



巨大芽孢杆菌 Sneb207 诱导大豆抗胞囊线虫病的防效及光合响应

周园园^{1,2}, 郭永霞^{1,3,4}, 段玉玺², 李海燕¹, 陈立杰²

(1. 黑龙江八一农垦大学 农学院, 黑龙江 大庆 163316; 2. 沈阳农业大学 植物保护学院/北方线虫研究所, 辽宁 沈阳 110866; 3. 北大荒现代农业产业技术省级培育协同创新中心, 黑龙江 大庆 163316; 4. 黑龙江省作物-有害生物互作生物学及生态防控重点实验室, 黑龙江 大庆 163316)

摘要:为明确巨大芽孢杆菌 Sneb207 对大豆抗胞囊线虫的防效及对大豆早期光合作用的影响, 采用盆栽试验, 通过 Sneb207 发酵液包衣感病大豆品种, 以无菌水包衣为对照, 接种大豆胞囊线虫, 于显囊期调查植株生长指标及 Sneb207 对胞囊的防效, 并且分别于接种线虫后 3, 7, 10 和 14 d 测定 Sneb207 包衣处理和对照处理大豆的光合性能及叶绿素含量。结合前期转录组分析结果, 选择 4 个与光合作用或叶绿体相关基因进行 qRT-PCR 验证。结果表明: Sneb207 包衣处理, 大豆主根长增加且须根数量增多, 同时提高了对胞囊的防效, 根上和土中胞囊抑制率分别达到 44. 93% 和 57. 19%。Sneb207 包衣处理提高了大豆的净光合速率和叶绿素含量。所检测的 4 个基因在 Sneb207 诱导大豆抗胞囊线虫过程中 2 个被诱导、1 个被抑制, 且与对照处理差异显著, 表明它们可能在 Sneb207 诱导大豆抗胞囊线虫中起作用。

关键词:巨大芽孢杆菌 Sneb207; 大豆胞囊线虫; 光合性能; 差异表达基因

Prevention Effect and Photosynthetic Performance in *Bacillus Megaterium* Sneb207 Against Soybean Cyst Nematode

ZHOU Yuan-yuan^{1,2}, GUO Yong-xia^{1,3,4}, DUAN Yu-xi², LI Hai-yan¹, CHEN Li-jie²

(1. Agricultural College, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing 163316, China; 2. College of Plant Protection, Shenyang Agricultural University/Nematology Institute of Northern China, Shenyang 110866, China; 3. Heilongjiang Province Cultivating Collaborative Innovation Center for the Beidahuang Modern Agricultural Industry Technology, Daqing 163316, China; 4. Heilongjiang Provincial Key Laboratory of Crop-Pest Interaction Biology and Ecological Control, Daqing 163316, China)

Abstract: To determine the effectiveness of *Bacillus megaterium* Sneb207 against soybean cyst nematodes and early photosynthesis in soybean, the seed coating technology was used to coat the susceptible soybean varieties, and the sterile water coating was used as a control treatment in greenhouse experiments. We surveyed the cysts on the soybean roots and in the rhizosphere soil, the influence on soybean growth after inoculation 30–35 d, and measured the net photosynthetic rate (P_n), stomatal conductance (G_s), transpiration rate (Tr), intercellular CO_2 concentration (C_i) and chlorophyll content after inoculated 3, 7, 10 and 14 d. We found that, in the Sneb207 coated and nematode inoculated treatment, the main root length and the number of fibrous roots of soybean were increased, and the soybean cyst nematode outside the soybean roots and in rhizosphere soil were suppressed, the inhibition rates of cysts reached 44. 93% and 57. 19%, respectively. Further, the Sneb207 coated treatment increased the P_n and chlorophyll content. In addition, in the four genes, there were two genes up-regulated and one gene down-regulated expression when the resistance to SCN of soybean was induced by Sneb207, and there were significant difference with control, indicating that they may play a role in Sneb207-induced resistance to SCN of soybean.

Keywords: *Bacillus megaterium* Sneb207; Soybean cyst nematode; Photosynthetic performance; Differentially expressed genes

大豆是中国重要的油料作物和经济作物之一。大豆胞囊线虫病是大豆生产上的重要病害之一, 严重制约大豆产量, 其所造成的年产损失在中国超过 1. 2 亿美元, 在全球范围约为 15 亿美元^[1-2], 并且所

造成的实际损失远超过估计值^[3]。因此, 研究大豆胞囊线虫病的防治迫在眉睫。生物防治具有对环境友好、持效期长等优点, 成为研究热点。目前, 生防菌的开发和利用是防治大豆胞囊线虫的有效手

收稿日期: 2019-12-04

基金项目:国家自然科学基金重点项目(31330063); 国家自然科学基金(31171569); 现代农业产业技术体系岗位科学家专项(CARS-04-PS13); 黑龙江八一农垦大学学成、引进人才科研启动项目(XYB201904); 黑龙江省应用技术与开发计划项目(GA19B104)。

第一作者简介:周园园(1988-), 女, 博士, 讲师, 主要从事植物病理学教学与研究。E-mail: zhouyuan yuan6616@163. com。

通讯作者:陈立杰(1971-), 女, 博士, 教授, 主要从事植物线虫学及其防治研究。E-mail: chenlijie0210@163. com;

郭永霞(1970-), 女, 博士, 教授, 主要从事作物逆境生理研究。E-mail: gyxia@163. com。

段之一^[4-7]。

大豆胞囊线虫二龄幼虫侵染大豆根部,造成根部维管束受损,地上部分植株表现为植株矮小、萎蔫、黄化,进而导致减产。线虫侵染后,植物常表现出许多非正常的生理变化,如细胞膜透性发生变化、细胞内电解质外渗、植物体内生物大分子物质代谢变化、养分吸收受阻等^[8-9]。这些变化均与植物的光合能力有着密切的联系^[10-11]。叶绿素是进行光合作用的主要色素分子,且对叶片光合作用有重要影响^[12]。线虫侵染造成的植株叶绿素含量下降程度可以显示出植株的受害程度^[13]。研究表明,线虫侵染后可造成寄主植株的净光合速率下降、叶绿素含量降低^[14-15]。磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶(PEPCK)在C₄植物光合作用中的扮演重要角色。玉米黄素环氧酶基因(ZEP)参与叶黄素循环的调节和防御反应,也在植物光系统保护中起重要作用^[16-17]。多酚氧化酶(PPO)参与植物的抗性调节及光合作用^[18-19],PPO的活性变化,与大豆胞囊线虫的致病性密切相关^[20]。丙二烯氧化物环化酶(AOC)位于叶绿体中,且参与植物抗逆反应^[21]。

然而,光合性能在生防菌诱导大豆抗胞囊线虫中作用的研究较少。因此,本研究采用前期从大豆根瘤内分离,且田间验证对大豆胞囊线虫有抑制作用的菌株——巨大芽孢杆菌Sneb207^[22]的发酵液包衣感病大豆品种辽豆15,并接种大豆胞囊线虫二龄幼虫(J2),研究Sneb207对胞囊的防效。此外,测定接种J2后植株的光合性能及叶绿素含量,对前期通过转录组筛选获得的4个大豆根内光合或叶绿素相关的基因进行qRT-PCR表达分析,为明确Sneb207诱导大豆抗大豆胞囊线虫光合作用机理奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

供试菌株:巨大芽孢杆菌(*Bacillus megaterium*) Sneb207,由沈阳农业大学植物保护学院北方线虫研究所分离保存。

供试大豆:辽豆15,由辽宁省农科院提供。

1.2 试验设计

1.2.1 盆栽试验 取无大豆胞囊线虫的土和细沙,165℃干热灭菌2h,冷却后以土沙体积比为2:1混匀,装入16cm×16cm黑色塑料钵中。Sneb207包衣处理(Sneb207+N),每钵播入3粒经Sneb207发酵液包衣的大豆种子,以无菌水包衣为对照处理(CK+N)。待豆苗长至两片子叶时,每钵留苗1株,接种2000条大豆胞囊线虫二龄幼虫(J2)。

接种后第三天开始取样,取样时间分别为接种

后3,7,10和14d,共取样4次。每个处理随机取10株,测定光合性能;随机取5株测定叶绿素含量。胞囊显囊期每个处理分别随机取10株,分别测量植株的株高、主根长、须根数量、地上部分鲜重及地下部分鲜重等生长指标,调查单株根系胞囊着生数量及100g大豆根围土中胞囊数量。

1.2.2 相关基因qRT-PCR表达分析 前期研究委托北京百迈客生物科技有限公司完成,分别提取CK+N和Sneb207+N两组处理接种7d后大豆根组织的RNA,进行cDNA文库构建和Illumina(Hi Sequence™2500)测序,获得差异表达基因并进行注释和分析^[23],对筛选到的与光合作用和叶绿体相关的基因进行验证。

1.3 方法

1.3.1 大豆胞囊线虫菌株发酵液和悬浮液制备 将巨大芽孢杆菌Sneb207转入NA培养基中,于28℃活化。将活化后的Sneb207菌株接种于NA液体培养基上,于28℃,160r·min⁻¹^[14]条件下振荡培养48h。

采用淘洗过筛法分离并获得大豆胞囊线虫3号生理小种。在体视解剖镜下选取饱满、成熟的胞囊,表面消毒后放入孵化池中,及时收集孵化出的2龄幼虫,并制成2000条·mL⁻¹的悬浮液。

1.3.2 光合性能测定 在晴天上午9:00-11:00测定,采用LI-6400型光合仪测定净光合速率(Pn)、气孔导度(Gs)、胞间CO₂浓度(Ci)和蒸腾速率(Tr)。

1.3.3 叶绿素含量测定 参照张宪政^[24]和明华等^[25]混合法测定叶绿素含量。80%丙酮与无菌水等体积混合制成提取液。将0.2g叶片剪碎至小于2mm²并放入离心管中,加入提取液10mL,置于黑暗条件下浸提至材料变白。以混合液作空白对照,用酶标仪(日本MPR-A100)测定652nm处的光密度值,3次重复。计算公式为:叶绿素含量(mg·g⁻¹) = $\frac{OD_{652} \times V}{34.5 \times W}$,式中:W为叶片鲜重(g),V为提取液体积(mL)。叶绿素含量的变化率(%) = $\frac{\text{接种后供试品种叶绿素含量} - \text{对照叶绿素含量}}{\text{对照叶绿素含量}}$

×100

1.3.4 相关基因qRT-PCR表达分析 根据Blast(<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)比对的基因注释结果,采用qRT-PCR方法,对4个与光合作用和叶绿体相关的基因进行表达量验证。根据基因序列(Wm82.a2.v1),采用Primer5设计特异性引物(表1),并由上海生工有限公司合成。

表 1 目的基因注释及引物序列

Table 1 The description and the primer sequences of target genes

基因序列号 Gene ID	扩增方向 Amplification direction	引物序列(5'-3') Primer sequence(5'-3')	基因注释 Description of gene
<i>Glyma. 01G019200</i>	正向	GGCACCATCAGGTTCTTA	磷酸烯醇丙酮酸羧激酶基因
	反向	CCACCACGGAGTTTATTC	
<i>Glyma. 10G282100</i>	正向	GGCACCATCAGGTTCTTA	玉米黄素环氧酶基因
	反向	CCACCACGGAGTTTATTC	
<i>Glyma. 15G071000</i>	正向	CCTCAGAAACGCAAATCA	多酚氧化酶 A1 基因
	反向	AAGGGCTACCGAAGAAGA	
<i>Glyma. 18G280900</i>	正向	GGGACAGGTATGAAGCAATC	丙二烯氧化物环化 4 基因
	反向	ACCCACCACTCACAGCCAAA	

采用 RNA 提取试剂盒(康为世纪)提取大豆根组织 RNA,采用 PrimeScript™ RT Master Mix 试剂盒进行反转录。将反转录产物稀释 5 倍作为模板,采用 ChamQ SYBR qPCR Master Mix 进行 qRT-PCR。总反应体系为 20 μL,其中 cDNA 模板 2 μL,正、反向引物各 1 μL(10 ng·mL⁻¹),SYBR Premix Ex Taq™ II 12.5 μL,ddH₂O 8.5 μL。反应条件为:95 ℃ 30 s;95 ℃ 5 s,60℃ 34 s,循环 40 次;95 ℃ 15 s,60 ℃ 30s,,95 ℃ 15 s。内参基因 *Actin11* 的引物序列为:Actin11-F: 5'-CGGTGGTCTCTATCTTGGCATC-3'; Actin11-R: 5'-GTCTTTTCGCTTCAATAACCCTA-3'。反应由 Qtower3G 定量 PCR 仪完成。每个样品设 3 次生物学重复和 3 次技术重复。

1.4 数据分析

试验数据用 Excel 2010 整理,用 SPSS17.0 软件的 T 检验进行差异显著性分析。采用 2^{-ΔΔCT}法^[26]对 qRT-PCR 结果进行数据分析。

2 结果与分析

2.1 Sneb207 对大豆生长的影响

胞囊显囊期对大豆的株高、主根长、须根数量、地上部分鲜重及地下部分鲜重的测量结果显示:Sneb207 处理后,大豆主根增长且须根数量增加,与对照处理差异显著。2 个处理间株高、地上部分鲜重和地下部分鲜重差异不显著(表 2)。

表 2 胞囊显囊期两个处理大豆植株的生长指标

Table 2 Growth indexes of two treatments at cystoid stage

处理 Treatment	株高 Plant height/cm	主根长 Main root length/cm	须根数 Number of fibrous roots	地上部分鲜重 Shoot fresh weight/g	地下部分鲜重 Root fresh weight/g
CK + N	18.96 ± 0.42	14.88 ± 0.65 *	34.4 ± 2.46 *	2.58 ± 0.16	0.77 ± 0.04
Sneb207 + N	20.46 ± 0.75	15.92 ± 0.74	57.2 ± 2.76	2.77 ± 0.11	0.79 ± 0.01

* 表示不同处理间在 $P < 0.05$ 水平差异显著。下同。
* indicates significant difference($P < 0.05$) between different treatments. The same below.

2.2 Sneb207 对大豆胞囊线虫病的防效

与对照相比,Sneb207 包衣处理植株根上胞囊数量和土中胞囊数量均存在显著差异,Sneb207 包

衣处理的大豆根上胞囊抑制率为 44.93%,土中胞囊抑制率达 57.19%(表 3)。

表 3 Sneb207 对胞囊线虫病的防效

Table 3 Control efficiency of Sneb207 on *Heterodera glycines*

处理 Treatment	单株根上胞囊数量 Number of cyst on soybean roots per plant	100 g 土中胞囊数量 Number of cyst per 100 g soil
CK + N	26.44 ± 2.28	64.00 ± 5.41
Sneb207 + N	14.56 ± 2.09 *	27.40 ± 6.71 *

2.3 Sneb207 诱导对大豆胞囊线虫侵染植株光合性能的影响

2.3.1 叶片光合性能动态变化 光合作用效率是

植物生产力和作物产量高低的决定性因素^[27-28]。Sneb207 包衣处理后,接种大豆胞囊线虫(J2) 3 和 14 d 后,*Ci* 与对照差异显著,其它时间点与对照处

理无显著差异。除接种 J2 后 7 d, Sneb207 包衣处理与对照处理中 G_s 无显著差异外, 其它时间点 2 个处理间均存在差异显著。Sneb207 包衣处理后, 大豆叶片 P_n 增加, 接种后 3 ~ 14 d, 分别是对照处理的

1.26、1.25、1.25 和 1.75 倍, 且差异显著。接种 J2 后 3 和 14 d, Sneb207 处理 Tr 低于对照处理, 且差异显著, 其它时间点与对照处理无显著差异(图 1)。

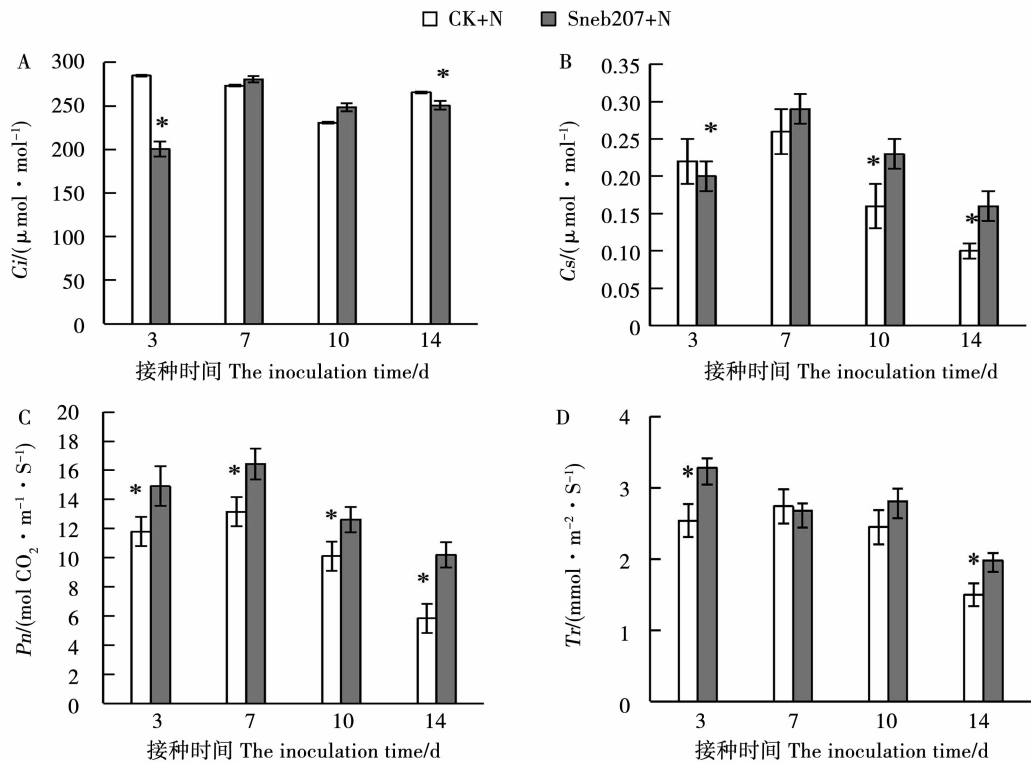


图 1 不同处理胞叶片光合参数动态变化

Fig. 1 The dynamic changes of the photosynthetic parameters of leaves in different treatments

2.3.2 叶片叶绿素含量动态变化 叶绿素含量的变化, 可以反映植物叶片光合能力的差异。接种 J2 后 10 和 14 d, Sneb207 处理中大豆叶片的叶绿素含量显著高于对照处理, 其它时间点与对照处理差异不显著(图 2)。

且与对照处理差异显著; *Glyma. 15G071000* 在包衣处理中显著下调; *Glyma. 01G019200* 在 Sneb207 包衣与未包衣处理中的表达量基本没有差异(图 3)。

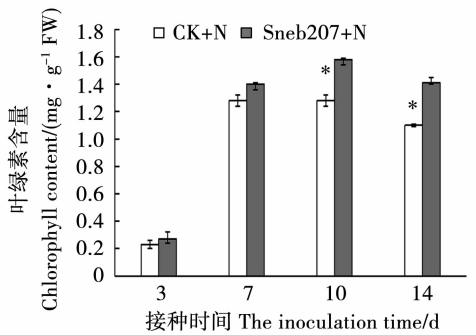


图 2 大豆叶绿素含量动态变化

Fig. 2 The dynamic changes of the chlorophyll content in different treatments

2.4 Sneb207 诱导大豆根部光合及叶绿素相关基因表达分析

接种大豆胞囊线虫 7 d 后, Sneb207 包衣处理中 *Glyma. 10G282100* 和 *Glyma. 01G019200* 上调表达,

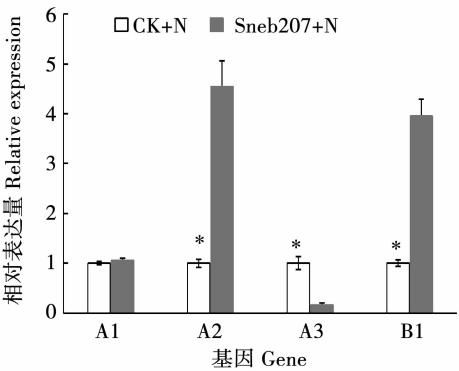


图 3 接种大豆胞囊线虫 7 d 时 Sneb207 诱导下目的基因的相对表达量

Fig. 3 Relative expression of target genes in soybean roots 7 d after *Heterodera glycines* inoculation

差异表达基因的转录组分析和 qRT-PCR 结果表明, 与空白对照相比, Sneb207 包衣处理后, 接种大豆胞囊线虫 7 d 时, *Glyma. 10G282100* 的表达量在 2 种研究方法中分别是对照处理的 10.94 和 4.54 倍, 是 4 个目的基因中表达量上调程度最大的基因;

Glyma. 18G280900 分别是对照处理的 9.95 和 3.95 倍,表达量上调程度也较大;*Glyma. 15G071000* 的表达量分别为对照处理的 0.37 和 0.16 倍,均呈现下调趋势。这 3 个基因的 qRT-PCR 验证结果与转录组测序结果趋势相同,可能在 *Sneb207* 诱导大豆胞囊线虫抗性中起重要作用。*Glyma. 01G019200* 在转录组分析中显示下调,而在 qRT-PCR 分析中略微上调,不能确定该基因在 *Sneb207* 诱导抗线虫中是否发挥作用(表 4)。

表 4 目的基因转录组测序和 qRT-PCR 结果对比分析
Table 4 Comparative analysis of transcriptome analysis and qRT-PCR result on target genes

基因序列号 Gene ID	Sneb207 处理后基因变化倍数 Change times of gene treated with Sneb207	
	转录组分析	qRT-PCR 分析
	Transcriptome analysis	qRT-PCR analysis
<i>Glyma. 01G019200</i>	0.64	1.05
<i>Glyma. 10G282100</i>	10.94	4.54
<i>Glyma. 15G071000</i>	0.37	0.16
<i>Glyma. 18G280900</i>	9.95	3.95

3 讨 论

种子包衣技术可在种子表面形成保护层,其活性成分可以随种子生长传导到其它部位,进而促进植株生长,增强植株抗性。促进植物生长是增强植株抗性的有效手段之一。线虫侵染部位是植株根部,因此大豆根部的良好长势可增加其对线虫的防效。本研究表明 *Sneb207* 包衣处理既增强植株主根长和须根数量,又可降低大豆根上胞囊数量和根围土中胞囊数量。

生防菌处理能够增加植株的根长和鲜重等生长指标,进而提高植株对线虫的抗性^[6,29]。此外,随着接种线虫的数量增加,植物的光合作用降低,叶绿素含量下降^[30-32]。郭衍银等^[33]发现根结线虫侵染生姜后,光合产物的积累减少,植株叶片中叶绿素 a、叶绿素 b 和类胡萝卜素含量都显著下降。本研究表明,*Sneb207* 包衣处理后,大豆净光合速率和叶绿素含量均高于对照处理。因此大豆光合作用增强是提高 *Sneb207* 对胞囊线虫防效的机制之一。影响 *Pn* 大小的因素主要有 *Gs*、*Ci* 和 *Tr* 等,它们在光合作用中协同发挥作用^[34]。*Pn* 下降主要受 2 个因素影响,一是气孔限制,*Gs* 下降,阻止了 CO₂ 的供应;二是非气孔限制,受内部调控机制的影响,如光系统 II 反应中心电子流,光合作用相关的酶活性等的影响^[31,35]。本研究发现,随着胞囊线虫侵染时间的增加,*Sneb207* 包衣处理与对照处理的 CO₂ 含量

的变化趋势不一致,表明不同处理的 *Pn* 下降的原因不同。对照处理中 *Ci* 随 *Pn* 的下降始终变化不大,依据 Farquhar 等^[36]的理论,*Pn* 的降低可能缘于叶肉细胞光化学活性的降低。但包衣接线虫后,*Pn* 在各个时间点均最高,这一趋势与 *Ci* 并不相同,说明包衣接线虫处理后,*Pn* 升高可能是多因素共同导致的。线虫胁迫能够降低大豆叶片的叶绿素含量,但抗病材料下降幅度低于感病材料^[31]。本研究表明,线虫胁迫下,经 *Sneb207* 包衣处理的大豆叶片叶绿素含量高于未包衣的处理。进一步说明包衣后可以提高大豆的抗病性,但具体原因有待进一步研究。

结合前期转录组分析结果,挑选到 4 个与光合或叶绿体相关的基因,磷酸烯醇丙酮酸羧激酶(PEPCK)基因(*Glyma. 01G019200*)、玉米黄素环氧酶(ZEP)基因(*Glyma. 10G282100*)、多酚氧化酶(PPO)基因(*Glyma. 15G071000*)和丙二烯氧化物环化酶(AOC)基因(*Glyma. 18G280900*)进行 qRT-PCR 的验证。结果发现 *Sneb207* 包衣处理可以不同程度的诱导 *Glyma. 10G282100*、*Glyma. 15G071000* 和 *Glyma. 18G280900* 的转录水平发生变化。C₄ 植物具有浓缩 CO₂ 的机制,与 C₃ 植物相比,在逆境胁迫下具有较高的光合能力。PEPCK 是一种重要的光合酶,在 C₄ 和 CAM 植物光合作用的 CO₂ 浓缩过程发挥重要作用^[37]。本研究发现 *Glyma. 01G019200* 在 *Sneb207* + N 处理中,基因表达变化不大,说明在 *Sneb207* 诱导大豆抗胞囊线虫中起的作用不大。玉米黄质在清除光合作用中产生的超氧阴离子自由基方面扮演重要角色,从而在光系统中起到保护的作用。ZEP 基因在叶黄素循环过程起作用,不仅参与类胡萝卜素的生物合成,也参与脱落酸的生物合成,是 2 个合成途径过程中的共同关键酶基因。据报道,转正义盐芥 ZEP 基因可以提高烟草的抗逆性^[38]。ZEP 基因在 *Sneb207* 诱导大豆抗胞囊线虫中上调表达,说明该基因有效提高了植株的抗病性。PPO 参与叶绿体中光反应的电子传递和能量转换作用。因此,在调节叶绿体中有害的光反应速度方面发挥重要作用。线虫侵染可造成植株多酚氧化酶含量升高^[20,38-39]。何静雯等^[40]研究发现,适度遮阴处理葡萄叶片,PPO 基因表达量呈先升高后降低趋势。这也说明 PPO 参与了植株的抗逆反应,在植株生长过程中发挥重要作用。目前 PPO 的机理研究的还不够深入,本研究中,转录组测序与 qRT-PCR 分析表明,接种胞囊线虫 7 d 时,*Glyma. 15G071000* 基因在 *Sneb207* 处理中下调表达,这也说明该基因与 *Sneb207* 诱导大豆抗胞囊线虫相关。

AOC 可以被机械损伤诱导,在 SA 介导的细胞程序死亡中,AOC 基因上调表达,提高植株的抗病性^[41]。AOC 在抗线虫中扮演重要角色,研究表明,根结线虫侵染导致拟南芥 AOC 基因表达量升高,并且 AOC1、AOC3、AOC4 在根中的分布增强了植株的抗性,降低了雌虫数量^[42],本研究 *Glyma. 18G280900* 基因上调表达。

4 结 论

巨大芽孢杆菌 *Sneb207* 包衣大豆种子能够促进大豆生长,增加其对胞囊的抑制作用,叶片叶绿素含量变化较小,并保持了较高的净光合速率。对高通量测序结果的进一步验证发现 3 个与光合或叶绿素相关的基因 *Glyma. 10G282100*、*Glyma. 15G071000* 和 *Glyma. 18G280900* 的表达被明显诱导或抑制,它们可能在 *Sneb207* 诱导大豆抗胞囊线虫中起作用。

参考文献

[1] Wrather J A, Koenning S R. Estimates of disease effects on soybean yields in the United States 2003 to 2005[J]. *Journal of Nematology*, 2006, 38(2): 173-180.

[2] Hosseini P, Matthews B F. Regulatory interplay between soybean root and soybean cyst nematode during a resistant and susceptible reaction[J]. *BMC Plant Biology*, 2014, 14(1): 300.

[3] Niblack T L. Soybean cyst nematode management reconsidered [J]. *Plant Disease*, 2005, 89(10): 1020-1026.

[4] Zhou Y Y, Wang Y Y, Zhu X F, et al. Management of the soybean cyst nematode *Heterodera glycines* with combinations of different rhizobacterial strains on soybean[J]. *Plos One*, 2017, 12(8): e0182654.

[5] Zhao J, Liu D, Wang Y Y, et al. Evaluation of *Bacillus aryabhattai* *Sneb517* for control of *Heterodera glycines* in soybean [J]. *Biological Control*, 2020, 142: 104147.

[6] Zhao J, Liu D, Wang Y, et al. Biocontrol potential of *Microbacterium maritipicum* *Sneb159* against *Heterodera glycines* [J]. *Pest Management Science*, 2019, 75: 3381-3391.

[7] Liu D, Chen L, Zhu X F, et al. *Klebsiella pneumoniae* *SnebYK* mediates resistance against *Heterodera glycines* and promotes soybean growth[J]. *Front Microbiol*, 2018, 9:1134.

[8] 贺文婷, 彭德良. 植物对线虫胁迫的生理生化响应机制[J]. *植物保护*, 2007, 33(2): 11-15. (He W T, Peng D L. Physiological and biochemical response of plant to nematode stress [J]. *Plant Protection*, 2007, 33(2): 11-15.)

[9] Ali M A, Abbas A, Kreil D P, et al. Overexpression of the transcription factor RAP2.6 leads to enhanced callose deposition in syncytia and enhanced resistance against the beet cyst nematode *Heterodera schachtii* in *Arabidopsis* roots[J]. *BMC Plant Biology*, 2013, 13(1): 47.

[10] Hamilton E W, Heckathorn S A, Joshi P, et al. Interactive effects of elevated CO₂ and growth temperature on the tolerance of photosynthesis to acute heat stress in C₃ and C₄ species [J].

Journal of Integrative Plant Biology, 2008, 50(11): 13.

[11] 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.) [J]. *Asian Journal of Experimental Sciences*, 2001, 15: 1-8.

[12] Schans J, Arntzen F K. Photosynthesis, transpiration and plant growth characters of different potato cultivars at various densities of *Globodera pallida* [J]. *Netherlands Journal of Plant Pathology*, 1991, 97: 297-310.

[13] 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 [J]. *European Journal of Plant Pathology*, 1999, 105: 61-76.

[14] 高瑞贺, 骆有庆, 石娟. 松材线虫入侵对马尾松树光合特性的影响[J]. *林业科学研究*, 2019(1): 65-73. (Gao R H, Luo Y Q, Shi J. Effect of pine wilt disease infection on leaf photosynthetic characteristics of Masson Pine[J]. *Forest research*, 2019(1): 65-73.)

[15] 叶德友, 钱春桃, 陈劲枫. 酸黄瓜对南方根结线虫抗性的光合响应[J]. *中国农业科学*, 2011, 44(20): 4248-4257. (Ye D Y, Qian C T, Chen J F. Photosynthetic response to the root-knot Nematode *Meloidogyne incognita* in resistant cultivar sour cucumber (*Cucumis hystrix* Chakr) [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2011, 44(20): 4248-4257.)

[16] 王仁雷, 刘友良, 华春. 植物叶黄素循环的组成、功能和调节 (综述)[J]. *亚热带植物科学*, 2000, 29(4): 59-66. (Wang R L, Liu Y L, Hua C. A review of composition, function and regulation of the xanthophyll cycle in higher plants[J]. *Subtropical Plant Science*, 2000, 29(4): 59-66.)

[17] 李宏伟, 李滨, 郑琪, 等. 小麦幼苗从低光到强光适应过程中光合和抗氧化酶变化[J]. *作物学报*, 2010, 36(3): 449-456. (Li H W, Li B, Zheng Q, et al. Variation in photosynthetic traits and antioxidant enzyme activities of wheat seedlings transferred from low to high light growth condition [J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2010, 36(3): 449-456.)

[18] 王曼玲, 胡中立, 周明全, 等. 植物多酚氧化酶的研究进展 [J]. *植物学通报*, 2005, 22(2): 215-222. (Wang M L, Hu Z L, Zhou M Q, et al. Advances in research of polyphenol oxidase in plants [J]. *Chinese Bulletin of Botany*, 2005, 22(2): 215-222.)

[19] 董臣, 刁英, 王曼玲, 等. 莲多酚氧化酶基因的克隆及序列分析[J]. *分子植物育种*, 2006, 4(6): 791-796. (Dong C, Diao Y, Wang M L, et al. Molecular cloning and analysis of polyphenol oxidase gene in lotus [J]. *Molecular Plant Breeding*, 2006, 4(6): 791-796.)

[20] 罗璇, 段玉玺, 陈立杰, 等. 大豆胞囊线虫不同生理小种对大豆根内酶活力的影响[J]. *大豆科学*, 2010, 29(3): 448-452. (Luo X, Duan Y X, Chen L J, et al. Effect of different races of soybean cyst nematology on the activities of the enzymes in roots of soybean[J]. *Soybean Science*, 2010, 29(3): 448-452.)

[21] 周银, 王松太, 董坤, 等. 蕙兰 *CfAOC* 基因的克隆及表达分析 [J]. *北方园艺*, 2015(14): 92-97. (Zhou Y, Wang S T, Dong K, et al. Cloning and expression analysis of allene oxide cyclase gene(*CfAOC*) in *Cymbidium faberi* [J]. *Northern Horticulture*, 2015(14): 92-97.)

[22] 孙华, 段玉玺, 焦石, 等. 抗大豆胞囊线虫的根际促生菌的筛选及其鉴定[J]. 大豆科学, 2009, 28(3): 507-510. (Sun H, Duan Y X, Jiao S, et al. Filtration and identification of plant growth promoting rhizobacteria on resistance of soybean cyst nematode[J]. Soybean Science, 2009, 28(3): 507-510.)

[23] 周园园. 巨大芽孢杆菌 *Sneb207* 诱导大豆抗胞囊线虫机理研究[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2018. (Zhou Y Y. Biocontrol control mechanism of *Bacillus megaterium* *Sneb207* against soybean cyst nematode[D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2018.)

[24] 张宪政. 作物生理研究法[M]. 北京: 农业出版社, 1992. (Zhang X Z. Crop physiology [M]. Beijing: Agricultural Press, 1992.)

[25] 明华, 胡春胜, 张玉铭, 等. 浸提法测定玉米叶绿素含量的改进[J]. 玉米科学, 2007, 15(4): 93-95, 99. (Ming H, Hu C S, Zhang Y M, et al. Improved extraction methods of chlorophyll from maize[J]. Journal of Maize Sciences, 2007, 15(4): 93-95, 99.)

[26] Livak K J, Schmittgen T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method[J]. Methods, 2001, 25(4): 402-408.

[27] 潘瑞炽. 植物生理学[M]. 5 版. 北京: 高等教育出版社, 2004: 56-57. (Pan R C. Plant Physiology[M]. 5th. Beijing: Higher Education Press, 2004: 56-57.)

[28] 许大全. 光合作用效率[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2002: 163-167. (Xu D Q. Photosynthesis efficiency [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 2002: 163-167.)

[29] 周园园, 王媛媛, 朱晓峰, 等. 生物种衣剂 SN101 的研制及其对大豆胞囊线虫病的防效[J]. 中国油料作物学报, 2014, 36(4): 513-518. (Zhou Y Y, Wang Y Y, Zhu X F, et al. Development of a biological seed - coating preparation and it's efficiency in prevention of *Heterodera glycines*[J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2014, 36(4): 513-518.

[30] 吴慧平, 解宜林, 杨荣铮. 水稻潜根线虫接虫期、接虫量对水稻叶绿素含量及相关生化指标的影响[J]. 安徽农业科学, 1998, 26(3): 256-258. (Wu H P, Xie Y L, Yang R Z. Effect of rice root nematode on chlorophyll content and relative biochemical index of rice plant[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 1998, 26(3): 256-258.)

[31] 张立宁, 程继鸿, 杨瑞, 等. 不同温敏型番茄感染根结线虫后光合特性变化[J]. 西北农业学报, 2010, 19(5): 149-152. (Zhang L N, Cheng J H, Yang R, et al. Photosynthetic characteristics of thermo-sensitive tomato cultivars inoculated by nematode [J]. Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica, 2010, 19(5): 149-152.)

[32] 叶德友, 钱春桃, 陈劲枫. 酸黄瓜对南方根结线虫抗性的光合响应[J]. 中国农业科学, 2011, 44(20): 4248-4257. (Ye D Y, Qian C T, Chen J F. Photosynthetic response to the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* in resistant cultivar sour cucumber (*Cucumis hystrix* Chakr.) [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2011, 44(20): 4248-4257.)

[33] 郭衍银, 王秀峰, 徐坤, 等. 南方根结线虫对生姜生长及内源激素的影响[J]. 植物病理学报, 2004, 34(1): 49-54. (Guo Y Y, Wang X F, Xu K, et al. Effects of *Meloidogyne incognita* on the growth and intrinsic hormones of ginger [J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2004, 34(1): 49-54.)

[34] 刘全吉, 孙学成, 胡承孝, 等. 砷对小麦生长和光合作用特性的影响[J]. 生态学报, 2009, 29(2): 854-859. (Liu Q J, Sun X C, Hu C X, et al. Growth and photosynthesis characteristics of wheat (*Triticum aestivum* L.) under arsenic stress condition[J]. Acta Ecologica Sinica, 2009, 29(2): 854-859.)

[35] Hubbard R M, Ryan M G, Stiller V, et al. Stomatal conductance and photosynthesis vary linearly with plant hydraulic conductance in ponderosa pine[J]. Plant, Cell and Environment, 2001, 24: 113-121.

[36] Farquhar G D, Sharkey T D. Stomatal conductance and photosynthesis[J]. Annual Review of Plant Physiology, 1982, 33: 317-345.

[37] 陈志辉, Walker R P, Legood R C. 高等植物中的磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶[J]. 植物生理学报, 2000, 36(5): 479-484. (Chen Z H, Walker R P, Legood R C. Phosphoenolpyruvate carboxykinase in higher plants [J]. Plant Physiology Communications, 2000, 36(5): 479-484.)

[38] 施翠娥, 高扬, 王玉龙, 等. 松材线虫对马尾松林土壤微生物生物量及酶活性的影响[J]. 生态学杂志, 2015, 34(4): 1046-1051. (Shi C E, Gao Y, Wang Y L, et al. Effect of pine wood nematode on soil microbial biomass and enzyme activity of *Pinus massoniana* forest[J]. Chinese Journal of Ecology, 2015, 34(4): 1046-1051.)

[39] 李海燕, 段玉玺, 陈立杰, 等. 大豆胞囊线虫 3 号生理小种胁迫下不同抗性大豆品种的生化响应[J]. 大豆科学, 2014, 33(5): 783-786. (Li H Y, Duan Y X, Chen L J, et al. Biochemical reaction of different resistant soybean varieties to race 3 of soybean cyst nematode[J]. Soybean Science, 2014, 33(5): 783-786.

[40] 何静雯, 赵晟, 岳立春, 等. 弱光胁迫下‘鄞红’葡萄光合特性及相关基因的表达[J]. 西南农业学报, 2018, 31(12): 82-88. (He J W, Zhao C, Yue Q C, et al. Effects of weak light stress on photosynthetic characteristics and relative gene expression of ‘Yinhong’ grape[J]. Southwest China Journal of Agricultural sciences, 2018, 31(12): 82-88.)

[41] 陈冲, 刘双, 王丹丹, 等. 水杨酸诱导黄瓜 PCD 的鉴定及相关基因的表达分析[J]. 华北农学报, 2018, 33(6): 60-67. (Chen C, Liu S, Wang D D, et al. Identification of PCD induced by salicylic acid and expression analysis of genes related with PCD in cucumber [J]. Acta Agriculturae Boreali-Sinica, 2018, 33(6): 60-67.)

[42] Noga N, Fatta B G, Rachel O, et al. Tight regulation of allene oxide synthase (AOS) and allene oxide cyclase-3 (AOC3) promote *Arabidopsis* susceptibility to the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* [J]. European Journal of Plant Pathology, 2017, 150(4): 1-17.