

酸黄瓜对南方根结线虫抗性的光合响应

叶德友^{1, 2}, 钱春桃¹, 陈劲枫¹

(¹南京农业大学园艺学院/作物遗传与种质创新国家重点实验室, 南京 210095; ²甘肃省农业科学院蔬菜研究所, 兰州 730070)

摘要:【目的】酸黄瓜对南方根结线虫具有高度抗性, 明确其抗性的光合响应特性, 为进一步抗性基因的分离及功能鉴定提供理论依据。【方法】采用温室盆栽苗期人工接种技术, 研究线虫侵染对抗、感黄瓜叶片光合作用、叶绿素荧光参数及相关生理指标的影响。【结果】线虫侵染使抗病材料酸黄瓜叶绿素(Chl)含量降低幅度显著小于感病材料北京截头, 酸黄瓜 Chl 随氮素含量降低较北京截头平缓; 抗、感材料净光合速率(Pn)、气孔导度(Gs)下降, 酸黄瓜胞间CO₂浓度(Ci)下降, 而北京截头Ci上升, 酸黄瓜Gs对叶片相对含水量(RWC)持续下降的反应较北京截头敏感; 实际光化学效率(Φ_{PSII})、光化学猝灭系数(qP)降低幅度酸黄瓜小于北京截头, 非光化学猝灭系数(qN)升高幅度酸黄瓜显著高于北京截头; 酸黄瓜Pn/Ci初始斜率变化不大, 而北京截头Pn/Ci急剧降低。【结论】酸黄瓜叶绿素含量下降较小, 从而保持了较高的净光合速率, 使线虫侵染对酸黄瓜植株生长造成的影响不大。

关键词: 酸黄瓜; 南方根结线虫; 抗性; 光合作用

Photosynthetic Response to the Root-Knot Nematode *Meloidogyne incognita* in Resistant Cultivar Sour Cucumber (*Cucumis hystrix* Chakr.)

YE De-you^{1, 2}, QIAN Chun-tao¹, CHEN Jin-feng¹

(¹College of Horticulture, Nanjing Agricultural University/State Key Laboratory of Crop Genetics and Germplasm Enhancement, Nanjing 210095; ²Institute of Vegetables, Gansu Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou 730070)

Abstract: 【Objective】 Sour cucumber shows a high resistance to the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. To make clear on the photosynthetic responsive characteristics of its resistance will provide a theoretical basis for isolation and functional identification of resistance gene. 【Method】 The effects of nematode infection on photosynthesis, chlorophyll fluorescence parameters and physiological indices related of cucumber leaves resistant and susceptible to *M. incognita* were investigated by using seedling inoculation in greenhouse. 【Result】 Nematode infection induced a significantly lower decrease of cucumber leaf chlorophyll (Chl) content in resistant Sour cucumber than in susceptible Beijingjietou. Decreased extents of Chl content with nitrogen content reduction in Sour cucumber leaves were less than in Beijingjietou. Net photosynthetic rate(Pn), stomatal conductance (Gs) decreased in two varieties leaves after nematode infection, intercellular CO₂ concentration (Ci) of leaves decreased in Sour cucumber, while its value have a sharp rise in Beijingjietou. Gs reduction in response to relative water content (RWC) declining in Sour cucumber leaves was more sensitive than Beijingjietou. Nematode infection led to a lower reduction of actual photochemical efficiency (Φ_{PSII}) and photochemical quenching (qP), while induced a significantly higher increase of non-photochemical quenching (qN) in Sour cucumber than in Beijingjietou. Nematode infection has little effect on the initial slope of Pn/Ci in Sour cucumber, leaving a sharp decrease in Beijingjietou. 【Conclusion】 The results indicated that there is a lower decrease of chlorophyll content in Sour cucumber, so as to maintain a higher net photosynthetic rate in resistant compared with susceptible

收稿日期: 2011-05-10; 接受日期: 2011-09-05

基金项目: 国家自然科学基金重点项目(30830079)、国家“863”计划专项(2010AA10A108)、国家重点基础研究发展计划(2012CB113900)

联系方式: 叶德友, E-mail: ydy_287.my265@yahoo.com.cn. 通信作者陈劲枫, E-mail: jfchen@njau.edu.cn

ones. All these did not cause significant effect on the plant growth of Sour cucumber.

Key words: sour cucumber; *Meloidogyne incognita*; resistance; photosynthesis

0 引言

【研究意义】南方根结线虫 (*Meloidogyne incognita*) 是危害黄瓜 (*Cucumis sativus* L., $2n = 14$) 生产的重要病原, 目前生产上对其缺乏有效的防控措施。实践证明, 选育和利用抗线虫品种是防治根结线虫最理想的方法之一。由于栽培黄瓜中尚未发现抗南方根结线虫病的种质资源, 迄今, 国内外尚无抗南方根结线虫病的黄瓜品种应用于生产^[1]。酸黄瓜 (*Cucumis hystrix* Chakr., $2n = 24$) 为原产中国云南的甜瓜属珍稀野生种, 抗病鉴定结果表明, 酸黄瓜对南方根结线虫具有高度抗性^[2]。酸黄瓜和栽培黄瓜已成功实现种间杂交^[3], 这为通过有性杂交转移野生黄瓜中的抗线虫基因进入栽培黄瓜、培育抗线虫黄瓜品种提供了抗源材料与切实可行的有效途径。抗病种质的合理利用依赖于抗病机制的最终阐明, 研究酸黄瓜在抗线虫胁迫方面的光合及其荧光特性, 对解析酸黄瓜抗线虫机理与黄瓜抗线虫育种具有深远的理论意义和重要的实践价值。【前人研究进展】作物受线虫侵染后, 地上部往往表现生长发育迟缓, 叶片黄化和植株萎焉, 进而导致产量降低^[4], 品质变劣^[5], 抗逆性减弱^[6], 主要是由于线虫侵染诱导形成的特异保卫细胞破坏了根系正常的维管束结构, 从而减少了根系对水分和养分的吸收与运转^[7], 这些变化与线虫侵染影响植物光合作用过程的相关生理变化密切相关^[8]。线虫侵染通常导致作物光合速率降低, 其生理过程主要包括: 叶绿素含量减少, 气孔导度降低, 养分失衡, 以及根系中影响光合产物合成与转运的调控因子受到干扰^[9]。栽培黄瓜中抗线虫资源匮乏, 有关黄瓜接种根结线虫后光合特性变化的研究较少, 且仅局限于对感病材料的分析^[10], 目前国内外未见有关黄瓜抗病种质抗线虫机理的研究报道。【本研究切入点】本文从利用酸黄瓜对南方根结线虫病优良抗性的目的出发, 以高抗南方根结线虫病的甜瓜属近缘野生种酸黄瓜和高感此病的栽培黄瓜种北京截头为试材, 采用温室盆栽苗期人工接种技术, 研究线虫侵染对黄瓜叶片光合作用、叶绿素荧光参数及相关生理指标的影响。【拟解决的关键问题】通过研究线虫侵染前后抗、感材料叶片光合及叶绿素荧光等方面的变化差异, 旨在了解抗南方根结线虫病的酸黄瓜的光合及叶绿素荧光特性, 揭示线虫侵

染与光合作用及相关指标间的关系, 为酸黄瓜的合理利用和黄瓜抗线虫品种选育提供理论依据和参考指标。

1 材料与方法

1.1 材料与育苗

试验于 2010 年春季在南京农业大学牌楼实验基地日光温室中进行。供试材料为甜瓜属野生种酸黄瓜与普通栽培黄瓜北京截头, 由南京农业大学作物遗传与种质创新国家重点实验室黄瓜研究室提供, 二者分别高抗、高感南方根结线虫病^[2]。供试材料采用穴盘育苗, 于 2010 年 3 月 12 日播种, 内装经高温 (120 °C) 灭菌的基质 (泥炭土: 蛭石 = 1: 1), 幼苗长至两叶一心时从育苗穴盘移入钵钵中, 待幼苗缓苗后长到 3—4 片真叶时开始接种。

1.2 线虫获取与接种

南方根结线虫由南京农业大学植物保护学院线虫实验室提供, 接种在感病番茄上于温室中进行常年繁殖。挑取发病番茄根系上的根结线虫卵块, 置于 1% 的 NaClO 溶液中消毒 4 min, 去离子水冲洗 4 次, 置 26 °C 恒温箱中孵化, 逐天收集孵化的 2 龄幼虫, 计数备用。接种参照叶德友等^[2]的方法, 在黄瓜根系周围用玻璃棒打洞 (每盆 3 洞), 将收集到的 2 龄幼虫注入洞中, 接种量为每株 2 000 个幼虫, 然后覆土 1 cm 左右。各材料每隔 7 d 接种 1 次, 每次每份材料各接种 5 株, 共接种 4 次, 即 7 d、14 d、21 d、28 d 共 4 个处理, 对照株只注入清水不接种线虫, 3 次重复, 完全随机设计, 接种后进行正常的肥水管理, 连续培养 28 d 后进行相关指标的测定。

1.3 叶片光合指标和叶绿素荧光动力学参数的测定

1.3.1 光合指标 选生长一致的植株从上往下数第 5 叶位功能叶片, 使用 LI-6400 便携式光合测定仪 (Li-Cor, USA) 于上午 10: 00—12: 00 测定。测定时光量子通量密度 (PFD) 为 $200 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, CO_2 浓度 (400 ± 10) $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, 相对湿度 (RH) 75%, 叶室温度 (25 ± 1) °C。净光合速率 (Pn)、气孔导度 (G_s)、胞间 CO_2 浓度 (C_i) 由光合测定系统直接读出。

CO_2 响应曲线: 测定用 CO_2 钢瓶完成, 测定时气体流量为 $500 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, 光量子通量密度 (PFD) $1\ 500 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, 温度 25 °C。参比室 CO_2 浓度设置

为 400, 200, 150, 100, 50, 400, 400, 600, 800, 1 000, 1 200 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, 测定由 Li-6400 光合仪内置程序自动完成。

1.3.2 叶绿素荧光参数 在测定光合指标的同时,用 PAM-2100 型脉冲调制式荧光仪 (WHALZ, Germany) 测定叶片叶绿素荧光参数。叶片经暗适应 30 min 后,测定叶片的最大光化学效率 (Fv/Fm)、实际光化学效率 (Φ_{PSII})、光化学猝灭系数 (qP) 和非光化学猝灭系数 (qN)。测定结束后,选取相应节位的叶片保存于 -70°C 冰箱中,用于各项生理指标的测定。

1.4 叶片叶绿素含量、氮素含量和相对含水量的测定

1.4.1 叶绿素含量 用丙酮:乙醇:水 = 4.5:4.5:1 的混合溶液将黄瓜叶片在黑暗条件下浸提 24 h。以混合提取液为对照,在紫外-可见分光光度计上分别测定 OD₆₄₅、OD₆₆₃, 取样、测定各重复 3 次。叶绿素 a、b 含量计算公式: $\text{Chla} = 12.7 \cdot \text{OD}_{663} - 2.69 \cdot \text{OD}_{645}$, $\text{Chlb} = 22.9 \cdot \text{OD}_{645} - 4.68 \cdot \text{OD}_{663}$ ^[11], 并计算 Chla/b 值。

1.4.2 氮素含量 采用氮素自动分析仪 (Rapid N III, Elementar, Germany) 完成。称取 0.2 g 叶片粉末包于特制锡箔中,在通氧量为 $170 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 的高纯氧 ($\geq 99.99\%$) 燃烧反应炉 (960°C) 中充分燃烧 300 s, 反

应炉中的试剂依次为 280 g 氧化铜, 13 g 银丝, 15 g 铂, 产物 (NO_x) 被载气 CO₂ 运送至还原炉 (800°C) 中,经铜针和钨还原生成的氮气除去水后,进入 TC 检测器检测。

1.4.3 相对含水量 取新鲜叶片称量鲜重 (FW), 然后将叶片浸没在盛有去离子水的培养皿中,暗中 4°C 饱和 24 h,用吸水纸吸干叶片表面液滴,称量饱和鲜重 (SFW), 然后装入硫酸纸袋,于 105°C 杀青 30 min, 80°C 烘 48 h 至恒重,称量干重 (DW)。相对含水量 (RWC) 的计算公式: $\text{RWC} = (\text{FW} - \text{DW}) / (\text{SFW} - \text{DW})$ ^[12]。

1.5 数据分析

采用 Excel2003 软件进行数据处理和作图, 差异显著性分析采用 SPSS 11.5 软件完成。

2 结果

2.1 南方根结线虫侵染对黄瓜叶片叶绿素及氮素含量的影响

试验期间抗、感材料未接种对照区 (CK) 的 Chla (图 1-A)、Chlb (图 1-B) 含量和 Chla/b 值 (图 1-C)、叶片氮素含量 (图 1-D) 保持相对稳定。南方根结线

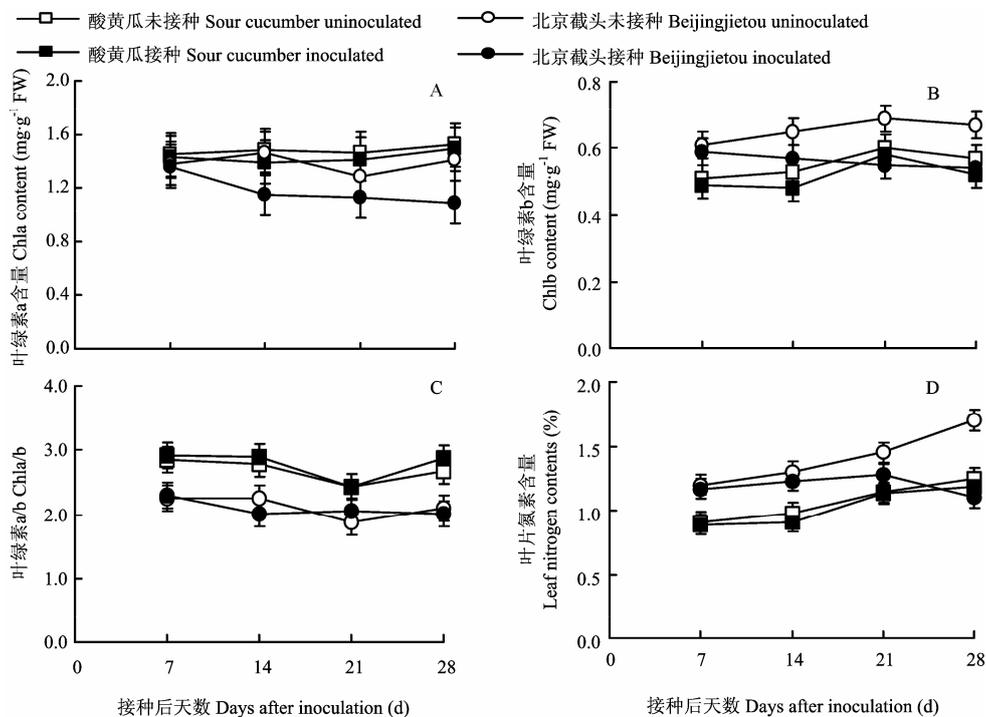
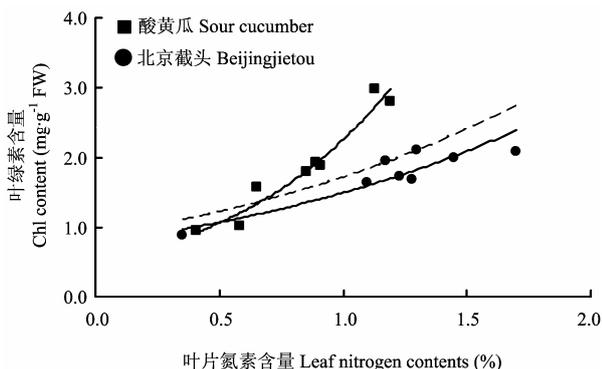


图 1 南方根结线虫侵染对黄瓜叶片叶绿素及氮素含量的影响

Fig. 1 Effect of infection by *M. incognita* on chlorophyll and nitrogen contents of cucumber leaves

虫感染后, 感病材料北京截头叶片 Chla、Chlb 含量逐渐降低, 并于接种后第 28 天、21 天达到最低, 分别较未接种对照降低了 22.71% 和 19.48%, 降低幅度较大 ($P < 0.05$), 而抗病材料酸黄瓜叶片 Chla、Chlb 含量先降低后逐渐升高, 其最大降幅均出现在接种后第 14 天, 较未接种对照分别降低了 6.08% 和 7.43%, 降低幅度较小 ($P > 0.05$); 线虫感染对抗感材料的 Chla/b 比值无明显影响 ($P > 0.05$)。酸黄瓜的叶片氮素含量在感染期内持续升高, 接种后第 28 天较第 7 天升高了 33.71%, 增速较快 ($P < 0.05$), 但接种与未接种对照之间差异不显著 ($P > 0.05$), 而北京截头叶片氮素含量先缓慢升高后急剧下降, 接种后第 21 天较第 7 天升高了 5.13%, 增速较慢 ($P > 0.05$), 接种后第 28 天较第 7 天下降了 11.72%, 下降较快 ($P < 0.05$), 较同期未接种对照下降了 35.29%, 下降幅度较大 ($P < 0.05$)。酸黄瓜叶片叶绿素含量降低幅度较小, 叶片氮素含量增速较快, 表明酸黄瓜在线虫胁迫下仍能保持较高的叶绿素含量而不致影响光能的吸收和利用, 从而使其对线虫感染表现出了较强的耐受能力。

植物叶片氮素供应状况影响 Rubisco (1, 5-二磷酸核酮糖羧化酶/加氧酶) 活化酶活性, 从而影响叶绿素的合成。图 2 显示了线虫胁迫条件下叶片叶绿素与氮素含量之间的变化关系, 从图 2 中可以看出, 叶绿素含量随着氮素含量的降低而减少。酸黄瓜在整个试验期间叶绿素含量对氮素含量持续下降的反应较为平缓,



实线分别代表酸黄瓜和北京截头各自的回归曲线, 虚线代表二者共同的回归曲线

Both solid lines represent the regression curve of Sour cucumber and Beijingjietou respectively, while the dotted line represents the regression curve for both varieties together

图 2 黄瓜叶片氮素含量与叶绿素含量的关系

Fig. 2 Correlation between leaf nitrogen and chlorophyll content

这可能与酸黄瓜较小的营养叶面积有关, 而北京截头在叶片氮素含量高于 0.65% 以上时, 氮素含量的缓慢下降即可导致叶绿素含量的快速下降, 可能是由于北京截头对氮素养分的需求量较高, 氮素供应不畅使 Rubisco 活性降低叶绿素发生降解所致。

2.2 南方根结线虫感染对黄瓜叶片光合参数及相对含水量的影响

试验期间两品种对照区的 Pn (图 3-A)、Gs (图 3-B)、Ci (图 3-C) 和 RWC (图 3-D) 趋于稳定。南方根结线虫感染后, 北京截头 Pn 持续下降, 接种后第 28 天较未接种对照显著降低 37.74%, 而酸黄瓜 Pn 先下降后逐渐升高, 最大降幅出现在接种后第 14 天, 较未接种对照降低了 7.69% ($P > 0.05$); 北京截头在接种后第 14 天 Gs 和 Ci 较未接种对照分别下降了 20.93% 和 7.47%, Gs 下降幅度较大而 Ci 下降较小, 接种 14 d 后, Gs 下降而 Ci 急剧上升, 接种后第 28 天 Ci 较未接种对照升高了 18.34% ($P < 0.05$), 酸黄瓜在整个感染期内 Gs、Ci 均下降, 接种后第 21 天和 28 天分别较未接种对照降低了 9.38% 和 8.67% ($P > 0.05$); 酸黄瓜与北京截头叶片相对含水量均降低, 接种后第 28 天较未接种对照分别降低了 14.81% 和 34.48%, 其降低幅度酸黄瓜显著小于北京截头 ($P < 0.05$), 此时酸黄瓜叶片相对含水量高达 73%, 而北京截头叶片中仅有 57%。上述分析表明, Gs 不是导致北京截头 Pn 下降的主要原因, 但它可能是影响酸黄瓜 Pn 的关键因子。

逆境胁迫导致植物叶片光合速率降低的因子包括气孔和非气孔限制两类, 为此对 Pn 与 Gs、Ci 的相关性进行了研究分析。如图 4 所示, 酸黄瓜 Gs 和 Ci 均与其 Pn 呈显著正相关 ($r_{Gs} = 0.9851$, $r_{Ci} = 0.9779$), 但对于北京截头来说, 其 Gs 和 Pn 存在正相关关系 ($r_{Gs} = 0.9819$), 而 Ci 和 Pn 却呈线性负相关 ($r_{Ci} = -0.9791$)。南方根结线虫感染后, 抗病材料叶片 Pn 下降与 Gs 下降均呈显著正相关, Gs 也呈下降趋势 (图 3-B), 酸黄瓜叶片 Ci 也呈下降趋势 (图 3-C), 其 Pn 下降与 Ci 下降呈显著正相关。由此推断, 线虫感染导致酸黄瓜光合下降由气孔限制引起; 而北京截头叶片 Ci 升高 (图 3-C), 其 Pn 下降与 Ci 下降呈显著负相关, 因此导致其光合作用下降属非气孔限制。这说明线虫感染导致酸黄瓜 Pn 下降由气孔因子引起, 而北京截头则主要受非气孔因子限制。

为进一步了解线虫胁迫条件下 Gs 与 RWC 之间的变化关系, 分别拟合了酸黄瓜和北京截头各自的 Gs-

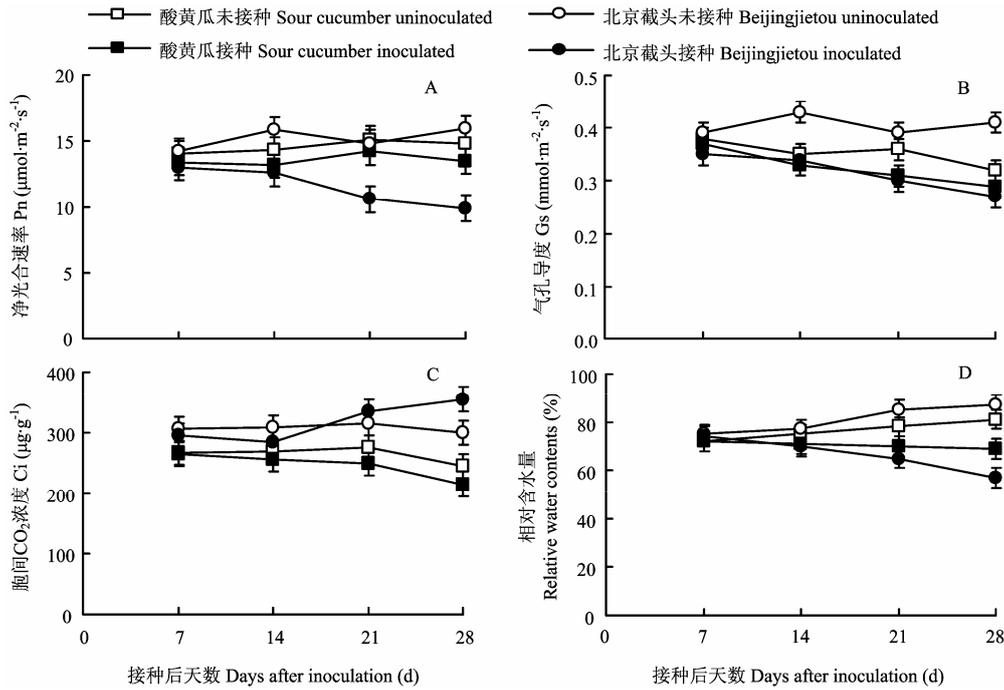


图 3 南方根结线虫侵染对黄瓜叶片光合参数及相对含水量的影响

Fig. 3 Effect of infection by *M. incognita* on photosynthesis and relative water contents of cucumber leaves

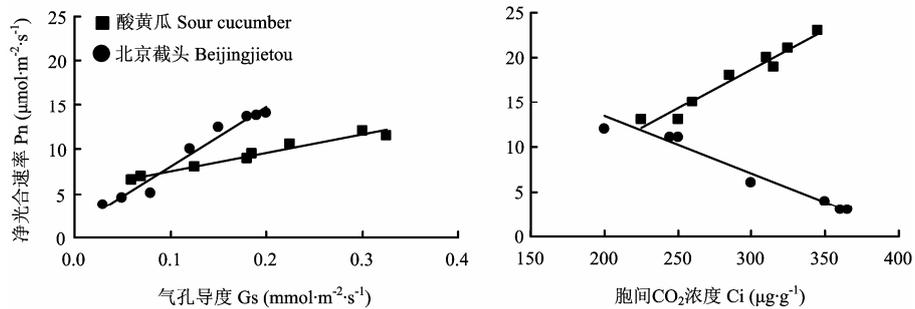


图 4 酸黄瓜和北京截头叶片净光合速率与气孔导度、净光合速率与胞间 CO₂ 浓度的相关性

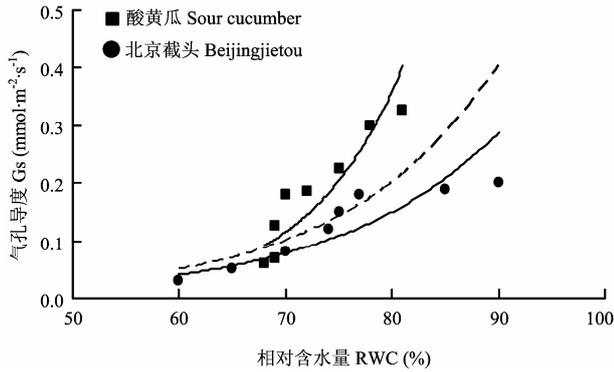
Fig. 4 Correlation between net photosynthetic rate (Pn) and stomatal conductance (Gs) and Pn and intercellular CO₂ concentrations (Ci) in leaves of sour cucumber and Beijingjietou

RWC 指数回归曲线 (图 5 实线) 以及二者共同的 Gs-RWC 指数回归曲线 (图 5 虚线)。从图 5 中可以看出, 无论哪种拟合 RWC 均与 Gs 存在一定的相关性, 即 Gs 随着 RWC 的降低而下降。同时, RWC 对 Gs 的影响存在一个拐点, 当叶片 RWC 高于 70% 以上时, RWC 的缓慢下降即可导致 Gs 的急剧下降, 如酸黄瓜, 而当叶片 RWC 低于 70% 时, Gs 对 RWC 持续下降的反应不敏感, 如北京截头, 尽管 RWC 下降幅度较大, 但 Gs 下降幅度显著低于酸黄瓜, 可能此时的水分散

失主要通过角质蒸腾而非气孔蒸腾。

2.3 南方根结线虫侵染对黄瓜叶片叶绿素荧光参数的影响

Fv/Fm 表示 PS II 最大光化学效率, 是光抑制程度的一个重要指标^[13]。线虫侵染对 2 个品种的 Fv/Fm (图 6-A) 均未造成明显影响, 表明酸黄瓜和北京截头在线虫胁迫条件下均未发生光抑制。Φ_{PSII} 表示实际光化学效率, 其值升高或降低反映植物光合碳同化的促进或抑制程度^[14]。线虫侵染后, 酸黄瓜的 Φ_{PSII} 先下降后



实线分别代表酸黄瓜和北京截头各自的回归曲线，虚线代表二者共同的回归曲线
Both solid lines represent the regression curve of Sour cucumber and Beijingjietou respectively, while the dotted line represents the regression curve for both varieties together

图 5 黄瓜叶片相对含水量与气孔导度的关系
Fig. 5 Relationship between relative water content (RWC) and stomatal conductance (Gs)

逐渐升高，接种后第 14 天较未接种对照降低 6.85%，但与对照差异不显著 ($P > 0.05$)，而北京截头 Φ_{PSII} 持续下降，接种后第 21 天较未接种对照降低了 28.17% ($P < 0.05$)，表明线虫侵染显著降低了北京截头的实际光化学效率 (图 6-B)。光化学猝灭系数 (qP) 表

示 PS II 反应中心吸收的光能用于光化学反应的光能部分，其值升高或降低幅度反映植物光合效率在胁迫条件下的增强或受抑程度^[15]。线虫侵染使酸黄瓜的 qP 先降低后升高并逐渐恢复，而北京截头逐渐降低，接种后第 14 天二者 qP 较相应未接种对照分别降低了 3.88% 和 14.29%，qP 降低幅度酸黄瓜明显小于北京截头 ($P < 0.05$)，表明线虫侵染对酸黄瓜的光合效率影响较小，而显著降低了北京截头的光合效能 (图 6-C)。非光化学猝灭系数 (qN) 反映 PS II 反应中心吸收的光能不能用于光合电子传递而以热的形式耗散掉的光能部分，过量光能如不能及时地耗散将对光合机构造成失活或破坏^[16]。线虫侵染后，2 个品种的 qN (图 6-D) 均升高，酸黄瓜 qN 在接种后第 7 天的最小升幅 (16.27%) 也高于北京截头接种后第 21 天的最大升幅 (10.34%)，接种后第 14 天酸黄瓜 qN 较未接种对照升高 32.14%，qN 升高幅度酸黄瓜显著高于北京截头 ($P < 0.05$)，说明酸黄瓜在线虫胁迫条件下的热耗散能力显著增强，且强于北京截头，使线虫侵染对光合机构不致造成失活或破坏，从而对光合机构起到了一定的保护作用。

2.4 南方根结线虫侵染对黄瓜叶片光合碳同化的影响

为研究线虫侵染对不同抗感材料光合碳同化造成

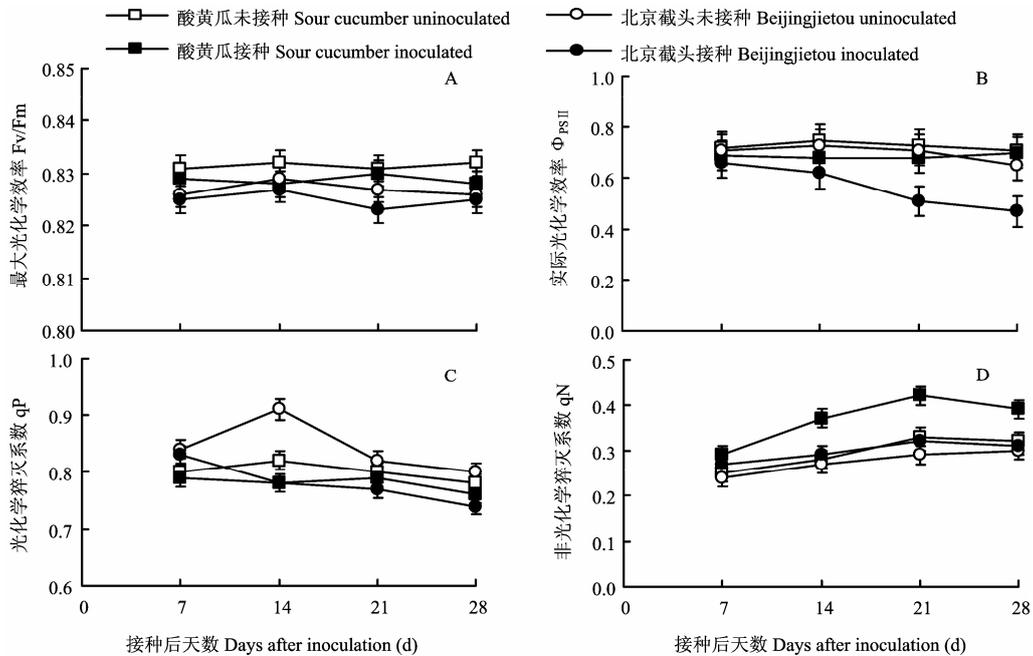


图 6 南方根结线虫侵染对黄瓜叶片叶绿素荧光参数的影响
Fig. 6 Effect of infection by *M. incognita* on chlorophyll fluorescence of cucumber leaves

的影响,分别拟合了酸黄瓜和北京截头的 CO_2 响应曲线(图 7-A、C)及对应 Pn-Ci 的初始斜率(图 7-B、D)。曲线的初始斜率代表羧化效率^[17],因此从初始斜率的变化情况可以初步推断光合碳同化受抑制的程度。从图 7 中可以看出,酸黄瓜不同侵染期 Pn-Ci 的初始斜率变幅不大,表明线虫侵染对酸黄瓜的羧化效

率未造成明显影响,北京截头 Pn-Ci 的初始斜率则随着侵染时间的延长而急剧下降,线虫胁迫条件下北京截头光合碳同化受抑制程度可能强于酸黄瓜,线虫侵染导致北京截头净光合速率的下降可能是由于其羧化能力的下降引起的。

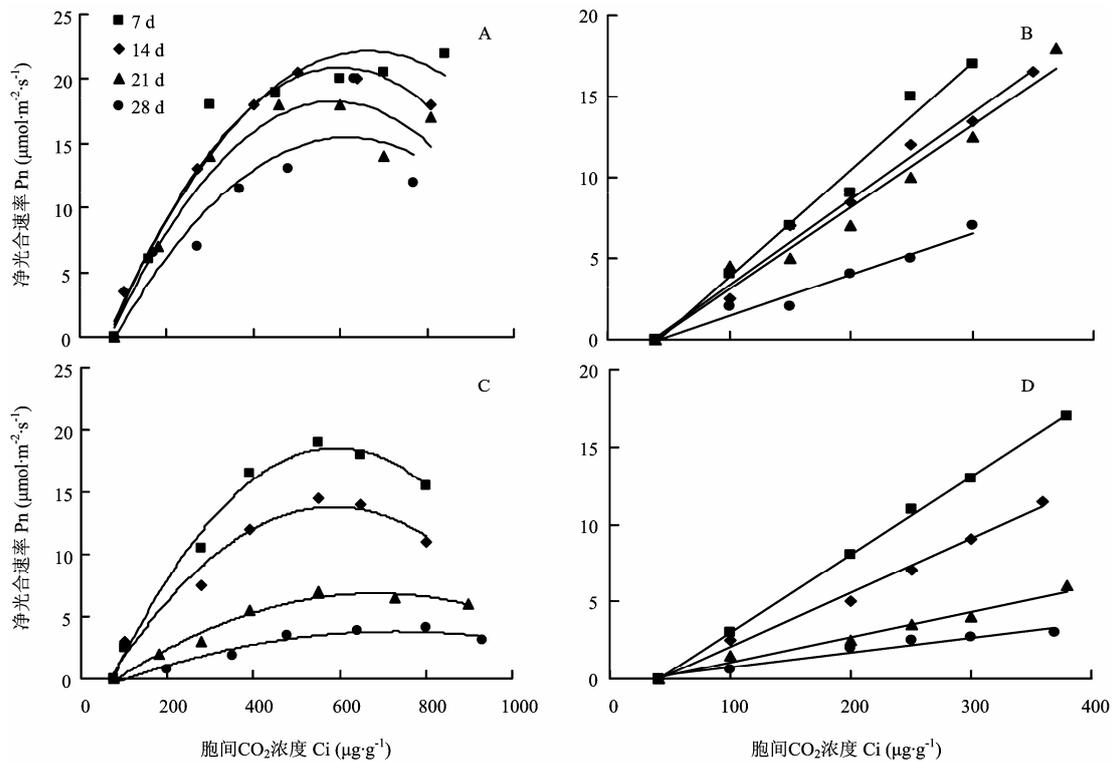


图 7 不同侵染时期酸黄瓜 (A) 和北京截头 (C) Pn-Ci 的回归曲线以及酸黄瓜 (B) 和北京截头 (D) Pn 对 Ci 的初始斜率
 Fig. 7 Regression curves of the response of Pn to Ci infected by nematodes in different periods leaves of Sour cucumber (A) and Beijingjietou (C), and the corresponding nematode-induced different initial slope curves of the response of Pn to Ci in leaves of Sour cucumber (B) and Beijingjietou (D)

3 讨论

植物受线虫侵染后,各种生理过程都会受到影响,直接或间接影响叶绿素含量。因此,叶绿素含量下降可以看成是植株受害后的重要生理反应,从其下降幅度,可以比较其受害程度^[18]。本研究表明,随着侵染时间的延长,抗感材料叶片中叶绿素含量逐渐降低,抗病材料酸黄瓜叶绿素含量降低幅度显著小于感病材料北京截头,叶绿素含量大幅减少可能是北京截头叶片光合速率显著降低的主要原因之一。植物受线虫侵染后,由于根系受到线虫机械损伤,致使氮素养分吸

收减少^[19]。本研究中,酸黄瓜叶片叶绿素含量对氮素含量持续下降的反应较为平缓,而北京截头叶片氮素含量的缓慢下降即可导致叶绿素含量的快速下降,可能是由于北京截头对氮素养分的需求量较高,线虫侵染使叶片氮素供应受到限制。一般地,氮素亏缺导致 Rubisco 酶活性降低,叶绿素降解,CO₂ 同化速率降低,从而抑制了植物蛋白质的合成和植株生长^[20]。因此,北京截头光合活性较低可能由氮素亏缺导致叶绿素发生降解所引起。

逆境胁迫导致植物光合速率降低的因子分为气孔和非气孔限制两类,前人研究指出,只有在 Gs 下降

的同时, C_i 也下降才表明光合作用的降低是由气孔限制所引起的^[21]。本研究中, 线虫侵染导致酸黄瓜光合下降由气孔限制引起, 而北京截头则主要受非气孔限制。造成这一差异的主要原因可能与线虫侵染导致二者的供水状况不同有关。Rahi 等^[22]研究认为, 线虫侵染导致作物光合速率降低的原因主要是由于线虫侵染损伤了植物根系, 植物遭受水分胁迫, 致使叶片气孔部分关闭, 同化产率减小。本研究中, 线虫侵染引起黄瓜水分亏缺, 使黄瓜叶片发生生理干旱, 感病材料叶片相对含水量明显小于抗病材料, 从而使光合速率显著降低。因为 G_s 的下降与 RWC 降低和气孔保卫细胞失水有关, 而这两项指标又均与植物组织的水分状况有关^[23]。随着侵染时间的延长, 抗感材料 G_s 降低, RWC 减少, 酸黄瓜 G_s 随 RWC 减少而急剧降低, 而北京截头 G_s 对于 RWC 的反应没有酸黄瓜那么明显。Moradi 等^[24]研究指出, G_s 降低是防止叶片水分散失的主要途径。酸黄瓜叶片 RWC 的减少引起气孔关闭, 主要表现为 G_s 迅速下降, 叶片通过气孔蒸腾散失水分较少, 北京截头 G_s 下降幅度低于酸黄瓜, 而 RWC 下降幅度显著高于酸黄瓜, 可能此时的水分散失除气孔蒸腾外, 还通过角质蒸腾大量散失水分。

叶绿素荧光技术是一种快速无损的用以检测胁迫程度的有效工具^[25]。本研究中, 抗感材料 Fv/Fm 在整个试验期间趋于稳定, 接种与未接种对照之间未发现显著差异, 表明线虫侵染对抗感材料光系统 PSII 均未造成明显破坏。qP 反映 PSII 的氧化还原状态及能量供应和利用之间的平衡^[26]。本研究发现, qP 和 Φ_{PSII} 与 Pn 的变化趋势相似, 其降低程度均表现为抗病材料酸黄瓜显著小于感病材料北京截头。qP 减少可能表明 PSII 受体 Q_A 过度减少, 光合电子传递饱和, 碳素同化产率降低。因此, 感病材料北京截头 Φ_{PSII} 显著降低, 碳代谢受到抑制。

植物遭受胁迫时, 其光合作用的降低与光合关键酶 Rubisco 活性下降密切相关。Pn- C_i 初始斜率反映叶片羧化效率, 与 Rubisco 酶活性有关^[27]。线虫侵染后, 感病材料北京截头初始斜率 Pn- C_i 显著降低, 表明 Rubisco 酶活性可能是北京截头 Pn 的一个限速因子, 而抗病材料酸黄瓜初始斜率 Pn- C_i 无明显变化, 表明 Rubisco 酶活性不是酸黄瓜 Pn 下降的主要原因。本研究结果发现, 线虫侵染后, 抗病材料酸黄瓜相对较高的 Pn 与其较高的 Pn- C_i 密切相关, 这一研究结果与前人研究结果一致^[28]。通常, 细胞含水量下降到一定程

度时 Rubisco 酶活性将会受到抑制。因此, 感病材料北京截头叶片相对含水量 RWC 的大幅度下降, 使 Rubisco 酶活性大大降低。Rubisco 酶活性降低, 抑制了碳代谢, 导致 ATP 和 NADPH 过度积累, 使光合电子传递减小, 最终导致 qP 和 Φ_{PSII} 降低。此外, 顾兴芳等^[29]研究认为, 耐低温、弱光能力强的黄瓜材料对南方根结线虫有较强的耐性。本研究中, 酸黄瓜受南方根结线虫侵染后仍然保持了相对较高的净光合速率, 对南方根结线虫表现出高度抗性, 其较高的净光合速率是否与其耐低温、弱光能力有关, 有待于进一步研究。

4 结论

线虫侵染后, 抗、感材料光合速率逐渐降低, 其降低程度抗病材料小于感病材料。此外, 抗病材料光合速率的降低由气孔因子引起, 而感病材料是由 Rubisco 酶活性降低所引起。上述研究结果说明, 线虫侵染后, 抗病材料酸黄瓜叶绿素含量下降较小, 能够较多地将光能用于光化学反应, 热耗散能力较强, 从而保持了较高的净光合速率, 使线虫侵染对酸黄瓜植株生长造成的影响不大。

References

- [1] 沈 颖, 李锡香, 冯兰香, 王海平, 宋江萍, 杨翠荣, 龚会芝. 葫芦科蔬菜种质资源对南方根结线虫的抗性评价. 植物遗传资源学报, 2007, 8(3): 340-342.
Shen D, Li X X, Feng L X, Wang H P, Song J P, Yang C R, Gong H Z. Evaluation on resistance of Cucurbitaceae germplasm resources to root-knot nematode. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2007, 8(3): 340-342. (in Chinese)
- [2] 叶德友, 钱春桃, 贾媛媛, 张燕霞, 陈劲枫. 黄瓜及其近缘种对南方根结线虫的抗性及其酶响应变化的研究. 园艺学报, 2009, 36(12): 1755-1760.
Ye D Y, Qian C T, Jia Y Y, Zhang Y X, Chen J F. Cucumber and its related species for resistance to the southern root-knot nematode *Meloidogyne incognita* and respond to changes of enzyme. *Acta Horticulturae Sinica*, 2009, 36(12): 1755-1760. (in Chinese)
- [3] Chen J F, Kirkbride J H J R. A new synthetic species of *Cucumis* (Cucurbitaceae) from interspecific hybridization and chromosome doubling. *Brittonia*, 2000, 52(4): 315-319.
- [4] Nutter F W J R, Tylka G L, Guan J, Moreira A J D, Marett C C, Rosburg T R, Basart J P, Chong C S. Use of remote sensing to detect soybean cyst nematode-induced plant stress. *Journal of Nematology*,

- 2002, 34(3): 222-231.
- [5] Wheeler T A, Kaufman H W. Relationship of aerial broad band reflectance to *Meloidogyne incognita* density in cotton. *Journal of Nematology*, 2003, 35(1): 48-57.
- [6] Koenning S R, Barker K R. Soybean photosynthesis and yield as influenced by *Heterodera glycines*, soil type and irrigation. *Journal of Nematology*, 1995, 27(1): 51-62.
- [7] Peri P L, Moot D J, Mcneil D L. An integrated model for predicting maximum net photosynthetic rate of cocksfoot (*Dactylis glomerata*) leaves in silvopastoral systems. *Agroforestry Systems*, 2003, 58: 173-183.
- [8] Sampat N, Indu R S, Trivedi P C. Effect of different inoculum levels of nematode, *Heterodera avenae* on photosynthetic efficiency of Barley (*Hordeum vulgare* L.). *Asian Journal of Experimental Sciences*, 2001, 15: 1-8.
- [9] Schans J, Arntzen F K. Photosynthesis, transpiration and plant growth characters of different potato cultivars at various densities of *Globodera pallida*. *Netherlands Journal of Plant Pathology*, 1991, 97: 297-310.
- [10] 邹金环, 张爱萍. 根结线虫对日光温室黄瓜生长和品质的影响. 北方园艺, 2007(11): 197-199.
Zou J H, Zhang A P. Effects of root-knot nematode on growth and quality of cucumber in greenhouse. *Northern Horticulture*, 2007(11): 197-199. (in Chinese)
- [11] Sartory D P, Grobbelaar J U. Extraction of Chlorophyll a from freshwater phytoplankton for spectrophotometric analysis. *Hydrobiologia*, 1984, 114: 177-187.
- [12] Flexas J, Ribas-Carbó M, Bota J, Galmés J, Henkle M, Martínez-Cañellas S, Medrano H. Decreased Rubisco activity during water stress is not induced by decreased relative water content but related to conditions of low stomatal conductance and chloroplast CO₂ concentration. *New Phytologist*, 2006, 172: 73-82.
- [13] 杨广东, 朱祝军, 计玉妹. 不同光强和缺镁胁迫对黄瓜叶片叶绿素荧光特性和活性氧产生的影响. 植物营养与肥料学报, 2002, 8(1): 115-118.
Yang G D, Zhu Z J, Ji Y M. Effect of light intensity and magnesium deficiency on chlorophyll fluorescence and active oxygen in cucumber leaves. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2002, 8(1): 115-118. (in Chinese)
- [14] 史庆华, 朱祝军, Khalida Al-aghabary, 钱琼秋. 等渗 Ca(NO₃)₂ 和 NaCl 胁迫对番茄光合作用的影响. 植物营养与肥料学报, 2004, 10(2): 188-191.
Shi Q H, Zhu Z J, Al-aghabary K, Qian Q Q. Effects of iso-osmotic Ca(NO₃)₂ and NaCl treatment on photosynthesis in leaves of tomato. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2004, 10(2): 188-191. (in Chinese)
- [15] Genty B E, Briantais M J, Baker N R. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1989, 990: 87-92.
- [16] Demmig B, Winter K, Krüger A, Czygan F C. Photoinhibition and zeaxanthin formation in intact leaves: a possible role of the xanthophyll cycle in the dissipation of excess light energy. *Plant Physiology*, 1987, 84: 218-224.
- [17] Bota J, Medrano H, Flexas J. Is photosynthesis limited by decreased Rubisco activity and RuBP content under progressive water stress? *New Phytologist*, 2004, 162: 671-681.
- [18] De Ruijter F J, Haverkort A J. Effects of potato-cyst nematodes (*Globodera pallida*) and soil pH on root growth, nutrient uptake and crop growth of potato. *European Journal of Plant Pathology*, 1999, 105: 61-76.
- [19] Peri P L, Moot D J, Mcneil D L, Varella A C, Lucas R J. Modelling net photosynthetic rate of field-grown cocksfoot leaves under different nitrogen, water and temperature regimes. *Grass and Forage Science*, 2002, 57: 61-71.
- [20] Sinclair T R, Horie T. Leaf nitrogen, photosynthesis and crop radiation use efficiency: a review. *Crop Science*, 1989, 29: 90-98.
- [21] Hubbard R M, Ryan M G, Stiller V, Sperry J S. Stomatal conductance and photosynthesis vary linearly with plant hydraulic conductance in ponderosa pine. *Plant, Cell and Environment*, 2001, 24: 113-121.
- [22] Rahi G S, Rich J R, Hodge C. Effect of *Meloidogyne incognita* and *M. javanica* on leaf water potential and water use of tobacco. *Journal of Nematology*, 1988, 20(4): 516-522.
- [23] 郑国琦, 许兴, 徐兆桢, 刘振荣. 盐胁迫对枸杞光合作用的气孔与非气孔限制. 西北农业学报, 2002, 11(3): 87-90.
Zheng G Q, Xu X, Xu Z Z, Liu Z R. The effect of salt stress on the stomatal and non-stomatal limitation of photosynthesis of wolf berry. *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica*, 2002, 11(3): 87-90. (in Chinese)
- [24] Moradi F, Ismail A M. Responses of photosynthesis, chlorophyll fluorescence and ROS-scavenging systems to salt stress during seedling and reproductive stages in rice. *Annals of Botany*, 2007, 99: 1161-1173.
- [25] Baker N R, Rosenqvist E. Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. *Journal of Experimental Botany*, 2004, 55(403):

- 1607-1621.
- [26] Ou Z Y, Peng C L, Lin G Z, Yang C W. Relationship between PSII excitation pressure and content of Rubisco large subunit or small subunit in flag leaf of super high-yielding hybrid rice. *Acta Botanica Sinica*, 2003, 45(8): 929-935.
- [27] Caemmerer S V, Evans J R, Hudson G S, Andrews T J. The kinetics of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase *in vivo* inferred from measurements of photosynthesis in leaves of transgenic tobacco. *Planta*, 1994, 195: 88-97.
- [28] Tezara W, Mitchell V J, Driscoll S D, Lawlor D W. Effects of water deficit and its interaction with CO₂ supply on the biochemistry and physiology of photosynthesis in sunflower. *Journal of Experimental Botany*, 2002, 53(375): 1781-1791.
- [29] 顾兴芳, 张圣平, 张思远, 王长林. 抗南方根结线虫黄瓜砧木的筛选. *中国蔬菜*, 2006(2): 4-8.
- Gu X F, Zhang S P, Zhang S Y, Wang C L. The screening of cucumber rootstocks resistant to southern root-knot nematode. *China Vegetables*, 2006(2): 4-8. (in Chinese)
- (责任编辑 曲来娥)

欢迎订阅 2012 年《植物遗传资源学报》

《植物遗传资源学报》是中国农业科学院作物科学研究所和中国农学会主办的学术期刊, 为全国中文核心期刊、中国科技核心期刊、中国农业核心期刊、全国优秀农业期刊。该刊为中国科技论文统计源期刊、中国科学引文数据库来源期刊(核心期刊)、中国核心期刊(遴选)数据库收录期刊、中国学术期刊综合评价数据库统计源期刊, 又被《中国生物学文摘》和中国生物学文献数据库、中文科技期刊数据库收录。据中国期刊引证研究报告统计, 2010 年度《植物遗传资源学报》影响因子 1.081。

报道内容为大田、园艺作物, 观赏、药用植物, 林用植物、草类植物及其一切经济植物的有关植物遗传资源基础理论研究、应用研究方面的研究成果、创新性学术论文和高水平综述或评论。诸如, 种质资源的考察、收集、保存、评价、利用、创新, 信息学、管理学等; 起源、演化、分类等系统学; 基因发掘、鉴定、克隆、基因文库建立、遗传多样性研究。

双月刊, 大 16 开本, 128 页。定价 20 元, 全年 120 元。各地邮局发行。

邮发代号: 82-643。国内刊号 CN11-4996/S, 国际统一刊号 ISSN1672-1810。

本刊编辑部常年办理订阅手续, 如需邮挂每期另加 3 元。

地址: 北京市中关村南大街 12 号 中国农业科学院《植物遗传资源学报》编辑部(邮编: 100081)

电话: 010-82105794, 010-82105796(兼传真)

网址: www.zwyczy.cn; E-mail: zwyczyxb2003@163.com, zwyczyxb2003@sina.com

欢迎订阅 2012 年《中国种业》

《中国种业》是由农业部主管, 中国农业科学院作物科学研究所和中国种子协会共同主办的全国性、专业性、技术性种业科技期刊。该刊系全国中文核心期刊、全国优秀农业期刊。

刊物目标定位: 以行业导刊的面目出现, 并做到权威性、真实性和及时性。覆盖行业范围: 大田作物、蔬菜、花卉、林木、果树、草坪、牧草、特种种植、种子机械等, 信息量大, 技术实用。

读者对象: 各级种子管理、经营企业的领导和技术人员, 各级农业科研、推广部门人员, 大中专农业院校师生, 农村专业户和广大农业生产经营者。

月刊, 大 16 开本, 每期 8.00 元, 全年 96.00 元。国内统一刊号: CN 11-4413/S, 国际标准刊号: ISSN 1671-895X, 全国各地邮局均可订阅, 亦可直接汇款至编辑部订阅, 挂号需每期另加 3 元。

邮发代号: 82-132

地址: 北京市中关村南大街 12 号 中国农业科学院(100081)

电话: 010-82105796(编辑部), 010-82105795(广告发行部); 传真: 010-82105796

网址: www.chinaseedqks.cn, E-mail: chinaseedqks@sina.com