

刘天宇,孟庆瑞,滕仁艳. 干旱胁迫下精灵景天的电阻抗图谱参数与生理参数的关系[J]. 江苏农业科学,2019,47(6):106-109.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2019.06.023

干旱胁迫下精灵景天的电阻抗图谱参数与生理参数的关系

刘天宇, 孟庆瑞, 滕仁艳

(河北农业大学园林与旅游学院,河北保定 071000)

摘要:以干旱胁迫下种植在屋顶的精灵景天(*Diamorpha smalli*)叶片为材料,测定其电阻抗图谱参数和膜透性的变化,通过膜透性与电阻抗图谱参数间的相关性来证明电阻抗图谱法研究精灵景天抗旱性的有效性。结果表明:随着干旱时间的延长,精灵景天叶片的胞外电阻整体呈上升趋势,胞内电阻整体呈下降趋势,弛豫时间和弛豫时间分布系数呈先下降后上升的趋势;叶片细胞膜透性逐渐增大,净光合速率逐渐下降。相关分析表明,弛豫时间与膜相对透性呈极显著负相关($P < 0.01$);胞内电阻与净光合速率呈显著负相关($P < 0.05$),弛豫时间与净光合速率呈极显著负相关($P < 0.01$)。

关键词:精灵景天;叶片;干旱胁迫;电阻抗图谱参数;相对电导率;净光合速率;弛豫时间;膜相对透性;生理参数

中图分类号: S681.901; Q945.78 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2019)06-0106-03

屋顶绿化特殊环境要求植物具有较强的抗逆性^[1],而干旱作为一种重要的逆境因子,对植物的生长产生广泛的影响。抗旱性是植物在对干旱缺水环境的长期适应中通过自身的遗传变异和自然选择获得的一种抗旱能力^[2]。目前,对屋顶绿化草本植物的抗旱性尚缺乏研究,因此关于植物干旱胁迫的研究对其在屋顶环境条件下的园林应用起重要的指导作用。测定植物组织和器官的电阻抗图谱法(EIS)是用等效电路来表示所感兴趣的组织样本,在估测植物活力、果实受害程度、抗寒性、对含盐量敏感度等方面得到了广泛的应用^[3-5],在植物生理学研究方面的应用范围正在不断扩展。在所有这些研究中,EIS法通过非破坏性的方法测定胞内电阻、胞外电阻等电阻抗图谱参数,可以准确快捷地获得有关膜变化的基本生理信息。因此,可以考虑用EIS参数来诊断植物受干旱胁迫的程度。研究表明,精灵景天在遭受到不同程度的水分胁迫下导致原生质脱水,膜透性增加,内容物外渗,叶片的生理指标都相应地发生变化^[6]。尚未见水分胁迫下精灵景天叶片电阻抗图谱参数与其生理参数关系的文献报道。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料为精灵景天3年生小苗,来自于北京一所苗圃。试验在河北农业大学一所建筑物楼顶的2块试验田中进行。

试验采用完全随机区组设计。试验田共有8个试验小区,在每个面积为 $0.4 \times 10 \text{ m}^2$ 的试验小区中种植物40株,每

个试验小区四周铺设塑料膜以防侧方渗水,以使各个试验小区互不影响。充分缓苗后,在自然状态下持续干旱处理,以正常浇水为对照。每5 d采样1次,共5次。采样时均选择上数第4张至第5张叶片进行各项生理指标测定,重复3次。

1.2 方法

1.2.1 电阻和电抗的测定及电阻抗图谱参数的拟合 将不同干旱时期的精灵景天叶片切成 $4 \text{ mm} \times 10 \text{ mm}$ 作为1个样本,用测厚仪(Mitutoyo No. 7331, Japan)测厚度,精确到 0.01 mm ,每个时期8个重复。把样本放置在2个玻璃管之间,通过电极接触凝胶,再通过凝胶轻轻接触待测样本。对阻抗分析仪(HP4284A, USA)进行开路和短路校正,校正后分别测定样本在42个频率下的电阻值和电抗值,测定频率范围为 $80 \text{ Hz} \sim 1 \text{ MHz}$,输入电压 20 mV 。

将上述频率下测定的样本电阻和电抗值分别作为实部和虚部,作出电阻和电抗随频率的变化曲线,即EIS。等效电路参数用Repo发展的LEVM8.06(Macdonald Jr.)^[7]软件进行拟合。该模型中阻抗的表达式为:

$$Z = R + \frac{R_1}{1 + (i \cdot \tau \cdot \omega)^\psi}$$

式中: R 、 R_1 为单分布电路元素电阻; τ 为弛豫时间; ω 为弛豫时间分布系数, $\omega = 2 \times \pi \times f$, f 为频率; ψ 为角速度; i 表示复数。再根据公式 $R_e = R + R_1$ 和 $R_i = R(1 + R/R_1)$ 分别计算胞外电阻、胞内电阻。根据每一个样品的截面积和长度将得到的胞外和胞内电阻归一化,弛豫时间和弛豫时间分布系数不作归一化处理。

1.2.2 叶片膜透性测定 膜相对透性的测定采用电导仪法^[8]。称取植物叶片 0.2 g ,将叶片剪成 0.5 cm^2 的小块,放入烧杯中,加入 15 mL 蒸馏水,振荡 24 h 后测定电导率,同时测定空白电导率,将测完电导率的各试样放入水浴锅中水浴 30 min ,再放在室温下冷却 24 h ,测定煮沸电导率。

1.2.3 净光合速率测定 光合特性指标的测定。2016年7

收稿日期:2017-07-31

基金项目:河北省科技攻关计划(编号:15227534)。

作者简介:刘天宇(1993—),男,河北保定人,硕士研究生,主要从事园林植物资源及利用研究。E-mail:719879199@qq.com。

通信作者:孟庆瑞,博士,副教授,主要从事园林植物资源及利用研究。E-mail:1332121630@qq.com。

月每 5 d 的 08:30—11:00 选取植株倒 3 叶,用 Li-6400xt 便携式光合仪(Li-COR, USA)测定叶片的净光合速率(P_n)。测定时用红蓝光光源,光照度设 $1\ 000\ \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, CO_2 气体由小钢瓶提供,控制浓度为 $400\ \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ (下同)。每个处理测定 3 株,重复 3 次,结果取平均值。

1.3 统计分析

应用 SPSS 13.0 软件和 Microsoft Excel 软件进行方差分析和相关分析。

2 结果与分析

2.1 不同干旱时间下的土壤含水量

由表 1 可知,随着干旱时间的增加,干旱处理区的土壤含水量逐渐降低,在干旱 20 d 时,土壤含水量仅为 8.2%。

表 1 不同干旱时间下的土壤含水量

| 处理 | 含水量(%) | | | | |
|------|--------|------|------|------|------|
| | 0 d | 5 d | 10 d | 15 d | 20 d |
| 干旱处理 | 33.6 | 21.3 | 14.6 | 10.1 | 8.2 |
| CK | 34.1 | 31.5 | 32.7 | 33.3 | 30.7 |

2.2 干旱胁迫对荆芥叶片电阻抗图谱参数的影响

2.2.1 干旱胁迫下胞外电阻的变化 精灵景天叶片在受到

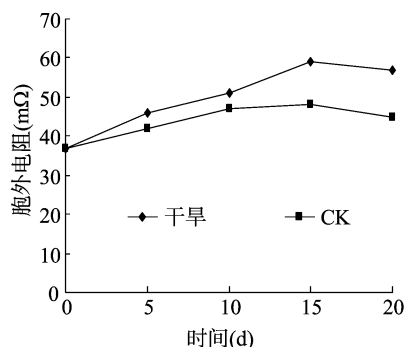


图1 胞外电阻参数变化

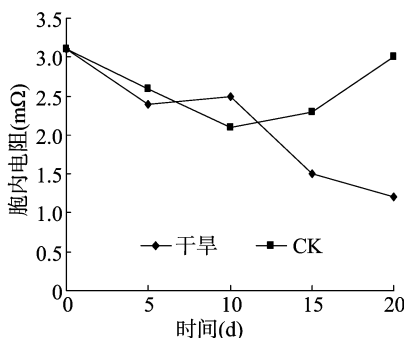


图2 胞内电阻参数变化

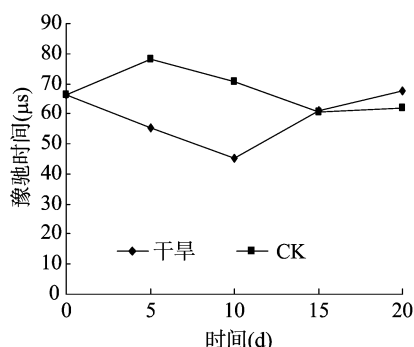


图3 豫弛时间参数变化

2.2.4 干旱胁迫下弛豫时间分布系数的变化 随干旱时间的增加,精灵景天叶片弛豫时间分布系数呈先下降后上升的趋势。在干旱时间为 20 d 时,弛豫时间分布系数达到最大,为对照的 0.90 倍;在干旱时间在 0~10 d 时,弛豫时间分布系数均高于对照组,分别为对照组的 1.13、1.03 倍;当干旱时间在 15、20 d 时,弛豫时间分布系数均低于对照,分别为对照的 0.98、0.90 倍,与对照差别不大(图 4)。

2.3 干旱胁迫下精灵景天叶片相对电导率的变化

精灵景天叶片的相对电导率随干旱时间的增加而上升(图 5)。当干旱时间为 5、10 d 时,叶片的电导率分别为对照的 1.05、1.24 倍,与对照差异不显著,表现为上升趋势幅度较小。说明叶片可能在干旱时间为 0~10 d 时,通过细胞自我调节机制防止细胞膜的损害。当干旱时间超过 10 d 时,叶片相对电导率显著增加。相对电导率在干旱时间为 15 d 时为对照的 1.35 倍($P < 0.05$)。在干旱 20 d 时为对照的 1.49 倍($P < 0.01$),这说明在干旱 20 d 后叶片受害严重,细胞液大量渗出,导致电导率增大。这个结果与精灵景天叶片的电阻抗图谱参数变化所反映的受伤害干旱区间有一致性。

2.4 干旱胁迫下精灵景天叶片净光合速率的变化

干旱胁迫下精灵景天叶片净光合速率的测定结果表明,

干旱胁迫后,胞外电阻随着干旱时间的增加,呈先上升后下降的趋势。随着干旱时间的增加,胞外电阻均大于对照。当干旱时间为 5 d 时,胞外电阻为对照的 1.09 倍;当干旱时间为 10 d 时,为对照的 1.08 倍(图 1)。当干旱时间为 15 d 时,胞外电阻达到最大值,为对照的 1.23 倍,明显高于对照($P < 0.05$)。当干旱时间超过 15 d 时,精灵景天叶片胞外电阻逐渐下降,为对照的 1.26 倍($P < 0.01$)(图 1)。

2.2.2 干旱胁迫下胞内电阻的变化 精灵景天叶片在受到干旱胁迫后,随着干旱时间的增加,胞内电阻整体呈下降的趋势。当干旱时间为 10 d 时,胞内电阻有所上升,且高于对照,为对照的 1.19 倍;当干旱时间为 5、15、20 d 时,胞内电阻均低于对照;当干旱时间超过 10 d 时,胞内电阻下降,明显低于对照,分别为对照的 0.65、0.40 倍(图 2)。

2.2.3 干旱胁迫下弛豫时间的变化 精灵景天叶片受干旱胁迫后,弛豫时间随干旱时间的增加,呈现先下降后升高的趋势,干旱时间为 20 d 时,弛豫时间达到最大值。在干旱时间为 0~10 d 时,精灵景天叶片弛豫时间呈持续下降趋势,且明显低于对照,干旱时间 5、10 d 时,分别为对照的 0.70、0.64 倍;当干旱时间超过 10 d 时,弛豫时间呈上升趋势,干旱时间为 15、20 d 时分别为对照的 1.01、1.09 倍($P < 0.01$)(图 3)。

随着干旱时间的增加,净光合速率迅速下降(图 6)。当干旱 0~10 d 时,净光合速率差异不显著($P > 0.05$),表明曲线下降幅度较小。在干旱 5、10 d 时,净光合速率分别是对照的 1.05、0.90 倍。干旱时间在 15~20 d 时,净光合速率与对照差异较大($P < 0.05$),表明曲线下降幅度变大。干旱时间为 15、20 d 时,净光合速率分别为对照的 0.58、0.48 倍($P < 0.05$),表明当干旱时间大于 10 d 时,叶片含水量的降低导致气孔关闭,从而使叶片适应干旱的胁迫。

2.5 干旱胁迫下电阻抗图谱参数与生理指标的相关性

弛豫时间与膜相对透性呈极显著负相关($P < 0.01$)(表 2);胞内电阻与净光合速率含量呈显著负相关($P < 0.05$),弛豫时间与净光合速率也呈显著负相关($P < 0.01$)(表 3)。膜相对透性和净光合速率可作为植物受伤害程度的主要鉴定指标^[8-9],而胞内电阻、弛豫时间与膜相对透性的变化、净光合速率的变化的相关系数分别达到 0.73、0.69 和 0.89、0.68,证明胞内电阻和弛豫时间等物理参数同样可以反映精灵景天叶片受到干旱胁迫程度。

3 讨论与结论

本试验应用电阻抗图谱法研究了干旱胁迫下精灵景天叶

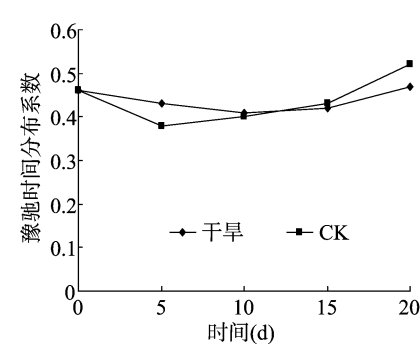


图4 弛豫时间分布系数参数变化

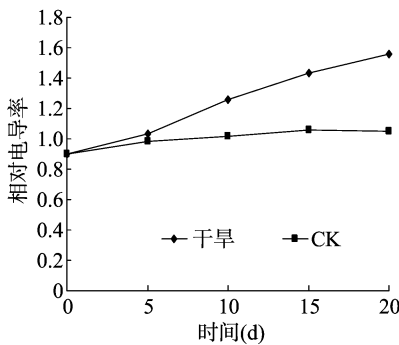


图5 干旱胁迫对相对电导率的影响

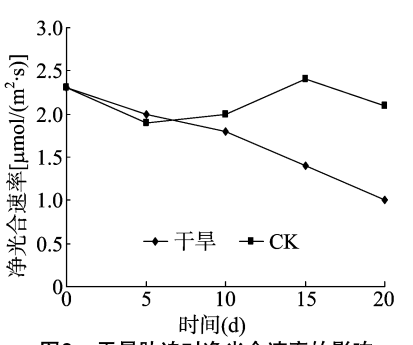


图6 干旱胁迫对净光合速率的影响

表 2 干旱胁迫下精灵景天叶片膜透性与电阻抗图谱参数之间的相关性

| EIS 参数 | 相关性方程 | <i>F</i> 值 | 相关系数 <i>r</i> | <i>P</i> 值 |
|----------|-------------------------|------------|---------------|------------|
| 胞外电阻 | $y = -15.164x + 43.598$ | 2.35 | -0.23 | 0.2654 |
| 胞内电阻 | $y = -3.5843x + 4.8452$ | 5.95 | -0.73 | 0.0925 |
| 弛豫时间 | $y = -7.7845x + 2.4869$ | 65.54 | -0.69 | 0.7893** |
| 弛豫时间分布系数 | $y = 3.5765x + 2.7836$ | 1.43 | 1.36 | 0.3698 |

注：*、** 表示相关性达 0.05、0.01 显著水平。

表 3 干旱胁迫下精灵景天叶片净光合速率与电阻抗图谱参数之间的相关性

| EIS 参数 | 相关性方程 | <i>F</i> 值 | 相关系数 <i>r</i> | <i>P</i> 值 |
|----------|--------------------------|------------|---------------|------------|
| 胞外电阻 | $y = -1.5469x + 32.8110$ | 1.46 | -2.46 | 0.4687 |
| 胞内电阻 | $y = -0.1057x + 3.5768$ | 31.24 | -0.89 | 0.1346* |
| 弛豫时间 | $y = -2.4386x + 4.2468$ | 37.89 | -0.68 | 0.7678* |
| 弛豫时间分布系数 | $y = -0.4356x + 1.5346$ | 0.04 | -0.03 | 0.3500 |

片的电阻抗图谱参数,结果显示,随着干旱时间的增加,精灵景天叶片的胞外电阻整体呈上升趋势,胞内电阻整体呈下降趋势,弛豫时间和弛豫时间分布系数表现为先下降后上升的趋势。当干旱时间为 15 d 时,胞外电阻、弛豫时间和弛豫时间分布系数均高于对照水平,而且在干旱 15 d 时,胞外电阻、弛豫时间和弛豫时间分布系数达到了最大值,说明细胞自身调节,使叶片适应干旱胁迫,从而不受伤害。在干旱时间为 15、20 d 时,胞内电阻、弛豫时间分布系数明显低于对照水平,这可能说明精灵景天叶片在长时间的干旱胁迫下,叶片的自我调节机制受到破坏,导致电阻抗图谱参数降低。

在水分胁迫对不同品种的白皮松叶片电阻抗参数的影响表明,在测定白皮松针叶电阻抗参数时,严重干旱条件下各品种小麦叶片的胞内电阻均高于对照^[10]。受到水分胁迫的情况下,胞外电阻与细胞膜透性有显著正相关,弛豫时间与细胞膜透性之间有显著负相关,弛豫时间分布系数与细胞膜透性之间有显著负相关,胞内电阻与细胞膜透性之间有显著负相关^[11]。这与本研究结果不完全一致,可能是由于不同植物之间结构的差异,也可能是由于研究的处理方式不同。

土壤水分胁迫对植物生长和代谢的影响是多方面的,其中对光合作用的影响尤为突出^[12]。水分胁迫通常抑制叶绿素的生物合成,提高叶绿素酶活性并加速分解,致使叶绿素含量下降^[13],这与本研究结果一致。叶绿体是植物进行光合作用的主要场所,干旱胁迫降低了叶绿素含量,即叶绿素 SPAD 值,从而使得光合酶活性和光合作用表量子效率等下降,最终导致净光合速率降低,这主要是由非气孔因素引起的^[14]。细胞膜的透性可以反映植物细胞受害的程度,植物在干旱胁迫下,

细胞膜透性会因为膜结构的损害而增加,而电解质外渗值可被用来检验膜脂的稳定性与完整性^[15]。研究表明,随着干旱程度的增加,叶片细胞膜透性显著增大。

本研究发现,在干旱胁迫下,精灵景天叶片的电阻抗图谱参数和净光合速率、细胞膜透性之间有着明显的相关性,其中胞内电阻与净光合速率呈显著负相关($P < 0.05$),弛豫时间与净光合速率呈显著负相关($P < 0.01$);弛豫时间与膜相对透性呈极显著负相关($P < 0.01$)。表明应用电阻抗图谱参数可以证明精灵景天受干旱胁迫的程度,电阻抗图谱法将是精灵景天逆境胁迫研究的一种有效方法。

参考文献:

[1]徐振华,刘俊,尹新彦,等.白榆屋顶绿化栽培基质筛选[J].林业科技开发,2010,24(3):95-98.
[2]Thomashow M F. Plant cold acclimation:freezing to lernaeegenes and regnlatorymeeh - anisms[J]. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol,1999,50:571-599.
[3]Cox M A,Zhang M,Willison J H M. Apple bruise assessment through electrical impedance meas - urements[J]. Hort Science,1993,68:393-398.
[4]Stout D G. Effect of cold acclimation on bulk tissue electrical impedance: I. Measurements with birdsfoot trefoil at subfreezing temperatures[J]. Plant Physiology,1988,86(1):275-282.
[5]Zhang G,Li Y Q,Dong S H. Assessing frost hardness of *Pinus bungeana* shoots and needles by electrical impedance spectroscopy with and without freezing tests[J]. Journal of Plant Ecology,2010,3(4):285-293.

赵海霞,裴红宾,张永清,等. 不同氮、腐殖酸肥施用量下芽孢杆菌 ZJM-P5 对红小豆幼苗根际土壤酶活性的影响[J]. 江苏农业科学,2019,47(6):109-113.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2019.06.024

不同氮、腐殖酸肥施用量下芽孢杆菌 ZJM-P5 对红小豆幼苗根际土壤酶活性的影响

赵海霞¹,裴红宾¹,张永清^{1,2},高振峰³,栾换换¹,周进财¹

(1. 山西师范大学生命科学学院,山西临汾 041004; 2. 山西师范大学地理科学学院,山西临汾 041004;

3. 山西农业大学农学院,山西太谷 030801)

摘要:通过盆栽试验研究 2 种肥料(氮肥和腐殖酸肥)不同施用量与芽孢杆菌 ZJM-P5 菌悬液组合处理对红小豆幼苗根际土壤酶活性的影响,为红小豆经济合理施肥和微生物肥料菌种选育提供理论依据。结果发现,(1)同一施肥水平下,2 种栽培环境下的土壤脲酶、蔗糖酶和过氧化氢酶活性均随菌悬液浓度的增大呈先升高后降低的趋势,其中脲酶活性均在 10^7 CFU/mL 浓度下达最大值,蔗糖酶活性除 0、50 mg/kg 施氮处理外其他施肥水平均在 10^7 CFU/mL 浓度下达最大值,而过氧化氢酶活性均在 10^8 CFU/mL 时最大。(2)相同菌悬液浓度下,与不施肥处理相比,施氮、腐殖酸肥处理的脲酶活性均随施肥量的增加呈升高趋势;施氮处理的蔗糖酶活性在 0、 10^6 CFU/mL 浓度下随施氮量的增加而增大,在 10^8 CFU/mL 和 10^9 CFU/mL 下不同施氮处理的酶活性接近, 10^7 CFU/mL 浓度下在 100 mg/kg 施氮处理时酶活性显著高于其他处理,而过氧化氢酶活性随施氮量的增加先增大后减小,在 100 mg/kg 时酶活性最大;腐殖酸肥处理的蔗糖酶活性随施肥量的增加呈先升后降的趋势,在 0.67 g/kg 处理下酶活性最大,而过氧化氢酶活性随施肥量的增加逐渐增大。(3)相同菌悬液浓度下 2 种栽培环境间土壤酶活性结果比较得出,施用腐殖酸效果优于化学氮肥。研究结果表明,对于种植红小豆来说,芽孢杆菌 ZJM-P5 菌悬液浓度为 $10^7 \sim 10^8$ CFU/mL 为最佳菌浓度,纯氮量为 100 mg/kg、腐殖酸量 0.67 g/kg 为最佳施肥量,合理浓度的菌悬液和肥料组合处理可以更大作用地发挥土壤酶的生物学活性。

关键词:红小豆;施肥;芽孢杆菌 ZJM-P5 菌悬液;土壤酶活性

中图分类号:S521.06 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2019)06-0109-05

土壤作为植物的生长载体,其肥力与作物产量及品质密切相关,而土壤酶作为土壤生物活性和肥力的重要组成部分,

收稿日期:2018-03-07

基金项目:国家自然科学基金(编号:31571604);山西师范大学科技开发与应用基金(编号:YK1502)。

作者简介:赵海霞(1992—),女,山西朔州人,硕士研究生,主要从事植物生理生态研究。E-mail:zhx31621392@163.com。

通信作者:裴红宾,硕士,副教授,主要从事植物生理生态方面的教学与研究工作。E-mail:bbpei65110@163.com。

在土壤物质循环和能量转化过程中起着重要的催化作用,其活性可以反映土壤中各种生物化学反应的强度和方向^[1],对土壤肥力的演化具有重要影响^[2]。目前人们已从不同种植方式^[3-4]、不同肥料及施用方式^[5-6]、不同微生物处理^[7-8]以及不同逆境^[9]等方面对土壤酶活性进行了研究,发现这些条件均对土壤酶活性具有一定影响,且和土壤肥力以及作物产量和品质具有一定相关性。因此,土壤蔗糖酶、脲酶和过氧化氢酶等酶活性可作为土壤肥力和土壤质量生物活性评价的潜在指标^[10],对土壤肥力培育和合理施肥具有一定意义。

[6] Wang J R, Li S X, Li K L. Effects of water limited deficit stress during different growth stages on leaf protective enzymes of winter wheat[J]. Acta Bot Boreal-Occident Sin, 2001, 21(1): 47-52.

[7] 白宝璋,靳占忠,李德春. 植物生理生化测试技术[M]. 北京:中国科技出版社,1995:143-147.

[8] 陈建勋,王晓峰. 植物生理学实验指导[M]. 广州:华南理工大学出版社,2002.

[9] 洪森荣,尹明华. 盐胁迫对杂交水稻试管苗生长发育和部分生理生化指标的影响[J]. 杂交水稻,2008,23(4):69-72,77.

[10] 刘晓红,王国栋,张 钢. 水分胁迫对不同小麦品种叶片电阻抗参数的影响[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版),2007,35(2):210-214.

[11] 刘晓红,王国栋,张 钢. 干旱胁迫下小麦叶片的电阻抗图谱参

数与生理参数的关系[J]. 西北植物学报,2007,27(5):970-976.

[12] 付秋实,李红岭,崔 健,等. 水分胁迫对辣椒光合作用及相关生理特性的影响[J]. 中国农业科学,2009,42(5):1859-1866.

[13] 李清芳,马成仓,尚启亮. 干旱胁迫下硅对玉米光合作用和保护酶的影响[J]. 应用生态学报,2007,18(3):531-536.

[14] Yang X, Chen X, Ge Q, et al. Tolerance of photosynthesis to photoinhibition, high temperature and drought stress in flag leaves of wheat: a comparison between a hybridization line and its parents grown under field conditions[J]. Plant Science, 2006, 171(3): 389-397.

[15] Bajin M, Kinet J M, Luttes S. The use of electrolyte leakage method for assessing cell membrane stability as a water stress tolerance test in durum wheat[J]. Plant Growth Regulation, 2002, 36:67-70.