

盐胁迫对 *Frankia* 生长和生理生化特性的影响

谢一青^{1,2}, 李志真¹, 黄儒珠², 黄 勇¹, 肖祥希¹

(1. 福建省林业科学研究院, 福建 福州 350012; 2. 福建师范大学生物工程学院, 福建 福州 350007)

摘要: 研究了盐胁迫($10 \sim 50 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl)对从杨梅 [*Myrica rubra* (Lour.) Sieb. et Zucc.]、木麻黄 (*Casuarina* spp.)、桤木 (*Alnus* spp.) 和福建胡颓子 (*Elaeagnus oldhami* Maxim.) 根瘤中分离出的 11 株 *Frankia* 菌株的生长和生理生化特性的影响。结果表明, 在离体培养条件下, 分离自木麻黄和桤木根瘤的 *Frankia* 菌株耐盐性最强, 其次是来源于福建胡颓子根瘤的 *Frankia* 菌株, 而从杨梅根瘤中分离得到的 *Frankia* 菌株耐盐性最弱。在盐胁迫条件下, *Frankia* 菌株的形态和生理生化特征也发生相应变化: 孢囊和泡囊数量增加、菌丝变细或变粗、固氮酶活性增加、营养源利用率下降。

关键词: 盐胁迫; *Frankia*; 生理生化特性

中图分类号: Q945.78 文献标识码: A 文章编号: 1004-0978(2006)01-0009-05

Effect of salt stress on growth and physiological and biochemical characteristics of *Frankia* XIE Yi-qing^{1,2}, LI Zhi-zhen¹, HUANG Ru-zhu², HUANG Yong¹, XIAO Xiang-xi¹ (1. Fujian Academy of Forestry, Fuzhou 350012, China; 2. College of Bioengineering, Fujian Normal University, Fuzhou 350007, China), *J. Plant Resour. & Environ.* 2006, 15(1): 9–13

Abstract: The effect of salt stress ($10 \sim 50 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl) on growth and physiological and biochemical characteristics of 11 *Frankia* strains from root nodules of *Myrica rubra* (Lour.) Sieb. et Zucc., *Casuarina* spp., *Alnus* spp. and *Elaeagnus oldhami* Maxim. was studied in the BAP medium. The results showed that the salt tolerance of *Frankia* strains from *Casuarina* spp. and *Alnus* spp. was the strongest, the second from *E. oldhami*, while the least from *M. rubra*. The morphological, physiological and biochemical characteristics of the tested strains were also changed under the salt stress, such as the numbers of sporangium and vesicle increasing, the hyphae getting thiner or thicker, the nitrogenase activity enhancing and the rate of nutrient source utilization decreasing.

Key words: salt stress; *Frankia*; physiological and biochemical characteristics

Frankia (弗兰克氏菌)是一类固氮放线菌^[1,2]。研究表明, *Frankia* 能诱导 8 科 25 属 279 种非豆科植物结瘤固氮形成共生现象^[3,4], 这种现象在自然界普遍存在, 并在氮素循环和氮素供应中发挥重要作用。由于大多数 *Frankia* 与根瘤有较高的共生固氮效率, 且与宿主的关系特异性较低, 以及具有根瘤菌所没有的自身能防止固氮受氧损伤的独特机制等特点, 因此, *Frankia* 的研究在生物固氮领域具有十分重要的意义。目前对从不同宿主植物根瘤中分离的 *Frankia* 的研究多集中于生物学特性^[5]、侵染能力^[6] 和分子遗传特性^[7,8] 等方面, 而盐胁迫下 *Frankia* 生长和生理生化特性的研究鲜见报道。本研究通过对宿主分别为杨梅 [*Myrica rubra* (Lour.) Sieb. et Zucc.], 木麻黄 (*Casuarina* spp.), 桤木 (*Alnus* spp.) 和福建胡颓子 (*Elaeagnus oldhami* Maxim.) 的 11 株 *Frankia* 菌株进行离体培养, 探讨盐胁迫下 *Frankia* 的生长及生理生化和形态特征的变化, 以揭示 *Frankia* 的抗盐机理及不同宿主来源的 *Frankia* 在盐胁迫下适应性能的差异, 为高效固氮菌株的筛选、保护和利用提供理论依据。

Maxim.) 的 11 株 *Frankia* 菌株进行离体培养, 探讨盐胁迫下 *Frankia* 的生长及生理生化和形态特征的变化, 以揭示 *Frankia* 的抗盐机理及不同宿主来源的 *Frankia* 在盐胁迫下适应性能的差异, 为高效固氮菌株的筛选、保护和利用提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 菌株来源

11 株供试 *Frankia* 菌株除“2215”菌株由中国科学院微生物研究所刘志恒先生惠赠外, 其余均由笔

收稿日期: 2005-09-02

基金项目: 福建省自然科学基金资助项目(B993001)

作者简介: 谢一青(1976-), 女, 福建莆田人, 硕士研究生, 工程师, 主要从事森林生态与林木遗传育种研究。

者分离自杨梅、木麻黄、桤木和福建胡颓子的根瘤(表 1)。

1.2 *Frankia* 的分离与培养

取新鲜幼瘤用自来水冲洗干净, 分开瘤瓣, 于超净工作台上将瘤瓣置于 95% 乙醇中浸泡 1 min, 无菌水冲洗, 再浸入 0.1% 酸性 $HgCl_2$ 中消毒 5~8 min, 取出, 无菌水冲洗数遍, 去皮, 加少量无菌水用玻璃匀浆器研磨, 取一定量匀浆液接种于装有 5 mL 改良的 BAP 培养液^[9]的试管中, 置 28°C 恒温箱静置培养。菌落长出后转到 BAP 培养液中进一步纯化, 观察菌体的生长、形态特征及色素的产生。

1.3 盐胁迫实验

供试 *Frankia* 菌株转到 BAP 培养液中同步预培养 2~4 周后, 分别收集生长至对数期的菌体, 并将其研磨后, 等量接入装有 5 mL 含不同浓度 NaCl 的 BAP 培养液的试管中, 28°C 静置培养。NaCl 浓度为 0、10、20、30、40 和 50 $g \cdot L^{-1}$, 实验重复 3 次。

1.4 测定方法

1.4.1 生物量测定 取经不同浓度 NaCl 胁迫培养 3 d 的菌株, 离心, 测干重。

1.4.2 形态特征观察 供试 *Frankia* 菌株在盐胁迫条件下培养 30 d 后, 取少量菌丝体制成水和甘油封片, 显微镜下观察活体形态。

1.4.3 固氮酶诱导及活性测定 选取对 50 $g \cdot L^{-1}$ NaCl 有抗性的菌株, 匀浆, 等量接入含 50 $g \cdot L^{-1}$ NaCl 的无氮源的 BAP 诱导培养液中, 28°C 诱导培养 10 d, 将菌液移入 9 mL 小瓶中, 再加 1 mL 诱导培养液, 封口, 28°C 水浴摇床继续诱导培养 5 d 后, 从小瓶中抽出 10% 空气, 再注入 10% 乙炔气, 置于摇床上于 28°C 继续培养 24 h 后, 用岛津气相色谱仪测定样本的乙烯生成量, 并换算成固氮酶活性, 实验重复 3 次, 以不含 NaCl 的诱导培养液培养的菌株作为对照。菌体蛋白质含量采用考马斯亮蓝 G-250 法^[10] 测定。同时, 取少量菌体在显微镜下进行形态特征观察。

1.4.4 营养源利用率测定 供试 *Frankia* 为 7 株对 50 $g \cdot L^{-1}$ NaCl 有抗性的菌株。选择 7 株 *Frankia* 菌株均可利用的碳源 1 种(吐温-80)、有机酸盐 3 种(乙酸钠、丙酸钠和丙酮酸钠)和氮源 3 种(硫酸铵、牛肉膏和酪蛋白), 过滤灭菌后, 分别加到不含碳源、有机酸盐和氮源而含有不同浓度 NaCl 的 BAP 培养液中(碳源、有机酸盐和氮源的终浓度分别为

1.0%、0.2% 和 1.0%), 并分装于试管中, 每管 5 mL。取对数生长期的菌体匀浆, 定量接种于试管中, 28°C 静置培养(每处理重复 3 次), 以不含 NaCl 的上述 BAP 培养液为对照。培养 30 d, 离心收集菌体, 测干重, 并计算菌体生长抑制率。菌体生长抑制率 = [(对照组菌体干重 - 处理组菌体干重)/对照组菌体干重] × 100%。

2 结果和分析

2.1 盐胁迫对 *Frankia* 菌株生长的影响

对分离自木麻黄、杨梅、桤木、福建胡颓子根瘤的 11 株 *Frankia* 菌株进行不同浓度 NaCl 胁迫实验, 结果表明, 所有供试菌株对 NaCl 都比较敏感(见表 1)。由表 1 可知, 10~50 $g \cdot L^{-1}$ NaCl 胁迫处理均对菌体生长产生抑制作用, 导致菌丝体干重下降, 且其影响随 NaCl 浓度的递增而变大, 但程度有所不同。其中, 宿主为木麻黄和桤木的 7 株 *Frankia* 菌株受 NaCl 影响程度最小, 即当 NaCl 浓度达 50 $g \cdot L^{-1}$ 时仍能生长, 但菌丝体干重下降为对照的 5.1%~28.0%; 其次是宿主为福建胡颓子的 FEo01 菌株, 在 20 $g \cdot L^{-1}$ NaCl 胁迫下, 菌丝体干重下降为对照的 33.3%, 而当 NaCl 浓度达到或超过 30 $g \cdot L^{-1}$ 时菌体不再生长。分离自杨梅根瘤的 *Frankia* 菌株受 NaCl 的影响最大: 菌株 FMr43 在 NaCl 浓度为 10 $g \cdot L^{-1}$ 时, 菌丝体干重下降为对照的 29.2%, 在 NaCl 浓度为 20 $g \cdot L^{-1}$ 时生长停滞; 菌株 FMr72 和 2215 对 NaCl 更敏感, 用 10 $g \cdot L^{-1}$ NaCl 处理时菌体生长停滞。从表 1 还可以看出, 宿主为木麻黄和桤木的 *Frankia* 菌株对不同浓度的 NaCl 处理的敏感性不同, 随 NaCl 浓度的增加, 菌株 FCg08 菌丝体干重下降幅度最大, 菌株 FAc03、FCg77、FCc64、FAf07 和 FCe19 次之, 而菌株 FCc92 的菌丝体干重下降幅度最小。

2.2 盐胁迫对 *Frankia* 菌株形态特征的影响

NaCl 处理不仅影响 *Frankia* 的生长, 而且也影响 *Frankia* 的形态特征。显微观察表明, 用 NaCl 处理的 11 株 *Frankia* 菌株形态特征与对照组基本一致, 即都具有典型的 *Frankia* 特征: 菌丝体粗细不均、分枝且分隔, 孢囊形状多样(多为椭圆形), 大小不一(图 1-a)。但用 NaCl 处理 30 d 的 *Frankia* 菌株的孢囊数量较对照组均明显增加, 且随盐胁迫程

度的加强而递增, 同时, *Frankia* 菌丝的粗细和孢囊数量等形态特征也有所变化, 且这种变化在不同宿主来源的菌株间差异显著。与对照相比, 分离自木麻黄根瘤的 *Frankia* 菌株孢囊数量的变化不明显, 但菌丝体变粗(图 1 - b); 而多数宿主为杨梅、桤木和福建胡颓子的 *Frankia* 菌株的菌丝体却变细, 孢

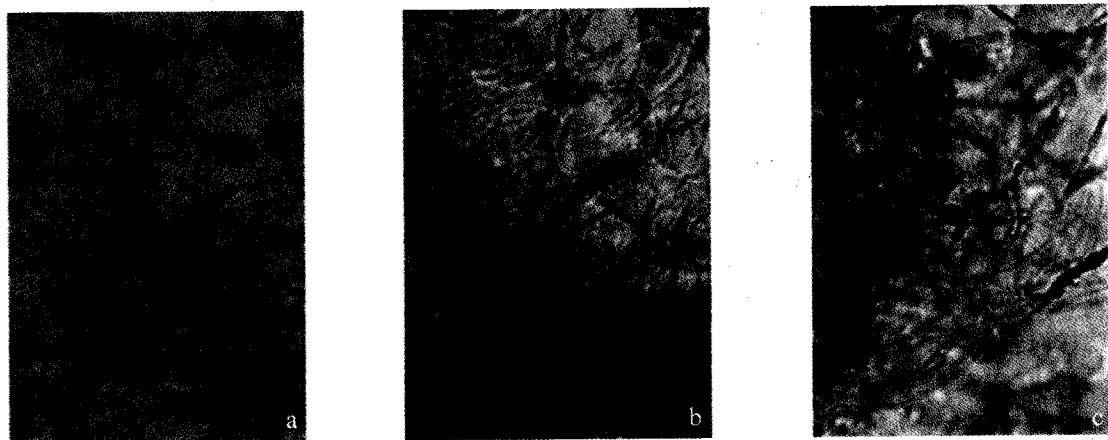
囊数量也明显增加。实验中还发现, 菌株 FAf07 的对照组几乎未观察到孢囊, 而经 NaCl 处理后却观察到有孢囊存在。特别值得注意的是, 经 NaCl 处理后菌株 FMr43 与对照一样仍具有文献[11]所描述的串珠状菌丝段(图 1 - c), 这表明盐胁迫不会导致 *Frankia* 的一些特殊结构的破坏。

表 1 盐胁迫对 *Frankia* 菌株生物量(DW)的影响¹⁾
Table 1 Influence of salt stress on the biomass (DW) of *Frankia* strains¹⁾

菌株 Strain	寄主植物 Host species	采样地 Location	不同浓度 NaCl($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)处理后菌株的生物量/ $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ Biomass of strain treated by different concentrations of NaCl					
			0	10	20	30	40	50
FCc64	细枝木麻黄	福建福鼎 Fuding, Fujian	0.42	0.36	0.30	0.20	0.16	0.06
FCc92	细枝木麻黄	福建厦门 Xiamen, Fujian	0.50	0.36	0.26	0.24	0.20	0.14
FCe19	短枝木麻黄	福建东山 Dongshan, Fujian	0.44	0.30	0.28	0.20	0.18	0.10
FCg08	粗枝木麻黄	福建东山 Dongshan, Fujian	0.78	0.32	0.38	0.20	0.18	0.04
FCg77	粗枝木麻黄	福建福清 Fuqing, Fujian	0.64	0.42	0.28	0.20	0.16	0.08
FMr43	杨梅	福建武夷山 Wuyishan, Fujian	0.48	0.14	-	-	-	-
FMr72	杨梅	福建福鼎 Fuding, Fujian	0.48	-	-	-	-	-
FAc03	四川桤木	福建福州 Fuzhou, Fujian	0.68	0.44	0.32	0.18	0.10	0.06
FAf07	台湾桤木	福建莱舟 Laizhou, Fujian	0.56	0.30	0.28	0.16	0.10	0.08
FEo01	福建胡颓子	福建惠安 Hui'an, Fujian	0.48	0.24	0.16	-	-	-
2215	杨梅	云南 Yunnan	0.38	-	-	-	-	-

¹⁾ 细枝木麻黄 *Casuarina cunninghamiana* Miq.; 短枝木麻黄 *C. equisetifolia* L.; 粗枝木麻黄 *C. glauca* Sieb. ex Spreng.; 杨梅 *Myrica rubra* (Lour.) Sieb. et Zucc.; 四川桤木 *Alnus cremastogyne* Burkill; 台湾桤木 *A. formosana* Makino; 福建胡颓子 *Elaeagnus oldhami* Maxim.

-: 不生长 No growth.



a. 盐胁迫前菌株 FCg08 的菌丝和孢囊 Hyphae and sporangia of FCg08 before salt stress; b. 盐胁迫后菌株 FCg08 的菌丝和孢囊 Hyphae and sporangia of FCg08 after salt stress; c. 盐胁迫后菌株 FMr43 的串珠状菌丝 Reproductive torulose hyphae of FMr43 after salt stress.

图 1 盐胁迫前后 *Frankia* 菌丝体形态特征的比较($\times 1500$)
Fig. 1 Comparison of morphologic characteristics of *Frankia* before and after salt stress ($\times 1500$)

2.3 盐胁迫对 *Frankia* 菌株固氮能力的影响

用 $50 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl 处理并在无氮条件下培养的 7 株供试 *Frankia* 菌株均有固氮酶活性(表 2)。结果表明, 用 $50 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl 处理后, 宿主为木麻黄的

Frankia 菌株固氮酶活性变化不明显, 其增长率为 1.92% ~ 7.27%, 其中增长最多的是菌株 FCg08, 其次是菌株 FCg77、FCc64 和 FCc92, 最少的是菌株 FCe19; 而从桤木和福建胡颓子根瘤中分离出的

Frankia 菌株固氮酶活性变化较明显, 其中菌株 FA07 和 FE001 的固氮酶活性分别增加了 19.85% 和 21.15%。显微观察也发现, *Frankia* 经盐胁迫并诱导培养后泡囊数量明显多于对照组, 尤其是宿主为台湾桤木的菌株 FA07; 宿主为木麻黄的 *Frankia* 菌株泡囊数量也略有增加。实验结果提示, 供试 *Frankia* 菌株受盐胁迫后固氮酶活性的增加与泡囊数量的增加似乎成正相关, 即泡囊数量的增加可能是引起固氮酶活性提高的主要原因。

表 2 盐胁迫对 *Frankia* 菌株固氮酶活性的影响¹⁾

Table 2 Effect of salt stress on nitrogen-fixation enzyme activity in *Frankia*¹⁾

菌株 Strain	酶活性/ $\mu\text{mol} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$		增长率/% Increasing rate of enzyme activity	泡囊数量 Vesicle number
	胁迫前 Before stress	胁迫后 After stress		
FCC64	3.85	4.11	6.75	+++
FCC92	0.53	0.56	5.67	++
FCE19	1.04	1.06	1.92	++
FCG08	0.55	0.59	7.27	++
FCG77	1.33	1.42	6.77	+++
FA07	1.31	1.57	19.85	+++
FE001	0.52	0.63	21.15	+++

1) + + + : 数量多 Many; + + : 数量较多 Middle.

2.4 盐胁迫对 *Frankia* 菌株营养源利用的影响

菌体干重是表征 *Frankia* 生长水平的重要指标之一, 其与菌体对营养源的利用有密切的关系。盐胁迫下, 菌体生长抑制率越大, 说明菌体对营养源的利用越差。表 3 结果表明, 菌体生长抑制率因供试菌株、供试营养源和盐胁迫程度不同而异。在盐胁迫下, 7 株供试 *Frankia* 菌株对 7 种营养源利用的菌体生长抑制率均随 NaCl 浓度的提高呈上升趋势, 说明供试菌株对营养源的利用率随盐胁迫程度的加强而下降。其中, 以菌株 FCG08 对丙酸钠利用的菌体生长抑制率增加幅度最大, 达 59.0% ~ 94.9%; 而菌株 FCC64 对吐温 -80 利用的菌体生长抑制率变化幅度最小, 为 10.3% ~ 75.8%, 表明菌株 FCG08 对丙酸钠的利用受 NaCl 浓度变化的影响较大, 而菌株 FCC64 对吐温 -80 的利用受 NaCl 浓度变化的影响较小。从表 3 还可看出, 当 NaCl 浓度低于 20 g · L⁻¹ 时, 各受试菌株对吐温 -80、乙酸钠、丙酮酸钠、硫酸铵、牛肉膏及酪蛋白 6 个营养源利用的菌体生长抑制率较低, 说明此浓度的盐胁迫并未明显

影响菌体对营养源的利用; 而当 NaCl 浓度高于 30 g · L⁻¹ 时, 菌体生长抑制率均明显增加, 达 50.3% ~ 94.9%, 表明此时菌体对营养源的利用受到 NaCl 胁迫的明显影响。

表 3 盐胁迫对 *Frankia* 菌株营养源利用的影响¹⁾

Table 3 Effect of salt stress on nutrient source utilization of *Frankia*¹⁾

菌株 Strain	NaCl 浓 度/g · L ⁻¹ Conc. of NaCl	菌体生长抑制率/% Growth inhibition rate of <i>Frankia</i>						
		I	II	III	IV	V	VI	VII
FCC64	10	10.3	12.1	14.3	13.2	11.6	13.8	12.0
	20	33.4	23.3	28.6	23.7	22.5	23.2	24.5
	30	57.8	56.1	52.4	56.7	50.3	54.6	55.9
	40	65.4	68.3	61.9	67.0	68.0	60.5	63.3
	50	75.8	90.8	85.7	87.4	84.6	82.9	84.1
FCC92	10	12.7	17.6	28.0	23.1	15.6	17.2	14.7
	20	31.2	33.4	48.0	28.5	30.4	27.9	31.0
	30	55.9	57.8	52.0	53.8	58.1	51.6	57.2
	40	72.3	66.5	60.0	67.1	69.4	66.0	68.9
	50	92.5	81.6	72.0	80.9	84.3	85.1	90.7
FCE19	10	12.6	20.5	31.8	22.6	—	—	15.0
	20	30.4	34.7	36.4	33.0	—	—	31.5
	30	57.8	58.9	54.5	58.8	—	—	56.8
	40	66.1	69.4	59.1	69.7	—	—	67.9
	50	82.7	90.6	77.3	83.6	—	—	80.6
FCG08	10	22.0	12.6	59.0	20.3	18.3	25.1	14.1
	20	30.9	28.2	51.3	29.6	29.0	33.2	31.6
	30	54.7	65.9	74.4	55.9	58.7	59.9	54.3
	40	69.3	78.1	76.9	68.5	70.0	72.3	66.9
	50	88.0	81.0	94.9	84.0	81.0	91.0	79.5
FCG77	10	16.4	15.6	34.4	17.3	19.0	18.1	—
	20	30.0	23.2	56.3	29.7	31.1	23.2	—
	30	58.3	54.9	68.8	56.8	63.5	45.9	—
	40	67.8	68.3	75.0	70.5	74.6	68.0	—
	50	86.0	89.0	87.5	83.4	91.0	84.7	—
FAC03	10	21.6	32.6	35.3	18.0	17.3	16.4	14.9
	20	33.2	49.2	52.9	24.6	28.2	26.8	35.2
	30	59.0	67.9	73.5	65.2	49.5	54.3	60.7
	40	77.3	78.7	85.3	77.5	70.1	68.8	78.0
	50	89.0	85.8	91.2	86.0	90.1	89.7	90.7
FA07	10	11.9	26.5	46.2	23.0	—	17.5	19.7
	20	26.1	49.2	50.0	48.7	—	36.4	37.2
	30	58.9	70.0	71.4	68.9	—	67.8	70.1
	40	70.4	78.3	82.1	78.5	—	76.1	80.5
	50	83.5	91.0	85.7	88.0	—	89.5	91.4

¹⁾ I: 1.0% Tween-80; II: 0.2% Sodium acetate; III: 0.2% Sodium propionate; IV: 0.2% Sodium pyruvate; V: 1.0% (NH₄)₂SO₄; VI: 1.0% Beef extract; VII: 1.0% Casein. —: 不利用 No utilization.

3 结论和讨论

通过观测供试 11 株 *Frankia* 菌株在盐胁迫下的表现,可以看出:盐分对 *Frankia* 生长有一定的影响,且源自不同宿主甚至同一宿主的不同 *Frankia* 菌株对不同浓度盐胁迫的反应不一。宿主为木麻黄和桤木的 *Frankia* 菌株表现出对盐胁迫有较高的耐受性,而宿主为杨梅、福建胡颓子的 *Frankia* 菌株几乎是拒盐的(当 NaCl 浓度达 $20 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 以上菌株不生长),这种现象可能与 *Frankia* 宿主的生长环境有关。木麻黄生长在盐分较高的沿海沙地,与其共生的 *Frankia* 在长期进化过程中对 NaCl 有较强的适应能力,而杨梅主要生长在酸性土壤中,其根瘤内生菌对盐分的耐受性也相对较低。值得注意的是,桤木多生长在酸性土壤中,与其共生的 2 株供试 *Frankia* 菌株却能耐受较高浓度的 NaCl($50 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$);而 FEo01 菌株的宿主福建胡颓子生长于沿海沙地上,该菌株却几乎是拒盐的。由此可见, *Frankia* 的耐盐能力并非都与宿主的生长环境有关,很可能是在盐胁迫下, *Frankia* 启动了某种适应机制,这方面的探讨有待进一步深入。

Frankia 的固氮作用主要发生在泡囊中,逆境条件能诱导 *Frankia* 生成泡囊,泡囊中富含固氮酶^[12]。在 $50 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl 胁迫下,供试的 *Frankia* 菌株固氮酶活性和泡囊数量均明显高于对照组,表明在盐胁迫下 *Frankia* 固氮酶活性变化与泡囊的数量有关,即盐胁迫使 *Frankia* 泡囊数量增加,而泡囊数量的增加可能是引起固氮酶活性提高的重要原因之一。当然是否还存在其他影响机制,尚须进一步实验验证。

盐胁迫不仅影响 *Frankia* 的生长和固氮酶活性,而且也影响 *Frankia* 的形态特征。与对照组相比,在不同浓度 NaCl 胁迫下,分离自木麻黄根瘤的供试 *Frankia* 菌株菌丝体变粗,而多数宿主为杨梅、桤木和福建胡颓子的菌株菌丝体却变细,同时,泡囊数量也增加,孢囊形状也变得多样,这种差异在同宿主和不同宿主菌株间均存在。显微观察中也发现,盐胁

迫不会破坏 *Frankia* 的串珠状菌丝段结构。

盐胁迫对供试 *Frankia* 菌株对营养源的利用有一定的影响。实验结果表明,在盐胁迫下, *Frankia* 菌体生长抑制率因供试菌株、供试营养源和盐胁迫程度不同而异。随 NaCl 浓度增加,供试 *Frankia* 菌株对吐温-80、乙酸钠、丙酸钠、丙酮酸钠、硫酸铵、牛肉膏及酪蛋白 7 种营养源利用的菌体生长抑制率均呈上升趋势,表明供试菌株对营养源的利用率随盐胁迫程度的加强而下降,且当 NaCl 浓度低于 $20 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,菌株对营养源的利用受盐胁迫的影响程度相对较小;而当 NaCl 浓度高于 $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,菌株对营养源的利用受到明显抑制。

参考文献:

- [1] Collaham D, Tredici P D, Torrey J G. Isolation and cultivation *in vitro* of the actinomycete causing root nodulation in *Comptonia* [J]. Science, 1978, 199: 899-902.
- [2] 彭源东, 柯丹兵, 张忠泽. *Frankia* 基因组 DNA 提取及其 PCR 带型[J]. 微生物学杂志, 1997, 17(3): 1-5.
- [3] Lechevalier M P. Minireview taxonomy of the genus *Frankia* (Actinomycetales) [J]. Int J Syst Bacteriol, 1994, 44: 1-8.
- [4] 周志宏, 石彦林, 刘志恒. 弗兰克氏菌的分类研究进展 [J]. 微生物学通报, 1997, 24(1): 41-44.
- [5] 王晨光, 宋尚直, 阮继生. 弗兰克氏菌生物学特性研究 [J]. 微生物学报, 1993, 33(4): 297-303.
- [6] 杜大至, 王毅岩, 汪崇林, 等. 几种非豆科植物根瘤内生菌侵染特征的研究 [J]. 植物学报, 1988, 30(1): 25-32.
- [7] 彭源东, 张忠泽, 丁 鉴. 用 REP-PCR DNA 指纹鉴别 *Frankia* 菌 [J]. 微生物学杂志, 1998, 18(1): 1-5.
- [8] 代玉梅, 曹 军, 唐晓萌, 等. 高黎贡山旱冬瓜 *Frankia* 的 IGS PCR-RFLP 分析 [J]. 应用生态学报, 2004, 15(2): 186-190.
- [9] 谢一青. 一株弗兰克氏菌的分离培养及特性研究 [J]. 微生物学通报, 2004, 31(5): 9-13.
- [10] 中国科学院上海植物生理研究所. 现代植物生理学试验指南 [M]. 北京: 科学出版社, 1999. 392-394.
- [11] Diem H G, Dommergues Y R. *In vitro* production of specialized reproductive torulose hyphae by *Frankia* strain ORSO21001 isolated from *Casuarina junghuhniana* root nodules [J]. Plant and Soil, 1985, 187: 1-29.
- [12] 陈启锋, 李志真, 黄群策. 弗兰克氏菌 (*Frankia*) 的研究进展与前景 [J]. 福建农业大学学报, 1998, 27(4): 385-392.