



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 108181437 A

(43)申请公布日 2018.06.19

(21)申请号 201810104047.0

(22)申请日 2018.02.01

(71)申请人 贵州师范大学

地址 550001 贵州省贵阳市云岩区宝山北路116号

申请人 中国科学院地球化学研究所

(72)发明人 杭红涛 吴沿友 熊康宁 张开艳  
李海涛 谭代军 陆娜娜 闵小莹  
郭涛

(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)

A01G 31/00(2018.01)

权利要求书1页 说明书5页

(54)发明名称

一种测定植物适应喀斯特环境能力的方法

(57)摘要

本发明公开了一种测定植物适应喀斯特环境能力的方法,其特征在于:通过向霍格兰营养液中添加或减少化学物质,以期在室内模拟喀斯特逆境因子,其中霍格兰营养液培养的植物幼苗为对照处理;分别于第10、20天测定上述考察植物的净光合速率、PSII最大光化学效率及根冠比指标;将各逆境因子培养植物获取的净光合速率、PSII最大光化学效率及根冠比指标分别与对照对比,将指标归一化,分别计算出各逆境因子下植物的净光合速率、光化学效率及根冠比下降幅度a、b、c;根据上述获得的植物对不同逆境因子下净光合速率、PSII最大光化学效率及根冠比下降幅度a、b、c参数来判断考察植物对不同逆境适应能力的大小。

1. 一种测定植物适应喀斯特环境能力的方法,其特征在于:它包括以下步骤:第一,室内采用同样规格的穴盘水培萌发植物种子,配制霍格兰培养液培养幼苗至1月龄,选择生长较为一致的健康幼苗分成两个部分,一部分用于测定植物的光合作用、叶绿素荧光,一部分用于测定根冠比;第二,分别通过向霍格兰营养液中添加或减少化学物质,以期在室内模拟喀斯特逆境因子,其中霍格兰营养液培养的植物幼苗为对照处理;第三,分别施加逆境因子培养用于考察生长情况的植物幼苗,每天更换新的相对应的逆境因子培养液;第四,分别于第10、20天测定上述考察植物的净光合速率、PSII最大光化学效率及根冠比指标;第五,将各逆境因子培养植物获取的净光合速率、PSII最大光化学效率及根冠比指标分别与对照对比,将指标归一化,即对照处理的植物指标为100%,分别计算出各逆境因子下植物的净光合速率、光化学效率及根冠比下降幅度a、b、c;第六,根据上述获得的植物对不同逆境因子下净光合速率、PSII最大光化学效率及根冠比下降幅度a、b、c参数来判断考察植物对不同逆境适应能力的大小。

2. 根据权利要求1所述的一种测定植物适应喀斯特环境能力的方法,其特征在于:在第二步骤中,通过向霍格兰营养液中添加PEG、NaHCO<sub>3</sub>、NaOH或减少化学物质营养成分,来模拟喀斯特逆境因子。

3. 根据权利要求2所述的一种测定植物适应喀斯特环境能力的方法,其特征在于:在第二步骤中,所述的喀斯特逆境因子:岩溶干旱-添加PEG,模拟渗透胁迫,高重碳酸盐-添加NaHCO<sub>3</sub>,模拟HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>胁迫,低营养-整体减少霍格兰营养成分浓度,缺磷-仅减少霍格兰中磷浓度,偏碱-调霍格兰营养液pH至8.3。

4. 根据权利要求1所述的一种测定植物适应喀斯特环境能力的方法,其特征在于:在第三步骤中,分别施加逆境因子培养用于考察生长情况的植物幼苗,每天更换新的相对应的逆境因子培养液,每个逆境因子重复3组。

5. 根据权利要求1所述的一种测定植物适应喀斯特环境能力的方法,其特征在于:在第四步骤中,此步骤中要求被考察植物至少选择5株用于测定上述指标,其中考察日期,可以根据幼苗生长速度来选择时间测定指标。

## 一种测定植物适应喀斯特环境能力的方法

### 技术领域

[0001] 本发明涉及一种测定植物适应喀斯特环境能力的方法,属于生态环境系统监测、治理与修复领域。

### 背景技术

[0002] 我国喀斯特分布面积广泛,且生态环境具有异质性、多样性和脆弱性。众多相关领域学者发现,喀斯特环境对植物产生负面影响因素较多,且影响程度各不相同。由于地质作用和人为不合理活动的干扰,导致脆弱的喀斯特地区,基岩部分裸露,土壤浅而贫瘠且保水能力较差,植被覆盖率低下,生态环境面临恶化的趋势,这对耕种面积有限的喀斯特地区无疑是雪中加霜。针对喀斯特环境亟需治理修复,国家和地方政府、高校及科研院所等部门联合整治,通过退耕还林(草)、封山育林(草)等途径来改善喀斯特脆弱环境。但追踪调查发现,以往的措施很难长久持续下去,这与当地农民意识或经济利益相冲突。因此,为了保障生态环境能够治理修复,也能增加当地农民经济收入,有效选择较高生产力的喀斯特适生经济植物无疑是一条重要修复途径,因其能够很好地适应喀斯特生态环境,能在喀斯特贫瘠地区生长,具有较高的经济价值,在喀斯特地区生态环境保护和修复中起到先锋作用。

[0003] 喀斯特环境具有异质多样性,通常包括岩溶干旱、高重碳酸盐、低营养、缺磷、偏碱性等逆境因素。考察植物对逆境的适应能力,通常以其生产力和适应性作为关键考察指标。由于自然环境下,喀斯特脆弱环境是以上多种因素的综合体,但为了考察植物在每种逆境因素下的适应能力很难达到。因此,为了在最短时间内考察植物对每种喀斯特逆境的适应能力,在实验室模拟实验培养处理是较好的选择。

[0004] 目前,植物生产力和适应性相关指标如光合作用、叶绿素荧光、根冠比、抗逆境相关酶活力、脯氨酸和丙二醛、可溶性糖等可以很好地表征植物的生长对逆境的响应,但这些指标有些获取较复杂,为了快速动态监测植物生产力和适应性的关键指标,其中,光合作用、叶绿素荧光和根冠比能够很好的反映植物在逆境下的生理指标。通过与正常培养条件下的植物对比,可以很好地测定考察植物的适应逆境能力。

[0005] 因此,本发明采用测定植物光合作用、叶绿素荧光及根冠比等易测指标,基于正常培养条件下的植物对比,通过动态监测被考察植物在不同逆境下指标的变化,表征不同逆境下植物的生长发育情况,为喀斯特地区脆弱生态环境植被恢复及筛选适宜高生产力的植被研究等提供技术依据。

### 发明内容

[0006] 本发明要解决的技术问题是:提供一种测定植物适应喀斯特环境能力的方法,以克服以往技术测定相关植物生理生化指标繁琐等不足,解决了多种逆境处理植物的同时简便快捷的精确测定了植物对不同喀斯特环境的适应能力的难题。

[0007] 本发明的技术方案是:一种测定植物适应喀斯特环境能力的方法,它包括以下步骤:第一,室内采用同样规格的穴盘水培萌发植物种子,配制霍格兰培养液培养幼苗至1月

龄,选择生长较为一致的健康幼苗分成两个部分,一部分用于测定植物的光合作用、叶绿素荧光,一部分用于测定根冠比;第二,分别通过向霍格兰营养液中添加或减少化学物质,以期在室内模拟喀斯特逆境因子,其中霍格兰营养液培养的植物幼苗为对照处理;第三,分别施加逆境因子培养用于考察生长情况的植物幼苗,每天更换新的相对应的逆境因子培养液;第四,分别于第10、20天测定上述考察植物的净光合速率、PSII最大光化学效率及根冠比指标;第五,将各逆境因子培养植物获取的净光合速率、PSII最大光化学效率及根冠比指标分别与对照对比,将指标归一化,即对照处理的植物指标为100%,分别计算出各逆境因子下植物的净光合速率、光化学效率及根冠比下降幅度a、b、c;第六,根据上述获得的植物对不同逆境因子下净光合速率、PSII最大光化学效率及根冠比下降幅度a、b、c参数来判断考察植物对不同逆境适应能力的大小。

[0008] 所述的在第二步骤中,通过向霍格兰营养液中添加PEG、NaHCO<sub>3</sub>、NaOH或减少化学物质营养成分,来模拟喀斯特逆境因子。

[0009] 所述的在第二步骤中,所述的喀斯特逆境因子:岩溶干旱-添加 PEG,模拟渗透胁迫,高重碳酸盐-添加NaHCO<sub>3</sub>,模拟HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>胁迫,低营养-整体减少霍格兰营养成分浓度,缺磷-仅减少霍格兰中磷浓度,偏碱-调霍格兰营养液pH至8.3。

[0010] 所述的在第三步骤中,分别施加逆境因子培养用于考察生长情况的植物幼苗,每天更换新的相对应的逆境因子培养液,每个逆境因子重复3组。

[0011] 所述的在第四步骤中,此步骤中要求被考察植物至少选择5株用于测定上述指标,其中考察日期,可以根据幼苗生长速度来选择时间测定指标。

[0012] 本发明的有益效果:1) 本方法基于动态监测植物光合作用、叶绿素荧光及根冠比等易测指标来快速测定植物对不同喀斯特逆境的适应能力;

[0013] 2) 本方法能够克服以往测定相关植物生理生化指标繁琐等不足;

[0014] 3) 本方法通过将各项测定指标进行归一化处理,能够快速获得不同时间下不同植物对同一逆境、同一植物对不同逆境的适应能力大小。

## 具体实施方式

[0015] 本发明的实例:

[0016] 它包括以下步骤:第一,室内采用同样规格的穴盘水培萌发植物种子,配制霍格兰培养液培养幼苗至1月龄,选择生长较为一致的健康幼苗分成两个部分,一部分用于测定植物的光合作用、叶绿素荧光指标,一部分用于测定根冠比指标;第二,分别通过向霍格兰营养液中添加或减少化学物质,以期在室内模拟喀斯特逆境因子:岩溶干旱(添加PEG,模拟渗透胁迫)、高重碳酸盐(添加NaHCO<sub>3</sub>,模拟HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>胁迫)、低营养(整体减少霍格兰营养成分浓度)、缺磷(仅减少霍格兰中磷浓度)、偏碱(调霍格兰营养液pH至8.3),其中霍格兰营养液培养的植物幼苗为对照处理;第三,分别施加逆境因子培养用于考察生长情况的植物幼苗,每天更换新的相对应的逆境因子培养液;第四,分别于第10、20天测定上述考察植物的净光合速率、PSII最大光化学效率及根冠比指标;第五,将各逆境因子培养植物获取的净光合速率、PSII最大光化学效率及根冠比指标分别与对照对比,将指标归一化,即对照处理的植物指标为100%,分别计算出各逆境因子下植物的净光合速率、PSII最大光化学效率及根冠比下降幅度a、b、c;第六,根据上述获得的植物对不同逆境因子下净光合速率、PSII最大光化

学效率及根冠比下降幅度a、b、c等参数来判断考察植物对不同逆境适应能力的大小。

[0017] 详细实施过程及内容如下：

[0018] 第一步，室内采用同样规格的穴盘水培萌发植物种子，配制霍格兰培养液培养幼苗至1月龄，选择生长较为一致的健康幼苗分成两个部分，一部分用于测定植物的光合作用、叶绿素荧光指标，一部分用于测定根冠比指标；

[0019] 第二步，分别通过向霍格兰营养液中添加或减少化学物质，以期在室内模拟喀斯特逆境因子：岩溶干旱（添加PEG，模拟渗透胁迫）、高重碳酸盐（添加 $\text{NaHCO}_3$ ，模拟 $\text{HCO}_3^-$ 胁迫）、低营养（整体减少霍格兰营养成分浓度）、缺磷（仅减少霍格兰中磷浓度）、偏碱（调霍格兰营养液pH至8.3），其中霍格兰营养液培养的植物幼苗为对照处理；

[0020] 第三步，分别施加逆境因子培养用于考察生长情况的植物幼苗，每天更换新的相对应的逆境因子培养液；

[0021] 第四步，分别于第10、20天测定上述考察植物的净光合速率、PSII最大光化学效率及根冠比指标；

[0022] 第五步，将各逆境因子培养植物获取的净光合速率、PSII最大光化学效率及根冠比指标分别与对照对比，将指标归一化，即对照处理的植物指标为100%，分别计算出各逆境因子下植物的净光合速率、PSII最大光化学效率及根冠比增减幅度a、b、c；

[0023] 第六步，根据上述获得的植物对不同逆境因子下净光合速率、PSII最大光化学效率及根冠比增减幅度a、b、c等参数来判断考察植物对不同逆境适应能力的大小。

[0024] 本发明的实施效果如下：

[0025] 室内采用同样规格的穴盘水培萌发刺槐、诸葛菜、芥菜型油菜植物种子，配制霍格兰营养液培养刺槐幼苗至1月龄，选择生长较为一致的健康幼苗作为被考察植物幼苗。随机分成两组，一组用于后续光合作用、叶绿素荧光指标测定（表1、表2），一组用于后续根冠比指标测定（表3）。配制干旱处理液（60g/LPEG）、高重碳酸盐处理液（20mmol/L  $\text{HCO}_3^-$ ）、低营养处理液（营养液浓度为普通霍格兰营养液的1/8）、缺磷处理液（磷浓度为普通霍格兰营养液的1/64）、偏碱处理液（pH为8.30）、对照（普通霍格兰营养液，pH为5.40）分别培养2月龄的生长健康一致的刺槐幼苗，分别于第10、20天测定不同逆境因子处理下的净光合速率、叶绿素荧光及根冠比指标，计算这段培养时间下不同逆境处理的刺槐植物幼苗相对于对照植物的净光合速率、PSII最大光化学效率及根冠比的增减幅度参数，最后预测刺槐植物对不同喀斯特逆境的适应能力大小，如表4所示。

[0026] 表1刺槐幼苗的净光合速率对不同喀斯特逆境的响应

[0027]

处理类别	处理 10 天			处理 20 天		
	净光合速率值 ( $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ )	归一化值 (%)	增减幅度 $a_{10}$ (%)	净光合速率值 ( $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ )	归一化值 (%)	增减幅度 $a_{20}$ (%)
对照	2.53±0.17	100.00	0	2.52±0.13	100.00	0
干旱	0.33±0.09	13.04	-86.96	0.37±0.03	14.68	-85.32
高重碳酸盐	0.63±0.01	24.90	-75.10	0.44±0.10	17.46	-82.54
低营养	0.92±0.19	36.36	-63.64	0.58±0.05	23.02	-76.98
缺磷	1.07±0.19	42.29	-57.71	1.08±0.08	42.86	-57.14
偏碱	1.55±0.11	61.26	-38.74	2.68±0.11	106.35	+6.35

[0028] 表2刺槐幼苗的PSII最大光化学效率对不同喀斯特逆境的响应

[0029]

处理类别	处理 10 天			处理 20 天		
	PSII 最大光 化学效率 (Fv/Fm)	归一化值 (%)	增减幅度 $b_{10}$ (%)	PSII 最大光 化学效率 (Fv/Fm)	归一化值 (%)	增减幅度 $b_{20}$ (%)
对照	0.83±0.02	100.00	0	0.82±0.02	100.00	0
干旱	0.73±0.01	87.95	-12.05	0.67±0.00	81.71	-18.29
高重碳酸盐	0.75±0.00	90.36	-9.64	0.71±0.01	86.59	-13.41
低营养	0.79±0.01	95.18	-4.82	0.74±0.01	90.24	-9.76
缺磷	0.80±0.02	96.39	-3.61	0.77±0.02	93.90	-6.10
偏碱	0.81±0.03	97.59	-2.41	0.80±0.04	97.56	-2.44

[0030] 表3刺槐幼苗的根冠比值对不同喀斯特逆境的响应

[0031]

处理类别	处理 10 天			处理 20 天		
	根冠比值	归一化值	增减幅度 $c_{10}$	根冠比值	归一化值	增减幅度

[0032]

		(%)	(%)		(%)	c <sub>20</sub> (%)
对照	0.40±0.03	100.00	0	0.45±0.08	100.00	0
干旱	0.88±0.10	220.00	+120	0.97±0.06	215.56	+115.56
高重碳酸盐	0.45±0.23	112.50	+12.50	0.49±0.04	108.89	+8.89
低营养	0.50±0.25	125.00	+25.00	0.56±0.04	124.44	+24.44
缺磷	0.58±0.40	145.00	+45.00	0.61±0.02	135.56	+35.56
偏碱	0.48±0.30	120.00	+20.00	0.51±0.23	113.33	+13.33

[0033] 根冠比值是指植物地下部分与地上部分的鲜重或干重的比值,其值的大小能够反映植物地下部分与地上部分的相关性。植物遭受不同逆境,其根冠比值表现出不同程度的响应。表3是刺槐幼苗的根冠比值(鲜重)对不同喀斯特逆境的响应,可看出,相对于对照组,各逆境处理组的根冠比值均表现根冠比值出不同程度的上升。尤其干旱最为敏感,高重碳酸盐最为不敏感。

[0034] 表4刺槐幼苗不同时间段下各生理指标对不同喀斯特逆境的响应

[0035]

处理类别	处理 10 天			处理 20 天		
	净光合速率 增减幅度	PSII 最大光 化学效率增 减幅度 b <sub>10</sub>	根冠比值 增减幅度 c <sub>10</sub>	净光合速率 增减幅度 a <sub>20</sub>	PSII 最大光 化学效率增 减幅度 b <sub>20</sub>	根冠比增 减幅度 c <sub>20</sub>
	a <sub>10</sub>	b <sub>10</sub>	c <sub>10</sub>	a <sub>20</sub>	b <sub>20</sub>	c <sub>20</sub>
对照	0	0	0	0	0	0
干旱	-86.96	-12.05	+120	-85.32	-18.29	+115.56
高重碳酸盐	-75.10	-9.64	+12.50	-82.54	-13.41	+8.89
低营养	-63.64	-4.82	+25.00	-76.98	-9.76	+24.44
缺磷	-57.71	-3.61	+45.00	-57.14	-6.10	+35.56
偏碱	-38.74	-2.41	+20.00	+6.35	-2.44	+13.33

[0036] 表4为刺槐幼苗在不同时间段下各生理指标对不同喀斯特逆境的响应。我们也可以看出,逆境处理前期(10天),各逆境处理下的刺槐幼苗的PSII最大光化学效率值和净光合速率值均表现不同程度下降,最终根冠比值表现出表现出不同程度的上升反馈;逆境处理后期(20天),除了偏碱逆境下,其余各逆境处理组表现出与10天同样的趋势。偏碱环境下,逆境处理10天和20天下,因PSII最大光化学效率值较为稳定,植物可能前期较为敏感,后期有了很好的适应。通过以上数据,可以很好地利用以上生理参数来测定植物对喀斯特逆境的抵抗能力和适应能力,测得的数据较为可靠,方法较为简便。