



沙棘属植物弗兰克氏菌研究进展

张爱梅* 殷一然 孙坤

西北师范大学生命科学学院 甘肃 兰州 730070

摘要: 弗兰克氏菌(*Frankia* spp.)能够与沙棘等非豆科植物形成根瘤进行共生固氮,其固氮效率远远高于豆科植物根瘤菌,与沙棘共生的弗兰克氏菌还能够促进沙棘对旱寒等各种不同生境的适应性,是自然界一类具有开发潜力的放线菌资源。为了更好地开发利用弗兰克氏菌资源,推进弗兰克氏菌分类鉴定工作,加强弗兰克氏菌与寄主植物共生结瘤固氮的机制研究,促使弗兰克氏菌在农业生产中得到尽快应用,本文简要介绍沙棘属(*Hippophae* L.)物种多样性、结瘤状况与分布特点、沙棘根瘤形态结构与功能、弗兰克氏菌物种多样性与分布特征,讨论弗兰克氏菌的结瘤机制、生理生态效应与作用机制以及影响沙棘属植物与弗兰克氏菌共生的主要因子,以期为进一步开展沙棘属植物弗兰克氏菌的系统研究提供有价值的参考。

关键词: 沙棘, 弗兰克氏菌, 共生, 根瘤, 多样性

Research progress in *Frankia* spp. associated with *Hippophae* L.

ZHANG Ai-Mei* YIN Yi-Ran SUN Kun

College of Life Sciences, Northwest Normal University, Lanzhou, Gansu 730070, China

Abstract: *Frankia* spp. can form symbiotic nitrogen fixation with non-leguminous plants such as *Hippophae* spp., and its nitrogen fixation efficiency is much higher than that of legume rhizobia. *Frankia* spp. can also promote the resistance of drought and cold and the adaptability of various habitats for *Hippophae* spp.. *Frankia* spp. is a kind of actinomycete resources with developmental potential. The progress in *Frankia* spp. associated with *Hippophae* were introduced in order to develop and utilize *Frankia* spp., promote the classification and identification of *Frankia* spp., strengthen the mechanism of symbiotic nodulation and nitrogen fixation between *Frankia* spp. and host plants, and develop the application of *Frankia* spp. in agricultural as soon as possible. This paper reviews the research progress of the species diversity of *Hippophae* L., the nodulation status and distribution characteristics of *Hippophae* spp., as well as the morphology and functions of root nodules, the species diversity and distribution characteristics of *Frankia* spp.. The nodulation mechanism of *Frankia* spp., the physiological and ecological effects of *Frankia* spp., and the main symbiotic factors of *Frankia* spp. and *Hippophae* were discussed. This review can provide valuable reference for systematic research on *Frankia* spp. associated with *Hippophae* L.

Foundation items: National Natural Science Foundation of China (31360005); Postgraduate Training and Curriculum Reform Project of Northwest Normal University (2019KGLX01017)

*Corresponding author: E-mail: zhangaimai@nwnu.edu.cn

Received: 28-04-2020; **Accepted:** 12-08-2020; **Published online:** 26-08-2020

基金项目: 国家自然科学基金(31360005); 西北师范大学研究生培养与课程改革项目(2019KGLX01017)

*通信作者: E-mail: zhangaimai@nwnu.edu.cn

收稿日期: 2020-04-28; 接受日期: 2020-08-12; 网络首发日期: 2020-08-26

Keywords: *Hippophae* spp., *Frankia* spp., Symbiosis, Root nodule, Diversity

弗兰克氏菌(*Frankia* spp.)是一类能够与非豆科木本植物共生结瘤固氮的放线菌^[1-2], 具有极高的固氮效率, 能够促进植物根系的生长, 提高植物对矿质元素的吸收, 增强植物对旱寒等逆境的适应性等, 是自然界一类具有开发潜力的资源^[3]。对于弗兰克氏菌的研究, 主要集中在分离培养^[4-5]、结瘤固氮^[6]、生理生化特征分析^[7]、分子特性^[8]以及不同寄主来源多样性等方面。截至目前, 全球已发现与弗兰克氏菌共生的非豆科结瘤植物有 8 科 25 属 279 种^[9], 沙棘为其中之一。

沙棘 (*Hippophae* spp.) 为胡颓子科 (*Elaeagnaceae*) 灌木或亚乔木, 其根系发达, 可适应贫瘠干旱及高寒环境, 具有重要的生态价值^[10]。沙棘属植物生态适应性很广, 可能与其能够和弗兰克氏菌形成固氮根瘤有关。弗兰克氏菌与沙棘共生固氮, 其固氮能力是大豆根瘤菌的 2 倍, 能起到改良土壤, 并给其他后来树种创造良好环境的作用^[5], 因此, 沙棘常被作为改善生态环境的“先锋植物”。对于沙棘属植物弗兰克氏菌的研究, 主要针对不同沙棘树种开展过结瘤固氮^[6]、分离培养^[4,7,11]、生理生化特性分析^[12-13]、分子鉴定及多样性^[8,14-15]等方面的工作。本文对沙棘属植物弗兰克氏菌的研究现状做一概述, 以期为系统了解沙棘弗兰克氏菌的研究提供参考。

1 沙棘属植物物种多样性、分布特点与结瘤状况

1.1 沙棘属植物物种多样性与分布特点

沙棘属植物包括 7 种 11 亚种, 其地理分布为南起喜马拉雅山南坡的尼泊尔和锡金, 北至波罗的海沿岸的芬兰, 东抵俄罗斯贝加尔湖以东地区, 西到地中海沿岸的西班牙^[10,16-17], 如表 1 所示。

我国境内分布的沙棘属植物主要有中国沙

棘、西藏沙棘、肋果沙棘、棱果沙棘、云南沙棘、卧龙沙棘、柳叶沙棘、密毛肋果沙棘、理塘沙棘和江孜沙棘等, 主要分布于横断山区至青藏高原及其边缘地区。以我们课题组主要研究的中国沙棘、西藏沙棘、棱果沙棘和肋果沙棘为例来说, 4 种沙棘的分布各有特点。中国沙棘从我国西南到东北, 在海拔 400–3 100 m 之间均有分布, 甚至在海拔 3 700 m 的地区也有分布, 而且不同区域分布的中国沙棘既有栽培种也有野生种^[16]。西藏沙棘是青藏高原上的特有种之一, 主要分布于四川、甘肃、青海和西藏, 分布于海拔 2 700–5 300 m 之间^[21]。棱果沙棘主要分布于较低纬度地区(四川、云南、西藏接触地区, 即康滇古陆区)较高海拔地带的特化边缘居群^[22]。肋果沙棘主要分布于横断山区和青藏高原高海拔地区, 生长在海拔 2 300–4 200 m 的生境^[20]。

1.2 沙棘属植物的结瘤状况

非豆科植物与弗兰克氏菌共生形成的根瘤在形态结构和发育特点方面均与豆科植物和根瘤菌形成的根瘤不同。非豆科植物根瘤是在弗兰克氏菌的刺激作用下形成的珊瑚状瘤簇, 呈不规则球形或大致球形^[23]。沙棘属植物的繁殖主要以分蘖为主, 根生长迅速, 在一个三年生的沙棘根系上可以看到一个非常广、结瘤非常多的庞大根瘤固氮体系^[24-25]。通常情况下, 沙棘属植物的主根有弗兰克氏菌的菌丝侵入, 但不形成根瘤^[24], 其菌丝主要在沙棘的侧根形成根瘤, 1 级侧根结瘤最多且瘤体大^[4]; 2–3 级侧根次之, 虽有不少瘤块, 但体积小, 数量少^[4]。

我们研究发现, 中国沙棘主根一般无着生根瘤; 西藏沙棘主根和侧根上均可着生根瘤, 但主根上着生的根瘤较大; 棱果沙棘 1 级侧根形成的根瘤最多且瘤块较大; 肋果沙棘的根瘤主要着生于 2–3 级侧根^[4]。图 1 展示了我们采集的 4 种不同沙棘的根瘤形态及着生状况。

表 1 沙棘属植物的种类及分布

Table 1 Species and distribution of *Hippophae* L.

分组 Group	种名 Species	亚种名 Subspecies	地理分布 Geographical distribution	常见分布海拔 Common distribution elevation (m)	参考文献 References
无皮组 Sect. <i>Hippophae</i>	鼠李沙棘 <i>H. rhamnoides</i> L.	中国沙棘	横断山至西北、华北地区	400-3 100	[17]
		<i>H. rhamnoides</i> subsp. <i>sinensis</i> Rousi	From Hengduan mountain to northwest and north of China		
		云南沙棘	横断山地区	2 200-3 500	[10]
		<i>H. rhamnoides</i> subsp. <i>yunnanensis</i> Rousi	Hengduan mountain		
		卧龙沙棘	横断山地区	1 800-2 400	[10,18]
		<i>H. rhamnoides</i> subsp. <i>wolongensis</i> Lian, K. Sun et X. L. Chen	Hengduan mountain		
		中亚沙棘	中亚地区	1 200-3 700	[10]
		<i>H. rhamnoides</i> subsp. <i>turkestanica</i> Rousi	Central Asia		
		蒙古沙棘	阿尔泰至西伯利亚和蒙古	1 200-1 800	[10]
		<i>H. rhamnoides</i> subsp. <i>mongolia</i> Rousi	From Altai to Siberia and Mongolia		
		高加索沙棘	高加索地区	1 000-2 500	[10,19]
		<i>H. rhamnoides</i> subsp. <i>caucasia</i> Rousi	Caucasus		
		喀尔巴千山沙棘	阿尔卑斯山地区	0-380	[10,19]
		<i>H. rhamnoides</i> subsp. <i>carpatica</i> Rousi	Alps region		
		海滨沙棘	波罗的海、北海海滨及大西洋挪威海岸	0-1 100	[10,19]
		<i>H. rhamnoides</i> subsp. <i>rhamnoides</i> Rousi	Baltic Sea, North Sea coast and Atlantic Norwegian coast		
有皮组 Sect. <i>Gyantsenses</i> Lian	柳叶沙棘 <i>H. salicifolia</i> D. Don	溪生沙棘	阿尔卑斯山地区	100-1 900	[10,19]
		<i>H. rhamnoides</i> subsp. <i>fluviatilis</i> Van Soest	Alps region		
		密毛肋果沙棘	喜马拉雅地区	1 500-3 000	[10,17]
		<i>H. neurocarpa</i> subsp. <i>stellatopilosa</i> Lian et al. ex Swenson et Bartish	Himalayas		
		肋果沙棘	横断山地区	3 400-4 400	[10,17]
		<i>H. neurocarpa</i> subsp. <i>neurocarpa</i>	Hengduan mountain		
		理塘沙棘	横断山和青藏高原地区	2 300-4 200	[10,17,20]
		<i>H. litangensis</i> Lian et X. L. Chen ex Swenson et Bartish	Hengduan mountains and the Tibetan plateau		
		棱果沙棘	横断山地区	3 700	[10]
		<i>H. goniocarpa</i> Lian et al. ex Swenson et Bartish	Hengduan Mountain		
江孜沙棘 <i>H. gyantsensis</i> (Rousi) Lian	西藏沙棘 <i>H. tibetana</i> Schlechtend	棱果沙棘	横断山和青藏高原地区	2 700-3 650	[17]
		<i>H. goniocarpa</i> Lian et al. ex Swenson et Bartish	Hengduan mountain and Qinghai-Tibetan plateau		
		江孜沙棘	青藏高原地区	2 600-5 000	[17]
		<i>H. gyantsensis</i> (Rousi) Lian	Qinghai-Tibetan plateau		
西藏沙棘	青藏高原及边缘地区	2 700-5 300	[17]		
<i>H. tibetana</i> Schlechtend	Qinghai-Tibet plateau and its marginal areas				

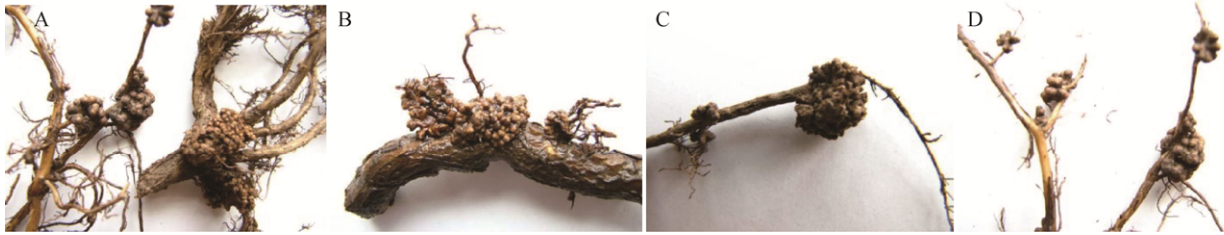


图 1 4种沙棘的根瘤形态及着生部位

Figure 1 Nodules morphology and sites of four *Hippophae* spp.

注: A: 中国沙棘; B: 西藏沙棘; C: 棱果沙棘; D: 肋果沙棘.

Note: A: *H. rhamnoides* subsp. *sinensis* Rousi; B: *H. tibetana* Schlechtend; C: *H. goniocarpa* Lian et al. ex Swenson et Bartish; D: *H. neurocarpa* S. W. Liu et T. N. He.

2 沙棘属植物根瘤形态结构与功能

2.1 沙棘属植物根瘤的表观形态

由弗兰克氏菌侵染非豆科植物所形成的根瘤,在形态学上不同于豆科植物的根瘤。豆科植物的根瘤大致分为定型根瘤和不定型根瘤两种,前者的原基起始于外皮层细胞,后者则起始于内皮层细胞^[26]。

沙棘属植物根瘤是以瘤瓣为基本单位,由粗短珊瑚状瘤瓣组成瘤块^[7]。我们研究发现,不同沙棘根瘤瘤瓣大小不同,西藏沙棘根瘤的瘤瓣最大,直径可达 4–5 cm,肋果沙棘的根瘤较小,直径近 0.7 cm;沙棘根瘤幼时较小,圆形,表面光滑,成熟时根瘤较大,表面粗糙,有的还发展为复合瘤;生长多年的沙棘根瘤,由于分叉增多,能形成球状瘤簇,有时可将根部环绕一圈^[4]。

我们研究还发现,同一采样时间采集的不同种沙棘根瘤还具有不同的颜色,中国沙棘随着生长期的逐渐增加,根瘤颜色从淡黄或乳白色,逐渐变为土黄色,甚至呈棕褐色^[4];西藏沙棘根瘤颜色较中国沙棘要深一些。有研究发现,沙棘有效根瘤为褐色或肉色,无效根瘤为黑色或白色,而小根瘤尚未发育完全成熟,颜色为乳白色,但也是有效根瘤^[27]。

2.2 沙棘属植物根瘤的解剖形态

对沙棘根瘤的解剖学研究多采用切片法。晋坤贞等^[27]应用切片法观察了中国沙棘根瘤形成过程,发现弗兰克氏菌的侵入使皮层外凸最终形成

根瘤,研究还观察到弗兰克氏菌的泡囊等结构的发育特点。张情等^[28]对中国沙棘瘤瓣的解剖结构和根瘤内弗兰克氏菌的生长发育过程进行了研究,结果表明,弗兰克氏菌在侵染细胞内以菌丝体、泡囊和孢子囊 3 种不同的形式存在。

目前对沙棘根瘤解剖形态的研究只局限于中国沙棘,还应深入开展其他沙棘根瘤的解剖形态观察。由于沙棘根瘤共生弗兰克氏菌难于实现纯培养,采用切片观察时,不仅可以观察到根瘤内弗兰克氏菌的定殖情况,明确弗兰克氏菌在沙棘根瘤中的形态,还能深入探究根瘤结构和发育特点同弗兰克氏菌之间的关系。

2.3 沙棘属植物根瘤的功能

微生物-植物共生固氮体系在生态系统中具有重要的生态功能,不论是豆科植物-根瘤菌还是非豆科植物-弗兰克氏菌共生体系,都可以通过生物固氮提高土壤肥力,增强植物的生态适应性,促进生态系统的植被恢复^[29]。

沙棘属植物根瘤中的弗兰克氏菌通过生物固氮作用将大气中的 N_2 固定,并转化为可供沙棘吸收的氮素,促进沙棘生长,因而沙棘属植物能够在干旱贫瘠的生境生存,作为“先锋植物”改善生态环境^[8]。

3 沙棘属植物弗兰克氏菌的多样性与分布特征

3.1 沙棘属植物弗兰克氏菌的多样性

自 1978 年 Callaham 等^[30]首次获得弗兰克氏菌

纯培养以来, 非豆科植物根瘤弗兰克氏菌的研究有了突破性进展^[27]。已有学者从不同的寄主植物中分离到相同的弗兰克氏菌, 同一寄主植物中也存在着不同种的弗兰克氏菌^[31-32]。

对于沙棘属植物弗兰克氏菌, 早在 1982 年 Burggraaf 等^[33]就从沙棘根瘤中分离到弗兰克氏菌的纯培养物; 随后, 吴阳等^[34]从中国沙棘根瘤中分离到 8 株弗兰克氏菌; 李利坤^[31]从大果沙棘根瘤中分离得到 5 株弗兰克氏菌。陈立红等^[35]对从青海西宁到内蒙古库伦 17 个地点采集的 106 个中国沙棘根瘤样品, 利用 PCR-RFLP 分子标记方法研究发现, 中国沙棘根瘤内的弗兰克氏菌具有丰富的遗传多样性。Khan 等^[14]对生长在锡金北部的柳叶沙棘, 应用扩增子限制模式 (amplicon restriction patterns, ARPs) 研究发现, 柳叶沙棘根瘤中的弗兰克氏菌存在遗传多样性。吴少慧等^[15]通过核糖体 DNA 扩增片段限制性内切酶分析 (amplified ribosomal DNA restriction analysis, ARDRA) 法直接扩增来自沙棘属植物根瘤内弗兰克氏菌的 DNA, 研究也发现沙棘属植物弗兰克氏菌具有丰富的遗传多样性。

以上研究均表明, 沙棘属植物弗兰克氏菌具有丰富的多样性。但由于弗兰克氏菌纯培养时生长缓慢且易受杂菌污染, 目前对沙棘属植物弗兰克氏菌分离到的菌株数量还很有限; 然而现代分子生物学技术实现了弗兰克氏菌的免培养, 对其多样性的研究更加方便, 但这些方法都不能获得弗兰克氏菌的纯培养, 使得弗兰克氏菌的分类研究停留在有限的菌株范围内, 因此难以证明其定种的广泛性和可能性^[8,36]。

3.2 沙棘属植物弗兰克氏菌的分布特征

弗兰克氏菌在自然界有 2 个重要的生态位, 分别是土壤和寄主植物的根瘤^[37]。长期以来, 人们对弗兰克氏菌的认识主要是基于其作为根瘤中的内生菌, 直至 Baker 等^[38]从根瘤和土壤中分离得到该菌的纯培养之后, 才认识到弗兰克氏菌不仅存在于根瘤中, 还可以在土壤中营腐生生活。

对于沙棘属植物根瘤中弗兰克氏菌的研究已有大量报道^[39-42]。Tekaya 等^[43]利用定量 PCR 技术证实了在鼠李沙棘根际土壤中也分布有弗兰克氏菌。我们课题组采用高通量测序技术发现西藏沙棘根际土壤中也存在弗兰克氏菌, 但相对丰度较小, 仅为 0.02%^[39]。其实, 弗兰克氏菌在沙棘组织中的分布不仅局限于根瘤中, 在沙棘其他组织中也有弗兰克氏菌的定殖。目前我们课题组通过高通量测序方法, 对西藏沙棘的根瘤、茎、枝、叶和种子^[44]等组织进行弗兰克氏菌的研究也发现, 弗兰克氏菌不仅能够在西藏沙棘的根瘤中定殖, 而且在其茎、枝、叶和种子也均检测到有少量弗兰克氏菌的分布, 但各组织之间弗兰克氏菌的相对丰度各不相同。因此, 对沙棘属植物弗兰克氏菌的组织专化性也需进一步通过研究来验证。

4 沙棘属植物结瘤机制

4.1 根瘤弗兰克氏菌侵染机制

土壤被誉为微生物的“天然培养基”, 土壤中生活着种类繁多的微生物, 包括弗兰克氏菌^[11]。土壤中的弗兰克氏菌不仅能够长期存活, 而且还可以侵入沙棘等寄主植物的根部, 形成根瘤。目前认为弗兰克氏菌侵染沙棘根部的途径主要有两种方式, 一是从根毛侵染, 另一种是从根皮层薄壁细胞间侵入^[37]。

弗兰克氏菌从沙棘的根毛进行侵染时, 由于根毛初生壁的外层覆盖着一层黏液层, 当弗兰克氏菌菌丝遇到黏液层时, 黏液层包裹在菌丝表面, 使弗兰克氏菌释放纤维素酶等水解酶类, 初生壁的微纤维结构被软化, 加之弗兰克氏菌的侵入使沙棘内源性水解酶被激活, 二者相互作用共同促进初生壁的分解, 使得弗兰克氏菌的菌丝侵入根毛^[45]。根毛初生壁内侧迅速增厚, 形成了很多不规则的内生壁, 内生壁不断增生变粗, 阻止根毛的进一步降解, 从而使弗兰克氏菌的侵入更加有利^[37]。

弗兰克氏菌侵染沙棘根部的另一条途径,是从沙棘根皮层薄壁细胞间侵入。弗兰克氏菌丝体在根表皮上生长时,接受到某些特定信号后,菌丝体开始侵入表皮细胞之间的胞间层^[7]。随着菌体进入胞间层中,沙棘分泌一种基质环绕在菌体周围,弗兰克氏菌菌体可消耗基质而生长,并在胞间层中继续向深部侵染;弗兰克氏菌侵染沙棘根部的两条途径中,从根毛侵染比从根皮层侵染在进化上更为先进,侵染的过程和条件也更为复杂,弗兰克氏菌侵染沙棘根部的方式主要是从沙棘的根毛进行侵染^[37]。

4.2 弗兰克氏菌结瘤过程与机制

放线菌结瘤植物被弗兰克氏菌侵染后形成根瘤^[37],在根瘤形成过程中,寄主植物和菌体双方所产生的结瘤素(nodulin)促进了根瘤的形成。结瘤素包含各种不同物质,弗兰克氏菌释放的苯乙酸可促进结瘤;根薄壁细胞中的苯丙氨酸脱氨酶和查耳酮合酶也能诱导根瘤的形成^[37]。

结瘤素通过刺激被侵染的皮层寄主细胞转变成传递细胞,进而转运至中柱鞘细胞,由于中柱鞘细胞的分生活动而诱导形成根瘤原基;根瘤原基细胞继续进行分裂和分化,在被侵染根毛区部位形成前根瘤;前根瘤进一步生长,形成了突出表皮外的初生根瘤,初生根瘤继续生长成熟后,随着瘤瓣内酚类化合物等含量的不断增加,瘤瓣颜色最终成为棕褐色^[6]。Dobritsa等^[46]研究发现,弗兰克氏菌侵染沙棘并结瘤的过程存在一个反馈调节的过程,这个反馈调节能够很好地抑制弗兰克氏菌的过度结瘤。

5 沙棘属植物弗兰克氏菌的生理生态效应及其作用机制

5.1 提高土壤肥力及其作用机制

弗兰克氏菌与沙棘共生形成根瘤,其主要功能是固氮,而且其固氮能力大,为沙棘在贫瘠土壤生存提供了必需的氮素,提高了土壤的肥力。根瘤是固氮必要的场所和生境条件,弗兰克氏菌

固氮功能是由其特殊的“泡囊”结构来实现的^[47]。泡囊是弗兰克氏菌在共生和培养条件下存在的显著的细胞鉴别特征^[46],是固氮过程中 N_2 转化形成 NH_3 的场所^[47]。泡囊中储存大量固氮有关的物质,包括固氮酶,弗兰克氏菌固氮作用的强弱受到固氮酶的直接影响,固氮酶由结构基因 *nifHDK* 所编码^[48-49];而且固氮酶遇氧气会失活,进而影响固氮过程,但泡囊壁中高含量的类何帕烷脂可以防止氧气对固氮酶造成伤害^[47]。因此,在弗兰克氏菌的固氮过程中,高效的固氮酶及完备的固氮条件既完成了 N_2 向 NH_3 的转化,也实现了沙棘对氮的吸收。

5.2 促进植株生长及其作用机制

弗兰克氏菌与沙棘结瘤共生可以促进沙棘的生长。李元旦等^[50]利用一株从中国沙棘根瘤中分离到的弗兰克氏菌,对水培中国沙棘小苗进行侵染结瘤试验发现,弗兰克氏菌的成功侵染结瘤能够明显地促进沙棘植株的生长,结瘤植株的总生物量约高于对照植株的2倍,而且弗兰克氏菌通过结瘤能够使沙棘的落叶延迟。李利坤等^[51]将从大果沙棘根瘤中分离到的弗兰克氏菌进行回接试验,发现弗兰克氏菌不仅能够促进沙棘根部的结瘤,而且能够明显提高沙棘植株叶绿素等指标含量,进而促进沙棘植株的生长。也有研究表明,弗兰克氏菌能够产生水解酶、吲哚类、铁螯合性铁载体和苯并萘醌类代谢物,可见弗兰克氏菌能够促进沙棘的生长和发育,可能与其能够产生吲哚-3-乙酸(indole-3-acetic, IAA)、苯乙酸等植物激素以及其他生物活性代谢物等有关,而且其所产生的IAA和苯乙酸的浓度能够维持在较高水平^[52],对沙棘植株的生长具有显著的促进作用。

5.3 抗胁迫及其机制

沙棘具有耐干旱、耐盐碱、耐酸性、耐水湿^[5]等特性,能够在贫瘠的生境生长,这与其共生的弗兰克氏菌能够抵抗多种形式的胁迫^[53],而且能够在极端温度环境和氮饥饿的状态下生存的

特性有关^[54]。Srivastava 等^[55]对柳叶沙棘中的弗兰克氏菌菌株 Hsli10 进行盐胁迫试验, 发现 Hsli10 表现出较好的多因素协同调节能力, 能承受很大程度的盐胁迫作用; 同时有研究表明, 弗兰克氏菌的细胞膜修饰作用可能是胁迫反应系统的一个重要组成部分^[56], 使得弗兰克氏菌能够在盐胁迫下进行生存^[57]。

5.4 与菌根菌联合增效作用及其机制

沙棘的营养根系能够被弗兰克氏菌感染形成根瘤, 也能够被菌根真菌感染形成菌根。何兴元等^[58]人工构建了沙棘-弗兰克氏菌-VA 菌根真菌的联合共生体, 利用盆栽试验, 通过回接技术定量研究了 VA 菌根真菌和弗兰克氏菌对中国沙棘生长的促进作用, 发现 VA 菌根真菌与弗兰克氏菌对沙棘的生长具有联合增效作用。Tian 等^[59]利用西藏沙棘根瘤弗兰克氏菌和 VA 菌根真菌, 通过盆栽回接发现, VA 菌根真菌和弗兰克氏菌单独接种可以促进沙棘的固氮结瘤, 但双重接种对沙棘生长的促进作用和固氮能力的提高更为显著。任嘉红等^[60]通过 AMF 和弗兰克氏菌的混合接种试验, 发现 AMF 和弗兰克氏菌之间存在联合增效作用, 混合接种对沙棘苗木具有显著的促生长作用。可见, 弗兰克氏菌能够与沙棘、菌根真菌联合形成沙棘-弗兰克氏菌-菌根真菌三位一体的共生关系, 对沙棘生长具有联合增效的优势^[60-61]。沙棘能够在贫瘠的生境生长, 常会缺乏氮磷等矿质元素, 弗兰克氏菌能够促进沙棘对氮的吸收, 而菌根真菌的存在能提高沙棘对磷的吸收利用^[62-63], 二者共同存在, 起到对沙棘的联合增效作用。

6 影响沙棘属植物与弗兰克氏菌共生的主要因子

6.1 海拔

沙棘属植物海拔分布范围广(0-5 300 m), 不同海拔生长的沙棘中弗兰克氏菌丰度有所不同^[58]。我们课题组对所采集的不同海拔的中国沙棘、西藏沙棘、棱果沙棘和肋果沙棘根瘤, 采用

切片法, 经分离培养发现, 不同海拔可以分离到不同的弗兰克氏菌菌株^[4]。我们课题组还对生长在 3 种不同海拔的西藏沙棘根瘤弗兰克氏菌等内生菌进行高通量测序, 发现弗兰克氏菌在 3 个海拔(3 027、3 251 和 3 593 m)的丰度分别为 28.2%、29.8%和 29.1%^[64]。可见, 海拔是影响与沙棘共生的弗兰克氏菌的主要因素之一^[23], 了解不同海拔沙棘根瘤中的弗兰克氏菌差异, 对弗兰克氏菌的多样性研究具有重要意义。

6.2 土壤

土壤-弗兰克氏菌-沙棘形成了一个特殊的生态系统, 土壤性质会影响弗兰克氏菌的分布及沙棘的生长。我们课题组以生长在甘肃省和青海省的中国沙棘、西藏沙棘、棱果沙棘和肋果沙棘为材料, 研究土壤对沙棘根瘤的影响, 发现土壤沙石含量及水分含量均对根瘤颜色、瘤瓣大小及结瘤量具有影响^[4]。张明明^[1]探讨了土壤主要营养因子(有机质、碱解氮、速效磷和速效钾)与沙棘林地及根瘤中弗兰克氏菌的关系, 发现弗兰克氏菌的相对丰度与 5 个环境因子之间呈正相关, 土壤中全钾含量与弗兰克氏菌的相对丰度密切相关。胡建忠等^[65]对不同林地土层的沙棘根瘤数进行统计发现, 10-20 cm 土壤中有根瘤分布的林地最多。以上研究均表明, 土壤类型、土壤营养因子和土层深度等因素都是影响沙棘与弗兰克氏菌共生的主要因子, 它们不仅影响沙棘根瘤的颜色, 还影响根瘤的数量。然而种植过沙棘的土壤再用来进行沙棘的盆栽试验时, 发现沙棘结瘤数与土层深度有关, 10-30 cm 深度的土壤更适于弗兰克氏菌的生长繁殖, 根部结瘤数相对最多, 而且结瘤越多的沙棘植株其长势越好。

6.3 气候

沙棘根瘤与弗兰克氏菌固氮作用的强弱还受季节变化的影响。王子科等^[66]于 6-11 月份的每月中旬在沙棘林随机挖取沙棘根瘤样品进行根瘤固氮酶活性测定, 结果发现, 6 月份固氮酶活性进入高峰期, 10 月份根瘤固氮活性下降, 11 月份根瘤

则测不出固氮活性。弗兰克氏菌在沙棘根瘤中的分布也受到降水量以及其他气候因素的影响。张明明^[1]探讨了年平均降雨量与沙棘林地及根瘤中弗兰克氏菌相对丰度之间的关系,发现弗兰克氏菌的相对丰度和年平均降雨量之间呈显著正相关。因此,弗兰克氏菌的数量与其固氮酶活性高低有关,良好的水分供应有利于弗兰克氏菌对沙棘根系的侵染,进而提高其固氮能力^[67]。

6.4 沙棘树龄

沙棘的树龄不同,导致根系的生长和发育各不相同,进而影响着与其共生的弗兰克氏菌的固氮作用。张吉科等^[6]对不同树龄的沙棘根瘤测定了固氮能力,发现成年株(13–16 a)每年每公顷固氮量(179 kg)远高于幼株(0–3 a)的固氮量(27 kg),可见树龄大的沙棘较树龄小的沙棘而言其固氮能力更高,主要原因是树龄大的沙棘新分生出的鲜瘤瓣绝对数量远大于树龄小的沙棘。

7 总结与展望

弗兰克氏菌具有极高的固氮效率,能够促进植物根系的生长,提高植物对矿质元素的吸收,增强植物对旱寒等逆境的适应性等,是自然界一类具有开发潜力的放线菌资源^[68–69]。

近年来,研究者在沙棘属植物弗兰克氏菌的分离鉴定及多样性等系统研究上已取得了一定的成效。但因弗兰克氏菌分离培养周期长,一般需要20 d左右甚至1个月才可以长出菌丝,培养时很容易受到其他快生型的微生物污染,因此分离到的弗兰克氏菌菌株数量极其有限,并且大部分寄主植物的弗兰克氏菌仍未分离得到纯培养,使得弗兰克氏菌的分类鉴定及其他研究进展依然缓慢^[31]。当前从放线菌结瘤植物根瘤中分离弗兰克氏菌的方法主要有根瘤切片法^[4]、蔗糖密度梯度离心法^[69]、酶解法^[30]、稀释法^[70]和组织培养法^[71]等,所使用的培养基主要有BAP培养基、QMOD培养基、JA培养基、S和S+T培养基等^[72]。然而截至目前还没有哪一种方法适合所有放线菌结瘤植物中弗兰克氏菌的分

离,也没有哪一种培养基适合不同寄主来源的弗兰克氏菌的分离。因此,选择合适的分离培养基,探寻培养弗兰克氏菌的最适条件,尝试弗兰克氏菌的富集培养,对获得更多有价值的弗兰克氏菌具有重要的研究意义。

此外,国内外目前对弗兰克氏菌的研究有很大一部分工作还是集中在放线菌结瘤植物弗兰克氏菌菌株分离、种类鉴定和类群划分上^[73],而且其属以下的分类至今还缺乏统一的指标^[74]。随着高通量测序技术在微生物多样性研究中的应用^[64],结合其他分子生物学技术探索开展弗兰克氏菌种水平的研究,可能最终会解决弗兰克氏菌的定种问题^[5]。因此,借助更多更新的研究手段开展沙棘属植物弗兰克氏菌的分离培养及分类鉴定,对弗兰克氏菌的分类研究具有一定的促进作用。另外,探索弗兰克氏菌与寄主植物共生结瘤固氮的机制,扩大其寄主植物范围^[75],或者利用其高效的固氮能力,开发高效低廉的弗兰克氏菌菌肥,才有可能使其在农业生产中发挥更大的潜能。

REFERENCES

- [1] Zhang MM. Bacterial diversity of soils and nodules in *Hippophae rhamnoides* forests and the relationship with soil nutrient in Shaanxi[D]. Xianyang: Master's Thesis of Northwest A & F University, 2019 (in Chinese)
张明明. 陕西沙棘林地土壤和根瘤的细菌多样性及与土壤养分的关系[D]. 咸阳: 西北农林科技大学硕士学位论文, 2019
- [2] Ghodhbane-Gtari F, Beauchemin N, Bruce D, et al. Draft genome sequence of *Frankia* sp. strain CN3, an atypical, noninfective (Nod⁻) ineffective (Fix⁻) isolate from *Coriaria nepalensis*[J]. Genome Announcement, 2013, 1(2): e00085-13
- [3] Lee JT, Tsai SM. The nitrogen-fixing *Frankia* significantly increases growth, uprooting resistance and root tensile strength of *Alnus formosana*[J]. African Journal of Biotechnology, 2018, 17(7): 213-225
- [4] Zhang AM, Niu SQ, Sun K, et al. Study on the root nodules features of *Hippophae* and *Frankia* isolation[J]. Grassland and Turf, 2010, 30(2): 43-46 (in Chinese)
张爱梅, 牛世全, 孙坤, 等. 沙棘属植物结瘤特性及 *Frankia* 根瘤菌分离[J]. 草原与草坪, 2010, 30(2): 43-46
- [5] Zhang AM. Study on cultivable microorganism of

- Hippophae* rhizosphere[D]. Lanzhou: Master's Thesis of Northwest Normal University, 2008 (in Chinese)
张爱梅. 沙棘属植物根际可培养微生物的初步研究[D]. 兰州: 西北师范大学硕士学位论文, 2008
- [6] Zhang JK, Lin W. Formation and nitrogen fixation of Seabuckthorn nodules[J]. *Hippophae*, 1995(3): 7-9 (in Chinese)
张吉科, 林伟. 沙棘根瘤的形成与固氮能力[J]. *沙棘*, 1995(3): 7-9
- [7] Zhang Q. Morphology and structure of root nodules of *Hippophae rhamnoides* and isolation and identification of bacteria in the nodules[D]. Xianyang: Master's Thesis of Northwest A & F University, 2019 (in Chinese)
张倩. 沙棘根瘤形态结构及根瘤细菌的分离鉴定[D]. 咸阳: 西北农林科技大学硕士学位论文, 2019
- [8] Xu RR. The isolation, culture and molecular identification of *Frankia* and non-*Frankia* actinomycetes from *Hippophae rhamnoides* root nodules[D]. Beijing: Master's Thesis of Chinese Academy of Forestry, 2011 (in Chinese)
徐瑞瑞. 沙棘弗兰克氏和非弗兰克氏放线菌的分离、培养及分子鉴定[D]. 北京: 中国林业科学研究院硕士学位论文, 2011
- [9] Xie YQ. Biological characteristics of *Frankia* isolated from different actinorhizal plants[J]. *Chinese Journal of Applied & Environmental Biology*, 2009, 15(5): 645-649 (in Chinese)
谢一青. 不同宿主植物根瘤 *Frankia* 及其生物学特性[J]. *应用与环境生物学报*, 2009, 15(5): 645-649
- [10] Chen XL, Ma RJ, Sun K, et al. Germplasm resource and habitat types of Seabuckthorn in China[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2003, 23(3): 451-455 (in Chinese)
陈学林, 马瑞君, 孙坤, 等. 中国沙棘属种质资源及其生境类型的研究[J]. *西北植物学报*, 2003, 23(3): 451-455
- [11] Qu DM, Wang S, Han SH. Nitrogen fixing root nodules and its *Frankia* endophyte of *Hippophae rhamnoides* L.[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 1998, 18(1): 60-65 (in Chinese)
曲东明, 王双, 韩善华. 沙棘共生固氮根瘤及其内生弗兰克氏菌[J]. *西北植物学报*, 1998, 18(1): 60-65
- [12] Sun HJ, Ding J, Su FY, et al. Serological relationship of *Frankia* from seven hosts[J]. *Journal of Microbiology*, 1991, 11(1): 82 (in Chinese)
孙慧君, 丁鉴, 苏凤岩, 等. 七个属寄主来源的 *Frankia* 的血清学关系[J]. *微生物学杂志*, 1991, 11(1): 82
- [13] Zhang DH, Su FY, Ding J, et al. Analysis of the whole cell protein patterns of *Frankia* strains[J]. *Journal of Microbiology*, 1991, 11(1): 38-42 (in Chinese)
张道海, 苏凤岩, 丁鉴, 等. *Frankia* 菌全细胞可溶性蛋白质图谱分析及分类[J]. *微生物学杂志*, 1991, 11(1): 38-42
- [14] Khan A, Myrold DD, Misra AK. Molecular diversity of *Frankia* from root nodules of *Hippophae salicifolia* D. Don found in Sikkim[J]. *Indian Journal of Microbiology*, 2009, 49(2): 196-200
- [15] Wu SH, Zhang HW, Xiong Z, et al. Biodiversity of *Frankia* strains in nodules from *Alnus* and *Hippophae* by ARDRA[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2001, 12(6): 883-886 (in Chinese)
吴少慧, 张惠文, 熊智, 等. ARDRA 对植物根瘤内共生放线菌 *Frankia* 多样性的研究[J]. *应用生态学报*, 2001, 12(6): 883-886
- [16] Wang RX. Phylogeography of *Hippophae rhamnoides* spp. *sinensis*[D]. Lanzhou: Master's Thesis of Northwest Normal University, 2013 (in Chinese)
王瑞雪. 中国沙棘谱系地理学研究[D]. 兰州: 西北师范大学硕士学位论文, 2013
- [17] Sun K, Chen X, Ma R, et al. Molecular phylogenetics of *Hippophae* L. (Elaeagnaceae) based on the internal transcribed spacer (ITS) sequences of nrDNA[J]. *Plant Systematics and Evolution*, 2002, 235(1-4): 121-134
- [18] Du LL, Chen C, Li YZ, et al. Determination of the polyphenols in berries of *Hippophae rhamnoides* subsp. *wolongensis*[J]. *West China Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2015, 30(3): 336-338 (in Chinese)
杜蕾蕾, 陈雏, 李亚真, 等. 卧龙沙棘果实中多酚类成分的含量测定[J]. *华西药学杂志*, 2015, 30(3): 336-338
- [19] Hu JZ. Natural Seabuckthorn resources in Qinghai-Tibet Plateau[J]. *Soil and Water Conservation in China*, 2019(5): 3-4, 71-72 (in Chinese)
胡建忠. 青藏高原的天然沙棘资源[J]. *中国水土保持*, 2019(5): 3-4, 71-72
- [20] Li N, Jiang YF, Su X, et al. Genetic diversity and genetic structure of the northern margin populations of *Hippophae neurocarpa*[J]. *Guihaia*, 2016, 36(5): 557-563 (in Chinese)
李霓, 蒋严妃, 苏雪, 等. 肋果沙棘北缘居群的遗传多样性与遗传结构[J]. *广西植物*, 2016, 36(5): 557-563
- [21] Wang H. Phylogeography of *Hippophae tibetana* Schlecht.[D]. Shanghai: Master's Thesis of Fudan University, 2011 (in Chinese)
王昊. 西藏沙棘的谱系地理学研究[D]. 上海: 复旦大学硕士学位论文, 2011
- [22] Lian YS, Chen XL, Liu YL, et al. Study on the speciation of *Hippophae goniocarpa*[J]. *Journal of Northwest Normal University (Natural Science)*, 1997, 33(4): 42-51 (in Chinese)
廉永善, 陈学林, 刘艳玲, 等. 棱果沙棘物种形成的研究[J]. *西北师范大学学报: 自然科学版*, 1997, 33(4): 42-51

- [23] Ning CH, Li WB, Liu RJ. Research advances in plant symbiotic actinomycetes[J]. Chinese Journal of Ecology, 2019, 38(1): 256-266 (in Chinese)
宁楚涵, 李文彬, 刘润进. 植物共生放线菌研究进展[J]. 生态学杂志, 2019, 38(1): 256-266
- [24] Zhao LH, Zhu XJ, Lu H, et al. Anatomical studies on root nodule of *Hippophae rhamnoides*[J]. Journal of Jilin Agricultural University, 2001, 23(3): 58-60,68 (in Chinese)
赵丽辉, 朱筱娟, 路红, 等. 沙棘根瘤的解剖学研究[J]. 吉林农业大学学报, 2001, 23(3): 58-60,68
- [25] Shen XY. The study on nodulation of herbaceous plant infected with *Frankia* strains from *Hippophae rhamnoides*[D]. Taiyuan: Master's Thesis of Shanxi University, 2013 (in Chinese)
申旭燕. 沙棘 *Frankia* 侵染草本植物结瘤的研究[D]. 太原: 山西大学硕士学位论文, 2013
- [26] Dong R, Cao YR. Research progress on the immune regulation of symbiotic nitrogen fixation between legumes and rhizobia[J]. Biotechnology Bulletin, 2019, 35(10): 25-33 (in Chinese)
董汝, 曹扬荣. 豆科植物-根瘤菌共生固氮的免疫调控机制[J]. 生物技术通报, 2019, 35(10): 25-33
- [27] Jin KZ, Yin H. Development and structure of root nodules and endophytes *Frankia* in the Chinese Sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* subsp. *sinensis*)[J]. Journal of Northwest University (Natural Science Edition), 1995, 25(2): 155-156,170 (in Chinese)
晋坤贞, 殷红. 中国沙棘根瘤内生菌的观察和根瘤结构与发育的研究[J]. 西北大学学报: 自然科学版, 1995, 25(2): 155-156,170
- [28] Zhang Q, Zhang MM, Fan MY, et al. Microscopic observation of the root nodule and the morphology of *Frankia* in root nodules of *Hippophae rhamnoides*[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2020, 35(1): 165-170 (in Chinese)
张情, 张明明, 樊梦颖, 等. 沙棘根瘤及根瘤内弗兰克氏菌形态的显微观察[J]. 西北林学院学报, 2020, 35(1): 165-170
- [29] Song CJ, Ma KM, Fu BJ, et al. A review on the functions of nitrogen-fixers in terrestrial ecosystems[J]. Acta Ecologica Sinica, 2009, 29(2): 869-877 (in Chinese)
宋成军, 马克明, 傅伯杰, 等. 固氮类植物在陆地生态系统中的作用研究进展[J]. 生态学报, 2009, 29(2): 869-877
- [30] Callaham D, Deltredici P, Torrey JG. Isolation and cultivation *in vitro* of the actinomycete causing root nodulation in *Comptonia*[J]. Science, 1978, 199(4331): 899-902
- [31] Li LK. Isolation and identification of *Rhizobium* from *Seabuckthorn* and effects of *Rhizobium* on the growth and development of plants[D]. Changchun: Master's Thesis of Jilin Agricultural University, 2018 (in Chinese)
李利坤. 沙棘根瘤菌的分离鉴定及根瘤菌对植株生长发育的影响[D]. 长春: 吉林农业大学硕士学位论文, 2018
- [32] Yi L. Molecular identification and genetic diversity of *Frankia* strains[J]. Wuhan: Master's Thesis of Huazhong Agricultural University, 2003 (in Chinese)
易犁. 弗兰克氏菌的分子鉴定和遗传多样性研究[D]. 武汉: 华中农业大学硕士学位论文, 2003
- [33] Burggraaf AJP, Shipton WA. Estimates of *Frankia* growth under various pH and temperature[J]. Plant and Soil, 1982, 69(2): 135-147
- [34] Wu Y, Ding J. Studies on biological characteristics of *Frankia* sp. from *Hippophae rhamnoides*[J]. Acta Microbiologica Sinica, 1987, 27(3): 227-232 (in Chinese)
吴阳, 丁鉴. 沙棘弗兰克氏菌的生物学特性研究[J]. 微生物学报, 1987, 27(3): 227-232
- [35] Chen LH, Yu XM, Yao GM, et al. Genetic diversity of *Frankia* in nodules of *Hippophae rhamnoides* ssp. *sinensis*[J]. Acta Ecologica Sinica, 2008, 28(9): 4213-4220 (in Chinese)
陈立红, 于学梅, 姚贵敏, 等. 中国沙棘(*Hippophae rhamnoides* ssp. *sinensis*)根瘤内 *Frankia* 菌的遗传多样性[J]. 生态学报, 2008, 28(9): 4213-4220
- [36] Hahn D, Nickel A, Dawson J. Assessing *Frankia* populations in plants and soil using molecular methods[J]. FEMS Microbiology Ecology, 1999, 29(3): 215-227
- [37] Zhang XM, Wang L, Lin MZ, et al. Root systems of seabuckthorn and their functions. II. Infection and nodule formation of *Frankia* strains[J]. Hippophae, 2006, 19(1): 1-11 (in Chinese)
张小民, 王岚, 林美珍, 等. 论沙棘根系与功能 II——*Frankia* 菌侵染和结瘤[J]. 沙棘, 2006, 19(1): 1-11
- [38] Baker D, O'keefe D. A modified sucrose fractionation procedure for the isolation of frankiae from actinorhizal root nodules and soil samples[J]. Plant and Soil, 1984, 78(1): 23-28
- [39] Zhang AM, Han XY, Sun K, et al. Root nodules endophytic and rhizosphere soil bacteria diversity of *Hippophae rhamnoides* subsp. *sinensis* based on high-throughput sequencing[J]. Grassland and Turf, 2018, 38(2): 49-55 (in Chinese)
张爱梅, 韩雪英, 孙坤, 等. 高通量测序分析中国沙棘根瘤与根际土壤细菌多样性[J]. 草原与草坪, 2018, 38(2): 49-55
- [40] Ren HY. Polymorphism analysis of *Frankia* in nodules of *Hippophae rhamnoides* ssp. *Russia*[D]. Hohhot: Master Dissertation of Inner Mongolia University, 2009 (in Chinese)

- 任化雨. 俄罗斯大果沙棘(*Hippophae rhamnoides* ssp. Russia)共生 *Frankia* 菌多态性分析[D]. 呼和浩特: 内蒙古大学硕士学位论文, 2009
- [41] Zhang AM, Han XY, Wang J, et al. Diversity of endophytic bacteria in root nodules of *Hippophae rhamnoides* in the Maxian Mountains[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2019, 39(1): 294-301 (in Chinese)
张爱梅, 韩雪英, 王嘉, 等. 马衔山中国沙棘根瘤内生细菌多样性研究[J]. *生态学报*, 2019, 39(1): 294-301
- [42] Zhang AM, Wu JY, Han XY, et al. Screening and identification of antagonistic and plant-growth promoting endophytic bacteria from Seabuckthorn nodules[J]. *Microbiology China*, 2019, 46(5): 1041-1051 (in Chinese)
张爱梅, 吴菊艳, 韩雪英, 等. 沙棘根瘤内生细菌中抑菌促生菌株的筛选和鉴定[J]. *微生物学通报*, 2019, 46(5): 1041-1051
- [43] Tekaya SB, Guerra T, Rodriguez D, et al. *Frankia* diversity in host plant root nodules is independent of abundance or relative diversity of *Frankia* populations in corresponding rhizosphere soils[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2018, 84(5): e02248-17
- [44] Zhang AM, Guo BM, Han XY, et al. Diversity of endophytic bacteria in seeds of *Hippophae rhamnoides* subsp. *sinensis* in two different habitats[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2020, 40(15): 5247-5257 (in Chinese)
张爱梅, 郭保民, 韩雪英, 等. 两种不同生境中国沙棘种子内生细菌多样性[J]. *生态学报*, 2020, 40(15): 5247-5257
- [45] Igual JM, Velázquez E, Mateos PF, et al. Cellulase isoenzyme profiles in *Frankia* strains belonging to different cross-inoculation groups[J]. *Plant and Soil*, 2001, 229(1): 35-39
- [46] Dobritsa SV, Novik SN. Feedback regulation of nodule formation in *Hippophae rhamnoides*[J]. *Plant and Soil*, 1992, 144(1): 45-50
- [47] Lin MZ, Zhang JK, Zhang GW, et al. Root systems of seabuckthorn and their functions: III. Mechanism of symbiotic nitrogen fixation, conditions, and primary nitrogen metabolism[J]. *Hippophae*, 2006, 19(3): 7-14 (in Chinese)
林美珍, 张吉科, 张国伟, 等. 论沙棘根系与功能 III——共生固氮机理、条件与初级氮代谢[J]. *沙棘*, 2006, 19(3): 7-14
- [48] Wang SF, Chen YT. Advances in research on genomes of *Frankia*[J]. *Soils*, 2005, 37(4): 382-387 (in Chinese)
王树凤, 陈益泰. 非豆科植物固氮菌——*Frankia* 的基因组研究进展[J]. *土壤*, 2005, 37(4): 382-387
- [49] Normand P, Simonet P, Bardin R. Conservation of *nif* sequences in *Frankia*[J]. *Molecular and General Genetics*, 1988, 213(2): 238-246
- [50] Li YD, Ding J. Nitrogen-fixing symbioses with *Frankia-Hippophae rhamnoides* L. I—Effects of the environmental factors on nodulation and growth of *Hippophae rhamnoides* L.[J]. *Journal of Microbiology*, 1989, 9(3): 22-28 (in Chinese)
李元旦, 丁鉴. 沙棘——弗氏放线菌共生固氮体系研究——I 环境因子影响沙棘结瘤和生长[J]. *微生物学杂志*, 1989, 9(3): 22-28
- [51] Li LK, Liu HM, Liu SY, et al. Effect of rhizobia of Seabuckthorn on the growth of Seabuckthorn plants[J]. *Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine*, 2018(23): 152-156,271 (in Chinese)
李利坤, 刘回民, 刘树英, 等. 沙棘根瘤菌对沙棘植株生长的影响[J]. *黑龙江畜牧兽医*, 2018(23): 152-156,271
- [52] Mastrorunzio JE, Benson DR. Wild nodules can be broken: proteomics of *Frankia* in field-collected root nodules[J]. *Symbiosis*, 2010, 50(1): 13-26
- [53] Marappa N, Ramachandran L, Dharumadurai D, et al. Plant growth-promoting active metabolites from *Frankia* spp. of actinorhizal *Casuarina* spp.[J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2020, 191(1): 74-91
- [54] Mansour SR, Oshone R, Hurst SG, et al. Draft genome sequence of *Frankia* sp. strain CcI6, a salt-tolerant nitrogen-fixing actinobacterium isolated from the root nodule of *Casuarina cunninghamiana*[J]. *Genome Announcement*, 2014, 2(1): e01205-13
- [55] Srivastava A, Singh SS, Mishra AK. Sodium transport and mechanism(s) of sodium tolerance in *Frankia* strains[J]. *Journal of Basic Microbiology*, 2013, 53(2): 163-174
- [56] Srivastava A, Singh SS, Mishra AK. Modulation in fatty acid composition influences salinity stress tolerance in *Frankia* strains[J]. *Annals of Microbiology*, 2014, 64(3): 1315-1323
- [57] Gtari M, Dawson JO. An overview of actinorhizal plants in Africa[J]. *Functional Plant Biology*, 2011, 38(9): 653-661
- [58] He XY, Wu QF, Han GY, et al. Symbiotic association of *Hippophae rhamnoides* and the microbes[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2001, 12(6): 876-878 (in Chinese)
何兴元, 吴清风, 韩桂云, 等. 沙棘与微生物联合共生体的初步研究[J]. *应用生态学报*, 2001, 12(6): 876-878
- [59] Tian CJ, He XY, Zhong Y, et al. Effects of VA mycorrhizae and *Frankia* dual inoculation on growth and nitrogen fixation of *Hippophae tibetana*[J]. *Forest Ecology and Management*, 2002, 170(1/3): 307-312
- [60] Ren JH, Liu RX, Zhang XG, et al. Effects of AMF and *Frankia* combined inoculation on the growth of *Hippophae rhamnoides*[J]. *Microbiology China*, 2004, 31(2): 6-9 (in Chinese)
任嘉红, 刘瑞祥, 张晓刚, 等. AMF 及 *Frankie* 混合接种对

- 沙棘生长效应的研究[J]. 微生物学通报, 2004, 31(2): 6-9
- [61] Zhou X, Tian L, Zhang JF, et al. Rhizospheric fungi and their link with the nitrogen-fixing *Frankia* harbored in host plant *Hippophae rhamnoides* L.[J]. Journal of Basic Microbiology, 2017, 57(12): 1055-1064
- [62] Diem HG, Gauthier D, Dommergues Y. An effective strain of *Frankia* from *Casuarina* sp.[J]. Canadian Journal of Botany, 1983, 61(11): 2815-2821
- [63] Su FF. Effects of AMF and *Frankia* dual-inoculation on growth and Pb stress tolerance of *Myrica rubra* seedlings[D]. Chongqing: Master's Thesis of Southwest University, 2015 (in Chinese)
苏芳芳. AMF 和 *Frankia* 双接种对杨梅幼苗生长及铅胁迫耐受性的影响[D]. 重庆: 西南大学硕士学位论文, 2015
- [64] Zhang AM, Han XY, Zhang SH, et al. Diversity of root nodule endophytic bacteria in *Hippophae thibetana* at different altitudes in Gannan area[J]. Biotic Resources, 2018, 40(2): 114-119 (in Chinese)
张爱梅, 韩雪英, 张世虎, 等. 甘南高寒地区不同海拔西藏沙棘根瘤内生菌多样性[J]. 生物资源, 2018, 40(2): 114-119
- [65] Hu JZ, Liu LY, Yin LQ. The distribution characteristics of Seabuckthorn root nodule in soft sandstone area[J]. Modern Agricultural Science and Technology, 2010(18): 252-255 (in Chinese)
胡建忠, 刘丽颖, 殷丽强. 砒砂岩区沙棘根瘤分布特征[J]. 现代农业科技, 2010(18): 252-255
- [66] Wang ZK, Guo BP, Yan LY, et al. Research of Seabuckthorn nodules in fixing nitrogen[J]. Soil and Water Conservation in China, 1997(3): 46-48 (in Chinese)
王子科, 郭百平, 阎立业, 等. 沙棘根瘤共生固氮的研究[J]. 中国水土保持, 1997(3): 46-48
- [67] Zhang MM, Zhang Q, Fan MY, et al. Comparison of bacterial diversity in forest soils of *Hippophae rhamnoides* growing in two different sites[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2020, 35(2): 32-29 (in Chinese)
张明明, 张情, 樊梦颖, 等. 2 种立地条件下沙棘林地土壤中细菌多样性比较[J]. 西北林学院学报, 2020, 35(2): 32-39
- [68] Huang JF. Genetic diversity of *Frankia* in Fujian[D]. Fuzhou: Master's Thesis of Fujian Normal University, 2007 (in Chinese)
黄金芳. 福建省弗兰克氏菌遗传多样性研究[D]. 福州: 福建师范大学硕士学位论文, 2007
- [69] Baker D, Torrey JG, Kidd GH. Isolation by sucrose-density fractionation and cultivation *in vitro* of actinomycetes from nitrogen-fixing root nodules[J]. Nature, 1979, 281(5726): 76-79
- [70] Diem HG, Gauthier D, Dommergues YR. Isolation of *Frankia* from nodules of *Casuarina equisetifolia*[J]. Canadian Journal of Microbiology, 1982, 28(5): 526-530
- [71] Du DZ, Yuan FH, Li RE, et al. Taxonomic studies on *Frankia* sp. Hr104[J]. Acta Microbiologica Sinica, 1985, 25(3): 197-203 (in Chinese)
杜大至, 原福虎, 李荣儿, 等. 一株弗兰克氏菌分类鉴定的研究[J]. 微生物学报, 1985, 25(3): 197-203
- [72] Li ZZ. The studies on actinomycetes-*Frankia* in Fujian[D]. Fuzhou: Doctoral Dissertation of Fujian Agriculture and Forestry University, 2002 (in Chinese)
李志真. 福建弗兰克氏菌(*Frankia*)研究[D]. 福州: 福建农林大学博士学位论文, 2002
- [73] Normand P, Nouioui I, Pujic P, et al. *Frankia canadensis* sp. nov., isolated from root nodules of *Alnus incana* subspecies *rugosa*[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2018, 68(9): 3001-3011
- [74] Lumini E, Bosco M, Fernandez MP. PCR-RFLP and total DNA homology revealed three related genomic species among broad-host-range *Frankia* strains[J]. FEMS Microbiology Ecology, 1996, 21(4): 303-311
- [75] Zheng T. Application of *Frankia* in agricultural production[J]. Animal Husbandry and Feed Science, 2010, 31(2): 189-190 (in Chinese)
郑婷. 弗兰克氏菌在农业生产中的应用[J]. 畜牧与饲料科学, 2010, 31(2): 189-190