

Н.Л. Фатеева¹, А.В. Клишкин¹, О.В. Бендер², А.П. Зотикова², М.С. Ямбуров²

Исследование лазерно-индуцированной флуоресценции хвойных и лиственных растений при азотном загрязнении почвы

¹ Институт оптики атмосферы СО РАН,

² Институт мониторинга климатических и экологических систем СО РАН, г. Томск

Поступила в редакцию 12.12.2005 г.

Проведены исследования, направленные на выявление особенностей лазерно-индуцированной флуоресценции (ЛИФ) хлорофилла хвой сосны кедровой сибирской (*Pinus sibirica Du Tour*) и листьев березы бородавчатой (*Betula pendula Roth.*) при различном содержании в почве легкогидролизуемого азота. Исследования включали дистанционный анализ экспериментальных саженцев и контрольных растений по сигналам ЛИФ в полосах $\lambda=685$ и 740 нм, измерения содержания пигментов в хвое и листьях, а также азота в почве. Установлены оптимальные уровни содержания азота и различные реакции хвойных и лиственных на избыток азота в почве.

Введение

Мониторинг растительных покровов Земли — одна из актуальных проблем прогноза устойчивого развития современной цивилизации. Глобальность объекта исследований выдвигает на первый план применение дистанционных средств получения информации о состоянии растений. Значительный прогресс в разработке лазерных источников излучения коротковолнового диапазона стимулирует развитие методов лазерно-индуцированной флуоресценции (ЛИФ) для дистанционного анализа растительности. Эти методы основаны на наблюдении и анализе флуоресцентных свойств пигментов, входящих в фотосинтетический аппарат растений и обладающих широкополосной флуоресценцией в видимом и УФ-диапазонах спектра, а также флуоресценции хлорофилла в двух узких полосах при $\lambda = 685$ и 740 нм.

Цель настоящей работы заключалась в исследовании связи флуоресцентных свойств хлорофилла древесных растений с азотным загрязнением почвы. В основу этих исследований легли результаты лабораторных экспериментов [1, 2], которые показали, что при изменении минерального питания в спектрах отражения и флуоресценции растений происходит трансформация полос пигментов. Можно предположить, что вариации корневого питания должны проявляться в деформации спектров отражения и флуоресценции в областях, определяемых состоянием и плотностью хлорофилла. Для подтверждения этого предположения были проведены натурные эксперименты, задачей которых являлось исследование ЛИФ в полосах $\lambda = 685$ и 740 нм и отражательных свойств листьев березы и хвой кедра в полосах 500 – 700 нм при воздействии на растения легкогидролизуемого азота, вносимого в почву.

Экспериментальная часть

Опыты проводили с 5–7-летними саженцами кедра сибирского и березы бородавчатой. Выбор объектов исследования обусловлен высокой чувствительностью лиственных и устойчивостью хвойных деревьев к различным почвенным загрязнениям [3, 4]. Эксперимент проводили со второй декады июля по вторую декаду августа. Саженцы в начале июля пересаживали из питомника экспериментального хозяйства «Кедр» Калтайского лесхоза в конические сосуды из полиэтиленовой пленки емкостью примерно 4 дм^3 и помещали на расстоянии 70 м от лидара. За это время азот вносили четыре раза с интервалом пять дней. В качестве загрязняющего вещества использовали аммиачную селитру, которая в зависимости от содержания может проявлять себя и как удобрение и как загрязняющее вещество.

Экспериментальные растения были поделены на три группы. В почву растений первой группы удобрения не вносились, эти образцы предназначались для контрольных измерений. В почву второй группы была внесена оптимальная доза удобрения, определенная согласно предварительным исследованиям, а в почву третьей группы — высокая. Концентрации азота в почве определялись по методу Шконде и Королевой [5] в начале эксперимента (до внесения удобрения) и в конце после четырехкратной подкормки. У всех трех групп отбирали образцы двухлетней хвой кедра сибирского и листьев березы до внесения и после каждого внесения удобрения в грунт. Содержание хлорофилла в листьях и хвое определяли с использованием спектрофотометра UV-1601PC. Для исследования лазерно-индуцированной флуоресценции саженцев березы и кедра использовался лидар, технические характеристики которого описаны в работе [6].

Обсуждение результатов

На рис.1 представлены результаты исследования содержания азота в почве в конце эксперимента. Как видно из рисунка, воздействие удобрения на общее содержание азота видоспецифично и зависит от количества вносимого удобрения.

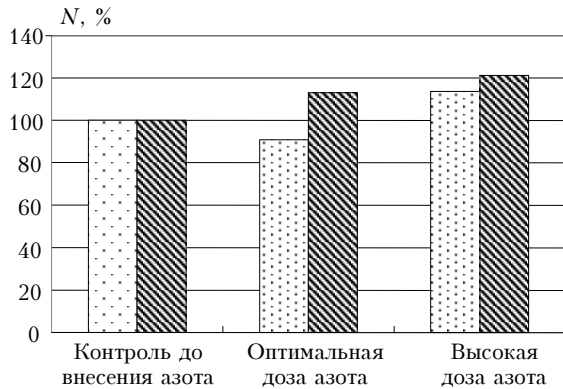


Рис. 1. Относительное содержание легкогидролизруемого азота в почве в конце эксперимента: □ – береза, ▨ – кедр

При внесении оптимальных доз удобрения содержание легкогидролизруемого азота у березы уменьшается и возрастает у кедр по сравнению со значениями контрольных измерений до внесения азота. Эти различия можно объяснить более активным потреблением почвенного азота березой. Следует обратить внимание на то, что высокие дозы удобрения увеличивают содержание легкогидролизруемого азота в почве и у березы, и у кедр.

На рис. 2 и 3 представлены результаты наблюдения флуоресцентных свойств растений, а именно отношения сигналов флуоресценции на $\lambda = 685$ нм к сигналу на $\lambda = 740$ нм. Как видно из рис. 2, для саженцев березы контрольной группы отношение сигналов ~ 3 . Слабая зависимость интенсивности сигналов от времени для этой группы является фрагментом сезонной изменчивости. Для второй и третьей групп характерны подъем сигналов в период с 7-го по 14-й день после первого внесения аммиачной селитры и асимптотическое сближение сигналов всех трех групп к уровню ~ 3 к концу эксперимента.

Для флуоресцентных свойств хвой установленна существенно иная зависимость (рис. 3). Контрольная группа кедров характеризуется высокой стабильностью

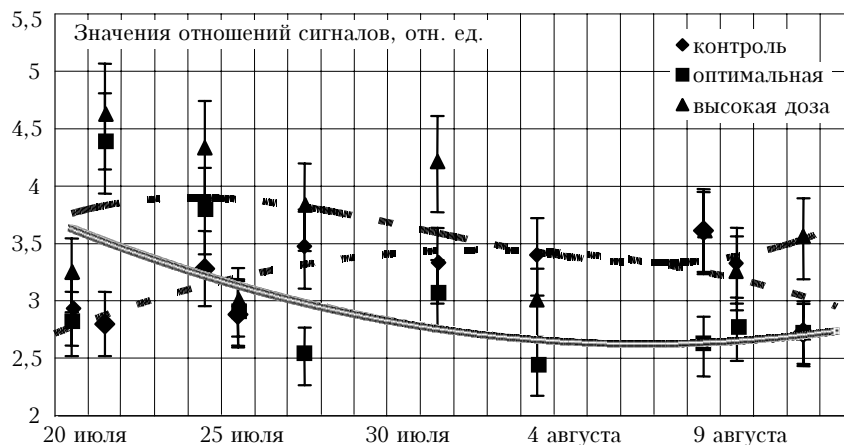


Рис. 2. Отношение сигналов флуоресценции на длинах волн 685 и 740 нм при внесении различных концентраций легкогидролизруемого азота в почву для саженцев березы

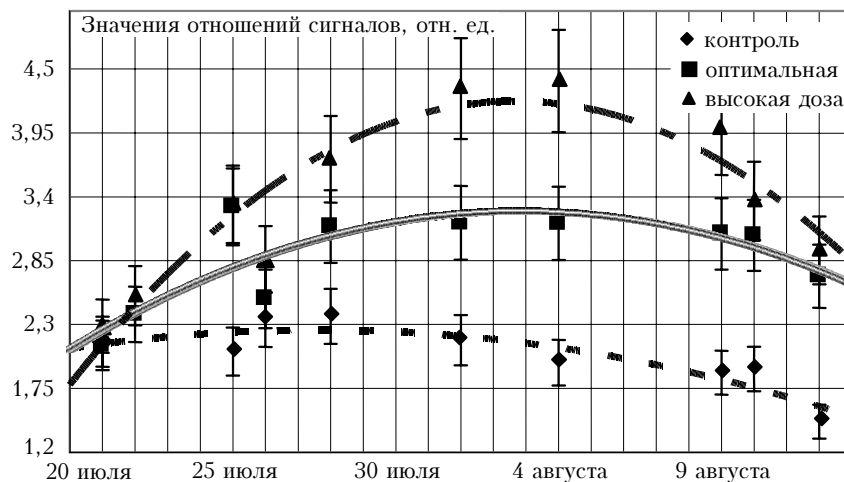


Рис. 3. Отношение сигналов флуоресценции хвой кедр на длинах волн 685 и 740 нм при внесении в почву различных концентраций легкогидролизруемого азота

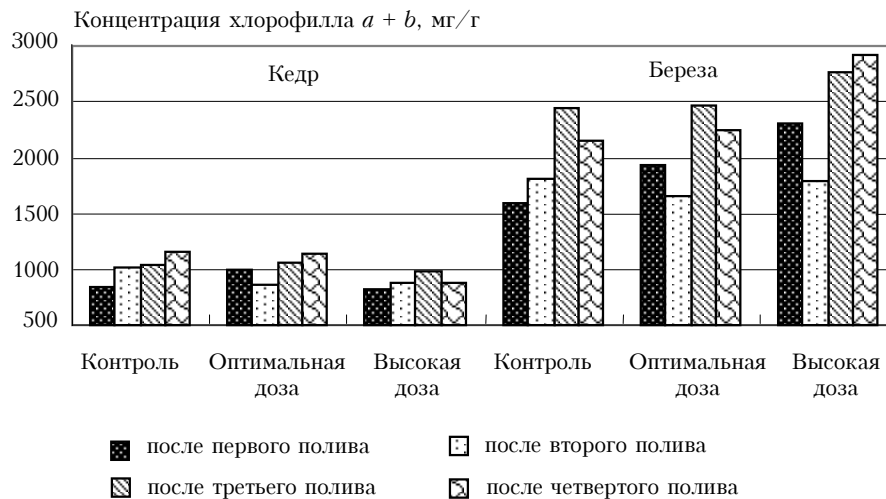


Рис. 4. Содержание хлорофиллов a и b в хвое кедра сибирского и листьях березы бородавчатой после внесения в почву различных концентраций аммиачной селитры

сигналов, в то время как для групп с оптимальной и высокой концентрацией азота в почве имеется контрастный максимум. Данный факт свидетельствует об устойчивости хвойных к изменению содержания легкогидролизуемого азота в почве и подтверждает гипотезу, что высокие дозы вносимого в почву удобрения могут блокировать активность ферментов, осуществляющих усвоение растениями аммонийного и нитратного азота [7].

Рассмотрим результаты фотометрического определения содержания хлорофиллов. На рис. 4 представлены результаты измерения концентрации хлорофиллов a и b для исследованных групп растений. Следует отметить, что на всех этапах эксперимента абсолютное содержание пигментов в хвое кедра сибирского по сравнению с березой было меньше в 2,5–3 раза.

Низкое содержание хлорофилла является общей чертой хвойных по сравнению с листопадными древесными растениями и поэтому сказывается на интенсивностях сигнала флуоресценции.

Содержание хлорофилла в хвое кедра сибирского при оптимальных дозах внесения удобрения резко увеличивается после первой подкормки и почти не отличается от концентрации хлорофилла контрольной группы при дальнейшем внесении удобрений. Такое устойчивое содержание пигментов в хвое связано с особенностями азотного метаболизма у хвойных. Избыточное азотное питание снижает содержание фотосинтетических пигментов в хвое кедра. Можно заключить, что высокие дозы аммиачной селитры, как уже отмечалось выше, ингибируют поглощение азота корнями кедра.

Совсем по-другому влияют азотные подкормки на пигментный фонд березы бородавчатой. Внесение оптимальных доз удобрения, как и у кедра, не вызывает значительных изменений в содержании фотосинтетических пигментов, однако уже на второй день проявляется в характеристиках ЛИФ. Во-первых, при отсутствии видимых признаков воздействия удобрений наблюдаются значительное увели-

чение отношения интенсивности сигналов флуоресценции $f = F(685)/F(740)$ для оптимальной и высокой концентрации азотсодержащих веществ в почве, свидетельствующее о начальных этапах отклонения от функциональной нормы, и снижение жизнеспособности растения (см. рис. 2). Далее с ростом воздействия удобрений происходит уменьшение сигнала флуоресценции, что связано с адапционными процессами у растений в ответ на стрессовые условия. Очевидно, что происходит регуляция первичных реакций фотосинтеза, имеющая целью снизить образование продуктов фотосинтеза в условиях, когда они не могут быть использованы растением полностью. Это проявляется в снижении концентраций хлорофилла для всех экспериментальных групп, кроме контрольной. При последующих поливах накапливаются азотные вещества в грунте, снижается интенсивность флуоресценции f и появляются первые видимые признаки повреждения в виде деградации листьев нижнего яруса.

Параллельно с записью интегральных по объему массы зеленого растения ЛИФ и проведением стандартных биохимических анализов определения концентрации пигментов контролировалось изменение в спектральных свойствах отдельных живых листьев. Наблюдения канта полосы поглощения хлорофиллов, как в спектрах поглощения, так и в спектрах отражения живых листьев, представляют интерес для дистанционного исследования растительных покровов методами лазерного зондирования. В частности, спектральная ширина канта невелика (~40 нм), что дает основание для разработки метода «поглощения-рассеяния» применительно к дистанционному зондированию хлорофиллов в живом листе и для использования этой технологии в дистанционных исследованиях.

Заключение

Таким образом, при оптимальных концентрациях легкогидролизуемого азота происходит резкое

увеличение содержания хлорофиллов в хвое кедр после первой подкормки. При дальнейшем внесении азотных удобрений содержание хлорофиллов уменьшается до значений контрольной группы растений. Учитывая способность кедр ограничивать поглощение азота корнями, можно объяснить изменение флуоресцентных характеристик только после второго полива.

У листьев березы накопление пигментов при высоком уровне снабжения корневой системы азотом больше, чем у контрольной группы. В варианте с березой не наблюдается снижение поглощения азота, проявляющегося у кедр сибирского, а отношение интенсивностей флуоресценции резко увеличивается уже после первого полива.

При проведении записей спектров поглощения и отражения ряда экспериментальных образцов с использованием спектрометра с фотометрическим шаром отмечено, что в спектрах поглощения и отражения у некоторых образцов листьев имелись провалы в области 680–740 нм глубиной до 30–40%.

1. Yoder B.J., Pettigrew-Crosby R.E. Predicting Nitrogen and Chlorophyll Concentrations from Reflectance Spectra (400–2500 nm) at Leaf and Canopy Scale // Remote Sens. Environ. 1995. V. 53. P. 199–211.
2. Андриенко О.С., Астафурова Т.П. и др. Алгоритм обработки спектров флуоресценции методами анализа изображений // Светокорелирующие пленки для сельского хозяйства. Томск: Изд-во «Спектр», 1998. С. 57–62.
3. Габукова В.В., Ивонис И.Ю. Экофизиология репродуктивных процессов у хвойных. Петрозаводск: КНЦ РАН, 1993. 176 с.
4. Гродзинский А.М., Гродзинский Д.М. Краткий справочник по физиологии растений. Киев: Наук. думка, 1973. 591 с.
5. Замятина В.Б. Методы определения азота в почве // Агрохимические методы исследования почв. М.: Наука, 1975. 656 с.
6. Fateyeva N.L., Matvienko G.G. Application of the method of laser-induced fluorescence // Proc. SPIE. 2003. V. 5232. P. 652–657.
7. Евстигнеева З.Г., Пушкин А.В. Глутаминсинтетаза, глутаматсинтетаза, аспарагинсинтетаза // Молекулярные механизмы усвоения азота растениями. М.: Наука, 1983. 198 с.

N.L. Fateyeva, A.V. Klimkin, O.V. Bender, A.P. Zotikova, M.S. Yamburov. Analysis of the laser-induced fluorescence in wood plants under different conditions of nitrogen pollution.

The investigations presented in this work are aimed at detection of LIF peculiarities of the cedar pine (*Pinus sibirica Du Tour*) and the warty birch (*Betula pendula Roth.*) at different concentrations of nitric acid derivatives (nitrogenated substances). Primary optical indications and time spans of visual sign occurrence at organic contamination surplus are also determined and presented. Nature experiments using LIF chlorophyll have been carried out, the results are presented. Along with remote methods of control, analysis of pigment content in the experimental specimens has been carried out.