

研究报告

三种荒漠灌木根际可培养固氮细菌类群及其固氮和产铁载体能力

杨鸿儒¹ 袁博² 赵霞¹ 高敏¹ 杨彬彬¹ 李衡¹ 孟建宇¹ 冯福应^{1*}

(1. 内蒙古农业大学生命科学学院 应用与环境微生物研究所 内蒙古 呼和浩特 010018)

(2. 内蒙古师范大学生命科学学院 内蒙古 呼和浩特 010018)

摘 要:【目的】揭示西鄂尔多斯荒漠孑遗灌木四合木(*Tetraena mongolica*)、沙冬青(*Ammopiptanthus mongolicus*)、白刺(*Nitraria tangutorum*)根际可培养固氮细菌类群,分析固氮酶活性和产铁载体能力,以期认识和利用荒漠植物根际促生细菌提供依据。【方法】以 Ashby 无氮培养基、采用涂布划线法分离纯化根际固氮细菌;基于 16S rRNA 基因分析类群组成;以乙炔还原方法测定固氮酶活性;以铬天青 S 蓝色平板定性筛选产铁载体菌株,以分光光度计法定量产铁载体能力。【结果】共分离出固氮细菌 22 株,分别属于 3 个门与 9 个属,其中变形菌门(Proteobacteria, 82%)为绝对优势门,假单胞菌属(*Pseudomonas*, 27.27%)为优势属;*Rhizobium* 和 *Bacillus* 分别是沙冬青和四合木的独有属,而白刺独有属有 *Enterobacter*、*Stenotrophomonas* 和 *Paenibacillus*;10 株在无氮培养基上生长迅速,它们的固氮酶活性在 871.71–3 383.09 nmol C₂H₄/(H·Culture)之间,并且其中有 7 株具有产铁载体能力,其产铁载体的 A_s/A_r 值范围为 0.35–0.79。【结论】鄂尔多斯荒漠珍稀孑遗灌木植物根际固氮细菌类群多样,植物间差异明显,包含多种高固氮酶活性和产铁载体能力的固氮细菌,可作为植物生长促进根际细菌的重要来源。

关键词: 固氮细菌, 乙炔还原法, 产铁载体能力

Foundation item: Program for Young Talents of Science and Technology in Universities of Inner Mongolia Autonomous Region (No. NJYT-14-A05); Natural Science Foundation of Inner Mongolia Autonomous Region of China (No. 2015MS0035); Scientific and Technological Transformative Project of Inner Mongolia Agricultural University (No. CGZH2014007); Project for Collaborative Innovation Team of Teachers and Students of Life Science School, Inner Mongolia Agricultural University (No. SKYXT201403)

***Corresponding author:** Tel: 86-471-4309240; E-mail: foyefeng@hotmail.com

Received: November 23, 2015; **Accepted:** January 03, 2016; **Published online** (www.cnki.net): January 21, 2016

基金项目: 内蒙古自治区高等学校“青年科技英才支持计划”(No. NJYT-14-A05); 内蒙古自治区自然科学基金项目(No. 2015MS0035); 内蒙古农业大学科技成果转化启动资金项目(No. CGZH2014007); 内蒙古农业大学生命科学学院师生协同创新团队项目(No. SKYXT201403)

***通讯作者:** Tel: 86-471-4309240; E-mail: foyefeng@hotmail.com

收稿日期: 2015-11-23; **接受日期:** 2016-01-03; **优先数字出版日期**(www.cnki.net): 2016-01-21

Cultivable diazotrophic community in the rhizosphere of three desert shrubs and their nitrogen-fixation and siderophore-producing capabilities

YANG Hong-Ru¹ YUAN Bo² ZHAO Xia¹ GAO Min¹ YANG Shan-Shan¹ LI Heng¹
MENG Jian-Yu¹ FENG Fu-Ying^{1*}

(1. Institute for Applied & Environmental Microbiology, College of Life Sciences, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot, Inner Mongolia 010018, China)

(2. College of Life Sciences, Inner Mongolia Normal University, Hohhot, Inner Mongolia 010018, China)

Abstract: [Objective] To reveal the cultivable diazotrophic communities in the rhizosphere of three relict shrubs of *Tetraena mongolica*, *Ammopiptanthus mongolicus* and *Nitraria tangutorum* in Western Ordos and the bacterial capabilities for nitrogen-fixation and siderophore-producing, and finally to provide basis for understanding and utilizing the desert plant growth-promoting rhizobacteria. [Methods] Using Ashby medium nitrogen-free, the nitrogen-fixation bacteria strains were isolated and purified by the plate spread and streak technique; 16S rRNA gene was applied to classify the isolates and reveal the community composition. The nitrogenase activities of rapid-growing strains were analyzed through acetylene reduction assay. To screen siderophore-producing strains and their capability of siderophore production, chrome azurol S (CAS) blue plate and spectrophotometer were used for qualitative screening the strains and quantitative determination of their products, respectively. [Results] A total of 22 rhizospheric diazotrophs were isolated and classified into 3 phyla and 9 genera and they were predominated by the phylum Proteobacteria (82%) and the genus *Pseudomonas* (27.27%). The genus *Rhizobium* and *Bacillus* was solely found associated with *Ammopiptanthus mongolicus* and *Tetraena mongolica* respectively, whereas *Enterobacter*, *Stenotrophomonas* and *Paenibacillus* only with *Nitraria tangutorum*. Ten strains could rapidly grow on the nitrogen-free medium and they possessed nitrogenase activity in the range of 871.71 to 3 383.09 nmol C₂H₄/(H·Culture). Seven of the 10 strains could produce siderophore and the producing capability (A_s/A_r value) was ranged from 0.35 to 0.79. [Conclusion] The cultivable rhizospheric diazotroph in the rhizosphere soil of the relict shrubs in Ordos desert was highly diverse and markedly different between the shrubs. Most of these diazotrophs have both high nitrogen-fixation and siderophore-producing capability. Thus, they could be useful as plant growth-promoting rhizobacteria.

Keywords: Diazotrophs, Acetylene reduction assay, Siderophore producing ability

根际(Rhizosphere)是根与土界面间很薄(不足1 mm到几毫米范围)的、受根系统影响极大的微区土壤^[1]。与临近的大量土壤相比,这个区域因植物渗出、分泌和根际分解作用而含多种多样的有机物质,营养丰富。这些有机物质可作为碳源和能源被细菌利用,使根际中微生物的活动非常活跃。根际也成为了与根有关细菌(常称为根际细菌)的“大本营”。在这些微生物中,对植物起积极影响和作用的为植物根际促生微生物(Plant growth-promoting rhizobacteria, PGPR)^[2]。PGPR

通过直接或间接的作用而促进植物的生长,其中固氮和产铁载体是 PGPR 重要的直接促生机制^[2]。

干旱、半干旱荒漠区面积约占全球陆地面积的 30%,而灌木是这些地区的主要植被组成部分,它们在改善气候、防风固沙和水土保持等方面发挥着不可替代的生态功能^[3]。而在这些环境中,土壤 N 和 Fe 等含量低常是旱生灌木生长的重要限制性因子^[4]。具有产铁载体能力的固氮细菌可能对这些环境中的灌木生长有积极作用、对荒漠化生态系统的恢复和保护有重要的意义。

西鄂尔多斯为内蒙古西部荒漠化草原-草原化荒漠的生态环境脆弱带。该地区自然条件恶劣、土壤贫瘠,植被以多年生旱生灌木和小灌木为主,其中有四合木(*Tetraena mongolica*)、沙冬青(*Ammopiptanthus mongolicus*)和白刺(*Nitraria tangutorum*),它们为强旱生、古老孑遗植物^[5]。由于该区处于荒漠地带,区域生态环境逐渐恶化,珍稀植物退化和减少,生物多样性和农牧业生产受到严重威胁^[6]。植物种类是根际微生物群落结构的决定性影响因素之一^[7]。四合木、沙冬青和白刺对干旱贫瘠的荒漠土壤环境有很好的适应性,或许其根际存在适应干旱荒漠环境、固氮能力较强的 PGPR。但目前尚缺乏对西鄂尔多斯孑遗灌木植物根际固氮细菌的相关研究。

因此,本研究从西鄂尔多斯荒漠3种超旱生灌木植物的根际土壤中分离筛选固氮细菌,测定其固氮酶活性和产铁载体能力,以期认识荒漠灌木根际固氮细菌多样性及其植物促生能力、理解荒漠植物对极端生境的适应机制、荒漠生态系统植被恢复与重建以及孑遗等灌木的有效保护提供理论依据和实践基础。

1 材料与方法

1.1 根际土的采集与处理

利用5点法于2014年9月中旬在西鄂尔多斯荒漠进行植物根际土采样,采集该地区3种子遗灌木(四合木、沙冬青、白刺)根际土:首先将该区中等级大小的植株根部大块土壤抖落,用无菌刷将附着在根表面的土壤刷下,放置于无菌塑料袋中,然后混合均匀,4℃保存,运回实验室,并在24 h内用于细菌分离。

1.2 根际微生物的分离和培养

称取0.5 g根际土样放于49.5 mL无菌水中,150 r/min振荡30 min,吸取上清进行梯度稀释。取稀释度为 10^{-4} 、 10^{-5} 、 10^{-6} 的土壤悬浮液100 μL,分别涂布到无氮的固体Ashby培养基^[8],28℃培养4 d,挑选比较大、黏稠的菌落接种到无氮培养基上进行纯化,然后保存至斜面LB培养基^[9]、置于4℃作菌种短期保存之用。

1.3 固氮酶活性的测定

用乙炔还原法对所分离的细菌进行固氮酶活性测定。挑取LB斜面培养基上的单菌落接种到Ashby固体培养基,置于28℃下进行活化培养;选择生长迅速(活化培养24 h菌落直径即可达到1 mm及以上)的菌株,分别挑取其不同菌株间菌落大小相近的单菌落、接种于体积为10 mL装有4.5 mL液体Ashby培养基的西林瓶中。在30℃、120 r/min培养24 h后,在无菌条件下(超净工作台)将棉塞换成橡胶塞子,抽出10%的空气后注入10%的高纯乙炔。继续在同等条件下培养24 h后,用气相色谱仪(岛津LC-20)测定乙烯的生成量,以ARA(Acetylene reduction activity)来反应固氮酶活性的大小,其单位为nmol C₂H₄/(H·Culture)。每个菌株样品重复3次。按照文献^[10]来计算ARA的大小。

$$ARA \text{ (nmol C}_2\text{H}_4\text{/(H·Culture))} = \frac{V_{st} \times C_{st} \times A_{sa} \times V_{tu} / V_{sa} / A_{st} / H}{22.4 \times 10^6}$$

其中 V_{st} 为标准乙烯进样体积, C_{st} 标准乙烯浓度, A_{sa} 为乙烯峰面积, V_{tu} 为西林瓶体积, V_{sa} 表示样品进样体积, A_{st} 表示标准乙烯峰面积, H 表示培养时间。

1.4 产铁载体固氮细菌的筛选和能力分析

对生长迅速、固氮能力较高的菌株进行产铁载体能力的测试和分析。从LB斜面培养基上挑取单菌落接种到CAS检测平板^[11],对是否具有产铁载体能力的根际固氮细菌进行定性初筛,对晕圈直径(D)及菌落直径(d)进行测定并计算其比值,之后对筛选到的可产铁载体的菌株进行产铁载体能力的定量测定。定量测定方法参考Payne^[12]所述方法进行:将初筛得到的功能菌株接种到MSA^[13]液体培养基中,28℃、150 r/min培养48 h。将菌悬液6 000 r/min离心10 min,取上清液1.5 mL加入1.5 mL CAS检测液,充分混匀,于25℃下静置1 h,测定630 nm波长处的吸光值(A_s),并取双蒸水作对照调零。另取1.5 mL CAS检测液与1.5 mL未接种的MSA液体培养基上清液充分混匀,同上

测定吸光值即为参比值(A_r)。按照 Payne^[12]对铁载体活性单位 SU 进行定义, 依据计算结果对细菌产铁载体能力进行划分, A_s/A_r 从 1.0–0 之间以 0.2 为间隔, 每减小 0.2 增加一个+, 一般产铁载体能力较高(+++)的细菌其 A_s/A_r 低于 0.5^[14]。

1.5 基因扩增、序列同源性与系统发育分析

16S rRNA 基因扩增引物为细菌通用引物 27F 和 1492R, 扩增条件和体系组成参考 Lane 进行^[15]。nifH 基因扩增引物、扩增条件和体系则参考 Diallo 等^[16]。扩增中使用大连宝生物 rTaq 酶及其缓冲体系。PCR 产物送生工生物工程(上海)股份有限公司测序。

测序所得 16S rRNA 基因序列以在线 EzTaxon (<http://www.ezbiocloud.net/eztaxon>)进行菌株分类地位的初步确定, 寻找相似性最高的模式种序列作为系统发育分析的参比序列; 然后用 MEGA 6.0 软件中的 Muscle 模块以默认参数进行多重序列比对, 基于 Maximum Composite Likelihood 模型, 用 Neighbor-Joining 法构建系统发育进化树分析发育地位, 重复验证数为 1 000。

2 结果与分析

2.1 灌木根际固氮细菌的分离及类群分析

采集了西鄂尔多斯荒漠 3 种子遗灌木的根际土

壤, 从中分离获得能在 Ashby 培养基上生长的细菌分离物共计 22 株。其中, 来自沙冬青的 9 株、四合木的 7 株、白刺的 6 株。EzTaxon 分析表明, 此 22 株细菌的 16S rRNA 基因序列分别与现有相关模式菌株的相似性为 98.64%–100%。固氮细菌分类类群组成(表 1)和系统发育分析(图 1)表明, 此 22 株固氮细菌分属于厚壁菌门(Firmicutes, 9%)、放线菌门(Actinobacteria, 9%)和变形菌门(Proteobacteria, 82%); 其中包括 α -和 γ -变形菌亚纲, 它们分别占 45.5%和 36.4%; 在属的分类水平上, 分属于 9 个属, 其中 *Pseudomonas* 为优势属(27.27%)、其次为 *Ensifer* 和 *Ochrobactrum* 属(均分别占总菌数的 18.18%); 而在种的分类水平上, 分属于 12 个种, 其中 *Pseudomonas hibiscicola* (27.27%)和 *Ensifer melioli* (18.18%)为优势种。而不同灌木间, 所分离得到的固氮细菌类群组成差异明显。例如, 四合木的优势菌属为 *Ensifer*, 比例高达 42.85%; 而在沙冬青和白刺根际土壤中的优势属均为 *Pseudomonas* (均各占 33.33%); *Pseudomonas* 和 *Ochrobactrum* 在 3 种灌木的根际土壤中都存在, 而其余的属只发现于一种或两种灌木的根际土壤, 例如 *Ensifer* 未从白刺分离到, 而 *Bacillus* 只在沙冬青中分离到等。

表 1 分离所得固氮细菌属水平的类群组成

Table 1 Generic composition of the isolated nitrogen-fixing bacteria

属名 Generic name	四合木 <i>Tetraena mongolica</i>	沙冬青 <i>Ammopiptanthus mongolicus</i>	白刺 <i>Nitraria tangutorum</i>	占总菌比例 The proportion of the total strains (%)
<i>Ensifer</i>	42.85	11.11	—	18.18
<i>Rhizobium</i>	28.57	—	—	9.09
<i>Ochrobactrum</i>	14.29	22.22	16.67	18.18
<i>Enterobacter</i>	—	—	16.67	4.55
<i>Stenotrophomonas</i>	—	—	16.67	4.55
<i>Pseudomonas</i>	14.29	33.33	33.33	27.27
<i>Paenibacillus</i>	—	—	16.67	4.55
<i>Bacillus</i>	—	11.11	—	4.55
<i>Streptomyce</i>	—	22.22	—	9.09

Note: —: None detected.

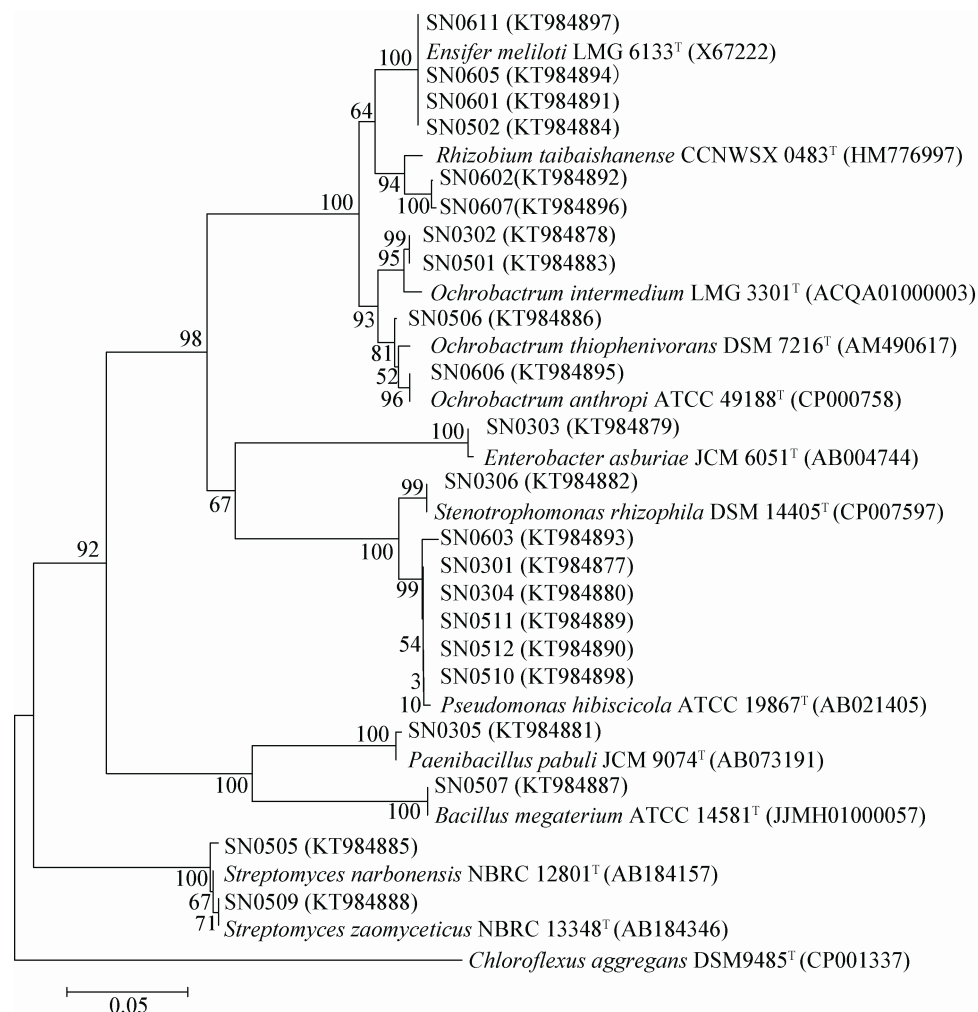


图1 固氮细菌基于 16S rRNA 基因的系统发育进化树

Figure 1 Phylogenetic tree based on 16S rRNA genes

注：括号中的序号代表序列 GenBank 登录号；分支点数字代表步长值；标尺代表序列间分歧度；以绿弯菌 (*Chloroflexus aggregans*) 16S rRNA 基因序列作为外群；菌株编号中的前两位数字 06、05、03 分别代表相应菌株分离自四合木、沙冬青和白刺。

Note: Numbers in parentheses represent the sequences' accession number in GenBank; Numbers at the nodes indicate the bootstrap values on Neighbor-Joining analysis of 1 000 resampled data sets; Bar 0.05 represents sequence divergence; With *Chloroflexus aggregans* 16S rRNA gene sequences as out-group; Strain number in the first two digits of 06, 05, 03 represent the strains isolated from *Tetraena mongolica*, *Ammopiptanthus mongolicus* and *Nitraria tangutorum*, respectively.

2.2 固氮酶活性

研究发现 22 株固氮细菌中有 10 株生长迅速(在 Ashby 无氮培养基上培养 24 h 即可长出肉眼可见、明显的菌落)。它们分离自四合木、沙冬青和白刺的分别有 4、4 和 3 株。以这些菌株的细胞基因组为模板进行固氮酶 *nifH* 基因扩增，均扩增出了预期长度(320 bp)的片段；测序和序列分析表明，这些序列均为 *nifH* 基因，序列已提交 GenBank

(KU314402–KU314411)，进一步说明这些菌株为固氮细菌。对这些固氮菌株的 ARA 测定结果(表 2)分析表明，它们的 ARA 值介于 871.71–3 383.09 nmol C₂H₄/(H·Culture)之间；除分离自沙冬青和白刺的 SN0501 和 SN0305 菌株的固氮酶活性略低[约 1 000 nmol C₂H₄/(H·Culture)]，其余菌相对较高，特别是分离自沙冬青和白刺的 SN0502 和 SN0304 的固氮酶活性高于了 3 000 nmol C₂H₄/(H·Culture)。

表 2 分离菌株固氮酶活性
Table 2 The nitrogenase activity of the isolates

菌株来源 Sampling site	菌株编号 Code of strain	ARA (nmol C ₂ H ₄ /(H·Culture))
四合木	SN0603	2 355.98
<i>Tetraena mongolica</i>	SN0605	2 464.45
	SN0611	2 027.57
沙冬青	SN0501	871.71
<i>Ammopiptanthus mongolicus</i>	SN0502	3 383.09
	SN0510	2 874.27
白刺	SN0302	1 668.21
<i>Nitraria tangutorum</i>	SN0303	2 039.08
	SN0304	3 062.10
	SN0305	1 070.71

2.3 产铁载体能力

生长于固体 CAS 培养基上的细菌分泌铁载体时会在菌落周围形成黄色晕圈, 产生黄色晕圈越大产铁载体能力就越强。定性分析表明, 10 株固氮酶活性较高的菌株中有 7 株的菌落有明显的黄色晕圈; 结合定量测定结果(表 3)的分析表明, 这些菌株 SU 的范围为 23%–64%, A_s/A_r 值范围为 0.35–0.79; 菌株 SN0603 和 SN0302 产铁载体能力较高, 它们的 A_s/A_r 值分别为 0.39 和 0.36。

3 讨论

3.1 根际固氮细菌的类群

生物固氮在陆地生态系统中是一个非常重要的氮输入环节, 它可以长期为植物提供氮营养^[17]。

在营养贫瘠的荒漠土壤中, 灌木根际细菌的生物固氮过程对于土壤氮量的提升起了非常重要的贡献, 这也是灌木在荒漠中常形成“肥岛”的原因之一^[18]。植物种类和土壤性质是决定植物根际细菌菌群结构的重要因素之一^[7], 在干旱半干旱地区可能存在一些固氮能力较高的、有应用潜力的根际固氮细菌类群^[19]。

西鄂尔多斯荒漠年降雨量不足 200 mm、蒸发量却高达 2 500–3 000 mm, 为干旱地区, 子遗灌木四合木、沙冬青和白刺为该地区主要建群植物。本研究发现在这些灌木根际土壤的可培养固氮细菌中, 变形菌门(Proteobacteria)和假单胞菌属(*Pseudomonas*)类群成员的数量居多。而 Kumar 在印度 Haryana 干旱半干旱地区所分离得到的绝对优势门和属分别为 Firmicutes 门(80%)和 *Bacillus* 属。*Bacillus* 在其它干旱和半干旱地区也被发现是优势固氮菌属^[20–22], 与本研究 *Bacillus* 最高只占 11.11% 明显不同。在草地等生态系统中, 植物种类大于土壤对固氮细菌类群结构的影响^[19,23]。我们的研究结果中, 不同灌木根际固氮细菌组成间差异明显, 且明显不同于其它干旱半干旱地区的相关研究结果。这似乎也说明干旱地区灌木根际固氮细菌类群的主要决定因子也为植物种类, 但这尚待进一步以不同土壤培养同一种灌木等研究来验证探讨。

3.2 根际固氮细菌的固氮和产铁载体能力

本研究所分离到的固氮细菌中有 10 株在无氮的 Asbay 培养基上生长较为迅速, 它们的固氮酶活性都比较高、最高可高达 3 000 nmol C₂H₄/(H·Culture)以上, 显著高于从生长于环境良好的作物如水稻^[10]或杉木、杨树^[24]根际分离得到菌株的固氮能力。而 Kumar 等^[19]从干旱和半干旱地区分离得到固氮细菌的固氮酶活性也较高。说明干旱半干旱地区可能是高酶活固氮作用发生的重要场所。

Kloepper 等^[25]很早就推测固氮细菌在根际和根表的优势生长可能与细菌高产铁载体分泌机制有关, 而铁载体的产生对植物生长的良好促进效果

表 3 产铁载体的固氮细菌株
Table 3 Siderophore-producing capabilities of the isolates

菌株来源 Isolating source	测试菌株 Strains	D/d	SU (%)	A_s/A_r	能力等级 Activity level
四合木	SN0603	1.59	61.40	0.39	++++
<i>Tetraena mongolica</i>	SN0605	1.88	27.50	0.72	++
沙冬青	SN0501	1.67	28.30	0.72	++
<i>Ammopiptanthus mongolicus</i>	SN0510	1.42	34.20	0.79	++
白刺	SN0302	1.55	64.50	0.36	++++
<i>Nitraria tangutorum</i>	SN0303	1.24	23.90	0.76	++
	SN0304	1.67	42.00	0.58	+++

已经被许多研究者所证实^[26-27]。产铁载体的菌株也表现出明显的抑制植物病原微生物的效果^[28]。也有研究表明,根际促生菌株只具有某一种生理活性时,对植物生长的促进效果较差或者极不显著。但是,当菌株同时具有两方面或者更多促生活性时,促生效果将很明显^[29]。

本研究中生长迅速、具有高固氮酶活性的菌株中,高达70%的菌株具有产铁载体的能力,其中43%的菌株产铁载体能力较高(级别在+++及以上)。这些结果表明,西鄂尔多斯高原荒漠可成为具有多种植物生长促进能力且能力较高的PGPR菌株的重要来源。

4 结论

鄂尔多斯荒漠子遗灌木植物根际固氮细菌类群多样,有植物差异性,包含多种高固氮酶活性和产铁载体能力的固氮细菌,具有作为良好的植物生长促进接种物的潜力,有望用于荒漠生态系统植被的恢复和重建。

参 考 文 献

- [1] Hartmann A, Rothballer M, Schmid M. Lorenz Hiltner, a pioneer in rhizosphere microbial ecology and soil bacteriology research[J]. Plant and Soil, 2008, 312(1/2): 7-14
- [2] Chauhan H, Bagyaraj DJ, Selvakumar G, et al. Novel plant growth promoting rhizobacteria-prospects and potential[J]. Applied Soil Ecology, 2015, 95: 38-53
- [3] Xu ZJ, Luo M, Wang WX, et al. The molecular diversity of endophytic diazotrophic bacteria from three typical desert shrubs and PCR-RFLP analysis of their nitrogenase gene *nifH*[J]. Journal of Desert Research, 2014, 34(2): 472-480 (in Chinese)
徐正金, 罗明, 王卫霞, 等. 3种典型荒漠灌木内生固氮菌及固氮酶基因 *nifH* 多样性分析[J]. 中国沙漠, 2014, 34(2): 472-480
- [4] Zhan YY, Xue ZY, Ren W, et al. Characteristics of nitrogen content between rhizosphere and bulk soil under seven shrubs in arid desert area of China[J]. Acta Ecologica Sinica, 2009, 9(1): 59-66 (in Chinese)
詹媛媛, 薛梓瑜, 任伟, 等. 干旱荒漠区不同灌木根际与非根际土壤氮素含量特征[J]. 生态学报, 2009, 9(1): 59-66
- [5] Zhang YJ, He YY, Wang SQH. Soil nutrition in rhizosphere of four desert rare shrub species in western Ordos[J]. Bulletin of Soil and Water Conservation, 2012, 32(2): 52-55 (in Chinese)
张颖娟, 贺寅月, 王斯琴花. 西鄂尔多斯4种荒漠珍稀灌木根际土壤养分特征[J]. 水土保持通报, 2012, 32(2): 52-55
- [6] Su JH, Liu FY, Wang L, et al. Conservation on biodiversity in enrichment zone with relict vegetations between farmland and grassland-a case study in Eerduosi[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2006, 25(S): 285-289 (in Chinese)
苏金华, 刘福英, 王璐, 等. 内蒙古西鄂尔多斯子遗植物富集带牧农区生物多样性及其保护途径[J]. 农业环境科学学报, 2006, 25(增刊): 285-289
- [7] Garbeva P, van Elsas JD, van Veen JA. Rhizosphere microbial community and its response to plant species and soil history[J]. Plant and Soil, 2008, 302(1/2): 19-32
- [8] Sen M, Sen SP. Interspecific transformation in *Azotobacter*[J]. Journal of General Microbiology, 1965, 41(1): 1-6
- [9] Xi LQ, Yao T, Yang JJ, et al. Property of associative nitrogen-fixing bacteria producing IAA and its promoting growth of oat[J]. Grassland and Turf, 2005(4): 25-29 (in Chinese)
席琳乔, 姚拓, 杨俊基, 等. 联合固氮菌株分泌能力及其对燕麦的促生效应测定[J]. 草原与草坪, 2005(4): 25-29
- [10] Xie GH, Cai MY, Tao GC, et al. Cultivable heterotrophic N₂-fixing bacterial diversity in rice fields in the Yangtze River plain[J]. Biology and Fertility Soils, 2003, 37(1): 29-38
- [11] Loudon BC, Haarmann D, Lynne AM. Use of blue agar CAS assay for siderophore detection[J]. Journal of Microbiology & Biology Education, 2011, 12(1): 51-53
- [12] Payne SM. Detection, isolation, and characterization of siderophores[J]. Methods in Enzymology, 1994, 235: 329-344
- [13] Chen SX, Zhao X, Shen P, et al. High-sensitive detection method for siderophores from *Pseudomonas*[J]. Microbiology China, 2006, 33(3): 122-127 (in Chinese)
陈绍兴, 赵翔, 沈萍, 等. 高灵敏假单胞菌铁载体的平板检测方法[J]. 微生物学通报, 2006, 33(3): 122-127
- [14] Persmark M, Expert D, Neillands JB. Isolation, characterization, and synthesis of chrysobactin, a compound with siderophore activity from *Erwinia chrysanthemi*[J]. The Journal of Biological Chemistry, 1989, 264(6): 3187-3193
- [15] Lane DJ. 16S/23S rRNA sequencing[A]//Stackebrandt E, Goodfellow M. Nucleic Acid Techniques in Bacterial Systematics[M]. New York: John Wiley & Sons, 1991: 115-175
- [16] Diallo MD, Willems A, Vloeberghs N, et al. Polymerase chain reaction denaturing gradient gel electrophoresis analysis of the N₂-fixing bacterial diversity in soil under *Acacia tortilis* ssp. *Raddiana* and *Balanites aegyptiaca* in the dryland part of Senegal[J]. Environmental Microbiology, 2004, 6(4): 400-415
- [17] Tai XS, Mao WL, Liu GX, et al. High diversity of nitrogen-fixing bacteria in the upper reaches of the Heihe River, northwestern China[J]. Biogeosciences, 2013, 10(8): 5589-5600
- [18] Schlesinger WH, Pilmanis AM. Plant-soil interactions in deserts[J]. Biogeochemistry, 1998, 42(1/2): 169-187
- [19] Kumar V, Kayasth M, Chaudhary V, et al. Diversity of diazotrophs in arid and semi-arid regions of Haryana and evaluation of their plant growth promoting potential on Bt-cotton and pearl millet[J]. Annals of Microbiology, 2014, 64(3): 1301-1313
- [20] Köberl M, Müller H, Ramadan EM, et al. Desert farming benefits from microbial potential in arid soils and promotes diversity and plant health[J]. PLoS One, 2011, 6(9): e24452
- [21] Minaxi NL, Yadav RC, Saxena J. Characterization of multifaceted *Bacillus* sp. RM-2 for its use as plant growth promoting bioinoculant for crops grown in semi arid deserts[J]. Applied Soil Ecology, 2012, 59: 124-135
- [22] Gong RH. Diversity of plant growth promoting bacteria related with primary plant dominant species in the desert steppe of Siziwang banner[D]. Hohhot: Master's Thesis of Inner Mongolia Agriculture University, 2014 (in Chinese)
巩瑞红. 四子王旗荒漠草原主要植物优势种的促生细菌多样性[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学硕士学位论文, 2014
- [23] Bhattacharyya PN, Jha DK. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2012, 28(4): 1327-1350
- [24] Zhou GY, Tang DW, Chen X, et al. Studies of the associative diazotrophs from woody plants: segregation identification of associative nitrogen-fixing bacteria and their activity[J]. Journal of Central South Forestry University, 2002, 22(1): 23-26 (in Chinese)

Chinese)

周国英, 唐大武, 陈晓, 等. 几种木本植物联合固氮细菌的研究——联合固氮细菌的分离鉴定及固氮活性[J]. 中南林学院学报, 2002, 22(1): 23-26

- [25] Kloepper JW, Lifshitz R, Zablotowicz RM. Free-living bacterial inocula for enhancing crop productivity[J]. Trends in Biotechnology, 1989, 7(2): 39-44
- [26] Farina R, Beneduzi A, Ambrosini A, et al. Diversity of plant growth-promoting rhizobacteria communities associated with the stages of canola growth[J]. Applied Soil Ecology, 2012, 55: 44-52
- [27] Rana A, Joshi M, Prasanna R, et al. Biofortification of wheat through inoculation of plant growth promoting rhizobacteria and cyanobacteria[J]. European Journal of Soil Biology, 2012, 50:

118-126

- [28] Lin TX, Tang M, Huang MY, et al. Screening and identification of a high yield siderophore-producing bacteria SS05 isolated from cotton soil[J]. Microbiology China, 2012, 39(5): 668-676 (in Chinese)
- 林天兴, 唐梅, 黄明远, 等. 高产铁载体棉田土壤细菌 SS05 的筛选与鉴定[J]. 微生物学通报, 2012, 39(5): 668-676
- [29] Gu J, Meng LY, Sun LN, et al. Mechanisms of plant growth promotion of *Azotobacter* spp of rice PGPR on rice seedling[J]. Journal of Anhui Agricultural University, 2012, 39(3): 426-429 (in Chinese)
- 顾杰, 孟丽媛, 孙乐妮, 等. 水稻根际固氮菌促生特性评价[J]. 安徽农业大学学报, 2012, 39(3): 426-429

(上接 p.2365)

征 稿 简 则

3.3 摘要写作注意事项

3.3.1 英文摘要: 1) 建议使用第一人称, 以此可区分研究结果是引用文献还是作者得出的; 2) 建议用主动语态, 被动语态表达拖拉模糊, 尽量不用, 这样可以避免长句, 以求简单清晰; 3) 建议使用过去时态, 要求语法正确, 句子通顺; 4) 英文摘要的内容应与中文摘要一致, 但可比中文摘要更详尽, 写完后务必请英文较好且专业知识强的专家审阅定稿后再返回编辑部。5) 摘要中不要使用缩写语, 除非是人人皆知的, 如: DNA, ATP 等; 6) 在英文摘要中, 不要使用中文字体标点符号。

3.3.2 关键词: 应明确、具体, 一些模糊、笼统的词语最好不用, 如基因、表达……

4 特别说明

4.1 关于测序类论文

凡涉及测定 DNA、RNA 或蛋白质序列的论文, 请先通过国际基因库 EMBL (欧洲) 或 GenBank (美国) 或 DDBJ (日本), 申请得到国际基因库登录号(Accession No.)后再投来。

4.2 关于版权

4.2.1 本刊只接受未公开发表的文章, 请勿一稿两投。

4.2.2 凡在本刊通过审稿、同意刊出的文章, 所有形式的(即各种文字、各种介质的)版权均属本刊编辑部所有。作者如有异议, 敬请事先声明。

4.2.3 对录用的稿件编辑部有权进行文字加工, 但如涉及内容的大量改动, 将请作者过目同意。

4.2.4 文责自负。作者必须保证论文的真实性, 因抄袭剽窃、弄虚作假等行为引发的一切后果, 由作者自负。

4.3 审稿程序及提前发表

4.3.1 来稿刊登与否由编委会最后审定。对不录用的稿件, 一般在收稿 2 个月之内通过 E-mail 说明原因, 作者登陆我刊系统也可查看。稿件经过初审、终审通过后, 作者根据编辑部返回的退修意见进行修改补充, 然后以投稿时的用户名和密码登陆我刊系统上传修改稿, 待编辑部复审后将给作者发稿件录用通知单, 稿件按照投稿先后排队发表。

4.3.2 对投稿的个人和单位一视同仁。坚持文稿质量为唯一标准, 对稿件采取择优先登的原则。

5 发表费及稿费

论文一经录用, 将在发表前根据版面收取一定的发表费并酌付稿酬、赠送样刊。

6 联系方式

地址: 北京市朝阳区北辰西路 1 号院 3 号中国科学院微生物研究所《微生物学通报》编辑部(100101)

Tel: 010-64807511; E-mail: tongbao@im.ac.cn; 网址: <http://journals.im.ac.cn/wwxtbcn>