

模拟酸雨对大豆的激光诱导荧光光谱和反射光谱的影响研究^①

徐彬彬 石晓日 李德成

(中国科学院南京土壤研究所 南京 210008)

摘 要 在田间栽种大豆, 在生长期, 配置不同 pH 值的模拟酸雨定期定量地分区喷洒, 定期测量其生长状况并采样测试激光诱导荧光光谱和反射光谱。研究表明, 酸雨对大豆的生长有明显的影, 并在其光谱特征上也有显著的差异, 与酸雨的酸度和喷洒的强度密切相关。本研究为利用遥感技术探测酸雨及其对植被的危害程度提供了可靠的应用基础。

关键词 大豆; 激光诱导荧光光谱; 反射光谱; 遥感

酸雨已成为当今世界环境污染的一个引人注目的严重问题。以前主要分布在西欧和北美, 但随着经济的高速发展, 东北亚地区已成为世界上第三大酸雨区。其中降水酸性最强, 面积最大的酸雨区在中国。在我国, 酸雨区主要分布在长江以南, 特别是西南的部分地区, 这与燃煤引起的大气污染以及地形等密切相关^[1, 2]。酸雨对植物(包括农作物)及生态环境的影响已有较多研究^[3, 4]。尽管遥感技术在有关领域已获得较大应用, 但在监测和评估酸雨及其对植物的危害程度方面报道尚少。

当前, 主动式遥感的应用日渐增多, 如雷达遥感等。在 80 年代前后, 有研究者利用属于主动遥感的激光诱导荧光技术进行了某些基础性试验, 并获得了有益的结果^[5-8]。当以合适波长的光照射植物(某一部分或群体)时, 植物会激发出荧光, 由于种属和生理特性等(包括生长季节和生长状况等)的差异, 会有不同的荧光光谱特征^[9, 10]。因此, 研究用遥感方法探测酸雨及其对农作物和生态环境的危害, 其本质就是研究在不同酸雨条件下植物的各种光谱信息, 并利用其规律与特点去解决具体的遥感应用问题。本文论述的是模拟酸雨对大豆的激光诱导荧光光谱和反射光谱的影响及其遥感应用的前景。

1 小区试验与光谱测试

1.1 模拟酸雨的配置和小区试验

模拟酸雨按南京地区天然酸雨中硫酸根和硝酸根离子含量的重量比与钙、镁等离子含量配制而成^[11]。本次试验取 6 个 pH 值等级: 5.6(作为对照), 4.0, 3.5, 3.0, 2.5, 2.0。

大豆栽种在安徽省合肥市郊的黄棕壤上, 分 6 个小区, 按常规进行栽培管理。但为避免自然降雨的干扰, 遇雨时用简易塑料棚遮盖。每个小区固定喷洒一个等级的模拟酸雨。自出苗后, 定期定量地用喷雾器均匀喷洒。

^① 本文是国家自然科学基金资助项目(49171049)的一部分, 合作单位中国科学院安徽光学精密机械研究所的张崇静、吴荣、刘南英、朱永豪等同志一起共同完成, 谨致谢意。

1.2 测试项目和仪器

在整个大豆生长期内进行如下项目的测试: (1)在喷洒模拟酸雨的次日,对叶片的伤害状况进行观察并作记录; (2)在不同的生长期,测定大豆的株高、叶面积等生物量; (3)在测定生物量的同时,采样测定大豆活体叶片的激光诱导荧光光谱和反射光谱。

本研究使用的主要仪器是由中国科学院安徽光学精密机械研究所研制的激光荧光遥感系统,该系统主要由三部分组成: N_2 激光器输出能量为 $1 \sim 5\text{mJ}$,波长为 337.1nm 的激光脉冲、卡斯格伦望远镜接收系统、OSA光学光谱分析仪。该仪器可室内使用,也可在室外 $25 \sim 60\text{m}$ 远处测量各种物质受激后发射的荧光。该系统的测试波长范围是整个可见光波段。研究中还用到了其他仪器,如UV-3410型分光光度计(室内测反射光谱用)等,由于是市售仪器本文不再介绍。

1.3 光谱测试方法

在进行光谱测试时,从每个处理小区随机选择4株大豆,在每株上采摘一定数量叶片作为测试样品。取4株测量结果的平均值作为该处理的光谱值。采样后即时进行光谱测量,因离体时间很短(试验小区在实验室附近),可以认为它是活体。激光诱导荧光光谱采用室内近距离测量,样品距离激光器 1m 左右,样品激发的荧光经过接收系统,由OSA光学光谱分析仪处理后储存在计算机上,并在荧光屏上显示光谱曲线。所测的荧光光谱曲线均经过响应度校正,并重复测试10次以上平均而成。应用市售仪器测试光谱时,按仪器规定的要求进行,不另重复。

2 酸雨对大豆危害的症状

2.1 酸雨对大豆危害的形态特征

酸雨对大豆危害是多方面的,本文仅从形态和生长两方面进行研究。喷洒酸雨后,当时并无明显症状,到第二天就显现出来。在 pH 值 $3.0 \sim 2.0$ 小区的大豆叶片出现伤害症状,表现为微小的针尖大小的白色枯死斑点,均匀地分散在叶面上,偶有较大的。当喷洒次数增加后,伤害症状渐渐加重,枯死的黄色斑点增多渐联成片,有的中间出现空间,叶缘发黄,卷缩。随着酸雨 pH 值的增大伤害症状减轻,在 pH 值 3.5 以上小区的叶面几无症状。此外,老叶的耐酸程度要甚于嫩叶。

2.2 酸雨对大豆生长的影响

表1是大豆成熟期及收割后的三项生长数值。由表1可见,酸雨的 pH 值对大豆的生长和最后的产量有明显的影 响。尤其应该注意到的是 pH 值 4.0 和 3.5 的处理,尽管喷洒当时在叶面上症状并不明显,但是最终对其生长和产量还是有影响的。从株高来看, pH 值 3.5 以下的处理影响明显。而叶面积和百粒重则在 pH 4.0 和 pH 3.5 处理形成明显的“台阶”,然后随着酸雨的 pH 值降低而逐步减少。由表1还可见,酸雨的 pH 值对大豆各项生物量的影响程度是不同的,如以 pH 值 2.0 处理为例,其株高比对照(pH 5.6)矮 10cm 左右(13.4%),而叶面积和百粒重均为对照的 70% 左右。这是大豆叶面受酸雨危害,破坏了叶绿素的结构,降低光合作用效率的直接结果,最终导致产量下降。因为大豆产量的构成有:结荚数、每荚籽粒数和百粒重。由于本研究和其他研究结果均表明酸雨的 pH 值对大豆的每株结荚数和籽粒数并无明显影响^[3]。因此,百粒重的降低,将是产量下降的直接原因。

表1 不同酸度酸雨对大豆生长的影响*

pH 值	5.6		4.0		3.5		3.0		2.5		2.0	
	\bar{X}	S(±)										
株高(cm)	80.6	3.76	80.2	4.92	73.7	7.45	72.3	3.03	70.0	4.68	69.8	6.82
叶面积(cm ²)	111.7	10.02	105.1	11.76	104.0	16.00	94.0	13.37	88.4	10.96	79.7	12.49
百粒重(g)	18.8	1.94	17.6	1.82	17.4	2.03	15.3	1.14	14.7	1.78	13.1	1.56

*表中叶面积系每株中取最大的10片叶的总面积平均值。

3 酸雨对大豆反射光谱的影响

3.1 对反射光谱的影响分析

图1是结荚期大豆叶片的反射光谱。为显示清楚,图中仅标示了pH 2.0和对照两条曲线。由图可见,对照(pH 5.6)的曲线显示了正常生长的绿色植物的反射光谱特征。而pH 2.0的处理则由于叶绿素遭受破坏,水分减少,叶面呈黄绿色,它的曲线显示的是不健康的植物的反射光谱特征。为便于比较,特将各处理在几个特征波长上的反射率列于表2。在400~2500nm波长范围内选择这几个波长上的原因是既考虑到植被的反射特性,又顾及目前常用的TM波段的波长范围。由表2可见,随着酸雨pH值的降低,各波长上的反射率均逐步上升,但变幅并不一致,有的波长上明显呈阶梯形,如在680nm的pH 3.0和3.5之间;在550nm的pH 2.5与3.0之间。换言之,大豆的反射率在不同波长上对酸雨pH值的敏感程度是不一样的,这与植物的反射光谱机理及酸雨对植被的伤害机理有关。

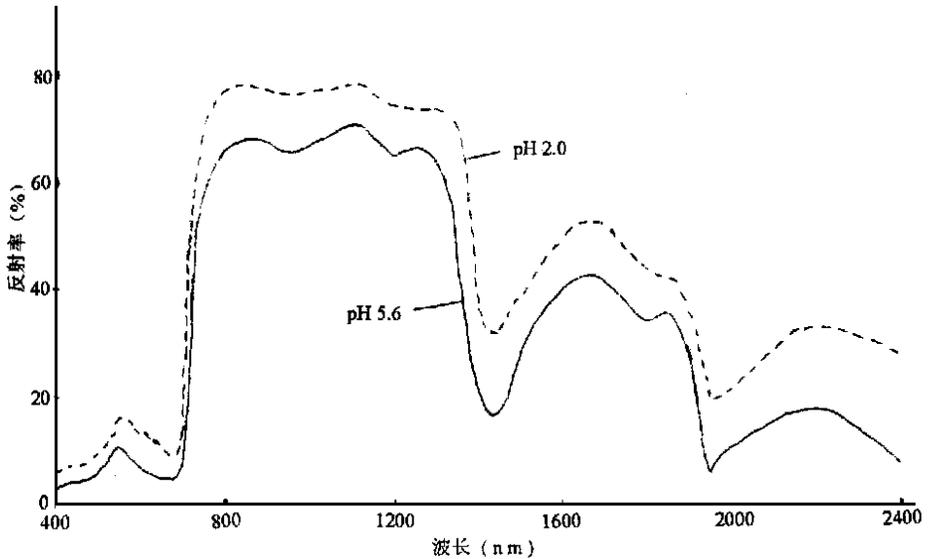


图1 受酸雨危害的大豆叶片的反射光谱

在可见光波段(400~750nm),由植物叶片的色素,尤其是叶绿素起支配作用,其中最主要的是550nm左右的叶绿素反射峰和630~680nm的叶绿素吸收峰。当受酸雨侵害,大豆叶片的叶绿素减少,导致叶绿素吸收带的强度减弱,黄红光波段反射增加,所以叶片呈黄绿色甚至黄色。在这波段中,虽然反射率的总体水平比较低,但是受酸雨危害后变化明显,

反射率增幅较大。以 pH 2.0 为例, 比对照平均增幅在 35% 以上, 其中 550nm 处达到了 50% 以上。

在近红外波段(750 ~ 1300nm), 其反射率主要由叶片内部的细胞结构控制, 同一种植物的细胞构造相同, 因此每种植物在近红外波段有其固有的反射光谱, 这是遥感识别植物的植物解剖学方面的依据。受酸雨胁迫引起植物细胞膜结构与功能的损伤, 造成细胞透性的改变, 这就导致反射光谱的变化。在这波段中, 反射率总体水平就很高, 受酸雨危害后其反射率上升幅度是整个测试范围中最小的。仅 15% 左右。在笔者进行的相关研究中, 有的植物(如水稻、白菜等)受酸雨侵害后, 在该波段的反射率是降低^[13]。引起这二者差异的原因。除了上述的细胞结构不同外, 其他尚待进一步研究。

在中红外波段(1300 ~ 3000nm, 本研究所用的仪器仅至 2500nm), 绿色植物的光谱响应主要受 1400、1900、2700nm 附近的水的吸收带所支配, 形成起伏较大的波浪形曲线。因此, 植物叶片的含水量控制着这一波段的反射率。显然, 大豆受酸雨胁迫, 叶片水分减少, 反射率增加, 而其中最显著的是 2220nm 处。达到了 83%。

本研究其他生长期测试的反射光谱结果, 包括在田间用便携式光谱仪直接测试的结果(400 ~ 1000nm)其变化趋势与上述大致相同, 仅在反射率的高低上有差异。

3.2 对微分光谱的影响分析

为了精细地研究反射光谱的变化特征, 在测试样品反射光谱的同时, 还对光谱曲线进行一阶和二阶微分。一阶微分光谱反映了反射光谱曲线斜率变化, 二阶微分可得出反射率曲线变化的极大值和极小值。图 2 显示的是图 1 中两条曲线的一阶微分曲线(部分)。由图 2 可见, 在红光波段(700nm 附近)两条曲线明显分开, pH 2.0 的曲线向短波方向移动了一段距离, 这就说明在许多文献上称为“蓝移”的现象在本研究中同样存在^[7, 13]。图 2 中的“蓝移”, 实质上反映的是图 1 中 pH 2.0 的反射光谱曲线在红端的弯曲点的“蓝移”。在本研究中引起“蓝移”的原因主要有两点: 其一是受酸雨胁迫后叶片的叶绿素含量降低, 该波段上的吸收强度减少; 其二是叶绿素的荧光在该波段上的相对贡献增

表 2 酸雨对大豆叶片反射率(%)的影响

pH 值	波长(nm)						
	400	480	550	680	800	1650	2220
5.6	4.7	5.9	10.9	5.9	67.1	42.5	17.8
4.0	4.9	5.9	12.0	6.2	68.1	46.0	25.2
3.5	5.2	6.3	12.3	6.3	71.0	48.7	27.6
3.0	6.0	7.4	13.0	7.5	72.0	47.1	26.4
2.5	5.9	7.9	16.8	7.6	72.4	49.2	29.6
2.0	6.3	8.1	16.7	7.9	78.3	52.9	32.6

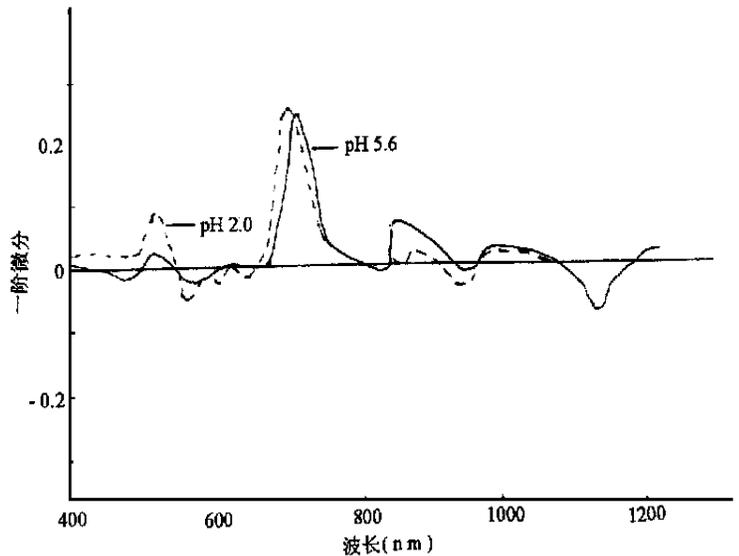


图 2 大豆叶片反射光谱的一阶微分光谱

图 2 中的“蓝移”, 实质上反映的是图 1 中 pH 2.0 的反射光谱曲线在红端的弯曲点的“蓝移”。在本研究中引起“蓝移”的原因主要有两点: 其一是受酸雨胁迫后叶片的叶绿素含量降低, 该波段上的吸收强度减少; 其二是叶绿素的荧光在该波段上的相对贡献增

加,因为叶绿素的荧光峰中有一个正位于这波段内。关于“蓝移”的幅度,视不同植物和不同受抑状况而定。本研究中呈现与酸雨的pH值相关的趋势,随着pH值的降低,“蓝移”的幅度增加,但是总的幅度都不大,不超过10nm(图2中已适当夸大表示)。

4 酸雨对大豆的激光诱导荧光光谱的影响

4.1 植物荧光光谱的生理学基础

荧光光谱方法一直是植物生理学的重要工具。其使用主要集中在与光合作用有关的光合色素、叶绿体膜结构以及能量吸收、传递、贮存等基本问题的研究方面。考虑到本研究的目的,所以涉及这方面的光生物物理学基础最主要的是:高等植物中存在两个光化学反应系统,光系统I(反应中心叶绿素为P700)和光系统II(反应中心叶绿素为P680);能量传递过程总是从短波长区向长波长区推进,亦即有一个能量传递“链”的存在;从受激态分子的驰豫来看,荧光与能量传递是一对竞争过程,此长彼消;荧光光谱与激发光的波长无关。但发光的波长永远长于激发光的波长;某一类色素分子的荧光强度,决定于受激态分子的数量以及它与能量传递的份额比,也就是说,在高光合效率的情况下,能量传递链的作用是有有效的,荧光强度就应该弱^{9,10,14}。

4.2 对激光诱导荧光光谱的影响分析

图3是生长旺盛期的大豆叶片的激光诱导荧光光谱。与图1一样,图中仅标示了pH

2.0和对照两条曲线。由图3可见,正常生长的大豆叶片的荧光光谱呈现三个荧光峰,它们的最大值波长分别位于440、685和740nm。由pH 2.0的荧光光谱可见,其荧光峰的波长位置与对照相同,但是其相对强度却有明显变化。为便于比较,将各处理在三个荧光峰上相对荧光强度的平均值列于表3。由表3可见,随着酸雨pH值的降低,各峰位上的相对荧光强度均逐步提高,但提高的幅度不同。以pH 2.0为例,其相对荧光强度分别比对照增加5.41、3.77、2.76倍。这显然由于受酸雨侵害后,叶绿素被破坏和减少,能量传递部分受阻,光合作用效率降低,导致荧光强度提高。从三个峰位上荧光强度的增幅依次降低这一点,也可证明上述能量传递链的存在并由短波区向长波区推进,一旦受阻后,就可能以荧光的方式耗散。

迄今的研究证明,740和685nm两个荧光峰分别对应于光系统I和光系统II的反应中心叶绿素分子a,这两个光系统是通过一系列电子体相互串联的,且740nm处的受激发,其能量来源于685nm。而440nm的荧光峰究竟属于何种色素,至今尚无肯定的结论,较多的认为是属于维生素K,或一种类似的苯醌^[5,6,14]。不管怎样,并不影响说明这些色素参与光

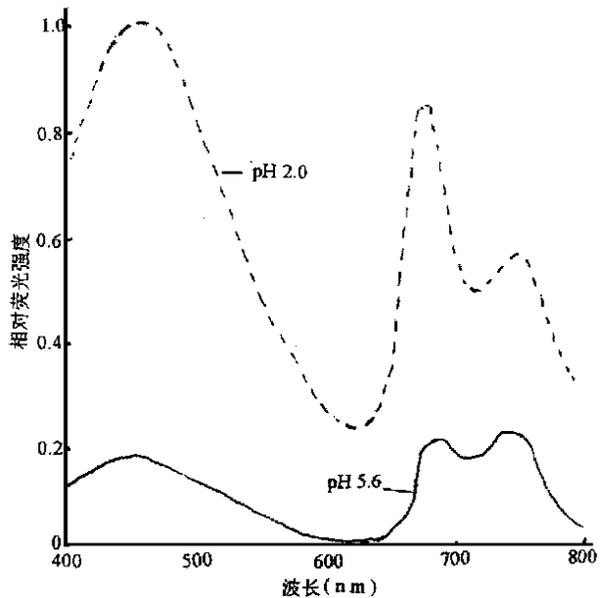


图3 受酸雨危害的大豆叶片的激光诱导荧光光谱

图3 受酸雨危害的大豆叶片的激光诱导荧光光谱。与图1一样,图中仅标示了pH 2.0和对照两条曲线。由图3可见,正常生长的大豆叶片的荧光光谱呈现三个荧光峰,它们的最大值波长分别位于440、685和740nm。由pH 2.0的荧光光谱可见,其荧光峰的波长位置与对照相同,但是其相对强度却有明显变化。为便于比较,将各处理在三个荧光峰上相对荧光强度的平均值列于表3。由表3可见,随着酸雨pH值的降低,各峰位上的相对荧光强度均逐步提高,但提高的幅度不同。以pH 2.0为例,其相对荧光强度分别比对照增加5.41、3.77、2.76倍。这显然由于受酸雨侵害后,叶绿素被破坏和减少,能量传递部分受阻,光合作用效率降低,导致荧光强度提高。从三个峰位上荧光强度的增幅依次降低这一点,也可证明上述能量传递链的存在并由短波区向长波区推进,一旦受阻后,就可能以荧光的方式耗散。

迄今的研究证明,740和685nm两个荧光峰分别对应于光系统I和光系统II的反应中心叶绿素分子a,这两个光系统是通过一系列电子体相互串联的,且740nm处的受激发,其能量来源于685nm。而440nm的荧光峰究竟属于何种色素,至今尚无肯定的结论,较多的认为是属于维生素K,或一种类似的苯醌^[5,6,14]。不管怎样,并不影响说明这些色素参与光

合作用过程,并且灵敏地反映了光合作用进程的有效程度。

考虑到在遥感中常用比值处理的方法,故在表 3 中还列出了 440 与 685nm 以及 685 与 740nm 荧光强度的比值。由比值的變化可更进一步看出,大豆的荧光光谱中,红区的荧光强度变化,尤其县 685 与 740nm 的强度比值反映了光系统 I 和光系统 II 的匹配程度,685 处的荧光增大是一种不良信号;蓝区的荧光强度,则反映了短波长区色素对叶绿素能量传递的有效程度。由表 3 可见,正常生长的大豆,其叶片的三个荧光峰强度比值均小于 1,或接近于 1。当比值大于 1 或更大时,则表明其已受酸雨伤害或已很严重。

表 3 酸雨对大豆叶片的激光诱导荧光相对强度的影响

pH 值	波长(nm)				
	440	685	740	440/ 685	685/ 740
5.6	0.1871	0.2042	0.2271	0.9163	0.8992
4.0	0.2869	0.3018	0.2963	0.9507	1.0186
3.5	0.4542	0.4458	0.3676	1.0188	1.2127
3.0	0.6804	0.6080	0.4556	1.1191	1.3345
2.5	0.8236	0.7225	0.5029	1.1399	1.4367
2.0	1.0129	0.8551	0.5636	1.1845	1.5172

5 讨论与展望

由上述试验结果与简要分析,初步可以得到以下结论:

(1)无论是反射光谱,还是激光诱导荧光光谱,都能充分反映大豆受酸雨危害后所产生的生理或生长变异情况,而且其灵敏程度往往要先于目视形态特征。这与医学仪器能早期诊断人类某些疾病是一个道理。无疑,这不仅为用遥感技术监测酸雨对植被的危害提供了物理基础,而且也表明应用光谱技术有利于及早发现酸雨的危害,以便尽快采取防治措施,减少损失。

(2)应用遥感方法来探测酸雨及其危害时,无论是用被动遥感,还是主动遥感,均应尽可能地利用光谱有效信息,如反射(荧光)峰的波长位置、强度、峰间或峰谷强度比值以及某些指标的组合等,以提高探测精度或准确度。当然,在实际应用时还应考虑其他条件,如背景和大气情况。因此,还要选择合适的遥感波段或激发光的波长,适宜的遥感时相或季节等,以突出最需获得的光谱信息^[19]。如在激光诱导荧光遥感中,可用 470nm 波长的激光来作为激发光,那么植被的 685 和 740nm 的两个荧光峰就会得到相对加强。因为这不仅去除了土壤背景的荧光峰(450nm 左右),而且 470nm 又正好处于叶绿素 a 的吸收带中。

(3)至于在酸雨探测中,究竟选用何种光谱信息有利。即是用反射光谱,还是激光诱导荧光光谱有利。笔者认为,如单纯从光谱信息考虑,虽然两者都能比较稳定地反映酸雨对植被的危害,但从探测灵敏度和植物生理基础来看,似后者优于前者。诚然,这还涉及许多其他方面,首先是被动遥感和主动遥感的优劣;其次是技术的成熟程度,因为对被动遥感所依赖的反射光谱已有多年的研究和实践,已形成一套相当成熟的方法。而本文所及的激光诱导荧光技术应用于遥感尚在尝试阶段。因此,孰优孰劣应视具体情况而论。

(4)在应用遥感技术探测酸雨对植物的危害前,还应研究由酸雨引起的光谱特征与其他受抑(如养分缺乏、病虫害等)情况时的差异,这样才能予以准确识别。本研究曾对正常生长(即对照处理)的大豆叶片在枯萎期的激光诱导荧光光谱进行了测试,表 4 是它们的测试结果。由表 4 可见,随着叶片的枯黄和衰老,440nm 的荧光峰越来越强,而 685 和 740nm 的两

个峰却越来越弱。对照表 3, 显然两者之间是有差别的。这个差别正是反映了两种不同的生理状况, 前者是在生长盛期受抑, 后者则是自然衰老。因此, 只要选择合适的遥感时相和光谱识别指标, 是易于将两者区分的。同样的研究也应在其他受抑条件下进行, 以探索它们之间的差异, 有利于实际应用。

总之, 通过本研究可以说明应用遥感技术探测酸雨及其对植被危害的前景是十分广阔的, 值得重视并进一步的研究和发展。尤其是激光诱导荧光技术, 利用其与植物生理学的紧密关系和灵敏反映的优点, 不仅可用于机载遥感, 也可制成便携式仪器直接在田间应用, 前景更为诱人。

表 4 枯萎期大豆叶片的激光诱导荧光相对强度

叶片形态	波长(nm)				
	440	685	740	440/685	685/740
略 黄	0.2573	0.3853	0.2560	0.6678	1.5051
绿中夹黄	0.4480	0.2380	0.1533	1.8824	1.5525
完全枯黄	1.8454	0.1272	0.0672	14.5079	1.8929

参 考 文 献

- 1 杨 昂等. 中国酸雨的分布、成因及其对土壤环境的影响. 土壤, 1999, 31(1): 13~18
- 2 王德春等. 中国酸雨概述. 世界环境, 1998, (2): 8~10
- 3 曹洪法等. 模拟酸雨对农作物生长和产量影响的研究. 见: 中国林学会主编. 酸雨与农业. 北京: 中国林业出版社, 1989, 111~116
- 4 张林波等. 苏、浙、皖、闽、湘、鄂、赣七省酸沉降农业危害—酸沉降农业生态综合危害分析. 中国环境科学, 1998, 18(1): 12~15
- 5 Chappelle E. W. et al. Applied Optics, 1984, 23(1) 134~142
- 6 Chappelle E. W. et al. Applied Optics, 1985, 24(1): 74~80
- 7 Lichtenthaler, H. K. Applications of Chlorophyll Fluorescence in Stress Physiology and Remote Sensing. In: Steven, M. D. et al. (eds.), Applications of Remote Sensing in Agriculture. London: Butterworths, 1990, 287~305
- 8 Gruner, K. et al. Geojournal, 1991, 24(1): 103~117
- 9 程极济. 光生物物理学. 北京: 高等教育出版社, 1988, 328~369
- 10 A. A. 尼启波罗维奇(吴相钰等译). 植物的光合作用. 北京: 科学出版社, 1985, 125~159
- 11 华筠等. 模拟酸雨对几种蔬菜生长影响的试验. 见: 中国环境科学学会编. 酸雨文集. 北京: 中国环境科学出版社, 1989, 451~454
- 12 李德成等. 模拟酸雨对水稻叶片反射光谱特性影响的初步研究. 环境遥感, 1996, 11(4): 241~247
- 13 田国良等. 土壤中镉、铜伤害对水稻光谱特性的影响. 环境遥感, 1990, 5(2): 13~18
- 14 沈玉其等. 关于植被激光荧光遥感的若干基本问题. 环境遥感, 1992, 7(增刊): 22~33
- 15 徐彬彬等. 激光荧光遥感系统在地物识别上的应用研究. 环境遥感, 1992, 7(增刊): 74~80