doi:10.6041/j.issn.1000-1298.2025.10.045

基于电阻抗谱的水稻叶片重金属胁迫生理响应检测

李美清[1,2]　李晋阳[1,2]　邢德科[1,2]

(1.江苏大学农业工程学院,镇江 212013;2.现代农业装备与技术教育部重点实验室,镇江 212013)

摘要:为探明非破坏性快速检测方法及时反映重金属导致水稻胁迫生长引起的生理变化响应,以盆栽水稻为试验对象,土壤中添加 3 种外源重金属(铜、锌、镍)处理水稻幼苗,设置重金属含量的 4 个水平,对处理 21 d 水稻叶片进行电阻抗谱(Electrical impedance spectrum, EIS)测定,后对叶片进行生理指标测定,以建立生理响应与电阻抗谱之间的相关性。试验结果表明,外源重金属导致水稻幼苗叶片电阻抗值 Re/Ri(胞内、胞外电阻比值)变化与电解质渗漏率和丙二醛(Malondialdehyde, MDA)含量高度相关,且与叶片选择有关。此外,铜(Cu)处理,顶部第 1 展开叶 Re/Ri 与 MDA 含量和电解质渗漏率相关性更高,相关系数可达 0.956 和 0.938;而锌(Zn)处理后的第 2 展开叶 Re/Ri 与 MDA 含量、电解质渗漏率有较高的相关性,相关系数分别达 0.944 和 0.969,而镍(Ni)处理第 1 展开和第 2 展开叶阻抗值与 MDA 含量、脯氨酸含量及电解质渗漏率均高度相关。综上,水稻叶片电阻抗谱测定值 Re/Ri 可以表征重金属对水稻胁迫的部分生理指标,有助于无损快速检测水稻胁迫状况。

关键词:水稻叶片;重金属;胁迫响应;电阻抗谱;检测;相关性

中图分类号:S157.4　　**文献标识码**:A　　**文章编号**:1000-1298(2025)10-0512-08　　**OSID**:

Detection of Physiological Response to Heavy Metal Stress in Rice (*Oryza sativa* L.) Leaves Based on Electrical Impedance Spectroscopy

LI Meiqing[1,2]　LI Jinyang[1,2]　XING Deke[1,2]

(1. *School of Agricultural Engineering*, *Jiangsu University*, *Zhenjiang* 212013, *China*
2. *Key Laboratory of Modern Agricultural Equipment and Technology*, *Ministry of Education*, *Zhenjiang* 212013, *China*)

Abstract: The aim was to use a non-destructive rapid monitoring method to timely reflect the physiological reaction and detection the response of rice leaves caused by heavy metals. A potted rice experiment was used, which treated with three kinds of exogenous heavy metals ions (copper, zinc, nickel) in soil, and four levels of heavy metal content were set. The electrical impedance spectroscopy technique can be employed for quickly diagnosis of the nutritional status of plants and serves as a non-destructive diagnostic method in agriculture. Therefore, rice leaves treated for 21 days were subjected to EIS analysis, followed by measurement of physiological response indexes to establish the correlation between physiological indexes and EIS parameters. Experimental results demonstrated a strong correlation changes in the electrical impedance Re/Ri of rice seedling leaves and electrolyte leakage rate, MDA levels, as well as leaf selection. Furthermore, under copper (Cu) treatments, the Re/Ri values of the first unfolding leaf at the top exhibited a higher correlation with MDA levels and electrolyte leakage rate, reaching coefficients of 0.956 and 0.938. Similarly, after zinc (Zn) treatment, the Re/Ri values of the second unfolded leaf showed significant correlations with MDA levels and electrolyte leakage rate, achieving coefficients of 0.944 and 0.969 respectively. Additionally, following nickel (Ni) treatment, both the first and second unfolded leaves displayed high correlations between their impedance values and MDA levels, proline content as well as leakage rate. In summary, these findings indicated that measuring Re/Ri in rice leaves can serve as an effective non-destructive method for rapidly assessing heavy metal stress on rice plants by reflecting various physiological indicators.

Key words: rice leaves; heavy metal; stress response; electrical impedance spectroscopy; detection; correlation

收稿日期:2024-09-06　修回日期:2024-10-21

基金项目:镇江市重点研发计划项目(NY2022008)和江苏高校优势学科建设工程项目(苏政办发[2023]87 号)

作者简介:李美清(1975—),女,副教授,主要从事植物营养机理与检测技术研究,E-mail:lmqljy@163.com

0　引言

随着现代化生产的发展，大量化肥施用、农药喷洒及工业污水不合理排放等原因，导致农田土壤重金属污染引起的问题日益突出[1-4]，也成为南方水稻种植的障碍。而土壤中重金属一旦超过风险控制标准值易导致胁迫植物的不良生理反应[5]，进而影响农产品产量和质量[6-7]。重金属过多引起的植株生理应答属于非生物胁迫，其干扰细胞的正常代谢，对植物细胞膜结构和非膜结构、生化反应和生理活性均有全面的影响[8]，导致植物表现出不同的电生理特性。目前重金属胁迫研究主要集中在对植物代谢物、亚细胞结构、渗透调节及抗氧化系统等方面的耐性和避性机理[9]，筛选耐性和避性品种，测定需要破坏性样本且相对时间长、耗资多。在实际生产中，急需测定相对时间短、耗资小的快速无损检测，利于及时指导水稻的健康生产和管理。

目前，植物由于胁迫产生的生理反应可通过多种快速检测如高光谱图像、荧光动力学结合图像法等诊断[10-14]。研究证实，植物电阻抗谱（EIS）也可以用来测定植物胁迫的生理反应，它是通过建立生物组织与电阻抗谱关系用于诊断植物生物电特性的快速无损检测方法。利用 EIS 可反映小麦叶片的水分胁迫程度[15]及植物组织的电学性质[16]；由于植物的营养状况造成了生理化学变化及对病害的反应不同，因此 EIS 也可用于诊断和预测作物各生育期叶片钾素状况和植物病害诊断[17-18]。此外，利用 EIS 可检测和诊断番茄叶片中磷（P）、氮（N）和钾（K）的敏感频率和敏感电参数，建立 P、N、K 营养检测模型[19-21]。尽管 EIS 通过建立模型在植物病害、营养及水分快速检测方面获得一定成果，但目前利用 EIS 的参数 Re/Ri 检测植物叶片重金属胁迫的研究较少。

EIS 主要反映植物电生理的变化，本课题组在前期研究中利用 EIS 植物检测方面积累一定经验。因此如能利用 EIS 无损检测叶片并建立与重金属胁迫的生理响应间关系，则可快速判定植物叶片是否产生不良反应，及时预防以避免对产量和品质产生影响。但不同重金属胁迫条件下电生理特性的不同可否同样采用电阻抗谱方法检测是本研究关注问题。鉴于此，本研究将开展 EIS 对水稻幼苗外源重金属胁迫下的叶片检测，并测定相对应水稻幼苗的生理响应指标，通过筛选后建立生理指标与 EIS 特征值 Re/Ri 间的相关性，以期为后续电阻抗谱技术快速测定水稻幼苗重金属胁迫生理响应检测提供理论支持和研究借鉴。

1　材料与方法

1.1　试验材料与检测原理

试验于 2021 年在江苏大学校园（32°12′N，119°27′E）进行。供试水稻品种为粳稻（苏香粳 100）。于 5 月下旬，水稻幼苗在育苗基质（泥炭与蛭石体积比为 2∶1）上长出三叶一心时，将每 20 株生长一致且健壮的水稻幼苗移栽到长 × 宽 × 高为 20 cm × 15 cm × 30 cm 塑料盆中，每盆盛 4.3 kg 棕壤土（采自校园内），其 pH 值为 6.45，有机质含量为 1.12 g/kg，速效氮、磷、钾含量为 17.23、8.90、66.45 mg/kg。根据水稻需肥量特点，移栽前施足底肥，施肥量按 N 165 kg/hm^2、P_2O_5 60 kg/hm^2、K_2O 45 kg/hm^2 折算。移栽后每盆保持表面 3 cm 浅水层。常规管理 14 d 后，每盆中保留长势一致且健壮的水稻苗 10 株，以减少前期外因及其它因素的影响，根据 GB 15618—2018《土壤环境质量 农用地土壤污染风险管控标准（试行）》，土壤 pH 值介于 5.5 ~ 6.5 的分类筛选值范围内时，土壤中 Cu^{2+}、Zn^{2+}、Ni^{2+} 含量分别高于 50、200、70 mg/kg 极有可能对土壤存在污染风险，因此基于此基础，试验中对土壤进行不同重金属试剂处理，各种试剂均采购于上海国药集团化学试剂有限公司，具体设置见表 1。试验采用 $CuSO_4 \cdot 5H_2O$、$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 及 $NiCl_2 \cdot 6H_2O$ 3 种不同重金属试剂处理，土壤中重金属含量分别设置 4 个水平，另外设置对照（CK）为未添加重金属处理，共计 13 个处理，每个处理 3 次重复。

表 1　重金属试验处理设计

Tab.1　Design of trial treatment　mg/kg

处理	重金属离子含量	处理	重金属离子含量
CK	0	Zn－3	250
Cu－1	20	Zn－4	300
Cu－2	50	Ni－1	50
Cu－3	100	Ni－2	100
Cu－4	150	Ni－3	150
Zn－1	150	Ni－4	200
Zn－2	200		

重金属处理 21 d 后，分别对不同处理的水稻选择植株叶片进行电阻抗谱测量，测定方法步骤见 1.2 节，测定完毕后采集所测叶片的植株地上部，分别进行抗氧化酶活性、丙二醛（MDA）含量、脯氨酸（Pro）含量及膜透性同步测定。具体测定方法见 1.3 节。

1.2　阻抗谱测量原理

使用 1260A 型阻抗分析仪（Solartron Analytical，英国）进行阻抗测量（图 1a）。阻抗分析仪基本精度

分别为幅度测量 0.1% 和相位测量 0.1°,该分析仪已被用于活体的生物阻抗测量。阻抗分析仪详细原理和方法见课题组早前的研究结果[19-21]。


(a) 1260A型阻抗分析仪

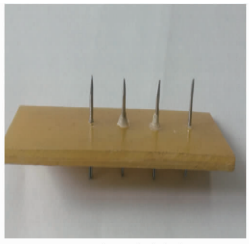

(b) 固定植物样本的不锈钢针配件

图 1 阻抗分析仪及配件

Fig. 1 Analyzer of EIS and its parts

在电阻抗测定时,通常选定的待测部位以 4 个夹子夹持(2 个红色和 2 个黄色),如图 1a 中的 EIS 测量。考虑到水稻叶子薄且窄,夹子夹持可能有穿透电流,故截取长度相等的不锈钢钢丝 4 节(长 2 cm,直径 1 mm)加工,将其一端用砂轮打磨成尖头的钢针,4 根钢针以相同距离固定在绝缘板上(厚度 2 mm),如图 1b 所示。使用时针尖一端插入选定生物材料部位,最大限度降低对叶片的损伤,钢针另一端用阻抗分析仪的夹子夹紧。针穿透水稻生物材料,全面反映生物内部结构和组成的电阻抗变化。电阻抗分析通常是利用测定生物组织的等效电路来表征试验频率对阻抗的响应,因此通过监测等效电路参数的变化,可以量化生物材料的物理性质。电阻 R 和电抗 X 计算式为

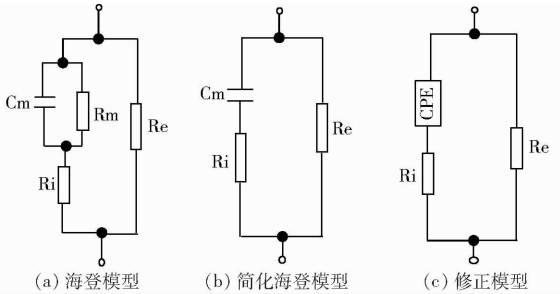
$$R = |Z|\cos\theta \tag{1}$$

$$X = |Z|\sin\theta \tag{2}$$

式中 Z——复阻抗

θ——相位角

复阻抗的 R 和 X 间关系用 Cole-Cole 图表示。从图 2(图中 Rm 为细胞膜胞内电阻,Cm 为细胞膜电容,Ri 为胞内电阻,Re 为胞外电阻)中选取生物组织的等效电路模型,根据植物生长过程中,在假想细胞膜内外以电阻抗反映细胞膜内外电解液浓度的变化,而其它生理变化考虑为常相位元件,选用图 2c 简化修正模型,采用内外阻抗比来反映生理变化。



(a) 海登模型 (b) 简化海登模型 (c) 修正模型

图 2 生物组织等效电路模型

Fig. 2 Equivalent circuit models for biological tissues

选取处理后水稻样本,分别选择顶部完全展开的第 1 和第 2 片新叶(每片叶子选择距主脉一定范围为测定区),进行电阻抗快速测量,每个样本重复 5 次。测定数据导出后,采用阻抗谱拟合软件 ZView 3.1 进行分析,求出胞内、胞外电阻值。

1.3 生理生化指标测定方法及数据分析

EIS 快速测量完成后,用去离子水冲干净电阻抗谱测定样品,叶片中丙二醛(MDA)含量采用文献[22-23]方法利用 0.25% 硫代巴比妥酸显色比色法测定。水稻叶片相对电导率和脯氨酸(Pro)含量测定参照文献[24]方法,Pro 含量测定用新鲜叶片以 40% 甲醇提取,酸性水合茚三酮显色法,沸水浴甲苯提取并在 520 nm 测定,叶片相对电导率(%)利用新鲜叶片沸水煮沸剪碎后使用叶片电导仪测定,反映细胞渗漏率,计算式为:$Y = (L - L_0)/(1 - L_0) \times 100\%$,其中 L 和 L_0 分别为处理和对照叶片(CK)的相对电导度。采用 TAN 等[25]的方法测定新鲜展开叶片中超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)活性。

所有测试指标测定结束后。数据采用 SPSS 20.0 软件和 Excel 进行各重金属单因素方差分析($P < 0.05$),数据为 3 次重复的平均值 ± 标准差。

2 结果与分析

2.1 不同重金属处理下水稻叶片生理胁迫指标

2.1.1 不同重金属胁迫下叶片 Pro 变化

外源重金属胁迫下水稻叶片 Pro 含量如图 3(图中不同小写字母表示处理间差异显著($P < 0.05$),下同)所示。Pro 含量在铜处于低于风险值的处理 Cu-1 达到最高,为对照的 3.55 倍,而其它 3 个剂量铜处理的 Pro 含量也高于对照,为 CK 处理的 1.45 ~ 1.82 倍。低风险重金属 Zn-1 处理水稻叶片 Pro 含量也显著增加,其含量为对照的 1.53 倍,而随着锌添加量增加叶片 Pro 含量有下降趋势,但数值上高于 CK,与对照 CK 在统计学上无显著差

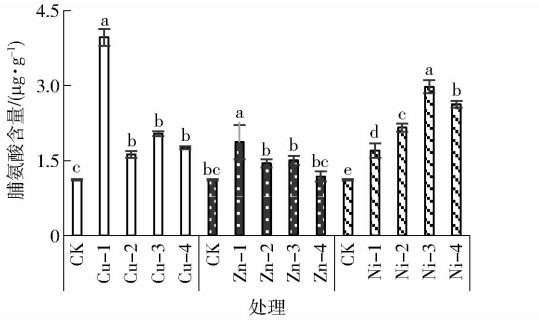


图 3 重金属胁迫对水稻叶片 Pro 含量的影响

Fig. 3 Effect of heavy metal on Pro content of rice leaf

异。镍处理叶片 Pro 含量总体上远高于对照 CK，但随着镍添加量增加，叶片 Pro 含量呈显著增加、到处理 Ni－3 达到最高后又在 Ni－4 有下降趋势。

2.1.2　重金属胁迫对水稻叶片 CAT、SOD 和 POD 的影响

随重金属胁迫种类和数量的不同，水稻叶片 CAT、SOD、POD 活性变化趋势也不同，如图 4 所示。外源 Cu－3、Zn－3 及 Ni－2 胁迫引起水稻叶片 POD 活性达到最高，然后随着重金属添加量继续增高时，POD 酶活性显著下降（图 4a）。外源铜、锌及镍处理均导致 SOD 活性增强，但各铜添加量处理下叶片中 SOD 活性差异不显著，而锌、镍处理叶片中 SOD 活性在 Zn－3 和 Ni－3 最强，而其余处理间差异不显著（图 4b）。CAT 活性在不同剂量铜处理下均高于对照（图 4c），且随着添加量升高在 Cu－3 达到最高后略有下降，锌处理下均提高了叶片中 CAT 活性，Zn－2 处理 CAT 活性最强，随后随添加量增加活性有所下降，镍处理 CAT 活性从 Ni－1 到 Ni－3 依次增强，但与对照相比 Ni－4 抑制了 CAT 活性。

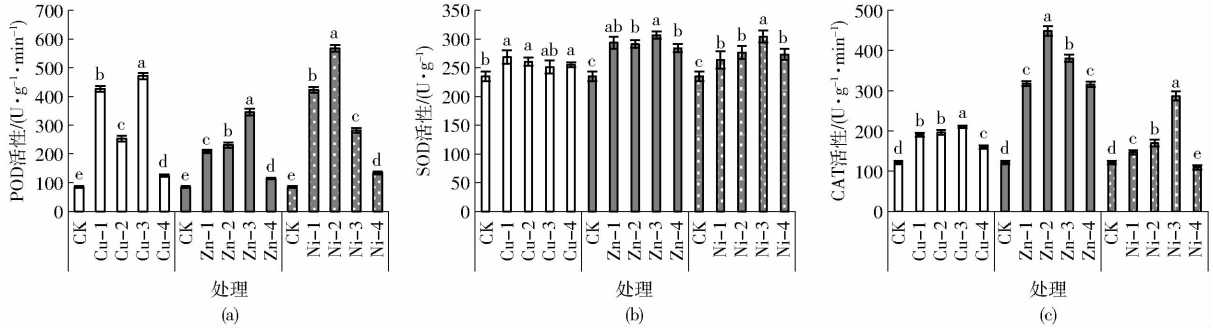


图 4　重金属胁迫对抗氧化酶活性的影响

Fig. 4　Effects of different content heavy metal stress on antioxidant enzyme

2.1.3　不同重金属胁迫下叶片细胞膜透性

叶片细胞膜透性可采用相对电导率反映其渗漏率，土壤中适量增加 3 种微量元素（Cu－1、Zn－1 和 Ni－1），可降低叶片的电导率（相较于 CK，图 5）。随着重金属添加量增加，电导率明显呈上升趋势，反映其电解质渗漏率增加，其中 Cu－4、Zn－4 和 Ni－3 增加率最高，分别比对照增加 51.3%、54.4% 及 57.1%。

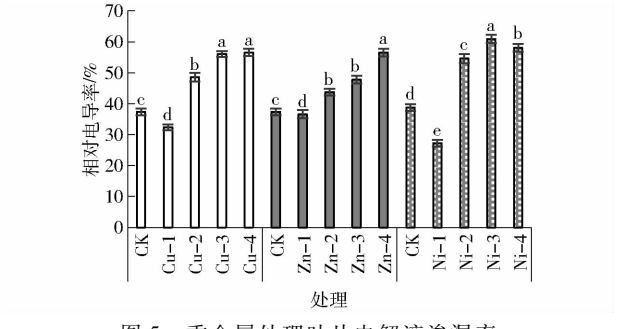


图 5　重金属处理叶片电解液渗漏率

Fig. 5　Electrolyte leakage rate of leaf exposed to different heavy metal treatments

2.1.4　不同重金属胁迫下叶片 MDA 含量

从图 6 可以看出，低于土壤环境风险值的处理（Cu－1、Zn－1 和 Ni－1）叶片 MDA 含量与 CK 相比无显著差异，但随着土壤铜、锌及镍重金属添加量增加，均导致水稻叶片中 MDA 含量呈上升趋势，Cu－4、Zn－4 及 Ni－3 的 MDA 含量达到最高，分别为 CK 的 1.7、1.55、2.0 倍。

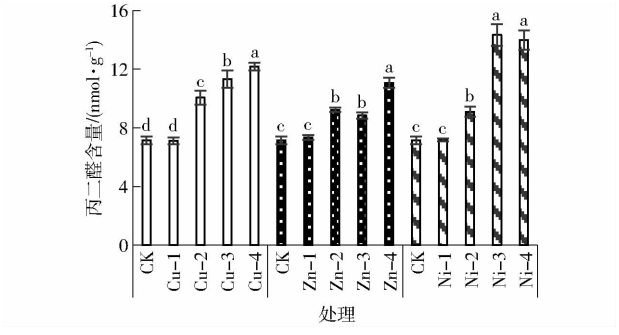


图 6　不同重金属处理水稻叶片丙二醛含量

Fig. 6　MDA content in rice leaf treated with different heavy metals

2.2　重金属胁迫下水稻叶电阻抗谱检测与相关性

2.2.1　重金属胁迫下水稻叶电阻抗谱检测

分别进行了水稻植株顶部的第 1 完全展开叶和第 2 展开叶的电阻抗值 Re/Ri（胞内、胞外电阻值比值）测量（图 7）。随土壤中不同重金属添加量增加，第 1 展开叶和第 2 展开叶的 Re/Ri 不完全相同。铜处理相较于 CK，Cu－1 第 1 展开叶的 Re/Ri 变化不大，但当处理从 Cu－2 到 Cu－4 时，第 1 展开叶的 Re/Ri 先快速增加后趋于缓慢增加；而第 2 展开叶在 Cu－1 及 Cu－2 处理与对照的 Re/Ri 相比呈缓慢增长，但 Cu－3 及 Cu－4 处理的 Re/Ri 增加明显，各 Cu 处理下第 1 展开叶的 Re/Ri 比第 2 展开叶的 Re/Ri 总体表现更高（图 7a）；不同锌和镍处理如图 7b 和图 7c 所示，水稻第 1 展开叶的 Re/Ri 在 Zn－1、Zn－2 及 Ni－1 和 Ni－2 比第 2 展开叶高，但

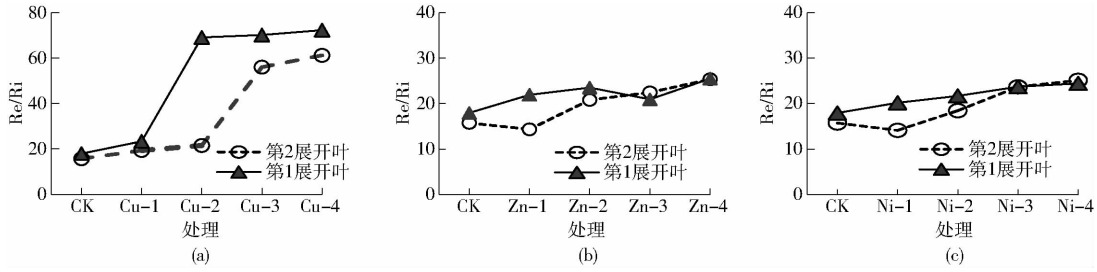


图 7 不同重金属胁迫水稻叶片 Re/Ri 变化曲线

Fig. 7 Re/Ri for rice leaf in different heavy metal stress treatments

随着这两种重金属添加量的继续增加第 1 和第 2 展开叶的 Re/Ri 接近。

2.2.2 重金属胁迫下水稻叶电阻抗值与胁迫生理指标相关性

电阻抗值与生理指标相关性分析结果如表 2 ~ 4 所示。表中从顶部第 1 展开叶的 Re/Ri 和第 2 展开叶的 Re/Ri 分别记为 Re/Ri - 1 和 Re/Ri - 2。铜处理下水稻叶片中有关的胁迫生理指标 MDA 和相对电导率与电阻抗值的相关性较高,且第 1 展开叶的 MDA 和相对电导率(电解质外渗率)与电阻抗值相关系数分别达 0.956 和 0.938 (表 2)。锌处理第 2 展开叶的 MDA、相对电导率与电阻抗值有很高的相关系数,分别达到 0.944 和 0.969 (表 3)。而镍处理下,第 1 和第 2 展开叶电阻抗值与 MDA、相对电导率及 Pro 等生理指标的相关性也较高,相关系数分别不小于 0.806 和 0.873(表 4)。

表 2 铜处理下电阻抗值与生理指标相关系数

Tab. 2 Correlation coefficient between impedance value and physiological indexes under different Cu treatments

	Re/Ri - 2	Re/Ri - 1	MDA	相对电导率	CAT	POD	SOD	Pro
Re/Ri - 2	1							
Re/Ri - 1	0.743	1						
MDA	0.892	0.956	1					
相对电导率	0.868	0.938	0.981	1				
CAT	0.272	0.536	0.375	0.322	1			
POD	0.116	0.119	0.020	-0.011	0.863	1		
SOD	0.030	0.232	0.105	-0.058	0.708	0.566	1	
Pro	-0.147	-0.301	-0.334	-0.467	0.478	0.682	0.779	1

表 3 锌处理下电阻抗值与生理指标值相关系数

Tab. 3 Correlation coefficient between impedance value and physiological indexes under different Zn treatments

	Re/Ri - 2	Re/Ri - 1	相对电导率	MDA	CAT	SOD	POD	Pro
Re/Ri - 2	1							
Re/Ri - 1	0.667	1						
相对电导率	0.969	0.719	1					
MDA	0.944	0.848	0.963	1				
CAT	0.480	0.664	0.369	0.483	1			
SOD	0.421	0.589	0.379	0.399	0.888	1		
POD	0.189	0.049	0.050	0.000	0.713	0.809	1	
Pro	-0.413	0.095	-0.404	-0.354	0.471	0.646	0.586	1

表 4 镍处理下电阻抗值与生理指标相关系数

Tab. 4 Correlation coefficient between impedance value and physiological indexes under different Ni treatments

	Re/Ri - 2	Re/Ri - 1	MDA	Pro	POD	CAT	SOD	相对电导率
Re/Ri - 2	1							
Re/Ri - 1	0.903	1						
MDA	0.979	0.923	1					
Pro	0.873	0.964	0.927	1				
POD	-0.295	0.062	-0.249	0.125	1			
CAT	0.334	0.381	0.470	0.612	0.267	1		
SOD	0.661	0.826	0.760	0.935	0.369	0.804	1	
相对电导率	0.904	0.806	0.861	0.831	-0.036	0.458	0.698	1

3　讨论

Pro 含量增加是植物应对外界环境产生的一种保护性和抗性性状，重金属毒性会导致植物体内水分失衡，导致参与细胞渗透调节的 Pro 蛋白大量增加[26-27]。因此适宜剂量铜和锌处理的水稻叶片 Pro 含量增加可以起到缓解叶片的胁迫作用，但缓解胁迫的能力随外源铜、锌剂量的增加而抗逆性有所降低，因此导致 Cu－4 和 Zn－4 Pro 含量虽有下降，但与对应 Cu－3 和 Zn－3 处理的 Pro 含量统计学上差异不显著，而 Ni－4 则比 Ni－3 显著降低，但远高于对照，这与叶片受高剂量重金属胁迫导致植物吸收水分受到限制，植株受到严重伤害，细胞和代谢功能被破坏，生理代谢出现反常有关[28]，而叶片 MDA 含量是反映细胞膜受损的指标，水稻叶片在高剂量重金属胁迫下，MDA 含量显著增加也证实植株的生理代谢反常，因此高剂量重金属处理下水稻叶片 Pro 含量会有所降低但高于 CK。

水稻叶片 POD、SOD 活性在铜、锌及镍处理下均增高，这说明外源重金属胁迫有助于维持细胞氧化还原动态平衡[29-30]，但胁迫处理剂量过高时，可能会破坏保护酶系统，酶活性略有下降[31-32]。重金属铜及锌处理下，叶片 CAT 活性均增加，但镍处理在 Ni－4 急剧下降，不同的活性变化趋势可能与叶片中各种重金属被细胞膜结合钝化或转运有关[33]。

叶片细胞膜在外源重金属达到或超过土壤临界风险值后产生一定程度的渗漏，这是重金属胁迫下巯基化合物含量下降、膜脂过氧化，因而叶片透性增加的原因[34]，该渗漏率可作为重金属胁迫下细胞膜损伤的判据。不同重金属胁迫引起的 MDA 也可以揭示细胞膜损伤程度[35-36]，随着重金属处理剂量增加，达到土壤风险值或高于风险值后，MDA 含量增加，这意味着水稻叶片的脂质过氧化加剧，细胞膜稳定性降低，造成了对叶细胞膜一定的损伤而影响其生物学功能[37]，因此导致重金属达到或超过土壤临界风险值后有一定的渗漏。

电阻抗测定胞内电阻值和胞外电阻值是基于设定叶片细胞膜外和细胞内的电阻抗因不同胁迫条件会不同为基础。Re/Ri 在正常情况下具有相对稳定值，但当 Re/Ri 增加说明细胞膜外离子量更多而细胞膜内则相对降低，因此利用 EIS 可反映植物叶片细胞膜内外离子含量相对变化。在该试验研究中，重金属离子 Cu^{2+}、Zn^{2+} 和 Ni^{2+} 在植物叶片中能以离子态存在并且易移动，且在新叶中相对含量较高，一旦胁迫导致新展开叶生理胁迫效应更明显，同时发生电生理变化，导致 Re/Ri 在不同重金属剂量下表现不同，因此 Cu、Zn 和 Ni 重金属作用下叶片相比于 CK 处理，低剂量重金属处理未增加叶片 Re/Ri，但随着重金属剂量增加各处理 Re/Ri 呈上升趋势，意味着电阻抗值与超剂量重金属胁迫引起的叶片电生理特性密切相关，能反映叶片生理变化[16]。Re/Ri 与生理指标相关性分析进一步表明，利用 Re/Ri 反映胁迫生理特征与选用测定叶片相关。铜处理叶片第 1 展开叶 Re/Ri－1 与 MDA 含量和渗漏率的相关性优于第 2 展开叶 Re/Ri－2，锌处理电阻抗值与顶部第 2 展开叶的 MDA、渗漏率相关性更高，而镍处理顶部第 1 和第 2 展开叶阻抗值与 MDA 含量、相对电导率及 Pro 含量相关性均较高，上述 Re/Ri 与逆境生理指标间的不同高度相关性可能与水稻对不同重金属胁迫形成的耐性和避性机制有关[9]，因此导致各生理胁迫指标响应不同。

重金属在植物体内的移动特点和积累部位不同导致电阻抗谱在重金属检测中的应用存在一定局限性。在未来研究中，应着重考虑叶片中重金属的移动和积累特征，利用 EIS 对不同部位进行多次测量，获得更准确的重金属作用下叶片 Re/Ri，为后续研究提供理论数据和参考。

4　结论

（1）不同重金属胁迫引起的水稻幼苗逆境生理变化不同，与添加量和种类有关。重金属铜、锌、镍处理下叶片的抗氧化酶活性增强，而脯氨酸含量呈先增后降趋势但高于 CK，重金属胁迫导致电解液渗透率和 MDA 含量增加，导致电生理发生变化，表现出 Re/Ri 明显改变。

（2）Re/Ri 可用来测定重金属胁迫的叶片生理响应，但 Re/Ri 与重金属种类和处理剂量及选定叶片有关，且随着处理剂量增加 Re/Ri 增加。重金属铜胁迫选用顶部第 1 展开叶电阻抗值与电解质渗漏率和 MDA 含量能获得更高的相关性，相关系数达 0.956 和 0.938；锌胁迫处理第 2 展开叶电阻抗值与叶片 MDA 含量、电解质渗漏率的相关性更好，相关系数达 0.944 和 0.969；镍胁迫采用顶部第 1、第 2 展开叶阻抗值与叶片 MDA 含量、电解质渗漏率及 Pro 含量都有极高相关系数，分别不小于 0.806 和 0.873。

（3）电阻抗测量 Re/Ri 可检测重金属的胁迫程度，有利于重金属胁迫的快速测定。在测定过程中铜和镍胁迫选用水稻第 1 展开叶测定精度更好，而锌胁迫则优先选用第 2 展开叶测定，这为电阻抗分析仪的重金属胁迫检测提供了数据支撑。

参 考 文 献

[1] 环境保护局,国土资源部. 全国土壤污染调查报告[R]. 2014.

[2] LIU Q, SUN X, HU A, et al. Characteristics of toxic metal accumulation in farmland in relation to long-term chicken manure application: a case study in the Yangtze River delta region, China[J]. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 2014, 92: 279 - 284.

[3] 黄绍文,唐继伟,李春华. 我国商品有机肥和有机废弃物中重金属、养分和盐分状况[J]. 植物营养与肥料学报,2017, 23(1):162 - 173.
HUANG Shaowen, TANG Jiwei, LI Chunhua. Status of heavy metals, nutrients, and total salts in commercial organic fertilizers and organic wastes in China[J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizer, 2017, 23(1):162 - 173. (in Chinese)

[4] SHEN T L, LIU L, LI Y C, et al. Long-term effects of untreated wastewater on soil bacterial communities[J]. Science of the Total Environment, 2018, 646:940 - 950.

[5] ALI S, FAROOQ M A, YASMEEN T, et al. The influence of silicon on barely growth, photosynthesis and ultra-structure under chromium stress[J]. Ecotoxicology and Environment Safe, 2013, 89:66 - 72.

[6] PATRA M, BHOWMIK N, BANDOPADHYAY B, et al. Comparison of mercury lead and arsenic with respect to genotoxic effects on plant system and the development of genetic tolerance[J]. Environmental and Experimental Botany, 2004, 52:199 - 223.

[7] XIE L P, HAO P F, CHENG Y, et al. Effect of combined application of lead, cadmium, chromium and copper on grain, leaf and stem heavy metal contents at different growth stages in rice[J]. Ecotoxicology and Environment Safe, 2018, 162:71 - 76.

[8] 邓思涵,陈聪颖,严冬,等. 水稻重金属污染及其阻控技术研究[J]. 中国稻米,2019,25(4): 27 - 30.
DENG Shihan, CHEN Congying, YAN Dong, et al. Study on heavy metal pollution in rice and its control techniques[J]. China Rice, 2019, 25(4):27 - 30. (in Chinese)

[9] 王若男,乜兰春,张双双,等. 植物抗重金属胁迫研究进展[J]. 园艺学报,2019,46(1):157 - 170.
WANG Ruonan, NIE Lanchun, ZHANG Shuangshuang, et al. Research progress on plant resistance to heavy metal stress[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2019, 46(1):157 - 170. (in Chinese)

[10] 王怡田,张小敏,姜海益,等. 基于高光谱成像技术的油菜苗期光照胁迫诊断[J]. 浙江大学学报,2022, 48(1):106 - 116.
WANG Yitian, ZHANG Xiaomin, JIANG Haiyi, et al. Light stress diagnosis of rapeseed seedling stage based on hyperspectral imaging technology[J]. Journal of Zhejiang University, 2022, 48(1): 106 - 116. (in Chinese)

[11] 张小敏,张延宁,姜海益,等. 基于高光谱成像的油菜苗期温度胁迫检测方法[J]. 农业机械学报,2021,52(6): 232 - 241,276.
ZHANG Xiaomin, ZHANG Yanning, JIANG Haiyi, et al. Temperature stress detection method of rapeseed seedling stage based on hyperspectral imaging[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2021, 52(6):232 - 241, 276. (in Chinese)

[12] 刘爽,于海业,陈美辰,等. 大豆不同水氮胁迫响应规律的高光谱分析[J]. 光谱学与光谱分析,2020,40(5):1575 - 1580.
LIU Shuang, YU Haiye, CHEN Meichen, et al. Study on response of water and nitrogen stresses in soybean based on hyperspectral analysis[J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2020, 40(5):1575 - 1580. (in Chinese)

[13] 梁晓颖,张紫婷,杨硕,等. 基于高光谱成像的小麦赤霉病严重度轻量化检测方法[J]. 农业机械学报,2025, 56(6): 218 - 227.
LIANG Xiaoying, ZHANG Ziting, YANG Shuo, et al. Hyperspectral imaging-based lightweight detection method for rapid detection of *Fusarium* heat blight severity in wheat[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2025, 56(6):218 - 227. (in Chinese)

[14] 周春艳,华灯鑫,乐静,等. 结合图像的叶绿素荧光动力学植物水分胁迫探测方法[J]. 农业机械学报, 2017,48(1):148 - 154.
ZHOU Chunyan, HUA Dengxin, LE Jing, et al. Detection method for plant water stress with chlorophyll fluorescence kinetics based on image[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2017, 48(1):148 - 154. (in Chinese)

[15] 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.
LIU Xiaohong, WANG Guodong, ZHANG Gang. The relationship between electrical impedance spectroscope parameters and physiological parameters of wheat leaves under drought stress[J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2007, 27(5): 970 - 976. (in Chinese)

[16] MASI E, AZZARELLO E, MANCUSO S. Multielectrode array: a new approach to plant electrophysiology[M]// VOLKOV A G. Plant electrophysiology: methods and cell electrophysiology. Springer Heidelberg New York Dordrecht London, 2012:187 - 204.

[17] 刘洋,王涛,吴海云,等. 基于叶片组织汁液阻抗的玉米钾营养状况监测[J]. 农业机械学报,2013,44(1):185 - 189.
LIU Yang, WANG Tao, WU Haiyun, et al. Diagnosis on potassium nutrition of maize using impedance parameter of leaf tissue juice[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2013, 44(1):185 - 189. (in Chinese)

[18] BORGES E, MATOS A P, CARDOSO J M, et al. Early detection and monitoring of plant diseases by bioelectric impedance

spectroscopy[C]//IEEE 2nd Portuguese Meeting in Bioengineering, 2012:1 – 4.

[19] LI M Q, LI J Y, MAO H P, et al. Diagnosis and detection of phosphorus nutrition level for *Solanum lycopersicum* based on electrical impedance spectroscopy[J]. Biosystems Engineering, 2016, 143: 108 – 118.

[20] LI M Q, LI J Y, WEI X H, et al. Early diagnosis and monitoring of nitrogen nutrition stress in tomato leaves using electrical impedance spectroscopy[J]. International Journal of Agricultural and Biological Engineering, 2017, 10:194 – 205.

[21] LI J Y, LI M Q, MAO H P. Diagnosis of potassium nutrition level in *Solanum lycopersicum* based on electrical impedance[J]. Biosystems Engineering, 2016, 147: 130 – 138.

[22] WANG K, CAI J, XIE S L, et al. Phytoremediation of phenol using polygonum orientale and its antioxidative response[J]. Archives of Environment Protection, 2015, 41:39 – 46.

[23] 邹琦. 植物生理学实验指导[M]. 北京:中国农业出版社,2001:173 – 174.

[24] SAIBIET W, FEKI K, MAHMOUD R B. Durum wheat dehydrin (DHN – 5) confers salinity tolerance to transgenic *Arabidopsis* plants through the regulation of proline metabolism and ROS scavenging system[J]. Planta, 2015, 242:1187 – 1194.

[25] TAN W, LIU J, DAI T, et al. Alterations in photosynthesis and antioxidant enzyme activity in winter wheat subjected to post-anthesis water-logging[J]. Photosynthetica, 2008, 46:21 – 27.

[26] CLEMENT S. Toxic metal accumulation, response to exposure and mechanism of tolerance in plant[J]. Biochimie, 2006, 88: 1707 – 1719.

[27] RADY M M, HEMIDA K A. Modulation of cadmium toxicity and enhancing cadmium-tolerance in maize seedlings[J]. Ecotoxicology and Environment Safety, 2015, 119:178 – 185.

[28] 张浩,陆宁,钱晓刚,等. 不同类型土壤重金属胁迫对烟叶脯氨酸含量的影响[J]. 贵州农业科学,2014,42(1):127 – 131.
ZHANG Hao, LU Ning, QIAN Xiaogang, et al. Effects of different concentrations of heavy metals on tobacco proline content in four soil types[J]. Guizhou Agricultural Sciences, 2014, 42(1):127 – 131. (in Chinese)

[29] 崔慧萍,周薇,郭长虹. 植物过氧化物酶体在活性氧信号网络中的作用[J]. 中国生物化学与分子生物学报,2017, 33(3): 220 – 226.
CUI Huiping, ZHOU Wei, GUO Changhong. The role of plant peroxisomes in ROS signaling networks[J]. Chinese Journal of Biochemistry and Molecular Biology, 2017, 33(3): 220 – 226. (in Chinese)

[30] YUN B W, SPOEL S H, LOAKE G J. Synthesis of and signaling by small, redox active molecules in the plant immune response[J]. Biochimica et Biophysica Acta, 2012, 1820:770 – 776.

[31] LIU Y, CHEN J, LU S. Increased lead and cadmium tolerance of *Typha angustifolia* from Huaihe River is associated with enhanced phytochelatin synthesis and improved antioxidative capacity[J]. Environmental Technology, 2016, 37:2743 – 2749.

[32] CHAABENE Z, HAKIM I R, RORAT A, et al. Copper toxicity and data palm (*Phoenix dactylifera*) seedlings tolerance: monitoring of related biomarker[J]. Environmental Toxicology and Chemistry, 2018, 37:797 – 806.

[33] 马云芳,梁国鲁,裴得胜,等. ABC 转运蛋白研究的新进展[J]. 生物技术通报, 2008(5):35 – 41.
MA Yunfang, LIANG Guolu, PEI Desheng, et al. Advances of studies on ABC transporter protein[J]. Biotechnology Bulletin, 2008(5):35 – 41. (in Chinese)

[34] DEVOS C H R, SCHAT H, VOOIJS R, et al. Copper-induced damage to the permeability barrier in roots of *Silene cucubalus* [J]. Journal of Plant Physiology, 1989, 135:165 – 169.

[35] NIMIR N E A, LU S, ZHOU G, et al. Comparative effects of gibberellic acid, kinetin and salicylic acid on emergence, seedling growth and the antioxidant defense system of sweet sorghum (*Sorghum bicolor*) under salinity and temperature[J]. Crop & Pasture Science, 2015, 66:145 – 157.

[36] JUNG H I, LEE B R, CHAE M J, et al. Sulfur alleviates cadmium toxicity in rice (*Oryza sativa* L.) seedlings by altering antioxidant levels[J]. Journal of Crop Science and Biotechnology, 2017, 20:213 – 220.

[37] 李春烨,丁国华,刘保东. 重金属影响植物细胞超微结构和功能的研究进展[J]. 中国农学通报, 2013,29(18): 114 – 118.
LI Chunye, DING Guohua, LIU Baodong. Research progress of heavy metals affecting plant cell ultrastructure and function [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2013, 29(18):114 – 118. (in Chinese)