

# 兰州地区盐碱地小麦根际联合固氮菌分离 及部分特性研究\*

姚 拓<sup>1,2</sup> 龙瑞军<sup>2,3</sup> 王 刚<sup>1</sup> 胡自治<sup>2</sup>

(1 兰州大学干旱农业生态国家重点实验室, 兰州 730000)

(2 甘肃农业大学草业学院, 兰州 730070)

(3 中国科学院西北高原生物研究所, 西宁 810008)

**摘 要** 结合气相色谱仪和高效液相色谱仪, 利用乙炔还原等方法对兰州地区盐碱地小麦根际联合固氮菌进行分离和固氮酶活性、溶磷性、分泌植物激素特性研究。结果表明: 从小麦根际分离获得的 12 株联合固氮菌株固氮酶活性差异较大( $C_2H_4$ , 124.6~651.6  $nmol\ h^{-1}\ ml^{-1}$ ), 具有较高固氮酶活性的菌株较少( $C_2H_4$  大于 500  $nmol\ h^{-1}\ ml^{-1}$  的菌株只有 4 株); 固氮菌株中有 2 株具有溶磷性, 其溶磷强度(P) 分别为 16.30  $\mu g\ ml^{-1}$  和 9.82  $\mu g\ ml^{-1}$ ; 9 株固氮菌株可分泌 IAA, 但分泌 IAA 浓度相对较低(1.40~15.13  $\mu g\ ml^{-1}$ ), 大于 10  $\mu g\ ml^{-1}$  的菌株只有 2 株。从菌株固氮酶活性、溶磷性和分泌植物生长素特性看, *Pseudomonas* sp. ChW1、*Azotobacter* sp. ChW5、*Zoogloea* sp. ChW6、*Azotobacter chroococcum* ChW11 和 *Azospirillum* sp. ChW15 等在研制小麦菌肥方面具有较大的开发潜力。

**关键词** 盐碱地; 小麦根际; 联合固氮菌; 固氮酶活性; 溶磷性; 植物生长素(IAA)

**中图分类号** S154.39, Q945.13 **文献标识码** A

近些年研究表明, 禾本科植物根际联合固氮菌(以下简称“固氮菌”)不但可以固定空气中的氮气, 部分菌还具有溶解土壤中不能被植物直接利用的磷素、产生植物激素、分泌抗生素、促进植物对矿物质吸收及增强抗病性等特性<sup>[1~4]</sup>。用这类菌研制的生物肥料具有成本低、持续效果好、增产稳定、非再生能源消耗少及对环境、食品安全等特点。同时, 可以改善土壤结构, 提高土壤有机质含量, 改良盐碱地, 保障农牧业的可持续发展<sup>[5]</sup>。但不同生境和植物, 固氮菌的种类和特性不同, 因此, 从特定生境和植物根际分离获得高效固氮菌株以研制适合不同生境和植物的专用生物菌肥具有十分重要的意义。迄今为止, 有关西部盐碱地禾本科植物根际固氮菌研究尚未见报道。本研究旨在从兰州地区盐碱地小麦根际分离固氮菌株, 并对其固氮酶活性、溶磷性及分泌植物激素特性进行研究, 为后续相关研究提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 固氮菌分离及其酶活性测定

#### 1.1.1 土样及其性质

2001 年 4~5 月, 在甘肃

省兰州地区盐碱小麦地采集小麦根际(根系和土壤)样品, 采样深度 0~20 cm, 各点样品按常规方法混合后装入灭菌信封袋, 带回实验室立即进行固氮菌分离<sup>[6]</sup>。该区土壤为栗钙土, 有机质含量 22.4  $g\ kg^{-1}$ , 全氮 0.9~1.8  $g\ kg^{-1}$ , 全磷 0.6~0.7  $g\ kg^{-1}$ , 速效磷 1.4~1.8  $mg\ kg^{-1}$ , 全钾 17.1~20.5  $g\ kg^{-1}$ , 速效钾 0.1~0.2  $g\ kg^{-1}$ , pH 8.0~8.7。

**1.1.2 固氮菌分离及固氮酶活性测定** 为便于研究, 将根际区分为: 距根系较远(1 cm)土壤(NRS)、根表土壤(RS)、根系表面(RP)和根内(HP)<sup>[7]</sup>。

NFM(Nitrogen free medium)培养基(1 000 ml): 苹果酸 5.0 g,  $K_2HPO_4$  0.5 g,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  0.2 g, NaCl 0.1 g,  $CaCl_2 \cdot 2H_2O$  20 mg,  $NaMoO_4 \cdot 2H_2O$  2 mg, Bromothymol Blue (BTB) (0.5%) 5 ml, KOH 4.5 g, Biotin 10  $\mu g$ , 琼脂 20 g(固体培养基)或 2 g(半固体培养基), pH7.5<sup>[7]</sup>。LB(Luria-Bertani)培养基(1 000 ml): 蛋白胨 10 g, 酵母粉 5 g, NaCl 5~10 g, 琼脂 20 g, pH7.5<sup>[7]</sup>。利用 NFM 培养基和 LB 培养基按文献<sup>[7]</sup>的方法对根际各部位样品进行固氮菌分离与纯化。制备获得菌株的悬浮液(细胞,  $1 \times 10^8\ ml^{-1}$ ), 取 1 ml 接种于

\* 国际原子能机构(International Atomic Energy Agency, IAEA)项目(CPR/5/014)和中国科学院“百人计划”项目资助

作者简介: 姚 拓(1968~), 男, 博士, 副教授, 主要从事草地保护和草地微生物方面的教学与研究工作。E-mail: gsyatuo@163.com

收稿日期: 2003-05-23; 收到修改稿日期: 2003-11-10

盛有 5 ml 半固体 NFM 培养基的血清瓶中(每菌株 5 个重复), 28 °C 下培养 48 h。将血清瓶铜质盖换成橡胶塞, 并用无菌注射器抽出 10% 的气体, 然后注入 10% C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>, 再在 28 °C 下培养 36 h。用无菌注射器从血清瓶中抽取混合气体 0.2 ml 注入气相色谱仪(Trace GC2000, Chrom-cord, Italy), 用乙炔还原法(Acetylene Reduction Assay, ARA) 确定菌株有无固氮活性<sup>[7]</sup>, 按下式计算固氮酶活性。

$$N = \frac{hxCV}{24.9ht}$$

其中,  $hx$ : 样品峰值;  $hs$ : 标准 C<sub>2</sub>H<sub>4</sub> 峰值;  $C$ : 标准 C<sub>2</sub>H<sub>4</sub> 浓度(nmol ml<sup>-1</sup>);  $V$ : 培养容器体积(ml); 24.9: 常数, 是浓度为  $C$  的标准 C<sub>2</sub>H<sub>4</sub> 在测试时(30 °C) 的体积(ml);  $t$ : 样品培养时间(h);  $N$ : 产生的 C<sub>2</sub>H<sub>4</sub> 浓度(nmol h<sup>-1</sup> ml<sup>-1</sup>)。

## 1.2 固氮菌溶磷性测试

**1.2.1 培养基** 选用 Pikovaskaia's 培养基(1 000 ml): Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> 3.0~5.0 g, 蔗糖 10.0 g, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.5 g, NaCl 0.2 g, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.1 g, KCl 0.2 g, 酵母粉 0.5 g, MnSO<sub>4</sub> 1 ml (4 mg L<sup>-1</sup>), FeSO<sub>4</sub>(Fe·EDTA) 0.1 ml (2 mg L<sup>-1</sup>), 琼脂 15 g, pH7.0 ± 0.2<sup>[7]</sup>。

**1.2.2 溶磷定性判断** 分离到的固氮菌株点接种于盛有 Pikovaskaia's 培养基的培养皿中, 每皿 4 个重复, 每一菌株 4 皿, 置于 28 °C 下培养 10 d。观察所接菌株周围有无透明圈形成及其直径大小, 以判断该菌株有无溶磷性<sup>[7, 8]</sup>。

**1.2.3 溶磷强度测定** 制备上述 1.2.2 测定中形成透明圈菌株的悬浮液(细胞, 1 × 10<sup>8</sup> ml<sup>-1</sup>), 取 1 ml 菌株悬浮液接种于 50 ml 液体培养基中(每一菌株 5 个

重复), 置于轨道摇床上(28 °C, 160 r min<sup>-1</sup>) 培养 10 d 之后在 4 °C 下离心(10 000 r min<sup>-1</sup>) 15 min, 取上清液用钼酸铵比色法测定有效磷(P) 含量<sup>[6]</sup>。对照除不接种菌株外与处理相同。

## 1.3 固氮菌分泌植物生长素(IAA) 性能测定

将 1 ml 菌株悬浮液(细胞, 1 × 10<sup>8</sup> ml<sup>-1</sup>) 接种于含有 1 g L<sup>-1</sup> NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> 和 100 mg L<sup>-1</sup> 色氨酸的 NFM (不含 Bromothymol Blue 和 Biotine) 液体培养基中(50 ml, 每一菌株 5 个重复), 置于 28 °C 摇床培养 12 d。菌株培养液经低温离心后, 取其上清液置于冰冻干燥仪中浓缩, 并用 1 mol L<sup>-1</sup> HCl 调 pH 值至 2.8。用乙酸乙酯提取 IAA ( $V_{\text{菌株培养液}}: V_{\text{乙酸乙酯}} = 1: 3$ )。提取液在低温下蒸发至干燥, 再用 1.5 ml 100% 乙醇溶解后盛在 2 ml 离心管中。对照除不接种菌株外与处理相同。同时配制 50 μg ml<sup>-1</sup> 的 IAA 标准液。利用高效液相色谱仪(HPLC) 按文献<sup>[9]</sup> 方法和步骤测定 IAA 含量。

## 2 结果与讨论

### 2.1 固氮菌及其固氮酶活性

通过对小麦根际各部位样品进行分离, 获得固氮菌株 12 株, 经鉴定分属 *Pseudomonas* (4 株)、*Azospirillum* (4 株)、*Azotobacter* (2 株)、*Zoogloea* (1 株) 和 *Alcaligenes* (1 株) (另文, 待发表)。固氮酶活性测定结果(表 1) 表明: 各菌株固氮酶活性相差较大, 产生的 C<sub>2</sub>H<sub>4</sub> 在 124.6~651.6 nmol h<sup>-1</sup> ml<sup>-1</sup> 之间; 固氮酶活性较高的菌株较少, C<sub>2</sub>H<sub>4</sub> 大于 500 nmol h<sup>-1</sup> ml<sup>-1</sup> 只有 4 株, 即 *Pseudomonas* sp. ChW1、*Azotobacter* sp. ChW5、*Zoogloea* sp. ChW6 和 *Azotobacter chroococcum* ChW11。

表 1 小麦根际联合固氮菌的固氮酶活性

Table 1 Nitrogenase activity of the associative symbiotic nitrogen bacterial strains isolated from wheat

菌株 Strains	来源 Source <sup>1)</sup>	固氮酶活性 Nitrogenase activity(C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> , nmol h <sup>-1</sup> ml <sup>-1</sup> )
<i>Pseudomonas</i> sp. ChW1	NRS, RS, RP	505.9
<i>Pseudomonas</i> sp. ChW2	NRS, RP	259.9
<i>Pseudomonas</i> sp. ChW3	RS, RP	391.1
<i>Alcaligenes faecalis</i> ChW4	NRS, RS, RP	141.8
<i>Azotobacter</i> sp. ChW5	NRS, RS	510.2
<i>Zoogloea</i> sp. ChW6	RS, RP	651.6
<i>Pseudomonas</i> sp. ChW8	NRS	124.6
<i>Azotobacter chroococcum</i> ChW11	RP, HP	557.5
<i>Azospirillum lipferum</i> ChW12	RP, HP	207.9
<i>Azospirillum brasilense</i> ChW13	RS, RP	168.7
<i>Azospirillum</i> sp. ChW14	RP	194.3
<i>Azospirillum</i> sp. ChW15	HP	176.5

1) NRS: 距根系较远土壤 Soil away from roots; RS: 根表土壤 Soil adhering to roots; RP: 根系表面 Rhizoplane or surface of roots; HP: 根内 Histoplane or interior of roots

目前有关禾本科植物根际联合固氮菌的固氮酶活性研究报道较多,但其结果相差较大。如,尤崇杓等<sup>[10]</sup>从水稻(*Oryza sativa*)根际分离获得的粪产碱菌(*Alcaligenes faecalis*) A-15和阴沟肠杆菌(*Enterobacteria cloacae*) E-26固氮酶活性分别为  $C_2H_4$  500~700  $nmol h^{-1} ml^{-1}$ 和 200~300  $nmol h^{-1} ml^{-1}$ ;曾宽容等<sup>[11]</sup>从水稻根表分离获得的 *Azospirillum brasiliense* R38菌株固氮酶活性为  $C_2H_4$  429.02  $nmol h^{-1} ml^{-1}$ ;杨海莲等<sup>[12]</sup>从水稻“越富”(水稻的一个品种名称)种子、根、茎和叶部分离获得的29株内生固氮菌固氮酶活性在  $C_2H_4$  2.31~289.48  $nmol h^{-1} ml^{-1}$ 。出现这种现象的主要原因是固氮酶活性受到植物种类、

土壤类型、C/N比、温度、湿度和氧气分压等多种因素的影响<sup>[13]</sup>。

## 2.2 菌株溶磷性

对分离获得的12株固氮菌株进行溶磷性测试发现,菌株 *Pseudomonas* sp. ChW1和 *Zoogloea* sp. ChW6在Pikovaskaia's培养基上形成透明圈,说明这些菌株可能分泌一些酸性物质向周围扩散,使菌落周围的磷酸盐溶解<sup>[7,8]</sup>。亦即 *Pseudomonas* sp. ChW1和 *Zoogloea* sp. ChW6具有溶磷性。进一步测定透明圈直径和溶磷强度显示,菌株 *Pseudomonas* sp. ChW1和 *Zoogloea* sp. ChW6分解磷酸盐能力差异较大,前者较后者强(表2)。

表2 溶磷菌株在Pikovaskaia's培养基上透明圈直径大小和溶磷强度

Table 2 Zone size and P dissolution produced by phosphobacteria on Pikovaskaia's medium

菌株 Strains	菌落直径 <i>d</i> Colony diameter (mm)	(菌落+透明圈)直径 <i>D</i> (Colony+Zone) diameter (mm)	<i>D/d</i>	溶磷(P)量 P dissolution ( $\mu g ml^{-1}$ )
<i>Pseudomonas</i> sp. ChW1	1.8	5.4	3.0	16.30
<i>Zoogloea</i> sp. ChW6	2.0	3.0	1.5	9.82
对照 CK	—	—	—	0

小麦根际溶磷菌研究报道也较多。Elliott等<sup>[14]</sup>报道春小麦根际溶磷细菌主要是 *Bacillus* 和 *Pseudomonas* 属;Sundarad等<sup>[15]</sup>发现小麦根际溶磷菌主要为 *Bacillus* 属和 *Escherichia* 属;尹瑞龄<sup>[16]</sup>研究表明我国旱地主要土壤溶磷菌种群为 *Bacillus*、*Alcaligenes*、*Pseudomonas* 和 *Azotobacter* 等,并测定了从土壤中分离出的265株细菌溶解摩洛哥磷矿粉能力平均为 2~30  $mg g^{-1}$ 。本研究从兰州盐碱地小麦根际分离获得固氮菌中具有溶磷特性的菌株为 *Pseudomonas* sp. ChW1和 *Zoogloea* sp. ChW6,其溶磷能力分别为 16.30  $\mu g ml^{-1}$ 和 9.82  $\mu g ml^{-1}$ ,未分离到 *Bacillus* 属

和 *Escherichia* 属等,这可能与特定环境中土壤、植物材料及选用培养基种类等有关。因为溶磷菌在土壤中的种类和数量受土壤物理结构、有机质含量、土壤类型、土壤肥力、耕作方式和措施等因素的影响<sup>[17]</sup>。

## 2.3 菌株分泌植物生长激素(IAA)特性

对分离获得的12株固氮菌株分泌植物生长激素(IAA)特性进行测定,结果显示:9株菌株可分泌IAA(表3),但分泌IAA的浓度相差较大,在 1.40~15.13  $\mu g ml^{-1}$ 之间,浓度大于 10  $\mu g ml^{-1}$ 的菌株只有2株,即 *Azotobacter* sp. ChW5和 *Azospirillum* sp. ChW15,分别为 13.91  $\mu g ml^{-1}$ 和 15.13  $\mu g ml^{-1}$ 。

表3 小麦根际联合固氮菌株分泌 IAA 浓度

Table 3 Concentration of IAA in exudates of the associative symbiotic nitrogen bacterial strains isolated from wheat

菌株 Strains	IAA( $\mu g ml^{-1}$ )	菌株 Strains	IAA( $\mu g ml^{-1}$ )
<i>Pseudomonas</i> sp. ChW1	4.57	<i>Zoogloea</i> sp. ChW6	5.74
<i>Pseudomonas</i> sp. ChW2	3.27	<i>Azospirillum lipferum</i> ChW12	6.52
<i>Pseudomonas</i> sp. ChW3	2.55	<i>Azospirillum</i> sp. ChW14	1.40
<i>Alcaligenes faecalis</i> ChW4	2.29	<i>Azospirillum</i> sp. ChW15	15.13
<i>Azotobacter</i> sp. ChW5	13.91		

固氮菌株分泌植物生长素研究也有报道, 但结果相差较大。Malik 等<sup>[4]</sup>用比色法测定了巴基斯坦盐碱地小麦等植物根际固氮菌株分泌 IAA 能力, 发现 19 株菌株中 9 株分泌 IAA, 其大小在 5.11~35.70  $\mu\text{g ml}^{-1}$ ; Ruasul 等<sup>[9]</sup>用高效液相色谱仪对分离自水稻、Kallar 草和小麦根际的 13 株固氮菌株进行测定, 发现除 3 株外, 其余菌株均可分泌 IAA, 其大小在 1~22  $\mu\text{g ml}^{-1}$ 。出现这种现象的原因可能与菌株种类、菌龄、培养条件等因素有关<sup>[9]</sup>。

本研究从盐碱地小麦根际分离获得了具有联合固氮作用的菌株, 其中一些菌株还具有溶磷和分泌植物生长素特性, 这些菌株是宝贵的微生物资源。但禾本科植物根际固氮菌大多数聚集在根表, 未能形成类似根瘤的保护结构, 受根际土壤微环境影响较大<sup>[13]</sup>。同时, 菌株的溶磷性、分泌植物生长素等特性与其生理和生态特性有密切关系, 因此, 对本研究分离获得的菌株生理特性和生态适应性等方面尚需进一步研究。

### 3 结 论

兰州地区盐碱地小麦根际存在联合固氮菌株, 但固氮酶活性差异较大, 具有较高固氮酶活性的菌株较少, 只有菌株 *Pseudomonas* sp. ChW1、*Azotobacter* sp. ChW5、*Zoogloea* sp. ChW6 和 *Azotobacter chroococcum* ChW11 的固氮酶活性  $\text{C}_2\text{H}_4$  大于 500  $\text{nmol h}^{-1} \text{ml}^{-1}$ 。

在分离获得的 12 株固氮菌中, 只有 *Pseudomonas* sp. ChW1 和 *Zoogloea* sp. ChW6 具有溶磷性, 其溶磷强度分别为 16.30  $\mu\text{g ml}^{-1}$  和 9.82  $\mu\text{g ml}^{-1}$ 。

在分离获得的 12 株固氮菌中, 有 9 株可分泌 IAA, 但分泌 IAA 的浓度相对较低, 只有 *Azotobacter* sp. ChW5 和 *Azospirillum* sp. ChW15 分泌 IAA 的浓度大于 10  $\mu\text{g ml}^{-1}$ , 分别为 13.91  $\mu\text{g ml}^{-1}$  和 15.13  $\mu\text{g ml}^{-1}$ 。

从菌株固氮酶活性、溶磷性和分泌植物生长素特性看, 菌株 *Pseudomonas* sp. ChW1、*Azotobacter* sp. ChW5、*Zoogloea* sp. ChW6、*Azotobacter chroococcum* ChW11 和 *Azospirillum* sp. ChW15 等在研制小麦菌肥方面具有较大的开发潜力。

### 参 考 文 献

[1] 林敏, 尤崇杓. 根际联合固氮作用的研究进展. 植物生理通讯, 1992, 28(5): 323~329. Lin M, You C B. Advance in the study on the mechanism of associative nitrogen fixation in rhizosphere (In Chinese). Plant Physiology Communications, 1992, 28(5): 323~329

[2] 姚拓. 促进植物生长菌的研究进展. 草原与草坪, 2002, (4): 3~5. Yao T. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) and its research prospect (In Chinese). Grassland and Turf, 2002, (4): 3~5

[3] Hassan U, Mirza M S, Mehrzad S, et al. Isolation and identification of diazotrophic bacteria from rice, wheat, and kallar grass. In: Malik K A, et al. eds. Proceedings of the 7th Int. Symposium on Nitrogen Fixation with Non-legumes. The Netherlands: Kluwer Publishers, 1998. 197~205

[4] Malik K A, Rasul G, Hassan U, et al. Role of  $\text{N}_2$  fixing and growth hormones producing bacteria in improving growth of wheat and rice. In: Hegazi N A, et al. eds. Proceedings of 6th Int. Symposium on Nitrogen Fixation with Non-legumes. Egypt: Ismailia, 1994. 409~422

[5] Hafeez F Y. 生物肥料在农业可持续发展中的应用前景. 草原与草坪, 2003, (2): 10~13, 18. Hafeez F Y. Biofertilizers for sustainable agriculture (In Chinese). Grassland and Turf, 2003, (2): 10~13, 18

[6] 许光辉, 郑洪元主编. 土壤微生物分析方法手册. 北京: 农业出版社, 1986. 246~248. Xu G H, Zheng H Y. eds. Manual on Analysis Methods of Soil Microbiology (In Chinese). Beijing: Agricultural Press, 1986. 246~248

[7] Hafeez F Y, Malik K A. Manual on Biofertilizer Technology. Pakistan: NIBGE, 2000

[8] 林启美, 赵小蓉, 孙焱鑫, 等. 四种不同生态系统的土壤解磷细菌数量及种群分布. 土壤与环境, 2000, 9(1): 34~37. Lin Q M, Zhao X R, Sun Y X, et al. Community characters of soil phosphobacteria in four ecosystems (In Chinese). Soil and Environment Sciences, 2000, 9(1): 34~37

[9] Rasul G, Mirza M S, Latif F, et al. Identification of plant growth hormones produced by bacterial isolates from rice, wheat and kallar grass. In: Malik K A, et al. eds. Proceedings of the 7th Int. Symposium on Nitrogen Fixation with Non-legumes. The Netherlands: Kluwer Publishers, 1998. 25~37

[10] 尤崇杓, 丘元盛. 粪产碱菌与水稻幼苗的联合固氮作用. 中国农业科学, 1982, (6): 1~5. You C B, Qiu Y S. Nitrogen fixation of *Alcaligenes faecalis* in association with rice seedling (In Chinese). Scientia Agricultura Sinica, 1982, (6): 1~5

[11] 曾宽容, 吴杰, 王子芳. 水稻根表固氮螺菌的鉴定. 微生物学通报, 1987, 14(6): 244~246. Zeng K R, Wu J, Wang Z F. Identification of *Azospirillum* sp. on rhizosphere of rice (In Chinese). Microbiology, 1987, 14(6): 244~246

[12] 杨海莲, 孙晓璐, 宋未, 等. 水稻内生联合固氮细菌的筛选、鉴定及其分布特性. 植物学报, 1999, 41(9): 927~931. Yang H L, Sun X L, Song W, et al. Screening, identification and distribution of endophytic associative diazotrophs isolated from rice plants (In Chinese). Acta Botanical Sinica, 1999, 41(9): 927~931

[13] 王子芳. 细菌-植物联合固氮研究进展. 微生物学通报, 1982, 9(4): 176~181. Wang Z F. Associated nitrogen fixation of bacteria-plants (In Chinese). Microbiology, 1982, 9(4): 176~181

[14] Elliott J M, Mathre D E, Sands D C. Identification and characterization of rhizosphere-competent bacteria of wheat. Appl. Environ. Microbiol., 1987, 53: 2793~2799

- [15] Sundarad W V, Rao B, Sinha M K. Phosphate dissolving microorganism in the rhizosphere and Soil. India J. Agric. Sci., 1963, 33(4): 272~ 278
- [16] 尹瑞龄. 我国旱地土壤的溶磷微生物. 土壤, 1988, 20(5): 243~ 246. Yin R L. Study on the phosphate-dissolving microbes in upland soils of china (In Chinese). Soils, 1988, 20(5): 243~ 246
- [17] Kobus J. The distribution of microorganisms mobilizing phosphorus in different soil. Acta Microbiologic Polemica, 1962, 11: 255~ 264

## ISOLATION AND CHARACTERISTICS OF ASSOCIATIVE SYMBIOTIC NITROGEN BACTERIA FROM RHIZOSPHERE OF WHEAT IN SALINE SOIL IN LANZHOU AREA

Yao Tuo<sup>1,2</sup> Long Ruijun<sup>2,3</sup> Wang Gang<sup>1</sup> Hu Zizhi<sup>2</sup>

(1 State Key Laboratory of Arid Agroecology, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China)

(2 Pratacultural College, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China)

(3 Northwest Plateau Biology Institute, Chinese Academy of Sciences, Xining 810008, China)

**Abstract** Studies on isolation and characteristics of nitrogenase activity, phosphate solubilizing power and auxin (IAA) producing of associative symbiotic nitrogen bacteria (ASNB) from wheat rhizosphere in saline soil were carried out in Lanzhou area, Northwest China. The results show there are 12 ASNB strains obtained; Nitrogenase activities of the strains vary distinctly ( $C_2H_4$ , 124.6~ 651.6  $nmol\ h^{-1}\ mL^{-1}$ ); Among the strains, two show phosphate solubilizing power with capacity reaching 16.30  $\mu g\ mL^{-1}$  and 9.82  $\mu g\ mL^{-1}$ , respectively; nine show ability to produce auxin (IAA) although the ability varies with the strains (IAA concentration 1.40~ 15.13  $\mu g\ mL^{-1}$ ). In the view of nitrogenase activity, phosphorus solubilizing power and IAA producing, *Pseudomonas* sp. ChW1, *Azotobacter* sp. ChW5, *Zoogloea* sp. ChW6 *Azotobacter chroococcum* ChW11 and *Azospirillum* sp. ChW15 show higher potential as biofertilizer inoculums for wheat in the area.

**Key words** Saline soil; Wheat; Associative symbiotic nitrogen bacteria; Nitrogenase activity; Phosphate solubilizing power; Auxin (IAA) producing