根瘤菌分类的新进展

王 素 英

（山西师范大学生物系 临汾 041004）

在根瘤菌发现及命名时，人们已注意到它与豆科植物的共生关系，提出“互接种族”是根瘤菌分类的主要依据。随着结瘤豆科植物的不断发现，族间越界结瘤的报道剧增，同时还发现有些根瘤菌并不能在其互接种族的全部宿主上结瘤。因此，以互接种族为主要依据的传统分类逐渐被一些新的分类技术所取代。1984年 Jordan 在伯杰氏系统细菌学手册第一卷中，总结了前人数值分类、DNA 碱基组成、DNA 同源性、全细胞可溶蛋白及胞外多糖成份分析等大量研究结果，提出了下列分类系统：

- 根瘤菌科 *Rhizobiaceae*
  - 根瘤菌属 *Rhizobium*
    - 豌豆根瘤菌 *R. leguminosarum*
    - 苜蓿根瘤菌 *R. meliloti*
    - 百脉根根瘤菌 *R. loti*
    - 慢生大豆根瘤菌 *B. japonicum*
  - 慢生根瘤菌属 *Bradyrhizobium*
  - 土壤杆菌属 *Agrobacterium*
  - 叶瘤菌属 *Phyllobacterium*

随着原核生物分类技术的改进和根瘤菌研究工作的深入，根瘤菌分类系统得到了不断的补充修改，发现了一些新的属种，本文作一简要介绍。

1 新属的建立

1.1 固氮根瘤菌属（*Azorhizobium*）：1988年，Dreyfus 等发现，从 *Sesbania rostrata* 茎瘤中分离到的菌株无论是表型特点还是系统发育地位都密切相关。rRNA－DNA 杂交结果表明，这一类群与根瘤菌属（*Rhizobium*）和慢生根瘤菌属（*Bradyrhizobium*）明显不同，构成一个独立的 rRNA 分支，与黄杆菌属（*Xanthobacter*）亲缘关系较近，而与土壤杆菌属（*Agrobacterium*）相距甚远。据此，将其命名为一个新属——固氮根瘤菌属（*Azorhizobium*）[1]。

1.2 中华根瘤菌属（*Sinorhizobium*）：1988年，陈文新等对33株快生大豆根瘤菌进行了数值分类研究，发现这些菌株形成一个独立的表观群，与根瘤菌属和慢生根瘤菌属的表型特点明显不同，将其命为一个新属——中华根瘤菌属（*Sinorhizobium*）[2]。1994年，

1995－10－10 收稿

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 http://journals.im.ac.cn

Philippe 等人在全细胞蛋白电泳结果的基础上，根据根瘤菌新属种建立的最低标准，对 *Sesbania* 和 *Acacia* 两属植物的 80 株根瘤菌进行了系统分析研究，进一步从系统发育的角度确认了中华根瘤菌属[3]。

2 新种的命名

2.1 田菁固氮根瘤菌（*A. caulinodans*）：Drefus 在提出固氮根瘤菌属时，将 *Sesbania rostrata* 茎瘤中分离到的菌株命名为一个新种——田菁固氮根瘤菌[1]。

2.2 山羊豆根瘤菌（*R. galegae*）：分离自 *Galega orientalis* 的菌株与已知快生型根瘤菌各种的 DNA 同源性极低[4]。此外，结瘤特性[5, 6]、血清学特性、噬菌体特性[7]、rRNA 同源性[8]、蛋白和脂多糖图谱[9, 10]均表明，这些菌株构成一个独立的类群。Lindström 在 1989 年将其命名为山羊豆根瘤菌[7]。

2.3 华癸根瘤菌（*R. huakuii*）：陈文新等采用数值分类、DNA 杂交和全细胞可溶性蛋白电泳方法研究了与紫云英（*Astragalus sinicus*）共生的根瘤菌，于 1991 年将这些菌形成的独立 DNA 同源群命名为根瘤菌属的新种——华癸根瘤菌[11]。

2.4 热带根瘤菌（*R. tropici*）：豌豆根瘤菌菜豆生物型（*R. leguminosarum* biovar phaseoli）包括了与菜豆结瘤的所有根瘤菌。化学分类表明，它们可分为两个类群。E. Martinez－Romero 等根据多位点酶电泳及 DNA 杂交结果，16S rRNA 序列分析资料及表型特点，认为类群 II 的菌株与已知根瘤菌具有明显的差异，定名为新种——热带根瘤菌[12～18]。

2.5 菜豆根瘤菌（*R. etli*）：Segovia 等在 1993 年根据大量菌株的 16S rRNA 序列分析结果，结合前人的研究工作，将豌豆根瘤菌菜豆生物型 I 型菌株命名为菜豆根瘤菌[19, 20]。

2.6 鹰嘴豆根瘤菌（*R. ciceri*）：在伯杰氏系统细菌学手册第一卷中，与鹰嘴豆结瘤的快生型根瘤菌归属于百脉根根瘤菌（*R. loti*），慢生型菌株归属于慢生根瘤菌属。1986 年，Chakrabarti 等进行了 DNA 杂交试验，发现无论是快生型还是慢生型鹰嘴豆根瘤菌菌株与百脉根根瘤菌模式菌株 NZP2213 之间的 DNA 同源性极低[21]。结瘤试验[22]和血清学试验[23]均表明鹰嘴豆根瘤菌是新类群。但由于被分析菌株极少，同时缺乏测定种间遗传距离的方法，因此直到 1994 年，Nour 等再次系统研究了 16 株鹰嘴豆根瘤菌，进行了多位点酶电泳、16S rRNA 基因的 RFLP 分析及数值分类，发现慢生型与快生型菌株明显区分为 A、B 两群。DNA 杂交试验和 16S rRNA 部分基因测序结果表明，快生的 B 群菌株高度一致，是与已知种不同的新种，命名为鹰嘴豆根瘤菌。慢生的 A 群菌株可分为不同的 DNA 同源群，需进一步分析研究以确定其分类地位[24]。

2.7 天山根瘤菌（*R. tianshanense*）：80 年代，陈文新等在新疆根瘤菌资源调查中发现，结瘤于苦马豆（*Swainsonia salsula*）、苦豆子（*Sophora alopecuroides*）、甘草（*Glycyrrhiza uralensis*）、大豆（*Glycine max*）和树锦鸡儿（*Caragana polourensis*）的中慢生根瘤菌与已描述的根瘤菌相比具有许多不同的表型特点。90 年代再次对这一特殊类群进行系统研究，根据数值分类、DNA 杂交、16S rRNA 基因的部分测序结果，于 1995 年提出根瘤菌属的新种——天山根瘤菌。它与百脉根根瘤菌和华癸根瘤菌位于同一系统发育分支[25]。

2.8 埃尔坎慢生根瘤菌（*B. elkanii*）：在伯杰氏系统细菌学手册第一卷中，慢生根瘤菌属仅包含慢生大豆根瘤菌（*B. japonicum*）。但长期以来，人们已认识到慢生根瘤菌属具有遗传多样性。1981 年，Hollis 等研究了 25 株大豆根瘤菌，其中 9 株形成独立的 DNA 同源群，称为群 II[26]。在抗生素抗性、胞外多糖组成、脂肪酸图谱及血红蛋白特性等方面群 II 菌株与大豆根瘤菌明显不同[27, 28]。Stanley 等利用多种探针进行 RFLP 分析，Van Berkum 利用 hup 基因探针进行杂交试验，Young 等进行了 16S rRNA 基因序列分析，结果均表明，群 II 菌株具有特异性[29, 30]。1992 年，Kuykendall 等利用 14 个随机探针进行了 Shouthern 斑点杂交试验，肯定了前人的结论，提出群 II 应为慢生根瘤菌属的一个新种——埃尔坎慢生根瘤菌[31, 32]。

2.9 弗雷德中华根瘤菌（*Sinorhizobium fredii*）：1982 年，Keyser 等首次发现了 11 株快生型大豆根瘤菌[33]。尽管它与慢生大豆根瘤菌寄主相同，但具有典型的快生型根瘤菌的培养特征和生理特性。DNA－DNA 杂交结果表明，这群菌与已知根瘤菌不同[34～36]，在 1984 年 Scholla 和 Elkan 将其命名为弗雷德根瘤菌（*R. fredii*）[37, 38]。1988 年，陈文新提出了中

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 http://journals.im.ac.cn

华根瘤菌属，将弗雷德根瘤菌(*R. fredii*)改名为弗雷德中华根瘤菌(*S. fredii*)，分离自新疆的快生型大豆根瘤菌命名为新疆中华根瘤菌(*S. xinjiangensis*)[2]。1992年，Jarvis等对这群菌进行了16S rRNA部分基因测序，发现快生型大豆根瘤菌与苜蓿根瘤菌(*R. meliloti*)亲缘关系较近，且新疆中华根瘤菌与弗雷德中华根瘤菌的部分16S rRNA基因序列完全一致，故又将快生大豆根瘤菌恢复命名为弗雷德根瘤菌[39]。1994年，Philippe de Lajudie等进行了16S rRNA基因的全序列分析，发现弗雷德根瘤菌和苜蓿根瘤菌构成一个独立的系统发育分支，与根瘤菌属其它种亲缘关系较远，据此又将这一分支的菌归为一属，即中华根瘤菌属，重新提出弗雷德中华根瘤菌[3]。在伯杰氏细菌鉴定手册第九版中，采用了弗雷德中华根瘤菌(*S. fredii*)的名称[40]。

2.10 撒哈拉中华根瘤菌(*S. saheli*)：Ndoye在西非塞内加尔的撒哈拉沙漠地区分离到6株根瘤菌，Philippe对其进行了全细胞蛋白电泳分析和数值分类研究，发现来源于*Sesbania cannabina*，*S. grandiflora*和*S. pachycarpa*的四株菌形成一个表观群。DNA－rRNA杂交、DNA－DNA杂交及16S rRNA基因测序结果表明，这一表观群是中华根瘤菌属的新种，命名为撒哈拉中华根瘤菌(*S. saheli*)。该种菌株最明显的特点是可在44℃高温下正常生长[3]。

2.11 多宿主中华根瘤菌(*S. teranga*)：分离自*Sesbania*和*Acacia*两属共9种宿主的23株菌；经过系统分类研究发现，其中19株菌紧密相关，与撒哈拉中华根瘤菌亲缘关系最近，被命名为多宿主中华根瘤菌(*S. teranga*)。该种菌株的最高生长温度达44℃；培养时间较长时，菌落由乳白色转变成棕褐色[3]。

2.12 苜蓿中华根瘤菌(*S. meliloti*)：以16S rRNA基因序列为依据的系统发育关系表明，苜蓿根瘤菌(*R. meliloti*. Jordan 1984)与中华根瘤菌属各种构成一个系统发育分支，因此，Philippe在1994年将其改名为苜蓿中华根瘤菌(*S. meliloti*)[3]。

综上所述，已命名的根瘤菌有4个属，共15种(表1)。随着根瘤菌资源的调查，根瘤菌分类工作的深入，对根瘤菌分类系统的进一步补充及再次修改将在所难免。

致谢 本文承蒙中国农业大学陈文新先生指教，特此致谢。

表1 根瘤菌分类系统

属 名	种 名
根瘤菌属 (*Rhizobium*)	豌豆根瘤菌(*R. leguminosarum*)
	百脉根根瘤菌(*R. loti*)
	山羊豆根瘤菌(*R. galegae*)
	热带根瘤菌(*R. tropici*)
	华癸根瘤菌(*R. huakuii*)
	菜豆根瘤菌(*R. etli*)
	鹰嘴豆根瘤菌(*R. ciceri*)
	天山根瘤菌(*R. tianshanese*)
中华根瘤菌属 (*Sinorhizobium*)	弗雷德中华根瘤菌(*S. fredii*)
	撒哈拉中华根瘤菌(*S. saheli*)
	多宿主中华根瘤菌(*S. teranga*)
	苜蓿中华根瘤菌(*S. meliloti*)
慢生根瘤菌属 (*Bradyrhizobium*)	慢生型大豆根瘤菌(*B. japonicum*)
	埃尔坎慢生根瘤菌(*B. elkanii*)
固氮根瘤菌属 (*Azorhizobium*)	田菁固氮根瘤菌(*A. caulinodans*)

参 考 文 献

[1] Drefus B, Carcia J L, Gillis M. Int J System Bacteriol, 1988, **38**: 89～98.
[2] Chen W X, Yan G H, Li J L. Int J System Bacteriol, 1988, **38**: 392～397.
[3] Philippe D L, Willems A, Pot B, *et al*. Int J System Bacteriol, 1994, **44**: 715～733.
[4] Wedlock D N, Jarvis B D W. Int J System Bacteriol, 1986, **36**: 550～558.
[5] Hauke P T. Acta Microbiol, 1967, **94**: 116～124.
[6] Lindstrom K, Jarvis B D W, Lindsttrom P E, *et al*. Can J Microbiol, 1983, **29**: 781～789.
[7] Lindstrom K, Lehtomaki S, FEMS Microbiol Lett, 1988, **50**: 277～287.
[8] Jarvis B D W, Gillis M, De Ley J. Int J System Bacteriol, 1986, **36**: 129～138.
[9] Lamb J W, Hombrecher G, Johnston A W B. Mol Gene Genet, 1982, **99**: 1～23.
[10] Lipsanen P, Lindstrom K. FEMS Microbiol Lett, 1989, **58**: 323～328.
[11] Chen W X, Li G S, Qi Y L, *et al*. Int J System Bacteriol, 1991, **41**: 275～280.
[12] Jarvis B D W, Dick A G, Greenwood R M. Int J System Bacteriol, 1988, **30**: 42～52.

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 http://journals.im.ac.cn

[13] Johnston A W B, Beynon J L, Buchanan A V, *et al*. Nature (London), 1978, **276**: 634～636.

[14] Martinez E, Pardo M A, Palacios R, *et al*. J Gen Microbiol, 1985, **131**: 1799～1786.

[15] Martinez E, Palacios R, Sanchez F. J Bacteriol, 1987, **169**: 2828～2834.

[16] Martinez E, Flores M, Brom S, *et al*. plant and Soil, 1988, **108**: 79～184.

[17] Matinez E, Segovia L, Mercantc F, *et al*. Int J System Bacteriol, 1991, **41**: 417～426.

[18] Pinero D, Martinez E, Selander R K. Appl Environ Microbiol, 1988, **54**: 2825～2832.

[19] Segovia L, Pinero D, Palacios R, *et al*. Appl Eniron Microbiol, 1991, **57**: 426～433.

[20] Segovia L, Young J P W, Martinez E. Int J System Bacteriol, 1993, **43**: 374～377.

[21] Chakrabarti S K, Mishra A K, Chakrabartty P K. Can J Microbiol, 1986, **32**: 524～527.

[22] Gaur Y D, Sen A N. New Phytol, 1979, **83**: 745～754.

[23] 曾定. 固氮生物学, 厦门: 厦门大学出版社, 1987.

[24] Nour S M, Fernandez M P, Normand P, *et al*. Int J System Bacteriol, 1994, **44**: 511～512.

[25] Chen W X, Wang E T, Wang S Y, *et al*. Int J System Bacteriol, 1995 **45**: 153～159.

[26] Hollis T A, Kloos E, Elkan G H. J Gen Microbiol, 1981, **123**: 215～222.

[27] Huber T A, Agarwal A K, Keister D L. J Bacteriol, 1984, **158**: 1168～1171.

[28] Keister D L, Marsh S S. Appl Environ Microbiol, 1990, **56**: 2736～2741.

[29] Stanley J, Brown G G, Verma D P S. J Bacteriol, 1985, **163**: 148～154.

[30] Van Berkum P. Appl Environ Microbiol, 1990, **56**: 3835～3841.

[31] Kuykendall L D, Roy M A, O'Neill J J, *et al*. Int J System Bacteriol, 1988, **38**: 358～361.

[32] Kuykendall L D, Saxena B, Devine T E, *et al*. Can J Microbiol, 1992, **38**: 501～505.

[33] Keyser H H, Bohlool B B, Hu T S, *et al*. Can J Microbiol, 1982, **29**: 781～789.

[34] Sadowsky M J, Keyser H H, Bohlool B B. Int J System Bacteriol, 1983, **33**: 716～722.

[35] Stowers M D, Eaglesham A R J. Plant and Soil, 1984, **77**: 3～14.

[36] Yelton M M, Yang S S, Edie S A, *et al*. J Gen Microbiol, 1983, **129**: 1537～1547.

[37] Scholla M H, Elkan G H. Int J System Bacteriol, 1984, **34**: 283～286.

[38] Scholla M H, Elkan G H. Int J System Bacteriol, 1984, **34**: 484～486.

[39] Jarvis B D W, Downer H L, Young J P W. Int J System Bacteriol, 1992, **42**: 93～96.

[40] Holt J G, Krieg N R, Sneath P H A, *et al*. Bergey's manual of determinative bacteriology qth ed, The Williams and Wilkins Co., Batimore, 1994.

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 http://journals.im.ac.cn