

产 ACC 脱氨酶植物根际促生菌的筛选及其对修复植物高羊茅生长的影响^①

丁琳琳^{1,2}, 刘五星^{2*}, 孙剑英^{1,2}, 骆永明², 徐旭士¹, 李振高²

(1 南京师范大学生命科学学院, 江苏省生物多样性与生物技术重点实验室, 江苏省微生物资源产业化工程技术研究中心, 南京 210046; 2 中国科学院土壤环境与污染修复重点实验室(南京土壤研究所), 南京 210008)

摘要:以 1-氨基环丙烷-1-羧酸(ACC)为唯一氮源, 从石油污染的土壤中分离得到一株具有 ACC 脱氨酶活性的菌株 D5A。该菌在以 ACC 为唯一氮源条件下, 其 ACC 脱氨酶比活力为 0.084 U/mg。另外, D5A 还具有产生吲哚乙酸(IAA)、耐盐以及溶磷的特性。在液体培养条件下该菌株产 IAA 高达 112 mg/L, 在 90 g/kg 盐含量的培养基中仍能正常生长且具有较强的溶解矿物磷能力。同时该菌对酸碱具有良好的适应性, 在初始 pH 4~10 的 LB 培养基中生长良好。种子发芽试验表明在 3 g/kg 和 6 g/kg 浓度 NaCl 的逆境条件下, 该菌株能显著提高高羊茅种子的发芽率和芽长。最后, 通过对其进行生理生化特性和 16S rDNA 序列分析, 该菌株初步鉴定为克雷伯氏菌(*Klebsiella* sp.)。

关键词:高羊茅; ACC 脱氨酶; IAA; 铁载体; 溶磷

中图分类号: Q939.96

植物修复技术由于具有环境友好、不引起二次污染、价格低廉等优点, 被看成处理石油污染土壤最有前途的一种处理方法^[1]。然而, 我国很多陆上油田, 尤其北方地区的油田土壤含盐量普遍较高^[2]。在利用植物修复油田区石油污染土壤时, 常会受到石油污染和盐分的双重胁迫, 高羊茅等修复植物的生长会受到不同程度的抑制, 从而影响到修复效率^[3]。针对土壤环境对修复植物的胁迫作用, 目前主要采取的措施是培育抗逆性强的植物品种、改进栽培措施等。然而, 这些措施存在投入大、周期长、见效慢等特点。植物根际促生菌(plant growth promoting rhizobacteria, PGPR)是一类生活在植物根际能够促进植物生长的有益细菌^[4]。近年来有研究表明接种具有 1-氨基环丙烷-1-羧酸(1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid, ACC)脱氨酶活性的 PGPR 可以促进植物的种子发芽、缓解逆境胁迫、促进植物生长从而提高植物修复的效率^[5-7], 特别是用于对污染物具有耐受的植物上时, 效果更加明显^[8-9]。

然而, 国内对于 PGPR 的研究主要集中在农作物病害防治与增产方面^[10-11], 对 PGPR 在石油污染土壤植物修复上的应用尚不多见。本研究采取富集定向筛选方法, 从石油污染和盐碱地土壤中, 分离筛选出多

株具有 ACC 脱氨酶活性, 且耐盐、耐酸碱的 PGPR, 并研究了其对修复植物高羊茅种子发芽、耐盐性等的影响, 以期利用 PGPR 提高修复植物对逆境的适应能力、促进植物修复效率提供实验依据和技术途径。

1 材料和方法

1.1 试验材料

1.1.1 供试土壤 土壤样品采自大港油田的石油污染土壤。土壤的理化性质如下:速效氮 27.62 mg/kg, 速效磷 5.66 mg/kg, 速效钾 160 mg/kg, pH 7.79, 盐含量 0.51%。

1.1.2 供试植物 植物品种为高羊茅(*Festuca arundinacea*)。

1.1.3 培养基 PAF、DF、ADF 培养基^[12], TSB 培养基^[12], MSA 培养基^[13]。LB 培养基(g/L): 胰蛋白胍(Tryptone) 10, 酵母提取物(Yeast extract) 5, 氯化钠(NaCl) 10。

1.2 试验方法

1.2.1 产 ACC 脱氨酶 PGPR 的富集、分离和纯化 取 1 g 土壤悬浮于含 50 ml PAF 培养液的三角瓶中, 21℃, 200 r/min 振荡培养 24 h, 重复转接 1 次。

基金项目: 国家自然科学基金项目(41001182)和环境保护公益性行业科研专项基金项目(201009015)资助。

* 通讯作者(liuwuxin@issas.ac.cn)

作者简介: 丁琳琳(1985—), 女, 山东泰安人, 硕士研究生, 主要从事土壤环境生物修复方面研究。E-mail: dinglinlin12@163.com

然后吸取 1 ml 菌悬液至 50 ml DF 培养液中, 同等条件下培养 24 h。用接种环接菌悬液于 50 ml ADF 培养液中, 相同条件培养 24 h。重复转接 2 次后, 梯度稀释, 涂布于 ADF 固体平板, 28℃ 恒温培养, 待平板长出单菌落后, 挑取单菌落划线分离、纯化^[14]。

1.2.2 ACC 脱氨酶活性测定 分离菌株在 TSB 培养液中过夜培养, 4℃ 离心收集菌体后用 DF 培养液洗涤 3 次, 重悬于 ADF 培养液中, 室温(20℃) 振荡培养 2 天后 4℃ 离心收集菌体, 用 0.1 mol/L Tris-HCl 缓冲液(pH = 7.6) 洗涤 3 次, 重悬浮于 600 μl 0.1 mol/L Tris-HCl 缓冲液(pH = 8.0) 中, 加入 30 μl 甲苯并迅速振荡 30 s 以破碎细胞, 转移 200 μl 含甲苯的细胞提取物, 加入 20 μl 0.5 mol/L ACC 混匀, 同时做不添加 ACC 的空白试验, 30℃ 培养 15 min。添加 1 ml 0.56 mol/L HCl, 16 000 g 离心 5 min, 取 1 ml 此悬浮液, 加入 800 μl 0.56 mol/L HCl 和 300 μl 2, 4-二硝基苯胍, 30℃ 培养 30 min, 加入 2 ml 2 mol/L NaOH, 540 nm 测吸光度。蛋白质测定采用 BioRad 蛋白质微量测定法, 以牛血清白蛋白为蛋白质标准。ACC 脱氨酶活性单位为: α-丁酮酸 μmol/(mg·min)。酶活性测定设置空白对照, 重复 3^[12, 15]。

1.2.3 分离菌株产铁载体、3-吲哚乙酸(IAA)、溶磷能力的测定 铁载体的测定方法参考文献方法并作适当修改^[16-17]。将供试菌株接种于 MSA 液体培养基中, 摇床 30℃ 150 r/min 振荡培养 48 h 后, 发酵液 6 000 r/min 离心 10 min 取 1.5 ml 上清液加 1.5 ml CAS 检测液, 充分混匀, 静置 1 h 后测定 630 nm 波长处的吸光值(A), 以去离子水作为对照调零。另取 1.5 ml CAS 检测液与 1.5 ml 未接菌的 MSA 液体培养基上清液充分混匀, 同法测定吸光值即为参比值(Ar)。以 A/Ar 作定量指标。比值越小, 反映铁载体的产量越大。一般参考标准为: A/Ar 0~0.2, +++++; 0.2~0.4, +++++; 0.4~0.6, +++++; 0.6~0.8, +++++; 0.8~1.0, +。

IAA 测定采用 Salkowski 比色法^[18] 参考 Bric 等^[19] 的方法并做一定的修改, 将色氨酸配置成 2.5 mg/ml 的溶液, LB 液体培养基分装于试管中, 每管 4 ml, 121℃ 高压灭菌后加入过滤除菌的色氨酸溶液 1 ml, 使培养基中色氨酸的浓度为 0.5 mg/ml, 将供试菌株接种于上述培养基中, 摇床振荡培养 3 天, 离心取 1 ml 上清, 加 50 μl 10 mmol/L 的正磷酸, 再加 2 ml Salkowski's 显色剂, 黑暗下 25℃ 显色 30 min, 测定 530 nm 波长下的吸光值。以蒸馏水代替培养液同样反应作为对照调零, 用不同浓度的 IAA 标准液同法

作标准曲线, 计算发酵液中 IAA 的浓度。

溶磷能力的测定方法: 参考 Sundara-Rao 和 Sinha^[20] 的方法并做适当改动。

1.2.4 不同盐分条件下分离菌株对高羊茅耐盐性的影响 将去离子水(CK), 3、6、9 g/kg NaCl 溶液灭菌后加入事先灭菌的培养皿中(内置 3~5 层滤纸), 每皿 10 ml。将消毒过的高羊茅种子(70%酒精 1 min, 1% 次氯酸钠 10 min), 浸于 0.03 mol/L MgSO₄ 菌悬液(OD₆₀₀ = 0.5) 或无菌 0.03 mol/L MgSO₄ 溶液(CK) 中 1 h 后, 置于上述灭过菌的培养皿中。恒温培养 2 周后, 测发芽率、根长和下胚轴长。每培养皿 20 粒种子, 设置 4 个重复^[21-22]。

1.2.5 分离菌株耐盐性初步检测 将过夜培养的 D5A 菌株的菌悬液接入到 NaCl 浓度分别为 0, 30, 60, 90, 120, 150 g/kg 的液体 LB 培养基中(色氨酸浓度为 0.5 mg/ml), 28℃ 震荡培养 24 h, 在 600 nm 波长下测量各处理菌液的 OD 值和 IAA 的浓度, 用 OD 值来表示其在梯度盐浓度培养基中培养的生物量, OD 值越大, 则表明生物量就越大。

1.2.6 酸碱对菌株 D5A 的生长及产 IAA 能力的影响

将菌株 D5A 接种到 pH 分别为 3~11 的 LB 培养基中(色氨酸浓度为 0.5 mg/ml), 28℃ 震荡培养 24 h 后测量菌株的生物量及 IAA 的量, 方法同上。

1.2.7 菌种鉴定 生理生化鉴定: 参照相关文献方法^[23-24]。16S rDNA 序列扩增和序列分析: 提取菌株 D5A 的总 DNA^[25]。以 27F 5'-GAGCGGATAACAA-TTTCACACAGG-3' 和 1492R 5'-CGCCAGGGTTTT CCCAGTCACGAC-3' 为引物, 对 D5A 的 16S rDNA 进行扩增。扩增反应体积 50 μl, 反应条件为 95℃ 5 min, 94℃ 1 min, 55℃ 1 min, 72℃ 2 min, 共进行 30 个循环。PCR 产物送至生物公司进行纯化和测序。将所得的序列与 GenBank 数据库中的核酸数据库进行 BLAST 分析比对, 选取同源性较高的菌株与菌株 D5A 用 ClustalX 1.8 软件进行分析, 通过 Mega 4.0 软件构建系统发育树。

2 结果和分析

2.1 菌株的筛选和 ACC 脱氨酶的活性

PGPR 可以通过产生 ACC 脱氨酶降解植物体内的乙烯前体 ACC, 从而减轻过量乙烯对植物的毒害作用^[26]。本实验室通过定向富集的方法从土壤样品中筛选出 5 株产 ACC 脱氨酶的 PGPR, 命名为 D5A, D1A, W50, W2, S1C。分别对 5 株促生菌进行 ACC 脱氨酶活性的测定, 其比活力大小表现为: D5A 最

大, W50 最小, D1A、W2、S1C 三者相当但远小于 D5A(图 1), 由于 D5A 具有较高的 ACC 脱氨酶的比活力, 可能实际促生效果更为明显。

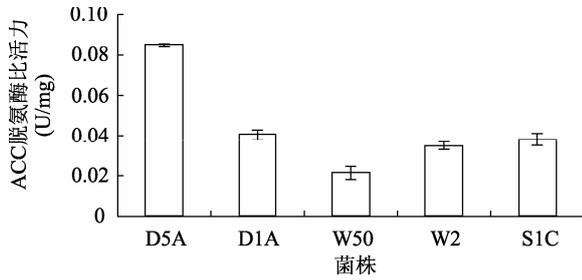


图 1 分离菌株的 ACC 脱氨酶比活力
Fig. 1 ACC deaminase specific activity of isolated strains

2.2 菌株产铁载体, IAA 和溶磷能力

PGPR 既可以通过解磷、产生植物激素等直接作用促进植物的生长, 也可以通过分泌铁载体和产生抗生素等间接作用提高植物的抗逆性^[27-28], 本实验室通过对 5 株菌株产铁载体、IAA 和溶磷能力的测定, 结果表明, 产 IAA 能力 D5A > D1A > W2 > W50 > S1C; 溶磷能力 D5A > S1C > W50 > W2 > D1A, D5A 菌株的产 IAA 和溶磷能力较强, 但无明显的产铁载体的能力(表 1)。菌株 D5A 对植物的潜在的促生效果可能优于其余 4 株菌。

表 1 分离菌株产 IAA、铁载体及溶磷能力
Table 1 Ability of produce IAA, iron carrier and dissolved phosphorus of isolated strains

菌株	IAA(mg/L)	溶磷(mg/L)	铁载体
D5A	112	130.5	+
D1A	110	31.2	+
W50	62	36.1	+
W2	90	33.7	+
S1C	8	83.1	++++

2.3 菌株 D5A 的耐盐性

对菌株 D5A 进行耐盐性试验, 结果表明(图 2), 在 5 ~ 30 g/kg 盐度条件对 D5A 生长无明显影响, 在 30 ~ 120 g/kg 盐度条件下, D5A 的生长随盐含量的增加逐渐受到抑制, 在盐含量为 150 g/kg 时, 几乎完全受到抑制, 同时培养基中 IAA 的量, 与 D5A 的生物量表现出明显的一致性, 随其生物量的减少, IAA 的量也相对减少。尽管如此, 在 90 g/kg 盐浓度的环境下, 培养液中菌株 D5A 的 OD 值和 IAA 浓度分别为 1.3 和 42.7 mg/L, 表现出较强的耐盐性。

2.4 菌株 D5A 对酸碱的耐性

对菌株 D5A 在不同 pH 的 LB 培养基中的生物量和 IAA 量进行测定。结果显示(图 3), pH 为 4 ~ 10 时, 菌株 D5A 均能正常生长, 同时产 IAA 的能力随碱性的增强下降趋势不显著, 仍具有较强的产 IAA 的能力, 因此菌株 D5A 具有较强的酸碱耐性。

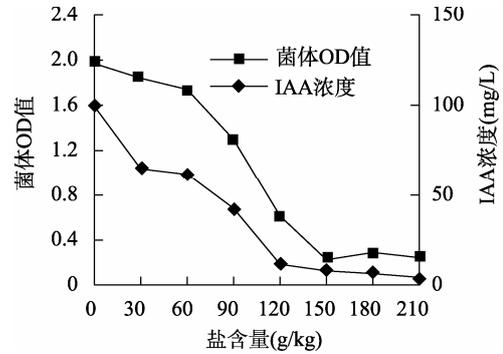


图 2 菌株 D5A 在不同盐分的 LB 培养基中的生物量及 IAA 的浓度

Fig. 2 Biomass and IAA of D5A strains in LB medium under different salt concentrations

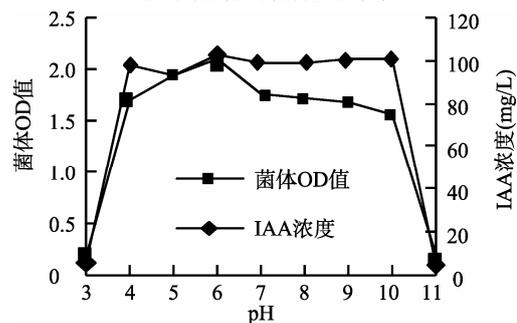


图 3 菌株 D5A 在不同 PH 的 LB 培养基中的生物量及 IAA 的浓度

Fig. 3 Biomass and IAA of D5A strains in LB medium under different pH values

2.5 盐胁迫下菌株对高羊茅的促生作用

在不同盐浓度梯度下, 研究 5 株菌株对高羊茅种子发芽率、根长和下胚轴生长的影响, 结果表明, 在盐含量为 0 g/kg 时, 菌株的促生效果不明显。在盐含量为 9 g/kg 即盐含量过高的情况下, 菌株的促生效果也不明显。在盐含量为 3 g/kg 及 6 g/kg 时, 高羊茅种子的发芽率、芽长和根长在接种菌株 D5A 后, 与其他处理比较差异显著(表 2), 说明菌株 D5A 具有明显的促生作用。

2.6 菌株 D5A 生理生化特征

菌株 D5A 呈短杆状, 菌落黏稠半透明, 表面湿润光滑, 边缘整齐, 革兰氏染色阴性, 其电镜图片为图 4。生理生化鉴定结果表明: 菌株 D5A 能充分地利用淀粉、乳糖、葡萄糖、蔗糖, 但不能液化明胶;

甲基红试验、伏-普试验、氧化酶试验、硝酸盐还原试验均为阴性；吲哚试验、柠檬酸盐试验、接触酶试验结果均为阳性。

表 2 盐含量为 6 mg/kg 下分离菌株对高羊茅幼苗生长的影响

Table 2 Effects of isolated strains on growth of tall fescue seed in 6 g/kg salt

处理	发芽率(%)	芽长(cm)	根长(cm)
CK	0.78 bc A	3.67 c BC	1.11 bc B
D5A	0.92 a A	5.60 a A	1.43 a A
D1A	0.88 b A	5.23 ab AB	1.29 b AB
W50	0.77 bc A	4.27 bc ABC	1.33 b AB
W2	0.47 d A	3.15 c C	1.04 c C
S1C	0.73 c A	4.22 bc ABC	1.16 bc B

注：表中同一列数据小写字母不同表示处理间差异达到 $P < 0.05$ 显著水平，大写字母不同表示处理间差异达到 $P < 0.01$ 显著水平。

2.7 菌株 D5A 系统进化树的构建及其分析

将测得的菌株 D5A 16S rDNA 基因组序列在 NCBI 数据库中经行 BLAST 比对，并且选取模式菌株进行系统发育分析，用 Mega 4.0 软件进行多序列

比对并构建系统发育树(图 5)。由图可以看出，菌株 D5A 位于 *Klebsiella* 分支上，与菌株 EB6-THQ *Klebsiella pneumoniae* (GQ166862)序列同源性达到 99.5%。结合其生理生化特征，该菌株鉴定为克雷伯氏菌(*Klebsiella* sp.)，GenBank 登录号为(JQ277465)。

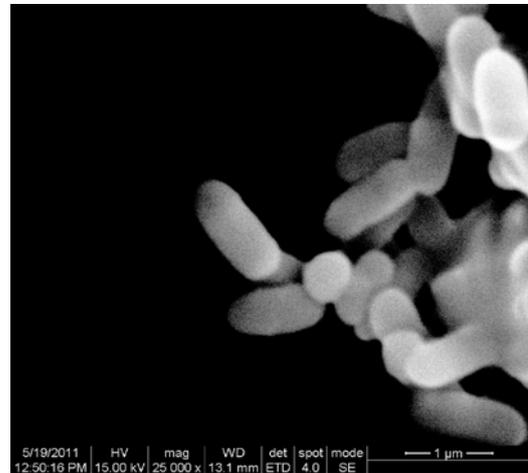


图 4 菌株 D5A 的电镜图片

Fig. 4 Electron microscopy image of D5A strains

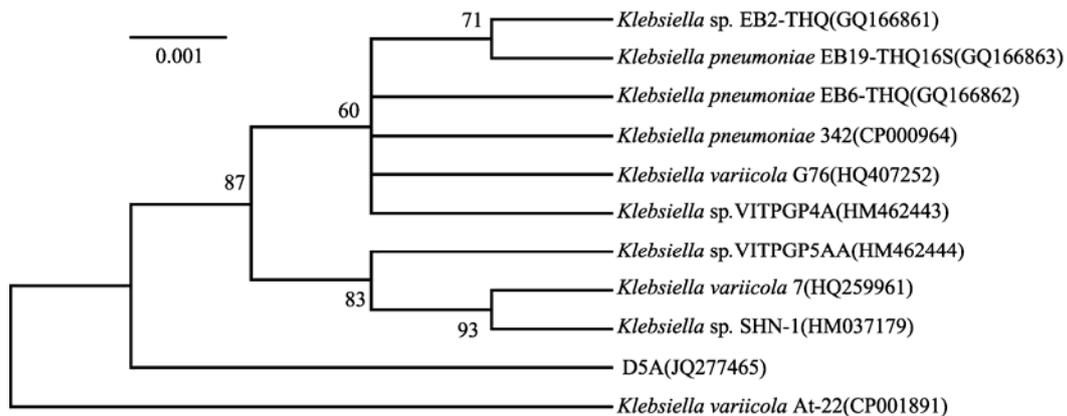


图 5 菌株 D5A 的 16S rDNA 系统发育树

Fig. 5 Phylogenetic tree based on 16S rDNA sequences of D5A strains

3 结论

本文以 ACC 为唯一氮源采用富集定向筛选方法，从石油污染的土壤中分离到 5 株产 ACC 脱氨酶的植物促生菌。对其 ACC 脱氨酶活性大小、产 IAA、产铁载体和溶磷能力进行了测定。结果显示，菌株 D5A 产脱氨酶的能力最强，高达 0.084 U/mg，同时也具有较强的产 IAA 和溶磷能力。在此基础上，在盐胁迫条件下，菌株 D5A 对高羊茅种子发芽率和芽长具有明显的促生作用。耐盐及耐酸碱试验也表明菌株 D5A 对盐具有一定的耐性，对酸碱的耐性尤为

明显，在 pH 4~10 范围内正常生长。通过对其进行生理生化特性和 16S rDNA 序列分析，该株菌株初步鉴定为克雷伯氏菌(*Klebsiella* sp.)。由于菌株 D5A 株具有较强的产 ACC 酶活力和很强的环境适应能力，对修复植物高羊茅的发芽率和生长也具有明显的促生作用。因此，该菌有望应用于石油污染土壤的植物修复，提高修复植物对逆境的适应能力。

参考文献：

- [1] 刘五星, 骆永明, 滕应, 李振高, 吴龙华. 石油污染土壤的生物修复研究进展[J]. 土壤, 2006, 38 (5): 634-639

- [2] 杨玉楠, 韩冬. 嗜盐菌强化石油污染土壤生物修复的可行性研究[J]. 农业环境科学学报, 2007, 26(B03): 121-126
- [3] Czarny JC, Grichko VP, Glick BR. Genetic modulation of ethylene biosynthesis and signaling in plants[J]. Biotechnology Advances, 2006, 24: 410-419
- [4] Kloepper JW, Schroth MN. Plant growth-promoting rhizobacteria on radishes // Proceedings of the Fourth International Conference on Plant Pathogen Bacteria[C]. vol. 2. INRA, 1978: 879-882
- [5] Glick BR, Cheng Z, Czarny J, Duan J. Promotion of plant growth by ACC deaminase-producing soil bacteria[J]. European Journal of Plant Pathology, 2007, 119: 329-339
- [6] Hontzeas N, Hontzeas CE, Glick BR. Reaction mechanisms of the bacterial enzyme 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase[J]. Biotechnology Advances, 2006, 24: 420-426
- [7] 许煜泉, 石荣, 林志新. 具有 ACC 脱氨酶活性及抗枯萎病菌的假单胞菌株 B8[J]. 上海交通大学学报, 1999, 33(2): 206-209
- [8] Huang XD, El-Alawi Y, Gurska J, Glick BR, Greenberg BM. A multi-process phytoremediation system for decontamination of persistent total petroleum hydrocarbons (TPHs) from soils[J]. Microchemical Journal, 2005, 81: 139-147
- [9] Gerhardt KE, Greenberg BM, Glick BR. The role of ACC deaminase in facilitating the phytoremediation of organics, metals and salt[J]. Current Trends in Microbiology, 2006, 2: 61-72
- [10] Bashan Y. Inoculants of plant growth-promoting bacteria for use in agriculture[J]. Biotechnology Advances, 1998, 16: 729-770
- [11] Kloepper JW, Tuzun S, Kuc JA. Proposed definitions related to induced disease resistance[J]. Biocontrol Science and Technology, 1992, 16(2): 349-351
- [12] Penrose DM, Glick BR. Methods for isolating and characterizing ACC deaminase -containing plant growth-promoting rhizobacteria[J]. Physiol. Plant, 2003, 118: 10-15
- [13] 陈兴都, 王卫卫, 郭利伟, 熊本涛, 付博. 大豆根际土壤中氢氧化细菌的分离筛选和基本特征[J]. 应用生态学报, 2007, 18 (9): 2 069-2 074
- [14] 刘维红, 闫淑珍, 杨启银, 温小娟. ACC 脱氨酶活性细菌筛选及其对番茄初生苗生长的影响[J]. 江苏农业科学, 2006(2): 80-84
- [15] Honma M, Shimomura T. Metabolism of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid[J]. Agric. Biol. Chem., 1978, 42 (10): 825-831
- [16] 王平, 董飏, 李阜棣, 胡正嘉. 小麦根圈细菌铁载体的检测[J]. 微生物学通报, 1994, 21(6): 323-326
- [17] Shelley MP. Detection, isolation, and characterization of siderophores[J]. Methods in Enzymology, 1994, 235: 329-344
- [18] Glickmann E, Dessaux Y. A critical examination of the specificity of the Salkowski reagent for indolic compounds produced by phytopathogenic bacteria[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1995, 61(2): 793-796
- [19] Bric JM, Bostock RM, Silverstone SE. Rapid in situ assay for indole acetic acid production by bacteria immobilized on a nitrocellulose membrane[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1991, 57: 535-538
- [20] Sundara-Rao WVB, Sinha MK. Phosphate dissolving microorganisms in the soil and rhizosphere[J]. Indian J. Agric. Sci., 1963, 33: 272-278
- [21] 刘秀花, 梁峰. 小麦根际促生菌的筛选与促生作用研究[J]. 安徽农业科学, 2006, 34(20): 5 300-5 301
- [22] 莫文萍, 郑元元, 岳海涛, 李春, 李晖. 棉花解盐促生菌的筛选及其解盐促生机理的初步研究[J]. 石河子大学, 2006, 24(1): 79-82
- [23] Holt JG, Krieg NR, Sneath PHA. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology[M]. 9th ed. Baltimore: Willims & Wilkins, 1994
- [24] 沈萍, 范秀容, 李广武. 微生物学实验[M]. 北京: 高等教育出版社, 2003
- [25] Terefework Z, Kaijalainen S, Lindstrom K. AFLP fingerprinting as a tool to study the genetic diversity of *Rhizobium galegae* isolated from *Galega orientalis* and *Galega officinalis*[J]. Biotechnol., 2001, 91(2/3): 169-180
- [26] Glick BR. Modulation of plant ethylene levels by the bacterial enzyme ACC deaminase[J]. FEMS Microbiology Letter, 2005, 251: 1-7
- [27] Glick BR, Patten CL, Holguin GDM, Penrose DM. Biochemical and Genetic Mechanisms Used by Plant Growth-promoting Bacteria[M]. London: Imperial College Press, 1999
- [28] 吉云秀, 黄晓东. 植物促生菌对燕麦初生苗盐胁迫下的促生效应[J]. 大连海事大学学报, 2007, 33(3): 86-89

Isolation of Plant Growth Promoting Rhizobacteria Produced ACC Ammonialyase and Its Influence on Tall Fescue Growth

DING Lin-lin^{1,2}, LIU Wu-xing^{2*}, SUN Jian-ying^{1,2}, LUO Yong-ming², XU Xu-shi¹, LI Zhen-gao²

(1 Jiangsu Engineering and Technology Research Center for Industrialization of Microbial Resources, Jiangsu Key Laboratory for Biodiversity and Biotechnology, College of Life Science, Nanjing Normal University, Nanjing 210046, China; 2 Key Laboratory of Soil Environment and Pollution Remediation, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China)

Abstract: In this study, the strains with 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) deaminase activity were isolated from an oil-polluted soil. The ACC deaminase activity of the strain D5A was 0.084 U/mg in minimal medium containing ACC as the sole nitrogen source. In addition, D5A also had properties of producing indole acetic acid (IAA), salt tolerance and dissolving phosphorus. In liquid culture conditions, the strains produced IAA up to 112 mg/L. It was still able to grow normally in the medium of 90 g/kg salt and had a strong ability to dissolve the mineral phosphorus. The strains grew well in LB medium from the initial pH value of 4 to 10, which showed the strains had good adaptability of pH. Seed germination tests showed that the strains could significantly improve seed germination and bud of tall fescue (*Festuca arundinacea*) at adverse conditions of 3 g/kg and 6 g/kg NaCl. Finally, based on physiological, biochemical characteristics and 16S rDNA sequence analysis, the strains was identified as *Klebsiella* sp.

Key words: Tall fescue, ACC deaminase, IAA, Siderophore, Dissolved phosphate