



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 105067772 B

(45)授权公告日 2016.09.21

(21)申请号 201510482616.1

(51)Int.Cl.

(22)申请日 2015.08.10

G01N 33/00(2006.01)

(65)同一申请的已公布的文献号

审查员 陈永婧

申请公布号 CN 105067772 A

(43)申请公布日 2015.11.18

(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 杭红涛 王瑞 张开艳

姚凯 饶森 陆叶 赵丽华 刘莹

谢腾祥 刘从强 王宝利

(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

权利要求书1页 说明书10页

(54)发明名称

一种测定植物总光合碳同化能力的方法

(57)摘要

本发明公开了一种测定植物总光合碳同化能力的方法。利用双向同位素标记技术以及两端的同位素混合模型,测定了植物对外源添加的碳酸氢根离子的利用份额以及对来自大气二氧化碳溶解形成的碳酸氢根离子利用份额,利用光合仪测定了被考察植物对大气二氧化碳的光合同化能力,最终获取了植物总光合碳同化能力。本发明不但测得了植物对外源添加的碳酸氢根离子的利用能力,而且也测得了植物对来自大气二氧化碳溶解形成的碳酸氢根离子利用能力,同时还排除了老“碳”对测定结果的影响,因此,测得的植物总碳同化能力数据可靠,结果精度高。

1.一种测定植物总光合碳同化能力的方法,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,其值分别为 δ_{C1} 和 δ_{C2} ,分别添加到培养液中;同位素标记1的培养液中碳酸氢根离子的 $\delta^{13}\text{C}$ 值为 $\delta_{\text{C1},0}$,同位素标记2培养液中碳酸氢根离子的 $\delta^{13}\text{C}$ 值为 $\delta_{\text{C2},0}$;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个月以上月龄的植物幼苗,每天更换新的相对应的培养液;第四,培养开始即培养第0天测定被考察植物第一展开叶的叶面积 LA_0 ;1天后换新培养液之前,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, δ_{NS1} 和 δ_{NS2} 值;第五,培养7天后测定被考察植物的这第一展开叶的叶面积 LA_7 ,随后,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, δ_{T1} 和 δ_{T2} ;第六,利用上述测得数据,计算出植物利用总碳酸氢根离子的份额 f_b ;第七,测定被考察植物叶片的净光合速率 P_N ,即为植物对大气二氧化碳的光合同化能力;第八,通过测得的净光合速率值 P_N 和计算的植物利用总碳酸氢根离子份额 f_b 计算植物对总碳酸氢根离子的光合同化能力;第九,把测得的植物对大气二氧化碳的光合同化能力 P_N 和测得的植物对总碳酸氢根离子的光合同化能力 BUC 代入方程 $P_N' = P_N + \text{BUC}$,计算植物总碳同化能力 P_N' ;步骤六中:分别将 δ_{C1} 、 δ_{C2} 、 $\delta_{\text{C1},0}$ 、 $\delta_{\text{C2},0}$ 、 δ_{T1} 、 δ_{T2} 、 δ_{NS1} 、 δ_{NS2} 、 LA_0 、 LA_7 带入方程

$$f_B = \frac{\delta_{\text{T1}} - \delta_{\text{T2}}}{\delta_{\text{C1}} - \delta_{\text{C2}}}, f_{\text{BNS}} = \frac{\delta_{\text{NS1}} - \delta_{\text{NS2}}}{\delta_{\text{C1},0} - \delta_{\text{C2},0}}, f_{\text{LA}} = \frac{\text{LA}_7 - \text{LA}_0}{\text{LA}_0}, f_b = \frac{2f_B}{f_{\text{LA}} + f_{\text{LA}}f_{\text{BNS}}},$$

计算出植物利用总碳酸氢根离子的份额 f_b ;其中 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, f_{LA} 为被考察植物叶片在培养一定时间内有机碳的增加比例, f_{BNS} 为培养液培养植物一定时间后外源添加的碳酸氢根离子占培养液总无机碳源的份额。

2.根据权利要求1所述的一种测定植物总光合碳同化能力的方法,其特征在于:步骤八中:把测得的净光合速率值 P_N 和计算的植物利用总碳酸氢根离子份额 f_b 代入方程

$$\text{BUC} = \frac{P_N f_b}{1 - f_b},$$

计算植物对总碳酸氢根离子的光合同化能力。

一种测定植物总光合碳同化能力的方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种测定植物总光合碳同化能力的方法,属于生态环境系统监测、治理与修复领域。

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中的储存在叶片的碳酸氢根离子为底物进行光合作用。尤其在具有高浓度的碳酸氢根离子的喀斯特石灰岩地区,仅用基于测定大气二氧化碳通量的光合仪来测定植物的无机碳同化能力,严重地低估了喀斯特地区植物的生产力。鉴于植物对碳酸氢根离子的利用能力不容忽视,因此,准确测定植物对不同外源无机碳源的利用份额,测定包括二氧化碳和碳酸氢根离子同化在内的总光合碳同化能力,对正确评估植物的生产力,筛选高生产力的喀斯特适生植物品种,用喀斯特适生植物来治理和恢复脆弱的喀斯特生态环境具有重要的作用。

[0003] 稳定碳同位素技术已经成功地应用到生态学等领域,目前测定植物的碳酸氢根离子的利用能力用双向碳同位素标记法,通过添加碳同位素双向标记的碳酸氢根离子到培养液中可以获取植物对外源添加的碳酸氢根离子的利用份额。但是大气中的二氧化碳,也可以溶解到培养液中生成碳酸氢根离子,这部分碳酸氢根离子也可以被植物利用。植物总的碳酸氢根离子利用份额是植物对外源添加的碳酸氢根离子的利用份额与植物对来自大气二氧化碳溶解形成的碳酸氢根离子利用份额之和。而目前还未见到过植物对来自大气二氧化碳溶解形成的碳酸氢根离子利用份额的定量报道。植物总光合碳同化能力包括植物对大气二氧化碳的同化能力和植物对来自根部吸收的碳酸氢根离子的同化能力。鉴于植物总的碳酸氢根离子利用份额测定的复杂性,致使目前没有一种方法来测定植物总光合碳同化能力。本发明则公开了一套测定植物总光合碳同化能力的方法,以克服先前有关方法的诸多弊病和缺陷。

发明内容

[0004] 本发明要解决的技术问题是,提供一种测定植物总碳同化能力的方法,以克服现有技术中缺乏植物对来自大气二氧化碳溶解形成的碳酸氢根离子利用份额的定量以及未考虑老“碳”对测定结果的影响的不足,解决了现有技术中因未精确测定植物碳同化能力而严重低估生产力的测定难题。

[0005] 本发明采取以下技术方案: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,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,其值分别为 δ_{C1} 和 δ_{C2} ,分别添加到培养液中;同位素标记1的培养液中碳酸氢根离子的 $\delta^{13}\text{C}$ 值为 $\delta_{\text{C1},0}$,同位素标记2培养液中碳酸氢根离子的 $\delta^{13}\text{C}$ 值为 $\delta_{\text{C2},0}$;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个月以上月龄的

植物幼苗,每天更换新的相对应的培养液;第四,培养开始即培养第0天测定被考察植物第一展开叶的叶面积 LA_0 ;1天后换新培养液之前,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, δ_{NS1} 和 δ_{NS2} 值;第五,培养7天后测定被考察植物的这第一展开叶的叶面积 LA_7 ,随后,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 $\delta^{13}C$ 的值, δ_{T1} 和 δ_{T2} ;第六,分别将 δ_{C1} 、 δ_{C2} 、 $\delta_{C1,0}$ 、 $\delta_{C2,0}$ 、 δ_{T1} 、 δ_{T2} 、 δ_{NS1} 、 δ_{NS2} 、 LA_0 、

$$LA_7 \text{ 带入方程 } f_B = \frac{\delta_{T1} - \delta_{T2}}{\delta_{C1} - \delta_{C2}}, f_{BNS} = \frac{\delta_{NS1} - \delta_{NS2}}{\delta_{C1,0} - \delta_{C2,0}}, f_{LA} = \frac{LA_7 - LA_0}{LA_0}, f_b = \frac{2f_B}{f_{LA} + f_{LA}f_{BNS}}$$

,计算出植物利用总碳酸氢根离子的份额 f_b ;第七,测定被考察植物叶片的净光合速率 R_n ,即为植物对大气二氧化碳的光合同化能力;第八,把测得的净光合速率值 R_n 和计算得的植物

$$\text{利用总碳酸氢根离子份额 } f_b \text{ 代入方程 } BUC = \frac{R_n f_b}{1 - f_b}, \text{ 计算植物对总碳酸氢根离子的光合同}$$

化能力;第九,把测定的植物对大气二氧化碳的光合同化能力 R_n 和测得的植物对总碳酸氢根离子的光合同化能力 BUC 代入方程 $R' = R_n + BUC$,计算植物总碳同化能力。

[0006] 本发明的优点如下:

[0007] 1)本发明不仅能测得植物对外源添加的碳酸氢根离子的利用份额,而且能测得植物对来自大气二氧化碳溶解形成的碳酸氢根离子利用的份额。克服了现有技术低估植物对碳酸氢根离子利用能力的缺陷。

[0008] 2)本方法能测得植物总碳同化能力,不仅包括植物对大气二氧化碳的同化能力,而且还包括了植物对来自根部吸收的碳酸氢根离子的同化能力。

[0009] 3)本方法在完全相同的实验条件下同时开展两个培养实验,因此,获取植物对总碳同化能力的的数据更为可靠。

[0010] 4)本方法排除了老“碳”对测定结果的影响,因此,测定的结果精确度高。

[0011] 发明原理

[0012] 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}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 $\delta^{13}C$ (‰)表示,自然界中 $\delta^{13}C$ 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。

[0013] 同位素两端元混合模型可以表示为:

$$[0014] \quad \delta_T = \delta_A - f_B \delta_A + f_B \delta_B \quad (1)$$

[0015] 这里 δ_T 为被考察植物叶片的 $\delta^{13}C$ 值, δ_A 为假定植物利用大气二氧化碳为唯一碳源时叶片的 $\delta^{13}C$ 值, δ_B 为假定植物完全利用外源添加的碳酸氢根离子为唯一碳源时叶片的 $\delta^{13}C$ 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。

[0016] 很显然,只知道 δ_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 $\delta^{13}C$ 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。

[0017] 由于本发明是利用添加两种具有较大差异的 $\delta^{13}C$ 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:

[0018] 两端元的同位素混合模型:

$$[0019] \quad \delta_T = \delta_A - f_B \delta_A + f_B \delta_B \quad (1)$$

[0020] 对于同位素标记1来说,方程(1)表示如下式:

$$[0021] \quad \delta_{T1} = \delta_{A1} - f_{B1} \delta_{A1} + f_{B1} \delta_{B1} \quad (2)$$

[0022] 这里 δ_{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, δ_{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, δ_{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。

[0023] 对于同位素标记2来说,方程(1)表示如下式:

$$[0024] \quad \delta_{T2} = \delta_{A2} - f_{B2} \delta_{A2} + f_{B2} \delta_{B2} \quad (3)$$

[0025] 这里 δ_{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, δ_{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, δ_{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。

[0026] (2)和(3)两个方程中 $\delta_{A1} = \delta_{A2}$, $f_B = f_{B1} = f_{B2}$,联立求解

$$[0027] \quad f_B = \frac{\delta_{T1} - \delta_{T2}}{\delta_{B1} - \delta_{B2}} \quad (4)$$

[0028] (4)式中 $\delta_{B1} - \delta_{B2}$ 则可以换算成同位素标记1的碳酸氢根离子的 $\delta^{13}\text{C}$ 值 δ_{C1} 与同位素标记2的碳酸氢根离子的 $\delta^{13}\text{C}$ 值 δ_{C2} 的差,则(4)式变为:

$$[0029] \quad f_B = \frac{\delta_{T1} - \delta_{T2}}{\delta_{C1} - \delta_{C2}} \quad (5)$$

[0030] 因此,可以通过测定同位素标记1的碳酸氢根离子的 $\delta^{13}\text{C}$ 值 δ_{C1} 与同位素标记2的碳酸氢根离子的 $\delta^{13}\text{C}$ 值 δ_{C2} ,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 δ_{T1} 和 δ_{T2} 值,依(5)式计算出植物利用外源添加的碳酸氢根离子的份额 f_B 。

[0031] 上述算出的植物利用外源添加的碳酸氢根离子的份额 f_B 是指被考察植物的第一展开叶对外源添加的碳酸氢根离子的利用份额,而此时的第一展开叶包括“新碳”和“老碳”。实际上,这片叶的“老碳”部分是没有利用过外源添加的碳酸氢根离子,只有“新碳”部分受到外源添加的碳酸氢根离子同化物的影响。因此,植物净增加的有机碳中利用了外源添加碳酸氢根离子的份额 f_{BN} 则为:

$$[0032] \quad f_{BN} = \frac{f_B}{f_{LA}} \quad (6)$$

[0033] f_B 是上述(5)式中计算出植物利用外源添加的碳酸氢根离子的份额, f_{LA} 为被考察植物叶片在培养一定时间内有机碳的增加比例。在这里,植物的有机碳增加比例用叶面积的增加比例来表示,即为:

$$[0034] \quad f_{LA} = \frac{LA_T - LA_0}{LA_0} \quad (7)$$

[0035] f_{LA} 为被考察植物叶片在培养一定时间内有机碳的增加比例; LA_0 和 LA_7 分别为被考察植物叶片第0天和培养7天后的叶面积。

[0036] 此外,大气中的二氧化碳也会溶解到培养液中生成碳酸氢根离子被植物所利用,这部分碳酸氢根离子被植物利用的份额在现有的技术中都被忽略,因此,为了测得植物对总碳酸氢根离子的利用份额,还需要考虑大气二氧化碳溶解到培养液中生成碳酸氢根离子被植物利用的份额 f_{BNS} 。

[0037] 碳酸氢根离子被植物利用的份额与溶液中碳酸氢根离子的浓度成正比,为了测得培养液中两种来源的碳酸氢根离子浓度比,同样可以利用同位素二端元混合模型,一个端元为添加的外源碳酸氢根离子,另一个端元为大气二氧化碳溶解在培养液中形成的碳酸氢根离子,它的表达式为公式为:

$$[0038] \quad \delta_{NS} = \delta_a - f_{BNS}\delta_a + f_{BNS}\delta_c \quad (8)$$

[0039] 这里 δ_{NS} 为培养植物一定时间后培养液的 $\delta^{13}C$ 值, δ_a 为大气二氧化碳溶解在培养液中形成的碳酸氢根离子的 $\delta^{13}C$ 值, δ_c 为添加在培养液中的外源碳酸氢根离子的初始 $\delta^{13}C$ 值, f_{BNS} 为培养液培养植物一定时间后外源添加的碳酸氢根离子占培养液总无机碳源的份额。

[0040] 对于同位素标记1来说,方程(8)表示如下式:

$$[0041] \quad \delta_{NS1} = \delta_a - f_{BNS1}\delta_a + f_{BNS1}\delta_{c1,0} \quad (9)$$

[0042] 这里 δ_{NS1} 为用第一种已知 $\delta^{13}C$ 值的碳酸氢根离子培养植物一定时间后培养液的 $\delta^{13}C$ 值, δ_a 为大气二氧化碳溶解在培养液中形成的碳酸氢根离子的 $\delta^{13}C$ 值, $\delta_{c1,0}$ 为第一种标记的碳酸氢根离子添加到培养液中初始的 $\delta^{13}C$ 值, f_{BNS1} 为培养植物一定时间后外源添加的第一种碳酸氢根离子占培养液总无机碳源的份额。

[0043] 对于同位素标记2来说,方程(8)表示如下式:

$$[0044] \quad \delta_{NS2} = \delta_a - f_{BNS2}\delta_a + f_{BNS2}\delta_{c2,0} \quad (10)$$

[0045] 这里 δ_{NS2} 为用第二种已知 $\delta^{13}C$ 值的碳酸氢根离子培养植物一定时间后培养液的 $\delta^{13}C$ 值, δ_a 为大气二氧化碳溶解在培养液中形成的碳酸氢根离子的 $\delta^{13}C$ 值, $\delta_{c2,0}$ 为第二种标记的碳酸氢根离子添加到培养液中初始的 $\delta^{13}C$ 值, f_{BNS2} 为培养植物一定时间后外源添加的第二种碳酸氢根离子占培养液总无机碳源的份额。

[0046] (9)和(10)两个方程中 $f_{BNS} = f_{BNS1} = f_{BNS2}$,联立求解

$$[0047] \quad f_{BNS} = \frac{\delta_{NS1} - \delta_{NS2}}{\delta_{c1,0} - \delta_{c2,0}} \quad (11)$$

[0048] 因此,通过测定同位素标记1与同位素标记2的碳酸氢根离子溶解到培养液中初始的 $\delta^{13}C$ 值 $\delta_{c1,0}$ 和 $\delta_{c2,0}$,同时测定用对应标记的碳酸氢根离子培养植物一定时间后的培养液的 $\delta^{13}C$ 值,即测定出 δ_{NS1} 和 δ_{NS2} 值,依(11)式计算出培养植物一定时间后外源添加的碳酸氢根离子占培养液中总无机碳源的份额 f_{BNS} 。

[0049] 我们假设初始加入一定量的碳酸氢根离子到培养液中,此时培养液中100%都是外源添加的碳酸氢根离子,但大气二氧化碳溶解到培养液中生成碳酸氢根离子和外源添加的碳酸氢根离子同时被植物吸收利用,培养一定时间后外源添加的碳酸氢根离子占培养液中总无机碳源的份额为 f_{BNS} ,这里植物净增加的有机碳中利用外源添加的碳酸氢根离子份额 f_{BN} 和植物利用大气二氧化碳溶解到培养液中生成碳酸氢根离子份额之和为 f_b ,其表达式为:

$$[0050] \quad f_h = \frac{2f_{BN}}{1+f_{BNS}} \quad (12)$$

[0051] 而植物利用大气二氧化碳溶解到培养液中生成的碳酸氢根离子的份额为 $f_{BCO_2-HCO_3^-}$, 其表达式为:

$$[0052] \quad f_{BCO_2-HCO_3^-} = \frac{f_{BN}(1-f_{BNS})}{1+f_{BNS}} \quad (13)$$

[0053] 总的来说, 植物利用总碳酸氢根离子(外源添加的碳酸氢根离子和二氧化碳溶解生成的碳酸氢根离子)的份额为 f_b 也可表示为:

$$[0054] \quad f_b = \frac{2f_B}{f_{LA} + f_{LA}f_{BNS}} \quad (14)$$

[0055] f_B 为植物利用外源添加的碳酸氢根离子的份额, f_{BNS} 为培养植物一定时间后外源添加的碳酸氢根离子占培养液中总无机碳源的份额, f_{LA} 为考察植物叶片在培养一定时间内叶面积的增加比例。

[0056] 以上公式可计算出植物所利用的不同无机碳源的份额, 则其对不同无机碳源的光合同化能力还需要借助光合仪。基于大气二氧化碳通量的光合仪测定的植物叶片净光合速率值 R_N 是植物对大气二氧化碳的光合同化能力, 而植物还可以利用碳酸氢根离子进行光合作用, 其对碳酸氢根离子的光合同化能力表示为 BUC, 即碳酸氢根离子利用能力, 其表达式为:

$$[0057] \quad BUC = \frac{R_N f_b}{1-f_b} \quad (15)$$

[0058] BUC 为植物对碳酸氢根离子的光合同化能力, R_N 为植物对大气二氧化碳的光合同化能力, f_b 为植物利用总碳酸氢根离子的份额。

[0059] 因此, 植物总碳同化能力 R_N' 为植物对大气二氧化碳的光合同化能力 R_N 和植物对碳酸氢根离子光合同化能力 BUC 之和, 其表达式为:

$$[0060] \quad R_N' = R_N + BUC \quad (16)。$$

具体实施方式

[0061] 本发明的实施例:

[0062] 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, 选择生长较为一致的幼苗作为考察植物幼苗; 第二, 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, 其值分别为 δ_{C1} 和 δ_{C2} , 分别以10mM量添加到培养液中; 同位素标记1的培养液中碳酸氢根离子的 $\delta^{13}C$ 值为 $\delta_{C1,0}$, 同位素标记2培养液中碳酸氢根离子的 $\delta^{13}C$ 值为 $\delta_{C2,0}$; 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个月龄的植物幼苗, 每天更换新的相对应的培养液; 第四, 培养开始即培养第0天测定被考察植物第一展开叶的叶面积 $LA_{0.1}$ 天后换新培养液之前, 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, δ_{NS1} 和 δ_{NS2} 值; 第五, 培养7天后测定被考察植物的这第一展开叶的叶面积 LA_7 , 随后, 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, δ_{T1} 和 δ_{T2} ; 第六, 分别将 δ_{C1} 、 δ_{C2} 、 $\delta_{\text{C1},0}$ 、 $\delta_{\text{C2},0}$ 、 δ_{T1} 、 δ_{T2} 、 δ_{NS1} 、 δ_{NS2} 、 LA_0 、 LA_7 带入方程

$$f_{\text{B}} = \frac{\delta_{\text{T1}} - \delta_{\text{T2}}}{\delta_{\text{C1}} - \delta_{\text{C2}}}, f_{\text{BNS}} = \frac{\delta_{\text{NS1}} - \delta_{\text{NS2}}}{\delta_{\text{C1},0} - \delta_{\text{C2},0}}, f_{\text{LA}} = \frac{\text{LA}_7 - \text{LA}_0}{\text{LA}_0}, f_{\text{b}} = \frac{2 f_{\text{B}}}{f_{\text{LA}} + f_{\text{LA}} f_{\text{BNS}}},$$

计算出植物利用总碳酸氢根离子的份额 f_{b} ; 第七, 在室内环境下利用光合仪测定被考察植物叶片的净光合速率 R_{N} , 即为植物对大气二氧化碳的光合同化能力; 第八, 把利用光合仪测得的净光

合速率值 R_{N} 和计算的植物利用总碳酸氢根离子份额 f_{b} 代入方程 $\text{BUC} = \frac{R_{\text{N}} f_{\text{b}}}{1 - f_{\text{b}}}$, 计算植物对

总碳酸氢根离子的光合同化能力; 第九, 把测定的植物对大气二氧化碳的光合同化能力 R_{N} 和测得的植物对总碳酸氢根离子的光合同化能力BUC代入方程 $R_{\text{N}}' = R_{\text{N}} + \text{BUC}$, 计算植物总碳同化能力 R_{N}' 。

[0063] 详细实施过程及内容如下:

[0064] 第一步, 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, 选择生长较为一致的幼苗作为考察植物幼苗;

[0065] 第二步, 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, 其值分别为 δ_{C1} 和 δ_{C2} , 分别添加到培养液中; 同位素标记1的培养液中碳酸氢根离子的 $\delta^{13}\text{C}$ 值为 $\delta_{\text{C1},0}$, 同位素标记2培养液中碳酸氢根离子的 $\delta^{13}\text{C}$ 值为 $\delta_{\text{C2},0}$;

[0066] 第三步, 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个月龄的植物幼苗, 每天更换新的相对应的培养液;

[0067] 第四步, 培养开始即培养第0天测定被考察植物第一展开叶的叶面积 LA_0 。1天后换新培养液之前, 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, δ_{NS1} 和 δ_{NS2} 值;

[0068] 第五步, 培养7天后分别测定两种同位素标记的培养液培养的植物叶片稳定碳同位素组成 $\delta^{13}\text{C}$ 的值, δ_{T1} 和 δ_{T2} 值; 同时测定被考察植物的这第一展开叶的叶面积 LA_7 ;

[0069] 第六步, 分别将 δ_{C1} 、 δ_{C2} 、 $\delta_{\text{C1},0}$ 、 $\delta_{\text{C2},0}$ 、 δ_{T1} 、 δ_{T2} 、 δ_{NS1} 、 δ_{NS2} 、 LA_0 、 LA_7 带入方程

$$f_{\text{B}} = \frac{\delta_{\text{T1}} - \delta_{\text{T2}}}{\delta_{\text{C1}} - \delta_{\text{C2}}}, f_{\text{BNS}} = \frac{\delta_{\text{NS1}} - \delta_{\text{NS2}}}{\delta_{\text{C1},0} - \delta_{\text{C2},0}}, f_{\text{LA}} = \frac{\text{LA}_7 - \text{LA}_0}{\text{LA}_0}, f_{\text{b}} = \frac{2 f_{\text{B}}}{f_{\text{LA}} + f_{\text{LA}} f_{\text{BNS}}},$$

计算出植物利用总碳酸氢根离子的份额 f_{b} ;

[0070] 第七步, 在室内环境下利用光合仪测定被考察植物叶片的净光合速率 R_{N} , 即为植物对大气二氧化碳的光合同化能力;

[0071] 第八步, 把利用光合仪测得的净光合速率值 R_{N} 和计算的植物利用总碳酸氢根离子

份额 f_{b} 代入方程 $\text{BUC} = \frac{R_{\text{N}} f_{\text{b}}}{1 - f_{\text{b}}}$, 计算植物对总碳酸氢根离子的光合同化能力;

[0072] 第九步, 把测定的植物对大气二氧化碳的光合同化能力 R_{N} 和测得的植物对总碳酸氢根离子的光合同化能力BUC代入方程 $R_{\text{N}}' = R_{\text{N}} + \text{BUC}$, 计算植物总碳同化能力 R_{N}' 。

[0073] 本发明的实施效果如下:

[0074] 室内采用12孔穴盘水培萌发诸葛菜和芥菜型油菜两种植物种子,配制霍格兰培养液培养幼苗至2个月大,分别选择生长较为一致的幼苗作为被考察植物幼苗。选择用 $\delta^{13}\text{C}$ 值为 -24.409‰ 和 -2.45‰ 的碳酸氢钠作为同位素标记1和同位素标记2,分别以10 mM量添加到霍格兰培养液中,配制成同位素标记1培养液和同位素标记2培养液。分别用同位素标记1培养液和同位素标记2培养液对2个月龄的植物幼苗同时培养,每天更换新的相对应的培养液,于培养第0天测定被考察植物第一展开叶的叶面积 LA_0 ,第一天换培养液之前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;培养7天后,分别测定两种同位素标记的培养液培养的植物这第一展开叶的叶面积值 LA_7 和净光合速率 P_n 值及稳定碳同位素组成 $\delta^{13}\text{C}$ 的值。用本发明方法,分别得出诸葛菜和芥菜型油菜两种植物总碳光合同化能力,如下表所示。

表 1 培养液培养诸葛菜和芥菜型油菜 7 天后被考察叶片的 δ_{T} 值

植物	参数(‰)	碳酸氢根处理 (mM)		
		5	10	15
[0075] 诸葛菜-2	δ_{T1}	-31.68 ± 0.11	-30.78 ± 0.10	-31.14 ± 0.06
诸葛菜-24	δ_{T2}	-31.74 ± 0.08	-32.33 ± 0.09	-31.86 ± 0.13
芥菜型油菜-2	δ_{T1}	-33.52 ± 0.15	-33.12 ± 0.06	-33.13 ± 0.03
芥菜型油菜-24	δ_{T2}	-33.75 ± 0.07	-33.33 ± 0.04	-33.56 ± 0.08

[0076] 注:诸葛菜-2和芥菜型油菜-2为用碳同位素标记为 -2.45‰ (δ_{C1})的碳酸氢钠处理液培养诸葛菜和芥菜型油菜;诸葛菜-24和芥菜型油菜-24为用碳同位素标记为 -24.409‰ (δ_{C2})的碳酸氢钠处理液培养诸葛菜和芥菜型油菜。

表 2 培养植物幼苗 1 天前后的培养液的 $\delta^{13}\text{C}$ 值

参数	植物	碳酸氢根处理 (mM)		
		5	10	15
$\delta_{\text{C1},0}(\text{‰})$	诸葛菜	-1.53 ± 0.12	-1.53 ± 0.12	-1.53 ± 0.12
	芥菜型油菜	-1.53 ± 0.12	-1.53 ± 0.12	-1.53 ± 0.12
$\delta_{\text{C2},0}(\text{‰})$	诸葛菜	-28.87 ± 0.25	-28.87 ± 0.25	-28.87 ± 0.25
	芥菜型油菜	-28.87 ± 0.25	-28.87 ± 0.25	-28.87 ± 0.25
$\delta_{\text{NS1}}(\text{‰})$	诸葛菜	-6.69 ± 0.04	-4.70 ± 0.02	-2.25 ± 0.05
	芥菜型油菜	-10.04 ± 0.10	-6.93 ± 0.05	-2.99 ± 0.01
$\delta_{\text{NS2}}(\text{‰})$	诸葛菜	-17.57 ± 0.09	-21.05 ± 0.15	-22.40 ± 0.12
	芥菜型油菜	-18.01 ± 0.08	-20.68 ± 0.10	-22.22 ± 0.23

[0077]

[0078] 注： $\delta_{\text{C1},0}$ 和 $\delta_{\text{C2},0}$ 分别为碳同位素标记1和碳同位素标记2的碳酸氢钠溶解到培养液中初始的 $\delta^{13}\text{C}$ 值； δ_{NS1} 和 δ_{NS2} 分别为碳同位素标记1和碳同位素标记2的培养液培养植物1天后的 $\delta^{13}\text{C}$ 值。

[0079]

表 3 被考察植物利用总碳酸氢根离子份额

参数	植物	碳酸氢根处理 (mM)		
		5	10	15
$f_{\text{Na}}(\%)$	诸葛菜	61.40 ± 1.25b	66.52 ± 1.46a	56.74 ± 0.89c
	芥菜型油菜	83.77 ± 2.58b	90.55 ± 3.74a	89.98 ± 2.15a
$f_{\text{S}}(\%)$	诸葛菜	2.27 ± 0.05c	7.06 ± 0.08b	8.55 ± 0.10a
	芥菜型油菜	1.77 ± 0.04c	2.11 ± 0.06b	2.36 ± 0.05a
$f_{\text{NH}_4^+}(\%)$	诸葛菜	39.79 ± 2.15c	59.79 ± 3.24b	73.67 ± 3.98a
	芥菜型油菜	29.16 ± 1.02c	50.27 ± 2.35b	70.35 ± 2.98a
$f_{\text{CO}_3^{2-}}(\%)$	诸葛菜	5.28 ± 0.14c	13.27 ± 0.27b	17.31 ± 0.35a
	芥菜型油菜	3.28 ± 0.09a	3.10 ± 0.05a	3.09 ± 0.07a

[0080] 注:表中数据均为平均值±标准误差,同一参数同一植物不同碳酸氢根离子浓度间的比较采用多重比较,相同字母表示差异不显著,不同字母表示差异显著($p < 0.05$)。

[0081]

表 4 植物对不同无机碳源的同化能力

参数	植物	碳酸氢根处理 (mM)		
		5	10	15
P_N ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	诸葛菜	5.82 ± 0.41a	5.57 ± 0.19b	4.80 ± 0.27c
	芥菜型油菜	6.56 ± 0.16b	7.71 ± 0.25a	7.63 ± 0.35a
BUC ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	诸葛菜	0.32 ± 0.01b	0.85 ± 0.02a	1.01 ± 0.04a
	芥菜型油菜	0.22 ± 0.00a	0.25 ± 0.01a	0.24 ± 0.02a
P_{CO_2} ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	诸葛菜	6.14 ± 0.31b	6.42 ± 0.25a	5.81 ± 0.15c
	芥菜型油菜	6.78 ± 0.45b	7.96 ± 0.56a	7.87 ± 0.45a

[0082] 注：表中数据均为平均值±标准误差，同一参数同一植物不同碳酸氢根离子浓度间的比较采用多重比较，相同字母表示差异不显著，不同字母表示差异显著($p < 0.05$)。

[0083] 从表3中可以看出，当外源添加的碳酸氢钠浓度为5 mM时，诸葛菜在的外源添加的碳酸氢根离子利用份额为2.27%，芥菜型油菜为1.77%；当碳酸氢钠浓度为10mM时，诸葛菜的外源添加的碳酸氢根离子利用份额的7.06%，而芥菜型油菜仅为2.11%；当碳酸氢钠浓度为15 mM时，诸葛菜的外源添加的碳酸氢根离子利用份额的8.55%，而芥菜型油菜仅为2.36%。更重要的是，诸葛菜利用总碳酸氢根离子(外源添加的碳酸氢根离子和空气二氧化碳溶解到培养液生成的碳酸氢根离子)份额随着外源碳酸氢根离子浓度的增加远高于芥菜型油菜。这更能说明诸葛菜较芥菜型油菜更能在喀斯特重碳酸盐生境下生存，这个结果与诸葛菜为喀斯特适生植物是相吻合的，很明显诸葛菜利用外源添加的碳酸氢根离子的能力高于芥菜型油菜，更重要的是两种植物总碳的同化能力 R_n' 与叶片叶面积增加的比例 f_{LA} 随着外源添加的碳酸氢根离子浓度的增加是呈正相关的(表4)，这更能本方法说明方法上是可靠的。