# (19) 国家知识产权局



# (12) 发明专利申请



(10) 申请公布号 CN 116868801 A (43) 申请公布日 2023. 10. 13

(21)申请号 202310850856.7

(22)申请日 2023.07.12

(71) 申请人 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 罗亮 周英 李海涛 苏跃 赵晓盼 郭少刚

(74) 专利代理机构 贵阳中新专利商标事务所 52100

专利代理师 张行超

(51) Int.CI.

A01G 7/06 (2006.01)

**G06F** 17/10 (2006.01)

A01G 22/00 (2018.01)

**GO1N** 33/00 (2006.01)

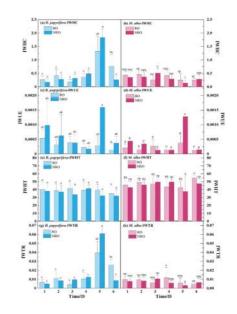
权利要求书3页 说明书10页 附图7页

# (54) 发明名称

一种喀斯特异质化生境筛选适生植物的方 法

#### (57) 摘要

本发明公开了一种喀斯特异质化生境筛选 适生植物的方法,包括:将待选植物种植在露石 生境和非露石生境中;将电生理测定装置与LCR 测试仪连接,选择生长良好、长势一致的植物幼 苗,将植物幼苗完全展开的一叶片放置在电生理 测定装置的平行的电极板之间;对植物幼苗进行 干旱胁迫-复水处理,同时通过施加不同程度的 相同质量铁块来设置不同的夹持力,测量植物叶 片的电生理参数;根据电生理参数计算植物的叶 片细胞内水分利用参数;根据叶片细胞内水分利 用参数来选择适合于喀斯特地区种植的植物。本 V 发明通过植物电生理技术研究植物胞内水分利 用参数,据此可快速、准确筛选喀斯特地区的适 生植物,为喀斯特干旱逆境的生态修复筛选提供 参考。



1.一种喀斯特异质化生境筛选适生植物的方法,其特征在于,包括:

将待选植物种植在露石生境和非露石生境中;

将电生理测定装置与LCR测试仪连接,选择生长良好、长势一致的植物幼苗,将植物幼苗完全展开的一叶片放置在电生理测定装置的平行的电极板之间;

对植物幼苗进行干旱胁迫-复水处理,同时通过施加不同程度的相同质量铁块来设置不同的夹持力,测量植物叶片的电生理参数;

根据所述电生理参数计算植物的叶片细胞内水分利用参数;

根据所述叶片细胞内水分利用参数来选择适合于喀斯特地区种植的植物。

- 2.根据权利要求1所述的喀斯特异质化生境筛选适生植物的方法,其特征在于,所述电 生理测量在上午9点到11点之间进行。
- 3.根据权利要求1所述的喀斯特异质化生境筛选适生植物的方法,其特征在于,所述夹持力设置在1-10N之间。
  - 4.根据权利要求1所述的喀斯特异质化生境筛选适生植物的方法,其特征在于,

所述叶片细胞内水分利用参数按照以下方法计算:

利用Nernst方程可以用来描述细胞膜内外离子、离子基团和电偶极子浓度的变化;Z取决于膜内外离子的浓度,遵循Nernst方程,表达式为:

$$E - E^{0} = \frac{R_{0}T}{n_{0}F_{0}} \ln \frac{Q_{i}}{Q_{0}} \tag{1}$$

T:热力学温度(K);  $Q_i$ :细胞膜内响应Z的电解质浓度(mo1 •  $L^{-1}$ );  $Q_0$ :细胞膜外响应Z的电解质浓度(mo1 •  $L^{-1}$ );  $F_0$ : 法拉第常数(9.65×104C • mo1  $^{-1}$ ),以及nZ:转移的电解质数量(mo1)。

电动势的内能可以转化为压功,两者有直接关系,PV=aE,即:

$$PV = aE = aE^{0} + \frac{aR_{0}T}{nZF_{0}} ln \frac{Q_{i}}{Q_{0}}$$
 (2)

式中,P为叶片细胞受到的压力强度(Pa);a为电动势转化为能量的传递系数;V为细胞体积( $m^3$ )。P=F/S,其中F为夹持力(N),S为电极板的有效面积( $m^2$ );F可由重力公式计算:

$$F = (M+m)g$$
 (3)

式中m:铁块质量(kg);M:塑料棒和平板电极的质量(kg),g=9.8N/kg。

对于叶肉细胞, $Q_0$ 和 $Q_i$ 的值是确定的;因此, $\frac{Q_1}{Q_0}$ 可表示为 $\frac{Q_1}{U_0} = \frac{\frac{J_1}{Z}}{\frac{Q_0}{Z}} = \frac{J_0}{QZJ_0}$ ,其中 $J_0$ 为 $Q_i$ 与Z之

间的传递系数, $Q=Q_0+Q_i$ ;因此,将式(2)转化为式(4):

$$\frac{V}{S}E = aE^{0} - \frac{aR_{0}T}{n_{z}F_{0}} ln \frac{QZ - J_{0}}{J_{0}}$$
(4)

式(4)改写为:

$$\frac{aR_0T}{n_zF_0}ln\frac{QZ-J_0}{J_0} = aE^0 - \frac{V}{S}E$$
 (5)

和

$$\ln \frac{QZ - J_0}{J_0} = \frac{n_Z F_0 E^0}{RT} - \frac{n_z F_0}{SaRT} E \tag{6}$$

式(6)取两边的指数:

$$\frac{QZ - J_0}{J_0} = e^{\frac{n_Z F_0 E^0}{R_0 T}} e^{\left(-\frac{V n_Z F_0}{SaR_0 T}\right)}$$
 (7)

然后:

$$Z = \frac{J_0}{O} + \frac{J_0}{O} e^{\frac{n_Z F_0 E^0}{R_0 T}} e^{\left(-\frac{V n_Z F_0}{SaR_0 T}\right)}$$
(8)

当 $d = \frac{v}{s}$ 时,式(2-13)转化为:

$$Z = \frac{J_0}{O} + \frac{J_0}{O} e^{\frac{n_Z F_0 E^0}{R_0 T}} e^{(-\frac{dn_Z F_0}{a R_0 T} F)}$$
(9)

对于在相同环境中测试的相同叶子,d,a, $E^0$ , $R_0$ ,T, $n_z$ , $F_0$ ,Q和 $J_0$ 式(8)的值为常数:

$$Z = y_0 + k_1 e^{-b_1 F} (10)$$

这里 $y_0$ , $k_1$ 和 $b_1$ 是模型参数。

由式(10)可知,当F=0时,植物叶片的本征阻抗(IZ)可得:

 $IZ = y_0 + k_1 (11)$ 

叶片电容电抗X<sub>c</sub>根据式计算:

$$X_{c} = \frac{1}{2\pi fC} \tag{12}$$

在Z相同的情况下,揭示了叶片电容电抗(X<sub>c</sub>)与F的内在机制关系:

$$X_{c} = p_{0} + k_{2}e^{-b_{1}F}$$
 (13)

其中po,ko,bz为模型参数。

当F=0时,植物叶片的本征容抗(IX。)可计算为:

$$IX_{c} = p_{0} + k_{2} (14)$$

植物叶片的本征电容(IC)也可以得到:

$$IC = \frac{1}{2\pi f! X_c} \tag{15}$$

其中 $\pi$ =3.1416,f:频率,IX<sub>c</sub>:固有电容电抗;

根据热力学第一定律,夹持力所做的功符合吉布斯自由能方程:

 $\Delta G = \Delta H + PV (15)$ 

式中  $\Delta$  G: 吉布斯自由能 (J);  $\Delta$  H: 叶细胞系统内能 (J); P: 叶细胞压力强度 (Pa); V: 细胞体积 ( $m^3$ ); P可由压力强度公式计算:

$$P = \frac{F}{S} \tag{16}$$

式中F为夹持力(N),S为电极板有效面积 $(m^2)$ ;

叶肉细胞可视为同心球面电容器,其电容能量为:

$$W = \frac{1}{2}U^2C \tag{17}$$

式中W:电容能量(J),U:测试电压(V),C:生理电容(pF);

根据能量守恒理论,电容器能量等于吉布斯自由能所转换的功,即W=  $\Delta G$ ;得到叶片C与夹持力(F)关系模型:

$$C = \frac{2\Delta H}{U^2} + \frac{2V}{SU^2} F \tag{18}$$

设d为植物叶片的比有效厚度;因此,d=V/S;式(18)转化为式(19):

$$C = \frac{2\Delta H}{U^2} + \frac{2d}{U^2}F \tag{19}$$

令
$$\mathbf{x}_0 = \frac{2\Delta H}{U^2}$$
,  $\mathbf{h}_0 = \frac{2d}{U^2}$ ,式(19)转化为式(20):

 $C = x_0 + hF(20)$ 

式(20)为线性模型,其中x<sub>0</sub>和h为模型参数;

当 $h = \frac{2d}{U^2}$ 时,植物叶片比有效厚度(d)可计算为:

$$d = \frac{U^2 d}{2} \tag{21}$$

细胞呈球形结构,其生长与体积的增大密切相关;植物叶片细胞的C可由同心球形电容器的公式计算:

$$C_{c} = \frac{4\pi\epsilon R_{1}R_{2}}{R_{2} - R_{1}} \tag{22}$$

其中 $\pi$ =3.1416, $C_c$ :同心圆球形电容器的电容pF;ε:电解质的介电常数; $R_1$ :外球半径m;  $R_2$ :内球半径m。对于植物细胞, $R_2$ - $R_1$ 为细胞膜厚度; $R_1$   $\approx$   $R_2$  和ε,细胞膜的厚度是恒定的;因此,单元格体积( $V_c$ )与单元格的C有如下关系:

$$V_c = \alpha \sqrt{C^3} \tag{23}$$

细胞体积与液泡体积呈正相关,液泡和细胞质的主要成分是水;也就是说,细胞的持水能力与C成正比,因此 $\sqrt{C^3}$ 可以表示植物叶片的持水能力;植物叶片胞内持水能力(IWHC)由式(23)得到:

$$IWUE = \frac{d}{IWHC}$$
 (24)

根据欧姆定律, $I_Z = \frac{U}{Z}$ ,其中 $I_Z$ :生理电流(A),U:试验电压(V);

Z为生理阻抗(N),同时电流等于电容与电压在时间上的微分之积,如式(25)所示:

$$I_7 = IC \times \int dU (25)$$

经过积分变换后,电流时间为电容和阻抗的乘积;

因此,植物叶片胞内持水时间(IWHT)由式(26)表示:

 $IWHT = IC \times IZ(26)$ 

植物叶片的动态水分传递速率(WTR)由式(27)计算:

$$IWTR = \frac{IWHC}{IWHT}$$
 (27)

5.根据权利要求1所述的喀斯特异质化生境筛选适生植物的方法,其特征在于,根据所述叶片细胞内水分利用参数来选择适合于喀斯特地区种植的植物的方法为:无论在露石生境和非露石生境下,当细胞内持水能力、细胞内水分利用效率和细胞内水分运输速率在复水时均达到最大值,随后又呈下降趋势时,判定为喀斯特地区适生植物;而细胞内持水能力和细胞内水分运输速率在复水后并未发生明显地增加时,判定为喀斯特地区非适生植物。

# 一种喀斯特异质化生境筛选适生植物的方法

#### 技术领域

[0001] 本发明涉及一种喀斯特异质化生境筛选适生植物的方法,属于喀斯特地区植物种植技术领域。

## 背景技术

[0002] 喀斯特是世界上重要的陆地景观之一,占全球陆地面积的10%-15%。其中,以贵州省为中心的西南喀斯特地区是世界上喀斯特分布最广和最连续的地区之一,其喀斯特面积约为50万km²。据2018年第三次石漠化监测公报,西南喀斯特石漠化面积为1.01×10<sup>5</sup>km²,占土地面积的22.3%,土地石漠化问题突出。严重的石漠化已成为制约该区经济、社会发展和生态环境修复的重要阻碍,土地石漠化的预防及石漠化土地的治理已是当前生态环境建设的重要内容。

[0003] 丰富的降水和高温为喀斯特碳酸盐岩风化和溶解提供了有利条件,从而造成该地 区岩石破碎化、裂缝发育和良好的连通性等特征,导致地表大量渗漏土填充在裂缝中。喀斯 特石漠化地区土壤侵蚀严重、基岩广泛暴露、土地承载力严重下降以及在人类强烈的影响 下, 脆弱的生态地质环境出现类似沙漠的景观过程。因此, 对于喀斯特地区石漠化治理是尤 为重要的。石漠化地区地表裂隙对土壤保水能力也具有一定的影响,裂隙水可能是近地表 岩溶裂隙植物最重要的水源。在地表裸露岩石较多的区域,其较多的水分通过岩石径流进 入附近土壤中,使地表裸露岩石之间的裂隙水富含更多的水分和化学元素,从而使碳酸盐 岩附近的植物拥有更多的水分和营养元素,对维持生物多样性具有一定的重要性。通过对 附近混合岩基质进行研究发现基质植被的物种总数高于露头群落,而云质石灰岩性露头的 物种丰富度高于基质。生长在地表露石较多区域以及孤立露石周围土壤中的植物对水源的 利用也有所区别。西南岩溶地区降水丰富,土壤层浅、渗透性强,导致地表水通过土壤剖面 快速运移,土壤性质和植被覆盖是造成土壤水分动态差异的主要原因,较高的粘土含量导 致了更大的持水能力。喀斯特地区植物在干旱、高温和光照条件下改变其生理和形态结构, 以适应岩溶环境,高钙和土壤养分可以将多余的养分转移到植物的特殊部位,避免养分浓 度高的损害,因此喀斯特植物可以更好地利用有限的水资源。

[0004] 西南喀斯特地区虽然降雨充沛,但强烈的岩溶作用形成的地表地下"二元三维"空间地质结构,导致地表水漏失严重,加之土壤层覆盖浅薄,土壤持水能力差,使喀斯特环境成为一个极容易形成干旱的脆弱环境。干旱逆境是喀斯特生态环境中限制植物光合作用和生长最重要的因素之一,能够引起植物叶片水势、叶片含水量以及细胞内水分利用效率显著下降,从而影响植物的光合作用。同时,在岩-土-水的相互过程中,喀斯特地区碳酸盐岩属于碱性盐,在土壤中不断释放大量HCO3,从而导致土壤溶液pH升高,使植物同时遭受盐胁迫和高pH胁迫。因此,植物在喀斯特异质性生境中的响应策略也有所差异。植物在长期适应干旱环境的过程中产生了御旱性、耐旱性、逃旱性和复水恢复性等响应策略。有相关研究表明,在土壤水分亏缺条件下,抗逆性越强的植物,在复水后会出现生长加快、光合能力提高、产量增加等补偿效应,从而弥补水分亏缺造成的伤害。目前针对于喀斯特地区植物干旱-复

水的适应性主要利用光合生理指标、生长指标进行研究,但使用植物电生理技术对植物胞内水分的代谢特征进行研究较少。较多研究通过光合蒸腾作用、叶片水势、稳定氧、氢同位素等方法获得的植物叶片水分状态数据,但这些数据并不能直接反映细胞内水分利用状态。

### 发明内容

[0005] 基于上述,本发明提供一种喀斯特异质化生境筛选适生植物的方法,通过植物电生理技术研究植物胞内水分利用参数,据此可快速、准确筛选喀斯特地区的适生植物,为喀斯特干旱逆境的生态修复筛选提供参考。

[0006] 本发明的技术方案是:一种喀斯特异质化生境筛选适生植物的方法,包括:

[0007] 将待选植物种植在露石生境和非露石生境中:

[0008] 将电生理测定装置与LCR测试仪连接,选择生长良好、长势一致的植物幼苗,将植物幼苗完全展开的一叶片放置在电生理测定装置的平行的电极板之间;

[0009] 对植物幼苗进行干旱胁迫-复水处理,同时通过施加不同程度的相同质量铁块来设置不同的夹持力,测量植物叶片的电生理参数:

[0010] 根据所述电生理参数计算植物的叶片细胞内水分利用参数;

[0011] 根据所述叶片细胞内水分利用参数来选择适合于喀斯特地区种植的植物。

[0012] 优选的,所述电生理测量在上午9点到11点之间进行。

[0013] 优选的,所述夹持力设置在1-10N之间。

[0014] 优选的,所述叶片细胞内水分利用参数按照以下方法计算:

[0015] 利用Nernst方程可以用来描述细胞膜内外离子、离子基团和电偶极子浓度的变化;Z取决于膜内外离子的浓度,遵循Nernst方程,表达式为:

[0016] 
$$E - E^{0} = \frac{R_{0}T}{n_{0}R_{0}} \ln \frac{Q_{i}}{Q_{0}}$$
 (1)

[0017] T: 热力学温度 (K);  $Q_i$ : 细胞膜内响应Z的电解质浓度 (mol • L<sup>-1</sup>);  $Q_0$ : 细胞膜外响应 Z的电解质浓度 (mol • L<sup>-1</sup>);  $F_0$ : 法拉第常数 (9.65×104C • mol <sup>-1</sup>), 以及nZ: 转移的电解质数量 (mol)。

[0018] 电动势的内能可以转化为压功,两者有直接关系,PV=aE,即:

[0019] 
$$PV = aE = aE^{0} + \frac{aR_{0}T}{nZF_{0}} ln \frac{Q_{i}}{Q_{0}}$$
 (2)

[0020] 式中,P为叶片细胞受到的压力强度 (Pa); a为电动势转化为能量的传递系数; V为细胞体积  $(m^3)$ 。P=F/S,其中F为夹持力 (N),S为电极板的有效面积  $(m^2)$ ;F可由重力公式计算:

[0021] F = (M+m)g (3)

[0022] 式中m:铁块质量(kg);M:塑料棒和平板电极的质量(kg),g=9.8N/kg。

[0023] 对于叶肉细胞, $Q_0$ 和 $Q_i$ 的值是确定的;因此, $\frac{Q_i}{Q_0}$ 可表示为 $\frac{Q_i}{U_0} = \frac{\frac{ln}{Z}}{\frac{Q_0}{Z}} = \frac{J_0}{QZJ_0}$ ,其中 $J_0$ 为 $Q_i$ 

与Z之间的传递系数, $Q=Q_0+Q_1$ ;因此,将式(2)转化为式(4):

[0024] 
$$\frac{V}{S}E = aE^{0} - \frac{aR_{0}T}{n_{z}F_{0}} \ln \frac{QZ - J_{0}}{J_{0}}$$
 (4)

[0025] 式(4)改写为:

[0026] 
$$\frac{aR_0T}{n_zF_0}\ln\frac{QZ-J_0}{J_0} = aE^0 - \frac{V}{S}E$$
 (5)

[0027] 和

[0028] 
$$\ln \frac{QZ - J_0}{J_0} = \frac{n_Z F_0 E^0}{RT} - \frac{n_Z F_0}{SaRT} E$$
 (6)

[0029] 式(6)取两边的指数:

[0030] 
$$\frac{QZ - J_0}{J_0} = e^{\frac{n_Z F_0 E^0}{R_0 T}} e^{\left(-\frac{V n_Z F_0}{SaR_0 T}\right)}$$
 (7)

[0031] 然后:

[0032] 
$$Z = \frac{J_0}{0} + \frac{J_0}{0} e^{\frac{n_Z F_0 E^0}{R_0 T}} e^{\left(-\frac{V n_Z F_0}{SaR_0 T}\right)}$$
(8)

[0033] 当 $d = \frac{V}{S}$ 时,式(2-13)转化为:

[0034] 
$$Z = \frac{J_0}{O} + \frac{J_0}{O} e^{\frac{n_Z F_0 E^0}{R_0 T}} e^{(-\frac{dn_Z F_0}{aR_0 T} F)}$$
(9)

[0035] 对于在相同环境中测试的相同叶子,d,a, $E^0$ , $R_0$ ,T, $n_7$ , $F_0$ ,Q和 $J_0$ 式(8)的值为常数:

[0036] 
$$Z = y_0 + k_1 e^{-b_1 F}$$
 (10)

[0037] 这里y<sub>0</sub>,k<sub>1</sub>和b<sub>1</sub>是模型参数。

[0038] 由式(10)可知,当F=0时,植物叶片的本征阻抗(IZ)可得:

[0039]  $IZ = y_0 + k_1$  (11)

[0040] 叶片电容电抗X<sub>2</sub>根据式计算:

[0041] 
$$X_c = \frac{1}{2\pi fC}$$
 (12)

[0042] 在Z相同的情况下,揭示了叶片电容电抗(X<sub>c</sub>)与F的内在机制关系:

[0043] 
$$X_c = p_0 + k_2 e^{-b_1 F}$$
 (13)

[0044] 其中 $p_0$ , $k_2$ ,bz为模型参数。

[0045] 当F=0时,植物叶片的本征容抗( $IX_c$ )可计算为:

[0046]  $IX_c = p_0 + k_2$  (14)

[0047] 植物叶片的本征电容(IC)也可以得到:

[0048] 
$$IC = \frac{1}{2\pi f I X_c}$$
 (15)

[0049] 其中π=3.1416,f:频率,IX<sub>c</sub>:固有电容电抗;

[0050] 根据热力学第一定律,夹持力所做的功符合吉布斯自由能方程:

[0051]  $\Delta G = \Delta H + PV$  (15)

[0052] 式中  $\Delta$  G: 吉布斯自由能 (J);  $\Delta$  H: 叶细胞系统内能 (J); P: 叶细胞压力强度 (Pa); V: 细胞体积 ( $m^3$ ); P可由压力强度公式计算:

[0053] 
$$P = \frac{F}{S}$$
 (16)

[0054] 式中F为夹持力(N),S为电极板有效面积 $(m^2)$ ;

[0055] 叶肉细胞可视为同心球面电容器,其电容能量为:

[0056] 
$$W = \frac{1}{2}U^2C \tag{17}$$

[0057] 式中W:电容能量(J),U:测试电压(V),C:生理电容(pF);

[0058] 根据能量守恒理论,电容器能量等于吉布斯自由能所转换的功,即 $W = \Delta G$ ;得到叶片C与夹持力(F)关系模型:

[0059] 
$$C = \frac{2\Delta H}{U^2} + \frac{2V}{SU^2} F$$
 (18)

[0060] 设d为植物叶片的比有效厚度;因此,d=V/S;式(18)转化为式(19):

[0061] 
$$C = \frac{2\Delta H}{U^2} + \frac{2d}{U^2} F$$
 (19)

[0062] 
$$\diamond x_0 = \frac{2\Delta H}{U^2}$$
,  $h_0 = \frac{2d}{U^2}$ ,式(19)转化为式(20):

[0063] 
$$C = x_0 + hF$$
 (20)

[0064] 式(20)为线性模型,其中x<sub>0</sub>和h为模型参数;

[0065] 当 $h = \frac{2d}{11^2}$ 时,植物叶片比有效厚度(d)可计算为:

$$[0066] d = \frac{U^2 d}{2} (21)$$

[0067] 细胞呈球形结构,其生长与体积的增大密切相关;植物叶片细胞的C可由同心球形电容器的公式计算:

[0068] 
$$C_{c} = \frac{4\pi\epsilon R_{1}R_{2}}{R_{2}-R_{1}}$$
 (22)

[0069] 其中 $\pi$ =3.1416, $C_c$ :同心圆球形电容器的电容pF; $\epsilon$ :电解质的介电常数; $R_1$ :外球半  $E_m$ ; $E_2$ :内球半 $E_m$ ,对于植物细胞, $E_2$ - $E_1$ 为细胞膜厚度; $E_1$ 0 $E_2$ 0 $E_3$ 1 $E_4$ 1 $E_4$ 1 $E_5$ 1 $E_5$ 1 $E_5$ 1 $E_6$ 1 $E_7$ 1

$$[0070] \quad V_c = \alpha \sqrt{C^3} \tag{23}$$

[0071] 细胞体积与液泡体积呈正相关,液泡和细胞质的主要成分是水;也就是说,细胞的持水能力与C成正比,因此 $\sqrt{C^3}$ 可以表示植物叶片的持水能力;植物叶片胞内持水能力(IWHC)由式(23)得到:

$$[0072] IWUE = \frac{d}{IWHC} (24)$$

[0073] 根据欧姆定律, $I_Z = \frac{U}{Z}$ ,其中 $I_Z$ :生理电流(A),U:试验电压(V);

[0074] Z为生理阻抗(N),同时电流等于电容与电压在时间上的微分之积,如式(25)所示:

[0075]  $I_{Z} = IC \times \int dU$  (25)

[0076] 经过积分变换后,电流时间为电容和阻抗的乘积;

[0077] 因此,植物叶片胞内持水时间(IWHT)由式(26)表示:

[0078]  $IWHT = IC \times IZ$  (26)

[0079] 植物叶片的动态水分传递速率(WTR)由式(27)计算:

[0080] 
$$IWTR = \frac{IWHC}{IWHT}$$
 (27)

[0081] 优选的,根据所述叶片细胞内水分利用参数来选择适合于喀斯特地区种植的植物的方法为:无论在露石生境和非露石生境下,当细胞内持水能力、细胞内水分利用效率和细胞内水分运输速率在复水时均达到最大值,随后又呈下降趋势时,判定为喀斯特地区适生植物;而细胞内持水能力和细胞内水分运输速率在复水后并未发生明显地增加时,判定为喀斯特地区非适生植物。

[0082] 本发明的有益效果:本发明通过吉布斯自由能方程揭示叶片的内在力学关系和夹持力(F),确定了细胞内在电生理指标,并根据植物内在电生理参数计算了植物叶片细胞内水分利用指标细胞内持水能力(IWHC)、细胞内水分利用效率(IWUE)、细胞内持水时间(IWHT)和细胞内水运输速率(IWTR),这些参数指标能够准确揭示植物叶片细胞内部水分代谢动态过程和多样性,据此可以选择喀斯特地区的适生植物。在重度干旱复水后,不同适生植物在不同生境中存在明显的水分利用差异和不同的反应策略。面对重度干旱复水环境条件下,适生植物叶片细胞内部水分代谢反映较为迅速,能够在短时间内提高植物的吸水能力,促进胞内水分运输速率,而胞内水分运输速率的提高有助于提高叶片内部水分和养分的输送和水分利用效率,能够将外部水分和养分吸收到细胞内部来减少植物内部水分的流失。同时,细胞持水能力与植物的抗旱性有关,适生植物提高细胞内部的持水能力来维持自身基础代谢功能,提高其抗旱能力。在重度干旱后复水的条件下,非适生植物反应迟缓,水分代谢功能受损,仅提高细胞内部水分利用效率。本发明可以为喀斯特干旱逆境的生态修复筛选最佳植物提供参考。

### 附图说明

[0083] 图1电生理测定装置与LCR测试仪连接示意图,1:支架,2:塑料棒,3:工作台支架,4:铁块,5:铜电极板,6:泡沫板,7:电导线:

[0084] 图2两种喀斯特生态类型;

[0085] 图3在不同夹持力(Fg)下,构树的生理电容、电阻和阻抗随于旱时间的变化;

[0086] 图4在不同夹持力(Fg)下,桑树的生理电容、电阻和阻抗随干旱时间的变化,字母 a,b,c代表同一夹持力随干旱胁迫时间增加的显著性差异:

[0087] 图5野外生境中构树的生理电容、电阻和阻抗随干旱时间的变化,字母a、b、c代表同一夹持力随干旱胁迫时间增加的显著性差异;

[0088] 图6野外生境中桑树的生理电容、电阻和阻抗随干旱时间的变化,字母a、b、c代表同一夹持力随干旱胁迫时间增加的显著性差异;

[0089] 图7两种生境中构树电生理方程参数拟合:

[0090] 图8两种生境中桑树电生理方程参数拟合:

[0091] 图9野外两种生境中构树和桑树叶片水分利用参数; (a), (b)为细胞内持水能力 (IWHC); (c), (d)为细胞内水分利用效率(IWUE); (e), (f)为细胞内持水时间(IWHT); 和(g), (h)为细胞内水运输速率(IWTR)。R0和NR0分别代表露石生境和非露石生境。数值为平均值 生误差, n=4。字母a、b、c代表构树的显著性; o、p、q代表桑树的显著性。

### 具体实施方式

[0092] 为使本发明的上述目的、特征和优点能够更加明显易懂,下面结合附图对本发明

的具体实施方式做详细的说明。在下面的描述中阐述了很多具体细节以便于充分理解本发明。但是本发明能够以很多不同于在此描述的其它方式来实施,本领域技术人员可以在不违背本发明内涵的情况下做类似改进,因此本发明不受下面公开的具体实施的限制。

[0093] 本发明实施方式一种喀斯特异质化生境筛选适生植物的方法,包括以下步骤:

[0094] (1)将待选植物种植在露石生境和非露石生境中。

[0095] (2)将电生理测定装置与LCR测试仪连接,选择生长良好、长势一致的植物幼苗,将植物幼苗完全展开的一叶片放置在电生理测定装置的平行的电极板之间;电生理测定装置与LCR测试仪(型号6100,Hioki,Nagano,Japan)连接的结构如图1所示。

[0096] (3)对植物幼苗进行干旱胁迫-复水处理,同时通过施加不同程度的相同质量铁块来设置不同的夹持力,测量植物叶片的电生理参数,电生理参数包括生理电容Cp、生理电阻R和生理阻抗Z。由于植物具有节律性,电生理测量在上午9点到11点之间进行;夹持力设为1.17N、2.17N、3.17N、5.17N和7.17N。每株植物选择一完全展开的叶片,放置在平行的电极板之间,通过施加不同程度的相同质量铁块,并在叶片上选择三个均匀放置的点,每次测量11次,即对每片测试的叶片进行33次后取平均值。

[0097] (4) 根据所述电生理参数计算植物的叶片细胞内水分利用参数,具体表达方式如下:

[0098] 利用Nernst方程可以用来描述细胞膜内外离子、离子基团和电偶极子浓度的变化;Z取决于膜内外离子的浓度,遵循Nernst方程,表达式为:

[0099] 
$$E - E^{0} = \frac{R_{0}T}{n_{0}F_{0}} \ln \frac{Q_{i}}{Q_{0}}$$
 (1)

[0100] T: 热力学温度 (K);  $Q_i$ : 细胞膜内响应Z的电解质浓度 (mol • L<sup>-1</sup>);  $Q_0$ : 细胞膜外响应Z的电解质浓度 (mol • L<sup>-1</sup>);  $F_0$ : 法拉第常数 (9.65×104C • mol<sup>-1</sup>), 以及nZ: 转移的电解质数量 (mol)。

[0101] 电动势的内能可以转化为压功,两者有直接关系,PV=aE,即:

[0102] 
$$PV = aE = aE^{0} + \frac{aR_{0}T}{nZF_{0}} ln \frac{Q_{i}}{Q_{0}}$$
 (2)

[0103] 式中,P为叶片细胞受到的压力强度 (Pa); a为电动势转化为能量的传递系数; V为细胞体积  $(m^3)$ 。P=F/S,其中F为夹持力 (N),S为电极板的有效面积  $(m^2)$ ;F可由重力公式计算:

[0104] F = (M+m)g (3)

[0105] 式中m:铁块质量(kg);M:塑料棒和平板电极的质量(kg),g=9.8N/kg。

[0106] 对于叶肉细胞, $Q_0$ 和 $Q_i$ 的值是确定的;因此, $\frac{Q_i}{Q_0}$ 可表示为 $\frac{Q_i}{U_0} = \frac{\frac{J_0}{Z}}{\frac{Q_0}{Z}} = \frac{J_0}{QZJ_0}$ ,其中 $J_0$ 为 $Q_i$ 

与Z之间的传递系数, $Q=Q_0+Q_1$ ;因此,将式(2)转化为式(4):

[0107] 
$$\frac{V}{S}E = aE^{0} - \frac{aR_{0}T}{n_{z}F_{0}} ln \frac{QZ - J_{0}}{J_{0}}$$
 (4)

[0108] 式(4)改写为:

[0109] 
$$\frac{aR_0T}{n_zF_0}\ln\frac{QZ-J_0}{J_0} = aE^0 - \frac{V}{S}E$$
 (5)

[0110] 和

[0111] 
$$\ln \frac{QZ - J_0}{J_0} = \frac{n_Z F_0 E^0}{RT} - \frac{n_Z F_0}{SaRT} E$$
 (6)

[0112] 式(6)取两边的指数:

[0113] 
$$\frac{QZ - J_0}{J_0} = e^{\frac{n_Z F_0 E^0}{R_0 T}} e^{\left(-\frac{V n_Z F_0}{SaR_0 T}\right)}$$
(7)

[0114] 然后:

[0115] 
$$Z = \frac{J_0}{O} + \frac{J_0}{O} e^{\frac{n_Z F_0 E^0}{R_0 T}} e^{\left(-\frac{V n_Z F_0}{SaR_0 T}\right)}$$
(8)

[0116] 当 $d = \frac{v}{s}$ 时,式(2-13)转化为:

[0117] 
$$Z = \frac{J_0}{Q} + \frac{J_0}{Q} e^{\frac{n_Z F_0 E^0}{R_0 T}} e^{(-\frac{dn_Z F_0}{aR_0 T} F)}$$
(9)

[0118] 对于在相同环境中测试的相同叶子,d,a,E0, $R_0$ ,T, $n_Z$ , $F_0$ ,Q和 $J_0$ 式(8)的值为常数:

[0119] 
$$Z = y_0 + k_1 e^{-b_1 F}$$
 (10)

- [0120] 这里 $y_0, k_1$ 和 $b_1$ 是模型参数。
- [0121] 由式(10)可知,当F=0时,植物叶片的本征阻抗(IZ)可得:
- [0122]  $IZ = y_0 + k_1$  (11)
- [0123] 叶片电容电抗X。根据式计算:

[0124] 
$$X_c = \frac{1}{2\pi fC}$$
 (12)

[0125] 在Z相同的情况下,揭示了叶片电容电抗(X<sub>2</sub>)与F的内在机制关系:

[0126] 
$$X_c = p_0 + k_2 e^{-b_1 F}$$
 (13)

- [0127] 其中po,ko,bz为模型参数。
- [0128] 当F = 0时,植物叶片的本征容抗( $IX_c$ )可计算为:
- [0129]  $IX_c = p_0 + k_2$  (14)
- [0130] 植物叶片的本征电容(IC)也可以得到:

[0131] 
$$IC = \frac{1}{2\pi f I X_c}$$
 (15)

- [0132] 其中π=3.1416,f:频率,IX<sub>c</sub>:固有电容电抗;
- [0133] 根据热力学第一定律,夹持力所做的功符合吉布斯自由能方程:
- [0134]  $\Delta G = \Delta H + PV$  (15)

[0135] 式中  $\Delta$  G: 吉布斯自由能 (J);  $\Delta$  H: 叶细胞系统内能 (J); P: 叶细胞压力强度 (Pa); V: 细胞体积 ( $m^3$ ); P可由压力强度公式计算:

[0136] 
$$P = \frac{F}{S}$$
 (16)

- [0137] 式中F为夹持力(N),S为电极板有效面积 $(m^2)$ ;
- [0138] 叶肉细胞可视为同心球面电容器,其电容能量为:

[0139] 
$$W = \frac{1}{2}U^2C \tag{17}$$

[0140] 式中W:电容能量(J),U:测试电压(V),C:生理电容(pF);

[0141] 根据能量守恒理论,电容器能量等于吉布斯自由能所转换的功,即 $W = \Delta G$ ;得到叶片C与夹持力(F)关系模型:

[0142] 
$$C = \frac{2\Delta H}{\Pi^2} + \frac{2V}{S\Pi^2} F$$
 (18)

[0143] 设d为植物叶片的比有效厚度;因此,d=V/S;式(18)转化为式(19):

[0144] 
$$C = \frac{2\Delta H}{U^2} + \frac{2d}{U^2} F$$
 (19)

[0145] 
$$\diamond x_0 = \frac{2\Delta H}{U^2}$$
,  $h_0 = \frac{2d}{U^2}$ , 式 (19) 转化为式 (20):

- [0146]  $C = x_0 + hF$  (20)
- [0147] 式(20)为线性模型,其中 $x_0$ 和h为模型参数;
- [0148] 当 $h = \frac{2d}{U^2}$ 时,植物叶片比有效厚度(d)可计算为:

$$[0149] d = \frac{U^2 d}{2} (21)$$

[0150] 细胞呈球形结构,其生长与体积的增大密切相关;植物叶片细胞的C可由同心球形电容器的公式计算:

[0151] 
$$C_c = \frac{4\pi\epsilon R_1 R_2}{R_2 - R_1}$$
 (22)

[0152] 其中 $\pi$ =3.1416, $C_c$ :同心圆球形电容器的电容pF; $\epsilon$ :电解质的介电常数; $R_1$ :外球半  $E_m$ ; $E_2$ :内球半 $E_m$ ,对于植物细胞, $E_2$ - $E_1$ 为细胞膜厚度; $E_1$ 0 $E_2$ 0 $E_3$ 1 $E_4$ 1 $E_4$ 1 $E_5$ 1 $E_5$ 1 $E_5$ 1 $E_6$ 1 $E_7$ 1

$$[0153] \quad V_c = \alpha \sqrt{C^3} \tag{23}$$

[0154] 细胞体积与液泡体积呈正相关,液泡和细胞质的主要成分是水;也就是说,细胞的持水能力与C成正比,因此 $\sqrt{C^3}$ 可以表示植物叶片的持水能力;植物叶片胞内持水能力 (IWHC)由式(23)得到:

$$[0155] IWUE = \frac{d}{IWHC} (24)$$

- [0156] 根据欧姆定律, $I_Z = \frac{U}{Z}$ ,其中 $I_Z$ :生理电流(A),U:试验电压(V);
- [0157] Z为生理阻抗(N),同时电流等于电容与电压在时间上的微分之积,如式(25)所示:
- [0158]  $I_7 = IC \times \int dU$  (25)
- [0159] 经过积分变换后,电流时间为电容和阻抗的乘积;
- [0160] 因此,植物叶片胞内持水时间(IWHT)由式(26)表示:
- [0161]  $IWHT = IC \times IZ$  (26)
- [0162] 植物叶片的动态水分传递速率(WTR)由式(27)计算:

[0163] 
$$IWTR = \frac{IWHC}{IWHT}$$
 (27)

[0164] (5)根据所述叶片细胞内水分利用参数来选择适合于喀斯特地区种植的植物。无论在露石生境和非露石生境下,当细胞内持水能力、细胞内水分利用效率和细胞内水分运输速率在复水时均达到最大值,随后又呈下降趋势时,判定为喀斯特地区适生植物;而细胞内持水能力和细胞内水分运输速率在复水后并未发生明显地增加时,判定为喀斯特地区非

适生植物。

[0165] 验证试验:

[0166] 试验区位于贵州省贵阳市清镇市(东经106°07′~106°32′,北纬26°25′~26°56′之间),海拔约1200~1400m,属于北亚热带季风湿润气候区,年平均气温为14.1℃,年平均降水量为1180.9mm左右。该区域发育的土壤为黑色壤土,土壤理化性质如表1所示。本研究选取两种典型喀斯特地貌类型(露石生境和非露石生境)进行对比研究,如图2所示。将构树和桑树幼苗分别移植在两种生境中培养,经过2个月的幼苗适应期,待植物长出7-8片真叶时,开展野外植物的连续干旱实验,在干旱期内,每天监测植物的生长状况,收集土壤。野外实验是在重度干旱后开始的实验,主要探索植物在重度干旱复水条件下的自身调节能力和水分代谢能力。

[0167] 表1野外土壤基本理化性质

[0168]	生境类型	粒度/%			营养含量/(g/kg)				nII.
		<0.002 mm	0.02~0.002 mm	0.02~2 mm	C	N	Mg	Ca	- pH
	露石生境	13.96	63.84	22.20	30.50	2.65	3.08	1.83	7.85
	非露石生境	7.63	39.97	51.81	27.20	2.30	1.60	1.49	7.82

[0169] 使用IBM SPSS 25.0对数据进行统计分析和Sigmaplot 10.0软件来分析所有收集到的数据。使用SPSS软件中的Duncan's Multiple Range Tests在不同干旱时间的多个参数进行比较。数据以平均值生标准误差(Standard error, SE)(n=4)表示。利用Origin 2021进行线性拟合分析以及和Adobe illustrator 2020软件进行绘图

[0170] 1、干旱胁迫下植物电生理基本参数的动态变化

[0171] 图3和图3显示了在不同夹持力作用下构树和桑树生理电容Cp、生理电阻R和生理阻抗Z随干旱时间的动态变化过程。结果表明,构树和桑树生理电容Cp值随夹持力的加大而逐渐增大,与夹持力之间呈正相关;而与干旱胁迫时间呈负相关,其值随干旱胁迫的增加逐渐下降(图3a、b、图4a、b)。同时,在干旱胁迫影响下,构树和桑树叶片生理电阻R(3c、d、图4c、d)和生理阻抗Z(图3e、f、图4e、f)与夹持力之间呈负相关,其值随着夹持力的增大而逐渐变小;而与干旱时间呈正相关,其值随干旱时间的增加逐渐增大。在干旱胁迫过程中,构树和桑树在非露石生境中的生理电阻R和生理阻抗Z值高于露石生境。

[0172] 2、不同生境构树和桑树电生理参数的变化特征

[0173] 以干旱胁迫时间(D)为横坐标,以构树和桑树叶片分别在露石生境和非露石生境中的生理电容(Cp)、生理电阻(R)和生理阻抗(Z)为纵坐标构建模型图,如图5和图6所示。在严重干旱复水后,构树在露石生境和非露石生境之间的生理电容(图5a,b)急剧上升后下降;而桑树的生理电容值(图6a,b)变化不显著。构树生理电阻和阻抗在干旱下逐渐增加,复水后,有所下降,如图5c,d、图5e,f所示。而桑树的生理电阻和阻抗(图6c,d图6e,f)在干旱后复水条件下逐渐增加。同时,构树的生理电容值高于桑树,且生理电阻和生理阻抗低于桑树,表明桑树细胞受到干旱胁迫的影响相对与构树较为严重。

[0174] 3、两种生境中构树和桑树电生理方程参数的拟合

[0175] 随机选取部分构树和桑树叶片生理电容C(图7a、图8a)、生理电阻R(图7b、图8b)、生理容抗Xc(图7c、图8c)、生理感抗XL(图7d、图8d)和生理阻抗Z(图7e、图8e)与夹持力(F)

关系的拟合曲线和方程。结果表明:叶片C、R、Xc、XL、Z与夹持力(F)之间具有良好的关系;R<sup>2</sup> 为构树和桑树叶片C、R、Xc、XL和Z在两种生境中与夹持力的拟合方程相关系数,其中构树在两种生境中的相关系数 (R<sup>2</sup>) 为0.9909~0.9938,0.9813~0.9996,0.9867~0.9953,0.9851~0.9985和0.9851~0.9974。桑树在两种生境中的相关系数 (R<sup>2</sup>) 分别为0.9835~0.9996,0.9921~0.9909,0.9898~0.9953,0.9858~0.9972和0.9821~0.9965。结果表明,C-F、R-F、Xc-F、XL-F和Z-F具有较好的相关性,表明F与叶片C、R、Xc、XL和Z之间确实存在内在的机制关系,p值均小于0.0001。

[0176] 4、不同生境构树和桑树水分利用参数特征

[0177] 利用两种生境的拟合方程对应的参数计算出了野外生境下构树和桑树水分利用参数(图9)。植物的水分利用参数随外界环境条件的变化而变化。在相同的环境条件下,构树的IWHC、IWUE和IWTR值在降雨时达到最大值,随后又呈下降趋势。而桑树仅有IWUE值在降雨时达到最大值,IWHT达到最小值。构树的IWHC和IWTR仅在5~6天高于桑树(图9a、b,g、h)。构树呈先增加后降低的变化形式,而桑树在干旱胁迫阶段变化不显著。两种生境中构树和桑树的IWHT值随干旱时间的变化不明显,但桑树的IWHT值高于构树(图9e,f)。露石生境中构树的IWUE值呈不断下降的趋势,而非露石生境构树的IWUE值在第5天急剧增加后降低的变化趋势(图9c)。非露石生境中的桑树与构树变化一致,但露石生境中桑树的IWUE值变化不显著(图9d)。构树的IWUE值明显高于桑树。

[0178] 干旱是喀斯特地区植物面临的主要逆境之一,构树和桑树在严重干旱条件下生长发育受到严重抑制,而构树和桑树在重度干旱后复水条件下的响应策略有所差异。在复水前期,构树和桑树均遭受严重的干旱胁迫,其细胞内部水分利用和生长受阻。由于构树和桑树利用碳酸盐的能力有所不同,在重度干旱后复水环境条件下,作为高碳酸氢离子利用植物的构树,当两种生境土壤HCO3 浓度逐渐升高时,构树能够高效利用土壤HCO3 进行碳源和能量物质的补足,加快胞内对外部水分的吸收,促进细胞内部水分的运输,提高细胞内部持水能力从而恢复自身水分代谢过程。而桑树受干旱影响较大,在复水之后,对外部水分的吸收受到严重的限制,内部水分代谢紊乱。因此,构树在遭受重度干旱后复水条件下的自身恢复能力和水分协调能力高于桑树,其抗旱性也强于桑树。所以,本发明可以为筛选喀斯特地区最佳适生植物提供建议以及为喀斯特生态修复提供科学数据。

[0179] 以上所述实施例仅表达了本发明的几种实施方式,其描述较为具体和详细,但并不能因此而理解为对本发明专利范围的限制。应当指出的是,对于本领域的普通技术人员来说,在不脱离本发明构思的前提下,还可以做出若干变形和改进,这些都属于本发明的保护范围。因此,本发明专利的保护范围应以所附权利要求为准。

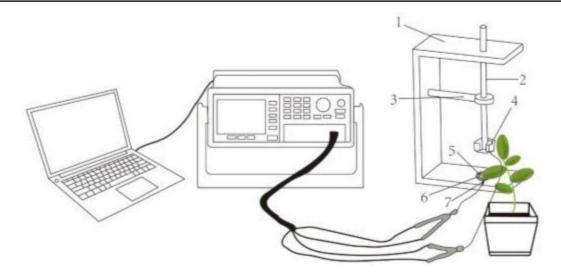


图1



图2

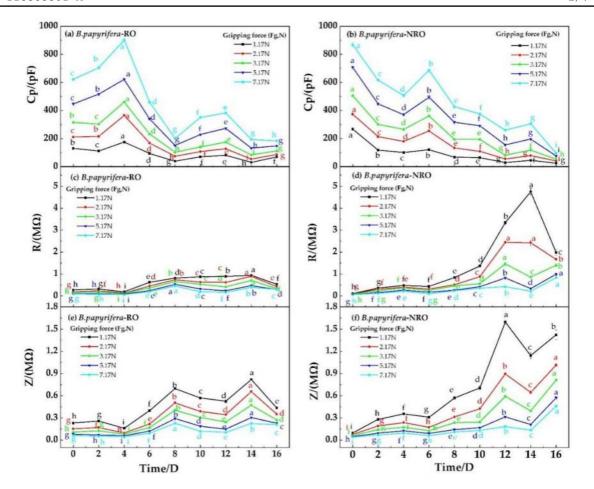


图3

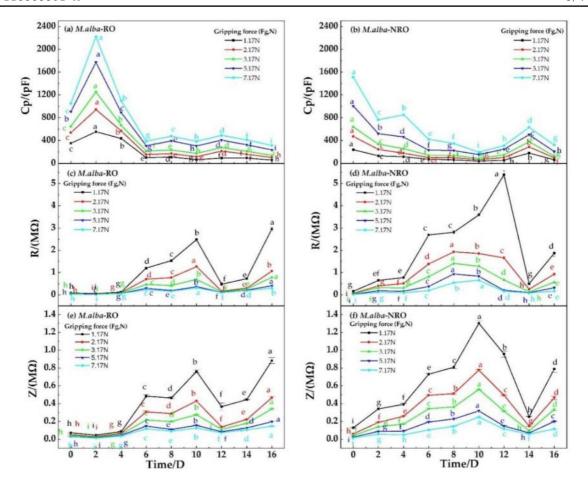


图4

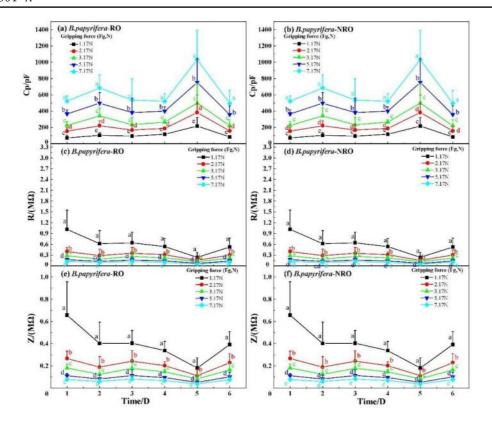


图5

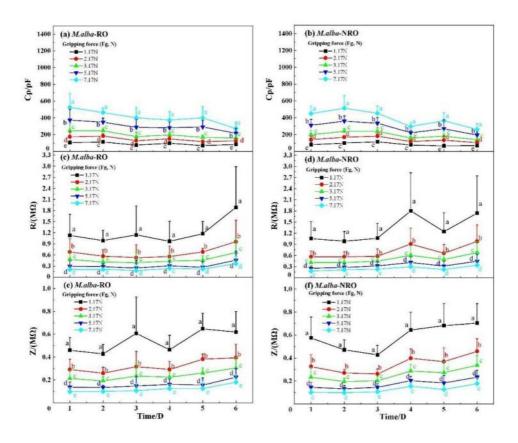


图6

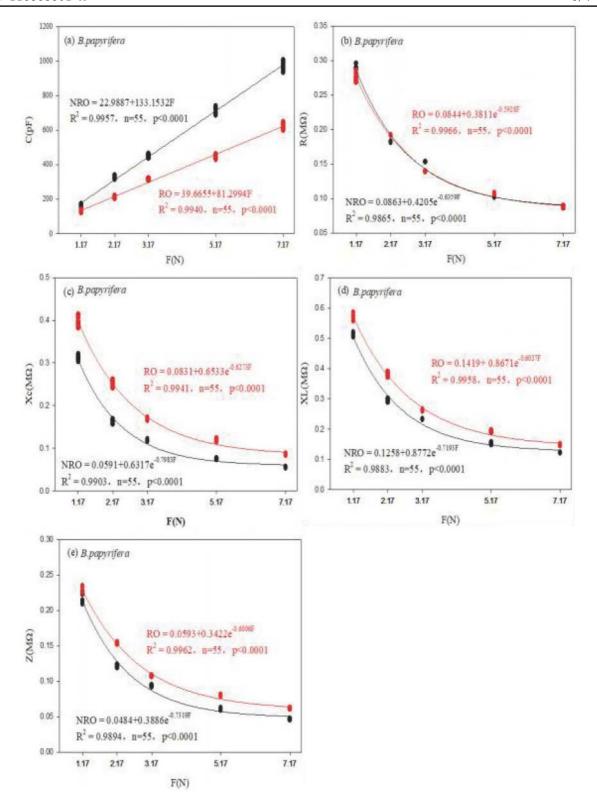


图7

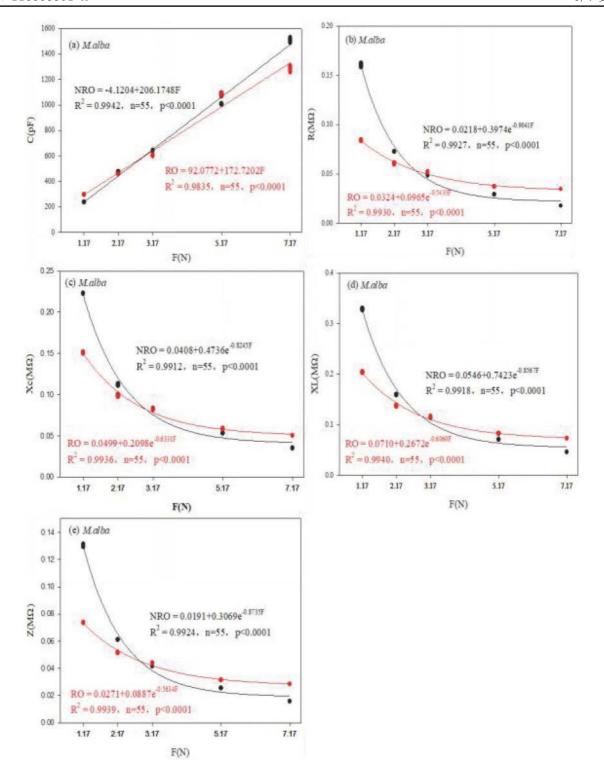


图8

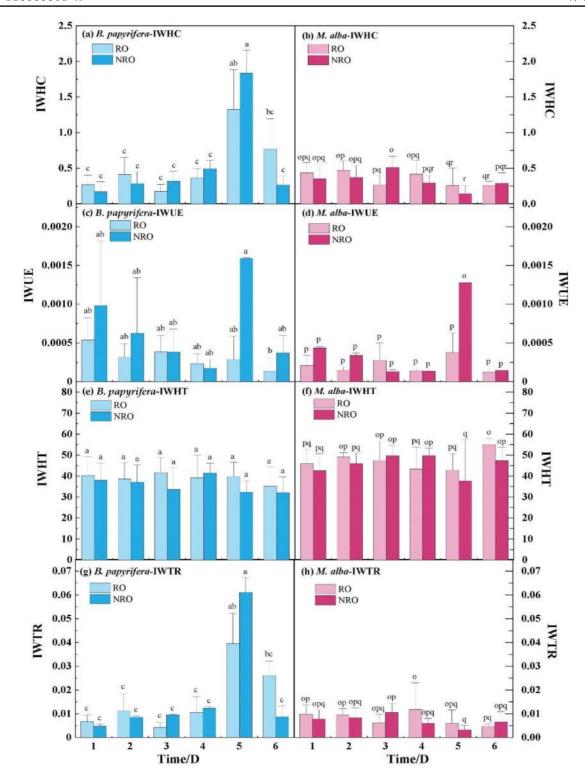


图9