利用红外光谱分析珙桐幼树氮素状况的边缘效应

胡进耀¹ 苏智先^{2*} 何晓英¹

(1 四川省环境科学与生物多样性保护重点实验室, 西华师范大学生物多样性研究中心, 南充 637002)

(2 绵阳师范学院, 四川绵阳 621000)

摘要 通过氮肥处理实验及利用红外光谱检测白泥岗珙桐 (*Davidia involucrata*) 幼树叶尖氮含量实验, 探讨了将红外光谱分析应用于研究森林边缘效应的可行性, 并为珙桐保护提供理论依据。结果表明: 5 个氮素水平处理的珙桐幼苗、叶尖和叶中均表现出明显的氮含量和傅立叶红外转换光谱差异, 相关性分析表明叶尖比叶中更能反映珙桐的氮营养状况; 光谱指数 $(A_{1653} - A_{3400}) / (A_{1653} + A_{3400})$ 随叶中氮含量和供氮水平的提高而提高, 说明傅立叶转换红外光谱可用于检测珙桐的氮营养水平, 为利用红外光谱分析珙桐氮营养水平边缘效应提供了理论基础。利用傅立叶转换红外光谱法研究白泥岗珙桐林氮素状况的边缘效应表明: 在一定距离范围内珙桐氮营养水平由林外向林内逐渐上升, 不同方位和不同距离珙桐氮营养水平均存在程度不同的差异, 说明方位对珙桐氮素状况的影响显著; 珙桐林片段化在生理上对珙桐的影响至少到达 30 ~ 40 m 处, 而林东至少到达 90 ~ 100 m 处, 说明林东人为破坏对残存的珙桐生长影响很大。实验结果与其它作者用传统方法对森林边缘氮素分布状况及植物吸收氮素状况的研究结果一致, 说明利用红外光谱分析珙桐氮营养水平边缘效应是可行的。实验中还发现采样和样品前处理对结果可靠性有较大影响, 样品前处理后必须保持干燥、平整。

关键词 傅立叶转换红外光谱 边缘效应 方位

THE STUDY OF EDGE-EFFECT OF *DAVIDIA INVOLUCRATA* NITROGEN STATUS WITH FTIR

HU Jin-Yao¹ SU Zhi-Xian^{2*} and HE Xiao-Ying¹

(1 Sichuan Provincial Key Laboratory of Environmental Science and Biodiversity Conservation, Research Center of Biodiversity, China West Normal University Nanchong, Sichuan 637002, China)

(2 Mianyang Teachers' College, Mianyang, Sichuan 621000, China)

Abstract The practicability of edge effect research with FTIR (Fourier transform infrared spectroscopy) was investigated by two experiments. In the first, *Davidia involucrata* seedlings were treated with nitrogen fertilizer and nitrogen content of both tip and middle parts of seedling leaves was detected with FTIR and the method of Kjeldahl. The results showed that there were significant differences in nitrogen content among five treatment levels, either between tips or between middle parts of leaves. The nutritional status could be well estimated by leaf tips in terms of nitrogen content compared with that of middle parts of leaves according to correlation analysis. Spectral index $(A_{1653} - A_{3400}) / (A_{1653} + A_{3400})$ was revealed to be raised with the increase in availability and of leaf content of nitrogen, which suggested that it is possible to detect the nutritional status of *D. involucrata* seedlings in terms of nitrogen content by FTIR. In the second, *D. involucrata* leaves were collected from four aspects in Bainigang, Wolong National Nature Reserve. Tips of the leaves were analyzed with FTIR. The edge effects of nitrogen status of *D. involucrata* in Bainigang in terms of FTIR showed that the nitrogen levels rose from border to core areas of the forest within certain distance and the average nitrogen levels varied among different aspects and distances to different extents. It suggested that the nitrogen status of *D. involucrata* was significantly affected by aspect. The *D. involucrata* fragmentation of forest would impact the regular physiology of internal trees growing at least 30 to 40 meters away from the fragmented border. The impacts were at least 90 to 100 meters from the edge. It suggested that the growth of remaining *D. involucrata* was impacted seriously by human activities in the east of the forest. The results were consistent with those of previous studies of nitrogen distribution and plant nitrogen absorption at the forest edge. It showed that studying edge-effect of *D. involucrata* with FTIR is practicable. In our experiments, we discovered that accurate results require that the sample must be kept dry and flat.

Key words Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), Edge effects, Spectra

随着人类对自然资源的需求日趋增长,森林片段化日益严重。生境片段化引起的主要变化之一是暴露在其它生境中的边缘比例增加(Kapos *et al.*, 1997)。边缘在片段化景观中占优势,并且在保留森林中的影响不断扩大(Chen *et al.*, 1993a; 1993b)。边缘效应的存在,使森林从内向外产生生态环境梯度,原有的生境质量下降,导致某些生物灭绝,生物多样性明显降低。边缘效应可以划分为非生物效应和生物效应,边缘效应随进入林内距离的改变而改变,一般用进入林内的距离表示。方位是影响非生物效应最主要的因素之一,通过对边缘效应的研究,可以为片段化森林生态系统的管理、恢复以及生物多样性的保护提供科学依据(渠春梅等, 2001)。

珙桐(*Davidia involucrata*)为珙桐科(蓝果树科)珙桐属落叶乔木,是我国特有的珍稀孑遗植物,被列为国家一级重点保护植物。珙桐由法国传教士和博物学家 Abbe Armand David(1826~1900)于 1869 年在川西穆平(今四川宝兴县)首次发现,此后直到 1897 年才由另一位法国传教士 Pere Paul Farges(1844~1912)在川西北采集珙桐种子进行异地繁育。我国到 20 世纪 70 年代才对珙桐进行研究,有关珙桐的报道主要集中在珙桐群落学、地植物学,人工繁殖技术及引种栽培,种群生态学、生物学,组织化学、组织细胞学和组培,形态、解剖学等方面。而有关生理、遗传、生化等方面鲜有报道。更令人惊讶的是珙桐虽被列为国家 8 种一级保护植物之一已有十多年的时间,但至今未见有关珙桐生理生态方面的报道。要较好地保护这一稀有树种,全面了解该种的稀有濒危的内在机制,迫切需要深入研究该物种在其生境中的生理生态学知识。

FTIR(Fourier transform infrared)能快速精确地获得生物样品的整个红外光谱区的特征光谱(Griffiths & de Haseth, 1986),并且只需少量样本, Sowa 等(1991)应用 FTIR 检测完整细胞的蛋白质和膜结构变化。FTIR 光谱仪能用于估测少量样品的水稻(Batten & Blakeney, 1996; 周启发等, 2002)、棉花(Ruano-Ramos *et al.*, 1999)、小麦(Saranga *et al.*, 1998)和牧草(Mcgrath *et al.*, 1997)的氮水平变化,但目前还未有人将其用于珙桐和边缘效应的研究。本文通过研究不同供氮水平珙桐叶片傅立叶转换红外光谱与氮含量的关系,探讨了将其应用于珙桐的氮营养水平边缘效应研究的可行性,以期提出一种研究边缘效应的新方法;通过对珙桐氮营养水平边缘效应的研究,为珙桐的濒危机理和保护措施提供

理论依据。

1 材料和方法

1.1 氮肥处理

珙桐种子于 1998 年采自都江堰市的龙溪-虹口国家级自然保护区,在产地沙培两年,待要萌发时(2001 年 9 月)移至南充市四川师范学院生物系实验用地(30°50'N, 106°03'E)中继续培养。土壤属性: pH 值 5.0, 有机碳每千克土 3.0 g, 总氮每千克土 0.33 g。2002 年 3 月中旬开始实验,实验设 5 个重复,分别用 5 个水平混有 0.2 gCa(H₂PO₄)₂ 和 0.2 g KCl·kg⁻¹土的尿素处理(0.00、0.10、0.20、0.40、0.80 g·kg⁻¹土),并给以足够的水。

1.2 叶中氮含量的测定

于 2002 年 5 月 21 日取实验地树苗顶部一级分支顶端第二片叶分别进行检测,每个样测 3 个重复,取平均值。氮含量分析采用 Kjeldahl 的方法。

1.3 野外取样

卧龙保护区位于成都平原西缘,阿坝藏族自治州东南部汶川县境,岷江上游映秀之西侧,邛崃山脉之东南坡。本区属青藏高原气候区的范围,西风急流南支和东南季风控制着本区的主要天气过程。气候凉爽,干湿季节明显,年平均降水量 861.8 mm, 5~9 月降水量占 68.1%,年平均湿度为 80%,气候垂直变化明显,有“一山有四季,十里不同天”之说。年日照时数 926.7 h。土壤 pH 值在 5.8~6.5 之间,原生林内枯枝落叶层达 3~6 cm。卧龙珙桐集中分布于三江乡正河沟两测山坡上。由于珙桐对生境要求严格,在海拔 1 400 和 2 200 m 处迅速被其它物种所取代,加上当地地形复杂,珙桐在海拔 1 400~2 200 m 之间呈带状分布,形成许多个距离几公里到几十公里的小种群。保护区内部的种群受人为破坏较少,东、西两个方位都形成明显边缘的种群很少。白泥岗样地位于西河沟沟口, 103°16' E, 30°51' N 的一座山南坡。其东部一直延伸至保护区外,由于保护区外人为破坏严重,沿保护区界碑处有明显的边缘存在。西部虽然生境未遭人类破坏,但因沟壑纵横,珙桐只能以片段化存在。因此选白泥岗为样地(下称白泥岗样地)。考虑到四周都有边缘存在,在设置样线时采用十字交叉设计(渠春梅等, 2001),以比较林缘不同方位对边缘效应的影响。2002 年 5 月在白泥岗珙桐林采样,每条样线均垂直于林缘,取样时在沿林缘到林内每隔 30 m, 60 m, 90 m, 在 0~10 m, 30~40 m, 90~100 m, 180~190 m 的大致距离范围 4

个约 10 m×20 m 的区域内,选 5 棵珙桐幼树,采其幼树顶部枝条第二片叶,每棵树采 3 个重复,带回实验室分析。

1.4 FTIR 光谱分析

样品前处理:先 80 ℃烘 3 h,然后 50 ℃烘 24 h。样品前处理的关键是要使叶片干燥、平整。

仪器:灵江 NICOLET 公司生产的 NEXUS670 型傅立叶变换红外光谱仪,OMNIE.S.P.5.1 智能操作软件,OMNI 采样器

测定条件:用漫反射直接检测叶尖和叶中(避开主脉)光谱范围(4 000 ~ 400)·cm⁻¹,分辨率 0.009 cm 扫描次数 32 次,每个样叶尖和叶中各测 3 次,取平均值。

1.5 统计分析

用 SPSS 软件分析数据。

2 结果与分析

2.1 不同供氮水平珙桐的生理生化及红外光谱变化

红外吸收光谱在波数 3 400·cm⁻¹处的值与 OH 和 NH 的伸缩振动有关,而在 1 653·cm⁻¹处的值与酰胺羰基的伸缩振动有关(Buta *et al.*, 1997; Nakanishi & Solomon, 1977)。当氮肥供应量增加时,这两个峰的吸收值趋向相等,经数据分析发现光谱指数 *NFSA*(周启发等,2002)能反映不同供氮水平珙桐的氮代谢。但 *NFSA* 的值随珙桐 N 含量的减少而增加,为了使结果在图中表现得更直观,我们这里用光谱指数 $NFA = (A_{1\,563} - A_{3\,400}) / (A_{1\,563} + A_{3\,400})$, *NFA* 的值随着珙桐 N 营养水平的提高而提高。

不同供氮水平的植株叶中部含氮量差异与叶尖相似,但变化较不明显。由表 1 可知叶尖 N 含量和 *NFA* 值与氮营养水平相关系数大于叶中部 *NFA* 值与氮营养水平的相关系数,并且相关系数都大于

90%。

2.2 珙桐氮代谢水平的边缘效应

2.2.1 方位对珙桐叶片 *NFA* 的影响

2.2.1.1 不同方位所有距离平均值比较

珙桐林各方位样线上的 *NFA* 平均值分别为:
 $NFA_{林东} = -0.065\,15 \pm 0.035\,995$, $NFA_{林西} = -0.059\,40 \pm 0.019\,800$, $NFA_{林南} = -0.065\,43 \pm 0.023\,604$, $NFA_{林北} = -0.082\,45 \pm 0.018\,208$,其中,林西的 *NFA* 平均值最大,林北的最小,林东的内部差异最大。方差分析表明不同方位间珙桐 *NFA* 值差异显著($p = 0.032\,318 < 0.05$)(表 2)。

2.2.1.2 同一距离不同方位取样点上珙桐叶片的 *NFA* 比较

如图 1 所示,在林缘到林内 0 ~ 10 m 处 4 条样线的样本平均值林西 > 林南 > 林东 > 林北,方差分析表明差异不显著($p = 0.394\,374$),样本内差异林东 > 林南 > 林西 > 林北。30 ~ 40 m 处平均值林东 > 林南 > 林西 > 林北,内部差异林南 > 林东 > 林西 > 林北。90 ~ 100 m 处平均值林西 > 林南 > 林东 > 林北,内部差异,林东 > 林南 > 林西 > 林北。180 ~ 190 m 处平均值林东 > 林西 > 林南 > 林北,内部差异林东 > 林南 > 林西 > 林北。方差分析表明,在一定范围内,越往林内,不同方位间的差异越大。但除 180 ~ 190 m 处外其它的都不显著。

在林缘到林内 0 ~ 10 m 处,林西氮的营养水平最高,而且在不同距离上差异不显著(其它 3 个方位差异显著),可能是因为林西处于正河沟内部,湿度较大,光照较弱,自然条件在各个距离差异较小,且林西边缘是自然群落更替和沟壑隔离形成的珙桐林,未遭人为破坏,环境质量没有明显下降。

由于不同方位珙桐所接受的太阳辐射,温度、水分、土壤微生物等存在较大差异,珙桐原生林在不同

表 1 供 N 水平与珙桐叶片含氮量及 *NFA* 的相关系数(5 个样本的平均值)
Table 1 Relation coefficient of nitrogen treated rate, nitrogen contents and *NFA* in the second uppermost leaves in *Davidia involucreata* (Average of five samples)

	氮营养水平 Nitrogen fertilizer rate	叶尖 N 含量 Nitrogen contents in leaf tips	叶中 N 含量 Nitrogen contents in leaf center	叶尖 <i>NFA</i> <i>NFA</i> value of leaf tips	叶中 <i>NFA</i> <i>NFA</i> value of leaf center
氮营养水平 Nitrogen fertilizer rate	1				
叶尖 N 含量 Nitrogen contents in leaf tips	0.991 363	1			
叶中 N 含量 Nitrogen contents in leaf center	0.952 028	0.976 584	1		
叶尖 <i>NFA</i> <i>NFA</i> value of leaf tips	0.963 66	0.987 872	0.993 079	1	
叶中 <i>NFA</i> <i>NFA</i> value of leaf center	0.949 532	0.975 084	0.999 453	0.994 497	1

表2 同一距离段内不同方位间 *NFA* 差异显著性水平

Table 2 The *NFA* significance of different aspects

距离 Distance	0 ~ 10 m	30 ~ 40 m	90 ~ 100 m	180 ~ 190 m	0 ~ 190 m
<i>p</i> -value	0.394 374	0.117 347	0.053 701	0.016 315 *	0.032 318 *

* : *p* < 0.05

方位上氮代谢存在较大差异(林缘到林内大于180~190 m处, $p=0.016\ 53$)。但由于人为和自然原因导致生境异质化,暴露的林缘各植株之间营养水平差异增大,而使不同方位间的总差异在统计上反而减小。因此,在一定范围内随着林缘到林内的不同距离的增大,氮营养水平差异反而增加。同时随着距离增大,生境逐渐改善,珙桐的氮营养水平得到提高。4个方位0~190 m *NFA* 平均值方差分析表明差异显著,说明方位对边缘的影响仍很大($p=0.032\ 318<0.05$)。

2.2.2 不同距离珙桐叶片 *NFA* 的差异

珙桐林各个距离段的 *NFA* 平均值分别为:
 $NFA_{0\sim10\text{ m}}=-0.090\ 68\pm0.024\ 519$, $NFA_{30\sim40\text{ m}}=-0.074\ 35\pm0.024\ 394$, $NFA_{90\sim100\text{ m}}=-0.057\ 30\pm0.190\ 16$, $NFA_{180\sim190\text{ m}}=-0.050\ 10\pm0.169\ 52$, 随着距林缘距离的增大,珙桐4个距离段内植株的 *NFA* 平均值逐渐增大(图2),方差检验极其显著($p=1.78\text{ E}-07$)(表3),4个方位中(图2)以林北珙桐 *NFA* 值增加最为明显($p<0.001$),但其内部差异在4个方位中最小,林东为最大。林东生境受人为破坏最为严重,导致生境质量严重下降。生境异质化程度加深,植株间差异增大,总体氮营养水平下降,但林东边缘是破坏前白泥岗珙桐林分布的中心地带,其光照、水、热等自然条件较其它方位优越,因此,随着距林缘距离的增大,珙桐氮营养水平快速上

升,不同距离间氮营养水平差异极其显著($p<0.01$)。林东0~10 m处与30~40 m处差异小于30~40 m处与90~100 m处的差异,而其它3个方位差异逐渐减小,这一点也反映了林东是受人为破坏最严重的方位。人为活动可能是导致珙桐种群退化的主要原因,与吴刚等(2000)的研究结果一致。因此,在珙桐的保护中应注重较大面积的原生林的保护,使其暴露的边缘尽量减小。

3 结 论

周启发等(2002)认为 FTIR 能否检测某一植物的氮营养状况必须通过实验验证才能确定。由2.1中实验结果分析可知珙桐叶中氮元素含量,土壤供氮水平和 *NFA* 值三者显著相关,这为利用红外光谱检测珙桐氮营养水平提供了理论前提。在对叶尖和叶中部 *NFA* 的检测比较中,我们发现,叶尖氮含量变化更能反映珙桐氮营养水平和代谢情况。

赵鸿雁等(2002)研究表明林地内土壤表层微生物活动频繁,土壤物理性质显著优于荒坡地;与被砍伐后开垦的农田相比,林地有机质、全氮、速效氮含量分别比农地高1.6、1.1、1.3倍,阳离子交换率高0.65倍。本文实验中林东 *NFA* 值从林内向林外迅速下降与此结论一致。受人为干扰严重的林东,珙桐植株间的氮营养水平变化最大,与王淑平等(2002)的研究结果一致。因此利用红外光谱分析表征珙桐氮素代谢边缘效应是可行的。

植物对氮的吸收不仅受土壤中含氮量的影响,还受水分、光照、土壤、人为干扰等的影响(王淑平等,2002)。对珙桐叶尖 *NFA* 含量的检测能反映珙桐真正的氮营养状况。目前还没有便利地分析少量

表 3 相同方位与不同距离间 *NFA* 的差异
Table 3 The *NFA* significance of different distances

方位 Aspects	林东 East of the wood	林西 West of the wood	林南 South of the wood	林北 North of the wood	4 个方位 Total
<i>p</i> -value	0.003 229**	0.102 982	0.043 961*	0.000 949***	1.78E-07***

* : *p* < 0.05 ** : *p* < 0.01 *** : *p* < 0.001

材料中氮营养水平的方法,红外光谱分析显然具有极大的优势。同时利用傅立叶变换红外光谱法,借助 OMNI 采样器直接测定植物叶的红外吸收光谱,可以排除萃取法和其它制样法带来的不确定因素。由于 OMNI 采样器是“点对点”直接采样测定,从而大大增加了测定的准确性,而且不损耗材料,用后还可继续做其它测定。

我们在应用红外光谱分析表征珙桐氮素代谢边缘效应也对其局限性有了一定的了解。如前所述,待测的物种的氮营养状况并不一定能用 FTIR 检测出来,必须通过实验验证后才能使用。此外隋方功等(2002)研究发现不同发育时间或同一发育时间的不同器官植物体内氮素的分配规律不同。因此采样时,必须是同一发育阶段的植株,同一生长季节的相同器官(最好生境也相似),所得到的结果才比较可靠。

参 考 文 献

Batten, G. & A. Blakeney. 1996. Widening horizons for plant analysis by NIR. *NIR News*, 7: 14 ~ 15.
Buta, J. G., L. Qi & C. Y. Wang. 1997. Fourier transform infrared spectra of zucchini squash stored at chilling or non-chilling temperature. *Environmental and Experimental Botany*, 38: 1 ~ 6.
Chen, J., J. F. Franklin & T. A. Spies. 1993a. Contrasting microclimates among clearcut edge and interior of old-growth Douglas-fir forest. *Agricultural and Forest Meteorology*, 63: 219 ~ 237.
Chen, J., J. F. Franklin & T. A. Spies. 1993b. An empirical model for predicting diurnal air-temperature from edge into old-growth Douglas-fir forest. *Ecological Modelling*, 67: 179 ~ 198.
Griffiths, P. R. & J. A. de Haseth. 1986. Fourier transform infrared spectroscopy. New York: John Wiley.
Kapos, V., E. Wandelli, J. L. Camargo & G. Ganade. 1997. Edge-related changes in environment and plant responses due to forest fragmentation in Central Amazonia. In: Laurance, W. F. & R. O. Bierregaard Jr. eds. *Tropical forest remnants: ecology, management, and conservation of fragmented communities*. Chicago: The University of Chicago Press. 33 ~ 44.
Mcgrath, V. V., A. B. Vlackeny & G. D. Barrenen. 1997.

Fructan to nitrogen ratio as an indicator of nutrient stress in wheat crops. *New Phytologist*, 136: 145 ~ 152.
Nakanishi, K. & P. H. Solomon. 1977. Infrared absorption spectroscopy. San Francisco: Hollen-Day.
Qu, C. M. (渠春梅), X. G. Han (韩兴国), B. Su (苏波), J. H. Huang (黄建辉) & G. M. Jiang (蒋高明). 2001. Edge effects of plant water use efficiency indicated by foliar $\delta^{13}\text{C}$ value in a fragmented seasonal rainforest in Xishuangbanna. *Acta Phytocologica Sinica* (植物生态学报), 25: 1 ~ 5. (in Chinese with English abstract)
Ruano-Ramos, A., A. Garcia-Ciudad & B. Garcia-Criado. 1999. Determination of nitrogen and ash contents in total herbage and botanical components of grassland system with near infrared spectroscopy. *Journal of Science of Food and Agriculture*, 79: 137 ~ 143.
Saranga, Y., A. Landa, Y. Shekel, A. Bosak & U. Kafkafi. 1998. Near-infrared analysis of cotton leaves as a guide for nitrogen fertilization. *Agronomy Journal*, 90: 16 ~ 21.
Sowa, S., K. F. Connor & L. E. Towill. 1991. Temperature changes in lipid and protein structure measured by fourier transform infrared spectrometry in intact pollen grains. *Plant Science*, 78: 1 ~ 9.
Sui, F. G. (隋方功), Y. H. Wang (王运华), Y. X. Yao (姚源喜), Wunimuren (乌尼木仁) & S. Inanaga (稻永醇二). 2002. Distribution dynamics of nitrogen absorbed at the early flowering stage of sweet pepper (*Capsicum annuum* L.). *Acta Phytocologica Sinica* (植物生态学报), 26: 459 ~ 464. (in Chinese with English abstract)
Wang, S. P. (王淑平), G. S. Zhou (周广胜), Y. C. Lü (吕育财) & J. J. Zou (邹建军). 2002. Distribution of soil carbon, nitrogen and phosphorus along northeast China transect (NECT) and their relationships with climatic factors. *Acta Phytocologica Sinica* (植物生态学报), 26: 513 ~ 517. (in Chinese with English abstract)
Wu, G. (吴刚), H. Xiao (肖寒), J. Li (李静) & K. M. Ma (马克明). 2000. Relationship between human activities and survival of rare and endangered species *Davidia involucreata*. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 11: 493 ~ 496. (in Chinese with English abstract)
Zhao, H. Y. (赵鸿雁), Q. X. Wu (吴钦孝) & G. B. Liu (刘国彬). 2002. Studies on hydro-ecological effects of *Populus davidiana* stand. *Acta Phytocologica Sinica* (植物生态学报), 26: 497 ~ 500. (in Chinese with English abstract)
Zhou, Q. F. (周启发), Z. Q. Shen (沈掌泉) & R. C. Wang (王人潮). 2002. Fourier transform infrared spectral difference of leaf tips in rice related to nitrogen rates. *Acta Botanica Sinica* (植物学报), 44: 547 ~ 550. (in Chinese with English abstract)