

УДК 517.984+61

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ И МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ОПТИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК РАСТИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ

© 2007 И.А. Братченко<sup>1</sup>, Е.В. Воробьева<sup>2</sup>, В.П. Захаров<sup>1</sup>,  
П.Е. Тимченко<sup>1</sup>, С.П. Котова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Самарский государственный аэрокосмический университет

<sup>2</sup>Самарский филиал Физического института имени П.Н. Лебедева РАН

Представлены результаты *in vivo* экспериментов и математического моделирования по исследованию динамики оптических характеристик растительной ткани. Исследован характер изменения оптических параметров растений при действии внешних факторов, приводящих к регенерации внутренних структур листа. Экспериментально показано, что использование дифференциального метода обратного рассеяния может служить для оценки физиологического состояния растений, что подтверждается результатами математического моделирования.

### Введение

Нормальное развитие растений и их старение сопровождается изменениями в содержании и составе пигментов, определяющих их окраску. Такие очевидные проявления изменений пигментов и оптических свойств тканей как пожелтение, некроз, побурение и другие видимые симптомы всегда использовались для характеристики состояния растений. Изменения цвета листьев и плодов связаны в основном с трансформацией доминирующих фотосинтетических пигментов: хлорофиллов и каротиноидов [1]. В настоящее время применяют различные неdestructивные оптические методы для объективной оценки физиологического состояния растений. Однако, большинство из существующих методов не позволяет проследить динамику оптических свойств фотосинтетических и внутриклеточных структур листа, к тому же эти методы сложны в реализации компактной экспресс-диагностической системы изменений состояния растений.

Измерение спектральной интенсивности отраженного света является одним из показателей изменения оптического состояния растительной ткани. Спектры отражения зависят от количества пигментов [2]. По мнению авторов, одним из наиболее развитых подходов является изучение кинетики оптических характеристик растительной ткани под действием различных факторов. В кинетике оптических характеристик отражена

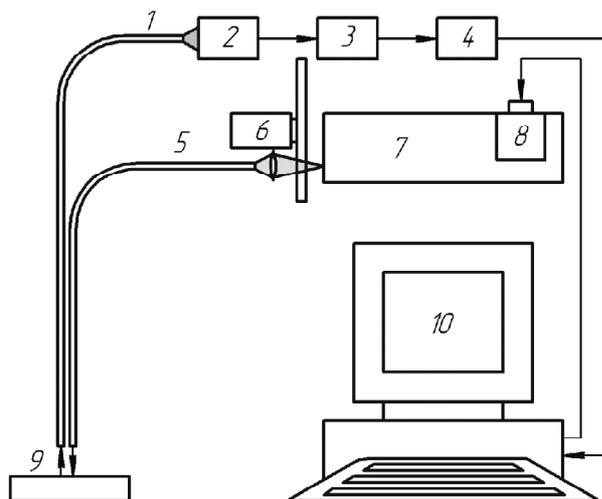
динамика изменения концентраций различных составных элементов биологической системы [3]. Одним из наиболее эффективных методов регистрации кинетических процессов растений является метод обратного рассеяния, который позволяет наряду с изучением кинетики интегральной интенсивности рассеяния, проводить и спектральный анализ, что существенно для выявления биологических кинетических процессов. Данный метод уже использовался в наших работах [4-6].

Одним из развитых подходов в исследовании кинетики биологических процессов является также математическое моделирование, которое позволяет задавать множество различных начальных условий, легко интерпретировать экспериментальные результаты.

Целью нашей работы является изучение динамических характеристик растений, выделение закономерностей, соответствующих различным стадиям роста растения, что является базовой основой для создания диагностической системы на основе данного метода.

### Метод исследования

На основе метода дифференциального обратного рассеяния был разработан многофункциональный экспериментальный стенд, позволяющий применять данный метод для исследования кинетических процессов оптических характеристик растений под воздействием различных факторов [6].



**Рис. 1.** Схема установки с использованием волоконных манипуляторов:

1 – приемное волокно, 2 – ФЭУ, 3 – детектор (преобразователь фототока в напряжение + демодулятор), 4 – аналого-цифровой преобразователь, 5 – подающее волокно, 6 – модулятор, 7 – перестраиваемый источник зондирующего излучения, 8 – шаговый двигатель, 9 – объект, 10 – компьютер

Схема экспериментальной установки представлена на рис. 1 и включает в себя источник диагностического излучения, устройство регистрации рассеянного излучения и систему управления, сбора и хранения информации на базе многофункциональной платы L-305, встроенной в компьютер.

Канал регистрации включал в себя модуль диагностического зондирующего излучения 7, образованный тепловым источником с перестраиваемым узкополосным фильтром и подающим волокном 5, и оптоволоконную систему сбора рассеянного назад излучения 1, соединенную с ФЭУ-136. В качестве узкополосного фильтра был использован монохроматор с автоматически сканируемым углом поворота дифракционной решетки. Сканирование осуществлялось в спектральном диапазоне от 450 нм до 830 нм с помощью шагового двигателя 8. Мгновенное значение ширины линии пропускания фильтра составляло величину  $\sim 3$  нм. Суммарная мощность зондирующего излучения канала регистрации составляла не более 0,1 мВт.

Оптоволоконная система (диаметр световолокна 0,4 мм, апертурный угол  $35^\circ$ ) обеспечивала гибкий подвод излучения в произвольную точку исследуемого объекта. Аналогичное волокно использовалось для сбора рассеянного биологической средой излуче-

ния. Для ослабления влияния внешней засветки на результаты измерений использовали модуляцию диагностического излучения механическим прерывателем с последующей демодуляцией детектором. Зависимость амплитуды полезного сигнала, соответствующей коэффициенту обратного рассеяния растительной ткани, от длины волны диагностического излучения записывалась через аналого-цифровой преобразователь 4 в память компьютера 10. В результате данная модификация установки позволяла прописывать спектр обратного рассеяния от растительной ткани в видимом и части ближнего ИК-диапазона в фиксированной точечной области, размеры которой определяются характеристиками волокна [6].

В качестве растительного материала для исследования использовались суккуленты, бальзамин и различные сорта сенполий (узумбарских фиалок).

Качественно схожий характер динамики оптических параметров различных декоративных растений, позволяет нам подробно остановиться на результатах, полученных на сенполии.

### Математическая модель

Растительная ткань представляет собой сложную оптическую систему. В зависимости от окружающих условий она имеет различные геометрические размеры клеток, морфологию ассимиляционных тканей, содержание и соотношение основных пигментов фотосинтеза (хлорофиллов и каротиноидов). Растительные ткани являются оптически неоднородными поглощающими средами с показателем преломления большим, чем у воздуха. Для оценки коэффициента поглощения биоткани необходимо воспользоваться моделью распространения излучения в сильнорассеивающей среде [7]. Для решения таких задач удобно использовать метод Монте-Карло, широко применяемый для численного моделирования распространения оптического излучения в биологических тканях [8], позволяющий сопоставить результаты, полученные в ходе моделирования, с экспериментальными исследованиями и с уже имеющимися результатами других авторов. Развитие такой математической модели позволяет пла-

нирывать эксперименты и упрощать интерпретацию результатов.

Соответствующая математическая модель должна полностью отражать все особенности строения листа растения, такие как наличие слоев (различающихся по составу входящей в них ткани, а также по своей толщине), присутствие в листьях проводящей системы (прожилок), а также наличие ворсинок на поверхности листа. В общем случае, общее количество слоев должно быть не менее шести, это два слоя эпидермиса (верхний и нижний), два слоя ворсинок (на поверхности) и паренхима (столбчатая и губчатая). Также модель должна отражать все неровности поверхности листа. Помимо этой развитой модели, включающей источник света и два приемника (для переданного и отраженного обратного излучений (рис. 2), каждый слой листа растения обладает собственным набором поглощающих, рассеивающих свойств и особенностей взаимодействия с оптическим излучением. На первой стадии исследований сложная математическая модель была упрощена, т.е. рассматривалось приближение: плоские слои листа, отсутствие жилок листа и поверхностных ворсинок.

В этой упрощенной математической модели несколько внутренних слоев были объединены в один слой с усредненными оптическими параметрами, поскольку указанные слои не вносят большой вклад в обратное рассеяние. Математическая модель была рассчитана в программной среде TracePro. Общий метод Монте-Карло был изменен, чтобы объединить несколько независимых ме-

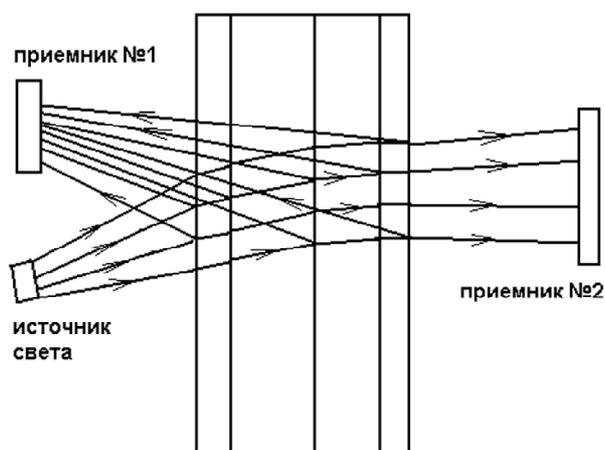


Рис. 2. Схема математической модели в программной среде TracePro

тодов моделирований [9]. Схема проведения моделирования представлена на рис.2.

Все результаты, представленные на нижеприведенных рисунках, были получены при следующих задаваемых параметрах: коэффициент преломления для каждого слоя объекта 1.41, коэффициенты отражения и рассеяния задавались отдельно для разных длин волн (диапазон длин волн варьировался в промежутке от 450 нм до 830нм), и их значения лежали в диапазоне от  $0.01 \text{ см}^{-1}$  до  $0.5 \text{ см}^{-1}$ . В работе была использована трехслойная модель. Общая толщина исследуемого объекта составила 135 мкм ( что соответствует толщине листа фиалки).

В качестве объекта моделирования были рассмотрены зеленые листья, богатые содержанием хлорофилла и желтые листья, в которых хлорофилл полностью разрушен.

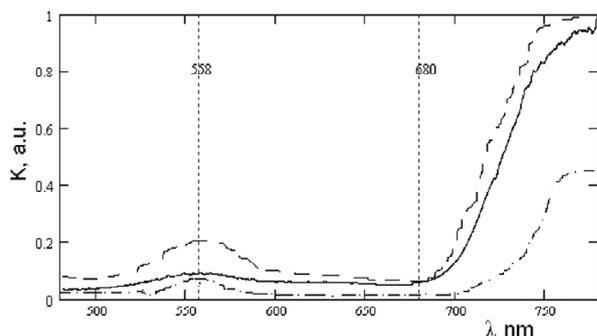
### Сравнительный спектральный анализ спектров обратного рассеяния зеленых и стареющих листьев

Спектральные характеристики растительной ткани зависят от концентрации, взаимных связей и распределения пигментов, которые, в свою очередь, определяются как типом растения, так и их жизненным потенциалом. Известно, что растения с разной жизнестойкостью содержат различные пигменты, которые визуальнo можно наблюдать в различии цвета биоткани для одного и того же растения [10].

На рис.3 представлены спектры обратного рассеяния излучения листьев сенполии, достигших периода зрелости и содержащих высокие количества хлорофилла по отношению к желтым листьям.

Из рис. 3 (сплошная кривая) видно, что у сенполий с высокой концентрацией хлорофилла в красном максимуме поглощения хлорофилла а (около  $690 \text{ нм}^{**}$ ) и в полосе 450-480 нм (где поглощают оба хлорофилла и каротиноиды) листья имели низкий коэффициент обратного рассеяния, что связано с насыщением поглощения света пигментами [11].

Наиболее высокий коэффициент обратного рассеяния наблюдается в ближней ИК области спектра (более 750 нм), где не происходит поглощения хлорофиллов, но дан-



**Рис.3.** Спектральная интенсивность обратного рассеяния излучения диагностического источника зеленого листа сенполии:

( — сплошная кривая) экспериментальные результаты;  
( — · — штрих-пунктир) результат, полученный в ходе математического моделирования;  
( · · · · · пунктир) данные, полученные другими авторами [1]

ный максимум является характерным для зеленых растений.

Интересно отметить, что полученная экспериментальным путем зависимость (сплошная кривая) на рис. 3 идентична спектрам поглощения зеленых листьев (пунктирная кривая), полученных другими авторами [1], а также полностью подтверждается математической моделью (штрих-пунктирная кривая).\*

На рис. 4 представлены спектры обратного рассеяния излучения листьями сенполии, находящимися на этапе старения, что проявляется в изменении окраски листьев и характеризуется более низким содержанием хлорофилла. Эксперименты проводились по той же методике, что и на зеленых листьях с высокой концентрацией хлорофилла.

Из рис. 4 (пунктир) видно, что при разрушении хлорофилла в ходе старения листьев либо заболевания растений, проявляющемся в снижении фотосинтетической активности, наблюдается высокий и постоянный коэффициент обратного рассеяния от 550 нм и до ИК-области спектра. При разрушении хлорофилла, сохраняются каротиноиды — это является одним из механизмов защиты клеточных структур от фотодинамических эффектов излучения в синей области спектра [12].

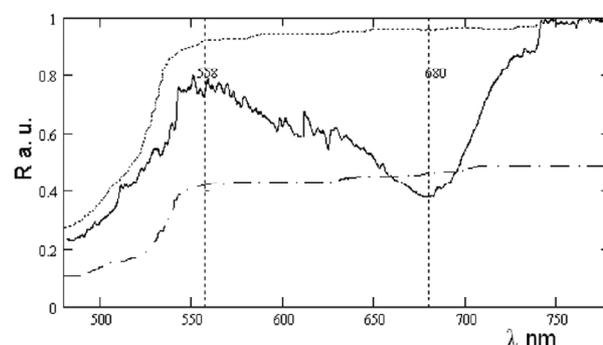
Полученный спектр обратного рассеяния

\* существует несколько форм хлорофилла, которые различаются по своему расположению в мембране. Каждая такая форма отличается от других и по положению максимума поглощения в красной области [12].

излучения желтым листом, показанный на рис. 3 (сплошная кривая), качественно близок по характеру изменения со спектром поглощения, рассмотренного в статье [1] (пунктирная кривая) и результатам математического моделирования (штрих-пунктирная кривая). Однако, есть различия, заключающиеся в том, что в экспериментальных результатах наблюдается большой максимум на длине волны 558 нм и низкий коэффициент обратного рассеяния излучения на длине волны 680 нм, что связано с поглощением света хлорофиллом и его слабым поглощением. Это связано с тем, что в теоретических данных [1] рассматривался лист, в котором полностью разрушился хлорофилл, где поглощение происходит только каротиноидами в районе 490 нм, а в экспериментальных данных стареющий лист сенполии находился не на последней стадии старения, о чем отчетливо говорят полосы поглощения хлорофилла.

При сопоставлении результатов, полученных для зеленых и желтых листьев (рис.3 и рис.4), можно отметить, что спектральные характеристики зеленых и желтых листьев различны. При увеличении потенциальной жизнестойкости, увеличивается амплитуда максимума пика для 550 нм, что можно использовать как критерий благополучия растений [12].

Сравнивая результаты, полученные во время проведения эксперимента, и результаты, полученные при математическом моделировании, видно, что графики обратного рассеяния хорошо согласуются по форме, но различны по амплитуде интенсивности обратного



**Рис. 4.** Спектральная интенсивность обратного рассеяния излучения диагностического источника желтого листа сенполии:

( — сплошная кривая) экспериментальные результаты;  
( — · — штрих-пунктир) результат, полученный в ходе математического моделирования;  
( · · · · · пунктир) данные, полученные другими авторами [1]

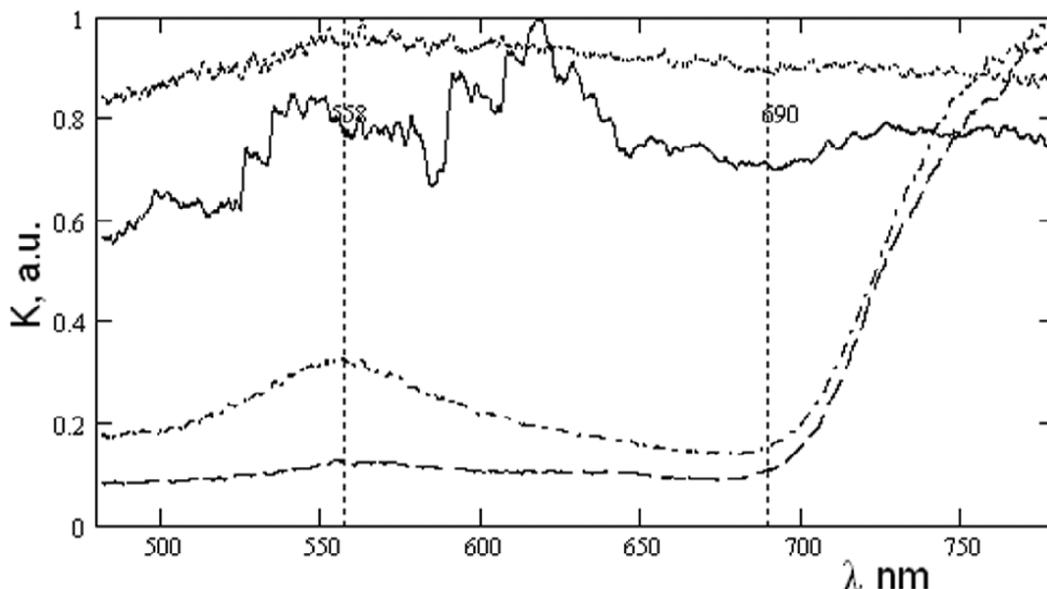


Рис. 5. Спектры интенсивности обратного рассеяния различных слоев растительной ткани:

- ..... (пунктирная кривая) ассимиляционная ткань листа алоэ;
- (сплошная кривая) ассимиляционная ткань листа сенполии;
- . - (штрих - пунктирная кривая) эпидермис листа алоэ

рассеяния. Качественное совпадение графиков по форме говорит о том, что заданная математическая модель адекватно описывает обратное отражение света листом (также это подтверждается качественным совпадением полученных результатов с работами других исследователей). Различия же в интенсивности возникают из-за того, что математическая модель состояла лишь из трех слоев (верхний и нижний эпидермис и ассимиляционный слой). Помимо этого необходимо принять во внимание проводящую систему листа (жилки), которые также вносят вклад в интенсивность обратного рассеяния излучения. Но оптические свойства каждого слоя листа неизвестны, поэтому были выполнены специальные эксперименты со спектрами экстрагированной эпидермы и ассимиляционных тканей листьев алоэ и сенполии с различной концентрацией хлорофилла. Такие экспериментальные результаты представлены на рис. 5.

Из рис. 5 видно, что основной вклад в изменение динамики оптических параметров дает хлорофилл, который в наибольшем количестве содержится в эпидермисе тканей листьев растений, за счет того, что покровная ткань листа (эпидермис) выполняет защитную функцию, предохраняя лист растения от повреждений [13].

Ассимиляционная ткань листьев в основном является поглотителем, т.к. именно она выполняет фотосинтетическую функцию

и состоит из большого числа межклетников [13]. Как видно из рис.5, эта ткань не дает информации о вкладе в динамическую составляющую биологических процессов, протекающих в растительной ткани.

Проведенные эксперименты и математическая модель позволяют наглядно отслеживать изменения в структуре листа, связанные со старением, заболеванием и другими факторами, влияющими на процессы жизнедеятельности растения. Дальнейшее развитие математической модели (учет всех слоев и проводящей системы) позволит получать точные результаты для диагностики характеристик листьев растений, что, в свою очередь, поможет отследить изменения в физиологии растений.

### Выводы

Получены спектры обратного рассеяния листьев, достигших периода зрелости и богатых содержанием хлорофилла, а также желтых листьев, в которых хлорофилл полностью разрушен. Выявлено, что зрелые листья имеют низкий коэффициент обратного рассеяния в максимумах поглощения хлорофилла (450-480 нм, 690 нм), что связано с насыщением поглощения света этим пигментом. При разрушении хлорофилла в ходе старения листьев наблюдается высокий и постоянный коэффициент обратного рассеяния от 550 нм и до ИК-области спектра.

Наряду с экспериментальными результа-

тами, развитая математическая модель позволяет прогнозировать и планировать эксперимент и правильно интерпретировать результаты исследований.

Предложенный метод интенсивности обратного рассеяния позволяет надеяться на создание диагностической установки для прогнозирования состояния растений в процессе роста.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Мерзляк М.Н. Пигменты, оптика листа и состояние растений // Соровский образовательный журнал. 1998. №4.
2. Mezlyak M.N., Gitelson A.A. Why and What for the Leaves are Yellow in Autumn? On the Interpretation of Optical Spectra of Senescing Leaves // J.Plant Physiol. 1995. Vol. 58.
3. Рубин А.Б. Кинетика биологических процессов // Соровский образовательный журнал. 1998. №10.
4. Afanasieva A.V., Chernikova I.A., Mityagin S.N., Kotova S.P., Kozlov R.V., Timchenko P.E., Vorobjova E.V., Zakharov V.P., Yakutkin V.V. Effects of low level laser radiation on alteration of human body spectral backscattering properties // SPIE. 2003. №5068.
5. Воробьева Е.В., Захаров В.П., Козлов Р.В., Котова С.П., Тимченко П.Е., Яковлева С.В., Якуткин В.В. Экспериментальные исследования воздействия оптических полей малой интенсивности на живые и растительные ткани // Тезисы докладов I-й Троицкой конференции по медицинской физике. Троицк, 2004.
6. Воробьева Е.В., Захаров В.П., Козлов Р.В., Котова С.П., Тимченко П.Е., Якуткин В.В. Сравнительный спектральный анализ обратного рассеяния излучения растительной и живой тканью // Физика волновых процессов и радиотехнические системы. 2005. Т. 8. №3.
7. Исимару А. "Распространение и рассеяние волн в случайно – неоднородных средах", М: Мир, 1981.
8. Словецкий С.Д. Моделирование распространения оптического излучения в сложной случайно-неоднородной среде методом Монте-Карло // Радиотехника. 1994. №7.
9. Кузьмин В.Л., Меглинский И.В. Когерентные эффекты многократного рассеяния и метод Монте-Карло // Письма в ЖЭТФ. 2004. Т. 79. Вып. 3-4.
10. Vogelmann T.C., Bjorn L.O. Plants as Light Traps // Phisiol.plant. 1986. Vol. 68.
11. Мерзляк М.Н. Спектры отражения листьев и плодов при нормальном развитии, старении и стрессе // Физиология растений. 1997. Т. 44. №5.
12. Грин Н., Стаут У., Тейлор Д. Биология. Т.2. М.: Мир, 1993.
13. Сытник К.М., Мусатенко Л.И., Богданова Т.Л. Физиология листа. Киев: Наук. думка, 1978.

#### EXPERIMENTAL RESEARCHES AND MATHEMATICAL MODELLING OF OPTICAL CHARACTERISTICS OF THE PLANT TISSUE

© 2007 I.A. Bratchenko <sup>1</sup>, E.V. Vorobjova <sup>2</sup>, V.P. Zakharov <sup>1</sup>, P.E. Timchenko <sup>1</sup>, S.P. Kotova <sup>2</sup>

<sup>1</sup> Samara State Aerospace University

<sup>2</sup> Samara Branch of Physics Institute named for P. N. Lebedev of Russian Academy of Sciences

The results of in vivo experiments and mathematical modeling on researches of the plant tissue properties dynamics are presented in the work. The pattern of optical parameters modification under the influence of external factors resulting in regeneration of the leaf inner structures optical parameter plants at action external factor; bring about regenerations of the internal structures of the sheet. Experimental is shown that will be used the differential method of the inverse dissipation can serve for estimation of the physiological state of the plants, as evidenced by result is confirmed mathematical modeling.