

## 海南省根瘤菌资源考察及分类\*

孙建光\*\* 章 芑 王昌平 陈文新

(北京农业大学生物学院, 北京 100094)

周荣柏 余世杰 邓晓峰

(华南热带作物学院, 儋县 571700)

对海南省各地区的豆科植物进行了根瘤菌共生情况调查和根瘤样品采集。经分离、纯化和回接试验后,选取了其中 38 株菌与 *Rhizobium*、*Bradyrhizobium*、*Sinorhizobium* 和 *Agrbacterium* 四属的 18 株参比菌进行了 193 个生理生化性状分析,使用简单匹配系数 (Ssm) 和平均连锁法 (UPGMA) 进行了聚类分析,同时对部分菌株做了 DNA-DNA 杂交分析及交叉结瘤试验。结果表明,海南省根瘤菌被分为快慢两群,自同一寄主植物属既分离出快生根瘤菌又分离出慢生根瘤菌。海南省慢生根瘤菌全属于 *Bradyrhizobium* 群,该群在 88% 相似性水平分为三个亚群,相当于亚种水平。慢生菌在亚群中的分布与原寄主无相关性,即同一寄主的菌分布在不同亚群中。海南快生菌却独立成群,在碳氮源利用、抗生素抗性及其它生理生化特性上与海南慢生菌群和快生参比菌群均显著不同,值得进一步研究,以确定其分类地位。

**关键词** 根瘤菌;资源;数值分类;海南省

1984—1986 年,对海南省根瘤菌资源进行了考察采集。对所采集的根瘤进行根瘤菌分离、纯化、回接原寄主后,选择其中的 38 株菌进行了分类研究。

### 材 料 和 方 法

#### (一) 供试菌株

共使用菌株 56 株,其来源见表 1。

#### (二) 分析内容与方法

唯一碳源的利用,包括苦杏仁苷、D-阿拉伯糖、丙二酸钙、D(+)-纤维二糖、卫矛醇、内消旋赤藓糖醇、阿魏酸、D-半乳糖、葡萄糖、肌醇、乳糖、D-来苏糖、苹果酸、麦芽糖、D(+)-松三糖、棉子糖、L(+)-鼠李糖、D-核糖、苯甲酸钠、D-葡萄糖酸钠、马尿酸钠、草酸钠、水杨酸钠、山梨糖、丁香酸、蔗糖、D(-)-塔格糖、香草酸、木糖、单宁酸、m-对羟基苯甲酸、水杨苷、水杨醇、2,4-二甲氧基苯、酒石酸铵、D-阿拉伯糖醇、尿酸、岩藻糖、糊精、D-精氨酸、DL-精氨酸、DL-天冬氨酸、D-谷氨酸、L-谷氨酸、DL-谷氨酰胺、L-谷氨酰胺、甘氨酸-DL-缬氨酸、L-组氨酸、D-甲硫氨酸、DL-鸟氨酸盐酸、DL-脯氨酸、L-丝氨酸、D-色氨酸、D-缬氨酸、L-丙氨酸、L-苏氨酸、DL-天冬酰胺、

本文于 1992 年 3 月 2 日收到。

\* 本课题获国家教委基金资助。

\*\* 现工作单位为中国农业科学院土壤肥料研究所。

承华南热带作物科学研究院蒋侯明、郑扬同志协助采集根瘤及提供种子;中国科学院微生物研究所赵玉峰、马俊才同志帮助聚类分析,特此一并致谢。

表 1 供试菌株一览表

Table 1 List of strains

| 编号<br>Nos. of strains | 菌株名称<br>Name                            | 原寄主植物<br>Hosts                          | 菌株来源<br>Source | 提供单位<br>Donor |
|-----------------------|---|---|----------------|---------------|
| 1                     | <i>Rhizobium meliloti</i>               | 百脉根 ( <i>Lotus</i> sp.)                 | 美国             | 美国农业部         |
| 2                     | <i>R. meliloti</i>                      | 百脉根 ( <i>Lotus</i> sp.)                 | 美国             | 美国农业部         |
| 3                     | <i>R. leguminosarum biovar phaseoli</i> | 百脉根 ( <i>Lotus</i> sp.)                 | 美国             | 美国农业部         |
| 4                     | <i>R. leguminosarum biovar viciae</i>   | 百脉根 ( <i>Lotus</i> sp.)                 | 美国             | 美国农业部         |
| 5                     | <i>R. leguminosarum biovar trifolii</i> | 百脉根 ( <i>Lotus</i> sp.)                 | 美国             | 美国农业部         |
| 6                     | <i>R. loti</i>                          | 大豆 ( <i>Glycine max</i> )               | 加拿大            | 加拿大           |
| 7                     | <i>R. loti</i>                          | 大豆 ( <i>Glycine max</i> )               | 新加坡            | 北农大固氮室        |
| 8                     | <i>R. loti</i>                          | 大豆 ( <i>Glycine max</i> )               | 新加坡            | 北农大固氮室        |
| 9                     | <i>Bradyrhizobium japonicum</i>         | 大豆 ( <i>Glycine max</i> )               | 美国             | 美国农业部         |
| 10                    | <i>B. japonicum</i>                     | 大豆 ( <i>Glycine max</i> )               | 中国             | 中国科学院油料所      |
| 11                    | <i>B. japonicum</i>                     | 野大豆 ( <i>Glycine soja</i> )             | 中国             | 中国科学院土肥所      |
| 12                    | <i>Sinorhizobium fredii</i>             | 大豆 ( <i>Glycine max</i> )               | 中国             | 中国科学院土肥所      |
| 13                    | <i>S. xinjiangense</i>                  | 大豆 ( <i>Glycine max</i> )               | 中国             | 北农大固氮室        |
| 14                    | <i>S. xinjiangense</i>                  | 大豆 ( <i>Glycine max</i> )               | 中国             | 北农大固氮室        |
| 15                    | <i>S. fredii</i>                        | 大豆 ( <i>Glycine max</i> )               | 中国             | 北农大固氮室        |
| 16                    | <i>Agrobacterium tumefaciens</i>        |   | 美国             | 美国            |
| 17                    | <i>A. tumefaciens</i>                   |   | 中国             | 中国科学院微生物所     |
| 18                    | <i>A. radiobacter</i>                   |   | 中国             | 中国科学院微生物所     |
| 19                    | (新采集待定)                                 | 蝴蝶豆 ( <i>Cenrosema pubescens</i> )      | 南海             | 北农大固氮室        |
| 20                    | (新采集待定)                                 | 蝴蝶豆 ( <i>Cenrosema pubescens</i> )      | 南海             | 北农大固氮室        |
| 21                    | (新采集待定)                                 | 蝴蝶豆 ( <i>Cenrosema pubescens</i> )      | 南海             | 北农大固氮室        |
| 22                    | (新采集待定)                                 | 蝴蝶豆 ( <i>Cenrosema pubescens</i> )      | 南海             | 北农大固氮室        |
| 23                    | (新采集待定)                                 | 蝴蝶豆 ( <i>Cenrosema pubescens</i> )      | 南海             | 北农大固氮室        |
| 24                    | (新采集待定)                                 | 蝴蝶豆 ( <i>Cenrosema pubescens</i> )      | 南海             | 北农大固氮室        |
| 25                    | (新采集待定)                                 | 美洲野百合 ( <i>Crotalaria anagyroides</i> ) | 南海             | 北农大固氮室        |
| 27                    | (新采集待定)                                 | 美洲野百合 ( <i>Crotalaria anagyroides</i> ) | 南海             | 北农大固氮室        |
| 28                    | (新采集待定)                                 | 高州太阳麻 ( <i>Crotalaria juncea</i> )      | 南海             | 北农大固氮室        |

|    |      |         |   |   |   |   |   |   |
|----|------|---------|---|---|---|---|---|---|
| 29 | 161  | (新采集待定) | 山野百合 ( <i>Crotalaria chinensis</i> )                          | 北 | 大 | 固 | 瓠 | 室 |
| 30 | 170  | (新采集待定) | 海南野百合 ( <i>Crotalaria hainanensis</i> )                       | 北 | 大 | 大 | 固 | 瓠 |
| 31 | H79  | (新采集待定) | 线野百合 ( <i>Crotalaria linifolia</i> )                          | 北 | 大 | 大 | 固 | 瓠 |
| 32 | S49  | (新采集待定) | 猪屎豆 ( <i>Crotalaria mucronata</i> )                           | 北 | 大 | 大 | 固 | 瓠 |
| 38 | I80  | (新采集待定) | 钝叶黄檀 ( <i>Dalbergia obtusifolia</i> )                         | 北 | 大 | 大 | 固 | 瓠 |
| 39 | H74  | (新采集待定) | 降香檀 ( <i>Dalbergia odorifera</i> )                            | 北 | 大 | 大 | 固 | 瓠 |
| 40 | H101 | (新采集待定) | 南岭楨 ( <i>Dalbergia balansae</i> )                             | 北 | 大 | 大 | 固 | 瓠 |
| 41 | I15  | (新采集待定) | 假地豆 ( <i>Desmodium heterocarpon</i> )                         | 北 | 大 | 大 | 固 | 瓠 |
| 42 | I20  | (新采集待定) | 刺叶舞草 ( <i>Desmodium gyroides</i> )                            | 北 | 大 | 大 | 固 | 瓠 |
| 43 | I32  | (新采集待定) | 葫芦茶 ( <i>Desmodium triquetrum</i> )                           | 北 | 大 | 大 | 固 | 瓠 |
| 45 | I88  | (新采集待定) | 两节豆 ( <i>Desmodium biarticulatum</i> )                        | 北 | 大 | 大 | 固 | 瓠 |
| 46 | I94  | (新采集待定) | 糙毛假地豆 ( <i>Desmodium heterocarpon</i> var. <i>stigmatum</i> ) | 北 | 大 | 大 | 固 | 瓠 |
| 47 | H22  | (新采集待定) | 假木豆 ( <i>Desmodium triangulare</i> )                          | 北 | 大 | 大 | 固 | 瓠 |
| 48 | H121 | (新采集待定) | 绿叶山蚂蝗 ( <i>Desmodium intortum</i> )                           | 北 | 大 | 大 | 固 | 瓠 |
| 49 | I23  | (新采集待定) | 绿叶山蚂蝗 ( <i>Desmodium intortum</i> )                           | 北 | 大 | 大 | 固 | 瓠 |
| 50 | I30  | (新采集待定) | 毛非钱草 ( <i>Desmodium biandam</i> )                             | 北 | 大 | 大 | 固 | 瓠 |
| 51 | I66  | (新采集待定) | 波状叶山绿豆 ( <i>Desmodium sinuatum</i> )                          | 北 | 大 | 大 | 固 | 瓠 |
| 53 | H50  | (新采集待定) | 假地豆 ( <i>Desmodium triangulare</i> )                          | 北 | 大 | 大 | 固 | 瓠 |
| 54 | H62  | (新采集待定) | 山蚂蝗 ( <i>Desmodium</i> sp.)                                   | 北 | 大 | 大 | 固 | 瓠 |
| 55 | H123 | (新采集待定) | 葫芦茶 ( <i>Desmodium triquetrum</i> )                           | 北 | 大 | 大 | 固 | 瓠 |
| 57 | I40  | (新采集待定) | 假蓝靛 ( <i>Indigofera suffruticosa</i> )                        | 北 | 大 | 大 | 固 | 瓠 |
| 58 | I86  | (新采集待定) | 淡水蓝 ( <i>Indigofera tinctoria</i> )                           | 北 | 大 | 大 | 固 | 瓠 |
| 59 | I3   | (新采集待定) | 大翼豆 ( <i>Macropitium atropurcum</i> )                         | 北 | 大 | 大 | 固 | 瓠 |
| 60 | H24  | (新采集待定) | 豆萁 ( <i>Pachyrhizus erosus</i> )                              | 北 | 大 | 大 | 固 | 瓠 |
| 62 | H31  | (新采集待定) | 爪哇葛藤 ( <i>Pueraria phaeoloides</i> )                          | 北 | 大 | 大 | 固 | 瓠 |
| 63 | H122 | (新采集待定) | 爪哇葛藤 ( <i>Pueraria phaeoloides</i> )                          | 北 | 大 | 大 | 固 | 瓠 |
| 64 | S74  | (新采集待定) | 爪哇葛藤 ( <i>Pueraria phaeoloides</i> )                          | 北 | 大 | 大 | 固 | 瓠 |
| 65 | S88  | (新采集待定) | 三裂叶葛藤 ( <i>Pueraria phaeoloides</i> )                         | 北 | 大 | 大 | 固 | 瓠 |
| 66 | I5   | (新采集待定) | 巴基斯尼豆 ( <i>Vigna sinensis</i> )                               | 北 | 大 | 大 | 固 | 瓠 |

D-酪氨酸、DL-酪氨酸等共计 84 种,方法见文献[1]。唯一氮源的利用包括 D-精氨酸、DL-精氨酸盐酸、DL-天冬氨酸、DL-半胱氨酸盐酸、D-半胱氨酸、异胞嘧啶、糠氨基嘌呤、D-谷氨酸、L-谷氨酸、DL-谷氨酸、甘氨酸、甘氨酸-DL-缬氨酸、L-组氨酸、D-组氨酸盐酸、D-甲硫氨酸、DL-鸟氨酸盐酸、DL-脯氨酸、DL-丝氨酸、D-丝氨酸、D-色氨酸、L-色氨酸、L-缬氨酸、DL-缬氨酸等共 23 种,方法见文献[2]。抗生素抗性测定主要有氯霉素、金霉素、红霉素、庆大霉素、卡那霉素、洁霉素、新霉素、青霉素、强力霉素、链霉素、土霉素、四环素、麦迪霉素、先锋霉素等共 14 种,方法见文献[3]。染料有吡啶橙、溴甲酚紫、溴酚蓝、溴百里酚蓝、甲基绿、甲基红、龙胆紫、甲基紫、尼罗蓝、刚果红、酚红、碱性麝香、玫瑰红、亚甲蓝、中性红等共 14 种。化学药物抗性主要有硫酸铋、亚硫酸钾、脱氧胆酸钠和亚硝酸钠等。另外测定的项目还有耐盐性、pH、温度生长范围、石蕊牛奶反应<sup>[6]</sup>、硝酸盐还原<sup>[5]</sup>、亚甲蓝还原、尼罗蓝还原<sup>[6]</sup>、BTB 酸碱反应、触酶试验、脲酶测定<sup>[7]</sup>等。全部实验共测定 236 项,其中 43 项(未列出)为全同性状未参加聚类分析。

### (三) 聚类分析

性状编码、相似性计算、聚类分析及中心株确定见参考文献[8]。选用简单匹配系数(Ssm)和平均连锁聚类方式(UPGMA)。

### (四) DNA-DNA 杂交

方法见文献[9,10]。

## 结 果 和 讨 论

### (一) 资源考察

经 3 年对海南省的考察采集共收集根瘤标本 331 份,经鉴定属于 61 属 142 种豆科植物,其中 63 种豆科植物的结瘤情况是 Allen, O. N.<sup>[11]</sup> 和 E. K. Allen (1981) 所未记载的。它们的名录见表 2。

### (二) 分类结果

聚类分析得到树状图谱(图 1)。

1. 全部供试菌株在 69% 相似性水平上被分为三群。快生参比菌群,包括 *Rhizobium*、*Sinorhizobium* 和 *Agrobacterium* 三个属,群内相似性为 69%。海南慢生菌群,包括 *Bradyrhizobium japonicum* 的三株参比菌,群内相似性为 81%。另一为海南快生菌群,群内相似性为 82%。

2. 海南慢生菌群的中心株为菌株 47, 与 *B. japonicum* 3 株参比菌的相似性达 87%。在此相似水平,海南慢生菌分为三个亚群:第一亚群共 5 株菌,9、10、11 为慢生参比菌(即 *B. japonicum*),另外两株中 23 分离自蝴蝶豆,46 分离自糙毛假地豆(山蚂蝗属),群内相似性为 92%。第二亚群共 24 株菌,相似性达 91%,寄主分布于蝴蝶豆、山蚂蝗、野百合、黄檀、木蓝、豇豆和葛属。第三亚群共 3 株,分属于黄檀和野百合属。另外 3 株,菌株 58(木蓝属)、29、32(野百合属)较分散,未入亚群。

3. 从 DNA-DNA 杂交分析(表 3)可见,海南慢生菌群内的 DNA 同源性除两株为 56% 外,其余均在 80% 以上,它们与 *B. japonicum* (菌株 11)的 DNA 同源性也在 80% 以上,应属同一个种。而它们与海南快生菌群的 DNA 同源性却低于 30%,与快生参比

表2 海南发现的 O. N. Allen 未记载的结瘤豆科植物

Table 2 Effective nodulated leguminous plants found in Hainan and not recorded by O. N. Allen

| 编 号<br>No. | 名 称<br>Name                                |
|------------|--|
| 1          | 毛相思子 <i>Abrus mollis</i>                   |
| 2          | 灰金合欢 <i>Acacia glauca</i>                  |
| 3          | 马占相思 <i>Acacia mangium</i>                 |
| 4          | 藤金合欢 <i>Acacia sinuata</i>                 |
| 5          | 楸树(华楸) <i>Albizia chinensis</i>            |
| 6          | 刺楸(天香藤) <i>Albizia corniculata</i>         |
| 7          | 三籽两型豆(崖州扁豆) <i>Amphiscarpaea trisperma</i> |
| 8          | 美蕊花 <i>Calliandra aurinamensis</i>         |
| 9          | 含羞草决明(山扁豆) <i>Cassia mimosoides</i>        |
| 10         | 长管冠蝠草 <i>Christia constricta</i>           |
| 11         | 铺地蝙蝠草 <i>Christia obcordata</i>            |
| 12         | 响铃豆 <i>Crotalaria albida</i>               |
| 13         | 华野百合(中国猪屎豆) <i>Crotalaria chinensis</i>    |
| 14         | 海南野百合 <i>Crotalaria hainanensis</i>        |
| 15         | 小猪屎豆(座地小野百合) <i>Crotalaria nana</i>        |
| 16         | 南岭黄檀 <i>Dalbergia balansae</i>             |
| 17         | 两粤黄檀 <i>Dalbergia benzhamii</i>            |
| 18         | 大果黄檀 <i>Dalbergia cultrata</i>             |
| 19         | 海南檀(花梨公) <i>Dalbergia hainanensis</i>      |
| 20         | 钝叶黄檀 <i>Dalbergia obtusifolia</i>          |
| 21         | 降香檀(花梨母) <i>Dalbergia odorifera</i>        |
| 22         | 羽叶檀(斜叶檀) <i>Dalbergia pinnata</i>          |
| 23         | 秧青(思茅黄檀) <i>Dalbergia szechuanensis</i>    |
| 24         | 红果黄檀 <i>Dalbergia tsoi</i>                 |
| 25         | 鱼藤 <i>Derris trifoliata</i>                |
| 26         | 两节豆 <i>Desmodium biarticulatum</i>         |
| 27         | 雅致山蚂蝗(毛排钱草) <i>Desmodium blandum</i>       |
| 28         | 单节荚假木豆(小叶山木豆) <i>Desmodium dunnii</i>      |
| 29         | 须毛山蚂蝗(赤山绿豆) <i>Desmodium rubrum</i>        |
| 30         | 波叶山蚂蝗(波状叶绿豆) <i>Desmodium sinuatum</i>     |
| 31         | 金钱草 <i>Desmodium styracifolium</i>         |
| 32         | 假木豆(野蚂蝗) <i>Desmodium triangulare</i>      |
| 33         | 圆叶野扁豆 <i>Dunbaria rotundifolia</i>         |
| 34         | 白背野扁豆 <i>Dunbaria scortechinii</i>         |
| 35         | 猪仔笠(山葛、鸡头薯) <i>Eriosema chinense</i>       |
| 36         | 格木 <i>Erythraeum fordii</i>                |
| 37         | 乳豆 <i>Galactia ellipisfoliola</i>          |
| 38         | 陈氏槐蓝(疏花木蓝) <i>Indigofera chuniana</i>      |
| 39         | 假大青蓝 <i>Indigofera galegoides</i>          |
| 40         | 滨木蓝 <i>Indigofera litoralis</i>            |
| 41         | 尖叶木蓝(共屿木蓝) <i>Indigofera zollingeriana</i> |
| 42         | 牛大力藤(美丽崖豆藤) <i>Millettia speciosa</i>      |
| 43         | 勒仔树 <i>Mimosa sepium</i>                   |

续表 2

| 编号<br>No. | 名称<br>Name                                 |
|-----------|--|
| 44        | 锈毛千斤拔 <i>Moghania ferruginea</i>           |
| 45        | 大叶千斤拔 <i>Moghania macrophylla</i>          |
| 46        | 基性千斤拔 <i>Moghania philippinensis</i>       |
| 47        | 喙顶红豆 <i>Ormosia apicula</i>                |
| 48        | 凹叶红豆 <i>Ormosia emarginata</i>             |
| 49        | 海南红豆 <i>Ormosia pinnata</i>                |
| 50        | 荔枝叶红豆 <i>Ormosia semicastrata</i>          |
| 51        | 阴蕨树(猴耳环) <i>Pithecellobium clypearia</i>   |
| 52        | 亮叶阴蕨树(亮叶猴耳环) <i>Pithecellobium lucidum</i> |
| 53        | 箔叶猴耳环 <i>Pithecellobium usile</i>          |
| 54        | 檀香紫檀 <i>Pterocarpus santalinus</i>         |
| 55        | 越南葛藤 <i>Pueraria montana</i>               |
| 56        | 甘葛藤(粉葛) <i>Pueraria thomsonii</i>          |
| 57        | 密子豆 <i>Pyrenopora lutescens</i>            |
| 58        | 东京油楠(越南油楠) <i>Sindora tonkinensis</i>      |
| 59        | 光叶密花豆 <i>Spatholobus harmandii</i>         |
| 60        | 柱花草 <i>Stylosanthes scabra</i>             |
| 61        | 长穗狸尾草 <i>Urvia crinita macrostachya</i>    |
| 62        | 钩柄狸尾草 <i>Urvia rufescens</i>               |
| 63        | 缅甸铁木 <i>Xylia dolabriformis</i>            |

表 3 海南慢生菌、海南快生菌及快生参比菌之间的 DNA 同源性(%)

Table 3 DNA homology among slow growing rhizobia from Hainan, fast growing rhizobia from Hainan and fast growing reference representatives

| 海南<br>慢生根瘤菌<br>Slow growing<br>rhizobia from<br>Hainan | 海 南<br>慢生根瘤菌群<br>Slow growing rhizobia<br>from Hainan |      |      |      | 海 南<br>快生根瘤菌<br>Fast growing<br>rhizobia from<br>Hainan |      | 快生参比菌<br>Fast growing<br>reference<br>representatives |      |
|--|---|------|------|------|---|------|---|------|
|  | 11  | 30   | 49   | 63   | 19  | 42   | 4   | 15   |
| 30   | 98.1  | 100  | 66.2 | 91.5 | 10.1  | 17.0 | 5.7   | 0    |
| 40   | 89.3  | 66.2 | 100  | 80.7 | 14.2  | 30.6 | 0   | 11.5 |
| 63   | 84.2  | 91.5 | 80.7 | 100  | 7.5   | 20.8 | 0   | 0    |

菌群的同源性也不足 12%。这从遗传学特性分析印证了数值分类分群的正确性。

4. 选用海南慢生菌群中不同属寄主的菌株做了交叉结瘤试验。由试验结果可见,海南不同属寄主植物的慢生菌交叉结瘤情况很普遍,菌株 47(假木豆)可以在蝴蝶豆、野百合、青蓝和葛藤上结瘤,菌株 25(野百合)可以在假木豆、蝴蝶豆、青蓝和葛藤上结瘤,菌株 21(蝴蝶豆)在假木豆、青蓝和葛藤上结瘤,菌株 57(青蓝)在大豆、假木豆、蝴蝶豆上结瘤,菌株 63(葛藤)在假木豆、蝴蝶豆、青蓝上结瘤,菌株 11(大豆)在假木豆、蝴蝶豆、青蓝和葛藤上均形成了根瘤。这从结瘤性状也说明海南慢生菌之间的关系密切。

按照 Sneath<sup>[12]</sup> 的意见,相似性在 80% 左右即为同种的水平。海南慢生菌三个亚群

表4 *Rhizobium*, 海南慢生菌及海南快生菌的重要鉴别特征

Table 4 Differential characteristics of *Rhizobium*, slow growing rhizobia and fast growing rhizobia from Hainan

| 鉴别特征<br>Character             |                                       | <i>Rhizobium</i> | 海南慢生菌<br>Slow growing<br>rhizobia | 海南快生菌<br>Fast growing<br>rhizobia |
|-------------------------------|---------------------------------------|------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| 碳氮源                           | 苦杏仁苷 Amygdalin                        | d                | -                                 | +                                 |
|                               | 卫矛醇 Dulcitol                          | d                | -                                 | +                                 |
|                               | 乳糖 Laotose                            | +                | -                                 | +                                 |
|                               | 草酸钠 Sodium oxalate                    | d                | -                                 | +                                 |
|                               | 蔗糖 Suorose                            | +                | -                                 | +                                 |
|                               | 水杨苷 Salicin                           | d                | -                                 | +                                 |
|                               | 尿酸 Uric acid                          | d                | -                                 | +                                 |
|                               | 糊精 dextrin                            | +                | -                                 | +                                 |
|                               | D-精氨酸 D-Arginine                      | d                | -                                 | +                                 |
|                               | DL-精氨酸 DL-Arginine                    | d                | -                                 | +                                 |
|                               | D-谷氨酸 D-Glutamic acid                 | -                | d                                 | +                                 |
|                               | L-组氨酸 L-Histidine                     | d                | -                                 | +                                 |
|                               | DL-鸟氨酸 DL-Ornithine monohydrobromided | d                | -                                 | +                                 |
|                               | D-色氨酸 D-Tryptophan                    | d                | -                                 | +                                 |
|                               | L-苏氨酸 L-Threonine                     | -                | +                                 | d                                 |
|                               | DL-天冬酰胺 DL-Asparagine                 | d                | -                                 | +                                 |
|                               | D-酪氨酸 D-Tyrosine                      | d                | -                                 | +                                 |
|                               | DL-半胱氨酸 DL-Cysteine hydrochloride     | -                | d                                 | +                                 |
|                               | 组氨酸 Histidine mono HCl                | d                | -                                 | +                                 |
|                               | D-色氨酸 D-Tryptophan                    | -                | d                                 | +                                 |
| 抗生素                           | 金霉素 25 µg/ml Chlortetracyclinum       | -                | +                                 | +                                 |
|                               | 新霉素 25 µg/ml Neomycin                 | -                | +                                 | d                                 |
|                               | 强力霉素 1 µg/ml qianglimycin             | -                | +                                 | +                                 |
|                               | 强力霉素 10 µg/ml qianglimycin            | -                | +                                 | d                                 |
|                               | 强力霉素 25 µg/ml qianglimycin            | -                | +                                 | d                                 |
|                               | 链霉素 20 µg/ml Streptomycin             | -                | d                                 | +                                 |
|                               | 土霉素 10 µg/ml Terramycin               | -                | +                                 | d                                 |
|                               | 土霉素 30 µg/ml Terramycin               | -                | +                                 | d                                 |
|                               | 四环素 5 µg/ml Tetracycline HCl          | -                | +                                 | +                                 |
|                               | 四环素 20 µg/ml Tetracycline HCl         | -                | +                                 | +                                 |
| 四环素 40 µg/ml Tetracycline HCl | -                                     | +                | d                                 |                                   |
| 染料                            | 溴酚蓝 0.10% Bromothymol blue            | d                | -                                 | +                                 |
|                               | 溴酚蓝 0.05% Bromothymol blue            | d                | -                                 | +                                 |
|                               | 碱性菊橙 0.10% Chrysoidine                | d                | -                                 | +                                 |
| 其它                            | pH4.5                                 | -                | -                                 | +                                 |
|                               | pH9.0                                 | d                | -                                 | +                                 |
|                               | 亚甲蓝还原 Methylene blue reduction        | +                | -                                 | +                                 |
|                               | 石蕊牛奶产碱 Litmus milk alkali production  | d                | +                                 | -                                 |
|                               | 石蕊牛奶脉化 Litmus milk peptonization      | d                | -                                 | +                                 |
|                               | BTB产酸 BTB acid production             | +                | -                                 | +                                 |
|                               | BTB产碱 BTB alkali production           | -                | +                                 | -                                 |

注：“+”表示该群中95%以上的菌株呈阳性结果。“-”表示该群中95%以上的菌株呈阴性结果。“d”表示该群中5%—95%的菌株呈阴性或阳性结果。

“+”, At least 95% of the strains are positive; “-”, less than 5% of the strains are positive; “d”, less than 95% but more than 5% of the strains are positive.

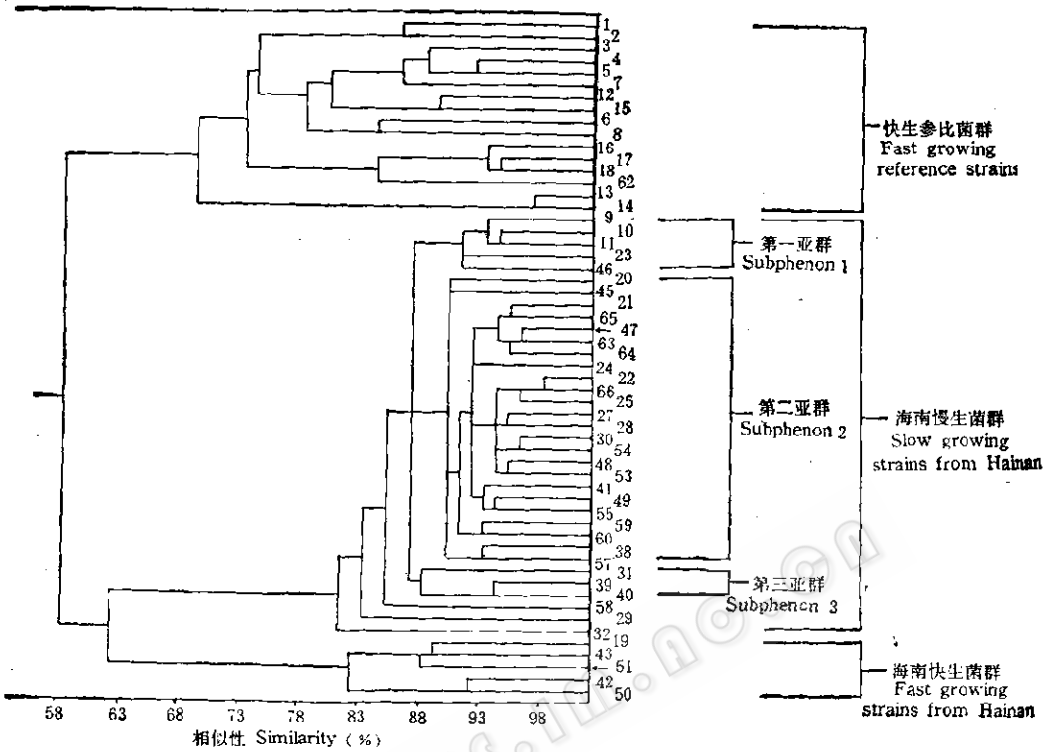


图1 海南省根瘤菌平均连接聚类分析树状谱  
 Fig. 1 Dendrogram (Unweighted average-linkage cluster analysis)  
 “←”该群中心株 Central strain

与 *B. japonicum* 的相似性达到了 88%，即使不入亚群的三株慢生菌与慢生参比菌的相似性也在 81%。DNA-DNA 同源性在 70% 以上为同种<sup>[13]</sup>，参考交叉结瘤情况均说明整个慢生菌群相似程度较高，亲缘关系较近，海南慢生菌应归入 *B. japonicum* 一个种内，其中再分亚种。

上述分析中也看出，慢生菌的寄主专一性不强。如第一、二亚群中均有蝴蝶豆，第二、三亚群中均有野百合，山蚂蝗分布于一、二两个亚群中。并且在海南快生菌群中也有 4 株菌来自山蚂蝗属，说明来自同一寄主植物属的快、慢生根瘤菌在分类地位上可以相差甚远。

海南快生菌群只用了 5 株菌(菌株 51 为中心株)，分属于蝴蝶豆和山蚂蝗两个寄主植物属。这个类群既不属于海南慢生菌群，也不属于快生参比菌群。从鉴别特征(表 4)中可以看出这三个类群有明显差别。海南快生菌对于碳氮源利用多为阳性，而海南慢生菌多为阴性，*Rhizobium* 居中；海南慢生菌对抗生素的抗性多为阳性，*Rhizobium* 多为阴性，海南快生菌居中；在染料耐性，pH 适应性及产酸碱能力等其它方面海南快生菌又多有差异。但因该群所用菌株数量少，值得扩大菌株数量进一步研究。



## 参 考 文 献

- [1] White, L.: *J. Gen. Microbiol.*, 72: 565—574, 1972.
- [2] Chen, W. X. et al.: *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 38: 392—397, 1988.
- [3] Antoun, H. et al.: *J. Appl. Bacteriol.*, 46: 343—350, 1979.
- [4] 中国科学院微生物研究所细菌分类组: 一般细菌常用鉴定方法, 科学出版社, 北京, 1978 年。
- [5] Pohlman, C. C.: *Soil Sci.*, 31: 385, 1931.
- [6] Skinner, F. A. et al.: *J. Appl. Bacteriol.*, 43: 287—297, 1977.
- [7] American Society for Microbiology: *Manual of Methods for General Bacteriology*, p. 423, Washington, 1981.
- [8] 斯尼斯著(赵铁桥译): 数值分类学, 科学出版社, 北京, 1984 年。
- [9] De Ley, J.: *Bacteriol.*, 101: 738—754, 1970.
- [10] Chen, W. X. et al.: *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 41: 275—280, 1991.
- [11] Allen, O. N. & E. K. Allen: *The Leguminosae, A Source Book of Characteristics, Uses and Nodulation*, The Univ. of Wisconsin Press, 1981.
- [12] Sneath, P. H. A.: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, (ed. by Holt, J. G.), pp. 5—7, Published by Williams & Wilkins, Baltimore, 1984.
- [13] Wayne, L. G. et al.: *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 37: 463—464, 1987.

## THE SURVEY AND TAXONOMY OF RHIZOBIA FROM HAINAN PROVINCE

Sun Jianguang Zhang Peng Wang Changping Chen Wenxin

(College of Biology, Beijing Agricultural University, Beijing 100094)

Zhou Rongbai Yu Shijie Deng Xiaofeng

(Hainan College of Tropical Crops, Danxian 571700)

The nodulation of legumes was surveyed and leguminous root nodules were collected throughout Hainan province. After being isolated, purified and inoculated back to their host plants, 38 strains of rhizobia from Hainan province and 13 representative strains of the genera *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Sinorhizobium* and *Agrobacterium* were compared with numerical taxonomic techniques based upon 193 biochemical and physiological characters. Data were analyzed with the simple matching (Ssm) coefficient and unweighted pair-group method using arithmetic averages (UPGMA) technique. DNA-DNA hybridization and cross nodulation test were also used to determine the relationships among these organisms. The results indicated that the rhizobia from Hainan province fell into two distinct clusters, slow growing and fast growing rhizobia. Both slow growing and fast growing rhizobia might be isolated from the same genus of host plants. All the slow growing rhizobia from Hainan belong to *Bradyrhizobium*, and this group was further divided into 3 subgroups at 88% similarity, equal to the level of 3 subspecies. There is no correlation between hosts and the distributions of slow growing rhizobia in the subgroups, namely the slow growing rhizobia from the same host genus fell into different subgroups. The fast growing rhizobia from Hainan formed an independent cluster and they were obviously different from the other two groups in carbon utilization and other physiological characters. They are worthy for further study to make sure their taxonomic position.

**Key words** Rhizobia; Resource; Numerical taxonomy; Hainan