



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 108801984 B

(45) 授权公告日 2020.12.01

(21) 申请号 201810489490.4

审查员 刘佳伦

(22) 申请日 2018.05.21

(65) 同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 108801984 A

(43) 申请公布日 2018.11.13

(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 陆叶 饶森 李环

吴沿胜 方蕾 刘丛强 王世杰

(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 21/63 (2006.01)

权利要求书1页 说明书6页

(54) 发明名称

一种基于净光合速率的植物无机氮同化速率的检测方法

(57) 摘要

本发明公开一种基于净光合速率的植物无机氮同化速率的检测方法。将植物幼苗放在被考察的营养液中,测定实验初和实验末植株单株干重和碳氮含量,再计算实验初和实验末植株碳氮元素累积,进而计算植物植株碳氮元素累积摩尔比;结合光合仪测得的植物表观净光合速率,获得植物表观无机氮同化速率;结合已知的植物重碳酸盐利用份额,获得植物实际无机氮同化速率。本发明可以方便、快速测定多种培养条件下植物的无机氮同化速率,不同的测定具有可比性,测定的结果能反映出植株的碳氮耦合情况。

1. 一种基于净光合速率的植物无机氮同化速率的检测方法,其特征在于:包含以下步骤:

第一,室内采用同样规格的穴盘水培萌发植物种子,配制普通培养液培养刚萌发的幼苗至2-5叶期,选择生长较为一致的健康幼苗分成两个部分;

第二,将第一部分烘干,分析实验初植株单株干重和碳氮含量;

第三,将第二部分幼苗在被考察的培养液中进行培养;

第四,待上述第二部分植物幼苗培养至20天后,利用光合仪测定植物的表观净光合速率;

第五,待上述第二部分植物幼苗培养至20天后,结束实验,烘干植物幼苗,分析实验末其植株单株干重和碳氮含量;

第六,依据实验初和实验末植株单株干重和碳氮含量,计算实验初和实验末植株碳氮元素累积;

第七,依据实验初和实验末植株碳氮元素累积,分别计算被考察植物在被考察的培养环境下植株碳氮元素累积摩尔比;

第八,依据植株碳氮元素累积摩尔比和植物的表观净光合速率,获得被考察植物在被考察的环境下的植物表观无机氮同化速率;

第九,依据已知的被考察植物在被考察的环境下的植物重碳酸盐利用份额以及植物表观无机氮同化速率,获得被考察植物在被考察的环境下的植物实际无机氮同化速率;

在第六步骤中,实验初植株碳元素累积 C_{m0} 的计算是依据实验初植株单株干重 m_0 和碳含量 C_0 ,计算公式为, $C_{m0} = m_0 C_0$;实验初植株氮元素累积 N_{m0} 的计算是依据实验初植株单株干重 m_0 和氮含量 N_0 ,计算公式为, $N_{m0} = m_0 N_0$;实验末植株碳元素累积 C_{m1} 的计算是依据实验末植株单株干重 m_1 和碳含量 C_1 ,计算公式为, $C_{m1} = m_1 C_1$;实验末植株氮元素累积 N_{m1} 的计算是依据实验末植株单株干重 m_1 和氮含量 N_1 ,计算公式为, $N_{m1} = m_1 N_1$;在第七步骤中,植株碳氮元素累积摩尔比 M_p 是依据实验初和实验末植株碳氮元素累积来计算的,计算公式为,

$M_p = \frac{1.167 (C_{m1} - C_{m0})}{N_{m1} - N_{m0}}$,这里的1.167为碳氮摩尔比转化系数;在第八步骤中,植物表观无机

氮同化速率 SN_p 是依据植株碳氮元素累积摩尔比 M_p 和植物的表观净光合速率 P_n 来计算的,计算公式为, $SN_p = P_n / M_p$;在第九步骤中,植物实际无机氮同化速率 SN_R 是依据已知的被考察植物在被考察的环境下的植物重碳酸盐利用份额 f_b 以及植物表观无机氮同化速率 SN_p 来

计算的,计算公式为, $SN_R = \frac{SN_p}{1 - f_b}$ 。

2. 根据权利要求1所述的一种基于净光合速率的植物无机氮同化速率的检测方法,其特征在于:在第一步骤中,所述的普通培养液是适合培养被考察植物的未经修改的基本培养液。

3. 根据权利要求1所述的一种基于净光合速率的植物无机氮同化速率的检测方法,其特征在于:在第四步骤中,植物的表观净光合速率 P_n 是利用光合仪在上午9:00-11:00测定植物第二展开叶的净光合速率所得的数据。

一种基于净光合速率的植物无机氮同化速率的检测方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种基于净光合速率的植物无机氮同化速率的检测方法,属于生理生态领域。

技术背景

[0002] 氮是植物生长发育过程中的必需元素,是构成蛋白质、核酸、酶、叶绿素等的重要组成部分。大多数植物吸收利用的无机氮主要是硝酸盐和铵盐。传统的植物无机氮的同化速率是用消耗法,该方法通常是让植物“饥饿”,因此不能保持植物的原始状态,同时由于溶液的氮素浓度变化与植株大小需要匹配才能完成测定,因此目前能较好地实现植物氮素同化速率测定的植物并不多,且测定的结果都只适合处于一定的条件下的植株。为了快速方便地测定不同条件下植物无机氮同化速率,必须寻找一种各种营养条件下都适宜的无机氮同化速率的测定方法。

发明内容

[0003] 本发明要解决的技术问题是:提供一种基于净光合速率的植物无机氮同化速率的检测方法,解决了在各种营养条件下均能测定植物无机氮同化速率的问题,同时测定的结果具有可比性。

[0004] 本发明的技术方案:它包含以下步骤:

[0005] 第一,室内采用同样规格的穴盘水培萌发植物种子,配制普通培养液培养刚萌发的幼苗至2-5叶期,选择生长较为一致的健康幼苗分成两个部分;

[0006] 第二,将第一部分烘干,分析实验初植株单株干重和碳氮含量;

[0007] 第三;将第二部分幼苗培养在被考察的营养液中进行培养;

[0008] 第四,待上述第二部分植物幼苗培养至20天后,利用光合仪测定植物的表观净光合速率,植物的表观净光合速率 P_n 是利用光合仪在上午9:00-11:00测定植物第二展开叶的净光合速率所得的数据,所谓植物的第二展开叶的叶片是依据从上往下的原则,以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;

[0009] 第五,待上述第二部分植物幼苗培养至三周后,结束实验,烘干植物幼苗,分析实验末其植株单株干重和碳氮含量;

[0010] 第六,依据实验初和实验末植株单株干重和碳氮含量,计算实验初和实验末植株碳氮元素累积,实验初植株碳元素累积 C_{m0} 的计算是依据实验初植株单株干重 m_0 和碳含量 C_0 ,计算公式为, $C_{m0}=m_0C_0$;实验初植株氮元素累积 N_{m0} 的计算是依据实验初植株单株干重 m_0 和氮含量 N_0 ,计算公式为, $N_{m0}=m_0N_0$;实验末植株碳元素累积 C_{m1} 的计算是依据实验末植株单株干重 m_1 和碳含量 C_1 ,计算公式为, $C_{m1}=m_1C_1$;实验末植株氮元素累积 N_{m1} 的计算是依据实验末植株单株干重 m_1 和氮含量 N_1 ,计算公式为, $N_{m1}=m_1N_1$;

[0011] 第七,依据实验初和实验末植株碳氮元素累积,分别计算被考察植物在被考察的

培养环境下植株碳氮元素累积摩尔比；植株碳氮元素累积摩尔比 M_p 是依据实验初和实验末植株碳氮元素累积来计算的，计算公式为， $M_p = \frac{1.167 (C_{m1} - C_{m0})}{N_{m1} - N_{m0}}$ ，这里的1.167为碳氮摩尔比转化系数；

[0012] 第八，依据植株碳氮元素累积摩尔比和植物的表观净光合速率，获得被考察植物在被考察的环境下的植物表观无机氮同化速率；植物表观无机氮同化速率 SN_p 是依据植株碳氮元素累积摩尔比 M_p 和植物的表观净光合速率 P_n 来计算的，计算公式为， $SN_p = P_n / M_p$ 。

[0013] 第九，依据已知的被考察植物在被考察的环境下的植物重碳酸盐利用份额以及植物表观无机氮同化速率，获得被考察植物在被考察的环境下的植物实际无机氮同化速率；植物实际无机氮同化速率 SN_R 是依据已知的被考察植物在被考察的环境下的植物重碳酸盐利用份额 f_b 以及植物表观无机氮同化速率 SN_p 来计算的，计算公式为， $SN_R = \frac{SN_p}{1 - f_b}$ 。

[0014] 本发明优点

[0015] 1) 本发明在较短的时间内就可以测定出多种培养条件下植物的无机氮同化速率，克服了传统的测定方法中不能保持原始的培养条件和植株的原始状态的不足。

[0016] 2) 本发明采用的步骤少，计算简单、测试成本较低。

[0017] 3) 本发明是对植株碳氮元素累积摩尔比进行测定，测定的结果也能反映出植株的碳氮耦合情况。

[0018] 4) 本发明不仅可以测定植物表观无机氮同化速率，而且还可以测定植物实际无机氮同化速率，可以全面反映植物的碳氮代谢速率。

[0019] 5) 本发明测定的结果具有可比性。

[0020] 发明原理

[0021] 植物具有稳定其化学计量关系的功能，碳氮比是植物最重要的化学计量关系之一。直接测定植物无机氮的同化速率方法繁琐，且受吸收液的限制，测定的结果不能反映植物对氮的同化情况。由于植物的碳氮均来自环境，依据有机碳可以获取有机氮的情况，植物碳绝大多数是来源于光合作用，因此，碳的同化量就制约着氮的同化量，这种制约关系就是由碳氮化学计量关系所决定的。

[0022] 植株对碳氮的同化量可以用植株累积碳氮量来表示。植株对碳氮同化的化学计量关系也就是植株累积碳氮量的化学计量关系。碳的同化用净光合速率可以表征，因此氮的同化则可以用植株累积碳氮量的化学计量关系和净光合速率来表征。

[0023] 植株累积碳氮量的化学计量关系可以用植株碳氮元素累积摩尔比 M_p 来表示，而植株碳氮元素累积摩尔比 M_p 则是植株碳元素累积与植株氮元素累积的摩尔比。植株碳元素累积为实验末植株碳元素累积与实验初植株碳元素累积之差；同样，植株氮元素累积为实验末植株氮元素累积与实验初植株氮元素累积之差；实验初植株碳元素累积 C_{m0} 的计算是依据实验初植株单株干重 m_0 和碳含量 C_0 ，计算公式为， $C_{m0} = m_0 C_0$ ；实验初植株氮元素累积 N_{m0} 的计算是依据实验初植株单株干重 m_0 和氮含量 N_0 ，计算公式为， $N_{m0} = m_0 N_0$ ；实验末植株碳元素累积 C_{m1} 的计算是依据实验末植株单株干重 m_1 和碳含量 C_1 ，计算公式为， $C_{m1} = m_1 C_1$ ；实验末植株氮元素累积 N_{m1} 的计算是依据实验末植株单株干重 m_1 和氮含量 N_1 ，计算公式为， $N_{m1} = m_1 N_1$ ；植株碳氮元素累积摩尔比 M_p 的计算公式则为(1)式：

$$[0024] \quad M_p = \frac{1.167 (C_{m1} - C_{m0})}{N_{m1} - N_{m0}} \quad (1)$$

[0025] 这里的1.167为碳氮摩尔比转化系数。

[0026] 植株碳氮元素累积摩尔比 M_p ：

$$[0027] \quad M_p = P_n / S_{Np} \quad (2)$$

[0028] 这里 S_{Np} 表示植物表观无机氮同化速率, P_n 为植物的表观净光合速率。(2)式变形则为： $S_{Np} = P_n / M_p$ 。

[0029] 植物不仅利用空气中的二氧化碳,而且也利用土壤的重碳酸盐,光合仪仅可以测得植物同化空气的二氧化碳的同化速率,因此还得考虑植物利用重碳酸盐部分,已有很多技术可以获得植物利用重碳酸盐的份额(ZL 201510482616.1,ZL201110331521.1,等),因此,已知被考察植物在被考察的环境下的植物重碳酸盐利用份额 f_b ,我们就可以算出植物实际无机氮同化速率 S_{NR} ,计算公式为, $S_{NR} = \frac{S_{Np}}{1-f_b}$ 。

具体实施方式

[0030] 本发明的实施例:它包括以下步骤:

[0031] 第一,室内采用同样规格的穴盘水培萌发植物种子,配制普通培养液培养刚萌发的幼苗至2-5叶期,选择生长较为一致的健康幼苗分成两个部分;

[0032] 第二,将第一部分烘干,分析实验初植株单株干重和碳氮含量;

[0033] 第三;将第二部分幼苗培养在被考察的营养液中进行培养;

[0034] 第四,待上述第二部分植物幼苗培养至20天后,利用光合仪测定植物的表观净光合速率,植物的表观净光合速率 P_n 是利用光合仪在上午9:00-11:00测定植物第二展开叶的净光合速率所得的数据,所谓植物的第二展开叶的叶片是依据从上往下的原则,以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,等;

[0035] 第五,待上述第二部分植物幼苗培养至三周后,结束实验,烘干植物幼苗,分析实验末其植株单株干重和碳氮含量;

[0036] 第六,依据实验初和实验末植株单株干重和碳氮含量,计算实验初和实验末植株碳氮元素累积,实验初植株碳元素累积 C_{m0} 的计算是依据实验初植株单株干重 m_0 和碳含量 C_0 ,计算公式为, $C_{m0} = m_0 C_0$;实验初植株氮元素累积 N_{m0} 的计算是依据实验初植株单株干重 m_0 和氮含量 N_0 ,计算公式为, $N_{m0} = m_0 N_0$;实验末植株碳元素累积 C_{m1} 的计算是依据实验末植株单株干重 m_1 和碳含量 C_1 ,计算公式为, $C_{m1} = m_1 C_1$;实验末植株氮元素累积 N_{m1} 的计算是依据实验末植株单株干重 m_1 和氮含量 N_1 ,计算公式为, $N_{m1} = m_1 N_1$;

[0037] 第七,依据实验初和实验末植株碳氮元素累积,分别计算被考察植物在被考察的培养环境下植株碳氮元素累积摩尔比;植株碳氮元素累积摩尔比 M_p 是依据实验初和实验末植株碳氮元素累积来计算的,计算公式为, $M_p = \frac{1.167 (C_{m1} - C_{m0})}{N_{m1} - N_{m0}}$,这里的1.167为碳氮摩尔比转化系数;

[0038] 第八,依据植株碳氮元素累积摩尔比和植物的表观净光合速率,获得被考察植物在被考察的环境下的植物表观无机氮同化速率;植物表观无机氮同化速率 S_{Np} 是依据植株

碳氮元素累积摩尔比 M_p 和植物的表观净光合速率 P_n 来计算的,计算公式为, $SN_p = P_n/M_p$ 。

[0039] 第九,依据已知的被考察植物在被考察的环境下的植物重碳酸盐利用份额以及植物表观无机氮同化速率,获得被考察植物在被考察的环境下的植物实际无机氮同化速率;植物实际无机氮同化速率 SN_R 是依据已知的被考察植物在被考察的环境下的植物重碳酸盐利用份额 f_b 以及植物表观无机氮同化速率 SN_p 来计算的,计算公式为, $SN_R = \frac{SN_p}{1-f_b}$ 。

[0040] 实施例1:诸葛菜在不同条件下无机氮同化速率的检测

[0041] 将刚萌发的诸葛菜幼苗,放到Hoagland营养液中培养至2叶期,选择生长较为一致的健康幼苗分成两个部分;第一部分直接烘干,分析实验初植株单株干重和碳氮含量,见表1;第二部分分别培养在不同条件下的改良Hoagland营养液中进行培养(表1),培养液的pH为 8.2 ± 0.2 ;待上述第二部分植物幼苗培养20d后,在上午9:00-11:00利用Li-6400XT便携式光合仪测定诸葛菜的第二展开叶的净光合速率(表2);待上述第二部分植物幼苗培养至三周后,结束实验,烘干植物幼苗,分析其植株单株干重和碳氮含量(如表1);计算实验初和实验末植株碳氮元素累积,进而计算植株碳氮元素累积摩尔比(如表2);最后计算出植物表观无机氮同化速率 SN_p (如表2)。将已知的诸葛菜在被考察的环境下的植物重碳酸盐利用份额 f_b 代入计算公式 $SN_R = \frac{SN_p}{1-f_b}$ 中,获得诸葛菜实际无机氮同化速率 SN_R (如表2)。

[0042] 表1不同条件下实验初和实验末诸葛菜植株单株干重(g)和碳氮含量(%)

处理	实验初			实验末		
	干重(g)	碳含量(%)	氮含量(%)	干重(g)	碳含量(%)	氮含量(%)
[0043] Hoagland 营养液+PEG 0(g/L)	0.0077	39.38	3.48	0.1030	42.75	5.42
Hoagland 营养液 +PEG40(g/L)	0.0077	39.38	3.48	0.0992	40.11	5.39

[0044] 表2不同条件下实验初和实验末诸葛菜植株碳氮元素累积摩尔比(M_p)、表观净光合速率($P_n, \mu\text{mol CO}_2\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$)、植物表观无机氮同化速率($SN_p, \mu\text{mol CO}_2\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$)、植物重碳酸盐利用份额(f_b)以及实际无机氮同化速率($SN_R, \mu\text{mol CO}_2\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$)

处理	M_p	P_n	SN_p	f_b	SN_R
Hoagland营养液+PEG0(g/L)	9.00	4.32	0.48	0.0668	0.51
Hoagland营养液+PEG40(g/L)	8.45	1.64	0.19	0.4758	0.36

[0046] 实施例2:甘蓝型油菜在不同条件下无机氮同化速率的检测

[0047] 将刚萌发的甘蓝型油菜幼苗,放到Hoagland营养液中培养至5叶期,选择生长较为一致的健康幼苗分成两个部分;第一部分直接烘干,分析实验初植株单株干重和碳氮含量,见表3;第二部分分别培养在不同条件下的改良Hoagland营养液中进行培养(表3),培养液的pH为 8.2 ± 0.2 ;待上述第二部分植物幼苗培养20d后,在上午9:00-11:00利用Li-6400XT

便携式光合仪测定甘蓝型油菜的第二展开叶的净光合速率(表4);待上述第二部分植物幼苗培养至三周后,结束实验,烘干植物幼苗,分析其植株单株干重和碳氮含量(如表3);计算实验初和实验末植株碳氮元素累积,进而计算植株碳氮元素累积摩尔比(如表4);最后计算出植物表观无机氮同化速率 SN_p (如表4)。将已知的甘蓝型油菜在被考察的环境下的植物重碳酸盐利用份额 f_b 代入计算公式 $SN_R = \frac{SN_p}{1-f_b}$ 中,获得甘蓝型油菜实际无机氮同化速率 SN_R (如表4)。

[0048] 表3不同条件下实验初和实验末甘蓝型油菜植株单株干重(g)和碳氮含量(%)

处理	实验初			实验末		
	干重(g)	碳含量(%)	氮含量(%)	干重(g)	碳含量(%)	氮含量(%)
6 mM 硝酸盐+PEG 0(g/L)	0.0439	34.02	2.80	0.1652	41.01	2.93
[0049] 6 mM 硝酸盐+PEG 40(g/L)	0.0439	34.02	2.80	0.0447	35.75	1.22
15mM 硝酸盐+PEG0(g/L)	0.0439	34.02	2.80	0.1677	39.69	4.41
15mM 硝酸盐+PEG 40(g/L)	0.0439	34.02	2.80	0.0674	32.94	2.39
6 mM 硝酸盐+9 mM 铵盐	0.0439	34.02	2.80	0.0869	38.02	3.69
+PEG 0(g/L)						
6 mM 硝酸盐+9 mM 铵盐 +PEG 40(g/L)	0.0439	34.02	2.80	0.0739	35.72	2.31
[0050] Hoagland 营养液+PEG 0(g/L)	0.0439	34.02	2.80	0.2131	38.17	3.99
Hoagland 营养液 +PEG40(g/L)	0.0439	34.02	2.80	0.1322	36.33	2.03
15mM 铵盐+PEG 0 (g/L)	0.0439	34.02	2.80	0.2420	37.45	4.35
15mM 铵盐+PEG 40 (g/L)	0.0439	34.02	2.80	0.0747	35.72	2.18

[0051] 表4不同条件下实验初和实验末甘蓝型油菜植株碳氮元素累积摩尔比(M_p)、表观净光合速率($P_n, \mu\text{mol CO}_2\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$)、植物表观无机氮同化速率($SN_p, \mu\text{mol CO}_2\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$)、植物重碳酸盐利用份额(f_b)以及实际无机氮同化速率($SN_R, \mu\text{mol CO}_2\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$)

处理	Mp	Pn	SNp	f _b	SN _R
6 mM 硝酸盐+PEG 0(g/L)	17.07	8.63	0.51		
6 mM 硝酸盐+PEG 40(g/L)	-1.78 (0)	4.51	-2.53		
15mM 硝酸盐+PEG0(g/L)	9.77	10.48	1.07		
15mM 硝酸盐+PEG 40(g/L)	22.22	5.70	0.26		
6 mM 硝酸盐+9 mM 铵盐 +PEG 0(g/L)	10.68	7.94	0.74		
6 mM 硝酸盐+9 mM 铵盐+PEG 40(g/L)	27.99	5.03	0.18		
Hoagland 营养液+PEG 0(g/L)	10.65	9.59	0.90	0.029	0.93
Hoagland 营养液+PEG40(g/L)	26.55	2.27	0.09	0.059	0.10
15mM 铵盐+PEG 0 (g/L)	9.50	9.11	0.96	-0.025 (0)	0.96
15mM 铵盐+PEG 40 (g/L)	34.34	5.39	0.16	0.171	0.19

[0053] 实施效果如下:

[0054] 对比表2和表4可以看出,无论诸葛菜还是甘蓝型油菜,模拟干旱(PEG 6000,40g/L)都严重地降低无机氮同化速率;但是,从同为Hoagland营养液来说,模拟干旱对诸葛菜的无机氮同化速率的影响都小于对于甘蓝型油菜的,尤其是诸葛菜的实际无机氮同化速率,受到模拟干旱影响较小,可达到未受干旱的一半;而对于甘蓝型油菜,实际无机氮同化速率,受到模拟干旱影响较大,仅为未受干旱的十分之一;另外,还可以看到在非干旱的环境下,甘蓝型油菜有着较高的无机氮同化速率。这因为诸葛菜具有极好的喀斯特适生性,它适应于岩溶干旱这与事实是非常吻合的,可以将此方法应用到其他植物的抗岩溶干旱能力的检测上。