

# 一株固氮解磷菌的筛选鉴定及其对花生的促生作用研究<sup>①</sup>

姜 瑛<sup>1,2</sup>, 吴 越<sup>1</sup>, 王国文<sup>2</sup>, 徐文思<sup>1</sup>, 张 振<sup>1</sup>, 徐 莉<sup>1</sup>, 胡 锋<sup>1</sup>, 李辉信<sup>1\*</sup>

(1 南京农业大学资源与环境科学学院, 南京 210095; 2 河南农业大学资源与环境学院, 郑州 450002)

**摘 要:**本研究从南京板桥镇的灰潮土中, 筛选出了一株高效固氮解磷菌, 命名为 JX14, 其固氮酶活性达  $C_2H_4$  38.9 nmol/(h·ml), 对磷酸三钙的转化量达 96.19 mg/L。通过形态观察、生理生化特征及 16S rDNA 基因序列分析, 确定 JX14 为贪噬菌属(*Variovorax* sp.)。在温室条件下进行花生盆栽试验, 结果表明, 接种 JX14 菌株的处理, 土壤  $NH_4^+-N$ 、 $NO_3^- -N$ 、矿质氮含量较不接菌处理分别提高了 1.08、1.18、1.16 倍, 土壤有效磷含量提高了 18.14%。花生根系总长、表面积、体积以及根尖数, 较对照分别提高了 1.61、1.28、1.37、1.12 倍, 花生根系变得更长更粗并且具有更多的分支, 增强了根对土壤中营养元素的吸收, 花生地上部鲜重、株高显著提高了 44.78%、14.10%, 花生全氮磷钾含量分别显著提高了 35.14%、171.43%、133.33%。该结果为植物促生菌 JX14 在农业生产上的应用提供了理论依据和研究基础。

**关键词:** 灰潮土; 植物促生菌; 固氮; 解磷; 花生

**中图分类号:** S154.39

根据对植物的影响, 植物促生细菌被分为有益菌(2%~5%)、中性菌(80%~90%)和有害菌(8%~15%)三大类<sup>[1]</sup>。植物促生菌(Plant growth promoting bacteria, PGPB)是指在一定条件下有利于植物生长的自由生活在土壤中、根际、根表和叶际的细菌<sup>[2]</sup>, 可以固氮、溶磷、解钾、分泌植物激素和抗生素等<sup>[3-5]</sup>, 能够生物防治根际或者土壤中的一些有害病原菌, 并且能够通过促进植物对矿质养分的吸收利用以及分泌对植物生长有益处的代谢产物, 进而对植物的生长产生促进的作用<sup>[6-7]</sup>。

在 16 种植物必需的营养元素中, 作物对氮素和磷素的需求量较大, 但是一般农田土壤中的氮磷的有效供应量很少, 当作物收获之后, 能够归还给土壤的数量也很少。因此土壤中通常会缺氮缺磷, 必须通过施肥来满足作物对它们的需求。然而, 随着化肥施用量的增加, 不仅当季氮肥和磷肥的利用率越来越低, 化肥污染空气、土壤及水体, 破坏土壤结构和微生物多样性, 对不可再生资源的消耗大, 危害农产品品质等问题也日益突出<sup>[8]</sup>。因此, 利用植物促生菌来固氮解磷, 减少化肥施用量, 提高农作物产量, 改善作物品质, 调节植物生长, 改善土壤环境等, 已经得到了

全世界广泛认同并且已经成为研究热点<sup>[9-13]</sup>。

灰潮土是我国主要的旱作土壤, 养分低或缺乏, 大部分属于中低产土壤。本文从灰潮土中分离筛选了同时兼具固氮和解磷能力的促生菌, 并通过室内潮土盆栽试验验证了该植物促生菌对花生的促生作用, 为该菌株在实际生产中的合理开发利用提供理论基础。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 供试材料

**1.1.1 土壤样品来源及前期处理** 采自江苏省南京市雨花台区板桥镇长江南岸冲积地的灰潮土, 美国制土壤质地分类为砂质壤土。采集 0~20 cm 的土样, 剔除新鲜土样中肉眼可见的根茬残体和蚯蚓等大型土壤动物以及小石块等, 风干并且过 2 mm 筛, 备用。土壤的基本性状如表 1 所示。

**1.1.2 培养基** 以下培养基配方均为液态培养基, 固态培养基需在此基础上添加 15 g 琼脂<sup>[14]</sup>。

Ashby 无氮培养基: 甘露醇 10 g,  $KH_2PO_4$  0.2 g,  $MgSO_4$  0.2 g, NaCl 0.2 g,  $K_2SO_4$  0.3 g,  $CaCO_3$  5 g, 蒸馏水 1 000 ml, 121℃ 灭菌 30 min。

基金项目: 国家自然科学基金项目(30970537、41401274)资助。

\* 通讯作者(huixinli@njau.edu.cn)

作者简介: 姜瑛(1986—), 女, 河南信阳人, 博士研究生, 主要从事土壤生态学研究。E-mail: JY27486@163.com

表 1 供试土壤基本性质  
Table 1 Basic properties of tested soil in the experiment

有机碳(g/kg)	全氮(g/kg)	NH <sub>4</sub> -N(mg/kg)	NO <sub>3</sub> -N(mg/kg)	矿质氮(mg/kg)	pH(H <sub>2</sub> O)
9.20	0.89	6.84	2.39	9.23	6.32

无机磷细菌培养基(PKO 培养基):磷酸三钙 5 g, 葡萄糖 10 g, 硫酸铵 0.5 g, 氯化钠 0.3 g, 七水硫酸镁 0.3 g, 氯化钾 0.3 g, 硫酸锰 0.03 g, 七水硫酸亚铁 0.03 g, pH 7.0, 蒸馏水 1 000 ml, 121℃ 灭菌 30 min。

LB 培养基:蛋白胨 10 g, 酵母提取物 5 g, 氯化钠 10 g, 蒸馏水 1 000 ml, pH 7.0~7.2, 121℃ 灭菌 30 min。

无机盐培养基:硫酸铵 2.0 g, 磷酸二氢钠 0.5 g, 磷酸氢二钾 0.5 g, 七水硫酸镁 0.2 g, 二水氯化钙 0.1 g, 蒸馏水 1 000 ml, pH 7.0, 121℃ 灭菌 30 min。

## 1.2 潮土中固氮解磷菌的筛选及测定

**1.2.1 固氮菌的定性判定** 将供试灰潮土称取 10 g 置于盛有 90 ml 无菌水的 250 ml 的三角瓶中, 30℃, 150 r/min 振荡 20 min, 静置 10 min, 得到土壤悬浮液。采用稀释法将菌悬液稀释到 10<sup>-6</sup>后, 吸取 0.1 ml 的稀释液均匀涂布于 Ashby 无氮固体培养基上, 将平板于 30℃ 恒温培养箱中倒置培养 24 h 后, 挑选不同类型典型单个菌落, 经平板多次纯化后, 4℃ 保存在 Ashby 无氮固体培养基斜面待用。初步判定这些细菌具有固氮能力。

**1.2.2 固氮菌固氮能力的定量测定** 将初筛获得已纯化的固氮菌分别接入无氮液体培养基中, 培养 24 h 后用离心法收集菌细胞, 再在收集到的菌细胞中加入 45 ml 无菌水和 5 ml 无氮液体培养基, 形成 50 ml 固氮菌悬浮液(每毫升约 10<sup>7</sup> 个菌细胞) 作为待接种菌液。

固氮酶活性采用乙炔还原法测定, 具体操作如下: 将纯化后的菌株, 接种在装有 2 ml 无氮液体培养基的青霉素小瓶中, 30℃ 下培养 18~24 h; 将棉塞换为反口胶塞密封, 用密封性好的注射器先从培养有菌的青霉素小瓶抽取 0.5 ml 空气, 再注入 0.5 ml C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>, 用胶布密封针眼; 继续培养 24 h 后, 取 100 μl 气样在气相色谱仪上测定 C<sub>2</sub>H<sub>4</sub> 峰值, 标准气 C<sub>2</sub>H<sub>4</sub> 浓度为 130 mg/L。

采用美国 HP 公司生产的 HP6890 型气相色谱仪, 其工作条件设置为: 氢火焰离子化检测器, 温度 250℃, H<sub>2</sub> 流量 30 ml/min, 压力 20 kPa; 色谱柱为毛细管, 柱长 15.0 m, 内径 320 μm, 炉温 30℃; 载气 N<sub>2</sub>, 流量 30 ml/min, 压力 20 kPa; 空气流量 250 ml/min; 前进样口温度 250℃, 压力 20 kPa。乙炔还原活性

(ARA), 计算方法为:

$$ARA(C_2H_4, \text{nmol}/(\text{h}\cdot\text{ml})) =$$

$$\frac{\text{实际}C_2H_4\text{峰面积} \times \text{标准气含量} \times \text{青霉素瓶容积}}{\text{标准气峰面积} \times \text{进样量} \times \text{培养时间} \times \text{样品量}}$$

**1.2.3 固氮菌解磷能力测定** 将得到的固氮菌供试菌株接种于已灭过菌的盛有 30 ml 无机磷细菌液体培养基的 150 ml 三角瓶, 30℃, 180 r/min 培养 4 天后, 将培养液装入离心管 4℃ 下 10 000 r/min 离心 15 min, 取上清液用钼蓝比色法测定有效磷含量<sup>[15]</sup>。

## 1.3 植物促生菌的生理生化及 16S rDNA 序列分析

**1.3.1 筛选菌株的形态学特征** 菌落形态: 将筛选出来的菌株划线接种到 LB 平板上, 30℃ 培养 24 h, 观察其在平板上的菌落大小、形状、透明度、湿润度、光滑度、颜色等<sup>[16]</sup>。个体形态: 结晶紫染色, 滴一滴无菌水于载玻片上, 挑取 18~24 h 菌株纯培养物于无菌水中, 干燥后用火焰固定, 滴加适量结晶紫染色 1 min, 倾去染色液, 小心用水冲洗, 晾干后镜检。

**1.3.2 筛选菌株的生理生化特征** 好氧性试验、过氧化氢酶的测定、淀粉水解试验、甲基红试验(M.R 试验)、乙醚甲基甲醇试验(VP 试验)、明胶水解试验、硝酸盐还原试验、柠檬酸盐的利用试验的方法均参照《常见细菌系统鉴定手册》和《伯杰细菌鉴定手册》(第 8 版) 进行<sup>[17]</sup>。

**1.3.3 筛选菌株的 16S rDNA 序列分析** SDS-CTAB 法提取细菌基因组总 DNA 后<sup>[18-19]</sup>, 采用细菌 16S rDNA 通用引物 27f(5'-AGAGTTTGATCTG GCTCAG-3') 和 1492r(5'-GGTACCTTGTTACGACTT-3')<sup>[20]</sup> 进行 16S rDNA 的 PCR 扩增, 扩增片段长度为 1.5 kb。PCR 反应条件: 94℃ 预变性 5 min, 进入热循环 94℃ 变性 30 s, 52℃ 退火 30 s, 72℃ 延伸 10 min, 共 30 个循环。取 PCR 产物在 0.7% 的琼脂糖凝胶上进行电泳。PCR 产物经琼脂糖凝胶电泳后回收纯化。PCR 产物由南京英潍捷基 Invitrogen 公司进行测序, 并将获得的 16S rDNA 序列在 GenBank 数据库中进行比对, Blast 搜索同源序列, 使用 MEGA 5.0 软件, 以 Neighbor-Joining 法建立系统发育树。

## 1.4 花生温室促生试验

接菌处理: 将筛选出的具有固氮解磷能力的植物促生菌接种于 LB 液体培养基, 在 28℃ 摇床中

180 r/min 恒温培养至对数生长期, 在无菌操作台中将菌液转入灭过菌的离心管中, 5 000 r/min 离心 5 min, 倒掉上清液, 用无菌水反复洗涤(重悬-离心-去上清)离心管底部菌体后, 将其重悬于无菌水中, 制成浓度大约为  $10^7$  cfu/ml 的细菌悬液, 待用。

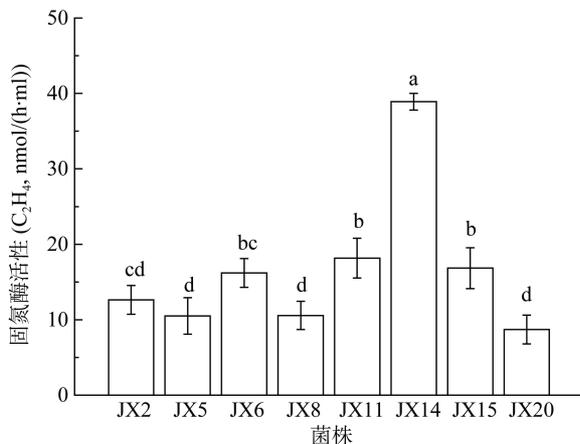
花生种子: 用 20% 双氧水对花生种子进行表面消毒 20 min, 再用无菌水冲洗, 催芽后选取发芽状态一致的种子待用。

将盆中装入 200 g 已过 2 mm 筛的灰潮土, 每盆种植 3 颗经催芽处理的花生种子, 按  $10^6$  cfu/g 干土的接种量接种供试菌株, 同时接种等量无菌水作为对照, 每个处理设置 5 个重复, 调节含水量至田间最大持水量的 60%, 即实际含水量为 24.8% 左右, 每天给花生浇无菌水以保持土壤含水量的稳定并保持各处理含水量一致。种植 30 天后采样, 测定土壤中矿质氮、有效磷含量以及花生植株生物量。将洗净的根系放在装有自来水的托盘中, 用根系扫描仪(LA1600+ scanner, Canada) 扫描根系形态并获取根系的图像; 之后用根系分析软件 (Winrhizo2003b, Canada) 对此图像进行相关根系指标分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 灰潮土中优势固氮解磷菌的分离筛选

经稀释平板涂布法从供试灰潮土中共分离出 22 株菌株, 经过固氮能力的定性筛选, 共有 8 株菌株具有固氮能力, 分别命名为 JX2、JX5、JX6、JX8、JX11、JX14、JX15、JX20, 占分离出菌株总数的 36.4%。固氮能力定量结果如图 1 所示, 菌株 JX14 固氮能力最强, 经乙炔还原法测定其固氮酶活性达  $C_2H_4$  38.9 nmol/(h·ml), 与其他菌株间差异达到显著水平( $P < 0.05$ )。



(图中小写字母不同表示不同固氮菌间差异达到  $P < 0.05$  显著水平, 下同)

图 1 固氮菌的固氮酶活性比较

Fig. 1 Nitrogenase activity of azotobacteria

对上述固氮菌进行解磷能力测定, 结果如图 2 所示: 在实验室摇瓶条件下, 与接种灭活菌的空白相比, 上述菌株均能够以难溶性磷酸盐作为磷源进行生长, 并将其转化为可溶性磷酸盐, 菌株 JX14 对磷酸三钙的转化量达 96.19 mg/L, 比空白对照高出 90.78 mg/L, 与其他菌株间差异达到显著水平( $P < 0.05$ )。

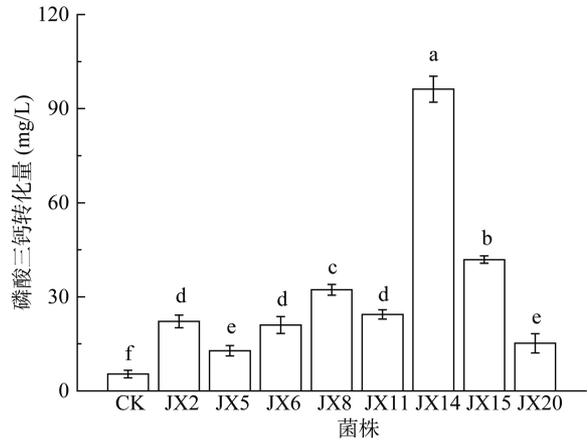


图 2 菌株的解磷能力比较

Fig. 2 Phosphate solubilizing ability of bacteria

### 2.2 优势固氮解磷菌 JX14 的生理生化及 16S rDNA 序列分析

经平板划线、结晶紫染色, 观察菌株培养特征及形态特征, 可见 JX14 菌落较小为黄色、隆起, 边缘整齐, 表面光滑湿润, 不透明, 不规则杆状排列, 不产芽孢(图 3)。生理生化指标如表 2 所示。



图 3 菌株 JX14 的菌落形态特征

Fig. 3 Morphological characteristics of strain JX14

表 2 菌株 JX14 的生理生化特性

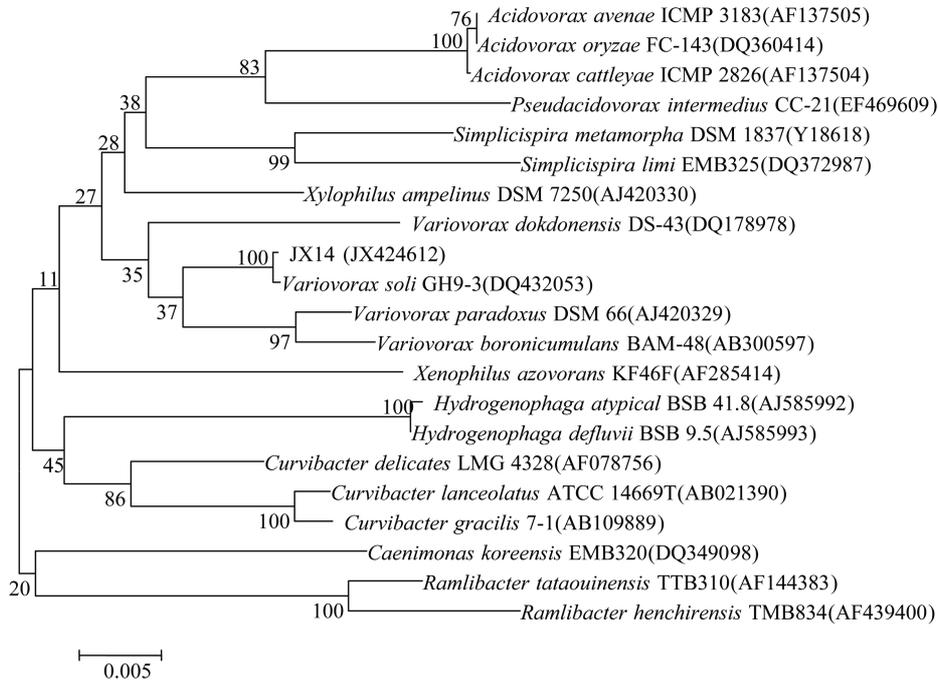
Table 2 Physiological and biochemical characteristics of strain JX14

指标	结果	指标	结果
革兰氏染色	-	淀粉水解	-
好氧性试验	严格好氧	明胶液化	+
接触酶试验	-	硝酸盐还原	+
甲基红(M.R)反应	-	柠檬酸盐利用	+
V-P 试验	-		

注: +: 阳性反应; -: 阴性反应。

以菌株 JX14 的基因组 DNA 为模板，用细菌的通用引物进行 PCR 扩增，得到扩增产物(长度约 1.5 kb)，测序后在 GenBank 上登录，登录号为 JX424612。将测序结果在 GenBank 数据库中已与已经登录的核苷酸序列进行同源性比较，结果发现，菌株 JX14 与贪噬菌属

细菌的 16S rDNA 基因序列的相似性均在 99% 以上，将这些序列采用 MEGA 5.0 软件 NJ 方法构建 JX14 的 rDNA 系统发育树(图 4)，JX14 与 *Variovorax soli* GH9-3 (DQ432053) 同源性最高，结合形态以及生理生化特征鉴定结果，将菌株 JX14 鉴定为贪噬菌属(*Variovorax* sp.)。



(标尺代表每 1 000 个核苷中有 5 个核苷替代)

图 4 基于 JX14 和相关菌株的 16S rDNA 序列采用邻接法建立的系统发育树

Fig. 4 Phylogenetic tree established using the neighbor-joining method, based on 16S rDNA sequences of JX14 and related strains

### 2.3 灰潮土中高效固氮解磷菌 JX14 对花生的温室促生试验

研究表明一些植物促生菌兼具固氮和溶磷等能力<sup>[21]</sup>，可以显著改善作物幼苗生长期氮素及磷素营养状况<sup>[22]</sup>，促进作物幼苗生长。对 JX14 进行温室花生促生试验，结果表明：接种 JX14 处理后，土壤 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N、矿质氮、有效磷含量均显著增加，与对照处理相比，土壤 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N、矿质氮含量分别提高了 1.08、1.18、1.16 倍，土壤有效磷含量提高了 18.14%(表 3)。由表 4 可知，与对照处理相比，接种 JX14 处理花生地上部鲜重、株高显著提高了 44.78%、14.10%，花生全氮磷钾含量分别显著提高

了 35.14%、171.43%、133.33%。接种 JX14 处理花生生长势明显优于对照不接菌处理。由表 5 可知，接种固氮解磷菌 JX14 显著提高了花生根系总长、表面积、体积以及根尖数，较对照分别提高了 1.61、1.28、1.37、1.12 倍，根平均直径增加了 7.83%，但差异并不显著，花生根系变得更长更粗并且具有更多的分支，增强了根对土壤中营养元素的吸收，进一步提高了花生地上部鲜重、株高以及氮磷钾含量。这一结果与本实验室前期筛选出的氯酚节杆菌<sup>[23]</sup>在红壤中以及巨大芽孢杆菌<sup>[24]</sup>在潮土中促进花生生长发育的研究结果一致，并且与目前国内外关于植物促生菌促生效应实际应用报道结果基本一致<sup>[25-30]</sup>。

表 3 接种菌株 JX14 对土壤矿质氮和速效磷含量的影响  
Table 3 Effects of strain JX14 on soil mineral-N and available phosphorous contents

处理	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N(mg/kg)	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N(mg/kg)	矿质氮(mg/kg)	有效磷(mg/kg)
CK	6.04 ± 0.21	31.82 ± 1.75	37.86 ± 1.66	74.02 ± 2.79
JX14	12.55 ± 0.37**	69.45 ± 1.24**	82.00 ± 0.98**	87.45 ± 5.49*

注：同列中 \* 表示差异达到 P<0.05 显著水平，\*\* 表示差异达到 P<0.01 显著水平，下表同。

表 4 接种菌株 JX14 对花生植株的影响  
Table 4 Effects of strain JX14 on peanut plant

处理	地上部鲜重(g)	株高(cm)	全氮含量(g/kg)	全磷含量(g/kg)	全钾含量(g/kg)
CK	2.68 ± 0.08	17.73 ± 0.12	17.93 ± 1.16	0.21 ± 0.05	5.37 ± 0.50
JX14	3.88 ± 0.15**	20.23 ± 0.15**	24.23 ± 1.44**	0.57 ± 0.10**	12.53 ± 0.68**

表 5 接种菌株 JX14 对花生根系的影响  
Table 5 Effects of strain JX14 on root architecture of peanut

处理	根长(cm)	根表面积(cm <sup>2</sup> )	根平均直径(mm)	根体积(cm <sup>3</sup> )	根尖数(个)
CK	129.69 ± 2.82	48.46 ± 0.13	1.15 ± 0.05	1.67 ± 0.42	155.67 ± 10.97
JX14	339.05 ± 8.72**	110.87 ± 4.73**	1.24 ± 0.06	3.96 ± 0.30**	330.33 ± 14.50**

### 3 小结

本试验从灰潮土中筛选到 1 株固氮解磷能力较强的菌株 JX14, 固氮酶活性达  $C_2H_4$  38.9 nmol/(h·ml), 对磷酸三钙的转化量达 96.19 mg/L, 显著优于同期筛选出的其他菌株。通过传统的细菌形态和生理生化特征以及 16S rDNA 基因序列分析, 鉴定 JX14 为贪噬菌属(*Variovorax* sp.)。

盆栽促生试验显示灰潮土中优势固氮解磷菌 JX14 使花生形成了更长更粗并且有更多分支的根系系统, 促进了花生对土壤中营养元素的吸收, 花生长势显著优于对照。为植物促生菌在农田生产实践中的应用提供了理论支持, 对实现生态高效的农业生产应用具有重要意义。

#### 参考文献:

- [1] 陈晓斌, 张炳欣. 植物根围促生细菌 (PGPR) 作用机制的研究进展[J]. 微生物学杂志, 2000, 20(1): 38–41
- [2] Bashan Y, de-Bashan LE. Bacteria/plant growth-promotion[A]/Hillel D. Encyclopedia of Soils in the Environment[M]. Vol. 1. Oxford, UK: Elsevier, 2005: 103–115
- [3] Hussain S, Mirza MS, Malik KA. Production of phytohormones by the nitrogen fixation bacteria isolated from sugarcane[J]. Biohorizons, 1999(4): 61–76
- [4] 胡小加. 根际微生物与植物营养[J]. 中国油料作物学报, 1999, 21(3): 77–79
- [5] 孙磊, 宋未. 非培养方法在植物内生和根际细菌研究中的应用[J]. 自然科学进展, 2006, 16(2): 140–145
- [6] Dey R, Pal K, Bhatt D, Chauhan S. Growth promotion and yield enhancement of peanut (*Arachis hypogaea* L.) by application of plant growth-promoting rhizobacteria[J]. Microbiological Research, 2004, 159(4): 371–394
- [7] Malik K, Bilal R, Mehnaz S, Rasul G, Mirza M, Ali S. Association of nitrogen-fixing, plant-growth-promoting rhizobacteria (PGPR) with kallar grass and rice[J]. Plant and Soil, 1997, 194(1): 37–44
- [8] 姚拓. 促进植物生长菌的研究进展[J]. 草原与草坪, 2002(4): 1–5
- [9] Bashan Y, de-Bashan LE, Prabhu S, Hernandez JP. Advances in plant growth-promoting bacterial inoculant technology: Formulations and practical perspectives (1998–2013)[J]. Plant and Soil, 2014, 378(1–2): 1–33
- [10] Behera B, Singdevsachan S, Mishra R, Dutta S, Thatoi H. Diversity, mechanism and biotechnology of phosphate solubilising microorganism in mangrove—A review[J]. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 2014, 3(2): 97–110
- [11] Khan MS, Ahmad E, Zaidi A, Oves M. Functional Aspect of Phosphate-solubilizing Bacteria: Importance in Crop Production[A]// Bacteria in Agrobiolgy: Crop Productivity[M]. Berlin Heidelberg: Springer, 2013: 237–263
- [12] Sharma SB, Sayyed RZ, Trivedi MH, Gobi TA. Phosphate solubilizing microbes: Sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils[J]. SpringerPlus, 2013, 2(1): 587
- [13] Swarnalakhmi K, Prasanna R, Kumar A, Pattnaik S, Chakravarty K, Shivay YS, Singh R, Saxena AK. Evaluating the influence of novel cyanobacterial biofilmed biofertilizers on soil fertility and plant nutrition in wheat[J]. European Journal of Soil Biology, 2013, 55: 107–116
- [14] 中国科学院南京土壤研究所微生物室. 土壤微生物研究法[M]. 北京: 科学出版社, 1985
- [15] 许光辉, 郑洪元, 李凤珍. 土壤微生物分析方法手册[M]. 北京: 农业出版社, 1986
- [16] 东秀珠, 蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册[M]. 北京: 科学出版社, 2001
- [17] Buchanan R, Gibbens N. 伯杰氏细菌鉴定手册[M]. 北京: 科学出版社, 1984
- [18] Guillemaut P, Maréchal-Drouard L. Isolation of plant DNA: A fast, inexpensive, and reliable method[J]. Plant Molecular Biology Reporter, 1992, 10(1): 60–65
- [19] Xia X, Bollinger J, Ogram A. Molecular genetic analysis of the response of three soil microbial communities to the application of 2, 4-D[J]. Molecular Ecology, 2008, 4(1): 17–28
- [20] Sambrook J, Fritsch E, Maniatis T. Molecular Cloning: A Laboratory Manual[M]. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989
- [21] 尹瑞龄. 自生固氮菌的溶磷作用[J]. 土壤, 1990, 22(5): 251–253
- [22] 王伟妮, 李小坤, 鲁剑巍, 李慧, 鲁明星, 戴志刚. 氮磷钾配合施用对水稻养分吸收, 积累与分配的影响[J]. 华中农业大学学报, 2010, 29(6): 710–714

- [23] 李引, 虞丽, 李辉信, 徐莉, 焦加国, 胡锋. 一株花生根际促生菌的筛选鉴定及其特性研究[J]. 生态与农村环境学报, 2012, 28(4): 416–421
- [24] 徐文思, 姜瑛, 李引, 张振, 徐莉, 胡锋, 李辉信. 一株植物促生菌的筛选、鉴定及其对花生的促生效应研究[J]. 土壤, 2014, 46(1): 119–125
- [25] 段秀梅, 高晓蓉, 吕军, 安利佳. 两株土壤分离菌的解磷能力及对玉米的促生作用[J]. 中国土壤与肥料, 2010(2): 79–85
- [26] El Zembrany H, Czarnes S, Hallett PD, Alamercury S, Bally R, Monrozier LJ. Early changes in root characteristics of maize (*Zea mays*) following seed inoculation with the PGPR *Azospirillum lipoferum* CRT1[J]. Plant and soil, 2007, 291(1–2): 109–118
- [27] Cassán F, Perrig D, Sgroy V, Masciarelli O, Penna C, Luna V. *Azospirillum brasilense* Az39 and *Bradyrhizobium japonicum* E109, inoculated singly or in combination, promote seed germination and early seedling growth in corn (*Zea mays* L.) and soybean (*Glycine max* L.)[J]. European Journal of Soil Biology, 2009, 45(1): 28–35
- [28] El-Tarabily KA. Promotion of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) plant growth by rhizosphere competent 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid deaminase-producing streptomycete actinomycetes[J]. Plant and Soil, 2008, 308(1–2): 161–174
- [29] Dey R, Pal K, Bhatt D, Chauhan S. Growth promotion and yield enhancement of peanut (*Arachis hypogaea* L.) by application of plant growth-promoting rhizobacteria[J]. Microbiological Research, 2004, 159(4): 371–394
- [30] Sruthi VS, Kumar KVK, Sujatha K, Manasa S, Sudhakar P, Reddy BB, Kumar MR, Ravindra B. Efficacy of *Pseudomonas fluorescens* strains in enhancing growth and yield of peanut[C]. Proceedings of the Recent advances in biofertilizers and biofungicides (PGPR) for sustainable agriculture Proceedings of 3rd Asian Conference on Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) and other Microbials, Manila, Philippines, 21–24 April, 2013. Auburn, USA: Asian PGPR Society for Sustainable Agriculture, 2013: 359–365

## Plant Growth-promoting Bacterium *Variovorax* sp. JX14 from Calcareous Alluvial Soil: Characterization and Growth Promotion on Peanuts

JIANG Ying<sup>1,2</sup>, WU Yue<sup>1</sup>, WANG Guo-wen<sup>2</sup>, XU Wen-si<sup>1</sup>, ZHANG Zhen<sup>1</sup>,  
XU Li<sup>1</sup>, HU Feng<sup>1</sup>, LI Hui-xin<sup>1\*</sup>

(1 College of Resources and Environmental Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China;  
2 College of Resources and Environmental Sciences, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China)

**Abstract:** Plant growth-promoting bacteria (PGPB) can improve plant growth and play a major role in the development of plants. The present study was concerned with a PGPB (defined as JX14) isolated from calcareous alluvial soil and was analyzed for its plant growth-promoting effect on peanuts. The nitrogenase activity of JX14 was  $C_2H_4$  38.9 nmol/(h·ml), the transformation amounts of tricalcium phosphate was 96.19 mg/L. Strain JX14 was identified as *Variovorax* sp. (GenBank Accession No. JX424612) based on the morphological, physiological and biochemical characteristics and 16S rRNA gene sequences analysis. In pot experiments, compared to the non-inoculated treatment, inoculation with JX14 significantly increased soil  $NH_4^+$ -N,  $NO_3^-$ -N, mineral N and available phosphorus concentrations by 1.08, 1.18, 1.16-fold and 18.14%, which led to 1.61, 1.28, 1.37, 1.12-fold significant increases in the root length, surface area, root volumes and root tips of peanuts, respectively. In addition, plant morphological characteristics such as wet weight and height significantly increased by 44.78% and 14.10%, and plant nutrient content such as total N, total P and total K of peanuts significantly increased by 35.14%, 171.43% and 133.33%, respectively. The IAA-producing bacterial strain JX14 has promising application in promoting plant growth in peanuts production.

**Key words:** Calcareous alluvial soil; PGPB; Nitrogen fixation; Phosphate-dissolving; Peanuts