

# 基于叶绿素荧光光谱分析的光能利用效率研究\*

周丽娜<sup>1,2</sup> 于海业<sup>1</sup> 于连军<sup>3</sup> 张蕾<sup>1</sup> 隋媛媛<sup>1</sup> 任顺<sup>1</sup>

(1. 吉林大学生物与农业工程学院, 长春 130022; 2. 长春科技学院动物科技学院, 长春 130600;

3. 长春市农业科学院, 长春 130111)

**摘要:** 以水稻为研究对象, 利用叶绿素荧光光谱对水稻叶片的光能利用效率进行分析。研究中, 采集水稻叶片的叶绿素荧光光谱, 同步测定净光合速率和光合有效辐射, 并进行光能利用效率的计算。以红光区  $F_{685}$  和远红光区  $F_{732}$  为光谱特征参数的分析显示,  $F_{685}$ 、 $F_{732}$  及参数组合  $F_{685}/F_{732}$  与光能利用效率显著线性相关, 因此分别以  $F_{685}$ 、 $F_{732}$  和以  $F_{685}/F_{732}$  为模型输入建立了光能利用效率预测模型并进行对比, 发现基于  $F_{685}/F_{732}$  的预测模型精度更高。由于  $\text{CO}_2$  的同化过程受气孔导度的影响, 而叶片温度是气孔导度的信号, 且光能利用效率受叶片温度影响显著, 为提高模型预测精度, 也将叶片温度作为模型输入, 建立了基于  $F_{685}/F_{732}$  和叶片温度的光能利用效率预测模型, 决定系数为 0.885。

**关键词:** 叶绿素荧光光谱 光能利用效率 荧光参数比 回归分析

**中图分类号:** S123; O657.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-1298(2014)07-0255-05

## 引言

近年来, 利用电磁辐射的光谱检测技术监测植物生长及环境逐渐受到人们关注<sup>[1-2]</sup>。植物的激光诱导叶绿素荧光光谱检测是这种检测技术的重要组成部分, 作为一种主动探测技术, 它为评价植物在环境中的生长状况提供了一种特殊的方法<sup>[2]</sup>。

植物依靠光合色素, 通过光合过程将太阳能转化为化学能供植物生长。光合过程中, 能量转移通过光化学和非光化学两种途径, 且在二者之间存在着密切的机理联系<sup>[3-4]</sup>。绝大部分能量在光化学过程中用于  $\text{CO}_2$  的固定, 而余下的部分以两种非光化学过程耗散, 包括热耗散和荧光。荧光是一种能量的再发射过程, 出现在红光和远红光区域, 虽然仅占吸收总能量的 2% ~ 5%, 却足以作为植物生长状态诊断的依据<sup>[2,5]</sup>。而且, 叶绿素荧光光谱可以反映光合器官对环境因素适应和调节的过程<sup>[6]</sup>。因此, 叶绿素荧光技术能够作为植物光合能力探测的依据。

尽管光能利用效率随植物种类、生长季节和生态系统不同而有所不同, 其变化仍可作为植物胁迫或检测和评价植物健康的依据<sup>[7]</sup>。因此, 本文提取叶绿素荧光光谱特征并将其拟合一个回归函数来预

测光能利用效率。

## 1 材料与方

试验于 2012 年 6 月 28 日上午 10 点在吉林省长春市农业科学院水稻所试验田(海拔高度 150 m, 44°50'N, 125°18'E)进行。水稻品种为春香 1 号, 株高 0.5 ~ 0.8 m。在试验田内挑选长势均匀, 正常管理的健康水稻旗叶为测量对象, 测量时天气晴朗。获取水稻叶片的叶绿素荧光光谱、光合作用参数以及温度、光照等环境参数。

### 1.1 光能利用效率的测定

采用美国产 LI-6400 型便携式光合作用仪对水稻叶片进行测定, 每叶重复测量 3 次取平均值。同时获取光合有效辐射、叶片净光合速率、叶片温度、环境  $\text{CO}_2$  浓度、相对湿度等参数。本文中的光能利用效率用某一时刻叶片的净光合速率与到达叶片的光合有效辐射的比值进行计算, 即

$$L_{ue} = P_n / P_{ar} \times 100\% \quad (1)$$

式中  $L_{ue}$ ——光能利用效率, %

$P_n$ ——叶片净光合速率,  $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$

$P_{ar}$ ——光合有效辐射,  $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$

### 1.2 叶绿素荧光光谱的采集

光谱采集过程与光合作用的测定同步进行。测

收稿日期: 2013-11-18 修回日期: 2013-12-31

\* 国家高技术研究发展计划(863 计划)资助项目(2012AA10A506-4、2013AA103005-04)和吉林省科技发展计划资助项目(20110217)

作者简介: 周丽娜, 博士生, 长春科技学院讲师, 主要从事农业生物环境与能源工程研究, E-mail: zhoulina976430@163.com

通讯作者: 张蕾, 副教授, 主要从事农业生物环境与能源工程研究, E-mail: z\_lei@jlu.edu.cn

量装置是由激发单元和接收单元组成的测量系统。激发单元采用中国科学院长春光学精密机械与物理研究所产 MBL-III-473nm 型固体激光器,调整激光强度为 7.5 mW,波长为 473 nm<sup>[8]</sup>。荧光接收单元采用荷兰产 AvaSpec-2048-USB2 型光纤光谱仪,荧光探测器垂直且贴于叶片表面接收荧光并利用光纤传导通过 200 μm 的入射狭缝进入光谱仪。光谱仪可测光谱波段为 360 ~ 1 100 nm,分辨率 2.1 nm。

## 2 结果与分析

### 2.1 叶绿素荧光光谱的波段选择

通过对叶片的光能利用效率与激光诱导叶绿素荧光光谱的同步采集,获得不同光能利用效率下的水稻叶片叶绿素荧光光谱。如图 1 所示。

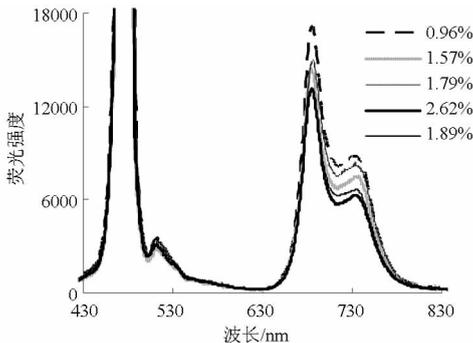


图 1 不同光能利用效率下的叶绿素荧光光谱

Fig. 1 Chlorophyll fluorescence spectra of leaves excited at 473 nm and sensed from upper leaf side under different LUE

从图 1 可以看出,不同光能利用效率下的水稻叶片,激光诱导叶绿素荧光光谱强度不同。水稻叶片的叶绿素荧光光谱分别在蓝绿光区(502 ~ 530 nm)和红光与远红光区(632 ~ 830 nm)出现 3 个峰位,由于蓝绿光区域荧光强度过低<sup>[9]</sup>,且受到发射激光波动影响较重,此波段不作为叶绿素荧光光谱和光能利用效率的研究对象。分别采集 632 ~ 715 nm 和 715 ~ 830 nm 两个波段的荧光峰值  $F_{685}$  和  $F_{732}$ (685 和 732 表示两波峰处的中心波长)。图 1 可看出,对于同一叶片荧光光谱, $F_{685}$  明显高于  $F_{732}$ ,对于不同叶片的荧光光谱,虽然在图谱上存在一定的交叉现象,但是不同光能利用效率下的  $F_{685}$ 、 $F_{732}$  均差异显著。

### 2.2 叶绿素荧光光谱与光能利用效率

将  $F_{685}$ 、 $F_{732}$  与光能利用效率进行标准化处理,标准化计算式为

$$Z_{ij} = (x_{ij} - x_i) / s_i \quad (2)$$

式中  $Z_{ij}$ ——标准化后的变量值

$x_{ij}$ ——实际变量值(原数据)

$x_i$ ——各变量的算术平均值

$s_i$ ——标准差

分别将标准化后的  $F_{685}$ 、 $F_{732}$  与光能利用效率进行相关分析,得相关关系统计图。如图 2、3 所示,光能利用效率与  $F_{685}$  和  $F_{732}$  均具有很好的线性负相关关系,决定系数  $R^2$  分别为 0.658 和 0.757 ( $P < 0.05$ ),表明叶片光能利用效率越低,叶绿素荧光越强。试验结果验证了在光照较强时的叶绿素荧光的植物生理保护机制<sup>[10]</sup>。植物的光能利用效率下降,即植物光化学过程的能量固定效率下降,此时,对植物具有生理保护机制的叶绿素荧光将加大能量耗散以释放多余的能量<sup>[11]</sup>。

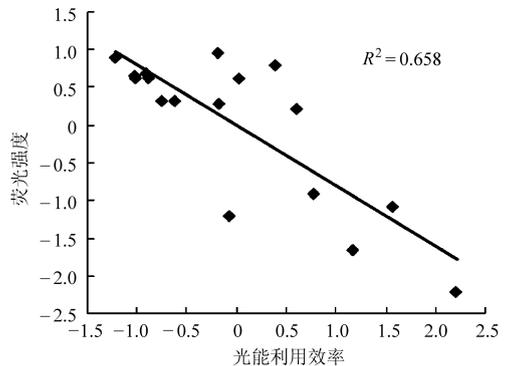


图 2 685 nm 荧光强度与光能利用效率关系

Fig. 2 Relationship between  $F_{685}$  and  $L_{ue}$

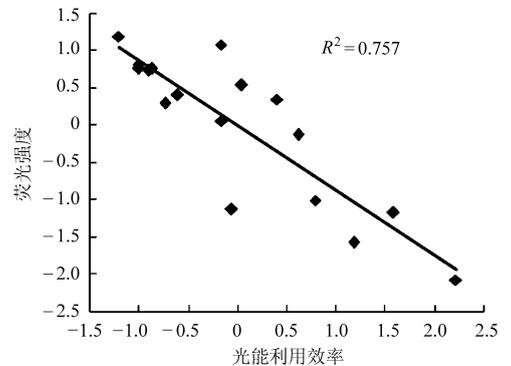


图 3 732 nm 荧光强度与光能利用效率关系

Fig. 3 Relationship between  $F_{732}$  and  $L_{ue}$

由于  $F_{685}$  和  $F_{732}$  荧光发射特征不尽相同,表明这两个波段的荧光发射有可能是光系统内不同的光耗散机制造成<sup>[12]</sup>,因此,本文建立了基于  $F_{685}$  和  $F_{732}$  的多元线性回归模型,见表 1。有研究表明,红光区峰值  $F_{685}$  和荧光参数比  $F_{685}/F_{732}$  受光合过程影响显著<sup>[6,13]</sup>,且对试验采集到的  $F_{685}$  和  $F_{732}$  进行相关分析发现,二者显著正相关,决定系数  $R^2$  为 0.963 ( $P < 0.05$ )。因此,本文又以  $F_{685}/F_{732}$  作为荧光参数,对光能利用效率进行回归分析,得相关关系统计图(见图 4),决定系数  $R^2$  为 0.837 ( $P < 0.05$ ),这表明光能利用效率越高,荧光参数比  $F_{685}/F_{732}$  越大,这可能与叶绿素在光合作用中的功能有关,叶绿素通

通过对能量的吸收、传递和收集引起光化学反应,以完成  $\text{CO}_2$  的固定,而光能利用效率正好反映了植物将入射光能转化为干物质的效率<sup>[14]</sup>,又有研究表明荧光参数比  $F_{685}/F_{732}$  与叶绿素含量显著正相关,可作为植物叶绿素含量的探测依据<sup>[15]</sup>。因此,本文以  $F_{685}/F_{732}$  为自变量建立光能利用效率的一元线性回归模型与上述二元模型作对比,从表 1 可看出,两模型对光能利用效率的反演都具有较高的精度,但综合考虑决定系数  $R^2$  和标准误差,基于荧光参数比  $F_{685}/F_{732}$  建立的回归模型较基于  $F_{685}$  和  $F_{732}$  的多元线性回归模型回归效果更好。

表 1 基于叶绿素荧光参数的光能利用效率回归模型

Tab.1 Regression formulas of light use efficiency (LUE) based on chlorophyll fluorescence spectra

自变量	回归方程	决定系数	标准误差
$F_{685}, F_{732}$	$L_{ue} = 1.161F_{685} - 2.009F_{732}$	0.807	0.470
$F_{685}/F_{732}$	$L_{ue} = 0.915F_{685}/F_{732}$	0.837	0.417

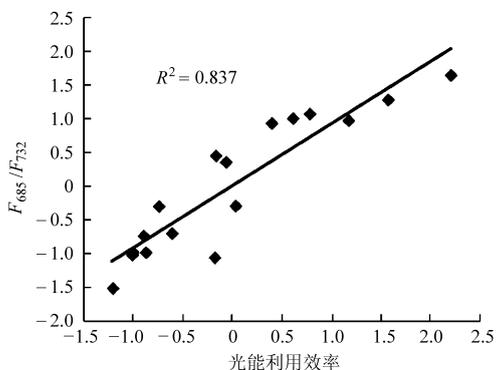


图 4 荧光参数  $F_{685}/F_{732}$  与光能利用效率关系

Fig. 4 Relationship between  $F_{685}/F_{732}$  and  $L_{ue}$

### 2.3 叶片温度与光能利用效率

光能利用效率是表征植物固定太阳能效率的指标,体现了植物有机物的积累效率<sup>[14]</sup>。 $\text{CO}_2$  的吸收受到细胞气孔导度的影响,叶片温度又是气孔导度的信号,影响着植物的同化过程,因此,叶片温度对干物质的积累有一定的影响。经相关分析,环境参数中相对湿度、 $\text{CO}_2$  浓度与光能利用效率之间相关性较低 ( $R^2 < 0.05$ )。但由图 5 可看出叶片温度与光能利用效率显著负相关。植物对光能的利用是有限的,净光合速率随光合有效辐射的增加而增加,但增加的速率会逐渐减弱<sup>[16]</sup>,这一变化速率显然反映了植物的光能利用效率。而叶片温度与净光合速率在植物光合最适温度范围内显著正相关<sup>[17-18]</sup>。这是引起叶片温度和光能利用效率负相关的一个重要原因。Hand 等的研究结果也表明对于 C3 植物,当光照强度大于  $100 \text{ J}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$  时,光能利用效率会

缓慢减弱<sup>[19]</sup>,本试验所采集的光照强度均在此范围内。也有研究表明,日间温度升高导致蒸汽压亏缺增大引起气孔导度迅速下降,从而抑制光合作用的迅速进行<sup>[20-21]</sup>,这是光能利用效率随叶片温度增加而下降的另一原因。

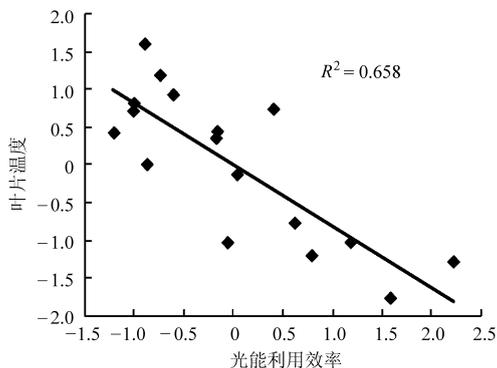


图 5 叶片温度与光能利用效率关系

Fig. 5 Relationship between  $T_l$  and  $L_{ue}$

### 2.4 基于叶片温度修正的光能利用效率回归模型的建立

基于 2.2 节和 2.3 节的研究,叶片光能利用效率与叶片叶绿素荧光参数及叶片温度均存在显著的相关关系,因此将二者作为光能利用效率预测模型的因素,利用上述标准化后的水稻叶片的光能利用效率、叶片温度、荧光参数  $F_{685}/F_{732}$ ,最终建立基于荧光参数  $F_{685}/F_{732}$  和叶片温度的光能利用效率的二元线性预测模型

$$L_{ue} = 0.686F_{685}/F_{732} - 0.317T_l \quad (R^2 = 0.885, \text{标准误差为 } 0.362) \quad (3)$$

式中  $T_l$ ——叶片温度

以此二元线性模型对荧光参数比和叶片温度协同作用的光能利用效率进行模拟,其与测量值之间关系见图 6,相关系数  $R = 0.882$ ,模型能够很好地反映光能利用效率与激光诱导叶绿素荧光光谱及叶片温度的关系。

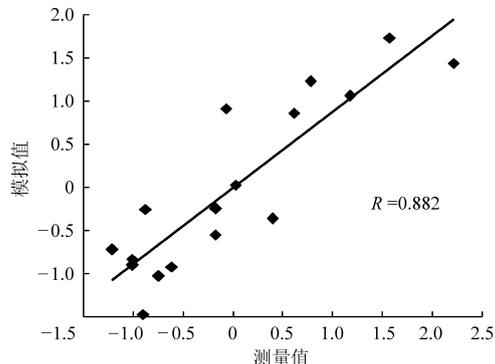


图 6 光能利用效率模拟值与测量值关系

Fig. 6 Relationship between estimated values and measured values of LUE

### 3 结束语

在叶片水平上同步采集光能利用效率、叶绿素荧光发射光谱,研究了利用叶绿素荧光光谱对光能利用效率进行探测的可行性。通过对 685 nm 和 732 nm 两个波峰位的荧光强度的提取,结合相关和回归分析,利用叶绿素荧光光谱反应植物光能利用效率的变化,并通过对  $F_{685}$  和  $F_{732}$  的组合及叶片温度的修正,实现通过荧光参数对光能利用效率的预测。

研究结果显示,  $F_{685}$  和  $F_{732}$  均与光能利用效率显著负相关,建立了基于  $F_{685}$  和  $F_{732}$  的二元线性回归模型。由于  $F_{685}$  和  $F_{732}$  显著正相关,建立了基于  $F_{685}/F_{732}$  的一元线性回归模型,其决定系数 ( $R^2 = 0.837$ ) 要高于基于  $F_{685}$  和  $F_{732}$  的二元线性回归模型 ( $R^2 = 0.807$ )。并在充分考虑其他因素影响条件下,建立了基于叶片温度修正的光能利用效率的回归模型。经检验,模型回归系数显著,可靠性很好,能够很好地反映  $F_{685}/F_{732}$  与光能利用效率的关系。

### 参 考 文 献

- Lang Michael, Lichtenthaler H K. Changes in the blue-green and red fluorescence-emission spectra of beech leaves during autumnal chlorophyll breakdown[J]. Journal of Plant Physiology, 1991, 138(5): 550 - 553.
- Ndao A S, Konté A, Biaye M, et al. Analysis of chlorophyll fluorescence spectra in some tropical plants[J]. Journal of Fluorescence, 2005, 15(2): 123 - 129.
- Bolhar-Nordenkampe H R, Long S P, Baker N R, et al. Chlorophyll fluorescence as a probe of the photosynthetic competence of leaves in the field: a review of current instrumentation[J]. Functional Ecology, 1989, 3: 497 - 514.
- Genty B, Briantais J M, Baker N R. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence[J]. Biochimica et Biophysica Acta, 1989, 90(1): 87 - 92.
- Allen J F. How does protein phosphorylation regulate photosynthesis[J]. Trends in Biochemical Sciences, 1992, 7(1): 12 - 17.
- Claus B. Variability and application of the chlorophyll fluorescence emission ratio red/far-red of leaves[J]. Photosynthesis Research, 2007, 92(2): 261 - 271.
- Barton C V M, North P R J. Remote sensing of canopy light use efficiency using the photochemical reflectance index: model and sensitivity analysis[J]. Remote Sensing of Environment, 2001, 78(3): 264 - 273.
- 于海业,杨昊谕,张蕾,等. 激光诱导叶绿素荧光强度与激光强度关系[J]. 农业工程学报,2009,25(增刊2):245 - 249.  
Yu Haiye, Yang Haoyu, Zhang Lei, et al. Relationship between laser-induced chlorophyll fluorescence intensity and laser power[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2009, 25(Supp.2): 245 - 249. (in Chinese)
- Schweiger J, Lang M, Lichtenthaler H K. Differences in fluorescence excitation spectra of leaves between stressed and non-stressed plant[J]. Journal of Plant Physiology, 1996, 148(5): 536 - 547.
- 刘良云,关琳琳,彭代亮,等. C3、C4 作物的光保护机制差异的光谱探测研究[J]. 遥感学报,2012,16(4):783 - 795.  
Liu Liangyun, Guan Linlin, Peng Dailiang, et al. Detection of the photosynthesis protective mechanisms of C3 and C4 Crops from hyper spectral data[J]. Journal of Remote Sensing, 2012, 16(4): 783 - 795. (in Chinese)
- 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(增刊2):74 - 80.  
Cheng Zhanhui, Liu Liangyun. Detection of vegetation light by using efficiency based on chlorophyll fluorescence spectrum[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2010, 26(Supp.2): 74 - 80. (in Chinese)
- Sayed O H. Chlorophyll fluorescence as a tool in cereal crop research[J]. Photosynthetica, 2003, 41(3): 321 - 330.
- Tomasz H, Katarzyna H, Maciej G, et al. Effect of long-term drought stress on leaf gas exchange and fluorescence parameters in C3 and C4 plants[J]. Acta Physiologiae Plantarum, 2007, 29(2): 103 - 113.
- 陈晋,唐艳鸿,陈学泓,等. 利用光化学反射植被指数估算光能利用效率研究的进展[J]. 遥感学报,2008,12(2):331 - 337.  
Chen Jin, Tang Yanhong, Chen Xuehong, et al. The review of estimating light use efficiency through photochemical reflectance index(PRI)[J]. Journal of Remote Sensing, 2008, 12(2): 331 - 337. (in Chinese)
- 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.  
Yang Haoyu, Yu Haiye, Zhang Lei, et al. Detecting of chlorophyll content of cucumber leaves based on laser-induced fluorescence spectrum analysis technique[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2009, 40(10): 169 - 172. (in Chinese)
- 林金科,赖明志,詹梓金. 茶树叶片净光合速率对生态因子的影响[J]. 生态学报,2000,20(3):404 - 408.  
Lin Jinke, Lai Mingzhi, Zhan Zijin. Response of net photosynthetic rate to ecological factors in tea leaves[J]. Acta Ecologica Sinica, 2000, 20(3): 404 - 408. (in Chinese)
- 张治安,杨福,陈展宇,等. 菰叶片净光合速率日变化及其与环境因子的相互关系[J]. 中国农业科学,2006,39(3):502 - 509.  
Zhang Zhian, Yang Fu, Chen Zhanyu, et al. Relationship between diurnal changes of net photosynthetic rate and environmental factors in leaves of *Zizania latifolia*[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2006, 39(3): 502 - 509. (in Chinese)
- 刘玉梅,王云诚,于贤昌,等. 黄瓜单叶净光合速率对二氧化碳浓度,温度和光照强度影响模型[J]. 应用生态学报,2007,

18(4):883–887.

Liu Yanmei, Wang Yuncheng, Yu Xianchang, et al. Mathematic models of cucumber net photosynthesis rate responding to CO<sub>2</sub> concentration, temperature and illumination intensity [J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2007, 18(4): 883–887. (in Chinese)

- 19 Hand D W, Warren W J, Acock B. Effects of light and CO<sub>2</sub> on net photosynthesis rates of stands of aubergine and amaranthus [J]. Annals of Botany, 1993, 71(3): 209–216.
- 20 Yang M, Li Z, Huang L, et al. Study on diurnal variation of photosynthesis in *Magnolia grandiflora* L. and magnolia denudate desr[C]. ISHS: Proceedings of the International Symposium on Asian Plants with Unique Horticultural Potential, 2008, 769: 433–440.
- 21 Avola G, Cavallaro V, Patanè C, et al. Gas exchange and photosynthetic water use efficiency in response to light, CO<sub>2</sub> concentration and temperature in *Vicia faba* [J]. Journal of Plant Physiology, 2008, 165: 796–804.

## Evaluation of Light Use Efficiency Using the Chlorophyll Fluorescence Spectra

Zhou Li<sup>na1,2</sup> Yu Haiye<sup>1</sup> Yu Lianjun<sup>3</sup> Zhang Lei<sup>1</sup> Sui Yuanyuan<sup>1</sup> Ren Shun<sup>1</sup>

(1. College of Biological and Agricultural Engineering, Jilin University, Changchun 130022, China

2. College of Animal Science and Technology, Changchun University of Science and Technology, Changchun 130600, China

3. Changchun City Academy of Agricultural Sciences, Changchun 130111, China)

**Abstract:** Light use efficiency of rice leaves were analyzed using chlorophyll fluorescence spectra in the present research. First of all, photosynthetic rate (net CO<sub>2</sub> assimilation rate) of individual leaves and incident photosynthetic active radiation were accessed, and photosynthetic light use efficiency was calculated with them. Meanwhile, laser induced chlorophyll fluorescence emission spectra of leaves of rice under different light use efficiency were measured using a compact fiber-optic fluorosensor with a solid-state laser at 473 nm as exciting source and an integrated fiber-optic spectrometer at ambient temperature. Then, specific fluorescence spectral bands of leaves were selected to analyze light use efficiency. Significant relations of light use efficiency with  $F_{685}$ ,  $F_{732}$  and the fluorescence ratio  $F_{685}/F_{732}$  were found, thus indicating functional relations among these parameters. The results show that the precision of the function based on the fluorescence ratio  $F_{685}/F_{732}$  is higher. The assimilation process of CO<sub>2</sub> is affected by stomatal conductance and the temperature of leaves is a signature of stomatal conductance. An inverse relation was also found between light use efficiency and temperature of leaves. So measured fluorescence spectra were fitted with a linear combination of regression function corrected by the temperature of leaves to predict light use efficiency,  $R^2 = 0.885$ .

**Key words:** Chlorophyll fluorescence spectra Light use efficiency Fluorescence ratio Regression analysis