

具 ACC 脱氨酶活性的碱蓬内生细菌的分离、鉴定及其生物学特性

滕松山, 刘艳萍, 赵蕾*

(山东师范大学生命科学学院, 济南 250014)

摘要:【目的】具有 1-氨基环丙烷-1-羧酸 (ACC) 脱氨酶活性的盐生植物碱蓬内生细菌的分离及生物学特性的研究有助于探索内生细菌与宿主植物耐盐性的关系。【方法】采用研磨法从健康碱蓬植株的根、茎、叶中分离具有 ACC 脱氨酶活性的碱蓬内生细菌, 根据形态特征、生理生化、API 鉴定系统和 16S rRNA 对菌种进行鉴定, 并分别测定了菌株产 ACC 脱氨酶、铁载体、吡啶乙酸、赤霉素、脱落酸、蛋白酶及溶磷、固氮和拮抗病原菌的特性。【结果】将分离得到的内生细菌 LP11、SS12、TW1 和 TW2 分别鉴定为栖稻假单胞菌 (*Pseudomonas oryzihabitans*)、假单胞菌 (*Pseudomonas* sp.)、成团泛菌 (*Pantoea agglomerans*) 和恶臭假单胞菌 (*Pseudomonas putida*), 4 株菌除具有较高的 ACC 脱氨酶活力之外, 还可不同程度地产生铁载体、吡啶乙酸、赤霉素和脱落酸, 且均有溶磷作用, 但无固氮能力及蛋白酶活力, 唯有菌株 SS12 对萝卜枯萎病菌 (*Fusarium oxysporum* f. sp. *conglutinans*) 和黄瓜枯萎病菌 (*F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum*) 具有拮抗作用。【结论】从盐生植物碱蓬中分离到的假单胞菌属和泛菌属内生细菌, 具有丰富多样的生物学特性。

关键词: 碱蓬; ACC 脱氨酶; 内生细菌; 鉴定

中图分类号: Q936 **文献标识码:** A **文章编号:** 0001-6209 (2010) 11-1503-07

碱蓬 (*Suaeda salsa*) 是一种生长于盐碱地和海滨沙滩的耐盐性极强的盐生植物, 在我国新、蒙、甘、陕、鲁、晋、辽等省区分布广泛, 是当前生物改良盐渍土的首选植物品种。大量研究证明, 碱蓬的耐盐能力主要源自耐盐关键基因的表达或调节^[1], 而碱蓬内生菌的多样性及其对碱蓬的生长及生理功能的影响却长期处于被忽视的地位。

众所周知, 生物之间的共生是一种极为普遍的生命活动和生态现象, 大部分植物内生菌都是植物物种进化的结果, 即内生菌通过与宿主植物的相互作用, 使植物能够在特定环境下生长、繁殖。有研究表明, 感染内生真菌的植物具有较高的抗逆境胁迫的能力^[2], 而一些具有 ACC 脱氨酶活性的内生细菌在促进宿主植物的生长及抗重金属胁迫中也起到了

作用^[3], 该酶是通过催化乙烯的关键中间前体物质 ACC 转化成 α -丁酮酸来降低乙烯水平, 从而缓解逆境胁迫产生的乙烯对植物造成的不良影响^[4]。为深入探讨处于高盐环境中碱蓬内生细菌的生态作用, 本文以 ACC 脱氨酶为指标对碱蓬内生细菌进行筛选, 并从植物促生、平衡调节、生防特性几方面对其进行系统研究, 力图为进一步揭示内生细菌在盐生植物抗盐中的作用与地位奠定基础。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 植物材料: 供试碱蓬健康植株, 采自山东省东营市盐碱地。

基金项目: 山东省自然科学基金 (ZR2009DM042); 国家转基因生物新品种培育重大专项 (2009ZX08011-020B)

* 通信作者。Tel: +86-531-88177190, E-mail: zhaolei@sdu.edu.cn

作者简介: 滕松山 (1984 -), 男, 山东莱州人, 硕士研究生, 主要从事微生物资源的开发与应用研究。E-mail: tengsongshan@163.com

收稿日期: 2010-04-08; **修回日期:** 2010-05-18

1.1.2 病原真菌: 萝卜枯萎病菌 (*Fusarium oxysporum* f. sp. *conglutinans*) 和黄瓜枯萎病菌 (*F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum*) 由山东农业大学植物保护学院植物病理学系和青岛农业大学农学与植物保护学院分离并鉴定。

1.1.3 培养基: ① PAF、DF、ADF 培养基^[5]; ② 改良 SRSM 培养基^[6]; ③ 缺铁的 LNM 培养基^[7]; ④ 含有 1 g/L NH_4NO_3 和 100 mg/L 色氨酸的 CCM 培养基^[8]; ⑤ Ashby 和 Nfb 固体培养基^[9]。

1.1.4 主要试剂和仪器: ACC、Biospin Bacteria Genomic DNA Extraction Kit 试剂盒及 PCR 扩增的全套试剂购自上海生物工程技术有限公司; 16S rRNA 序列扩增引物由上海生物工程技术有限公司合成; 其它试剂均购自济南皓博生物技术有限公司; 分光光度计购自北京普析通用仪器有限责任公司; 高效液相色谱仪及质谱仪购自日本 SHIMADZU 公司; 高速冷冻离心机购自德国 Eppendorf 公司。

1.2 具有 ACC 脱氨酶活性的碱蓬内生细菌的富集和分离

参考 Penrose^[10] 的方法, 采用研磨法从健康碱蓬植株的根、茎、叶中分离具有 ACC 脱氨酶活性的碱蓬内生细菌。

1.3 菌种鉴定

1.3.1 生理生化鉴定: 参照伯杰氏细菌鉴定手册 (第九版)^[11]。

1.3.2 API 系统鉴定: 使用法国梅里埃公司生产的 API 20NE 和 API 20E 系统对菌株进行鉴定。

1.3.3 16S rRNA 序列扩增和序列分析: 菌株在 LB 培养基中 28℃ 振荡培养至对数期, 以 3200 × g 离心收集菌体, 利用 Biospin Bacteria Genomic DNA Extraction Kit 试剂盒分离纯化细菌基因组 DNA。根据原核生物 16S rRNA 保守序列通用引物 F8 (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') 和 R1492 (5'-GGTTACCTTGTACGACTT-3')^[12] 进行 16S rRNA 的 PCR 扩增, 采用 50 μL 反应体系, 扩增程序为: 95℃ 4 min; 94℃ 30 s, 53℃ 35 s, 72℃ 1 min 20 s, 72℃ 10 min, 30 个循环。扩增产物由上海生物工程技术有限公司测序。将测定的序列在 GenBank 中用 Blast 软件与已知的 16S rRNA 序列进行同源性分析, 采用 clustX 1.81 软件进行多序列比对。用 Mega 4.0 软件包中的 Kimura 2-Parameter Distance 模型进行多序列匹配排列, 用邻接法 (Neighbor-Joining

Method) 构建 16S rRNA 基因系统发育树。

1.4 菌株的植物促生特性

1.4.1 溶磷能力: 参考 Vyas^[6] 的方法, 用钼锑抗比色法测定。

1.4.2 铁载体含量: 参考 Schwyn^[7] 的方法, 用 CAS 比色法测定。

1.4.3 固氮活性: 参考李倍金^[9] 的方法, 能同时在 Ashby 和 Nfb 固体培养基上正常生长的菌株具有固氮活性。

1.4.4 吲哚乙酸 (IAA) 和赤霉素 (GA_3) 含量: 参考 Sgroj^[8] 的方法, 用液相色谱-质谱联用法 (LC-MS) 测定。

1.5 菌株的平衡调节特性

1.5.1 ACC 脱氨酶活力: 参考 Seleh^[5] 的方法, 将每分钟形成 1 μmol α-丁酮酸的量定义为 1 个酶活力单位。蛋白质的测定采用 Bradford 法, 以牛血清白蛋白为标准蛋白。

1.5.2 脱落酸 (ABA) 含量: 同 1.4.4 的方法测定。

1.6 菌株的生防特性

1.6.1 拮抗作用: 采用异步培养法测定菌株对病原真菌的拮抗作用。于改良 PDA 平板中央接种直径为 10 mm 的病原真菌菌丝块, 28℃ 培养 24 h 后在相距 2.5 cm 处接种供试菌株, 以不接细菌的为对照, 每菌株设 3 次重复, 于 37℃ 恒温箱中培养 7 d 后测病原真菌菌落直径。

1.6.2 蛋白酶活性: 将供试菌株接种于脱脂牛奶平板上, 37℃ 培养 24 h 后观察菌落周围产生的透明圈, 每菌株设 3 次重复。

2 结果

2.1 形态和生理生化特征

分离得到 4 株具有 ACC 脱氨酶活性的碱蓬内生细菌, 编号分别为 LP11、SS12、TW1 和 TW2, 其形态和生理生化特征见表 1。

2.2 API 鉴定结果

使用 API 微生物鉴定系统将 4 株内生细菌培养 24 h 后, 用 API LAB Plus 软件判读其结果: LP11、TW1 和 TW2 与栖稻假单胞菌 (*Pseudomonas oryzae*)、阴沟肠杆菌 (*Enterobacter cloacae*) 和恶臭假单胞菌 (*Pseudomonas putida*) 的鉴定百分率分别为 99.9%、59.4% 和 99.7%。菌株 SS12 未在对数据库读出鉴定结果。

表 1 具 ACC 脱氨酶活性的碱蓬内生细菌的形态和生理生化特征

Table 1 Morphology and physiological biochemical characteristics of ACC deaminase-containing endophytic bacteria strains isolated from *Suaeda salsa*

Characteristics	Bacterial isolates				Characteristics	Bacterial isolates			
	LP11	SS12	TW1	TW2		LP11	SS12	TW1	TW2
Morphology	rods	rods	rods	rods	Glucose utilization	+	+	+	+
Gram stain	-	-	-	-	Arabinose utilization	+	+	+	+
Flagellum	+	+	+	+	Xylose utilization	+	+	+	+
Sporeforming	-	-	-	-	Fructose utilization	+	+	-	+
Catalase reaction	+	+	+	+	Maltose utilization	+	+	+	-
Oxidase reaction	-	-	-	+	Sucrose utilization	+	+	+	-
M. R test	-	-	-	-	Lactose utilization	-	+	+	-
V. P test	-	-	+	-	Galactose utilization	+	+	+	+
Hydrolysis of starch	+	+	+	-	Nitrate reduction	-	-	+	-

+, Positive; -, Negative.

2.3 16S rRNA 基因的序列分析

4 株内生细菌 LP11、SS12、TW1 和 TW2 均可

扩增出约 1.4 kb 的单一一条带, 经测序确定为 16S

rRNA 基因序列 (GenBank accession numbers:

表 2 具 ACC 脱氨酶活性的碱蓬内生细菌的 16S rRNA 鉴定结果

Table 2 Identification of ACC deaminase-containing endophytic bacteria strains isolated from *Suaeda salsa* using 16S rRNA gene sequences

Bacterial isolates	GenBank accession number	Closest related type strains according to the 16S rRNA gene sequence in GenBank (Accession No.)	No. of bases	Similarity/%
LP11	HM038118	<i>Pseudomonas oryzihabitans</i> LMG 7040 ^T (GQ250598)	1414	99
SS12	HM038119	<i>Pseudomonas oryzihabitans</i> LMG 7040 ^T (GQ250598)	1350	99
TW1	HM038120	<i>Pantoea agglomerans</i> ATCC 43348 ^T (FJ611821)	1337	99
TW2	HM038121	<i>Pseudomonas putida</i> ATCC 17536 ^T (AF094747)	1386	98

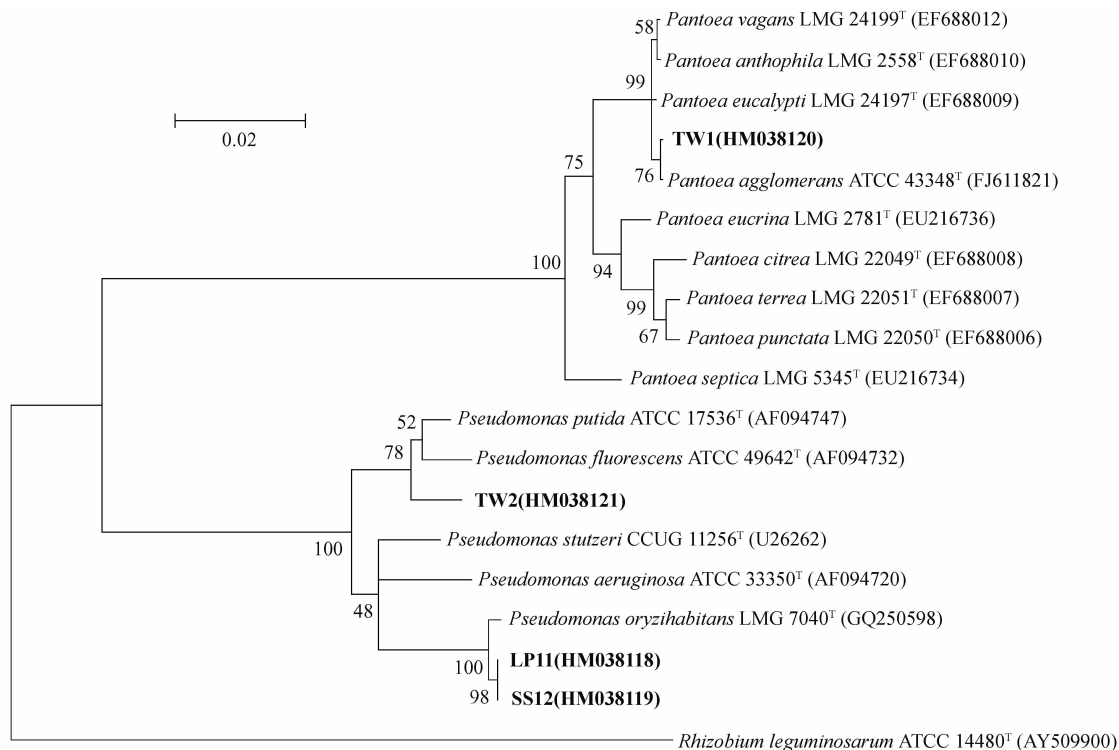


图 1 基于 16S rRNA 序列的具 ACC 脱氨酶活性的碱蓬内生细菌的系统发育树

Fig. 1 The phylogenetic tree of ACC deaminase-containing endophytic bacteria strains isolated from *Suaeda salsa* based on 16S rRNA gene sequences. The numbers at the nodes indicate the bootstrap values based on neighbor-joining analyses of 1000 resample data sets. After each bacterial name, the GenBank accession number is shown in parentheses. Bar, 0.02 substitutions per nucleotide. *Rhizobium leguminosarum* ATCC 14480^T (GenBank accession number: AY509900) was selected as the outgroup to root the tree.

HM038118-HM038121), 然后分别与 GenBank 中的近缘模式种进行 Blast 比对分析(表 2), 并采用邻接法构建 4 株内生细菌与假单胞菌属 (*Pseudomonas* sp.) 和泛菌属 (*Pantoea* sp.) 模式种的 16S rRNA 系统发育树(图 1)。

结果显示, 菌株 LP11 和 SS12 与模式种 *Pseudomonas oryzihabitans* LMG 7040^T 的相似度为 99%, 菌株 TW2 与模式种 *Pseudomonas putida* ATCC 17536^T 的相似度为 98%, 说明 3 株菌均属假单胞菌属 (*Pseudomonas* sp.), 菌株 TW2 与菌株 LP11 和 SS12 的相似度均为 95%。结合生理生化试验结果, 将菌株 LP11 鉴定为栖稻假单胞菌 (*Pseudomonas oryzihabitans*), 菌株 TW2 为恶臭假单胞菌 (*Pseudomonas putida*); 而菌株 SS12 能够利用的碳源与模式种 *Pseudomonas oryzihabitans* LMG 7040^T 有

差异, 故种的鉴定还需通过 DNA 杂交和 (G + C) mol% 含量来确定。

菌株 TW1 与模式种 *Pantoea agglomerans* ATCC 43348^T 位于同一分支, 亲缘关系最近, 有 99% 的相似性, 在分类地位上属泛菌属 (*Pantoea* sp.), 进一步结合生理生化试验结果, 将菌株 TW1 鉴定为成团泛菌 (*Pantoea agglomerans*)。

2.4 碱蓬内生细菌的植物促生特性

采用研磨法分离得到的 4 株碱蓬内生细菌具有较强的溶磷能力(图 2-B), 且均能产生铁载体, 但产量差异大, 菌株 TW1 发酵液中铁载体的相对含量高达 97.25%, 而菌株 LP11 发酵液中铁载体的相对含量只有 52.02%(图 2-C); 4 株内生细菌均不能在缺氮的 Ashby 和 Nfb 培养基上正常生长, 说明不具备固氮能力(表 3); 菌株经液体发酵培养后均可不同

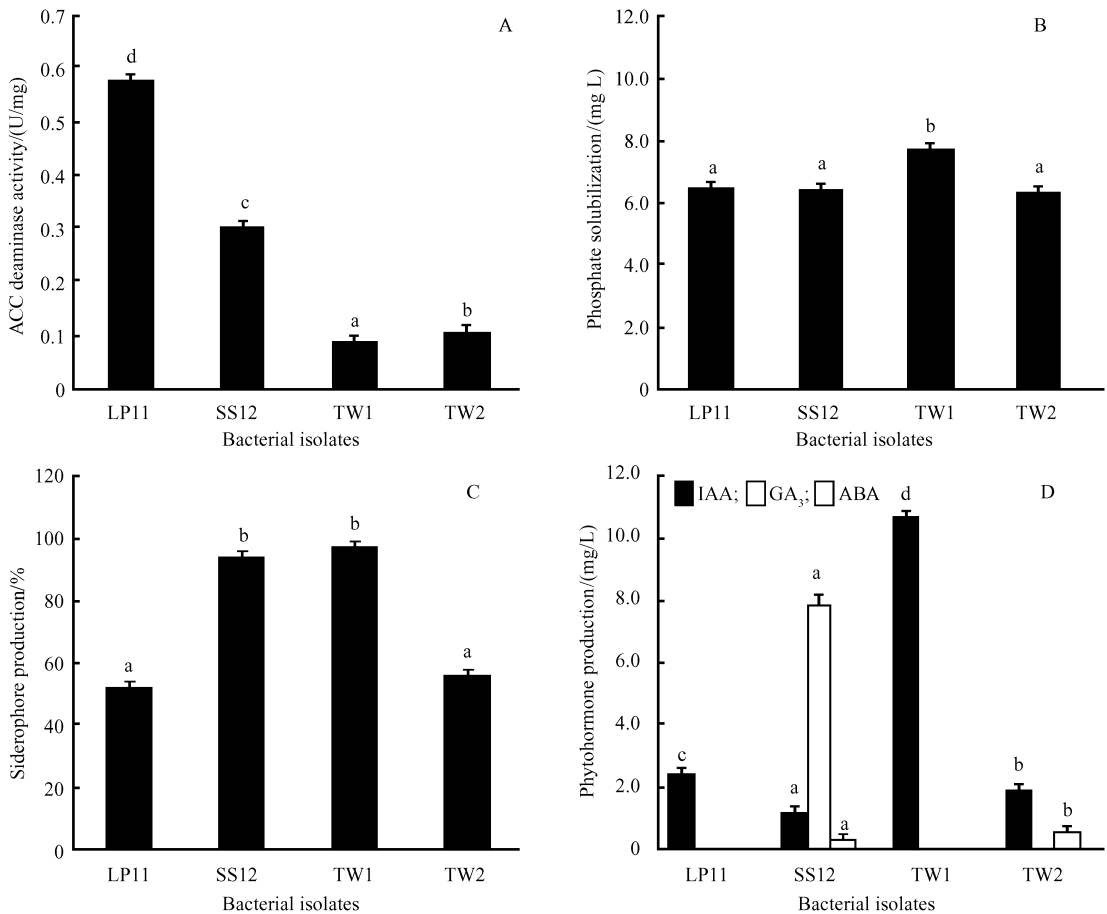


图 2 碱蓬内生细菌 ACC 脱氨酶活力、溶磷能力、铁载体及植物激素产量的测定

Fig. 2 Determination of ACC deaminase activity, phosphate solubilization and siderophore production by spectrophotometer and quantification of phytohormones by LC-MS of endophytic bacteria strains isolated from *Suaeda salsa*. Values (mean of three replicates \pm standard error) designated with the same letters are not significantly different ($P \leq 0.05$) according to Fisher's least significance test. Bars without letters mean that the compound was not detected by the methodology. (A) ACC deaminase activity of bacterial isolates; (B) Phosphate solubilization of bacterial isolates; (C) Siderophore production of bacterial isolates; (D) Phytohormones (IAA, GA₃ and ABA) production of bacterial isolates.

程度地产生植物激素 IAA, 其中菌株 TW1 的产量最高, 为 10.7 mg/L, 而唯有菌株 SS12 能够产生 GA₃

(图 2-D)。

表 3 碱蓬内生细菌的生物学特性

Table 3 Biological characteristics of endophytic bacteria strains isolated from *Suaeda salsa*

Bacterial isolates	ACC deaminase activity	Phosphate solubilization	Siderophore production	Nitrogen fixation	Phytohormones production	Antifungal activity	Protease activity
LP11	+	+	+	-	+	-	-
SS12	+	+	+	-	+	+	-
TW1	+	+	+	-	+	-	-
TW2	+	+	+	-	+	-	-

+, Positive; -, Negative.

2.5 碱蓬内生细菌的平衡调节特性

4 株碱蓬内生细菌在 ACC 终浓度为 3.0 mmol/L 的 ADF 液体培养基中培养 24 h 后, 均显示出较高的 ACC 脱氨酶活力。从图 2 - A 可以看出, 菌株 LP11 的酶活力最高, 为 0.576 U/mg; 菌株 SS12 的酶活力次之, 为 0.301 U/mg; 菌株 TW1 与菌株 TW2 的酶活力水平相当, 分别为 0.086 U/mg 和 0.108 U/mg。

菌株 SS12 和 TW2 的 ABA 产量分别为 0.2 mg/L 和 0.5 mg/L, 而菌株 LP11 和 TW1 不产生 ABA (见图 2 - D)。

2.6 碱蓬内生细菌的生防特性

产蛋白酶是生防菌拮抗病原真菌的机制之一, 虽然 4 株碱蓬内生细菌都无法在脱脂牛奶平板上产生透明圈, 即不具有蛋白酶活性, 但对峙培养试验结果表明, 菌株 SS12 能够对萝卜枯萎病菌 (*Fusarium oxysporum* f. sp. *conglutinans*) 和黄瓜枯萎病菌 (*F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum*) 产生拮抗作用, 抑菌带平均宽度为 2.2 mm 和 3.6 mm。

3 讨论

本文采用成套生化编码的 API 微生物鉴定系统对菌种进行鉴定, 简化并加快了菌种的鉴定过程, 但缺点是易受模式菌株和数据库的限制以及外界人为操作的影响, 导致结果有时不够准确, 如菌株 TW1 的 API 系统的鉴定结果为阴沟肠杆菌 (*Enterobacter cloacae*), 而生理生化和 16S rRNA 序列同源性的分析结果为成团泛菌 (*Pantoea agglomerans*), 原因是用于检索的 API 系统数据库中未包含该菌种, 故可排除 API 系统的鉴定结果, 确认该菌株为成团泛菌 (*Pantoea agglomerans*)。虽然成团泛菌已在水稻作物中被发现^[13], 但迄今为止未见从盐生植物中分离得到该菌的报道。

菌株 SS12 虽不产蛋白酶, 却是 4 株内生细菌中

唯一对病原真菌显示拮抗活性的菌株, 其拮抗机制可能与其嗜铁素产量较高有关, 因假单胞菌的生防机制之一是通过产生嗜铁素与病原真菌争夺铁元素从而抑制病原真菌的生长繁殖, 但同样高产嗜铁素的菌株 TW1 却没有显示出对病原真菌的拮抗活性, 原因有待进一步研究。

大量研究表明, 吡啶乙酸和赤霉素能够促进植物的生长并提高植物的抗逆能力, 如接种高产吡啶乙酸的苜蓿中华根瘤菌 (*Sinorhizobium meliloti*) 可以增强宿主的抗盐性^[14]; 另外, 脱落酸也能促进植物中有机渗透调节物质 (如可溶性糖和脯氨酸) 的合成从而提高细胞质的浓度, 如碱蓬种子中脱落酸的积累增强了碱蓬在高盐环境中的适应能力^[15]。本实验利用液相色谱-质谱联用法 (LC-MS) 测定了菌株产生的 3 种植物激素, 发现 4 株内生细菌均能产生吡啶乙酸, 菌株 SS12 和 TW2 还可分别产生赤霉素或脱落酸, 虽然本研究获得的 4 株具有 ACC 脱氨酶活性的菌株只是众多碱蓬内生细菌中的一部分, 但其产生植物激素的多样性说明, 碱蓬内生细菌产生的植物激素可在一定程度上有助于宿主植物对盐胁迫引起的生理和生化反应进行调控, 从而提高植物在盐渍生境中的渗透调节能力。

国内外研究表明, 具有 ACC 脱氨酶活性的植物根际和内生细菌在提高植物抗旱、涝、盐、高低温及重金属等压力胁迫中起到了重要作用^[16-20]。在 4 株具 ACC 脱氨酶活性的碱蓬内生细菌中, 酶活力最高的栖稻假单胞菌 (*Pseudomonas oryzae*) LP11 为碱蓬内生优势菌, 其酶活力甚至高于来自污染土壤并对油菜具有促生作用的栖稻假单胞菌 Ep4^[21], 是一株具有较高研究价值的菌株。

总之, 4 株具有 ACC 脱氨酶活性的碱蓬内生细菌对宿主及其它作物的解盐促生作用还需进一步通过盆栽试验证实, 其抗逆相关基因的克隆也是我们下一步要开展的工作。

参考文献

- [1] Zhao F, Wang Z, Zhang Q, Zhao Y, Zhang H. Analysis of the physiological mechanism of salt-tolerant transgenic rice carrying a vacuolar Na⁺/H⁺ antiporter gene from *Suaeda salsa*. *Journal of Plant Research*, 2006, 119(2): 95-104.
- [2] Rodriguez R, Redman R. More than 400 million years of evolution and some plants still can't make it on their own: plant stress tolerance via fungal symbiosis. *Journal of Experimental Botany*, 2008, 59(5): 1109-1114.
- [3] Sheng XF, Xia JJ, Jiang CY, He LY, Qian M. Characterization of heavy metal-resistant endophytic bacteria from rape (*Brassica napus*) roots and their potential in promoting the growth and lead accumulation of rape. *Environmental Pollution*, 2008, 156(3): 1164-1170.
- [4] Hardoim PR, van Overbeek LS, Elsas JD. Properties of bacterial endophytes and their proposed role in plant growth. *Trends in Microbiology*, 2008, 16(10): 463-471.
- [5] Seleh SS, Glick BR. Involvement of *gacs* and *rpos* in enhancement of the plant growth-promoting capabilities *Enterobacter cloacae* CAL2 and UW4. *Canadian Journal of Microbiology*, 2001, 47(8): 698-705.
- [6] Vyas P, Rahi P, Chauhan A, Gulati A. Phosphate solubilization potential and stress tolerance of *Eupenicillium parvum* from tea soil. *Mycological Research*, 2007, 111(Pt8): 931-938.
- [7] Schwyn B, Neilands JB. Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. *Analytical Biochemistry*, 1987, 160(1): 47-56.
- [8] Sgroi V, Cassan F, Masciarelli O, Del Papa MF, Lagares A, Luna V. Isolation and characterization of endophytic plant growth-promoting (PGPR) or stress homeostasis-regulating (PSHB) bacteria associated to the halophyte *Prosopis strombulifera*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2009, 85(2): 371-381.
- [9] 李倍金, 罗明, 周俊, 孔德江, 张铁明. 几种禾草内生固氮菌的分离及固氮活性测定. 草业学报 (*Acta Prataculturae Sinica*), 2008, (05): 37-42.
- [10] Penrose DM, Glick BR. Methods for isolating and characterizing ACC deaminase-containing plant growth-promoting rhizobacteria. *Physiologia Plantarum*, 2003, 118(1): 10-15.
- [11] Buchanan RE, Bergery NE. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 9th ed. Baltimore: Williams & Wilkins Company, 1994.
- [12] Weisburg WG, Bams SM, Pelletier DA. 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. *Journal of Bacteriology*, 1991, 173(2): 697-703.
- [13] 冯永君, 宋未. 水稻内生优势成团泛菌 GFP 标记菌株的性质与标记丢失动力学. 中国生物化学与分子生物学报 (*Chinese Journal of Biochemistry and Molecular Biology*), 2002, 18(1): 85-91.
- [14] Bianco C, Defez R. *Medicago truncatula* improves salt tolerance when nodulated by an indole-3-acetic acid-overproducing *Sinorhizobium meliloti* strain. *Journal of Experimental Botany*, 2009, 60(11): 3097-3107.
- [15] Li W, Liu X, Ajmal Khan M, Yamaguchi S. The effect of plant growth regulators, nitric oxide, nitrate, nitrite and light on the germination of dimorphic seeds of *Suaeda salsa* under saline conditions. *Journal of Plant Research*, 2005, 118(3): 207-214.
- [16] Belimov AA, Dodd IC, Hontzeas N, Theobald JC, Safronova VI, Davies WJ. Rhizosphere bacteria containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase increase yield of plants grown in drying soil via both local and systemic hormone signalling. *New Phytologist*, 2009, 181(2): 413-423.
- [17] Farwell AJ, Vesely S, Nero V, Rodriguez H, McCormack K, Shah S, Dixon DG, Glick BR. Tolerance of transgenic canola plants (*Brassica napus*) amended with plant growth-promoting bacteria to flooding stress at a metal-contaminated field site. *Environmental Pollution*, 2007, 147(3): 540-545.
- [18] Gamalero E, Berta G, Massa N, Glick BR, Lingua G. Interactions between *Pseudomonas putida* UW4 and *Gigaspora rosea* BEG9 and their consequences for the growth of cucumber under salt-stress conditions. *Journal of Applied Microbiology*, 2010, 108(1): 236-245.
- [19] Sheng XF, He LY, Zhou L, Shen YY. Characterization of *Microvacterium* sp. F10a and its role in polycyclic aromatic hydrocarbon removal in low-temperature soil. *Canadian Journal of Microbiology*, 2009, 55(5): 529-535.
- [20] 孙乐妮, 何琳燕, 张艳峰, 张文辉, 王琪, 盛下放. 海州香薷 (*Elsholtzia splendens*) 根际铜抗性细菌的筛选及生物多样性. 微生物学报 (*Acta Microbiologica Sinica*), 2009, 49(10): 1360-1366.

[21] Belimov AA, Safronova VI, Sergeyeva TA, Egorova TN, Matveyeva VA, Tsyganov VE, Borisov AY, Tikhonovich IA, Kluge C, Preisfeld A, Dietz KJ, Stepanok VV. Characterization of plant growth promoting rhizobacteria

isolated from polluted soils and containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase. *Canadian Journal of Microbiology*, 2001, 47(7): 642-652.

Isolation, identification and characterization of ACC deaminase-containing endophytic bacteria from halophyte *Suaeda salsa*

Songshan Teng, Yanping Liu, Lei Zhao *

(College of Life Sciences, Shandong Normal University, Jinan 250014, China)

Abstract: [**Objective**] We Isolated and characterized 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase-containing endophytic bacteria from halophyte *Suaeda salsa* to understand the interactions between endophytes and halophyte.

[**Methods**] ACC deaminase-containing endophytic bacteria were isolated from root, stalk and leaf of *Suaeda salsa* and were identified based on morphological, physiological-biochemical properties, API and 16S rRNA sequence analysis.

Isolates were evaluated for their ACC deaminase, antifungal, protease activity, siderophores and phytohormones, such as indole-3-acetic acid, gibberellic acid and abscisic acid production, as well as atmospheric nitrogen fixation and phosphate solubilization.

[**Results**] Four ACC deaminase-containing endophytic bacteria strains named as LP11, SS12, TW1 and TW2 were isolated and identified as *Pseudomonas oryzihabitans*, *Pseudomonas* sp., *Pantoea agglomerans* and *Pseudomonas putida* respectively.

All the strains possessed the phosphate-solubilizing ability and could produce siderophores and phytohormones more or less. None of them could fix atmospheric nitrogen or produce protease. Only strain SS12 showed antagonism against two phytopathogenic fungi viz *Fusarium oxysporum* f. sp. *conglutinans* and *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum*.

[**Conclusion**] ACC deaminase-containing endophytic bacteria of *Pseudomonas* sp. and *Pantoea* sp. isolated from halophyte *Suaeda salsa* have abundant biological characteristics related to plant growth promotion, stress homeostasis regulation and biocontrol activity.

Keywords: *Suaeda salsa*; ACC deaminase; endophytic bacteria; identification

(本文责编:王晋芳)

Supported by the Natural Science Foundation of Shandong Province (ZR2009DM042) and by the National Major Special Project on New Varieties Cultivation for Transgenic Organisms (2009ZX08011-020B)

* Corresponding author. Tel: +86-531-88177190; E-mail: zhaolei@sdu.edu.cn

Received: 8 April 2010/Revised: 18 May 2010