

ДИСТАНЦИОННОЕ ЗОНДИРОВАНИЕ АТМОСФЕРЫ И ПОДСТИЛАЮЩЕЙ ПОВЕРХНОСТИ

УДК 528.044.6

Ю.Л. Лукин, В.С. Агишев, А.Д. Берников, О.С. Мергелян

ИССЛЕДОВАНИЕ СПЕКТРАЛЬНО-КИНЕТИЧЕСКОЙ ХАРАКТЕРИСТИКИ ИНДУЦИРОВАННОЙ ЛАЗЕРОМ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ РАСТЕНИЙ

Проведены лабораторные дистанционные исследования индуцированной гелий-неоновым лазером флуоресценции растений применительно к задачам распознавания их видовой принадлежности, онтогенетических изменений и оценки действия стресс-факторов.

Показано, что анализ спектрально-кинетических характеристик индуцированной лазером флуоресценции позволяет проводить раннюю прижизненную диагностику физиологического состояния растений.

В настоящее время в различных отраслях народного хозяйства все возрастающее значение приобретают неконтактные, объективные дистанционные методы исследования и контроля. Так, уже сегодня существуют реальные предпосылки использования лидарных систем для оценки физиологического состояния растений [1–3]. В основу этих предпосылок положены представления о фотосинтетическом аппарате зеленого листа как о динамической системе пигментов, улавливающих и утилизирующих электромагнитную энергию ультрафиолетового и видимого диапазонов длин волн.

Эффективность работы фотосинтетического аппарата определяется прежде всего эффективностью резонансной миграции энергии между пигментами, составляющими фотосинтетическую единицу. Изменение эффективности миграции энергии может быть обусловлено самыми разнообразными факторами: дефицитом питательных элементов, нарушением водного режима, инфицированием грибом, гербицидами, температурой, *pH* почвы и др.

Решающая роль эффективности резонансной миграции энергии означает, что каждый пигмент фотосинтетической единицы является потенциальным флуорофором, поэтому нарушение или естественная конформационная перестройка любого участка сопряженной пигментной цепи неизбежно приведет к изменению флуоресценции, энергетически соответствующей пигменту (или пигментной системе) участка, в котором произошла соответствующая трансформация. Поэтому вполне естественны попытки использовать флуоресцентный лидар для целей ранней прижизненной неинвазивной диагностики физиологического состояния растений.

Целью данного сообщения является оценка информационной значимости спектрально-кинетических характеристик индуцированной лазером флуоресценции (ИЛФ) растений в отношении видовой специфичности, возрастных изменений, а также влияния стрессовых воздействий — обработка дефолиантами и водный дефицит.

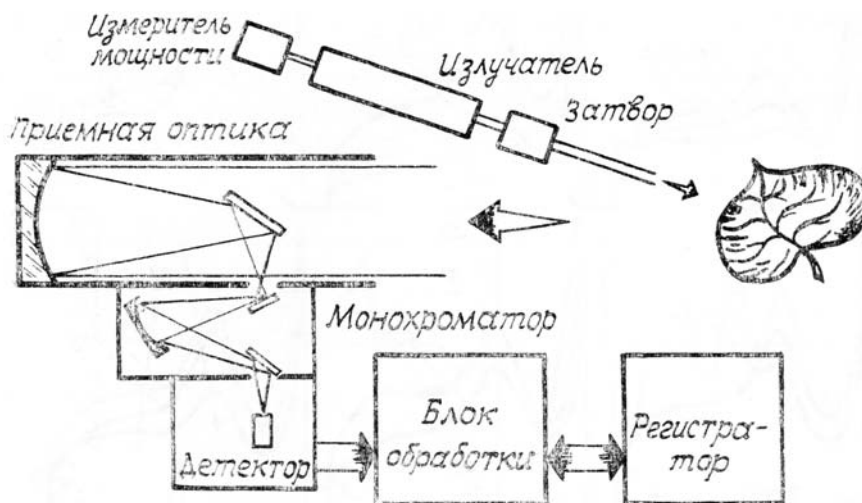


Рис. 1. Блок-схема установки для исследования ИЛФ растений

Структура лабораторного комплекса для исследования ИЛФ растений представлена на рис. 1. В качестве источника излучения использовали гелий-неоновый лазер ЛГ-52 (мощность излучения 8 мВт). Приемная оптическая часть состояла из телескопа (диаметр приемного зеркала 120 мм), а спектральная селекция сигнала ИЛФ осуществлялась решетчатым монохроматором МУМ, с выходной щели которого излучение поступало на ФЭУ-79. Скорость развертки по спектру составляла 1 нм/с. Все измерения проводились на расстоянии 4-х метров от листовой поверхности до приемного зеркала в условиях полного лабораторного освещения.

Специфической особенностью флуоресценции растений является ее временная зависимость, обусловленная наличием динамической системы световых и темновых стадий фотосинтеза. Поэтому спектральные и кинетические исследования ИЛФ представляют собой два взаимно дополняющих функционально-информационных массива данных.

Запись кинетики ИЛФ проводилась в течение двух минут после начала облучения (за это время кинетическая кривая ИЛФ выходила на практически стационарный участок) на длинах волн 685 и 725 нм, которые соответствуют областям максимумов эмиссии фотосистем 2 и 1 (ФС 2 и ФС 1).

Формализация кинетических кривых ИЛФ осуществлялась вычислением коэффициентов τ и n аппроксимирующей функции вида

$$I_{\text{фл}} = \exp\left(-\frac{t}{\tau}\right)^n.$$

С целью избежания кинетических искажений спектры ИЛФ записывались спустя 3 мин после начала облучения.

Для выявления тонкой структуры спектров ИЛФ применяли метод дифференцирования, а выбор информационно значимых спектральных участков ИЛФ производили методами корреляционного анализа.

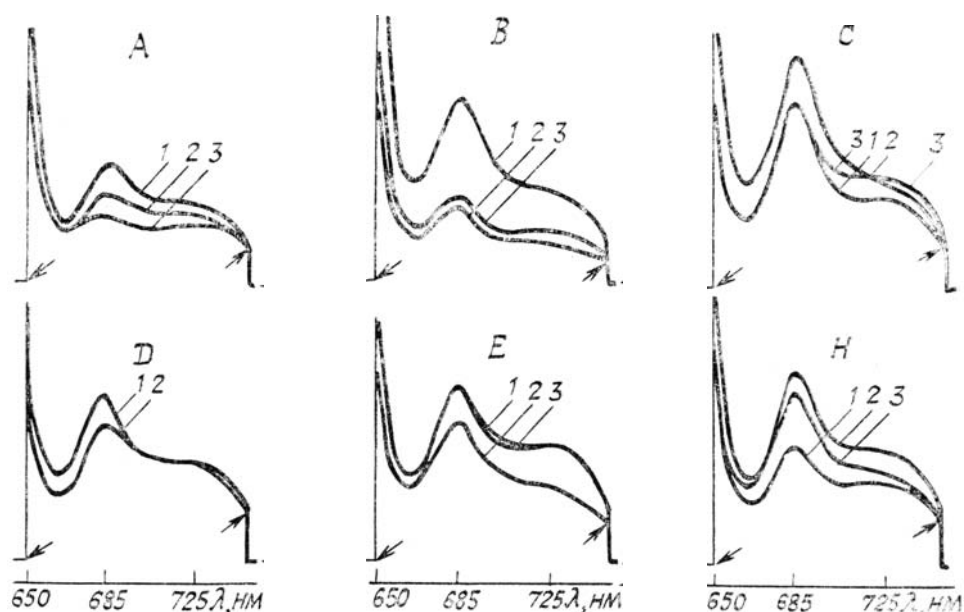


Рис. 2. Спектры ИЛФ различных видов растений. (А) Отдел голосеменных: 1 – можжевельник, 2 – арча, 3 – сосна; (В–Н) отдел покрытосеменные: (В) класс однодольные: 1 – пальма, 2 – чий, 3 – щетинник; (С–Н) класс двудольные: (С) 1 – пыльня, 2 – одуванчик, 3 – пион; (Д) порядок бобовоцветные: 1 – люцерна, 2 – акация; (Е) порядок розоцветные: 1 – слива, 2 – ежевика, 3 – айва; (Н) порядок мальвоцветные: 1 – хлопок, 2 – гибискус, 3 – мальва

На рис. 2 представлены спектры ИЛФ листьев двух отделов высших растений: голосеменные (А) и покрытосеменные (В–Н). Отдел покрытосеменных растений представлен двумя классами – однодольные (В) и двудольные (С–Н) различных порядков.

Проведенный корреляционный анализ позволил установить, что, при использовании гелий-неонового лазера информативными в отношении видовой специфичности высших растений являются участки спектра ИЛФ в районе 650, 685 и 715–740 нм, причем флуоресценция двух последних участков обычно трактуется как эмиссия из ФС 2 и ФС 1 соответственно [3, 4].

Сигналы, регистрируемые в области 650 нм, характеризуются, во-первых, максимальными видовыми различиями, а во-вторых, практическим отсутствием кинетических изменений. К тому же при увеличении угла падения возбуждающего излучения интенсивность сигнала в области 650 нм падает

значительно быстрее, чем в областях испускания ФС 1 и ФС 2, где происходит их симбатное падение с сохранением соотношения между интенсивностями в максимумах. Поэтому можно предполагать, что информативность принимаемого сигнала в области 650 нм обусловлена морфологическими особенностями отражающей поверхности листовой пластинки.

Среди всех исследованных представителей высших растений наименьшая интенсивность сигналов ИЛФ в областях эмиссии ФС 2 и ФС 1 характерна для голосеменных (А), а наибольшая — для однодольных (В) (во всех случаях чувствительность регистрирующей системы была постоянна, исключение составляют спектральные данные на рис. 2, В, записанные при уменьшении ее вдвое).

Для исследованных представителей отдела голосеменных характерно относительное постоянство отношения интенсивностей флуоресценции $ФС\ 2_{(макс)}/ФС\ 1_{(макс)}$, тогда как для представителей отдела покрытосеменных характерна широкая изменчивость этого показателя.

Значительно вариабельна (2–3 нм) длина волны, при которой наблюдается максимум флуоресценции ФС 2, причем наиболее длинноволновое положение максимума флуоресценции ФС 2 характерно для голосеменных, а наиболее коротковолновое для класса однодольных.

Проведением исследований кинетических характеристик ИЛФ в области эмиссии ФС 2 и ФС 1 установлено отсутствие каких-либо характеристик видовых различий.

Использование в качестве излучателя гелий-неонового лазера ограничивает исследования наблюдением флуоресценции только тетрапиррольных пигментов. Поэтому считаем целесообразным для распознавания видовой принадлежности растительности использование более коротковолнового излучателя, позволяющего исследовать области флуоресценции и других пигментов (каротиноидов, хинонов, флавоноидов), качественный и количественный состав которых более видоспецифичен [5, 6].

С целью изучения возрастных изменений исследовалась ИЛФ первого настоящего листа хлопчатника в течение трех недель после его появления. Анализ производных спектрального контура ИЛФ (рис. 3) показал, что по мере развития листа происходит увеличение степени структурированности в области 715–740 нм, причем это увеличение совпадает с моментом максимального снижения параметров кинетической кривой ИЛФ (таблица). Наблюдаемые изменения, по-видимому, обусловлены функциональным становлением пигментного комплекса ФС 1, происходящим после формирования ФС 2.

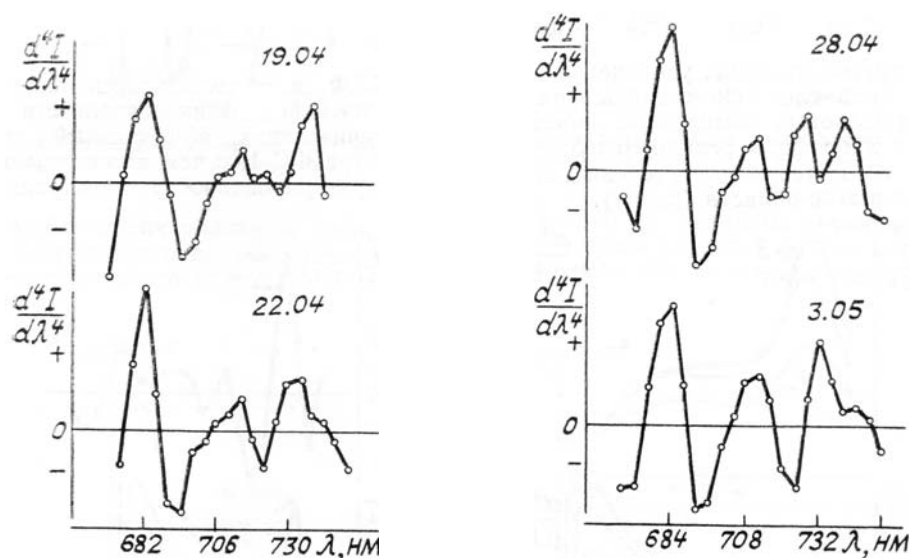


Рис. 3. Производные спектрального контура ИЛФ листьев хлопчатника разного возраста

В то же время по мере развития листа отмечается сдвиг основного максимума ИЛФ с 682 до 685 нм, что, видимо, отражает конформационные перестройки в гетерогенном пигментном комплексе ФС 2, направленные на согласованное функционирование фотосистем в процессе онтогенеза.

Оценка эффективности обработки сельскохозяйственных посевов дефолиантами, производимая по визуальным признакам, может быть осуществлена спустя 3–5 суток после опрыскивания, тогда как применение метода ИЛФ позволяет сократить этот срок до нескольких часов.

На рис. 4 показаны спектральные изменения ИЛФ листьев хлопчатника спустя два часа после обработки дефолиантами (дрош, бутифос).

Установлено, что обработка дефолиантами приводит к достоверному увеличению отношения интенсивностей флуоресценции $ФС\ 2_{(макс)}/ФС\ 1_{(макс)}$, равного 2,29 и 2,34 для бутифоса и дроша соответственно, против 1,93 в контроле. Это увеличение, с одной стороны, в большей мере обусловлено изменениями эмиссии в области основного флуоресцентного максимума, что, по-видимому, объясняется большей степенью нарушения фотосинтетического аппарата на стороне ФС 2 в результате блокирования электронно-транспортной цепи при действии дефолиантов [7], а также уменьшением эффективности реабсорбции светособирающими комплексами ФС 1.

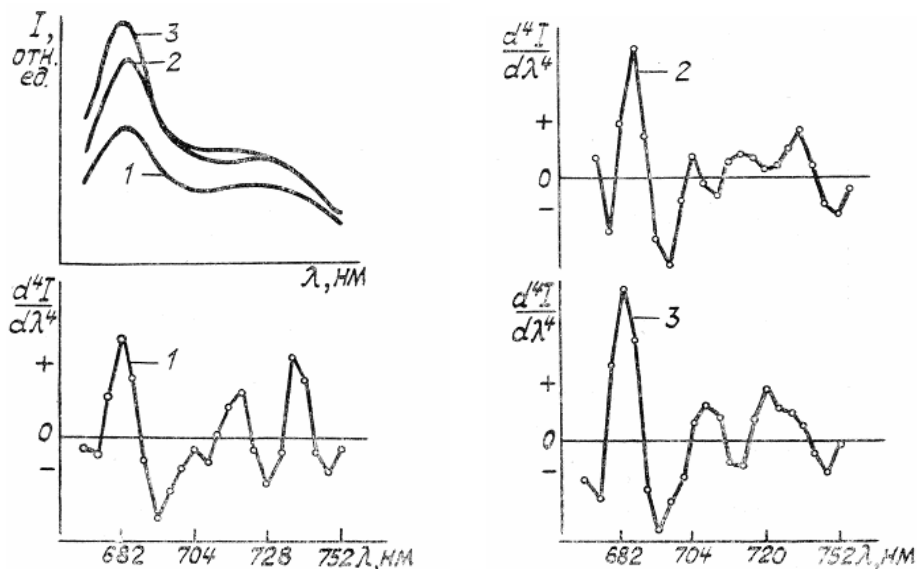


Рис. 4. Влияние обработки дефолиантами на спектры ИЛФ листьев хлопчатника и их производные. 1 — листья контрольных растений; 2 — листья растений, обработанных бутифосом (0,001 моль/л), 3 — дроппом (концентрация та же)

Таблица

t , час	Коэффициенты кинетических кривых ИЛФ						
	Водный стресс				Возрастные изменения		
	$\lambda=685$ нм		$\lambda=725$ нм		дата	$\lambda=685$ нм	
	τ	n	τ	n		τ	n
0	132	0,50	186	0,55	19.04.1988	83	0,86
24	168	0,45	215	0,58	22.04.1988	83	0,66
48	111	0,92	130	1,09	28.04.1988	70	0,72
72	238	0,92	283	0,98	03.05.1988	87	0,89
96	15381	0,51	739	0,76	—	—	—

С другой стороны, увеличение ИЛФ в области испускания ФС 1 может быть следствием нарушения нативной взаимосвязанности хлорофилл-белковых комплексов, обеспечивающих эффективный сбор на хлорофилл реакционного центра ФС 1, о чем косвенно можно судить по изменениям степени структурированности спектрального контура в этой области (рис. 4).

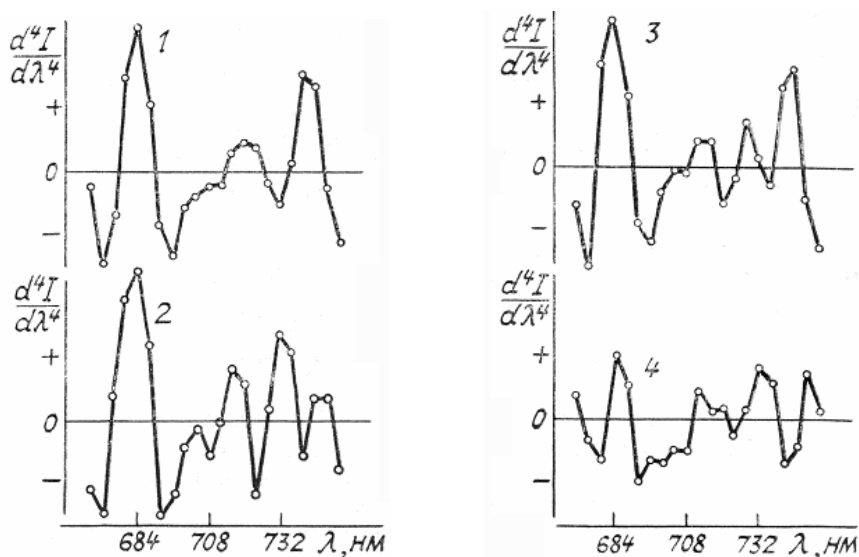


Рис. 5. Производные спектрального контура ИЛФ листьев хлопчатника при водном стрессе: 1 — листья контрольных растений; 2, 3, 4 — листья растений без полива соответственно 48, 72 и 96 часов

Водный стресс создавался прекращением полива хлопчатника, выращиваемого в теплице. Исследовали ИЛФ неотчлененных листьев растений с периодичностью 24 часа.

Установлено, что по мере развития водного стресса основные спектральные изменения происходят в области эмиссии ФС 1 (рис. 5). Причем изменения, происходящие в листе в первые 72 часа, не имеют визуальных признаков увядания, а их состояние полностью обратимо после возобновления полива, и лишь только на четвертые сутки появляются визуальные признаки увядания с одновременной резкой деградацией спектрального контура ИЛФ во всем исследованном диапазоне длин волн.

Наиболее отчетливо отдельные стадии реакции растения на прекращение полива проявляются в изменении характера кинетических кривых ИЛФ как ФС 1, так и ФС 2 (рис. 6, табл. 1). По мере обезвоживания для всех обратимых стадий характерно спрямление первоначально экспоненциальных кинетических кривых. С наступлением же видимых признаков засухи ИЛФ полностью утрачивает кинетический характер.

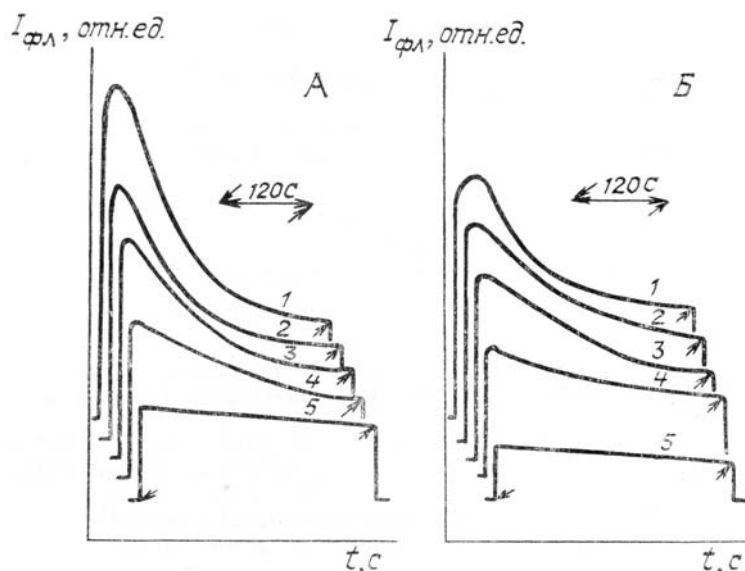


Рис. 6. Кинетические кривые ИЛФ ФС 1 (Б) и ФС 2 (А) листьев хлопчатника при водном стрессе: 1 — листья контрольных растений; 2, 3, 4, 5 — листья растений без полива соответственно 24, 48, 72 и 96 часов

Однако у хлопчатника при развитии засухи отчетливо прослеживаются три стадии структурированности спектрального контура ИЛФ ФС 1 (рис. 5). Первая (0–48 часов) стадия — увеличение структурированности, носящее, по нашему мнению, компенсаторно-приспособительный характер в ответ на стрессовое воздействие. Подтверждением этому является резкое изменение характеристических коэффициентов кинетики ИЛФ (таблица). Вторая (48–72 часа) стадия — стадия начальной деструктурированности, отражающая, по-видимому, истощение защитных возможностей растения. И наконец, третья стадия — прогрессирующая деградация функционально необходимых динамических взаимодействий хлорофилловых агрегатов, составляющих фотосинтетическую единицу ФС 1, происходящая на фоне проявления видимых признаков увядания и практического отсутствия какой-либо кинетики ИЛФ.

Таким образом, приведенный выше экспериментальный материал показывает принципиальную возможность использования метода ИЛФ как для целей дистанционного распознавания видовой принадлежности растительности, так и для дистанционной прижизненной диагностики физиологического состояния растений в изменяющихся условиях внешней среды.

1. Kim H. H., Brown K. S. //IGARSS'86 : Remote Sens. Today's Solnt. Tomorrow's Inf Needs. Proc. Symp. Zurich, 8–11 Sept., 1986. Paris, 1986. V. 3. P. 1599–1601.
2. Chappelle E. W., Williams D. L. //IGARSS'86 : Remote Sens. Today's Solut. Tomorrow's Inf Needs. Proc. Symp. Zurich, 8–11 Sept. 1986. Paris, 1986, V. 3. P. 1591–1598.
3. Lichtenthaler H. K., Buchman C., Rinderle U., Schmuck G. //Radiation and Environmental Biophysics. 1986. V. 25. P. 297–308.
4. Butler W. L. //Encyclopedia of Plant Physiology. Berlin—Heidelberg—New York: Springer-Verlag. 1977. V. 5. P. 149–167.
5. Goodwin T. //Encyclopedia of Plant Physiology. Berlin—Heidelberg—New York: Springer-Verlag. 1980. V. 8. P. 257–287.
6. Бриттон Г. Биохимия природных пигментов. М.: Мир, 1986. 422 с.
7. Федтке К. Биохимия и физиология действия гербицидов. М.: Агропромиздат, 1985. 222 с.

Отраслевая лаборатория «Волновые процессы»
Институт общей физики АН СССР, Андижан
Институт физиологии АН УзССР, Ташкент

Поступила в редакцию
1 августа 1988 г.

Yu.L. Lukin, V.S. Agishev, A.D. Bernikov, O.S. Mergelyan. **Analysis of Spectral-Kinetic Characteristics of the Laser-Induced Fluorescence in Plants.**

He-Neon laser remote fluorescence control of plants to identify their species relativeness, ontogenetic changes and evaluation of stress factors action were carried out.

It was shown that the analysis of spectra-kinetic characteristics of laser-induced fluorescence allows to carry early life diagnosis of plant physiological state.