

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw201407031

杭红涛 吴沿友 谢腾祥. 双向标记培养植物测定大气二氧化碳稳定碳同位素组成[J]. 广西植物 2015, 35(2):269–272

Hang HT, Wu YY, Xie TX. Determination of the stable carbon isotope composition in atmospheric carbon dioxide based on plants cultured in bidirectional tracers[J]. *Guihaia* 2015, 35(2):269–272

双向标记培养植物测定大气二氧化碳稳定碳同位素组成

杭红涛^{1,2}, 吴沿友^{1*}, 谢腾祥^{1,2}

(1. 中国科学院地球化学研究所 环境地球化学国家重点实验室, 贵阳 550002; 2. 中国科学院大学, 北京 100049)

摘要: 基于植物能够利用体内的碳酸酐酶来催化碳酸氢根离子生成二氧化碳和水作为底物进行光合作用的特性, 采用两种 $\delta^{13}\text{C}_{\text{PDB}}$ 值差值大于 10‰ 的碳酸氢钠分别作为外源碳酸氢根离子的碳同位素标记物, 通过室内双向水培诸葛菜和芥菜型油菜实验, 分别向水培处理液里添加已知 $\delta^{13}\text{C}_{\text{PDB}}$ 值的碳酸氢钠并培养 24 h, 利用同位素比值质谱 (IRMS) 技术, 测定并计算了两个时间、两种环境下的大气二氧化碳稳定碳同位素日平均组成。结果表明: 在环境 1 (不同浓度的 NaHCO_3 处理液) 下所得到的 δ_{Ca} 值与添加到处理液中的碳酸氢根离子的浓度有关; 在环境 2 (不同浓度的 PEG 处理液) 下所得到的 δ_{Ca} 值与添加到处理液中的 PEG 的浓度无关; 两种环境下所测得的大气二氧化碳稳定碳同位素日平均组成 δ_{Ca} 值与实验中培养的植物种类无关, 而与添加到培养液中碳酸氢根离子的浓度及植物的生长速率有关。数据重现性好, 结果准确可靠, 可以高精度的测定不同待测环境下大气二氧化碳稳定碳同位素比值, 其可为以后监测不同时间、不同地点的大气二氧化碳碳同位素组成及来源提供非常有效的方法和信息。

关键词: 植物; 碳酸酐酶; 大气二氧化碳; 全球气候变化; 稳定碳同位素组成

中图分类号: Q945 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2015)02-0269-04

Determination of the stable carbon isotope composition in atmospheric carbon dioxide based on plants cultured in bidirectional tracers

HANG Hong-Tao^{1,2}, WU Yan-You^{1*}, XIE Teng-Xiang^{1,2}

(1. State Key Laboratory of Environmental Geochemistry, Institute of Geochemistry, Chinese Academy of Sciences, Guiyang 550002, China; 2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: Based on the characteristics that plants can take advantage of carbonic anhydrase enzyme to catalyze the bicarbonate ions into carbon dioxide and water, which can serve as substrates for photosynthesis, two sodium bicarbonate whose $\delta^{13}\text{C}_{\text{PDB}}$ value differences were greater than 10‰ were used as the carbon isotope labeling and to bidirectional water culture *Orychophragmus violaceus* and *Brassica juncea* lasted for 24 h in this study, respectively. The daily mean stable carbon isotope compositions in two different times and environments were investigated and analyzed according to isotope ratio mass spectrometry (IRMS) technique. In particular, Environment 1 represented adding some sodium bicarbonate to solutions to get different concentrations of bicarbonate solution and Environment 2 represented adding some polyethylene glycol to solutions to get different concentrations of PEG solutions. These results showed that δ_{Ca} values in the Environment 1 were related to the concentrations of added exogenous sodium bicarbonate to solution, but these in the En-

收稿日期: 2014-08-20 修回日期: 2014-10-29

基金项目: 国家自然科学基金 (31070365); 国家重点基础研究发展计划项目 (2013CB956701, 2013CB956703); 中国科学院碳汇专项 (XDA05070400)。

作者简介: 杭红涛 (1986-) 男, 博士研究生, 从事环境地球化学研究, (E-mail) hanghongtao86@126.com。

* 通讯作者: 吴沿友, 研究员, 环境地球化学专业, (E-mail) wuyanyou@mail.gyig.ac.cn。

vironment 2 had no significant correlation with PEG concentration in the treatment solution, these results in this study suggested that the daily mean stable carbon isotope composition of atmospheric carbon dioxide had no relationship with the cultured plant species, but was related to the concentration of exogenous bicarbonate ion added to the culture solution and growth rate of the two plants. The data obtained with good reproducibility and reliability, accurately determined the stable carbon isotope composition of atmospheric carbon dioxide in test environments. This study confirmed that the method was a very powerful tool for monitoring the carbon isotope composition and sources of atmospheric carbon dioxide in different times and places for further.

Key words: plants; carbonic anhydrase; atmospheric carbon dioxide; global climate change; stable carbon isotope composition

大气中的二氧化碳(CO_2)在正常空气中的含量仅为 0.03%, 由于交通、取暖、发电等人类活动中化石燃料的广泛应用和土地利用格局的变化, 从工业革命开始到现在, CO_2 浓度增加了 31% (李正华等, 1994; 王明星等, 2000; 李克让, 2002)。在距今一万年到 250 年间, 大气中的 CO_2 浓度非常稳定, 维持在 $260 \sim 280 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ 之间, 这主要是自然界中 CO_2 的吸收和释放较为平衡。但在过去的 250 年中 CO_2 浓度增加到了 $370 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$, 其中大部分增长出现在最近几十年(黄耀, 2006)。诸多因素表明, 人类活动如对植物的肆意破坏及不合理的开发利用化石燃料是大气 CO_2 浓度增加的主要原因。大气中 CO_2 也是引起温室效应的主要气体之一。近年来, 它的日益增加对全球气候变化的影响尤其是全球气温变化引起了全世界的广泛关注。据报道, 工业革命以来全球平均气温增加了 $0.5 \text{ }^\circ\text{C}$, 而由 CO_2 引起的温室效应增加占目前温室效应增加的 $2/3$ (Rodhe, 1990)。为了研究 CO_2 来源及对温室效应贡献的问题, 人类对大气中 CO_2 的关注日趋强烈。由交通、取暖、发电等人类活动中化石燃料燃烧释放的 CO_2 中的碳同位素组成与生物释放、碳酸盐溶蚀以及大气层本身的 CO_2 碳同位素组成各不相同, 这是人们对 CO_2 不同来源认识的先决条件(李正华等, 1994; 陈世莘等, 2002)。大气 CO_2 碳同位素组成会因时间和地点不同而发生一定的变化, 通过监测其浓度变化可以揭示研究区域在过去、现在以及未来 CO_2 的变化趋势, 但却不能明确其变化的原因。

由于 CO_2 气体在正常大气中的含量很低, 一定程度上限制了人们对它的地球化学变化的研究。利用稳定性碳同位素比值的变化, 对待测大气环境 CO_2 来源及组成的相关研究目前很少见有报道。以往测定大气中 CO_2 稳定碳同位素组成的方法主要是收集待测区域的气体, 进行碳同位素的测定(Karim *et al.*, 2011)。这种方法测定时所需样品气体量大, 获得一个碳同位素数据需要采集 50 L 左右的大

气。由于待测区域气体的复杂性以及随时间的可变性, 难以获得具有区域特征的大气 CO_2 稳定碳同位素组成值, 只能获取某些时间点的值, 并且这些值由于大气中气体的复杂性而带来一定程度的测定误差。因此, 针对以往测定空气中 CO_2 稳定碳同位素组成的方法不足, 本研究基于植物不仅能利用大气中 CO_2 进行光合作用, 而且能借助体内碳酸酐酶的催化作用, 催化碳酸氢根离子成 CO_2 和水进行光合作用的特性(吴沿友等, 2011), 采用两种 $\delta^{13}\text{C}$ 值差值大于 10‰ 的碳酸氢钠作为碳同位素标记双向培养诸葛菜和芥菜型油菜, 利用溶解到溶液中的 CO_2 能与碳酸氢根离子发生交换作用(Deuser *et al.*, 1967; Mook *et al.*, 1974), 来建立一种测定待测大气环境下 CO_2 日平均稳定碳同位素组成的方法。

1 材料与方 法

1.1 实验材料

以诸葛菜 (*Orychophragmus violaceus*) 和芥菜型油菜 (*Brassica juncea*) 两种植物为材料。将诸葛菜和芥菜型油菜种子分别在中国科学院地球化学研究所环境生物科学与技术研究中心的温室内的 12 孔穴盘里进行统一萌发。在温度 $25^\circ\text{C}/20^\circ\text{C}$ (昼/夜温度)、相对湿度为 50% ~ 60%、光强 $300 \mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ 及每天光照 12 h 的条件下, 用 $1/2 \times$ 霍格兰营养液正常培养两种植物(Hoagland *et al.*, 1950)。

1.2 植物培养与处理

待两种植物长至 6 片真叶后, 分别用 250 mL, pH 为 8.30 ± 0.05 的处理液代替 $1/2 \times$ 霍格兰营养液来处理两种植物。本研究选择了两个时间点分别对两个待测环境下的诸葛菜和芥菜型油菜进行处理, 每个处理下各随机选择同一生长期的植物, 每个处理分两组, 每组各 3 盆, 具体如表 1 所示。

表 1 两种待测植物的培养条件
Table 1 Conditions for culturing the two tested plants

材料 Material	待测环境 Test environment	处理时间 Processing time	处理类型 Treatment type
诸葛菜 <i>Orychophragmus violaceus</i>	Environment 1	June 7th 2013	NaHCO ₃
	Environment 2	June 24th 2013	Polyethylene glycol 6000
芥菜型油菜 <i>Brassica juncea</i>	Environment 1	June 7th 2013	NaHCO ₃
	Environment 2	June 24th 2013	Polyethylene glycol 6000

注: 聚乙二醇 6000 营养液中添加 10 mmol · L⁻¹ 的碳酸氢钠为碳同位素示踪剂。
Note: 10 mmol · L⁻¹ sodium bicarbonate were added to the nutrient solution of polyethylene glycol 6000 and used as the carbon isotope tracers.

1.3 碳酸氢钠的选择和培养液中的碳同位素 δ_{Ca} 测定

植物不仅能利用大气中的二氧化碳为原料进行光合作用, 而且也可以通过碳酸酐酶的作用利用储存的碳酸氢根离子为原料进行光合作用(吴沿友等 2011)。基于植物能够利用碳酸氢根离子的特性, 选择两种 δ_{Ca} 值差值大于 10‰ 的碳酸氢钠作为碳同位素示踪剂来识别和定量分析培养植物前后的培养液中的不同碳源成分的变化。

分别于 2013 年 6 月 7 日用含不同浓度的碳酸氢钠的霍格兰营养液(5、10、15 mmol · L⁻¹) 和 6 月 24 日用含不同浓度的聚乙二醇 6000 的霍格兰营养液(1%、2%、4% w/v) 培养两种植物 24 h, 收集培养植物 24 h 后的培养液, 测定其无机碳的稳定碳同位素比值。碳酸氢钠和培养液的 δ¹³C 值在中国科学院地球化学研究所环境国家重点实验室 MAT-252 型质谱仪上测定, 分析结果以 δ¹³C_{PDB} 表示, 简称为 δ¹³C, 表达式如下:

$$\delta^{13}\text{C}(\text{‰}) = \left[\frac{(^{13}\text{C}/^{12}\text{C})_{\text{样品}}}{(^{13}\text{C}/^{12}\text{C})_{\text{标准}}} - 1 \right] \times 1000$$

式中, 测量精度为小于 ±0.1‰。

1.4 大气二氧化碳稳定碳同位素日平均组成 δ_{Ca} 测定

利用二端元模型 $\delta_i = \delta_a - f_{Bi} \delta_a + f_{Bi} \delta_{Ci}$ 来计算 δ_a。这里 δ_i 为培养植物一定时间后培养液中无机碳的 δ¹³C 值, δ_a 为大气中二氧化碳溶解到培养液中无机碳的 δ¹³C 值, δ_{Bi} 为初始培养液中碳酸氢根离子的 δ¹³C 值(即为添加的碳酸氢钠的 δ¹³C 值), f_{Bi} 为培养植物一定时间后培养液中外源添加的碳酸氢根离子占培养液中总无机碳的份额。很显然, 必须知道 δ_{Bi}, δ_i 和 f_{Bi} 方可求出 δ_a。因此, 本研究以双向稳定碳同位素标记技术来估算 δ_a。将测得的碳酸氢钠的 δ¹³C 值(δ_{C1} 和 δ_{C2}) 和培养植物 24 h 后培养液中无机碳的 δ¹³C 值(δ₁ 和 δ₂) 分别带入上述二端元模型, 这里 f_{B1} = f_{B2} = f_B, 通过换算方程为 δ_a = (δ₁δ_{C2} - δ₂

$$\delta_{C1}) / (\delta_1 + \delta_{C2} - \delta_2 - \delta_{C1})。$$

将计算的 δ_a 值带入方程 $\delta_{Ca} = (\delta_a + \Delta_{\text{CO}_2(\text{air}) - \text{HCO}_3^-(\text{aq})})$, 计算出大气二氧化碳日平均稳定碳同位素组成 δ_{Ca} 值。溶解到溶液中的二氧化碳会发生碳同位素分馏, 当有植物的参与, 会加快这种过程(Mook *et al.*, 1974; Marion *et al.*, 1981)。本研究中的实验材料生长旺盛, 能够快速利用添加的碳酸氢根离子, 并且将其充当碳源来弥补因植物的快速生长而大气 CO₂ 的供应不足。类似于 Mook *et al.* (1974) 研究二氧化碳快速去除的结果, 因此, 在本研究中大气 CO₂ 溶解到溶液中发生碳同位素分馏 ($\Delta_{\text{CO}_2(\text{air}) - \text{HCO}_3^-(\text{aq})}$) 为 1.1‰ (Mook *et al.*, 1974; 吴沿友等 2011), 上述方程 $\delta_{Ca} = (\delta_a + \Delta_{\text{CO}_2(\text{air}) - \text{HCO}_3^-(\text{aq})})$ 即变为 $\delta_{Ca} = \delta_a + 1.1\text{‰}$ 。

2 结果与分析

2.1 待测环境 1 的 δ_{Ca} 值测定

两种 NaHCO₃ 及不同浓度的 NaHCO₃ (5、10、15 mmol · L⁻¹) 的霍格兰营养液培养两种植物 24h 后的培养液中无机碳的 δ¹³C 值, 结果如表 2 所示。

从表 2 可以看出, 用不同浓度的 NaHCO₃ (5、10、15 mmol · L⁻¹) 的霍格兰营养液培养两种植物所计算的 δ_{Ca} 值波动较大 (-3.17‰ ~ -12.44‰)。对于这两种植物, 随着霍格兰营养液中 NaHCO₃ 浓度升高, 所计算的 δ_{Ca} 值均逐渐偏正。霍格兰营养液中 NaHCO₃ 浓度为 5 和 10 mmol · L⁻¹ 时计算的 δ_{Ca} 值较为接近, 相差绝对值小于 1‰, 而在 15 mmol · L⁻¹ 时所计算的 δ_{Ca} 值比 5 和 10 mmol · L⁻¹ 所计算的结果差异较大。这与快速生长阶段的植物利用碳酸氢根离子的能力及溶液中碳酸氢根离子的浓度有关(Wu *et al.*, 2012)。随着溶液中碳酸氢根离子的浓度升高, 外源碳酸氢根离子占溶液中总无机碳的份额 f_B 逐渐增加, 造成大气二氧化碳很难溶解到溶液中与碳酸氢根离子发生交换, 因此 f_B 值偏高时, δ_{Ca} 值偏正, 反之则偏负。两种植物在不同浓度的 NaHCO₃ 处理下所计算的 δ_{Ca} 值也有差异, 这与当时培养两种植物的所在环境位置有关, 诸葛菜生长在温室门口附近, 而芥菜型油菜相对靠内, 因此, 在较小的温室培养空间内, 由于人为的呼吸和植物的呼吸作用对芥菜型油菜影响相对于诸葛菜偏大, 导致两种植物在同一时间培养所计算的 δ_{Ca} 值有差异, 即芥菜型油

菜计算的 δ_{Ca} 值偏负于诸葛菜。

表 2 待测环境 1 的 δ_{Ca} 值
Table 2 Value of δ_{Ca} in Environment 1

材料 Material	C_{NaHCO_3} ($mmol \cdot L^{-1}$)	δ_{C1} PDB (‰)	δ_{C2} PDB (‰)	δ_1 PDB (‰)	δ_2 PDB (‰)	f_B	δ_{Ca} PDB (‰)
诸葛菜	5	-1.53	-28.87	-6.69	-17.57	0.40	-9.00
<i>Orychophragmus violaceus</i>	10	-1.53	-28.87	-4.70	-21.05	0.60	-8.32
	15	-1.53	-28.87	-2.25	-22.40	0.74	-3.17
	5	-1.53	-28.87	-10.04	-18.01	0.29	-12.44
芥菜型油菜	10	-1.53	-28.87	-6.93	-20.68	0.50	-11.29
<i>Brassica juncea</i>	15	-1.53	-28.87	-2.99	-22.22	0.70	-5.35

注: δ_{C1} , δ_{C2} , δ_1 , δ_2 分别为两种外源碳酸氢钠及含相应的标记物培养植物 24 h 后培养液中的 $\delta^{13}C$ 值。下同。

Note: δ_{C1} , δ_{C2} , δ_1 , δ_2 are the $\delta^{13}C$ value of two kinds of exogenous sodium bicarbonate and the corresponding culture solution after 24 h, respectively. The same below.

2.2 待测环境 2 的 δ_{Ca} 值测定

表 3 表示的是添加不同浓度的聚乙二醇 6000 (PEG 6000) (1%、2%、4% w/v) 霍格兰营养液培养的两种植物 24 h 后计算的大气二氧化碳稳定碳同位素日平均组成 δ_{Ca} 值。从表 3 可以看出, 不同浓度下 PEG 培养的诸葛菜和芥菜型油菜所计算的 δ_{Ca} 值很接近, 并且 PEG 的加入, 使得溶液中外源碳酸氢根离子所占溶液中的份额 f_B 相对在不同 $NaHCO_3$ 浓度下所计算的值较小。这表明植物遭遇 PEG 胁迫时, 导致叶片气孔部分关闭, 体内碳酸酐酶活力上升, 加快了对碳酸氢根离子的利用, 进而导致植物对外源碳酸氢根离子的利用份额的增加 (Xing *et al.*, 2012)。 f_B 值是一个累积指标, 可以反映植物在受胁迫期间对不同碳源的利用情况。两种植物的 f_B 值和 δ_{Ca} 值都很一致, 而且不同浓度的 PEG 处理间的结果变异较小 (-13.63‰ ~ -15.43‰), 平均值为 -14.62‰, 这可反映出培养的植物种类与遭受 PEG 胁迫的程度对测定无机碳无显著影响。

表 3 待测环境 2 的 δ_{Ca} 值
Table 3 Value of δ_{Ca} in Environment 2

材料 Material	C_{PEG} (w/v) (%)	δ_{C1} PDB (‰)	δ_{C2} PDB (‰)	δ_1 PDB (‰)	δ_2 PDB (‰)	f_B	δ_{Ca} PDB (‰)
诸葛菜	1	-1.53	-28.87	-12.04	-19.38	0.27	-14.80
<i>Orychophragmus violaceus</i>	2	-1.53	-28.87	-11.48	-18.21	0.25	-13.63
	4	-1.53	-28.87	-11.28	-20.85	0.35	-15.43
	1	-1.53	-28.87	-11.84	-19.28	0.27	-14.69
芥菜型油菜	2	-1.53	-28.87	-13.45	-17.81	0.16	-14.61
<i>Brassica juncea</i>	4	-1.53	-28.87	-11.70	-19.34	0.28	-14.54

注: 培养液中均添加了 $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的碳酸氢钠。

Note: $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ sodium bicarbonate were added to every culture solution respectively.

3 结论

植物不仅能利用 CO_2 进行光合作用, 而且能借助碳酸酐酶催化碳酸氢根离子进行光合作用。本研究基于植物利用碳酸氢根离子的特性获取两个待测环境下大气 CO_2 日平均稳定碳同位素组成。两个独立实验测定的 δ_{Ca} 值与培养的植物种类无关, 与添加的聚乙二醇 6000 的浓度也无关, 而与培养植物的培养液中添加的碳酸氢根离子浓度有关。在碳酸氢根离子培养的实验中, 不同浓度的 $NaHCO_3$ 所处理的植物而获得的 δ_{Ca} 值变异偏大, 这与当时培养植物的所在环境有关 (在培养的小温室内, 人为呼吸作用、植物的呼吸作用及植物所在位置对实验的测定结果有影响)。整个实验过程中, 只需获取 20 mL 左右的培养液并于同位素质谱仪测定两个待测大气浓度下的 CO_2 同位素比值, 就可借助模型来获得 δ_{Ca} 值, 其实验过程简单, 测定的结果重现性好。本研究建立了一种获取大气二氧化碳日平均稳定碳同位素组成的有效方法, 为今后校正端元模型提供一定的数据支撑, 还可为以后监测不同时间、不同地点的空气 CO_2 碳同位素组成及来源提供非常有效的方法信息。

参考文献:

- Chen SP (陈世苹), Bai YF (白永飞), Han XG (韩兴国). 2002. Applications of stable carbon isotope techniques to ecological research (稳定性碳同位素技术在生态学中的应用) [J]. *Chin J Plant Ecol* (植物生态学报) **26**(5): 549-560
- Deuser WE, Degens ET. 1967. Carbon isotope fractionation in the system CO_2 (gas) - CO_2 (aqueous) - HCO_3^- (aqueous) [J]. *Nature* **215**(5105): 1033-1035
- Huang Y (黄耀). 2006. Emissions of greenhouse gases in china and its reduction strategy (中国的温室气体排放, 减排措施与对策) [J]. *Quatern Sci* (第四纪研究) **26**(5): 722-732
- Hoagland DR, Arnon DI. 1950. The water-culture method for growing plants without soil [J]. *Calif Agric Exp Stn Circ* **347**: 1-32
- Karim A, Dubois K, Veizer J. 2011. Carbon and oxygen dynamics in the Laurentian Great Lakes: Implications for the CO_2 flux from terrestrial aquatic systems to the atmosphere [J]. *Chem Geol* **281**(1-2): 133-141
- Li KR (李克让). 2002. Land use change, Net Emissions of Greenhouse gases and the carbon cycling in terrestrial ecosystems (土地利用变化和温室气体净排放与陆地生态系统碳循环) [M]. Beijing (北京): China Meteorological Press (气象出版社): 25-45
- (下转第 172 页 Continue on page 172)

很少停留访花,这可能与关苍术花并不艳丽,且有一点香气有关。Faegri *et al.* (1979) 认为,蝶类视觉敏锐,但其嗅觉不发达,更热衷于访问色泽鲜艳而气味相对淡的花朵,而蜜蜂更喜欢颜色比较浅且花蜜多的花。

3.3 关苍术的生殖补偿机制

为了生存的需要,生物往往发展出一整套必要的生殖补偿机制,保证物种繁衍的顺利进行(关文灵等 2009)。关苍术的头状花序内小花的开放为外始式,单花序所有小花开放需要 3~4 d 时间。根据花粉活力与柱头可授性检测结果,两性花柱头在开花后 24 h 开始具有可授性,48 h 时柱头可授性进一步加强。这充分说明,当关苍术外围小花开放后,已经通过雄性阶段而正处于雌性阶段,而此时内部小花则正处于雄性阶段,这与彭华胜(彭华胜等, 2007)的结论一致。访花昆虫在单花序上的访问也是由外向内,昆虫来访时携带的花粉正好先处在雌性阶段的外围小花授粉,离开时则携带内部处于雄性阶段小花的花粉。另外,关苍术雌花的柱头比两性花成熟的早,开花当天就具有强的可授性,因此,可以延长能与两性花的雄性阶段相交融的时间,增加柱头授粉的可能性。

关苍术除有性生殖以外,还可通过分株或根茎等营养生殖繁衍后代,这也是一种为保持其种群的繁殖能力的生殖补偿机制之一。

参考文献:

Cruden RW. 1977. Pollen-ovule ratios: A conservative indicator of breeding systems in flowering plants [J]. *Evolution* **31**: 32-46
 Dafni A. 1992. *Pollination Ecology: A Practical Approach* [M]. New York: Oxford University Press
 Ding LW (丁立威). 2012. Production and marketing of *Rhizoma Atractylodis* analysis (苍术产销分析) [J]. *Mod Chin Med* (中国

现代中药) **14**(6): 55-58
 Faegri K, Pijl van der L. 1979. *The principles of pollination ecology* 3rd edition [M]. Oxford: Pergamon Press
 Guan WL (关文灵), Li YF (李叶芳), Chen X (陈贤) *et al.* 2009. Flower structure and biological characteristics of flowering and pollination in *Iris japonica* (蝴蝶花花器结构和开花授粉生物学特性) [J]. *Acta Horti Sin* (园艺学报) **36**(10): 1485-1490
 Guo YH (郭友好), Chen JK (陈家宽), Yang J (杨继) *et al.* 1994. *Pollination Biology and Plant Evolution (传粉生物学与植物进化)* [M]. Wuhan (武汉): Wuhan University Press (武汉大学出版社): 232
 Jiang B (姜波), Shen ZG (沈宗根), Ruan XL (阮仙利) *et al.* 2012. Floral biology and breeding system of *Hypericum perforatum* (贯叶连翘的开花动态与繁育系统研究) [J]. *Guihaia* (广西植物) **32**(4): 457-463
 Liu LD (刘林德), Zhu N (祝宁), Shen JH (申家恒) *et al.* 2002. Comparative studies on floral dynamics and breeding system between *Eleutherococcus senticosus* and *E. sessiliflorus* (刺五加、短梗五加的开花动态及繁育系统的比较研究) [J]. *Acta Ecol Sin* (生态学报) **22**(7): 1041
 Ma SR (马书荣). 2005. A preliminary study of the pollination biology of *Catharanthus roseus* (长春花传粉生物学的研究) [D]. Harbin (哈尔滨): Northeast Forestry University (东北林业大学)
 Nanjing University of Chinese Medicine (南京中医药大学). 2006. *TCM Dictionary (中药大辞典) (上册)* [M]. Shanghai (上海): Shanghai Science and Technology Press (上海科学技术出版社): 1482-1486
 Piao J (朴锦), Wang K (王坤), Fan HM (范慧明) *et al.* 2014. The research of flowering dynamic, flower morphology and pollen viability of *Atractylodes japonica* (关苍术的开花动态、花蕊形态及花粉活力研究) [J]. *Northern Horti* (北方园艺) **12**(315): 142-145
 Peng HS (彭华胜), Wang DQ (王德群). 2007. Study on floral dynamics of *Atractylodes lancea* and *A. macrocephala* (南苍术与野生白术的开花动态研究) [J]. *Res & Pract Chin Med* (现代中药研究与实践) **22**(3): 20-22
 Wang CL (王春亮). 2004. In Inner Mongolia *Rhizoma Atractylodis* origin investigation (内蒙古苍术产地调查) [J]. *Nat Med Inform* (全国药材信息) **8**: 9
 Wyatt R. 1983. *Pollinator-plant interactions and the evolution of breeding systems* [M]. Orlando: Academic Press: 51
 Zhu B (朱波), Yuan H (苑鹤), Yu QX (俞巧仙) *et al.* 2011. Pollen vigor and development of germplasm of *Dendrobium officinale* (铁皮石斛花粉活力与种质创制研究) [J]. *Chin J Chin Mat Med* (中国中药杂志) **36**(6): 755-757

(上接第 272 页 Continue from page 272)

Li ZH (李正华), Liu RM (刘荣谟), An ZS (安芷生). 1994. Evidence from tree-ring $\delta^{13}C$ for the increasing of atmospheric concentration of CO_2 (工业革命以来大气 CO_2 浓度不断增加的树轮稳定碳同位素证据) [J]. *Chin Sci Bull* (科学通报) **39**(23): 2172-2174
 Marion H. O'Leary. 1981. Carbon isotope fractionation in plants [J]. *Phytochem* **20**(4): 553-567
 Mook WJ, Bommerson JC, Staverman WH. 1974. Carbon isotope fractionation between dissolved bicarbonate and gaseous carbon dioxide [J]. *Earth Planet Sci Lett* **22**(2): 169-176
 Rodhe H. 1990. A comparison of the contribution of various gases to the greenhouse effect [J]. *Science* **248**(4960): 1217-1219
 Wang MX (王明星), Zhang RJ (张仁健), Zheng XH (郑循华).

2000. Sources and sinks of green house gases (温室气体的源与汇) [J]. *Clim Environ Res* (气候与环境研究) **5**(1): 75-79
 Wu YY (吴沿友), Xing DK (邢德科), Liu Y (刘莹). 2011. The Characteristics of Bicarbonate Used by Plant (植物利用碳酸氢根离子的特征分析) [J]. *Earth Environ* (地球与环境) **39**(2): 273-277
 Wu YY, Xing DK. 2012. Effect of bicarbonate treatment on photosynthetic assimilation of inorganic carbon in two plant species of Moraceae [J]. *Photosynthetica* **50**(4): 587-594
 Xing DK, Wu YY. 2012. Photosynthetic response of three climber plant species to osmotic stress induced by polyethylene glycol (PEG) 6000 [J]. *Acta Physiol Plant* **34**(5): 1659-1668