КОМПЬЮТЕРИЗИРОВАННАЯ УСТАНОВКА ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ РАСТЕНИЙ

Будаговская Ольга Николаевна

доктор технических наук, в.н.с. Федеральный Научный Центр имени И.В.Мичурина, Мичуринский государственный аграрный университет

budagovsky@mail.ru

Будаговский Андрей Валентинович

доктор технических наук, заведующий НИПЛ «Биофотоника» Мичуринский государственный аграрный университет Федеральный Научный Центр имени И.В.Мичурина г. Мичуринск, Россия

Аннотация. Разработана компьютеризированная установка, предназначенная для одновременного измерения амплитудных (интенсивность светорассеяния) и фазовых (когерентность светорассеяния) параметров оптического излучения. Конструкция прибора позволяет проводить измерения, как в режиме пропускания, так и отражения света, менять параметры зондирующего излучения (диаметр, мощность, плоскость поляризации). Визуальный контроль за областью измерений и оценка размера светового пятна осуществляется с помощью встроенного окуляр-микрометра. Оптическая схема прибора оптимизирована для измерения целых листьев и плодов. Процесс съема и обработки информации полностью автоматизирован с помощью компьютерной программы, при этом частота съема данных регулируется в широких пределах от долей секунды до нескольких часов.

Ключевые слова: амплидно-фазовые параметры, когерентное излучение, установка, компьютерная программа.

Одной из важнейших проблем агробиологии является адекватная экспрессдиагностика функционального состояния культурных растений. Оптимизация технологий возделывания, отбор устойчивых генотипов, оценка и прогноз экологической изменчивости и другие вопросы, вытекающие из стратегии адаптивного растениеводства [1], связаны с этой проблемой. Наибольший интерес представляют неразрушающие оптические методы, в частности, метод лазерной диагностики микроструктуры (ЛАМ). Сущность метода заключается в оценке структурной организации растительной ткани по величине амплитуднофазовых характеристик лазерного излучения, рассеянного этой тканью. Установлено, что большей функциональной активности и потенциальной жизнеспособности растительного организма соответствуют более высокие уровни когерентности и приведенной когерентности (отношение когерентности к интенсивности светорассеяния). Действие неблагоприятных факторов (грибные и вирусные инфекции, дефицит макро- и микроэлементного питания, высокие низкие температуры, старение, механические и химические повреждения, загрязнение среды т.п.), наоборот, проявляется в снижении этих показателей [2-6].

Целью настоящей работы является описание компьютеризированной установки диагностики структурно-функционального состояния растений по параметрам светорассеяния лазерного излучения и примеров ее использования.

Для количественного анализа структуры нативных растительных тканей в режиме реального времени была разработано устройство для одновременного измерения амплитудных (интенсивность светорассеяния) и фазовых (когерентность светорассеяния) параметров оптического излучения. Основным узлами установки являются: светосильный интерферометр сдвига, ССD-камера с платой видео-ввода для съема и оцифровки интерферограмм, двухкоординатный столик - держатель объекта, система лазерного зондирования образца и персональный компьютер для обработки видеоизображений. Конструкция прибора позволяет проводить измерения как в режиме пропускания, так и отражения света, менять параметры зондирующего излучения (диаметр, мощность, плоскость поляризации). Визуальный контроль за областью измерений и оценка

размера светового пятна осуществляется с помощью встроенного окулярмикрометра. Оптическая схема прибора оптимизирована для измерения целых листьев и плодов. Процесс съема и обработки информации полностью автоматизирован с помощью компьютерной программы, при этом частота съема данных регулируется в широких пределах от долей секунды до нескольких часов.

Использование установки существенно упрощает процедуру рутинных измерений, что особенно ценно при исследовании динамики структурнофункциональных перестроек растительной ткани. В качестве иллюстрации на рисунке 1 приведены графики изменения средней интенсивности и когерентности светорассеяния интактного и термоинактивированного при температуре +55°C листа черной смородины. Фотодеструкцию инициировали интенсивным световым потоком диаметром 0,7 мм и плотностью мощности 950 вт/м². В динамике фотодеструкции прослеживается три фазы – фаза резкого снижения интенсивности светорассеяния (переходная фаза реакции на световое раздражение), стационарная фаза (фаза компетентности репарационных процессов) и фаза подъема интенсивности светорассеяния (фаза разрушения хлорофилла). При сохранении общности процессов, время наступления каждой из фаз и их амплитудное выражение зависит от функционального состояния листьев и содержания хлорофилла. Так, третья фаза необратимого разрушения хлорофилла у термоинактивированных листьев наступает существенно быстрее (на 50-й секунде засветки), чем у нормально функционирующих (на 1000-й секунде).

Первоначальное снижение интенсивности светорассеяния, по-видимому, объясняется светоиндуцированными перестройками хлорофилл-белкового комплекса (ХБК) в процессе поглощения света. Об этом свидетельствует существенно более слабое выражение или отсутствие переходного процесса у листьев с термоинактивированным (при температуре +55 °C) ХБК. Достаточно большая длительность данной фазы (20 –300 сек в зависимости от температуры листа), обратная зависимость длительности переходных процессов от температуры листа и наличие порогового значения плотности мощности излучения,

при котором наступает данный эффект «светоиндуцированного снижения пропускания» (ССП), также говорят в пользу влияния тепловых процессов.

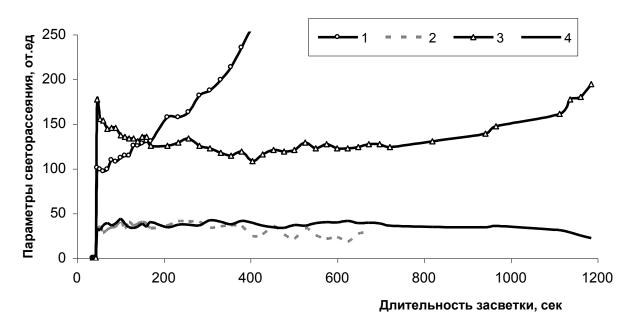


Рисунок 1. Динамика светорассеяния листа смородины в процессе фотодеструкции. 1, 2 — интенсивность и когерентность светорассеяния термоинактивированного листа; 3, 4 — интенсивность и когерентность светорассеяния интактного листа

Как известно, хлоропласты относятся в группе лиотропных жидких кристаллов, меняющих свои оптические свойства под действием температуры, внешних электрических и магнитных полей [7, 8]. Фактически первая фаза динамики фотодеструкции отражает переходной процесс хлоропластов из одного жидкокристаллического состояния (например, по схеме обратимой трансцисизомеризации [9]) по мере роста температуры тилакоидной мембраны. Возможным доказательством этой посылки может явиться эксперимент, проведенный по измерению динамики реакции на световое раздражение интактного и инактивированного высокой (+55°С) и низкой (-30°С) температурой листа лимона (рис.2). Индуцированное интенсивным оптическим потоком изменение светорассеяния живого листа происходит в течении 60 -120 сек. При этом прибор регистрирует 30% падение интенсивности (с 80 от.ед. в начальный момент включения лазера (25-я секунда временной оси графика) до 54 от.ед. при завершении переходного процесса и выхода на стационарную фазу) через 120 секунд воздействия. Температурная инактивация листа приводит к существен-

ному снижению амплитуды переходного процесса (менее 10%), но если при воздействии высокой температурой абсолютное значение пика соответствует минимуму интенсивности (55 от.ед.), то при инактивации низкой температурой - максимуму интенсивности кинетики светорассеяния живого листа (88 от.ед.). Таким образом, необратимой изомеризацией ХБК низкой и высокой температурой удается зафиксировать две фазы жидкокристаллического состояния хлоропластов с различными оптическими свойствами.

Авторами также рассматривается гипотеза общности физических явлений, лежащих в основе эффекта ССП и эффекта Каутского [10,11]. В пользу этой гипотезы говорят не только тождественность временных, спектральных и энергетических параметров возбуждающего и измеряемого оптического излучения, но и идентичность реакции на функциональное состояние фотосинтезирующего аппарата растений [10-13].

Следовательно, способность ХБК к индуцированному переходу характеризует жизнеспособность хлоропластов и может применяться для диагностики устойчивости и адаптации фотосинтезирующего аппарата растений к различным экстремальным факторам. Скорость наступления фазы разрушения хлорофилла (фазы выцветания) также может быть использована для диагностики функционального состояния растений. Другим важным диагностическим фактором, тесно связанным с адаптационными возможностям растений, является способность восстанавливать повреждения фотосинтезирующего аппарата. Такую диагностику легко осуществить, проводя измерения динамики реакции одной той же зоны листа на световое раздражение через заданные промежутки времени. Как известно, устойчивость ХБК к фотодеструкции и интенсивность репарационных процессов, существенно зависят от условий произрастания, устойчивости к неблагоприятным факторам, фено- и генотипических особенностей растительного организма [14-16], что в свою очередь предопределяет высокую информативную ценность изучения динамики фотодеструкции для оценки функционального состояния растений. Представленная установка позволяет проводить комплексные исследования как амплитудно-фазовых параметров светорассеяния, отражающих микроструктурное состояние растительной ткани, так и динамику их изменения в процессе фотодеструкции, что позволяет получить новую информацию об адаптивном потенциале и устойчивости растений.

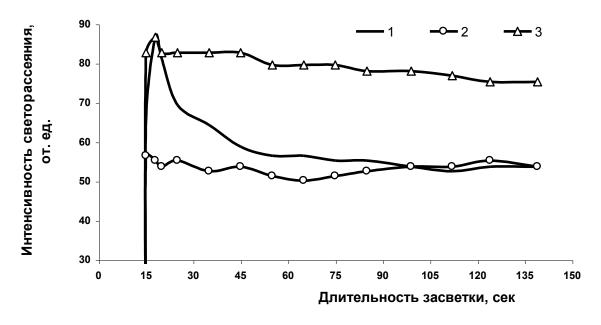


Рисунок 2. Динамика интенсивности светорассеяния интактного (1) и инактивированноговысокой (2) и низкой (3) температурой листа лимона в ответ на световое раздражение.

Выводы:

- 1. Разработана компьютеризированная установка для одновременной регистрации амплитудных и фазовых параметров рассеянного лазерного пучка.
- 3. Установка включает светосильный интерферометр сдвига, ССD-камера с платой видео-ввода для съема и оцифровки интерферограмм, двухкоординатный столик держатель объекта, система лазерного зондирования образца и персональный компьютер для обработки видео-изображений.
- 3. Установка может использоваться для прижизненного исследования структурно-функциональных перестроек растительной ткани, и разработки на базе полученных данных новых критериев диагностики функционального состояния растений и плодов.

Список литературы

- 1. Жученко А.А. Адаптивное растениеводство. Кишинев: Штиинца, 1990.-432 с.
- 2. Budagovsky A., Budagovskaya O., Lenz F., Keutgen A., Alkayed K. Analysis of functional state of cultivated plants by means of interference of scattered light and chlorophyll fluorescence //Journal of applied botany.-2002.-V.76.-P.115-120.
- 3. Будаговский А.В., Будаговская О.Н., Ленц Ф., Мировская А., Элькаует К. Новый метод анализа функционального состояния культурных растений // Пути повышения устойчивости садоводства. Сб.науч.тр.ВНИИС. Мичуринск, 1998. С.98-113.
- 4. Патент России 2016671 Способ определения качества плодов и устройство для его осуществления / Будаговская О.Н., Будаговский А.В. // МКИ⁵ В 07 С 5/432 Опубл.30.07.94 Бюл.14.- 8с
- 5. Патент РФ № 2222177 Способ оценки скороспелости растений фей-хоа/Будаговская О.Н., Будаговский А.В., Огиенко Н.Г. МПК⁷ А 01 G 1/00, А01Н 1/04 Опубл.27.01.04. Бюл.3.- 5с.
- 6. Патент РФ № 2225691 Способ диагностики потребности растений в микроэлементном питании /Будаговская О.Н., Будаговский А.В., Притула З.В., Белоус О.Г., Абильфазова Ю.С. //МПК⁷ A01G 7/00 Опубл.20.03.04 Бюл.8.- 9 с.
- 7. Браун Г., Уолкен Д. Жидкие кристаллы и биологические структуры. М.:Мир, 1982.- 256 с.
- 8. Journeaux R., Viovy R. Orientation of chlorophylls in liquid crystals // Photochemistry and photobiology.-1978, V.28. P.243.
- 9. Андреева М.С., Шмальгаузен В.И. Светоиндуцированная анизотропия показателя преломления азосодержащего полимера с жидкокристаллическими свойствами // Квантовая электроника, 2004.- т.34, №1.- с.37-40.
- 10.Kautsky H., Franck U. Chlorophyllfluoreszenz und Kohlensaureassimilation //Biochemistry, 1943.- Z.315.- s.139-232.

- 11.Krause G.H., Weis: Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics // Annual review of plant physiology and plant molecular biology.- 1991, Vol.42 pp.313-349.
- 12.Buwalda J.G., Noga G. Intra-plant differences in leaf chlorophyll-fluorescence parameters n perennial fruiting plants // New Zealand J. of crop and horticultural science. 1994, Vol.22.- pp.373-380.
- 13.Lichtenthaler H.K., Rinderle U. The role of chlorophyll fluorescence in the detection of stress conditions in plants//CRC Critical reviews in analytical chemistry.-1988, Vol.19.- supp. 1.- pp.29-85.
- 14. Корнеев Д.Ю. Гетерогенность акцепторной стороны фотосистемы 2 // Физиология и биохимия культурных растений. 2000, т.32, №2.- С.96-105.
- 15. Хлоропласты и митохондрии. Под ред. А.А.Шахова. М.: Наука, 1969. 344 с. 16. Силаева А.М. Структура хлоропластов и факторы среды- Киев: Наукова думка, 1978. 204 с.

A COMPUTERIZED SYSTEM FOR DIAGNOSIS OF THE FUNCTIONAL STATE OF PLANTS

Budagovskaya Olga Nikolaevna

doctor of technical Sciences, leading researcher Engineering Center

Federal research Center named after I. V. Michurin Michurinsk State Agrarian University

budagovsky@mail.ru

Budagovsky Andrey Valentinovich

doctor of technical Sciences, head of laboratory "Biophotonics"

Michurinsk State Agrarian University Federal research Center named after I. V. Michurin Annotation. A computer-based setup has been developed for simultaneous measurement of the amplitude (light scattering intensity) and phase (light scattering coherence) parameters of scattered optical radiation. The main components of the installation are: a high-speed shift interferometer, a CCD camera with a video input Board for taking and digitizing interferograms, a two - coordinate table-holder for the object, a laser sensing system for the sample, and a personal computer for processing video images. The device design allows you to measure both transmission and reflection of light, change the parameters of the probing radiation (diameter, power, plane of polarization). Visual monitoring of the measurement area and estimation of the light spot size is performed using the built-in eyepiece micrometer. The optical scheme of the device is optimized for measuring whole leaves and fruits. The process of data collection and processing is fully automated using a computer

Keywords: amplitude -phase parameters, the coherent radiation, the devise, the computer program