

基于多角度光谱-偏振光谱的叶绿素荧光空间变化分布与模型建立

郝天一, 韩阳*, 刘自平, 李姿莹, 赵云升, 牛浩芳, 姚海燕

东北师范大学地理科学学院, 长白山地理过程与生态安全教育部重点实验室, 吉林 长春 130024

摘要 根据目前的研究现状, 叶绿素荧光是植物生理学研究 and 植物遥感研究的重要手段之一。前人对激光诱导荧光(LIF)光谱研究多采用垂直方向, 较少考虑多角度及荧光偏振变化的影响。对此分别以吊兰、绿萝、金边虎皮兰作为研究对象, 采用多角度及偏振观测方式对激光诱导叶绿素荧光光谱进行多因素分析并建立模型。同时以极坐标的方式绘制激光诱导叶绿素荧光强度与相应偏振度的 2π 空间分布。结果表明, 三种植物荧光光谱形状各不相同, 且观测天顶角与相对方位角的变化影响荧光强度和荧光参数大小。在不同相对方位角上建立观测天顶角与荧光参数 F_{685}/F_{740} 的数学回归模型。根据比较 R^2 与 RMSE, 相对方位角为 225° 是同时研究这三种植物 F_{685}/F_{740} 值与观测天顶角关系的最佳方位角, 其回归系数显著, 可以准确反应三种植物 F_{685}/F_{740} 与观测天顶角有显著的相关关系。此外, 我们还对 3 种植物的激光诱导叶绿素荧光进行偏振观测, 并计算其在 2π 空间中对应的荧光偏振度。研究表明, 激光诱导叶绿素荧光光谱具有显著的偏振性, 观测天顶角、相对方位角、波段等信息都对激光诱导叶绿素荧光偏振光谱有着不同程度的影响。针对不同植被, 建立不同波段荧光偏振度关系的数学回归模型, 其回归系数显著, 可以准确反应不同波段荧光偏振度有显著的相关关系。

关键词 激光诱导叶绿素荧光; 多角度信息; 荧光参数; 偏振度

中图分类号: P407.2 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3964/j.issn.1000-0593(2020)12-3692-07

引言

目前, 叶绿素荧光是植物生理学研究 and 植物遥感研究的重要手段之一, 也是研究植被光合作用的有效探针^[1]。荧光的探测方法主要分为主动和被动两类, 被动荧光探测是获取日光诱导的叶绿素荧光信号, 它适合在自然环境下对植被大面积无损观测。主动荧光探测方法包括荧光动力学技术和激光诱导荧光技术, 主要是通过向植被发射光束, 并探测其激发的植被荧光信号, 其具有不受外界光照条件影响的优点, 广泛用于植被生理学研究中^[2-3]。因此激光诱导叶绿素荧光技术(LIF)是一种非常有潜力的遥感手段, 日益得到的重视。

近年来, 研究人员通过 LIF 技术对植被的各项领域进行探索。它在研究光合作用的基本机制、植物对环境变化的响应、植物分类和生态多样性等方面起着重要的作用^[4]。Chappelle 等利用 LIF 技术初步探索了其在检测植被水分和

营养不足以及植被分类的潜力^[5]。此外, 许多研究者利用 LIF 技术进行了与植物胁迫相关因素的研究^[6-7]。2011 年, Pandey 等研究了不同浓度(50, 100 和 200 ppm)的乐果对激光诱导的叶绿素荧光的影响^[8]。

此外, 除了植被自身的生理生化因素外, 研究人员还注意到叶绿素荧光还受外界因素的影响, 例如, 多角度^[9]、偏振、激光强度、温度、湿度等因素。近四十年来, 许多研究者把多角度探测应用到有关叶绿素荧光的实验当中。同时, 越来越多的科学研究表明, 偏振测量可以为大气的监测、地表的表征^[10]、材料分类和目标的探测^[11]等方面提供大量有用的信息。特别是随着遥感技术的发展, 偏振已经成为实现对植物、土壤、水、雪等地面特征的定性和定量描述的一种非常有效的辅助手段。

根据以往文献综述, 目前研究人员主要利用反射来研究它们的光谱特征。激光诱导荧光(LIF)与角度信息和偏振信息的结合研究尚不多见。因此, 本文利用激光激发三种不同植物的叶绿素荧光强度信息, 并结合它们的角度信息、波段

收稿日期: 2019-10-25, 修订日期: 2020-03-10

基金项目: 中央高校基本科研业务费项目重点培育项目(2412018ZD012, 2412018QD019), 国家自然科学基金项目(41301364, 41630749, 41571115)资助

作者简介: 郝天一, 1996 年生, 东北师范大学地理科学学院硕士研究生 e-mail: haoty114@nenu.edu.cn

* 通讯联系人 e-mail: hany025@nenu.edu.cn

信息和偏振信息,探讨分析多角度 LIF 的影响因素及相应偏振度(Dop)的相关变化。

1 实验部分

1.1 植被材料

本次实验选择三种比较常见的绿色植物作为研究对象,分别为吊兰、绿萝、金边虎皮兰,采样地点为东北师范大学校园。使用尼康相机拍摄其叶片内部结构,图 1(a,b 和 c)依次为它们的叶片内部结构。它们的叶片结构差异较大,随机选取 50 片处于成熟期阶段的活体叶片作为样品叶片,并做上标记。所有实验的测量,需在暗室条件下进行,且在实验期间每天以固定时间浇灌相同的水量,接受相同的光照时间,以减少叶片本身各物质含量的变化。

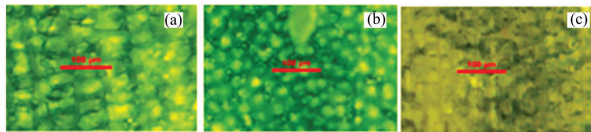


图 1 吊兰(a)、绿萝(b)、金边虎皮兰(c)叶片内部结构

Fig. 1 Internal structure of leaves of *Chlorophytum comosum* (a), *Epipremnum aureum* (b), and *Sansevieria trifasciata* (c)

1.2 荧光光谱测量

实验光谱测量平台是一个大型的室内多角度荧光观测平台(MFOP)(图 2)。本实验中,光纤探测器探测范围为 $0^\circ \sim 60^\circ$,间隔为 20° 。光源与光纤探测器之间的探测范围为 $0^\circ \sim 360^\circ$,间隔为 45° 。该设备还配备了偏振镜头,可以通过观测荧光光谱计算荧光偏振度。利用 AvaSpec-ULS2048 仪器进行荧光光谱的采集,其在 $200 \sim 1100$ nm 为稳态光谱区间。使用 AvaSoft 8.9 软件进行光谱处理,数据传输速率为每 100 ms 刷新一次。激光装置作为激发叶绿素荧光的光源,该器件由中国长春新工业光电技术有限公司生产,其入射角设置为 58.5° ,激发波长为 360 nm。3 种植物活体样品的叶片固定在平台的黑色载体上,测定了不同观测天顶角(VZA)、相对方位角(RAA)、波段、偏振等相应的荧光光谱。为了提高信噪比,避免激光能量波动对荧光强度的影响,对每个样品的荧光光谱重复测量 5 次。分析前,分别对这些荧光光谱进行平滑处理。

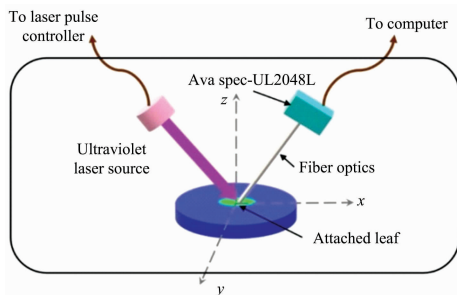


图 2 多角度荧光观测平台

Fig. 2 Multi-angle fluorescence observation platform

1.3 偏振原理

激发光照射到植物表面,激发植物内部光系统产生叶绿素荧光信号,被光谱仪接收。荧光偏振信息利用斯托克斯参量(I, U, Q, V)获取,使用荧光偏振度 P 表示,测量时忽略圆偏振 V ^[12]。

$$I = \frac{(I_{0^\circ} + I_{90^\circ} + I_{45^\circ} + I_{135^\circ})}{2} \quad (1)$$

$$U = I_{45^\circ} - I_{135^\circ} \quad (2)$$

$$Q = I_{0^\circ} - I_{90^\circ} \quad (3)$$

$$P = \frac{\sqrt{U^2 + Q^2}}{I} \quad (4)$$

式中: I_{0° , I_{90° , I_{45° 和 I_{135° 分别表示理想偏振片在 0° , 45° , 90° 和 135° 方向上的荧光偏振光强。

2 结果与讨论

2.1 激光诱导叶绿素荧光光谱的多角度空间分布与模型建立

2.1.1 激光诱导叶绿素荧光强度的多角度空间分布

本实验是在暗室条件下进行,测量三种植物(吊兰、绿萝、金边虎皮兰)激光诱导叶绿素荧光的多角度光谱。图 3 为三种植物在观测天顶角和相对方位角均为 0° (即垂直状态)的条件下测量得到的荧光强度光谱曲线。不同植被的荧光光谱形状各不相同。根据过去的研究结果可知,在室温下绿色植物的 LIF 光谱通常在 $680 \sim 690$ nm 处有一个明显的荧光峰,在 $730 \sim 740$ nm 处有一个荧光峰^[13-15]。从图 3 中可以明显看出,有两个明显的峰值,分别对应的波段为 685 与 740 nm,这与文献[15]结论中的波段范围基本符合。因此本实验中确定 685 与 740 nm 两个峰值作为这三种植物的荧光光谱特征点。

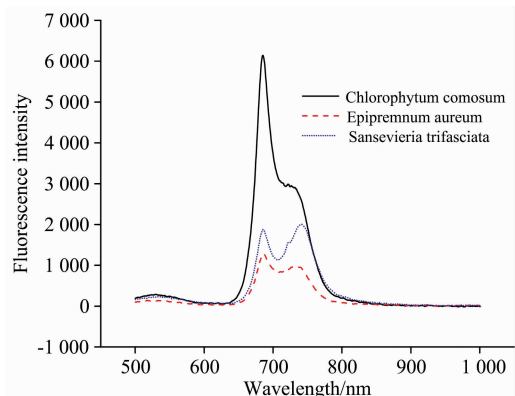


图 3 三种植物的激光诱导叶绿素荧光光谱曲线

Fig. 3 Laser-induced chlorophyll fluorescence spectra of three plants

在 2π 空间中,通过不同观测天顶角与相对方位角进行多角度荧光光谱的测量,二者对荧光强度有不同的影响。图 4 为三种植物在相对方位角为 90° 时,观测天顶角变化而引起荧光强度曲线的变化图。三种植物荧光强度各不相同,其荧光强度皆随着观测天顶角的增大而减小,且角度越大,荧

光强度降低的速率越快。

图 5 为三种植物在观测天顶角为 40° 时, 不同波段的相对方位角变化而引起的荧光强度变化图。根据图 5 可知, 相

对方位角不同, 荧光强度各不相同。在 685 和 740 nm 波段上金边虎皮兰的荧光强度波动幅度最大, 吊兰波动幅度最小。

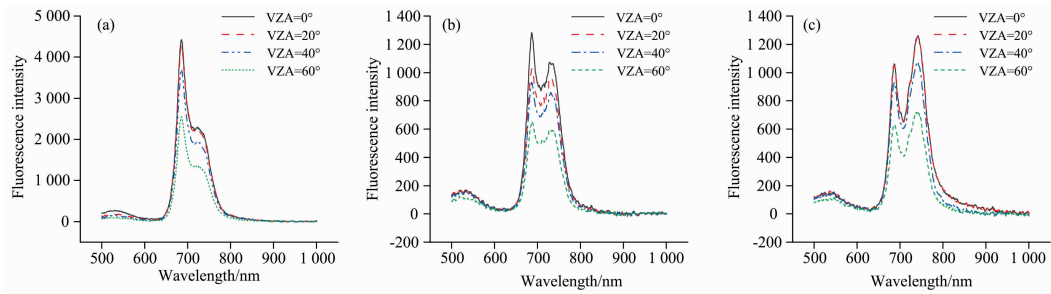


图 4 在 0°, 20°, 40° 和 60° 的观测天顶角 (VZA) 下三种植物的荧光强度变化

(a): 吊兰; (b): 绿萝; (c): 金边虎皮兰

Fig. 4 Fluorescence intensity changes of three plants at 0°, 20°, 40° and 60° Viewing Zenith Angles (VZA)

(a): *Chlorophytum comosum*; (b): *Epipremnum aureum*; (c): *Sansevieria trifasciata*

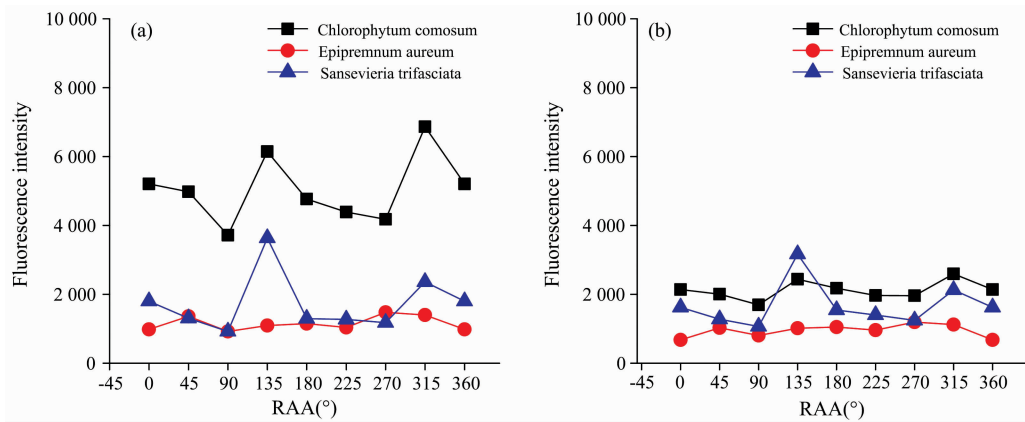


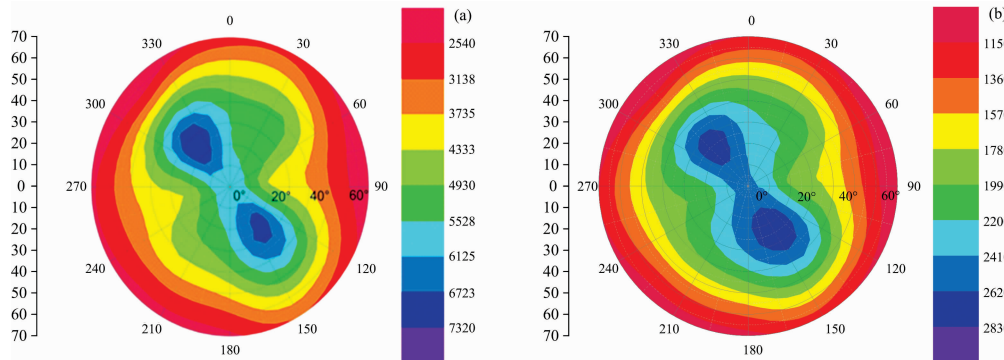
图 5 三种植物在不同相对方位角 (RAA) 下 685 nm (a) 和 740 nm (b) 两波段的荧光强度变化

Fig. 5 Fluorescence intensity change of three plants at different Relative Azimuth Angles (RAA)

in the 685 nm (a) and 740 nm (b) band

综上所述, 本文结合不同观测天顶角与相对方位角, 以极坐标的方式对激光诱导叶绿素荧光强度的多角度光谱空间分布进行绘制, 如图 6 所示。从中可以清晰地看出, 三种植

物在 2π 空间内 685 与 740 nm 两个波段的荧光强度整体分布变化与上文论述一致。



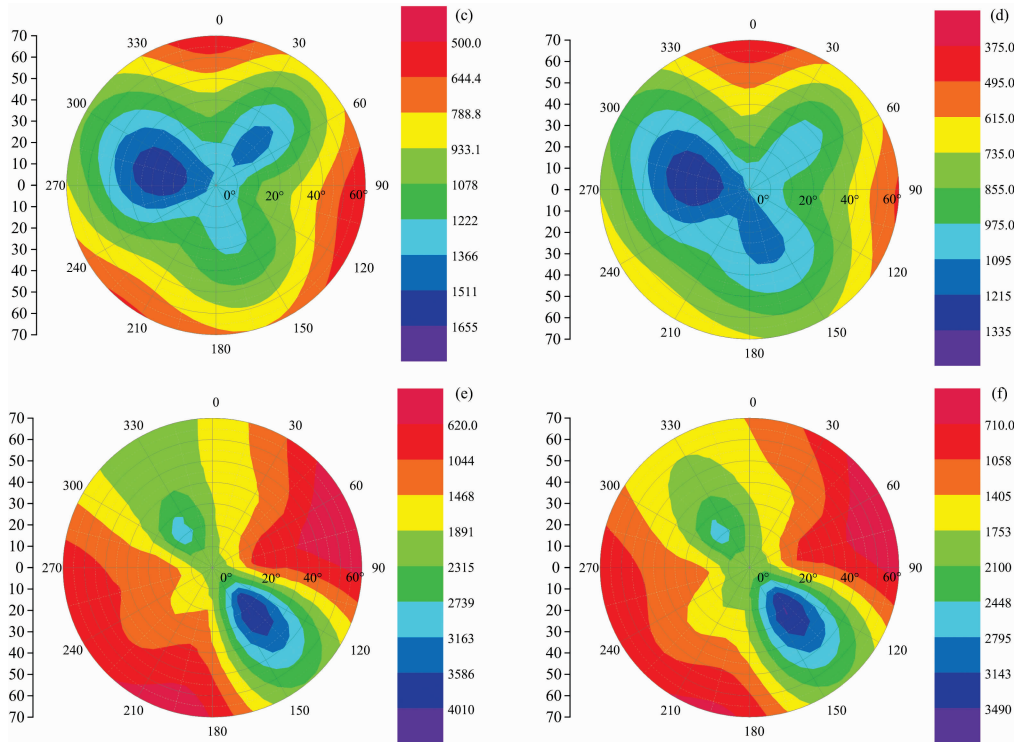


图 6 三种植物分别在 685 nm 波段与 740 nm 波段的多角度光谱空间分布

(a,b): 吊兰; (c,d): 绿萝; (e,f): 金边虎皮兰

Fig. 6 Multi-angle spectral spatial distribution of the three plants in the bands of 685 nm and 740 nm

(a,b): *Chlorophytum comosum*; (c,d): *Epipremnum aureum*; (e,f): *Sansevieria trifasciata*

2.1.2 激光诱导叶绿素荧光强度比值的多角度空间分布以及模型建立

在本研究中,三种植物在不同相对方位角条件下激发的 F_{685}/F_{740} 值与观测天顶角的回归直线如图 7 所示。其中运用的方法为荧光强度比值法^[16],目前大多数研究者将其运用到水分胁迫实验中,而本实验将其应用到探究角度因素对

荧光强度影响的实验中。根据图 7 可知,三种植物 F_{685}/F_{740} 比值的总体趋势基本一致。在相对方位角为 0° 时,随着观测天顶角的增大,其比值随之增大;而在其他相对方位角时,随着观测天顶角的增大,其比值随之减小。由此可知, F_{685}/F_{740} 值与观测天顶角之间具有良好的相关关系。

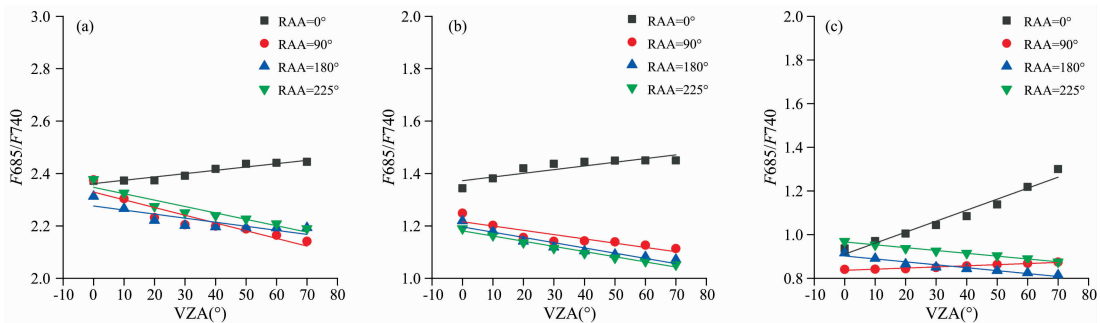


图 7 在不同相对方位角下,三种植物 (a, b, c) F_{685}/F_{740} 比值随观测天顶角的变化

Fig. 7 At different Relative Azimuth Angles, the fluorescence ratio of F_{685}/F_{740} of the three plants (a, b, c) varied with the Viewing Zenith Angles

上文中论述了 F_{685}/F_{740} 值与观测天顶角具有良好的相关关系,因此均可以建立良好线性回归模型, A 为观测天顶角度数

$$\frac{F_{685}}{F_{740}} = a \times A + b \quad (5)$$

如表 1 所示,共计 24 个线性回归模型,仅将模型的 R^2 与 RMSE 列出。表 1 显示,三种植被在不同相对方位角的条件下,模型中回归系数较显著,模型可靠性良好,能够准确的反映 F_{685}/F_{740} 值与观测天顶角之间的关系。然而,植被不同,最合适的模型所对应的相对方位角也不相同。在相对方

位角为 270°时, 植被吊兰的数学回归模型的 R^2 最高, RMSE 最小, 模型效果最显著, 225°次之; 在相对方位角为 225°时, 绿萝与金边虎皮兰的数学回归模型的 R^2 最高, RMSE 最小, 模型效果最显著。综合来看, 相对方位角为 225°是同时研究这三种植物被 F_{685}/F_{740} 值与观测天顶角关系的最佳方位角。

表 1 不同相对方位角 F_{685}/F_{740} 与观测天顶角的线性回归模型相应的 R^2 和 RMSE

Table 1 The corresponding R^2 and RMSE of the Linear regression model of F_{685}/F_{740} and Viewing Zenith Angles (VZA) at different Relative Azimuth Angles (RAA)

相对方位角(RAA)	吊兰		绿萝		金边虎皮兰	
	R^2	RMSE	R^2	RMSE	R^2	RMSE
RAA=0°	0.861	0.017 81	0.731	0.032 28	0.955	0.040 51
RAA=45°	0.734	0.034 43	0.002	0.027 13	0.131	0.052 85
RAA=90°	0.832	0.748 00	0.763	0.035 40	0.948	0.004 68
RAA=135°	0.162	0.031 32	0.984	0.012 33	0.849	0.007 90
RAA=180°	0.682	0.523	0.899	0.025 13	0.922	0.014 67
RAA=225°	0.892	0.032 21	0.978	0.011 01	0.991	0.004 66
RAA=270°	0.908	0.014 82	0.121	0.023 82	0.835	0.036 21
RAA=315°	0.469	0.163 21	0.277	0.071 11	0.065	0.043 05

2.2 激光诱导叶绿素荧光偏振光谱空间分布与模型建立

在本实验中, 激光诱导叶绿素荧光偏振信息是用荧光偏

振度表示。图 8 为三种植物在两个波段上荧光偏振度的相关分析图, 表明二者有很强的相关关系。因此, 建立良好线性回归模型, D_{F685} 表示在 685 nm 波段的荧光偏振度, D_{F740} 表示在 740 nm 波段的荧光偏振度

$$D_{F740} = a \times D_{F685} + b \tag{6}$$

三种植物在波段 685 与 740 nm 之间荧光偏振度的 R^2 分别是 0.945, 0.412 和 0.809, RMSE 分别为 0.008 66, 0.024 84 和 0.016 11, 如表 2 所示。说明模型的回归系数较显著, 模型可靠性良好, 再次反映在 685 与 740 nm 波段上二者荧光偏振度具有较好的相关性。因此下面对每种植物两个波段荧光偏振度的多角度空间分布进行对比分析与探究。

图 9 是以极坐标的方式对激光诱导叶绿素荧光偏振光谱的多角度空间分布进行绘制。(a)–(f) 分别表示在 685 与 740 nm 波段上, 吊兰(a, b)、绿萝(c, d)、金边虎皮兰(e, f) 随角度变化引起的荧光偏振度的空间分布情况。据图 9 可知, 激光激发的叶绿素荧光具有显著的偏振性。随着观测天顶角的变化, 荧光偏振度随之改变; 随着相对方位角的变化, 荧光偏振度也随之变化。在同一方位上, 随着观测天顶角的增大, 荧光偏振度的绝对值呈逐渐增大趋势, 这与前人的研究结论一致。三种植物 685 与 740 nm 波段的荧光偏振度变化趋势基本一致, 但其偏振度的整体波动性程度各不相同, 其中三者波动性程度大小比较为: 吊兰 < 绿萝 < 金边虎皮兰。

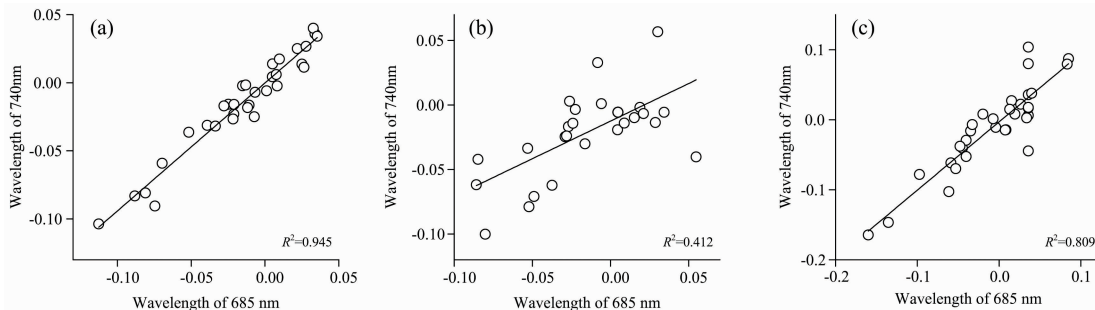
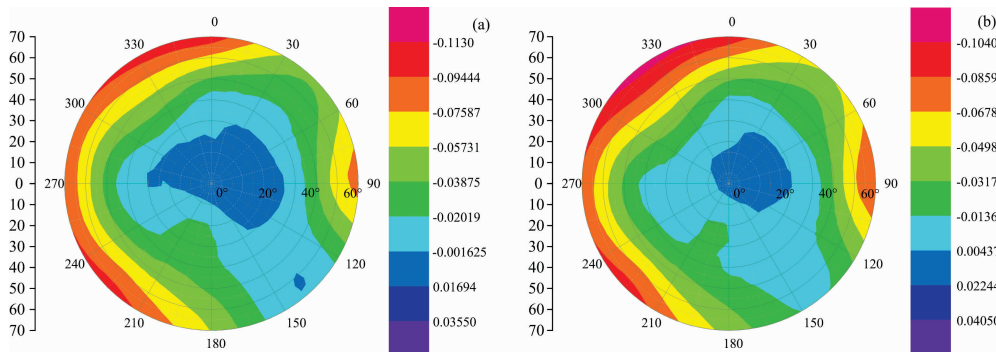


图 8 三种植物在 685 和 740 nm 波段上的 Dop 值相关分析 (a): 吊兰; (b): 绿萝; (c): 金边虎皮兰

Fig. 8 Dop value correlation analysis of three plants on the 685 and 740 nm bands

(a): *Chlorophytum comosum*; (b): *Epipremnum aureum*; (c): *Sansevieria trifasciata*



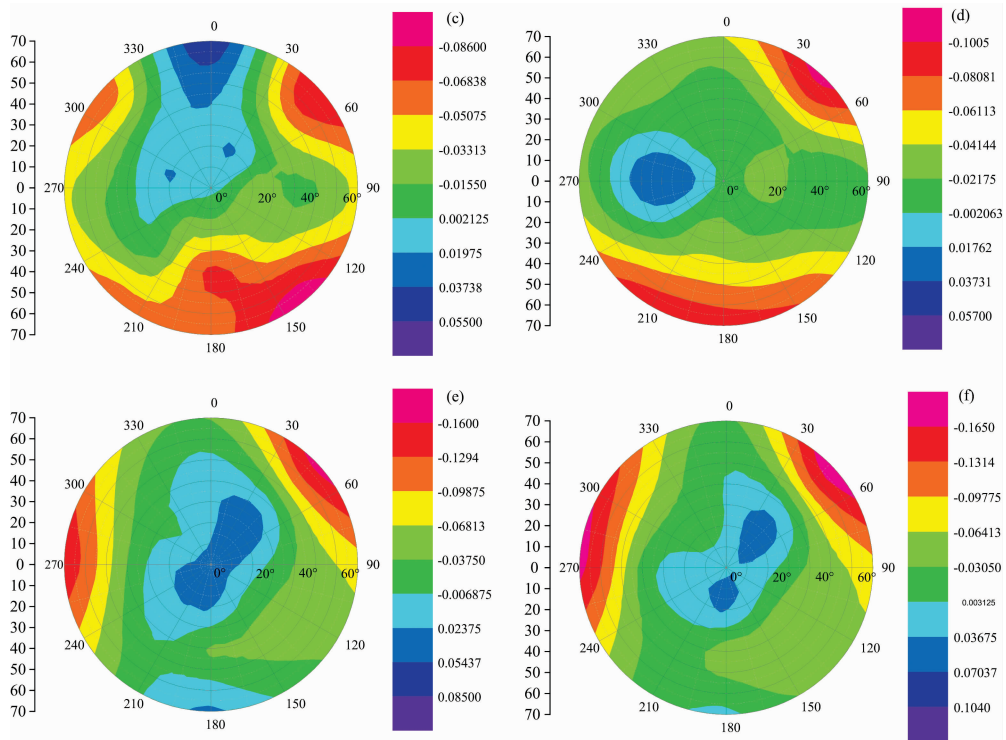


图 9 在 2π 空间内, 吊兰(a, b)、绿萝(c, d)、金边虎皮兰(e, f)在 685 和 740 nm 波段上偏振度的变化
 Fig. 9 Changes in the degree of polarization of *Chlorophytum* (a, b), *Green radish* (c, d), *Phnom Penh Tiger Piran* (e, f) on the 685 and 740 nm bands in 2π space

表 2 F_{685}/F_{740} 与观测天顶角的线性回归模型相应的 R^2 和 RMSE

Table 2 The corresponding R^2 and RMSE of the Linear regression model of F_{685}/F_{740} and Viewing Zenith Angles (VZA)

植被类型	评价标准	
	R^2	RMSE
吊兰	0.947	0.008 66
绿萝	0.453	0.024 84
金边虎皮兰	0.933	0.016 11

3 结 论

利用光谱仪、室内多角度荧光观测平台以及偏振测量装置在室内暗环境条件下测量了三种植物的多角度荧光光谱以及偏振信息, 并且确定了绿色植物的荧光光谱受观测天顶角、相对方位角、波段及偏振的影响, 可得以下具体结论。

研究结果表明, 激光诱导叶绿素荧光强度变化不仅与观测天顶角有关, 也与其相对方位角有关。随着观测天顶角的

增大, 荧光强度随之降低, 且角度越大, 荧光强度降低的速率越快。并且随着相对方位角变化, 不同植物的荧光强度也相应改变且各不相同。此外, 经检验, 模型回归系数显著, F_{685}/F_{740} 值也与观测天顶角有很强的相关关系。相对方位角为 225° 是同时研究这三种植被 F_{685}/F_{740} 值与观测天顶角关系的最佳方位角。

其次, 研究发现, 激光诱导叶绿素荧光具有显著的偏振性。在 685 与 740 nm 波段上对应的荧光偏振度具有较好的相关性。随着观测天顶角的变化, 荧光偏振度随之改变; 随着相对方位角的变化, 荧光偏振度也随之变化。三种植物在 2π 空间内 685 与 740 nm 波段的荧光偏振度变化趋势基本一致, 但其荧光偏振度的整体波动性程度各不相同, 其中三者波动性程度大小比较为: 吊兰 < 绿萝 < 金边虎皮兰。

以上结论可以作为研究激光诱导叶绿素荧光的多角度信息与荧光偏振信息结合的一个初步结论。后续将考虑含水量及其他相关因素对激光诱导叶绿素荧光强度的影响。此外, 基于多角度光谱——偏振光谱的叶绿素荧光空间变化分布的研究, 可以作为辅助现有遥感技术探讨叶绿素荧光的有效方法。

References

[1] Zarco-Tejada P J, Berni J A J, Suarez L, et al. Remote Sensing of Environment, 2009, 113: 1262.
 [2] WANG Ran, LIU Zhi-gang, YANG Pei-qi(王冉, 刘志刚, 杨沛琦). Advances in Earth Science(地球科学进展), 2012, 27(11): 1221.
 [3] YANG Jian, SHI Shuo, GONG Wei, et al(杨健, 史硕, 龚威, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析),

- 2016, 36(2): 537.
- [4] Murchie E H, Lawson T. *Journal of Experimental Botany*, 2013, 64: 3983.
- [5] Chappelle E W, Wood F M, McMurtrey J E, et al. *Appl. Opt.*, 1984, 23: 134.
- [6] Subhash N, Mallia J R. *IEEE International Geoscience and Remote Sensing Symposium (IGARSS)*, 2003, 5: 3293.
- [7] Ač A, Malenovsky Z, Olejníčková J, et al. *Remote Sensing of Environment*, 2015, 168: 420.
- [8] Pandey J K, Gopal R. *Journal of Fluorescence*, 2011, 21: 785.
- [9] Liu L, Liu X, Wang Z, et al. *IEEE Transactions on Geoscience and Remote Sensing*, 2016, 54: 2640.
- [10] Deschamps P-Y, Breon F M, Leroy A, et al. *IEEE Transactions on Geoscience and Remote Sensing*, 1994, 32: 598.
- [11] Duggin M J. *Proceedings of SPIE*, 2000, 4133: 172.
- [12] Talmage D A, Curran P J. *International Journal of Remote Sensing*, 1986, 7: 47.
- [13] Gameiro C, Utkin A B, Cartaxana P. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 2015, 167: 119.
- [14] Fedotov Y V, Belov M L, Kravtsov D A, et al. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 2018, 450: 062005.
- [15] Xiao J, Chevallier F, Gomez C, et al. *Remote Sensing of Environment*, 2019, 233: 111383.
- [16] ZHANG Yong-jiang, LIU Liang-yun, HOU Ming-yu, et al(张永江, 刘良云, 侯名语, 等). *Journal of Remote Sensing(遥感学报)*, 2009, 13(5): 963.

Laser-Induced Chlorophyll Fluorescence Spatial Variation Distribution and Model Establishment Based on Multi-Angle Spectroscopy and Polarization Spectroscopy

HAO Tian-yi, HAN Yang*, LIU Zi-ping, LI Zi-ying, ZHAO Yun-sheng, NIU Hao-fang, YAO Hai-yan

Key Laboratory of Geographical Processes and Ecological Security in Changbai Mountains, Ministry of Education, School of Geographical Sciences, Northeast Normal University, Changchun 130024, China

Abstract According to the current research status, chlorophyll fluorescence is one of the important means of plant physiology research and plant remote sensing research. Previous studies on laser-induced fluorescence (LIF) have mostly used vertical directions, and less consideration has been given to the effects of multi-angle and fluorescence polarization. In this paper, *Chlorophytum*, *Green radish*, and *Phnom Penh Tiger Piran* were used as research objects, and multi-angle and polarization observation methods were used to analyze the laser-induced chlorophyll fluorescence spectra, and the models were established. At the same time, the spatial distribution of laser-induced chlorophyll fluorescence intensity and degree of polarization was plotted in polar coordinates. The results show that the shapes of fluorescence spectra of the three plants were different, and the changes in the Viewing Zenith Angles and Relative Azimuth Angles affect the fluorescence intensity and fluorescence parameters. The mathematical regression models of Viewing Zenith Angles and fluorescence parameter F_{685}/F_{740} were established at Relative Azimuth Angles. According to the comparison of R^2 and RMSE of different models, the Relative Azimuth Angle of 225° is the best angle to study the relationship between F_{685}/F_{740} and Viewing Zenith Angles for these three plants at the same time. The regression coefficient is significant, which can accurately reflect that F_{685}/F_{740} has a significant correlation with Viewing Zenith Angles. In addition, we also performed polarization observations on the laser-induced chlorophyll fluorescence of the three plants and calculated the corresponding fluorescence polarization in the 2π space. The studies have shown that the laser-induced chlorophyll fluorescence spectrum has significant polarization, and the Viewing Zenith Angles, Relative Azimuth Angles, and band information have different effects on laser-induced chlorophyll fluorescence polarization spectra. The mathematical regression models were established for the relationship between the fluorescence polarization at 685 and 740 nm for different plants. The regression coefficient is significant, which could accurately reflect the significant correlation between the fluorescence polarization at 685 and 740 nm.

Keywords Laser-induced chlorophyll fluorescence; Multi-angle information; Fluorescence parameters; Degree of polarization

(Received Oct. 25, 2019; accepted Mar. 10, 2020)