

## 豆科植物根瘤内生细菌的发现及其研究进展

刘杰<sup>1</sup>, 汪恩涛<sup>2,3</sup>, 陈文新<sup>2</sup>

<sup>1</sup> 青岛科技大学生物工程与技术系, 青岛 266042

<sup>2</sup> 中国农业大学生物学院微生物系, 北京 100094

<sup>3</sup> 墨西哥国立理工大学生物与技术学院微生物系, 墨西哥城 11340

**摘要:** 近年来研究报道显示, 某些豆科植物与根瘤菌在形成固氮共生体的同时, 其根瘤内还存在多种其他类群的内生细菌, 该现象在根瘤菌研究领域越来越引起关注和重视。本文综述了根瘤内生土壤杆菌、非共生根瘤菌、其它细菌的发现、种类及其对共生关系和植物生长的影响等研究进展, 同时对该研究方向提出一些初步观点和认识, 旨在增加人们对根瘤微生态的了解, 拓展根瘤菌研究与应用的视野。

**关键词:** 豆科植物, 根瘤, 内生细菌, 综述

中图分类号: Q933 文献标识码: A 文章编号: 0001-6209 (2011) 08-1001-06

豆科植物一个显著特点是与根瘤菌共生固氮。然而, 它们除了与根瘤菌形成共生关系以外, 还可与其它微生物形成多种相互关系, 包括植物体内和根际。即使在豆科植物的根瘤内, 也存在许多非共生细菌<sup>[1-5]</sup>。相对根瘤菌而言, 人们对这些根瘤内生细菌的研究还相对较少, 其中研究较多的是分离自根瘤的 *Agrobacterium tumefaciens*<sup>[1-2, 6-7]</sup>, *Pantoea agglomerans* 也是豆科植物根瘤和其他植物组织中的常见内生菌<sup>[3-4, 8-9]</sup>。另外 *Burkholderia cepacia* 也被证实为植物内生菌和根瘤内生菌<sup>[10]</sup>。本文拟就豆科植物根瘤内生土壤杆菌、非共生根瘤菌和其它细菌的发现、种类, 以及它们对宿主植物结瘤、生长的影响等方面进行综述。

### 1 根瘤内生土壤杆菌

#### 1.1 根瘤内生土壤杆菌的发现

近年来, 从豆科植物根瘤中分离到土壤杆菌的

现象时有报道。1999年, Philippe de Lajudie 等人<sup>[11]</sup>从非洲合欢等木本豆科植物的根瘤中分离到一群土壤杆菌, 经表型性状、数值分类、全细胞蛋白电泳、脂肪酸组成和 DNA 同源性等分析表明, 它们属于 *Agrobacterium tumefaciens*。1997年, 谭志远等人<sup>[11]</sup>从陕西等地的甘草、狼牙刺、锦鸡儿根瘤中, 发现有5株属于根瘤土壤杆菌。2001年, 高俊莲等人<sup>[2]</sup>从内蒙等地的沙打旺根瘤上分离出19株与土壤杆菌相关的菌株, 经数值分类、AFLP、16S rDNA-RFLP分析, 表明它们与土壤杆菌关系较近, 其基因组 DNA 与土壤杆菌已知种的同源性小于25%。2005年, 刘杰等人<sup>[12]</sup>从江苏、浙江一带的紫藤根瘤中也分离到一群与 *A. tumefaciens* 的表型与遗传型极为相似的土壤杆菌。2007年, Bhupendra N. 等人<sup>[13]</sup>从 *Vicia faba* 根瘤中鉴定了2个 *A. tumefaciens* 生物型; 同年, 阚凤玲等人<sup>[3]</sup>研究了中国青藏高原等地区豆科植物分离菌及根瘤内生菌的特征, 结果显示其中有

基金项目: 国家“973项目”(2006CB100206)

作者简介: 刘杰(1963-), 男, 博士, 安徽霍山人, 从事根瘤菌资源、多样性与分类研究。Tel: +86-532-84022845, E-mail: jieliu206@yahoo.com.cn

收稿日期: 2011-02-17; 修回日期: 2011-04-10

些非共生菌属于土壤杆菌。另外,王凤芹<sup>[14]</sup>、刘晓云<sup>[15]</sup>、李继红<sup>[4]</sup>等也有类似的报道。因此,我们认为豆科植物根瘤或其他组织中存在土壤杆菌是一个较为普遍的现象。

## 1.2 根瘤内生土壤杆菌对宿主植物结瘤与生长的影响

目前人们对根瘤内存在土壤杆菌的现象已有一些相关研究,且有了初步认识。这些研究主要集中在根瘤内土壤杆菌的鉴定、对共生结瘤的影响、以及其侵入根瘤的途径等方面。早在1976年,Imshentskii等<sup>[16]</sup>就曾报道过土壤杆菌在自然条件下偶尔可以形成非典型的、无固氮能力的无效瘤。1999年,谭志远<sup>[17]</sup>对5株分离自根瘤的土壤杆菌做了回接试验,发现它们不能结瘤;以 *nodA* 和 *nifH* 基因为探针做 Southern 杂交,也均没有杂交信号。2004年,高俊莲等人<sup>[18]</sup>对19株土壤杆菌做了回接试验,发现它们不能结瘤。Sohail等<sup>[19]</sup>用酶联免疫金技术证实土壤杆菌可以和慢生根瘤菌同时进入根瘤,并且还可提高慢生根瘤菌在宿主上的结瘤效率。2005年,Mhamdi等<sup>[20]</sup>用 *gusA* 基因标记了一株土壤杆菌并与根瘤菌混合回接,证实土壤杆菌可以侵染成熟根瘤,但这种混合回接对植株地上重、地下重、瘤数及瘤重没有显著影响;而 Mrabet 等<sup>[21]</sup>却证明根瘤内生土壤杆菌能降低 *Rhizobium gallicum* 与菜豆结瘤的数量。2006年,汪玲玲等<sup>[7]</sup>采用绿色荧光蛋白基因(*gfp*)标记的研究表明,分离自 *Onobrychis viciaefolia* 根瘤内的土壤杆菌能伴随根瘤菌 *Sinorhizobium meliloti* 一起进入并定植在草木樨的根、根瘤和茎中,且对植物的株高、地上部干重、瘤数没有明显影响,同时也扩增不出该菌的 *nodA*、*nifH*、*virC* 等基因。2010年,刘杰等<sup>[22]</sup>的工作发现,根瘤内生土壤杆菌的存在,可以使得 *Sinorhizobium meliloti* 在一些非宿主木本豆科植物上形成根瘤,并且影响根瘤的形态发育。

从上述研究结果中,我们可以得出以下几点认识:(1)某些土壤杆菌在豆科植物根瘤中的存在是一个较为普遍的现象,而且它们对宿主不表现致病性;(2)它们进入根瘤的途径多种多样,有的伴随根瘤菌的侵入而进入,有的在根瘤成熟后通过根瘤裂隙渗入,而有的可能先期就已进入植物种子或细胞间隙;(3)大多数根瘤内生土壤杆菌单独回接原宿主不结瘤,对植物生长也影响不大;少数有促进或降

低根瘤菌结瘤的效果,但这与植物种类和菌种类型有关。

由此看来,土壤杆菌侵染豆科植物根瘤及其与根瘤菌、宿主植物之间的相互作用是一个相当复杂的过程,目前人们对此还没有清楚的认识。

## 2 根瘤中的非共生根瘤菌

非结瘤(或非共生)根瘤菌是指在分类上属于根瘤菌、但不具有结瘤能力的细菌。这类细菌广泛存在于土壤中,尤其是豆科植物的根际,并被发现于各类根瘤菌中。早在1979年,Winarno就曾发现<sup>[23]</sup>,一个非共生根瘤菌菌株的存在可以抑制与阿富汗豌豆(*Pisum sativum* cv. Afghanistan)和伊朗豌豆(*P. sativum* cv. Iran)专一性结瘤共生根瘤菌菌株的结瘤能力,其抑制程度依共生根瘤菌菌株而异,显示出菌株间的竞争能力有巨大差异;同时,他们还发现竞争的关键时期在接种后24小时之内。1996年,John T. Sullivan<sup>[24]</sup>报道了4个未命名的 *Mesorhizobium* 非共生菌种。1997年,Sivakumaran S. 等人<sup>[25]</sup>从种植三叶草和羽扇豆的土壤中分离到了 *Rhizobium leguminosarum*, *R. etli*, *R. tropici*, (*Meso*) *Rhizobium loti* 和 *Sinorhizobium meliloti*。近年来,国内研究者又陆续从栽培或野生豆科植物根瘤中发现了一些非共生根瘤菌<sup>[26-30]</sup>,它们一般都不能在原宿主上结共生瘤,也检测不到结瘤基因的存在,但在系统发育分析中,它们却均属于根瘤菌。而韩丽丽<sup>[26]</sup>和韩天旭等<sup>[27]</sup>从新疆地区采集的大豆根瘤中分离到一些 *Bradyrhizobium yuanmingense* 菌株,它们在回接原宿主时不能结瘤或只结少数无效瘤,但它们却含有结瘤基因;同样的现象在分离自西藏地区的一些根瘤菌中也存在<sup>[30]</sup>。2011年,吴立娟等<sup>[31]</sup>的最新研究表明,在我国东北等地区野大豆(*Glycine soja* Sieb. & Zucc.)根瘤内分离到的99株细菌当中,有72株属于 *Bradyrhizobium japonicum*、*B. elkanii*、*B. yuanmingense*、*B. liaoningense* 和 *Sinorhizobium fredii*,它们在回接原宿主时可形成有效根瘤;而另外属于 *Rhizobium* spp. 的27株菌却不能与原宿主结瘤。此外,他们的实验还证实在细菌和宿主之间存在共生基因(*nodC*)转移的现象。以上这些研究表明,在某个根瘤菌的种或属中可以同时包含共生成员和非共生成员。

非共生根瘤菌与相应共生根瘤菌之间遗传上的差异在于,前者不具有共生基因或共生基因发生突变。另外,两者之间在植物根际或根瘤内也可能还存在基因受体和供体的关系,其中非共生根瘤菌有可能通过接受共生基因而转化成共生菌株<sup>[32]</sup>,而共生菌株也可能突变或丢失共生基因而转化成非共生根瘤菌。例如,共生固氮基因从 *B. japonicum* 水平转移到其他共生细菌(如 *S. fredii* 和 *B. elkanii*) 的现象已被发现<sup>[33]</sup>。

上述研究让我们认识到,从一种植物根瘤中分离的、但却不能与该植物回接结瘤的根瘤菌有两种可能:(1)它们是不具有共生基因的非结瘤根瘤菌;(2)它们是其它植物的共生细菌,但在原分离宿主上是内生细菌。由此我们得到启示,即:根瘤菌与豆科植物的关系远非共生一种,还包括内生和非特异性共生关系等。

### 3 其它根瘤内生菌

#### 3.1 其它根瘤内生菌的发现

2009年,王浩等人<sup>[34]</sup>曾采用构建16S rDNA克隆文库方法对大豆根圈细菌的种群结构进行了分析,结果表明:大豆根圈细菌的种群极具多样性,但却以变形杆菌门(*proteobacteria*)类群为主。而人们在豆科植物根瘤中,除发现土壤杆菌和非共生根瘤菌外,也可以分离到 *Enterobacteriaceae*、*Bacillus*、*Stenotrophomonas*、*Burkholderia* 等类群的细菌<sup>[3-4, 15]</sup>。例如,我国研究人员从青藏高原和其它地区豆科植物中分离的根瘤内生菌就包括了土壤杆菌属和肠杆菌科(*Enterobacteriaceae*)的菌株<sup>[3]</sup>。还有资料表明<sup>[5]</sup>,从突尼斯野生豆科植物根瘤中分离的34株内生菌归属于 *Agromyces*、*Bacillus*、*Bosea*、*Inquilinus*、*Microbacterium*、*Ochrobactrum*、*Ornithinococcus*、*Paenibacillus*、*Paracraurococcus*、*Pseudomonas*、*Rhodopseudomonas*、*Phyllobacterium*、*Sphingomonas* 和 *Starkeya*,其中绝大多数属于  $\alpha$ -*proteobacteria*。2008年,Muresu R. 等人<sup>[35]</sup>发现野生豆科植物根瘤中除根瘤菌(占优势)外,还有不同种属的内生细菌存在。中国东北地区栽培大豆根瘤中既有慢生根瘤菌,也有其他6个不同属(*Pantoea*、*Acinetobacter*、*Bacillus*、*Agrobacterium*、*Burkholderia*、*Serratia*)的内生菌存在<sup>[4]</sup>。另外,2003年 Angel Valverde 等人<sup>[36]</sup>曾

报道过草螺菌的一个新种(*Herbaspirillum lusitanum*),该种菌株分离自菜豆根瘤,能固氮,但其结瘤能力没有被证实。2004年 Yacine Benhizia 亦报道称<sup>[37]</sup>, $\gamma$ -变形菌纲的根瘤内生菌 *Pantoea agglomerans* 能够与野生岩黄芪(*Hedysarum*)共生结瘤,但当时这一报道的试验证据尚不充分。后经 Muresu<sup>[35]</sup>进一步证实,在 *Hedysarum* 的根瘤中分离不到可培养的根瘤菌;但采用根瘤原位16S rDNA-PCR技术却表明根瘤菌在瘤中是主要群体,同时还得到了24个 $\gamma$ -变形菌纲细菌的分类单元。因此作者推测有不可培养根瘤菌的存在。

从豆科植物根瘤中分离内生菌的差别可能与植物的基因型、不同区域、当地气候条件和土壤条件以及人类的活动有关<sup>[38]</sup>,但我们认为,分离过程中所使用的培养基、分离方法等也会对这些差异存在影响。

#### 3.2 其它根瘤内生菌对宿主植物生长与结瘤的影响

从已有研究来看,根瘤内生菌对宿主植物生长的影响效果不尽一致。2009年,Fernando Ibáñez 等<sup>[39]</sup>发现,阿根廷花生(*Arachis hypogaea* L.)根瘤中的 *Pseudomonas* spp.、*Enterobacter* spp. 及 *Klebsiella* spp. 等内生细菌,在与 *Bradyrhizobium* 共生菌株混合接种花生时可以侵入原根瘤,且它们的存在可以增加作物产量。但也有报道称<sup>[40]</sup>,芽胞杆菌属的菌株单独接种木豆时对植株没有明显促生长作用;但分别用不同属种的根瘤内生菌 *Pantoea*、*Acinetobacter*、*Bacillus*、*Burkholderia* 及 *Serratia* 与慢生根瘤菌混合回接大豆时,大豆都能形成根瘤,只是在植物生物量及瘤数方面与单接根瘤菌对照差异不显著。还有报道显示,某些大豆内生菌可产生植物生长激素 IAA,且具有溶解磷矿物和固氮功能,从而促进了宿主植物根部生长<sup>[41]</sup>和抗污染能力<sup>[42]</sup>。例如,2008年,李继红等<sup>[4]</sup>在从大豆根瘤中分离到的多种内生菌中发现,几乎所有菌株都产生 IAA,部分可溶解磷矿物,少数具有固氮能力。

另外,在对根瘤内生菌及其与植物生长关系的研究中,人们也发现某些功能基因在根瘤内生细菌之间发生横向转移的现象<sup>[4-5, 31-33]</sup>。我们认为这在根瘤微生态学研究上具有非常重要的意义,可为发现根瘤内生菌种群结构的变化提供线索。

综上所述,豆科植物根瘤内存在除共生根瘤菌外其它细菌的现象是一个不争的事实。尽管人们已

经进行了一些初步研究,但因涉及到内生菌种群、宿主植物、根际微环境等多种复杂因素,目前人们对这些根瘤内生菌与共生根瘤菌之间的相互作用,以及其对共生表型的影响机制还不是很清楚,并且深入开展相关研究亦具有理论和技术上的复杂性。但我们认为,通过有针对性地研究某些豆科植物根瘤内生菌将有助于对根瘤微生态的了解,解释豆科植物—根瘤菌共生体系形成过程中出现的一些新现象;同时也可为我们今后扩展根瘤菌研究视野、或科学地利用某些根瘤内生菌提供依据。

致谢 中国农业大学博士生李继红同学参与本文部分资料的搜集与汇总,在此表示感谢。

## 参考文献

- [ 1 ] Philippe de Lajudie , Anne Willems , Gisellenick , Salah Hassa Mnohamed , Urbain Torck , Renata Coopman , Abdelkar Fimilali-maltouf , Icarel Kersters , Bernardk Dreyfus , Ieristina Lindstrom , and Monique Gillis. *Agrobacterium* by 1 strains isolated from nodules of tropical legumes. *Systematic and Applied Microbiology* , 1999 , 22( 1) : 119-132.
- [ 2 ] Junlian Gao , Zewdu Terefeework , Wenxin Chen and Kristina Lindström. Genetic diversity of rhizobia isolated from *Astragalus adsurgens* growing in different geographical regions of China. *Journal of Biotechnology* , 2001 , 91( 2-3) : 155-168.
- [ 3 ] Kan FL , Chen ZY , Wang ET , Tian CF , Sui XH , Chen WX. Characterization of symbiotic and endophytic bacteria isolated from root nodules of herbaceous legumes grown in Qinghai-Tibet Plateau and in other zones of China. *Archives of Microbiology* , 2007 , 188( 2) : 103-115.
- [ 4 ] JiHong Li , EnTao Wang , WenFeng Chen and WenXin Chen. Genetic diversity and potential for promotion of plant growth detected in nodule endophytic bacteria of soybean grown in Heilongjiang province of China. *Soil Biology and Biochemistry* , 2008 , 40( 1) : 238-246.
- [ 5 ] Zakhia F , Jeder H , Willems A , Gillis M , Dreyfus B , de Lajudie P. Diverse bacteria associated with root nodules of spontaneous legumes in Tunisia and first report for *nifH*-like gene within the genera *Microbacterium* and *Starkeya*. *Microbial Ecology* , 2006 , 51( 3) : 375-393.
- [ 6 ] Mrabet M , Mnasri B , Romdhane SB , Laguerre G , Aouani ME , Mhamdi R. *Agrobacterium* strains isolated from root nodules of common bean specifically reduce nodulation by *Rhizobium gallicum* . *FEMS Microbiology Ecology* , 2006 , 56( 2) : 304-309.
- [ 7 ] LingLing Wang , EnTao , Jie Liu , Ying Li , WenXin Chen. Endophytic occupation of root nodules and roots of *Melilotus dentatus* by *Agrobacterium tumefaciens*. *Microbial Ecology* , 2006 , 52( 3) : 436-443.
- [ 8 ] Asis , CA Jr , Adachi , K. Isolation of endophytic diazotroph *Pantoea agglomerans* and nondiazotroph *Enterobacter asburiae* from sweet potato stem in Japan. *Letters in Applied Microbiology* , 2004 , 38 ( 1) : 19-23.
- [ 9 ] Burch G , Sarathchandra U. Activities and survival of endophytic bacteria in white clover ( *Trifolium repens* L. ) . *Canadian Journal of Microbiology* , 2006 , 52( 9) : 848-856.
- [ 10 ] Peter Vandamme , Johan Goris , Wen-Ming Chen , Paul de Vos and Anne Willems. *Burkholderia tuberum* sp. nov. and *Burkholderia phymatum* sp. nov. nodulate the roots of tropical legumes. *Systematic and Applied Microbiology* , 2002 , 25( 4) : 507-512.
- [ 11 ] ZhiYuan Tan , XiaoDong Xu , EnTao Wang , JunLian Gao , EsperanzaMartinez Romero and WenXin Chen. Phylogenetic and genetic relationships of *Mesorhizobium tianshanense* and related rhizobia. *International Journal of Systematic Bacteriology* , 1997 , 47: 874-879.
- [ 12 ] Jie Liu , EnTao Wang and WenXin Chen. Diverse rhizobia associated with woody legumes *Wisteria sinensis* , *Cercis racemosa* and *Amorpha fruticosa* grown in the temperate zone of China. *Systematic and Applied Microbiology* , 2005 , 28( 5) : 465-477.
- [ 13 ] Bhupendra N. Tiwary , Birendra Prasad , Anuradha Ghosh , Sanjay Kumar , Rakesh K. Jain. Characterization of Two Novel Biovar of *Agrobacterium tumefaciens* Isolated from Root Nodules of *Vicia faba*. *Current Microbiology* , 2007 , 55( 4) : 328-333.
- [ 14 ] FengQin Wang , EnTao Wang , JieLiu , Qiang Chen , XinHua Sui , WenFeng Chen and WenXin Chen. *Mesorhizobium albiziae* sp. nov. , a novel bacterium that nodulates *Albizia kalkora* in a subtropical region of China. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* , 2007 , 57: 1192-1199.
- [ 15 ] XiaoYun Liu , EnTao Wang , Ying Li , WenXin Chen . Diverse bacteria isolated from root nodules of *Trifolium* , *Crotalaria* and *Mimosa* grown in the subtropical regions of China. *Archives of Microbiology* , 2007 , 188( 1) : 1-14.
- [ 16 ] Imshenetskii AA , Pariiskaia AN , Gorelova OP. The presence of *Agrobacterium tumefaciens* in lucerne root nodules. *Mikrobiologiya*. 1976 , 45: 561-563.
- [ 17 ] ZhiYuan Tan , EnTao Wang , GuiXiang Peng , Ming E. Zhu , Esperanza Martinez-Romero and WenXin Chen.

- Characterization of bacteria isolated from wild legumes in the north-western regions of China. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 1999, 49(4): 1457-1469.
- [18] Gao JL, Turner SL, Kan FL, Wang ET, Tan ZY, Qiu YH, Gu J, Terefework Z, Young JP, Lindström K, Chen WX. *Mesorhizobium septentrionale* sp. nov. and *Mesorhizobium temperatum* sp. nov. isolated from *Astragalus adsurgens* growing in the northern regions of China. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2004, 54: 2003-2012.
- [19] Sohail Hameed, Sumera Yasmin, Kausar A. Malik, Yusuf Zafar and Fauzia Y. Hafeez. *Rhizobium*, *Bradyrhizobium* and *Agrobacterium* strains isolated from cultivated legumes. *Biology and Fertility of Soils*, 2004, 39(3): 179-185.
- [20] Mhamdi R, Mrabet M, Laguerre G, Tiwari R, and Aouani ME. Colonization of *Phaseolus vulgaris* nodules by *Agrobacterium*-like strains. *Canadian Journal of Microbiology*, 2005, 51(2): 105-111.
- [21] Mrabet M, Mnasri B, Romdhane SB, Laguerre G, Aouani ME, Mhamdi R. *Agrobacterium* strains isolated from root nodules of common bean specifically reduce nodulation by *Rhizobium gallicum*. *FEMS Microbiology Ecology*, 2006, 56(2): 304-309.
- [22] Jie Liu, EnTao Wang, DaWei Ren and WenXin Chen. Mixture of endophytic *Agrobacterium* and *Sinorhizobium meliloti* strains could induce unspecific nodulation on some woody legumes. *Archives of Microbiology*, 2010, 192(3): 229-234.
- [23] Winarno R, Lie TA. Competition between *Rhizobium* strains in nodule formation: interaction between nodulating and non-nodulating strains. *Plant and Soil*, 1979, 51(1): 135-142.
- [24] John T. Sullivan, Bertrand D. Eardly, Peter Van Berkum, and Clive W. Ronson. Four unnamed species of nonsymbiotic rhizobia isolated from the rhizosphere of *Lotus corniculatus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 1996, 62(8): 2818-2825.
- [25] Sivakumaran S, Lockhart P J, Jarvis BD. Identification of soil bacteria expressing a symbiotic plasmid from *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii*. *Canadian Journal of Microbiology*, 1997, 43(2): 164-177.
- [26] LiLi Han, EnTao Wang, TianXu Han, Jie Liu, XinHua Sui, WenFeng Chen, WenXin Chen. Unique community structure and biogeography of Soybean rhizobia in the saline-alkaline soils of Xinjiang, China. *Plant and Soil*, 2009, 324(1-2): 291-305.
- [27] Han TX, Wang ET, Han LL, Chen WF, Sui XH, Chen WX. Molecular diversity and phylogeny of rhizobia associated with wild legumes native to Xinjiang, China. *Systematic and Applied Microbiology*, 2008, 31(4): 287-301.
- [28] TianXu Han, EnTao Wang, LiJuan Wu, WenFeng Chen, JinGang Gu, ChunTao Gu, ChangFu Tian and WenXin Chen. *Rhizobium multihospitium* sp. nov., isolated from multiple legume species native of Xinjiang, China. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2008, 58: 1693-1699.
- [29] Xia Lei, EnTao Wang, WenFeng Chen, XinHua Sui and WenXin Chen. Diverse bacteria isolated from root nodules of wild *Vicia* species grown in temperate region of China. *Archives of Microbiology*, 2008, 190(6): 657-671.
- [30] BaoChao Hou, EnTao Wang, Ying Li, RuiZong Jia, WenFeng Chen, ChaoXin Man, XinHua Sui and WenXin Chen. Rhizobial resource associated with epidemic legumes in Tibet. *Microbial Ecology*, 2009, 57(1): 69-81.
- [31] LiJuan Wu, HaiQing Wang, EnTao Wang, WenXin Chen, ChangFu Tian. Genetic diversity of nodulating and non-nodulating rhizobia associated with wild soybean (*Glycine soja* Sieb. & Zucc.) in different ecoregions of China. *FEMS Microbiology Ecology*, 2011, (published online: 14 MAR 2011 DOI: 10.1111/j.1574-6941.2011.01064.x)
- [32] Sullivan JT, Ronson CW. Evolution of rhizobia by acquisition of a 500-kb symbiosis island that integrates into a *phe-tRNA* gene. *Proceeding of the National Academy of Science of USA*, 1998, 95(9): 5145-5149.
- [33] Barcellos FG, Menna P, da Silva Batista JS, Hungria M. Evidence of horizontal transfer of symbiotic genes from a *Bradyrhizobium japonicum* inoculant strain to indigenous diazotrophs *Sinorhizobium (Ensifer) fredii* and *Bradyrhizobium elkanii* in a Brazilian Savannah soil. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, 73(8): 2635-2643.
- [34] Hao Wang, ChaoXin Man, EnTao Wang and WenXin Chen. Diversity of rhizobia and interactions among the host legumes and rhizobial genotypes in an agricultural-forestry ecosystem. *Plant and Soil*, 2009, 314(1/2): 169-182.
- [35] Muresu R, Polone E, Sulas L, Baldan B, Tondello A, Delogu G, Cappuccinelli P, Alberghini S, Benhizia Y, Benhizia H, Benguedouar A, Mori B, Calamassi R, Dazzo FB, Squartini A. Coexistence of predominantly nonculturable rhizobia with diverse, endophytic bacterial taxa within nodules of wild legumes. *FEMS Microbiology Ecology*, 2008, 63(3): 383-400.
- [36] Angel Valverde, Encarna Velázquez, Carmen Gutiérrez,

- Emilio Cervantes , Antonio Ventosa and José-Mariano Igual. *Herbaspirillum lusitanum* sp. nov. , a novel nitrogen-fixing bacterium associated with root nodules of *Phaseolus vulgaris*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* , 2003 , 53( 6) : 1979-1983.
- [37] Yacine Benhizia , Hayet Benhizia , Ammar Benguedouar , Rosella Muresu , Alessio Giacomini and Andrea Squartini. Gamma proteobacteria can nodulate legumes of the genus *Hedysarum*. *Systematic and Applied Microbiology* , 2004 , 27( 4) : 462-468.
- [38] Yannarell AC , Triplett EW. Geographic and environmental sources of variation in lake bacterial community composition. *Applied and Environmental Microbiology* , 2005 , 71( 1) : 227-239.
- [39] Fernando Ibáñez , Jorge Angelini , Tania Taurian , María Laura Tonelli and Adriana Fabra. Endophytic occupation of peanut root nodules by opportunistic Gammaproteobacteria. *Systematic and Applied Microbiology* , 2009 , 32( 1) : 49-55.
- [40] Rajendran G , Sing F , Desai AJ , Archana G. Enhanced growth and nodulation of pigeon pea by co-inoculation of *Bacillus* strains with *Rhizobium* spp. . *Bioresource Technology* , 2008 , 99( 11) : 4544-4550.
- [41] Kuklinsky-Sobral J , Araújo WL , Mendes R , Geraldi IO , Pizzirani-Kleiner AA , Azevedo JL. Isolation and characterization of soybean-associated bacteria and their potential for plant growth promotion. *Environmental Microbiology* , 2004 , 6( 12) : 1244-1251.
- [42] Taghavi S , Barac T , Greenberg B , Borremans B , Vangronsveld J , van der Lelie D. Horizontal gene transfer to endogenous endophytic bacteria from poplar improves phytoremediation of toluene. *Applied and Environmental Microbiology* , 2005 , 71 ( 12) : 8500-8505.

## Discovery and research progress of endophytic bacteria in the root nodules of legumes—A review

Jie Liu<sup>1\*</sup> , Entao Wang<sup>2,3</sup> , Wenxin Chen<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Department of Bioengineering and Biotechnology , College of Chemical Engineering , Qingdao University of Science and Technology , Qingdao 266042 , China

<sup>2</sup> Department of Microbiology , College of Biology Science , China Agricultural University , Beijing 100094 , China

<sup>3</sup> Departamento de Microbiología , Escuela Nacional de Ciencias Biológicas , Instituto Politécnico Nacional , 11340 , México D. F. , México

**Abstract:** Recently , some research reports showed varied endophytic bacteria in the root nodules of some legumes , which attracts great interest in research field of rhizobia. Here , we reviewed the discovery , identification of some endophytic bacteria ( *Agrobacterium* , non-symbiotic rhizobia , and other bacteria) in root nodules and their influence on symbiosis or plant growth , to understand the microecosystem of root nodule and to extend the field of rhizobia research.

**Keywords:** legume , root nodule , endophytic bacteria

( 本文责编: 张晓丽)

Supported by the Key Project of Chinese National Programs for Fundamental Research and Development ( 2006CB100206)

\* Corresponding author. Tel: +86-532-84022845; E-mail: jieliu206@yahoo.com.cn

Received: 17 February 2011 / Revised: 10 April 2011