

费氏中华根瘤菌内源质粒的不相容性 及其在质粒消除中的应用*

缪礼鸿 周俊初**

(农业部农业微生物重点实验室 华中农业大学 武汉 430070)

摘 要:用 Tn5-Mob-*sacB* 转座子标记费氏中华根瘤菌(*Sinorhizobium fredii*) HN01 和 WWG18 的内源质粒;在含有 10% 蔗糖的 TY 培养基上进行了质粒消除试验以鉴定其功能。将 HN01 的标记共生质粒 pSymHN01b 转入费氏中华根瘤菌 WWG18SR 和 C361SR 中,质粒快速检测、质粒消除和植物盆栽结瘤试验结果证明;HN01 的共生质粒与 WWG18SR 的共生质粒具有不相容性,但能与其非共生质粒相容。相反,HN01 的共生质粒可与 C361SR 的共生质粒相容,但与其其中一个非共生质粒具有不相容性。利用费氏中华根瘤菌不同菌株质粒间的不相容性,本研究成功地消除了 WWG18SR 的共生质粒和 C361SR 的一个非共生质粒。

关键词:费氏中华根瘤菌,质粒,不相容性

中图分类号:Q939.11 **文献标识码:**A **文章编号:**0001-6209 (2001) 04-0432-08

快生根瘤菌一般含有一到多个内源大质粒,其与豆科植物共生结瘤、固氮有关的基因多定位于一个称为共生质粒(pSym)的大质粒上^[1,2];其余为非共生质粒。鉴定根瘤菌质粒功能的方法主要是消除该质粒和将其转移到其他菌株中去以考察其性状的改变。由于大多数根瘤菌质粒十分稳定且难于消除,并且只有极少数质粒具有自我转移功能,所以迄今有关根瘤菌非共生质粒的功能所知甚少。已有的研究结果表明,根瘤菌的某些非共生质粒与菌株的结瘤竞争能力、固氮效率、胞外多糖产生以及对抗生素降解等有关^[3~7]。

某些根瘤菌的内源质粒,包括共生质粒和非共生质粒可以在不同种属的根瘤菌之间、根瘤菌与土壤杆菌之间以一定的频率进行自我转移或诱动转移与表达^[8~13],一些研究者已经观察到不同根瘤菌质粒之间的不亲和性现象^[14]。根瘤菌与土壤杆菌质粒之间的不相容特性已被用来消除土壤杆菌的某些用常规方法难以消除的内源质粒^[15]。

本文报道了 3 株费氏中华根瘤菌质粒间的不相容性及在质粒消除研究中的应用。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 菌株及质粒(见表 1)。

1.1.2 培养基与培养条件:大肠杆菌用 LB 培养基、于 37℃ 下培养;根瘤菌和土壤杆菌用 TY 培养基、于 28℃ 下培养;根瘤菌菌落形态比较用 YMA 培养基;根瘤菌蔗糖敏感性验证

* 本研究受欧盟 INCO-DC 合作研究计划 ERBIC18CT970191 课题经费资助

** 联系作者

作者简介:缪礼鸿(1965-),男,安徽巢湖人,讲师,在职博士生,从事固氮遗传研究。

收稿日期:2000-08-07,修回日期:2001-02-14

与质粒消除用 TY 加 10% 蔗糖培养基;根瘤菌质粒快速检测用 PA 培养基^[16]。

1.1.3 抗生素与浓度:供试抗生素与使用浓度为:卡那霉素(Km)50μg/mL;链霉素(Sm)200μg/mL;四环素(Tc)20μg/mL;利福平(Rif)20μg/mL;壮观霉素(Spe)10μg/mL;萘啶酮酸(Nal)20μg/mL。

表 1 供试菌株和质粒
Table 1 Strains and plasmids tested

Strains	Relevant characteristics	Reference or source
<i>Sinorhizobium fredii</i>		
HN01	Wild type, isolated from nodule of Aijiaozao	This lab.
WWG18	Wild type, isolated from nodule of Williams	This lab.
C361	Wild type, isolated from nodule of Houzimaο	[17]
HNT28	Derivative of HN01, pHN01c labeled with Tn5-Mob-sacB	This work
HNT29	Derivative of HN01, pSymHN01b labeled with Tn5-Mob-sacB	This work
WTG14	Derivative of WWG18, pWG18c labeled with Tn5-Mob-sacB	This work
WGT29	Derivative of WWG18, pWG18d labeled with Tn5-Mob-sacB	This work
HND28	HN01 cured of pHN01c	This word
HND29	HN01 cured of pSymHN01b	This word
HN01SR	Spontaneous Sm ^r and Rif ^r mutant of HN01	This work
WWG18SR	Spontaneous Sm ^r and Rif ^r mutant of WWG18	This work
C361SR	Spontaneous Sm ^r and Rif ^r mutant of C361	This work
WG18SRD2	WWG18SR cured of pSymWG18b	This work
C361SRD1	C361SR cured of pC361c	This work
C361SRD2	C361SR(pSymHN01b)deleted of pSymHN01b	This work
WWG18SRN1	Derivative of WWG18SR harboring deleted pSymHN01b	This work
WWG18SRN2	Derivative of WWG18SR harboring pSymHN01b	This work
C361SRN	Derivative of C361SR harboring pSymHN01b	This work
<i>Agrobacterium tumefaciens</i>		
GMI9023	A plasmid-free strain Sm ^r , Rif ^r	This lab.
<i>E. coli</i>		
S17-1(pMH1701)	Haboring pMH1701, Tc ^r , Km ^r , Nal ^r	[16]
MM294(pRK2073)	Haboring pRK2073, Spe ^r	This work
Plasmid		
pMH1701	Carried Tn5-Mob-sacB, Tc ^r , Km	[16]
pRK2073	Helper plasmid Tra ⁺ , Spe ^r	This lab.

1.2 方法

1.2.1 带有 Tnt-Mob-sacB 的根瘤菌转座突变株的筛选:将分别培养至对数期的供体菌 S17-1(pMH1701)、协助菌 MM294(pRK2073)和受体菌 HN01 或 C361SR 的培养液各取 0.5mL 混合后离心,收集菌体悬浮于 80μL TY 液体中,滴加于 TY 平板上的灭菌微孔滤膜上,28℃培养 1d 后。用 2mL 无菌水将滤膜上的菌体制成菌悬液,取 10⁰ 和 10⁻¹涂布 TY 含 Nal 和 Km 平板,28℃培养 3~4d,待平板上长出单菌落后,从每个受体根瘤菌株的接合转移平板上随机挑取 60~80 个单菌落,于 TY 含 Nal 和 Km 平板再划线分离纯化一次后编号保存备用。由于根瘤菌对 Km 敏感,S17-1 和 MM294 对 Nal 敏感,因此,在 TY 含 Nal 和 Km 平板生长、但在含有 10% 蔗糖的培养基上不生长的菌株为带有 Tn5-Mob-sacB 转座子的根瘤菌突变株。

1.2.2 质粒上带有 Tn5-Mob-*sacB* 标记菌株的筛选与标记质粒的消除:在辅助菌 MM294 (pRK2073)的协助下,将上面获得的根瘤菌转座突变株(供体)分别与无质粒的根瘤土壤杆菌 GMI902(受体)进行三亲本接合转移,在 TY 含 Sm、Rif 和 Km 平板上筛选土壤杆菌接合子。质粒检测时与供体菌的质粒带型比较以确定供体根瘤菌的哪一条质粒带转入了土壤杆菌^[16]。用 TY 培养液分别将上述转座突变株培养至对数期并涂布于 TY 加 10%蔗糖平板,28℃培养 4~5d,每一菌株用灭菌牙签挑取 10 个单菌落分别点种于 TY 及 TY 含 Km 平板,28℃培养后,选取失去 Km 抗性的菌落作质粒检测,确证是否有质粒被消除。

1.2.3 根瘤菌抗药性自发突变株的筛选:用 TY 液体培养根瘤菌至对数后期,取 0.1mL 菌液涂布于含有 Sm 的 TY 平板,28℃培养 3~4d。挑单菌落转接于 TY 加 Sm 液体培养基中摇床培养 1d,取菌液再涂布在含有 Sm 和 Rif 的 TY 平板上培养。挑取长出的单菌落于 TY 含 Sm 和 Rif 平板纯化后,获得带有 Sm 和 Rif 对抗标记的自发突变株,经结瘤试验确证其共生固氮性能与出发菌株相同后,供质粒接合转移用。

1.2.4 根瘤菌之间质粒的诱动转移与转移接合子的质粒消除:以质粒上带有 Tn5-Mob-*sacB* 标记的根瘤菌转座突变株为供体,带有 Sm 和 Rif 双抗药性自发突变的根瘤菌为受体,在辅助质粒 pRK2073 协助下进行三亲接合转移。在 TY 含 Sm、Rif 和 Km 选择平板上长出的单菌落经纯化一次后,经测定其对蔗糖的敏感性和质粒带型分析,以确定是否为真正的转移接合子。转移接合子的质粒消除方法同 1.2.2。

1.2.5 根瘤菌质粒的快速检测:见文献[18]。

1.2.6 植物盆栽结瘤试验:见文献[19]。

供试大豆品种矮脚早(Aijiaoao)和猴子毛(Houzimao)由中国农业科学院武汉油料作物研究所大豆研究室提供;黑农 33(Heinong33)由新疆农业科学院提供;威廉姆斯(Williams)由西班牙 Sevilla 大学提供。

2 结果和讨论

2.1 HN01 和 WWG18 菌株内源质粒的标记、消除与共生固氮能力测定

菌株 HN01 含有分子量分别为 490、275 和 201MDa 的内源大质粒,其共生固氮基因定位于第二大质粒上 pSymHN01b^[20]。WWG18 含有 5 条内源大质粒,其中第二大质粒的分子量大小与 pSymHN01b 相近(见图 1)。将 HN01 的 70 个转座突变株分别与土壤杆菌 GMI9023 进行三亲本接合转移,获得了 2 个土壤杆菌转移接合子。质粒带检测结果表明均含有 HN01 的 201 MD 的第 3 大质粒。任选其中的一个编号为 HNT28 的含有转座子的根瘤菌在含 10%蔗糖的 TY 平板上进行质粒消除,获得了该质粒完全消除的菌株 HND28(图 2)。同时,对 HN01 的 70 个转座突变株分别在 TY 加 10%蔗糖平板上进行质粒消除,结果获得了一个完全消除了 HN01 第二大质粒的菌株,命名为 HND29,其对应的转座突变株编号为 HNT29。同样,将 70 个 WWG18 的转座突变株分别与 GMI9023 进行三亲本接合转移,从中筛选到第 3、4 大质粒带上带有 Tn5 转座子的突变株 WGT14 和 WGT29。依前法对 WGT14 和 WGT29 进行质粒消除,也分别获得这两个质粒完全消除的菌株(质粒照片未显示)。

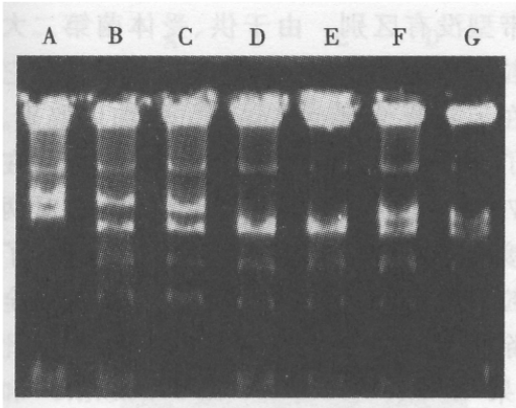


图 1 WWG18SR 及其转移接合子质粒消除菌株的质粒电泳图谱

Fig.1 Plasmid profiles of *S. fredii* WWGSR18 (pSymHN01b)transconjugants and its derivatives cured plasmid

A. HNT29; B. WWG18SR; C. WWG18SRN1; D, E. WG18SRD2; F, G. Partial deletion derivatives of WWG18SRN1 and N2.

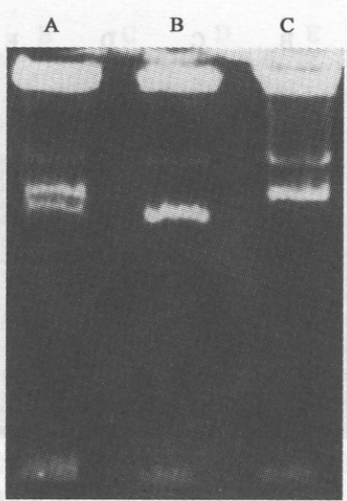


图 2 HN01 及其质粒消除菌株的质粒电泳图谱

Fig.2 Plasmid profiles of *S. fredii* HN01 and its plasmid cured derivatives

A. HN01; B. HND29(HN01 cured pSymHN01b); C. HND28(NH01 cured pHN01c).

以 HN01 和 WWG18 为对照进行的上述质粒消除菌株在黑龙 33 上的盆栽结瘤试验结果表明(见表 2);只有消除了 pSymHN01b 的菌株 HND29 完全失去了结瘤能力,从功能上进一步证实了该质粒为 HN01 共生质粒。其余消除质粒的菌株在黑龙 33 上的结瘤和固氮能力均不受影响,表明它们均为非共生质粒。在 YMA 平板上比较 HND29 与 HN01 的菌落形态,发现 HND29 菌落表面变得扁平、干燥,而出发菌株 HN01 的菌落表面隆起、湿润,初步表明其菌落表胞外多糖基因也可能存在于共生质粒上,与 *Rhizobium leguminosarum* VF39 的 pRleVF39c 质粒相似^[20]。

表 2 转移接合子 C361SRN 及其质粒消除菌株共生范围的检测

Table 2 Host range detection of C361SRN and its plasmid-curing derivatives

Strains tested	Heinong33	Williams	Aijiaozao	Houzimaao
HN01	Nod ⁺ , Fix ⁺	Nod ⁺ , Fix ⁺	Nod ⁺ , Fix ⁺	Nod ⁺ , Fix ⁺
C361SR	Nod ⁻	Nod ⁻	Nod ⁺ , Fix ⁺	Nod ⁺ , Fix ⁺
C361SRN	Nod ⁺ , Fix ⁺	Nod ⁺ , Fix ⁺	Nod ⁺ , Fix ⁺	Nod ⁺ , Fix ⁺
C361SRD1	Nod ⁻	Nod ⁻	Nod ⁺ , Fix ⁺	Nod ⁺ , Fix ⁺
C361SRD2	Nod ⁺ , Fix ⁺	Nod ⁺ , Fix ⁺	Nod ⁺ , Fix ⁺	Nod ⁺ , Fix ⁺
HND28	Nod ⁺ , Fix ⁺	Nod ⁺ , Fix ⁺	Nod ⁺ , Fix ⁺	Nod ⁺ , Fix ⁺
NHD29	Nod ⁻	Nod ⁻	Nod ⁻	Nod ⁻
WG18SRD2	Nod ⁻	Nod ⁻	Nod ⁻	Nod ⁻

2.2 HN01 与 WWG18 共生质粒之间的不相容性与 WWG18SR 共生质粒的消除

以 HNT29 为供体将 pSymHN01b 诱动转移至受体菌 WWG18SR 中,在 TY 含 Sm、Rif 和 Km 的选择平板上获得了转移接合子 WWG18SRN1 和 WWG18SRN2,它们都表现出对蔗糖的敏感性。将它们与供、受体菌的质粒带型进行比较研究后发现 WWG18SRN1 的第二大质粒较供、受体菌的第二大质粒变小(图 1.3);而 WWG18SRN2 与受体菌 WWG18SR 的质

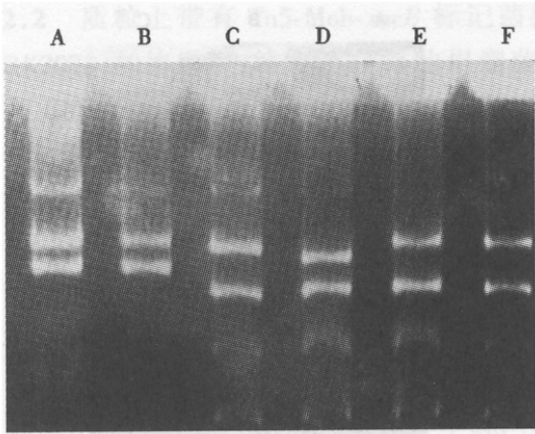


图3 转移接合子 WWG18SRN1 和 WWG18SRN2 质粒电泳图谱

Fig.3 Plasmid profiles of the transconjugants WWG18SRN1 and WWG18SRN2

A, B. HNT29; C, D. WWG18SRN1; E, F. WWG18SRN2.

验结果表明它完全失去了结瘤能力(表 2),证明消除的 WWG18SR 第二大质粒为共生质粒。

2.3 HN01 共生质粒与 C361SR 非共生质粒之间的不相容性与 C361SR 非共生的质粒消除

已知 C361SR 含有 4 条质粒,其第二大质粒为共生质粒并与 pSymHN01b 分子量接近。以 361SR 为受体与 HNT29 进行三亲本接合转移,在 TY 含 Sm、Rif 和 Km 的选择性平板上获得 3 个转移接合子。质粒快检结果表明其质粒带型完全相同,都丢失了受体菌的第三大质粒,命名为 C361SRN(图 4)。为进一步确证接合子中是否存在受体菌的共生质粒,选其中一个转移接合子在 TY 加 10%蔗糖平板上进行质粒消除。随机挑取 30 个失去 Km 抗性的菌落进行质粒快检的结果表明:除所有的菌株在其第二大质粒带位置上仍保留有与受体菌大小相同的质粒外,有将近 2/3 的菌落在原来第 2 与第 3 大质粒之间出现一条大、小不等由 pSymHN01b::Tn5-Mob-sacB 缺失后形成的分子量较小的质粒。其余的 1/3 菌株的质粒带型同 C36SRN 没有区别(图 5)。本结果表明 pSymHN01 与 C361SR 的第三大质粒不相容,但与其共生质粒能够相容,即接合子 C361SRN 中含有两个共生质粒。

盆栽结瘤试验结果表明:导入了广品种范围结瘤菌株 HN01 共生质粒的接合子 C361SRN 恢复了在黑龙 33 和 Williams 上的结瘤和固氮能力,因 C361SR 只能在矮脚早等某些大豆品种上结瘤^[17](表 2),表明控制大豆品种专一性结瘤性状有关的基因位于共生质粒上。在所获得的 6 个质粒带型与 C361SRN 完全相同的质粒消除菌株中有 4 株失去了在黑农 33 和 Williams 上的结瘤能力,其共生范围与 C361SR 相同,从功能上证明了导入的 pSymHN01b 已完全被消除(命名为 C361SRD1),其第二大质粒为出发菌的共生质粒。其余 2 株的结瘤范围没有改变,表明仍保留有 pSymHN01b,仅消除了标记质粒上的 Tn5-Mob-sacB,命名为 C361SRD2(图 6)。

粒带型没有区别。由于供、受体菌第二大质粒分子量大小相当(图 1),难于通过它们在琼脂糖凝胶上的质粒位置加以鉴别。为了弄清这两个接合子中是否还存在 WWG18SR 本身的第二大质粒,我们对两个接合子在 TY 加 10%蔗糖平板上进行了质粒消除,结果都获得了第二大质粒完全消除的菌株,命名为 WG18SRD2(图 1)。此结果表明,接合子 WWG18SRN1 和 WWG18SRN2 中已经不存在 WWG18SR 的第二大质粒,而仅含有 pSymHN01b,即这两个质粒具有不相容性,属于同一不相容群。WWG18SRN1 的第二大质粒变小很显然是由于 pSymHN01b 质粒在诱动转移过程中发生了缺失。用 WG18SRD2 进行的结瘤试

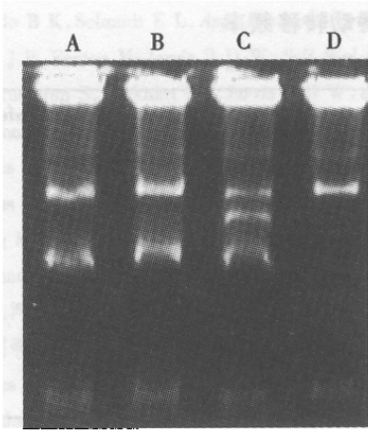


图 4 转移接合子 C361SRN 质粒电泳图谱

Fig.4 Plasmid profiles of the transconjugants C361SRN
A, B. C361SRN; C. C361SR; D. HND28.

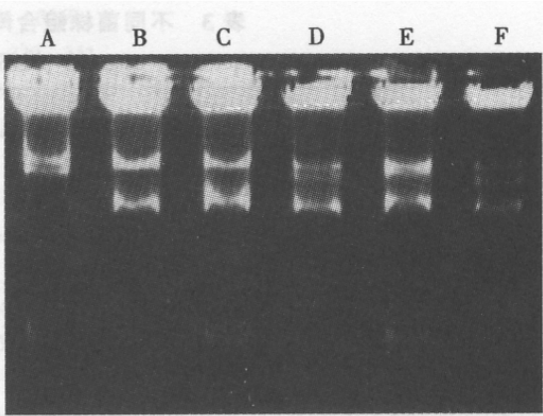


图 5 转移接合子 C361SRN 质粒消除菌体的质粒电泳图谱

Fig.5 Plasmid profiles of the transconjugant C361SRN and its plasmid curing derivatives
A. HNT29; B. C361SRN; C. C361SRD-1, cured pSymHN01b; D. C361SRD-2, larger fragment of pSymHN01b deleted; E. C361SRD-2, smaller fragment of pSymHN01b deleted; F. C361SR.

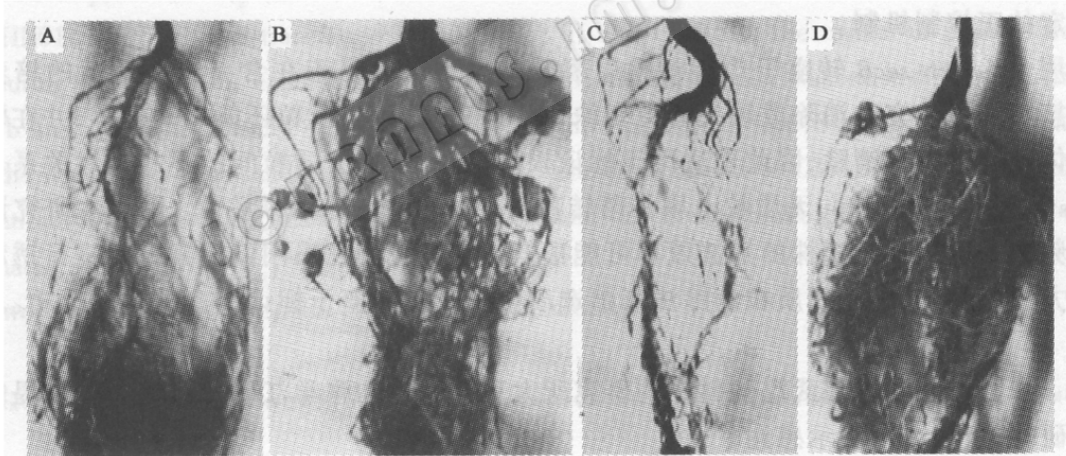


图 6 转移接合子 C361SRN 及其质粒消除菌体的植物盆栽结瘤试验

Fig.6 Pot plant experiment of C361SRN and C361SRD-1
A. C361SR fail to nodulate on Heinong 33; B. C361SRN forms nodules on Heinong33; C. C361SRD-1 fail to nodulate on Heinong; D. C361SRD-1 forms nodules on Aijiaozao.

2.4 不同菌株组合间内源质粒诱动转移频率的测定

用公式 $TY \text{ 含 Sm、Rif 和 Km 平板菌落数} / TY \text{ 含 Sm 和 Rif 平板菌落数}$ 计算的不同菌株组合的质粒转移频率见表 3。

结果表明:分子量较大的共生质粒的诱动转移频率明显低于分子量小的非共生质粒,也低于一般根瘤菌的 Sm 和 Rif 抗性自发突变频率(约 2.0×10^{-9})。如此低的转移频率对于受体菌来说,采用双抗标记是必要的。

表 3 不同菌株组合间内源质粒的诱动转移频率

Table 3 Frequency of indigenous plasmid transfer between different strains combinations

Donor strain	Recipient strain	Frequency of transfer
HNT29(pSymHN01b)	GMI9023	1.2×10^{-9}
HNT29(pSymHN01b)	WWG18SR	1.0×10^{-9}
HNT29(pSymHN01b)	C361SR	2.5×10^{-9}
HNT28(pHN01c)	GMI9023	5.1×10^{-8}
WGT14(pWG18c)	HN01SR	7.2×10^{-8}
WGT14(pWG18c)	HND29SR	2.0×10^{-7}
WGT29(pWG18d)	HN01SR	2.2×10^{-7}
WGT29(pWG18d)	HND29SR	1.1×10^{-7}

2.5 讨论

研究结果表明,不同菌株的共生质粒之间,共生质粒与非共生质粒间的不相容性关系十分复杂。已有证据表明,根瘤菌质粒能够在自然条件下向土壤杆菌转移^[13],因此,有理由认为自然界中根瘤菌质粒在不同菌株之间的水平转移,以及它们之间存在的复杂的不相容性关系,可能是形成自然界根瘤菌质粒类群多样性的主要原因。

有人报道控制 *S. fredii* 在不同大豆品种上结瘤的机制有正控制和负控制两种。US-DA257 与大豆品种的专一性结瘤属于负控制,并已从中克隆出相应于大豆品种的专一性结瘤基因^[22]。本研究发现广品种范围菌株 HN01 中也存在与 USDA191^[1] 相似的由共生质粒决定的正控制机制。

用 Tn5-Mob-*sacB* 转座子^[16] 标记根瘤菌质粒的优点是易于在含高浓度蔗糖的培养基上直接筛选质粒完全消除或缺失的突变株,带有该转座子的质粒还能诱动转移,并在转移到受体菌后可以再消除,因此更适用于标记根瘤菌质粒,研究质粒间的不相容性关系。但 Hynes(1989)年建立的向无质粒土壤杆菌转移的方法仍有一定的缺陷^[16],用于本研究诱动转移频率极低的标记菌株的筛选效率可能很低。为此我们在采用经土壤杆菌进行诱动转移的方法定位的同时,用质粒消除法来筛选质粒上带有转座子标记的菌株均获成功。

致谢 中国农业科学院武汉油料作物研究所大豆研究室和张学江研究员为本研究提供了相关研究材料,在此表示感谢!

参 考 文 献

[1] Appelbaum E. R., Meloughlin T. J., O'connell M., et al. *J. Bacteriol.*, 1985, **163**:385 ~ 388.
[2] Beynon J. L., Beringer J. E., Johnston A. W. B., et al., *J. Gen. Microbiol.*, 1980, **120**:421 ~ 429.
[3] Baubour W. M., Gerald H. E. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1989, **55**:813 ~ 818.
[4] Martinez-Romero E., Rosenblueth M. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1990, **56**:2384 ~ 2388.
[5] McGrath J. W., Hammerschmidt F., Quim J. P., et al. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1998, **64**:356 ~ 358.
[6] Pankhurst C. E., Macdonald P. E., Reeves J. M., et al. *J. Gen. Microbiol.*, 1986, **132**:2321 ~ 2328.
[7] Velazquez E., Mateos P. F., Pedreno P., et al. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1995, **61**:2033 ~ 2036.
[8] 王常霖,赫茨.遗传学报,1988,15(1):25 ~ 33.
[9] Hooykaas P. J. J., Van Brussel A. A. N., Dulk-Ras H. D., et al. *Nature*, 1981, **291**:351 ~ 353.
[10] Hooykaas P. J. J., Dulk-Ras H. D., Regensburg-Tuink H., et al. *Plasmid*, 1985, **14**:47 ~ 52.

- [11] Kinkle B K, Schmidt E L. *Appl Environ Microbiol*, 1991, **57**:3264 ~ 3269.
- [12] Rao J R, Fenton M, Jarvis B D W. *Soil Biol Biochem*, 1994, **26**:339 ~ 351.
- [13] Sivakumaran S, Lockhart P J, Jarvis B D W, et al. *Can J Microbiol*, 1997, **43**:164 ~ 177.
- [14] O'Connell M P, Hynes M F, Puehler A, et al. *Plasmid*, 1987, **18**:156 ~ 163.
- [15] Hynes M F, Simon R, Puhler A. *Plasmid* 1985, **13**:99 ~ 105.
- [16] Hynes M F, Quandt J, O'Connell M, et al. *Gene*, 1989, **78**:111 ~ 120.
- [17] Jiang M L, Zhang X J, Hu X J. Diversity and Taxonomy of Rhizobia. Beijing, China Agricultural Sci-tech Press, 1996, 263.
- [18] Eckhardt T. *Plasmid*, 1978, **1**:584 ~ 588.
- [19] 缪礼鸿, 周俊初. 华中农业大学学报, 1993, **12**(3):255 ~ 264.
- [20] 陈雯莉, 李阜棣, 周俊初, 等. 应用与环境生物学报, 1997, **3**(1):55 ~ 62.
- [21] Hynes M F, McGregor N F. *Mol Microbiol*, 1990, **4**:567 ~ 574.
- [22] Meinhard L W, Krishnan H B, Balatl P A. *Mol Microbiol*, 1993, **9**:17 ~ 29.

INCOMPATIBILITY AMONG INDIGENOUS PLASMIDS OF *SINORHIZOBIUM FREDII* STRAINS AND ITS APPLICATION FOR PLASMID CURING *

Miao Lihong Zhou Junchu

(The Key Laboratory of Agricultural Microbiology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

Abstract: The indigenous plasmids of *S. fredii* HN01 and WWG18 were labeled with Tn5-Mob-sacB. Those plasmids were cured on TY medium containing 10% sucrose to identify its function. The pSymHN01b of HN01 was transferred into WWG18SR and C361SR. The results of plasmid detection, curing and pot plant experiment revealed that the incompatibility was existed between pSymHN01b and symbiotic plasmid of WWG18SR or the third plasmid of C361SR. But it was compatible with the nonsymbiotic plasmid of WWG18SR and symbiotic plasmid of C361SR. Using plasmid incompatibility, The symbiotic plasmid of WWG18SR and one nonsymbiotic plasmid of C361SR were eliminated successfully.

Key words: *Sinorhizobium fredii*, Plasmid, Incompatibility

致 读 者

感谢广大作者、读者多年来对《微生物学报》的关心和支持。为了适应改革开放的需要,使科研成果尽快得到交流,本刊自 2001 年 41 卷第 1 期开始继续扩版,双月刊,每册 128 面。全部道林纸印刷,内附进口铜版纸印制的黑白图版和彩色图版。发表周期缩短,内容丰富翔实,能及时反映我国微生物学科前沿和最新研究水平。在新的一年里,《微生物学报》将更好的为科研工作者服务,为促进科技资源信息化最大限度的共享做出积极贡献。

欢迎投稿! 欢迎订阅! 欢迎提出宝贵意见!

《微生物学报》编辑部