

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

имени М.В. ЛОМОНОСОВА

БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

На правах рукописи

**Шурыгин Борис Михайлович**

**Неинвазивная оценка состояния растительных объектов посредством  
пространственно-разрешённого анализа их оптических свойств**

Специальность 1.5.2. Биофизика (биологические науки)

**ДИССЕРТАЦИЯ**

на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Научный руководитель:  
доктор биологических наук  
Соловченко Алексей Евгеньевич

Москва — 2025

# Оглавление

<b>ОГЛАВЛЕНИЕ</b> .....	<b>2</b>
<b>ВВЕДЕНИЕ</b> .....	<b>4</b>
<b>1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ</b> .....	<b>11</b>
1.1 ФЕНОТИПИРОВАНИЕ РАСТЕНИЙ: ЗАДАЧИ И ПОДХОДЫ.....	11
1.2 СТРЕССОРЫ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ И МЕХАНИЗМЫ АДАПТАЦИИ РАСТЕНИЙ.....	14
1.2.1 Адаптация растений к действию стрессоров. Действие света и фотозащитная роль пигментов. ....	14
1.2.2 Зимний покой: адаптация к переживанию холодного сезона.....	15
1.3 ПИГМЕНТЫ КАК МАРКЕРЫ СОСТОЯНИЯ РАСТЕНИЙ .....	20
1.3.1 Хлорофиллы .....	21
1.3.2 Каротиноиды .....	23
1.3.3 Соединения фенольной природы.....	25
1.3.4 Трансформация пигментов в ходе онтогенеза .....	29
1.3.5 Развитие повреждений .....	33
1.4 СПЕКТРОСКОПИЯ ОТРАЖЕНИЯ В МОНИТОРИНГЕ РАСТИТЕЛЬНЫХ ОБЪЕКТОВ .....	35
1.4.1 Оптические модели тканей и органов растений .....	35
1.4.2 Получение и обработка спектральных изображений растительных объектов.....	41
1.4.3 Вегетационные индексы.....	42
1.4.4 Анализ структуры спектров и формы полос поглощения .....	44
1.4.5 Алгоритмы машинного обучения для обработки изображений.....	45
<b>2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ</b> .....	<b>58</b>
2.2 ОБЪЕКТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	58
2.1.1 Растения салата .....	58
2.1.2 Растения яблони .....	58
2.1.3 Плоды яблони.....	58
2.2 ДЕСТРУКТИВНЫЙ АНАЛИЗ БИОХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА .....	61
2.2.1 Определение содержания пигментов и жирных кислот липидов клеток.....	61
2.2.2 Оценка степени зрелости плодов.....	62
2.2.3 Мониторинг зимнего покоя растений .....	63
2.2.4 Определение относительного содержания воды в тканях растений .....	64
2.3 СПЕКТРАЛЬНЫЕ ИЗМЕРЕНИЯ.....	65
2.3.1 Измерение «точечных» спектров отражения .....	65
2.3.2 Получение гиперспектральных изображений .....	65

2.3.3	Обработка спектров и спектральных изображений .....	67
2.3.3.1.	Вегетационные индексы .....	67
2.3.3.2	Разложение спектров на вклады компонент, соответствующих основным группам пигментов.....	69
2.3.3.4	Алгоритмы и методы машинного обучения.....	70
2.4	ИЗМЕРЕНИЯ ПЕРЕМЕННОЙ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ХЛОРОФИЛЛА А .....	72
2.4.1	Пространственно-разрешённые измерения переменной флуоресценции.....	72
2.4.2	Мониторинг переменной флуоресценции хлорофилла а в побегах.....	72
2.5	СТАТИСТИЧЕСКАЯ ОБРАБОТКА ДАННЫХ .....	77
2.6	ОБРАБОТКА ВРЕМЕННЫХ РЯДОВ НАБЛЮДЕНИЙ .....	78
<b>3</b>	<b>РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ .....</b>	<b>79</b>
3.1	МОНИТОРИНГ ЭФФЕКТОВ ВОДНОГО СТРЕССА .....	79
3.1.1	Динамика пространственного распределения фотосинтетической активности.....	83
3.1.2	Гиперспектральный мониторинг динамики пространственного распределения и трансформации пигментов.....	89
3.2	МОНИТОРИНГ ТРАНСФОРМАЦИИ ПИГМЕНТОВ ПРИ СОЗРЕВАНИИ ПЛОДОВ .....	100
3.2.1	Анализ гиперспектральных изображений созревающих плодов .....	100
3.2.1.1	Анализ в терминах вегетационных индексов.....	103
3.2.1.2	Анализ с применением разложения спектров .....	109
3.3	СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ИНФОРМАТИВНОСТИ СПЕКТРАЛЬНЫХ И ПРОСТРАНСТВЕННЫХ ПРИЗНАКОВ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ МАШИННОГО ОБУЧЕНИЯ .....	114
3.4	НЕИНВАЗИВНЫЙ МОНИТОРИНГ ЗИМНЕГО ПОКОЯ ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ МЕТОДАМИ РАМ-ФЛУОРИМЕТРИИ.....	125
	<b>ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....</b>	<b>142</b>
	Выводы .....	144
	<b>СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....</b>	<b>145</b>
	<b>БЛАГОДАРНОСТИ.....</b>	<b>146</b>
	<b>СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ .....</b>	<b>147</b>
	<b>ПРИЛОЖЕНИЯ .....</b>	<b>174</b>
	Приложение 1 Плоды, использовавшиеся в задаче детекции повреждений. ....	174

## Введение

### **Актуальность проблемы и степень её разработанности**

С ростом населения Земли растёт и антропогенная нагрузка на биосферу, вызывая истощение энергетических и продовольственных ресурсов, а также негативные изменения в среде обитания живых организмов. Климатическая нестабильность, загрязнение окружающей среды, деградация почв и другие последствия деятельности человека негативно влияют как на природные, так и на антропогенные экосистемы. Как следствие, снижается продуктивность растительных сообществ, в особенности агроэкосистем, в то время как потребность человечества в продовольственных ресурсах растёт. Купировать назревающий кризис, покрыв разрыв между продуктивностью и потребностью за счёт интенсификации агробιοтехнологий, в настоящее время не представляется возможным [1, 2]. В этой связи весьма актуальной остается задача массового мониторинга индивидуальных растений, растительных монокультур и растительных сообществ не только в лабораторном масштабе, но и в масштабе целых экосистем. С одной стороны, решение этой задачи важно для оценки актуального состояния растений, возможных повреждений и потенциальной толерантности к действию неблагоприятных факторов. С другой стороны, это необходимо и для современных подходов к ускоренной селекции новых сортов культурных растений, более продуктивных и устойчивых к неблагоприятным условиям среды в нынешнюю эпоху климатической нестабильности.

В поисках ответов на перечисленные выше вызовы в середине XX века сформировалась новая, динамично развивающаяся область знаний — феномика. Предметом этой научной дисциплины являются фенотипы и их детерминанты, связанные с геномом и эпигенетическими факторами [3-6]. Методологической основой феномики служит фенотипирование — получение точной, количественной, объективной информации о состоянии отдельных растений или даже их частей с высоким пространственными и временным разрешением. В

последнее время выделяют также высокопроизводительное фенотипирование — автоматизированное фенотипирование больших массивов растительных объектов в лабораторных и (или) полевых условиях. Практическая реализация подходов, основанных на высокопроизводительном фенотипировании, привела к формированию комплекса методик и практик под названием «точное земледелие»<sup>(1)</sup> (в случае многолетних плодовых растений говорят о «точном садоводстве»<sup>(2)</sup>), значительно повышающих продуктивность культурных растений при снижении затрат ресурсов и негативного воздействия на агроэкосистемы [7]. В настоящее время практики точного земледелия получают широкое распространение в России и в мире.

Важным преимуществом фенотипирования является возможность дистанционного и неинвазивного получения информации о растительных объектах. Соответствующие методы фенотипирования основываются на оптических методах дистанционного зондирования — спектральной съёмке. Интенсивное развитие компьютерных систем и технологий позволило перейти в дистанционном зондировании от визуального дешифрирования снимков к тематической обработке многозональных (мультиспектральных) изображений, основанной на методах многомерного статистического анализа. Наряду с экомониторингом, эта методология получила наибольшее развитие в сезонном сельскохозяйственном мониторинге с целью прогноза урожайности стратегически значимых сельскохозяйственных культур [8]. Именно в этих областях характеристики спектральной отражательной способности объектов стали доминирующими признаками для идентификации и анализа состояния растений.

Важной методологической особенностью фенотипирования, особенно высокопроизводительного, является получение пространственно-разрешённых спектральных изображений органов и целых растений (в отличие от

---

<sup>1</sup> В англоязычной литературе — precision farming, precision agriculture.

<sup>2</sup> В англоязычной литературе — precision horticulture.

«классического» дистанционного зондирования, как правило, не различающего индивидуальные растительные объекты). В последние годы наблюдается значительный рост интереса к обработке подобных данных для извлечения объективной количественной информации о развитии и состоянии растений. Опубликованы работы, посвящённые изучению оптических свойств тканей на макроскопическом уровне [9].

Несмотря на сложность оптики растительного организма, долгое время и в дистанционном зондировании, и в оптической биоспектроскопии данный объект вынужденно рассматривали в упрощённом виде с привлечением ограниченного набора описывающих их параметров. Развитие измерительной и вычислительной техники лишь недавно позволило рассмотреть всю сложность пространственной гетерогенности признаков растений как самостоятельный объект спектрометрического исследования, перейти к вопросу количественного описания и смысловой интерпретации неоднородностей свойств, наблюдаемых в пределах одного растения и даже отдельных органов растений.

Несмотря на значительный прогресс в области дистанционного неинвазивного фенотипирования растений, по-прежнему возникают сложности с извлечением релевантной информации из накопленных массивов спектральных и традиционных изображений растительных объектов. Особый интерес представляет автоматизация этих процессов с применением современных методов машинного обучения с учетом пространственных неоднородностей. Решению этих задач, а также поиску подходов к интеграции «традиционных» методов анализа спектральных данных и алгоритмов машинного обучения посвящена данная работа.

## **Цели и задачи**

Целью настоящей работы было получение неинвазивной оценки функционального состояния и биохимического состава растительных объектов методами, основанными на измерениях их оптических свойств, разрешённых в пространстве и во времени.

Для достижения указанной цели были поставлены следующие **задачи**:

1. Изучить изменения пространственно-разрешённых оптических характеристик растительных объектов и их связь с физиологическим состоянием в норме и при действии неблагоприятных факторов, а также в ходе их развития.
2. Проанализировать взаимосвязь динамики локальных оптических свойств органов растения и оценки общего состояния растения с учётом гетерогенности физиолого-биохимических свойств его органов и тканей.
3. Сопоставить информативность текстурных и оптических характеристик спектральных изображений в задачах неинвазивного фенотипирования растений на примере детекции повреждений плодов яблони.
4. Изучить связь показателей состояния фотосинтетического аппарата с глубиной зимнего покоя растений яблони.

## **Научная новизна и практическая значимость работы**

Продемонстрирована возможность количественной оценки пространственной гетерогенности содержания пигментов в плодах и листьях и неоднородность органов растения в плане темпов созревания и старения. Показано, что учёт данной гетерогенности повышает чувствительность неинвазивной оценки пигментного состава по гиперспектральным изображениям. Предложены методы описания состояния растений и их органов на основе пространственных распределений наблюдаемых оптических характеристик.

Проведено экспериментальное сравнение использования вегетационных индексов и спектральных коэффициентов отражения, а также текстурных дескрипторов, в алгоритмах машинного обучения на примере задачи детекции

повреждений в плодах яблони. Показан рост устойчивости и точности результирующих классификаторов при использовании вегетационных индексов по сравнению с коэффициентами отражения в качестве входных параметров. Продемонстрирована возможность использования мультиспектральных камер вместо гиперспектральных без снижения надёжности и точности детекции повреждений. Установлена значимость пространственного контекста пикселей спектрального изображения.

Разработан способ неинвазивного определения глубины зимнего покоя на примере деревьев яблони, основанный на вейвлет-анализе временных рядов измеренных параметров переменной флуоресценции хлорофилла, полученных по методу РАМ-флуориметрии. Показана значимость сбора данных в течение длительных промежутков времени и возможность определения долгосрочной динамики физиологических параметров на фоне суточных осцилляций.

### **Методология и методы исследования**

Работа проведена в рамках методов пространственно-разрешённой оптической спектроскопии, методов компьютерной обработки изображений и машинного обучения, методов биохимического анализа. Объектом исследования являются растения в различном физиологическом состоянии и их оптические свойства. Предметом исследования является связь спектральных коэффициентов отражения, их пространственного распределения и временной динамики с физиолого-биохимическими и фенологическими параметрами растительных объектов.

### **Личный вклад автора**

Формулирование гипотез, расчёты и обработка полученных данных, включая разработку и реализацию алгоритмов, интерпретация результатов выполнены автором самостоятельно. Планирование исследований и получение экспериментальных данных проводилось в составе коллектива авторов.

### **Положения, выносимые на защиту**

1. В силу сложности изменений оптических свойств растений в ходе их развития и при адаптации к неблагоприятным факторам корректное описание состояния растения в целом возможно только с учётом пространственной гетерогенности этих свойств.
2. Эффективная неинвазивная оценка физиологического состояния растений по их спектральным изображениям методами машинного обучения возможна при оптимальном соотношении пространственного и спектрального разрешения исходных данных.
3. При прохождении растениями фенологических фаз долгосрочная перестройка фотосинтетического аппарата происходит на фоне адаптации к быстро меняющимся условиям окружающей среды; при неинвазивном мониторинге показателей состояния фотосинтетического аппарата эти процессы делимы методами частотного анализа.

### **Степень достоверности и апробация результатов**

Достоверность результатов диссертационной работы обеспечивается современными методами исследования, которые соответствуют цели работы и поставленным задачам. Полученные результаты согласуются с известными из литературы данными о физиологии исследованных растительных объектов.

Результаты исследований были представлены в виде устных докладов на Российских и международных конференциях: Агробиофотоника (Москва – 2022), IV Международная Черноморская научно-практическая конференция МГУ «Проблемы информатики, управления и искусственного интеллекта» (Севастополь – 2022), Агроэкологическая безопасность, энергоэффективные спектральные и лазерные технологии в повышении продуктивности сельского хозяйства (Москва – 2021), III Международная конференция «Биотехнологии – драйвер развития территорий» (Вологда – 2020), International Symposium on Precision Management of Orchards and Vineyards (Палермо – 2019), XXIII ISPRS Congress (Прага – 2016).

### **Публикации**

По материалам работы опубликовано 11 статей в изданиях, индексируемых в базах данных Web of Science, Scopus и RCSI, из списка рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ по специальности 1.5.2. Биофизика (биологические науки). Получено 2 свидетельства о регистрации программ для ЭВМ и 1 патент РФ.

### **Структура и объём диссертации**

Диссертация изложена на 176 страницах машинописного текста и включает введение, основную часть, состоящую из трёх глав, заключение, список сокращений и условных обозначений и список литературных источников, состоящий из 317 наименований. Работа содержит 53 рисунка и 11 таблиц, а также одно приложение.

# 1. Обзор литературы

## 1.1 Фенотипирование растений: задачи и подходы

Автоматизированная обработка изображений для извлечения информации о стадиях и темпах развития, биохимическом составе и функциональном состоянии растений — краеугольный камень фенотипирования растительных объектов. Получение изображений для феномного анализа при этом может базироваться на различных физических принципах и подходах к регистрации. Так, используют RGB<sup>(3)</sup>- и панхроматические<sup>(4)</sup> изображения в отраженном свете; флуоресцентные изображения; изображения, снятые в тепловом и ближнем инфракрасном диапазонах электромагнитного спектра; мульти- и гиперспектральную съёмку; составление карт глубины или облаков точек с использованием стерео- и времяпролётных<sup>(5)</sup> камер или лидаров, магнитно-резонансную (МРТ), двухфотонную эмиссионную (ПЭТ) и рентгеновскую компьютерную томографию (КТ) [10-14]. Эти подходы дают богатый набор разноплановой информации о росте, развитии и функционировании растений как в норме, так и в неблагоприятных условиях. В сочетании с информацией, получаемой другими методами (генотипирование, биохимический анализ и т. д.), данные неинвазивного мониторинга позволяют получить наиболее полное комплексное описание фенотипа растения.

Параметры фенотипа, измеряемые неинвазивно, можно условно разделить на морфологические — структура (габитус) кроны и корневой системы, размеры и

---

<sup>3</sup> Аббревиатура «Red, Green, Blue», означает трёхканальную полноцветную аддитивную модель цветообразования. Она основана на физиологии зрительного аппарата человека и в настоящее время является наиболее распространённой для захвата и представления фото- и видеоданных.

<sup>4</sup> Чёрно-белые яркостные изображения, получаемые сенсорами, чувствительными ко всем длинам волн в видимой области спектра. Чаще всего эти сенсоры представлены кремниевыми фотодетекторами, важным отличием по сравнению с прочими сенсорами является отсутствие светофильтров (или фильтрация излучения только в ближней инфракрасной области спектра).

<sup>5</sup> В англоязычной литературе известны как time-of-flight (TOF) камеры.

форма листьев, семян и плодов, а также физиолого-биохимические, такие как состояние фотосинтетического аппарата, устьичная проводимость, содержание воды, фотосинтетических и фотозащитных пигментов, а также других веществ в тканях и органах. Для определения физиолого-биохимических характеристик часто используют спектроскопические подходы, например визуализацию эмиссии флуоресценции, морфологические же характеристики определяются на основе любых вышеупомянутых типов изображений, наиболее детально — при реконструкции трёхмерной структуры растения. Многие активно развивающиеся направления посвящены комплексному анализу морфологических и физиолого-биохимических данных характеристик растений. Так, анализируют трёхмерные изображения для спектральных коэффициентов отражения и интенсивности флуоресценции хлорофилла [15-17]. Другое важное направление в арсенале неинвазивных оптических методов мониторинга растений основано на эффекте Каутского: в рамках этого подхода функциональное состояние ФС II определяется по амплитудно-кинетическим параметрам индукционных кривых флуоресценции хлорофилла (Хл)  $a$  [18-21]. В последнее время всё чаще применяют пространственно-разрешенный анализ флуоресценции Хл, индуцированной солнечным излучением [21, 22].

Выбор типа изображений для анализа и инструментария для их регистрации варьируется в зависимости от задачи исследования. Как для фундаментальных, так и для прикладных исследований, предполагающих фенотипирование растений, важны следующие ключевые задачи:

- документирование темпов развития растений, оценка длительности интервалов прохождения ключевых фенологических фаз и стадий;
- определение функционального статуса и биохимического состава растений;
- оценка продуктивности индивидуальных растений и популяций растений (насаждений);

– оценка устойчивости к действию различных неблагоприятных факторов среды (стрессоров), включая выявление и оценку повреждений растительного организма.

Для определения этих параметров требуется оценивать эффективность фотосинтеза, накопления биомассы, распределение ресурсов между генеративными и вегетативными органами, динамику прироста различных органов, биосинтез и трансформацию фотосинтетических и накопление фотозащитных пигментов, развитие повреждений и т. п.

В той или иной вариации, фенотипирование также необходимо для поиска генетических детерминантов полигенных хозяйственно-ценных признаков растений, особенно количественных. Такие признаки обычно определяются сетями сложно взаимодействующих генов, типичными примерами являются урожайность и потенциал для адаптации к изменяющимся условиям окружающей среды. Без феномного анализа не обойтись и при подтверждении ранее обнаруженных, в т.ч. *in silico*, генетически детерминированных механизмов и признаков.

В заключение данного раздела необходимо подчеркнуть важность взаимодействия растений со светом в контексте задач фенотипирования. С одной стороны, свет является основным источником энергии для растений. Соответственно, от взаимодействия растительного организма со светом зависят многие, если не все, аспекты жизнедеятельности растения. С другой стороны, избыток света приводит к разнообразным неблагоприятным последствиям, опосредованным фотоокислительным стрессом [23]. Поэтому большинство стрессовых реакций растений, запускаемых или модулируемых светом, проявляются внешне как изменения оптических свойств растений, в т. ч. из-за изменений состава и содержания различных групп пигментов. Оптические методы исследования таким образом дают богатый материал для определения фенотипа: световой сигнал (отраженный или флуоресцентный) несёт богатую информацию о том, что происходит с растениями при воздействии разнообразных факторов в природных и экспериментальных условиях.

Согласно логике вышеперечисленных задач фенотипирования, в последующих разделах будут кратко охарактеризованы стрессоры и защитные механизмы растений. Затем будут описаны параметры — индикаторы реализации онтогенеза и стрессовых реакций у растений. В заключение обзора будут рассмотрены способы регистрации этих параметров по изменению оптических свойств растительных объектов.

## 1.2 Стрессоры окружающей среды и механизмы адаптации растений

### 1.2.1 Адаптация растений к действию стрессоров.

#### Действие света и фотозащитная роль пигментов.

Фотосинтез занимает центральное место в метаболизме растений. Практически все природные стрессоры как биотической, так и абиотической природы так или иначе затрагивают процессы фотосинтеза, напрямую снижая эффективность энергетического обмена. Один из наиболее универсальных механизмов долговременной адаптации к световому стрессору (и некоторым другим стрессорам) — биосинтез экранирующих пигментов. В той или иной мере этот механизм присутствует во всех изученных растениях и способен блокировать более 80% избытка падающей световой энергии [24-26]. Пигменты при этом выполняют антиокислительные и экранирующие функции; в последнем случае возможна высокая степень гетерогенности клеток и тканей по содержанию защитных пигментов. Пигменты накапливаются в разных количествах в разных клетках, поэтому различные части даже одного органа могут резко различаться по этому параметру в зависимости от действия внешних факторов. Так, эксперименты, сопоставляющие пигментную окраску теневой и солнечной стороны плодов яблони (*Malus × domestica* Borkh.), продемонстрировали кратную разницу в концентрациях различных групп пигментов в кожице плода в зависимости от режима освещения. В ряде сортов, способных к накоплению антоцианов (Ант),

наблюдалась более чем десятикратная разница в их содержании в кожице солнечной стороны плодов (яблок) по сравнению с теневой [27].

Таким образом, оптическое экранирование излучения пигментами обеспечивает эффективную и пластичную защиту фотосинтетического аппарата от избытка солнечного света. Этот механизм особенно необходим растениям на ранних и поздних этапах их онтогенеза. Пигментный состав служит не только индикатором стрессового состояния растений и степени адаптированности к неблагоприятным условиям, но и отражает фенологические стадии — вехи реализации генетической программы. Даже из столь краткого рассмотрения ясно, что изменения пигментного состава растений (см. раздел 1.3) и сопровождающие их изменения оптических свойств — важная основа недеструктивного мониторинга растений и фенотипирования в целом.

### 1.2.2 Зимний покой: адаптация к переживанию холодного сезона

Особняком в длинном списке задач, резко обрётших актуальность в связи с климатическими изменениями последних десятилетий, стоит понимание механизма зимнего покоя растений умеренных и северных широт и его мониторинга.

Зимний покой растений — эволюционный механизм, позволяющий им приспосабливаться к длительному действию низких температур в течение холодного сезона [28, 29]. Он характерен как для зимнезелёных, так и для листопадных растений, произрастающих в регионах с выраженной сезонностью климата. В состоянии покоя растения обретают повышенную толерантность к действию неблагоприятных факторов среды, что достигается в том числе за счёт ингибирования роста, снижения содержания воды и ассимиляции питательных веществ [30, 31]. Если при физиологических температурах ферментативные системы элиминации АФК, как правило, эффективно защищают растения от окислительного стресса, то при низких температурах эффективность этих систем снижается. Таким образом, сочетание действия яркого света и неоптимальных для

ферментативной активности температур являет собой комбинированный стрессор, требующий особых адаптационных механизмов [32].

Несмотря на длительную историю изучения зимнего покоя, терминологическая полемика по поводу описания самого состояния покоя и его фаз не утихает по сей день. Одно из наиболее универсальных определений [33] предлагает считать зимний покой «...неактивным состоянием меристем и (или) способных к росту органов, в котором рост не возобновляется даже в благоприятных условиях до тех пор, пока это состояние не будет изменено сигналами окружающей среды».

Период зимнего покоя принято делить на три фазы, наиболее выраженные у растений умеренного климатического пояса [34, 35]. Вначале растения вступают в фазу предварительного покоя (предпокоя, *pre-dormancy*). В период предварительного покоя завершаются генетические, физиолого-биохимические и морфологические перестройки, увеличивающие стресс-толерантность растения [36], подробнее описанные ниже. Эти изменения в известной степени обратимы. Предварительный покой переходит в физиологический или глубокий покой (*endodormancy*), препятствующий росту даже в благоприятных условиях. Наблюдается снижение оводненности побегов и рост водоудерживающей способности [37]. При этом толерантность к действию неблагоприятных условий среды увеличивается до максимума, у листопадных видов наблюдается осеннее старение и опадение листьев [36, 38]. Под действием низких температур в холодное время года растения переходят из глубокого покоя в состояние вынужденного покоя (*eco-dormancy*), в котором рост сдерживается только неблагоприятными климатическими условиями. Точные механизмы поддержания покоя неизвестны. По наступлении тёплого сезона возобновляется рост, стресс-толерантность снижается до уровня, предшествующего вступлению в покой.

Существенной особенностью покоя является его количественный, «дозозависимый» характер, выражающийся в зависимости глубины и длительности покоя от интенсивности и времени воздействия факторов среды [36].

Величина минимально необходимого для выхода из глубокого покоя воздействия низких температур (chilling requirement, CR; обычно эту величину выражают в часах экспозиции на температурах в диапазоне 0–7 °С [31]) характеризуется внутри- и межвидовой изменчивостью и считается одной из адаптаций к региональным климатическим особенностям. Предпринималось множество попыток обнаружить факторы, регулирующие покой многолетних древесных растений [33, 36, 39]. В качестве таковых рассматривали как внутренние (фазовые переходы, циркадные ритмы, гормональные сигналы), так и внешние (фотопериод, температура, интенсивность солнечной радиации, водный режим) факторы. Тем не менее, механизмы и факторы входа растений в покой, а также выхода из глубокого покоя (dormancy release) остаются во многом неясными.

Среди факторов, определяющих вход растений в состояние покоя, — низкие температуры, короткий фотопериод и их комбинации [40, 41]. Вопрос о том, какой из перечисленных факторов главный, активно обсуждается в литературе и, по-видимому, ответ на него варьируется в зависимости от вида растения. Большинству видов древесных растений требуется воздействие обоих факторов, причём как для достижения максимальной холодоустойчивости, так и для выхода из покоя [42, 43].

Сокращение длины светового дня (фотопериода) и снижение температуры вызывают у древесных растений остановку роста, закладку почек и повышение толерантности к холоду, увеличивающейся при дальнейшем снижении среднесуточных температур [36]. У некоторых видов, таких как яблоня домашняя (*Malus × domestica* Borkh.) и груша обыкновенная (*Pyrus communis* L.), низкие температуры (а не фотопериод) являются доминирующим фактором индукции покоя либо фактором, повышающим чувствительность растений к длительности светового дня [44-46]. Так, сокращение светового дня ускоряет наступление глубокого покоя только при понижении температуры воздуха, тогда как при высоких температурах влияние фотопериода незначительно [41].

В отличие от механизмов восприятия и передачи фотопериодических сигналов, восприятие холодовых сигналов и ответы на них изучены намного хуже.

Тем не менее, установлен ряд интересных фактов, связанных с этими процессами и их влиянием на растения. Разработаны математические модели для расчёта ожидаемого времени выхода из глубокого покоя, основанные на накопительном действии холодных температур [31]. Считается, что крутизна и амплитуда температурных градиентов может определять глубину и сроки покоя у самых разных видов древесных растений (см. обзор [36] и цитированные в нем источники).

Говоря о механизмах адаптации растений к низкой температуре, можно сказать, что ключевым здесь является поддержание баланса между поглощённой энергией света и метаболическими потребностями, и в связи с этим растения используют две стратегии адаптации к низкой температуре: повышают ёмкость стока и (или) снижают фотохимическую эффективность [32, 47-49]. В то же время, для достижения баланса между поглощённой и используемой энергией света хвойные вечнозелёные растения используют поддержание высокофункциональной ФС I, через которую происходит диссипация избытка поглощённой энергии при низких температурах [47].

Для неинвазивного мониторинга состояния покоя используют оценку функциональной активности ФСА. Так, было замечено, что изменения переменной флуоресценции хлорофилла,  $F_v/F_m$ , и чистого фотосинтеза  $P_N$  при входе в покой имеют такой же двухфазный характер, как сопряжённый с индукцией покоя рост холодоустойчивости растений: первая фаза индуцируется укорочением светового дня, вторая — понижением температуры. С развитием методологии импульсно-модулированной (РАМ) флуориметрии хлорофилла переменную флуоресценцию использовали для регистрации зимнего покоя хвойных [50]. В настоящее время тестирование физиологического статуса проростков в посадках древесных растений является обычной практикой в различных регионах США, Канады, Швеции, Великобритании [51]. Оно имеет цель количественно охарактеризовать внутренние параметры такие как общая устойчивость к стрессам, холодоустойчивость, статус состояния покоя, а также детектировать латентные

повреждения, не заметные невооруженным глазом. Наряду с классическими методами [52], здесь используется метод индукции флуоресценции хлорофилла (ИФХ). Важным шагом в развитии применений ИФХ для мониторинга зимнего покоя стало измерение ИФХ в побегах, а не только в листьях, что сильно расширило круг анализируемых растений и период их мониторинга [53, 54]. Так, слой феллодермы в коре древесных растений содержит большое количество хлорофилла и обладает фотосинтетической активностью. Присутствие зеленых хлоропластов в коре молодых побегов деревьев, а также в хвое делают возможным измерение флуоресценции хлорофилла в течение круглого года [55]. Появляется возможность проследить динамику вхождения растений в состояние зимнего покоя, степень холодового повреждения растений зимой и выхода из покоя весной, что важно для перспективного прогноза состояния зеленых насаждений.

Основная сложность в использовании этого подхода связана с интерпретацией динамики сигналов ФХ на фоне покоя. Так, снижение максимального уровня ФХ,  $F_m$  связывают как с ростом толерантности к холоду, так и с акклимацией к дневному свету. Однако до сих пор не выявлены корреляции наблюдаемой динамики ФХ с реальной глубиной зимнего покоя. Сформулирован ряд гипотез о механизмах модуляции ФХ в период зимнего покоя. Одна из них постулирует, что индикатором покоя является нарушение межсистемного транспорта электронов из-за инактивации либо повреждения пластохинонового пула [56]. Более поздние предположения связывают физиологическую пластичность хвойных, в том числе в период покоя, с индукцией высокого, медленно релаксирующего NPQ. В качестве механизмов упоминаются фосфорилирование тилакоидных белков и более интенсивная индукция виолаксантинового цикла (см. [57] и ссылки в этой работе).

Показано, что для растений, обладающих различной холодоустойчивостью, характерны разные зависимости  $F_v/F_m$  от температуры. Так, для позднецветущих сортов миндаля (*Prunus dulcis*) с выраженной восприимчивостью к заморозкам было обнаружено линейное уменьшение  $F_v/F_m$  с температурой, а для

раннецветущих сортов того же вида, устойчивых к низким температурам, наблюдалась квадратичная кривая (с точкой перегиба при  $-1^{\circ}\text{C}$ ) [58]. Изучение температурной зависимости  $F_v/F_m$  может дать алгоритм выявления холодоустойчивых растений. Однако более чувствительным, чем  $F_v/F_m$ , является операционный (operating) квантовый выход ФС II, т.к. он может быстро меняться [59], в то время как снижение  $F_v/F_m$  может быть детектировано только на глубоких стадиях закалки или зимнего стресса [60].

Чувствительным методом детектирования состояния покоя является метод термолюминесценции. Ещё на ранних стадиях закалки растения, когда лишь начинает укорачиваться фотопериод, снижается температура В-полосы термолюминесценции игл сосны *Pinus sylvestris* (возможно, это говорит об усилении рекомбинации зарядов в ФС II — как ещё один защитный механизм [61]). Многообещающей также кажется возможность использования недавно разработанной методологии зондирования растений с помощью флуоресценции хлорофилла, индуцированной солнечным светом, SIF [22, 62].

### 1.3 Пигменты как маркеры состояния растений

Как было рассмотрено выше, пигменты занимают центральное место в жизнедеятельности растений. Важнейшие пигменты относятся к трём<sup>(6)</sup> типам органических соединений — тетрапирролам (циклические тетрапирролы входят в состав Хл, линейные — в состав фикобилинов); полиизопреноидам, образующих обширный класс Кар, и полифенольных соединений, включающих флавонолы [63, 64]. Ниже мы дадим краткое описание этих пигментов, их оптических свойств и связи их динамики с динамикой состояния растений, а также рассмотрим возможности их идентификации методами спектрометрии.

---

<sup>6</sup> Существует и четвёртая группа пигментов: беталаины — производные индола. Они присущи для маревых и гвоздичноцветных, заменяя в них антоцианы.

### 1.3.1 Хлорофиллы

Хлорофиллы (Хл) — магнийпорфирины, состоящие из четырёх пиррольных колец, объединённых между собой метиновыми мостиками, фитольного остатка, присоединённого к кольцу IV, и иона Mg, находящегося в центре порфиринового макроцикла. Они играют главную роль в процессе фотосинтеза: из всего разнообразия пигментов только хлорофилл *a* и бактериохлорофилл *a* отвечают за ключевые преобразования энергии. Остальные формы хлорофиллов выполняют антенную функцию, в органах высших растений такой дополнительной формой является хлорофилл *b*, отличающийся заменой во II пиррольном кольце метильной группы на карбонильную (рис. 1). Изменение соотношения содержания этих двух форм хлорофиллов отражает изменения в размерах антенного комплекса и является одним из вариантов отклика растения на стрессовое воздействие [65-68]. Типичные значения соотношения Хл *a/b* лежат в диапазоне от 2:1 до 5:1 [69, 70].

Спектральные поглощательные свойства Хл в основном определяются делокализованными  $\pi$ -электронами сопряженных двойных связей. Основной максимум поглощения Хл находится в полосе Soret, расположенной при 430 и 455 нм для Хл *a* и *b*; максимумы  $\alpha$ -полос поглощения же лежат на 662 и 641 нм, соответственно [73]. В хлоропластах и в клетках спектры поглощения претерпевают изменения из-за нековалентного взаимодействия молекул пигмента между собой и комплексообразования с гидрофобными белками фотосинтетических мембран и липидами. Для функционирования фотосинтетического аппарата особенно важны формы Хл *a* с максимумами поглощения в красной области спектра на длинах волн 661, 670, 678, 683 нм.

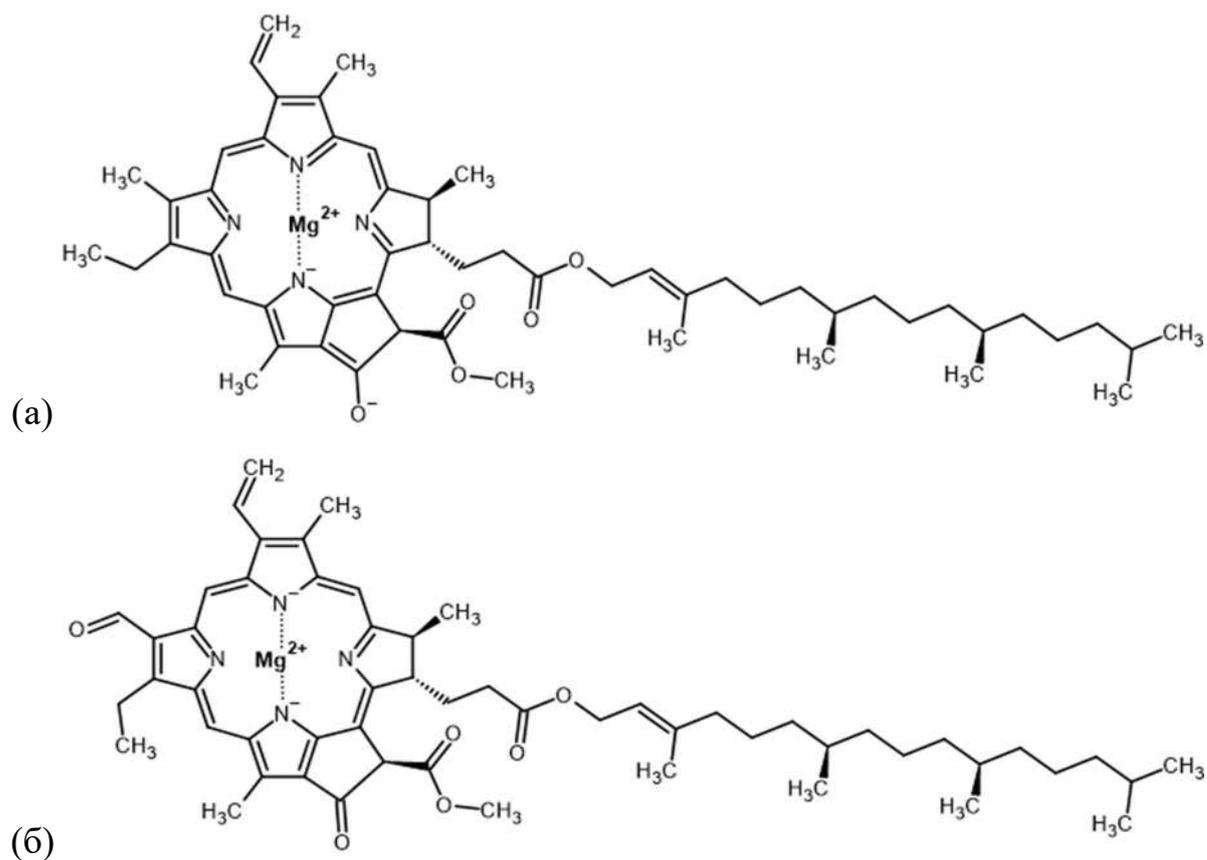


Рисунок 1 — Химическая структура (а) хлорофилла *a* и (б) хлорофилла *b* [71, 72].

Определение концентрации Хл спектроскопическими методами лежит в основе оценки биомассы и продукционного потенциала зелёных растений [74, 75]. Так, рост соотношения Хл *a/b* — известный индикатор адаптации растений к стрессам различной природы, вызывающим сокращение размеров светособирающей антенны [76-78]. Рядом авторов [79, 80] предлагается измерение этого стехиометрического соотношения *in vivo* при помощи гиперспектральной съёмки, однако до сих пор этот подход не получил широкого распространения в силу сложности разделения спектров соответствующих пигментов и высокой корреляции между их абсолютным содержанием в растениях.

### 1.3.2 Каротиноиды

Каротиноиды — жирорастворимые (неполярные) пигменты, их принято подразделять на две группы: углеводородные соединения — каротины — и их окисленные производные, ксантофиллы. Кроме того, Кар принято делить на первичные, локализованные в пластидах и участвующие в процессе фотосинтеза, и вторичные, вспомогательные, имеющие множество различных функций — от антиоксидантных до сигнальных [81]. Первичные Кар выполняют три функции: антенную (функцию светосбора), фотозащитную и структурную. В высших растениях наиболее важными фотосинтетическими Кар являются  $\alpha$ - и  $\beta$ -каротин и ксантофиллы: виолаксантин, антераксантин, зеаксантин и лютеин (рис. 2). Накопление вторичных Кар, особенно в виде эфиров жирных кислот, характерно для созревающих плодов [82]. Всего в растениях обнаружено более 800 различных Кар.

Каротиноиды есть в обеих фотосистемах, при этом с реакционными центрами (РЦ) связан только  $\beta$ -каротин, выполняющий восстановительные и фотозащитные функции [83, 84], ксантофиллы же локализованы в антенных комплексах, где способствуют сбору света [85]. Помимо тушения  $^3\text{Хл}^*$  и  $^1\text{O}_2$  для защиты РЦ  $\text{P}_{680}$  от окисления, Кар предотвращают фотоингибирование за счет функционирования виолаксантинового<sup>(7)</sup> цикла (рис. 3).

Спектры поглощения Кар имеют характерную форму с тремя пиками, степень разрешимости которых зависит от растворителя и структуры молекулы Кар. Положение пиков зависит от длины полиеновой цепочки: её удлинение приводит к батохромному сдвигу за счёт уменьшения расстояния между уровнями энергии в  $\pi$ -электронной системе. Циклизация концевых групп ликопинов или наличие карбонильной группы приводят к утрачиванию тонкой структуры спектра (там же, с. 46–48).

---

<sup>7</sup> Помимо виолаксантинового цикла были обнаружены и другие ксантофилловые циклы, такие как диадиноксантиновый цикл и цикл лютеин-5,6-эпоксида.

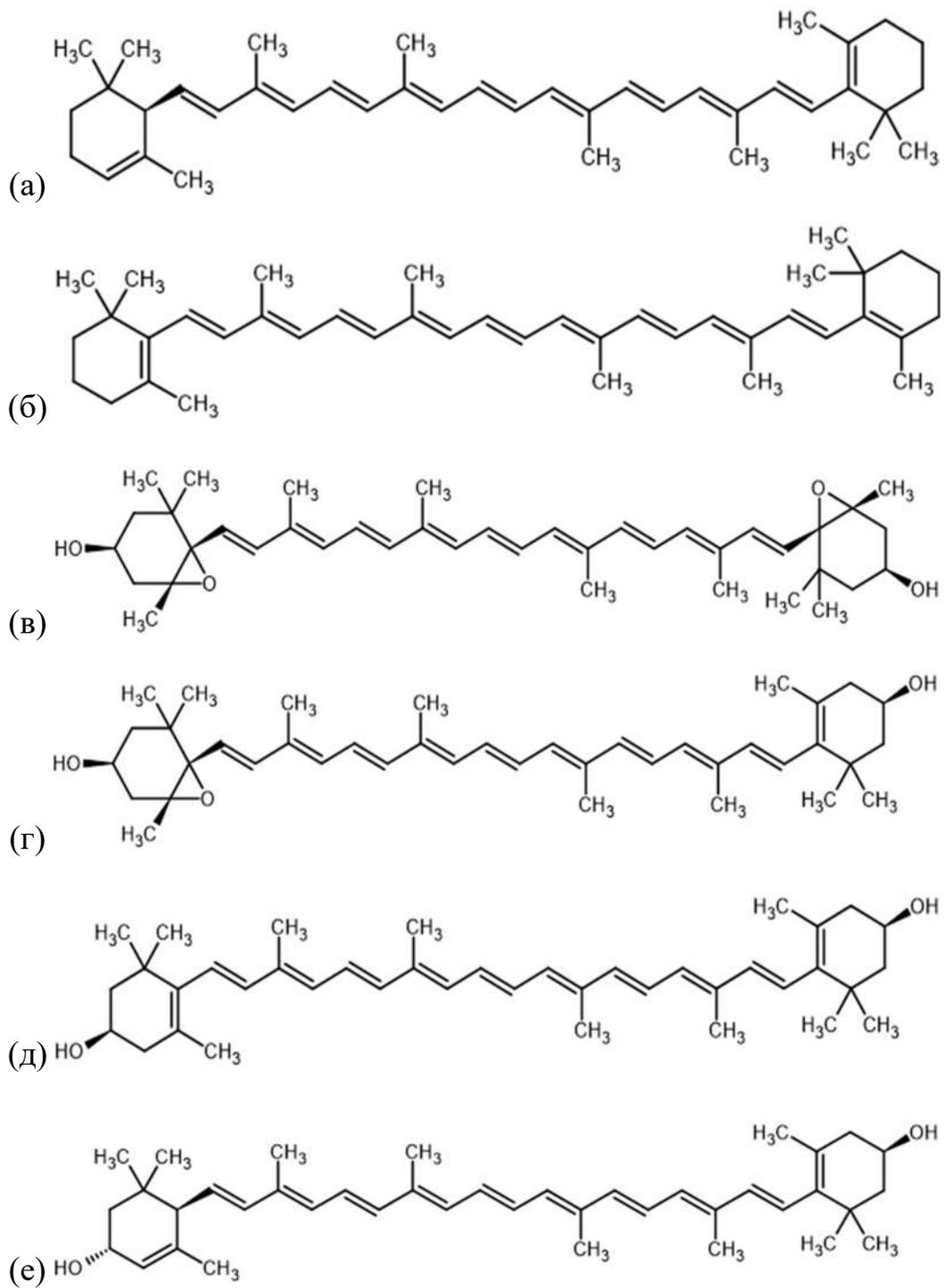


Рисунок 2 — Пространственная структура основных каротиноидов. (а)  $\alpha$ -каротин, (б)  $\beta$ -каротин, (в) виолаксантин, (г) антераксантин, (д) зеаксантин, (е) лютеин [86-91].

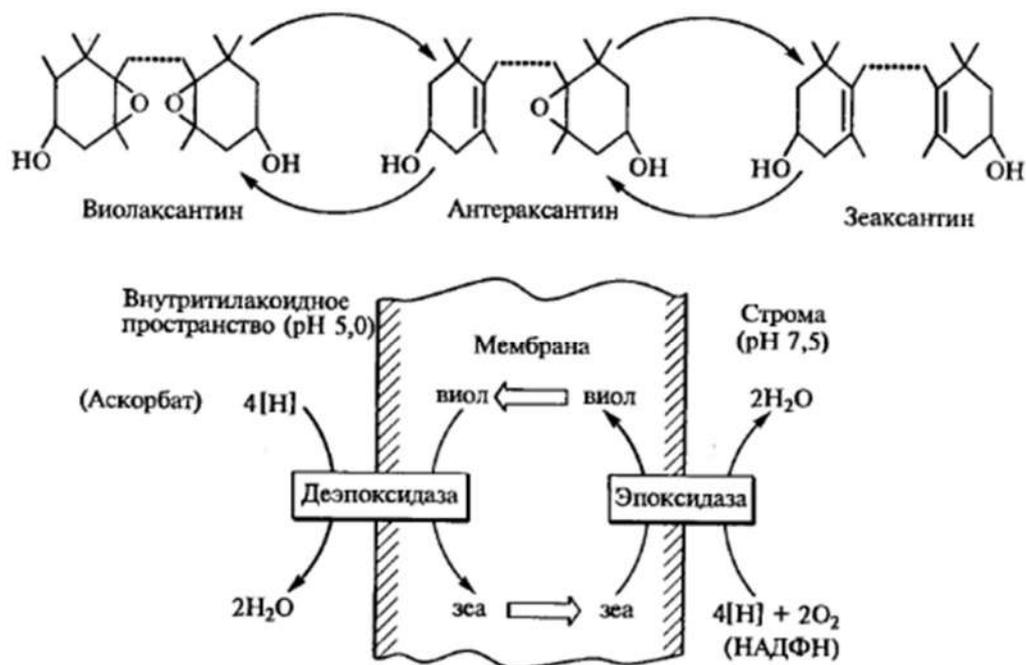


Рисунок 3 — Виолаксантиновый цикл — превращение виолаксантина в зеаксантин в закисленном люмене тилакоидов на ярком свете (катализируется виолаксантиндеэпоксидазой) с последующей эпоксидацией в темноте в присутствии O<sub>2</sub> и при участии зеаксантинэпоксидазы. По [63].

Содержание Кар в плодах и листьях растений существенно меняется при их созревании и старении, что во многом обусловлено их фотозащитной ролью и деградацией ФСА [26, 92]. Полоса поглощения Кар, в особенности её длинноволновой участок в районе 530 нм, широко используется в выявлении фенологического статуса растений, оценке сроков созревания плодов, определении оптимальных дат сбора урожая для сельскохозяйственных культур [93-97].

### 1.3.3 Соединения фенольной природы

Фенольные соединения — крайне обширная и разнообразная группа веществ. Всего в растениях обнаружено более 8000 их видов, делящихся на два крупных класса — флавоноиды и остальные типы фенольных соединений [63, 98]. Фенольные соединения принято классифицировать по строению их углеродного скелета. Наиболее важны для жизнедеятельности растений следующие три группы фенольных соединений:

**Фенольные соединения C<sub>6</sub>–C<sub>1</sub> ряда (фенольные кислоты)** состоят из ароматического ядра и одноуглеродной боковой цепи. В растениях они широко распространены и часто представлены *p*-оксибензойной, протокатеховой и ванилиновой кислотами. Часто встречаются также галловая, гентизиновая и салициловая кислоты.

**Фенольные соединения C<sub>6</sub>–C<sub>3</sub> ряда (фенилпропаноиды)** состоят из ароматического ядра и трёхуглеродной боковой цепи. Это оксикоричные кислоты и их производные (общий термин фенилпропаноиды), а также оксикумарины.

Оксикоричные кислоты обнаружены у всех высших растений. К типичным их представителям относятся: *p*-кумаровая, кофейная, феруловая и синаповая кислоты, а также соответствующие спирты, являющиеся исходными мономерами в биосинтезе лигнина.

**Фенольные соединения C<sub>6</sub>–C<sub>3</sub>–C<sub>6</sub> ряда (флавоноиды)** — группа пигментов, в большой степени специфичная для высших растений и наиболее широко в них представленная: на долю флавоноидов приходится около двух третей фенольных соединений, обнаруженных во фруктах и овощах. Их основу составляет фенил-бензопирановый скелет (рис. 4) — два фенильных кольца, соединённых гетероциклическим пирановым кольцом. В природе они почти всегда встречаются в виде гликозидов, наиболее важными из которых являются антоцианы (Ант; соответствующие им агликаны — антоцианидины) [73]. Они защищают растение от повреждений, вызванных ультрафиолетовым излучением [99, 100], существенна их роль и в защите от фотоповреждений, вызванных видимым светом [101, 102].

В состав флавоноидов входят катехины (флаван-3-олы), лейкоантоцианидины (флаван-3,4-диолы), флаваноны, дигидрохалконы, халконы, антоцианидины, флаванолы (дигидрофлавонолы), флаваны, флавоны, флавонолы и ауроны. Столь широкое разнообразие флавоноидов обусловлено наличием асимметричных атомов углерода в пирановом гетероцикле, а также O- и C-гликозилированием, гидроксильрованием, O- и C-метилированием [25].

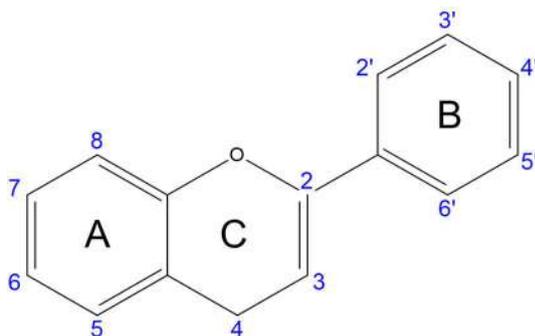


Рисунок 4 — Основа структуры флавоноидов — фенил-бензопирановый скелет.

Оптические свойства фенольных соединений также крайне разнообразны. Характерный спектр поглощения фенольных соединений в коротковолновой области обычно содержит две полосы. Первая полоса, пик которой приходится на 280 нм, обусловлена наличием ароматического кольца (колец) и присутствует в спектрах всех флавоноидов. Вторая, более длинноволновая полоса многих фенольных соединений расположена в диапазоне 300–360 нм, причём точное положение ее максимума варьируется для разных классов фенольных веществ. Для антоцианов и антоцианидинов положение этой полосы и вовсе смещается дальше в сине-зелёную область видимого спектра: так, максимум длинноволнового поглощения цианидина, основного агликона антоцианов, ответственного за красную окраску плодов и листьев, лежит на длине волны 525 нм. Столь широкий разброс вызван образованием фенольными соединениями комплексов с ионами металлов и друг с другом, что приводит к уширению и батохромному сдвигу длинноволнового пика поглощения *in vivo* по сравнению с чистыми экстрактами. В частности, флавоноиды отвечают за красный цвет плодов яблони (*Malus spp.*) и малины (*Rubus idaeus*), тёмно-фиолетовый ежевики (*Rubus caesius*) и баклажанов (*Solanum melongena*), синий — голубики (*Vaccinium uliginosum*). Спектр поглощения света, лежащий в коротковолновой области, обуславливает использование растениями фенольных соединений как защиты от ультрафиолетового излучения [103, 104], однако кроме этого они способны выполнять и иные функции: защищать растения от травоядных животных и атак фитопатогенов [105, 106].

Сводная информация о спектрах отражения *in vivo* основных классов пигментов приведена на рис. 5. Спектры отражения фенольных соединений и каротиноидов здесь показаны на примере пигментов плодов яблони (*Malus pumila*) — модельного объекта, используемого в данной работе (см. раздел 2).

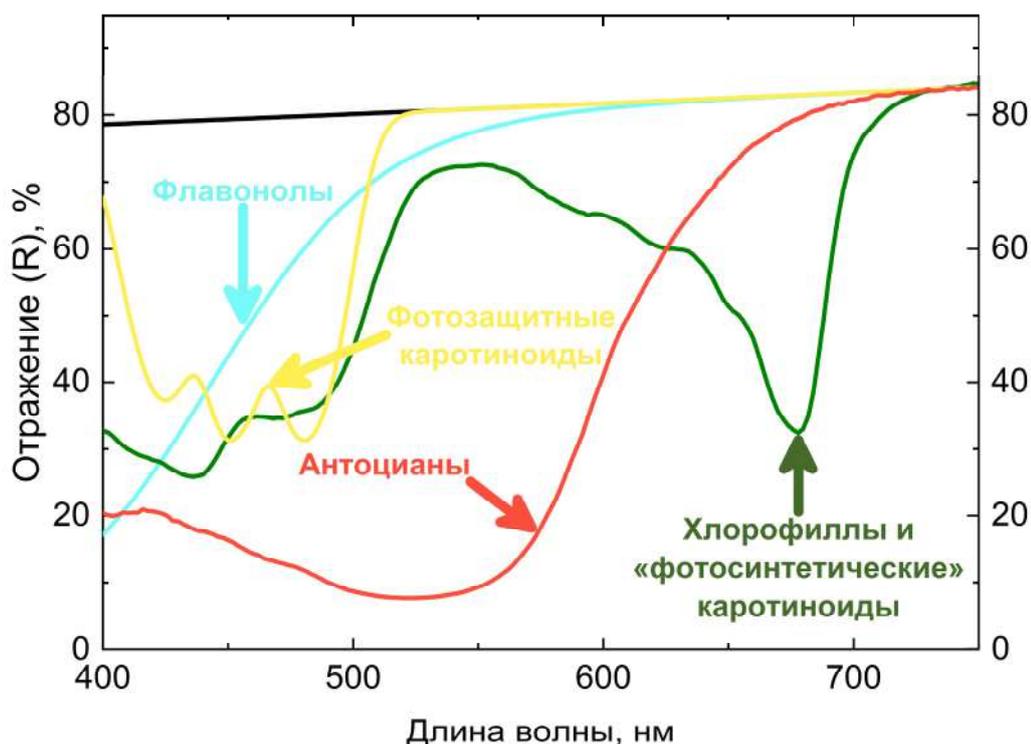


Рисунок 5 — Спектры отражения основных групп пигментов *in situ* в высших растениях. Приведены с модификациями по [107].

Из графика видно, что спектры Кар и Хл существенно перекрываются, что неудивительно с учётом их химической природы и физиологических функций. Разделение вклада их концентраций возможно по длинноволновой полосе поглощения Хл, однако определение концентрации Хл по ней может быть затруднено наличием Ант, что требует отдельной оценки их концентрации, к которой наиболее чувствительна зелёная область спектра [108, 109]. Таким образом, анализ имеющихся сведений о спектроскопии основных групп пигментов свидетельствует, что определение содержания пигментов *in vivo* возможно с использованием узкополосных (с шириной полосы до ~20 нм) спектральных коэффициентов отражения.

### 1.3.4 Трансформация пигментов в ходе онтогенеза

В ходе онтогенеза рост и развитие растений сопровождается синтезом, катаболизмом и биохимической трансформацией различных групп пигментов. Для начала вегетационного периода и в ювенильной фазе развития характерен биосинтез Хл и первичных Кар, а в некоторых случаях — фотозащитных Ант. В начале роста происходит бурное накопление протохлорофиллида, промежуточного продукта биосинтеза Хл. При этом сразу же активируются фотозащитные механизмы: для вегетативных органов, находящихся на ярком свете, характерно высокое содержание аскорбата и токоферолов, эта особенность наблюдалась в листьях бука европейского (*Fagus sylvatica* L.), сольданеллы альпийской (*Soldanella alpina* L.) [110, 111] и плодовых культурных растений [112]. На этом этапе основные фотозащитные механизмы основаны на низкомолекулярных антиоксидантах. В молодых листьях и побегах также часто присутствует временная антоциановая пигментация, защищающая ФСА во время его формирования [113], по завершении которого устойчивость к фотодеструкции повышается и содержание Ант снижается [114]. Аналогичным образом ФСА оказывается уязвимым во время его «запрограммированного демонтажа» в период осеннего старения листьев и созревания плодов, поэтому нередко стареющие листья приобретают красную антоциановую окраску, особенно под действием низких температур в этот период [25, 114, 115]. У вечнозелёных растений содержание Хл и Кар, в особенности  $\beta$ -каротина, значительно снижается в зимний период, роль пигментов виолаксантинового цикла же, напротив, растёт [116, 117].

После формирования ФСА при устойчивом действии яркого света в растениях развиваются экранирующие механизмы защиты от фотоповреждений — синтезируются Ант в организмах, способных к их накоплению [118], запускается катаболизм Хл, трансформация первичных и накопление вторичных Кар [26, 92, 119]. В целом для всех видов характерно наличие экранирующих фотозащитных механизмов, их реализация в живой природе, однако, чрезвычайно разнообразна.

Спектральный состав падающего излучения может существенно варьироваться в зависимости от условий произрастания. У светолюбивых растений поэтому наличествуют, среди прочих, пассивные механизмы защиты от действия ультрафиолетового (в частности, УФ-В) излучения. Эта функция почти всегда реализуется фенольными соединениями, однако известно и использование больших концентраций ретро-кетокаротиноидов в видах, не способных к синтезу высоких количеств Ант и беталаинов [120].

Особенно ярко трансформация пигментов проявляется на поздних этапах онтогенеза, когда процессы, связанные с ростом, отходят на второй план, и защита ФСА от фотоповреждений для завершения созревания плодов и семян, а также ретранслокации питательных веществ в многолетние органы становятся первоочерёдными задачами для растений.

Катаболизм Хл при старении листьев, созревании и хранении плодов идёт по одному из двух основных путей (рис. 6). Первый включает гидролитическое отщепление фитола хлорофиллазой и удаление Mg магниевой дехелатазой (в произвольном порядке), что приводит к образованию феофорбида, и, наконец, окислительного расщепления макроцикла феофорбидоксигеназой. Последний этап быстро приводит к образованию цветных (красных), а потом и бесцветных катаболитов Хл — флуоресцирующих билирубиноподобных пигментов [121]. Это важно для снижения риска фотодинамического эффекта, поскольку молекулы с целым порфириновым циклом являются эффективными фотосенсибилизаторами. Другой потенциальный путь деградации Хл связан с липоксигеназами, которые широко распространены в растениях. Липоксигеназная активность тесно связана с передачей клеточных и межклеточных химических сигналов при стрессовых ответах [123, 124]. При индукции этого пути деградации Хл развивается перекисное окисление липидов, что вызывает быстрое обесцвечивание органов и тканей, а у культурных растений — ухудшение качества и органолептических свойств съедобных частей растения.

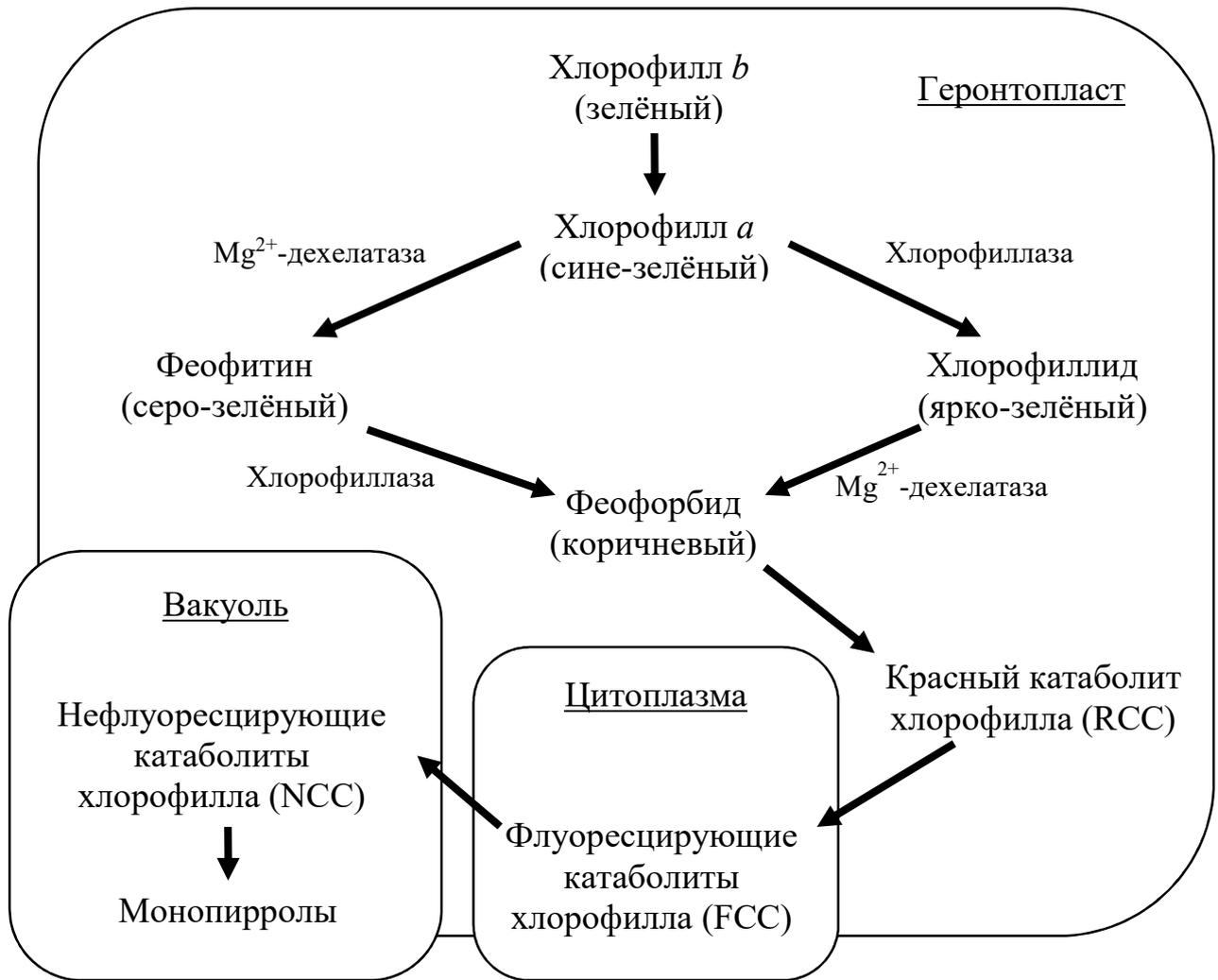


Рисунок 6 — Пути катаболизма хлорофиллов (по [122]).

Что же касается Кар, разнообразие их природных форм и путей биосинтеза велико и сильно варьируется в зависимости от экологической специализации растений. Состав и количество синтезируемых Кар зависят от вида растения, условий произрастания, а у культурных растений — и от агротехнических и послеуборочных практик [125, 126]. На основании особенностей состава Кар продукты растительного происхождения можно разделить на три группы: 1) зелёные овощи, такие как брокколи, шпинат и стручковая фасоль, которые содержат большое количество ксантофиллов и каротинов; 2) жёлтые и красные фрукты и овощи (сливы, морковь, дыни и томаты), в основном содержащие каротины, как циклические, так и линейные; 3) жёлтые или оранжевые фрукты, включая тыкву, апельсины и персики, Кар в которых преимущественно представлены эфирами ксантофиллов [121].

Согласно современным представлениям, существенную роль в биосинтезе и накоплении Кар играют эпигенетические факторы [125], непосредственно индукцию синтеза Кар принято связывать с действием фитогормонов — прежде всего, этилена — и света [127-130]. Так, экспозиция на ярком свете вызывает биосинтез и накопление в пластоглобулах (внутрихлоропластных липидных глобулах) вторичных Кар (рис. 7).

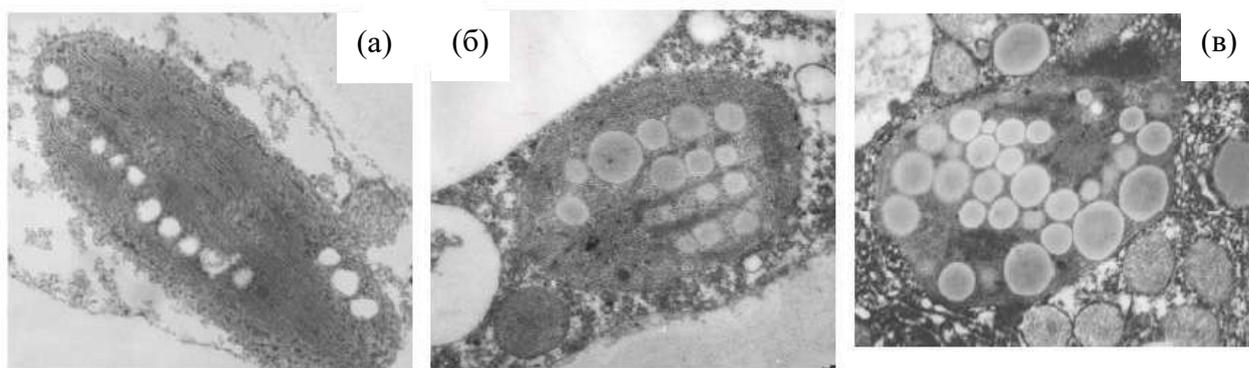


Рисунок 7 — Трансформация хлоропластов в клетках кожицы плодов яблони сорта Антоновка Обыкновенная в хромопласты (а-в, слева направо). Показаны электронные микрофотографии. а: фиксация глутаровый альдегид +  $\text{KMnO}_4$ , увеличение  $\times 15000$ . б, в: *p*-формальдегид + глутаровый альдегид +  $\text{OsO}_4$ , увеличение  $\times 30000$ . По [26].

Характерное время индукции этого механизма составляет от десятков минут до нескольких часов [131]. Этот процесс, как правило, сопровождается трансформацию пластид (постепенное превращение их из хлоропластов в хромопласты).

Все эти факторы в совокупности приводят к тому, что наиболее разнообразно каротиноиды представлены в спелых плодах, а задача мониторинга их состава и количества имеет важное прикладное значение для послеуборочных технологий сохранения урожая. Примечательно также, что как синтез, так и катаболизм каротиноидов происходит и после завершения фазы активной вегетации. Эти процессы являются одним из центральных предметов исследования в области послеуборочных технологий. Например, известно, что состав газовой среды, окружающей плоды, способен как ускорять, так и замедлять синтез Кар [132-134], однако регуляторные возможности существенно зависят от исходной степени спелости плодов. При этом на ранних этапах онтогенеза содержание Кар в плодах и листьях

изменяется почти пропорционально концентрации Хл, в их составе доминируют  $\beta$ -каротин и свободные ксантофиллы (первичные Кар); при созревании же эта пропорциональность нарушается, а состав становится более разнообразным, появляются эстерифицированные вторичные Кар, специфичные для хромопластов. Соотношение общих пулов Кар и Хл является надёжным маркером старения, определяемым в том числе неинвазивным путём ([135-137] и рис. 8).

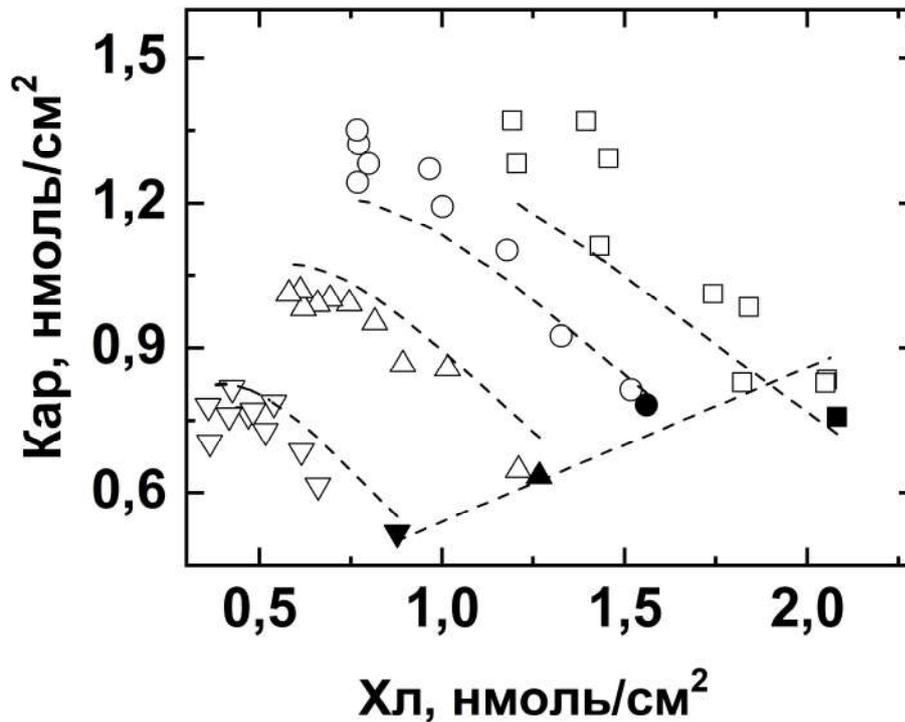


Рисунок 8 — Изменение соотношения содержания каротиноидов и хлорофиллов в кожце плодов яблони в ходе созревания на дереве (закрытые символы) и после их съёма с дерева (открытые символы) в зависимости от степени зрелости на момент съема (плоды, снятые позднее, характеризовали меньшим начальным содержанием хлорофилла). По [135].

### 1.3.5 Развитие повреждений

На терминальных стадиях развития солнечного ожога (индуцируемого высокой температурой и светом высокой интенсивности), а также фотоповреждения, вызванного высокими потоками ФАР и УФ излучения, происходит побурение и некроз тканей, сопровождающийся накоплением темноокрашенных меланиноподобных пигментов, образующихся предположительно в результате поликонденсации фенольных соединений и углеводов при нарушении целостности тонопласта ([25, 138], рис. 9).

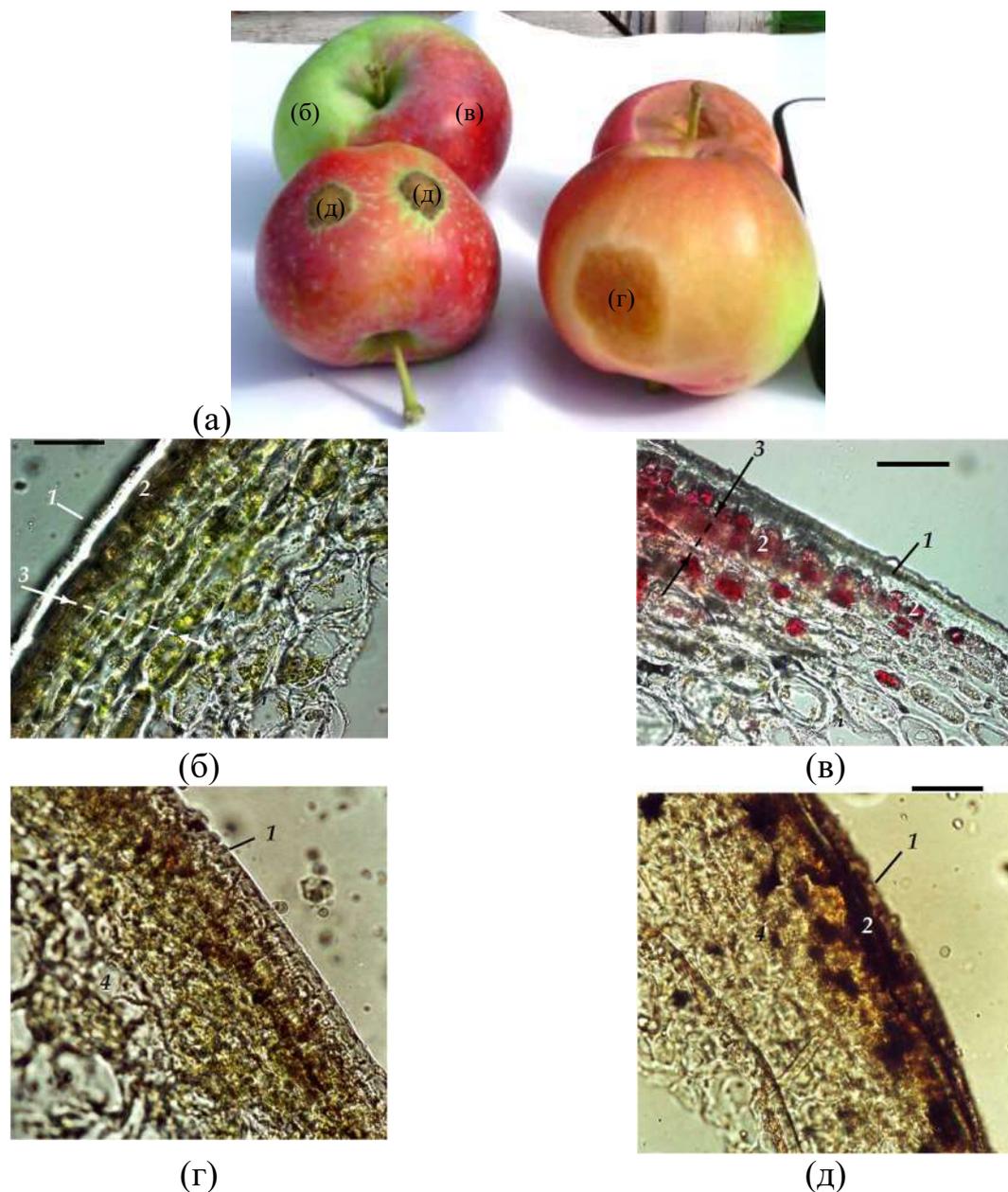


Рисунок 9 — Внешний вид (а), анатомия и морфология здоровых (б, в) зелёных (б) и красных (в) плодов яблони, а также плодов, поражённых (г) лёгким солнечным ожогом и (д) сильным некрозом клеток из-за парши (атака фитопатогена *Venturia inaequalis*). На панели (а) показаны участки поверхности плодов, соответствующие микрофотографиям (б-д). 1 — кутикула, 2 — эпидерма, 3 — обогащённая пигментами компактная «кожица» (внешний мезокарпий), 4 — высокоотражающая «мякоть» (внутренний мезокарпий). Изображения получены с помощью микроскопа Zeiss Axioscope при увеличении  $\times 200$ . Масштабная линейка: 50 мкм. По [139].

Эти изменения проявляются в спектрах отражения: у здоровых плодов и листьев отражение в ИК-диапазоне равномерно высокое, а при развитии повреждений же коэффициент отражения во всей области спектра возрастает почти линейно с характерным ростом при движении в сторону больших длин волн; сохраняются остаточные полосы поглощения Хл (рис. 10):

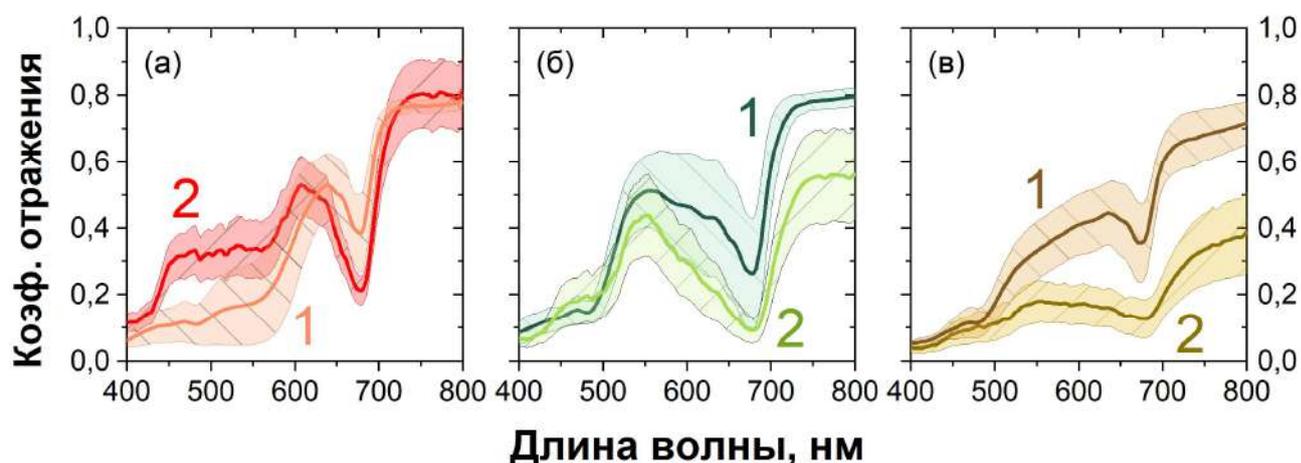


Рисунок 10 — Репрезентативные спектры отражения (а) здоровых зелёных (б) здоровых красных (в) повреждённых участков поверхности яблок. Кривая 1 — спектры, измеренные на спектрофотометре Agilent Cary Bio 300, кривая 2 — спектры, полученные гиперспектрометром Specim IQ. По [139].

## 1.4 Спектроскопия отражения в мониторинге растительных объектов

### 1.4.1 Оптические модели тканей и органов растений

Оптические методы для анализа состояния растений и изучения свойств пигментов используются уже несколько веков. Ключевыми вехами на пути развития этого направления стали работы К.А. Тимирязева, описавшего хлорофилл и его спектральные свойства и положившего начало изучению фотозащитных механизмов высших растений [140]; М.С. Цвета по созданию метода адсорбционной хроматографии [141, 142]. Ещё в работах К.А. Тимирязева было показано, что спектры пигментов *in vivo* отличаются от спектров пигментов в экстрактах. Подход к решению этой проблемы был намечен в работах Кубелки и

Мунка<sup>8</sup>. Эти исследователи решали задачу описания спектральных свойств искусственных пигментов, однако созданная ими модель оказалась в значительной мере применимой и к растительным пигментам *in vivo*.

Теория Кубелки-Мунка (К-М) описывает взаимодействие излучения с веществом в предположении слабого поглощения в мутной среде, по объёму которой равномерно распределены рассеивающие центры — частицы пигмента. Слой пигмента моделируется как имеющий конечную толщину и простирающийся бесконечно в стороны, перпендикулярные направлению падения излучения. Слой помещается на подложку с известным коэффициентом отражения [144]. (рис. 11).

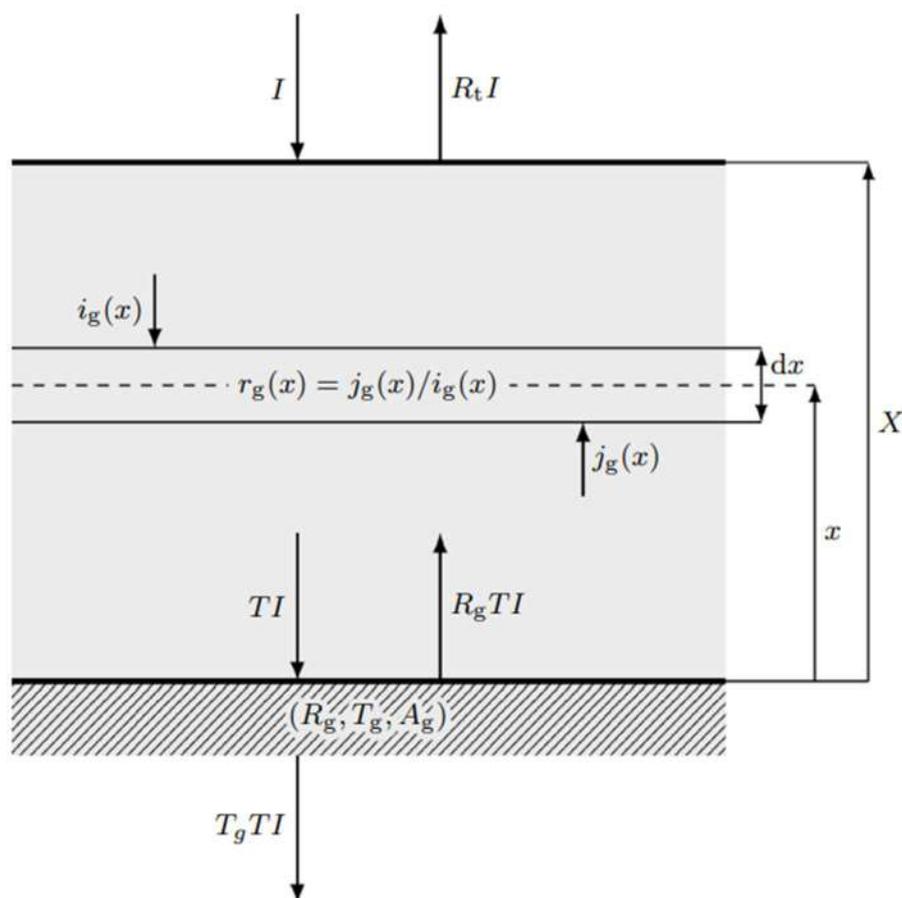


Рисунок 11 — Поток излучения в теории Кубелки-Мунка. По [144].

<sup>8</sup> Впервые основное уравнение К-М теории было получено М.М. Гуревичем в 1930 году и спустя год независимо открыты Кубелкой и Мунком и впоследствии выведено рядом других исследователей (см., например, [143]). В литературе закрепилось приписывание этой модели Кубелке и Мунку.

Модель К-М называют двухпоточной, поскольку в ней рассматриваются два потока излучения — нисходящий и восходящий. При взаимодействии с элементарным слоем для каждого кванта излучения реализуется одна из трёх возможностей — он может поглотиться, изменить направление распространения («рассеяться») вверх или вниз с равной вероятностью или же пройти насквозь, не провзаимодействовав с этим слоем. Для поглощения, рассеяния и пропускания верно так называемое ART-соотношение, напрямую следующее из закона сохранения энергии:

$$A + R + T = 1, \quad (1)$$

где  $A$ ,  $R$  и  $T$  — доли поглощённой, отражённой и прошедшей сквозь образец лучистой энергии, нормированные на интенсивность падающего светового потока. В конечном счёте регистрируемое отражённое излучение формируется из потоков излучения, как рассеянных и не провзаимодействовавших с подложкой, так и отражённых от неё и прошедших обратно сквозь слой пигмента.

В модели вводятся два коэффициента,  $K$  и  $S$ , характеризующие долю поглощённого и рассеянного в элементарном слое излучения.  $K$  и  $S$  являются характеристиками материала (пигментного слоя) и считаются постоянными во всём объёме. В приближении оптически толстого слоя — оно, в целом, справедливо для хлоропластов и хромопластов в составе растительных тканей — верно соотношение, называемое функцией Кубелки-Мунка

$$\frac{K}{S} = \frac{(1 - R_\infty)^2}{2R_\infty}, \quad (2)$$

где  $R_\infty$  — коэффициент отражения бесконечно толстого слоя пигмента.

В терминах  $R_\infty$  это соотношение записывается как

$$R_\infty = 1 + \frac{K}{S} - \sqrt{2\frac{K}{S} + \left(\frac{K}{S}\right)^2} \quad (3)$$

К сожалению, параметры модели К и S зависят не только от химического состава наблюдаемого вещества, но и от характеристик дисперсной системы, частью которой он является. Помимо этого, модель Кубелки-Мунка плохо применима к сложным системам с выраженным отражением, в том числе от границ раздела сред [145], к которым относятся и растительные ткани. Ранние примеры использования теории Кубелки-Мунка для неинвазивного мониторинга содержания пигментов в растениях были обнадеживающими (см., например, [146]). Впоследствии, однако, стало ясно, что сложная структура клеток, тканей и органов высших растений существенно осложняют практическое применение этого подхода. Проблемы представляют сильное поглощение света молекулами пигментов, отражение света от кутикулярного слоя (отраженный от кутикулы свет не несёт информации о пигментном составе внутренних тканей), сложная структура паренхимы, мобильность хлоропластов (т.н. *avoidance movements*) [147]. Наивное применение К-М теории к плодам также потерпело неудачу [148].

Дальнейшее развитие оптики растений шло по нескольким основным направлениям. Одно из них — усложнение модели переноса излучения, в частности, использование четырёхпоточной модели вместо двухпоточной [149]. В рамках этого направления развития широко используются численные методы моделирования, продолжают развиваться программные пакеты PROSPECT [150], SAIL [151], DART [152]. Они были созданы для дешифрирования аэрокосмической спектральной съёмки и решают задачу моделирования спектральных коэффициентов отражения и пропускания на уровне кроны на основе ряда структурных и биохимических параметров. Основные из этих параметров для наиболее широко используемой модели PROSAIL (PROSPECT + SAIL) приведены в таблице 1 [153-155]. Восстановление биохимических и физиологических параметров растения в таком подходе осуществляется решением обратной задачи — как правило, итеративным методом либо с применением нейросетевых технологий.

Таблица 1 — Основные параметры модели PROSAIL.

Параметр	Описание	Размерность
N	Структурная характеристика листа	—
Cab	Концентрация Хл $a + b$	мкг см <sup>-2</sup>
Cw	Эквивалентный столб воды	см
Cm	Масса сухого вещества	г см <sup>-2</sup>
Cb	Содержание «коричневых пигментов» (меланоидинов)	—
LAI	Индекс листовой поверхности	—
LIDF	Функция распределения наклона листовой пластинки	—
Sl	Размер области блика	—
$\rho_s(\lambda)$	Коэффициент отражения почвы	—
SKYL( $\lambda$ )	Доля рассеянного излучения в падающем свете	—
sza	Зенитный угол Солнца	градус
vza	Зенитный угол наблюдателя	градус
raa	Азимутальный угол Солнца	градус

Данный подход широко используется в спутниковой съёмке, когда производится усреднение спектральных отражательных характеристик по большой площади (и по большому числу растительных объектов на этой площади), а геометрия съёмки хорошо известна.

Иначе обстоит дело в проксимальном зондировании (зондировании объектов на небольших, порядка 1–10 м, расстояниях; см. ниже). Так, ограниченность углов съёмки может приводить к плохой обусловленности обратной задачи [156], а для

использования модели SAIL для данных с высоким пространственным разрешением ряд исследователей прибегает к искусственному его загроблению. К тому же, попиксельная инверсия модели непрактична в силу высокой вычислительной затратности [157]. Более естественным подходом для адаптации методов, основанных на численном моделировании взаимодействия излучения с растительными тканями, к снимкам с высоким пространственным разрешением видится замена компоненты, отвечающей за моделирование структуры кроны, подобные модели были созданы в работах Л. Фукшанского [158, 159].

Другим направлением стало прямое измерение оптических характеристик растений. Одной из ключевых оптических характеристик является индикатриса отражения. Для растений характерна сильная зависимость интенсивности отражённого излучения от взаимного расположения источника света, наблюдаемого растения и наблюдателя [160-162]. Индикатрисой отражения, или индикатрисой рассеяния называют векторную диаграмму, характеризующую анизотропию интенсивности излучения, отражённого от объекта. В английском языке для функции, описывающей соответствующую поверхность, устоялось название BRDF — Bidirectional Reflectance Distribution Function (Двулучевая Функция Отражательной Способности, ДФОС). Подобную формулировку следует считать удачной, т.к. она явно задаёт параметризацию этой функции — последняя зависит как от взаимного расположения векторов падения и отражения света, так и от их положения относительно отражающей поверхности. К сожалению, информация о ДФОС, особенно с учётом спектральной компоненты, труднодоступна, полевые гониофотометры, используемые для её получения, громоздки и малопроизводительны [163], а их метрологическое обеспечение представляет существенную трудность [164]. При этом прямое измерение индикатрисы отражения растительности подобным образом практически невозможно в силу доминирующих в формировании ДФОС эффектов затенения и необходимости усреднения по очень большим участкам. Поэтому в практических целях чаще применяют компенсацию эффектов, связанных с индикатрисой

отражения, и используют для этого снимки однородных поверхностей системами с большим углом обзора либо же модельные расчёты, описанные выше.

Наконец, в отдельное направление выделился подход, основанный на проксимальной спектроскопии растений. В противоположность дистанционному зондированию, при съёмке с близкого расстояния становится возможным описать оптические свойства не только индивидуальных растений, но и отдельных органов и даже тканей. Для определения объёмных концентраций пигментов в тканях при этом применяют один из ранее описанных подходов — численное моделирование PROSPECT, как в [165], логарифмирование коэффициента поглощения из формулы Бугера-Ламберта-Бэра ( $C \sim -\lg(A)$ ; коэффициент поглощения при этом обычно оценивается как  $1/R$ ), как в [166-168], или по функции Кубелки-Мунка, как в [94, 169]. Применимость того или иного приближения зависит от соотношения коэффициентов поглощения и рассеяния на выбранной длине волны, а, таким образом, и от используемого спектрального диапазона. В частности, возле максимума поглощения антенных комплексов концентрацию пигментов лучше описывает закон Бугера-Ламберта-Бэра; на краях полос поглощения же основной вклад в форму спектра отражения вносит рассеяние, и больше применима функция Кубелки-Мунка [170, 171]. Структурные свойства исследуемых объектов, в особенности если они обладают сложной архитектурой тканей, также влияют на применимость используемых приближений [172].

#### 1.4.2 Получение и обработка спектральных изображений растительных объектов

Дистанционное зондирование как научная дисциплина зародилось в 50-х годах прошлого века. Во многом появление дистанционного зондирования и ранний прогресс в этой области были обусловлены развитием видовой разведки в годы Второй Мировой, а впоследствии — и «холодной» войны [173]. В этот период времени большинство снимков получалось аналоговым методом, не существовало эффективных подходов к автоматизированной обработке изображений. Поэтому ключевую роль в дистанционном зондировании растительности играли и продолжают играть методы, основанные на спектроскопии отражения.

### 1.4.3 Вегетационные индексы

Развитие дистанционного зондирования на ранних этапах строилось вокруг размещения съёмочных систем на самолётных и спутниковых платформах. За счёт беспрецедентного охвата снимаемой территории впервые были поставлены и решены задачи глобального мониторинга биоценозов. Были созданы эффективные алгоритмы для оценки физиологического состояния растений и растительных сообществ, основанные на так называемых вегетационных индексах (ВИ) — математических соотношениях, построенных на основе отражательной способности растений на различных длинах волн и тесно связанных, в первую очередь, с содержанием пигментов и развитием повреждений [174].

В основе построения вегетационных индексов лежит понятие *информативности* в связи с тем, что различные области спектра в разной мере чувствительны к изменению содержания тех или иных пигментов. Этот подход был впервые формализован в трудах М. Мерзляка, А. Гительзона, А. Соловченко и получил впоследствии доработан А. Гительзоном и А. Viña [94, 108, 175-178]. Чувствительность спектрального индекса к изменению измеряемой величины определяется в терминах шумового эквивалента и описывается уравнением

$$NE \Delta VF = RMSE(VI \text{ vs. } VF) / \left[ \frac{d(VI)}{d(VF)} \right], \quad (4)$$

где VF — искомая биофизическая величина, VI — значение вегетационного индекса [179]. Нетрудно видеть, что в качестве вегетационного индекса может быть использован коэффициент отражения (пропускания) на выбранной длине волны, в этом случае можно говорить об информативности отдельного диапазона длин волн (спектрального канала). Немаловажно и то, что коэффициенты отражения на различных длинах волн могут быть сильно скоррелированы друг с другом — например, это касается двух основных пиков поглощения хлорофилла. Это приводит к сложным, нелинейным связям в задаче отбора наиболее информативных каналов. Множество исследований посвящены попытке

автоматизации этого этапа [180-185], однако до сих пор не было найдено универсальных, обобщаемых подходов к решению этой проблемы. Учёт информативности спектральных признаков продолжает требовать сопоставления со спектрами пигментов, что позволяет достичь большей устойчивости полученных индексов по сравнению с автоматически генерируемыми зависимостями, опирающимися на ограниченные наборы входных данных. После отбора информативных признаков для построения ВИ используют регрессионный анализ, полученные кривые калибруют по данным деструктивных измерений.

На сегодняшний день известно более 600 различных ВИ, поддерживаются посвящённые им онлайн-базы данных [186]. Построение большинства ВИ использует одну или несколько спектральных областей, чувствительных к изменениям искомого параметра, опорную/калибровочную спектральную область, позволяющую учесть разницу в углах визирования и т.п. (в её качестве часто выступает ближняя инфракрасная область в районе 800 нм, где коэффициент отражения растительности близок к единице и отсутствуют выраженные полосы поглощения) и, опционально, спектральные области для введения поправок на другие группы пигментов. Таким образом строятся:

а) хлорофилльные индексы CI (или SR, от Simple Ratio)  $CI_{670-720} = R_{800}/R_{670-720}$  и  $CI_{550} = R_{800}/R_{550}$  (информативная область соответствует  $\alpha$ -полосе поглощения Хл либо зелёной области, в отсутствие Ант отражение в них сильно коррелирует, опорная длина волны здесь — 800 нм) [94, 187];

б) антоциановый индекс  $ARI = 1/R_{550} - 1/R_{700}$  и его модификация  $mARI = (1/R_{530-570} - 1/R_{690-710}) \times R_{750-850}$  (информативная область лежит в зелёной области спектра, полоса в районе красного края спектра отражения служит для компенсации вклада Хл, ещё одна опорная область в инфракрасном диапазоне введена для учёта разницы в толщине листьев) [109, 188, 189];

в) каротиноидные индексы  $CRI_{550} = 1/R_{510} - 1/R_{550}$  и  $CRI_{700} = 1/R_{510} - 1/R_{700}$  (информативная область находится на границе полосы поглощения Кар  $\lambda=510$  нм, опорная использует одну из полос, в которой доминирует вклад Хл) [190];

г) индекс  $PSRI = (R_{678} - R_{500}) / R_{750}$ , описывающий соотношение Кар/Хл (использует длину волны 678 нм для оценки содержания Хл, длина волны 500 нм лежит в совместной полосе поглощения Кар и Хл, 750 нм — опорная длина волны) [94];

д) индексы, описывающие развитие повреждений  $BRI = (1/R_{550} - 1/R_{700}) / R_{750}$  и  $mBRI = 1/R_{640} + 1/R_{800} - 1/R_{678}$  (член  $1/R_{550} - 1/R_{700}$  описывает нарушение корреляции коэффициентов отражения на этих длинах волн, характерных для здоровых фруктов,  $R_{640}$  и  $R_{800}$  же чувствительны к накоплению меланиноподобных пигментов, образующихся с разрушением вакуолей) [139, 191].

Построение ВИ в общем случае является довольно сложной задачей. Множественные пики поглощения в спектрах пигментов и их взаимное перекрытие требуют аккуратного учёта вклада различных компонент в отражение, что затрудняет анализ при использовании растением нескольких видов фотозащитных пигментов. В особенности это проявляется при попытке оценки концентрации Кар в присутствии Ант [192].

#### 1.4.4 Анализ структуры спектров и формы полос поглощения

Данные, полученные приборами с высоким спектральным разрешением, позволяют использовать тонкие спектральные особенности для идентификации отдельных пигментов и их групп. Вегетационные индексы используют наиболее информативные участки спектра, соответствующие полосам поглощения, что позволяет использовать этот подход на широком классе спектральных приборов. Однако гиперспектрометры и спектрофотометры позволяют получить куда больше спектральной информации за одну съёмку, и вся она может быть использована для сопоставления измеренных спектров с известными.

Разложение спектров отражения либо поглощения на вклады индивидуальных компонент широко используется в дистанционном зондировании Земли, в особенности, в геологии и минералогии [193]. Этот подход описан и для

мониторинга растений [107], однако не получил в нём столь же широкого распространения.

Суть метода сводится к подбору коэффициентов, описывающих вклады индивидуальных компонент, с максимизацией точности восстановления измеренного спектра. В наиболее общем случае при наличии алгоритма решения прямой задачи (восстановление неизвестного спектра по известному набору параметров) в рамках этого подхода решается обратная задача — восстановление неизвестных параметров по известному спектру. Чаще всего это делается вычислительными методами.

В дистанционном зондировании решение прямой задачи осложняется множеством факторов. Взаимное перекрытие объектов, множественное рассеяние, вклад диффузных компонент в отражение делают задачу нелинейной, а её решение — вычислительно сложным. В проксимальном же зондировании в широком диапазоне искомых концентраций спектры поглощения можно считать аддитивными, что позволяет решать задачу линейной регрессии. Поскольку концентрации пигментов не могут быть отрицательными, регрессионная задача решается с дополнительным ограничением на значения коэффициентов, что сводит решение к хорошо известному методу неотрицательных наименьших квадратов (non-negative least squares, NNLS) [194].

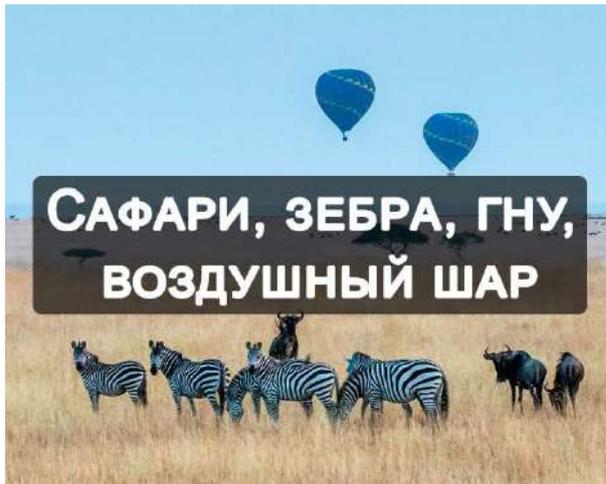
#### 1.4.5 Алгоритмы машинного обучения для обработки изображений

Современная эпоха дистанционного зондирования тесно связана с методами компьютерной обработки изображений. Недавние достижения в области машинного обучения сделали возможной автоматизированную обработку изображений, причём в ряде задач точность их решения сопоставима с экспертной [195, 196]. Комбинированию традиционных спектроскопических методов с новейшими достижениями в области машинного обучения посвящены последние два десятилетия исследований в этой области. Машинное обучение — область настолько обширная и бурно развивающаяся, что любой её обзор обречён на

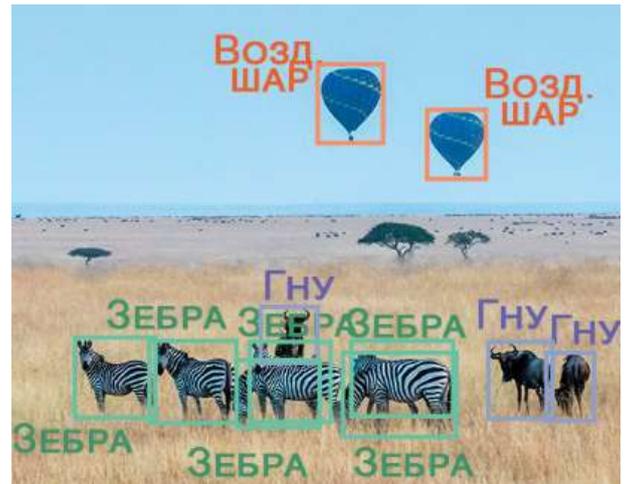
устаревание к моменту выхода. Тем не менее, многие основополагающие концепции остаются неизменными, и именно им, а также избранным методам обработки и посвящён этот раздел.

Методы обработки изображений на основе машинного обучения применяются для обнаружения и выделения на них отдельных растений и их органов, оценки урожая [197], поиска повреждений. Для получения изображений при этом используются как авиационные [198], так и наземные платформы [199]. Конечным результатом обработки изображения может являться как карта распределения некоторой количественной характеристики — скажем, концентрации хлорофилла в приповерхностных водах или же удельного размера урожая («плодовой нагрузки») по территории сада, — так и набор качественных, семантических параметров — например, список названий изображённых объектов [200].

В настоящее время в качественных задачах обработки изображений принято выделять четыре основных класса: классификация изображения, детекция объектов, семантическая сегментация и сегментация экземпляров, или инстанс-сегментация [201], рис. 12.



(а)



(б)



(в)

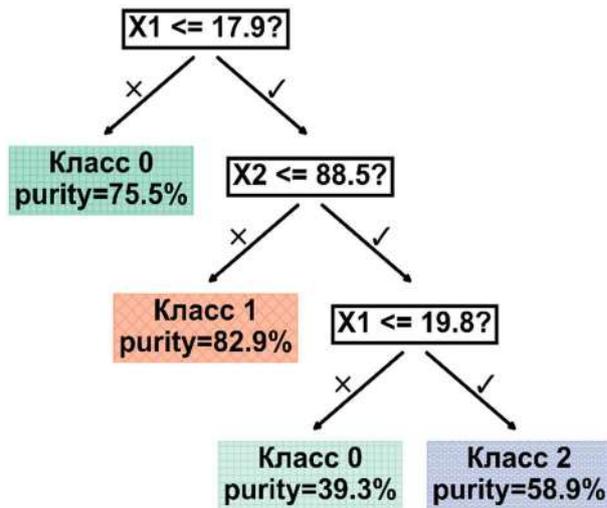


(г)

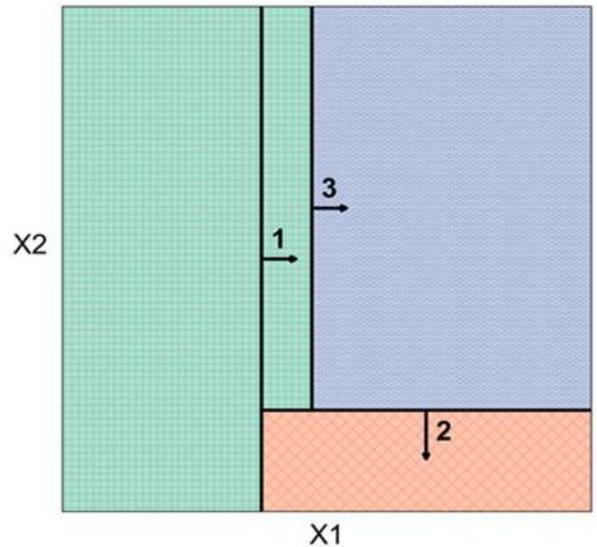
Рисунок 12 — Четыре основных вида задач в компьютерной обработке изображений. (а) Классификация; (б) Детекция объектов; (в) Семантическая сегментация; (г) Инстанс-сегментация. Адаптировано по [201], исходный снимок Sutirta Budiman.

Семантический анализ изображений даёт богатые возможности для фенотипирования. В зависимости от источников изображений, модели машинного обучения могут оперировать различными наборами параметров. Классические методы машинного обучения связаны с разбиением так называемого признакового пространства. Признаковое пространство представляет собой абстракцию, представляющую всевозможные свойства описываемого объекта и аналогичную фенотипу в биологии. Математическое представление семантического анализа данных сводится к разделению многомерного пространства на области, которым

присваиваются метки классов, границы этих областей называют дискриминантными поверхностями. Простейший подход к моделированию семантических задач — решающие деревья: они разбивают пространство признаков несколько раз, каждое разбиение представляет собой принятие решения (отсюда и название, рис. 13).



(a)



(б)

Рисунок 13 — (а) Структура решающего дерева (б) Соответствующее ему разбиение признакового пространства [202]. Чистоты (purity) областей признакового пространства в разбиении — доли мажоритарных классов в них.

Основное ограничение решающих деревьев состоит в том, что каждое разделение признакового пространства линейно и в простейшем случае учитывает лишь один признак. Построение сложных дискриминантных поверхностей требует роста глубины дерева, при этом известно, что глубокие решающие деревья имеют тенденцию к переобучению. Это привело к разработке таких подходов, как случайные леса (Random Forest, RF) [203, 204]. Случайный лес состоит из множества неглубоких деревьев решений, каждое из которых использует случайное подмножество признаков. Результирующая классификация производится путем голосования всего ансамбля, использование механизма голосования позволяет сделать деревья более устойчивыми.

Иной подход к проблеме переобучения представляет метод опорных векторов (Support Vector Machine, SVM). В нём устойчивость достигается путём

максимизации дистанции от дискриминирующей поверхности до точек, принадлежащих классам обучающей выборки. Нелинейная разделимость же достигается за счёт использования так называемого ядерного трюка (kernel trick), который проецирует исходные признаки в пространство с большей размерностью (рис. 14).

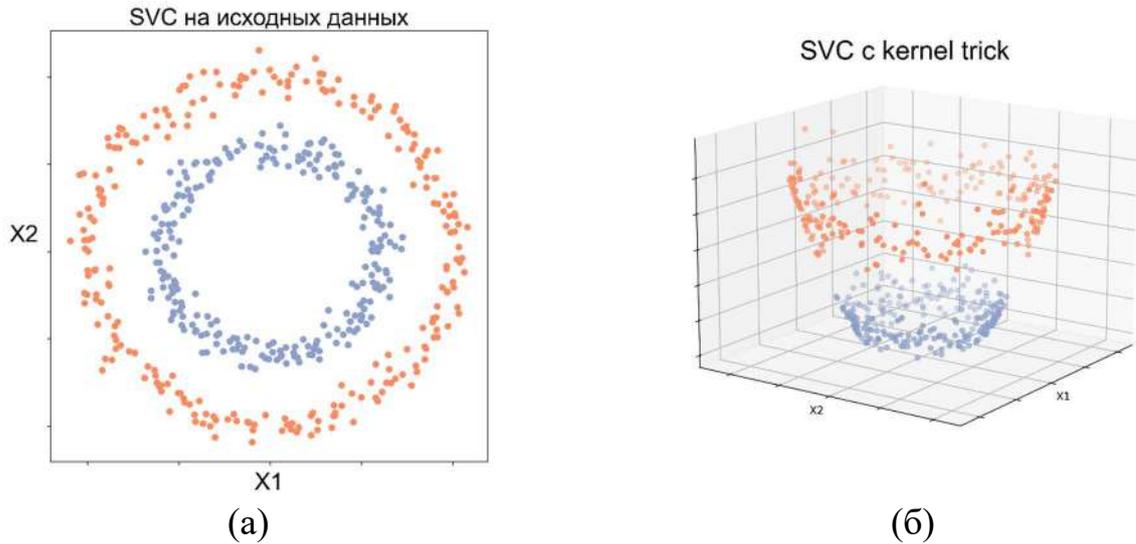


Рисунок 14 — Классификация методом опорных векторов, проецирование исходных признаков в пространство с большей размерностью. (а) Исходное признаковое пространство, линейная разделимость классов невозможна (б) Признаковое пространство после применения kernel trick, достигается линейная разделимость классов.

Для ядерного трюка популярно использование радиальных базисных функций (RBF), позволяющих достигать произвольной степени детализации дискриминантной поверхности, но также склонного к переобучению (рис. 15).

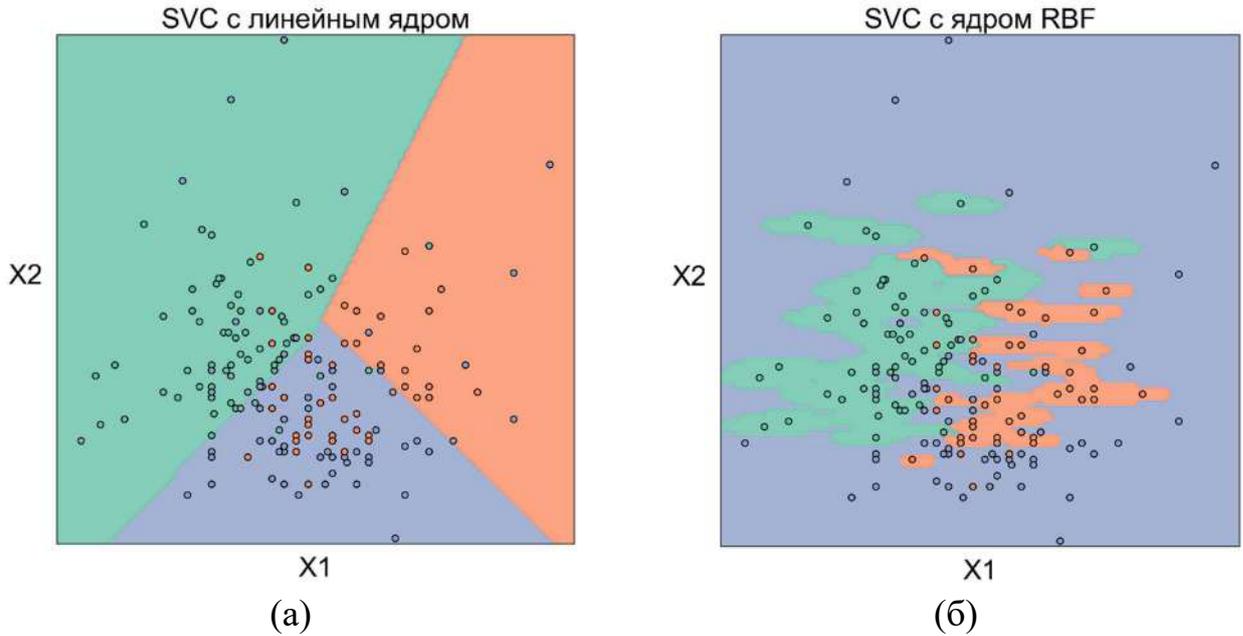


Рисунок 15 — Использование метода опорных векторов с различными ядрами.  
(а) линейное ядро (б) ядро RBF.

Наконец, следует сказать несколько слов о природе самих признаков. И RF, и SVM многие годы с успехом применяются в дистанционном зондировании для обработки спектральных изображений, хорошо известна их способность оперировать спектральной информацией с получением сходных, высокой точности решения семантических задач [205-210].

Однако же признаками могут являться не только спектральные яркости или коэффициенты отражения, но и пространственные данные. Компьютерная обработка изображений основана на численном представлении яркостей отдельных элементов — пикселей. В этом представлении изображение — трёхмерная структура размером  $D \times H \times W$ , где  $D$  — глубина изображения (количество «слоёв»),  $H$  — его высота,  $W$  — ширина. Каждый слой при этом несёт в себе информацию о пространственном распределении некоего признака, которым может быть как яркость в выбранном спектральном канале (наблюдаемая интенсивность отражённого света в определённом спектральном диапазоне), так и суммарная яркость, контрастность, тон [211]. Хорошо известна трёхцветная модель RGB, используемая в компьютерной графике для отображения, также широко используются модели HSL и CIELAB, численное представление трёхцветных изображений в которых лучше соответствует

психофизиологии человеческого зрения [212]. Для спектрофотометрии этот подход аналогичен использованию спектральных коэффициентов отражения и вегетационных индексов в качестве признаков.

Известно, что контраст между соседними пикселями или компонентами цвета одного пикселя более информативны, нежели абсолютные значения яркости, на этом строятся многие подходы к извлечению релевантной информации из цветных (RGB) изображений; к сожалению, прямое обобщение этих методов на спектральные изображения зачастую неосуществимо, поскольку обладает комбинаторной сложностью. Извлечение информации из пространственного контекста и взаимного расположения пикселей же — активно развивающаяся область, в особенности, в последние десятилетия. В этом развитии можно выделить несколько ключевых этапов.

Первой большой группой подходов к обработке пространственно-разрешённых данных является построение так называемых текстурных дескрипторов. Они направлены на описание статистических свойств локальных окрестностей пикселей в различных масштабах. Ключевые методы в этой группе включают матрицу совместной встречаемости уровней серого тона (GLCM) [213], локальные бинарные шаблоны (LBP) [214], дескрипторы, основанные на вейвлет-разложении [215, 216] и случайных полях Маркова [217] и, наконец, банки фильтров Габора [218, 219]. Несмотря на кажущуюся простоту, они являются основополагающими для современной цифровой обработки изображений и доказали свою применимость в задачах, где определение морфологических характеристик объектов затруднено или невозможно — например, в задачах классификации массивов суши в дистанционном зондировании (см., например, [208]). Математически эти задачи всецело аналогичны выявлению повреждений и болезней растений, включая непосредственный мониторинг состояния сельскохозяйственных культур *in situ*. Действительно, подобное применение текстурных дескрипторов описано в литературе [220, 221].

Более новый подход к извлечению информации из изображений основан на нейронных сетях, и его бурное развитие обычно относят либо к появлению AlexNet

в 2012 году [222, 223], либо к прорывным работ Хинтона и др. в 2006 году [224, 225], хотя этот подход активно исследовался и раньше [226]. С тех пор появилось множество архитектур нейронных сетей, некоторые из которых заслуживают особого упоминания. Это: U-Net, нейронная сеть для семантической сегментации изображений [227], R-CNN [228] и Mask R-CNN [229], использующие отдельный механизм поиска областей интереса в решении семантических задач, FCN, позволяющая обрабатывать изображения любых входных размеров [230], и ViT, так называемая трансформерная архитектура, построенная на механизме внимания и способная к обобщению и масштабированию значительно лучше, чем свёрточные нейронные сети (CNN) [231].

Подавляющее большинство работ по фенотипированию, использующих методы машинного обучения, основаны на свёрточных нейронных сетях. В таких подходах используются как одноступенчатые детекторы (подобные YOLO [232]), так и двухступенчатые (подобные Mask R-CNN).

Нейронные сети лучше всего концептуализируются в виде блоков, которые могут быть невероятно гибкими по назначению и структуре и сложным образом связаны между собой. В простейшем случае поток информации в нейронной сети является однонаправленным: каждый слой передает свой вывод на вход последующего. Такие нейронные сети называются нейронными сетями с прямой передачей информации, важным подклассом которых являются как раз свёрточные нейронные сети (CNN). Основным структурным элементом этих сетей является свёрточный слой: по сути, эти слои служат детекторами, сопоставляя области изображения или результат, полученный предыдущими слоями, с известным шаблоном. С каждым слоем промежуточный результат теряет пространственное разрешение, но приобретает информацию о взаимной организации элементов изображения (рис. 16).

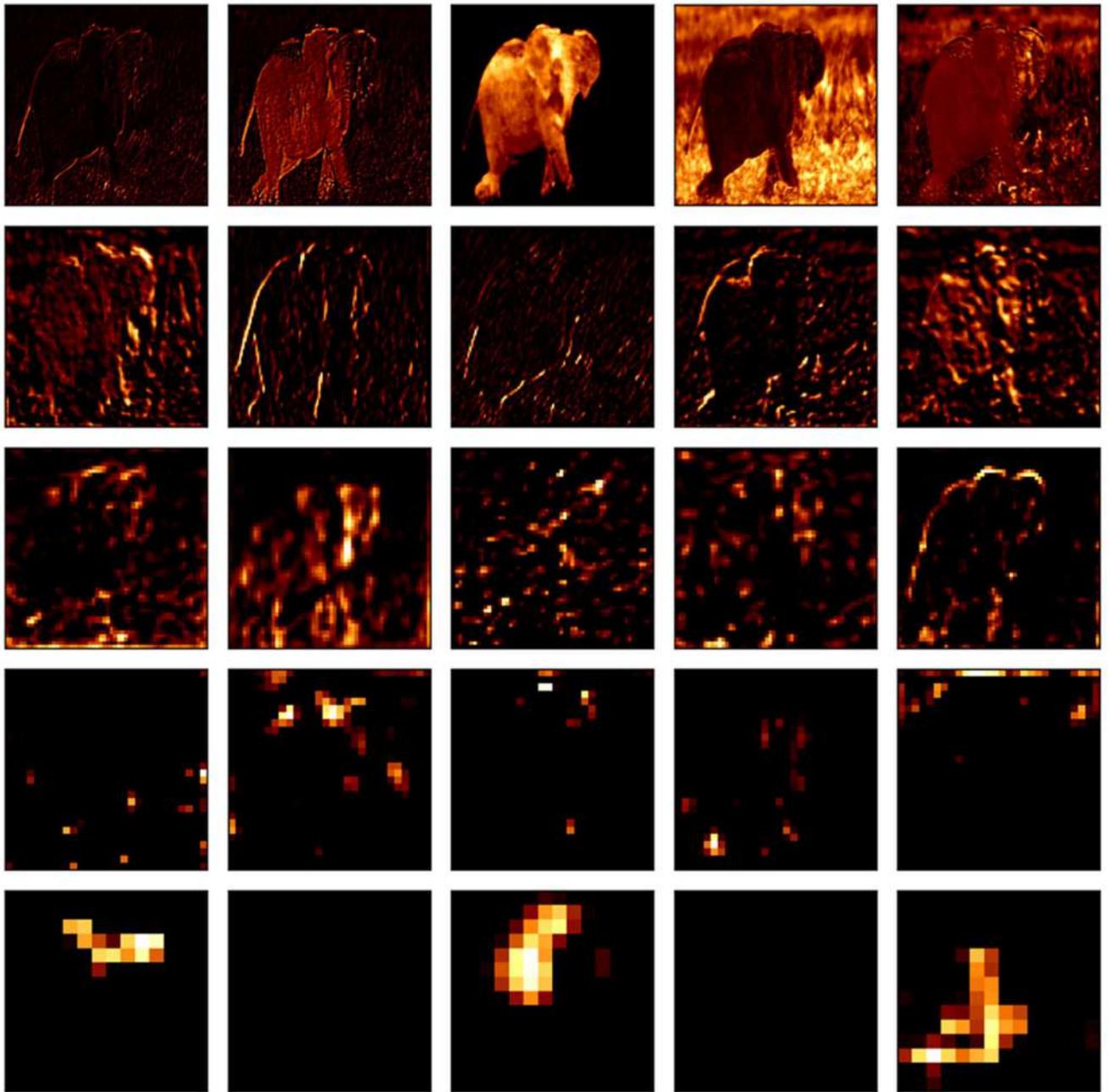


Рисунок 16 — Карты активации, иллюстрирующие переход от низкоуровневых, высокодетальных признаков к высокоуровневым признакам в задаче обнаружения объектов. Двигаясь сверху вниз, модель переходит от текстур высокого разрешения к описанию признаков среднего уровня (в данном примере ими могут быть ноги или уши) и, наконец, к наличию или отсутствию целевого объекта. Визуализация с использованием предварительно обученной модели VGG16 [233], фото David Clode.

Несмотря на свою мощь, анализ изображений на основе машинного обучения имеет свои ограничения, которые могут быть критичными в контексте фенотипирования растений. Наиболее важным является то, что эти подходы в

основном «не знают» об оптических свойствах растительных объектов, таких как спектральное поглощение и рассеяние света, рассматривая их вместо этого как черный ящик. Входные данные для них обычно не содержат физиологически значимой информации в качестве входных данных. Хотя они превосходно справляются с выявлением и количественной оценкой ряда морфологических признаков, они менее эффективны в определении биохимического состава растительных объектов.

К сожалению, использование современных методов машинного обучения — в особенности основанных на нейронных сетях — для обработки спектральных данных столкнулось со значительными трудностями. За исключением ViT, большинство архитектур этих нейронных сетей являются свёрточными, что делает введение большего количества спектральной информации в существующую архитектуру нейронной сети сложной и «дорогостоящей» с точки зрения вычислений задачей. Это особенно верно для гиперспектральных данных.

Соответственно, большинство исследований, выполненных по одновременной обработке пространственных и спектральных признаков, требовали либо резкого снижения размерности по спектральной координате, как в работах [234-236], либо использовали узкое пространственное поле восприятия [237, 238], или использовали не-нейросетевые модели машинного обучения, такие как SVM или RF [239, 240].

Хотя спектральная компонента в гиперспектральных изображениях и является существенно избыточной в информационном смысле [241], она не может быть полностью восстановлена только из данных RGB, что позволяет предположить, что цветные изображения «общего назначения» не могут полностью заменить спектроскопического фенотипирования растений. Поскольку каналы спектральных приборов различаются по количеству и центральной длине волны, накопление и передача знаний, перенос обучения в нейронных сетях практически невозможны без предварительного согласования спектральных диапазонов между приборами. Кроме того, для архитектур, отличных от FCN, нейросетевая модель привязана к

определенному разрешению входного изображения. В целом, модели нейронных сетей менее надежны и непротиворечивы, чем наивные текстурные дескрипторы, но они обеспечивают значительно лучшую производительность в семантических задачах.

Несмотря на эти проблемы, комбинированные пространственно-спектральные подходы уже добиваются успехов в проксимальном зондировании растительности. Мендоза и др. [242] объединили отдельно полученные спектральные и текстурные характеристики для неинвазивного определения твердости плодов яблони и содержания растворимых твёрдых веществ (SSC), Венг и др. [243] оценили содержание SSC, pH и витамина C в клубнике в лабораторных условиях, используя комбинацию спектроскопии и текстурных дескрипторов, Гао и Сюй [244] продемонстрировали совместное использование спектральной и пространственной информации для определения содержания растворимых твёрдых веществ в винограде Red Globe, а Аль Риза и др. [245] объединили пространственно-разрешённые измерения отражательной способности и люминесценции с текстурными характеристиками на основе GLCM для оценки спелости манго. Было показано, что использование текстурных особенностей помогает парировать сложную светотеневую обстановку и слабо контролируемые условия освещения, а также неравномерность пигментации, характерные для растительности *in natura*. Ранее упомянутая вычислительная сложность оказалась непомерно высокой для эффективной интеграции гиперспектральных изображений в алгоритмы обработки изображений на базе CNN, поскольку во всех случаях требовалось либо предварительное уменьшение размерности, либо обработка спектральных данных посредством извлечения отдельных признаков.

Существует несколько подходов к совместному анализу спектральной и пространственной информации. Один из них заключается в том, чтобы пожертвовать спектральным разрешением и использовать мультиспектральную камеру для получения изображений или же, что вычислительно эквивалентно, выбрать небольшое подмножество спектральных полос из гиперспектрального

изображения перед обработкой. Это значительно упростило бы внедрение методов, разработанных для изображений RGB, но не решило бы проблему обобщения модели за пределы использования predetermined спектральных каналов. Ручное создание банков фильтров для текстурного анализа решает проблемы надёжности и интерпретируемости, но является непомерно трудоёмким. Более перспективным подходом видится изучение признаков Габора с помощью машинного обучения, и в последние годы к нему возобновляется исследовательский интерес [246, 247].

Трансформерные архитектуры лучше подходят для обобщения на спектральных изображения, нежели традиционные свёрточные нейронные сети, и показывают обнадеживающие результаты как в гиперспектральной обработке изображений [248, 249], так и в мультимодальных задачах [250, 251], что делает их хорошо приспособленными к обработке данных из множества разнородных источников. Ещё один многообещающий подход — тензорное разложение [252, 253], привлекающее в последние годы повышенное внимание в силу лучшей объяснимости и вычислительной эффективности, нежели большинство широко используемых нейросетевых архитектур, прежде всего, свёрточных.

\* \* \*

Рассмотренный материал охватывает лишь малую часть известных данных о регуляции у растений и проявлении адаптационных процессов в доступных для неинвазивного измерения оптических свойств. Однако и из него ясно, что растения постоянно находятся в хрупком, динамическом равновесии со своей средой обитания. Фенотипические проявления «суперпозиции» генетической программы развития, эпигенетических факторов и условий окружающей среды включают изменения морфологии растительного организма, а также содержания и состава пигментов. В свою очередь, эти процессы проявляются в направленных изменениях оптических свойств растений, что является основой дистанционного и проксимального зондирования — краеугольного камня методологии фенотипирования растительных объектов.

Успехи современных методов фенотипирования во многом обусловлены появившимися возможностями в области автоматизации сбора данных и их обработки. Во всём объёме рассмотренной литературы ясно прослеживается тенденция к поиску автоматизированных, неинвазивных или малоинвазивных методов фенотипирования растений. Хорошо изучена химическая природа пигментов растений, известна их роль в процессах фотосинтеза, многое известно и об их защитных функциях. Исследования *in vivo* могут дать ценную информацию о физиологии растений и пролить свет на координацию стрессового ответа, на разных уровнях — от клеточного до уровня популяций. В силу воздействия огромного числа экзогенных факторов подобные эксперименты требуют сбора и обработки больших массивов данных, для чего необходим обоснованный отбор наиболее информативных из измеряемых характеристик. За десятилетия исследований в области дистанционного зондирования и оптических методов исследования растительных объектов был накоплен богатый опыт, однако его применимость к проксимальному зондированию ограничена: из-за слабой распространённости относительно новой приборной базы данные о процессах, протекающих на уровне органов и тканей и наблюдаемых этими методами, крайне скудны.

## 2 Материалы и методы

### 2.2 Объекты исследования

#### 2.1.1 Растения салата

Растения салата (*Lactuca sativa* var. *crispa* 'Revolution') выращивали из коммерчески доступных семян (Байер, Nunhems) сначала на дерновом субстрате в агрокасетах в течение 15 дней, а затем в течение 20 дней в ёмкостях объемом 1,2 л на том же субстрате в вертикальных теплицах (Panasonic, Япония). Свежесрезанные растения инкубировали в климатической камере (Liebherr, Германия) при постоянной температуре +15°C, относительной влажности 45% и освещении белыми люминесцентными лампами с плотностью потока фотонов 50 мкмоль квантов ФАР  $\times \text{м}^{-2} \times \text{с}^{-1}$ . Плотность потока ФАР измеряли датчиком LI-850 (LiCOR, США) на уровне поверхности листьев. Измерения на растениях проводили на 0, 1, 4, 7 и 11-й дни после срезки. Всего было проведено три независимых эксперимента, каждый в трёх повторностях ( $n = 9$ ).

#### 2.1.2 Растения яблони

Для мониторинга глубины зимнего покоя использовали трёхлетние деревья яблони сорта «Флагман» на подвое 62-396, высаженные по схеме 2,5  $\times$  0,8 на опытной площадке Ботанического сада имени Петра I биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова.

#### 2.1.3 Плоды яблони

Для мониторинга динамики содержания пигментов в органах растений при их развитии, старении и созревании были отобраны плоды яблони (*Malus*  $\times$  *domestica* Borkh.) сортов Лигол, Гала, Голден Делишес, Антоновка обыкновенная (сбор через 80–110 дней после пика цветения), выращенные в коммерческих садах

ООО «Зоринский сад», а также экспериментальных плодовых садов ФГБНУ «ФНЦ им. И.В. Мичурина» и Ботанического сада имени Петра I биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова (Центральный федеральный округ), см. табл. 2.

Стратегия выбора объектов варьировалась в зависимости от решаемой задачи. В экспериментах по определению содержания пигментов и степени зрелости плодов использовали яблоки без видимых повреждений. Для минимизации влияния послеуборочного дозревания на содержание фотозащитных пигментов и их пространственное распределение в соответствующих работах гиперспектральные изображения были получены для яблок на дереве или в течение получаса после съёма. В задачах определения степени зрелости использовали плоды жёлтой, зелёной и жёлто-зелёной окраски сортов Голден Делишес и Лигол, поскольку антоцианы участвуют в важных механизмах фотозащиты, но затрудняют определение соотношения Кар/Хл в тканях плода, которое служит надёжным маркером зрелости [25, 135]. В зависимости от цели измерений, измерения проводили на плодах, растущих на дереве или после трёх месяцев хранения при температуре +4°C в обычной атмосфере.

В задаче неинвазивного определения распределения содержания антоцианов по поверхности плода окраска индуцировалась опрыскиванием 10% раствора (масса : объём) препарата «Прогидрожасмон» (пропил-3-оксо-2-пентилциклопентилацетат, «ЩелковоАгрохим»), улучшающим красную окраску плодов за счет усиления биосинтеза антоцианов в кожице яблока [254]. Сопоставляли следующие экспериментальные варианты: контроль (без обработки препаратом), обработка №1 (1 л га<sup>-1</sup> за 14 и 7 дней до сбора урожая), обработка №2 (2 л га<sup>-1</sup>, за 14 и 7 дней до сбора урожая). Обработка и съёмка плодов производилась без их съёма с дерева.

Таблица 2 — Плоды яблони, использовавшиеся в данной работе

Цель эксперимента	Сорт	Цвет	Число плодов	Источник	Условия
Определение степени зрелости плодов	Голден Делишес	Жёлтый, жёлто-зелёный	20	ФГБНУ «ФНЦ им. И.В. Мичурина», ООО «Агроном-сад»	Съёмка на дереве либо после хранения до трёх месяцев при +4 °С в обычной атмосфере
	Лигол	Красно-зелёный	10	Ботанический сад МГУ	
Детекция повреждений и повреждённых плодов	Гала	Красно-зелёный	100	ООО «Зоринский сад», ООО «Плодообъединение «Сады Ставрополя»	Хранение в обычной атмосфере, съёмка в течение недели после съёма с дерева. Смешанная выборка из здоровых и повреждённых плодов (см. Приложение 1)

## 2.2 Деструктивный анализ биохимического состава

### 2.2.1 Определение содержания пигментов и жирных кислот липидов клеток

Содержание Хл и Кар в плодах и листьях определяли спектрофотометрически, в ацетоновых либо хлороформных экстрактах [255] на спектрофотометре Agilent Cary Bio 300 (Agilent, США) со сферой Ульбрихта. Пробоподготовка кожицы яблок проводилась по методу, описанному там же. А именно, из кожицы, срезанной с поверхности плода и осторожно очищенной от мякоти, сверлом для пробок вырезали 10 высечек диаметром 11 мм, дважды отмывали их дистиллированной водой в течение 1 мин и высушивали между бумажными фильтрами. Для удаления кутикулярных липидов высечки промывали двумя порциями хлороформа по 10 мл в течение 1 мин.

Для предотвращения феофитинизации Хл перед гомогенизацией к высечкам добавляли  $\text{CaCO}_3$  или  $\text{MgO}$ : 200 мг в случае незрелых плодов, собранных в начале августа, и 100 мг — в случае зрелых плодов, собранных в более поздние сроки. Экстракцию пигментов осуществляли по методу Фолча и соавт. [256]: высечки гомогенизировали в фарфоровой ступке в 10 мл смеси хлороформа с метанолом (2 : 1, по объёму) и фильтровали через бумажный фильтр. Затем к фильтрату добавляли дистиллированную воду (1/5 часть от объёма экстракта) и центрифугировали в стеклянных пробирках в течение 10 мин при  $3000 \times g$  до полного разделения хлороформной фазы и водно-метанольной фазы (ВМФ). Содержание Хл и Кар определяли спектрофотометрически с использованием коэффициентов поглощения в метаноле, ацетоне [70] или хлороформе [257].

Для анализа антоцианов к метанольным экстрактам или ВМФ добавляли концентрированную  $\text{HCl}$  (конечная концентрация 0,1%) [258]; в некоторых опытах экстракцию антоцианов осуществляли метанолом, содержащим 0,1%  $\text{HCl}$ . При анализе Ант значение молярного коэффициента поглощения при 530 нм

принимали равным  $30 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$  [258]. Флавоноиды анализировали в ВМФ с использованием молярного коэффициента поглощения  $25,3 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$  при 360 нм, определенного для чистого рутина в метаноле и 60% водном метаноле.

Для анализа ЖК методом газовой хроматографии–масс-спектрометрии (ГХ-МС) проводили реакцию трансметилирования липидов в экстрактах, полученных методом Фолча (см. выше), в присутствии маргариновой кислоты (С 17:0) в качестве внутреннего стандарта. Для этого хлороформную фракцию экстракта выпаривали в роторном испарителе Heidolph LABOROTA 4000 NB digital (Heidolph, Германия). К сухому остатку добавляли 3 мл метанола и 2% (по объему) серной кислоты. Реакционную смесь инкубировали в течение 1,5 часов при  $70^{\circ}\text{C}$  в термостате. Затем экстрагировали метиловые эфиры ЖК в 3 мл гексана. Экстракцию гексаном повторяли трижды. ГХ-МС-анализ метиловых эфиров ЖК включал их разделение при программированном повышении температуры ( $150^{\circ}\text{C} \rightarrow 220^{\circ}\text{C}$  (18 мин.)  $\rightarrow 240^{\circ}\text{C}$  (5 мин + 10 мин. при  $240^{\circ}\text{C}$ )) с использованием газового хроматографа Agilent 7890A (Agilent Technologies, США) соединённого с масс-спектрометром MSD5975 того же производителя. Разделение проводили на колонке DB-23 ( $30\text{м} \times 0,25 \text{ мм} \times 0,25 \text{ мкм}$ ) (Agilent, США). В качестве газ-носителя использовали гелий (1 мл/мин). Идентификацию метиловых эфиров ЖК осуществляли по сравнению их времени удерживания с таковым для заведомых свидетелей «37 component FAME mix» (Supelco, США) и по сравнению их масс-спектров с масс-спектрами в базе данных при помощи программы ChemStation (Agilent, США).

### 2.2.2 Оценка степени зрелости плодов

Зрелость плодов оценивалась по индексу Штрайфа [259]:

$$SI = \frac{FF}{SFI \times TSS'} \quad (5)$$

где FF — твёрдость ( $\text{H} \times \text{см}^{-2}$ ), TSS — содержание растворимых веществ (%) и SPI — значение йодкрахмальной пробы (балл).

Твёрдость определяли цифровым пенетрометром FHT-05 (FHT, КНР). Содержание растворимых веществ измерялось на рефрактометре BRUX СОК-21 (Aqua-Lab, Россия). Для постановки йод-крахмальной пробы яблоки разрезали вдоль продольной оси, смачивали 1% раствором йода и выдерживали до полного проявления окраски в течение 3–5 минут [260, 261], интенсивность окраски оценивалась по шкале, приведённой в [262].

### 2.2.3 Мониторинг зимнего покоя растений

Для объективного контроля глубины зимнего покоя срезали пять однолетних 20-см побегов с экспериментальных деревьев и инкубировали их в водопроводной воде при комнатной температуре. Побеги для экспериментов по инкубации отбирали с пяти деревьев из одного ряда. На двух из них были установлены стационарные РАМ-флуориметры оригинальной конструкции, разработанные сотрудниками кафедры биофизики биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова, с трёх других производился только отбор побегов (рис. 17).

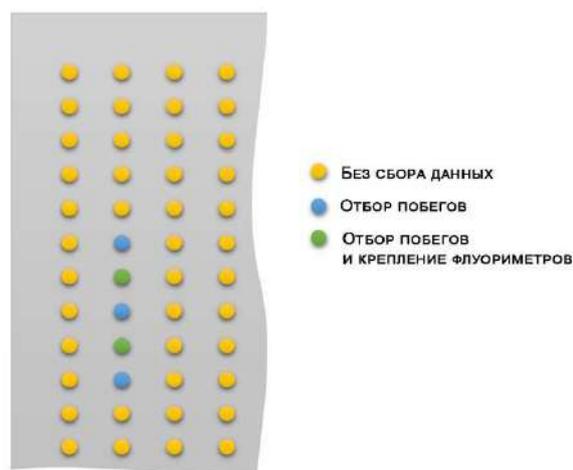
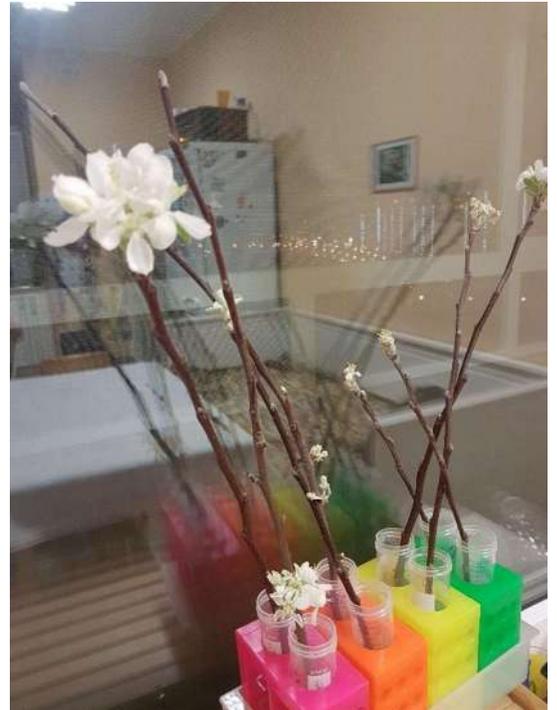


Рисунок 17 — Схема эксперимента по определению глубины зимнего покоя растений.

Критерием перехода растений из глубокого покоя в фазу вынужденного покоя служило распускание почек в 10-дневный период после начала проращивания (рис. 18).



(a)



(б)

Рисунок 18 — Определение глубины зимнего покоя растений деструктивным методом. (а) Отсутствие распускания почек, соответствующее фазе глубокого покоя (б) распускание почек, соответствующее фазе вынужденного покоя. Дата съёмки — февраль 2022 г.

#### 2.2.4 Определение относительного содержания воды в тканях растений

Удельное содержание воды в листьях определяли гравиметрически в соответствии с формулой

$$RWC = \frac{FW - DW}{TW - DW}, \quad (6)$$

где RWC — относительное содержание воды (Relative Water Content), FW — начальная (“сырая”) масса листа (Field Weight), DW — масса листа после сушки (Dry Weight), TW — масса тургесцентного листа (Turgid Weight) [263].

Методика измерений основывалась на процедуре, описанной в [264]. После определения исходной массы листья помещали в ёмкости с водой, и выдерживали при комнатной температуре и слабом освещении (10 мкмоль квантов ФАР  $\times$  м<sup>-2</sup>  $\times$  с<sup>-1</sup>) около 12 часов. Листья затем освобождали от излишков воды при помощи фильтровальной бумаги и взвешивали (TW в ур-и б). Взвешивание повторяли после высушивания листьев в сушильном шкафу при  $t = +80^\circ\text{C}$  до постоянного веса (DW в ур-и б).

## 2.3 Спектральные измерения

### 2.3.1 Измерение «точечных» спектров отражения

Измерения усреднённых спектров отражения плодов проводили на спектрофотометрах Hitachi 150-20 (Hitachi, Япония) и Cary 300 Bio (Agilent, США), оборудованных сферами Ульбрихта и использующими в качестве источников света вольфрамовую лампу накаливания и дейтериевую лампы. В качестве отражательного стандарта использовался спектралон либо сульфат бария; спектры снимали с разрешением 2 нм. Мониторинг яблок в ходе созревания проводился по одним и тем же участкам поверхности плода.

### 2.3.2 Получение гиперспектральных изображений

Спектральные изображения были получены гиперспектрометром IQ (SPECIM, Финляндия), а также сканирующим гиперспектрометром BaySpec OCI-F (Bayspec Inc., США). Радиометрическая калибровка снимков проводилась с синхронной (в случае SPECIM IQ) или предварительной (в случае BaySpec OCI-F)

съёмкой отражательного стандарта, в качестве которого использовалась панель из спектралона. Съёмки проводили как при естественном освещении, так и при искусственном. Измерения при естественном освещении проводили в период с 10 до 15 часов местного солнечного времени. В качестве источников искусственного освещения при съёмках яблок использовали галогенные лампы накаливания, при съёмках листьев салата — люминесцентные лампы холодного света (150 Вт, 4500 К) в сочетании с лампой накаливания (100 Вт). Общий вид экспериментальных установок для лабораторных измерений приведён на рис. 19 и 20.



Рисунок 19 — Стенд для гиперспектральной съёмки листьев салата.



Рисунок 20 — Стенд для гиперспектральной съёмки яблок. Обозначения: 1) транспортное сортировочное устройство, 2) гиперспектральная камера, 3) стол с резиновыми роликами, 4) подвес камеры, 5) шаговые электродвигатели, 6) направляющие, 7) реечные передачи, 8) источник света. По [265].

Конвейерный стенд для гиперспектральной съёмки камерой BaySpec OSI-F был создан сотрудниками агроинженерного центра ФГБНУ ФНАЦ ВИМ [265].

### 2.3.3 Обработка спектров и спектральных изображений

#### 2.3.3.1. Вегетационные индексы

Для количественной оценки пигментного состава тканей наблюдаемых растений за основу были взяты разработанные ранее вегетационные индексы CI, PSRI, mARI, BRI (ур-я (7)–(11)).

Индекс CI чувствителен к содержанию Хл в плодах и листьях. Он рассчитывался по формулам

$$CI_{678} = \frac{R_{800}}{R_{678}}, \quad (7)$$

$$CI_{700} = \frac{R_{800}}{R_{700}}, \quad (8)$$

где  $R_{800}$  — коэффициент отражения на длине волны 800 нм, в которой практически отсутствует поглощение пигментами света, а  $R_{700}$  — коэффициент отражения на длине волны 700 нм, в области так называемого красного края спектра отражения, соответствующего резкому росту альбедо в инфракрасной области, вызванному рассеянием в структурах листа [170].

Индекс PSRI описывает процессы созревания и старения, поскольку чувствителен к изменению соотношения Кар/Хл [94]. Он рассчитывается по формуле

$$PSRI = \frac{R_{678} - R_{480}}{R_{800}}, \quad (9)$$

где  $R_{678}$  — коэффициент отражения на длине волны, соответствующей максимуму поглощения хлорофилла в  $\alpha$ -полосе (678 нм),  $R_{480}$  — коэффициент отражения на длине волны 480 нм, вклад в поглощение в которой вносят как Кар, так и Хл,  $R_{800}$  — как и прежде, коэффициент отражения на «опорной» длине волны 800 нм, свободной от влияния поглощения света пигментами.

Индекс mARI описывает содержание антоцианов в плодах и листьях. Он рассчитывался по формуле

$$mARI = \left( \frac{1}{R_{550}} - \frac{1}{R_{700}} \right) \times R_{800}, \quad (10)$$

где  $R_{550}$  — коэффициент отражения на длине волны 550 нм, чувствительный к содержанию антоцианов,  $R_{700}$  — коэффициент отражения на длине волны 700 нм ( $1/R_{700}$  — член, вводимый для компенсации влияния Хл на поглощение на длине волны 550 нм),  $R_{800}$  — коэффициент отражения на «опорной» длине волны 800 нм [109].

Наконец, BRI служит для детекции полифенольных соединений, образование которых сопровождается фотоповреждениями и иными повреждениями тканей растений. В работе использовалась его модификация mBRI, разработанная коллективом соавторов [139] для плодов с антоциановой окраской. mBRI рассчитывался как

$$mBRI = \frac{1}{R_{640}} + \frac{1}{R_{800}} - \frac{1}{R_{678}}, \quad (11)$$

где  $1/R_{640}$  и  $1/R_{800}$  чувствительны к накоплению меланидинов,  $1/R_{678}$  же описывает вариацию содержания хлорофиллов.

### 2.3.3.2 Разложение спектров на вклады компонент, соответствующих основным группам пигментов

Для разделения вкладов отдельных групп пигментов в спектр отражения использовался подход, описанный в [107]. А именно, спектры отражения переводили в спектры поглощения в рамках теории Кубелки-Мунка, после чего полученные спектры линейно разделялись: решалась задача оптимизации (в смысле L2-меры) разложения спектра поглощения на вклады четырёх пулов пигментов: связанных с тилакоидами Хл и Кар  $R_C(\lambda)$ , кутикулярных/вакуолярных фенольных соединений  $R_P(\lambda)$ , экстратилакоидных каротиноидов  $R_X(\lambda)$  и вакуолярных антоцианов  $R_A(\lambda)$ . При этом накладывалось дополнительное ограничение на неотрицательность каждой из компонент:

$$R'^{-1}(\lambda) = C \cdot R_C^{-1}(\lambda) + P \cdot R_P^{-1}(\lambda) + X \cdot R_X^{-1}(\lambda) + A \cdot R_A^{-1}(\lambda) + \rho(\lambda); \quad (12)$$

$$C, P, X, A \geq 0,$$

где  $R'(\lambda)$  — измеренный спектр отражения;  $R_C(\lambda)$ ,  $R_P(\lambda)$ ,  $R_X(\lambda)$  и  $R_A(\lambda)$  — опорные спектры, а  $C$ ,  $P$ ,  $X$ ,  $A$  — искомые концентрации пигментов в фотосинтезирующих мембранах, фенольных соединений, экстратилакоидных (вторичных) Кар и

вакуолярных Ант, соответственно;  $\rho$  — минимизируемое отклонение измеренного спектра от моделируемой линейной комбинации спектральных вкладов.

Таким образом, задача решалась методом неотрицательных наименьших квадратов (non-negative least squares, NNLS). Для применения описанного метода к гиперспектральным изображениям использовалась оригинальная программная реализация, основанная на алгоритме, приведённом в [266]. При этом спектральный диапазон, в котором проводилось разложение, ограничивался 400–750 нм для исключения влияния ИК-области, в которой отсутствуют пики поглощения света пигментами. В качестве опорных использовались спектры, полученные в работе [107].

#### 2.3.3.4 Алгоритмы и методы машинного обучения

В задаче детекции повреждений использовалась двухэтапная классификация спектральных изображений: сначала каждому пикселу присваивался один из трёх классов «здоровые ткани», «повреждения», «фон», затем на основе доли пикселей, принадлежащих классу «повреждение», изображению присваивалась одна из меток — «здоровое яблоко» либо «повреждённое яблоко». Всего было использовано 100 изображений, применялась стандартная пропорция для разбивки исходного набора данных на обучающий и тестовый наборы 80:20.

Результаты работы сопоставляли с экспертной разметкой, также было использовано две различных экспертных разметки для определения порога согласия между экспертами. Попиксельные классификаторы обучали на небольших подмножествах пикселей каждого изображения, до 3000 (<1% от общего количества). Общая схема использования данных для алгоритмов машинного обучения приведена на рис. 21. Для оценки качества классификации использовалась F-мера

$$F_{\beta} = \frac{(1 + \beta^2) * precision * recall}{\beta^2 * precision + recall}, \beta > 0, \quad (13)$$

где *precision* — точность классификации, а *recall* — её полнота.

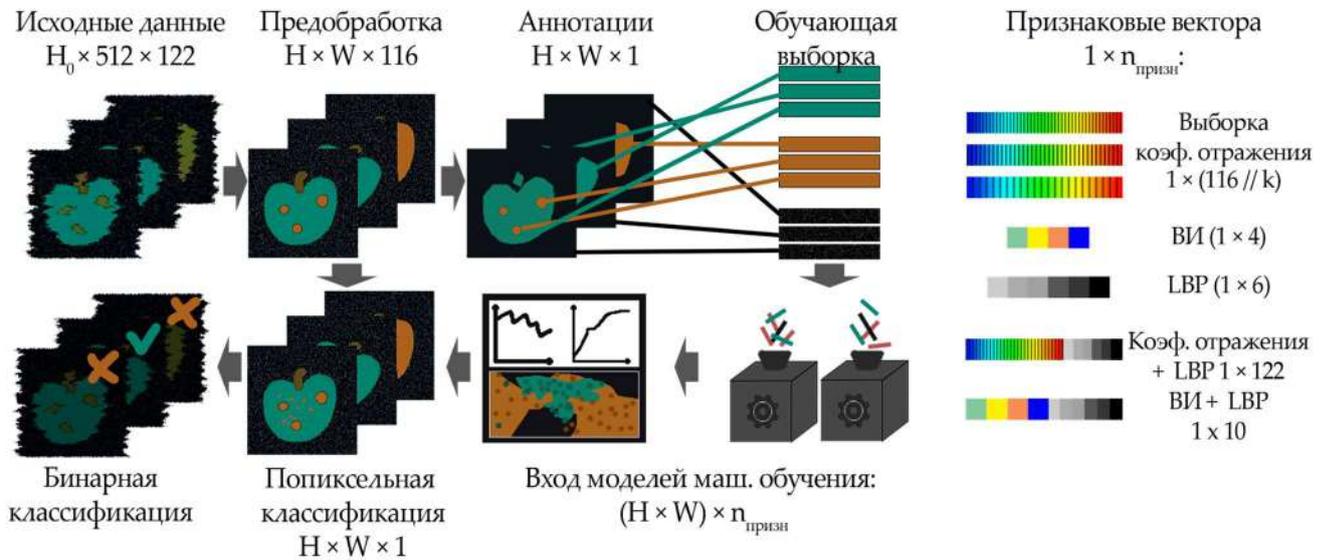


Рисунок 21 — Преобразование данных для моделей машинного обучения, использованных в работе.

Значение  $\beta$  было принято равным 2, поскольку в задаче детекции повреждений куда важнее полнота обнаружения, чем точность. Также использовалась площадь под кривой рабочей характеристики детектора (AUC, area-under-the-curve) рабочей характеристики детектора (ROC, receiver operating characteristic) [267].

Этот критерий учитывает тот факт, что в зависимости от принятого порога обнаружения объекта варьируются как точность, так и полнота обнаружения. Кривая строится в координатах доля истинно положительных срабатываний-доля ложно положительных срабатываний, ROC генератора случайных чисел выглядит как диагональная прямая, выходящая из начала координат под углом в 45 градусов, ей соответствует площадь под кривой  $AUC=0,5$ . Идеальный же классификатор имеет  $AUC=1$  и сохраняет долю истинно положительных срабатываний = 1 во всём диапазоне частоты ложноположительных срабатываний.

В ходе работы сравнивалось качество классификации метрическими классификаторами (SAM), с помощью случайного леса (RF) и метода опорных векторов (SVM). Был также проведён сравнительный анализ различных реализаций алгоритма случайного леса и оценка влияния гиперпараметров на его

работу. Исследовалось влияние баланса классов в обучающей выборке, глубины дерева, весов, присвоенных классам и предобработки данных с использованием спектральных индексов ( $CI_{678}$ ,  $mARI$ ,  $mBRI$ ) в качестве базиса признакового пространства по аналогии с подходом, описанным в [268].

## 2.4 Измерения переменной флуоресценции хлорофилла *a*

### 2.4.1 Пространственно-разрешённые измерения переменной флуоресценции

Измерения флуоресценции листьев салата проводили изображающим РАМ-флуориметром FluorCAM 800 (Photon Systems Instruments, Чехия), регистрирующего и анализирующего индукционные кривые флуоресценции хлорофилла *a* для каждого пикселя изображения растительного объекта, с предварительной темновой адаптацией растений в течение 15 минут. Получение и первичная обработка данных проводили в поставляемом с прибором программном обеспечении FluorCam 7.0, для измерений использовался стандартный протокол « $Q_y$ ». Рассчитывали и анализировали потенциальный максимальный фотохимический квантовый выход второй фотосистемы  $Q_y = \frac{F_v}{F_m} = \frac{F_m - F_0}{F_m}$ , его среднее значение и стандартную ошибку измерения, а также карты пространственного распределения  $Q_y$  по поверхности листа.

### 2.4.2 Мониторинг переменной флуоресценции хлорофилла *a* в побегах

Для неинвазивных экспериментов использовали РАМ-флуориметры оригинальной конструкции, разработанные на кафедре биофизики биологического факультета МГУ [269]. Ранее использование метода РАМ-флуориметрии для измерения фотосинтетической активности было описано преимущественно для хвойных деревьев (см. раздел 1.2.2). В целях проверки его применимости для мониторинга фотосинтетической активности феллодермы побегов яблони были

проведены пробные эксперименты с сопоставлением интенсивности флуоресценции хлорофилла *a* в благоприятных условиях ( $T = +25^{\circ}\text{C}$ ), при холодовом стрессе ( $T = -18^{\circ}\text{C}$ ) и при необратимом повреждении фотосинтетического аппарата. Летальные повреждения индуцировали промораживанием побегов в жидком азоте ( $T = -196^{\circ}\text{C}$ ). Полученные индукционные кривые продемонстрировали чувствительность используемого метода к состоянию ФСА: холодовой стресс вызывал снижение амплитуды кривой, у замороженных побегов же наблюдалось её искажение, характерное для нефункционирующего ФСА (рис. 22).

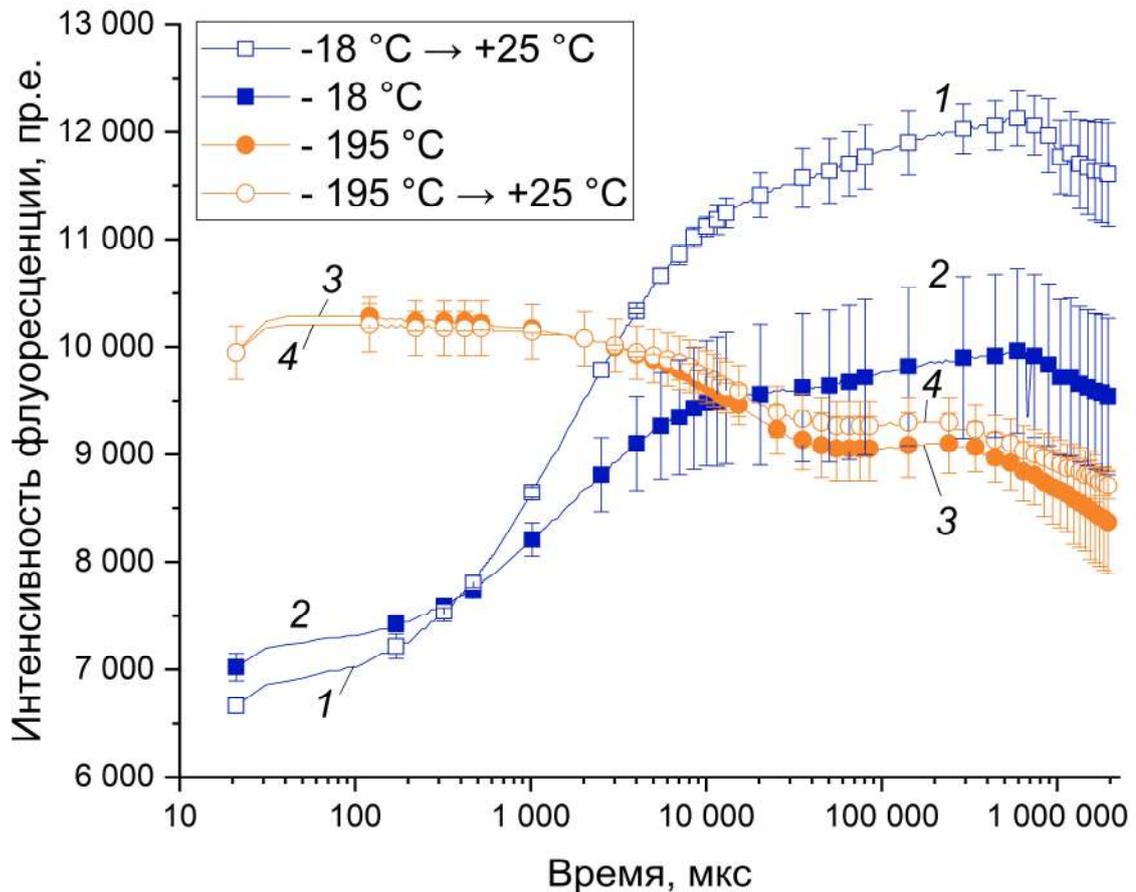


Рисунок 22 — Чувствительность метода РАМ-флуориметрии к низкотемпературным повреждениям ФСА в побегах яблони. Обозначения на графике: 1 — побеги, замороженные при  $-18^{\circ}\text{C}$  и помещённые в благоприятные условия ( $T = +25^{\circ}\text{C}$ ), 2 — побеги при отрицательной температуре ( $T = -18^{\circ}\text{C}$ ), 3 — побеги, замороженные в жидком азоте ( $T = -196^{\circ}\text{C}$ ), 4 — побеги, замороженные в жидком азоте, и затем помещённые в благоприятные условия ( $T = +25^{\circ}\text{C}$ ).

Таким образом был сделан вывод о принципиальной возможности применения неинвазивных флуориметрических измерений для оценки широкого спектра состояний ФСА в побегах яблони (от нормального функционирования до необратимого низкотемпературного повреждения).

В основной части эксперимента РАМ-флуориметры крепили в средней части побега (диаметр около 1,5 см) на высоте около 1,5 м. Измерения индукционных кривых проводили автоматически с получасовым интервалом в период с 17.10.2019 по 21.04.2022 (рис. 23).



(a)



(б)

Рисунок 23 — Крепление РАМ-флуориметров в течение эксперимента.

(а) Начало эксперимента (б) Измерения в ходе зимнего сезона.

Для количественного описания характеристик первичных процессов фотосинтеза использовали методологию ЛР-теста [270], извлечение основных параметров переменной флуоресценции проводилось методом мультиэкспоненциальной аппроксимации [271]. Рассчитываемые параметры ЛР-теста приведены в таблице 3.

Таблица 3 — Параметры ЛР-теста (по [270]).

Параметр	Описание
$F_0$	Минимальный уровень флуоресценции, достигаемый после темновой адаптации
$F_K = F_{300\mu s}$	Переменная флуоресценция на К-шаге (300 $\mu s$ ) индукционной кривой
$F_J = F_{2ms}$	Переменная флуоресценция на J-шаге (2 мс) индукционной кривой
$F_I = F_{30ms}$	Переменная флуоресценция на I-шаге (30 мс) индукционной кривой
$F_P (= F_m)$	Максимальная зарегистрированная флуоресценция (P-шаг индукционной кривой)
$F_v = F_m - F_0$	Максимальная переменная флуоресценция
$V_t = (F_t - F_0)/(F_m - F_0)$	Относительная переменная флуоресценция в момент времени t
$V_J = (F_J - F_0)/(F_m - F_0)$	Относительная переменная флуоресценция на J-шаге индукционной кривой
$M_0$	$dV_t/dt$ (в $ms^{-1}$ ) в момент времени $t=0$
Area	Площадь между индукционной кривой и $F_m$
$\phi P_0 = F_v / F_m$	Максимальный квантовый выход первичных фотохимических процессов (при $t=0$ )

Параметр	Описание
$\psi_0 = 1 - V_J$	Вероятность того, что захваченный экситон передаст электрон за пластохинон $Q_A$ в ЭТЦ ФС II (при $t=0$ )
$\phi_{E0} = ET_0/ABS = (1 - F_0/F_m) \psi_0$	Квантовая эффективность электронного транспорта (при $t = 0$ )
$\delta R_0 = (1 - V_J) (1 - V_I)$	Вероятность восстановления электроном акцептора ФС I
$S_m = (Area)/(F_m - F_0)$	Нормированная площадь над ОЛР кривой
$ABS/RC = M_0 (1/V_J) (1/\phi_{P0})$	Поток захваченной световой энергии в пересчёте на РЦ ФС II
$TR_0/RC = M_0 (1/V_J)$	Поток захваченной за $Q_A$ энергии в пересчёте на РЦ ФС II (при $t=0$ )
$ET_0/RC = M_0 (1/V_J) \psi_0$	Поток электронного транспорта в пересчёте на РЦ ФС II (при $t=0$ )
$DI_0/RC = (ABS/RC) - (TR_0/RC)$	Поток рассеянной в тепло энергии в пересчёте на РЦ ФС II (при $t=0$ )
$RE_0/RC = M_0 (1/V_J) (1 - V_I)$	Поток электронов, восстанавливающих акцепторы ФС I, в пересчёте на РЦ ФС II
$PI_{ABS} = (RC/ABS) \times (\phi_{P0}/(1 - \phi_{P0})) (\psi_0/(1 - \psi_0))$	Интегральный индекс производительности ФСА

Кроме того, рассчитывалась максимальная освещённость с учётом положения Солнца на небосклоне [272], для чего использовали формулы

$$I_D = 1,353 \times 0,7^{AM^{0,678}}, AM = \frac{1}{\cos(\theta)}, \quad (14)$$

где  $I_D$  — инсоляция (в кВт·м<sup>-2</sup>, в таблицах и на графиках обозначена как «Insolation»),  $AM$  — воздушный столб, а  $\theta$  — зенитный угол Солнца. Зенитный угол Солнца вычислялся как функция от времени с использованием пакета skyfield для языка Python и эфемерид DE431 [273, 274].

## 2.5 Статистическая обработка данных

Для результатов экспериментов рассчитывали статистические моменты случайной величины [275] — среднее значение  $m$ , центральные моменты  $\mu_v$  и производные от них величины: стандартное отклонение  $\sigma$  (с применением коррекции Бесселя), коэффициент асимметрии  $\gamma_1$ , коэффициент эксцесса  $\gamma_2$  (там же, с. 207).

$$\mu_v = E[(\xi - m)^v] \quad (15)$$

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum_i (x_i - \mu)^2}{n - 1}} \quad (16)$$

$$\gamma_1 = \frac{\mu_3}{\sigma^3} \quad (17)$$

$$\gamma_2 = \frac{\mu_4}{\sigma^4} - 3, \quad (18)$$

где  $\mu_v$  —  $v$ -й центральный момент, а  $E$  — математическое ожидание величины. У распределений определяли медиану, выделяли моды (там же, с. 202).

Достоверность различий средних оценивалась по одновыборочному критерию Стьюдента, уровень значимости рассчитывался из  $t$ -статистики, нулевая гипотеза отвергалась при  $p < 0,05$ ;  $t$ -статистика рассчитывалась по формуле

$$t = \frac{\bar{x} - m}{\sigma/\sqrt{n}}, \quad (19)$$

где  $n$  — число измерений [276].

## 2.6 Обработка временных рядов наблюдений

В обработке временных рядов измерений использовали методы частотного анализа: быстрое преобразование Фурье, фильтры нижних частот, вейвлет-преобразование. В качестве фильтра низких частот использовалась медианная фильтрация и фильтр Чебышёва, обладающий конечной импульсной характеристикой, что даёт предсказуемый временной сдвиг [277]. Для вейвлет-преобразования использовался вейвлет Морле с коэффициентом  $w_0 = 6$  и частотами, соответствующими диапазону от 1 ч до 512 ч. Программная реализация осуществлялась на языке Python, использовали реализации быстрого преобразования Фурье и фильтра Чебышёва из библиотеки `scipy` версии 1.7.2 [278], вейвлет-преобразования — из библиотеки `ruswt` версии 0.3.0a22 [279].

## 3 Результаты и обсуждение

### 3.1 Мониторинг эффектов водного стресса

В качестве модельной системы для сравнительной оценки методов мониторинга влияния стрессоров на растительные объекты использовали срезанные растения салата, инкубируемые при постоянной температуре, освещённости и влажности (см. раздел 2). В ходе эксперимента регистрировали пространственно-разрешённые данные (гиперспектральные изображения и карты  $Q_y$ , сопоставляя результаты их интерпретации с результатами традиционного биохимического и гравиметрического анализа. Также исследовали влияние наличия барьера между инкубируемым растением (полиэтиленовая упаковка) и окружающей средой на темпы изменения биохимических и иных показателей.

В качестве объективных параметров для оценки степени деградации тканей листа срезанных растений использовали содержание воды в тканях, а также содержание и состав хлорофиллов, суммарных каротиноидов и жирных кислот общих липидов клеток. Биохимический анализ показал, что процесс увядания сопровождается снижением степени насыщенности жирных кислот, вероятно, отражающим деградацию мембран хлоропластов (полиненасыщенные жирные кислоты содержатся, преимущественно, в тилакоидных мембранах хлоропластов [280, 281]).

В первые сутки инкубации в обоих экспериментальных вариантах была зафиксирована резкая потеря влаги срезанными растениями: приблизительно на 18% от исходных значений при хранении в полиэтиленовой упаковке и 50% — для неупакованных листьев. В дальнейшем удельное влагосодержание для упакованных листьев оставалось почти постоянным, в открытой атмосфере же оно плавно снизилось ещё на 17% от исходного, демонстрируя при этом высокий разброс этого параметра начиная с седьмых суток эксперимента (табл. 4, см. также рис. 27г ниже).

Таблица 4 — Изменение удельного влагосодержания в листьях салата при их хранении

Сутки инкубации	Относительное влагосодержание (RWC)	
	Неупакованные листья	Упакованные листья
0	0,66±0,12	
1	0,33±0,03	0,54±0,02
4	0,31±0,06	0,47±0,07
7	0,29±0,15	0,53±0,02
11	0,22±0,14	0,56±0,11

Однако это наблюдалось только для растений, хранившихся без упаковки в полиэтиленовую плёнку. Индекс ненасыщенности упал с  $3,99 \pm 0,11$  до  $2,42 \pm 0,23$ , наиболее заметные изменения в пуле жирных кислот были представлены снижением доли линолевой кислоты — с  $18,26 \pm 0,93\%$  до  $9,84 \pm 0,57\%$  — и ростом доли пальмитиновой кислоты с  $14,81 \pm 0,32\%$  до  $21,74 \pm 1,31\%$ .

Для листьев, хранившихся в полиэтиленовой упаковке, значимых изменений не наблюдалось (индекс ненасыщенности изменился от  $3,99 \pm 0,04$  до  $4,04 \pm 0,64$ ). Общее содержание жирных кислот, однако, к 4 суткам эксперимента выросло, а затем начало снижаться, причём это снижение было существенно, почти вдвое более резким в случае упакованных листьев (табл. 5).

В совокупности эти данные рисуют картину развития водного стресса (аналога засухи), по-видимому, сопровождающегося деградацией хлоропластов на поздних этапах (начиная с седьмых суток). Описанные процессы сопровождались визуально наблюдаемым увяданием листьев. Ускоренное снижение концентрации жирных кислот липидов в упакованных листьях по сравнению с неупакованными

можно связать, прежде всего, с недостаточной вентиляцией, приводящей к накоплению этилена в упаковке — см., например, [282-285].

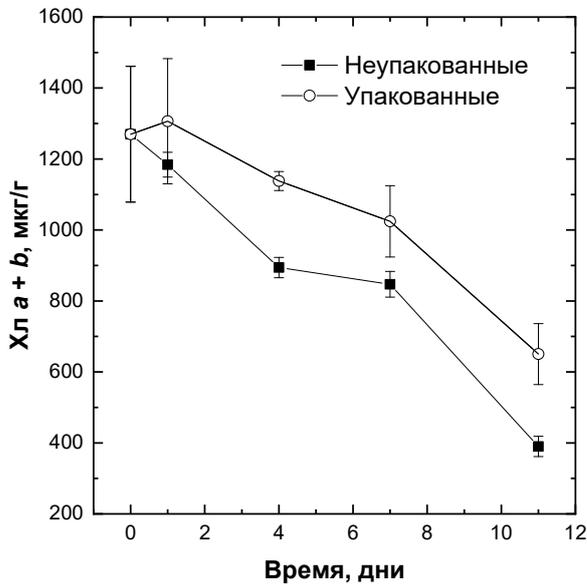
Таблица 5 — Изменение содержания суммы жирных кислот липидов в листьях срезанных растений салата при инкубации в климатической камере (см. раздел 2)

Сутки инкубации	Содержание жирных кислот, мг/г сырого веса	
	Неупакованные листья	Упакованные листья
0	3,21±0,05	
1	3,81±0,05	4,10±0,12
4	3,78±0,17	4,37±0,11
7	3,36±0,14	3,61±0,13
11	3,29±0,18	3,04±0,36

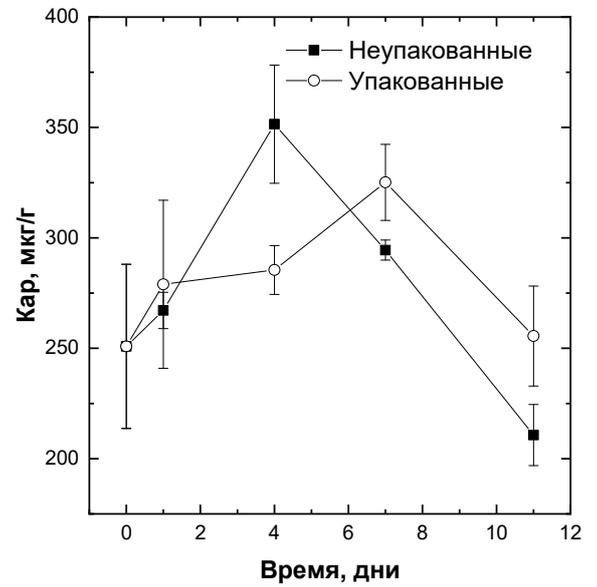
Известно, что для растений вида *Lactuca sativa* нелетальный стресс приводит к обратимому, временному повышению выработки этилена [286]. Поскольку в наших экспериментальных условиях воздействие было необратимым (растения были срезаны), после выхода за пределы физиологической пластичности растений наблюдали фазу деградации (по ряду параметров аналогичную процессам естественного старения интактных растений), сопровождавшаяся деградацией фотосинтетического аппарата. Как будет показано ниже, скорость протекания этих процессов в разных участках растительного объекта оказалась весьма гетерогенной.

Динамика изменения содержания пигментов в ходе эксперимента также качественно соответствовала двухэтапному процессу, описанному выше. Так, в начале эксперимента наблюдался резкий рост содержания каротиноидов (по-видимому, вторичных), однако впоследствии оно снизилось. При этом пиковая концентрация была достигнута на 4 сутки эксперимента для неупакованных листьев и на седьмые — для листьев, хранившихся в упаковке, разница между максимальными значениями была статистически несущественной. За период

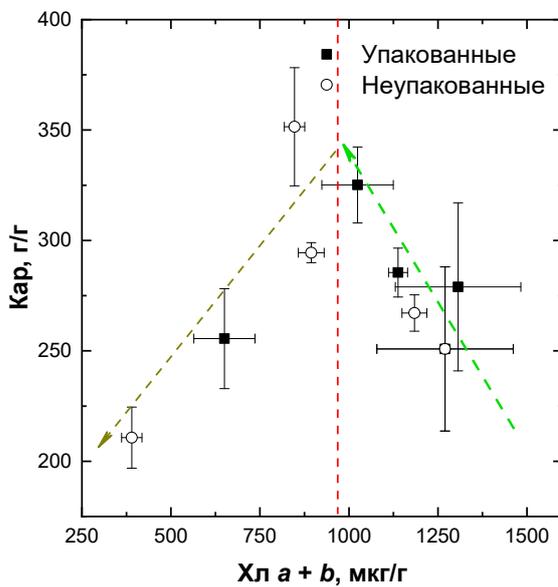
наблюдения рост соотношения содержания каротиноидов к содержанию хлорофилла составил 173% для неупакованных растений и 99% для упакованных (рис. 24).



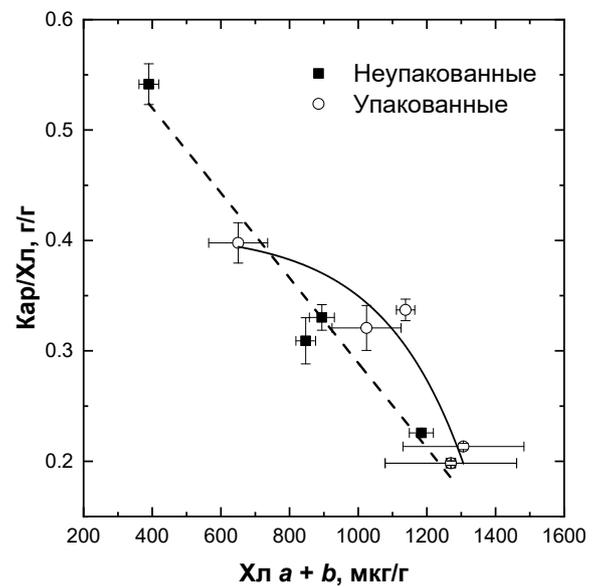
(а)



(б)



(в)



(г)

Рисунок 24 — Изменение содержания Хл (а) и Кар (б, в), а также соотношения этих параметров (г) в зависимости от времени инкубации срезанных растений салата в постоянных условиях (а, б) и от содержания хлорофиллов (в, г).

Следует отметить сравнительно высокий разброс содержания вторичных каротиноидов, хлорофиллов и воды в тканях между растениями даже внутри одного экспериментального варианта, характерная для проявления стрессовых ответов. Снижение разброса этих параметров к концу периода наблюдений можно объяснить глубокой деградацией хлорофиллов в ассимилирующих тканях листа.

### 3.1.1 Динамика пространственного распределения фотосинтетической активности

До вышеописанных деструктивных тестов проводили интегральную оценку физиологического состояния растений методом изображающей флуориметрии. С этой целью использовали статистические моменты измеренного максимального квантового выхода ФС II ( $Q_y$ ). Средние значения и стандартные отклонения для  $Q_y$  для растительных объектов в различные дни эксперимента приведены в таблице 6. Как видно из таблицы, изменения средних значений к седьмым суткам эксперимента оказались в целом несущественны (не превышают 0,05, что ниже характерных стандартных отклонений) для большей части образцов, несмотря на выраженные визуальные признаки увядания и деградации (рис. 25).



Рисунок 25 — Репрезентативное изменение внешнего вида листьев: (а) первые сутки эксперимента (б) седьмые сутки эксперимента. Визуально различимое увядание не сопровождается значимым снижением среднего значения  $Q_y$ .

Таблица 6 — Изменение средних значений  $Q_y$  в ходе эксперимента.

Неупакованные листья									
День	Номер образца								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	0,73±0,06	0,72±0,06	0,74±0,05	0,64±0,13	0,70±0,08	0,58±0,09	0,73±0,07	0,66±0,10	0,66±0,09
1	—	—	0,73±0,06	0,70±0,08	0,71±0,10	0,64±0,10	0,74±0,06	0,71±0,10	0,62±0,29
4	—	—	0,72±0,08	0,70±0,11	0,70±0,07	—	0,73±0,07	0,70±0,08	0,69±0,10
7	—	—	0,68±0,17	0,75±0,08	0,63±0,20	—	—	0,70±0,11	0,69±0,09
11	—	—	0,68±0,14	0,59±0,21	0,61±0,17	—	—	—	0,64±0,13
Упакованные листья									
День	Номер образца								
	10	11	12	13	14	15	16	17	18
0	0,66±0,09	0,73±0,07	0,71±0,07	0,72±0,06	0,70±0,07	0,68±0,10	0,69±0,10	0,69±0,07	0,76±0,05
1	0,65±0,09	0,71±0,08	0,70±0,07	0,73±0,06	0,63±0,08	0,69±0,09	0,70±0,06	0,75±0,07	0,69±0,14
4	0,73±0,07	0,75±0,06	0,71±0,07	—	0,67±0,09	0,69±0,11	0,70±0,10	0,69±0,13	0,74±0,08
7	0,62±0,17	0,67±0,09	0,68±0,12	—	—	0,69±0,12	0,70±0,08	0,62±0,19	0,75±0,07
11	0,52±0,18	0,61±0,18	0,55±0,15	—	—	—	0,53±0,20	0,58±0,22	0,62±0,16

Так, на 11 сутки у ряда образцов наблюдали признаки деградации тканей: гниль у образца №4, поражения плесенью у образцов №9 и №10, гниль в сочетании с поражением плесневыми грибами у образца №16. При этом почти во всех описываемых случаях наблюдалось тенденцию к снижению средних значений  $Q_y$  (за исключением образца №9). Для упакованных листьев было характерно снижение  $Q_y$  к 11 суткам эксперимента. Однако же в целом средние значения  $Q_y$  с очевидностью не позволяют пронаблюдать развитие водного стресса и адаптационные процессы в изучаемых растениях, особенно на более ранних этапах их развития.

В совокупности эти результаты могут свидетельствовать о том, что основные негативные изменения могут затрагивать небольшие по удельной площади доли листа, а скорость и полнота разрушения хлорофилла характеризуется выраженной пространственной гетерогенностью (что согласуется с видом карт распределения  $Q_y$ , их детальный анализ описан ниже; см. также пример распределения значений  $Q_y$  по площади листа на рис. 26).

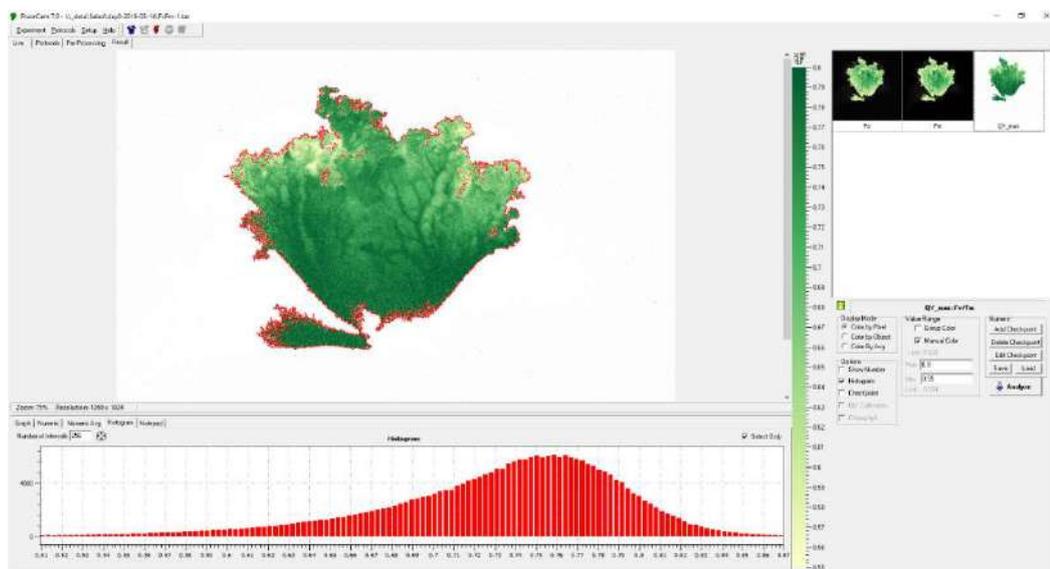


Рисунок 26 — Распределение значений  $Q_y$  по площади листа в интерфейсе ПО FluorCam 7.0. В нижней части изображения построена гистограмма распределения значений  $Q_y$  по площади листа. Тёмно-зелёные области соответствуют высоким уровням фотосинтетической активности.

Состояние большей части листа оказывается, таким образом, неинформативным: адаптация к стрессорам приводит к удержанию биофизических параметров в рамках физиологической нормы. Иными словами, растение “предпочитает” пожертвовать небольшой частью тканей листа для сохранения общей продуктивности. В качестве наглядного примера такой стратегии, описанной в литературе, можно привести деполимеризацию микротрубочек при естественном старении листа. Она происходит неравномерно — в частности, разрушение цитоскелета начинается раньше всего в клетках эпидермы и губчатой паренхимы [287], при этом сеть микротрубочек остаётся интактной в замыкающих клетках даже на поздних стадиях старения.

Ввиду неэффективности мониторинга стресса по средним значениям  $Q_y$  была предпринята попытка сопоставления визуальной оценки состояния растений с  $Q_y$ , кластеризованными на три условные категории, соответствующие различным уровням активности ФС II [288, 289]:

- Низкая активность —  $0,4 < Q_y < 0,6$
- Средняя активность —  $0,6 < Q_y < 0,7$
- Высокая активность —  $Q_y > 0,7$

Далее исследовали динамику долей площади листа, соответствующих по своим значениям  $Q_y$  каждой из постулированных выше категорий. Для этого соотносили число пикселей с соответствующими значениями  $Q_y$  с общим числом пикселей в изображении растительного объекта:

$$f(\min, \max) = \frac{\sum_{i=1}^N [\min \leq Q_y^i \leq \max]}{N}, \quad (20)$$

где  $N$  — общее количество пикселей в изображении,  $Q_y^i$  — значение  $Q_y$  в пикселе  $i$ , а  $[P]$  — скобка Айверсона, принимающая значение 1, если условие  $P$  выполняется, и 0 в противном случае. Иными словами,  $f(\min, \max)$  — отношение количества пикселей, в которых  $\min \leq Q_y \leq \max$ , к общему количеству пикселей  $N$ .

При этом предполагалось, что деградация тканей срезанных растений должна привести к снижению фотосинтетической активности, соответственно доля пикселей, отражающих низкую фотосинтетическую активность, будет расти, а доля пикселей с высокими значениями  $Q_y$  — снижаться.

Это предположение не подтвердилось в эксперименте: доля площади листа с высокой фотосинтетической активностью не только не уменьшилась, но и выросла к концу наблюдений. Этот эффект наблюдался только у растений, хранившихся в открытой атмосфере: у герметично упакованных листьев выраженная динамика фотосинтетической активности в этой категории практически отсутствовала (рис. 27).

Тот же результат дают и усреднённые значения: в первый день эксперимента среднее значение  $Q_y$  по площади листа оказалось равным  $0,69 \pm 0,04$ , в седьмой —  $0,68 \pm 0,04$ . Однако за то же время существенно выросли характерные значения стандартных отклонений этого значения в пределах каждого изображения — от 0,075 до 0,124, в отдельных случаях доходя до 0,2. По-видимому, листья обладают достаточно высокой физиологической пластичностью, чтобы компенсировать водный стресс и поддерживать исходный уровень фотосинтетической активности даже при потере влагосодержания в 50–80% от исходных значений. В итоге средние значения исследованных параметров изменялись незначительно, но росло стандартное отклонение, т.е. гетерогенность распределения всех параметров. Последнее явление характерно для стрессовых состояний (см. [290], обзор [291] и ссылки в нём). В ряде исследований прямо наблюдалась гетерогенность распределения  $Q_y$  при водном стрессе, позволяющая качественно разделить ткани по состоянию ФСА, однако значимые различия в них наблюдались только на уровне органов либо были смоделированы по косвенным признакам [292, 293]. Таким образом, использование  $Q_y$  для мониторинга процессов, сопровождающих

повреждение, индуцированное старением и увядание листьев, в рассмотренном примере видится крайне затруднительным.

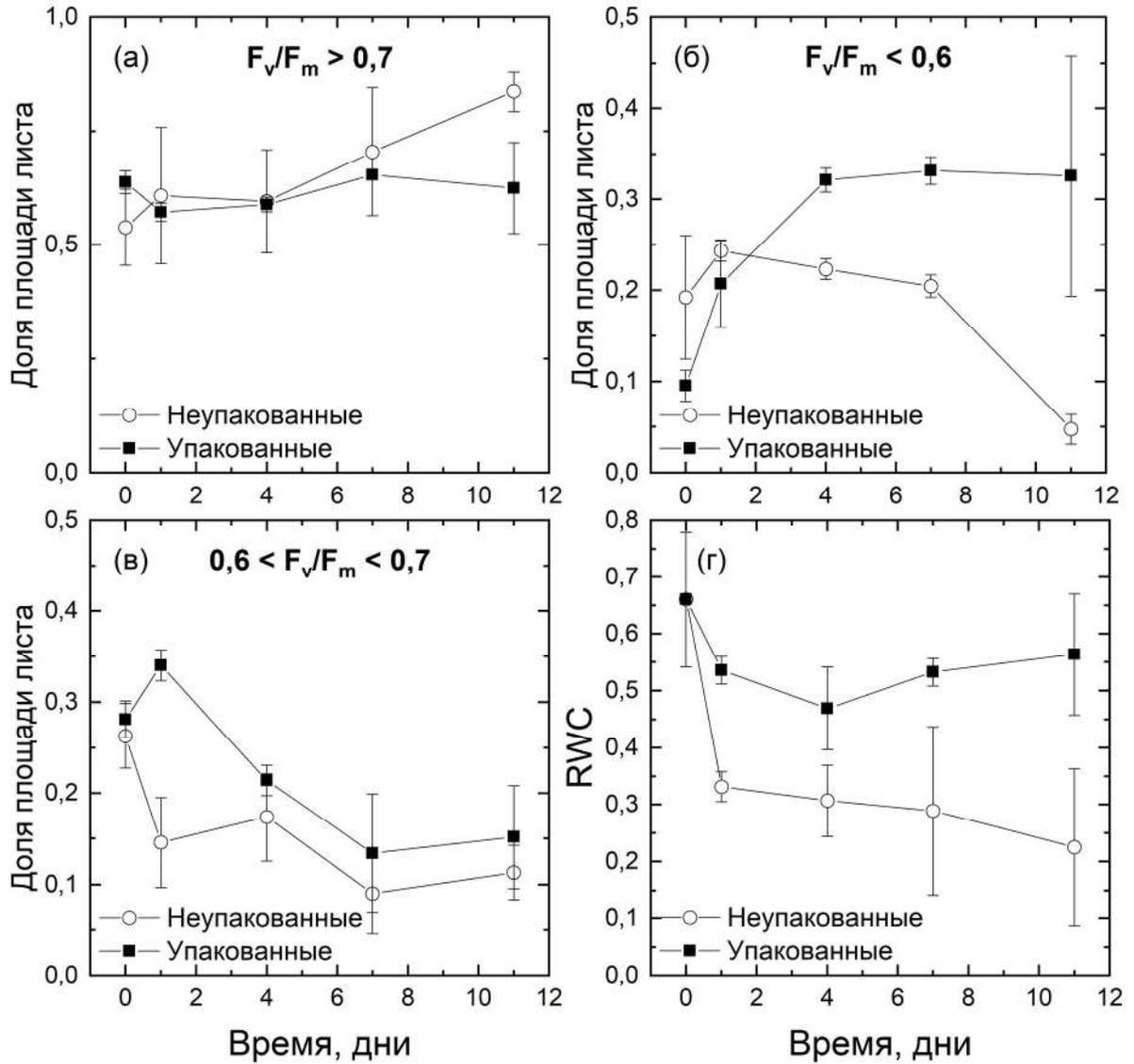


Рисунок 27 — Динамика изменения долей площади листа с разным уровнем фотосинтетической активности и его оводнённости: (а) высокая активность (б) средняя активность (в) низкая активность (г) изменение относительного содержания воды.

### 3.1.2 Гиперспектральный мониторинг динамики пространственного распределения и трансформации пигментов

В качестве альтернативной реализации неинвазивного мониторинга состояния срезанных растений салата нами были использованы гиперспектральные изображения (hyperspectral reflectance images, HRI), для обработки которых применялся подход, основанный на вегетационных индексах (ВИ)  $CI_{678}$  и PSRI (см. разделы 1.4.2 и 2.3). Следует отметить, что исходно данные ВИ были разработаны для «точечной» спектрометрии отражения, поэтому для применения их к анализу гиперспектральных изображений требовалось убедиться в их чувствительности к искомым параметрам, а также выбрать алгоритм обработки пространственно-разрешенной информации о растениях, представленной в виде массивов значений вышеупомянутых ВИ.

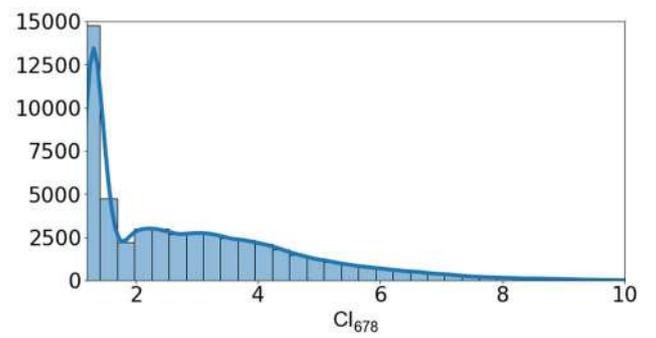
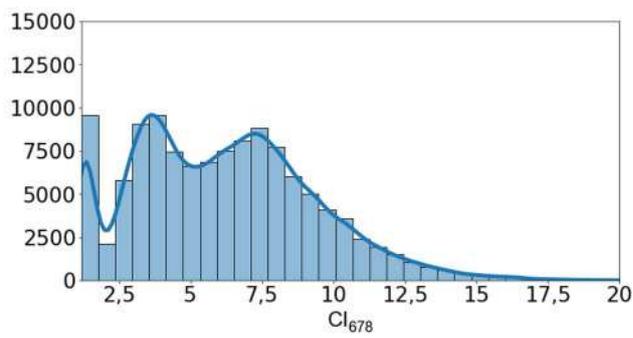
Пространственное распределение значений спектральных индексов было визуализировано в виде тепловых карт и количественно описано соответствующими гистограммами; репрезентативные результаты представлены на рис. 28.



(a)



(b)



(B)

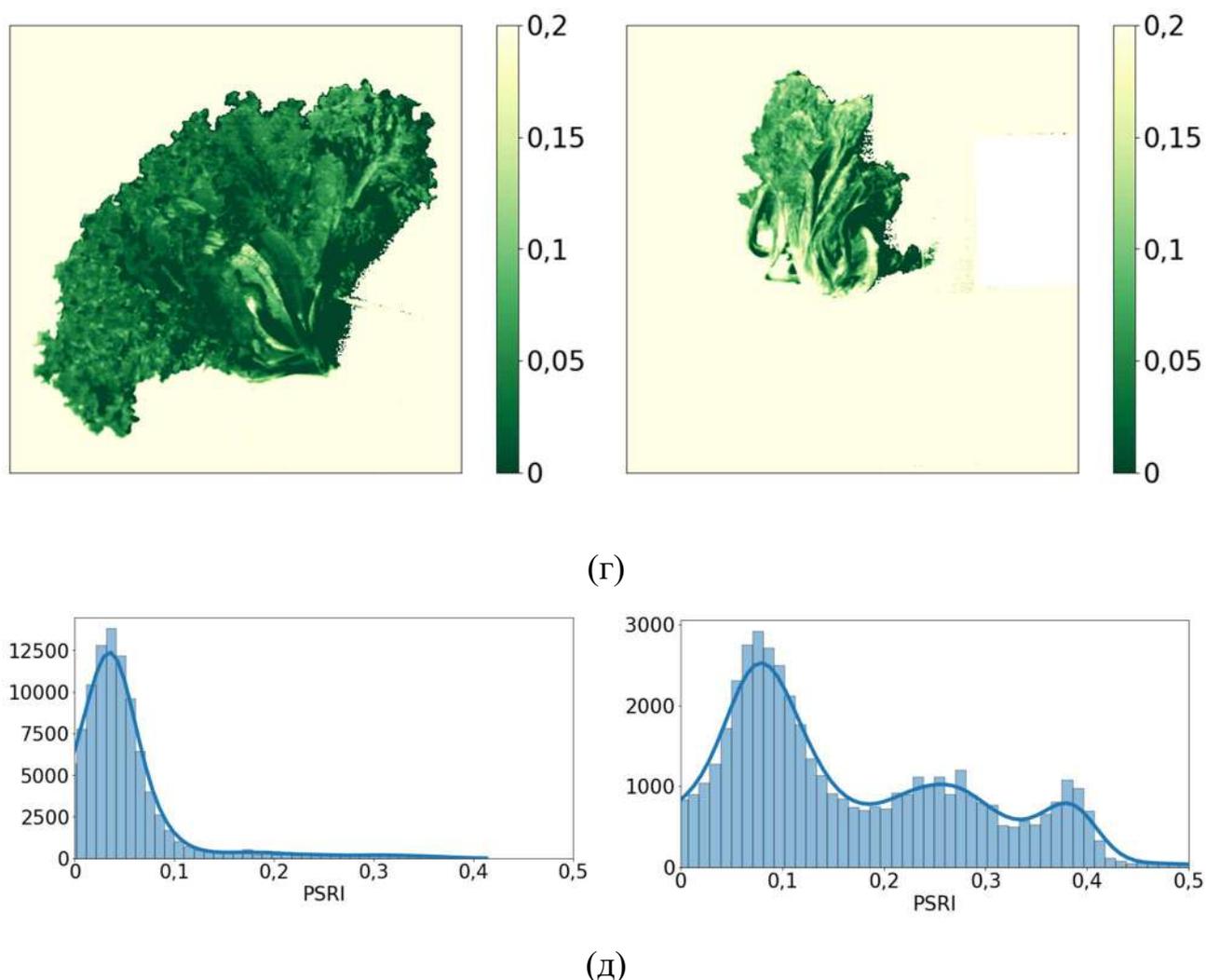


Рисунок 28 — Визуализация различий между срезанными растениями в начале эксперимента (левый столбец) и в конце (правый столбец). Показаны репрезентативные данные: общий вид растений (а), а также пространственное распределение (б) и гистограммы значений индекса  $CI_{678}$  и аналогичные данные для индекса PSRI (г, д).

Экспериментально измеренные гиперспектральные изображения растительных объектов были использованы для расчета индексных изображений, отражающих распределение значений ВИ по поверхности объекта. Эти изображения были качественно сходны с визуализациями значений  $Q_y$  (ср. рис. 26 и 28б,г). В частности, на индексных изображениях отчётливо наблюдались жилки

(характеризующиеся более низким содержанием пигментов), а на поздних этапах эксперимента — повреждения по краям листовой пластины.

В целом, индексные изображения листьев, рассчитанные на основе хлорофилльного индекса  $CI_{700}$ , демонстрировали снижение числа пикселей, соответствующих областям растения с высоким содержанием Хл, с одновременным увеличением числа пикселей, соответствующих областям со сниженным содержанием Хл. На гистограммах этот процесс выглядит как смещение максимума распределения значений  $CI_{700}$  влево (см., например, рис. 29а). Ожидаемо, индексные изображения, рассчитанные по значениям «индекса старения» PSRI, демонстрировали противоположную динамику: снижалось число пикселей, соответствующих областям растения с низким отношением Кар/Хл, с одновременным увеличением числа пикселей, соответствующих областям с более высоким отношением Кар/Хл (рис. 29б).

Как и в случае параметров переменной флуоресценции, простые метрики — медиана, мода, коэффициенты эксцесса и асимметрии, рассчитанные для использованных ВИ, не выявили четко выраженной динамики в ходе эксперимента (данные не приводятся). Таким образом, данные метрики оказались непригодными для интегральной оценки состояния растительных объектов в наших экспериментальных условиях. Тем не менее, анализ гистограмм позволил выявить ряд характерных изменений в распределении значений ВИ в ходе инкубации срезанных растений (см., например, рис. 29).

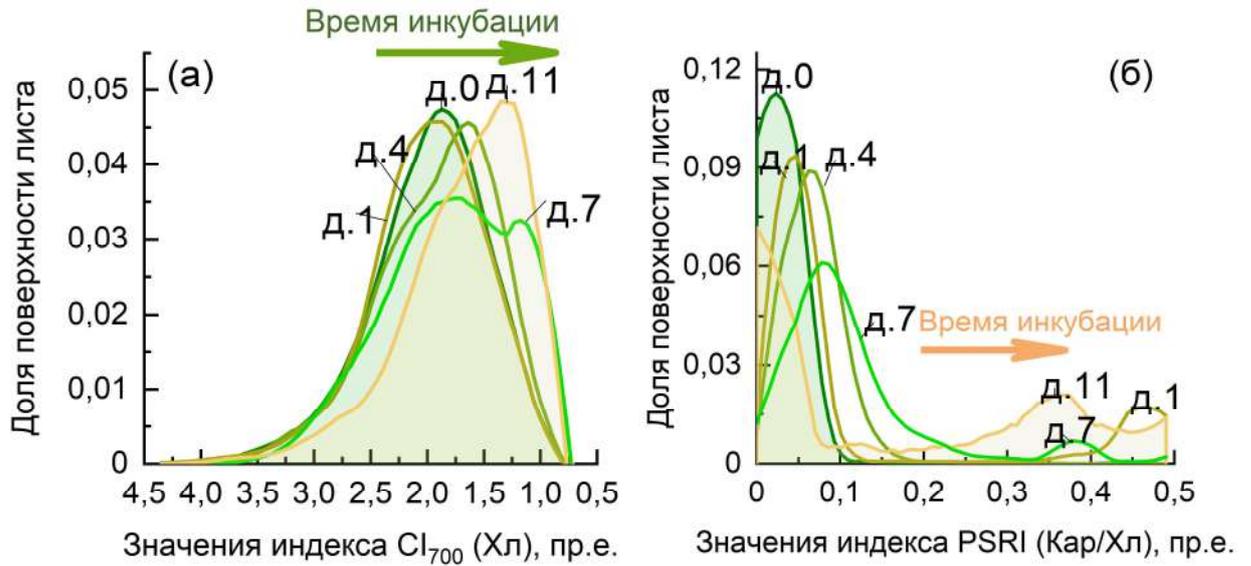


Рисунок 29 — Репрезентативные изменения распределений значений индексов (а)  $CI_{700}$  и (б) PSRI в ходе эксперимента. Срок инкубации указан цифрами рядом с кривыми.

Так, следует отметить бимодальность гистограмм ВИ: две моды, отчётливо видимые на рис. 28в, соответствовали прижилковым участкам (в которых Хл деградировал медленнее) и периферийным областям листовой пластинки (в них деградация Хл шла быстрее).

Обнаруженные свойства распределений ВИ позволили предложить метрику к интегральной оценке состояния растительного объекта на основе выделения и количественного описания наблюдаемых мод этих распределений. Очевидно, что искомая метрика 1) должна быть пригодна для сравнения растений в широком диапазоне их физиологических состояний и 2) не зависеть от размеров (проекционной площади) объекта.

Для решения данной задачи проводили поиск наиболее переменных диапазонов значений ВИ. Гистограммы распределений индексов интерпретировали как плотности вероятности, соответствующие различным значениям индексов, для чего проводилась их нормировка на общее число пикселей, составляющих изображение растительного объекта. Динамический

диапазон значений индекса  $CI_{700}$  составлял 0–10. Он охватывал более 99% рассчитанных значений этого ВИ на всех полученных гиперспектральных изображениях. Более высокие значения индекса не дают адекватной оценки Хл из-за насыщения зависимости коэффициентов отражения от концентрации Хл и вытекающей из неё нелинейности [294]. Диапазон значений 0–2 соответствует фону и тканям с изначально низким содержанием Хл [94, 295], его изменения были связаны с увяданием и результирующим ростом удельной площади прожилок на изображении, поэтому из дальнейшего рассмотрения эти части диапазона вариации ВИ были исключены. По сходным соображениям, для PSRI использовали значения в диапазоне от 0 до 0,5 [94].

Анализ наиболее чувствительных к изменениям диапазонов индексов проводился путём построения гистограмм с 30 равными интервалами (bins) в диапазонах, выбранных для каждого из индексов. Интервальные суммы затем нормировали на общую площадь для каждого спектрального изображения. Для каждого интервала полученных гистограмм рассчитывалась дисперсия плотности вероятности распределения значения индекса по всем полученным снимкам. Полученная дисперсия служит мерой информативности принадлежности пикселей к тому или иному диапазону значений и таким образом описывает целесообразность включения этого диапазона индекса в конечную метрику. Графики распределений дисперсии в зависимости от диапазона значения индекса показаны на рис. 30.

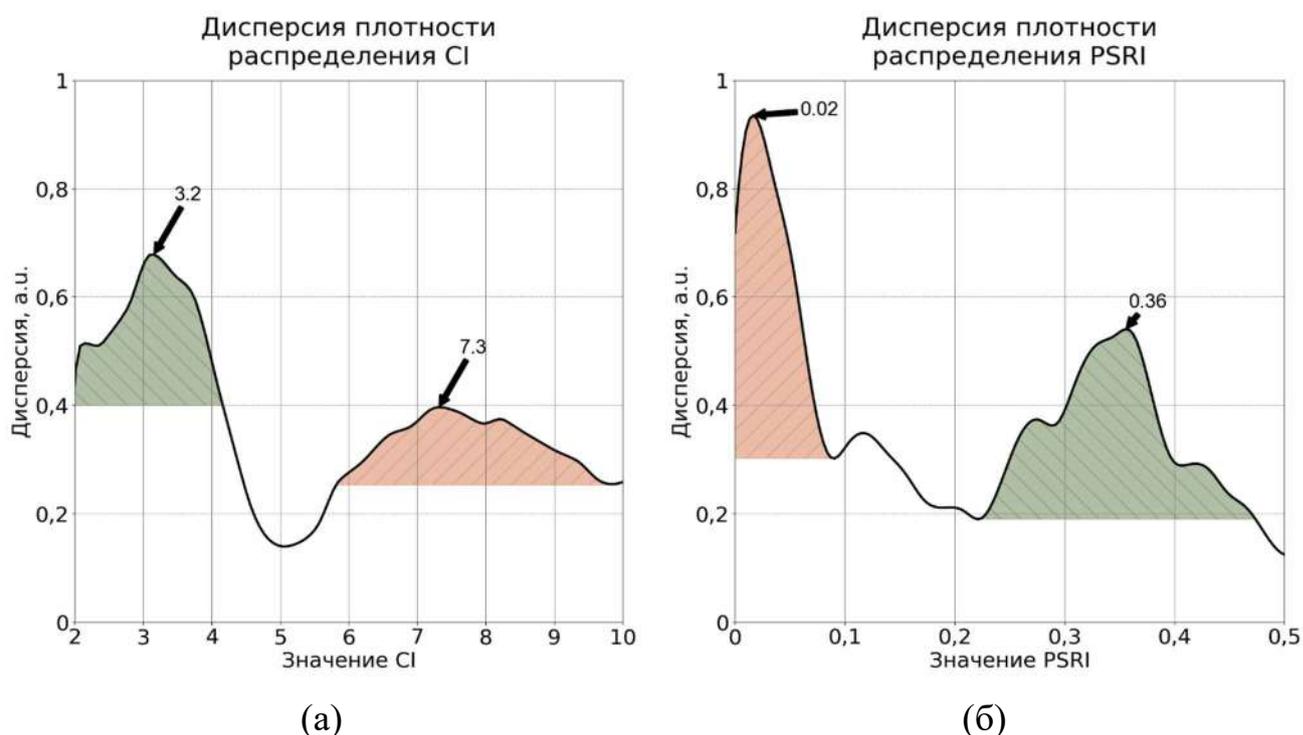


Рисунок 30 — Распределения дисперсий плотности вероятности значений ВИ как мера их информативности для описания соответствующих изменений пигментного состава в растительных объектах.

Таким образом, было получено количественное описание информативности значений ВИ в различных диапазонах с учётом их представленности на изображениях объектов. Видимая бимодальность сохраняется и на этих распределениях, что говорит о целесообразности выделения каждой из мод в отдельный признак. Признаком в данном случае будет служить суммарная доля пикселей в некотором диапазоне значений индекса, то есть площадь под кривой плотности распределения. На основании вышеописанных критериев (рис. 0) для дальнейшего анализа были выбраны следующие диапазоны значений ВИ:

- Для  $CI_{678}$  — от 2 до 4 и от 6 до 10;
- Для PSRI — от 0,2 до 0,5 и от 0 до 0,1.

Репрезентативный пример изменения распределения  $CI_{678}$  в ходе эксперимента и выбранные участки гистограммы (диапазоны) показаны на рис. 31.

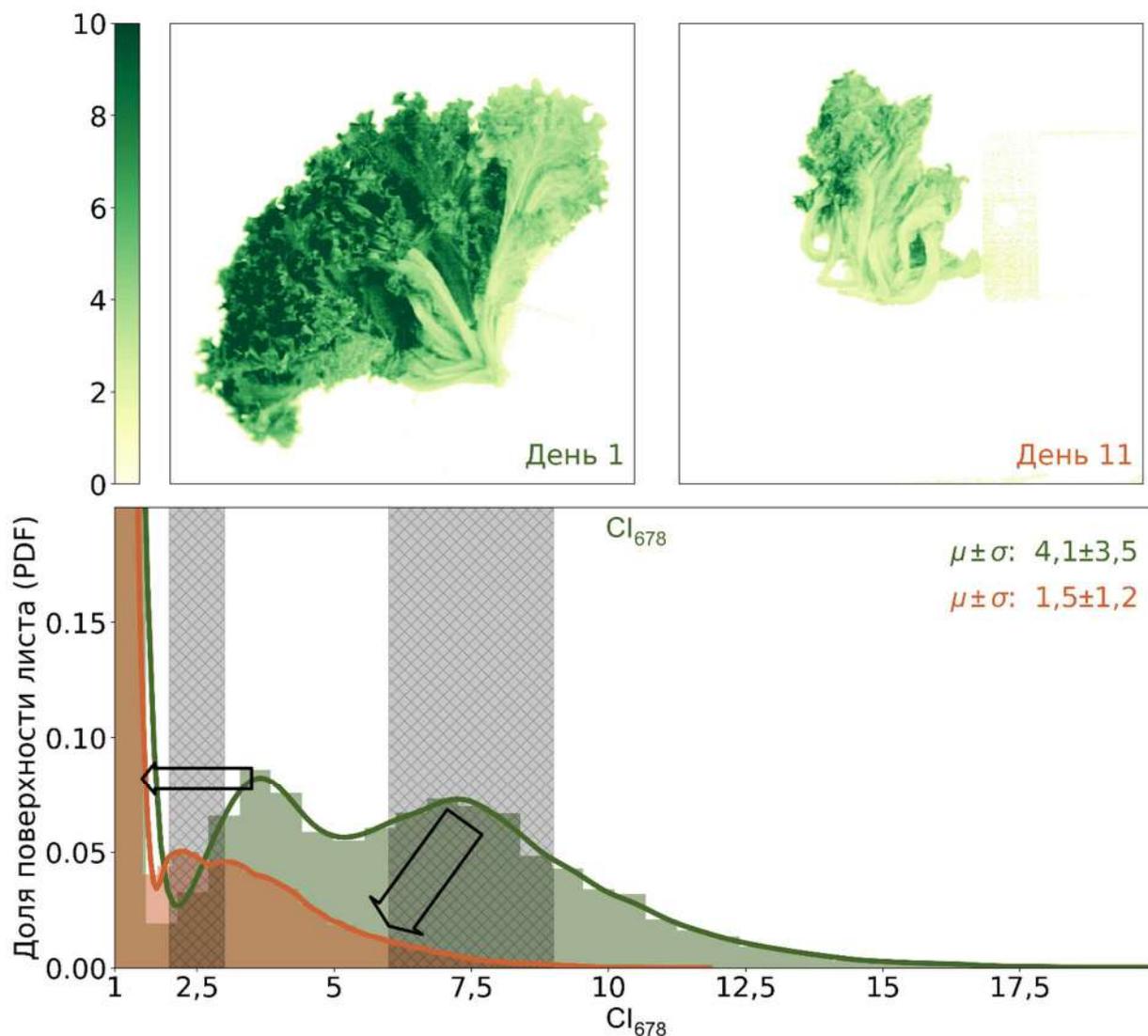


Рисунок 31 — Описание изменений состояния растения (по содержанию Хл) на основе двух мод гистограммы распределения значений индекса  $CI_{678}$ .

В итоге, для описания динамики пигментного состава целого растения становится возможным построить интегральные характеристики, описывающие изменения обеих мод соответствующих гистограмм. По аналогии с обычными спектральными индексами было предложено строить их как соотношение долей площади листа с разным составом и соотношением пигментов (т.е., пребывающих в разных физиологических состояниях).

В случае анализа Хл числитель соответствующего уравнения (ур-е (21)) содержит оценку доли поверхности листа с менее выраженной деградацией Хл (т.е.

«более зелёные» участки), а знаменатель — наоборот, оценку доли поверхности листа, в которой Хл деградировал сильнее:

$$hCI_{678} = \int_6^{10} n(CI_{678}) dCI_{678} \times \left( \int_2^4 n(CI_{678}) dCI_{678} \right)^{-1} \quad (21)$$

где  $n$  — количество пикселей изображения, значения индекса в которых находятся в диапазоне, выбранным по ранее описанным критериям информативности.

В случае анализа темпов стресс-индуцированного старения, индикатором которого является величина отношения Кар/Хл [94, 136, 296], числитель соответствующего уравнения (ур-е (22)) содержит оценку доли поверхности листа с более высоким отношением Кар/Хл (т.е. «более пожелтевшие» участки), а знаменатель — наоборот, долю поверхности листа, в которой Хл сохранился лучше, а роста содержания Кар не наблюдается:

$$hPSRI = \int_{0.2}^{0.5} n(PSRI) dPSRI \times \left( \int_0^{0.1} n(PSI) dPSRI \right)^{-1} \quad (22)$$

Как и в предыдущем уравнении,  $n$  здесь — количество пикселей изображения, значения индекса в которых находятся в диапазоне, выбранным по ранее описанным критериям информативности (рис. 30 и 31).

Сопоставление динамики предложенных метрик  $hCI_{678}$  и  $hPSRI$  с изменениями аналитически измеренного содержания Хл в срезанных растениях салата выявило высокую ( $r^2 > 0,84$ ;  $n = 80$ ) корреляцию между этими величинами. Таким образом, интегральная оценка изменения содержания Хл в целом растении может быть реализована по его гиперспектральному изображению с применением предложенных алгоритмов (рис. 32, ур-я (21) и (22)).

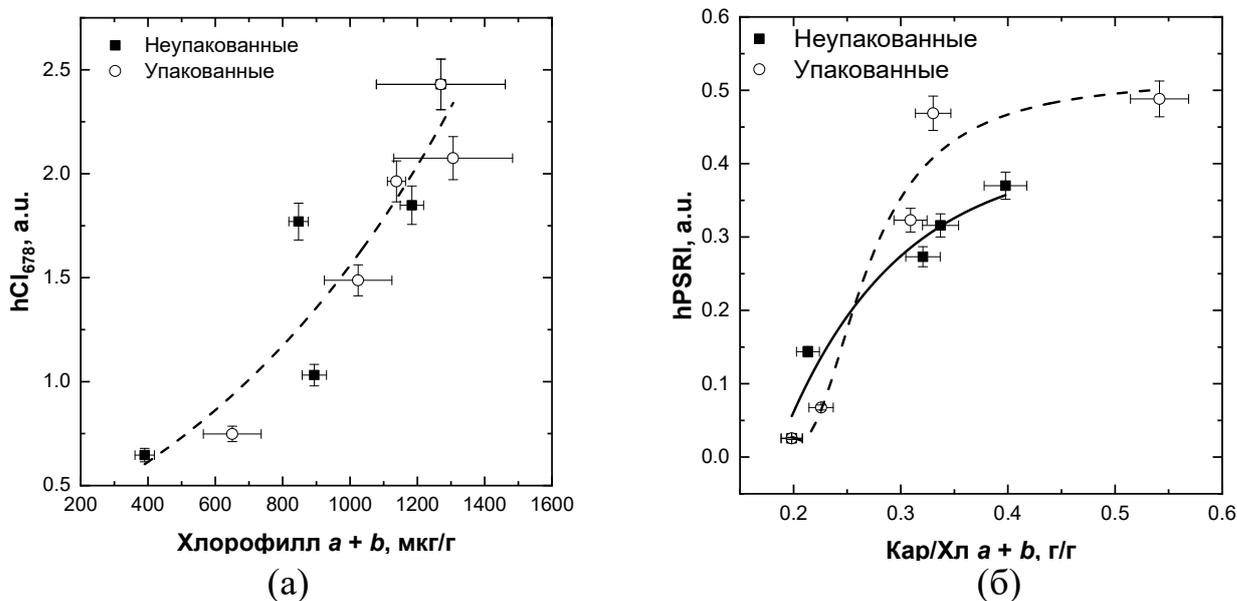


Рисунок 32 — Сопоставление метрик  $hCI_{678}$  и  $hPSRI$  с измеренными спектрофотометрически концентрациями хлорофиллов и каротиноидов.

(а)  $hCI_{678}$  и содержание Хл (б)  $hPSRI$  и соотношение Кар/Хл.

\* \* \*

Проведённый анализ позволяет зафиксировать несколько важных результатов. Во-первых, «точечная» спектроскопия отражения плохо подходит для фенотипирования листьев (и, видимо, других пигментированных частей растений) с целью регистрации масштабов и темпов старения и (или) повреждения вследствие гетерогенности самого растительного объекта. Трудности в решении этой задачи, с которыми ранее столкнулось множество исследователей, по-видимому, связаны со сложной временной и пространственной организацией стрессовых ответов растений (транслокации питательных веществ и воды из поврежденных тканей в ткани, дольше сохраняющие функциональную активность) с целью поддержания фотосинтетической активности в интактных областях. Эта стратегия описана в литературе и согласуется с результатами, полученными в настоящей работе.

Во-вторых, пространственно-разрешённая спектрометрия позволяет разделить ткани по их физиологическому состоянию: в листьях *Lactuca sativa* var.

*crispa* 'Revolution' отчётливо выделяются две моды распределения индексов  $CI_{678}$  и PSRI, отражающие вариацию в содержании Хл и соотношении Кар/Хл, соответственно. Пока не вполне ясно, насколько эти закономерности универсальны, но с учётом литературных данных можно предположить наличие проявлений вышеописанной пространственной структуры стрессового ответа в виде гетерогенной пигментации и в других видах растений.

В то же время функциональный анализ на основе распределения  $F_v/F_m$  не позволяет произвести подобного качественного разделения. По-видимому, причина в том, что вследствие высокой физиологической пластичности ассимиляционные ткани способны сохранять высокий уровень фотосинтетической активности вплоть до продвинутых стадий развития повреждения (и потери значительного количества воды). Таким образом, в рассматриваемой задаче пространственно-разрешённая спектрометрия отражения оказалась более информативной, нежели измерения максимального квантового выхода ФС II.

В-третьих, предложенный подход позволяет с достаточно высокой точностью оценить содержание и стресс-индуцированную трансформацию фотосинтетических пигментов в целом растении неинвазивными методами — несмотря на значительную гетерогенность растений по этим параметрам. Таким образом, использование пространственно-разрешённых данных следует предпочесть усреднению измеряемых характеристик по площади растительного объекта. Это важно для фенотипирования растений, поскольку предложенный подход обеспечивает получение объективной количественной характеристики сложных растительных объектов.

## 3.2 Мониторинг трансформации пигментов при созревании плодов

### 3.2.1 Анализ гиперспектральных изображений созревающих плодов

Разработанный подход к анализу гиперспектральных изображений (см. раздел 3.1.2 выше) был опробован для решения задачи мониторинга трансформации пигментов в созревающих плодах яблони и оценки темпов их созревания. Для этой цели использовали плоды, дозревающие в обычной атмосфере при комнатной температуре после хранения (см. раздел 2.1.3). Визуально наблюдаемые различия в пигментации плодов на разных стадиях созревания были выражены слабо (рис. 33). Для неинвазивного мониторинга созревающих плодов применяли метрики  $hCI_{678}$  и  $hPSRI$ . С учетом возможных помех для метода, основанного на индексе  $PSRI$  от антоцианов и других пигментов, поглощающих в сине-зелёной области спектра (например, меланоидинов, накапливающихся при повреждении), параллельно использовали альтернативный подход, основанный на разложении спектров отражения на спектральные вклады индивидуальных групп пигментов, устойчивый к подобным помехам (см. раздел 2.3.3.2). В качестве объективной меры зрелости плодов использовали стандартный параметр — индекс Штрайфа (см. раздел 2.2.2).

Форма спектров отражения, зарегистрированных в составе гиперспектральных изображений, в ходе дозревания плодов претерпевала изменения, соответствующие деградации хлорофилла и накоплению вторичных каротиноидов — снижалось отражение в области 550–680 нм, сопровождающееся батохромным сдвигом локального пика отражательной способности в зелёной области спектра (рис. 34).

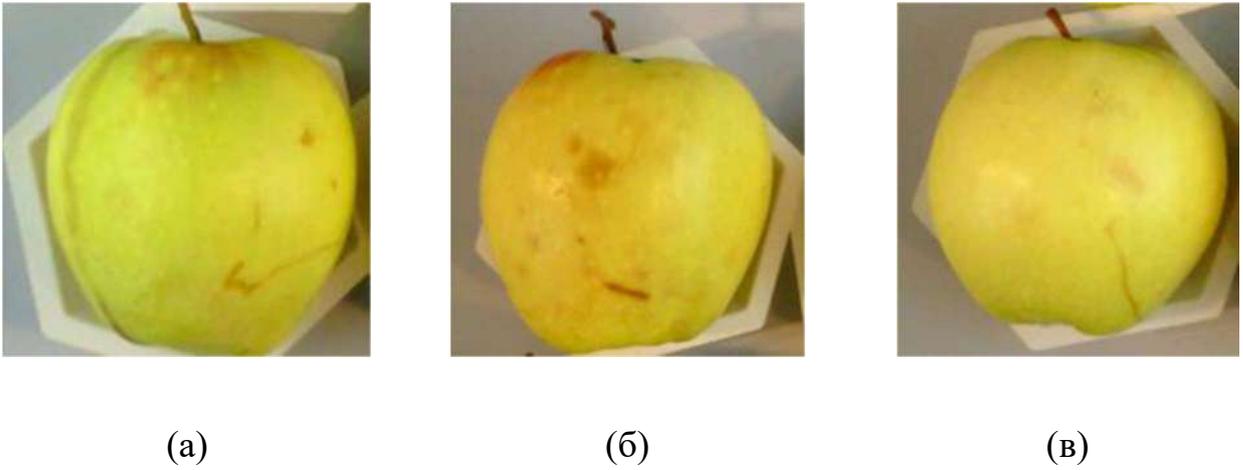


Рисунок 33 — Репрезентативные изображения яблок на разных стадиях созревания. а — 1 сутки, б — 8 суток, в — 15 суток эксперимента.

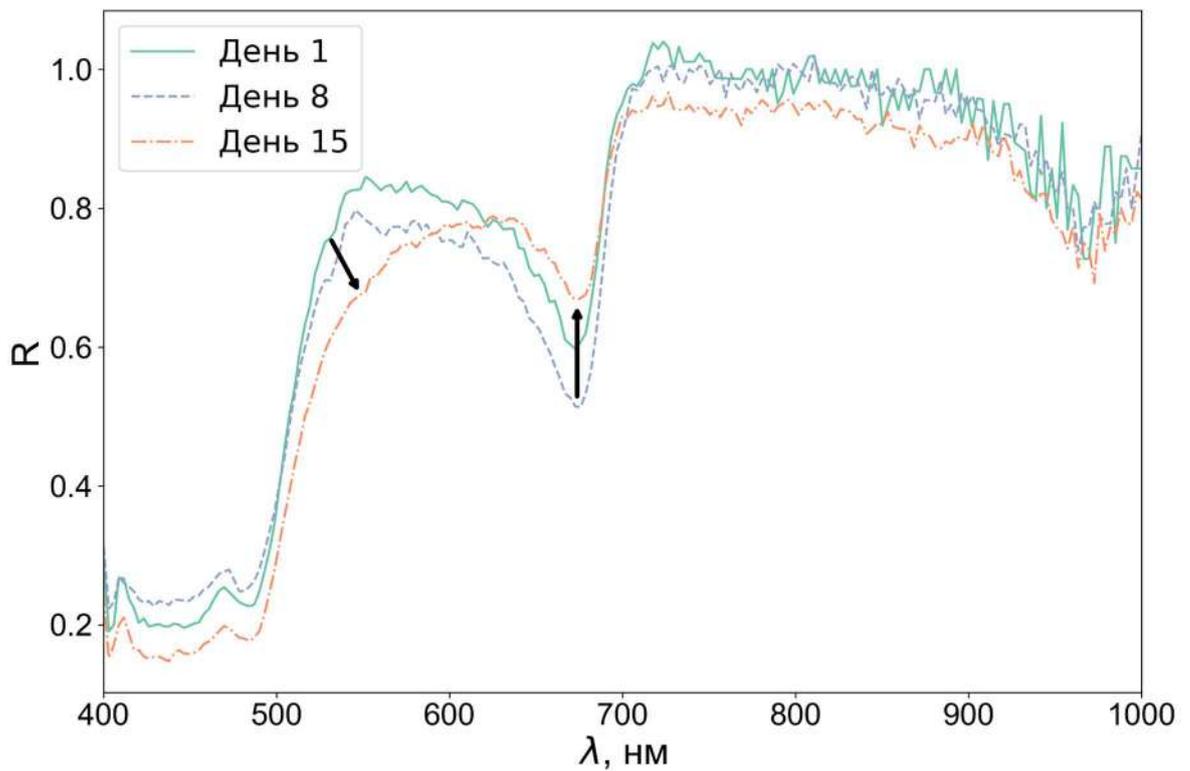


Рисунок 34 — Изменения репрезентативных спектров отражения яблок в ходе созревания.

Этот сдвиг соответствует видимому, но слабо различимому пожелтению плода. Примечательной особенностью этих спектров является рост отражения в полосе длинноволнового максимума поглощения хлорофилла, при этом жёлто-зелёная область спектра, напротив, претерпевает существенные изменения: коэффициент отражения в ней значимо снижается с течением времени. В целом, эти изменения соответствовали ранее описанным изменениям спектрального коэффициента отражения плодов, зарегистрированным традиционным способом (при помощи «точечных» измерений на спектрофотометре, оснащённом сферой Ульбрихта [191, 297]). Это обстоятельство дает основания применять к анализу гиперспектральных изображений методы, основанные на ВИ, исходно использовавшиеся для анализа «точечных» спектральных измерений.

Следует, однако, отметить, что даже в лабораторных условиях с приблизительно полусферическим диффузным освещением анизотропия отражательной способности приводила к снижению интенсивности отражённого света до 70% по мере удаления угла визирования от нормали к поверхности плода. Прямое сопоставление спектров отражения с учётом этого обстоятельства представляется затруднительным. Наблюдаемый эффект согласуется с известными из литературы данными о высокой анизотропии рассеяния в тканях яблока — так, для паренхимы параметр анизотропии достигает 0,9 [9]. Оценку и учёт этой анизотропии можно провести, нормируя спектры отражения на среднее значение коэффициента отражения в инфракрасной области спектра — например, в работе [298] используется диапазон 750–900 нм. В настоящей работе для нормировки с целью последующего сравнения спектров использовали более консервативный диапазон 750–850 нм.

Построение и анализ индексных изображений позволяет наглядно пронаблюдать значительную неравномерность скорости трансформации пигментов даже в пределах одного плода (рис. 35) в силу разной интенсивности света, падающей на «солнечную» и «теньевую» (ориентированную внутрь кроны) стороны поверхности плода (см., например, [27]). Это являлось причиной многократно описанных

трудностей неинвазивного мониторинга зрелости плодов *in vivo* с использованием традиционных «точечных» спектральных измерений, не способных в полной мере учесть пространственную гетерогенность пигментного состава плодов [299-302].

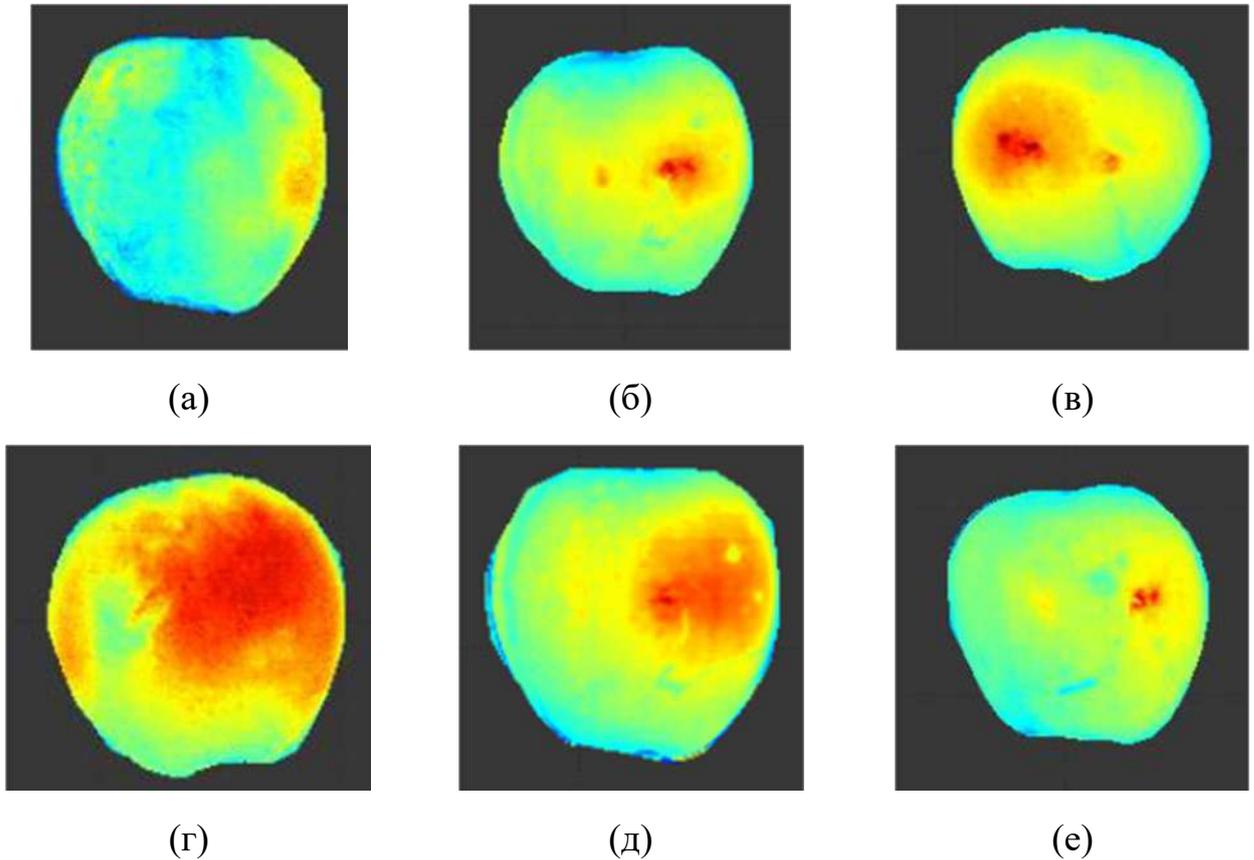


Рисунок 35 — Неинвазивный анализ вариации пигментного состава созревающих яблок. Верхний ряд — пространственное распределение индекса PSRI; а) 1 сутки эксперимента, б) 8 сутки эксперимента в) 15 сутки эксперимента. Нижний ряд — вклад Хл и первичных (фотосинтетических) Кар в поглощение света; г) 1 сутки эксперимента, д) 8 сутки эксперимента е) 15 сутки эксперимента.

### 3.2.1.1 Анализ в терминах вегетационных индексов

Начнём рассмотрение с вегетационных индексов. Поскольку подавляющее большинство вегетационных индексов создавалось для обработки спектров, полученных в сложных условиях освещения и без возможности привлечения дополнительной информации о геометрии съёмки, их построение опирается

всего на оптические свойства наблюдаемых объектов. И если вариация в спектрофотометрически регистрируемой яркости может быть атрибутирована взаимному расположению источника освещения, объекта и наблюдателя, то вегетационные индексы имеют принципиально иную картину пространственного распределения значений.

Обзорный анализ индексных изображений созревающих плодов выявил общий рост PSRI с течением времени: средние значения индекса выросли от 0,215 в первый день наблюдений до 0,497 в пятнадцатый день наблюдений. За тот же период значения индекса Штрайфа изменились весьма существенно — от  $6,6 \pm 0,2$  до  $0,73 \pm 0,03$ . Средние же значения индекса PSRI при этом менялись слабо, начиная с восьмых суток — для всех плодов значения колебались в диапазоне  $0,50 \pm 0,04$ . Эти обстоятельства не позволили охарактеризовать спелость плодов из использованной выборки по их гиперспектральным изображениям с использованием средних значений ВИ. По-видимому, основная причина этого, как и в предыдущем примере со срезанными растениями салата, заключается в неравномерности темпов созревания по площади плода. Не исключены также трудности, связанные со вкладом в отражение пигментов, не относящихся к Кар и поглощающих свет в сине-зелёной области спектра. Для устранения их влияния необходим иной подход, основанный на разложении спектров (см. ниже). Действительно, пространственная гетерогенность содержания и состава пигментов как источник серьёзных ограничений описана в работах, использующих «точечную» спектрометрию [108, 303, 304].

Для преодоления вышеупомянутых ограничений использовали подход, разработанный для анализа гиперспектральных изображений растений салата (см. раздел 3.1). Следует отметить, что для яблок характерны более выраженные изменения содержания вторичных Кар в ходе созревания, нежели для листовых

овощей, поэтому PSRI в случае плодов будет более чувствительным индикатором степени зрелости, нежели  $CI_{678}$ , что было показано ранее [94].

Для проверки применимости hPSRI для анализа гиперспектральных изображений плодов использовали яблоки, извлечённые из холодильной камеры (см. Материалы и методы). Изображения подвергали предварительной обработке: исключали пиксели, соответствующие фону и бликам, на основе эмпирически подобранного критерия  $R_{600} > 1,71 \cdot R_{500}$ . Пороговые значения подбирали путём визуального анализа изображений с отфильтрованным фоном. После предварительной обработки для каждого пикселя, оставшегося на изображении, были рассчитаны, как и в разделе 3.1, спектральные индексы  $CI_{678}$  и PSRI, отражающие содержание Хл и соотношения Кар/Хл, соответственно (результаты обработки представлены в виде гистограмм на рис. 36 и 37). Как видно из приведённых данных, качественная картина распределений спектральных индексов для плодов была близкой к таковой для листьев, но тенденции к деградации Хл и накопления Кар при созревании плодов были более выраженными. Так, на распределении значений индекса  $CI_{678}$  чётко различимы две моды; амплитуда моды в правой части распределения снижалась при созревании, а моды распределения индекса PSRI демонстрировали противоположные тенденции. Вышеописанные различия вполне объяснимы в свете уже упомянутой разницы в динамическом диапазоне соотношения Кар/Хл в плодах по сравнению с листьями; гетерогенность в целом же соответствует ранее описанной вариативности в скорости созревания даже в пределах одного плода, вызванной разницей в условиях роста и развития тканей, прежде всего, освещённостью [305]. Динамика изменения спектральных индексов  $CI_{678}$  и PSRI, разбитая по диапазонам значений, соответствующим тканям в различном физиологическом состоянии, приведена в таблицах 7 и 8.

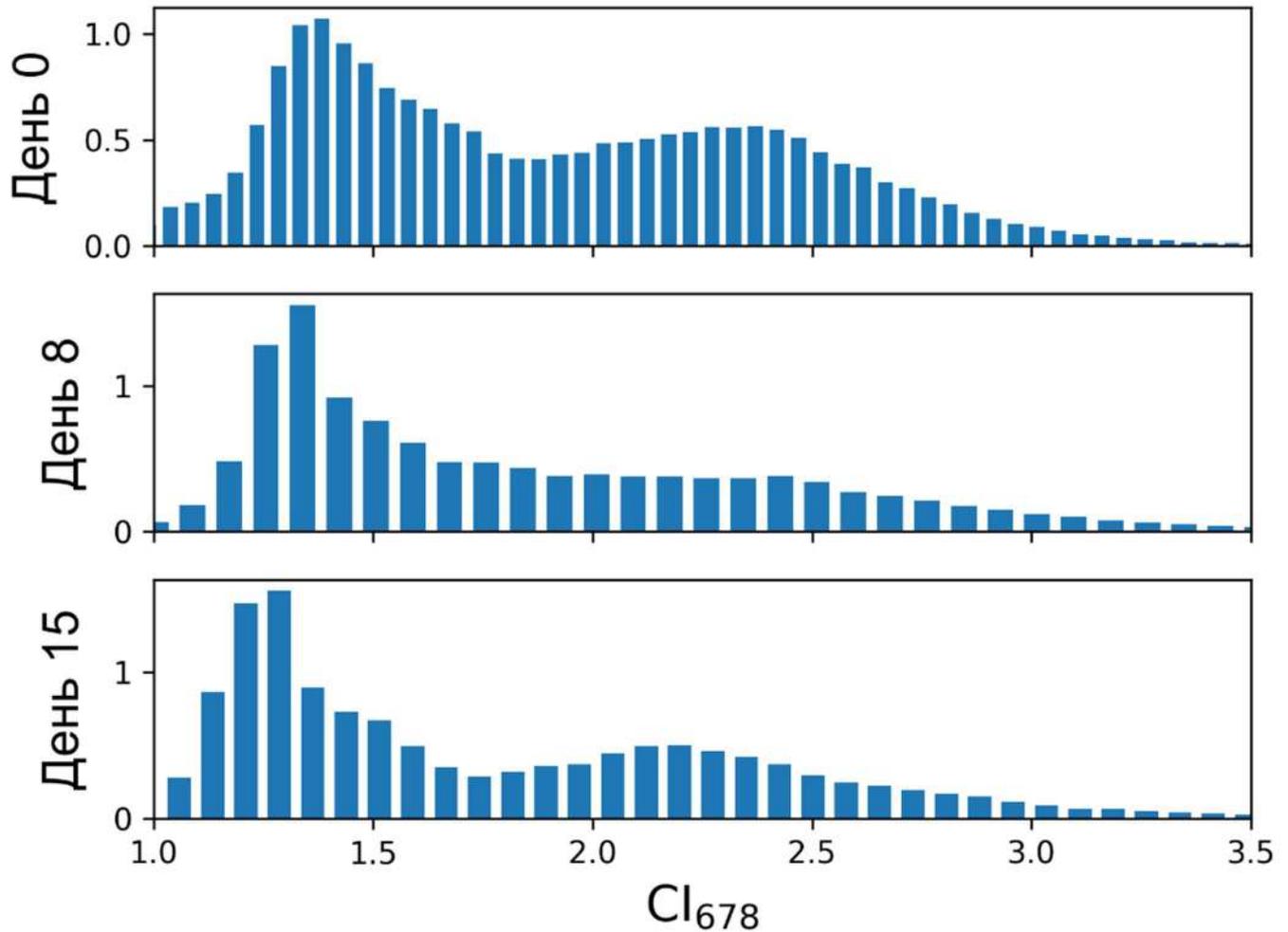
CI<sub>678</sub>

Рисунок 36 — Изменения площади участков поверхности плодов с различными значениями индекса CI<sub>678</sub> на гиперспектральных изображениях плодов яблони Антоновка Обыкновенная, дозревающих при комнатной температуре после их извлечения из хранилища. Распределения построены по данным, обобщённым из всех полученным изображениям ( $n = 14$ ).

## PSRI

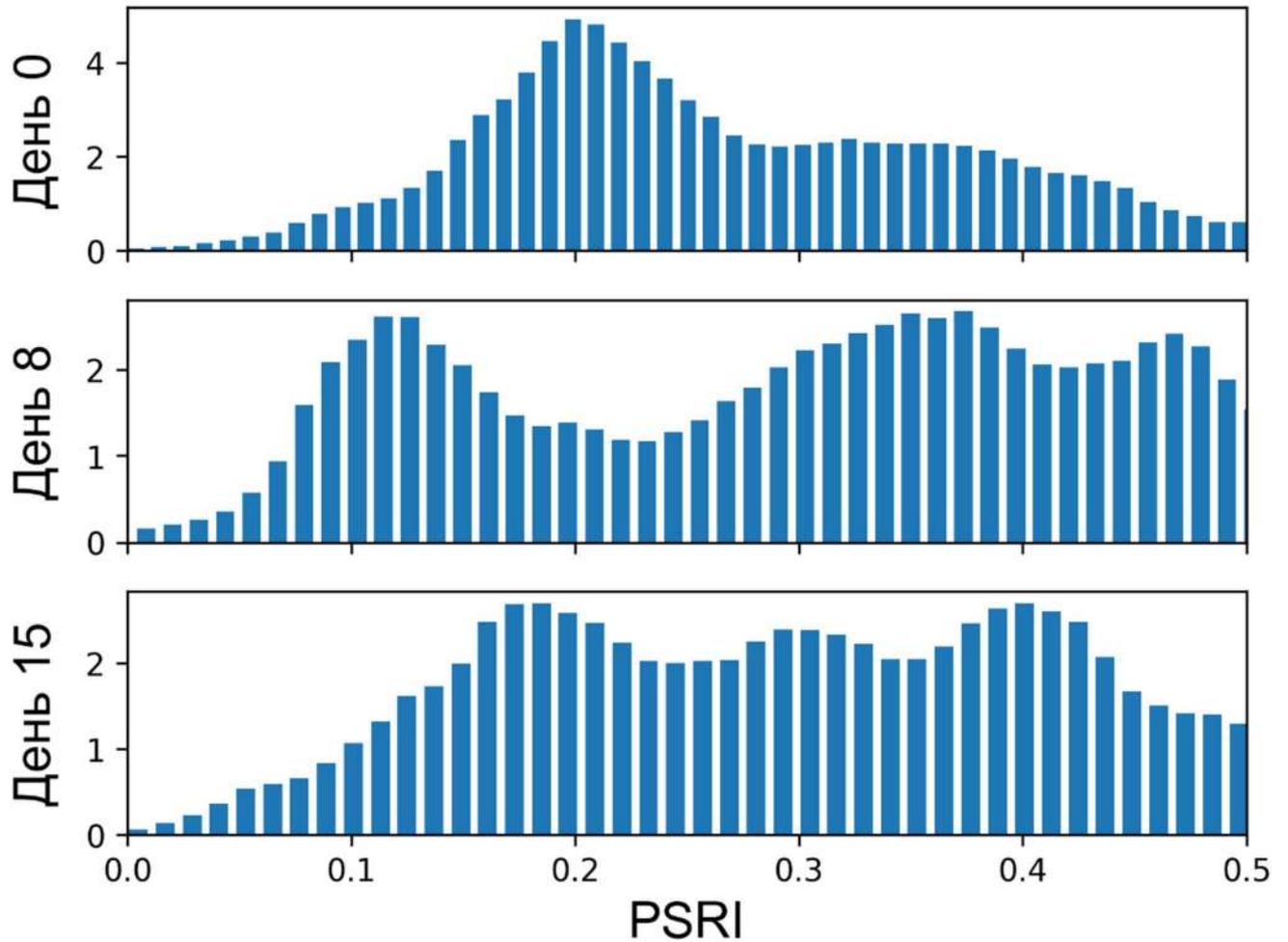


Рисунок 37 — Изменения площади участков поверхности плодов с различными значениями индекса PSRI на гиперспектральных изображениях плодов яблони сорта Антоновка Обыкновенная, дозревающих при комнатной температуре после извлечения из хранилища. Распределения построены по данным, обобщённым из всех полученным изображений ( $n = 14$ ).

Таблица 7 — Изменение удельных долей пикселей гиперспектральных изображений плодов с различными значениями PSRI (от общей площади) в ходе созревания.

Интервал значений	Условная зрелость	Дни после пика цветения		
		180	188	195
		Доля пикселей		
0,0–0,1	незрелые	0,03	0,09	0,01
0,1–0,2		0,25	0,18	0,10
0,2–0,3	недозрелые	0,29	0,14	0,21
0,3–0,4		0,16	0,23	0,32
0,4–0,5	спелые	0,28	0,37	0,36

Таблица 8 — Изменение удельных долей пикселей с различными значениями  $SI_{678}$  (от общей площади) и изменение окраски плодов в ходе созревания.

Интервал значений	Визуально наблюдаемая окраска	Дни после пика цветения		
		180	188	195
		Доля пикселей		
1,1–1,5	Жёлтые	0,23	0,15	0,31
1,5–2	Жёлто–зелёные	0,23	0,26	0,26
2,0–3,0	Зелёные с желтизной	0,42	0,35	0,31
3,0–4,0	Зелёные	0,05	0,06	0,02

Репрезентативные распределения индекса PSRI в ходе созревания плода показаны на рис. 38, там же приведено сопоставление значений описанного в предыдущем разделе индекса hPSRI с измерениями степени спелости по методу Штрайфа.

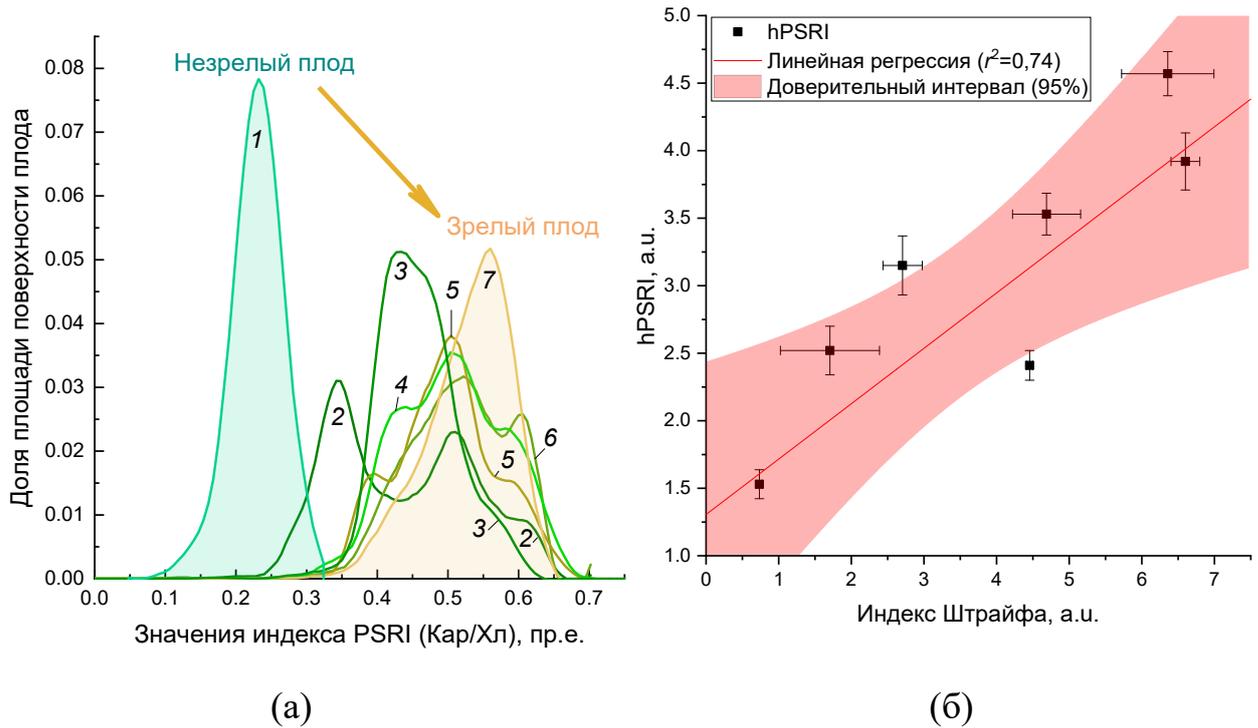


Рисунок 38 — (а) Распределения индекса PSRI по поверхности плодов различной степени спелости (б) Сопоставление предложенного индекса hPSRI с индексом Штрайфа.

Показанные распределения иллюстрируют принципиальную чувствительность индекса hPSRI к степени зрелости плода и возможность неинвазивной её оценки. Ещё раз отметим, что использование усреднённых значений индекса PSRI не позволяет этого сделать (доля объяснённой дисперсии  $r^2 = 0,18$  против 0,74 для hPSRI).

### 3.2.1.2 Анализ с применением разложения спектров

Существенным ограничением подхода, основанного на PSRI и аналогичных ему ВИ, включающих коэффициенты отражения в сине-зелёной части видимой области спектра, является чувствительность к помехам от поглощения света в той же области спектра некаротиноидными пигментами. Яркими примерами являются антоцианы и меланоидины, нередко присутствующие и в здоровых, и в поврежденных растительных тканях [138].

Преодолеть данное ограничение позволяет альтернативный подход к определению концентраций Кар и Хл — разложение спектров отражения на вклады отдельных групп пигментов (см. раздел 2.3.3.2) с опорой на спектральные данные в длинноволновой части видимой и БИК областей спектра, практически свободных от влияния любых пигментов кроме Хл (рис. 5). Исходно данный подход был разработан для «точечных» спектров отражения, измеренных контактным способом (при расположении объекта вплотную к сфере Ульбрихта). В настоящей работе этот подход впервые был использован для обработки дистанционно зарегистрированных гиперспектральных изображений.

Для реализации этого подхода использовали те же гиперспектральные изображения, что и для расчета индекса hPSRI (см. раздел 3.2.1.1 выше). В спектрах отражения, составляющих пиксели изображений плодов, выделяли спектральный вклад Хл. Далее строили гистограммы распределения величины спектральных вкладов Хл для плодов на разных стадиях созревания (рис. 39). Эволюция этих распределений так же чётко отражает тенденцию к постепенному снижению вклада Хл в спектральное отражение созревающих плодов. Данный процесс считается проявлением генетически запрограммированного демонтажа фотосинтетического аппарата в ходе созревания и (или) старения растительных тканей [122, 306, 307]. Примечательно сужение диапазона значений вычисляемого вклада Хл: очевидно, что по этому параметру при созревании плод становится более гомогенным (см. также рис. 35e). В целом, оценки зрелости по вариации спектрального вклада Хл совпадали с таковыми по деструктивному анализу (индексу Штрайфа). Подчеркнём, что принципиальным преимуществом подхода к мониторингу состояния растений, основанного на разложении спектров отражения, является возможность его реализации для объектов, содержащие антоцианы и другие группы пигментов, поглощающие в видимой области спектра, кроме Кар и Хл. Дополнительным преимуществом является параллельная оценка относительного содержания вторичных Кар и, собственно, Ант.

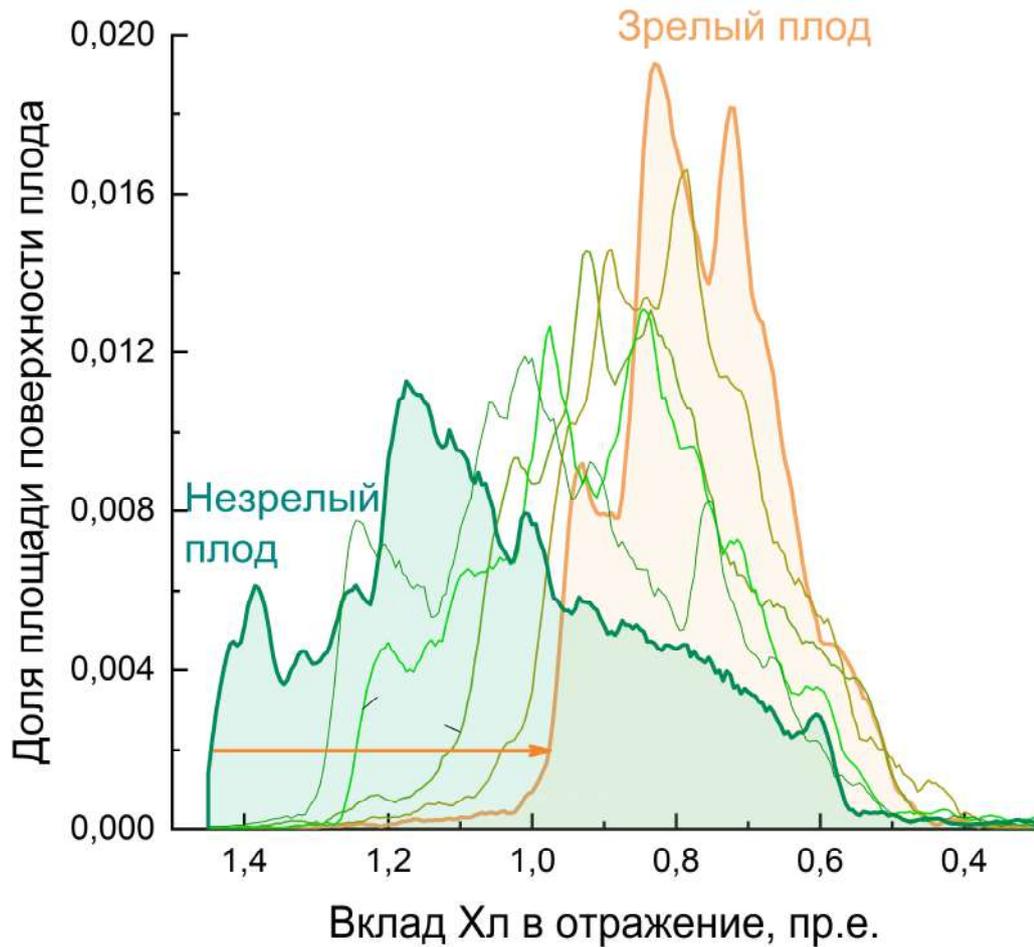


Рисунок 39 — Изменение вклада Хл и первичных каротиноидов в отражение по мере созревания плодов.

Подход, использующий разложение спектральных коэффициентов отражения на вклады отдельных групп пигментов, предоставляет особенно интересные возможности для неинвазивного фенотипирования плодов и других органов растений, накапливающих антоцианы в больших количествах, для которых невозможно применение обычных методов, основанных на вегетационных индексах (см. выше).

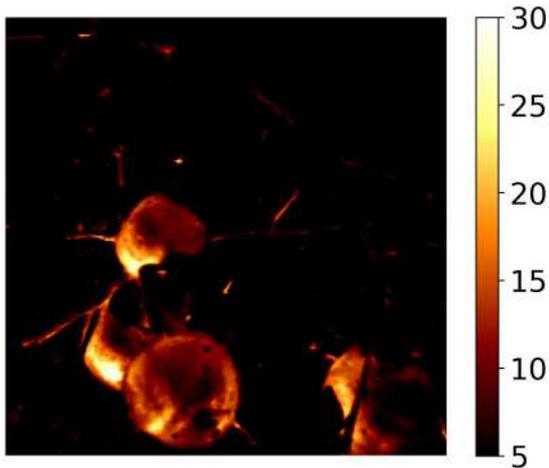
В настоящей работе исследовали возможности определения содержания антоцианов в плодах яблони *in vivo* (непосредственно в плодах на дереве) для оценки результатов обработки плодов препаратом пропил-3-оксо-2-пентилциклопентилацетата («Прогидрожасмон», ПГЖ) для усиления их антоциановой окраски

с целью улучшения потребительских свойств. Восстановленные согласно описанному выше методу (см. раздел 2.3.3.2) вклада антоцианов в отражение плодов *in situ* (рис. 41а) интегрировали по площади поверхности плода. Для количественной интерпретации использовали калибровочную кривую, связывающую аналитически измеренную концентрацию Ант с величиной спектрального вклада этих пигментов в плодах, а также ранее разработанный алгоритм [107].

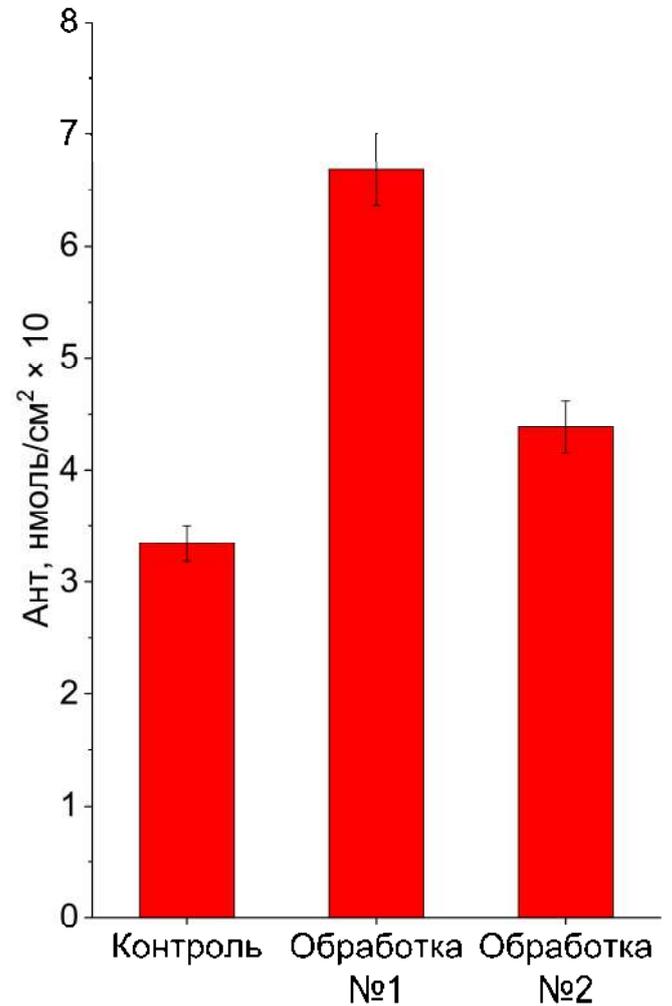
Полученные результаты позволили оценить эффект обработки созревающих на дереве плодов препаратом ПГЖ (рис. 40в), при этом оказалось возможно пронаблюдать пространственное распределение антоцианов по поверхности каждого из зарегистрированных на изображения плодов (рис. 40б). Данная возможность представляется особенно ценной в контексте задач фенотипирования, поскольку Ант, по общему признанию, являются «пигментами стресса», отражающими статус акклимации к неблагоприятным воздействиям у многих видов растений [113, 308]. С практической точки зрения, данный метод мог бы быть полезен коммерческим плодоводческим хозяйствам для заблаговременной оценки соответствия плодов установленным в паспорте сорта требованиям к окрашенности и последующей оптимизации ценовой структуры будущего урожая.



(a)



(б)



(в)

Рисунок 40 — Неинвазивная оценка антоциановой окраски яблок с использованием пространственно-разрешённых гиперспектральных данных. (a) Внешний вид яблок в плодовом саду (репрезентативный фрагмент); (б) Пространственное распределение спектрального индекса ARI; (в) Оценка удельной концентрации Ант в кожце плодов в различных экспериментальных вариантах. По [309].

### 3.3 Сравнительный анализ информативности спектральных и пространственных признаков при использовании машинного обучения

Как отмечено выше (раздел 1.4.4), к наиболее перспективным современным направлениям автоматизированного извлечения информации о растениях из дистанционно снятых изображений разных типов относится использование алгоритмов машинного обучения. Однако у них, как и у традиционных подходов на основе ВИ, имеется ряд ограничений. Потенциальную возможность преодоления этих ограничений предоставляет комбинирование спектральных и пространственных признаков с алгоритмами машинного обучения. В этом разделе описаны результаты проверки этой гипотезы в наших экспериментальных условиях.

Для анализа было отобрано 100 гиперспектральных изображений различных яблок, из которых у 60 отсутствовали признаки видимых повреждений, у остальных 40 наличествовали различные, видимые невооружённым глазом дефекты. Сводная таблица с характеристикой яблок, использованных в эксперименте, приведена в приложении 1.

Изображения плодов получали как RGB-камерой, так и сканирующим гиперспектрометром. Предварительная обработка гиперспектральных снимков производилась в ПО CubeStitcher, входящем в комплект поставки оборудования, и выполнялась в целях коррекции геометрических искажений, вызванных неравномерным перемещением яблока по экспериментальной установке в ходе съёмки.

На следующем этапе строили псевдоцветные изображения для экспертной разметки. В ПО для обработки гиперспектральных изображений для этого зачастую используется псевдоцветной композит, составленный из каналов, соответствующих отдельным длинам волн. Однако для устранения возможных искажений восприятия экспертом целесообразнее использовать свёртки измеренных спектров отражения с функциями согласования цветов, для чего

использовалась модифицированная модель стандартного наблюдателя CIE 1931 с отсутствующим коротковолновым пиком в красном канале. Пример цветового искажения, вызванного выбором трёх спектральных каналов для построения RGB изображения, показан на рис. 41.

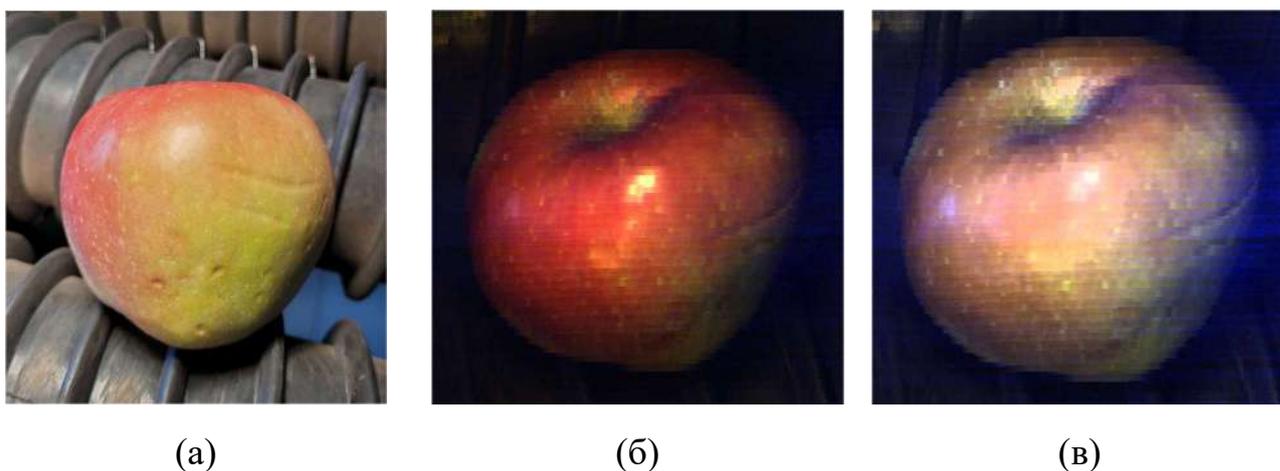


Рисунок 41 — Синтез RGB-изображений из спектральных данных. (а) RGB-изображение, полученное камерой смартфона; (б) RGB-изображение, синтезированное из трёх узких спектральных каналов; (в) RGB-изображение, синтезированное по модели стандартного наблюдателя CIE 1931.

По получившимся синтетическим RGB-изображениям проведена экспертная разметка снимков на три класса: здоровые ткани, повреждения, фон. При этом общая доля площади повреждений составила 1,76%, а тканей яблок целиком — 18,24%. Таким образом, задача детекции повреждений является сильно несбалансированной — мощность класса «фон» более чем на порядок превосходит мощность класса «повреждение».

Для обучения моделей исходный набор данных был разбит в соотношении 80:20 с сохранением пропорции здоровых и повреждённых плодов в каждой части, при этом выборка в 80% использовалась для обучения; оценка точности проводилась как по всему набору, так и по оставшейся части в 20%.

Из тестовой выборки спектры извлекали следующим образом: для каждого снимка все спектры делили на спектры здоровых тканей (healthy), повреждений (damaged) и фона (background) с использованием экспертной разметки, из

полученных массивов случайным образом извлекали спектры для обучения. Использовались два подхода — балансировка классов (при этом из каждого класса извлекалось равное количество спектров, не превышающее 1000; для снимков здоровых яблок спектров не извлекалось) и пропорциональное построение обучающей выборки, при котором из каждого класса извлекалось количество спектров, пропорциональное встречаемости этого класса на данном изображении, в сумме 3000 спектров на снимок. В дальнейшем эти стратегии обозначаются на графиках как «balanced» и «proportional».

Для метрического классификатора (SAM) в качестве эталонов использовали усреднённые спектры классов из обучающей выборки. Они приведены на рис. 42.

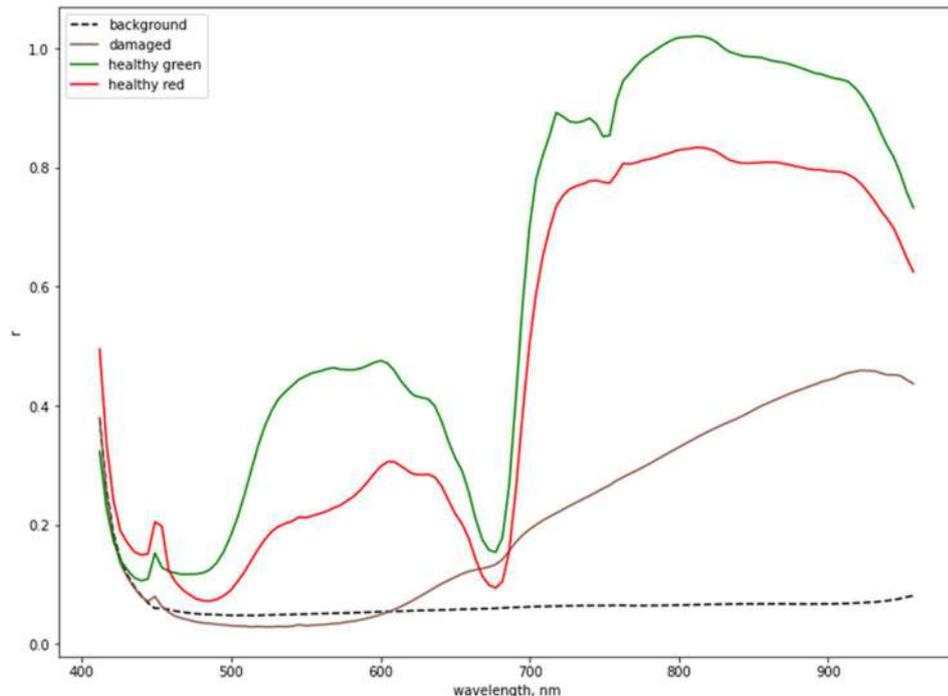


Рисунок 42 — Спектры, использовавшиеся как эталонные для спектрально-углового классификатора.

На приведённых спектрах хорошо заметны артефакты, вызванные недостаточной спектральной чувствительностью прибора в синей области спектра. Из дальнейшего анализа были исключены первые шесть спектральных каналов.

Использование спектрально-углового классификатора в решении рассматриваемой задачи не увенчалось успехом. Результаты его работы, включая матрицу ошибок, приведены на рисунке 43.

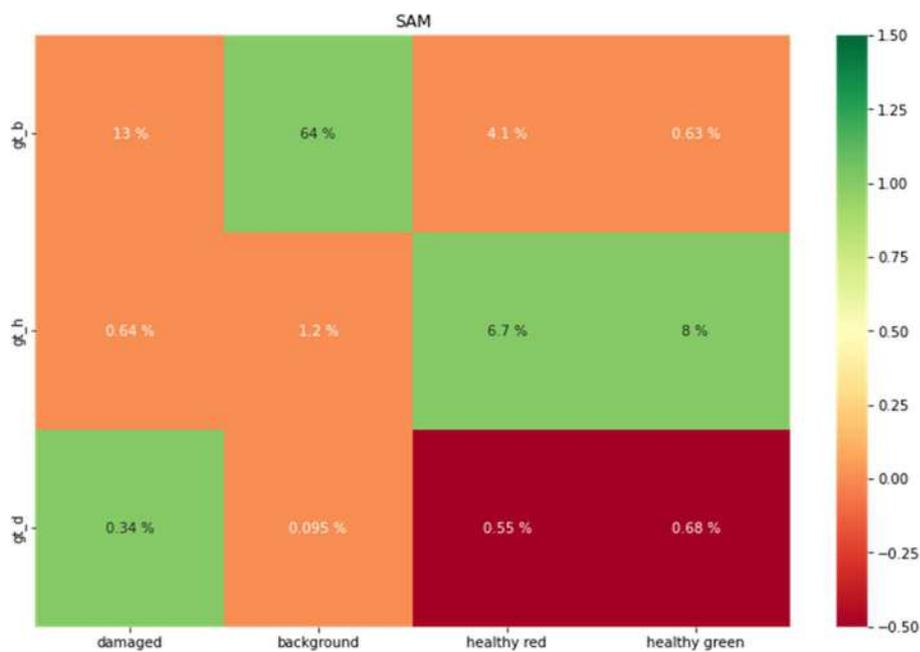


Рисунок 43 — Матрица ошибок классификации для спектрально-углового классификатора.

Работу этого классификатора на основании матрицы ошибок следует признать глубоко неудовлетворительной — повреждения чаще классифицируются как здоровые ткани, нежели как повреждения. Это подтверждает и график ROC для бинарной классификации снимков на основе доли повреждённых тканей, предсказанных методом SAM — классификация является практически случайной (рис. 44). Дальнейшие работы с этим классификатором не проводились. К столь низкой производительности спектрально-углового классификатора может приводить его нечувствительность к яркости: прилегающий к объектам фон слабо отражает рассеянный ими свет, что приводит к схожей форме наблюдаемого спектра отражённого излучения. Этот механизм неоднократно наблюдался в лабораторных опытах, где совместная съёмка с отражательным стандартом позволяет наглядно продемонстрировать описываемый эффект.

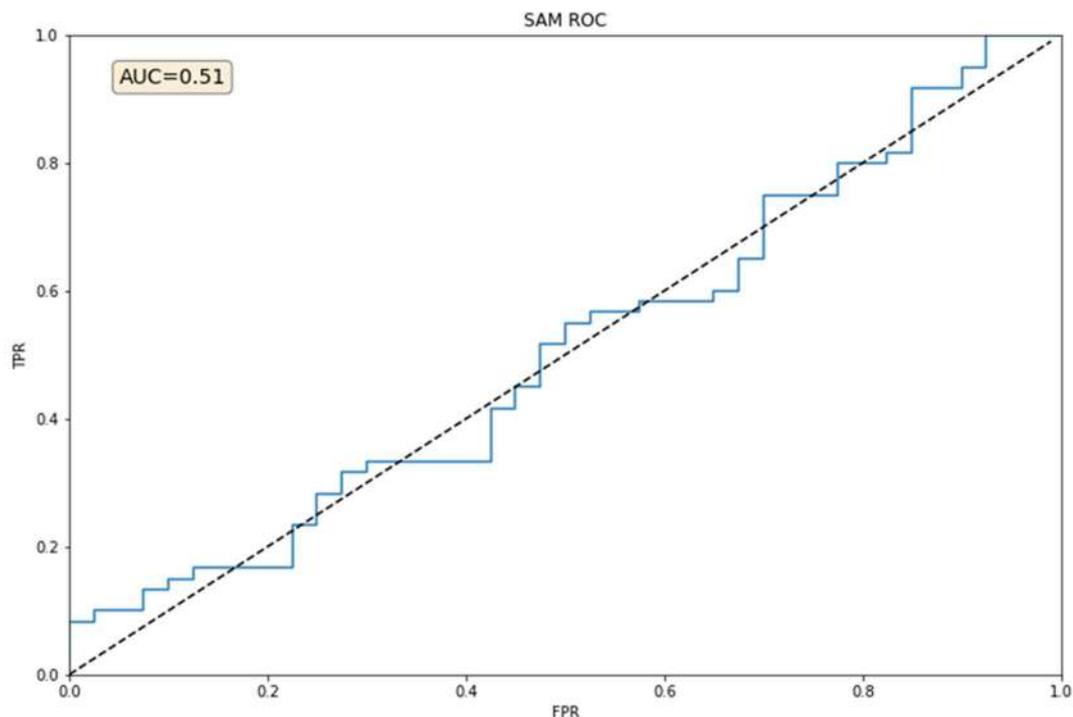


Рисунок 44 — График ROC для спектрально-угловой классификации.

Таким образом, для проксимального зондирования важно не только измеряемое спектральное альbedo исследуемых объектов, но и яркость. Решающую роль начинает играть геометрия съёмки, взаимное расположение объектов, их форма — то, с чем дистанционное зондирование может иметь дело лишь через усреднение.

Остальные используемые в работе методы учитывают в том числе и абсолютные значения яркости. Для всех из них были обучены и валидированы классификаторы для каждого из наборов входных данных (см. Материалы и методы). Точность классификации отдельных пикселей при этом составила от 94,6% до 98,3%, в отдельных случаях превышая порог согласия между двумя использованными экспертными разметками (97,7%). Результаты работы классификаторов для всех использованных наборов данных и подходов к обработке приведены в таблице 9. Сравнение результатов классификации с альтернативной экспертной разметкой привело к снижению точности в среднем на ~1%, однако не изменило соотношений между результатами, достигнутыми в разных экспериментальных вариантах, хоть сколько-то существенно.

Таблица 9 — Результаты классификации пикселей гиперспектральных изображений алгоритмами машинного обучения.

Набор признаков		Точность, %	Каппа-статистика	F <sub>2</sub> -мера
Ручная разметка (согласие между экспертами)		97,7 ± 2,4	0,931 ± 0,053	0,445 ± 0,309
Классификация методом случайного леса				
Коэффициенты отражения со снижением размерности	1	98,2 ± 2,2	0,944 ± 0,056	0,160 ± 0,286
	1/2	98,1 ± 2,2	0,943 ± 0,057	0,154 ± 0,280
	1/4	98,1 ± 2,2	0,942 ± 0,058	0,149 ± 0,275
	1/8	98,1 ± 2,3	0,941 ± 0,059	0,135 ± 0,262
	1/16	97,8 ± 2,5	0,932 ± 0,065	0,095 ± 0,212
	1/32	97,8 ± 2,5	0,931 ± 0,064	0,127 ± 0,233
Коэффициенты отражения + LBP		98,1 ± 2,3	0,941 ± 0,058	0,173 ± 0,290
Коэффициенты отражения + LBP + веса		96,1 ± 3,6	0,888 ± 0,073	0,181 ± 0,241
LBP		90,1 ± 4,7	0,651 ± 0,101	0,000 ± 0,000 <sup>2</sup>
ВИ		98,0 ± 2,1	0,940 ± 0,053	0,149 ± 0,266
ВИ + LBP		<b>98,3 ± 2,1</b>	<b>0,948 ± 0,054</b>	0,192 ± 0,295
ВИ + LBP + веса		98,2 ± 2,0	0,947 ± 0,052	<b>0,196 ± 0,294</b>
Классификация методом опорных векторов				
Коэффициенты отражения со снижением размерности	1	<b>97,9 ± 2,5</b>	0,935 ± 0,063	0,142 ± 0,260
	1/2	97,8 ± 2,6	0,933 ± 0,066	0,110 ± 0,228
	1/4	97,8 ± 2,6	0,931 ± 0,067	0,096 ± 0,213
	1/8	97,7 ± 2,6	0,930 ± 0,068	0,086 ± 0,204
	1/16	97,5 ± 2,7	0,920 ± 0,070	0,035 ± 0,131
	1/32	97,4 ± 2,7	0,919 ± 0,071	0,018 ± 0,083
Коэффициенты отражения + LBP		<b>97,9 ± 2,5</b>	<b>0,936 ± 0,063</b>	0,140 ± 0,256
Коэффициенты отражения + LBP + веса		95,7 ± 2,1	0,864 ± 0,050	<b>0,200 ± 0,273</b>
LBP		39,1 ± 4,0	-0,105 ± 0,027	0,011 ± 0,019
ВИ		97,5 ± 2,7	0,922 ± 0,071	0,006 ± 0,039
ВИ + LBP		96,8 ± 3,1	0,902 ± 0,075	0,029 ± 0,052
ВИ + LBP + веса		94,6 ± 3,1	0,832 ± 0,061	0,079 ± 0,128

Наилучшую точность и устойчивость из рассмотренных вариантов показал классификатор «случайный лес» (RF), использовавший в качестве входных данных как вегетационные индексы, так и текстурные признаки (ВИ + LBP). Близкие результаты были получены и при классификации с использованием спектров отражения целиком, без снижения размерности. Оптимальным при этом оказалось использование неглубоких ( $n = 5$ ) решающих деревьев.

Производительность SVC и RF-классификаторов в целом оказалась близкой, но SVC-классификаторы показали лучшие результаты при использовании нетрансформированных признаков по сравнению с использованием ВИ в качестве входных данных и были значительно более чувствительны к понижению спектрального разрешения.  $F_2$ -мера для них неуклонно снижалась по мере уменьшения спектрального разрешения, чего не наблюдалось для RF-классификаторов: передискретизация с ухудшением спектрального разрешения оказала незначительный эффект на работу RF-классификаторов до тех пор, пока ширина моделируемого спектрального канала не увеличилась до 36 нм. Применение весов к матрице ошибок улучшило F-метрику, при этом на точность RF-классификаторов оно повлияло меньше, чем на результат работы SVC.

Классификатор, использующий только текстурные признаки, оказался непригодным для обнаружения повреждений, так как он не классифицировал ни одного пикселя как поврежденные ткани во всём наборе данных. Включение спектральных признаков оказалось таким образом необходимым. Разница в результатах между спектральными классификаторами невелика, что особенно заметно при использовании понижающей дискретизации. Классификатор на основе вегетационных индексов оказался более устойчивым к неравномерному освещению по сравнению со спектральным классификатором на основе отражения, однако он был менее эффективным в обнаружении небольших повреждений.

Низкие средние значения меры  $F_2$  для класса «повреждение» и их высокая дисперсия свидетельствовали о том, что классификаторы либо обнаруживали соответствующие области с высокой степенью достоверности, либо полностью их

пропускали. Изображения с механическими повреждениями без выраженной деструкции тканей были основным фактором, способствующим снижению точности, в ряде случаев были неверно классифицированы пиксели фона в силу шумов.

Для решения сквозной задачи бинарной классификации фруктов на основе обнаруженной доли поврежденной поверхности плода мы использовали RF-классификаторы. AUC для классификаторов без преобразования признаков находилась в диапазоне от 0,69 до 0,72, дополнение спектральных признаков текстурной информацией и взвешиванием классов позволило улучшить её до 0,8. Использование вегетационных индексов в качестве признаков дало значение  $AUC=0,74$ , в то время как добавление LBP, а также LBP и взвешивания классов улучшило этот результат до 0,78 и 0,8 соответственно. Наконец, были проанализированы кривые precision-recall и рассчитаны точность и полнота для порога обнаружения, соответствующего максимуму меры  $F_2$  (рис. 45). Этот максимум соответствовал высоким значениям полноты во всех случаях, однако точность варьировалась между 0,6 и 0,7; при этом классификаторы на основе ВИ имели более высокую производительность в целом. Классификаторы, работающие на основе спектрального альбедо, получили больше прироста к точности классификации от добавления текстурной информации и взвешивания; впрочем, как видно из рисунка 46, это было достигнуто за счёт слишком агрессивного обнаружения повреждений.

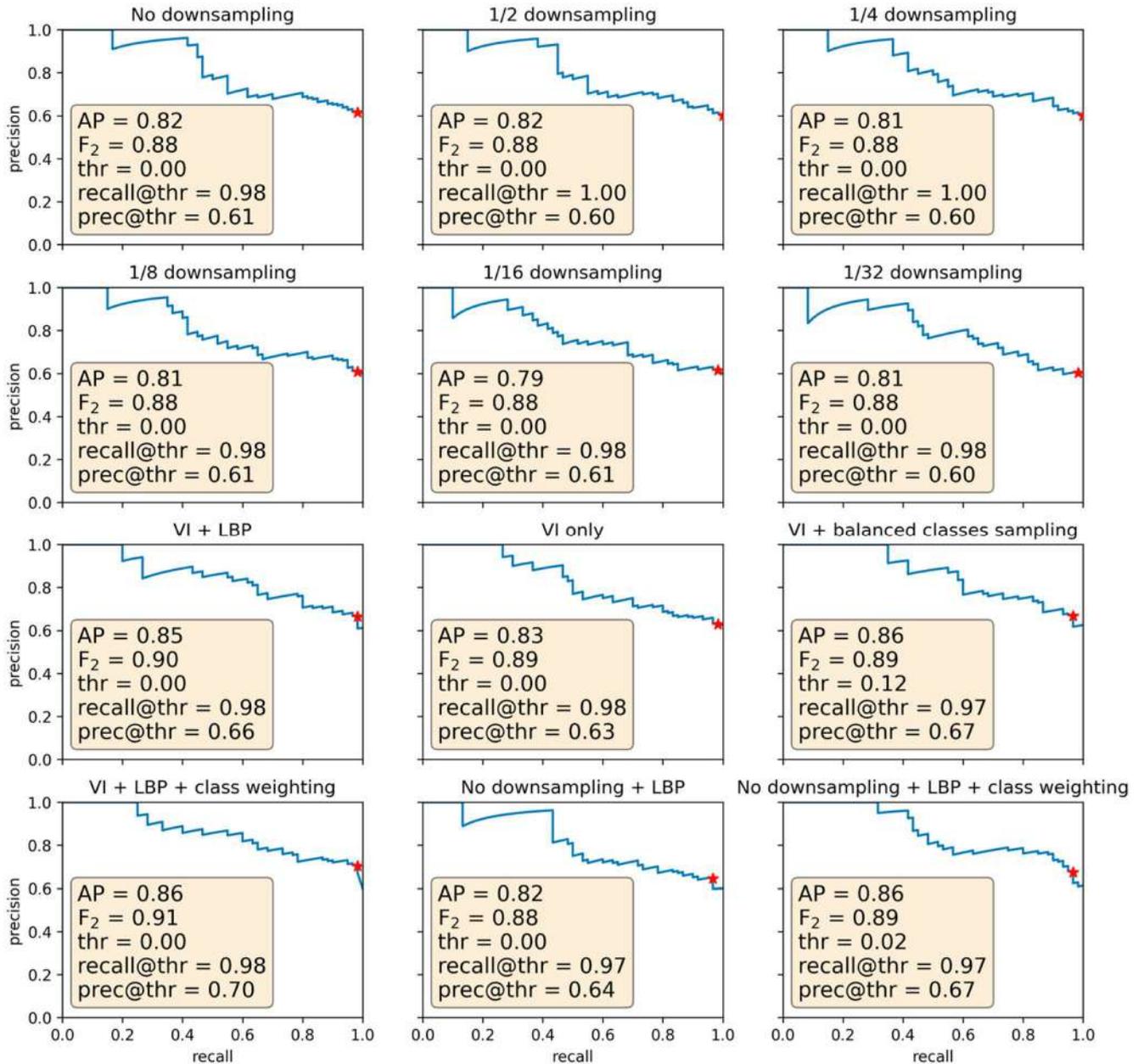


Рисунок 45 — Кривые точности-полноты для различных классификаторов и выбор оптимального порога обнаружения на основе метрики  $F_2$ .  $\text{recall@thr}$  и  $\text{prec@thr}$  обозначают полноту и точность классификации при пороге обнаружения, соответствующем максимуму  $F_2$ . Во всех случаях резкое снижение точности наступает при низких, менее 40%, значениях полноты.

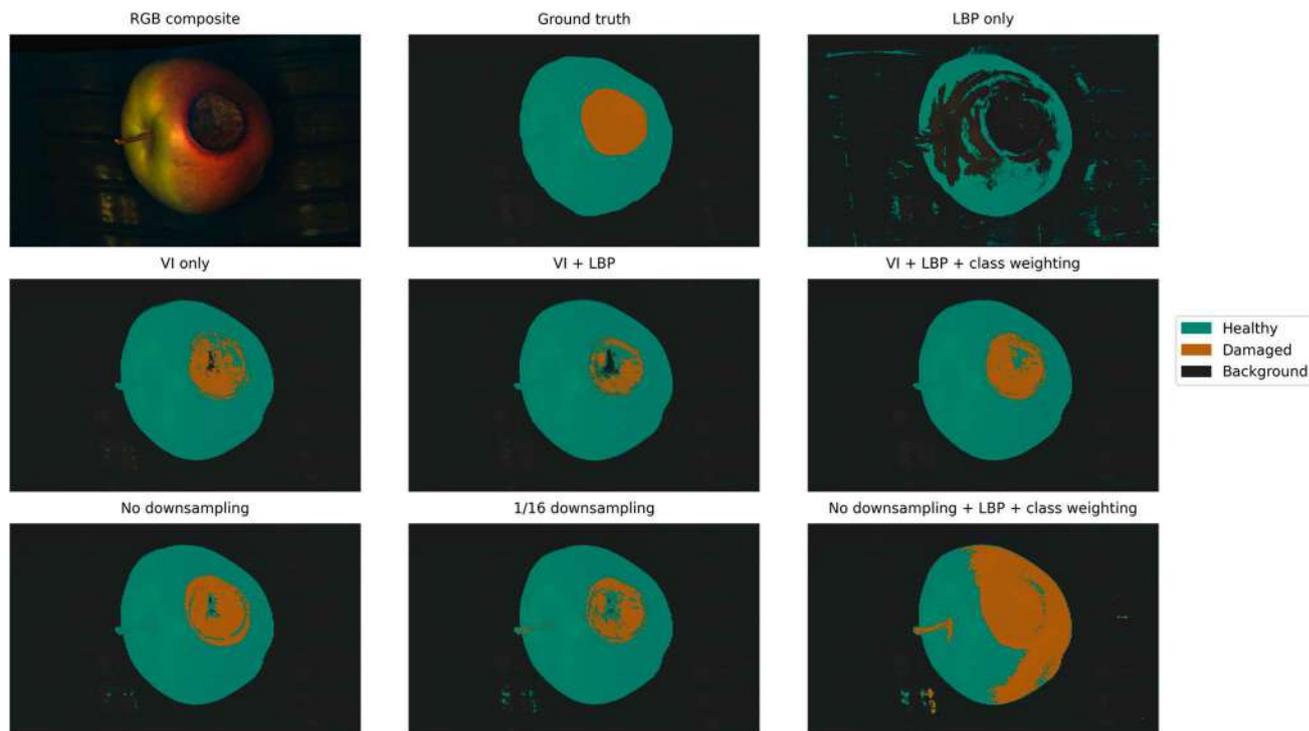


Рисунок 46 — Пример работы различных классификаторов на гиперспектральном изображении яблока.

Что же касается сопоставления классификации методами RF и SVM, то сравнительная оценка качества их работы на основании кривых ROC и AUC в качестве интегрального параметра приводит к выводу, что наилучшим подходом из рассмотренных является использование случайного леса с исходными значениями спектральных коэффициентов отражения, формирующего пространство, неглубоких деревьев (максимальная глубина = 5), отсутствии взвешивания признаков и пропорциональной встречаемости исходных классов тестовой выборке. Основное преимущество по сравнению с классификаторами, использующими пространство спектральных индексов, проявляется при высоких порогах классификации, т.е. небольшой полноте обнаружения повреждений на снимках. Классификаторы, использующие спектральные индексы, выглядят малочувствительными по отношению к выбору гиперпараметров, что представляет существенное преимущество в плане их генерализуемости.

В целом, по итогам проведённой работы можно сделать несколько заключений. Из результатов попиксельной классификации следует, что неинвазивное обнаружение повреждений плодов с помощью гиперспектральных снимков возможно с точностью, сравнимой с точностью экспертной оценки. Однако как визуальный осмотр, так и  $F_2$ -мера демонстрируют расхождение работы алгоритмов машинного обучения с бинарными аннотациями (здоровое/повреждённое яблоко). Эта проблема известна как проблема контроля искусственного интеллекта (AI alignment problem) и является одной из фундаментальных в области машинного обучения [310].

Было показано, что взвешивание классов и выборка оказывают огромное влияние на эффективность попиксельной классификации, и в приложениях компьютерного зрения для фенотипирования растений, включая оценку качества плодов, очень важно контролировать баланс классов и стратегию выборки при оценке модели. В конечном счёте оценка эффективности классификации должна быть помещена в более широкий контекст потенциальных научных и промышленных приложений, общей задачи фенотипирования; с осмотрительностью следует подходить к выбору метрик для оптимизации. Важно также, что лучший классификатор, основанный на общепринятых показателях точности — F-меры, AUC или капшы Коэна, может не обладать наилучшей производительностью, если рассматривать всю задачу в совокупности.

Наконец, была продемонстрирована избыточность информации в спектральных коэффициентах отражения: снижение количества спектральных каналов в 8 раз не приводило к хоть сколько-то значимой потере точности. Спектральные классификаторы выигрывали наиболее существенно при дополнении информации пространственными (текстурными) признаками, а использование вегетационных индексов в качестве спектральной информации давало устойчивый, мало зависящий от выбора гиперпараметров результат. Отдельно пространственная информация при этом оказалась совершенно не пригодной для обнаружения повреждений.

### 3.4 Неинвазивный мониторинг зимнего покоя древесных растений методами РАМ-флуориметрии

Данная задача, в отличие от ранее рассмотренных задач, не могла быть решена путём анализа морфологических признаков и (или) спектров отражения, поскольку эти характеристики остаются практически неизменными в период зимнего покоя. С учётом накопленных к настоящему моменту знаний о физиологии растений в период покоя стало очевидным, что для мониторинга глубины покоя следует использовать функциональные критерии, такие как фотосинтетическая активность (эффективность фотохимического преобразования) и нефотохимическое тушение энергии электронного возбуждения молекул хлорофилла в составе тканей побегов. Как само прохождение растениями зимнего покоя, так и выбранный для его объективного наблюдения инструментарий обладают выраженными особенностями, определяющими стратегию обработки данных. А именно:

- фотосинтетическая активность преимущественно зависит от освещённости;
- *In natura* вариация освещённости определяется как суточным циклом (регулярно меняющийся фактор), так и актуальными погодными условиями, например, облачностью (стохастически меняющийся фактор);
- состояние фотосинтетического аппарата особенно существенно меняется при переходе между светлым и тёмным временем суток, в светлое же время суток оно контролируется фотозащитными механизмами, эффективность которых зависит, среди прочего, от температуры;
- адаптация растений к низким температурам может включать в себя повышение ёмкости метаболического стока и (или) снижение фотохимической эффективности ФСА; считается, что у яблони доминирует второй механизм [41];
- у яблони роль фотопериода в индукции зимнего покоя и выхода из него слабо выражена, в основном эти процессы регулируются температурой.

В основу предложенного в данной работе подхода к мониторингу глубины зимнего покоя была положена постулированная связь между глубиной покоя и амплитудой адаптивных реакций ФСА на флуктуации интенсивности солнечного света. При этом следовало учесть, что выраженный суточный цикл является неотъемлемым атрибутом временной динамики фотосинтетической активности и, как следствие, динамики параметров ЛР-теста, однако же эти колебания не связаны напрямую с содержанием в растении «ингибитора» (см., например, обзор [311] и ссылки в нём), блокирующего рост и развитие в период глубокого покоя. Предполагается, что связь эта носит интегральный характер, а параметры внешней среды — температура, влажность, освещённость — имеют в общем случае неизвестную зависимость от времени. Приведённые соображения подталкивают к рассмотрению их как фазовых переменных, а растения в целом — как быстро-медленной системы, где глубина покоя — медленно<sup>(1)</sup> меняющаяся характеристика.

В таком подходе тесная связь параметров ЛР-теста с температурой и освещённостью — признак их «быстрой» природы, манифестация механизмов кратковременной адаптации. Для решения поставленной задачи — неинвазивного определения глубины покоя — это свойство является отрицательным, поскольку свидетельствует о сравнительно низкой информативности такого параметра в отношении «медленной» компоненты физиологической пластичности растения. Напротив, чем слабее выражена суточная динамика, и чем сильнее — сезонная, тем более информативным является исследуемый параметр. Для анализа процессов, проходящих на различных временных масштабах, естественным является использование частотного представления, использование Фурье- и вейвлет-преобразований. Основным недостатком данного подхода к обработке следует признать ограничение возможности интерпретировать поступающие данные в

---

<sup>1</sup> По сравнению с суточными колебаниями

режиме реального времени: так, использование в расчётах данных за одну неделю повлечёт за собой недельную же задержку в принятии решений о проведении агротехнических мероприятий по искусственному регулированию прохождения покоя у растений.

Вышесказанное позволяет наметить общую стратегию обработки данных в описываемом эксперименте:

- Подготовка данных: регистрация индукционных кривых Хл *a* и расчёт параметров ЛР-теста, положения Солнца на небосклоне, сведение метеорологических и флуориметрических измерений к единой временной шкале;
- Предварительный анализ информативности признаков: расчёт коэффициентов корреляции Пирсона и Спирмена для пар параметров, оценка степени их зависимости от температуры и освещённости;
- Анализ временных рядов: сопоставление автокорреляции для отдельных параметров, Фурье- и вейвлет-анализ;
- Построение критериев оценки глубины покоя по кривым индукции флуоресценции хлорофилла;
- Валидация построенных моделей, сопоставление с известными описаниями ответа яблони на холодовые сигналы (chilling requirement models).

В зимний сезон 2019–2020 гг. у срезанных побегов отсутствовало распускание почек 25.11.2019, 27.12.2019, распускание почек у побегов наблюдалось 27.01.2020. В сезон 2020–2021 гг. 21.10.2020 растения уже находили в фазе глубокого покоя, 16.12.2020 распускания почек всё ещё не было; 15.01.2021 распустились почки у некоторых срезанных побегов, а 26.01.2021 — у всех побегов. Наконец, в сезон 2021–2022 гг. распускания не было 02.11.2021 и 20.12.2021, начало распускания почек отмечено 11.01.2022, у всех побегов

распустились почки 24.01.2022. Эти данные служили мерой объективного контроля глубины покоя.

Основная часть полученных в ходе эксперимента данных представляет из себя набор кривых индукции флуоресценции хлорофилла *a*. Эти кривые были разбиты на две группы, соответствующие дневному и ночному времени суток, в соответствии с положением Солнца на небосклоне. Наблюдалось, что даже в рамках одной фенологической фазы интенсивность флуоресценции крайне волатильна и зависит в основном от быстро меняющихся условий внешней среды, особенно в дневное время суток (рис. 47). Этот результат наглядно демонстрирует, помимо прочего, непригодность отдельных абсолютных значений интенсивности флуоресценции для оценки физиологического состояния растения, в особенности при разовых измерениях. В методологии JР-теста для этой цели используют набор производных параметров, являющихся более стабильными индикаторами. Для каждой кривой был вычислен 21 такой параметр (см. Материалы и методы), в дальнейшем анализе использовали именно их. Кроме того, исходный массив данных был дополнен ещё одним расчётным параметром — освещённостью в ясную погоду, без учёта актуальных метеорологических условий (формула (14)).

Для поиска наиболее вероятных кандидатов на роль чувствительных и селективных индикаторов глубины покоя была построена матрица кросс-корреляции для временных рядов всех параметров, использовавшихся в эксперименте. Матрица корреляции для наиболее релевантного подмножества параметров приведена на рис. 48.

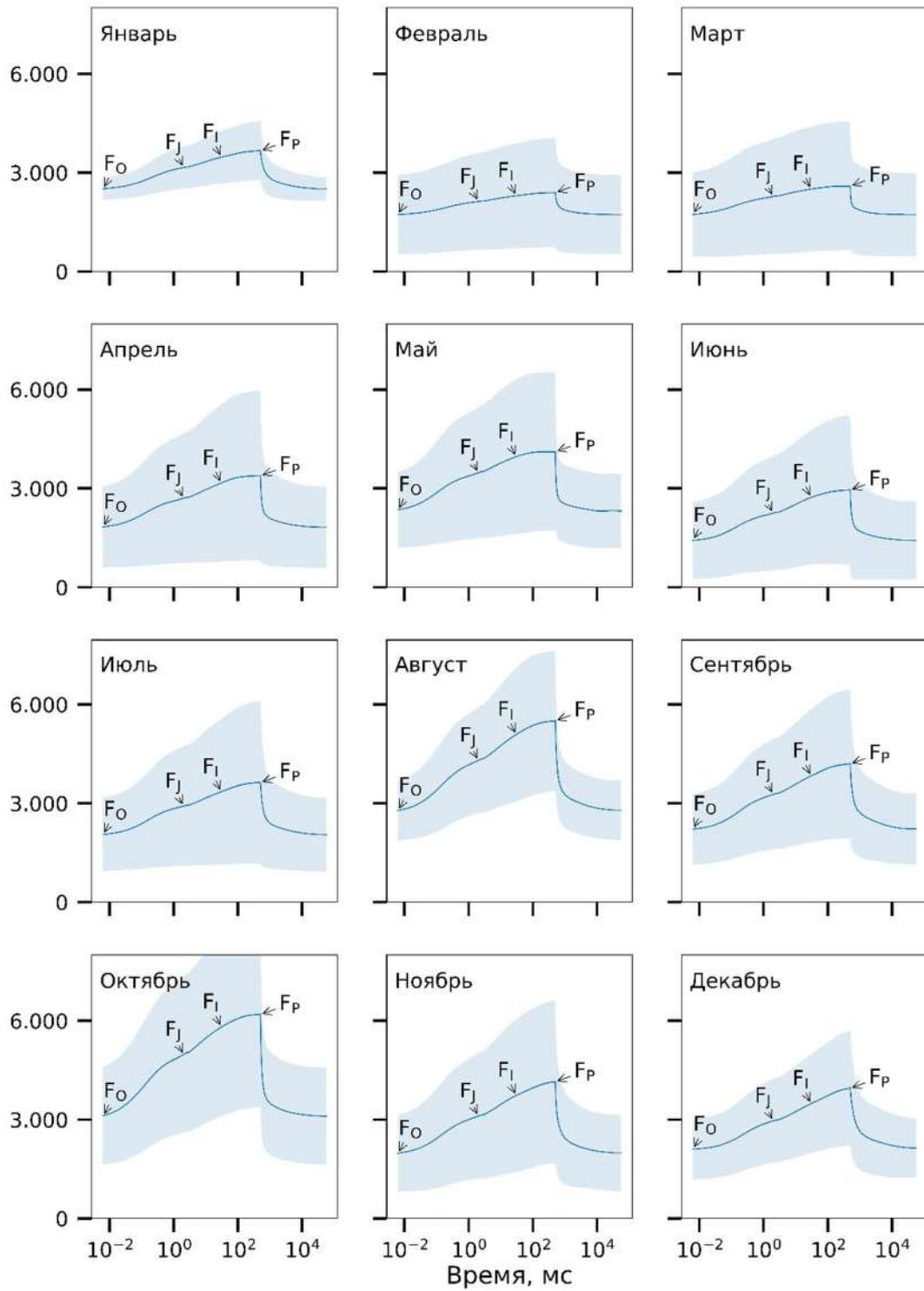


Рисунок 47 — Кривые индукции флуоресценции хлорофилла (среднее  $\pm 2\sigma$ ) в разные месяцы года.

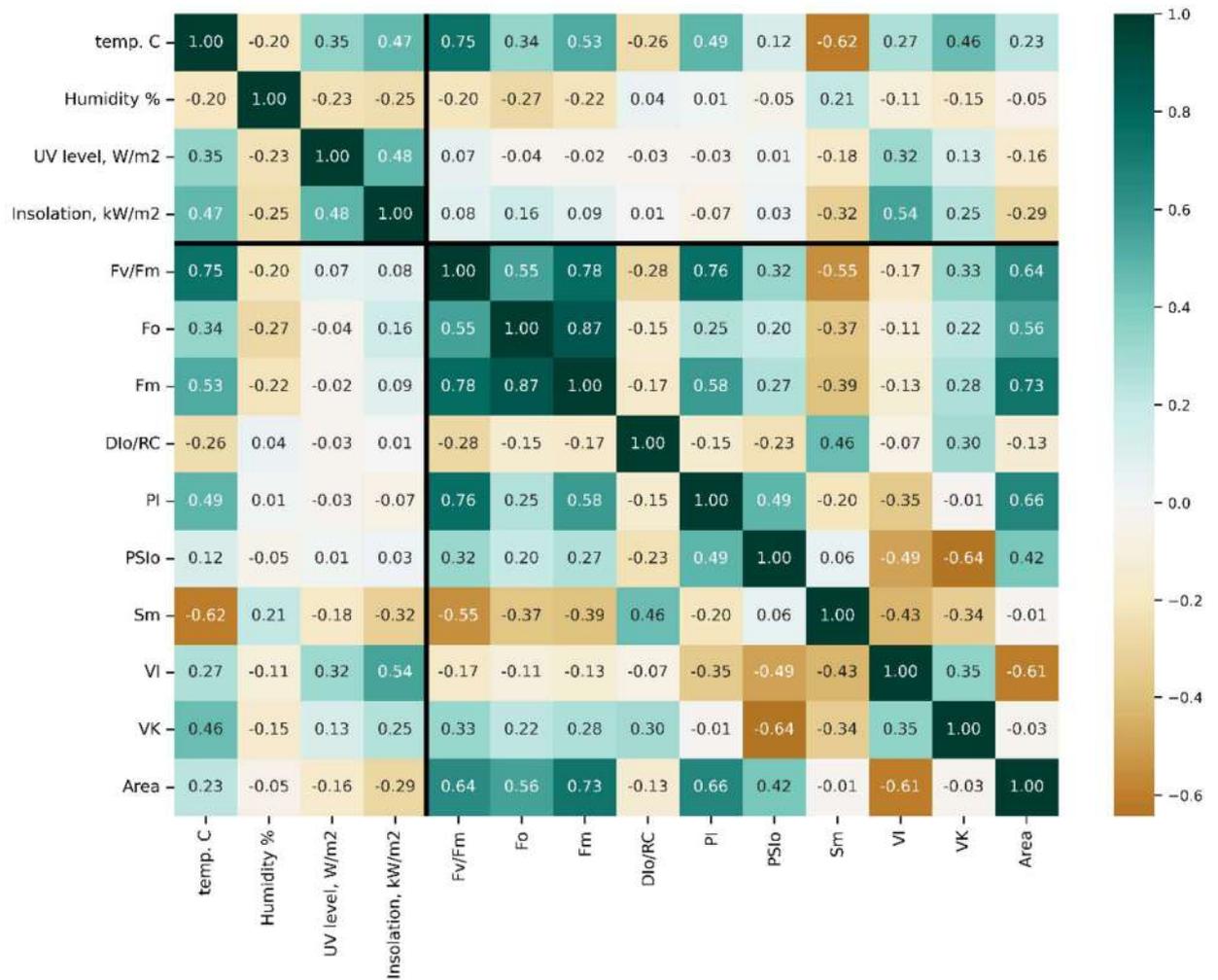


Рисунок 48 — Матрица корреляции для основных параметров внешней среды и параметров ЛР-теста.

Для расчёта использовался коэффициент корреляции Пирсона, дополнительные расчёты проводили также с использованием коэффициента ранговой корреляции Спирмена для учёта возможной нелинейности взаимосвязи между параметрами, но качественно картина при использовании различных коэффициентов корреляции не отличалась. Примечательно, что максимальный квантовый выход ФС II ( $F_v/F_m$ ) оказался тесно связан с температурой воздуха как при дневном освещении, так и в темноте. Этот результат согласуется с известными из литературы данными о том, что для яблони именно температура играет ключевую роль в процессах регулирования фотосинтеза [41]. Слабую связь

параметров ЛР-теста с измеренной освещённостью можно объяснить неточным совпадением во времени измерения метеорологических параметров и получения индукционных кривых. Кроме того, рассчитанная освещённость оказалась теснее связана с состоянием ФС II, чем измеренный уровень ультрафиолетового излучения, поскольку облачность экранирует его сильнее, чем ФАР.

Для оценки степени зависимости параметров от температуры и освещённости была построена мультилинейная регрессионная модель:

$$P = C + k_I * I + k_T * T + k_{IT} * I * T, \quad (23)$$

где  $P$  — изучаемый параметр,  $I$  — освещённость,  $T$  — температура,  $k_I$ ,  $k_T$ ,  $k_{IT}$  — коэффициенты регрессии. Квадрат множественного коэффициента корреляции  $r^2$  интерпретировался как доля объяснённой дисперсии наблюдаемого признака, данные о значениях параметров регрессии и величинах  $r^2$  для ключевых функциональных характеристик приведены в таблице 10.

Таблица 10 — Коэффициенты регрессии и детерминации для параметров ЛР-теста как зависимость от температуры и освещённости.

Параметр	$F_v/F_m$	$DI_0/RC$	$F_0$	$F_m$	PI	$Psi_0$
$C$	0,42	42,44	1394,35	3213,31	0,82	0,42
$k_I$	-0,21	105,95	43,56	-1361,52	-1,31	-0,02
$k_T$	0,02	-5,02	19,00	148,12	-0,07	0,00
$k_{IT}$	0,00	-1,76	-3,24	-38,76	0,11	0,00
$r^2 (T)$	0,52	0,05	0,06	0,21	0,00	0,01
$r^2 (T, I)$	0,67	0,07	0,06	0,25	0,00	0,01

Наиболее непосредственно от температуры и освещённости зависит  $F_m$  и производные величины, в частности,  $F_v/F_m (Q_v)$ . В таком подходе значения

измеряемых параметров в каждый момент времени считаются не зависящими от предыстории, и зависимость можно визуализировать как плотность облака точек, соответствующих наблюдениям, в координатах (измеряемая величина, температура) или (измеряемая величина, освещённость). Такая визуализация для пар  $(F_v/F_m, T)$  и  $(F_v/F_m, I)$  приведена на рис. 49.

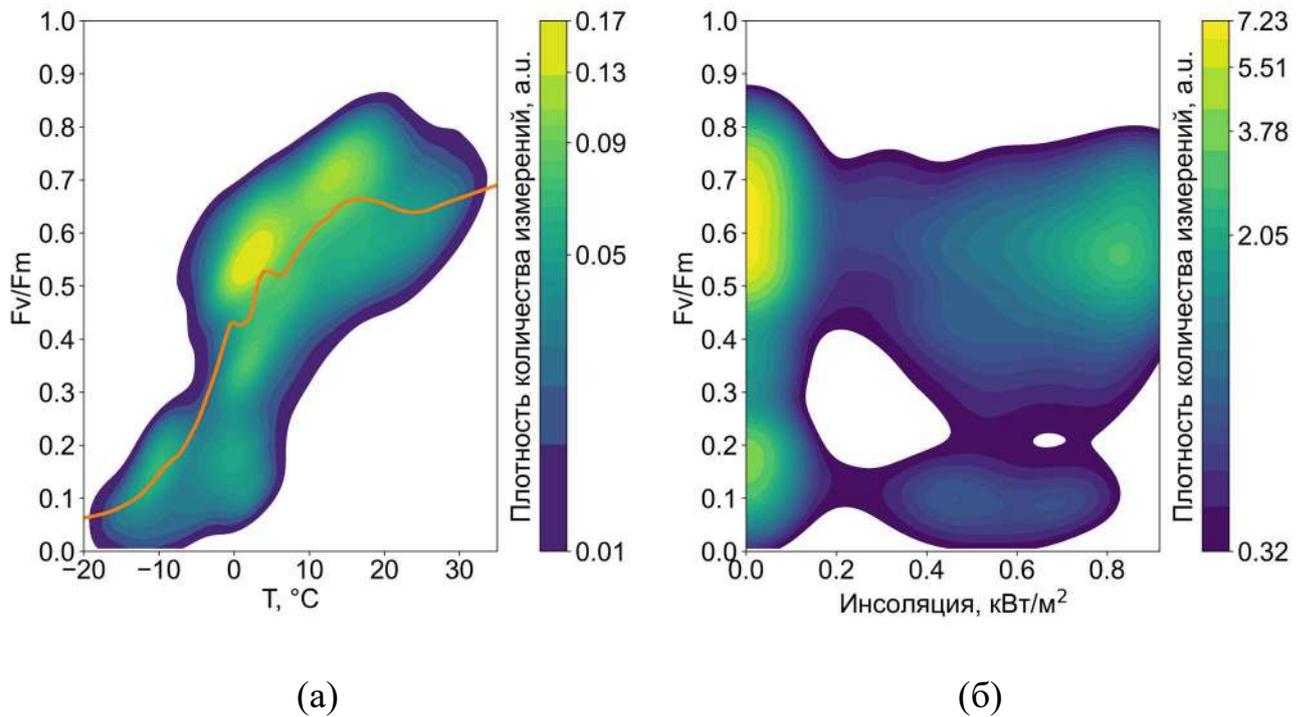
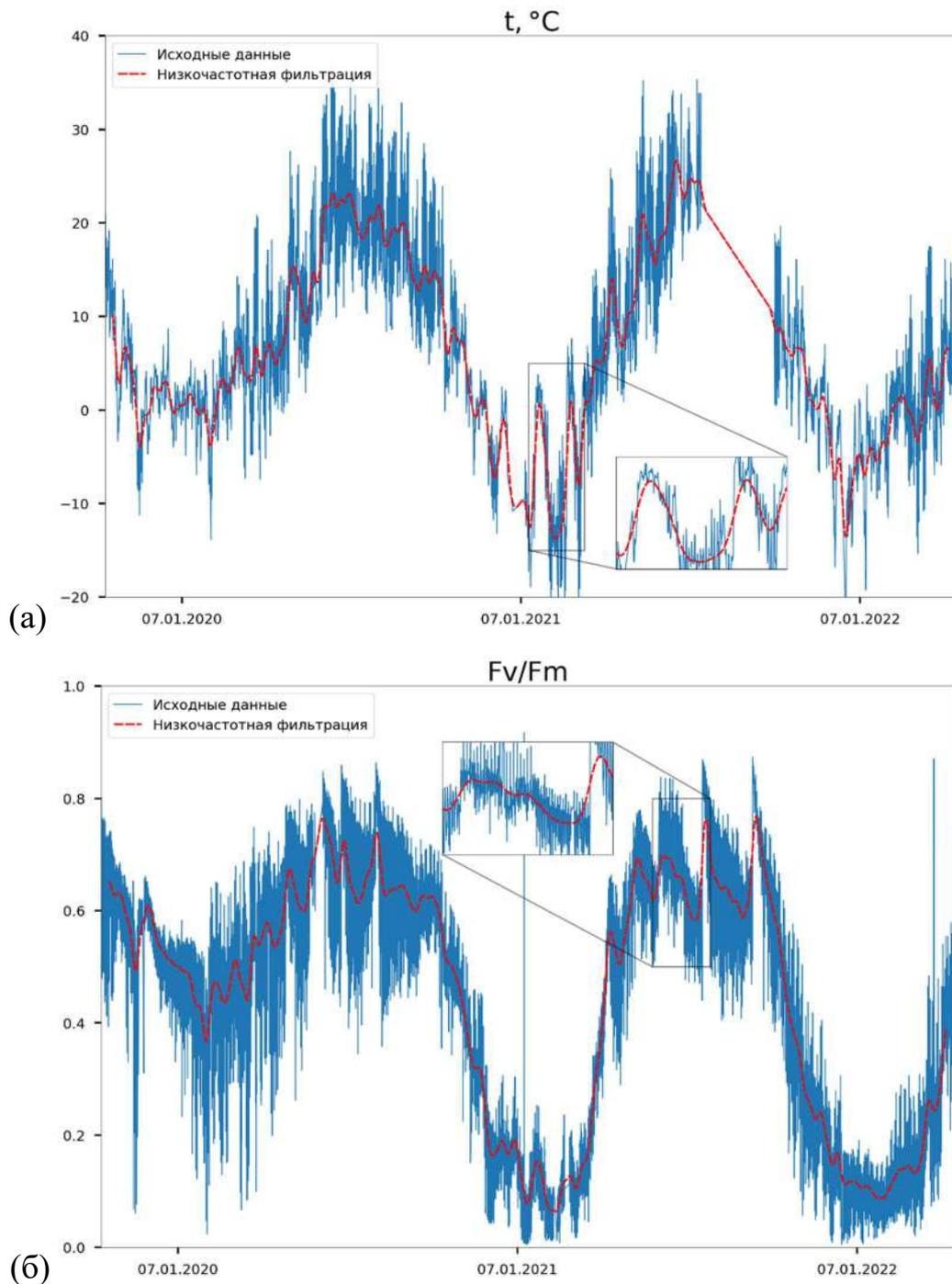


Рисунок 49 — Зависимость  $F_v/F_m$  от (а) температуры (б) инсоляции.

Примечателен разброс значений  $F_v/F_m$  при температурах, близких к  $0^{\circ}\text{C}$ , по-видимому, обусловленный как разными уровнями инсоляции при этих температурах, особенно в межсезонье, так и изменениями в самом растении, сопряжёнными с переходом между фазами покоя. Интерпретация одновременно измеряемых значений оказывается затруднена из-за отсутствия возможности контролировать экзогенные факторы и большим разбросом их значений в каждый период времени, в частности, вызываемым суточными циклами в природе.

Обратимся теперь к анализу временных рядов. Полученные по результатам первоначальной обработки данные обнаруживают высокую вариативность, сгладить которую позволяет низкочастотная фильтрация (рис. 50).



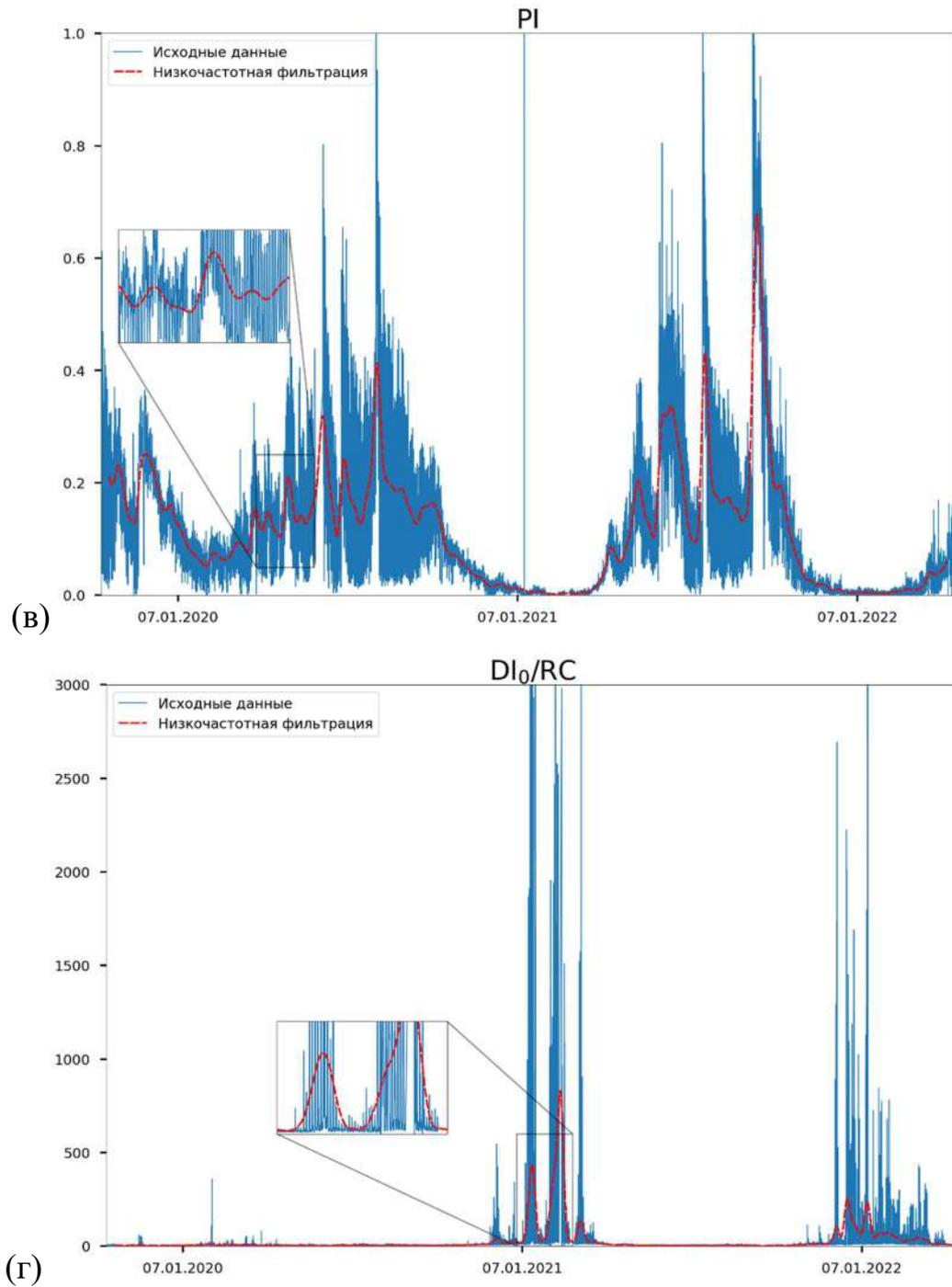


Рисунок 50 — Временные ряды наблюдений для отдельных измеренных параметров и результат их низкочастотной фильтрации. (а) Температура (б)  $F_v/F_m$  (в) Индекс производительности, PI (г)  $DI_0/RC$ .

Характерные в данном эксперименте масштабы времени удобно выражать в обратных единицах — так, одной из фундаментальных является частота, соответствующая периоду времени в одни сутки ( $1/24$  ч). Здесь и далее анализ, проводимый в частотном представлении, будет описываться в терминах соответствующих временных единиц. На этих графиках видны долговременные, сезонные изменения, сопровождающие прохождение растением вегетационных фаз. Выделяется первый сезон наблюдений: видимые изменения в функциональном состоянии ФС II в этот год слабее, чем в какой-либо из двух последующих. К сожалению, с однозначностью атрибутировать это явление не представляется возможным — оно могло быть вызвано необычно тёплой зимой (среднесуточная температура за январь составила  $0,5^{\circ}\text{C}$  против  $-7^{\circ}\text{C}$  во второй сезон и  $-5^{\circ}\text{C}$  в третий), слабой адаптацией саженцев в первый год после посадки или же комбинацией этих факторов. Так или иначе, полученный результат впервые позволяет говорить о неинвазивном мониторинге долговременных изменений, сопровождающих прохождение зимнего покоя опытными деревьями. Однако связь измеренных параметров функционального состояния ФС II с биохимическими детерминантами покоя всё ещё подлежит установлению.

В качестве первого подхода к решению этой задачи может быть предложено использование текущих значений параметров ЛР-теста как критериев пребывания растения в глубоком покое. Прохождение фазы глубокого покоя — неравновесный процесс; можно предположить различные уровни фотосинтетической активности в целом и изучаемых параметров в частности в предпокое и при переходе в фазу вынужденного покоя. Стратегия поиска была построена следующим образом: для различных значений частоты среза,  $f_{\text{cutoff}}$ , производится низкочастотная фильтрация временного хода кривой исследуемого параметра.

Затем фиксируются значения параметра в дни отбора проб для деструктивных измерений, соответствующие известным фазам вегетационного

цикла, для каждого сезона в отдельности строятся диапазоны значений, соответствующих различным фазам. Исходя из критерия минимизации расхождения в предсказанной и зафиксированной в ходе эксперимента<sup>(2)</sup> дате выхода из глубокого покоя выбирается пороговое значение, соответствующее качественному переходу. Таким образом были исследованы как взаимосвязь параметров ЛР-теста с фенологической фазой, так и влияние частоты среза при низкочастотной фильтрации временных рядов этих параметров на точность предсказания дат выхода растений из глубокого покоя.

Сводные данные для избранных частот отсечки приведены в таблице 11. Вплоть до частоты отсечки, соответствующей одной неделе, предсказания даты выхода из глубокого покоя остаются практически случайными. Это связано с тем, что характерные пороговые уровни значений параметров, соответствующих качественному переходу между фазами покоя, многократно пересекаются и в ходе суток, и со сменой погодных условий; возможны и «ложные срабатывания», вызванные погрешностью измерений. Всё вышеописанное подталкивает к поиску решений, позволяющих исключить влияние быстрых осцилляций значений параметров ЛР-теста.

Второй из предложенных и реализованных подходов основан на прямом спектральном разделении «быстрых» и «медленных» компонент. Для наблюдения временной развёртки вклада различных компонент в измеряемый сигнал оптимально использование вейвлет-анализа. В этой работе использовали вейвлеты Морле (см. Материалы и методы).

---

<sup>2</sup> Выход из глубокого покоя — постепенный процесс, не привязанный к одной конкретной дате. В качестве «даты выхода из глубокого покоя» используется дата, лежащая посередине между зафиксированными состояниями пребывания в глубоком покое и пребывания в покое вынужденном

Таблица 11 — Использование низкочастотной фильтрации для детектирования выхода из глубокого покоя

Параметр	Диапазон в предпокое (сентябрь)	Диапазон в глубоком покое (EnD)	Диапазон в вынужденном покое (EcD)	Диапазон в фазе вегетации (июнь-август, V)	Оптимальное пороговое значение	Точность предсказания даты (RMSE), сут.
Без сглаживания						
$F_v/F_m$	0,65±0,09	0,46±0,20	0,21±0,17	0,67±0,09	0,01	26,2
$DI_0/RC$	3,53±1,90	17,1±101,5	114,7±1103,4	4,02±2,17	157,2	39,6
PI	0,26±0,23	0,13±0,14	0,02±0,03	0,21±0,16	0,000	26,9
$f_{\text{cutoff}} = 1/(12 \text{ ч.})$						
$F_v/F_m$	0,65±0,07	0,46±0,19	0,21±0,16	0,67±0,07	0,03	18,7
$DI_0/RC$	3,53±1,32	17,1±73,8	101,6±265,9	4,02±1,35	182,0	27,2
PI	0,26±0,21	0,13±0,13	0,02±0,03	0,21±0,12	0,000	26,9
$f_{\text{cutoff}} = 1/(24 \text{ ч.})$						
$F_v/F_m$	0,65±0,06	0,46±0,19	0,21±0,16	0,67±0,05	0,05	18,7
$DI_0/RC$	3,53±1,11	17,1±62,9	101,6±238,5	4,02±1,06	199,0	26,8
PI	0,26±0,20	0,13±0,13	0,02±0,03	0,21±0,11	0,000	26,9
$f_{\text{cutoff}} = 1/(168 \text{ ч.})$						
$F_v/F_m$	0,65±0,05	0,46±0,18	0,21±0,16	0,67±0,04	0,10	6,0
$DI_0/RC$	3,53±1,01	17,4±38,6	101,4±161,3	4,02±0,82	199,0	20,2
PI	0,26±0,18	0,13±0,12	0,02±0,03	0,21±0,08	0,000	26,9

Полученные спектрограммы позволяют пронаблюдать изменение спектральной плотности вклада «быстрых» и «медленных» компонент в ходе наблюдений. К этому моменту анализа сильная зависимость ряда параметров ЛР-

теста от температуры хорошо установлена, поэтому их вейвлет-представления дополнительно сопоставляли друг с другом. Соответствующие графики приведены на рис. 51 и 52. На них цветом показана спектральная мощность; чёрные горизонтальные линии соответствуют периодам в 24 часа и одну неделю, соответственно, а белые пунктирные линии обозначают доверительный конус, данные под которым не могут считаться надёжными.

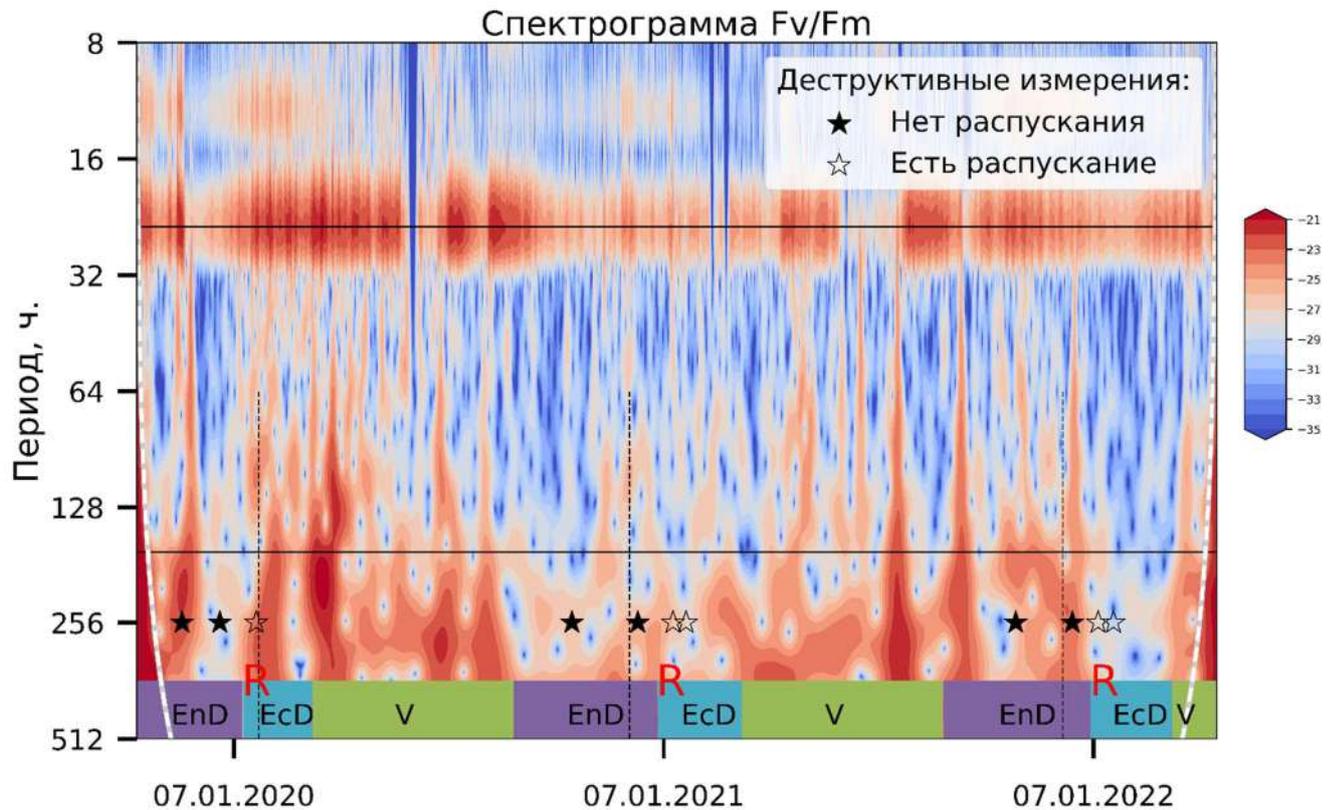


Рисунок 51 — Спектрограмма  $F_v/F_m$ . Нижняя шкала — фенологическая фаза (V — вегетационный период, EnD — глубокий покой, EcD — вынужденный покой, R — выход из глубокого покоя). Открытые и закрытые символы (☆ и ★) обозначают даты и результаты деструктивных измерений.

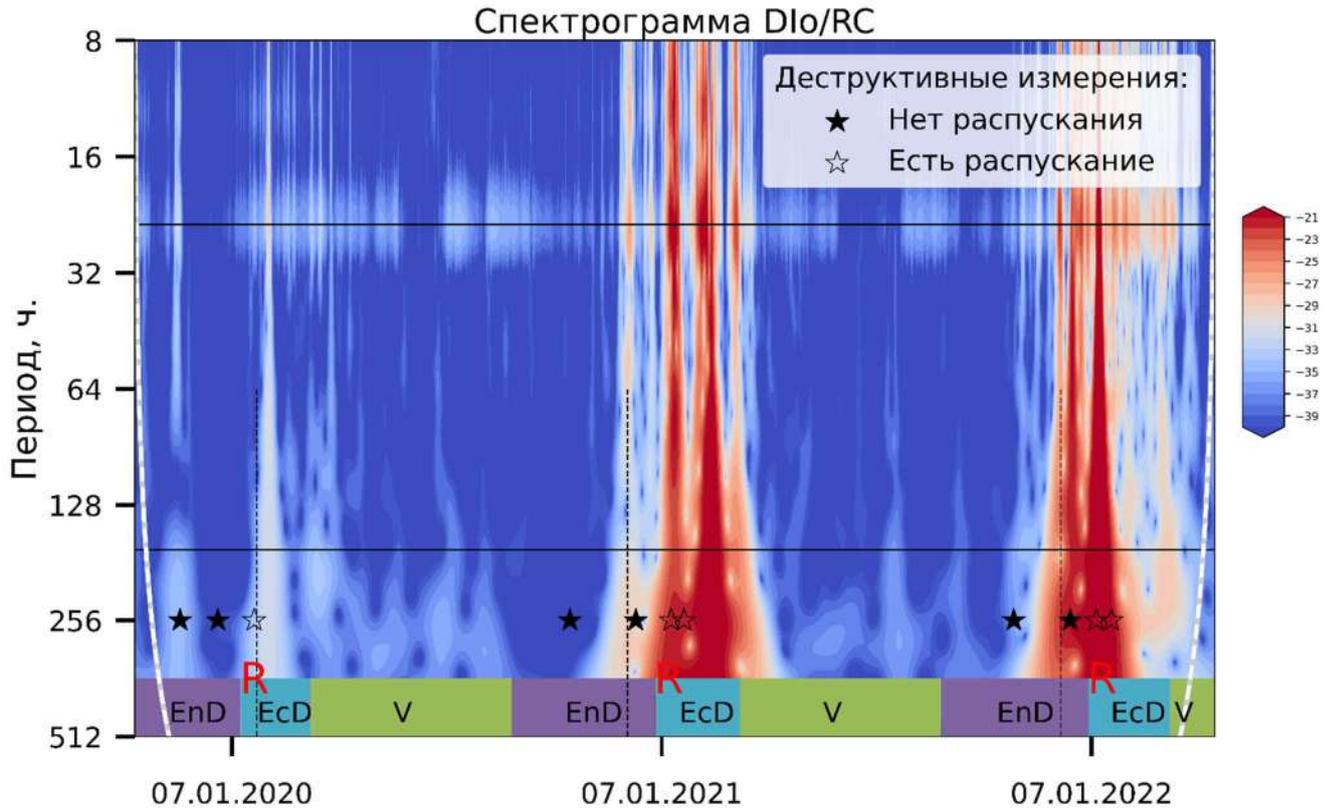


Рисунок 52 — Спектрограмма  $DI_0/RC$ . Нижняя шкала — фенологическая фаза (V — вегетационный период, EnD — глубокий покой, EcD — вынужденный покой, R — выход из глубокого покоя). Открытые и закрытые символы (☆ и ★) обозначают даты и результаты деструктивных измерений.

В полном соответствии с ожиданиями, на периодограммах для всех наблюдаемых параметров хорошо прослеживается суточная вариативность. Особняком стоит  $DI_0/RC$ , для которой суточная периодичность выражена сравнительно слабо, а спектрограмму доминируют отдельные пики, соответствующие периодам глубокого покоя. Это позволяет с уверенностью связать диссипацию тепловой энергии с прохождением фазы глубокого покоя и предложить её на роль фенологического индикатора. На графике рис. 0 видно, что переход через фазу глубокого покоя приблизительно соответствует частоте в одну неделю (нижняя горизонтальная линия), то есть для определения глубины покоя можно использовать вейвлет-преобразование для единичной частоты  $1/(168 \text{ ч})$ .

Оптимальное пороговое значение спектральной плотности скорости изменения  $DI_0/RC$  при этом составляет около  $5 \cdot 10^{-4}$ .

Валидацию этой гипотезы можно провести сопоставлением с классическими моделями покоя для яблонь (рис. 53). К сожалению, отсутствуют исторические данные для сортов и условий произрастания, использованных в эксперименте, что подчёркивает необходимость в развитии неинвазивных методов. Для порогового значения накопительных моделей был выбран диапазон 800–1000 CU, описанный в литературе для близких сортов [312–314].

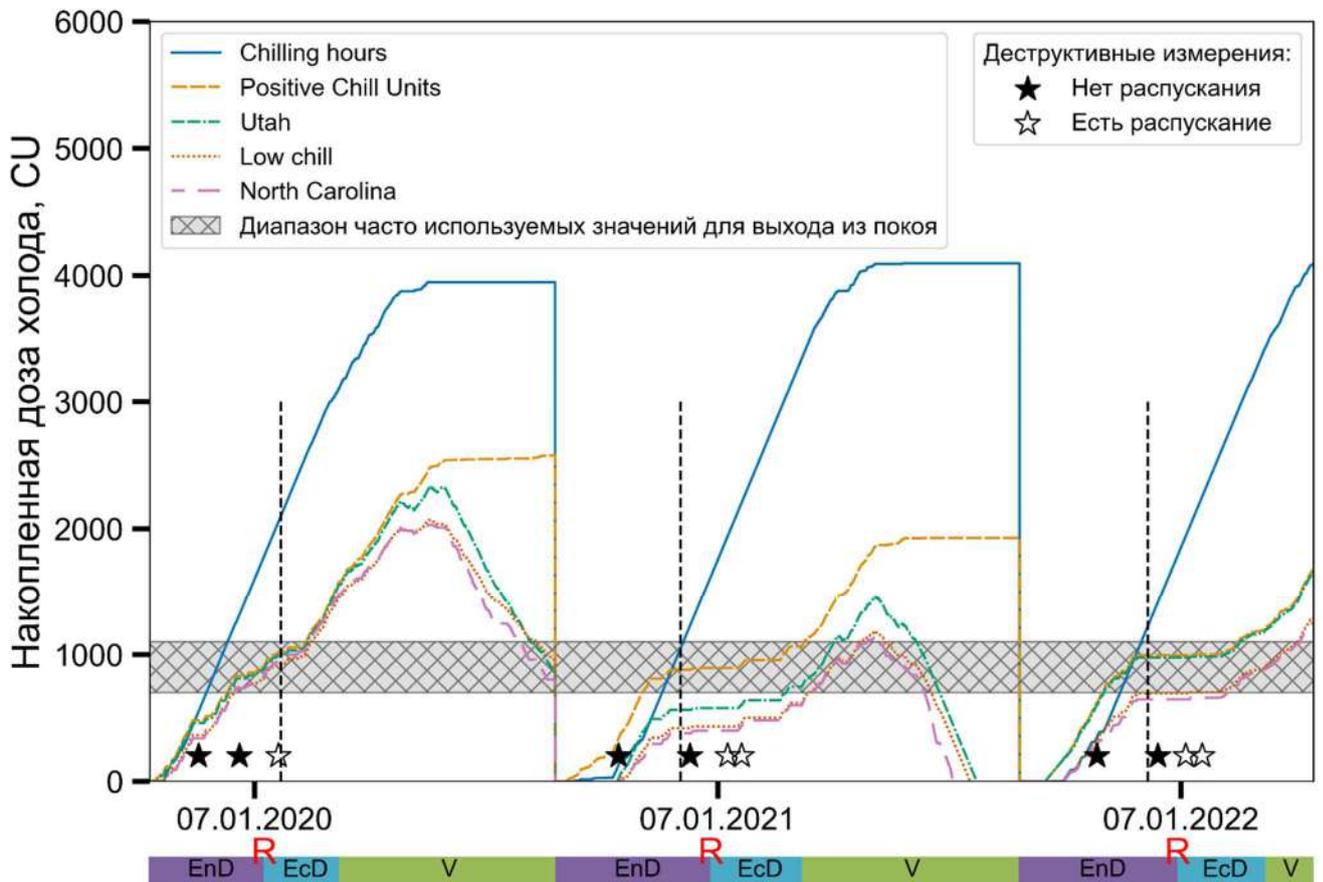


Рисунок 53 — Сопоставление предложенного подхода с результатами объективных измерений и классическими моделями зимнего покоя. Вертикальные заштрихованные линии — предсказания модели.

По графику видно, что предсказанные по  $DI_0/RC$  даты выхода из покоя с хорошей точностью совпадают с датами, полученными по накопительным моделям. Таким образом, это позволяет сделать заключение о пригодности использования временных рядов измерений переменной флуоресценции хлорофилла для оценки глубины покоя древесных растений, а  $DI_0/RC$  — чувствительного к этому комплексу адаптаций параметра.

Отдельно следует отметить, что с учётом широкого диапазона естественной вариации экзогенных факторов временное измерение оказывается совершенно необходимым для оценки статуса ФСА *in natura*. В подобных экспериментах нет возможности дожидаться оптимальной для измерений погоды, освещённости, температуры: адаптационные изменения происходят на фоне естественных колебаний, значительный вклад в которые вносит суточная периодичность. Многократные, регулярные измерения функционального состояния ФСА позволяют преодолеть этот барьер, разделить компоненты ответа растения по скорости их проявления, следовательно, и по их природе.

## Заключение

Проксимальное пространственно-разрешённое оптическое зондирование, сбор и обработка временных рядов наблюдений являются собой сдвиг парадигмы в фенотипировании растений. Пространственная гетерогенность является неотъемлемым свойством всех живых систем, но в рамках концепции традиционного дистанционного зондирования она является латентной переменной, помехой, подлежащей упрощению и устранению. В проксимальном зондировании же, напротив, она становится объектом всестороннего изучения.

В свою очередь, подобная смена парадигмы требует пересмотра подходов к разработке методов и алгоритмов обработки спектральных изображений. На передний план выходят семантические категории и качественные признаки, анализ которых продолжает становиться всё целесообразнее и доступнее благодаря успехам в области машинного обучения и искусственного интеллекта. В настоящей работе было показано, что уже сейчас выделение функционально и физиологически однородных зон способно выявлять сравнительно тонкие, не обнаруживаемые «точечной» спектрометрией изменения на фоне естественной адаптации к условиям внешней среды. Наблюдение динамики изменений фенотипа во времени же позволяет учесть вариативность, вызванную видовыми и сортовыми особенностями. Физиологическая пластичность растений, во многих случаях затрудняющая фенотипирование, сама по себе является привлекательным объектом для изучения в силу интенсификации природных и антропогенных воздействий на биоценозы. В силу вышеперечисленных причин оптические методы пространственно-разрешённого проксимального зондирования растений — мощнейший инструмент для её изучения. Они позволяют выявлять тонкие, не обнаруживаемые «точечной» спектрометрией изменения в растительном организме, возникающие в ответ на стимулы окружающей среды, а также в ходе реализации программы развития, заложенной в генотипе. В отличие от деструктивных измерений, получение

изображений может осуществляться на регулярной основе, что придаёт проксимальному зондированию временное измерение.

Не менее важную роль играют и методы обработки изображений. Основную трудность при использовании методов машинного обучения и искусственного интеллекта представляет накопление знания — в отличие от традиционных подходов с небольшим количеством переменных, современные алгоритмы машинного обучения используют миллионы и десятки миллионов слабо интерпретируемых параметров. Применение этих алгоритмов требует особой тщательности в планировании эксперимента. Тем не менее, достигаемый прирост производительности фенотипирования неоспорим. Одним из подходов к решению этой проблемы может стать последовательный выбор наиболее информативных, физиологически релевантных и измеряемых неинвазивно величин, создание баз данных о свойствах растений, их органов и тканей. Это отмечают как важное направление исследований как российские, так и зарубежные учёные [315-317].

В настоящей работе было показано, что выбор биофизически обоснованных характеристик в качестве информативных признаков, рассмотрение алгоритмов машинного обучения с точки зрения их структурных параметров позволяют повысить точность и надёжность их работы. Подобный целостный подход, основанный на синтезе классических методов оптической спектроскопии растений и современных алгоритмов компьютерного зрения, открывает новые горизонты для исследования акклимационных механизмов в растениях и позволит создавать высокопроизводительные, массовые и неинвазивные экспресс-методы их фенотипирования.

## Выводы

1. Установлено, что акклимация растений салата (*Lactuca sativa* L.) к условиям водного дефицита сопровождается сохранением фотосинтетической активности при потере листом до 50% воды, в то время как снижение общего содержания хлорофиллов  $a + b$  составило до 70%. Показано, что на ранних этапах этого процесса признаки деградации фотосинтетического аппарата проявляются в отдельных участках листа, суммарная площадь которых не превышает 25% от его общей площади.
2. Разработана методика, позволяющая неинвазивно и с высокой точностью ( $r^2 = 0,84$ ) оценивать суммарное содержание хлорофиллов и каротиноидов в растительном организме с учётом его пространственной гетерогенности.
3. Доказано, что созревание плодов яблони тесно связано с ростом вклада вторичных каротиноидов в поглощение света, рассчитанного для каждой точки спектрального изображения с учетом вкладов других пигментов (хлорофиллов и антоцианов).
4. Выявлено, что максимальная точность при обработке спектральных изображений растений методами машинного обучения достигается при совместном анализе морфологических и спектральных характеристик изображаемых объектов. При детекции повреждений плодов яблони достигнута точность в 98,3%.
5. Разработан метод неинвазивного мониторинга зимнего покоя растений яблони, основанный на измерении индукционных кривых флуоресценции хлорофилла  $a$ . Выявлена взаимосвязь глубины покоя со скоростью изменения удельного потока поглощённой энергии света, рассеянной в виде тепла ( $DI_0/RC$ ). Установлено, что наиболее активно этот параметр меняется в фазе вынужденного покоя.

## Список сокращений и условных обозначений

Ант — антоциан(ы);

АФК — активные формы кислорода;

БИК или NIR — ближняя инфракрасная область;

ВМФ — водно-метанольная фракция (экстракта по Фолчу);

ИФХ — индукция флуоресценции хлорофилла;

Кар — каротиноид(ы);

НФТ или NPQ — нефотохимическое тушение;

РЦ — реакционный центр;

ФС — фотосистема;

ФСА — фотосинтетический аппарат;

Хл — хлорофилл(ы);

ЭТЦ — электрон-транспортная цепь;

РАМ — импульсно-модулированная флуориметрия;

$R_\lambda$  — коэффициент отражения при длине волны  $\lambda$ ;

SIF — флуоресценция, индуцированная солнечным светом.

## Благодарности

Автор безмерно признателен близким и родным, без поддержки которых на каждом этапе творческого пути эта работа бы не состоялась.

Отдельно хочется поблагодарить своего учителя, д.б.н. Алексея Евгеньевича Соловченко, за переданный опыт и знания, наставничество, способствовавшее личному и профессиональному росту.

Автор искренне признателен коллегам: к.т.н. Александру Анатольевичу Николенко (МФТИ) и безвременно ушедшему Константину Владимировичу Скулачёву (ООО «НИИ Митоинженерии МГУ») за длительное и плодотворное сотрудничество; к.б.н. Ивану Владимировичу Конюхову и к.б.н. Сергеем Сергеевичу Хрущеву с кафедры биофизики Биологического факультета МГУ за возможность использования уникальной приборной базы; д.с.–х.н. Андрею Ивановичу Кузину (ФНЦ имени И.В. Мичурина) и к.б.н. Александру Андреевичу Лукьянову (МГУ) за помощь в проведении полевых экспериментов; к.б.н. Александру Витальевичу Раппопорту (Ботанический сад МГУ) и д.с.-х.н. Михаилу Юрьевичу Акимову (ФНЦ имени И.В. Мичурина) за поддержку и помощь в организации работ; коллективу кафедры биоинженерии и в особенности проф. Елене Сергеевне Лобаковой и к.б.н. Ольге Борисовне Чивкуновой за всестороннее содействие. Автор также благодарен за финансовую поддержку РФФИ (19-016-00016) и РНФ (23-44-00006).

## Список литературы

1. The future of food and agriculture: alternative pathways to 2050 / Food and Agriculture Organization of the United Nations. – Rome, 2018. – 228 p.
2. IPCC Climate Change. Mitigation of climate change // Contribution of working group III to the fifth assessment report of the intergovernmental panel on climate change. – 2014. – P. 2042.
3. Yang W., Feng H., Zhang X., Zhang J., Doonan J. H., Batchelor W. D., Xiong L., Yan J. Crop phenomics and high-throughput phenotyping: past decades, current challenges, and future perspectives // *Molecular plant*. – 2020. – Vol. 13, № 2. – P. 187-214.
4. Roitsch T., Himanen K., Chawade A., Jaakola L., Nehe A., Alexandersson E. Functional phenomics for improved climate resilience in Nordic agriculture // *Journal of Experimental Botany*. – 2022. – Vol. 73, № 15. – P. 5111-5127.
5. Großkinsky D. K., Faure J.-D., Gibon Y., Haslam R. P., Usadel B., Zanetti F., Jonak C. The potential of integrative phenomics to harness underutilized crops for improving stress resilience // *Frontiers in Plant Science*. – 2023. – Vol. 14. – P. 1216337.
6. Zavafer A., Bates H., Mancilla C., Ralph P. J. Phenomics: conceptualization and importance for plant physiology // *Trends in Plant Science*. – 2023.
7. Pierce F. J., Nowak P. Aspects of precision agriculture // *Advances in agronomy*. – 1999. – Vol. 67. – P. 1-85.
8. Дистанционное зондирование: количественный подход. / Дейвис Ш. М., Ландгребе Д. А., Филлипс Т. Л., Ланженлауб Д. С., Сиева л. Р. Ф., Свейн Ф. Х., Хоффер Р. М. – М.: Недра, 1983. – 415 с.
9. Lohner S. A., Biegert K., Nothelfer S., Hohmann A., McCormick R., Kienle A. Determining the optical properties of apple tissue and their dependence on physiological and morphological characteristics during maturation. Part 1: Spatial frequency domain imaging // *Postharvest Biology and Technology*. – 2021. – Vol. 181. – P. 111647.
10. Li L., Zhang Q., Huang D. A review of imaging techniques for plant phenotyping // *Sensors*. – 2014. – Vol. 14, № 11. – P. 20078-20111.
11. Demidchik V., Shashko A. Y., Bandarenka U., Smolikova G., Przhevalskaya D., Charnysh M., Pozhvanov G., Barkosvkiy A., Smolich I., Sokolik A. Plant phenomics: fundamental bases, software and hardware platforms, and machine learning // *Russian journal of plant physiology*. – 2020. – Vol. 67. – P. 397-412.
12. Pineda M., Barón M., Pérez-Bueno M.-L. Thermal imaging for plant stress detection and phenotyping // *Remote Sensing*. – 2020. – Vol. 13, № 1. – P. 68.

13. Kior A., Sukhov V., Sukhova E. Application of reflectance indices for remote sensing of plants and revealing actions of stressors // *Photonics*. – Vol. 8 –MDPI, 2021. – P. 582.
14. Kior A., Yudina L., Zolin Y., Sukhov V., Sukhova E. RGB Imaging as a Tool for Remote Sensing of Characteristics of Terrestrial Plants: A Review // *Plants*. – 2024. – Vol. 13, № 9. – P. 1262.
15. Bellasio C., Olejníčková J., Tesař R., Šebela D., Nedbal L. Computer reconstruction of plant growth and chlorophyll fluorescence emission in three spatial dimensions // *Sensors*. – 2012. – Vol. 12, № 1. – P. 1052-1071.
16. Lin H., Zhang Y., Mei L. Fluorescence Scheimpflug LiDAR developed for the three-dimension profiling of plants // *Optics Express*. – 2020. – Vol. 28, № 7. – P. 9269-9279.
17. Liu H., Bruning B., Garnett T., Berger B. Hyperspectral imaging and 3D technologies for plant phenotyping: From satellite to close-range sensing // *Computers and Electronics in Agriculture*. – 2020. – Vol. 175. – P. 105621.
18. Kautsky H., Hirsch A. Neue versuche zur kohlenensäureassimilation // *Naturwissenschaften*. – 1931. – Vol. 19, № 48. – P. 964-964.
19. Lichtenthaler H. The Kautsky effect: 60 years of chlorophyll fluorescence // *Photosynthetica*. – 1992. – Vol. 27, № 1-2. – P. 45-55.
20. McAusland L., Atkinson J. A., Lawson T., Murchie E. H. High throughput procedure utilising chlorophyll fluorescence imaging to phenotype dynamic photosynthesis and photoprotection in leaves under controlled gaseous conditions // *Plant methods*. – 2019. – Vol. 15. – P. 1-15.
21. Perez-Bueno M. L., Pineda M., Baron M. Phenotyping Plant Responses to Biotic Stress by Chlorophyll Fluorescence Imaging // *Front Plant Sci*. – 2019. – Vol. 10. – P. 1135.
22. Zhang C., Atherton J., Peñuelas J., Filella I., Kolari P., Aalto J., Ruhanen H., Bäck J., Porcar-Castell A. Do all chlorophyll fluorescence emission wavelengths capture the spring recovery of photosynthesis in boreal evergreen foliage? // *Plant, cell & environment*. – 2019. – Vol. 42, № 12. – P. 3264-3279.
23. Ort D. R. When there is too much light // *Plant physiology*. – 2001. – Vol. 125, № 1. – P. 29-32.
24. Dall'Osto L., Bassi R., Ruban A. Photoprotective Mechanisms: Carotenoids // *Plastid Biology / Theg S. M., Wollman F.-A.* – New York, NY: Springer New York, 2014. – P. 393-435.
25. Соловченко А. Е. Экранирование видимого и УФ-излучения как фотозащитный механизм растений; Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, 2009.

26. Merzlyak M. N., Solovchenko A. E. Photostability of pigments in ripening apple fruit: a possible photoprotective role of carotenoids during plant senescence // *Plant Science*. – 2002. – Vol. 163, № 4. – P. 881-888.
27. Соловченко А. Е. Пигменты и адаптация плодов яблони к действию солнечного излучения / Мерзляк М. Н.; Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, 2002. – 176 с.
28. Withers P. C., Cooper C. Dormancy // *Encyclopedia of ecology*. Elsevier, 2008. – P. 952-957.
29. Генкель П., Окнина Е. О физиологии состояния покоя и способах его диагностики // *Физиология состояния покоя у растений*/Под. ред. А. Прокофьева. М.: Наука. – 1968. – с. 29-54.
30. Campoy J. A., Ruiz D., Egea J. Dormancy in temperate fruit trees in a global warming context: a review // *Scientia Horticulturae*. – 2011. – Vol. 130, № 2. – P. 357-372.
31. Luedeling E. Climate change impacts on winter chill for temperate fruit and nut production: a review // *Scientia Horticulturae*. – 2012. – Vol. 144. – P. 218-229.
32. Huner N. P., Öquist G., Sarhan F. Energy balance and acclimation to light and cold // *Trends in plant science*. – 1998. – Vol. 3, № 6. – P. 224-230.
33. Rohde A., Bhalerao R. P. Plant dormancy in the perennial context // *Trends in plant science*. – 2007. – Vol. 12, № 5. – P. 217-223.
34. Fadón E., Fernandez E., Behn H., Luedeling E. A Conceptual Framework for Winter Dormancy in Deciduous Trees // *Agronomy*. – 2020. – Vol. 10, № 2.
35. Lang G. A. Dormancy: a new universal terminology // *HortScience*. – 1987. – Vol. 22. – P. 817-820.
36. Allona I., Ramos A., Ibáñez C., Contreras A., Casado R., Aragoncillo C. Molecular control of winter dormancy establishment in trees: a review // *Spanish Journal of Agricultural Research*. – 2008. – Vol. 6. – P. 201-210.
37. Saito T., Tuan P. A., Katsumi-Horigane A., Bai S., Ito A., Sekiyama Y., Ono H., Moriguchi T. Development of flower buds in the Japanese pear (*Pyrus pyrifolia*) from late autumn to early spring // *Tree Physiology*. – 2015. – Vol. 35, № 6. – P. 653-662.
38. Arora R., Rowland L. J., Tanino K. Induction and release of bud dormancy in woody perennials: a science comes of age // *HortScience*. – 2003. – Vol. 38, № 5. – P. 911-921.
39. Maurya J. P., Bhalerao R. P. Photoperiod-and temperature-mediated control of growth cessation and dormancy in trees: a molecular perspective // *Annals of botany*. – 2017. – Vol. 120, № 3. – P. 351-360.

40. Rinne P. L., Kaikuranta P. M., Van Der Schoot C. The shoot apical meristem restores its symplasmic organization during chilling-induced release from dormancy // *The Plant Journal*. – 2001. – Vol. 26, № 3. – P. 249-264.
41. Heide O., Prestrud A. Low temperature, but not photoperiod, controls growth cessation and dormancy induction and release in apple and pear // *Tree physiology*. – 2005. – Vol. 25, № 1. – P. 109-114.
42. Ritchie G. A. Effect of freezer storage on bud dormancy release in Douglas-fir seedlings // *Canadian Journal of Forest Research*. – 1984. – Vol. 14, № 2. – P. 186-190.
43. Colombo S., Raitanen E. Frost hardening in white cedar container seedlings exposed to intermittent short days and cold temperatures // *The Forestry Chronicle*. – 1991. – Vol. 67, № 5. – P. 542-544.
44. Heide O. M. Interaction of photoperiod and temperature in the control of growth and dormancy of *Prunus* species // *Scientia Horticulturae*. – 2008. – Vol. 115, № 3. – P. 309-314.
45. Heide O. High autumn temperature delays spring bud burst in boreal trees, counterbalancing the effect of climatic warming // *Tree Physiology*. – 2003. – Vol. 23, № 13. – P. 931-936.
46. Cook N. C., Bellen A., Cronjé P. J., De Wit I., Keulemans W., Van den Putte A., Steyn W. Freezing temperature treatment induces bud dormancy in ‘Granny Smith’ apple shoots // *Scientia horticulturae*. – 2005. – Vol. 106, № 2. – P. 170-176.
47. Öquist G., Huner N. P. Photosynthesis of overwintering evergreen plants // *Annual review of plant biology*. – 2003. – Vol. 54, № 1. – P. 329-355.
48. Ensminger I., Busch F., Huner N. P. Photostasis and cold acclimation: sensing low temperature through photosynthesis // *Physiologia Plantarum*. – 2006. – Vol. 126, № 1. – P. 28-44.
49. Hüner N. P., Bode R., Dahal K., Hollis L., Rosso D., Krol M., Ivanov A. G. Chloroplast redox imbalance governs phenotypic plasticity: the “grand design of photosynthesis” revisited // *Frontiers in Plant Science*. – 2012. – Vol. 3. – P. 255.
50. Hawkins C., Lister G. In vivo chlorophyll fluorescence as a possible indicator of the dormancy stage in Douglas-fir seedlings // *Canadian Journal of Forest Research*. – 1985. – Vol. 15, № 4. – P. 607-612.
51. Dunsworth G. Plant quality assessment: an industrial perspective // *New Forests*. – 1997. – Vol. 13, № 1. – P. 439-448.
52. Zhang H.-S., Li D.-M., Tan Q.-P., Gao H.-Y., Gao D.-S. Photosynthetic activities, C 3 and C 4 indicative enzymes and the role of photoperiod in dormancy induction in ‘Chunjie’ peach // *Photosynthetica*. – 2015. – Vol. 53. – P. 269-278.

53. Damesin C. Respiration and photosynthesis characteristics of current-year stems of *Fagus sylvatica*: from the seasonal pattern to an annual balance // *New Phytologist*. – 2003. – Vol. 158, № 3. – P. 465-475.
54. Wilson B. C., Jacobs D. F. Chlorophyll fluorescence of stem cambial tissue reflects dormancy development in *Juglans nigra* seedlings // *New Forests*. – 2012. – Vol. 43. – P. 771-778.
55. Alekseev A., Matorin D., Osipov V., Venediktov P. Investigation of the photosynthetic activity of bark phelloderm of arboreous plants using the fluorescent method // *Moscow University Biological Sciences Bulletin*. – 2007. – Vol. 62. – P. 164-170.
56. Öquist G., Brunet L., Hällgren J. E., Gezelius K., Hallén M., Malmberg G. Effects of artificial frost hardening and winter stress on net photosynthesis, photosynthetic electron transport and RuBP carboxylase activity in seedlings of *Pinus silvestris* // *Physiologia Plantarum*. – 1980. – Vol. 48, № 4. – P. 526-531.
57. Grebe S., Trotta A., Bajwa A. A., Mancini I., Bag P., Jansson S., Tikkanen M., Aro E.-M. Specific thylakoid protein phosphorylations are prerequisites for overwintering of Norway spruce (*Picea abies*) photosynthesis // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2020. – Vol. 117, № 30. – P. 17499-17509.
58. Sakar E. H., El Yamani M., Rharrabti Y. Frost susceptibility of five almond [*Prunus dulcis* (mill.) DA Webb] cultivars grown in north-eastern Morocco as revealed by chlorophyll fluorescence // *International journal of fruit science*. – 2017. – Vol. 17, № 4. – P. 415-422.
59. Savitch L. V., Leonardos E. D., Krol M., Jansson S., Grodzinski B., Huner N., Öquist G. Two different strategies for light utilization in photosynthesis in relation to growth and cold acclimation // *Plant, Cell & Environment*. – 2002. – Vol. 25, № 6. – P. 761-771.
60. Corcuera L., Gil-Pelegrin E., Notivol E. Intraspecific variation in *Pinus pinaster* PSII photochemical efficiency in response to winter stress and freezing temperatures // *PLoS One*. – 2011. – Vol. 6, № 12. – P. e28772.
61. Ivanov A., Sane P., Zeinalov Y., Simidjiev I., Huner N., Öquist G. Seasonal responses of photosynthetic electron transport in Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) studied by thermoluminescence // *Planta*. – 2002. – Vol. 215. – P. 457-465.
62. Meroni M., Rossini M., Guanter L., Alonso L., Rascher U., Colombo R., Moreno J. Remote sensing of solar-induced chlorophyll fluorescence: Review of methods and applications // *Remote sensing of environment*. – 2009. – Vol. 113, № 10. – P. 2037-2051.

63. Физиология растений: Учебник для студ. вузов. / Алехина Н., Балнокин Ю., Гавриленко В., Жигалова Т., Мейчик Н., Носов А., Полесская О., Харитонашвили Е., Чуб В. – М.: Издательский центр «Академия», 2005. – 640 с.
64. Harborne J. Plant polyphenols—XV: Flavonols as yellow flower pigments // *Phytochemistry*. – 1965. – Vol. 4, № 5. – P. 647-657.
65. Hihara Y., Sonoike K. Regulation, Inhibition and Protection of Photosystem I // *Regulation of Photosynthesis* / Aro E.-M., Andersson B. – Dordrecht: Springer Netherlands, 2001. – P. 507-531.
66. Kleima F. J., Hobe S., Calkoen F., Urbanus M. L., Peterman E. J., van Grondelle R., Paulsen H., van Amerongen H. Decreasing the chlorophyll a/b ratio in reconstituted LHCII: structural and functional consequences // *Biochemistry*. – 1999. – Vol. 38, № 20. – P. 6587-6596.
67. Alonso M., Rozados M., Vega J., Perez-Gorostiaga P., Cuinas P., Fonturbel M., Fernández C. Biochemical responses of *Pinus pinaster* trees to fire-induced trunk girdling and crown scorch: secondary metabolites and pigments as needle chemical indicators // *Journal of Chemical Ecology*. – 2002. – Vol. 28. – P. 687-700.
68. Kitajima K., Hogan K. P. Increases of chlorophyll a/b ratios during acclimation of tropical woody seedlings to nitrogen limitation and high light // *Plant Cell Environ.* – 2003. – Vol. 26, № 6. – P. 857-865.
69. Porra R. J., Scheer H. Towards a more accurate future for chlorophyll a and b determinations: the inaccuracies of Daniel Arnon's assay // *Photosynthesis Research*. – 2019. – Vol. 140, № 2. – P. 215-219.
70. Lichtenthaler H. K. [34] Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes // *Methods in enzymology* Elsevier, 1987. – P. 350-382.
71. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 16667503, Chlorophyll. URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Chlorophyll> (дата обращения: 28.10.2023).
72. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 11593175, Chlorophyll B. URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Chlorophyll-B> (дата обращения: 28.10.2023).
73. Биохимия природных пигментов: Пер. с англ. / Бриттон Г. – М.: Мир, 1986. – 422 с.
74. Gitelson A. A., Viña A., Verma S. B., Rundquist D. C., Arkebauer T. J., Keydan G., Leavitt B., Ciganda V., Burba G. G., Suyker A. E. Relationship between gross primary

production and chlorophyll content in crops: Implications for the synoptic monitoring of vegetation productivity // *Journal of Geophysical Research: Atmospheres*. – 2006. – Vol. 111, № D8.

75. Song C., Dannenberg M. P., Hwang T. Optical remote sensing of terrestrial ecosystem primary productivity // *Progress in Physical Geography*. – 2013. – Vol. 37, № 6. – P. 834-854.

76. Fan D.-Y., Hope A. B., Smith P. J., Jia H., Pace R. J., Anderson J. M., Chow W. S. The stoichiometry of the two photosystems in higher plants revisited // *Biochimica Et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*. – 2007. – Vol. 1767, № 8. – P. 1064-1072.

77. Melis A. Spectroscopic methods in photosynthesis: photosystem stoichiometry and chlorophyll antenna size // *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. B, Biological Sciences*. – 1989. – Vol. 323, № 1216. – P. 397-409.

78. Kim J. H., Glick R. E., Melis A. Dynamics of photosystem stoichiometry adjustment by light quality in chloroplasts // *Plant Physiology*. – 1993. – Vol. 102, № 1. – P. 181-190.

79. Sonobe R., Hirono Y., Oi A. Quantifying chlorophyll-a and b content in tea leaves using hyperspectral reflectance and deep learning // *Remote Sensing Letters*. – 2020. – Vol. 11, № 10. – P. 933-942.

80. Mulero G., Bacher H., Kleiner U., Peleg Z., Herrmann I. Spectral Estimation of In Vivo Wheat Chlorophyll a/b Ratio under Contrasting Water Availabilities // *Remote Sensing*. – 2022. – Vol. 14, № 11.

81. Gómez-Sagasti M. T., López-Pozo M., Artetxe U., Becerril J. M., Hernández A., García-Plazaola J. I., Esteban R. Carotenoids and their derivatives: A “Swiss Army knife-like” multifunctional tool for fine-tuning plant-environment interactions // *Environmental and Experimental Botany*. – 2023. – Vol. 207. – P. 105229.

82. Maslova T., Markovskaya E., Slemnev N. Functions of carotenoids in leaves of higher plants // *Biology Bulletin Reviews*. – 2021. – Vol. 11. – P. 476-487.

83. Ma Y.-Z., Holt N. E., Li X.-P., Niyogi K. K., Fleming G. R. Evidence for direct carotenoid involvement in the regulation of photosynthetic light harvesting // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2003. – Vol. 100, № 8. – P. 4377-4382.

84. Telfer A., De Las Rivas J., Barber J.  $\beta$ -Carotene within the isolated photosystem II reaction centre: photooxidation and irreversible bleaching of this chromophore by oxidised P680 // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*. – 1991. – Vol. 1060, № 1. – P. 106-114.

85. Yamamoto H. Y., Bassi R. Carotenoids: localization and function // *Oxygenic photosynthesis: the light reactions*. – 1996. – P. 539-563.

86. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 6419725, Alpha-Carotene. URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/alpha-Carotene> (дата обращения: 28.10.2023).
87. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 5280489, Beta-Carotene. URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Beta-Carotene> (дата обращения: 28.10.2023).
88. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 5281243, Lutein. URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Lutein> (дата обращения: 28.10.2023).
89. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 5281223, Antheraxanthin. URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Antheraxanthin> (дата обращения: 28.10.2023).
90. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 5280899, Zeaxanthin. URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Zeaxanthin> (дата обращения: 28.10.2023).
91. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 448438, Violaxanthin. URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Violaxanthin> (дата обращения: 28.10.2023).
92. Biswal B. Carotenoid catabolism during leaf senescence and its control by light // *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. – 1995. – Vol. 30, № 1. – P. 3-13.
93. Gitelson A., Merzlyak M. N. Spectral reflectance changes associated with autumn senescence of *Aesculus hippocastanum* L. and *Acer platanoides* L. leaves. Spectral features and relation to chlorophyll estimation // *Journal of plant physiology*. – 1994. – Vol. 143, № 3. – P. 286-292.
94. Merzlyak M. N., Gitelson A. A., Chivkunova O. B., Rakitin V. Y. Non-destructive optical detection of pigment changes during leaf senescence and fruit ripening // *Physiologia plantarum*. – 1999. – Vol. 106, № 1. – P. 135-141.
95. Zhou X., Huang W., Zhang J., Kong W., Casa R., Huang Y. A novel combined spectral index for estimating the ratio of carotenoid to chlorophyll content to monitor crop physiological and phenological status // *International Journal of Applied Earth Observation and Geoinformation*. – 2019. – Vol. 76. – P. 128-142.

96. Garrity S. R., Eitel J. U., Vierling L. A. Disentangling the relationships between plant pigments and the photochemical reflectance index reveals a new approach for remote estimation of carotenoid content // *Remote Sensing of Environment*. – 2011. – Vol. 115, № 2. – P. 628-635.
97. Kira O., Linker R., Gitelson A. Non-destructive estimation of foliar chlorophyll and carotenoid contents: Focus on informative spectral bands // *International Journal of Applied Earth Observation and Geoinformation*. – 2015. – Vol. 38. – P. 251-260.
98. Handique J., Baruah J. Polyphenolic compounds: an overview // *Reactive and Functional Polymers*. – 2002. – Vol. 52, № 3. – P. 163-188.
99. Gould K. S. Nature's Swiss army knife: the diverse protective roles of anthocyanins in leaves // *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. – 2004. – Vol. 2004, № 5. – P. 314.
100. Teixeira de Alencar Filho J. M., Sampaio P. A., Pereira E. C. V., Oliveira-júnior R. G., Silva F. S., Almeida J. R. G. d. S., Rolim L. A., Nunes X. P., Araújo E. C. d. C. Flavonoids as photoprotective agents: A systematic review // *Journal of Medicinal Plants Research*. – 2016. – Vol. 10, № 47. – P. 848-864.
101. Solovchenko A. E., Merzlyak M. N. Screening of visible and UV radiation as a photoprotective mechanism in plants // *Russian Journal of Plant Physiology*. – 2008. – Vol. 55, № 6. – P. 719-737.
102. Davies K. M., Landi M., van Klink J. W., Schwinn K. E., Brummell D. A., Albert N. W., Chagné D., Jibrán R., Kulshrestha S., Zhou Y. Evolution and function of red pigmentation in land plants // *Annals of Botany*. – 2022. – Vol. 130, № 5. – P. 613-636.
103. Bachereau F., Marigo G., Asta J. Effect of solar radiation (UV and visible) at high altitude on CAM-cycling and phenolic compound biosynthesis in *Sedum album* // *Physiologia Plantarum*. – 1998. – Vol. 104, № 2. – P. 203-210.
104. Takahashi S., Badger M. R. Photoprotection in plants: a new light on photosystem II damage // *Trends in plant science*. – 2011. – Vol. 16, № 1. – P. 53-60.
105. Close D. C., McArthur C. Rethinking the role of many plant phenolics—protection from photodamage not herbivores? // *Oikos*. – 2002. – Vol. 99, № 1. – P. 166-172.
106. Matern U., Kneusel R. E. Phenolic compounds in plant disease resistance // *Phytoparasitica*. – 1988. – Vol. 16. – P. 153-170.
107. Merzlyak M. N. Modeling pigment contributions to spectral reflection of apple fruit // *Photochem Photobiol Sci*. – 2006. – Vol. 5, № 8. – P. 748-54.
108. Merzlyak M. N., Solovchenko A. E., Gitelson A. A. Reflectance spectral features and non-destructive estimation of chlorophyll, carotenoid and anthocyanin content in apple fruit // *Postharvest biology and technology*. – 2003. – Vol. 27, № 2. – P. 197-211.

109. Gitelson A. A., Keydan G. P., Merzlyak M. N. Three-band model for noninvasive estimation of chlorophyll, carotenoids, and anthocyanin contents in higher plant leaves // *Geophysical Research Letters*. – 2006. – Vol. 33, № 11.
110. García-Plazaola J. I., Becerril J. M. Seasonal changes in photosynthetic pigments and antioxidants in beech (*Fagus sylvatica*) in a Mediterranean climate: implications for tree decline diagnosis // *Functional plant biology*. – 2001. – Vol. 28, № 3. – P. 225-232.
111. Fernández-Marín B., Sáenz-Ceniceros A., Solanki T., Robson T. M., García-Plazaola J. I. Alpine forbs rely on different photoprotective strategies during spring snowmelt // *Physiologia Plantarum*. – 2021. – Vol. 172, № 3. – P. 1506-1517.
112. Wojdyło A., Turkiewicz I. P., Tkacz K., Hernandez F. Fruit tree leaves as valuable new source of tocopherol and tocotrienol compounds // *Journal of the Science of Food and Agriculture*. – 2022. – Vol. 102, № 4. – P. 1466-1474.
113. Chalker-Scott L. Environmental significance of anthocyanins in plant stress responses // *Photochemistry and photobiology*. – 1999. – Vol. 70, № 1. – P. 1-9.
114. Hughes N. M., Morley C. B., Smith W. K. Coordination of anthocyanin decline and photosynthetic maturation in juvenile leaves of three deciduous tree species // *New Phytologist*. – 2007. – Vol. 175, № 4. – P. 675-685.
115. Hoch W. A., Singaas E. L., McCown B. H. Resorption protection. Anthocyanins facilitate nutrient recovery in autumn by shielding leaves from potentially damaging light levels // *Plant physiology*. – 2003. – Vol. 133, № 3. – P. 1296-1305.
116. Sofronova V. E., Chepalov V. A., Dymova O. V., Golovko T. K. The role of pigment system of an evergreen dwarf shrub *Ephedra monosperma* in adaptation to the climate of Central Yakutia // *Russian Journal of Plant Physiology*. – 2014. – Vol. 61, № 2. – P. 246-254.
117. Sofronova V. E., Dymova O. V., Golovko T. K., Chepalov V. A., Petrov K. A. Adaptive changes in pigment complex of *Pinus sylvestris* needles upon cold acclimation // *Russian Journal of Plant Physiology*. – 2016. – Vol. 63, № 4. – P. 433-442.
118. Merzlyak M. N., Chivkunova O. B., Solovchenko A. E., Naqvi K. R. Light absorption by anthocyanins in juvenile, stressed, and senescing leaves // *J Exp Bot*. – 2008. – Vol. 59, № 14. – P. 3903-11.
119. Suzuki Y., Shioi Y. Changes in chlorophyll and carotenoid contents in radish (*Raphanus sativus*) cotyledons show different time courses during senescence // *Physiologia Plantarum*. – 2004. – Vol. 122, № 2. – P. 291-296.
120. Merzlyak M., Solovchenko A., Pogosyan S. Optical properties of rhodoxanthin accumulated in *Aloe arborescens* Mill. leaves under high-light stress with special

- reference to its photoprotective function // *Photochemical & Photobiological Sciences*. – 2005. – Vol. 4. – P. 333-340.
121. Solovchenko A. Pigments // *Postharvest physiology and biochemistry of fruits and vegetables* / Yahia E. M., Chen C. – Cambridge: Woodhead Publishing, Elsevier, 2019. – P. 225-252.
122. Hörtensteiner S. Chlorophyll degradation during senescence // *Annu. Rev. Plant Biol.* – 2006. – Vol. 57. – P. 55-77.
123. Baysal T., Demirdöven A. Lipoxygenase in fruits and vegetables: A review // *Enzyme and microbial technology*. – 2007. – Vol. 40, № 4. – P. 491-496.
124. Grechkin A. Recent developments in biochemistry of the plant lipoxygenase pathway // *Progress in lipid research*. – 1998. – Vol. 37, № 5. – P. 317-352.
125. Saini R. K., Keum Y.-S. Significance of genetic, environmental, and pre-and postharvest factors affecting carotenoid contents in crops: a review // *Journal of agricultural and food chemistry*. – 2018. – Vol. 66, № 21. – P. 5310-5324.
126. Дымова О. В., Головки Т. К. Фотосинтетические пигменты в растениях природной флоры таежной зоны европейского северо-востока России // *Физиология растений*. – 2019. – Т. 66, № 3. – С. 198-206.
127. Zhu K., Sun Q., Chen H., Mei X., Lu S., Ye J., Chai L., Xu Q., Deng X. Ethylene activation of carotenoid biosynthesis by a novel transcription factor CsERF061 // *Journal of Experimental Botany*. – 2021. – Vol. 72, № 8. – P. 3137-3154.
128. Su L., Diretto G., Purgatto E., Danoun S., Zouine M., Li Z., Roustan J.-P., Bouzayen M., Giuliano G., Chervin C. Carotenoid accumulation during tomato fruit ripening is modulated by the auxin-ethylene balance // *BMC plant biology*. – 2015. – Vol. 15. – P. 1-12.
129. Rodrigo M. J., Zacarias L. Effect of postharvest ethylene treatment on carotenoid accumulation and the expression of carotenoid biosynthetic genes in the flavedo of orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck) fruit // *Postharvest Biology and Technology*. – 2007. – Vol. 43, № 1. – P. 14-22.
130. Quian-Ulloa R., Stange C. Carotenoid biosynthesis and plastid development in plants: the role of light // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2021. – Vol. 22, № 3. – P. 1184.
131. Lichtenthaler H. K. Biosynthesis, accumulation and emission of carotenoids,  $\alpha$ -tocopherol, plastoquinone, and isoprene in leaves under high photosynthetic irradiance // *Photosynthesis Research*. – 2007. – Vol. 92. – P. 163-179.

132. Zagory D., Kader A. A. Quality maintenance in fresh fruits and vegetables by controlled atmospheres // *Quality factors of fruits and vegetables*. – 1989. – Vol. 405. – P. 174-188.
133. Awad M. A., De Jager A. Influences of air and controlled atmosphere storage on the concentration of potentially healthful phenolics in apples and other fruits // *Postharvest Biology and Technology*. – 2003. – Vol. 27, № 1. – P. 53-58.
134. Huyskens-Keil S., Prono-Widayat H., Lüdders P., Schreiner M. Postharvest quality of pepino (*Solanum muricatum* Ait.) fruit in controlled atmosphere storage // *Journal of food engineering*. – 2006. – Vol. 77, № 3. – P. 628-634.
135. Solovchenko A. E., Chivkunova O. B., Merzlyak M. N., Gudkovsky V. A. Relationships between chlorophyll and carotenoid pigments during on- and off-tree ripening of apple fruit as revealed non-destructively with reflectance spectroscopy // *Postharvest Biology and Technology*. – 2005. – Vol. 38, № 1. – P. 9-17.
136. Gitelson A. Towards a generic approach to remote non-invasive estimation of foliar carotenoid-to-chlorophyll ratio // *Journal of plant physiology*. – 2020. – Vol. 252. – P. 153227.
137. Tran T. T. The effect of light exposure on the total chlorophyll content, Chl a/b ratio, and Car/Chl ratio in the barks of *Fraxinus latifolia* seedlings // . – 2018.
138. Lurie S., Pesis E., Ben-Arie R. Darkening of sunscald on apples in storage is a non-enzymatic and non-oxidative process // *Postharvest Biology and Technology*. – 1991. – Vol. 1, № 2. – P. 119-125.
139. Solovchenko A., Dorokhov A., Shurygin B., Nikolenko A., Velichko V., Smirnov I., Khort D., Aksenov A., Kuzin A. Linking Tissue Damage to Hyperspectral Reflectance for Non-Invasive Monitoring of Apple Fruit in Orchards // *Plants*. – 2021. – Vol. 10, № 2. – P. 310.
140. Солнце, жизнь и хлорофилл: научные исследования. Сочинения. / Тимирязев К. А.; Eds. Комаров В., Крашениников Ф. – М.: ОГИЗ: Сельхозгиз, 1937. – Т. 2: Сочинения. – 542 С.
141. Хроматографический адсорбционный анализ. Избранные работы. / Цвет М.; Eds. Рихтер А., Красносельская Т. – М.: Изд-во АН СССР, 1946. – 273 С.
142. История цитологии растений в России в XIX веке. / Щербакова А.; Eds. Прокина М. – М.: Изд-во АН СССР, институт истории естествознания и техники, 1961. – 191 С.
143. Gate L., Meeten G. A derivation of the Gurevic equation for reflectance from plane bounded scattering media // *Colloids and surfaces*. – 1986. – Vol. 20, № 3. – P. 257-260.

144. Alcaraz de la Osa R., Iparragirre I., Ortiz D., Saiz J. M. The extended Kubelka–Munk theory and its application to spectroscopy // *ChemTexts*. – 2019. – Vol. 6, № 1.
145. Vargas W. E., Niklasson G. A. Applicability conditions of the Kubelka–Munk theory // *Applied Optics*. – 1997. – Vol. 36, № 22. – P. 5580.
146. Allen W. A., Richardson A. J. Interaction of light with a plant canopy // *JOSA*. – 1968. – Vol. 58, № 8. – P. 1023-1028.
147. Davis P. A., Hangarter R. P. Chloroplast movement provides photoprotection to plants by redistributing PSII damage within leaves // *Photosynth Res*. – 2012. – Vol. 112, № 3. – P. 153-61.
148. Knee M. Methods of measuring green colour and chlorophyll content of apple fruit // *International Journal of Food Science & Technology*. – 1980. – Vol. 15, № 5. – P. 493-500.
149. Maheu B., Letoulouzan J.-N., Gouesbet G. Four-flux models to solve the scattering transfer equation in terms of Lorenz-Mie parameters // *Applied optics*. – 1984. – Vol. 23, № 19. – P. 3353-3362.
150. Jacquemoud S., Baret F. PROSPECT: A model of leaf optical properties spectra // *Remote sensing of environment*. – 1990. – Vol. 34, № 2. – P. 75-91.
151. Verhoef W. Light scattering by leaf layers with application to canopy reflectance modeling: The SAIL model // *Remote sensing of environment*. – 1984. – Vol. 16, № 2. – P. 125-141.
152. Gastellu-Etchegorry J.-P., Demarez V., Pinel V., Zagolski F. Modeling radiative transfer in heterogeneous 3-D vegetation canopies // *Remote sensing of environment*. – 1996. – Vol. 58, № 2. – P. 131-156.
153. Féret J. B., Gitelson A. A., Noble S. D., Jacquemoud S. PROSPECT-D: Towards modeling leaf optical properties through a complete lifecycle // *Remote Sensing of Environment*. – 2017. – Vol. 193. – P. 204-215.
154. Jacquemoud S., Verhoef W., Baret F., Zarco-Tejada P., Asner G., Francois C., Ustin S. PROSPECT+ SAIL: 15 years of use for land surface characterization // *2006 IEEE International Symposium on Geoscience and Remote Sensing –IEEE, 2006*. – P. 1992-1995.
155. Féret J.-B., Berger K., de Boissieu F., Malenovský Z. PROSPECT-PRO for estimating content of nitrogen-containing leaf proteins and other carbon-based constituents // *Remote Sensing of Environment*. – 2021. – Vol. 252.
156. Thorp K. R., Gore M. A., Andrade-Sanchez P., Carmo-Silva A. E., Welch S. M., White J. W., French A. N. Proximal hyperspectral sensing and data analysis approaches

for field-based plant phenomics // *Computers and Electronics in Agriculture*. – 2015. – Vol. 118. – P. 225-236.

157. Chakhvashvili E., Siegmann B., Muller O., Verrelst J., Bendig J., Kraska T., Rascher U. Retrieval of crop variables from proximal multispectral UAV image data using PROSAIL in maize canopy // *Remote sensing*. – 2022. – Vol. 14, № 5. – P. 1247.

158. Fukshansky L., Kazarinova N. Extension of the Kubelka–Munk theory of light propagation in intensely scattering materials to fluorescent media // *JOSA*. – 1980. – Vol. 70, № 9. – P. 1101-1111.

159. Richter T., Fukshansky L. Optics of a bifacial leaf: 1. A novel combined procedure for deriving the optical parameters // *Photochemistry and photobiology*. – 1996. – Vol. 63, № 4. – P. 507-516.

160. Watkins W. R., von Schoenermark M. F., Clement D., Roeser H.-P. L., Reynolds W. R. Reflection properties of vegetation and soil with a new BRDF database // *Book Reflection properties of vegetation and soil with a new BRDF database / Editor, 2004*.

161. Zhang Q., Cheng Y.-B., Lyapustin A. I., Wang Y., Xiao X., Suyker A., Verma S., Tan B., Middleton E. M. Estimation of crop gross primary production (GPP): I. impact of MODIS observation footprint and impact of vegetation BRDF characteristics // *Agricultural and Forest Meteorology*. – 2014. – Vol. 191. – P. 51-63.

162. Meister G., Lucht W., Rothkirch A., Spitzer H. Large scale multispectral BRDF of an urban area // *IEEE 1999 International Geoscience and Remote Sensing Symposium. IGARSS'99 (Cat. No. 99CH36293)*. – Vol. 2 –IEEE, 1999. – P. 821-823.

163. Sandmeier S. R., Itten K. I. A field goniometer system (FIGOS) for acquisition of hyperspectral BRDF data // *IEEE Transactions on Geoscience and Remote Sensing*. – 1999. – Vol. 37, № 2. – P. 978-986.

164. Lopez M., Bredemeier K., Schmidt F., Sperling A. Near-field goniophotometry: a metrological challenge // *Proceedings of the Simposia de Metrologia*. – 2010.

165. Baret F., Fourty T. Estimation of leaf water content and specific leaf weight from reflectance and transmittance measurements // *Agronomie*. – 1997. – Vol. 17, № 9-10. – P. 455-464.

166. Yoder B. J., Pettigrew-Crosby R. E. Predicting nitrogen and chlorophyll content and concentrations from reflectance spectra (400–2500 nm) at leaf and canopy scales // *Remote sensing of environment*. – 1995. – Vol. 53, № 3. – P. 199-211.

167. Chen X., Dong Z., Liu J., Wang H., Zhang Y., Chen T., Du Y., Shao L., Xie J. Hyperspectral characteristics and quantitative analysis of leaf chlorophyll by reflectance spectroscopy based on a genetic algorithm in combination with partial least squares regression // *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*. – 2020. – Vol. 243. – P. 118786.

168. Merzlyak M. N., Gitelson A. Why and what for the leaves are yellow in autumn? On the interpretation of optical spectra of senescing leaves (*Acer platanoides* L.) // *Journal of Plant Physiology*. – 1995. – Vol. 145, № 3. – P. 315-320.
169. Zarco-Tejada P. J., Miller J. R., Mohammed G. H., Noland T. L. Chlorophyll fluorescence effects on vegetation apparent reflectance: I. Leaf-level measurements and model simulation // *Remote Sensing of Environment*. – 2000. – Vol. 74, № 3. – P. 582-595.
170. Horler D. N. H., Dockray M., Barber J. The red edge of plant leaf reflectance // *International Journal of Remote Sensing*. – 2007. – Vol. 4, № 2. – P. 273-288.
171. McClendon J. H., Fukshansky L. On the interpretation of absorption spectra of leaves–II. The non-absorbed ray of the sieve effect and the mean optical pathlength in the remainder of the leaf // *Photochemistry and Photobiology*. – 1990. – Vol. 51, № 2. – P. 211-216.
172. van der Kooi C. J., Elzenga J. T., Staal M., Stavenga D. G. How to colour a flower: on the optical principles of flower coloration // *Proc Biol Sci*. – 2016. – Vol. 283, № 1830.
173. Moore G. K. What is a picture worth? A history of remote sensing/Quelle est la valeur d'une image? Un tour d'horizon de télédétection // *Hydrological Sciences Bulletin*. – 1979. – Vol. 24, № 4. – P. 477-485.
174. Hank T. B., Berger K., Bach H., Clevers J. G., Gitelson A., Zarco-Tejada P., Mauser W. Spaceborne imaging spectroscopy for sustainable agriculture: Contributions and challenges // *Surveys in Geophysics*. – 2019. – Vol. 40. – P. 515-551.
175. Gitelson A. A., Kaufman Y. J., Merzlyak M. N. Use of a green channel in remote sensing of global vegetation from EOS-MODIS // *Remote sensing of Environment*. – 1996. – Vol. 58, № 3. – P. 289-298.
176. Gitelson A. A., Gritz Y., Merzlyak M. N. Relationships between leaf chlorophyll content and spectral reflectance and algorithms for non-destructive chlorophyll assessment in higher plant leaves // *Journal of plant physiology*. – 2003. – Vol. 160, № 3. – P. 271-282.
177. Merzlyak M. N., Solovchenko A. E., Smagin A. I., Gitelson A. A. Apple flavonols during fruit adaptation to solar radiation: spectral features and technique for non-destructive assessment // *Journal of plant physiology*. – 2005. – Vol. 162, № 2. – P. 151-160.
178. Viña A., Gitelson A. A. New developments in the remote estimation of the fraction of absorbed photosynthetically active radiation in crops // *Geophysical research letters*. – 2005. – Vol. 32, № 17.

179. Gitelson A. A. Remote estimation of crop fractional vegetation cover: the use of noise equivalent as an indicator of performance of vegetation indices // *International Journal of Remote Sensing*. – 2013. – Vol. 34, № 17. – P. 6054-6066.
180. Sun W., Du Q. Hyperspectral Band Selection: A Review // *IEEE Geoscience and Remote Sensing Magazine*. – 2019. – Vol. 7, № 2. – P. 118-139.
181. Yang H., Du Q., Su H., Sheng Y. An efficient method for supervised hyperspectral band selection // *IEEE Geoscience and Remote Sensing Letters*. – 2010. – Vol. 8, № 1. – P. 138-142.
182. Chang C.-I., Wang S. Constrained band selection for hyperspectral imagery // *IEEE transactions on geoscience and remote sensing*. – 2006. – Vol. 44, № 6. – P. 1575-1585.
183. Wang Q., Zhang F., Li X. Optimal clustering framework for hyperspectral band selection // *IEEE Transactions on Geoscience and Remote Sensing*. – 2018. – Vol. 56, № 10. – P. 5910-5922.
184. Cai Y., Liu X., Cai Z. BS-Nets: An end-to-end framework for band selection of hyperspectral image // *IEEE Transactions on Geoscience and Remote Sensing*. – 2019. – Vol. 58, № 3. – P. 1969-1984.
185. Feng J., Jiao L., Zhang X., Sun T. Hyperspectral band selection based on trivariate mutual information and clonal selection // *IEEE Transactions on Geoscience and Remote Sensing*. – 2013. – Vol. 52, № 7. – P. 4092-4105.
186. Henrich V., Götze E., Jung A., Sandow C., Thürkow D., Gläßer C. Development of an online indices database: Motivation, concept and implementation // *Proceedings of the 6th EARSeL imaging spectroscopy sig workshop innovative tool for scientific and commercial environment applications, Tel Aviv, Israel* –, 2009. – P. 16-18.
187. Gitelson A., Merzlyak M. N. Quantitative estimation of chlorophyll-a using reflectance spectra: Experiments with autumn chestnut and maple leaves // *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. – 1994. – Vol. 22, № 3. – P. 247-252.
188. Gitelson A. A., Merzlyak M. N., Chivkunova O. B. Optical properties and nondestructive estimation of anthocyanin content in plant leaves // *Photochemistry and photobiology*. – 2001. – Vol. 74, № 1. – P. 38-45.
189. Steele M. R., Gitelson A. A., Rundquist D. C., Merzlyak M. N. Nondestructive estimation of anthocyanin content in grapevine leaves // *American Journal of Enology and Viticulture*. – 2009. – Vol. 60, № 1. – P. 87-92.
190. Gitelson A. A., Zur Y., Chivkunova O. B., Merzlyak M. N. Assessing carotenoid content in plant leaves with reflectance spectroscopy // *Photochemistry and photobiology*. – 2002. – Vol. 75, № 3. – P. 272-281.

191. Chivkunova O. B., Solovchenko A. E., Sokolova S., Merzlyak M. N., Reshetnikova I., Gitelson A. A. Reflectance spectral features and detection of superficial scald-induced browning in storing apple fruit // – 2001.
192. Gitelson A. A., Merzlyak M. N. Non-destructive assessment of chlorophyll carotenoid and anthocyanin content in higher plant leaves: principles and algorithms // – 2004.
193. Parra L., Spence C., Sajda P., Ziehe A., Müller K.-R. Unmixing hyperspectral data // *Advances in neural information processing systems*. – 1999. – Vol. 12.
194. Bro R., De Jong S. A fast non-negativity-constrained least squares algorithm // *Journal of Chemometrics: A Journal of the Chemometrics Society*. – 1997. – Vol. 11, № 5. – P. 393-401.
195. Arya S., Sandhu K. S., Singh J., Kumar S. Deep learning: As the new frontier in high-throughput plant phenotyping // *Euphytica*. – 2022. – Vol. 218, № 4. – P. 47.
196. Zou Z., Chen K., Shi Z., Guo Y., Ye J. Object detection in 20 years: A survey // *Proceedings of the IEEE*. – 2023. – Vol. 111, № 3. – P. 257-276.
197. Maheswari P., Raja P., Apolo-Apolo O. E., Pérez-Ruiz M. Intelligent fruit yield estimation for orchards using deep learning based semantic segmentation techniques—a review // *Frontiers in plant science*. – 2021. – Vol. 12. – P. 684328.
198. Zhang C., Valente J., Wang W., Guo L., Comas A. T., van Dalen P., Rijk B., Kooistra L. Feasibility assessment of tree-level flower intensity quantification from UAV RGB imagery: a triennial study in an apple orchard // *ISPRS Journal of Photogrammetry and Remote Sensing*. – 2023. – Vol. 197. – P. 256-273.
199. Häni N., Roy P., Isler V. MinneApple: a benchmark dataset for apple detection and segmentation // *IEEE Robotics and Automation Letters*. – 2020. – Vol. 5, № 2. – P. 852-858.
200. *Digital image processing*. / Jähne B. – 6 ed. – Heidelberg: Springer Berlin, Heidelberg, 2005. – 608 p.
201. Liu L., Ouyang W., Wang X., Fieguth P., Chen J., Liu X., Pietikäinen M. Deep learning for generic object detection: A survey // *International journal of computer vision*. – 2020. – Vol. 128. – P. 261-318.
202. *The elements of statistical learning: data mining, inference, and prediction*. / Hastie T., Tibshirani R., Friedman J. H. – 2 ed.: Springer, 2009. – 764 p.
203. Ho T. K. Random decision forests // *Proceedings of 3rd international conference on document analysis and recognition*. – Vol. 1 –IEEE, 1995. – P. 278-282.
204. Breiman L. Random forests // *Machine learning*. – 2001. – Vol. 45. – P. 5-32.

205. Huang R., Zhu J. Using Random Forest to integrate lidar data and hyperspectral imagery for land cover classification // Book Using Random Forest to integrate lidar data and hyperspectral imagery for land cover classification / Editor, 2013. – P. 3978-3981.
206. Sheykhmousa M., Mahdianpari M., Ghanbari H., Mohammadimanesh F., Ghamisi P., Homayouni S. Support Vector Machine Versus Random Forest for Remote Sensing Image Classification: A Meta-Analysis and Systematic Review // IEEE Journal of Selected Topics in Applied Earth Observations and Remote Sensing. – 2020. – Vol. 13. – P. 6308-6325.
207. Ham J., Yangchi C., Crawford M. M., Ghosh J. Investigation of the random forest framework for classification of hyperspectral data // IEEE Transactions on Geoscience and Remote Sensing. – 2005. – Vol. 43, № 3. – P. 492-501.
208. Kupidura P. The Comparison of Different Methods of Texture Analysis for Their Efficacy for Land Use Classification in Satellite Imagery // Remote Sensing. – 2019. – Vol. 11, № 10. – P. 1233.
209. Boston T., Van Dijk A., Larraondo P., Thackway R. Comparing CNNs and Random Forests for Landsat Image Segmentation Trained on a Large Proxy Land Cover Dataset // Remote Sensing. – 2022. – Vol. 14, № 14.
210. Chunhui Z., Bing G., Lejun Z., Xiaoqing W. Classification of Hyperspectral Imagery based on spectral gradient, SVM and spatial random forest // Infrared Physics & Technology. – 2018. – Vol. 95. – P. 61-69.
211. Levkowitz H. Color in Computer Graphics // Color Theory and Modeling for Computer Graphics, Visualization, and Multimedia Applications / Levkowitz H. – Boston, MA: Springer US, 1997. – P. 45-74.
212. Zhang H., Montag E. D. How well can people use different color attributes? // Color Research & Application: Endorsed by Inter-Society Color Council, The Colour Group (Great Britain), Canadian Society for Color, Color Science Association of Japan, Dutch Society for the Study of Color, The Swedish Colour Centre Foundation, Colour Society of Australia, Centre Français de la Couleur. – 2006. – Vol. 31, № 6. – P. 445-457.
213. Haralick R. M., Shanmugam K., Dinstein I. H. Textural features for image classification // IEEE Transactions on systems, man, and cybernetics. – 1973. № 6. – P. 610-621.
214. Harwood D., Ojala T., Pietikäinen M., Kelman S., Davis L. Texture classification by center-symmetric auto-correlation, using Kullback discrimination of distributions // Pattern Recognition Letters. – 1995. – Vol. 16, № 1. – P. 1-10.

215. Mallat S. G. A theory for multiresolution signal decomposition: the wavelet representation // IEEE transactions on pattern analysis and machine intelligence. – 1989. – Vol. 11, № 7. – P. 674-693.
216. Van de Wouwer G., Scheunders P., Van Dyck D. Statistical texture characterization from discrete wavelet representations // IEEE Transactions on Image Processing. – 1999. – Vol. 8, № 4. – P. 592-598.
217. Cross G. R., Jain A. K. Markov Random Field Texture Models // IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence. – 1983. – Vol. PAMI-5, № 1. – P. 25-39.
218. Gabor D. Theory of communication. Part 1: The analysis of information // Journal of the Institution of Electrical Engineers-part III: radio and communication engineering. – 1946. – Vol. 93, № 26. – P. 429-441.
219. Vetterli M., Herley C. Wavelets and filter banks: Theory and design // IEEE transactions on signal processing. – 1992. – Vol. 40, № ARTICLE. – P. 2207-2232.
220. Neumann M., Hallau L., Klatt B., Kersting K., Bauckhage C. Erosion band features for cell phone image based plant disease classification // 2014 22nd International Conference on Pattern Recognition –IEEE, 2014. – P. 3315-3320.
221. Ramesh S., Hebbar R., Niveditha M., Pooja R., Shashank N., Vinod P. Plant disease detection using machine learning // 2018 International conference on design innovations for 3Cs compute communicate control (ICDI3C) –IEEE, 2018. – P. 41-45.
222. Alom M. Z., Taha T. M., Yakopcic C., Westberg S., Sidike P., Nasrin M. S., Van Eesn B. C., Awwal A. A. S., Asari V. K. The History Began from AlexNet: A Comprehensive Survey on Deep Learning Approaches // arXiv preprint arXiv:1803.01164. – 2018.
223. Krizhevsky A., Sutskever I., Hinton G. E. Imagenet classification with deep convolutional neural networks // Advances in neural information processing systems. – 2012. – Vol. 25.
224. Hinton G. E., Osindero S., Teh Y.-W. A Fast Learning Algorithm for Deep Belief Nets // Neural Computation. – 2006. – Vol. 18, № 7. – P. 1527-1554.
225. Hinton G. E., Salakhutdinov R. R. Reducing the Dimensionality of Data with Neural Networks // Science. – 2006. – Vol. 313, № 5786. – P. 504-507.
226. Egmont-Petersen M., de Ridder D., Handels H. Image processing with neural networks—a review // Pattern recognition. – 2002. – Vol. 35, № 10. – P. 2279-2301.
227. Ronneberger O., Fischer P., Brox T. U-Net: Convolutional networks for biomedical image segmentation –Springer, 2015. – P. 234-241.

228. Girshick R., Donahue J., Darrell T., Malik J. Rich feature hierarchies for accurate object detection and semantic segmentation // Proceedings of the IEEE conference on computer vision and pattern recognition –, 2014. – P. 580-587.
229. He K., Gkioxari G., Dollár P., Girshick R. Mask R-CNN // Proceedings of the IEEE international conference on computer vision –, 2017. – P. 2961-2969.
230. Long J., Shelhamer E., Darrell T. Fully convolutional networks for semantic segmentation // Proceedings of the IEEE conference on computer vision and pattern recognition –, 2015. – P. 3431-3440.
231. Dosovitskiy A., Beyer L., Kolesnikov A., Weissenborn D., Zhai X., Unterthiner T., Dehghani M., Minderer M., Heigold G., Gelly S. An image is worth 16x16 words: Transformers for image recognition at scale // arXiv preprint arXiv:2010.11929. – 2020.
232. Redmon J., Divvala S., Girshick R., Farhadi A. You only look once: Unified, real-time object detection // Proceedings of the IEEE conference on computer vision and pattern recognition –, 2016. – P. 779-788.
233. Simonyan K., Zisserman A. Very deep convolutional networks for large-scale image recognition // arXiv preprint arXiv:1409.1556. – 2014.
234. Chen Y., Zhu L., Ghamisi P., Jia X., Li G., Tang L. Hyperspectral Images Classification With Gabor Filtering and Convolutional Neural Network // IEEE Geoscience and Remote Sensing Letters. – 2017. – Vol. 14, № 12. – P. 2355-2359.
235. Makantasis K., Karantzalos K., Doulamis A., Doulamis N. Deep supervised learning for hyperspectral data classification through convolutional neural networks // 2015 IEEE international geoscience and remote sensing symposium (IGARSS) –IEEE, 2015. – P. 4959-4962.
236. Zhang L., Zhang L., Tao D., Huang X. On Combining Multiple Features for Hyperspectral Remote Sensing Image Classification // IEEE Transactions on Geoscience and Remote Sensing. – 2012. – Vol. 50, № 3. – P. 879-893.
237. Li Y., Zhang H., Shen Q. Spectral–Spatial Classification of Hyperspectral Imagery with 3D Convolutional Neural Network // Remote Sensing. – 2017. – Vol. 9, № 1. – P. 67.
238. Paoletti M. E., Haut J. M., Plaza J., Plaza A. A new deep convolutional neural network for fast hyperspectral image classification // ISPRS Journal of Photogrammetry and Remote Sensing. – 2018. – Vol. 145. – P. 120-147.
239. Fauvel M., Benediktsson J. A., Chanussot J., Sveinsson J. R. Spectral and spatial classification of hyperspectral data using SVMs and morphological profiles // IEEE Transactions on Geoscience and Remote Sensing. – 2008. – Vol. 46, № 11. – P. 3804-3814.

240. Sothe C., De Almeida C. M., Schimalski M. B., La Rosa L. E. C., Castro J. D. B., Feitosa R. Q., Dalponte M., Lima C. L., Liesenberg V., Miyoshi G. T., Tommaselli A. M. G. Comparative performance of convolutional neural network, weighted and conventional support vector machine and random forest for classifying tree species using hyperspectral and photogrammetric data // *GIScience & Remote Sensing*. – 2020. – Vol. 57, № 3. – P. 369-394.
241. Zhang J., Su R., Fu Q., Ren W., Heide F., Nie Y. A survey on computational spectral reconstruction methods from RGB to hyperspectral imaging // *Sci Rep*. – 2022. – Vol. 12, № 1. – P. 11905.
242. Mendoza F., Lu R., Ariana D., Cen H., Bailey B. Integrated spectral and image analysis of hyperspectral scattering data for prediction of apple fruit firmness and soluble solids content // *Postharvest Biology and Technology*. – 2011.10.1016/j.postharvbio.2011.05.009.
243. Weng S., Yu S., Guo B., Tang P., Liang D. Non-Destructive Detection of Strawberry Quality Using Multi-Features of Hyperspectral Imaging and Multivariate Methods // *Sensors*. – 2020. – Vol. 20, № 11. – P. 3074.
244. Gao S., Xu J.-h. Hyperspectral image information fusion-based detection of soluble solids content in red globe grapes // *Computers and Electronics in Agriculture*. – 2022. – Vol. 196. – P. 106822.
245. Al Riza D. F., Rulin C., Tun N. T. T., Yi P. P. L., Thwe A. A., Myint K. T., Kondo N. Mango (*Mangifera indica* cv. Sein Ta Lone) ripeness level prediction using color and textural features of combined reflectance-fluorescence images // *Journal of Agriculture and Food Research*. – 2023. – Vol. 11.
246. Liu C., Li J., He L., Plaza A. J., Li S., Li B. Naive Gabor Networks for Hyperspectral Image Classification // *Book Naive Gabor Networks for Hyperspectral Image Classification / EditorarXiv*, 2020.
247. Wang L., Zhang J., Liu Y., Mi J., Zhang J. Multimodal Medical Image Fusion Based on Gabor Representation Combination of Multi-CNN and Fuzzy Neural Network // *IEEE Access*. – 2021. – Vol. 9. – P. 67634-67647.
248. Wang A., Xing S., Zhao Y., Wu H., Iwahori Y. A hyperspectral image classification method based on adaptive spectral spatial kernel combined with improved vision transformer // *Remote Sensing*. – 2022. – Vol. 14, № 15. – P. 3705.
249. Xue Z., Tan X., Yu X., Liu B., Yu A., Zhang P. Deep hierarchical vision transformer for hyperspectral and lidar data classification // *IEEE Transactions on Image Processing*. – 2022. – Vol. 31. – P. 3095-3110.

250. Frank S., Bugliarello E., Elliott D. Vision-and-language or vision-for-language? On cross-modal influence in multimodal transformers // arXiv preprint arXiv:2109.04448. – 2021.
251. Wang Y., Chen X., Cao L., Huang W., Sun F., Wang Y. Multimodal token fusion for vision transformers –, 2022. – P. 12186-12195.
252. Oseledets I. V. Tensor-Train Decomposition // SIAM Journal on Scientific Computing. – 2011. – Vol. 33, № 5. – P. 2295-2317.
253. Zhao Q., Zhou G., Xie S., Zhang L., Cichocki A. Tensor ring decomposition // arXiv preprint arXiv:1606.05535. – 2016.
254. Atay E. Effect of application time of prohydrojasmon on fruit coloration of Gala and Braeburn apples // Bulgarian Journal of Agricultural Science. – 2015. – Vol. 21, № 6. – P. 1242-1247.
255. Соловченко А., Чивкунова О., Мерзляк М., Решетникова И. Спектрофотометрический анализ пигментов в плодах яблоки // Физиология растений. – 2001. – Т. 48, № 5. – С. 801-808.
256. Folch J., Lees M., Stanley G. S. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues // Journal of biological chemistry. – 1957. – Vol. 226, № 1. – P. 497-509.
257. Wellburn A. R. The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution // Journal of plant physiology. – 1994. – Vol. 144, № 3. – P. 307-313.
258. Strack D., Wray V. Anthocyanins // Methods in plant biochemistry Elsevier, 1989. – P. 325-356.
259. Streif J. Optimum harvest date for different apple cultivars in the 'Bodensee' area // Determination and prediction of optimum harvest date of apples and pears / Ed. de Jager A. и др. – Lofthus, Norway: Office for official publications of the European communities, 1994. – P. 15-20.
260. DeLong J. M., Prange R. K., Harrison P. A., Schofield R. A., DeEll J. R. Using the Streif Index as a Final Harvest Window for Controlled-atmosphere Storage of Apples // HortScience. – 1999. – Vol. 34, № 7. – P. 1251-1255.
261. ГОСТ Р. 50528-93 Яблоки свежие. Хранение в контролируемой атмосфере. // 50528-93 Яблоки свежие. Хранение в контролируемой атмосфере. / М.: Стандартинформ, 2004.
262. Smith R., Loughheed E., Franklin E., McMillan I. The starch iodine test for determining stage of maturation in apples // Canadian Journal of Plant Science. – 1979. – Vol. 59, № 3. – P. 725-735.

263. Ceccato P., Flasse S., Tarantola S., Jacquemoud S., Grégoire J.-M. Detecting vegetation leaf water content using reflectance in the optical domain // *Remote sensing of environment*. – 2001. – Vol. 77, № 1. – P. 22-33.
264. Inoue Y., Morinaga S., Shibayama M. Non-destructive estimation of water status of intact crop leaves based on spectral reflectance measurements // *Japanese Journal of Crop Science*. – 1993. – Vol. 62, № 3. – P. 462-469.
265. Shurygin B., Smirnov I., Chilikin A., Khort D., Kuttyrev A., Zhukovskaya S., Solovchenko A. Mutual Augmentation of Spectral Sensing and Machine Learning for Non-Invasive Detection of Apple Fruit Damages // *Horticulturae*. – 2022. – Vol. 8, № 12. – P. 1111.
266. Lawson C. L., Hanson R. J. Linear least squares with linear inequality constraints // *Solving least squares problems* / O'Malley R. E. J. – Philadelphia: SIAM, 1995. – P. 160-165.
267. Bradley A. P. The use of the area under the ROC curve in the evaluation of machine learning algorithms // *Pattern recognition*. – 1997. – Vol. 30, № 7. – P. 1145-1159.
268. Che W., Sun L., Zhang Q., Tan W., Ye D., Zhang D., Liu Y. Pixel based bruise region extraction of apple using VIS-NIR hyperspectral imaging // *Computers and Electronics in Agriculture*. – 2018. – Vol. 146. – P. 12-21.
269. Antal T., Konyukhov I., Volgusheva A., Plyusnina T., Khruschev S., Kukarskikh G., Goryachev S., Rubin A. Chlorophyll fluorescence induction and relaxation system for the continuous monitoring of photosynthetic capacity in photobioreactors // *Physiol Plant*. – 2019. – Vol. 165, № 3. – P. 476-486.
270. Strasser R. J., Tsimilli-Michael M., Srivastava A. Analysis of the chlorophyll a fluorescence transient // *Chlorophyll a fluorescence: a signature of photosynthesis* Springer, 2004. – P. 321-362.
271. Plyusnina T. Y., Khruschev S. S., Riznichenko G. Y., Rubin A. B. An analysis of the chlorophyll fluorescence transient by spectral multi-exponential approximation // *Biophysics*. – 2015. – Vol. 60, № 3. – P. 392-399.
272. Meinel A. B., Meinel M. P. Applied solar energy: an introduction // *NASA STI/Recon Technical Report A*. – 1977. – Vol. 77. – P. 33445.
273. Folkner W. M., Williams J. G., Boggs D. H., Park R. S., Kuchynka P. The planetary and lunar ephemerides DE430 and DE431 // *Interplanetary Network Progress Report*. – 2014. – Vol. 196, № 1. – P. 42-196.
274. Rhodes B. Skyfield: High precision research-grade positions for planets and Earth satellites generator // *Astrophysics Source Code Library*. – 2019. – P. ascl: 1907.024.
275. Математические методы статистики. / Крамер Г. – М.: Мир, 1975. – 721 p.

276. Теория вероятностей. Математическая статистика. / Бочаров П. П., Печинкин А. В. – 2 ed. – М., 2005. – 296 p.
277. Tan L. Finite Impulse Response Filter Design // Digital signal processing: fundamentals and applications. – London: Academic press, 2008. – P. 224.
278. Virtanen P., Gommers R., Oliphant T. E., Haberland M., Reddy T., Cournapeau D., Burovski E., Peterson P., Weckesser W., Bright J. SciPy 1.0: fundamental algorithms for scientific computing in Python // Nature methods. – 2020. – Vol. 17, № 3. – P. 261-272.
279. Krieger S., Freij N., Brazhe A., Torrence C., Compo G. P., et al. PyCWT: wavelet spectral analysis in Python. – 2023. – URL: <https://github.com/regeirk/pycwt> (дата обращения: 03.06.2024).
280. Andreu V., Collados R., Testillano P. S., Risueño M. a. d. C., Picorel R., Alfonso M. In Situ Molecular Identification of the Plastid  $\omega$  3 Fatty Acid Desaturase FAD7 from Soybean: Evidence of Thylakoid Membrane Localization // Plant physiology. – 2007. – Vol. 145, № 4. – P. 1336-1344.
281. Thompson G. A., Jr. Responses of Lipid Metabolism to Developmental Change and Environmental Perturbation // Lipid metabolism in plants / Moore T. S., Jr. CRC Press, 2018. – P. 33-90.
282. Киселевский Д., Самуилов В., Гусев М. Программируемая гибель клеток растений: сигналы, передача сигналов, роль митохондрий и хлоропластов // Вестник Московского университета. Серия 16. Биология. – 2016. № 1. – С. 51-60.
283. Hartman S., Sasidharan R., Voesenek L. The role of ethylene in metabolic acclimations to low oxygen // New Phytol. – 2021. – Vol. 229, № 1. – P. 64-70.
284. Burg S. P. Ethylene, plant senescence and abscission // Plant physiology. – 1968. – Vol. 43, № 9 Pt B. – P. 1503.
285. Reid M. S. Ethylene in plant growth, development, and senescence // Plant hormones: physiology, biochemistry and molecular biology Springer, 1995. – P. 486-508.
286. Saltveit M. E. Effect of ethylene on quality of fresh fruits and vegetables // Postharvest biology and technology. – 1999. – Vol. 15, № 3. – P. 279-292.
287. Keech O., Pesquet E., Gutierrez L., Ahad A., Bellini C., Smith S. M., Gardestrom P. Leaf senescence is accompanied by an early disruption of the microtubule network in Arabidopsis // Plant Physiol. – 2010. – Vol. 154, № 4. – P. 1710-20.
288. Maxwell K., Johnson G. N. Chlorophyll fluorescence—a practical guide // Journal of experimental botany. – 2000. – Vol. 51, № 345. – P. 659-668.
289. Аверчева О., Беркович Ю., Ерохин А., Жигалова Т., Погосян С., Смолянина С. Особенности роста и фотосинтеза растений китайской капусты при выращивании

- под светодиодными светильниками // Физиология растений. – 2009. – Т. 56, № 1. – С. 17-26.
290. Стресс у растений (биофизический подход). / Веселова Т., Веселовский В., Чернавский Д. – М.: Изд-во Моск. ун-та, 1993. – 144 с.
291. Schurr U., Walter A., Rascher U. Functional dynamics of plant growth and photosynthesis—from steady-state to dynamics—from homogeneity to heterogeneity // *Plant, Cell & Environment*. – 2006. – Vol. 29, № 3. – P. 340-352.
292. Bresson J., Vasseur F., Dauzat M., Koch G., Granier C., Vile D. Quantifying spatial heterogeneity of chlorophyll fluorescence during plant growth and in response to water stress // *Plant methods*. – 2015. – Vol. 11. – P. 1-15.
293. Sukhova E., Ratnitsyna D., Gromova E., Sukhov V. Development of two-dimensional model of photosynthesis in plant leaves and analysis of induction of spatial heterogeneity of CO<sub>2</sub> assimilation rate under action of excess light and drought // *Plants*. – 2022. – Vol. 11, № 23. – P. 3285.
294. Gitelson A., Solovchenko A. Non-invasive quantification of foliar pigments: Possibilities and limitations of reflectance-and absorbance-based approaches // *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. – 2018. – Vol. 178. – P. 537-544.
295. Merzlyak M. N., Gitelson A. A., Pogosyan S. I., Lekhimena L., Chivkunova O. B. Light-induced pigment degradation in leaves and ripening fruits studied in situ with reflectance spectroscopy // *Physiologia Plantarum*. – 1998. – Vol. 104, № 4. – P. 661-667.
296. Sims D. A., Gamon J. A. Relationships between leaf pigment content and spectral reflectance across a wide range of species, leaf structures and developmental stages // *Remote Sensing of Environment*. – 2002. – Vol. 81, № 2-3. – P. 337-354.
297. Solovchenko A. E., Merzlyak M. N., Pogosyan S. I. Light-induced decrease of reflectance provides an insight in the photoprotective mechanisms of ripening apple fruit // *Plant Science*. – 2010. – Vol. 178, № 3. – P. 281-288.
298. Wang Z., Van Beers R., Aernouts B., Watté R., Verboven P., Nicolai B., Saeys W. Microstructure affects light scattering in apples // *Postharvest Biology and Technology*. – 2020. – Vol. 159. – P. 110996.
299. Betemps D. L., Fachinello J. C., Galarça S. P., Portela N. M., Remorini D., Massai R., Agati G. Non-destructive evaluation of ripening and quality traits in apples using a multiparametric fluorescence sensor // *Journal of the Science of Food and Agriculture*. – 2012. – Vol. 92, № 9. – P. 1855-1864.

300. Kviklys D., Viškelis J., Liaudanskas M., Janulis V., Laužikė K., Samuolienė G., Uselis N., Lanauskas J. Apple fruit growth and quality depend on the position in tree canopy // *Plants*. – 2022. – Vol. 11, № 2. – P. 196.
301. Geyer M., Herold B., Zude M., Truppel I. Non-destructive evaluation of apple fruit maturity on the tree // *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research*. – 2007. – Vol. 66, № 1. – P. 161-169.
302. Rutkowski K. P., Michalczyk B., Konopacki P. Nondestructive determination of 'Golden Delicious' apple quality and harvest maturity // *J. Fruit Ornam. Plant Res.* – 2008. – Vol. 16, № 1. – P. 39-52.
303. Zude-Sasse M., Truppel I., Herold B. An approach to non-destructive apple fruit chlorophyll determination // *Postharvest Biology and Technology*. – 2002. – Vol. 25, № 2. – P. 123-133.
304. Sun J., Künnemeyer R., McGlone A., Rowe P. Multispectral scattering imaging and NIR interactance for apple firmness predictions // *Postharvest Biology and Technology*. – 2016. – Vol. 119. – P. 58-68.
305. Solovchenko A. E., Avertcheva O. V., Merzlyak M. N. Elevated sunlight promotes ripening-associated pigment changes in apple fruit // *Postharvest Biology and Technology*. – 2006. – Vol. 40, № 2. – P. 183-189.
306. Merzlyak M. N., Hendry G. A. Free radical metabolism, pigment degradation and lipid peroxidation in leaves during senescence // *Proceedings of the Royal Society of Edinburgh, Section B: Biological Sciences*. – 1994. – Vol. 102. – P. 459-471.
307. Johnston J. W., Hewett E. W., Hertog M. L. Postharvest softening of apple (*Malus domestica*) fruit: a review // *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*. – 2002. – Vol. 30, № 3. – P. 145-160.
308. Guo J., Han W., Wang M. Ultraviolet and environmental stresses involved in the induction and regulation of anthocyanin biosynthesis: a review // *African Journal of Biotechnology*. – 2008. – Vol. 7, № 25.
309. Solovchenko A., Shurygin B., Kuzin A., Solovchenko O., Krylov A. Extraction of Quantitative Information from Hyperspectral Reflectance Images for Noninvasive Plant Phenotyping // *Russian Journal of Plant Physiology*. – 2022. – Vol. 69, № 7. – P. 144.
310. Taylor J., Yudkowsky E., LaVictoire P., Critch A. Alignment for advanced machine learning systems // *Ethics of artificial intelligence*. – 2016. – P. 342-382.
311. Chang C. Y. Y., Bräutigam K., Hüner N. P., Ensminger I. Champions of winter survival: cold acclimation and molecular regulation of cold hardiness in evergreen conifers // *New Phytologist*. – 2021. – Vol. 229, № 2. – P. 675-691.

312. Powell L. The chilling requirement in apple and its role in regulating time of flowering in spring in cold-winter climates // V International Symposium on Growth Regulators in Fruit Production 179 –, 1985. – P. 129-140.
313. Rai R., Joshi S., Roy S., Singh O., Samir M., Chandra A. Implications of changing climate on productivity of temperate fruit crops with special reference to apple // Journal of Horticulture. – 2015. – Vol. 2, № 2. – P. 135-141.
314. Delgado A., Dapena E., Fernandez E., Luedeling E. Climatic requirements during dormancy in apple trees from northwestern Spain–Global warming may threaten the cultivation of high-chill cultivars // European Journal of Agronomy. – 2021. – Vol. 130. – P. 126374.
315. Mir R. R., Reynolds M., Pinto F., Khan M. A., Bhat M. A. High-throughput phenotyping for crop improvement in the genomics era // Plant Sci. – 2019. – Vol. 282. – P. 60-72.
316. Афонников Д. А. Компьютерные методы высокопроизводительного фенотипирования растений. – Новосибирск, 2023. – 391 с.
317. Cobb J. N., Declerck G., Greenberg A., Clark R., McCouch S. Next-generation phenotyping: requirements and strategies for enhancing our understanding of genotype-phenotype relationships and its relevance to crop improvement // Theor Appl Genet. – 2013. – Vol. 126, № 4. – P. 867-87.

## Приложения

### Приложение 1 Плоды, использовавшиеся в задаче детекции повреждений.

Таблица 12 Описание плодов, использовавшихся в эксперименте. В столбце «Класс» D соответствует повреждённым яблокам, Н — здоровым. Описания предоставлены сборщиками плодов, метки классов присваивали визуально по композитным RGB-изображениям.

Номер плода	Описание	Класс
001	Солнечный ожог, зелёное яблоко	D
002	Здоровое зелёное яблоко	H
003	Градобоины, красное яблоко	D
004	Здоровое красное яблоко	D
005	Солнечный ожог, маленькое красное яблоко	D
006	Маленькое красное яблоко (малогобаритное)	D
010	Здоровое зелёное яблоко	H
011	Градобоины, зелёное яблоко	D
012	Деформированное зелёное яблоко	D
013	Деформированное красно-зелёное яблоко	D
014	Солнечный ожог и гниль, зелёное яблоко	D
015	Вмятина и гниль, красное яблоко	D
016	Солнечный ожог, красное яблоко	D
017	Здоровое красное яблоко	H
018	Солнечный ожог, красное яблоко	H
019	Вмятины и механические повреждения, зелёное яблоко	H
020	Механически поврежденное яблоко	D
022	Вмятины, механические повреждения	D
023	Вмятины и механические повреждения, красное яблоко	D
024	Здоровое красно-зелёное яблоко	D
025	Солнечный ожог, красное яблоко	D
026	Вмятина, зелёное яблоко	D
027	Деформированное яблоко	H
028	Здоровое яблоко	H
029	Здоровое красное яблоко	H
030	Солнечный ожог, зелёное яблоко	D

031	Солнечный ожог, зелёное яблоко	Н
032	Здоровое зелёное яблоко	Н
033	Здоровое зелёное яблоко	Н
034	Здоровое зелёное яблоко	Н
035	Солнечный ожог и гниль, красное яблоко	D
036	Гниль и механические повреждения	D
037	Гниль и механические повреждения	D
038	Механически поврежденное яблоко	D
039	Солнечный ожог, красное яблоко	D
040	Здоровое красно-зелёное яблоко	D
041	Красное яблоко	D
042	Здоровое красное яблоко	Н
043	Парша, красно-зелёное яблоко	D
044	Здоровое красное яблоко	Н
045	Здоровое красное яблоко	Н
046	Здоровое красное яблоко	D
047	Парша, красно-зелёное яблоко	D
048	Здоровое зелёное яблоко	Н
049	Здоровое зелёное яблоко	Н
050	Парша, красно-зелёное яблоко	D
051	Гниль, красно-зелёное яблоко	D
052	Здоровое зелёное яблоко	Н
053	Вмятины, зелёное яблоко	D
054	Здоровое красно-зелёное яблоко	Н
055	Солнечный ожог, красное яблоко	D
056	Здоровое красное яблоко	Н
057	Вмятины, красное яблоко	D
058	Здоровое красное яблоко	D
059	Вмятины	D
060	Здоровое яблоко	Н
061	Здоровое красно-зелёное яблоко	Н
062	Здоровое красно-зелёное яблоко	Н
063	Вмятины и механические повреждения	D
064	Вмятины и механические повреждения	D
065	Вмятины и механические повреждения	D
066	Механически поврежденное яблоко	D
067	Механически поврежденное яблоко	D
068	Вмятины и механические повреждения, зелёное яблоко	D
069	Здоровое зелёное яблоко	Н
070	Вмятины и механические повреждения	D
071	Здоровое красное яблоко	Н
072	Здоровое красное яблоко	Н

073	Здоровое красное яблоко	Н
074	Солнечный ожог и повреждения, красное яблоко	D
075	Маленькое красное яблоко (малогобаритное)	D
076	Маленькое зелёное яблоко (малогобаритное)	D
077	Маленькое зелёное яблоко (малогобаритное)	D
078	Маленькое зелёное яблоко (малогобаритное)	D
079	Здоровое красное яблоко	D
080	Здоровое красное яблоко	Н
081	Здоровое красное яблоко	Н
082	Здоровое зелёное яблоко	Н
083	Здоровое зелёное яблоко	Н
084	Вмятины, зелёное яблоко	D
085	Гниль, красное яблоко	D
086	Здоровое красное яблоко	Н
087	Здоровое красное яблоко	Н
088	Гниль, красное яблоко	D
089	Красное здоровое яблоко	Н
090	Вмятина, красное яблоко	D
091	Здоровое красное яблоко	Н
092	Вмятина, красное яблоко	D
093	Здоровое красное яблоко	Н
094	Механически поврежденное яблоко	D
095	Здоровое красное яблоко	Н
096	Деформированное зелёное яблоко	D
097	Здоровое зелёное яблоко	Н
098	Механически поврежденное яблоко	D
099	Здоровое зелёное яблоко	Н
100	Гниль, зелёное яблоко	D
101	Здоровое желтое яблоко	Н
102	Гниль, желтое яблоко	D
103	Здоровое желтое яблоко	Н
104	Вмятины и повреждения	D
105	Красное яблоко (присутствует вмятина)	D