

·成果介绍·

## 中国豆科植物根瘤菌资源多样性与系统发育

氮素是所有植物生长发育所必需的营养元素之一。空气中氮气的含量接近 80%，但由于氮气是惰性气体，不能被植物直接利用，必须先被固定成化合态氮。在全球化合态氮中，约 20%~25% 为工业合成的氮肥，而生物固定的化合态氮却占到了 65%~70%。生物固氮是由一些原核生物在常温常压等条件下进行的，既不耗费矿质资源，更不污染环境。100 多年来生物固氮研究受到了科学家的广泛重视，且获得长足进展。目前已知的固氮生物存在于原核生物细菌域内 100 多个属中，根据它们与高等植物之间的关系，将其分为自生固氮菌、共生固氮菌、联合固氮菌及内生固氮菌。其中固氮能力最强的是与豆科植物形成共生体的共生固氮菌——根瘤菌。

自上世纪 70 年代我们受国家科委、国家自然科学基金系列项目和 2 个重点项目以及中国-欧共同体合作项目的资助，经过 30 年的潜心研究，在根瘤菌资源分类和系统发育方面取得了令世人瞩目的成就，先后获省部级一、二等奖 6 项，并获 2001 年度中国国家自然科学二等奖。30 年来，本实验室培养了 50 名博士和硕士；在国内外学术刊物上发表论文 100 余篇，SCI 收录 20 篇，被引用 200 余次。

现将工作的总体内容介绍如下。

### 1 完成中国大陆豆科植物结瘤情况调查，收集根瘤菌 5 000 多株，建立了目前世界最大的根瘤菌菌库，发现了一批珍贵的根瘤菌种质资源

在近 30 年的时间里，课题组组织全国同行 100 多人(次)完成了全中国 32 个省(市)700 个县的豆科植物结瘤情况调查，共采集根瘤标本 7 000 多份，包括豆科植物 100 多属的 600 多种，其中 300 多种植物结瘤情况是过去未曾记载的(据 Allens, 1981)；并从中分离保藏根瘤菌 5 000 多株，菌株数量及宿主种类之多居国际首位(国际上公认的最大根瘤菌库是美国 USDA 菌库，该库保存根瘤菌 4 016 株，宿主植物仅几十种)。

通过对其中 2 000 多株菌的 100 多项表型性状分析，发现了一批耐酸(pH 3.8)、耐碱(pH 12)、耐盐(5% NaCl 以上)、耐高温(40℃)、或在低温(4℃)下仍能生长的根瘤菌，其抗逆范围大于国际报道的。它们既是珍贵的种质资源，也是重要的基因库。在此基础上，我们建立起目前国际上菌株数量最多、菌株性状信息最丰富的根瘤菌资源数据库。这批菌株现已开始应用于中国西部几个地区退耕还林还草措施中的豆科牧草接种、选种的种植实验中，收到了很好的效果。

### 2 率先在中国建立了具有世界先进水平的细菌分子分类实验室，确立了一套根瘤菌分类、鉴定技术的方法，描述并发表根瘤菌新属 2 个、新种 12 个

为考查中国根瘤菌生物多样性及其分类和系统发育地位，我们建立了一个世界先进水平的现代细菌分类实验室，对国际上采用的细菌分类方法进行了反复实验比较，确立了一套行之有效的根瘤菌分类技术方法及数据处理程序。本课题组的实验室已成为中国最主要的细菌分类室，也是目前国际上 2 个最主要的根瘤菌分类实验室之一。对所收集的 2 000 多株根瘤菌进行了多相分类研究，先后描述并发表 2 个根瘤菌新属、12 个新种，占 1984 年以来国际上发表根瘤菌新属的 1/2、新种的 1/3；目前还有 6 个新种已完成研究，正在著文待以发表。

已经发表的新属、新种为：

1) 中华根瘤菌属(*Sinorhizobium* gen. nov. 1988)，是一群只从中国土壤中分离的生长速度较快且能与大豆共生的根瘤菌，经国际同行反复验证，确认无疑。现在该属中已有 10 个种，其中包括我们确定的费氏中华根瘤菌(*S. fredii*, comb. nov. 1988)、新疆中华根瘤菌(*S. xinjiangensis* sp. nov. 1988)、鸡眼草中华根瘤菌(*S. kummerowiae* sp. nov. 2002)和莫雷兰中华根瘤菌(*S. morelense* sp. nov. 2002) 4 个种。

2) 中慢生根瘤菌属(*Mesorhizobium* gen. nov. 1997)，是从中国新疆的大豆、甘草、苦豆子等 7 种植物中分离的一群特殊根瘤菌。现在该属已包括 8 个种，其中有我们定名的华葵中慢生根瘤菌(*M. huakuii* sp.

nov. 1991)、天山中慢生根瘤菌(*M. tianshanense* sp. nov. 1995)和紫穗槐中慢生根瘤菌(*M. amorphae* sp. nov. 1999) 3 个新种。

3) 在根瘤菌属(*Rhizobium*)中我们增定了 5 个新种:海南根瘤菌(*R. hainanense* sp. nov. 1997)、胡特根瘤菌(*R. huantlense* sp. nov. 1998)、杨陵根瘤菌(*R. yanglingense* sp. nov. 2001)、木兰根瘤菌(*R. indigoferae* sp. nov. 2002)和黄土根瘤菌(*R. loessense* sp. nov. 2003)。

4) 在慢生根瘤菌属(*Bradyrhizobium*)中加定了圆明慢生根瘤菌(*B. yuanmingense* sp. nov. 2002)。

此外,新近的成果是,从北方地区重要牧草斜茎黄芪中分离的 96 株菌中确定了中慢生根瘤菌属 *Mesorhizobium* 中的 2 个新种,最近从湖南的黄檀中分离的根瘤菌在 *Rhizobium* 中定了一个新种,将中国菜豆根瘤菌在 *Rhizobium* 中定了一个新种,在 *Bradyrhizobium* 中定了 2 个新种,均在著文发表中。

以上新属、新种的描述展示了中国辽阔土地上复杂生态环境中孕育的根瘤菌的丰富多样性,大大增进了人们对根瘤菌多样性的认识。我们在构建国际根瘤菌系统发育体系中的工作起了重要作用并得到国际同行的高度重视。

### 3 在理论上获得根瘤菌和宿主共生关系的新观念并对根瘤菌选种提出新见解

基于对中国广大的国土面积上收集的大量根瘤菌进行分类研究,将分类结果与宿主植物物种和生态条件综合分析,得出对豆科植物-根瘤菌共生关系的新观念。

传统观念认定一种植物只与一种根瘤菌结瘤固氮,曰“宿主专一性”,且一种根瘤菌只与一种或数种植物共生,这一种或数种植物称为一个“互接种族”。因受原始工作的局限,这种观点未能反映根瘤菌与豆科植物真实的关系,也不利于根瘤菌选种和实际应用。

我们的研究证明:同一种植物在不同生态环境中可与不同的根瘤菌结瘤固氮,例如中国的大豆可与 3 属 7 种根瘤菌正常结瘤固氮;中国的胡枝子和美国的胡枝子分别与 3 种慢生根瘤菌结瘤;菜豆在中国、墨西哥、法国分别与不同的 2 属 5 种根瘤菌结瘤固氮。反过来,生态地理环境相近的地区中,分离自多种植物的根瘤菌却可归为一个种,如中国新疆的大豆、苦豆子等 7 种植物的慢生根瘤菌为一个种 *M. tianshanense*;中国海南省的山蚂蝗等 12 属植物的根瘤菌(快生)为一个种, *R. hainanense*;海南省的猪屎豆等 7 属 18 种植物的慢生根瘤菌均属于大豆共生的种 *B. japonicum* 等。

据此,我们得出了“根瘤菌与豆科植物的共生关系因生态环境的差异而具有种的多样性”的新观念,从分类学角度修正并发展了根瘤菌“宿主专一性”和植物“互接种族”的传统观念。进而提出:在新区种植豆科植物、进行根瘤菌选种时,必须针对生态环境及宿主植物品种两者,选择出最佳匹配的根瘤菌;经实验证明植物不同品种与不同根瘤菌共生,其有效性差异很大,所以选种时还必须针对植物品种进行匹配,才能收到更好的共生固氮效果。

陈文新

(农业部 农业微生物资源及其应用重点开放实验室 \ 中国农业大学 生物学院)