

表 1 菌株的寄主名称及来源

编 号	原 菌 号	寄 主	来 源
(1)	5017	*R.leguminosarum	来自中国农科院
(2)	128C ₆₃	*R.leguminosarum	来自美国
(3)	2356	同 上	来自美国
(4)	025	Lathyrus guinguenerivius(山黧豆)	本室自新疆分离
(5)	127K ₁₇	*R.phaseol	来自美国
(6)	030B	Dolichos lablab(扁豆)	本室自新疆分离
(7)	127K ₄₀	*R.phaseol	来自美国
(8)	044A	Trifolium repen	本室自天山分离
(9)	162P ₁₇	*R.trifolii	来自美国
(10)	162 × 68	同 上	来自美国
(11)	7653—1	Astragalus sinicus	来自南京农学院
(12)	紫38D	同 上	来自浙江
(13)	A ₃₁₀₆	同 上	来自中国农科院
(14)	B ₈₃₃	Astragalus sinicus(紫云英)	来自中国农科院
(15)	002	Medicago sativa(紫苜蓿)	本室自新疆分离
(16)	苜蓿*	*R.meliloti	来自意大利
(17)	037B	Melilotus suaveolens(白花草木樨)	本室自新疆分离
(18)	8—2	Crotalaria juncea(桤麻)	来自山西农科院
(19)	T ₃₇	*Agrobacterium tumefaciens	来自中国农科院
(20)	Ac	*Agrobacterium sp	来自中国农科院
(21)	009Bs	Glycine max(大豆)	本室自新疆分离
(22)	Rj110	*R.japonicum	来自美国
(23)	Rj138	*R.japonicum	来自美国
(24)	衣羽	Lupinus sp	来自中国农科院
(25)	028B ₂	Robinia pseudocacia刺槐	本室自新疆分离
(26)	033B	Amorpha fruticosa紫穗槐	本室自新疆分离
(27)	034Bs	Lespedeza bicolor胡枝子	本室自新疆分离
(28)	054B	Psoralea corylifolia(补骨脂)	本室自新疆分离
(29)	060A	Halimodendron holodendron 黄耆	本室自新疆分离
(30)	E ₂	Erythrina sp(刺桐)	本室自福建分离
(31)	351	同 上	本室自广东分离
(32)	009	Arachis hypogaea(花生)	来自中国油料所
(33)	32HI	Crotalaria paulina(野百合)	来自美国
(34)	冀C7-1	Macroptilium atropurpureum大翼豆	来自中国农科院
(35)	柱C4-1	Stylosanthes guianensis(柱花草)	来自中国农科院
(36)	3G ₂ B ₂₀	Arachis hypogaea(花生)	来自中国农科院

注: *为已知菌名称。

抗生素测定用 Josey^[5]介绍的方法。营养要求特征测定参考 White^[5]使用的培养基配方。其它如 YMA(酵母、甘露醇和琼脂)培养基等按常规微生物实验所用的方法配制。

三、测定特征:

如表 2 所示:

(74) *H H H H H H H H* 菌落形态(2)

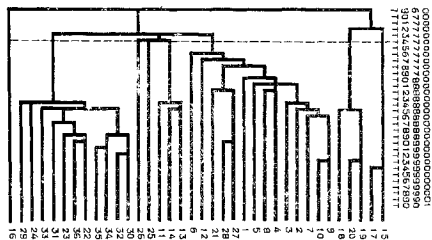
- [illegible]

注:碳源浓度在培养基中最终浓度为 1/1000,染料在培养基中的最终浓度为 1/1000 和 1/10000,成为饱和浓度的 1/10 或 1/100。

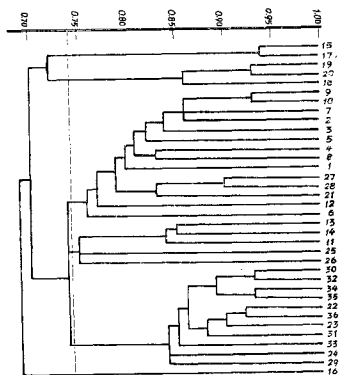
结果与讨论

一、菌株的分类

系统聚类和模糊聚类结果分别如图一、图二所示。显然,两种聚类方法的结果非常接近。



树形图
(行为菌株号, 列为簇间相似系数水平)



试验中所用的菌株, 除16号外, 在相似系数为0.74水平上, 可分为五组。

第一组: 15号和17号菌株, 寄主是苜蓿和草木樨, 都是来自新疆, 是相似系数最大的一对菌株, $S = 0.94$ 。

第二组: 菌号有9、10、7、2、3、4、5、1、27、8、28、21、12和6。寄主范

围广，有三叶草、菜豆、蚕豆、山豆、胡枝子、补骨脂等。来源有英国和国内的不同地区；组内变异比较大，最高的为10号和9号的菌株对， $S = 0.933$ ；最低的为6号和7号的菌株对， $S = 0.76$ 。

第三组：由18号、19号和20号菌株组成。19号和20号是根瘤土壤杆菌。18号是从苧麻分离出的快生型根瘤菌。19号和20号菌株对， $S = 0.93$ 。18号和19号、20号的相似系数分别是0.859和0.842。

第四组：由13号、14号、11号、25号、26号菌株组成。13号、11号和14号都是从紫云英分离出的，来源中国农科院和南京农学院。在 $S = 0.84$ 处构成一个亚组。25号和26号分别是洋槐和紫穗槐分出的。在 $S = 0.74$ 处与紫云英分出的三株菌连起来。

第五组：由30号、32号、34号、35号、22号、36号、23号、31号、33号、24号、29号组成。寄主有：刺桐、花生、大翼豆、柱花草、大豆、羽扇豆、铃当刺。特点是生长都比较慢，在 $S = 0.844$ 处，把全组联起来了。

16号原记载是从苜蓿分来的根瘤菌，但无回接资料，从分类结果来看，与其它根瘤菌或农杆菌差异很大，相似系数最大的仅0.69，是否根瘤菌还需作回接试验才能断定。

18号菌株是最为有趣的。由山西农科院马玉珍、庞金梅等分离的，记载有一根端生鞭毛，能有效地在苧麻上结瘤固氮，但却与根瘤土壤杆菌19号和20号非常相似， S 在0.85左右。

在试验与Graham⁽¹⁾1964年的结果相比，一致的地方是：（1）从苜蓿分离出的根瘤菌与其它快生的根瘤菌可以区别。（2）三叶草、菜豆和蚕豆植物上分离的根瘤菌相互不易区别。（3）聚类分析分组结果与寄主“互接种族”分类结果很多不一致。不同点是：（1）菌株间的相似水平大都比较低，这可能是在试验所选的特征，主要是以在根瘤菌属内能表现出差异的缘故，而Graham⁽¹⁾所有特征是用几个科的。（2）从紫云英分离的三株成一亚组，与洋槐和紫穗槐分离出的根瘤菌组成另外一组。紫云英根瘤菌一株，归在第二组看来是有问题，（3）生长快的大豆根瘤菌，归入三叶草蚕豆组。（4）苧麻的根瘤菌18号与根瘤农杆菌关系密切。

二、鉴定特征：

为了选择鉴定特征，通过比较特征的相对独立性，参考了正结果频率，考虑了特征测定的难易，选出了12个鉴定特征，如表8所示。

三、活力 (Vigour)⁽²⁾ 差和状态 (Pattern)⁽³⁾ 差分析：

在试验分别计算了 D_V 和 D_P ，菌株对36号—22号，36号—31号相比 $D_V = D_P$ ， $D_P = 0$ 。因此这两对菌株间的某些差异是否与生长速度的差异有关，是值得进一步研究的。

另一方面，可以认为 D_V 系数在一定程度上体现出所比较的两菌株的生活力强弱。因为生活力强的总应该是在不同的环境中能生长的机会多。令人感兴趣的是，18号菌株，在所试验的根瘤菌中，其生活力最强，从选种的角度来看，如比较的菌株的其它生物学特征相似，则18号菌株应是优选的菌株。

聚类分析一般是根据“等重”原则进行分类的。因此，根瘤菌的结瘤和固氮这两个非常重要的性状就不能突出出来，且根据近来报道快生型根瘤菌决定结瘤和固氮的基因都在质粒上。所以，不妨把这两个特征与根瘤菌的其它表型特征区分开来，单独考虑。根瘤菌的分

类，根据细菌“全面”表型用聚类分析方法分类后，再表明各组（群）的寄主范围，如此的分类方法，可能更为适用更加合理。

表 3 鉴定特征表（II）

特 征	1	2	3	4	5
利用半乳糖	+	+	+	—	+
含Nile blue培养基上生长	+	+	+	—	—
斜面生长量	+	+	+	—	—
YMA上产酸	+	+	+	—	+
石蕊牛奶中产生褐黄色	—	—	+	—	—
吸收赖氏色素后的菌落内部结构产生变化	—	—	—	+	±
石蕊牛奶中有血清带	—	±	—	+	±
在含孔雀绿的培养基上生长	+	—	+	—	±
在含碱性藏花红的培养基上生长	+	—	+	—	—
利用乳糖生长	—	+	+	—	±
强烈吸收水溶性黑色素	+	—	+	—	—
石蕊牛奶中产生酸凝	+	—	—	—	—

结瘤固氮能力是一个很复杂的问题，我们在弄清基因表达的本质过程之前，还需作更多的植物、根瘤菌共生关系的研究。而且，由于环境—植物—根瘤菌—质粒基因的相互作用时共生关系影响很复杂，我们还需要对测定的条件尽可能标准化、统一化。

总的来说，随着聚类分析的发展，分析方法的改进，有用信息的积累，建立更加合理的根瘤菌分类系统看来已不是十分遥远的事情了。

参 考 文 献

1. Graham, P.H. (1964) J. gen. Microbiol 35, 511—7
2. Josey, D.P., Beyhon, J. L., Johnston, A.W. B. and Beringer, J.E. (1979) J. appl. Bact. 46, 343—50
3. White, L.O. (1972) J. gen. Microbiol, 72, 565—24
4. Lockhart, W. R. and histon, J. (Eds) (1970), "Methods for Numerical Taxonomy" Bethesda American society for Microbiology.
5. Sneath, peter. H.A. (1972) "In The Numerical Taxonomy" pp.129—177

CLUSTER ANALYSIS OF THE GENUS RHIZOBIUM

Niu Tiangui Chen Wenxin Li Jilun

Yu Dafu

(Department of plant protection and Microbiology,
Beijing Agricultural University)

Abstract

One hundred and thirty-six coded features of 34 strains of the genus *Rhizobium* and 2 of *Agrobacterium* were subjected to cluster analysis, with the help of a high speed computer for the establishment of similar coefficients and for sorting the strains into taxonomic clusters. Observations indicate that all the slow-growing rhizobia which constituted a uniform group were distinct from the fast-growing strains.

The fast-growing strains constituted much more diverse groups which could be subdivided into the four different subgroups.

From the positive frequency of occurrence of features computed for each of the five taxonomic clusters, a table was prepared, providing correlating characteristics which are suitable for identification of the groups or the subgroups.

Dv (vigour) and Dp (pattern) analyses of the strains indicated that the difference of the strain from *Arachi lypogaea* nodule (3G,B₁₀) from the strain from *Glycine max* nodule (Rj110) and *Erythrina* nodule (351) may be the difference of growing-rate.