

植物光谱应用于白菜铜胁迫响应研究

刘素红^① 刘新会^{②*} 侯娟^② 迟光宇^② 崔保山^②

(^①北京师范大学地理学与遥感科学学院, 北京 100875; ^②北京师范大学环境学院环境模拟与污染控制国家重点联合实验室, 北京 100875)

摘要 在实验室土培条件下, 应用白菜(*Brassica Campestris L*)叶片红边位、可见区光谱、近红外区光谱三种特征光谱探析了白菜生长重金属 Cu 污染的胁迫响应。随土壤中 Cu 含量增加, 白菜叶片对金属 Cu 富集程度逐渐增大, 白菜叶片的叶绿素含量降低; 随白菜叶片 Cu 含量增加, 白菜叶片可见光区光谱反射率(A_1)增加, 红边“蓝移”(向短波方向飘移)程度(S)逐渐增强, 而白菜叶片近红外区光谱反射率(A_2)降低; 并且 A_1 , A_2 和 S 三参数都能够较好地模拟(复相关系数 $R^2 > 0.95$)和预测白菜叶片 Cu 含量。

关键词 白菜 铜(Cu) 光谱 红边

铜(Cu)作为人类活动中的一种重要的金属, 其对生态系统的危害已经受到科学工作者的高度重视, 并引起世界各国的广泛关注^[1,2]。在重金属污染研究中, 重金属污染物的监测和识别是环境污染调查和治理工作的重要环节, 以化学分析为主的传统监测方法具有范围小、费用高、时间长和用工多等缺点; 而基于遥感技术的植物监测方法具有视野宽、信息广、监测快速、能够实现动态监测等诸多优点^[3,4], 植物遥感监测技术在资源开发和环境污染等研究领域正日益成为重要的技术支撑手段, 而植物光谱监测技术是遥感监测技术的基础。

植物是陆地生态系统的基础组成, 植物的生长发育直接影响整个生态系统。对于土壤环境污染来说, 植物生长发育状况可以成为指示生态系统污染的一项重要指标^[5,6]; 在植物受到污染物胁迫时, 植物叶片反射光谱有时会发生特征变化^[7], 应用植物光谱响应监测土壤中度和轻度污染正日益受到环境科学工作者的关注^[8,9]。近年来, 诸多学者一直致力于土壤环境污染的植物光谱效应研究^[10,11], 目前在微观响应机制研究领域已经取得了许多突破性进展。然而, 应用植物特征光谱实现植物重金属污染的定量评价的研究仍然有待进一步探讨。

本文以我国广泛栽培的蔬菜白菜作为研究对象, 对重金属 Cu 污染环境中白菜的叶片 Cu 含量、叶片叶绿素含量、叶片可见区光谱、叶片近红外光谱以及红边位移特征进行了分析, 并对白菜叶片的特征光谱响应进行了深入探讨。

收稿日期: 2006-04-08; 接受日期: 2006-12-09

国家重点基础研究发展计划(编号: 2003CB415007, 2003CB415104)资助项目

* 联系人, E-mail: xhliu@bnu.edu.cn

1 方法与步骤

1.1 仪器与材料

所采用的实验仪器与材料主要有: 分光辐射光谱仪(FieldSpec Pro FR, 美国 ASD 公司); 叶绿素测定仪(SPAD-502); 原子吸收分光光度计(日立 180-80). 采用的“中华四号”白菜 (*Brassica Campestris L*) 种子购自中国农业科学研究院; 实验土壤采自北京师范大学生物园; 高纯铜(99.999%)、CuSO₄·5H₂O 等化学试剂均为分析纯.

1.2 植物培养

将所取土样室温风干、磨碎、过 200 目筛, 以每份 800 g 分盛于塑料盆中; 在每盆土壤中分别加入不同量 CuSO₄ 水溶液, 使土壤 Cu²⁺ 浓度分别增加 100.00、200.00、400.00、800.00、1600.00 mg·kg⁻¹, 每个浓度进行三个平行实验. 用 Ca(OH)₂ 或 HCl 调节土壤 pH 值在 6.0~7.0 之间, 调节多次至 pH 基本保持不变, 将土壤自然晾干、磨碎后待用; 分别配制 NH₄NO₃、KH₂PO₄ 溶液 300 mL 加入土壤中, 使每千克土壤的 N, P, K 含量分别为 100 mg、100 mg、80 mg. 白菜种子用 5% NaClO 浸泡 10 min, 去离子水冲洗于 25±1 °C 恒温条件下催芽. 每盆植入 3 颗种子, 在人工气候培养箱中用全光谱灯照射培养, 保持温度 25±1 °C、光照强度 200 μmol·m⁻²·s⁻¹、光暗比 12 h:12 h, 每天浇蒸馏水 1 次以保持土壤含水量. 培养 28 天后采集叶片光谱信息、测定叶绿素浓度, 同时取样进行重金属含量分析.

1.3 光谱数据采集与处理

在全光谱灯照射下, 应用 FieldSpec Pro FR 分光辐射光谱仪(波段范围为 350~2400 nm)提取白菜叶片的反射光谱信息. 在每一实验浓度, 随机选取不同部位的 10 片白菜叶片进行数据采集, 并取多次测量结果的平均值.

$$A = \int_{\lambda_2}^{\lambda_1} (R_{\lambda} - R_{\lambda_0}) d\lambda \quad (1)$$

$$S = \frac{1}{n} \sum (\lambda_i - \lambda_{0i}) \quad (2)$$

原始光谱数据用 ASD 公司提供的 ViewSpecPro 软件进行初步处理, 然后运用 SPSS 11.0 软件对数据进行进一步分析, 计算植物光谱特征波段反射率积分值和红边“蓝移”强度. 光谱波段反射率积分值可按公式(1)计算, 式中 R_{λ} 和 R_{λ_0} 分别为金属胁迫作用样品和空白参照样品叶片光谱在波长 λ 处的反射率; 红边“蓝移”程度(S)按公式(2)计算, 式中 λ_i 为污染样品反射率 i 时所对应的波长值, λ_{0i} 为空白样品反射率 i 时所对应的波长值. 在 460~670 nm 区间(波长间距 1 nm), 通过公式(1)可以获取能够反映白菜叶片光谱的可见光区的特征因子 A_1 ; 在 750~1000 nm 区间(波长间距 1 nm), 应用公式(1)可以获取能够反映近红外区的特征因子 A_2 ; 在 680~740 nm 波段(波长间距 1 nm), 计算白菜叶片光谱(反射率变化为 1%)红边“蓝移”程度(S)(见表 1).

1.4 白菜叶绿素含量测定

在采集白菜叶片光谱数据的同时, 用 SPAD-502 叶绿素仪测量每片白菜叶片的叶绿素浓度, 在每片叶片不同位置测量叶绿素浓度 4 次并计算叶绿素浓度(δ)的平均值.

表1 白菜样品不同组织中Cu含量、叶片叶绿素浓度以及特征光谱因子

样品 编号	土壤 Cu ²⁺ 增加浓度 /mg·kg ⁻¹	白菜组织 Cu 含量 /mg·kg ⁻¹		转运 系数	白菜 根长 /cm	叶绿素浓度 相对值δ	A ₁	A ₂	S/nm
		C _L (叶)	C _R (根)						
B1	0.00	18.12	25.16	—	12.1	38.2	0.0	0.0	0.0
B2	100.00	43.06	122.32	0.35	10.2	36.1	5.3	-12.6	10.5
B3	200.00	78.01	205.07	0.38	8.5	33.2	8.9	-16.5	15.2
B4	400.00	142.23	362.21	0.39	5.3	28.3	10.6	-22.9	16.1
B5	800.00	282.08	695.01	0.41	3.2	25.6	12.1	-28.2	20.5
B6	1600.00	502.05	1226.11	0.41	1.5	22.5	18.5	-42.1	25.1

注: 转运系数即白菜叶片Cu含量与根Cu含量之比。

1.5 白菜组织Cu含量测定

采集白菜根和进行光谱和叶绿素测试的白菜叶片, 样品经冲洗、烘干后, 用浓硝酸、高氯酸消化处理^[12], 消化液用原子吸收分光光度计(AAS)在波长 324.8 nm、狭缝宽度 1.3 nm、乙炔流量 2.0 L·min⁻¹、灯电流 7.5 mA 条件下检测叶片中Cu含量。分析测定过程中采取全程序空白对照, 并采用中国国家标准物茶叶样品(GBW08505)进行质量控制, 同条件下进行 3 组平行实验并计算平均值。

2 结果与讨论

2.1 白菜组织Cu含量及叶绿素含量

对各处理浓度白菜样品中Cu含量及叶绿素含量进行统计(见表1)分析表明: 白菜根和叶片Cu累积量均随土壤中Cu含量增加而增加, 白菜根Cu富集率高于叶片Cu富集率, 白菜根长和Cu浓度变化呈反比。

在白菜受到重金属Cu污染后, 过量Cu首先积累于根部, 致使白菜根组织受到损伤, 从而影响整个植株生长^[13]。当过量铜累积于白菜根部时, 白菜根部脱羧酶活性作用受到抑制, 间接阻碍了NH₄⁺向谷氨酸转化, 造成根部NH₄⁺的大量累积, 进而使根部受到严重损伤; 白菜根根尖首先硬化, 生长点细胞分裂受到抑制, 根毛少甚至枯死, 主根不能伸长。在重金属与植物作用时, 根首先接触并吸收重金属, 根细胞壁中存在的大量交换位点可以吸附并固定重金属离子; 同时白菜根部分泌的一些有机物质也可以与Cu²⁺结合形成稳定的配位化合物, 从而阻止重金属离子向茎叶运输, 进而表现白菜根部可以积累较多Cu的现象。随着重金属污染胁迫程度加深, 白菜根表面吸附固定以及络合的Cu²⁺变化量逐渐减缓, 植物根部吸收的Cu²⁺向茎叶转运系数不断增加。

$$\delta = -4.98 \ln C_L + 53.74 \quad (R^2 = 0.976), \quad (3)$$

白菜经历重金属Cu污染胁迫后, 叶片叶绿素含量均低于对照组, 并且随叶片Cu含量增加而降低(见表1和图1), 同时方程(3)表明叶绿素含量与叶片Cu含量的对数值具有较高的线性拟合。叶绿素是植物进行光合作用的色素, 叶绿素含量高低在一定程度上反映了光合作用水平; 植物叶绿素含量低会减弱植物光合作用, 进而导致植物植株生长受到抑制。对于植物来说, Cu元素是植物体内多酚氧化酶、氨基氧化酶、酪氨酸酶、抗坏血酸氧化酶、细胞色素氧化酶等多种氧化酶的核心元素, 适量Cu元素有利于植物生长发育。在植物叶片富集Cu过量后, 过量Cu能显著提高植物过氧化氢酶和愈创木酚过氧化物酶活性, 促进含氧自由基的产生; 同时降低谷胱甘肽S转移酶、谷胱甘肽还原酶、抗坏血酸过氧化物酶等抗性酶的活性, 进而使叶绿体

膜脂过氧化,破坏叶绿体内膜结构,加快叶绿素的氧化分解速度;同时,由于Cu局部累积过量,其与植物叶绿体中蛋白质功能基团-SH结合或取代其中的 Fe^{2+} , Zn^{2+} , Mg^{2+} 等离子,致使叶绿素蛋白中心离子组成发生变化而失活,从而使叶绿素含量降低^[14]. 叶绿素含量和植物的健康状况密切相关,可以作为植物污染胁迫、光合作用能力和植被发育状况的标志物^[15].

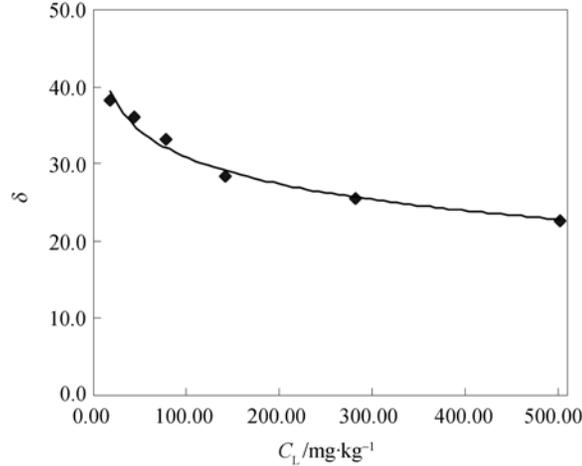


图 1 白菜叶片 Cu 含量与叶绿素含量 δ 关系图

2.2 白菜叶片可见-近红外光谱特征

白菜叶片可见-近红外光谱曲线(见图 2 和图 3)分析表明:在重金属 Cu 胁迫作用下,白菜叶片光谱在 460~670 nm 可见光区波段反射率升高趋势显著,而在 750~1000 nm 近红外区波段

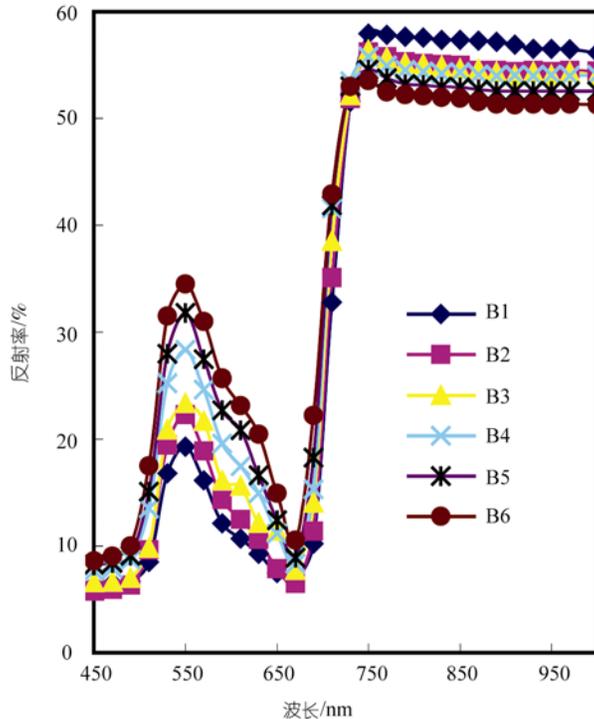


图 2 Cu 胁迫白菜叶片光谱响应曲线图

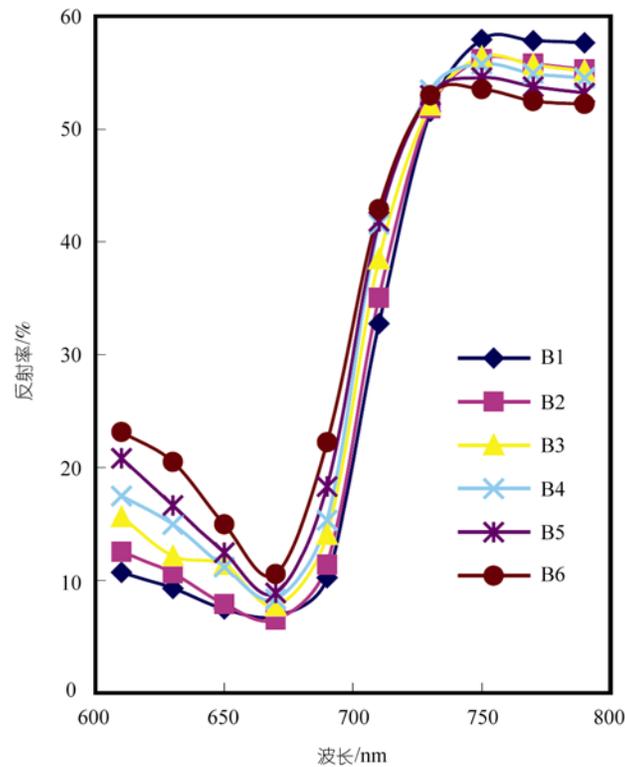


图3 白菜叶片光谱红边“蓝移”程度图

反射率降低趋势最为明显,在白菜叶片反射光谱红边位(即 680~740 nm 段反射率的陡升区域)发生“蓝移”(向短波方向飘移)现象.对白菜叶片 Cu 含量与叶片光谱 3 个特征因子 A_1 , A_2 , S 相关模型(见表 2)以及相关趋势图(见图 4)分析表明:白菜叶片 Cu 含量与 3 个特征因子 A_1 , A_2 , S 分别构建的模型具有较高的复相关系数($R^2 > 0.95$),模型具有显著拟合效果和可靠预测性.

表2 白菜叶 Cu 含量与叶片光谱特征因子 A_1 , A_2 , S 间相关模型

No.	模型	复相关系数(R^2)
4	$A_1 = 5.01 \ln C_L - 14.01$	0.959
5	$A_2 = -11.52 \ln C_L + 33.04$	0.967
6	$S = 6.92 \ln C_L - 17.51$	0.951

白菜叶片可见光波段光谱反射率(A_1)、“红边”蓝移程度(S)均与叶片 Cu 含量呈正相关.在可见光波段,植物光谱反射率主要被叶绿素等色素控制^[16],叶绿素含量减少导致叶绿素吸收减弱、吸收波段变窄、红光范围变小,红边振幅、红边峰值面积随之减少,使植物在可见光波段吸收率降低而反射率升高,同时发生“红边”蓝移现象^[17].植物可见光波段光谱区域以及“红边”区域是描述植物叶片色素状态和健康状况的重要指示波段.

在近红外光谱区域,由于植物叶片内部组织对光多次反射散射的原因,因而导致植物叶片近红外区反射率呈现高原区(50%左右),并形成近红外区域光谱反射坪.在白菜叶片吸收过量 Cu 之后,白菜叶片叶绿素含量降低,叶肉细胞间隙数量减少,叶绿体类囊体散开并分散到细胞质中;线粒体脊突膨胀成圆形和部分消失,叶片细胞整个线粒体成透明状;叶片细胞核的核膜破裂、核质散出,从而导致叶片近红外区域光谱反射率降低^[18],且近红外区光谱反射率

(A_2)变化幅度与叶片Cu含量呈现正相关关系. 在重金属Cu污染环境中, 白菜叶片近红外区光谱反射率能够反映白菜叶片叶绿素和叶片细胞的胁迫响应, 其可以用来评价叶片Cu含量及评价土壤重金属Cu污染程度.

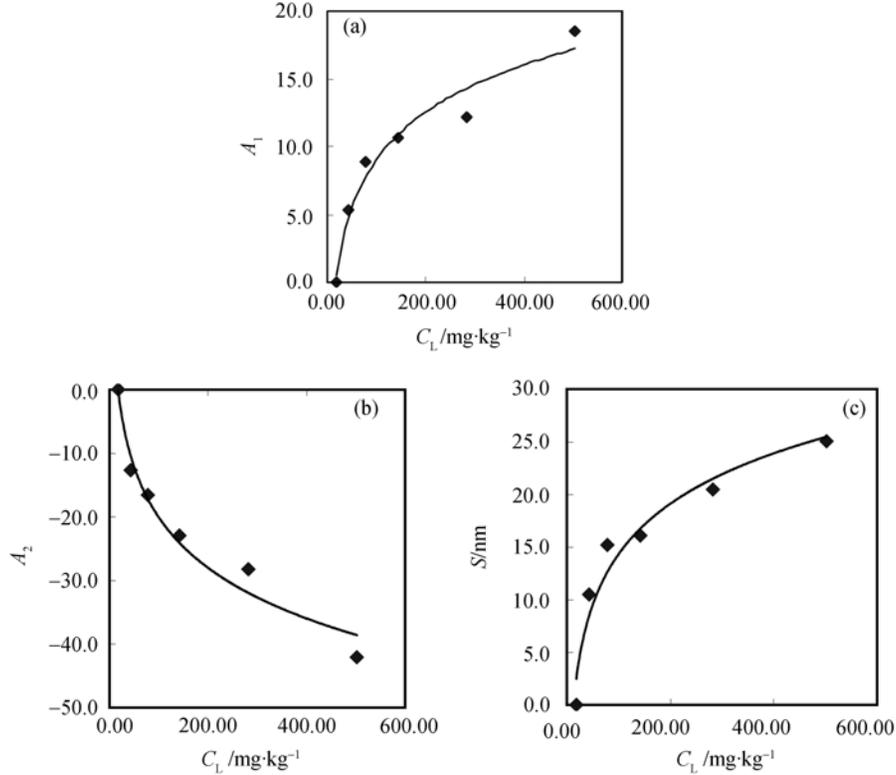


图 4 白菜叶 Cu 含量与叶片光谱特征因子 A_1 (a), A_2 (b), S (c) 相关趋势图

3 结论

在实验室培养条件下, 白菜叶片光谱可见光区(460~670 nm 波段)反射率(A_1)、近红外区(750~1000 nm 波段)反射率(A_2)和红边“蓝移”程度(S)与叶片 Cu 含量具有显著的相关关系, 且相关模型具有理想的拟合效果和可靠的预测能力. 白菜叶片特征光谱因子 A_1 , A_2 , S 可以作为评价白菜重金属 Cu 污染胁迫的特征响应指标, 植物光谱效应技术可以发展成为一种应用于土壤重金属污染评价的有效手段.

参 考 文 献

- 1 Ebbs S D, Kochian L V. Toxicity of zinc and copper to brassica species: implications for phytoremediation. *J Environ Qual*, 1997, 26: 776—781
- 2 Roberts A H C, Cameron K C, Bolan N L, et al. Contamination of the soil and environment in New Zealand. The Netherlands: Kluwer Academic Publisher, 1996, 579—628
- 3 Koppen S, Pulliainen J. Lake water quality classification with airborne hyperspectral spectrometer and simulated MERIS data. *Remote Sens Environ*, 2002, 79: 51—59 [DOI]
- 4 Koppen S M, Brezonik P L, Olmanson L G, et al. A procedure for regional lake water clarity assessment using Landsat multispectral data. *Remote Sens Environ*, 2002, 82: 38—47 [DOI]
- 5 Knoke K, Marwood T M, Cassidy M B, et al. A comparison of five bioassays to monitor toxicity during bioremediation of

- pentachlorophenol-contaminated soil. *Water Air Soil Poll*, 1999, 110: 157—169 [\[DOI\]](#)
- 6 Mishra A, Choudhury M A. Monitoring of phytotoxicity of lead and mercury from germination and early seedling growth indices in two rice cultivators. *Water Air Soil Poll*, 1999, 110: 340—345
 - 7 Mars J C, Crowley J K. Mapping mine wastes and analyzing areas affected by selenium-rich water run off southeast Idaho using AVIRIS imagery and digital elevation data. *Remote Sens Environ*, 2003, 84: 422—436 [\[DOI\]](#)
 - 8 Andrew C S, Gene A C, John A D. Comparison of two hyperspectral imagings and two laser-induced fluorescence instruments for the detection of zinc stress and chlorophyll concentration in bahia grass. *Remote Sens Environ*, 2003, 84: 572—588 [\[DOI\]](#)
 - 9 Teisseire H, Guy V. Copper-induced changes in antioxidant enzymes activities in fronds of duckweed (*Lemna minor*). *Plant Sci*, 2000, 153: 65—72 [\[DOI\]](#)
 - 10 Hoque E, Huntzler J S. Spectral blue-shift of red edge monitors damage class of beech trees. *Remote Sens Environ*, 1992, 39: 81—84 [\[DOI\]](#)
 - 11 Horler D N H, Dockray M, Barber J. The red edge of plant leaf reflectance. *Int J Remote Sens*, 1983, 4: 273—288 [\[DOI\]](#)
 - 12 谢苏婧, 谢树莲, 谢宝妹. 藻类植物中钙、镁、铁、锰、铜和锌含量分析. *光谱学与光谱分析*, 2003, 23(3): 615—616
 - 13 Alva A K, Chen E Q. Effects of external copper concentrations on uptake of trace elements by citrus seedling. *Soil Sci*, 1995, 159: 59—64 [\[DOI\]](#)
 - 14 Penelope A R, Hilen C H. Identification of differential responses of cabbage cultivars to copper toxicity in solution culture. *J Am Soc Hortic Sci*, 1987, 12(6): 928—931
 - 15 Madeira A C, Mendonca A, Ferreira M E, et al. Relationship between spectroradiometric and chlorophyll measurements in green beans Commuincation. *Soil Sci Plant Nutr*, 2000, 31(5—6): 631—643
 - 16 Broge N H, Vmortensen J. Deriving green crop area index and canopy chlorophyll density of winter wheat remote spectral reflectance data. *Remote Sen Environ*, 2002, 81: 45—57 [\[DOI\]](#)
 - 17 Danidl A S, Gamon J A. Relationships between leaf pigment content and spectral reflectance across a wide range of species, leaf structures and developmental stages. *Remote Sen Environ*, 2002, 81: 337—354 [\[DOI\]](#)
 - 18 Filella I, Penuelas J. The edge position and shape as indicators of plant chlorophyll content, biomass and hydric status. In *J Remote Sen*, 1994, 15(7): 1459—1470 [\[DOI\]](#)