研究报告

海南省快生根瘤菌的多型性

汪恩涛　李小红　陈文新

(北京农业大学生物学院，北京 100094)

摘要　本文报告了对 25 株来自不同寄主植物的海南快生型根瘤菌及 7 株已知快生型根瘤菌的数值分类。结果表明，海南快生型根瘤菌在分类上有多样性，其中一部分属于不同的已知根瘤菌种。有 13 株海南快生型根瘤菌构成一个具有独立分类地位的菌群。这一独立的海南根瘤菌群来自 10 个属的寄主植物，并有较强的生活能力和抗逆性。

关键词　海南省；根瘤菌；多型性；数值分类

近年来，与豆科植物结瘤固氮的根瘤菌在分类上有了较大发展，已先后确立了 4 个属，10 个种 [1-6] 。这些结果表明，根瘤菌在分类上具有多型性。本文作者在多年来的根瘤菌资源调查和分类工作中，也发现了一些具有特殊分类地位的根瘤菌群，并将其中的一些发表为新的属或种 [3,5,7] 。

在我国的海南省等热带地区，有着丰富的植物资源，其中豆科植物的种类也很多。这些热带豆科植物在生态及生产上都具有重要的意义，且其中的大部分都与根瘤菌共生固氮。以前认为，在热带豆科植物上结瘤的多为慢生型根瘤菌，并将这些根瘤菌作为豇豆类群归于 *Bradyrhizobium* 属中 [1] 。但是，现在逐渐发现很多热带豆科植物与快生型根瘤菌结瘤固氮。有研究表明，一些热带的快生型根瘤菌与 *Rhizobium meliloti* 和 *R. leguminosarum* 有亲缘关系 [8-10] 。但是，这些菌的确切分类地位还有待进一步研究确定。

在对海南省豆科植物根瘤菌资源调查与分类研究中，我们发现海南的慢生型根瘤菌不管来自何种寄主，全都归属于 *Bradyrhizobium* 群中。而来自不同寄主的 5 株快生型菌则具有独立的分类地位，它们既不属于 *Bradyrhizobium*，也不属于已知的快生型根瘤菌群 (待发表) 。

在此基础上，我们扩大了样本，对来自不同寄主植物的海南快生型根瘤菌进行了性状测定和聚类分析。

材 料 和 方 法

(一) 菌种

试验中共选用了 32 株菌。其中 25 株为来自不同寄主植物的海南快生型根瘤菌，其余的为 *Rhizobium leguminosarum* USDA2370, *R. meliloti* USDA1002, *R. loti* ATCC33669, *R. huakuii* 103, *Sinorhizobium fredii* 2048, *S. xinjiangensis* CCBAU110, 以及 *Agrobacterium tumefaciens* C58 等有关属、种的模式菌株和参考菌株。供试的根瘤菌均经过回接原寄主植物并结瘤。菌株名录见表 1 。

(二) 性状分析

1. 生理生化试验均设两个重复。

除生长温度测定外，均在 28 ℃培养。活化菌种用 YMA 培养基 [11] 。快生型和慢生型根瘤菌的划分依照 Jordan[1] 的标准，即在 YMA 平板上 3–5 天出现单菌落，菌落直径约 2–4mm 的为快生型。 5–7 天出现单菌落，菌落直径小于 1mm 的为慢生型。

2. 唯一碳源利用采用 White 培养基 [12], 并补充 Cs7 微量元素溶液 [13] 。唯一氮源利用亦采用 White 培养基，但以供试氮源代替其中的硝酸钾。

本研究为国家自然科学基金资助项目。聚类分析承中国科学院微生物研究所赵玉峰、马俊才先生帮助，特此致谢。

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部　http://journals.im.ac.cn

表 1 菌株目录

编号	菌号	菌名	原寄主植物		菌株来源	提供单位
1	2048	*Sinohizibium fredii*	*Glycine soja*	野大豆	辽宁	中国农科院土肥所
2	CCBAU110*	*Sinorhizibium xinjiangenese*	*Glycine max*	大豆	新疆	北农大固氮室
3	USDA1002*	*Rhizobium meliloti*			美国	美国农业部
4	ATCC33669*	*Rhizobium loti*	*Lotus* sp.	百脉根	加拿大	加拿大
5	USDA2370*	*R. leguminosarum* biovar *viceae*			美国	美国农业部
6	C58	*Agrobacterium radiobacter*				中科院植物所
7	103	*Rhizobium huakuii*	*Astragalus sinicus*	紫云英	南京	南京农学院
8	I2	新采集未定	*Stylosanthes guianensis*	柱花草	海南	北农大固氮室
9	I12	同上	*Centrosema pubescens*	圆叶舞草	同上	同上
10	I24	同上	*Calopoginium mucunoides*	毛蔓豆	同上	同上
11	I27	同上	*Macrotilium lathyroides*	紫花豆	同上	同上
12	I32	同上	*Desmodium triquetrum*	葫芦茶	同上	同上
13	I33	同上	*Zornia diphylla*	丁葵草	同上	同上
14	I39	同上	*Uraria lagopodioides*	狸尾草	同上	同上
15	I61	同上	*Crotalatia chinensis*	华野百合	同上	同上
16	I64	同上	*Tephrosia candida*	山毛豆	同上	同上
17	I66	同上	*Desnodium sinuatum*	波状叶山绿豆	同上	同上
18	H2	同上	*Leucaena leucocephala*	银合欢	同上	同上
19	H3	同上	同上		同上	同上
20	H7	同上	同上		同上	同上
21	H8	同上	同上		同上	同上
22	H11	同上	同上		同上	同上
23	H14	同上	*Desmodium heterophyllum*	异叶山绿豆	同上	同上
24	H61	同上	*Samanea saman*	雨树	同上	同上
25	S3	同上	*Vigna sinensis*	压草豆	同上	同上
26	S25	同上	*Tephrodia candida*	山毛豆	同上	同上
27	S38	同上	*Leucaena diversifolia*	银合欢 (杂交种)	同上	同上
28	S42	同上	*Leucaena leucocephala*	银合欢	同上	同上
29	S43	同上	*Leucaena leucocephala*	银合欢 K67	同上	同上
30	S62	同上	*Cassie mimosoides*	山扁豆	同上	同上
31	S68	同上	*Stylosanthes hamata*	有钩柱花草	同上	同上
32	S71	同上	*Stylosanthes guganensis*	柱花草	同上	同上

*：表示模式菌株

3. 供试碳源 (最终浓度 0.1%, W/V) 包括苦杏仁苷、D- 阿拉伯糖、D- 纤维二糖、卫矛醇、D- 半乳糖、乳糖、D- 松三糖、棉子糖、L- 鼠李糖、D- 葡萄糖酸钠、马尿酸钠、山梨糖、D- 塔格糖、间 - 羟基苯甲酸、酒石酸铵、D- 果糖、柠檬酸钠、丙酮酸钠、D- 山梨醇、硫辛酸、D- 岩藻糖、DL- 天门冬氨酸、D- 谷氨酸、L- 谷氨酰胺、L- 组氨酸、DL- 鸟氨酸、L- 脯氨酸、DL- 色氨酸、L- 色氨酸、DL- 缬氨酸、L- 丙氨酸、DL- 天门冬酰胺及酪氨酸等 33 种。

4. 供试氮源 (最终浓度为 0.1% W/V) 包括 DL- 天门冬氨酸、D- 半胱氨酸、L- 半胱氨酸、异胞嘧啶、6- 糠基氨基嘌呤、D- 谷氨

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 http://journals.im.ac.cn

酸、L- 谷氨酸、L- 谷氨酰胺、甘氨酸、甘氨酰 -DL- 缬氨酸、L- 组氨酸、L- 蛋氨酸、DL- 鸟氨酸、L- 脯氨酸、DL- 丝氨酸、D- 丝氨酸和二氢胸腺嘧啶，共 18 种。

5. 抗菌素采用了氯霉素 (5, 25, 50 μg/ml 培养基，下同)，红霉素 (125μg/ml)，庆大霉素 (25γ/ml)，卡那霉素 (65,130 γ/ml)，强力霉素 (1, 10, 25, 100μg/ml)，链霉素 (120μg/ml)，土霉素 (5, 10, 30, 100 μg/ml)。四环素 (5, 20, 40, 100μg/ml)。头孢霉素 (5, 20, 40, 100μg/ml)，共 9 种，24 个编码性状。

6. 染料抗性采用了吖啶橙 (0.01%W/W)。溴麝香草酚蓝 (0.05, 0.10%)。甲基绿 (0.10%)。中性红 (0.20%)。结晶紫 (0.05%)。甲基紫 (0.10%)。萤光黄钠 (0.10%)。共 7 种，8 个编码。

7. 亚硒酸抗性采用 0.01, 0.02 和 0.05% 三个浓度。脱氧胆酸钠浓度为 0.20% 和 0.50%。亚硝酸浓度为 0.05%。氯化钠浓度为 2.0%。生长起始 pH 值有 4.0 和 10.0。

8. 亚甲蓝还原用灭菌的脱脂牛奶，接种后于 28 ℃培养 7 天。加入 1 滴 1% 亚甲蓝溶液后，37 ℃保温 1 小时。褪色为阳性，不褪色为阴性。

9. 石蕊牛奶反应和过氧化氢酶测定按《一般细菌常用鉴定方法》[14] 一书进行。硝酸盐还原用修改的 Pohlman 方法 [15]。尿素水解按 Christensen 法 [16] 进行。

此外，还测定了肉汁胨培养基中的生长情况及不同温度下的生长情况。

(三) 聚类分析

性状编码和相似性系数计算按 Sneath 和 Sokal[17] 的方法。聚类采用类平均连锁法。

结　　果

聚类结果见图 1。从图中可见，供试的全部 32 个菌株在 55% 相似水平上归成一群。在 70% 相似水平上，可以划分出 5 个表观群，并把 *R. leguminosarum*, *R. meliloti*, *R. huakuii*, *R. loti*, *S. fredii*, *S. xinjiangensis* 及 *A. tumefaciens* 等已知菌种的菌株相互分开。各菌群的鉴别特征见表 2。

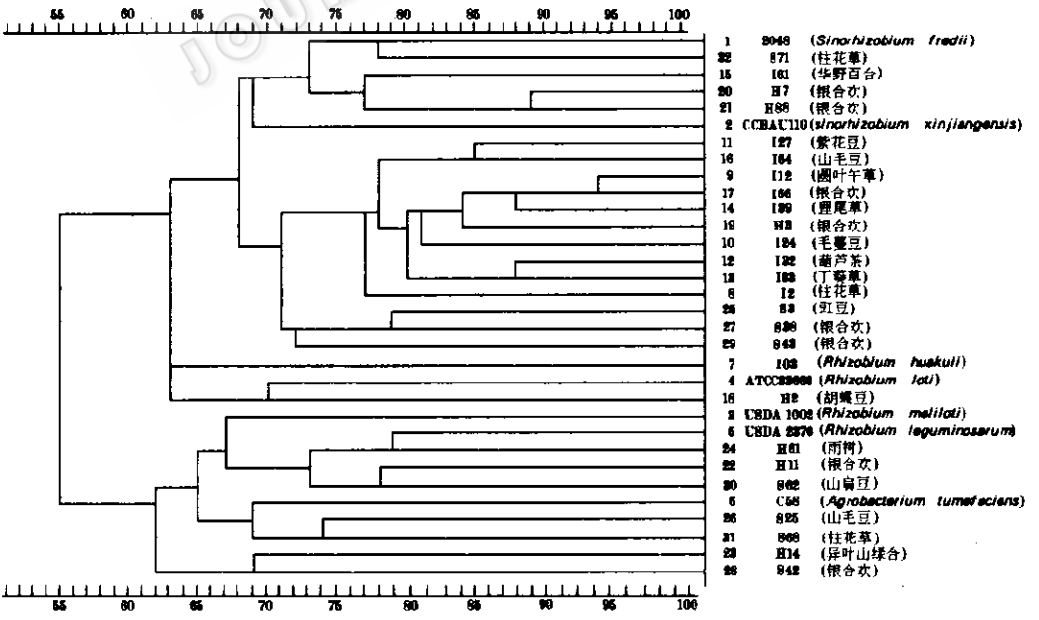

图 1　海南岛快生型根瘤菌数值分类树状谱

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部　http://journals.im.ac.cn

表 2 鉴定特征

特征	群 1	群 2	群 3	群 4	群 5	特征	群 1	群 2	群 3	群 4	群 5
唯一碳源利用:						**抗菌素抗性:**					
苦杏仁苷			+			5μg/ml 氯霉素	−		+	−	+
D-阿拉伯糖		+	+		+	25μg/ml 氯霉素	−			−	−
纤维二糖			−		−	50μg/ml 氯霉素	−			−	−
甜醇			−		+	125μg/ml 红霉素	+	+	+		
D-半乳糖		+	+		−	25γ/ml 庆大霉素		−		−	−
乳糖	+	+				65γ/ml 卡那霉素			+		+
松三糖					−	130γ/ml 卡那霉素	−		+	−	
L-鼠李糖		+	−		−	1μg/ml 强力霉素		+	+	−	+
D-葡萄糖酸钠		+	−	−	−	10μg/ml 强力霉素	−		+	−	+
马尿酸钠			−		−	25μg/ml 强力霉素	−			−	−
山梨糖			+	−	−	100μg/ml 强力霉素	−			−	−
D-塔格糖			−	−		5μg/ml 土霉素			+	−	−
酒石酸铵				−		10μg/ml 土霉素	−		+	−	
D-果糖		+	+			30μg/ml 土霉素	−		+	−	
柠檬酸		+	+			100μg/ml 土霉素	−			−	−
丙酮酸		+			−	5μg/ml 四环素	−	+	+	−	
山梨醇	+	+	+	+		20μg/ml 四环素	−		+	−	+
DL-天门冬氨酸		+	+		−	40μg/ml 四环素	−		+	−	+
D-谷氨酸				−		100μg/ml 四环素	−		+	−	−
L-谷氨酰氨			+			5μg/ml 头孢霉素		+	+		+
L-组氨酸		+	−		−	20μg/ml 头孢霉素		+	+	−	+
DL-鸟氨酸		+	+		−	40μg/ml 头孢霉素		+	+	−	+
L-脯氨酸		+	+			100μg/ml 头孢霉素			+	−	−
DL-色氨酸			−	−	−	**其它:**					
L-色氨酸			−		−	0.10% 吖啶橙				−	−
DL-缬氨酸			−	−	−	0.10% 溴酚蓝			+		−
L-丙氨酸		+				0.05% 溴酚蓝		+			
唯一氮源利用:						0.10% 甲基绿		+	+		+
DL-天门冬酰氨		+				0.20% 中性红		+	+		+
DL-酪氨酸	−	+				0.05% 结晶紫		+	+		
DL-天门冬氨酸	+	+	+			0.10% 甲基紫	−		−	−	−
D-半胱氨酸				−	−	0.01% 亚硒酸钠		+	+		+
L-半胱氨酸				−	−	0.02% 亚硒酸钠		+			
异胞嘧啶		+			−	0.05% 亚硒酸钠				−	
6-糠基嘌呤		+			+	2.00% 氯化钠	+		+	+	+
D-谷氨酸	+	+		+	−	亚甲蓝还原			+	+	+
L-谷氨酸		+			+	石蕊牛奶产酸			−	−	
DL-谷氨酰氨	+	+	+		+	石蕊牛奶产碱				+	
甘氨酸			+	−	−	石蕊牛奶酸凝			−		
甘氨酰-DL-缬氨酸		+	−	+	+	石蕊牛奶胨化			−		
L-组氨酸		+		−	+	石蕊牛奶还原	−		−		+
D-组氨酸			−	−	−	肉汁胨生长	−		+	−	+
L-蛋氨酸	+	+	+		+	4 ℃生长				−	
DL-鸟氨酸		+	+		+	40 ℃生长	−		+	−	
L-脯氨酸					−	pH4.0 生长	−		+		
DL-丝氨酸					−	pH10.0 生长			+		
D-丝氨酸		+	+	−	−	过氧化氢酶	+		+	+	
二羟胸腺嘧啶			+	−	−	尿酶	+				+

“+”表示 95% 以上的菌株为阳性，“−”表示 95% 以上的菌株为阴性，空白表示介于二者之间。

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 http://journals.im.ac.cn

第 1 菌群有 5 个菌株，其中包括 *S. fredii* 2048，故称其为 *S. fredii* 菌群。该群的另外 4 个菌株为海南快生型根瘤菌，它们分别来自柱花草 (S71)，华野百合 (I61) 和银合欢 (H7,H8)。

第 2 菌群包含了 13 株海南快生型根瘤菌，它们分别来自紫花豆 (I27)，山白豆 (I64)，圆叶舞草 (I12)，银合欢 (I66, H3, S38, S43)，狸尾草 (I39)，毛蔓豆 (I24)，葫芦茶 (I32)，丁葵草 (I33)，柱花草 (I2) 及豇豆 (S3)。

第 3 菌群只有两个菌株，即 *R.loti* ATCC 33669 和来自海南的银合欢根瘤菌 H2。

第 4 菌群为 *R.leguminosarum*, 包括了该种的模式菌株 USDA2370 和来自海南的 H61(雨树)，H11(银合欢)，S62(山扁豆)。共 4 个菌株。

第 5 菌群有 S25 和 S68 两个菌株，分别来自海南的山毛豆和有钩柱花草。

除上述 5 个菌群外，还有 *R. huakuii* 103，*R. meliloti* USDA1002, *S. xinjiangensis* CCBAU110, *A. tumefaciens* C58 以及来自海南的异叶山绿豆和银合欢根瘤菌 H14, S42 等 6 个菌株各自独立。

讨　论

由于本次试验只采用快生型根瘤菌，使得分类中可用的性状数目受到了限制。在全部测定的 167 个性状中，有 70 项是全同性状，在聚类分析中没有采用。试验方法经我们多年应用，对于根瘤菌种的划分较为可靠。

与豆科植物结瘤固氮的根瘤菌一般分为快生型和慢生型两大类 [1]。多年来，陆续发现在某些属、种的豆科植物上既有慢生型，也有快生型根瘤菌与之共生。据此，Dommergues 等 [8] 将固氮的豆科树木分为三类，即 (1) 与快生型根瘤菌结瘤固氮；(2) 既与快生型根瘤菌结瘤，也与慢生型根瘤菌结瘤；(3) 只与慢生型根瘤菌结瘤。在我们对海南豆科植物根瘤菌所做的资源调查中，有些植物上只分离到慢生型根瘤菌，如檀属 (*Dalbergia*)，木兰属 (*Indigofera*) 和链荚豆 (*Alysicarous vaginalis*)。有的植物上分离到慢生型和快生型两类根瘤菌，如柱花草 (*Stylosanthes guianensis*)，蝴蝶豆 (*Centrosema pubescens*) 和华野百合 (*Crotalaria chinensis*)。有的植物如山毛豆 (*Tephrodia candida*) 和银合欢 (*Leucaena leucocephala*) 等则只分离并回接成功了快生型根瘤菌。在 Zhang 等 [18] 的研究中，银合欢根瘤菌也都是快生型。

在分类研究中，海南慢生型根瘤菌无论其来自何种寄主，均归属于 *Bradyrhizobium* 群 (待发表)。而海南省的快生型根瘤菌在分类上则要复杂得多，其生理生化方面的差异也很大。

在我们的测定中，海南快生型根瘤菌的代时在 2.5–5.0 小时之间，处在快生型根瘤菌的范围内。菌落及菌体形态与 *Rhizobium* 的描述相同。多数菌株可以利用肉汁胨生长，或有较宽的生长 pH 范围，可以在 pH4.0 和 pH10.0 下生长。部分菌株可以在 40 ℃下生长。这些性状对于聚类得到的各表观群的鉴定价值见表 2。

从数值分类得到的树状图看，海南快生型根瘤菌有一部分归属于已知的根瘤菌群，如第 1 群中分别来自柱花草，华野百合和银合欢的 S71, I61, H7, H8 几个菌株属于 *S. fredii*, 并与 *S. xinjiangensis* CCBAU110 有较密切的关系。第 3 群中的银合欢根瘤菌 H2 属于 *R.loti*。Crow 等 [19] 在 DNA 杂交研究中，也有一株银合欢根瘤菌归于 *R.loti*。第 4 群中分别来自雨树、银合欢和山扁豆的 H61、H11 和 S62, 则属于 *R. leguminosarum* 并与 *R.meliloti* USDA1002 关系较近。Lindstrom 和 Lehtomaki[9] 及 Trinick[10] 也认为有些热带快生型根瘤菌属于 *R. leguminosarum* 或 *R. meliloti*。

第 2 群 13 株菌全部为海南快生型根瘤菌，它们在种水平上独立，并与快生型大豆根瘤菌 (*Sinorhizobium*) 较为相近。从表 2 中可以看出，归在第 2 群的海南快生型根瘤菌比其它各已知根瘤菌有更广泛的适应性和更强的耐受性。在 51 种供试碳、氮源中，有 28 种可以被海南菌群利用 (阳性率 >95%)，而 *S. fredii* 只能利用 9 种，*R. loti* 利用 19 种，*R.leguminosarum* 利用 4 种，第 5 群的两株菌 S25 和 S68 可以利用 10

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 http://journals.im.ac.cn

种。由此可见，海南菌群可利用的碳、氮源较广泛。

在抗菌素抗性分析的 24 个性状中，海南菌群的阳性反应室 (生长室) 是 7 个，阴性反应 (95% 以上的菌株不生长) 为 1 个； *S. fredii* 分别为 2 个和 14 个； *R. loti* 是 18 个和 0 个； *R. leguminosarum* 是 1 个和 20 个；第五菌群 (S25 和 S68) 是 11 个和 8 个。在其它 12 项抗性试验中，海南菌群的阳性反应为 6 个，阴性反应为 1 个； *S. fredii* 分别为 1 个和 2 个； *R. loti* 为 6 个和 2 个； *R. leguminosarum* 为 1 个和 4 个；S25 和 S68 群为 4 个和 4 个。海南快生型的抗逆性明显高于 *S. fredii* 和 *R. leguminosarum* 。

在我们的分析中还注意到，海南快生型根瘤菌中，来自同种寄主的不同菌株间在分类上也会有较大差异，其分类地位与寄主来源间没有必然联系。银合欢根瘤菌在这一点上表现得尤为突出。在供试的 10 株银合欢根瘤菌中，H7 和 H8 归属于 *S. fredii*；I66、H3、S38 和 S43 归在独立的海南根瘤菌群中；H11 属于 *R. leguminosarum*；H2 属于 *R.loti*；H14 和 S42 则单独存在。尽管 Weldlock 和 Jarvis[20] 把银合欢根瘤菌列为一个独立的 DNA 同源群，但我们和 Zhang 等 [18] 的研究结果都表明，银合欢根瘤菌中包含了分类地位不同的菌株。Crow 等 [19] 的 DNA 杂交结果也表明，银合欢根瘤菌是异源的。此外，山绿豆属 (*Desmodium*) 和柱花草属的根瘤菌也是异质的。

上述分析表明，海南快生型根瘤菌存在着不同的分类单元。而且，其分类群的划分与寄主来源之间没有明确的对应关系。一部分海南快生型根瘤菌与某些已知快生型根瘤菌关系密切，但其中大多数具有独立的分类地位。确切的结论还有待进一步的遗传学方法研究确定，它们与寄主的关系也应进一步做互接种试验来确定。

参 考 文 献

1. Jordan D C: Family III. *Rhizobiaceae* Conn 1938, p.234 — 244. In N. R. Krige and J. G. Holt (ed.), Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, vol. 1. The Williams & Wilkins Co., Baltimore, 1984.
2. Dreyfus B et al.: *Int. J. Syst. Baceriol.* **38**:89 — 98, 1988.
3. Chen W X et al.: *Int. J. Syst. Baceriol.* **38**:292 — 297, 1988.
4. Lindstrom K: *Int. J. Syst. Baceriol.* **39**:365 — 367, 1989.
5. Chen W X et al.: *Int. J. Syst. Baceriol.* **41**:275 — 280, 1991.
6. 陈文新等：中国农业科学， **20**:22 — 27, 1987 。
7. Martinez-Romero E et al.: *Int. J. Syst. Bacteriol.* **41**:417 — 426, 1991.
8. Dommergues Y R et al.: Nitrogen-fixing trees in tropics: potential and limitations, p7 — 8. In C. Veeger and W. E. Newton (ed.), Advances in nitrogen fixzation research. Proceedings of the 5th International Symposium on Nitrogen Fixation. Martinus Nijhoff/Dr Junk Publishers, Wageningen, The Netherlands, 1984.
9. Lindstrom K and S Lehtomaki: FEMS Microbiol. Lett. **50**:277 — 287, 1988.
10. Trinick M J: *J. Appl. Bacteriol.* **49**:39 — 53, 1980.
11. Vincent J M: A manual of the practical study of root-nodule bacteria. International Biological Program handbook 15. Blackwell Scientific Publications, Oxford. 1970.
12. White L O: *J. Gen. Microbiol.*, **72**:565 — 574, 1972.
13. Pagan J D et al.: *Nature* (London) **256**:406 — 407, 1975.
14. 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， p.176 — 177, 科学出版社， 1978 。
15. Pohlman G C: *Soil Sci.*, **31**:385, 1931.
16. Smibert R M and N R Krige: Chapter 20, General characterization, p.423, In Manual of Methods for General Bacteriology, Ammerican Society for Microbiology, Washington DC 20006, 1981.
17. Sneath P H A and R B Sokal: Numerical taxonomy, The principles and practice of numerical classification, W. H. Freeman and Co., San Francisco, 1973.
18. Zhang X P et al.: *Int. J. Syst. Bacteriol.* **41**:104 — 113. 1991.
19. Crow V L et al.: *Int. J. Syst. Bacteriol.* **31**:152 — 172, 1981.
20. Weldlock D N and B D W Jarvis: *Int. J. Syst. Bacteriol.* **36**:556 — 558, 1986.

(1991-10-21 收稿)

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 http://journals.im.ac.cn

DIVERSITY OF FAST-GROWING RHIZOBIA ISOLATED FROM ROOT NODULES OF LEGUMINOUS PLANTS IN HAINAN

Wang Entao Li Xiaohong Chen Wenxin

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

A total of 25 fast-growing rhizobium isolates from variety of leguminous plants in Hainan Province, a tropical region of China, and 7 representative strains of genera *Rhizobium, Sinorhizobium* and *Agrobacterium* were characterized by numerical taxonomy. The results indicated that rhizobium isolates from Hainan were taxonomically heterogenous. At the similarity level of 70%, 13 strains from Hainan formed a distinct group which could use wider range of carbon and nitrogen sources, and were more resistent to antibiotics and chemicals than known rhizobium species. 2 strains could not fall into any group, and the others fell into different known species respectively. There were no correlations between hosts and the taxonomic positions of their symbionts. The rhizobium isolates from the same host genus or speceis could fall into different groups.

Key words Diversity; Rhizobia; Tropical; Region; Numerical taxonomy

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 http://journals.im.ac.cn