

УДК 53.087

Алентьев А.Г.

Лаборант, Студент

1 курс, факультет «Информационные системы и технологии»

*Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования «Новгородский Университет имени
Ярослава Мудрого»*

Российская, г.Великий Новгород

Alentiev A.G.

Laboratory Assistant, Student

1st year, faculty "Information Systems and Technologies"

*Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education
"Novgorod University named after Yaroslav the Wise"*

Russian, Veliky Novgorod

ЛАЗЕРНЫЙ ФЛУОРОСПЕКТРОГРАФ ДЛЯ КОНТРОЛЯ СОСТОЯНИЯ РАСТЕНИЙ

LASER FLUOROSPECTROGRAPH FOR MONITORING PLANT HEALTH

Аннотация. Исследован лазерный флуороспектрограф для контроля состояния растений. Приведены результаты экспериментальных исследований спектров лазерно-индуцированной флуоресценции растений в различных стрессовых состояниях, вызванных наличием в почве загрязнителей, избыточной воды, механическим повреждением растений. Показано, что при длине волны возбуждения флуоресценции 532нм воздействие различных стрессовых факторов может проявляться в зависимости от вида стресса и вида растения как в увеличении интенсивности лазерно-индуцированной флуоресценции, так и в

изменении формы спектра флуоресценции. Идентифицирующим фактором, характеризующим изменение формы спектра лазерно-индуцированной флуоресценции, может быть отношение интенсивностей флуоресценции на двух длинах волн: 680 и 740 нм. Измерение интенсивности и формы спектра лазерно-индуцированной флуоресценции растений может быть положено в основу лазерного метода обнаружения стрессовых состояний растений.

Ключевые слова: лазерный метод, флуоресценция, растения, обнаружение стрессовых состояний.

Annotation. A laser fluorospectrograph was studied to monitor the condition of plants. The results of experimental studies of the spectra of laser-induced fluorescence of plants under various stress conditions caused by the presence of contaminants in the soil, excess water, and mechanical damage to plants are presented. It was shown that at a fluorescence excitation wavelength of 532 nm, the influence of various stress factors can be manifested depending on the type of stress and plant type, both in an increase in the intensity of laser-induced fluorescence and in a change in the shape of the fluorescence spectrum. The identifying factor characterizing the change in the shape of the spectrum of laser-induced fluorescence can be the ratio of the fluorescence intensities at two wavelengths: 680 and 740 nm. Measurement of the intensity and shape of the spectrum of laser-induced fluorescence of plants can be the basis of the laser method for detecting stress conditions of plants.

Key words: laser method, fluorescence, plants, detection of stress conditions.

Ведение

Методы, основанные на анализе спектров лазерно-индуцированной флуоресценции, широко используются в науке и технике. Создание мощных импульсных лазеров позволило распространить методы флуоресцентного анализа на область дистанционного зондирования. Одной из перспективных областей использования лазерного флуоресцентного анализа может стать контроль состояния растительности [1-4].

Стрессовые состояния растений могут быть вызваны многими причинами: недостаточной или избыточной влажностью; механическими повреждениями; болезнями; низкими или высокими температурами; недостатком питательных веществ; недостатком освещенности; засолением почвы; загрязнением почвы нефтепродуктами или тяжелыми металлами; повышенной кислотностью почвы; использованием пестицидов, гербицидов, инсектицидов и т.п.

Такие стрессовые состояния сложно идентифицировать на ранних стадиях по внешнему виду растений. Однако флуоресцентный анализ потенциально позволяет обнаруживать стрессовые состояния растений по искажению спектров лазерно-индуцированной флуоресценции.

Принцип действия лазерного флуориметра для контроля состояния растений основан на облучении растительности лазером в ультрафиолетовом или видимом диапазонах (для возбуждения флуоресценции), регистрации и анализе характеристик флуоресцентного излучения.

Наиболее важным информационным признаком флуоресценции растительности является форма спектров флуоресцентного излучения.

Эксперимент

Для измерений спектров лазерно-индуцированной флуоресценции был создан флуороспектрограф, структурная схема которой представлена на (рис. 1).

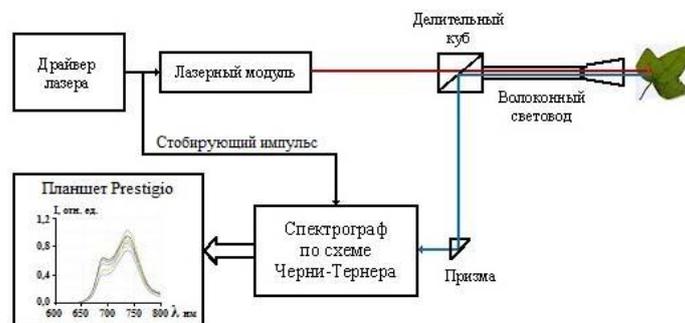


Рис. 1. Структурная схема флуороспектрографа

В качестве источника возбуждения излучения флуоресценции использован полупроводниковый лазер с длиной волны 532нм с длительностью импульса 70нс. Подсистема регистрации излучения флуоресценции построена на основе **монолитного спектрографа** и высокочувствительного детектора с усилителем яркости.

Флуороспектрографом были выполнены измерения спектров флуоресценции растений. Одновременно со спектром флуоресценции регистрировалась интенсивность отраженного лазерного излучения.

Экспериментальное исследование спектров флуоресценции включало в себя в качестве предварительного этапа калибровку монолитного спектрографа по длине волны с использованием стандартной методики и калибровочного источника света на основе ртутно-аргоновой лампы с линейчатым спектром. Калибровку системы регистрации по чувствительности в диапазоне от 250 до 750нм по стандартной методике с помощью калиброванного источника света DH2000-CAL. Также регистрировались фоновые шумы детектора на основе усилителя яркости, полученное распределение фоновых шумов записывалось в файл и в дальнейшем вычиталось из измеряемых спектров, что позволило частично устранить их влияние и тем самым повысить отношение сигнал/шум.

Для измерения спектров флуоресценции была выбрана ширина входной щели **монолитного спектрографа**, равная 200мкм, которая обеспечивает спектральное разрешение 5нм. При этом для регистрации интенсивности отраженного лазерного излучения ширина входной щели устанавливалась равной 4мкм, что позволяло снизить световой поток, поступающий на вход **монолитного спектрографа** и принимать сигнал без насыщения.

Экспериментальные исследования проводились для быстрорастущих и неприхотливых видов растений — различных видов салата, огурцов (как пример сельскохозяйственных культур), травы.

Обсуждение результатов

На (рис. 2) показаны характерные примеры измеренных спектров флуоресценции растений в нормальном состоянии. Здесь приведены спектры флуоресценции огурца апрельского (рис. 2 а, кривые 1-3 — спектры при различных измерениях), спектры флуоресценции кресс-салата (рис. 2 б, кривые 1-4 — спектры при различных измерениях) и травы из газонной смеси Декора Агос (рис. 2 в, кривые 1-3 — спектры при различных измерениях).

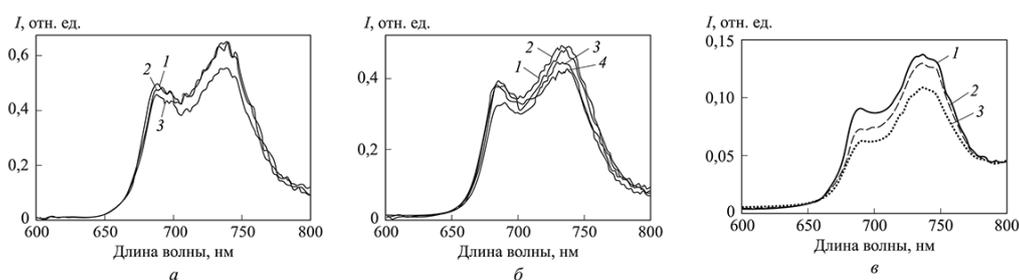


Рис. 2. Спектры флуоресценции растений в нормальном состоянии

На (рис. 2 а, в) хорошо видно, что спектр флуоресценции растений в нормальном состоянии имеет два максимума — в области ~680нм (для некоторых растений этот максимум слабо выражен — см. рис. 2 в) и в области ~740нм. При этом для большинства растений в нормальном состоянии отношение $R_{680/740}$ интенсивностей флуоресценции на длинах волн 680 и 740нм меньше 0,8.

Когда растение находится в стрессовом состоянии его спектр флуоресценции изменяется.

На (рис. 3-5) приведены характерные примеры измеренных спектров флуоресценции для растений в различных стрессовых состояниях. На (рис. 3) приведены спектры лазерно-индуцированной флуоресценции травы (выращенной из газонной смеси Декора Aros) в нормальном (кривые 1, 2) и стрессовом (кривая 3) состояниях, вызванных внесением в почву медного купороса CuSO_4 (5г, разбавленные в 200мл воды, на 3 горшка с травой размерами $9 \times 9 \times 10\text{см}$).

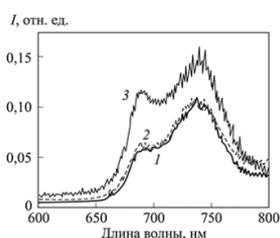


Рис. 3. Спектры флуоресценции травы в стрессовом состоянии, вызванном внесением в почву медного купороса

Кривая 1 соответствует измерению спектра лазерно-индуцированной флуоресценции через месяц после первых всходов травы, а кривая 2 — еще через две недели непосредственно перед внесением в почву загрязнителя. Кривая 3 соответствуют спектру флуоресценции травы в стрессовом состоянии, измеренному через две недели после внесения в почву медного купороса.

Из (рис. 3) следует, что влияние стрессового фактора (в данном случае вызванного внесением в почву медного купороса) может проявляться в изменении уровня флуоресценции. При этом форма спектра флуоресценции меняется мало. Этот эффект понятен, так как первая фаза стресса растений — первичная индуктивная стрессовая реакция [5, 6]. Для этой стадии характерно уменьшение интенсивности фотосинтеза, что сопровождается существенным увеличением интенсивности флуоресценции хлорофилла. Возрастание квантового выхода флуоресценции в этом случае обусловлено уменьшением эффективности

первичных процессов фотосинтеза — поглощенная световая энергия не используется в фотосинтезе, поэтому интенсивность флуоресценции возрастает.

Рисунок 4 иллюстрирует другой характер изменения спектров флуоресценции растений в стрессовом состоянии. На (рис. 4) приведены спектры лазерно-индуцированной флуоресценции кресс-салата в нормальном (кривые 1-3) и стрессовом (кривые 4-7) состояниях, вызванных механическим повреждением растения — примятием салата. Разные кривые соответствуют разным измерениям по времени (до механического повреждения и в интервале времени от 20 до 40 мин после механического повреждения).

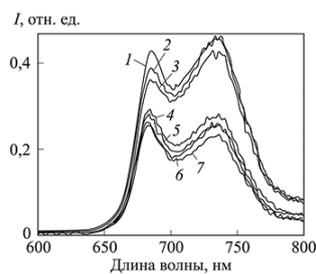


Рис. 4. Спектры флуоресценции кресс-салата в стрессовом состоянии, вызванном механическим повреждением растения

На (рис. 4) хорошо видно, что влияние стрессового фактора (в данном случае вызванного механическим повреждением) может проявляться в изменении формы спектра флуоресценции. Отношение $R_{680/740}$ интенсивностей флуоресценции на длинах волн 680 и 740 нм для растения в стрессовом состоянии больше единицы, а значение $R_{680/740}$ для растения в нормальном состоянии меньше единицы. При этом уровень флуоресценции для растения в стрессовом состоянии даже несколько меньше уровня флуоресценции для растения в нормальном состоянии.

Эффект изменения формы спектра флуоресценции для растений в стрессовом состоянии связывают с колебаниями активности фотосистемы ФС-II, которые приводят к изменениям отношения интенсивностей

флуоресценции в красной (680нм) и дальней красной (740нм) областях [7, 8].

Рисунок 5 иллюстрирует еще один возможный вид изменения спектра флуоресценции растения в стрессовом состоянии. На (рис. 5) приведены спектры лазерно-индуцированной флуоресценции кресс-салата в нормальном (кривая 1) и стрессовом (кривая 3) состояниях, вызванных избыточным количеством воды при поливе растения. Кривая 3 соответствует усредненному (по разным образцам) спектру флуоресценции при избыточном поливе в течение 24 дней. Кривая 2 показывает промежуточное изменение спектра (между точно нормальным и точно стрессовым) и соответствует усредненному (по разным образцам) спектру флуоресценции при избыточном поливе в течение 17 дней.

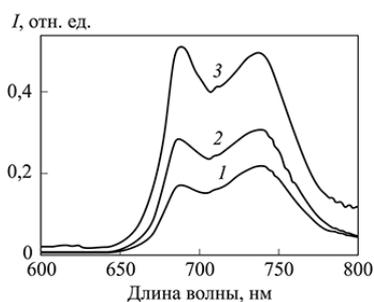


Рис. 5. Спектры флуоресценции кресс-салата в стрессовом состоянии, вызванном избыточным количеством воды при поливе

Из (рис. 5) следует, что влияние стрессового фактора (в данном случае вызванного избыточным количеством воды при поливе) постепенно накапливается при увеличении времени неправильного полива растения и может проявляться одновременно как в изменении формы спектра и в увеличении уровня флуоресценции. На рисунке измеренные уровни флуоресценции для растений в стрессовом состоянии (кривая 3) существенно выше уровня флуоресценции для растений в нормальном состоянии. При этом отношение $R_{680/740}$ интенсивностей флуоресценции на длинах волн 680 и 740нм для растения в стрессовом состоянии больше единицы, а значение $R_{680/740}$ для растения в нормальном состоянии меньше единицы.

Проведенные экспериментальные исследования показывают перспективность применения **лазерного флуороспектрографа** для контроля состояния растений при длине волны возбуждения флуоресценции **532нм**. Такой контроль может быть реализован с использованием беспилотного летательного аппарата и бортового лазерного флуориметра.

Выводы

Таким образом, экспериментальные исследования спектров лазерно-индуцированной флуоресценции растений для длины волны возбуждения **532нм** показывают, что воздействие на растение стрессовых факторов, вызванных наличием в почве загрязнителей, избыточного количества воды или механическим повреждением растений, существенно искажает спектр флуоресценции растений. Влияние стрессового фактора может проявляться в изменении формы спектра флуоресценции (идентифицирующим фактором при этом является отношение интенсивностей флуоресценции на двух длинах волн **680** и **740нм**) или/и в изменении уровня флуоресценции, что может быть положено в основу лазерного метода контроля состояния растений.

Литература

1. Panneton B., Guillaume S., Roger J.M., Samson G. Improved Discrimination Between Monocotyledonous and Dicotyledonous Plants for Weed Control Based on the Blue-Green Region of Ultraviolet-Induced Fluorescence Spectra // Applied Spectroscopy. 2010. Vol. 64. No. 1. P. 30–36.
2. Заворуев В.В., Заворуева Е.Н. Флуоресценция листьев тополей, растущих вблизи автомобильных дорог // Оптика атмосферы и океана. 2011. Т. 24. № 5. С. 437–440.
3. Белов М.Л., Булло О.А., Городничев В.А. Лазерный флуоресцентный метод обнаружения стрессовых состояний растений, вызванных недостаточным уровнем питательных веществ или наличия загрязнителей в почве // Наука и образование. МГТУ им. Н.Э. Баумана. Электрон. журн. 2012. № 12. Режим доступа: <http://technomag.edu.ru/doc/506199.html> (дата обращения 05.03.2014).
4. Мерзляк М.Н. **Пигменты, оптика листа и состояние растений** // Соросовский образовательный журнал. 1998. № 4. С. 19–24.
5. Лабораторные и лидарные измерения спектральных характеристик листьев березы в различные периоды вегетации / А.В. Афонасенко, А.И. Иглакова, Г.Г. Матвиенко, В.К. Ошлаков, В.Е. Прокопьев // Оптика атмосферы и океана. 2012. Т. 25. № 3. С. 237–243.
6. Бункин Ф.В., Бункин А.Ф. Лидарное зондирование водоемов, почвы и растительности // Оптика атмосферы и океана. 2000. Т. 13. № 1. С. 63–68.
7. Яковец О.Г. **Фитофизиология стресса**. Минск: БГУ, 2010. 103 с.
8. Лысенков В.С., Вардуни Т.В., Сойер В.Г., Краснов В.П. Флуоресценция хлорофилла растений как показатель экологического стресса: теоретические основы применения метода // **Фундаментальные исследования**. 2013. № 4. С. 112–119.