

# INA 细菌对杏幼果叶绿素荧光参数及抗寒性的影响

杨建民<sup>1</sup>, 孟庆瑞<sup>1</sup>, 王雪冬<sup>1</sup>, 张元惠<sup>1</sup>, 孙福在<sup>2</sup>, 赵廷昌<sup>2</sup>, 李绍华<sup>3</sup>

(<sup>1</sup> 河北农业大学林学院,保定 071000; <sup>2</sup> 中国农业科学院植物保护研究所,北京 100094; <sup>3</sup> 中国农业大学园艺学院,北京 100094)

摘要: 以 2 个杏品种幼果为试材,研究了低温及 INA 细菌影响下叶绿素荧光参数的变化。结果表明,低温胁迫降低了杏幼果 PS II 潜在活性( $F_v/F_o$ )、原初光能转化效率( $F_v/F_m$ )和荧光光化学猝灭系数  $q_P$ ,提高了荧光非光化学猝灭系数  $q_N$ 。即使光合电子传递的量子产额下降,INA 细菌能加剧低温胁迫的破坏程度,使受害温度由  $-4\text{ }^\circ\text{C}$  升高到  $-2\sim-3\text{ }^\circ\text{C}$ ,是诱发幼果霜冻害的一个重要因素。另外,叶绿体 PS II 活性中心的受害程度与品种及幼果大小有关。

关键词: 杏;幼果;叶绿素荧光;PS II 中心;抗寒性

## Effects of Low Temperature Stress and INA Bacteria on Chlorophyll Fluorescence Parameter and Cold Resistance in Young Fruits of Apricot

YANG Jian-min<sup>1</sup>, MENG Qing-rui<sup>1</sup>, WANG Xue-dong<sup>1</sup>, ZHANG Yuan-hui<sup>1</sup>,  
SUN Fu-zai<sup>2</sup>, ZHAO Ting-chang<sup>2</sup>, LI Shao-hua<sup>3</sup>

<sup>1</sup> College of forestry of Hebei Agricultural University, Baoding 071000;

<sup>2</sup> Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100094;

<sup>3</sup> College of Horticultural Sciences, China Agricultural University, Beijing 100094)

Abstract: Effects of low temperature and INA bacteria on the change of chlorophyll's fluorescence parameter of young fruits in two apricot cultivars were investigated. Results showed that low temperature decreased the potential activity( $F_v/F_o$ ), conversion efficiency of primary light energy ( $F_v/F_m$ ) of PS II and the parameter of photochemical quenching  $q_P$  of young fruits of two apricot cultivars, and enhanced the parameter of non-photochemical quenching  $q_N$ , making quantum yield of photosynthetic electron transfer descent. The existence of INA bacteria could intensify the damage of low temperature, raised the injury temperature to  $-2\sim-3\text{ }^\circ\text{C}$  from  $-4\text{ }^\circ\text{C}$ . So it was demonstrated that INA bacteria was one of major factors to induce frostiness of apricot fruits. In addition, the damaged degree of PS II activity center was related to the size and cultivar of apricot young fruits.

Key words: Apricot; Young fruits; Chlorophyll fluorescence; PS II activity center; Cold resistance

叶绿素 a 荧光诱导动力学以光合作用理论为基础,是探测和分析光合功能的重要手段,为研究光系统II(PSII)及其电子传递过程提供了丰富信息,是研究植物光合生理状况及植物与逆境胁迫关系的理想探针<sup>[1,2]</sup>。因此,可将其作为植物理想的抗逆性指标。

对杏树花期霜冻害的研究,大都以花器官为试材,探讨其生理生化指标的变化<sup>[3]</sup>。有关杏幼果与

抗寒性的研究仅进行了一些调查及部分生理指标的测定<sup>[3,4]</sup>。孙福在等对杏树上冰核细菌(INA 细菌)<sup>[5,6]</sup>的种类、活性及其与杏花霜害关系进行了研究,证实 INA 细菌的存在是诱发花器官霜冻的重要因素<sup>[7]</sup>,为杏树霜冻害的研究提供了新的方向。

本试验旨在利用叶绿素 a 荧光诱导动力学及一些参数的变化,研究低温条件下 INA 细菌对杏幼果

收稿日期:2001-10-08

基金项目:河北省自然科学基金资助项目(399147)

作者简介:杨建民(1962-),男,河北清苑人,教授,博士,主要从事李杏种资源及栽培生理研究。Tel/Fax:0312-2174927;E-mail:yangjm3706@

sina.com

抗寒性的影响, 以期为杏抗寒性研究提供科学的理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

供试材料采自张家口涿鹿县堡岱镇。选用生长正常的 7~8 年生杏 (*Prunus armeniaca*) 优一、龙王帽 2 个仁用杏品种, 每个品种选 4 株。

### 1.2 方法

幼果期(盛花期后 15d 左右)随机选取树冠外围 2 个仁用杏品种大小均匀的幼果各 50 个, 将每个品种的幼果经无菌处理后分为两部分: 一部分用毛笔接种 INA 细菌; 另一部分喷清水为对照。然后, 将材料放入半导体制冷电脑控温自动记录的模拟自然霜冻的人工霜箱内<sup>[8]</sup>, 设常温(20℃)、0℃、-1℃、-2℃、-3℃、-4℃ 6 个温度处理。低温处理先以 19℃/h 速度降温至 4℃左右, 在以 2℃/h 速度降至所需温度, 维持 0.5h 后, 于 1~2℃缓慢解冻, 取处理后的幼果进行叶绿素荧光参数测定。

荧光动力学测定所用仪器为调制式荧光仪(modulated Chlorophyll fluorometer, OSL5-KL, OPTISCI, USA)。按照 Van Kooten 等的方法<sup>[9]</sup>, 将完整的杏幼果在暗适应夹中适应 5 min 后, 测定荧光诱导动力学参数, 激发光强为 0.1 μE, 作用光强为 200 μE, 其脉冲光强为 800 μE, 闪光时间为 0.4s, 闪光间隔 10s。测定初始荧光产量( $F_0$ )、最大稳态荧光产量( $F_m$ )、光化学猝灭系数  $q_p$  和非光化学猝灭

系数  $q_N$ 。

试验于 2001 年 5 月在中国农业科学院植物保护研究所国家病虫害防治重点实验室冰核细菌组进行, 试验重复 3 次, 取平均值。

## 2 结果与分析

### 2.1 低温及 INA 细菌处理对杏幼果叶绿体 $F_v/F_0$ 的影响

$F_v/F_0$  代表 PS II 的潜在活性<sup>[10]</sup>。光抑制条件下  $F_v$  ( $F_v = F_m - F_0$ ) 的降低主要是由于  $F_m$  的降低, 而不是  $F_0$  增加的结果(Krause, 1988)。非光化学能量耗散易造成  $F_0$  的降低, 而光合机构被破坏又使其升高, 所以该参数的变化趋势可以反映引起这种变化的内在机制(De mmig 和 Bioork man, 1987)。

方差分析结果表明(表 1), 不同低温处理  $F_v/F_0$  值有不同显著水平, 常温、0℃、-1℃、-2℃与-3℃、-4℃低温处理  $F_v/F_0$  值达极显著水平。随温度下降幼果叶绿体荧光参数  $F_v/F_0$  值下降。温度降至 -4℃时, 未接菌的优一、龙王帽杏幼果  $F_v/F_0$  为对照的 76.27% 和 34.89%, 表明低温胁迫抑制了幼果叶绿体 PS II 的潜在活性。幼果接种 INA 细菌后, 至 -4℃已降为对照的 56.84% 和 6.00%。可见, INA 细菌的存在加剧了低温的破坏作用, 严重抑制 PS II 的潜在活性。无论接菌与否, 品种间  $F_v/F_0$  值差异均达显著水平; 而接菌处理对抗寒性强的优一杏幼果影响不显著, 对抗寒性弱的龙王帽杏幼果的影响达极显著水平。

表 1 低温条件及 INA 细菌处理对叶绿体  $F_v/F_0$  的影响<sup>1)</sup>

Table 1 Effect of low temperature and INA bacteria on  $F_v/F_0$  ratio of chloroplasts of apricot fruit

品种 Cultivars	处理 Treatment	$F_v/F_0$						降幅 Descend (%)	平均 Average
		常温 Common temperature	0℃	-1℃	-2℃	-3℃	-4℃		
优一	CK	4.787	4.591	4.519	4.407	4.358	3.651	23.73	4.386aA
Youyi	INA	4.534	4.443	4.340	3.904	3.366	2.577	43.16	3.860abA
龙王帽	CK	4.534	4.287	4.211	3.970	3.538	1.582	65.11	3.687bA
Longwangmao	INA	4.414	4.179	3.981	2.835	1.259	0.216	95.11	2.814cB
平均值		4.447aA	4.375abA	4.253abA	3.779Ba	3.130cB	2.007dC		
Average									

<sup>1)</sup> 数字后不同大小写字母分别表示差异达 1%、5% 显著水平, 下同

The different capital letters or miniscule indicated discrepancy significance at  $P = 1\%$  or  $P = 5\%$  level. The same as below

低温胁迫下杏幼果  $F_v/F_0$  的下降, 表明低温胁迫使幼果叶绿体 PS II 光化学活性受到抑制, PS II 活

性中心受到损伤, 与不接菌的对照相比, INA 细菌可加剧低温的破坏作用, 使杏幼果受害温度由 -4℃

提高到  $-2 \sim -3\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 而诱发杏幼果的冻害。

## 2.2 低温及 INA 细菌对幼果叶绿体 $F_v/F_m$ 的影响

$F_v/F_m$  是指 PS II 原初光能转化效率。PS II 通过非光化学过程耗散过量光能, 可引起此值的下降。在光抑制中以  $F_v/F_m$  值的下降作为衡量光抑制的指标<sup>[11,12]</sup>。

方差分析表明(表 2), 低温胁迫下杏幼果 PS II 原初光能转化效率  $F_v/F_m$  值呈下降趋势。温度下

降至  $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$  时, 未接菌的杏幼果  $F_v/F_m$  值降幅为  $11.15\% \sim 52.69\%$ , 而接菌后  $F_v/F_m$  值的降幅在  $-3\text{ }^{\circ}\text{C}$  已达  $28.93\% \sim 58.68\%$ 。由表 2 还可看出, INA 细菌对杏幼果  $F_v/F_m$  的影响因品种抗寒性不同而异, 抗寒性强的优一幼果的  $F_v/F_m$  值对照与接菌处理差异不显著, 而抗寒性弱的龙王帽幼果的两处理间差异达显著水平。

表 2 低温条件及 INA 细菌处理对叶绿体  $F_v/F_m$  的影响

Table 2 Effect of low temperature and INA bacteria on  $F_v/F_m$  ratio of chloroplasts of apricot fruit

品种 Cultivars	处理 Treatment	$F_v/F_m$						降幅 Descend (%)	平均 Average
		常温 Common temperature	$0\text{ }^{\circ}\text{C}$	$-1\text{ }^{\circ}\text{C}$	$-2\text{ }^{\circ}\text{C}$	$-3\text{ }^{\circ}\text{C}$	$-4\text{ }^{\circ}\text{C}$		
优一	CK	0.915	0.857	0.839	0.815	0.813	0.785	11.15	0.836aA
Youyi	INA	0.847	0.830	0.813	0.796	0.632	0.501	40.85	0.732abA
龙王帽	CK	0.827	0.801	0.799	0.780	0.662	0.383	52.69	0.709bB
Longwangmao	INA	0.818	0.814	0.789	0.739	0.338	0.119	85.45	0.603cC
平均值 Average		0.852aA	0.826aA	0.810aA	0.783aA	0.611Bb	0.448cC		

由表 2 还可看出, 经 INA 处理的幼果其叶绿体  $F_v/F_m$  值均比未接菌对照低, 说明 INA 细菌降低了杏幼果叶绿体 PS II 原初光能转化效率。INA 细菌在  $-2 \sim -3\text{ }^{\circ}\text{C}$  范围内对各品种  $F_v/F_m$  值影响较大, 表明在此温度范围 INA 细菌活性强, 杏果霜冻害程度加重。

## 2.3 杏幼果的荧光猝灭分析

### 2.3.1 低温及 INA 细菌对杏幼果 $q_P$ 的影响

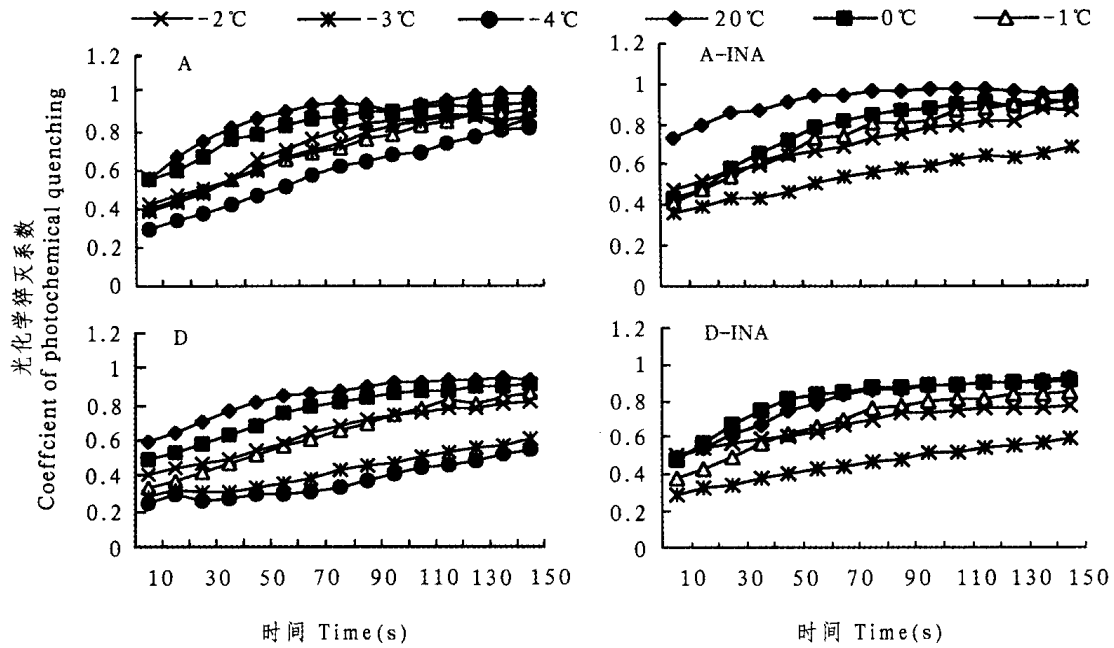
光化学猝灭是指由光合作用的光化学反应引起的荧光水平的降低。其猝灭系数  $q_P$  反映 PS II 天线色素吸收的光能用于光化学电子传递的份额, 是  $Q_A$  氧化态的一种量度, 即  $q_P$  愈大,  $Q_A$  重新氧化形成  $Q_A$  的量愈大, 则 PS II 的电子传递活性愈大<sup>[13-15]</sup>。

试验结果如图 1 所示, 随温度降低, 稳态时光化学猝灭系数  $q_P$  逐渐下降。以龙王帽为例,  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$  时未接菌幼果  $q_P$  下降  $2.89\%$ ,  $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$  时  $q_P$  下降  $44.65\%$ , 接种 INA 细菌后, 幼果在  $-3\text{ }^{\circ}\text{C}$  时光化学猝灭系数下降  $35.51\%$ 。表明低温胁迫及 INA 细菌处理降低了杏幼果 PS II 反应中心开放部分的比例, 增加其关闭部分的比例, 因关闭部分的 PS II 反应中心不能进行稳定电荷分离, 从而抑制幼果 PS II 光合电子传递能力。而植物在进行光合作用时, 电子传递总是与光合磷酸化相偶联, 形成碳素同化合成有

机物质的能量—ATP。非循环式的电子传递链以 NADP 接受 Z 链电子, 而还原成碳水化合物所需的还原力—NADPH。可见低温胁迫下 PS II 光合电子传递能力的受抑, 会限制为光合碳同化提供更充足的 ATP 和 NADPH, 进而抑制幼果的发育, 严重时将导致果实死亡。由此可见, INA 细菌的存在可加剧低温破坏程度, 使幼果的受害温度由  $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$  提高到  $-2 \sim -3\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 从而加剧光合系统受损。

### 2.3.2 低温及 INA 细菌处理对杏幼果 $q_N$ 的影响

非光化学猝灭是指由热耗散等过程引起的荧光水平的降低, 其系数  $q_N$  反映的是 PS II 天线色素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<sup>[1,15]</sup>。图 2 为非光化学猝灭系数  $q_N$  在低温及 INA 细菌影响下, 随光诱导的时间变化进程。 $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$  的稳态时, 优一和龙王帽幼果  $q_N$  值比对照增加  $35.62\%$  和  $50.68\%$ , 说明低温增加了幼果对非光化学能量的耗散, 降低光化学猝灭能力。2 个杏品种接种 INA 细菌后, 幼果在  $-3\text{ }^{\circ}\text{C}$  下稳态时  $q_N$  值分别比对照增加  $51.9\%$  和  $99.1\%$ 。说明 INA 细菌加剧低温对光化学能量的耗散, 使杏幼果不能充分利用所捕获的光能并用于光合作用。综合图 1、图 2 的结果可以看出, 非光化学猝灭系数较光化学猝灭系数对低温及 INA 细菌反应敏感, 可作为研究杏抗寒性的一个敏感指标。



A:优一 Youyi; D:龙王帽 Longwangmao, 下同, The same as below  
 图 1 低温及 INA 细菌对杏幼果光化学猝灭系数 qP 的影响

Fig.1 Photochemical quenching of chlorophyll fluorescence in fruits of apricot low temperature and INA bacteria

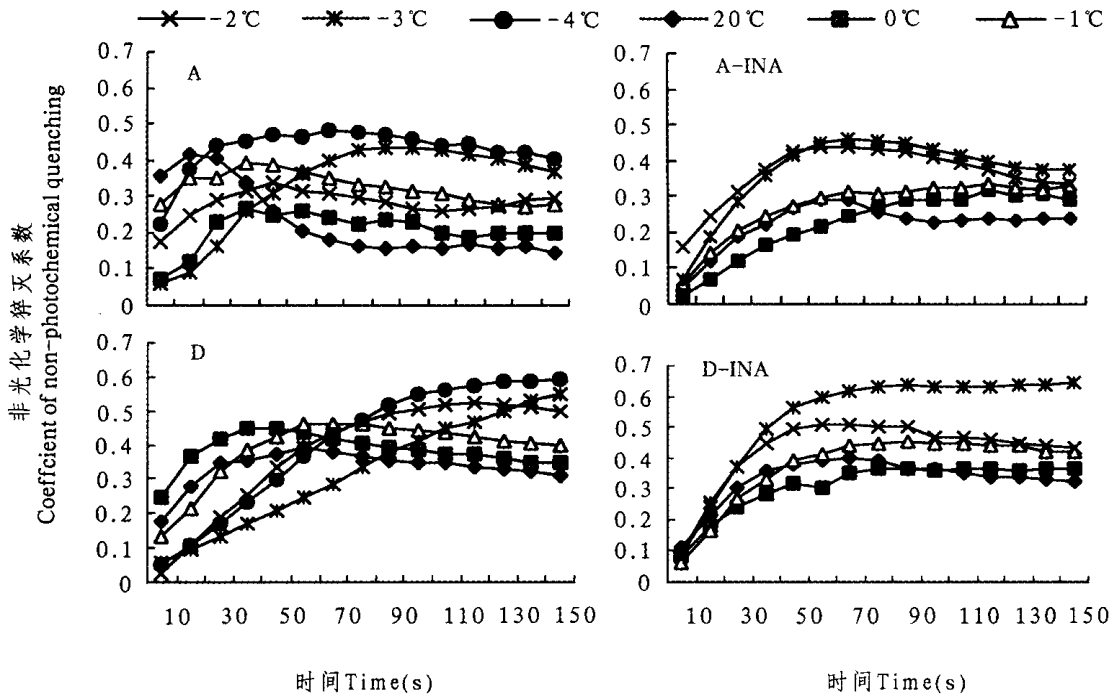


图 2 低温及 INA 细菌对杏幼果非光化学猝灭系数 qN 的影响

Fig.2 Non-photochemical quenching of chlorophyll fluorescence in fruits of apricot under low temperature and INA bacteria

### 3 结论

低温胁迫降低了杏幼果 PS II 潜在活性 ( $F_v/F_o$ ) 和原初光能转化效率 ( $F_v/F_m$ ), 降低了荧光光化学猝灭系数  $qP$ , 提高了荧光非光化学猝灭系数  $qN$ 。

造成杏幼果 PS II 活性中心受损, 使杏幼果光合电子传递受阻, 量子产额下降, 推动碳同化循环的 ATP/NADPH 比例的失调,  $CO_2$  同化速率下降, 从而影响了杏幼果正常的光合作用。

除低温胁迫外, 杏幼果 PS II 活性中心受损程度

因杏品种不同而异,在相同的低温胁迫条件下,优一品种的叶绿体受损程度明显较龙王帽轻。另外,幼果的大小也影响 PS II 受损程度,表现为幼果越大受害程度越轻。

在低温胁迫条件下,INA 细菌的存在加剧了低温对 PS II 反应中心的破坏程度,使 PS II 反应中心受损严重。对照杏幼果在 -4℃ 之前,PS II 活性中心未受到伤害,接种 INA 细菌处理在 -2 ~ -3℃ 左右 PS II 活性中心遭受严重伤害,使受害温度提高了 1 ~ 2℃,表明 INA 细菌能在较高的温度下使幼果细胞膜遭到破坏,进而降低了叶绿素的活性。INA 细菌是诱发和加重杏幼果冻害的重要因素。

该研究结果为进一步研究用化学、物理或生防方法防治 INA 细菌以减轻或控制杏幼果冻害提供了科学理论依据。

研究中发现,试验中杏幼果的大小差异对叶绿素荧光参数影响很大,为了保证实验结果能准确反映幼果受害的实际情况,在以后对幼果叶绿素荧光参数进行研究时,应注意取材部位、方向和幼果大小的一致,以保证实验结果的准确性。

## References

- [ 1 ] Lin S H, Xu C H, Zhang Q D. The apply of chlorophyll a fluorescence induction kinetics to plant cold resistance physiology, ecology and modern agriculture. *Chinese Bulletin of Botany*, 1992, 9(1) : 1 - 16. (in Chinese)  
林世青, 许春辉, 张其德. 叶绿体荧光动力学在植物抗性生理学、生态学和农业现代化中的应用. *植物学通报*, 1992, 9(1) : 1 - 16.
- [ 2 ] Liu J Y, Yi Y J, Zhang Q D. Effects of salt stress on chlorophyll a fluorescence induction kinetics in wheat leaves with different salt tolerance. *Chinese Bulletin of Botany*, 1998, 15(2) : 46 - 49. (in Chinese)  
刘家尧, 衣艳君, 张其德. 盐胁迫对不同抗盐性小麦叶片荧光诱导动力学的影响. *植物学报*, 1998, 15(2) : 46 - 49.
- [ 3 ] Wang F, Chen D W, Li J R. A study on the hardness of flower organ of apricot varieties. *Acta Horticulturae Sinica*, 1995, 15(2) : 133 - 137. (in Chinese)  
王 飞, 陈登文, 李嘉瑞. 杏花及幼果的抗寒性研究. *西北植物学报*, 1995, 15(2) : 133 - 137.
- [ 4 ] Wang S Q, Guo S J. Investigation of apricot cold resistance. *Northern Horticulturae*, 1994, (2) : 48. (in Chinese)  
王士谦, 郭士军. 关于杏树抗寒调查. *北方园艺*, 1994, (2) : 48.
- [ 5 ] Sun F Z. The research progress on biological nucleation of *Chirna*, *Scientia Agricultura Sinica*, 1996, 29(5) : 62 - 68. (in Chinese)  
孙福在. 我国生物冰核研究进展. *中国农业科学*, 1996, 29(5) : 62 - 68.
- [ 6 ] Sun F Z, Zhu H, He L Y. Factors on the effect of ice nucleation active. *Scientia Agricultura Sinica*, 1991, 24(3) : 57 - 64. (in Chinese)  
孙福在, 朱 红, 何礼远. 影响冰核细菌成冰活性的因素研究. *中国农业科学*, 1991, 24(3) : 57 - 64.
- [ 7 ] Sun F Z, Zhao T C, Yang J M, Cao X Y, Tang C R, Meng Q R. Species of ice nucleation active bacteria on the apricot and the relationship between their activity and flower frost. *Scientia Agricultura Sinica*, 2000, 33(6) : 50 - 58. (in Chinese)  
孙福在, 赵廷昌, 杨建民, 曹晓宇, 唐朝荣, 孟庆瑞. 杏树上冰核细菌种类及其冰核活性与杏花霜冻关系的研究. *中国农业科学*, 2000, 33(6) : 50 - 58.
- [ 8 ] Sun F Z, Xing W, Zhang Y X. The preliminary study on the applying of ice nucleation active bacteria to the killing of long-horned beetle. *Forestry Science Research*, 1997, 24(3) : 17. (in Chinese)  
孙福在, 邢 炜, 张永祥. 冰核细菌对光肩星天牛促杀虫初步研究. *林业科学研究*, 1997, 24(3) : 17.
- [ 9 ] Van Kooten O, Snel J F H. The use of chlorophyll fluorescence nomenclature in plant stress physiology. *Photosyn. Res.* 1990, 25 : 147 - 150.
- [ 10 ] Zhang Q D, Lu C M, Feng L J. Effect of elevated CO<sub>2</sub> on the primary conversion of light energy of alfalfa photosynthesis. *Acta Botanica Sinica*, 1996, 38(1) : 77 - 82. (in Chinese)  
张其德, 卢从明, 冯丽洁. CO<sub>2</sub> 加富对紫花苜蓿光合作用原初光能转换的影响. *植物学报*, 1996, 38(1) : 77 - 82.
- [ 11 ] Zhang S R. A discussion on chlorophyll fluorescence kinetics parameters and their significance. *Chinese Bulletin of Botany*, 1999, 16(4) : 444 - 448. (in Chinese)  
张守仁. 叶绿素荧光动力学参数的意义及讨论. *植物学通报*, 1999, 16(4) : 444 - 448.
- [ 12 ] Luo J, Zhang M Q, Lin Y Q. Chlorophyll fluorescence parameters, MDA content and plasma membrane permeability in sugarcane and their relation to drought tolerance. *Journal of Fujian Agriculture University*, 1999, 28(3) : 257 - 262. (in Chinese)  
罗 俊, 张木清, 林彦轻. 甘蔗叶绿体荧光动力学参数、MDA 含量及膜透性与耐旱性的关系. *福建农业大学学报*, 1999, 28(3) : 257 - 262.
- [ 13 ] Hunter N P A, Oquist G, Hurry V M. Photosynthesis, photoinhibition and low temperature acclimation in cold tolerant plants. *Photosyn. Res.* 1993, 37 : 19.
- [ 14 ] Krause G H, Weis E. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis. Basics. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant. Mol. Biol.* 1991, 42 : 313.
- [ 15 ] Long S P, East T M, Baker N R. Chilling damage to photosynthesis in young. *Zea mays. Exp. Bot.* 1983, 34 : 177.