



盐蒿根际产 ACC 脱氨酶菌株的筛选及其促生效果研究

黄欣^{1,2}, 陈燕², 谷青青², 徐秋霞², 吴玲², 王莹², 郭聪², 曹凡², 李玉娟^{2*}

(1. 江苏省农业科学院农业资源与环境研究所, 江苏 南京 210014;

2. 江苏沿江地区农业科学研究所, 江苏 南通 226002)

摘要: 为了获取植物促生菌资源, 提高植物耐盐胁迫能力, 从盐蒿根际筛选产 1-氨基环丙烷-1-羧酸 (ACC) 脱氨酶耐盐菌株, 通过分子生物学手段进行鉴定并通过发芽试验和盆栽试验验证促生效果。从盐蒿根际筛选出两株产 ACC 脱氨酶耐盐菌株, 其中菌株 AhR1 的 ACC 脱氨酶酶活为 15.72 $\mu\text{mol}/(\text{mg} \cdot \text{h})$, 菌株 AhR5 的 ACC 脱氨酶酶活为 48.38 $\mu\text{mol}/(\text{mg} \cdot \text{h})$, 除此之外两株菌还具有产生物被膜、产吡啶乙酸、解无机磷等功能。经鉴定, 菌株 AhR1 和 AhR5 均属于假单胞菌属 (*Pseudomonas*)。油菜种子发芽试验表明, 两株菌的低浓度菌液 ($\text{OD}_{600}=0.1$) 均能够显著促进 2‰~6‰ 盐含量下油菜根和芽的生长。油菜盆栽试验表明, 菌株 AhR1 在 4‰ 盐含量下对油菜干重的提升最大, 达到 22.07%; 菌株 AhR5 在 2‰ 盐含量下对油菜干重的提升最大, 达到 29.91%。菌株 AhR1 和 AhR5 均能够明显促进盐胁迫下油菜的生长, 为盐碱地微生物肥料的开发和土壤改良提供了菌种资源和理论支持。

关键词: 盐蒿; 根际促生菌; ACC 脱氨酶

土壤盐渍化是一个全球性的问题, 过高的盐分会抑制植物生长、破坏植物细胞渗透势、抑制光合作用、减弱蛋白质及脂类代谢, 导致植物减产甚至死亡, 已成为限制现代农业发展的主要因素之一^[1]。我国的盐渍土总面积为 9913 万 hm^2 , 是一项重要的后备土地资源^[2], 为了牢牢守住耕地保护红线, 保障国家粮食安全, 推动盐碱地的改良与综合利用是一项重要途径。研究表明, 植物根际促生菌 (PGPR) 能够产生生物被膜、1-氨基环丙烷-1-羧酸 (ACC) 脱氨酶、抗氧化酶和渗透保护剂等, 并为植物生长提供必需的营养和激素, 对促进盐碱地生态系统中的植物生长有重要作用^[3]。乙烯是一种气体植物激素, 当其浓度过高时, 会抑制根、茎生长和加速细胞衰老, 从而降低作物生产性能, 而 ACC 作为乙烯的直接前体, 逆境条件下植物产生的 ACC 增加, 导致乙烯浓度升高, 这部分乙烯被称为“胁迫乙烯”, 是植物出现胁迫症状的重要因素^[4]。而 ACC 脱氨酶能够将 ACC 分解为 α -丁

酮酸和氨, 从而减少植物体内乙烯的合成^[5]。因此, 充分发掘具有产 ACC 脱氨酶功能的 PGPR 菌株资源, 以其作为微生物肥料提高盐碱地植物的抗逆性, 促进植物生长, 对促进盐碱地的改良与综合利用有重要意义。本研究从沿海滩涂采集了盐蒿样本, 从根际中筛选出产 ACC 脱氨酶的耐盐菌株并测定了多种促生能力, 通过分子生物学手段确定其分类学地位, 以油菜作为接种对象开展了发芽试验和盆栽试验, 研究菌株对油菜耐盐能力的影响, 为提高经济作物耐盐能力, 推动盐碱地的综合利用提供参考。

1 材料与方法

1.1 样本采集

盐蒿 (*Artemisia halodendron* Turcz.ex Bess) 样本分别采集自江苏盐城东台条子泥垦区 (32° 43' 34.9" N, 120° 56' 32.9" E) 和南通如东沿海滩涂 (32° 37' 37" N, 120° 58' 8" E), 以 15 cm × 15 cm × 20 cm 的土方将植物包括根系在内整株挖起带回实验室。

1.2 产 ACC 脱氨酶菌株的筛选及酶活测定

1.2.1 产 ACC 脱氨酶菌株的筛选

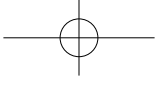
将植物根系完整取出, 轻轻抖落根上的泥土, 取 1 g 根系置于 100 mL 无菌水中振荡 30 min。取土壤悬液 1 mL 经梯度稀释至 10^{-3} 、 10^{-4} 、 10^{-5} , 涂布于含 3% NaCl 的 LB 平板上, 30℃ 恒温培养 24 h 后, 挑取不同菌落形态的单菌落进行划线纯化后编

收稿日期: 2024-02-23; 录用日期: 2024-04-22

基金项目: 江苏省农业科技自主创新资金项目 (CX233133); 南通市社会民生科技计划项目 (MS22022059); 南通市社会民生科技计划项目 (MS2023056); 江苏沿江地区农业科学研究所青年科技基金 (YJ2022004)。

作者简介: 黄欣 (1995-), 研究实习员, 硕士, 研究方向为农业微生物资源利用。E-mail: 20212009@jaas.ac.cn。

通讯作者: 李玉娟, E-mail: 20062001@jaos.ac.cn。



号, 用 LB 试管斜面保存于 4℃ 备用。

参照 Penrose 等^[6]的方法配制 DF 和 ADF 平板培养基, 将纯化的耐盐菌分别接种在 2 种培养基上, 置于 30℃ 恒温培养箱培养, 每天观察菌落长势, 连续传代 3 次, 若 ADF 培养基上的菌落长势始终优于 DF 培养基, 则说明该菌株能够以 ACC 为唯一氮源生长, 即为产 ACC 脱氨酶菌株。

1.2.2 ACC 脱氨酶酶活测定

挑选产 ACC 脱氨酶优势菌株进行酶活测定, ACC 脱氨酶酶活测定参照 Glick 等^[7]的方法稍作调整。将具有 ACC 脱氨酶活性的菌株接种于 ADF 液体培养基, 30℃、180 r/min 条件下培养 24 h 来诱导 ACC 脱氨酶的产生。将上述菌悬液离心收集菌体沉淀后, 用 Tris-HCl 缓冲液 (0.1 mol/L, pH=7.6) 洗涤离心 2 次。然后将收集的菌体沉淀用 600 μ L Tris-HCl 缓冲液 (0.1 mol/L, pH=8.5) 重悬, 并加入 30 μ L 甲苯后迅速振荡 30 s, 以破碎细胞来获取 ACC 脱氨酶。在上述 200 μ L 细胞提取液中, 加入 20 μ L ACC 溶液 (0.5 mol/L) 混合均匀, 30℃ 水浴 24 h, 以不添加 ACC 的溶液作为对照。然后, 添加 0.56 mol/L HCl 1 mL, 室温 11000 r/min 离心 5 min 后, 取 1 mL 上清液, 加入等体积 0.56 mol/L HCl 混匀, 再加入 2, 4-二硝基苯肼 (0.2%, 2, 4-二硝基苯肼溶于 2 mol/L HCl) 300 μ L, 置于 30℃ 水浴 30 min。最后, 加入 2 mol/L NaOH 2 mL 用于显色, 并于 540 nm 下测定其吸光度值, 根据标准曲线计算 α -丁酮酸含量 (μ mol)。取 50 μ L 细胞提取液参照 Bradford^[8]的方法测定菌体蛋白量, ACC 脱氨酶活性表示为反应体系中每毫克菌体蛋白酶每小时催化 ACC 脱氨生成 α -丁酮酸的量, 其酶活性单位为 μ mol/(mg $\cdot$ h), 测定结果为 3 次重复平均值。

1.3 其他促生特性的测定

1.3.1 产吡啶乙酸能力

参照 Glickmann 等^[9]的方法测定菌株产吡啶乙酸 (IAA) 的量。将待测菌株接种于含 L-色氨酸 (0.5 g/L) 的 LB 液体培养基中, 30℃、180 r/min 培养 48 h 后, 取培养液 2 mL 12000 r/min 离心 15 min, 取 100 μ L 上清液于 96 孔板混合等体积的 Salkowski 试剂, 室温暗处显色 30 min 后, 于 530 nm 处测吸光度, 根据标准曲线计算 IAA 产出量 (mg/L), 测定结果为 3 次重复平均值。

1.3.2 产生物膜能力

参考高晓蓉等^[10]的方法稍作修改。将待测菌

株接种于 LB 液体培养基中, 30℃、180 r/min 条件下培养 24 h, 用 LB 培养基稀释菌液至 OD₆₀₀ 为 0.5, 取 200 μ L 菌液加入 96 孔细胞培养板中, 30℃ 下静置培养 24 h, 以 LB 培养基为空白对照。培养结束后弃去孔中菌液, 用 0.1 mol/L 的 PBS 缓冲液轻轻冲洗去除游离细菌, 待自然风干后加入 200 μ L 0.1% 结晶紫染液染色 30 min。弃去染液, 用 PBS 缓冲液轻轻冲洗去剩余染液后风干。加入 200 μ L 无水乙醇完全溶解附着的结晶紫, 于 595 nm 处测定吸光度。以菌液处理和空白对照的吸光度比值即 As/Ac 表征菌株产生物膜的能力, 测定结果为 3 次重复平均值。

1.3.3 解无机磷能力

将待测菌株接种于 PKO 无机磷液体培养基中, 30℃、180 r/min 条件下培养 7 d, 测定培养液中可溶性磷的含量。测定方法: 取 1 mL 培养液于 1.5 mL 离心管中, 12000 r/min 下离心 15 min, 以上清液作为待测液, 采用钼锑抗比色法测定待测液中的磷含量 (mg/L), 测定结果为 3 次重复平均值。

1.3.4 产铁载体能力

将待测菌株接种于 CAS 固体培养基上, 30℃ 下培养 7 d。用游标卡尺测定透明圈直径 (Dt) 和菌落直径 (Dc), 以 Dt/Dc 表征菌株产铁载体的能力, 测定结果为 3 次重复平均值。

1.4 菌株的适应性及分子鉴定

1.4.1 菌株生长曲线绘制

将待测菌株接种至 pH 为 7.0, NaCl 含量分别为 0%、1%、2%、3%、4%、5% 的培养基上; 以及 NaCl 含量为 1%, pH 分别为 3.0、5.0、7.0、8.0、9.0 的 LB 液体培养基中。其中培养基 pH 通过过滤除菌的 NaOH 溶液和 HCl 溶液进行调节。30℃、180 r/min 条件下培养, 每 2 h 取样 1 次测定菌液 OD₆₀₀ 的值, 测定结果为 3 次重复的平均值。

1.4.2 菌株分子鉴定

取 5 μ L 待测菌液置于 30 μ L 细胞裂解液 (Lysis Buffer for Microorganism to Direct PCR, Takara) 中 85℃ 裂解 30 min 获得细菌总 DNA。采用细菌 16S rDNA 通用引物 27F 和 1492R (上海生工生物合成) 进行 PCR 扩增。50 μ L 反应体系包括: Taq 酶预混液 25 μ L, 上、下游引物各 1 μ L, DNA 模板 1 μ L, ddH₂O 22 μ L。PCR 扩增程序: 94℃ 预变性 5 min, 94℃ 变性 45 s, 56℃ 退火 45 s, 72℃ 延伸 90 s, 30 个循环; 72℃ 延伸 10 min。PCR 扩增产物经琼脂糖凝胶电泳检测合格后送上海生工生物测序。将测序结果于

EzBioCloud 数据库 (www.ezbiocloud.net) 中进行同源性比对, 选择同源性最大的菌株序列通过 MEGA 7.0 以邻接法构建菌株系统进化树, 采用 1000 次重复取样进行 Bootstrap 检验。

1.5 菌株促生效果验证

1.5.1 培养皿发芽试验

将待测菌株接入 LB 液体培养基在 30℃、180 r/min 条件下培养 48 h, 5000 r/min 离心菌液获得菌体, 分别用 0‰、2‰、4‰、6‰ 无菌 NaCl 溶液洗涤 3 次, 再分别稀释成 OD₆₀₀ 为 0.1、0.5、1.0 的菌悬液备用。

油菜种子 (品种: 宁杂 1838) 过 2 mm 筛, 选择种皮完整的种子, 先用 75% 的乙醇浸泡 30 s, 倒去乙醇, 再用 2% NaClO 溶液浸泡 5 min, 最后用无菌水冲洗 5 次。

将经过消毒的油菜种子放在垫有滤纸的培养皿中, 每个培养皿 10 粒, 然后加入 10 mL 菌悬液, 置于光照培养箱中培养 4 d, 每个处理重复 3 次, 对照组 (CK) 为无菌 NaCl 溶液。光照培养箱参数设置: 温度 25℃、湿度 70%、光照强度 3000 lx、光照周期光 12 h/ 暗 12 h。培养结束后统计发芽情况, 用游标卡尺测量根长和芽长。

1.5.2 盆栽试验

用干净砂壤土和粗盐配制成盐含量 2‰、4‰、6‰ 的盐土, 供试土壤理化性质为有机质 4.13 g/kg、全氮 0.55 g/kg、全磷 0.27 g/kg、全钾 0.26 g/kg、含

盐量 1.68‰、pH 7.45, 风干过 0.25 mm 筛后使用。

将 3 种含盐量的土壤分装至无孔塑料盆 (上口半径 13 cm、底半径 8 cm、高 10 cm) 中, 每盆 1.0 kg, 浇透水备用。挑选发芽试验中长势接近的幼苗移栽至对应处理的盆中, 每盆 3 株, 再浇灌 1 次菌悬液, 置于光照培养箱中培养 2 周。光照培养箱参数设置: 温度 25℃、湿度 70%、光照强度 5000 lx、光照周期光 16 h/ 暗 8 h。培养结束收获烘干统计干重, 测定结果为 3 次重复平均值。

1.6 数据处理与分析

采用 SPSS 26.0 进行数据处理、方差分析和多重比较 (LSD、Duncan 法, $\alpha=0.05$), 采用 Origin 2021 进行图表的绘制。图、表数据均以平均值 $\pm$ 标准差表示。

2 结果与分析

2.1 产 ACC 脱氨酶菌株的筛选及其促生能力的测定
从盐蒿根际筛选到两株产 ACC 脱氨酶优势菌株, 测定了其 ACC 脱氨酶酶活及其他促生特性 (表 1)。

2.2 产 ACC 脱氨酶菌株的适应性

不同 NaCl 浓度和 pH 下的生长曲线 (图 1、图 2) 反应了菌株的耐盐和耐酸碱能力。适宜菌株 AhR1 生长的 NaCl 浓度为 0‰ ~ 1‰, pH 为 5 ~ 8; 适宜菌株 AhR5 生长的 NaCl 浓度为 1‰ ~ 2‰, pH 为 7 ~ 9。

表 1 产 ACC 脱氨酶菌株的促生能力

菌株编号	ACC 脱氨酶酶活 [$\mu\text{mol}/(\text{mg} \cdot \text{h})$]	产生物膜	产吡啶乙酸 (mg/L)	解无机磷 (mg/L)	产铁载体
AhR1	15.72 $\pm$ 2.70	1.27 $\pm$ 0.07	2.84 $\pm$ 0.8	71.32 $\pm$ 3.71	3.35 $\pm$ 0.05
AhR5	48.38 $\pm$ 1.02	1.28 $\pm$ 0.10	9.34 $\pm$ 2.16	21.61 $\pm$ 4.24	

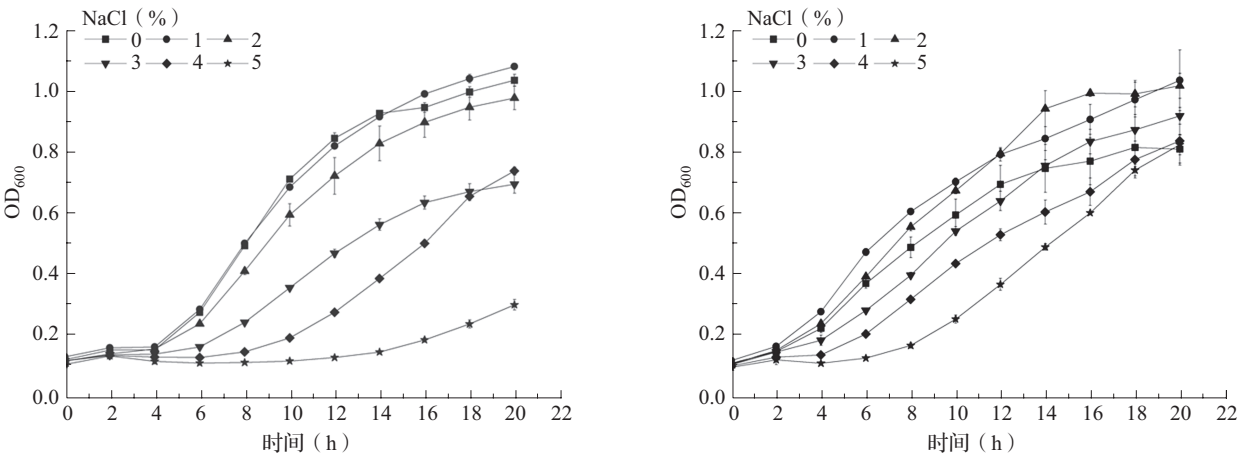


图 1 AhR1 (左) 和 AhR5 (右) 在不同 NaCl 浓度下的生长曲线

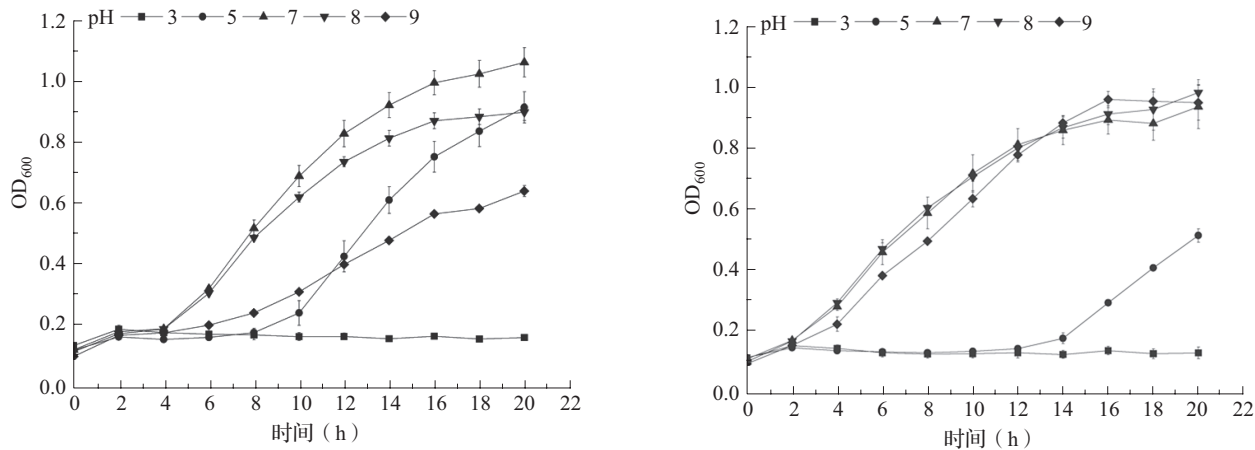
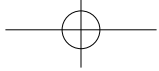


图2 AhR1 (左) 和 AhR5 (右) 在不同 pH 下的生长曲线

2.3 产 ACC 脱氨酶菌株的鉴定

观察菌株在 LB 培养基上的菌落形态, AhR1 菌落呈浅黄色, 圆形隆起, 表面光滑, 半透明, 易挑起, 边缘规则; AhR5 菌落呈白色, 圆形隆起, 光滑湿润, 不透明, 黏稠, 边缘规则。革兰氏染色结果显示 AhR1 和 AhR5 均呈阴性、杆状。

通过数据库比对和系统发育树分析 (图 3), AhR1 和 AhR5 均属于假单胞菌属 (*Pseudomonas*)。与 AhR1 相似度最大的菌株为 *Pseudomonas piscicola*, 相似度为 99.84%; 与 AhR5 相似度最大的菌株为 *Pseudomonas tianjinensis*, 相似度为 98.61%, 低于描述种水平的阈值 98.8%, 因此考虑为一株潜在新种。菌株 AhR1 和 AhR5 的 16S rDNA 测序结果在 GenBank 中的登录号分别为 PP256876 和 PP256877。

2.4 产 ACC 脱氨酶菌株促生效果验证

2.4.1 产 ACC 脱氨酶菌株对油菜种子发芽的影响

从油菜种子的发芽率 (图 4) 来看, 菌株总体

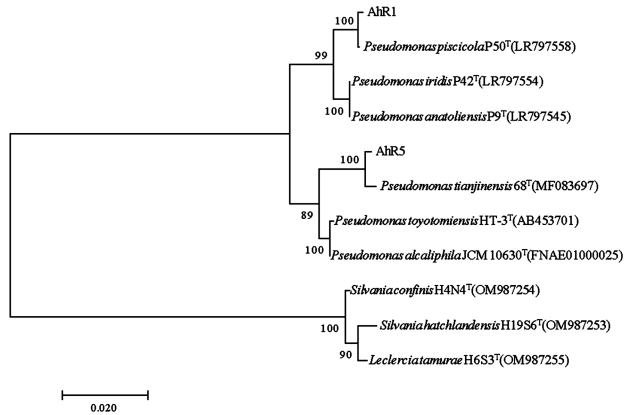


图3 产 ACC 脱氨酶菌株系统发育树

上对发芽率的影响较小, 没有明显的促进作用。菌株 AhR1 在 NaCl 浓度为 2‰ 以及 NaCl 浓度为 6‰、OD₆₀₀ 为 0.5 和 1.0 时对发芽率表现出了明显的抑制作用, 菌株 AhR5 在 NaCl 浓度为 2‰、OD₆₀₀ 为 0.1 和 0.5 时对发芽率表现出了明显的抑制作用, 两株

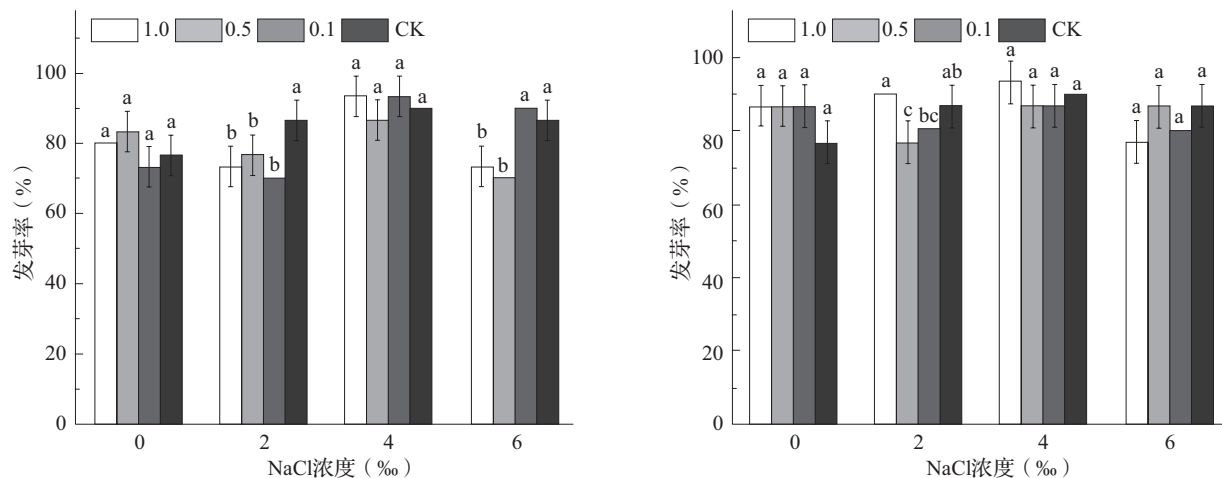


图4 AhR1 (左) 和 AhR5 (右) 对油菜种子发芽率的影响

注: 柱上字母不同表示同一 NaCl 浓度处理间差异显著 ($P < 0.05$)。图 5 同。

菌在其他情况下都未对发芽率产生显著影响。

从油菜苗的根长和芽长(图5)来看,菌株 AhR5 的效果要优于菌株 AhR1。相比于 CK, 菌株 AhR1 只有当浓度较低时($OD_{600}=0.1$)才会在不同 NaCl 浓度下对根长和芽长表现出显著的促进作用,

对根芽总长的提升率在 40.9% ~ 53.9% 之间,但在 2‰ NaCl 浓度下中高浓度($OD_{600} \geq 0.5$)的 AhR1 会对油菜的根长产生显著抑制作用。而菌株 AhR5 各个处理的根长和芽长均显著高于 CK, 其对根芽总长的提升率在 51.7% ~ 119.2% 之间。

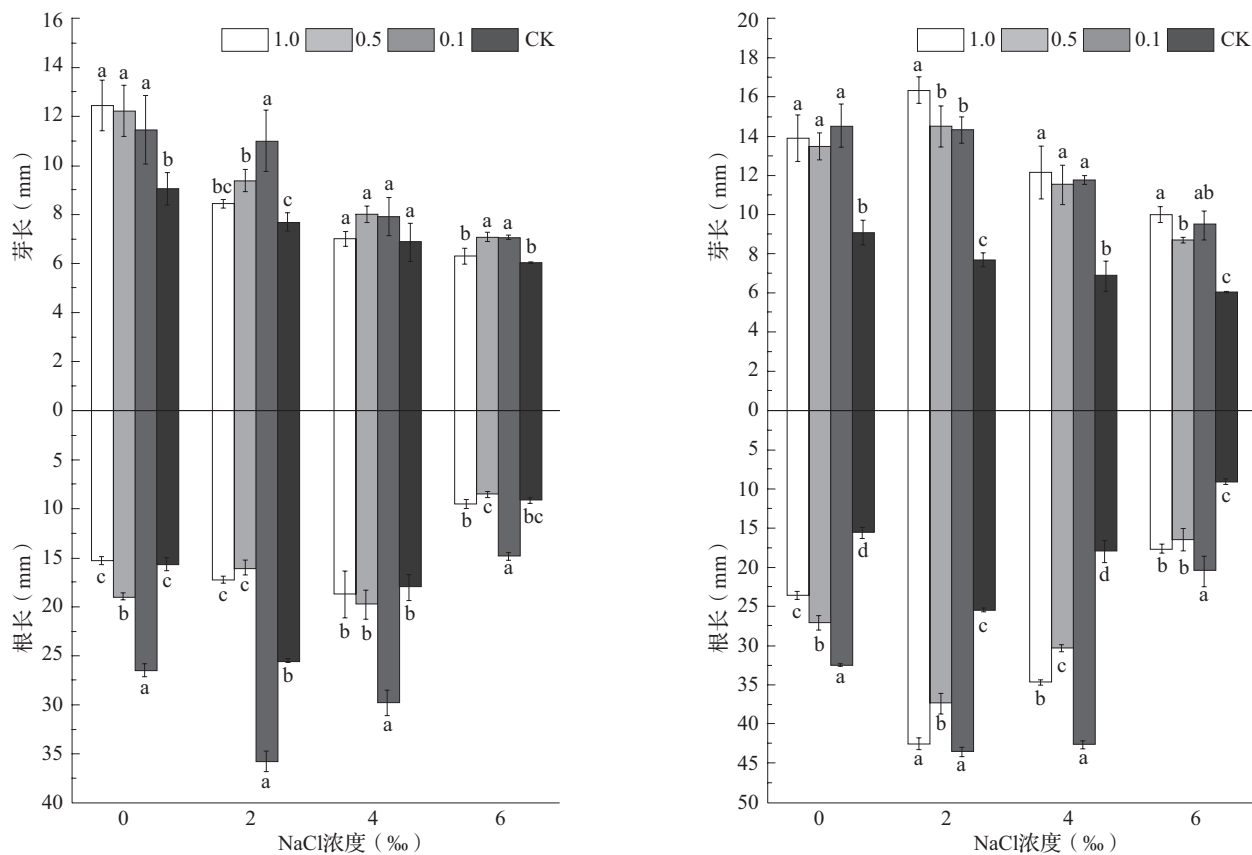


图5 AhR1 (左) 和 AhR5 (右) 对油菜苗根长和芽长的影响

2.4.2 产 ACC 脱氨酶菌株对油菜干重的影响

菌株 AhR1 和 AhR5 在不同盐含量土壤中对油菜干重的影响各有差异。相比于 CK, 菌株 AhR1 在 4‰ 含盐量的土壤中对油菜干重的提升最大, 提升比例为 22.07%, 菌株 AhR5 在 2‰ 含盐量的土壤中对油菜干重的提升最大, 提升比例为 29.91%。随着土壤盐含量的上升, 菌株 AhR5 对油菜的促生效果快速下降, 当土壤盐含量为 4‰ 时, 油菜干重相比于 CK 虽然有提升但已经不显著, 当土壤盐含量为 6‰ 时, 菌株 AhR5 对油菜生长几乎没有促进作用。

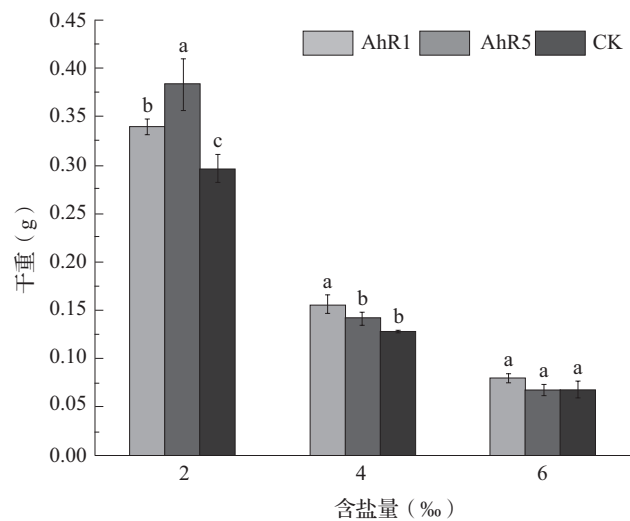
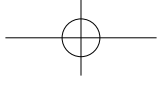


图6 各处理油菜的平均干重

注: 柱上字母不同表示同一含盐量菌株间差异显著 ($P < 0.05$)。



3 讨论

本研究从盐蒿根际分离出两株产 ACC 脱氨酶的耐盐促生菌株, 菌株 AhR1 的 ACC 脱氨酶酶活为 $15.72 \mu\text{mol}/(\text{mg} \cdot \text{h})$, 菌株 AhR5 的 ACC 脱氨酶酶活为 $48.38 \mu\text{mol}/(\text{mg} \cdot \text{h})$ 。两株菌均属于假单胞菌属, 其中菌株 AhR5 疑似新种, 后续开展研究时将对该菌株进行多相分类, 明确其分类地位的同时, 进一步挖掘其功能。王小兵等^[11]也从江苏沿海滩涂的盐蒿等植物中筛选了产 ACC 脱氨酶菌株, 但是并未得到与本研究相似的菌株。姚强等^[12]从滨海盐碱地的小麦根际筛选到一株产 ACC 脱氨酶假单胞菌, 其酶活为 $16.8 \mu\text{mol}/(\text{mg} \cdot \text{h})$, 与本研究的菌株 AhR1 较为接近。李明源等^[13]和王伟楠等^[14]从新疆盐碱地的盐生植物根际筛选获得的产 ACC 脱氨酶菌株酶活则远高于本研究的菌株。由此表明, 不同地理环境、宿主、地点等筛选得到的产 ACC 脱氨酶菌株的种类和酶活存在一定差异, 为了丰富微生物肥料菌种资源, 相关促生菌的筛选工作仍然具有重要意义。

在本研究的培养皿发芽试验中, 菌液浓度显著影响了种子的发芽和生长, 并且两株菌在不同浓度下的促生效果也有所差异。特别是菌株 AhR1, 其促生效果基本呈现随浓度的提高而下降的趋势, 在 2‰ NaCl 浓度下高浓度的 AhR1 甚至对油菜发芽率和根长表现出了显著的抑制作用。Zhou 等^[15]研究表明, 编码 ACC 脱氨酶的恶臭假单胞菌 (*Pseudomonas putida*) 在高浓度 ($>1 \times 10^8 \text{ cfu/mL}$) 下会抑制植物种子的萌发, 其作用机制主要是抑制了种子内乙烯的生物合成, 而乙烯能够激活种子萌发。另外, 最近的研究表明, ACC 可能作为独立于乙烯的信号分子, 参与根伸长的调节^[16], 其含量的减少可能是油菜根长受到抑制的原因之一。然而, 相比于菌株 AhR1, ACC 脱氨酶酶活更高的 AhR5 在高浓度时仍然表现出了显著的促生效果, 这一现象的原因可能在于其较高的产 IAA 能力。相关研究指出, 菌株产生的 IAA 不仅能够通过诱导细胞伸长或响应细胞分裂直接促进根的发育, 还能刺激 ACC 合成酶的活性, 增加 ACC 的产量^[17], 这一机制可能避免了高浓度的 AhR5 抑制油菜根的生长。

相比于发芽试验, 盆栽试验呈现出了不同的结果。菌株 AhR5 对油菜的促生效果随着盐含量的上升快速下降, 仅在 2‰ 盐含量下优于菌株 AhR1,

在中高盐条件下菌株 AhR1 表现更佳。李明源等^[13]和费诗萱等^[18]的研究中, 同样存在 ACC 脱氨酶酶活较高的菌株促生效果不如酶活较低菌株的情况。因此表明, ACC 脱氨酶酶活的大小并不一定能代表菌株实际促生能力的高低, 低水平的 ACC 脱氨酶活性 [$>20 \text{ nmol}/(\text{mg} \cdot \text{h})$] 足以发挥一定的促生效果^[6], 当菌株接种到土壤中后, 复杂的土壤环境可能会较大幅度地影响促生效果。因此, 在筛选促生菌资源的同时, 如何充分发挥菌株的促生效果也是亟待解决的问题之一。为此后续研究将围绕菌株的促生机理和与植物的互作机制展开, 为优质高效微生物肥料的开发和盐碱地的改良利用提供理论依据。

4 结论

本研究从沿海滩涂的盐蒿根际筛选到两株产 ACC 脱氨酶菌株, 其酶活性分别为 15.72 和 48.38 $\mu\text{mol}/(\text{mg} \cdot \text{h})$, 两株菌均属于假单胞菌属, 具有多种促生功能。培养皿发芽试验和盆栽试验表明两株菌在 4‰ 盐含量及以下对油菜的生长具有明显的促进作用, 具有开发为适用于盐碱地的微生物肥料的价值。

参考文献:

- [1] Deinlein U, Stephan A B, Horie T, et al. Plant salt-tolerance mechanisms [J]. Trends in Plant Science, 2014, 19(6): 371-379.
- [2] 王遵亲, 祝寿泉, 俞仁培, 等. 中国盐渍土 [M]. 北京: 科学出版社, 1993.
- [3] Shultana R, Zuan A T K, Naher U A, et al. The PGPR mechanisms of salt stress adaptation and plant growth promotion [J]. Agronomy, 2022, 12(10): 2266.
- [4] Giannelli G, Potestio S, Visioli G. The contribution of PGPR in salt stress tolerance in crops: unravelling the molecular mechanisms of cross-talk between plant and bacteria [J]. Plants, 2023, 12(11): 2197.
- [5] Moon Y S, Ali S. Possible mechanisms for the equilibrium of ACC and role of ACC deaminase-producing bacteria [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2022, 106(3): 877-887.
- [6] Penrose D M, Glick B R. Methods for isolating and characterizing ACC deaminase-containing plant growth-promoting rhizobacteria [J]. Physiologia Plantarum, 2003, 118(1): 10-15.
- [7] Glick B R, Jacobson C B, Schwarze M M, et al. 1-Aminocyclopropane-1-carboxylic acid deaminase mutants of the plant growth promoting rhizobacterium *Pseudomonas putida*

- GR12-2 do not stimulate canola root elongation [J]. Canadian Journal of Microbiology, 1994, 40(11): 911-915.
- [8] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding [J]. Analytical Biochemistry, 1976, 72(1): 248-254.
- [9] Glickmann E, Dessaux Y. A critical examination of the specificity of the salkowski reagent for compounds produced by phytopathogenic bacteria [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1995, 61(2): 793-796.
- [10] 高晓蓉, 朱丽晖, 周玉嫚. 非降解菌 *Pseudomonas* sp. JM2-gfp 细胞特性对生物膜形成能力的影响及其在植物根表的定殖 [J]. 微生物学通报, 2021, 48(11): 4019-4029.
- [11] 王小兵, 叶赛克, 汪晓丽, 等. 江苏沿海滩涂植物根际促生菌的筛选鉴定及其耐盐促生特性 [J]. 扬州大学学报 (农业与生命科学版), 2016, 37(2): 81-86.
- [12] 姚强, 董晓霞, 宫志远, 等. 滨海盐碱地产 ACC 脱氨酶细菌的筛选及根际促生研究 [J]. 山东农业科学, 2020, 52(2): 54-58.
- [13] 李明源, 王继莲, 田世梅. 盐爪爪根际产 ACC 脱氨酶菌株筛选及促生特性研究 [J]. 核农学报, 2023, 37(11): 2151-2157.
- [14] 王伟楠, 兰智勇, 喻文丽, 等. 盐穗木根际产 ACC 脱氨酶耐盐菌株的筛选及鉴定 [J]. 中国土壤与肥料, 2021(2): 270-275.
- [15] Zhou D, Zhao J L, Wang R, et al. ACC deaminase-encoding *Pseudomonas putida* arrests seed germination: an alternative strategy for grass and weed control [J]. Plant and Soil, 2022, 480(1-2): 391-406.
- [16] Glick B R, Nascimento F X. *Pseudomonas* 1-Aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase and its role in beneficial plant-microbe interactions [J]. Microorganisms, 2021, 9(12): 2467.
- [17] Gupta A, Rai S, Bano A, et al. ACC deaminase produced by PGPR mitigates the adverse effect of osmotic and salinity stresses in *Pisum sativum* through modulating the antioxidants activities [J]. Plants, 2022, 11(24): 3419.
- [18] 费诗萱, 张敏, 王迎, 等. 具有 ACC 脱氨酶活性的红枣根际促生菌株的分离筛选及其促生效果研究 [J]. 西北林学院学报, 2019, 34(6): 140-146.

Screening of ACC-deaminase strains from the rhizosphere of *Artemisia halodendron* and study on their growth-promoting effect

HUANG Xin^{1, 2}, CHEN Yan², GU Qing-qing², XU Qiu-xia², WU Ling², WANG Ying², GUO Cong², CAO Fan², LI Yu-juan^{2*} (1. Institute of Agricultural Resources and Environment, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing Jiangsu 210014; 2. Jiangsu Yanjiang Institute of Agricultural Sciences, Nantong Jiangsu 226002)

Abstract: To acquire resources for promoting plant growth and enhancing plant tolerance to salt stress, the salt-tolerant strains which could produce 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC)-deaminase from the rhizosphere of *Artemisia halodendron* were screened and identified by molecular biological methods. The growth-promoting effect was confirmed through germination tests and pot experiments. Two salt-tolerant strains producing ACC-deaminase were screened. Strains AhR1 and AhR5, identified as belonging to *Pseudomonas*, exhibited ACC-deaminase activity of 15.72 and 48.38 $\mu\text{mol}/(\text{mg} \cdot \text{h})$, respectively. Additionally, both strains were found to produce biofilm, indoleacetic acid, and decompose inorganic phosphorus. The results indicated that at salt concentrations of 2‰–6‰, the low concentration ($\text{OD}_{600}=0.1$) of the two strains significantly promoted the growth of rapeseed roots and buds. The results of the pot experiment on rapeseed indicated that strain AhR1 increased the dry weight of rapeseed by 22.07% at 4‰ salt content, while strain AhR5 increased it by 29.91% at 2‰ salt content. These findings suggested that strains AhR1 and AhR5 significantly promoted the growth of rapeseed under salt stress, and provided valuable resources for the development of microbial fertilizers and soil improvement in saline-alkali land.

Key words: *Artemisia halodendron*; plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR); ACC-deaminase