



碳同位素表征干旱条件下大豆水氮利用效率

姜浩^{1,2}, 陈鹏^{1,2}, Shehakk^{1,2}, 张忠学^{1,2}

(1. 东北农业大学 水利与土木工程学院, 黑龙江 哈尔滨 150030; 2. 农业部 农业水资源高效利用重点实验室, 黑龙江 哈尔滨 150030)

摘要:为研究不同生育期水分胁迫条件下大豆叶片水分及氮素高效利用机理,利用盆栽试验研究不同生育期水分胁迫对大豆叶片瞬时水分利用效率(WUE_i)、内在水分利用效率(WUE_n)、氮素利用效率(NUE)和碳同位素分辨率($\Delta^{13}C$)的影响,探讨 $\Delta^{13}C$ 表征大豆水氮利用效率的可行性。结果表明:水分胁迫在一定程度上影响大豆水分利用效率,并且在开花期轻度水分胁迫条件下,水分利用效率提升效果最为显著;水分胁迫处理下各生育时期的大豆叶片C/N均表现为:重度胁迫>中度胁迫>轻度胁迫;在各生育期内,大豆叶片 $\Delta^{13}C$ 与 WUE_i 、 WUE_n 和NUE均呈负相关,开花期水分胁迫条件下叶片 $\Delta^{13}C$ 与 WUE_i 、 WUE_n 及NUE的相关性较苗期相同程度水分胁迫处理更为显著,并且各处理叶片 $\Delta^{13}C$ 对 WUE_n 的指示性均优于 WUE_i 。水分胁迫处理能够显著提升水氮利用效率,并且 $\Delta^{13}C$ 与 WUE_i 、 WUE_n 及NUE之间具有显著的相关关系,该研究有利于揭示不同生育期水分管理模式大豆叶片碳氮代谢规律,为通过控水方式提高大豆水分利用效率提供理论依据。

关键词:大豆;胁迫时期;叶片水分利用效率;叶片氮素利用效率;碳同位素分辨率($\Delta^{13}C$)

Use Efficiency of Water and Nitrogen of Soybean with Water Stress by Stable Carbon Isotope Discrimination

JIANG Hao^{1,2}, CHEN Peng^{1,2}, Shehakk^{1,2}, ZHANG Zhong-xue^{1,2}

(1. College of Water Conservancy and Civil Engineering, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China; 2. Key Laboratory of Effective Utilization of Agricultural Water Resources, Ministry of Agriculture, Harbin 150030, China)

Abstract: Carbon isotope discrimination ($\Delta^{13}C$) could comprehensively reflect the ratio of intercellular CO_2 concentration (C_i) to CO_2 concentration (C_a) during a period. C_i/C_a reflects the relative amount of photosynthetic rate (P_n) and stomatal conductance (G_s) corresponding to CO_2 demand and supply. When any of P_n and G_s changes, C_i/C_a will obviously change and ultimately affect water use efficiency (WUE). Therefore, it is possible to infer crop WUE by measuring crop $\Delta^{13}C$. $\Delta^{13}C$ can also be used to deduce instantaneous water use efficiency (WUE_i) and intrinsic water use efficiency (WUE_n) at leaf level. And it is considered as a reliable method for long-term estimation of crop water use efficiency. In addition, leaf nutrient use efficiency (NUE) is the basis of crop growth and high yield, and can be used as a main indicator to reflect crop nutrient absorption characteristics. The ratio of soluble sugar content and nitrogen content (C/N) is selected as a crop NUE index in this experiment to reflect the C acquisition and assimilation rate, N distribution and utilization ratio of plant. At present, the research on indicator relationship between crop leaf tissue $\Delta^{13}C$ and crop WUE and NUE mainly focuses on maize, tomato, and rice under water stress, while there are few studies on soybean with water stress at different growth stages. This study combines theoretical analysis with field experiments to analyze the relationship between soybean leaf $\Delta^{13}C$ and WUE and NUE at seedling and flowering stage of soybean with water stress, respectively, to reveal the regulation of carbon and nitrogen metabolism in soybean leaves during different growth periods, which can provide theoretical basis for the efficient use of water and nutrient of crop at leaf level. The experiment was conducted at the experimental station of Northeast Agricultural University in Harbin, Heilongjiang province in 2017. The leaf $\Delta^{13}C$, photosynthetic rate (P_n), transpiration rate (T_r), stomatal conductance (G_s) and the yield were measured, and the values of WUE_i , WUE_n and WUE_{ET} were calculated. Results showed that WUE could be improved with moderate water stress during different growth periods of soybean, and WUE and yield were both the highest during flowering period with mild water stress. At different stages with water stress, $\Delta^{13}C$ in soybean leaves was negatively correlated with WUE_i , WUE_n and NUE, and the indicative effect of $\Delta^{13}C$ on WUE_n was superior to WUE_i . The correlation between leaf $\Delta^{13}C$ and WUE_i , WUE_n and NUE at flowering stage was more significant than that at seedling stage with the same water stress. Therefore, the leaf $\Delta^{13}C$ at maturity stage of soybean with water stress can be used as an indicator of WUE and NUE of soybean leaves to provide a theoretical basis for improving water use efficiency of soybean by water control.

Keywords: Soybean; Period of stress; Leaf water use efficiency (WUE); Leaf nitrogen use efficiency (NUE); Arbon isotope discrimination ($\Delta^{13}C$)

收稿日期: 2018-08-29

基金项目: 国家科技支撑计划(2014BAD11B01)。

第一作者简介: 姜浩(1992-)男, 硕士, 主要从事节水灌溉理论与技术研究。E-mail: 451362787@qq.com。

通讯作者: 张忠学(1967-)男, 教授, 博导, 主要从事节水灌溉理论与技术研究。E-mail: zhangzhongxue@163.com。

近年来,基于对作物进行水分胁迫的研究表明^[1],水分的缺失可以造成光合产物在不同组织器官中的分配发生变化,王利彬等^[2]认为在大豆营养生长期进行水分调控,对于根系的生长有促进作用,便于在作物生长期获得更多水分及养分,促进光合产物向籽粒调运,从而提高作物的经济产量,这是作物对水分逆境的一种适应性反应。在水分胁迫环境下,氮素能够参与和调节作物的适应、伤害和修复等各种生理生化过程,通过积累渗透物质、减小叶片气孔导度等变化适应干旱,减少水分胁迫对生长速率、叶面积等的抑制效应^[3],因此研究干旱逆境下的大豆水分和氮素的变化及其利用效率是实现大豆增产的核心所在。

水分利用效率(Water use efficiency, WUE)是作物生理活动过程中通过消耗水分形成有机物质的基本效率,是面对干旱环境做出生理反应的重要指标之一^[4],叶片尺度的 WUE 一般可表示为瞬时水分利用效率(WUE_i)和在水分利用效率(WUE_n)两种,可以用来揭示对环境因素的动态响应和作物自身的耗水机制^[5]。叶片的养分利用效率(Nitrogen use efficiency NUE)是作物发育和高产的基础,可作为反映作物养分吸收特性的主要指标,一般可用养分吸收量^[6]、单位吸收量所产生的生物量和碳氮比^[7]等参数表示。大量研究^[8]表明,作物不同生育阶段的氮素利用效率与光合能力、水分利用效率关系密切。对于不同的作物,学者们采用不同的碳氮代谢指标来代表叶片的养分利用效率(NUE)。王利纳等^[9]选取器官总糖含量与器官氮素积累量的比值作为 C/N。实际上,碳水化合物中可以转运和利用的是可溶性糖。因此叶片可溶性糖含量和含氮量的比值(C/N)可以指示作物氮素利用效率(NUE),综合反映植物 C 获取和同化率、N 分配和利用率的相对强弱。近年来,稳定碳同位素技术在作物研究相关领域得到了广泛应用^[10-11]。大量试验研究表明,作物叶片中的碳同位素分辨率($\Delta^{13}C$)可作为反应作物叶片胞间与大气 CO_2 分压比(P_i/P_a)和浓度比(C_i/C_a)的有效依据。同时,叶片的($\Delta^{13}C$)还可通过对水分的利用以及氮素的利用,来指示作物长期水分利用效率和长期氮素利用效率^[12]。

目前有关作物叶片组织 $\Delta^{13}C$ 与作物 WUE 和 NUE 指示关系的研究主要集中在水分亏缺下的玉米、番茄,及水稻等作物上,而对于大豆的研究则较少,因此有必要深入研究在水分胁迫条件下以不同

生育期大豆为研究对象,测定不同处理下大豆叶片光合参数及碳氮含量,分析各处理大豆叶片 $\Delta^{13}C$ 与 WUE 和 NUE 之间的相关关系,以揭示不同生育期水分管理下大豆叶片碳氮代谢规律,为叶片尺度下作物水分和养分高效利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验区概况

试验于 2017 年 5-9 月在东北农业大学试验站遮雨棚内进行,试验站地处黑龙江省哈尔滨市香坊区,是典型的中温带大陆性季风气候,多年平均气温为 $3.2^{\circ}C$,多年平均降水量为 550 mm,作物生长期为 150~170 d,无霜期 130 d 以上。供试土壤为黑土,1 m 土层内田间持水量为 39.32%,土壤容重 $1.03 g \cdot cm^{-3}$ 。供试土壤基本理化性质为:有机质 $39.2 g \cdot kg^{-1}$ 、pH6.67、全氮 $14.78 g \cdot kg^{-1}$,全磷(P_2O_5) $14.82 g \cdot kg^{-1}$ 、全钾(K_2O) $19.51 g \cdot kg^{-1}$ 。供试品种为绥农 14。

1.2 试验设计

试验在全自动遮雨棚内进行,采用盆栽试验,所用塑料桶规格为高 40 cm,直径 38 cm。将黑土过筛风干后,装入桶内,并保证每桶土重 15 kg。桶内装有 PVC 管材质的塑料漏斗(长度 30 cm,直径 1.5 cm),埋于距表面土层 10 cm 处,漏斗部分露出表土。为确保灌水均匀、避免表土板结,在 PVC 管上扎出小孔,每个孔间距离相等。试验前按照当地施肥标准施入尿素 $1.0 g \cdot 桶^{-1}$ 、磷酸二氢铵 $2.5 g \cdot 桶^{-1}$ 、硫酸钾 $1.5 g \cdot 桶^{-1}$ 。每盆播种 3 穴,每穴播种 3 粒,齐苗后每穴定苗 1 株,每盆留 3 株。试验设置胁迫时期和胁迫程度 2 因素,胁迫时期分为:苗期(V_3)、开花期(R_2)2 个生育阶段。每个生育阶段设置 3 个胁迫程度:轻度水分亏缺(L)、中度水分亏缺(M)、重度水分亏缺(S)3 个水平,土壤相对含水率(占田间持水率的百分数)控制上、下限分别为 70%~75% FC(Field capacity)、60%~65% FC 和 50%~55% FC;另设全生育期适宜土壤水分处理,土壤相对含水率为 80%~85% FC,共 7 个处理,每个处理重复 3 次;试验设计方案详见表 1。水分调亏阶段灌水按处理设计水平(低于下限灌至上限),其余阶段按对照水平控制。用电子磅称量法测定土壤含水率,用水量平衡法确定蒸发蒸腾量,每天 18:00 进行称量,当盆内土壤含水率低于或接近设计标准时用量杯加水,记录每次加水量,由水量平衡方程计算各阶段耗水量。

表1 试验设计方案

Table 1 Experimental design scheme

(%)

编号 NO.	处理 Treatment	不同生育阶段的水分处理上下限 High and low limits of water treatment at different growth stages				
		苗期	分枝期	开花期	结荚期	鼓粒成熟期
		Seeding	Branching	Flowering	Podding	Maturing
CK	全生育期充分供水	80 ~ 85	80 ~ 85	80 ~ 85	80 ~ 85	80 ~ 85
V ₃ L	苗期轻度胁迫	70 ~ 75	80 ~ 85	80 ~ 85	80 ~ 85	80 ~ 85
V ₃ M	苗期中度胁迫	60 ~ 65	80 ~ 85	80 ~ 85	80 ~ 85	80 ~ 85
V ₃ S	苗期重度胁迫	50 ~ 55	80 ~ 85	80 ~ 85	80 ~ 85	80 ~ 85
R ₂ L	开花期轻度胁迫	80 ~ 85	80 ~ 85	70 ~ 75	80 ~ 85	80 ~ 85
R ₂ M	开花期中度胁迫	80 ~ 85	80 ~ 85	60 ~ 65	80 ~ 85	80 ~ 85
R ₂ S	开花期重度胁迫	80 ~ 85	80 ~ 85	50 ~ 55	80 ~ 85	80 ~ 85

表中灌水上下限为土壤体积含水量占田间持水量的百分比。

The high and low limits in the table is the ratio of volumetric moisture content to field capacity in soil.

1.3 测定项目与方法

1.3.1 籽粒产量与产量构成要素 待植株成熟收获后,进行测产、考种,测定大豆株高、节数、单株荚数、单株粒数和百粒重。将采集的植株置于烘箱中120℃杀青 30 min,80℃烘至恒重,脱粒称重计算籽粒产量。

1.3.2 光合速率、蒸腾速率、气孔导度 于鼓粒成熟期使用 LI-6400XT 型便携式光合仪,自带 LED 红蓝光源叶室,选择天气晴朗的上午测定叶片的光合速率(P_n)、蒸腾速率(T_r)和气孔导度(G_s)等光合参数,测定部位均为第4片复叶,叶片光合参数测定3次,取平均值。叶片水分利用效率表现为叶片瞬时光合水分利用效率(WUE_i)和叶片内在水分利用效率(WUE_n)两种。

WUE_i 用叶片蒸腾消耗的水所同化的二氧化碳的量表示,计算公式为:

$$WUE_i = P_n / T_r \tag{1}$$

WUE_n 用叶片蒸腾消耗的水所同化的水量表示,计算公式为:

$$WUE_n = P_n / G_s \tag{2}$$

1.3.3 耗水量及水分利用效率的计算 作物水分利用效率(WUE)的计算公式为:

$$WUE = Y / ET \tag{3}$$

式中: Y ——大豆产量, $\text{kg} \cdot \text{hm}^{-2}$; ET ——耗水量, mm 。

1.3.4 叶片碳氮含量的测定及氮素利用效率的计算 在大豆生长发育的关键时期:苗期(V_3)、开花期(R_2)、结荚期(R_4)和鼓粒成熟期(R_6)分别取样。通过测定叶片中可溶性糖含量指示碳含量。叶片剪碎混匀,每份称取 0.2 g;放入 20 mL 试管中,加蒸

馏水并用塑料薄膜封口,在沸水浴中提取叶片可溶性糖溶液,冷却后进行过滤定容。采用高氯酸法,提取可溶性糖溶液过滤后试管中的剩余残渣中的淀粉溶液,采用经典的蒽酮比色法^[13]测定可溶性糖含量,利用紫外分光光度计(UV-1700,岛津仪器有限公司)测定 630 nm 处可溶性糖的吸光值并计算其含量。将叶片与茎秆分离,120℃下杀青 30 min,80℃烘至恒重,取干燥样品,经 $\text{H}_2\text{SO}_4\text{-H}_2\text{O}_2$ 消煮后,用德国布朗卢比公司生产的 AA3 型(Auto analytical 3)连续流动分析仪测定 N 素含量。氮素利用效率 $NUE(\%) = \text{叶片可溶性糖含量} / \text{叶片全氮含量} \times 100$ 。

1.3.5 碳同位素分辨率 于大豆鼓粒成熟期,对各处理的植株健康叶片进行取样。将采集的大豆叶片用清水超声洗净、晾干,置于烘箱中,在 120℃杀青 30 min 后,再将叶片 80℃烘干至恒重,使样品完全干燥。使用球磨仪粉碎大豆叶片,经过 80 目筛后,密封保存样品。稳定同位素测试,选在东北农业大学农业部水资源高效利用重点实验室进行。大豆叶片稳定同位素组成的测定,采取同位素质谱仪(DELTA V Advantage, Thermo Fisher Scientific, USA)和元素分析仪(Flash 2000 HT)联用的方式。碳同位素比率采用国际 V-PDB 标准,用千分比(‰)表示。根据 Farquhar 等^[14]的公式计算大豆叶片的 $\delta^{13}\text{C}$:

$$\delta^{13}\text{C}(\text{‰}) = \frac{\left(\frac{^{13}\text{C}}{^{12}\text{C}}\right)_{\text{Sample}} - \left(\frac{^{13}\text{C}}{^{12}\text{C}}\right)_{\text{Standard}}}{\left(\frac{^{13}\text{C}}{^{12}\text{C}}\right)_{\text{Standard}}} \times 1000 \tag{4}$$

式中: $(^{13}\text{C}/^{12}\text{C})_{\text{Sample}}$ 和 $(^{13}\text{C}/^{12}\text{C})_{\text{Standard}}$ 分别为

作物样品和标准物质的¹³C/¹²C 比率,通过下式计算大豆叶片 Δ¹³C 值:

$$\Delta^{13}C(\text{‰}) = \frac{(\delta_{air} - \delta_{plant})}{(1 + \delta_{plant})} \times 1000 \quad (5)$$

式中:δ_{air} 为大气 CO₂ 的 Δ¹³C 值(−8‰)^[16], δ_{plant} 为测定的大豆各部位样品的 Δ¹³C 值。

1.4 数据分析

采用 SPSS 19.0 对叶片碳同位素比率与叶片水分利用效率、氮素利用效率进行相关性分析,采用 Origin 9.0 软件作图。

2 结果与分析

2.1 不同生育期水分胁迫对大豆产量及其构成要素的影响

从表 2 可以看出,不同生育期进行水分胁迫均导致大豆产量下降。苗期胁迫比开花期胁迫对产量的影响更大,具体表现为:V₃L、R₂L 相比 CK 分别下降 21.86% 和 11.40%; V₃M、R₂M 相比 CK 分别下

降 22.61% 和 16.23%; V₃S、R₂S 相比 CK 分别下降 27.36% 和 22.68%。从产量构成要素分析,不同时期水分胁迫和充分供水处理(CK)相比单株粒数均显著减少(*P* < 0.05),单株粒数具体表现为:R₂L、V₃L 相比 CK 分别下降 16.21% 和 7.90%; R₂M、V₃M 相比 CK 分别下降 20.56% 和 15.1%; R₂S、V₃S 相比 CK 分别下降 22.03% 和 21.58%。不同处理百粒重则表现相反,V₃L、V₃M 和 V₃S 与 CK 相比分别下降 15.19%、8.87% 和 7.41%,R₂L、R₂M 和 R₂S 与 CK 相比分别提高 5.68%、5.46% 和 0.92%。表明各个生育期的水分胁迫对植物产量及构成要素的影响不同,与苗期胁迫相比,开花期水分胁迫主要通过百粒重的提高来提升大豆籽粒产量。因此,开花期适度的水分胁迫比苗期水分胁迫更有利于大豆增产,在苗期进行水分胁迫对大豆产量的形成有更明显的抑制作用,应保证大豆苗期适宜的土壤水分。

表 2 不同水分条件下的大豆产量及其构成要素

Table 2 Soybean yield and its component factors with different moisture contents						
处理 Treatment	株高 Plant height/cm	节数 Node number	单株荚数 Pod number per plant	单株粒数 Number of seeds per plant	百粒重 100-seeds weight/g	籽粒产量 Seed yield/(kg·hm ⁻²)
CK	81.17 ± 2.03 a	16.57 ± 0.61 a	36.35 ± 1.46 a	92.64 ± 1.60 a	18.49 ± 1.36 b	4533.58 ± 1.30 a
V ₃ L	72.64 ± 1.66 b	15.27 ± 0.18 b	33.82 ± 2.64 b	85.32 ± 1.83 b	15.68 ± 0.96 d	3542.44 ± 0.47 c
V ₃ M	71.36 ± 0.56 b	15.11 ± 0.54 b	31.45 ± 2.25 b	78.65 ± 2.36 bc	16.85 ± 1.49 cd	3508.70 ± 1.01 c
V ₃ S	70.32 ± 0.36 b	14.63 ± 0.94 bc	30.65 ± 1.85 b	72.65 ± 2.94 c	17.12 ± 1.36 c	3293.00 ± 0.65 d
R ₂ L	76.56 ± 2.56 ab	14.57 ± 0.27 bc	29.53 ± 1.65 b	77.62 ± 0.57 bc	19.54 ± 0.66 a	4016.84 ± 0.58 b
R ₂ M	60.56 ± 3.05 c	13.96 ± 0.65 c	27.65 ± 1.65 c	73.59 ± 0.26 c	19.50 ± 1.32 a	3797.84 ± 1.30 bc
R ₂ S	51.29 ± 0.38 d	13.68 ± 0.61 c	26.21 ± 1.62 c	72.23 ± 1.64 c	18.66 ± 1.40 b	3505.39 ± 1.49 c

同一列标注不同字母表示处理之间差异显著(*P* < 0.05)。下同。
Different letters following value mean significant difference among treatments at 5% level. The same below.

2.2 不同生育期水分胁迫下大豆叶片 WUE_i、WUE_n 和 WUE_{ET}变化

如表 3 所示,不同生育期水分胁迫下,鼓粒成熟期大豆叶片 WUE_i 变化范围为 2.76 ~ 3.56 μmol·mmol⁻¹, WUE_n 变化范围为 32.22 ~ 38.69 μmol·mol⁻¹, WUE_i 和 WUE_n 在苗期和开花期水分胁迫处理下变化表现一致,分别为 V₃S > V₃M > V₃L 和 R₂S > R₂M > R₂L。苗期胁迫处理下,V₃S、V₃M 与 V₃L 相比大豆叶片 WUE_i 分别高 4.68% 和 2.47%; WUE_n 分别高 10.87% 和 6.40%;开花期胁迫处理下,R₂S、R₂M 与 R₂L 相比大豆叶片 WUE_i 分别高 14.42%、5.33%; WUE_n 分别高 8.55%、4.60%。不同生育期水分胁迫

处理间对比显示,开花期胁迫处理 R₂L、R₂M、R₂S 较苗期胁迫处理 V₃L、V₃M、V₃S 的大豆叶片 WUE_i 分别高 12.87%、16.04%、23.39%; WUE_n 分别高 10.63%、8.76%、8.32%。表明开花期下进行水分胁迫,大豆叶片的水分利用效率优于苗期胁迫处理,在植物叶片层面上更利于水分的吸收。不同生育期水分胁迫下 WUE_{ET} 为 7.65 ~ 9.56 kg·mm⁻¹·hm⁻²,轻度、中度和重度水分胁迫条件下,开花期胁迫处理 R₂L、R₂M、R₂S 和苗期胁迫处理 V₃L、V₃M、V₃S 相比较,在全生育期灌溉定额分别减少 7.48%、11.15% 和 10.52% 的情况下,产量分别提高 13.39%、8.24% 和 6.45%,充分体现大豆开花期水

分胁迫较苗期胁迫的节水增产优势。并且,开花期间最优,为最佳灌水模式。
轻度水分胁迫处理的产量水分利用效率为各处理

表3 不同水分条件下大豆鼓粒成熟期叶片 WUE_i、WUE_n、耗水量、产量和 WUE_{ET}
Table 3 WUE_i, WUE_n, water use, yield and WUE_{ET} of soybean leaf at maturing stage with different moisture contents

处理 Treatment	WUE _i /($\mu\text{mol}\cdot\text{mmol}^{-1}$)	WUE _n /($\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$)	耗水 Water use /mm	产量 Yield/($\text{kg}\cdot\text{hm}^{-2}$)	WUE _{ET} /($\text{kg}\cdot\text{mm}^{-1}\cdot\text{hm}^{-2}$)
CK	2.85 b	34.36 bc	542.28 a	4533.58 a	8.36 b
V ₃ L	2.76 c	32.22 c	454.15 b	3542.44 c	7.80 c
V ₃ M	2.82 b	34.28 bc	458.58 b	3508.70 c	7.65 c
V ₃ S	2.89 b	35.72 b	387.86 cd	3293.00 d	8.49 b
R ₂ L	3.11 ab	35.64 b	420.21 c	4016.80 b	9.56 a
R ₂ M	3.28 a	37.28 a	407.44 c	3797.84 c	9.32 a
R ₂ S	3.56 a	38.69 a	366.95 d	3505.39 c	9.55 a

WUE_i 为叶片瞬时水分利用效率;WUE_n 为叶片内在水分利用效率;WUE_{ET} 为产量水平水分利用效率,下同。
WUE_i: Instantaneous water use efficiency; WUE_n: Intrinsic water use efficiency; WUE_{ET}: Yield water use efficiency. The same below.

2.3 不同生育期水分胁迫对叶片碳、氮含量及叶片碳氮比的影响

如图1所示,不同处理的可溶性糖含量在各生育期变化趋势一致,均表现为升高后降低再上升的变化规律。原因在于苗期后叶片可溶性糖合成速度加快,在开花期达到一个明显的峰值,此后大豆进入生殖生长阶段,叶片中的可溶性糖大量向荚果中转移,导致叶片可溶性糖含量下降。不同水分处

理下的大豆叶片可溶性糖含量均随胁迫程度的加剧而升高,各生育期均表现为: V₃S > V₃M > V₃L; R₂S > R₂M > R₂L。且在结荚期和鼓粒成熟期,开花期胁迫处理的可溶性糖含量均大于同等胁迫程度的苗期处理。这是因为蔗糖合成酶在植物组织中的作用是催化蔗糖降解,而在开花期进行干旱处理严重影响蔗糖合成酶的含量和活性^[16]。

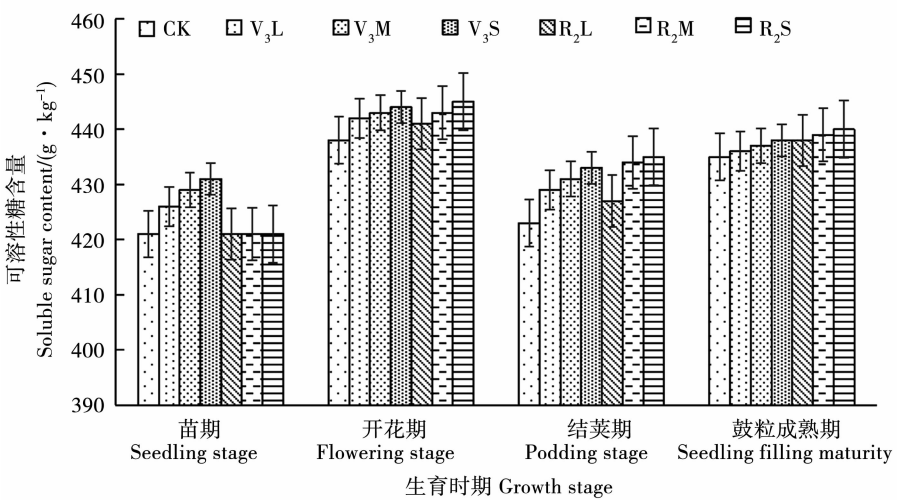


图1 不同水分条件下各生育期大豆叶片可溶性糖含量

Fig. 1 Contents of soluble sugar in soybean leaves with different moisture contents

如图2所示,大豆叶片含氮量均随着生育期的推进,逐渐下降。不同生育期水分胁迫处理间均表现为: V₃L > V₃M > V₃S, R₂L > R₂M > R₂S。原因在于水分胁迫条件下,大豆根系根瘤血红蛋白含量下降,根瘤活性降低,导致根瘤数量减小、延迟根瘤形成,促使固氮能力下降,影响了氮素的吸收^[17]。对于苗期水分胁迫处理,叶片对干旱反应较为敏感,苗期时 V₃M 和 V₃S 处理与 CK 相比,叶片的含氮量

下降显著($P < 0.05$),复水后各干旱处理叶片氮含量与 CK 相差变小。开花期水分胁迫处理,胁迫结束时, R₂L、R₂M、R₂S 与 CK 相比差异显著($P < 0.05$)。复水后,在结荚期和鼓粒成熟期,各处理叶片氮含量接近 CK 水平,说明复水后,发生了一定的补偿效应,弥补了前期由于水分胁迫对植株氮素积累造成的影响。

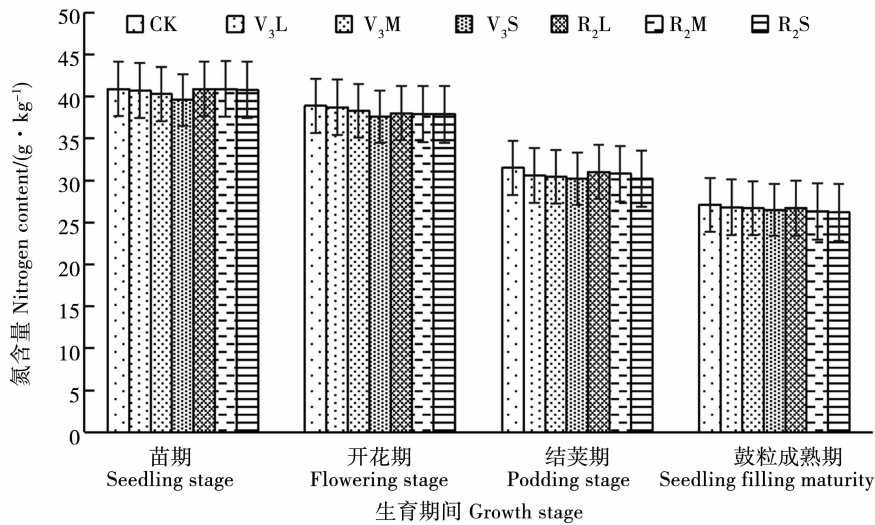


图2 不同水分条件下各生育期大豆叶片氮含量

Fig. 2 Contents of nitrogen in soybean leaves with different moisture contents

植物叶片 C/N 可以体现植物的营养利用效率,是生态系统的一个重要基础数据。如表 4 所示,不同水分处理模式下大豆叶片 C/N 随着生育期的进行逐渐升高,其中结荚期和鼓粒成熟期叶片 C/N 增幅显著($P < 0.05$),表明大豆叶片在结荚期和鼓粒成熟期对营养的利用达到高峰。苗期胁迫和开花期胁迫条件下,各生育时期 C/N 均表现为: $V_3S > V_3M > V_3L$ 和 $R_2S > R_2M > R_2L$,原因在于随胁迫程度的加剧,促使叶片碳含量上升,而氮含量下降,故 C/N 表现为重度胁迫 > 中度胁迫 > 轻度胁迫。

表4 不同水分条件下大豆叶片各生育期 C/N

Table 4 C/N of soybean leave at different growth stages with different water treatments

生育时间 Growth stage	CK	V ₃ L	V ₃ M	V ₃ S	R ₂ L	R ₂ M	R ₂ S
苗期 Seedling stage	10.29	10.47	10.65	10.88	10.29	10.30	10.32
开花期 Flowering stage	11.26	11.42	11.57	11.81	11.61	11.69	11.75
结荚期 Podding stage	13.43	14.02	14.16	14.34	13.77	14.09	14.40
鼓粒成熟期 Seedling filling maturity	16.05	16.27	16.37	16.53	16.40	16.69	16.79

2.4 碳同位素表征不同生育期水分胁迫处理下大豆叶片水氮利用效率

不同生育期水分胁迫处理下,鼓粒成熟期大豆叶片碳同位素分辨率($\Delta^{13}C$)值变化范围为 20.56‰~23.17‰。不同水分处理的 $\Delta^{13}C$ 均随着干旱胁迫程度的增加而减小, V_3S 、 R_2S 处理叶片的 $\Delta^{13}C$ 显著小于 V_3L 、 V_3M 处理和 R_2L 、 R_2M 处理($P < 0.05$),

分别为 20.91‰和 20.56‰(表 5)。这与刘莹等^[18-19]的结论相似。原因在于随着干旱程度的加剧,植物为了减少水分蒸发,会导致气孔关闭,降低气孔通导系数,从而引起叶片胞间 CO_2 浓度下降,进而导致 $\Delta^{13}C$ 值下降。

表5 不同水分条件下大豆叶片鼓粒成熟期碳同位素分辨率

Table 5 $\Delta^{13}C$ in soybean leaf at maturing stage with different water treatments

	CK	V ₃ L	V ₃ M	V ₃ S	R ₂ L	R ₂ M	R ₂ S
$\Delta^{13}C$	23.17 a	22.65 b	21.88 bc	20.91 d	21.45 c	20.78 c	20.56 d

$\Delta^{13}C$:碳同位素分辨率。
 $\Delta^{13}C$: Carbon isotope discrimination.

由表 6 和 7 可知,苗期胁迫条件下大豆鼓粒成熟期叶片 $\Delta^{13}C$ 与 NUE 、 WUE_i 、 WUE_n 和 WUE_{ET} 均呈负相关,相关系数 R 和显著性 P 分别为 -0.938 、 -0.904 、 -0.932 、 -0.395 和 0.554 、 0.281 、 0.236 、 0.741 。同时,叶片 $\Delta^{13}C$ 与产量呈正相关($R = 0.645$, $P = 0.553$), WUE_i 与 WUE_n 相关性显著($R = 0.997$, $P = 0.045$)。其它变量两两之间相关性较小,均未达显著水平。

在开花期胁迫条件下,大豆鼓粒成熟期叶片 $\Delta^{13}C$ 与 NUE 呈显著负相关($R = -0.954$, $P = 0.042$), $\Delta^{13}C$ 与 WUE_i 和 WUE_n 相关性与苗期胁迫处理相似,均呈负相关,其中 $\Delta^{13}C$ 与 WUE_n 相关系数 R 和显著性 P 分别为 -0.973 和 0.150 ,在($P = 0.1$)水平上边缘显著。 $\Delta^{13}C$ 与产量和 WUE_{ET} 呈正相关(R 分别为 0.936 和 0.310 , P 分别为 0.229 和 0.799), WUE_i 与 WUE_n 相关性显著($R = 0.981$, $P =$

0.047)。不同处理间对比,开花期水分胁迫下大豆叶片 $\Delta^{13}\text{C}$ 与 NUE 、 WUE_i 和 WUE_n 的相关性优于其在苗期水分胁迫下的相关性,且 $\Delta^{13}\text{C}$ 对 WUE_n 的指示性优于对 WUE_i 的指示性,大豆叶片 $\Delta^{13}\text{C}$ 可作为量化表征作物叶片氮素利用效率和叶片水分利用效率的重要指标。

表 6 鼓粒成熟期大豆叶片 $\Delta^{13}\text{C}$ 与氮素利用效率、产量及水分利用效率的相关关系
Table 6 Correlation between $\Delta^{13}\text{C}$, nitrogen utilization efficiency, yield and water use efficiency

处理 Treatment		$\Delta^{13}\text{C}$	NUE	Yield	WUE_i	WUE_n
苗期水分胁迫 Water stress at seedling stage	NUE	-0.938				
	Yield	0.645	-0.869			
	WUE_i	-0.904	0.996	-0.910		
	WUE_n	-0.932	0.995	-0.878	0.997 *	
	WUE_{ET}	-0.395	0.688	-0.957	0.750	0.701
开花期水分胁迫 Water stress at flowering stage	NUE	-0.954 *				
	Yield	0.936	-0.932			
	WUE_i	-0.910	0.911	-0.947		
	WUE_n	-0.973	0.915	-0.992	0.981 *	
	WUE_{ET}	0.310	-0.010	-0.045	0.112	-0.080

NUE 为养分利用效率; * 为 0.05 水平显著; ** 为 0.01 水平极显著。
NUE; Nutrient use efficiency; * ; Significant at 0.05 level; ** ; Extremely significant at 0.01 level.

表 7 鼓粒成熟期大豆叶片 $\Delta^{13}\text{C}$ 与氮素利用效率、产量及水分利用效率的显著性
Table 7 Significance between $\Delta^{13}\text{C}$, nitrogen utilization efficiency, yield and water use efficiency

处理 Treatment		$\Delta^{13}\text{C}$	NUE	Yield	WUE_i	WUE_n
苗期水分胁迫 Water stress at seedling stage	NUE	0.554				
	Yield	0.553	0.329			
	WUE_i	0.281	0.056	0.273		
	WUE_n	0.236	0.011	0.318	0.045	
	WUE_{ET}	0.741	0.517	0.187	0.460	0.506
开花期水分胁迫 Water stress at flowering stage	NUE	0.042				
	Yield	0.229	0.035			
	WUE_i	0.272	0.078	0.043		
	WUE_n	0.150	0.045	0.080	0.047	
	WUE_{ET}	0.799	0.994	0.949	0.928	0.949

3 讨论

水分是大豆生长的主要影响因子,适宜的水分胁迫可提高作物的水分利用效率和产量,同时也能够调节作物本身的主要元素含量变化^[20]。本研究结果表明,各个生育期的水分胁迫对产量及构成要素的影响不同,开花期进行水分胁迫虽然对单株荚数和单株粒数有很大影响,但后期恢复正常供水,提升了百粒重及籽粒产量,减缓了开花期水分胁迫对籽粒产量的影响。正如赵立琴^[21]等提出的不同生育时期干旱对产量的影响顺序为:鼓粒期>苗期>花荚期研究结果一致。本研究中,不同生育时期水分胁迫处理下, WUE_i 和 WUE_n 随着胁迫程度的加剧而增加,且开花期水分胁迫处理大豆叶片 WUE_i 、 WUE_n 和 WUE_{ET} 均高于同等水分胁迫程度下的苗期胁迫处理,表明开花期胁迫处理和苗期胁迫处理相比,大豆叶片可以更有效地调控光合能力和水分利用效率。

碳、氮代谢是作物生长过程中重要的代谢途径,其强弱对作物生长具有重要的调节作用^[22]。本试验通过对不同生育期不同水分管理模式大豆叶片碳、氮含量分析可知,不同胁迫程度处理间对比显示,叶片的碳含量的大小表现为:重度胁迫>中度胁迫>轻度胁迫,因为适度的干旱处理,有利于根系的生长,促使根系部分产生的根源信号传输到植株地上部分,进而调节各器官的碳素积累^[23]。本试验中叶片的氮含量变化与碳含量相反,不同胁迫程度处理间对比显示,叶片的氮含量的大小表现为:轻度胁迫>中度胁迫>重度胁迫,原因在于干旱条件下,根系根瘤血红蛋白含量下降,根瘤活性降低促使固氮能力下降,影响了植株各器官对氮素的吸收。试验发现在大豆苗期和开花期,各处理的叶片 C/N 并没有明显变化,基本维持在 11 左右;开花期后,各处理叶片含碳量差异不显著,同时叶片氮素含量在结荚期和鼓粒成熟期迅速下降,由此导致大豆叶片 C/N 表现出在结荚期和鼓粒成熟期迅

速上升的趋势。

缺水条件下,许多作物叶片的碳同位素数据可作为水分利用效率^[24]和氮素利用效率^[25]量化的可靠指标。魏镇华等^[26]发现在不同灌水方式下,番茄叶片的碳同位素分辨率与水分利用效率呈负相关。Iqbal 等^[25]发现在干旱条件下小麦碳同位素比率与氮素利用率相关性显著。本研究发现,开花期水分胁迫条件下,大豆叶片 $\Delta^{13}\text{C}$ 与叶片氮素利用效率呈显著负相关,与叶片瞬时水分利用效率、叶片内在水分利用效率相关系数虽然未达到 $P < 0.05$ 显著水平,但显著性达 $P < 0.150$,在 0.1 水平边缘显著,这与刘莹等^[18]对白羊草干旱条件下叶片碳同位素分辨率可以表征叶片水分利用效率的试验结论相似,同时也印证了 Cabrerabosquet 等^[27]对水分亏缺条件下盆栽小麦 $\Delta^{13}\text{C}$ 与 NUE 呈负相关的结论。碳同位素分辨率可以对水分胁迫条件下的大豆叶片水分利用效率和氮素利用效率起到表征作用。

本试验还发现不同生育期水分胁迫处理下,鼓粒成熟期大豆叶片的 $\Delta^{13}\text{C}$ 对 WUE_n 的相关性明显优于其与 WUE_i 的相关性,这与张忠学等^[24]结论一致,因为叶片 WUE_n 与 WUE_i 比较可以更直接的对气孔开闭程度进行反映,影响外界向叶片内部进行 CO_2 扩散,最终体现在叶片 $\Delta^{13}\text{C}$ 的变化上。此外,在开花期进行水分胁迫, $\Delta^{13}\text{C}$ 与 WUE_i 和 WUE_n 的相关性要优于苗期进行水分胁迫条件下 $\Delta^{13}\text{C}$ 与 WUE_i 和 WUE_n 的相关性,说明在开花期进行干旱处理,植株叶片 $\Delta^{13}\text{C}$ 对 WUE 的指示性更强。并且开花期是大豆快速生长期,此时期根系发育完整,对水分的利用更为充分,适度干旱有利于植株刺激根系吸收补偿功能,促使干旱反馈产生的根源信号脱落酸(ABA)到达叶片,影响气孔使其达到最适开度^[28],相比苗期干旱,对植株的水分利用和叶片光合过程响应更为积极。WUE 和 NUE 可以用来表示作物对不同环境条件的反应情况^[29]。现有研究主要使用 $\Delta^{13}\text{C}$ 评估作物的 WUE 和 NUE,但是对于在不同环境下,作物的 WUE 和 NUE 与作物不同部位的 $\Delta^{13}\text{C}$ 之间的相关性是否稳定还存在着争议,尤其是在受多种环境因素影响的大田试验中,这一问题十分突出。因此在不同水分环境下对作物不同尺度下 WUE 和 NUE 的表征仍存在一定的限制,尚需进一步验证。

4 结 论

本研究利用碳同位素表征大豆水氮利用效率对不同生育期不同程度水分胁迫的响应机理,得到如下结论:

(1)大豆在苗期和开花期进行适度水分胁迫,

可以提高水分利用效率。结果表明:开花期胁迫处理的大豆叶片 WUE_i 、 WUE_n 及 WUE_{ET} 均高于同等胁迫程度的苗期胁迫处理。控制土壤水分下限为 70% FC,水分上限为 75% FC 的开花期轻度水分胁迫处理 WUE_{ET} 值最大、产量最高。

(2)不同生育期水分胁迫处理条件下,大豆叶片碳、氮含量随胁迫程度加剧分别呈上升和下降趋势。各处理叶片 C/N 在鼓粒成熟期均达到峰值,同生育期胁迫处理下大豆叶片 C/N 均表现为重度胁迫 > 中度胁迫 > 轻度胁迫。

(3)不同生育期水分胁迫处理下,鼓粒成熟期大豆叶片 $\Delta^{13}\text{C}$ 与 WUE_i 、 WUE_n 和 NUE 均呈负相关,在开花期水分胁迫处理下叶片 $\Delta^{13}\text{C}$ 与 WUE_i 、 WUE_n 、NUE 的相关性较苗期水分胁迫更为显著,且 $\Delta^{13}\text{C}$ 与 WUE_n 的相关性高于 WUE_i ,叶片碳同位素分辨率可作为表征大豆叶片水分利用效率和氮素利用效率的指标。

参考文献

- [1] 闫永奎,郝卫平,梅旭荣,等. 拔节期水分胁迫-复水对冬小麦干物质积累和水分利用效率的影响[J]. 中国农业气象, 2011, 32(2):190-195. (Yan Y L, Hao W P, Mei X R, et al. Effects of water stress re-watering at jointing stage on dry matter accumulation and WUE of winter wheat [J]. Chinese Journal of Agronmeteorology, 2011, 32(2):190-195.)
- [2] 王利彬,祖伟,董守坤,等. 干旱程度及时对复水后大豆生长和代谢补偿效应的影响[J]. 农业工程学报, 2015, 31(11):150-156. (Wang L B, Zu W, Dong S K, et al. Effects of drought stresses and times on compensation effect after re-watering in soybean[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2015, 31(11): 150 - 156.)
- [3] 褚丽丽. 营养生长期水分胁迫和氮素对大豆干物质及产量的影响[J]. 节水灌溉, 2016(7):31-35. (Chu L L. Effects of water stress in vegetative growth stages and nitrogen on yield and dry matter of soybean [J]. Water Saving Irrigation, 2016(7):31-35.)
- [4] 陈平,张劲松,孟平,等. 稳定碳同位素测定水分利用效率——以决明子为例[J]. 生态学报, 2014, 34(19):5453-5459. (Chen P, Zhang J S, Meng P, et al. Feasibility analysis on the determination of WUE by stable carbon isotope: *Cassia obtusifolia* L. as an example[J]. Acta Ecologica Sinica, 2014, 34(19): 5453-5459.)
- [5] Pascual M, Lordan J, Villar J M, et al. Stable carbon and nitrogen isotope ratios as indicators of water status and nitrogen effects on peach trees [J]. Scientia Horticulturae, 2013, 157(3): 99-107.
- [6] 马心灵,朱启林,耿川雄,等. 不同氮水平下作物养分吸收与利用对玉米马铃薯间作产量优势的贡献[J]. 应用生态学报, 2017, 28(4):1265-1273. (Ma X L, Zhu Q L, Geng C X, et al. Contribution of nutrient uptake and utilization on yield advantage in maize and potato intercropping under different nitrogen application rates[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2017, 28(4): 1265-1273.)
- [7] Livingston N J, Guy R D, Sun Z J, et al. The effects of nitrogen stress on the stable carbon isotope composition, productivity and

- water use efficiency of white spruce [*Picea glauca* (Moench) Voss] seedlings[J]. *Plant Cell & Environment*, 1999, 22(3): 281-289.
- [8] 展小云,于贵瑞,盛文萍,等. 中国东部南北样带森林优势植物叶片的水分利用效率和氮素利用效率[J]. *应用生态学报*, 2012,23(3):587-594. (Zhan X Y, Yu G R, Sheng W P, et al. Foliar water use efficiency and nitrogen use efficiency of dominant plant species in main forests along the North-South Transect of East China[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2012,23(3):587-594.)
- [9] 王利纳,陶洪斌,戴明宏,等. 包膜尿素对夏玉米产量及碳氮代谢的影响[J]. *玉米科学*, 2009, 17(2):124-129. (Wang L N, Tao H B, Dai M H, et al. Effect of coated urea on grain yield and carbon nitrogen metabolism of summer maize[J]. *Journal of Maize Sciences*, 2009, 17(2):124-129.)
- [10] 王振昌,郭相平,黄双双,等. 水稻天然稳定碳、氮同位素组成与产量及品质的关系[J]. *农业机械学报*, 2016, 47(12):160-171. (Wang Z C, Guo X P, Huang S S, et al. Relationships between stable C and N isotope compositions of rice plants, rice yield and quality[J]. *Transactions of The Chinese Society of Agricultural Machinery*, 2016, 47(12):160-171.)
- [11] 郑利剑,马娟娟,郭飞,等. 基于水稳定同位素技术的生物炭对土壤持水性影响分析[J]. *农业机械学报*, 2016,47(6):193-198. (Zheng L J, Ma J, Guo F, et al. Impact of biochar addition on soil water retention based on water stable isotopes[J]. *Transactions of The Chinese Society of Agricultural Machinery*, 2016, 47(6):193-198.)
- [12] 高暝,黄秦军,丁昌俊,等. 美洲黑杨及其杂种 F_1 不同生长势无性系叶片 $\delta^{13}C$ 和氮素利用效率[J]. *林业科学*, 2013, 49(8):51-57. (Gao M, Huang Q J, Ding C J, et al. Foliar $\delta^{13}C$ and nitrogen use efficient of populus deltoids and the different growth vigor F_1 hybrid clones[J]. *Forest Research*, 2013,49(8):51-57.)
- [13] 鲁如坤. 土壤农业化学常规分析方法[M]. 北京:科学出版社, 1983. (Lu R K. *Methods of soil agricultural chemistry analysis*[M]. Beijing:Science Press,1983.)
- [14] Farouhar G D, Leary M H O, Berry J A. On the relationship between carbon isotope discrimination and the intercellular carbon dioxide concentration in leaves[J]. *Australian Journal of Plant Physiology*, 1982,9(2):121-137.
- [15] Anderson J E, Kriedemann P E, Austin M P, et al. Eucalypts forming a canopy functional type in dry sclerophyll forests respond differentially to environment[J]. *Australian Journal of Botany*, 2000, 48(6):759-775.
- [16] 赵宏伟,李秋祝,魏永霞. 不同生育时期干旱对大豆主要生理参数及产量的影响[J]. *大豆科学*, 2006, 25(3):329-332. (Zhao H W, Li Q Z, Wei Y X. Effect of drought at different growth stages on main physiological parameters and yield in soybean[J]. *Soybean Science*, 2006, 25(3):329-332.)
- [17] Naglaa L, Mohamed A E, Ahmed M H, et al. Changes in the water status and osmotic solute contents in response to drought and salicylic acid treatments in four different cultivars of wheat (*Triticum aestivum*) [J]. *Journal of Plant Research*, 2012, 125(1):173-184.
- [18] 刘莹,李鹏,沈冰,等. 采用稳定碳同位素法分析白羊草在不同干旱胁迫下的水分利用效率[J]. *生态学报*, 2017, 37(9):3055-3064. (Liu Y, Li P, Shen B, et al. Effects of drought stress on *Bothriochloa ischaemum* water-use efficiency based on stable carbon isotope[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2017, 37(9):3055-3064.)
- [19] Hu Y, Burucs Z, Tucher S V, et al. Short-term effects of drought and salinity on mineral nutrient distribution along growing leaves of maize seedlings[J]. *Environmental & Experimental Botany*, 2007, 60(2):268-275.
- [20] 郑恩楠,杨桦,陈鹏,等. 水氮管理模式下水稻碳氮吸收、土壤呼吸与产量效应[J]. *农业机械学报*, 2018(6):287-295. (Zheng E N, Yang H, Chen P, et al. Effects of water and fertilizer management modes on carbon-nitrogen absorption soil respiration and yield of rice[J]. *Transactions of The Chinese Society of Agricultural Machinery*, 2018(6):287-295.)
- [21] 赵立琴. 干旱胁迫对大豆抗旱生理指标及产量和品质影响[D]. 哈尔滨:东北农业大学, 2014. (Zhao L Q. Effect of drought stress on soybean biological drought resistance indexes, yield and quality [D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2014.)
- [22] 薛利红,杨林章,范小晖. 基于碳氮代谢的水稻氮含量及碳氮比光谱估测[J]. *作物学报*, 2006,32(3):430-435. (Xue L H, Yang L Z, Fan X H. Estimation of nitrogen content and C/N in rice leaves and plant with canopy reflectance spectra[J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2006,32(3):430-435.)
- [23] 汪可欣,付强,姜辛,等. 秸秆覆盖模式对玉米生理指标及水分利用效率的影响[J]. *农业机械学报*, 2014, 45(12):181-186. (Wang K X, Fu Q, Jiang X, et al. Effect of straw mulching mode on maize physiological index and water use efficiency[J]. *Transactions of The Chinese Society of Agricultural Machinery*, 2014,45(12):181-186.)
- [24] 张忠学,陈鹏,郑恩楠,等. 基于 $\Delta^{13}C$ 分析不同水氮管理对水稻水分利用效率的影响[J]. *农业机械学报*, 2018,49(5):303-312. (Zhang Z X, Chen P, Zheng E N, et al. Effect of different water and nitrogen management on rice leaf water use efficiency based on $\Delta^{13}C$ [J]. *Transactions of The Chinese Society of Agricultural Machinery*, 2018,49(5):303-312.)
- [25] Iqbal M M, Akhter J, Mohammad W, et al. Effect of tillage and fertilizer levels on wheat yield, nitrogen uptake and their correlation with carbon isotope discrimination under rainfed conditions in north-west Pakistan[J]. *Soil & Tillage Research*, 2005, 80(1-2):47-57.
- [26] 魏镇华,杜太生,张娟,等. 利用碳同位素分辨率表征沟灌番茄水分利用效率[J]. *农业工程学报*, 2013,29(7):58-65. (Wei Z H, Du T S, Zhang J, et al. Stable carbon isotope discrimination on water use efficiency of field tomato under furrow irrigation[J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2013,29(7):58-65.)
- [27] Cabrerabosquet L, Molero G, Bort J, et al. The combined effect of constant water deficit and nitrogen supply on WUE, NUE and $\Delta^{13}C$ in durum wheat potted plants[J]. *Annals of Applied Biology*, 2007, 151(3):277-289.
- [28] Farquhar G D, And J R E, Hubick K T. Carbon isotope discrimination and photosynthesis[J]. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 1989, 40(40):503-537.
- [29] Araus J L, Villegas D, Aparicio N, et al. Environmental factors determining carbon isotope discrimination and yield in durum wheat under mediterranean conditions[J]. *Crop Science*, 2003, 43(1):170-180.