



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 115014893 A

(43) 申请公布日 2022.09.06

(21) 申请号 202210602426.9

(22) 申请日 2022.05.30

(71) 申请人 湖南省林业科学院

地址 410004 湖南省长沙市天心区韶山南路658号

(72) 发明人 杨艳 李昌珠 陈景震 李培旺
刘汝宽 李党训 肖志红 吉悦娜
张爱华 李力 唐洁 曾霞 黎蕾

(74) 专利代理机构 北京盛询知识产权代理有限公司 11901
专利代理师 方亚兵

(51) Int. Cl.

G01N 1/28 (2006.01)

G01N 21/84 (2006.01)

G01N 27/30 (2006.01)

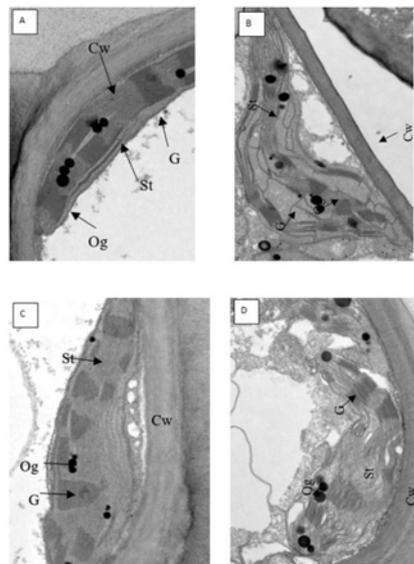
权利要求书1页 说明书4页 附图1页

(54) 发明名称

一种判断栀子缺水的方法

(57) 摘要

本发明公开了一种判断栀子缺水的方法,属于农业应用技术领域。该方法获取待测植物枝条树液pH值和叶片的叶绿体超微结构图像,根据所述树液的pH值和叶片叶绿体超微结构图像判断待测植物是否缺水;若所述树液pH值>7.5,同时超微结构图像中叶绿体外被膜出现变形和/或基粒排列混乱,则判断待测植物缺水。本发明可以在不影响植物生长的情况下,快速准确地检测出植物是否缺水,可以精准有效的指导灌溉,提高灌溉水的有效利用率。该方法不受季节影响,受外界干扰较小,检测结果精准有效,且检测时间较短,可以通过该方法的判断及时缓解植物缺水现状,将缺水对植物的破坏和影响降到最低。



1. 一种判断栀子缺水的方法,其特征在于,获取待测植株树液和叶片的叶绿体超微结构图像,根据所述树液pH值和超微结构图像判断待测植物是否缺水;若所述树液pH值 >7.5 且超微结构图像中叶绿体外被膜出现变形和/或基粒排列混乱,则判断待测植株缺水。

2. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于,所述树液pH值和超微结构图像的获取方法,包括以下步骤:

树液pH值的测定:

(a) 采摘待测植株枝条:选择待测植株1-2生枝条2-3枝,将其清洗干净后,用0.1%高锰酸钾浸洗2-3min,再将其剥除树皮和树叶,之后剪成1-2cm的小段,然后进行研磨、离心和过滤,所得滤液为待测植株的树液;

(b) 利用pH计对所述树液进行pH值测定;

叶绿体超微结构图的获取:

(1) 固定:取待测植物叶片置于固定液中进行固定,然后将固定好的叶片经磷酸缓冲液反复漂洗,再置于1v%锇酸溶液中固定2-3h,之后再次经磷酸缓冲液反复漂洗;

(2) 将步骤(1)处理后的叶片加入不同浓度的乙醇脱水剂逐级梯度脱水,再经丙酮过渡和环氧树脂包埋,高温固化后,将处理好的样品切成超薄片,经染色剂染色后,进行透射电镜观察,得所述超微结构图像。

3. 根据权利要求2所述的方法,其特征在于,在步骤(a)中,所述离心条件为4℃下12000rpm离心20min。

4. 根据权利要求2所述的方法,其特征在于,在步骤(1)中,所述固定液为2.5v%戊二醛溶液;所述磷酸缓冲液浓度为0.1mol/L,pH为7.4。

5. 根据权利要求2所述的方法,其特征在于,在步骤(1)中,所述1v%锇酸溶液先经4℃预冷,再将叶片于4℃下固定2-3h。

6. 根据权利要求2所述的方法,其特征在于,在步骤(2)中,所述乙醇脱水剂的体积浓度依次为30%、50%、70%、80%、85%、90%、95%和100%。

7. 根据权利要求2所述的方法,其特征在于,在步骤(2)中,所述高温固化温度为60℃。

8. 根据权利要求2所述的方法,其特征在于,在步骤(2)中,所述超薄片的厚度为60-100nm;所述染色剂包括醋酸铀-柠檬酸铅。

一种判断栀子缺水的方法

技术领域

[0001] 本发明涉及农业应用技术领域,特别是涉及一种判断栀子缺水的方法。

背景技术

[0002] 水是植物的主要组成成分,是维持植物正常生理代谢和生命活动的关键因子。在植物整个生长过程中,常会由于生长环境的改变呈现出季节性缺水现象,及时精准灌溉是缓解植物干旱损伤的有效途径。我国水资源相对短缺,且目前灌溉水有效利用率较低,只有30%-40%,既浪费了水资源又严重制约了我国生态重建的进程。鉴于此,根据植物生理特性,开展节水精准灌溉是植物栽培应用的必然趋势,对优化我国传统的灌溉模式,提高灌溉效率,节约水资源具有重要的意义。

[0003] 目前国内对植物缺水的诊断主要是根据土壤水分状况,叶片及茎段收缩等表现现象等,这些方法虽然在一定程度上能够判断植物可能存在缺水的现象,但由于分辨率不高,易受外界干扰等缺陷,并不能为精准灌溉提供参考。

发明内容

[0004] 本发明的目的是提供一种判断栀子缺水的方法,以解决上述现有技术存在的问题,该方法基于栀子树液pH值及叶绿体超微结构的改变来判断植物缺水,在不影响植物生长的情况下,快速准确地检测出植物是否缺水,可以精准有效的指导灌溉,提高灌溉水的有效利用率。

[0005] 为实现上述目的,本发明提供了如下方案:

[0006] 本发明提供一种判断栀子缺水的方法,获取待测植株树液和叶片的叶绿体超微结构图像,根据所述树液pH值和超微结构图像判断待测植物是否缺水;若所述树液pH值 >7.5 且超微结构图像中叶绿体外被膜出现变形和/或基粒排列混乱,则判断待测植株缺水。

[0007] 进一步地,所述超微结构图像的获取方法,包括以下步骤:

[0008] 树液pH值的测定:

[0009] (a) 采摘待测植株枝条:选择待测植株1-2生枝条2-3枝,将其清洗干净后,用0.1%高锰酸钾浸洗2-3min,再将其剥除树皮和树叶,之后剪成1-2cm的小段,然后进行研磨、离心和过滤,所得滤液为待测植株的树液;

[0010] (b) 利用pH计对所述树液进行pH值测定;

[0011] 叶绿体超微结构图的获取:

[0012] (1) 固定:取待测植物叶片置于固定液中进行固定,然后将固定好的叶片经磷酸缓冲液反复漂洗,再置于1v%钨酸溶液中固定2-3h,之后再次经磷酸缓冲液反复漂洗;

[0013] (2) 将步骤(1)处理后的叶片加入不同浓度的乙醇脱水剂逐级梯度脱水,再经丙酮过渡和环氧树脂包埋,高温固化后,将处理好的样品切成超薄片,经染色剂染色后,进行透射电镜观察,得所述超微结构图像。

[0014] 进一步地,在步骤(a)中,所述离心条件为4℃下12000rpm离心20min。

[0015] 进一步地,在步骤(1)中,所述固定液为2.5v%戊二醛溶液;所述磷酸缓冲液浓度为0.1mol/L,pH为7.4。

[0016] 进一步地,在步骤(1)中,所述1v%钨酸溶液先经4℃预冷,再将叶片于4℃下固定2-3h。

[0017] 进一步地,在步骤(2)中,所述乙醇脱水剂的体积浓度依次为30%、50%、70%、80%、85%、90%、95%和100%。

[0018] 进一步地,在步骤(2)中,所述高温固化温度为60℃。

[0019] 进一步地,在步骤(2)中,所述超薄片的厚度为60-100nm;所述染色剂包括醋酸铀-柠檬酸铅。

[0020] 本发明公开了以下技术效果:

[0021] 本发明可以在不影响植物生长的情况下,通过检测植株树液pH值和观察叶片的叶绿体超微结构图像,可快速准确地检测出植物是否缺水;可以精准有效的指导灌溉,提高灌溉水的有效利用率。

[0022] 本发明检测方法不受季节影响,受外界干扰较小,检测结果精准有效,且检测时间较短,可以通过该方法的判断及时缓解植物缺水现状,将缺水对植物的破坏和影响降到最低。

附图说明

[0023] 为了更清楚地说明本发明实施例或现有技术中的技术方案,下面将对实施例中所需要使用的附图作简单地介绍,显而易见地,下面描述中的附图仅仅是本发明的一些实施例,对于本领域普通技术人员来讲,在不付出创造性劳动的前提下,还可以根据这些附图获得其他的附图。

[0024] 图1为各组植物叶片中叶绿体超微结构图;A:本发明常规浇水盆栽植物;B:本发明干旱季节大田林分中植物;C:对照模拟组常规浇水植物;D:对照模拟组缺水植物。

具体实施方式

[0025] 现详细说明本发明的多种示例性实施方式,该详细说明不应认为是对本发明的限制,而应理解为是对本发明的某些方面、特性和实施方案的更详细的描述。

[0026] 应理解本发明中所述的术语仅仅是为描述特别的实施方式,并非用于限制本发明。另外,对于本发明中的数值范围,应理解为还具体公开了该范围的上限和下限之间的每个中间值。在任何陈述值或陈述范围内的中间值以及任何其他陈述值或在所述范围内的中间值之间的每个较小的范围也包括在本发明内。这些较小范围的上限和下限可独立地包括或排除在范围内。

[0027] 除非另有说明,否则本文使用的所有技术和科学术语具有本发明所述领域的常规技术人员通常理解的含义。虽然本发明仅描述了优选的方法和材料,但是在本发明的实施或测试中也可以使用与本文所述相似或等同的任何方法和材料。本说明书中提到的所有文献通过引用并入,用以公开和描述与所述文献相关的方法和/或材料。在与任何并入的文献冲突时,以本说明书的内容为准。

[0028] 在不背离本发明的范围或精神的情况下,可对本发明说明书的具体实施方式做多

种改进和变化,这对本领域技术人员而言是显而易见的。由本发明的说明书得到的其他实施方式对技术人员而言是显而易见的。本发明说明书和实施例仅是示例性的。

[0029] 关于本文中所使用的“包含”、“包括”、“具有”、“含有”等等,均为开放性的用语,即意指包含但不限于。

[0030] 本发明所使用的材料、仪器及试剂如无特殊说明,均可由商业途径获得;所使用的实验方法如无特殊说明,均为本领域常规实验方法。

[0031] 1判断植物缺水的方法

[0032] 1.1实验材料

[0033] 试验材料选用栀子。

[0034] 1.2实验方法

[0035] (1)造林时,选择造林用苗木一致的植物单株3-5株,利用造林地的土壤作为栽培基质于近水源处进行盆栽种植,常规浇水,其他管理同造林地一致。

[0036] (2)于干旱季节,采摘盆栽植株和林分中其他任意同种植物单株的树冠中上部分东、西、南、北四个方位1-2年生枝条2-3枝,采集后立即放入流水用洗洁精清洗,再用0.1%高锰酸钾浸洗2-3min,之后用无菌纸吸取多余的水分,剥除树皮和树叶,用无菌剪刀剪成1-2cm的小段,混合均匀。随机取5-10段放置于研钵中研破,后放置于50ml带滤网的离心管中,4℃下12000rpm离心20min,离心所得液体便为树液。多次取样离心,将每次制取的树液用一次性无菌针管抽取装于同一烧杯中备用。同时采摘树冠中上层成熟叶片,分别保存于2.5%戊二醛固定液中备用。

[0037] (3)利用PHS-3C型pH计对上述制取的树液进行pH值测定并记录不同样株树液的pH值。

[0038] (4)上述2.5%戊二醛固定液配制方法:先取250ml戊二醛置于1000ml的容量瓶中,用蒸馏水定容至1000ml配制成25%戊二醛溶液;再分别称取十二水磷酸氢二钠31.2g和二水磷酸二氢钠35.6g,分别加蒸馏水至1000ml溶解制成0.2mol/L的磷酸氢二钠溶液和磷酸二氢钠溶液;再分别取19ml 0.2mol/L的磷酸二氢钠和81ml 0.2mol/L的磷酸氢二钠,充分混合即为0.2mol/L的磷酸缓冲液(pH约为7.4-7.5);最后取配制好的25%戊二醛溶液100ml和0.2mol/L的磷酸缓冲液500ml用蒸馏水定容至1000ml,即配制成2.5%戊二醛固定液。

[0039] (5)固定好的叶样,经0.1mol/L、pH为7.4的磷酸缓冲液漂洗3次,每次20min,再用4℃预冷的1%钨酸4℃固定2-3h,再次用磷酸缓冲液浸洗3次。然后进行系列梯度乙醇(30%、50%、70%、80%、85%、90%、95%、100%)脱水、丙酮过渡和环氧树脂包埋,60℃高温固化后,在超薄切片机下切成厚度为60-100nm的超薄薄片,经醋酸铀-柠檬酸铅双重染色后,在透射电镜下观察。

[0040] (6)上述0.1mol/L、pH为7.4的磷酸缓冲液配制方法:称取4.644g无水磷酸二氢钠和8.705g无水磷酸氢二钠,置于烧杯中,加少量蒸馏水溶解。固体全部溶解后,将溶液转移到1000ml容量瓶中。用蒸馏水润洗溶解用的烧杯三次,润洗后的水也加入到容量瓶中,定容,即得。

[0041] (7)上述中的1%钨酸配制方法:取20ml钨酸用蒸馏水定容至1000ml配制成2%的钨酸水溶液;再取2%的钨酸水溶液10ml和0.2mol/L的磷酸缓冲液10ml,充分混合即配制成1%钨酸。

[0042] (8) 在透射电镜下观察植物叶片的叶绿体的微观形态,对比常规水分管理的盆栽植物和大田林分中同种植物叶绿体超微结构,正常条件下叶绿体膜结构较完整,叶绿体基粒片层堆叠紧密,类囊体排列整齐,规整;植物缺水条件下叶绿体外被膜开始变形,基粒和基质类囊体膜结构模糊,排列较混乱。

[0043] (9) 根据叶绿体超微结构的变化,当植物叶绿体外被膜开始出现变形且基粒排列混乱时即可判断植物已缺水,需立即开展灌溉,以保证植物正常生长。

[0044] 对照模拟组:选择长势一致的植物单株,移栽至规格一致的育苗盆中,栽培基质选用田土。对盆栽植物的基质设置常规浇水、相对含水量为田间持水量的40%2个水分梯度,连续控水90天。其余操作同本发明。

[0045] 检测本发明的常规浇水盆栽植物、干旱季节大田林分中植物和对照模拟组的常规浇水植物和缺水植物的树液pH值(表1)及叶片叶绿体超微结构(图1)。

[0046] 表1不同土壤水分条件下植株树液pH值差异

项目	试验设置	树液平均 pH 值
[0047] 本发明	大田土盆栽常规浇水	5.88
	大田栽植干旱组	7.53
模拟组	盆栽常规浇水	5.90
	盆栽控水栽植	7.55

[0048] 根据表1可知,本发明及模拟组中常规浇水的试验设计组的植物单株树液pH值在5.88-5.90的范围内,干旱条件下的本发明及模拟组的植物单株的树液pH值均高于7.5;两种方法中干旱条件下的植株树液pH值分别高出自身对经常规浇水组植物树液pH值的28.06%和27.97%,表明植株树液pH值呈弱碱性时植物单株已经处于缺水的状态。根据图1可以看出,本发明中常规浇水植物栀子的叶绿体紧贴细胞膜,叶绿体膜结构完整,基粒与基质片层结构清晰,排列整齐(图1A);干旱季节大田林分中栀子植株,叶绿体内部结构受损最严重,基粒变形弯曲,排列混乱(图1B)。对照模拟组中常规浇水栀子植株叶绿体膜完整,基粒堆叠紧密,排列有序(图1C),缺水栀子植株叶绿体外被膜断裂不完整,且基粒变形,排列错乱无序(Cw为叶绿体外膜,G为基粒)。根据以上分析,本发明和对照模拟组中常规浇水栀子植株叶绿体结构呈现出较一致的膜结构完整及基粒排列整齐等特征,缺水栀子植株均呈现膜破裂不完整及基粒排列混乱等特点,综合以上表明,本发明能够准确的判断出植物缺水症状,不受外界干扰,精准可行。

[0049] 以上所述的实施例仅是对本发明的优选方式进行描述,并非对本发明的范围进行限定,在不脱离本发明设计精神的前提下,本领域普通技术人员对本发明的技术方案做出的各种变形和改进,均应落入本发明权利要求书确定的保护范围内。

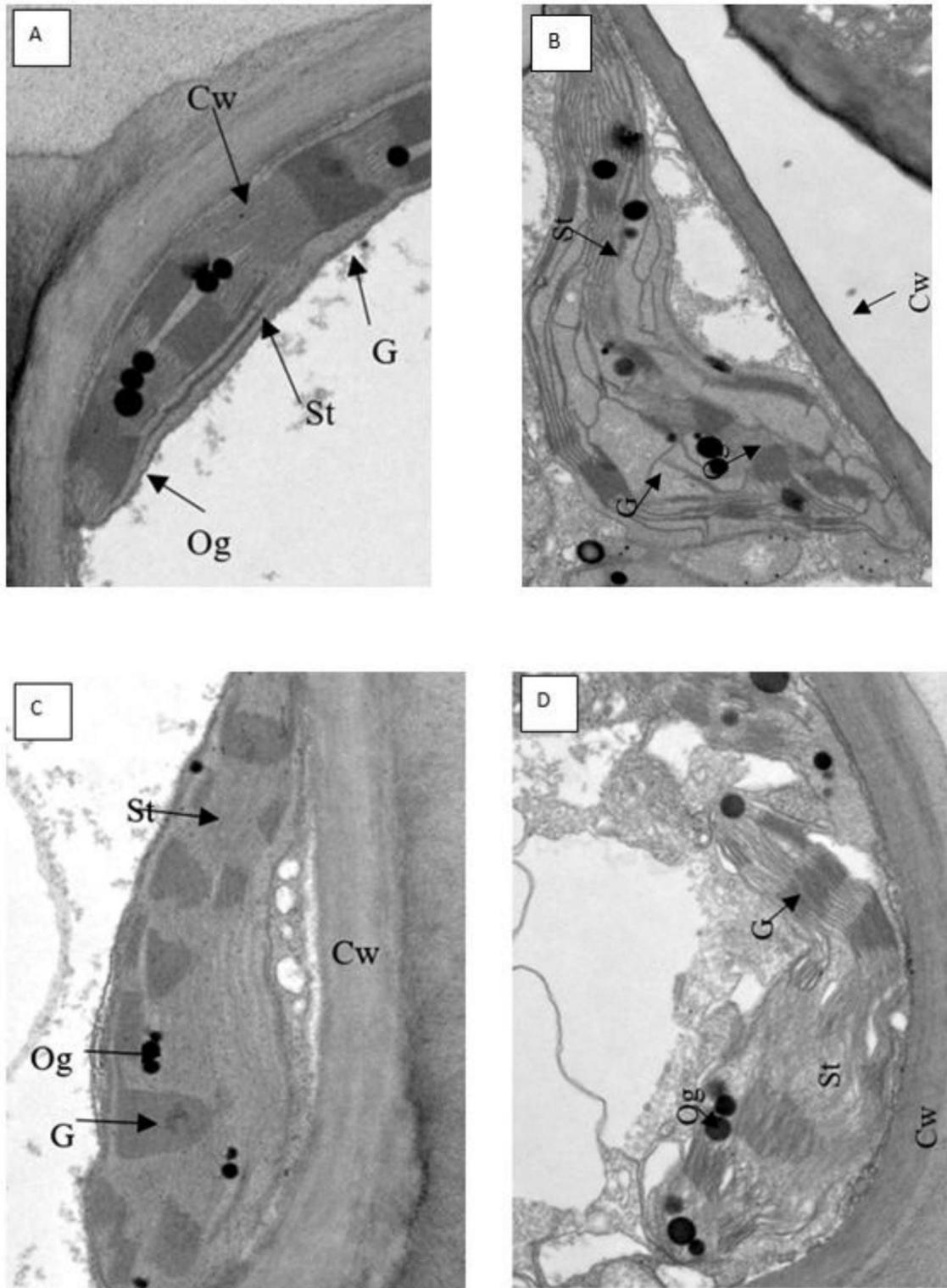


图1