

ДИСТАНЦИОННОЕ ЗОНДИРОВАНИЕ АТМОСФЕРЫ И ПОДСТИЛАЮЩЕЙ ПОВЕРХНОСТИ

УДК 557.355.581.144

А.И. Гришин, Г.Г. Матвиенко, О.В. Харченко, В.И. Тимофеев

ИССЛЕДОВАНИЕ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ РАСТЕНИЙ ПРИ ВОЗБУЖДЕНИИ ИЗЛУЧЕНИЕМ ВТОРОЙ ГАРМОНИКИ YAG: Nd-ЛАЗЕРА

Проведены экспериментальные исследования флуоресценции крон деревьев (в красной области спектра), индуцированной лазерным излучением 0,53 мкм в летне-осенний период. Обнаружена и изучена видовая зависимость квантового выхода флуоресценции хлорофилла *a*. Сезонный ход интенсивности флуоресценции имеет тенденцию к полному затуханию для лиственных пород деревьев и незначительным изменениям у хвойных пород. Показаны перспективы применения метода флуоресценции для дистанционной видовой селекции растительных тканей и определения содержания хлорофилла.

Лазерные методы зондирования, позволяющие проводить дистанционные бесконтактные измерения, находят все более широкое применение в различных областях науки. В частности, определенные возможности имеют лазерно-локационные системы (лидары) для определения физиологического состояния растений в естественных, а не в лабораторных условиях [1]. Среди физических методов, привлекательных с точки зрения слежения за физиологическими функциями растений и пригодных для реализации в лидарах, следует выделить методы анализа флуоресценции растительных тканей [2] под воздействием зондирующего лазерного пучка. Так, флуоресценция хлорофилла широко используется для исследования состояния фотосинтетического аппарата растений. В классической модели принято считать, что у зеленых растений в нормальных условиях в результате реализации одного из путей дезактивации энергии возбужденных молекул хлорофилла *a* возникает флуоресценция с максимумом испускания при 685 нм.

Нами проведено исследование интенсивности флуоресценции в диапазоне 685 нм некоторых растений в естественных условиях, возбуждаемой излучением второй гармоники лазера на кристалле YAG: Nd с длиной волны 532 нм. Особенностью данных исследований является использование зеленого излучения в качестве зондирующего, которое в меньшей степени поглощается оболочками клеток и более информативно при определении содержания хлорофилла [4]. Применение импульсного (длительность 10–15 нс) зондирующего излучения с интенсивностью 1–3 кВт/см² обеспечивает анализ наиболее интенсивной быстрой флуоресценции наносекундного диапазона [2].

Описание измерений

Экспериментальные исследования проведены на лидаре с двумя приемными телескопами, один из которых настроен на детектирование сигналов в области флуоресценции 685 нм. Структурная схема лидара представлена на рис. 1.

Лазер 1 генерирует световые импульсы на длине волны 1,064 мкм, далее излучение преобразуется во вторую гармонику и направляется на исследуемый объект 7. При взаимодействии с листьями световой пучок частично рассеивается без изменения длины волны, а часть падающей световой энергии поглощается и преобразуется в излучение флуоресценции в Stokesовой области с максимумом на длине волны 0,685 мкм. Часть преобразованного и рассеянного излучения регистрируется приемными оптическими системами 2 и 3 соответственно, в которых за счет полосовых оптических фильтров осуществляется спектральная селекция принимаемого излучения.

В связи с тем что уровни принимаемого излучения для разных длин волн существенно различны, в приемном оптическом тракте для $\lambda = 0,53$ мкм дополнительно установлены нейтральные светофильтры, обеспечивающие выравнивание амплитуд сигналов на выходе. Далее сигналы направляются на вход 8-битового аналого-цифрового преобразователя (АЦП) 5,

имеющего частоту дискретизации 20 МГц и запускаемого с выхода оптического датчика, установленного на лазере. Так как длительность принимаемых сигналов равна примерно 30 нс, то спектр отраженного импульса занимает полосу порядка 30 МГц.

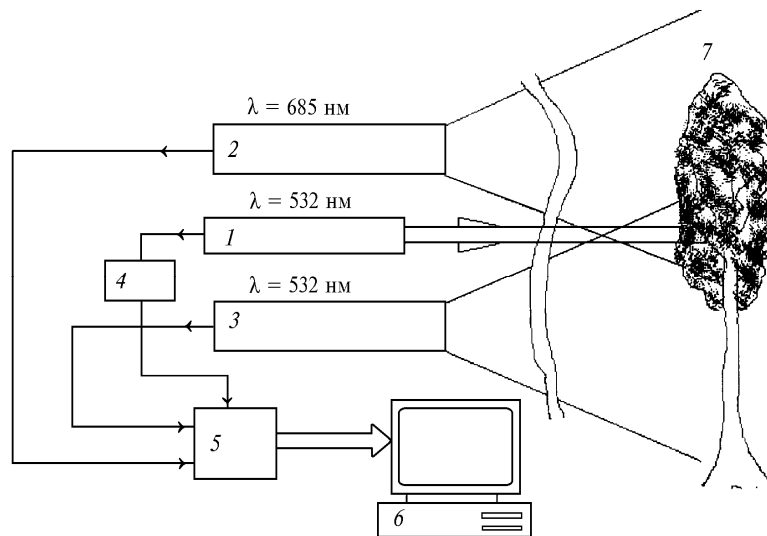


Рис.1. Схема лидарных измерений флуоресценции растений в естественных условиях

Возможность применения АЦП с частотой дискретизации 20 МГц обусловлена включением в состав установки регулируемой задержки 4, которая позволяет смещать время запуска АЦП относительно момента излучения импульса и таким образом устанавливать время съема информации на момент, соответствующий максимумам экосигналов. С выхода АЦП цифровой код сигналов направляется в ЭВМ 6 типа IBM PC-AT/286, которая осуществляет регистрацию, первичную статистическую обработку информации и запись ее на диск. Основные параметры лидара указаны ниже.

Энергия импульсов лазера, мДж	10–20
Длительность импульсов излучения, нс	10–15
Расходимость пучка излучения, мрад	6
Диаметр приемных телескопов, см.	15
Угол поля визирования, мрад	9
Полуширина полосы пропускания фильтра в области 685 нм, нм.	50
Разрядность АЦП, бит	8
Частота дискретизации, МГц	20

Регистрируемые в приемном тракте значения лидарных сигналов описываются известным уравнением лазерной локации [5], которое для флуоресцентного канала можно представить в следующем виде:

$$F(685) = F_0(532) \frac{532}{685} \frac{1 - A(532)}{4\pi} \frac{S}{L^2} \varphi T(532) T(685), \quad (1)$$

где F_0 – пиковая мощность лазерного импульса; A – альбеда; S – площадь приемного объектива; L – расстояние; T – прозрачность слоя атмосферы между лидаром и исследуемым растением на соответствующей длине волны; φ – квантовый выход флуоресценции. Здесь принято, что тело яркости флуоресценции имеет равномерную сферическую форму и, кроме того, весь лазерный пучок перекрыт растительным покровом не только по сечению, но и в глубину в пределах полушины зондирующего лазерного импульса.

Излучение, детектируемое лидаром на зондирующей длине волны, описывается следующим выражением:

$$F(532) = F_0(532) (S/L^2) T^2(532) d(532), \quad (2)$$

где d – коэффициент отражения (коэффициент яркости [6]).

Коэффициент отражения d и альбеда A связаны между собой как величины, характеризующие рассеяние в одном направлении (в данном случае назад) и рассеяние во всех направ-

лениях. В общем случае эта связь может быть достаточно сложной (например, облачные покровы и водные поверхности). Но для отдельных моделей поверхности связь A и d получает конкретную форму. В частности, растительные покровы в условиях широких оптических пучков удовлетворительно описываются ламбертовской моделью [7–9]. С учетом этого приближения (2) принимает вид

$$F(532) = F_0(532) (S/L^2) T^2(532) \frac{A(532)}{2\pi}. \quad (3)$$

Рассмотрим отношение мощностей лазерных сигналов (1) и (3):

$$\frac{F(685)}{F(532)} = \frac{1}{2} \frac{1 - A(532)}{A(532)} \Phi \frac{532}{685}$$

или

$$f = \frac{F(685)}{F(532)} = 0,39 \frac{1 - A}{A} \frac{T(685)}{T(532)} \Phi. \quad (4)$$

Анализируя последнее выражение, можно отметить, что мощность флуоресценции f прямо пропорциональна квантовому выходу флуоресценции. Обычно альbedo древесной растительности в области 532 нм лежит в пределах 0,1–0,2 [7–10], что приводит к диапазону $(1-A)/A$ 4 ÷ 9. Прозрачности на длинах волн 685 и 532 нм и на небольших (несколько сотен метров) дальностях близки, поэтому $T(685)/T(532) \sim 1$. С учетом сделанных допущений величина f в первом приближении характеризует квантовый выход флуоресценции при возбуждении лазером с $\lambda = 532$ нм с коэффициентом, лежащим в пределах 1,5–3,5. В зависимости от конкретного значения A связь f с Φ приобретает точные фиксированные значения.

Учитывая, что регистрация сигнала флуоресценции осуществляется с применением полосового оптического фильтра, следует иметь в виду, что получаемые при этом данные относятся не к узкому спектральному интервалу, а к полосе шириной 50 нм с центром на длине волны 685 нм. Если обратиться к типичным спектрам флуоресценции растительных тканей [1], можно утверждать, что такая полоса фильтра выделяет около 30–60% (в зависимости от видовой принадлежности) энергии флуоресценции хлорофилла a . Измеряемой в экспериментах величиной было отношение f , характеризующее мощность флуоресценции в области длины волны 685 нм согласно (4).

Из наиболее существенных факторов, влияющих на точность измерения флуоресцентных характеристик растений, можно выделить дробовые и фоновые шумы, ошибки квантования АЦП и систематическую ошибку, обусловленную неточным знанием параметров оптических ослабителей в канале 532 нм.

Суммарную погрешность единичного измерения величины f можно записать в следующем виде:

$$\delta F = \sqrt{\delta D^2 + \delta K^2 + \delta P^2},$$

где δD – погрешность, обусловленная совместным воздействием дробовых и фоновых шумов; δK – ошибка квантования АЦП; δP – погрешность определения оптических характеристик фильтров. При этом следует учесть, что величины δD и δK носят случайный характер, а δP – систематический. Измерения проводились в темное время суток, когда уровень фоновых шумов был очень мал и им можно пренебречь. Объекты зондирования находились на расстояниях порядка 50–100 м, поэтому сигналы флуоресценции имели значительную амплитуду и относительный уровень дробовых шумов составлял не более 3–5%. Ошибка квантования обычно определяется дискретными уровнями одного или двух младших разрядов и при восьмиразрядном АЦП не превышает 1%. Оптические характеристики светофильтров определялись на основе сравнительных измерений, которые сопоставлялись с паспортными данными.

Анализ показал, что коэффициенты пропускания светофильтров могут быть определены с предельной погрешностью не более 4%. Считая, что случайные ошибки при определении среднего значения величины F распределены по закону Стьюдента, и учитывая, что во время эксперимента по каждому из типов деревьев проводилось не менее 300 измерений, находим, что случайная погрешность в цикле измерений не превышала 2%. Таким образом, суммарная

погрешность цикла измерений не превышала 6% для среднего значения $F(532)$ и 2% для $F(685)$ или 8% для средней величины отношения f .

При интерпретации измерений следует учитывать возможный разброс значений f , обусловленный такими явлениями, как аномалии влажности, сторонние засветки, неоднородность распределения хлорофилла и флуоресценции по кроне растений, окружающая температура, давление и др. Особенности распределения f по кроне исследованных деревьев анализируются ниже. Количественный вклад других факторов в настоящее время оценить не удастся.

Экспериментальные измерения проводились в течение августа – сентября 1996 г. с периодичностью 2 раза в неделю в вечернее и ночное время. Это позволило исследовать флуоресцентные характеристики растений за время, когда цвет кроны изменялся от зеленого в августе до желтого в сентябре, и далее, когда с лиственных деревьев облетали листья. 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 экспериментов

Результаты двухмесячных измерений интенсивности флуоресценции показаны на рис. 2. Из рисунка видно, что для всех видов растений (лиственных и хвойных) характерно уменьшение величины отношения f по мере приближения к осеннему и зимнему сезонам. Причем наибольший диапазон изменчивости наблюдается у лиственных деревьев. Для березы и осины изменение f за этот период составило 20–25 раз, в то время как величина f для сосны изменилась всего в 4 раза. При этом если для лиственных деревьев наименьшие значения интенсивности флуоресценции наблюдаются в конце сентября, то для хвойных (сосна) – приблизительно 20–30 августа. Отмеченные особенности флуоресценции хвойных и лиственных растений хорошо известны [4], объясняются изменением содержания хлорофилла в растительных тканях и могут служить методической основой для дистанционного контроля концентрации хлорофилла в зеленых растениях.

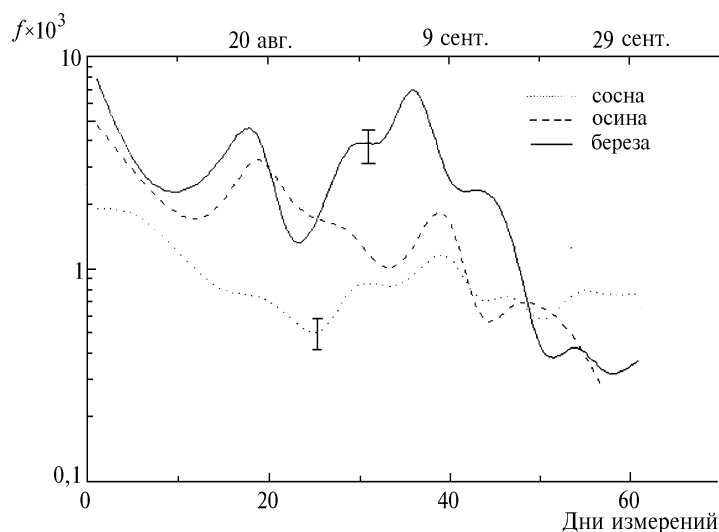


Рис. 2. Временной ход отношения f для трех видов деревьев – сосна, осина, береза. Вертикальные отрезки дают доверительный интервал для вероятности 0,95

Весь период наблюдений условно можно разделить, на три интервала: «летний» (с 1 по 30 августа), «переходный» (с 30 августа по 10 сентября) и «осенний» (с 10 по 30 сентября), каждый из которых характеризуется своим поведением величины f . Для «летнего» 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 величины f для лиственных деревьев, который приходится на 15–20 августа, и отсутствием такового для хвойных деревьев. В «переходном» периоде также имеется область увеличения флуоресцентных характеристик, причем максимумы для березы и осины совпадают по времени с появлением первых желтых листьев на этих деревьях. Проведенные в этот период дополнительные измерения показали, что флуоресценция на желтых листьях для березы и осины оказа-

лась даже выше, чем на зеленых. «Осенний» период характерен потерей хлорофилла и листопадом, что проявляется в резком уменьшении флуоресцентных характеристик для лиственных деревьев и относительном постоянстве этих показателей у хвойных пород.

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 принимают при зондировании сосны. Интенсивность флуоресценции осины занимает промежуточное значение между березой и сосной.

Говоря об идентичности циклов хлорофилла и фотосистемы в целом, можно отметить, что наряду с общим уменьшением интенсивности флуоресценции к осени на кривых измерений имеются локальные особенности (максимумы и минимумы), которые повторяются у лиственных деревьев (максимумы в районе 20 августа и 5–10 сентября).

Как показало зондирование различных мест крон деревьев, интенсивность флуоресценции имеет некоторый разброс. Для лиственных деревьев этот разброс величины f минимален в «летний» период и составляет 10–20%. Для сосны этот период характерен наибольшей изменчивостью отношения f по кроне, которая может достигать 30%. В «переходный» и «осенний» периоды изменение интенсивности флуоресценции сосны по кроне уменьшается и не превышает 8%. Для лиственных деревьев «переходный» и «осенний» периоды сопровождаются 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.

В целом эксперимент показал следующее:

1. Методами лидарного зондирования можно уверенно определять видовую принадлежность деревьев, а также состояние их лиственного или хвойного покрова.
2. Наибольшим диапазоном изменчивости величины f обладают лиственные деревья.
3. Непосредственно перед листопадом, в период, когда листва начинает желтеть, наблюдается увеличение значений величины f для лиственных деревьев.

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

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, грант № 96–04–49150.

1. Лукин Ю. П., Агишев В. С., Берников А. Д. и др. // Оптика атмосферы. 1989. Т. 2. N 5. С. 506–512.
2. Гаевский Н. А., Моргун В. Н. // Физиология растений. 1993. Т. 40. N 1. С. 136–145.
3. Нестеренко Т. В., Сидько Ф. Я. // Физиология растений. 1993. Т. 40. N 1. С. 10–15.
4. Мокроносов А. Т. Онтогенетический аспект фотосинтеза. М.: Наука, 1981.
5. Northend C. A., Honey R. C., Evans W. E. Laser radar (lidar) for meteorological observations // Rev. Sci. Inst. 1966. V. 37. P. 393–400.
6. Зуев В. Е., Кабанов М. В. Перенос оптических сигналов в земной атмосфере (в условиях помех). М.: Сов. радио, 1977. 368 с.
7. Кондратьев К. Я., Миронов З. Ф., Отто А. К. Спектральное альbedo естественных подстилающих поверхностей // Проблемы физики атмосферы. 1965. Вып. 3. С. 18–27.
8. Исследование оптических свойств природных объектов и их аэрофотографического изображения: Сб. статей. Л.: Наука, 1970. 238 с.
9. Радиационные характеристики атмосферы и земной поверхности / Под ред. К. Я. Кондратьева. Л.: Гидрометеоиздат, 1969. 152 с.
10. Кривин Е. Л. Спектральная отражательная способность природных образований. М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1947. 178 с.

Институт оптики атмосферы СО РАН, Томск
Институт биологической информации, Москва

Поступила в редакцию
30 января 1996 г.

A. I. Grishin, G. G. Matvienko, O. V. Kharchenko, V. I. Timofeev. **Fluorescence of Plants Excited by Radiation of YAG:Nd-laser Second Harmonic.**

Red fluorescence of tree tops induced by 0.53 μm laser radiation was experimentally studied in summer-autumn period. Specific dependence of quantum output of chlorophyll *a* fluorescence was revealed and examined. Seasonal behaviour of the fluorescence intensity was found to tend to complete attenuation in deciduous trees and to change insignificantly in conifers. The fluorescence method is shown to be promising in remote specific selection of vegetable tissues and determination of chlorophyll content.