

渗透胁迫条件下内生细菌对银砂槐种子萌发和主要碳水化合物含量的影响

朱艳蕾^{1,2,①}, 米丽吾叶提·阿达力¹

(1. 新疆师范大学生命科学学院 新疆特殊环境物种保护与调控生物学实验室 干旱区植物逆境生物学实验室, 新疆 乌鲁木齐 830054;

2. 陕西师范大学生命科学学院, 陕西 西安 710119)

摘要: 为了探明渗透胁迫条件下内生细菌对银砂槐 [*Ammodendron bifolium* (Pall.) Yakovl.] 种子萌发和早期幼苗生长的影响, 在正常(渗透势 0.0 MPa)和 PEG6000 模拟的渗透胁迫(渗透势 -0.3 MPa)条件下, 对培养 0、5、10 和 15 d 接菌组(分别接种内生细菌菌株 AY3、AY9 和 AG18, 即 AY3、AY9 和 AG18 组)和对照(未接种内生细菌, CK)组银砂槐的种子萌发(种子萌发率和胚根长)及主要碳水化合物(包括淀粉、可溶性糖、蔗糖、葡萄糖、果糖和总碳水化合物)含量进行了比较分析。结果表明: 总体上看, 渗透胁迫条件下接菌组和 CK 组的种子萌发率、胚根长及葡萄糖和果糖含量均低于正常条件下, 而淀粉、可溶性糖、蔗糖和总碳水化合物含量均高于正常条件下; 并且, 正常和渗透胁迫条件下接菌组的种子萌发率、胚根长及葡萄糖和果糖含量均高于 CK 组, 而淀粉、可溶性糖、蔗糖和总碳水化合物含量均低于 CK 组。另外, 正常和渗透胁迫条件下接菌组和 CK 组的葡萄糖含量在培养 5 d 时均为 0.00 mg · g⁻¹。研究结果显示: 渗透胁迫能够抑制银砂槐种子萌发和胚根生长; 内生细菌可明显减轻渗透胁迫对银砂槐种子萌发和胚根生长的抑制效应, 并能促进其种子萌发过程中碳水化合物的动员和利用。

关键词: 银砂槐; 内生细菌; 渗透胁迫; 种子萌发; 碳水化合物含量

中图分类号: Q948.12⁺2.3; Q945.78 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2018)03-0018-07

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7895.2018.03.03

Effects of endophytic bacteria on seed germination and main carbohydrate contents in *Ammodendron bifolium* under osmotic stress condition ZHU Yanlei^{1,2,①}, ADALI Miliwuyeti¹
(1. Xinjiang Key Laboratory of Special Species Conservation and Regulatory Biology, Key Laboratory of Plant Stress Biology in Arid Land, College of Life Sciences, Xinjiang Normal University, Urumqi 830054, China; 2. College of Life Sciences, Shaanxi Normal University, Xi' an 710119, China), *J. Plant Resour. & Environ.*, 2018, 27(3): 18-24

Abstract: In order to explore the effects of endophytic bacteria on seed germination and early seedling growth of *Ammodendron bifolium* (Pall.) Yakovl. under osmotic stress condition, seed germination (including seed germination rate and radicle length) and main carbohydrate (including starch, soluble sugar, sucrose, glucose, fructose and total carbohydrate) contents in *A. bifolium* in inoculation groups (inoculated with endophytic bacterium strain AY3, AY9 and AG18, respectively, namely AY3, AY9 and AG18 groups) and the control (not inoculated with endophytic bacterium, CK) group cultured for 0, 5, 10 and 15 d were compared and analyzed under normal (osmotic potential of 0.0 MPa) and osmotic stress (osmotic potential of -0.3 MPa) simulated by PEG6000 conditions. The results show that on the whole, seed germination rate, radicle length, and glucose and fructose contents in inoculation groups and CK group under osmotic stress condition are all lower than those under normal condition, while starch, soluble sugar, sucrose and total carbohydrate contents are all higher than those under normal condition. In

收稿日期: 2018-02-04

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31260060)

作者简介: 朱艳蕾(1980—), 女, 江苏沛县人, 博士研究生, 讲师, 主要从事植物与微生物互作方面的研究工作。

①通信作者 E-mail: zhuyanlei1226@163.com

addition, seed germination rate, radicle length, and glucose and fructose contents in inoculation groups under normal and osmotic stress conditions are all higher than those in CK group, while starch, soluble sugar, sucrose and total carbohydrate contents are all lower than those in CK group. Besides, when cultured for 5 d, glucose content in inoculation groups and CK group is $0.00 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ under normal and osmotic stress conditions. It is suggested that osmotic stress can inhibit seed germination and radicle growth of *A. bifolium*; endophytic bacteria can obviously alleviate inhibition effects of osmotic stress on seed germination and radicle growth of *A. bifolium*, and can improve mobilization and utilization of carbohydrate during its seed germination process.

Key words: *Ammodendron bifolium* (Pall.) Yakovl.; endophytic bacterium; osmotic stress; seed germination; carbohydrate content

微生物是干旱环境中最早的“殖民者”^[1-2],能够与植物建立稳定的共生关系,帮助植物吸收水分和养分,加速幼苗生长和植株形成,从而提高植物对干旱胁迫的抗性^[3-5]。相关研究表明:在干旱生态系统中,植物的生存往往依赖特定细菌群落(如内生细菌和根际细菌)的定植和有益作用^[6-7]。

新疆伊犁西部的塔克尔莫乎尔沙漠多为固定、半固定沙丘,具有温带沙漠气候特点,以干旱少雨甚至无雨为主要特征^[8-9]。银砂槐[*Ammodendron bifolium* (Pall.) Yakovl.]隶属于豆科(Fabaceae)银砂槐属(*Ammodendron* Fisch. ex DC.),为落叶小灌木,是分布在塔克尔莫乎尔沙漠中的一种优良固沙植物,自然种群更新能力较差,被列为国家Ⅱ级重点保护野生植物^[8]。初步研究结果表明:银砂槐的内生细菌具有促进其种子萌发及早期幼苗生长的作用^[10]。然而,这些内生细菌在银砂槐对荒漠干旱环境适应过程中的作用尚未明确。

种子萌发是指从种子开始吸水到胚根突破种皮的全过程^[11],对胁迫环境下幼苗的及时建立和植物种群构建具有极其重要的作用^[12-14]。植物种子内的贮藏物质可为种子萌发和早期幼苗生长提供营养物质和能量^[15-16],碳水化合物不仅是种子中的主要贮藏物质,而且是植物种子萌发的重要碳源,其分配利用模式可揭示幼苗的生存和建立策略^[15]。明确干旱胁迫条件下银砂槐种子的萌发策略及其贮藏物质含量的变化规律对于揭示银砂槐种子萌发机制具有重要意义。

鉴于此,对PEG6000模拟的干旱胁迫(即渗透胁迫)条件下接种内生细菌菌株AY3、AY9和AG18后银砂槐的种子萌发(包括种子萌发率和胚根长)及主要碳水化合物(包括淀粉、可溶性糖、蔗糖、葡萄糖、果糖和总碳水化合物)含量的变化进行了比较分析,

以期揭示内生细菌对银砂槐种子萌发的影响及促生、抗逆作用,并为研究银砂槐对干旱胁迫环境的适应策略、内生细菌与植物互作机制及种子破眠机制等提供理论基础。

1 材料和方法

1.1 材料

供试银砂槐种子于2014年7月采自新疆伊犁西部的塔克尔莫乎尔沙漠,自然风干后去除果皮及杂物,选择大小适中、籽粒饱满且无病虫害的种子,置于室温条件下保存、备用。

供试菌株为作者所在实验室前期分离保存的银砂槐内生细菌菌株,分别为葡萄球菌属(*Staphylococcus*)菌株AY3(KR045836)、考克氏菌属(*Kocuria*)菌株AY9(KR045840)和芽孢杆菌属(*Bacillus*)菌株AG18(KR045821)。将活化的菌株分别接种至牛肉膏蛋白胨液体培养基中,30℃条件下 $150 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 振荡培养24h;4℃条件下 $8000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心10min,收集沉淀;将沉淀悬浮于 $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 磷酸缓冲液(含 $150 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NaCl}$, pH 7.0)中,并使用该磷酸缓冲液于波长600nm处将菌悬液的OD值调整至1.0,备用。

1.2 方法

1.2.1 处理方法 采用朱艳蕾等^[17]的方法对种子进行表面消毒,具体操作如下:种子经蒸馏水冲洗5~6次后,先用体积分数75%乙醇消毒12min,再用质量体积分数5%NaClO溶液消毒15min,最后用无菌水冲洗6~8次。经表面消毒后,用刀片在种脐背面进行缺刻处理,以破坏种皮的不透水性^[18]。将消毒并破口的种子浸入内生细菌菌株AY3、AY9和AG18的菌悬液中浸泡4h,以 $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 磷酸缓冲液(含

150 mmol · L⁻¹ NaCl, pH 7.0) 浸泡 4 h 的种子为对照 (未接种内生细菌, CK); 将种子分别置于装有无菌水 (正常条件, 渗透势 0.0 MPa) 或质量体积分数 14.3% PEG6000 溶液 (渗透胁迫条件, 渗透势 -0.3 MPa) 润湿的双层滤纸的培养皿中, 于 20 °C 条件下进行暗培养。实验共 8 个处理, 每个处理 16 个培养皿, 每皿 30 粒种子。

1.2.2 指标统计及测定 在暗培养 0、5、10 和 15 d, 每个处理分别取 4 个培养皿 (每皿视为 1 个重复), 统计每个培养皿中萌发的种子数量 (以胚根突破种皮作为判定种子萌发的标准), 据此计算种子萌发率, 计算公式为“种子萌发率 = (某培养皿中萌发的种子数 / 该培养皿中种子的总数) × 100%”; 使用直尺 (精度 1 mm) 测量胚根长。

将每个培养皿中所有萌发的种子置于液氮中研磨成粉末; 精确称量 0.100 0 g 粉末, 加入体积分数 80% 乙醇 1 mL, 65 °C 水浴 30 min, 室温条件下 13 000 r · min⁻¹ 离心 20 min, 分别收集上清液和沉淀; 沉淀用体积分数 80% 乙醇 1 mL 重复提取 1 次, 分别收集上清液和沉淀; 沉淀用 1 mL 蒸馏水按上述条件提取 1 次, 分别收集上清液和沉淀; 沉淀加入蒸馏水 1 mL, 沸水浴 30 min 后, 室温条件下 13 000 r · min⁻¹ 离心 20 min, 分别收集上清液和沉淀, 将 4 次提取的上清液合并, 即为可溶性糖提取液。

将沉淀进行酸解^[19], 采用蒽酮比色法^[20]测定淀

粉含量; 取可溶性糖提取液 6 μL, 采用蒽酮比色法^[20]测定可溶性糖含量; 取可溶性糖提取液 10 μL, 采用 Rasmussen 等^[21]的方法测定蔗糖、葡萄糖和果糖含量。根据测定结果计算总碳水化合物含量 (即可溶性糖含量和淀粉含量的总和)。

1.3 数据统计及分析

采用 SPSS 19.0 统计分析软件对实验数据进行单因素方差分析。

2 结果和分析

2.1 渗透胁迫条件下内生细菌对银砂槐种子萌发的影响

正常 (渗透势 0.0 MPa) 及渗透胁迫 (渗透势 -0.3 MPa) 条件下不同内生细菌对银砂槐种子萌发率和胚根长的影响结果见表 1。由表 1 可见: 在正常条件下, 银砂槐种子萌发过程中各组的种子萌发率均持续升高, 表现为在培养 5 d 时基本上不显著升高, 在培养 10 和 15 d 时显著升高; 对照 (未接种内生细菌, CK) 组及 AY3、AY9 和 AG18 组 (分别接种内生细菌菌株 AY3、AY9 和 AG18) 的种子萌发率在培养 15 d 时分别为 13.3%、61.9%、46.7% 和 53.3%。在渗透胁迫条件下, 各组的种子萌发率也持续升高, 表现为在培养 5 d 时不显著升高, 在培养 10 d 时部分显著升高, 在培养 15 d 时显著升高; CK、AY3、AY9 和 AG18

表 1 正常及渗透胁迫条件下不同内生细菌对银砂槐种子萌发率和胚根长的影响 ($\bar{X} \pm SE$)¹⁾

Table 1 Effects of different endophytic bacteria on seed germination rate and radicle length of *Ammodendron bifolium* (Pall.) Yakovl. under normal and osmotic stress conditions ($\bar{X} \pm SE$)¹⁾

处理 ²⁾ Treatment ²⁾	不同培养时间种子萌发率/% Seed germination rate at different culture times				不同培养时间胚根长/mm Radicle length at different culture times			
	0 d	5 d	10 d	15 d	0 d	5 d	10 d	15 d
正常条件下 (渗透势 0.0 MPa) Under normal condition (osmotic stress potential of 0.0 MPa)								
CK	0.0 ± 0.0Ba	0.7 ± 0.3Bb	3.3 ± 1.0Bef	13.3 ± 2.8Ad	0.0 ± 0.0Ba	0.1 ± 0.0Bab	0.4 ± 0.1Bc	2.5 ± 0.3Ac
AY3	0.0 ± 0.0Ca	2.7 ± 0.7Ca	35.3 ± 3.7Ba	61.9 ± 3.1Aa	0.0 ± 0.0Ca	0.2 ± 0.1Cab	4.4 ± 0.2Ba	11.3 ± 0.8Aa
AY9	0.0 ± 0.0Da	6.0 ± 0.7Ca	22.7 ± 1.6Bbc	46.7 ± 1.5Ab	0.0 ± 0.0Ca	0.4 ± 0.1Ca	2.1 ± 0.2Bb	5.7 ± 0.3Ab
AG18	0.0 ± 0.0Ca	3.4 ± 0.1Ca	27.3 ± 3.1Bab	53.3 ± 2.7Aa	0.0 ± 0.0Ca	0.2 ± 0.1Cab	4.9 ± 0.2Ba	9.9 ± 0.5Aa
渗透胁迫条件下 (渗透势 -0.3 MPa) Under osmotic stress condition (osmotic stress potential of -0.3 MPa)								
CK	0.0 ± 0.0Aa	0.0 ± 0.0Ab	1.3 ± 0.5Af	2.3 ± 1.0Ae	0.0 ± 0.0Aa	0.0 ± 0.0Ab	0.2 ± 0.1Ac	0.4 ± 0.1Ad
AY3	0.0 ± 0.0Ba	0.0 ± 0.0Bb	4.7 ± 1.8Bef	21.1 ± 2.2Acd	0.0 ± 0.0Ca	0.0 ± 0.0Cb	0.4 ± 0.1Bc	2.5 ± 0.2Ac
AY9	0.0 ± 0.0Ca	0.7 ± 0.3Cb	10.0 ± 1.1Bde	19.3 ± 0.7Acd	0.0 ± 0.0Ca	0.0 ± 0.0Cb	0.6 ± 0.1Bc	2.0 ± 0.2Acd
AG18	0.0 ± 0.0Ba	1.3 ± 0.5Ba	15.0 ± 4.0Acd	22.5 ± 5.1Ac	0.0 ± 0.0Ca	0.0 ± 0.0Cb	1.6 ± 0.2Bb	3.2 ± 0.2Ac

¹⁾ 同行中不同的大写字母表示同一指标在不同培养时间差异显著 ($P < 0.05$) Different capitals in the same row indicate the significant difference of the same index among different culture times ($P < 0.05$); 同列中不同的小写字母表示同一指标在不同组间差异显著 ($P < 0.05$) Different lowercases in the same column indicate the significant difference of the same index among different groups ($P < 0.05$).

²⁾ CK: 未接种内生细菌, 对照 Not inoculated with endophytic bacterium, the control; AY3: 接种内生细菌菌株 AY3 Inoculated with endophytic bacterium strain AY3; AY9: 接种内生细菌菌株 AY9 Inoculated with endophytic bacterium strain AY9; AG18: 接种内生细菌菌株 AG18 Inoculated with endophytic bacterium strain AG18.

组的种子萌发率在培养 15 d 时分别为 2.3%、21.1%、19.3%和 22.5%。比较来看,渗透胁迫条件下 CK、AY3、AY9 和 AG18 组的种子萌发率基本上显著低于正常条件下,且正常及渗透胁迫条件下 AY3、AY9 和 AG18 组的种子萌发率在培养 15 d 时显著高于 CK 组。

由表 1 还可见:在正常及渗透胁迫条件下,银砂槐种子萌发过程中各组的胚根长均持续增大,表现为在培养 5 d 时不显著增大,在培养 10 d 时基本上显著增大,在培养 15 d 时显著增大;正常条件下 CK、AY3、AY9 和 AG18 组的胚根长在培养 15 d 时分别为 2.5、11.3、5.7 和 9.9 mm,渗透胁迫条件下各组的胚根长分别为 0.4、2.5、2.0 和 3.2 mm。比较来看,渗透胁迫条件下 CK、AY3、AY9 和 AG18 组的胚根长基本上显著低于正常条件下。并且,正常条件下 AY3、AY9 和 AG18 组及渗透胁迫条件下 AG18 组的胚根长在培养 10 d 时显著高于 CK 组;正常及渗透胁迫条件下 AY3、AY9 和 AG18 组的胚根长在培养 15 d 时基本上显著高于 CK 组;正常及渗透胁迫条件下 AY3、AY9 和 AG18 组的胚根长在培养 5 d 时不显著高于 CK 组。

2.2 渗透胁迫条件下内生细菌对银砂槐种子萌发过程中主要碳水化合物含量的影响

正常(渗透势 0.0 MPa)及渗透胁迫(渗透势 -0.3 MPa)条件下不同内生细菌对银砂槐种子萌发过程中淀粉、可溶性糖、蔗糖、葡萄糖、果糖和总碳水化合物含量的影响结果见表 2。由表 2 可见:在正常条件下,银砂槐种子萌发过程中各组的淀粉含量均持续降低,表现为在培养 5 d 时不显著降低,在培养 10 d 时基本上显著降低,在培养 15 d 时部分显著降低;对照(未接种内生细菌,CK)组及 AY3、AY9 和 AG18 组(分别接种内生细菌菌株 AY3、AY9 和 AG18)的淀粉含量在培养 15 d 时分别较培养 0 d 时降低了 37.3%、69.7%、57.8%和 63.0%。在渗透胁迫条件下,各组的淀粉含量均先升高后降低,表现为在培养 5 d 时不显著升高,在培养 10 d 时基本上显著降低,在培养 15 d 时基本上不显著降低;CK、AY3、AY9 和 AG18 组的淀粉含量在培养 15 d 时分别较培养 0 d 时降低了 23.3%、46.0%、37.2%和 44.3%。比较来看,渗透胁迫条件下 CK、AY3、AY9 和 AG18 组的淀粉含量高于正常条件下,且正常及渗透胁迫条件下 AY3、AY9 和 AG18 组的淀粉含量在培养 5 d 时与

CK 组间差异不显著,在培养 10 和 15 d 基本上显著低于 CK 组。

由表 2 还可见:在正常及渗透胁迫条件下,银砂槐种子萌发过程中各组的可溶性糖含量均持续降低,表现为在培养 5 和 10 d 时显著降低;在培养 15 d 时正常条件下 AY3、AY9 和 AG18 组的可溶性糖含量显著降低,而渗透胁迫条件下基本上不显著降低。正常条件下 CK、AY3、AY9 和 AG18 组的可溶性糖含量在培养 15 d 时分别较培养 0 d 时降低了 37.9%、66.9%、51.7%和 60.8%;渗透胁迫条件下 CK、AY3、AY9 和 AG18 组的可溶性糖含量在培养 15 d 时分别较培养 0 d 时降低了 28.4%、60.6%、44.4%和 51.8%。比较来看,渗透胁迫条件下 CK、AY3、AY9 和 AG18 组的可溶性糖含量高于正常条件下,且正常及渗透胁迫条件下 AY3、AY9 和 AG18 组可溶性糖含量显著低于 CK 组。

由表 2 还可见:在正常条件下,银砂槐种子萌发过程中各组的蔗糖含量基本上先升高后降低,表现为在培养 5 d 时基本上达到最高值,在培养 10 d 时显著降低,在培养 15 d 时部分显著降低;CK、AY3、AY9 和 AG18 组的蔗糖含量在培养 15 d 时分别较培养 0 d 时降低了 9.1%、80.6%、58.1%和 63.9%。在渗透胁迫条件下,各组的蔗糖含量基本上变化各异,且 AY3、AY9 和 AG18 组的蔗糖含量在培养 10 和 15 d 时基本上显著降低;CK 组的蔗糖含量在培养 15 d 时较培养 0 d 时升高了 2.3%,而 AY3、AY9 和 AG18 组的蔗糖含量在培养 15 d 时分别较培养 0 d 时降低了 58.1%、37.7%和 55.8%。比较来看,渗透胁迫条件下 CK、AY3、AY9 和 AG18 组的蔗糖含量基本上高于正常条件下,且正常及渗透胁迫条件下 AY3、AY9 和 AG18 组的蔗糖含量在培养 5、10 和 15 d 时显著低于 CK 组。

由表 2 还可见:在正常条件下,银砂槐种子萌发过程中各组的葡萄糖和果糖含量均持续升高,葡萄糖含量在培养 0 和 5 d 时及果糖含量在培养 0 d 时均为 $0.00 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$,果糖含量在培养 5 d 时不显著升高,二者均在培养 10 和 15 d 时显著升高。在渗透胁迫条件下,各组的葡萄糖和蔗糖含量也基本上持续升高,表现为在培养 5 d 时不显著升高,在培养 10 和 15 d 时基本上显著升高。比较来看,渗透胁迫条件下 CK、AY3、AY9 和 AG18 组的葡萄糖和果糖含量基本上低于正常条件下,且正常及渗透胁迫条件下 AY3、AY9 和 AG18 组的葡萄糖和果糖含量在培养 10 和 15 d 时

基本上显著高于CK组。

由表2还可见:在正常及渗透胁迫条件下,银砂槐种子萌发过程中各组的总碳水化合物含量基本上持续降低,表现为在培养5、10和15d时基本上显著降低;正常条件下CK、AY3、AY9和AG18组的总碳水化合物含量在培养15d时分别较培养0d时降低了37.7%、68.1%、54.3%和61.7%,渗透胁迫条件下

CK、AY3、AY9和AG18组的总碳水化合物含量在培养15d时分别较培养0d时降低了26.3%、54.4%、41.3%和48.7%。比较来看,渗透胁迫条件下CK、AY3、AY9和AG18组的总碳水化合物含量高于正常条件下,且正常及渗透胁迫条件下AY3、AY9和AG18组的总碳水化合物含量在培养5d时不显著低于CK组,在培养10和15d时显著低于CK组。

表2 正常及渗透胁迫条件下不同内生细菌对银砂槐种子萌发过程中主要碳水化合物含量的影响($\bar{X} \pm SE$)¹⁾

Table 2 Effects of different endophytic bacteria on main carbohydrate contents during seed germination process of *Ammodendron bifolium* (Pall.) Yakovl. under normal and osmotic stress conditions ($\bar{X} \pm SE$)¹⁾

处理 ²⁾ Treatment ²⁾	不同培养时间淀粉含量/(mg·g ⁻¹) Starch content at different culture times				不同培养时间可溶性糖含量/(mg·g ⁻¹) Soluble sugar content at different culture times			
	0 d	5 d	10 d	15 d	0 d	5 d	10 d	15 d
正常条件下(渗透势0.0 MPa) Under normal condition (osmotic stress potential of 0.0 MPa)								
CK	29.59±1.18Aa	29.47±0.82Aa	25.41±0.70Aab	18.54±1.32Bab	41.90±1.13Aa	36.21±1.16Bab	29.36±1.16Cab	26.00±0.81Cb
AY3	31.47±0.77Aa	29.10±0.83Aa	17.04±1.11Bde	9.53±1.30Cd	43.17±1.57Aa	25.90±0.68Bd	19.74±0.41Cd	14.29±0.38De
AY9	31.03±1.31Aa	29.57±1.76Aa	16.34±0.15Be	13.08±0.60Bcd	41.27±0.84Aa	30.70±0.58Bc	22.65±0.43Ccd	19.95±0.30Dcd
AG18	30.70±0.55Aa	28.95±0.35Aa	19.86±0.59Bede	11.37±0.26Cd	43.10±2.15Aa	29.56±0.83Bcd	23.16±0.82Cc	16.89±0.48Dde
渗透胁迫条件下(渗透势-0.3 MPa) Under osmotic stress condition (osmotic stress potential of -0.3 MPa)								
CK	29.59±1.18Aa	32.92±0.71Aa	27.23±2.11ABa	22.69±0.98Ba	41.90±1.13Aa	40.93±1.32Aa	34.09±1.75Ba	30.01±1.06Ba
AY3	31.47±0.77Aa	32.63±0.56Aa	21.19±0.38Bbc	17.04±0.91Cbc	43.17±1.57Aa	25.44±1.55Bd	18.97±1.36Cd	17.02±0.92Cde
AY9	31.03±1.31Aa	32.82±0.67Aa	21.70±0.26Bbc	19.48±1.20Bab	41.27±0.84Aa	33.90±0.87Bbc	26.48±0.77Cbc	22.96±0.78Dbc
AG18	30.70±0.55Aa	34.38±0.89Aa	20.77±1.14Bcd	17.09±1.64Bbc	43.10±2.15Aa	31.58±0.61Bbc	24.58±1.29Cbc	20.76±0.73Cc
处理 ²⁾ Treatment ²⁾	不同培养时间蔗糖含量/(mg·g ⁻¹) Sucrose content at different culture times				不同培养时间葡萄糖含量/(mg·g ⁻¹) Glucose content at different culture times			
	0 d	5 d	10 d	15 d	0 d	5 d	10 d	15 d
正常条件下(渗透势0.0 MPa) Under normal condition (osmotic stress potential of 0.0 MPa)								
CK	19.72±0.30Ba	23.20±0.21Abc	19.28±0.86Bab	17.92±0.61Bb	0.00±0.00Ca	0.00±0.00Ca	0.25±0.02Bc	0.46±0.05Ae
AY3	20.12±0.51Aa	15.28±0.67Be	9.33±1.17Ce	3.91±0.25De	0.00±0.00Ca	0.00±0.00Ca	0.84±0.04Ba	2.50±0.09Aa
AY9	19.89±0.40Aa	20.49±0.56Acd	10.42±0.83Bde	8.34±0.64Bd	0.00±0.00Ca	0.00±0.00Ca	0.73±0.03Bab	2.39±0.14Aa
AG18	19.61±0.85Aa	20.27±0.87Ad	14.07±1.55Bcd	7.07±0.45Cd	0.00±0.00Ca	0.00±0.00Ca	0.88±0.14Ba	1.82±0.24Ab
渗透胁迫条件下(渗透势-0.3 MPa) Under osmotic stress condition (osmotic stress potential of -0.3 MPa)								
CK	19.72±0.30BCa	26.81±0.37Aa	20.07±1.32Ba	20.18±0.65Ba	0.00±0.00Ba	0.00±0.00Ba	0.42±0.03Abc	0.39±0.01Ae
AY3	20.12±0.51Aa	15.12±0.91Be	10.85±0.82Cde	8.44±0.59Dd	0.00±0.00Ca	0.00±0.00Ca	0.62±0.04Bab	1.13±0.08Acd
AY9	19.89±0.40Ba	24.35±0.42Ab	16.14±0.33Cbc	12.40±0.11Dc	0.00±0.00Ca	0.00±0.00Ca	0.71±0.09Bab	1.03±0.14Ad
AG18	19.61±0.85Aa	19.31±0.33Ad	14.22±0.42Bcd	8.66±0.35Cd	0.00±0.00Ca	0.00±0.00Ca	0.78±0.08Ba	1.53±0.31Abc
处理 ²⁾ Treatment ²⁾	不同培养时间果糖含量/(mg·g ⁻¹) Fructose content at different culture times				不同培养时间总碳水化合物含量/(mg·g ⁻¹) Total carbohydrate content at different culture times			
	0 d	5 d	10 d	15 d	0 d	5 d	10 d	15 d
正常条件下(渗透势0.0 MPa) Under normal condition (osmotic stress potential of 0.0 MPa)								
CK	0.00±0.00Ca	0.06±0.00Cd	0.29±0.04Bd	0.54±0.01Ad	71.50±1.18Aa	65.68±1.36Aab	54.77±1.54Bab	44.54±1.50Bb
AY3	0.00±0.00Ca	0.27±0.03Cab	1.49±0.06Ba	3.09±0.14Aa	74.64±1.64Aa	55.00±0.66Bc	36.78±0.39Ce	23.82±1.30Df
AY9	0.00±0.00Ca	0.11±0.01Ccd	1.07±0.08Bbc	2.95±0.10Aa	72.30±1.66Aa	60.27±2.08Bbc	38.98±0.50Cde	33.03±0.48Dde
AG18	0.00±0.00Ca	0.36±0.03Ca	1.31±0.08Bab	2.50±0.17Aab	73.81±2.25Aa	58.51±1.08Bbc	43.03±0.98Cde	28.26±0.63Def
渗透胁迫条件下(渗透势-0.3 MPa) Under osmotic stress condition (osmotic stress potential of -0.3 MPa)								
CK	0.00±0.00Ba	0.11±0.00ABcd	0.17±0.01ABd	0.36±0.02Ad	71.50±1.18Aa	73.85±0.80Aa	61.33±3.82Ba	52.71±1.53Ca
AY3	0.00±0.00Ca	0.30±0.03BCab	0.39±0.04Bd	1.52±0.17Ac	74.64±1.64Aa	58.07±1.97Bc	40.16±1.50Cde	34.05±0.62Cd
AY9	0.00±0.00Ca	0.19±0.01Cbc	0.76±0.12Bc	1.48±0.09Ac	72.30±1.66Aa	66.72±1.11Bab	48.18±1.00Cbc	42.44±1.33Dbc
AG18	0.00±0.00Ca	0.33±0.03BCa	0.92±0.06Bc	2.00±0.28Abc	73.81±2.25Aa	65.95±3.48Bab	45.36±1.50Ccd	37.85±0.94Dcd

¹⁾ 同行中不同的大写字母表示同一指标在不同培养时间差异显著($P < 0.05$) Different capitals in the same row indicate the significant difference of the same index among different culture times ($P < 0.05$); 同列中不同的小写字母表示同一指标在不同组间差异显著($P < 0.05$) Different lowercases in the same column indicate the significant difference of the same index among different groups ($P < 0.05$).

²⁾ CK: 未接种内生细菌, 对照 Not inoculated with endophytic bacterium, the control; AY3: 接种内生细菌菌株 AY3 Inoculated with endophytic bacterium strain AY3; AY9: 接种内生细菌菌株 AY9 Inoculated with endophytic bacterium strain AY9; AG18: 接种内生细菌菌株 AG18 Inoculated with endophytic bacterium strain AG18.

3 讨论和结论

干旱胁迫可限制植物种子萌发和植株生长发育^[22-23],内生细菌和真菌能改善植物性能、促进植物生长和定植,并有助于植物在多种胁迫环境条件下(如高温和干旱等^[6,24])生长。本研究结果表明:在PEG6000模拟的干旱胁迫(渗透胁迫,渗透势-0.3 MPa)条件下,对照(未接种内生细菌,CK)组及AY3、AY9和AG18组(分别接种内生细菌菌株AY3、AY9和AG18)银砂槐的种子萌发率和胚根长均显著低于正常(渗透势0.0 MPa)条件下,并且,在渗透胁迫条件下3个接菌组银砂槐的种子萌发率和胚根长在培养10和15 d时均显著高于CK组,说明渗透胁迫能够显著抑制银砂槐种子的萌发和胚根生长,并且,内生细菌可明显减轻渗透胁迫对银砂槐种子萌发和胚根生长的抑制效应,有助于提高银砂槐对荒漠环境的适应性,并对银砂槐种群维持有重要作用。

种子内的贮藏物质与种子萌发策略和早期幼苗发育有很大关系,贮藏物质的数量和利用情况直接关系到早期幼苗生长^[25]。淀粉是种子中的重要碳源之一,可在种子萌发前或萌发过程中大量水解为葡萄糖,为种子萌发提供碳源和能量^[26-27]。银砂槐种子内的淀粉含量占总碳水化合物含量的40%^[28]。本研究中,正常和渗透胁迫条件下3个接菌组银砂槐种子萌发过程中淀粉含量在培养5 d时与CK组差异不显著,在培养10和15 d时基本上显著低于CK组,说明在培养5 d时银砂槐种子中的淀粉并未水解,结合种子萌发率可认为银砂槐种子萌发过程中淀粉水解未先于萌发,据此推断银砂槐种子内淀粉的水解产物可能主要用于早期幼苗生长;并且,内生细菌能够促进银砂槐种子萌发过程中种子内淀粉的水解。

可溶性糖类不仅能够提高植物种子萌发,而且是植物异养生长过程中的主要营养来源,包括蔗糖、果糖和葡萄糖等^[29-30]。本研究中,与培养0 d时相比,正常和渗透胁迫条件下CK组和3个接菌组银砂槐种子萌发过程中可溶性糖含量在培养5 d时基本上显著降低,而淀粉含量在培养5 d时却变化不显著,说明银砂槐种子萌发过程中优先利用可溶性糖中的小分子糖类,再利用淀粉的水解产物。

蔗糖是碳水化合物的主要运输形式,在种子萌发后可被输送至正在生长的部位^[29]。本研究中,与培

养0 d相比,正常和渗透胁迫条件下CK组和3个接菌组银砂槐种子萌发过程中蔗糖含量在培养5 d时基本上变化不显著,在培养10和15 d时显著降低,其水解产物葡萄糖和果糖的含量均在培养10和15 d时显著升高,据此推测蔗糖可能是银砂槐种子萌发后早期幼苗生长过程中首先被利用的可溶性糖类。

相关研究结果表明:植物种子的萌发及其贮藏物质的动员和利用是2个独立过程^[31],碳水化合物对种子萌发和萌发后幼苗生长有重要影响^[30,32]。综合本研究结果认为,内生细菌可明显减轻渗透胁迫对银砂槐种子萌发和胚根生长的抑制效应,促进种子萌发过程中碳水化合物的动员和利用。

参考文献:

- [1] MAPELLI F, MARASCO R, BALLOI A, et al. Mineral-microbe interactions: biotechnological potential of bioweathering[J]. *Journal of Biotechnology*, 2012, 157(4): 473-481.
- [2] BORIN S, VENTURA S, TAMBONE F, et al. Rock weathering creates oases of life in a High Arctic desert [J]. *Environmental Microbiology*, 2010, 12(2): 293-303.
- [3] LIMA J V L, WEBER O B, CORREIA D, et al. Endophytic bacteria in cacti native to a Brazilian semi-arid region[J]. *Plant and Soil*, 2015, 389(1/2): 25-33.
- [4] PUENTE M E, BASHAN Y. Effect of inoculation with *Azospirillum brasilense* strains on the germination and seedlings growth of the giant columnar cactus (*Pachycereus pringlei*) [J]. *Symbiosis*, 1993, 15(1/2): 49-60.
- [5] SOUSSI A, FERJANI R, MARASCO R, et al. Plant-associated microbiomes in arid lands: diversity, ecology and biotechnological potential[J]. *Plant and Soil*, 2016, 405(1/2): 357-370.
- [6] PUENTE M E, LI C Y, BASHAN Y. Endophytic bacteria in cacti seeds can improve the development of cactus seedlings [J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2009, 66(3): 402-408.
- [7] MAPELLI F, MARASCO R, ROLLI E, et al. Potential for plant growth promotion of rhizobacteria associated with *Salicornia* growing in Tunisian hypersaline soils [J]. *BioMed Research International*, 2013, 2013(1): 803-808.
- [8] 吕海英,王孝安,李进,等.珍稀植物银砂槐中国分布区的种群结构与动态分析[J]. *西北植物学报*, 2014, 34(1): 177-183.
- [9] 李进,杨志江.伊犁塔克尔莫乎尔沙漠植物区系[J]. *新疆农业科学*, 2008, 45(S3): 119-122.
- [10] ZHU Y L, SHE X P, WANG J S, et al. Endophytic bacterial effects on seed germination and mobilization of reserves in *Ammodendron biofolium* [J]. *Pakistan Journal of Botany*, 2017, 49(5): 2029-2035.
- [11] BEWLEY J D. Seed germination and dormancy [J]. *The Plant Cell*, 1997, 9(7): 1055-1066.
- [12] GUTTERMAN Y. Environmental factors and survival strategies of

- annual plant species in the Negev Desert, Israel[J]. *Plant Species Biology*, 2000, 15(2): 113-125.
- [13] WANG T T, CHU G M, JIANG P, et al. Effects of sand burial and seed size on seed germination, seedling emergence and seedling biomass of *Anabasis aphylla* [J]. *Pakistan Journal of Botany*, 2017, 49(2): 391-396.
- [14] LIU Y, XU H, WEN X X, et al. Effect of polyamine on seed germination of wheat under drought stress is related to changes in hormones and carbohydrates[J]. *Journal of Integrative Agriculture*, 2016, 15(12): 2759-2774.
- [15] ECKSTEIN A, JAGIEŁŁO-FLASIŃSKA D, LEWANDOWSKA A, et al. Mobilization of storage materials during light-induced germination of tomato (*Solanum lycopersicum*) seeds [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2016, 105(8): 271-281.
- [16] ICHIE T, NINOMIYA I, OGINO K. Utilization of seed reserves during germination and early seedling growth by *Dryobalanops lanceolata* (Dipterocarpaceae) [J]. *Journal of Tropical Ecology*, 2001, 17(3): 371-378.
- [17] 朱艳蕾, 安登第, 曾献春. 银砂槐种子表面消毒技术及无菌萌发条件研究[J]. *新疆师范大学学报(自然科学版)*, 2014, 33(3): 17-20.
- [18] 曹满航, 李进, 张婷, 等. 温度和水分及盐分胁迫对银砂槐种子萌发的影响[J]. *西北植物学报*, 2011, 31(4): 746-752.
- [19] MCCREADY R M, GUGGOLZ J, SILVIERA V, et al. Determination of starch and amylose in vegetables: application to peas[J]. *Analytical Chemistry*, 1950, 22(9): 1156-1158.
- [20] HUNT M G, RASMUSSEN S, NEWTON P C D, et al. Near-term impacts of elevated CO₂, nitrogen and fungal endophyte-infection on *Lolium perenne* L. growth, chemical composition and alkaloid production[J]. *Plant, Cell and Environment*, 2005, 28(11): 1345-1354.
- [21] RASMUSSEN S, PARSONS A J, FRASER K, et al. Metabolic profiles of *Lolium perenne* are differentially affected by nitrogen supply, carbohydrate content, and fungal endophyte infection[J]. *Plant Physiology*, 2008, 146(3): 1440-1453.
- [22] 王琳, 韩莹琰, 郝敬虹, 等. 聚乙二醇模拟干旱胁迫对散叶生菜种子萌发的影响[J]. *北京农学院学报*, 2016, 31(4): 35-39.
- [23] 段德玉, 刘小京, 冯凤莲, 等. 盐分和水分胁迫对盐生植物灰绿藜种子萌发的影响[J]. *植物资源与环境学报*, 2004, 13(1): 7-11.
- [24] HUBBARD M, GERMIDA J, VUJANOVIC V. Fungal endophytes improve wheat seed germination under heat and drought stress[J]. *Botany*, 2012, 90(2): 137-149.
- [25] NYKIFORUK C L, JOHNSON-FLANAGAN A M. Storage reserve mobilization during low temperature germination and early seedling growth in *Brassica napus* [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 1999, 37(12): 939-947.
- [26] 阎娥, 乔有明. 两燕麦品种种子萌发中淀粉酶活性变化的研究[J]. *草业科学*, 2006, 23(9): 96-98.
- [27] 马丽妍, 董春兰, 言燕华, 等. 低温和 GA₃ 对凤丹种子萌发及碳氮代谢物和内源激素含量的影响[J]. *植物资源与环境学报*, 2014, 23(4): 40-46.
- [28] 朱艳蕾, 安登第, 余小平. 银砂槐种子中主要有机物含量的测定[J]. *植物研究*, 2016, 36(2): 211-215.
- [29] DOMAN D C, WALKER J C, TRELEASE R N, et al. Metabolism of carbohydrate and lipid reserves in germinated cotton seeds [J]. *Planta*, 1982, 155(6): 502-510.
- [30] STEWART S L, KANE M E. Effects of carbohydrate source on the *in vitro* asymbiotic seed germination of the terrestrial orchid *Habenaria macroceratitis* [J]. *Journal of Plant Nutrition*, 2010, 33(8): 1155-1165.
- [31] PRITCHARD S L, CHARLTON W L, BAKER A, et al. Germination and storage reserve mobilization are regulated independently in *Arabidopsis* [J]. *The Plant Journal*, 2002, 31(5): 639-647.
- [32] 刘月洋, 陆秀君, 李天来, 等. GA₃ 处理对天女木兰种子解除休眠过程中碳水化合物含量的影响[J]. *种子*, 2010, 29(2): 13-16, 21.

(责任编辑: 佟金凤)