

## Раннее обнаружение физиологического стресса растительности по многоспектральным данным

Р. Кынчева, И. Илиев, Д. Борисова, Г. Георгиев

*Институт космических и солнечно-земных исследований БАН*

*1113 София, ул. Акад. Г. Бончев бл.3*

*E-mails: rumik@abv.bg, iiliev@stil.bas.bg, dborisova@stil.bas.bg, ggeorgie@stil.bas.bg*

Экологические вопросы, связанные с влиянием человеческой деятельности на природную среду и, прежде всего, на биосферу, имеют глобальное распространение и исключительную важность. Они привлекают внимание государственных учреждений и ученых различных областей и требуют развития эффективных средств оценки влияния антропогенных факторов на окружающую среду, в первую очередь на растительность. Загрязнение почв, воды и воздуха тяжелыми металлами является одной из наиболее серьезных проблем, касающихся природных растительных ресурсов и сельскохозяйственных культур. Среди методов фитодиагностики возрастающую роль играет анализ радиационных характеристик растительных покровов. Измерения в видимом и ближнем инфракрасном спектральных диапазонах обладают доказанными возможностями мониторинга растительности и оценки ее состояния. Такие показатели как биомасса, листовой индекс, пигментное содержание и пр. являются индикаторами не только развития и состояния растений, но и условий их прорастания. В данной работе рассматривается использование многоспектральных данных для раннего обнаружения физиологического стресса гороха (*Pisum sativum*), вызванного влиянием кадмия. Горох выращивался в гидропонных условиях при загрязнении среды раствором  $CdCl_2$  в различных концентрациях. Влияние тяжелого металла и степени физиологического стресса оценивались по изменениям пигментного содержания растений.

**Ключевые слова:** многоспектральные данные, растительность, диагностика, тяжелые металлы, физиологический стресс, хлорофилл, каротиноиды.

### Введение

Экологические проблемы, связанные с антропогенным загрязнением окружающей среды, давно стоят в центре внимания современного мира. Последствия всякого рода загрязнений в наиболее серьезной степени сказываются на растительном покрове, из-за чего растительность является объектом многосторонних, различных по характеру и масштабности исследований. Большая часть исследований касается физиологии и развития растений, их адаптации, репродуктивной способности, генетических изменений и пр. Экофизиологические направления исследований представляют собой существенный интерес для сельского хозяйства, особенно ввиду непрерывно растущего неблагоприятного влияния человеческой деятельности на окружающую среду. Наряду с традиционными методами, все шире применяются технологии дистанционного мониторинга растительного покрова.

Фитодиагностика занимает главное место среди различных применений растительного мониторинга. Многоспектральные данные используются для обнаружения стрессовых состояний путем оценки ряда растительных биопараметров, являющихся индикаторами отрицательного воздействия стрессовых факторов [1-5, 10]. Пигментное содержание, прежде всего хлорофилла и каротиноидов, наиболее чувствительно к условиям среды и представляет собой важнейшим показателем физиологического состояния

растений, к тому же оно определяет в наибольшей степени спектральные свойства растительности в видимом диапазоне [4, 6, 7, 9]. Этим обусловлен повышенный интерес к определению растительных пигментов на основе данных многоспектральных измерений [8-10].

Настоящая работа – часть серии экспериментов, проводимых над различными агрокультурами в различных экологических условиях, среди которых загрязнение тяжелыми металлами, с целью исследования влияния условий выращивания на биологические показатели растений и, как следствие, на их спектральные характеристики. Задача эксперимента в данном случае – установить влияние кадмия как стрессового фактора на синтез пигментов и выявить возможность ранней фитодиагностики с использованием данных видимого спектрального диапазона.

### Материалы и методы

Характеристиками оптических свойств растительности являются спектральное отражение, поглощение и пропускание света. Эти спектральные свойства связаны с взаимодействием растений с солнечной радиацией. Они спектрально-селективны, т.е. варьируют в зависимости от длины волны  $\lambda$ , и сильно изменяются в ходе физиологических процессов. Таким процессом, отражающим физиологическое состояние растений, является фотосинтез. Он определяет пигментное содержание, которое, со своей стороны, в большой степени определяет спектрально-энергетическое поведение растительности в видимом диапазоне и является предпосылкой применения спектральных характеристик как диагностического признака состояния растительности. На рис. 1а показаны типичные спектры отражения и пропускания зеленой растительности, а на рис. 1б – спектры поглощения хлорофилла и каротиноидов.

Так как пигменты непосредственно связаны с фотосинтетическим потенциалом и первичной продуктивностью, то количественную оценку физиологического состояния растительности можно сделать на основе определения пигментного содержания. Фотосинтетические пигменты определяют функционирование растительности и зависят от влияния ряда экологических факторов. Поэтому их определение методами дистанционных исследований имеет большое практическое значение.

В данной работе рассматривается использование многоспектральных данных видимого диапазона для раннего обнаружения физиологического стресса растительности, вызванного загрязнением кадмием. Представлены результаты лабораторных экспериментов на горохе (*Pisum sativum*), выращиваемом в гидропонных условиях с внесением в среду раствора  $\text{CdCl}_2$  в различных концентрациях (10, 20 и 30 mg/l). Влияние тяжелого металла и степени физиологического стресса оценивались по изменениям содержания как отдельных пигментов растений (хлорофилла *a*, хлорофилла *b* и каротиноидов), так и их отношений. Высокая концентрация хлорофилла характерна для здоровых растений, поскольку связана с большей эффективностью фотосинтеза, тогда как содержание каротиноидов, как правило, увеличивается у подверженных стрессу растений. Повышение содержания каротиноидов представляет собой одну из адаптивных физиологических реакций растений и, наряду с ингибированием хлорофилла у стрессированных растений, регистрируется при помощи спектральных измерений. Это позволяет спектрометрическим данным

служить индикатором стрессовых состояний. Установление количественного выражения связей стрессового фактора с изменениями биологических и спектральных признаков является предметом работы.

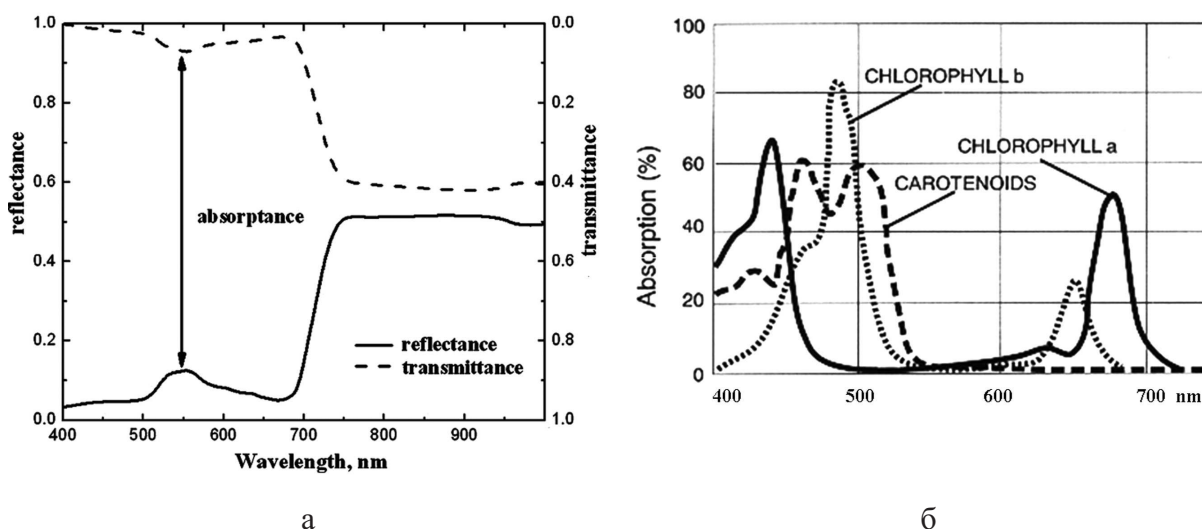
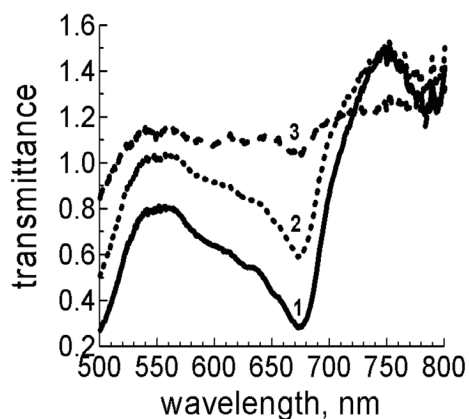


Рис. 1. Спектры отражения и пропускания зеленой растительности (а) и спектры поглощения хлорофилла и каротиноидов (б)

На примере спектрального пропускания  $t(\lambda_i)$  света в диапазоне 500-800 нм листьев 14-дневных и 20-дневных растений гороха показано обнаружение физиологического стресса на ранних этапах развития, еще до начала видимых проявлений. Измерения осуществлялись разработанной в ИКСЗИ БАН многофункциональной спектрометрической системой SPS-1 [11]. Система автоматизирована, используется в различных конфигурациях и служит для измерения отраженной, пропущенной и поглощенной радиации. В ее состав входит призмный монохроматор типа SPM-1 (Carl-Zeiss), в выходной фокальной плоскости которого расположена линейная фотодиодная структура RL512S (Reticon). Фотоприемник позволяет работу в режиме накопления, что делает аппаратуру пригодной для регистрации световых сигналов относительно небольшой интенсивности.

При каждом измерении пропускания листа регистрируются 10 спектров, которые впоследствии усредняются. Все варианты опыта выполнены в двух повторениях, при каждом из которых измеряются по два листа. Обработка спектрометрических данных включает вычисление для каждой длины волны  $\lambda_i$  нормированной разности  $ND(\lambda_i)$  спектрограмм контрольного  $t_{\lambda_i}^{contr}$  и стрессированного  $t_{\lambda_i}^{pollut}$  растений. Такой подход, во-первых, нормирует отсчеты измерений, во-вторых, подчеркивает различия измеряемой величины в зависимости от стрессового воздействия и, в-третьих, более четко выявляет спектральные участки с наибольшими различиями между здоровыми и стрессированными растениями. На рис. 2а показано измеренное спектральное пропускание листьев контрольных (1) и загрязненных (2) двумя различными концентрациями  $CdCl_2$  растений. Формула расчета спектрального признака для оценки физиологического стресса растений приведена на рис. 2б.

В ходе эксперимента проявление токсичного действия кадмия оценивалось по содержанию хлорофилла а, хлорофилла b, суммарного хлорофилла (а+b) и каротиноидов, а также по их отношениям  $chl a/chl b$  и  $chl(a+b)/carot$ .



а

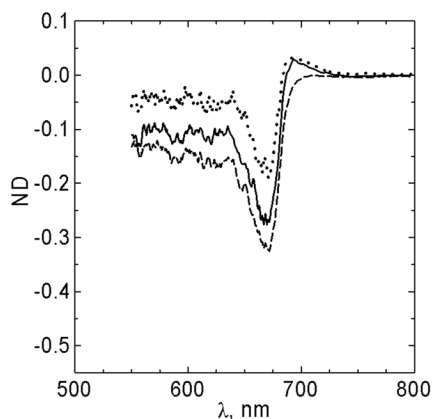
$$ND(\lambda_i) = \frac{t_{\lambda_i}^{contr} - t_{\lambda_i}^{pollut}}{t_{\lambda_i}^{contr} + t_{\lambda_i}^{pollut}}$$

б

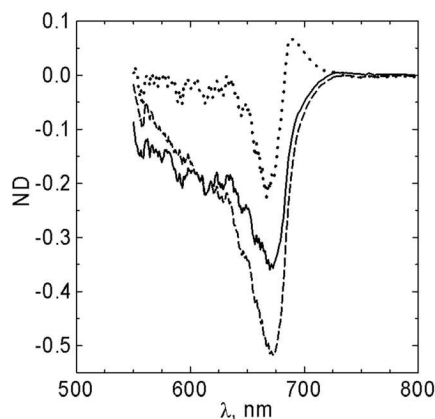
Рис. 2. (а) Спектральное пропускание листьев гороха контрольных (1) и стрессированных в различной степени (2) растений; (б) спектральный индикатор физиологического стресса растений

### Результаты и обсуждение

По данным проведенных измерений, отдельные пигменты, суммарный хлорофилл chl(a+b) и отношение chl a/chl b оказались значительно более слабо связаны со спектральными индикаторами  $ND(\lambda_i)$ , чем отношение chl(a+b)/carot. На рис. 3 показаны изменения величины  $ND(\lambda_i)$  от длины волны в диапазоне 550-800 нм и от степени стресса растений в двух периодах их развития – в возрасте 14 дней (а) и 20 дней (б). Видно, что кроме как по длине волны,  $ND(\lambda_i)$  изменяется также в зависимости от величины стрессового фактора (концентрации  $CdCl_2$ ) и возраста растений. У стрессированных растений увеличивается пропускание света по сравнению с контрольным (здоровым) растением, что выражается в уменьшении величины  $ND(\lambda_i)$ . Это обусловлено тем фактом, что уменьшенное из-за стрессового фактора содержание хлорофилла в листьях приводит к меньшему поглощению и сравнительно большая часть света пропускается. Сильно выражено уменьшение величины  $ND(\lambda_i)$ , как и увеличение ее различий с возрастом растений (рис. 3б). Причиной последнего являются структурные изменения листьев и, прежде всего, более длительное время действия стрессового фактора, приводящее к большим изменениям в синтезе пигментов.



а



б

Рис. 3. Различия нормированной разности  $ND(\lambda_i)$  спектрального пропускания листьев 14-дневных (а) и 20-дневных (б) растений гороха с различной степенью стресса: при концентрациях  $CdCl_2$  ... 10 mg/l, – 20 mg/l и --- 30 mg/l

Из рис. 3 очевидно, что спектральный признак  $ND(\lambda_i)$  служит индикатором стресса еще на совсем раннем этапе развития растительности, хотя становится более заметным на последующих этапах. В наибольшей степени сказанное относится к красной области спектра, где расположен максимум поглощения. Ниже приводятся результаты количественного анализа связей отношения суммарного хлорофилла к каротиноидам  $chl(a+b)/carot$  с нормированной (на контрольное растение) разностью для длине волны  $\lambda=670$  нм. Так как каротиноиды играют роль естественных антиоксидантов и увеличиваются в условиях стресса, а синтез хлорофилла ингибируется, то это отношение является подходящим информационным показателем физиологического состояния растений. Только содержанием хлорофилла нельзя объяснить специфическое спектральное поведение стрессированных растений, на что указывает и менее слабая коррелированность его с величиной используемого спектрального признака. Связь эта усиливается при введении в модель каротиноидов.

На рис. 4а показано несколько графиков  $ND(670\text{ нм})$ , полученных для растений обоих возрастов и различных концентраций  $CdCl_2$ . Они иллюстрируют влияние на спектральный признак различной степени стресса. Соответствующие величины  $chl(a+b)/carot$  в процентах от контрольного (здорового) растения на рис. 4б говорят об увеличении степени физиологического стресса с уменьшением рассматриваемого пигментного отношения. Это происходит вследствие снижающегося содержания хлорофиллов и повышающегося содержания каротиноидов по сравнению с контрольным растением. Из приведенных примеров очевидна взаимосвязь исследуемых трех переменных: стрессовый фактор  $\rightarrow$  пигментное содержание  $\rightarrow$  спектральное пропускание. Несмотря на ограниченное число измерений, она дает основание рассматривать характеристики спектрального пропускания в качестве индикатора физиологического стресса растений и раннего его обнаружения.

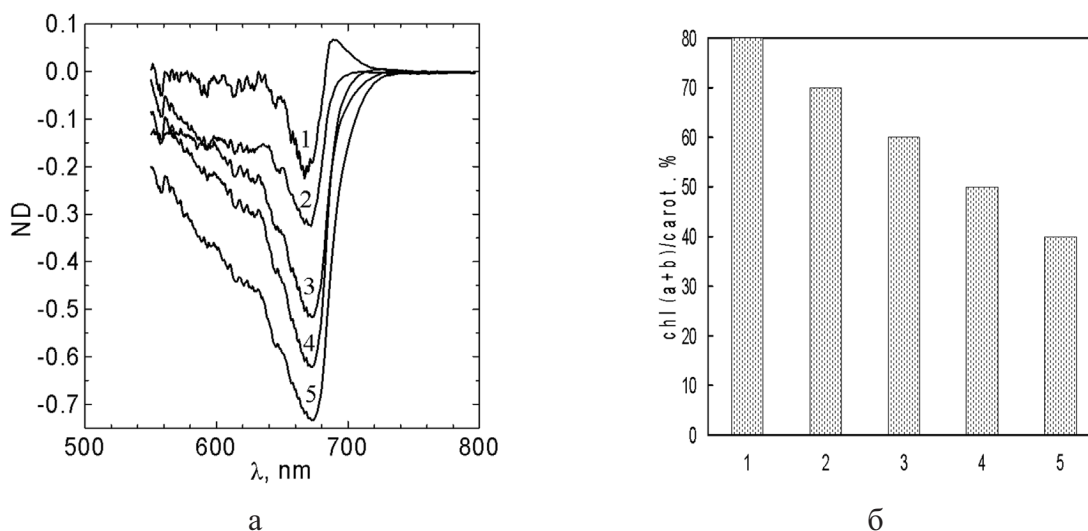


Рис. 4. Величина  $ND(670\text{ нм})$  листьев растений с различной степенью стресса (а) и соответствующее отношение суммарного хлорофилла к каротиноидам  $chl(a+b)/carot$ , выраженное в процентах от контрольного растения (б)

Из проведенного статистического анализа данных установлена значимая связь между  $CdCl_2$ ,  $chl(a+b)/carot$  и  $ND(\lambda=670\text{ нм})$ . В Таблице 1 приведена величина корреляции ( $R^2$ ) между переменными в двух рассматриваемых периодах развития растений. Надо учесть, что такая высокая корреляция обусловлена в некоторой степени прецизионностью лабораторных измерений и их проведением на уровне листа. Это, однако, никоим образом не уменьшает значение полученных результатов и выводов.

Таблица 1. Корреляция ( $R^2$ ) между стрессовым фактором  $CdCl_2$ , отношением суммарного хлорофилла к каротиноидам  $chl(a+b)/carot$  и  $ND$  ( $\lambda=670\text{ nm}$ ) листьев 14-дневных и 20-дневных растений гороха

Возраст растений	Переменная	Стрессовый фактор $CdCl_2$	Пигментное отношение $chl(a+b)/carot$
14 дней	$ND$ ( $\lambda=670\text{ nm}$ )	0.94	0.91
	$chl(a+b)/carot$	0.87	
20 дней	$ND$ ( $\lambda=670\text{ nm}$ )	0.94	0.97
	$chl(a+b)/carot$	0.90	

На рис. 5а представлены выведенные регрессионные зависимости между спектральной переменной  $ND(\lambda=670\text{ nm})$  и величиной  $CdCl_2$  для 14-дневных и 20-дневных растений. Они подтверждают сделанный выше вывод об усилении влияния стрессового фактора при более длительном его действии, что наблюдается по возрастающим изменениям  $ND(\lambda=670\text{ nm})$  и увеличенному градиенту спектрального признака.

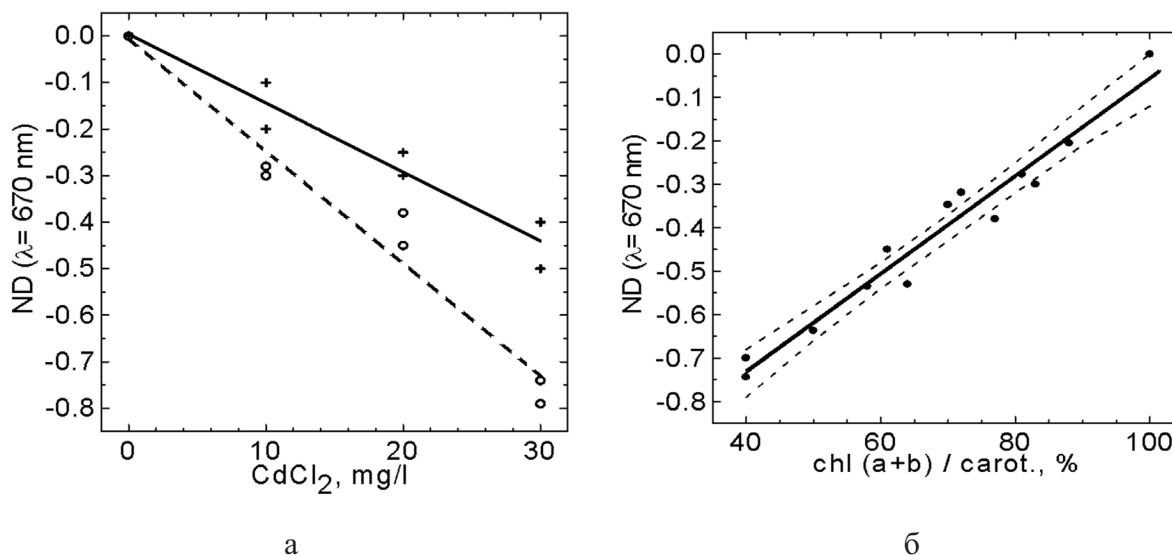


Рис. 5. Зависимости величины  $ND$  ( $\lambda=670\text{ nm}$ ) листьев гороха 14 дневных (----) и 20 дневных (- - -) растений от концентрации  $CdCl_2$  (а) и от отношения суммарного хлорофилла к каротиноидам  $chl(a+b)/carot$ , выраженного в процентах от контрольного растения (б)

Результат регрессионного анализа зависимости  $ND(\lambda=670\text{ nm})$  от отношения пигментов  $chl(a+b)/carot$  с использованием данных обоих периодов развития растений представлен на рис. 5б. Коэффициент определенности высок и составляет 0.95.

### Заключение

Выводы проведенного исследования можно обобщить следующим образом.

Наблюдаются тесные, статистически достоверные связи между величиной стрессового фактора, степенью физиологического стресса, выражаемой динамикой пигментного синтеза, и спектральным показателем, характеризующим свойства пропускания листьями растений. Высокая корреляция между переменными установлена еще на ранних этапах развития растений.

Оставаясь на высоком уровне для 14-дневных и 20-дневных растений, эти связи указывают на то, что изменения биологической и спектральной переменных больше при более длительном действии стрессового фактора. Тенденция сильнее выражена с увеличением величины стрессового фактора.

Полученные результаты дают основание утверждать, что по данным многоспектральных измерений возможно не только обнаружение физиологического стресса растений, но и количественная оценка различий в их состоянии, судя по величине реакции (пигментный синтез) на стрессовый фактор.

Важнейшим результатом является возможность ранней спектральной диагностики – еще до появления видимых изменений растений под действием стрессового фактора.

Анализ данных в других диапазонах, где наблюдаются значимые различия спектральных характеристик (например, в зеленой области, по нашим измерениям), как и их совместное использование, может привести к более уверенному распознаванию и оценке стрессовых состояний растительности.

## Литература

1. *Kancheva R., D. Borisova, G. Georgiev.* Informational Potential of Vegetation Spectral Reflectance in Anthropogenic Impact Studies // Annual of UMG “St. Ivan Rilski”, Part I: Geology and Geophysics, 46, pp.355-359, 2003.
2. *Kancheva R., D. Borisova.* Plant Physiological Stress Detected by Spectral Features // Contemporary Problems of Solar-Terrestrial Influences, pp.174-177, 2003
3. *Kancheva R., D. Borisova, V. Kapchina-Toteva, S. Chankova, N. Naidenova.* Effects of Cadmium Pollution in *Pisum sativum* Depending on the Growing Conditions // Compt. Rend. Acad. bulg. Sci., 54, 5, pp.21-26, 2001
4. *Kancheva R. and Borisova D.* Vegetation stress indicators derived from multispectral and multitemporal data // Space Technology, 26, 3, pp. 1–8, 2007.
5. *Kancheva R., G. Georgiev, V. Boycheva, V. Ilieva, T. Popova.* Spectral reflectance features of soil-vegetation system for crop heavy metal stress indication // Soils Science, Agrochemistry and Ecology, Part III, pp. 96-99, 1996.
6. *Lichtenthaler, H.K., Buschmann, C.* Chlorophylls and carotenoids: measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy // Current Protocols in Food Analytical Chemistry, pp. F4.3.1-F4.3.8, 2001.
7. *Feret J.-B., G. P. Asner, C. François, R. Martin, S. L. Ustin, S. Jacquemoud.* An advanced leaf optical properties model including photosynthetic pigments // Proceed. Intern. Symp. on Physical Measurements and Signatures in Remote Sensing, Davos, Switzerland, 2007.
8. *Zhang Y., J. Chen and C. Thomas.* Retrieving seasonal variation in chlorophyll content of overstory and understory sugar maple leaves from leaf level hyperspectral data // Canadian Journal of Remote Sensing, 33, 5, 406-415, 2007.
9. *Daughtry C. S. T., C. L. Walthall, M. S. Kim, E. Brown de Colstoun and J. E. McMurtrey III.* Estimating Corn Leaf Chlorophyll Concentration from Leaf and Canopy Reflectance // Remote Sens. Environ. 74: 229–239, 2000.
10. *Gregory A., Carter and Alan K. Knapp.* Leaf optical properties in higher plants: linking spectral characteristics to stress and chlorophyll concentration // American Journal of Botany, 88(4), pp. 677–684, 2001.
11. *Илиев И.* Спектрометрична система за слънчеви и атмосферни изследвания // Електроника и електротехника, 3-4, стр. 43-47, 2000.

# Early detection of vegetation physiological stress from multispectral data

R. Kancheva, I. Iliev, D. Borisova, G. Georgiev

*Space and Solar-Terrestrial Research Institute – Bulgarian Academy of Sciences*

*Acad.G.Bonchev str., bl.3, 1113 Sofia, Bulgaria*

*tel. +35929793353, fax +35928700178*

*E-mails: rumik@abv.bg, iiliev@stil.bas.bg, dborisova@stil.bas.bg, ggeorgie@stil.bas.bg*

Ecological problems relevant to anthropogenic impacts on the environment and first of all on the biosphere, are of global importance. They have drawn the attention of various scientists imposing the development of efficient means for assessing the affects of anthropogenic factors specifically on vegetation land covers. Heavy metal pollution is one of the most severe problems concerning natural vegetation resources as well as agricultural crops. Among other methods used for plant phytodiagnostics, an increasing role becomes to play the analysis of land covers radiation behavior. Visible and near infrared measurements have proved abilities in vegetation monitoring for the assessment of plant biophysical parameter. These parameters are associated with plant development and are closely related to vegetation physiological state. In this study multispectral data of peas (*Pisum sativum*) plants have been used to demonstrate the detection of plant physiological stress caused by heavy metal pollution. The effects of CdCl<sub>2</sub> applied in different concentration are associated with plant biomass growth, chlorophyll and carotenoid variations.

**Keywords:** multispectral data, reflectance, transmittance, heavy metals, vegetation pollution, physiological stress detection.