

КОМП'ЮТЕРНІ ЗАСОБИ, МЕРЕЖІ ТА СИСТЕМИ

V. Hrusha

INFORMATION TECHNOLOGIES FOR RESEARCH OF CHLOROPHYLL FLUORESCENCE INDUCTION

Most useful parameters of chlorophyll fluorescence induction curve are considered in the paper. Some research experimental results are presented.

Key words: chlorophyll fluorescence induction, fluorometer.

Рассмотрено наиболее использованные параметры индукции флуоресценции хлорофилла и приведены результаты некоторых экспериментальных исследований.

Ключевые слова: индукция флуоресценции хлорофилла, флуориметр.

Розглянуто найбільш застосовувані параметри ІФХ та наведені результати деяких експериментальних досліджень.

Ключові слова: індуція флуоресценції хлорофілу, флуорометр.

© В.М. Груша, 2014

УДК 004.75: 004.67

В.М. ГРУША

ІНФОРМАЦІЙНІ ТЕХНОЛОГІЇ ДЛЯ ДОСЛІДЖЕННЯ ІНДУКЦІЇ ФЛУОРЕСЦЕНЦІЇ ХЛОРОФІЛУ

Вступ. Одним із методів отримання даних про стан рослин є метод індукції флуоресценції хлорофілу (ІФХ) рослин у червоному спектрі світла, що характеризує процес проходження фотосинтезу, та реєструється при освітленні хлорофілу в синьому спектрі світла. В результаті отримується так звана крива Каутського. В Інституті кібернетики імені В.М. Глушкова НАН України розроблено сімейство приладів «Флоратест», що дозволяють реєструвати криву з довжиною хвилі опромінення 470 нм та з довжиною хвилі фотодіодного підсилювача з фільтром 670 – 770 нм.

У численній літературі можна знайти ряд експериментів, які показують можливості використання методу ІФХ для експресної оцінки життєдіяльності рослин після засухи, морозу, зчеплення, внесення пестицидів, оптимізації кількості добрив, визначення забруднення води, ґрунтів, повітря пестицидами, важкими металами та промисловими викидами і т. п. [1], проте впровадження флуорометрів у промислове рослинництво ще до цього часу проблематичне, оскільки в польових умовах на ІФХ впливає чимало факторів, вплив яких на форму кривої до кінця не вивчений. Встановлення однозначних залежностей із стресовими факторами потребує значної кількості додаткових досліджень та засобів для автоматизованого збору та аналізу кривих ІФХ.

Розподілена система збору та обробки даних. Розробка методик на базі методу ІФХ у промисловому рослинництві потребує здійснення чималої кількості тривалих експери-

ментів з перевіркою результатів на різних полях, у різних географічних зонах. Розробка автоматизованої веб-орієнтованої системи збору та обробки даних може значно пришвидшити вироблення типових методик. Така система повинна виконувати наступні задачі: автоматичний (або ж автоматизований) збір даних із бездротових сенсорних мереж; забезпечувати веб-інтерфейс для доступу користувачів-дослідників через мережу Інтернет, на їхній запит здійснювати попередню математичну і, зокрема, статистичну обробку експериментальних даних, формувати звіти про результат обробки [2]. Загальна структура системи збору та обробки даних показана на рис. 1.

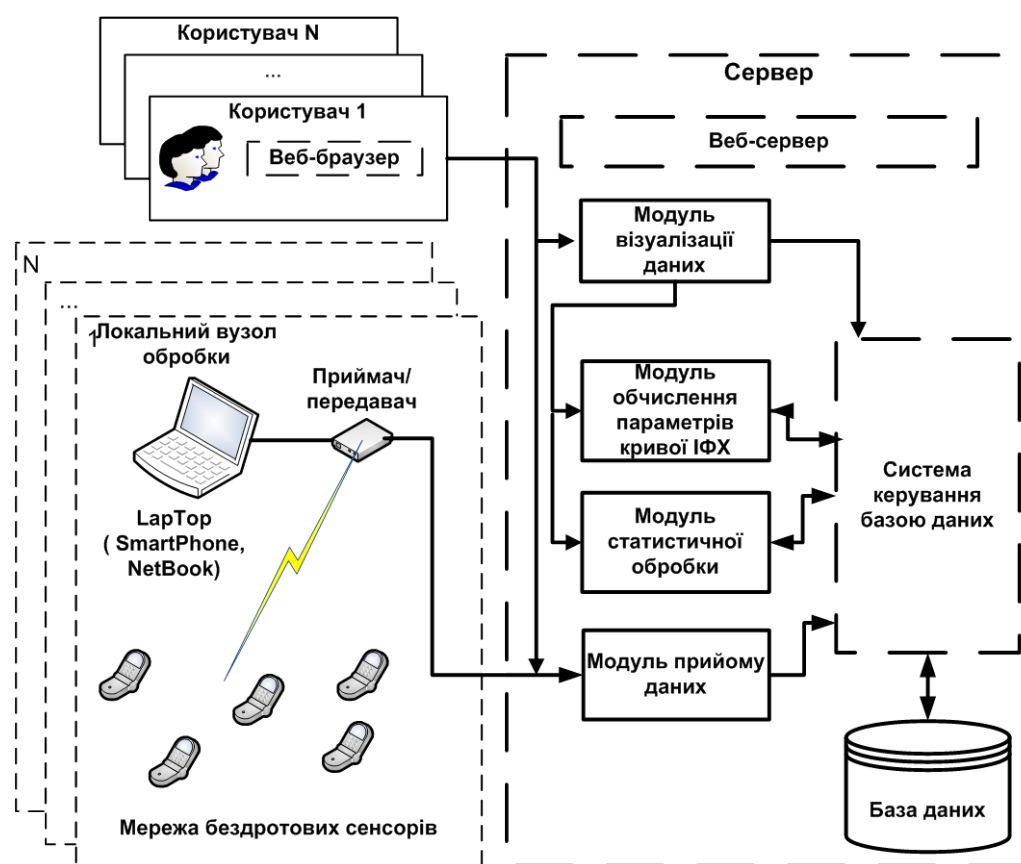


РИС. 1. Розподілена система збору та обробки кривих ІФХ

Ключовими в даній системі виступають модулі обчислення параметрів кривої ІФХ та модуль статистичної обробки.

Параметри кривих ІФХ та показники на їх основі. Для оцінки стану апарату фотосинтезу рослин використовують ряд числових характеристик показників: F_0 – початкове значення індукції флуоресценції після включення опромі-

нення; F_p – значення індукції флуоресценції «плато»; F_m – максимальне значення індукції флуоресценції; F_{st} – стаціонарне значення індукції флуоресценції після світлової адаптації листа рослини; $F_m - F_{st}$ – варіабельна флуоресценція.

На основі даних параметрів розраховується ряд індексів, які теоретично відображають певні процеси фотосинтезу, наприклад:

- індикаторний показник впливу екзогенних факторів:

$$K_1 = \frac{F_m - F_0}{F_m}; \quad (1)$$

- коефіцієнт індукції флуоресценції, індикаторний показник квантового виходу флуоресценції:

$$K_2 = \frac{F_m - F_{st}}{F_m}. \quad (2)$$

У флуорометрах індукційного типу, в яких у процесі вимірювання застосовуються додаткові світлові спалахи, вводяться ще деякі параметри та цілий ряд інших показників [3].

Динаміка ІФХ. Завдяки похідним можна вивчати як розвивається процес ІФХ у часі, то визначати більш точно такі параметри кривої ІФХ як F_0 , та F_{pl} [1].

На рис. 2 показано три виміряні криві ІФХ листів дерева кави, криві отримані за допомогою розробленого в Інституті кібернетики імені В.М. Глушкова НАН України експериментального флуорометра. ІФХ вимірювалася з частотою 100 вимірів/с, таким чином крок дискретизації становив 10 мс.

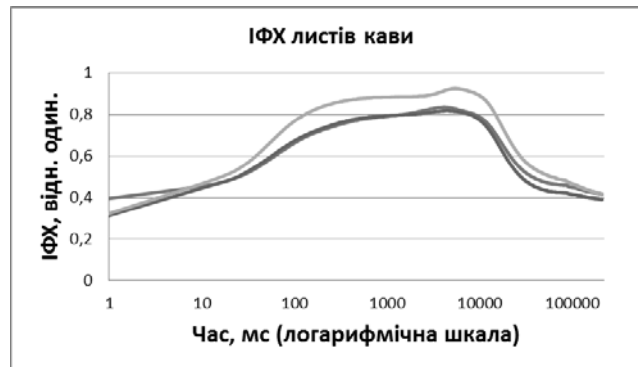


РИС. 2. Криві листів дерева кави

Для того, щоб обчислити похідну, при невеликому кроці дискретизації можна скористатися найпростішими наближеними чисельними методами обчислення. Так при відомих значеннях ІФХ, значення похідної у точці з допомогою сусідніх значень можна обчислити за формулою:

$$y'_i = \frac{y_{i+1} - y_{i-1}}{2 \cdot h}, \quad (3)$$

де y'_i – похідна у певній точці, y_{i+1} – сусіднє, наступне значення ІФХ, y_{i-1} – сусіднє, попереднє значення ІФХ, h – крок дискретизації:

$$h = x_{i+1} - x_i = const. \quad (4)$$

Як видно з графіків на рис. 3, найбільш динамічно ІФХ змінюється в напрямку спадання в перші 200 мс. Отримана крива ІФХ має певні незначні коливання, це заважає візуальному і чисельному оціненню швидкості ІФХ після 200 мс, де зміни кривої з часом не такі значні як на початку. Щоб усунути коливання значень необхідно здійснити згладжування (вирівнювання) кривої способом ковзної середньої. При обчисленні середньої бралася 50 значень на кривій. Це дало можливість оцінити динаміку ІФХ після 200 мс (рис. 4).

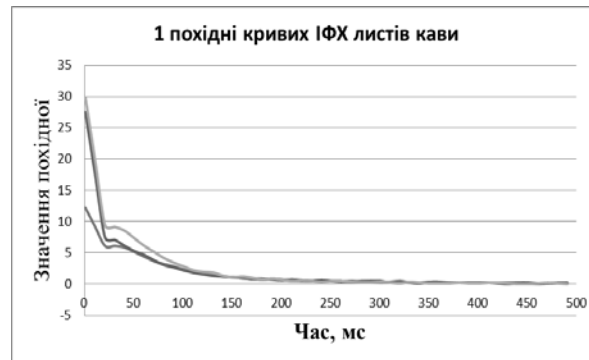


РИС. 3. Обчислені похідні кривих ІФХ листів дерева кави в перші 500 мс

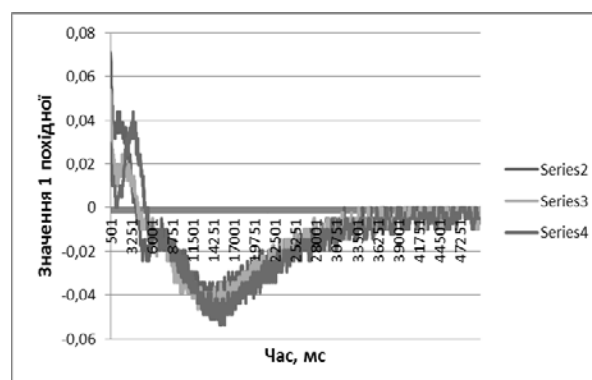


РИС. 4. Похідні кривої ІФХ після 200 мс

Таким чином спостерігається спад приросту до 1000, 1200 мс, згодом іде наростання швидкості (рис. 4) і після 3 секунди, знову спостерігаємо зниження швидкості приросту до 15 секунди, де знову ж починає незначно наростати.

При розробці приладів сімейства Флоратест в Інституті кібернетики імені В.М. Глушкова НАН України з метою економії фізичної пам'яті у прилад було закладено нелінійну шкалу дискретизації. Кожне нове вимірювання робиться через більший проміжок часу.

Щоб скористатися формулою 3, для наближеного обчислення похідної, необхідно попередньо здійснити інтерполяцію. Найпростіше використовувати лінійну інтерполяцію. Будь-яке значення y_x , між відомими двома точками в момент часу x , можна знайти за наступною формулою:

$$y = \frac{y_i - y_{i-1}}{x_i - x_{i-1}} \cdot (x - x_{i-1}) + y_{i-1}, \quad (5)$$

де y_x , x – координати шуканої точки.

Вплив погодних умов та гербіцидів на індукцію флуоресценції хлорофілу. Протягом 2012 – 2014 рр. в Інституті кібернетики імені В.М. Глушкова проводилися дослідження впливу гербіцидів на індукції флуоресценції хлорофілу. Для проведення експериментальних досліджень було вибрано гербіцид суцільної дії «Раундап». Раундап – один з найбільш застосовуваних гербіцидів, що використовується перед посівом або появою сходів сільськогосподарських рослин для знищення бур'янів. Під час експерименту, гербіцид наносився на рослини бур'яну дурману звичайного. Рослини дурману було поділено на контроль і два варіанти відмінних по дозах введення гербіциду. Експеримент проводився в наближених умовах до природних. Під час вимірювань ІФХ за допомогою приладів «Флоратест» також вимірювались параметри навколишнього середовища: температура повітря та ґрунту, вологість повітря та ґрунту, кислотність ґрунту. Це дало, зокрема, можливість оцінити вплив навколишніх умов на параметри кривої ІФХ [4].

В 2012 році виявлено, що різкі зміни погодних умов впливають на індукцію флуоресценції хлорофілу, зокрема на початкову форму кривої. Дія гербіциду призводить до поступового зростання рівня флуоресценції у оброблених груп рослин.

Для обчислення кореляції використовувалася функція excel Correl(X,Y), яка обчислює кореляційний коефіцієнт Пірсона, за наступною формулою:

$$Correl(X, Y) = \frac{\sum (x - \bar{x})(y - \bar{y})}{\sqrt{\sum (x - \bar{x})^2 \sum (y - \bar{y})^2}}, \quad (6)$$

де X , Y – масиви із значеннями вибірок, кореляція між значеннями яких шукається.

В 2013 році вимірювання проводилися у дні без контрастних змін погодних умов, тобто без значних коливань вологості повітря. Температура повітря знаходилася в межах 25 – 30°C. Розрахунок лінійної кореляції між параметрами кривих ІФХ та параметрами ґрунту і повітря не показав настільки значних залежностей ІФХ від погодних умов як у 2012 році. Проте незначна кореляція з вологістю ґрунту та кислотністю відмічалася в періоді 500 – 1000 мс на рівні 0,6. В період 3000 – 15000 мс. присутня кореляція на рівні 0,6 – 0,7 із температурою повітря і пов’язаною з нею температурою ґрунту. Дані залежності показано на рис. 5 та 6.

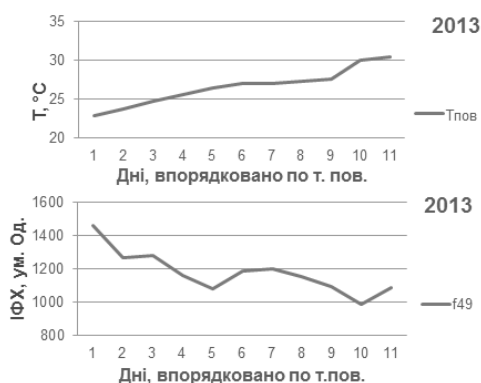


РИС. 5. Залежність ІФХ на 5 с від температури повітря

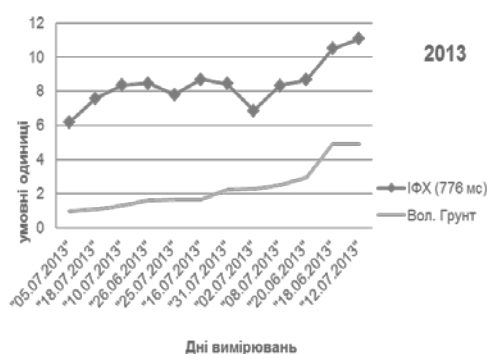


РИС. 6. Залежність ІФХ на 748 мс від вологості ґрунту

В таблиці вказані ділянки кривої, в яких коефіцієнт кореляції $|R| > 0,5$.

ТАБЛИЦЯ. Кореляції ділянок кривих ІФХ дурману із параметрами навколишнього середовища

Фактор	Максимальний рівень кореляції ($ R $)	Час, с ($ R >0,5$)
Температура повітря	0,73	3,0 – 21
Вологість повітря	0,41	–
Кислотність	0,6	0,3 – 1,6
Вологість ґрунту	0,58	0,3 – 1,3
Температура ґрунту	0,67	3,0 – 21

Слід зазначити, що температура повітря та температура ґрунту взаємопов’язані, також взаємопов’язаними є кислотність та вологість ґрунту.

Вплив сонячної радіації. Крім того, на форму кривої ІФХ впливає сонячна радіація (рис. 7). Тому в польових умовах при сонячній радіації доцільно збільшувати час темної адаптації досліджуваного листа рослини до 15 – 20 хв.

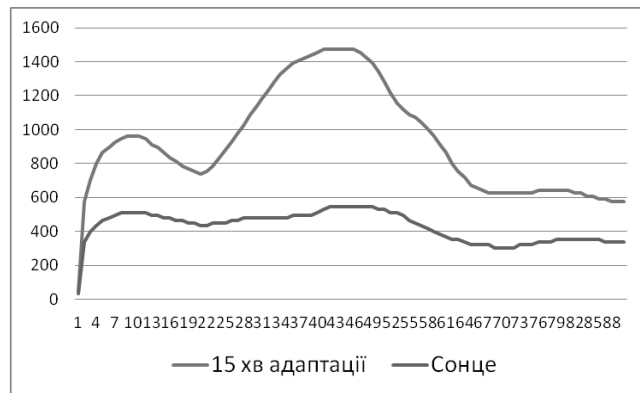


РИС. 7. Вплив сонячної радіації

Результатом обробки гербіцидом стало підвищення середнього рівня індукції флуоресценції хлорофілу практично на обох варіантах. Уже на 14-й день різниця у середніх була підтверджена критерієм Стюдента. При чому у варіанта з більшою дозою, рівень флуоресценції був вищий. Проте в наступних днях, в яких робилися вимірювання, дана різниця не була відчутною, що можна пояснити впливом зовнішніх умов на криву ІФХ, та внутрішніми процесами в рослині. Однозначна різниця між варіантом з найбільшою дозою обприскування та контролем була виміряна на 22 день після обприскування (рис. 8). Наступні дні вимірювання також підтверджували дану різницю.

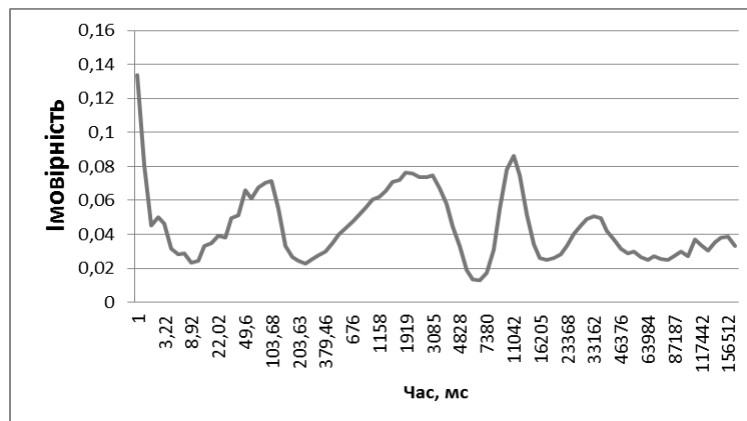


РИС 8. Ймовірності того, що точки на кривих ІФХ з однієї вибірки не відрізняються від кривих контролю (обчислено за критерієм Стюдента)

Вплив NaCl на ІФХ. В серпні 2014 року проведено експеримент з метою визначення впливу кам'яної солі (NaCl) на індукцію флуоресценції хлорофілу. Актуальність даного експерименту впливає з того, що сіль використовується взим-

ку для посипання доріг, проникає в ґрунт і таким чином потрапляє в кореневу систему рослини. Відомо, що надмірна кількість солі у ґрунті призводить до різного типу хлорозів листя і до загибелі рослин. Під час експерименту листя лободи поміщалося в ємності із розведеною сіллю. Було зроблено 5 груп (контроль, та 4 варіанти з різною концентрацією NaCl). У контролі була звичайна вода, у першому варіанті було розчинено 10 г. солі на літр води, у наступному 20 г/л, далі 30 г/л і в останньому 40 г/л. В кожному варіанті було по 8 листів. Зміна деяких коефіцієнтів, розрахованих по усереднених значеннях параметрів, показано на рис. 9 та 10.

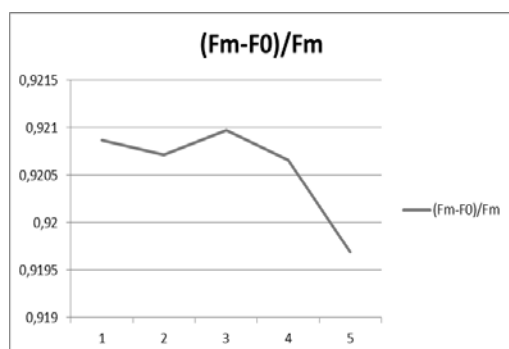


РИС. 9. Зміна коефіцієнту K_1 в залежності від дози NaCl

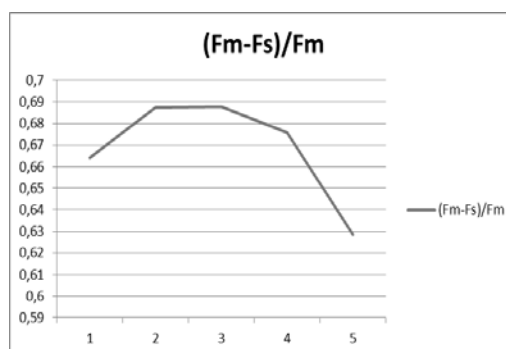


РИС. 10. Зміна коефіцієнту K_2 в залежності від дози NaCl

Висновки. Дослідження індукції флуоресценції хлорофілу з метою подальшого використання ефекту ІФХ в промисловому рослинництві вимагає значної кількості тривалих експериментів для набору репрезентабельних статистичних сукупностей. При цьому слід зважати на різкі зміни погодних умов, які напряму впливають на окремі ділянки форми кривих. В статті наведені деякі результати експериментальних досліджень впливу на форму кривої ІФХ гербіциду, NaCl, погодних умов. Для отримання кривих використовувався розроблений в Інституті портативний флуорометр «Флоратест».

1. Корнеев Д.Ю. Информационные возможности метода индукции флуоресценции хлорофилла. – Киев: Альтерпрес, 2002. – 188 с.
2. Груша В.М. Використання бездротової сенсорної мережі у дослідженнях методу індукції флуоресценції хлорофілу // Комп'ютерні засоби, мережі та системи. – 2013. – № 12. – С. 54 – 63.
3. Rohacek K. Chlorophyll Fluorescence Parameters: The Definitions, Photosynthetic Meaning, and Mutual Relationships // Photosynthetica. – 2002. – Vol. 40, Issue 1. – P. 13 – 29.
4. Груша В.М., Ковирьова О.В. Дослідження чутливості флуорометра «Флоратест» до дії стресових факторів на стан рослин // Комп'ютерні засоби, мережі та системи. – 2012. – № 11. – С. 119 – 126.

Одержано 15.09.2014