重金属锌胁迫的白菜叶片光谱响应研究

陈思宁1, 刘新会1*, 侯 娟1, 刘素红2, 迟光宇1, 崔保山1, 杨志峰1

1. 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

2. 北京师范大学地理学与遥感科学学院,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(680~740 nm)、可见区光谱 (460~680 nm)、近红外区光谱(750~1 000 nm)三种特征光谱因子研究了重金属锌对白菜生长的胁迫响应。 随土壤中 Zn 含量增加,白菜叶片金属 Zn 富集程度逐渐增大,白菜叶片叶绿素含量降低;随白菜叶片 Zn 含量增加,白菜叶片光谱的可见区反射率变化程度(A₁)增加,白菜叶片光谱近红外区反射率变化程度(A₂)降低,红边"蓝移"(向短波方向飘移)程度(S)逐渐增强。应用 A₁,A₂,S 作参数对白菜叶片 Zn 含量对数值 (lnC_L,C_L 单位为 mg•kg⁻¹)进行定量线性相关分析,三模型复相关系数 r² 分别为 0.942, 0.981 和 0.969, 三种特征光谱因子能够用来预测白菜叶片金属 Zn 含量。

关键词 红边位; 叶绿素; 植物光谱; 指示植物 中图分类号: X87 文献标识码: A 文章编号: 1000-0593(2007)09-1797-05

引 言

水和土壤的锌(Zn)污染已经引起环境科学工作者的广 泛关注, 锌主要来源于采矿、电镀和冶炼行业污染物的排 放。土壤中 Zn 超过 200 mg·kg⁻¹时可能对植物生长造成危 害, 过量 Zn 可以直接导致植物发生 Zn 污染中毒, 也可以间 接影响植物对于重要营养元素 Fe 的吸收, 进而致使植物因 Fe 缺失而失绿、生长障碍、甚至死亡^[1]。在重金属污染的预 防和治理中, 重金属污染物的监测和识别至关重要。然而, 传统化学分析监测方法具有费用高、费时、费力、监测范围 有限等缺点; 以遥感技术为基础的植物监测方法具有视野 宽、信息量大、评价快速、动态监测等优点^[2, 3], 已经日益成 为资源开采和环境污染领域科学研究的重要支持手段。

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^[4];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^[5],应用植物光谱响应监测土壤的中度和轻度污染正日益 受到环境科学工作者的关注^[6,7]。近年来,很多学者一直致 力于土壤环境污染的植物光谱效应研究,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^[8,9]。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 属锌污染环境中白菜的叶片 Zn 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,并对重金属锌胁迫下白菜的叶片特征光谱响应进行了深 入探讨。

1 材料与方法

1.1 仪器与材料

FieldSpecFR 分光辐射光谱仪(美国 ASD 公司); SPAD-502 叶绿素测定仪; 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 锌(99.999%), ZnSO₄•7H₂O等化学试剂均为分析纯。

1.2 实验方法

1.2.1 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 ZnSO₄ 水溶 液, 使土壤的 Zn²⁺浓度分别增加 100.00, 200.00, 400.00, 800.00, 1 600.00 mg·kg⁻¹(样品分别记为 B1, B2, B3, B4, B5 和 B6), 对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

收稿日期: 2006-05-28, 修订日期: 2006-09-02

基金项目:国家重点基础研究发展计划项目(2003CB415007,2003CB415104)资助 作者简介:陈思宁,1974年生,北京师范大学环境学院博士研究生 *通讯联系人 e-mail:xhliu@bnu.edu.cn

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和K含量分别为 100,100,80 mg。白菜种子用 5% NaClO 浸泡、去离子水冲洗,在 (25 ± 2) ℃恒温条件下催 芽。每盆种植3颗白菜种子,在人工气候培养箱中培养,保 持温度 (25 ± 1) ℃、光照强度 200 μ mol·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 d 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。

1.2.2 光谱数据采集与处理

应用 FieldSpecFR 分光辐射光谱仪(测量波段范围 350~2 400 nm,光谱分辨率 1 nm)提取白菜叶片光谱信息,每一 实验浓度白菜选取 10 片叶片进行数据采集,并取多次测量 结果的平均值。

原始光谱数据用 ViewSpecPro 软件(ASD 公司)进行处理,然后运用 ENVI, SPSS 11.0等软件进行进一步分析,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(2)式计算,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。

$$A = \int_{\lambda_2}^{\lambda_1} (R_{\lambda} - R_{\lambda^0}) d\lambda \tag{1}$$

$$S = \frac{1}{n} (\lambda_i - \lambda_{i0}) \tag{2}$$

利用公式(1)计算 460~680 nm 区间白菜叶片光谱反射 率积分差来反映可见光区反射率变化程度(A₁);利用(1)式 计算 750~1 000 nm 区间白菜叶片光谱反射率积分差来反映 近红外区的反射率变化程度(A₂);在白菜叶片光谱 680~ 740 nm 发生"蓝移"波段,以 1%反射率变化为间隔用(2)式 计算具有同样反射率点的波长差,用 680~740 nm 波段波长 差平均值来表示其"蓝移"程度(S)(见表 1)。利用上述方法 计算白菜 Zn 污染胁迫光谱响应的特征响应因子 A₁, A₂, S。 1.2.3 叶绿素含量测定

在采集白菜叶片光谱数据时,用 SPAD-502 叶绿素仪测量叶片叶绿素浓度,在每片叶片不同位置测量叶绿素浓度4次,得到叶绿素浓度相对含量(SPADR)平均值^[10]。

1.2.4 白菜组织 Zn 含量测定

采集白菜根以及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^[11],消化液 用原子吸收分光光度计(AAS)在波长 213.8 nm、狭缝宽度 1.3 nm、乙炔流量 2.0 L · min⁻¹、灯电流 10.0 mA 条件下检 测叶片中的 Zn 含量。测定过程中采取全程空白对照,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 白菜叶片 Zn 含量及叶绿素含量特征

对各处理浓度白菜样品中 Zn 含量及叶绿素含量进行统 计(见表 1)分析表明:白菜根和叶片的 Zn 累积量均随土壤中 Zn 含量增加而增加,白菜根对 Zn 元素的富集率高于叶片的 富集率,白菜根长和 Zn 浓度变化呈反比。随着土壤 Zn 浓度 增大,*L/R*(叶与根 Zn 含量之比)逐渐增加,说明重金属 Zn 由根部向叶部迁移量相对增多^[12]。在重金属 Zn 污染胁迫 下,白菜叶片叶绿素含量均低于对照组,并且随叶片 Zn 含 量增加而呈现降低趋势,同时叶绿素含量与叶片 Zn 含量对 数值具有较高的线性拟合(方程 3)。

 $SPADR = -5.92 \ln c_L + 59.78(r^2 = 0.988)$ (3)

Table 1 List of Zn contents, the chlorophyll level and the spectral factors in Brassica Campestris L.

样品编号	土壤 Zn 处理浓度 /(mg・kg ⁻¹)	白菜不同组织 Zn 含量/(mg・kg ⁻¹)		转运系数	白菜根长	叶绿素浓度相对值	A	A .	S/nm
		cL(叶片)	<i>c</i> _R (根)	(L/R)	/cm	(SPADR)	A1	A12	5/ 1111
B1	0.00	35.02	52.11	-	12.1	38.2	0.0	0.0	0.0
B2	100.00	60.18	161.02	0.37	10.2	36.1	6.1	-10.5	1.0
B3	200.00	102.21	243.25	0.41	8.5	33.2	8.7	-13.2	7.1
B4	400.00	172.04	405.03	0.42	5.3	28.3	11.5	-21.2	8.3
B5	800.00	315.13	728.14	0.43	3.2	25.6	12.1	-25.6	11.6
B6	1600.00	562.02	1252.06	0.45	1.5	22.5	17.9	-33.1	16.5

在白菜受到重金属污染后,过量重金属首先积累于根部 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 Zn 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,根部 NH⁴ 的大量累 积使根部受到严重损伤;白菜根根尖硬化导致生长点细胞分 裂受到抑制,白菜主根不能伸长。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 Zn²⁺结合形成稳定配位化合物,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 Zn 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 Zn²⁺变化量逐渐减缓,植物根部吸收 Zn²⁺向茎叶转运系 数不断增加。

当植物吸收重金属后,叶绿素生物合成途径中的原叶绿 素酯还原酶、δ-氨基乙酰丙酸合成酶和胆色素原脱氨酶等分 子中的基团—SH与重金属离子络合形成稳定化合物,进而 导致酶活性受到抑制、叶绿素合成受到阻碍;此外,过量重 金属 Zn可以显著提高植物过氧化氢酶和愈创木酚过氧化物

1799

酶活性,进而可以促进植物叶片产生大量含氧自由基,致使 叶绿体膜脂过氧化而受到损伤^[14,15]。过量重金属 Zn 可以导 致植物叶绿素含量降低,而叶绿素含量和植物健康状况密切 相关,植物叶片的叶绿素含量可以用于指示白菜发育状况、 Zn 污染胁迫程度、叶片光合作用能力。

2.2 白菜叶片可见-近红外光谱特征

图 1 是重金属 Zn 胁迫作用的白菜叶片可见区光谱和近 红外区光谱曲线。在重金属 Zn 胁迫作用下,白菜叶片光谱 在 460~680 nm 可见光区波段反射率升高趋势显著,而在 750~1 000 nm 近红外区波段反射率降低趋势最为明显,在 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(见图 2)。对白菜叶片 Zn 含量与叶片光谱 3 个特征因子 A₁, A₂, S 相关模型(见表 2) 及相关趋势图(见图 3)分析表明:白菜叶片 Zn 含量与特征光



Fig. 1 Plot of the Zn content versus the spectra of *Brassica Campestris L*. leaf



Fig. 2 Plot of the blue shift of red edge in the spectra of *Brassica Campestris L*. leaf

Table 2	The regression models of Zn contents versus the spec-
	tral indices A_1 , A_2 and S of Brassica Campestris L.
	leaf

No.	模型	复相关系数(r ²)
4	$A_1 = 5.68 \ln c_L - 18.54$	0.942
5	$A_2 = -11.28 \ln c_L + 38.18$	0.981
6	$S=5.96 \ln c_{\rm L}-21.91$	0.969

谱因子构建模型具有高复相关系数(r²>0.94),模型具有显 著拟合效果和可靠预测性。

白菜叶片光谱可见光波段光谱反射率变化程度(A₁)、 "红边"蓝移强度(S)两个特征光谱因子均与白菜叶片 Zn 含 量呈现正相关关系。在可见光波段,植物光谱反射率主要由 叶片叶绿素等色素控制^[16]。白菜叶片 Zn 含量增加可以导致 叶绿素含量减少,使叶绿素对可见光吸收减弱、吸收波段变 窄、红光范围变小,进而导致叶片光谱红边振幅、红边峰值 面积随之减少,使植物可见光波段吸收率降低而反射率升 高,同时光谱发生"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



Fig. 3 Plot of the Zn content in Brassica Campestris L. leaf versus A_1 , A_2 and S

(a): Reflectance A1; (b): Reflectance; (c): Blue shift S

对光多次反射散射原因,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 Zn 之后,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,白菜叶片叶绿素含量降 低;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],白菜叶片近红外区区 域光谱反射率变化程度(A₂)变化幅度与叶片 Zn 含量呈现正 相关关系。 程度(A₁)、近红外区(750~1 000 nm 波段)反射率变化程度 (A₂)和红边(680~740 nm 波段)"蓝移"程度(S)与白菜叶片 Zn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 A₁, A₂, S 可以作为评价白菜重金属 Zn 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。

3 结 论

白菜叶片光谱可见光区(460~680 nm 波段)反射率变化

参考文献

- [1] XIANG Chang-xing, DONG Ya-wen, QIAN Jun-long, et al(项长兴, 董雅文, 钱君龙, 等). Soil(土壤), 1993, 25: 319.
- [2] MA Xiang-ping, XIAN Mai-long, LÜ Lu-shi, et al(马向平, 仙麦龙, 吕录仕, 等). Remote Sensing for Land and Resources(国土资源遥感), 1997, 34: 14.
- [3] TIAN Guo-liang, BAO Pei-li, LI Jian-jun, et al(田国良, 包佩丽, 李建军, 等). Remote Sensing of Environment(环境遥感), 1990, 5: 140.
- [4] LIU Sheng-wei, GAN Fu-ping, WANG Run-sheng(刘圣伟,甘甫平,王润生). Remote Sensing for Land and Resources(国土资源遥感), 2004, 59; 6.
- [5] Mars J C, Crowley J K. Remote Sensing of Environment, 2003, 84: 422.
- [6] Schuerger A C, Capelle G A, Di Benedetto J A. Remote Sensing of Environment, 2003, 84: 572.
- [7] MA Chao-fei, MA Jian-wen, HAN Xiu-zhen(马超飞,马建文,韩秀珍). Journal of Remote Sensing(遥感学报), 2001, 5: 334.
- [8] Hoque E, Huntzler J S. Remote Sensing of Environment, 1992, 39: 81.
- [9] WANG Ke, SHEN Zhang-quan, WANG Ren-chao(王 珂,沈掌泉,王人潮). Remote Sensing for Land and Resources(国土资源遥感), 1999, 39: 9.
- [10] AI Tian-cheng, LI Fang-min, ZHOU Zhi-an, et al(艾天成,李方敏,周治安,等). Journal of Hubei Agricultral College(湖北农学院学报), 2000, 20; 6.
- [11] XIE Su-jing, XIE Shu-lian, XIE Bao-mei(谢苏婧,谢树莲,谢宝妹). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2003, 23 (3): 615.
- [12] Yang Z M, Hua Y, Li J. Journal of Environmental Science, 1992, 12: 230.
- [13] Madeira A C, Mendonca A, Ferreira M E, et al. Soil Science and Plant Analysis, 2000, 31: 631.
- [14] JIANG Ming-yi, YANG Wen-ying, XU Jiang, et al(蒋明义,杨文英,徐 江,等). Journal of Integrative Plant Biology(植物学报), 1994, 36: 289.
- [15] Somashekaraiah B V, Padmaja K, Prasad R K. Physiologia Plantarum, 1992, 85: 85.
- [16] Broge N H, J Vmortensen. Remote Sensing of Environment, 2002, 81: 45.
- [17] Danidl A S, Gamon J A. Remote Sensing of Environment, 2002, 81: 337.
- [18] Filella I, Penuelas J. International Journal of Remote Sensing, 1994, 15: 1459.

Study on the Spectrum Response of *Brassica Campestris L* Leaf to the Zinc Pollution

CHEN Si-ning¹, LIU Xin-hui^{1*}, HOU Juan¹, LIU Su-hong², CHI Guang-yu¹, CUI Bao-shan¹, YANG Zhi-feng¹

1. State Key Joint Laboratory of Environmental Simulation and Pollution Control, School of Environment, Beijing Normal University, Beijing 100875, China

2. College of Geography and Remote Sensing Sciences, Beijing Normal University, Beijing 100875, China

Abstract In the present paper, the spectrum response of *Brassica Campestris L* leaf to the stress of heavy metal zinc pollution was studied in three spectral rangess of the red edge position (680-740 nm), the visible spectrum (460-680 nm) and the near infrared spectrum (750-1 000 nm). The results indicate that the Zn content in cabbage leaves increases and the chlorophyll level reduces with the increase in Zn concentration in soil. With the Zn content of *Brassica Campestris L* leaves increasing, the leaf spectral reflectivity in visible light (A_1) and the range of red edge shift (S) ascends, the the leaf spectral reflectivity in the near infrared light (A_2) decreases. The three indices of A_1 , A_2 and S are fitted much linearly with the logarithm of zinc content in *Brassica Campestris L* leaves with the high squared regression coefficients of 0.942, 0.981 and 0.969 respectively. The regression models are reliable to estimate the zinc content in *Brassica Campestris L* leaves.

Keywords Red edge position; Chlorophyll; Plant spectrum; Plant indicator

(Received May 28, 2006; accepted Sep. 2, 2006)

* Corresponding author