第 30 卷	第 24 期	农 业 工 程 学 报	Vol.30 No.24	
2014年	12 月	Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering	Dec. 2014	177

基于核磁共振技术检测小麦植株水分分布和变化规律

要世瑾^{1,2},杜光源³,牟红梅^{1,2},栾翔宇¹,马鸿雁¹,刘嘉男¹, 刘梦达¹,齐 笑¹,何建强^{1,2}

(1. 西北农林科技大学水利与建筑工程学院,杨凌 712100;2. 西北农林科技大学中国旱区节水农业研究院,杨凌 712100;3. 西北农林科技大学理学院,杨凌 712100)

摘 要:为研究活体冬小麦植株水分的分布状况和连续变化过程,该研究利用核磁共振无损、非侵入的技术优势, 分析了小麦各器官 T₂ 弛豫谱特征及其反映的代谢特性,分别推求出小麦叶片、茎秆和穗的信号幅值与被检测器官 纯水含量以及鲜质量的回归函数关系,在此基础上建立了测量活体冬小麦植株各器官湿基含水率的检测方法。对 活体植株各器官湿基含水率核磁共振检测方法的可靠性验证表明,由核磁共振法和烘干法测定的小麦叶片、茎秆 和穗的湿基含水率均方根误差分别为: 5.3%、3.5%、3.3%。然后将该检测方法用于监测同一株冬小麦各器官湿基 含水率的长期变化和日变化过程,结果显示,乳熟期至成熟期,小麦各个器官的湿基含水率均逐渐减小,而叶片 湿基含水率的日变化则呈现先减小后增大的趋势。乳熟期叶片的湿基含水率由 8:00 逐渐减少,且在 14:00-16:00 达到最低值后开始恢复,于 20:00 恢复至当日初始水平。成熟期叶片湿基含水率检测方法能够对同一植株进行活体无损 连续监测,因此该研究的结果能够更直接更准确地揭示冬小麦植株体内水分的连续变化规律和植株衰老过程,从 而为研究冬小麦健康生长耗水规律和制定合理的灌溉制度提供理论基础。

关键词:作物;水分;核磁共振;冬小麦;T₂弛豫谱幅度

doi: 10.3969/j.issn.1002-6819.2014.24.021

中图分类号: S512.1⁺1

文章编号: 1002-6819(2014)-24-0177-10

要世瑾,杜光源,牟红梅,等.基于核磁共振技术检测小麦植株水分分布和变化规律[J].农业工程学报,2014,30(24):177-186.

文献标识码: A

Yao Shijin, Du Guangyuan, Mou Hongmei, et al. Detection of water distribution and dynamics in body of winter wheat based on nuclear magnetic resonance[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2014, 30(24): 177–186. (in Chinese with English abstract)

0 引 言

作物体内的水分随生长发育会发生明显变化, 并且对环境有实时响应,这关系到植株的代谢活 性、同化物累积以及最终产量^[1]。山仑^[2]研究发现, 环境变化时小麦自身会进行一系列的生理补偿,表 现出较强的适应和调节能力。因此,长期连续检测 小麦植株的水分状态,不仅可以充实土壤-植物-大 气连续体 (soil-plant-atmosphere continuum, SPAC) 的水分传输理论,而且在明确植物对环境的适应机 制、水分高效利用及节水调控方面都有重要的意

收稿日期: 2014-11-04 修订日期: 2014-12-12

义^[3]。现阶段很多技术对作物进行水分检测时,会 对作物造成一定的损坏或损伤^[4]。如高压流速仪和 热脉冲检测法,安插的检测探头会扰动到蒸腾拉力 作用下的亚稳态液流,故难以反映作物体内水分的 适应和修复过程^[5]。光谱检测法和冠层温度成像法 虽然在田间尺度上可以反映植株水分的状态,但不 能区分各器官的水分运移规律^[6]。

核磁共振(nuclear magnetic resonance, NMR) 是一种无损、非侵入的测量技术,从微观的水平揭 示样品中水分的变化规律^[7-8]。核磁共振横向弛豫谱 (transverse relaxation spectrum),又称为T₂弛豫谱, 是低场核磁共振技术的一种常规检测,给出了T₂ 弛豫谱幅值A(amplitude)以及对应的T₂弛豫时间, 其中前者与纯水含量(the mass of water, m_w)有关, 后者反映了水分相态信息。利用植物不同微区水分 T₂弛豫时间的差异,可以有效探测植物体内不同相 态水分的含量、分布以及蒸腾活性、水势等^[9-10]。 Hills 等^[11-12]研究表明胡萝卜细胞液泡集中了大部 分的长弛豫水分,Stout 等^[13]发现常春藤茎皮组织 T₂弛豫时间为 5~10 ms 的水分存在于细胞壁,而

基金项目:国家自然科学基金(51209176);国家自然科学基金 (31201122);国家高技术研究发展计划(863 计划)(2013AA102904) 以及高等学校学科创新引智计划(111 计划)(B12007)项目 作者简介:要世瑾,女,河南开封人,硕博连读研究生,主要从事节水 灌溉理论研究。杨凌 西北农林科技大学水利与建筑工程学院,中国旱 区节水农业研究院,712100。Email: shijin_yao@nwsuaf.edu.cn ※通信作者:何建强,男,甘肃天水人,博士,教授,主要从事农业系 统模拟研究。杨凌 西北农林科技大学水利与建筑工程学院,中国旱区 节水农业研究院,712100。Email: jianqiang_he@nwsuaf.edu.cn

80 ms 以上的水分主要为细胞水。van der Weerd 等^[14] 对玉米和珍珠粟进行渗透压胁迫,通过 T₂ 弛豫时间的差异分析受到胁迫后新生区域的水分状态,发现 茎秆组织 T₂ 弛豫时间与细胞大小存在一定相关关系。杜光源等^[10]研究了小麦叶片和茎秆衰老过程中水分与 T₂ 弛豫时间的关系,张绪坤等^[15]对胡萝卜切片干燥过程中含水率变化进行研究,但得到的仅 是离体器官的干基含水率与核磁共振信号总幅值的关系。已有的研究中多为作物体内微区水分分布 及迁移检测,而量化活体作物湿基含水率

(moisture content, MC)并检测其生长状态下湿基 含水率的变化过程尚未见报道。

本文以核磁共振 T₂ 弛豫谱技术为手段,分别建 立核磁共振信号幅值与冬小麦植株被检测区段内 纯水含量和鲜质量(fresh weight, FW)的回归函 数关系,进而推求各器官湿基含水率的无损检测方 法,并在此基础上研究活体小麦植株湿基含水率的 长期变化过程以及日变化规律,为冬小麦 SPAC 系 统和"精确灌溉"的研究提供新的试验方法和理论 依据。

1 材料与方法

1.1 待测冬小麦样品制备

冬小麦盆栽试验于2013年10月—2014年6月 在西北农林科技大学农业水土工程教育部重点实 验室节水灌溉试验站(108°04′E,34°20′N)遮雨棚 下进行。供试冬小麦品种为兰考矮早8号、小偃22、 西农88预3、豫麦19、新麦13、NR9405、陕229。 供试土壤为塿土耕层土壤,土壤pH值为7.8,田间 持水率(质量含水率)为24%。试验用盆上部内径 16 cm、底部内径9 cm、高13 cm,底部打孔。控制 每盆容重为1.1 g/cm³,每盆装风干土1.45 kg。播种 前每千克土施尿素0.347 g和磷酸二氢钾0.2 g。为 保证小麦各时期的正常生长,参照董兆鹏等^[16]的研 究控制土壤含水率为田间持水率的70%~80%,即 每天称质量计算土壤含水率,在田间持水率的80%。

(主2%) 所始灌木, 开灌木主面向持水单的 80%。 2013 年 10 月 5 日播种,每个品种 15 盆,每盆 5 粒, 出苗后定苗 1 株,于 2014 年 6 月 14 日收获。各生 育期的评定依照 Zadoks 生育期^[17]的划分为标准, 检测时期为乳熟期(milking)、面团早期(early dough)、面团后期(hard dough)以及成熟期 (ripening)。小麦灌浆期至成熟期,对 7 个冬小麦 品种连续采样,每个生育期内每个品种采样 8 株, 其中 4 株用于检测方法建立的试验,另外 4 株用于 方法验证的试验,检测时间为生育期内 8:00-10:00 进行。

1.2 核磁共振分析系统

为了能够检测小麦植株,本研究对采用的核磁 共振分析系统(NMI20分析系统,上海纽迈电子科 技有限公司)做了一些改进(图1)。将原有的磁 体保温箱改造出具有下开口进样通道的活体检测 系统,配备了升降装置以及保温措施,与此同时定 制了与小麦植株相匹配的检测探头,内径为20 mm。 改进后的系统磁体箱温度设定为 32 ℃,¹H 的共振 频率为 22.907 MHz。利用核磁共振成像分析仪软件 中的 CPMG (carr-purcell-meiboom-gill, CPMG) 脉 冲序列对每个样品进行3次信号采集。参数设置如 下: 重复时间 (repetition time) TR=10 s, 相邻回波 之间的时间间隔即回波时间(echo time)TE=200 μ s, 回波数 EchoCount=14000, 累加次数为 4 次。利用 仪器自带的反演软件 T2_InvfitGeneral 对采集的信 号进行反演后获得核磁共振 T2 弛豫谱。将每个样品 采集的3次信号各自反演,并将得到的3个T2弛豫 谱中对应位置组分的信号幅值求均值后作为样品 各组分的T2弛豫谱幅值。



图 1 小麦各器官水分核磁共振活体检测系统 Fig.1 Nuclear magnetic resonance system for in vivo measurement of water content in different organs of winter wheat

 1.3 冬小麦植株湿基含水率 NMR 检测方法的建立
 1.3.1 核磁共振 T₂ 弛豫谱幅值与被检测器官纯水 含量关系的建立

小麦的核磁共振 T₂ 弛豫谱总幅值 A 即为 T₂ 弛 豫谱中各个峰所对应的峰面积总和,也称为核磁共 振的总信号强度。它与样品中氢原子的数量成正 比,故 T₂弛豫谱总幅值反映了样品中纯水含量,由 此可建立小麦各器官 T₂弛豫谱总幅值 A 与纯水含 量的线性关系。

从小麦灌浆期至衰亡期,连续对7个品种小麦 进行检测。每个品种同一生育期取样4株。取小麦 植株土表部位裁断迅速带回试验室,历时30s,检 测时随即取样。将叶片中间部位的4 cm 区域裁下 (这与活体的检测有效区间4 cm 相一致),均分为 2 段叠放入试管,并将试管内样品所在部位放入核 磁共振检测区域的中心进行 T₂ 弛豫谱检测;将叶片 基部往下4cm 茎秆(有叶鞘包裹),均分为2段叠 放入试管置于检测区中心进行 T₂ 弛豫谱检测。麦穗 直接将中间部位的4cm 裁下放入试管置于检测区 中心检测。植株干枯的叶片以及发生损伤的器官在 试验过程对其不作检测。NMR 检测之后迅速称取 被检测器官鲜质量 FW,并 80℃烘干至恒质量, 用以计算被检测器官中的纯水含量 m_w(g)。利用 NMR 检测的 T₂ 弛豫谱幅值 A 和烘干称质量方法得

到的纯水含量 mw 建立相关关系。 1.3.2 核磁共振 T₂弛豫谱信号幅值与被检测器官

鲜质量关系的建立

植株体内的水分可以依据相态的不同分为结 合水、半结合水和自由水^[18-19]。植物器官的 T₂ 弛豫 谱呈现出多组分特征,不同的 T₂ 弛豫时间有其对应 的组分,代表不同相态的水分^[20],根据 T₂ 弛豫谱 中波峰位置的差异来辨别组织中结合水、半结合水 和自由水。按照小麦的叶片和茎秆 T₂ 弛豫谱中波峰 所覆盖区域界定水分的状态^[15,21],将 T₂ 弛豫谱中的 T₂ 弛豫时间分为 2 个范围,分别为 T₂₁(0.1~10 ms) 和 T₂₂(10~1000 ms),其中短弛豫时间 T₂₁这部分 水分子定义为不可移动的水,即结合水,其对应的 核磁共振信号幅值为 A_{21} 。弛豫时间 T₂₂ 对应水分定 义为可移动的水,即半结合水和自由水,这个组分 主要为液泡水和细胞质水,对应的核磁共振信号幅 值为 A_{22} ^[22-24]。

结合水是通过氢键吸附于细胞中特别是膜上 的蛋白质、多糖之上的水分子,其组织内分子间的 结构排列紧凑,具有较短的T2弛豫时间。信号幅值 A21 反映了结合水的多寡,同时一定程度上反映了 生物大分子含量的多少。比如,叶片从衰老初期到 降解期,叶绿体逐渐降解,叶肉细胞同化物逐渐减 少,水分子¹H 与生物大分子之间的能量化学转移 减少,平均T2弛豫时间因此而延长。半结合水是水 分子可以转动的"结合"水,而自由水具有流动性, 二者中的氢质子相互作用较小,均具有较长的 T, 弛豫时间。T2 弛豫时间表征了水分子的动力学特 性,其与水分的扩散、流动性以及组织微区的黏度、 温度等因素有关,作为一个综合的指标反映水溶性 糖含量[25-26]变化、代谢活性以及生物膜透水性 等[27-28]。可移动的水分在植株体内比较容易移动和 散失,信号幅值 A22 决定了这部分水分的含量,其 与信号幅值 A21 所反映的生物大分子的含量可以共 同反映作物鲜重的变化。据此可建立小麦各器官鲜 质量 FW 与其对应的信号幅值 A21、A22 的多元线性 关系。

各器官 A21、A22 和鲜质量 FW 来源于 1.3.1 中

NMR 检测以及 NMR 检测后迅速称取的各器官 质量。

1.3.3 小麦各器官湿基含水率 NMR 检测方法的 建立

利用以上1.3.1 和1.3.2 建立的核磁共振 T₂ 弛豫 谱信号幅值与被检测器官纯水含量 *m_w* 以及鲜质量 FW 关系, 推求 NMR 检测各器官湿基含水率 MC (%)的公式。计算公式如下:

式中: MC 为器官湿基含水率,%; *m*_w为纯水含量, g; FW 为器官鲜质量,g。

1.4 小麦各器官湿基含水率 NMR 活体检测方法 的验证

与1.3 的试验平行进行,从灌浆期至衰亡期每 个品种同一生育期另取4株冬小麦,盆栽活体植株 无破坏,利用升降台将活体盆栽小麦植株的叶片、 茎秆以及麦穗送入检测腔内,其余部位处于检测腔 之外,检测的有效长度为4 cm。叶片的中心送至 检测腔的中心;茎秆的检测部位为叶基部以下部位 (有叶鞘包裹,并且叶基部紧挨探头外边缘);将 麦穗用保鲜膜包裹以防止籽粒脱落,将麦穗中心送 入检测腔中心,然后将各器官的检测部位裁下称取 鲜质量后烘干至恒质量,以此得到湿基含水率实 测值。

将 NMR 检测到的小麦各器官的信号幅值代入 公式(1)计算湿基含水率,设定 NMR 法计算得到 的湿基含水率为检测值。将烘干称质量法得到的实 测值与 NMR 法计算得到的检测值进行比较,以验 证各器官湿基含水率检测方法的可靠性。采用均方 根误差(root mean square error, RMSE)作为检测 精度的衡量指标,其计算公式如下:

$$RMSE = \sqrt{\frac{1}{N}\sum(y - y_m)^2}$$
(2)

式中: y 为用 NMR 法所得湿基含水率检测值,%; y_m 为烘干法所得的湿基含水率实测值,%; N 为检 测的样本数,其中叶片样本数 N_{leaf} =167,茎秆样本 数 N_{stem}=115,麦穗样本数 N_{ear} =77。

1.5 活体小麦各器官湿基含水率 NMR 检测方法 的应用

首先,选择兰考矮早8号为主试品种,根据1.4 所述,将1株活体盆栽小麦各器官的检测部位送入 检测腔进行 NMR 检测,检测后取出并送回遮雨棚 保证其正常生长。检测乳熟期(05月22日)、面团 早期(06月02日)、面团后期(06月05日)以及 成熟期(06月11日)叶片和茎秆长期的水分变化 过程。检测均在上午的 8:00-10:00 进行。其次, 分别选择乳熟期和成熟期内典型晴天(05月23日 和06月12日),对1株小麦植株各组织进行全天 的活体 NMR 检测,时间为 8:00-20:00,每隔2h 检测1次,共7个时间点。试验数据利用 SPSS18.0 软件进行处理。

2 结果与分析

2.1 核磁共振 T₂弛豫谱总幅值和被检测小麦器官 纯水含量的关系

小麦各器官 T₂ 弛豫谱总幅值 A 与样品中的纯 水含量具有明显的线性关系(图 2)。图中叶片和 茎秆的纯水含量主要集中在 0~0.5 g 的范围内,而 麦穗的纯水含量则分布于 0~1.8 g 区间,尽管小麦 不同器官 m_w具有较大差异,但是 m_w与 T₂ 弛豫谱 总幅值 A 具有较为一致的线性关系。



relaxation spectrum and the mass of water

由此可见,**T**₂弛豫谱总幅值可以较精准的求得 小麦各器官的纯水含量。通过线性回归分析,可得 回归方程为:

m_w=0.003A (R²=0.998, P<0.01) (3) 式中:m_w为被检测样品中纯水含量,g;A为T₂弛 豫谱幅值,AU。

2.2 T₂ 弛豫谱幅值与小麦叶片、茎秆、穗鲜质量 的关系

观察每一株小麦不同器官(叶片、茎秆和穗) 的 T₂ 弛豫谱, 发现 T₂ 弛豫谱的波峰在 10 ms 处 均有明显分界(图 3)。 根据小麦的这种弛豫特 性以及波峰位置的差异来界定水分状态,将 10 ms 作为结合水和可移动水的临界值, 10 ms 之前的 信号幅值 A₂₁代表结合水, 10 ms 之后的信号幅值 A₂₂代表可移动水。鉴于信号幅值 A₂₁、A₂₂ 与鲜质 量 FW 存在一定的相关关系,分别将小麦叶片 T₂ 弛豫谱中的 A₂₁、A₂₂ 提取出,并与鲜质量做多元 线性回归分析。



Note: A₂₁, A₂₂ are the signal amplitudes of bound water and movable water. 图 3 小麦各器官水分的核磁共振 T₂ 弛豫谱

Fig.3 Signal amplitudes of nuclear magnetic resonance for different organs of winter wheat

由数据分析结果可知,7个品种叶片中反映各状态水分含量的信号幅值 A₂₁、A₂₂与叶片鲜质量 FW_{leaf}都存在较好的多元线性关系,回归方程为:

 $FW_{leaf} = 0.02 + 0.006A_{21} + 0.003A_{22}$

$$(R^2=0.924, P<0.01)$$
 (4)

同理,小麦茎秆鲜质量 FW_{stem},麦穗鲜质量 FW_{ear}与A₂₁、A₂₂之间也存在较好的多元线性关系,回归方程分别为:

FW _{stem} = 0.01 + 0.007
$$A_{21}$$
 + 0.004 A_{22}
(R^2 =0.987, P <0.01) (5)
FW_{ear} = 0.179 + 0.012 A_{21} + 0.003 A_{22}
(R^2 =0.950, P <0.01) (6)

式中: FW_{leaf} 、 FW_{stem} 和 FW_{ear} 分别为叶片、茎秆和 穗的鲜质量, g; A_{21} 、 A_{22} 为结合水、可移动水对应 的核磁共振信号幅值, AU。

2.3 小麦各器官湿基含水率 NMR 活体检测方法 的建立

小麦各器官湿基含水率的核磁共振检测可以 获取 T₂ 弛豫谱总幅值 A,以及信号幅值 A₂₁、A₂₂, 利用公式 (3)可以计算的纯水含量 m_w,(4)~(6) 可以计算的各器官的鲜质量 FW,由此根据公式(1) 推算出各器官湿基含水率计算公式:

$$\mathrm{MC}_{\mathrm{leaf}} = \frac{0.003A}{0.02 + 0.006A_{21} + 0.003A_{22}} \tag{7}$$

$$\mathrm{MC}_{\mathrm{stem}} = \frac{0.003A}{0.01 + 0.007A_{21} + 0.004A_{22}} \tag{8}$$

$$\mathrm{MC}_{\mathrm{spike}} = \frac{0.003A}{0.179 + 0.012A_{21} + 0.003A_{22}} \quad (9)$$

式中: MC_{leaf}、MC_{stem}和 MC_{ear}分别为叶片湿基含水 率、茎秆湿基含水率和穗湿基含水率,%; A 为 T₂ 弛豫谱总幅值, AU; A₂₁、A₂₂分别为结合水和可移 2.4 冬小麦各器官湿基含水率 NMR 活体检测方 法的验证

利用 NMR 检测法检测小麦茎秆、叶片和穗的 湿基含水率效果较好,叶片、茎秆和穗的湿基含水 率 RMSE 值分别为: 5.3%、3.5%、3.3%(图 4)。 但茎秆和穗湿基含水率的检测值较叶片湿基含水 率检测值更紧密地分布在 1:1 线的两侧,表明 NMR 方法对茎秆和穗湿基含水率的检测效果更优。





2.5 活体小麦叶片、茎秆、穗 NMR 湿基含水率检测的应用

乳熟期至成熟期,小麦穗的成熟过程伴随着植 株整体的衰老和湿基含水率下降(图5)。叶片和茎 秆中, 衰老较为明显的是倒二叶, 其湿基含水率由 79%下降至 54% (图 5a), 即从乳熟期略高于旗叶 的湿基含水率逐渐降低,其后一直低于旗叶湿基含 水率,尤其是面团后期至成熟期有较大幅度的下 降。而旗叶作为灌浆期间光合产物主要来源, 其湿 基含水率一直相对稳定,保持在78%左右,直到面 团后期才迅速降低到72%。穗下茎和倒二茎的湿基 含水率均随时间而减小(图 5b),由 69% 左右下降 到 60% 左右, 但穗下茎的湿基含水率始终略小于倒 二茎, 且乳熟期至面团早期的湿基含水率变化不 大,直至面团后期开始有较大幅度的减小;倒二茎 的湿基含水率则呈现稳定降低的趋势。小麦穗的湿 基含水率在灌浆至成熟过程中持续减小(图 5c), 由 61%下降至 31%。随着叶片和茎秆的衰老,同化 物被转运至籽粒,籽粒的日渐成熟体现在湿基含水 率的大幅度降低。

2.6 活体小麦叶片湿基含水率的日变化规律

乳熟期和成熟期的叶片湿基含水率均存在较 明显先减小-后增大的规律性变化(图 6)。乳熟期 和成熟期旗叶均在检测日 16:00 到达湿基含水率的 最低值(图 6a),而倒二叶的湿基含水率则在 14:00 到达日内最低值(图 6b)。由于蒸腾失水,导致乳 熟期的旗叶湿基含水率由早晨 8:00 的 77%左右逐 渐下降至 16:00 降至 74%左右,然后再逐渐增加到 20 点的 76%左右,此后保持稳定(图 6a)。乳熟期 倒二叶的日间水分变化规律与旗叶类似,从 8:00 的 76%左右逐渐下降至 14 时的 75%左右,然后再逐渐 增加到 20:00 的 77%左右,但相比旗叶而言,湿基 含水率的下降幅度略小(图 6b)。

成熟期旗叶的湿基含水率由早晨 8:00 的 70% 逐渐减少,在 16:00 降至 53%左右,20:00 却只能 恢复至 60%,无法恢复到 8:00 的湿基含水率水平 (图 6a)。成熟期倒二叶的湿基含水率由 8:00 的 66%逐渐减少,在 16:00 降至 45%左右,20:00 恢 复至 55%,同样无法恢复到 8:00 的湿基含水率水 平(图 6b),这意味着叶片的湿基含水率在逐日降 低,体现了叶片的衰老过程。倒二叶在成熟期整体 的湿基含水率都比旗叶低,说明倒二叶与旗叶相比 衰老更为迅速。



注: 05-22、06-02、06-05、06-11分别为乳熟期、面团早期、面团后期以及成熟期。

Note: 05-22, 06-02, 06-05, 06-11 were milking, early dough, hard dough and ripening of winter wheat respectively.

图 5 2014 年兰考矮早 8 号冬小麦叶片、茎秆和穗湿基含水率在不同生育期的变化

Fig.5 Changes of moisture contents of leaf stem, and spike at different growth stages of winter wheat Lankao Aizao 8 in 2014



图 6 冬小麦兰考矮早 8 号旗叶和倒二叶湿基含水率在乳熟期观测日(2014-05-23)和成熟期观测日(2014-06-12)的日变化 Fig.6 Daily variations of moisture contents of flag leaf and second upper leaf of winter wheat *Lankao Aizao* 8 on observation day, sat milking (May 23, 2014) and ripening (June 12, 2014) stages

3 讨 论

生物体内含有大量的¹H,利用 NMR 可以分析 水分、油脂以及淀粉的含量^[29]。理论上,各物质中 的¹H 都具有核磁信号,但它们的弛豫特性却差别 显著,受生物大分子化学束缚强烈的 1 H 的 T₂ 弛豫 时间较水分子中的¹H小4个数量级^[10]。对于湿基 含水率较高的植物鲜样,一方面生物大分子¹H 信 号容易被水分子¹H 信号湮没,在 NMR 数据处理即 回波峰值点提取以及核磁共振 T2 弛豫谱反演时难 以与背景噪声区分;另一方面生物大分子¹H 衰减 极快,难以被低场 NMR 射频探头接收;综合上述 因素, 核磁共振 T₂ 弛豫谱幅值 A 主要由纯水含量 决定。该研究小麦各个器官的核磁共振 T2 弛豫谱幅 值与纯水含量具有极显著的线性关系,进一步证实 了上述分析。与此同时,试验中选择的 NMR 探头 为 20 mm, 这与小麦麦穗的直径、叶片宽度大体相 当,使得小麦样品送入探头后具有较高的填充度, 提高了信噪比水平。活体 NMR 检测系统中还包括 了设置的封闭保温措施,使得检测过程中 NMR 探 头内不受温度和气流的扰动,具有较为稳定和均匀的磁场,可以得到较为真实的水分信息。

植物组织的结构和成分较为复杂,水分在植物 体内的位置和环境也有所差异,故有结合水和可移 动水之分,因此反映组织水分状态的 T₂弛豫谱呈现 出多组分特征,可以利用小麦的弛豫特性对不同水 分进行区分,将弛豫时间 10 ms 作为分界,前后的 弛豫幅值分别对应为结合水和可移动水。这种定义 方法与前人的研究相同,例如,邵云龙等^[22]对烫漂 后的玉米进行 T₂弛豫谱分析,根据弛豫特性将弛豫 时间在 50 ms 之前的水分定义为结合水;张旭坤 等^[23]根据胡萝卜波峰所覆盖区域界定水分的状态, 将 10 ms 之前的水分定义为结合水; 张旭坤 鱼糜制品中 T₂弛豫时间小于 3 ms 的水分定义为结 合水,其后为可移动水。由此可见,结合水与可移 动水的区分界限因样品的不同而存在一定的差异, 可以依据样品的弛豫曲线特征对二者进行区分。

被检测小麦植株中结合水的信号幅值 A₂₁ 与半结合水、自由水的总信号幅值 A₂₂ 在一定程度上可以反映生物大分子含量以及代谢的活性,通过鲜质

量与其信号幅值 A21、A22 的多元线性拟合,发现 NMR 检测可以对鲜重进行检测。纯水含量只跟器 官内的¹H 含量有关, 故各器官的纯水含量公式一 致,而 NMR 检测的鲜重计算公式却因器官的不同 而异,这可能是因为不同器官的新城代谢能力与同 化物含量的有所差异,导致信号幅值 A21、A22 在决 定鲜质量大小时所占的比重不同。本研究对7个小 麦品种进行同时段检测,发现7个品种小麦同一器 官的核磁共振 T2 弛豫特性较为一致,并不存在品种 间的差异,与此同时,为了增强公式的适用性,建 立了统一的公式,由此建立了各器官鲜质量与其对 应的信号幅值 A21、A22 的多元线性关系。公式可以 很好地反映小麦各器官的鲜质量状况,表明了小麦 各器官 NMR 检测公式的普遍适用性。利用纯水含 量和鲜重之比进而推求 NMR 检测湿基含水率的计 算公式,并对此湿基含水率检测方法的精度进行验 证,结果显示穗和茎秆的湿基含水率检测效果最 好,而叶片次之。这可能与检测的信噪比有关,穗 和茎秆较叶片而言,在探头内部的填充度好,这使 得磁场强度的稳定性和检测的结果可靠性更好。

本研究结果显示,小麦茎秆和叶片在灌浆至成 熟的过程中湿基含水率逐渐减小,即旗叶由78%下 降至 72%, 倒二叶由 79% 降至 54%, 茎秆由 69% 左 右下降至 60% 左右。 而穗的湿基含水率则由 61% 下 降至较叶片、茎秆低的湿基含水率水平 31%, 这与 柴金伶利用植气温差研究的小麦水分状况相一 致^[31]。在灌浆期至成熟期,叶片和茎秆呈现逐渐衰 老的态势,随着籽粒灌浆的完成,叶片和茎秆的同 化物逐渐减少, 叶绿体降解完全, 细胞内的亚细胞 器逐渐崩解,但细胞膜仍保持完整,细胞具有保持 水分的能力^[32],故叶片和茎秆虽然呈现由绿转黄的 变化,但湿基含水率并未出现较大幅度的减小。穗 在乳熟早期的干物质含量大约占成熟期时的75%, 随后籽粒干物质还在增加,但充实速率较之前大为 下降^[33]。在籽粒的胚乳细胞被淀粉的充实过程中, 细胞液泡逐渐减小至消失,细胞器相继降解,细胞 核消亡,当灌浆趋向停止,胚乳细胞失去活性,不 能够保持水分^[34],故在灌浆之后的乳熟期至成熟期 湿基含水率逐渐降低且降幅较大。

叶片衰老的一个重要标志是生物大分子以及 叶绿体的降解,降解物作为营养物质被转运至籽粒 和其他器官的过程中,整个叶片的湿基含水率也随 之下降^[35],倒二叶湿基含水率的下降是贯穿整个灌 浆过程,而旗叶直至面团后期开始降解,此时的湿 基含水率才迅速下降。旗叶作为光合能力最强的叶 片,在小麦同化物累积过程中具有关键的作用,提 高旗叶生理功能的同时延缓其衰老,无疑对小麦的 高产起到至关重要的作用^[36]。乳熟期之后,随着叶 片的衰老,叶片蔗糖外运能力降低,此时茎秆的果 聚糖开始降解以保证籽粒充实的继续,这一过程持 续至籽粒的成熟^[37],茎秆降解衰老过程也伴随着湿 基含水率的下降。

小麦叶片因其需要进行蒸腾作用和光合作用, 故日间的叶片水分在消耗与供给中维持动态的平 衡。随着叶片日间光合速率的增加, 气孔开度增大, 蒸腾速率增大,随之水分散失量增加,湿基含水率 下降,张红卫等^[38]研究当土壤含水率为田持的70% 左右时,蒸腾速率在14:00 左右达到最大值。当蒸 腾速率达到最大值时,可能水分的供给不能及时补 充水分的消耗,造成了倒二叶在 14:00 达到湿基含 水率的最低点,而旗叶在 16:00 达到湿基含水率的 最低点。旗叶在蒸腾耗水量最大之后水分还在持续 减小,直到16:00后才有恢复,这一滞后现象也可 能与水分由下向上传输有关,旗叶在最顶端,故水 分补给也存在相应的推迟,这种现象一直持续至成 熟期。乳熟期日间叶片的湿基含水率减小后在晚间 可以得以恢复,但成熟期叶片的湿基含水率在减小 后不能恢复至同一天 8:00 的水平,由此可见湿基含 水率在逐日的减小,且倒二叶衰减程度比旗叶更加 迅速,这同时也体现了旗叶在小麦产量形成过程中 的重要作用。

本研究建立的小麦湿基含水率活体检测方法 取得了较为精准的检测效果,但由于设备功能限 制,将已建立的方法应用到小麦湿基含水率长期变 化以及日变化研究均为单一植株的检测结果,且只 研究了乳熟期到成熟期典型日期的小麦湿基含水 率变化。但达到了说明此方法在研究过程中可行的 目的,今后仍需增加样本数量和生育期内的检测次 数,研究不同情境模式下活体小麦植株各器官湿基 含水率的变化过程,以求更加深入的探究冬小麦活 体植株水分变化、分布以及需水耗水规律。

4 结 论

1)通过线性回归分析,核磁共振 T₂弛豫谱幅 值和被检测器官内纯水含量存在显著相关性,小麦 叶片、茎秆和穗的信号幅值 A₂₁、A₂₂ 与被检测器官 鲜质量也存显著相关性,利用求得的纯水含量与鲜 质量之比可以计算湿基含水率。小麦植株水分 NMR 检测方法的验证结果表明,叶片、茎秆和穗的湿基 含水率的烘干法实测值和核磁共振检测值的均方 根误差值分别为 5.3%, 3.5%, 3.3%。

 2)乳熟期至成熟期,旗叶湿基含水率先保持 78%不变,到面团后期才迅速降至72%;倒二叶湿 基含水率由79%缓慢减至54%;茎秆湿基含水率随 时间从 69%左右减小至 60%左右; 穗的湿基含水率 由 61%大幅降低至 31%。表明营养物质被转运至籽 粒的过程中, 植株整体表现出衰老的趋势。

3)乳熟期和成熟期的小麦旗叶、倒二叶湿基 含水率日变化均呈现先减小后增大的趋势。蒸腾速 率越大,叶片失水越多,湿基含水率越小,蒸腾速 率减小,湿基含水率得以恢复。乳熟期的旗叶的湿 基含水率从 8:00 的 77%降低至 74%后可以在 20:00 恢复至 76%,倒二叶则从 8:00 的 77%降低至 74% 后恢复至 76%。但成熟期旗叶的湿基含水率由 70% 降至 53%后可恢复至 60%,倒二叶则由 66%降至 45%后增加至 55%,二者无法恢复到当天 8:00 的湿 基含水率,体现了叶片的逐渐衰老过程。

[参考文献]

[1] 刘培, 蔡焕杰, 王健. 土壤水分胁迫对冬小麦生长发 育、物质分配及产量构成的影响[J]. 农业现代化研究, 2010, 31(3): 330-333.

Liu Pei, Cai Huanjie, Wang Jian. Effects of soil water stress on growth development, dry-matter partition and yield constitution of winter wheat[J]. Research of Agricultural Modernization, 2010, 31(3): 30-333. (in Chinese with English abstract)

- [2] 山仓. 植物抗旱生理研究与农业抗旱实践一科学生涯 片段[J]. 植物生理学报, 2013, 49(6): 505-508.
 Shan Lun. Plant drought resistance and agricultural drought practice-a part of career in science[J]. Plant Physiology Journal, 2013, 49(6): 505-508.
- [3] 杨启良,张富仓,刘小刚,等.植物水分传输过程中的调控机制研究进展[J].生态学报,2011,31(15): 4427-4436.

Yang Qiliang, Zhang Fucang, Liu Xiaogang, et al. Search progress on regulation mechanism for the process of water transport in plants[J]. Acta Ecologica Sinica, 2011, 31(15): 4427–4436. (in Chinese with English abstract)

- [4] Ljudmilla B, Hardy R, Thomas N. Surveying the plant's world by magnetic resonance imaging[J]. The Plant Journal: for Cell and Molecular Biology, 2012, 70(1): 129-146.
- [5] R.H. S, D.W.A. W. A numerical analysis of heat pulse velocity theory and practice[J]. Journal of Experimental Botany, 1981, 32(1): 221-239.
- [6] Pietro C, Stéphane F, Stefano T, et al. Detecting vegetation leaf water content using reflectance in the optical domain[J]. Remote Sensing of Environment, 2001, 77(1): 22-33.
- [7] Take S, Fukuoka M. An application of magnetic resonance imaging to the real time measurement of the change of moisture profile in a rice grain during drying[J]. Journal of Food Engineering, 1997, 33(1): 181-192.
- [8] 张建锋,吴迪,龚向阳,等.基于核磁共振成像技术的作物根系无损检测[J].农业工程学报,2012,28(8): 181-185.

Zhang Jianfeng, Wu Di, Gong Xiangyang, et al. Non-destructive detection of plant roots based on magnetic resonance imaging technology[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2012, 28(8): 181–185. (in Chinese with English abstract)

- [9] Capitani D, Brilli F, Mannina L, et al. In situ investigation of leaf water status by portable unilateral nuclear magnetic resonance[J]. Plant Physiology, 2009, 149(4): 1638-1647.
- [10] 杜光源, 唐燕, 张嵩午, 等. 小麦叶片衰老态势核磁 共振分析[J]. 农业机械学报, 2014, 45(004): 264-270.

Du Guangyuan, Tang Yan, Zhang Songwu, et al. Investigating senescence status of wheat leaves by nuclear magnetic resonance[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2014, 45(4): 264-270. (in Chinese with English abstract)

- [11] Hills B P, Remigereau B. NMR studies of changes in subcellular water compartmentation in parenchyma apple tissue during drying and freezing[J]. International Journal of Food Science & Technology, 1997, 32(1): 51-61.
- [12] Hills B P, Nott K P. NMR studies of water compartmentation in carrot parenchyma tissue during drying and freezing[J]. Applied Magnetic Resonance, 1999, 17(4): 521-535.
- [13] Stout D G, Steponkus P L, Cotts R M. Nuclear magnetic resonance relaxation times and plasmalemma water exchange in ivy bark[J]. Plant Physiology, 1978, 62(4): 636-641.
- [14] van Der Weerd L, Claessens M M, Ruttink T, et al. Quantitative NMR microscopy of osmotic stress responses in maize and pearl millet[J]. Journal of Experimental Botany, 2001, 52(365): 2333-2343.
- [15] 张绪坤,祝树森,黄俭花,等.用低场核磁分析胡萝 卜切片干燥过程的内部水分变化[J].农业工程学报, 2012,28(22):282-287.
 Zhang Xukun, Zhu Shusen, Huang Jianhua, et al. Analysis on internal moisture changes of carrot slices during drying process using low-field NMR[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2012, 28(22): 282-287. (in Chinese with English abstract)
- [16] 董兆鹏,刘亭林,袁毓坦,等.冬小麦的适宜土壤水 分[J].中国农村水利水电,1988(11):1.
- [17] Zadoks J C, Chang T T, Konzak C F. A decimal code for the growth stages of cereals[J]. Weed Research, 1974, 14(6): 415-421.
- [18] Monteiro Marques J P, Rutledge D N, Ducauze C J. Low resolution pulse nuclear magnetic resonance study of water equilibration in dried carrots[J]. International Journal of Food Science & Technology, 1991, 26(2): 173-183.
- [19] 阮榕生,林向阳,张锦胜.核磁共振技术在食品和生物体系中的应用[M].北京:中国轻工业出版社, 2009:90-94.

[20] 范明辉,范崇东,王淼.利用脉冲 NMR 研究食品体系中的水分性质[J].食品与机械,2004,20(2):45-48.

Fan Minghui, Fan Chongdong, Wang Miao. Pulse NMR study of water in good system[J]. Food and Machiney, 2004, 20(2): 45-48. (in Chinese with English abstract)

[21] 邵小龙,李云飞.用低场核磁研究烫漂对甜玉米水分布和状态影响[J].农业工程学报,2009,25(10):302-306.
 Shao Xiaolong, Li Yunfei. Effects of blanching on water

distribution and water status in sweet corn investigated by using MRI and NMR[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering(Transactions of the CSAE), 2009, 25(10): 302 - 306. (in Chinese with English abstract)

[22] 李然,李振川,陈珊珊,等.应用低场核磁共振研究 绿豆浸泡过程[J].食品科学,2009,30(15):137-141.

Li Ran, Li Zhenchuan, Chen Shanshan, et al. Study of water absorption of mung beans based on low-field nuclear magnetic resonance technology[J]. Food Science, 2009, 30(15): 137 - 141. (in Chinese with English abstract)

[23] 王娜. 核磁共振及其成像技术在脐橙的生长和储藏过程中的应用[D]. 南昌: 南昌大学生命科学学院, 2007.

Wang Na. The Application of NMR and MRI in the Process of Growth and Storage in Navel Orange[D]. Nanchang: Nanchang University, 2007. (in Chinese with English abstract)

[24] 姜晓文,韩剑众.肌肉水分分布,抗氧化性与生鲜猪 肉持水性的关系[D]. 杭州:浙江工商大学食品科学与 工程学院,2009.

Jiang Xiaowen, Han Jianzhong. Relationship Between Water Distribution, Antioxidation and Water-holding Capacity in Fresh Pork Meat[D]. Hangzhou: Zhejiang Gongshang University, 2009. (in Chinese with English abstract)

- [25] Fabri D, Williams M A, Halstead T K. Water T_2 relaxation in sugar solutions[J]. Carbohydrate Research, 2005, 340(5): 889-905.
- [26] Mora-Gutierrez A, Baianu I C. Proton NMR relaxation and viscosity measurements on solutions and suspensions of carbohydrates and starch from corn: the investigation of carbohydrate hydration and stereochemical and aggregation effects in relation to oxygen-17 and carbon-13 NMR data for carbohydrate solutions[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1989, 37(6): 1459-1465.
- [27] Hills B P, Duce S. The influence of chemical and diffusive exchange on water proton transverse relaxation in plant tissues[J]. Magnetic Resonance Imaging, 1990, 8(3): 321-331.
- [28] Hills B P, Cano C, Belton P S. Proton NMR relaxation

studies of aqueous polysaccharide systems[J]. Macromolecules, 1991, 24(10): 2944-2950.

- [29] Castro C, Gazza L, Ciccoritti R, et al. Development of wheat kernels with contrasting endosperm texture characteristics as determined by magnetic resonance imaging and time domain-nuclear magnetic resonance[J]. Journal of Cereal Science, 2010, 52(2): 303-309.
- [30] 林晶晶,林向阳,吴佳,等.利用核磁共振技术研究 鱼糜制品在储藏过程中的水分变化[J].食品科学, 2011,32(19):46-49.
 Lin Jingjing, Lin Xiangyang, Wu Jia, et al. Water content change of surimi products explored by NMR during storage[J]. Food Science, 2011, 32(19):46-49. (in Chinese with English abstract)
- [31] 柴金伶. 基于植气温差的小麦水分状况监测研究[D]. 南京:南京农业大学农学院,2011.
 Cai Jinling. Monitoring of Water Status with Plant-air Temperature Difference in Wheat[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2011. (in Chinese with English abstract)
- [32] Lim P O, Kim H J, Gil Nam H. Leaf senescence[J]. Annu Rev Plant Biol, 2007, 58: 115–136.
- [33] 张晓龙.小麦品种籽粒灌浆研究[J].作物学报, 1982, 8(2): 87-93.
 Zhang Xiaolong. Study on the grain filling of wheat[J].
 Acta Agronomica Sinica, 1982, 8(2): 87-93. (in Chinese with English abstract)
- [34] 王忠,顾蕴洁,王慧慧,等.关于小麦胚乳细胞发育的研究[J].中国科技论文在线精品论文,2012,5(19):1815-1832.
 Wang Zhong, Gu Yunjie, Wang Huihui, et al. Investigation of the wheat endosperm cell development[J]. Sciencepaper Online, 2012, 5(19):1815-1832. (in Chinese with English abstract)
- [35] Yoshida S. Molecular regulation of leaf senescence[J]. Current Opinion in Plant Biology, 2003, 6(1): 79-84.
- [36] 于振文.不同密度对冬小麦开花后叶片衰老和粒重的 影响[J]. 作物学报, 1995, 21(4): 412-418.
 Yu Zhenwen. Effect of different density on leaf senescence after anthesis and kernel weight in winter wheat[J]. Acta Agronomica Sinica, 1995, 21(4): 412-418. (in Chinese with English abstract)
- [37] Schnyder H. The role of carbohydrate storage and redistribution in the source-sink relations of wheat and barley during grain filling: a review[J]. New Phytologist, 1993, 123(2): 233-245.
- [38] 张红卫,陈怀亮,杨志清. 土壤水分变化对冬小麦蒸 腾速率的影响[J]. 河南农业科学,2010(7):10-14. Zhang Hongwei, Chen Huailiang, Yang Zhiqing. Study and simulation on diurnal variation of transpiration rate responding to the biological-environmental conditions under different soil moisture[J]. Journal of Henan Agricultural Science, 2010(7): 10-14. (in Chinese with English abstract)

Detection of water distribution and dynamics in body of winter wheat based on nuclear magnetic resonance

Yao Shijin^{1,2}, Du Guangyuan³, Mou Hongmei^{1,2}, Luan Xiangyu¹,Ma Hongyan¹, Liu Jianan¹,

Liu Mengda¹, Qi Xiao¹, He Jianqiang^{1,2%}

(1. College of Water Resources and Architectural Engineering, Northwest A & F University, Yangling 712100, China; 2. Institute of Water Saving Agriculture in Arid Areas of China, Northwest A & F University, Yangling 712100, China;

3. College of Sciences, Northwest A & F University, Yangling 712100, China)

Abstract: The nuclear magnetic resonance (NMR) technique is a noninvasive and nondestructive way of probing water content in plants, and has been broadly used in the studies on plant-water relationship. In order to investigate water distribution in a living winter wheat plant, the T_2 relaxation parameters of NMR were used to measure the moisture contents (MC) in leaf, stem, and spike of winter wheat. The results showed that the amplitude of T_2 relaxation spectrum was linearly correlated to the mass of water in the plant sample. And according to the T₂ relaxation properties of wheat leaf, stem, and spike, the T₂ relaxation spectra could be divided into two components. The fresh weight could be estimated through linear regression using the peak areas of each component of T₂ spectra. Then, the moisture contents of each organ could be obtained. To verify the moisture content estimation function, the moisture contents of organs of seven wheat varieties were measured with both NMR and traditional oven-drying methods. The root mean square error (RMSE) was adopted to measure the accuracy. The results showed that the RMSE of two kinds of measured moisture contents of leaf, stem and spike were 5.3%, 3.5% and 3.3%, respectively. The NMR detection method had high detection precision for moisture content. By comparison, the detected moisture contents in spike and stem were more precise, followed by leaf measurement. The larger error for wheat leaf was probably due to a relatively lower signal-noise ratio, and a reason for this might be the lower level filling degree relative to stem and spike. Then the method was applied to monitor the long-term and diurnal changes of the moisture contents in living wheat plants at different growth stages. The results showed that moisture content of the second upper leaf decreased from 79% to 54% during grain milk stage and ripening. The moisture content in flag leaf remained relatively stable, which kept at 78% and then decreased to 72% until the grain dough stage. The moisture contents of the first and second stems below spike also decreased from 69% to 60%. The nutriment in leaf and stem was activated and transferred into wheat grain during the stage of grain filling. This process was accompanied by a decrease of the moisture content in spike from 61% to 31%. The moisture contents of the flag leaf and second upper leaf decreased first and then increased during the stages of grain milk and ripening. At grain milk stage, leaves moisture contents were about 77% at 8:00 and reduced gradually to 74% at 14:00 (at 16:00 for flag leaf), then to 76% at 20:00. It means the moistures of leaves could recover to their initial state after decreased at grain milk stage. However, at ripening stage, the moisture content of flag leaf decreased from 70% at 8:00 to minimum (53%) at 16:00, then to 60% at 20:00. The second upper leaf showed the same tendency that the moisture content decreased from 66% to 45% and merely increased to 55% thereafter. Since the method based on NMR can continuously monitor the same wheat plant without destruction and invasion, this study can reveal the water dynamics and aging process of winter wheat more directly and precisely. The results will lay a theoretic foundation for the study on water consumption of winter wheat growing healthy and rational irrigation schedules. During next study, more wheat plants and high frequency detecting should be taken into account to demonstrate the general significance. At the same time, different environment conditions should be settled for a deeper exploration of the water distribution and movement within the wheat body.

Key words: crops; moisture; nuclear magnetic resonance; winter wheat; T2 relaxation spectrum