

Информационные технологии в исследовании биопотенциалов растений при действии стрессоров

Г.В. СЕРОКЛИНОВ^{1,*}, А.В. ГУНЬКО²

¹ Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий РАН, Краснообск, Новосибирская область, Россия

² Новосибирский государственный технический университет, Россия

*Контактный e-mail: seroklinov@mail.ru

Описаны технические средства, использованные для проведения исследований биопотенциалов растений при изменении температуры и хлоридно-засоления. Описана методика предварительной обработки результатов измерения биопотенциалов растений.

Ключевые слова: биопотенциал, растение, стрессоры, температура, фильтрация, векторные операции, хлоридное засоление.

Введение

В процессе вегетации растения подвергаются различным воздействиям окружающей среды (например, таким как пониженные и повышенные температуры, пестициды, засоление, засуха, возбудители болезней и др.). Эти воздействия вызывают у растений различные реакции, а порой являются для них стрессорами. Происходящие под действием стрессоров изменения в обмене веществ растений выражаются в нарушении функционирования ферментных систем, регулирующих весь сложный комплекс энергетического обмена, что приводит к возникновению процессов, способствующих противодействию растений неблагоприятным факторам среды. Эти процессы сопровождаются изменением ионной проводимости клеток растения, которая характеризуется изменением его биопотенциалов.

По изменению биопотенциалов растений можно оценить устойчивость растений к стрессовым факторам среды и разработать количественные критерии межсортовых различий. Уровень устойчивости растений к различным стрессорам закреплен генетически, проявляется лишь при действии этих экстремальных факторов и может изменяться в процессе онтогенеза. Для злаковых культур наличие сортовых отличий при действии стрессоров позволяет по величине биопотенциалов оценить стрессоустойчивость различных сортов на стадии их создания.

1. Постановка задачи

Величина биопотенциалов, или потенциалов действия (ПД), у высших растений при обычно используемом внеклеточном отведении от поверхности неодревесневших травянистых органов растения, варьирует в довольно широких пре-

делах: от единиц до десятков милливольт [1]. Учитывая ионную природу биопотенциала, можно отметить, что растение обладает значительным внутренним сопротивлением, поэтому входное сопротивление измерительного устройства тоже должно быть высоким. Эта же особенность источника сигнала является причиной высокого уровня помех. Поэтому при измерении ПД растений целесообразно использовать автоматизированный комплекс, содержащий измерительный усилитель с входным сопротивлением не менее 10^{10} Ом. Это обеспечивает динамическую фиксацию измеряемого электрического сигнала и позволяет осуществлять последующую обработку полученных данных в различных программах.

Для предварительной обработки большого объема накопленных экспериментальных данных необходимо разработать ряд новых алгоритмов (цифровая фильтрация низкочастотными фильтрами, устранение постоянной составляющей сигнала и др.), так как применение традиционных алгоритмов требует длительного времени вычислений даже при использовании средств современной вычислительной техники.

2. Технические средства и методика экспериментальных исследований

Экспериментальные исследования по оценке влияния стрессоров на биопотенциалы растений выполнялись с использованием автоматизированной системы АвтоЭкспИ [2], разработанной в СибФТИ СФНЦА РАН. Структурная схема установки для проведения исследований по оценке влияния стрессоров на биопотенциалы злаковых культур, созданной на основе этой системы, приведена на рис. 1.

При воздействии стрессора (изменении температуры) в гипокотиле проростка растения и его листьях возникает потенциал действия, который регистрируется с помощью неполяризуемых электродов. Через согласующее устройство он поступает на аналоговый вход аналогово-цифрового преобразователя (АЦП) E-440 и далее на вход ПЭВМ. Управляющая ПЭВМ обеспечивает считывание цифровых сигналов, поступающих на аналоговые входы с выхода устройства согласования и выхода измерителя температуры, и формирует сигнал, который, поступая на устройство управления, подключает элемент Пельтье к источнику питания. Напряжение питания контролируется устройством измерения напряжения и записывается в БД на ПЭВМ.

В установке использован униполярный способ отведения ПД. Измерительный электрод установлен на поверхности гипокотиля проростка (или поверхности его листа), а электрод сравнения – в области его корней (в питательном растворе). Одновременно с ПД на вход АЦП и далее в ПЭВМ поступает сигнал с датчика температуры на участке растения, расположенном в зоне действия элемента Пельтье.

Полученные таким образом сигналы записываются в базу данных ПЭВМ. В системе используется реляционная база данных СУБД FireBird. Предварительная обработка измеренных сигналов проводится на ПЭВМ с применением программных средств Matlab, так как автоматизированная система АвтоЭкспИ имеет функцию экспорта данных в формат пакета Matlab. Учитывая, что пакет

Matlab поддерживает векторизованные вычисления, представляется целесообразным реализовать алгоритмы с максимальным использованием векторных операций, включая реализацию задачи фильтрации как векторной операции `conv` (операции свертки сигнала с импульсной характеристикой нерекурсивного фильтра длиной L) с последующим устранением искажений, вызванных переходным процессом фильтра и фазовой задержкой. Проектирование нерекурсивного фильтра с требуемыми параметрами качества (шириной переходной полосы между полосами пропускания и задерживания, а также заданными неравномерностями амплитудно-частотной характеристики в полосах пропускания и задерживания) в виде отсчетов импульсной характеристики в среде Matlab легко реализуется инструментом Filter design. Статистический анализ полученных данных производится с использованием программного обеспечения Excel и Statistica.

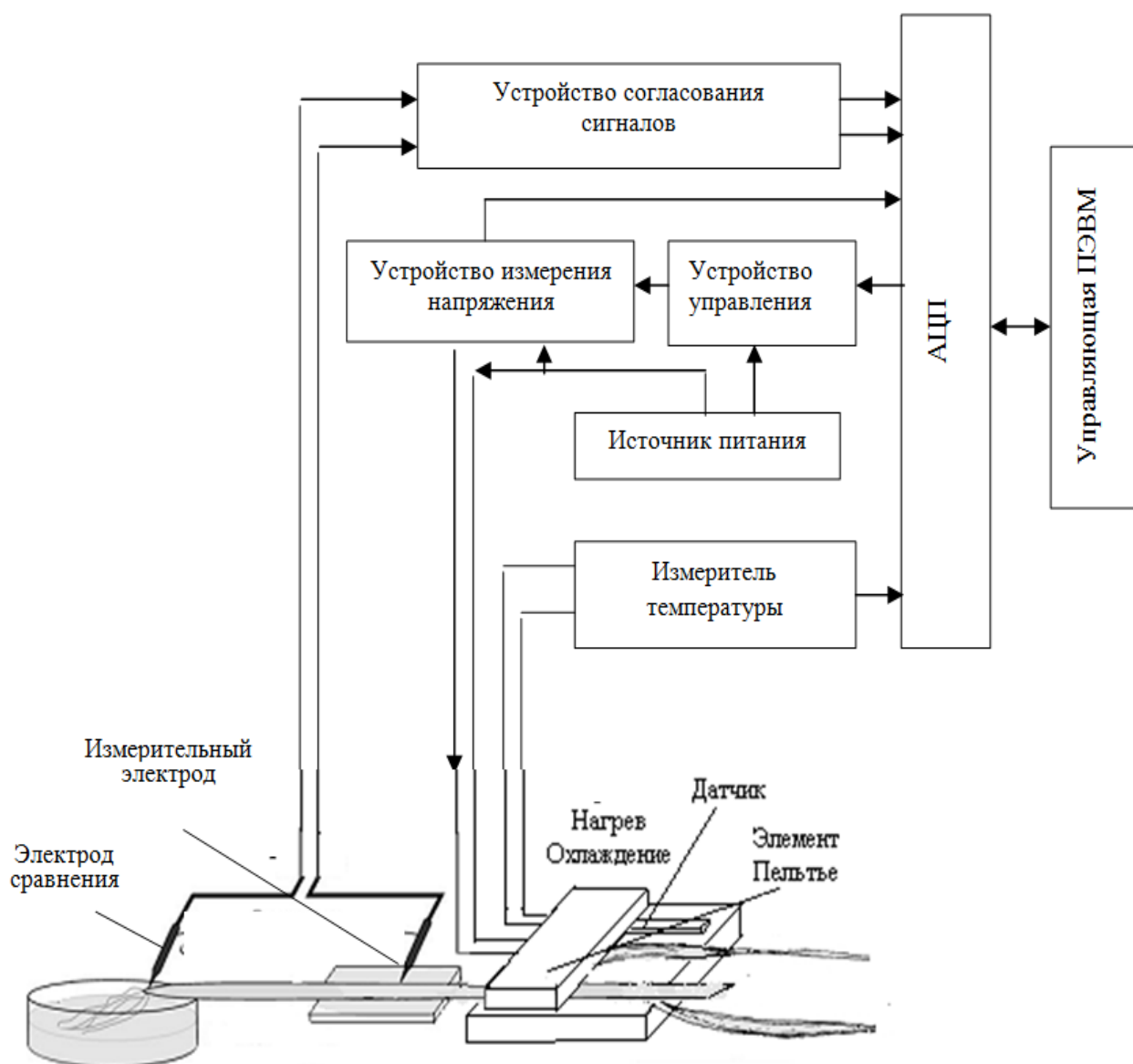


Рис. 1. Структурная схема экспериментальной установки для оценки влияния температуры на биопотенциалы злаковых культур

Для исследований использовались одно- и двухнедельные проростки пшеницы и ячменя, выращенные на гидропонике и размещенные в климатической камере Биотрон, изготовленной в СибФТИ СФНЦА РАН. Оценивалось влияние изменения температуры на биопотенциалы растений.

Растение помещали на измерительный столик (рис. 1), поверх него устанавливали элемент Пельтье, температуру его поверхности определяли с помощью электронного устройства, датчик которого вмонтирован в столик. При установке элемента на измерительном столике датчик крепился к его поверхности пружинками. При подключении элемента Пельтье к источнику питания температура одной стороны понижалась до 10–15 °С, а другой – повышалась до 35–40 °С. Исходную температуру устанавливали 21 ± 2 °С. В зависимости от того, какое воздействие оказывалось на растение в конкретном эксперименте, элемент Пельтье располагали соответствующим образом. Для стабилизации температуры на противоположную сторону элемента помещали радиатор с вентилятором.

Исследования проводились в следующем порядке. Неполяризующиеся электроды устанавливали согласно схеме, изображенной на рис. 1. Электрод сравнения помещали в зоне корней проростка, а второй пристыковывали к гипокотилу (или листу) проростка. Место контакта датчика и растения смазывали электропроводящим гелем. Корни растения помещали в чашку Петри с водопроводной водой, а стебель укладывали на измерительный столик, на который устанавливали измерительный электрод. На расстоянии от 30 до 50 мм от электрода в зоне размещения датчика температуры на растении помещали элемент Пельтье.

С клавиатуры ПЭВМ запускался цикл измерений ПД и температуры. Включение элемента Пельтье осуществлялось в соответствии с заложенным в программу ПЭВМ алгоритмом. Сигналы, полученные в результате измерения биопотенциала проростка и температуры на плоскости элемента Пельтье, касающейся растения, записывались в базу данных. В БД записывалось также напряжение на входе элемента.

Так как конечная температура элемента Пельтье зависит от времени его подключения к источнику питания, для задания температуры, воздействующей на растение, использовались два варианта. Для повышенной температуры принято время $t_1 = 18$ с, что обеспечивало температуру $T_1 = 30\text{--}40$ °С. Для пониженной температуры принято $t_1 = 54$ с, что обеспечивало температуру $T_2 = 10\text{--}15$ °С.

Измерения предусматривали съем и фиксирование в течение 160 с изменяющихся сигналов биопотенциала (реакции растения на воздействие раздражителей), температуры и напряжения [3]. Полученные экспериментальные данные экспортировались в среду Matlab и обрабатывались с применением алгоритмов, использующих векторизованные вычисления. В процессе предварительной обработки производились фильтрация записанного сигнала ПД, вычисление среднего значения установившегося значения сигнала (до момента воздействия на растение на интервале T_1 (5.3–5.8 с), центрирование сигнала, его нормализация по температуре и оценка скорости изменения (дифференцирование сигнала). В качестве определяющих параметров на полученных в процессе обработки реализациях взяты минимальное и максимальное значения сигнала во время и после воздействия на растения изменения температуры на интервале T_2 (7.5–157 с) (рис. 2). Начальное значение интервала взято на 1.5 с

позже начала воздействия для исключения влияния на результаты вычислений переходных процессов низкочастотного фильтра.

3. Результаты экспериментов

Экспериментальные исследования проводились на двух сортах пшеницы и ячменя. В ходе исследований был проведен анализ полученных реализаций биопотенциалов проростков, в результате которого выявлено изменение биопотенциалов после воздействия на растения высокой и низкой температур. Уровень изменения сигнала составляет от единиц до десятков милливольт.

Эшюры сигнала биопотенциала, снятого с листа проростка при воздействии повышенной температуры, и сигнала изменения температуры в зоне воздействия приведены на рис. 2, где отмечены интервалы времени, выбранные для выделения значимых параметров полученных реализаций биопотенциалов проростков.

Полученные экспериментальные данные были предварительно обработаны в среде Matlab и занесены в базу данных ПЭВМ. В результате предварительной обработки выполнена фильтрация сигналов биопотенциала проростков с применением алгоритмов, использующих векторные операции. По полученным реализациям $U(t)$ вычислены средние значения установившегося сигнала $U_{\text{ср. уст}}$ биопотенциала до момента воздействия (за период времени T_1), а затем получены отцентрированные реализации $U(t)_{\text{ц}}$ по формуле

$$U(t)_{\text{ц}} = U(t) - U_{\text{ср. уст}}$$

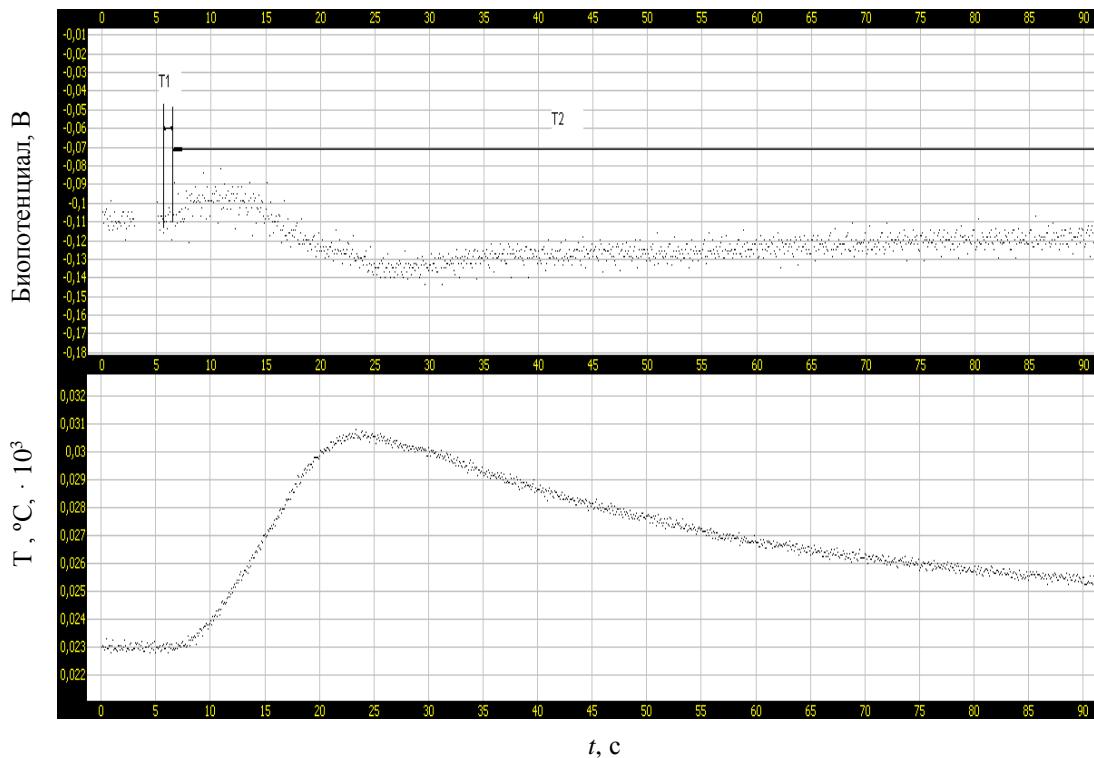


Рис. 2. Эшюры сигналов биопотенциала проростка пшеницы и действующей на проросток повышенной температуры

На рис. 3 приведен график сигнала $U(t)_{ц}$ для биопотенциала проростка пшеницы, представленного на рис. 2. На кривой виден импульс, который сформировался в момент коммутации элемента Пельтье (размыкания цепи). В дальнейшем при оценке значимых параметров реализации этот факт необходимо учитывать, чтобы при оценке результатов избежать возможной ошибки.

Для полученных сигналов найдены максимальное $U_{\max ц}$ и минимальное $U_{\min ц}$ их значения за период времени T_2 . Эти значения импортировались в базу данных для хранения и последующего статистического анализа.

Полученные таким образом предварительные результаты экспериментальных исследований проростков двух сортов ячменя Ача и Биом, которые были подвергнуты воздействию температуры и хлоридного засоления (в процессе вегетации), экспортировались в среду Excel для последующего статистического анализа. В результате проведенной статистической обработки определены среднее значение абсолютной величины биопотенциала проростков, его среднее отклонение и дисперсия. Результаты вычислений для повышенной температуры приведены в табл. 1, для пониженной – в табл. 2.

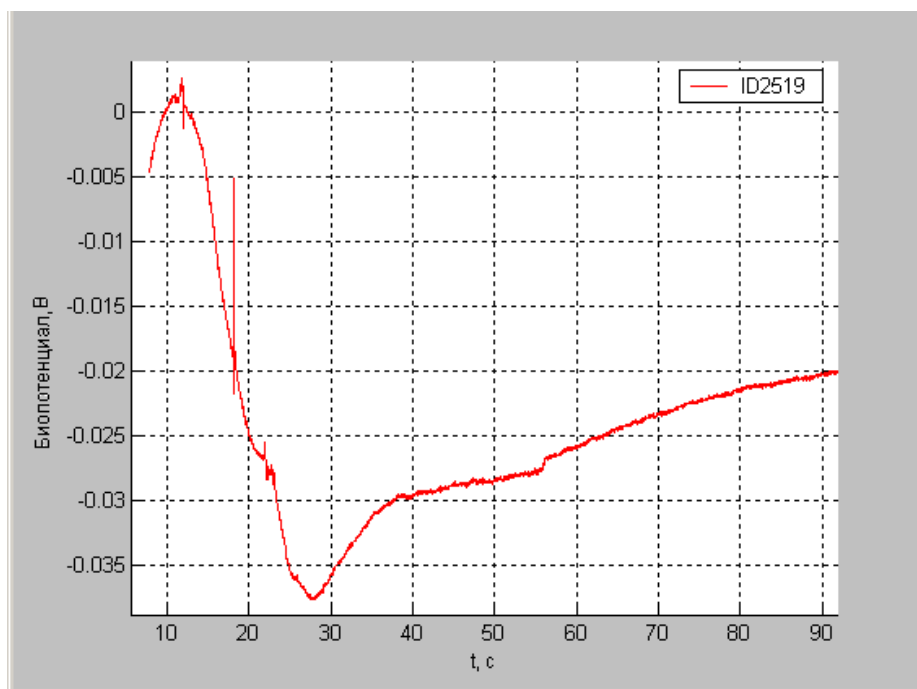


Рис. 3. График сигнала биопотенциала проростка пшеницы после фильтрации и центрирования исходной реализации

Т а б л и ц а 1. Статистические показатели биопотенциалов проростков ячменя при воздействии тепла и хлоридного засоления (в процессе вегетации), В

Показатели	Контроль		Хлоридное засоление	
	Ача (к)	Биом (к)	Ача (с)	Биом (с)
Среднее значение	0.2305	0.317778	0.163125	0.264375
Среднее отклонение	0.089267	0.110309	0.057	0.065208
Дисперсия	0.014227	0.020233	0.004889	0.008438

Т а б л и ц а 2. Статистические показатели биопотенциалов проростков ячменя при воздействии холода и хлоридного засоления (в процессе вегетации), В

Показатели	Контроль		Хлоридное засоление	
	Ача (к)	Биом (к)	Ача (с)	Биом (с)
Среднее значение	0.156786	0.290375	0.096932	0.184792
Среднее отклонение	0.047602	0.100375	0.03314	0.035069
Дисперсия	0.00322	0.013347	0.002185	0.002948

По результатам исследований построены диаграммы статистически значимых параметров биопотенциалов для двух сортов ячменя при воздействии на проростки повышенной и пониженной температур и хлоридного засоления (в процессе вегетации) (рис. 4).

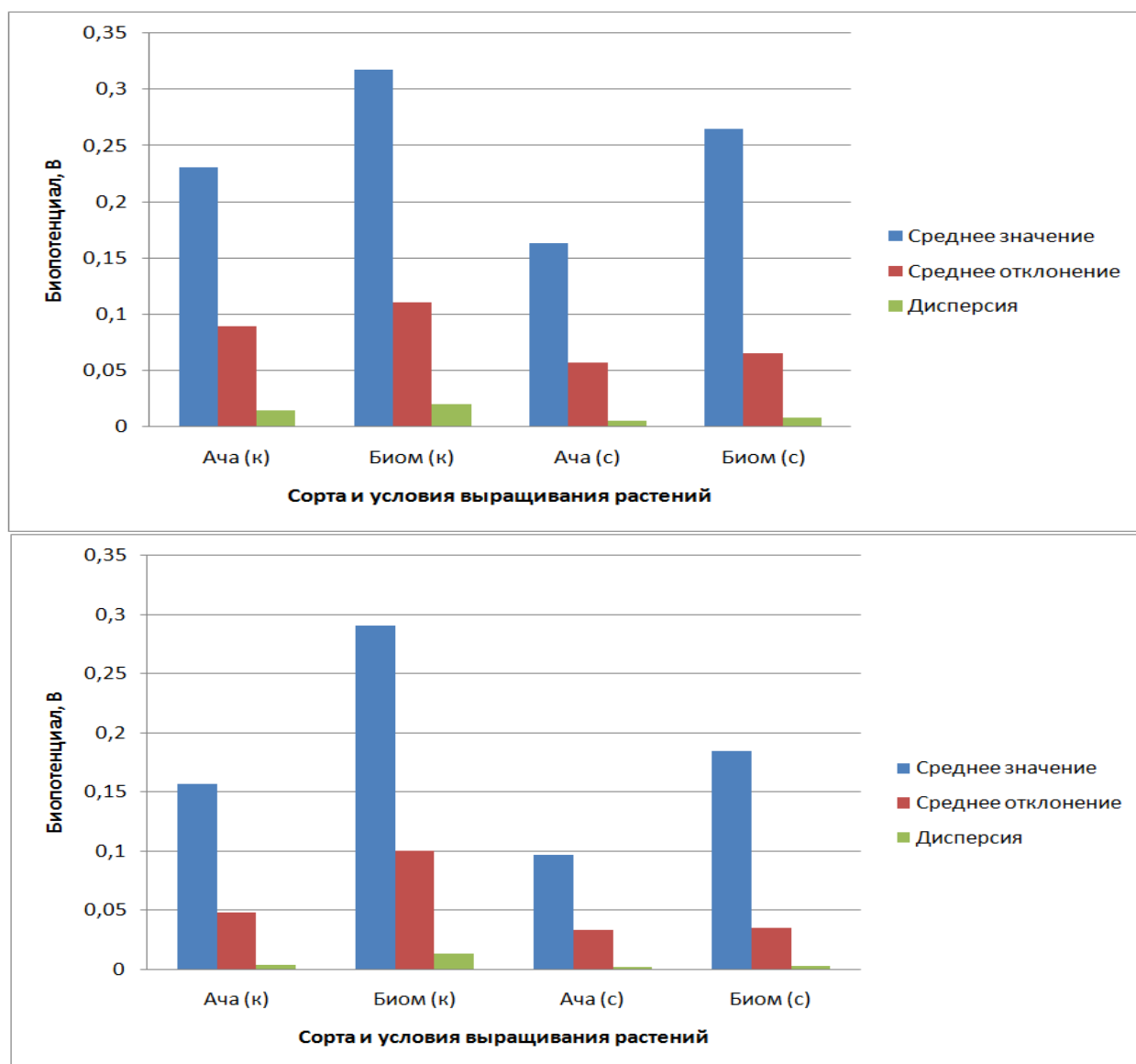


Рис. 4. Диаграммы средних значений U_{max} биопотенциала проростков двух сортов ячменя и его статистические характеристики при воздействии повышенной (а) и пониженной (б) температуры

Из представленных диаграмм видно, что для различных сортов ячменя, как контрольных, так и подверженных предварительному воздействию хлоридного засоления, они различаются. При этом при действии как тепла, так и холода наименьшее значение сигнала биопотенциала (наименьшую реакцию растения на действие стрессора) имеет сорт ячменя Ача, а наибольшее – Биом. По данным, приведенным в описаниях этих сортов [4], Ача характеризуется как засухоустойчивый, а Биом этой характеристикой не отмечен. Следовательно, наименьшую реакцию (изменение биопотенциала) имеет сорт, характеризующийся как засухоустойчивый, а наибольшую – незасухоустойчивый. Также видно, что сигнал биопотенциалов контрольных растений одноименных сортов выше, чем подвергнутых хлоридному засолению. Это может быть результатом снижения внутреннего сопротивления растения за счет поступления в него дополнительных ионов из питательного раствора, имитирующего хлоридное засоление.

Результаты анализа статистических характеристик исследуемых сигналов указывают на наличие значительных величин средних отклонений, что может быть следствием малой выборки (недостаточного числа экспериментов), а также значительного разброса измеренных значений биопотенциалов за счет несовершенства методики съема сигнала. Однако невысокий уровень дисперсии говорит о достаточно близких по величине значениях основного числа измеренных биопотенциалов.

Заключение

В результате проведенных исследований показана возможность снятия с проростка злаковых культур реализации биопотенциала, возникающего при действии на него изменяющейся температуры (повышенной и пониженной). Полученные в ходе экспериментов значения сигналов записаны в базу данных и затем экспортированы в среду Matlab, где были обработаны алгоритмами с максимальным использованием векторных операций, что позволило существенно сократить время предварительной обработки реализаций и расчета значимых параметров.

Анализ полученных в результате экспериментальных исследований реализаций биопотенциалов при воздействии на проростки ячменя двух сортов повышенной и пониженной температуры показал наличие зависимости величины биопотенциалов от устойчивости сорта ячменя к засухе. Установлено, что наилучшими характеристиками стрессоустойчивости к температурным воздействиям, в том числе при предварительном хлоридном засолении, обладает сорт ячменя Ача. Данные исследования целесообразно продолжить с целью уточнения выявленных зависимостей на примере большего числа сортов ячменя и при увеличении числа опытов по каждому сорту.

Благодарности. Статья опубликована при финансовой поддержке РФФИ (грант № 16-07-20001).

Список литературы / References

- [1] **Оприлов В.А., Пятыхин С.С., Ретивин В.Г.** Биоэлектрогенез у высших растений. М.: Наука, 1991. 216 с.

Opritov, V.A., Pyatygin, S.S., Retivin, V.G. Bioelectrogenesis in higher plants. Moscow: Science, 1991. 216 p. (In Russ.)

- [2] **Сероклинов Г.В., Гунько А.В.** Автоматизированный измерительный комплекс для исследования качества мясного сырья // Актуальные проблемы электронного приборостроения: Матер. VIII Междунар. конф., Новосибирск, 26–28 сент. 2006. Т. 7. С. 253–256.

Seroklinov, G.V., Gunko, A.V. The automated measuring complex for the quality research of raw meat materials // Urgent Problems of Electronic Instrument Making: Materials of the VIII Intern. Conf., Novosibirsk, Sept. 26–28, 2006. Vol. 7. P. 253–256. (In Russ.)

- [3] **Сероклинов Г.В., Гунько А.В., Добровольский Н.А.** Программное обеспечение автоматизированного измерительного комплекса // Методы и технические средства исследований физических процессов в сельском хозяйстве: Тр. ГНУ СибФТИ Россельхозакадемии / Под ред. чл.-корр. Россельхозакадемии В.В. Альта. Новосибирск, 2011. С. 152–156.

Seroklinov, G.V., Gunko, A.V., Dobrovolsky, N.A. The software for the automated measuring complex // Methods and Technical Means of Researches of Physical Processes in Agriculture: Works of the State Science Institution SibFTI of the Russian Agricultural Academy / Under the Editorship of the Member Correspondent of the Russian Agricultural Academy V.V. Alt. Novosibirsk, 2011. P. 152–156. (In Russ.)

- [4] Каталог сортов сельскохозяйственных культур, созданных учеными Сибири и включенных в Госреестр РФ (районированных) в 1929–2008 гг. Вып. 4. Т. 1 / Рос. акад. с.-х. наук. Сиб. регион. отд.-ние. Новосибирск, 2009. 208 с.

The catalog of grades for the crops created by scientists of Siberia and included in State register of the Russian Federation (zoned) in 1929–2008. Release 4. Vol. 1 / Russian Agricultural Academy. Siberian region division. Novosibirsk, 2009. 208 p. (In Russ.)

Поступила в редакцию 2 ноября 2016 г.

Information technology in the study of plant biopotentials under the action of stressors

SEROKLINOV, GENNADY V.^{1*}. GUNKO, ANDREY V.²

¹ Siberian Federal Scientific Centre of Agro-BioTechnologies of the Russian Academy of Sciences, Krasnoobsk of Novosibirsk region, 630501, Russia

² Novosibirsk State Technical University, 630092, Russia

* Corresponding author: Seroklinov, Gennady V., e-mail: seroklinov@mail.ru

It is possible to estimate resistance of plants to stressful factors of the environment (high and low temperatures, salinization, etc.) on change of biological potentials of plants. For cereal cultures the existence of differences at action of stress factors allows to estimate resistance to stress of various grades by value of these signals at a stage of their creation.

Purpose. As it is noted in the value of biological potentials of the higher plants varies in the range from units up to tens of millivolts. Therefore the

measurement of biological potentials of plants it is expedient to use the automated system that containing measuring amplifier and providing dynamic fixing of the measured electric signal. It is necessary to develop a number of algorithms for carrying out a pretreatment of large quantity of the saved-up experimental data.

Methodology. The pilot researches were carried out with use of the automated system of “AvtoEkspI”. For researches were used one – two week sprouts of cereal cultures (wheat and barley) which are grown up on a hydroponics. The influence of change of temperature on biological potentials of plants was estimated. The algorithm of measurement provided fixation within 160 seconds of the changing signals of a biological potential and temperature.

Findings. As a result of the processing which is carried out in the environment of Matlab the digital filtration of the received biological potential signals was executed, the centered realization is received, mean values of the established signal with application of the algorithms using vector operations are calculated. As a result of the carried-out statistical processing were defined: mean value of an absolute value of a biological potential of sprouts, its average deviation and its dispersion. From the submitted data it is visible that the least reaction of a plant to action of a stress factor has a grade of “Acha”. The largest level of a signal has a grade the “Biom”. According to the data provided in the descriptions of these grades [4], “Acha” characterizes as drought-resistant, and the “Biom” – not resistant.

Conclusion. As a result of the conducted researches dependence of values of biological potentials on resistance of a grade of barley to a drought was shown.

Keywords: biological potential, cereals, stressors, temperature, filtration, vector operations, chloride salinization.

Acknowledgements. The article publication was supported by RFBR (grant No. 16-07-20001).

Received 2 November 2016