



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 109444349 B

(45)授权公告日 2020.07.07

(21)申请号 201811599778.3

审查员 陈欣

(22)申请日 2018.12.26

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 109444349 A

(43)申请公布日 2019.03.08

(73)专利权人 中国科学院地球化学研究所

地址 550081 贵州省贵阳市观山湖区林城西路99号

(72)发明人 吴沿友 饶森 吴沿胜 方蕾

苏跃 梁小兵

(74)专利代理机构 贵阳中新专利商标事务所

52100

代理人 刘艳

(51)Int.Cl.

G01N 33/00(2006.01)

权利要求书1页 说明书7页

(54)发明名称

一种测定室内植物代谢水利用份额和实际需水量的方法

(57)摘要

本发明公开了一种测定室内植物代谢水利用份额和实际需水量的方法,属于农作物信息检测技术、生态环境治理以及农作物节水灌溉领域,利用便携式光合仪获取经环境适应后的植物的净光合速率、蒸腾速率,结合利用双向同位素标记技术以及两端元的同位素混合模型,测定了植物对重碳酸盐利用份额的信息。偶联净光合速率、蒸腾速率以及植物代谢水利用信息,即可便捷、精确、可靠地获得室内植物实际水分利用效率和实际需水量,为精确评价植物自身的节水能力和抗旱能力提供科学数据,为高水分利用率的喀斯特适生植物的筛选提供依据,为节水灌溉和水资源可持续利用提供技术支撑。

1. 一种测定室内植物代谢水利用份额和实际需水量的方法,其特征在于:它包括以下步骤:

第一,室内采用同样规格的穴盘水培萌发植物种子,配制培养液培养幼苗至2个月以上,选择生长较为一致的幼苗作为考察植物幼苗;

第二,选择两种 $\delta^{13}\text{C}$ 值差值大于10‰的碳酸氢钠作为同位素标记1和同位素标记2,分别添加到培养液中;

第三,分别用同位素标记1和同位素标记2的培养液同时培养生长一致的2个月龄以上的植物幼苗,每2天更换新的相对应的培养液;

第四,取两次换培养液的中间时段的培养液,分别测定两种同位素标记的、相对应的培养液的稳定碳同位素组成 $\delta^{13}\text{C}$ 的值, $\delta_{\text{NS1}}$ 和 $\delta_{\text{NS2}}$ 值;

第五,从第3天开始,每隔1天测定上午9:00-11:00的植物新枝上的第二展开叶的叶片净光合速率 $P_n$ 和蒸腾速率 $T_r$ 数据;

第六,培养2周以上后,分别测定两种同位素标记的培养液培养的植物的这第一展开叶的稳定碳同位素组成 $\delta^{13}\text{C}$ 的值, $\delta_{\text{T1}}$ 和 $\delta_{\text{T2}}$ ;

第七,依据 $\delta_{\text{NS1}}$ 、 $\delta_{\text{NS2}}$ 、 $\delta_{\text{T1}}$ 以及 $\delta_{\text{T2}}$ 计算出植物重碳酸盐利用份额 $f_B$ ;

第八,依据植物重碳酸盐利用份额 $f_B$ 来获得植物代谢水利用份额 $f_w$ ;

第九,依据在被考察的环境下生长的植物重碳酸盐利用份额 $f_B$ 、净光合速率 $P_n$ 、蒸腾速率 $T_r$ 的数据,获取在被考察的环境下生长的被考察植物的实际水分利用效率 $WUE_a$ ;

第十,依据在被考察的环境下生长的植物代谢水利用份额 $f_w$ 、净光合速率 $P_n$ 、蒸腾速率 $T_r$ ,获取在被考察的环境下生长的被考察植物的实际需水量 $Q$ ;在第五步骤中:所谓植物新枝上的第二展开叶的叶片是依据从上往下的原则,以新枝上刚刚发育完全且完全展开的叶为第一完全展开叶,依次类推;分别为第二完全展开叶、第三完全展开叶;在第九步骤中,在被考察的环境下生长的被考察植物的实际水分利用效率 $WUE_a$ ,计算方法为:

$WUE_a = \frac{P_n}{T_r (1-f_B)}$ ;在第十步骤中:在被考察的环境下生长的被考察植物的实际需水量 $Q$ ,计

算方法为: $Q = \frac{A T_r (1-f_w)}{P_n}$ ,这里的 $A$ 为植物合成1克干物质所蒸腾消耗的水分克数的单位转换数, $A=600$ 。

2. 根据权利要求1所述的一种测定室内植物代谢水利用份额和实际需水量的方法,其特征在于:在第七步骤中:植物重碳酸盐利用份额 $f_B$ 的计算方程为: $f_B = \frac{\delta_{\text{T1}} - \delta_{\text{T2}}}{\delta_{\text{NS1}} - \delta_{\text{NS2}}}$ 。

3. 根据权利要求1所述的一种测定室内植物代谢水利用份额和实际需水量的方法,其特征在于:在第八步骤中:植物代谢水利用份额 $f_w$ 等于植物重碳酸盐利用份额 $f_B$ ,也即: $f_w = f_B$ 。

## 一种测定室内植物代谢水利用份额和实际需水量的方法

### 技术领域

[0001] 本发明涉及一种测定室内植物代谢水利用份额和实际需水量的方法,属于农作物信息检测技术、生态环境治理以及农作物节水灌溉领域。特别是涉及一种获取室内植物代谢水利用份额和实际需水量的方法,可以便捷、精确、可靠地获得室内植物实际水分利用效率和实际需水量,为精确评价植物自身的节水能力和抗旱能力提供科学数据,为高水分利用率的喀斯特适生植物的筛选提供依据,为节水灌溉和水资源可持续利用提供技术支撑。

### 背景技术

[0002] 近年来,众多的实验已经证明,植物不仅能利用大气中的二氧化碳作为底物进行光合作用,而且也可以利用来自于土壤的重碳酸盐进行光合作用。尤其在具有高浓度的重碳酸盐的喀斯特石灰岩地区。植物利用碳酸氢根离子是通过碳酸酐酶将其转化成光合作用的底物水和二氧化碳来实现的,这种来自碳酸氢根离子的无机碳同化不需要通过气孔进入,因此相应地也免去同化这部分无机碳时气孔张开的失水,提高了水分利用率。同时,碳酸氢根离子转化的水,也可以作为代谢水直接参与水的光解,这又进一步提高了水分利用率。碳酸氢根离子转化的水和二氧化碳的化学计量关系为1:1,因此,植物利用碳酸氢根离子的份额也即是利用这种代谢水的份额。

[0003] 需水量(water requirement)又称蒸腾系数(transpiration coefficient),指植物合成1克干物质所蒸腾消耗的水分克数。需水量是一个无量纲数,值越大说明植物需水量越多,水分利用率越低。影响植物需水量的主要因素有:气象条件、植物种类以及土壤性质等。气温高,空气干燥,风速大,植物需水量就大;生长期长、叶面积大、生长速度快、根系发达以及蛋白质或油脂含量高的植物需水量就大;就生产等量的干物质而言,多数C3植物需水量大于C4植物。由于植物本身的生理节水与抗旱能力难以定量,目前常规方法所确定的植物需水量与植物实际需水量有一定的偏差,尤其是当植物利用来自根部吸收的碳酸氢根离子时,会免去一部分的气孔蒸腾失水,减少植物需水量,同化来自根部的碳酸氢根离子时的有机物不需要消耗来自蒸腾作用的水分消耗,因此,在获取植物实际需水量的时候必须考虑这部分不消耗蒸腾水的碳酸氢根离子同化。

[0004] 本发明通过测定经环境适应后的植物的净光合速率、蒸腾速率,结合利用双向同位素标记技术以及两端元的同位素混合模型,测定了植物对重碳酸盐利用份额的信息。偶联净光合速率、蒸腾速率以及植物代谢水利用信息,获得室内植物实际水分利用效率和实际需水量,为精确评价植物自身的节水能力和抗旱能力提供科学数据,为高水分利用率的喀斯特适生植物的筛选提供依据,为节水灌溉和水资源可持续利用提供技术支撑。

### 发明内容

[0005] 本发明要解决的技术问题是,提供一种室内植物代谢水利用份额的方法和植物实际需水量的方法,解决了当前无法定量植物利用来自重碳酸盐转化的代谢水份额的难题,克服了因未考虑植物利用代谢水而节水、表观需水量偏大的缺陷。

[0006] 本发明采取以下技术方案:它包括以下步骤:

[0007] 步骤一,室内采用同样规格的穴盘水培萌发植物种子,配制培养液培养幼苗至2个月以上,选择生长较为一致的幼苗作为考察植物幼苗;

[0008] 步骤二,测定不同厂家生产的碳酸氢钠,选择两种 $\delta^{13}\text{C}$ 值差值大于10‰的碳酸氢钠作为同位素标记1和同位素标记2,分别添加到培养液中;

[0009] 步骤三,分别用同位素标记1和同位素标记2的培养液同时培养生长一致的2个月龄以上的植物幼苗,每2天更换新的相对应的培养液;

[0010] 步骤四,取两次换培养液的中间时段的培养液,分别测定两种同位素标记的、相对应的培养液的稳定碳同位素组成 $\delta^{13}\text{C}$ 的值, $\delta_{\text{NS1}}$ 和 $\delta_{\text{NS2}}$ 值;

[0011] 步骤五,从第3天开始,每隔1天测定上午9:00-11:00的植物新枝上的第二展开叶的叶片净光合速率 $P_n$ 和蒸腾速率 $T_r$ 数据;所谓植物新枝上的第二展开叶的叶片是依据从上往下的原则,以新枝上刚刚发育完全且完全展开的叶为第一完全展开叶,依次类推;分别为第二完全展开叶、第三完全展开叶;

[0012] 步骤六,培养2周以上后,分别测定两种同位素标记的培养液培养的植物的这第一展开叶的稳定碳同位素组成 $\delta^{13}\text{C}$ 的值, $\delta_{\text{T1}}$ 和 $\delta_{\text{T2}}$ ;

[0013] 步骤七,分别将 $\delta_{\text{NS1}}$ 、 $\delta_{\text{NS2}}$ 、 $\delta_{\text{T1}}$ 以及 $\delta_{\text{T2}}$ 带入方程: $f_B = \frac{\delta_{\text{T1}} - \delta_{\text{T2}}}{\delta_{\text{NS1}} - \delta_{\text{NS2}}}$ ,计算出植物重碳酸盐利用份额 $f_B$ ;

[0014] 步骤八,依据植物重碳酸盐利用份额 $f_B$ 来获得植物代谢水利用份额 $f_w$ : $f_w = f_B$ ;

[0015] 步骤九,依据在被考察的环境下生长的植物重碳酸盐利用份额 $f_B$ 、净光合速率 $P_n$ 、蒸腾速率 $T_r$ 的数据,获取在被考察的环境下生长的被考察植物的实际水分利用效率 $\text{WUEa}$ ,

计算方法为: $\text{WUEa} = \frac{P_n}{T_r (1 - f_B)}$ ;

[0016] 步骤十,依据在被考察的环境下生长的植物代谢水利用份额 $f_w$ 、净光合速率 $P_n$ 、蒸腾速率 $T_r$ ,获取在被考察的环境下生长的被考察植物的实际需水量 $Q$ ,计算方法为:

$Q = \frac{A T_r (1 - f_w)}{P_n}$ ,这里的 $A$ 为植物合成1克干物质所蒸腾消耗的水分克数的单位转换数, $A = 600$ 。

[0017] 发明原理

[0018] 稳定碳同位素的强烈分馏特征是识别植物体内不同无机碳源的基础。自然界中碳元素有两种稳定同位素: $^{12}\text{C}$ 和 $^{13}\text{C}$ ,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内不同无机碳来源。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不同无机碳来源的基础。

[0019] 同位素两端元混合模型可以表示为:

[0020]  $\delta_T = \delta_A - f_B \delta_A + f_B \delta_B$  (1)

[0021] 这里 $\delta_T$ 为被考察植物叶片的 $\delta^{13}\text{C}$ 值, $\delta_A$ 为假定植物利用大气二氧化碳为唯一碳源时叶片的 $\delta^{13}\text{C}$ 值, $\delta_B$ 为假定植物完全利用外源的碳酸氢根离子为唯一碳源时叶片的 $\delta^{13}\text{C}$ 值, $f_B$ 为该考察植物利用外源添加的碳酸氢根离子占植物利用总无机碳源的份额。

[0022] 很显然,只知道 $\delta_T$ 很难求出 $f_B$ ,因此,本发明采用双向碳同位素标记法利用两种具

有较大差异的 $\delta^{13}\text{C}$ 值碳酸氢根离子分别同时培养生长一致的植物,以稳定碳同位素双向标记来识别植物利用不同无机碳源的份额。

[0023] 由于本发明是利用添加两种具有较大差异的 $\delta^{13}\text{C}$ 值碳酸氢根离子(同位素标记1和同位素标记2)分别同时培养生长一致的植物,植物生长所需要的无机碳源只包括大气二氧化碳和添加在培养液中的碳酸氢根离子两种无机碳源,因此,本发明的原理如下:

[0024] 两端元的同位素混合模型:

$$[0025] \quad \delta_T = \delta_A - f_B \delta_A + f_B \delta_B \quad (1)$$

[0026] 对于同位素标记1来说,方程(1)表示如下式:

$$[0027] \quad \delta_{T1} = \delta_{A1} - f_{B1} \delta_{A1} + f_{B1} \delta_{B1} \quad (2)$$

[0028] 这里 $\delta_{T1}$ 为用第一种已知 $\delta^{13}\text{C}$ 值的碳酸氢根离子培养的植物叶片的 $\delta^{13}\text{C}$ 值, $\delta_{A1}$ 为假定为植物完全利用二氧化碳为唯一碳源时叶片的 $\delta^{13}\text{C}$ 值, $\delta_{B1}$ 为假定为植物完全利用第一种已知 $\delta^{13}\text{C}$ 值的碳酸氢根离子为唯一碳源时叶片的 $\delta^{13}\text{C}$ 值, $f_{B1}$ 为该考察植物利用外源添加的第一种碳酸氢根离子占植物利用的总碳源的份额。

[0029] 对于同位素标记2来说,方程(1)表示如下式:

$$[0030] \quad \delta_{T2} = \delta_{A2} - f_{B2} \delta_{A2} + f_{B2} \delta_{B2} \quad (3)$$

[0031] 这里 $\delta_{T2}$ 为用第二种已知 $\delta^{13}\text{C}$ 值的碳酸氢根离子培养的植物叶片的 $\delta^{13}\text{C}$ 值, $\delta_{A2}$ 为假定为植物完全利用二氧化碳为唯一碳源时叶片的 $\delta^{13}\text{C}$ 值, $\delta_{B2}$ 为假定为植物完全利用第二种已知 $\delta^{13}\text{C}$ 值的碳酸氢根离子为唯一碳源时叶片的 $\delta^{13}\text{C}$ 值, $f_{B2}$ 为该考察植物利用外源添加的第二种碳酸氢根离子占植物利用的总碳源的份额。

[0032] (2)和(3)两个方程中 $\delta_{A1} = \delta_{A2}$ , $f_B = f_{B1} = f_{B2}$ ,联立求解

$$[0033] \quad f_B = \frac{\delta_{T1} - \delta_{T2}}{\delta_{B1} - \delta_{B2}} \quad (4)$$

[0034] (4)式中 $\delta_{B1} - \delta_{B2}$ 则可以换算成同位素标记1的培养液的碳酸氢根离子的 $\delta^{13}\text{C}$ 值 $\delta_{NS1}$ 与同位素标记2的培养液的碳酸氢根离子的 $\delta^{13}\text{C}$ 值 $\delta_{NS2}$ 的差,则(4)式变为:

$$[0035] \quad f_B = \frac{\delta_{T1} - \delta_{T2}}{\delta_{NS1} - \delta_{NS2}} \quad (5)$$

[0036] 因此,可以通过测定同位素标记1的培养液的碳酸氢根离子的 $\delta^{13}\text{C}$ 值 $\delta_{CS1}$ 与同位素标记2的培养液的碳酸氢根离子的 $\delta^{13}\text{C}$ 值 $\delta_{NS2}$ ,同时测定用对应的标记的碳酸氢根离子培养的植物叶片的 $\delta^{13}\text{C}$ 值,即测定出的 $\delta_{T1}$ 和 $\delta_{T2}$ 值,依(5)式计算出植物利用碳酸氢根离子也即重碳酸盐份额 $f_B$ 。这里的是植物利用碳酸氢根离子也即重碳酸盐份额 $f_B$ 不仅包括了添加的碳酸氢根离子,而且也包括空气的无机碳转换成的碳酸氢根离子的利用;因为两种同位素标记的、相对应的培养液的稳定碳同位素组成 $\delta^{13}\text{C}$ 的值是取两次换培养液的中间时段的培养液分别测定的,两次换培养液的中间时段恰恰可以代表中间平均状态,不仅考虑了添加的碳酸氢根离子,而且考虑了空气的无机碳转换成的碳酸氢根离子,甚至还使不同同位素差异吸收对培养液的改造影响加以抹去。

[0037] 植物不仅能利用大气中的二氧化碳作为底物进行光合作用,而且也可以利用来自于根部吸收的重碳酸盐进行光合作用。植物利用碳酸氢根离子是通过碳酸酐酶将其转化成光合作用的底物水和二氧化碳来实现的,这种来自碳酸氢根离子的无机碳同化不需要通过气孔进入,因此相应地也免去同化这部分无机碳时气孔张开的失水,提高了水分利用率。同

时,碳酸氢根离子转化的水,也可以作为代谢水直接参与水的光解,这又进一步提高了水分利用率。碳酸氢根离子转化的水和二氧化碳的化学计量关系为1:1,因此,植物利用碳酸氢根离子的份额 $f_B$ 是利用这种代谢水的份额 $f_w$ 。

[0038] 植物的水分利用效率通常被认为是净光合速率 $P_n$ 与蒸腾速率 $T_r$ 的比值。这是未考虑到植物利用来自根部的碳酸氢根离子。这必然低估了消耗单位水分所同化的无机碳量,也必然高估了产生单位有机碳所消耗的水量。因此,加入植物同化碳酸氢根离子的无机碳总同化量,植物的实际水分利用效率 $WUE_a$ 则为:  $WUE_a = \frac{P_n}{T_r (1-f_B)}$ 。同样,考虑植物代谢水的

补充作用,植物的实际需水量 $Q$ 则为:  $Q = \frac{A T_r (1-f_w)}{P_n}$ ,这里的 $A$ 为植物合成1克干物质所蒸腾消耗的水分克数的单位转换数,  $A = \frac{18 \times 1000}{30} = 600$ 。

[0039] 本发明的优点如下:

[0040] 1) 本发明不仅能够获取室内植物对重碳酸盐的利用份额,而且也可以获取室内植物代谢水利用份额。

[0041] 2) 本发明不仅能够获取室内植物的实际水分利用效率,而且还可以获取植物的实际需水量。

[0042] 3) 本方法由于取两次换培养液的中间时段的培养液稳定碳同位素组成 $\delta^{13}C$ 的值,考虑了空气中的二氧化碳转换的碳酸氢根离子的利用,因此,获取的植物对重碳酸盐和代谢水利用份额的数据更为便捷、精确、可靠。

[0043] 4) 本发明考虑了植物培养在新环境过程中,需要一段时间的适应,因此去掉培养的前两天的净光合速率和蒸腾速率数据,能够更加精确测定植物的实际需水量,为精确评价植物自身的节水能力和抗旱能力提供科学数据。

[0044] 5) 本发明还可为高水分利用率的喀斯特适生植物的筛选提供依据,为节水灌溉和水资源可持续利用提供技术支撑。

## 具体实施方式

[0045] 本发明的实施例:它包括以下步骤,

[0046] 本发明采取以下技术方案:它包括以下步骤:

[0047] 步骤一,室内采用同样规格的穴盘水培萌发植物种子,配制培养液培养幼苗至2个月以上,选择生长较为一致的幼苗作为考察植物幼苗;

[0048] 步骤二,测定不同厂家生产的碳酸氢钠,选择两种 $\delta^{13}C$ 值差值大于10‰的碳酸氢钠作为同位素标记1和同位素标记2,分别添加到培养液中;

[0049] 步骤三,分别用同位素标记1和同位素标记2的培养液同时培养生长一致的2个月龄以上的植物幼苗,每2天更换新的相对应的培养液;

[0050] 步骤四,取两次换培养液的中间时段的培养液,分别测定两种同位素标记的、相对应的培养液的稳定碳同位素组成 $\delta^{13}C$ 的值, $\delta_{NS1}$ 和 $\delta_{NS2}$ 值;

[0051] 步骤五,从第3天开始,每隔1天测定上午9:00-11:00的植物新枝上的第二展开叶的叶片净光合速率 $P_n$ 和蒸腾速率 $T_r$ 数据;所谓植物新枝上的第二展开叶的叶片是依据从上往下的原则,以新枝上刚刚发育完全且完全展开的叶为第一完全展开叶,依次类推;分别为

第二完全展开叶、第三完全展开叶；

[0052] 步骤六，培养2周以上后，分别测定两种同位素标记的培养液培养的植物的这第一展开叶的稳定碳同位素组成 $\delta^{13}\text{C}$ 的值， $\delta_{\text{T1}}$ 和 $\delta_{\text{T2}}$ ；

[0053] 步骤七，分别将 $\delta_{\text{NS1}}$ 、 $\delta_{\text{NS2}}$ 、 $\delta_{\text{T1}}$ 以及 $\delta_{\text{T2}}$ 带入方程： $f_{\text{B}} = \frac{\delta_{\text{T1}} - \delta_{\text{T2}}}{\delta_{\text{NS1}} - \delta_{\text{NS2}}}$ ，计算出植物重碳酸盐利用份额 $f_{\text{B}}$ ；

[0054] 步骤八，依据植物重碳酸盐利用份额 $f_{\text{B}}$ 来获得植物代谢水利用份额 $f_{\text{w}}$ ： $f_{\text{w}} = f_{\text{B}}$ ；

[0055] 步骤九，依据在被考察的环境下生长的植物重碳酸盐利用份额 $f_{\text{B}}$ 、净光合速率 $P_{\text{n}}$ 、蒸腾速率 $T_{\text{r}}$ 的数据，获取在被考察的环境下生长的被考察植物的实际水分利用效率 $\text{WUEa}$ ，

计算方法为： $\text{WUEa} = \frac{P_{\text{n}}}{T_{\text{r}}(1-f_{\text{B}})}$ ；

[0056] 步骤十，依据在被考察的环境下生长的植物代谢水利用份额 $f_{\text{w}}$ 、净光合速率 $P_{\text{n}}$ 、蒸腾速率 $T_{\text{r}}$ ，获取在被考察的环境下生长的被考察植物的实际需水量 $Q$ ，计算方法为：

$Q = \frac{A T_{\text{r}}(1-f_{\text{w}})}{P_{\text{n}}}$ ，这里的 $A$ 为植物合成1克干物质所蒸腾消耗的水分克数的单位转换数， $A = 600$ 。

[0057] 详细实施过程及内容如下：

[0058] 本次实验在中国科学院地球化学研究所人工气候室展开。人工气候室长宽高分别为10、5、4米。气候室由金卤灯(HPI-T400W/645, 飞利浦, 荷兰)提供光源, 立式空调调节室内温度, 两个定时开关的排气扇调节室内外的气体交换。喜树种子采自本研究所附近的母树。大小均一饱满的种子用75%乙醇杀菌1分钟然后用纯水清洗三次。把常温浸泡2天的种子放在托盘, 盖上一层湿润珍珠岩, 在昼夜室温25/19°C和55-60%相对湿度环境下培养两周, 等待萌发。待大部分种子萌发, 转移至光照条件为 $500 \pm 23 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , 光周期为16/8h的昼夜光照条件下继续培养。每隔3天用1/2倍的霍格兰营养液浇灌幼苗。等幼苗生长76天后, 随机选取长势均一的健康幼苗移栽到大孔育苗穴盘中。塑料穴盘尺寸为19.5×14.5×5.6cm(长×宽×高)。穴盘下放置配套的托盘, 每个穴盘都有若干小孔用于排水。穴盘培养基质为体积比1:3的珍珠岩和蛭石均匀混合物。

[0059] 本实验处理由双因素6处理组成, 即2组同位素标记和3种程度水分胁迫。标记处理分为相对较高(H)和相对较低(L)自然丰度 $^{13}\text{C}$ 的两组 $\text{NaHCO}_3$ ,  $\delta^{13}\text{C}$ 值分别为-9.76‰(H)和-26.78‰(L)。标记物样品筛选自不同生产厂家不同批次的普通 $\text{NaHCO}_3$ 药品。高丰度标记组(H)与很多自然环境下石灰土里重碳酸盐的 $\delta^{13}\text{C}$ 值变化范围(-7至-14‰)比较接近。两个标记组均包含三个水分胁迫亚处理: 正常浇水(well-water, WW), 中度胁迫(moderate stress, MS)和严重胁迫(severe stress, SS)。本实验采用聚乙二醇(PEG 6000)诱发水分胁迫。对于WW、MS和SS处理, PEG在处理液中的添加量分别为0, 100, 200g/L, 相应的水势分别为-0.01, -0.2和-0.6Mpa。每个穴盘都根据实验处理分别加入不同PEG含量的改性霍格兰营养液。处理液pH调至 $8.3 \pm 0.2$ , 可保持在此范围 $\text{HCO}_3^-$ 的含量最多。每两天换培养液一次。取两次换培养液的中间时段的培养液, 分别测定两种同位素标记的、相对应的培养液的稳定碳同位素组成 $\delta^{13}\text{C}$ 的值,  $\delta_{\text{NS1}}$ 和 $\delta_{\text{NS2}}$ 值, 如表1, 培养2周以后, 第15天分别测定两种同位素标记的培养液培养的植物的这第一展开叶的稳定碳同位素组成 $\delta^{13}\text{C}$ 的值,  $\delta_{\text{T1}}$ 和 $\delta_{\text{T2}}$ , 如表1; 利用分别将 $\delta_{\text{NS1}}$ 、 $\delta_{\text{NS2}}$ 、 $\delta_{\text{T1}}$ 以及 $\delta_{\text{T2}}$ , 计算出植物重碳酸盐利用份额 $f_{\text{B}}$ , 如表1。

[0060] 此外,从第3天开始,每隔1天测定上午9:00-11:00的植物新枝上的第二展开叶的叶片净光合速率Pn和蒸腾速率Tr数据;如表2。依据植物重碳酸盐利用份额 $f_B$ ,来获得植物同化总无机碳速率TPn,如表2。依据植物重碳酸盐利用份额 $f_B$ 来获得植物代谢水利用份额 $f_w$ ;如表3,分别依据在被考察的环境下生长的植物代谢水利用份额 $f_w$ 、净光合速率Pn、蒸腾速率Tr的数据,获取在被考察的环境下生长的被考察植物的表观水分利用效率WUEi、实际水分利用效率WUEa和实际需水量Q,如表3。

[0061] 表1不同水分胁迫下喜树重碳酸盐利用份额 $f_B$

同位素标记	处理	培养液 $\delta^{13}\text{C-HCO}_3^-$ $\delta_{\text{NS1}}/\delta_{\text{NS2}} (\text{‰})$	$\delta_{\text{T1}}/\delta_{\text{T2}}$ (‰)	$f_B$ %
-26.78‰	$WW_L$	-23.71	-36.89	12.6
	$MS_L$	-23.49	-34.42	18.7
	$SS_L$	-22.83	-34.69	16.6
-9.76‰	$WW_H$	-15.78	-35.89	12.6
	$MS_H$	-15.31	-32.89	18.7
	$SS_H$	-14.82	-33.36	16.6

[0063] 表2不同水分胁迫下喜树净光合速率Pn ( $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ )、蒸腾速率Tr ( $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$ )、总无机碳同化速率TPn ( $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ )

处理天数	WW( $f_B=12.6\%$ )			MS( $f_B=18.7\%$ )			MS( $f_B=16.6\%$ )		
	Pn	Tr	TPn	Pn	Tr	TPn	Pn	Tr	TPn
3	4.37	1.16	5.00	3.8	0.50	4.67	1.87	0.24	2.24
5	3.96	1.34	4.53	3.46	0.51	4.26	1.35	0.18	1.62
7	4.62	1.74	5.29	5.29	0.88	6.51	1.55	0.25	1.86
9	4.24	1.08	4.85	3.82	0.4	4.70	1.6	0.16	1.92
11	4.18	0.69	4.78	2.88	0.32	3.54	1.7	0.18	2.04
13	5.01	1.28	5.73	3.95	0.59	4.86	1.71	0.22	2.05
15	3.86	0.77	4.42	3.03	0.36	3.73	1.2	0.16	1.44
平均	4.32	1.15	4.94	3.75	0.51	4.61	1.57	0.20	1.88

[0065] 表3不同水分胁迫下喜树代谢水利用份额 $f_w$ 、表观水分利用效率WUEi、实际水分利用效率WUEa和实际需水量Q



处理 天数	WW( $f_w=12.6\%$ )			MS( $f_w=18.7\%$ )			MS( $f_w=16.6\%$ )		
	WUEi	WUEa	Q	WUEi	WUEa	Q	WUEi	WUEa	Q
3	3.95	4.52	132.74	7.91	9.73	61.66	7.81	9.36	64.10
5	3.03	3.47	172.91	6.85	8.43	71.17	7.75	9.29	64.59
7	2.74	3.14	191.08	6.16	7.58	79.16	6.07	7.28	82.42
9	4.06	4.65	129.03	9.76	12.00	50.00	10.25	12.29	48.82
11	6.52	7.46	80.43	9.47	11.65	51.50	10.21	12.24	49.02
13	3.93	4.50	133.33	7.11	8.75	68.57	7.65	9.17	65.43
15	5.13	5.87	102.21	8.51	10.47	57.31	7.77	9.32	64.38
	4.19	4.80	134.54	7.97	9.80	62.77	8.22	9.85	62.68

[0067] 本发明的实施效果如下：

[0068] 从表2的结果可以看出，随着水分胁迫的加深，净光合速率和蒸腾速率逐渐下降。但是，中度水分胁迫的总无机碳同化速率与对照差异不大。从表3的结果可以看出，水分胁迫下，植物的水分利用率大大增加，但是中度水分胁迫与重度水分胁迫时实际水分利用效率和实际需水量，差异不大。综合表2和表3可以看出，喜树适应中度干旱环境，以微弱的光合速率下降，大力增加水分利用效率，大大减少需水量来应对中度干旱。而中度干旱与岩溶干旱较相似，喜树以较少的需水量来应对较长时间的中度干旱，表现出很好的喀斯特适生性，这与实际情况相符的。