

УДК 504.064.36

**Метод лазерно-индуцированной флуоресценции для мониторинга
стрессовых состояний растений, вызванных механическими
повреждениями**

*Булло О.А., студент,
кафедра «Лазерные и оптико-электронные системы»
Россия, 105005, г. Москва, МГТУ им. Н.Э. Баумана,*

*Научный руководитель: Белов М.Л., профессор
Россия, 105005, г. Москва, МГТУ им. Н.Э. Баумана
baryshnikov@bmstu.ru*

Введение

Метод лазерной индуцированной флуоресценции (ЛИФ) эффективно используется в различных областях науки и техники как высокочувствительный аналитический метод [1-3], в том числе для обнаружения стрессовых состояний растительности, вызванных воздействием на растение различных химических и физических факторов [4-12].

В настоящее время большое количество работ посвящено обнаружению стрессовых состояний растений, вызванных влиянием таких химических факторов, как недостаток или избыток питательных веществ, наличие загрязнителей в почве [4-7]. Так же имеются отдельные экспериментальные работы, которые посвящены исследованию влияния физических факторов, в частности, механического повреждения растения [8-10]. Анализ этих немногочисленных работ показывает, что спектр флуоресценции растений при их механическом повреждении сильно зависит от таких факторов, как-то: длина волны возбуждения флуоресценции, вид растений, вид механического повреждения и времени, прошедшего после механического повреждения. Изменение спектра может проявляться как в увеличении уровня флуоресценции, так и в изменении самой его формы [8]. На рисунке 1 [8] представлены спектры флуоресценции наружной части зелёных листьев табака в различное время после отрезания листа при возбуждении на длине волны 470 ± 30 нм.

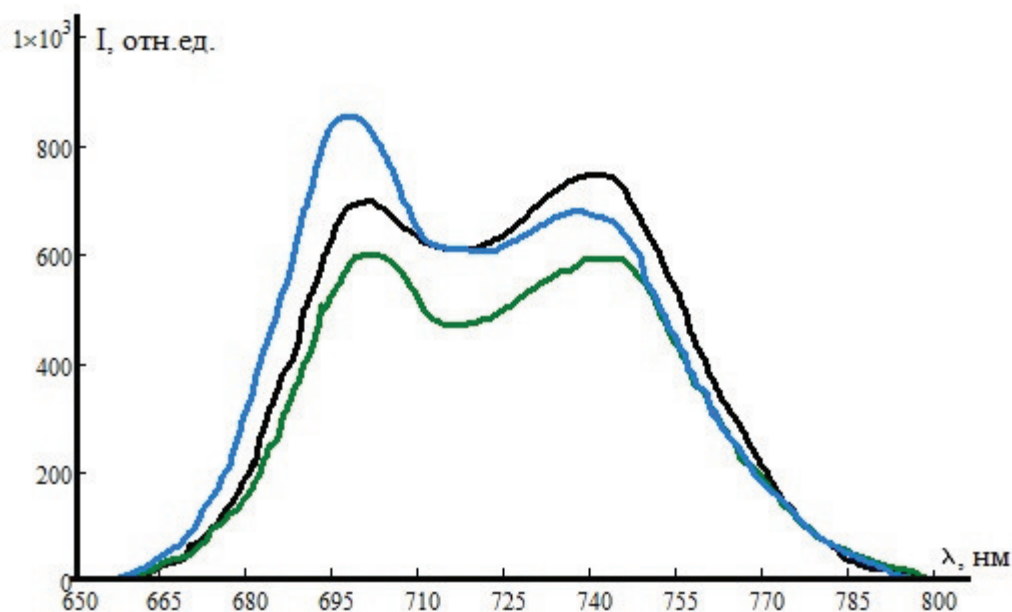


Рис.1. Спектры флуоресценции табака: чёрная линия – нормальное состояние, зелёная – спустя 4 ч после обрезания листа, синяя – спустя 24 ч после обрезания

Постановка задачи

Статья посвящена экспериментальному исследованию возможности обнаружения стрессовых состояний растительности методом ЛИФ. В качестве объекта исследований использовалась газонная трава, которая была подвергнута механическому воздействию: одна часть образцов была подрезана, другая – примята. Образцы травы были выращены из газонной смеси Декора Агос в горшках с габаритными размерами 9х9х10 см. Состав газонной смеси представлен в таблице 1. Было посажено 150 г газонной смеси.

Таблица 1

Состав газонной смеси Декора AROS

Семена для газонов	Процентный состав
Райграс пастбищный ЭСКВАЭР	30%
Овсяница красная ФЕРОТА	15%
Овсяница красная МАКСИМА 1	30%
Овсяница красная МИСТИК	20%
Овсяница овечья НОРДИК	5%

В качестве грунта использовался стандартный грунт для посадок, характеристики грунта представлен в таблице 2.

Таблица 2

Характеристики грунта

Питательные элементы и кислотность почвы	Содержание, мг/100г и уровень pH
Азот (NH_4+NO_2)	120-160
Фосфор (P_2O_5)	80-120
Калий (K_2O)	100-140
pH солевой суспензии	6,0-6,5

Таким образом, были получены три группы по три образца в каждой: первая – нормальное состояние травы, вторая – подрезанная трава, третья – примятая трава. Образцы внутри каждой группы отличались по степени густоты.

Описание лабораторной установки

Для измерения спектров флуоресценции была создана лабораторная установка, структурная схема которой представлена на рис. 2.

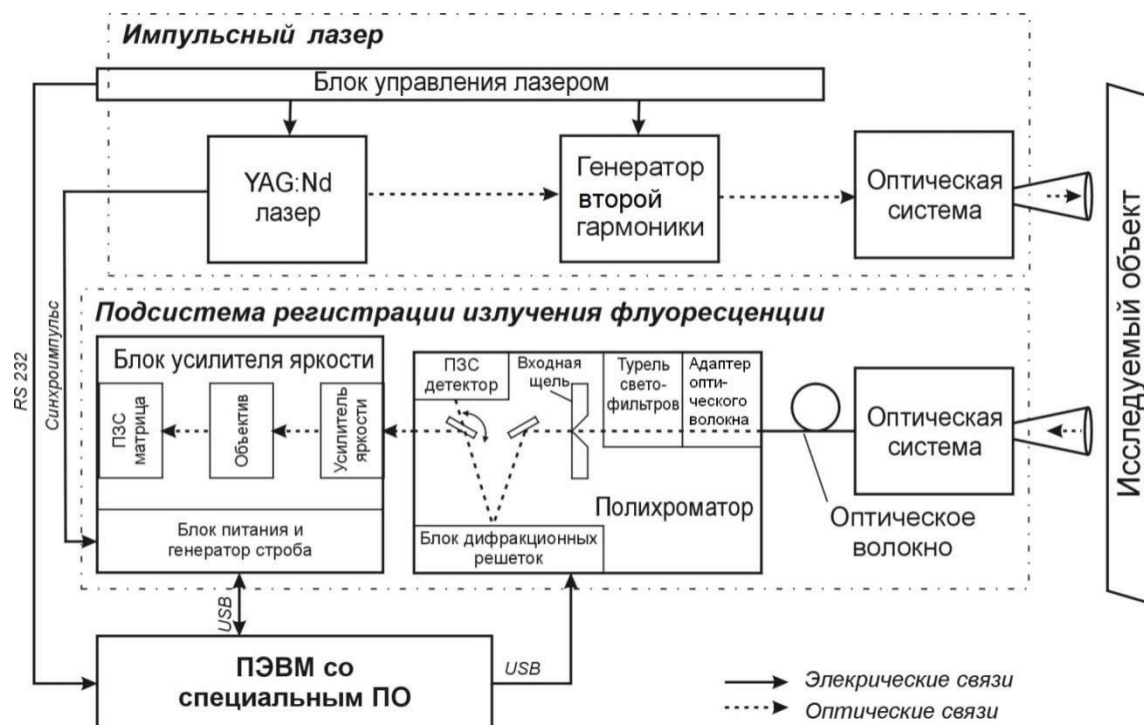


Рис. 2 Схема лабораторной установки

Для возбуждения излучения флуоресценции использована вторая гармоника YAG:Nd лазера с длиной волны 532 нм. Подсистема регистрации излучения флуоресценции построена на основе полихроматора и высокочувствительного матричного детектора с усилителем яркости. На установке были проведены измерения спектров флуоресценции газонной травы в диапазоне 595 – 800 нм, ширина входной щели полихроматора при этом 200 мкм, напряжение на усилителе яркости 900 В, отсекающий светофильтр, не пропускающий длину волны лазерного излучения, дифракционная решётка 200 шт/мм. Одновременно со спектром флуоресценции регистрировалась интенсивность упруго рассеянного излучения на длине волны 532 нм при ширине входной щели полихроматора 4 мкм и том же напряжении на усилителе яркости 900 В. Каждый образец измерялся по три раза. Видимый диаметр лазерного пятна на образце составлял приблизительно 2,5 см. Основные параметры лабораторной установки приведены в таблице 3.

Таблица 3

Основные параметры лабораторной установки

Энергия импульса лазера, мДж	2,1
Длительность импульса, нс	6
Длина волны возбуждения, нм	532
Диапазон регистрации спектра, нм	595 – 800
Диаметр приемного объектива, мм	15

Анализ полученных экспериментальных данных

На рис.3, 4 представлены спектры флуоресценции газонной травы. Спектры усреднены по всем измерениям (три измерения на образец), а так же внутри группы, по степеням густоты, и нормированы на интенсивность сигнала обратного рассеяния лазерного излучения. Чёрные сплошные линии – спектры флуоресценции, снятые 05.03.2012 через 1 месяц 10 дней после посадки травы; чёрные пунктирные линии - спектры флуоресценции, снятые непосредственно перед механическим воздействием (обрезанием или примятием) на траву 19.03.2012; синие сплошные линии - спектры флуоресценции травы в стрессовом состоянии, снятые сразу после механического воздействия на траву 19.03.2012; зеленые пунктирные линии - спектры флуоресценции травы после механического воздействия, снятые 22.03.2012.

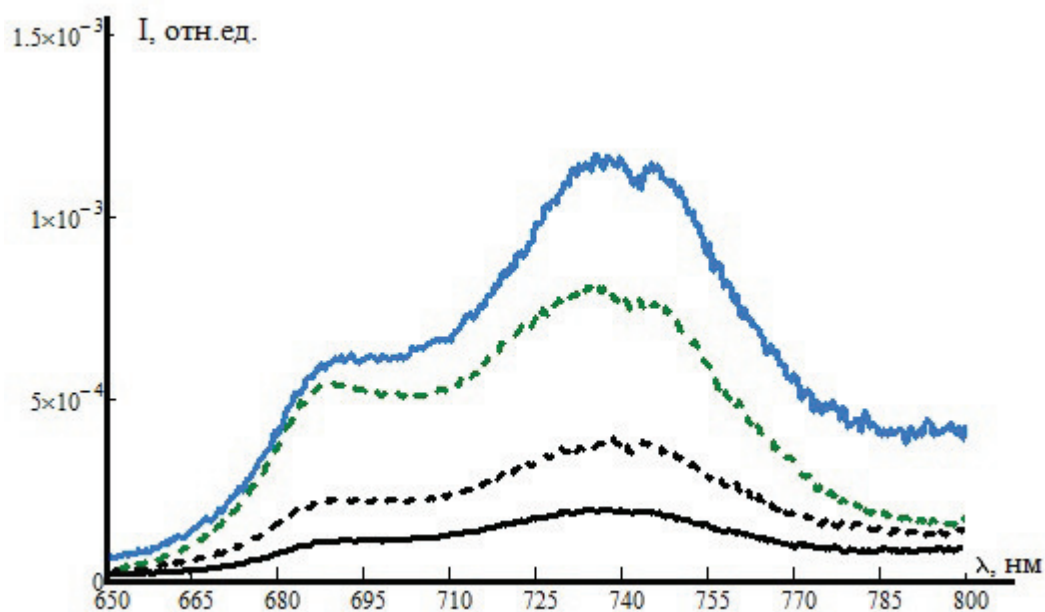


Рис. 3. Нормированные спектры газонной травы в нормальном состоянии и при механическом повреждении (обрезанная трава)

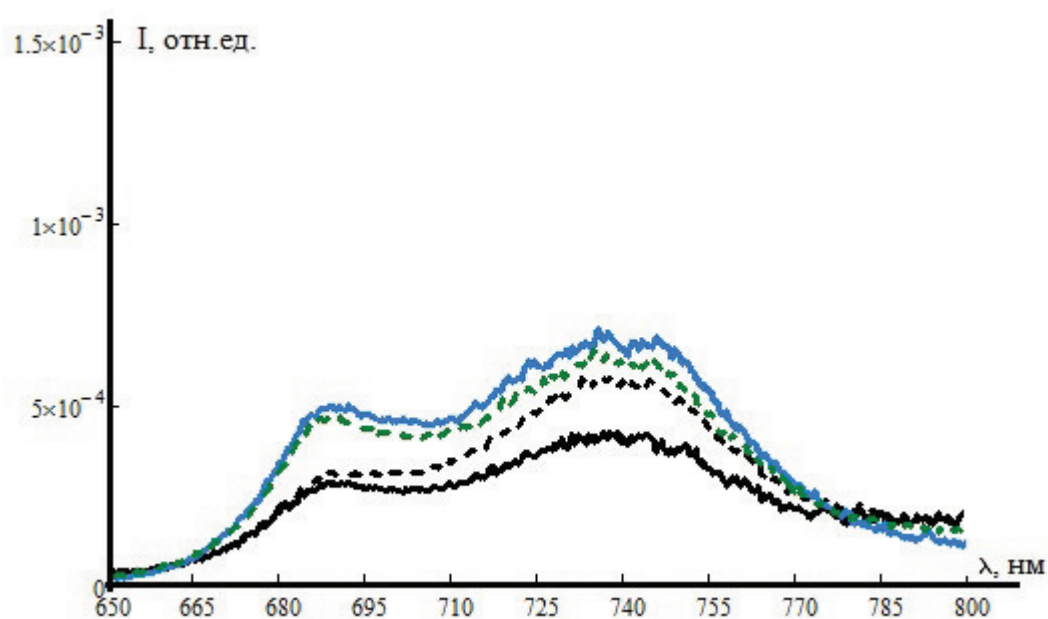


Рис. 4. Нормированные спектры флуоресценции газонной травы в нормальном состоянии и при механическом повреждении (примятая трава)

Из рисунков 4, 5 видно, что при механическом воздействии происходит сильное увеличение интенсивности флуоресценции на длине волны 685 нм (в 2,5

раза для подрезанной травы и в 1,5 раза для примятой). Можно ввести оптимальное пороговое значение R , которое будет вычисляться таким образом:

$$R = \frac{1}{2\Delta} \left(\int_{\lambda_0 - \frac{\Delta}{2}}^{\lambda_0 + \frac{\Delta}{2}} I_n(\lambda) d\lambda + \int_{\lambda_0 - \frac{\Delta}{2}}^{\lambda_0 + \frac{\Delta}{2}} I_{st}(\lambda) d\lambda \right) \quad (1)$$

где λ_0 – длина волны 685 нм, $I_n(\lambda)$ – спектр флуоресценции растения в нормальном состоянии, для которого интенсивность флуоресценции на длине волны λ_0 максимальна, $I_{st}(\lambda)$ – спектр флуоресценции растения в стрессовом состоянии, для которого интенсивность флуоресценции на длине волны λ_0 минимальна, $\Delta = 10$ нм – ширина узкой полосы пропускания.

Вычисленный по формуле (1) порог R равен $3,6 \cdot 10^{-4}$ отн.ед. и одинаков для двух рассмотренных видов механических воздействий.

Математическое моделирование показывает, что использование порогового значения $R = 3,6 \cdot 10^{-4}$ позволяет проводить обнаружение стрессовых состояний растений, вызванных механическими повреждениями, с вероятностью правильного обнаружения близкой к единице даже при относительном среднеквадратическом значении шума измерения 10%.

Заключение

Результаты экспериментальных исследований показывают, что воздействие стрессового фактора, вызванного механическим повреждением, проявляется в увеличении лазерной индуцированной флуоресценции растения. Этот эффект наблюдается в течение нескольких дней и хорошо виден для нормированных спектров флуоресценции.

Контроль состояния газонной травы при механическом повреждении образцов потенциально можно осуществлять, регистрируя интенсивность флуоресценции на одной длине волны 685 нм и сигнал обратного рассеяния на длине волны 532 нм.

Список литературы

1. Межерис Р. Лазерное дистанционное зондирование. М.: Мир, 1987. 550 с.
2. Основы количественного лазерного анализа / Козинцев В.И., Белов М.Л., Городничев В.А., Федотов Ю.В. М.: Изд-во МГТУ, 2006. 464 с.

3. Метод обнаружения нефтяных загрязнений на водной поверхности, основанный на регистрации флуоресцентного излучения в двух узких спектральных диапазонах / Федотов Ю.В., Белов М.Л., Матросова О.А. [и др.] // Вестник МГТУ. Сер. Приборостроение. 2010. N 3. С.3-12.
4. Fateeva N.L., Matvienko G. G. Application of the method of laser-induced fluorescence // Proc. of SPIE. 2004. Vol. 5232. P. 652 - 657.
5. Fluorescence lidar method for remote monitoring of effects on vegetation / G. Matvienko [et al.] // Proc. of SPIE. 2006. Vol. 6367. P. 63670F-1 - 63670F-8.
6. Исследование лазерно-индуцированной флуоресценции хвойных и лиственных растений при азотном загрязнении почвы / Н.Л. Фатеева [и др.] // Оптика атмосферы и океана. 2006. Т. 19. № 2-3, С. 212 – 215.
7. Remote sounding of vegetation characteristics by laser induced fluorescence / G. Matvienko [et al.] // SPIE. 1999. Vol. 3707. P.524-532.
8. Hurtmut K.L., Rinderle U. The role of chlorophyll fluorescence in the detection of stress condition in plants // CRC Critical reviews in Analytical chemistry. 1988. Vol.19. P. S29-S85.
9. Нестеренко Т. В., Тихомиров А. А., Шихов В. Н. Индукция флуоресценции хлорофилла и оценка устойчивости растений к неблагоприятным воздействиям // Журнал общей биологии. 2007. Т. 68. №6, С. 444-458.
10. Detection of mechanical and disease stresses in citrus plants by fluorescence spectroscopy / J. Belasque [et al.] // Applied Optics. 2008. Vol. 47. No 11, P. 1922-1926.
11. Белов М.Л., Булло О.А., Городничев В.А. Лазерный флуоресцентный метод контроля состояния растений в стрессовых ситуациях // Наука и образование. МГТУ им. Н.Э. Баумана. Электронный журнал 2012. №4. Режим доступа: <http://technomag.edu.ru/doc/361884.html> (дата обращения 04.03.2013).
12. Федотов Ю.В., Булло О.А., Матросова О.А., Белов М.Л., Городничев В.А. Экспериментальное исследование лазерного флуоресцентного метода контроля состояния растений в стрессовых состояниях, вызванных механическими повреждениями // Наука и образование. МГТУ им. Н.Э. Баумана. Электронный журнал 2012. №11. Режим доступа <http://technomag.edu.ru/doc/480063.html> (дата обращения 04.03.2013).