

УДК 681.785.55,535.8,543.421/.424,58.085

EDN: JXTLKH

© С. С. Баташова, А. А. Золотухина, А. В. Гурылева, Д. Д. Хохлов, А. С. Мачихин, 2025

ПОРТАТИВНОЕ УСТРОЙСТВО ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ РАСТЕНИЙ МЕТОДАМИ ФЛУОРИМЕТРИИ И СПЕКТРОМЕТРИИ

В работе представлена конструкция и результаты апробации портативного устройства для мониторинга физиологического состояния растений посредством комбинированного измерения спектров флуоресценции, пропускания и отражения. Предлагаемый подход объединяет три взаимодополняющих оптических метода в едином портативном устройстве, которое включает в себя два белых светодиода для измерения спектров отражения и пропускания, а также синий светодиод для возбуждения флуоресценции. Прототип устройства способен измерять спектры отражения и пропускания, а также интенсивность флуоресцентного спектра листьев растений и требует минимальной пробоподготовки. Регистрация спектров осуществляется с помощью компактного дифракционного спектрометра, входящего в состав устройства. Валидация проводилась путем сопоставления результатов измерения листьев огурца и томата разработанным устройством и эталонным лабораторным оборудованием. Средняя относительная погрешность составила 23% для спектра отражения, 19% — для пропускания и 26% — для флуоресценции. Для апробации устройства определялись коэффициенты детерминации между спектральными характеристиками и концентрацией хлорофиллов, а спектральная информация редуцировалась до вегетационных индексов с выбором оптимального коэффициента на разных длинах волн. Коэффициенты детерминации между эталонными значениями концентрации пигмента и вегетационными индексами составляют 0.99 (огурец) и 0.93 (томат) в режиме отражения, 0.99 (огурец) и 0.90 (томат) в режиме пропускания, а также 0.99 (огурец) и 0,83 (томат) в режиме флуоресценции.

Ключевые слова: флуоресцентная спектрометрия, спектрометрия отраженного излучения, цифровая обработка спектров, физиологическое состояние растений, хлорофилл

ВВЕДЕНИЕ

Поскольку глобальный спрос на продовольствие продолжает расти [1] в связи с увеличением численности населения и урбанизацией, развитие инструментов точного земледелия является актуальной задачей. Одним из ключевых аспектов точного земледелия является неразрушающий контроль физиологического состояния сельскохозяйственных культур, реализуемый с помощью различных методов сбора данных, в том числе с помощью портативных датчиков и устройств, работающих в полевых условиях [2]. В отличие от методов дистанционного зондирования, которые позволяют проводить крупномасштабный мониторинг [3], портативные устройства могут предоставлять экспресс-оценку локальных изменений в закрытом грунте и на опытных делянках. Оптические устройства различных типов обеспечивают быстрое и точное измерение различных характеристик сельскохозяйственных культур, при этом

они достаточно компактны для практического использования [4].

Оптические методы широко применяются в сельском хозяйстве [5] для неразрушающей диагностики благодаря высокой производительности и точности измерений, что позволяет анализировать свойства и состав биообъектов. Наиболее важной оптической диагностика становится в условиях поля [6] и тепличных комбинатов [5], где требуется раннее выявление биотических и абиотических стрессов растений и высокая оперативность и производительность анализа. Лабораторные методы требуют пробоотбора листьев и их транспортировки, что приводит к снижению достоверности результатов измерения и увеличению срока принятия мер для минимизации рисков и оптимизации использования ресурсов. Поэтому остаются востребованными портативные спектральные приборы [7, 8], принцип работы которых основан на методах флуориметрии и спектрометрии.

Современные портативные контактные приборы являются сравнительно доступными и простыми устройствами и обеспечивают измерение

и интерпретацию спектральных данных в режиме реального времени. Наиболее распространены среди них измерители содержания пигментов [9] на основе отраженного от листа или прошедшего через него излучения на нескольких длинах волн. Ранее было показано [10], что подбор оптимальных длин волн для отдельных культур или групп растений со схожими морфологическими признаками способствует повышению точности измерения их физиологических характеристик. Кроме того, дополнительная трудность мониторинга сельскохозяйственных культур заключается в том, что нельзя заранее предсказать, какие спектральные полосы обеспечат оптимальную оценку, поскольку они варьируются в зависимости как от типа культуры, так и от времени года [11, 12]. Для расширения набора культур, эффективно анализируемых прибором, необходимо иметь возможность исследовать образец в широком спектральном диапазоне. Ручные флуориметры, обеспечивающие регистрацию спектральной характеристики интенсивности флуоресценции [13] и индукции флуоресценции хлорофилла [14], также используют для оценки содержания хлорофилла, параметров фотосинтетической активности, раннего выявления стрессовых состояний растений и других показателей. Однако подобное оборудование имеет ограниченные возможности, т.к. измеряет отдельные функциональные параметры растительности с помощью только одного из спектроскопических методов.

Создание универсального прибора, объединяющего в едином корпусе аппаратное обеспечение для измерения как спектров отражения и пропускания, так и характеристик интенсивности флуоресценции хлорофилла, обеспечит более полное понимание физиологического состояния растений и упростит сопоставление результатов. В предыдущих исследованиях описаны теоретические обоснования [15] и прототипы таких комбинированных приборов [16–18]. Спектроскопия отражения обеспечивает оценку пигментного состава (в том числе хлорофиллов *a* и *b*, каротиноидов, антоцианов), содержания воды, а также морфологических характеристик поверхности листа, включая параметры листовой поверхности (наличие воскового слоя, степень опушенности и пр.) [6]. Спектроскопия пропускания, наряду с оценкой содержания пигментов и влаги, позволяет анализировать внутреннюю структуру листовой ткани, включая толщину, плотность клеточных слоев, однородность и уровень деградации тканей, что особенно важно при мониторинге болезней или дефицита питательных веществ [19]. Флуоресцентная спектроскопия используется для определения параметров, связанных с фотосинтетической активностью, таких как квантовая эффективность фотосистемы II (F_v/F_m) и уровень нефотохимиче-

ского тушения, а также для раннего выявления стресса, связанного с недостатком освещения, водным дефицитом или токсическим воздействием [13]. Объединение трех взаимодополняющих методов в одном устройстве способно повысить точность и воспроизводимость измерений, поскольку дает возможность учесть широкий спектр морфофизиологических параметров растений. Целью данной работы является разработка и апробация портативного прибора, совмещающего несколько методов анализа для получения полной информации о физиологических параметрах растений в полевых условиях.

ПРЕДЛАГАЕМОЕ РЕШЕНИЕ

Поскольку предлагаемое устройство предназначено для измерения спектров флуоресценции, пропускания и отражения, его функциональные компоненты должны соответствовать специфическим требованиям каждого из режимов спектральных измерений. Возбуждение флуоресценции хлорофилла зачастую реализуют с помощью источника излучения с центральной длиной волны в синем или красном участках видимого диапазона [20] при размещении источника и приемника с одной стороны от исследуемого листа растения [21]. Для регистрации спектров отражения и пропускания взаимодействовавшего с листом излучения следует использовать широкополосный источник излучения. Для обеспечения регистрации данных в режиме реального времени необходимо оптимизировать световые энергетические характеристики за счет подбора светодиодных источников света и конструкции сопрягающих оптических элементов. Портативность достигается за счет использования компактного дифракционного спектрометра в качестве регистрирующего устройства и единого блока управления для переключения источников света между режимами измерения и обработки данных, полученных спектрометром. Режимы работы и основные функциональные компоненты портативного устройства показаны на рис. 1. В режимах измерения спектров пропускания и отражения образец освещается широкополосными (диапазон излучения 450–800 нм, световой поток 30 лм) светодиодами СД₁ и СД₂ соответственно, оснащенными идентичными конденсорами К. В режиме флуоресцентной спектроскопии объект освещается синим светодиодом СД₃ (диапазон излучения 450–460 нм, световой поток 20 лм). Во всех режимах измерение спектров производится при помощи компактного спектрометра СМ на основе дифракционной решетки (AIOX2000-13 [22], рабочий спектральный диапазон 350–1050 нм, спектральное разрешение 2 нм, интерфейс UART).

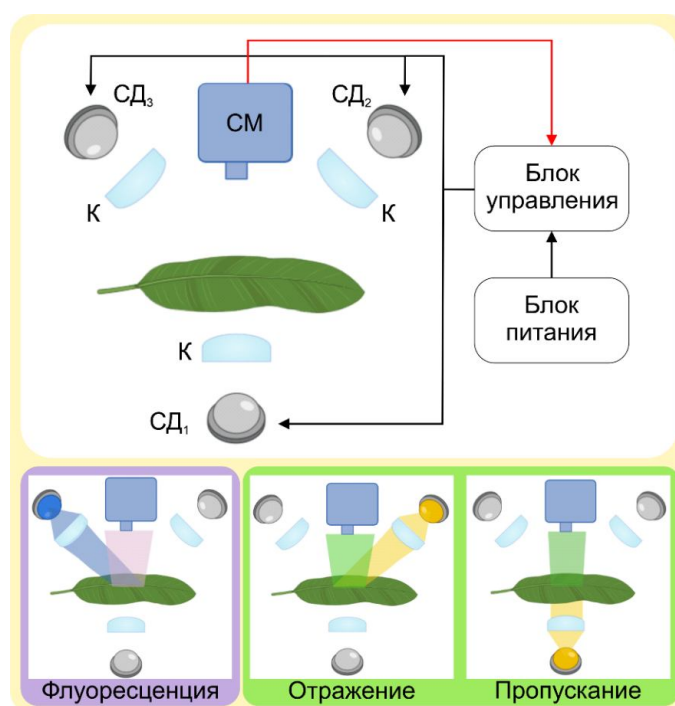


Рис. 1. Схема устройства и предлагаемый принцип работы. СД₁, СД₂ — широкополосные светодиоды, СД₃ — синий светодиод, К — конденсор, СМ — спектрометр на основе дифракционной решетки

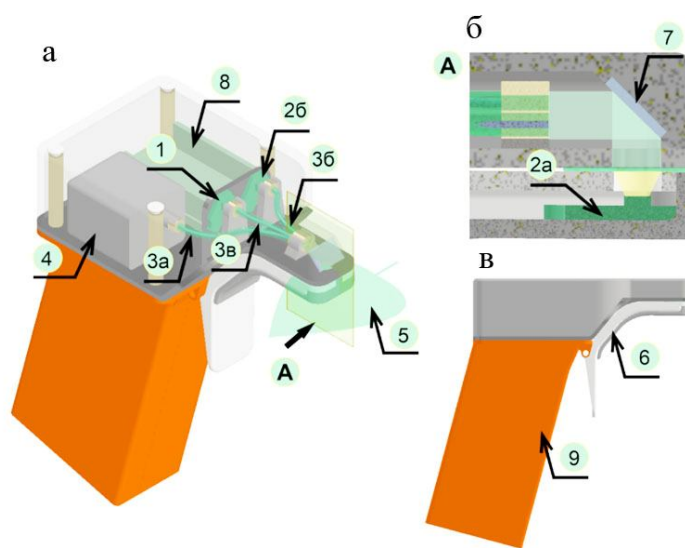


Рис. 2. Компоновка основных узлов устройства. а — трехмерная модель корпуса прототипа устройства; б, в — укрупненные изображения отдельных узлов устройства; 1 — синий светодиод; 2а|б — широкополосные светодиоды; 3а|б|в — оптоволоконно; 4 — спектрометр, 5 — лист растения, 6 — прижимной элемент, 7 — зеркало, 8 — плата управления, 9 — батарейный отсек

Длительность одиночного измерения составляет 4 с в режиме флуоресценции, 450 мс в режиме отражения и 90 мс в режиме пропускания.

Корпус портативного устройства необходим для исключения паразитной засветки в ходе регистрации спектров, защиты внутренних компонентов от внешних воздействий и обеспечения удобства использования. Трехмерная модель корпуса прототипа устройства показана на рис. 2.

В ходе измерения лист растения 5 зажимается с помощью прижимного элемента 6, за счет чего исследуемая область листа оказывается зафиксирована относительно осветительных и измерительного каналов на протяжении всего анализа и закрыта от внешнего излучения за счет использования дополнительных резиновых уплотнителей. В режиме регистрации спектра пропускания излучение широкополосного светодиода 2а проходит через расположенный над ним лист, отражается от зеркала 7 и посредством оптоволоконного световода 3а направляется ко входной щели спектрометра 4. Излучение от другого широкополос-

ного 2б и синего 1 светодиодов проходит по оптоволоконным световодам 3б и 3в соответственно и с помощью зеркала перенаправляется к поверхности листа. Отраженное излучение или излучение флуоресценции передается в спектрометр также при помощи волоконного световода 3а. Все данные спектральных измерений, полученные в трех режимах измерения, проходят предварительную обработку в блоке управления на основе контроллера ArduinoNano и могут быть переданы через USB-интерфейс на персональный компьютер. Запуск процедуры измерения осуществляется по нажатию кнопки на корпусе. Процедура измерения выполняется автоматически.

Для демонстрации сопоставимости габаритных характеристик и расширенного набора регистрируемых параметров в табл. 1 приведены основные характеристики разрабатываемого прибора, а также коммерческих приборов-аналогов, используемых для определения физиологического состояния растений, в том числе вегетационные индексы (ВИ).

Табл. 1. Характеристики компактных приборов для анализа состояния здоровья растений

Название прибора	Определяемые параметры*	Длины волн излучения, нм	Длины волн регистрации, нм	Габариты, мм × мм × мм
Флуориметрия				
PAM-2500	$F_b, F_0, F_m, F_0', F_m', F_v/F_m, Y(II), qL, qP, qN, NPQ$	450 и 630	>715	230 × 105 × 105
FluorPen FP 110	$F_b, F_0, F_m, F_0', F_m', F_v/F_m$	470	665–750	134 × 65 × 33
Pocket PEA	$F_b, F_0, F_m, F_0', F_m', F_v/F_m$	627	>725	175 × 75 × 35
Спектрометрия отраженного излучения				
N-Pen N 110	содержание азота в растениях	565 и 760	500-800	135 × 65 × 33
CI-710s	30 различных ВИ	360–1100	360–1100	220 × 150 × 30
Спектрометрия прошедшего излучения				
SPAD-502PLUS	концентрация хлорофилла	650 и 940	650 и 940	78 × 164 × 49
Apogee MC-100	концентрация хлорофилла	653 и 931	653 и 931	152 × 82 × 25

Табл. 1. Окончание

Название прибора	Определяемые параметры*	Длины волн излучения, нм	Длины волн регистрации, нм	Габариты, мм × мм × мм
Спектрометрия отраженного и прошедшего излучения, флуориметрия				
Разрабатываемое устройство	$F(\lambda)$, F_b , F_0 , F_m , возможность выбрать уравнение ВИ и используемые в его расчете длины волн	450–460, 450–800	450–800	138 × 60 × 140

* **Здесь:**

$F(\lambda)$ — спектр интенсивности флуоресценции.

$F_v = 1 - F_0 / F_m$ (максимальная эффективность фотосистемы II (PSII)): отношение интенсивности флуоресценции при низком уровне освещения (F_0) при адаптации к темноте к максимальной интенсивности флуоресценции после освещения мощным импульсом (F_m). Показывает потенциальную способность растений к фотосинтезу.

F_t (установившийся уровень интенсивности флуоресценции): показывает работу системы при естественных условиях.

F_0' — минимальная флуоресценция (в относительных единицах) в условиях адаптации к свету. Уровень флуоресценции облучаемого образца, который снижен по сравнению с F_0 из-за наличия нефотохимического тушения.

F_m' — максимальная флуоресценция (в относительных единицах) в условиях адаптации к свету. Уровень флуоресценции образца, облучаемого насыщающими импульсами света, которые временно закрывают все реакционные центры PSII.

$Y(II)$ — максимальный и эффективный фотохимический выход системы PSII.

NPQ — непроизводительное поглощение энергии: характеризует механизмы диссипации избыточной энергии в виде тепла.

qP — коэффициент фотохимического тушения: указывает долю открытых центров фотосистемы II, готовых к поглощению световой энергии.

qL — коэффициент фотохимического тушения флуоресценции, предполагающий, что многие комплексы фотосистемы образуют комбинированную светособирающую антенну.

qN — коэффициент нефотохимического тушения флуоресценции.

Получение спектральных характеристик, свободных от влияния искажающих факторов (спектральной чувствительности и высокочастотных шумов приемника, коэффициента пропускания оптических элементов, спектральной характеристики излучения светодиодов), обеспечивается за счет деления зарегистрированной спектральной кривой яркости объекта на спектральную кривую яркости референса. В режиме измерения отраженного от объекта излучения в качестве референса использовался спектр излучения светодиода, отраженного от референсной пластины [23]. Референсная пластина представляет собой эталонный объект, изготовленный из фторопласта и имеющий близкий к 1 коэффициент отражения во всем рабочем спектральном диапазоне устройства. В случае регистрации прошедшего излучения в качестве референса была использована спектральная характеристика светодиода и паспортные значения спектральной чувствительности приемника излучения. Флуоресценция представляет со-

бой переизлучение поглощенного листом излучения на больших относительно возбуждающего излучения длинах волн, поэтому спектральная характеристика излучения синего светодиода не оказывает влияния на спектральную интенсивность флуоресценции объекта. Затем все спектральные характеристики были приведены к диапазону значений от 0 до 1 с целью устранения влияния на их форму факторов, не связанных с физическими свойствами объекта (неоднородностью освещения во времени, различной чувствительностью приемников или вариациями интенсивности флуоресценции), и возможности сравнения с данными, получаемые при помощи других приборов.

АПРОБАЦИЯ РАЗРАБОТАННОГО УСТРОЙСТВА

В ходе апробации была проведена экспериментальная оценка соответствия выходных данных разработанного устройства и референсных приборов, а также их сравнение с данными, полученными

традиционными методами анализа физиологических параметров растений.

В качестве исследуемых образцов были выбраны листья огурца (*Cucumissativus*) и томата (*Solanumlycopersicum*), половина из которых были заражены вирусом мозаики пегино (*Pepinomosaicvirus*). В теплице проводили пробоотбор по пять зрелых сформированных листьев с шести растений каждого вида, после чего с помощью транспортировочных термоконтейнеров их доставили в лабораторию для измерения спектральных характеристик и биохимических параметров. Спектры отражения и флуоресценции регистрировались с верхней (адаксиальной) стороны листа, а спектры пропускания — с противоположной (абаксиальной) стороны, чтобы лист не нужно было переворачивать во время измерений. Чтобы учесть пространственные различия в спектральных характеристиках вдоль поверхности листа, для каждого образца были измерены пять разных участков, а затем полученные спектры были усреднены. В результате было проведено в общей сложности 15 измерений для каждой группы (здоровые листья огурца; листья огурца, зараженные вирусом; здоровые листья томата; листья томата, зараженные вирусом).

Для оценки соответствия полученных после обработки спектральных характеристик и результатов измерений распространенными лабораторными приборами те же образцы листьев были измерены с помощью спектрофотометра СФ-2000 с приставкой на отражение (регистрация спектра отражения), дифракционного спектрометра АТР5020R (регистрация спектра пропускания) и спектрофлуориметра Флюорат-02-Панорама (регистрация интенсивности флуоресценции). Измерение спектрального коэффициента пропускания проводили при освещении образца галогенной лампой (DLN4, DedoWeigert Film GmbH), а в иных случаях были задействованы источники излучения, встроенные в приборы. Для количественной оценки погрешности измерения полученной спектральной характеристики была выбрана относительная ошибка p , вычисляемая по формуле:

$$p = \frac{X - X_{\text{ист}}}{X_{\text{ист}}} \cdot 100\%, \quad (1)$$

где X — значение спектральной характеристики, полученной разработанным устройством; $X_{\text{ист}}$ — значение спектральной характеристики, полученной с помощью лабораторного оборудования.

Целью второго эксперимента являлась проверка возможности использования выходных данных разработанного устройства для оценки концентрации хлорофилла, являющегося одним из ключевых показателей здоровья растений. Традиционным методом измерения содержания пигмента является

спектрофотометрический анализ экстракта, полученного в результате пробоподготовки. Листья растений взвешивают для получения определенной навески, измельчают, растирают в ступке и затем экстрагируют пигмент с помощью добавления этанола. Регистрация оптической плотности экстракта с помощью спектрофотометра дает возможность измерить суммарное содержание хлорофиллов a и b (Chl) в мг/л по известному эмпирическому соотношению [24]:

$$Chl = 6.1 \cdot D_{665} + 20.04 \cdot D_{649}, \quad (2)$$

где D_{665} и D_{649} — оптическая плотность на длинах волн 665 и 649 нм.

Спектрофотометрический метод анализа концентрации хлорофиллов трудоемок, требует значительного количества расходных материалов и не может быть реализован в полевых условиях. В настоящее время значительное количество исследований направлено на развитие альтернативного метода оценки пигментного состава растений, основанного на анализе спектральных характеристик листа. Для редуцирования спектральных данных и контрастирования спектральной экспрессии, вызванной изменением биохимического или биофизического параметра, были разработаны ВИ [25, 26], представляющие собой математическую комбинацию интенсивностей спектрального отражения в двух или более узких диапазонах. Типичные формы таких индексов приведены в работе [27], среди них индексы:

отношения:

$$ВИ(\lambda_1, \lambda_2) = \frac{R(\lambda_1)}{R(\lambda_2)}, \quad (3)$$

разностного отношения:

$$ВИ(\lambda_1, \lambda_2) = \frac{R(\lambda_1) - R(\lambda_2)}{R(\lambda_1) + R(\lambda_2)}, \quad (4)$$

разности обратных величин:

$$ВИ(\lambda_1, \lambda_2) = \frac{1}{R(\lambda_1)} - \frac{1}{R(\lambda_2)}, \quad (5)$$

абсолютной разности:

$$ВИ(\lambda_1, \lambda_2) = |R(\lambda_1) - R(\lambda_2)|, \quad (6)$$

где $R(\lambda_i)$ — значение спектральной характеристики на длине волны λ_i .

Вегетационные индексы служат для оценки морфофизиологических параметров растений (содержание пигментов, воды, микро- и макроэлементов в тканях растений, структурных характеристик тканей и т.д.) и последующего использования

этих параметров для идентификации и дифференциации абиотических (нарушение температурных, световых и водных режимов, режима питания) и биотических стрессовых факторов (вирусные, бактериальные и грибковые болезни), прогнозирования урожайности и пр. [19, 28, 29]. Количественная оценка содержания биохимических параметров растений становится возможной благодаря построению эмпирических соотношений на основе индексов с помощью метода линейной регрессии [30]. Однако форму и амплитуду спектра отражения растений определяют и другие факторы: структура листьев, филлотаксис, фенологическая стадия и пр. Поэтому для каждого вида растения необходимо определить оптимальный вегетационный индекс [10, 11], использующий наиболее информативные спектральные диапазоны и обеспечивающий максимальный коэффициент детерминации R^2 эмпирического соотношения оценки содержания параметра растения при минимизации средней относительной ошибки RE и среднеквадратической ошибки σ , которые определяются как:

$$RE = \frac{|X_{\text{ВИ}_i} - X_{\text{ист}_i}| \times 100\%}{X_{\text{ист}}}, \quad (7)$$

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (X_{\text{ВИ}_i} - X_{\text{ист}})^2}{n}}, \quad (8)$$

$$R^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (X_{\text{ВИ}_i} - \overline{X_{\text{ист}}})^2}{\sum_{i=1}^n (X_{\text{ист}_i} - \overline{X_{\text{ист}}})^2}, \quad (9)$$

где $X_{\text{ВИ}_i}$ — значение параметра растения, вычисленное по ВИ;
 $X_{\text{ист}}$ — истинное значение параметра растения, вычисленное по стандартной методике;
 n — количество измерений.

В качестве эффективных регрессионных моделей используются нелинейные зависимости [31]. В настоящей работе выбор был сделан в пользу экспоненциальной зависимости.

РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТОВ

Ниже представлены результаты проведенных экспериментов. На рис. 3 показаны спектральные характеристики, полученные разработанным прототипом и коммерческим лабораторным оборудованием, упомянутым в предыдущем разделе. Полупрозрачные области показывают разброс спек-

тральных характеристик при повторных реализациях варианта.

Рассчитанные средние значения относительной погрешности спектральной характеристики двух устройств равны 23% для спектрального коэффициента отражения, 19% для спектрального коэффициента пропускания и 26% для спектра интенсивности флуоресценции.

Максимальное абсолютное отклонение по всему спектру и стандартное отклонение составили 0.026 и 0.002 для режима флуоресценции, 0.125 и 0.007 для режима отражения и менее 0.001 для обоих параметров в режиме пропускания. Вариабельность спектральных характеристик, полученных с помощью разработанного устройства, в каждой группе оценивалась с помощью максимального абсолютного отклонения и среднеквадратической ошибки. Для здоровых листьев томата показатели отражения, пропускания и флуоресценции составили (0.05; 0.02), (0.06; 0.03) и (0.10; 0.06) соответственно.

На листьях томатов, зараженных вирусом, были получены следующие значения: (0.10; 0.05), (0.05; 0.02) и (0.02; 0.01). Для здоровых листьев огурца значения составили (0.08; 0.04), (0.04; 0.02) и (0.18; 0.10), а для листьев огурца, пораженных вирусом, (0.06; 0.03), (0.08; 0.04) и (0.14; 0.07) для отражения, пропускания и флуоресценции соответственно. Результаты измерения спектров флуоресценции продемонстрировали наиболее значительные колебания среди всех режимов измерения. Также была оценена вариабельность спектральных характеристик отдельных листьев. В режиме спектроскопии отражения листья огурца и томата показали схожую вариабельность: абсолютные отклонения составили 0.088, а среднеквадратическая ошибка — 0.048 и 0.045 соответственно. В режиме спектроскопии пропускания средние абсолютные отклонения составили 0.067 для огурца и 0.057 для томата, а среднеквадратическая ошибка — 0.035 и 0.028. Наиболее значительные различия наблюдались при флуоресцентном анализе: для листьев огурца среднее абсолютное отклонение составило 0.158, а среднеквадратическая ошибка — 0.080, в то время как для листьев помидора эти показатели составили 0.067 и 0.033 соответственно.

В ходе оценки применимости разработанного устройства для определения содержания хлорофилла данные спектральных измерений были сопоставлены с содержанием хлорофилла, определенным с помощью лабораторного анализа.

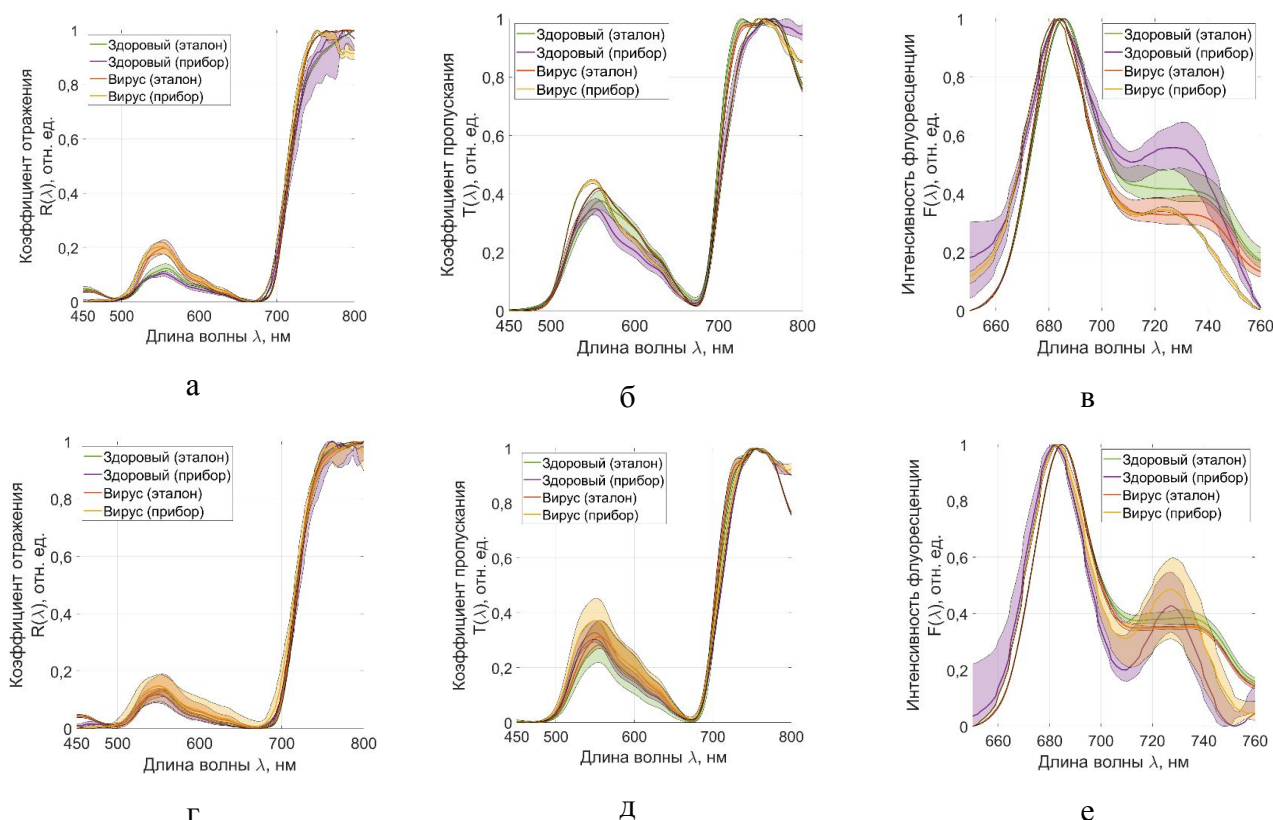


Рис. 3. Спектральные характеристики, полученные с помощью разработанного устройства и лабораторного оборудования.

Спектральный коэффициент отражения, спектральный коэффициент пропускания и спектр интенсивности флуоресценции листьев огурца (а–в) и томата (г–е)

Результаты, полученные с помощью стандартного спектрофотометрического метода, приведены в табл. 2, где указаны средние концентрации хлорофилла для каждого растения, участвовавшего в эксперименте. Значения представляют собой среднее арифметическое для пяти листьев, выбранных для спектральных измерений и последующего анализа концентрации хлорофилла стандартным методом.

Концентрация хлорофилла, рассчитанная с помощью стандартного спектрофотометрического метода в соответствии с соотношением (2), была сопоставлена с ВИ, рассчитанными на основе спектров, полученных с помощью разработанного устройства. Таким образом, для каждого режима был получен набор спектральных характеристик и соответствующих значений концентрации хлорофилла на основе 30 измерений для каждого вида растений. Рассчитанные оптимальные комбинации длин волн для каждого показателя вариации приведены в Приложении, табл. П, с соответствующими значениями R^2 , σ и RE .

Если рассматривать режимы измерения устройства, то самые высокие значения R^2 между эталон-

ным содержанием хлорофилла Chl и ВИ, а также самые низкие значения относительной и среднеквадратической ошибок наблюдаются при использовании вегетационных индексов в форме абсолютной разности. Для листьев огурца в режиме отражения $R^2 = 0.99$, $RE = 1\%$ и $\sigma = 0.05$ мг/л получены для комбинации длин волн 612 и 624 нм. $R^2 = 0.99$, $RE = 1\%$ и $\sigma = 0.06$ мг/л получены в режиме пропускания для длин волн 706 и 601 нм, а наилучшие результирующие значения $R^2 = 0.99$, $RE = 1\%$ и $\sigma = 0.14$ мг/л получены в режиме флуоресценции на длинах волн 689 и 739 нм. Для листьев томата в режиме отражения $R^2 = 0.93$, $RE = 7\%$ и $\sigma = 0.82$ мг/л достигаются для комбинации длин волн 603 и 597 нм. $R^2 = 0.90$, $RE = 10\%$ и $\sigma = 1.02$ мг/л достигаются в режиме пропускания для длин волн 742 и 776 нм, а наилучшие результирующие значения $R^2 = 0.83$, $RE = 17\%$ и $\sigma = 1.37$ мг/л получены в режиме флуоресценции на длинах волн 660 и 665 нм.

Были также оценены значения, полученные с помощью лабораторного оборудования. Для огурца в режиме отражения $R^2 = 0.99$, $RE = 1\%$ и $\sigma = 0.34$ мг/л получены для комбинации длин

Табл. 2. Содержание хлорофилла (*Chl*), полученное с помощью спектрофотометрического анализа и усредненное для каждого растения, участвовавшего в эксперименте

Вид растения	Огурец здоровый			Огурец, пораженный вирусом			Помидор здоровый			Помидор, пораженный вирусом		
Группа	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Средняя <i>Chl</i> , мг/л	14.05	13.16	10.40	7.29	8.17	6.80	15.19	15.47	12.56	11.83	8.33	8.61

волн 454 и 428 нм. $R^2 = 0.99$, $RE = 1\%$ и $\sigma = 0.34$ мг/л получены в режиме пропускания для длин волн 650 и 687 нм, а наилучшие результирующие значения $R^2 = 0.97$, $RE = 4\%$ и $\sigma = 0.54$ мг/л получены в режиме флуоресценции на длинах волн 656 и 683 нм.

Для томатов в режиме отражения $R^2 = 0.93$, $RE = 7\%$ и $\sigma = 0.70$ мг/л достигаются для комбинации длин волн 602 и 696 нм. $R^2 = 0.93$, $RE = 7\%$ и $\sigma = 0.75$ мг/л достигаются в режиме пропускания для длин волн 562 и 568 нм, а наилучшие результирующие значения $R^2 = 0.88$, $RE = 12\%$ и $\sigma = 1.02$ мг/л получены в режиме флуоресценции на длинах волн 708 и 760 нм.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Для измерения оптических спектральных характеристик листьев растений было разработано портативное мультимодальное устройство. Его экспериментальная апробация подтвердила целесообразность и эффективность его использования. Несмотря на довольно высокие абсолютные погрешности спектральных измерений, устройство демонстрирует удовлетворительную повторяемость формы и амплитуды спектральных кривых во всех режимах измерения. Кроме того, измеренный спектр флуоресценции отличается от спектра, полученного с помощью лабораторного спектрофлуориметра, но практически совпадает с данными, представленными в других исследованиях [32], поскольку спектрофлуориметр освещает образец вспышками, в то время как разработанное устройство обеспечивает непрерывное освещение. Разница в уровнях отражательной способности и интенсивности флуоресценции между здоровыми и зараженными группами наглядно наблюдается в данных, зарегистрированных как с помощью предложенного устройства, так и с помощью стандартных лабораторных приборов. Относительно высокая погрешность может быть связана с низкими значениями измеренных спектральных характеристик в более коротковолновом диапазоне. Абсолютная погрешность не зависит от изме-

ренной освещенности объекта и остается неизменной в пределах рабочего спектрального диапазона.

По данным, полученным в режиме пропускания и отражения, могут быть выявлены различные физиологические стрессовые состояния, связанные с нарушением водного, светового и температурного режимов, наличием болезней и вредителей и т.д. [33]. Режим спектроскопии пропускания может быть задействован при мониторинге питательного статуса растений путем измерения содержания азота [34, 35]. Представленное устройство также позволяет измерить спектральное распределение интенсивности флуоресценции, которое широко используется для описания способности к фотосинтезу [32, 36, 37]. В силу наличия в составе устройства широкополосных источников света и спектрометра пользователю предоставляется значительная свобода выбора длин волн измерения и оптимизации показателей для мониторинга состояния конкретного вида сельскохозяйственных культур [11, 12]. Возможность настройки типов и уравнений фотосинтетической активности, а также комбинаций длин волн расширяет диагностические возможности устройства. Поскольку относительная погрешность измерения содержания хлорофилла остается неизменной в разных режимах измерения, можно быстро сравнить результаты, полученные на одном и том же образце, и повысить общую эффективность оптического мониторинга растений в полевых условиях.

В целом как разработанное устройство, так и лабораторные приборы продемонстрировали заметную корреляцию между спектральными показателями и содержанием хлорофилла. Как для огурца, так и для томата режимы отражения и пропускания показали наибольшую точность (R^2 до 0.99, $RE \approx 1-7\%$, $\sigma \leq 0.8$ мг/л), в то время как режим флуориметрии продемонстрировал более высокие погрешности (RMSE до 1.4 мг/л). Таким образом, результаты, полученные с помощью портативного устройства, сопоставимы с результатами лабораторного оборудования, что подтверждает его применимость для практической оценки содержания хлорофилла.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящей работе продемонстрирован подход к оценке физиологического состояния растений с помощью комбинированной спектроскопии флуоресценции, пропускания и отражения. Полученные результаты показывают, что мультимодальное устройство, объединяющее три упомянутых метода, обеспечивает удовлетворительное восстановление спектральной кривой во всех режимах измерения со средней относительной погрешностью 23% для спектров отражения, 19% для спектров пропускания и 26% для спектров флуоресценции.

Возможность одновременного измерения нескольких спектральных характеристик дает ряд существенных преимуществ. Такой подход обеспечивает надежную оценку содержания хлорофилла, демонстрируя высокие коэффициенты детерминации: 0.99 (огурец) и 0.93 (помидор) в режиме отражения, 0.99 (огурец) и 0.90 (помидор) в режиме пропускания и 0.99 (огурец) и 0.83 (по-

мидор) в режиме флуоресценции. Мультимодальный характер устройства также обеспечивает гибкость в выборе оптимальных комбинаций длин волн для различных сельскохозяйственных культур. Разработанное устройство может найти применение для комплексного мониторинга физиологического состояния сельскохозяйственных культур, включая выявление стресса и болезней, а также оценку обеспеченности питательными веществами. Одновременное измерение нескольких спектральных характеристик повышает точность и надежность оценки состояния растений по сравнению с однорежимными устройствами.

Дальнейшие исследования будут сосредоточены на экспериментальной апробации предложенного устройства и подхода к измерениям на различных видах растений с целью получения исчерпывающих данных об оптимальных комбинациях длин волн и разработке стандартизированных протоколов мониторинга, адаптированных к различным типам сельскохозяйственных культур.

ПРИЛОЖЕНИЕ

Табл. II. Максимальные значения коэффициента корреляции для различных форм ВИ

Режим	Коэффициенты в выражении $Chl = a \cdot \exp(\text{ВИ} \cdot b)$			R^2 , отн. ед.	RE , %	σ , мг/л
	a	b	ВИ			
Огурец						
Отражение	$6 \cdot 10^3$	−6.72	$\frac{R(765)}{R(745)}$	0.99	1	0.21
	14.49	1.18	$\frac{R(492) - R(667)}{R(492) + R(667)}$	0.99	1	0.17
	4.95	−0.71	$\frac{1}{R(528)} - \frac{1}{R(533)}$	0.98	2	0.32
	19.92	63.50	$R(612) - R(624)$	0.99	1	0.05
Пропуска- ние	0.65	1.11	$\frac{T(706)}{T(601)}$	0.99	1	0.06
	0.43	7.74	$\frac{T(618) - T(699)}{T(618) + T(699)}$	0.99	1	0.08
	4.67	0.50	$\frac{1}{T(693)} - \frac{1}{T(618)}$	0.99	2	0.22
	33.68	36.85	$T(648) - T(662)$	0.99	1	0.10

Табл. II. Окончание

Режим	Коэффициенты в выражении $Chl = a \cdot \exp(\text{ВИ} \cdot b)$			R^2 , отн. ед.	RE , %	σ , мг/л
	a	b	ВИ			
Огурец						
Флуорес- ценция	22.49	−0.27	$\frac{F(739)}{F(682)}$	0.99	1	0.14
	18.21	−2.67	$\frac{F(704) - F(745)}{F(704) + F(745)}$	0.99	2	0.25
	16.56	0.28	$\frac{1}{F(689)} - \frac{1}{F(739)}$	0.99	1	0.14
	4.41	3.01	$F(745) - F(759)$	0.98	2	0.34
Томат						
Отражение	0.01	5.95	$\frac{R(603)}{R(597)}$	0.93	7	0.82
	4.34	−13.46	$\frac{R(603) - R(597)}{R(603) + R(597)}$	0.93	7	0.82
	16.95	0.05	$\frac{1}{R(498)} - \frac{1}{R(496)}$	0.87	13	1.19
	20.3	98.20	$R(444) - R(458)$	0.87	13	1.31
Пропуска- ние	$8 \cdot 10^5$	−11.04	$\frac{T(742)}{T(776)}$	0.90	10	1.03
	12.95	22.54	$\frac{T(742) - T(776)}{T(742) + T(776)}$	0.90	10	1.04
	12.97	−10.61	$\frac{1}{T(742)} - \frac{1}{T(776)}$	0.90	10	1.02
	13.93	11.95	$T(742) - T(776)$	0.90	12	1.05
Флуорес- ценция	$5 \cdot 10^3$	−5.49	$\frac{F(721)}{F(725)}$	0.76	24	1.78
	21.54	−12.20	$\frac{F(721) - F(725)}{F(721) + F(725)}$	0.75	25	1.82
	10.43	0.67	$\frac{1}{F(703)} - \frac{1}{F(715)}$	0.66	34	1.78
	0.05	38.32	$F(660) - F(665)$	0.83	17	1.37

Финансирование

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования РФ в рамках исследовательской тематики молодежной лаборатории "Оптические зондовые приборы и методы технической и биомедицинской диагностики" (FFNS-2024-0002).

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Van Dijk M., Morley T., Rau M.L. et al. A meta-analysis of projected global food demand and population at risk of hunger for the period 2010–2050 // *Nature Food*. 2021. Vol. 2, no. 7. P. 494–501. DOI: 10.1038/s43016-021-00322-9
2. Sharma A., Prakash A., Bhambota S. Investigations of precision agriculture technologies with application to developing countries // *Environment, Development and Sustainability*. 2025. Vol. 27. P. 15135–15171. DOI: 10.1007/s10668-024-04572-y
3. Nowak B. Precision Agriculture: Where do We Stand? A Review of the Adoption of Precision Agriculture Technologies on Field Crops Farms in Developed Countries // *Agricultural Research*. 2021. Vol. 10, no. 4. P. 515–522. DOI: 10.1007/s40003-021-00539-x
4. Viana L., Tomaz D.C., Martins R.N. et al. Optical Sensors for Precision Agriculture: An Outlook // *Journal of Experimental Agriculture International*. 2019. Vol. 35, no. 2. P. 1–9. DOI: 10.9734/jeai/2019/v35i230203
5. Gorji R., Skvaril J., Odlare M. Applications of optical sensing and imaging spectroscopy in indoor farming: A systematic review // *Spectrochim Acta: A Mol Biomol Spectrosc*. Elsevier. 2024. Vol. 322. Id. 124820. DOI: 10.1016/j.saa.2024.124820
6. Maimaitiyiming M., Ghulam A., Bozzolo A., Wilkins J., Kwasniewski M. Early detection of plant physiological responses to different levels of water stress using reflectance spectroscopy // *Remote Sensing*. 2017. Vol. 9, no. 7. Id. 745. DOI: 10.3390/rs9070745
7. Tripodi P., Massa D., Accursio V., Cardi T. Sensing technologies for precision phenotyping in vegetable crops: current status and future challenges // *Agronomy*. 2018. Vol. 8, no. 4. Id. 57. DOI: 10.3390/agronomy8040057
8. Батиев В.И., Крюков А.В., Мачихин А.С., Золотухина А.А. Оптическая система мультиспектральной видеокамеры // *Оптический журнал*. 2023. Т. 90, № 11. С. 113–123. URL: <https://opticjourn.ru/index.php/ru/abstract/2023-90-11-113-123>
9. Bijay-Singh, Ali A.M. Using hand-held chlorophyll meters and canopy reflectance sensors for fertilizer nitrogen management in cereals in small farms in developing countries // *Sensors*. 2020. Vol. 20, no. 4. Id. 1127. DOI: 10.3390/s20041127
10. Zolotukhina A., Machikhin A., Guryleva A., Gresis V., Te-deeva V. Extraction of chlorophyll concentration maps from AOTF hyperspectral imagery // *Front. Environ. Sci*. 2023. Vol. 11. Id. 1152450. DOI: 10.3389/fenvs.2023.1152450
11. Вилунов С.Д., Зотиков В.И., Сидоренко В.С., Старикова Ж.В., Мальцев А.А. Применение вегетационных индексов в селекции озимой мягкой пшеницы // *Зернобобовые и крупяные культуры*. 2022. Т. 3, № 43. С. 73–83. URL: https://journal.vniizbk.ru/journals/43/j_zbk_2022_3-073-083.pdf
12. Main R., Cho M.A., Mathieu R., O'Kennedy M.M., Ramoelo A., Koch S. An investigation into robust spectral indices for leaf chlorophyll estimation // *ISPRS Journal of Photogrammetry and Remote Sensing*. 2011. Vol. 66, no. 6. P. 751–761. DOI: 10.1016/j.isprsjprs.2011.08.001
13. Gitelson A.A., Buschmann C., Lichtenthaler H.K. The chlorophyll fluorescence ratio F735/F700 as an accurate measure of the chlorophyll content in plants // *Remote Sensing of Environment*. 1999. Vol. 69, no. 3. P. 296–302. DOI: 10.1016/S0034-4257(99)00023-1
14. Latifinia E., Eisvand H.R. Soybean physiological properties and grain quality responses to nutrients, and predicting nutrient deficiency using chlorophyll fluorescence // *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*. 2022. Vol. 22, no. 2. P. 1942–1954. DOI: 10.1007/s42729-022-00785-0
15. Van Wittenberghe S., Alonso L., Malenovsky Z., Moreno J. In vivo photoprotection mechanisms observed from leaf spectral absorbance changes showing VIS–NIR slow-induced conformational pigment bed changes // *Photosynth Res*. Springer, 2019. Vol. 142, no. 3. P. 283–305. DOI: 10.1007/s11120-019-00664-3
16. Lanoue M., Ryan R.E., O'Neal D., Russell J.A. System and method for co-registered hyperspectral imaging. US Patent 20080144013A1. 2007. Publ. Jun. 19, 2008.
17. Wenqian H., Zhiming G., Qingyan W., Jiangbo L., Chi Z., Jianhua G. Portable blade spectrum detection device. CN Patent 203069501U. 2013. Publ. Jul. 17, 2013.
18. Zhiming G., Quansheng C., Jiewen Z., et al. Micro-multi-modal fusion spectral detection system. CN Patent 107044959B. 2017. Publ. Jun. 28, 2019.
19. Brown L., Williams O., Dash J. Calibration and characterisation of four chlorophyll meters and transmittance spectroscopy for non-destructive estimation of forest leaf chlorophyll concentration // *Agricultural and Forest Meteorology*. 2022. Vol. 323. Id. 109059. DOI: 10.1016/j.agrformet.2022.109059
20. Третьяков Н.Н., Кошкин Е.И., Макрушин Н.М. и др. Физиология и биохимия сельскохозяйственных растений / Под ред. Н.Н. Третьякова. М.: Колос, 2000. 640 с.
21. Федотов Ю.В., Булло О.А., Белов М.Л., Городничев В.А. Дистанционный лазерный флуориметр для обнаружения стрессовых состояний растительности // *Радиостроение*. 2017. № 1. С. 1–13. DOI: 10.24108/rdopt.0117.0000082
22. AION OPTIX. Seetrum products. 2025. URL: <https://en.seetrum.com/products/360.html> [дата обращения 11.11.2025].
23. Pu R. Hyperspectral remote sensing: Fundamentals and practices. CRC Press, 2017. 466 p. DOI: 10.1201/9781315120607

24. *Wenters J.F.G.M., De Mots A.* Spectrophotometric characteristics of chlorophylls a and b and their phenophytins in ethanol // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biophysics including Photosynthesis*. Elsevier. 1965. Vol. 109, no. 2. P. 448–453. DOI: 10.1016/0926-6585(65)90170-6
25. *Кувалдин Э.В.* Дистанционный и контактный приборы для диагностики состояния растений // *Оптический журнал*. 2013. Т. 80, № 11. С. 68–77. URL: https://web.archive.org/web/20170515174008/http://optjournal.ifmo.ru/article/9785/distancionnyy_i_kontaktnyy_pribory_dlya_diagnosticsostoyaniya_rasteniy.htm
26. *Verstraete M.M., Pinty B.* Designing optimal spectral indexes for remote sensing applications // *Transactions on Geoscience and Remote Sensing*. 1996. Vol. 34, no. 5. P. 1254–1265. DOI: 10.1109/36.536541
27. *Shi H., Guo J., An J., Tang Z., Wang X., Li W., Zhao X., Jin L., Xiang Y., Li Z., Zhang F.* Estimation of chlorophyll content in soybean crop at different growth stages based on optimal spectral index // *Agronomy*. 2023. Vol. 13. Id. 663. DOI: 10.3390/agronomy13030663
28. *Park B., Wi S., Chung H., Lee H.* Chlorophyll Fluorescence Imaging for Environmental Stress Diagnosis in Crops // *Sensors*. 2024. Vol. 24, no. 5. Id. 1442. DOI: 10.3390/s24051442
29. *Сурин В.Г.* Мониторинг состояния посевов и моделирование стрессовых реакций растений в процессе жизненного цикла // *Материалы докладов XVIII международного экологического Форума*. Санкт-Петербург, Россия. 22–23 марта 2017. С. 49–63. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=41580263&pff=1>
30. *Blackburn G.A.* Relationships between Spectral Reflectance and Pigment Concentrations in Stacks of Deciduous Broadleaves // *Remote Sens Environ*. Elsevier. 1999. Vol. 70, no. 2. P. 224–237. DOI: 10.1016/S0034-4257(99)00048-6
31. *Lopes D.C., Moura L.O., Steidle Neto A.J., Ferraz L.C.L., Carlos L.A., Martins L.M.* Spectral Indices for Non-Destructive Determination of Lettuce Pigments // *Food Anal. Methods*. 2017. Vol. 10. P. 2807–2814. DOI: 10.1007/s12161-017-0853-y
32. *Lichtenthaler H., Rinderle U.* The Role of Chlorophyll Fluorescence in The Detection of Stress Conditions in Plants // *Critical Reviews in Analytical Chemistry*. 1988. Vol. 19, no. 1. P. 29–58. DOI: 10.1080/15476510.1988.10401466
33. *Carter G.A., Estep L.* General spectral characteristics of leaf reflectance responses to plant stress and their manifestation at the landscape scale // *From laboratory spectroscopy to remotely sensed spectra of terrestrial ecosystems* / R.S. Muttiah (eds). 2002. P. 271–293. DOI: 10.1007/978-94-017-1620-8_12
34. *Hu J., He D., Yang P.* Study on Plant Nutrition Indicator Using Leaf Spectral Transmittance for Nitrogen Detection // *IFIP Advances in Information and Communication Technology* / D. Li, Y. Liu, Y. Chen, editors. Berlin, Heidelberg, Germany: Springer, 2011. P. 504–513. DOI: 10.1007/978-3-642-18369-0_60
35. *Maghrebi M., Nocito F.F., Sacchi G.A.* Monitoring Plant Nutritional Status // *Nutrient Use Efficiency in Plants: Concepts and Approaches* / M.J. Hawkesford, S. Kopriva, L.J. De Kok, editors. Cham, Switzerland: Springer, 2014. P. 253–272. DOI: 10.1007/978-3-319-10635-9_10
36. *Keller B., Matsubara S., Rascher U. et al.* Genotype Specific Photosynthesis x Environment Interactions Captured by Automated Fluorescence Canopy Scans Over Two Fluctuating Growing Seasons // *Frontiers in Plant Science*. 2019. Vol. 10. Id. 1482. DOI: 10.3389/fpls.2019.01482
37. *Herritt M.T., Pauli D., Mockler T.C. et al.* Chlorophyll fluorescence imaging captures photochemical efficiency of grain sorghum (*Sorghum bicolor*) in a field setting // *Plant Methods*. 2020. Vol. 16, no. 1. Id. 109. DOI: 10.1186/s13007-020-00650-0

Научно-технологический центр уникального приборостроения Российской академии наук, Москва

Контакты: Хохлов Демид Денисович,
khokhlov.dd@ntcup.ru

Материал поступил в редакцию 04.12.2025

PORTABLE DEVICE FOR DETERMINING THE PHYSIOLOGICAL STATE OF PLANTS USING FLUORIMETRY AND SPECTROMETRY METHODS

S. S. Batashova, A. A. Zolotukhina, A.V. Guryleva, D. D. Khokhlov, A. S. Machikhin

Scientific and Technological Centre of Unique Instrumentation of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

The study aims to present and validate a portable device for plant physiological analysis through combined measurement of fluorescence, transmission, and reflection spectra. The proposed approach integrates three complementary optical techniques in a single handheld device. The system includes two white LEDs for reflectance and transmission measurements, and a blue LED for fluorescence excitation. Spectral data acquisition is performed by a compact spectrometer. The measurement accuracy obtained with the portable device was validated against standard methods and reference instrumentation on cucumber and tomato leaves. A prototype of the portable device is capable of measuring reflection and transmission spectra, as well as fluorescence spectral intensity of plant leaves. The device requires minimal sample preparation while providing precise and reliable measurements. Average relative error is 23% for spectral reflectance, 19% for transmittance, and 26% for fluorescence. Correlation coefficients between spectral characteristics and chlorophyll concentration were also determined, and spectral information was reduced to vegetation indices with the choice of the optimal coefficient at different wavelengths. The coefficients of determination for pigment concentration and vegetation indices are 0.99 (cucumber) and 0.93 (tomato) in reflection mode, 0.99 (cucumber) and 0.90 (tomato) in transmission mode, and 0.99 (cucumber) and 0.83 (tomato) in fluorescence mode.

Keywords: fluorescence spectroscopy, reflection spectroscopy, spectral data processing, physiological state of plants, chlorophyll

REFERENCES

1. Van Dijk M., Morley T., Rau M.L. et al. A meta-analysis of projected global food demand and population at risk of hunger for the period 2010–2050. *Nature Food*, 2021, vol. 2, no. 7, pp. 494–501. DOI: 10.1038/s43016-021-00322-9
2. Sharma A., Prakash A., Bhambota S., Kumar S. Investigations of precision agriculture technologies with application to developing countries. *Environment, Development and Sustainability*, 2025, vol. 27, pp. 15135–15171. DOI: 10.1007/s10668-024-04572-y
3. Nowak B. Precision Agriculture: Where do We Stand? A Review of the Adoption of Precision Agriculture Technologies on Field Crops Farms in Developed Countries. *Agricultural Research*, 2021, vol. 10, no. 4, pp. 515–522. DOI: 10.1007/s40003-021-00539-x
4. Viana L., Tomaz D.C., Martins R.N. et al. Optical Sensors for Precision Agriculture: An Outlook. *Journal of Experimental Agriculture International*, 2019, vol. 35, no. 2, pp. 1–9. DOI: 10.9734/jeai/2019/v35i230203
5. Gorji R., Skvaril J., Odlare M. Applications of optical sensing and imaging spectroscopy in indoor farming: A systematic review. *Spectrochim Acta: A Mol Biomol Spectrosc. Elsevier*, 2024, vol. 322, Id. 124820. DOI: 10.1016/j.saa.2024.124820
6. Maimaitiyiming M., Ghulam A., Bozzolo A., Wilkins J., Kwasniewski M. Early detection of plant physiological responses to different levels of water stress using reflectance spectroscopy. *Remote Sensing*, 2017, vol. 9, no. 7, Id. 745. DOI: 10.3390/rs9070745
7. Tripodi P., Massa D., Accursio V., Cardi T. Sensing technologies for precision phenotyping in vegetable crops: current status and future challenges. *Agronomy*, 2018, vol. 8, no. 4, Id. 57. DOI: 10.3390/agronomy8040057
8. Batshev V.I., Krioukov A.V., Machikhin A.S., Zolotukhina A.A. [Multispectral video camera optical system]. *Opticheskii Zhurnal* [Journal of Optical Technology], 2023, vol. 90, no. 11, pp. 113–123. (In Russ.). URL: <https://opticjourn.ru/index.php/ru/abstract/2023-90-11-113-123>
9. Bijay-Singh, Ali A.M. Using hand-held chlorophyll meters and canopy reflectance sensors for fertilizer nitrogen management in cereals in small farms in developing countries. *Sensors*, 2020, vol. 20, no. 4, Id. 1127. DOI: 10.3390/s20041127
10. Zolotukhina A., Machikhin A., Guryleva A., Gresis V., Tedeeva V. Extraction of chlorophyll concentration maps from AOTF hyperspectral imagery. *Front. Environ. Sci.*, 2023, vol. 11, Id. 1152450. DOI: 10.3389/fenvs.2023.1152450
11. Vilyunov S.D., Zotikov V.I., Sidorenko V.S., Starikova Zh.V., Mal'tsev A.A. [Application of vegetation indices in winter soft wheat breeding]. *Zernobobovye i krupyanye kul'tury* [Legumes and groat crops], 2022, vol. 3, no. 43, pp. 73–83. (In Russ.). URL: https://journal.vniizbk.ru/journals/43/j_zbk_2022_3-073-083.pdf

12. Main R., Cho M.A., Mathieu R., O'Kennedy M.M., Ramoelo A., Koch S. An investigation into robust spectral indices for leaf chlorophyll estimation. *ISPRS Journal of Photogrammetry and Remote Sensing*, 2011, vol. 66, no. 6, pp. 751–761. DOI: 10.1016/j.isprsjprs.2011.08.001
13. Gitelson A.A., Buschmann C., Lichtenthaler H.K. The chlorophyll fluorescence ratio F735/F700 as an accurate measure of the chlorophyll content in plants. *Remote Sensing of Environment*, 1999, vol. 69, no. 3, pp. 296–302. DOI: 10.1016/S0034-4257(99)00023-1
14. Latifinia E., Eisvand H.R. Soybean physiological properties and grain quality responses to nutrients, and predicting nutrient deficiency using chlorophyll fluorescence. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 2022, vol. 22, no. 2, pp. 1942–1954. DOI: 10.1007/s42729-022-00785-0
15. Van Wittenberghe S., Alonso L., Malenovsky Z., Moreno J. In vivo photoprotection mechanisms observed from leaf spectral absorbance changes showing VIS–NIR slow-induced conformational pigment bed changes. *Photosynth Res. Springer*, 2019, vol. 142, no. 3, pp. 283–305. DOI: 10.1007/s11120-019-00664-3
16. Lanoue M., Ryan R.E., O'Neal D., Russell J.A. *System and method for co-registered hyperspectral imaging*. US Patent 20080144013A1. 2007. Publ. Jun. 19, 2008.
17. Wenqian H., Zhiming G., Qingyan W., Jiangbo L., Chi Z., Jianhua G. *Portable blade spectrum detection device*. CN Patent 203069501U. 2013. Publ. Jul. 17, 2013.
18. Zhiming G., Quansheng C., Jiewen Z., et al. *Micro-multi-modal fusion spectral detection system*. CN Patent 107044959B. 2017. Publ. Jun. 28, 2019.
19. Brown L., Williams O., Dash J. Calibration and characterisation of four chlorophyll meters and transmittance spectroscopy for non-destructive estimation of forest leaf chlorophyll concentration. *Agricultural and Forest Meteorology*, 2022, vol. 323, Id. 109059. DOI: 10.1016/j.agrformet.2022.109059
20. Tret'yakov N.N. (ed.), Koshkin E.I., Makrushin N.M. et al. *Fiziologiya i biokhimiya sel'skokhozyaistvennykh rastenii* [Physiology and biochemistry of agricultural plants]. Moscow, Kolos Publ., 2000. 640 p. (In Russ.).
21. Fedotov Yu.V., Bullo O.A., Belov M.L., Gorodnichyev V.A. [Remote laser fluorimeter to detect stress of plants]. *Radiooptika* [Radiooptics], 2017, no. 1, pp. 1–13. DOI: 10.24108/rdopt.0117.0000082 (In Russ.).
22. *AION OPTIX*. Seetrum products. 2025. URL: <https://en.seetrum.com/products/360.html> [cited 11.11.2025].
23. Pu R. *Hyperspectral remote sensing: Fundamentals and practices*. CRC Press, 2017. 466 p. DOI: 10.1201/9781315120607
24. Wintermans J.F.G.M., De Mols A. Spectrophotometric characteristics of chlorophylls a and b and their phytylins in ethanol. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biophysics including Photosynthesis*, 1965, vol. 109, no. 2, pp. 448–453. DOI: 10.1016/0926-6585(65)90170-6
25. Kuvaldin E.V. [Remote and contact devices for diagnosing plant conditions]. *Opticheskii Zhurnal* [Journal of Optical Technology], 2013, vol. 80, no. 11, pp. 68–77. URL: https://web.archive.org/web/20170515174008/http://opticjournal.ifmo.ru/ru/article/9785/distancionnyy_i_kontaktnyy_pribory_dlya_dagnostiki_sostoyaniya_rasteniy.htm (In Russ.).
26. Verstraete M.M., Pinty B. Designing optimal spectral indexes for remote sensing applications. *Transactions on Geoscience and Remote Sensing*, 1996, vol. 34, no. 5, pp. 1254–1265. DOI: 10.1109/36.536541
27. Shi H., Guo J., An J., Tang Z., Wang X., Li W., Zhao X., Jin L., Xiang Y., Li Z., Zhang F. Estimation of chlorophyll content in soybean crop at different growth stages based on optimal spectral index. *Agronomy*, 2023, vol. 13, Id. 663. DOI: 10.3390/agronomy13030663
28. Park B., Wi S., Chung H., Lee H. Chlorophyll Fluorescence Imaging for Environmental Stress Diagnosis in Crops. *Sensors*, 2024, vol. 24, no. 5, Id. 1442. DOI: 10.3390/s24051442
29. Surin V.G. [Monitoring and modelling of stress reactions of crops during the life cycle assessment]. *Materialy dokladov XVIII mezhdunar. ehkologicheskogo Forumu* [Proc. XVIII Int. Ecol. Forum], Saint-Petersburg, Russia, 22–23 Mar 2017, pp. 49–63. (In Russ.). URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=41580263&pff=1>
30. Blackburn G.A. Relationships between Spectral Reflectance and Pigment Concentrations in Stacks of Deciduous Broadleaves. *Remote Sens Environ. Elsevier*, 1999, vol. 70, no. 2, pp. 224–237. DOI: 10.1016/S0034-4257(99)00048-6
31. de Carvalho Lopes D., de Oliveira Moura L., Steidle Neto A.J., de Castro Louback Ferraz L., de Almeida Carlos L., Martins L.M. Spectral Indices for Non-Destructive Determination of Lettuce Pigments. *Food Anal. Methods*, 2017, vol. 10, pp. 2807–2814. DOI: 10.1007/s12161-017-0853-y
32. Lichtenthaler H., Rinderle U. The Role of Chlorophyll Fluorescence in The Detection of Stress Conditions in Plants. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 1988, vol. 19, no. 1, pp. 29–58. DOI: 10.1080/15476510.1988.10401466
33. Carter G.A., Estep L. General spectral characteristics of leaf reflectance responses to plant stress and their manifestation at the landscape scale. R.S. Mutiah, editor. *From laboratory spectroscopy to remotely sensed spectra of terrestrial ecosystems*. Springer, Dordrecht, 2002, pp. 271–293. DOI: 10.1007/978-94-017-1620-8_12
34. Hu J., He D., Yang P. Study on Plant Nutrition Indicator Using Leaf Spectral Transmittance for Nitrogen Detection. Li D., Liu Y., Chen Y., editors. *IFIP Advances in Information and Communication Technology*. Berlin, Heidelberg, Germany, Springer, 2011, pp. 504–513. DOI: 10.1007/978-3-642-18369-0_60
35. Maghrebi M., Nocito F.F., Sacchi G.A. Monitoring Plant Nutritional Status. Hawkesford M.J., Kopriva S., De Kok L.J., editors. *Nutrient Use Efficiency in Plants: Concepts and Approaches*. Cham, Switzerland, Springer, 2014, pp. 253–272. DOI: 10.1007/978-3-319-10635-9_10
36. Keller B., Matsubara S., Rascher U. et al. Genotype Specific Photosynthesis x Environment Interactions Captured by Automated Fluorescence Canopy Scans Over Two Fluctuating Growing Seasons. *Frontiers in Plant Science*, 2019, vol. 10. DOI: 10.3389/fpls.2019.01482

37. Herritt M.T., Pauli D., Mockler T.C. et al. Chlorophyll fluorescence imaging captures photochemical efficiency of grain sorghum (*Sorghum bicolor*) in a field setting. *Plant Methods*, 2020, vol. 16, no. 1, Id. 109. DOI: 10.1186/s13007-020-00650-0

Contacts: *Khokhlov Demid Denisovich*,
khokhlov.dd@ntcup.ru

Article received by the editorial office on 04.12.2025

INTRODUCTION

As global demand for food continues to grow [1] due to population growth and urbanization, the development of precision agriculture tools is a pressing issue. One of the key aspects of precision agriculture is non-destructive monitoring of the physiological state of agricultural crops, implemented through various data collection methods, including portable sensors and devices operating in the field [2]. Unlike remote sensing methods, which allow for large-scale monitoring [3], portable devices can provide rapid assessment of local changes in controlled environment and experimental plots. Optical devices of various types provide rapid and accurate measurement of various crop characteristics while being compact enough for practical use [4].

Optical methods are widely used in agriculture [5] for non-destructive diagnostics due to their high throughput and measurement accuracy, which allows for the analysis of the properties and composition of biological objects. Optical diagnostics are becoming increasingly important in field [6] and greenhouse [5] settings, where early detection of biotic and abiotic plant stresses and high analytical speed and throughput are required. Laboratory methods require leaf sampling and transportation, which reduces the reliability of measurement results and increases the time required to take action to minimize risks and optimize resource use. Therefore, portable spectral instruments [7, 8], operating on the principles of fluorimetry and spectrometry, remain in demand.

Modern portable contact instruments are relatively affordable and simple devices that provide real-time measurement and interpretation of spectral data. The most common of these are pigment content meters [9] based on radiation reflected from or transmitted through leaves at several wavelengths. It has been shown previously [10] that the selection of optimal wavelengths for individual crops or groups of plants with similar morphological characteristics helps to increase the accuracy of measuring their physiological characteristics. In addition, there is a difficulty in monitoring agricultural crops because it is impossible to predict in advance which spectral bands will provide an optimal assessment, since they vary depending on both the type of crop and the time of year [11, 12]. To expand the set of crops effectively analyzed by the device, it is necessary to be able to examine the sample in a wide spectral range. Hand-held fluorimeters that record the spectral characteristics of fluorescence intensity [13] and chlorophyll fluorescence induction [14] are also used to assess chlorophyll content, parameters of photosynthetic activity, early detection of plant stress, and other indicators. However, such equipment has limited capabilities because measures

individual functional parameters of vegetation using only one spectroscopic method.

The creation of a universal device that combines hardware for measuring both reflectance and transmittance spectra, as well as chlorophyll fluorescence intensity characteristics, in a single housing will provide a more complete understanding of the physiological state of plants and simplify the comparison of results. Previous studies have described the theoretical basis [15] and prototypes of such combined instruments [16–18]. Reflectance spectroscopy provides an assessment of the pigment composition (including chlorophylls *a* and *b*, carotenoids, anthocyanins), water content, and morphological characteristics of the leaf surface, including leaf surface parameters (presence of a wax layer, degree of pubescence, etc.) [6]. Transmittance spectroscopy, along with the assessment of pigment and moisture content, allows for the analysis of the internal structure of leaf tissue, including thickness, density of cell layers, homogeneity, and level of tissue degradation, which is especially important when monitoring diseases or nutrient deficiencies [19]. Fluorescence spectroscopy is used to determine parameters related to photosynthetic activity, such as the quantum efficiency of photosystem II (F_v/F_m) and the level of non-photochemical quenching, as well as for the early detection of stress associated with lack of light, water deficiency, or toxic effects [13]. Combining three complementary methods in a single device can improve the accuracy and reproducibility of measurements, since it makes it possible to take into account a wide range of plant morphophysiological parameters. The aim of this work is to develop and test a portable device that combines several analytical methods to obtain complete information on plant physiological parameters in the field.

PROPOSED SOLUTION

Since the proposed device is designed to measure fluorescence, transmittance, and reflectance spectra, its functional components must meet the specific requirements of each spectral measurement mode. Chlorophyll fluorescence is often excited using a radiation source with a central wavelength in the blue or red region of the visible range [20], with the source and receiver positioned on the same side of the plant leaf being studied [21]. To record the reflectance and transmittance spectra of radiation interacting with the leaf, a broadband radiation source should be used. To ensure real-time data acquisition, it is necessary to optimize the light energy characteristics by selecting LED light sources and designing the coupling optical elements. Portability is achieved through the use of a compact diffraction spectrometer as a recording device and a single control unit for switching light sources between measurement and data processing

modes. The operating modes and main functional components of the portable device are shown in Fig. 1. In transmittance and reflection spectral measurement modes, the sample is illuminated by broadband LEDs (emission range 450–800 nm, luminous flux 30 lm) LED $C\lambda_1$ and LED $C\lambda_2$, respectively, equipped with identical K condensers. In fluorescence spectroscopy mode, the sample is illuminated by blue LED $C\lambda_3$ (emission range 450–460 nm, luminous flux 20 lm). In all modes, spectra are measured using a compact spectrometer CM based on a diffraction grating (AIOX2000-13 [22] and that has operating spectral range 350–1050 nm, spectral resolution 2 nm, UART interface).

Fig. 1. Device schematic and proposed operating principle.
 $C\lambda_1$, $C\lambda_2$ — broadband LEDs, $C\lambda_3$ — blue LED, K — condenser, CM — diffraction grating spectrometer

The duration of a single measurement is 4 s in fluorescence mode, 450 ms in reflection mode, and 90 ms in transmittance mode. The portable device's housing is designed to eliminate stray light during spectral recording, protect internal components from external influences, and ensure ease of use. A three-dimensional model of the prototype device housing is shown in Fig. 2.

Fig. 2. Layout of the main device components.
a — 3D model of the prototype device housing; б, в — enlarged images of individual device components;
1 — blue LED; 2a|б — broadband LEDs; 3a|б|в — fiber optics; 4 — spectrometer, 5 — plant leaf, 6 — clamping element, 7 — mirror, 8 — control board, 9 — battery compartment

During measurement, plant leaf 5 is clamped using clamping element 6, exposing the area of the leaf under study to the illumination and measurement channels throughout the analysis and protecting it from external radiation by additional rubber seals. In transmittance spectrum recording mode, radiation from broadband LED 2a passes through the leaf located above it, is reflected from mirror 7, and is directed via fiber optic light guide 3a to the entrance slit of spectrometer 4. Radiation from another broadband LED 2б and blue LED 1 passes through fiber optic light guides 3б and 3в, respectively, and is redirected to the leaf surface via a mirror. Reflected radiation or fluorescence is transmitted to the spectrometer also via fiber optic light guide 3a. All spectral measurement data obtained in the three

measurement modes is pre-processed in a control unit based on an ArduinoNano controller and can be transferred to a personal computer via a USB interface. The measurement procedure is initiated by pressing a button on the housing. The measurement procedure is performed automatically.

To demonstrate the comparability of the dimensional characteristics and the extended set of recorded parameters, Tab. 1 presents the main characteristics of the device being developed, as well as commercial analogous devices used to determine the physiological state of plants, including vegetation indices (VI).

Tab. 1. Characteristics of compact devices for plant health analysis

* Here:

$F(\lambda)$ is the fluorescence intensity spectrum.

$F_v = 1 - F_0/F_m$ (maximum efficiency of photosystem II (PSII)): the ratio of the fluorescence intensity at low light levels (F_0) during dark adaptation to the maximum fluorescence intensity after illumination with a powerful pulse (F_m). Indicates the potential capacity of plants for photosynthetic activity.

F_t (steady-state fluorescence intensity): indicates the system's performance under natural conditions.

F_0' is the minimum fluorescence (in relative units) during light adaptation. The fluorescence level of the irradiated sample, which is reduced compared to F_0 due to non-photochemical quenching.

F_m' is the maximum fluorescence (in relative units) during light adaptation. The fluorescence level of a sample irradiated with saturating light pulses that temporarily close all PSII reaction centers.

$Y(II)$ is the maximum and effective photochemical yield of the PSII system.

NPQ is the non-productive energy absorption: characterizes the mechanisms for dissipating excess energy as heat.

qP is the photochemical quenching coefficient: indicates the proportion of open photosystem II centers ready to absorb light energy.

qL is the photochemical fluorescence quenching coefficient, suggesting that many photosystem II complexes form a combined light-harvesting antenna.

qN is the non-photochemical fluorescence quenching coefficient.

Obtaining spectral characteristics free from the influence of distorting factors (spectral sensitivity and high-frequency noise of the receiver, transmittance of optical elements, spectral characteristics of LED radiation) is achieved by dividing the recorded spectral luminance curve of the object by the spectral luminance curve of the reference. In the mode of measuring radiation reflected from the object, the spectrum of the LED radiation reflected from the reference plate was used as the reference [23]. The reference plate is

a standard object made of fluoroplastic and has a reflectivity close to 1 over the entire operating spectral range of the device. In the case of recording transmitted radiation, the spectral characteristic of the LED and the datasheet values of the spectral sensitivity of the radiation receiver were used as the reference. Fluorescence is the re-emission of radiation absorbed by the leaf at wavelengths longer than the exciting radiation, so the spectral characteristics of the blue LED's emission have no effect on the spectral intensity of the object's fluorescence. All spectral characteristics were then normalized to a range of values from 0 to 1 to eliminate the influence of factors unrelated to the physical properties of the object (illumination non-uniformity over time, different receiver sensitivities, or variations in fluorescence intensity) on their shape, and to enable comparison with data obtained using other devices.

VALIDATION OF THE DEVELOPED DEVICE

During the validation, an experimental evaluation of the compliance of the developed device's output data with reference instruments was conducted, as well as a comparison with data obtained using traditional methods for analyzing plant physiological parameters.

The study samples were cucumber (*Cucumis sativus*) and tomato (*Solanum lycopersicum*) leaves, half of which were infected with the Pepino mosaic virus. Five mature, fully formed leaves from six plants of each species were sampled in the greenhouse, after which they were transported in thermal containers to the laboratory for measurement of spectral characteristics and biochemical parameters. Reflectance and fluorescence spectra were recorded from the upper (adaxial) side of the leaf, and transmittance spectra were recorded from the opposite (abaxial) side so that the leaf did not need to be turned over during measurements. To account for spatial differences in spectral characteristics along the leaf surface, five different sections were measured for each sample, and the resulting spectra were then averaged. This resulted in a total of 15 measurements for each group (healthy cucumber leaves; virus-infected cucumber leaves; healthy tomato leaves; virus-infected tomato leaves).

To assess the agreement between the resulting spectral characteristics and measurements made by common laboratory instruments, the same leaf samples were measured using a CФ-2000 spectrophotometer with a reflectance attachment (reflection spectrum recording), an ATP5020R diffraction spectrometer (transmission spectrum recording), and a Флюорат-02-Панорама spectrofluorimeter (fluorescence intensity recording). Spectral transmittance measurements were performed with the sample illuminated by a halogen lamp (DLH4, DedoWeigert

Film GmbH). In other cases, the radiation sources built into the instruments were used. To quantify the measurement error of the obtained spectral characteristic, we chose a relative error, p , calculated using the formula:

$$p = \frac{X - X_{\text{ист}}}{X_{\text{ист}}} \cdot 100\%, \quad (10)$$

where X is the value of the spectral characteristic obtained by the developed device; $X_{\text{ист}}$ is the value of the spectral characteristic obtained using laboratory equipment.

The goal of the second experiment was to test the feasibility of using the output data of the developed device to assess chlorophyll concentration, a key indicator of plant health. A traditional method for measuring pigment content is spectrophotometric analysis of the extract obtained during sample preparation. Plant leaves are weighed to obtain a predetermined weight, crushed, ground in a mortar, and then the pigment is extracted by adding ethanol. Recording the optical density of the extract using a spectrophotometer makes it possible to measure the total content of chlorophylls a and b (Chl) in mg/L using the well-known empirical relationship [24]:

$$Chl = 6.1 \cdot D_{665} + 20.04 \cdot D_{649}, \quad (11)$$

where D_{665} and D_{649} are the optical density at wavelengths of 665 and 649 nm.

Spectrophotometric analysis of chlorophyll concentration is labor-intensive, requires a significant amount of consumables, and cannot be implemented in the field. Currently, a significant amount of research is aimed at developing an alternative method for assessing the pigment composition of plants based on the analysis of the spectral characteristics of leaves. To reduce spectral data and contrast spectral expression caused by changes in biochemical or biophysical parameters, VIs [25, 26] have been developed. These are mathematical combinations of spectral reflectance intensities in two or more narrow ranges. Typical forms of such indices are given in the work [27], among them the indices:

ratio:

$$BI(\lambda_1, \lambda_2) = \frac{R(\lambda_1)}{R(\lambda_2)}, \quad (12)$$

difference ratio:

$$BI(\lambda_1, \lambda_2) = \frac{R(\lambda_1) - R(\lambda_2)}{R(\lambda_1) + R(\lambda_2)}, \quad (13)$$

difference of reciprocals:

$$\text{БИ}(\lambda_1, \lambda_2) = \frac{1}{R(\lambda_1)} - \frac{1}{R(\lambda_2)}, \quad (14)$$

absolute difference:

$$\text{БИ}(\lambda_1, \lambda_2) = |R(\lambda_1) - R(\lambda_2)|, \quad (15)$$

where $R(\lambda_i)$ is the value of the spectral characteristic at wavelength λ_i .

Vegetation indices are used to assess the morphophysiological parameters of plants (the content of pigments, water, micro- and macrolelements in plant tissues, structural characteristics of tissues, etc.) and the subsequent use of these parameters for the identification and differentiation of abiotic (violations of temperature, light and water conditions, nutrition regime) and biotic stress factors (viral, bacterial, and fungal diseases), crop yield forecasting, etc. [19, 28, 29]. Quantitative assessment of the content of biochemical parameters of plants becomes possible through the construction of empirical relationships based on indices using the linear regression method [30]. However, the shape and amplitude of the reflectance spectrum of plants are also determined by other factors: leaf structure, phyllotaxis, phenological stage, etc. Therefore, for each plant species, it is necessary to determine the optimal vegetation index [10, 11], which uses the most informative spectral ranges and ensures the maximum determination coefficient R^2 of the empirical relationship for estimating the content of the plant parameter while minimizing the average relative error RE and the root-mean-square error σ , which are defined as:

$$RE = \frac{|X_{\text{БИ}_i} - X_{\text{ист}_i}| \times 100\%}{X_{\text{ист}}}, \quad (16)$$

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (X_{\text{БИ}_i} - X_{\text{ист}})^2}{n}}, \quad (17)$$

$$R^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (X_{\text{БИ}_i} - \overline{X_{\text{ист}}})}{\sum_{i=1}^n (X_{\text{ист}_i} - \overline{X_{\text{ист}}})}, \quad (18)$$

where $X_{\text{БИ}_i}$ is the value of the plant parameter, calculated using VI; $X_{\text{ист}}$ is the true value of the plant parameter, calculated using the standard method; n is the number of measurements.

Nonlinear relationships are used as effective regression models [31]. In this paper, the choice was made in favor of an exponential relationship.

EXPERIMENTAL RESULTS

The experimental results are presented below. Figure 3 shows the spectral characteristics obtained with the developed prototype and the commercial laboratory equipment mentioned in the previous section. The translucent areas indicate the spread of spectral characteristics during repeated implementations of the same variant.

Fig. 3. Spectral characteristics obtained using the developed device and laboratory equipment. Spectral reflectance, spectral transmittance, and fluorescence intensity spectra of cucumber (a–b) and tomato (r–e) leaves

The calculated average relative errors of the spectral characteristics of the two devices are 23% for the spectral reflectance, 19% for the spectral transmittance, and 26% for the fluorescence intensity spectrum.

The maximum absolute deviations over the entire spectrum and the standard deviation were 0.026 and 0.002 for fluorescence mode, 0.125 and 0.007 for reflectance mode, and less than 0.001 for both parameters in transmission mode. The variability of the spectral characteristics obtained using the developed device in each group was estimated using the maximum absolute deviation and standard error. For healthy tomato leaves, the reflectance, transmittance, and fluorescence values were (0.05; 0.02), (0.06; 0.03), and (0.10; 0.06), respectively.

For virus-infected tomato leaves, the following values were obtained: (0.10; 0.05), (0.05; 0.02), and (0.02; 0.01). For healthy cucumber leaves, the values were (0.08; 0.04), (0.04; 0.02), and (0.18; 0.10), while for virus-infected cucumber leaves, they were (0.06; 0.03), (0.08; 0.04), and (0.14; 0.07) for reflectance, transmittance, and fluorescence, respectively. The results of measuring fluorescence spectra demonstrated the most significant variations among all measurement modes. The variability of the spectral characteristics of individual leaves was also assessed. In the reflectance spectroscopy mode, cucumber and tomato leaves showed similar variability: absolute deviations were 0.088, and the mean absolute deviation was 0.048 and 0.045, respectively. In transmission spectroscopy mode, the average absolute deviations were 0.067 for cucumber and 0.057 for tomato, with mean absolute deviations of 0.035 and 0.028. The most significant differences were observed in fluorescence analysis: for cucumber leaves, the average absolute deviation was 0.158 and the mean absolute deviation was 0.080, while for tomato leaves, these figures were 0.067 and 0.033, respectively.

To evaluate the applicability of the developed device for determining chlorophyll content, spectral measurement data were compared with chlorophyll content determined by laboratory analysis.

The results obtained using the standard spectrophotometric method are presented in Tab. 2, which lists the average chlorophyll concentrations for each plant participating in the experiment. The values represent the arithmetic mean of five leaves selected for spectral measurements and subsequent chlorophyll concentration analysis using the standard method.

Tab. 2. Chlorophyll content (*Chl*) obtained by spectrophotometric analysis and averaged for each plant involved in the experiment

The chlorophyll concentration calculated using the standard spectrophotometric method according to relation (2) was compared with the VI calculated from the spectra obtained using the developed device. Thus, for each mode, a set of spectral characteristics and corresponding chlorophyll concentration values was obtained based on 30 measurements for each plant species. The calculated optimal combinations of wavelengths for each variation indicator are given in Appendix, Table II, with the corresponding values of R^2 , σ and RE .

When considering the device's measurement modes, the highest R^2 values between the reference chlorophyll content *Chl* and VI, as well as the lowest relative and root-mean-square errors, are observed when using vegetation indices in the form of absolute differences. For cucumber leaves in reflectance mode, $R^2 = 0.99$, $RE = 1\%$, and $\sigma = 0.05$ mg/L were obtained for a combination of wavelengths of 612 and 624 nm. $R^2 = 0.99$, $RE = 1\%$, and $\sigma = 0.06$ mg/L were obtained in transmission mode for wavelengths of 706 and 601 nm, and the best resulting values of $R^2 = 0.99$, $RE = 1\%$, and $\sigma = 0.14$ mg/L were obtained in fluorescence mode at wavelengths of 689 and 739 nm. For tomato leaves in reflectance mode, $R^2 = 0.93$, $RE = 7\%$, and $\sigma = 0.82$ mg/L were achieved for a combination of wavelengths of 603 and 597 nm. $R^2 = 0.90$, $RE = 10\%$, and $\sigma = 1.02$ mg/L were achieved in transmission mode for wavelengths of 742 and 776 nm, and the best resulting values of $R^2 = 0.90$, $RE = 10\%$, and $\sigma = 1.37$ mg/L were obtained in fluorescence mode at wavelengths of 660 and 665 nm.

Values obtained using laboratory equipment were also evaluated. For cucumber in reflectance mode, $R^2 = 0.99$, $RE = 1$, and $\sigma = 0.34$ mg/L were obtained for a combination of wavelengths of 454 and 428 nm, $R^2 = 0.99$, $RE = 1\%$, and $\sigma = 0.34$ mg/L were obtained in transmission mode for wavelengths of 650 and 687 nm, and the best resulting values of $R^2 = 0.97$,

$RE = 4\%$ and $\sigma = 0.54$ mg/L were obtained in fluorescence mode at wavelengths of 656 and 683 nm.

For tomatoes in reflectance mode, $R^2 = 0.93$, $RE = 7\%$, and $\sigma = 0.70$ mg/L were achieved for a combination of wavelengths of 602 and 696 nm, $R^2 = 0.93$, $RE = 7\%$ and $\sigma = 0.75$ mg/L are achieved in transmission mode for wavelengths of 562 and 568 nm, and the best resulting values of $R^2 = 0.88$, $RE = 12\%$ and $\sigma = 1.02$ mg/L were obtained in fluorescence mode at wavelengths of 708 and 760 nm.

DISCUSSION OF RESULTS

A portable multimodal device was developed for measuring the optical spectral characteristics of plant leaves. Its experimental validation confirmed its feasibility and effectiveness. Despite relatively high absolute errors in spectral measurements, the device demonstrates satisfactory repeatability of the shape and amplitude of spectral curves in all measurement modes. Furthermore, the measured fluorescence spectrum differs from the spectrum obtained using a laboratory spectrofluorimeter but is virtually identical to data presented in other studies [32], as the spectrofluorimeter illuminates the sample in bursts, while the developed device provides continuous illumination. The difference in reflectivity and fluorescence intensity between healthy and diseased groups is clearly observed in the data recorded both using the proposed device and standard laboratory instruments. The relatively high error may be due to the low values of the measured spectral characteristics in the shorter wavelength range. The absolute error is independent of the measured illuminance of the object and remains constant within the operating spectral range.

Data obtained in transmission and reflectance modes can be used to identify various physiological stress conditions associated with disturbances in water, light, and temperature conditions, the presence of diseases and pests, etc. [33]. Transmission spectroscopy mode can be used to monitor the nutritional status of plants by measuring nitrogen content [34, 35]. The presented device also allows for the measurement of the spectral distribution of fluorescence intensity, which is widely used to describe photosynthetic capacity [32, 36, 37]. The device's inclusion of broadband light sources and a spectrometer provides the user with significant freedom in selecting measurement wavelengths and optimizing the parameters for monitoring the condition of specific agricultural crops [11, 12]. The ability to customize photosynthetic activity types and equations, as well as wavelength combinations, expands the device's diagnostic capabilities. Since the relative measurement error for chlorophyll content remains constant in different measurement modes, results obtained on the same sample can

be quickly compared, increasing the overall efficiency of optical plant monitoring in the field.

Overall, both the developed device and laboratory instruments demonstrated a significant correlation between spectral parameters and chlorophyll content. For both cucumber and tomato, reflectance and transmittance modes demonstrated the highest accuracy (R^2 up to 0.99, $RE \approx 1\text{--}7\%$, $\sigma \leq 0.8 \text{ mg/L}$), while fluorimetric mode demonstrated higher errors (RMSE up to 1.4 mg/L). Thus, the results obtained using the portable device are comparable to those obtained using laboratory equipment, confirming its applicability for practical chlorophyll content assessment.

CONCLUSION

This study demonstrates an approach to assessing the physiological state of plants using combined fluorescence, transmittance, and reflectance spectroscopy. The results demonstrate that a multimodal device combining the three methods provides satisfactory spectral curve reconstruction in all measurement modes, with an average relative error of 23% for reflectance spectra, 19% for transmittance spectra, and 26% for fluorescence spectra.

The ability to simultaneously measure multiple spectral characteristics offers a number of significant advantages. This approach provides a reliable assessment of chlorophyll content, demonstrating high determination coefficients: 0.99 (cucumber) and 0.93 (tomato) in reflectance mode, 0.99 (cucumber) and 0.90 (tomato) in transmission mode, and 0.99 (cucumber) and 0.83 (tomato) in fluorescence mode. The multimodal nature of the device also provides flexibility in selecting optimal wavelength combinations for different crops. The developed device can be used for comprehensive monitoring of the physiological state of agricultural crops, including stress and disease detection, as well as nutrient status assessment. Simultaneous measurement of multiple spectral characteristics improves the accuracy and reliability of plant condition assessment compared to single-mode devices. Further research will focus on experimental testing of the proposed device and measurement approach on various plant species in order to obtain comprehensive data on optimal wavelength combinations and develop standardized monitoring protocols adapted to different types of agricultural crops.

APPENDIX

Tab II. Maximum values of the correlation coefficient for different forms of VI