



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101926267 B

(45) 授权公告日 2012.01.11

(21) 申请号 201010247881.9

(22) 申请日 2010.08.09

(73) 专利权人 中国科学院地球化学研究所
地址 550002 贵州省贵阳市观水路 46 号

(72) 发明人 吴沿友 邢德科 刘丛强 王宝利
徐莹 梁铮 刘莹

(74) 专利代理机构 贵阳中新专利商标事务所
52100

代理人 吴无惧

(51) Int. Cl.

G01N 33/00(2006.01)

A01G 7/00(2006.01)

审查员 张慧

权利要求书 1 页 说明书 4 页

(54) 发明名称

测定植物利用碳酸氢根离子能力的方法

(57) 摘要

本发明公开了一种测定植物利用碳酸氢根离子能力的方法,它包括以下步骤,第一,分别测定被考察植物与参照植物的叶片的稳定碳同位素组成 $\delta^{13}\text{C}$ 的值;第二,测定微藻的稳定碳同位素组成 $\delta^{13}\text{C}$ 值;第三,将被考察植物叶片的 $\delta^{13}\text{C}$ 值、参照物种的叶片的 $\delta^{13}\text{C}$ 值、微藻的 $\delta^{13}\text{C}$ 值带入二端元模型,计算被考察植物利用的碳酸氢根离子占无机碳源比例份额;第四,测定被考察植物叶片的净光合速率;第五,依据被考察植物叶片的净光合速率和被考察植物利用的碳酸氢根离子占无机碳源比例份额,求出被考察植物利用碳酸氢根离子的能力。本发明能定量测定植物利用碳酸氢根离子的能力,所需植物材料少,采用的步骤少,计算简单。

1. 一种测定植物利用碳酸氢根离子能力的方法,其特征在于:它包括以下步骤,第一,分别测定被考察植物与参照植物的叶片的稳定碳同位素组成 $\delta^{13}\text{C}$ 的值;第二,测定微藻的稳定碳同位素组成 $\delta^{13}\text{C}$ 值;第三,将被考察植物叶片的 $\delta^{13}\text{C}$ 值、参照物种的叶片的 $\delta^{13}\text{C}$ 值、微藻的 $\delta^{13}\text{C}$ 值带入二端元模型,计算被考察植物利用的碳酸氢根离子占无机碳源比例份额;第四,测定被考察植物叶片的净光合速率;第五,依据被考察植物叶片的净光合速率和被考察植物利用的碳酸氢根离子占无机碳源比例份额,求出被考察植物利用碳酸氢根离子的能力;在第三步骤中,计算被考察植物利用的碳酸氢根离子占无机碳源比例份额,是将被考察植物叶片的 $\delta^{13}\text{C}$ 值作为 δ_T ,参照植物的叶片的 $\delta^{13}\text{C}$ 值为 δ_A ,微藻的 $\delta^{13}\text{C}$ 值为 δ_B ,带入二端元模型 $\delta_T = \delta_A - f_B \delta_A + f_B \delta_B$,计算出被考察植物利用的碳酸氢根离子占无机碳源比例份额 f_B ;在第五步骤中,求出被考察植物利用碳酸氢根离子的能力,是将被考察植物第二片完全展开叶的净光合速率 P_n 与 f_B 带入公式 $\text{BBUC} = f_B P_n / (1 - f_B)$ 中,求出该植物利用碳酸氢根离子的能力。

2. 根据权利要求1所述的测定植物利用碳酸氢根离子能力的方法,其特征在于:在第一步骤中,选择碳酸酐酶活力极低的植物做参照植物,将要考察的植物与参照植物的种子播种到所要考察的环境中,待植株生长有4片以上真叶后,分别测定被考察植物与参照植物的第一片完全展开叶的稳定碳同位素组成 $\delta^{13}\text{C}$ 值。

3. 根据权利要求1所述的测定植物利用碳酸氢根离子能力的方法,其特征在于:在第二步骤中,利用被考察植物种子播种的被考察环境的土壤溶液配制营养液,培养微藻,测定微藻的 $\delta^{13}\text{C}$ 值。

4. 根据权利要求3所述的测定植物利用碳酸氢根离子能力的方法,其特征在于:在第二步骤中,是在培养考察植物与参考植物的同时培养微藻,培养时间为两周到五周。

测定植物利用碳酸氢根离子能力的方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种测定植物利用碳酸氢根离子能力的方法,属于生态环境治理领域。

背景技术

[0002] 植物不仅能利用空气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。对喀斯特地区来说,植物利用碳酸氢根离子的能力尤为重要。喀斯特适生植物在遭受喀斯特逆境(岩溶干旱、高钙、pH、重碳酸根离子以及低无机营养等)后,叶片中的碳酸酐酶活力升高,一方面导致气孔导度减小或关闭,减少蒸腾以防止植物进一步脱水,另一方面将细胞内的碳酸氢根离子转化成水和 CO_2 ,以应对因气孔导度减小或关闭造成的水分和 CO_2 的不足,在喀斯特逆境下进行光合碳还原,利用无机碳。植物利用碳酸氢根离子的能力可以成为喀斯特适生植物的一个评价标准。对筛选喀斯特适生植物,利用生物方法来治理和恢复脆弱的喀斯特生态环境具有重要的作用。

[0003] 目前,比较准确地测定植物叶片的光合作用的仪器如Li-6400 便携式光合仪,是采用气体交换法来测量植物光合作用,通过测量流经叶室前后的 CO_2 浓度的变化和湿度变化来计算植物的净光合速率和蒸腾速率,并计算出气孔导度和胞间 CO_2 浓度。但是植物叶片利用碳酸氢根离子进行光合作用不能为Li-6400 便携式光合仪所测得,因为这部分的无机碳源不经过叶室,所以无法用如Li-6400 便携式光合仪这样的仪器测出这部分碳源的光合利用。因此,必须寻找一种方法来获取植物利用碳酸氢根离子的信息。

[0004] 稳定碳同位素的强烈分馏特征是识别植物体无机碳来源的基础。自然界中碳元素有两种稳定同位素: ^{12}C 和 ^{13}C ,它们的天然平均丰度分别为98.89%和1.11%。稳定碳同位素组成通常用 $\delta^{13}\text{C}$ (‰)表示,自然界中 $\delta^{13}\text{C}$ 的变化为-90‰~+20‰。稳定碳同位素的强烈分馏特征有利于识别植物体无机碳来源。质量平衡原理以及同位素混合模型和化学计量学方法,是定量识别植物体内无机碳来源的基础,因此,本发明利用同位素技术结合常规净光合速率的测定来获取植物利用碳酸氢根离子的信息。

发明内容

[0005] 本发明要解决的技术问题是,提供一种测定植物利用碳酸氢根离子能力的方法,以克服现有技术中存在的不能测定植物叶片利用碳酸氢根离子进行光合作用的不足。

[0006] 本发明采取以下技术方案:它包括以下步骤,第一,分别测定被考察植物与参照植物的叶片的稳定碳同位素组成 $\delta^{13}\text{C}$ 的值;第二,测定微藻的稳定碳同位素组成 $\delta^{13}\text{C}$ 值;第三,将被考察植物叶片的 $\delta^{13}\text{C}$ 值、参照物种的叶片的 $\delta^{13}\text{C}$ 值、微藻的 $\delta^{13}\text{C}$ 值带入二端元模型,计算被考察植物利用的碳酸氢根离子占无机碳源比例份额;第四,测定被考察植物叶片的净光合速率;第五,依据被考察植物叶片的净光合速率和被考察植物利用的碳酸氢根离子占无机碳源比例份额,求出被考察植物利用碳酸氢根离子的能力。

[0007] 在第一步骤中,选择碳酸酐酶活力极低的植物做参照植物,将要考察的植物与参照植物的种子播种到所要考察的环境中,待植株生长有4片以上真叶后,分别测定被考察植物与参照植物的第一片完全展开叶的稳定碳同位素组成 $\delta^{13}\text{C}$ 值。

[0008] 在第二步骤中,利用被考察植物种子播种的被考察环境的土壤溶液配制营养液,培养微藻,测定微藻的 $\delta^{13}\text{C}$ 值。

[0009] 在第三步骤中,计算被考察植物利用的碳酸氢根离子占无机碳源比例份额,是将被考察植物叶片的 $\delta^{13}\text{C}$ 值作为 δ_T ,参照植物的叶片的 $\delta^{13}\text{C}$ 值为 δ_A ,微藻的 $\delta^{13}\text{C}$ 值为 δ_B ,带入二端元模型 $\delta_T = \delta_A - f_B \delta_A + f_B \delta_B$,计算出被考察植物利用的碳酸氢根离子占无机碳源比例份额 f_B 。

[0010] 在第五步骤中,求出被考察植物利用碳酸氢根离子的能力。是将被考察植物第二片完全展开叶的净光合速率 P_n 与 f_B 带入公式 $\text{BBUC} = f_B P_n / (1 - f_B)$ 中,求出该植物利用碳酸氢根离子的能力。

[0011] 在第二步骤中,是在培养考察植物与参考植物的同时培养微藻,培养时间为两周到五周。

[0012] 本发明的原理是:利用二端元模型 $\delta_T = \delta_A - f_B \delta_A + f_B \delta_B$ 来计算 f_B 。这里 δ_T 为被考察植物叶片的 $\delta^{13}\text{C}$ 值, δ_A 为基本上不利用碳酸氢根离子作无机碳源、碳酸酐酶活力极低的植物的叶片的 $\delta^{13}\text{C}$ 值, δ_B 为极少利用二氧化碳作碳源,而是以碳酸氢根离子为主要无机碳源的微藻的 $\delta^{13}\text{C}$ 值, f_B 为植物利用的碳酸氢根离子占无机碳源比例份额。通过计算,可以求出 f_B 。根据光合仪如 Li-6400 便携式光合仪测定的光合速率为 P_n ,利用公式 $\text{BBUC} = f_B P_n / (1 - f_B)$ 可测得该植物利用碳酸氢根离子的能力,这里 BBUC 为植物利用碳酸氢根离子的能力。

[0013] 本发明的优点如下:

[0014] 1) 本方法能定量测定植物利用碳酸氢根离子的能力。

[0015] 2) 本方法所需植物材料少,因此占地小。

[0016] 3) 本方法采用的步骤少,计算简单。

具体实施方式

[0017] 本发明的实施例:它包括以下步骤,第一,分别测定被考察植物与参照植物的叶片的稳定碳同位素组成 $\delta^{13}\text{C}$ 的值;第二,测定微藻的稳定碳同位素组成 $\delta^{13}\text{C}$ 值;第三,将被考察植物叶片的 $\delta^{13}\text{C}$ 值、参照物种的叶片的 $\delta^{13}\text{C}$ 值、微藻的 $\delta^{13}\text{C}$ 值带入二端元模型,计算被考察植物利用的碳酸氢根离子占无机碳源比例份额;第四,测定被考察植物叶片的净光合速率;第五,依据被考察植物叶片的净光合速率和被考察植物利用的碳酸氢根离子占无机碳源比例份额,求出被考察植物利用碳酸氢根离子的能力。

[0018] 详细实施过程及内容如下:

[0019] 选择碳酸酐酶活力极低的植物物种做参照,将要考察的植物物种与参照植物物种的种子播种到所要考察的环境中,待植株生长有4片以上真叶后,利用光合仪如 Li-6400 便携式光合仪测定被考察植物第二片完全展开叶的净光合速率 P_n 。随后分别取下被考察植物和参照物种的第一片完全展开叶,置于 60°C 恒温干燥箱中烘干,将上述烘干的样品研磨后,过 0.1 mm 筛,经常规处理后,上同位素质谱仪如同位素质谱仪 MAT252 进

行稳定碳同位素组成 $\delta^{13}\text{C}$ 测定。同时利用被考察环境的土壤溶液配制营养液,培养小球藻三周后,离心收集藻体,烘干,研磨,经常规处理后,上同位素质谱仪如同位素质谱仪 MAT252 进行小球藻稳定碳同位素组成 $\delta^{13}\text{C}$ 的测定。

[0020] 依据二端元模型 $\delta_T = \delta_A - f_B \delta_A + f_B \delta_B$, 计算被考察植物利用的碳酸氢根离子占无机碳源比例份额, 这里 δ_T 为被考察植物叶片的 $\delta^{13}\text{C}$ 值, δ_A 为基本上不利用碳酸氢根离子作无机碳源、碳酸酐酶活力极低的植物的叶片的 $\delta^{13}\text{C}$ 值, δ_B 为极少利用二氧化碳作碳源以碳酸氢根离子为主要无机碳源的微藻的 $\delta^{13}\text{C}$ 值, f_B 为植物利用的碳酸氢根离子占无机碳源比例份额。将上面的被考察植物叶片的 $\delta^{13}\text{C}$ 值作为 δ_T , 参照物种的叶片的 $\delta^{13}\text{C}$ 值为 δ_A , 小球藻的 $\delta^{13}\text{C}$ 值为 δ_B , 带入二端元模型 $\delta_T = \delta_A - f_B \delta_A + f_B \delta_B$, 计算出被考察植物利用的碳酸氢根离子占无机碳源比例份额 f_B 。

[0021] 依据公式 $\text{BBUC} = f_B \text{Pn} / (1 - f_B)$, 算出被考察植物利用碳酸氢根离子的能力, 这里, BBUC 为被考察植物利用碳酸氢根离子的能力, Pn 为被考察植物第二片完全展开叶的净光合速率, f_B 同样为被考察植物利用的碳酸氢根离子占无机碳源比例份额。将被考察植物第二片完全展开叶的净光合速率 Pn 与它利用的碳酸氢根离子占无机碳源比例份额 f_B 带入公式 $\text{BBUC} = f_B \text{Pn} / (1 - f_B)$ 中, 算出该植物利用碳酸氢根离子的能力 BBUC。

[0022] 本实施例中, 取油菜、诸葛菜、构树和桑树与悬铃木的种子播种到喀斯特地区的土壤上。油菜、诸葛菜、构树和桑树是被考察物种, 悬铃木的碳酸酐酶活力用常规 pH 计法无法测出, 证明其碳酸酐酶活力极小, 可作为参照物种。用该地区的土壤溶液配制营养液, 培养小球藻三周后, 用本发明方法, 得出各种植物利用碳酸氢根离子的能力, 如表 1。

[0023] 表 1 几种植物利用碳酸氢根离子的能力的比较

[0024]

	诸葛菜	油菜	构树	桑树
δ_T (%) / (以 PDB 为标准)	-28.34	-31.37	-28.88	-30.25
δ_A (%) / (以 PDB 为标准)	-31.56	-31.56	-31.56	-31.56
δ_R (%) / (以 PDB 为标准)	-22.74	-22.74	-22.74	-22.74
f_B	0.37	0.02	0.30	0.15
P_n ($\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)	7.65	3.89	15.40	16.00
BBUC ($\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)	4.49	0.08	6.60	2.82
备注	δ_T 为被考察植物叶片的 $\delta^{13}\text{C}$ 值, δ_A 为悬铃木的叶片的 $\delta^{13}\text{C}$ 值, δ_R 为小球藻的 $\delta^{13}\text{C}$ 值, f_B 为植物利用的碳酸氢根离子占无机碳源比例份额。 P_n 为被考察植物第二片完全展开叶的净光合速率, BBUC 为被考察植物利用碳酸氢根离子的能力。净光合速率的测定条件为光强 $800 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, 胞间二氧化碳浓度为 $396 \mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ 。温度 $22-23^\circ\text{C}$ 。			

[0025] 从表 1 中可以看出, 构树和诸葛菜的 BBUC 明显地大于桑树和油菜的 BBUC, 这与构树和诸葛菜是喀斯特适生植物的事实是吻合的。尤其是构树, 虽然它的利用二氧化碳的能力小于桑树, 但把 BBUC 加到一起, 可以看出, 构树整碳同化能力明显高于桑树的整碳同化能力, 这是目前的光合仪无法获取的信息。