

doi:10.11733/j.issn.1007-0435.2026.07.035

引用格式:金旭,黄荣,左妍妍,等.干旱胁迫下Cp2-EPS种子包衣对紫花苜蓿幼苗生长及光合生理的影响[J].草地学报,2026,34(7):2741-2752

JIN Xu, HUANG Rong, ZUO Yan-yan, et al. Effects of Cp2-EPS Seed Coating on Alfalfa Seedling Growth and Photosynthetic Physiology under Drought Stress[J]. Acta Agrestia Sinica, 2026, 34(7):2741-2752

干旱胁迫下 Cp2-EPS 种子包衣对紫花苜蓿 幼苗生长及光合生理的影响

金旭^{1,2}, 黄荣^{1,2}, 左妍妍^{1,2}, 刘雪梅^{1,2}, 雷杰^{1,2}, 兰添雅^{1,2}, 张振粉^{1*}

(1. 甘肃农业大学草业学院, 甘肃兰州 730070; 2. 草业生态系统教育部重点实验室, 甘肃兰州 730070)

摘要:细菌胞外多糖(EPS)在提升植物抗逆性方面潜力显著,但其对紫花苜蓿抗旱性的影响机制尚不明确。本研究以紫花苜蓿‘巨能551’为材料,采用种子包衣技术,探究桃色欧文氏菌胞外多糖Cp2-EPS的抗旱效果。设置未包衣对照(CK)、包衣基质对照(T1)及4个Cp2-EPS浓度处理(0.5, 1.0, 1.5, 2.0 g·L⁻¹, 记为T2~T5),于苗期生长21d后进行持续14d的干旱胁迫(土壤相对含水量40%),并测定相关生理生长指标。结果表明,Cp2-EPS包衣显著缓解了干旱对紫花苜蓿生长的抑制,其中1.0 g·L⁻¹(T3)效果最好。与CK相比,T3处理下根长、苗长、鲜重和干重分别增加17.87%, 17.87%, 74.53%和46.34%;叶片光化学量子产量Y(II)、PS II最大光化学效率和总叶绿素含量也显著提升。综上,Cp2-EPS种子包衣可通过增强光合性能减轻干旱氧化损伤,1.0 g·L⁻¹为最佳浓度。本研究为开发环保抗旱包衣剂及紫花苜蓿可持续生产提供了理论与技术参考。

关键词:紫花苜蓿;胞外多糖;种子包衣;干旱胁迫

中图分类号:S963.22+3.3

文献标识码:A

文章编号:1007-0435(2026)07-2741-12

Effects of Cp2-EPS Seed Coating on Alfalfa Seedling Growth and Photosynthetic Physiology under Drought Stress

JIN Xu^{1,2}, HUANG Rong^{1,2}, ZUO Yan-yan^{1,2}, LIU Xue-mei^{1,2}, LEI Jie^{1,2},
LAN Tian-ya^{1,2}, ZHANG Zhen-fen^{1*}

(1. Pratacultural College, Gansu Agricultural University, Lanzhou, Gansu Province 730070, China; 2. Key Laboratory of Grassland Ecosystem, Ministry of Education, Engineering Laboratory of Gansu Province, Lanzhou, Gansu Province 730070, China)

Abstract: Bacterial extracellular polysaccharides (EPS) show great potential in enhancing plant stress resistance, but their mechanism of action on drought resistance in alfalfa (*Medicago sativa*) remains unclear. In this study, Alfalfa ‘Juneng 551’ was used as the experimental material, and seed coating technology was employed to investigate the drought resistance effect of Cp2-EPS from *Erwinia persicina*. Treatments included an uncoated control (CK), a coating matrix control (T1), and four Cp2-EPS concentration treatments (0.5, 1.0, 1.5, 2.0 g·L⁻¹, denoted as T2-T5). Drought stress was applied after 21 days of seedling growth by maintaining soil relative water content at 40% for 14 days, and related physiological and growth indicators were measured. The results showed that Cp2-EPS coating significantly alleviated the growth inhibition caused by drought in alfalfa, with the 1.0 g·L⁻¹ (T3) treatment demonstrating the best effect. Compared with CK, the T3 treatment increased root length, shoot length, fresh weight, and dry weight by 17.87%, 17.87%, 74.53%, and 46.34%, respectively. Leaf photochemical quantum yield Y(II), maximum photochemical effi-

收稿日期:2025-11-27;修回日期:2026-01-14

基金项目:甘肃省陇原青年英才专项(LYYC-2025-03);甘肃农业大学伏羲杰出人才培养计划(Gaufx-05J01);甘肃省林业与草原局草原生态修复治理项目(LCJ20240172);甘肃省教育厅青年博士入企入园项目(2025QB-051)和国家自然科学基金(32060396)共同资助

作者简介:金旭(2001-),男,汉族,陕西宝鸡人,硕士研究生,主要从事牧草病理学方向研究,E-mail: 79924172@qq.com;*通信作者 Author for correspondence, E-mail: zhangzf@gsau.edu.cn

ciency of PSII, and total chlorophyll content were also significantly improved. In summary, Cp2-EPS seed coating can mitigate drought-induced oxidative damage by enhancing photosynthetic performance, and $1.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ was identified as the optimal concentration. This study provides theoretical and technical references for developing eco-friendly drought-resistant coating agents and sustainable alfalfa production.

Key words: Alfalfa; Exopolysaccharides; Seed coating; Drought stress

在全球变暖的大背景下,干旱和半干旱地区的面积也逐渐呈现扩大趋势,当地的农业生产也更易受到这种气候变化的影响。因此,保证当地农业生产对于确保国家和全球粮食安全至关重要^[1]。紫花苜蓿(*Medicago sativa*)是世界上种植面积最大的优质豆科牧草,具有重要的经济和生态价值,更有“牧草之王”的美誉^[2]。在中国,苜蓿种植面积约377万 hm^2 ,主要分布于华北、西北干旱、半干旱地区,然而这些地区的干旱环境显著影响了苜蓿的正常生长^[3]。干旱是威胁苜蓿种植的主要因素之一,通常抑制苜蓿种子萌发和幼苗生长,严重情况下会导致其产量损失甚至死亡^[4]。种子萌发和幼苗生长是种子生命过程中最脆弱的时期,极易受到干旱等胁迫因素的干扰,进而影响幼苗生长以及最终产量和质量^[5]。因此,提升紫花苜蓿在干旱条件下的生长和产量,对我国乃至全球畜牧业的发展具有重要意义。现有提高紫花苜蓿抗旱性的措施主要包括物理、化学和生物三类方法。物理方法如滴灌或微喷灌溉^[6],虽能直接缓解水分胁迫,但在干旱半干旱地区易因强烈蒸发和深层渗漏导致水分利用效率低下;化学方法如施用有机肥料^[7],虽可通过促进根系发育增强水分吸收,却因土壤保水性差、养分流失快而效果受限,且可能带来环境风险;生物方法如选育抗旱性更强的紫花苜蓿品种^[8],虽然改良的抗旱品种能够抵抗干旱,但这些品种在其他环境条件下的适应性可能较差。总体而言,现有技术普遍存在保水保肥效能不足、成本较高或环境适配性弱等缺陷,未来提升点在于研发高效保水材料、构建抗逆微生态调节剂等,实现物理—化学—生物技术的协同增效,以提高水分与养分利用效率,增强苜蓿在干旱胁迫下的生态适应性。

近年来,桃色欧文氏菌(*Erwinia persicina*)分泌的胞外多糖(Cp2-EPS)在植物抗逆性中的应用引起了广泛关注。桃色欧文氏菌能向环境中分泌一种酸性高分子量碳水化合物—胞外多糖(exopolysaccharides, EPS),此类物质不仅能够促进细菌生物膜的形成,还有助于细菌细胞附着在植物根系和土壤颗粒表面^[9]。陈海雁等^[10]研究表明,桃色欧文

氏菌胞外多糖(Cp2-EPS)可以有效减轻盐胁迫对紫花苜蓿的伤害。EPS通过促进根际细菌定殖、形成生物膜并促进植物与微生物的互作,从而赋予植物对水分胁迫的抵抗能力^[11]。此外,已有研究指出,EPS作为一种环境友好型农业生物材料,在促进植物生长与增强抗逆性方面具有应用潜力,它能够有效提升植物的抗氧化能力,并通过改善土壤团聚结构增强植物的抗旱性^[12-13]。Wang等^[14]发现,干旱胁迫下,接种能够产生生物膜的根际促生菌有助于改善番茄的生长生理特性及耐旱性,并证明生物膜的形成能力与耐旱效果存在正相关。种子包衣技术通过将种子与保水剂、微生物、植物生长调节剂等功能性材料结合,能够改善种子的微环境,促进种子萌发和幼苗生长^[15]。近年来,利用有益微生物及其代谢产物作为包衣活性成分的策略备受关注,微生物种子包衣是一种经济高效的微生物接种技术,它借助粘合剂将功能微生物固定在种子表面,使其能够在植物根系区域精准定殖,进而提高植物的养分吸收和逆境胁迫耐受能力^[16]。微生物产生的EPS因其独特的物理化学性质,能够在根际或种子周围形成亲水性生物膜,有效改善水分状况,螯合金属离子,减少种子在干旱条件下的水分损失,并促进种子早期的生长和发育^[17]。

基于此,本研究以Cp2-EPS为切入点,探究其作为紫花苜蓿种子包衣材料其在干旱胁迫下生长的调控作用,并研制出一种适用于紫花苜蓿种子的、以Cp2-EPS为核心功能成分的环保型包衣剂。本研究结果有望为减少化肥农药投入、推动草牧业可持续发展提供理论依据和技术支撑,对于改良退化草地、提升旱地土地利用效率具有重要应用价值。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试紫花苜蓿种子为‘巨能551’(*Medicago sativa* ‘Juneng 551’),由甘肃农业大学牧草种质资源实验室提供;黏着剂为聚乙烯醇(分析纯,AR);

填充材料为 325 目凹凸棒土和玉米秸秆生物炭,分别购于河南铂润铸造材料有限公司和河南利泽材料公司提供。

供试 Cp2-EPS 是从桃色欧文氏菌 Cp2 菌株中提取获得,参考贾倩英等^[18]的方法并稍作修改。

取实验室已甘油保存的桃色欧文氏菌 Cp2 菌株,将其于 NA 培养基平板上划线培养,于微生物培养箱中 28℃培养 24 h 后,将其接种于 NB 液体培养基中 28℃、180 r·min⁻¹培养 36 h,培养完成后,将锥形瓶置于高温高压灭菌锅中灭菌 20 min,离心后取上清液加入酒精低温醇沉 12 h,再次离心后烘干即得 Cp2-EPS。

1.2 试验方法

1.2.1 种子包衣制作 挑取颗粒饱满、形态完好且大小均一的苜蓿种子 10 g,剔除杂质后用 75% 无水乙醇浸泡 3 min,随后在 1% 次氯酸钠(NaClO)溶液中浸泡 5 min,之后用无菌水反复冲洗 3~5 次确保彻底去除残留溶液,最后用滤纸吸干种子表面水分备用。

本流程按照李会周^[19]的方法进行种子包衣流

程并稍做修改。具体操作方法如下:将表面消毒后的苜蓿种子放入提前洗净并进行消毒的种子包衣机中。参照吉凌鹤等^[20]紫花苜蓿种子包衣粘合剂及填充材料体系,稍作修改并添加包衣材料对紫花苜蓿种子进行包衣(填充材料为凹凸棒土:生物炭=4:1,2% 聚乙烯醇为粘合剂)在进行种子包衣的过程中,将粘合剂、填充材料、Cp2-EPS 分次加入,转速控制在 500~800 r·min⁻¹。并根据种子实际包被情况适时调整机器转速,避免因转速不当导致包衣不均匀,待所有包衣材料添加完毕后,然后继续运行包衣机 3~5 min,使 Cp2-EPS 和填充材料均匀的包裹在苜蓿种子上。将包衣后的种子置于阴凉通风处自然风干,并对于干燥后的包衣种子通过适当目数的筛网,筛去多余的、未粘附的粉料,最后把包衣种子放入封口塑料袋或密封瓶中,储存在阴凉干燥处以备后期使用。

1.2.2 试验设计 桃色欧文氏菌胞外多糖(Cp2-EPS)种子包衣对于干旱胁迫下紫花苜蓿幼苗生长及光合生理的影响,设置未包衣对照组(CK)、包衣基质对照(T1)、添加不同浓度 Cp2-EPS(T2、T3、T4、T5)共下表内六个处理组。

表 1 试验设计

Table 1 Experimental design

处理 Treatment	CK	T1	T2	T3	T4	T5
Cp2-EPS/(g·L ⁻¹)	无包衣	包衣+0 g·L ⁻¹	包衣+0.5 g·L ⁻¹	包衣+1.0 g·L ⁻¹	包衣+1.5 g·L ⁻¹	包衣+2.0 g·L ⁻¹

1.2.3 盆栽试验 试验于 2025 年 3 月至 2025 年 6 月在甘肃农业大学草业学院人工气候培养室内进行。将细沙洗净后 105℃烘干,121℃灭菌。在直径为 8 cm、高 14 cm 的塑料育苗杯装入灭完菌的细沙 700 g,选取完整均一的包衣种子 25 粒播种于塑料育苗杯内,后将塑料育苗杯置于水培盒中,每盒放置 6 杯,将水培盒放入人工气候培养室(光照强度为 20 Klux,温度为 22~25℃,相对湿度为 50±5%)中进行培养。待紫花苜蓿长出真叶后,每 3 d 用 1/2 霍格兰营养液进行浇灌,待苗齐后间苗,每杯保留长势一致的植株 10 株。共设置 6 个处理,包括未包衣对照(CK)、包衣基质对照(T1)及 4 个 Cp2-EPS 浓度梯度处理(0.5,1.0,1.5,2.0 g·L⁻¹,记为 T2-T5),待苜蓿生长至 21 d 对其进行干旱胁迫处理(土壤相对含水量(SRWC)40%),控制浇水,土壤相对含水量采用称重法控制监测,于每天 18:00 补充蒸发散失的蒸馏水,干旱胁迫处理 14 d 后分别取样测定各项指标(生长、生理和叶绿素荧光指标)。

1.3 相关指标测定

1.3.1 生长指标的测定 根长(Root length, RL)和苗长(Seedling length, SL):每处理随机选取幼苗 6 株,用卷尺测量其根到根尖的长度作为根长;从根到植物最高部位的绝对长度作为幼苗长度;

鲜重(Fresh weight, FW)和干重(Dry weight, DW):每处理随机选取幼苗 8 株,用蒸馏水冲洗并用滤纸擦干后称取鲜重,然后将幼苗放置于烘箱,70℃烘 72 h 至恒重后称取干重;

根系形态指标:每处理随机选取幼苗 5 株,用根系扫描仪(Epson Expression)对幼苗根系扫描得到根系图。

1.3.2 幼苗光合指标测定

(1) 叶绿素荧光测定

测定前将苜蓿叶片暗处理 30 min,用便携式叶绿素荧光仪 PAM-2100,选择健康且长势均一紫花苜蓿幼苗叶片进行测定。每个处理 3 次重复。低光下进行基础荧光测量,以获得最低荧光水平(Mini-

mal fluorescence, F_0), 在暗条件下施加激发光脉冲光并记录最高荧光信号(Maximal fluorescence yield of the dark-adapted state, F_m), 并依次照射不同光强以获得荧光曲线, 在光饱和状态下获得并记录最大荧光信号(Maximal fluorescence yield of the light adapted state, F'_m), 计算最大光化学效率(PSII Maximum photochemistry efficiency, F_v/F_m)。使用PamWin 3.12软件计算调节性能量耗散的量子产量 $Y(NPQ)$ 、非调节性能量耗散的量子产量 $Y(NO)$ 和光化学量子产量 $Y(II)$ 。

(2) 叶绿素含量测定

使用乙醇浸提法^[21]测定叶绿素含量。称取0.1 g新鲜叶片加入含5 mL 95%乙醇的试管中, 常温避光浸提48 h直至叶片呈白色, 使用酶标仪在665, 649, 470 nm波长下测定并计算样品叶绿素含量。

1.3.3 幼苗生理指标测定

(1) 叶片相对含水量和相对电导率测定 采用烘干法^[22]测定叶片的相对含水量(Relative water content, RWC)。称取新鲜叶片记录质量为 m_1 , 后将其浸入含蒸馏水的试管中, 常温下浸泡24 h后用滤纸擦干叶片表面水分称取饱和鲜重记为 m_2 。最后将叶片置于烘箱中, 70℃烘72 h直至恒重称取干重记为 m_3 。

$$RWC(\%) = [(m_1 - m_3) / (m_2 - m_3)] \times 100\%$$

使用电导仪进行测定^[23]叶片相对电导率(Relative conductivity, RC)。准确称取0.1 g新鲜叶片, 加入含10 mL去离子水的试管中, 室温浸泡24 h后使用电导仪测定电导率值 R_1 , 再将试管转入沸水浴中加热30 min, 冷却摇匀后测定电导率值 R_2 , 同时测定去离子水的电导率 R_0 。

$$RC(\%) = [(R_1 - R_0) / (R_2 - R_0)] \times 100\%$$

(2) 生理指标的测定 称取新鲜紫花苜蓿样品0.5 g在提取液中进行研磨, 磨成匀浆后将溶液在4℃下12 000 $g \cdot min^{-1}$ 离心15 min; 上清液用于测定各生理指标。超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶(Catalase, CAT)活性、过氧化物酶(Peroxidase, POD)和超氧阴离子(Superoxide anion, O_2^-)活性: 采用SOD(BC5165)、POD(BC0090)、CAT(BC0205)、 O_2^- (BC1295)试剂盒进行测定。丙二醛(Malondialdehyde, MDA)、脯氨酸(Proline, Pro)、可溶性糖(Soluble Sugar, SS)和可溶性蛋白(Soluble Protein, SP)含量: 采用MDA(BC6410)、采用Pro(BC0290)、SS(BC0035)

和SP(PC0020)试剂盒进行测定。上述所用试剂盒均购自北京索莱宝科技有限公司(中国, 北京), 具体方法参考试剂盒说明书。

1.4 数据处理

利用Microsoft Excel 2022进行数据收集与整理并绘制表格, 使用R语言(V4.4.1)进行单因素方差Tukey's HSD进行多重比较, 用Origin 2022软件进行相关性分析。

2 结果与分析

2.1 Cp2-EPS种子包衣对干旱胁迫下苜蓿形态指标的影响

干旱胁迫下通过对苜蓿种子进行EPS包衣, 紫花苜蓿根长和苗长均呈现先增加后降低的趋势。T2~T5处理苜蓿的根长较CK处理显著增加($P < 0.05$), 分别增加了12.25%, 17.87%, 13.45%, 12.05%; T1~T5处理苜蓿的苗长显著增加($P < 0.05$), 苗长分别增加了6.54%, 12.25%, 17.87%, 13.45%, 12.05%, 且均在T3处理下达到最大值(图1)。

如图2所示, T3~T5处理组的鲜重较CK处理显著增加($P < 0.05$), 分别增加了74.53%, 64.15%, 45.75%; T3和T4处理组的干重显著增加了46.34%和26.83%($P < 0.05$), 且二者均在T3处理下达到最大值, 而T1和T2处理组较CK差异不显著。

2.2 Cp2-EPS种子包衣对干旱胁迫下苜蓿叶绿素含量和叶绿素荧光参数的影响

如图3所示, 干旱胁迫下通过对种子进行包衣, 紫花苜蓿的叶绿素含量和叶绿素荧光参数均发生了显著变化($P < 0.05$), 紫花苜蓿的叶绿素a、叶绿素b和总叶绿素含量均呈现先增后降的趋势。T1~T5处理下苜蓿的叶绿素a含量较CK组均显著增加($P < 0.05$), 分别增加了8.38%, 24.61%, 42.93%, 28.27%, 13.09%; T2~T4处理下苜蓿的叶绿素b含量较CK处理显著增加($P < 0.05$), 分别增加了17.07%, 51.09%, 23.15%; T2~T4处理下苜蓿的总叶绿素含量增加, 分别增加了22.17%, 44.99%, 26.21%; 且均在T3处理下达到最大值(图3C)。Y(NPQ)和Y(NO)呈先降低后增加的趋势

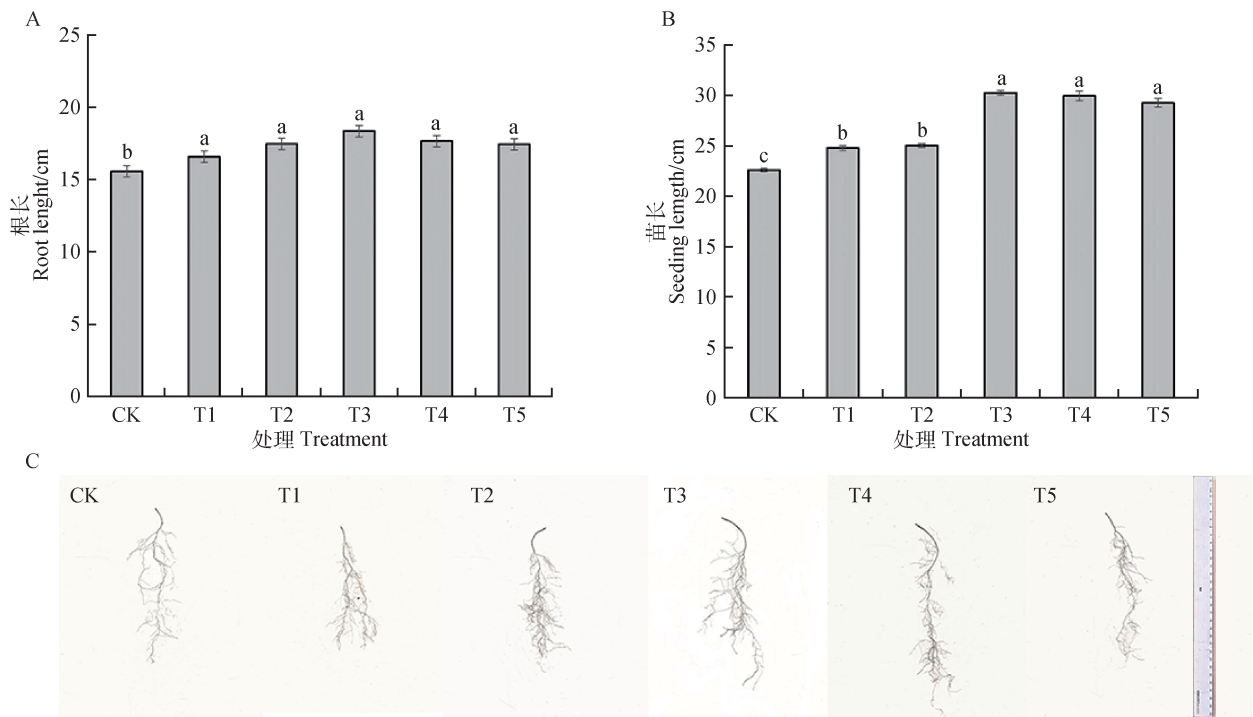


图 1 干旱胁迫下 Cp2-EPS 种子包衣处理苜蓿幼苗的根长、苗长和根系表型

Fig. 1 Root length, seedling height, and root system phenotype of alfalfa seedlings treated with Cp2-EPS seed coating under drought stress

注:CK 表示未包衣;T1 代表仅包衣基质,T2,T3,T4,T5 表示分别包衣 0.5,1.0,1.5,2.0 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ Cp2-EPS 处理。不同小写字母表示处理间差异显著($P<0.05$),下同

Note: CK indicates uncoated; T1 represents coating with matrix only; T2, T3, T4, and T5 represent coatings treated with 0.5, 1.0, 1.5, and 2.0 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ Cp2-EPS, respectively. Different lowercase letters indicate significant differences between treatments ($P<0.05$), similarly below

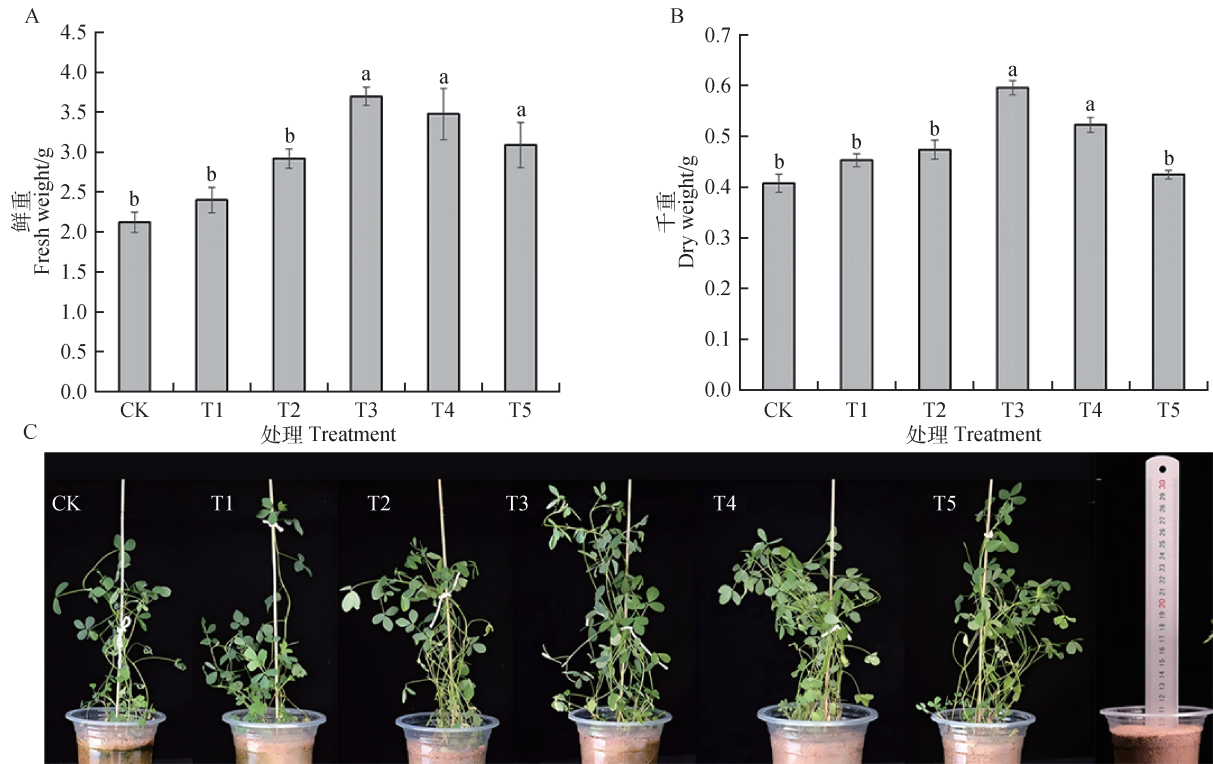


图 2 干旱胁迫下 Cp2-EPS 种子包衣处理苜蓿幼苗的鲜重、干重和生长表型

Fig. 2 Fresh weight, dry weight, and growth phenotypes of alfalfa seedlings treated with Cp2-EPS seed coating under drought stress

势,与CK相比,T1~T3处理下Y(NPQ)分别降低了15.80%,27.24%,48.90%(图3D);T1~T3处理下Y(NO)分别降低了10%,33.3%,51.67%(图3E)。Y(II)和PS II呈先增大后减小的趋势,与

CK相比,T1~T3处理下Y(II)分别增加了48.40%,105.48%,178.54%(图3F);T2和T3处理下PS II分别增加了13.93%和28.69%(图3G)。

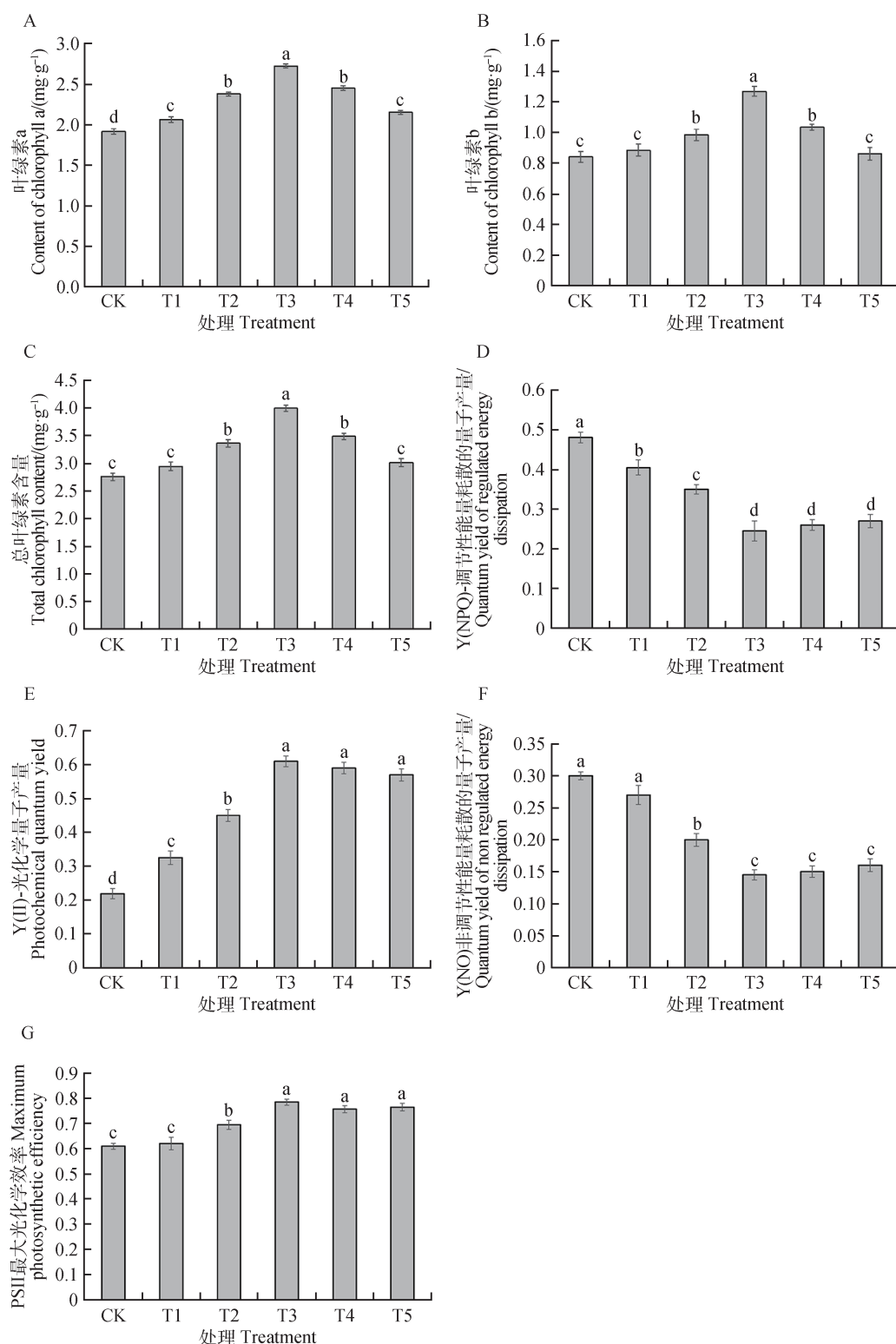


图3 干旱胁迫下Cp2-EPS种子包衣处理苜蓿幼苗的叶绿素荧光参数和叶绿素含量

Fig. 3 Chlorophyll fluorescence parameters and chlorophyll content in alfalfa seedlings treated with Cp2-EPS seed coating under drought stress

2.3 Cp2-EPS种子包衣对干旱胁迫下苜蓿抗氧化物及相对含水量和相对电导率的影响

如图4所示,对紫花苜蓿种子进行包衣后,紫花苜蓿的SOD、POD和CAT活性与CK处理相比均呈先增大后减小的趋势。T2~T4处理下的SOD活性较CK显著增大($P<0.05$),分别增大了26.00%,32%,9%;T1~T5处理下的苜蓿POD活性较CK均显著增大($P<0.05$),增幅分别为13.42%,17.53%,20.67%,14.52%,7.72%(图4B);T1~T4处理较CK相比苜蓿CAT活性显著增大($P<0.05$),分别增

大了53.21%,57.48%,69.12%,57.90%(图4C)。如图4D所示,T1~T5处理下的苜蓿 O_2^- 含量较CK处理显著降低($P<0.05$),分别降低了22.49%,38.66%,58.70%,48.68%,21.94%。各处理下苜蓿叶片相对含水量较CK相比均显著升高($P<0.05$),增幅分别为1.47%,2.58%,4.01%,2.00%,0.70%,其中T3处理下的相对含水量最高。如图4F所示,各处理下苜蓿电导率相较于CK处理均显著降低($P<0.05$),分别降低了24.67%,30.28%,54.20%,41.30%,14.01%。

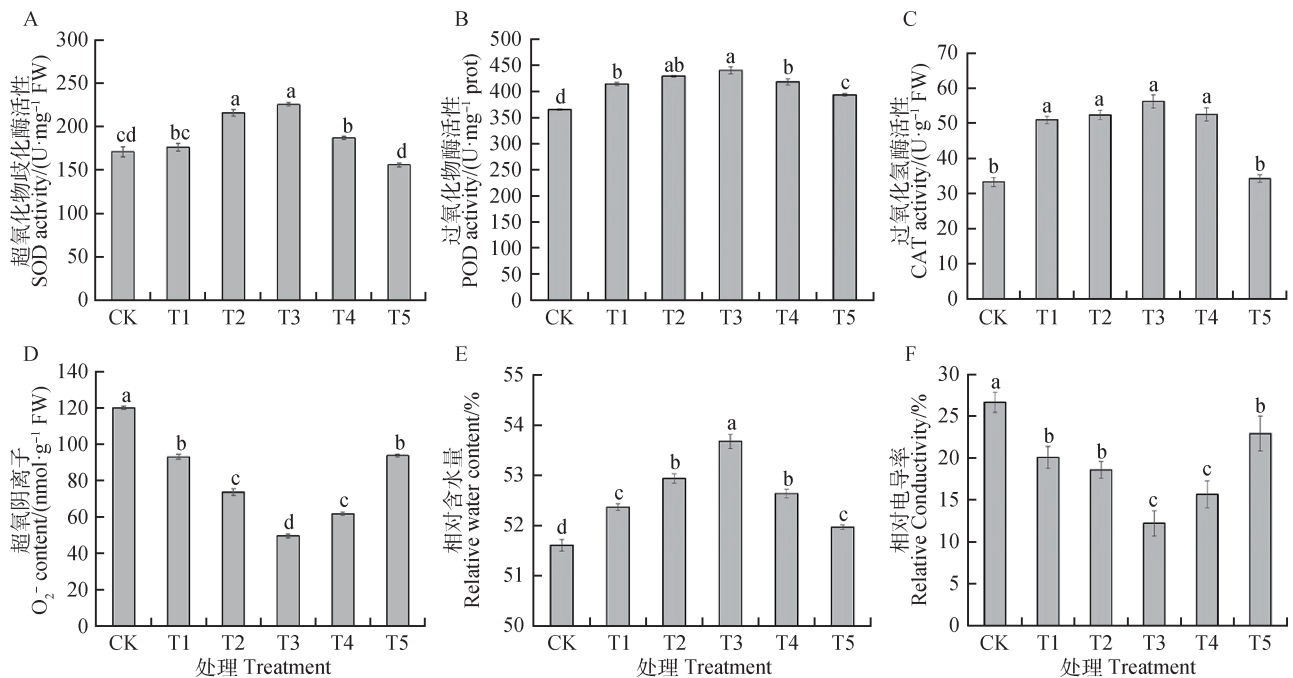


图4 干旱胁迫下Cp2-EPS种子包衣处理苜蓿幼苗的SOD、POD、CAT、 O_2^- 、RWC和RC含量

Fig. 4 SOD, POD, CAT, O_2^- , RWC, and RC content in alfalfa seedlings treated with Cp2-EPS seed coating under drought stress

2.4 Cp2-EPS种子包衣对干旱胁迫下苜蓿渗透调节物质及丙二醛含量的影响

在干旱胁迫下,紫花苜蓿的Pro、SS、SP含量较CK处理均呈现先增大下降的趋势,T1~T5处理下苜蓿Pro含量相较于CK处理显著增加($P<0.05$),增幅分别为22.36%,29.17%,34.89%,31.11%,31.66%(图5A);T1~T4处理下苜蓿SS含量显著增加($P<0.05$),分别增加了30.14%,46.05%,64.80%,32.51%(图5B);T1~T4处理下苜蓿SP含量显著增加($P<0.05$),增幅分别达到了18.20%,34.60%,40.55%,30.64%(图5C)。如图5D所示,紫花苜蓿的MDA含量相比于CK处理呈现先减后增的趋势。T2~T5处理下苜蓿MDA含量较CK处理显著降低($P<0.05$),分别减少了11.34%,20.54%,16.16%,15.03%。

2.5 相关性分析和主成分分析

由相关性分析可知,紫花苜蓿的PS II、RWC、SS、SP、SOD、POD、CAT含量与生长指标呈正相关关系;RC、MDA、PRO、 O_2^- 含量与生长指标呈负相关关系(图6A)。

为明确经Cp2-EPS包衣处理后的紫花苜蓿在干旱胁迫下响应最为显著的生理指标,对相关指标进行了主成分分析。结果显示,PC1和PC2的累计贡献率达82.70%,表明这两个主成分能够较好地解释各样本间的分布差异。CK位于PC1负方向、PC2正方向,T1、T2、T3分布在原点附近,说明该处理下的包衣能较好地缓解干旱胁迫对紫花苜蓿造成的损伤,T4、T5明显位于PC1正方向,说明该处理下紫花苜蓿发生明显的生理胁迫。而T3处理下的CAT、SOD、POD位于PC2正方向位置,说明T3处理可以有效缓解干旱胁迫对紫花苜蓿造成的损伤(图6B)。

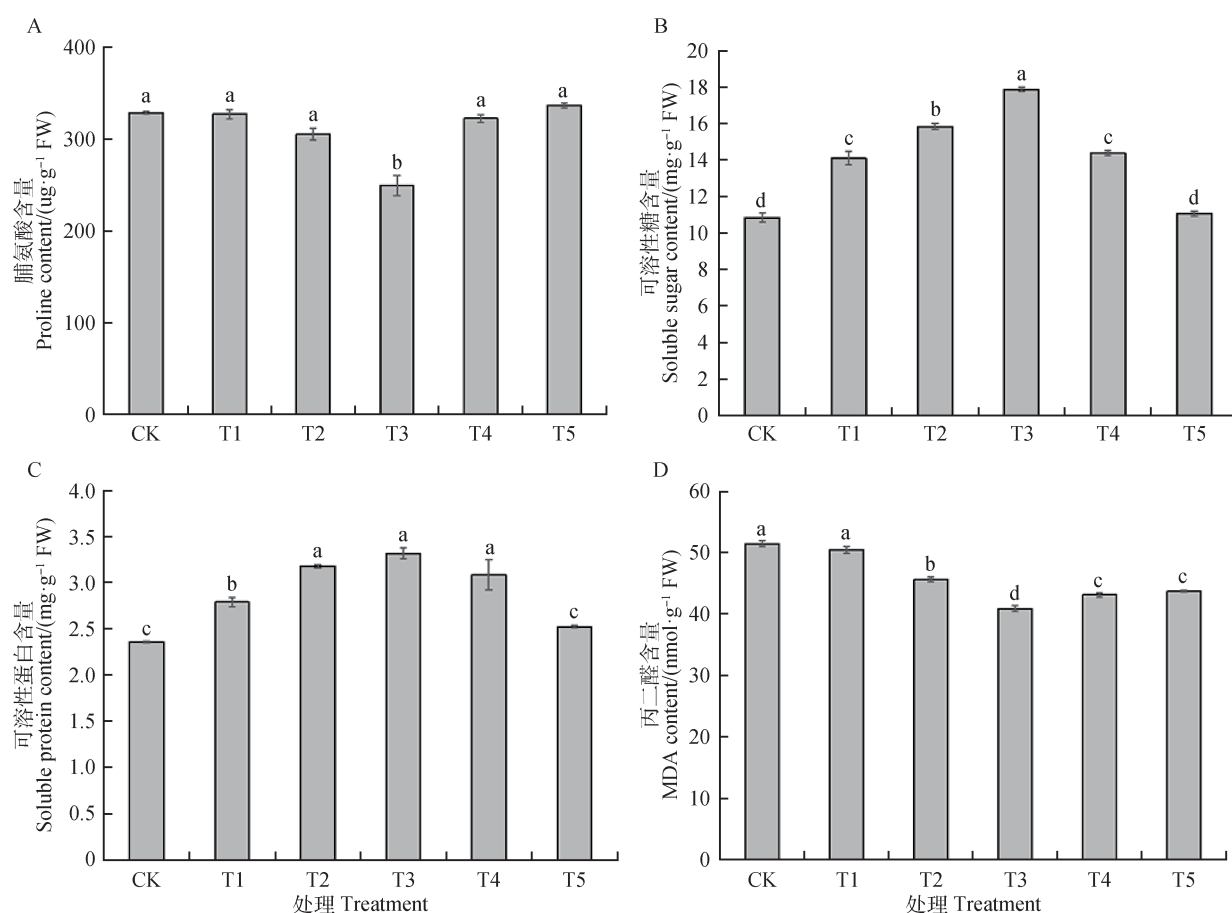


图5 干旱胁迫下Cp2-EPS种子包衣处理苜蓿幼苗的Pro、SS、SP、MDA含量

Fig. 5 Pro, SS, SP, and MDA content in alfalfa seedlings treated with Cp2-EPS seed coating under drought stress

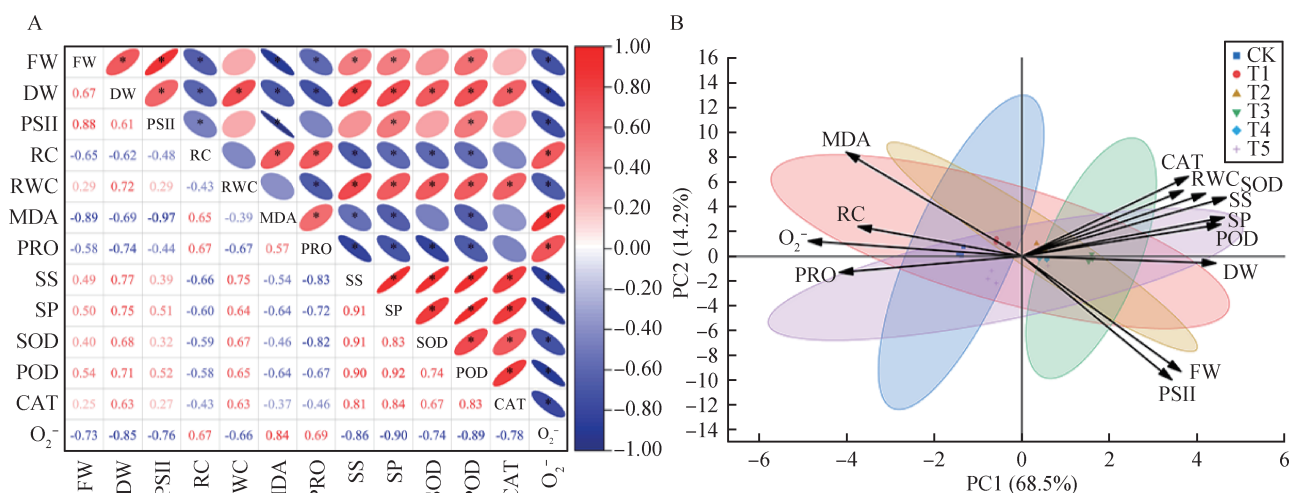


图6 相关性分析和主成分分析

Fig. 6 Correlation analysis and Principal component analysis

注:图A中红色代表正相关,蓝色代表负相关,*表示指标间呈显著相关($P < 0.05$)。FW:鲜重;DW:干重;PS II:最大光化学效率;RC:相对电导率;RWC,相对含水量;MDA,丙二醛;PRO,脯氨酸;SS,可溶性糖;SP,可溶性蛋白;SOD,超氧化物歧化酶;POD,过氧化物酶;CAT,过氧化氢酶;O₂⁻,超氧阴离子

Note: In Figure A, red represents a positive correlation, blue represents a negative correlation, and * indicates a significant correlation between indicators ($P < 0.05$). FW, Fresh weight; DW, Dry weight; PS II, Maximum photochemical efficiency; RC, Relative electrical conductivity; RWC, Relative water content; MDA, Malondialdehyde; PRO, Proline; SS, Soluble sugar; SP, Soluble protein; SOD, Superoxide dismutase; POD, Peroxidase; CAT, Catalase; O₂⁻, Superoxide anion

3 讨论

3.1 不同Cp2-EPS包衣浓度对紫花苜蓿生长的影响

植物的苗长、根长、鲜重和干重等生长指标能够直观反映其营养状况和适应环境的能力,是评价植物生长优劣的重要依据^[24]。紫花苜蓿在苗期对于干旱具有较强的敏感性,因此,干旱胁迫会导致紫花苜蓿幼苗在生理和形态上发生显著变化,以适应水分压力^[25]。本研究中,干旱胁迫对紫花苜蓿的生物量都有不同程度的影响,这可能与土壤养分有效性降低及光合作用受损有关。该结果与Rukhsar等^[26]关于干旱胁迫对小麦幼苗生长影响的研究一致。然而,采用EPS种子包衣处理显著缓解了干旱引起的不良效应,提高了紫花苜蓿的各项生长指标,表明EPS种子包衣具有增强幼苗抗旱能力的潜力。Saqib等^[27]的研究表明通过微生物种子包衣处理能够提高玉米在干旱胁迫下根干重以及水分利用率。而Piri等^[28]也发现,使用微生物种包衣可显著提升孜然(*Cuminum cyminum*)的出苗率以及幼苗鲜重。作为一种优质的高分子亲水聚合物,EPS在种子表面形成的水合凝胶层起到了关键物理作用,这一结构显著减缓了水分流失,在种子周围维持一个相对湿润的局部生境,为种子萌发初期的吸水过程提供了基本保障^[29]。Costa等^[30]在研究中表明,细胞外聚合物的生产能够为微生物在干旱胁迫环境中提供优势,从土壤中分离的假单胞菌菌株产生的EPS具有较高的持水能力,能够容纳其重量的多倍水分。张铭等^[31]发现,当EPS到沙质土壤中时,它如同海绵般保护细菌免受干旱的影响,从而使细菌有时间进行代谢调整,有效缓解干旱胁迫带来的物理冲击。

3.2 不同Cp2-EPS包衣浓度对紫花苜蓿光合的影响

植物通过吸收光能并借助光合作用将其转换为化学能,这一过程中光合色素扮演着重要的角色^[32]。因此,光合色素的积累水平能够直接反映了植物的光合能力、整体生长状况及生产力^[33]。当植物处在干旱逆境中时其体内会积累大量的活性氧(ROS),其中叶绿体是ROS产生的主要部位,这种氧化应激作用不仅会阻碍叶绿素合成,而且还会破坏其结构促使叶绿素降解并最终降低叶绿素的含

量^[34]。本研究发现,EPS种子包衣显著提高了紫花苜蓿的总叶绿素含量,增强了苜蓿的光合作用,促进了其生长并提升了生产力,说明种子包衣可以显著缓解干旱胁迫对苜蓿造成的损伤。叶绿素荧光是评估植物光合作用功能和健康状况的重要内在指标,植物通过光响应曲线适应环境中的光照变化^[35-36]。正常情况下,植物的Fv/Fm一般维持在0.80~0.85之间,但在遭受干旱或光线异常等逆境胁迫时,Fv/Fm值会显著下降^[37]。本研究中,随着EPS种子包衣的浓度增加,T3处理下的紫花苜蓿Fv/Fm值约为0.794,表明EPS种子包衣有助于改善叶片PSⅡ反应中心的开放程度并提升参与光化学反应的能量比例。非光化学猝灭系数(NPQ)反映了植物在光合作用过程中对多余光能的消耗,主要分为非调节性能量耗散(Y(NO))和调节性能量耗散(Y(NPQ)),其中,Y(NO)作为光损伤的负面指标,体现光合系统的非调节性量子能量耗散;而Y(NPQ)则反映植物通过热耗散方式消耗多余光能的能力,是植物应对逆境环境的一种重要保护机制^[38]。在本研究中,随着Cp2-EPS包衣浓度的增加,NPQ整体呈现下降趋势,表明EPS能够调节紫花苜蓿的光能消耗能力,减少光合系统的损伤,从而帮助其更好地适应干旱环境。这一结果与金祎婷等^[39]研究干旱胁迫对燕麦叶绿素荧光参数影响的结果一致。

3.3 不同Cp2-EPS包衣浓度对紫花苜蓿生理的影响

植物水分利用率与其体内的水分含量呈正相关关系,是评价植物抗旱性的重要指标之一^[40]。在本研究中,EPS包衣后的种子相较于未包衣种子显著提高了紫花苜蓿的相对含水量。这一现象可能是由于包衣促进了种子吸水并且减少了蒸腾失水,从而提高苜蓿幼苗的水分利用率,有效维持植物细胞水分平衡。这和袁野梅等^[41]在研究干旱胁迫对几种针茅植物的影响结果相一致。此外,EPS包衣处理显著降低了干旱胁迫下苜蓿植株的MDA含量,根系通过增加可溶性糖含量和抗氧化酶活性来应对干旱胁迫,同时合成脂质化合物、氨基酸和有机酸等代谢物,以减轻茎叶的压力^[42]。EPS处理诱导了氧化应激,促进了植物的新陈代谢,增强了抗氧化能力^[43]。本研究中,T2~T5处理组的可溶性糖(SS)和丙二醛(MDA)含量显著高于CK组,进一

步说明 EPS 种子包衣增强了紫花苜蓿的渗透调节功能,通过渗透物质积累来提升其抗旱性。干旱胁迫诱导植物体内大量 ROS 积累引起植物细胞功能损伤甚至死亡,植物通过激活抗氧化酶系统,产生过氧化氢酶(CAT)、超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化物酶(POD)等关键酶,以清除积累的 ROS,从而减轻脂质过氧化导致的细胞损伤^[44]。本研究结果表明,EPS 包衣处理后的三种抗氧化酶(SOD、POD、CAT)活性随着 EPS 包衣浓度的增加呈现先升后降的趋势,且 T1~T5 处理组的抗氧化酶活性均显著高于 CK 组,其中 T3 处理效果最佳。植株体内产生的 SOD 和 POD 主要作用是负责清除过量的 ROS,而 CAT 则负责清除过多的 H₂O₂^[45]。因此,由这些抗氧化酶组成的抗氧化防御系统是植物抗旱能力的重要体现。本研究发现,T3 处理下的 SOD、CAT 和 POD 活性显著高于 CK 组,说明 EPS 种子包衣能够增强紫花苜蓿在干旱胁迫下的抗氧化酶活性,强化 ROS 清除能力,从而提升苜蓿整体抗旱水平。

4 结论

紫花苜蓿种子经过 Cp2-EPS 包衣处理后,能够有效缓解干旱胁迫对苜蓿幼苗生长的抑制作用。在干旱胁迫下,包衣处理显著提升了苜蓿幼苗的叶绿素含量并增加抗氧化酶活性(SOD、POD、CAT),降低了干旱胁迫诱导的氧化应激反应并减少苜蓿幼苗中脯氨酸积累及丙二醛含量,其中 1.0 g·L⁻¹ Cp2-EPS 包衣处理对缓解紫花苜蓿幼苗干旱胁迫的效果最佳。

参考文献

- [1] 陈亚宁,李玉朋,李稚,等.全球气候变化对干旱区影响分析[J].地球科学进展,2022,37(2):111-119
CHEN Y N, LI Y P, LI Z, et al. Analysis of the impact of global climate change on dryland areas[J]. Advances in Earth Science, 2022, 37(2): 111-119
- [2] 耿华珠.中国苜蓿[M].北京:中国农业出版社,1995:2-6
GENG H Z, Chinese alfalfa[M]. Beijing: China Agriculture Press, 1995: 2-6
- [3] 杨青川,康俊梅,张铁军,等.苜蓿种质资源的分布、育种与利用[J].科学通报,2016,61(2):261-270
YANG Q C, KANG J M, ZHANG T J, et al. Distribution, breeding and utilization of alfalfa germplasm resources[J]. Chinese Science Bulletin, 2016, 61(2): 261-270
- [4] DEMİRKOL G. The role of BADH gene in oxidative, salt, and drought stress tolerances of white clover[J]. Turkish Journal of Botany, 2020, 44(3): 214-221
- [5] 彭亮,杨冰月,张岗,等.干旱胁迫对远志种子萌发及幼苗生长和生理特性的影响[J].西北植物学报,2018,38(4):741-749
PENG L, YANG B Y, ZHANG G, et al. Seed germination and seedling growth physiological characteristics of *Polygala tenuifolia* Willd. under drought stress[J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2018, 38(4): 741-749
- [6] 沙栢平,谢应忠,高雪芹,等.地下滴灌水肥耦合对紫花苜蓿草产量及品质的影响[J].草业学报,2021,30(2):102-114
SHA B P, XIE Y Z, GAO X Q, et al. Effects of coupling of drip irrigation water and fertilizer on yield and quality of alfalfa in the Yellow River irrigation district[J]. Acta Prataculturae Sinica, 2021, 30(2): 102-114
- [7] 史晓鹏.施氮磷肥对半干旱区不同生长年限紫花苜蓿地上生物量及土壤养分和水分的影响[D].兰州:兰州大学,2018:34-40
SHI X P. The effect of nitrogen and phosphorus fertilizer on different growing year alfalfa aboveground biomass, soil nutrients and soil water in the semi-arid area[D]. Lanzhou: Lanzhou University, 2018: 34-40
- [8] 蒋学乾,杨青川,康俊梅.紫花苜蓿在干旱胁迫下的产量损失与抗旱性遗传研究进展[J].草业学报,2025,34(7):219-234
JIANG X Q, YANG Q C, KANG J M. Research progress on yield loss under drought stress and drought resistance genetics of alfalfa[J]. Acta Prataculturae Sinica, 2025, 34(7): 219-234
- [9] KIESSLING P, SENCHENKOVA S N, RAMM M, et al. Structural studies on the exopolysaccharide from *Erwinia persicina*[J]. Carbohydrate Research, 2005, 340(11): 1761-1765
- [10] 陈海雁,黄荣,赵亮,等.Cp2-EPS对盐胁迫下紫花苜蓿苗期形态及光合特性的影响[J].草地学报,2024,32(1):229-238
CHEN H Y, HUANG R, ZHAO L, et al. Effects of Cp2-EPS on seedling morphology and photosynthetic characteristics of alfalfa under salt stress[J]. Acta Agrestia Sinica, 2024, 32(1): 229-238
- [11] TAHIR M, KHALID U, KHAN M B, et al. Auxin and 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase activity exhibiting rhizobacteria improved maize quality and productivity under drought conditions[J]. International Journal of Agriculture and Biology, 2019(21): 943-954
- [12] DRIRA M, ELLEUCH J, BEN HLIMA H, et al. Optimization of exopolysaccharides production by *Porphyridium sordidum* and their potential to induce defense responses in *Arabidopsis thaliana* against *Fusarium oxysporum*[J]. Biomolecules, 2021, 11(2): 282
- [13] NASEEM H, BANO A. Role of plant growth-promoting rhizobacteria and their exopolysaccharide in drought tolerance of maize[J]. Journal of Plant Interactions, 2014, 9(1): 689-701
- [14] WANG D C, JIANG C H, ZHANG L N, et al. Biofilms positively contribute to *Bacillus amyloliquefaciens* 54-induced

- drought tolerance in tomato plants[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20(24):6271
- [15] ROCHA I, MA Y, SOUZA-ALONSO P, et al. Seed coating: a tool for delivering beneficial microbes to agricultural crops[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2019, 10:1357
- [16] MA Y. Seed coating with beneficial microorganisms for precision agriculture[J]. *Biotechnology Advances*, 2019, 37(7):107423
- [17] 李宇家. 微生物种子包衣对干旱胁迫下玉米生理特性及根际群落结构的调控效应研究[D]. 重庆:西南大学, 2024:35-51
- LI Y J. Effects of microbial seed coating on physiological characteristics and rhizosphere community structure of maize under drought stress[D]. Chongqing: Southwest University, 2024:35-51
- [18] 贾倩英, 朱环, 李宜娟, 等. 桃色欧文氏菌 Cp2 胞外多糖测定方法及培养条件的优化[J]. *草原与草坪*, 2024, 44(1):138-149
- JIA Q Y, ZHU H, LI Y J, et al. Optimization of the method for determining exopolysaccharides and culture conditions of *Erwinia persicina* Cp2[J]. *Grassland and Turf*, 2024, 44(1):138-149
- [19] 李会周. 垂穗披碱草种子丸粒化包衣研究[D]. 乌鲁木齐:新疆农业大学, 2021:11-18
- LI H Z. Study on the pelletized coating of *Elymus nutans* seeds[D]. Urumqi: Xinjiang Agricultural University, 2021:11-18
- [20] 吉凌鹤, 何傲蕾, 何峰, 等. 紫花苜蓿种子包衣材料筛选及其对种子萌发影响[J]. *草地学报*, 2025, 33(8):2728-2736
- JI L H, HE A L, HE F, et al. Screening of alfalfa seed coating materials and their effect on seed germination[J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2025, 33(8):2728-2736
- [21] YANG Y Q, GUO Y. Elucidating the molecular mechanisms mediating plant salt-stress responses[J]. *The New Phytologist*, 2018, 217(2):523-539
- [22] LIN Z, LI Y, ZHANG Z J, et al. A RAF-SnRK2 kinase cascade mediates early osmotic stress signaling in higher plants[J]. *Nature Communications*, 2020, 11:613
- [23] EL-SHABRAWI H, KUMAR B, KAUL T, et al. Redox homeostasis, antioxidant defense, and methylglyoxal detoxification as markers for salt tolerance in Pokkali rice[J]. *Protoplasma*, 2010, 245(1):85-96
- [24] 郑小兰, 王瑞娇, 赵群法, 等. 根际氧含量影响植物生长的生理生态机制研究进展[J]. *植物生态学报*, 2017, 41(7):805-814
- ZHENG X L, WANG R J, ZHAO Q F, et al. Ecophysiological mechanisms of plant growth under the influence of rhizosphere oxygen concentration: A review[J]. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 2017, 41(7):805-814
- [25] 马福林, 马玉花. 干旱胁迫对植物的影响及植物的响应机制[J]. *宁夏大学学报(自然科学版)*, 2022, 43(4):391-399
- MA F L, MA Y H. Effect of drought stress on plants and their response mechanism[J]. *Journal of Ningxia University (Natural Science Edition)*, 2022, 43(4):391-399
- [26] RUKHSAR-UL-HAQ, KAUSAR A, HUSSAIN S, et al. Zinc oxide nanoparticles as potential hallmarks for enhancing drought stress tolerance in wheat seedlings[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2023, 195:341-350
- [27] AKHTAR S S, AMBY D B, HEGELUND J N, et al. *Bacillus licheniformis* FMCH001 increases water use efficiency via growth stimulation in both normal and drought conditions[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2020, 11:297
- [28] PIRI R, MORADI A, BALOUCHI H, et al. Improvement of cumin (*Cuminum cyminum*) seed performance under drought stress by seed coating and biopriming[J]. *Scientia Horticulturae*, 2019, 257:108667
- [29] HURA T, HURA K, OSTROWSKA A. Drought-stress induced physiological and molecular changes in plants[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23(9):4698
- [30] COSTA O Y A, RAAIJMAKERS J M, KURAMAE E E. Microbial extracellular polymeric substances: ecological function and impact on soil aggregation[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2018(9):1636-1648
- [31] 张铭, 蔡鹏, 吴一超, 等. 细菌胞外聚合物: 基于土壤生态功能的视角[J]. *土壤学报*, 2022, 59(2):308-323
- ZHANG M, CAI P, WU Y C, et al. Bacterial extracellular polymeric substances: from the perspective of soil ecological functions[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2022, 59(2):308-323
- [32] 叶子飘. 光合作用对光和 CO₂ 响应模型的研究进展[J]. *植物生态学报*, 2010, 34(6):727-740
- YE Z P. A review on modeling of responses of photosynthesis to light and CO₂[J]. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 2010, 34(6):727-740
- [33] 李倩, 王明, 王雯雯, 等. 华山新麦草光合特性对干旱胁迫的响应[J]. *生态学报*, 2012, 32(13):4278-4284
- LI Q, WANG M, WANG W W, et al. Response of photosynthetic characteristics of *Psathyrostachys huashanica* Keng to drought stress[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2012, 32(13):4278-4284
- [34] ABDELAAL K, ALKAHTANI M, ATTIA K, et al. The role of plant growth-promoting bacteria in alleviating the adverse effects of drought on plants[J]. *Biology*, 2021, 10(6):520
- [35] 师生波, 刘克彪, 张莹花, 等. 民勤沙生植物园 4 种云杉属植物光化学特性的趋同适应[J]. *生态学报*, 2017, 37(15):5039-5048
- SHI S B, LIU K B, ZHANG Y H, et al. Convergent adaptation of PS II photochemical characteristics of four spruce species growing in Minqin Desert Botanical Garden[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2017, 37(15):5039-5048
- [36] 钱永强, 周晓星, 韩蕾, 等. Cd₂⁺ 胁迫对银芽柳 PS II 叶绿素荧光光响应曲线的影响[J]. *生态学报*, 2011, 31(20):6134-6142
- QIAN Y Q, ZHOU X X, HAN L, et al. Rapid light-response curves of PS II chlorophyll fluorescence parameters in leaves of *Salix leucopithecia* subjected to cadmium-ion stress[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2011, 31(20):6134-6142
- [37] 郭春芳, 孙云, 唐玉海, 等. 水分胁迫对茶叶叶片叶绿素荧光特性的影响[J]. *中国生态农业学报*, 2009, 17(3):560-564

- GUO C F, SUN Y, TANG Y H, et al. Effect of water stress on chlorophyll fluorescence in leaves of tea plant (*Camellia sinensis*)[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2009, 17(3): 560-564
- [38] YUAN X K, YANG Z Q, LI Y X, et al. Effects of different levels of water stress on leaf photosynthetic characteristics and antioxidant enzyme activities of greenhouse tomato[J]. *Photosynthetica*, 2016, 54(1): 28-39
- [39] 金祎婷, 刘文辉, 刘凯强, 等. 全生育期干旱胁迫对‘青燕1号’燕麦叶绿素荧光参数的影响[J]. *草业学报*, 2022, 31(6): 112-126
- JIN Y T, LIU W H, LIU K Q, et al. Effect of water deficit stress on the chlorophyll fluorescence parameters of *Avena sativa* ‘Qingyan No. 1’ over the whole crop growth period[J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2022, 31(6): 112-126
- [40] 强晓晶. 披碱草内生真菌对小麦抗旱性的影响机制[D]. 北京: 中国农业科学院, 2019: 45-64
- QIANG X J. Mechanisms underlying the effects of endophytic fungi isolated from *Elymus dahuricus* on the drought resistance of wheat [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2019: 45-64
- [41] 袁野梅, 柳隽瑶, 高秀丽, 等. 温带草原7种针茅植物根系特征及其对环境因子变化的适应[J]. *生态学报*, 2022, 42(21): 8784-8794
- YUAN Y M, LIU J Y, GAO X L, et al. Root traits of seven *Stipa* species and their relations with environmental factors in temperate grasslands[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2022, 42(21): 8784-8794
- [42] CAO Y Y, YANG W B, MA J, et al. An integrated framework for drought stress in plants[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2024, 25(17): 9347
- [43] BI Y L, TAN H, ZHANG S S, et al. Response mechanism of extracellular polymeric substances synthesized by *Alternaria* sp. on drought stress in alfalfa (*Medicago sativa* L.)[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2024, 72(30): 16812-16824
- [44] NYAUPANE S, POUDEL M R, PANTHI B, et al. Drought stress effect, tolerance, and management in wheat-a review[J]. *Cogent Food & Agriculture*, 2024, 10(1): 2296094
- [45] 王建华, 刘鸿先, 徐同. 超氧化物歧化酶(SOD)在植物逆境和衰老生理中的作用[J]. *植物生理学通讯*, 1989(1): 1-7
- WANG J H, LIU H X, XU T. The role of superoxide dismutase (SOD) in stress physiology and senescence physiology of plant[J]. *Plant Physiology Communications*, 1989(1): 1-7

(责任编辑 彭露茜)