

**International Conference on the Biology
of *Frankia*
August 4–6, 1982,
Madison, Wisconsin**

**Conférence internationale sur la biologie
de *Frankia*
4–6 août 1982,
Madison, Wisconsin**

Introduction

JOHN G. TORREY

Cabot Foundation, Harvard University, Petersham, MA, U.S.A. 01366

AND

JOHN D. TJEPKEMA

Department of Botany and Plant Pathology, University of Maine, Orono, ME, U.S.A. 04469

The study of *Frankia* and its nitrogen-fixing symbioses with woody dicots has attracted an increasing number of investigators because of the importance of actinorhizal plants for forestry, land reclamation and natural ecosystems and as a model for the genetic engineering of new symbioses. Since the first successful isolation and culture of the root-nodule microorganism from actinorhizal plants in 1978, sufficient progress has been made on the biology of the actinomycete *Frankia* to convene a 3-day international conference on the subject. On August 4–6, 1982, approximately 60 scientists from North America and scattered places from around the world met at Madison, WI. Thirty-two papers on the general subject of *The Biology of Frankia* were presented. The program was planned by John G. Torrey and John D. Tjepkema of Harvard University and was hosted by Jerry Ensign of the University of Wisconsin. Twenty-seven of the papers have been brought together for publication in this issue.

Notable progress has been made on many fronts and the participants had the stimulation of exchanging much new information on the nature of the filamentous soil bacterium which invades roots of a wide range of hosts, forming highly effective symbioses. The list of actinorhizal host plants has now been increased to 22 genera distributed among eight families of dicotyledonous woody species and including in excess of 170 species. The number of separate discrete isolations of *Frankia* from an increasing proportion of these hosts has now reached the hundreds. Host genera from which *Frankia* isolates have been cultured which are known to be infective and effective (in forming nitrogenase) include *Alnus*, *Casuarina*, *Comptonia*, *Elaeagnus*, *Hippophäe*, *Myrica*, and *Purshia*. Included in this series of papers are the first reports of successful isolation of an effective strain of *Frankia* from the important tropical and subtropical tree *Casuarina*, opening the possibility of distributing endophyte for inoculation of a genus of worldwide distribution which is increasingly one of the most important fuel trees in the world.

L'étude de *Frankia* et de ses symbioses de fixation de l'azote avec des dicotylédones ligneuses a attiré l'attention d'un nombre croissant de chercheurs en raison de l'importance des plantes actinorhizées en foresterie, récupération du sol, chez les écosystèmes naturels et comme modèle en génie génétique des nouvelles symbioses. Depuis le premier isolement réussi et la culture du micro-organisme isolé de la nodosité des racines à partir de plantes actinorhizées en 1978, des progrès suffisants ont été accomplis en biologie d'actinomycète *Frankia* afin de tenir une conférence internationale de 3 jours sur le sujet. Du 4 au 6 août 1982, environ 60 scientifiques de l'Amérique du nord et d'un peu partout partout dans le monde se sont rencontrés à Madison au Wisconsin. Trente deux communications portant sur le sujet général de *La biologie de Frankia* ont été présentées. John G. Torrey et John D. Tjepkema de l'université Harvard ont assuré la planification du programme et Jerry Ensign de l'université du Wisconsin en était l'hôte. Parmi les communications présentées, 27 ont été regroupées et sont publiées dans les pages suivantes.

Des progrès remarquables ont été accomplis sur plusieurs fronts et les participants ont eu la stimulante initiative d'échanger beaucoup d'information nouvelles sur la nature de la bactérie terricole filamenteuse qui envahit les racines d'une grande variété d'hôtes, formant des symbioses très actives. La liste des plantes actinorhizées hôtes est maintenant passée à 22 genres répartis parmi les huit familles d'espèces dicotylédones ligneuses qui comprennent plus de 170 espèces. Le nombre d'isollements différents de caractère discret de *Frankia*, à partir d'une proportion croissante de ces hôtes, a maintenant atteint les centaines. Les genres d'hôtes à partir desquels les isollements de *Frankia* ont été cultivés, qui ont la réputation d'être infectieux et actifs (en formant de la nitrogénase) comprennent les *Alnus*, *Casuarina*, *Comptonia*, *Elaeagnus*, *Hippophäe*, *Myrica* et *Purshia*. Cette série de communications comprend les premiers rapports d'isolement réussi

An area of active research dealt with in a number of contributions in this symposium concerns improved methods of cultivation of *Frankia in vitro*. The early isolations were established on complex media containing yeast extract. Now many strains can be grown on defined media. Under these conditions one can induce morphological differentiation of specialized structures: sporangia and thick-walled spores in abundance, or purely filamentous growth, or filaments bearing specialized terminal swellings called vesicles within which the N_2 -fixing enzyme nitrogenase is formed. Thus, free-living *Frankia* can be induced to fix atmospheric N_2 using as energy and carbon source such compounds as propionate or succinate in a defined inorganic medium.

Important advances were also evident in nodule physiology and the ecology of actinorhizal plants. The presence of hemoglobins was demonstrated in several species with relatively high concentrations being found in nodules of *Casuarina cunninghamiana* and *Myrica gale*. New aspects of the mechanism of protection of nitrogenase from oxygen and the first measurements of annual energy usage in nitrogen fixation by an actinorhizal species were reported. There was also progress on photosynthate partitioning, nodule carbon metabolism, and soil factors affecting nodulation and nitrogen fixation.

Other firsts reported at the meeting included detailed comparisons of a large number of strain isolates from a common host species, which indicate the diversity of strain types associated with a given host. New also were the first reports of the occurrence of plasmids in *Frankia* (to be published elsewhere). Progress is reported here on a better understanding of the infection process whereby *Frankia* enters the root hairs of susceptible host plants and on some of the subtleties of interactions between host and endophyte leading to successful symbioses or to failed associations.

Although emphasis was placed at the meeting and in this published report on the basic biology of *Frankia*, the implications for the improvement of host-bacterial symbiotic associations were evident as well as the importance of the symbioses to host plant growth and development and success in its natural or plantation site.

During discussions at the meeting, much attention was given to the increasing difficulties of identifying strains because of the lack of a uniform method of strain designation. A committee chaired by M. P. Lechevalier agreed to prepare a statement on a method of uniform strain designation for future use with *Frankia* isolates. The results of their deliberations combined from more general discussions are presented in this series.

Plans for another meeting to be held 2 years hence were formulated. At that time it is hoped that emphasis will be placed not only on progress in understanding the biology of the cultured organism but also on the practical

d'une souche active de *Frankia* à partir de l'important arbre tropical et sous-tropical *Casuarina*, laissant entrevoir la possibilité de distribuer de l'endophyte pour inoculation d'un genre de distribution mondiale qui, de plus en plus, est l'un des plus importants arbres de combustion dans le monde.

Un domaine de recherche active, qui a été abordé dans plusieurs communications lors de ce symposium, traite de méthodes améliorées de culture de *Frankia* en éprouvette. Les premiers isolements ont été établis à partir de milieux complexes contenant un extrait de levure. Il est maintenant possible de faire croître plusieurs souches dans des milieux spécifiques. Dans ces conditions, il est possible d'induire une différenciation morphologique des structures spécialisées: sporanges et spores à membrane épaisse en abondance, ou purement des filaments indifférenciés ou des filaments portant des renflements terminaux différenciés appelées vésicules à l'intérieur desquels la nitrogénase (enzyme fixatrice d'azote) est formée. Ainsi, il est possible d'induire des *Frankia* vivant à l'état libre afin de fixer le N_2 atmosphérique en utilisant comme énergie et source de carbone des composés comme le propionate et le succinate dans un milieu inorganique spécifique.

D'importants progrès ont également été accomplis dans la physiologie du nodule et l'écologie des plantes actinorhizées. La présence d'hémoglobine a été démontrée dans plusieurs espèces, des concentrations relativement élevées étant trouvées dans les nodules des *Casuarina cunninghamiana* et *Myrica gale*. De nouveaux aspects du mécanisme de protection de la nitrogénase contre l'oxygène et les premières mesures d'utilisation annuelle d'énergie dans la fixation de l'azote par une espèce actinorhizée ont également été signalés. Il y a eu également des progrès accomplis sur le compartimentage photosynthétique, le métabolisme du carbone des nodosités et les facteurs pédologiques influençant la nodulation et la fixation de l'azote.

D'autres premières signalées à la rencontre comprenaient des comparaisons détaillées d'un grand nombre d'isolements de souches à partir d'une espèce hôte commune, ce qui illustre la diversité des genres de souches reliés à un hôte donné. Les premiers rapports sur la présence de plasmides dans *Frankia* (article qui sera publié ailleurs) étaient également des nouveautés. Des progrès ont aussi été signalés sur une meilleure compréhension du processus d'infection par lequel *Frankia* pénètre dans les poils absorbants de plantes hôtes susceptibles et sur certaines complexités des interactions entre l'hôte et l'endophyte produisant des symbioses réussies ou à des associations ratées.

Même si, lors des réunions et des communications publiées, on s'est surtout penché sur la biologie fondamentale de *Frankia*, les implications pour l'amélioration des associations hôte-bactérie symbiotiques étaient

application of this knowledge to the inoculation of forest tree species and the improvement of tree production with symbiotic nitrogen fixation from *Frankia* – actinorhizal plant associations.

The organizers of the meeting thank the local host at Madison, Dr. Jerry Ensign and his associates, including especially Mrs. Irene Slater of the Department of Bacteriology, University of Wisconsin at Madison, for their hospitality. The participants also express appreciation for financial support of the meeting to Cetus Corporation, the University of Wisconsin, and to the Maria Moors Cabot Foundation for Botanical Research of Harvard University. We also express thanks to Dr. J.-André Fortin, Dr. Taylor Steeves, and the Publishing Department of the National Research Council of Canada for making possible the publication of these papers in the Canadian Journal of Botany.

aussi importantes tout comme les symbioses pour la croissance et le développement réussis de la plante hôte dans son milieu normal ou de plantation.

Lors des discussions à cette conférence, on a accordé beaucoup d'attention aux difficultés croissantes d'identification des souches en raison de l'absence d'une méthode uniforme de désignation des souches. Un comité présidé par M. P. Lechevalier a accepté de préparer un énoncé portant sur une méthode uniforme de désignation des souches pour utilisation à venir dans le cas des isolements de *Frankia*. Les résultats de leurs délibérations combinés à des discussions plus générales sont présentées dans les pages qui suivent.

Des plans ont été formulés afin de tenir une autre réunion dans deux ans. À ce moment, nous espérons qu'on se penchera non seulement sur les progrès de la compréhension de la biologie de l'organisme cultivé mais aussi sur l'application pratique de cette connaissance pour l'inoculation d'espèces d'arbres en forêt et l'amélioration de la production forestière avec la fixation symbiotique d'azote à partir des associations de plantes *Frankia*-actinorhizées.

Les organisateurs de la conférence remercient leur hôte à Madison, M. Jerry Ensign et ses adjoints et tout particulièrement M^{me} Irene Slater du département de bactériologie de l'université du Wisconsin à Madison pour leur hospitalité. Les participants expriment également leur reconnaissance pour l'appui financier à cette rencontre accordé par Cetus Corporation, l'université du Wisconsin et la Marie Moors Cabot Foundation for Botanical Research de l'université Harvard.

Nous tenons aussi à remercier MM. J.-André Fortin et Taylor Steeves du service de publication du Conseil national de recherches du Canada qui ont rendu possible la publication de ces communications dans le Journal canadien de botanique.