

ДИСТАНЦИОННОЕ ЗОНДИРОВАНИЕ АТМОСФЕРЫ И ПОДСТИЛАЮЩЕЙ ПОВЕРХНОСТИ

УДК 557.355.581.144

**А.И. Гришин, Г.Г. Матвиенко, О.В. Харченко, В.И. Тимофеев, В.М. Клишкин, В.Г. Соколов,
Т.П. Астафурова, А.П. Зотикова**

ДИСТАНЦИОННАЯ ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА В РАСТЕНИЯХ МЕТОДОМ ИНДУЦИРОВАННОЙ ЛАЗЕРОМ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ

*Институт оптики атмосферы СО РАН, Томск
НИИ биологии и биофизики при Томском государственном университете
Томский филиал Института леса СО РАН
Институт биологической информации, Москва*

Поступила в редакцию 29.12.98 г.

Принята к печати 5.02.99 г.

Приводятся результаты исследований лазерно-индуцированной флуоресценции растений, находящихся в нормальных и стрессовых условиях. В лабораторных условиях проведен анализ флуоресцентных свойств ряда растительных структур при их облучении лазерным излучением Хе–С1-лазера с длиной волны $\lambda = 308$ нм. Показано, что имеется устойчивая количественная связь между регистрируемыми сигналами флуоресценции и содержанием хлорофилла. Представлены результаты дистанционных измерений флуоресценции различных деревьев в естественных условиях. Сделан вывод о возможности уверенно определять методами лидарного зондирования видовую принадлежность деревьев, а также состояние их листового или хвойного покрова.

Введение

Исследование пигментов хлоропластов растений, как главного структурно-функционального звена процесса фотосинтеза, является доминирующим среди многочисленных способов оценки состояния и повреждения биологических объектов. Однако работать с древесными растениями, обладающими крупными размерами, сложным морфологическим строением, весьма не просто. Поэтому в настоящее время наряду с традиционными методами исследования фотосинтетического аппарата актуален поиск новых методических приемов, обладающих значительным объемом информации и позволяющих достоверно судить о свойствах изучаемых организмов. Большую значимость приобретают люминесцентные методы, которые позволяют проводить неповреждающий контроль за изменениями, происходящими в клетке на мембранном и молекулярном уровнях [1]. Наиболее интересны дистанционные методы диагностики состояния растений, среди которых заметную роль играет лазерно-локационный способ зондирования.

Среди оптических методов, применяемых для исследования состояния фотосинтетического аппарата растений, следует выделить методы анализа флуоресценции хлорофилла под воздействием зондирующего лазерного пучка [1, 2]. При этом наибольшего эффекта можно достичь при комплексных исследованиях, сочетающих лабораторные и натурные измерения. В нашем случае лабораторные исследования обеспечивают изучение спектров флуоресценции в широком диапазоне (300–750 нм) для растений, находящихся в нормальных и стрессовых условиях, а также позволяют установить связь между сигналами флуоресценции и содержанием хлорофилла в образцах листьев некоторых растений. Натурные измерения дают возможность наблюдения за динамикой состояния фотосинтетического

аппарата древесных растений в естественных условиях. Для оценки этого состояния использовалась флуоресценция хлорофилла *a* на длине волны 685 нм.

Лабораторные исследования

В лабораторных условиях проводились исследования флуоресцентных свойств ряда растительных структур при их облучении Хе–С1-лазером с длиной волны $\lambda = 308$ нм. Выбор этого источника обусловлен возможностью получить наиболее полные спектры флуоресценции.

При исследовании флуоресцентных свойств кутикулы и мезофилла живого листа в качестве объектов исследования были взяты образцы листьев древесных пород (березы, осины, черемухи, рябины) во время весенне-летнего вегетационного периода. Образцы соответствовали среднему ярусу, возраст деревьев 10–30 лет. Временные интервалы от отторжения листа до получения его спектров флуоресценции находились в диапазоне 5 ÷ 30 мин. Лист отторгался в дневное время и в процессе всего эксперимента находился на свету. Поскольку люминесцентные показатели весьма чувствительны к изменению физиологического состояния растений, то в экспериментах кроме неповрежденных листьев использовали также рассеченную листовую пластинку.

На рис. 1 представлена запись спектров флуоресценции целого (1) и усеченного (2) участков листа березы. Из данного рисунка видно, что спектры флуоресценции имеют характерные максимумы на длинах волн 440, 685 и 740 нм. Эксперименты показали, что интенсивность флуоресценции рассеченной части листа березы в несколько раз выше, чем неповрежденной. Таким образом, полученные результаты подтверждают известный факт, что усиленный синтез флуоресцирующих соединений в клетках является

признаком повреждения или заболевания растения [3]. При нарушении оболочек эти соединения вытекают наружу [3].

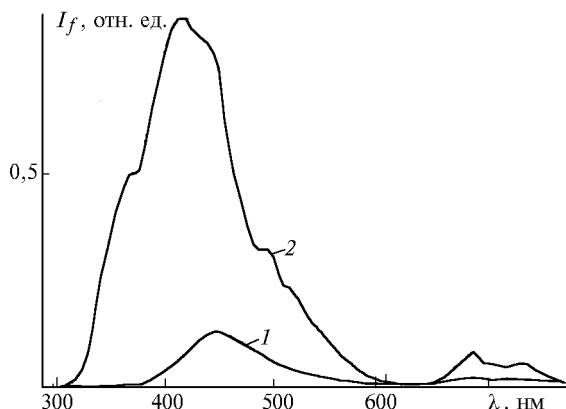


Рис. 1. Запись спектров флуоресценции целого (1) и усеченного (2) участков листа березы

В данной работе серьезное внимание уделялось также изучению взаимосвязи между интегральной интенсивностью полосы флуоресценции хлорофилла в живых растительных тканях и содержанием в них хлорофилла. С этой целью были исследованы спектры флуоресценции молекул хлорофилла листьев березы. Одновременно был проведен анализ содержания пигментов в образцах листьев стандартным спектрофотометрическим методом. На рис. 2 представлена зависимость между интегральной интенсивностью полосы флуоресценции и содержанием хлорофилла в исследуемых образцах. Из рисунка видно, что эта зависимость прямо пропорциональна.

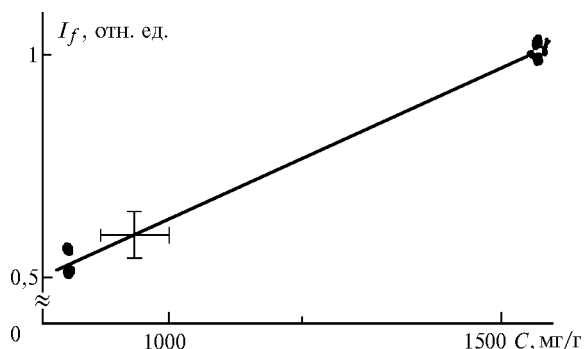


Рис. 2. Зависимость интегральной интенсивности в полосе флуоресценции хлорофилла от содержания хлорофилла. Вертикальный и горизонтальный отрезки дают доверительный интервал для вероятности 0,95

Максимальный флуоресцентный сигнал пропорционален содержанию хлорофилла в объекте при максимальном выходе флуоресценции. Это происходит тогда, когда нарушена цепочка передачи энергии световых квантов в энергетическую систему листа при воздействии на растение некоторых химических веществ, например диурона (гербицид), или лазерного луча [4–6]. В наших экспериментах растения подвергались облучению интенсивным (мощность 100 кВт/см²) лазерным источником.

Таким образом, лабораторные эксперименты, моделирующие дистанционное лазерное зондирование растительности, показали, что регистрируемые значения сигналов флуоресценции пропорциональны содержанию хлорофилла.

Натурные измерения

Для дистанционной оценки содержания хлорофилла в растениях в естественных условиях методом индуцированной лазером флуоресценции использовалось излучение второй гармоники YAG:Nd-лазера с длиной волны 532 нм. Выбор данного участка спектра обусловлен тем обстоятельством, что зеленое излучение слабее поглощается оболочками клеток и поэтому более информативно при определении содержания хлорофилла [7]. Импульсный характер зондирующего излучения и его интенсивность 1–3 кВт/см² обеспечивают анализ быстрой флуоресценции наносекундного диапазона [1] и одновременно дают возможность не выходить за рамки линейного взаимодействия оптического излучения с растительными структурами.

В натурной части эксперимента проводилось исследование интенсивности флуоресценции в диапазоне 685 нм, что в классической модели соответствует флуоресценции молекул хлорофилла *a* фотосистемы 2 (ФС2) в живом листе. Перспективность использования этого диапазона подтверждена рядом экспериментальных исследований [8, 9].

Натурные измерения проведены с использованием лидара, структурная схема, описание работы, исходные расчетные соотношения и анализ точности проводимых измерений которого приведены в [10]. Измеряемым в экспериментах параметром является величина *f*, равная отношению сигналов от растительности на длинах волн 685 и 532 нм. Как показано в [10], данная величина пропорциональна квантовому выходу флуоресценции и может характеризовать его с точностью до коэффициента пропорциональности.

Экспериментальные измерения проводились с августа 1996 по июнь 1997 г. с периодичностью 2 раза в неделю в вечернее и ночное время. В качестве объектов исследования были выбраны береза (*Betula verucosa* L.), осина (*Populus tremula* L.) и сосна обыкновенная (*Pinus silvestris*) в возрастном диапазоне 25–45 лет. Результаты измерений интенсивности флуоресценции показаны на рис. 3.

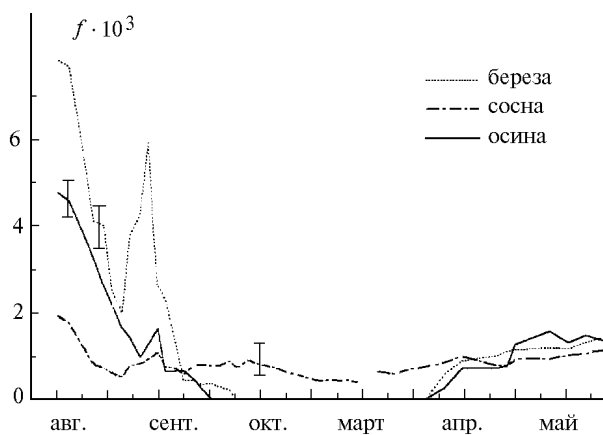


Рис. 3. Временной ход отношения *f* для трех видов деревьев. Вертикальные отрезки дают доверительный интервал для вероятности 0,95

Особенности флуоресценции хвойных и лиственных растений хорошо известны [7]. Они объясняются изменением содержания хлорофилла в растительных тканях и могут служить методической основой для дистанционного контроля концентрации хлорофилла в зеленых растениях.

Весь период наблюдений условно можно разделить на несколько интервалов: летне-осенний, зимний и весенний. Для летне-осеннего периода характерны наибольшие

значения квантового выхода флуоресценции для всех типов растений в начале временного интервала и плавное уменьшение в конце. Этот период интересен наличием второго максимума f для лиственных деревьев, который приходится на начало сентября. Небольшое увеличение интенсивности флуоресценции для хвойных деревьев в этот период находится в пределах доверительного интервала (вертикальные отрезки) для вероятности 0,95, поэтому не выделяется в качестве максимума.

Следует отметить, что период увеличения интенсивности флуоресценции лиственных деревьев совпадает по времени с появлением первых желтых листьев на этих деревьях. Полученная закономерность объясняется разрушением пигментов и хлорофилл-белковых комплексов мембран тилакоидов и, возможно, перераспределением энергии между пигментными системами ФС1 и ФС2 в период листопада и возрастанием роли ФС2, обеспечивающей флуоресценцию на длине волны 685 нм [9]. Проведенные в конце этого временного интервала дополнительные измерения показали, что флуоресценция желтых листьев березы и осины оказалась выше, чем зеленых.

Зимний период наблюдений характеризуется минимальной изменчивостью отношения f для хвойных деревьев. Во время весеннего периода наблюдается плавное увеличение квантового выхода флуоресценции всех видов деревьев, что имеет вполне естественное объяснение.

Абсолютные значения отношения f во всех периодах наблюдения проявляют конкретную видовую зависимость. Интенсивность флуоресценции березы превышает интенсивность флуоресценции других видов деревьев практически во всем периоде наблюдений, если исключить область листопада, когда флуоресценция лиственных деревьев становится слабее флуоресценции хвойных (сосна). Наименьшие значения отношения f принимает при зондировании сосны. Интенсивность флуоресценции осины занимает промежуточное значение между интенсивностями флуоресценции березы и сосны. Различия в интенсивности флуоресценции у различных видов обусловлены различным содержанием хлорофилла, а также различием путей распределения поглощенной энергии между хлорофилл-белковыми комплексами и реакционными центрами двух фотосистем.

Как показало зондирование различных мест кроны деревьев, интенсивность флуоресценции имеет некоторый разброс. Для лиственных деревьев этот разброс минимален в летне-осенний период и составляет 10–20%. Для сосны этот период характерен наибольшей изменчивостью отношения f по кроне, которая может достигать 30%. В другие периоды изменение интенсивности флуоресценции сосны по кроне уменьшается и не превышает 8%. Для лиственных деревьев осенний период сопровождается появлением желтых листьев, которые заметно отличаются по флуоресцентным свойствам от зеленых, вследствие чего неоднородность отношения f по кроне возрастает и составляет 35% у осины и 45–85% у березы.

Изменение интенсивности флуоресценции кроны можно объяснить разнородностью листьев в кроне дерева и полосе древостоя [11], которая тесно связана со световым режимом в месте произрастания листа. Адаптация листа к максимальному поглощению света осуществляется на уровне изменений электрон-транспортной цепи фотосинтеза, пигментов и других параметров.

Определенный интерес представляют исследования влияния фоновой освещенности на квантовый выход флуоресценции. На рис. 4 представлен временной ход f при раз-

личных условиях освещенности, а начало координат соответствует моменту захода солнца. Освещенность за время измерений изменялась приблизительно в 50 раз. Из представленных данных видно, что сразу после захода солнца интенсивность флуоресценции начинает медленно снижаться в течение 50–80 мин, а затем восстанавливается до прежнего уровня примерно с той же скоростью. Изменчивость f составляет 20–28% и выходит за рамки ошибок измерений. Следует отметить, что в рамках существующих моделей такое поведение f не находит объяснения.

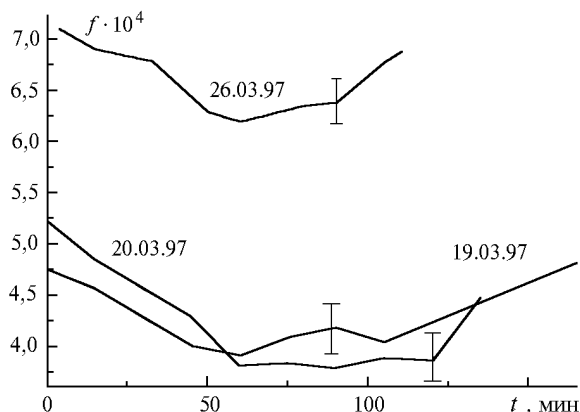


Рис. 4. Временной ход отношения f для сосны, соответствующий различным условиям освещенности

Выводы

1. Между интегральной интенсивностью полосы флуоресценции и содержанием хлорофилла в исследуемых образцах обнаружена прямо пропорциональная зависимость.
2. Методами лидарного зондирования можно уверенно определять видовую принадлежность деревьев, а также состояние их лиственного или хвойного покрова.
3. Наибольшим диапазоном изменчивости величины f обладают лиственные деревья.
4. Непосредственно перед листопадом, когда начинает желтеть листва, наблюдается увеличение отношения f для лиственных деревьев.

Следует отметить также, что данная методика может найти эффективное применение при зондировании природных ресурсов с борта летательного аппарата.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 96-04-49150).

1. Гаевский Н.А., Моргун В.Н. // Физиология растений. 1993. Т. 40. № 1. С. 136–145.
2. Нестеренко Т.В., Сидько Ф.Я. // Физиология растений. 1993. Т. 40. № 1. С. 10–15.
3. Конев С.В., Катибников М.А. Об особенностях биофлуоресценции растительных тканей // Биоломинесценция. М.: Наука, 1965. С. 69–74.
4. Голед В.М., Гаевский Н.А., Шатров И.Ю. и др. // Гидробиологический журнал. 1986. Т. 22. С. 80–85.
5. Zichtenhaler H.K., Buschman C., Rinderle U., Schmuck G. // Radiat. and Environ. Biophys. 1986. V. 25. P. 297–308.
6. Карапетян Н.В., Бухов Н.Г. // Физиология растений. 1986. Т. 33. С. 1013–1026.
7. Мокроносов А.Т. Онтогенетический аспект фотосинтеза. М.: Наука, 1981. 335 с.
8. Лукин Ю.Л., Агашев В.С., Берников А.Д. и др. // Оптика атмосферы. 1989. Т. 2. № 5. С. 506–512.

9. Saito Y., Hatake K., Nomura E. *et al.* // Selected papers of 18 ILRC, July, 1996. Berlin: Springer-Verlag. P. 475–478.

10. Гришин А.И., Матвиенко Г.Г., Харченко О.В., Тимофеев В.И. // Оптика атмосферы и океана. 1997. Т. 10. № 7. С. 475–478.
11. Рост и газообмен CO₂ у лесных деревьев. М.: Наука, 1993. 256 с.

A.I. Grishin, G.G. Matvienko, O.V. Kharchenko, V.I. Timofeev, V.M. Klimkin, V.G. Sokovikov, T.P. Astafurova, A.P. Zotikova.
Remote Estimation of Plant Photosynthetic Mechanism by Means of Laser Induced Fluorescence Method.

The results of investigations of laser induced fluorescence for plants in the normal and stress conditions are presented. The analysis of the plant fluorescent properties exposure to Xe–Cl-laser radiation of 308 nm wavelength is carried out. The stable quantitative bond between registered fluorescent signals and chlorophyll content is determined. The results of the fluorescence of different trees remote measuring in natural conditions are given. The conclusion about a possibility of confident determination of the trees species and their foliage or coniferous cover state is made.