

酸雨与凋落物复合作用对柳杉叶片色素和反射光谱的影响

张珊珊¹, 俞飞¹, 郭慧媛², 沈卫东³, 王俊龙¹, 高荣孚^{1,4}, 张汝民¹, 侯平¹

(1. 浙江农林大学 亚热带森林培育国家重点实验室培育基地, 浙江 临安 311300; 2. 国家林业局 竹子研究开发中心, 浙江 杭州 310012; 3. 天目山国家级自然保护区 管理局, 浙江 临安 311311; 4. 北京林业大学生物科学与技术学院, 北京 100083)

摘要: 采用盆栽 3 年生柳杉 *Cryptomeria fortunei* 幼苗研究了酸雨(pH 4.0, Tr1), 柳杉凋落物(60 g, Tr2)以及酸雨和柳杉凋落物复合作用(Tr3)对其叶片色素质量分数和反射光谱的影响, 并对柳杉叶片色素质量分数与光谱反射率、一阶微分光谱和反射光谱参数的相关性进行了分析。结果表明: ①Tr1, Tr2 和 Tr3 处理下, 柳杉叶片叶绿素 a 质量分数比对照分别降低了 11.6%, 26.1%和 39.1%, 说明酸雨增强了凋落物化感作用对柳杉叶绿素 a 质量分数的抑制作用, 加快了其降解速度。②Tr1 和 Tr2 处理均显著减小了光谱参数反射率倒数、改良的归一化差值指数和反射光谱比值指数 a 等($P < 0.05$)。Tr3 处理的柳杉反射光谱参数均对照有极显著差异($P < 0.01$)。③叶绿素质量分数与柳杉反射和一阶微分光谱呈极显著相关($P < 0.01$), 可见光和近红外区域是酸雨与凋落物复合作用下柳杉幼苗反射光谱和微分光谱的敏感区域。④反射率倒数、归一化差值指数和蓝边位置等 11 个反射光谱参数与叶绿素 a, 叶绿素 b 质量分数和叶绿素 a/b 之间的相关性达到显著水平($P < 0.05$), 其中反射率倒数、蓝边幅值、蓝边面积、黄边幅值、黄边面积、红边幅值和红边面积与柳杉叶绿素 a, 叶绿素 b 质量分数和叶绿素 a/b 之间的相关性高于或接近 0.8, 说明酸雨与凋落物作用下柳杉幼苗反射光谱特征及其参数可用于估算叶绿素质量分数, 并为利用反射光谱监测柳杉胁迫提供了可能。图 4 表 5 参 41

关键词: 树木生理学; 柳杉; 色素; 酸雨; 凋落物; 反射光谱

中图分类号: S718.43; Q945 **文献标志码:** A **文章编号:** 2095-0756(2014)02-0254-10

Pigment content and reflectance spectrum of *Cryptomeria fortunei* with acid rain and litter treatments

ZHANG Shanshan¹, YU Fei¹, GUO Huiyuan², SHEN Weidong³, WANG Junlong¹, GAO Rongfu^{1,4}, ZHANG Rumin¹, HOU Ping¹

(1. The Nurturing Station for the State Key Laboratory of Subtropical Silviculture, Zhejiang A & F University, Lin'an 311300, Zhejiang, China; 2. China Bamboo Research Center, Hangzhou 310012, Zhejiang, China; 3. Management Office, National Nature Reserve of Mount Tianmu, Lin'an 311311, Zhejiang, China; 4. College of Biological Sciences and Biotechnology, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China)

Abstract: To understand the combined effects of acid rain and litter on *Cryptomeria fortunei* seedlings, pigment content and reflectance spectra in 3-year-old *C. fortunei* seedlings were tested with treatments of the control(ck), acid rain stress (pH 4.0, Tr1), litter addition (60 g, Tr2) and their combination (Tr3), which then compared with a correlation analysis. Results showed that compared to the control, chlorophyll content

收稿日期: 2013-01-11; 修订日期: 2013-02-25

基金项目: 浙江省自然科学基金资助项目(Y3100361, Y305235); 浙江农林大学科研发展基金资助项目(2010FR058)

作者简介: 张珊珊, 从事植物生理生态研究。E-mail: shanshan.12345@hotmail.com。通信作者: 侯平, 教授, 博士, 从事森林生态学研究。E-mail: houpingg@263.net

decreased 11.6% in Tr1, 26.1% in Tr2, and 39.1% in Tr3. Acid rain also decreased the reflectance spectral parameters (SR_{680} , NDVI, PSNDa, PSNDb, RARSc, and SIPI) but increased mSR_{705} and RARSa ($P < 0.05$). For Tr2, some reflectance spectral parameters (RR, SR_{680} , mSR_{705} , NDVI, and PRI) were significantly less than the control ($P < 0.05$), and Tr3 made highly difference compared to the control ($P < 0.01$). Reflectance between 514–629 nm and 690–1 000 nm had a highly significant correlation ($0.80 < r < 0.98$), which was near 0.98, with the chlorophyll content and chlorophyll a/b. In addition, r between chlorophyll content and the first derivative of reflectance spectra was highly significant within 424–486 nm, 552–682 nm, 698–755 nm, and 762–772 nm, that maximum r was near 0.96. The reflectance spectrum parameters, such as RR, RARSa and λ_{red} , were significantly correlated ($P < 0.05$) with pigment content. The correlation coefficients between reflectance spectral parameters (R_R , D_{blue} , S_{blue} , D_{yellow} , S_{yellow} , D_{red} , and S_{red}) and chlorophyll a, chlorophyll b, and chlorophyll a/b were near 0.8. Therefore, acid rain enhanced the allelopathic effect in litter on chlorophyll a by increasing chlorophyll a degradation; visible light and the near infrared region were the sensitive areas of reflectance and first derivative in the leaves of *C. fortunei*; and reflectance spectral parameters R_R , D_{blue} , S_{blue} , D_{yellow} , S_{yellow} , D_{red} , and S_{red} could be used to evaluate chlorophyll a, chlorophyll b, and chlorophyll a/b. [Ch, 4 fig. 5 tab. 41 ref.]

Key words: tree physiology; *Cryptomeria fortunei*; pigment; acit rain; litter; reflectance spectrum

叶绿素是植物叶片中吸收和传递光能的主要色素分子, 直接影响植物叶片光合作用的效能; 叶绿素含量水平也是反映植物营养状况和生长发育进程的重要指标^[1-3]。现有研究表明: 植物叶片在可见光区(400~700 nm), 红边区(680~760 nm)和近红外光区(780~1 300 nm)光谱反射率与叶片光合色素含量有较高的相关性^[4]。伍南等^[5]研究表明: 可用 NDVI 等所建高光谱特征参数估测病虫害胁迫下的杉木 *Cunninghamia lanceolata* 叶绿素含量。Sims 等^[6]提出了修正型光谱指数 mSR_{705} 和 mND_{705} 用于估算具有不同表面反射率的树木叶片中的叶绿素含量。冯伟等^[7]研究表明: 红边位置(λ_{red})与叶片色素含量之间具有稳定而密切的相关性。时启龙等^[8]研究发现酸雨胁迫下的亚热带树种光谱反射率红边位置与其叶绿素含量变化规律基本一致。目前, 有关酸雨对植物叶绿素含量的影响研究结果不同。樊后保等^[9]发现 pH 值 < 3.5 的酸雨能降低女贞 *Ligustrum lucidum* 的叶绿素含量, 但是对叶绿素 a/b 影响不显著; Shan 等^[10]研究赤松 *Pinus densiflora* 时发现低浓度的酸雨增加了叶绿素总量, 但叶绿素 a/b 没有受到显著影响。大量研究表明, 一定浓度的化感物质会降低植物叶片的叶绿素含量, 从而影响植物的生长^[11]; Bhatt 等^[12]发现青冈栎 *Quercus glauca* 和白橡 *Quercus leucotrichophora* 根际土浸提液显著降低了小麦 *Triticum aestivum*, 油菜 *Brassica campestris* 和扁豆 *Quercus glauca* 的叶片色素含量; Padhy 等^[13]研究得出桉树 *Eucalyptus globulus* 凋落物对稗子 *Eleusine coracana* 色素的合成产生抑制作用。然而, 有关酸雨与化感物质复合作用的研究鲜有报道。柳杉 *Cryptomeria fortunei* 为常绿针叶乔木, 是中国特有种。目前, 对柳杉的研究主要集中于病虫害防治^[14]和群落结构^[15]等方面。马原^[16]研究得出柳杉幼苗对酸雨较敏感, 本课题组前期开展了凋落物化感物质对柳杉种子萌发的研究^[17]。为了进一步探讨酸雨和凋落物交叉组合对柳杉幼苗生长的影响, 本文研究了酸雨、凋落物和酸雨与凋落物复合处理对柳杉体内色素含量和反射光谱特性的影响, 并对柳杉幼苗体内色素含量与其反射光谱特性间的关系进行了相关性分析。

1 材料与方 法

1.1 实验材料

供试材料为 3 年生柳杉实生苗(由江西林业种苗公司提供), 株高 30~40 cm。2012 年 4 月栽置于盛有培养土的花盆中(直径 35 cm, 高 26 cm), 1 株·盆⁻¹。盆栽苗置于温室中, 常规管理, 缓苗 2 个月后进行实验。柳杉凋落物采自天目山柳杉林下, 自然风干保存备用。根据浙江临安当地酸雨浓度及酸性降水中粒子组成, 按 $[V(\text{硫酸})]:[V(\text{硝酸})]=4:1$ 的比例配制母液, 用水稀释成 pH 4.0 酸雨溶液。

1.2 实验设计

选取长势一致的盆栽柳杉进行处理, 设对照组(ck)、pH 4.0 酸雨处理组(Tr1), 60 g 凋落物处理组

(Tr2, 通过预实验得出 60 g 凋落物处理柳杉幼苗时, 柳杉幼苗生长与对照具有显著差异)和 pH 4.0 酸雨与 60 g 凋落物复合处理(Tr3)等 4 个处理组, 重复 6 盆·处理⁻¹, 共 24 盆。通过实地样方调查, 天目山柳杉林凋落物为 400~800 g·m⁻², 为模拟柳杉自然生长环境, 本实验将 60 g 凋落物均匀铺在盆中。根据试验地全年降水量 1 628.6 mm, 柳杉幼苗喷淋酸雨 100 mL·株⁻¹·次⁻¹, 平均喷淋 2 次·周⁻¹。实验处理时间为 2012 年 6~10 月。

1.3 研究方法

1.3.1 叶片色素质量分数测定 将 0.1 g 剪碎的新鲜的柳杉幼苗叶剪碎后置于具塞试管中, 加体积分数为 80%丙酮 5 mL, 室温下遮光萃取至样品完全变白后, 分别在 470, 646 和 663 nm 处测定其吸光度值 $D(\lambda)$, 重复 6 次·样品⁻¹。然后, 按 Lichtenthaler 的计算公式^[18] 分别计算叶绿素 a, 叶绿素 b 和类胡萝卜素质量分数。

1.3.2 光谱数据采集 采用 UniSpec-SC 型单通道光谱分析仪(PP-System, US)测定柳杉针叶在 310~1 130 nm 处的反射光谱数据, 采样间隔 1 nm, 分辨率 1 nm。Unispec-SC 单通道光谱分析仪内置 1 个卤素灯, 测定时, 将分支光纤的一端连接到卤素灯的输出端口, 另一端连接到检测器的输入端口, 光纤探头端固定在 UNI500 标准夹中。测定柳杉 3 株·次⁻¹, 重复 6 次·株⁻¹, 取其平均值作为该样品的光谱反射率。测量过程中及时进行标准白板校正, 用 Multispec 5.1 数据处理软件读取反射光谱原始数据。

1.3.3 光谱分析方法 光谱数据微分处理: 将柳杉叶片反射光谱通过式(1)进行一阶微分处理得到微分光谱:

$$D_{\lambda_i} = \frac{|R_{\lambda(i+1)} - R_{\lambda(i-1)}|}{2\Delta\lambda} \quad (1)$$

其中: λ_i 为波段 i 处的波长值; R_{λ_i} 为波长 λ_i 处的光谱反射率值; $\Delta\lambda$ 为波长 $\lambda_{(i-1)}$ 到 λ_i 的差值, 由光谱采样间隔决定。

“三边”参数计算方法: 分别在 490~530, 560~640 和 680~750 nm 范围内确定蓝边、黄边和红边位置、幅值和面积。红边位置 λ_{red} 为红光范围内一阶微分光谱最大值所对应的波长, 红边幅值 $D_{\lambda_{\text{red}}}$ 为一阶微分光谱的最大值, 红边面积 S_{red} 为一阶微分光谱线所包围的面积。黄边(黄边位置 λ_{yellow} , 黄边幅值 $D_{\lambda_{\text{yellow}}}$, 黄边面积 S_{yellow})和蓝边(蓝边位置 λ_{blue} , 蓝边幅值 $D_{\lambda_{\text{blue}}}$, 蓝边面积 S_{blue})参数与红边参数意义类似。可直接利用相关公式计算得到的反射光谱参数^[6,19-30](表 1)。

1.4 数据处理

试验数据采用 SPSS 13.0 统计软件进行统计分析, 用 Matlab 7.1 软件对光谱信息进行去噪处理, 并提取出与叶绿素有关的特征波段。利用 OriginPro 8.0 软件绘图。

2 结果与分析

2.1 不同处理柳杉幼苗叶绿素质量分数差异分析

酸雨(Tr1), 凋落物(Tr2)和酸雨与凋落物复合(Tr3)对柳杉幼苗叶绿素 a, 叶绿素 b 和叶绿素 a/b 比值表现出不同程度的降低(表 2)。Tr1, Tr2 和 Tr3 处理使柳杉幼苗叶绿素 a 质量分数呈极显著的降低($P < 0.01$), 与对照相比分别降低了 11.6%, 26.1%和 39.1%; Tr1 处理的柳杉幼苗叶绿素 b 质量分数与对照达到显著差异($P < 0.05$), 而 Tr2 和 Tr3 处理比对照降低了 14.8%和 22.2%($P < 0.01$); Tr1, Tr2 和 Tr3 处理的柳杉幼苗叶绿素总量比对照分别降低了 0.09, 0.21 和 0.32 倍; 对照叶绿素 a/b 比值分别是 Tr1, Tr2 和 Tr3 处理的 1.07, 1.15 和 1.21 倍, 呈极显著性差异($P < 0.01$); 不同处理柳杉幼苗叶片的类胡萝卜素质量分数无显著差异。

2.2 不同处理柳杉幼苗反射光谱特征

不同处理柳杉幼苗光谱反射率曲线的整体变化趋势一致(图 1), 其中反射光谱在波长 496 和 675 nm 处各有 1 个吸收低谷, 而在近红外区达到最大值且几乎不变。不同处理柳杉光谱反射率在绿光区(525~605 nm)和近红外区(750~1 000 nm)呈显著性差异($P < 0.05$)。其中在 550 nm 处, Tr1, Tr2 和 Tr3 处理柳杉光谱反射率具有极显著差异($P < 0.01$), 与对照相比光谱反射率分别增加了 11.4%, 20.1%和 28.5%; 在近红外区光谱反射率大小依次为 Tr3 > Tr1 > 对照 > Tr2。

表 1 反射光谱参数

Table 1 Reflectance spectrum parameters

反射光谱参数	定义	文献来源
反射率倒数(RR)	$1/R_{700}$	[19]
反射光谱指数 680(SR ₆₈₀)	R_{800}/R_{680}	[20]
反射光谱指数 705(SR ₇₀₅)	R_{750}/R_{705}	[21]
改良的归一化差值指数(mSR ₇₀₅)	$(R_{750}-R_{445})/(R_{705}-R_{445})$	[21]
色素比值指数 a(PSSRa)	R_{800}/R_{680}	[22]
色素比值指数 b(PSSRb)	R_{800}/R_{635}	[22]
反射光谱比值指数 a(RARSa)	R_{675}/R_{700}	[23]
反射光谱比值指数 b(RARSb)	R_{650}/R_{700}	[23]
归一化指数(NDVI)	$(R_{800}-R_{680})/(R_{800}+R_{680})$	[24]
红度归一化指数(rNDVI)	$(R_{750}-R_{705})/(R_{750}+R_{705})$	[21]
改良的红边比值指数(mND705)	$(R_{750}-R_{705})/(R_{750}+R_{705}-2R_{445})$	[6]
绿度归一化指数(gNDN)	$(R_{750}-R_{550})/(R_{750}+R_{550})$	[25]
色素归一化差值指数 a(PSNDA)	$(R_{800}-R_{675})/(R_{800}+R_{675})$	[5]
色素归一化差值指数 b(PSNDb)	$(R_{800}-R_{650})/(R_{800}+R_{650})$	[5]
反射光谱比值指数 c(RARSc)	R_{760}/R_{500}	[23]
色素比值指数 c(PSSRc)	R_{800}/R_{500}	[5]
结构不敏感色素指数(SIPI)	$(R_{800}-R_{445})/(R_{800}-R_{680})$	[26]
植被衰减指数(PSRI)	$(R_{680}-R_{500})/R_{750}$	[27]
类胡萝卜素指数 1(CRI 1)	$1/R_{510}-1/R_{550}$	[28]
类胡萝卜素指数 2(CRI 2)	$1/R_{510}-1/R_{700}$	[28]
改良类胡萝卜指数(mCRI)	$(1/R_{510}-1/R_{550})\times R_{780}$	[29]
光化学反射指数(PRI)	$(R_{531}-R_{570})/(R_{531}+R_{570})$	[30]

说明：R 代表反射，下标代表光谱波段或波长。

表 2 不同处理柳杉幼苗色素质量分数的变化

Table 2 Changes of pigment contents of *Cryptomeria fortunei* under different treatments

处理	叶绿素 a / (mg·g ⁻¹)	叶绿素 b / (mg·g ⁻¹)	类胡萝卜素 / (mg·g ⁻¹)	叶绿素总量 / (mg·g ⁻¹)	叶绿素 a/b
ck	1.38 ± 0.03 dD	0.54 ± 0.02 dC	0.30 ± 0.01 bAB	1.23 ± 0.05 dD	2.56 ± 0.02 cC
Tr1	1.22 ± 0.02 cC	0.51 ± 0.04 cC	0.31 ± 0.02 cB	1.12 ± 0.06 cC	2.39 ± 0.03 bB
Tr2	1.02 ± 0.02 bB	0.46 ± 0.03 bB	0.29 ± 0.00 aA	0.97 ± 0.04 bB	2.17 ± 0.03 aA
Tr3	0.85 ± 0.04 aA	0.42 ± 0.03 aA	0.29 ± 0.02 aA	0.84 ± 0.07 aA	2.02 ± 0.02 aA

说明：表中数据为平均数±标准误，小写字母不同表示 0.05 水平上的差异性 ($P<0.05$)，大写字母不同表示 0.01 水平上的差异性 ($P<0.01$)。

2.3 不同处理柳杉幼苗反射光谱的三边特征

由于背景噪声对反射光谱的影响很大，因此在实际分析光谱数据时，为了降低背景噪声以提高各参数的准确性，需要对原始数据进行微分变换。对不同处理柳杉幼苗的反射光谱数据进行一阶导数处理，结果见图 2 和表 3。Tr1 和 Tr3 处理极显著增加了红边面积 S_{red} ($P<0.01$)；Tr1, Tr2 和 Tr3 处理均极显著的增加了蓝边幅值 D_{blue} ，蓝边面积 S_{blue} 和红边幅值 D_{red} ($P<0.01$)，最大值出现在 Tr3 处理中。不同处理极显著降低了黄边幅值 D_{yellow} 和黄边面积 S_{yellow} ($P<0.01$)，最小值也出现在 Tr3 处理中。红边位置 λ_{red} 位于绿色植物反射光谱红光范围(680~760 nm)内，主要与叶绿素质量分数有关，是绿色植物光谱最明显的特征之一。本研究表明：不同处理柳杉幼苗在 680~760 nm 波段内都只有 1 个峰值，红边位置 λ_{red} 出现“蓝移”现象。此外，Tr2 和 Tr3 处理柳杉幼苗与对照的蓝边位置 λ_{blue} 无显著差异；Tr1 和 Tr2 处理下，柳杉幼苗黄边位置 λ_{yellow} 也无显著差异。

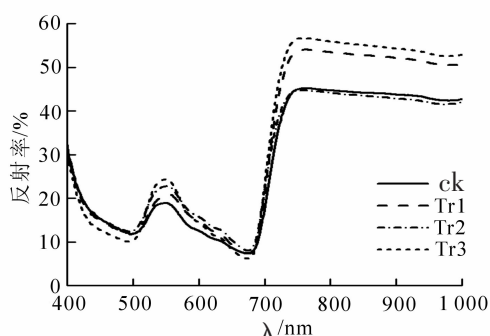


图1 不同处理柳杉幼苗的反射光谱

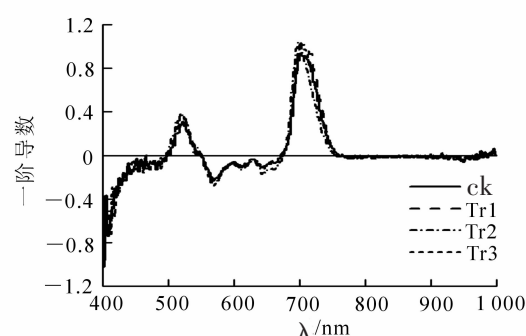
Figure 1 Reflectance spectra of *Cryptomeria fortunei* under different treatments

图2 不同处理柳杉幼苗的一阶微分光谱

Figure 2 First derivative spectra of *C. fortunei* under different treatments

表3 不同处理柳杉幼苗的“三边”参数

Table 3 Three edge parameters of *Cryptomeria fortunei* under different treatments

处理	蓝边位置	蓝边幅值	蓝边面积	黄边位置	黄边幅值	黄边面积	红边位置	红边幅值	红边面积
ck	520.3±1.15 aA	0.31±0.04 aA	5.35±1.00 aA	629.0±1.00 bB	-0.037±0.006 cC	-8.67±0.74 dD	7020±0.33 bB	0.94±0.10 aA	3737±3.09 bB
Tr1	522.5±1.73 bB	0.34±0.03 bB	6.31±0.84 bB	631.0±1.41 bB	-0.050±0.003 aA	-9.76±0.77 cC	701.0±1.41 aA	1.19±0.04 cC	4633±3.06 cC
Tr2	519.3±0.58 aA	0.38±0.02 cC	8.17±1.00 cC	631.7±0.58 bB	-0.046±0.005 bB	-10.22±0.50 bB	7000±1.73 aA	1.05±0.04 bB	3645±4.30 aA
Tr3	520.5±1.00 aA	0.56±0.06 dD	11.65±1.28 dD	627.0±3.56 aA	-0.051±0.007 aA	-13.40±0.88 aA	699.8±1.89 aA	1.35±0.09 dD	5006±2.14 dD

2.4 不同处理柳杉幼苗光谱参数的变化

光谱参数是绿色植物的光谱反射特征,是反映植物生长状况的最常用光谱变量。不同处理下,柳杉幼苗各反射光谱参数表现出不同的变化(表4)。Tr1, Tr2 和 Tr3 处理的反射光谱参数包括反射率倒数,改良的归一化差值指数,反射光谱比值指数 a, 红度归一化指数和改良的红边比值指数均比对照极显著降低($P<0.01$),如反射率倒数分别比对照减小了 14.3%, 19.6%和 25.0%; Tr1 和 Tr3 处理极显著降低反射光谱比值指数 b($P<0.01$)。Tr2 处理极显著降低了反射光谱指数 680, 归一化指数, 色素归一化差值指数 a, 色素归一化差值指数 b 和反射光谱比值指数 c($P<0.01$); 而 Tr1 和 Tr3 处理极显著增加了反射光谱指数 680, 归一化指数, 色素归一化差值指数 a, 色素归一化差值指数 b, 反射光谱比值指数 c, 结构不敏感色素指数, 植被衰减指数和改良类胡萝卜指数($P<0.01$),但是反射光谱指数 705 无显著变化。反射率倒数, 反射光谱比值指数 a 和反射光谱比值指数 b 等 12 个光谱参数的最大值或者最小值出现在 Tr3 处理, 如反射光谱比值指数 a 比对照, Tr1 和 Tr2 分别降低了 36.0%, 20.5%和 25.5%。

表4 不同处理柳杉幼苗反射光谱参数的变化

Table 4 Changes of reflectance spectrum parameters of *C. fortunei* under different treatments

处理	反射率倒数	反射光谱指数 680	反射光谱指数 705	改良的归一化差值指数	反射光谱比值指数 a	反射光谱比值指数 b	归一化指数	红度归一化指数
ck	0.056±0.003 bB	5.831±0.149 bB	1.998±0.027 bB	4.519±0.822 cC	0.417±0.026 cC	0.484±0.032 cC	0.706±0.026 bB	0.333±0.008 dD
Tr1	0.048±0.001 aA	7.127±0.60 cC	1.977±0.121 bB	3.328±0.628 bB	0.341±0.036 bB	0.438±0.031 bB	0.753±0.023 cC	0.327±0.018 cC
Tr2	0.045±0.002 aA	5.278±0.304 aA	1.660±0.061 aA	2.651±0.451 aA	0.364±0.031 bB	0.470±0.009 cC	0.679±0.006 aA	0.246±0.008 aA
Tr3	0.044±0.004 aA	8.449±0.831 dD	1.921±0.160 bB	2.709±0.46 aA	0.271±0.028 aA	0.361±0.028 aA	0.787±0.021 dD	0.314±0.039 bB
处理	改良的红边比值指数	色素归一化差值指数 a	色素归一化差值指数 b	反射光谱比值指数	结构不敏感色素指数	植被衰减指数	改良类胡萝卜指数	光化学反射指数
ck	0.633±0.047 dD	0.714±0.034 bB	0.675±0.028 bB	3.815±0.323 bB	0.778±0.025 aA	-0.094±0.012 aA	1.223±0.243 aA	0.041±0.006 cC
Tr1	0.530±0.061 cC	0.760±0.022 cC	0.701±0.024 cC	4.602±0.212 cC	0.829±0.016 cB	-0.080±0.009 bB	1.657±0.192 bB	0.011±0.002 aA
Tr2	0.441±0.042 aA	0.691±0.014 aA	0.616±0.012 aA	3.566±0.181 aA	0.792±0.012 bA	-0.093±0.006 aA	1.210±0.087 aA	0.022±0.002 bB
Tr3	0.454±0.057 bB	0.800±0.021 dD	0.740±0.038 dD	5.509±0.349 dD	0.867±0.021 dC	-0.066±0.008 cC	2.237±0.132 cC	0.046±0.003 dD

2.5 光谱反射率和一阶微分光谱与色素质量分数的相关性

不同处理柳杉幼苗光谱反射率与色素质量分数的相关性分析表明(图 3)，无论可见光区还是近红外区，柳杉光谱反射率与色素质量分数均呈负相关，且叶绿素质量分数和叶绿素 a/b 与 514~629 nm 及 690~1 000 nm 的光谱反射率达极显著相关($P<0.01$)，在 550 和 700 nm 处相关系数最大绝对值大于 0.92；类胡萝卜素与光谱反射率在 540 和 701 nm 处绝对值为 0.81 和 0.79，达到极显著相关($P<0.01$)。

如图 4 所示：不同处理柳杉幼苗色素质量分数和叶绿素 a/b 与其光谱反射率的一阶微分光谱在 500~533 nm, 538~674 nm, 682~725 nm 等处均达显著相关($P<0.05$)。在 567~633 nm 和 637~650 nm 波段达极显著正相关($P<0.01$)，其中 567~633 nm 波段相关系数最大，单波段 603 nm 处与叶绿素 a、叶绿素 b，类胡萝卜素和叶绿素 a/b 的相关系数分别为 0.98, 0.97, 0.83 和 0.90；而在 514~536 nm 和 680~706 nm 显著相关波段呈极显著负相关($P<0.01$)，其中 514~536 nm 相关系数的绝对值最大，单波段 532 nm 处的相关系数绝对值最大，与叶绿素 a，叶绿素 b，类胡萝卜素和叶绿素 a/b 的相关系数分别为 0.92, 0.92, 0.82 和 0.92。

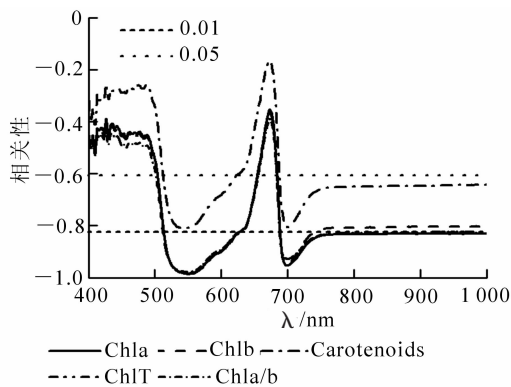


图 3 不同处理柳杉幼苗色素质量分数与光谱反射率相关性

Figure 3 Correlation between pigment contents and reflectance spectra of *Cryptomeria fortunei* under different treatments

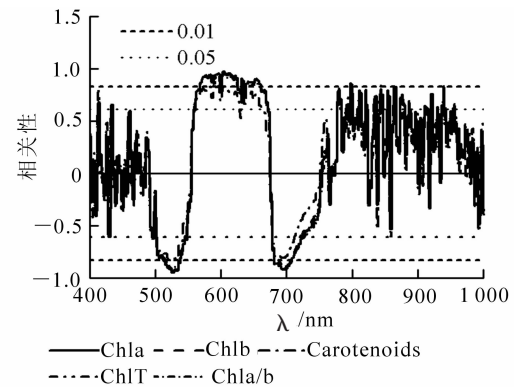


图 4 不同处理柳杉幼苗色素质量分数与一阶微分光谱相关性

Figure 4 Correlation between pigment contents and first derivative spectra and of *C. fortunei* under different treatments

2.6 反射光谱参数与色素质量分数的相关性

由反射光谱参数与色素质量分数相关性表明(表 5)，改良的归一化差值指数和改良的红边比值指与叶绿素 a，叶绿素 b 质量分数和叶绿素 a/b 的相关性均达到显著正水平($P<0.05$)；反射光谱指数 680，归一化指数，色素归一化差值指数 a，反射光谱比值指数 c 和改良类胡萝卜素指数与叶绿素 a，叶绿素 b 质量分数和叶绿素 a/b 的相关性均达到显著负水平($P<0.05$)。反射光谱参数反射率倒数，反射光谱比值指数 a，反射光谱比值指数 b，黄边面积，黄边幅值和红边位置与叶绿素 a，叶绿素 b 质量分数和叶绿素 a/b 之间均达到极显著正相关($P<0.01$)，而结构不敏感色素指数、蓝边幅值、蓝边面积、红边幅值和红边面积达到极显著负相关($P<0.01$)，其中反射率倒数、蓝边幅值、蓝边面积、黄边幅值、黄边面积、红边幅值和红边面积与叶绿素质量分数之间的相关性高于或接近 0.8。反射光谱指数 705，红度归一化指数，色素归一化差值指数 b，光化学反射指数，蓝边位置和黄边位置与叶绿素 a，叶绿素 b 质量分数和叶绿素 a/b 相关性均不显著。此外，蓝边、黄边和红边(除蓝边与黄边位置)参数总体上优于波段组合参数与色素的相关性。

3 讨论

叶绿素是植物体内的主要光合色素，其质量分数往往是植物营养胁迫、光合能力和衰老进程等生理状态的良好指示剂^[1,31]。大量研究表明：酸雨和化感作用会导致植物叶绿素质量分数下降^[11-12]。pH≤3.5 的酸雨会降低龙眼 *Dimorcarpus longana* 色素质量分数和叶绿素 a/b^[32]，而小麦 *Triticum aestivum* 叶绿素

表5 不同处理柳杉幼苗反射光谱参数与色素质量分数的相关性

Table 5 Correlation between reflectance spectrum parameters and pigment contents of *Cryptomeria fortunei* under different treatments

光谱参数	叶绿素 a	叶绿素 b	类胡萝卜素	叶绿素总量	叶绿素 a/b
反射率倒数	0.925**	0.924**	0.787**	0.925**	0.887**
反射光谱指数 680	0.588*	0.559*	0.511*	0.579*	0.564*
反射光谱指数 705	0.006	0.051	0.128	0.016	0.042
改良的归一化差值指数	0.614*	0.633**	0.559*	0.616*	0.551*
反射光谱比值指数 a	0.722**	0.710**	0.678**	0.715**	0.669**
反射光谱比值指数 b	0.665**	0.654**	0.679**	0.659**	0.615**
归一化指数	0.594*	0.561*	0.505*	0.584*	0.576*
红度归一化指数	0.016	0.059	0.126	0.025	0.032
改良的红边比值指数	0.618*	0.630**	0.590*	0.617*	0.551*
色素归一化差值指数 a	0.609**	0.577*	0.527*	0.599*	0.588*
色素归一化差值指数 b	0.492	0.459	0.448	0.482	0.482
反射光谱比值指数 c	0.560*	0.532*	0.489	0.551*	0.532*
结构不敏感色素指数	0.668**	0.639**	0.551*	0.656**	0.638**
植被衰减指数	0.507*	0.487	0.467	0.498*	0.464
改良类胡萝卜指数	0.612*	0.591*	0.541*	0.605*	574*
光化学反射指数	0.151	0.155	0.035	0.154	0.113
蓝边位置	0.013	0.043	0.002	0.017	0.014
蓝边幅值	0.910**	0.904**	0.825**	0.908**	0.889**
蓝边面积	0.880**	0.875**	0.795**	0.877**	0.854**
黄边位置	0.339	0.298	0.435	0.322	0.355
黄边幅值	0.879**	0.882**	0.738**	0.882**	0.866**
黄边面积	0.957**	0.952**	0.831**	0.957**	0.943**
红边位置	0.772**	0.780**	0.702**	0.773**	0.732**
红边幅值	0.871**	0.855**	0.739**	0.868**	0.849**
红边面积	0.814**	0.788**	0.648**	0.809**	0.809**

说明: * 表示差异显著($P < 0.05$), ** 表示差异极显著($P < 0.01$), $n=16$ 。

质量分数和叶绿素 a/b 比值会随着酸的积累显著降低^[33]。本研究结果表明: 酸雨单一因子处理显著降低柳杉叶绿素 a, 叶绿素 b 质量分数和叶绿素 a/b, 说明是酸雨胁迫使柳杉叶片叶绿素生物合成减弱, 分解速度加快所致^[32-34]。马原^[16]研究得出酸雨会破坏柳杉叶绿体, 导致叶绿素质量分数下降, 与本研究结果一致。凋落物单一因子处理极显著降低了柳杉幼苗叶绿素 a, 叶绿素 b 和叶绿素 a/b, 说明柳杉凋落物化感作用促进了叶绿素 a 的降解^[35]。酸雨和凋落物复合作用下叶绿素 a, 叶绿素 b 质量分数和叶绿素 a/b 下降幅度大于两者单一处理, 其原因可能是酸雨胁迫下植物的化感物质溶解加速, 使柳杉凋落物化感物质的种类和数量增加^[36]。

当植被受胁迫时, 光谱特性会发生相应的变化^[37]。已有研究报道酸雨会使水稻 *Oryza sativa* 叶片可见光区和中红外区反射率升高, 一阶和二阶微分光谱发生蓝移^[38], 病虫害胁迫的植被红边位置会发生“蓝移现象”^[39]。本研究中, 用酸雨和凋落物处理的柳杉叶片可见光波段内的光谱反射率发生“蓝移”现象, 且在 550 nm 附近呈现出叶绿素的强反射峰, 与前人的研究结果^[31]相一致。此外, 不同处理极显著降低了柳杉反射光谱参数反射率倒数, 改良的归一化差值指数和反射光谱比值指数 a, 红度归一化指数和改良的红边比值指数($P < 0.01$), 其中酸雨和凋落物复合处理的光谱参数最小, 与柳杉幼苗的叶绿素 a, 叶绿素 b 质量分数和叶绿素 a/b 降低且酸雨和凋落物复合处理值最小相吻合, 说明两者复合处理对柳杉的胁迫作用大于两者任一因子单独处理。

大量研究表明植物光合色素质量分数与光谱原始反射率、微分导数和光谱参数有较高的相关性^[40]。病害下棉花 *Gossypium* spp. 叶绿素质量分数与归一化指数, 结构不敏感色素指数, 光化学反射指数等光谱参数显著相关^[41], 玉米 *Zea mays* 叶片中色素质量分数也与光谱参数色素比值指数 a, 红边位置, 红边

幅值和红边面积等表现出极显著的相关性^[4]。本研究发现, 不同处理柳杉叶片色素质量分数和叶绿素 a/b 与原始反射率在 514~629 nm 及近红外区达到极显著负相关($P<0.01$), 且与一阶微分光谱在 424~486, 552~682, 698~755 和 762~772 nm 波段达到极显著相关($P<0.01$), 说明可以通过光谱反射率和微分光谱对酸雨和凋落物胁迫下柳杉色素含量进行估测。不同处理柳杉叶片叶绿素 a, 叶绿素 b 质量分数和叶绿素 a/b 与改良的归一化差值指数, 改良的红边比值指数和反射光谱指数 680 等 7 个光谱参数极显著相关($P<0.05$), 且与反射率倒数, 结构不敏感色素指数和红边位置等 11 个光谱参数呈极显著相关($P<0.01$)。其中, 反射率倒数, 蓝边幅值, 蓝边面积, 黄边面积, 黄边幅值, 红边幅值和红边面积与叶绿素 a、叶绿素 b 质量分数和叶绿素 a/b 相关性均接近或大于 0.80($P<0.01$), 这表明以上 7 个反射光谱参数更适用于监测酸雨和凋落物处理下柳杉的光合色素质量分数变化。

综上所述, 在酸雨的作用下使柳杉凋落物的化感作用增强, 可能是由于酸雨增强柳杉凋落物化感物质的释放。反射率倒数, 蓝边幅值, 黄边面积, 黄边幅值, 蓝边面积, 红边幅值和红边面积等光谱参数与叶绿素 a, 叶绿素 b 和叶绿素 a/b 相关性最大, 可以作为估测柳杉色素质量分数的光谱参数。

参考文献:

- [1] RICHARDSON A D, DUIGAN S P, BERLYN G P. An evaluation of noninvasive methods to estimate foliar chlorophyll content [J]. *New Phytol*, 2002, **153**(1): 185 - 194.
- [2] GITELSON A A, GRITZ Y, MERZLYAK M N. Relationships between leaf chlorophyll content and spectral reflectance and algorithms for non-destructive chlorophyll assessment in higher plant leaves [J]. *J Plant Physiol*, 2003, **160**(3): 271 - 282.
- [3] MOORTHY I, MILLER J R, NOLAND T L. Estimating chlorophyll concentration in conifer needles with hyperspectral data: An assessment at the needle and canopy level [J]. *Remote Sens Environ*, 2008, **112**(6): 2824 - 2838.
- [4] TANG Yanlin, HUANG Jingfeng, WANG Xiuzhen, et al. Study on hyperspectral characteristics of corn leaves and their correlation to chlorophyll and carotenoid [J]. *J Maize Sci*, 2008, **16**(2): 71 - 76.
- [5] 伍南, 刘君昂, 闫瑞坤, 等. 利用光谱特征参数估算病害胁迫下杉木叶绿素含量[J]. 植物保护, 2012, **38**(4): 72 - 76.
WU Nan, LIU Jun'ang, YAN Ruikun, et al. Using spectral feature parameters to estimate the chlorophyll content of Chinese fir under disease stress [J]. *Plant Prot*, 2012, **38**(4): 72 - 76.
- [6] SIMS D A, GAMON J A. Relationships between leaf pigment content and spectral reflectance across a wide range of species, leaf structures and developmental stages [J]. *Remote Sens Environ*, 2002, **81**(2-3): 337 - 354.
- [7] 冯伟, 朱艳, 姚霞, 等. 小麦叶片色素含量的高光谱监测[J]. 应用生态学报, 2008, **19**(5): 992 - 999.
FENG Wei, ZHU Yan, YAO Xia, et al. Monitoring of wheat leaf pigment concentration with hyperspectral remote sensing [J]. *Chin J Appl Ecol*, 2008, **19**(5): 992 - 999.
- [8] 时启龙, 江洪, 陈健, 等. 亚热带典型树种对模拟酸雨胁迫的高光谱响应[J]. 生态学报, 2012, **32**(18): 5621 - 5629.
SHI Qilong, JIANG Hong, CHEN Jian, et al. Hyperspectral characteristics of typical subtropical trees at different levels of simulated acid rain [J]. *Acta Ecol Sin*, **32**(18): 5621 - 5629.
- [9] FAN H B, WANG Y H. Effects of simulated acid rain on germination, foliar damage, chlorophyll contents and seedling growth of five hardwood species growing in China [J]. *For Ecol Manage*, 2000, **126**(3): 321 - 329.
- [10] SHAN Y. Effects of simulated acid rain on *Pinus densiflora*: inhibition of net photosynthesis by the pheophytization of chlorophyll [J]. *Water, Air & Soil Pollut*, 1998, **103**(1): 121 - 127.
- [11] HONG Y, HUANG J J, HU H Y. Effects of a novel allelochemical Ethyl 2-Methyl Acetoacetate (EMA) on the ultra-structure and pigment composition of cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* [J]. *Bull Environ Contam Toxicol*, 2009, **83**(4): 502 - 508.
- [12] BHATT B P, CHAUHAN D S. Allelopathic effects of *Quercus* spp. on crops of Garhwal Himalaya [J]. *Allelopathy J*, 2000, **7**(2): 265 - 272.
- [13] PADHY B, PATNAIK P K, TRIPATHY A K. Allelopathic potential of eucalyptus leaf litter leachates on germination and seedling growth of finger millet [J]. *Allelopathy J*, 2000, **7**(1): 69 - 78.

- [14] 张昕, 张立钦, 王记祥, 等. 天目山柳杉瘿瘤病原菌观察[J]. 浙江林业科技, 2008, **28**(2): 55 – 57.
ZHANG Xin, ZHANG Liqin, WANG Jixiang, *et al.* Observation on pathogenetic fungi of gall disease on *Cryptomeria fortunei* in Tianmu Mountain [J]. *J Zhejiang For Sci Technol*, 2008, **28**(2): 55 – 57.
- [15] 夏爱梅, 达良俊, 朱虹霞, 等. 天目山柳杉群落结构及其更新类型[J]. 浙江林学院学报, 2004, **21**(1): 44 – 50.
XIA Aimei, DA Liangjun, ZHU Hongxia, *et al.* Community structure and regeneration pattern of *Cryptomeria fortunei* in Mount Tianmu of Zhejiang, China [J]. *J Zhejiang For Coll*, 2004, **21**(1): 44 – 50.
- [16] 马原. 模拟酸雨对天目山柳杉的影响 [D]. 上海: 华东师范大学, 2007.
MA Yuan. *Effect of Simulated Acid Rain on Cryptomeria fortunei*[D]. Shanghai: East China Normal University, 2007.
- [17] 俞飞, 侯平, 宋琦, 等. 柳杉凋落物自毒作用研究[J]. 浙江林学院学报, 2010, **27**(4): 494 – 500.
YU Fei, HOU Ping, SONG Qi, *et al.* Autotoxicity of *Cryptomeria fortunei* litter[J]. *J Zhejiang For Coll*, 2010, **27**(4): 494 – 500.
- [18] LICHTENTHALER H K. Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes[J]. *Methods Enzymol*, 1987, **148**: 350 – 382.
- [19] GITELSON A A, SCHALLES J F, RUNDQUIST D C, *et al.* Comparative reflectance properties of algal cultures with manipulated densities [J]. *J Appl Phycol*, 1999, **11**(4): 345 – 354.
- [20] BROGE N H, LEBLANC E. Comparing prediction power and stability of broadband and hyperspectral vegetation indices for estimation of green leaf area index and canopy chlorophyll density [J]. *Remote Sens Environ*, 2001, **76**(2): 156 – 172.
- [21] BLACKBURN G A. Quantifying chlorophylls and carotenoids at leaf and canopy scales: an evaluation of some hyperspectral approaches [J]. *Remote Sens Environ*, 1998, **66**(3): 273 – 285.
- [22] GITELSON A, MERZLYAK M N. Spectral reflectance changes associated with autumn senescence of *Aesculus hippocastanum* L. and *Acer platanoides* L. leaves: Spectral features and relation to chlorophyll estimation [J]. *J Plant Physiol*, 1994, **143**: 286.
- [23] CHAPPELLE E W, KIM M S, MCMURTREY J E. Ratio analysis of reflectance spectra (RARS): an algorithm for the remote estimation of the concentrations of chlorophyll a, chlorophyll b, and carotenoids in soybean leaves[J]. *Remote Sens Environ*, 1992, **39**(3): 239 – 247.
- [24] GAMON J A, SERRANO L, SURFUS J S. The photochemical reflectance index: an optical indicator of photosynthetic radiation use efficiency across species, functional types, and nutrient levels [J]. *Oecologia*, 1997, **112**(4): 492 – 501.
- [25] GITELSON A A, MERZLYAK M N. Signature analysis of leaf reflectance spectra: algorithm development for remote sensing of chlorophyll [J]. *J Plant Physiol*, 1996, **148**(3): 494 – 500.
- [26] PENUELAS J, BARET F, FILELLA I. Semi-empirical indices to assess carotenoids/chlorophyll a ratio from leaf spectral reflectance [J]. *Photosynthetica*, 1995, **31**(2): 221 – 230.
- [27] MERZLYAK M N, GITELSON A A, CHIVKUNOVA O B, *et al.* Non-destructive optical detection of pigment changes during leaf senescence and fruit ripening [J]. *Physiol Plant*, 2002, **106**(1): 135 – 141.
- [28] GITELSON A A, ZUR Y, CHIVKUNOVA O B, *et al.* Assessing carotenoid content in plant leaves with reflectance spectroscopy [J]. *Photochem Photobiol*, 2002, **75**(3): 272 – 281.
- [29] GITELSON A A, VIÑA A, VERMA S B, *et al.* Relationship between gross primary production and chlorophyll content in crops: Implications for the synoptic monitoring of vegetation productivity [J]. *J Geophysic Res*, 2006, **111**(D8): D8S – D11S.
- [30] GAMON J A, PENUELAS J, FIELD C B. A narrow-waveband spectral index that tracks diurnal changes in photosynthetic efficiency [J]. *Remote Sens Environ*, 1992, **41**(1): 35 – 44.
- [31] 张学治, 郑国清, 戴廷波, 等. 基于冠层反射光谱的夏玉米叶片色素含量估算模型研究[J]. 玉米科学, 2010, **18**(6): 55 – 60.
ZHANG Xuezhi, ZHENG Guoqing, DAI Tingbo, *et al.* Estimation models of summer maize leaf pigment content based on canopy reflectance spectra [J]. *J Maize Sci*, 2010, **18**(6): 55 – 60.
- [32] 邱栋梁, 刘星辉, 郭素枝. 模拟酸雨对龙眼叶绿体活性的影响[J]. 应用生态学报, 2002, **13**(12): 1559 – 1562.
QIU Dongliang, LIU Xinghui, GUO Suzhi. Effects of simulated acid rain on chloroplast activity in *Dimorcarpus lon-*

- gana* Lour. 'Wulongling' leaves [J]. *Chin J Appl Ecol*, 2002, **13**(12): 1559 – 1562.
- [33] MOHAREKAR S T, LOKHANDE S D, HARA T, *et al.* Effect of salicylic acid on chlorophyll and carotenoid contents of wheat and moong seedlings [J]. *Photosynthetica*, 2003, **41**(2): 315 – 317.
- [34] 齐泽民, 钟章成. 模拟酸雨对杜仲光合生理及生长的影响[J]. 西南师范大学学报, 2006, **31**(2): 151 – 156.
QI Zemin, ZHONG Zhangcheng. Effect of simulated acid rain on photosynthesis and growth of *Eucommia ulmoides* Oliv.[J]. *J Southwest China Norm Univ*, 2006, **31**(2): 151 – 156.
- [35] 张彬, 郭劲松, 方芳, 等. 植物化感抑藻的作用机理[J]. 生态学杂志, 2010, **29**(9): 1846 – 1851.
ZHANG Bin, GUO Jinsong, FANG Fang, *et al.* Action mechanisms of allelopathy in inhibiting algae: a review [J]. *Chin J Ecol*, 2010, **29**(9): 1846 – 1851.
- [36] WANG R L, STAEHELIN C, DAYAN F E, *et al.* Simulated acid rain accelerates litter decomposition and enhances the allelopathic potential of the invasive plant *Wedelia trilobata*(creeping daisy) [J]. *Weed Sci*, 2012, **60**(3): 462 – 467.
- [37] SAMPSON P H, ZARCO-TEJADA P J, MOHAMMED G H, *et al.* Hyperspectral remote sensing of forest condition: estimating chlorophyll content in tolerant hardwoods [J]. *For Sci*, 2003, **49**(3): 381 – 391.
- [38] 李德成, 徐彬彬, 石晓日, 等. 模拟酸雨对水稻叶片反射光谱特性影响的初步研究[J]. 环境遥感, 1996, **11**(4): 241 – 247.
LI Decheng, XU Binbin, SHI Xiaori, *et al.* Influence of simulated acid rain on characteristics of reflectance spectra of rice leaves [J]. *Remote Sens Environ*, 1996, **11**(4): 241 – 247.
- [39] SHAFRI H Z M., SALLEH M A M, GHIYAMAT A, *et al.* Hyperspectral remote sensing of vegetation using red edge position techniques [J]. *Am J Appl Sci*, 2006, **3**(6): 1864 – 1871.
- [40] 薛忠财, 高辉远, 刘鹏, 等. 利用冠层和叶片水平的反射光谱研究模拟酸雨对小麦的影响[J]. 农业环境科学学报, 2011, **30**(2): 228 – 235.
XUE Zhongcai, GAO Huiyuan, LIU Peng, *et al.* Study on the effects of simulated acid rain on wheat using the spectral reflectance at canopy and leaf level [J]. *J Agro-Environ Sci*, 2011, **30**(2): 228 – 235.
- [41] 陈兵, 李少昆, 王克如, 等. 病害胁迫下棉花叶片色素含量高光谱遥感估测研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2010, **30**(2): 421 – 425.
CHEN Bing, LI Shaokun, WANG Keru, *et al.* Study on hyperspectral estimation of pigment contents in leaves of cotton under disease stress [J]. *Spectrosc Spectral Anal*, 2010, **30**(2): 421 – 425.