

不同植物的激光诱导荧光光谱特征 及其在遥感上的意义

张崇静 吴 荣 朱永豪 刘南英

(中国科学院安徽光学精密机械研究所)

沈 玉 其

(中国科学院南京分院)

徐彬彬 石晓日 李德成 周 斌

(中国科学院南京土壤研究所)

摘 要

用 337nm 氮分子激光照射不同种类的植物,可以得到每一种类植物的激光诱导荧光特征光谱。利用峰的波长,荧光强度的差异可以将木本阔叶树、针叶树,草本双子叶及单子叶植物加以区分。685 与 740 以及 440 与 550nm 的荧光强度比值均可以作为植物区分的两种参数。用激光诱导荧光技术监测植物要选择合适的生长期和季节,单子叶植物应选拔节期,双子叶植物应选营养生长期,而木本植物则应选在春末夏初。研究表明,激光诱导荧光遥感技术对植物鉴别与分类以及植物的长势监测具有极其重要的意义和应用前景。

关键词 激光诱导荧光光谱 植物鉴别 遥感

一、前 言

以往对植物光谱的研究,多集中在反射光谱。用激光诱导荧光的主动遥感方法进行植物的荧光光谱特征研究,是近十几年发展较快的遥感探测的新方法。美国 E.W.Chappelle 等对 5 类主要植物的激光诱导荧光光谱进行了实验研究^[1],国内潘崎等对激光诱导叶绿素荧光用于绿色植物诊断的可行性进行了研究^[2]。我们的目的,是通过在实验室内和野外对植物激光诱导荧光光谱的测量,研究植物内部叶绿素等色素成分引起的荧光光谱特征,比较不同植物之间以及因季节、生长期的不同反映在荧光特征上的差异,以此来探讨其在遥感分类及监测上的应用意义。

二、原理与方法

植物叶中的叶绿素是光合作用中最主要和最有效的色素。它在光合作用中起着能量

的接收和传递作用。光合色素叶绿素吸收光能后, 经过一系列的光物理、光化学等过程, 将部分能量转换为化学能贮藏起来, 另部分能量则以热及荧光形式释放。光合作用效率相对高时, 作为荧光耗散的能量就低。如果光合作用效率受各种因素影响而降低, 则荧光产额也就高。已经肯定, 曝露于光下的植物, 其发射的荧光强度基本由光合效率和叶绿素浓度决定。荧光的变化与光合效率成反比, 与叶绿素浓度成正比。那么, 不同植物之间的差异将依对光合效率起限制作用的因素(叶绿素浓度、光合产物运输状况、叶片解剖结构及气孔数目等)及环境条件等方面的变化而发生变化。这样, 在荧光光谱的特征上也会表现出差异及变化, 那么不同植物呈现自己特征性的荧光光谱就是可能的了。

本研究中采用的植物样品都是合肥西郊董铺岛的植物(属北亚热带)。针叶树有马尾松、黑松、雪松、龙柏、侧柏及圆柏等。阔叶树有樟树、槐树、乌桕、白杨、黄杨、亮叶冬青、椴木石楠及女贞等。农作物有棉花、花生、大豆、油菜、青菜、小麦、大麦、玉米及水稻等。室内测量是将叶片平展固定在不产生荧光的铝板上, 激光照在距激光器 100cm 远的叶片上, 叶片辐射的荧光由透镜聚焦在入射狭缝上, 狭缝前加紫外截止滤光片接收的荧光由 OSA 光谱分析仪处理后在屏幕上显示图谱。谱线可存盘也可由打印机打出。

激光荧光雷达系统由三部分组成:(1) QJD-9 型 N_2 激光器, (2) 接收望远镜(室内实验不用), (3) OSA-WP₄ 光谱分析仪系统。 N_2 激光器发射波长 337nm, 单脉冲能量最大 5mJ, 经常用 1mJ, 能量起伏 3%。室内测量仪器设备的配置见参考文献[3]。

所测的荧光光谱曲线全部进行了响应度校正。每条曲线都由 10 条曲线平均而成。由于仪器一次摄谱范围(280nm 左右)的限制, 因而要表达宽谱带范围内的荧光特征, 需要分波段分次测量再联接。考虑到植物叶绿素含量和光合作用效率随季节和生长期而发生变化, 在对不同植物荧光特征进行比较时, 对不同季节的植物也进行了测量。

三、结果与讨论

总的来说, 不同的植物, 其荧光光谱特征也不同, 再加上生长期的时间差别, 正好用于植被的识别。不同植物荧光光谱之间的差异是荧光峰值与强度的差异。这些差异主要是由叶片光合色素浓度与光合作用效率决定的。

E. W. Chappelle 等的文章是迄今见到的对植物激光遥感研究最为详尽的报道。他们对几种主要植物的荧光光谱特征作了比较之后, 得出了以下主要结论: 所有植物在 440 与 740nm 处均有发射荧光; 在 525nm 处可测出荧光的仅有针叶与阔叶树木; 双子叶植物在衰老前与衰老期可观察到 525nm 荧光峰值; 针叶树与其它植物种类的区别在于观察不到 685nm 处的荧光峰值。他们根据这些结果提出了遥感分辨不同植物的几个判读依据^[1]。无疑, E. W. Chappelle 等人的工作是十分有意义的, 但从另一方面来讲, 他们的某些结论也还有加以商榷的必要。

图 1—3 是我们所得到的针叶树、阔叶树、草本双子叶植物及单子叶植物的激光诱导荧光光谱。它们是各大类型的代表植物, 因此其荧光光谱特性也具有一定的代表性。

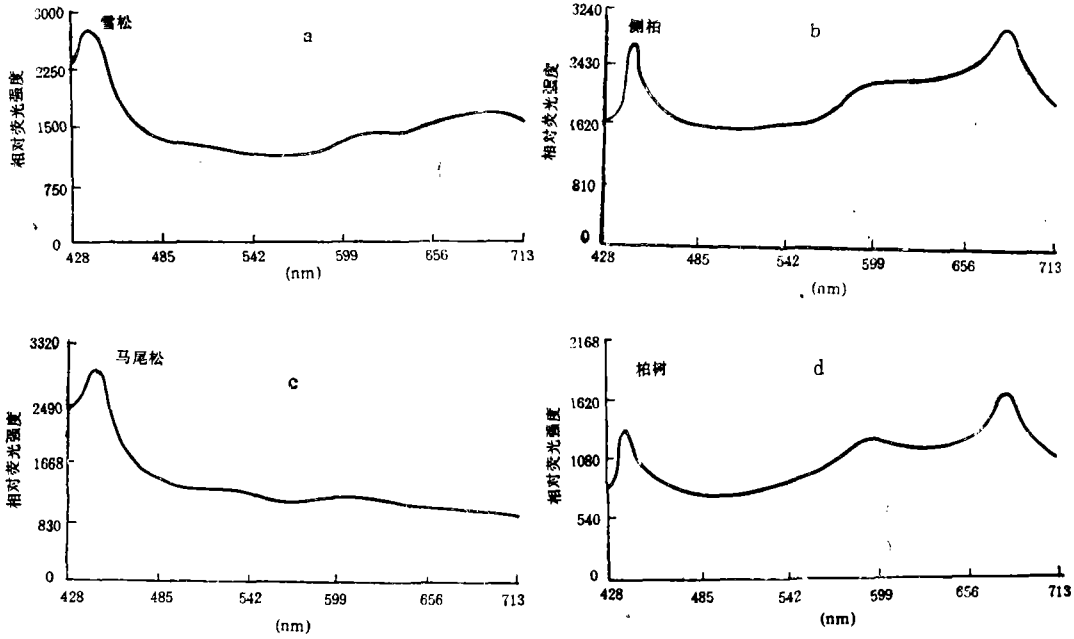


图1 针叶树激光诱导荧光光谱图

Fig. 1 Laser induced fluorescence spectra (LIFS) of coniferous trees

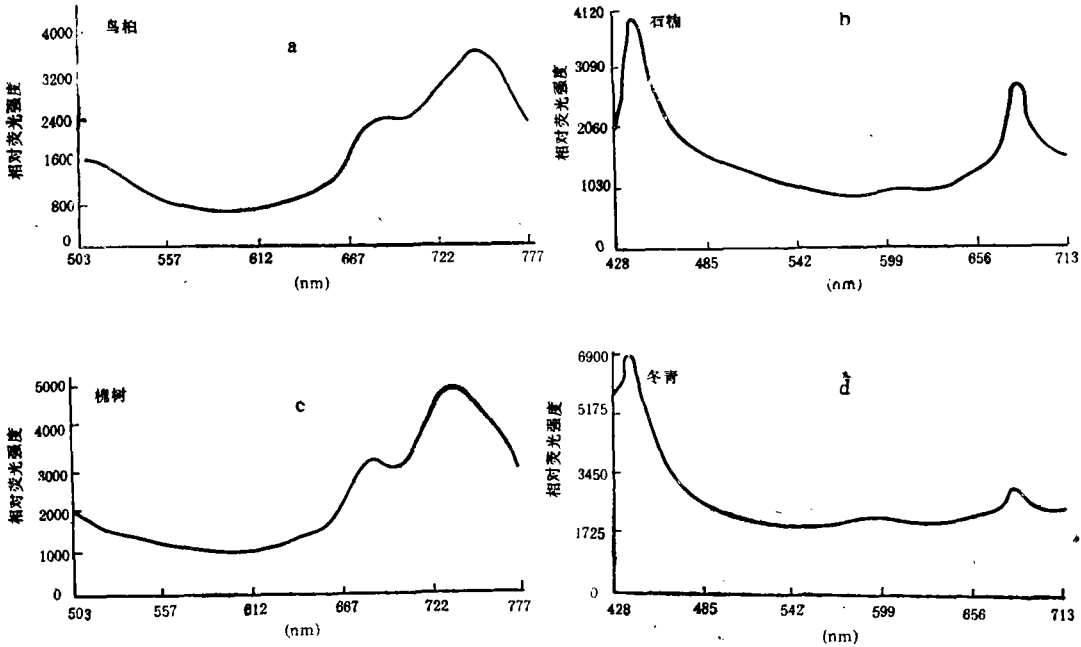


图2 阔叶树激光诱导荧光光谱图

Fig. 2 LIFS of broadleaf trees

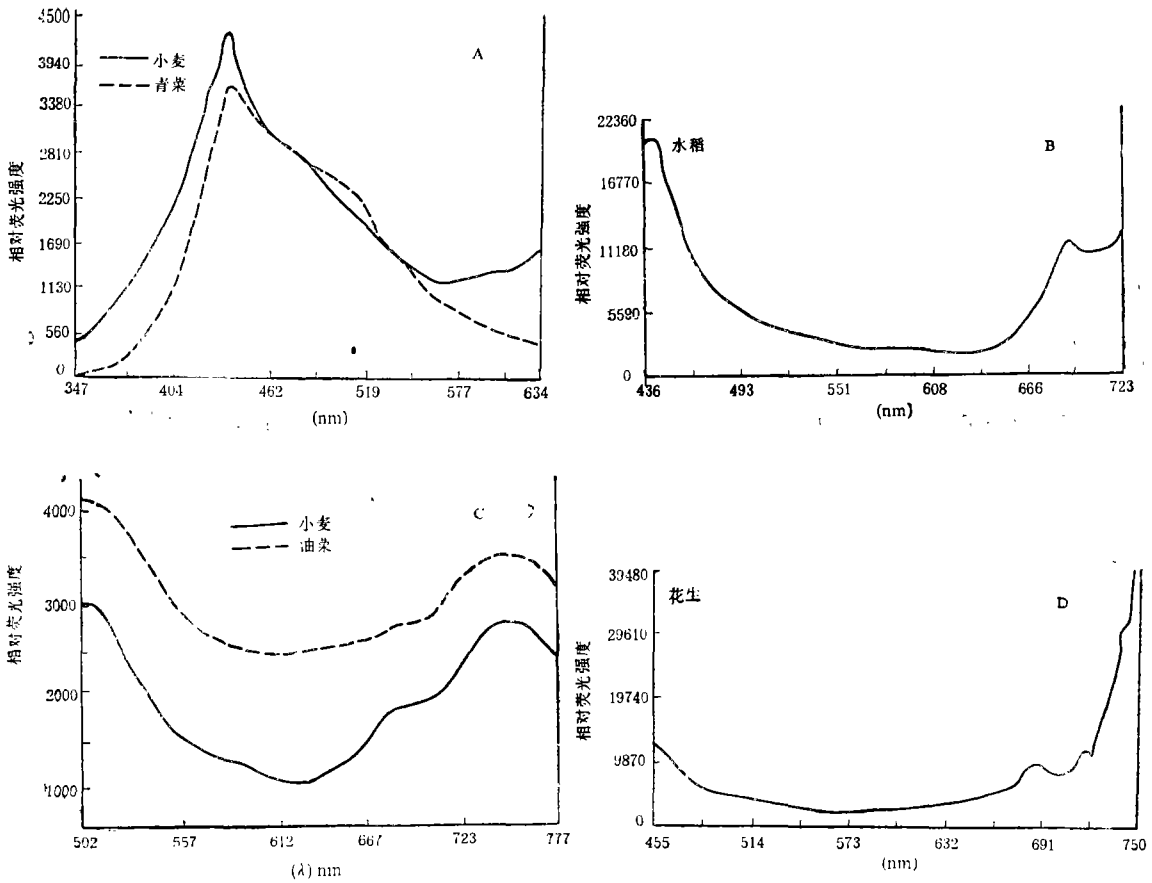


图 3 单、双子叶植物激光诱导荧光光谱图
 Fig. 3 LIFS of monocotyledon and dicotyledon

实验数据告诉我们：

(1) 从植物种类的辨别来看，所研究的 4 种植物的在 440 与 740nm 处均有明显的荧光发射峰，与前人的结论一致^[1]。但是，他们认为针叶树无 685 nm 荧光峰的说法可能过于绝对。在我们所作的针叶树中，除马尾松未观察到 685nm 荧光峰外，侧柏、柏树等在此均有荧光发射，甚至雪松也有可察觉的隆起（见图 1a）。考虑到他们选用的红松、火炬松与白松属针叶树中的松科植物，以及云杉属杉科植物，可否归结为针叶树中的松科和杉科无 685nm 荧光峰。

实验还给我们提供了十分丰富的信息。如植物衰老时期或干枯绿叶在 720nm 附近出现荧光峰，冬季针叶树、阔叶树在 600nm 处有荧光峰。

图 4 是提纯植物色素的激光诱导荧光光谱^[1]。由图可知，685 和 740nm 处是叶绿素 a 的荧光峰，也可说是叶绿体中两个光系统 (PSII 和 PSI) 中两种叶绿素 a 的特征峰。从图上可以看出，虽然 NADPH (菸蒸酰胺腺嘌呤双脱氧核糖核苷酸) 在 440nm 处发射荧光，但 E. W. Chappelle 经过对大豆叶子组织浆进行培养实验，使 NADPH 氧化并使之不可能发射荧光，然而仍可看到 440nm 处的荧光强度并未降低。他们认为维生素 K 或一种类

似的苯醌是引起 440 nm 荧光的化合物。至于针叶树中的松科植物没有 685nm 的荧光峰, 不是说它没有叶绿素 685 (松类针叶叶绿素溶液荧光光谱中有 685nm 荧光峰), 而是说针叶中叶绿素 a 的能量转移极其有效, 没有多余的或者仅有很少的能量作为荧光而耗散。720 与 600nm 荧光峰的出现目前还不清楚, 可能是生长期与季节的影响, 使叶内色素在能量传递中形成某种色素组态分子或者是中间产物而造成的。

单子叶和双子叶植物具有相同的荧光峰。它们的相对荧光强度虽有一定的差异, 但也能归纳出如参考文献[1]中所提出的用 440nm 处的峰强作为判别依据。然而从我们已测试的资料看, 似乎这种差异的可靠性和稳定性尚难达到统计上所要求的显著性标准(如 0.05)。所以, 还有待于进一步扩展样品和增加测试数。

根据有没有 685nm 荧光峰, 可以将松科植物从阔叶树和柏科植物中区别开来。柏科植物在 685nm 处的荧光峰强度小于阔叶树, 约为阔叶树的 70%。据此又有可能将柏类与阔叶树加以区分。

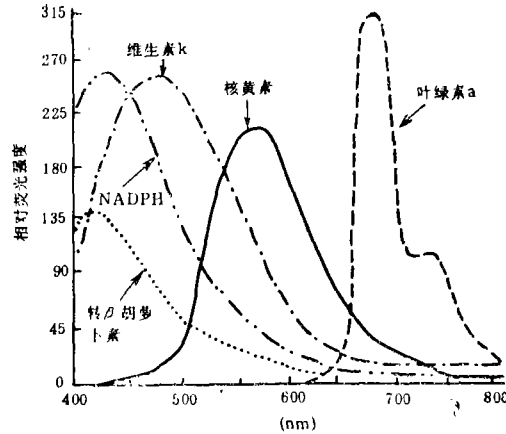


图4 提纯后的植物色素激光诱导荧光光谱
Fig. 4 LIFS of plant purified pigments

表1 植物类型 440nm/685nm 荧光强度比值
Table 1 Fluorescence intensity ratios between 440nm and 685nm of plants

植物类型	种类数	取样数	440/685	
			\bar{X}	变幅
针叶树	4	4	1.54	1.37—1.61
阔叶树	5	14	0.62	0.16—1.02
单子叶植物	2	7	1.98	1.66—2.33

表1展示了针叶树、阔叶树和单子叶植物 440nm/685nm 荧光强度的平均比值变幅范围。从表1可知, 各大类型植物, 其 440nm/685nm 的比值之间有一定差异。同时, 不同类型植物的 685 和 740nm 荧光强度的比值也有一定差异, 但不如 440nm/685nm 的平均比值差异那样明显, 这也反映了三大类型植物之间荧光强度的差异性。

(2) 生长期不同或季节变化, 植物叶内叶绿素浓度及光合作用效率都会有相应变化, 并将在荧光光谱特征上表现出来。如水稻在有效分蘖期的 440nm/685nm 的荧光强度平均比值为 2.19 ($n=4$), 而成熟期则为 1.51 ($n=8$)。棉花及黄豆在营养生长期有 440, 685 及 740nm 荧光峰, 棉花结蕾期叶子色绿, 在 455—750nm 波段内有 685 及 740nm 荧光峰。由图 5 可知, 叶绿素 685nm 的能量向 740nm 传递很有效, 黄豆结荚期叶子黄绿, 有 685nm 峰, 但会出现无 740nm 荧光峰现象。这种现象是否可以这样解释: 趋于成熟期的黄豆, 叶子已经趋于老化, 叶绿素含量减少; 另外, 此时光合作用的产物运输速度加快, 集中输入果实, 同化物质的积累限制了光合作用的进行, 使叶绿素 685nm 的能量传递发生了阻碍, 以致向叶绿素 740nm 传递能量无法进行。

春末时节落叶阔叶树 685 与 740nm 处的荧光峰很明显, 740nm 峰值的强度大于 685 nm 处, 而且谱带较宽, 这是生长旺盛的表现。从表 2 可知, 到冬季两大类型植物的荧光强度也有一定差别。阔叶树中除黄杨外, 其余三种树在 440nm 处的荧光强度都比针叶树高。685nm 处的荧光强度最高是樟树, 最低是马尾松, 后者在此处的强度仅是前者的 34%。利用 440nm/550nm 荧光强度的平均比值及 440nm/685nm 荧光强度的平均比值, 在冬季可将针叶树和阔叶树区分开, 其中 440nm/550nm 的比值更佳。

冬季常绿阔叶树因生长不良或叶子衰老出现黄叶, 其荧光特征与绿叶有较大的区别。如图 6 所示, 亮叶冬青绿叶与黄叶在 440nm 处均有最大荧光发射峰, 但绿叶在此处的强度比黄叶低, 只有黄叶的 71% (以黄叶此处强度为 100% 计)。绿叶有 685 与 600nm 荧光峰, 而黄叶没有, 但有 530nm 荧光峰而且谱带较宽。黄色老叶没有

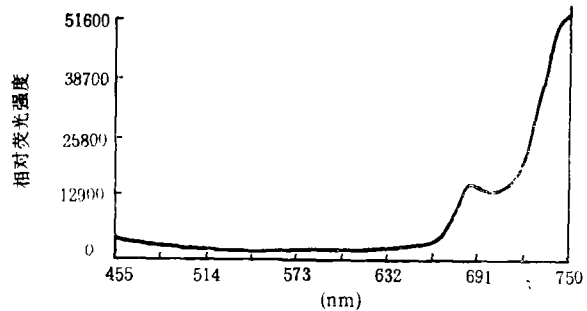


图 5 棉花成熟期激光诱导荧光光谱

Fig. 5 LIFS of cotton at mature period

表 2 冬季植物类型激光荧光光谱特性

Table 2 Characteristics in LIFS of plant types in winter season

植物类型	树 种	相 对 荧 光 强 度			440/550	440/685	440/550 平均	440/685 平均
		440nm	685nm	550nm				
常绿针叶树	侧 柏	2 349	2 997	1 670	1.41	0.78	2.21	1.20
	柏 树	1 831	2 158	920	1.99	0.84		
	马尾松	3 313	1 726	1 230	2.69	1.92		
	雪 松	3 000	2 400	1 110	2.70	1.25		
常绿阔叶树	樟 树	11 200	5 040	3 190	3.51	2.22	3.13	1.74
	亮叶冬青	6 900	2 860	2 000	3.45	2.41		
	黄 杨	3 172	3 055	2 505	1.27	0.90		
	石 楠	4 112	3 193	960	4.28	1.28		

685nm 荧光峰, 而出现 530nm 荧光峰, 是因为黄叶已经衰老, 叶绿素含量极低, 叶内色素的变化造成黄色色素成分在叶内的比例很大。另外, 衰老叶片的气孔及叶肉细胞使 CO_2 扩散阻力增大, 酶活性降低, 光合能量转换的效率很低。因此, 530nm 左右的荧光峰是黄色色素核黄素和维生素的贡献^[1]。E.W.Chappelle 等报道, 在 525nm 处可测出荧光的只有针叶树和阔叶树; 我们仅在个别阔叶树种和个别单、双子叶植物样品中测到了 525 或 530nm 荧光峰, 针叶树观察不到 525nm 左右的荧光峰。他们观察到在双子叶植物的衰老期有 525nm 荧光峰; 我们仅在阔叶树个别树种的衰老叶片测量时才观察到接近 530nm 的荧光峰。

(3) 我们还在日立 850 型荧光分光光度计上测量了植物的荧光光谱, 与激光测量结果基本一致。如用 470nm 为激发波长, 则获得的各种叶片的荧光光谱在 685 与 740nm

处都有荧光发射峰。以图 7 中所示的阔叶类的两个树种为例，樟树在 685 与 740nm 处的峰值强度均大于冬青。表 3 中列出了在日立 850 型荧光分光光度计上，以 470nm 为激发波长测得的不同树种的荧光强度比值。由表 3 可知，两大类植物在 685nm/740nm 的荧光强度比值有一定的差异，针叶树的比值略高于阔叶树。另外，老叶与嫩叶在 685nm/740nm 的荧光强度的比值也不同。如樟树与女贞老叶在此处的比值分别是 0.63 与 0.74，而嫩叶则分别是 0.88 与 0.84。嫩叶比值大于老叶反映了 685nm 处的荧光强度的差别。

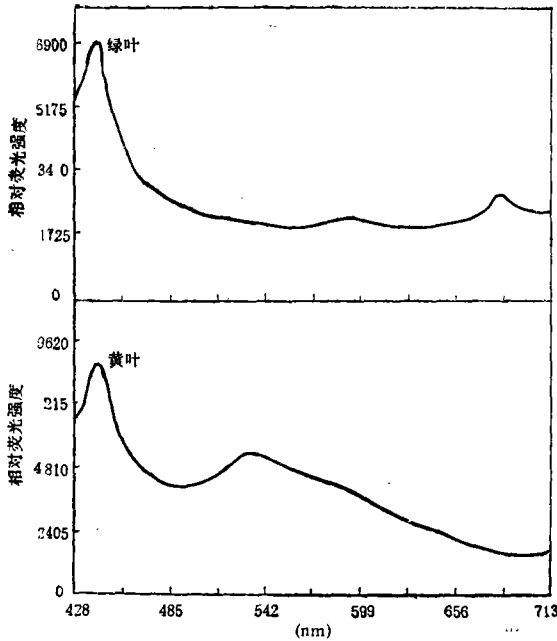


图 6 亮叶冬青绿叶和黄叶的激光荧光光谱

Fig. 6 LIFS of green leaves and yellow leaves of Chinese ilex

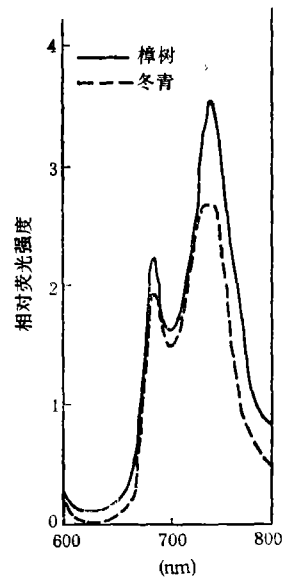


图 7 树木的荧光光谱图

(激发波长 470nm)

Fig. 7 LIFS of trees (excitation 470nm)

表 3 针、阔叶树 685nm/740nm 荧光强度比值

Table 3 Fluorescence intensities ratios between 685nm/740nm of coniferous trees and broadleaf trees

类 型	树 种	685/740	685/740 平均
阔 叶 树	樟 树	0.63	0.87
	女 贞	0.74	
	红 叶 李	0.83	
	黄 叶 杨	0.83	
	亮 叶 冬 青	0.85	
	石 楠	1.34	
针 叶 树	黑 松	1.08	1.13
	侧 柏	1.00	
	龙 柏	1.31	

四、结 论

(1) 用 337nm 的脉冲氮分子激光照射不同类型的植物, 可以得到每一种类植物的激光诱导荧光特征光谱。利用峰值及荧光强度的不同可将不同类型的植物进行鉴别与区分。685nm/740nm 和 440nm/550nm 荧光强度比值可以作为植物区分的两种参数。这些荧光特征对应用激光遥感技术进行植物鉴别与分类、进行植物长势状况监测等, 有极其重要的意义和应用前景。

(2) 用激光诱导荧光技术来探测植物, 要选择适当的生长期与季节。草本单子叶农作物选拔节期为好, 双子叶农作物选营养生长期为好; 木本树木以选春末夏初季节为最佳。

(3) 激光遥感探测植物能诱导出包括叶绿素在内的多种色素的荧光, 光谱信息丰富, 特征明显。同时其光谱信息反映了植物活体光合作用的生命活动过程, 在技术与方法上有突出优点。

参 考 文 献

- [1] E.W.Chappelle 等 (杨世植译), 植物种属的激光诱导荧光 (LIF), 国外激光进展, (1), 1986.
- [2] 潘崎等, 激光诱导叶绿素荧光用于绿色植物诊断的可行性研究, 量子电子学, 7(1), 1990.
- [3] 刘南英等, 激光荧光雷达系统的测量方法与应用, 本期增刊。

Characteristics in Laser Induced Fluorescence Spectra of Various Plants and Their Significance in Remote Sensing

Zhang Chongjing Wu Rong Zhu Yonghao Liu Nanying

(Anhui Institute of Optics and Fine Mechanics, Academia Sinica)

Shen Yuqi

(Nanjing Branch of Academia Sinica)

Xu Binbin Shi Xiaori Li Decheng Zhou Bin

(Institute of Soil Science, Academia Sinica, Nanjing)

Abstract

Laser induced fluorescence spectra of various plants can be obtained by illuminating with 337 nm N₂ laser. Differences among peak wavelengthes and peak intensities can be used to distinguish woody broadleaf trees and coniferous trees, as well as herbaceous dicotyledon and monocotyledon. Fluorescence intensity ratios of 685 nm/740 nm and 440 nm/550 nm can be used as two parameters to distinguish plants. Suitable period and season should be selected for detecting plants when using the technology of laser induced fluorescence, the optimum detecting period of monocotyledon in joining stage, dicotyledon branching stage, woody plants between late spring and early summer. The paper also discribed the identification and classification of plants, as well as the significance and application propects to monitor growth vigors of plants using the technology of laser induced fluorescence.

Key words Laser induced fluorescence spectra Distinguishing plants
Remote sensing