

叶肉细胞导度研究进展

史作民*, 冯秋红, 程瑞梅, 刘世荣

(中国林业科学研究院森林生态环境与保护研究所, 国家林业局森林生态环境重点实验室, 北京 100091)

摘要:叶肉细胞导度指叶片叶肉细胞内部的 CO_2 扩散能力, 在植物生理生态及全球气候变化和陆地生态系统相互关系的研究中具有重要作用。系统介绍了叶肉细胞导度的发现、发展过程及其研究进展、几种目前国际上常用的叶肉细胞导度测定方法的原理、计算过程; 强调了叶肉细胞导度作为光合作用扩散过程一部分的重要意义, 明确了叶肉细胞导度的定义及分布范围。并探讨了不同方法的优缺点及注意事项。总结分析了叶肉细胞导度对不同环境因子(温度、水分及环境中 CO_2 和 O_3 浓度等) 的响应, 从不同角度对叶肉细胞导度的生态学意义进行了简单的概括。对叶肉细胞导度的未来研究进行了展望。

关键词: 光合作用; 扩散过程; 叶肉细胞导度; 测定方法; 环境响应; 生态学意义

The research progress of mesophyll conductance

SHI Zuomin*, FENG Qiuhong, CHENG Ruimei, LIU Shirong

Key Laboratory on Forest Ecology and Environmental Sciences of State Forestry Administration, Institute of Forest Ecology, Environment and Protection, Chinese Academy of Forestry, Beijing 100091, China

Abstract: Mesophyll conductance (g_m) is the diffusional capacity of CO_2 inside mesophyll cells. It was regarded as an infinite constant in research on photosynthetic process in the past. But results of relevant research in the past 20 years show that mesophyll conductance is not only a finite value but also changes with many environmental factors (temperature, water content, leaf nutrient content). Comparing to stomatal conductance (g_s), mesophyll conductance is a more important limited factors to photosynthetic rate. More and more attentions have been paid on its role in studying plant eco-physiology and the relationship between global climate change and terrestrial ecosystem. Processes of discovery and development of mesophyll conductance and relevant research progress were reviewed systematically. The role of mesophyll conductance in CO_2 diffusion process during photosynthesis was stressed. Tentative definition and value span of mesophyll conductance were summarized. This paper introduced theories and mathematical processes of methods frequently used for measuring mesophyll conductance, including instant carbon isotope discrimination method, electronic transport rate (J) variable method, electronic transport rate constant method, method of difference between intercellular CO_2 and inside chloroplast CO_2 , and method of initial slope different between $A-C_i$ and $A-C_c$ curve. Advantage and disadvantage, as well as attention points, of the methods were deeply discussed. Responses of mesophyll conductance to environmental factors (temperature, water content, concentration of ambient CO_2 and O_3) were summarized. Relationship between mesophyll conductance and indicator of long term plant water use efficiency (WUE), $\delta^{13}\text{C}$ of leaves, was analyzed and discussed. In addition, application of mesophyll conductance in interpreting ecological strategy of plants was also discussed. Perspectives for the future research on mesophyll conductance were suggested finally.

Key Words: photosynthesis; diffusion process; mesophyll conductance; measurement methods; environmental response; ecological significance

基金项目: 国家自然科学基金项目(30771718, 30590383); 中国林业科学研究院院长基金项目(CAFRIF200717); 国家“十一五”科技攻关专题(2006BAD03A1004); 林业公益性行业科研专项(200804001)

收稿日期: 2010-03-04; 修订日期: 2010-04-23

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: shizm@forestry.ac.cn

当植物进行光合作用时,通过气孔吸收外界的 CO_2 进行同化作用。在这一过程中, CO_2 扩散主要包括 3 个部分(图 1a),首先是 CO_2 由环境大气到叶片表面层,然后再由叶片表面层进入叶片气孔,最后由气孔进入光合作用的场所—叶绿体基质。而 CO_2 在这 3 个阶段的扩散能力分别称为:表层导度(g_b)、气孔导度(g_s)、叶肉细胞导度(g_m)^[1]。在早期的光合过程研究中,人们常常将叶肉细胞导度看作无穷大的常量,换句话说,叶肉细胞阻力为零^[2-3]。然而近 20a 来的新近研究表明,不但叶肉细胞导度是有限的,而且其大小也会随着诸多因素(温度、水分、养分等)的变化而变化^[4-7,8-38]。研究还表明,对于大多数植物来说,叶肉细胞与气孔对光合作用中 CO_2 的扩散阻力是很相近的,甚至对于某些种(例如,*Eucalyptus globulus* 等高山植物)而言,叶肉细胞的阻碍作用要略胜一筹^[39]。虽然,叶片氮含量与叶片光合速率的正相关关系已经被广泛接受,但早期的相关研究并没有考虑到叶肉细胞导度,仅仅将胞间 CO_2 浓度(C_i)看作叶绿体内 CO_2 浓度(C_c),因此低估了最大羧化速率(V_{cmax})^[40-42],对于某些树种而言,仅为实际值的 60%^[40,43]。Warren 和 Adams 于 2004 年对常绿树种的研究发现,其生长过程中较高的氮供应会降低 V_{cmax} 与 Rubisco(核酮糖 1,5-二磷酸羧化/氧化酶)含量比值,故 Rubisco 含量被认为投入过剩^[44],然而,这里的 V_{cmax} 是由 C_i 得来,所以,叶片 V_{cmax} 与 Rubisco 含量比值的降低可能仅仅表明氮含量较高的植物,其受叶肉细胞导度的影响也较大^[45]。因此,Warren 认为,早期人们所熟知的叶片氮含量与光合速率间的正相关关系可能已经和叶片氮含量与叶肉细胞导度间关系相混淆^[39]。20 世纪末以来,随着荧光技术的发展,饱和脉冲荧光仪的出现以及叶绿素荧光与气体交换同时测定并比较的实现,不但叶肉细胞导度的存在进一步深入人心,而且有关叶肉细胞导度的研究也更加普遍。但目前国内该领域的研究还相对较少,仅有的一些研究也大多只局限于一些农作物光合生产力与叶肉细胞导度间关系的初步探讨以及亚热带 4 种森林树种叶片叶肉细胞导度对适度高温的响应^[46-49]。本文对叶肉细胞导度的研究进行综合评述,以其促进国内相关研究的深入开展。

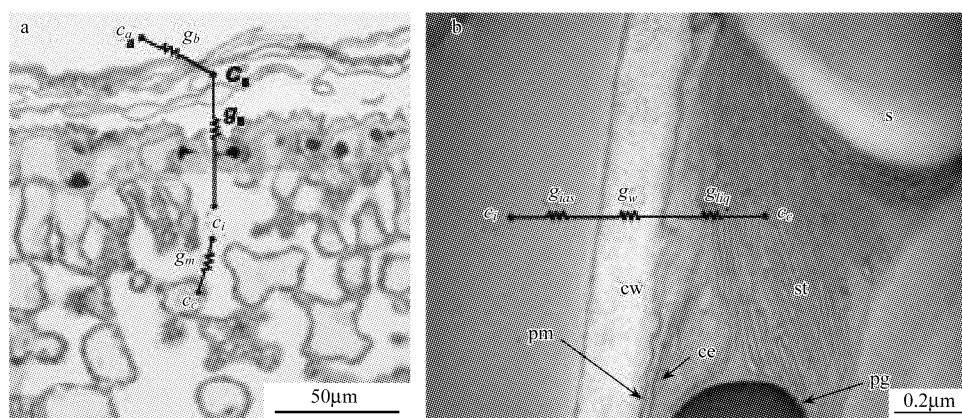


图 1 油橄榄叶片背轴面显微照片(a)和葡萄叶片电子显微照片(b)^[1]

Fig. 1 Micrograph of the abaxial surface of an olive leaf and electron micrograph of a grapevine leaf^[1]

C_a , 大气 CO_2 浓度; C_s , 叶片表层 CO_2 浓度; C_i , 胞间 CO_2 浓度; C_c , 叶绿体 CO_2 浓度; g_b , 边界层导度; g_s , 气孔导度; g_m , 叶肉细胞导度; cw, 细胞壁; pm, 质膜; ce, 叶绿体被膜; st, 类囊体基质; g_{ias} , 胞间气相导度; g_w , 细胞壁导度; g_{liq} , 胞内液相导度; s, 淀粉颗粒; pg, 质体球

1 叶肉细胞导度的概念

1.1 叶肉细胞导度的定义

早在 20 世纪 50 年代末, Gaastra 在光合作用的早期研究中已经对叶肉细胞导度有了基本的认识, 认为它是光合扩散过程的一部分, 并且与气孔导度相比, 是叶片光合速率更重要的限制因子^[50]。Troughton 和 Slatyer 也曾将叶肉细胞导度定义为生化扩散导度, 并指出它应该等于 $A-C_i$ 曲线(光合胞间 CO_2 浓度响应曲线)的初始斜率^[51]。1972 年, Jones 和 Slatyer 对叶肉细胞导度组成部分的成功分离使得 Gaastra 早期对叶肉细胞导度的设想得以证实^[52]。直到 1979 年, 叶肉细胞导度的概念才由 Samsuddin 和 Impen 所完善^[53], 他们认为生化扩散导度应该是指细胞内部导度, 而叶肉细胞导度仅仅指扩散部分并, 不包含生化过程。即使这样, 此后的研

究仍然易将叶肉细胞导度和 V_{cmax} ($A-C_i$ 曲线的初始斜率) 混淆^[54-56]。

至今, 叶肉细胞导度一词使用混乱的情况仍屡见不鲜^[55-57]。综合考虑叶肉细胞导度的各种概念, 结合气孔导度的定义, 认为, 叶肉细胞导度可定义为叶片叶肉细胞内部的 CO_2 扩散能力, 也就是 CO_2 浓度由细胞间隙到叶绿体基质间的减少。在一些研究中, 叶肉细胞导度还被称为内部导度、细胞壁导度、传递导度等^[58]。它是与净光合速率 (A)、 C_i 及 C_c 有关的一个变量:

$$g_m = \frac{A}{(C_i - C_c)} \quad (1)$$

式中, A 是指稳态时的净光合速率; C_i 是指胞间 CO_2 浓度; C_c 是指叶绿体基质中 CO_2 浓度。它由 3 部分组成 (图 1b), 分别是胞间气相导度、细胞壁导度、胞内液相导度^[1, 59-60]。而大多数研究表明^[61-63], 胞内液相导度是叶肉细胞导度最重要的影响因子。而一些研究也表明, 对于叶片较厚的植物而言, 其细胞壁导度的作用更大^[64-65]。

1.2 叶肉细胞导度的分布范围

在没有认识到叶肉细胞导度以前, 相关的研究都认为它是一个无穷大的常数, 故叶肉细胞阻力可以忽略不计, C_i 等于 C_c 。20 世纪 80 年代末、90 年代初的一些基于不同方法的研究均表明, C_c 明显低于 C_i 。例如, Evans 等^[66]于 1986 年通过假设 C_i 等于 C_c 的情况下比较碳同位素分辨率理论值与鲜活植物叶片碳同位素分辨率实测值的方法得到 C_c 低于 C_i 的结论, Evans 和 Terashima^[5]于 1988 年通过比较 $A-C_i$ 曲线的初始斜率和叶片 Rubisco 活性的方法得到了同样的结论。随着荧光技术的发展, 一些学者^[67-68]通过比较叶绿素荧光和气体交换测量值的方法也证明了 C_c 明显低于 C_i 。

Flexas 等总结了 122 种植物的叶肉细胞导度并将其分类比较, 结果发现, 不同生活型的植物间叶肉细胞导度有所差异^[1]。一般来说, 1 年生牧草和两年生植物的叶肉细胞导度最大 (大约 $0.4 \text{ molCO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1} \text{ bar}^{-1}$), 单子叶植物和双子叶植物区别不大; 多年生牧草和被子植物中的落叶木本要低一些 (大约 $0.2 \text{ molCO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1} \text{ bar}^{-1}$); 而被子植物中相对少见的半落叶木本, 其叶肉细胞导度值恰恰介于前两者之间; 常绿木本植物的值要更低一些, 被子及裸子植物间的叶肉细胞导度一般仅差 $0.1 \text{ molCO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1} \text{ bar}^{-1}$; 虽然对于 CAM 植物的相关研究较少, 但现有研究一般认为 CAM 植物的叶肉细胞导度与裸子植物相近^[69-70]。可见, 植物叶肉细胞导度与其生活型或叶片寿命是直接相关的。

一些研究还表明, 同一生活型内部的叶肉细胞导度也具有一定的差异。例如 1 年生、2 年生牧草类的叶肉细胞导度最大值大于 $1 \text{ molCO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1} \text{ bar}^{-1}$ ^[71], 而其最小值仅有 $0.08 \text{ molCO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1} \text{ bar}^{-1}$ ^[72]; 被子植物中的落叶木本的最大值也大于 $1 \text{ molCO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1} \text{ bar}^{-1}$ ^[73], 最小值小于 $0.06 \text{ molCO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1} \text{ bar}^{-1}$ ^[74]。事实上, 不但同一生活型内, 同一属乃至同一种内不同个体的叶肉细胞导度也是有所差异的, 当然这种差异也随着属、种的不同而改变^[1]。

2 叶肉细胞导度的研究方法

作为光合扩散过程的一部分, 叶肉细胞导度的准确测量无疑是非常重要的。它的精确程度直接影响到人们对植物光合生理过程及机理的认识, 所以是光合生理研究的基础^[6]。叶肉细胞导度的估测通常都是基于瞬时¹³ CO_2 的分辨率 (瞬时稳定同位素法) 或是气体交换和叶绿素荧光的同步测定 (J 变量法和 J 常数法) 来实现。此外, 还可通过胞间和叶绿体内部 CO_2 光补偿点的差异、 $A-C_i$ 曲线与 $A-C_c$ 曲线初始斜率的差异等方法对叶肉细胞导度进行估算。由于各种方法的原理和计算过程存在一定程度的差异, 因此其使用过程中的注意事项也不相同。

2.1 瞬间碳同位素辨别法

因为碳同位素辨别能力 (Δ) 与 C_c 间具有一定的比例关系, 所以可通过 Δ 的测定来间接获得 C_c 。同时通过气体交换测量, 可以获得 C_i 和 A , 再通过公式 (1) 来推算叶肉细胞导度。

通常, Δ 被描述为:

$$\Delta = \frac{a_b(C_a - C_s)}{C_a} + \frac{a(C_s - C_i)}{C_a} + \frac{a_i(C_i - C_c)}{C_a} + \frac{bC_c}{C_a} + \frac{(eR_d/k + f\Gamma^*)}{C_a} \quad (2)$$

式中, C_a 为空气中 CO_2 浓度; C_s 为叶片表层 CO_2 浓度; a_b 为边界层分辨 (2.9‰); a 为气孔扩散 (4.4‰); a_i 为 CO_2 在水中的扩散及溶解 (1.8‰); b 为 Rubisco 和 PEP (磷酸烯醇式丙酮酸) 的净分辨 (27‰—30‰); e 为线粒体呼吸分辨; f 为光呼吸分辨; Γ^* 为 CO_2 补偿点。当边界层被忽略时, 方程可以被简化为:

$$\Delta = \frac{a(C_a - C_i)}{C_a} + \frac{a_i(C_i - C_c)}{C_a} + \frac{bC_c}{C_a} + \frac{(eR_d/k + f\Gamma^*)}{C_a} \quad (3)$$

再将公式(1)代入其中:

$$\Delta_i - \Delta_{obs} = \frac{\frac{A(b - a_i)}{C_a}}{g_m} + \frac{(eR_d/k + f\Gamma^*)}{C_a} \quad (4)$$

式中, Δ_i 为假设叶肉细胞导度是无穷大 ($C_c = C_i$) 时, Δ 的期望值; Δ_{obs} 为 Δ 的测量值。其中:

$$\Delta_i = \frac{a(C_a - C_i)}{C_a} + \frac{bC_i}{C_a} \quad (5)$$

可以通过公式(3)来推算出叶肉细胞导度, 但这里已经忽略了植物的呼吸^[43]。可以绘制 $(\Delta_i - \Delta_{obs}) - A/C_a$ 曲线, 其斜率可以用于估计 $1/g_m$, 而 A/C_a 的截距可以用来估计植物呼吸的大小^[66]。

光合作用过程中的 Δ 非常小, 但足够大的 Δ 是准确估算叶肉细胞导度的一个重要保证, 一般可以通过降低气体交换系统的流速来达到, 但这通常会带来扩散泄露的问题, 所以选择合适的流速来平衡上述两方面间关系是很重要的。此外, 可以通过增加样品的叶面积 ($> 10\text{cm}^2$) 来增加光合作用过程中的 Δ 。

2.2 J 变量法

本方法假设线性电子传递速率 (J_a) 是关于光合速率、 C_c 、Rubisco 相对活性 (可以通过 CO_2 补偿点来估计, Rubisco 相对活性 = $0.5 \times \text{氧气分压}/\Gamma^*$) 的一个函数。J 变量法须在光呼吸时进行测量, 而且光呼吸占光合作用比例的增加有利于该方法的精度^[75]。理想状态是光补偿点处的 O_2 浓度占环境气体的 21%。

$$J_a = (A + R_d) \frac{4(C_c + 2\Gamma^*)}{C_c - \Gamma^*} \quad (6)$$

根据公式(1):

$$J_a = (A + R_d) \frac{4[(C_i - A/g_m) + 2\Gamma^*]}{(C_i/A/g_m) - \Gamma^*} \quad (7)$$

由公式(7)可得:

$$g_m = \frac{\frac{A}{\Gamma^* [J_a + 8(A + R_d)]}}{J_a - 4(A + R_d)} \quad (8)$$

式中, g_m 为叶肉细胞导度; J_a 为用于 Rubisco 羧化的电子传递速率; A 为光合速率; R_d 为光呼吸; Γ^* 为 CO_2 补偿点。

此外, 通过荧光测定 PSII 的量子产量, 进而确定线性电子传递速率 (J_f):

$$\phi\text{PSII} = (F'_m - F)/F'_m \quad (9)$$

式中, F'_m 为光化学光下的最大荧光; F 为光化学光下的稳态荧光。

$$J_f = \phi\text{PSII}\alpha 0.8\text{PAR} \quad (10)$$

式中, J_f 为线性电子传递速率; ϕPSII 为光化学量子产量; α 为叶片吸收系数; PAR 为光合有效辐射; 0.5 是指 PSII 的光学截面, 用于估计光在两个光系统间的分布情况;

事实上, J_f 驱动着 Rubisco 羧化 (J_a) 及 Rubisco 氧化过程、硝酸盐还原及米勒过氧化反应等^[6]。 J_a 和 J_f 间虽然存在正相关, 但这种关系存在很多不确定性, 大部分可以通过 α 来剔除, 少量来自光在两个光系统间分

布的不确定性也可以通过 PSII 光学截面得以最小化。即使这样, J_a 和 J_f 仍然不是完全相等的, 这就需要通过绘制“校正曲线”来精准的确定两者间的对应关系。此外, 还可以在 O_2 浓度仅占 1%—2% 的环境中进行光响应曲线的测量, 此时的光呼吸极低, 可以通过光合速率来估计植物的 J_a , 再于相同条件下通过叶绿素荧光法测定 J_f , 这也可以确定两者间的关系^[6]。

最后, 利用 J 变量法进行叶肉细胞导度估测时, Γ^* 和 R_d 的获取是非常重要的, 由于 Γ^* 难以测定, 故大量研究都使用 Γ^* 的经验值, 但显然, 对于所有的物种而言, Γ^* 不可能只是一个常数, 目前为止, 进行 Γ^* 实测的例子很少^[41]; 就 R_d 而言, 虽然可以通过同位素的方法进行直接测定, 但大多数学者还是选择了估值的方法。最常用的实测方法是 Laisk 法^[76], 其缺点是耗时太长(一个重复需一个多小时), 此外, 也可以通过暗呼吸(R_n)来推算 R_d 。

2.3 J 常数法

与 J 变量法相似, J 常数法也是基于已知的 Rubisco 活性及对气体交换和叶绿素荧光的测定来推算叶肉细胞导度。与 J 变量法相比, 该方法并不具普遍性, 只有在 CO_2 浓度较高的情况下, 即光合速率仅受 RuBP 再生的限制时应用(此时的电子传递速率为常数, 光合速率对 CO_2 的响应仅与 C_c 和 Rubisco 活性有关^[67])。

将假设的 g_m 值代入公式(7), J_a 就可以通过下面的公式计算出来。

$$J_a = \sum_{i=1}^n \frac{(J_{\bar{x}} - J_i)^2}{(n-1)} \quad (11)$$

其中的 $J_{\bar{x}}$ 是 J_a 的平均值, 而 J_i 是每一个 C_i 测量值(须测量 3 个以上)所对应的 J_a 值, 叶肉细胞导度就是使得 J_a 变幅最小的 g_m 值。这可以通过绘制 g_m 方程变幅来实现^[77], 当然也可以通过软件来获得。与 J 变量法相比, J 常数法对叶绿素荧光、 R_d 等的测量精度要求相对不高^[77], 主要是因为叶绿素荧光测定仅用于确定常数 J_a 的取值范围; 然而, 由于 J 常数法主要是基于气体交换测量的结果, 所以其准确度更高。

2.4 胞间、叶绿体内 CO_2 补偿点差异法

本方法通过胞间 CO_2 补偿点(Γ^*)和叶绿体内 CO_2 补偿点(C_i^*)间的差异来推算叶肉细胞导度。测定过程仅需要一个测量精确的气体交换系统, 尤其是在低 CO_2 浓度下。基于 Γ^* 、 C_i^* 满足以下关系^[78-79]:

$$C_i^* = \Gamma^* - R_d/g_m \quad (12)$$

其中的 C_i^* 可以通过 Laisk 法获得^[76], 即绘制不同光强下的 CO_2 响应曲线, 在低 CO_2 浓度时, 曲线的交点便是 C_i^* 。从公式(12)可见, 绘制 $C_i^* - R_d$ 曲线, 其斜率就是 $1/g_m$, 但为了获得精确的叶肉细胞导度, R_d 必须足够大, 这就需要测量不同的叶片来获得, 例如幼叶和老叶、阳生叶和阴生叶等。这样就可以获得精确的叶肉细胞导度平均值了。但当研究不同样本叶肉细胞导度间差异时, 此方法就不适合了。可以测量 C_i^* 、 R_d , 估测 Γ^* 的均值(公式(12), y 轴截距), 通过以下公式来推算叶肉细胞导度:

$$g_m = R_d/(\Gamma^* - C_i^*) \quad (13)$$

本方法关键在于 C_i^* 、 R_d 的精准测定, 而在低 CO_2 浓度下, Rubisco 的失活可能是最大的问题^[80]。

2.5 A- C_i 曲线与 A- C_c 曲线初始斜率差异法——初始斜率法

初始斜率法假设 g_m 降低了 CO_2 响应曲线初始斜率的理论值^[5]。此方法无需使用叶绿素荧光仪和同位素质谱仪, 仅仅测得 Rubisco 的含量或是活性即可。该方法认为, g_m 导致了 A- C_i 曲线初始斜率(S_i)及 A- C_c 曲线初始斜率(S_c)的差异:

$$g_m = \frac{S_c S_i}{S_c - S_i} \quad (18)$$

而此时得到的仅是单一的 g_m 值, 当计算平均值时, 可以通过公式(19)来得到。

$$\frac{1}{S_i} = \frac{1}{S_c} + g_m \quad (19)$$

该方法要求 S_i 、 S_c 具有较大的取值范围, 所以比较适用于计算不同类型叶片 g_m 平均值。

A-C_e曲线的初始斜率可以通过 Rubisco 动力学常数与最大羧化速率(V_{cmax})来推算,如公式(20)所示:

$$S_c = \frac{V_{cmax}}{\Gamma^* + K_c(1 + O/K_o)} \quad (20)$$

初始斜率法最大的问题就是 V_{cmax} , 因为 V_{cmax} = Rubisco 含量 × Rubisco 活性, 而活性的测定通常很难, 所以大多选择用经验常数来代替。但很多研究表明^[9-11], 该值并不是一个常数。而进行 V_{cmax} 测定往往受诸多不确定性的限制。因此, 初始斜率法很少被推荐使用。

此外, 曲线拟合法也常用于叶肉细胞导度的推算。事实上, 这些方法的精度均不高, 而原因主要是用于推算的一些参数(例如, Rubisco 动力学常数)很难准确地测量。当然, 通过几种方法同时测量的手段可以提高测量的精度。但是, 所采用的方法的基本假设应有所差异。同时, 由于大多数方法均要进行气体交换的测量, 所以, 可以通过增加叶片面积、使用适中的气体流速及考虑表皮与边界层导度等来提高系统的信号噪音比^[58]。

3 叶肉细胞导度对环境因子的响应

作为光合扩散过程的一部分, 叶肉细胞导度受诸多因子的影响。既包括外界环境因子, 也包括叶片寿命及生理构造等内部因子。不同物种的叶肉细胞导度对于某一因子的响应及适应不尽相同, 而且这种响应及适应随着因子作用时间的变化而变化。

3.1 温度

虽然有关温度对叶肉细胞导度的影响没有引起太多的关注, 但不可否认它是叶肉细胞导度的一个主要影响因素^[41]。大多数研究表明, 短时间(几分钟或几小时)的温度变化通常表现为, 随着叶片温度的升高, 叶肉细胞导度随之增加, 当达到一定的温度时, 随着温度的增加, 叶肉细胞导度维持不变^[12-13, 63]或是降低^[41], 例如, Gorton 等 2003 年对海芋属植物(*Alocasia brisbanensis*)的研究表明, 随着温度由 5℃ 升至 25℃, 其叶肉细胞导度增加, 而温度在 20—40℃ 之间时, 叶肉细胞导度随着温度的升高幅度不大^[63]; Warren 和 Dreyer 于 2006 年对栎属植物(*Quercus canariensis*)的研究也表明, 当温度由 10℃ 升至 20℃ 时, 其叶肉细胞导度随之增加, 此后直至 35℃, 叶肉细胞导度变化不大^[12]; Bernacchi 等在 2002 年对烟草(*Nicotiana tabacum*)的研究却表明, 当温度由 10℃ 升至 35℃ 时, 其叶肉细胞导度随之增加, 而当温度再升高, 其叶肉细胞导度降低^[41]; 但 Pons 和 Welschen 对 *Eperua grandiflora* 的研究表明, 当温度由 28℃ 升至 38℃ 时, 其叶肉细胞导度有轻微的下降^[14]。

除叶片温度之外, 植物的生长温度也对叶肉细胞导度具有重要的影响。研究表明, 当生长温度较高时, 植物叶肉细胞导度通常需要更高的温度才能达到最大值, 而且在达到最大值后, 当温度再升高时, 其叶肉细胞导度值下降或是维持原状^[13, 15]; 而当植物生长温度较低时, 其对温度的响应趋势随着研究物种的差异而改变^[13]。例如, Warren 在 2008 年对王桉(*Eucalyptus regnans*)的研究表明, 无论生长在高温(30℃)还是低温(15℃)条件下, 王桉的叶肉细胞导度均随着温度的升高而增加^[16], 而 Yamori 等于 2006 年的研究发现, 在 10—15℃ 下生长的菠菜(*Spinacia oleracea*), 其叶肉细胞导度会在 20℃ 时达到最大, 而之后随着温度的升高而降低, 而生长在 25—30℃ 下的菠菜, 其叶肉细胞导度在 25℃ 达到最大, 此后, 升高的温度几乎不会影响到该值。

3.2 水分

无论是短时间饱和蒸汽压亏缺(VPD)的增加还是长期的水淹都会导致叶肉细胞导度的降低。例如, Bogni 和 Loreto 于 1989 年对油橄榄(*Olea europaea*)的研究表明, 随着 VPD 的增加, 其叶肉细胞导度随之降低^[67]; Black 等在 2005 年对西加云杉(*Picea sitchensis*)幼苗的研究表明, 水淹也会降低植物的叶肉细胞导度^[17]。同时, 绝大多数的研究表明, 当水分胁迫产生时, 叶肉细胞导度同样会降低^[18-27]。例如, Flexas 等人对大豆(*Glycine max*)和烟草(*Nicotiana tabacum*)的研究表明, 短时间(几分钟)的水分胁迫降低叶肉细胞导度^[18]; Rouspard 等在 1996 年对几种橡树的研究表明, 相对较长时间(几天)的水分胁迫也会降低植物的叶肉细胞导度^[19], 这被此后的许多人所证实^[20-23]; Scartazza 等对水稻(*Oryza sativa*)的研究表明, 数周的水分胁迫

仍会降低叶肉细胞导度^[22],这也得到了后人的佐证^[23-25]。而水分对植物叶肉细胞导度的影响也会因研究物种的差异而有所不同。例如,Monti 等在 2006 年对栽培甜菜(*Beta vulgaris*)的研究则显示了不同的结果,即数周的水分胁迫几乎没有改变植物的叶肉细胞导度^[26];而 Galmés 等在 2006 年对烟草(*Nicotiana tabacum*)的研究表明,数月的水分胁迫依然降低叶肉细胞导度^[27]。

3.3 环境中 CO₂ 及 O₃ 浓度

环境中 CO₂ 浓度也是叶肉细胞导度的重要影响因子,研究表明,短时间的 CO₂ 浓度增加会不同程度的降低植物的叶肉细胞导度,这与植物种类及 CO₂ 增加幅度有关^[28-29,77]。同样,Singsaas 等在 2003 年的研究表明,长达数年的高 CO₂ 浓度会使北美枫香(*Liquidambar styraciflua*)、美洲山杨(*Populus tremuloides*)及四季豆(*Phaseolus vulgaris*)的叶肉细胞导度处于相对较低的水平,而菠菜(*Spinacia oleracea*)和黄瓜(*Cucumis sativus*)则恰相反^[30]。有趣的是,若较高 CO₂ 浓度的环境仅持续数月,植物的叶肉细胞导度反而变化不大^[31,54]。可见,植物叶肉细胞导度对环境 CO₂ 浓度的响应是受诸多因子限制的,如,环境 CO₂ 具体浓度、高浓度的持续时间、具体实验物种以及它们间的交互作用等。

同样,一些研究也表明,环境中较高浓度的 O₃ 也会影响到植物的叶肉细胞导度,当持续时间较短(数天)时,对叶肉细胞导度的影响不大^[32],但当持续时间达到数月时,通常高浓度的 O₃ 会降低植物的叶肉细胞导度^[33,54],而当该情况持续时间以年计时,由高浓度 O₃ 引起的叶肉细胞导度的变化反而降低^[34]。

此外,植物的叶肉细胞导度还受许多其他环境因子的影响,例如,Warren 于 2004 年对桉树(*Eucalyptus globulus*)的研究表明,当植物生长在氮供应较差的环境中时,其叶肉细胞导度往往会降低^[34]。事实上,早在 1991 年,von Caemmerer 和 Evans 就发现,植物叶片氮含量与叶肉细胞导度间呈正相关关系^[78];大量研究表明,无论时间长短,盐害环境均会降低植物的叶肉细胞导度^[35-36,41,67];随着海拔的升高,植物的叶肉细胞导度通常降低^[37-38],但也有例外情况^[81];一些外源性激素的添加,通常都会导致植物叶肉细胞导度的降低^[6-7,82]。同时,植物的叶肉细胞导度还受很多叶片内部因子的影响,包括,比叶重、叶片寿命、叶片发育程度、叶片气孔密度、叶绿体的布局等^[22,28,55,83]。一般认为,环境因子往往是通过改变植物叶片的内部结构进而影响叶肉细胞导度。事实上,叶片的结构性状仅在一定程度上决定了植物叶肉细胞导度的范围,而非大小。所以,叶肉细胞导度也会对外界环境条件的变化做出快速的、可逆的响应及适应,这就说明叶片结构至少不是解释这一变化的唯一直接因子。目前,大多数学者认为水通道蛋白(aquaporins)和碳酸酐酶(carbonic anhydrases)是影响叶肉细胞导度的主要生理因素^[63,82]。

4 叶肉细胞导度的应用

4.1 叶肉细胞导度与叶片 $\delta^{13}\text{C}$

叶片 $\delta^{13}\text{C}$ 是指植物叶片中稳定同位素 ^{13}C 的相对含量。植物叶片对大气中 $^{13}\text{CO}_2$ 具有一定的分辨能力,一般来说,由于 $^{13}\text{CO}_2$ 的质量大于 $^{12}\text{CO}_2$,所以其由大气进入植物叶片的扩散速率低于 $^{12}\text{CO}_2$,而且它与 Rubisco 的结合能力也相对较低,故植物体内的 $^{13}\text{CO}_2$ 与 $^{12}\text{CO}_2$ 的比值低于大气中两者的比值^[84]。早期研究中,叶肉细胞导度仅被看作一个无穷大的常数,所以 $\delta^{13}\text{C}$ 被认为仅与 C_i/C_a 有关^[59]。而近期大量研究表明,用 C_i 来代替 C_c 是不适宜的,且叶肉细胞导度的变化是叶片 $\delta^{13}\text{C}$ 的主要影响因素^[28,40,77]。事实上, C_i/C_a 仅是植物 $\delta^{13}\text{C}$ 的一个影响因子,而与之相比, C_c/C_a 可以更全面的指示 $\delta^{13}\text{C}$ 的变化^[85]。一般认为,叶片 $\delta^{13}\text{C}$ 是植物长期水分利用效率的一个指标,即,叶片的 C_i/C_a 值较高时,叶片气孔导度增加,而其 $\delta^{13}\text{C}$ 降低,但叶片蒸腾作用增加,故植物水分利用效率降低,反之亦然。而一些研究表明,植物的水分利用效率不变时,其叶肉细胞导度的变化也会导致 $\delta^{13}\text{C}$ 发生 2‰—4‰ 的变化^[85-86]。可见,在探讨 $\delta^{13}\text{C}$ 与植物长期水分利用效率间关系时,应该将叶肉细胞导度也考虑进去。一般认为,叶肉细胞导度与 $\delta^{13}\text{C}$ 间呈负相关^[82,87],在高海拔地区,植物叶片通常较厚,较厚的叶片含有更多的光合所需酶,这就提高了单位面积叶片对 CO₂ 的需求,而较厚叶片的光合扩散途径(气孔到叶绿体)增长,这会降低羧化位点 CO₂ 供应,进而 C_i (或 C_i/C_a) 降低,导致 $\delta^{13}\text{C}$ 增加。但植物叶片的 C_i 长期处于较低的水平,这就在很大程度上导致了较低的叶肉细胞导度^[84]。此外,也有一些研究并没有发现

叶肉细胞导度与 $\delta^{13}\text{C}$ 间的相关关系^[81,88]。说明,这两者间关系还受其他因子的影响。

4.2 叶肉细胞导度与植物生态策略

一些研究结果表明,与气孔导度相比,植物瞬时水分利用效率对叶肉细胞导度具有更好的响应关系^[89]。理论上讲,随着气孔导度的增加,叶片的光合速率增加,同时,其蒸腾速率也随之增加,导致最终的水分利用效率反而降低;然而,随着叶肉细胞导度的增加,光合速率增加但蒸腾速率变化不大,从而导致水分利用效率也会随之增加^[86,90];所以,叶肉细胞导度可以在一定程度上指示植物的瞬时水分利用效率。而全球尺度上的研究表明,叶肉细胞导度的限制因子——比叶重是“全球叶片经济型谱”的基础,一般认为,植物的净光合速率或光合氮利用效率与比叶重间呈显著的负相关,这是不同物种通过不同的生态策略来适应环境的表征^[86,91-93]。不难看出,叶肉细胞导度恰好充当了“全球经济型谱”的微观基础。即,比叶重较低的植物通常具有较高的叶肉细胞导度,故有较高的光合氮利用效率,通过快速的养分循环来适应环境;而比叶重较大的植物,其叶肉细胞导度受限,所以光合氮利用效率较低,通过慢速的养分循环来求得生存^[1]。

5 叶肉细胞导度研究展望

目前为止,叶肉细胞导度的存在已经成为不争的事实,这无疑是植物光合生理生态研究的一个重要转折点。其测定方法基本成形,而且基于这些方法所得到的数据足以达到可以进行比较分析的程度。在这样的基础上,有关不同地区、不同物种叶肉细胞导度的研究也比比皆是^[8-38],这为以后叶肉细胞导度的深入研究奠定了基础。此外,还存在一些有待于完善的工作和值得关注的问题。首先,叶肉细胞导度的出现使得一些基于错误假设($C_i = C_e$)的模型和研究面临前所未有的挑战^[40-43],恐怕将叶肉细胞导度考虑进去、对模型或是研究进行修正是应该尽快进行的工作;其次,对于叶肉细胞导度的获得,建议同时使用多种基于不同理论假设的方法进行测量,这样可以大大提高数据的准确性及精度;再次,叶肉细胞导度是光合作用中的一个重要部分,不但受叶片结构等因子的影响,还对外界环境因子具有一定的响应,所以区分不同植物类型(光合类型)进行植物叶肉细胞导度、光合生理指标(例如,最大净光合速率、最大羧化速率、电子传递速率、 $\delta^{13}\text{C}$ 等)与环境因子间关系的研究将有助于理解植物如何适应及响应外界环境变化的机理及过程。

References:

- [1] Flexas J, Ribas-carbo M, Diaz-espejo A, Galmés J, Medrano H. Mesophyll conductance to CO_2 current knowledge and future prospects. *Plant, Cell & Environment*, 2008, 31: 602-621.
- [2] Farquhar G D, von Caemmerer S, Berry J A. A biochemical model of photosynthetic CO_2 assimilation in leaves of C_3 species. *Planta*, 1980, 149: 78-90.
- [3] Lauer M J, Boyer J S. Internal CO_2 measured directly in leaves: Absciscic acid and low leaf water potential cause opposing effects. *Plant Physiology*, 1992, 98: 1310-1316.
- [4] Jones H G. Moderate-term water stresses and associated changes in some photosynthetic parameters in cotton. *New Phytologist*, 1973, 72: 1095-1105.
- [5] Evans J R, Terashima I. Photosynthetic characteristics of spinach leaves grown with different nitrogen treatments. *Plant, and Cell Physiology*, 1988, 29: 157-165.
- [6] Warren C R, Livingston N J, Turpin D H. Water stress decreases the transfer conductance of Douglas fir (*Pseudotsuga menziesii*) seedlings. *Tree Physiology*, 2004, 24: 971-979.
- [7] Flexas J, Ribas-Carbó M, Bota J, Galmés J, Henkle M, Martínez-Cañellas S, Medrano H. Decreased Rubisco activity during water stress is not induced by decreased relative water content but related to conditions of low stomatal conductance and chloroplast CO_2 concentration. *New Phytologist*, 2006, 172: 73-82.
- [8] Ethier G J, Livingston N J. On the need to incorporate sensitivity to CO_2 transfer conductance into the Farquhar-von Caemmerer-Berry leaf photosynthesis model. *Plant, Cell & Environment*, 2004, 27: 137-153.
- [9] Eichelmann H, Laik A. Ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase / oxygenase content, assimilatory charge, and mesophyll conductance in leaves. *Plant Physiology*, 1999: 179-189.
- [10] Sage R F. Variation in the k_{cat} of Rubisco in C_3 and C_4 plants and some implications for photosynthetic performance at high and low temperature.

- Journal of Experimental Botany, 2002, 53: 609-620.
- [11] Salvucci M E, Crafts-Brandner S J. Inhibition of photosynthesis by heat stress: the activation state of Rubisco as a limiting factor in photosynthesis. *Physiologia Plantarum*, 2004, 120: 179-186.
- [12] Warren C R, Dreyer E. Temperature response of photosynthesis and internal conductance to CO₂: Results from two independent approaches. *Journal of Experimental Botany*, 2006, 57: 3057-3067.
- [13] Yamori W, Noguchi K, Hanba Y T, Terashima I. Effects of internal conductance on the temperature dependence of the photosynthetic rate in spinach leave from contrasting growth temperatures. *Plant and Cell Physiology*, 2006, 47(8): 1069-1080.
- [14] Pons T L, Welschen R A M. Midday depression of net photosynthesis in the tropical rainforest tree *Eperua grandiflora*: Contributions of stomatal and internal conductances, respiration and Rubisco functioning. *Tree Physiology*, 2003, 23: 937-947.
- [15] Diaz-Espejo A, Nicolás E, Fernández J E. Seasonal evolution of diffusional limitations and photosynthetic capacity in olive under drought. *Plant, Cell & Environment*, 2007, 30: 922-933.
- [16] Warren C R. Does growth temperature affect the temperature response of photosynthesis and internal conductance to CO₂? A test with *Eucalyptus regnans*. *Tree Physiology*, 2008, 28: 11-19.
- [17] Black K, Davis P, McGrath J, Doherty P, Osborne B. Interactive effects of irradiance and water availability on the photosynthetic performance of *Picea sitchensis* seedlings: implications for seedling establishment under different management practices. *Annals of Forest Science*, 2005, 62: 413-422.
- [18] Flexas J, Ribas-Carbó M, Bota J. Decreased Rubisco activity during water stress is not induced by decreased relative water content but related to conditions of low stomatal conductance and chloroplast CO₂ concentration. *New Phytologist*, 2006, 172: 73-82.
- [19] Roupsard O, Gross P, Dreyer E. Limitation of photosynthetic activity by CO₂ availability in the chloroplasts of oak leaves from different species and during drought. *Annales de Sciences Forestières*, 1996, 53: 243-254.
- [20] Ridolfi M, Dreyer E. Responses to water stress in an ABA-unresponsive hybrid poplar (*Populus koreana* × *trichocarpa* cv. Peace). III. Consequences for photosynthetic carbon assimilation. *New Phytologist*, 1997, 135: 31-40.
- [21] Galmés J, Medrano H, Flexas J. Photosynthetic limitations in response to water stress and recovery in Mediterranean plants with different growth forms. *New Phytologist*, 2007, 175: 81-93.
- [22] Scartazza A, Lauteri M, Guido M C, Brugnoli E. Carbon isotope discrimination in leaf and stem sugars, water-use efficiency and mesophyll conductance during different developmental stages in rice subjected to drought. *Australian Journal of Plant Physiology*, 1998, 25: 489-498.
- [23] Delfine S, Loreto F, Alvino A. Drought-stress effects on physiology, growth and biomass production of rain fed and irrigated bell pepper plants in the Mediterranean region. *Journal of American Society of Horticultural Sciences*, 2001, 126: 297-304.
- [24] Delfine S, Tognetti R, Loreto F, Alvino A. Physiological and growth responses to water stress in field-grown bell pepper (*Capsicum annuum* L.). *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 2002, 77(6): 697-704.
- [25] Flexas J, Bota J, Escalona J M, Sampol B, Medrano H. Effects of drought on photosynthesis in grapevines under field conditions: an evaluation of stomatal and mesophyll limitations. *Functional Plant Biology*, 2002, 29(4): 461-471.
- [26] Monti A, Brugnoli E, Scartazza A, Amaducci M T. The effect of transient and continuous drought on yield, photosynthesis and carbon isotope discrimination in sugar beet (*Beta vulgaris* L.). *Journal of Experimental Botany*, 2006, 57(6): 1253-1262.
- [27] Galmés J, Medrano H, Flexas J. Acclimation of Rubisco specificity factor to drought in tobacco: Discrepancies between in vitro and in vivo estimations. *Journal of Experimental Botany*, 2006, 57: 3659-3667.
- [28] Loreto F, Harley P C, Di Marco G, Sharkey T D. Estimation of mesophyll conductance to CO₂ flux by three different methods. *Plant Physiology*, 1992, 98: 1437-1443.
- [29] Düring H. Stomatal and mesophyll conductances control CO₂ transfer to chloroplasts in leaves of grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Vitis*, 2003, 42: 65-68.
- [30] Singaas E L, Ort D R, De Lucia E H. Elevated CO₂ effects on mesophyll conductance and its consequences for interpreting photosynthetic physiology. *Plant, Cell & Environment*, 2003, 27: 41-50.
- [31] Bernacchi C J, Morgan P B, Ort D R, Long S P. The growth of soybean under free air [CO₂] enrichment (FACE) stimulates photosynthesis while decreasing in vivo Rubisco capacity. *Planta*, 2005, 220(3): 434-446.
- [32] Velikova V, Tsonev T, Pinelli P, Alessio G A, Loreto F. Localized ozone fumigation system for studying ozone effects on photosynthesis, respiration, electron transport rate and isoprene emission in field-grown Mediterranean species. *Tree Physiology*, 2005, 25(12): 1523-1532.
- [33] Flowers M D, Fiscus E L, Burkey K O, Booker F L, Dubois J J B. Photosynthesis, chlorophyll fluorescence, and yield of snap bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes differing in sensitivity to ozone. *Environmental and Experimental Botany*, 2007, 61(2): 190-198.
- [34] Warren C R, Löw M, Matyssek R, Tausz M. Internal conductance to CO₂ transfer of adult *Fagus sylvatica*: variation between sun and shade leaves

- and due to free-air ozone fumigation. *Environmental and Experimental Botany*, 2007, 59(2):130-138.
- [35] Delfine S, Alvino A, Zacchini M, Loreto F. Consequences of salt stress on conductance to CO₂ diffusion, Rubisco characteristics and anatomy of spinach leaves. *Australian Journal of Plant Physiology*, 1998, 25(3):395-402.
- [36] Loreto F, Centritto M, Chartzoulakis K. Photosynthetic limitations in olive cultivars with different sensitivity to salt stress. *Plant, Cell & Environment*, 2003, 26:595-601.
- [37] Vitousek P M, Field C B, Matson P A. Variation in foliar $\delta^{13}\text{C}$ in Hawaiian *Metrosideros polymorpha*: a case of internal resistance? *Oecologia*, 1990, 84: 362-370.
- [38] Kogami H, Hanba Y T, Kibe T, Terashimai, Masuzawa T. CO₂ transfer conductance, leaf structure and carbon isotope composition of *Polygonum cuspidatum* leaves from low and high altitudes. *Plant, Cell & Environment*, 2001, 24(5):529-538.
- [39] Warren C R. The photosynthetic limitation posed by internal conductance to CO₂ movement is increased by nutrient supply. *Journal of Experimental Botany*, 2004, 55(406):2313-2321.
- [40] Epron D, Godard G, Cornic G, Genty B. Limitation of net CO₂ assimilation rate by internal resistances to CO₂ transfer in the leaves of two tree species (*Fagus sylvatica* and *Castanea sativa* Mill.) *Plant, Cell & Environment*, 1995, 18:43-51.
- [41] Bernacchi C J, Portis A R, Nakano H, von Caemmerer S, Long S P. Temperature response of mesophyll conductance. Implications for the determination of Rubisco enzyme kinetics and for limitations to photosynthesis in vivo. *Plant Physiology*, 2002, 130:1992-1998.
- [42] Centritto M, Loreto F, Chartzoulakis K. The use of low [CO₂] to estimate diffusional and non-diffusional limitations of photosynthetic capacity of salt-stressed olive saplings. *Plant, Cell & Environment*, 2003, 26:585-594.
- [43] Warren C R, Ethier G J, Livingston N J, Grant N J, Turpin D H, Harrison. Transfer conductance in second growth Douglas fir (*Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco) canopies. *Plant, Cell & Environment*, 2003, 26:1215-1227.
- [44] Warren C R, Adams M A. Evergreen trees do not maximize photosynthesis. *Trends in Plant Science*, 2004, 9:270-274.
- [45] Poorter H, Evans J R. Photosynthetic nitrogen-use efficiency of species that differ inherently in specific leaf area. *Oecologia*, 1998, 116:26-37.
- [46] You M G, Gai J Y, Ma Y H, Jodo S. Relationship of leaf photosynthetic rate with stomatal and mesophyll conductance in soybeans. *Acta Agronomica Sinica*, 1995, 21(2):145-149.
- [47] Xiao K, Gu J T, Zou D H, Zhang R X. Studies on CO₂ conductance during flag leaf aging of hybrid wheats and their parents. *Acta Agronomica Sinica*, 1998, 24(7):503-508.
- [48] Zhang Y L, Xiao K, Li Y M. Effect of irrigation times on the photosynthetic characteristic of flag leaf and grain yield in wheat hybrid Ji' ai1/C6-38. *Acta Agronomica Sinica*, 2006, 32(3):410-414.
- [49] Sun G C, Zhao P. Responses of mesophyll conductance in leaves of 4 dominant subtropical forest tree species to moderate high temperature. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2007, 18(6):1187-119
- [50] Gaastra P. Photosynthesis of Crop Plants as Influenced by Light, Carbon Dioxide, Temperature, and Stomatal Diffusion Resistance. *Nederland: Mededelingen van Landbouwhogeschool te Wageningen*, 1959.
- [51] Troughton J H, Slatyer R O. Plant water status, leaf temperature, and the calculated mesophyll resistance to carbon dioxide of cotton leaves. *Australian Journal of Biological Sciences*, 1969, 22:815-827.
- [52] Jones H G, Slatyer R O. Estimation of the transport and carboxylation components of the intracellular limitation to leaf photosynthesis. *Plant Physiology*, 1972, 50:283-288.
- [53] Samsuddin Z, Impens I. Photosynthesis and diffusion resistances to carbon dioxide in *Hevea brasiliensis* muel. agr. clones. *Oecologia*, 1979, 37: 361-363.
- [54] Eichelmann H, Oja V, Rasulov B. Photosynthetic parameters of birch (*Betula pendula* Roth) leaves growing in normal and CO₂- and O₃-enriched atmospheres. *Plant, Cell & Environment*, 2004, 27:479-495.
- [55] Eichelmann H, Oja V, Rasulov B, Padu E, Bichele H, Niinernets U, Laisk A. Development of leaf photosynthetic parameters in *Betula pendula* Roth leaves: correlations with photosystem I density. *Plant Biology*, 2004, 6(3):307-318.
- [56] Béjaoui Z, Albouchi A, Abassi M, El Aouni M H. Influence d'une hydromorphie modérée ou sévère sur la production de biomasse et les échanges gazeux de plants de peuplier euraméricain. *Canadian Journal of Forest Research*, 2006, 36:2654-2665.
- [57] Moldau H, Kull O. Differential susceptibility of mesophyll CO₂ exchange to ozone in soil- or sand \ grown *Phaseolus vulgaris* L. plants. *Photosynthetica*, 1993, 28:37-44.
- [58] Warren C. Estimating the internal conductance to CO₂ movement. *Functional Plant Biology*, 2006, 33:431-442.
- [59] Farquhar G D, Sharkey T D. Stomatal conductance and photosynthesis. *Annual Review of Plant Physiology*, 1982, 33:317-345.
- [60] Parkhurst D F. Diffusion of CO₂ and other gases inside leaves. *New Phytologist*, 1994, 126:449-479.
- [61] Genty B, Meyer S, Piel C. CO₂ diffusion inside leaf mesophyll of ligneous plants // Garab G ed. *Photosynthesis: Mechanisms and Effects*. Dordrecht:

- Kluwer Academic Publishers, 1998:3961-3967.
- [62] Piel C. Diffusion Du CO₂ Aans le Mésophylle Des Plantes à Métabolisme C₃. Paris: Université Paris XI Orsay, 2002.
- [62] Gorton H L, Herbert S K, Vogelmann T C. Photo acoustic analysis indicates that chloroplast movement does not alter liquid-phase CO₂ diffusion in leaves of *Alocasia brisbanensis*. *Plant Physiology*, 2003, 132:1529-1539.
- [64] Gillon J S, Yakir D. Internal conductance to CO₂ diffusion and C¹⁸OO discrimination in C₃ leaves. *Plant Physiology*, 2000, 123:201-213.
- [65] Evans J R, von Caemmerer S. Carbon dioxide diffusion inside leaves. *Plant Physiology*, 1996, 110:339-346.
- [66] Evans J R, Sharkey T D, Berry J A. Carbon isotope discrimination measured concurrently with gas exchange to investigate CO₂ diffusion in leaves of higher plants. *Australian Journal of Plant Physiology*, 1986, 13:281-292.
- [67] Bongio G, Loreto F. Gas-exchange properties of salt-stressed olive (*Olea europaea* L.) leaves. *Plant Physiology*, 1989, 90:1408-1416.
- [68] Di Marco G, Manes F, Tricoli D. Fluorescence parameters measured concurrently with net photosynthesis to investigate chloroplastic CO₂ concentration in leaves of *Quercus ilex* L. *Journal of Plant Physiology*, 1990, 136:538-543.
- [69] Maxwell K, von Caemmerer S, Evans J R. Is a low internal conductance to CO₂ diffusion a consequence of succulence in plants with Crassulacean Acid Metabolism? *Australian Journal of Plant Physiology*, 1997, 24:777-786.
- [70] Griffiths H, Cousins A B, Badger M R, von Caemmerer S. Discrimination in the dark. Resolving the interplay between metabolic and physical constraints to phosphor-enolpyruvate carboxylase activity during the Crassulacean acid metabolism cycle. *Plant Physiology*, 2007, 143:1055-1067.
- [71] Brugnoli E, Scartazza A, Lauteri M, Monteverti M C, and Maguas C. Carbon isotope discrimination in structural and non-structural carbohydrates in relation to productivity and adaptation to unfavorable conditions // Griffiths H ed. *Stable Isotopes: Integration of Biological, Ecological and Geochemical Processes*. Oxford: BIOS Scientific Publishers, 1998:133-144.
- [72] Galmés J, Abadía A, Medrano H, Flexas J. Photosynthesis and photoprotection responses to water stressing the wild-extinct plant *Lysimachia minoricensis*. *Environmental and Experimental Botany*, 2007, 60:308-317.
- [73] Laisk A, Eichelmann H, Oja V, Rasulov B, Padu E, Bichele I, Pettal H, Kull O. Adjustment of leaf photosynthesis to shade in a natural canopy: Rate parameters. *Plant, Cell & Environment*, 2005, 28:375-388.
- [74] Hanba Y T, Kogami H, Terashima I. The effect of growth irradiance on leaf anatomy and photosynthesis in *Acer* species differing in light demand. *Plant, Cell & Environment*, 2002, 25:1021-1030.
- [75] Laisk A, Oja V, Rasulov B, Ramma H, Eichelmann H, Kasparova I. A computer-operated routine of gas exchange and optical measurements to diagnose photosynthetic apparatus in leaves. *Plant, Cell & Environment*, 2002, 25(7):923-943.
- [76] Laisk A K. Kinetics of Photosynthesis and Photorespiration in C₃ Plants. Moscow: Nauka Publishing, 1977.
- [77] Harley P C, Loreto F, Dimarco G, Sharkey T D. Theoretical considerations when estimating the mesophyll conductance to CO₂ flux by analysis of the response of photosynthesis to CO₂. *Plant Physiology*, 1992, 98:1429-1436.
- [78] von Caemmerer S, Evans J R. Determination of the average partial pressure of CO₂ in chloroplasts from leaves of several C₃ plants. *Australian Journal Plant Physiology*, 1991, 18:287-305.
- [79] Peisker M, Apel H. Inhibition by light of CO₂ evolution from dark respiration: comparison of two gas exchange methods. *Photosynthesis Research*, 2001, 70:291-298.
- [80] Sage R F, Cen Y P, Li M. The activation state of Rubisco directly limits photosynthesis at low CO₂ and low O₂ partial pressures. *Photosynthesis Research*, 2002, 71:241-250.
- [81] Shi Z M, Liu S R, Liu X L, Centritto M. Altitudinal variation in photosynthetic capacity, diffusional conductance and $\delta^{13}\text{C}$ of butterfly bush (*Buddleja davidii*) plants growing at high elevations. *Physiologia Plantarum*, 2006, 128:722-731.
- [82] Terashima I, Ono K. Effects of HgCl₂ on CO₂ dependence of leaf photosynthesis: evidence indicating involvement of aquaporins in CO₂ diffusion across the plasma membrane. *Plant and Cell Physiology*, 2002, 43:70-78.
- [83] Sharkey T D, Vasey T L, Vanderveer P J, Vierstra R D. Carbon metabolism enzymes and photosynthesis in transgenic tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) having excess phytochrome. *Planta*, 1991, 185(3):287-296.
- [84] Shi Z M, Chi R M, Liu S R. Response of leaf $\delta^{13}\text{C}$ to altitudinal gradients and its mechanism. *Acta Ecologica Sinica*, 2004, 12(24):2901-2906.
- [85] Le Roux X, Bariac T, Sinoquet H, Genty B, Piel C, Mariotti A. Spatial distribution of leaf water-use efficiency and carbon isotope discrimination within an isolated tree crown. *Plant, Cell & Environment*, 2001, 24(10):1021-1032.
- [86] Warren C R, Adams M A. Internal conductance does not scale with photosynthetic capacity: implications for carbon isotope discrimination and the economics of water and nitrogen use in photosynthesis. *Plant, Cell & Environment*, 2006, 29:192-201.
- [87] Flexas J, Ribas-Carbó M, Hanson D T, Bota J, Otto B, Cifre J, McDowell N, Medrano H, Kaldenhoff R. Tobacco aquaporin NtAQP1 is involved in mesophyll conductance to CO₂ in vivo. *Plant Journal*, 2006, 48(3):427-439.
- [88] Miyazawa S I, Terashima I. The influence of leaf thickness on the CO₂ transfer conductance and leaf stable carbon isotope ratio for some evergreen

tree species in Japanese warm-temperate forests. *Functional Ecology*, 1999, 13(5):632-639.

- [89] Evans J R, Vellen L. Wheat cultivars differ in transpiration efficiency and CO₂ diffusion inside their leaves // Ishii R, Horie T eds. *Crop Research in Asia: Achievements and Perspective*. Tokyo Japan: Asian Crop Science Association, 1996:326-329.
- [90] Aranda I, Pardos M, Puértolas J, Jiménez M D, Pardos A. Water-use efficiency in cork oak (*Quercus suber*) is modified by the interaction of water and light availabilities. *Tree Physiology*, 2007, 27(25):671-677.
- [91] Wright I J, Reich P B, Westoby M, Ackerly D D, Baruch Z, Bongers F, Cavender-Bares J, Chapin T, Cornelissen J N C C, Diemer M, Flexas J, Garnier E, Groom P K, Gullas J, Hikosaka K, Lamout B B, Lee W, Lusk C, Midgley J J, Navas M L, Niinemets U, Oleksyn J, Osada N, Poorter H, Poot P, Prior L, Pyankow V, Roument C, Thomas S C, Tjoelker M G, Veneklaas E J, Villar R. The worldwide leaf economics spectrum. *Nature*, 2004, 428(22):821-827.
- [92] Hikosaka K. Interspecific difference in the photosynthesis-nitrogen relationship: patterns, physiological causes, and ecological importance. *Journal of Plant Research*, 2004, 117:481-494.
- [93] Pons T L, Westbeek M H M. Analysis of differences in photosynthetic nitrogen-use efficiency between four contrasting species. *Physiologia Plantarum*, 2004, 122:68-78.

参考文献:

- [46] 游明安, 盖钧镒, 马育华, 上堂秀一郎. 大豆叶片光合速率与气孔导度, 叶肉导度的关系. *作物学报*, 1995, 21(2):145-149.
- [47] 肖凯, 谷俊涛, 邹定辉, 张荣銑. 杂交小麦及亲本旗叶老化过程中 CO₂ 导度的研究. *作物学报*, 1998, 24(7):503-508.
- [48] 张永丽, 肖凯, 李雁鸣. 灌水次数对杂种小麦冀矮 1/C6-38 旗叶光合特性和产量的影响. *作物学报*, 2006, 32(3):410-414.
- [49] 孙谷畴, 赵平. 亚热带森林四种建群树种叶片叶肉导度对适度高温的响应. *应用生态学报*, 2007, 18(6):1187-1193.
- [84] 史作民, 程瑞梅, 刘世荣. 高山植物叶片 $\delta^{13}\text{C}$ 的海拔响应及其机理. *生态学报*, 2004, 12(24):2901-2906.