

Потапова В.А., Морев Д.В. Оценка содержания пигментов яровой пшеницы на разных фенологических фазах с использованием портативных спектрорадиометров

Электронный научно-производственный журнал

«АгроЭкоИнфо»

УДК: 633.11:574.

Оценка содержания пигментов яровой пшеницы на разных фенологических фазах с использованием портативных спектрорадиометров

Потапова В.А., Морев Д.В.

Российский Государственный Аграрный университет-МСХА имени К.А. Тимирязева

Аннотация

*В исследовании сравнивали 2 портативных спектрорадиометра по оценке содержания пигментов (хлорофилла *a* и *b*, каротиноидов) в листьях яровой пшеницы, а также возможность выделения фенологических фаз по показаниям поглощения света. Замеры поглощения проводили с помощью CropTalker+ и SpectraPen mini в 12 длинах волн (от 450 нм до 860 нм) в относительных величинах.*

Устройства были протестированы на 16 точках в 4 фенологических фазах: кущение, колошение, цветение и молочная спелость. В смешанных пробах с каждой точки отбора определяли концентрации хлорофиллов и каротиноидов в мг/г сухой массы. Найдены регрессионные зависимости между показаниями поглощения, отражения и содержанием хлорофиллов, каротиноидов ($R^2 = 0,73-0,77$ для суммы хлорофиллов и $R^2 = 0,37-0,41$ для каротиноидов). Также были найдены достоверные отличия между средними показаний поглощения, отражения в разных фенологических фазах.

Ключевые слова: ХЛОРОФИЛЛ, СПЕКТРОРАДИОМЕТР, ФЕНОЛОГИЧЕСКИЕ ФАЗЫ, ЯРОВАЯ ПШЕНИЦА, СПЕКТРОМЕТР, КАРОТИНОИДЫ, ПИГМЕНТЫ

Введение

Содержание пигментов в листьях растений широко используется для оценки их состояния, так как фотосинтетический аппарат чутко реагирует на изменения окружающей среды и отражает различные физиологические процессы в растении [1]. Именно поэтому

были разработаны методики по определению содержания пигментов, и каждая из них обладает своими достоинствами и недостатками [2]. Вопросы скорости измерения и материальных затрат на их реализацию – актуальная задача современной науки. Спектральные методы анализа содержания пигментов в растениях, которые рассматриваются в данном исследовании одни из наиболее быстрых, точных и перспективных в экологическом и агроэкологическом мониторинге [3, 4]. Данный подход позволяет уменьшить трудовые и финансовые затраты, а также оперативно принимать решения по внесению подкормок, обработке участков посевов от болезней и вредителей [5].

Цель исследования: оценка содержания хлорофиллов *a* и *b*, каротиноидов в различные фенологические фазы развития яровой пшеницы с использованием портативных спектрорадиометров со стабильным источником излучения.

Объекты и методы

Объектами исследования стали посевы яровой мягкой пшеницы сорта Дарья на 16 точках, расположенных в западной части поля агроэкологического стационара Полевой опытной станции РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева [6, 7]. Отбор проб и замеры поглощения проводили на 4 фенологических фазах (кущение, колошение, цветение и молочная спелость) [8, 9].

Концентрацию пигментов в листьях определяли фотометрическим методом [10]. Экстракцию гомогенизированной навески листьев в 50 мг проводили в 80% растворе ацетона в день отбора. Фотометрирование проводили в длинах волн: 470, 646,8 и 662,3 нм. Экстракцию для каждой точки проводили в двукратной повторности из листьев, использованных в замерах поглощения. Для перехода к мг/г - мкг/л пигментов, получаемые из расчета выше указанных формул, умножали на 10 и делили на долю влажности (влажность :100%), а затем делили на 1000.

Статистическую обработку данных проводили в программных средах MS Excel 2016 и R Studio. Проверку на нормальность распределения полученных данных проводили с использованием критериев Пирсона и Лиллиефорса, а также визуально с помощью графика на нормально-вероятностной бумаге.

Для оценки и описания зависимостей между изучаемыми параметрами использовали корреляционный (метод Спирмена) и регрессионный анализы. Для сравнения средних и разделения классов использовали непараметрические критерии (Краскела-Уоллиса и Вилкоксона-Манна-Уитни).

Результаты оценки содержания пигментов

Максимум содержания хлорофилла *a* составил 7–8 мг/г сухой массы; минимум составил 1,5–2 мг/г. Концентрации хлорофилла *b*, соответствующие максимуму и минимуму, были также обнаружены в фазе цветения соответственно 2,4–2,5 мг/г и в фазе кушения – 0,5–0,7 мг/г.

Концентрации составили в фазе цветения от 1,8 до 2,1 мг/г, а в фазе кушения от 0,8 до 0,85 мг/г. Отношение количества каротиноидов и хлорофиллов было максимальным во время фазы кушения и составило от 0,3 до 0,33; минимальное значение было зафиксировано во время фазы цветения и составило от 0,18 до 0,2.

Во всех исследуемых образцах была отмечена одинаковая тенденция изменения соотношения каротиноидов к сумме хлорофиллов *a* и *b* в зависимости от фазы развития. Наибольшее отношение содержания каротиноидов к хлорофиллам наблюдалось в фазе кушения, а к началу фазы цветения оно снижалось, так как концентрация хлорофилла увеличивалась быстрее, чем концентрация каротиноидов. Максимум содержания хлорофилла приходился на фазу цветения, после чего его концентрация начинала уменьшаться (рис. 1), в то время как концентрация каротиноидов увеличивалась, что приводило к изменению соотношения. Достоверные различия средних значений по критерию Манна-Уитни были выявлены только между фазой кушения и другими фенофазами.

В таблице 1 представлены результаты корреляционного анализа между содержанием пигментов и показаниями поглощения CropTalker. Для объема выборки 64, значимым коэффициентом является 0,25. Исходя из данных, можно увидеть тесную зависимость между содержанием пигментов и показаниями поглощения в большинстве длин волн.

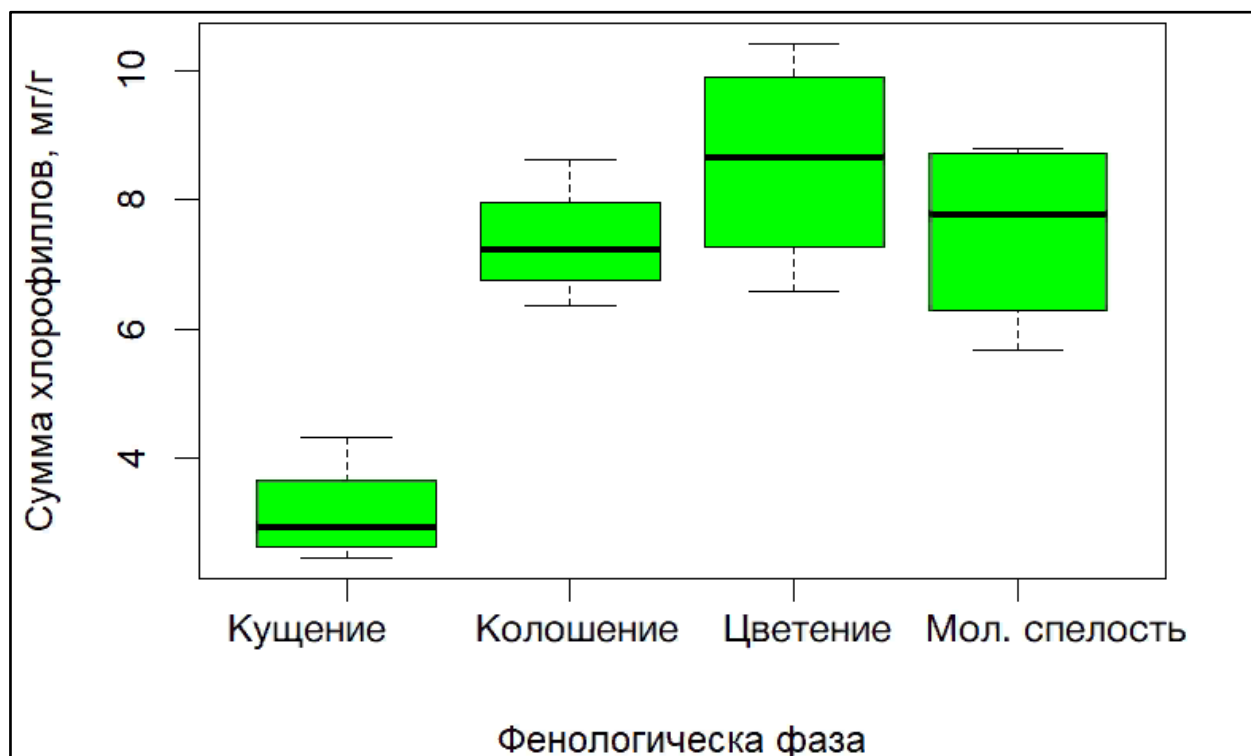


Рис. 1. Содержание суммы хлорофиллов на разных фенологических фазах

Таблица 1. Коэффициенты корреляции Спирмена между содержанием пигментов и поглощением, измеренным CropTalker

	450	500	550	570	600	650	610	680	730	760	810	860
Хл.а	0,04	-0,34	-0,67	-0,75	-0,71	-0,74	-0,59	-0,65	0,41	0,57	0,60	0,61
Хл.б	0,00	-0,37	-0,70	-0,78	-0,75	-0,78	-0,62	-0,69	0,39	0,57	0,65	0,66
Кар.	0,31	0,06	-0,29	-0,41	-0,39	-0,44	-0,53	-0,51	0,23	0,40	0,20	0,33
К/Хл	0,52	0,74	0,67	0,65	0,61	0,61	0,16	0,30	-0,31	-0,33	-0,75	-0,58

Из таблицы 1 мы также можем видеть зависимость между содержанием пигментов и спектральными характеристиками.

Для создания регрессионных моделей использовались коэффициенты корреляции, превышающие 0,5. Полученные линейные регрессионные модели были менее точными, чем экспоненциальные. Формулы для вычисления концентраций пигментов выглядят следующим образом:

для суммы хлорофиллов:

$$\text{Хл. } a+b = e^{(4,05-10,2A_{650}-80,77A_{680}+17,23A_{760}-3A_{860})} \quad (1)$$

$$R^2=0,74$$

для каротиноидов коэффициент детерминации составил 0,41, поэтому была составлена модель для соотношения каротиноидов к хлорофиллам, которая получилась более точная:

$$\text{Кар./Хл.} = e^{(-3,71 + 3,93A_{450} + 7,46A_{650} + 2,92A_{860})} \quad (2)$$

R²=0,59

Важно отметить, что длины волн, которые лучше всего предсказывают содержание хлорофилла, близки к длинам волн максимального поглощения света хлорофиллом. В модели соотношения каротиноидов к хлорофиллам появился коэффициент, связанный с показателями на 450 нм, что соответствует одному из максимумов поглощения света каротиноидами. Таким образом, данные CropTalker не случайны, они связаны с реальным содержанием пигментов и подчиняются зависимостям, обнаруженным ранее в поглощении света пигментами.

Дисперсионный анализ показал достоверные отличия между средними значениями ($p < 0,05$) на разных фенологических фазах для показаний в длинах волн, используемых в регрессионной модели для хлорофиллов и соотношения каротиноидов к хлорофиллам: 450, 650, 680, 860 нм. Сравнение средних по критерию Манна-Уитни выявило те же различия, что и в случае с содержанием хлорофиллов: достоверные отличия наблюдаются только между показателями, полученными в фазе кущения и показателями, полученными на других стадиях развития культуры. (рис. 2).

В таблице 2 представлены результаты корреляционного анализа между содержанием пигментов и показаниями поглощения SpectraPen mini. Для объема выборки 64 значимым коэффициентом является 0,25. Исходя из данных, можно увидеть тесную зависимость между содержанием хлорофиллов и показаниями поглощения в большинстве длин волн. Для каротиноидов значимые коэффициенты корреляции в длинах волн 500, 680 и 760 нм.

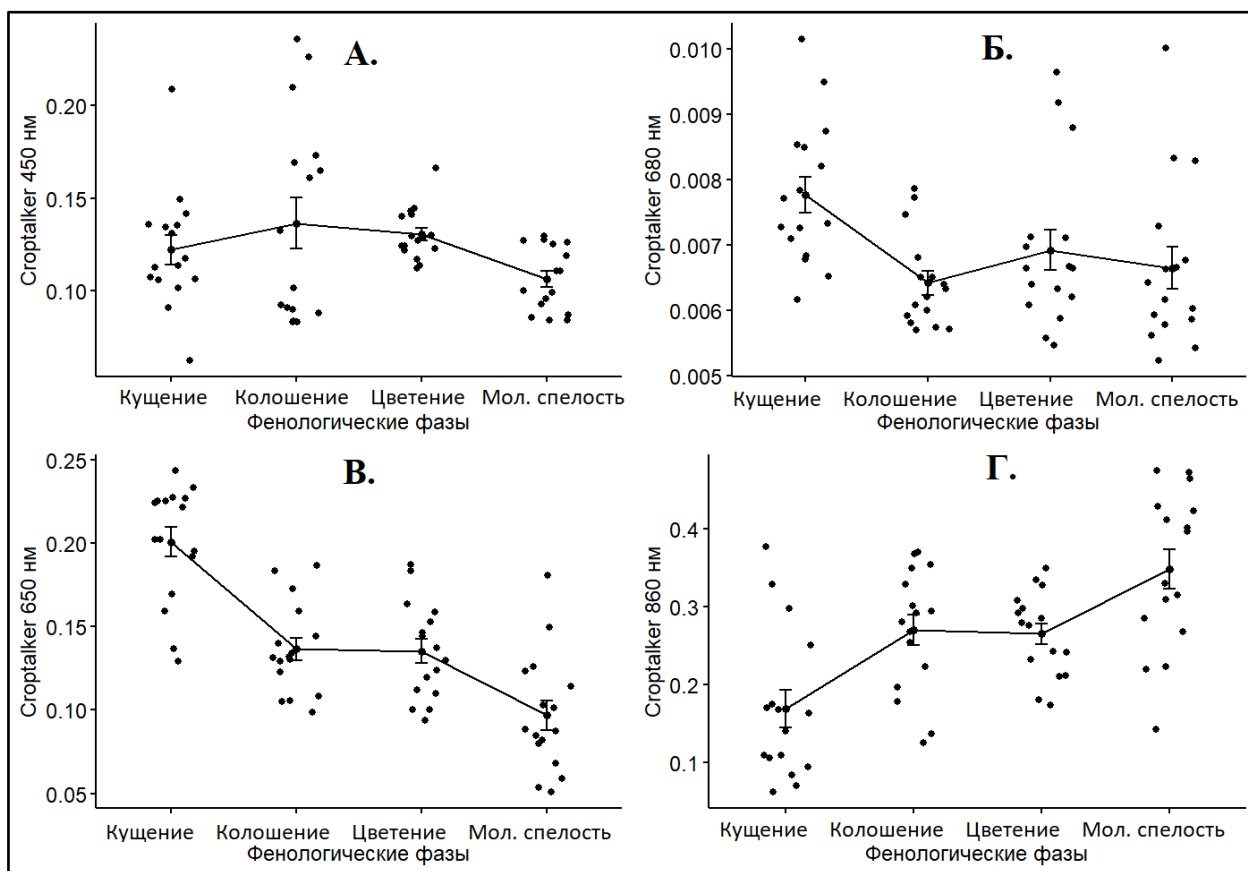


Рис. 2. Показания CropTalker поглощения на разных фенологических фазах в: А – 450 нм; Б – 680 нм; В – 650 нм; Г – 860 нм.

Таблица 2. Коэффициенты корреляции Спирмена между содержанием пигментов и поглощением, измеренным SpectraPen mini

	450	500	550	570	600	650	610	680	730	760	810	860
Хл.а	0,00	-0,66	-0,61	-0,64	-0,61	-0,62	-0,62	-0,69	-0,13	0,05	0,58	0,57
Хл.б	-0,01	-0,70	-0,66	-0,68	-0,66	-0,66	-0,66	-0,74	-0,18	0,00	0,63	0,62
Кар.	-0,07	-0,35	-0,18	-0,21	-0,16	-0,17	-0,19	-0,35	0,16	0,28	0,18	0,15
К/Хл	-0,09	0,64	0,80	0,80	0,81	0,81	0,81	0,67	0,48	0,36	-0,75	-0,76

Уравнения регрессии для пигментов от показаний поглощения SpectraPen mini:
для суммы хлорофиллов:

$$\text{Хл.}a+b=e^{(7,76-186,65A_{500}+33,41A_{600}-20,21A_{610}-29,55A_{810})} \quad (3)$$

$$R^2=0,76$$

для каротиноидов коэффициент детерминации равен 0,37. Также, как и в случае с моделями для показаний CropTalker, модель для соотношения каротиноидов к хлорофиллу оказалась более точной:

$$\text{Кар./Хл.} = e^{(6,32A_{600} - 1,72)} \quad (4)$$

$R^2=0,68$

Обратите внимание, что спектральные диапазоны CropTalker и SpectraPen Mini отличаются. В ходе дисперсионного анализа были обнаружены статистически значимые различия в показаниях поглощения для всех длин волн, использованных в регрессионных моделях, в зависимости от фенологической фазы ($p < 0,05$). Анализ различий средних значений по критерию Манна-Уитни для длин волн 600, 610 и 810 нм выявил статистически значимые различия между средними значениями на всех фенологических фазах. Только для длины волны 500 нм были обнаружены статистически значимые различия между средним значением для фазы кущения по сравнению со всеми остальными фазами (рис. 3).

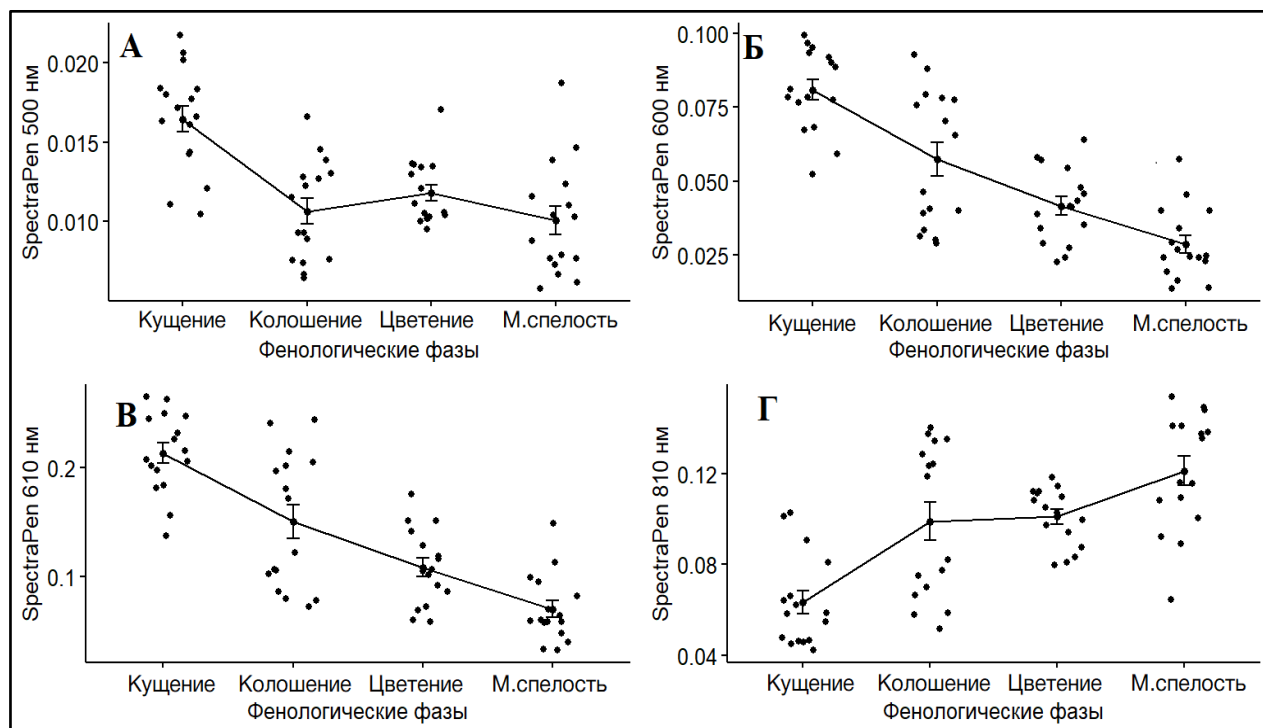


Рис. 3. Показания поглощения SpectraPen mini на разных фенологических фазах в: А – 500 нм; Б – 600 нм; В – 610 нм; Г – 810 нм

Заключение

Наиболее точными моделями регрессии зависимости содержания пигментов от показателей поглощения оказались модели для SpectraPen Mini - коэффициенты детерминации для хлорофиллов составляют 0,75–0,77 и для отношения каротиноидов к хлорофиллу – 0,68. Однако, при сравнении средних значений было обнаружено, что показатели в длинах волн, используемых в регрессионных зависимостях, не коррелируют с распределением пигментов по фенологическим фазам. Также следует отметить, что модель зависимости отношения каротиноидов к хлорофиллу использует показатели только одной длины волны - 600 нм, что не соответствует максимумам поглощения у каротиноидов согласно литературным источникам (420–470 нм). Немного уступают в точности модели регрессии для CropTalker - коэффициенты детерминации для хлорофиллов равны 0,73–0,74, а для отношения каротиноидов к хлорофиллу – 0,58. В результате сравнения средних показаний во всех длинах волн, используемых в регрессионных моделях, разделяются по фазам аналогично распределению содержания пигментов по фенологическим фазам. В модели зависимости соотношения каротиноидов к хлорофиллу используются показания в 450 нм, помимо волн характерных для поглощения хлорофиллами, что входит в диапазон поглощения каротиноидами. Таким образом, портативные спектрометры позволяют достаточно точно оценивать содержание хлорофиллов и фенологические фазы, менее точно содержание каротиноидов.

Список использованных источников:

1. Бэкмухамедов Н.Э., Карабкина Н.Н. Определение изменений содержания пигментов в посевах яровой пшеницы, зараженных грибковыми болезнями по гиперспектральным данным // Сельское, лесное и водное хозяйство. - 2013. - (11). – 2с.
2. Тарасенко С., Живлюк Е. Пигментный состав сортов мягкой озимой пшеницы // Наука и инновации. - 2009. - № 7 (77). - С. 25–28.
3. Hamblin J., Stefanova K., Angessa T.T. Variation in Chlorophyll Content per Unit Leaf Area in Spring Wheat and Implications for Selection in Segregating Material // PLoS ONE. - 2014. - № 3 (9). - С. e92529.
4. Martínez-Dalmau J., Berbel J., Ordóñez-Fernández R. Nitrogen Fertilization. A Review of the Risks Associated with the Inefficiency of Its Use and Policy Responses // Sustainability. - 2021. - № 10 (13). - С. 5625.

5. Александров Н.А. Мониторинг фенофаз яровой пшеницы с помощью беспроводных сетей спектрометров / Н.А. Александров, И.А. Серегин // Материалы Международной научной конференции молодых учёных и специалистов, посвящённой 135-летию со дня рождения А.Н. Костякова: сборник статей, Москва, 06–08 июня 2022 года. Том 1. – Москва: Российский государственный аграрный университет - МСХА им. К.А. Тимирязева, 2022. – С. 110–113.

6. Александров Н.А., Гвоздь В.К., Джанчаров Т.М., Степанов А.В. Экологическая оценка качественных характеристик газонных травостоев на урбанизированных дерново-подзолистых почвах в условиях экологического стационара РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева [Электрон. ресурс] // АгроЭкоИнфо: Электронный научно-производственный журнал. – 2022. – № 3. – Режим доступа: http://agroecoinfo.ru/STATYI/2022/3/st_312.pdf.

DOI: <https://doi.org/10.51419/202123312>.

7. Патент № 2782576 С1 Российская Федерация, МПК А01G 7/04, G01N 21/17. Способ регистрации спектральных характеристик света для оценки функционального состояния растений: № 2021134899: заявл. 29.11.2021: опубл. 31.10.2022 / В. Брыков, Р.А. Брыкова, А.М. Ярославцев [и др.]; заявитель Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования "Российский университет дружбы народов".

8. Цифровые технологии агроэкологического мониторинга и оптимизация земледелия / И.И. Васенев, Н.А. Александров, И.В. Андреева [и др.]. – Москва: Российский государственный аграрный университет - МСХА им. К.А. Тимирязева, 2022. – 240 с. – ISBN 978-5-6048783-0-9.

9. Chlorophylls and Carotenoids: Measurement and Characterization by UV-VIS Spectroscopy / Lichtenthaler Н.К. [и др.] // Current Protocols in Food Analytical Chemistry. - 2001. - № 1 (1). - С. F4.3.1-F4.3.8.

10. Потапова В.А. Изучение возможности применения портативных спектрометров с технологией IoT для экологического мониторинга состояния пород древесных растений / В.А. Потапова, Д.В. Морев, А.М. Ярославцев // Материалы Международной научной конференции молодых учёных и специалистов, посвящённой 135-летию со дня рождения А.Н. Костякова : сборник статей, Москва, 06–08 июня 2022 года. Том 1. – Москва: Российский государственный аграрный университет - МСХА им. К.А. Тимирязева, 2022. – С. 140–143.

Цитирование:

Потапова В.А., Морев Д.В. Оценка содержания пигментов яровой пшеницы на разных фенологических фазах с использованием портативных спектрорадиометров [Электрон. ресурс] // АгроЭкоИнфо: Электронный научно-производственный журнал. – 2023. – № 5. – Режим доступа: http://agroecoinfo.ru/STATYI/2023/5/st_526.pdf. DOI: <https://doi.org/10.51419/202135526>.