



بیست و هشتمین کنفرانس اپتیک
و فوتونیک ایران و چهاردهمین
کنفرانس مهندسی و فناوری
فوتونیک ایران،
دانشگاه شهید چمران اهواز،
خوزستان، ایران.
۱۴-۱۴ بهمن ۱۴۰۰



تخمین نسبت رنگدانه‌های کلروفیل و کاروتن در سه نمونه برگ درخت توت، نارنج و زیتون با استفاده از تحلیل طیف بازتاب مرئی و فروسرخ نزدیک

مجتبی اله پورفدافن، حمید مطهری*، صادق یزدانی، عبدالولی علیزهی

گروه اتمی و مولکولی، دانشکده فیزیک، دانشگاه یزد

h.motahari@yazd.ac.ir*

چکیده - طیف بازتابی برگ درختان به نوع و حجم رنگدانه‌های موجود در آن بستگی دارد. هرگونه گیاهی از خود طیف منحصر به فردی به جای می‌گذارد که با رنگدانه‌های آن رابطه مستقیمی دارد. اندازه‌گیری طیف بازتابی روشی سریع و غیرمخرب برای تعیین رنگدانه‌های برگ گیاهان است. در این پژوهش با استفاده از شاخصه‌های طیفی PSRI, ND, SIPI نسبت کاروتن به کلروفیل، نسبت بازتاب طیفی کاروتن به کلروفیل و تمرکز کلروفیل به دست آمده که حاصل آن مشاهده کاهش شدید ۱۷۲,۴ برابری در نسبت کاروتن به کلروفیل برگ زیتون، ۲۷,۷ برابری برگ نارنج و ۱۵,۶ برابری برگ توت بوده است.

کلید واژه: طیف بازتابی، رنگدانه گیاهی، کلروفیل، کاروتن

Estimating Car to Chl pigments ratio in Berry, Olive and orange leaves using UV-Vis reflectance spectrum

Mojtaba allahpoorfadafen, *Hamid motahari, Sadegh Yazdani, abdolvali alizehi

Atomic and Molecular Group, Department of Physics, Yazd University

h.motahari@yazd.ac.ir*

Abstract- The reflectance spectrum in tree leaves depends on their pigments type and its concentration. Each species have unique spectrum that directly related to its pigments. UV-Vis Reflection spectroscopy offers a fast and nondestructive method for estimating pigments ratio in leaves. In this research three indices, including SIPI, ND and PSRI have been used to determine Cars/Chl ratio. The results show that a sharp decrease in the ratio of carotenoid to chlorophyll for olive leaf to about 172.4 times, orange to 27.7 times, and berry to about 15.6 times.

Keywords: Reflectance spectrum, pigments, chlorophyll, carotenoid

مقدمه

رنگدانه‌های موجود در برگ درختان مجری اصلی فتوسنتز در درختان هستند. جذب نور در محدوده طیفی مرئی به طور کلی به میزان دو رنگدانه کلروفیل و کاروتن (Chl a, Cars) بستگی دارد. در گذشته برای تعیین میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی بیشتر روش‌های آنالیز شیمیایی به کار برده می‌شد. امروزه روش‌های مختلف طیف‌سنجی سریع و بدون هیچ گونه اثر تخریبی بر نمونه‌ها برای این منظور بکار گرفته شده است. مشخصه‌یابی برگ چای با بهره‌گیری از طیف‌سنجی رامان [۱]، بررسی اثرات محیطی مانند دما، میزان قلیایی بودن خاک، دمای آب و میزان رطوبت محیط با استفاده از طیف‌سنجی ماورای بنفش- مرئی در جنگل‌های حرا [۲]، اثر تغییر فصل بر نسبت رنگدانه‌های موجود در برگ درختانی چون سیب، افرا، فندق و ... [۳] از جمله مطالعاتی است که در این زمینه انجام شده است. طیف بازتاب و جذب برگ درختان به نوع و میزان رنگدانه‌های موجود در آن‌ها بستگی دارد. برگ یا گل هرگونه گیاهی از خود اثر طیفی منحصر به فردی به جای می‌گذارد که با نوع و تمرکز رنگدانه موجود در آن رابطه مستقیم دارد. به طور مثال گیاهان فاقد آنتوسیانین در ناحیه سبز عبور و بازتاب بیشتری از خود نشان می‌دهند [۴]. میزان رنگدانه درختان می‌تواند اطلاعات بسیار مفیدی درباره چگونگی رفتارهای فیزیولوژیکی آن‌ها ارائه دهد. کلروفیل و کاروتن از مهم‌ترین رنگدانه‌های فتوسنتزی موجود در برگ درختان و سلول‌های فتوسنتزی هستند. نوسانات در میزان این رنگدانه‌ها رابطه مستقیمی با میزان محصول‌دهی درخت دارد. مولکول‌های کلروفیل (Chl a) که به آن‌ها آنتن گفته می‌شود وظیفه جذب نور خورشید را عهده دارند. کاروتن‌ها (Cars) سلول‌های محافظ نوری برگ هستند و از برگ در برابر نور فرودی مخرب محافظت می‌کنند. خواص اپتیکی (بینایی) گیاهان به وسیله ضریب شکست مختلطی مشخص می‌شود که بخش حقیقی این ضریب شکست میزان پراش، و بخش مختلط میزان جذب برگ گیاه را مشخص می‌کند. دو

رنگدانه کاروتن و کلروفیل در طول موج‌های ۵۰۰-۳۰۰ نانومتر دارای جذب بالایی هستند، به همین دلیل محاسبه میزان کاروتن به طور مستقل کار دشواری است. اما برخلاف کلروفیل، کاروتن در ناحیه قرمز جذبی ندارد. کلروفیل در نواحی آبی و سبز و قرمز خطوط طیفی دارای جذب بالایی است [۵]. در مطالعات انجام شده به دلیل همپوشانی و میزان بیشتر رنگدانه کلروفیل، به جای محاسبه میزان کاروتن، به طور مستقل به اندازه‌گیری نسبت کاروتن به کلروفیل پرداخته شده است [۶]. سه ناحیه طیفی که برای محاسبه نسبت کاروتن به کلروفیل مناسب هستند عبارتند از:

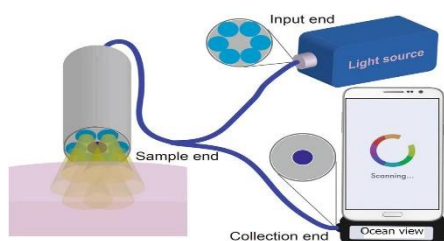
ناحیه آبی-قرمز [$450 < \lambda_1 < 500$, $650 < \lambda_2 < 690$]

ناحیه سبز-قرمز [$500 < \lambda_1 < 620$, $650 < \lambda_2 < 690$]

ناحیه قرمز [$600 < \lambda_1 < 700$, $700 < \lambda_2 < 800$]

مواد و روش انجام آزمایش

در این پژوهش از دستگاه طیف سنج (HR4000-GC-UV-NIR) و منبع نوری (DH-2000) ساخت شرکت Ocean optic که پهنای طیفی ۱۹۴-۱۱۰۰ نانومتر دارد، جهت اندازه‌گیری طیف بازتابی استفاده و طیف بازتاب سه‌گونه زیتون، نارنج و توت اندازه‌گیری شده است.



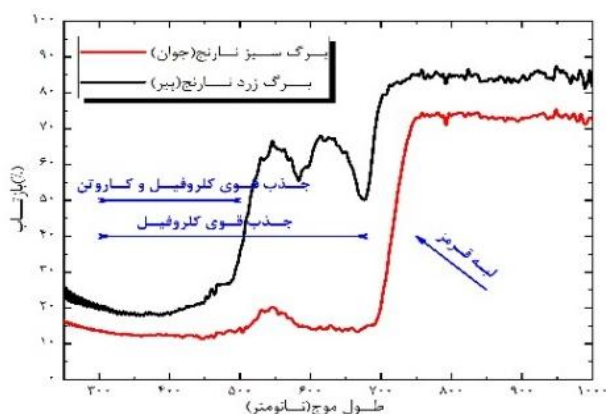
شکل ۱: طرح شماتیک از چیدمان دستگاه طیف سنجی

محاسبات و نتایج

طیف بازتابی از هر کدام از سه نمونه برگ درخت فوق‌الذکر رسم شده و مطابق با شاخص‌های طیفی (ND, SIPI, PSRI) تحلیل و نتایج حاصل شده است که به شرح زیر می‌باشند [۵، ۷]:

جدول ۱: شاخص‌های طیف بازتابی برگ درخت توت

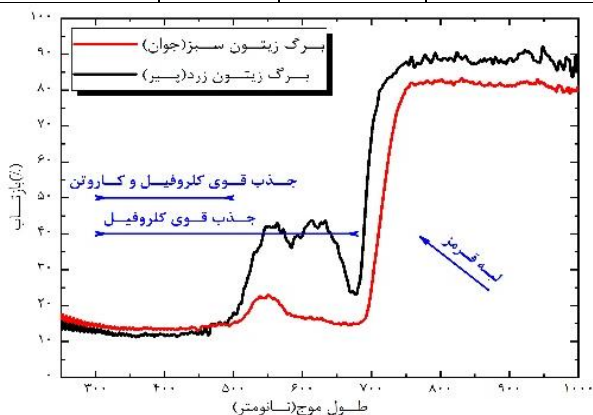
PSRI	SIPI	ND	
۰,۰۲	۱,۰۷	۰,۳۴	برگ سبز
۰,۳۱	۲,۱۲	۰,۰۲۵	برگ زرد



شکل ۳: طیف بازتاب برگ سبز و زرد درخت نارنج

جدول ۲: شاخص‌های طیف بازتابی برگ درخت نارنج

PSRI	SIPI	ND	
۰,۰۰۷	۱,۰۶	۰,۶۴	برگ سبز
۰,۱۹	۱,۸۶	۰,۰۳	برگ زرد



شکل ۴: طیف بازتاب برگ سبز و زرد درخت زیتون

$$ND = (R_{750} - R_{705}) / (R_{750} + R_{705}) \quad (۱)$$

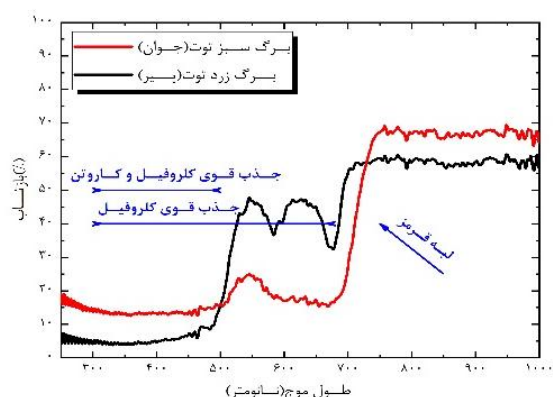
$$SIPI = (R_{800} - R_{445}) / (R_{800} - R_{680}) \quad (۲)$$

$$PSRI = (R_{680} - R_{500}) / R_{750} \quad (۳)$$

شاخص تفاوت نرمالیزه شده (Normalized Diffrence)، نشان‌دهنده میزان کلروفیل موجود در برگ گیاه است. محدوده طیفی انتخاب شده جهت محاسبه و همچنین نرمال کردن شاخص (ND) در ناحیه جذب قوی رنگ دانه کلروفیل می‌باشد. برگ در این محدوده طیفی، رنگدانه جذب دیگری ندارد. میزان کلروفیل در گیاه رابطه مستقیمی با میزان فتوسنتز و تولید محصول دارد [۶].

شاخص (Structure-Insensitive Pigment Index) نسبت طیف جذبی کاروتن را به کلروفیل مشخص می‌کند. همانطور که بیان شد به دلیل هم‌پوشانی جذب کاروتن و کلروفیل نمی‌توان میزان کاروتن را به طور مستقل محاسبه کرد. با در نظر گرفتن بیشینه جذب کاروتن که در محدوده ۴۰۰-۵۰۰ نانومتر و جذب کلروفیل در ۶۸۰ نانومتر می‌توان نسبت کاروتن به کلروفیل را محاسبه کرد. بزرگی این نسبت می‌تواند به عوامل مختلفی از جمله استرس و سلامتی گیاه بستگی داشته باشد [۶، ۷].

با استفاده از شاخص (Plant Senescence Reflectance Index) تغییرات میزان رنگدانه کاروتن نسبت به کلروفیل را می‌توان مشخص نمود. همچنین می‌توان میزان جذب و بکارگیری موثر نور ورودی را در سلول فتوسنتزی مشخص کرد [۶].



شکل ۵: طیف بازتاب برگ سبز و زرد درخت توت

۲۷,۷ برابری نیز باعث جهش ۴۰ تا ۵۰ درصدی بازتاب در ناحیه طیفی ۷۰۰-۵۰۰ نانومتر شده است. برگ درخت توت کمترین میزان کاهش (۱۵,۶ درصد) در نسبت کاروتن به کلروفیل در بین سه نمونه فوق را داشته است. لذا ویژگی‌های طیفی-اپتیکی برگ درختان به میزان زیادی به نوع رنگدانه‌ها و حجم آن‌ها در ساختار برگ بستگی دارد. بنابراین مشاهده می‌شود که برای شناسایی خواص و رفتار فیزیکی رنگدانه‌هایی مانند کلروفیل، کاروتن، آنتوسیانین و ... می‌توان از روش سریع و غیرمخرب مشخصه‌یابی به وسیله طیف بازتاب و جذب استفاده کرد. آشنایی و درک رفتار بازتاب و جذب برگ درختان در محدوده‌های نوری می‌تواند باعث ایجاد الگوی مناسب برای کاشت گونه‌های مختلف گیاهی در مناطق با اقلیم‌های متفاوت شود. از جمله درختان با برگ‌های بازتاب کننده قوی مادون قرمز در نواحی سرزمینی با تابش زیاد جهت خنک نگه داشتن بیشتر محیط و شهرها می‌تواند مد نظر قرار گیرد.

مرجع‌ها

- [۱] J. Zeng *et al.*, "Quantitative visualization of photosynthetic pigments in tea leaves based on Raman spectroscopy and calibration model transfer," *Plant Methods*, vol. 17, no. 1, p. 4, 2021/01/06 2021.
- [۲] B. Castellanos-Basto, J. Herrera-Silveira, É. Bataller, and R. Rioja-Nieto, "Local Drivers Associated to Temporal Spectral Response of Chlorophyll-a in Mangrove Leaves," *Sustainability*, vol. 13, no. 9, p. 4636, 2021.
- [۳] M. N. Merzlyak, A. A. Gitelson, O. B. Chivkunova, and V. Y. Rakitin, "Non-destructive optical detection of pigment changes during leaf senescence and fruit ripening," *Physiologia Plantarum*, vol. 106, no. 1, pp. 135-141, 1999.
- [۴] R. Falcioni, T. Moriawaki, M. Pattaro, R. Herrig Furlanetto, M. R. Nanni, and W. Camargos Antunes, "High resolution leaf spectral signature as a tool for foliar pigment estimation displaying potential for species differentiation," *Journal of Plant Physiology*, vol. 249, p. 153161, 2020/06/01/ 2020.
- [۵] J. Penuelas, F. Baret, and I. Filella, "Semi-empirical indices to assess carotenoids/chlorophyll a ratio from leaf spectral reflectance," *Photosynthetica*, vol. 31, no. 2, pp. 221-230, 1995.
- [۶] D. A. Sims and J. A. Gamon, "Relationships between leaf pigment content and spectral reflectance across a wide range of species, leaf structures and developmental stages," *Remote Sensing of Environment*, vol. 81, no. 2, pp. 337-354, 2002/08/01/ 2002.
- [۷] G. Le Maire, C. Francois, and E. Dufrene, "Towards universal broad leaf chlorophyll indices using PROSPECT simulated database and hyperspectral reflectance measurements," *Remote sensing of environment*, vol. 89, no. 1, pp. 1-28, 2004.

جدول ۳: شاخص‌های طیف بازتابی برگ درخت زیتون

PSRI	SIPI	ND	
-۰,۰۰۱	۱,۰۱	۰,۶۴	برگ سبز
۰,۱۷	۱,۳۶	۰,۰۸	برگ زرد

کاهش حجم کلروفیل و همچنین افزایش نسبت کاروتن به کلروفیل با گذشت زمان و عمر برگ، در تمامی شاخص‌های محاسبه شده به خوبی مشاهده می‌شود. شاخص (PSRI) نشان دهنده نسبت تجمع کاروتن به کلروفیل است. اندازه تغییرات این نسبت در سه گونه گیاهی مورد بررسی در جدول زیر مقایسه شده است:

جدول ۴: مقایسه میزان افزایش نسبت کاروتن به کلروفیل در

نمونه‌ها

گونه	زیتون	نارنج	توت
PSRI برگ سبز	-۰,۰۰۱	۰,۰۰۷	۰,۰۲
PSRI برگ زرد	۰,۱۷	۰,۱۹	۰,۳۱
نسبت PSRI برگ زرد به برگ سبز	۱۷۲,۴	۲۷,۷	۱۵,۶

در میان سه گونه گیاهی، زیتون بیشترین افت میزان کلروفیل را در هنگام پیری برگ (اثر تغییر فصل) دارد.

نتیجه گیری

در این پژوهش نسبت کاروتن به کلروفیل سه گونه گیاهی با استفاده از روش طیف‌سنجی بازتابی که در اثر بیانگر مقادیر کمی رنگ برگ گیاهان فوق بوده است، بررسی شد و کاهش ۱۷۲,۴ برابری در نسبت کاروتن به کلروفیل برگ زرد درخت زیتون نسبت به برگ تازه و سبز مشاهده شده است. حاصل این تغییر، افزایش در بازتاب برگ در محدوده رنگی طیفی برگ‌های توت و زیتون از حدود ۲۰ درصد به حدود ۵۰ درصد بوده، در حالی که برای برگ نارنج از کمتر از ۲۰ درصد به حدود ۷۰ درصد بازتاب در ناحیه مرئی خصوصاً بین ۵۰۰ تا ۷۰۰ نانومتر افزایش یافته‌اند. نتایج محاسبات برای برگ نارنج کاهش کمتری در نسبت کاروتن به کلروفیل را نشان می‌دهد اما همین کاهش