

小麦叶片的电阻抗图谱参数对 PEG 胁迫的响应^{*}

刘晓红^{1,2}, 王国栋¹, 张 钢³

(1 西北农林科技大学理学院, 陕西 杨凌 712100)

(2 延安大学化学与化工学院, 陕西 延安 716000)

(3 河北农业大学园艺学院, 河北 保定 071001)

摘 要: 为了解水分胁迫下小麦叶片细胞膜变化的一些电参数特性, 应用电阻抗图谱的方法研究小麦叶片对 PEG 溶液不同渗透势的反应, 测定了不同渗透势下叶片的胞外电阻、胞内电阻、弛豫时间及弛豫时间的分布系数的数值, 并应用回归分析和相关分析对电阻抗参数与渗透势的关系及电阻抗参数之间关系进行了分析。结果表明, 随着 PEG 溶液渗透势的增加, 胞外电阻、胞内电阻和弛豫时间减小, 弛豫时间分布系数表现为先增大后减小; 随着胁迫时间的增加, 胞外电阻和胞内电阻在各个渗透势的变化规律不一致, 弛豫时间增大, 弛豫时间分布系数先增加后减小。胞外电阻、胞内电阻和弛豫时间对不同的渗透势具有显著或极显著的线性关系。

关键词: 小麦叶片; 电阻抗图谱参数; PEG

中图分类号: S512 **文献标识码:** A **文章编号:** 0529-6579 (2007) 05-0074-04

水分胁迫是小麦生长过程中的一个重要的胁迫因子, 关于水分胁迫对小麦的影响, 以往研究多集中在水势、渗透调节、光合作用以及酶活性变化等生理生化性质上^[1-2], 而有关在水分胁迫下小麦叶片原生质膜电特性的变化规律并不清楚。测定植物组织和器官的电阻抗图谱法 (ES) 是用等效电路来表示所感兴趣的组织样本, 已被广泛地用于估测植物活力^[3]、养分状况^[4]、果实受害程度^[5]、抗寒性^[6]等, 在这些研究中, ES 法提供了非破坏性地测定胞外电阻、胞内电阻和膜变化的手段, 但应用 ES 法对小麦叶片的研究尚未见文献报道。

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^[7], 因此当受到水分胁迫时, 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水分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水分胁迫的程度。要实现这一目标就必须首先了解在不同的水分胁迫程度下, 小麦叶片电阻抗图谱参数的变化规律。本文通过研究在不同的 PEG 浓度渗透胁迫下小麦叶片的胞外电阻、胞内电阻、弛豫时间及弛豫时间分布系数的变化规律, 并应用回归分析的方法阐释了这些参数与 PEG 渗透势的关系, 为了解电阻抗图谱参数与水分胁迫的关系提供依据。

1 材料与方法

1.1 植物材料培养与处理

供试小麦 (*Triticum aestivum* L.) 为西农 889 (材料为西北农林科技大学王明歧教授提供)。小麦种子经 $w=1\%$ 次氯酸钠消毒, 自来水冲洗, 室温吸胀 12 h 后, 于 $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温培养箱中萌发 24 h 选露白一致的种子种入消毒的石英砂盘中, 于 $(25\pm1)\text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温培养箱中培养, 每天给予 12 h 光强为 $100\text{ }\mu\text{mol m}^{-2}\text{ s}^{-1}$ 的光照。待幼苗长到 7 d 龄时, 从石英砂盘中小心拔出, 洗净根部, 吸干表面水分, 移入 $-0.2\text{ } -0.4\text{ } -0.6\text{ } -0.8\text{ } -1.0\text{ } -1.2\text{ MPa}$ PEG-6000 溶液中进行胁迫处理, 以不受胁迫的幼苗为对照。对照和处理均在上述温度和光照条件下培养 4、8、12、24 h 后取小麦基部第一片叶测定电阻抗参数。重复 4 次, 每个处理剪取 8 个样品叶片测试。

1.2 小麦叶片阻抗参数的测定

首先将 Ag/AgCl 电极与阻抗分析仪 (HP4284A) 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 ($4\text{ mm}\times10\text{ mm}$) 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

* 收稿日期: 2006-11-14

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (50579066)

作者简介: 刘晓红 (1972 年生), 女, 副教授; 通讯联系人: 王国栋, E-mail: xiaohliu29@126.com

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：80 Hz~1 MHz，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。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) 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： $R_i = R / [1 + (R/R_1)]$ 计算样品在不同水分胁迫下的胞外电阻、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。

1.4 统计分析

应用 SPSS12.0 软件进行回归分析和相关分析。

2 结果与分析

2.1 PEG 溶液胁迫对胞外电阻的影响

由图 1 可见，与对照相比，随着 PEG 胁迫浓度的增加，样品的胞外电阻在总体上呈先增加后逐渐减小的趋势（但在胁迫时间为 12 h 时，胞外电阻在 PEG 渗透势的变化范围内始终减小），在胁迫时间分别为 4、8、24 h 时，在不同浓度的 PEG 胁迫下，胞外电阻首先增加，在 -0.2、-0.2 和 -0.4 MPa 时达到最大值，分别比对照增长了 14.07%、9.17% 和 17.23%，此后，胞外电阻逐渐减小，到 -1.2 MPa 时达到最小值，分别低于对照 41.12%、16.22% 和 4.45%，可见，随着胁迫时间的延长，胞外电阻减小的幅度逐渐降低。对同一个胁迫水平，随着胁迫时间的延长，胞外电阻的变化并不一致，在胁迫浓度较小（如渗透势大于 -0.8 MPa）时，胞外电阻随时间的增加而减小，

但当胁迫浓度进一步增加时，胞外电阻的数值变化不显著。

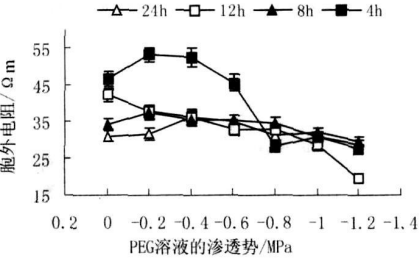


图 1 不同 PEG 胁迫浓度下小麦叶片的胞外电阻
Fig. 1 Extracellular resistance at different osmotic potential of PEG

2.2 PEG 溶液胁迫对胞内电阻的影响

由图 2 可见，与对照相比，随着 PEG 胁迫浓度的增加，胞内电阻也逐渐减小，在胁迫时间分别为 4、8、12、24 h 时，胞内电阻在 -1.2 MPa 的值分别比对照减小了 63.46%、24.78%、39.37% 和 27.37%。可见，随着胁迫时间的增加，胞内电阻比对照减小的幅度也在降低，这一点与胞外电阻的变化非常一致。对不同渗透胁迫水平，胞内电阻随时间的变化也表现出两种不一致的变化趋势，在对照水平以及 PEG 浓度较小（大于 -0.4 MPa）时，随着胁迫时间的增加，胞内电阻的数值逐渐减小，但当胁迫浓度进一步增大时，胞内电阻的数值表现为先增加后减小的趋势，并且都是在胁迫时间为 8 h 时胞内电阻达到最大值。

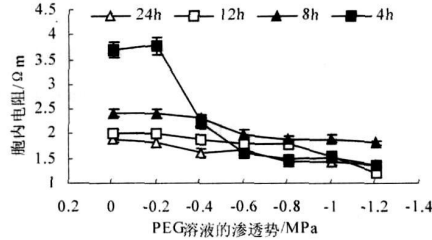


图 2 不同 PEG 胁迫浓度下小麦叶片的胞内电阻
Fig. 2 Intracellular resistance at different osmotic potential of PEG

2.3 PEG 溶液胁迫对弛豫时间的影响

由图 3 可见，与对照相比，随着 PEG 胁迫浓度的增加，弛豫时间呈现减小的趋势，如在胁迫时间分别为 4、8、12、24 h 时，在 PEG 渗透势为 -1.2 MPa 的弛豫时间分别比对照减小 54.30%、30.18%、42.95% 和 67.09%。可见，胁迫开始以及在胁迫后期，弛豫时间比对照减小的幅度较大。在同一个胁迫浓度下，随着时间的增加，弛豫时间

在数值上表现为逐渐增大。

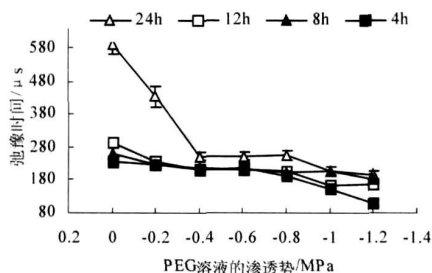


图 3 不同 PEG 胁迫浓度下小麦叶片的弛豫时间

Fig. 3 Relaxation time at different osmotic potential of PEG

2.4 PEG 溶液胁迫对弛豫时间分布系数的影响

由图 4 可见, 与对照相比, 随着 PEG 胁迫浓度的增加, 弛豫时间的分布系数在总体趋势上表现为先增大后减小, 但在各个胁迫浓度, 出现弛豫时间分布系数最大值的时间并不一致, 在同一个胁迫浓度下, 随着时间的增加, 弛豫时间分布系数在总的趋势上也表现为先增加后减小, 可见, 弛豫时间分布系数对胁迫浓度和胁迫时间的变化表现出一致的规律。

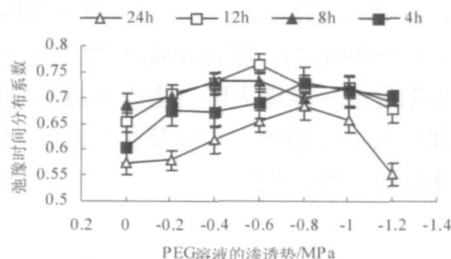


图 4 不同 PEG 胁迫浓度下小麦叶片的弛豫时间分布系数

Fig. 4 Distribution coefficient of relaxation time at different osmotic potential of PEG

2.5 统计检验

通过各个电阻抗参数对 PEG 溶液的渗透势做线性回归并进行 F 检验 (方程在 $P < 0.05$ 的水平显著表示为 *, 在 $P < 0.01$ 的水平显著表示为 **), 结果表明, 胞外电阻在 4、8、12、24 h 对 PEG 溶液渗透势的回归方程分别为 $y = 22.456x + 54.17^*$, $y = 5.45 + 37.11^*$, $y = 16.04x + 42.58^*$, $y = 1.56x + 33.31$, 决定系数 R^2 分别为 0.730、0.618、0.908、0.081, 胞内电阻在 4、8、12、24 h 对 PEG 溶液渗透势的回归方程分别为 $y = 1.56x + 33.31^{**}$, $y = 0.58x + 2.46^{**}$, $y = 0.61x + 2.12^{**}$, $y = 0.46x + 1.89^{**}$, 决定系数 R^2 分别为 0.798、0.898、0.857、0.904, 弛豫时间在 4、

8、12、24 h 对 PEG 溶液渗透势的回归方程分别 $y = 98.75x + 251.86^{**}$, $y = 52.09x + 247.20^{**}$, $y = 94.46x + 269.62^{**}$, $y = 292.45x + 488.02^*$, 决定系数 R^2 分别为 0.846、0.857、0.865、0.750, 弛豫时间分布系数在 4、8、12、24 h 对 PEG 溶液渗透势的回归方程分别为 $y = -0.078x + 0.637^*$, $y = -0.002x + 0.708$, $y = -0.02x + 0.701$, $y = -0.028 + 0.601$, 决定系数 R^2 分别为 0.678、0.002、0.041、0.059. 除了弛豫时间分布系数外, 其余电阻抗参数在各个胁迫时间对 PEG 溶液的渗透势都表现为显著或极显著的线形回归关系。因此, 可以通过回归方程推测样品在一定 PEG 胁迫浓度下电阻抗参数的大小。弛豫时间分布系数只是在胁迫开始表现出显著的线性回归, 以后对各个 PEG 溶液的渗透势线性较差。对 4 个电阻抗参数的相关性分析表明 (相关系数 r 在 $P < 0.05$ 的水平显著表示为 *, 在 $P < 0.01$ 的水平显著表示为 **), 在胁迫时间为 4 h 时, 胞外电阻和弛豫时间显著相关 ($r = 0.800$), 胞内电阻和弛豫时间分布系数显著负相关 ($r = -0.796$); 在胁迫时间为 8 h 时, 胞内电阻和弛豫时间显著正相关 ($r = 0.849$); 在胁迫时间为 12 h 时, 胞外电阻与胞内电阻、弛豫时间极显著正相关 ($r = 0.975^*$, $r = 0.883^*$), 胞内电阻和弛豫时间显著正相关 ($r = 0.816^*$); 在胁迫时间为 24 h 时, 胞内电阻和弛豫时间显著正相关 ($r = 0.872^*$)。

3 讨论

分析各个电阻抗参数随 PEG 溶液渗透势的变化规律, 在 PEG 渗透势递减的情况下, 胞外电阻和胞内电阻、弛豫时间都表现为不同程度的降低, 弛豫时间分布系数表现为先增大后减小, 随着胁迫时间的增加, 胞外电阻和胞内电阻在不同的胁迫浓度数值变化规律不一致, 但弛豫时间呈逐渐上升的趋势, 弛豫时间分布系数仍表现为先增大后减小的趋势。Mancuso 等^[9] 对油橄榄幼苗叶片的盐胁迫表明, 当 NaCl 的浓度从 0、25、50 一直增加到 100 mmol L^{-1} , 后, 叶片的胞外电阻、胞内电阻和弛豫时间都减小, 弛豫时间分布系数则表现为先降低又逐渐回升的态势, 因此, 前三个电阻抗参数的变化规律与我们的研究结果极为相似。

在对英国黑麦草的抗寒性研究中发现^[10], 经过 $-16^{\circ}C$ 的冷冻处理后, 茎的胞外电阻和弛豫时间减小。对苏格兰松树幼苗针叶的研究表明^[11], 在受到冷冻胁迫后, 所有的电阻参数均减小, 弛豫时间减小。Zhang 等^[12] 的研究表明, 当热害胁迫引

起对植物组织细胞的伤害日益严重时, 会导致胞外电阻和弛豫时间减小, 其中胞外电阻与受损原生质膜的 H^+ -ATPase 活性及细胞内的相对电解质渗透速率直接相关。

由试验结果我们初步推测 PEG 胁迫影响电阻抗参数变化可能的原因是: 水分胁迫导致原生质脱水, 膜透性增加, 内容物外渗。尤其是在 K^+ 离子外渗量增加时, 离子迁移率增大, 胞外和胞内电阻减小, 当然这种解释还有待于进一步的实验验证。

参考文献:

- [1] 吴强, 冯汉青, 李红玉, 等. 干旱胁迫对小麦幼苗抗氰呼吸和活性氧代谢的影响[J]. 植物生理与分子生物学学报, 2006 32(2): 217 - 224
- [2] 王玮, 邹琦. 渗透胁迫对不同抗旱性小麦品种胚芽鞘生长的影响[J]. 植物生理学通讯, 1997 33(3): 168 - 171
- [3] MACDOUGALL R G, THOMPSON R G, PIENE H. Stem electrical capacitance and resistance measurements as related to total foliar biomass of balsam fir trees[J]. Can J For Res, 1987, 17: 1071 - 1074
- [4] GREENHAM C G, HEIMS K, MULLER W J. Influence of virus infections on impedance parameters[J]. J Exp Bot, 1978, 29: 867 - 877.
- [5] COX M A, ZHANG M, WILLISON J H M. Apple bruise assessment through electrical impedance measurements

- [J]. J Hort Sci 1993 68 393 - 398
- [6] REPO T, ZHANG G, RYYPÖÄ, 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.
- [7] REPO T. Physical and physiological aspects of impedance measurements in plants[J]. Silva Fennica, 1988, 22: 181 - 193.
- [8] REPO T, OKSANEN E, VAPAAVUORIE. 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.
- [9] MANCUSO S, RINALDELLI E. Response of young mycorrhizal and non-mycorrhizal plants of olive tree (*Olea europaea* L.) to saline conditions II Dynamics of electrical impedance parameters of shoots and leaves[J]. Adv Hort Sci 1996 10: 135 - 145
- [10] REPO T, PULLIS. Application of impedance spectroscopy for selecting frost hardy varieties of English ryegrass[J]. Annals of Botany 1996 78: 605 - 609.
- [11] ZHANG G, RYYPÖÄ, REPO T. The electrical impedance spectroscopy of Scots pine needles during cold acclimation[J]. Physiol Plant 2002, 115: 385 - 392.
- [12] ZHANG M N, WILLISON J H M, COX M A, et al. Measurement of heat injury in plant tissues by using electrical impedance analysis[J]. Can J Bot 1993 71: 1605 - 1611.

The Response on Impedance Parameters of Wheat Leave at PEG Osmosis Stress

LIU Xiao-hong^{1,2}, WANG Guo-dong¹, ZHANG Gang³

(1. College of Science, Northwest A&F University, Yangling 712100, China

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

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

Abstract In order to find out electrical parameter of cell membrane at water stress, electrical impedance spectroscopy was applied to research the reaction of impedance parameters at different osmotic potential. Extracellular resistance, intracellular resistance, relaxation time and distribution coefficient of relaxation time of wheat leaves were determined at different osmotic potential. The regression analysis between impedance parameters and osmotic potential correlation analysis between impedance parameters were adopted. The results showed that extracellular resistance, intracellular resistance, relaxation time decreased. Distribution coefficient of relaxation time increased firstly and then decreased with increasing osmotic potential of PEG solution. Along with extending stress time, the rules of extracellular resistance, intracellular resistance behaved inconsistent. Relaxation time increased and distribution coefficient of relaxation time increased firstly, then decreased. Extracellular resistance, intracellular resistance and relaxation time behaved significant or extremely significant linear relationship with different osmotic potential.

Key words wheat leave; electrical impedance parameter; PEG