
* 研究报告 *

黄芪根瘤菌的多样性分析

王素英* 陈文新

(北京农业大学生物学院 北京 100094)

摘要 选用 23 株分离自山西、内蒙古、宁夏、甘肃和吉林的黄芪根瘤菌菌株,进行了营养利用、抗生素抗性、耐逆性和酶活性测定,发现不同地区来源、甚至同一地区来源或同种寄主的不同菌株存在着较大的差异,这种不一致现象在来源于甘肃的 7 株菌中尤为明显,特别是 G156、G130 和 G013 在碳源利用能力方面表现出诸多不同于大多数黄芪根瘤菌的特点。G156、G012 和 G022 能在 50℃ 生长。多数被试菌株在 pH11 的条件下生长,少数菌株耐 4% ~ 5% NaCl, 这些结果均说明黄芪根瘤菌是一个极其多样化的类群,它们也明显不同于已知根瘤菌。

关键词 黄芪, 根瘤菌, 多样性

黄芪(*Astragalus*)是广泛分布于我国南北各省区的豆科植物,现已报道 8 亚属、278 种、2 亚种、35 变种及两个变型^[1]。膜荚黄芪(*A. membranaceus*)和蒙古黄芪(*A. mongholicus*)是名贵的中草药,紫云英(*A. sinicus*)是常用的稻田绿肥,斜茎黄芪(*A. adsurgens*)是固沙、固土和保水的优良水土保持植物,其它绝大多数黄芪植物可用作牲畜饲料,同时也是良好的蜜源植物^[2,3]。

由于黄芪在农业、林业、畜牧业和医药中占有显赫地位,因此黄芪根瘤菌剂的研制具有重要的经济意义,而黄芪根瘤菌的多样性分析则可为菌株的选育和利用提供依据。

1 材料和方法

1.1 菌株

菌株的编号、地理来源及寄主名称见表 1,

表 1 供试菌株的宿主及地理来源

菌 号	宿 主	地理来源 (省、自治区)
G013	<i>Astragalus</i> sp.	甘肃
G270	<i>Astragalus</i> sp.	甘肃
G156	<i>Astragalus</i> sp.	甘肃
G261	<i>A. scaberrimus</i>	甘肃

续表 1

菌 号	宿 主	地理来源 (省、自治区)
G258	<i>A. scaberrimus</i>	甘肃
G012	<i>A. scaberrimus</i>	甘肃
G022	<i>A. complanatus</i>	甘肃
G130	<i>A. adsurgens</i>	甘肃
N212	<i>A. lehmannianus</i>	宁夏
N247	<i>A. ellipsoides</i>	宁夏
N211	<i>A. adsurgens</i>	宁夏
SX042	<i>A. dahuricus</i>	山西
SX058	<i>A. dahuricus</i>	山西
SX044	<i>A. dahuricus</i>	山西
SX034	<i>A. dahuricus</i>	山西
JL23	<i>A. dahuricus</i>	吉林
JL28	<i>A. membranaceus</i>	吉林
JL84	<i>A. complanatus</i>	吉林
NM074	<i>A. miniatus</i>	内蒙古
NM069	<i>A. complanatus</i>	内蒙古
NM003	<i>A. mongholicus</i>	内蒙古
NM026	<i>A. adsurgens</i>	内蒙古
NM093	<i>A. danicus</i>	内蒙古

国家自然科学基金“八五”重点项目

* 现在山西师范大学生物系

1996-05-30 收稿

所分离、纯化菌株均经回接原寄主结瘤。

1.2 培养基及实验方法

实验所用培养基配方及测试项目所用方法均如文献[4]所述。

上述所有试验均设三次重复。

2 结果和讨论

2.1 菌株利用碳氮源情况

在碳氮源试验中, 所有供试菌株培养 72h 后, 观察其生长情况, 形成典型菌落者, 视为阳性结果, 记为“+”, 否则记为“-”。表 2、3 表示黄芪根瘤菌利用碳、氮源的情况, 可得出

如下结论:

2.1.1 从总体来看, 淀粉、D-葡萄糖酸钠和苯甲酸钠不能作为黄芪根瘤菌的碳源; D-色氨酸和 D-甲硫氨酸不能作为黄芪根瘤菌的氮源; NaNO_3 、L-苏氨酸、L-丝氨酸和 L-组氨酸则可被全部被测菌株利用。

2.1.2 除上述相同性状外, 不同地理来源的菌株, 其碳氮源利用能力有一定的差异, 即使是来源于同一省份的菌株也不一致。分离自甘肃的菌株在碳源利用方面这种不一致的现象尤为明显, 它们没有一种共同的可利用碳源。

表 2 黄芪根瘤菌利用碳源情况

碳 源	菌 株 ¹⁾																						
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23
L-阿拉伯糖	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+
D-阿拉伯糖	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-
D-木糖	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+
L-鼠李糖	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+
D-甘露糖	+	-	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+
果糖	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
葡萄糖	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
L-山梨糖	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
半乳糖	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D-塔格糖	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	+	+	-	+	-	+	+	+
麦芽糖	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
乳糖	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+
蜜二糖	-	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+
海藻糖	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+
棉子糖	-	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-
菊糖	-	+	+	-	-	-	+	-	+	+	-	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-
D-松三糖	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+
糊精	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
糖元	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-
淀粉	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
甜醇	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
赤藓糖醇	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-
L-肌醇	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+
D-山梨醇	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+
D-葡萄糖酸钠	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
阿魏酸	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
反丁烯二酸	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+
苯甲酸钠	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
柠檬酸钠	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+	+

续表 2

碳 源	菌 株 ¹⁾																						
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23
草酸钠	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-
甲酸钠	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-
丙酮酸钠	-	-	+	-	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+
丁香酸	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
马尿酸钠	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
DL-苹果酸钠	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+
J-二酸钠	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	+	+	-	+	-	+	+	+
丙二酸钙	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
香草酸	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
对羟基苯甲酸	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

1) 菌号: 1. G156, 2. G012, 3. G022, 4. G258, 5. G261, 6. G270, 7. G130, 8. G01, 9. NM074, 10. NM069, 11. NM003, 12. NM026, 13. NM093, 14. SX042, 15. SX058, 16. SX044, 17. SX034, 18. N212, 19. N247, 20. N211, 21. JL23, 22. JL28, 23. JL84

表 3 黄芪根瘤菌利用氮源情况

氮 源	菌 株 ¹⁾																						
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23
硝酸钠	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
甘氨酸	-	-	+	-	-	-	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+
L- 胱氨酸	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+
L- 苏氨酸	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
L- 丝氨酸	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
L- 组氨酸	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
L- 酪氨酸	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+	+
L- 缬氨酸	-	-	+	+	+	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+
L- 亮氨酸	-	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+
L- 苯丙氨酸	-	-	+	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+
L- 精氨酸	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
L- 甲硫氨酸	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+
L- 异亮氨酸	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+
L- 天冬氨酸	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+
L- 谷氨酸	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D- 谷氨酸	+	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+
D- 缬氨酸	-	-	+	-	-	+	+	-	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-	+	-	+	-	+
D- 甲硫氨酸	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D- 色氨酸	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
DL- 丙氨酸	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+
DL- 脯氨酸	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
次黄嘌呤	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+

1) 菌号同表 2

2.1.3 多数被试菌株以不同形式的单糖或双糖为生长的碳源,但也有少数菌株利用有机酸生长。尤其是菌株 G013、G130、G156 和 SX034 表现特殊。众所周知,果糖、半乳糖和麦芽糖是易被根瘤菌利用的碳源物质,但 G013 不能利用果糖, G130 不能利用麦芽糖, G156 和

G013 不能利用半乳糖;山梨糖、对羟基苯甲酸和糊精不被绝大多数黄芪根瘤菌分解利用,而 G130 利用山梨糖和对羟基苯甲酸, SX034 可利用糊精。

2.2 黄芪根瘤菌耐逆性试验

2.2.1 抗生素抗性试验(表 4)

表 4 黄芪根瘤菌抗生素抗性试验结果¹⁾

抗生素	菌 株 ²⁾																						
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23
氯霉素 (5 μ g/ml)	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
(50 μ g/ml)	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
(100, 300 μ g/ml)	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
红霉素 (5 μ g/ml)	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
(50 μ g/ml)	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+
(100, 300 μ g/ml)	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
青霉素 (5 μ g/ml)	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
(50 μ g/ml)	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+
(100 μ g/ml)	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	+	+	+
多粘菌素 (5 μ g/ml)	+	-	+	+	-	-	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+
(50 μ g/ml)	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	-	+
(100 μ g/ml)	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
土霉素 (5 μ g/ml)	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-
(50, 100 μ g/ml)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
链霉素 (5 μ g/ml)	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	-	+	+
(50 μ g/ml)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+
杆菌肽 (300 μ g/ml)	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
强力霉素 (5 μ g/ml)	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-
卡那霉素 (5 μ g/ml)	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+

1) 表中未列出全同性状 2) 菌号同表 2

12 种抗生素抗性测定结果表明,不同菌株具有不同的抗药性。全部被试菌株对四环素和庆大霉素敏感,部分菌株耐低浓度 ($\leq 50\mu\text{g/ml}$) 的氯霉素、链霉素、强力霉素、土霉素和卡那霉素。少数菌株耐较高浓度 ($50 \sim 100\mu\text{g/ml}$) 的青霉素、红霉素和多粘菌素。极个别菌株如 G130 和 G022 则可分别在含有 $300\mu\text{g/ml}$ 的氯霉素和红霉素培养基中生长。另外 SX042 和 JL84 耐 $50\mu\text{g/ml}$ 链霉素, N212 耐 $100\mu\text{g/ml}$ 土霉素。除 NM069 和 G270 外,所有菌株对 $300\mu\text{g/ml}$ 的杆菌肽具有抗性。

2.2.2 耐盐碱试验(表 5)

① 实验中供试盐浓度范围为 1.0% ~ 5.0%,

其中 52.2% 的菌株耐 1.0% 的 NaCl, 少数菌株 (NM074、SX034、N247 和 JL23) 耐 2.5% ~ 3.0% 的 NaCl, 个别菌株耐盐性极高, 如 G156 耐 5.0% 的 NaCl, G130 耐 4.0% 的 NaCl。

② 黄芪根瘤菌的耐碱性没有明显的差异, 全部菌株可在 pH10 的碱性环境中生长, 绝大多数的菌株可在 pH11 的碱性环境中生长, 与其它已知根瘤菌相比, 它们具较强的耐碱能力。

2.2.3 温度试验

从表 5 可以看出, 全部菌株在 37°C 均能生长, 部分菌株在 10°C 低温下生长良好。在 50°C 高温情况下, 尚有少数菌株 (G156、G012、G022 和 NM026) 可生长, 这是目前已知根瘤菌所未见报道的特点。

2.3 酶活性试验

常规酶活性试验结果列于表 6。从表 6 可以看出, 除过氧化氢酶反应均为阳性结果外,

氧化酶、脲酶、苯丙氨酸脱氨酶和硝酸盐还原酶活性均呈现了正负两种反应, 说明黄芪根瘤菌具有多样化的代谢途径。

表 5 黄芪根瘤菌耐逆性试验结果

处 理	菌 株 ¹⁾																						
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23
1.0% NaCl	+	-	-	+	-	-	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+	-	+	-	+
1.5% NaCl	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-
2.0% NaCl	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-
2.5% NaCl	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-
3.0% NaCl	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
3.5% ~ 4.0% NaCl	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4.5% ~ 5.0% NaCl	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
pH9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
pH10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
pH11	-	+	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10 ℃	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+
37 ℃	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
50 ℃	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

1) 菌号同表 2

表 6 酶活性测定结果

酶 类	菌 株 ¹⁾																						
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23
苯丙氨酸脱氨酶	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+
氧化酶	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
脲 酶	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+	-	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
过氧化氢酶	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
硝酸盐还原酶	-	-	+	+	-	+	-	+	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-	+	-	+	-	+

1) 菌号同表 2

3 小结

在中国根瘤菌资源调查中, 我们分离了很多黄芪植物的根瘤菌, 这些 G⁻ 无芽孢杆菌, 生长速度有快慢之分, 鞭毛有周生和极生之别, 这与他人的报道相同^[5]。本文仅选用部分地区的部分快生型菌株做为研究材料, 从营养特点、抗生素抗性、耐逆能力、温度试验及酶活性这几个方面分析, 已反映出不同地区乃至同一地区的黄芪根瘤菌的多样性, 说明我国的黄芪根瘤菌资源极其丰富, 当我们在利用这一

资源时必须先考查各菌株的特性。

参 考 文 献

[1] 傅坤俊, 何业棋, 丁陈森等. 中国植物志 42 卷. 北京: 科学出版社, 1993. 371 ~ 402.
[2] 戴宝合, 田德昌, 曲路平. 野生植物资源学. 北京: 农业出版社, 1993. 260 ~ 268.
[3] 倪志诚, 李乾振, 周榜弟等. 西藏经济植物志, 北京: 北京科技出版社, 1990. 320 ~ 321.
[4] Chen W X, Li G S, Qi Y L et al. Int Syst Bacteriol. 1991, 41: 275 ~ 280.
[5] Allen O N, Allen E K. The Leguminosae: A Source Book of Characteristics, Uses, and Nodulation. The University of Wisconsin Press. 1981.

DIVERSITY OF RHIZOBIA ISOLATED FROM *ASTRAGALUS* SPP.

Wang Suying Chen Wenxin

(College of Biological Sciences, Beijing Agricultural University, Beijing, 100094)

Abstract Twenty-three strains isolated from *Astragalus* spp., distributed in Shanxi, Ningxia, Neimonggu, Gansu and Jilin, provinces were analysed by a series of tests for nutrient utilization, resistance to antibiotics, endurance to salt, alkali and extreme temperatures, and enzyme activities. The results showed the huge diversity of rhizobia isolated from *Astragalus* spp. distributed in different places. Some strains grow at 50 °C, some grow in medium with 4% 5% NaCl or with pH 11, They could resist the extreme environments.

Key words *Astragalus* spp., Rhizobia, Diversity