

西藏部分地区豆科植物根瘤菌资源的初步调查*

王素英¹, 李润花², 刘新成³, 李新锁¹

(1 天津商学院 食品与生物工程系, 天津 300400; 2 山西教育学院 生物系, 山西 太原 030000;

3 天津师范大学 化学与生命科学学院, 天津 300074)

[摘要] 对采自西藏拉萨、林芝和日喀则地区的10属18种豆科植物的282份根瘤样品进行根瘤菌的分离纯化、菌株的回接和固氮酶活性的测定, 结果表明, 这些地区的豆科植物均可自然结瘤, 其形态比较单一, 主要为较规则的球形、柱状和掌状, 颜色为褐红色、红色、粉红色和白色, 球形根瘤的大小为 Φ 1~6.0 mm, 柱状根瘤的大小为1~10 mm, 92.5%的自然根瘤可测到固氮酶活性, 其活性值为0.093~12.403 nmol/(mg·h), 可以看出, 豆科植物根瘤的大小、颜色和固氮酶的活性与采集地点的生态环境相关。

[关键词] 西藏; 豆科植物; 根瘤菌; 固氮状况

[中图分类号] S144.3 **[文献标识码]** A

[文章编号] 1000-2782(2002)01-0033-05

西藏自治区位于东经28°~36°; 北纬77°~103°; 面积120多万km²。喜马拉雅山、念青唐古拉山、冈底斯山、昆仑山及唐古拉山自南而北, 东西横亘, 雅鲁藏布江由西向东流经本区南部, 澜沧江、怒江等则由北而南蜿蜒于东南。东南部受印度洋暖湿气流的影响, 雨量充沛, 属热带、亚热带气候。北部和西北部地势高, 面积辽阔, 湖泊星罗棋布, 并有许多宽谷盆地, 平均海拔4000 m以上, 雨量稀少, 气候寒冷干旱, 属寒旱化高原气候。如此复杂的地理和气候条件使西藏自治区的植物种类繁多, 仅报道的分布于各种生态环境中的豆科植物已达51属236种^[1], 约占1981年全世界豆科植物统计数的10%^[2]。而对可与豆科植物共生结瘤的根瘤菌资源尚未做过调查, 本课题组根据气候、交通和豆科植物分布情况, 于2000年8~9月对西藏部分地区的12个县市进行了根瘤的采集和固氮酶活性的测定, 为该区根瘤菌资源的开发利用积累了一些资料。

1 材料与方法

1.1 调查路线

(1) 朗县—米林—林芝; (2) 拉萨—达孜—墨竹工卡—工布江达; (3) 贡嘎—浪卡子—江孜—白朗—日喀则。

1.2 根瘤的采集

选择交通比较便利、植被比较茂盛的区域进行

根瘤的挖掘。将采集的根瘤洗净, 选取个大、新鲜、最好为红色的根瘤分为3份: 1份用于固氮酶活性的测定, 1份用于根瘤菌的斜面划线初步分离, 1份放入灭菌的放有硅胶的小瓶中制成干燥根瘤。

1.3 固氮酶活性的测定

根据参考文献[3], 采用乙炔还原法测定。

1.4 根瘤菌的分离纯化

利用新鲜根瘤和干燥根瘤为材料进行根瘤菌的分离纯化。以新鲜根瘤为材料的纯化方法是在采集地点用体积分数为75%的酒精对根瘤进行表面消毒后, 将根瘤捣碎于斜面进行划线分离, 若不纯, 在室内进一步纯化; 以干燥根瘤为材料的分离纯化方法见参考文献[4]。

1.5 菌株的回接

按参考文献[4]进行。

2 结果和讨论

2.1 调查结果

2000年8~9月份, 西藏东南部多雨, 泥石流泛滥, 除拉萨至林芝外, 其他交通线路堵塞; 东北部尤其是海拔4500 m以上的高原地带在这一季节开始降雪, 仅拉萨至日喀则畅通无阻。因气候和交通的原因, 此次采集仅覆盖拉萨地区、林芝地区和日喀则地区的12个县市, 占自治区总面积的1/8左右。对这一区域内的10属18种野生豆科植物根瘤进行了挖

* [收稿日期] 2001-02-23

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(39970017)

[作者简介] 王素英(1964-), 女, 山西孟县人, 教授, 博士, 主要从事微生物资源与新产品开发研究。

掘,共获得根瘤样品 282 份,被调查豆科植物种类的结瘤率为 100%。同时在采集过程中发现,林芝地区因属于暖温带气候,植被茂盛,豆科植物种类较多;拉萨地区属于寒旱化高原,植被稀疏,豆科植物种类稀少。此次采集的豆科植物中,除二色锦鸡儿为半灌木外,其他均为草本植物,且在多数情况下,采集地点一旦发现某种豆科植物,则往往成片生长。

2 2 根瘤的形态特征

豆科植物的根瘤形态较单一,主要为较规则的球形、柱状和掌状。林芝地区的豆科植物根瘤一般成簇生长在根毛、侧根、主侧根交叉处。拉萨和日喀则地区的豆科植物根瘤一般成簇着生于根毛(表 1)。

2 3 固氮酶活性的测定

固氮酶活性的测定结果见表 1。

表 1 西藏自治区豆科植物的结瘤固氮概况

Table 1 A survey of nodulation and nitrogen fixation of rhizobia isolated from Tibet Autonomous Region

寄主名称 Hosts	采样地点 Sampling site		采样时期 Growth period	根瘤形态特征 Morphological characteristics of nodule			固氮酶活性/ (nmol · m ⁻¹ · h ⁻¹) Nitrogenase activity
	地点 Locality	海拔/m Altitude		形状 Shape	颜色 Color	大小/mm Size	
紫雀花 <i>Parochetus camunis</i>	林芝 Linzhi	2 900	盛花期 Blossoming period	球形 Spherical	红色 Red	2~ 3	2 831
	米林 Milin	2 800	盛花期 Blossoming period	球形 Spherical	红色 Red	2~ 3	3 204
	达孜 Dazi	3 700	盛花期 Blossoming period	球形 Spherical	粉红色 Pink	1~ 2	1 745
	贡嘎 Gongga	3 800	生长期 Growing period	球形 Spherical	粉红色 Pink	1~ 2	0 970
	拉萨 Lasa	3 700	初花期 Initial flowering period	球形 Spherical	粉红色 Pink	1~ 2	1 253
	日喀则 Rikaze	3 840	生长期 Growing period	柱状 Cylindrical	粉色 Pink	2~ 3	0 258
天蓝苜蓿 <i>Medicago lupulina</i>	江孜 Jiangzi	4 000	生长期 Growing period	柱状 Cylindrical	粉色 Pink	3~ 5	0 404
	浪卡子 Langkazi	3 900	生长期 Growing period	掌状 Palmate	浅粉色 Pink	1~ 3	
	拉萨 Lasa	3 750	初花期 Initial flowering period	掌状 Palmate	粉色 Pink	4~ 7	0 763
	墨竹工卡 Mozhugongka	3 800	初花期 Initial flowering period	柱状 Cylindrical	粉色 Pink	3~ 5	0 986
	达孜 Dazi	3 700	初花期 Initial flowering period	掌状 Palmate	粉色 Pink	3~ 5	0 684
	米林 Milin	2 800	初荚期 Initial podding period	柱状 Cylindrical	粉色 Pink	3~ 5	1 287
	林芝 Linzhi	2 900	初荚期 Initial podding period	掌状 Palmate	粉色 Pink	5~ 7	1 764
	日喀则 Rikaze	3 840	生长期 Growing period	柱状 Cylindrical	近白色 White	3~ 4	0 358
	江孜 Jiangzi	4 000	生长期 Growing period	柱状 Cylindrical	粉色 Pink	4~ 6	0 790
	浪卡子 Langkazi	3 890	生长期 Growing period	柱状 Cylindrical	粉色 Pink	4~ 6	1 024
窄叶野豌豆 <i>Vicia angustifolia</i>	拉萨 Lasa	3 690	盛花期 Blossoming period	柱状 Cylindrical	粉色 Pink	4~ 5	1 109
	墨竹工卡 Mozhugongka	3 780	盛花期 Blossoming period	柱状 Cylindrical	粉色 Pink	4~ 6	1 350
	达孜 Dazi	3 700	盛花期 Blossoming period	柱状 Cylindrical	粉色 Pink	3~ 4	1 027
	米林 Milin	2 780	花后期 Post blossoming period	柱状 Cylindrical	粉色 Pink	4~ 5	1 903
	林芝 Linzhi	2 910	花后期 Post blossoming period	柱状 Cylindrical	粉色 Pink	4~ 5	2 034
	工布江达 Gongbujiangda	3 100	盛花期 Blossoming period	柱状 Cylindrical	粉色 Pink	4~ 6	2 007
	林芝 Linzhi	2 910	初花期 Initial flowering period	掌状 Palmate	红色 Red	5~ 7	1 957
	米林 Milin	2 780	初花期 Initial flowering period	掌状 Palmate	红色 Red	5~ 7	2 309
	朗县 Langxian	2 600	花后期 Post blossoming period	柱状 Cylindrical	红色 Red	4~ 7	2 570
	工布江达 Gongbujiangda	3 100	生长期 Growing period	柱状 Cylindrical	红色 Red	4~ 6	2 097

续表 1 Continue Table 1

寄主名称 Hosts	采样地点 Sampling site		采样时期 Growth period	根瘤形态特征 Morphological characteristics of nodule			固氮酶活性/ (nmol · m g ⁻¹ · h ⁻¹) N itrogenase activity
	地点 Locality	海拔/m A ltitude		形状 Shape	颜色 Color	大小/mm Size	
西南野豌豆 <i>Vicia nummularia</i>	墨竹工卡 Mozhugongka	3 800	初花期 Initial flowering period	柱状 Cylindrical	红色 Red	3~ 5	1. 329
	林芝 Linzhi	2 910	盛花期 Blossom ing period	掌状 Palmate	红色 Red	5~ 7	2. 451
	工布江达 Gongbujiangda	3 000	初花期 Initial flowering period	掌状 Palmate	红色 Red	4~ 6	1. 793
	米林 Milin	2 800	花后期 Post blossom ing period	掌状 Palmate	红色 Red	4~ 7	2. 569
	朗县 Langxian	2 600	花后期 Post blossom ing period	柱状 Cylindrical	红色 Red	4~ 6	3. 062
	墨竹工卡 Mozhugongka	3 810	生长期 Grow ing period	近球形 Spherical	粉红色 Pink	1~ 2	0. 943
毛果葫芦巴 <i>Trigonella pubescens</i>	达孜 Dazi	3 750	生长期 Grow ing period	球形 Spherical	粉红色 Pink	1~ 3	1. 032
	工布江达 Gongbujiangda	3 100	生长期 Grow ing period	近球形 Spherical	粉红色 Pink	2~ 4	1. 320
	林芝 Linzhi	2 900	初花期 Initial flowering period	球形 Spherical	红色 Red	2~ 4	1. 574
	米林 Milin	2 800	初花期 Initial flowering period	球形 Spherical	红色 Red	3~ 4	1. 307
	朗县 Langxian	2 750	初花期 Initial flowering period	球形 Spherical	红色 Red	3~ 6	1. 870
	浪卡子 Langkazi	3 900	生长期 Grow ing period	球形 Spherical	白色 White	1~ 3	0. 763
葫芦巴 <i>Trigonella tibetana</i>	江孜 Jiangzi	4 020	生长期 Grow ing period	球形 Spherical	白色 White	1~ 3	0. 704
	白朗 Bailang	4 100	生长期 Grow ing period	球形 Spherical	白色 White	1~ 3	0. 308
	墨竹工卡 Mozhugongka	3 800	初花期 Initial flowering period	球形 Spherical	粉红色 Pink	2~ 3	0. 947
齿荚葫芦巴 <i>Trigonella modi</i>	达孜 Dazi	3 750	初花期 Initial flowering period	球形 Spherical	粉红色 Pink	1~ 2	1. 205
	米林 Milin	2 780	盛花期 Blossom ing period	球形 Spherical	红色 Red	2~ 4	1. 475
	林芝 Linzhi	2 900	盛花期 Blossom ing period	球形 Spherical	红色 Red	2~ 4	2. 032
	工布江达 Gongbujiangda	3 050	生长期 Grow ing period	球形 Spherical	粉红色 Pink	1~ 2	1. 976
	朗县 Langxian	2 800	初花期 Initial flowering period	球形 Spherical	红色 Red	1~ 3	0. 853
	拉萨 Lasa	3 700	花后期 Post blossom ing period	柱状 Cylindrical	白色 White	1~ 2	0. 357
草木樨 <i>Medicago suaveolens</i>	贡嘎 Gongga	3 800	盛花期 Blossom ing period	柱状分叉 Y shaped	白色 White	2~ 3	0. 207
	江孜 Jiangzi	4 000	盛花期 Blossom ing period	柱状 Cylindrical	白色 White	2~ 4	0. 357
	日喀则 Rikaze	3 850	初花期 Initial flowering period	柱状 Cylindrical	白色 White	2~ 3	0. 301
直立黄芪 <i>Astragalus adsurgens</i>	拉萨 Lasa	3 700	初荚期 Initial podding period	柱状 Cylindrical	白色 White	2~ 4	0. 301
	贡嘎 Gongga	3 790	初花期 Initial flowering period	柱状 Cylindrical	白色 White	1~ 4	0. 243
	江孜 Jiangzi	4 000	盛花期 Blossom ing period	柱状 Cylindrical	白色 White	1~ 2	0. 354
	浪卡子 Langkazi	3 900	初花期 Initial flowering period	柱状 Cylindrical	白色 White	1~ 3	0. 354
	白朗 Bailang	4 050	生长期 Grow ing period	柱状 Cylindrical	白色 White	1~ 2	0. 093
	林芝 Linzhi	2 900	初荚期 Initial podding period	柱状分叉 Y shaped	红色 Red	6~ 8	3. 024
米林黄芪 <i>Astragalus milingensis</i>	米林 Milin	2 780	初荚期 Initial podding period	柱状 Cylindrical	红色 Red	6~ 8	3. 541
	朗县 Langxian	2 800	盛花期 Blossom ing period	柱状 Cylindrical	红色 Red	6~ 8	2. 973
	墨竹工卡 Mozhugongka	3 800	盛花期 Blossom ing period	柱状分叉 Y shaped	粉红色 Pink	3~ 5	1. 987
	工布江达 Gongbujiangda	3 000	盛花期 Blossom ing period	柱状分叉 Y shaped	粉红色 Pink	3~ 5	1. 357
	墨竹工卡 Mozhugongka	3 800	盛花期 Blossom ing period	柱状分叉 Y shaped	粉红色 Pink	3~ 5	1. 357

续表 1 Continue Table 1

寄主名称 Hosts	采样地点 Sampling site		采样时期 Growth period	根瘤形态特征 Morphological characteristics of nodule			固氮酶活性/ (nmol · mg ⁻¹ · h ⁻¹) Nitrogenase activity
	地点 Locality	海拔/m Altitude		形状 Shape	颜色 Color	大小/mm Size	
假弯齿黄芪 <i>Astragalus campodotoides</i>	林芝 Linzhi	2 900	初荚期 Initial podding period	柱状 Cylindrical	粉红色 Pink	6~ 10	2 873
	米林 Milin	2 780	初荚期 Initial podding period	柱状 Cylindrical	粉红色 Pink	8~ 10	4 357
	朗县 Langxian	2 800	盛花期 Blossoming period	柱状 Cylindrical	粉红色 Pink	5~ 8	1 980
	墨竹工卡 Mozhugongka	3 750	盛花期 Blossoming period	柱状分叉 Y shaped	粉红色 Pink	4~ 6	1 354
光亮黄芪 <i>Astragalus lucidus</i>	林芝 Linzhi	2 910	花后期 Post blossoming period	柱状 Cylindrical	红色 Red	6~ 9	3 201
	米林 Milin	2 780	花后期 Post blossoming period	柱状 Cylindrical	红色 Red	6~ 9	4 873
白花黄芪 <i>Astragalus leucocephalus</i>	林芝 Linzhi	2 910	初荚期 Initial podding period	柱状 Cylindrical	红色 Red	7~ 10	1 904
	米林 Milin	2 780	初荚期 Initial podding period	柱状分叉 Y shaped	红色 Red	7~ 10	2 005
苏理木兰 <i>Zindigofera souliei</i>	林芝 Linzhi	2 900	初花期 Initial flowering period	球形 Spherical	粉红色 Pink	2~ 3	0 932
	米林 Milin	2 800	初花期 Initial flowering period	球形 Spherical	粉红色 Pink	2~ 3	0 764
	朗县 Langxian	2 800	生长期 Growing period	球形 Spherical	粉红色 Pink	2~ 4	1 026
二色锦鸡儿 <i>Caragana bicolor</i>	林芝 Linzhi	2 900	初荚期 Initial podding period	球形 Spherical	褐红色 Brown	4~ 6	12 403
	米林 Milin	2 800	初荚期 Initial podding period	球形 Spherical	褐红色 Brown	3~ 5	10 957
雅致山马蝗 <i>Desmodium elegans</i>	林芝 Linzhi	2 910	生长期 Growing period	椭圆形 Ellipse	红色 Red	1~ 2	0 764
	米林 Milin	2 780	生长期 Growing period	椭圆形 Ellipse	红色 Red	1~ 3	1 025
	工布江达 Gongbujiangda	3 100	生长期 Growing period	椭圆形 Ellipse	红色 Red	0.5~ 1	0 964
长萼棘豆 <i>Oxytropis parasericepatala</i>	拉萨 Lasa	3 700	初花期 Initial flowering period	球形 Spherical	红色 Red	0.2~ 0.5	
	贡嘎 Gongga	3 800	生长期 Growing period	球形 Spherical	红色 Red	0.1~ 0.5	
	江孜 Jiangzi	4 000	生长期 Growing period	球形 Spherical	红色 Red	0.5~ 1	0 304
	浪卡子 Langkazi	3 900	生长期 Growing period	球形 Spherical	红色 Red	0.5~ 1	0 157

从表 1 可以看出,在自然条件下,各种野生豆科植物根瘤的固氮酶活性相差较大,酶活性分布范围为 0.093~ 12.403 nmol/(mg · h),酶活性最高者为二色锦鸡儿,且在林芝地区(包括林芝、米林、朗县)该种植物的根瘤成簇广布于侧根,几乎每个根瘤的直径可达 5 mm 左右。酶活性最低者为分布于白朗的直立黄芪。另外分布于拉萨和贡嘎的长萼棘豆,日喀则和江孜的直立黄芪,江孜的草木樨及浪卡子的天蓝苜蓿的自然根瘤未测到固氮酶活性。从采集过程和酶活性测定结果(表 1)可知,豆科植物的分布与采集地点的生态环境相关,豆科植物根瘤的大小、颜色和固氮酶活性也明显与采集地点的生态环境和植物的生长阶段相关。在低海拔植被茂盛的林芝地区,豆科植物主要分布于高山灌木林带和田间、路边

杂草丛中,根瘤的采集地点主要是沙壤土;在高海拔的拉萨和日喀则地区(包括日喀则、江孜、白朗、浪卡子),植物种类单一且多为草本,豆科植物分布于河道两边的杂草丛中,根瘤的采集地点主要是沙砾;而在高山地带,植被稀疏,无乔灌木分布,也没有发现豆科植物。从采集和测定结果看,在大多数情况下,同一种豆科植物在同一生长时期,林芝地区挖掘到的根瘤体积较大,多为褐红色、红色和粉红色,固氮酶活性较高,在拉萨和日喀则地区挖掘到的根瘤较小,多为粉红色和白色,固氮酶活性较低;对同一地区(如拉萨)的豆科植物,在低海拔区域,由于水分充足,土壤较肥沃,采集到的根瘤体积较大,多为粉红色,固氮酶的活性也较高,而在高海拔地区则与此相反。

2.4 根瘤菌的培养特征

从 282 份根瘤菌样品中共分离到 340 株 G⁻、杆状快生型根瘤菌, 在 YMA 平板上生长 48 h, 乳白色、黏液状的菌落直径达 3~5 mm, 对数生长期测定的菌体大小为 (0.5~1.7) μm \times (1.5~2.3) μm 。他们与已命名的快生型根瘤菌的亲缘关系正在进一步的研究中。

3 结 论

在林芝地区、拉萨地区和日喀则地区选点进行调查, 虽然采集到的豆科植物仅占到该地区已报道豆科植物的 1/6 左右, 但可明显看出由于受气候的影响, 林芝地区活土层较厚, 分布的豆科植物种类较

多, 根瘤的固氮酶活性也远远高于其他地区。

从已有的资料^[1]可知, 林芝地区、拉萨地区和日喀则地区与西藏的其他地区相比, 豆科植物的种类较少, 然而在采集过程中发现, 只要水分充足, 豆科植物尤其是豆科牧草常成片存在, 这一现象在植被较差的拉萨和日喀则地区也很突出。

与有关研究^[5,6]报道相比, 除分布于林芝地区的二色锦鸡儿外, 其他豆科植物根瘤的固氮酶活性很低, 这预示着西藏自治区非常缺乏高固氮活性的根瘤菌菌株, 因此选育可与该地区豆科植物结瘤的根瘤菌菌株, 广泛使用根瘤菌剂对于改善该地区土壤贫瘠的面貌和恶劣的生态条件是有益的。

[参考文献]

- [1] 中国科学院青藏高原科学考察队. 西藏植物志[M]. 北京: 科学出版社, 1985: 701- 908
- [2] Allen O N, Ethelk A llen. The legum inosae, a source book of characteristics, uses, and nodulation[M]. Wisconsin: The University of Wisconsin Press, 1981.
- [3] 中国科学院上海植物生理研究所. 固氮酶活性测定的改进方法[J]. 植物学报, 1974, 16(3): 382- 384
- [4] 王素英, 李新锁, 陈文新, 等. 河北省豆科植物根瘤菌资源的初步调查研究[J]. 天津师范大学学报, 2000, 20(3): 32- 36
- [5] 王卫卫, 关桂兰, 郭沛新, 等. 沙坡头地区豆科植物共生固氮资源初步研究[J]. 干旱区研究, 1994, 11(4): 13- 18
- [6] 谭志远, 朱铭铭, 贺学礼, 等. 陕西及甘、宁部分地区豆科植物根瘤菌资源调查[J]. 西北植物学报, 1996, 15(2): 189- 196

Investigation of rhizobial resources in the Tibet Autonomous Region

WANG Su-ying¹, LI Run-hua², LIU Xin-cheng³, LI Xin-suo¹

¹Department of Food and Biological Engineering, Tianjin University of Commerce, Tianjin 300400, China;

²Department of Biology, Educational College of Shanxi, Shanxi, Taiyuan 030000, China;

³School of Chemistry and Life Science, Tianjin Normal University, Tianjin 300074, China

Abstract: 282 specimens of root nodule, which are dispersed over 10 genera 18 species of legumes in the Lasha, Linzhi and Rikaze prefecture of Tibet Autonomous Region, were analysed by isolation, purification, renodulation of rhizobial strains and determination of nitrogenase activity. The results show that all leguminous plants could nodulate under the natural environment, the shape of nodules is mainly spherical, cylindrical and palmate, and the color is brown, red and pink, the diameter of spheroid nodule is 0.1-0.6 mm and the length of cylinder and palm nodule is 1-10 mm. 92.5% natural nodules have activity of nitrogen fixation, and the value of nitrogenase activity is 0.093-12.403 nmol/(mg·h). It is obvious that the shape, color, size and nitrogenase activity of nodule are related to ecological environment of sampling sites

Key words: Tibet; legume; rhizobia; state of nitrogen fixation