

# 渗透胁迫下玉米叶片电位波动边际谱的变化与意义

刘 锴<sup>1</sup>, 习 岗<sup>1</sup>, 贺瑞瑞<sup>1</sup>, 余宁梅<sup>2</sup>

(1. 西安理工大学理学院应用物理系, 西安 710054; 2. 西安理工大学自动化与信息工程学院, 西安 710048)

**摘 要:** 植物叶片电位波动是来自于活细胞的生命信息。为了解读植物叶片电位波动的频谱特征及其意义, 该文采用 HHT (Hilbert-Huang transform) 方法研究了渗透势为 $-0.1$  MPa 的渗透胁迫下玉米幼苗叶片电位波动边际谱的变化规律及其意义, 计算了边际谱特征参数边缘频率 SEF (spectral edge frequency)、重心频率 SCF (spectral center frequency)、边际谱熵 MSE (marginal spectrum entropy) 和动作电位灵敏指数  $Q$ 。结果表明, 玉米幼苗叶片电位波动的边际谱是分布在  $0.5$  Hz 以内的连续谱, 在渗透胁迫下, SEF 和 SCF 呈现出先减小后增加再减小的变化趋势, 动作电位灵敏指数  $Q$  的变化与之相反, MSE 表现出先增加再下降的变化趋势。通过与叶片生理指标 MDA (malondialdehyde) 和叶绿素含量变化的对比研究, 发现 MSE 的峰值时间可以作为叶片细胞对渗透胁迫自我调节和适应性反应限度的标志,  $Q$  值的大小可以作为玉米叶片细胞对渗透胁迫反应灵敏度的标志, 依据渗透胁迫下玉米幼苗叶片电位波动边际谱特征参数的变化, 有可能对玉米叶片细胞的功能状态进行实时、在位和无损伤检测。

**关键词:** 作物; 渗透; 胁迫; 玉米; 电位波动; 边际谱; Hilbert-Huang transform

doi: 10.11975/j.issn.1002-6819.2017.01.027

中图分类号: Q64 文献标志码: A 文章编号: 1002-6819(2017)-01-0199-07

刘 锴, 习 岗, 贺瑞瑞, 余宁梅. 渗透胁迫下玉米叶片电位波动边际谱的变化与意义[J]. 农业工程学报, 2017, 33(1): 199-205. doi: 10.11975/j.issn.1002-6819.2017.01.027 http://www.tcsae.org

Liu Kai, Xi Gang, He Ruirui, Yu Ningmei. Changes and significance of marginal spectrum on maize leaves potential fluctuations under osmotic stress[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2017, 33(1): 199-205. (in Chinese with English abstract) doi: 10.11975/j.issn.1002-6819.2017.01.027 http://www.tcsae.org

## 0 引 言

植物叶片电位波动起源于叶片细胞中离子跨膜运输引起的膜电位的变化, 还与细胞之间的电偶联有关, 解读叶片电位波动所隐含的生命信息对于研究植物的信号传导、抗逆性评价、生态与环境监测、生长调节以及精准农业等许多领域都具有重要意义<sup>[1-5]</sup>。

但是, 植物叶片电位波动具有振幅不断变化的非平稳特征<sup>[1,6-7]</sup>, 如何分析貌似无序的叶片电位波动的规律及意义是一个难点。研究发现, 虽然植物叶片电位波动的振幅随机变化, 其频谱分布是连续和稳定的<sup>[4,8]</sup>。因此, 分析植物叶片电位波动的频谱特征及其变化规律有可能为应用研究打开一个门径。

HHT (Hilbert-Huang transform, HHT) 是以希尔伯特变换为基础的一种新的信号处理方法, 该方法能够根据信号特点自适应分解非线性非平稳信号, 得到准确的谱结构<sup>[9-10]</sup>, 特别适合植物叶片电位波动的研究。由 HHT 方法获得的信号在频域上的分布称边际谱<sup>[11]</sup>, 研究边际谱的性质和规律对于揭示植物叶片电位波动的频谱特征

及其应用具有重要意义。

渗透胁迫是植物遭遇的最基本的环境胁迫之一, 干旱、盐碱和低温冷害等环境胁迫都会造成渗透胁迫, 研究植物对渗透胁迫的反应具有普遍意义。有鉴于此, 本文以玉米为材料, 通过聚乙二醇 (polyethylene glycol, PEG) 溶液对玉米幼苗形成渗透胁迫, 建立基于 HHT 的植物叶片电位波动边际谱的特征参数体系, 研究了渗透胁迫下玉米叶片电位波动边际谱的变化规律。同时, 通过与叶片中丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 和叶绿素含量变化的对比分析, 揭示植物叶片电位波动边际谱特征参数与叶片细胞功能状态之间的对应关系, 为植物叶片电位波动的应用研究提供参考。

## 1 材料培养与信号采集

### 1.1 材料选择与培养

玉米品种吉祥为种子市场上购得。挑选颗粒饱满、外观一致的玉米种子 500 粒, 用蒸馏水洗掉表面农药包衣, 以  $0.2\%$   $\text{HgCl}_2$  消毒后再以蒸馏水清洗, 均匀放置在培养皿中, 加适量蒸馏水后, 将各组样品放入 PRX-1000A 型智能人工气候箱 (杭州得聚仪器设备有限公司) 中, 在温度  $28^\circ\text{C}$ 、湿度  $45\%\sim 50\%$  的环境下浸泡、催芽。种子出芽后挑选发芽一致的种子 300 粒移植到培养槽中, 每天加入适量蒸馏水, 维持其正常生长。玉米长至三片真叶后去除培养槽中的水分。选取长势较好的 3 株玉米幼苗, 参照文献的方法<sup>[12]</sup>, 在培养槽中加入渗透势为 $-0.1$  MPa 的 PEG-6000 溶液, 分别在渗透胁迫后 0、1、2、3 和 4 d

收稿日期: 2016-07-08 修订日期: 2016-11-16

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (31471412); 陕西省教育厅科学研究计划项目 (15JK1515); 西安理工大学科技创新计划项目 (2013CX019)

作者简介: 刘 锴, 男, 湖南怀化人, 西安理工大学理学院讲师, 博士生, 2014 年赴康奈尔大学休斯顿 Methodist 医院研修, 主要研究方向为生物光学和生物电磁学。西安 西安理工大学理学院应用物理系, 710054。

Email: leukai@gmail.com

时测量叶片的表面电位。

## 1.2 玉米叶片电位波动的采集

参照文献[4, 8]的方法采集样品的叶片表面电位, 采集仪器为 BL420S 生物机能试验系统, 该系统具备高输入阻抗 ( $>10^{10}\Omega$ )、高共模抑制比 ( $>120$  dB) 和低噪声 ( $<1\mu\text{V}$ )、低漂移等特点, 大量试验表明<sup>[4, 8]</sup>, 该系统可以准确的采集植物叶片的电位波动信号。测试电极采用丹麦 Ambu 公司生产的 P-00-S 型医用高灵敏度 Ag/AgCl 心电电极, 该电极采用液态导电胶, 对叶片无伤害, 灵敏度高, 噪声小。电极导电胶直径 14 mm。试验之前对电极进行的测试表明, 温度在 20~45℃ 范围内变化时, 电极采集到的 0~50 Hz 频段内的信号波动幅度小于 0.5%, 表明电极的稳定性好<sup>[4, 8]</sup>。测量电位信号时, 将玉米放入自制的法拉第笼内以屏蔽电磁干扰。一片采集电极贴于玉米叶片正面靠近叶尖位置, 另一片采集电极贴于玉米叶片反面根部位置, 电极间距 15 cm, 参考电极通过导线直接连接至培养槽中放置的铜片上。试验设置的采样频率为 2 kHz, 开启 50 Hz 工频抑制。环境温度为 28℃, 湿度为 45%~50%, 光照强度为 5 000 lx。分别在渗透胁迫 0、1、2、3 和 4 d 时采集同一植株固定叶片中的电位波动信号。

## 1.3 MDA 和叶绿素含量的测定

在上述采集植株叶片电位波动信号的同时, 测量同批次胁迫处理的其他植株相同叶位的叶片中 MDA 和叶绿素含量。叶绿素含量的测量参照文献[13], MDA 含量的测量参考文献[14]。每次测量均设 3 个重复, 取平均值, 并做统计分析。

## 2 植物叶片电位波动边际谱分析方法

### 2.1 HHT 方法

HHT 方法包括经验模态分解 (empirical mode decomposition, EMD) 和希尔伯特变换 2 个步骤。EMD 分解是根据信号自身的特征, 将非平稳信号分解为有限个窄带信号, 称为本征模态函数 IMF (intrinsic mode function)。所分解出来的各本征模态分量分别是原信号在不同时间尺度的特征信号。然后对分解出来的各本征模态 IMF 进行希尔伯特变换, 得到信号幅值的时频分布, 即希尔伯特谱。

为了解决模态混叠现象, Wu 等<sup>[15]</sup>提出了集合经验模态分解 (ensemble empirical mode decomposition, EEMD), 即通过在原始信号中加入不同尺度的白噪声来解决模态混叠问题<sup>[16]</sup>。Yeh 等<sup>[17]</sup>则采用正、负成对的形式向原信号中加入白噪声, 再分别进行 EMD 分解的方法, 消除重构信号中残余的辅助噪声, 称互补集合经验模态分解 (complementary ensemble empirical mode decomposition, CEEMD)。

经过 CEEMD 分解后, 原始信号  $x(t)$  可表示为本征模态函数之和的形式:

$$x(t) = \sum_{i=1}^n c_i(t) + r_n(t) \quad (1)$$

式中  $c_i(t)$  为 IMF 分量;  $r_n(t)$  为残余函数。

将分解得到的每个 IMF 分别应用希尔伯特变换, 构造解析信号

$$s_i(t) = c_i(t) + jH[c_i(t)] = a_i(t)e^{j\theta_i(t)} \quad (2)$$

式中  $s_i(t)$  是构造的解析信号,  $H[c_i(t)]$  是第  $i$  阶 IMF 分量  $c_i(t)$  的希尔伯特变换,  $a_i(t)$  是解析信号的幅度,  $\theta_i(t)$  是解析信号的相位。于是

$$H(\omega, t) = \text{Re} \sum_{i=1}^n a_i(t)e^{j\theta_i(t)} = \text{Re} \sum_{i=1}^n a_i(t)e^{j\int \omega_i(t) dt} \quad (3)$$

式中  $\text{Re}$  表示取实部,  $n$  为 IMF 函数个数,  $\omega_i(t)$  是信号的瞬时频率。展开式 (3) 中, 信号的幅度  $a_i(t)$  和瞬时频率  $\omega_i(t)$  都是时间的函数,  $H(\omega, t)$  表示幅值随频率和时间的分布, 称之为希尔伯特谱。

由式 (3) 定义的边际谱  $h(\omega)$  为

$$h(\omega) = \int_{-\infty}^{+\infty} H(\omega, t) dt \quad (4)$$

式中  $H(\omega, t)$  为希尔伯特谱。边际谱提供了每一个频率值所对应的总幅度值 (或总能量值), 表征了整个信号序列跨度内信号在每个频率点上振幅 (或能量) 累积的分布情况, 在频率维度上反映电位波动的特征。

### 2.2 边际谱特征参数

为了定量描述边际谱的特征, 参照文献[4]中信号功率谱特征参数的定义方法, 定义边际谱特征参数如下:

#### 2.2.1 边缘频率 (spectral edge frequency, SEF)

分布在 0 Hz 到该频率值的信号幅值占有所有频率的信号总幅值的 95%, 单位为 Hz, 其给出了信号分布的频率范围。

#### 2.2.2 重心频率 (spectral center frequency, SCF)

SCF 的计算公式为

$$\text{SCF} = \frac{\int_{f=f_1}^{f_2} [P(f) \cdot f]}{\int_{f=f_1}^{f_2} P(f)} \quad (5)$$

式中,  $f$  为信号的频率,  $P(f)$  为该频率信号的幅值,  $f_1$  和  $f_2$  为频率范围。SCF 给出了信号幅值按频率的分布重心。

#### 2.2.3 边际谱熵 (marginal spectrum entropy, MSE)

MSE 的定义为

$$\text{MSE}' = -\sum_{i=1}^N p(i) \ln p(i) \quad (6)$$

式中  $p(i) = h(i) / \sum h(i)$ , 表示第  $i$  个频率对应幅值出现的概率。熵值归一化 (相对谱熵) 的结果为

$$\text{MSE} = \text{MSE}' / \ln N \quad (7)$$

式中  $N$  为  $h(i)$  的序列长度。MSE 是边际谱分布复杂性的量度, 边际谱越狭窄, MSE 越小, 表示信号中存在明显的振荡节律, 复杂度小; 反之, 边际谱越平坦, MSE 越大, 表明信号的复杂程度越高。

#### 2.2.4 动作电位灵敏指数

当植物受到各种刺激时, 叶片中会出现动作电位 (action potential, AP), AP 使叶片电位波动发生变化, 诱发细胞做出各种生理反应<sup>[1, 18]</sup>。因此, 根据 AP 的出现可以判断细胞对刺激反应的灵敏程度。由于边际谱中的

尖峰来源于 AP，根据边际谱分布可以得到 AP 的幅值及其频率。考虑到相同刺激下，不同个体产生 AP 的大小有所差异，其绝对值的大小并不能反映 AP 对环境反应的灵敏程度，为了消除个体差异，定义动作电位灵敏指数  $Q$  为：

$$Q = \frac{\sum_{f=f_M-0.01}^{f_M+0.01} P(f)}{\sum_{f=0}^{\infty} P(f)} \quad (8)$$

以此表示 AP 对环境反应的灵敏程度。式中， $f_M$  是边际谱的峰值所对应的频率， $P(f)$  是频率为  $f$  的信号幅值。

### 3 结果与分析

#### 3.1 玉米叶片电位波动的时域波形

将试验采集到的渗透胁迫 0 (CK)、1、2、3 和 4 d 时的玉米幼苗叶片电位波动信号分别截取前 200 s，结果如图 1 所示。由图 1 可见，玉米叶片表面电位波动的振幅随时间变化，振幅波动的幅度在 500~1000  $\mu\text{V}$  左右，具有非平稳和随机的特征，这种特征与先前报道的结果是一致的<sup>[4, 8]</sup>。

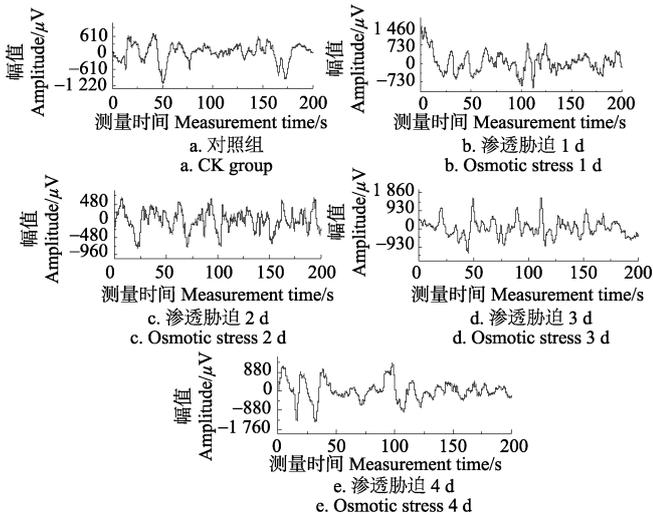


图 1 玉米幼苗叶片电位波动信号的时域波形  
Fig.1 Time domain waveform of potential fluctuations in maize seedling leaves

#### 3.2 玉米叶片电位波动边际谱及其变化

基于 HHT 采用 Matlab 编写程序可以计算出图 1 中电位波动的 3D 希尔伯特幅值谱和边际谱，图 2 给出了未受胁迫的对照组 (CK) 玉米叶片电位波动的 3D 希尔伯特幅值谱和边际谱。由图 2b 可见，玉米叶片表面电位波动边际谱为连续谱，电位波动的频率主要分布在 0.5 Hz 以内。采用边缘频率 SEF 和重心频率 SCF 定量描述边际谱的分布特征，对照组的 SEF 和 SCF 分别为 0.486 和 0.142 Hz。

采用同样方法可以计算出渗透胁迫过程中玉米叶片表面电位波动的边际谱的变化，结果见图 3，图 3 中各边际谱的 SEF 和 SCF 见图 4。由图 4 可见，在开始渗透胁迫后玉米叶片表面电位波动边际谱的 SEF 下降，在胁迫

1 d 稍有回升，在胁迫 2 d 后持续下降。SCF 的变化趋势与 SEF 类似。由于边际谱的 SEF 给出了电位波动频谱的分布范围，SEF 越小说明边际谱分布越趋近于低频段，表明细胞活动受抑制越深；而 SCF 不仅反映信号边际谱密度的分布情况，表明频谱中分量较大的信号成分的频率，还可以反映在不同条件下整个边际谱的迁移情况。由此看来，随着渗透胁迫的进行，叶片细胞电位活动中低频分量的比例越来越大，细胞活性逐渐受到了抑制，细胞功能状态变差。

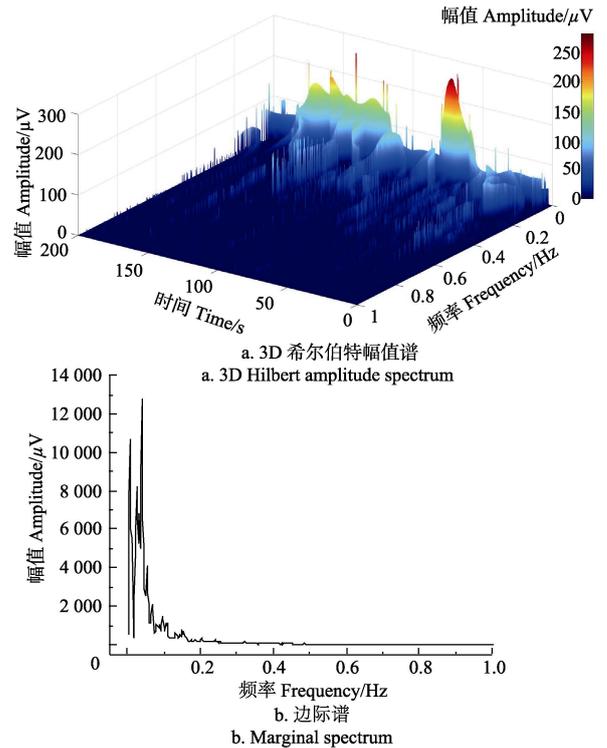


图 2 对照组玉米叶片电位波动的希尔伯特谱和边际谱  
Fig.2 Hilbert amplitude spectrum and marginal spectrum of potential fluctuations in maize seedling leaves of control group

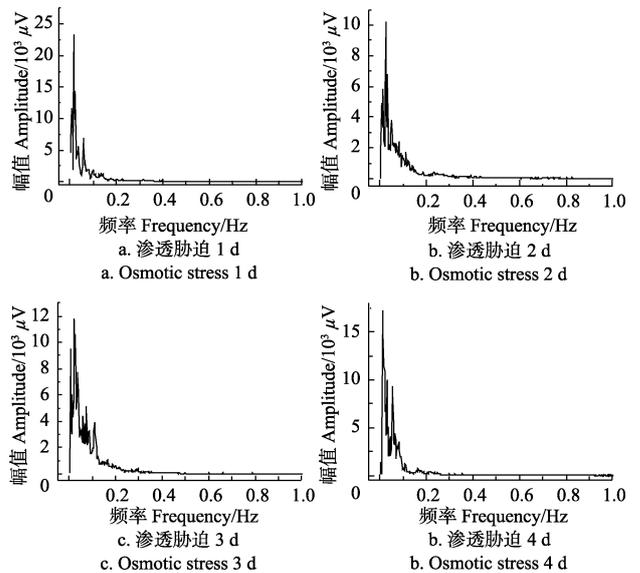


图 3 渗透胁迫下玉米幼苗叶片电位波动的边际谱  
Fig.3 Marginal spectrum of potential fluctuations in maize seedling leaves under osmotic stress

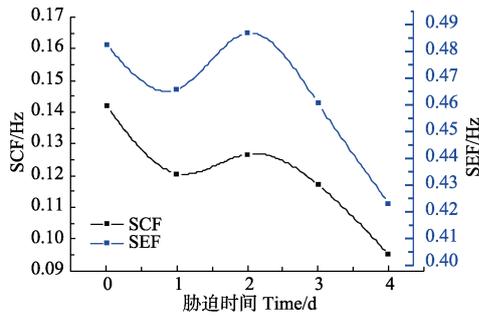


图4 渗透胁迫下玉米幼苗叶片边缘频率 (SEF) 和重心频率 (SCF) 的变化

Fig.4 Changes of SEF(spectral edge frequency) and SCF (spectral center frequency)of potential fluctuations marginal spectrum in maize seedling leaves under osmotic stress

### 3.3 玉米幼苗叶片电位波动边际谱熵的变化

边际谱熵 MSE 反映了边际谱的复杂程度。我们在研究中发现,玉米叶片电位信号的正 MSE 与信号时长有关,为了确定能够获取稳定熵值的信号时长,从每天采集得到的叶片电位信号中,随机截取 10 段某一固定时长的信号,分别计算每一段信号的正 MSE,然后求取 10 段信号 MSE 的平均值和标准偏差。固定时长分别取 40、80、120、160、200 和 240 s。图 5 为不同胁迫时间下,边际谱熵的平均值及其标准差随信号时长的变化。由图 5 可见,随着信号时长的增加, MSE 也相应增大,同时标准差  $S_{MSE}$  逐渐减小。但是,当数据时长为 160~240 s 时, MSE 的数值趋于稳定,同时标准差降为 0.01~0.02 之间。由此可见,数据时长为 200 s 时, MSE 的计算结果是稳定的。

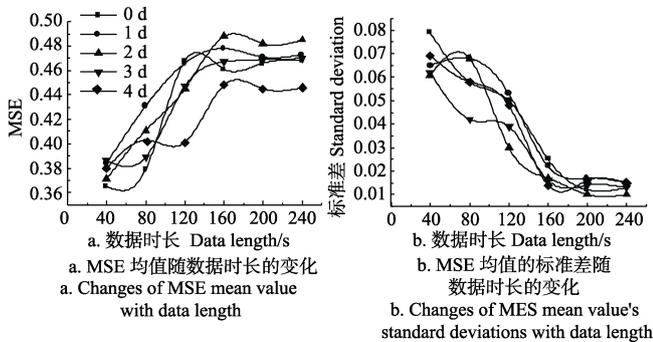


图5 不同胁迫时间下边际谱熵 (MSE) 均值及标准差随数据时长的变化

Fig.5 Changes of marginal spectrum entropy(MSE) mean value and their standard deviations with data length under different stress time

取时长为 200 s 的玉米叶片电位波动信号的正 MSE 为结果,做出 MSE 随胁迫时间变化的关系曲线,如图 6 所示。从图 6 可见,在渗透胁迫后的第 1 天,玉米叶片电位波动的 MSE 开始增加,在胁迫后的第 2 天 MSE 的增加达到峰值,表明玉米叶片电位波动的复杂程度增大。从胁迫后第 2 天开始, MSE 逐渐回落,表明在胁迫 2 天后,玉米叶片电位波动的复杂程度逐渐减小。

### 3.4 动作电位灵敏指数 $Q$ 的变化

图 7 为渗透胁迫下玉米幼苗叶片动作电位灵敏指数  $Q$  值的变化。图 7 显示,在渗透胁迫 1 d 时动作电位灵敏

指数  $Q$  出现了 1 个峰,此后快速下降,表明在渗透胁迫 1 d 时叶片细胞出现了明显的动作电位,暗示着此时叶片细胞对渗透胁迫的应激反应最为强烈。

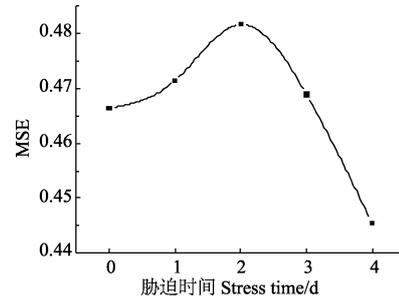


图6 MSE 随胁迫时间的变化

Fig.6 Changes of marginal spectrum entropy with stress time

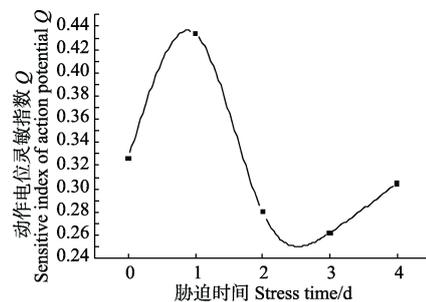


图7 渗透胁迫下玉米叶片动作电位灵敏指数  $Q$  的变化  
Fig.7 Changes of action potential sensitive index  $Q$  to corn seedling leaves with stress time

### 3.5 MDA 和叶绿素含量的变化

MDA 是细胞膜脂过氧化最重要的产物之一,其过量产生会导致膜的损伤,因此,在植物抗逆性的研究中,MDA 含量是植物细胞膜受损和自由基形成的主要指示物<sup>[19]</sup>,通过 MDA 含量的测量可以了解细胞膜脂过氧化的程度,进而对膜系统受损程度做出评价<sup>[20]</sup>。叶绿素是植物进行光合作用的重要物质,其含量在一定程度上反映了植物同化物质的能力,是表征植物叶片功能和生长状况最常用的生理指标<sup>[21-22]</sup>。渗透胁迫下玉米叶片 MDA 和叶绿素含量的变化如图 8 所示。由图 8 可见,在渗透胁迫后的第 1 天,叶片中的 MDA 含量迅速下降,在胁迫第 2 天以后,MDA 含量维持在一个较高的水平;叶绿素含量在胁迫后的第 1 天有所升高,此后迅速下降,在第 3 天以后维持在很低的水平。

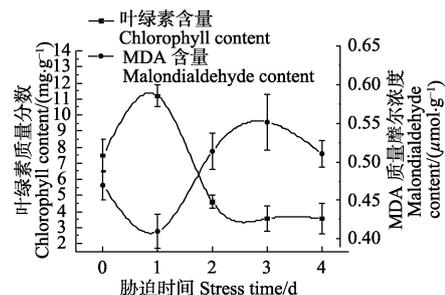


图8 渗透胁迫下玉米叶片叶绿素含量和 MDA 含量的变化  
Fig.8 Changes of chlorophyll content and malondialdehyde content of corn seedling leaves with stress time

## 4 讨 论

由图 1 可见, 植物叶片电位波动的振幅表现出非常复杂的非平稳性质, 这种电位波动的复杂性是生命活动的体现。然而, 叶片电位波动的这种复杂性给其信息解读和分析带来了困难。一些研究采用基于 Fourier 变换的短时 Fourier 变换 (short-term Fourier transform, STFT) 和小波变换 (Wavelet) 分析其频谱特征<sup>[4,8,23-24]</sup>, 但是, Fourier 变换只适合处理线性非平稳信号, 并且不同的信号时长会产生不同的结果; 而小波变换需要预先选定小波基函数, 选择不同的小波基也会产生不同的处理结果<sup>[25-26]</sup>。HHT 方法解决了 Fourier 变换采用平稳信号组成非平稳信号的缺陷, 在频域和时域都能给出较高的分辨率, 是一种更具适应性的时频局部化分析方法<sup>[9]</sup>, 因而其对植物叶片电位波动信息的解读更为准确。

本文运用 HHT 方法对图 1 的采集结果进行分析, 得到的玉米叶片电位波动的边际谱是连续谱 (见图 2), 边际谱的连续性表明叶片细胞内存在着复杂多样的离子跨膜运输。由于叶片电位波动的频谱结构与离子跨膜运输和细胞之间电偶联有关, 确定的频谱结构对应着细胞特定的生命状态<sup>[4]</sup>。因此, 边际谱的特征及其变化实际上反映了叶片细胞的功能状态及其变化情况。

为了能够定量描述边际谱的特征与变化规律, 本文计算了边际谱的特征参数 SEF、SCF 和 MSE。由图 2 可知, 正常生长的玉米叶片电位波动的 SEF 和 SCF 分别为 0.486 和 0.142 Hz, 表明玉米叶片细胞膜电位的变化十分缓慢, 其频率分布在 0.5 Hz 以内 (即 SEF), 其中, 大多数离子运输引起的膜电位变化的频率在 0.14 Hz 附近 (即 SCF)。对于各种离子跨膜运输引起的边际谱的复杂性, 本文采用 MSE 来定量描述。我们在研究中发现, 玉米叶片电位波动的 MSE 与采集的信号时长有关, 但是, 当信号时长为 160~240 s 时, MSE 的数值趋于稳定 (见图 5), 可见采用 200 s 时长的叶片电位波动信号对比分析其复杂度的变化是可靠的。基于此, 本文均采用 200 s 时长的采集信号进行分析。

本研究发现, 在渗透胁迫 1 d 时, 边际谱的 SEF 和 SCF 略有下降, 在第 2 天时有所回升, 此后迅速下降 (见图 4)。这种现象表明, 渗透胁迫首先使叶片细胞电位变化的频率向低频段移动, 细胞功能状态受到影响; 随着细胞的自我调节, 细胞功能状态有所恢复; 而持续的渗透胁迫造成了细胞功能状态的不断下降。但是, 研究还发现, 渗透胁迫开始后 MSE 一直增长, 直到胁迫第 2 天时才不可逆下降 (见图 6), 表明在渗透胁迫开始后, 尽管叶片细胞功能状态受到了影响, 叶片细胞群电位活动的复杂度却增加了, 复杂度的增加是叶片细胞对渗透胁迫的应激反应。有证据表明, 干旱胁迫会诱导植物根系产生 AP, AP 传导到叶片细胞, 诱发细胞产生各种生理发生变化<sup>[1,5,18,27]</sup>。当 AP 传导到叶片时, 必然会造成叶片电位波动复杂度的增加。图 7 的结果显示, 在胁迫 1 d 时动作电位灵敏指数  $Q$  达到了极大, 也证明了此时叶片细胞对渗透胁迫产生了强烈的应激反应。至于 1 d 以后 MSE 的继续增加, 在 2d 时达到峰值的现象可能是叶片中 AP

和变异电位 VP (variation potentials) 共同作用的结果, 因为持续的环境胁迫会在叶片中产生 VP<sup>[5]</sup>, VP 也会使 MSE 增加。在渗透胁迫 2 d 后, MSE 呈现出不可逆下降的变化趋势则表明细胞活动的复杂度越来越小, 细胞活性和功能状态越来越差。

为了进一步证明上述玉米叶片电位波动边际谱的变化所隐含的生物学意义, 本文同步研究了胁迫过程中玉米植株相同叶位的叶片 MDA 和叶绿素含量的变化。研究发现, 渗透胁迫 1 d 时 MDA 含量迅速下降, 叶绿素含量则迅速上升, 在生理生化角度上表明此时叶片细胞确实发生了明显的应激反应, 这与动作电位灵敏指数  $Q$  值达到峰值出现的时间是一致的。由于在 2 d 时叶片中 MDA 达到了较高水平, 而叶绿素含量迅速减小, 表明此时叶片细胞膜开始受到严重伤害, 叶绿素合成停滞, 细胞的自我调节能力达到了极限, MSE 也达到了最大值。看来, 叶片电位波动动作电位灵敏指数  $Q$  的大小可以作为玉米叶片细胞对渗透胁迫反应灵敏度的标志, 而 MSE 达到的峰值时间可以作为叶片细胞对渗透胁迫自我调节和适应性反应限度的标志。

## 5 结 论

1) 基于 HHT (Hilbert-Huang transform) 方法得到的玉米幼苗叶片电位波动的边际谱是连续谱, 正常生长的玉米幼苗叶片细胞膜电位波动的频率分布在 0.5 Hz 以内, 大多数离子运输引起的膜电位变化的频率在 0.14 Hz 附近, 叶片电位波动边际谱的复杂度可以由边际谱熵 MSE (marginal spectrum entropy) 来表征, 在信号时长为 200 s 时, MSE 是稳定的。

2) 在渗透势为 -0.1 MPa 的渗透胁迫下, 玉米叶片电位波动边际谱的边缘频率 SEF (spectral edge frequency) 和重心频率 SCF (spectral center frequency) 呈现出先减小后增加再减小的变化趋势, 动作电位灵敏指数  $Q$  的变化与之相反, MSE 则表现出先增加再下降的变化趋势, 边际谱的变化是动作电位 AP (action potential) 和变异电位 VP (variation potentials) 共同作用的结果。

3) 在渗透胁迫下, 玉米叶片中叶绿素含量的增加与动作电位灵敏指数  $Q$  值的增加是一致的, 叶绿素含量的减小与 MSE 的减小是一致的,  $Q$  值的大小可以作为玉米叶片细胞对渗透胁迫反应灵敏度的标志, MSE 的峰值时间可以作为叶片细胞对渗透胁迫自我调节和适应性反应限度的标志。

根据渗透胁迫下玉米幼苗叶片电位波动边际谱特征参数 SEF、SCF、 $Q$  值和 MSE 的变化, 有可能对玉米叶片细胞的功能状态进行实时、在位和无损伤检测, 从而在活体细胞层面上对玉米幼苗抵抗渗透胁迫的能力做出解释和评价。

### [参 考 文 献]

- [1] Fromm J, Lautner S. Electrical signals and their physiological significance in plants[J]. *Plant Cell & Environment*, 2007, 30(3): 249-257.

- [2] Yan Xiaofei, Wang Zhongyi, Huang Lan, et al. Research progress on electrical signals in higher plants[J]. *Progress in Natural Science*, 2009, 19 (5): 531–541.
- [3] Oyarce P, Gurovich L. Evidence for the transmission of information through electrical potentials in injured avocado trees[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2011, 168(2): 103–108.
- [4] Zhang Xiaohui, Yu Ningmei, Xi Gang, et al. Changes in the power spectrum of electrical signals in maize leaf induced by osmotic stress[J]. *Chinese Science Bulletin*, 2012, 57(4): 413–420.
- [5] Gallé A, Lautner S, Flexas J, et al. Environmental stimuli and physiological responses: The current view on electrical signaling[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2015, 114: 15–21.
- [6] Huang Lan, Wang Zhongyi, Zhao Longlian, et al. Electrical signal measurement in plants using blind source separation with independent component analysis[J]. *Computers and Electronics in Agriculture*, 2010, 71(S1): 54–59.
- [7] Liliana R R, Franco T, Luis A. Gurovich. Electrophysiological assessment of water stress in fruit-bearing woody plants[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2014, 171(10): 799–806.
- [8] Liu Kai, Xi Gang, Fan Linlin, et al. The changes of electrical signals in corn at different temperatures[J]. *Procedia Environmental Sciences*, 2011, 10(Part A): 39–44.
- [9] Huang N E, Shen Zheng, Long S R, et al. The empirical mode decomposition and the Hilbert spectrum for nonlinear and non-stationary time series analysis[C]//*Proceedings of the Royal Society of London A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, London, 1998, 903–995.
- [10] 苗晟, 王威廉, 姚绍文. Hilbert-Huang 变换发展历程及其应用[J]. *电子测量与仪器学报*, 2014, 28(8): 812–818. Miao Sheng, Wang Weilian, Yao Shaowen. Historic development of HHT and its applications[J]. *Journal of Electronic Measurement and Instrumentation*, 2014, 28(8): 812–818. (in Chinese with English abstract)
- [11] 董红生, 邱天爽, 张爱华, 等. 基于 HHT 边际谱熵和能量谱熵的心率变异信号的分析方法[J]. *中国生物医学工程学报*, 2010, 29(3): 336–344. Dong Hongsheng, Qiu Tianshuang, Zhang Aihua, et al. The analysis method of heart rate variability signal based on the HHT marginal spectrum entropy and energy spectrum entropy[J]. *Chinese Journal of Biomedical Engineering*, 2010, 29(3): 336–344. (in Chinese with English abstract)
- [12] 高宇, 刁岗, 刘镭, 等. 水分胁迫下萌发玉米的自发发光在抗旱性评价中的应用[J]. *光子学报*, 2014, 43(2): 132–136. Gao Yu, Xi Gang, Liu Kai, et al. Application of spontaneous fluorescence of germinating maize in drought resistance evaluation under water stress[J]. *Acta Photonica Sinica*, 2014, 43(2): 132–136. (in Chinese with English abstract)
- [13] 李得孝, 郭月霞, 员海燕, 等. 玉米叶绿素含量测定方法研究[J]. *中国农学通报*, 2005, 21(6): 153–155. Li Dexiao, Guo Yuexia, Yun Haiyan, et al. Determined methods of chlorophyll from maize[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2005, 21(6): 153–155. (in Chinese with English abstract)
- [14] 张玉荣, 周显青, 张勇. 储存玉米膜脂过氧化与生理指标的研究[J]. *中国农业科学*, 2008, 41(10): 3410–3414. Zhang Yurong, Zhou Xianqing, Zhang Yong. Research on membrane lipid peroxidation and physiological parameters of storage maize[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2008, 41(10): 3410–3414. (in Chinese with English abstract)
- [15] Wu Zhaohua and Huang N E. Ensemble empirical mode decomposition: a noise-assisted data analysis method[J]. *Advances in adaptive data analysis*, 2009, 1(1): 1–41.
- [16] 曾彭, 刘红星, 宁新宝, 等. 总体经验模态分解能量向量用于 ECG 能量分布的研究[J]. *物理学报*, 2015, 64(7): 399–406. Zeng Peng, Liu Hongxing, Ning Xinbao, et al. ECG energy distribution analysis using ensemble empirical mode decomposition energy vector[J]. *Acta Physica Sinica*, 2015, 64(7): 399–406. (in Chinese with English abstract)
- [17] Yeh J R, Shieh J S, Huang N E. Complementary ensemble empirical mode decomposition: A novel noise enhanced data analysis method[J]. *Advances in Adaptive Data Analysis*, 2010, 2(2): 135–156.
- [18] Grams T E E, Koziolok C, Lautner S, et al. Distinct roles of electrical and hydraulic signals on the reaction of leaf gas exchange upon reirrigation in *Zea mays* L[J]. *Plant Cell & Environment*, 2007, 30(1): 79–84.
- [19] Karim S, Behrouz S, Vahid R, et al. Salt stress induction of some key antioxidant enzymes and metabolites in eight Iranian wild almond species[J]. *Acta Physiologica plantarum*, 2012, 34(1): 203–213.
- [20] 宋新颖, 张玉梅, 张洪生, 等. 干旱胁迫对不同冬小麦品种幼苗期生理特性的影响[J]. *中国农学通报*, 2015, 31(12): 6–11. Song Xinying, Zhang Yumei, Zhang Hongsheng, et al. Effect of drought stress on physiological characteristics in different winter wheat seedlings[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2015, 31(12): 6–11. (in Chinese with English abstract)
- [21] 刁岗, 贺瑞瑞, 刘镭, 等. 应用超弱光子辐射评价菠菜叶片衰老方法可行性[J]. *农业工程学报*, 2014, 30(17): 268–275. Xi Gang, He Ruirui, Liu Kai, et al. Feasibility of evaluation method for spinach leaf senescence based on biological ultraweak photon emission[J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE)*, 2014, 30(17): 268–275. (in Chinese with English abstract)
- [22] 朱金方, 刘京涛, 陆兆华, 等. 盐胁迫对中国柽柳幼苗生理特性的影响[J]. *生态学报*, 2015, 35(15): 5140–5146. Zhu Jinfang, Liu Jingtao, Lu Zhaohua, et al. Effects of salt stress on physiological characteristics of *Tamarix chinensis* Lour. Seedlings[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2015, 35(15): 5140–5146. (in Chinese with English abstract)
- [23] Tian Liguang, Meng Qinghao, Wang Liping, et al. Research on the effect of electrical signals on growth of *Sansevieria* under light-emitting diode (LED) lighting environment[J]. *Plos One*, 2015, 10(6): e0131838.
- [24] Das Saptarshi, Ajiwibawa B J, Chatterjee S K, et al. Drift removal in plant electrical signals via IIR filtering using wavelet energy[J]. *Computers & Electronics in Agriculture*, 2015, 118(10): 15–23.
- [25] 谭善文, 秦树人, 汤宝平. Hilbert—Huang 变换的滤波特性及其应用[J]. *重庆大学学报*, 2004, 27(2): 9–12. Tan Shanwen, Qin Shuren, Tang Baoping. The filtering character of Hilbert-Huang transform and its application[J]. *Journal of Chongqing University*, 2004, 27(2): 9–12. (in Chinese with English abstract)
- [26] Tang Shengxue, Li Zhigang, Chen Li. Fault detection in analog and mixed-signal circuits by using Hilbert—Huang transform and coherence analysis[J]. *Microelectronics Journal*, 2015, 46(10): 893–899.
- [27] Gil P M, Gurovich L, Schaffer B, et al. Root to leaf electrical signaling in avocado in response to light and soil water content[J]. *Journal of Plant Physiology*. 2008, 165(10): 1070–1078.

## Changes and significance of marginal spectrum on maize leaves potential fluctuations under osmotic stress

Liu Kai<sup>1</sup>, Xi Gang<sup>1</sup>, He Ruirui<sup>1</sup>, Yu Ningmei<sup>2</sup>

(1. Department of Applied Physics, Institute of Science, Xi'an University of Technology, Xi'an 710054, China;

2. School of Automation and Information Engineering, Xi'an University of Technology, Xi'an 710048, China)

**Abstract:** Leaf potential fluctuation comes from the changes of membrane potential in leaf cells, it caused by ion transporting across cell membranes and related to electrical coupling between cells. Understanding the life information behind leaf potential fluctuation is of great significance in study plant signal transduction, stress resistance evaluation, ecological and environmental monitoring, growth regulation, precision agriculture and many other fields. However, the leaf potential fluctuation of plant shows a very complex and non-stationary property. This complexity of the leaf potential fluctuation is the characteristic of life activities, but it brings great difficulties to analyze the information from the leaf potential fluctuation. Traditional signal analysis methods based Fourier Transform are only suitable for linear non-stationary signal processing. Different signal length leads to different results. Wavelet transform needs to pre-selected wavelet basis function, different wavelet basis will produce different results. Hilbert-Huang transform used in this paper is a new signal analysis method, this method avoids the defects of traditional methods that using stationary signal to compose non-stationary signals. Since Hilbert-Huang transform has higher resolution in both frequency domain and time domain, it is a more adaptive time-frequency localization analysis method. Thus, the interpretation about the potential fluctuation of plant leaves based on Hilbert-Huang transform can be more accurate. In this paper, the maize seedlings were treated by polyethylene glycol (PEG) solution of -0.1MPa to form osmotic stress, the leaf potential fluctuation in maize leaves was acquired after osmotic stress 0, 1, 2,3 and 4 days, the Hilbert-Huang transform was used to analyze the variation rule of the leaf potential fluctuation. After made the Hilbert-Huang transform of the leaf potential fluctuation signal of maize seedlings under different stress days, respectively, Hilbert spectrum and marginal spectrum of the leaf potential fluctuation signal was obtained. The marginal spectrum characteristic parameters such as spectral edge frequency (SEF), spectral center frequency (SCF), marginal spectrum entropy (MSE) and action potential sensitive index (Q) were calculated. While acquiring the leaf potential fluctuation signal, malondialdehyde (MDA) content and chlorophyll content in maize leaves under osmotic stress were also measured and analyzed. The results showed that the marginal spectrum of the leaf potential fluctuation on maize seedling leaves was continuous spectrum which frequency distributed in 0.5Hz or less. The SEF and SCF of the marginal spectrum showed a trend of increase first, then it decreased and increased again along with osmotic stress days. The trend of action potential sensitive index Q was opposite to that of the SEF and SCF. The study also found that the changes of the MSE about the leaf potential fluctuation on maize seedling leaves was increased first and decreased afterwards with stress time. By comparing the changes of the parameters about marginal spectrum of the leaf potential fluctuation on maize seedling leaves during osmotic stress and changes of physiological indices MDA and chlorophyll content, we found that the MSE peak time could be used as sign of self-regulation and adaptive responses limits of leaf cells under osmotic stress, the Q value could be used as a sensitivity standard of maize leaf cells responsiveness to osmotic stress. According to the changes of the marginal spectrum characteristic parameters of leaves potential fluctuations in maize seedling under osmotic stress, it was possible to realize real time, in-situ and nondestructive evaluation (NDE) of maize seedling leaf cells functional status.

**Keywords:** crops; osmosis; stresses; maize; potential fluctuations; marginal spectrum; Hilbert-Huang transform