



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 108956863 B

(45)授权公告日 2020.07.07

(21)申请号 201810489488.7

G01N 5/00(2006.01)

(22)申请日 2018.05.21

审查员 胡媛媛

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 108956863 A

(43)申请公布日 2018.12.07

(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 33/00(2006.01)

权利要求书2页 说明书6页

(54)发明名称

一种基于无机氮素利用效率的植物抗岩溶干旱能力的检测方法

(57)摘要

本发明公开一种基于无机氮素利用效率的植物抗岩溶干旱能力的检测方法。将植物幼苗分别培养在有或无聚乙二醇处理的10mM碳酸氢钠的营养液中进行培养,通过测定实验初和实验末植株单株干重和碳氮含量,获得实验末不同处理的植株碳氮摩尔比、实验初和实验末植株氮元素累积以及不同处理的植株氮元素累积比;进而进一步计算出植株碳氮摩尔比稳定系数和植株氮元素累积稳定系数,最后计算植物抗岩溶干旱能力。本发明在实验室中利用较短的时间就可以量化植物的抗岩溶干旱能力,克服了田间测定受气候和土壤限制的不足,测定的结果可直接用于植物的喀斯特适生性的判别。

1. 一种基于无机氮素利用效率的植物抗岩溶干旱能力的检测方法,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三个部分;

第二,将第一部分烘干,分析实验初植株单株干重和氮含量;

第三,将第二部分幼苗培养在添加碳酸氢钠的上述培养液中进行培养,第三部分幼苗放入添加碳酸氢钠的同时添加聚乙二醇的上述培养液中进行培养;

第四,待上述第二、第三部分植物幼苗培养三周后,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;

第五,依据实验初和实验末植株单株干重和氮含量,计算实验初和实验末植株氮元素累积;

第六,实验末未添加聚乙二醇和添加聚乙二醇实验的植株碳氮摩尔比,分别记为 M_0 和 M_1 ;

第七,依据实验初和实验末植株氮元素累积,分别计算未添加聚乙二醇和添加聚乙二醇实验的植株氮元素累积比,分别记为 C_{p0} 和 C_{p1} ;

第八,依据实验末未添加聚乙二醇和添加聚乙二醇实验的植株的碳氮摩尔比 M_0 和 M_1 ,计算植株碳氮摩尔比稳定系数 D_m ;

第九,依据未添加聚乙二醇和添加聚乙二醇实验的植株氮元素累积比 C_{p0} 和 C_{p1} ,计算植株氮元素累积稳定系数 D_c ;

第十,依据植株碳氮摩尔比稳定系数 D_m 和植株氮元素累积稳定系数 D_c ,计算植物抗岩溶干旱能力 R_d ;在第一步骤中,培养液的无机氮的组成具有低铵高硝的特征,也即培养液中硝酸盐的摩尔浓度大于铵盐的摩尔浓度;在第五步骤中,实验初植株氮元素累积 C_{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, $C_{m0}=m_0N_0$;实验末植株氮元素累积分为未添加聚乙二醇实验的植株氮元素累积 C_{mt0} 和添加聚乙二醇实验的植株氮元素累积 C_{mt1} ;未添加聚乙二醇实验的植株氮元素累积 C_{mt0} 的计算是依据未添加聚乙二醇实验的植株单株干重 m_c 和氮含量 N_c ,计算公式为, $C_{mt0}=m_cN_c$;添加聚乙二醇实验的植株氮元素累积 C_{mt1} 的计算是依据添加聚乙二醇实验的植株单株干重 m_t 和氮含量 N_t ,计算公式为, $C_{mt1}=m_tN_t$;在第七步骤中,未添加聚乙二醇实验的植株氮元素累积比 C_{p0} 的计算公式为, $C_{p0}=\frac{C_{mt0}-C_{m0}}{C_{m0}}$;添加聚乙二醇实验的植株氮元素累积比 C_{p1} 的计算公式为, $C_{p1}=\frac{C_{mt1}-C_{m0}}{C_{m0}}$;在

第八步骤中,植株碳氮摩尔比稳定系数 D_m 的计算公式为, $D_m=\frac{2M_0M_1}{M_0^2+M_1^2}$;在第九步骤中,

植株氮元素累积稳定系数 D_c 的计算公式为, $D_c=\frac{2C_{p0}C_{p1}}{C_{p0}^2+C_{p1}^2}$;在第十步骤中,植物抗岩溶

干旱能力 R_d 的计算公式为, $R_d=\frac{D_m+D_c}{2}\times 100\%$ 。

2. 根据权利要求1所述的一种基于无机氮素利用效率的植物抗岩溶干旱能力的检测方法,其特征在于:在第三步骤中,添加的碳酸氢钠浓度为10mM,添加的聚乙二醇分子量为6000,培养液聚乙二醇的浓度40g/L,培养液的pH为 8.2 ± 0.2 。

3. 根据权利要求1所述的一种基于无机氮素利用效率的植物抗岩溶干旱能力的检测方法,其特征在于:在第六步骤中,未添加聚乙二醇实验的植株碳氮摩尔比 M_0 是依据未添加聚乙二醇实验的植株的碳含量 C_c 和氮含量 N_c 来计算的,计算公式为, $M_0=1.167C_c/N_c$,其中1.167为碳氮摩尔比转化系数;添加聚乙二醇实验的植株碳氮摩尔比 M_1 是依据添加聚乙二醇实验的植株的碳含量 C_t 和氮含量 N_t 来计算的,计算公式为, $M_1=1.167C_t/N_t$,同样,这里的1.167为碳氮摩尔比转化系数。

一种基于无机氮素利用效率的植物抗岩溶干旱能力的检测方法

方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种基于无机氮素利用效率的植物抗岩溶干旱能力的检测方法,属于喀斯特生态修复技术领域。

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。由于强烈的岩溶作用,使得喀斯特土壤环境具有岩溶干旱、高pH、高重碳酸盐、高钙镁、低营养的特征,其中岩溶干旱、高pH、高重碳酸盐是限制喀斯特地区植物生长的最独特的环境。在喀斯特土壤有效氮含量低、“低铵高硝”的赋存状态下,植物具有稳定的氮素利用效率和较好的碳氮耦合关系成为喀斯特逆境下植物生存和发展的先决条件。

发明内容

[0003] 本发明要解决的技术问题是:提供一种基于无机氮素利用效率的植物抗岩溶干旱能力的检测方法,以填补现有技术中没有专门针对植物抗岩溶干旱能力的检测方法的空白,简便快捷地精确测定了植物的喀斯特适生性。本发明的技术方案:

[0004] 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,配制硝酸盐的摩尔浓度大于铵盐的摩尔浓度的培养液,将刚萌发的幼苗培养至2-5叶期,选择生长较为一致的健康幼苗分成三个部分;

[0006] 第二,将第一部分烘干,分析实验初植株单株干重和氮含量;

[0007] 第三;将第二部分幼苗培养在添加10mM碳酸氢钠的上述营养液中进行培养,第三部分幼苗放入添加10mM碳酸氢钠的同时添加浓度为40g/L的聚乙二醇的上述营养液中进行培养,添加的聚乙二醇分子量为6000,培养液的pH为 8.2 ± 0.2 ;

[0008] 第四,待上述第二、第三部分植物幼苗培养三周后,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;

[0009] 第五,依据实验初和实验末植株单株干重和氮含量,计算实验初和实验末植株氮元素累积;实验初植株氮元素累积 C_{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, $C_{m0} = m_0 N_0$;实验末植株氮元素累积分为未添加聚乙二醇实验的植株氮元素累积 $C_{m_{t0}}$ 和添加聚乙二醇实验的植株氮元素累积 $C_{m_{t1}}$;未添加聚乙二醇实验的植株氮元素累积 $C_{m_{t0}}$ 的计算是依据未添加聚乙二醇实验的植株单株干重 m_c 和氮含量 N_c ,计算公式为, $C_{m_{t0}} = m_c N_c$;添加聚乙二醇实验的植株氮元素累积 $C_{m_{t1}}$ 的计算是依据添加聚乙二醇实验的植株单株干重 m_t 和氮含量 N_t ,计算公式为, $C_{m_{t1}} = m_t N_t$;

[0010] 第六,实验末未添加聚乙二醇和添加聚乙二醇实验的植株碳氮摩尔比,分别记为 M_0 和 M_1 ;未添加聚乙二醇实验的植株碳氮摩尔比 M_0 是依据未添加聚乙二醇实验的植株的碳

含量 C_c 和氮含量 N_c 来计算的,计算公式为, $M_0=1.167C_c/N_c$,其中1.167为碳氮摩尔比转化系数;添加聚乙二醇实验的植株碳氮摩尔比 M_1 是依据添加聚乙二醇实验的植株的碳含量 C_t 和氮含量 N_t 来计算的,计算公式为, $M_1=1.167C_t/N_t$,同样,这里的1.167为碳氮摩尔比转化系数;

[0011] 第七,依据实验初和实验末植株氮元素累积,分别计算未添加聚乙二醇和添加聚乙二醇实验的植株氮元素累积比,分别记为 C_{p0} 和 C_{p1} ;未添加聚乙二醇实验的植株氮元素累积比 C_{p0} 的计算公式为, $C_{p0} = \frac{C_{m_{t0}}-C_{m_0}}{C_{m_0}}$;添加聚乙二醇实验的植株氮元素累积比 C_{p1} 的计算公式为, $C_{p1} = \frac{C_{m_{t1}}-C_{m_0}}{C_{m_0}}$;

[0012] 第八,依据实验末未添加聚乙二醇和添加聚乙二醇实验的植株的碳氮摩尔比 M_0 和 M_1 ,计算植株碳氮摩尔比稳定系数 D_m ,计算公式为, $D_m = \frac{2 M_0 M_1}{M_0^2+M_1^2}$;

[0013] 第九,依据未添加聚乙二醇和添加聚乙二醇实验的植株氮元素累积比 C_{p0} 和 C_{p1} ,计算植株氮元素累积稳定系数 D_c ,计算公式为, $D_c = \frac{2 C_{p0} C_{p1}}{C_{p0}^2+C_{p1}^2}$;

[0014] 第十,依据植株碳氮摩尔比稳定系数 D_m 和植株氮元素累积稳定系数 D_c ,计算植物抗岩溶干旱能力 R_d ,计算公式为, $R_d = \frac{D_m+D_c}{2} \times 100\%$ 。

[0015] 本发明优点

[0016] 1) 本发明在实验室中利用较短的时间就可以测定出植物的抗岩溶干旱能力,克服了田间测定受气候和土壤限制的不足。

[0017] 2) 本发明采用的步骤少,计算简单、测试成本较低,克服了现有类似技术中或者步骤繁琐、测试条件苛刻或者测定成本巨大、仪器昂贵等的不足,

[0018] 3) 本发明专门针对植物抗岩溶干旱能力的检测,检测的结果可直接用于植物的喀斯特适生性的判别。

[0019] 4) 本发明直接将植物抗岩溶干旱能力进行量化,因此,不同的测定结果可以比较。

[0020] 5) 本发明也可为其他抗逆境检测提供借鉴。

[0021] 发明原理

[0022] 喀斯特土壤环境最典型特征是岩溶干旱、高pH、高重碳酸盐以及伴随着“低铵高硝”的低营养。岩溶干旱是影响喀斯特地区植物生长最重要的影响因子,同时植物幼苗对干旱逆境最为敏感。高分子量的聚乙二醇在溶液中会产生渗透势,对植物的水分吸收产生限制作用,经常被用来作为模拟干旱的化学试剂。在喀斯特逆境的背景下,植物幼苗氮素利用效率和碳氮耦合对模拟干旱的响应,决定着植物生存和发展。

[0023] 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,过大过小都表征植物受到逆境的胁迫。植物的氮素累积与碳氮摩尔比表征了植物的无机氮素的利用效率。因此,获取植株氮元素累积稳定系数和碳氮摩尔比稳定系数成为本发明的关键。

[0024] 以不干旱处理为对照,考察干旱处理下植株碳氮摩尔比和植株氮元素累积与对照的相应指标的差异,差异越小,植株受干旱的影响越小,抗岩溶干旱的能力越强。这种差异

可以用稳定系数或相似系数来表征,但是,稳定系数大小与差异大小成反比,差异越小稳定系数越大,差异越大稳定系数越小,最大的稳定系数是1。

[0025] 而稳定系数可用(1)式表达:

$$[0026] \quad D = \frac{2ab}{a^2+b^2} \quad (1)$$

[0027] (1)式中a、b表示的是为两个样本的指标值,D表示的是两样品的相似性或稳定系数。

[0028] 我们把实验末未添加聚乙二醇实验的植株的碳氮摩尔比记为 M_0 ,把实验末添加聚乙二醇实验的植株的碳氮摩尔比记为 M_1 ,则植株碳氮摩尔比稳定系数 D_m ,计算公式为(2)式:

$$[0029] \quad D_m = \frac{2M_0M_1}{M_0^2+M_1^2} \quad (2)$$

[0030] 我们把未添加聚乙二醇实验的植株氮元素累积比记为 C_{p0} ,把添加聚乙二醇实验的植株氮元素累积比记为 C_{p1} ,则植株氮元素累积稳定系数 D_c ,计算公式为(3)式:

$$[0031] \quad D_c = \frac{2C_{p0}C_{p1}}{C_{p0}^2+C_{p1}^2} \quad (3)$$

[0032] 最后,为了减少误差,增加结果的可靠性,我们定义植物抗岩溶干旱能力 $R_d = \frac{D_m+D_c}{2} \times 100\%$ 。

具体实施方式

[0033] 本发明的实施例:它包括以下步骤:

[0034] 第一,室内采用同样规格的穴盘,水培萌发植物种子,配制硝酸盐的摩尔浓度大于铵盐的摩尔浓度的培养液,将刚萌发的幼苗培养至2-5叶期,选择生长较为一致的健康幼苗分成三个部分;

[0035] 第二,将第一部分烘干,分析实验初植株单株干重和氮含量;

[0036] 第三;将第二部分幼苗培养在添加10mM碳酸氢钠的上述营养液中进行培养,第三部分幼苗放入添加10mM碳酸氢钠的同时添加浓度为40g/L的聚乙二醇的上述营养液中进行培养,添加的聚乙二醇分子量为6000,培养液的pH为 8.2 ± 0.2 ;

[0037] 第四,待上述第二、第三部分植物幼苗培养三周后,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;

[0038] 第五,依据实验初和实验末植株单株干重和氮含量,计算实验初和实验末植株氮元素累积;实验初植株氮元素累积 C_{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, $C_{m0} = m_0N_0$;实验末植株氮元素累积分为未添加聚乙二醇实验的植株氮元素累积 C_{mt0} 和添加聚乙二醇实验的植株氮元素累积 C_{mt1} ;未添加聚乙二醇实验的植株氮元素累积 C_{mt0} 的计算是依据未添加聚乙二醇实验的植株单株干重 m_c 和氮含量 N_c ,计算公式为, $C_{mt0} = m_cN_c$;添加聚乙二醇实验的植株氮元素累积 C_{mt1} 的计算是依据添加聚乙二醇实验的植株单株干重 m_t 和氮含量 N_t ,计算公式为, $C_{mt1} = m_tN_t$;

[0039] 第六,实验末未添加聚乙二醇和添加聚乙二醇实验的植株碳氮摩尔比,分别记为 M_0 和 M_1 ;未添加聚乙二醇实验的植株碳氮摩尔比 M_0 是依据未添加聚乙二醇实验的植株的碳

含量 C_c 和氮含量 N_c 来计算的,计算公式为, $M_0=1.167C_c/N_c$,其中1.167为碳氮摩尔比转化系数;添加聚乙二醇实验的植株碳氮摩尔比 M_1 是依据添加聚乙二醇实验的植株的碳含量 C_t 和氮含量 N_t 来计算的,计算公式为, $M_1=1.167C_t/N_t$,同样,这里的1.167为碳氮摩尔比转化系数;

[0040] 第七,依据实验初和实验末植株氮元素累积,分别计算未添加聚乙二醇和添加聚乙二醇实验的植株氮元素累积比,分别记为 C_{p0} 和 C_{p1} ;未添加聚乙二醇实验的植株氮元素累积比 C_{p0} 的计算公式为, $C_{p0} = \frac{C_{m_{t0}} - C_{m_0}}{C_{m_0}}$;添加聚乙二醇实验的植株氮元素累积比 C_{p1} 的计算

公式为, $C_{p1} = \frac{C_{m_{t1}} - C_{m_0}}{C_{m_0}}$;

[0041] 第八,依据实验末未添加聚乙二醇和添加聚乙二醇实验的植株的碳氮摩尔比 M_0 和 M_1 ,计算植株碳氮摩尔比稳定系数 D_m ,计算公式为, $D_m = \frac{2 M_0 M_1}{M_0^2 + M_1^2}$;

[0042] 第九,依据未添加聚乙二醇和添加聚乙二醇实验的植株氮元素累积比 C_{p0} 和 C_{p1} ,计算植株氮元素累积稳定系数 D_c ,计算公式为, $D_c = \frac{2 C_{p0} C_{p1}}{C_{p0}^2 + C_{p1}^2}$;

[0043] 第十,依据植株碳氮摩尔比稳定系数 D_m 和植株氮元素累积稳定系数 D_c ,计算植物抗岩溶干旱能力 R_d ,计算公式为, $R_d = \frac{D_m + D_c}{2} \times 100\%$ 。

[0044] 实施例1:诸葛菜抗岩溶干旱能力的检测

[0045] 将刚萌发的诸葛菜幼苗,放到总氮量为15mM/L、硝态氮含量为14mM/L的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三个部分;第一部分直接烘干,分析实验初植株单株干重和氮含量,见表1;第二部分和第三部分分别培养在无聚乙二醇处理的和有聚乙二醇(PEG 6000,40g/L)处理的10mM碳酸氢钠的上述营养液中进行培养,培养液的pH为 8.2 ± 0.2 ;待上述第二、第三部分植物幼苗培养21d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(如表1);计算实验初和实验末植株氮元素累积,进而计算未添加聚乙二醇和添加聚乙二醇实验的植株氮元素累积比(如表2);同时还计算出未添加聚乙二醇和添加聚乙二醇实验的植株碳氮摩尔比(如表2),最后计算出植株碳氮摩尔比稳定系数、植株氮元素累积稳定系数以及植物抗岩溶干旱能力,如表3。

[0046] 表1实验初和实验末诸葛菜植株单株干重(g)和碳氮含量(%)

[0047]	实验初	实验末	
		无干旱处理	干旱处理
植株干重(g)	0.0077	0.1030	0.0992
[0048]			
植株氮含量(%)	3.48	5.42	5.39
植株碳含量(%)	39.38	42.75	40.11

[0049] 表2有无干旱处理下诸葛菜植株氮元素累积比和碳氮摩尔比

[0050]	无干旱处理	干旱处理
--------	-------	------

植株氮元素累积比	19.83	18.95
植株碳氮摩尔比	9.20	8.68

[0051] 表3诸葛菜植株碳氮摩尔比稳定系数、植株氮元素累积稳定系数以及植物

[0052] 抗岩溶干旱能力

[0053]	碳氮摩尔比稳定系数 (Dm)	0.998
	氮元素累积稳定系数 (Dc)	0.999
	植物抗岩溶干旱能力 (Rd) (%)	99.85

[0054] 实施例2:甘蓝型油菜抗岩溶干旱能力的检测

[0055] 将刚萌发的甘蓝型油菜幼苗,放到总氮量为15mM/L、硝态氮含量为14mM/L的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三个部分;第一部分直接烘干,分析实验初植株单株干重和氮含量,见表4;第二部分和第三部分分别培养在无聚乙二醇处理的和有聚乙二醇(PEG 6000,40g/L)处理的10mM碳酸氢钠的上述营养液中进行培养,培养液的pH为 8.2 ± 0.2 ;待上述第二、第三部分植物幼苗培养21d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4);计算实验初和实验末植株氮元素累积,进而计算未添加聚乙二醇和添加聚乙二醇实验的植株氮元素累积比(如表5);同时还计算出未添加聚乙二醇和添加聚乙二醇实验的植株碳氮摩尔比(如表5),最后计算出植株碳氮摩尔比稳定系数、植株氮元素累积稳定系数以及植物抗岩溶干旱能力,如表6。

[0056] 表4实验初和实验末甘蓝型油菜植株单株干重(g)和碳氮含量(%)

	实验初	实验末		
		无干旱处理	干旱处理	
[0057]	植株干重(g)	0.0439	0.2131	0.1322
	植株氮含量(%)	2.80	3.99	2.03
	植株碳含量(%)	34.02	38.17	36.33

[0058] 表5有无干旱处理下甘蓝型油菜植株氮元素累积比和碳氮摩尔比

	无干旱处理	干旱处理	
[0059]	植株氮元素累积比	5.91	1.18
	植株碳氮摩尔比	11.16	20.89

[0060] 表6甘蓝型油菜植株碳氮摩尔比稳定系数、植株氮元素累积稳定系数以及

[0061] 植物抗岩溶干旱能力

[0062]	碳氮摩尔比稳定系数 (Dm)	0.831
	氮元素累积稳定系数 (Dc)	0.384
	植物抗岩溶干旱能力 (Rd) (%)	60.75

[0063] 实施效果如下:

[0064] 对比表3和表6可以看出,诸葛菜无论是植株的碳氮摩尔比稳定系数还是植株氮元素累积稳定系数都明显地大于甘蓝型油菜,最终的抗岩溶干旱能力仍然是诸葛菜大于甘蓝型油菜,这是与诸葛菜具有极好的喀斯特适生性有关,与事实非常吻合,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。