

DOI: 10.20103/j.stxb.202309041908

刘召慧, 崔叶红, 郑芳, 刘祎明, 刘艳, 盖雨兰, 王爱芳. 夏季水涝对白皮松根系电阻抗特性及生长生理的影响. 生态学报, 2024, 44(18): 8208-8218.  
Liu Z H, Cui Y H, Zheng F, Liu Y M, Liu Y, Ge Y L, Wang A F. Effects of waterlogging in summer on electrical impedance characteristics, growth and physiology of roots in *Pinus bungeana* seedlings. Acta Ecologica Sinica, 2024, 44(18): 8208-8218.

## 夏季水涝对白皮松根系电阻抗特性及生长生理的影响

刘召慧<sup>1</sup>, 崔叶红<sup>2</sup>, 郑芳<sup>1</sup>, 刘祎明<sup>1</sup>, 刘艳<sup>1</sup>, 盖雨兰<sup>1</sup>, 王爱芳<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup> 河北农业大学园艺学院, 保定 071001

<sup>2</sup> 保定市东风公园, 保定 071052

**摘要:** 气候变化背景下夏季极端降水发生频率增加, 夏季水涝通过影响根系, 从而影响树木生长和存活, 对森林生态造成严重破坏。树木根系埋于地下, 水涝后根系变化不易观测。研究目的是利用电阻抗图谱法非破坏性测定根系电阻抗特性, 通过分析电阻抗参数与根系生长生理指标的相关性, 为快速了解水涝胁迫后白皮松地下根系的受害程度提供新方法。本研究以我国北方造林常用的白皮松四年生苗木为试验材料, 于夏季进行水涝处理: i) 对照 (CK), 正常管理; ii) 连续水涝 3 周 (CWL); iii) 间歇水涝 3 周 (IWL, 水涝 1 周+排水 1 周, 循环 3 次, 总计水涝时长 3 周)。水涝后及后续恢复生长期对白皮松根系进行了电阻抗图谱测定及图谱归类分析 (CLAFIC, Class-Featuring Information Compression)。对根系形态指标、非结构性碳水化合物、丙二醛含量进行了测定并分析与电阻抗参数的相关性。CWL 和 IWL 处理下白皮松的根系形态指标较 CK 降低, 且 IWL 处理下根系形态指标在恢复期显著低于 CK 和 CWL 处理, 表明连续和间歇水涝 3 周均抑制了白皮松的根系生长, 间歇水涝对根系的伤害较连续水涝更严重, 与根系丙二醛含量更高相印证。CWL 和 IWL 处理下白皮松根系的电阻抗图谱表现出明显的变化, 电阻值 ( $Re(Z)$ ) 低于 CK, 容抗值 ( $Im(Z)$ ) 高于 CK, 恢复生长期以上参数变化相反。CLAFIC 归类结果显示 CWL 和 IWL 在水涝处理期间图谱相似比例最高, 在恢复一个月后分别与 CK 相似比例较高。低频下阻抗损耗系数 ( $\delta$ ) 与根体积呈线性正相关, 与淀粉含量呈线性负相关, 表明水涝胁迫后白皮松苗木根系的阻抗损耗系数具有反映根大小和生理状态的潜力。

**关键词:** 电阻抗; 非结构性碳水化合物; 白皮松; 根系; 水涝胁迫

## Effects of waterlogging in summer on electrical impedance characteristics, growth and physiology of roots in *Pinus bungeana* seedlings

LIU Zhaohui<sup>1</sup>, CUI Yehong<sup>2</sup>, ZHENG Fang<sup>1</sup>, LIU Yiming<sup>1</sup>, LIU Yan<sup>1</sup>, GE Yulan<sup>1</sup>, WANG Aifang<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup> College of Horticulture, Hebei Agricultural University, Baoding 071001, China

<sup>2</sup> Dongfeng Park in Baoding city, Baoding 071052, China

**Abstract:** Extreme precipitation in summer occurs more frequently in the context of climate change. Waterlogging in summer affects the growth and survival of trees by affecting their roots, thus causing serious damage to forest ecology. Since tree roots are buried underground, changes of roots after waterlogging are not easy to observe. The aim of this study was to use electrical impedance spectrum (EIS) method to non-destructively measure the electrical impedance characteristics of roots, and therefore providing a new method for quickly understanding the damage degree of underground roots after waterlogging stress by analyzing the correlation between electrical impedance parameters and root growth and physiological indexes. In the study, four-year-old lacebark pine (*Pinus bungeana* Zucc.) seedlings, commonly used in afforestation in north China, were exposed to waterlogging treatments in summer: i) Control (CK), normal management; ii) Continuous waterlogging for 3 weeks (CWL); and iii) Intermittent waterlogging for 3 weeks (IWL, waterlogging of 1 week+drainage of 1 week, a total of

**基金项目:** 国家自然科学基金 (青年科学基金项目) (32101250); 河北省省属高等学校基本科研业务费 (KY2022004)

**收稿日期:** 2023-09-04; **网络出版日期:** 2024-07-15

\* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: awang@hebau.edu.cn

3 cycles, cumulative waterlogging for 3 weeks). After waterlogging and during the subsequent recovery growth period, the EIS of the root system were measured and the spectra were classified by Class-Featuring Information Compression (CLAFIC). Morphological indexes, non-structural carbohydrates, and malondialdehyde content of roots were measured and their correlations with the EIS parameters were analyzed. Root morphological indexes in CWL and IWL treatments were lower than that in CK, and the root morphological indexes in IWL treatment were significantly lower than that in CK and CWL treatment during the recovery period. The results indicated that both continuous and intermittent waterlogging for 3 weeks inhibited the root growth, and intermittent waterlogging had more serious damage to roots than continuous waterlogging, which were confirmed by the higher content of malondialdehyde in roots. The EIS of the roots showed clear changes in CWL and IWL treatments, therein, the resistance value ( $Re(Z)$ ) was lower, the reactance value ( $Im(Z)$ ) was higher than that in CK, and the above parameters during the recovery growth stage changed in the opposite direction. The CLAFIC classification results showed that EIS of roots in CWL and IWL had the highest similarity during the waterlogging period, and their similarity with CK was higher after one month of recovery. The impedance loss factor ( $\delta$ ) at low frequency was linearly and positively correlated with root volume, whereas it was negatively correlated with starch content. The results suggest that impedance loss factor has the potential to characterize the root growth and physiological changes of lacedark pine seedlings after waterlogging stress.

**Key Words:** electrical impedance spectra; non-structural carbohydrate; *Pinus bungeana* Zucc.; root system; waterlogging stress

联合国政府间气候变化专门委员会(Intergovernmental Panel on Climate Change; IPCC)第六次评估报告认为 20 世纪后半叶以来,随着全球环境的不断恶化,生态系统严重破坏,全球气候异常加剧,雨量分布极不均衡,局部地区水灾不断<sup>[1-2]</sup>。《第四次气候变化国家评估报告》指出,气候变化使我国各地区未来气温不断升高,极端气候事件发生强度大、频率高、影响范围广,人类遭受高温热浪和洪涝事件风险更为严重<sup>[3]</sup>。近年来,全国连续降水日数、极端事件发生频率均明显增加,全国多个国家气象站监测到连续降水日数达到极端事件标准,多个地区甚至突破了历史极值,如 2022 年华北地区雨季于 7 月 13 日开始,雨季长度 53d,较常年开始早,结束晚,雨量偏多 57%<sup>[4]</sup>。随着我国近年来大面积的造林,森林树木在生态系统固碳方面发挥着重要作用,而水涝胁迫也将成为影响森林树木生长和存活的关键因子。作为森林冠层的未来组成,幼苗的建立和森林动态中起着重要作用,而幼苗的生长和存活会极大的受到水涝胁迫的影响<sup>[5]</sup>。

根系是树木最重要的器官,它吸收土壤中的水分、养分并支持树木生长,是树木生长发育和新陈代谢的基础<sup>[6]</sup>。根系是水涝胁迫受害的直接器官,水涝胁迫造成的缺氧环境会影响植物根系正常呼吸,使有毒代谢物质积累,抑制植物生长发育,甚至会造成植物死亡。根体积、根表面积、根直径、根长等形态指标决定了树木吸收土壤水分和养分、适应环境的状态与能力<sup>[7]</sup>。根系的呼吸和生长离不开碳水化合物,根系中非结构性碳水化合物(主要是淀粉和可溶性糖)含量反映了光合产物向根系运输的能力<sup>[8-9]</sup>。研究表明,耐涝的树种会在长期水涝胁迫下分配更多的碳水化合物到根系中<sup>[10]</sup>,而不耐涝的树种在水涝胁迫下淀粉积累在叶片中<sup>[11-12]</sup>。

由于根系埋藏在地下,水涝胁迫下对根系的生理和生长状况研究相对地上部分较困难。电阻抗图谱法(EIS)是一种具有潜力的快速、非破坏性测定原位根系的生理和生长状态的方法<sup>[13-14]</sup>。EIS 法已广泛应用于冷驯化、冻融损伤、热、盐、臭氧升高和水涝等逆境胁迫下木本植物离体茎、叶的细胞生物物理变化研究<sup>[15]</sup>。前人对电阻抗图谱法测定植物根系的研究也在不断探索。最初,根系电阻抗研究大多是研究单频率下根系电容的变化,而对于多频率下的电阻抗图谱研究较少<sup>[16]</sup>。多频率下电阻抗图谱法基于将不同频率的交流电驱动到根/土壤系统中,并测量信号通过系统时振幅和相位的变化<sup>[17]</sup>。EIS 提供了受各种因素影响的电池电解质平衡的信息,如果平衡发生变化,则沿着不同路径的电流的比例也会发生变化<sup>[18]</sup>。目前多频率下测定根系

EIS 已被用于研究水培条件下柳树根系的生长和形态<sup>[19]</sup>,以及以珍珠岩或土壤为基质的欧洲赤松根系的菌根侵染<sup>[20–21]</sup>、冷驯化和冻害<sup>[18]</sup>及水涝胁迫<sup>[22]</sup>的研究。单频率下根系电容变化被认为和根系的形态、生理活性相关<sup>[23]</sup>、与根系质量相关<sup>[24]</sup>,多频率下对水培柳树的研究也表明柳树根系电容与根表面积有较强相关性<sup>[19]</sup>。而在土壤基质中,根系电阻抗图谱的变化与根系形态大小、生理特性的关联性还有待进一步研究。

白皮松(*Pinus bungeana* Zucc.)是原产于我国的珍稀树种之一,是东亚唯一的三针松,具有株型优美、树干挺拔、四季常绿的特点,其适应性好,耐干旱和土壤瘠薄,抗二氧化硫、烟尘污染能力较强,是我国北方和西部地区园林绿化与生态工程造林的优良树种<sup>[25]</sup>。我国白皮松造林根据苗木大小常采用二到四年生苗木进行。本研究旨在利用电阻抗图谱法非破坏性测定夏季两种水涝胁迫方式(连续水涝和间歇水涝)下白皮松苗木根系的电阻抗特性,与传统的采收苗木进行根系形态指标测定相结合,通过探究电阻抗参数和生长生理指标的相关性,为快速了解水涝胁迫下地下根系的受害程度提供新方法,研究结果对于了解白皮松苗木根系对夏季水涝的适应机制具有重要意义。本研究假设水涝处理后白皮松根系电阻抗图谱发生有规律的变化,且电阻抗参数与根系生长生理指标具有一定的相关性;两种水涝胁迫方式对根系造成的伤害程度不同。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

试验以四年生白皮松苗木为材料。2022年6月30日自山西绛县晟林苗圃(110°56' E, 35°49' N)购买200株四年生带土团苗木(苗高 $(12.29 \pm 0.49)$  cm; 基径 $(4.71 \pm 0.20)$  mm; 土团高8 cm, 直径8 cm), 苗木种植土壤为褐土, 运至河北省保定市河北农业大学(115°48' E, 38°85' N)。将苗木种植在高10 cm, 内直径10 cm规格的圆形塑料花盆中, 以珍珠岩(颗粒直径为3–6 mm)进行填充容器, 放入覆盖有遮阳网的塑料大棚中进行缓苗, 期间一周浇水一次。2022年7月20日开始进行水涝处理, 至9月30日试验结束。试验期间, 棚的四周开放以利于通风, 棚内空气温度变化情况见图1。

### 1.2 试验处理

整个试验共持续72d, 将180株生长良好的四年生白皮松苗平均分配在4个重复区组中, 每个重复区组45株苗木。在每个重复区组内, 将苗木分为三个小区, 进行三个水涝胁迫处理: i) 对照(CK), 对苗木进行正常管理, 即每3天浇水一次, 每次浇水至底部有水渗出; ii) 连续水涝(CWL), 使水平面高出土面1 cm, 连续水涝3周, 即处理第0–21天为水涝处理阶段, 第21–72天为恢复正常管理阶段; iii) 间歇水涝(IWL), 使水平面高出土面1 cm, 每水涝一周后, 排水一周, 共循环3次, 累计水涝3周, 即水涝阶段分别为第0–7天、第14–21天、第28–35天, 排水阶段为第7–14天、第21–28天、第35–42天, 第42–72天为恢复正常管理阶段。以上处理用水均为自来水, 为保持水涝处理状态, 于每天下午五点进行补水。

处理第0–42天内, 每周取样一次, 第42天后两周取样一次进行根系电阻抗图谱和根系形态的测定。每次取样时, 从每个重复区组的每个处理中各取1株苗木, 共12株进行各项指标的测定。

### 1.3 根系电阻抗图谱测定和归类分析

每次取样时, 对所取样的12株苗木进行非破坏性地根系电阻抗图谱测定。根系电阻抗图谱测定前, 先将苗木在实验室进行控水16 h, 使水涝处理的苗木与对照处理土壤湿度保持一致(土壤相对含水量: CK处理 $74.13\% \pm 2.06\%$ ; CWL处理 $73.86\% \pm 3.41\%$ ; IWL处理 $75.19\% \pm 2.30\%$ )。使用阻抗计EIS-100(Simitec Ltd, Joensuu, Finland)测量10–300 kHz之间的41个频率下每盆里每株苗木的复电阻抗图谱, 输入电压为

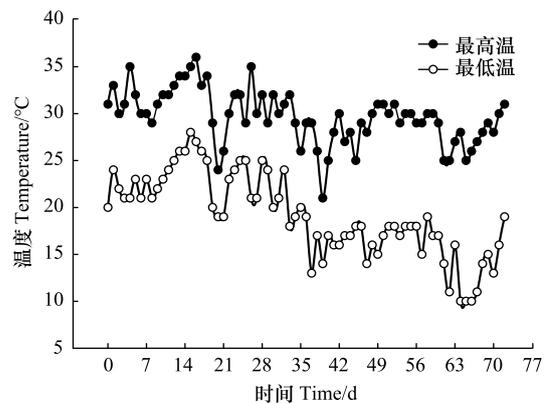


图1 试验期间大棚空气温度变化

Fig.1 Air temperature variation in the plastic shed during the experiment

200 mV。首先,用 100k  $\Omega$  RETMA 电阻校准 EIS-100 仪表,并进行背景测量。然后分别将正极电极(不锈钢针灸针,直径 0.3 mm, Kangsheng Europe GmbH, Wiesbaden, GE)插入苗木的茎基部上 2 cm 处 2 mm 深。在电路的另一个负极处是一个不锈钢板电极,不锈钢板突出部分从容器底部插入到土壤中。为了减少电压电极极化对电流输送可能造成的有害影响,每株苗木在同一水平变化角度,重复测量三次<sup>[18, 21]</sup>。

复合电阻抗( $Z, \Omega$ ) 是被测生物组织在一定频率( $f$ ) 的外加安全交变电流(AC)下电压与电流的比值,反映了被测试生物组织对电流阻碍能力的总抵抗能力特征。复合电阻抗用复数矢量形式表示,由实部电阻器对电流抵抗的电阻部分(Real part,  $Re$ ) 和虚部电容器对电流抵抗的容抗部分(Imaginary part,  $Im$ ) 组成。当植物组织被施加交流电压时,发生极化现象,移去电场后,发生弛豫,导致 AC 振幅和相位的改变<sup>[26]</sup>。

$$\text{复合阻抗模数(impedance module)} \quad |Z| = \sqrt{Re^2 + Im^2} \quad (1)$$

$$\text{相位角(也就是阻抗损耗系数)} \quad \delta = \tan^{-1} \left( \frac{Z_{Im}}{Z_{Re}} \right) \quad (2)$$

将每个处理测定的随频率变化的 12 条电阻( $Z_{Re}, \Omega$ ) 和 12 条容抗( $Z_{Im}, \Omega$ ) 图谱,以及随频率变化的阻抗损耗系数( $\delta, \text{rad}$ ) 分别计算平均值(Mean) 和平均值的标准差(Standard Deviation)。为了更清晰地展示连续水涝和间歇水涝 3 周后及恢复期根系电阻抗图谱的变化,本文结果只展示了电阻、容抗和阻抗损耗系数在 21d (CWL 处理完成连续水涝 3 周)、42d (IWL 处理完成第三个循环,总计水涝 3 周) 和 72d (CWL 处理恢复第 51 天, IWL 处理恢复第 30 天) 时的图谱变化及图谱归类分析结果。

将测得的根系实部电阻抗数据利用 CLAFIC (Class-Featuring Information Compression) (LMSSC2, Simitec Ltd, Joensuu, Finland) 进行归类分析。CLAFIC 分析是基于人工智能原理将训练数据与学习数据相比。在不同的归类组(不同水涝处理) 的图谱的相似性通过计算属于每个分类组的 IS 数量来确定。在分类过程中,未知的图谱通过测定在每个子空间维度的投影矢量的长度(the length of the projection vector) 被分类,其中子空间维度考虑了 IS 的精细结构。当维度( $k$  值) 增加,处理间的电阻抗图谱能被更加正确的分类。

在进行电阻抗图谱分类之前,对图谱的实部( $Re$ ) 和虚部( $Im$ ) 进行标准化,也就是利用欧几里得范数对每个数据矢量的长度进行均衡<sup>[20]</sup>, 公式如下:

$$X_j = \left\{ \frac{X_{1j}}{\sqrt{X_{1j}^2 + X_{2j}^2 + \dots + X_{nj}^2}}, \frac{X_{2j}}{\sqrt{X_{1j}^2 + X_{2j}^2 + \dots + X_{nj}^2}}, \dots, \frac{X_{nj}}{\sqrt{X_{1j}^2 + X_{2j}^2 + \dots + X_{nj}^2}} \right\} \quad (3)$$

式中,  $X_j$  是在  $n$  个频率  $f = \{f_1, f_2, \dots, f_n\}$  下的测定图谱数量( $N$  个矢量) 的第  $j$  个矢量( $Re$  and  $Im$ ), 从而形成一组标准化的矢量  $X = \{X_1(f), X_2(f), \dots, X_N(f)\}$ 。通过标准化向量,在特定频率区域图谱的小的形状变化变得更加明显。

通过归类的方法,得到不同程度水涝处理对白皮松苗木根系的影响。在每个取样时期,以一个处理(如 CK) 的图谱为学习数据,其他处理为训练数据(CWL, IWL), 进行 CK vs [CWL, IWL] 的对比分析,得到学习数据和训练数据的相似度,以百分数表示。

#### 1.4 根系形态指标测定

每次取样时,测定完根系的电阻抗图谱后,在茎基部剪断。把白皮松的完整根系从盆中取出与土壤分离开,完整平铺基质土从中挑选出散落的根。先用自来水洗去杂质,再用去离子水清洗干净,将得到的所有根平铺到盛有去离子水的透明塑料托盘中,用根系扫描仪(Epson Expression 1640XI scanner, Epson, Quebec, Canada) 扫描根系,利用 WinRHIZO Pro(2012b) 分析获得根总长、根表面积、根体积、根尖数量。

#### 1.5 根系可溶性糖和淀粉含量测定

在处理 0d、14d、21d、35d、42d 和 72d 时,将测完根系形态指标的根系样本,放入烘箱,80 $^{\circ}\text{C}$  烘干至质量恒定,取部分主根研磨成粉末,混匀并称取 0.1 g 样品,采用改良后的硫酸蒽酮法测定根系可溶性糖和淀粉含量,测定方法参照王爱芳<sup>[27]</sup>。

## 1.6 根系丙二醛(MDA)含量测定

每次取样时,测完根系形态指标后,每个处理留存根系鲜样混匀,利用高通量组织研磨仪 CK1000 (北京托摩根生物科技有限公司,中国)加液氮后磨碎,每个处理随机选取 3 份白皮松根系的鲜样样本,称取 0.15—0.2 g,参考吴强盛<sup>[28]</sup>采用硫代巴比妥酸法测定白皮松根系中的 MDA 含量。

## 1.7 数据分析

通过混合线性模型(IBM SPSS Statistics 26)分析取样时间和处理对根系可溶性糖和淀粉含量及根系形态指标的影响,使用的模型为  $y = \mu + \text{treatment} + \text{time} + \text{treatment} \times \text{time} + \varepsilon$ 。其中  $\mu$  是常量,treatment 是 3 个处理,time 是取样时间, $\varepsilon$  作为随机项,通过 Bonderroni 比较显著性。用方差的正态性和同质性检验残差。基于皮尔逊相关系数,进行根系电阻抗图谱参数与根系形态指标、根系可溶性糖含量、根系淀粉含量、根系丙二醛含量的相关性分析,分析时所用的两组数据为除了 0d 以外的每次取样时(以两组数据的共同取样点为准)3 个处理的数据。每个指标用四个区组的四个重复求得平均值和均值的标准误( $n=4$ )作图(SigmaPlot 10.0)。

## 2 结果与分析

### 2.1 根系电阻抗图谱电阻( $Z_{Re}$ )、容抗( $Z_{Im}$ )和阻抗损耗系数( $\delta$ )变化

各处理苗木根系的电阻值随频率的升高而缓慢降低。CWL 处理在 21d(水涝三周)和 42d(恢复第 21 天)时,电阻值平均值在各频率下均显著低于 CK,图谱无重合。排水后恢复正常管理第 51 天(72d)时,CWL 处理的电阻值平均值在各频率下显著高于 CK,图谱无重合。IWL 处理在 21d(第二次循环水涝阶段结束)时,电阻值平均值与其他处理无显著差异。在 42d(三次循环结束)时,IWL 处理的电阻值平均值在各个频率下均低于 CK 和 CWL 处理,且与 CK 处理的图谱完全区分开。在 IWL 处理恢复第 30 天(72d)时,其电阻平均值略低于 CWL 处理,与 CK 和 CWL 处理的图谱存在小范围的交叉重合(图 2)。

各处理苗木根系的容抗值随着频率的升高而升高。CWL 处理在 21d 和 42d 时,容抗平均值在各频率下均高于 CK,在 42d 时,CWL 处理的图谱与 CK 处理无重合。在 CWL 处理排水后恢复正常管理第 51 天(72d)时,其容抗值显著低于 CK。试验 21d 时,IWL 处理的容抗平均值在低频时低于 CK 和 CWL 处理,高于 50 kHz 后,容抗平均值高于 CK 处理,但三个处理的图谱存在大范围的交叉重合,无显著差异。试验 42d 时,IWL 处理的容抗平均值在各频率下均显著高于 CK 处理,图谱无交叉重合。在 72d 时,IWL 处理容抗值与 CK 无显著差异,但略高于 CWL 处理(图 2)。

各处理的  $\delta$  随着频率的升高而增大。试验 21d 时,CWL 处理的  $\delta$  值在低频时低于 CK,随着频率的升高而逐渐高于 CK,在高频下与 CK 的  $\delta$  图谱有了较明显的区分。在 42d 时,CWL 处理的  $\delta$  平均值高于 CK 处理,但两个处理的图谱有较大范围的交叉重合,无明显差异。CWL 处理在排水后恢复第 51 天(72d)时, $\delta$  值显著低于 CK 处理。在 21d 时,IWL 处理的  $\delta$  平均值在低频下明显低于 CK 和 CWL 处理,随着频率的升高逐渐高于其他两个处理,并与 CK 处理的图谱逐渐区分开。在 42d 的高频下,IWL 处理的  $\delta$  图谱与 CK 和 CWL 处理有了较明显的区分。IWL 处理的  $\delta$  平均值在恢复正常管理第 30 天(72d),低于 CK 处理,但高于 CWL 处理,在高频下,IWL 处理的  $\delta$  图谱与其他两个处理的图谱交叉重合范围较小,与 CK 处理逐渐区分开(图 2)。

### 2.2 根系电阻抗图谱实部的 CLAFIC 分类结果

CK 处理  $Z_{Re}$  图谱与两个水涝处理的  $Z_{Re}$  图谱比较中,在 21d 时(CWL 处理连续水涝 3 周;IWL 处理水涝 2 周,排水 1 周),CK 处理的图谱与两个水涝处理相似图谱比例较一致,区分不明显(图 3)。在 42d 时(CWL 恢复正常管理第 21 天;IWL 处理完成 3 个水涝循环),与 CWL 处理相似度较高,而在 72d 时(CWL 恢复正常管理第 51 天;IWL 处理恢复第 30 天),与 IWL 处理  $Z_{Re}$  图谱相似度较高(图 3)。

CWL 处理  $Z_{Re}$  图谱与其他两个处理的  $Z_{Re}$  图谱比较中,在 21d 时,CWL 处理与 IWL 处理的图谱更为相似,相似图谱的比例为 50%—91.7%(图 3)。在 42d 时,CWL 处理的  $Z_{Re}$  图谱与 CK 处理的图谱相似度较高,而与 IWL 处理  $Z_{Re}$  图谱相似程度较低,当  $k \geq 3$  时,二者的相似度仅有 25%(图 3)。在 72d 时,CWL 处理的  $Z_{Re}$  图谱

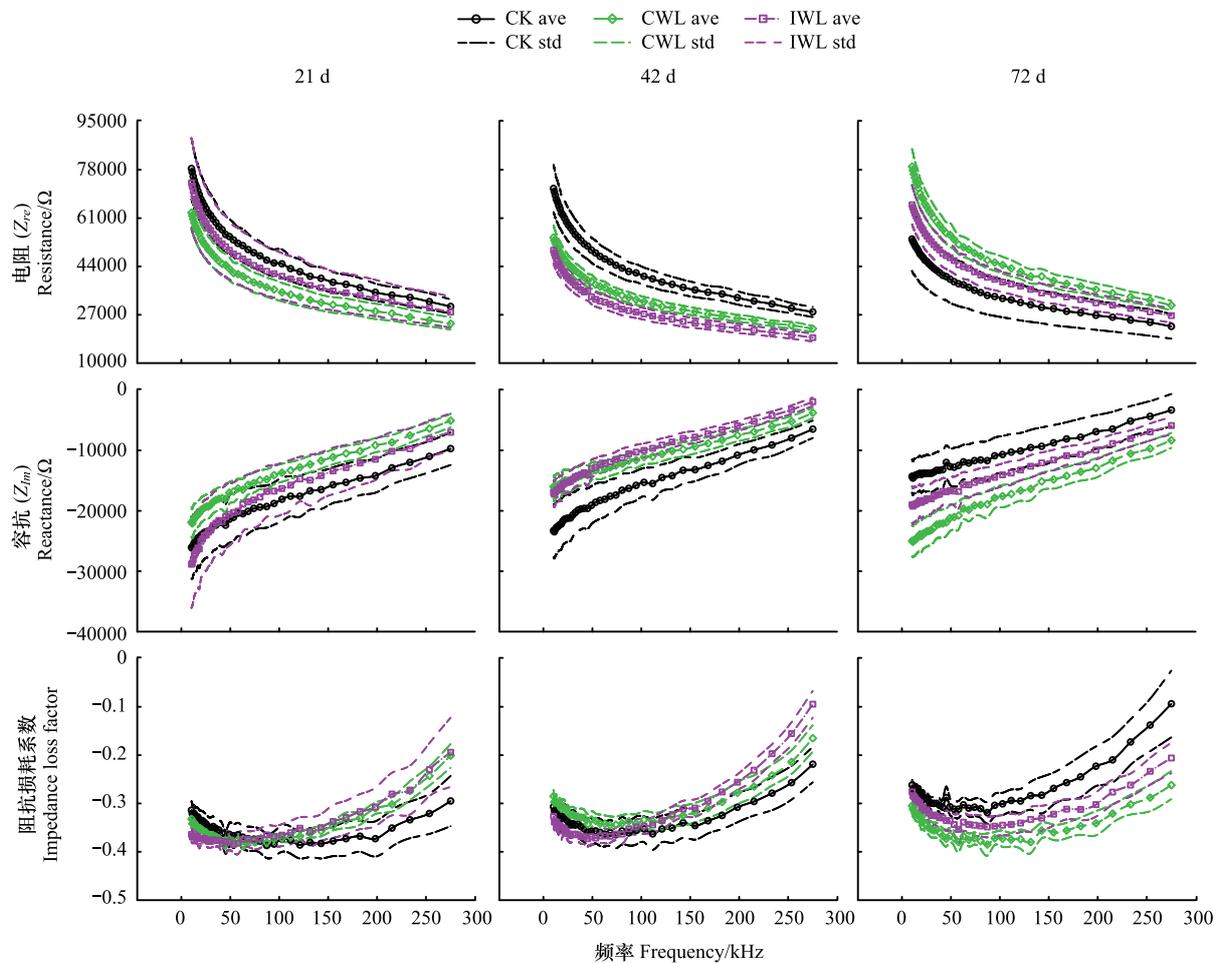


图2 夏季水涝胁迫后白皮松苗木根系的电阻抗图谱参数随频率的变化

Fig.2 The change of electrical impedance spectrum parameter of the root system with frequency in *Pinus bungeana* seedlings after waterlogging stress in summer

CK:正常管理组;CWL:连续水涝处理3周;IWL:间歇水涝3周,即水涝1周后排水1周,共3个循环,总计水涝时长3周;CK ave:CK处理苗木根系在各频率下的 $Z_{re}$ 、 $Z_{im}$ 和 $\delta$ 平均值组成的图谱;CK std:CK处理苗木根系在各频率下的 $Z_{re}$ 、 $Z_{im}$ 和 $\delta$ 平均值的标准差组成的图谱;CWL ave:CWL处理苗木根系在各频率下的 $Z_{re}$ 、 $Z_{im}$ 和 $\delta$ 平均值组成的图谱;CWL std:CWL处理苗木根系在各频率下的 $Z_{re}$ 、 $Z_{im}$ 和 $\delta$ 平均值的标准差组成的图谱;IWL ave:IWL处理苗木根系在各频率下的 $Z_{re}$ 、 $Z_{im}$ 和 $\delta$ 平均值组成的图谱;IWL std:IWL处理苗木根系在各频率下的 $Z_{re}$ 、 $Z_{im}$ 和 $\delta$ 平均值的标准差组成的图谱;21d为处理开始第21天,即CWL处理完成连续水涝3周,此时IWL处理完成第二个循环的水涝阶段,总计水涝2周;42d为处理开始第42天,即IWL处理完成第三个循环,总计水涝3周,排水3周,此时CWL处理恢复正常管理21天;72d为处理开始第72天,即CWL处理恢复第51天,IWL处理恢复第30天

与IWL处理相似比例较高, $k=12$ 时,图谱的相似比例为70%(图3)。

IWL处理与CK、CWL处理的 $Z_{re}$ 图谱比较中,在21d时,IWL处理的 $Z_{re}$ 图谱与CWL处理更为相似,与CK处理有明显区分,当 $k=12$ 时,IWL和CK处理 $Z_{re}$ 图谱的相似比例仅为33.3%(图3)。在42d时,IWL处理的 $Z_{re}$ 图谱与CK处理相似比例较低,当 $7 \leq k \leq 11$ 时,达到最低,相似比例为25%(图3)。在72d时,IWL处理的 $Z_{re}$ 图谱与CK处理较为相似,相似比例为62.5%—81.3%,而与CWL处理区分较明显,当 $k \geq 3$ 时, $Z_{re}$ 图谱相似度最低,仅有18.8%(图3)。

### 2.3 根系形态指标

CWL处理的总根长、根表面积、根体积和根尖数量在水涝7d时显著降低,14d时较7d显著升高,21d时再次降低。CWL处理的总根长在水涝14d时,显著高于其他IWL处理( $P < 0.05$ )。CWL处理在恢复阶段

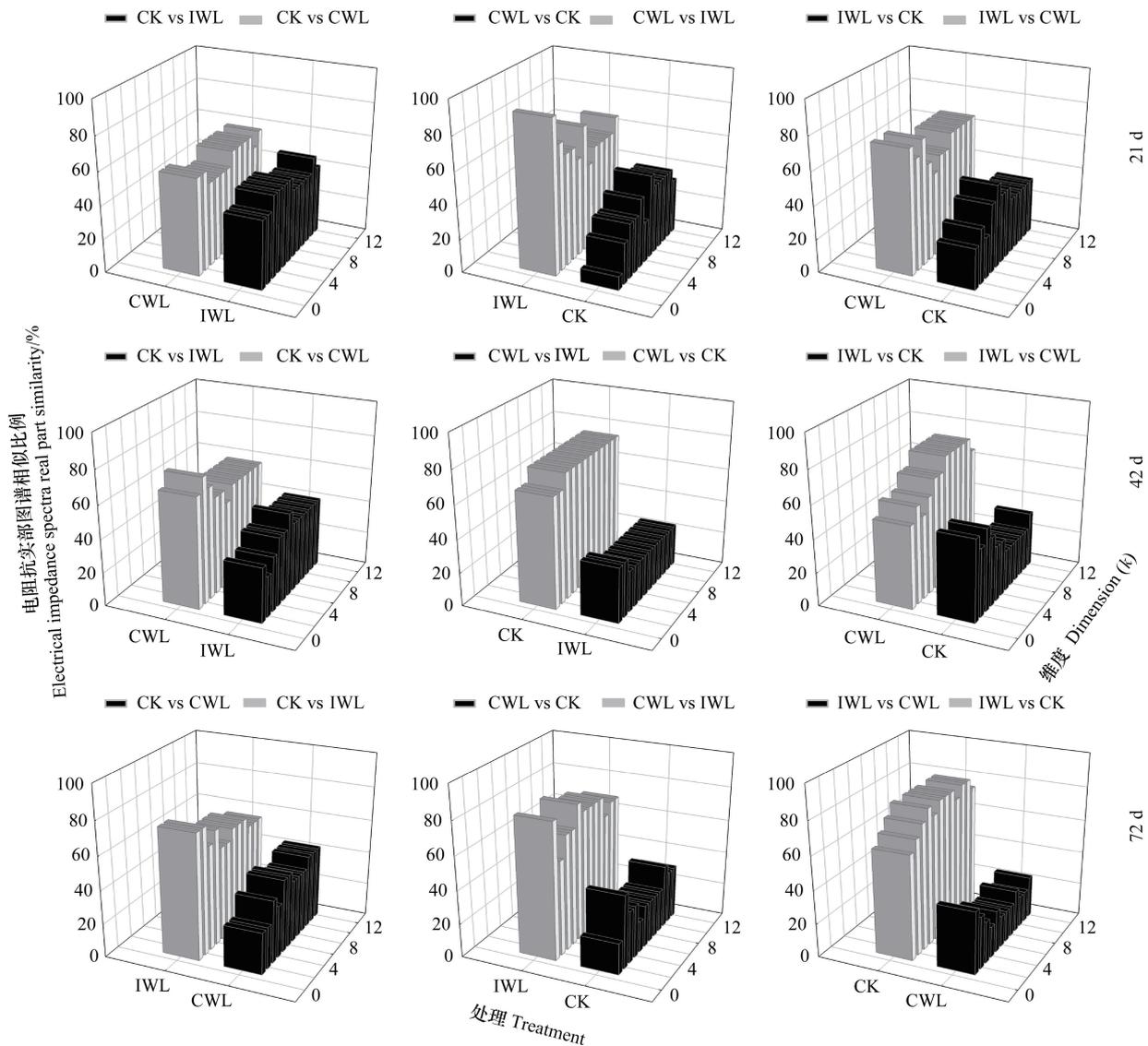


图3 夏季水涝胁迫后白皮松苗木阻抗图谱实部的 CLAFIC 分析

Fig.3 CLAFIC analysis of the real part of impedance spectra in *Pinus bungeana* seedlings after waterlogging stress in summer

图中横向为同一时间下 CK, CWL 和 IWL 处理的  $Z_{Re}$  图谱相互结合比较的 CLAFIC 分类结果;纵向为所选取的测定时间,分别为处理第 21 天 (CWL 处理连续水涝三周;IWL 处理完成第二个循环的水涝阶段即总计水涝 2 周,排水 1 周)、第 42 天 (CWL 处理恢复正常管理 21d;IWL 处理完成三个循环即总计水涝 3 周,排水 3 周)、第 72 天 (CWL 和 IWL 处理均处于恢复状态,恢复时长分别为 51d 和 30d)

(28—72d) 根系各形态指标在大部分时期显著低于 CK 处理 ( $P < 0.05$ )。IWL 处理第一个水涝循环后 (14d) 根体积和根表面积低于对照,在第二个水涝循环后与对照差异不大,在三次水涝后 (35d) 各指标显著低于对照。IWL 处理在恢复阶段 (42—72d) 各指标均大幅度下降,在恢复第 30 天 (72d) 时达到最低,且与其他两个处理均有显著性差异 ( $P < 0.05$ ) (图 4)。

#### 2.4 根系可溶性糖和淀粉含量

连续水涝 3 周后, CWL 的根系可溶性糖含量显著低于对照,排水后 2 周与对照一致,后继续降低,恢复正常管理第 21 天 (42d) 和 51 天 (72d) 时显著低于 CK ( $P < 0.05$ )。IWL 处理的可溶性糖含量在处理期间,整体呈先升高后降低的趋势, IWL 处理在 42d 时,根系可溶性糖含量显著低于 CK ( $P < 0.05$ ) 和 CWL 处理 ( $P < 0.05$ )。恢复正常管理第 30 天 (72d) IWL 处理的根可溶性糖含量恢复到对照水平 (图 5)。

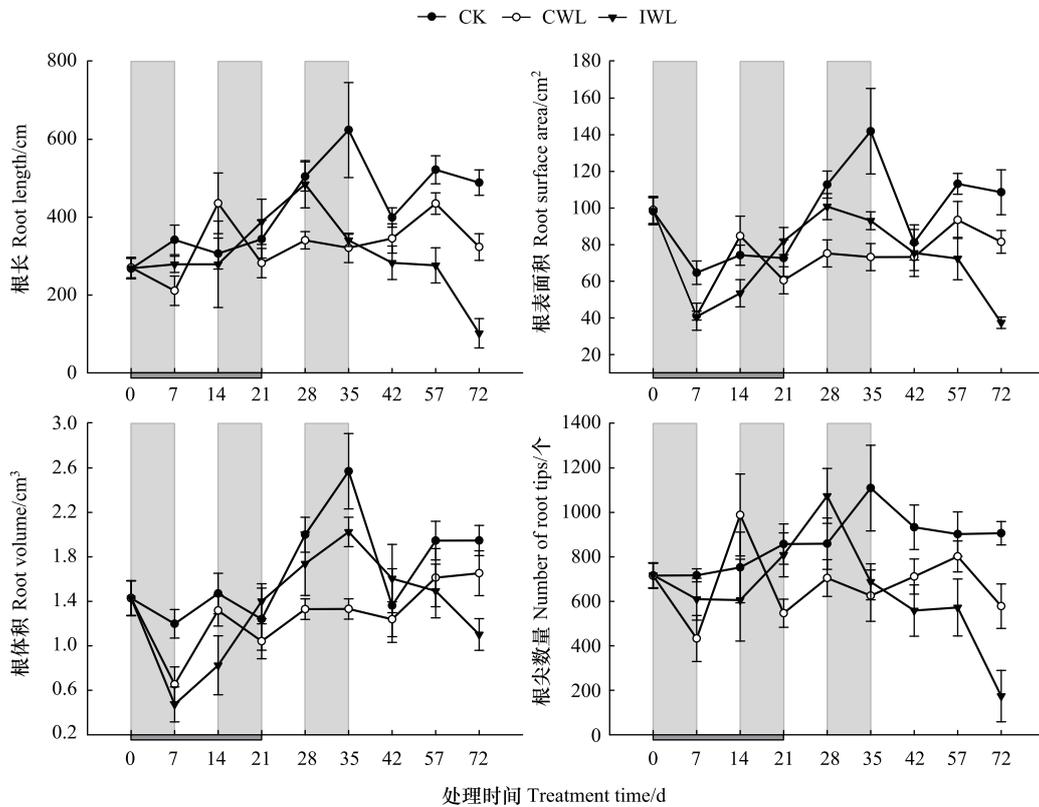


图 4 夏季水涝胁迫后白皮松苗木总根长、根表面积、根体积和根尖数量

Fig.4 Total root length, root surface area, root volume and number of root tips in *Pinus bungeana* seedlings after waterlogging stress in summer

CK:正常管理组;CWL:连续水涝处理3周;IWL:间歇水涝3周,即水涝1周后排水1周,共3个循环,总计水涝时长3周。浅灰色背景条表示 IWL 处理循环中的水涝阶段;X 轴上的深灰色水平条表示 CWL 处理的水涝阶段

连续水涝 2 周和 3 周后 CWL 根系淀粉含量略高于对照处理,在排水后的恢复阶段和对照变化趋势一致,无差异。IWL 处理根系淀粉在第 2 周水涝后 (21d) 和第 3 周水涝后 (35d) 显著高于 CK ( $P < 0.05$ ) 和 CWL 处理 ( $P < 0.05$ ),之后恢复到其他处理相似水平(图 5)。

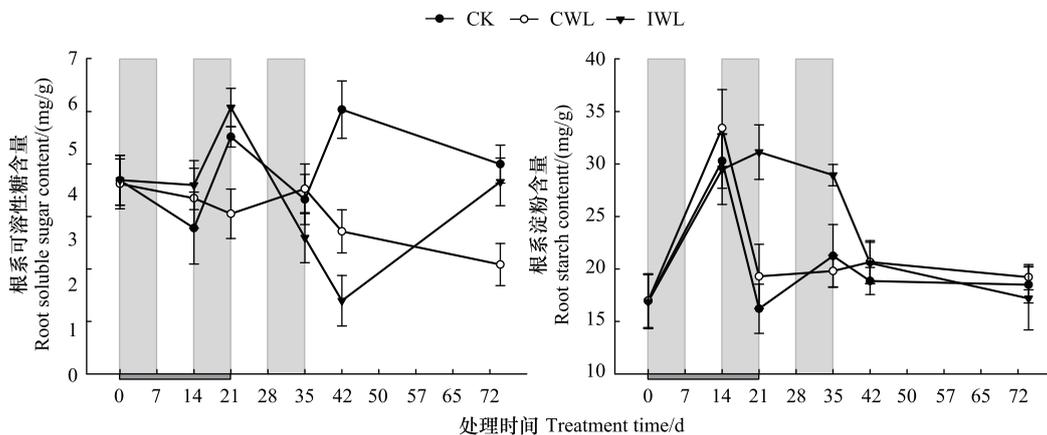


图 5 夏季水涝胁迫后白皮松苗木根系可溶性糖和淀粉含量

Fig.5 Soluble sugar content and starch content of roots in *Pinus bungeana* seedlings after waterlogging stress in summer

## 2.5 根系丙二醛(MDA)含量

在水涝胁迫时,白皮松苗根系丙二醛(MDA)含量升高。CWL处理根系的MDA含量在结束连续水涝2周后(35d),明显升高后又再次下降,仍显著高于CK处理。在受间歇水涝胁迫时(0—42d),IWL处理根系MDA含量始终高于CK处理,且大部分时间与CK差异显著( $P<0.05$ )。IWL处理根系MDA含量的上升幅度随着间歇水涝循环次数的增加而逐渐增大,在两个循环后显著高于CWL处理,在最后的恢复阶段间歇水涝处理的MDA含量有所下降但仍显著高于CK(图6)。

## 2.6 根系电阻抗参数与根系形态及生理指标的相关性

由表1可知,阻抗损耗系数 $\delta$ 与根体积呈显著线性正相关( $P<0.05$ ),相关系数 $r$ 为0.418,与根系淀粉含量呈极显著线性负相关( $P<0.01$ ),相关系数为-0.719。另外,电阻值( $Re(Z)$ )与根系可溶性糖含量相关性也较高,相关系数 $r$ 为0.408。

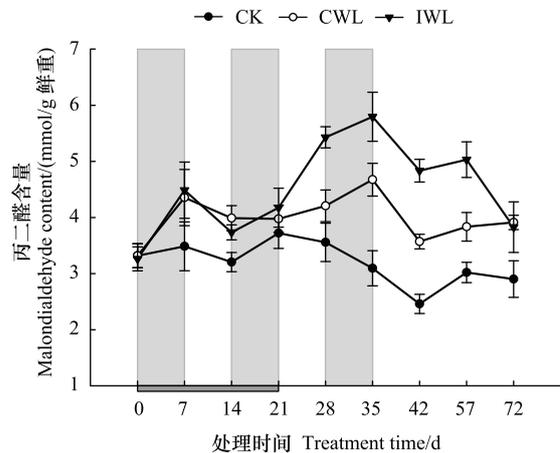


图6 夏季水涝胁迫后白皮松苗木根系丙二醛含量

Fig. 6 Malondialdehyde content of roots in *Pinus bungeana* seedlings after waterlogging stress in summer

表1 10 kHz 频率下根系电阻抗参数和根系相关指标的线性相关系数

Table 1 Pearson correlation coefficients between root electrical impedance parameters and root related indicators at 10 kHz

指标 Index	根长 Root length	根表面积 Root surface area	根体积 Root volume	根尖数量 Number of root tips	根可溶性糖含量 Root soluble sugar content	根淀粉含量 Root starch content	根丙二醛含量 Root malondialdehyde content
$\delta$	0.165	0.311	0.418*	-0.015	0.017	-0.719**	-0.286
$Im(Z)$	0.126	0.221	0.288	-0.029	-0.414	-0.164	0.142
$Re(Z)$	-0.078	-0.112	-0.127	0.01	0.408	-0.201	-0.331

$\delta$ :阻抗损耗系数 Impedance loss factor;  $Im(Z)$ :容抗 Reactance;  $Re(Z)$ :电阻 Resistance; \*表示在0.05水平上显著相关( $P<0.05$ ), \*\*表示在0.01水平上显著相关( $P<0.01$ )

## 3 讨论

随着全球气候变化,夏季极端降水引起的水涝胁迫对森林树木的生长和存活造成了威胁。受到水涝胁迫时根系最先感应到胁迫,并做出反应。本研究结果显示夏季水涝3周使根系形态指标明显降低,并在恢复阶段始终低于对照。这与生长初期水涝4周对垂枝桦(*Betula pendula*)和柔毛桦(*B. pubescens*)根长、根表面积下降的影响结果相一致<sup>[29]</sup>。而冬季水涝4周后挪威云杉(*Picea abies*)苗木仅根系体积显著降低,其他形态指标无显著降低<sup>[11]</sup>。这与以往认为的夏季水涝的危害高于冬季水涝是一致的。本研究中CWL和IWL均在水涝2周后根系形态指标增加,而水涝持续到3周时大幅度降低,这可能因为2周后,光合产物从苗木针叶向下运输的能力并未受阻,甚至更多的淀粉积累在根部,使根系对水涝产生形态适应性,如产生细根,这与柔毛桦和木本 *Hakea* 树种根系在水涝后细根暂时大量增加的现象相似<sup>[29-30]</sup>。而3周的水涝时长可能超出了白皮松能够忍耐的范围,根系严重缺氧,根系生长受到抑制,死根增加,因此根系各形态指标下降。在试验的最后,IWL对根系各指标的降低比CWL更明显。这与生长季间歇水涝对欧洲赤松(*Pinus sylvestris*)根系生产和死根比例影响高于连续水涝的研究结果相一致<sup>[22]</sup>。间歇水涝在水涝阶段,根系缺氧进行无氧呼吸,排水阶段根系重新暴露在氧气中,会产生活性氧,在反复的循环中,活性氧的不断产生会损害细胞膜,对植物内部造成伤害,因此产生更严重的影响<sup>[12, 31]</sup>。连续水涝和间歇水涝的前两周根系丙二醛含量高于对照,而间歇水涝处理两个循环后再次显著增加,较连续水涝处理高,也间接证明了细胞膜伤害程度深。在试验35d(8月底)后对照苗木

根系形态指标明显降低,这可能是因为此后空气最低温度持续降低,新根生长量降低。

本研究中,当白皮松苗木受到 3 周水涝胁迫时,各交流电频率下根系  $Z_{Re}$  显著降低, $Z_{Im}$  升高。这与 Domisch 等<sup>[22]</sup>对欧洲赤松进行生长季水涝 2.5 周后的根系电阻抗图谱的电阻和容抗值大小变化一致。水涝胁迫处理的根系在低频下( $f = 10\text{—}50\text{ kHz}$ )阻抗损耗系数  $\delta$  降低,与冷冻胁迫超过一定阈值欧洲赤松苗木根系在 50 kHz 频率下  $\delta$  降低相一致<sup>[18]</sup>。在电阻抗测定中,根系细胞膜可以被认为是电容器,能储存能量,电流通过组织中的外质体和共质体空间的比例是由交流电频率的大小决定的<sup>[26]</sup>。低频下,电场产生的膜电势差小,不能改变细胞膜离子通道的特性<sup>[32]</sup>,因此细胞对低频电流( $f < 1\text{ kHz}$ )有高的阻抗,电流只在胞外间隙流动,此时的总阻抗是胞外电阻决定的。研究证明在低频下阻抗图谱的实部(表示为胞外电阻)对细胞膜损伤和水分含量反应敏感<sup>[26]</sup>。对于离体根段的研究表明根的细胞膜损伤导致电解液从共质体空间渗漏到质外体空间,从而降低了胞外电阻<sup>[33]</sup>。另外,白皮松根系组织在受水涝胁迫时,细胞质外体空间水分含量高,细胞外液浓度降低,电阻减小。在高频率下( $f > 100\text{ kHz}$ ),电流直接通过胞内,总阻抗由胞内和胞外电阻组成<sup>[34]</sup>。胞内电阻的大小与细胞汁液粘度相关<sup>[35]</sup>,本研究中水涝胁迫处理后的根系可溶性糖含量降低可能引起胞内电阻的降低,从而引起总的阻抗降低。这与干旱胁迫后白皮松苗木的根系  $Z_{Re}$  增加和根系可溶性糖含量增加正好相反<sup>[36]</sup>。根据 CLAFIC 法对  $Z_{Re}$  图谱进行分类,在水涝胁迫期间,两个水涝处理的电阻抗图谱相似比例较高,而与 CK 处理明显区分开来。该分类方法之前对菌根侵染<sup>[20—21]</sup>、冷驯化和冻害<sup>[18]</sup>及水涝胁迫<sup>[22]</sup>的根系 EIS 进行了正确的分类。

用电阻抗法表征植物根系时,是在连接到植物茎的电极与土壤之间施加一个交变电场,因此电阻抗参数受到茎-根-土壤的路径的理化性质以及施加电流的频率和强度的影响<sup>[17]</sup>。以土壤为基质的根系 EIS 研究结果可能受土壤水分含量,土壤质地,土壤化学组分的影响,本研究为盆栽实验,尽可能保证处理之间所有条件的一致性以避免误差,且在根系 EIS 测定前所有苗木的土壤湿度保持一致。根系电阻抗图谱参数变化表明了水涝胁迫对根系的伤害,与根系形态指标的结果相印证。植物根系的电学特征参数与根系生物量及形态学指标(根长、根表面积等)存在较好的相关性<sup>[18]</sup>。Cseresnyés 等<sup>[37]</sup>发现测定相位角(阻抗损耗系数, $\delta$ )有助于改进 EIS 结果的精确度和可靠性。本研究通过相关性分析发现,低频下  $\delta$  与根系体积显著相关,且与根系淀粉含量显著负相关。根系淀粉含量在连续水涝过程中略有增加,而间歇水涝过程中显著高于对照,一方面表明了白皮松在水涝条件下碳水化合物的向根部的运送能力没有明显减弱,另一方面可能是因为在水涝条件下根系变小,且停止生长,因此对于碳水化合物的消耗减少,从而形成积累。

#### 4 结论

连续和间歇水涝 3 周均抑制白皮松的根系生长,间歇水涝对根系的伤害较连续水涝更严重。水涝胁迫 3 周后根系电阻抗图谱实部、虚部及阻抗损耗系数表现出有规律的变化。利用 CLAFIC 法能够区分开连续和间歇水涝处理的电阻抗图谱,并均与对照处理存在区别。根系阻抗损耗系数与根体积和根淀粉含量呈较强的线性相关关系,表明水涝胁迫后白皮松苗木根系的阻抗损耗系数具有反映根大小和生理状态的潜力。在今后的研究中,可进一步对不同年龄苗木、不同水涝时长等引起的根系电阻抗图谱及参数变化进行研究,从而得到快速估测根系受害程度的最适电阻抗参数。

#### 参考文献(References):

- [1] IPCC, 2022. Climate Change 2022: Impacts, Adaptation, and Vulnerability. Contribution of Working Group II to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge, UK: Cambridge University Press. <https://www.ipcc.ch/report/ar6/wg2/>.
- [2] Intergovernmental Panel on Climate Change. Climate Change 2022-Impacts, Adaptation and Vulnerability. Cambridge, UK: Cambridge University Press, 2023.
- [3] 吴绍洪. 中国“气候变化的影响、风险与适应”研究进展——中国《第四次气候变化国家评估报告·第二部分》解读. 中国人口·资源与环境, 2023, 33(1): 80-86.
- [4] 巢清尘. 中国气候公报(2022). 北京: 中国气象局国家气候中心, 2023: 18-19.

- [ 5 ] Amissah L, Mohren G M J, Kyereh B, Poorter L. The effects of drought and shade on the performance, morphology and physiology of Ghanaian tree species. *PLoS One*, 2015, 10(4): e0121004.
- [ 6 ] 肖爽, 刘连涛, 张永江, 孙红春, 白志英, 张科, 田士军, 董合忠, 李存东. 植物微根系原位观测方法研究进展. *植物营养与肥料学报*, 2020, 26(2): 370-385.
- [ 7 ] 王妍, 冯金玲, 吴小慧, 黄蓝明, 吴娟, 陈宇, 赵城昊, 杨志坚. 施肥对闽楠根系形态及苗木质量的调控作用. *西北农林科技大学学报: 自然科学版*, 2022, 50(10): 44-56.
- [ 8 ] Kreuzwieser J, Papadopoulou E, Rennenberg H. Interaction of flooding with carbon metabolism of forest trees. *Plant Biology*, 2004, 6(3): 299-306.
- [ 9 ] Sloan J L, Islam M A, Jacobs D F. Reduced translocation of current photosynthate precedes changes in gas exchange for *Quercus rubra* seedlings under flooding stress. *Tree Physiology*, 2016, 36(1): 54-62.
- [ 10 ] Parent C, Capelli N, Berger A, Crèvecoeur M, Dat J F. An overview of plant responses to soil waterlogging. *Plant Stress*, 2008, 2(1): 20-27.
- [ 11 ] Wang A F, Roitto M, Lehto T, Zwiazek J J, Calvo-Polanco M, Repo T. Waterlogging under simulated late-winter conditions had little impact on the physiology and growth of Norway spruce seedlings. *Annals of Forest Science*, 2013, 70(8): 781-790.
- [ 12 ] Repo T, Launiainen S, Lehto T, Sutinen S, Ruhanen H, Heiskanen J, Lauren A, Silvennoinen R, Vapaavuori E, Finér L. Lethal effects of waterlogging on Scots pine appear with delay. *Canadian Journal of Forest Research*, 2016, 46: 1439-1450.
- [ 13 ] Liu Y, Li D M, Qian J, Di B, Zhang G, Ren Z H. Electrical impedance spectroscopy (EIS) in plant roots research: a review. *Plant Methods*, 2021, 17(1): 118.
- [ 14 ] Astashev M E, Konchekov E M, Kolik L V, Gudkov S V. Electric impedance spectroscopy in trees condition analysis: theory and experiment. *Sensors*, 2022, 22(21): 8310.
- [ 15 ] Wang A F, Di B, Repo T, Roitto M, Zhang G. Responses of parameters for electrical impedance spectroscopy and pressure-volume curves to drought stress in *Pinus bungeana* seedlings. *Forests*, 2020, 11(3): 359.
- [ 16 ] 李强, 曹扬, 张正, 脱登峰, 卜耀军, 白芸. 电阻抗法在植物根系生物学研究中的应用. *植物科学学报*, 2016, 34(3): 488-495.
- [ 17 ] Repo T, Cao Y, Silvennoinen R, Ozier-Lafontaine H. Electrical impedance spectroscopy and roots. Mancuso S. *Measuring Roots*. Berlin, Heidelberg: Springer, 2012: 25-49.
- [ 18 ] Di B, Luoranen J, Lehto T, Himanen K, Silvennoinen M, Silvennoinen R, Repo T. Biophysical changes in the roots of Scots pine seedlings during cold acclimation and after frost damage. *Forest Ecology and Management*, 2019, 431: 63-72.
- [ 19 ] Cao Y, Repo T, Silvennoinen R, Lehto T, Pelkonen P. Analysis of the willow root system by electrical impedance spectroscopy. *Journal of Experimental Botany*, 2011, 62(1): 351-358.
- [ 20 ] Repo T, Korhonen A, Laukkanen M, Lehto T, Silvennoinen R. Detecting mycorrhizal colonisation in Scots pine roots using electrical impedance spectra. *Biosystems Engineering*, 2014, 121: 139-149.
- [ 21 ] Repo T, Korhonen A, Lehto T, Silvennoinen R. Assessment of frost damage in mycorrhizal and non-mycorrhizal roots of Scots pine seedlings using classification analysis of their electrical impedance spectra. *Trees*, 2016, 30(2): 483-495.
- [ 22 ] Domisch T, Qian J, Sondej I, Martz F, Lehto T, Piirainen S, Finér L, Silvennoinen R, Repo T. Here comes the flood! Stress effects of continuous and interval waterlogging periods during the growing season on Scots pine saplings. *Tree Physiology*, 2020, 40(7): 869-885.
- [ 23 ] Dalton F N. *In-situ* root extent measurements by electrical capacitance methods. *Plant and Soil*, 1995, 173(1): 157-165.
- [ 24 ] Ozier-Lafontaine H, Bajazet T. Analysis of root growth by impedance spectroscopy (EIS). *Plant and Soil*, 2005, 277(1): 299-313.
- [ 25 ] 越南星, 韩其晟, 黄建. 白皮松天然林外生菌根土壤繁殖体库. *应用生态学报*, 2017, 28(12): 3855-3861.
- [ 26 ] Repo T, Zhang G, Ryyppö A, Rikala R. The electrical impedance spectroscopy of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) shoots in relation to cold acclimation. *Journal of Experimental Botany*, 2000, 51(353): 2095-2107.
- [ 27 ] 王爱芳. 干旱胁迫下白皮松苗木电阻抗及生理指标的比较研究[D]. 保定: 河北农业大学, 2010.
- [ 28 ] 吴强盛. 植物生理学实验指导. 北京: 中国农业出版社, 2018.
- [ 29 ] Wang A F, Roitto M, Sutinen S, Lehto T, Heinonen J, Zhang G, Repo T. Waterlogging in late dormancy and the early growth phase affected root and leaf morphology in *Betula pendula* and *Betula pubescens* seedlings. *Tree Physiology*, 2016, 36(1): 86-98.
- [ 30 ] Poot P, Lambers H. Growth responses to waterlogging and drainage of woody *Hakea* (Proteaceae) seedlings, originating from contrasting habitats in south-western Australia. *Plant and Soil*, 2003, 253(1): 57-70.
- [ 31 ] Ricard B, Aschi-Smiti S, Garbi I, Brouquisse R. Cellular and molecular mechanisms of tolerance to waterlogging. *Plant-Environment Interactions (Third Edition)*, 2006, 177-208.
- [ 32 ] Ehosioke S, Nguyen F, Rao S, Kremer T, Placencia-Gomez E, Huisman J A, Kemna A, Javaux M, Garré S. Sensing the electrical properties of roots: a review. *Vadose Zone Journal*, 2020, 19(1): e20082.
- [ 33 ] Ryyppö A, Repo T, Vapaavuori E. Development of freezing tolerance in roots and shoots of Scots pine seedlings at nonfreezing temperatures. *Canadian Journal of Forest Research*, 1998, 28(4): 557-565.
- [ 34 ] Repo T, Zhang M I N. Modelling woody plant Tissues5. *Journal of Experimental Botany*, 1993, 44(5): 977-982.
- [ 35 ] Gourzi M, Nadi M, Rouane A. Body fluid characterization using a new electromagnetic biosensor: blood pig in-vitro Results. 2004, 1: 241-244.
- [ 36 ] 刘伟明. 干旱胁迫下白皮松苗木根系电阻抗特性及生理响应[D]. 保定: 河北农业大学, 2023.
- [ 37 ] Cseresnyés I, Rajkai K, Takács T, Vozáry E. Electrical impedance phase angle as an indicator of plant root stress. *Biosystems Engineering*, 2018, 169: 226-232.