

doi:10.11937/bfyy.20171653

植物叶绿素荧光光谱的研究进展

于海业, 张雨晴, 刘爽, 田东旭, 孔丽娟, 隋媛媛

(吉林大学 生物与农业工程学院, 吉林 长春 130022)

摘要: 叶绿素荧光在植物叶绿体的能量得失过程中产生, 利用叶绿素荧光光谱可无损、快速、准确获取植物生理信息, 监测植株生长状况, 对研究植物的生理信息和健康状态具有重要指导意义。该研究介绍了叶绿素荧光的产生原理, 以植物病虫害、光能利用效率和叶绿素含量 3 个方面为主, 综述了叶绿素荧光光谱分析技术在植物生理信息检测中的研究进展, 以期为植物内部生理信息的快速无损检测提供参考依据。

关键词: 叶绿素荧光; 光谱分析; 病虫害预警; 光能利用效率; 叶绿素含量

中图分类号: S 188 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2017)24-0194-05

近年来, 传统农业向精准管控农业发展, 快速与准确获取植物生理信息已成为精准农业发展的重要基础。植物吸收的光能有光合作用、热耗散和荧光 3 个去向。其中, 植物用于进行光合作用的光能不足吸收光能的 20%, 且绝大部分光能以热耗散的形式释放, 还有一部分光能以叶绿素荧光方式释放(通常不足 1% 的入射能量), 三者之间此消彼长^[1]。叶绿素荧光作为植物体的自发光是检测植物生理信息的重要手段, 具有快速、非破坏性、精准的特点, 被誉为植物体“内在性”无损损伤探针^[2]。可以通过主动激发和被动遥感 2 种方法获得叶绿素荧光光谱, 目前, 其应用主要侧重于植物病虫害预警^[3-13]、预测光能利用效率^[14-22]、检测叶绿素含量^[23-31]以及硝酸盐含量检测^[32]等方面。该研究介绍了叶绿素荧光光谱无损检测技术的主要应用, 综述分析了国内外荧光光谱研究成果和进展, 以期为植物内部生理信息研究提供参考。

第一作者简介: 于海业(1963-), 男, 吉林长春人, 博士, 教授, 研究方向为植物内部生理信息检测。E-mail: haiye@jlu.edu.cn

基金项目: 国家‘863’高技术研究发展计划资助项目(2013AA103005-04); 吉林省科技发展计划资助项目(20170204020NY)。

收稿日期: 2017-07-14

1 叶绿素荧光

叶绿体吸收光能之后, 电子会从低能级跃迁到高能级, 同时在释放能量的过程中发出荧光, 按照波长排列而成的曲线即为叶绿素荧光光谱。叶绿素荧光光谱包含植物丰富的生长信息, 属于可见光波段光谱, 其不同的光谱波段可以反映植物的水分和营养胁迫等生理信息, 具有快速、有效、非破坏的特点, 是探索植物的生理信息及其与环境关系的理想探针^[1]。

叶绿素荧光分析法是基于荧光分析法和叶绿素吸收光谱相结合而得到的。该方法主要有 2 类: 一类是研究随时间变化而变化的荧光强度, 即荧光诱导动力学曲线; 另一类是研究波长在空间范围内的荧光强度的变化趋势, 即叶绿素荧光光谱分析法^[2]。在作物生长初期利用叶绿素荧光光谱技术进行作物生理健康监测, 识别出异常生长的作物, 达到预警病虫害和环境胁迫等影响带来的经济损失, 预防作物减产, 无损、客观地监控植物生理状态^[3]。

2 叶绿素荧光光谱技术在精细农业上的应用进展

2.1 病虫害预警

农业病虫害问题一直都是农业生产研究重要

内容之一,是制约可持续农业优质发展的重要因素^[4]。植物受到病虫害感染时,叶片中叶绿素含量和分子结构均会发生变化,而这种变化恰好可以通过叶绿素荧光准确地反映出来^[1]。

SEGUIN 等^[5]以浮游植物为试验对象,通过采集植物体内的叶绿素荧光,监测植物生态毒性的渗透情况和光合作用抑制情况。FRANCISCO 等^[6]通过对采集到的燕麦单色光(蓝、绿、红、远红)叶绿素荧光光谱分析,发现蓝色和红色对光合作用的产生起到重要作用。SUAREZ 等^[7]在基于神经网络的情况下,利用荧光光谱法使得杀真菌剂和多菌灵等混合物的分类情况得以明确。BASSANEZI 等^[8]采集锈斑病、叶角斑病和炭疽病病变过程中的叶绿素荧光光谱,以染病叶片健康部位的叶绿素荧光光谱评价叶片,发现其病变区叶绿素荧光光谱会发生显著变化。隋媛媛等^[1,9]在分析温室黄瓜病虫害问题上,选择径向基函数结合主成分分析方法建立温室黄瓜病害预测模型,模型预测能力高达 97.73%。利用叶绿素荧光构建黄瓜活体叶片光谱指数研究温室霉霜病的预测问题,分析不同染病阶段的荧光光谱强度,筛选出具有特征性的光谱指数进行定量分析。其中,支持向量机建模方法预测效果最佳。在基于叶绿素荧光光谱检测技术条件下,确定 685 nm 发射波长作为检测健康叶片与病虫害叶片的第一特征点,原光谱 99.999% 信息不变的情况下,最小二乘支持向量机回归较偏最小二乘法、BP 人工神经网络这 2 种方法更适合作为温室黄瓜病虫害研究方法。杨昊谕等^[10]利用叶绿素荧光光谱分析技术对黄瓜叶片病虫害进行无损检测研究。结果表明,采用主成分分级结合支持向量机的建模方法可以建立黄瓜叶片病害的诊断模型,为植物病虫害预警提供新的依据。陈兵等^[11]以棉花为试验对象,研究在接种黄萎病后棉花光谱和叶绿素荧光特性的变化,对棉花不同严重程度病害分析后发现,病害胁迫会对棉花叶片光谱、理化参数及叶绿素荧光参数变化特征产生一定影响,表明可以用叶绿素荧光监测棉花病害。周丽娜等^[12]选择水稻活体叶片为研究对象,采用叶绿素荧光光谱检测技术,利用主成分分析方法,分别结合判别分析(DA)、多类逻辑回归分析(MLRA)和多层感知器(MLP)建立水稻病害的预测模型。结果

表明,PCA-MLP 的预测效果最为精确,尤其是在稻瘟病害 2 级以上时表现出明显优势。在对稻瘟病害进行快速、无损检测的同时,还可以补充稻瘟病的遥感探测依据。张永江等^[13]基于被动叶绿素荧光检测技术以小麦为试验对象,研究 688 nm 和 760 nm 这 2 个波段叶绿素荧光和小麦条锈病发病情况之间的联系。结果表明,使用叶绿素荧光光谱检测技术不但能够监测田间小麦条锈病的发病情况,同时也能为病害预测预报工作争取时间。

2.2 预测光能利用效率

光合作用是高等植物从自然环境中获取能量使其维持正常生命活动的主要方式,是影响植物产量最关键的因素^[14]。植物利用光合色素,通过光合作用将太阳能转化为化学能为植物生长提供能量。由于光合作用主要依靠叶绿素对光能的吸收、转化、利用和传递来进行,所以叶绿素分子受到激发后所发射的荧光信号能够很好的表达光合作用的活性和强弱。由此,可以通过分析叶绿素的荧光信息反映植物光合作用能力,进而检测植物的生长状况和生理健康状态^[1-2]。

LICHTENTHALER 等^[15]研究表明,利用荧光参数比 F_{440}/F_{685} 、 F_{440}/F_{740} 和 F_{685}/F_{740} 可以对叶片的光合能力进行预测。KORRES 等^[16]利用叶绿素荧光参数荧光诱导曲线面积和 F_v/F_m 检测到除草剂在冬小麦不同品种之间的敏感性反应,判断出除草剂对冬小麦光合作用的抑制情况。CHERIF 等^[17]在番茄幼苗试验中研究了锌胁迫对植物叶绿素荧光的影响,利用紫外光发射二极管诱导荧光光谱获得 650~800 nm 光谱波段,用于分析不同剂量的锌对番茄光合作用的影响。当荧光参数比 F_{690}/F_{735} 降低时,光合作用量子转换过程会受到影响。于海业等^[18]以温室黄瓜活体叶片为研究对象,将激光激发叶绿素荧光光谱技术应用到植物叶片光合速率检测当中,建立荧光光谱面积与光合速率回归方程并进行拟合。结果表明,此预测模型拟合度较好,可以为植物叶片光能利用效率提供全新的解决思路。刘良云等^[19]、程占慧等^[20]利用叶绿素荧光光谱分离算法,对冬小麦叶片的光能利用效率进行预测,建立基于叶绿素荧光的光能利用效率模型。结果表明,760、688 nm 波段的荧光强度与光能利用效率的

复相关系数分别是 0.64 和 0.78,此模型可以用来预测植物的光能利用效率。2010 年,利用叶绿素荧光夫琅和费线探测原理,获取冬小麦在 688、760 nm 处的光谱波段,同时将植被光能利用效率与光化学植被指数进行对比分析。结果表明,PSII 光量子产量与光能利用率显著正相关,证实了可以利用叶绿素荧光光谱来定量分析光能利用效率,且此方法明显优于光化学植被指数光能利用效率模型。周丽娜等^[21]以水稻为研究对象,提取水稻叶片叶绿素荧光光谱特征的同时采集光能利用效率,将二者进行拟合后预测光能利用效率。结果表明:基于 685、732 nm 处的光谱波段,建立 F_{685}/F_{732} 的光能利用效率预测模型,其决定系数 0.885,证明此模型具有较高的预测能力,可以为今后植物光合能力预测提供新的依据。任顺等^[22]以嫁接黄瓜苗为试验对象,基于叶绿素荧光非破坏、快速、精准的检测特点,研究 500 ~ 800 nm 波段的荧光光谱,建立一种基于支持向量机理论的光能利用效率的预测模型。结果表明,其被测样本的平均误差为 8.94%,此模型具有良好的预测和分析能力,可以用来诊断植物的生理信息状况。

2.3 检测叶绿素含量

叶绿素在光合作用过程中具有决定性的意义,是光合作用的重要场所,其含量高低变化会影响植物的光合作用^[23-24]。在植物受到环境威胁时,叶片的叶绿素含量及荧光光谱均会发生变化。由此,利用叶绿素荧光技术对植物叶绿素含量进行检测已经成为诊断植物生理健康的重要研究内容。

SHIBAYAMA 等^[25]通过对不同氮素水平下植物叶片荧光光谱特征的研究,表明因氮素含量不同而引起的叶绿素变化可以导致荧光光谱特征的不同。THOMAS 等^[26]通过对测定香蕉叶片的叶绿素荧光,发现 F_v/F_m 与叶片的相对含水量和水势密切相关。NDAO 等^[27]以特定的热带植物为试验对象,通过波长为 404 nm 的蓝色激光二极管在室温的情况下进行连续激发,产生叶绿素荧光。结果表明,采用反褶积处理方法确定荧光强度和位置,校正后的荧光强度比 F_{690}/F_{735} 与叶绿素含量显著相关。蒋金豹等^[28]获取染病冬小麦不同生育时期冠层光谱及叶片色素含量,通

过利用单量线性和非线性回归方法,建立冬小麦色素含量预测模型并检验校准。结果表明,可以用高光谱遥感技术预测冠层叶片色素含量,其中以 $(SD_r - SD_g)/(SD_r + SD_g)$ 线性模型为冠层光谱预测植物色素含量的最佳模型。梁雪等^[29]以冬小麦为试验对象,探索出一种新的建模方法:多元散射校正-人工神经网络方法。应用此建模方法建立冬小麦叶片叶绿素含量与反射光谱的预测模型,可以做到快速预测活体冬小麦叶片叶绿素含量。杨昊谕等^[30]采集黄瓜活体叶片的叶绿素荧光光谱,用荧光参数比 F_{732}/F_{685} 来反映植物活体叶片内的叶绿素含量。杨艳阳等^[31]以 LED 激发叶绿素荧光光谱检测技术获取茶树冠层叶片的荧光光谱信息,对荧光光谱信息进行预处理,采用不同方法建立的定标模型分析得到其偏最小二乘-人工神经网络回归效果最佳。在获取荧光光谱信息的同时检测其叶绿素含量,建立基于叶片含水率修正下的茶鲜叶叶绿素含量与叶绿素荧光强度之间的数学回归模型。结果表明,其预测模型相关系数 $r=0.926 0$,可以用荧光光谱反射技术对茶鲜叶的叶绿素含量进行检测。

3 展望

叶绿素荧光检测技术应用于植物生理信息检测取得了一定的进展,但仍存在以下 3 个问题,有待于进一步解决。

1) 叶绿素荧光检测技术的发展。主动叶绿素荧光检测技术虽有效提取了光谱的有效信息,但在荧光光谱分析过程中,只应用了光谱曲线少量波段的特征值分析,其发展技术处于初级阶段。此外,叶绿素荧光光谱技术主要应用仍处于叶片水平,尽快实现荧光光谱技术从叶片水平向冠层水平的发展。

2) 实时环境因素对叶绿素荧光产生的影响。试验过程中采集的是植物受到激光激发而产生的荧光光谱,容易获取且光谱的背景噪声小,有利于试验后期处理与分析。应该尝试在自然光照条下高效获取光谱,实现植物与自然环境因子之间的交互作用。利用叶绿素荧光光谱检测植物病虫害尚停留在实验室水平,还应实践到大田中,真正实现大田作物的精准管控。

3) 植物的生长发育对叶绿素荧光产生的影

响。应考虑不同品种植物在不同生长发育阶段其叶片厚度、含水率等因素引起的荧光光谱差异性,为更准确检测植物内部生理信息提供有利依据。

参考文献

- [1] 隋媛媛. 基于叶绿素荧光光谱分析的温室黄瓜病虫害预警方法[D]. 长春: 吉林大学, 2012.
- [2] 李璟. 基于主动诱导叶绿素荧光的光谱分析方法的研究[D]. 西安: 西安理工大学, 2013.
- [3] 李钦夫, 李征明, 纪建伟, 等. 叶绿素荧光动力学及在植物抗逆生理研究中的应用[J]. 湖北农业科学, 2013, 52(22): 5399-5402.
- [4] 王兴旺, 张武. 基于 WSN 的农作物病虫害预测系统研究[J]. 北方园艺, 2016(9): 204-207.
- [5] SEGUIN F, BIHAN F, LEBOULANGER C, et al. A risk assessment of pollution induction of atrazine tolerance in phytoplankton communities in freshwater outdoor mesocosms, using chlorophyll fluorescence as an endpoint[J]. Water Research, 2002, 36(13): 3227-3236.
- [6] FRANCISCO S, MARIA J. Studying photosynthesis by measuring fluorescence[J]. Journal of Biological Education, 2006, 41(1): 34-37.
- [7] SUAREZ A, PATRICIO G, ALVARO S, et al. Humann-based system to identify benzimidazolefungicides using multisynchronous fluorescence spectra: An ensemble approach[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2009, 394(4): 1059-1072.
- [8] BASSANEZI R, AMORIN L, BERGAMIN F, et al. Gasexchange and emission of chlorophyll fluorescence during the monocycle of rust, angular leaf spot and anthracnose on bean leaves as a function of their trophic characteristics[J]. Journal of Phytopathology, 2002, 150(1): 37-47.
- [9] 隋媛媛, 王庆钰, 于海业. 基于叶绿素荧光光谱指数的温室黄瓜病害预测[J]. 光谱学与光谱分析, 2016, 36(6): 1779-1782.
- [10] 杨昊谕, 于海业, 刘煦, 等. 叶绿素荧光 PCA-SVM 分析的黄瓜病虫害诊断研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2010, 30(11): 3018-3021.
- [11] 陈兵, 王克如, 李少昆, 等. 病害胁迫对棉叶光谱反射率和叶绿素荧光特性的影响[J]. 农业工程学报, 2011, 27(9): 86-93.
- [12] 周丽娜, 于海业, 张蕾, 等. 基于叶绿素荧光光谱分析的稻瘟病害预测模型[J]. 光谱学与光谱分析, 2014, 34(4): 1003-1006.
- [13] 张永江, 黄文江, 王纪华, 等. 基于 Fraunhofer 线的小麦条锈病荧光遥感探测[J]. 中国农业科学, 2007, 40(1): 78-83.
- [14] 马帅, 冯金朝, 李熙照, 等. 土壤盐胁迫对葡萄光合作用特性的影响[J]. 北方园艺, 2012(12): 4-8.
- [15] LICHTENTHALER H K, MIEHE J A. Fluorescence imaging as a diagnostic tool for plant stress[J]. Trends in Plant Science, 1997(2): 316-320.
- [16] KORRES N, FROUD-WILLIAMS R, MOSS S. Chlorophyll fluorescence technique as a rapid diagnostic test of the effects of the photosynthetic inhibitor chlorotoluron on two winter wheat cultivars[J]. Annals of Applied Biology, 2003, 143(1): 53-56.
- [17] CHERIF J, DERBEL N, NAKKACH M, et al. Analysis of *in vivo* chlorophyll fluorescence spectra to monitor physiological state of tomato plants growing under zinc stress[J]. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 2010, 101: 332-339.
- [18] 于海业, 隋媛媛, 杨昊谕, 等. 黄瓜叶片叶绿素荧光光谱日变化的研究[J]. 中国科学, 2010(40): 253-258.
- [19] 刘良云, 程占慧. 基于叶绿素荧光的光能利用效率光谱探测研究[C]. 第七届成像光谱技术与应用研讨会论文集, 2009: 56-60.
- [20] 程占慧, 刘良云. 基于叶绿素荧光发射光谱的光能利用率探测[J]. 农业工程学报, 2010, 26(2): 74-80.
- [21] 周丽娜, 于海业, 于连军, 等. 基于叶绿素荧光光谱分析的光能利用效率研究[J]. 农业机械学报, 2014, 45(7): 255-259.
- [22] 任顺, 于海业, 周丽娜. 基于支持向量机的叶绿素荧光预测光能利用效率研究[J]. 农业机械学报, 2015, 46(4): 273-276.
- [23] 李辉, 白丹, 张卓, 等. 羊草叶片 SPAD 值与叶绿素含量的相关分析[J]. 中国农学通报, 2012, 28(2): 27-30.
- [24] 潘静, 曹兵, 万仲武. 两种果树叶片 SPAD 值与叶绿素含量相关性分析[J]. 北方园艺, 2012(5): 9-12.
- [25] SHIBAYAMA M, SALLIARTO, THOMAS M H, et al. Detecting phenophases of subarctic shrub canopies by using automated reflectance measurements[J]. Remote Sensing of Environment, 1999, 2(67): 160-180.
- [26] THOMAS D S, TURNER D W. Banana (*Musa sp.*) leaf gas exchange and chlorophyll fluorescence in response to soil drought, shading and lamina folding[J]. Scientia Horticulture, 2001, 90(1-2): 93-108.
- [27] NDAO A S, KONTE A, BIAYE M, et al. Analysis of chlorophyll fluorescence spectra in some tropical plants[J]. Journal of Fluorescence, 2005, 15(2): 123-129.
- [28] 蒋金豹, 陈云浩, 黄文江, 等. 病害胁迫下冬小麦冠层叶片色素含量高光谱遥感估测研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2007, 27(7): 1363-1367.
- [29] 梁雪, 吉海彦, 王鹏新, 等. 用 MSC-ANN 方法建立冬小麦叶片叶绿素含量与反射光谱的定量分析模型[J]. 光谱学与光谱分析, 2010, 30(1): 188-191.
- [30] 杨昊谕, 于海业, 张蕾, 等. 基于激光诱导荧光光谱分析的黄瓜叶片叶绿素含量检测[J]. 农业机械学报, 2009, 40(10): 169-172.
- [31] 杨艳阳, 陈斌, 蔡贵民, 等. 茶鲜叶的荧光光谱特征与叶绿素含量之间的关系研究[J]. 江苏农业科学, 2012, 40(5): 270-272.
- [32] 王琳琳, 于海业, 张蕾, 等. 基于叶绿素荧光光谱的生菜硝酸盐含量检测[J]. 农业工程学报, 2016, 32(14): 279-283.

doi:10.11937/bfyy.20171322

植物促生菌促进盐生环境植物生长的研究进展

邱 天^{1,2}, 张 丽 辉¹

(1. 长春师范大学 生命科学学院, 吉林 长春 130032; 2. 东北师范大学 植被生态科学教育部重点实验室, 吉林 长春 130024)

摘 要:土壤盐渍化是一个严重影响作物产量的全球环境问题。在中国,土壤盐渍化和次级盐化程度突出。应用植物根际促生菌(PGPR)是一种经济有效、提高植物生物量或产量和清除环境污染的方法。该研究综述了土壤盐分对植物的影响和土壤改良、促生菌的促生机制、盐胁迫下促生菌在不同植物物种中应用的研究进展,阐述应用植物促生菌的重要意义,对今后研究方向进行了展望,旨在为盐渍化土壤植物促生菌的开发提供科学参考。

关键词:盐胁迫; PGPR; 促生; 研究进展

中图分类号:Q 949.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2017)24-0198-07

土壤盐分严重地影响农业发展、生物多样性和环境^[1]。随着全球盐渍化耕地面积的日益扩大,土壤盐渍化问题已经成为世界公众关注的焦

点问题。植物和土壤中的微生物都受土壤盐分的影响。植物根际促生菌(plant growth-promoting rhizobacteria, PGPR)是植物根际土壤中一类可以促进植物生长的微生物,能促进植物的生长、防治病害、增加作物产量^[2]。针对土壤环境对农作物或修复植物的胁迫作用,采取的措施常常包括培育抗盐性强的品种、改进栽培措施、土壤盐分淋溶等^[3],而应用 PGPR 有助于减轻盐分对植物的不良影响,已经成为一种环境友好、经济有效的促

第一作者简介:邱天(1980-),女,博士,讲师,现主要从事种群生态学等研究工作。E-mail:qiut601@sohu.com.

基金项目:国家自然科学基金资助项目(31472134);长春师范大学自然科学基金资助项目(长师院自科合字 2009011)。

收稿日期:2017-07-14

Advances in Chlorophyll Fluorescence Spectra of Plants

YU Haiye, ZHANG Yuqing, LIU Shuang, TIAN Dongxu, KONG Lijuan, SUI Yuanyuan

(School of Biological and Agricultural Engineering, Jilin University, Changchun, Jilin 130022)

Abstract: Chlorophyll fluorescence of chloroplasts in plant energy gain and loss in the process of producing, using chlorophyll fluorescence spectrum could be nondestructive, rapid and accurate access to plant physiological information, which had important guiding significance of physiological information and health status on the study of plants. This study introduced the principle of chlorophyll fluorescence, pest and disease warning, light use efficiency and chlorophyll content as the main clue, summarized the research progress of chlorophyll fluorescence spectrum in plant physiological information monitoring technology analysis. In order to provide theoretical basis for the rapid nondestructive testing of physiological information in plants.

Keywords: chlorophyll fluorescence; spectral analysis; pest and disease warning; light use efficiency; chlorophyll content