

## 弗兰克氏菌生物学特性的研究

王晨光 宋尚直\*

阮继生

(河北省科学院微生物研究所, 保定 071051)

(中国科学院微生物研究所, 北京 100080)

对自欧美和亚洲不同地理环境、不同科属寄主植物根瘤分离的 35 株菌的研究结果表明, 菌株均具有典型的弗兰克氏菌特征。其中由胡颓子属植物分离的 4 株菌具有串珠状特异菌丝体结构。全细胞氨基均含有 *meso*-DAP, 全细胞糖均为 D 型。均具有不同程度的固氮酶(乙炔还原)活性, 并在乙炔注入后 24-72 小时活性倍增, 同时在 48-72 小时活性达到最高。根据对糖和丙酮酸钠的利用, 可将供试 35 株菌分为 2 群 4 亚群。

关键词 弗兰克氏菌; 生理; 分类; 固氮酶

自 1978 年 Callaham 等人首次从香蕨木根瘤中, 分离出弗兰克氏菌并成功地进行了离体培养以来<sup>[1]</sup>, 现已从 14 属植物的根瘤中分离出纯培养物<sup>[2]</sup>, 但对于慢生长的弗兰克氏菌还需要建立系统和标准的生理学研究方法<sup>[3]</sup>。目前, 对大范围分布的弗兰克氏菌生物学比较的研究尚未见报道, 特别是对弗兰克氏菌种的划分, 国内外尚无统一标准, 有关弗兰克氏菌的分类工作还处于探索阶段<sup>[4]</sup>。

作者对收集的 35 株弗兰克氏菌进行了形态、细胞化学组分、固氮酶活性及碳源利用等方面研究, 并对弗兰克氏菌属以下分群的依据进行了探讨。

### 材 料 和 方 法

#### (一) 菌株来源

详见表 1。

#### (二) 培养基

1. BM(基础)培养基 (g/L):  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.953,  $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  0.867,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.1,  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  0.01, 微量元素贮备液\*\* 1ml,  $\text{Fe} \cdot \text{Na} \cdot \text{EDTA}$  贮备液\*\*\* 1ml, 维生素贮备液\*\*\*\* 1ml。

本文于 1992 年 4 月 4 日收到。

承蒙国家自然科学基金重大项目资助。

\*河北大学生物系, 保定。

承中国科学院微生物研究所石彦林、张亚美和刘志恒老师帮助; 固氮酶活性测定承河北省科学院微生物研究所刘荣昌等老师帮助, 特此一并致谢。

\*\*微量元素贮备液 (g/L):  $\text{H}_3\text{BO}_3$  2.86,  $\text{MnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  1.81,  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.22,  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  0.08,  $\text{Na}_2\text{M}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  0.025。

\*\*\*  $\text{Fe} \cdot \text{Na} \cdot \text{EDTA}$  贮备液 (g/L):  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  5.56,  $\text{Na} \cdot \text{EDTA}$  7.45。

\*\*\*\* 维生素贮备液 (mg/100ml): 盐酸硫胺素 10, 烟酸 50, 盐酸维生素  $B_6$  50, 生物素 15, 叶酸 10, 泛酸钙 10, 核黄素 10。

2. BAP(有氮源)培养基 (g/L): BM 培养基加入  $\text{NH}_4 \cdot \text{Cl}$  0.1, 丙酸钠 0.5。

3. DPM(无氮源)培养基 (g/L):  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.1,  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  0.01, 丙酸钠 1.2, 微量元素贮备液 1ml,  $\text{Fe} \cdot \text{Na} \cdot \text{EDTA}$  1.8ml。

4. BM+NZ(有氮源、无碳源)培养基 (g/L): BM 基础培养基加入酶解酪蛋白 5。

以上 pH 均为 6.8, 112.6 °C 30 分钟蒸汽灭菌。

表 1 供试的弗兰克氏菌菌株

Table 1 *Frankia* strains used in this study

编号 * Catalog no.	菌株 Strain	寄主植物 Host of plants	地理分布 Geographical location
DDB 01360610	Avsl3	<i>Alnus viridis sinuata</i>	Washington, U.S.A.
DDB 01360110	53060	<i>Alnus rhombifolia</i>	California, U.S.A.
LLR 013701	R52	<i>Alnus incana tenuifolia</i>	Wyomion, U.S.A.
DDB 01020110	Avcll	<i>Alnus viridis crispata</i>	Ontario, Canada
IAE 01438207	Acc8207	<i>Alnus cremastogyne</i>	Sichuan, China
IAE 01098201	Ahc8201	<i>Alnus hirsuta</i>	Greenhouse, China
IAE 01078204	Agc8204	<i>Alnus glutinosa</i>	Sichuan, China
IAE 01148206	Ajc8206	<i>Alnus japonica sieb</i>	Greenhouse, China
IAE 01258301	Anc8301	<i>Alnus nepalensis</i>	Greenhouse, China
IAE 01480004	At4	<i>Alnus tinctoria</i>	Liaoning, China
DDB 16110210	Mgl5	<i>Myrica gale</i>	New York, U.S.A.
HFP 161105	M+gI	<i>Myrica gale</i>	Mass., U.S.A.
IAE 16248302	Mrc8302	<i>Myrica rubra</i>	Jiangsu, China
IMB 16092115	K2115	<i>Myrica esculenta</i>	Yunnan, China
IMB 16092129	K2129	<i>Myrica esculenta</i>	Yunnan, China
HFP 070101	Cpl1	<i>Comptonia peregrina</i>	Mass., U.S.A.
ORS 021001	Cjl-82	<i>Casuarina junghuhniana</i>	Thailand
JCT 02XX0287	JCT287	<i>Casuarina</i> spp.	Australia
HFP 020203	CcI3	<i>Casuarina cunninghamiana</i>	Mass., U.S.A.
HFP 022801	AlIlI	<i>Allocasuarina lehmaniana</i>	Mass., U.S.A.
DDB 13250110	Eulla	<i>Elaeagnus umbellata</i>	Mass., U.S.A.
DDB 13030310	54007c	<i>Elaeagnus commutata</i>	Saskatch, Canada
IAE 13310107	Egc107	<i>Elaeagnus gonyanthes</i>	Greenhouse, China
IAE 13131211	Emoc1211	<i>Elaeagnus multiflora</i>	Greenhouse, China
IAE 13360085	Eoc85	<i>Elaeagnus oxycarpa</i>	Greenhouse, China
SIB 13010118	Eall8	<i>Elaeagnus angustifolia</i>	Shanxi, China
SIB 13320273	Em273	<i>Elaeagnus mollis</i>	Shanxi, China
SIB 13250131	Eu131	<i>Elaeagnus umbellata</i>	Shanxi, China
IMB 13XX1510	K1510	<i>Elaeagnus griffithii</i>	Yunnan, China
IMB 13040317	K317	<i>Elaeagnus conferta</i>	Yunnan, China
IMB 13312061	K2061	<i>Elaeagnus gonyanthes</i>	Yunnan, China
IAE 14010016	Hr16	<i>Hippophae rhamnoides</i>	Liaoning, China
SIB 14010104	Hr104	<i>Hippophae rhamnoides</i>	Shanxi, China
ORS 060501		<i>Colletia spinosa</i>	Argentina
WAU 06XX117	WgCc1.17	<i>Colletia cruciata</i>	Netherlands

\* DDB、HFP、LLR、ORS、JCT、WAU 菌株, 由美国耶鲁大学 D. D. Baker 先生提供, SIB 菌株由山西省生物研究所杜六至先生提供; IAE 菌株由中国科学院沈阳应用生态研究所张忠泽先生提供; IMB 菌株由中国科学院微生物研究所阮继生先生提供。

The strain catalogued DDB, HFP, LLR, ORS, JCT, WAU was kindly provided by Dr. D. D. Baker, Battelle-Kettering Lab., 150E. South College Street Yellow springs, OH, USA; SIB was provided by Mr. Du Dazhi, Shanxi Institute of Biology; IAE was provided by Mr. Zhang Zhongze, Institute of Applied Ecology, Academia Sinica; IMB was provided by Dr. Ruan Jisheng, Institute of Microbiology, Academia Sinica.

### (三) 形态与培养特征

DPM 培养基中培养 2—4 周, 观察培养特征及色素产生, 同时制成水和甘油封片, 显微镜观察活体形态。

### (四) 细胞壁化学组分分析

采用 Toyu Hasegawa<sup>[5]</sup> 和王平<sup>[6]</sup> 等人的方法。

### (五) 固氮酶活性测定

供试菌预培养在 DPM 培养基中, 隔 7—10 天转接一次, 取研磨后菌悬液 2ml(约 5—10 $\mu$ g 蛋白/ml) 转入 10ml 试管中, 继续诱导培养 6 天, 换胶塞封闭, 分别注入 10% 乙炔气, 轻轻振荡, 隔 24 小时取样, 用上海 102G 型气相色谱仪测定 C<sub>2</sub>H<sub>4</sub> 产生量, 并换算成固氮酶比活。

菌体蛋白测定采用 Jeffrey 等人的方法<sup>[7]</sup>。

### (六) 生理特性

1. 同种培养基适应性培养: 将供试菌转接到 BAP 培养基中, 2—4 周转接一次, 至获得较大生长量。

2. 同步预培养作接种源: 上述菌体经离心洗涤, 研磨, 转接到 BM+NZ 培养基中, 培养 2—3 周。

3. 碳源利用: 将 11 种供试糖和 6 种有机酸盐分别过滤灭菌后, 加到 BM 培养基中(终浓度分别为 0.5% 和 0.2%)。用溴甲酚紫作产酸指示剂。取对数期生长的菌体, 分别洗涤、研磨, 定量转接于各实验管中(4 个重复), 28 $^{\circ}$ C 静止培养, 2、4、6 周观察菌体生长量。每株菌重复 2—3 次。

## 结 果 和 讨 论

### (一) 形态和培养特征

35 株菌在纯培养条件下形态相似。菌丝粗细不均, 直径约 0.4—1.6 $\mu$ m, 分枝、分隔(有的菌株不明显)。孢囊大小不一, 直径约 3—20 $\mu$ m(有的在 35 $\mu$ m 以上), 形状多样(球形、草莓形、棒状等)(图版 I-1—4)。在 DPM 培养基中, 均产生球形孢囊, 直径约 1.5—3.0 $\mu$ m。胡颓子属、沙棘属和 *Colletia* 属分离菌多数可产生可溶性棕色色素。其中胡颓子属的 4 株分离菌 Eu131、Em273、Ea118 和 Eoc85 具有特殊的串珠状菌丝体结构。Diem 等人(1985)曾在木麻黄属分离菌中发现过这种结构, 他们认为这是第四种菌丝结构, 并称之为串珠状生殖菌丝(reproductive troulouse hyphae, 简称 RTH)<sup>[11]</sup>。

### (二) 细胞壁化学组分

35 株菌全细胞氨基酸均含有 meso-DAP; 不含 LL-DAP。全细胞糖均含有半乳糖、葡萄糖、甘露糖、木糖、核糖和鼠李糖; 不含阿拉伯糖, 未发现马杜拉糖。因含有木糖, 则糖型为 D, 这与已报道的大多数弗兰克氏菌的糖型相同。

### (三) 固氮酶活性

35 株菌均具有不同程度的固氮酶(乙炔还原)活性, 测定结果见图 5。图 5 结果表明, 乙炔注入后 24—72 小时, 固氮酶活性倍增, 在 48 小时或 72 小时活性最高, 但持续很短时间即开始下降, 下降快慢不一。从木麻黄分离的 3 株菌, 其固氮酶活性均较低, 这与 Jeffrey 等

人的研究结果相似, 即乙炔注入后直到 72 小时, 固氮酶活性显著增长 [7]。另外, Burggaaf 等人也证实, 乙炔还原呈线性增加, 并在 24—48 小时后速率增加或逐步下降 [8]。

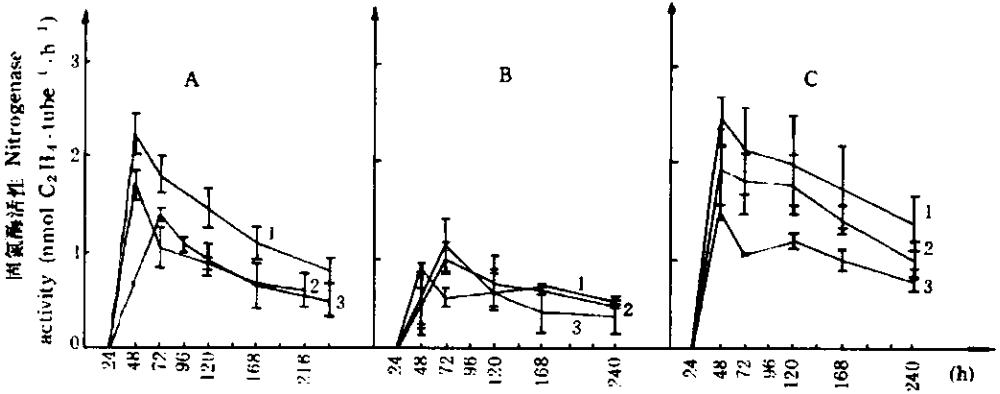


图 1 9 株供试菌固氮酶活性时程比较

- A. 赤杨属植物分离菌 (1.53060; 2.Acc8207; 3.Ahc8201);  
 B. 木麻黄植物分离菌 (1.CcI3; 2.JCT 287; 3.Cjl-82);  
 C. 胡颓子植物分离菌 (1.K1510; 2.K317; 3.K2061)。

Fig. 1 Comparison of time course of nitrogenase activity by 9 *Frankia* strains tested

- A. *Frankia* isolates from *Alnus* (1.53060; 2.Acc8207; 3.Ahc8201);  
 B. *Frankia* isolates from *Casuarina*(1.CcI3; 2.JCT287; 3.Cjl-82);  
 C. *Frankia* isolates from *Elaeagnus*(1.K1510; 2.K317; 3.K2061).

#### (四) 生理特性

结果见表 2。表 2 结果表明, 供试各菌株几乎均能利用丙酸钠作为唯一生长碳源, 均不能利用苯甲酸钠, 少数菌株可既利用了二酸钠又利用苹果酸钠。

从赤杨属植物分离的菌株, 多数不能利用供试的 5% 糖和 0.2% 丙酮酸钠, 但其中的 53060、R52 和 At43 株菌则能利用多种糖和丙酮酸钠。从杨梅属分离的菌株一部分对糖利用或利用不定, 另一部分则不利用。它们均不利用 0.2% 丙酮酸钠。从香蕨木属和异木麻黄属分离的菌株及多数从木麻黄属分离的菌株均不利用供试的 5% 糖, 但均利用丙酮酸钠, 并且比从其它属植物分离的菌株利用较好, 其中 JCT287 菌株对糖和丙酮酸钠均能利用。从胡颓子属分离的菌株利用多种糖并产酸, 而从沙棘属和 *Colletia* 属分离的菌株也利用多种糖, 但不产酸。从这 3 属植物分离的多数菌株对丙酮酸钠利用差或不利用, 其中 54007C、Eoc85 和 Hr16 3 株菌却对丙酮酸钠利用较好, 但对多种糖利用差或不利用, 这恰与上述中从赤杨属植物分离的 3 株菌情况相反。按照 Lechevalier 等人对弗兰克氏菌的生理分型 [9,10], 上述从胡颓子属、沙棘属和 *Colletia* 属分离的菌株均应归属于生理 A 型菌。而从赤杨属、杨梅属和木麻黄属分离的菌株中, 则存在生理 A 型和 B 型两种不同类型的菌株。从异木麻黄属和香蕨木属植物分离的各一株菌, 则应属于生理 B 型。以上分析表明, 能否利用 0.5% 糖和 0.2% 丙酮酸钠, 在很大程度上反映出不同科属植物以及同属植物分离菌中, 不同菌株的生理特性。

表 2 供试的弗兰克氏菌菌株碳源利用的比较  
Table 2 Comparison of carbohydrate utilization by *Frankia* strains tested

寄主植物 Host of plants	菌株 Strain	利用和产酸*																	
		Utilization and acid formation																	
		G1	F1	G2	R1	M1	M2	S1	R2	L	A1	MG	A2	P1	P2	S2	M3	B	C
赤杨属 ( <i>Alnus</i> )	AVSI3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0
	53060	0	0	0	2	1	0	0	0	0	1	0	1	2	1	0	0	0	0
	R52	2	V	1	0	2	2	2	1	0	0	1	2	2	2	0	0	0	0
	AVcI1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	Acc8207	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0
	Ahc8201	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	3	0	0	3A	3A	0
	Agc8204	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	3	0	0	0	0	0
	Ajc8206	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	3	0	0	0	0	0
	Anc8301	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2	0	0	0	0	0
	At4	1	2A	2	0	3A	1	2A	1	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0
杨梅属 ( <i>Myrica</i> )	Mgl5	0	0	0	0	0	V	0	0	0	0	V	0	0	0	0	0	0	0
	M+gl	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	3	0	0	0	0	0
	Mrc8302	0	0	0	0	0	0	V	0	0	0	V	2	3	1	0	0	0	0
	K2115	2	1	2	1	3	2	1	0	0	2	1	3	3	0	0	0	0	0
	K2129	1	0	1	0	2	2	V	0	0	1	1	1	3	0	0	0	0	0
香蕨木属 ( <i>Comptonia</i> )	Cp11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	V	0	0	0	0	
木麻黄属 ( <i>Casuarina</i> )	Cj1-82	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	3	3	0	0	0	0	
	JCT287	2	2	2	0	V	V	3	1	0	0	1	2	3	3	0	0	0	
	Cc13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	3	2	0	0	0	
异木麻黄属 ( <i>Allocasuarina</i> )	All11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	
胡颓子属 ( <i>Elaeagnus</i> )	Eulla	2	V	2	3A	2	2	1	1	1	3A	1	2	2	1	1	1	0	0
	54007c	0	1	0	1	1	0	0	0	1	0	0	3	3	2	0	0	0	0
	Egc107	2	3	0	1	1	1	1	1	V	0	0	3	3	1	3	3	0	0
	Emoc1211	1	3A	1	0	1	0	3A	2	V	V	1	2	3	0	0	0	0	0
	Eoc85	0	0	0	2A	0	0	0	0	0	0	0	2	3	3	0	0	0	0
	Ea118	1	3A	1	2	1	1	2A	2	1	2	1	3	3A	0	3A	3A	0	0
	Em273	1	3A	1	1	1	1	1	1	V	V	1	1	3	0	3A	3A	0	0
	Eu131	1	2A	1	1	1	1	1	1	V	2	0	2	3	0	2A	2A	0	0
	K1510	2	1	1	1	2	2	1	0	0	0	1	2	3	0	0	0	0	0
	K317	1	1	2	2	1	1	1	1	V	0	0	2	1	2	1	0	0	0
	K2061	1	1	V	1	1	2	1	1	0	0	0	1	2	1	1	0	0	0
沙棘属 ( <i>Hippophae</i> )	Hr16	0	0	1	2	1	1	0	0	0	1	1	2	3A	3A	0	1	0	0
	Hr104	2	3	V	2	2	2	2	2	V	2	1	0	3	1	3	3A	0	0
<i>Colletia</i>	ORSO60501	3	1	2	2	3	3	2	1	1	2	1	2	3	0	0	0	0	0
	WgCc1.17	1	3A	0	2	0	2	1	0	0	1	0	2	3	0	0	0	0	0

\*O. 不生长; 1. 生长差; 2. 生长较好; 3. 生长好; V. 利用不定; A. 产酸; G1. 葡萄糖; F1. 果糖; G2. 半乳糖; R1. 鼠李糖; M1. 甘露糖; M2. 麦芽糖; S1. 蔗糖; R2. 棉子糖; L. 乳糖; A1. 阿拉伯糖; MG.  $\alpha$ -甲基-D-葡萄糖; A2. 乙酸钠; P1. 丙酸钠; P2. 丙酮酸钠; S2. 丁二酸钠; M3. 苹果酸钠; B. 苯甲酸钠; C. 对照。

\*O. No growth; 1. Poor growth; 2. Fair growth; 3. Good growth; V. Utilized variably; A. Acid produced; G1. Glucose; F1. Fructose; G2. D-galactose; R1. L(+)-rhamnose; M1. D-mannose; M2. Maltose; S1. Sucrose; R2. Raffinose; L. Lactose; A1. L-arabinose; MG. 3-O-methyl-D-glucose; A2. Sodium acetate; P1. Sodium propionic; P2. Sodium pyruvate; S2. Sodium succinate; M3. Sodium DL-malate; B. Sodium benzoate; C. Control.

D. Baker(1987) 进行的交叉侵染实验, 将 50 株弗兰克氏菌分为 4 个群<sup>[12]</sup>: 第一群能侵

染赤杨属和杨梅属植物；第二群能侵染木麻黄属和杨梅属植物；第三群能侵染胡颓子科和杨梅属植物；第四群只能侵染胡颓子科植物。如果以本文结果中能否利用 0.5% 糖和 0.2% 丙酮酸钠作为弗兰克氏菌属下分群的依据，可将供试的 35 株菌划分为 2 群 4 亚群，并归纳如表 3。

由表 3 可以看出，本文分群结果与按侵染性分群有很大程度的相关性。但侵染性和生理特性的关系还有待进一步研究。

表 3 供试的 35 株弗兰克氏菌的分群  
Table 3 Taxa classified of 35 *Frankia* strains tested

I 不利用 0.5% 糖 No utilization of sugar at a 0.5% concentration		II 利用 0.5% 糖 Utilization of sugar at a 0.5% concentration	
A 不利用丙酮酸钠 No utilization of pyruvate-Na	B 利用丙酮酸钠 Utilization of pyruvate-Na	C 不利用丙酮酸钠 No utilization of pyruvate-Na	D 利用丙酮酸钠 Utilization of pyruvate-Na
<i>Alnus</i>	<i>Casuarina</i>	<i>Elaeagnus</i>	<i>Elaeagnus</i>
Avs13	Cjl-82	Emoc1211	Eulla
Avcll	Ccl3	Eal18	54007c
Ahc8201	<i>AltoCasuarina</i>	Em273	Egc107
Agc8204	AIII	Eul31	Eoc85
Ajc8206	<i>Alnus</i>	K1510	K317
Anc8301	Acc8207	<i>Colletia</i>	K2061
<i>Myrica</i>		ORSO60501	<i>Hippophae</i>
M+gl		WgCcl.17	Hr16
<i>Comptonia</i>		<i>Myrica</i>	Hr104
Cpll		K2115	<i>Alnus</i>
		K2129	53060
		Mg15*	R52
			At4
			<i>Casuarina</i>
			JCT287
			<i>Myrica</i>
			Mrc8302*

\* 对糖利用不定 Utilized variably.

### 参 考 文 献

- [1] Callahan, D. et al.: *Science*, 199:899-902, 1978.
- [2] Lechevalier, M. P.: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (Vol.4), (ed. Williams, S. T. et al.), pp.2405-2417, The Williams and Wilkins Company, Baltimore, 1987.
- [3] Lechevalier, M. P. et al.: *Biological, Biochemical and Biomedical Aspects of Actinomycetes*, (ed. Ortiz-ortiz, Bojalil and Yakoleff), pp.575-582, Academic Press, New York, 1984.
- [4] 阮继生等: 放线菌研究及应用, 第 470-471 页, 科学出版社, 北京, 1990 年。
- [5] Hasegawa, T. et al.: *J. Gen. Appl. Microbiol.* 29:319-322, 1983.
- [6] 王 平: 微生物学通报, 13(5):228-231, 1986.
- [7] Jeffrey, O. et al.: *Physiol. Plantarum*, 70:272-278, 1987.
- [8] Burggraaf, A. J. P. et al.: *Can. J. Bot.*, 61:2774-2782, 1983.

- [9] Lechevalier, M. P. and D. Baker: *ibid.*, 61:2826—2833, 1983.  
 [10] Lechevalier, M. P. and J. S. Ruan: *Plant and Soil*, 78:15—22, 1984.  
 [11] Diem, H. G. et al.: *ibid.*, 87:17—29, 1985.  
 [12] Baker, D.: *Physiol. Plantarum*, 70:245—248, 1987.

## STUDIES ON BIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF *FRANKIA*

Wang Chenguang Song Shangzhi\*

(Institute of Microbiology, Hebei Academy of Sciences, Baoding 071051)

Ruan Jisheng

(Institute of Microbiology, Academia Sinica, Beijing 100080)

35 strains of *Frankia* were collected from root nodules of various family and genus of plant hosts in different geological environment of America, Europe and Asia. The result indicates that under pure cultivation, the strains tested showed the typical morphological characteristics of *Frankia*, some of them may have specialized torulose hyphae. All *Frankia* strains tested showed presence of the meso-DAP and whole-cell sugar pattern D. All of them showed a marked increase in nitrogenase activity from 24—72 h after the addition of acetylene, and the maximum nitrogenase activity can be achieved at 48h or 72h.

Physiological result were assessed in order to compare 35 *Frankia* strains tested, based on the different utilization of carbohydrates at a 0.5% (W/V) concentration and organic acid salts at a 0.2% (W/V) concentration, the strains isolated from 8 genera of angiospermous plant hosts can be classified into 2 groups (including 4 subgroups).

**Key words** *Frankia*; physiology; Taxonomy; Nitrogenase

### 图 版 说 明

#### Explanation of plate

供试的弗兰克氏菌形态显微照片：1. Ea118 菌株串珠状特异菌丝体结构 ( $\times 1000$ ); 2. Ea118 菌株顶生孢囊、孢囊柄和着生在菌丝短梗上的孢囊 ( $\times 1000$ ); 3. Cj-82 菌株间生孢囊、菌丝和孢囊 ( $\times 400$ ); 4.  $M^+$  gl 菌体的草莓形孢囊。

Photomicrographs of morphology of *Frankia* Strains tested: 1. *Frankia* sp. Ea118 showing specialized reproductive troullose hyphae (RTH); 2. *Frankia* sp. Ea118 showing terminal sporangium (SPT), sporangiophore (SPH) and vesicle (V) on short side branch of hyphae; 3. *Frankia* sp. Cj1-82 showing intercalary sporangium (SPI) and hyphae (H); 4. *Frankia* sp.  $M^+$  gl showing the shape of strawberry sporangium (SPS).

\* Department of Biology, Hebei University, Baoding.