

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ



УДК 57.044+57.084.2

Гиперспектральный мониторинг влияния средств защиты растений на состояние семян сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) при моделировании их ирригации карьерными сточными водами

А.Е. Соловченко^{1,*} , Б.М. Шурыгин¹ , И.О. Селях¹ , Л.Р. Семенова¹ ,
П.Н. Щербаков¹ , О.Б. Чивкунова¹ , А.А. Лукьянов¹ ,
Е.С. Михайлова², В.А. Крюк² , Е.С. Лобакова¹

¹ Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, биологический факультет, Россия, 119234, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12;

² Кемеровский государственный университет, Институт нано-, био-, информационных, когнитивных и социогуманитарных технологий, Россия, 625000, г. Кемерово, ул. Красная, д. 6

*e-mail: solovchenkoae@my.msu.ru

Очистка карьерных сточных вод, как и рекультивация выработанных угольных разрезов, — серьезные экологические проблемы. Один из способов их решения — фиторемедиация с использованием стрессоустойчивых растений, таких как сосна обыкновенная (*Pinus sylvestris* L.). Для снижения риска эпифитотий при массовом выращивании необходимы обработки химическими средствами защиты растений (СЗР). Важно убедиться, что СЗР не наносят вреда растениям при использовании для полива растений карьерных сточных вод, содержащих тяжелые металлы. В этой связи весьма актуальна задача массового мониторинга растений неинвазивными методами. В работе использованы методы прямых измерений и неинвазивный подход, основанный на съемке и анализе гиперспектральных изображений, для комплексного мониторинга состояния семян сосны, обработанных СЗР «Актара» и «Превикур Энерджи» в разных концентрациях (однократной, двукратной и четырехкратной по сравнению с концентрацией, рекомендованной производителем) на фоне полива растворами минеральных солей, имитирующих карьерные сточные воды угольных разрезов по составу основных компонентов. Показано, что, несмотря на некоторые методические сложности съемки и количественной интерпретации гиперспектральных изображений, возможно их использование для неинвазивного дистанционного мониторинга состояния семян хвойных растений в вегетационных экспериментах, в том числе — в полевых условиях. СЗР, применяемые в исследованных дозах, не обладали острой токсичностью и не оказывали выраженного негативного влияния на темпы роста и состояние пигментного аппарата семян сосны обыкновенной в двухмесячный период наблюдений. При этом полив этих растений модельными карьерными сточными водами также не сопровождался синергическими токсическими эффектами. Таким образом, не выявлено очевидных препятствий к применению вышеупомянутых СЗР для профилактики и стоп-обработок семян сосны обыкновенной, выращиваемых с поливом карьерными сточными водами, содержащими Fe, Zn и Mn. Полученные результаты также свидетельствуют о перспективности использования карьерных сточных вод, богатых элементами минерального питания, но не содержащих высокотоксичных тяжелых металлов (таких, как Pb и Cd), при выращивании растений для фиторемедиации почв выработанных угольных разрезов. Однако для оценки отдаленных во времени эффектов необходимы длительные, желательно многолетние, исследования.

Ключевые слова: неинвазивный мониторинг, фиторемедиация, вегетационные индексы, пестициды, тяжелые металлы, микроводоросли

DOI: 10.55959/MSU0137-0952-16-80-1-4

Введение

Рост численности населения Земли сопровождается увеличением добычи и потребления ресурсов, в том числе ископаемых энергоносителей, что приводит к росту антропогенной нагрузки на окружающую среду. Любая форма добычи полезных ископаемых, включая добычу угля открытым способом, представляет опасность для окружающей среды, загрязняя поверхностные и грунтовые воды, почву, пахотные земли и воздух [1]. Карьерные сточные воды — один из наиболее объемных отходов угледобычи открытым способом: миллионы литров недостаточно очищенных шахтных стоков сбрасываются в водоемы [2]. По общему признанию, очистка карьерных сточных вод, как и рекультивация выработанных угольных разрезов, является серьезной экологической проблемой во всем мире.

Карьерные сточные воды образуются при проникновении в карьеры грунтовых вод и (или) дождевой воды [1]. Этот вид сточных вод может быть загрязнен нефтью, остатками взрывчатых веществ и ионами тяжелых металлов, таких как Pb, Co, Cd, Cu, Fe, Mn и Zn [1]. Токсичность тяжелых металлов для биоты водных и наземных экосистем, а также для человека хорошо известна [3].

К сожалению, эффективных способов полезной утилизации карьерных сточных вод пока не найдено, а существующие физико-химические методы их очистки малоэффективны и дороги [4–6]. В то же время, растет внимание к биологическим методам очистки и рекультивации биотопов, нарушенных при открытой разработке полезных ископаемых, в особенности — к фиторемедиации [7, 8]. В частности, привлекательна идея использования карьерных сточных вод как источника микро- и макроэлементов минерального питания при выращивании плантационных быстрорастущих растений для целей фиторемедиации [5, 9].

Для фиторемедиации угольных разрезов необходимо массовое выращивание растений, таких как сосна обыкновенная и другие быстрорастущие стрессоустойчивые виды. Решение этой задачи предполагает высокую плотность насаждений, особенно на начальных этапах получения посадочного материала в парниках и открытом грунте. Как следствие, возрастает риск эпифитотий, вызванных атаками насекомых-вредителей и/или фитопатогенных грибов. В этой связи проводят профилактические обработки химическими средствами защиты растений (СЗР) в рекомендованных концентрациях, но если эпифитотии все же развиваются, приходится прибегать к так называемым стоп-обработкам, увеличивая их концентрацию. В подобных ситуациях важно убедиться в том, что относительно высокие концентрации СЗР не нанесут вреда самим растениям, особенно при использовании для полива растений карьерных сточных вод, содержащих тяжелые металлы, потенциально

способные потенцировать токсические эффекты СЗР [10, 11]. Прямые измерения морфологических, биохимических и иных параметров являются классическими методами оценки физиологического состояния растений. Эти методы отличаются высокой точностью, но при этом требуют высоких затрат труда и потому их пропускная способность невелика: ее достаточно для лабораторных или полевых экспериментов на ограниченной выборке индивидуальных растений. Однако мониторинг больших популяций в масштабных экспериментах — например, при высокопроизводительном фенотипировании растений — невозможен с применением вышеупомянутых традиционных методов.

В этой связи весьма актуальна задача массового мониторинга растений не только в лабораторном масштабе, но и в масштабе насаждений, когда оперативно отследить состояние всех растений традиционными методами, основанными на ручных измерениях и лабораторном биохимическом анализе, невозможно. Решение этой задачи важно для оперативной оценки состояния больших популяций растений, поиска симптомов атак фитопатогенов, а также для оценки толерантности к действию неблагоприятных факторов [12], в том числе антропогенных. В этой связи все чаще для автоматизированного массового мониторинга растительных объектов применяют неинвазивные методы, основанные на пространственно-разрешенном спектральном анализе отраженного растениями света, для чего используют изображающие гиперспектрометры [13]. Наряду с экомониторингом, эта методология получила наибольшее развитие в сезонном сельскохозяйственном мониторинге [14]. Несмотря на значительный прогресс в области дистанционного неинвазивного фенотипирования растений [15, 16], по-прежнему возникают сложности с извлечением смысловой информации из спектральных изображений растительных объектов, но в последнее время их преодолевают с помощью современных методов на основе машинного обучения [17]. Актуальными остаются и традиционные методы анализа спектральных данных, основанные на вегетационных индексах [18].

Целью настоящей работы был комплексный мониторинг состояния сеянцев сосны, обработанных СЗР в различных концентрациях на фоне полива карьерными сточными водами. Также оценивали возможности использования неинвазивных гиперспектральных методов для фенотипирования экспериментальных растений.

Материалы и методы

Объекты исследования. Объектами исследования служили однолетние сеянцы сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.), выращенные из семян, собранных в ненарушенных местообитаниях, на коммерчески доступном торфяном субстрате в агрокасетах. Перед началом вегетационного экспе-

римента растения пересаживали в стандартные горшки «Р9» на субстрат из смеси просеянного речного песка и перлита (1:2, по объему), увлажняли водопроводной водой (250 мл/растение) и размещали в условиях открытого грунта в стандартных поддонах (по 20 растений в поддоне). После 7 сут акклимации отбраковывали растения с визуально заметными повреждениями, растения с длиной центрального побега менее 4 см и разветвленные растения (более двух побегов).

Экспериментальные воздействия. В экспериментах по оценке острой токсичности СЗР использовали распространенные коммерчески доступные препараты «Актара» (неоникотиноидный инсектицид производства компании Syngenta, действующее вещество – тиаметоксам [19]) и «Превикур Энерджи» (системный фунгицид производства компании Bayer, действующие вещества – пропамокарб и фосэтил) [20] в концентрации, рекомендованной производителем, а также в двух- и четырехкратно увеличенных концентрациях по отдельности и в сочетании друг с другом (табл. 1).

Рабочие растворы СЗР вносили под корень в объеме 10 мл/растение однократно, в начале эксперимента; под контрольные растения вносили 10 мл водопроводной воды. В каждом экспериментальном варианте было 10 растений, рандомизированно размещенных на открытой экспериментальной площадке в кампусе МГУ.

Для полива экспериментальных растений (по 0,15 л/растение, шестикратно с равными временными интервалами) использовали модельные сточные среды, состав которых воспроизводит состав карьерных сточных вод угольного разреза «Моховский» (Кемеровская область, Россия; 54.5984N, 86.3437E) в отношении максимальных зарегистрированных концентраций ключевых загрязнителей, в частности, тяжелых металлов – Fe, Zn и Mn (табл. 2; см. также ранее опубликованные данные [9]); контрольные растения поливали водопроводной водой. По мере подсыхания субстрата растения дополнительно увлажняли водопроводной водой. Мониторинг состояния растений вели с мая по июль включительно.

Таблица 1

Схема постановки эксперимента

Экспериментальные варианты	Концентрация СЗР (г/л)		Обозначения
	«Актара»	«Превикур Энерджи»	
Контроль	0	0	К
Обработка препаратом «Актара»	0,4*	0	А1
	0,8	0	А2
	1,6	0	А4
	0	1,5*	П1
Обработка препаратом «Превикур Энерджи»	0	3	П2
	0	6	П4
	0,4*	1,5*	АП1
Комбинированная обработка	0,8	3	АП2
	1,6	6	АП4

*Концентрации, рекомендованные производителем.

Таблица 2

Состав модельных сточных вод

Компонент сточных вод	Использованный реагент	В модельных сточных водах (мг/л)	В реальных сточных водах** (мг/л)
Аммоний-ионы	NH ₄ NO ₃	3,4	1,19 (3,25–0,10)
Нитрат-ионы	KNO ₃	94,7	45,0 (92,0–0,38)
Нитрит-ионы	KNO ₂	0,667	0,36 (0,67–0,003)
Сульфат-ионы	MgSO ₄	368	295 (367–22,0)
Фосфат-ионы	K ₂ HPO ₄	0,95	0,52 (0,95–0,1)
<u>Железо*</u>	FeCl ₃ · 6H ₂ O	42,42	8,80 (43,5–0,08)
<u>Марганец</u>	MnCl ₂ · 4H ₂ O	0,35	0,14 (0,30–0,05)
<u>Цинк</u>	ZnSO ₄ · 7H ₂ O	2,8	0,035 (2,90–0,02)
pH	—	pH 8,5	pH 8,4 (8,7–7,3)
Водопроводная вода	—	До 1 л	—

* Подчеркнуты ключевые загрязнители – тяжелые металлы.

** Приводятся средние значения, в скобках указан размах колебаний в течение сезона (апрель–октябрь 2023 г.).

Измерение прироста побегов. Физиологическое состояние растений оценивали по темпам прироста главного побега и суммарному содержанию основных пигментов (хлорофиллов и каротиноидов; см. ниже) в надземной части сеянцев.

Рост растений регистрировали прямым измерением длины побега. В связи со значительной гетерогенностью экспериментальных растений по длине главного побега (рис. 1А) для сравнения их темпов роста использовали относительную величину прироста, которую вычисляли как:

$$D = (L_t / L_0 - 1) \cdot 100\%, \quad (1)$$

где D — относительная величина прироста (%), L_0 — длина побега в момент начала наблюдений (см), L_t — длина побега в момент времени t (см).

Неинвазивный мониторинг состояния растений. Суммарное содержание пигментов в надземной части растений оценивали неинвазивно по их гиперспектральным изображениям (размер кадра — 512×512 пикселей, спектральное разрешение — 3 нм), полученным с применением гиперспектрометра IQ (SPECIM, Финляндия). Радиометрическая калибровка снимков проводилась с синхронной съемкой отражательного стандарта — панели из спектралона. Съемки проводили при естественном освещении в период с 10 до 15 ч местного солнечного времени. Для оценки содержания пигментов использовали вегетационные индексы, рассчитанные на основании коэффициентов отражения растений в видимой и ближней ИК-областях спектра [21]. Для оценки содержания хлорофиллов (Хл) использовали разработанный ранее индекс CI_{678} (Chlorophyll Index), чувствительный к содержанию Хл в растительных тканях [22, 23], вычисляемый по формуле:

$$CI_{648} = \frac{R_{800}}{R_{700}}, \quad (2)$$

в которой R_{800} — «опорный» коэффициент отражения на длине волны 800 нм, где отсутствует поглощение света пигментами, а величина отражения определяется морфологическими и анатомическими особенностями растительных тканей; R_{700} — коэффициент отражения на длине волны 700 нм, в области «красного склона» (Red Edge) спектра отражения, соответствующего резкому росту альбедо в инфракрасной области, вызванному рассеянием света в структурах листа [24].

Суммарное содержание каротиноидов оценивали по значениям индекса CRI_{550} (Carotenoid Reflectance Index, [23]):

$$CRI = \left(\frac{1}{R_{550}} - \frac{1}{R_{700}} \right) \cdot R_{800}, \quad (3)$$

где R_{550} — коэффициент отражения на длине волны 550 нм, зависящий от совместного поглощения света каротиноидами и хлорофиллами, спектры

поглощения которых перекрываются в этой области спектра.

Для выделения растений на гиперспектральных снимках строили ограничивающие прямоугольники по локальным минимумам проекции плотности пикселей с $CI > 2,8$ на горизонтальные и вертикальные оси изображения, при необходимости ограничивающие прямоугольники уточняли вручную. Для фильтрации фона внутри ограничивающих прямоугольников использовали спектрально-угловую классификацию (Spectral Angle Mapping, SAM) [25, 26], эталонные спектры для SAM выбирали вручную.

Статистическая обработка результатов. Нормальность распределения экспериментальных данных проверяли с применением критерия Шапиро-Уилка. Достоверность различий средних значений определяли в ходе двухфакторного дисперсионного анализа средствами программного обеспечения Origin 19 (OriginLabs, США) при уровне значимости $p < 0,05$.

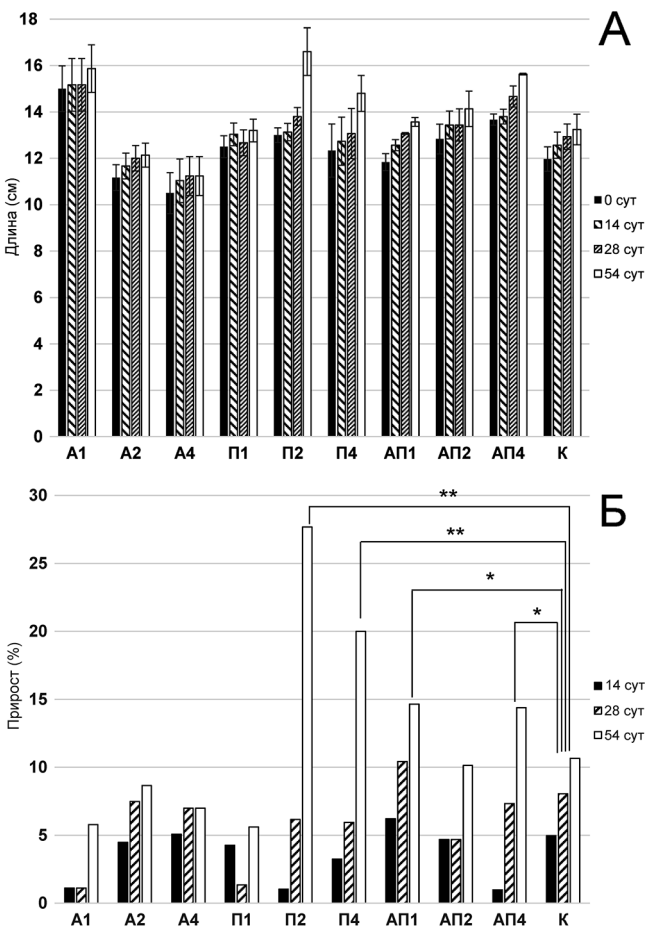


Рис. 1. Динамика длины главного побега сеянцев сосны обыкновенной при выращивании в присутствии СЗР в различных концентрациях. (А) Абсолютные значения длины побегов, (Б) относительные значения прироста. Сроки выращивания указаны на диаграммах. Обозначения: К — контроль без обработки, А — «Актара», П — «Превикур Энерджи», АП — «Актара» + «Превикур Энерджи» (см. табл. 1). На диаграмме показаны средние значения $\pm$ стандартная ошибка ($n = 10$) и уровень значимости различий между ними (* — $p < 0,05$).

Результаты и обсуждение

Мониторинг влияния карьерных сточных вод на состояние сеянцев сосны является важной задачей, поскольку сточные воды могут быть источником как необходимых для растений микро- и макроэлементов минерального питания, так и потенциально токсичных тяжелых металлов. Таким образом, важно было оценить возможность использования различных методов для мониторинга насаждений в теплицах и питомниках. В настоящей работе для этого использовали как простые непосредственные измерения (прямое измерение роста побегов), так и автоматизированные неинвазивные методы в приложении к анализу гиперспектральных изображений.

Влияние СЗР на темпы роста сеянцев сосны обыкновенной. Мониторинг динамики роста сеянцев сосны в присутствии исследованных СЗР в различных концентрациях (рис. 1) не выявил значимого снижения величины прироста главного побега по сравнению с контролем. При этом у растений, обработанных СЗР «Актара» в четырехкратной концентрации, рост замедлялся к концу периода наблюдений. Напротив, рост растений, обработанных СЗР «Превикур Энерджи», в т. ч. в комбинации с СЗР «Актара», был в этот период более интенсивным по сравнению с необработанным контролем (рис. 1Б). Максимальная величина прироста (в 2,5 раза больше, чем в контроле) была зарегистрирована в конце периода наблюдений у растений, обработанных СЗР «Превикур Энерджи» в двукратной концентрации. При обработке тем же СЗР в четырехкратной концентрации величина приростов в 1,5 раза превосходила таковую в необработанном контроле (рис. 1).

Полученные результаты свидетельствуют об отсутствии выраженного токсического действия обоих исследованных СЗР в концентрации до четырехкратной по отношению к рекомендованной производителем на сеянцы сосны обыкновенной, выращиваемые с использованием карьерных сточных вод. В случае СЗР «Актара» возможно двукратное повышение концентрации препарата без значительного негативного влияния на рост растений. Существенно также, что комбинированная обработка двумя СЗР (варианты АП1–АП4, рис. 1) не влияла на величину приростов либо обладала слабым стимулирующим влиянием.

Особый интерес представляет стимулирующее влияние СЗР «Превикур Энерджи» на рост побегов сосны в наших экспериментальных условиях. Наблюдаемый эффект может быть связан как с подавлением роста фитопатогенных грибов при выращивании в открытом грунте, так и с непосредственным стимулированием роста растений данным препаратом. Так, пропамокарб ингибирует рост мицелия и образование зооспорангиев, а фозетил подавляет образование спор, предотвращает

проникновение в растение, а также стимулирует системную устойчивость к болезням и ускоряет рост растений [27]. С другой стороны, наблюдаемый эффект напоминает гистерезис, характерный для действия многих препаратов (таких как гербицид 2,4Д), которые в низких концентрациях могут стимулировать рост растений, а в более высоких — ингибировать его. Косвенным подтверждением ростостимулирующего действия СЗР в наших экспериментальных условиях может служить возобновление роста главного побега (завершившегося после формирования сезонного прироста), на 40–45-е сут эксперимента. Данное явление наблюдали во всех вариантах обработки, при этом в необработанном контроле возобновление роста наблюдали лишь у одного из 10 растений.

Гиперспектральный неинвазивный мониторинг состояния растений. Используемые в настоящей работе подходы к интерпретации данных о спектральном составе отраженного растениями света основаны на использовании вегетационных индексов, чувствительных к содержанию основных групп пигментов растений — хлорофиллов и каротиноидов [22, 23]. Мониторинг изменений содержания и соотношения этих пигментов дает ценную информацию о физиологическом состоянии растительных объектов, их развитии, а также о повреждениях, вызванных абиотическими и биотическими стрессорами [23, 28]. Подчеркнем также, что традиционные биохимические методы анализа дают информацию лишь о весьма небольшой части растения (например, о содержании пигментов в части листа или побега). Напротив, неинвазивные методы, основанные на анализе гиперспектральных изображений, позволяют описать динамику исследуемого параметра (например, пигментного состава) для целого растения с учетом его гетерогенности, которая может быть существенной [21].

Известно, что растения, обладающие более высокой толерантностью к различным стрессорам, обладают и более высоким общим содержанием хлорофиллов, а стрессовые ответы часто включают редукцию фотосинтетического аппарата, снижение содержания хлорофиллов и рост содержания каротиноидов [28]. В настоящей работе гиперспектральные изображения использовали для оценки удельного содержания этих пигментов в надземной части сеянцев сосны (рис. 2, 3).

Для получения корректных результатов прежде всего необходимо было выделить на полученных гиперспектральных изображениях области, занятые растительными объектами, что осуществляли в два этапа (рис. 2). На первом этапе выделяли участок изображения, занятый растительным объектом, ориентируясь на значения индекса SI , высокие значения которого характерны для хлорофиллоносных тканей, в том числе — для надземной части сеянцев сосны (рис. 2А, см. также «Материалы и методы»). Далее из выбранных участков

исключали пиксели фона, используя характерные особенности спектров зеленых растений и спектрально-угловой классификатор пикселей изображения (рис. 2Б–Г).

Анализ распределений значений вегетационных индексов показал, что такие величины, как суммарное значение индексов, не являются информативными вследствие исходной гетерогенности размеров (проекционной площади) надземной площади сеянцев (данные не приводятся). Дополнительные сложности могут возникать из-за ограниченного пространственного разрешения использованного в работе изображающего гиперспектрометра, что может приводить к «смешиванию» спектральной информации о мелких дета-

лях растений (тонких хвоинках) и фоне в одном и том же пикселе изображения. Частично такие «смешанные» пиксели были удалены при исключении фона. Также следует отметить, что для снижения вклада шумов в значения коэффициентов отражения (возникающих, в частности, из-за вариации светотеневой обстановки во время съемки при естественном освещении) целесообразно использовать более широкие спектральные каналы (порядка 10 нм). В итоге значения вегетационных индексов были нормированы на проекционную площадь растений. Эта операция позволила рассчитать среднее удельное содержание хлорофиллов (рис. 3А) и каротиноидов на единицу проекционной площади надземной части растений.

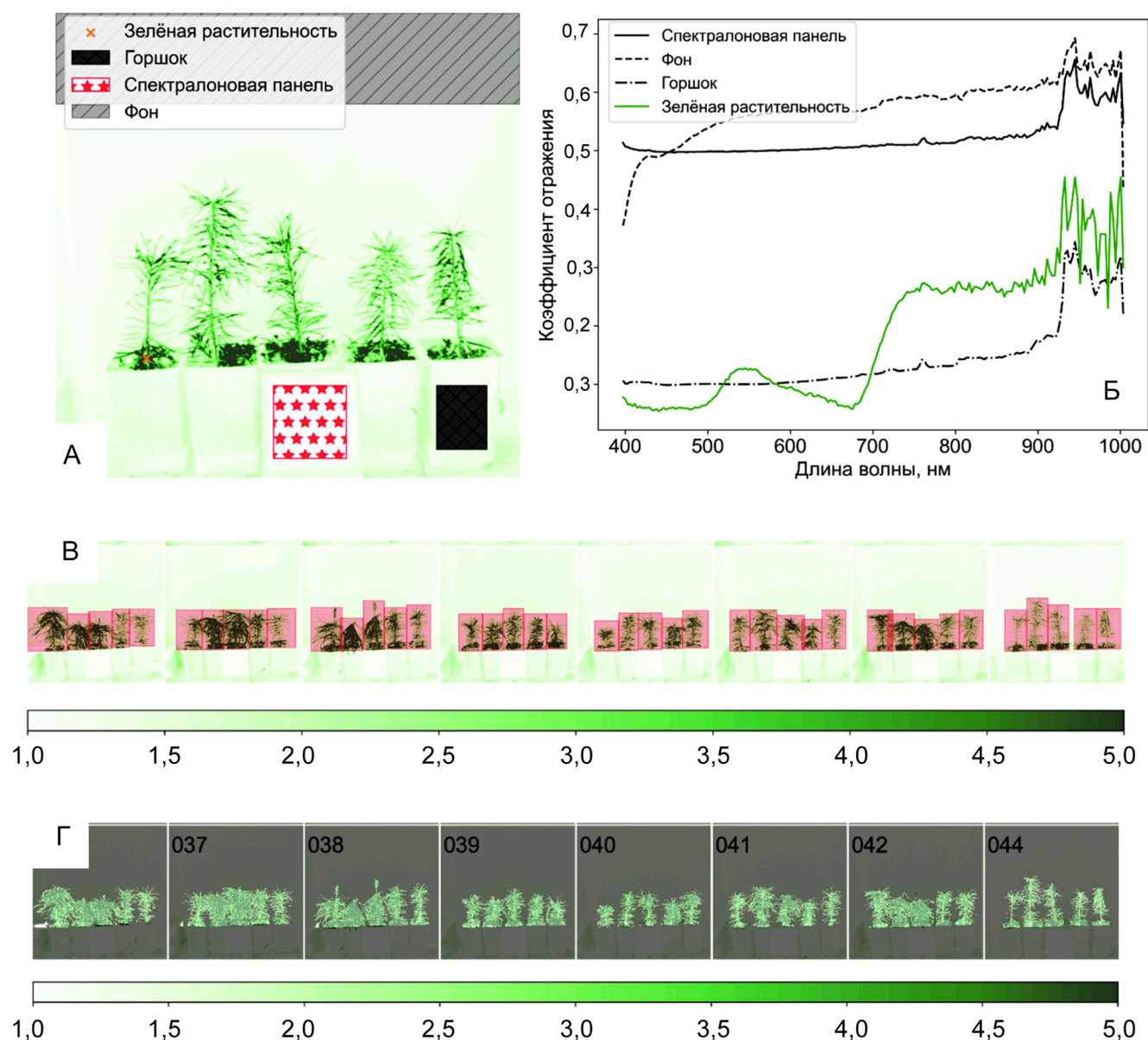


Рис. 2. Предварительная обработка гиперспектральных изображений — выделение областей, содержащих данные о растительных объектах. Показаны (А) области-источники эталонных спектров для спектрально-углового классификатора, (Б) эталонные спектры отражения растений и посторонних объектов на изображениях, репрезентативные изображения, на которых растения выделены ограничивающими прямоугольниками (В), а также итоговые изображения, из которых методом спектрально-угловой классификации исключен фон (Г).

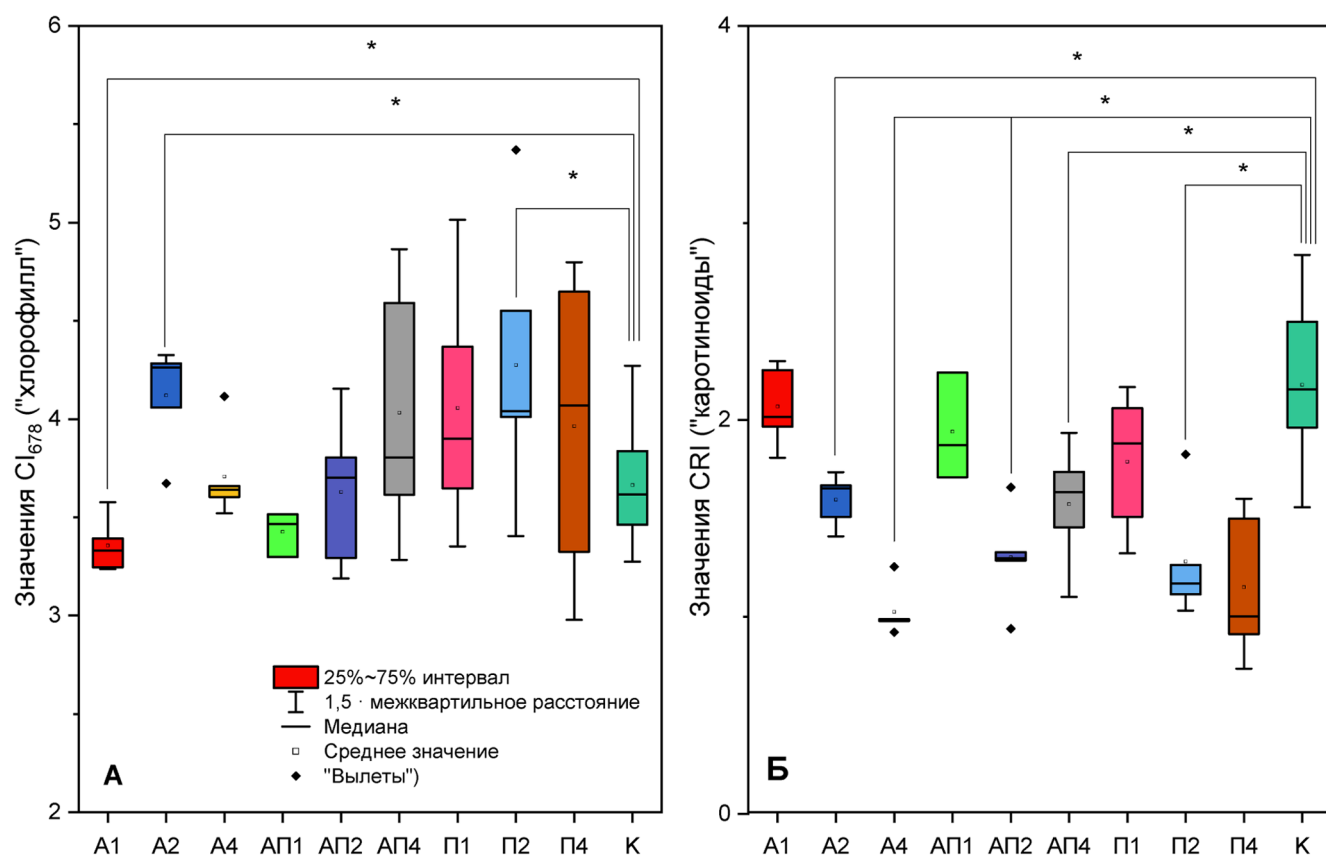


Рис. 3. Изменения оценки среднего удельного содержания суммы хлорофиллов (А) и каротиноидов (Б) в семенах сосны обыкновенной при выращивании в присутствии различных концентраций СЗР по результатам неинвазивного анализа с использованием гиперспектральных изображений. Обозначения см. в подписи к рис. 1.

В целом, результаты неинвазивной оценки соответствовали оценкам, независимо полученным прямыми измерениями (рис. 1): ни одно из экспериментальных воздействий не привело к резкому снижению содержания хлорофиллов по сравнению с контролем и, соответственно, не оказало значительного негативного влияния на рост и развитие семян сосны (рис. 3А). Обработка СЗР «Актара» в двукратной концентрации сопровождалась увеличением среднего удельного содержания хлорофилла приблизительно на 15%, тогда как при обработке в однократной и четырехкратной концентрации эффекты были слабо выраженными по сравнению с контролем. Во всех случаях обработка СЗР «Превикур Энерджи», в том числе при обработке в двукратной концентрации, вызвала рост среднего удельного содержания хлорофилла в растениях. В случае комбинированной обработки обоими СЗР максимальное повышение содержания хлорофилла наблюдали при обработке препаратами в четырехкратной концентрации.

Особого внимания заслуживают данные об изменении содержания каротиноидов, (рис. 3Б). В наших экспериментальных условиях среднее удельное содержание этих пигментов снижалось с повышением концентрации СЗР при обработке.

С одной стороны, этот эффект может свидетельствовать о возможной токсичности СЗР, реализующейся, в частности, через угнетение биосинтеза каротиноидов [29]. Однако наблюдаемое снижение содержания каротиноидов не сопровождалось снижением содержания хлорофиллов, а именно одновременное снижение содержания этих групп пигментов считается характерным признаком повреждения ассимиляционных тканей растений. Кроме того, снижение содержания каротиноидов на фоне роста содержания хлорофиллов обычно регистрируют при релаксации (деактивации) фотозащитных механизмов растений, требующих присутствия каротиноидов [30]. С учетом сказанного, наблюдаемый эффект, скорее всего, не отражает редукцию фотосинтетического аппарата, вызванную обработкой СЗР на фоне полива модельными карьерными сточными водами, а представляет собой проявление нормальных механизмов акклиматизации пигментного аппарата растений. Более точная интерпретация данных результатов потребует исследования функционального состояния (путем анализа амплитудно-кинетических характеристик индукционных кривых флуоресценции Хл *a*) и морфоструктурных особенностей фотосинтетического аппарата.

Заключение

Полученные результаты показали, что, несмотря на некоторые методические сложности съемки и количественной интерпретации гиперспектральных изображений, возможно их использование для неинвазивного дистанционного мониторинга состояния сеянцев хвойных растений в вегетационных экспериментах, в том числе — в полевых условиях. При этом для выборочного контроля результатов неинвазивных методов целесообразно использование традиционных прямых измерений. Также следует отметить, что подходы к анализу гиперспектральных данных о растениях с использованием вегетационных индексов остаются эффективными на фоне распространения альтернативных методов, основанных на алгоритмах машинного обучения [31], особенно при ограниченном объеме данных, доступных для обучения этих алгоритмов.

С применением как традиционных (прямых), так и дистанционных неинвазивных методов было установлено, что СЗР «Актара» и «Превикур Энерджи» в исследованных концентрациях не обладают острой токсичностью и не оказывают выраженного негативного влияния на темпы роста и пигментный состав сеянцев сосны обыкновенной, по крайней мере — в двухмесячный период наблюдений. При этом использование для полива этих растений растворов минеральных солей, имитирующих по составу основных компонентов карьерные сточные воды угольных разрезов, также не сопровождалось синергическими токсическими эффектами. Таким образом, не выявлено очевидных препятствий к применению вышеупомянутых СЗР

для профилактики и стоп-обработок сеянцев сосны обыкновенной, выращиваемых с поливом карьерными сточными водами, содержащими Fe, Zn и Mn (табл. 2, [9]). При этом следует учитывать, что длительность наблюдений в данном исследовании сравнительно невелика и для оценки более отдаленных во времени эффектов необходимы более длительные (многолетние) исследования. Желателен также мониторинг развития сеянцев после их высадки в антропогенно-нарушенных районах, требующих фиторемедиации.

Полученные результаты также свидетельствуют о перспективности использования локальных бросовых ресурсов (включая карьерные сточные воды, богатые элементами минерального питания, но не содержащие высокотоксичные тяжелые металлы, такие как Pb и Cd) при выращивании растений для фиторемедиации почв выработанных угольных разрезов. Локально доступные карьерные сточные воды могли бы использоваться в безотходной технологии биологической очистки и рекультивации почв, но прежде необходимо свести к минимуму риски, связанные с возможным накоплением тяжелых металлов в почве и/или в растениях, что требует более длительного экомониторинга.

Настоящее исследование выполнено при финансовой поддержке Кемеровского государственного университета (договор 374/2024/223). Авторы работы заявляют, что у них нет конфликта интересов. Работа выполнена без использования животных и без привлечения людей в качестве испытуемых.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ray S., Dey K. Coal mine water drainage: the current status and challenges. *J. Inst. Eng. (India): Ser. D.* 2020;101(2):165–172.
2. Hudson-Edwards K.A., Jamieson H.E., Lottermoser B.G. Mine wastes: past, present, future. *Elements.* 2011;7(6):375–380.
3. Tchounwou P.B., Yedjou C.G., Patlolla A.K., Sutton D.J. Heavy metal toxicity and the environment. *Mol. Clin. Environ. Toxicol.* 2012;3:133–164.
4. Lottermoser B.G. Recycling, reuse and rehabilitation of mine wastes. *Elements.* 2011;7(6):405–410.
5. Luptakova A., Ubaldini S., Macingova E., Fornari P., Giuliano V. Application of physical-chemical and biological-chemical methods for heavy metals removal from acid mine drainage. *Proc. Biochem.* 2012;47(11):1633–1639.
6. Sincero A.P., Sincero G.A. *Physical-chemical treatment of water and wastewater.* CRC press: Boca Raton; 2002. 856 pp.
7. Priya A.K., Jalil A.A., Vadivel S., Dutta K., Rajendran S., Fujii M., Soto-Moscoso M. Heavy metal remediation from wastewater using microalgae: recent advances and future trends. *Chemosphere.* 2022;305:135375.
8. Manikandan A., Suresh Babu P., Shyamalagowri S., Kamaraj M., Muthukumaran P., Aravind J. Emerging role of microalgae in heavy metal bioremediation. *J. Basic. Microbiol.* 2022;62(3–4):330–347.
9. Solovchenko A., Selyakh I., Semenova L., Scherbakov P., Zaytseva A., Zaytsev P., Fedorenko T., Alam M.A., Jingliang X., Lukyanov A., Lobakova E. A local or a stranger? Comparison of autochthonous vs. allochthonous microalgae potential for bioremediation of coal mine drainage water. *Chemosphere.* 2024;365:143359.
10. Singh N., Gupta V.K., Kumar A., Sharma B. Synergistic effects of heavy metals and pesticides in living systems. *Front. Chem.* 2017;5:70.
11. Alengebawy A., Abdelkhalek S.T., Qureshi S.R., Wang M.-Q. Heavy metals and pesticides toxicity in agricultural soil and plants: Ecological risks and human health implications. *Toxics.* 2021;9(3):42.
12. Kumar P., Singh J., Yadav V.K., Gautam K., Kumar M., Gupta R. Phenotyping in plant breeding using modern tools: a review. *J. Adv. Biol. Biotechnol.* 2024;27(11):200–212.
13. Ferreira L.D.C., Carvalho I.C.B., Jorge L.A.C., Quezado-Duval A.M., Rossato M. Hyperspectral imaging

for the detection of plant pathogens in seeds: recent developments and challenges. *Front. Plant. Sci.* 2024;15:1387925.

14. Дейвис Ш.М., Ландгребе Д.А., Филлипс Т.Л., Ланженлауб Д.С., Сиева Л.Р.Ф., Свейн Ф.Х., Хоффер Р.М. Дистанционное зондирование: количественный подход. М.: Недра; 1983. 415 с.

15. Zavafer A., Bates H., Mancilla C., Ralph P.J. Phenomics: conceptualization and importance for plant physiology. *Trends Plant Sci.* 2023;28(9):1004–1013.

16. Watt M., Fiorani F., Usadel B., Rascher U., Muller O., Schurr U. Phenotyping: new windows into the plant for breeders. *Annu. Rev. Plant Biol.* 2020;71(1):689–712.

17. Maraveas C. Image analysis artificial intelligence technologies for plant phenotyping: current state of the art. *AgriEngineering.* 2024;6(3):3375–3407.

18. Fu P., Meacham-Hensold K., Guan K., Wu J., Bernacchi C. Estimating photosynthetic traits from reflectance spectra: A synthesis of spectral indices, numerical inversion, and partial least square regression. *Plant Cell Environ.* 2020;43(5):1241–1258.

19. Perine J., Anderson J.C., Kruger G.R., Abi-Akar F., Overmyer J. Effect of nozzle selection on deposition of thiamethoxam in Actara® spray drift and implications for off-field risk assessment. *Sci. Tot. Environ.* 2021;772:144808.

20. Ekabote S.D., Divyajyothi U., Narayanaswamy P., Ravindra H. Evaluation of propamocarb 530+ fosetyl 310-840 SL for the management of damping off of vegetables. *J. Pharmacognos. Phytochem.* 2019;8(1):1616–1618.

21. Shurygin B., Chivkunova O., Solovchenko O., Solovchenko A., Dorokhov A., Smirnov I., Astashev M., Khort D. Comparison of the non-invasive monitoring of fresh-cut lettuce condition with imaging reflectance hyperspectrometer and imaging PAM-fluorimeter. *Photonics.* 2021;8(10):425.

22. Gitelson A., Solovchenko A. Non-invasive quantification of foliar pigments: possibilities and limitations of reflectance-and absorbance-based approaches. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* 2018;178:537–544.

23. Gitelson A., Solovchenko A. Generic algorithms for estimating foliar pigment content. *Geophys. Res. Lett.* 2017;44(18):9293–9298.

24. Horler D.N.H., Dockray M., Barber J. The red edge of plant leaf reflectance. *Int. J. Rem. Sens.* 2007;4(2):273–288.

25. De Carvalho O.A., Meneses P.R. Spectral correlation mapper (SCM): an improvement on the spectral angle mapper (SAM). *Summaries of the 9th JPL airborne earth science workshop, vol. 9. no. 2.* Pasadena: JPL publication; 2000:00–18.

26. Kruse F.A., Lefkoff A., Boardman J., Heidebrecht K., Shapiro A., Barloon P., Goetz A. The spectral image processing system (SIPS) — interactive visualization and analysis of imaging spectrometer data. *Rem. Sens. Environ.* 1993;44(2–3):145–163.

27. Ilija P. Previcur energy-advantages of the fungicide for the control of vegetable diseases. *Zbornik predavanj in referatov, 8. Slovenskega postvetovanja o varstvu Rastlin*, Ljubljana; 2007:59–64.

28. 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;10(2):310.

29. Rouchaud J., Moons C., Meyer J.A. Effects of pesticide treatments on the carotenoid pigments of lettuce. *J. Agric. Food Chem.* 1984;32(6):1241–1245.

30. Solovchenko A. *Photoprotection in Plants: Optical Screening-based Mechanisms*. Heidelberg; N.Y.: Springer; 2010. 170 pp.

31. Shurygin B., Smirnov I., Chilikin A., Khort D., Kutyrev A., Zhukovskaya S., Solovchenko A. Mutual augmentation of spectral sensing and machine learning for non-invasive detection of apple fruit damages. *Horticulturae.* 2022;8(12):1111.

Поступила в редакцию 23.01.2025

После доработки 22.03.2025

Принята в печать 07.05.2025

RESEARCH ARTICLE

Hyperspectral monitoring of pesticide effects on Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) seedlings irrigated with model coal mine wastewater

A.E. Solovchenko^{1,*} , B.M. Shurygin¹ , I.O. Selyakh¹ , L.R. Semenova¹ ,
P.N. Scherbakov¹ , O.B. Chivkunova¹ , A.A. Lukyanov¹ ,
E.S. Mikhailova², V.A. Kryuk² , E.S. Lobakova¹ 

¹ Department of Biology, Moscow State University, Leninskie gory, 1–12, Moscow, 119234, Russia;

² Kemerovo State University, Institute of Nano-, Bio-, Information-, Cognitive- and Socio-humanitarian Technologies, Krasnaya str.6, Kemerovo, 625000 Russia

*e-mail: solovchenkoae@my.msu.ru

The treatment of quarry wastewater, as well as the reclamation of depleted coal mines, are serious environmental problems. One of the ways to solve them is phytoremediation using stress-resilient plants such as the common pine (*Pinus sylvestris* L.). To mitigate the risk of epiphytotics during mass cultivation, treatments with chemical pesticides are necessary. It is important to make sure that the pesticides do not harm plants when using quarry wastewater containing heavy metals for irrigation. In this regard, mass monitoring of plants by non-invasive methods is highly relevant. In this work, we used direct measurement methods and a non-invasive approach based

on hyperspectral imaging to comprehensively monitor the condition of pine seedlings treated with the “Aktara” and “Previcur Energy” pesticides in different concentrations (single, double, and quadruple compared to the concentration recommended by the manufacturer) and irrigated with the solutions of mineral salts simulating the wastewater from coal mines. It is shown that, despite some methodological difficulties, it is possible to use hyperspectral images for non-invasive remote monitoring of the condition of coniferous seedlings in vegetation experiments, including in the field. It was found that the pesticide treatments exerted neither acute toxicity nor a pronounced negative effect on the growth rate and pigment composition of the pine seedlings during the two-month observation. At the same time, irrigation of these plants with model quarry wastewater also did not produce synergistic toxic effects. Thus, there are no obvious obstacles to the use of the above-mentioned pesticides for treatment of Scots pine seedlings irrigated with quarry wastewater containing Fe, Zn and Mn. The results obtained also support the use of wastewater rich in mineral nutrition elements but lacking highly toxic heavy metals (such as Pb and Cd), when growing plants for phytoremediation of soils from depleted coal mines. However, long-term, preferably multi-year studies are needed to assess long-term risks.

Keywords: *proximal sensing, phytoremediation, vegetation indices, pesticides, heavy metals, microalgae*

Funding: This research was partly funded by Kemerovo State University (project 374/2024/223).

Сведения об авторах

Соловченко Алексей Евгеньевич — докт. биол. наук, проф. кафедры биоинженерии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-25-87; e-mail: solovchenkoae@my.msu.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6746-8511>

Шурыгин Борис Михайлович — канд. биол. наук, вед. инженер кафедры биоинженерии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-41-69; e-mail: shu_b@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9650-3523>

Селях Ирина Олеговна — докт. биол. наук, вед. науч. сотр. кафедры биоинженерии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-41-69; e-mail: i_savelyev@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3885-0898>

Семенова Лариса Ратмировна — канд. биол. наук, ст. науч. сотр. кафедры биоинженерии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-41-69; e-mail: semelar@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9520-6743>

Щербаков Павел Николаевич — канд. биол. наук, науч. сотр. кафедры биоинженерии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-41-69; e-mail: cyano@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5123-9754>

Чивкунова Ольга Борисовна — канд. биол. наук, ст. науч. сотр. кафедры биоинженерии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-41-69; e-mail: olga.chivkunova@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1625-4510>

Лукьянов Александр Андреевич — канд. биол. наук, науч. сотр. кафедры биоинженерии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-41-69; e-mail: loockart@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2900-1053>

Михайлова Екатерина Сергеевна — канд. хим. наук, директор Института нано-, био-, информационных, когнитивных и социогуманитарных технологий Кемеровского государственного университета. Тел.: 8-3842-58-05-04; e-mail: e_s_mihaylova@mail.ru

Крюк Виктория Алексеевна — мл. науч. сотр. Института нано-, био-, информационных, когнитивных и социогуманитарных технологий Кемеровского государственного университета. Тел.: 8-3842-58-05-04; e-mail: Vika.kryuk.95@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0009-0005-5969-948X>

Лобакова Елена Сергеевна — докт. биол. наук, проф. кафедры биоинженерии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-41-69; e-mail: elena.lobakova@rambler.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7054-0024>