



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102511362 B

(45) 授权公告日 2013.05.15

(21) 申请号 201110331521.1

(22) 申请日 2011.10.27

(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 李海涛 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.

A01G 31/00(2006.01)

(56) 对比文件

CN 101926267 A, 2010.12.29,

CN 101015248 A, 2007.08.15,

CN 101216385 A, 2008.07.09,

US 4599218 A, 1986.07.08,

唐艳凌等. 稳定氮同位素示踪技术在湿地脱氮研究中的应用进展.《湿地科学》.2008,第6卷(第3期),440-446.

尹云锋等. 植物富集 13C 标记技术的初步研究.《土壤学报》.2010,第47卷(第4期),790-793.

刘微等. 稳定碳同位素技术在土壤-植物系统碳循环中的应用.《应用生态学报》.2008,第19卷(第3期),674-680.

审查员 关坤

权利要求书1页 说明书4页

(54) 发明名称

利用双标记获取植物利用无机碳源份额的方法

(57) 摘要

本发明公开了一种利用双标记获取植物利用无机碳源份额的方法,它包括以下步骤:第一,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 8‰ 的碳酸氢钠作为同位素标记 1 和同位素标记 2 分别添加到营养液中来培养植物;同位素标记 1 培养液中碳酸氢根离子的 $\delta^{13}\text{C}$ 值为 δ_{C1} ,同位素标记 2 培养液中碳酸氢根离子的 $\delta^{13}\text{C}$ 值为 δ_{C2} ;第二,培养到长有 4 片以上真叶后,分别测定两种同位素标记的培养液培养的相对应的被考察植物叶片的稳定碳同位素组成 $\delta^{13}\text{C}$ 的值, δ_{T1} 和 δ_{T2} 值;第三,将 δ_{C1} 、 δ_{C2} 、 δ_{T1} 和 δ_{T2} 带入

方程 $f_{\text{B}} = \frac{\delta_{\text{T1}} - \delta_{\text{T2}}}{\delta_{\text{C1}} - \delta_{\text{C2}}}$, 计算出植物利用碳酸氢根离子的份额 f_{B} 。本发明能快速获取植物利用无机碳源份额,步骤少,计算简单,数据可靠。

CN 102511362 B

1. 一种利用双标记获取植物利用无机碳源份额的方法,其特征在于:它包括以下步骤:第一,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 8 ‰的碳酸氢钠作为同位素标记 1 和同位素标记 2 分别添加到营养液中来培养植物;同位素标记 1 培养液中碳酸氢根离子的 $\delta^{13}\text{C}$ 值为 δ_{C1} ,同位素标记 2 培养液中碳酸氢根离子的 $\delta^{13}\text{C}$ 值为 δ_{C2} ;第二,培养到长有 4 片以上真叶后,分别测定两种同位素标记培养的相对应的被考察植物叶片的稳定碳同位素组成 $\delta^{13}\text{C}$ 的值, δ_{T1} 和 δ_{T2} 值;第三,将 δ_{C1} 、 δ_{C2} 、 δ_{T1} 和 δ_{T2} 带入方程

$$f_{\text{B}} = \frac{\delta_{\text{T1}} - \delta_{\text{T2}}}{\delta_{\text{C1}} - \delta_{\text{C2}}},$$

计算出植物利用碳酸氢根离子的份额 f_{B} ;

在第一步骤中,用两种 $\delta^{13}\text{C}$ 值差值大于 8 ‰的碳酸氢钠作为同位素标记 1 和同位素标记 2 加到营养液中培养植物时,两者是同时培养,培养条件完全一致,区别在于两个培养实验,一个培养液中添加同位素标记 1,另一个培养液中添加同位素标记 2;

在第二步骤中,同时用两种同位素标记碳酸氢钠的培养液分别培养被考察的植物,待它们长有 4 片以上真叶后,同时分别测定它们的第一片完全展开叶的稳定碳同位素组成 $\delta^{13}\text{C}$ 值。

2. 根据权利要求 1 所述的利用双标记获取植物利用无机碳源份额的方法,其特征在于: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,是将同位素标记 1 的碳酸氢钠的 $\delta^{13}\text{C}$ 值作为 δ_{C1} ,由同位素标记 1 的培养液培养的被考察植物叶片的 $\delta^{13}\text{C}$ 值作为 δ_{T1} ,同位素标记 2 的碳酸氢钠的 $\delta^{13}\text{C}$ 值作为 δ_{C2} ,由同位素标记 2 的培养液

培养的被考察植物叶片的 $\delta^{13}\text{C}$ 值作为 δ_{T2} ,带入 $f_{\text{B}} = \frac{\delta_{\text{T1}} - \delta_{\text{T2}}}{\delta_{\text{C1}} - \delta_{\text{C2}}}$,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} ,植物利用空气中二氧化碳作为碳源占无机碳源比例份额为 $1-f_{\text{B}}$ 。

利用双标记获取植物利用无机碳源份额的方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种利用稳定碳同位素获取植物利用无机碳源份额的方法,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,而且也可以利用叶片储存的碳酸氢根离子为原料进行光合作用。植物对不同的无机碳源利用份额的多少与植物的喀斯特适生性有重大关联,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] 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 $-90\text{‰}\sim+20\text{‰}$ 。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。

[0004] 两端元的同位素混合模型可以表示为:

$$[0005] \quad \delta_T = \delta_A - f_B \delta_A + f_B \delta_B \quad (1)$$

[0006] 这里 δ_T 为植物叶片的 $\delta^{13}\text{C}$ 值, δ_A 为假定为植物完全利用二氧化碳为碳源时叶片的 $\delta^{13}\text{C}$ 值, δ_B 为假定为植物完全利用碳酸氢根离子为碳源时叶片的 $\delta^{13}\text{C}$ 值, f_B 为该考察植物利用碳酸氢根离子为碳源所占的份额。

[0007] 很显然,只知道 δ_T 很难求出 f_B ,因此,本发明采用利用具有较大差异的 $\delta^{13}\text{C}$ 值碳酸氢根离子分别同时培养植物,以稳定碳同位素双标记来识别植物利用无机碳源的份额。

[0008] 本发明的原理如下:

[0009] 两端元的同位素混合模型:

$$[0010] \quad \delta_T = \delta_A - f_B \delta_A + f_B \delta_B \quad (1)$$

[0011] 对于同位素标记1来说,方程(1)表示如下式:

$$[0012] \quad \delta_{T1} = \delta_{A1} - f_{B1} \delta_{A1} + f_{B1} \delta_{B1} \quad (2)$$

[0013] 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碳源时叶片的 $\delta^{13}\text{C}$ 值, δ_{B1} 为假定为植物完全利用该碳酸氢根离子为碳源时叶片的 $\delta^{13}\text{C}$ 值, f_{B1} 为该考察植物利用碳酸氢根离子为碳源所占的份额。

[0014] 对于同位素标记2来说,方程(1)表示如下式:

$$[0015] \quad \delta_{T2} = \delta_{A2} - f_{B2} \delta_{A2} + f_{B2} \delta_{B2} \quad (3)$$

[0016] 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碳源时叶片的 $\delta^{13}\text{C}$ 值, δ_{B2} 为假定为植物完全利用该碳酸氢根离子为碳源时叶片的 $\delta^{13}\text{C}$ 值, f_{B2} 为该考察植物利用碳酸氢根离子为碳源所占的份额。

[0017] (2)和(3)两个方程中 $\delta_{A1} = \delta_{A2}$, $f_B = f_{B1} = f_{B2}$, 联立求解

$$[0018] \quad f_B = \frac{\delta_{T1} - \delta_{T2}}{\delta_{B1} - \delta_{B2}} \quad (4)$$

[0019] (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:

$$[0020] \quad f_B = \frac{\delta_{T1} - \delta_{T2}}{\delta_{C1} - \delta_{C2}} \quad (5)$$

[0021] 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)式计算出植物利用碳酸氢根离子的份额 f_B 。

[0022] 现有技术中, 由于两端元的值来自不同的实验, 因此造成的测定指标多、测定周期长、步骤较为繁琐和测定误差较大。

发明内容

[0023] 本发明要解决的技术问题是, 提供一种利用双标记获取植物利用无机碳源份额的方法, 以克服现有技术中因两端元的值来自不同的实验, 造成的测定指标多、测定周期长、步骤较为繁琐和测定误差较大等不足。

[0024] 本发明采取以下技术方案: 它包括以下步骤: 第一, 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 8 ‰ 的碳酸氢钠作为同位素标记 1 和同位素标记 2 分别添加到营养液中来培养植物; 同位素标记 1 培养液中碳酸氢根离子的 $\delta^{13}\text{C}$ 值为 δ_{C1} , 同位素标记 2 培养液中碳酸氢根离子的 $\delta^{13}\text{C}$ 值为 δ_{C2} ; 第二, 培养到长有 4 片以上真叶后, 分别测定两种同位素标记的培养液培养的相对应的被考察植物叶片的稳定碳同位素组成 $\delta^{13}\text{C}$ 的值, δ_{T1} 和 δ_{T2} 值; 第三, 将 δ_{C1} 、 δ_{C2} 、 δ_{T1} 和 δ_{T2} 带入方程 $f_B = \frac{\delta_{T1} - \delta_{T2}}{\delta_{C1} - \delta_{C2}}$, 计算出植物利用碳酸氢根离子的份额 f_B 。

[0025] 在第一步骤中, 用两种 $\delta^{13}\text{C}$ 值差值大于 8 ‰ 的碳酸氢钠作为同位素标记 1 和同位素标记 2 加到营养液中培养植物时, 两者是同时培养, 培养条件完全一致, 区别在于两个培养实验, 一个培养液中添加同位素标记 1, 另一个培养液中添加同位素标记 2。

[0026] 在第二步骤中, 同时用两种同位素标记碳酸氢钠的培养液分别培养被考察的植物, 待它们长有 4 片以上真叶后, 同时分别测定它们的第一片完全展开叶的稳定碳同位素组成 $\delta^{13}\text{C}$ 值。

[0027] 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, 是将同位素标记 1 的碳酸氢钠的 $\delta^{13}\text{C}$ 值作为 δ_{C1} , 由同位素标记 1 培养的被考察植物叶片的 $\delta^{13}\text{C}$ 值作为 δ_{T1} , 同位素标记 2 的碳酸氢钠的 $\delta^{13}\text{C}$ 值作为 δ_{C2} , 由同位素标记 2 培养的被考察植物叶片的 $\delta^{13}\text{C}$ 值作为 δ_{T2} , 带入 $f_B = \frac{\delta_{T1} - \delta_{T2}}{\delta_{C1} - \delta_{C2}}$, 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 , 植物利用空气中二氧化碳作为碳源占无机碳源比例份额为 $1 - f_B$ 。

[0028] 本发明的优点如下：

[0029] 1) 本方法能快速获取植物利用无机碳源份额。

[0030] 2) 本方法不需要获取两端元的同位素 $\delta^{13}\text{C}$ 的绝对值, 只需测定两个同位素标记的碳酸氢钠的 $\delta^{13}\text{C}$ 值, 因此需步骤少, 计算简单。

[0031] 3) 本方法在完全相同的实验条件下开展两个培养实验, 因此, 获取植物利用无机碳源份额的数据更为可靠。

具体实施方式

[0032] 本发明的实施例: 它包括以下步骤, 第一, 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 8 ‰ 的碳酸氢钠分别添加到营养液中作为同位素标记 1 培养液和同位素标记 2 培养液来培养植物。其他培养条件为被考察条件, 如 pH, 可选择需要考察该植物在何种 pH 值下的利用无机碳源的份额。同位素标记 1 培养液中碳酸氢根离子的 $\delta^{13}\text{C}$ 值为 δ_{C1} , 同位素标记 2 培养液中碳酸氢根离子的 $\delta^{13}\text{C}$ 值为 δ_{C2} , δ_{C1} 与 δ_{C2} 的差值一般大于 8 ‰ (PDB)。第二, 培养到长有 4 片以上真叶后, 同时分别测定两种同位素标记的培养液培养的相对应的被考察植物叶片的稳定碳同位素组成 $\delta^{13}\text{C}$ 值, δ_{T1} 和 δ_{T2} 值; 第三, 将 δ_{C1} 、 δ_{C2} 、 δ_{T1} 和 δ_{T2} 带入方程 $f_{\text{B}} = \frac{\delta_{\text{T1}} - \delta_{\text{T2}}}{\delta_{\text{C1}} - \delta_{\text{C2}}}$, 计算出植物利用碳酸氢根离子的份额 f_{B} , 植物利用

空气中二氧化碳作为碳源占无机碳源比例份额为 $1-f_{\text{B}}$ 。

[0033] 详细实施过程及内容如下：

[0034] 第一步骤, 选择加到营养液的碳酸氢钠试剂, 测定加到营养液中的碳酸氢钠的 $\delta^{15}\text{C}$ 值, 选择两种 $\delta^{13}\text{C}$ 值差值大于 8 ‰ 的碳酸氢钠作为同位素标记 1 和同位素标记 2 分别加到营养液中, 获得同位素标记 1 培养液和同位素标记 2 培养液; 同位素标记 1 培养液中碳酸氢根离子的 $\delta^{13}\text{C}$ 值为 δ_{C1} , 同位素标记 2 培养液中碳酸氢根离子的 $\delta^{13}\text{C}$ 值为 δ_{C2} 。

[0035] 第二步骤, 将被考察的植物同时分别用同位素标记 1 培养液中和同位素标记 2 培养液水培, 待植株生长有 4 片以上真叶后, 分别测定两种同位素标记培养的相对应的被考察植物第一完全展开叶的 $\delta^{15}\text{C}$ 值, δ_{T1} 和 δ_{T2} 值。

[0036] 第三步骤, 将 δ_{C1} 、 δ_{C2} 、 δ_{T1} 和 δ_{T2} 带入方程 $f_{\text{B}} = \frac{\delta_{\text{T1}} - \delta_{\text{T2}}}{\delta_{\text{C1}} - \delta_{\text{C2}}}$, 计算出植物利用碳酸氢根离子的份额 f_{B} 。植物利用空气中的二氧化碳的能力为 $1-f_{\text{B}}$ 。

[0037] 本发明的实施效果如下：

[0038] 分别用 $\delta^{13}\text{C}$ 为 -17.23‰ 和 -6.69‰ 的碳酸氢钠添加到经过改良的 Hoagland 营养液中, 配制成同位素标记 1 培养液和同位素标记 2 培养液。取构树种子播种到穴盘上。待萌发后, 分别用同位素标记 1 培养液和同位素标记 2 培养液进行培养。培养液的 pH 为 8.2; 待这些植物长到 4 片真叶后, 分别测定这些植物第一完全展开叶的 $\delta^{13}\text{C}$ 值。用本发明方法, 得出的构树利用碳酸氢根离子的份额 f_{B} 和利用空气中的二氧化碳作碳源的份额 $(1-f_{\text{B}})$, 如表 1。

[0039] 表 1 构树利用碳酸氢根离子的份额和利用空气中的二氧化碳作碳源的份额

[0040]

处理 物质/浓度 mM	δ_{T1} ‰ PDB	δ_{T2} ‰ PDB	δ_{C1} ‰ PDB	δ_{C2} ‰ PDB	f_B	$1-f_B$
NaHCO ₃ /5	-34.06	-32.22	-17.23	-6.69	0.17	0.83
NaHCO ₃ /10	-33.99	-31.99	-17.23	-6.69	0.19	0.81

[0041] 从表 1 中可以看出,当碳酸氢钠浓度为 5 mM 时,构树在 pH 为 8.2 时的碳酸氢根离子利用份额为 0.17,当碳酸氢钠浓度为 10 mM 时,构树在 pH 为 8.2 时的碳酸氢根离子利用份额的 0.19,两者结果非常相近。说明该方法具有可靠性。也说明构树是很好的喀斯特适生植物,有近 20% 的光合无机碳来源于土壤的碳酸氢根离子,这与构树具有较高的碳酸酐酶活力有关。在喀斯特逆境下,构树通过碳酸酐酶的作用能将碳酸氢根离子转化成水和二氧化碳供植物叶片在气孔关闭或开放不足时进行光合作用。这与现有的结论是一致的。同时,构树对碳酸氢根离子利用的份额高也说明喀斯特适生植物对增加碳汇有较好的策略。