

碳稳定同位素技术在植物水分胁迫研究中的应用

陈英华, 胡 俊, 李裕红, 薛 博, 严重玲*

(厦门大学生命科学学院, 厦门 361005)

摘要: 植物体的碳稳定同位素组成主要由植物本身的生物学特性决定, 但环境胁迫对其影响也十分明显。综述了碳稳定同位素技术在研究植物水分利用效率、生物量高低及判断历史气候依据等研究领域的进展, 阐明了植物体的 $\delta^{13}\text{C}$ 值对于干旱、盐分及其它环境因素的变化所引起的水分胁迫的响应, 并对碳稳定同位素对水分胁迫的响应机理进行了归纳和推断。

关键词: 碳稳定同位素; 水分胁迫; 碳同位素比值($\delta^{13}\text{C}$); 碳同位素判别(Δ); 水分利用效率(WUE)

Application of stable carbon isotope techniques to research into water stress

CHEN Ying-Hua, HU Jun, LI Yu-Hong, XUE Bo, YAN Chong-Ling* (School of Life Sciences, Xiamen University, Xiamen 361005, China). *Acta Ecologica Sinica*, 2004, 24(5): 1027~1033.

Abstract: Carbon isotope composition is mostly determined by the biological characteristic of plants, but the influence of environmental stress is also evident and cannot be ignored. This article discusses the development of studies on the application of carbon isotope technology for water use efficiency (WUE), biomass, past climate; summarizes the response of $\delta^{13}\text{C}$ in plants to water stress caused by drought, salinity and other environment factors and deduces the responsive mechanism of carbon stable isotope to water stress.

Normally, WUE is enhanced by water stress, and carbon isotopic discrimination (Δ) has a negative correlation with WUE. As previous studies suggest, most experiment results were obtained from many kinds of environment conditions and the reciprocity among these environment factors is very distinct, especially in some field experiments, therefore the value of $\delta^{13}\text{C}$ can be used to compare their WUE more accurately when certain environmental conditions become limiting factors. In addition, the relation among $\delta^{13}\text{C}$, Δ and WUE in few plants displays differences in different plant organs and growth stages.

At present, the mechanism of $\delta^{13}\text{C}$ variation is limited to the physiological regulation such as stomatal conductance, intercellular CO_2 and activity of carboxylase. Further study should be done on the carbon fractionation during the process of physiological and biochemical metabolism. Studies on the change of carbon isotope composition in soil and respired CO_2 should also be investigated. In addition, the effect of flood damage on plants $\delta^{13}\text{C}$ can be further.

Key words: carbon stable isotope; water stress; carbon isotopic ratio; carbon isotopic discrimination; water use efficiency

文章编号: 1000-0933(2004)05-1027-07 中图分类号: Q945.15, Q948.1, S718 文献标识码: A

干旱胁迫与盐胁迫是植物体遭受水分胁迫常见的两种形式。水分胁迫下, 作物产量和植物生物量均会有所降低。因此, 深入研究水分胁迫对植物各生理参数和形态指标的影响, 从中找出灵敏、简便的抗性筛选指标必将为改进旱地和节水农业栽培及选育抗性品种提供理论依据。水分胁迫是通过影响气孔和光合羧化酶对碳同位素的分馏效应 α 、 β 和细胞内 CO_2 浓度来影响植物碳同位素比例($\delta^{13}\text{C}$), 因此运用质谱仪测定少量植物样品的碳同位素比率, 可综合植物长期的光合特性及多种生理和形态指标使胁迫效应得以量化。所以, 运用碳同位素技术研究植物体与水分胁迫的关系具有十分重要的意义。

稳定同位素是具有相同原子和质子序数、但不同中子数、且无可测放射性的元素形式。稳定同位素技术常用的两个分析指

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30170190)

收稿日期: 2003-08-06; 修订日期: 2004-02-15

作者简介: 陈英华(1980~), 女, 江西南昌人, 硕士研究生, 主要从事污染生态学研究。

* 通讯作者 Author for correspondence. E-mail: yel@xmu.edu.cn.

Foundation item: National Natural Science Foundation of China(No. 30170190)

Received date: 2003-08-06; Accepted date: 2004-02-15

Biography: CHEN Ying-Hua, Master candidate, mainly engaged in pollution ecology.

标是同位素比值(isotope ratio) δ 与同位素判别值(carbon isotope discrimination value) Δ 。一般定义同位素比值 R 为某一元素的重同位素原子与轻同位素原子丰度之比,但由于 R 值极难测定,因此实际采用相对测量法,将待测品的同位素比值 R_{sa} 与一标准物质的同位素比值 R_{st} 作比较,其结果即为样品的 δ 值,就碳而言,其同位素比值可表示为:

$$\delta^{13}\text{C}(\text{‰}) = [(^{13}\text{C}/^{12}\text{C})_{\text{sa}} / (^{13}\text{C}/^{12}\text{C})_{\text{st}}] \quad (1)$$

碳同位素分析时使用的国际通用标准样品 PDB(Pedee Belemnite)是美国南卡罗来纳州碳酸盐陨石。碳同位素判别值 Δ 与 $\delta^{13}\text{C}$ 值的关系可表示为:

$$\Delta = (\delta^{13}\text{C}_{\text{源}} - \delta^{13}\text{C}_{\text{产物}}) / [1 + (\delta^{13}\text{C}_{\text{源}} / 1000)] \quad (2)$$

除空气污染严重的工业区外,大气中的 $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ 一般比较恒定,约为 98.89 : 1.11。植物体在光合作用过程中会对 ^{13}C 进行选择吸收,其 $\delta^{13}\text{C}$ 值的高低主要取决于光合途径的差异; C_3 植物 $\delta^{13}\text{C}$ 值的变化范围从 $-20\text{‰} \sim -35\text{‰}$,若排除气孔导度大小造成的影响,正常生理条件下 RUBPCase 的分差作用一般在 -27‰ 左右^[1]; C_4 植物鞘细胞和叶肉细胞在 CO_2 同化过程中分工明确,其光合相关酶的分布与 C_3 植物不同,因此其 $\delta^{13}\text{C}$ 值通常在 $-7\text{‰} \sim -35\text{‰}$ 之间,其中丙酮酸羧化酶(PEPCase)的分差效应只有 2‰,Benedict^[2]因此推论; C_4 植物的碳同位素分差是由于与时间有关的分馏(即动力学分馏)而引起的;景天科酸代谢植物(CAM 植物)的 $\delta^{13}\text{C}$ 值从 $-10\text{‰} \sim -22\text{‰}$ ^[3],介于 C_3 和 C_4 植物之间;另外,海洋植物和水体植物的碳同位素组成变化范围很广,分别从 -5.6‰ 到 -34.3‰ ^[4,5]和 $-8.7\text{‰} \sim -42.8\text{‰}$ ^[6]。

从植物生物学特征来看,同一植物的各种生态型间同化 ^{13}C 的能力的差异是不大的,且 C_3 、 C_4 植物的 $\delta^{13}\text{C}$ 值均比较稳定。但是,环境因子对植物 $\delta^{13}\text{C}$ 值的影响也很明显。同种植物之间碳同位素比率由于环境的差异(如水分、空气湿度、污染物等)其 $\delta^{13}\text{C}$ 值可达 3‰~5‰^[7]。有些 CAM 植物如 *Kalanchoe daigremontiana*,当温度从 17℃ 升高到 31℃ 时,其 $\delta^{13}\text{C}$ 值降低 8‰^[8]。Farquhar 等^[9,10]在前人工作的基础上推导出了两个比较简单的联系 C_3 、 C_4 植物的 $\delta^{13}\text{C}$ 值与环境变量的量化方程:

$$\delta^{13}\text{C}_p = \delta^{13}\text{C}_a - a - (b - a)C_i/C_a \quad (3)$$

$$\delta^{13}\text{C}_p = \delta^{13}\text{C}_a - a \quad (4)$$

$$WUE = A/E = (C_a - C_i)/1.6\Delta W \quad (5)$$

$$A = g \times (C_a - C_i)/1.6 \quad (6)$$

$$E = g \times \Delta W \quad (7)$$

$$WUE = C_a [1 - (\delta^{13}\text{C}_a - \delta^{13}\text{C}_p) / a(b - a)] / 1.6\Delta W \quad (8)$$

式中, C_i 、 C_a 分别为胞间 CO_2 浓度和大气 CO_2 浓度。 a 、 b 分别为 CO_2 扩散引起的碳同位素分差(4.4‰)和气孔光合羧化酶的分部效应(27‰)。 $\delta^{13}\text{C}_p$ 和 $\delta^{13}\text{C}_a$ 分别为植物组织和环境 CO_2 的碳同位素比率。 A 、 E 分别为光合效率和蒸腾效率。 ΔW 为叶内外的水气压之差。这些方程组将 $\delta^{13}\text{C}$ 与大气 CO_2 浓度、胞间 CO_2 浓度,气孔和光合羧化酶分部效应 a 和 b 、水分利用效率 WUE 等因子联系起来。

另一方面,从土壤的理化特性来看,土壤有机质的源物质大都来自生长于其地表的植物,随着土壤深度的增加,土壤 CO_2 的同位素组成从接近土壤表层的大气 $\delta^{13}\text{C}$ 值逐渐向更接近生物来源 $\delta^{13}\text{C}$ 值变化。因此,可通过研究不同植物的 $\delta^{13}\text{C}$ 值来判断土壤有机质的来源^[11],从而研究植被动态演替过程^[12,13]。但是土壤中的有机质随施肥的种类、土壤可获得水分、土壤中不同微生物呼吸的差异也会造成植物体碳同位素比值的差异^[14]。因此植物生存的环境条件的对碳同位素分差的影响不容忽视。

1 $\delta^{13}\text{C}$ 值(或 Δ 值)与 WUE 的关系

由公式 1~6 可得出, $\delta^{13}\text{C}$ 值与 Δ 值呈负相关,与 WUE 呈正相关,因此高 $\delta^{13}\text{C}$ 值或低 Δ 值对应高 WUE 。许多实验也证实了它们的相关性^[16,17]。因此,测定植物 $\delta^{13}\text{C}$ 值成为鉴定胁迫条件下植物水分利用效率的一种常规方法。与测定光合效率(A)/蒸腾效率(E)得到的瞬时水分利用效率不同,通过测定植物体 $\delta^{13}\text{C}$ 值来反映 WUE 的变化由于综合了植物生长周期中各组织的所有碳吸收,因而可以判定植物长期水分利用效率的高低,同时为选育高 WUE 作物提供快速、简便的技术。相当的盆栽实验表明,筛选低 Δ 值(高 $\delta^{13}\text{C}$ 值)的作物可能是筛选高 WUE 作物的一个有效的代替指标^[18~21]。

Δ 值虽然与 WUE 的负相关在小麦^[22]及其它许多植物^[23]中得到了证实,但是,一项关于大麦的研究却表明其 Δ 与 WUE 呈正相关^[24];对于沙漠植物的抗旱性与 WUE 的研究表明两者无相关性,而且抗旱性强的盆地灌木叶片的 $\delta^{13}\text{C}$ 值比共生树种更负,即 WUE 更低^[25]。Yehoshua Saranga^[26]的研究表明,棉铃成熟阶段的叶片最适合通过 $\delta^{13}\text{C}$ 值评估棉花的 WUE ,因为 WUE 与棉铃成熟期的叶片及最后棉铃花蕾的 $\delta^{13}\text{C}$ 值的相关性最高。因此,通过 $\delta^{13}\text{C}$ 值来评估植物 WUE 具有生长阶段和器官的特异性。而且, $\delta^{13}\text{C}$ 未能提供直接的气体交换速率,若通过对不同种植物以及不同生境下植物的碳同位素比率进行比较来区别植物的 WUE 在可比性上仍受到许多限制。

2 $\delta^{13}\text{C}$ 值(或 Δ 值)与植物生物量或作物产量的关系

植物的生物量与 $\delta^{13}\text{C}$ 值呈负相关^[7, 16]。植物水分利用效率的提高有助于减弱水分的胁迫效应,并提高非胁迫条件下作物的产量和质量。而且,叶片蒸腾效率、田间试验的 WUE 、生产力水平,都与 Δ 值有关,因此, Δ 值可作为植物水分胁迫的整合性指标^[27]。同时也可作为筛选抗性植物的间接指标^[27~29]。

许多实验研究表明作物产量或生物量只与特定器官的 Δ 值呈正相关^[27, 30]。对于生长在干旱的地中海环境下的大麦,实验样品均受到明显或严重的干旱胁迫。其作物产量和 Δ 值的相关性在最干旱的环境下极其显著,而且早期开花基因型的大麦具有最高的 Δ 值,且大麦的高产与低 $\delta^{13}\text{C}$ (WUE) 并存。籽粒 Δ 值与一系列大麦栽培种的产量呈正相关,并且这种相关性在水分胁迫最严重时最明显^[31],从播种到抽穗,籽粒 Δ 值与作物产量呈明显的负相关。因此,将 Δ 值用于植物产量或生物量的研究同样也具有一定的器官特异性和生长阶段性。

3 与水分胁迫相关的环境因子对 $\delta^{13}\text{C}$ 值(或 Δ 值)的影响

3.1 干旱胁迫

生长在潮湿环境下的物种对 ^{13}C 的判别比长期处于干旱环境下的要高,因此,水分限制区域的 $\delta^{13}\text{C}$ 值和 WUE 比水源充分地区要高^[26, 32]。湿度很低时,小麦,早熟禾(*Poa pratense*)和高粱的稳定碳同位素组成高于对照^[33]。Leidi^[15]在研究干旱条件下的棉花时指出,随着水分亏缺的加剧, $\delta^{13}\text{C}$ 值升高,叶片碳同位素判别(Δ)降低,并且 Δ 值的减少与光合效率 A 、蒸腾效率 E 和气孔导度 g_s 的降低有关。

土壤可获得水的减少以及负压的增加会伴随 Δ 值的减少,即 $\delta^{13}\text{C}$ 值的增加。对不同土壤水分状况下生长的几种植物树轮的 $\delta^{13}\text{C}$ 值的比较发现:植物 $\delta^{13}\text{C}$ 值随环境干旱程度的增加而增大^[33]。但一项关于棉花不同生长阶段和不同器官的研究得到与此相反的结果:在水分充足的第一棉铃纤维的 $\delta^{13}\text{C}$ 值比水分状况不利时期的叶片纤维 $\delta^{13}\text{C}$ 值还要高^[25]。

对于生长在相同营养条件下的植物^[34],纤维素的 $\delta^{13}\text{C}$ 值可准确地反映出植物水分获得性。植物的 $\delta^{13}\text{C}$ 与生长地点的年降水量、 $\delta^{13}\text{C}$ 与空气相对湿度的线性回归分析表明它们之间的相关性极显著。同时,树径最内层还出现了 ^{13}C 的富集现象,这与发育不全的最内层树轮的“幼龄效应”不同,因为通过与植物生长地区的降雨曲线的比较可以看出,这种 $\delta^{13}\text{C}$ 的转变与 20 世纪 70 年代该地区的干旱气候相对应;自然条件下,陆地降雨量减少,水分胁迫加重,将导致空气湿度、土壤含水量的降低,从而使植物叶片光合速率、气孔导度下降, $\delta^{13}\text{C}$ 值增大。而且降雨量越大,红松叶子的 $\delta^{13}\text{C}$ 值越低^[35]。苏波^[36]在对中国东北样带草原区植物的研究表明, $\delta^{13}\text{C}$ 与 WUE 随年均降雨量呈现多种变化趋势。羊草(*Leymus chinensis* (Trin.) Tzvel.)、家榆(*Ulmus pumila* L.)、小叶锦鸡儿(*Caragana microphylla* Lam.)、直立黄芪(*Astragalus adsurgens* Pall.)、地榆(*Samguisorba officinalis* L.)、菊叶委陵菜(*Potentilla tanacetifolia* Willd. ex Schlecht.)等植物的 $\delta^{13}\text{C}$ 及 WUE 随降雨量的增加而呈不同程度的降低趋势;费尔班克斯(Fairbanks)地区的降雨量与 $\delta^{13}\text{C}$ 的判别(Δ)呈显著相关($0.335, p > 0.02$)^[37]说明这些植物是通过调节气孔导度改变 WUE ,从而适应环境;达乌里胡枝子(*Lespedeza davurica* (Laxm.) Schindl.)、麻花头(*Serratula centauroides* L.)和甘草(*Glycyrrhiza uralensis* Fisch.)的 $\delta^{13}\text{C}$ 值随年降水量增加而增加,说明这些植物能够充分利用水资源,在降水量最高的季节充分利用水分,从而有效地进行光合作用,储存有机物;而扁蓿豆、达乌里黄芪(*Astragalus dahuricus* (Pall.) DC.)、中间锦鸡儿(*Caragana intermedia* Kuang et H. C. Fu)和狭叶锦鸡儿(*Caragana stenophylla* Pojark.)随降水量变化不大。说明叶片生长期间,此类植物的同化速率与气孔导度之比没有大的变化。

干旱胁迫会引起植物不同生长时期和不同器官 $\delta^{13}\text{C}$ 值的差异。两个棉花栽培种叶片的 $\delta^{13}\text{C}$ 值在棉铃成熟期均比开花期和棉铃形成期高。这是因为在通常的滴灌下,棉花在开花期和棉铃形成期会经历一个相对稳定的非胁迫的水分状态,而在棉铃成熟期水分胁迫会逐渐加剧所致。因此,水分胁迫会引起某些植物不同生长时期 $\delta^{13}\text{C}$ 值的变化。另外,随着小麦生长发育的进行,水分胁迫的逐渐加剧还会造成小麦旗叶、籽粒和芒 3 个器官 Δ 的差异^[25]。

另外,全球气候变暖可能会诱导某些地区产生干旱胁迫。阿拉斯加内陆由于 20 世纪 80 和 90 年代的气候变暖,遭受 20 世纪最严重的干旱胁迫。阿拉斯加内陆 20 种白云杉(white spruce)的树轮信息(树轮的宽度,最大晚材密度和碳同位素组成)^[28]表明:温度诱导的干旱胁迫对白云杉的快速生长产生了明显的影响,树轮径向生长随温度的升高而降低。加拿大北方针叶林中的白云杉的径向生长与干热天气的持续时间呈负相关^[38]。另外,由于 $\delta^{13}\text{C}$ 提供了光合作用过程中 CO_2 吸收和水分蒸发损失等信息,可以通过 Δ 值、树轮纤维素 $\delta^{13}\text{C}$ 的差别以及大气中 $\delta^{13}\text{C}$ 的年变化来反映当地干旱信息。

在西伯利亚大草原,土壤和空气的低湿度导致了气孔关闭。产生这种生理过程的原因是叶片周围空气 CO_2 浓度的降低以及植物水分胁迫诱导的低吸收速率^[35]。因此在萨赫勒干旱地区,木材产量和纤维素中 ^{13}C 富集会降低。特定树种的 ^{13}C 含量部分地取决于植物抵抗水分亏缺的能力。

以上研究表明,干旱胁迫在通常情况下会引起 $\delta^{13}\text{C}$ 值的增高,从而提高 WUE 。然而也有少数研究出现外源干旱与 WUE 的关系不明显或呈负相关。他们认为 WUE 的差异可能是由于气孔导度对水分限制响应遗传上的差异或干旱的持续时间和强度的差异引起的^[25, 28]。因此, $\delta^{13}\text{C}$ 值的变化能否说明干旱因素引起的植物 WUE 的变化仍有待进一步研究。

3.2 盐分胁迫

虽然盐分胁迫与干旱胁迫对植物的生长的影响有许多相似之处,如导致气孔导度、光合效率的降低,生物量的减少等。但目前验证盐胁迫对植物体 $\delta^{13}\text{C}$ 值(或 Δ)的影响以及 $\delta^{13}\text{C}$ 值能否作为盐渍条件下反映作物产量的育种指标的研究仍很少。盐胁迫本身不影响光化学过程,盐胁迫条件下光合的降低基本上是由于气孔导度降低引起,它对棉花叶片光合作用的非气孔影响实际比原来根据传统的气体交换研究预期的小,光合速率对胞间 CO_2 浓度响应曲线变化所表现的非气孔影响是表面现象,可以归因于气孔的不均匀关闭^[39]。在棉花和大豆^[40]以及冰草^[41]的研究发现,遭受盐胁迫条件下植物的 Δ 值比非胁迫条件下要小;对于旱生盐角草和碱茅属植物 *Puccinellia nuttalliana* 的研究也证实了盐度的增加会导致田间样品和温室样品同位素判别的减少。判别值域可达 10‰^[42]。

提高培养液的盐分可使一些植物的 $\delta^{13}\text{C}$ 值增大,最大变幅可达 -6‰~-10‰,但光合羧化模式一般不发生变化^[42],水生植物中,淡水生种类的 $\delta^{13}\text{C}$ 值多近似于 C_3 植物,海水生的种类则多与 C_4 植物相同^[43]。盐分胁迫会造成植物体渗透势的变化,高渗透压对应较低的淡水供应和更高盐度的水分,在南佛罗里达,生长在海水盐度较高的灌木红树(shrub mangrove)比淡水供应较多的边缘红树(fringe mangrove)的 $\delta^{13}\text{C}$ 及 WUE 更高。因此,盐分很可能是 WUE 增加的驱动因子^[44]。与之相对照,生长于缓慢盐胁迫的红树树种中没有发现 ^{13}C 判别的降低^[45]。Smith and Epstein^[45]从盐沼中测定了一系列 C_3 和 C_4 植物的 $\delta^{13}\text{C}$ 值,并未发现 $\delta^{13}\text{C}$ 值与盐度的相关性。而且对于盐渍生境下的玉米(*Zea mays*),千日红(*Gomphrena globosa*),萝卜(*Raphanus sativus*),小麦(*Triticum aestivum*), *Salicornia virginica* 和大米草(*Spartina foliosa*)的 $\delta^{13}\text{C}$ 值的研究也未发现盐分对 $\delta^{13}\text{C}$ 值的影响。然而,Clough&Sim^[46]报道了与之相反的结果:红树科红海榄属几个种的 WUE、最大光合速率和叶片导度,均随土壤盐分升高降低,而这些值与 $\delta^{13}\text{C}$ 值却呈正相关。一些培养在盐胁迫的溶液中的大麦突变种在培养时显示出相对于各自母系更高的 Δ 、茎部更低的 N^+ 含量及茎生长的减弱。但这需要在田间盐分条件下证实并对更多的大麦栽培种进行实验^[47]。

Isla^[48]等对大麦研究的结果表明,土壤盐度从对照的无盐增加到高盐($\text{EC}_{\text{ss}}=22\text{dSm}^{-1}$)水平,气孔导度下降 65%,大麦籽粒产量与 Δ 值在无盐的情况下具有显著相关性,但在高盐条件下却无此相关性。盐胁迫下大麦的气孔导度下降^[49,50]。但盐胁迫下,气孔导度的降低对碳同化和总生长速率的下降仍未明确。Isla 的多元线性回归分析表明,气孔导度和籽粒产量在无盐条件下相关性显著,但在高盐下不呈现此关系。因此,在盐渍环境下,他认为:盐胁迫下大麦的产量是唯一可靠的鉴定大麦植物抗盐性的指标。气孔导度、 Δ 值等指标都不能作为大麦高产的间接筛选指标。

4 水分胁迫下植物碳稳定同位素比例变化的机理性研究

水分亏缺会引起气孔或非气孔因素的限制,从而影响植物体的光合效率和蒸腾效率。 $\delta^{13}\text{C}$ 值对此能作出综合反映。目前,关于水分胁迫下植物体的响应主要有以下 3 种类型:

(1)气孔限制因素 较早的研究认为,植物在轻度和中度水分胁迫下最敏感的反应就是气孔关闭^[51],此时,胞间 CO_2 浓度(C_i)可能降低,植物能选择吸收的 $^{12}\text{CO}_2$ 相对减少,造成 $\delta^{13}\text{C}$ 的增大。但也有植物随着水分胁迫的加重,气孔导度反而出现增大的现象。这可能是气孔周转的表皮细胞失水快于保卫细胞,导致气孔被动开大、降低了气孔限制的结果。此时,胞间 CO_2 浓度加大,植物的 $\delta^{13}\text{C}$ 值降低。因此,气孔限制的一个不可缺少的判据是 C_i 降低,而不是光合效率 A 与气孔导度 g 成正相关^[52]。

(2)非气孔限制因素 严重水分胁迫下,光合效率和气孔导度下降,但胞间 CO_2 浓度却呈现增加或恒定不变的趋势^[53,54]。有人推断这是由于非气孔因素的限制,如叶肉细胞光合活性的降低(ATP、Rubisco 含量和活性降低等)引起,而不是气孔导度降低的结果^[55,56]。Farquhar&Sharkey^[58]也认为,只有当胞间 CO_2 浓度降低和气孔限制值增大时,才可以作出光合速率降低主要是由气孔导度降低所引起的可靠结论。相反如果叶片光合速率的降低伴随 C_i 的提高,那么光合作用的主要限制因素是非气孔因素,即叶肉细胞光合活性的下降。此时,光合作用相关的酶活降低,对 ^{13}C 的判别减弱,造成 $\delta^{13}\text{C}$ 值的升高。但值得注意的是,大多数 C_i 都不是实测的,而是利用叶片气孔交换数据资料按 $C_i = C_a - 1.6 A/g$ 这个公式计算得来的,由此推断叶肉细胞光合能力的降低。而使用此公式有一个前提:叶片上的全部气孔都是开放的,即全部气孔的行为一致。因此在气孔不均匀关闭或叶片光合速率和气孔导度以同样的比例降低或增高的情况下,根据此公式测得的 C_i 值必然比实际值偏高从而导致光合作用的非气孔限制的假象^[39,58,59]。这一点在使用荧光法测定的结果相比较中得到了验证。因此,只有在 C_i 增加的情况下,才能确定 $\delta^{13}\text{C}$ 值的变化是由非气孔因素引起。

(3)气孔不均匀关闭 除上述两种情况外,植物还存在一种“气孔不均匀关闭”的现象,即一部分气孔保持其开度,而另一部分则完全关闭。因为气孔关闭可以充分解释以前猜想的光合作用的非气孔限制^[39]。所以只有在通过实验确知是否发生了气孔不均匀关闭现象的前提下,才能对环境胁迫特别是水分亏缺条件下 $\delta^{13}\text{C}$ 值和光合效率变化的主要原因是不是非气孔因素作出正确的判断。

碳稳定同位素技术虽然还有待进一步完善,但已经显示出其作为水分胁迫下抗性种的筛选工具的潜力,并为植物育种工程提供了新思路。树轮纤维素 $\delta^{13}\text{C}$ 值还可作为判断历史气候干旱的可靠依据。

大多数研究都表明,水分胁迫会引起植物的 WUE 的增加,但是水分胁迫环境下的植物其 WUE 的增加是否是盐胁迫或干旱胁迫产生的结果仍有待进一步验证。因为仍有少数实验无法证实此相关性。由于 $\delta^{13}C$ 未提供直接的气体交换速率,而通过对不同种植物以及不同生境下植物的碳同位素比率进行比较来区别植物的 WUE 仍有许多限制。因为只有当实验在某单一环境成为限制因子的情况下才可能通过 $\delta^{13}C$ 值来比较它们的 WUE 。但从目前的研究情况来看,大部分实验都是来自于多种环境条件的综合影响的结果,尤其是野外实验,各因子间的相互作用相当明显。另外,通过 $\delta^{13}C$ 值来评估植物 WUE 以及 Δ 值用于植物产量或生物量的研究具有生长阶段性和器官特异性。

红树植物长期遭受潮水和盐分的胁迫,研究其碳稳定同位素对盐胁迫和水淹胁迫的响应是一种新的思路,本研究组正致力于此方面的研究,以期通过碳稳定同位素技术来揭示红树植物的耐盐机理。但是,目前对于植物水分胁迫的 $\delta^{13}C$ 值变化的机理研究主要限于光合作用过程中叶片气孔导度、胞间 CO_2 浓度等生理调控方面。对于更细致的生理生化代谢过程中的碳同位素分差过程还有待进一步研究;由于全球范围土壤呼吸的幅度加大,对于土壤和呼吸产生的 CO_2 的同位素组成的自然变化的研究也应该增加;涝害对植物 $\delta^{13}C$ 值的影响,也值得进一步探索。

References:

- [1] Wong W W, Benedict C R, Kohel R J. Stomatal conductance correlates with photosynthetic capacity. *Nature (London)*, 1979, **282** (5737): 424~426.
- [2] Benedict C R. Nature of obligate photoautotrophy. *Annu. Rev. Plant Physiol.*, 1978, **29**(7645): 67~93.
- [3] Smith B N, Epstein S. Two categories of $^{13}C/^{12}C$ ratios for higher plants. *Plant Physiol.*, 1971, **47**(3): 380~384.
- [4] Black C C and Bender M M. $\delta^{13}C$ values in marine organisms from the Great Barrier Reef. *Aust. J. Plant Physiol.*, 1976, **3**(1): 25~32.
- [5] Andrews T J, Abel K M. Photosynthetic metabolism in seagrasses: ^{14}C -labeling evidence for the C_3 pathway. *Plant Physiol.*, 1979, **63** (5): 650~653.
- [6] Park R B, Epstein S. Carbon isotope fractionation during photosynthesis. *Plant Physiol.*, 1960, **36**(1): 133~138.
- [7] O'leary M H. Carbon isotopes in photosynthesis. *Biosci.*, 1988, **38**(5): 328~336.
- [8] Osmond C B, Bender M M, Burris R H. Pathway of CO_2 fixation in the CAM plant *Kalanchoe daigremontiana* III. Correlation with $\delta^{13}C$ value during growth and water stress. *Aust. J. Plant Physiol.*, 1976, **3**: 787~799.
- [9] Farquhar G D, O'Leary M H, Berry J A. On the relationship between carbon isotope discrimination and the intercellular carbon dioxide concentration in leaves. *Aust. J. Plant Physiol.*, 1982, **9**: 121~137.
- [10] Farquhar G D. on the nature of carbon isotope discrimination in C_4 species. *Aust. J. Plant Physiol.*, 1983, **10**: 205~226.
- [11] Balesdent J, Wagner G H and Mariotti A. Soil organic matter turnover in long term field experiments as revealed by Carbon-13 natural abundance. *Soil Science Society of America Journal*, 1988, **52**(1): 118~124.
- [12] Dzurec R S, Boutton T W, Caldwell M M, et al. Carbon isotope ratios of soil organic matter and their use in assessing community composition changes in Curlew Valley, Utah. *Oecologia*, 1985, **66**(1): 17~24.
- [13] Kingston J D, Marino B D and Hill A. Isotopic evidence for neogene hominid paleoenvironments in the Kenya Rift Valley. *Science*, 1994, **264**(5166): 955~959.
- [14] Zhang J J, Dou S. The application of $\delta^{13}C$ in soil organic matter. *Chinese Journal of Soil Science*, 1999, **30**(5): 235~238.
- [15] Leidi E O, López M, Forham J, et al. Variation in carbon isotope discrimination and other traits related to drought tolerance in upland cotton cultivars under dryland conditions. *Field Crops Research*, 1999, **61**(2): 109~123.
- [16] Farquhar G D, Ehleringer J R, Hubick K T. Carbon isotope discrimination and photosynthesis. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant. Mol. Biol.*, 1989, **40**(1): 503~537.
- [17] Hall A E, Farquhar G D, Ehleringer J R, eds. *Stable isotopes and plant Carbon-water relations*. San Diego, CA, USA: Academic Press, 1993. 155~172.
- [18] Johnson D A, Asay K H, Tieszen L L, et al. Carbon isotope discrimination; potential for screening cool-season grasses for water-limited environments. *Crop Sci.*, 1990, **30**(2): 338~343.
- [19] Ehdaie B, Hall A E, Farquhar G D, Nguyen H T, et al. Water use efficiency and carbon isotope discrimination in wheat. *Crop Sci.*, 1991, **31**(5): 1282~1288.
- [20] Ismail A M, Hall A E. Correlation between water use efficiency and carbon isotope discrimination in diverse cowpea genotypes and isogenic lines. *Crop Sci.*, 1992, **32**(1): 7~12.
- [21] Ismail A M, Hall A E and Bray E M. Drought and pot size effects on transpiration efficiency and carbon isotope discrimination of cowpea accessions and hybrids. *Amt. J. Plant Physiol.*, 1994, **21**(1): 23~35.

- [22] Ehdaie B, Waines J G. Variation in water-use efficiency and its components in wheat I. Well-watered pot experiment. *Crop Sci.*, 1993, **33**(2): 294~299.
- [23] Knight J D, Livingston N J, Van Kessel C. Carbon isotope discrimination and water-use efficiency of six crops under wet and dryland conditions. *Plant, Cell and Environment*, 1994, **17**: 173~179.
- [24] DeLucia E H, Schlesinger W H. Resource-use efficiency and drought tolerance in adjacent Great Basin and Sierran Plants. *Ecology*, 1991, **72**(1): 51~58.
- [25] Saranga Y, Flash I, Paterson A H, *et al.* Carbon isotope ratio in cotton varies with growth stage and plant Organ. *Plant Science*, 1999, **142**(1): 47~56.
- [26] Saranga Y, Flash I, Yakir D. Variation in water-use efficiency and its relation to carbon isotope ratio in cotton. *Crop Sci.*, 1998, **38**(3): 782~787.
- [27] Condon A G, Richards R A, Farquhar G D. Carbon isotope discrimination is positively correlated with grain field and dry matter production in field-grown wheat. *Crop Sci.*, 1987, **27**(5): 996~1001.
- [28] Hall A E, Mutters R G, Hubick K T, *et al.* Genotypic differences in carbon isotope discrimination by cowpea under wet and dry field conditions. *Crop Sci.*, 1990, **30**(2): 300~305.
- [29] Matus A, Slinka A E, Van Kessel C. Carbon-13 isotope discrimination at several growth stages in lentil, spring wheat and canola. *Can. J. Plant Sci.*, 1995, **75**(3): 577~581.
- [30] Craufurd P Q, Austin R B, Acevedo E, *et al.* Carbon isotope discrimination and grain yield in barley. *Field Crops Res.*, 1991, **27**: 301~313.
- [31] Febrero A, Bort J, Catala J, *et al.* Grain yield, carbon isotope discrimination and mineral content in mature kernels of barley under irrigated and rainfed conditions. *Agronomie*, 1994, **14**(2): 127~132.
- [32] Yakir D, De Niro M J, Ephrath J E. Effect of water stress on oxygen, hydrogen and carbon isotope ratios in two species of cotton plants. *Plant Cell Environ.*, 1990, **13**: 949~955.
- [33] Saurer M, Sigenthaler U. The climate-carbon isotope relationship in tree rings and the significance of site conditions. *Tellus B*, 1995, **47**(3): 320~330.
- [34] Fall M, Trimborn P, Ferhi André. ^{13}C in modern plants: an indicator of rainfall for Sahel. *Earth & Planetary Sciences*, 1998, **326**(6): 407~412.
- [35] Francey R J, Farquhar G D. An explanation of $^{12}\text{C}/^{13}\text{C}$ variations in tree rings. *Nature*, 1982, **297**(5861): 28~31.
- [36] Su B, Han X G, Li L H. Responses of ^{13}C value and water use efficiency of plant species to environmental gradients along grassland zone of northeast China transect. *Acta Phytocologica Sinica*, 2000, **24**(6): 648~655.
- [37] Valerie A. Barber, Glenn Patrick Juday, Bruce P Finney. Reduced growth of Alaskan white spruce in the twentieth century from temperature-induced drought stress. *Nature*, 2000, **405**(6787): 668~673.
- [38] Larsen C P S, MacDonald G M. Relations between tree-ring widths, climate, and annual area burned in the boreal forest of Alberta. *Can. J. Forest Res.*, 1995, **25**(6): 1746~1755.
- [39] Downton W J S, Loveys B R, Grant W J R. Stomatal closure fully accounts for the inhibition of photosynthesis by abscisic acid. *New Phytol.*, 1988, **108**(2): 263~266.
- [40] Brugnoli E, Lauteri M. Effects of salinity on stomatal conductance, photosynthetic capacity, and carbon isotope discrimination of salt tolerant (*Gossypium hirsutum* L.) and salt sensitive (*Phaseolus vulgaris* L.) C_3 non-halophytes. *Plant Physiol.*, 1991, **95**(2): 628~635.
- [41] Johnson, R C. Salinity resistance, water relations, and salt content of crested and tall wheatgrass accessions. *Crop Sci.*, 1991, **31**(3): 730~734.
- [42] Guy R D, Reid D M, Krause H R. Shifts in carbon isotope ratios of two C_3 halophytes under natural and artificial conditions. *Oecologia*, 1980, **44**(2): 241~247.
- [43] Osmond C B. Multiple forms of plant phosphoenolpyruvate carboxylase associated with different metabolic pathways. *Plant Physiol.*, 1973, **51**(3): 448~453.
- [44] Medina E, Francisco M. Osmolality and $\delta^{13}\text{C}$ of Leaf Tissues of Mangrove Species from Environments of Contrasting Rainfall and salinity. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 1997, **45**(3): 337~344.
- [45] Smith B N, Epstein S. Biogeochemistry of the stable isotope of hydrogen and carbon in salt marsh biota. *Plant Physiol.*, 1970(3), **46**: 739~742.
- [46] Clough B F, Sim R G. Changes in gas exchange characteristics and water use efficiency of mangroves in response to salinity and vapor pressure deficit. *Oecologia*, 1989, **79**(1): 38~44.

- [47] Pakniyat H, Handley L L, Thomas W T B, *et al.* Comparison of shoot Na^+ content and $\delta^{13}\text{C}$ values of ari-e and other semi-dwarf barley mutants under salt stress. *Euphytica*, 1997, **94**(1): 7~14.
- [48] Isla R, Aragu R, Royo A. Validity of various physiological traits as screening criteria for salt tolerance in barley. *Field Crops Research*, 1998, **58**(2): 97~107.
- [49] Shen Z, Shen Q, Liang Y, *et al.* Effect of nitrogen on the growth and photosynthetic activity of salt stressed barley. *J. Plant Nutrition*, 1994, **17**(5): 787~799.
- [50] Benes S E, Aragu S R, Austin R B, *et al.* Brief pre-and post-irrigation with freshwater reduces foliar salt uptake in maize and barley irrigated with saline water. *Plant Soil*, 1996, **180**(1): 87~95.
- [51] Chaves M M, Pereira J S, Maroco J, *et al.* How Plants Cope with Water Stress in the Field? Photosynthesis and Growth. *Annals of Botany*, 2002, **89**(7): 907~916.
- [52] Xu D Q. *Photosynthetic efficiency*. Shanghai: Science and Technology Press of Shanghai, 2002. 84~98.
- [53] Raschke K, Resemann A. The midday depression of CO_2 assimilation in leaves of *Arbutus unedo*: Diurnal changes in photosynthetic capacity related to changes in temperature and humidity. *Planta*, 1986, **168**(4): 546~558.
- [54] Beyschlag W, Lange O L, Tenhunen J D. Diurnal patterns of leaf internal CO_2 partial pressure of the sclerophyll shrub *Arbutus unedo* growing in Portugal. In: Tenhunen J D, Catarino F M, Lange O L, *et al.* eds, *Plant Response to Stress, Functional Analysis in Mediterranean Ecosystems*. Berlin: Springer-Verlag, 1987. 355~368.
- [55] Ebukanson G J. Retardation of chloroplast ATPase activity in maize seedlings by drought stress. *J. Plant Physiol.*, 1987, **129**(1): 187~189.
- [56] Gimenez C, Mitchell V G, Lawlor D W. Regulation of photosynthetic rate of two sunflower hybrids under water stress. *Plant Physiol.*, 1992, **98**(2): 516~524.
- [57] Farquhar G D, Sharkey T D. Stomatal conductance and photosynthesis. *Ann. Rev. of Plant Physiol.*, 1982, **33**(1): 317~345.
- [58] Raschke K. How abscisic acid causes depression of the photosynthetic capacity of leaves. In: Pharis R P, Rood S B, eds. *Plant Growth Substances*. Berlin: Springer-Verlag, 1988. 383~390.
- [59] Sharkey T D, Loreto F, Vasey T L. Effects of stress on photosynthesis. In: Baltscheffsky M, ed. *Current Research in Photosynthesis*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1990. 549~556.

参考文献:

- [14] 张晋京, 奚森. 土壤有机质研究中的 $\delta^{13}\text{C}$ 方法. *土壤通报*, 1999, **30**(5): 235~238.
- [36] 苏波, 韩兴国, 李凌浩. 中国东北样带草原区植物 $\delta^{13}\text{C}$ 值及水分利用效率对环境梯度的响. *植物生态学报*, 2000, **24**(6): 648~655.
- [52] 许大全著. *光合作用效率*. 上海: 上海科学技术出版社, 2002. 84~98.