

植物光合作用叶肉导度及主要限制因素研究进展

韩吉梅¹ 张旺锋¹ 熊栋梁² Jaume FLEXAS² 张亚黎^{1*}

¹石河子大学农学院, 新疆生产建设兵团绿洲生态农业重点实验室, 新疆石河子, 832003, 中国; ²巴利阿里群岛大学, 地中海植物生物学实验室, 帕尔马市, 巴利阿里群岛, 07122, 西班牙

摘要 叶肉导度(g_m)被用来衡量CO₂从植物叶片气孔下腔到叶绿体羧化位点的传输效率, 其主要受解剖结构和生化因素的调控。近年来, g_m 的研究在光合作用领域受到普遍关注; 光合速率的限制因素已不再简单地划分为气孔限制和非气孔限制, 而需要从气孔限制、叶肉限制和羧化限制3个限制因素开展研究工作。该文分析了植物细胞壁、细胞膜、细胞质、叶绿体膜和叶绿体基质对 g_m 的调控机制, 指出细胞壁厚度以及面向细胞间隙的叶绿体面积(S_c)是影响 g_m 的重要结构因素。阐述了水孔蛋白和碳酸酐酶参与的生化过程对 g_m 的调控机制。同时, 对外界环境因素, 如温度、光强、干旱、氮等对 g_m 的调控机制进行了总结。在此基础上, 探讨了 g_m 与水力导度的耦合关系。最后对 g_m 研究中的科学问题进行了展望。

关键词 光合作用; CO₂传输; 叶肉导度; 解剖结构; 生化因素; 环境变化; 水力导度

引用格式: 韩吉梅, 张旺锋, 熊栋梁, Flexas J, 张亚黎 (2017). 植物光合作用叶肉导度及主要限制因素研究进展. 植物生态学报, 41, 914–924. doi: 10.17521/cjpe.2016.0337

Mesophyll conductance and its limiting factors in plant leaves

HAN Ji-Mei¹, ZHANG Wang-Feng¹, XIONG Dong-Liang², FLEXAS Jaume², and ZHANG Ya-Li^{1*}

¹Shihezi University, Agricultural College, The Key Laboratory of Oasis Eco-agriculture, Xinjiang Production and Construction Group, Shihezi, Xinjiang 832003, China; and ²Universitat de les Illes Balears, Research Group in Plant Biology Under Mediterranean Conditions, Palma de Mallorca 07122, Illes Balears, Spain

Abstract

Mesophyll conductance (g_m) represents the CO₂ diffusion facility from sub-stomatal internal cavities to carboxylation sites in chloroplasts, and the variation of g_m across genotypes as well as environmental conditions is expected to be related to the anatomical structures and biochemical properties of leaves. In recent years, the variation of g_m has attracted wide attention. The limiting factors in photosynthetic rate are no longer divided simply into stomatal limitation and non-stomatal limitation, but splitted in stomatal limitation, mesophyll limitation and carboxylation limitation. In this review, we summarize the potential influences of cell wall, cell membrane, cytoplasm, chloroplast envelope and stroma on g_m , and indicate that cell wall thickness and the surface area of chloroplast exposed to intercellular air space (S_c) are the most important factors influencing the g_m . We also analyze the probable effects of biochemical process related with aquaporins and carbonic anhydrase on g_m . Meanwhile, the regulation mechanisms of long- and short-term environment changes (including temperature, light intensity, drought, and nutrients) on g_m are also summarized. The relationship between g_m and hydraulic conductance (K_{leaf}) is debated. Finally, we discuss the scientific problems related with g_m .

Key words photosynthesis; CO₂ diffusion; mesophyll conductance; anatomical structure; biochemical factor; environmental change; hydraulic conductance

Citation: Han JM, Zhang WF, Xiong DL, Flexas J, Zhang YL (2017). Mesophyll conductance and its limiting factors in plant leaves. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 41, 914–924. doi: 10.17521/cjpe.2016.0337

光合作用是绿色植物利用光能, 把CO₂和H₂O合成有机物, 同时释放O₂的生理过程。CO₂首先从外界大气扩散到叶片表层, 然后穿过气孔到达气孔下腔, 最后到达叶绿体羧化位点由羧化酶进行同化。早期一些研究认为CO₂从气孔下腔到叶绿体羧

化位点的扩散阻力(r_m , 其倒数为叶肉导度(g_m))趋近于无穷小, 从而将CO₂对光合速率的限制简化为气孔和非气孔(羧化)两个因素。基于这种假设, 在Farquhar-von-Caemmerer-Berry (FvCB)光合模型中, 叶绿体羧化位点的CO₂浓度(C_c)采用胞间CO₂浓度

收稿日期Received: 2016-11-03 接受日期Accepted: 2017-04-05

* 通信作者Author for correspondence (E-mail: zhangyali_cn@foxmail.com)

(C_i)替代(Farquhar *et al.*, 1980)。随后的一些研究发现, 植物的 g_m 并不是无穷大(Evans *et al.*, 1986; von Caemmerer & Evans, 1991; Harley *et al.*, 1992; Evans & von Caemmerer, 1996)。不同植物的 g_m 存在差异, 而且 g_m 也会随环境的变化而做出适应性的调整(Flexas *et al.*, 2008, 2012)。研究表明, g_m 对温度(Bernacchi *et al.*, 2002; Flexas & Diaz-Espejo, 2015)、蓝光强度(Loreto *et al.*, 2009)、水分亏缺(Flexas *et al.*, 2002; Miyazawa *et al.*, 2008; Han *et al.*, 2016)等外界环境条件的改变均会做出相应的响应。因此, g_m 被认为是除气孔限制和羧化限制外的光合效率第三个限制因素, 并认为与气孔导度(g_s)同等重要(Flexas *et al.*, 2012)。通常, 依据FvCB光合模型的 CO_2 响应曲线(A_N-C_i 曲线)拟合方法, 不考虑 g_m 的影响, 往往导致拟合出的光合参数存在偏差。因此, 有研究从考虑 g_m 影响的角度, 对FvCB光合模型 A_N-C_i 曲线拟合方法进行了修正, 例如Ethier和Livingston (2004)对Farquhar等(1980)的光合模型的非直角双曲线模型进行优化, 对 A_N-C_i 曲线进行拟合得到 g_m , 这种方法降低了光合参数对 g_m 的敏感度。Sharkey等(2007)介绍了一种非线性曲线拟合方法对 A_N-C_i 曲线进行拟合。以上拟合方法均假设 g_m 不受 C_i 影响且光系统II中光吸收系数为常数。为避免以上问题, Moualeu-Ngangue等(2016)重新提出了一种 A_N-C_i 曲线拟合方法。除 A_N-C_i 曲线拟合 g_m 之外, 气体交换和叶绿素荧光同步测定法与气体交换和同位素同步测定法也可估算 g_m , 但3种方法均存在一定的缺陷。一般而言, 外界环境通过影响叶片内部物理和(或)生化因素进而影响 g_m 。同时, 由于 g_m 的变化只影响叶片内 CO_2 的运输而不涉及水分散失, 因此有研究提出, g_m 是实现植物叶片光合速率和水分利用效率同步提高的生理位点。

1 叶片结构和生化因素对叶肉导度的影响

在组织细胞水平, g_m 的影响因素主要包括结构因素和生化因素。在结构层面, CO_2 在叶肉细胞中的扩散依次经过细胞间隙、细胞壁、细胞膜、细胞质、叶绿体膜和叶绿体基质等(图1, 图2)。 CO_2 在这些扩散过程中会受到层层阻碍, 从而影响 g_m 。在生化层面, 在叶片传输过程中 CO_2 可以被碳酸酐酶(CA)催化转变成 HCO_3^- 进行扩散, 同时水孔蛋白(AQPs)也可以介导 CO_2 的跨膜运输。实际上, 生化层面和结构

层面两者密不可分, AQPs存在于生物膜上, CA主要存在于叶绿体基质中。

1.1 结构层面的限制

有研究表明, g_m 主要由叶片解剖结构决定(Niinemets *et al.*, 2009; Tosens *et al.*, 2012a; Tomás *et al.*, 2013)。大量研究认为面向细胞间隙的叶绿体面积(S_c)与叶片总面积(S)的比值(S_c/S) (von Caemmerer & Evans, 1991; Evans *et al.*, 1994; Pakatas *et al.*, 2003; Flexas *et al.*, 2012)和细胞壁厚度的(Hanba *et al.*, 1999, 2002; Terashima *et al.*, 2011)是影响 g_m 的主要结构因素。

有研究用一维气体扩散模型定量分析不同组织细胞结构对 CO_2 扩散的重要程度(Niinemets & Reichstein, 2003a; Tosens *et al.*, 2012a; Tomás *et al.*, 2013)。 g_m 被分为气相导度(g_{ias})和液相导度(g_{liq})两个部分。 g_{ias} 代表 CO_2 从气孔下腔到细胞壁周围扩散阻力的倒数, g_{liq} 代表 CO_2 从细胞壁周围到叶绿体内羧化位点扩散阻力的倒数。

$$g_m = \frac{1}{\frac{1}{g_{ias}} + \frac{R \times T_k}{H \times g_{liq}}} \quad (1)$$

H 是亨利定律常数($m^3 \cdot mol^{-1} \cdot K^{-1}$), R 为气体常数($Pa \cdot m^3 \cdot K^{-1} \cdot mol^{-1}$), T_k 是绝对温度(K)。 $(R \times T_k)/(H \times g_{liq})$ 是亨利定律常数的无因次形式, 可以将气相导度转换为等价的液相导度(Niinemets & Reichstein, 2003b)。

$$g_{ias} = \frac{D_a \times f_{ias}}{\Delta L_{ias} \times \zeta} \quad (2)$$

$$f_{ias} = 1 - \frac{\Sigma S_s}{t_{mes} \times W} \quad (3)$$

D_a ($m^2 \cdot s^{-1}$) 是气相中 CO_2 扩散系数(25 °C下是 1.51×10^{-5}), f_{ias} ($m^3 \cdot m^{-3}$)是细胞间隙体积与叶肉总体积的比值。 ΣS_s 代表叶肉细胞横切面面积; t_{mes} 代表上下表皮之间叶肉细胞的厚度; W 是切片宽度; ΔL_{ias} 被近似为叶肉厚度的一半; ζ 代表扩散路径弯曲度, 用叶片横切面和纵切面进行估算(Terashima *et al.*, 1995), 一般用常数 $1.57 mm^{-1}$ (Syvertsen *et al.*, 1995; Niinemets & Reichstein, 2003a)。

$$g_{liq} = \frac{S_m}{\left(1/g_{cw} + 1/g_{pl} + 1/g_{cel,tot}\right) \times S} \quad (4)$$

S_m/S 代表单位叶片面积内面向细胞间隙的叶肉细胞面积; g_{cw} 是细胞壁导度, g_{pl} 是质膜导度, $g_{cel,tot}$ 是细胞

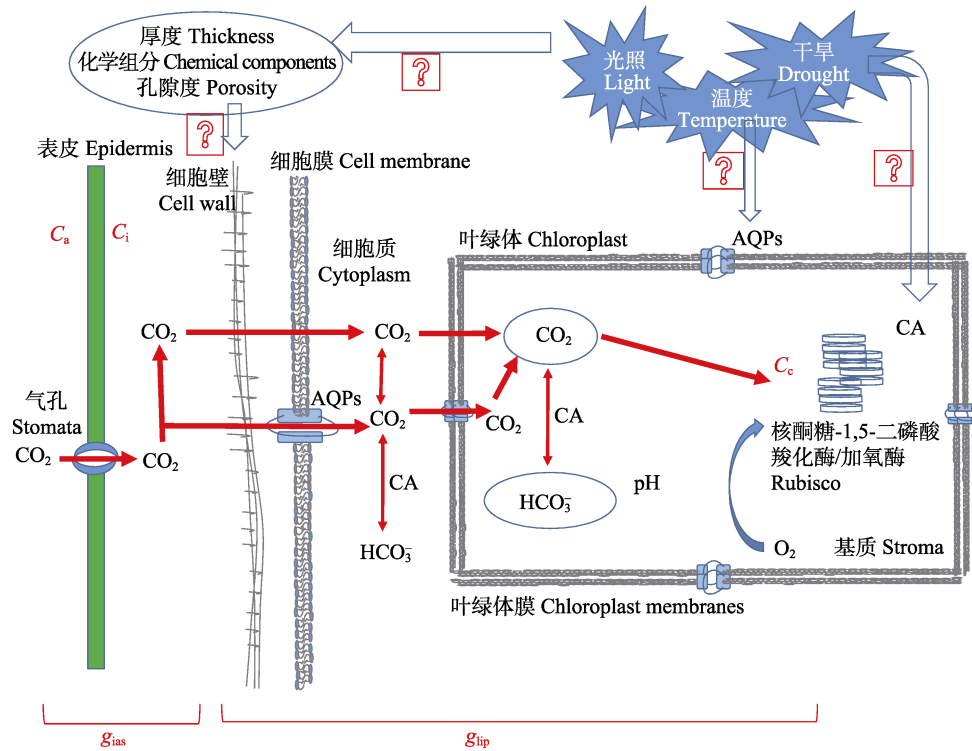


图1 CO_2 运输模式图。AQPs, 水孔蛋白; C_a , 大气 CO_2 浓度; C_i , 胞间 CO_2 浓度; CA, 碳酸酐酶; g_{ias} , 气相导度; g_{lip} , 液相导度。
Fig. 1 CO_2 transport model. AQPs, aquaporins; C_a , the atmospheric CO_2 concentration; C_i , intercellular CO_2 concentration; CA, carbonic anhydrase; g_{ias} , the gas phase conductance; g_{lip} , the liquid phase conductance.

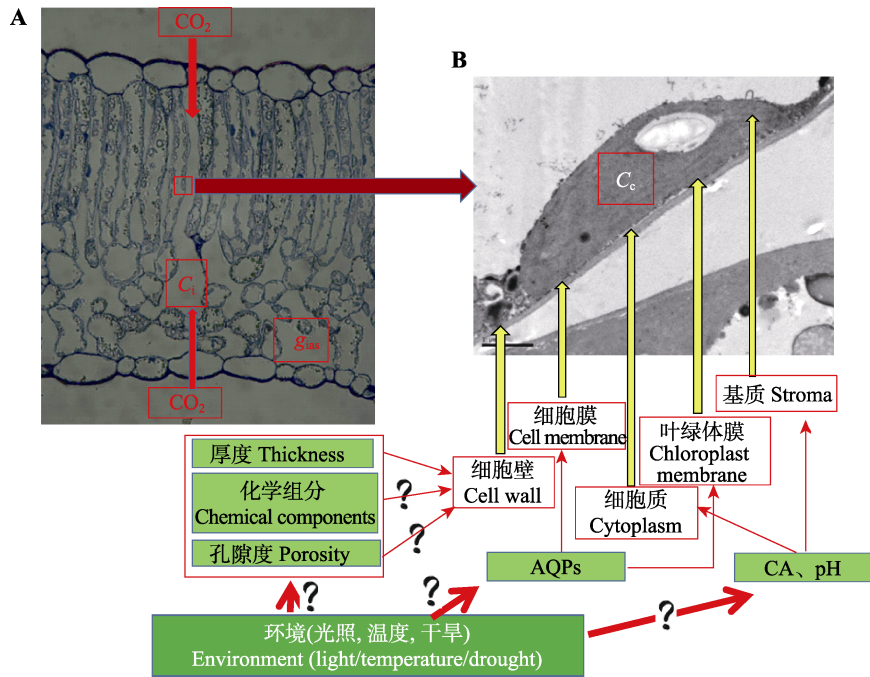


图2 g_m 反映的 CO_2 扩散路径。A, 光学显微镜拍摄的棉花叶片解剖结构图, 代表的是 CO_2 从外界大气进入叶片细胞间隙, 完成气相传输。B, 电子显微镜拍摄的棉花叶片超微结构图。代表的是 CO_2 从细胞间隙进入叶绿体羧化位点所经过的部位, 完成液相传输。图中简单介绍了影响传输路径的因素及需要进一步深入研究的课题。AQPs, 水孔蛋白; C_i , 胞间 CO_2 浓度; C_c , 叶绿体羧化位点 CO_2 浓度; CA, 碳酸酐酶; g_{ias} , 液相导度。

Fig. 2 The diffusion path of CO_2 reflected by g_m . A, The leaf anatomical structure in cotton by optical microscope, which represents the CO_2 gas phase diffusion from the atmosphere into the leaf intercellular air layer; B, The leaf ultra-micro structure in cotton by electron microscope, which represents the CO_2 liquid phase diffusion from intercellular into the chloroplast carboxylation site. AQPs, aquaporins; C_i , intercellular CO_2 concentration; C_c , CO_2 concentration at chloroplast carboxylation site; CA, carbonic anhydrase; g_{ias} , the gas phase conductance.

内部导度。三者通用的表达方式 g_i 计算公式为:

$$g_i = \frac{r_{fi} \times D_w \times p_i}{\Delta L_i} \quad (5)$$

P_i 是扩散路径有效孔隙度, 对于胞液和基质用常数1, 细胞壁的孔隙度用常数0.05 (Terashima *et al.*, 2006), D_w 是 CO_2 液相扩散系数($1.790 \times 10^{-9} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$, 25°C), r_{fi} 是无量纲因子, 用来表示与 CO_2 在水中的自由扩散相比, 液相扩散导度的下降。针对 g_{cw} , r_{fi} 用常数1; ΔL_i 是指扩散路径长度。其中计算 $g_{cel,tot}$ 时, 扩散路径较为复杂, 一般将 CO_2 从细胞膜下进入到叶绿体分为两个路径: 一是 CO_2 从细胞质沿垂直细胞膜的方向进入叶绿体; 二是细胞质中的 CO_2 可沿平行细胞膜的方向进入叶绿体侧面(Terashima *et al.*, 2005; Tomás *et al.*, 2013)。 g_{pl} 和 g_{en} (叶绿体膜导度)不适用于此公式, 一般用常数 $0.0035 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$ (Evans *et al.*, 1994)表示。

由以上公式可知, 气相扩散路径弯曲度、细胞壁扩散路径有效孔隙度、液相扩散系数等均采用常数。除此之外, 扩散路径的长度, 如细胞壁厚度、叶绿体大小和位置等均对 g_m 的计算有重要影响。尽管气相扩散涉及垂直扩散路径和侧向扩散路径, 但有研究报道气相扩散相对于液相扩散可以忽略不计。同时, 结构量化时假设生物膜限制为常数, 实际上生物膜的限制也是影响 g_m 的不可忽视的因素。Tomás等(2014)认为影响 g_m 的主要因素随物种特性的变化而变化, 例如在肉质植株中影响 g_m 最重要的因素是生物膜通透性、细胞液和叶绿体基质等生化层面的因素; 而在硬叶植株中细胞壁厚度是限制 g_m 的主要因素。

1.1.1 细胞壁

影响 g_m 的细胞壁特性主要为厚度和孔隙度。一般认为细胞壁的厚度与 g_m 呈反比, 扩散路径越大, 厚度越厚, g_m 越小。研究证实, 细胞壁的厚度与 g_m 确实存在负相关关系(Terashima *et al.*, 2011)。在硬叶植物中 g_m 的限制主要来自于细胞壁厚度的限制 (Evans *et al.*, 2009)。同时, 细胞壁越厚的叶片, 单位 S_c 下的Rubisco含量越少, 叶绿体越小, 光合速率也就越低 (Evans *et al.*, 2009)。Tosens等(2012b)认为不仅细胞壁厚度影响着 g_m , 细胞孔隙度也与 g_m 关系密切。一般认为细胞壁孔隙度越大, g_m 越大。研究证实, 物种间细胞壁孔隙度随细胞壁厚度的变化而变化(Terashima *et al.*, 2006; Evans *et al.*, 2009; Tosens

et al., 2012b)。Tosens等(2012b)利用最小二乘迭代分析法对细胞壁孔隙度进行分析, 结果显示, 细胞壁厚度由 $0.252 \mu\text{m}$ 到 $0.420 \mu\text{m}$ 变化的物种, 相对应的细胞孔隙度由0.095变化到0.040。细胞壁的主要成分包括纤维素和半纤维素, 研究细胞壁物理结构和化学组分的相互作用对于理解 g_m 的变化机制至关重要 (Flexas & Diaz-Espejo, 2015)。然而, 两者如何受外界因素的影响以及如何相互作用来影响 CO_2 的传输尚未有细致的研究报道。

1.1.2 生物膜

生物膜对脂溶性小分子具有透过性, CO_2 是亲脂性分子, 能够经过磷脂双分子层进行快速穿膜扩散。早先一直认为 CO_2 在生物膜上的扩散速率非常大, 磷脂双分子层对 CO_2 的阻碍(脂相阻碍)可以忽略不计。然而对水孔蛋白(AQPs)的研究表明, 它不仅介导 H_2O 的跨膜运输, 对 CO_2 的跨膜运输也起着重要作用。Terashima等(2006)认为 CO_2 的穿膜过程主要通过两种途径: 磷脂双分子层和膜上内在蛋白。然而, 不同研究对 CO_2 在生物膜上的通透系数的估测值相差甚大。Missner等(2008)估测膜的通透性是 $(3.2 \pm 1.6) \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$, 认为影响 CO_2 跨膜运输的主要因素是生物膜边界层厚度, 与AQPs关系不大; 而Boron等(2011)在排除AQPs的功能后估测细胞膜通透性为 $0.015 \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$, 从而认为, AQPs通过影响 CO_2 在生物膜上的运输来调控 g_m 。Uehlein等(2008)证实AQPs基因的沉默降低了叶绿体内 CO_2 的浓度; 而当超表达AQPs时, g_m 得到了改善, 从而提高了光合速率 (Sade *et al.*, 2014)。另外, AQPs也可以通过影响 g_s 从而影响光合作用 (Hanba *et al.*, 2004; Flexas *et al.*, 2006b; Heckwolf *et al.*, 2011)。

1.1.3 基质

CO_2 从细胞膜扩散到叶绿体膜需要经过细胞质, CO_2 在细胞质中的扩散路径越长, CO_2 所受到的阻碍越大。通常, 叶绿体会沿细胞膜排列 (Sage & Sage, 2009), 这有助于缩短 CO_2 在细胞质中的扩散路径, 从而减少扩散阻碍。同时, CO_2 进入到叶绿体后还会受到叶绿体基质的阻力, 叶绿体越大, CO_2 从叶绿体基质扩散到羧化位点的路径越短, 阻力越小, g_m 越大。面向细胞间隙的叶绿体面积(S_c)是接受 CO_2 的主要部位, 但部分 CO_2 也会通过叶绿体之间的空隙进入到细胞质, 之后在叶绿体侧面扩散进入叶绿体, 但此扩散路径长于垂直进入叶绿体的扩散路径, 不

利于CO₂的快速扩散和光合速率的改善。

综上所述, 尽管大量证据表明解剖结构对g_m的影响极其重要, 但各部分结构因素(例如细胞壁)影响g_m的机理并不清楚, 仍需要进一步深入的探讨。

1.2 生化层面的限制

1.2.1 碳酸酐酶

CA可以通过催化CO₂和HCO₃⁻之间的可逆转换来调节细胞中的pH变化, 促进CO₂的传输。近年来, 关于CA对g_m产生影响的报道较多, 但结论迥异。Price等(1994)和Williams等(1996)研究发现在CA活性非常低的突变体植株中, 植株光合能力的差异并不大, 认为CA对光合作用无限制作用。但也有作者认为CA的活性具有物种依赖性, 如硬叶植株中CA往往能发挥很大的作用(Gillon & Yakir, 2000)。

Jia和Davies (2007)报道非原质体内pH值为5.5–6.0, 可能CA不会影响CO₂从细胞壁到细胞膜的传输; 细胞膜和叶绿体膜仅对CO₂有通透性作用, 对HCO₃⁻具有不透性; 同时, 细胞质中的pH值小于叶绿体基质中的pH值, Evans等(2009)认为CA不会催化细胞质中CO₂和HCO₃⁻的可逆转化。因此, CA可能并未参与CO₂在细胞壁、细胞膜、叶绿体膜和细胞质中的扩散过程。研究证实, 植株中CA主要存在于叶绿体基质中(Evans *et al.*, 2009)。CO₂不断穿膜进入叶绿体羧化位点, 随着羧化速率的进行, 叶绿体基质内的pH值逐渐升高, HCO₃⁻也逐渐增多, 从而与细胞质中形成了CO₂浓度差, 加速了CO₂的跨膜扩散; 在此过程中CA通过催化CO₂和HCO₃⁻的可逆反应来调节叶绿体内的pH值, 同时加速CO₂向叶绿体羧化酶活性部位的扩散, 维持羧化酶周围CO₂的浓度以保证其不会随同化过程的进行而降低, 从而保持一定的光合速率(Tholen & Zhu, 2011)。也许这可以证明CA通过加强叶绿体内CO₂的扩散来影响g_m。然而, 正常生理pH值下, HCO₃⁻的浓度是CO₂浓度的85倍左右, HCO₃⁻决定了细胞内无机碳的扩散速率, 但羧化酶的底物是CO₂而不是HCO₃⁻。这暗示CO₂的扩散量不足以满足CO₂固定的需求(Evans *et al.*, 2009)。Tholen和Zhu (2011)通过建立的三维模型估算CA的量, 认为基质中的CA并不够多, 尽管CA调节了CO₂和HCO₃⁻的可逆转换, 但是在基质中还是扮演着限制角色。研究CA催化CO₂和HCO₃⁻转换的位点和条件对于阐明CA对g_m的影响极其重要。

1.2.2 水孔蛋白

Hub和de Groot (2006, 2008)基于分子模型的模拟试验表明, CO₂穿过水孔蛋白单体消耗的能量多于CO₂直接通过磷脂双分子层的运输能量, 这似乎并不合理。然而, 水孔蛋白家族包括大量点突变的同系物, 不同同系物对CO₂的通透性存在差异, 可能存在的点突变可以减少运输CO₂所消耗的能量(Hub & de Groot, 2008)。另有研究表明, 水孔蛋白四聚物形成的孔隙介导CO₂和H₂O的运输, 单体并不会介导CO₂的跨膜运输(Otto *et al.*, 2010)。四聚物形成的孔隙运输CO₂消耗的能量比单体低。Flexas等(2012)认为, 形成水孔蛋白四聚物的同系物之间存在竞争, 以此来调节水孔蛋白运输H₂O和CO₂的功能。

水孔蛋白家族根据序列同源性可以分为5类: 质膜内在蛋白(PIPs)、液泡膜内在蛋白(TIPs)、类Nod26膜内在蛋白(NIPs)、小分子碱性膜内在蛋白(SIPs)以及类GlpF膜内在蛋白(GIPs)(Kelly *et al.*, 2014)。研究表明, 大部分PIPs和TIPs均属于选择性通道蛋白, 但TIPs位于液泡膜上, 只有PIPs位于质膜上, 并且既可以运输H₂O, 又可以运输CO₂。PIPs又分为PIP1和PIP2两个亚类。Otto等(2010)认为PIP1具有转运CO₂的功能, PIP2只具有转运H₂O的功能; 但是Hanba等(2004)的研究表明PIP2同样介导CO₂的转运。AQPs是PIP1家族的成员。研究表明, 在AQPs非特异性抑制剂HgCl₂处理的植株中, g_m显著下降(Terashima & Ono, 2002)。而且AQPs在细胞水平和整株植株水平均可发挥作用, 提高植株蒸腾速率和净光合速率(Sade *et al.*, 2010)。Perez-Martin等(2014)的研究表明AQPs的表达对于干旱条件下油橄榄(*Olea europaea*)的光合速率具有一定的影响。然而, AQPs对g_m的调节机制并不清楚。因此, 研究AQPs如何调控CO₂的传输过程对于理解AQPs对g_m的调节机理具有重要意义。

2 外界环境对g_m的影响

研究表明, 与g_s相似, g_m对外界环境(水分、温度、光照、氮、CO₂浓度等)的响应也具有敏感性。

2.1 水分亏缺对g_m的影响

水分亏缺是限制植物生长和作物产量的主要环境因素。研究表明, 水分亏缺条件下光合速率下降的根本原因是从外界大气到叶绿体内羧化位点CO₂扩散速率的下降(Flexas *et al.*, 2002; Galmés *et al.*, 2007)。水分亏缺条件下g_m的降低(Flexas *et al.*,

2004, 2006a; Galmés *et al.*, 2006, 2007)与 g_s 一样是限制光合作用的主要因素。水分亏缺导致 g_m 降低的因素主要包括结构因素(降低 S_c , 增加细胞壁厚度)和生化因素(AQPs活性的降低、CA活性的改变)。这些因素的变化抑制了水分亏缺条件下叶片组织内部的 CO_2 传输。

2.2 温度对 g_m 的影响

Yamori等(2006)的研究表明, 在30和15 °C下生长的菠菜(*Spinacia oleracea*)叶片中, g_m 达到峰值所对应的温度分别是25和20 °C; 在田间空气温度(波动范围7–32 °C)下生长的油橄榄叶片 g_m 的最适温度是29 °C (Diaz-Espejo *et al.*, 2007); 在5 °C环境下生长的甘蓝(*Brassica oleracea*)叶片, 其 g_m 峰值所对应的温度可以达到18 °C (Flexas *et al.*, 2008)。研究表明, 纯水中 CO_2 的温度系数 Q_{10} (温度每变化 10 °C, CO_2 扩散速率的变化)是1.25, 但在烟草中 CO_2 的 Q_{10} 达到2.2 (Bernacchi *et al.*, 2002)。以上研究表明, g_m 对温度的响应可能与酶促反应密切相关。CA和AQPs的化学性质均属于蛋白质, 两者的活性与温度密切相关, 温度可能通过影响CA和AQPs的活性进而对 g_m 产生影响。另外, 温度的提高也会提高蒸气压差, 从而降低细胞的水势和膨压, 引起 S_c 的下降。

2.3 光照强度对 g_m 的影响

研究表明, 光照强度的改变可以调控 g_m 的大小 (Flexas *et al.*, 2007)。阴生植物的 g_m 比阳生植物的低 (Hanba *et al.*, 2002; Piel *et al.*, 2002; Laisk *et al.*, 2005; Warren *et al.*, 2007)。Hassiotou等(2009)对*Banksia*的研究发现, 低光强下发育的叶片 g_m 比高光强下平均低20%。光照强度也许通过改变叶绿体的位置来影响 S_c 的大小, 从而改变 g_m (Tholen *et al.*, 2008; Boex-Fontvieille *et al.*, 2014)。大量研究还报道了短期改变光照强度和光质对 g_m 的影响。研究发现 g_m 对蓝光反应迅速, 而叶绿体位置不可能瞬间变化, 说明除了光照强度对 S_c 的影响外, 也许还存在其他的机制影响 g_m (Loreto *et al.*, 2009)。尽管Tholen等(2012)认为 g_m 对光强的快速响应是由于 g_m 计算过程中忽略了叶绿体中由(光)呼吸作用产生的 CO_2 量所导致的假象。然而, Thérout-Rancourt和Gilbert (2017)通过多层次叶片模型和解剖观察表明, g_m 对光强存在明显响应。因此, 光照强度影响 g_m 的具体机制还有待深入研究。

2.4 氮对 g_m 的影响

植物单位叶面积的氮含量与光合能力具有显著的正相关关系, 这主要是由于氮含量增加会提高核酮糖-1,5-双磷酸羧化/加氧酶(Rubisco)的含量, 以及可以增加 CO_2 扩散导度(包括 g_s 和 g_m) (Warren, 2004; Li *et al.*, 2009; Yamori *et al.*, 2011)。研究认为, 氮可以通过改变叶片结构来调控 g_m 的大小。高氮条件下Rubisco含量的增加势必会造成叶绿体体积的增大(Li *et al.*, 2009), 从而导致 S_c 的增加, 并最终影响 g_m 。Xiong等(2015b)对水稻(*Oryza sativa*)的研究也表明 S_c 对氮营养的响应较敏感。氮含量也可能通过调控叶片相关的基因表达来影响 g_m 的大小。Clarkson等(2000)认为氮含量的提高会增加PIP2水孔蛋白基因家族的表达量; Hanba等(2004)认为PIP2;1水孔蛋白的超表达可以提高 g_m 。然而, 直至目前, 尚未发现氮含量通过调控AQPs改变 g_m 的直接证据。另外, 虽然有研究发现水稻、小麦(*Triticum aestivum*)、菠菜等 C_3 植物(Makino *et al.*, 1992)和玉米(*Zea mays*)等 C_4 植物(Burnell *et al.*, 1990)的CA活性均会受到氮的影响, 但CA对 g_m 的调控还一直存在争议。因此, 基因表达活性蛋白对氮的响应从而对 g_m 的调控机理尚需进一步研究。

3 g_m 的估算方法

目前, 估算 g_m 最常用的3种方法包括气体交换和叶绿素荧光同步测定法(Bongi & Loreto, 1989; Harley *et al.*, 1992; Loreto *et al.*, 1992)、气体交换和同位素同步测定法(Evans *et al.*, 1986; von Caemmerer & Evans, 1991)和 A_N-C_i 曲线拟合法(Ethier & Livingston, 2004; Sharkey *et al.*, 2007)。研究表明 g_m 的估算会受到众多因素的影响, 例如细胞间隙 CO_2 浓度(C_i) (Flexas *et al.*, 2007)、光照强度 (Flexas *et al.*, 2007; Tholen *et al.*, 2008)等因素。尽管大量研究者致力于 g_m 估算方法的研究与改善, 但现有方法均无法准确估算出 g_m 的绝对数值 (Flexas *et al.*, 2008; Warren, 2008)。如Tholen等(2012)认为 g_m 的估算忽略了扩散到叶绿体中由线粒体(光)呼吸作用产生的 CO_2 浓度。而且, 有研究者认为影响 g_m 的因素均是估算方法缺陷导致的假象, 例如Gu和Sun (2013)认为 C_i 只是 g_m 估算公式中的输入参数, C_i 及其他与之协同变化的输入参数的测量误差均会导致 g_m 对 C_i 响应

的假象。近几年, 受限于估算叶肉导度方法的各种缺陷, 叶肉导度研究领域进展相对缓慢。因此, 完善和改良 g_m 的计算和测定方法将是深入推进叶肉导度研究的重要突破口。

4 水力导度与 g_m 的关系

CO_2 是植物进行光合作用的原料, 而 H_2O 是生物体的组成物质, 是进行一切生命活动的必需物质和养分运输的媒介。因此, CO_2 和 H_2O 在植物中的传输关系备受关注。水力导度(K_{leaf})和 g_m 分别是衡量植物叶片内 H_2O 和 CO_2 运输的两个重要变量, 是决定气体交换速率和光合性能的主要指标(Flexas *et al.*, 2013)。虽然 K_{leaf} 和 g_m 一直是研究的热点, 但很少有研究探讨两者之间的协同关系(Flexas *et al.*, 2013)。

K_{leaf} 可以反应 H_2O 在叶片内传输的效率问题, H_2O 从叶柄贯穿到叶片的木质部, 然后到达叶脉周围的维管束, 最后到达蒸发位点从而扩散到空气中(Sack & Holbrook, 2006)。通常, K_{leaf} 分为木质部导度(K_{xylem})和木质部外导度($K_{out-xylem}$), 在叶脉内的水分传输称为 K_{xylem} , 在叶脉外组织内的传输称为 $K_{out-xylem}$ 。Flexas等(2013)研究认为, g_m 与 K_{leaf} 具有相关性, 并且主要与 $K_{out-xylem}$ 相关。 $K_{out-xylem}$ 对整个 K_{leaf} 的影响较大, 但所占比例会随着物种和试验条件的变化而变化(Cochard *et al.*, 2004; Sack *et al.*, 2004)。

叶片组织内 H_2O 和 CO_2 有着共同的传输路径。面向细胞间隙的叶肉细胞面积(S_m)被认为是同时影

响 g_m 和 K_{leaf} 的因素(Xiong *et al.*, 2016)。尽管相比于 S_m , S_c 的变化能更好地解释 g_m 的变化(Terashima *et al.*, 2005, 2006; Flexas *et al.*, 2012), 但 S_m 的大小对 g_m 的影响也是至关重要(Xiong *et al.*, 2016)。同时, Xiong等(2015a)认为面向细胞间隙的叶肉细胞膜也是水分由液相转变成气相从而进行蒸发的位置, 因此 S_m 可以将两者在一定程度上联系起来。另外, 细胞壁的厚度和孔隙度不仅是影响 g_m 的重要结构因素, 事实上也改变了木质部外水分扩散的路径, 从而影响了 K_{leaf} 。

同时, 细胞壁孔隙内存在的结合水也影响着水分的传输。事实上 g_m 与 K_{leaf} 的相关性不仅取决于叶片的组织结构, 与生化因素(AQPs)也有着一定的关系(Flexas *et al.*, 2012)。AQPs不仅介导 H_2O 的运输, 也介导着 CO_2 的运输。Otto等(2010)和Flexas等(2012)认为 CO_2 和 H_2O 在膜上的交换运输取决于两种不同的水孔蛋白四聚物(PIP1和PIP2)的比例。有研究证明 K_{leaf} 可以对外界环境进行响应, 如温度、光照和水分等(Sack & Holbrook, 2006)。 g_m 和 K_{leaf} 均与结构、生化和外部环境有一定的关联, 间接表明两者间存在一定的关系, 但尚需进一步的直接证据。

5 研究展望

CO_2 在植物叶片细胞内的传输过程极其复杂(图1, 图2; 表1)。细胞水平上每个组分和环节均可能影响 CO_2 的传输。在结构层面, 除了细胞壁厚度

表1 CO_2 通过叶肉细胞中各超微组分的扩散方式、运输形态、阻力来源、动力来源和对外界环境的响应时间等的差异
Table 1 Diffusion way, transportation form, resistance source, power source when CO_2 passes through the ultrastructure components of mesophyll cells and the different response time to the external environment

	CO_2 扩散方式 CO_2 diffusion way	CO_2 运输形态 CO_2 transportation form	阻力来源 Resistance source	动力来源 Power source	对外界环境的响应时间 Response time to the external environment
细胞壁 Cell wall	物理和生化方式 Physics and biochemical mode	CO_2	厚度、孔隙度、果胶等组分 Thickness, porosity, pectin etc.	CO_2 浓度差 Difference of CO_2 concentration	最长 Longest
细胞膜 Cell membrane	物理和生化方式 Physics and biochemical mode	CO_2	水孔蛋白、膜两侧pH差值 AQPs, the difference of pH on both sides of the membrane	CO_2 浓度差、跨膜蛋白主动运输 Difference of CO_2 concentration, active transport of transmembrane protein	较短 Shorter
细胞液 Cytoplasm	生化和物理方 Biochemical and physical mode	CO_2 , HCO_3^-	CA、pH、细胞液组分 CA, pH, cytosol component	pH、CA的催化 pH, catalysis of CA	较短 Shorter
叶绿体膜 Chloroplast membranes	生化和物理方 Biochemical and physical mode	CO_2	水孔蛋白、膜两侧 CO_2 浓度差 AQPs, the difference of CO_2 concentration on both sides of the membrane	跨膜蛋白主动运输 Active transport of transmembrane protein	较短 Shorter
叶绿体基质 Stroma	生化和物理方式 Biochemical and physical mode)	CO_2 , HCO_3^-	CA, pH	pH、CA的催化 pH, catalysis of CA	最短 Shortest

CA, carbonic anhydrase; AQPs, aquaporins;

外,开展细胞孔隙度及其化学组分对 g_m 影响机制的研究有助于全面揭示 g_m 与结构之间的关系;其次叶绿体运动会改变 S_c 的大小从而影响 g_m ,那么, CO_2 传输对叶绿体位置是否具有一定的调节作用也需要进一步开展研究。在生化层面,尽管大量研究认为水孔蛋白和碳酸酐酶会影响 g_m 的大小,但水孔蛋白和碳酸酐酶介导 CO_2 传输的规律及其机制仍需深入研究。同时,叶肉导度估算方法的不确定性,严重阻碍了对叶肉导度的深入研究。因此,测定方法的不断优化和改良也将是未来研究的重点。

基金项目 国家自然科学基金(U1303183和U120-3283)、霍英东教育基金(141023)和国家留学基金。

参考文献

- Bernacchi CJ, Portis AR, Nakano H, von Caemmerer S, Long SP (2002). Temperature response of mesophyll conductance. Implications for the determination of Rubisco enzyme kinetics and for limitations to photosynthesis *in vivo*. *Plant Physiology*, 130, 1992–1998.
- Boex-Fontvieille E, Jossier M, Davanture M, Zivy M, Hodges M, Tcherkez G (2014). Differential protein phosphorylation regulates chloroplast movement in response to strong light and darkness in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Molecular Biology Reporter*, 32, 987–1001.
- Bongi G, Loreto F (1989). Gas-exchange properties of salt stressed olive (*Olea europaea* L.) leaves. *Plant Physiology*, 90, 1408–1416.
- Boron W, Endeward V, Gros G, Musa-Aziz R, Pohl P (2011). Intrinsic CO_2 permeability of cell membranes and potential biological relevance of CO_2 channels. *Chemphyschem*, 12, 1017–1019.
- Burnell JN, Suzuki I, Sugiyama T (1990). Light induction and the effect of nitrogen status upon the activity of carbonic anhydrase in maize leaves. *Plant Physiology*, 94, 384–387.
- Clarkson DT, Carvajal M, Henzler T, Waterhouse RN, Smyth AJ, Cooke DT, Steudle E (2000). Root hydraulic conductance: Diurnal aquaporin expression and the effects of nutrient stress. *Journal of Experimental Botany*, 51, 61–70.
- Cochard H, Nardini A, Coll L (2004). Hydraulic architecture of leafblades: Where is the main resistance? *Plant, Cell & Environment*, 27, 1257–1267.
- Diaz-Espejo A, Nicolás E, Fernández JE (2007). Seasonal evolution of diffusional limitations and photosynthetic capacity in olive under drought. *Plant, Cell & Environment*, 30, 922–933.
- Ethier GJ, Livingston NJ (2004). On the need to incorporate sensitivity to CO_2 transfer conductance into the Farquhar-von Caemmerer-Berry leaf photosynthesis model. *Plant, Cell & Environment*, 27, 137–153.
- Evans JR, Kaldenhoff R, Genty B, Terashima I (2009). Resistances along the CO_2 diffusion pathway inside leaves. *Journal of Experimental Botany*, 60, 2235–2248.
- Evans JR, Shatrkey TD, Berry JA, Farquhar GD (1986). Carbon isotope discrimination measured concurrently with gas exchange to investigate CO_2 diffusion in leaves of higher plants. *Australian Journal of Plant Physiology*, 13, 281–292.
- Evans JR, von Caemmere S (1996). Carbon dioxide diffusion inside leaves. *Plant Physiology*, 110, 339–346.
- Evans JR, von Caemmerer S, Setchell BA, Hudson GS (1994). The relationship between CO_2 transfer conductance and leaf anatomy in transgenic tobacco with a reduced content of Rubisco. *Australian Journal of Plant Physiology*, 21, 475–495.
- Farquhar GD, von Caemmerer S, Berry JA (1980). A biochemical model of photosynthetic CO_2 assimilation in leaves of C_3 species. *Planta*, 149, 78–90.
- Flexas J, Barbour MM, Brendel O, Cabrera HM, Carriqui M, Díaz-Espejo A, Douthe C, Dreyer E, Ferrio JP, Gago J, Gallé A, Galmés J, Kodama N, Medrano H, Niinemets Ü, Peguero-Pina JJ, Pou A, Ribas-Carbó M, Tomás M, Tosens T, Warren CR (2012). Mesophyll diffusion conductance to CO_2 : An unappreciated central player in photosynthesis. *Plant Science*, 193–194, 70–84.
- Flexas J, Bota J, Cifre J, Escalona JM, Galmés J, Gulías J, Lefi EK, Martínez-Canellas SF, Moreno MT, Ribas-Carbo M (2004). Understanding down-regulation of photosynthesis under water stress: Future prospects and searching for physiological tools for irrigation management. *Annals of Applied Biology*, 144, 273–283.
- Flexas J, Bota J, Escalona JM, Sampol B, Medrano H (2002). Effects of drought on photosynthesis in grapevines under field conditions: An evaluation of stomatal and mesophyll limitations. *Functional Plant Biology*, 29, 461–471.
- Flexas J, Diaz-Espejo A (2015). Interspecific differences in temperature response of mesophyll conductance: Food for thought on its origin and regulation. *Plant, Cell & Environment*, 38, 625–628.
- Flexas J, Diaz-Espejo A, Galmés J, Kaldenhoff R, Medrano HO, Ribas-Carbó M (2007). Rapid variations of mesophyll conductance in response to changes in CO_2 concentration around leaves. *Plant, Cell & Environment*, 30, 1284–1298.
- Flexas J, Ribas-Carbó M, Bota J, Galmés J, Henkle M, Martínez-Cañellas S, Medrano H (2006a). 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*, 172, 73–82.
- Flexas J, Ribas-Carbó M, Diaz-Espejo A, Galmés J, Medrano H (2008). Mesophyll conductance to CO_2 : Current knowledge

- and future prospects. *Plant, Cell & Environment*, 31, 602–621.
- Flexas J, Ribas-Carbó M, Hanson DT, Bota J, Otto B, Cifre J, McDowell N, Medrano H, Kaldenhoff R (2006b). Tobacco aquaporin NtAQP1 is involved in mesophyll conductance to CO₂ *in vivo*. *The Plant Journal*, 48, 427–439.
- Flexas J, Scoffoni C, Gago J, Sack L (2013). Leaf mesophyll conductance and leaf hydraulic conductance: An introduction to their measurement and coordination. *Journal of Experimental Botany*, 64, 3965–3981.
- Galmés J, Medrano H, Flexas J (2006). Acclimation of Rubisco specificity factor to drought in tobacco: Discrepancies between *in vitro* and *in vivo* estimations. *Journal of Experimental Botany*, 57, 3659–3667.
- Galmés J, Medrano H, Flexas J (2007). Photosynthetic limitations in response to water stress and recovery in Mediterranean plants with different growth forms. *New Phytologist*, 175, 81–93.
- Gillon JS, Yakir D (2000). Internal conductance to CO₂ diffusion and C¹⁸OO discrimination in C₃ leaves. *Plant Physiology*, 123, 201–213.
- Gu L, Sun Y (2013). Artefactual responses of mesophyll conductance to CO₂ and irradiance estimated with the variable J and online isotope discrimination methods. *Plant, Cell & Environment*, 37, 1231–1249.
- Han JM, Meng HF, Wang SY, Jiang CD, Liu F, Zhang WF, Zhang YL (2016). Variability of mesophyll conductance and its relationship with water use efficiency in cotton leaves under drought pretreatment. *Journal of Plant Physiology*, 194, 61–71.
- Hanba YT, Kogami H, Terashima I (2002). The effect of growth irradiance on leaf anatomy and photosynthesis in *Acer* species differing in light demand. *Plant, Cell & Environment*, 25, 1021–1030.
- Hanba YT, Miyazawa SI, Terashima I (1999). 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*, 13, 632–639.
- Hanba YT, Shibusaka M, Hayashi Y, Hayakawa T, Kasamo K, Terashima I, Katsuhara M (2004). Overexpression of the barley aquaporin HvPIP2;1 increases internal CO₂ conductance and CO₂ assimilation in the leaves of transgenic rice plants. *Plant Cell Physiology*, 45, 521–529.
- Harley PC, Loreto F, Marco GD, Sharkey TD (1992). Theoretical considerations when estimating the mesophyll conductance to CO₂ flux by analysis of the response of photosynthesis to CO₂. *Plant Physiology*, 98, 1429–1436.
- Hassiotou F, Ludwig M, Renton M, Veneklaas EJ, Evans JR (2009). Influence of leaf dry mass per area, CO₂, and irradiance on mesophyll conductance in sclerophylls. *Journal of Experimental Botany*, 60, 2303–2314.
- Heckwolf M, Pater D, Hanson DT, Kaldenhoff R (2011). The *Arabidopsis thaliana* aquaporin AtPIP1;2 is a physiologically relevant CO₂ transport facilitator. *Plant Journal*, 67, 795–804.
- Hub JS, de Groot BL (2006). Does CO₂ permeate through aquaporin-1? *Biophysical Journal*, 91, 842–848.
- Hub JS, de Groot BL (2008). Mechanism of selectivity in aquaporins and aquaglyceroporins. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105, 1198–1203.
- Jia WS, Davies WJ (2007). Modification of leaf apoplastic pH in relation to stomatal sensitivity to root-sourced abscisic acid signals. *Plant Physiology*, 143, 68–77.
- Kelly G, Sade N, Attia Z, Secchi F, Zwieniecki M, Holbrook NM, Levi A, Alchanatis V, Moshelion M, Granot D (2014). Relationship between hexokinase and the aquaporin PIP1 in the regulation of photosynthesis and plant growth. *PLOS ONE*, 9, e87888. doi:10.1371/journal.pone.0087888.
- Laisk A, Eichelmann H, Oja V, Rasulov B, Padu E, Bichele I, Pettai H, Kull O (2005). Adjustment of leaf photosynthesis to shade in a natural canopy: Rate parameters. *Plant, Cell & Environment*, 28, 375–388.
- Li Y, Gao YX, Xu XM, Shen QR, Guo SW (2009). Light-saturated photosynthetic rate in high-nitrogen rice (*Oryza sativa* L.) leaves is related to chloroplastic CO₂ concentration. *Journal of Experimental Botany*, 60, 2351–2360.
- Loreto F, Harley PC, Di Marco G, Sharkey TD (1992). Estimation of mesophyll conductance to CO₂ flux by three different methods. *Plant Physiology*, 98, 1437–1443.
- Loreto F, Tsonev T, Centritto M (2009). The impact of blue light on leaf mesophyll conductance. *Journal of Experimental Botany*, 60, 2283–2290.
- Makino A, Sakashita H, Hidema J, Mae T, Ojima K, Osmond B (1992). Distinctive responses of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase and carbonic anhydrase in wheat leaves to nitrogen nutrition and their possible relationships to CO₂-transfer resistance. *Plant Physiology*, 100, 1737–1743.
- Missner A, Kugler P, Antonenko YN, Pohl P (2008). Passive transport across bilayer lipid membranes: Overton continues to rule. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1778, 2154–2156.
- Miyazawa SI, Yoshimura S, Shinzaki Y, Maeshima M, Miyake C (2008). Relationship between mesophyll CO₂ gas diffusion conductance and leaf plasma-membrane-type aquaporin contents in tobacco plants grown under drought conditions. *Photosynthesis*, 91, 805–808.
- Moualeu-Ngangue DP, Chen T-W, Stutzel H (2016). A new method to estimate photosynthetic parameters through net assimilation reintercellular space CO₂ concentration (A-C_i) curve and chlorophyll fluorescence measurements.

- New Phytologist*, 213, 1543–1554.
- Niinemets Ü, Reichstein M (2003a). Controls on the emission of plant volatiles through stomata: A sensitivity analysis. *Journal of Geophysical Research*, 108, 4211. doi: 4210.1029/2002JD002626.
- Niinemets Ü, Reichstein M (2003b). Controls on the emission of plant volatiles through stomata: Sensitivity or insensitivity of the emission rates to stomatal closure explained. *Journal of Geophysical Research*, 108, 4208. doi: 4210.1029/2002JD002620.
- Niinemets Ü, Diaz-Espejo A, Flexas J, Galmés J, Warren CR (2009). Importance of mesophyll diffusion conductance in estimation of plant photosynthesis in the field. *Journal of Experimental Botany*, 60, 2271–2282.
- Otto B, Uehlein N, Sdorra S, Fischer M, Ayaz M, Belastegui-Macadam X, Heckwolf M, Lachnit M, Pede N, Priem N (2010). Aquaporin tetramer composition modifies the function of tobacco aquaporins. *Journal of Biological Chemistry*, 285, 31253–31260.
- Pakatas A, Stavarakas D, Fisarakis I (2003). Relationship between CO₂ assimilation and leaf anatomical characteristics of two grapevine cultivars. *Agronomie*, 23, 293–296.
- Perez-Martin A, Michelazzo C, Torres-Ruiz JM, Flexas J, Fernández JE, Sebastiani L, Diaz-Espejo A (2014). Regulation of photosynthesis and stomatal and mesophyll conductance under water stress and recovery in olive trees: Correlation with gene expression of carbonic anhydrase and aquaporins. *Journal of Experimental Botany*, 65, 3143–3156.
- Piel C, Frak E, Le Roux X, Genty B (2002). Effect of local irradiance on CO₂ transfer conductance of mesophyll in walnut. *Journal of Experimental Botany*, 53, 2423–2430.
- Price DG, von Caemmerer S, Evans JR, Yu JW, Lloyd J, Oja V, Kell P, Harrison K, Gallagher A, Badger M (1994). Specific reduction of chloroplast carbonic anhydrase activity by antisense RNA in transgenic tobacco plants has a minor effect on photosynthetic CO₂ assimilation. *Planta*, 193, 331–340.
- Sack L, Holbrook NM (2006). Leaf hydraulics. *Annual Review of Plant Biology*, 57, 361–381.
- Sack L, Streeter CM, Holbrook NM (2004). Hydraulic analysis of water flow through leaves of sugar maple and red oak. *Plant Physiology*, 134, 1824–1833.
- Sade N, Gallé A, Flexas J, Lerner S, Peleg G, Yaaran A, Moshelion M (2014). Differential tissue-specific expression of NtAQP1 in *Arabidopsis thaliana* reveals a role for this protein in stomatal and mesophyll conductance of CO₂ under standard and salt-stress conditions. *Planta*, 239, 357–366.
- Sade N, Gebretsadik M, Seligmann R, Schwartz A, Wallach R, Moshelion M (2010). The Role of tobacco aquaporin 1 in improving water use efficiency, hydraulic conductivity, and yield production under salt stress. *Plant Physiology*, 152, 245–254.
- Sage TL, Sage RF (2009). The functional anatomy of rice leaves: Implications for refixation of photorespiratory CO₂ and efforts to engineer C₄ photosynthesis into rice. *Plant Cell Physiology*, 50, 756–772.
- Sharkey TD, Bernacchi CJ, Farquhar GD, Singaas EL (2007). Fitting photosynthetic carbon dioxide response curves for C₃ leaves. *Plant, Cell & Environment*, 30, 1035–1040.
- Syvertsen JP, Lloyd J, Meconchie C, Kriedbmann PE, Farquhar GD (1995). On the relationship between leaf anatomy and CO₂ diffusion through the mesophyll of hypostomatous leaves. *Plant Cell Physiology*, 18, 149–157.
- Terashima I, Araya T, Miyazawa S-I, Sone K, Yano S (2005). Construction and maintenance of the optimal photosynthetic systems of the leaf, herbaceous plant and tree: An eco-developmental treatise. *Annals of Botany*, 95, 507–519.
- Terashima I, Hanba YT, Tazoe Y, Vyas P, Yano S (2006). Irradiance and phenotype: Comparative eco-development of sun and shade leaves in relation to photosynthetic CO₂ diffusion. *Journal of Experimental Botany*, 57, 343–354.
- Terashima I, Hanba YT, Tholen D, Niinemets U (2011). Leaf functional anatomy in relation to photosynthesis. *Plant Physiology*, 155, 108–116.
- Terashima I, Hikosaka K (1995). Comparative ecophysiology/anatomy of leaf and canopy photosynthesis. *Plant, Cell & Environment*, 18, 1111–1128.
- Terashima I, Ono K (2002). Effects of HgCl₂ on CO₂ dependence of leaf photosynthesis: Evidence indicating involvement of aquaporins in CO₂ diffusion across the plasma membrane. *Plant Cell Physiology*, 43, 70–78.
- Thérroux-Rancourt G, Gilbert ME (2017). The light response of mesophyll conductance is controlled by structure across leaf profiles. *Plant, Cell & Environment*, 40, 726–740.
- Tholen D, Boom C, Noguchi K, Ueda S, Katase T, Terashima I (2008). The chloroplast avoidance response decreases internal conductance to CO₂ diffusion in *Arabidopsis thaliana* leaves. *Plant, Cell & Environment*, 31, 1688–1700.
- Tholen D, Ethier G, Genty B, Pepin S, Zhu XG (2012). Variable mesophyll conductance revisited: Theoretical background and experimental implications. *Plant, Cell & Environment*, 35, 2087–2103.
- Tholen D, Zhu XG (2011). The mechanistic basis of internal conductance: A theoretical analysis of mesophyll cell photosynthesis and CO₂ diffusion. *Plant Physiology*, 156, 90–105.
- Tomás M, Flexas J, Copolovici L, Galmes J, Hallik L, Medrano H, Ribas-Carbó M, Tosens T, Vislap V, Niinemets Ü (2013). Importance of leaf anatomy in determining mesophyll diffusion conductance to CO₂ across species: Quantitative limitations and scaling up by models. *Journal of Experimental*

doi: 10.17521/cjpe.2016.0337

- Botany*, 64, 2269–2281.
- Tomás M, Medrano H, Brugnoli E, Escalona JM, Martorell S, Pou A, Ribas-Carbó M, Flexas J (2014). Variability of mesophyll conductance in grapevine cultivars under water stress conditions in relation to leaf anatomy and water use efficiency. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 20, 272–280.
- Tosens T, Niinemets Ü, Vislap V, Eichelmann H, Castro Diez P (2012a). Developmental changes in mesophyll diffusion conductance and photosynthetic capacity under different light and water availabilities in *Populus tremula*: How structure constrains function. *Plant, Cell & Environment*, 35, 839–856.
- Tosens T, Niinemets Ü, Westoby M, Wright IJ (2012b). Anatomical basis of variation in mesophyll resistance in eastern Australian sclerophylls: News of a long and winding path. *Journal of Experimental Botany*, 63, 5105–5119.
- Uehlein N, Otto B, Hanson DT, Fischer M, McDowell N, Kaldenhoff R (2008). Function of *Nicotiana tabacum* aquaporins as chloroplast gas pores challenges the concept of membrane CO₂ permeability. *Plant Cell*, 20, 648–657.
- von Caemmerer S, Evans JR (1991). Determination of the average partial pressure of CO₂ in chloroplast from leaves of several C₃ plants. *Australian Journal of Plant Physiology*, 18, 287–305.
- Warren CR (2004). The photosynthetic limitation posed by internal conductance to CO₂ movement is increased by nutrient supply. *Journal of Experimental Botany*, 55, 2313–2321.
- Warren CR (2008). Stand aside stomata, another actor deserves centre stage: The forgotten role of the internal conductance to CO₂ transfer. *Journal of Experimental Botany*, 59, 1475–1487.
- Warren CR, Low M, Matyssek R, Tausz M (2007). 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*, 59, 130–138.
- Williams TG, Flanagan LB, Coleman JR (1996). Photosynthetic gas exchange and discrimination against ¹³CO₂ and C¹⁸O¹⁶O in tobacco plants modified by an antisense construct to have low chloroplastic carbonic anhydrase. *Plant Physiology*, 112, 319–326.
- Xiong D, Flexas J, Yu T, Peng S, Huang J (2016). Leaf anatomy mediates coordination of leaf hydraulic conductance and mesophyll conductance to CO₂ in *Oryza*. *New Phytologist*, 213, 572–583.
- Xiong D, Liu X, Liu L, Douthe C, Li Y, Peng S, Huang J (2015b). Rapid responses of mesophyll conductance to changes of CO₂ concentration, temperature and irradiance are affected by N supplements in rice. *Plant, Cell & Environment*, 38, 2541–2550.
- Xiong D, Yu T, Zhang T, Li Y, Peng S, Huang J (2015a). Leaf hydraulic conductance is coordinated with leaf morpho-anatomical traits and nitrogen status in the genus *Oryza*. *Journal of Experimental Botany*, 66, 741–748.
- Yamori W, Nagai T, Makino A (2011). The rate-limiting step for CO₂ assimilation at different temperatures is influenced by the leaf nitrogen content in several C₃ crop species. *Plant, Cell & Environment*, 34, 764–777.
- Yamori W, Noguchi K, Hanba YT, Terashima I (2006). Effects of internal conductance on the temperature dependence of the photosynthetic rate in spinach leaves from contrasting growth temperatures. *Plant Cell Physiology*, 47, 1069–1080.

责任编辑: 张守仁 责任编辑: 李 敏



扫码向作者提问