



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 103125281 B

(45) 授权公告日 2014. 04. 16

(21) 申请号 201310054395. 9

(22) 申请日 2013. 02. 20

(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 杭红涛 赵宽 邢德科
梁铮 谢腾祥 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 7/00(2006. 01)

审查员 彭小珍

权利要求书1页 说明书8页

(54) 发明名称

利用光合作用的二氧化碳响应曲线筛选高效利用碳酸氢根离子的植物方法

(57) 摘要

本发明公开一种利用光合作用的二氧化碳响应曲线筛选高效利用碳酸氢根离子的植物的方法,它包括以下步骤,第一,利用便携式光合仪用常规方法分别测定被考察植物与参照植物叶片的光合作用的二氧化碳响应曲线;第二,依据便携式光合仪测得的二氧化碳响应曲线中的不同二氧化碳浓度下被考察植物与参照植物净光合速率和蒸腾速率,求出不同二氧化碳浓度下被考察植物与参照植物水分利用率;第三,将浓度低于 $320 \mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ 的二氧化碳下的植物水分利用率数据拟合成植物水分利用率随二氧化碳浓度变化的直线方程;获取上述方程的斜率,即为叶片表观水碳利用效率;第四,依据被考察植物叶片表观水碳利用效率与参照植物叶片表观水碳利用效率的比值来筛选高效利用碳酸氢根离子的植物。

1. 利用光合作用的二氧化碳响应曲线筛选高效利用碳酸氢根离子的植物方法,其特征在于:它包括以下步骤,

第一,利用便携式光合仪用常规方法分别测定在同一生长环境下的被考察植物与参照植物叶片的光合作用的二氧化碳响应曲线;

第二,依据上述的二氧化碳响应曲线中的不同二氧化碳浓度下被考察植物与参照植物净光合速率和蒸腾速率,求出不同二氧化碳浓度下被考察植物与参照植物水分利用率;

第三,将浓度低于 $320\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ 的二氧化碳下的植物水分利用率数据拟合成植物水分利用率随二氧化碳浓度变化的直线方程;获取上述方程的斜率,即为叶片表观水碳利用效率;

第四,依据被考察植物叶片表观水碳利用效率与参照植物叶片表观水碳利用效率的比值来筛选高效利用碳酸氢根离子的植物。

2. 根据权利要求1所述的利用光合作用的二氧化碳响应曲线筛选高效利用碳酸氢根离子的植物的方法,其特征在于:在第一步骤中,选择的参照植物应是被研究证明具有高效利用碳酸氢根离子能力、碳酸酐酶活力高、野外常见、二氧化碳响应曲线易做的物种。

3. 根据权利要求1所述的利用光合作用的二氧化碳响应曲线筛选高效利用碳酸氢根离子的植物的方法,其特征在于:在第二步骤中,不同二氧化碳浓度下植物水分利用率是对应二氧化碳浓度下对应植物的净光合速率和蒸腾速率的比值。

利用光合作用的二氧化碳响应曲线筛选高效利用碳酸氢根离子的植物方法

技术领域

[0001] 本发明涉及植树造林和生态治理领域,特别是涉及一种利用光合作用的二氧化碳响应曲线筛选高效利用碳酸氢根离子的植物方法。

背景技术

[0002] 中国喀斯特(岩溶)分布面积约有 130 多万 Km^2 ,其中石漠化面积约占 28.7%。“南石(石漠化)北沙(沙漠化)”成为制约西部地区可持续发展的两大生态环境问题。喀斯特环境的脆弱性主要表现在基岩裸露(石漠化)、岩石透水漏水(岩溶干旱)、土壤瘠薄(低营养)、高 pH、高重碳酸盐以及钙镁浓度等特征上;这种脆弱性严重影响植物生长发育以及固碳增汇能力。配置种植喀斯特适生植物不仅优化喀斯特地区的生态环境,而且也大大增加碳汇。

[0003] 由于喀斯特环境下土壤中的重碳酸根离子含量高以及岩溶干旱等逆境对植物的同化二氧化碳能力有较大的限制,一些植物进化出能高效利用重碳酸盐的特点,形成喀斯特适生植物。利用喀斯特适生植物高效利用重碳酸盐的能力,可以最大限度提高植物的光合固碳能力。目前,虽然可以利用同位素技术来定量植物利用碳酸氢根离子的能力,由此可以筛选高效利用碳酸氢根离子的植物。但是,这种方法不仅需要培养植物,而且还需要昂贵的仪器和训练有素的操作人员测定植物的稳定碳同位素,野外现场测定难以实现;目前,直接利用便携式光合测定仪,简便、便宜、快速的现场测定植物的一些光合特征来筛选高效利用碳酸氢根离子的植物方法还很缺乏,这严重地影响生态修复的进程和效率。

[0004] 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。喀斯特适生植物高效利用重碳酸盐的过程就是由碳酸酐酶完成的。碳酸酐酶(Carbonic anhydrase, CA; carbonate hydrolyase, EC 4.2.1.1)是催化二氧化碳的可逆水合反应的一种含锌金属酶。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)能使植物体内碳酸酐酶活力显著升高。碳酸酐酶能快速将 HCO_3^- 分解变成水和二氧化碳来补充逆境下气孔开度变小甚至关闭时的水和二氧化碳的不足,以满足植物的光合作用和其他生理活动的需要。

[0005] 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,植物叶片利用碳酸氢根离子进行光合作用不能为这类光合仪所测得,因为这部分的无机碳源不经过叶室。

[0006] 虽然,目前我们无法用如 Li-6400 便携式光合仪这样的仪器直接测出植物叶片利用碳酸氢根离子能力,也难以直接用现有的光合指标来筛选高效利用碳酸氢根离子的植物,但是,近来通过对植物光合作用的二氧化碳响应曲线的研究发现,在低浓度二氧化碳的情况下,一些植物叶片因为有由碳酸酐酶作用下碳酸氢根离子转化的水和二氧化碳的补充,大大降低了叶片利用整个气室中的二氧化碳和水分的效率,通过选定参照植物,对比研

究可为筛选高效利用碳酸氢根离子的植物提供信息,本发明就是基于这样的原理而实现的。

发明内容

[0007] 本发明要解决的技术问题是,提供一种用便携式光合仪就可以实现的利用光合作用的二氧化碳响应曲线筛选高效利用碳酸氢根离子的植物方法,能现场判定植物利用碳酸氢根离子能力的高低。

[0008] 本发明采取以下技术方案:它包括以下步骤,

[0009] 第一,利用便携式光合仪用常规方法分别测定在同一生长环境下的被考察植物与参照植物叶片的光合作用的二氧化碳响应曲线;

[0010] 第二,依据上述的二氧化碳响应曲线中的不同二氧化碳浓度下被考察植物与参照植物净光合速率和蒸腾速率,求出不同二氧化碳浓度下被考察植物与参照植物水分利用率;

[0011] 第三,将浓度低于 $320 \mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ 的二氧化碳下的植物水分利用率数据拟合成植物水分利用率随二氧化碳浓度变化的直线方程;获取上述方程的斜率,即为叶片表观水碳利用效率;

[0012] 第四,依据被考察植物叶片表观水碳利用效率与参照植物叶片表观水碳利用效率的比值来筛选高效利用碳酸氢根离子的植物。

[0013] 在第一步骤中,选择的参照植物应是被研究证明具有高效利用碳酸氢根离子能力、碳酸酐酶活力高、野外常见、二氧化碳响应曲线易做的物种。

[0014] 在第二步骤中,不同二氧化碳浓度下植物水分利用率是对应二氧化碳浓度下对应植物的净光合速率和蒸腾速率的比值。

[0015] 本发明的优点如下:

[0016] 利用光合作用的二氧化碳响应曲线筛选高效利用碳酸氢根离子的植物的方法的原理:

[0017] 在饱和光强下,利用植物叶片的光合作用的测定仪器如 Li-6400 便携式光合仪测得的不同二氧化碳浓度下植物的水分利用率和羧化效率表征的植物利用二氧化碳和水分的利用效率,是指植物利用整个气室中的水和二氧化碳的效率,但是,气室中的水和二氧化碳一部分从气孔来的,另一部分是通过碳酸酐酶的作用,利用储存的碳酸氢根离子转化的。可以用下面的式子表示:

[0018]

$$\text{WCUEai} = \text{dPn} / (\text{d}[\text{H}_2\text{O}]_a + \text{d}[\text{CO}_2]_a) = (1 - f_{bi})^2 \cdot \text{dPn} / (\text{d}[\text{H}_2\text{O}]_s + \text{d}[\text{CO}_2]_s) \quad (1)$$

[0019] 这里 WCUEai 为植物叶片利用整个气室中的二氧化碳和水分的效率,即为表观水碳利用效率。dPn 为植物叶片的净光合速率的变化量, d[H₂O] 和 d[CO₂] 分别为叶室中 H₂O 和 CO₂ 的变化量; d[H₂O]_a 和 d[CO₂]_a 分别为叶室中来源于空气中的 H₂O 和 CO₂ 的变化量; f_{bi} 为植物叶片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的份额。表观水碳利用效率也即表示为每增加单位水和二氧化碳时植物叶片的净光合效率增值。

[0020] 由(1)式可看出,被考察植物叶片表观水碳利用效率与参照植物叶片表观水碳利

用效率的比值可以表征植物叶片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的份额。

[0021] 参照植物是被研究证明具有高效利用碳酸氢根离子能力、碳酸酐酶活力高、野外常见、二氧化碳响应曲线易做的物种;被考察植物与参照植物在同一生长环境下生长;这样有助于测得的结果具有可比性。

[0022] 将 f_{bi} 为 30% 和 0 分别作为植物高效利用碳酸氢根离子和不利用碳酸氢根离子的标准,也即被考察植物叶片表观水碳利用效率与参照植物叶片表观水碳利用效率的比值设定为 2 可作为判别植物是否高效利用碳酸氢根离子的标准。

[0023] 本发明的优点如下:

[0024] 1) 本方法不仅无需培养植物就可以在野外现场定量测定植物利用碳酸氢根离子的能力,并能以测定结果来筛选出高效利用碳酸氢根离子的植物物种;而且还可以不受季节和土壤的影响在实验室进行;

[0025] 2) 本方法,耗时少;筛选出的植物,利用碳酸氢根离子的能力具有可比性;

[0026] 3) 本方法需要的仪器价格相对便宜,操作相对简单,成本较低,工作量小,灵敏度高;

[0027] 4) 本方法既可以筛选出高效利用碳酸氢根离子的植物物种,也可以筛选出喀斯特适生植物。

具体实施方式

[0028] 本发明的实施例:它包括以下步骤,第一,利用便携式光合仪用常规方法分别测定被考察植物与参照植物叶片的光合作用的二氧化碳响应曲线;第二,依据便携式光合仪测得的二氧化碳响应曲线中的不同二氧化碳浓度下被考察植物与参照植物净光合速率和蒸腾速率,求出不同二氧化碳浓度下被考察植物与参照植物水分利用率;第三,将低浓度二氧化碳下的植物水分利用率数据拟合成植物水分利用率随二氧化碳浓度变化的直线方程;获取上述方程的斜率,即为叶片表观水碳利用效率,它代表植物叶片利用整个气室中的二氧化碳和水分的效率;获取被考察植物叶片表观水碳利用效率与参照植物叶片表观水碳利用效率的比值,比值越小表明其利用碳酸氢根离子能力越强;第四,依据被考察植物叶片表观水碳利用效率与参照植物叶片表观水碳利用效率的比值来筛选高效利用碳酸氢根离子的植物。

[0029] 详细实施过程及内容如下:

[0030] 1) 野外现场测定

[0031] 以广泛分布、前期研究多的牵牛花为参照植物。在天气晴朗的环境,利用便携式光合仪如 Li-6400 便携式光合仪自动 ACi-curve 曲线测定功能,分别测定被考察植物与参照植物第二片完全展开叶的叶片对 CO_2 浓度的响应特征;测定时用 LI-6400 光合作用分析系统的 CO_2 注入系统控制 CO_2 浓度,将红蓝光源 LED 设定光强为饱和光, CO_2 浓度梯度设定为不同浓度,如: 80、100、120、150、200、300、400、600、800、1 000、1 200、1 500 $\mu mol \cdot mol^{-1}$,测定不同 CO_2 浓度下叶片的净光合速率和蒸腾速率。依据上述测得的二氧化碳响应曲线中的不同二氧化碳浓度下被考察植物与参照植物净光合速率(Pn)和蒸腾速率(Tr),求出不同二氧化碳浓度下被考察植物与参照植物水分利用率(WUE)($WUE=Pn/Tr$)如表 1;将低二

氧化碳浓度如 :80、100、120、150、200、300 $\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ 下的植物水分利用率数据与对应的二氧化碳浓度数据拟合成植物水分利用率随二氧化碳浓度变化的直线方程 ;获取上述方程的斜率,即为叶片表观水碳利用效率,它代表植物叶片利用整个气室中的二氧化碳和水分的效率 ;随后获取被考察植物叶片表观水碳利用效率与参照植物叶片表观水碳利用效率的比值 ;依据被考察植物叶片表观水碳利用效率与参照植物叶片表观水碳利用效率的比值来筛选高效利用碳酸氢根离子的植物。

[0032] 本实施例中,诸葛菜与牵牛花生长在同一环境 ;诸葛菜是被考查植物,牵牛花是参照植物 ;不同二氧化碳浓度下牵牛花和诸葛菜叶片净光合速率(P_n , $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)、蒸腾速率(T_r , $\text{mmol H}_2\text{O}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)以及水分利用率(WUE, $\mu\text{mol CO}_2\cdot\text{mmol}^{-1}\text{H}_2\text{O}$) (C_a 为设定的二氧化碳浓度, $\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$) 如表 1 :

[0033] 表 1 不同二氧化碳浓度下牵牛花和诸葛菜叶片净光合速率(P_n , $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)、蒸腾速率(T_r , $\text{mmol H}_2\text{O}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)以及水分利用率(WUE, $\mu\text{mol CO}_2\cdot\text{mmol}^{-1}\text{H}_2\text{O}$) (C_a 为设定的二氧化碳浓度, $\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$)

[0034]

	植物材料	Pn	Ir	Ca	WUE
参照植物	牵牛花	12.69	1.98	1500	6.41
		12.24	1.70	1200	7.20
		11.24	1.63	1000	6.89
		10.04	1.54	800	6.50
		7.27	1.69	600	4.29
		4.93	1.74	400	2.83
		3.46	1.80	300	1.92
		2.09	1.93	200	1.08
		1.39	2.04	150	0.68
		0.72	2.20	120	0.33
		0.45	2.30	100	0.19
0.00	2.49	80	0.00		
被考查植物	诸葛菜	11.33	0.74	1500	15.38
		8.52	0.66	1200	12.95
		6.37	0.61	1000	10.48
		5.05	0.58	800	8.68
		3.69	0.59	600	6.30
		2.31	0.62	400	3.75
		1.72	0.68	300	2.53
		1.02	0.78	200	1.30
		0.61	0.92	150	0.66
		0.38	1.09	120	0.35
		0.02	1.26	100	0.02
-0.21	1.45	80	-0.15		

[0035] 依据表 1 中低二氧化碳浓度 80、100、120、150、200、300 $\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ 下的植物水分利用率与对应的二氧化碳浓度数据拟合植物水分利用率随二氧化碳浓度变化的直线方程。

[0036] 牵牛花为：

[0037] $Y=0.0087X-0.6848$ ($R^2=0.9981$, $n=6$)

[0038] 诸葛菜为：

[0039] $y=0.0123x-1.1615$ ($R^2=0.9990$, $n=6$)

[0040] 因此，牵牛花表观水碳利用效率 ($WCUEa_{\text{牵牛花}}$) = 0.0087，诸葛菜表观水碳利用效率 ($WCUEa_{\text{诸葛菜}}$) = 0.0123，被考察植物叶片表观水碳利用效率 ($WCUEa_{ob}$) 与参照植物叶片表观水碳利用效率 ($WCUEa_{ck}$) 的比值则为 1.4 小于 2，表明诸葛菜是高效利用碳酸氢根离子的植物。

[0041] 用同样方法，同时还对构树、桑树以及芥菜型油菜进行检测，结果如表 2：

[0042] 表 2 几种被考察植物叶片表观水碳利用效率 ($WCUEa_{ob}$) 与参照植物叶片表观水碳利用效率 ($WCUEa_{ck}$) 的比值比较

[0043]

植物材料	WCUEaob/WCUEack	是否高效利用碳酸氢根离子的植物?
牵牛花	1.0	是
构树	1.4	是
桑树	2.1	否
芥菜型油菜	2.4	否

[0044] 从表 2 中可以看出, 构树和牵牛花是高效利用碳酸氢根离子的植物, 这与它们有较高的碳酸酐酶活力有关, 也是与实际情况完全符合。同样, 桑树和芥菜型油菜不是高效利用碳酸氢根离子的植物, 这与它们有较低的碳酸酐酶活力有关, 也与实际情况相符。

[0045] 2) 实验室培养植物的测定

[0046] 实验材料为培养 3 个月的植物材料, 以广泛分布、前期研究多的牵牛花为参照植物。在室内, 利用便携式光合仪如 Li-6400 便携式光合仪自动 ACi-curve 曲线测定功能, 分别测定被考察植物与参照植物第二片完全展开叶的叶片对 CO_2 浓度的响应特征; 测定时用 LI-6400 光合作用分析系统的 CO_2 注入系统控制 CO_2 浓度, 将红蓝光源 LED 设定光强为饱和光, CO_2 浓度梯度设定为不同浓度, 如: 80、100、120、150、200、300、400、600、800、1 000、1 200、1 500 $\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$, 测定不同 CO_2 浓度下叶片的净光合速率和蒸腾速率。依据上述测得的二氧化碳响应曲线中的不同二氧化碳浓度下被考察植物与参照植物净光合速率 (P_n) 和蒸腾速率 (T_r), 求出不同二氧化碳浓度下被考察植物与参照植物水分利用率 (WUE) ($\text{WUE} = P_n / T_r$) 如表 3; 将低二氧化碳浓度如: 80、100、120、150、200、300 $\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ 下的植物水分利用率数据与对应的二氧化碳浓度数据拟合成植物水分利用率随二氧化碳浓度变化的直线方程; 获取上述方程的斜率, 即为叶片表观水碳利用效率, 它代表植物叶片利用整个气室中的二氧化碳和水分的效率; 随后获取被考察植物叶片表观水碳利用效率与参照植物叶片表观水碳利用效率的比值; 依据被考察植物叶片表观水碳利用效率与参照植物叶片表观水碳利用效率的比值来筛选高效利用碳酸氢根离子的植物。

[0047] 本实施例中, 爬山虎与牵牛花生长在同一环境; 爬山虎是被考查植物, 牵牛花是参照植物; 不同二氧化碳浓度下牵牛花和爬山虎叶片净光合速率 (P_n , $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)、蒸腾速率 (T_r , $\text{mmol H}_2\text{O}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) 以及水分利用率 (WUE, $\mu\text{mol CO}_2\cdot\text{mmol}^{-1}\text{H}_2\text{O}$) (C_a 为设定的二氧化碳浓度, $\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$) 如表 3:

[0048] 表 3 不同二氧化碳浓度下牵牛花和爬山虎叶片净光合速率 (P_n , $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)、蒸腾速率 (T_r , $\text{mmol H}_2\text{O}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) 以及水分利用率 (WUE, $\mu\text{mol CO}_2\cdot\text{mmol}^{-1}\text{H}_2\text{O}$) (C_a 为设定的二氧化碳浓度, $\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$)

[0049]

植物材料	Pn	It	Ca	WUE
参照植物 牵牛花	14.92	3.76	1500	3.97
	15.74	3.33	1200	4.73
	15.76	3.17	1000	4.98
	15.19	3.03	800	5.01
	11.50	3.09	600	3.72
	8.52	3.14	400	2.72
	6.61	3.31	300	2.00
	4.03	3.56	200	1.13
	2.77	3.87	150	0.72
	1.78	4.15	120	0.43
	1.13	4.39	100	0.26
	0.45	4.59	80	0.10
被考查植物 爬山虎	10.39	0.50	1500	20.96
	11.57	0.43	1200	26.99
	8.68	0.43	1000	20.41
	7.00	0.44	800	15.98
	5.58	0.44	600	12.55
	3.82	0.48	400	8.01
	3.01	0.52	300	5.80
	2.01	0.56	200	3.58
	0.91	0.60	150	1.52
	0.58	0.62	120	0.94
	0.54	0.64	100	0.84
	0.14	0.67	80	0.21

[0050] 依据表 3 中低二氧化碳浓度 80、100、120、150、200、300 $\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ 下的植物水分利用率与对应的二氧化碳浓度数据拟合植物水分利用率随二氧化碳浓度变化的直线方程。

[0051] 牵牛花为：

$$[0052] \quad Y=0.0087X-0.5986 \quad (R^2=0.9998, \quad n=6)$$

[0053] 爬山虎为：

$$[0054] \quad y=0.0261x-1.9766 \quad (R^2=0.9828, \quad n=6)$$

[0055] 因此，牵牛花表观水碳利用效率 ($WCUEa_{\text{牵牛花}}$) = 0.0087，爬山虎表观水碳利用效率 ($WCUEa_{\text{爬山虎}}$) = 0.0261，被考察植物叶片表观水碳利用效率 ($WCUEaob$) 与参照植物叶片表观水碳利用效率 ($WCUEack$) 的比值则为 3.0 大于 2，表明爬山虎是利用碳酸氢根离子能力弱的植物。

[0056] 用同样方法，同时还对构树和诸葛菜进行检测，结果如表 4：

[0057] 表 4 几种被考察植物叶片表观水碳利用效率 (WCUE_{aob}) 与参照植物叶片表观水碳利用效率 (WCUE_{ack}) 的比值比较

[0058]

植物材料	$WCUE_{aob}/WCUE_{ack}$	是否高效利用碳酸氢根离子的植物?
牵牛花	1.0	是
构树	0.8	是
诸葛菜	1.1	是

[0059] 从表 4 中也可以看出, 诸葛菜、构树和牵牛花都是高效利用碳酸氢根离子的植物, 这与它们有较高的碳酸酐酶活力有关, 也是与实际情况完全符合。同时从对实验培养植物的测定中也可以看出, 本发明检测的结果具有可信性。