

长年干旱环境对新疆豆科植物根瘤形态结构的影响*

蔺继尚 王丽霞 (中国科学院沈阳应用生态研究所, 沈阳 110015)
关桂兰 (中国科学院新疆生物土壤沙漠研究所, 乌鲁木齐 830011)

【摘要】 对生长在新疆干旱地区的豆科植物苦豆子(*Sopora alopecuroides*)、新疆黄芪(*Astragalus* sp.)和新疆野豌豆(*Vicia costata*)根瘤的形态和结构进行了光学显微镜和电子显微镜观察。根瘤的形态结构受到当地长期干旱环境的影响,根瘤皮层明显地比非干旱区豆科植物根瘤皮层厚。相对厚的皮层为根瘤中心区内的类菌体提供了一个适应范围较大的气体扩散屏障。而在根瘤的中心区,3种豆科植物超微结构差异较大,未发现一种普遍的能与周围干旱生态环境直接相关的根瘤中心区结构特征,表明根瘤皮层结构的改变足以抵御外界干旱的条件。

关键词 豆科植物 根瘤皮层 新疆干旱区

Influence of long-term aridity on morphological characteristics of legume nodules in Xinjiang. Lin Jishang, Wang Lixia (Institute of Applied Ecology, Academia Sinica, Shenyang 110015), Guan Guilan (Xinjiang Institute of Biology, Pedology and Psammology, Academia Sinica, Urumqi 830011). - Chin. J. Appl. Ecol., 4(3): 299-302.

Nodules of three legume species, *Sopora alopecuroides*, *Astragalus* sp. and *Vicia costata* in Xinjiang are studied on their morphological characteristics with light microscopy and EM. It is found that the shape and structure of nodules are influenced by local environment. Under long-term aridity and high soil temperature, they have a thicker cortex, which as a flexible barrier supports a moderate microenvironment for bacteroids within the nodule. No relationship between ultrastructure of nodule's central zone and dry environment has been found in this study, although there is an obvious structural difference among tested legume species.

Key words Leguminous plant, Nodule cortex, Xinjiang arid area.

1 引言

新疆地区分布有289种豆科植物。在长年干旱少雨、寒暖交替剧烈的自然环境中,它们逐渐形成了抗干旱、耐高温等特点。其中一些野生豆科植物能够在石荒地、沙漠和沙丘等恶劣的自然环境下顽强地生存、繁衍,并作为先锋植物通过共生固氮作用为当地的生态体系积累有效的N素。豆科植物固氮生态的特点集中于根瘤形态的适应性改变,因此研究当地豆科植物根瘤的结构对于了解新疆干旱地区共生固氮的特征具有十分重要的意义。

关桂兰等^[1,2]总结了新疆豆科植物生态特征大致可分为3类:1)生存于山地草原和天然草场的豆科植物,常见的为1年生或多年生草本,根瘤形态较规则;2)生存在沙地、沙丘和沙漠中的豆科植物,其根瘤形状多不规则,表面皮层厚、木质化;3)分布于沙地、荒丘和缺水地带的短命豆科植物,生命周期短,根瘤形体较小。本文以新疆地区的苦豆子(*Sopora alopecuroides*)、新疆黄芪(*Astragalus* sp.)和新疆野豌豆(*Vicia costata*)根瘤为材料,对其进行了光学显微镜和透射电子显微镜观察,现将结果报道如下。

2 材料与方法

2.1 采集

*国家自然科学基金资助项目。

韩善华先生曾对本工作给与指导和支持,谨致谢忱。

本文于1992年11月14日收到,1993年5月7日改回。

根瘤在晴天采集,并立即装入盛有甘油的小瓶中,密封备用.按常规方法将所采根瘤和植株编号.

2.2 光镜样品制备

在采集的各种豆科植物根瘤中,每株任意选 2 个,共选 3 株.然后在解剖显微镜下用玻璃刀将其切成 0.5 μm 厚的小片,并在酒精灯火焰上用 0.05% 甲苯胺兰 O 的 1% 硼酸钠水溶液染色.最后在光镜下观察并照相.根据比例尺分别测量根瘤横截面的最大和最小直径、中心区的最大和最小直径,取其平均值,视其为规则圆形并分别计算根瘤横截面上皮层和中心区的面积.用硫酸纸称重法估算出中心区内侵染细胞和非侵染细胞所占面积的比率.

2.3 电镜超薄切片样品的制备

将根瘤切成 1mm³ 左右的小块,在 2% 多聚甲醛和 2.5% 戊二醛的混合固定液中固定 4h,再于 2% 锇酸固定液中过夜.然后经乙醇系列(30,50,70%)、丙酮系列(80,90,100%)脱水,Epon 812 环氧树脂混合包埋剂浸透,于恒温箱中逐级升温,聚合固化后,置 LKB-3 型超薄切片机切片.以标准的铀铅法双重染色,最后在 JEM-100B 透射电子显微镜下观察与照相.

3 结果与分析

3.1 干旱区豆科植物根瘤形态的改变

苦豆子是耐盐碱的多年生草本豆科植物,广泛分布于南疆的石荒地和沙丘中并能通过根瘤菌有效地固定大气 N. 它的根瘤皮层相当厚,而且在皮层内还常有许多纤维物质(图版-1).

表 1 3 种新疆干旱区豆科植物根瘤的特征

Tab. 1 Nodule characteristics of isolated legume plants in Xinjiang arid area

植物名称 Species	分布地区 Distribution	乙炔还原活性 ARA (mol C ₂ H ₄ · g ⁻¹ · hr ⁻¹)	根瘤形态 Nodule shape	根瘤着生部位 Nodule location
苦豆子 <i>S. alopecuroides</i>	南疆阿克苏荒地莫家彦沙丘 Wasteland and dune	9.5 0.1	鸡爪状 Unguiform	侧根 Lateral root
新疆野豌豆 <i>Vicia costata</i>	伊犁阿尔泰草原 Grassland	46.6	不规则 Irregular	侧根、须根 Lateral root and fibrous root
新疆黄芪 <i>Astragalus</i> sp.	南疆阿都什草地 Steppe	63.2	长圆形 Long-oval	主根、侧根 Tap root and lateral root

Wood^[10]和 Lin 等^[8]分别发现羽扇豆和大豆的根瘤在衰老之前,其固氮活性与根瘤内类菌体的数目有关.新疆干旱区豆科植物的根瘤皮层厚,因此中心区占整个根瘤体积的比率较小;而在中心区内,非侵染细胞又占比较大,

那些生长在环境较好的伊犁阿尔泰草原和南疆阿都什草地的野豌豆和新疆黄芪根瘤的皮层则相对较薄,但比栽培大豆(*Glycine max*)根瘤的皮层要厚(图 1).测定表明,虽然 3 种根瘤都有固氮活性,但新疆黄芪和野豌豆的固氮活性要比苦豆子的固氮活性高(表 1).

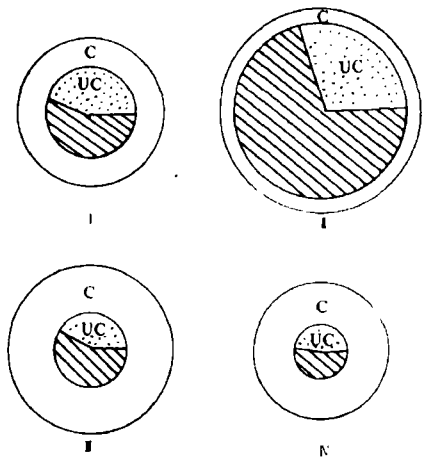


图 1 新疆干旱区豆科植物根瘤横剖面示意图

Fig. 1 A diagrammatic representation of legume nodules in Xinjiang arid area.

将不规则的椭圆横截面用相等面积的圆来表示其中的皮层细胞(C)、非侵染细胞(UC)和侵染细胞(阴影部分). I. 野豌豆, II. 大豆, III. 新疆黄芪, IV. 苦豆子.

The relative proportion of each nodule fraction, shown are the nodule cortex (C) and central zone including uninfected cell (UC) and infected cell (striped area).

I. *Vicia costata*, II. *Glycine max*^[8], III. *Astragalus* sp., IV. *Sopora alopecuroides*.

故根瘤中的类菌体数目很少,自然该种根瘤的固氮活性也不会太高.以苦豆子根瘤为例,在其根瘤横切面上,环形皮层面积约占 90%,而侵染细胞面积仅占总面积的 10%的 52.5%,因此其固氮能力较低.但正是这种占根瘤绝大部分

体积的皮层为中心区提供了较大适应范围的屏障以抵御外界的干燥和高温,使中心区内的类菌体能够在一个相对适宜的微生态环境下生存和固定大气 N。

3.2 根瘤超微结构特征

上述 3 种根瘤不仅在组织学方面明显不同,而且其超微结构也有很大差异,在苦豆子根瘤中,类菌体的体积较小,一般为杆状,含有大量的多羟基丁酸盐颗粒(PHB)。这些颗粒位于类菌体的一端或两端,或其中部(图版-2)。这种分布上的差异可能与类菌体的发育程度有关,或与切片的位置相关,野豌豆根瘤与此不同,其类菌体较大,呈杆状、圆球状或“T”字形。这些类菌体通常没有 PHB 颗粒,即使在衰老过程中也少见(图版-3)。可见,其超微结构与豌豆根瘤中的类菌体十分相似^[3]。在这些类菌体中,有时还有一种染色较淡、体积很小的泡状物(图版-3),但不是 PHB 颗粒,很可能是类菌体在衰老过程中的产物,因为豌豆根瘤中的类菌体只有在泡状化后才能彻底解体^[4]。黄芪根瘤中的类菌体较为特殊,其体积较大,在类菌体周膜内只有一个类菌体,且形状单一,一般只有近似圆球形的一种,而且在类菌体中也不含 PHB 颗粒(图版-4)。

在野豌豆和黄芪根瘤中均见到一种形状和电子密度都类似于造粉体中的淀粉粒结构,但不是位于造粉体中,而是直接存在于细胞质内。这种结构仅出现在侵染细胞中,在非侵染细胞内没有发现。在野豌豆根瘤中,它们常常位于质膜附近,有的也存在于质膜与细胞壁形成的空腔中(图版-5)。而在新疆黄芪根瘤内,这种结构通常只出现在质膜附近,而且是多个在一起(图版-6)。这种结构是来自于造粉体中的淀粉粒,还是一种特殊成分,尚不清楚。

在 3 种豆科植物根瘤中,只有苦豆子根瘤的类菌体内含有 PHB 颗粒,而其它两种均不存在此类物质,但是后两个共生体系也能固氮,而且固氮活性比第一个共生体系还高(表 1)。这个现象再次表明类菌体中的 PHB 颗粒在共生固氮中并未起主要作用,至少是没有直接参与

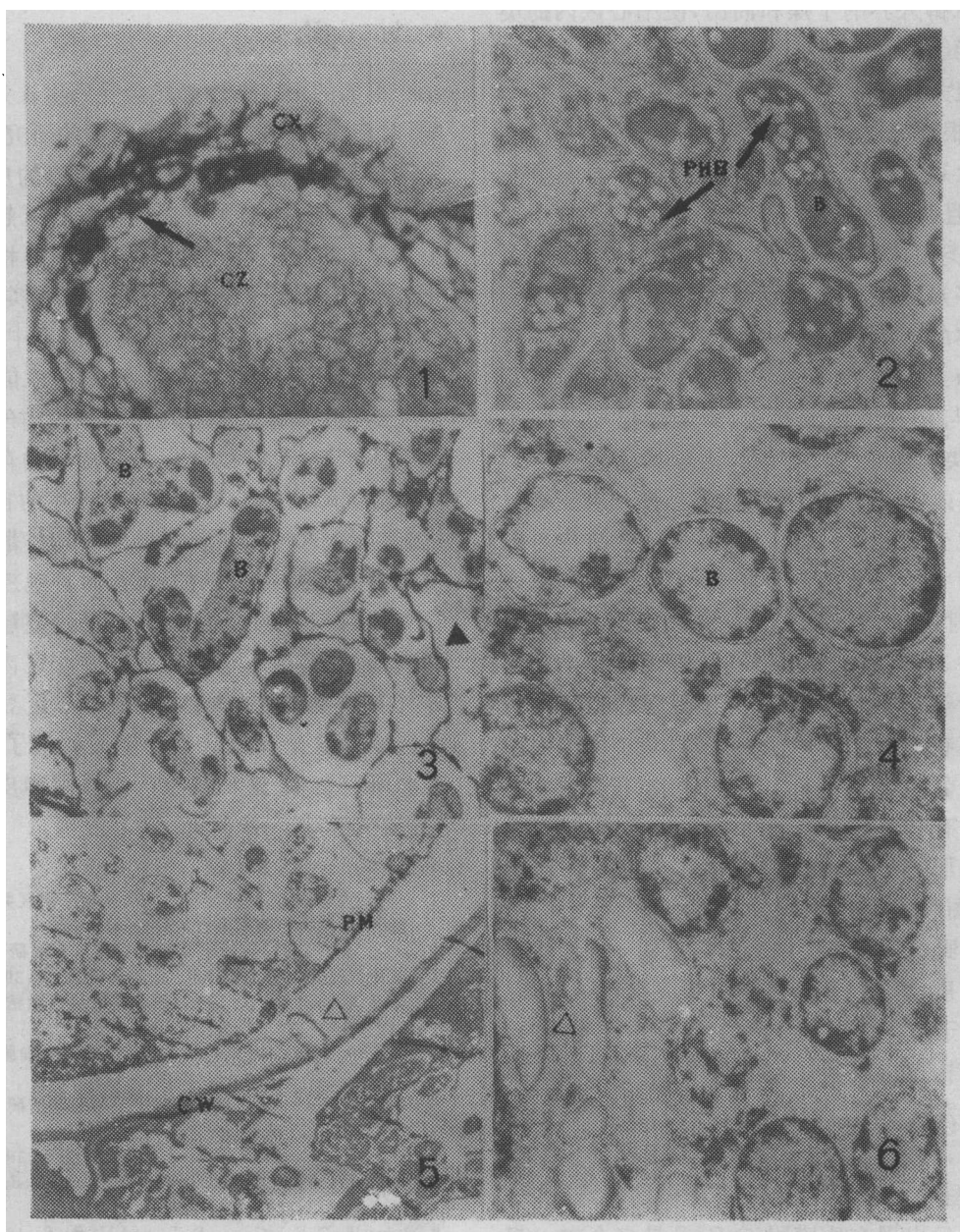
共生固氮^[5]。

4 讨 论

根瘤的形态结构必然会受到生长条件的影响,对新疆干旱区豆科植物根瘤的研究表明,除发现严重干旱地带的豆科植物根瘤的皮层厚度明显增加外,并未发现它们在中心区超微结构上发生与周围干旱的生态环境直接相关的变化。由于在该地区观察的豆科根瘤种类较少,各种豆科植物抗干旱的机制是否都集中在皮层,需在观察更多种根瘤的结构之后才能作出结论。Layzell 等在研究豆科植物根瘤内气体交换和气体扩散问题时指出:根瘤皮层内存在着气体扩散屏障及由于环境变化而产生的自我调节机制^[6,7,9]。这种存在于皮层的气体扩散屏障不仅控制着根瘤中心区的 pO_2 ,而且也控制着其它气体(如 N_2 、 H_2 、 CO_2 、 H_2O)透过皮层的扩散和内外交换,这对于维持根瘤中心区内部的水分具有重要作用。因此,新疆干旱区豆科根瘤皮层变厚这一现象从另一侧面验证了 Layzell 等的研究结果。这种现象产生原因和皮层的保护机制有待进一步研究。

参考文献

- 1 关桂兰、李仲元、杨玉锁等. 1986. 新疆干旱区共生固氮资源研究. 植物生理学报, 12: 324—332.
- 2 关桂兰等. 1991. 新疆干旱地区根瘤菌资源研究 I. 根瘤菌种类及其共生固氮作用. 微生物学报, 31: 396—404.
- 3 韩善华、Yang, A. F. 1987. 豌豆根瘤的超微结构研究. 实验生物学报, 20: 13—17.
- 4 韩善华、Yang, A. F. 1988. 豌豆根瘤侵染细胞衰老过程的电镜观察. 植物学报, 30: 124—128.
- 5 韩善华. 1992. 箭舌豌豆根瘤中细菌衰老的研究. 微生物学报, 32: 42—46.
- 6 Hunt, S., Gaito, S. T. and Layzell, D. B. 1988. Model of gas exchange and diffusion in legume nodules (I). *Planta*, 173: 128—141.
- 7 Layzell, D. B., Gaito, S. T. and Hunt, S. 1988. Model of gas exchange and diffusion in legume nodules (I). *Planta*, 173: 117—127.
- 8 Lin, J., Calvin, D. T. and Layzell, D. B. 1988. Structural and physiological bases for effectivity of soybean nodule formed by fast- and slow-growing bacteria. *Can. J. Bot.*, 66: 526—534.
- 9 Torrey, J. G. and Winship, L. J. (eds.). 1989. Application of continuous and steady-state methods to root biology. Kluwer Academy Publisher, Dordrecht, 97—119.
- 10 Wood, S. M., Layzell, D. B. and Newcome, W. 1985. Amorphometric study of effective nodules induced by *Rhizobium loti* and *Bradyrhizobium* sp. on *Lotus pedunculatus*. *Can. J. Bot.*, 63: 43—53.



图版说明: 1. 苦豆子根瘤的剖面图, 在根瘤皮层(CX)内存在着纤维状物质($\times 50$)。2. 苦豆子根瘤感染细胞的一部分, 类菌体内含有丰富的聚- β 羟基丁酸盐颗粒(PHB)($\times 15000$)。3. 新疆野豌豆根瘤感染细胞的一部分, 类菌体(B)有球形、棒状和T形的, 还有一种染色较淡、体积很小的泡状物(实芯三角形)($\times 6000$)。4. 新疆黄芪根瘤感染细胞的一部分, 类菌体周膜内只有单个体积较大的球形类菌体($\times 10000$)。5. 在新疆野豌豆根瘤中发现的类似淀粉粒的颗粒(空芯三角形)($\times 4000$), 位于质膜(PM)与细胞壁(CW)之间的空腔内。6. 新疆黄芪根瘤中在质膜附近的类似淀粉粒的颗粒($\times 8000$)。

Explanation of Plate: 1. Nodule section of *Sopora alopecuroides* ($\times 50$), nodule central zone(CZ), fibred matter (arrow) within cortex (CX). 2. A part of infected cell of *Sopora alopecuroides* nodule ($\times 15000$), abundant poly- β -hydroxybutyrate granules (PHB) within bacteroids (B). 3. A part of infected cell of *Vicia costata* nodule ($\times 6000$), showing rod, sphere and T-shaped bacteroids, as well as vesicular-shaped material (black triangle). 4. A part of *Astragalus* sp. nodule ($\times 10000$), there is only one big spherical bacteroid (B) within bacteroid membrane. 5. Unknown crystal material (empty triangles) between cell wall (CW) and plasmalemma (PM) in the nodule of *Vicia costata* ($\times 4000$). 6. Unknown crystal structure (empty triangles) within plasmalemma in the nodule of *Astragalus* sp. ($\times 8000$).