

应用荧光光谱特征作受害植物 判别指标的研究

吴 荣 张崇静 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

本文讨论了几种植物在正常、受害及衰老状况下的荧光光谱特征及其变化。结果表明,叶绿素两个荧光峰强度的消长与植物受害程度有着内在的联系,利用这种关系可预测植物长势和进行植物生理状态的研究。

关键词 荧光光谱 植物病害 遥感监测

一、引 言

植物在受到病害和环境污染以及其它胁迫因素阻碍时,本身的生理状态会发生变化,如气孔开放受到影响、叶绿体遭到破坏和光合作用功能减弱等。光合作用的荧光测量法是以光合作用的能量转移机制为基础的。植物中存在一个多种色素体组成的动态系统,色素间能保持有效的能量传递,色素所吸收的光能最终都传递给被称作“陷心”的叶绿素a。在一定波长范围内,用任何波长的光激发,最终都能观察到叶绿素a的荧光。当环境变化时,其共振转移和决定光合作用效率的陷心状态也将受到影响和变化,这种情况通过感光色素(叶绿素a)发射荧光的强弱变化而得到反映^[1],这种关系使得荧光可作为植物生长状况的一种度量。生长正常的玉米和缺钾时的荧光光谱变化曲线^[2]说明,叶绿素荧光强度的增加表明了缺钾确实导致玉米光合作用效率的降低^[2-4]。

二、实验材料和测量仪器

1. 实验材料

实验中选取了阔叶树(如樟树、黄杨、女贞、椴木石楠), 针叶树(如龙柏、黑松、侧柏)和蔬菜类(如蚕豆、油菜、白菜等)作为测试样品。在采集样品时, 注意收集了嫩叶、成叶、老叶及长势较好的、遭受病害和受到严重危害的样品, 以便代表一种连续变化的长势状况。

2. 测量仪器

所用的测量仪器为日立 850 型荧光分光光度计, 其波长范围为 190—900nm, 波长精度为 $\pm 0.2\text{nm}$, 光谱分辨率为 0.15nm 。还有激光荧光雷达系统, 它由 QJD-9 型 N_2 激光器、接收望远镜(室内实验不用)和 OSA-WP₄ 光谱分析仪系统三部分组成。 N_2 激光器的发射波长为 337nm, 单脉冲能量最大为 5mJ, 能量起伏 3%。OSA-WP₄ 光谱分析系统一次摄谱范围大约为 280nm。

三、结果与讨论

下面对受害植物的荧光光谱特征变化, 分波段加以讨论。

1. 受害植物在红波段的荧光强度变化

受害植物与正常植物的荧光光谱有着较大的差异。植物在波长 600—750nm 的红波段范围内, 一般具有两个荧光峰, 它们分别位于 685 和 740nm 处。图 1 是生长正常和受害植物的荧光光谱变化曲线。当环境条件变化或存在受胁迫等因素时, 植物的叶绿素荧光强度要比正常生长状态下的有所增大, 荧光光谱的形状也随之发生变化。它的变化趋势是: 在正常条件下, 685nm 处的荧光强度值低于或接近于 740nm 处的荧光强度, 但当植物生长受到损害时, 与 685nm 处的荧光强度增加的同时, 740nm 处的荧光强度下降, 随着受害程度的加深, 这两个荧光峰的反向变化的幅度也越来越大, 导致这两个峰的相对荧光强度的比值 F_{685}/F_{740} 甚至大于 1。其原因可以解释为: 当植物受害或受胁迫因素影响时, 不仅使叶绿素含量降低, 更主要的是使光合作用效率降低, 故荧光峰 685nm 的强度增加。而 740nm 处的荧光强度的下降, 则是由于叶绿素 a 在波长

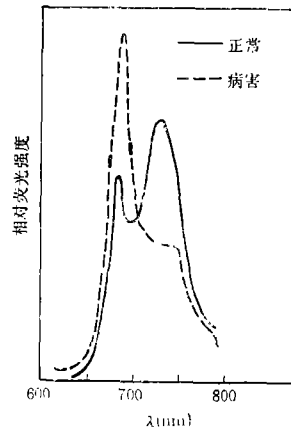


图 1 生长正常和受害植物的
荧光光谱(红光波段)
样品: 女贞叶

Fig. 1 Fluorescence spectra of normal and stress vegetations (red waveband) sample, ligustrum lucidum leaves.

685nm 到波长 740nm 处的能量转移效率的降低所致。

前人的工作已经证明, 685 与 740nm 的荧光来自两种不同状态的叶绿素 a, 它们分别属于光系统 II 和光系统 I。两者之间还存在能量传递关系。为了验证这一结果, 我们对叶绿体的酒精提取液作了试验。试验是这样进行的: 取女贞鲜叶, 将其剪碎后, 用无水乙醇浸泡, 取其上层悬浮液作荧光测定。

图 2 是高浓度叶绿素液的荧光光谱, 和将此液稀释后, 得到的低浓度叶绿素液的荧光光谱。图 3 是 685nm/740nm 的荧光强度比值与稀释倍数的关系。随着溶液的稀释, 减少了两种叶绿素分子 (相应于 680 与 740nm) 之间的碰撞机会, 导致 680nm 的增强和 740nm 的变弱, 这进一步说明了 740nm 的能量来自 680nm 的传递。

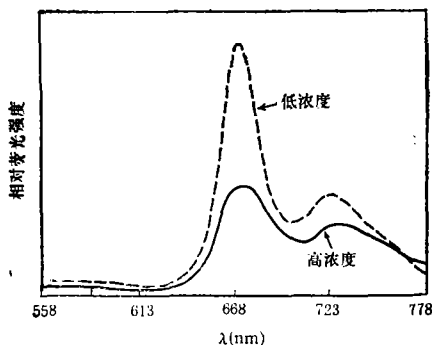


图 2 植物不同萃取浓度的荧光光谱

Fig. 2 Fluorescence spectra of plant at various extracting concentrations

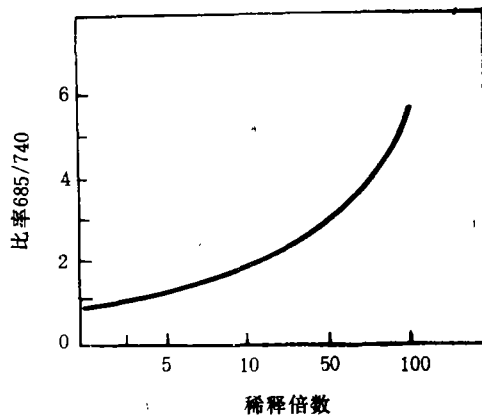


图 3 不同稀释倍数对比率 (685nm/740nm) 的影响

Fig. 3 Influence on ratios (685 nm/740 nm) at various diluting multiples

叶绿素荧光的 F_{685}/F_{740} 比值有着很重要的意义, 它可揭示植物的生理变化和生长状况, 并与所处的生长环境及受害条件有着内在的联系。表 1 为不同植物在不同长势状况下的 685 和 740nm 的荧光强度值及两者的比值 (F_{685}/F_{740})。

表 1 的结果不仅再次证实了本文前述的分析, 而且给出了正常植物与受害植物的荧光强度比值 F_{685}/F_{740} 变化之趋势和范围。对于正常生长的植物, 它所对应的荧光强度比相对较低, 其比值 $F_{685}/F_{740} \leq 1$; 当植物受病害或受环境变化或一些胁迫因素影响时, 685nm 处的荧光峰强度增加, 740nm 处下降, 其比值增加; 当病害严重, 使得叶子严重脱水甚至趋于死亡时, 685 和 740nm 两处的荧光强度均下降, 但 F_{685}/F_{740} 比值仍增加。这说明叶绿素遭到了严重破坏, 光合作用无法进行, 从而导致了叶子脱水死亡。值得注意的是, 尽管此时 685nm 处的荧光强度下降, 但我们仍可看到叶绿素荧光 F_{685}/F_{740} 的比值仍是增加的 (樟树, 病害严重, 叶色紫、枯)。

表 1 的结果还显示出了嫩叶和成叶的差别。嫩叶 (幼叶) 和成叶, 由于叶绿素浓度和光合作用效率的差异, 在比值中也反映了出来。对于嫩叶, 从光合作用的角度来说, 叶片的结构是已完成的叶绿体与尚未完成的叶绿体相混存在的, 也就是说, 叶绿体结构的配比关系很不稳定, 此时光合作用酶系统较弱, 因此光合作用强度较低。对于成叶,

表 1 植物在不同长势状况下 685 和 740nm 荧光强度值
及其 F 685/F740 比值 (激发波长 470nm)

Table 1 Fluorescence intensities at 685 nm and 740 nm as well as
F685/F740 ratios of vsgetations at various growth vigors
(Exciting wavelength: 470 nm)

种 属	植物名称	叶 片 状 况	荧光强度		F ₆₈₅ /F ₇₄₀
			685nm	740nm	
阔 叶 树	樟 树	1.嫩叶、浅绿	6.8	7.7	0.88
		2.成叶、深绿	5.1	8.1	0.63
		3.病斑、浅绿	6.3	4.4	1.43
		4.病害严重、紫色、干枯	1.2	0.7	1.71
	女 贞	1.嫩叶、浅绿	4.3	5.1	0.84
		2.成叶、深绿	4.7	6.2	0.75
		3.病叶、绿夹淡黄病斑	9.7	7.8	1.23
		4.病害严重、局部坏死	10.2	3.2	3.18
	椴木石楠	1.成叶、浅绿	13.0	12.3	1.06
		2.老叶、紫红	7.1	4.8	1.48
红 叶 李		1.成叶、紫色	5.6	6.9	0.81
		2.病叶、局部坏死、紫红	1.2	0.7	1.71
	亮叶冬青	成叶、深绿	10.6	15.7	0.68
	黄 杨	成叶、深绿	15.8	23.0	0.69
针 叶 树	龙 柏	成叶、浅绿	5.1	5.0	1.02
	黑 松	成叶、深绿	12.1	14.2	0.85
	侧 柏	成叶、深绿	3.6	4.6	0.78
蔬 菜	蚕 豆	成叶、浅绿	5.8	8.5	0.68
	油 菜	成叶、浅绿	6.8	7.7	0.88
	白 菜	成叶、浅绿	8.0	13.5	0.59

因叶绿体结构的配比关系比较稳定,故光合作用强度也较高。由于嫩叶的光能转换效率低于成叶,因此在叶绿素荧光强度的 F 685/ F 740 比值中显示出了嫩叶的比值大于成叶的趋势。

以上分析结果表明,叶绿素荧光 F 685/F740 比值可以反映植物不同生长期的叶绿素含量及其光合作用的效率,并对植物生长状况的反映比较灵敏。从实验中我们还可以得出,叶绿素荧光 F 685/F740 比值变化的趋势对不同的植物种类是普遍存在的,只是比值变化幅度的大小及范围存在着差别,其大小由实际情况确定。

2. 受害植物在蓝绿波段的荧光强度变化

受害植物与正常植物的荧光光谱在蓝绿波段也有着明显的差别。在对受害植物樟树和女贞的测量中发现,波长大约在 440 和 525nm 附近的荧光变化与植物受害或受损害的程度有关。在波长 400—600nm 范围内,对于正常生长的植物,一般说来,它主要呈现

两个峰, 一个位于 440nm 附近, 另一个位于 525nm 附近。440nm 处的荧光强度较高, 而

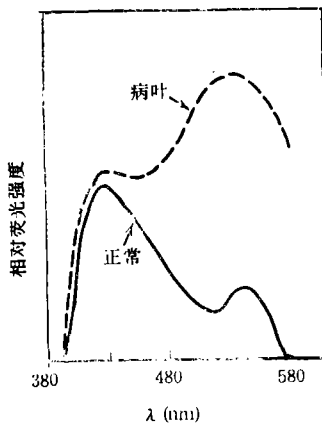


图 4 植物在生长正常和病害时的
荧光光谱变化(蓝绿波段)

样品: 女贞叶

Fig. 4 Changes in fluorescence spectra of plants at normal and diseased conditions (blue-green band) samples; *ligustrum lucidum* leaves

受害植物与正常植物的荧光光谱在蓝绿波段也有着明显的差别。这些差别均可作为判别植物生长状况的一种指标, 有助于进行植物生理状态、营养状况和病害监测等方面的研究, 在遥感中有着值得重视的应用前景。

参 考 文 献

- [1] Chappelle, E. W., et al., Laser-Induced Fluorescence of Green Plants, 1: A technique for the remote detection of plant stress and species differentiation, *Applied Optics*, 1984, **23**(1): 134—138.
- [2] Chappelle, E. W., et al., Laser-Induced Fluorescence of Green Plants, 2: LIF caused by nutrient deficiencies in corn, *Applied Optics*, 1984, **23**(1): 139—142.
- [3] 徐彬彬等, 不同施肥条件下玉米的荧光光谱特征及其在遥感中应用的可能性, 本期增刊。
- [4] 李德成等, 不同养分供应状况对水稻荧光光谱特征的影响及其在遥感应用上的意义, 本期增刊。
- [5] Chappelle, E. W., et al., Laser may help in remote assessment of vegetation, *Laser Focus World*, 1985, **25**(6): 123—132.

四、结 论

(1) 叶绿素荧光峰 685 和 740nm 与叶绿素浓度和光合作用效率有关, 两峰的消长与植物所处的生长环境有着潜在的联系。

(2) 叶绿素荧光 F_{685}/F_{740} 比值对植物不同长期的生长状况及受害的程度反映比较灵敏。同时,

Research on Distinguishing Indices of Stress Plants Using Characteristics of Fluorescence Spectra

Wu Rong Zhang Chongjing 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

The paper discussed fluorescence spectral characteristics and their changes of some plants at normal, stressed and aged conditions. The results showed changes in intensities of the two chlorophyll peaks have intrinsic relations with stress contents, and it can be used to forecast and study growth vigors and physiologic conditions of plants.

Key words Fluorescence spectra Plant diseases Remote sensing monitoring