Экспериментальное исследование лазерного флуоресцентного метода контроля состояния растений в стрессовых состояниях, вызванных механическими повреждениями

11, ноябрь 2012

DOI: 10.7463/1112.0480063

**Федотов Ю. В., Булло О. А., Матросова О. А., Белов М. Л.,
Городничев В. А.**

УДК 504.064.36

Россия, МГТУ им. Н.Э. Баумана

fed@bmstu.ru

olga.bull@gmail.com

belov@bmstu.ru

ekomonit@bmstu.ru

gorod@bmstu.ru

Введение. Флуоресцентный анализ широко используется в науке и технике в качестве высокочувствительного аналитического средства (см., например, [1-3]). Метод лазерной индуцированной флуоресценции на сегодняшний день является одним из наиболее перспективных направлений контроля состояния растительности (см., например, [4-21]) и обнаружения стрессовых состояний растений, вызванных недостаточным уровнем питательных веществ, наличием загрязнителей в почве или механическими повреждениями растений.

Большинство работ в этой области посвящено исследованию стрессовых состояний растений, вызванных недостаточным уровнем питательных веществ или наличием загрязнителей в почве. В настоящее время имеются отдельные экспериментальные работы, посвященные исследованию спектров флуоресценции растений в стрессовых состояниях, вызванных различными механическими повреждениями растений (см., например, [17-20]). Анализ этих немногочисленных работ показывает, что спектр флуоресценции растений при их механическом повреждении сильно зависит от многих факторов (длины волны возбуждения флуоресценции, вида растений, вида механического повреждения и времени, прошедшего после механического повреждения) и может проявляться как в

увеличении уровня флуоресценции, так и в изменении формы спектра флуоресценции растения.

Постановка задачи. Статья посвящена экспериментальному исследованию состояния растительности лазерным флуоресцентным методом. В работе производилось исследование спектров флуоресценции газонной травы, находящейся в нормальном состоянии и при воздействии механических повреждений (обрезанная и примятая травы).

Газонная трава была выращена из газонной смеси Декора Aros. Состав этой смеси представлен в таблице 1. Было посажено 150 г газонной смеси. В качестве грунта использовался стандартный грунт для посадок.

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%

На рис. 1 представлена фотография типичного образца, с которым проводились эксперименты (габаритные размеры горшка 9x9x10 см, высота травы 8 см). Всего было посажено 24 образца, которые были впоследствии разделены на 3 группы по степени густоты травы.

На рис. 2 представлена фотография, на которой представлены образцы обрезанной (на 5 см) травы (три горшка на переднем плане), контрольные необрезанные образцы (сзади обрезанной травы) и слева на рисунке – три горшка, в которых трава примята.

Рис. 1. Фотография экспериментального образца высокой степени густоты

Рис. 2. Фотография обрезанных и примятых экспериментальных образцов

Описание лабораторной установки. Для измерения спектров флуоресценции была создана лабораторная установка, структурная схема которой представлена на рис. 3.

В качестве источника возбуждения излучения флуоресценции использована вторая гармоника YAG:Nd лазера (длина волны 532 нм является одной из наиболее перспективных длин волн исследования флуоресценции растений). Подсистема регистрации излучения флуоресценции построена на основе полихроматора и высокочувствительного матричного детектора с усилителем яркости.

Рис. 3. Схема лабораторной установки

На установке были проведены измерения спектров флуоресценции газонной травы в диапазоне 595 – 800 нм. Одновременно со спектром флуоресценции регистрировалась интенсивность упруго рассеянного излучения на длине волны 532 нм.

Основные параметры лабораторной установки приведены в таблице 2.

Таблица 2

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
Разрешение по спектру, нм	8
Диаметр приемного объектива, мм	15

Анализ полученных экспериментальных данных. На рис. 4 - 11 приведены наиболее характерные примеры измеренных спектров флуоресценции травы в различных стрессовых состояниях. На рисунках 4, 6, 8, 10 – ненормированные спектры флуоресценции, а на рис. 5, 7, 9, 11 – нормированные спектры флуоресценции (нормировка проводилась на среднее значение интенсивности упруго рассеянного излучения в спектральной полосе 0,408 нм около длины волны 532 нм). На рисунках 4-7 – обрезанная (на 5 см) трава, на рисунках 8-11 – примятая трава.

На рисунках 4-11: черные сплошные линии – спектры флуоресценции, снятые 05.03.2012, через месяц и 10 дней после посадки травы; черные пунктирные линии – спектры флуоресценции, снятые непосредственно перед механическим воздействием (обрезанием или примятием) травы 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; красные сплошные линии – спектры флуоресценции травы после механического воздействия, снятые 23.03.2012.

Рис. 4. Спектры флуоресценции (ненормированные) газонной травы в нормальном состоянии и при механическом повреждении (обрезанная трава). Образец 1_2.

Рис. 5. Спектры флуоресценции (нормированные) газонной травы в нормальном состоянии и при механическом повреждении (обрезанная трава). Образец 1_2.

Рис. 6. Спектры флуоресценции (ненормированные) газонной травы в нормальном состоянии и при механическом повреждении (обрезанная трава). Образец 2_2.

Рис. 7. Спектры флуоресценции (нормированные) газонной травы в нормальном состоянии и при механическом повреждении (обрезанная трава). Образец 2_2.

Рис. 8. Спектры флуоресценции (ненормированные) газонной травы в нормальном состоянии и при механическом повреждении (примятая трава). Образец 3_3.

Рис. 9. Спектры флуоресценции (нормированные) газонной травы в нормальном состоянии и при механическом повреждении (примятая трава). Образец 3_3.

Рис. 10. Спектры флуоресценции (ненормированные) газонной травы в нормальном состоянии и при механическом повреждении (примятая трава). Образец 3_2.

Рис. 11. Спектры флуоресценции (нормированные) газонной травы в нормальном состоянии и при механическом повреждении (примятая трава). Образец 3_2.

Сравнение рисунков с нормированными и ненормированными спектрами флуоресценции показывает, что они могут заметно отличаться друг от друга. Ненормированные спектры флуоресценции несомненно дают объективную картину для каждого конкретного измерения. Однако, при обработке совокупности измерений, когда от измерения к измерению может меняться энергия импульса лазера, проективное покрытие растительности (при измерении разных образцов), наклон облучаемой поверхности по отношению к оптической оси лазера и т.п.,

характерные закономерности изменения спектров флуоресценции (вызванные стрессом растений) будут проявляться скорее при анализе нормированных спектров флуоресценции. При этом количественные характеристики закономерностей изменения спектров флуоресценции (вызванных стрессом растений) будут более устойчивые при анализе тоже нормированных спектров флуоресценции.

Анализ нормированных спектров флуоресценции после обрезания травы показывает, что влияние стрессового фактора проявляется в изменении уровня флуоресценции. В течение нескольких дней наблюдается устойчивое увеличение интенсивности флуоресценции существенно превышающее ее значение в случае нормального состояния растений. Для ненормированных спектров такого устойчивого (проявляющегося для всех образцов и для всех дат измерения) увеличения интенсивности флуоресценции не наблюдается.

Для стресса вызванного примятием травы эффект, описанный при выше для обрезанной травы, так же имеет место. Однако после примятия трава, видимо, быстрее выходит из стрессового состояния, чем после обрезания (см. рис. 11).

Заключение. Экспериментальные исследования показывают, что воздействие стрессового фактора (вызванного механическим повреждением растений) на растение проявляется для нормированных спектров флуоресценции по крайней мере в течение нескольких дней в увеличении интенсивности флуоресценции. Таким образом, лазерный флуоресцентный метод, использующий для возбуждения флуоресценции излучение на длине волны 532 нм, потенциально позволяет обнаруживать стрессовые состояния растительности, вызванные механическим повреждением растений.

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. Laser-induced fluorescence of green plants. 1: A technique for the remote detection of plant stress and species differentiation / Emmett W. Chappelle [et al.] // Applied Optics. 1984. Vol. 23. No 1, P. 134-138.
5. Laser-induced fluorescence of green plants. 2: LIF caused by nutrient deficiencies in corn / Emmett W. Chappelle [et al.] // Applied Optics. 1984. Vol. 23. No 1, P. 139-142.
6. Cecchi G., Bazzani M., Pantani L. Fluorescence lidar method for remote monitoring of effects on vegetation // SPIE. 1995. Vol. 2585. P. 48 - 56.
7. Luedeker W., Guenther K.P., Dahn H.-G. Laser induced fluorescence a tool for vegetation status- and stress- monitoring and optical aided agriculture// SPIE. 1997. Vol. 3059. P.63 - 75.
8. Fluorescence: A Diagnostic tool for the detection of stress in plants / Emmett W. Chappelle [et al.] // SPIE. 1997. Vol. 2959. P. 1 - 10.
9. Fateeva N.L., Matvienko G. G. Application of the method of laser-induced fluorescence // Proc. of SPIE. 2004. Vol. 5232. P. 652 - 657.
10. 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.
11. 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.
12. Saito Y. Laser-induced fluorescence spectroscopy technique as a tool for field monitoring of physiological status of living plants // Proc. of SPIE. 2007. Vol. 6604. P. 66041W-1- 66041W-12.
13. Water deficit and salt stress diagnosis through LED induced chlorophyll fluorescence analysis in *Jatropha curcas* L. oil plants for biodiesel / A.S. Gouveia-Neto [et al.] // Proc. of SPIE. 2011. Vol. 7902. P. 79020A-1 - 79020A-10.
14. Maurya R., Prasad S.M., Gopal R. LIF technique offers the potential for the detection of cadmium-induced alteration in photosynthetic activities of *Zea Mays* L. // Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews. 2008. Vol. 9. P. 29–35.
15. Middleton E., McMurtrey J.E., Encheva P.K. Campbell Optical and fluorescence properties of corn leaves from different nitrogen regimes // Proc. of SPIE. 2003. Vol. 4879. P. 72 - 83.
16. Заворуев В.В., Заворуева Е.Н. Флуоресценция листьев тополей, растущих вблизи автомобильных дорог. // Оптика атмосферы и океана. 2011. Т. 24. № 5, С. 437 – 440.
17. Remote sounding of vegetation characteristics by laser induced fluorescence / G. Matvienko [et al.] // SPIE. 1999. Vol. 3707. P. 524 - 532.

18. Hurtmut K.L., Rinderle U. The role of chlorophyll fluorescence in the detection of stress condition in plants / G. Matvienko [et al.] // Critical reviews in Analytical chemistry. 1988. Vol. 19. P. S29 – S85.
19. 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.
20. 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.
21. 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. Электрон. журн. 2012. № 4. Режим доступа: <http://technomag.edu.ru/doc/361884.html> (дата обращения 18.04.2012).

Experimental studies of laser fluorescence method for remote sensing of plants in stressful situations due to mechanical injuries

11, November 2012

DOI: 10.7463/1112.0480063

Fedotov Yu.V., Bullo O.A., Matrosova O.A., Belov M.L.,
Gorodnichev V.A.

Russia, Bauman Moscow State Technical University

fed@bmstu.ru

olga.bull@gmail.com

belov@bmstu.ru

ekomonit@bmstu.ru

gorod@bmstu.ru

Experimental setup for studying the condition of plants by laser fluorescence method is described in this article. Fluorescence spectra of lawn grass in normal and stressful situations is also presented. It is shown that influence of stress factor on plants could lead to increase in fluorescent signal.

Publications with keywords: [fluorescence](#), [plant](#), [laser method](#), [detection of plant stress](#)
Publications with words: [fluorescence](#), [plant](#), [laser method](#), [detection of plant stress](#)

References

1. Measures R.M. *Laser remote sensing . Fundamentals and applications*. J. Wiley & Sons, New York, 1984. 510 p. (Russ. ed.: Mezheris R. *Lazernoe distantsionnoe zondirovanie*. Moscow, Mir, 1987. 550 p.).
2. Kozintsev V.I., Belov M.L., Gorodnichev V.A., Fedotov Iu.V. *Osnovy kolichestvennogo lazernogo analiza* [Fundamentals of quantitative analysis of the laser]. Moscow, Bauman MSTU Publ, 2006. 464 p.
3. Fedotov Iu.V., Belov M.L., Matrosova O.A., Gorodnichev V.A., Kozintsev V.I. Metod obnaruzheniia neftian'nykh zagriaznenii na vodnoi poverkhnosti, osnovannyi na registratsii fluoressentnogo izlucheniia v dvukh uzkiikh spektral'nykh diapazonakh [Method of detection of oil pollution on water surface based on recording of fluorescent radiation in two narrow spectral ranges]. *Vestnik MGTU im. Baumana. Ser. Priborostroenie* [Herald of the Bauman MSTU. Ser. Instrument Engineering], 2010, no. 2, pp. 39-47.

4. Emmett W. Chappelle, et al. Laser-induced fluorescence of green plants. 1: A technique for the remote detection of plant stress and species differentiation. *Applied Optics*, 1984, vol. 23, no. 1, pp. 134-138.
5. Emmett W. Chappelle, et al. Laser-induced fluorescence of green plants. 2: LIF caused by nutrient deficiencies in corn. *Applied Optics*, 1984, vol. 23, no. 1, pp. 139-142.
6. Cecchi G., Bazzani M., Pantani L. Fluorescence lidar method for remote monitoring of effects on vegetation. *Proc. of SPIE*, 1995, vol. 2585, pp. 48-56.
7. Luedeker W., Guenther K.P., Dahn H.-G. Laser induced fluorescence a tool for vegetation status- and stress- monitoring and optical aided agriculture. *Proc. of SPIE*, 1997, vol. 3059, pp. 63-75.
8. Emmett W. Chappelle, et al. Fluorescence lidar method for remote monitoring of effects on vegetation. *Proc. of SPIE*, 1997, vol. 2959, pp. 1-10.
9. Fateeva N.L., Matvienko G. G. Application of the method of laser-induced fluorescence. *Proc. of SPIE*, 2004, vol. 5232, pp. 652-657.
10. Matvienko G., et al. Fluorescence lidar method for remote monitoring of effects on vegetation. *Proc. of SPIE*, 2006, vol. 6367, pp. 63670F-1 - 63670F-8.
11. Fateeva N.L., et al. Issledovanie lazerno-indutsirovani fluorestsentsii khvoinykh i listvennykh rastenii pri azotnom zagriaznenii pochvy [The study of laser-induced fluorescence of conifers and deciduous plants in the nitrogen pollution of the soil]. *Optika atmosfery i okeana*, 2006, vol. 19, no. 2-3, pp. 212-215.
12. Saito Y. Laser-induced fluorescence spectroscopy technique as a tool for field monitoring of physiological status of living plants // *Proc. of SPIE*. 2007. Vol. 6604. P. 66041W-1- 66041W-12.
13. Gouveia-Neto A.S., et al. Water deficit and salt stress diagnosis through LED induced chlorophyll fluorescence analysis in *Jatropha curcas* L. oil plants for biodiesel. *Proc. of SPIE*, 2011, vol. 7902, pp. 79020A-1 - 79020A-10.
14. Maurya R., Prasad S.M., Gopal R. LIF technique offers the potential for the detection of cadmium-induced alteration in photosynthetic activities of *Zea Mays* L. *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews*, 2008, vol. 9, pp. 29-35.
15. Middleton E., McMurtrey J.E., Encheva P.K. Campbell Optical and fluorescence properties of corn leaves from different nitrogen regimes. *Proc. of SPIE*, 2003, vol. 4879, pp. 72-83.
16. Zavoruev V.V., Zavorueva E.N. Fluorestsentsiia list'ev topolei, rastushchikh vblizi avtomobil'nykh dorog [The fluorescence of the leaves of poplars which grow near road]. *Optika atmosfery i okeana*, 2011, vol. 24, no. 5, pp. 437-440.
17. Matvienko G., et al. Remote sounding of vegetation characteristics by laser induced fluorescence. *Proc. of SPIE*, 1999, vol. 3707, pp. 524 - 532.
18. Lichtenthaler H.K., Rinderle U. The role of chlorophyll fluorescence in the detection of stress condition in plants. *CRC Critical reviews in Analytical chemistry*, 1988, vol. 19 (suppl.), pp. S29-S85.

19. Nesterenko T.V., Tikhomirov A.A., Shikhov V.N. Induktsiia fluorestsentsii khlorofilla i otsenka ustoichivosti rastenii k neblagopriiatnym vozdествiiam [Chlorophyll fluorescence induction and assessment of plant resistance to adverse influences]. *Zhurnal obshchei biologii*, 2007, vol. 68, no. 6, pp. 444-458.
20. Belasque J., et al. Detection of mechanical and disease stresses in citrus plants by fluorescence spectroscopy. *Applied Optics*, 2008, vol. 47, no. 11, pp. 1922-1926.
21. Belov M.L., Bullo O.A., Gorodnichev V.A. Lazernyi fluorestsentnyi metod kontrolya sostoianiia rastenii v stressovykh situatsiiakh [Laser fluorescence method of remote control of plants state under stress]. *Nauka i obrazovanie MGTU im. N.E. Bauman* [Science and Education of the Bauman MSTU], 2012, no. 4. Available at: <http://technomag.edu.ru/doc/361884.html> , accessed 18.04.2012.