

小蠹虫危害对秦岭华山松叶绿素荧光动力学参数的影响

王静静, 陈辉*, 李宗波

(西北农林科技大学 林学院, 陕西 杨陵 712100)

摘要:利用 Imaging-Pam 脉冲调制荧光成像仪测定秦岭林区不同危害阶段的华山松离体针叶叶绿素荧光变化状况。结果发现 $F_m = 0.1397$, $F_0 = 0.08974$, $F_v/F_m = 0.20$, $F_v/F_0 = 0.349$ 是华山松受害后的关键生理指标。

关键词:危害阶段;秦岭林区;小蠹虫;叶绿素荧光参数

中图分类号:S763.38 **文献标志码:**A **文章编号:**1001-7461(2011)01-0035-04

Influence on Chlorophyll Fluorescence Dynamics Parameter of Harm Stages of *Dendroctonus armandi* by Bark Beetles in Qinling Mountains

WANG Jing-jing, CHEN Hui*, LI Zong-bo

(College of Forestry, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: Imaging-Pam chlorophyll fluorescence appliance were used to analyze the dynamic parameters of *Dendroctonus armandi* in Qinling Mountains in the harm stage. The key physiological parameters to assess the harm stage of the pest were found as $F_m = 0.1397$, $F_0 = 0.08974$, $F_v/F_m = 0.20$ and $F_v/F_0 = 0.349$.

Key words: harm stages; Qinling Mountains; *Dendroctonus armandi*; chlorophyll fluorescence dynamic parameter

华山松大小蠹(*Dendroctonus armandi*)是危害秦岭华山松最主要的毁灭性害虫,不仅影响森林生态系统的结构和演替方向,而且直接关系着森林生态系统的稳定性和可持续发展^[1-4]。叶绿素荧光现象也称为 Kautsky 效应,是由 Kautsky 于 1931 年首先发现的^[5]。光合作用是最基本的生物学过程,植物体内发出的叶绿素荧光与光合作用中各种反应过程紧密相关,叶绿素 a 作为植物体内天然荧光探针,能够探测许多有关植物光合作用的信息。因此,利用叶绿素荧光动力学技术可以测定植物光合反应过程在逆境情况下变化状况,该技术被认为研究植物光合功能的快速、无损伤探针,其在测定植物光合作用过程中光合系统对光能的吸收、传递、耗散、分配等方面具有独特的作用,与“表观性”的气体交换指标相比,叶绿素荧光参数更能反应其“内在性”的特点^[6-7]。植物处在逆境(如干旱、盐碱、病虫害)条件下,植物光合系统会对此产生相似反应,利用叶绿素荧光动力学方法可以快

速、灵敏、无损伤研究和探测各种逆境对植物光合生理的影响^[8-9]。本文利用 Imaging-Pam 脉冲调制荧光成像仪探讨了秦岭不同危害阶段华山松针叶叶绿素荧光动力学参数的变化状况,以期为评价华山松受害程度和寄主树木的死亡进程提供一定的理论基础。

1 材料与方法

1.1 采样地概况

火地塘林场位于陕西秦岭南坡安康市宁陕县境内,海拔 1 500~2 450 m,属于秦岭南坡山地温带气候。主要成林树种有华山松(*Pinus armandi*)、油松(*Pinus tabulaeformis*)、落叶松(*Larix gmelinii*)、锐齿栎(*Quercus aliena* var. *acuteserrata*)、红桦(*Betula albo-sinensis*)和牛皮桦(*Betula utilis*)^[2]。

1.2 材料

2009 年 5 月 7 日在火地塘林场选择不同危害阶段的华山松,从 3 个树种树冠外围向阳面中部选

收稿日期:2010-06-07 修回日期:2010-07-01

基金项目:国家自然科学基金重点项目(30730073)

作者简介:王静静,女,硕士研究生,主要从事森林昆虫方面的研究。

* 通讯作者:陈辉,男,博士,教授,主要从事森林昆虫学的教学与研究。

取有代表性的枝条,截取长10 cm带针叶的1 a生枝条,装入冰壶迅速带回实验室。选取的枝条距地面3 m左右。

华山松危害阶段划分标准:

健康木:针叶全部为健康的绿色,树干表面较光滑、没有漏斗状凝脂,韧皮部和木质部颜色正常,均无蓝变现象,木质部有大量的树脂流出。

新侵木:针叶部分失绿,树干表面有少许凝脂漏斗,韧皮部和木质部颜色正常,部分有蓝变的现象,树干有蛀入孔的地方有树脂流出。

枯萎木:部分针叶变黄或黄褐色,树干上有褐色或暗褐色大型漏斗状凝脂,树势衰弱,韧皮部和木质部之间有大量的小蠹虫坑道,韧皮部和木质部有蓝变现象出现,木质部有少量树脂流出且流速缓慢。

枯立木:针叶全部干枯,呈红褐色或灰褐色,树势极度衰弱,树木接近死亡,树干上凝脂干缩或剥落,木质部没有树脂流出,韧皮部和木质部蓝变现象严重。

1.3 方法

采用德国生产的 Imaging-Pam 脉冲调制荧光成像仪测定不同危害阶段的华山松的离体针叶叶绿

素荧光变化状况。测定前叶片暗适应20 min,测定时间为5 min,仪器操作温度25~28℃,每个样品重复三次,取平均值。

采用SPSS11.5进行分析。

2 结果与分析

2.1 华山松受害后针叶 F_0 , F_m , F_v , F_v/F_m , F_v/F_0 , F_m/F_0 等参数的变化

F_0 (初始荧光产量)代表不参与PSII光合反应的光能辐射部分,是PSII反应中心处于完全开放时的荧光产量,与叶绿素的浓度有关,由叶绿素a发射,它反映类囊体膜结构的变化; F_m 为最大荧光产量,是PSII反应中心处于完全关闭时的荧光产量,它反映通过PSII的电子传递情况; $F_v = F_m - F_0$,可变荧光产量,其表示可参与PSII光合化学反应的光能部分,反映了 Q_A 的还原情况; F_v/F_m 指最大光化学量子产量,反应PSII反应中心内禀光能转化效率; F_v/F_0 表示PSII的潜在活性; F_m/F_0 反映通过PSII的电子传递情况。

表1 华山松受害后对针叶叶绿素荧光参数 F_0 , F_m 的影响

Table 1 Influence on chlorophyll fluorescence parameters F_0 and F_m of damaged leaf of *P. armandi* by *D. armandi*

危害阶段	F_0	变化/%	F_m	变化/%
健康木	0.111 07±0.002 367(a)	—	0.198 14±0.004 747(a)	—
新侵木	0.108 90±0.002 265(a)	-1.95	0.172 04±0.004 575(b)	-13.17
枯萎木	0.099 39±0.003 227(b)	-10.52	0.108 45±0.002 399(c)	-45.27
枯死木	0.066 18±0.001 868(c)	-40.42	0.069 88±0.001 795(d)	-64.73

注: F_0 & F_m :平均数±标准误差;同一列小写字母相同表示在 $p<0.05$ 水平上差异不显著,不同为差异显著;以下各表相同。

由表1知,华山松受到小蠹虫危害后, F_0 , F_m 都逐渐降低,华山松新侵木与枯萎木下降程度较低,分别为1.95%和10.52%,说明此阶段的华山松还具有一定的光合能力,能够合成自身所需的营养物质,但达到枯死阶段时, F_0 下降程度达到了40.42%,说明针叶的光合能力已基本丧失;小蠹虫一旦入侵危害,最大荧光产量(F_m)就会发生大幅度的下降,枯萎木和枯死木阶段下降程度达到45.27%和64.73%,说明此两阶段的树木已基本死亡,失去了采取防治措施的意义。 F_m 在新侵木与枯萎木之间会发生大幅度下降,出现明显的拐点(0.139 7),呈倒“S”形;而 F_0 在枯萎木与枯死木间也存在一拐点(0.089 74),这两个数值可能是评价小蠹虫危害程度的一个理想指标。 F_0 的减少可能是针叶PSII反应中心出现可逆的失活或出现不易逆转的破坏,或者是针叶类囊体膜遭到损伤,而且 F_0 减少越多,类囊体可能受损程度就越严重。 F_m 是叶片经过完全暗适应后测得的最大荧光产量,它的大小与PSII原

初电子受体 Q_A 的氧化还原状态有关,在小蠹虫为害后针叶PSII反应中心出现可逆的失活或破坏时在 F_0 下降的同时 F_m 也减少,但减少幅度更大。

表2和表3显示, F_v , F_v/F_m , F_v/F_0 , F_m/F_0 等参数在不同危害阶段的华山松中均出现大幅度的下降。总体来说,4种阶段中,枯萎木与新侵木是变化的拐点($F_v/F_m=0.20$, $F_v/F_0=0.349$),产生了最大幅度的下降,而健康与新侵、枯萎与枯死之间下降幅度较小,前者说明胁迫环境还未对针叶光合器官造成致命的伤害,后者表明针叶光合器官失活或已受到不可逆的破坏。同时, F_v , F_v/F_m , F_v/F_0 , F_m/F_0 等参数的下降表明小蠹虫危害可能使针叶PSII活性中心受到伤害,光合作用原初反应过程受抑制,光合电子由PSII反应中心向 Q_A , Q_B 及PQ库传递过程受到影响,不利于激发能从天线色素蛋白复合体向PSII传递。另外,拐点的出现可能是PSII反应中心失活过程中的关键点。

表2 华山松受害后对针叶叶绿素荧光动力学参数 F_v , F_v/F_m 的影响Table 2 Influence on chlorophyll fluorescence parameters F_v and F_v/F_m of damaged leaf of *P. armandi* by *D. armandii*

危害阶段	F_v	变化/%	F_v/F_m	变化/%
健康木	0.070 80±0.002 759(a)	—	0.357 3±0.005 676(a)	—
新侵木	0.063 14±0.001 939(b)	-10.82	0.327 1±0.006 890(a)	-9.96
枯萎木	0.009 06±0.000 577(c)	-87.20	0.083 5±0.005 971(b)	-76.63
枯死木	0.003 70±0.000 100(c)	-94.77	0.052 9±0.001 363(c)	-85.18

表3 华山松受害后对针叶叶绿素荧光动力学参数 F_v/F_o , F_m/F_o 的影响Table 3 Influence on chlorophyll fluorescence parameters F_v/F_o and F_m/F_o of damaged leaf of *P. armandi* by *D. armandii*

危害阶段	F_v/F_o	变化/%	F_m/F_o	变化/%
健康木	0.637 4±0.017 800(a)	—	1.783 9±0.017 800(a)	—
新侵木	0.579 7±0.024 785(b)	-9.05	1.579 8±0.024 785(b)	-11.44
枯萎木	0.091 2±0.005 765(c)	-85.69	1.112 0±0.002 885(c)	-37.66
枯死木	0.055 9±0.001 204(c)	-91.23	1.056 0±0.001 204(c)	-40.80

2.2 华山松受害后针叶 qP , NPQ , qN , ETR , $Yield$ 等参数的变化

从表3和4可以看出, qP , NPQ , qN , ETR 在不同危害阶段中均减小。但具体来说, NPQ 和 qN 在危害各阶段减少的程度均较大, 达到29.96%~71.31%和43.39%~59.92%; qP 和 ETR 在健康木到新侵木阶段之间, 减少程度较小, 为7.7%和14.18%, 以后两个阶段减少程度非常大, 达到

99.69%以上。 qP 的减少表明PSⅡ开放的反应中心比例和参与CO₂固定的电子减少, 这种比例的减少必然会使光合电子传递能力减弱, 叶片暗反应受阻, 光合效能下降; NPQ 的下降则表明针叶叶片非光化学淬灭和热耗散方式耗散作用下降。 ETR 在枯萎木和枯死木阶段均值都非常小, 说明这时植物光合作用已经消失, 只存在着耗能过程。

表4 华山松受害后对针叶叶绿素荧光动力学参数 NPQ , qN 的影响Table 4 Influence on chlorophyll fluorescence parameters NPQ and qN of damaged leaf of *P. armandi* by *D. armandii*

危害阶段	NPQ	变化/%	qN	变化/%
健康木	0.221 18±0.006 061(a)	—	1.000 00±0.000 000(a)	—
新侵木	0.154 91±0.010 948(b)	-29.96	0.566 13±0.007 983(b)	-43.39
枯萎木	0.076 82±0.001 702(c)	-65.26	0.485 60±0.021 886(c)	-51.44
枯死木	0.063 45±0.011 351(c)	-71.31	0.404 76±0.049 879(c)	-59.52

表5 华山松受害后对针叶叶绿素荧光动力学参数 ETR , qP 的影响Table 5 Influence on chlorophyll fluorescence parameters ETR and qP of damaged leaf of *P. armandi* by *D. armandii*

危害阶段	ETR	变化/%	qP	变化/%
健康木	38.94±0.502(a)	—	0.799 8±0.007 178(a)	—
新侵木	35.94±0.728(b)	-7.7	0.686 4±0.008 169(b)	-14.18
枯萎木	0.12±0.073(c)	-99.69	0(c)	-100
枯死木	0(c)	-100	0(c)	-100

3 结论与讨论

光合作用是在叶绿体中进行的, 叶绿素是位于叶绿体内的光合色素, 直接参与光合作用中光能的吸收、传递、分配和转化等过程。逆境胁迫对植物光合作用的影响是多方面的, 不仅仅直接损伤植物的光合器官, 同时也影响挥发性化合物的合成。由于植物体内叶绿素a荧光与光合作用中各种反应密切相关, 所以各种逆境因子对植物光合作用的影响可以通过对体内叶绿素a荧光诱导动力学曲线以及由其导出参数的测定反映出来。

目前, 国内外许多学者在利用叶绿素荧光动力

学技术评价作物的耐光、高温、耐低温、耐干旱、耐水淹、耐盐碱等逆境特性, 并取得了初步成功。对于由昆虫取食对植物造成影响, 研究较少。陈建明^[10]对不同品种遭受褐飞虱危害后植株的叶片做了叶绿素荧光动力学研究, 认为得到的各种参数可以用来评价植物耐虫性的指标。段爱国等^[8]对离体华山松枝条叶片的叶绿素荧光参数作了较为深入的评价, 认为 F_m 、 F_o 、 F_v/F_o 、 F_v/F_m 可以用来鉴定不同地区华山松种源的差异性。李晓莺等^[9]认为抗蚜虫基因对枸杞植株的光和生理影响不大, 仅有一株叶片叶绿素含量发生了变化。植株受到病原物的入侵危害, 可以明显的改变植株的光合性能^[11-12]。梁海永

等^[13]研究发现,NaCl 胁迫降低了欧洲黑杨组培植株叶片的 F_v/F_0 , F_v/F_m , F_v/F_0 以及降低了光化学淬灭系数 qP , 提高了非光化学淬灭系数 qN , 从而影响了植物的生长和有机物质的合成。本文分析了受华山松大小蠹危害的华山松针叶的荧光动力学参数进行了分析, 认为 $F_m = 0.1397$, $F_0 = 0.08974$, $F_v/F_m = 0.20$, $F_v/F_0 = 0.349$ 这些拐点可能对评价华山松受害程度有重大价值。周朝彬等研究了干旱胁迫对胡杨叶绿素荧光参数的影响, 研究表明: F_v/F_m , F_v/F_0 , $\Phi PS II$, ETR 和 qP 随着干旱胁迫的降低而有上升趋势, NPQ 则呈下降趋势^[14]。徐燕等^[15]对弱光环境下川西亚高山红桦幼苗光合及叶绿素荧光参数进行了测定。遮荫处理的 $\Phi PS II$, F_v/F_m 的日变化比较平稳而且维持在一个较高的水平, 而且其 F_0 , $\Phi PS II$, F_v/F_m 值均高于对照。

荧光动力学参数作为评价华山松受害程度的定性指标表现出一定的现实意义, 但作为定量指标则有一定的局限性。对于利用植物针叶叶绿素荧光参数作为评价害虫危害寄主程度的指标, 尚需进一步的研究。在继续探讨荧光参数与害虫危害程度指标的同时, 可对荧光参数和其它生理指标的相关性方面开展研究, 尤其是荧光参数的数量变化规律对华山松受胁迫程度以及树种的抗虫能力的关系, 并结合胁迫过程中华山松针叶光合作用变化进行分析, 以全方位地揭示荧光参数对树种受害程度的指示作用和树种遭受虫害胁迫后的生理反应机理。

参考文献:

- [1] 陈辉. 化学信息素对小蠹虫入侵危害的调控[J]. 林业科学, 2003, 39 (6): 154-158.
CHEN H. The regulation role of semiochemicals in the host selection and colonization of bark beetles [J]. *Scientia Silvae Sinicae*, 2003, 39 (6): 154-158.
- [2] 陈辉, 袁锋. 秦岭华山松大小蠹生态系统与综合治理 [M]. 北京: 中国林业出版社, 2000.
- [3] 沃特斯 W E, 斯塔克 R W, 伍德 D L 著. 松树与小蠹虫生态系-害虫综合管理 [M]. 梁其伟译. 北京: 中国林业出版社, 1991.
- [4] 陈辉, 唐明, 叶宏谋, 等. 秦岭华山松小蠹生态位研究[J]. 林业科学, 1999, 35 (4): 40-44.
CHEN H, TANG M, YE M S, et al. Niche of bark beetles within *Pinus armandi* ecosystem in inner Qingling Mountains [J]. *Scientia Silvae Sinicae*, 1999, 35 (4): 40-44.
- [5] 韩志国 译. 叶绿素荧光与光合作用能量转换—叶绿素荧光基础试验指南 [M]. 德国: WALZ 公司中国技术服务中心, 2004.
- [6] 陈建明, 俞晓平, 程家安. 叶绿素荧光动力学及其在植物抗逆生理研究中的应用[J]. 浙江农业学报, 2006, 18 (1): 51-55.
CHEN J M, YU X P, CHENG J A. The application of chlorophyll II fluorescence kinetics in the study of physiological responses of plants to environmental stresses [J]. *Acta Agriculturae Zhejiangensis*, 2006, 18 (1): 51-55.
- [7] 张守仁. 叶绿素荧光动力学参数的意义及讨论[J]. 植物学通讯, 1999, 16 (4): 444-448.
ZHANG S R. A discussion on chlorophyll II fluorescence kinetics parameters and their significance [J]. *Chinese Bulletin of Botany*, 1999, 16 (4): 444-448.
- [8] 段爱国, 保尔江, 张建国. 水分胁迫下华北地区主要造林树种离体枝条叶片的叶绿素荧光参数[J]. 林业科学, 2005, 18 (5): 578-584.
DUAN A G, BAO E J, ZHANG J G. Response of fluorescence parameters in detached leaves of several tree species in Huabei district to drought stress [J]. *Forest Research*, 2005, 18 (5): 578-584.
- [9] 李晓莺, 曹有龙, 何军, 等. 抗蚜虫转基因枸杞株系的光合生理特征[J]. 江西农业大学学报, 2005, 27(6): 864-866.
LI X Y, CAO Y L, HE Y, et al. The photosynthetic physiological properties of transgenic antiaphid *Lycium barbarum* L. [J]. *Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis*, 2005, 27 (6): 864-866.
- [10] 陈建明. 水稻品种对褐飞虱的耐性及其生理机制研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2004: 113-124.
- [11] 李国景, 刘永华, 朱祝军, 等. 硅和白粉病对长豇豆叶片叶绿素荧光参数和抗病相关酶活性的影响[J]. 植物保护学报, 2006, 33 (1): 109-110.
LI G J, LIU Y H, ZHU Z J, et al. Effect of silicon and powdery mildew on chlorophyll II fluorescence characteristics and activities of disease resistance-related enzymes in leaves of a sparagus bean [J]. *Acta Phytotaxonomica Sinica*, 2006, 33 (1): 109-110.
- [12] 王北洪, 黄木易, 马智宏, 等. 条锈病对冬小麦叶绿素荧光、光合及蒸腾作用的影响[J]. 华北农学报, 2004, 19 (2): 92-94.
WANG B H, HUANG M Y, MA Z H, et al. Effects of stripe rust on chlorophyll II fluorescence and photosynthesis of winter wheat [J]. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 2004, 19 (2): 92-94.
- [13] 梁海永, 李会平, 郑钧宝, 等. NaCl 胁迫对欧洲黑杨组培植株叶片光系统 II 功能的影响[J]. 河北林果研究, 2000, 15 (2): 101-104.
LIANG H Y, LIU H P, ZHENG J B, et al. Effect of NaCl stress on photosystem II functions in *Populus nigra* leaves [J]. *Hebei journal of forestry and orchard research*, 2000, 15 (2): 101-104.
- [14] 周朝彬, 宋于洋, 王炳举, 等. 干旱胁迫对胡杨光合和叶绿素荧光参数的影响[J]. 西北林学院学报, 2009, 24(4): 5-9.
ZHOU C B, SONG Y Y, WANG B J, et al. Effect of drought stress on photosynthesis and chlorophyll fluorescence parameters of *Populus euphratica* [J]. *Journal of Northwest Forestry University*, 2009, 24(4): 5-9.
- [15] 徐燕, 张远彬, 乔匀周, 等. 光照强度对川西亚高山红桦幼苗光合及叶绿素荧光特性的影响[J]. 西北林学院学报, 2007, 22(4): 1-4.
XU Y, ZHANG Y B, QIAO J Z, et al. Effects of light intensity on the traits of photosynthesis and chlorophyll fluorescence of red birch seedlings in Subalpine Area, Western China [J]. *Journal of Northwest Forestry University*, 2007, 22(4): 1-4.