

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

徐彬彬 石晓日 李德成 周 斌

(中国科学院南京土壤研究所)

沈 玉 其

(中国科学院南京分院)

朱永豪 张崇静 吴 荣 刘南英

(中国科学院安徽光学精密机械研究所)

摘 要

在田间栽种玉米,并按氮、磷肥的不同施用量分为10种情况处理。在不同生长期进行了生长形态指标测量和活体叶片的荧光光谱与激光诱导荧光光谱测量,并测试了叶片浸出液的荧光光谱。结果表明,不同的施肥条件,不仅使玉米在长势上有所反映,而且还会引起光合作用效率和叶绿素含量等的变化,因而导致了玉米叶片荧光光谱的变化。利用440,550,685nm等处的荧光强度可探测玉米的养分供应状况,当利用它们的比值时,表征更为明显。这就为遥感监测玉米的长势和估产提供了新的途径和可靠依据。从玉米的需肥情况、农时、荧光光谱的差异性以及遥感的可行性来看,在拔节期是遥感监测的最佳时期。

关键词 玉米 施肥 遥感 激光诱导荧光光谱

一、引 言

主要粮食作物的长势监测和估产是我国今后10年遥感技术应用发展的目标之一。目前国内外广泛应用的被动式遥感,易受天气影响,且分辨能力较低。应用主动式遥感技术进行作物长势的监测和植被探测,一直是世界上几个先进国家近年来致力研究的热点^[1-5]。尤其是激光荧光遥感系统的研制成功,更为其开辟了一个新的途径。虽然目前仍处于基础研究阶段,但它的许多特点已明显优于当前常用的被动式遥感。

本研究的理论基础是,在绿色植物体中,存在着可发射荧光的色素(如叶绿素)。它们发射的荧光强度基本上由光合作用效率和色素浓度所决定。营养元素的供应状况将直接影响到植物体内的生理活动,进而影响到色素体间的能量转移,并决定着光合作用效率的陷心状态,这些变化可通过感光色素发射荧光的强弱而得到反映。简言之,应用荧光研究植物生理特征是以光合作用的能量转移机制为基础的^[4,8]。

本文旨在研究不同施肥条件下栽培的玉米的荧光光谱特征及其变化规律,并探讨其遥感应用的可能性。

二、试验方法和资料获取

玉米栽种在安徽省合肥市郊的黄棕壤上。土壤的本底肥力为:有机质含量 20.4gkg^{-1} , 全氮 0.89gkg^{-1} , 全磷 0.67gkg^{-1} , 全钾 16.4gkg^{-1} , 速效磷 9.0mgkg^{-1} , 速效钾 199.0mgkg^{-1} , 碱解氮 9.40mgkg^{-1} , 交换量 198.9mgkg^{-1} 。

试验分布在 A, B 两个相邻的重复区。考虑到土壤中含钾量较高,故只进行氮、磷肥试验。按不同氮、磷肥施用量互相交叉,共分 10 种情况处理(表 1)。每种处理小区的面积为 7.2m^2 。

表 1 不同处理玉米在拔节期的荧光峰强与比值

Table 1 Peak intensities and ratios of corn under different treatments in jointing stage

磷肥施用量 氮肥施用量 荧光峰强与比值	不 施		施正常量的 1/2		施 正 常 量	
	不 施	$\frac{0.74}{1.34}$	0.55	$\frac{1.05}{1.35}$	0.78	$\frac{2.28}{2.00}$
施正常量的 1/2	$\frac{2.93}{2.43}$	1.21	$\frac{2.36}{1.77}$	1.33	$\frac{2.08}{1.45}$	1.43
施 正 常 量	$\frac{1.97}{1.54}$	1.28	$\frac{2.86}{1.78}$	1.61	$\frac{2.81}{1.50}$	1.87
施 过 量*	$\frac{2.20}{1.85}$	1.19	表中数值为 $\frac{440 \text{ 峰强}}{550 \text{ 峰强}}$			比值

* 超过正常量的 1/4, 下同。

玉米品种为苏玉 1 号。4 月 24 日穴播, 5 月 25 日间苗、移栽。行、株距为 80cm 左右, 成活率 95%。在正常施肥小区, 全季分两次共施尿素 326g, 过磷酸钙 714.5g。其中苗肥占 1/3, 其余为追肥。其它小区, 根据上述标准, 按比例改变。所有栽培管理措施均按常规进行。

在玉米的不同生长期, 分别进行了如下项目的测试:

- (1) 生长形态测量, 包括株高、叶数、叶长、叶宽等;
- (2) 用日立 F-3010 型荧光分光光度计和激光荧光遥感系统分别测量活体叶片的荧光光谱和激光诱导荧光光谱;
- (3) 将 1.0g 剪碎的叶片放入 36ml 的无水乙醇中, 避光保存 24h 后, 测其浸出液的荧光光谱。

在进行光谱测量时, 从每个处理小区随机选 4 棵玉米植株, 取每棵的第 3 片叶的中

段作为测量样品。为保持均一性，同一处理每期均在不同棵的相同部位采样和测量。取 A, B 两区共 8 个测量结果的平均值作为该处理的光谱值。

由于日立 F-3010 型荧光分光光度计系常用的市售产品，本文不再介绍(仪器参数见附录)。本研究所用的激光荧光遥感系统是由中国科学院安徽光学精密机械研究所研制组装的。图 1 为利用该系统进行激光诱导荧光测试的示意图。氮分子激光器输出波长为 337nm 的激光束，能量约 3—5mJ (本研究后阶段有所降低)。OSA 是瞬时光学多道光谱分析系统(含数据处理系统)。

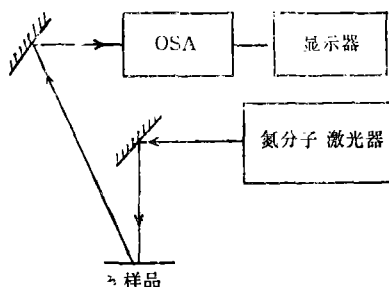


图 1 激光诱导荧光测试示意图
Fig. 1 Blockscheme of laser induced fluorescence measurement

测试时，激光脉冲照射在样品上，诱导样品产生荧光，经 OSA 在显示器上显示该样品的荧光光谱。由于玉米叶片较大，能充分布满激光束的光斑(一般为 3×7cm)，所以一般就用单张叶片作样品测试。

该系统既可安置在室内近距离测试，也可作远距测试。本文所用的数据均在实验室内获得。样品与激光器的距离一般为 1.5—2m。

三、结果与讨论

(1) 本次试验所用的栽种玉米的生长状况基本上反映了施肥条件，表 2 列出了 4 种处理在两个主要发育阶段的生长形态测量数值和最后果穗结构数值的平均数。

由表 2 可见，正常施肥的玉米的 4 项形态指标均处于最高值，表明其生长状况良好。不施任何肥的玉米，生长明显最差，植株矮小，叶面积小，尤其在拔节期，除了叶数外，几乎每项指标均只有正常生长的 1/2 左右。而单施氮或磷肥的处理，由于比例失调，也同样影响玉米的生长，其各项指标均介于正常施肥和不施肥的两种处理之间。这些生长上的差异，与玉米叶片的荧光光谱的特征变化规律相一致，也与最后果穗结构数值相一致。

(2) 一般说来，玉米与其它绿色植物一样，在 440, 550, 685 和 740nm 处呈现荧光

表 2 不同处理玉米在拔节期(1)和灌浆期(2)的生长形态和果穗结构数值

Table 2 Growth shapes under different treatments in jointing stage (1) and filling stage (2) and fruit structure of corn

条 件	株高(cm)		叶宽(cm)		叶长(cm)		叶数(片)		玉米果穗结构数值				
	(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)	长(cm)	粒行	每行粒数	总粒数	秃尖长(cm)
正常施肥	42.8	146.0	5.8	9.7	53.2	76.7	8.4	10.3	18.0	13.3	35.5	457	2.7
单施氮肥	31.8	125.5	3.7	6.8	42.6	58.0	7.1	10.3	16.5	12.3	26.3	321.5	3.6
单施磷肥	29.2	125.1	3.2	5.6	39.0	45.2	6.5	9.0	13.4	11.5	23.2	268.5	3.2
不施肥	23.2	107.9	2.2	5.3	31.8	43.5	6.8	8.3	12.9	9.5	10.5	124	4.7

峰。其中，550nm处的荧光峰，在激光荧光系统上所测的结果中不甚明显。这可能是由以下两个原因引起的：两种仪器的分辨率不同；激光荧光系统中“时间闸门”的开关时间

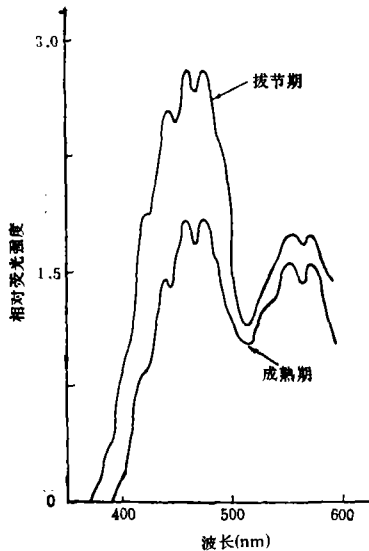


图 2 玉米的荧光光谱

Fig. 2 Fluorescence spectra of corn

选择得不十分合适，导致部分缓释荧光尚未能进入闸门，闸门即已关闭。图 2 是正常施肥时，拔节后(6月22日)和灌浆成熟期(7月28日)的玉米的荧光光谱。由图 2 可见，在 400—500nm 和 500—600nm，分别有两个“峰群”即 430，440 和 465nm 为一组；550 和 575nm 为另一组。由于每一“峰群”内各峰均存在波长接近、峰强相近、且变化趋势相同的特点，所以讨论中也就可在每一“峰群”中选择一个荧光峰作为代表。根据本文计算，这两个“峰群”间各峰的相关系数均大于 0.93**，故本文以下的讨论选用 440 和 550nm 两峰。

表 1 和表 3 分别列出了玉米在拔节期和灌浆期各处理的 440 和 550nm 的荧光峰强及其比值。图 3 则显示了不同施肥处理的玉米的 440 与 550nm 荧光强度比值变化的趋势。

由表 1 和图 3 可见，在拔节期，440 与 550nm 荧光强度的比值，明显地随着施肥量的减少而下降（无论是磷肥，还是氮肥）；从 440 或 550nm 的单个峰强看，虽有上述趋势，但并不十分明显；从峰强的变化幅度看，440nm 要超过 550nm，前者最大与最小之间差 4 倍，而后者的变幅仅差 1 倍不到。因此，440 与 550nm 比值的变化的变化主要是由 440 nm 的强度变化而引起的。

另由表 3 和图 3 可见，灌浆期的 440 与 550nm 的荧光强度比值，仍然随缺氮而下降，但是缺磷的却呈相反的趋势而稍有上升，这与拔节期（表 1）是有差别的。这可能是由

表 3 不同处理玉米在灌浆期的荧光峰强与比值

Table 3 Peak intensities and ratios of corn under different treatments in filling stage

磷肥施用量 氮肥施用量	不 施		施正常量的 1/2		施 正 常 量	
	1.50 1.69	0.89	0.84 0.92	0.91	1.67 1.89	0.89
不 施	1.50 1.69	0.89	0.84 0.92	0.91	1.67 1.89	0.89
施正常量的 1/2	2.04 1.86	1.10	1.26 1.18	1.07	1.54 1.56	0.99
施 正 常 量	1.59 1.32	1.20	2.04 1.77	1.15	1.90 1.88	1.01
施 过 量	1.47 1.23	1.20	表中数值为 $\frac{440 \text{ 峰强}}{550 \text{ 峰强}}$			比值

于玉米缺磷后,成熟期延迟所致^[7]。故表 3 或图 3 中,凡缺磷的比值,都是同一氮肥水平中最大的; 440 与 550nm 的比值,在各种处理间的差异明显地小于表 1 中的值。表 1 中最大与最小比值的差达 3.4 倍,而表 3 中只有 1.35 倍。这就反映出在成熟后期,各种生理活动趋慢,“好”、“坏”之差幅度降低。与表 1 相比,对应处理间的荧光强度,无论 440 nm, 还是 550nm 均下降,但前者的降幅要大于后者,所以导致两者的比值下降。

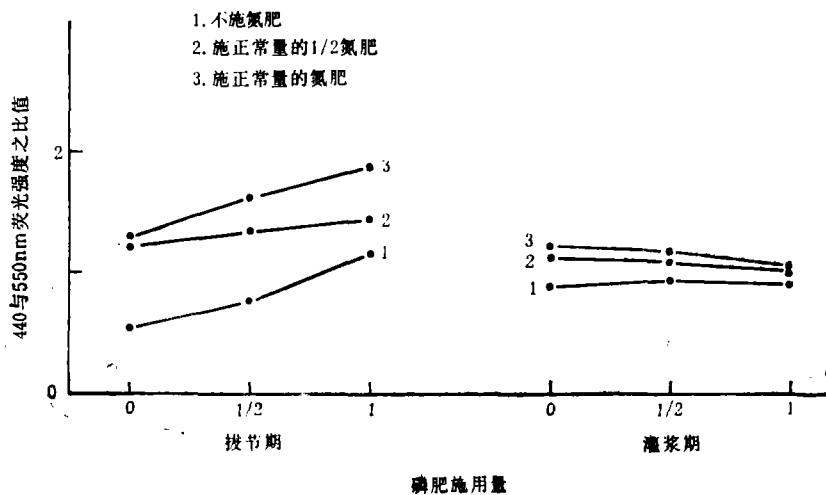


图 3 不同施肥处理的玉米,其 440 与 550nm 荧光强度比值的变化
Fig. 3 Ratio changes of peak intensities at 440 nm and 550 nm of corn under different treatments

(3) 综合表 1 和表 3 的结果可以认为, 440 与 550nm 的比值高低,在一定程度上可以预示光合作用进行的程度和好坏。这一点还能从以下三方面得到保证:(i) 随着玉米的成熟,玉米叶开始枯黄,到 8 月 16 日测试的玉米叶的荧光光谱中,440 与 550nm 的比值更趋于下降,各处理间的差异消失,其比值变幅在 0.55—0.84 间,而且十分有趣的是,比值接近变幅上限的这些玉米叶片,均是“干黄夹绿”,即未完全干枯,尚存一息,所以在比值上也有反映。(ii) 各样品的荧光峰强和比值,在一定程度上反映了它们的生长形态指标。表 4 为拔节期玉米的荧光强度与各生长形态指标间的相关系数。由表 4 可见,440nm 的荧光峰强与同期的各项生长形态指标,均达到显著相关,而 550nm 则不相关。但是,当用 440 与 550nm 的比值时,其相关系数比 440nm 峰强还高。这与上述讨论

表 4 拔节期玉米的生长形态指标与荧光峰强的相关系数 (N = 14)
Table 4 Correlation coefficients between indices of growth shape and fluorescence intensities of corn in jointing stage

荧光峰强	株高	叶宽	叶长	叶数
440nm	0.76**	0.72**	0.75**	0.72**
550nm	0.17	0.16	0.19	0.23
440nm 与 550nm 的比值	0.85**	0.81**	0.83**	0.76**

中指出的 440 与 550nm 比值能更好地反映玉米的光合作用状况是一致的。由此可见,玉米的荧光光谱、生长形态指标和施肥量三者之间存在着密切关系。至于表 4 中出现的比值的相关性高于单个峰强的情况,原因之一可能是由于比值会消除测试过程中的部分系统误差之故。(iii) 图 4 为玉米活体叶片的反射光谱、光合作用的作用光谱和 90 种植物活体叶片的吸收光谱区(由于没有查阅到玉米活体叶片的吸收光谱,故用它代替)^[8, 9]。由图 4 可见,在 400—700nm 的可见光区域内均产生光合作用,而光合作用过程中对各个波长上的光的利用是不同的,红光最强,蓝光次之,绿光最弱。显然,它与活体叶片的吸收光谱是相匹配的。这就从另一个侧面说明了 440 与 550nm 荧光强度的比值能显示光合作用的好坏。因为,当玉米的某些生长条件受到压抑后,叶片色素含量改变,引起叶片的吸收光谱也发生变化,导致叶片的荧光光谱产生与此相应的变化,故而 440 与 550nm 处的荧光强度比值就下降。

(4) 表 5 列出了 8 月 2 日由激光荧光遥感系统测试的、不同处理玉米叶片的荧光光谱中 440 与 550nm 强度的比值。由表 5 可见,其比值变化趋势与表 3 (7 月 28 日由荧光分光光度计测试) 所列结果相似。这表明,虽然采样日期相隔 4 天,但仍处于同一生长期中,因此其荧光响应的变化趋势是相同的;

表 5 不同处理玉米在灌浆期的 440 与 550nm 荧光强度之比值 (由激光荧光遥感系统测试)

Table 5 Peak intensity ratios of 440 nm and 550nm in filling stage of corn under different treatments (measured by laser fluorescence system of remote sensing)

比值 氮肥施用量	磷肥施用量		
	不 施	施正常量的 1/2	施正常量
不 施	2.64	2.36	2.78
施正常量的 1/2	3.74	3.02	2.93
施 正 常 量	3.81	3.50	2.98
施 过 量	2.70		

此其荧光响应的变化趋势是相同的;还表明,尽管荧光分光光度计和激光诱导荧光系统二者的光源等具体条件不同,但并不影响测试结果,即两种光谱结果具有一定的可比性。这为实验过程中测试仪器的通用提供了有力的佐证。也就是说,我们可以在荧光光度计上取得许多规律性的结果,然后用之于激光荧光系统,或以此来验证。

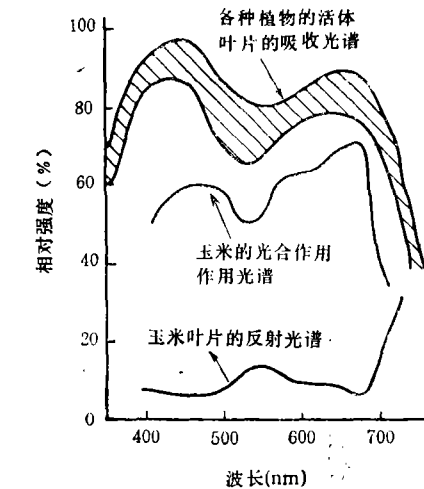


图 4 玉米叶片的反射光谱、光合作用光谱和各种植物叶片的吸收光谱

Fig. 4 Reflectance spectra, functional spectra of photosynthesis of corn leaves and absorption spectra of vegetation leaves

把表 3 和表 5 中的荧光强度及比值,与表 2 中对应施肥处理的玉米果穗结构数值相比可见,虽然测试荧光光谱的是属玉米生长的灌浆后期,距最后成熟尚有一些时日,但其荧光光谱的差异,基本上已能反映最后产量的状况。这无疑为玉米估产提供了一条途径。

(5) 由于试验所用测试波段的限制,上述对荧光峰强及其比值与不同施肥处理的玉

米生长状况间关系的讨论, 仅限于蓝绿光波段 (400—600nm)。但是, 实质上, 红光波段也是植物的重要荧光峰所在, 且可能是更为敏感的所在。为弥补此缺, 本文应用玉米叶片的浸出液的荧光光谱 (400—700nm) 作了间接说明。尽管由于溶剂效应和溶剂选择性萃取的影响, 会使叶片萃取液的荧光光谱与活体叶片的荧光光谱间存在一定的差异, 但是, 两者之间的相关性是可资利用的。

图 5 显示了正常施肥的玉米, 在拔节期其叶片在无水乙醇中浸出液的荧光光谱。由图 5 可见, 玉米浸出液的荧光光谱在 400—500nm 范围内, 显示笔架形的“三叉峰”, 峰位在 410, 460 和 490nm 左右。一般认为, 这些峰与活体叶片在蓝绿光波段中的荧光峰是相应的, 故不再论述。图 5 中, 在红光波段的 675nm 处, 明显地耸立着的另一个尖锐的荧光峰, 就是常说的光系统 II 中的叶绿素 a 的荧光峰^[6]。

表 6 列出了在拔节期内不同处理玉米叶片的浸出液在 675nm 处的荧光峰强。由表可

表 6 不同处理玉米叶片浸出液在 675nm 的荧光峰强

Table 6 Peak intensities at 675 nm of fluorescence spectra of the extracting solution of corn leaves under different treatments

荧光峰强	磷肥施用量		
	不施	施正常量的 1/2	施正常量
氮肥施用量			
不施	1.99	1.82	2.22
施正常量的 1/2	4.51	4.94	4.50
施正常量	4.45	5.55	4.78
施过量	5.12		

见, 675nm 的峰强与氮肥施用量关系很密切, 只要施有氮肥, 那怕是正常施肥量的 1/2, 其峰强也立即会比不施氮的要增加 1 倍以上。这显然与氮素的功能密切相关, 因为氮是叶绿素的重要组分, 当氮供应减少时, 植物体内的叶绿素含量下降^[10], 所以直接导致反映叶绿素含量的 675nm 的荧光峰强下降。而峰强与磷肥施用量的关系似不如氮肥大, 不论在哪一个磷肥水平上, 其强度均相近。上述结果, 尤其是缺氮引起玉米叶片萃取液的 675nm 荧光峰强度下降的结果, 与参考文献[4]中报道的缺氮玉米的活体叶片在 690nm 的荧光峰强度下降的结果是一致的。

这些结果也符合玉米在生长中对三要素的吸收量以氮最高、钾次之、磷较少的特点。

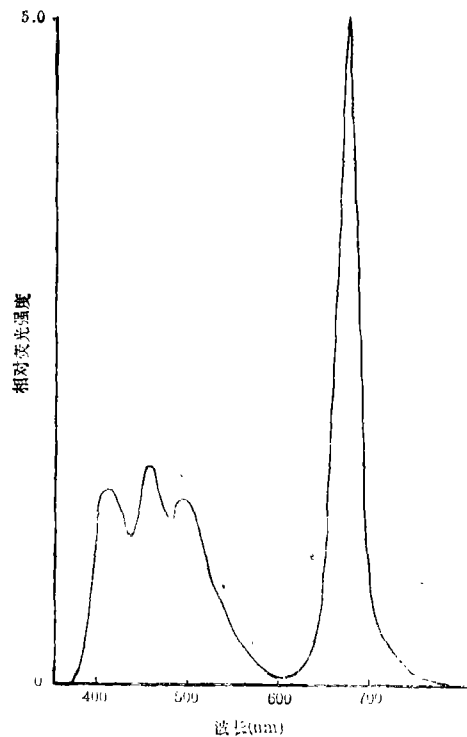


图 5 玉米叶片浸出液 (无水乙醇) 的荧光光谱
Fig. 5 Fluorescence spectra of the extracting solution (100% alcohol) of corn leaves

尤其对磷的需要量,在拔节期之前对磷的累进吸收量只占全生长期的 20% 左右,所以此时磷的丰欠尚无明显的表现^[7]。

四、结 语

综上所述,当玉米的施肥条件不同时,不仅在长势上有所反映,还会引起光合作用效率、叶绿素含量等的变化,并导致 440, 550 和 685nm 等处的荧光强度的变化。当利用它们的比值时,则表征更为明显。这就为遥感监测玉米的养分供应状况和长势以及估产提供了可靠的依据和新的途径。从玉米生长期的需肥情况和遥感可行性来看,在拔节期进行监测较为适宜。这是因为,首先此时的玉米已基本封行,土壤等背景的影响大大减少;其次,此时也正是玉米大量需肥之时^[7],故适时的遥感,对于及时采取丰产措施具有一定的意义;最后,从上述分析可知,此时在不同养分供应状况下的玉米的荧光光谱差异最大,有利于监测。

此外,上述只着重分析了玉米 440 与 550nm 处的荧光强度的比值指标,从现已掌握的资料和所显现的规律看,这仅是几个可利用的指标中的一个。即便如此,也已显示出了它的应用潜力。上述研究尚属基础试验,要达到实用还需进行更深入、更系统的研究。

参 考 文 献

- [1] Brach, E. J., et al., Improvements in spectral reflectance measurements of field crops, *Canadian Agricultural Engineering*, 1977, **19**(2): 78—83.
- [2] Brach, E. J., et al., Identification of horticultural crops by remote spectroscopic techniques, *Hortscience*, 1977, **12**(1): 50—53.
- [3] Nelson, R., et al., Determining forest canopy characteristics using airborne laser data, *Remote Sensing of Environment*, 1984, **15**: 201—212.
- [4] E. W. Chappelle 等 (王新河等译), 激光诱导荧光 (LIF) 在植物遥感中的应用, 国外激光进展, (1), 1986.
- [5] E. W. Chappelle, et al., Laser may help in remote assessment of vegetation, *Laser Focus World*, 1985, **25**(6): 123—132.
- [6] 程极济, 光生物物理学, 高等教育出版社, 1988 年。
- [7] 南京农学院、江苏农学院主编, 作物栽培学 (南方本, 上册), 上海科学技术出版社, 1983 年。
- [8] 尼启波罗维奇著 (吴相钰等译), 植物的光合作用, 科学出版社, 1958 年。
- [9] 户齋义次主编 (薛德裕译), 作物的光合作用与物质生产, 科学出版社, 1979 年。
- [10] 刘芷宇等编著, 主要作物营养失调症状图谱, 农业出版社, 1982 年。

Fluorescence Spectra Characteristics of Corn under Different Conditions of Fertilizer Application and Its possibility of Application in Remote Sensing

Xu Binbin Shi Xiaori Li Decheng Zhou Bin

(Institute of Soil Science, Academia Sinica, Nanjing)

Shen Yuqi

(Nanjing Branch of Academia Sinica)

Zhu Yonghao Zhang Chongjing Wu Rong Liu Nanying

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

Abstract

Corn was planted in field under different treatments of fertilizer application, and indices of corn growth shape, fluorescence spectra, laser induced fluorescence spectra of live leaves as well as fluorescence spectra of the extracting solution of leaves were measured in the different growth stages. The results showed; 1) different conditions of fertilizer application not only are expressed in corn growth vigors, but also affected the efficiency of photosynthesis and the content of chlorophyll as well as the fluorescence spectra of corn, 2) peak intensities of 440nm, 550nm and 685 nm can be used to monitor the nutrient supplying condition of corn, and it will be better to use ratios of those peak intensities. The study provided a new approach and reliable basis for monitoring the growth shape and estimating the yield of corn using laser induced fluorescence technology of remote sensing. The optimum monitoring period is jointing stage of corn due to the requirement of fertilizer, farming season, disparity of fluorescence spectra as well as the possibility of remote sensing.

Key words Corn Fertilizer application Remote sensing Laser induced fluorescence spectra