

用叶绿素荧光分析技术鉴定植物抗寒性的剖析

周蕴薇^{1,2} 刘艳萍² 戴思兰^{1,*}

¹北京林业大学园林学院, 北京 100083; ²东北林业大学园林学院, 哈尔滨 150040

Identification of Cold Resistant Plants by Chlorophyll Fluorescence Analysis Technique

ZHOU Yun-Wei^{1,2}, LIU Yan-Ping², DAI Si-Lan^{1,*}

¹College of Landscape Architecture, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China; ²College of Landscape Architecture, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China

提要 在分析叶绿素荧光技术原理的基础上, 从低温条件下叶绿素荧光参数的变化与处理温度、季节的关系、叶绿素荧光参数的变化与其它抗寒指标的相关性以及可用于筛选与鉴定抗寒植物的荧光参数3个方面介绍这一技术在抗寒植物筛选与鉴定中的应用现状, 并指出这一技术的可取之处和存在问题。

关键词 叶绿素荧光; 抗寒植物; 筛选; 鉴定

低温不仅限制作物产量, 而且影响栽培植物的分布。抗寒育种在农业和林业中都具有重要意义, 一直备受关注。在引种和培育抗寒品种过程中, 确立评价植物抗寒性的方法是其中的重要环节。电导率法、组织褐变法和 2, 3, 5- 氯化三苯基四氮唑(2, 3, 5-triphenyl-2H-tetrazoliumchloride, TTC) 还原法是植物抗寒性鉴定中常用的方法。由于这些生化指标的测定步骤比较繁琐, 而且会对植物造成伤害, 所以不适合作为珍贵苗木的早期筛选和大量苗木的快速鉴定技术。近年来, 叶绿素荧光技术在植物抗逆性的研究领域逐渐增多, 在植物抗冷性、抗冻性方面也显示出良好的应用前景。目前, 这一技术已在水稻(李平等 1995)和花旗松(Rose和Haase 2002)等植物抗寒性及鉴定抗寒品种中得到应用。本文介绍抗寒研究中常用的叶绿素荧光参数, 并对这一技术在筛选和鉴定抗寒植物中的应用进行讨论, 指出荧光技术在抗寒领域中应用的优势与不足。

1 叶绿素荧光诱导和抗寒性研究中的常用参数

叶绿素荧光是指叶绿素分子吸收光子由受激态通过再发射而产生的一种主要光信号(陈贻竹等 1995)。在正常的生理温度条件下, 叶片所发射的荧光大部分来自PS II 中的叶绿素a (Krause和Weis 1991)。光合机构中叶绿素吸收的光能主要有推动光合作用、转变成热散失和以荧光形式发

射出来这样 3 个可能去向, 由于这三者之间存在此消彼长的竞争关系, 所以, 通过荧光变化可以探测光合作用和热耗散的情况(Bradbury和Baker 1984)。

荧光产量变化主要决定于PS II 反应中心(response center, RC)的开放率, 而RC能否俘获受光激发的聚光色素分子则决定于PS II 原初电子受体——初级醌受体(Q_A)的氧化还原状态。氧化态 Q_A 是荧光猝灭剂, 当 Q_A 全部处于氧化态时, 荧光产量最小; Q_A 全部处于还原状态时, RC呈关闭状态, 此时荧光产量最大(刘家尧等 1997)。

在荧光分析中, 最常用的基本荧光参数是初始荧光(F_0)、最大荧光产量(F_m)、可变荧光(F_v)、最大光化学效率(F_v/F_m)、光化学猝灭系数(q_p)、非光化学猝灭系数(q_N 和NPQ)。这里, F_0 为已经暗适应的光合机构PS II 反应中心全部开放时的荧光强度, 它与激发光的强度和叶绿素浓度有关, 而与光合作用的光反应无关。 F_m 为充分暗适应后的最大荧光, 是已经暗适应的光合机构PS II 反应中心全部关闭时的荧光强度。 F_v 为荧光的可变部分, 受 Q_A 还原程度和其它可能耗散能量的途径等

收稿 2006-07-17 修定 2006-09-06

资助 国家林业局“948”项目(2001-24)。

*通讯作者(E-mail: silandai@sina.com.cn, Tel: 010-62338313)。

诸因素的影响, 是反映 Q_A 还原情况的, 故而是一个不易确定的参数。如果在 F_0 之后用强饱和光 (PFD > 3 000 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) 激发样品, 使所有的 Q_A 还原, 荧光产量达最大值 F_m 。此时, PS II 处于全关闭状态, $F_m - F_0 = F_v$ 为最大可变荧光 (陈贻竹等 1995)。

F_v/F_m 是表明光化学反应状况的一个重要参数, 反映 PS II 反应中心的最大光能转换效率, 在实际应用中两个意义。第一, 它表征黑暗适应健康植株叶片中 PS II 的量子效率或潜在的量子产量, 通常用 F_v/F_m (暗或 dark) 表示。这种情况下, F_v/F_m 最大值的获得必须满足一个条件, 即叶片的黑暗适应时间应足够长。只有满足了这个条件, PS II 中所有的 Q_A 都处于氧化态, 在 F_0 之后用饱和脉冲测定得到的 F_m 才为最大 (此时的 Q_A 全部被还原), 据此计算出的 F_v/F_m 就是最大值。如果受测定叶片的暗适应时间不充分, 只有部分 Q_A 被氧化, 则 F_v/F_m 就不是最大值。有报道表明, 通常在叶片暗适应 20 min 后测得的是 F_v/F_m 的最大值 (许大全等 1992)。另外, F_v/F_m 也是表征健康植物叶片的指标。在非胁迫条件下, F_v/F_m 的变化极小, 不受物种和生长条件的影响, 多种植物 (C_3 和 PAM 植物) 的这一效率值在 0.8 左右, 但在逆境条件下, 植物受到胁迫或由于某种原因猝灭了荧光, 这一效率值 (0.8) 就明显下降 (Björkman 和 Demmig 1987)。第二, F_v/F_m 表示植物在自然状态下是否受到光抑制或其他胁迫。常用的方法是将叶片暗处理 10 min 左右, 以弛豫 (恢复) 能量猝灭 (q_E) 和能量传递 (q_T), 然后测定光抑制 (q_I)。 q_E 和 PS II 及 PS I 之间的 q_T 在短时间的黑暗之内即可以弛豫, 而由于某些原因引起的 q_I 就可以测出来。 F_v/F_m 的日变化 (全光照的天气下进行) 可用来表示这种植物在自然光照下光合作用发生下调的情况。为了区别 F_v/F_m (暗或 dark), 一般用 F_v/F_m (光或 light) 表示。

q_N 和 NPQ 是 PS II 天线色素吸收的不能用于光合电子传递而以热形式耗散掉的光能部分, 它是一种自我保护机制, 对光合机构起一定的保护作用。 q_N 和 NPQ 的变化都反映热耗散的变化, 但

是 NPQ 比 q_N 能更准确地反映无性系的非光化学猝灭的情况 (陈建明等 2006)。 q_P 和 q_N 这 2 个参数是在恒定的稳态光照强度下的值, 不同光照强度下此值是不同的。如果是在不同光环境下和不同的光累积时间后测定, 其结果不能进行比较。一般 q_P 和 q_N 值在 0~1 之间变化。NPQ 是大于 1 的, 但其测定也要注意条件。

叶绿素荧光参数受低温影响。根据 F_0 变化可以推断反应中心的状况。低温等逆境条件下, F_0 的降低是 PS II 的热耗散增加所致, F_0 的增加表明 PS II 反应中心已受到不可逆转的失活或破坏 (Demmig 和 Björkman 1987), 但也有实验表明 F_0 的短期升高, 并不是 PS II 反应中心不可逆转的失活或破坏的实例 (Xu 和 Wu 1996)。低温下, PS II 光化学效率下降, F_v/F_m 值降低。Hegedüs 等 (2004) 在研究转基因烟草的抗寒性时发现, 不论是转基因烟草还是野生烟草, 在 0°C 低温条件下处理 3 d 后, F_v/F_m 均会下降, 但转基因烟草的 F_v/F_m 值高于野生烟草, 这表明转基因烟草对低温有一定的抗性。低温逆境条件下, PS II 反应中心的光化学伤害可引起 F_v/F_m 的下降, 并伴随 F_0 的上升; 低温逆境条件下引起的保护性的能量耗散过程 (如叶黄素循环运转加强而提高热耗散) 可导致 F_v/F_m 下降, 并伴随 F_0 的下降。郭延平等 (1998) 研究低温胁迫对温州蜜柑光合作用的影响时发现, 3°C 的低温引起叶绿素荧光参数 F_0 的上升和 F_v/F_m 的下降, 这反映低温已经对 PS II 反应中心造成了光化学伤害, 因而 PS II 光化学效率下降。他在研究温州蜜柑叶绿素荧光对低温响应的实验中, 也证明叶绿素荧光参数受低温影响, 室外自然低温处理盆栽温州蜜柑苗 2 d (最高温度 14.5°C, 最低温度为 -3.5°C, 其中 0°C 以下 30 h) 和 7 d (最高温度 14.5°C, 最低温度 -4.0°C, 其中 0°C 以下 72 h) 后, F_v/F_m 显著下降, F_0 显著升高 (郭延平等 2000)。

低温下, 光抑制对叶绿素荧光参数有更为显著的影响。光抑制是由于光合机构吸收了超过光合作用所能利用的光能而引起的 PS II 过量激发 (许大全等 1992; Demmig-Adams 和 Adams III 1992; 郭连旺和许大全 1994)。关于低温光抑制的发生机

制和低温光抑制中低温与光的关系, 刘鹏等(2001)曾作过专门论述。低温削弱植物通过光合作用利用光能的能力, 造成光能过剩, 抑制叶黄素循环参与的非光化能量耗散或抑制蛋白修复循环(Hart和Stemler 1990), 从而提高植物对光抑制的敏感性(Owuist等1992), 因此, 植物通过光合的光抑制在低温下更容易发生。李平等(1995)在研究低温对水稻离体剑叶叶绿素荧光的影响时发现, 离体剑叶在黑暗下经1℃处理8 h与未经处理的比较, 2个品种水稻的荧光参数 F_o 、 F_v 、 F_v/F_m 均未发生显著变化; 而在250 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 光照强度下, 以1℃处理5和24 h, 会明显引起 F_o 上升和 F_v 、 F_v/F_m 下降, 并且这种变化随着胁迫时间的延长而加剧。这表明2个品种水稻都产生了低温诱导下的光抑制, 因此, 对PS II反应中心造成光化学伤害。

最近有人发现, 低温逆境下产生的光抑制不仅仅是PS II受伤害的一种表现形式, 而且还可能是光合机构防御伤害的一种保护方式(Somersalo和Krause 1990; Huner等1993)。 F_v/F_m 是植物发生光抑制的敏感指标(Björkman和Demmig 1987), 但其比值的下降, 既可能是PS II反应中心的光化学伤害的结果, 也可能是光保护反应即非光化学能量耗散的结果, 因此, 对此种测定结果应做进一步分析。如果在低温诱导的光抑制下降低的 F_v/F_m 比值可以迅速恢复, 则这种降低主要是因为光保护反应所致(Bilger和Björkman 1991)。另外, 还可以结合荧光猝灭进行分析, 即分析植物在低温胁迫下的能量耗散方式和能力, 这可以通过 q_p 、 q_N 和NPQ的变化来检测。低温有可能导致 q_p 的降低, 同时发生 q_N 和NPQ的升高, q_N 和NPQ的升高表明非光化学能量耗散的加强, 暗示植物已启动了光保护反应以避免过量光伤害; 而在低温光照下, 如果光合机构的 q_p 和 q_N 都受到抑制时, 表明已产生了较严重的过量光伤害。

2 叶绿素荧光技术在抗寒植物筛选和鉴定中的应用

2.1 低温条件下叶绿素荧光参数变化及其与处理温度和季节的关系

低温胁迫下, 叶绿素荧光参数变

化与处理温度有关, 田间应用还与季节有关。Rose和Haase(2002)根据花旗松(*Pseudotsuga menziesii*)的叶绿素荧光特性和植物组织的变化对冰冻的响应结果认为, 冰冻条件下, 植物叶绿素荧光变化与形态伤害有联系; 但在非冰冻温度下, 叶绿素荧光与低温半致死温度 LT_{50} (即50%植物受害的温度)并无明显关系。胡文海和喻景权(2001)也证实低温胁迫下叶绿素荧光参数变化与处理温度有关, 并通过测定不同低温条件下叶绿素荧光参数变化来探明光合机构受影响的部位。他们以10℃低温处理番茄植株8 d后, PS II的光化学效率 F_v/F_m 并无显著变化, PS II光合电子传递量子效率 $\Phi_{PS II}$ 在低温处理后期略有下降并能迅速恢复; 5℃处理8 d下, F_v/F_m 和 $\Phi_{PS II}$ 均随处理时间的延长而降低, 且需恢复4 d后才回升至对照水平。说明10℃低温胁迫对番茄植株的光合机构未造成伤害, 只是抑制了生长, 胁迫一经解除即可恢复正常生长; 而5℃低温则导致光合机构的部分失活或破坏, 限制光合碳代谢的电子供应, 从而抑制光合作用, 并且这种伤害须经一定时间后才能恢复。光化学猝灭受温度的影响也较大。李晓萍等(1996)用50% Q_A 被还原时所需的随着温度而变化的光照强度来度量温度对黄瓜幼苗的光化学猝灭的影响, 结果表明, 随着温度的下降(26、12和4℃), Q_A 还原50%所需光强有不同程度的下降(分别为404、115和20 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)。说明处理温度不同, 光化学猝灭能力有比较显著的差异, 也就是说, 黄瓜幼苗在低温下, 通过光化学反应利用光能的能力随处理温度的不同而不同。赵会杰等(2000)将叶绿素荧光技术应用于田间, 检测和比较了6个已知其抗冻性顺序的冬小麦品种在自然条件下越冬过程中的叶绿素荧光动力学变化, 发现只有经过冬季低温锻炼, 不同品种之间抗冻性的差别才能在荧光动力学上有规律地表现出来; 到了翌年春季小麦开始返青时, 不同品种之间的荧光动力学曲线差异最显著。

2.2 低温条件下叶绿素荧光参数变化与其他抗寒指标的相关性

有实验表明, 低温条件下的叶绿素荧光参数变化与可见伤害症状及其他抗寒指标有相关

性。Perks等(2004)用叶绿素荧光技术检测花旗松的冻害情况时,将离体植物材料进行冰冻和暗处理后测量针叶荧光参数变化的结果表明, F_v/F_m 变化与针叶的伤害和存活率呈线性关系。他们根据 F_v/F_m 数据还建立了低温半致死温度 LT_{50} 与 F_v/F_m 的对应关系,并以此预测其抗寒性,这种方法与田间视觉预测的方法只有 $0\sim 1.8^\circ\text{C}$ 的差异。郭延平等(1998)采用叶绿素荧光技术鉴定植物的低温伤害时,发现用 F_0 和 F_v/F_m 变化的对应温度与植株有20%叶片出现伤害症状时的温度评价植物低温伤害的差异只有 3.0°C ,说明这2个抗寒指标之间的相关性是显而易见的。Ying等(2000)研究夜间低温对短季玉米(*Zea mays*)品系('Pride 5'、'Pioneer 3902'、'Cargill 1877')叶片光合作用的影响时发现,小满期间(玉米处于生长后期——抽穗后6周)冷处理(4°C , $17:00\sim$ 次日 $9:00$)后,玉米品系叶片的碳交换率(carbon exchange rate, CER)值存在差异,冷胁迫环境下玉米叶片CER值的降低与叶片叶绿素荧光参数 F_v/F_m 的减少存在显著的线性关系,于是他们认为, F_v/F_m 可以用作筛选耐冷性玉米的指标。有学者认为,叶绿素荧光参数 F_v/F_m 与电解质渗漏率负相关,也可作为鉴定植物抗寒性的另一种指标(Gilles和Binder 1997; 樊治成等1999)。以上的研究表明,低温处理后,部分叶绿素荧光参数变化与植物伤害症状、电解质渗漏率、碳交换率等抗寒指标都有一定的相关性,这表明部分荧光参数也可以作为抗寒指标,因而叶绿素荧光技术似也可用于鉴定植物的抗寒性。

2.3 用于筛选与鉴定抗寒植物的叶绿素荧光参数

在叶绿素荧光技术用于筛选和鉴定抗寒植物的过程中,采用的叶绿素荧光参数指标有所不同。澳大利亚的Smillie和Hetherington(1983)是最早将叶绿素荧光技术用于检测植物抗寒性的。他们将待测植物叶片在黑暗下放置1 h后,置于暗绿光下,以 0°C 处理不同时间后,再在该条件下快速测定其叶绿素荧光,他们根据测到的结果认为,样品叶绿素荧光最大上升速率(F_r , 实际是可变荧光最大上升速度)下降为未经 0°C 处理的50%时所需的 0°C 处理时间,可作为植物抗寒性的相对度量指

标。这个方法在鉴别菜豆、黄瓜、甘蓝的抗寒性中获得成功,也在亲缘关系很近的植物——酸橙(*Citrus aurantifolia*)、柚子(*C. paradisi* cv. Thompson)、中国柑桔(*C. reticulata* cv. Allen 'Unshii')和金橘(*Fortunella japonica*)的抗寒性中取得了满意的结果。叶绿素荧光参数 F_r 能在几秒钟内获得,并且测定的叶片样品数量较大时,所有的信号都能够用计算机存储和处理,且快捷、方便,因此他们认为,这种方法适合应用于植物生理和植物育种时的抗寒植物筛选。

F_v/F_m 是植物抗寒性的主要敏感指标,已经用于玉米(Ying等2000)、花旗松(Perks等2004)、长豇豆(李国景等2005)等许多种植物的抗寒性鉴定中。也有研究表明, F_v/F_m 的恢复值也可用于植物抗寒性的鉴定。陈贻竹等(1990)根据他们研究抗冷性水稻的结果认为,低温光抑制下,降低了的 F_v/F_m 比值恢复程度可以作为鉴定不同品种水稻抗冷性的指标。后来,李平等(2000)在不同抗冷性的水稻叶片低温诱导的光抑制的研究中进一步证实了他们的看法:以幼苗经低温处理后的存活率和生育后期低温对结实率的影响鉴定出的水稻抗冷性的差异,与其叶片受光抑制后 F_v/F_m 比值降低的程度不一致,而与解除光抑制后此值恢复的水平相一致。 F_v/F_m 的恢复值除了可以作为鉴定水稻耐冷性的指标外,对于西葫芦抗寒性的鉴定同样也是可行的(樊治成等1999)。

王可玢等(1996)认为, F_v/F_0 是鉴定番茄抗寒性的一个可靠的方法。他们研究了冷害温度对不同抗寒性品种的番茄叶片的体内叶绿素a荧光诱导动力学曲线的影响,实验结果表明,在苗期和开花期的番茄叶片以低温处理($8、5、2^\circ\text{C}$ 下,暗中24 h)后,其体内叶绿素a荧光诱导动力学曲线有明显改变, F_v/F_0 值降低,其叶绿素a荧光诱导动力学曲线和 F_v/F_0 值降低的程度与该品种的抗冷性之间呈现较好的相关性。Lootens等(2004)将荧光参数 F_v/F_0 应用于玉米的抗寒性鉴定时观察到,低温胁迫对导致不同耐寒能力玉米品种之间的 F_v/F_0 降低程度有显著差异:早期生长活力不强的品种'Ardiles'和'Banguy'分别下降45.5%和40.2%,

早期生长活力强的品种‘Fjord’和‘Magister’分别下降36.3%和35.9%。因此他认为, F_v/F_o 可以用来鉴定品种抗寒性。

3 结语

尽管鉴定植物耐寒性的方法较多,但由于症状常是寒害的晚期表现,较难估测,另外,生理生化分析只能满足少量样品的研究,且样品筛选时太费时间,所以用这些方法定量地评价低温对植物的影响仍是较为困难的。而叶绿素所发出的荧光信号包含着丰富的光合作用信息,且对低温等胁迫产生的细胞伤害较为敏感,不具有破坏性,有可能成为珍贵苗木抗寒性筛选与鉴定的有效技术。

从已有的报道来看,人工低温处理和自然越冬条件下,随处理温度变化而发生规律性变化的叶绿素荧光参数很多,部分参数在植物抗寒性筛选与鉴定中已有所应用。但迄今还没有一个叶绿素荧光参数可以有效地检验所有植物的抗寒能力的。植物的抗寒力不同,叶绿素荧光响应的临界温度也有所不同。当低温不足以引起叶绿素荧光参数发生变化时,这一技术很难准确衡量植物的抗寒性。因此,在筛选抗寒品种时应考虑植物种类、低温处理方式、处理温度等因素。低温处理时,叶绿素荧光参数的变化与植物的抗寒指标之间有一定的相关性,通过分析某一叶绿素荧光参数变化与抗寒的生理生化指标的相关性,有可能较准确地确定用作筛选和鉴定某种植物抗寒性的荧光生理指标。在已有的研究中, F_R 、 F_v/F_m 、 F_v/F_m 的恢复值、 F_v/F_o 和 F_o 都曾被作为不同植物的抗寒指标,但只局限于 F_v/F_m 和 F_o 两项指标的变化与其他抗寒指标的相关性分析,而对同一种植物不同指标之间抗寒性鉴定结果的可靠性并未作横向比较,从而导致叶绿素荧光参数指标鉴定抗寒性的不确定性。在抗寒植物的筛选与鉴定中,迄今也未见到叶绿素荧光和气体交换同时作测定的报道,如果二者能同步进行,则将能增加荧光技术的可靠性。

叶绿素荧光技术经历了非调制荧光和调制荧光的发展阶段,一直是研究光合作用原初过程和

检测植物对环境胁迫反应的有力工具。近年来又研制出一种叶绿素荧光叶室,这样,叶绿素荧光与气体交换可以同步测量,这一技术又进一步得到了完善。相信,今后随着叶绿素荧光技术的发展和人们对低温诱导的叶绿素荧光变化的深入研究,叶绿素荧光技术将会在筛选和鉴定植物抗寒性中发挥更大的作用。

参考文献

- 陈建明, 俞晓平, 程家安(2006). 叶绿素荧光动力学及其在植物逆境生理研究中的应用. 浙江农业学报, 18 (1): 51~55
- 陈贻竹, 李晓萍, 夏丽, 郭俊彦(1995). 叶绿素荧光技术在植物环境胁迫研究中的应用. 热带亚热带植物学报, 3 (4): 79~86
- 陈贻竹, 刘鸿先, 郭俊彦(1990). 用叶绿素荧光估价水稻的耐冷力. 见: 中国科学院华南植物研究所编. 中国科学院华南植物研究所集刊(第6集). 北京: 科学出版社, 122~131
- 樊治成, 贾洪玉, 郭洪芸, 杨梁(1999). 西葫芦耐冷性生理指标研究. 园艺学报, 26 (5): 309~313
- 郭连旺, 许大全(1994). 自然条件下珊瑚树叶片光合作用的光抑制. 植物生理学报, 20 (1): 46~54
- 郭延平, 张良诚, 洪双松, 沈允钢(2000). 温州蜜柑叶片气体交换和叶绿素荧光对低温的响应. 植物生理学报, 26 (2): 88~94
- 郭延平, 张良诚, 沈允钢(1998). 低温胁迫对温州蜜柑光合作用的影响. 园艺学报, 25 (2): 111~116
- 胡文海, 喻景权(2001). 低温弱光对番茄叶片光合作用和叶绿素荧光参数的影响. 园艺学报, 28 (1): 41~46
- 李国景, 刘永华, 吴晓花, 汪宝根, 鲁忠富(2005). 长豇豆品种耐低温弱光性和叶绿素荧光参数等的关系. 浙江农业学报, 17 (6): 359~362
- 李平, 李晓萍, 陈贻竹(1995). 光温对不同抗冷力的籼稻抽穗期剑叶叶绿素荧光的影响. 中国水稻科学, 9 (2): 97~102
- 李平, 李晓萍, 陈贻竹, 刘鸿先(2000). 低温光抑制胁迫对不同抗冷性的籼稻抽穗期剑叶叶绿素荧光的影响. 中国水稻科学, 14 (2): 88~92
- 李晓萍, 陈贻竹, 李平, 郭俊彦(1996). 黄瓜幼苗的冷锻炼与低温引起的光抑制. 植物生理学报, 22 (1): 101~104
- 刘家尧, 衣艳君, 张承德, 闫志佩(1997). 活体叶绿素荧光诱导动力学及其在植物抗盐生理研究中的应用. 曲阜师范大学学报, 23 (4): 80~83
- 刘鹏, 孟庆伟, 赵世杰(2001). 冷敏感植物的低温光抑制及其生化保护机制. 植物生理学通讯, 37 (1): 76~82
- 王可玢, 赵福洪, 王孝宣, 李树德(1996). 用体内叶绿素a荧光动力学鉴定番茄的抗冷性. 植物学通报, 13 (2): 29~33
- 许大全, 张玉忠, 张荣铤(1992). 植物光合作用的光抑制. 植物生理学通讯, 28 (4): 237~243

- 张教林, 曹坤芳(2003). 夜间低温对2种热带雨林树种幼苗叶绿素荧光的影响. 武汉植物学研究, 21 (4): 356~360
- 赵会杰, 邹琦, 于振文(2000). 叶绿素荧光分析技术及其在植物光合机理研究中的应用. 河南农业大学学报, 34 (3): 248~251
- Bilger W, Björkman O (1991). Temperature dependence of violaxanthin de-epoxidation and non-photochemical fluorescence quenching in intact leaves of *Gossypium hirsutum* L. and *Malva parviflora* L. *Planta*, 184 (2): 226~243
- Björkman O, Demmig B (1987). Photon yield of O₂ evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77K among vascular plants of diverse origins. *Planta*, 170 (4): 489~504
- Bradbury M, Baker NR (1984). A quantitative determination of photochemical and non-photochemical quenching during the slow phase of chlorophyll fluorescence induction curve of bean leaves. *Biochim Biophys Acta*, 765 (2): 275~281
- Demmig B, Björkman O (1987). Comparison of the effect of excessive light on chlorophyll fluorescence (77K) and photon yield of O₂ evolution in leaves of high plants. *Planta*, 171 (2): 171~184
- Demmig-Adams B, Adams III WW (1992). Photoprotection and other responses of plants to high light stress. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 43: 599~626
- Gilles SL, Binder WD (1997). The effect of sub-zero temperatures in the light and dark on cold-hardened, dehardened and newly flushed white spruce (*Picea glauca* [Moench.] Voss) seedlings. *New Forests*, 13 (1~3): 91~104
- Hart JJ, Stenler A (1990). High light-induced reduction and low light-enhanced recovery of photon yield in triazine-resistant *Brassica napus* L. *Plant Physiol*, 94 (3): 1301~1307
- Hegedüs A, Erdei S, Janda T, Tóth E, Horváth E, Dudits D (2004). Transgenic tobacco plants overproducing alfalfa aldose/aldehyde reductase show higher tolerance to low temperature and cadmium stress. *Plant Sci*, 166 (5): 1329~1333
- Huner NPA, Öquist G, Hurry VM, Krol M, Falk S, Griffith M (1993). Photosynthesis, photoinhibition and low temperature acclimation in cold tolerant plants. *Photosyn Res*, 37 (1): 19~39
- Krause GH, Weis E (1991). Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 42: 313~349
- Lootens P, Van Waes J, Carlier L (2004). Effect of a short photoinhibition stress on photosynthesis, chlorophyll a fluorescence, and pigment contents of different maize cultivars. Can a rapid and objective stress indicator be found? *Photosynthetica*, 42 (2): 187~192
- Owuiet G, Chow WS, Anderson J (1992). Photoinhibition of photosynthesis represents a mechanism for the long term regulation of photosystem II. *Planta*, 186 (3): 450~460
- Perks MP, Osborne BA, Mitchell DT (2004). Rapid predictions of cold tolerance in Douglas-fir seedlings using chlorophyll fluorescence after freezing. *New Forests*, 28 (1): 49~62
- Rose R, Haase D (2002). Chlorophyll fluorescence and variations in tissue cold hardiness in response to freezing stress in Douglas-fir seedlings. *New Forests*, 23 (2): 81~96
- Smillie RM, Hetherington SE (1983). Stress tolerance and stress-induced injury in crop plants measured by chlorophyll fluorescence *in vivo*: chilling, freezing, ice cover, heat, and high light. *Plant Physiol*, 72: 1043~1050
- Somersalo S, Krause GH (1990). Reversible photoinhibition of unhardened and cold acclimated spinach leaves at chilling temperature. *Planta*, 180 (2): 181~187
- Xu DQ, Wu S (1996). Three phases of dark-recovery course from photoinhibition resolved by the chlorophyll fluorescence analysis in soybean under field conditions. *Photosynthetica*, 32 (3): 417~423
- Ying J, Lee EA, Tollenaar M (2000). Response of maize leaf photosynthesis to low temperature during the grain-filling period. *Field Crops Res*, 68 (2): 87~96