

ZBIGNIEW BOCHENEK
MIECZYŚLAW PARADOWSKI

[528.711.029.672 .674:771.534.26]:547.979.7:633-1/-2

Analiza wpływu koncentracji chlorofilu na charakterystyki spektralnego odbicia roślin

1. Wstęp

Problem właściwego wyżywienia ludzkości staje się zagadnieniem coraz bardziej złożonym, stąd ostatnie lata przyniosły szeroki rozwój badań zmierzających do poprawy sytuacji żywnościowej w Polsce jak i na świecie. Do tego celu wykorzystuje się osiągnięcia z różnych dziedzin nauk, które jeszcze kilkanaście lat temu nie miały wielu powiązań z rolnictwem. Między innymi badania idą w kierunku wykorzystania zdjęć lotniczych i obrazów satelitarnych dla potrzeb rolnictwa.

W ostatnim czasie nastąpił szeroki rozwój tego typu badań. Wiąże się on z wprowadzeniem nowych metod rejestracji promieniowania elektromagnetycznego oraz interpretacji zdalnie pozyskiwanych danych. Wśród metod szczególnie użytecznych do badań środowiska roślinnego należy wymienić technikę fotografii wielospektralnej. Umożliwia ona rejestrację promieniowania w wąskich zakresach spektrum, stwarzając szansę wychwycenia różnic odbicia spektralnego występujących pomiędzy poszczególnymi typami upraw i zasiewów.

Jedną z głównych cech, która decyduje o wyróżnialności upraw rolniczych na zdjęciach lotniczych, jest barwa roślin. O barwie tej decydują barwniki z grupy chlorofilów i karotenoidów, przy czym decydujące znaczenie mają chlorofile. Stężenie karotenoidów jest znacznie niższe i dlatego ich obecność jest zwykle maskowana. Barwniki żółte stają się widoczne dopiero po rozkładzie chlorofilu.

Poszczególne gatunki roślin w okresie wegetacji charakteryzują się różną zawartością chlorofilu. Zmiany koncentracji tego barwnika nie zależą jednak tylko od gatunku roślin i ich wieku. Istnieje cały szereg przyczyn, które decydują o intensywności zabarwienia roślin, a tym samym o różnej zawartości chlorofilu w obrębie poszczególnych gatunków.

W obecnych czasach dają się zauważyć coraz częstsze przypadki objawów niedoboru mikroelementów w roślinach. Problem ten wyłonił się w miarę zwiększania dawek nawożenia mineralnego. Zewnętrzną oznaką niedoboru w roślinach takich składników jak żelazo, mangan, miedź czy też cynk — jest chloroza, czyli rozkład chlorofilu. Chloroza objawia się, przy zmniejszonej zawartości tego barwnika, jasnozielonym zabarwieniem albo jasnymi plamami lub paskami na liściach. Przy całkowitym braku chlorofilu liście charakteryzują się barwą żółtą o różnym stopniu natężenia. Objawy chlorozy występują także u roślin rosnących w warunkach deficytu azotu lub magnezu. Pierwiastki te wchodziły w skład cząsteczki chlorofilu, stąd ich brak pociąga za sobą wstrzymanie syntezy tego barwnika.

Oprócz wymienionych czynników chlorozę mogą wywoływać również infekcje bakteryjne, wirusowe i grzybowe, pewne owady pasożytnicze, odwodnienie miękiszu zieleniowego oraz niedostateczny dopływ tlenu do korzeni.

Generalizując — roślina na większość niekorzystnych zmian reaguje zaburzeniami w syntezie chlorofilu. Chloroza jest zwykle pierwszym objawem zaburzeń w metabolizmie rośliny. Ze względu na taką reakcję roślin rozwijających się w niekorzystnych warunkach zaistniała potrzeba sprawdzenia korelacji między koncentracją chlorofilu a wielkością odbicia spektralnego, rejestrowanego za pomocą zdjęć wielospektralnych. Możliwość uchwycenia odchyłań w zawartości chlorofilu określonej uprawy pozwoliłaby na zlokalizowanie obszaru występowania niekorzystnego czynnika, a następnie po pobraniu próbek w terenie, dokładnego chemicznego oznaczenia czynników powodujących chlorozę. Oprócz tego istnieje przypuszczenie, iż chlorofil, a ściślej mówiąc jego koncentracja, która jest charakterystyczna dla poszczególnych gatunków roślin, decyduje także o wyróżnialności upraw rolniczych.

Wszystkie wyżej przedstawione zagadnienia zdecydowały, iż postanowiono dokładnie zbadać zależność korelacyjną pomiędzy koncentracją chlorofilu w roślinie a wielkością odbicia w poszczególnych zakresach spektrum widzialnego i podczerwieni fotograficznej.

Problematyka dotycząca absorpcji, transmisji i odbicia promieniowania w zależności od koncentracji chlorofilu w roślinach była już poruszana w literaturze, lecz wnioski wynikające z tych badań były często niejednoznaczne.

Gausman [3] i współpracownicy badali wpływ efektu niedoboru żelaza w sorgo na odbicie spektralne. Efektem niedoboru tego pierwiastka jest chloroza, charakteryzujące się żółtym zabarwieniem liści. Do badań wybrano dwa poletka sorgo — z roślinami zdrowymi oraz wykazującymi objawy niedoboru żelaza. Zdjęcia lotnicze zostały wykonane

na filmie spektrostrefowym. Po oznaczeniu zawartości chlorofilu w wybranej losowo próbie oraz rejestracji gęstości optycznej, określono współczynniki korelacji między tymi parametrami. Otrzymano wartości $r = 0,58$. Efektem tych prób było stwierdzenie, iż rośliny uszkodzone (chloroza) w porównaniu z roślinami zdrowymi, mają wyższe odbicie w zakresie widzialnym, zaś niższe w podczerwieni.

W celu dokładniejszego wyjaśnienia zjawiska zaobserwowanego w podczerwieni Gausman wykonał szereg prób. Rejestrował odbicie promieniowania, w tym zakresie spektrum, dla liści wielu gatunków roślin. Wynikiem tych prac był wniosek, iż odbicie promieni podczerwonych uzależnione jest od zawartości liścia. I tak liście o dużych przestworach międzykomórkowych odbijają dużo więcej promieni podczerwonych, niż liście o zwartej budowie. O ilości przestrzeni międzykomórkowych decyduje głównie struktura miękiszu gąbczastego. Tak więc gatunki roślin, których liście mają stosunkowo zwarty miękisz gąbczasty odbijają mniej promieniowania podczerwonego.

Gausman [2] wykonał cały szereg bardzo dokładnych prób. Polegały one na ekstrahowaniu z komórek roślinnych poszczególnych organelli komórkowych i rejestracji ich odbicia promieniowania podczerwonego.

Jednak fakt stwierdzenia zróżnicowanego odbicia promieniowania przez poszczególne elementy komórki czy też tkanki ma znaczenie drugorzędne. Wpływ przestrzeni międzykomórkowych jest tak silny, iż odbicie spowodowane przez inne elementy ulega maskowaniu. Gausman stwierdza, iż drugim czynnikiem, mającym stosunkowo duży wpływ na odbicie promieniowania podczerwonego, są membrany plazmatyczne.

Jak wynika z powyższego krótkiego przeglądu dotychczasowe badania nie wyjaśniają w pełni wpływu zawartości chlorofilu w roślinach na charakter odbicia promieniowania w poszczególnych zakresach spektrum. Z tego względu zdecydowano się przeprowadzić eksperyment mający na celu dokładniejsze poznanie tego zagadnienia.

Omówienie założeń metodycznych, realizacji i wyników eksperymentu

Dla przeprowadzenia doświadczenia wykorzystano roślinę o nazwie *Chlorophytum*. Charakteryzuje się ona dużą zmiennością zawartości chlorofilu, w obrębie jednego liścia. Na liściach widoczne są wyraźne paski o różnych odcieniach zieleni.

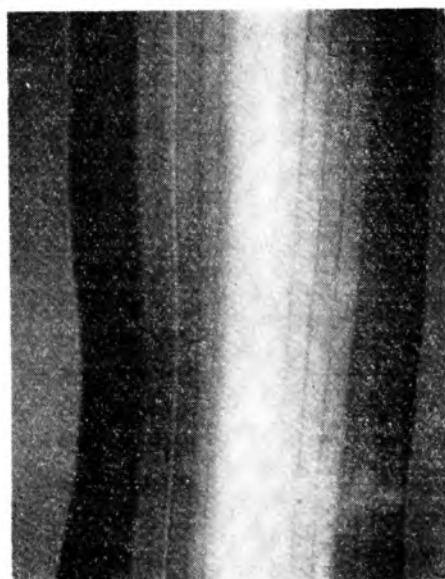
Fotografowano w warunkach laboratoryjnych pojedyncze liście. Zdjęcia wykonano kamerą Hasselblad na filmie panchromatycznym Kodak Tri X oraz na filmie uczulonym na podczerwień — Kodak Infrared Aerographic. Do oświetlenia fotografowanych liści użyto źródła

o temperaturze barwowej około 5500° K. Dokonano rejestracji w czterech zakresach spektrum: niebieskim, zielonym, czerwonym i podczerwonym. Wykorzystano w tym celu filtry selektywne Kodak Wratten o następujących przedziałach przepuszczalności promieniowania:

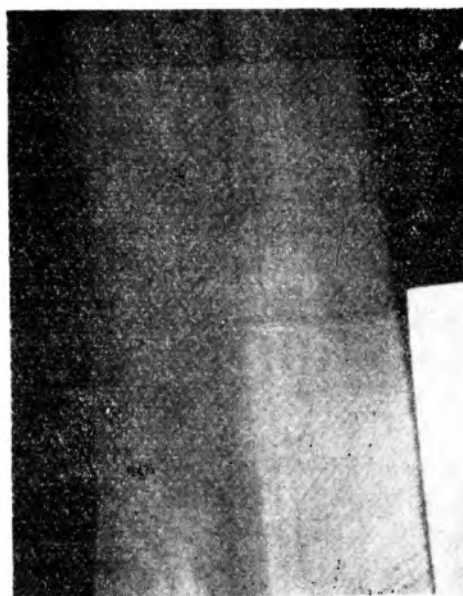
- 1) Nr 47B — 410—460 nm
- 2) Nr 58 — 505—560 nm
- 3) 25 — 600—700 nm
- 4) 87 — 770—900 nm

Sfotografowane liście *Chlorophytum* pocięto na pasemka charakteryzujące się w miarę jednolitą barwą. Na podstawie tej barwy można było założyć, że zawartość chlorofilu na całej powierzchni pasemka jest równa. Po zmierzeniu powierzchni tych pasemek, oznaczono w nich zawartość chlorofilu. Pomiaru dokonano na aparacie Spekol w Zakładzie Fizjologii Roślin SGGW-AR. Dzięki tej analizie otrzymano wyniki dotyczące zawartości chlorofilu *a*, chlorofilu *b* i chlorofilu *ab*. Dane te podano w μg chlorofilu / mm^2 liścia.

Równocześnie wykonano drugą część eksperymentu. Uzyskany materiał zdjęciowy został poddany standardowej obróbce fotochemicznej. Poniżej przedstawiono przykładowo dwa zdjęcia, na których zostały zarejestrowane obrazy liścia w zielonym i podczerwonym zakresie spektrum.



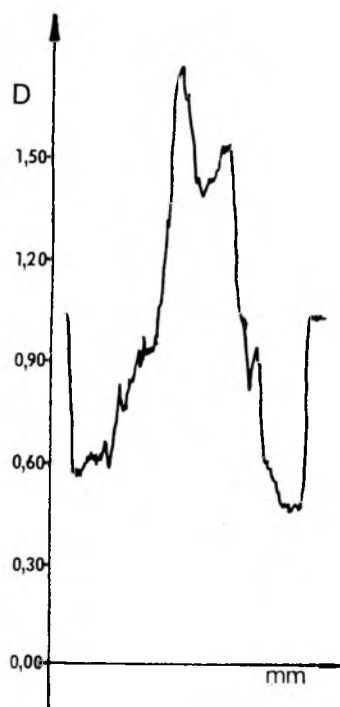
Rys. 1. Zakres 505—560 nm



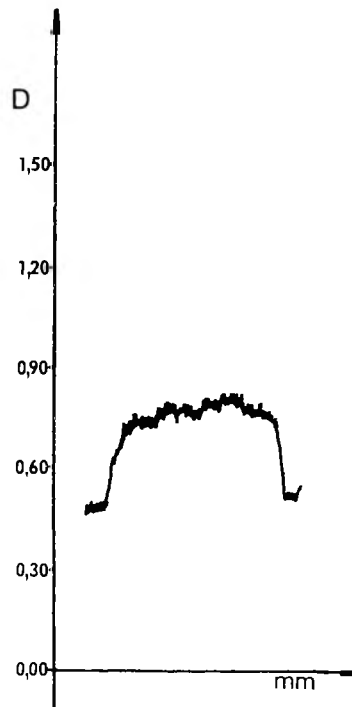
Rys. 2. Zakres 770—900 nm

Na otrzymanych negatywach dokonano następnie pomiaru gęstości optycznej poszczególnych fragmentów liści metodą profili poprzecznych. Pomiary te zostały wykonane na mikrofotometrze firmy Joyce-Loebl, umożliwiającym automatyczną rejestrację wyników.

Poniżej podano przykładowo dwa wykresy mikrofotometryczne dla obrazów liści przedstawionych na zamieszczonych wyżej zdjęciach.



Rys. 3



Rys. 4

Rys. 3. Mikrofotogram liścia w zakresie 505—560 nm

Rys. 4. Mikrofotogram liścia w zakresie 770—900 nm

Z wykresów mikrofotometrycznych odczytano wartości gęstości optycznej dla poszczególnych fragmentów liści i zestawiono je w tablicy zbiorczej — łącznie z wynikami dotyczącymi zawartości chlorofilu.

Dane te opracowano statystycznie. Obliczono współczynniki korelacji liniowej między zawartością chlorofilu, a wartościami gęstości optycznej w poszczególnych wyciągach. Wyznaczone współczynniki korelacji przedstawione zostały w tablicy 1.

Z danych zamieszczonych w tablicy wynika, że współczynniki korelacji są wysokie dla widzialnego przedziału spektrum. Dotyczy to zwłaszcza wyciągu zielonego. Natomiast w wyciągu niebieskim stwierdzono nieco niższą zależność korelacyjną między badanymi cechami.

Tablica 1

Tablica współczynników korelacji (r) między zawartością chlorofilu a gęstościami optycznymi negatywów

Zakres spektrum Barwnik	Współczynniki korelacji			
	niebieski	zielony	czerwony	podczerwony
chlorofil a	0,88	0,93	0,88	0,19
chlorofil b	0,80	0,92	0,86	0,18
chlorofil ab	0,78	0,93	0,87	0,19

Należy tu zaznaczyć, iż prawdopodobieństwo przypadkowego otrzymania takich wartości współczynnika korelacji wynosi poniżej 0,1%, stąd wartości tych współczynników są wysoko istotne.

Nie stwierdzono wyraźnych różnic w korelacji między zawartością poszczególnych rodzajów chlorofilu a wartościami gęstości optycznej. Jedynie w wyciągu niebieskim, zaznaczyła się nieco wyższa korelacja dla chlorofilu a, niż dla innych rodzajów tego barwnika.

W przypadku zdjęć w podczerwieni otrzymano bardzo niską zależność korelacyjną koncentracji chlorofilu w liściach a zmierzonymi wartościami gęstości optycznej. W tym zakresie spektrum liście na całej swej powierzchni wykazywały podobną wartość gęstości optycznej bez względu na zawartość chlorofilu. Ilustrują to zamieszczone powyżej zdjęcia i wykres mikrofotometryczny.

Wnioski końcowe

Wydaje się, iż wyniki są bardzo interesujące. Wysokie współczynniki korelacji między koncentracją chlorofilu a gęstościami optycznymi negatywów w zakresie widzialnym sugerują potencjalne możliwości wykorzystania tej zależności.

Dzięki wysokiej korelacji między tymi parametrami mogą być rejestrowane na zdjęciach lotniczych stosunkowo niewielkie odchylenia w zawartości chlorofilu. Może to być wstępna informacja co do uszkodzeń roślin, czy też niedoboru składników pokarmowych w danej glebie.

Należy jednak wziąć pod uwagę to, iż eksperyment został wykonany w warunkach laboratoryjnych — stąd istnieje potrzeba rozszerzenia tego zakresu badań na warunki terenowe.

Na podstawie zależności korelacyjnych można stwierdzić, że do tego typu badań najbardziej przydatny będzie zakres spektrum odpowiadający barwie zielonej.

Niska korelacja między zawartością chlorofilu a gęstościami optycznymi w zakresie podczerwieni, stała się niejako potwierdzeniem wcześniejszych spostrzeżeń Gaumana. Odbicie promieniowania podczerwonego w liściach uzależniał on głównie od przestrzeni międzykomórkowych miękiszu gąbczastego. Szczegółowa analiza przeprowadzona przez tego badacza wykazała, że chloroplasty w bardzo małym stopniu odbijają promieniowanie podczerwone. Należy tu zaznaczyć, że w doświadczeniu z *Chlorophytum* fotografowano zdrowy liść, w którym oprócz zmian w zawartości chlorofilu nie było żadnych objawów chorobotwórczych. Pozwoliło to na wyjaśnienie, iż obserwowane często różnice w odbiciu promieniowania podczerwonego roślin zdrowych i chorych przypisywane zmianom zawartości chlorofilu nie są wywołane stopniem koncentracji tego barwnika. O tych różnicach decydują przypuszczalnie takie czynniki jak zmiany strukturalne komórek, tkanek czy też ich odwodnienie.

BIBLIOGRAFIA

- [1] Gates D. M.: *Remote Sensing With Special Reference to Agriculture and Forestry*. National Academy of Sciences, Washington, D. C. 1970
- [2] Gausman H. W.: *Leaf Reflectance of Near Infrared*. Photogrammetric Engineering 2/1974.
- [3] Gausman H., Cardenas R., Geborman A.: *Plant Size, etc. and Aerial Films*. Photogrammetric Engineering 1/1974.

Recenzował doc. dr hab. Andrzej Ciołkosz

ЗБУГНЕВ БОХЕНЕК
МЕЧИСЛАВ ПАРАДОВСКИ

АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ КОНЦЕНТРАЦИИ ХЛОРОФИЛЛА
НА ХАРАКТЕРИСТИКИ СПЕКТРАЛЬНОГО ОТРАЖЕНИЯ
РАСТЕНИЙ

Резюме

Работа эта имеет целью проверку корреляционной зависимости между концентрацией хлорофилла в листьях и величиной отражения в отдельных диапазонах спектра.

Опыт произведено в лаборатории. Фотографированы были отдельные листья Chlorophytum. Снимки выполнено в четырёх диапазонах спектра: голубом, зелёном, красном и близком инфракрасному.

Наивысшие коэффициенты корреляции между концентрацией хлорофилла и оптическими плотностями установлено в зелёном диапазоне. В близком инфракрасном диапазоне не подтверждено корреляционной зависимости между этими параметрами.

Перевод: Róża Tolstikowa

ZBIGNIEW BOCHENEK
MIECZYŚLAW PARADOWSKI

ANALYSIS OF THE INFLUENCE OF CHLOROPHYLL
CONCENTRATION OF CHARACTERISTIC OF SPECTRAL
REFLECTION OF PLANTS

Summary

The aim of this elaboration is to check the correlation between chlorophyll concentration in leaves and magnitude of reflection in particular spectral bands. Experiment was carried out in laboratory. Single leaves of Chlorophytum were photographed. The photographs were taken in four spectral bands: blue, green, red and near infrared.

The highest correlation factors between chlorophyll concentration and optical densities were found in green band. No correlation connections between these parameters were found in near infrared.

Translation: Jacek Domański