

根瘤菌分类研究进展及存在的争议

张晓霞 马晓彤 姜瑞波*

(中国农业科学院农业资源与农业区划研究所 中国农业微生物菌种保藏管理中心 北京 100081)

摘要: 根瘤菌是一类与农业生产关系密切的细菌。近年来, 现代分子生物学技术的发展和运用使根瘤菌分类研究有了突破性进展, 新的根瘤菌资源的不断发掘, 根瘤菌的分类体系也不断地被完善。文中主要阐述了根瘤菌分类系统的演化历史、目前存在争议及相关的研究进展。

关键词: 根瘤菌, 多相分类, 争议

Taxonomy of Rhizobia: Progress and Disputation

ZHANG Xiao-Xia MA Xiao-Tong JIANG Rui-Bo*

(Agricultural Culture Collection of China, Institute of Agricultural Resources and Regional Planning, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)

Abstract: Rhizobia, which are symbiotes of leguminous plants, are of considerable environmental and agricultural importance due to their nitrogen fixation properties. With the development of new molecular biological techniques, new methods are applied to the rhizobia classification, with the polyphasic approach being the most reliable. This advancement has led to the reorganization of already classified species of rhizobia, as well as to the identification of new species from an array of as yet unexplored legume plants from various environments. Here we discuss the progress made in the evolutionary systematics of Rhizobia, as well as the disputes associated therewith.

Keywords: Rhizobia, Polyphasic taxonomy, Disputation

根瘤菌是一类生活在土壤中的革兰氏阴性杆状细菌, 在合适的条件下, 根瘤菌能侵染豆科植物并与之进行共生结瘤固氮。根瘤菌是一个属于生态学范畴的概念, 而非分类学单位。根瘤菌与豆科植物的共生是生物固氮体系中作用最强的体系, 据估计所固定的氮约占生物固氮总量的 65%, 在农业生产中起着极其重要的作用。根瘤菌在水稻及其他非豆科作物中普遍存在, 并对植物的生长起着有益的促进作用, 根瘤菌与非豆科植物并不能形成根瘤^[1-2],

其促生作用可能并非生物固氮, 而是产生植物激素、影响根的发育、促进土壤中营养元素的吸收等^[3-6]。随着研究的深入, 土壤及根际环境中的非共生根瘤菌在重金属修复、土壤污染物降解、植物促生作用、生物防治、纤维素降解等功能相继被报道。相应地, 新的根瘤菌类型也陆续被发现。随着新的根瘤菌资源的不断发现, 人们对根瘤菌的认识也发生了很大的变化: 根瘤菌分类体系从以互接种植为传统的分类逐步过渡到了以系统发育关系为依

基金项目: 国家自然科学基金项目(No. 30900001); 中国农科院农业资源与农业区划研究所中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金项目(No. 901-10); 公益性行业(农业)科研专项经费项目(No. 200803029-01)

* 通讯作者: Tel: 86-10-82108636; E-mail: acce@caas.ac.cn

收稿日期: 2009-11-25; 接受日期: 2010-01-13

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

据的现代系统分类;根瘤菌所涉及的类群不仅仅限于 α -变形杆菌的几个传统的种属,而且扩展到了 β -变形杆菌的一些类群^[7];根瘤菌广泛的存在于自然界,并非单纯存在于豆科根瘤中;*nod* 基因并非是与豆科植物结瘤所必须的基因^[8]等等。

1 根瘤菌分类历史及现状

自 1898 年 Frank 首次提出根瘤菌属(*Rhizobium*)以来,随着人们对根瘤菌的深入研究,新的种不断地被发现,根瘤菌的多样性不断得以丰富,同时根瘤菌的分类系统也不断地被修改和完善^[9]。最早的根瘤菌分类系统是在 1932 年由 Fred 提出,此系统以互接种族为依据,各族根瘤菌分别以其优势宿主植物命名。由根瘤菌属、色杆菌属和土壤杆菌属共同组成根瘤菌科。

1974 年,在《伯杰氏鉴定细菌学手册》第 8 版中, Jordan 和 Allen 对 Fred 提出的系统进行了修订,将 *Rhizobium* 分成了 2 个类群,群 1 和群 2,分别代表快生型和慢生型,这次修订仍然以互接种族为依据,还考虑到生长速度及鞭毛类型等其他分类因素。

1984 年的《伯杰氏系统细菌学手册》第 1 版中, Jordan 提出新的分类系统,该系统以表型特征为依据,将根瘤菌属、慢生根瘤菌属、土壤杆菌属和叶瘤杆菌属共同组成根瘤菌科。

《伯杰氏系统细菌学手册》第 2 版中, Kuykendall 提出根瘤菌最新的分类系统,该系统以细菌的 16S rRNA 系统发育为依据,根瘤菌科上升至根瘤菌目。截至目前,共包括 14 属 70 多个种,其中 11 个属归属于 α -变形杆菌,分别为: *Agrobacterium*、*Allorhizobium*、*Azorhizobium*、*Bradyrhizobium*、*Devosia*、*Mesorhizobium*、*Methylobacterium*、*Ochrobactrum*、*Phyllobacterium*、*Rhizobium* 和 *Sinorhizobium* (*Ensifer*); 3 个属归属于 β -变形杆菌,分别为 *Burkholderia*、*Cupriavidus* 和 *Herbaspirillum*^[10]。 β -变形杆菌中根瘤菌的发现是根瘤菌分类中一次重大的革命,在此以前,认为根瘤菌只分布在 α -变形杆菌纲内。

2 根瘤菌分类中存在的争议

根据 16S rRNA 基因序列及其他部分看家基因

的系统进化分析,部分科学家建议将 *Sinorhizobium* 与 *Ensifer* 合并为同一属^[11-13]。*E. adhaerens* 是一类土壤细菌,可吸附到其他细菌上并使其裂解。尽管野生型的 *E. adhaerens* 并不在菜豆(*Phaseolus vulgaris*)及银合欢(*Leucaena leucocephala*)上结瘤,但从 *Rhizobium tropici* 获得共生质粒的菌株可结瘤^[14],说明其具有根瘤菌种类特性;Fröhlich 等从白蚁肠道分离到一株 *E. adhaerens*,该菌株可以与 *Pisum sativum*、*Sesbania sesban*、*Trigonella foenumgraecum* 结瘤^[15];本课题组在研究水稻内生细菌过程中发现一株可与苜蓿结瘤的 *E. adhaerens*(未发表)。*Sinorhizobium* 与 *Ensifer* 两个属的合并问题首先由 Willems 等提出,在他们的研究过程中发现 *Sinorhizobium* 与 *Ensifer* 的 16S rRNA 和 *recA* 等看家基因的发育进化树在同一支上,而且发现有些菌株在分类特征上与 *E. adhaerens* 十分接近,但可以与豆科植物形成根瘤,因此建议 *Ensifer* 应划分到 *Sinorhizobium* 属,相应地, *Ensifer* 属中唯一的种 *E. adhaerens* 应重新命名为 *S. adhaerens*^[11]。Martens 等利用 10 个看家基因对 *Sinorhizobium* 属和 *Ensifer adhaerens* 种的菌株进行系统发育分析也证实二者为同物异名^[12]。然而根据细菌学法典(The Bacteriological code)^[16], *Ensifer* 属于最先提出的同物异名,因此应优先考虑^[13],但 *Sinorhizobium* 是一类广为人知的种类,而且已经有 10 余个种属于 *Sinorhizobium*,在生产实践中的应用也较为广泛,然而仍有部分学者坚持认为所有 *Sinorhizobium* spp. 都必须重新命名为 *Ensifer* spp.。经过几年的讨论,国际原核生物系统学会裁决委员会最终于 2008 年在 IJSEM 上正式发布相关的裁决结果,即 *Sinorhizobium* 与 *Ensifer* 为同物异名,并且所有的 *Sinorhizobium* 属的成员转移至 *Ensifer* 属中^[17]。但对于 *Sinorhizobium* 与 *Ensifer* 属名的合并与使用,还有待于相关研究者的进一步商榷定夺^[18]。

Agrobacterium 属的分类地位长期以来一直存在争议,依据 16S rRNA 序列分析, Young 等建议将 *Agrobacterium* 和 *Allorhizobium* 两个属统一归为 *Rhizobium* 属^[13,19];在形态学特征方面, *Agrobacterium*、*Allorhizobium* 和 *Rhizobium* 3 个属也十分相似,长期以来, *Agrobacterium* 属认为与 *Rhizobium* 属十分相近,不断地有科学家提出合并两个属^[20]。但

Farrand为代表的一部分科学家则强烈反对上述意见, 希望保留原来的命名系统^[21]。国际系统细菌学委员会根瘤菌分类委员会分会则采取了折衷的办法, 同时承认两个分类系统, 研究者可以根据自己判断选择相应的分类系统。

3 非共生根瘤菌及共生基因的水平转移

在自然条件下, 存在大量与已知根瘤菌染色体相同但不能与豆科植物建立共生关系的一类细菌, 这类细菌被统称为非共生根瘤菌(Non-symbiotic Rhizobia)。依据根瘤菌的定义, 这类细菌却不能称之为真正的根瘤菌。然而, 生物学意义的分类是基于染色体上等位基因的变化而不是质粒所编码的特征, 而且非共生根瘤菌在没有豆科植物生长的土壤中长期存在, 并可以通过接种豆科植物的相应的根瘤菌获得共生基因^[22], 对于与根瘤菌同源的但不能结瘤的革兰氏阴性杆状细菌的分类, 并不符合传统根瘤菌分类的概念, 然而这没有影响发表新根瘤菌类型或相关的报道。从根瘤以外分离到的根瘤菌新类群也不断被报道: Quan 等在氰化物处理器中发现一株可以降解氰的根瘤菌, 经多相分类研究定为新种, 命名为 *R. daejeonense*, 可与苜蓿共生结瘤^[23]; *Mesorhizobium thiogangneticum* 属于化能自养硫氧化细菌, 能够以硫及硫的各种化合物为唯一能源和电子受体, 接种多种豆科植物并未发现结瘤能力^[24]; Garcia-Fraile 等在腐烂的白杨(*Populus alba*)木屑中分离到一株能够降解纤维素的菌株并命名为 *Rhizobium cellulosilyticum* 的一个新种^[25]; *Rhizobium oryzae* 分离自野生稻根际^[26]; *Rhizobium alamii* 的一些菌株分离自向日葵的根际^[27]。本实验室在石油污染的土壤中分离到一株可以分解多环芳烃(PAH)菌株, 经初步鉴定, 应为根瘤菌属的一个新种(未发表)。可以预测, 在复杂的土壤环境中, 存在着大量未发现的根瘤菌新类型。

对于 *Agrobacterium* 属通常认为是不能同豆科植物结瘤, 但有研究发现一些 *Agrobacterium* 菌株可与豆科植物结瘤, 如 *A. radiobacter* 与菜豆(*Phaseolus vulgaris*)、杭子梢属(*Campylotropis* spp.)、决明属(*Cassia* spp.)^[28]、紫藤(*Wisteria sinensis*)^[29]结瘤。对于这一现象目前尚未得到直接的证据, 有观点认为 *Agrobacterium* 是作为伴生菌进入根瘤中^[30]。

具有 Sym 质粒的 *A. rhizogenes* 菌株可与 *Phaseolus vulgaris* 形成根瘤和瘤组织^[31]。

另一方面, 在分类学上属于传统根瘤菌属中的一些菌株, 通常被认为都具有结瘤固氮功能, 而实际上也包括不具有结瘤固氮能力的菌种。如 *Bradyrhizobium betae* 并不具固氮能力^[32]。*Mesorhizobium thiogangneticum* 未发现同豆科植物形成根瘤^[24], 但另一方面, *Mesorhizobium* 以及其他的根瘤菌属中的非共生菌株可通过获得共生基因而结瘤^[33]。

共生基因的横向转移在自然界普遍存在^[34]。依据种、属的不同, 共生基因或定位于质粒上, 或在染色体上, 且可以在菌株间或种间转移^[35]。基因的水平转移在根瘤菌中报道颇多, 共生基因缺失或者获得导致根瘤菌共生现象的有无, β -变形菌纲的根瘤菌可能就是细菌适应环境获得共生基因的结果^[35], 而根瘤菌中如: *E. morelense*、*B. bata*、*M. thiogangneticus* 和 *R. cellulosilyticum* 等不具有共生功能则可能是共生基因的丢失造成的。

4 根瘤菌分类方法及进展

根瘤菌的分类同现代细菌分类一样, 一般采用多相分类(Polyphasic taxonomy)的方法。多相分类的概念最初是由 Colwell 提出的, 从表型、遗传型和系统发育方面获得综合信息, 多种方法互相论证, 互为补充, 从而更合理、更准确的确定细菌的分类地位, 并能全面地反映细菌多样性信息。表型分类研究的方法主要有: 数值分类(Numerical taxonomy)、全细胞可溶性蛋白电泳(SDS-PAGE)、脂肪酸分析和多位点酶电泳(Multilocus enzyme electrophoresis, MLEE), 此外还有血清学反应(Serology)等。遗传型分类研究方法主要有 ARDRA、rep-PCR、AFLP、LMW RNA 图谱分析、DNA-DNA 杂交、DNA (G+C)mol%等。

在根瘤菌的多相分类中, 16S rDNA 全序列分析和 DNA-DNA 同源性分析是必不可少的关键方法。然而, 这两种方法存在着如下缺陷: (1) 由于 16S rRNA 的高保守性, 使其在种以下水平的分类具有很大局限性; 亲缘关系在种以上水平的菌株具有很好的分辨率, 但对亲缘关系比较近的种分辨率不高^[36]。(2) DNA-DNA 杂交技术在不同实验室、采用

不同的方法之间缺乏一致性,差异较大,不可能建立一个中心数据库。(3) 基因水平转移尤其是保守基因片段的水平转移则可以引起现有细菌分类体系的混乱^[37]。因此有科学家建议,利用染色体上不同位点的多个保守基因序列进行系统发育研究,则更能直观地反映生物进化的历史,可有效避免因基因的水平转移对系统发育分析所造成的影响^[38]。国际细菌分类委员会建议对染色体不同位点、单拷贝形式存在的看家基因序列(5个以上)进行分析,寻找合适的序列相似性水平用于种群的确定^[39]。

利用多个基因信息之间相互比较、综合分析可以得到一个全面可信的物种间的关系,相比16S rRNA基因的高度保守性,具有更高分化程度的看家基因更适用于菌种的鉴定。Zeigler认为经过精心筛选的少数看家基因序列的精确度等同于甚至优越于DNA-DNA杂交的基因组同源性分析^[40]。相比DNA-DNA杂交和16S rRNA基因序列分析,多位点序列分析(Multilocus sequence typing, MLSA)可应用较为广泛的细菌分离水平,从种内到种间的水平以及更高级别的分析^[37]。

目前,已经有十几种保守基因用于根瘤菌的系统发育研究,如 *atpD*、*dnaK*、*gap*、*glnA*、*glnII*、*gltA*、*gyrB*、*pnp*、*recA*、*rpoB* 及 *thrC*。利用不同基因组位点的保守基因确定细菌的分类地位,将是细菌分类发展的一个方向^[12,41]。

MLSA 方法同样存在缺陷,主要表现在如何选择可靠的看家基因及其有效扩增引物两个方面。Richter 等在对大量细菌全基因组序列分析的基础上,提出了部分或全部基因组序列 ANI (Average nucleotide identity)分析作为细菌分类的黄金标准,代替传统的 DNA 同源性分析^[42]。尽管这一方法在近期内很难实现,然而随着核酸测序技术的迅速发展,高通量的细菌全基因组核苷酸测序已经成为现实,将全基因组分析应用于细菌分类也不会遥远。

5 展望

根瘤菌依据其定义应指能够与豆科植物建立共生关系的一类细菌,然而,越来越多的研究表明,与共生根瘤菌的染色体相同非共生状态的菌株大量存在于自然界,如果根据定义却不能称之为根瘤菌;依据多相分类,属于已知根瘤菌属的新

种不断地被报道,却未发现与豆科植物共生能力。本实验室在研究水稻根际细菌多样性的过程中,通过对根际及根内细菌的多相分类及系统发育研究,证实这些菌株分布于根瘤菌的4个不同的属中即 *Ensifer* (*Sinorhizobium*)、*Agrobacterium*、*Allorhizobium* 和 *Rhizobium*, 除属于 *E. adhaerens* 的菌株为已知种外,其他分别为潜在新种,且大部分未发现结瘤固氮功能(数据未发表)。随着各类根瘤菌资源的不断挖掘及其分类研究的不断深入,“根瘤菌”的概念将更为完善,其所涵盖的范畴也将更为广泛。

参考文献

- [1] Cocking EC. Endophytic colonization of plant roots by nitrogen-fixing bacteria. *Plant and Soil*, 2003(252): 169-175.
- [2] Dakora FD. Defining new roles for plant and rhizobial molecules in sole and mixed plant cultures involving symbiotic legumes. *New Phytologist*, 2003, **158**(1): 39-49.
- [3] Biswas JC, Ladha JK, Dazzo FB. Rhizobia inoculation improves nutrient uptake and growth of lowland rice. *Soil Sci Soc Am J*, 2000(64): 1644-1650.
- [4] Chaintreuil C, Giraud E, Prin Y, et al. Photosynthetic bradyrhizobia are natural endophytes of the African wild rice *Oryza breviligulata*. *Appl Environ Microbiol*, 2000, **66**(12): 5437-5447.
- [5] Dobbelaere S, Vanderleyden J, Okon Y. Plant growth-promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere. *Crit Rev Plant Sci*, 2003, **22**(2): 107-149.
- [6] MatiruVN, Dakora FD. Potential use of rhizobial bacteria as promoters of plant growth for increased yield in landraces of African cereal crops. *Afr J Biotechnol*, 2004, **3**(1): 1-7.
- [7] Moulin L, Munive A, Dreyfus B, et al. Nodulation of legumes by members of the beta-subclass of Proteobacteria. *Nature*, 2001, **411**(6840): 948-950.
- [8] Downie JA. Infectious Heresy. *Science*, 2001, **316**(5829): 1296-1297.
- [9] Sahgal M, Johri BN. The changing face of rhizobial systematics. *Curr Sci*, 2003, **84**(1):43-48.
- [10] Chen WM, Moulin L, Bontemps C, et al. Legume symbiotic nitrogen fixation by β -Proteobacteria is widespread in nature. *J Bacteriol*, 2003, **185**(24): 7266-7272.
- [11] Willems A, Fernandez-Lopez M, Munoz-Adelantado E, et al. Description of new *Ensifer* strains from nodules and proposal to transfer *Ensifer adhaerens* Casida 1982 to *Sinorhizobium* as *Sinorhizobium adhaerens* comb. nov. request for an opinion. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2003(53):

- 1207–1217.
- [12] Martens M, Dawyndt P, Coopman R, *et al.* Advantages of multilocus sequence analysis for taxonomic studies: A case study using 10 housekeeping genes in the genus *Ensifer* (including former *Sinorhizobium*). *Int J Syst Evol Microbiol*, 2008(58): 200–214.
 - [13] Young JM, Kuykendall LD, Martinez-Romero E, *et al.* Classification and nomenclature of *Agrobacterium* and *Rhizobium*—a reply to Farrand *et al.* *Int J Syst Evol Microbiol*, 2003(53): 1689–1695.
 - [14] Rogel MA, Hernández-Lucas I, Kuykendall LD, *et al.* Nitrogen-fixing nodules with *Ensifer adhaerens* harboring *Rhizobium tropici* symbiotic plasmids. *Appl Environ Microbiol*, 2001, **67**(7): 3264–3268.
 - [15] Fröhlich J, Koustiane C, Kämpfer P, *et al.* Occurrence of rhizobia in the gut of the higher termite *Nasutitermes nigriceps*. *Appl Environ Microbiol*, 2007(30): 68–74.
 - [16] Lapage SP, Sneath PHA, Lessel EF, *et al.* International Code of Nomenclature of Bacteria (1990 Revision). Bacteriological Code. Washington, DC: American Society for Microbiology, 1992.
 - [17] Judicial Commission of the International Committee on Systematics of Prokaryotes. The genus name *Sinorhizobium* Chen *et al.* 1988 is a later synonym of *Ensifer* Casida 1982 and is not conserved over the latter genus name, and the species name '*Sinorhizobium adhaerens*' is not validly published. Opinion 84. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2008(58): 1973.
 - [18] Lindström K, Young JPW. International Committee on Systematics of Prokaryotes Subcommittee on the taxonomy of *Agrobacterium* and *Rhizobium*. Minutes of the meeting, 31 August 2008, Gent, Belgium. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2009(59): 921–922.
 - [19] Young JM, Kuykendall LD, Martinez-Romero E, *et al.* A revision of *Rhizobium* Frank 1889, with an emended description of the genus, and the inclusion of all species of *Agrobacterium* Conn 1942 and *Allorhizobium undicola* de Lajudie *et al.* 1998 as new combinations: *Rhizobium radiobacter*, *R. rhizogenes*, *R. rubi*, *R. undicola* and *R. vitis*. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2001(51): 89–103.
 - [20] Graham PH, Sadowsky MJ, Keyser HH, *et al.* Proposed minimal standards for the description of new genera and species of root- and stem-nodulating bacteria. *Int J Syst Bacteriol*, 1991(41): 582–587.
 - [21] Farrand SK, Van Berkum PB, Oger P. *Agrobacterium* is a definable genus of the family Rhizobiaceae. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2003, **53**(5): 1689–1695.
 - [22] Segovia L, Pinero D, Palacios R, *et al.* Genetic structure of a soil population of nonsymbiotic *Rhizobium leguminosarum*. *Appl Environ Microbiol*, 1991(57): 426–433.
 - [23] Quan ZX, Bae HS, Baek JH, *et al.* *Rhizobium daejeonense* sp. nov. isolated from a cyanide treatment bioreactor. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2005(55): 2543–2549.
 - [24] Ghosh W, Roy P. *Mesorhizobium thioangeticum* sp. nov., a novel sulfur-oxidizing chemolithoautotroph from rhizosphere soil of an Indian tropical leguminous plant. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2006(56): 91–97.
 - [25] Garcia-Fraile P, Rivas R, Willems A, *et al.* *Rhizobium cellulosilyticum* sp. nov., isolated from sawdust of *Populus alba*. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2007(57): 844–848.
 - [26] Peng GX, Yuan QH, Li HX, *et al.* *Rhizobium oryzae* sp. nov., isolated from the wild rice *Oryza alta*. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2008(58): 2158–2163.
 - [27] Berge O, Lodhi A, Brandelet G, *et al.* *Rhizobium alamii* sp. nov., an exopolysaccharide-producing species isolated from legume and non-legume rhizospheres. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2009(59): 367–372.
 - [28] Han SZ, Wang ET, Chen WX. Diverse bacteria isolated from root nodules of *Phaseolus vulgaris* and species within the genera *Campylotropis* and *Cassia* grown in China. *Syst Appl Microbiol*, 2005(28): 265–276.
 - [29] Liu J, Wang ET, Chen WX. Diverse rhizobia associated with woody legumes *Wisteria sinensis*, *Cercis racemosa* and *Amorpha fruticosa* grown in the temperate zone of China. *Syst Appl Microbiol*, 2005, **28**(5): 465–477.
 - [30] 吕飞, 蒋欣, 徐佳洁, 等. 新疆和陕西三叶草属根瘤菌 16S rDNA 多态性及系统发育研究. 草业学报, 2009, **17**(3): 304–309.
 - [31] Velázquez E, Peix A, Zurdo-Piñeiro JL, *et al.* The coexistence of symbiosis and pathogenicity-determining genes in *Rhizobium rhizogenes* strains enables them to induce nodules and tumors or hairy roots in plants. *Mol Plant-Microbe Interac*, 2005, **18**(12): 1325–1332.
 - [32] Rivas R, Willems A, Palomo JL, *et al.* *Bradyrhizobium betae* sp. nov., isolated from roots of *Beta vulgaris* affected by tumour-like deformations. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2004(54): 1271–1275.
 - [33] Sullivan JT, Patrick HN, Lowther WL, *et al.* Nodulating strains of *Rhizobium loti* arise through chromosomal symbiotic gene transfer in the environment. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, **92**(19): 8985–8989.
 - [34] 陈文新, 汪恩涛, 陈文峰. 根瘤菌—豆科植物共生多样性与地理环境的关系. 中国农业科学, 2004, **37**(1): 81–86.
 - [35] Barcellos FG, Menna P, da Silva Batista JS, *et al.* Evidence of horizontal transfer of symbiotic genes from a *Bradyrhizobium japonicum* inoculant strain to indigenous diazotrophs *Sinorhizobium (Ensifer) fredii* and *Bradyrhizobium elkanii* in a Brazilian Savannah Soil. *Appl Environ Microbiol*, 2007(73): 2635–2643.
 - [36] Fox GE, Wisotzkey JD, Jurtshuk Jr P. How close is close: 16S ribosomal RNA sequence identity may not be sufficient to guarantee species identity. *Int J Syst Bacteriol*, 1992(42): 166–170.

- [37] Gevers D, Cohan FM, Lawrence JG, *et al.* Re-evaluating prokaryotic species. *Nat Rev Microbiol*, 2005(3): 733–739.
- [38] Palys T, Berger E, Mitrica I, *et al.* Protein-coding genes as molecular markers for ecologically distinct populations: the case of two *Bacillus* species. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2000(50): 1021–1028.
- [39] Stackebrandt E, Frederiksen W, Garrity GM, *et al.* Report of the ad hoc committee for the re-evaluation of the species definition in Bacteriology. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2002(52): 1043–1047.
- [40] Zeigler DR. Gene sequences useful for predicting relatedness of whole genomes in bacteria. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2003(53): 1893–1900.
- [41] Vinuesa P, Leon-Barrios M, Silva C, *et al.* *Bradyrhizobium canariense* sp. nov., an acid-tolerant endosymbiont that nodulates endemic genistoid legumes (Papilionoideae: Genisteae) from the Canary Islands, along with *Bradyrhizobium japonicum* bv. *genistearum*, *Bradyrhizobium* genospecies alpha and *Bradyrhizobium* genospecies beta. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2005(55): 569–575.
- [42] Richter M, Rosselló-Móra R. Shifting the genomic gold standard for the prokaryotic species definition. *PNAS*, 2009, **106**(45): 19126–19131.

(上接 p.600)

征 稿 简 则

3.4 摘要写作注意事项

3.4.1 英文摘要:

1) 建议使用第一人称, 以此可区分研究结果是引用文献还是作者得出的; 2) 建议用主动语态, 被动语态表达拖拉模糊, 尽量不用, 这样可以避免好多长句, 以求简单清晰; 3) 建议使用过去时态, 要求语法正确, 句子通顺; 4) 英文摘要的内容应与中文摘要一致, 但可比中文摘要更详尽, 写完后务必请英文较好且专业知识强的专家审阅定稿后再返回编辑部。5) 摘要中不要使用缩写语, 除非是人人皆知的, 如: DNA, ATP 等; 6) 在英文摘要中, 不要使用中文字体标点符号。

3.4.2 关键词: 应明确、具体, 一些模糊、笼统的词语最好不用, 如基因、表达……

4 特别说明

4.1 关于测序类论文

凡涉及测定 DNA、RNA 或蛋白质序列的论文, 请先通过国际基因库 EMBL (欧洲) 或 GenBank (美国) 或 DDBJ (日本), 申请得到国际基因库登录号 (Accession No.) 后再投来。

4.2 关于版权

4.2.1 本刊只接受未公开发表的文章, 请勿一稿两投。

4.2.2 凡在本刊通过审稿、同意刊出的文章, 所有形式的 (即各种文字、各种介质的) 版权均属本刊编辑部所有。作者如有异议, 敬请事先声明。

4.2.3 对录用的稿件编辑部有权进行文字加工, 但如涉及内容的大量改动, 将请作者过目同意。

4.2.4 文责自负。作者必须保证论文的真实性, 因抄袭剽窃、弄虚作假等行为引发的一切后果, 由作者自负。

4.3 审稿程序及提前发表

4.3.1 来稿刊登与否由编委会最后审定。对不录用的稿件, 一般在收稿 2 个月之内通过 E-mail 说明原因, 作者登陆我刊系统也可查看。稿件经过初审、终审通过后, 作者根据编辑部返回的退修意见进行修改补充, 然后以投稿时的用户名和密码登陆我刊网址上传电子版修改稿, 待编辑部复审后将给作者发送稿件录用通知单, 请作者将修改稿纸稿和签字盖章后的承诺书一并寄回编辑部, 按照稿号顺序进入排队发表阶段。

4.3.2 对投稿的个人和单位一视同仁。坚持文稿质量为唯一标准, 对稿件采取择优先登的原则。如作者要求提前发表, 请在投稿的同时提出书面报告, 说明该研究成果的重要性、创新性、竞争性和提前发表的必要性, 经过我刊的严格审查并通过后, 可予提前刊出。

5 发表费及稿费

论文一经录用, 将在发表前根据版面收取一定的发表费并酌付稿酬、赠送样刊及单行本。

6 联系我们

地址: 北京市朝阳区北辰西路 1 号院 3 号中国科学院微生物研究所《微生物学通报》编辑部(100101)

Tel: 010-64807511

E-mail: tongbao@im.ac.cn

网址: <http://journals.im.ac.cn/WSWXTBCN>