

叶绿素荧光动力学 O-J-I-P 参数在棉花幼苗耐冷性评价上的应用

李志博¹, 华显伟², 魏亦农¹, 曹连莆^{1*}

(1. 石河子大学农学院 / 新疆兵团绿洲生态农业重点实验室, 新疆 石河子 832003;

2. 石河子总场四分场场部, 新疆 石河子 832044)

摘要: 低温冷害是影响棉花生长的主要逆境因子, 如何建立简捷、有效的棉花耐冷性鉴定及筛选体系是棉花耐冷研究的关键问题。在本研究中, 阐述了如何用 O-J-I-P 参数来评价棉花幼苗的耐冷性。选用北疆棉区 22 个主栽棉花品种, 对盆栽幼苗经过连续 4 d 的 4℃ 低温处理, 进行了相应的冷害指数鉴定, 并基于 O-J-I-P 参数 Fv/Fm 和 PI 所建立的冷害因子指数 1 及冷害因子指数 2 对各个棉花幼苗做了耐冷鉴定和分级评价。结果发现, 冷害因子指数 1 和冷害因子指数 2 的鉴定、评价结果与冷害指数鉴定结果相近。中棉所 36、新陆早 25、297-5 幼苗具有较强的耐冷性, 而新陆早 10 号、新陆早 12 号及炮台 1 号的耐冷性较弱。叶绿素荧光动力学 O-J-I-P 可以快速、有效地鉴定棉花幼苗的耐冷性, 这对棉花的耐冷性鉴定和培育耐冷型的棉花品种具有重要的意义。

关键词: 低温冷害; 棉花; 叶绿素荧光; 耐冷性; 冷害因子指数

中国分类号: S562 **文献标识码:** A

文章编号: 1002-7807(2010)02-0132-06

Cold Tolerance Evaluation of Cotton Seedling Using Some Parameters of Chlorophyll a Fluorescence Kinetics O-J-I-P

LI Zhi-bo¹, HUA Xian-wei², WEI Yi-nong¹, CAO Lian-pu^{1*}

(1. The Agronomy Department of Shihezi University/Key Laboratory of Oasis Ecology Agriculture of Xinjiang Bingtuan, Shihezi, Xinjiang 832003, China; 2. The Forth Proving-ground of Shihezi Center Ground, Shihezi, Xinjiang 832004, China)

Abstract: Low temperature and chilling affect cotton developing, to set up a simple and efficient identification and select criteria for cold-tolerance variety is the main breeding aim of cotton. In this paper, the evaluation of the cold-tolerance of cotton seedling by the parameters of chlorophyll a fluorescence kinetics O-J-I-P was showed. Seedlings of 22 cottons cultivars which fit for planting in Northern Xinjiang area were chilled (4℃) for 4 consecutive days, their chilling index, chilling factor index 1 (CFI1) based on O-J-I-P parameter Fv/Fm (the maximum efficiency of photosystem II) and chilling factor index 2 (CFI2) based on PI (the performance index) were separately analyzed. The results showed that the final identification and evaluation of CFI1, CFI2 and chilling index were almost identical. The seedlings of CCRI 36, Xinluzao 25 and 297-5 were cold-tolerant, but seedlings of Xinluzao 10, Xinluzao 12 and Paotai 1 were cold sensitive. O-J-I-P test provides a rapid and efficient method on screening cotton seedlings' cold-tolerance, which is helpful for cotton cold-tolerance breeding.

Key words: low temperature and chilling; cotton; chlorophyll a fluorescence; cold-tolerance; chilling factor index

棉花是我国最主要的经济作物和纺织品原材料^[1]。棉花是冷敏性植物, 在生长季中常受到低温冷害天气的影响^[2]。因此, 鉴定、培育耐寒性的棉花品种是增强棉花抗冷性、降低低温冷害对棉花影响的最有效途径。

我国对棉花耐冷性的研究起步于 20 世纪 90 年代, 相对较晚。李生泉^[3]、范月仙^[4]等以早、晚熟棉花作为耐冷性差异材料相继研究发现, 抗冷性强的棉花品种幼苗低温处理后叶片的细胞超微结构比较稳定, 低温处理后棉花幼苗的抗冷性与

收稿日期: 2009-09-10 作者简介: 李志博(1978-), 男, 在读博士, lzb_oea@shzu.edu.cn; * 通讯作者, caolianpu@126.com

基金项目: 石河子大学棉花育种攻关专项 (gxjs2007-yz11); 新疆兵团重大攻关项目 (2009GG05)

可溶性蛋白含量、可溶性糖、非蛋白氮以及抗氧化酶活性变化有密切关系。但卫秀英^[5]、郭景红^[6]等认为棉花的早熟性差异并不能完全代表其耐冷性的强弱,且不同生化指标对棉花抗冷性的影响顺序有大小^[7]。因此,研究简捷、有效的棉花耐冷性筛选指标和体系很有必要。

叶绿素荧光动力学分析技术以光合作为基础,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,在作物的抗旱、抗盐碱的基因性筛选和评价上已得到了广泛应用^[8]。研究发现,冷害会影响作物的光合作用,而光系统 II 可能就是冷敏感作物光合机构低温冷害限制的原初位点。因此,近年来叶绿素荧光动力学分析技术成为研究作物冷害机理和耐性评价的关注方向^[9-11]。叶绿素荧光动力学又常称 Kautsky 效应,其典型诱导曲线首先是一个快速的上升,然后缓慢下降,最后达到一个稳态。上升阶段反映了光合作用的原初反应。Strasser 等发明了一种新的叶绿素荧光动力学分析技术,简称 O-J-I-P 测定或 O-J-I-P 动力学,它可以捕捉 Kautsky 效应诱导曲线上部分更丰富的信息^[12]。研究发现,相对典型的 Kautsky 效应诱导曲线,O-J-I-P 曲线的形状和参数对外界环境的变化更加敏感,因此成为植物光合性能活体监测和作物耐性评价的又一高效工具^[10-12]。

Van Heerden 等采用 O-J-I-P 动力学研究了夜间低温对大豆基因型生长发育的影响研究认为,性状指数(PI)是光化机构的多种响应,可对大豆基因型差异给予良好的评价,但最大光化学效率 Fv/Fm 对大豆基因型不敏感^[11]。Strauss A.J. 等用冷害因子指数(CFI)对南非大豆主栽区的 30 个大豆品种进行了分类,阐述了如何用 O-J-I-P 动力学参数鉴别大豆基因型的夜间耐冷性差异^[10]。本实验用 O-J-I-P 动力学研究了北疆棉区 22 个主栽棉花品种(品系)的耐冷性差异,探讨了如何用 O-J-I-P 动力学中的 Fv/Fm 和 PI 参数对棉花的耐冷基因型进行分类,期望对棉花耐冷鉴定体系的建立以及棉花的抗寒育种提供一定的理论指导。

1 材料和方法

1.1 实验材料

实验材料为近几年来北疆棉区主栽的棉花品种(品系),包括中棉所 42、新陆早 12 号、134-1、新陆早 8 号、98-2、201、新陆早 31 号、中棉 293、新陆早 26 号、新陆早 24 号、新陆早 13 号、新陆早 10 号、新陆早 7 号、新陆早 25 号、新陆早 36 号、81-3、4723、新陆早 6 号、中棉所 36、297-5、炮台 1 号、新陆早 19 号等。为了便于记载和书写,在本文中分别依次用 1#、2#、……、21#、22# 表示。棉花种子均由绿洲生态农业重点实验室棉花育种研究室提供。

1.2 实验方法

1.2.1 棉花幼苗培养及低温处理。以购买于新疆农业科学研究院研发的幼苗培养专用营养土与蛭石按 1:1 的体积比配合作为基质,采用盆栽法进行棉花种子萌发和幼苗培养。塑料盆口径和高度为:30 cm×20 cm,每个棉花材料种 3 盆,每盆作为 1 次重复。每盆播种子 10 粒。待子叶平展后选留 5 株健壮、整齐一致的棉苗。每隔 3 天浇 1 次水。幼苗培养在新疆兵团绿洲生态农业重点实验室光照培养室进行。设有多个可控钠灯光源,培养光照强度为 400 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$,光周期 16/8 h,温度 26℃。待棉花培养幼苗长到 2 叶 1 心时,移到人工智能气候箱进行连续 4 d 的 4℃ 低温冷害处理,光周期 16/8 h,光照强度约 18 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。

1.2.2 冷害指数鉴定。待各棉苗低温处理结束后,放到室温条件下恢复 1 d,然后根据冷害症状分级标准记载各个级别下的棉花叶片数,并计算各个棉花品种(系)的冷害指数。

分级标准:参照 Semeniuk 的方法(略有修改)对棉花叶片的冷害症状进行分级^[13]。0 级:无受害症状,棉花幼苗叶片正常;1 级:幼苗叶片 10%左右脱水或萎焉;2 级:幼苗叶片半数以下脱水或萎焉;3 级:幼苗叶片半数以上发生脱水或萎焉;4 级:幼苗叶片全部萎焉或脱水。

冷害指数计算公式为:冷害指数 = $(S_0 \times 0 + S_1 \times 1 + S_2 \times 2 + S_3 \times 3 + S_4 \times 4) / N$ 。其中,公式中的 $S_0 \sim S_4$ 为相应冷害级别的叶片数,N 为调查的总叶片数。

1.2.3 O-J-I-P 测定及冷害因子指数分析。对 4℃ 低温处理的棉花幼苗叶片每隔 1 d 用植物效率仪 (PEA, Hansatech Instruments) 进行 O-J-I-P 测定。以低温处理前即将要移入人工智能气候箱进行低温处理时的 O-J-I-P 测定结果作为对照。测定在每天处理结束前 1 h 选用棉花幼苗叶片的中部 (避开叶脉) 进行。测定前用 PEA 配套暗适应夹夹住叶片暗适应 30 min。测量光为微弱的绿光, 饱和光选用 PEA 的自带红光光源, 光强 3000 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。

以 O-J-I-P 动力学中的测定参数 Fv/Fm 和 PL_{ABS} 为基础, 建立棉花冷害因子指数:

冷害因子指数 1 (CFI1) = $A + 2 \text{LOG}B + 4 \text{LOG}C$ 。其中, A 指的是第一处理阶段的平均相对最大光化学效率, 为胁迫第 1 d 和第 2 d 相对最大光化学效率的平均值; B 指的是第二处理阶段的平均相对最大光化学效率, 为胁迫第 3 d 的相对最大光化学效率; C 指的是第三处理阶段的平均相对最大光化学效率, 为胁迫第 4 d 的相对最大光化学效率。相对光化学效率为处理的相对最大光化学效率与对照 (处理前) 最大光化学效率的比值。

冷害因子指数 2 (CFI2) = $\text{LOG} \sum nRn(PI_{\text{ABS}})$,

表 1 不同胁迫天数棉花相对最大光化学效率及性状指数的差异

Table 1 Variance analysis of relative maximum efficiency of photosystem II and relative performance index under different stress days

胁迫时间 / d	相对最大光化学效率		相对性状指数	
	0.05 水平	0.01 水平	0.05 水平	0.01 水平
1	a	A	a	A
2	a	A	b	A
3	b	B	c	B
4	c	C	d	C

注: 显著性检验采用 Duncan 检验法。

2.2 不同棉花品种 (品系) 的冷害指数

在低温冷害过程中, 棉花叶片的受害症状是叶片边缘逐渐发生卷曲, 叶片表面开始出现水渍状脱水斑点。随受害程度的加重, 脱水斑点连成大片, 面积逐渐加大 (图 1)。经过低温处理后, 本实验中的棉花材料表现出了不同的耐冷差异性。其中, 耐冷性较差、冷害指数较高的有: 新陆早 12 号、炮台 1 号、新陆早 10 号等。而耐冷性较强、冷害指数较低的有: 中棉所 36、297-5 和新陆早 25 号等。以冷害指数为指标, 对参试棉花的耐冷性 5

参考 A J Strauss 等^[10]的方法, 略有改动。其中 n 代表处理的天数, $Rn(PI_{\text{ABS}})$ 指该处理天数的相对 PI_{ABS} , 为处理第 n 天的 PI_{ABS} 跟对照的 PI_{ABS} 的比值。

2 结果与分析

2.1 低温胁迫时间对棉花相对最大光化学效率及性状指数的影响

作物对逆境的响应是胁迫强度和胁迫时间共同作用的结果。4℃ 低温下胁迫时间对棉花相对最大光化学效率及性状指数的影响分析见表 1。从表 1 可以看出, 胁迫初期, 棉花的相对最大光化学效率对胁迫时间响应不敏感, 胁迫第 1 d 和胁迫第 2 d 的相对最大光化学效率之间无显著差异。随着胁迫时间延长, 棉花的相对最大光化学效率对胁迫时间的响应敏感程度加强, 胁迫第 3 d 和胁迫第 4 d 的相对最大光化学效率差异明显, 而且它们分别与胁迫第 1、2 d 的相对最大光化学效率差异显著。但低温胁迫下相对性状指数对胁迫时间的响应很敏感, 不同胁迫天数之间的相对性状指数差异显著。

类聚类分析发现, 新陆早 12 号、炮台 1 号、新陆早 10 号等属于耐冷性差的, 而中棉所 36、297-5 和新陆早 25 号等都属于耐冷性强的。

2.3 不同棉花品种 (品系) 的冷害因子指数

研究发现, 作物冷害的原初作用位点是光系统 II (PSII), 暗适应下的最大光化学效率 (Fv/Fm) 是 PSII 活性大小和逆境响应的最敏感参数, 常用于作物抗旱、抗寒等抗逆性的筛选和机理研究。耐冷性强的作物不但能忍耐较低的温度, 而且能保持耐性较长的时间。本文根据胁迫时间的长短



注:从左到右分别为 0~4 级冷害症状。

图 1 棉花幼苗叶片冷害症状

Fig. 1 Symptoms of chilling injury in cotton seedling leaves

对棉花相对光化学效率的影响结果建立了冷害因子指数 1, 并对参试棉花的耐冷性进行了初步评价(表 2)。从表 2 可以看出,冷害因子指数 1 值高、耐冷性差的棉花品种(品系)有:炮台 1 号、新陆早 10 号和新陆早 12 号等;而冷害因子指数 1 值低、耐冷性强的有:中棉所 36、297-5、新陆早 25 号等。同时,以冷害因子指数 1 的值作为分类标准,对参试的 22 个棉花材料进行的耐冷性强、较

强、中等、较差、差 5 类聚类分析结果与冷害指数的 5 类分类结果大部分吻合,尤其与鉴定出的耐冷性强和耐冷性差的材料完全相同。基于快速荧光技术的性状指数(PI)被认为是对环境逆境响应更敏感的参数,研究曾发现,在低温冷害时,部分作物的 Fv/Fm 在不同抗性差异品种间变化并不明显,但性状指数 PI 仍能敏感地反映作物对逆境的响应或品种间的抗性差异。Strauss A J 等^[10]用

表 2 不同棉花的冷害指数及聚类分析

Table 2 Chilling index of different cotton seedlings and its cluster analysis

棉花	0 级	1 级	2 级	3 级	4 级	冷害指数	聚类
2#	0	0	1	4	10	3.600	I
21#	0	0	2	4	9	3.467	I
12#	0	0	2	5	8	3.400	I
3#	0	1	1	4	7	3.308	I
13#	0	1	2	5	7	3.200	III
18#	0	2	2	4	8	3.125	III
10#	0	2	2	2	7	3.077	III
6#	0	2	2	4	7	3.067	III
5#	0	1	4	5	6	3.000	III
1#	1	2	1	5	7	2.938	IV
15#	0	4	2	3	6	2.733	IV
11#	0	3	3	5	4	2.667	IV
17#	0	5	2	3	4	2.429	II
8#	1	5	0	2	5	2.385	II
7#	2	3	4	3	4	2.250	II
4#	3	3	2	4	3	2.067	II
9#	4	5	1	3	3	1.750	V
16#	4	4	3	3	2	1.688	V
22#	4	5	3	3	2	1.647	V
14#	5	6	4	4	2	1.619	V
20#	6	3	3	4	2	1.611	V
19#	5	4	3	3	2	1.588	V

以 PI 为基础创建的冷害指数因子方程很好地评价了南非主栽大豆的耐冷性。基于胁迫时间对棉花相对性状指数的影响分析,我们把它略作改动后用于棉花的耐冷性评价(表 3),发现它的评价结果与冷害指数的鉴定结果及自建的冷害因子指数 1 的评价结果都表现出很好的吻合。表明基于快速荧光动力学参数自建的冷害因子指数 1 和冷害指数 2 可以快速、准确地用于棉花品种间的抗寒性差异鉴定和筛选。

表 3 不同棉花两类冷害因子指数及其聚类分析
Table 3 Two type of chilling factor index of different cotton seedlings and its cluster analysis

棉花	冷害因子指数		聚类	
	1	2	1	2
2#	-2.635	-8.632	I	I
12#	-2.445	-7.746	I	V
3#	-2.072	-8.028	III	I
21#	-2.044	-8.598	III	I
13#	-1.902	-6.979	III	V
18#	-1.639	-6.757	IV	V
5#	-1.447	-6.080	IV	IV
1#	-1.334	-3.447	IV	III
8#	-1.222	-5.878	IV	IV
10#	-1.151	-5.665	IV	IV
6#	-1.060	-5.470	V	IV
4#	-0.864	-3.227	V	III
17#	-0.862	-2.981	V	III
7#	-0.818	-4.420	V	III
15#	-0.760	-3.978	V	III
11#	-0.712	-3.642	V	III
9#	-0.531	-2.272	II	II
16#	-0.520	-3.986	II	III
14#	-0.462	-2.461	II	II
22#	-0.453	-2.714	II	III
20#	-0.395	-1.433	II	II
19#	-0.335	-1.075	II	II

3 结论与讨论

棉花是一种世界性的经济作物,容易受到低温冷害的影响。适度低温下,棉花的光合作用会自我调节^[5]。但低温冷害后,棉花叶片的细胞超微机构、抗氧化酶活性及渗透物质含量等生理生化特性都会发生明显变化。而且品种间存在差异。

但不同生理生化因子对棉花耐冷的贡献因子大小及相互作用不甚清楚,而且不同生育期棉花的耐冷性也存在差异。

本研究选取了近些年北疆棉区主栽的棉花品种,研究结果可直接指导新疆棉花耐冷生产和育种。我们首先采用直观的冷害指数形态鉴定法,对所选材料幼苗耐冷性做了分级鉴定和评价,发现中棉所 36、新陆早 25 号、297-5 的耐冷性较强,而新陆早 10 号、炮台 1 号、新陆早 12 号的抗寒性较弱。它们的聚类分析结果呈显著差异。鉴定结果跟大田生产的调查、统计结果相符,特别是中棉所 36 作为一种抗寒性强的棉花品种已被大家所公认。

叶绿素荧光动力学可以灵敏地反映作物光合和环境逆境响应,其最大光化学效率 Fv/Fm 已被广泛地用于作物抗逆基因性快速辅助筛选。但 Van Heerden 等^[11]认为,Fv/Fm 在作物的抗冷响应上并不敏感。可是,我们在棉花上发现,随着低温处理的进行,棉花各个品种的 Fv/Fm 比处理前都有下降,且不同品种的下降幅度不同,可能是耐冷性差异的响应。根据不同胁迫时间 Fv/Fm 的差异变化,采用自建的冷害因子指数 1 对试验材料的耐冷性做了研究,结果显示,抗寒性强的有中棉所 36、297-5、新陆早 19 号、新陆早 25 号等,而抗寒性弱的有新陆早 12 号和新陆早 10 号。

性状指数 PI 是 O-I-J-P 动力学测定中的一个重要参数,在抗性鉴定和筛选,尤其在抗冷性上比 Fv/Fm 具有更高的灵敏性。本研究发现,棉花幼苗叶片在 4℃ 低温处理下,随着时间的延长,其相对性状指数显著降低,而且比相对最大光化学效率对低温的响应更明显。Strauss A J 等^[10]用基于相对性状指数所建立的冷害因子指数(CFI)对南非大豆主栽区的 30 个大豆品种的耐冷性进行了分类,但其所划分的同一处理时期的不同天数间是否有差异尚不明确,由此可能会造成不同处理时期的划分不准确。本文根据不同处理时间下相对性状指数的差异变化,参考 Strauss A J 等^[10]的冷害指数所建立的棉花冷害因子指数 2,避免了对不同处理时期的划分不准确。用冷害因子指数 2 对实验材料的耐冷性进行分类,结果发现,耐冷性强的棉花材料有中棉所 36、297-5 和新陆

早 25 号, 而耐冷性差的棉花有新陆早 12 号、134-1 和炮台 1 号。

综上所述可以看出, 棉花冷害因子指数 1 和棉花冷害因子指数 2 对棉花耐冷性鉴定有极高的相似性, 而且它们的鉴定结果跟棉花形态鉴定的结果一致, 表明 O-J-I-P 参数可有效地用于棉花耐冷性的鉴定。我们所建的冷害因子指数在其它冷敏感作物的耐冷型分类上也可以作为有效的参考。

参考文献:

- [1] 中国农业科学院棉花研究所. 中国棉花栽培学[M]. 上海: 上海科学出版社, 1983.
Cotton Research Institute of the Chinese Academy of Agricultural Sciences. China cotton culture [M]. Shanghai: Shanghai Press of Science, 1983.
- [2] 赖先齐, 刘月兰, 徐腊梅, 等. 新疆棉区棉花低温冷害的初步分析及对策探讨[J]. 新疆农业科学, 2008, 45 (5): 782-786.
LAI Xian-qi, Liu Yue-Lan, Xu La-mei, et al. Preliminary analysis and countermeasures of chilling damage to cotton in the North of Xinjiang[J]. Xinjiang Agricultural Sciences, 2008, 45(5): 782-786.
- [3] 李生泉, 侯燕平, 范月仙. 不同抗冷级别的棉苗在低温处理后叶片细胞超微结构的变化[J]. 电子显微学报, 1998, 17(3): 231-236.
LI Sheng-quan, Hou Yan-ping, Fan Yue-xian. Ultra structural of the leaf cell of cotton varieties with different cold-resistant levels under low temperature[J]. Micro-electronics Science, 1998, 17(3): 231-236.
- [4] 范月仙, 李生泉, 冯文新, 等. 棉苗抗冷性与可溶性糖含量变化关系的研究[J]. 棉花学报, 1995, 7(2): 126-127.
FAN Yue-xian, Li Sheng-quan, Feng Wen-xin, et al. Study on the relationship between cold-resistance and sugar content in cotton seedlings[J]. Acta Gossypii Sinica, 1995, 7(2): 126-127.
- [5] 卫秀英, 鲁玉贞, 单长卷. 不同棉花品种的抗低温性研究[J]. 安徽农业科学, 2006, 34(12): 2786-2787.
WEI Xiu-ying, Lu Yu-zhen, Shan Chang-juan. Study on the responses of the different cotton variety seedlings to low temperature[J]. Journal of Anhui Agri Sci, 2006, 34(12): 2786-2787.
- [6] 郭景红, 孔宪良, 赵建军, 等. 不同棉花品种苗期抗低温性初探[J]. 中国棉花, 2007, 34(1): 19.
GUO Jing-hong, Kong Xian-liang, Zhao Jian-jun, et al. Primary study on low temperature resistance of different cotton varieties in seedlings stage[J]. China Cotton, 2007, 34(1): 19.
- [7] 王冀川, 黄琪, 徐雅丽. 棉花抗冷指标的灰色关联度分析[J]. 江西棉花, 2001, 23(2): 6-9.
WANG Ji-chuan, Huang Qi, Xu Ya-li. Analyse on cotton cold resistance indexes' grey retated degree[J]. Jiangxi Cotton, 2001, 23(2): 6-9.
- [8] SAYED O H. Chlorophyll fluorescence as a tool in cereal crop research[J]. Photosynthetica, 2003, 41 (3): 321-330.
- [9] 李志博, 魏亦农, 杨敏, 等. 低温胁迫对棉花幼苗叶绿素荧光特性影响初探[J]. 棉花学报, 2006, 18 (4): 255-封三.
LI Zhi-bo, Wei Yi-nong, Yang Min, et al. Primary study on effects of low temperature on chlorophyll fluorescence characteristics of cotton seedling[J]. Cotton Science, 2006, 18 (4): 255-cover 3.
- [10] STRAUSS A J, Kruger G H J, Strass R J, et al. Ranking of dark chilling tolerance in soybean genotypes probed by the chlorophyll a fluorescence transient O-J-I-P [J]. Environmental and Experimental Botany, 2006, 56: 147-157.
- [11] VAN HEERDEN Philippus D R, Tsimilli-Michael M, Krüger G H J, et al. Dark chilling effects on soybean genotypes during vegetative development: parallel studies of CO₂ assimilation, chlorophyll a fluorescence kinetics O-J-I-P and nitrogen fixation[J]. Physiologia Plantarum, 2003, 117: 476-491.
- [12] STRASSER B J, Strasser R J. Measuring fast fluorescence transients to adress environmental questions: the JIP-test[M]//Mathis P. Photosynthesis: from light to biosphere. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1995: 977-980.
- [13] SEMENIUK P, Moline H E, Abbott J A. A comparison of the effects of ABA and an antitranspirant on chilling injury of coleus, cucumbers, and dieffenbachia [J]. Journal of the American Society for Horticultural Science, 1986, 111: 866-868.
- [14] PERERA N H, Hartmann E, Holaday A. Regulation of cotton photosynthesis during moderate chilling[J]. Plant Science, 1995, 111(2): 133-142. ●