

УДК 504.064.36

Экспериментальное исследование флуоресценции грунта в задаче контроля состояния растений по спектрам лазерно- индуцированной флуоресценции

Булло О. А.¹, Белов М. Л.^{1,*},

[*belov@bmstu.ru](mailto:belov@bmstu.ru)

Федотов Ю. В.¹, Городничев В. А.¹

¹МГТУ им. Н.Э. Баумана, Москва, Россия

Проведено экспериментальное исследование спектров лазерно-индуцированной флуоресценции растений и грунтов, в которых высажены растения, и подстилающих поверхностей, на фоне которых проводились лабораторные экспериментальные исследования. Показано, что при проведении лабораторных измерений спектров лазерно-индуцированной флуоресценции растений влияние флуоресценции грунтов, в которых высажены растения, и флуоресценции подстилающих поверхностей, на фоне которых проводятся лабораторные экспериментальные исследования, является несущественным. При дистанционных измерениях влияние флуоресценции почвы может быть значительно. Для учета влияния флуоресценции почвы на регистрируемый спектр лазерно-индуцированной флуоресценции растений, необходимо измерять степень проекционного покрытия растительности.

Ключевые слова: лазерный метод, лазерно-индуцированная флуоресценция, контроль состояния растений, флуоресценция грунта

Введение

Наиболее перспективными методами оперативного дистанционного зондирования окружающей среды в настоящее время являются лазерные методы. Они позволяют проводить измерения независимо от времени суток и обладают высокой пространственной (как продольной – по дальности, так и поперечной) разрешающей способностью. Один из таких методов – дистанционный лазерный метод зондирования состояния растительности, основанный на регистрации лазерно-индуцированной флуоресценции растений [1-16].

Флуоресцентный лидар (флуоресцентный импульсный лазерный локатор, флидар, дистанционный лазерный флуориметр) облучает подстилающую земную поверхность (например, с беспилотного летательного аппарата) лазерным излучением на длине волны возбуждения флуоресценции и приемная система лидара регистрирует харак-

теристики лазерно-индуцированного флуоресцентного излучения земной поверхности.

В большинстве работ, посвященных зондированию состояния растительности, приемная система флуоресцентного лидара регистрирует форму спектра флуоресценции (или интенсивность флуоресцентного излучения на нескольких длинах волн), которая существенно различается для нормального и стрессового состояния растений.

На сегодняшний день экспериментальные данные по спектрам лазерно-индуцированной флуоресценции растений в нормальном и разных стрессовых состояниях получены при различных лазерных длинах волн возбуждения флуоресценции от ультрафиолетового до видимого спектральных диапазонах (от 0,266 до 0,635 мкм). При этом, наиболее перспективным (из-за большой эффективности возбуждения флуоресценции) лазерным источником для бортовой аппаратуры дистанционного зондирования состояния растений является твердотельный лазер на иттрий-алюминиевом гранате с удвоением частоты на длине волны 0,532 мкм.

Статья посвящена экспериментальному исследованию дистанционного лазерного флуоресцентного метода зондирования состояния растений при длине волны возбуждения флуоресценции 0,532 мкм.

1. Постановка задачи

Хотя число опубликованных работ, посвященных описанию и параметрам флуоресцентных лидаров, задаче дистанционного зондирования состояния растений по характеристикам лазерно-индуцированной флуоресценции и экспериментальным исследованиям спектров флуоресценции разных растений в нормальном и различных стрессовых состояниях, довольно велико ([1-16] и ссылки в них), некоторые важные вопросы остаются неясными.

Одним из таких вопросов является вопрос о влиянии флуоресценции грунта (в который растения высажены) на работу флуоресцентного лидара и регистрируемый приемником лазерного флуориметра спектр лазерно-индуцированной флуоресценции (часть лазерного пучка, возбуждающего флуоресценцию растений может попасть на грунт, вызвать флуоресценцию грунта и исказить действительный спектр флуоресценции растений).

В статье проводится исследование погрешностей дистанционного лазерного флуоресцентного метода зондирования состояния растений, вызванных лазерно-индуцированной флуоресценцией грунтов, в которых могут расти растения в естественных условиях, и подстилающих поверхностей, на фоне которых проводились лабораторные экспериментальные исследования.

2. Экспериментальная установка

Для экспериментального исследования спектров лазерно-индуцированной флуоресценции разных видов растений и грунта была создана лабораторная установка [15].

В качестве источника лазерного излучения в экспериментальной установке использовался ИАГ: Nd лазер (с удвоением частоты, энергией в импульсе 0,37 мДж на длине волны 0,532 мкм, длительностью импульса порядка 7 нс, частотой повторения импульсов – 500 Гц). Система регистрации флуоресцентного излучения была создана на основе полихроматора и высокочувствительного матричного детектора с усилителем яркости. Измерения спектров флуоресценции растений и грунта проводились в спектральном диапазоне 595 – 800 нм. Разрешение по спектру – 8 нм. Диаметр приемного объектива – 15 мм. Расстояние от лазерного источника до растений или грунта ~ 1 м.

На рисунках 1 и 2 показаны фотографии подготовленных для измерения образцов салата, которые были высажены в песке (рисунок 1) и в почво-грунте (рисунок 2), а на рисунке 3 – подготовленный для измерения (отрезанный и положенный на пластик) лист растения (огурца апрельского).



Рис. 1. Подготовленные для измерения образцы салата, высаженные в песке



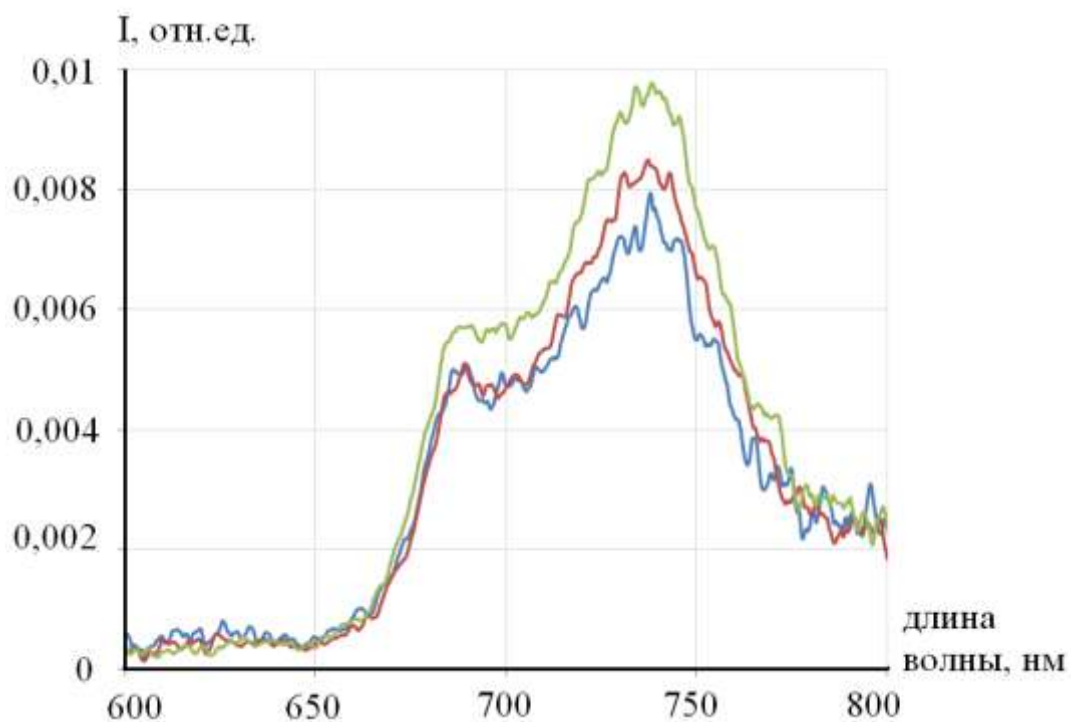
Рис. 2. Подготовленные для измерения образцы салата в почво-грунте



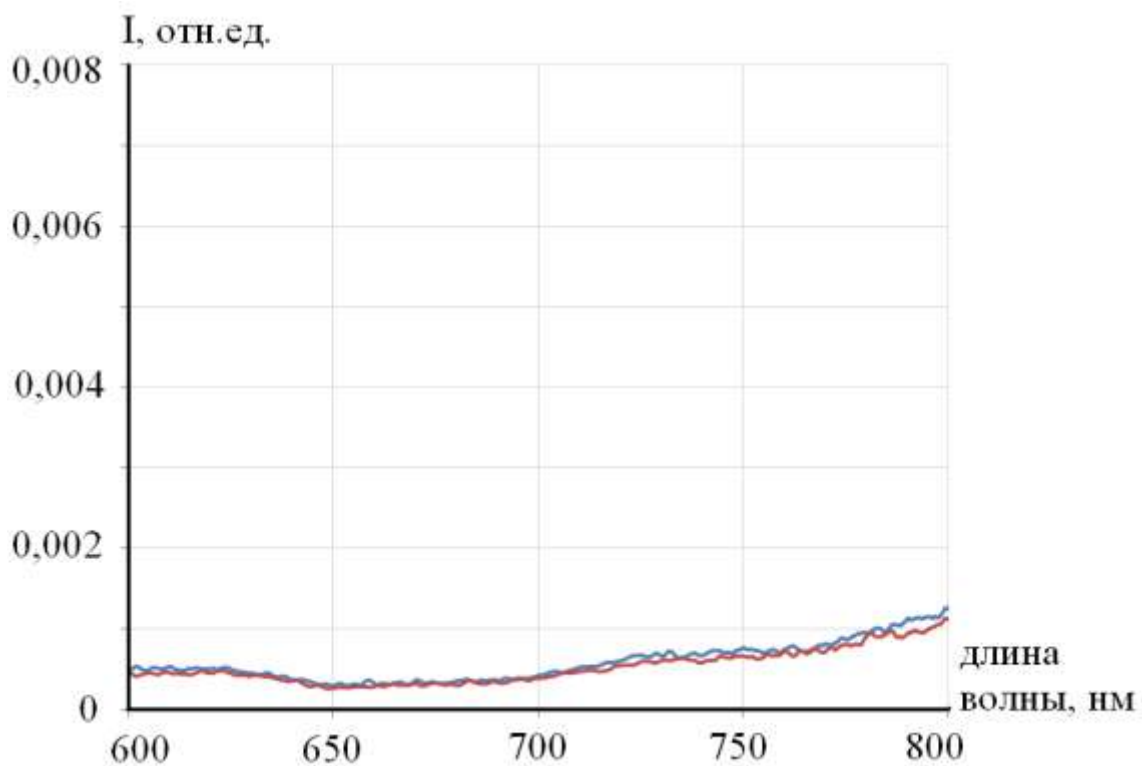
Рис. 3. Подготовленный для измерения лист огурца апрельского

2. Анализ экспериментальных результатов

На рис. 4 - 7 приведены примеры измеренных спектров лазерно-индуцированной флуоресценции растений и грунтов, в которые они были высажены, а также подстилающих поверхностей, на фоне которых проводились лабораторные экспериментальные исследования.

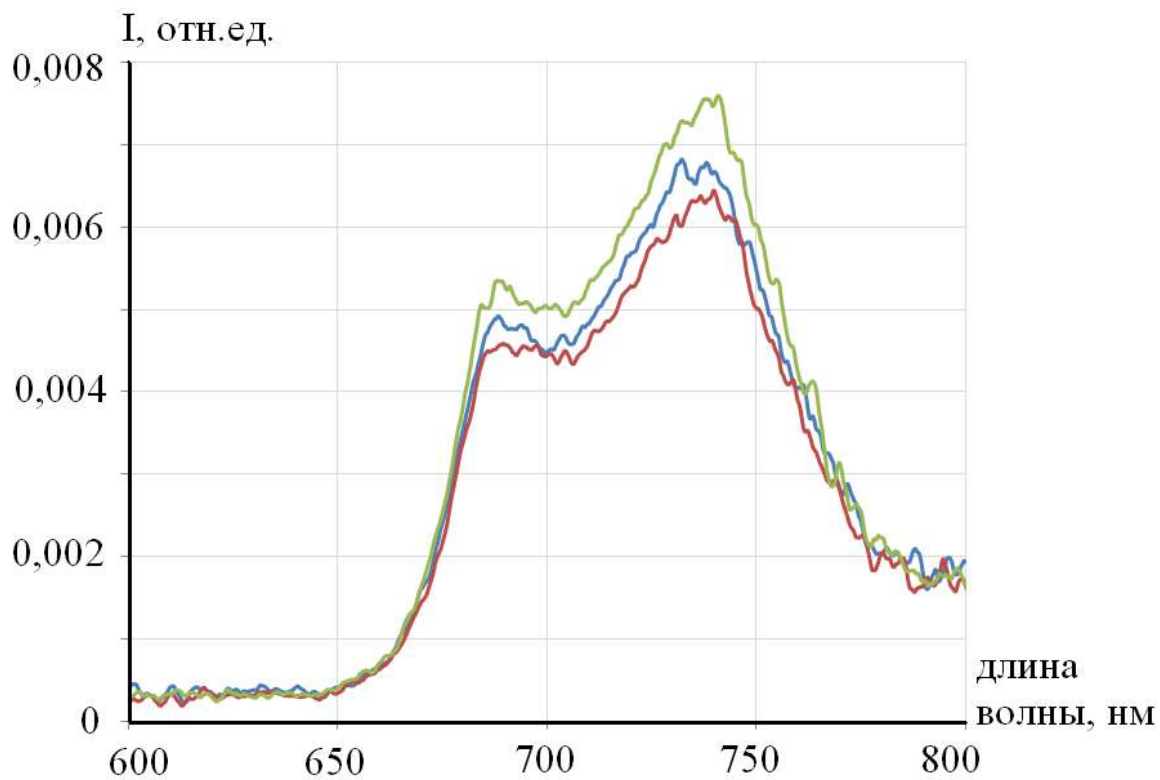


а

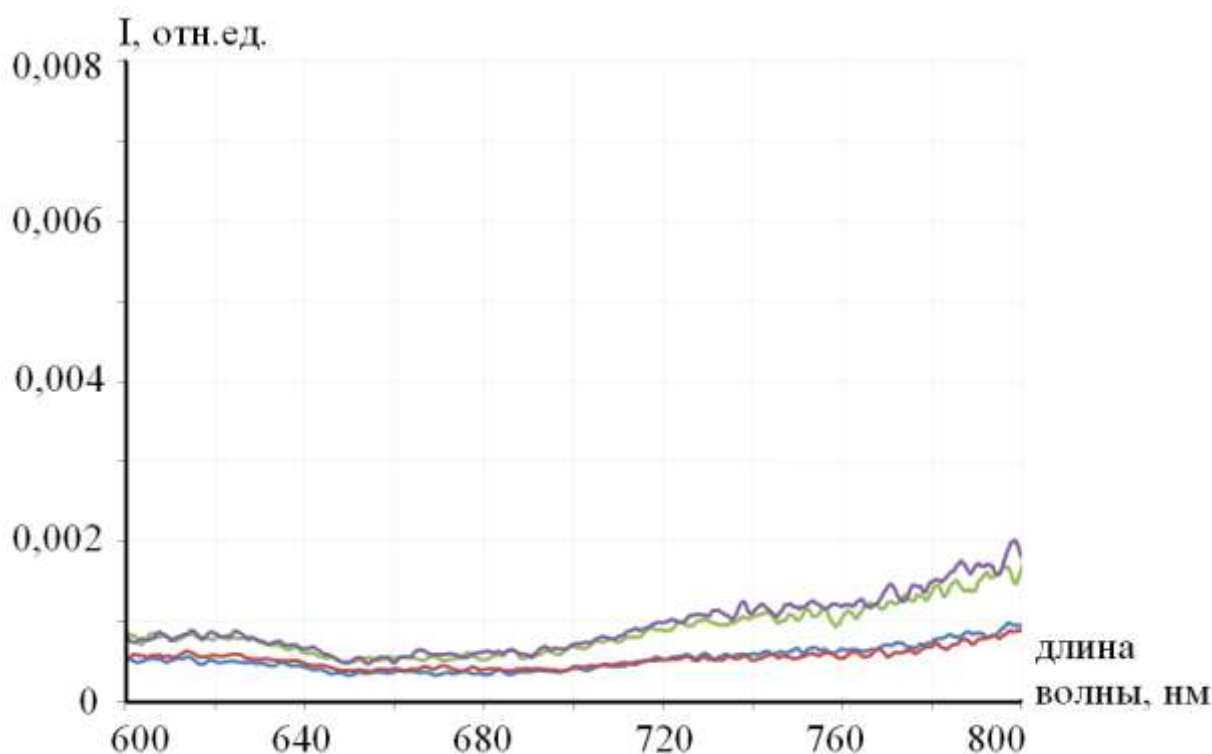


б

Рис.4 Спектры флуоресценции образцов кресс-салата, высаженных в песке, и образцов песка



а



б

Рис.5 Спектры флуоресценции образцов кресс-салата, высаженных в универсальном почво-грунте, и образцов почво-грунта

На рисунках 4а и 5а показаны спектры лазерно-индуцированной флуоресценции нескольких образцов кресс-салата, высаженных в песке (рисунок 4а) и в почво-грунте (рисунок 5а), а на рисунках 4б и 5б – спектры флуоресценции грунтов - речного песка и универсального почво-грунта Compo Sana, соответственно. На рисунках разные кривые соответствуют разным образцам растений и грунта.

Из рисунков 4,5 видно, что спектры флуоресценции песка и универсального почво-грунта не имеют такой специфической структуры, какую имеют спектры флуоресценции растений. Уровень флуоресценции грунтов существенно меньше уровня флуоресценции растений (по крайней мере, в области максимумов флуоресценции растений ~ 680 нм и ~ 740 нм). Однако, если значительная часть лазерного пятна попадет на грунт, то это может существенно исказить результаты измерения спектров лазерно-индуцированной флуоресценции растений.

При лабораторных экспериментах мы визуальнo контролировали попадание лазерного пятна (целиком) на лист растения, но при дистанционных измерениях неизбежно часть лазерного пятна будет попадать на почву, в которой высажены растения. Для учета (на измеряемый дистанционно спектр лазерно-индуцированной флуоресценции растительности) влияния флуоресценции почвы, необходимо знать степень проекционного покрытия растительности (это можно реализовать, проводя фотосъемку синхронно с флуоресцентным зондированием).

На рисунках 6 и 7 показаны спектры лазерно-индуцированной флуоресценции нескольких образцов листьев огурца Берендея (рисунок 6, на рисунке разные кривые соответствуют разным образцам растений) и спектры флуоресценции нескольких подстилающих поверхностей – картона, пластика и бумаги, на фоне которых нами проводились лабораторные экспериментальные исследования отрезанных листьев растений (рисунок 7).

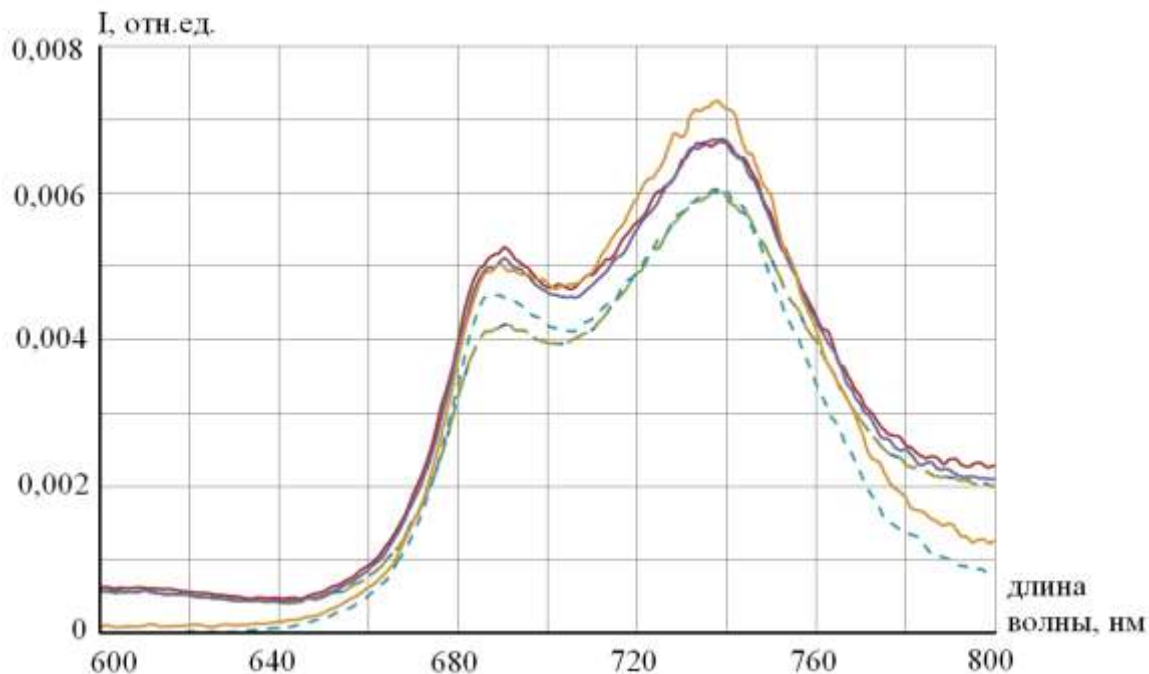


Рис.6 Спектры флуоресценции образцов листьев огурца Берендея

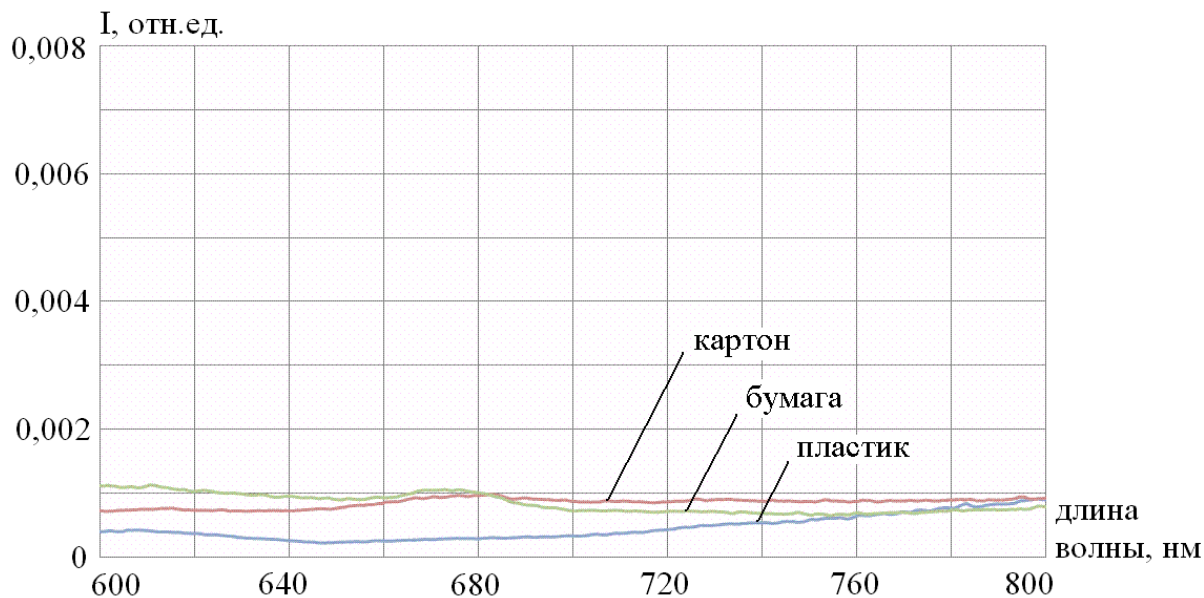


Рис.7 Спектры флуоресценции картона, пластика и бумаги

Из рисунков 6 и 7 видно, что уровень флуоресценции подстилающих поверхностей, на фоне которых нами проводились лабораторные экспериментальные исследования, существенно меньше уровня флуоресценции растений (по крайней мере, в области максимумов ~ 680 нм и ~ 740 нм). Поэтому, влияние подстилающих поверхностей на результаты лабораторных измерений спектров флуоресценции растений может быть существенным только в случае, когда значительная часть лазерного пятна окажется не на объекте исследования (листе растения), а рядом – на подстилающей поверхности (что мало реально при аккуратном проведении экспериментов).

Таким образом, проведены экспериментальные исследования спектров лазерно-индуцированной флуоресценции растений и грунтов, в которых высажены растения, и подстилающих поверхностей, на фоне которых проводились лабораторные экспериментальные исследования. Показано, что при проведении лабораторных измерений спектров лазерно-индуцированной флуоресценции растений влияние флуоресценции грунтов, в которых высажены растения, и флуоресценции подстилающих поверхностей, на фоне которых проводятся экспериментальные исследования, является несущественным.

Однако, при дистанционных измерениях влияние флуоресценции почвы может быть значительно. Для уменьшения погрешностей (измерения спектра лазерно-индуцированной флуоресценции), связанных с влиянием флуоресценции почвы, необходимо синхронно с флуоресцентным зондированием измерять степень проекционного покрытия растительности.

Заключение

Результаты экспериментальных исследований спектров лазерно-индуцированной флуоресценции растений и грунтов, в которых высажены растения, показывают, что при дистанционных измерениях влияние флуоресценции почвы на измеряемый спектр флуоресценции растительности может быть значительно. Для уменьшения погрешностей, связанных с влиянием флуоресценции почвы, необходимо синхронно с флуоресцентным зондированием измерять степень проекционного покрытия растительности.

Работа выполнена при поддержке Минобрнауки Российской Федерации (проект 1965/14).

Список литературы

1. Panneton B., Guillaume S., Roger J.M., Samson G. Discrimination of Corn from Monocotyledonous Weeds with Ultraviolet (UV) Induced Fluorescence // Applied Spectroscopy. 2011. Vol. 65. No. 1. Pp. 10-19. DOI: [10.1366/10-06100](https://doi.org/10.1366/10-06100)
2. Gouveia-Neto A.S., Silva E.A., Oliveira R.A., Cunha P.C., Costa E.B., Câmara T.J.R., Willadino L.G. 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. 7902A-1-7902A-10. DOI: [10.1117/12.872991](https://doi.org/10.1117/12.872991)

3. Афонасенко А.В., Иглакова А.И., Матвиенко Г.Г., Ошлаков В.К., Прокопьев В.Е. Лабораторные и лидарные измерения спектральных характеристик листьев березы в различные периоды вегетации // Оптика атмосферы и океана. 2012. Т. 25. № 3. С. 237-243.
4. Федотов Ю.В., Булло О.А., Белов М.Л., Городничев В.А. Устойчивость результатов лазерного флуоресцентного метода контроля состояния растений // Оптика атмосферы и океана. 2016. Т. 29. № 1. С. 80-84.
5. Panneton B., Guillaume S., Roger J.M., Samson G. Improved Discrimination Between Monocotyledonous and Dicotyledonous Plants for Weed Control Based on the Blue-Green Region of Ultraviolet-Induced Fluorescence Spectra // Applied Spectroscopy. 2010. Vol. 64. No. 1. Pp. 30-36. DOI: [10.1366/000370210790572106](https://doi.org/10.1366/000370210790572106)
6. Zhi-qiang C., Wen-li C. Effects of NaCl on photosynthesis in Arabidopsis and Thellungiella leaves based on the fluorescence spectra, the fast Chlorophyll Fluorescence Induction Dynamics Analysis and the delayed fluorescence technique // Proc. of SPIE. 2010. Vol. 7568. Pp. 756822-1-756822-8. DOI: 10.1117/12.841257
7. A.S. Gouveia-Neto, E.A. da Silva, P.C. Cunha, R.A. Oliveira-Filho, L.M. H. Silva, E.B. da Costa, T.J.R. Câmara, L.G. Willadino. Plant abiotic stress diagnostic by laser induced chlorophyll fluorescence spectral analysis of in vivo leaf tissue of biofuel species // Proc. of SPIE. 2010. Vol. 7568. Pp. 75680G-1 - 75680G-8. DOI: [10.1117/12.839462](https://doi.org/10.1117/12.839462)
8. Grishaev M.V., Sal'nikova N.S. A Setup for Remote Recording of the Spectrum of Laser-Induced Fluorescence from Crowns of Woody Plants // Instruments and Experimental Techniques. 2010. Vol. 53. No. 5. Pp. 746–749. DOI: [10.1134/S0020441210050246](https://doi.org/10.1134/S0020441210050246)
9. Yanga J., Gong W., Shia S., Dua L., Suna J., Songe S. Laser-induced fluorescence characteristics of vegetation by a new excitation wavelength // Spectroscopy letters. 2016. Vol. 49. No. 4, Pp. 263–267. DOI: [10.1080/00387010.2016.1138311](https://doi.org/10.1080/00387010.2016.1138311)
10. Hedimbil M., Singh S., Kent A. Laser induced fluorescence study on the growth of maize plants // Natural Science. 2012. Vol. 4. No. 6. Pp. 395-401. DOI: [10.4236/ns.2012.46054](https://doi.org/10.4236/ns.2012.46054)
11. Saito K. Plant and Vegetation Monitoring Using Laser-Induced Fluorescence Spectroscopy. Industrial Applications of Laser Remote Sensing. 2012. Pp. 99-114. DOI: [10.2174/97816080534071120101](https://doi.org/10.2174/97816080534071120101)
12. Pandey J.K., Gopal R. Laser-induced chlorophyll fluorescence and reflectance spectroscopy of cadmium treated Triticum aestivum L. plants // Spectroscopy. 2011. Vol. 26. No. 2. Pp. 129–139. DOI: [10.3233/SPE-2011-0530](https://doi.org/10.3233/SPE-2011-0530)
13. Gopal R., Pandey J.K.. Laser-induced chlorophyll fluorescence spectra of *Cajanus cajan* L. plant growing under cadmium stress // Proceedings of the International Symposium on Molecular Spectroscopy, June 21-25, 2010, Ohio State University, Columbus, OH., USA.
14. Pandey J.K., Gopal R. Laser-Induced Chlorophyll Fluorescence: A Technique for Detection of Dimethoate Effect on Chlorophyll Content and Photosynthetic Activity of Wheat Plant //

Journal of Fluorescence. 2011. Vol. 21. No. 2. Pp. 785-791. DOI: [10.1007/s10895-010-0771-5](https://doi.org/10.1007/s10895-010-0771-5)

15. Белов М.Л., Булло О.А., Городничев В.А. Лазерный флуоресцентный метод обнаружения стрессовых состояний растений, вызванных недостаточным уровнем питательных веществ или наличия загрязнителей в почве // Наука и образование. МГТУ им. Н.Э. Баумана. Электрон. журн. 2012. № 12. С. 299-318. DOI: [10.7463/1212.0506199](https://doi.org/10.7463/1212.0506199)
16. Лысенков В.С., Вардуни Т.В., Соьер В.Г., Краснов В.П. Флуоресценция хлорофилла растений как показатель экологического стресса: теоретические основы применения метода // Фундаментальные исследования. 2013. № 4. С. 112-119.

Experimentally Studied Soil Fluorescence in Solving a Problem of Plant Stress Detection Based on the Laser-Induced Fluorescence Spectra

O.A. Bullo¹, M.L. Belov^{1,*}, Yu.V. Fedotov¹,
V.A. Gorodnichev¹

*belov@bmstu.ru

¹Bauman Moscow State Technical University, Moscow, Russia

Keywords: laser method, laser-induced fluorescence, detection of plant stress, ground fluorescence

A laser method based on the record of laser-induced fluorescence of plants is currently one of the most promising methods for immediate remote sensing of plant condition.

To date, the experimental data on the fluorescence spectra of plants are obtained for different fluorescence excitation wavelengths from UV to visible spectral ranges. Thus, a solid-state YAG laser with frequency-doubled wavelength of 0.532 μm is the most promising laser source for the onboard equipment of plant stress detection.

Although there are pretty many publications, which give description and parameters of fluorescence lidars, consider a problem of remote sensing of plant condition based on the characteristics of laser-induced fluorescence and experimental studies of the fluorescence spectra of plants, some important issues remain unclear.

One such issue is a soil fluorescence effect on the fluorescent lidar operation and on the laser-induced fluorescence spectrum recorded by a receiver of the laser fluorometer.

To conduct experimental study of laser-induced fluorescence of plants and soil was created a laboratory set-up. As a laser radiation source, the experimental set-up used the YAG laser with frequency-doubled wavelength of 0.532 μm .

The experimental data show that the fluorescence spectra of soil and the underlying surfaces have no such a specific structure, which the fluorescence spectra of plants have. The fluorescence level of soil and underlying surfaces is substantially less than the fluorescence level of plants (at least, in the area of plant fluorescence maxima of ~ 680 nm and ~ 740 nm).

Therefore, the laboratory measurements have shown a non-essential fluorescence influence of the soil with vegetation planted, and of the underlying surfaces being a background for experimental study.

However, in remote measurements of soil fluorescence the effect can be great. To reduce errors (measurements of laser-induced fluorescence spectrum) because of the soil fluorescence

influence it is necessary to measure a degree of the projection cover of vegetation in-sync with the fluorescent sensing.

References

1. Panneton B., Guillaume S., Roger J.M., Samson G. Discrimination of Corn from Monocotyledonous Weeds with Ultraviolet (UV) Induced Fluorescence. *Applied Spectroscopy*, 2011, vol. 65, no. 1, pp. 10-19. DOI: [10.1366/10-06100](https://doi.org/10.1366/10-06100)
2. Gouveia-Neto A.S., Silva E.A., Oliveira R.A., Cunha P.C., Costa E.B., Câmara T.J.R., Willadino L.G. 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. DOI: [10.1117/12.872991](https://doi.org/10.1117/12.872991)
3. Afonassenko A.V., Iglakova A.I., Matvienko G.G., Oshlakov V.K., Prokop'yev V.E. Laboratory and lidar measurements of birch leaves spectral characteristics in different periods of vegetation. *Optika atmosfery i okeana*, 2012, vol. 25, no. 3, pp. 237-243. (in Russian).
4. Fedotov Yu.V., Bullo O.A., Belov M.L., Gorodnichev V.A. Stability of results of plant state detection by laser fluorescence method. *Optika atmosfery i okeana*. 2016, vol. 29, no. 1, pp. 80-84. (in Russian).
5. Panneton B., Guillaume S., Roger J.M., Samson G. Improved Discrimination Between Monocotyledonous and Dicotyledonous Plants for Weed Control Based on the Blue-Green Region of Ultraviolet-Induced Fluorescence Spectra. *Applied Spectroscopy*, 2010, vol. 64, no. 1, pp. 30-36. DOI: [10.1366/000370210790572106](https://doi.org/10.1366/000370210790572106)
6. Zhi-qiang C., Wen-li C. Effects of NaCl on photosynthesis in *Arabidopsis* and *Thellungiella* leaves based on the fluorescence spectra, the fast Chlorophyll Fluorescence Induction Dynamics Analysis and the delayed fluorescence technique. *Proc. of SPIE*, 2010, vol. 7568, pp. 756822-1-756822-8. DOI: [10.1117/12.841257](https://doi.org/10.1117/12.841257)
7. A.S. Gouveia-Neto, E.A. da Silva, P.C. Cunha, R.A. Oliveira-Filho, L.M. H. Silva, E.B. da Costa, T.J.R. Câmara, L.G. Willadino. Plant abiotic stress diagnostic by laser induced chlorophyll fluorescence spectral analysis of in vivo leaf tissue of biofuel species. *Proc. of SPIE*, 2010, vol. 7568, pp. 75680G-1-75680G-8. DOI: [10.1117/12.839462](https://doi.org/10.1117/12.839462)
8. Grishaev M.V., Sal'nikova N.S. A Setup for Remote Recording of the Spectrum of Laser-Induced Fluorescence from Crowns of Woody Plants. *Instruments and Experimental Techniques*, 2010, vol. 53, no. 5, pp. 746–749. DOI: [10.1134/S0020441210050246](https://doi.org/10.1134/S0020441210050246)
9. Yanga J., Gong W., Shia S., Dua L., Suna J., Songe S. Laser-induced fluorescence characteristics of vegetation by a new excitation wavelength. *Spectroscopy letters*, 2016, vol. 49, no. 4, pp. 263–267. DOI: [10.1080/00387010.2016.1138311](https://doi.org/10.1080/00387010.2016.1138311)
10. Hedimbi M., Singh S., Kent A. Laser induced fluorescence study on the growth of maize plants. *Natural Science*, 2012, vol. 4, no. 6, pp. 395-401. DOI: [10.4236/ns.2012.46054](https://doi.org/10.4236/ns.2012.46054)

11. Saito K. *Plant and Vegetation Monitoring Using Laser-Induced Fluorescence Spectroscopy. Industrial Applications of Laser Remote Sensing*. 2012. Pp. 99-114.
DOI: [10.2174/97816080534071120101](https://doi.org/10.2174/97816080534071120101)
12. Pandey J.K., Gopal R. Laser-induced chlorophyll fluorescence and reflectance spectroscopy of cadmium treated *Triticum aestivum* L. plants. *Spectroscopy*, 2011, vol. 26, no. 2, pp. 129–139. DOI: [10.3233/SPE-2011-0530](https://doi.org/10.3233/SPE-2011-0530)
13. Gopal R., Pandey J.K.. Laser-induced chlorophyll fluorescence spectra of *Cajanus cajan* L. plant growing under cadmium stress. *Proceedings of the International Symposium on Molecular Spectroscopy*, June 21-25, 2010, Ohio State University, Columbus, OH., USA.
14. Pandey J.K., Gopal R. Laser-Induced Chlorophyll Fluorescence: A Technique for Detection of Dimethoate Effect on Chlorophyll Content and Photosynthetic Activity of Wheat Plant. *Journal of Fluorescence*, 2011, vol. 21, no. 2, pp. 785-791.
DOI: [10.1007/s10895-010-0771-5](https://doi.org/10.1007/s10895-010-0771-5)
15. Belov M.L., Bullo O.A., Gorodnichev V.A. Laser fluorescence detection method of plant stress conditions caused by insufficient nutrients or contaminants in soil. *Nauka i obrazovanie. MGTU im. N.E. Bauman = Science and Education of the Bauman MSTU*, 2012, no. 12, pp. 299-318. (in Russian). DOI: [10.7463/1212.0506199](https://doi.org/10.7463/1212.0506199)
16. Lysenkov V.S., Varduni T.V., Soyev V.G., Krasnov V.P. Plant chlorophyll fluorescence as an environmental stress characteristic: a theoretical basis of the method application. *Fundamental'nye issledovaniya = Fundamental research*, 2013, no. 4, pp. 112-119. (in Russian).