

夜间低温对不同基因型番茄叶绿素荧光参数的影响

齐红岩 华利静 赵 乐 汤羽凡

(沈阳农业大学 园艺学院 教育部设施园艺重点实验室 辽宁省设施园艺重点实验室 辽宁 沈阳 110866)

摘要: 为了明确不同基因型番茄叶片光系统 II (PS II) 活性对夜间低温逆境的响应。以耐低温野生番茄 (*Lycopersicon hirsutum*) LA1777 和低温敏感型番茄 (*Lycopersicon esculentum* Mill.) Moneymaker 为试材, 研究短期夜间 15℃ (对照)、9℃ 和 6℃ 对不同基因型番茄叶片的叶绿素含量和叶绿素荧光参数的影响。结果表明: 夜间低温下两种类型番茄幼苗叶片的叶绿素 a、b 含量及叶绿素 a/b 值均随着温度降低而呈下降趋势。夜间低温处理 1 d 后, Moneymaker 的叶绿素 a 和 b 含量均显著低于对照。夜间低温增加了番茄叶片的 F_0 (初始荧光) 和 NPQ (非光化学猝灭系数), 显著降低了 F_v/F_m (原初光能效率)、 $\Phi PS II$ (实际光化学量子效率)、ETR (电子传递速率) 和 qP (光化学猝灭系数)。其中, 除 NPQ 在两番茄叶片的变化趋势相似外, Moneymaker 叶片的变化幅度均大于 LA1777。这表明夜间低温显著影响了低温敏感番茄叶片 PS II 反应中心和电子传递, 显著降低了 PS II 的活性, 而对耐低温野生番茄 PS II 活性影响较小。

关键词: 番茄; 夜间低温; 叶绿素含量; 叶绿素荧光参数

中图分类号: S641.2 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2011)04-0222-06

Effect of Low Night Temperature on Chlorophyll Fluorescence Parameters in Different Genotypes Tomato Leaves

QI Hong-yan, HUA Li-jing, ZHAO Le, TANG Yu-fan

(College of Horticulture, Shenyang Agricultural University, Key Laboratory of Protected Horticulture of Ministry of Education of Liaoning Province, Shenyang 110866, China)

Abstract: In order to reveal the effects of low night temperature on chlorophyll content and PS II activity in different genotypes tomatoes leaves. The changes of chlorophyll content and chlorophyll fluorescence parameters in chilling-tolerant wild tomato LA1777 and chilling-sensitive tomato Moneymaker under short-time 15℃ (control), 9℃ and 6℃ night temperature were studied. The results showed that the chlorophyll a, b content and chlorophyll a/b in two genotypes tomato leaves were significantly decreased under low night temperature stress, and the chlorophyll a and b content in Moneymaker significantly decreased than control after 1 d low night temperature treated. The F_0 and NPQ increased in two tomatoes leaves under low night temperature, however, F_v/F_m , $\Phi PS II$, ETR and qP were decreased significantly after low night temperature treated. Only NPQ in two tomatoes had the same trend, other fluorescence parameters in Moneymaker leaves had greater changed scale than LA1777. The results showed that PS II activity and electron transfer in cold-sensitive tomato leaves were influenced under low night temperature, and PS II activity decreased significantly, but its decline scale was lower in cold-tolerant tomato.

Key words: Tomato; Low night temperature; Chlorophyll content; Chlorophyll fluorescence parameters

春末冬初季节的设施番茄生产中, 夜间低温是限制其生长和发育的关键因素^[1]。植物叶片的光合机构对低温胁迫非常敏感, 通常是低温伤害的首要位点^[2]。不同基因型番茄对低温的耐受性不

同^[3], 因此研究不同基因型番茄 PS II 活性对夜间低温的响应机理, 对于揭示不同基因型番茄抵抗低温逆境的机理, 建立番茄种质耐低温性鉴定方法具有重要的理论和实际意义。已有研究表明, 多毛番

收稿日期: 2011-02-05

基金项目: 国家重点基础研究发展计划 (“973”计划) (2009CB119000); 国家现代农业产业技术体系建设专项 (nycytx-35-gw23); 辽宁省重大攻关项目 (2010215003)

作者简介: 齐红岩 (1971-), 女, 黑龙江双城人, 教授, 博士, 博士生导师, 主要从事设施蔬菜栽培生理研究。

茄 (*Lycopersicon hirsutum*) 比普通栽培型番茄 (*Lycopersicon esculentum* Mill.) 对低温有较好的适应性^[3], 可能是和低温处理后番茄叶片的叶绿体功能及光合特性恢复较快有关。低温弱光处理后, 菊花的 $\Phi PS II$ 和 ETR 随着胁迫程度的加强和时间的延长而显著降低, 并可作为其耐低温弱光性的鉴定指标^[4]。低温逆境下, 辣椒叶片的 F_v/F_m 有所降低, 而天线耗散和过剩光能比率增加^[5]。夜间 9℃ 亚低温胁迫 3 d 会显著引起番茄成熟叶片光合作用的光抑制^[6]。耐低温水稻在低温逆境下通过维持较高的 qP 和 qN (非光化学淬灭系数) 进行过剩光能的耗散来保护光合机构, 免受低温伤害, 而冷敏感品种 qP 迅速降低, Ex (过剩光能) 显著增加, 并伴随着 qN 的下降, 严重伤害了反应中心和天线系统, 进而导致光合速率的下降^[7]。与此不同的是, 低温胁迫下各品系不结球白菜非光化学耗散差异不显著, 电子传递的有效性和光化学效率的差异是导致各品系耐冷性差异的主要原因^[8]。然而, 有关夜间低温对不同基因型番茄的 $PS II$ 活性及光能分配研究尚少。为此, 本研究着重探讨了夜间低温逆境影响不同基因型番茄叶片中 $PS II$ 活性的变化, 为进一步弄清夜间低温下不同基因型番茄叶绿素荧光作用的影响机制提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 试验材料与处理

供试番茄为: 耐低温野生型番茄 (*Lycopersicon hirsutum*) LA1777 和低温敏感型栽培番茄 (*Lycopersicon esculentum* Mill.) MoneyMaker, 分别由加州大学戴维斯分校的番茄种质资源中心 (<http://www.tgrc.ucdavis.edu>) 和瓦赫宁根大学 (荷兰) 作物育种实验室惠赠。试验于 2010 年 7-9 月在沈阳农业大学园艺科研基地日光温室内进行。2010 年 7 月 14 日播种, 采用 50 孔穴盘基质育苗, 幼苗长至 2 片真叶时分至 13 cm × 13 cm 的营养钵内, 待幼苗长至六叶一心时移至人工气候室进行夜间温度处理: 昼温均为 25℃, 夜温分别为 15 (对照), 9, 6℃, 处理时间为 18:00 - 次日 6:00, 白天均升温为 25℃, 相对湿度和光照条件各处理相同。相对湿度 60%; 光照 6:00 - 10:00 为 (475 ± 50) $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, 10:00 - 16:00 为 ($1\ 045 \pm 50$)

$\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, 16:00 - 18:00 为 (570 ± 50) $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, 18:00 - 次日 6:00 无光照; 各组均低温处理 7 d, 分别在夜间低温处理的第 0, 1, 3, 5, 7 天随机选取整齐一致的植株, 选取功能叶片进行叶绿素和荧光参数的测定, 单株取样 3 次生物学重复。

1.2 测定项目与方法

1.2.1 叶绿素含量 用打孔器在番茄植株功能叶片上打取圆片, 采用 80% 丙酮液浸提^[9]。用 Cary50 紫外/可见分光光度计 (GBC Scientific Equipment Pty Ltd, 德国) 测定叶绿素 a 和叶绿素 b 含量。

1.2.2 叶绿素荧光参数的测定 采用 Li-6400 便携式光合测定系统的荧光测定探头, 分别于处理 0, 1, 3, 5, 7 d 快速测定各处理番茄叶片的 F_o (初时荧光)、 F_v/F_m (原初光能效率); 之后测定 $\Phi PS II$ (实际光化学量子效率)、 qP (光化学淬灭系数)、 NPQ (非光化学淬灭系数)、ETR (电子传递速率)。测定时光照强度为 600 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, 测定前先对叶片进行 30 min 的暗适应。各处理每次测定 3 株幼苗作为 3 次重复。

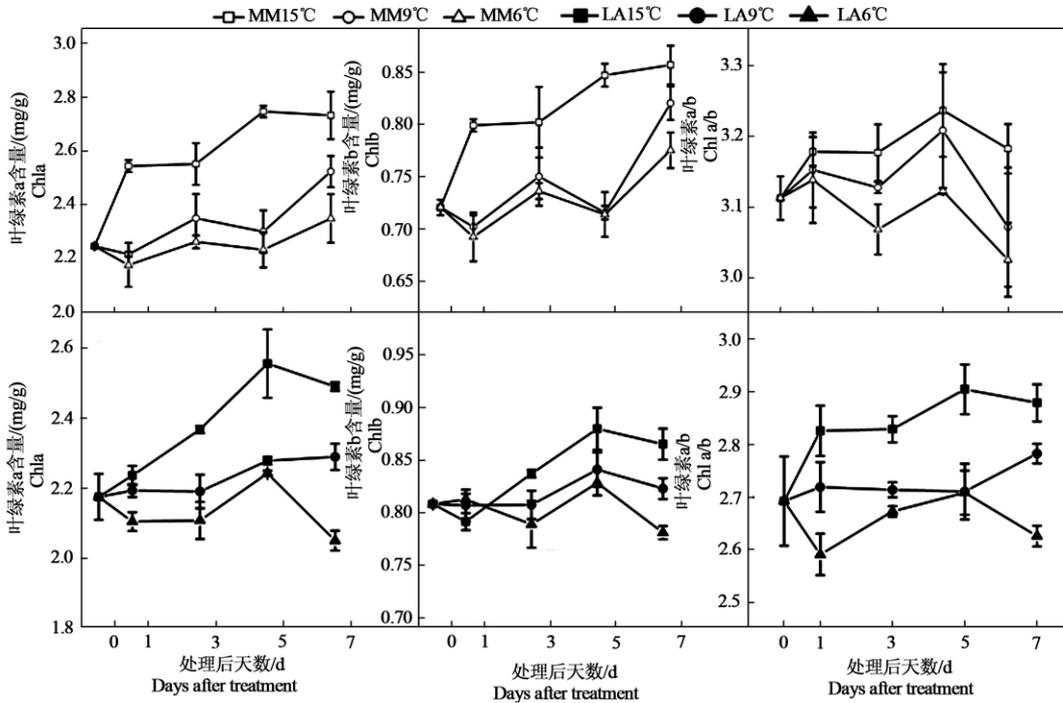
1.3 数据处理

采用 Excel2003 进行数据处理, DPS2000 软件进行统计分析, Duncan 新复极差法进行差异显著性比较, 使用 Origin7.5 软件作图。

2 结果与分析

2.1 夜间低温对不同基因型番茄叶片叶绿素含量的影响

从图 1 可以看出, 两种类型番茄幼苗叶片的叶绿素 a 和叶绿素 b 含量及叶绿素 a/b 的值均随着温度降低而呈下降趋势, 但两者之间存在差异。低温处理后 1 d, MoneyMaker 叶片叶绿素 a 和 b 含量显著低于对照, 并且随着处理时间延长, 一直低于对照; 而 LA1777 在低温处理后 1 d, 叶片叶绿素 a 的含量只有 6℃ 显著低于对照, 叶绿素 b 含量与对照差异不显著, 夜间低温处理 3 d 后, 两者均低于对照。低温处理后的叶绿素 a/b LA1777 叶片的降低幅度比 MoneyMaker 大, 表明夜间低温对叶绿素 a 含量的影响较大, 而对叶绿素 b 含量的影响较小, 进而导致叶绿素 a/b 比值降低, MoneyMaker 叶片的叶绿素 a/b 仅夜间 6℃ 处理 3 d 后显著低于对照, 其余均无显著差异。



MM15°C、MM9°C、MM6°C 分别代表夜间 15、9、6°C 处理的 Moneymaker 植株; LA15°C、LA9°C 和 LA6°C 分别代表夜间 15、9 和 6°C 处理的 LA1777 植株; 下同。

MM15°C, MM9°C and MM6°C represents Moneymaker plants under 15, 9, 6°C night temperature, respectively; LA15°C, LA9°C and LA6°C represents LA1777 plants under 15, 9, 6°C night temperature, respectively. The same as below.

图 1 夜间低温对不同基因型番茄叶片叶绿素含量的影响

Fig. 1 Effect of low night temperature on the chlorophyll content in different genotypes tomato leaves

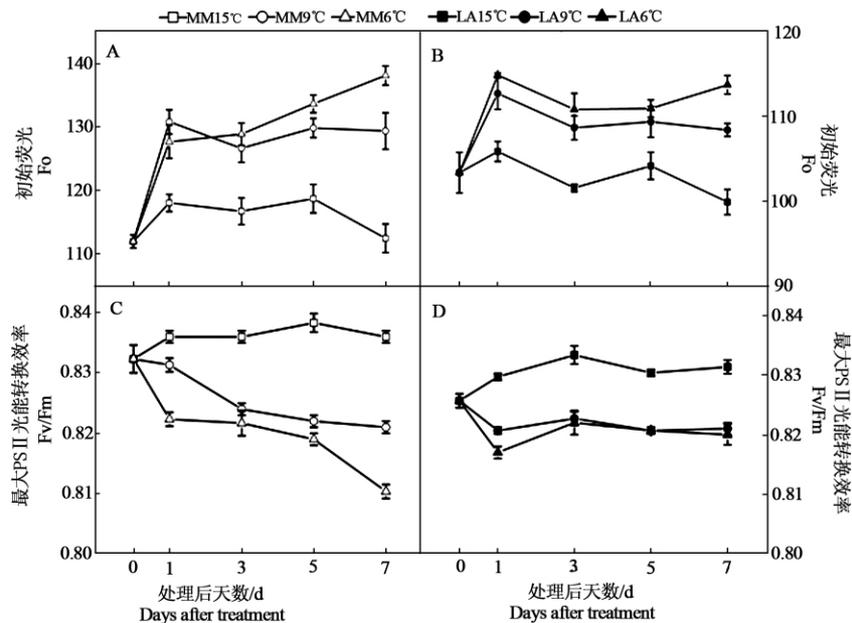


图 2 夜间低温对不同基因型番茄叶片初始荧光 (Fo) 和最大 PS II 光能转换效率 (Fv/Fm) 的影响

Fig. 2 Effects of low night temperature on the chlorophyll fluorescence parameters Fo and maximum photochemical efficiency (Fv/Fm) in different genotypes tomato leaves

2.2 夜间低温对不同基因型番茄叶片初始荧光 (Fo) 和最大 PS II 光能转换效率 (Fv/Fm) 的影响

从图 2 可以看出, 夜间低温导致番茄叶片的 Fo 显著升高和 Fv/Fm 显著降低, 且胁迫时间越长, Fo 升高和 Fv/Fm 降低的幅度越大。其中, Moneymaker 叶片的 Fo 的增加幅度和 Fv/Fm 的降低幅度均大于

LA1777。夜间低温处理后 7 d, 6、9°C 处理的 Moneymaker 叶片中 Fo 分别比对照高 12.06%、7.95%, Fv/Fm 分别比对照低 3.07%、1.79%。LA1777 叶片中 Fo 分别比对照高 6.92%、4.25%, Fv/Fm 分别比对照低 1.36%、1.24%。其中, 6°C 处理 Moneymaker 叶片的 Fv/Fm 与 9°C 处理和对照差异极显

著表明 Moneymaker 叶片 PS II 反应中心的失活程度大于 LA1777 叶片。

2.3 夜间低温对不同基因型番茄叶片实际光化学量子效率($\Phi_{PS II}$)和 PS II 电子传递速率(ETR)的影响

从图 3 可以看出,夜间低温显著降低了番茄叶片的 $\Phi_{PS II}$ 和 ETR, LA1777 叶片的 $\Phi_{PS II}$ 和 ETR 的降低幅度小于 Moneymaker; 低温胁迫后 1 d, 6℃ 和 9℃ 处理 Moneymaker 叶片的 PS II 分别比对照低

22.11% 和 14.99%, 与对照差异极显著; ETR 分别比对照低 23.90% 和 17.43%。夜间低温处理后 1 d, 6℃ 和 9℃ 处理 LA1777 叶片的 PS II 分别比对照低 14.81% 和 5.08%, 仅 6℃ 处理与对照差异显著; ETR 分别比对照低 15.27% 和 7.02%。低温胁迫后 7 d, 6℃ 和 9℃ 处理的 Moneymaker 叶片 $\Phi_{PS II}$ 和 ETR 的降低幅度仍显著高于 LA1777, 这表明夜间低温显著降低了 Moneymaker 叶片 PS II 的开放程度和电子传递速率。

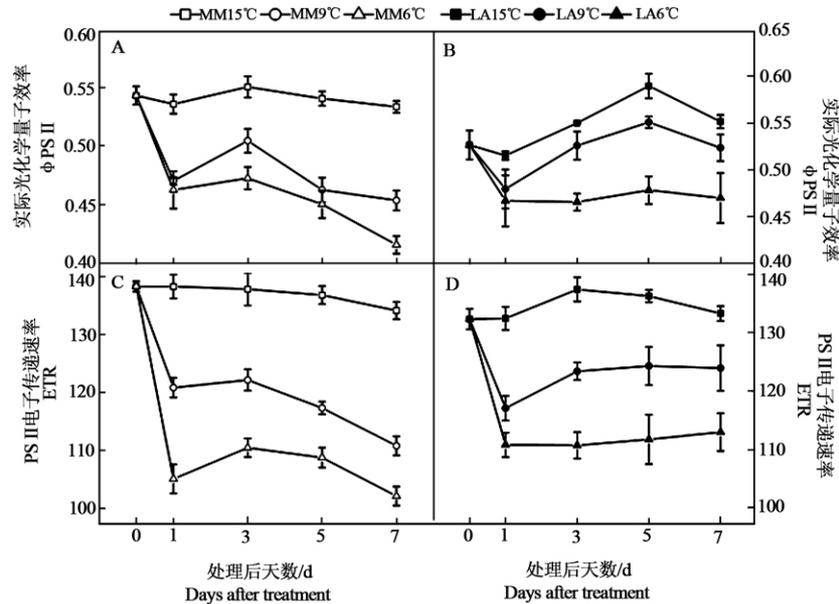


图 3 夜间低温对不同基因型番茄叶片实际光化学量子效率($\Phi_{PS II}$)和 PS II 电子传递速率(ETR)的影响

Fig. 3 Effects of low night temperature on the chlorophyll fluorescence parameters $\Phi_{PS II}$ and ETR in different genotypes tomato leaves

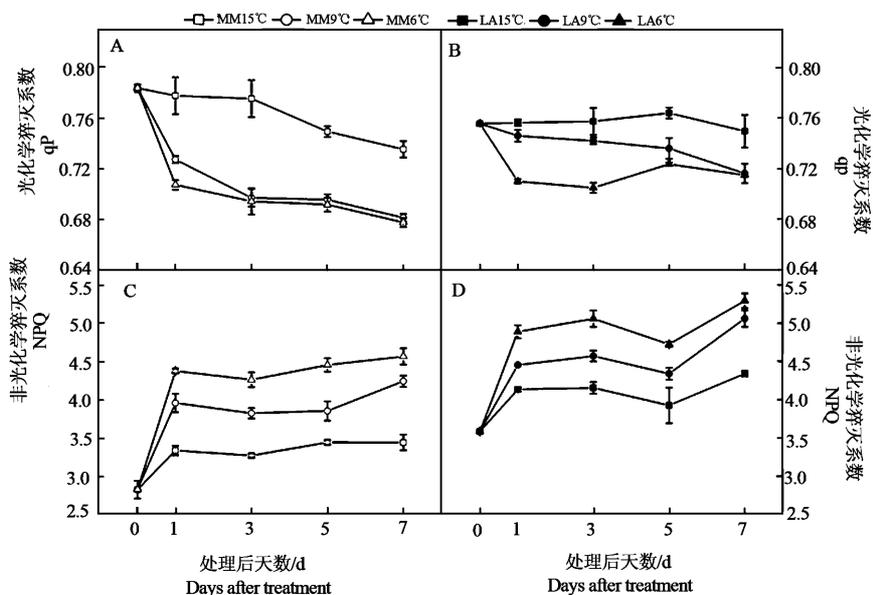


图 4 夜间低温对不同基因型番茄叶片光化学猝灭系数(qP)和非光化学猝灭系数(NPQ)的影响

Fig. 4 Effects of low night temperature on the chlorophyll fluorescence parameters qP and NPQ in different genotypes tomato leaves

2.4 夜间低温对不同基因型番茄叶片光化学猝灭系数(qP)和非光化学猝灭系数(NPQ)的影响

从图4可以看出,夜间低温胁迫后,番茄叶片qP的变化趋势与ΦPS II和ETR相似。低温胁迫后1 d 6℃和9℃处理Moneymaker叶片的qP分别比对照低9.04%和6.47%,与对照差异极显著;LA1777品种的qP在6℃和9℃处理下显著低于对照,但降低幅度低于Moneymaker。低温处理后7 d, Moneymaker叶片qP的降低幅度显著大于LA1777, 6℃和9℃处理下两种基因型番茄的qP达到相近水平,均极显著低于对照。而两种基因型番茄的NPQ在夜间低温胁迫下均显著增加,且增加幅度相近。

3 讨论

3.1 不同基因型番茄叶片叶绿素含量对夜间低温的不同响应

低温胁迫下不同植物叶绿素含量的变化已有较多报道,一般认为,低温弱光或单一低温逆境会降低叶绿素a与b的含量^[10-11]以及叶绿素a/b的值^[12]。也有研究表明,黑暗低温对豌豆和番茄类囊体膜上的叶绿素含量和叶绿素a/b的值无显著影响。番茄中叶绿素a含量增加,豌豆叶片中无此变化^[13]。低温弱光处理对抗性强的番茄叶片中叶绿素含量的影响较小,却显著降低抗性弱番茄的叶绿素含量,且Chla和Chlb的降低幅度基本一致^[14]。本试验中,Moneymaker叶片的叶绿素含量在低温胁迫下显著低于对照,且降低幅度也大于LA1777,以叶绿素a含量降低较为显著,而LA1777叶片叶绿素含量的变化幅度较小。这表明低温胁迫对Moneymaker幼苗叶绿素破坏的程度大于LA1777。

3.2 不同基因型番茄叶片叶绿素荧光参数对夜间低温的不同响应

叶绿素荧光技术已成为筛选和鉴定抗寒植物的有效探针^[15,16]。荧光参数Fv/Fm是反映光系统II活性的可靠指标^[8,17]。Fv/Fm降低表明植物受到了光抑制,Fo的升高进一步证明了PS II反应中心的失活或被破坏^[4]。有研究表明,低温弱光处理后,不同基因型的植物Fv/Fm比对照显著下降,耐低温弱光品种的Fv/Fm值均高于其他不耐低温弱光品种,具有较高的PS II光化学最大效率和PS II潜在活性,表明Fv/Fm的降低幅度与品种对低温敏感性是一致的^[18],初始荧光Fo是反应中心处于完全开放即QA完全氧化时的荧光产量^[19],夜间低温处理使Moneymaker和LA1777初始荧光(Fo)升高,表明PS II反应中心发生可逆失活或破坏。也有研

究表明初始荧光强度与激发光的强度和叶绿素含量有关^[20]。本试验中,温度降低导致了两个基因型番茄叶绿素结构严重被破坏,捕获光能量减少,初始荧光升高,其中LA1777幼苗受伤害程度较小,这可能是其耐低温的生理机制之一。

有报道称低温弱光逆境导致ΦPS II值降低,但不同光温环境对品种的影响不同。极端低温弱光处理下不同生态型黄瓜品种中,低温敏感品种的ΦPS II值显著下降,而耐低温品种的ΦPS II值与对照差异不显著,说明耐低温品种在低温弱光逆境下的反应中心实际进行光化学反应的效率较高,同时能保持较快的光合电子传递速率^[21]。低温弱光胁迫条件下,线粒体呼吸链中电子传递的最终受体O₂缺乏,光合电子传递链PS II的最终电子受体减少,会引起PS II功能下降,表现为ETR的降低^[22]。本试验表明,夜间低温胁迫下,显著降低了Moneymaker叶片PS II的开放程度和电子传递速率,说明低温胁迫不仅降低其PS II的量子产率,其电子传递也受到破坏。PS II光化学活性的降低表明原初电子受体还原效率的降低,说明PS II的供体和受体侧可能都遭到破坏。

qP为光化学猝灭系数,它反映PS II反应中心的开放程度;NPQ是包括热耗散及几个其他能量耗散过程在内的非光化学猝灭过程^[24]。本研究表明,低温胁迫下两个基因型番茄的qP和非光化学猝灭系数NPQ值均降低,但Moneymaker降幅较大,说明耐冷性强的LA1777能通过耗散多余能量以保护光合机构抵御低温的伤害。qP的降低反映出低温胁迫下QA重新氧化为QA的量减少,即PS II的电子传递活性减弱,暗示叶片暗反应的受阻,因此低温胁迫后,Moneymaker暗反应受抑制的程度高于LA1777;NPQ的升高表明植物用于光化学反应的光能比例减少,减少部分主要通过热耗散途径消耗掉;当PS II反应中心天线色素吸收了过量的光能时,如不能及时地耗散将对光合机构造成失活或破坏,所以非光化学猝灭是一种自我保护机制,对光合机构起一定的保护作用^[24-26]。

夜间低温胁迫下,野生番茄和栽培番茄叶片的PS II都受到了伤害,而野生番茄可以通过对PS II活性和电子传递的调节来提高其耐冷性。但是夜间低温影响植物叶片PS II的因素较多,如PS I功能的抑制,活性氧代谢以及叶绿体超微结构的变化。因此,有关叶绿素荧光参数分析PS II的变化还需进一步研究证明,还有待从生理生化及分子水平进行更深入的研究。

参考文献:

- [1] Adams S R , Cockshull K E , Cave C R J. Effect of temperature on the growth and development of tomato fruits [J]. *Annals of Botany* , 2001 (88) : 869 – 877.
- [2] 张子山 张立涛 高辉远 等. 不同光强与低温交叉胁迫下黄瓜 PS II 与 PS II 的光抑制研究 [J]. *中国农业科学* , 2009 , 42 (12) : 4288 – 4293.
- [3] Venema J H , Posthumus F , Vries M de , *et al.* Differential response of domestic and wild *Lycopersicon* species to chilling under low light: growth, carbohydrate content, photosynthesis and the xanthophyll cycle [J]. *Physiologia Plantarum* , 1999 , 105 : 81 – 88.
- [4] 梁 芳 郑成淑 孙宪芝 等. 低温弱光胁迫及恢复对切花菊光合作用和叶绿素荧光参数的影响 [J]. *应用生态学报* , 2010 , 21 (1) : 29 – 35.
- [5] 张志刚 尚庆茂. 低温、弱光及盐胁迫下辣椒叶片的光合特性 [J]. *中国农业科学* , 2010 , 43 (1) : 123 – 131.
- [6] 李天来, 刘玉凤, 宋礼毓. 夜间亚低温处理及其恢复对番茄叶片光抑制的影响 [J]. *园艺学报* , 2008 , 35 (7) : 1003 – 1010.
- [7] 王国莉, 郭振飞. 低温对水稻不同耐冷品种幼苗光合速率和叶绿素荧光参数的影响 [J]. *中国水稻科学* , 2005 , 19 (4) : 381 – 383.
- [8] 胡春梅, 侯喜林, 王 旻. 低温胁迫对不结球白菜光合及叶绿素荧光特性的影响 [J]. *西北植物学报* , 2008 , 28 (12) : 2478 – 2484.
- [9] 李合生. *植物生理生化实验原理和技术* [M]. 北京: 高等教育出版社, 2006: 134 – 137.
- [10] 白青华, 郭晓冬, 王 萍, 等. 低温对辣椒幼苗叶片氮及叶绿素含量的影响 [J]. *甘肃农业大学学报* , 2009 , 44 (6) : 48 – 51.
- [11] 胡文海, 喻景权. 低温弱光对番茄叶片光合作用和叶绿素荧光参数的影响 [J]. *园艺学报* , 2001 , 28 (1) : 41 – 46.
- [12] Glannakoula A , Ilias I , Papastergiou , *et al.* The effects of development at chilling temperatures on the function of the photosynthetic apparatus under high and low irradiance in leaves of lettuce (*Lactuca sativa* L.) [C]. *Proceeding of the 5th WSEAS International Conference on Environment, Ecosystems and Development* , Venice , Italy , November , 2006 , 20 – 22: 396 – 402.
- [13] Garstka M , Venema J H. , Rumak I , *et al.* Contrasting effect of dark-chilling on chloroplast structure and arrangement of chlorophyll-protein complexes in pea and tomato: plants with a different susceptibility to non-freezing temperature [J]. *Planta* , 2007 , 226 (5) : 1165 – 1181.
- [14] 黄 伟, 任华中, 张福墁. 低温弱光对番茄苗期生长的光合作用的影响 [J]. *中国蔬菜* , 2002 (4) : 15 – 17.
- [15] Bertamini M , Muthuchelian K , Rubinigg M , *et al.* Low-night temperature increased the photoinhibition of photosynthesis in grapevine (*Vitis vinifera* L. cv. Riesling) leaves [J]. *Environmental and Experimental Botany* , 2006 , 57: 25 – 31.
- [16] Venema H J , Villerius L , Hasselt van R P. Effect of acclimation to suboptimal temperature on chilling-induced photodamage: comparison between a domestic and a high-altitude wild *Lycopersicon* species [J]. *Plant Science* , 2000 , 152: 153 – 163.
- [17] 周 建, 杨立峰, 郝峰鸽, 等. 低温胁迫对广玉兰幼苗光合及叶绿素荧光特性的影响 [J]. *西北植物学报* , 2009 , 29 (1) : 136 – 142.
- [18] 刘栓桃, 董艳敏, 卢亚楠, 等. 低温弱光对两个西葫芦品种幼苗光合速率及叶绿素荧光参数的影响 [J]. *华北农学报* , 2009 , 24 (2) : 139 – 143.
- [19] 周蕴薇, 刘艳萍, 戴思兰. 用叶绿素荧光分析技术鉴定植物抗寒性的剖析 [J]. *植物生理学通讯* , 2006 (5) : 945 – 950.
- [20] 王晓楠, 付连双, 李卓夫, 等. 低温驯化及封冻阶段不同冬小麦品种叶绿素荧光参数的比较 [J]. *麦类作物学报* , 2009 , 29 (1) : 83 – 88.
- [21] 颜建明, 郁继华, 颜敏华, 等. 耐性不同辣椒幼苗光合和 PS II 光化学效率对低温弱光的响应 [J]. *中国农学通报* , 2009 , 25 (7) : 193 – 197.
- [22] 许大全. 光合作用测定及研究中一些值得注意的问题 [J]. *植物生理学通讯* , 2006 , 42 (6) : 1163 – 1167.
- [23] Krause G H , Weise E. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis [J]. *The Basics Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* , 1991 , 42: 313 – 349.
- [24] 刘慧英, 朱祝军, 史庆华. 低温胁迫下嫁接对西瓜光合特性及叶绿素荧光参数影响的研究 [J]. *石河子大学学报: 自然科学版* , 2007 , 25 (2) : 163 – 167.
- [25] 王 贺, 刘国成, 吕德国, 等. 低温对寒富苹果及其亲本叶绿素荧光特性的影响 [J]. *华北农学报* , 2008 , 23 (2) : 38 – 40.
- [26] 陈青君, 张福墁, 王永健, 等. 临界低温弱光对黄瓜光合特性及其酶变化的影响 [J]. *华北农学报* , 2003 , 18 (4) : 31 – 34.