

芽孢杆菌DY-3提高烟草幼苗的耐盐性

江绪文, 陈嘉斌, 李贺勤*, 赵洪海, 张玉梅

青岛农业大学农学与植物保护学院/山东省旱作农业技术重点实验室, 山东青岛266109

摘要: 本文研究了芽孢杆菌DY-3对盐胁迫下烟草幼苗生长和生理生化特性的影响。结果表明: 菌株可显著提高烟草幼苗的苗长、根长、鲜重和干重, 显著提高烟草叶片中叶绿素含量、相对水分含量、脯氨酸含量和酚类物质含量, 显著降低叶片中丙二醛含量、细胞膜透性、 Na^+ 和 Cl^- 含量。这说明菌株DY-3可提高烟草幼苗的耐盐性。

关键词: 芽孢杆菌DY-3; 盐胁迫; 烟草; 幼苗

土壤盐渍化是世界范围内农业生产上最常见的问题, 它产生的离子毒害和渗透胁迫对植物的生长和发育造成重大影响, 甚至会导致减产(Shabala和Cuin 2008)。我国滨海、东北、西北、黄河中上游和黄淮海平原地区有着大片的盐碱地, 这严重影响了农业的可持续发展(林长凛和林敏 2013)。作为一种土地资源, 盐渍土具有巨大的发展潜力, 尤其是当下土地资源日益短缺, 其地位显得越来越重要。因此, 如何降低盐对植物的毒害或提高植物耐盐性是国内外许多科研人员努力的方向, 也是盐渍化地区土壤生物改良的核心问题(王宝山等1997)。

选育耐盐作物是一个切实可行的解决途径, 但目前成功的例子并不多。而提高现有栽培作物的耐盐能力成为一种有效的策略(王为等2009)。近年来, 应用微生物提高作物耐盐性的研究成为热点(Dodd和Pérezalfocea 2012)。芽孢杆菌(*Bacillus* spp.)是目前在提高作物耐盐性研究中应用较多的一类细菌(谢永丽等2012)。已有研究表明一些芽孢杆菌能提高辣椒(Bochow等2001)、番茄(Woitke等2004)、黄瓜(闫海霞等2010)、棉花(赵雅静等2010)、草莓(Karlidag等2013)、紫花苜蓿(韩庆庆等2014)、小麦(韩坤等2015)等植物的耐盐能力, 从而使植物在含盐量高的环境中正常生长。

本课题组前期分离了一株芽孢杆菌DY-3 (*Bacillus aquimaris* strain DY-3), 具有一定的耐盐性。但有关该菌株对盐胁迫下植物生长发育影响的研究还未见报道。烟草是我国重要的经济作物, 但对盐敏感。为此, 本课题组在室内研究了盐胁迫条件下芽孢杆菌DY-3对烟草幼苗生长及生理生化指标的影响, 为该菌株提高烟草耐盐性的机制研究以及盐渍土的治理提供理论依据。

材料与方法

1 实验材料

芽孢杆菌DY-3 (*Bacillus aquimaris* strain DY-3)由本课题组从黄河三角洲盐碱地土壤分离, 牛肉膏蛋白胨培养基(beef extract peptone)用于细菌的分离和培养。革兰氏染色液试剂盒、芽孢染色液试剂盒和Kovacs氏靛基质试剂盒购于青岛海博生物技术有限公司, 细菌基因组DNA快速抽提试剂盒购于生工生物工程(上海)股份有限公司, 2×Taq PCR MasterMix购自北京博迈德生物技术有限公司, 引物合成和PCR产物测序由北京三博远志生物技术有限责任公司完成, 福林酚试剂购于北京索莱宝科技有限公司。烟草品种为‘红花大金元’ (*Nicotiana rustica* Linn), 由中国农业科学院烟草研究所提供。

2 实验方法

2.1 菌株分离、筛选及鉴定

土样5 g悬于45 mL无菌水中, 30 min后将溶液稀释至 10^{-5} 倍, 采用稀释平板法在固体牛肉膏蛋白胨上对细菌进行分离; 采用含5%、10%、15%、16%、17%和18% NaCl的液体牛肉膏蛋白胨培养基逐级筛选耐盐菌株; 革兰氏染色、芽孢染色和吡啶实验按照试剂盒说明进行操作; 采用16S rDNA序列分析对耐盐菌株进行分子鉴定。

收稿 2016-01-18 修定 2016-06-02

资助 青岛农业大学高层次人才引进项目(1113346)、青岛农业大学应用型人才培养特色名校建设工程教学研究项目(XJG2013147)、青岛农业大学大学生科技创新项目(2014-179)和山东省旱地作物水分高效利用创新团队项目(62112N5)。

* 通讯作者(E-mail: hqliaau@163.com)。

2.2 幼苗生长试验

将菌株DY-3接种在含0.5% NaCl的牛肉膏蛋白胨液体培养基中, 30°C摇床内180 r·min⁻¹培养24 h后, 4 000 r·min⁻¹离心去上清, 用含0.5% NaCl的无菌霍兰氏营养液调菌体浓度为10⁸ cfu·mL⁻¹备用。土壤采自青岛农业大学校内休闲地, 普通沙子用直径为2.0 mm的筛子去除大沙粒及杂物后与土壤混匀(2:1), 高温灭菌后置于一次性塑料杯中。每杯置100 g沙土混合物, 含水容积重量比为10.0%。将生长30 d的烟草幼苗移栽至塑料杯中, 每杯1株。5 d后进行盐胁迫处理, 以后每3 d处理一次, 共设3个处理: 正常处理(霍兰氏营养液作对照), 含0.5% NaCl的霍兰氏营养液, 含0.5% NaCl的霍兰氏营养液+DY-3(根际接种, 菌液接种量为1 mL), 每处理3次重复, 每重复5株苗。30 d后进行破坏性取样, 测烟草幼苗株高、根长、株鲜重和干重。

2.3 指标检测

每株烟草在相同部位选取1片烟叶, 在叶基、叶中、叶尖三部分分别读取微型叶绿素仪(日本美能达SPAD-502)的读数(SPAD值), 平均值作为叶绿素相对含量(徐照丽和李天福2006); 在每株烟草的相同部位选取烟叶, 根据《植物生理学实验指导》(高俊凤2006)介绍的方法测定幼苗叶片相对含水量、丙二醛含量、脯氨酸含量和细胞膜相对透性, 按照《土壤农化分析》(鲍士旦2000)介绍的方法测Na⁺和Cl⁻含量; 称取20 mg烟叶, 2 mL 95%甲醇提取后, 取0.5 mL提取液, 加入1.0 mL 10% Folin-Ciocalteu试剂, 3 min后再加入10% Na₂CO₃溶液, 室温下反应1 h后725 nm下测吸光值, 以单位重量叶片中对羟基苯甲酸的质量(mg)表示全酚的含量(Elizabeth和 Kelly 2007); 称取根际土或根系1 g, 置于装有100 mL无菌生理盐水的三角瓶中, 30°C摇床内180 r·min⁻¹震荡30 min, 取悬浮液1 mL, 采用稀释平板计数法在含17% NaCl的牛肉膏蛋白胨固体培养基测定菌株DY-3在根际土壤和烟草幼苗根表的定殖情况。

2.4 数据统计分析

采用SPSS 17.0统计软件进行单因素方差分析, Duncan法检验各参数不同处理间的差异显著性($P=0.05$)。

实验结果

1 菌株DY-3的筛选及鉴定

根据形态特征, 从黄河三角洲盐碱地土壤分离纯化12种菌株, 其中DY-3呈革兰氏阴性, 有芽孢, 菌落呈圆形、湿润、光滑、淡黄色; 最大耐受NaCl浓度为17%; 吡啶实验呈红色。可见该菌株具有一定的耐盐性且能产生吡啶。以其基因组DNA为模板PCR扩增, 引物为27F (5'-AGAGTTT-GATCCTGGCTCAG-3')和1492R (5'-GGT-TACCTTGTTACGACTT-3'), PCR扩增条件: 95°C 2 min; 94°C 30 s, 55°C 30 s, 72°C 1 min, 30个循环; 72°C 10 min。产物测序大小为1 449 bp, 在NCBI中BLAST比对与*Bacillus aquimaris* (KF933617)同源率为99%, 将此菌株鉴定为*Bacillus aquimaris* strain DY-3, GenBank登录号为KU167484。

2 菌株DY-3对盐胁迫下烟草幼苗生长的影响

正常处理下, 烟草幼苗的苗长、根长分别为8.40和5.71 cm; 盐胁迫处理下, 苗长、根长分别为7.20和4.62 cm, 显著降低了14.29%和19.09% ($P<0.05$); 与盐胁迫处理相比, 经菌株DY-3处理后, 苗长和根长分别为7.93和5.36 cm, 显著提高10.14%和16.02%, 但仍显著低于正常处理($P<0.05$)。同样, 正常处理下, 烟草幼苗的鲜重、干重为0.6968和0.0454 g·株⁻¹, 盐胁迫处理下, 鲜重、干重为0.5161和0.0338 g·株⁻¹, 显著降低了25.93%和25.55%; 与盐胁迫处理相比, 经菌株DY-3处理后, 幼苗鲜重和干重增至0.6621和0.0439 g·株⁻¹, 显著提高了28.29%和29.88%, 但仍略低于正常处理(表1)。

3 菌株DY-3对盐胁迫下烟草幼苗相关生理生化指标的影响

3.1 叶绿素相对含量(SPAD值)和叶片相对含水量

正常处理和盐胁迫处理下, 烟草幼苗的叶绿素相对含量(SPAD)分别为19.6和15.1, 两者相比, 盐胁迫显著降低了烟草幼苗的叶绿素相对含量, 降幅为23.13%; 与盐胁迫处理相比, 经菌株DY-3处理后, 叶绿素相对含量(SPAD)增至19.5, 显著提高了29.20%, 但仍略低于正常处理且差异不显著(表2)。同样, 正常处理和盐胁迫处理下, 烟草幼苗叶片相对含水量分别为89.09%和72.40%, 两者相比, 盐胁迫显著降低了烟草幼苗的叶片相对含水量,

表1 DY-3对盐胁迫下烟草幼苗的苗长、根长、鲜重和干重的影响

Table 1 Effects of DY-3 on shoot and root lengths, fresh and dry weights of tobacco seedlings under salt stress

处理	苗长/cm	根长/cm	鲜重/g·株 ⁻¹	干重/g·株 ⁻¹
正常	8.40±0.26 ^a	5.71±0.23 ^a	0.6968±0.0200 ^a	0.0454±0.0034 ^a
0.5% NaCl	7.20±0.26 ^c	4.62±0.34 ^c	0.5161±0.0271 ^b	0.0338±0.0037 ^b
0.5% NaCl+DY-3	7.93±0.33 ^b	5.36±0.22 ^b	0.6621±0.0413 ^a	0.0439±0.0032 ^a

表中同列不同字母表示数据间的差异性, 差异水平为($P<0.05$)。下同。

表2 DY-3对盐胁迫下烟草幼苗叶绿素相对含量和叶片相对含水量的影响

Table 2 Effects of DY-3 on relative chlorophyll content (SPAD) and relative water content of tobacco leaves under salt stress

处理	叶绿素相对含量(SPAD值)	叶片相对含水量/%
正常	19.6±0.3 ^a	89.09±0.33 ^a
0.5% NaCl	15.1±0.4 ^b	72.40±0.26 ^c
0.5% NaCl+DY-3	19.5±0.4 ^a	77.47±0.19 ^b

降幅为18.74%; 与盐胁迫处理相比, 经菌株DY-3处理后, 叶片相对含水量增至77.47%, 显著提高了7.00%, 但仍显著低于正常处理(表2)。

3.2 细胞膜透性和丙二醛含量

正常处理和盐胁迫处理下, 烟草幼苗叶片的细胞膜相对透性分别为17.55%和24.39%, 两者相比, 盐胁迫显著提高了烟草幼苗叶片的细胞膜相对透性, 增幅为38.93%; 与盐胁迫处理相比, 经菌株DY-3处理后, 叶片的细胞膜相对透性降为19.50%, 显著降低了20.02%, 但仍显著高于正常处理(表3)。同样, 正常处理和盐胁迫处理下, 烟草幼苗叶片的丙二醛含量为0.80和1.23 $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ (FW), 两者相比, 盐胁迫显著提高了烟草幼苗叶片的丙二醛含量, 增幅为52.70%; 与盐胁迫处理相比, 经菌株DY-3处理后, 叶片丙二醛含量降为0.92 $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ (FW), 显著降低了25.00%, 但仍显著高于正常处理(表3)。

3.3 脯氨酸含量和酚类物质含量

正常处理和盐胁迫处理下, 烟草幼苗叶片的脯氨酸含量分别为31.82和52.08 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (FW), 两者相比, 盐胁迫显著提高了烟草幼苗叶片的脯氨酸含量, 增幅为63.68%; 与盐胁迫处理相比, 经菌株DY-3处理后, 叶片的脯氨酸含量降至50.93 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (FW), 显著降低了2.21%, 但仍显著高于正常处理(表4)。同样, 正常处理和盐胁迫处理下, 烟草幼苗

表3 DY-3对盐胁迫下烟草幼苗叶片细胞膜相对透性和丙二醛含量的影响

Table 3 Effects of DY-3 on cell membrane permeability and malondialdehyde content of tobacco leaves under salt stress

处理	细胞膜相对透性/%	丙二醛含量/ $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ (FW)
正常	17.55±0.40 ^c	0.80±0.02 ^c
0.5% NaCl	24.39±0.13 ^a	1.23±0.10 ^a
0.5% NaCl+DY-3	19.50±0.25 ^b	0.92±0.05 ^b

叶片的全酚含量分别为1.33和1.82 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ (FW), 两者相比, 盐胁迫显著提高了烟草幼苗叶片的全酚含量, 增幅为36.50%; 与盐胁迫处理相比, 经菌株DY-3处理后, 全酚含量为2.45 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ (FW), 显著提高了34.62% (表4)。

表4 DY-3对盐胁迫下烟草幼苗叶片脯氨酸含量和酚类物质含量的影响

Table 4 Effects of DY-3 on proline and total phenols contents of tobacco leaves under salt stress

处理	脯氨酸含量/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (FW)	酚含量/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ (FW)
正常	31.82±0.34 ^c	1.33±0.08 ^c
0.5% NaCl	52.08±0.73 ^a	1.82±0.17 ^b
0.5% NaCl+DY-3	50.93±0.27 ^b	2.45±0.12 ^a

3.4 Na⁺和Cl⁻含量

正常处理下, 烟草幼苗叶片的Na⁺和Cl⁻含量分别为0.91和1.07 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ (FW), 盐胁迫处理使烟草幼苗叶片的Na⁺和Cl⁻含量显著提高到1.87和2.11 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ (FW), 是正常处理的2.04倍和1.96倍; 与盐胁迫处理相比, 经菌株DY-3处理后, 叶片的Na⁺和Cl⁻含量显著降低至1.46和1.76 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ (FW), 降幅分别为21.61%和16.61%, 但仍显著高于正常处理(表5)。

表5 DY-3对盐胁迫下烟草幼苗叶片Na⁺和Cl⁻含量
Table 5 Effects of DY-3 on Na⁺ and Cl⁻ contents of tobacco leaves under salt stress

处理	Na ⁺ 含量/mg·g ⁻¹ (FW)	Cl ⁻ 含量/mg·g ⁻¹ (FW)
正常	0.91±0.02 ^c	1.07±0.14 ^c
0.5% NaCl	1.87±0.16 ^a	2.11±0.09 ^a
0.5% NaCl+DY-3	1.46±0.05 ^b	1.76±0.11 ^b

3.5 DY-3在根际土壤及根表的定殖量

接种30 d后, 盐胁迫处理下的烟草幼苗根际土壤和根表上DY-3的定殖量分别为 1.15×10^4 和 0.85×10^3 cfu·mL⁻¹; 而在未接种的正常处理和盐胁迫处理里未检出DY-3 (表6)。

表6 DY-3在根际土壤和根表中的定殖量
Table 6 Colonization number of DY-3 in the root and in the rhizospheric soil

处理	定殖量/ $\times 10^3$ cfu·mL ⁻¹	
	根际土壤	根表
正常	-	-
0.5% NaCl	-	-
0.5% NaCl+DY-3	11.5	0.85

讨 论

盐胁迫会限制植物生长, 使幼苗在形态结构及生物量分配上发生变化(杨淑萍等2010; 陆海鹰和张元明2012)。生物量是植物耐盐性的直接指标之一, 是植物对盐胁迫反应的综合表现(Parida和Das 2004)。盐胁迫常常造成植物生物量的下降, 而生物量的改变主要取决于光合作用的变化。叶绿素是植物进行光合作用的主要色素, 在光合作用的光能吸收、传递和转化中起不可或缺的作用, 它的含量直接影响植物的光合效率。因此, 叶绿素在植物的生长发育中起着重要作用。先前的研究表明, 盐胁迫下植株叶片的叶绿素含量降低与叶绿素的氧化降解有关(Greenway和Munns 1980; Tuna等2008)。已有研究发现芽孢杆菌能提高盐胁迫下植物的叶绿素含量, 从而增强植物的耐盐性, 提高植物的生物量。韩庆庆等(2014)报道枯草芽孢杆菌GB03可以显著提高盐胁迫下紫花苜蓿的叶绿素含量, 提高紫花苜蓿的耐盐性; 韩坤等(2015)

报道蜡样芽孢杆菌(*Bacillus cereus*)、巨大芽孢杆菌(*Bacillus megaterium*)、短小芽孢杆菌(*Bacillus pumilus*)、地衣芽孢杆菌(*Bacillus lincheniformis*)能显著提高盐胁迫下小麦幼苗的干物质重和叶绿素含量, 缓解盐胁迫的毒害作用, 增强小麦的耐盐性; Karlidag等(2013)认为枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis* EY2)、萎缩芽孢杆菌(*Bacillus atrophaeus* EY6)、球形芽孢杆菌(*Bacillus sphaericus* GC sub-group B EY30)可显著提高盐胁迫下草莓幼苗的干重和叶绿素含量, 提高草莓的耐盐性。本研究中芽孢杆菌DY-3显著提高了盐胁迫条件下烟草幼苗的叶绿素含量, 增加了干物质含量, 这可能与菌株降低了植物体内Na⁺和Cl⁻含量, 减轻了盐胁迫的伤害作用, 从而促进了植物生长、增加了干物质重有关; 另外, 菌株分泌的吡啶类物质也可能是促进植物生长、增加干物质重的重要原因。

盐胁迫会直接伤害植物细胞质膜, 导致膜透性增大和膜脂过氧化, 而膜脂过氧化产物丙二醛又会破坏植物的防御体系, 加剧膜脂过氧化作用(Moran等1994)。丙二醛是常用的膜脂过氧化指标, 其数值越大, 表示细胞膜脂过氧化越严重(陈少裕1991)。相对电导率是衡量细胞膜透性的重要指标, 其数值越大, 表示电解质的渗漏量越多, 细胞膜受伤害程度越严重。本研究中, 盐胁迫显著增加了烟草幼苗叶片的相对电导率和丙二醛含量, 接种菌株后, 相对电导率和丙二醛含量显著降低, 说明菌株处理可显著降低盐胁迫对烟草叶片造成的伤害, 从而保护细胞膜结构的完整性。这与叶片中Na⁺和Cl⁻含量降低相一致。这可能因为菌株消耗掉土壤中的盐分, 从而降低了Na⁺和Cl⁻进入植物体内的流量, 进而减轻了盐对植物造成的渗透胁迫和离子毒害。柳洁等(2014)报道丛枝菌根真菌可显著降低盐胁迫下茶树叶片的丙二醛含量和细胞膜透性, 从而缓解盐胁迫对茶树的伤害, 这与本研究结果类似。

相对含水量是衡量植物受到水分胁迫的一个重要指标, 反映植物细胞的水分生理状态(赵雅静等2009)。盐胁迫使细胞内外渗透压增大, 植物吸水困难, 造成生理干旱, 使叶片表现为相对水分含量降低。本研究中, 盐胁迫显著降低了烟草幼苗叶片的相对含水量, 接种菌株处理后, 烟草幼苗叶

片的相对含水量显著增加,说明菌株缓解了盐胁迫对烟草幼苗失水造成的伤害。这可能与菌株扩大了烟草幼苗根系的吸收表面积,改善了水分状况,增强了抗旱性有关(Cho等2006);也可能是因为菌株降低了土壤中的盐浓度,降低了植株对Na⁺和Cl⁻的吸收,缓解了盐分对根系的伤害,从而促进了根系对水分的吸收。这方面前人已做了大量的研究,如贺忠群等(2011)报道丛枝菌根真菌提高盐胁迫下番茄叶片的相对含水量;Nadeem等(2007)发现盐胁迫下接种丁香假单胞菌(*Pseudomonas syringae*)、产气杆菌(*Enterobacter aerogenes*)和荧光假单胞菌(*Pseudomonas fluorescens*)能提高玉米叶片的相对含水量;Jha和Subramanian (2012)认为接种类产碱假单胞菌(*Pseudomonas pseudoalcaligenes*)和短小芽孢杆菌(*Bacillus pumilus*)也能提高盐胁迫下水稻叶片的相对水分含量。

脯氨酸具有渗透调节、保护膜完整性、清除自由基等多种功能(Kishor和Sreenivasulu 2014)。盐胁迫下,脯氨酸在植物体内大量积累,有利于维持细胞膨压,保护细胞膜系统免受毒害(张璐等2010)。本实验中盐胁迫显著增加了烟草叶片内脯氨酸含量,说明烟草对盐害产生了适应表现,这与脯氨酸积累提高转基因番茄耐盐性的结果相一致(Hmida-Sayari等2005)。接种菌株后,脯氨酸含量略有降低,这可能是由于菌株消耗了土壤中的盐分,降低了植株对Na⁺和Cl⁻的吸收,缓解了盐胁迫对烟草幼苗的伤害,从而使植物自身不需要合成大量的脯氨酸来抵抗盐胁迫。本研究结果与Rojas-Tapias等(2012)在盐胁迫下接种固氮菌显著降低玉米叶片的脯氨酸含量的结果类似。酚类化合物具有抗氧化和清除自由基的作用,环境胁迫下植物体内大量积累以减少氧化伤害(Michalak 2006; Oliveira等2009)。本研究中,盐胁迫显著增加了烟草叶片的酚类物质含量,接种菌株后酚类物质含量进一步增加;Rojas-Tapias等(2012)研究发现接种褐球固氮菌(*Azotobacter chroococcum*)能显著提高玉米在盐胁迫下叶片的酚类物质含量,这与本研究结果类似。但相关机理需深入研究。

参考文献

Bao SD (2000). Soil Agrochemistry Analysis. 3rd ed. Beijing: China Agriculture Press, 192, 195 (in Chinese) [鲍士旦(2000). 土壤农

化分析. 第3版. 北京: 中国农业出版社, 192, 195]

- Bochow H, El-Sayed SF, Junge H, Stavropoulou A, Schmiedeknecht G (2001). Use of *Bacillus subtilis* as biocontrol agent. IV. Salt-stress tolerance induction by *Bacillus subtilis* FZB24 seed treatment in tropical vegetable field crops, and its mode of action. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz*, 108 (1): 21–30
- Chen SY (1991). Injury of membrane lipid peroxidation to plant cell. *Plant Physiol Commun*, 2: 84–90 (in Chinese) [陈少裕(1991). 膜脂过氧化对植物细胞的伤害. *植物生理学通讯*, 2: 84–90]
- Cho K, Toler H, Lee J, Ownley B, Stutz JC, Moore JL, Augé RM (2006). Mycorrhizal symbiosis and response of sorghum plants to combined drought and salinity stresses. *J Plant Physiol*, 163: 517–528
- Dodd IC, Pérezalfocea F (2012). Microbial amelioration of crop salinity stress. *J Exp Bot*, 63 (9): 3415–3428
- Elizabeth AA, Kelly MG (2007). Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin-Ciocalteu reagent. *Nat Protoc*, 2 (4): 875–877
- Gao JF (2006). *Experimental Instruction of Plant Physiology*. 1st ed. Beijing: Higher Education Press, 15–16, 208–210, 210–211, 228–231 (in Chinese) [高俊凤(2006). *植物生理学实验指导*. 第一版. 北京: 高等教育出版社, 15–16, 208–210, 210–211, 228–231]
- Greenway H, Munns R (1980). Mechanisms of salt tolerance in non-halophytes. *Annu Rev Plant Physiol*, 31: 149–190
- Han K, Tian ZY, Liu K, Zhang JY, Chang YY, Guo YQ (2015). Effect of endophytic bacteria with ACC deaminase activity in *Kosteletzkya pentacarpos* on wheat salt tolerance. *Plant Physiol J*, 51 (2): 212–220 (in Chinese with English abstract) [韩坤, 田曾元, 刘珂, 张佳夜, 常银银, 郭予琦(2015). 具有ACC脱氨酶活性的海滨锦葵(*Kosteletzkya pentacarpos*)内生细菌对小麦耐盐性的影响. *植物生理学报*, 51 (2): 212–220]
- Han QQ, Jia TT, Lü XP, Li HR, Li J, Zhao Q, Wang SM, Zhang JL (2014). Effect of *Bacillus subtilis* GB03 on salt tolerance of alfalfa (*Medicago sativa*). *Plant Physiol J*, 50 (9): 1423–1428 (in Chinese with English abstract) [韩庆庆, 贾婷婷, 吕昕培, 李惠茹, 李静, 赵祺, 王锁民, 张金林(2014). 枯草芽孢杆菌GB03对紫花苜蓿耐盐性的影响. *植物生理学报*, 50 (9): 1423–1428]
- He ZQ, He CX, Yan Y, Zhang ZB, Wang HS, Li HX, Tang HR (2011). Regulative effect of arbuscular mycorrhizal fungi on water absorption and expression of aquaporin genes in tomato under salt stress. *Acta Horti Sinica*, 38 (2): 273–280 (in Chinese with English abstract) [贺忠群, 贺超兴, 闫妍, 张志斌, 王怀松, 李焕秀, 汤浩茹(2011). 盐胁迫下丛枝菌根真菌对番茄吸水及水孔蛋白基因表达的调控. *园艺学报*, 38 (2): 273–280]
- Hmida-Sayari A, Gargouri-Bouzid R, Bidani A, Jaoua L, Savouré A, Jaoua S (2005). Overexpression of Δ^1 -pyrroline-5-carboxylate synthetase increases proline production and confers salt tolerance in transgenic potato plants. *Plant Sci*, 169 (4): 746–752
- Jha Y, Subramanian RB (2012). Paddy physiology and enzymes level is regulated by rhizobacteria under saline stress. *J Appl Bot Food Qual*, 85 (2): 168–173
- Karlidag H, Pehlivan M, Yildirim E, Pehlivan M, Donmez F (2013).

- Plant growth-promoting rhizobacteria mitigate deleterious effects of salt stress on strawberry plants (*Fragaria x ananassa*). Hortscience, 48 (5): 563–567
- Kishor PBK, Sreenivasulu N (2014). Is proline accumulation per se correlated with stress tolerance or is proline homeostasis a more critical issue? Plant Cell Environ, 37: 300–311
- Lin ZL, Lin M (2013). Studies on the synthesis of microbial and plant antireverse components. Biotechnol Biz, 4: 7–11 (in Chinese) [林章稟, 林敏(2013). 微生物和植物抗逆元件的合成生物学研究. 生物产业技术, 4: 7–11]
- Liu J, Xiao B, Wang LX, Zhou X (2014). Influence of AMF on salt tolerance of tea. J Northwest A&F Univ (Nat Sci Ed), (3): 220–225 (in Chinese with English abstract) [柳洁, 肖斌, 王丽霞, 周旋(2014). 丛枝菌根真菌对茶树耐盐性的影响. 西北农林科技大学学报(自然科学版), (3): 220–225]
- Lu HY, Zhang YM (2012). Response of growth and biomass allocation of *Haloxylon persicum* seedlings to different salt treatments. Arid Zone Res, 29 (2): 194–202 (in Chinese with English abstract) [陆海鹰, 张元明(2012). 白梭梭幼苗生长和生物量分配对不同盐分类型和浓度的响应. 干旱区研究, 29 (2): 194–202]
- Michalak A (2006). Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress. Polish J Environ Stud, 15 (4): 523–530
- Moran JF, Becana M, Iturbe-Ormaetxe I, Frechilla S, Klucas RV, Aparicio-Tejo P (1994). Drought induces oxidative stress in pea plants. Planta, 194 (3): 346–352
- Nadeem SM, Zahir ZA, Naveed M, Arshad M (2007). Preliminary investigations on inducing salt tolerance in maize through inoculation with rhizobacteria containing ACC deaminase activity. Can J Microbiol, 53 (10): 1141–1149
- Oliveira ACD, Valentim IB, Silva CA, Bechara EJJ, Barros MPD, Mano CM, Goulart MOF (2009). Total phenolic content and free radical scavenging activities of methanolic extract powders of tropical fruit residues. Food Chem, 115 (2): 469–475
- Parida AK, Das AB (2004). Effects of NaCl stress on nitrogen and phosphorous metabolism in a true mangrove *Bruguiera parviflora* grown under hydroponic culture. J Plant Physiol, 161 (8): 921–928
- Rojas-Tapias D, Sergio Pardo-Díaz, Obando M, Obando M, Rivera D, Bonilla R (2012). Effect of inoculation with plant growth-promoting bacteria (PGPB) on amelioration of saline stress in maize (*Zea mays*). Appl Soil Ecol, 61 (5): 264–272
- Shabala S, Cuin TA (2008). Potassium transport and plant salt tolerance. Physiol Plant, 133 (4): 651–669
- Tuna AL, Kaya C, Higgs D, Murillo-Amador B, Aydemir S, Girgin AR (2008). Silicon improves salinity tolerance in wheat plants. Environ Exp Bot, 62 (1): 10–16
- Wang BS, Zhao KF, Zhou Q (1997). Advances in mechanism of crop salt tolerance and strategies for raising crop salt tolerance. Chin Bull Bot, 14: 25–30 (in Chinese) [王宝山, 赵可夫, 邹琦(1997). 作物耐盐机理研究进展及提高作物抗盐性的对策. 植物学通报, 14: 25–30]
- Wang W, Pan ZJ, Pan QB (2009). Studying progress in salt-tolerant characters of crops. Acta Agri Jiangxi, 21 (2): 30–33 (in Chinese with English abstract) [王为, 潘宗瑾, 潘群斌(2009). 作物耐盐性状研究进展. 江西农业学报, 21 (2): 30–33]
- Woitke M, Junge H, Schnitzler WH (2004). *Bacillus subtilis* as growth promoter in hydroponically grown tomatoes under saline conditions. Acta Hort, 659 (1): 363–369
- Xie YL, Xu ZW, Ma LZ, Gao XW (2012). Molecular identification of bacillus strains isolated from rhizosphere of *Betula platyphylla* in Qinghai Beishan Timberland and its antagonistic activity analysis. Acta Phytophyl Sin, 39 (3): 246–252 (in Chinese with English abstract) [谢永丽, 徐志伟, 马莉贞, 高学文(2012). 青海北山林场桦树根围芽胞杆菌分子鉴定及其拮抗活性分析. 植物保护学报, 39 (3): 246–252]
- Xu ZL, Li TF (2006). The use of the SPAD-502 chlorophyll meter during the flue-cured tobacco growth. Guizhou Agri Sci, 34 (4): 23–24 (in Chinese with English abstract) [徐照丽, 李天福(2006). SPAD-502叶绿素仪在烤烟生产中的应用研究. 贵州农业科学, 34 (4): 23–24]
- Yan HX, Guo SR, Liu W (2010). Effects of *Bacillus subtilis* on rhizosphere enzyme activities of cucumber under salt-stress. Acta Agric Boreali-Sin, 25 (4): 209–212 (in Chinese with English abstract) [闫海霞, 郭世荣, 刘伟(2010). 枯草芽孢杆菌对盐胁迫条件下黄瓜根际酶活性的影响. 华北农学报, 25 (4): 209–212]
- Yang SP, Wei CZ, Liang YC (2010). Effects of NaCl stress on growth and eco-physiological characteristics of different in sea island cotton genotypes in seedlings. Acta Ecol Sin, 30 (9): 2322–2331 (in Chinese with English abstract) [杨淑萍, 危常州, 梁永超(2010). 盐胁迫对海岛棉不同基因型幼苗生长及生理生态特征的影响. 生态学报, 30 (9): 2322–2331]
- Zhang L, Zhang Q, Ye BX (2010). Effect of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) on growth of *Medicago sativa* L. under salt stress. Shandong Agric Sci, (3): 32–37 (in Chinese with English abstract) [张璐, 张倩, 叶宝兴(2010). 盐胁迫下丛枝菌根真菌(AMF)对紫花苜蓿生长的影响. 山东农业科学, (3): 32–37]
- Zhao YF, Tao J, Wu ZS, Liu Y, Li C (2010). Effects of combination of biocontrol bacteria complex with salt stress-relieving strain on promotion of cotton growth. Sci Agric Sin, 43 (22): 4754–4760 (in Chinese with English abstract) [赵雅峰, 陶晶, 武占省, 刘燕, 李春(2010). 组合生防菌与解盐促生菌复配对棉花的促生效应. 中国农业科学, 43 (22): 4754–4760]
- Zhao YJ, Weng BQ, Wang YX, Xu GZ (2009). Plant physio-ecological responses to drought stress and its research progress. Fujian Sci Technol Rice Wheat, 27 (2): 45–50 (in Chinese) [赵雅静, 翁伯琦, 王义祥, 徐国忠(2009). 植物对干旱胁迫的生理生态响应及其研究进展. 福建稻麦科技, 27 (2): 45–50]

***Bacillus aquimaris* strain DY-3 improves salt-tolerance of tobacco seedlings**

JIANG Xu-Wen, CHEN Jia-Bin, LI He-Qin*, ZHAO Hong-Hai, ZHANG Yu-Mei

Shandong Provincial Key Laboratory of Dryland Technology/College of Agronomy and Plant Protection, Qingdao Agricultural University, Qingdao, Shandong 266109, China

Abstract: Effects of *Bacillus aquimaris* strain DY-3 on the growth and physiobiochemical characteristics of tobacco seedling under salt stress were studied by a pot experiment. The results showed that compared with salt stress, shoot length, root length, fresh and dry weights were significantly promoted, chlorophyll content, leaf relative water content, proline content and total phenolic compound content were also significantly enhanced by inoculation with *Bacillus aquimaris* strain DY-3, while lipid peroxidation levels, cell membrane permeability and sodium ion and chloride ion contents were significantly decreased. The above results indicate that inoculation with *Bacillus aquimaris* strain DY-3 can enhance the salt tolerance of tobacco seedlings.

Key words: *Bacillus aquimaris* strain DY-3; salt stress; tobacco; seedlings

Received 2016-01-08 Accepted 2016-06-02

This work was supported by the Research Foundation for Advanced Talents of Qingdao Agricultural University (Grant No. 1113346), the Teaching Research Project for Construction of the Famous School for Training Practice-Oriented Talents of Qingdao Agricultural University (Grant No. XJG2013147), the College Students' Science and Technology Innovation Project of Qingdao Agricultural University (Grant No. 2014-179) and the Innovation Team Project for High Efficient Utilization of Water of Dry-Land Crops in Shandong Province (Grant No. 62112N5).

*Corresponding author (E-mail: hqliaau@163.com).