
- Li M, Zeng MN, Zhang JK, et al. Anti-inflammatory dendranacylene A, a new polyacetylene glucoside from the flower of *Chrysanthemum morifolium* Ramat [J]. Nat Prod Res, 2020, DOI:10.1080/14786419.2020.1825425.
- Lv CY, Zhao XL, Yuang Y, et al. Study on the antibacterial activity of the essential oil of *Chrysanthemum morifolium* and Bo-Chrysanthemum [J]. J Huangshan Univ(黄山学院学报) 2019, 21(3): 42-44.
- Shon JC, Kim WC, Ryu R, et al. Plasma lipidomics reveals insights into anti-obesity effect of *Chrysanthemum morifolium* Ramat leaves and its constituent luteolin in high-fat diet-induced dyslipidemic mice [J]. Nutrients, 2020, 12: 2973.
- Lee MS, Yangha K. *Chrysanthemum morifolium* flower extract inhibits adipogenesis of 3T3-L1 cells via AMPK/SIRT1 pathway activation [J]. Nutrients, 2020, 12: 2726.
- Peng A, Lin LZ, Zhao MM, et al. Identifying mechanisms underlying the amelioration effect of *Chrysanthemum morifolium* Ramat. ‘Boju’ extract on hyperuricemia using biochemical characterization and UPLC-ESI-QTOF/MS-based metabolomics [J]. Food Funct, 2019, 10: 8042-8055.

- 10 Wang GS, LU J, Tang J, et al. Isolation, identification and biological activity analysis of an endophytic strain of *Chrysanthemum morifolium*[J]. *J Northwest A&F Univ: Nat Sci(西北农林科技大学学报:自然科学版)*, 2019, 47: 138-145.
- 11 Ma RY. Isolation, screening and identification of high-efficiency phosphate-dissolving potassium strain NX-11 [D]. Baoding: Hebei Agricultural University (河北农业大学), 2013.
- 12 Li XX. Screening and identification of a high-efficiency potassium-dissolving bacteria in red soil, optimization of fermentation conditions and promotion of growth [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University (南京农业大学), 2013.
- 13 Jiang XY, Gao JS, Xu FH, et al. Determination of endophytic bacterial diversity and ability to secrete auxin from rice seeds [J]. *Acta Microbiol Sin(微生物学报)*, 2013, 53: 269-275.
- 14 Gu WJ, Xu YQ, Xu PZ, et al. Screening and identification of hemicellulose degrading microorganisms in acid soil [J]. *Acta Microbiol Sin(微生物学报)*, 2012, 52: 1251-1259.
- 15 Sun Y, Tian YQ, Zhao LK. Study on the optimum conditions of determination of cellulose activity [J]. *Sci Technol Food Ind(食品工业科技)*, 2013, 34(2): 68-71.
- 16 Miao XX, Gong HR, Tang SH, et al. Determination of total phosphorus in vegetables by microwave digestion-molybdenum anti-photometric method [J]. *China Test(中国测试)*, 2017, 43(12): 45-49.
- 17 Ran GF, Ma HZ, Meng RY, et al. Rapid determination of potassium by sodium tetraphenylborate quaternary ammonium salt capacity method [J]. *Salt Lake Res(盐湖研究)*, 2009, 17(2): 39-42.
- 18 Dong XZ, Cai MY. Common Bacterial System Identification Manual(常见细菌系统鉴定手册) [M]. Beijing: Science Press, 2001: 349-384.
- 19 Buchanan RE, Gibbens NE. Bergey's manual systematic bacteriology: 8th edition(伯杰细菌鉴定手册:第八版) [M]. Beijing: Science Press, 1984: 732-739.
- 20 Lu J, Zhou H, Wang GS, et al. Screening and identification of an exopolysaccharide-producing strain and the investigation of its polysaccharide[J]. *Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发)*, 2020, 32: 1484-1490.
- 21 Doberreiner J, Pedrosa FO. Nitrogen-fixing Bacteria in Nonleguminous Crop Plants [M]. USA Madison WI: Science Tech Publishers, 1987: 117-148.
- 22 Huang XD, Ji SN, Bernard G, et al. Application status of plant growth-promoting bacteria [J]. *Mod Agr(现代化农业)*, 2002, 9: 10-11.
- 23 Cheng YY, Yong B, Zhang C, et al. Isolation, purification and characterization of endophytic antimicrobial peptides from Huazhong Building[J]. *Acta Microbiol Sin(微生物学报)*, 2009, 49: 498-502.
- 24 Bressan W, Figueiredo JEF. Chitinolytic *Bacillus* spp. isolates antagonistic to *Fusarium moniliforme* in maize [J]. *J Plant Pathol*, 2010, 92: 343-347.
- 25 Zhao LF, Xu YJ, Cao DJ, et al. Screening, resistance and phylogeny and growth promotion of endophytic bacteria in phosphate soaked soybean nodules [J]. *Acta Ecol Sin(生态学报)*, 2015, 35: 4425-4435.
- 26 Kang HY, Wang W, Liu JL, et al. Isolation, purification and identification of two endophytic bacteria with growth promoting effects [J]. *Microbiol Bull(微生物学通报)*, 2015, 42: 280-288.
- 27 Gao C, Huang SF, Hu L, et al. Endophytic diversity and growth promoting effects of wild rice in Nirvara [J]. *J Appl Environ Biol(应用与环境生物学报)*, 2018, 24: 33-38.
- 28 Bai XH, Liu XL, Liu D, et al. Isolation and identification of an endophytic bacterium from *Polygonatum cyrtonema* and its antibacterial activity [J]. *Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发)*, 2018, 30: 777-782.
- 29 Lu LX, Jiang MM, Wang Y, et al. Isolation, screening and identification of endophytic bacteria from *Cinnamomum camphora* that promote growth and antagonistic pathogen [J]. *J Nanjing Forestry Univ : Nat Sci(南京林业大学学报:自然科学版)*, 2018, 42(6): 128-136.