

小麦叶片电阻抗图谱参数对重金属胁迫的响应^{*}

刘晓红^{1,2}, 黄廷林¹, 王国栋³, 张 钢⁴

(1. 西安建筑科技大学环境科学与工程博士后科研流动站, 陕西 西安 710055;

2. 延安大学化学与化工学院, 陕西 延安 716000;

3. 西北农林科技大学理学院, 陕西 杨凌 712100;

4. 河北农业大学园艺学院, 河北 保定 071001),

摘 要: 为了研究小麦在重金属胁迫下电阻抗图谱参数的规律, 测定了小麦叶片在重金属离子 Zn^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Cr (III)、 Cu^{2+} 、 Ni^{2+} 、 Cr (VI) 6种离子胁迫下的胞外电阻、胞内电阻、弛豫时间和弛豫时间分布系数, 并通过回归分析建立上述电阻抗图谱参数与重金属离子浓度之间的关系。研究表明, 随着重金属离子浓度的增加, 小麦叶片的胞外电阻和弛豫时间表现为减小, 胞内电阻和弛豫时间分布系数增加, 与其他4种离子相比, Cu^{2+} 和 Cr (VI) 离子更能显著减小胞外电阻和弛豫时间的数值, 可以用弛豫时间来预测小麦叶片受重金属毒害的程度。研究表明, 弛豫时间的变化基本满足 logistic 模型。

关键词: 小麦叶片; 电阻抗图谱; 重金属

中图分类号: S512 **文献标识码:** A **文章编号:** 0529-6579 (2009) 05-0114-06

Response of Electrical Impedance Spectroscopy Parameters of Wheat (*Triticum aestivum* L.) Leaves to the Stress of Heavy Metals

LIU Xiaohong^{1,2}, HUANG Tinglin¹, WANG Guodong³, ZHANG Gang⁴

(1. Post-doctoral Scientific Research Mobile Station of Environmental Science and Engineering,

Xi'an University of Architecture and Technology, Xi'an 710055, China;

2. College of Chemistry & Chemical Engineering, Yan'an University, Yan'an 716000, China;

3 College of Science, Northwest A&F University, Yangling 712100, China;

4. College of Horticulture, Agricultural University of Hebei, Baoding 071001, China)

Abstract: To study the rules of electrical impedance spectroscopy parameters of wheat (*Triticum aestivum* L.) under the stress of heavy metals, the extracellular resistance, intracellular resistance, relaxation time and distribution coefficient of relaxation time in the leaves of wheat were measured. The heavy metals Zn^{2+} , Pb^{2+} , Cr (III), Cu^{2+} , Ni^{2+} and Cr (VI) with different concentration were used. The relationship between electrical impedance spectroscopy parameters and the concentration of above ions was established by means of regression analysis. The results suggested that when heavy metal ions increased within concentration of $0 \sim 200 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, the extracellular resistance and relaxation time in leaves of wheat decreased, whereas the intracellular resistance and distribution coefficient of relaxation time enhanced. Compared with the other four ions, Cu^{2+} and Cr (VI) could remarkably reduce extracellular resistance and relaxation time. Relaxation time was accord with logistic model and could predict the wheat toxicity extent stressed by heavy metals.

Key words: wheat leave; electrical impedance spectroscopy; heavy metal

* 收稿日期: 2008-08-01

基金项目: 国家科技部“西部开发”重大项目资助项目 (2004BA901A13)

作者简介: 刘晓红 (1972年生), 女, 在站博士后; E-mail: xiaohliu29@126.com

重金属是小麦生长过程中一个重要的胁迫因子,关于重金属胁迫对小麦的影响,以往研究多集中在渗透调节、光合作用以及酶活性等生理生化性质上^[1-3],而有关在重金属胁迫下小麦叶片的电阻抗图谱参数的变化规律未见报道。由于电阻抗图谱法能够快速、非破坏性地测定植物组织的胞外电阻、胞内电阻和膜变化的信息,因此,目前国外的研究趋势是不断地扩展这种先进技术方法的应用领域。电阻抗图谱参数可以精确地反映生物组织细胞的物理化学变化^[4-5],因此当受到重金属胁迫时,这种变化就可以通过图谱参数记录下来。在理想状况下,这些参数对组织的不同生长状态应具有某种响应关系,因而可以考虑用电阻抗图谱参数来诊断小麦受重金属胁迫的程度。

1 材料与方法

1.1 植物材料的培养与处理

小麦种子经 $w = 1\%$ 次氯酸钠消毒,蒸馏水冲洗,室温吸胀 12 h 后,于 25 °C 恒温培养箱中萌发 24 h,选露白一致的种子播入装有纱网的塑料盆中,在 (22 ± 1) °C 恒温培养箱中用 1/2 Hoagland 营养液(其中酒石酸铁用柠檬酸铁代替)培养,营养液中的微量元素采用 Arnon 的配方,每天给予 12 h,光强为 $100 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 的光照。培养期间每天用加氧泵通气 2 ~ 3 h,营养液每周更换一次。待幼苗长到两叶一心时,选取生长一致的小麦幼苗移入用 1/2 Hoagland 营养液配置的重金属溶液中进行胁迫处理,溶液浓度分别为 0、5、20、50、100、150、200 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ (以纯金属离子计算),以在 1/2 Hoagland 营养液中不受胁迫的幼苗为对照。重金属锌、铅、铜、镍、铬分别由 $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{CrCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{Na}_2\text{Cr}_2\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (均为分析纯,西安化学试剂厂生产)提供。对照和处理均在上述温度和光照条件下胁迫 7d 后取小麦幼苗的第二片叶测定电阻、电抗、MDA 和细胞膜相对透性。重复 3 次,每个处理剪取 6 个样品叶片测试。

1.2 小麦叶片阻抗参数的测定

小麦叶片的电阻、电抗测定参考 Repo T^[6]的方法。首先将 Ag/AgCl 电极与阻抗分析仪(HP4284A, Agilent 公司生产)相连,把凝胶分别挤进支撑样品的两个水平玻璃管中,将电极插入玻璃管。然后将经过不同处理的小麦叶片在距离叶稍端 5 cm 处剪一个矩形片段(4 mm × 10 mm)作为

样品,测定叶片的厚度,把样品放置在 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品,在测定过程保持样品的原初状态不变以保证测定结果的稳定性。对阻抗分析仪进行开路和短路校正。校正后分别测定样品在 42 个频率下的电阻值和电抗值,测定频率范围:80Hz-1MHz,输入电压 20 mV。

1.3 等效电路的确定及电阻抗图谱参数的拟合

将上述频率下测定样品的电阻和电抗值分别作为实部和虚部绘出各个频点的变化曲线,即电阻抗图谱。根据电阻抗图谱确定样品适用的等效电路。植物一般使用两种类型的等效电路:集总模型和分布模型,究竟应用哪种模型,取决于电阻抗图谱弧的数量和图谱的偏度^[7]。小麦叶片的电阻抗图谱是一个单一的弧,并且有一个凹陷中心,因此选择单-DCE 模型^[8],在该模型中阻抗的表达式为 Z

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

其中 R 、 R_1 是电阻, τ 是弛豫时间, ψ 是弛豫时间分布系数。 ω 是角速度 $\omega = 2\pi f$, f 是频率。等效电路参数 R 、 R_1 、 τ 和 ψ 应用 T. Repo 发展了的 LEVM_{v.6}(J. R. Macdonald, Department of Physics and Astronomy, University of North Carolina, Chapel Hill, NC) 软件进行拟合,即将 42 个频率下测得的电阻和电抗带入该软件进行拟合。再根据公式①: $R_e = R + R_1$ 和公式②: $R_i = R \left[1 + \left(\frac{R}{R_1} \right) \right]$ 计算样品的胞外电阻、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,计算样品的电阻率。弛豫时间和弛豫时间分布系数不作归一化处理^[9]。

1.4 重金属胁迫下小麦叶片 MDA 的测定

MDA 含量用硫代巴比妥酸法测定^[10]。

1.5 重金属胁迫下小麦叶片细胞膜透性的测定

用 DDS-11A 型电导仪测定电导率,以细胞膜相对透性大小表示细胞受伤害程度。

1.6 统计分析

应用 SPSS 软件进行方差分析和回归分析。

2 结果与分析

2.1 小麦叶片电阻抗图谱参数在重金属胁迫下的变化

由图 1 可见,在不同重金属离子胁迫下,小麦叶片的胞外电阻表现出不同的变化趋势:其中,在 Zn^{2+} 、 Pb^{2+} 和 $\text{Cr}(\text{III})$ 离子胁迫下,随着重金属离子浓度的增加,在设计浓度范围内,胞外电阻的

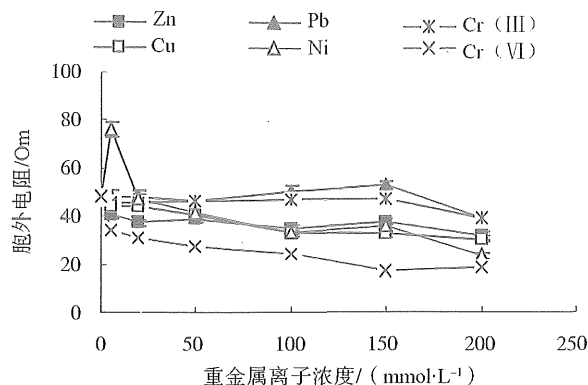


图1 小麦叶片的胞外电阻随重金属离子浓度的变化

Fig. 1 Changes of extracellular in leaves of wheat to ion concentration of heavy metals

变化并不明显。但在 Cu^{2+} 、 Ni^{2+} 和 Cr(VI) 离子胁迫下,胞外电阻显著减小,表现为曲线急剧下降。与对照相比,在 $200 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时的胞外电阻分别低于对照 36.21%、51.32% 和 61.61%,说明这三种离子可能对小麦叶片的毒害作用较大。其中,在 Ni^{2+} 的胁迫浓度为 $0 \sim 20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,胞外电阻表现为迅速上升,之后,随着 Ni^{2+} 浓度的进一步增加,胞外电阻减小。

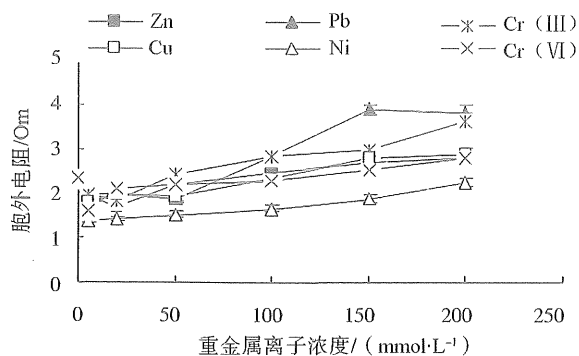


图2 小麦叶片的胞内电阻随重金属离子浓度的变化

Fig. 2 Changes extracellular leaves of wheat to ion concentration of heavy metals

由图2可见,在不同重金属离子胁迫下,小麦叶片的胞内电阻表现出相反的变化趋势:即在设计浓度范围内,胞内电阻均表现为先减小后增加。其中, Cu^{2+} 、 Ni^{2+} 和 Cr(VI) 离子胁迫下的胞内电阻的增长趋势较小, Pb^{2+} 和 Cr(III) 离子胁迫下叶片的胞内电阻增长趋势较大,在离子浓度为 $200 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,分别高于对照 62.85% 和 54.79%。

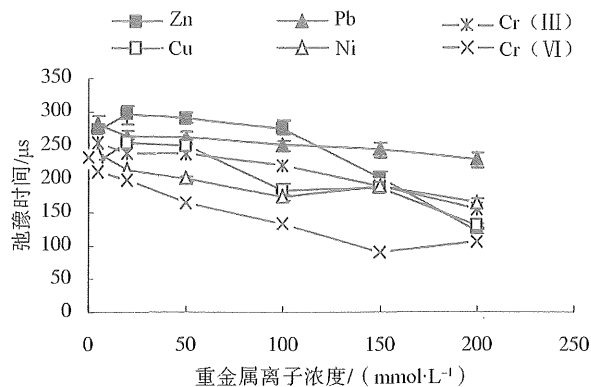


图3 小麦叶片的弛豫时间随重金属离子浓度的变化

Fig. 3 Changes of relaxation time in leaves of wheat to ion concentration of heavy metals

由图3可见,在各个重金属离子胁迫下,小麦叶片的弛豫时间表现为先增加后减小或持续减小的趋势。其中在 Cu^{2+} 和 Cr(VI) 离子胁迫下,弛豫时间较对照的减小幅度较大,当离子浓度为 $200 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,分别低于对照 44.29% 和 54.10%。而在 Pb^{2+} 和 Cr(III) 离子胁迫下,弛豫时间的减小幅度较小,当离子浓度为 $200 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,分别低于对照 1.26% 和 32.84%,说明小麦叶片的弛豫时间和胞外电阻在受到重金属离子胁迫时的变化具有同步性,而且变化的幅度也能反映重金属离子对叶片的伤害程度。

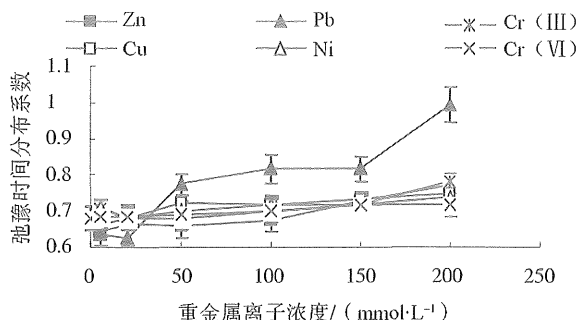


图4 小麦叶片的弛豫时间分布系数随重金属离子浓度的变化

Fig. 4 Changes of distribution coefficient of relaxation time in leaves of wheat to ion concentration of heavy metals

由图4可见,在各个重金属离子胁迫下,小麦叶片的弛豫时间分布系数表现为先减小或增加的趋势,与叶片的胞内电阻的变化比较一致。在 Cu^{2+} 、 Ni^{2+} 和 Cr(VI) 离子胁迫下,弛豫时间分布系数

增加比较缓慢,当离子浓度为 $200 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,分别较对照增长 10.47%、8.58% 和 5.96%,而在 Zn^{2+} 、 Pb^{2+} 和 $\text{Cr}(\text{III})$ 三种离子胁迫下,弛豫时间分布系数增加的幅度较大,当离子浓度为 $200 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,分别高于对照 13.11%、46.53% 和 15.04%。

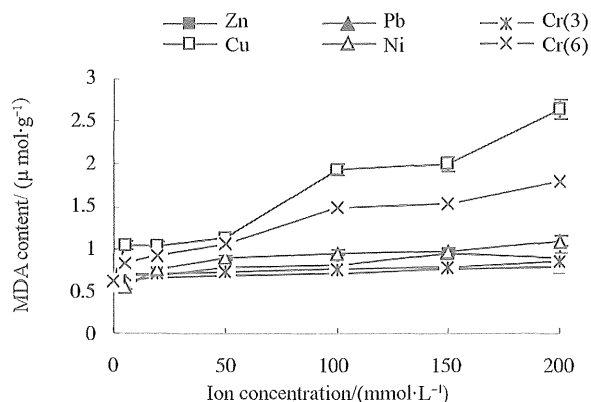


图5 小麦叶在6种重金属离子不同浓度胁迫下的MDA活性

Fig. 5 MDA activity of wheat leaves under different concentration stress of 6 heavy metalion

由图5可见,在 Cu^{2+} 胁迫下,MDA含量增加的幅度要远远大于其它离子。在离子浓度为 $200 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$,MDA含量为对照的4.32倍。其次为 $\text{Cr}(\text{VI})$ 和 Ni^{2+} ,在 $200 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,MDA含量为对照的2.91和1.79倍。其它几种离子胁迫下的MDA含量表现为缓慢上升的过程,如离子浓度为 $200 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,受 Zn^{2+} 、 Pb^{2+} 、 $\text{Cr}(\text{III})$ 离子胁迫,叶片的MDA含量分别为对照的1.27、1.48和1.38倍。说明 Cu^{2+} 、 $\text{Cr}(\text{VI})$ 和 Ni^{2+} 可以显著地增加小麦叶片细胞膜的过氧化程度,对叶片的膜伤害严重,反之, Zn^{2+} 、 Pb^{2+} 、 $\text{Cr}(\text{III})$ 对叶片细胞膜的伤害程度较轻微,表现在MDA含量增长的幅度较小,膜脂过氧化程度较小。

由图6可见,随着重金属离子浓度的增加,小麦叶片的相对电导率逐渐增加。在 Zn^{2+} 、 Pb^{2+} 、 $\text{Cr}(\text{III})$ 、 Cu^{2+} 、 Ni^{2+} 、 $\text{Cr}(\text{VI})$ 胁迫下,当离子浓度为 $200 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,叶片的相对电导率分别为对照的1.41、1.60、1.92、5.82、2.98和4.56倍。说明受到同等浓度胁迫时, Cu^{2+} 、 Ni^{2+} 和 $\text{Cr}(\text{VI})$ 使叶片细胞内溶质大量渗出,对小麦叶片的细胞膜的伤害较为严重。反之, Zn^{2+} 、 Pb^{2+} 、 $\text{Cr}(\text{III})$ 对叶片的细胞膜透性影响较小,对叶片的伤害轻微。

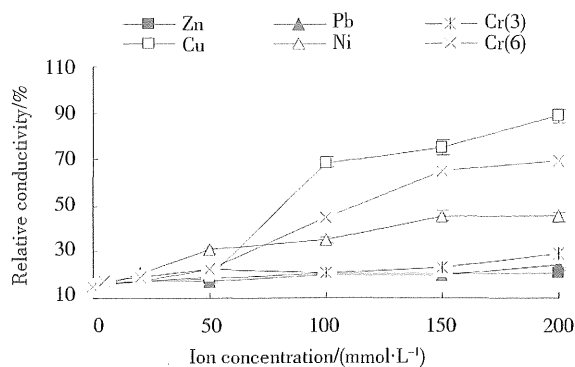


图6 小麦叶片在6种重金属离子不同浓度胁迫下的相对电导率

Fig. 6 Relative conductivity of wheat leaves under different concentration stress of 6 heavy metalion

2.2 电阻抗图谱参数对重金属离子浓度的回归分析

应用SPSS软件将4个电阻抗图谱参数对各个重金属的不同胁迫浓度进行回归,并根据F检验的结果选择拟合度最好的回归方程列在表1(未列出的项目表示其回归方程的显著性 >0.05)。

从表1可以看出,在各个重金属离子胁迫下,除了胞外电阻的回归模型有比较大的差异外,胞内电阻和弛豫时间分布系数基本可以用线性函数进行拟合,而弛豫时间可用logistic函数进行拟合。

方差分析(表2)表明,胞外电阻、胞内电阻和弛豫时间在不同重金属离子和各离子的不同浓度水平之间有极显著差异 ($P < 0.01$),弛豫时间分布系数在不同重金属离子之间差异不显著 ($P > 0.05$),在各离子的不同浓度水平之间差异极显著 ($P < 0.01$)。

3 讨论

研究结果表明,在 Zn^{2+} 、 Pb^{2+} 、 $\text{Cr}(\text{III})$ 、 Cu^{2+} 、 Ni^{2+} 和 $\text{Cr}(\text{VI})$ 离子胁迫下,在设计浓度范围内,随着重金属离子浓度的增加,小麦叶片的胞外电阻和弛豫时间表现为减小,胞内电阻和弛豫时间分布系数增加,与其他4种离子相比, Cu^{2+} 和 $\text{Cr}(\text{VI})$ 离子更能显著减小胞外电阻和弛豫时间的数值,根据小麦叶片在这6种重金属离子胁迫下的MDA含量和细胞膜透性的变化,可将胁迫因子分为2组,1组为 Zn^{2+} 、 Pb^{2+} 、 $\text{Cr}(\text{III})$,毒害轻,2组为 Cu^{2+} 、 Ni^{2+} 和 $\text{Cr}(\text{VI})$ 离子,毒害严重。研究表明,铬对植物的毒性与它存在的价态有关, $\text{Cr}(\text{VI})$ 的植物毒性要比 $\text{Cr}(\text{III})$ 大的多^[11]。这种显著的毒性差异可能与铬离子的理化

表 1 电阻抗参数对重金属离子浓度的回归分析

Table 1 Regression analysis of electrical impedance parameters to ion concentration of heavy metals

指标	胁迫因素	曲线形式	回归方程	R^2	显著水平
胞外电阻	Zn	渐进回归	$y = 36.264\ 9 + 11.758\ 1 \exp(-0.157\ 2\ x)$	0.798\ 2	0.040\ 7
	Pb	logistic 模型	$y = 49.279\ 2/[1 + \exp(-61.897\ 2 + 0.302\ 8\ x)]$	0.750\ 3	0.062\ 3
	Cr(Ⅲ)	logistic 模型	$y = 47.164\ 1/[1 + \exp(-72.572\ 9 + 0.354\ 5\ x)]$	0.919\ 0	0.006\ 6
	Cu	渐进回归	$y = 27.576\ 6 + 19.499\ 8 \exp(-0.009\ 5\ x)$	0.959\ 2	0.001\ 7
	Ni	线性	$y = 56.531\ 5 - 0.169\ 5\ x$	0.622\ 1	0.035\ 0
	Cr(Ⅵ)	渐进回归	$y = 19.928\ 2 + 23.505\ 8 \exp(-0.031\ 5\ x)$	0.873\ 0	0.016\ 1
胞内电阻	Zn	线性	$y = 1.991\ 3 + 0.004\ 3x$	0.693\ 7	0.020\ 0
	Pb	线性	$y = 1.880\ 6 + 0.010\ 3x$	0.839\ 0	0.003\ 8
	Cr(Ⅲ)	线性	$y = 2.009\ 7 + 0.007\ 6\ x$	0.881\ 7	0.001\ 7
	Cu	线性	$y = 1.930\ 3 + 0.004\ 8\ x$	0.737\ 6	0.013\ 3
	Cr(Ⅵ)	线性	$y = 1.988\ 8 + 0.003\ 8\ x$	0.635\ 5	0.031\ 8
弛豫时间	Zn	logistic 模型	$y = 276.264\ 5/[1 + \exp(-6.006\ 7 + 0.031\ 6\ x)]$	0.862\ 0	0.019\ 0
	Cr(Ⅲ)	logistic 模型	$y = 252.274\ 5/[1 + \exp(-2.976\ 3 + 0.0146\ x)]$	0.958\ 1	0.001\ 8
	Cu	logistic 模型	$y = 253.193\ 1/[1 + \exp(-2.976\ 3 + 0.014\ 6\ x)]$	0.856\ 8	0.020\ 5
	Ni	logistic 模型	$y = 17\ 260.683\ 8/[1 + \exp(4.319\ 7 + 0.001\ 7\ x)]$	0.836\ 3	0.026\ 8
	Cr(Ⅵ)	logistic 模型	$y = 20\ 249.306\ 0/[1 + \exp(4.517\ 2 + 0.004\ 8\ x)]$	0.943\ 3	0.003\ 2
弛豫时间 分布系数	Zn	线性	$y = 0.648\ 9 + 0.000\ 5\ x$	0.825\ 8	0.004\ 6
	Pb	线性	$y = 0.645\ 2 + 0.001\ 6\ x$	0.880\ 3	0.001\ 8
	Cr(Ⅲ)	线性	$y = 0.676\ 6 + 0.000\ 4\ x$	0.696\ 9	0.019\ 4
	Cu	线性	$y = 0.676\ 9 + 0.000\ 4\ x$	0.861\ 0	0.002\ 6
	Ni	线性	$y = 0.688\ 9 + 0.000\ 2\ x$	0.734\ 8	0.013\ 7
	Cr(Ⅵ)	线性	$y = 0.681\ 9 + 0.000\ 2\ x$	0.964\ 8	0.000\ 1

注:其中 x 表示重金属离子浓度; y 表示表 1 中的“指标”项对应的各参数值; R^2 是决定系数

性质及存在状态有关。Cr(Ⅵ)的毒性大可能是由于 Cr(Ⅵ)化合物溶解性较大,具有较强的氧化性且易通过生物膜。而 Cr(Ⅲ)在生理 pH 范围内易与一些生物大分子强烈地键合或生成氢氧化物胶体而使它在通过细胞膜时受到限制^[12],可能是其毒性较弱的原因。

从 4 个电阻抗图谱参数的变化来看,弛豫时间的数值变化与小麦叶片 MDA 和相对电导率的变化比较一致,即与上述重金属离子的毒害程度比较一致,因此,可以用弛豫时间来预测小麦叶片受重金属毒害的程度。研究表明,弛豫时间的变化基本满足 logistic 模型。

Repo 等人在研究电阻抗图谱参数变化的原因时发现,叶肉细胞微观结构的变化与电阻抗图谱参

数显著相关,其中胞内电阻与栅栏组织厚度,叶片厚度及细胞内淀粉粒的大小等因素相关,弛豫时间与叶肉栅栏组织的厚度,叶肉细胞壁的体积,质体小球的数量以及叶片厚度具有相关性,而弛豫时间分布系数与细胞液的体积,叶绿体的大小及叶片厚度相关^[13]。当受到 O₃ 胁迫后,白桦树叶片的胞外电阻和弛豫时间减小,在受到 CO₂ 胁迫后,叶片的胞内电阻增加^[14],这种变化的趋势与我们在小麦叶片的重金属溶液胁迫中得到的胞外电阻、弛豫时间和胞内电阻总的变化趋势很相似。

以上分析表明,在受到重金属胁迫时,小麦叶片电阻抗图谱参数变化的原因尚需要叶片超微结构的试验证明,但胁迫因子不同,对植物叶片的电阻抗图谱参数的影响却具有某种相似性,说明虽然胁

迫的机理可能并不一致, 但胁迫对叶片细胞膜生理结构的影响可能具有某种类似性。

参考文献:

- [1] 张树清, 张夫道, 刘秀梅, 等. 重金属元素 Cu、Zn 对大白菜幼苗的毒性效应[J]. 农业环境科学学报, 2005, 24(5): 838 - 842.
ZHANG Shuqing, ZHANG Fudao, LIU Xiumei, et al. Toxic effect of copper and zinc on the growth of Chinese cabbage seedling[J]. Journal of Agro - Environment Science, 2005, 24(5): 838 - 842.
- [2] 金彩霞, 周启星, 孙瑞莲, 等. Cd、豆磺隆胁迫下黑土 - 小麦系统中酶活性的动态变化[J]. 环境科学学报, 2006, 26(4): 632 - 639.
JIN Caixia, ZHOU Qixing, SUN Ruilian, et al. Dynamic changes in the activity of urease and CAT in phaeozem - wheat systems under the stress of Cd and chlorimuron - ethyl[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2006, 26(4): 632 - 639.
- [3] 张玉秀, 柴团耀. 植物耐重金属机理研究进展[J]. 植物学报, 1999, 41(5): 453 - 457.
ZHANG Yuxiu, CHAI Tuanyao. Research advances on the mechanisms of heavy metal tolerance in plants[J]. Acta Botanica Sinica, 1999, 41(5): 453 - 457.
- [4] ZHANG G, RYPPÖ A, VAPAAVUORI E, et al. Quantification of additive response and stationarity of frost hardness by photoperiod and temperature in Scots pine[J]. Can J For Res, 2003, 33: 1772 - 1784.
- [5] ZHANG G, RYPPÖ A, REPO T. The electrical impedance spectroscopy of Scots pine needles during cold acclimation[J]. Physiol Plant, 2002, 115: 385 - 392.
- [6] REPO T. Physical and physiological aspects of impedance measurements in plants[J]. Silva Fennica, 1988, 22: 181 - 193.
- [7] REPO T, ZHANG G, RYPPÖ A, et al. The electrical impedance spectroscopy of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) shoots in relation to cold acclimation[J]. J Exp Bot, 2000, 51: 2095 - 2107.
- [8] ZHANG MIN, WILLISON JHM. Electrical impedance analysis in plant tissues: impedance measurement in leaves[J]. J Exp Bot, 1993, 44: 1369 - 1375.
- [9] REPO T, ZHANG G, RYPPÖ A, et al. The electrical impedance spectroscopy of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) shoots in relation to cold acclimation[J]. J Exp Bot, 2000a, 51: 2095 - 2107.
- [10] 赵世杰, 许长成, 邹琦, 等. 植物组织中丙二醛测定方法的改进[J]. 植物生理学通讯, 1994, 30(3): 207 - 210.
ZHAO Shijie, XU Changcheng, ZOU Qi, et al. Improvements of method for measurement of malondialdehyde in plant tissues[J]. Plant Physiology Communications, 1994, 30(3): 207 - 210.
- [11] 马广岳, 施国新, 徐勤松, 等. Cr^{6+} 、 Cr^{3+} 胁迫对黑藻生理生化影响的比较研究[J]. 广西植物, 2004, 24(2): 161 - 165.
MA Guangyue, SHI Guoxin, XU Qinsong, et al. Comparative studies of toxic effect of Cr^{6+} , Cr^{3+} stress on the physiological and biochemical characteristics of *Hydrilla verticillata*[J]. Gui haia, 2004, 24(2): 161 - 165.
- [12] 李汉卿, 谢文焕, 傅纯彦, 等. 环境污染与生物[M]. 哈尔滨: 黑龙江科学技术出版社, 1985: 168.
LI Hanqing, XIE Wenhuan, FU Chunyan, et al. Environmental pollution and biology[M]. Harbin: Heilongjiang Science & Technology Press, 1985: 168.
- [13] REPO T, ZHANG MIN, RYPPÖ A, et al. Effects of freeze-thaw injury on parameters of distributed electrical circuits of stems and needles of Scots pine seedlings at different stages of acclimation[J]. J Exp Bot, 1994, 45: 823 - 833.
- [14] REPO T, OKSANEN E, VAPAAVUORI E. Effects of elevated concentrations of ozone and carbon dioxide on the electrical impedance of leaves of silver birch (*Betula pendula*) clones[J]. Tree Physiology, 2004, 24: 833 - 843.