

文章编号 :1003-8701(2009)04-0017-04

^{13}C 同位素判别技术在评价植物水分利用效率中的应用

张鑫生¹, 闫飞^{1*}, 王宗玮², 李华², 金永梅²

(1. 吉林大学植物科学学院, 长春 130062; 2. 吉林省集安市太王镇农机站, 吉林 集安 134200)

摘要: 由于在农田中无法直接测量植物水分利用效率, 本文通过介绍 ^{13}C 同位素判别技术的原理及其测定方法, 以及利用 $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ 技术测定植物生理水分利用率的原理, 评述了碳的稳定同位素的判别技术在研究植物长期的水分利用效率(Season-long water use efficiency, 缩写为 WUEsl)的可能性以及在其他方面的应用。

关键词: ^{13}C 同位素; 判别技术; 植物长期的水分利用效率

中图分类号: S5

文献标识码: A

Application of Carbon Isotope Discrimination on Evaluating Plant Water Use Efficiency

ZHANG Xin-sheng¹, YAN Fei¹, WANG Zong-wei², LI Hua², JIN Yong-mei²

(1. College of Plant Science, Jilin University, Changchun 130062;

2. Agricultural Mechanical Station of Taiwang Town, Jian County, Tonghua 134200, China)

Abstract: There was not method to measure plant water use efficiency directly in the field. Principle and method of carbon isotope discrimination, and principle on determination of plant season-long water use efficiency (WUEsl) by stable carbon isotope ratio were introduced in the paper. Application on exploring plant WUEsl and other character by method of carbon isotope discrimination was evaluated.

Keywords: Stable carbon isotope ratio; Discrimination technique; Season-long water use efficiency

在农田中, 直接测量植物水分利用效率是很困难的, 因为测得的是植物所消耗的而非利用的水分, 一个高产个体可能奢侈消耗土壤水分, 几乎不给其相邻植物留一点水分, 这种高产品种的水分利用率低, 且不易达到高产的目的。虽然轻巧的便携式单叶片或冠层群体的光合作用和蒸腾作用检测仪正越来越普遍, 但其所测的值是瞬时值, 该值并不能表征植物长期生长过程中的水分利用情况。植物长期的水分利用效率(WUEsl)可以根据 Farqhar 和 Richards (1984) 所描述的生长箱法测得, 但该方法每次仅能测量少数植株样品, 并且, 这些植株不可能完全代表田间植物的生长状况。为

提高对田间植物与水分的关系及其适应性的了解, 并以此作为高产作物品种的选择标准之一, 因此, 直接、准确的评价田间植物水分利用率 WUEsl 的检测方法急需解决。而碳的稳定同位素的判别技术很可能是目前研究 WUEsl 的最佳方法。

1 同位素效应

同位素按其性质可以分为稳定性同位素和不稳定(放射)性同位素两大类。天然存在的多是稳定性同位素, 它们不放出射线。碳的稳定同位素有两种, 即 ^{12}C 和 ^{13}C , 在自然界中, 它们分别占全碳的 98.89% 和 1.11%。

之所以能利用碳的稳定同位素的判别技术研究植物的 WUEsl, 是因为大气中的 ^{12}C 和 ^{13}C 的比例相对稳定, 并且植物在光合作用时要发生碳的同位素效应(主要是动力同位素效应)。

同位素效应(Isotope effect): 由于同位素之间

收稿日期: 2009-02-23

基金项目: 吉林大学农学部青年基金课题资助。

作者简介: 张鑫生(1968-), 男, 高级农艺师, 主要从事农作物耕作栽培研究。

通讯作者: 闫飞, 男, 副教授, E-mail: yanf@jlu.edu.cn

在一些物理化学性质上的差异,使反应物(Rr)和生成物(Rp)在同位素组成上产生差异的现象。其公式为: $a=Rr/Rp$ 。

动力同位素效应 (Kinetic isotope effect) 指某一反应中重同位素参与反应的速度比较同位素慢,从而使产物的重同位素(相对于反应前的比例)出现贫乏的现象。

同位素效应可以用同位素比率(δ)和同位素判别值(Δ)来表示。

同位素比率(δ):使用相对量来表示物质的同位素组成。所使用的标准物质为 Pee Dee Belemnite(PDB),它是在南加利福尼亚从 Pee Dee 形成的一种甲壳纲软体动物(*Belemnitella Americana*)的碳酸盐骨骼,其 ^{13}C 值等于 0,RPDB 值等于 11.237 2‰。

$$\delta \text{ } ^{13}\text{C}_{\text{sample}}=(R_{\text{sample}}/R_{\text{PDB}}-1)\times 1\ 000$$

其中, R_{sample} 表示样品中 $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ 的比值, R_{PDB} 表示标样中 $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ 的比值。

同位素判别值(Δ): $\Delta=a-1$,因为 $a=Rr/Rp$,所以 $\Delta=Rr/Rp-1$ 。

2 同位素比率的测定

一个物质同位素的绝对组成不易直接测得,但通过特殊的仪器,可以测得该物质同位素组成的比率。

植物样品的 ^{13}C 值无需预处理,可以直接测定。其测定的一般原理是:通过使干燥的样品在一密封的有过量氧气的石英玻璃管中燃烧,使样品中所有的碳都转化为 CO_2 ,然后通过低温蒸馏使产生的 CO_2 与其它的燃烧产物分离,最后使得到的纯净的 CO_2 在一双入口的同位素质谱仪中进行测定,从而得到样品的 $\delta^{13}\text{C}$ 值。近年来,对于上述传统的仪器又做了些改进,如用硼硅酸玻璃管代替了昂贵的石英玻璃管,使费用大为减少,而测定结果并未受到显著影响。现在新的质谱仪都带有自动制样系统(元素分析仪),大大简化了样品的制备过程,并使与样品制备的有关误差得以减少。

3 利用 $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ 技术测定植物生理水分利用率的原理

尽管植物对 ^{12}C 和 ^{13}C 的扩散和溶解有轻微的同位素分差,但植物体的 $\delta^{13}\text{C}$ 和大气中 $\delta^{13}\text{C}$ 产生区别的主要原因是酶的判别。

在植物的研究中,碳的稳定同位素的判别理论首先用于揭示植物的光合途径。绿色植物的光

合作用主要有两种固定 CO_2 的途径,根据最初羧化步骤中形成的产物的不同,分为三碳循环(Calvin 循环)和四碳循环(Hatch-Slack 循环)途径。进行三碳循环的植物称为 C_3 植物,进行四碳循环的植物称为 C_4 植物。几乎所有的温带植物和树种都属于 C_3 植物,而大部分热带的藜科和禾本科植物,例如玉米、高粱和甘蔗等则属于 C_4 植物。另外还有一种植物叫 CAM 植物,它固定 CO_2 的反应颇似 C_4 植物,只是最初 CO_2 固定及碳水化合物合成的反应分别在夜间和昼间进行。

从生物进化的观点看, C_4 植物和 CAM 植物是从 C_3 植物进化而来的。在陆生植物出现的初期,大气中 CO_2 的浓度较高, O_2 较少,光呼吸受到抑制,故 C_3 途径能有效的发挥作用。随着植物群体的增加, O_2 浓度逐渐增加, CO_2 浓度逐渐降低,一些生长在高温、干燥气候下的植物受生态环境的影响,也逐渐发生了相应的变化,由此形成了 C_3 - C_4 中间型植物乃至 C_4 植物,或者形成了白天气孔关闭,抑制蒸腾作用,晚上气孔开启,吸收 CO_2 的 CAM 植物。所以, C_3 途径是光合碳代谢的基本途径,而 C_4 和 CAM 途径只是对 C_3 途径的补充。

当植物进行光合作用(固定 CO_2)时,在碳的两个稳定同位素之间有一个分差。这一分差的产生除了来自于物理的和生物化学的途径外,主要是由光合作用中的羧化作用步骤,尤其是核酮糖二磷酸羧化酶(Rubisco)催化的反应支配的。上述分差对较轻的碳同位素(^{12}C)影响较小,即:植物在碳的同化过程中优先利用 ^{12}C 和部分地排斥 ^{13}C ;而核酮糖二磷酸羧化酶催化的反应是 C_3 植物而不是 C_4 植物中的主要羧化作用步骤,故 ^{13}C 的分差在 C_3 植物中大于 C_4 植物,即: C_3 植物表现出比 C_4 植物具有更大的辨认重碳同位素(^{13}C)的能力。因此,在陆生植物中 C_3 植物的 $\delta^{13}\text{C}$ 值为 $-20\text{‰}\sim-35\text{‰}$ (平均值 -27‰); C_4 植物的 $\delta^{13}\text{C}$ 值为 $-8\text{‰}\sim-14\text{‰}$ (平均值 -12‰)。而 CAM 植物在夜里的光合代谢和 C_4 植物无异,因而夜里合成的光合产物具有 C_4 植物一样的 ^{13}C 值;但在白天,它又采用 C_3 途径固定夜间固定的 CO_2 ,因而白天合成的光合产物具有 C_3 植物的 $\delta^{13}\text{C}$ 值。因此 CAM 植物的 $\delta^{13}\text{C}$ 值为 $-11\text{‰}\sim-33\text{‰}$ 。

一般水生植物的 ^{13}C 值为 $-8\text{‰}\sim-30\text{‰}$,主要是因为他们所利用的碳源不同造成的,与其光合途径无关。

植物的水分利用效率(WUE)主要是指植物每

消耗单位水分而产生的干物质量,在研究中主要使用植物长期的水分利用效率(WUE_{sl})和瞬时的水分利用效率(WUE_i, instantaneous water use efficiency)。现在通过气体交换发生器可以准确地检测植物的 WUE,但一般都是瞬时值,而非一段时期的信息。由于碳是连续被固定,所以,WUE_{sl}才能准确表征植物整个生长过程中的水分利用情况。Martin 和 Thorstenson(1988)在研究 3 种基因型番茄(栽培种、野生种和二者的杂交品种)时发现,虽然他们的 WUE_i 随着 WUE_{sl} 的增加而增加,但在 0.05 的水平下,却无显著的相关关系,因此 WUE_i 不能有效的表征 WUE_{sl}。

而 WUE_{sl} 又与气孔的开关状况有关:气孔开放时,蒸腾速率高,水分损失多,WUE_{sl} 低,但此时 CO₂ 供应充分,植物体内 ^{13}C 含量低;气孔关闭时,蒸腾速率低,水分损失少,WUE_{sl} 高,而 CO₂ 供应不足,植物体内 ^{13}C 含量高。因此,植物的 $\delta^{13}\text{C}$ 值在一定程度上可以表征植物长期的水分利用效率(WUE_{sl})。

4 碳的稳定同位素的判别技术在研究植物 WUE_{sl} 和其他方面的应用

一般 WUE_{sl} 与 ^{13}C 值呈显著的正相关,与 Δ 值呈显著的负相关,并在一定范围内,随着土壤含水量的增加,WUE_{sl} 与 ^{13}C 值显著减少,而 Δ 值却显著增加,即土壤水分状况的改良,可能会使得植物在整个生长期内的水分利用率下降。

在同一土壤含水量的条件下,3 种基因型番茄(栽培种、野生种和二者的杂交品种)的 WUE_{sl} 与 ^{13}C 值的变化规律均为:野生种 > F₁ > 栽培种。这也可理解为生物进化的结果:野生种的生存和生长完全取决于自然环境,因此,它能够最大限度地利用有限的自然资源;而栽培种是根据人的主观要求而培育出的品种,为达到这一目的,在其生长过程中往往需要依靠人的帮助和管理,故对资源的利用并非最佳。

利用碳的稳定同位素的判别技术还可以及早判知植物的 WUE_{sl} 情况。4 种基因型春小麦生长前期(播后 60 d)和成熟期(播后 150 d)的茎秆与麦粒中的 Δ 值都分别达到极显著的水平,并且它们这两个时期的 WUE_{sl} 值在 0.05 水平下呈极显著的负相关。由于植物生长早期与后期的碳的稳定同位素的判别值有极显著的相关性,所以早期碳的稳定同位素的判别值可以作为一种及早快速筛选 WUE 高效品种的一个有效的指标。

碳的稳定同位素的判别技术不仅能揭示植物在整个生长期内的水分利用情况,而且有时还可以揭示植物的产量。Martin 和 Thorstenson(1988)发现 3 种基因型番茄(栽培种、野生种和二者的杂交品种)的 $\delta^{13}\text{C}$ 值分别与其干物重在 0.05 水平下呈极显著的负相关,其中栽培种和杂交品种 F₁ 的 WUE_{sl} 分别与其干物重在 0.05 和 0.01 水平下呈极显著的负相关。而一种牧草 wheatgrass 在 3 个不同的时期收获,其每一次的产量与 Δ 值都呈极显著的正相关。Kirda 等(1992 年)的研究表明:4 种基因型春小麦生长前期(播后 60 d)的 Δ 值和成熟期(播后 150 d)的总干物重在 0.05 水平下分别与其水分消耗量(ET)呈极显著的正相关。由于植物生长初期的碳的稳定同位素的判别值与其生长后期的总干物重有极显著的相关关系,并且,该值的特性可以持续贯穿整个植物的生长周期,所以,植物早期的碳的稳定同位素的判别值可以作为尽早迅速筛选高产品种的一种有效的指标。

此法比气体交换法的优越之处是可以通过对长期积累于叶片或其他器官中的碳代谢产物的稳定碳同位素分析来评估叶片或植株生长过程中总的 WUE 特性,比用气体交换测定的瞬时 WUE 更具代表性。另一方面,此种测定不受时间和季节的限制,样品采集烘干之后,其中的碳同位素成分不再改变,故可以放置至生长季节后较空闲时进行测定。

由于植物不同的光合途径这个内在的原因,才可以利用碳的稳定同位素判别值区别开不同植物的 WUE_{sl}。而植物的光合作用是受内外因素的共同作用,同时这些作用还会影响气孔的开闭状况,所以,这些外部因素也可以影响碳稳定同位素的判别值。

抗旱基因型的充分表达需要特定的水分条件,因此,利用稳定碳同位素判别技术比较作物基因型差别时,同时提供湿与干的生长环境,并计算干与湿条件所得结果的比率,方能更有效地进行正确的筛选。但是,在利用碳的稳定同位素判别技术研究植物水分利用效率时,需加以注意。

参考文献:

- [1] 陈荣三,张树成,黄孟健.无机及分析化学[M].北京:高等教育出版社,1985:20.
- [2] 高 珠.植物生理学[M].北京:中国农业出版社,1986:46.
- [3] 王 忠.植物生理学[M].北京:中国农业出版社,2000:69-70,166-183.
- [4] 沈 同,王镜光.生物化学[M].北京:高等教育出版社,

- 1991 :142- 147 .
- [5] Balesdent J. et al. Soil science society American journal, 1988, 52: 118- 124 .
- [6] Balesdent J., et al. Soil biology and biochemistry,1987,19: 25- 30 .
- [7] Douglas A et al. Carbon isotope discrimination: potential in screening cool- season grasses for water- limited environments[J]. Crop Sci.,1990,30: 338- 343 .
- [8] Ehdaie B, A E Hall, G D Farquhar et al. Crop Sci., 1991, 31: 1282- 1288 .
- [9] Ehleringer J.R.,Rundel P.W.. Ecological research (ed. J.R. Ehleringer and K.A. Nagy) [C]. 1989: 1- 15 .
- [10] Farquhar G.D. et al. Carbon isotope discrimination and photosynthesis [J]. Annu. rev. plant physiol. Plant mol. Boil. 1989,40: 503- 537 .
- [11] Farquhar G.D. et al. Isotope composition of plant carbon correlates with water- use efficiency of wheat genotypes. Aust. J. plant physiol, 1984,11: 539- 552 .
- [12] Kirda et al. Carbon isotope discrimination at vegetative stage as an indicator of yield and water use efficiency of spring wheat (*Triticum turgidum* L. var. durum)[J]. Plant and soil, 1992,147: 217- 223 .
- [13] Knight J.D. et al. Communication in soil science and plant analysis,1994, 25: 447- 454 .
- [14] Lefroy R.B. et al. Plant and soil. 1993,155/156: 323- 402 .
- [15] Lerman J.C. In “Environmental and biological control of photosynthesis” (Ed. R. Matcelle) [C]. 1975,323- 335 .
- [16] Martin & Thorstenson. Stable carbon isotope composition (^{13}C), water use efficiency, and biomass productivity of *Lycopersicon esculentum*, *Lycopersicon pennellii*, and the F1 hybrid[J]. Plant Physiol,1988,88: 213- 217 .
- [17] Natelhoff K.J., Fry B., Soil science society American journal, 1988, 52 :1633- 1640 .
- [18] Sherhone G.D. et al. Communication in soil science and plant analysis, 1992, 22 :177- 180 .

(上接第 13 页)

4 结束语

耐密型玉米品种郑单 958 和先玉 335 成功地在东北春玉米区大面积推广种植，是符合玉米产业本身发展规律的，对吉林省未来的玉米育种和种子生产已经起到了良好的启迪和借鉴作用。因此，认真研究其优缺点，指导吉林省玉米育种和种子生产，具有重要的意义和价值。

参考文献：

- [1] 李继军, 梁增灵. 郑单 958 等玉米种子 2008 年度供需形势分析及对玉米育种方向的影响[J]. 种业导刊, 2008(4) :7- 11 .
- [2] 孙发明, 焦仁海, 刘兴二, 等. 论春玉米区新的育种目标与策略[J]. 种子科技, 2006(2) :44- 46 .
- [3] 刘文国. 耐密型玉米品种在吉林省的选育与发展对策, 第一届玉米产业技术大会论文集[C]. 北京 :2008.12 :23- 24 .
- [4] 杨今胜, 李旭华, 柳京国, 等. 借鉴国外先进经验发展我国玉米种业[J]. 农业科技通讯, 2008(7) :5- 7 .