

Copyright © 2024 by Cherkas Global University



Published in the USA
Biogeosystem Technique
Issued since 2014.
E-ISSN: 2413-7316
2024. 11(1): 27-81

DOI: 10.13187/bgt.2024.1.27
<https://bgt.cherkasgu.press>



Application of Digital Correlation-Spectral Analysis for Identification, Classification and Separation of Plant Roots and Plant Root Tissues: Simple Low-Cost Alternatives for Laser Diffractometer Based 2D FFT Pattern Recognition Techniques

Fedor K. Orekhov ^{a, *}, Natalja A. Rubtsova ^a

^a Semenov Institute of Chemical Physics, CHEMBIO Dept., Moscow, Russian Federation

Paper Review Summary:

Received: 2024, March 11

Received in revised form: 2023, June 21

Acceptance: 2023, June 26

Abstract

In this article, we propose to use real-time correlation-spectral analysis systems (developed in FEB RAS) to identify morphometric classes of plant roots and consider this solution as a full-fledged alternative to outdated analog laser/optical diffractometry and laser Fourier technology with the calculation of Lendaris parameters/indices and the construction of projection transformants. The proposed technique can be implemented using a PC, laptop or tablet with older operating systems. Simplicity and low cost make this technique accessible to users from the agricultural industry who are not specialists in the field of optics or laser physics. In this article, we tried, in clear language, without resorting to formulas, to explain to botanists and agricultural specialists what, in essence, the method under consideration is, what advantages it brings to practicing botanists and what information can be extracted using it (not excluding the description of artifacts and errors, which can lead to disappointment in the method, which is based on an error rather than the incorrectness of the proposed method). The second part of the article provides an atlas catalog of Fourier spectra and microphotographic images of corresponding botanical forms and structures.

Keywords: roots, 2D FFT, laser diffractometer, agricultural qualimetry.

1. Введение

Среди известных агротехнических целей использования лазерной техники – как в качестве средств измерений, так и в качестве инструмента воздействия на растение (Dinoev, 2006; Hernandez, 2010; Askraha et al., 2016) – одним из наименее исследованных объектов исследования или воздействия, среди прочих вегетативных органов растений, является корень. Это связано, по-видимому, с его низкой доступностью для оптических методов *in situ* (в ходе вегетации) в естественных условиях и затрудненностью поддержания его нативных физиологических характеристик вне среды. Вместе с тем, работая в режимах аэропоники и гидропоники, можно облегчить доступ лазера к корням, как в случае необходимости воздействия на них, так и в случае метрологической потребности в доступе.

* Corresponding author

E-mail addresses: theorehov@gmail.com (F.K. Orekhov)

Вероятно, отсутствие подобной практики обусловлено не биологическими и физико-техническими противоречиями, но пренебрежительно малым числом прецедентов использования лазеров в аэропонике и гидропонике как таковой (в том числе – в качестве средства измерений параметров вегетации или размеров фитоанатомических структур (Ueno et al., 2016; Bawiec et al., 2019)). Существующие «ризотроны» и «миниризотроны», предназначенные для отслеживания компонентной динамики архитектуры корневой системы с течением времени, даже имплементируемые на многоволновых/мультиспектральных принципах регистрации сигнала, обычно не являются позиционно-чувствительными (картирующими фитоанатомические/«органографические» особенности в распределениях свойств корневой системы) устройствами – именно в силу специфики работы через почвенный покров (Rahman et al., 2020).

В то же время, наличие множества работ с использованием лазерной техники, в том числе картирующей лазерно-аналитической техники высокого разрешения, для исследования корней в лабораторных условиях, говорит о информативности, а также позиционной чувствительности лазерных измерений корневых структур. В качестве наиболее общеупотребительных примеров подобных измерений (без учета экзотических лазерных техник, в частности мембранных фемтосекундных (Tirlapur & König, 1999) или терагерцовых аналитических измерений, которые могут реализовываться и не в лазерном исполнении (Su et al., 2008), позволяющих извлекать фитофизиологическую и фитохимическую информацию при анализе корней, можно назвать:

1. Флуоресцентную конфокальную лазерную сканирующую микроскопию (Yu et al., 2001; Dubrovsky et al., 2006), позволяющую отслеживать химические градиенты, в частности – редокс-градиенты с введением «рациометрических», стехиометрически фиксируемых аналитом красителей (Ghosh et al., 2016; Martinière et al., 2018), изменяющих интенсивность сигнала в зоне ROI пропорционально локальной концентрации аналита (для лазерно-опосредованной визуализации редокс-градиента в органах растений существуют как синтетические красители, так и специфичные белковые маркеры – типа НуPer-подобных белков в методах измерения восстановления флуоресценции после фотообесцвечивания, известных под аббревиатурой FRAP); технические вариации применения методов CLSM (в том числе двухфотонные и многофотонные (Meyer, Fricker, 2000), динамические и кинетические (Roberts et al., 2010)) для корней, извлеченных из их нативной среды, не имеют значения, так как, когда речь идёт о секционировании образцов / микротомии, внедрении красителей, экспериментах с фотовыжиганием и наработкой активных форм кислорода, подобные техники измерений, в принципе, не относятся к методам неразрушающего контроля (целью которых является совместимость с нормальным фитофизиологическим состоянием препарата и, как следствие, имплементируемость метода на длительных промежутках *in situ* мониторинга в естественных условиях произрастания);

2. Методы лазерно-опосредованной масс-спектрометрии – в особенности с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией (MALDI) (Sun et al., 1998; Choudhary et al., 2015), допускающей мультиплексированную химическую диагностику/«футпринтинг» фитофизиологических состояний и патологий растений по множеству коррелируемых и колокализуемых факторов (ферментов, фитогормонов (Shiono, Taira, 2020; Shiono et al., 2017)), в том числе – в позиционно-чувствительном либо «имэджинговом» (картирующем) режиме; недостатком MALDI обычно считается необходимость пробоподготовки до диспенсирования образца на MALDI target или изготовление срезов образца для MALDI imaginga, однако, с нашей точки зрения, основная проблема состоит также, как и в предыдущем случае, в невозможности исследования корней *in situ* – в силу несоблюдения критериев неразрушающего контроля (речь идёт, в том числе, и о наличии матрицы, препятствующей культивированию/поддержанию экспланта или культуры клеток, извлеченных из корня);

3. Более ранние методы лазерно-опосредованной масс-спектрометрии, как правило, не удовлетворяющие критериям неразрушающего контроля, в силу высокой удельной энергии, поступающей на образец при абляции, используемой, как правило, при элементном анализе или картировании распределения элементов в корнях (Eeckhaoudt et al., 1992; Moradi et al., 2010; Shelden et al., 2020; Richter-Brockmann et al., 2020) (исключая сопряженные с электроспрей-ионизацией современные методы анализа метаболитов, в том числе – идентифицирующие метаболиты почвенной микрофлоры и симбиотических

азотфиксирующих клубеньковых бактерий корня (Stopka et al., 2017), не допускающие картирования и позиционно-чувствительного анализа биоматериала);

4. Лазерно-опосредованный атомно-эмиссионный спектральный анализ, в частности – лазерно-искровая эмиссионная спектроскопия (LIBS, LIPS) в анализе элементного состава корней растений и состава окружающей среды, элементный обмен с которой они осуществляют (Hassan et al., 2013; Liu et al., 2018; Wang et al., 2018); метод, по определению, не инвазивный, требующий изъятия пробы корня из среды (равно как и в целом для агротехнической квалиметрии (Peng et al., 2016), при стандартной длительности лазерных импульсов (обычно более 1000 фс) приводящий к несовместимой с жизнью клетки теплопередаче в объёме образца, испаряющей биологические жидкости в плазменном факеле;

5. Методы лазерной микродиссекции как тканей корня (преимущественно, от ризодермы/эпibleмы до эндодермы, не достигая перидермы) (Klink et al., 2009; Mounier, et al., 2020), реализуемые для химического и транскрипционного профилирования в индивидуальной норме и патологии (Klink et al., 2005; Schuller et al., 2014; Jaiswal et al., 2018; Youssef et al., 2019; Popp et al., 2020), а также при контроле аллелопатии и симбиогенетических биохимических/семиохимических эффектов, включая клеточный сигналинг условно-патогенных видов и видов-комменсалов (от микробиома до нематод почвы (Klink et al., 2005, 2007; Hogekamp et al., 2011; Roux et al., 2014); этот класс методов можно считать комплементарным для другого лазерного класса методов, используемого для анализа явлений колонизации корня – методов конфокальной лазерной сканирующей микроскопии (см. п. 1 настоящего списка), являющихся эффективным средством контроля не только формирования микоризы, но и имеющих значение для практики карантина растений процессов контаминации и внутреннего корневого распространения инфекции либо ингибирования микроорганизмом той или иной активности корня на интерфейсе с ним (Hansen et al., 1997; Vierheiling et al., 1999; Vierheilig et al., 2001; Qianli et al., 2001; An et al., 2010; Krzyzanowska et al., 2012; Hulse, Braselton, 2019).

Итак, очевидно, что все перечисленные распространенные методики, увы, не являются применимыми для фитофизиологического анализа состояния корня как *in vivo*, так и *in situ*, на временных масштабах, соответствующих вегетационным и фенологическим постоянным (в том числе циркадианным и феноспектральным ритмам), и не являются методами неразрушающего контроля состояния корня – в смысле отсутствия возможности возврата образца в естественные условия после измерений с целью дальнейшего наблюдения в хроническом эксперименте.

Кроме того, уникальность изъятых образцов без привязки к физиологически релевантным условиям эксперимента и морфо-анатомическим дескрипторам, как правило, делает невозможным корреляционный мета-анализ данных, в контексте реального состояния растения в момент эксперимента или же выборки образцов. Поэтому, несмотря на обширные приложения современного статистического (Honghong, Zhengu, 1998), «data mining»-ового (Pradhan, Mezaal, 2018) и хемометрического (в том числе в анализа результатов агрохимических приложений лазерно-искровой эмиссионной спектроскопии (Erler et al., 2020)) программного обеспечения в лазерных исследованиях агрофизических систем или отдельных серий образцов растений на разных пространственных масштабах (от клеток до ландшафтов и экосистем, наблюдаемых методом мультиспектральной аэрофотосъёмки и же с использованием спутниковых и суборбитальных систем регистрации, в том числе – для анализа корневых патологий либо недостаточной ирригации корней (Yang et al., 2016; Espinoza et al., 2018; Veysi et al., 2020), корректный статистический корреляционный анализ с необходимым пространственным разрешением для корневых структур обычно, увы, не реализуется. Как следствие этого, и кластеризация корней по размерам и спектрально-геометрическим показателям, выявляемым методами машинного обучения без учителя, на таких данных не осуществляется. Корреляционно-морфологический анализ, позволяющий выявить тренды тех или иных процессов роста и развития или патогенеза, также не производится *in situ*, а методы анализа после выемки из почвы, в большинстве случаев, реализуются как средство индустриальной квалиметрии (например – «предфасовочный контроль» в хранилищах корнеплодов в ФРГ) и, для простоты, обеднены дескрипторами.

Между тем, как обычная морфометрия структур тканей корней (с клеточным разрешением (Scherer et al., 1992; Kuya, Sato, 2011), так и динамическая (с привязкой к точке в росте и развитии растения (Dong et al., 2015) оптическая морфометрия до сих пор не потеряли ценность, а метод трёхмерного лазерного сканирования и объёмной морфометрии структур корней (Wagner, 2010), равно как и методы оптической когерентной (лазерной) томографии (Sekulska-Nalewajko et al., 2014) ещё только начинают входить в повсеместное использование. Поэтому целесообразна разработка статистических методов анализа формы корней и их консолидации на трёхмерных массивах данных, по крайней мере, начиная с двумерных проекций, позволяющих извлекать интегральные пространственные характеристики корней и визуализировать ориентацию их в пространстве (валидируя, параллельно с тем, роль геотропизма / гравитропизма и других тропизмов, которые можно свободно наблюдать только в условиях аэропоники, гидропоники). Однако современными авторами используются намного менее автоматизированные, но более простые, с эвристических позиций, подходы к анализу результатов лазерного сканирования корней (Heeren et al., 2020). При этом, возможностью анализа в реальном времени пренебрегают, в силу отсутствия программного обеспечения для выдачи статистики параметров изображений в реальном времени. Нужно отметить, что корреляционный анализ, в принципе, часто используется ботаниками и агротехниками при анализе целого ряда индивидуальных биохимических (Meng et al., 2013; Zheng et al., 2014; Zargar et al., 2015) и аддитивно-массовых параметров (Yong-ping, 2009), в том числе – в биометрии, используемой для целей гибридизации/селекции (Levy et al., 1983). Поэтому можно полагать, что при наличии программы для корреляционного анализа параметров изображений корневых структур, она была бы задействована в автоматизированном анализе с учетом полных гистограмм распределений – как интегральных пространственных характеристик, так и интегральных частотных/компонентных (структурометрических – гранулометрических, цитометрических) характеристик на соответствующих выборках. Подобный метод корреляционно-спектральной морфометрии мог бы использоваться и в полевых условиях.

Учитывая возможность использования лазера как средства воздействия на корневую систему (Wójcik, 1994; van den Berg et al., 1998; Koper et al., 1996; Li et al., 2012; Suhua et al., 2012; Pan, Li, 2012), возникают логичные идеи интеграции действия лазера и использования его как метрологического средства, т.е. «тераностики» на новых физических принципах – в нашем случае «фито-тераностики» корня. Если учитывать, что как неорганические частицы, сорбируемые корнем, так и отлично флуоресцирующие пигменты корня могут быть фосфорами и репортерами об его фитохимическом и физиологическом статусе (Fellows et al., 2003; Thakur & Gathania, 2017), можно использовать это как аргумент в пользу возможности использования лазерных методов без меток/флуоресцентных зондов. Вместе с тем, принципы корреляционно-спектрального анализа в реальном времени как раз являются «беззондовыми», «безметочными». Более того, они работают в цифровой версии и без когерентного источника – что говорит об их совместимости с оптическим мониторингом состояния корней при использовании аэропонных технологий выгонки без когерентных источников.

2. Постановка задачи

Наша задача, таким образом, состоит в создании нового метода, использующего как физический базис, принципы лазерной оптики (и многомерной / многоканальной лазерной аналитики) в исследовании корней, удовлетворяющего комплексным критериям:

1. Неразрушающего контроля (в идеале – без разрушающего воздействия лазера, но с предоставляемыми им возможностями на уровне одиночно исследуемых корней);
2. Возможности сепарированного анализа отдельных каналов регистрации (то есть – спектральной, мультиспектральной и гиперспектральной техник, с разложением по спектральным/колориметрическим каналам той или иной ширины спектрального окна);
3. Возможности корреляционно-спектрального анализа *in situ*, в реальном времени;
4. Независимости качества анализа от размера структур, т.е. возможность работы как с микроскопическими, так и с мезоскопическими данными.

3. Материалы и методы (аналоговая версия)

Первые попытки аппаратной реализации лазерной установки были аналоговыми. Изначально, для тестирования принципа нами использовалась установка на базе HeNe-лазера, построенная по классической схеме Вайнштейна (Vainštejn, 1973) (Рисунки 1а, б). Данный оптико-дифрактометрический стенд обеспечивал «оптическую эффективность» в диапазоне размеров структур, ограниченном дифракцией лазерного пучка на тех или иных биологических, в частности – корневых, структурах, что определялось соотношением длины волны пучка, апертуры и размеров данных структур. Из-за этого и как достаточно крупные корни, так и тканевые элементы ризодермы, как правило, не удавалось разрешить эффективно. В силу этого, было решено искать альтернативные решения.

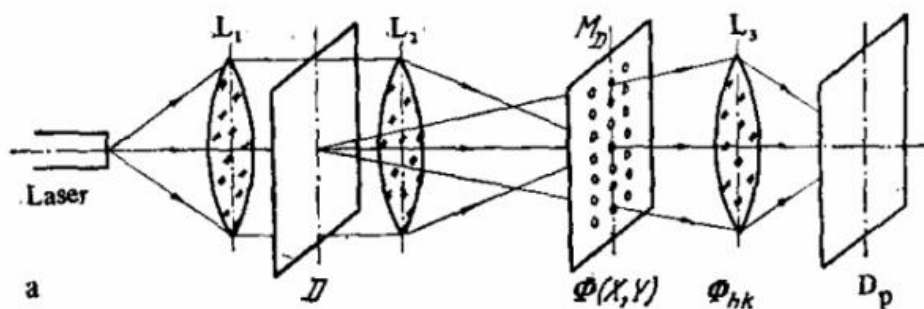


Рис. 1а. Схема оптического дифрактометра (L_1 – L_3 — линзы оптической системы, D — объект, MD — плоскость дифракции и маска, пропускающая только Φ_{hk} , D_p — плоскость (фильтрованного) изображения)



Рис. 1б. Инструментальная реализация тестовой установки (использованной ранее в статье (Скрынник и др., 2018))

В силу этого был осуществлен переход к использованию автоматизируемой версии лазерного дифрактометра ИФ-124, предназначенного для исследования и регистрации спектра пространственных частот микротранспарантов или анализа гранулометрической и дисперсной структуры рассеивающих лазерное излучение объектов, содержащих упорядоченные и не упорядоченные структуры. Прибор в изначальной конфигурации может использоваться также как инструмент анализа размеров индивидуальных частиц и структур, дифракции Фраунгофера, контроля эффективности пространственной фильтрации изображений (источник описания, включая графическую схему, здесь и далее (Семченко, Хахомов, 2007)). В схеме данного дифрактометра лазерный луч проходит через объектив телескопической системы, светофильтр и фотозатвор, за которым по ходу тракта

размещены зеркала, и попадает на второй объектив 8. Лазерный луч, расширенный телескопической системой, попадает на исследуемый объект или сетку, помещенную на предметный столик. Рассеянные сеткой лучи проходят через линзу, в фокальной плоскости которой формируется дифракционная картина. Так объектив, при помощи зеркал, создает изображение сетки на матовом экране проекции.

Компонентная схема прибора приведена на [Рисунке 2а](#). Оптическая схема прибора приведена на [Рисунке 2б](#).

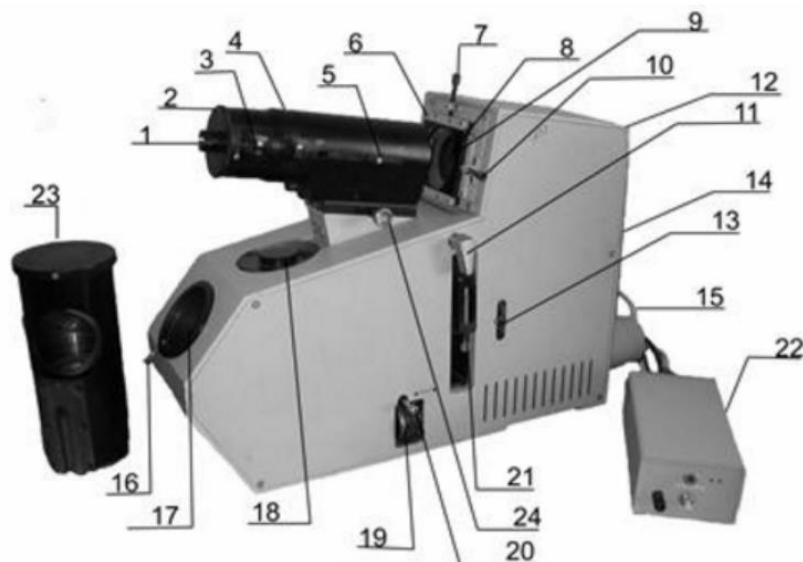


Рис. 2а. Компонентная схема лазерного дифрактометра ИФ-124 (Семченко, Хахомов, 2007):

1. окулярная область;
2. дифракционный объектив;
3. калибровочная сетка;
4. линза, в задней фокальной плоскости которой формируется дифракционное изображение, представляющие собой Фурье–спектр.
5. винт фиксации увеличения дифракционного объектива;
6. фильтрующая линза;
7. микровинт позиционирования и фиксации;
8. столик масок для размещения щели;
9. входное окно с позиционером;
10. микровинт позиционирования и фиксации;
11. ручка управления областью размещения объекта;
12. задняя крышка;
13. диафрагма, ограничивающая размер анализируемого участка (ROI);
14. светоизолирующий корпус прибора (кожух);
15. гелий-неоновый лазер;
16. винт фиксации матового экрана;
17. отверстие фиксации матового экрана;
18. крышка холостого тракта;
19. поглощающие светофильтры;
20. рукоятка регуляции блока поглощающих фильтров;
21. рамка с исследуемым объектом;
22. блок питания лазера;
23. репродукционный объектив;
24. винт-фиксатор.

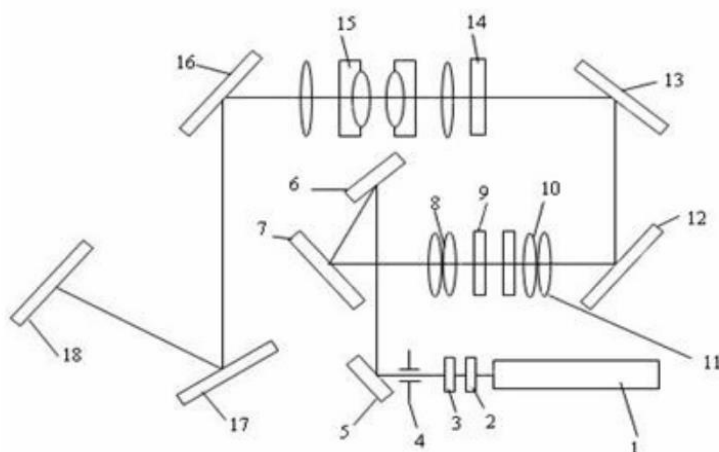


Рис. 2б. Оптическая схема лазерного дифрактометра ИФ-124:

1. гелий-неоновый лазер;
2. объектив телескопической системы;
3. светофильтр;
4. фотозатвор;
5. зеркало;
6. зеркало;
7. зеркало;
8. объектив;
9. предметный столик;
10. линза, в фокальной плоскости которой формируется дифракционная картина,
11. вторая линза;
12. зеркало;
13. зеркало;
14. фокальная плоскость;
15. объектив;
16. зеркало;
17. зеркало;
18. матовый экран, на котором создаётся изображение.

4. Методы (цифровая версия): полностью цифровая реализация 2D FFT, не использующая когерентную генерацию и оптический дифрактометр.

Сама идея использования Фурье-преобразования для анализа корней была, в определенной степени, новой – не задействованной в предшествующих работах, равно как и являющийся её прототипом лазерно-дифрактометрический подход. Нами использовалась реализация корреляционно-спектрального анализа под QAVIS, реализованная на библиотеке FFTW коллективом Лаборатории анализа океанологической информации (разработчики – Гончарова А.А., Фищенко В.К.) ОИТ Тихоокеанского океанологического института им. В.И.Ильичева ДВО РАН. Оперативность обработки видеоданных обеспечивалась использованием одной из наиболее «быстрых» библиотек дискретного преобразования Фурье – FFTW и оптимизацией программного кода QAVIS авторами данной программы (это ПО работает с видеопамью, что позволяет обрабатывать все кадры видеопотока одновременно с его просмотром на экране ЭВМ) (Дубина и др., 2011; Гончарова и др., 2012; Dolgikh et al., 2019; Fischenko et al., 2021, 2022; Градов и др., 2018, 2019). Процедура корреляционно-спектрального анализа осуществляется в QAVIS с использованием двух GUI-инструментов – «спектрального анализа» (2D FFT – двумерный Фурье-спектр), основанного на периодограммой оценке спектральной плотности мощности, и «корреляционного анализа», основанного на вычислении взаимной корреляционной функции.

Фрагменты работ по настройке и модернизации дифрактометра проиллюстрированы на [Рисунках 3](#). Удалось в ходе тестирования схем произвести картирование фотограмм корневой системы, отображающие редокс-активность корней («хемоавтограммы»). Можно было при продолжении работ совершенствовать подход, подбирая оптические компоненты

для оптимизации разрешения для живых корней. Однако поломка на оптическом тракте и выход из строя лазера привели к поиску лазерно-независимого метода, в рамках которого проблемы с разрешением преодолеваются цифровым путем при помощи эмуляции лазерной дифракции двумерным преобразованием Фурье.

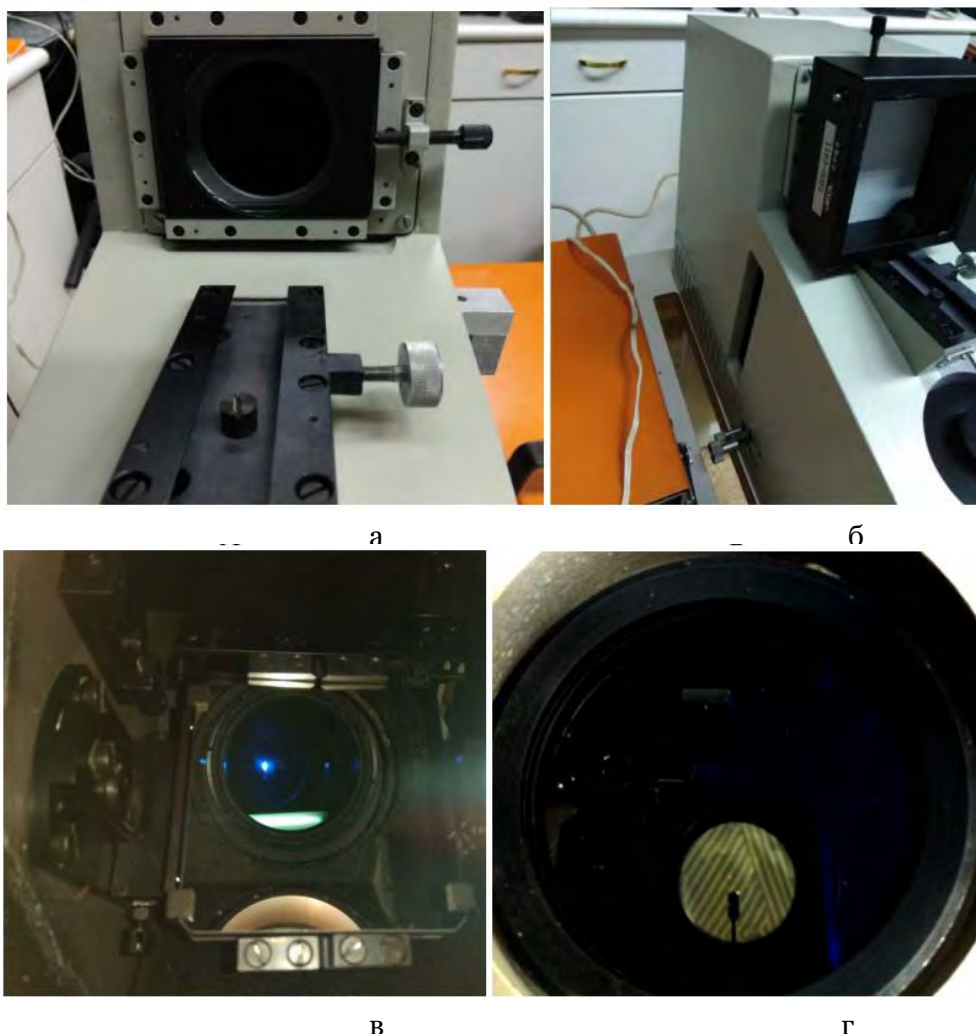


Рис. 3. Элементы процесса восстановления, настройки, тестирования и модернизации оптического тракта рефрактометра ИФ-124

5. Базовые примеры использования оптико-дифрактометрического 2D FFT подхода.

Рассмотрим результаты описанного подхода. При эмуляции дифракции на одиночных продольных элементах растительной ткани с высокой оптической плотностью регистрируется четкий мономаксимум без модуляции интенсивности (при любом уровне рассеяния на окружающих частицах), как это видно на [Рисунках 4а, б](#).

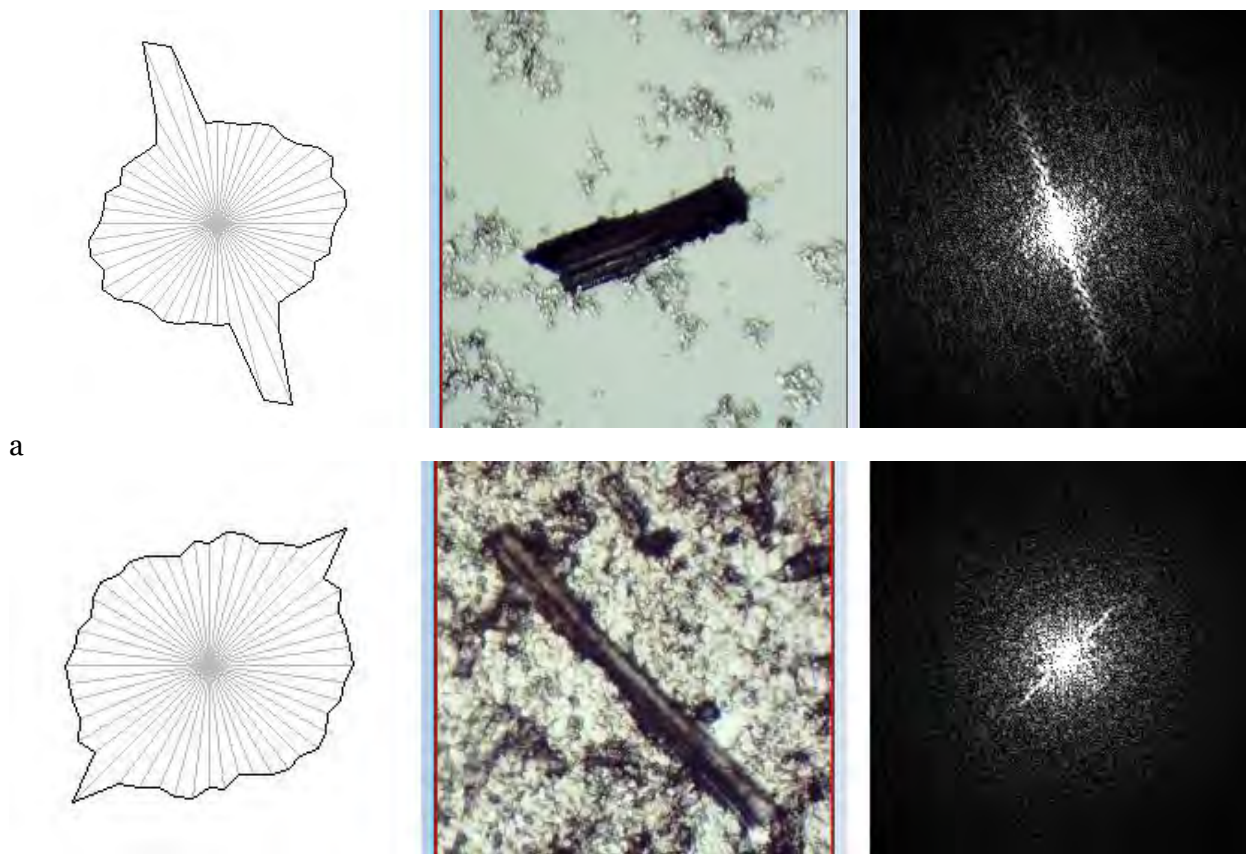


Рис. 4. Корни хрена (измерение в капле, 100×). Эмульция дифракции на одиночных продольных элементах растительной ткани с высокой оптической плотностью

При увеличении тех же микрообъектов без разрешенной микроструктуры, оптически плотных на низких увеличениях, в несколько раз (например, см. [Рисунок 5](#); в данном случае - в 4 раза, от 100× до 400×) оптическим путем (не цифровое увеличение, а смена объектива), нередко удается разрешить клеточную структуру и увидеть тонкие элементы модуляции двумерного БПФ (2D FFT), обусловленные ею.



Рис. 5. Корни хрена (измерение в капле, 400×). Положительный результат попытки разрешить клеточную структуру и увидеть тонкие элементы модуляции двумерного БПФ (2D FFT), обусловленные ею, путем увеличения переходом на более высокоразрешающий объектив в револьверной турели микроскопа

При разрешении клеточной структуры образца, работающей как дифракционная решетка, формируется модуляция исходного пика рассеяния, как это показано на [Рисунке 6](#).



Рис. 6. При разрешении клеточной структуры образца, работающей как дифракционная решетка, формируется модуляция исходного пика рассеяния

Чем меньше слоев клеток визуализируется или чем меньше поперечных перегородок, тем меньше визуализируется кросс-модуляция, связанная, как правило, с "несинфазными" (т.е. несинхронными по расположению клеток) слоями. Чем больше статистика слоев, тем они более монотонно выступают на интегральной пространственной характеристике и спектре БПФ. Такой тип 2D ориентации свойственен для регистрации рассеяния на компоненте тканей с параллельными рядами клеток ([Рисунок 7](#)).

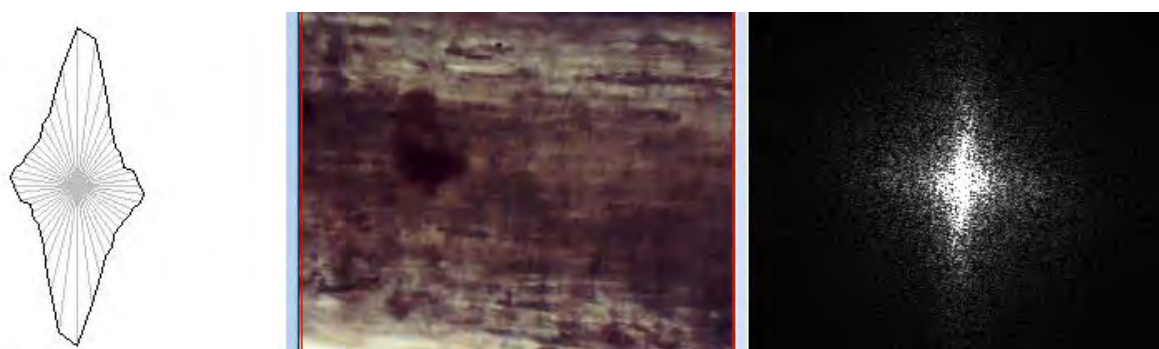


Рис. 7. Эмуляция рассеяния на растительной ткани корня

При попадании в кадр рассеянных элементов, возникших вследствие технологической обработки образца (вплоть до детрита / дебриса) регистрируется только рассеянное гало с крайне слабо выраженными элементами, соответствующими детектируемым элементам с остаточной клеточной / тканевой организацией. Это показано на [Рисунке 8](#).

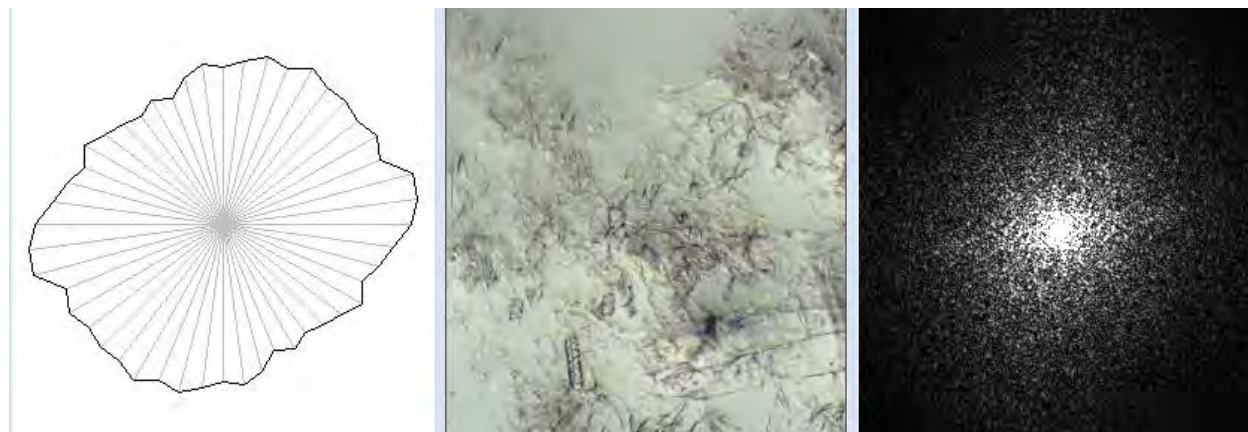


Рис. 8. Эмуляция рассеяния на детрите - тонких разлагающихся компонентах биомассы

Для элементов с остаточной клеточной организацией (от целых фрагментов тканей вплоть до детрита/дебриса) степень выраженности локальных максимумов модуляции 2D БПФ будет уменьшаться по мере приближения к детриту/дебрису. При этом выраженность 2D гало будет возрастать по мере приближения к детриту/дебрису. Это показано на [Рисунках 9а, б](#).

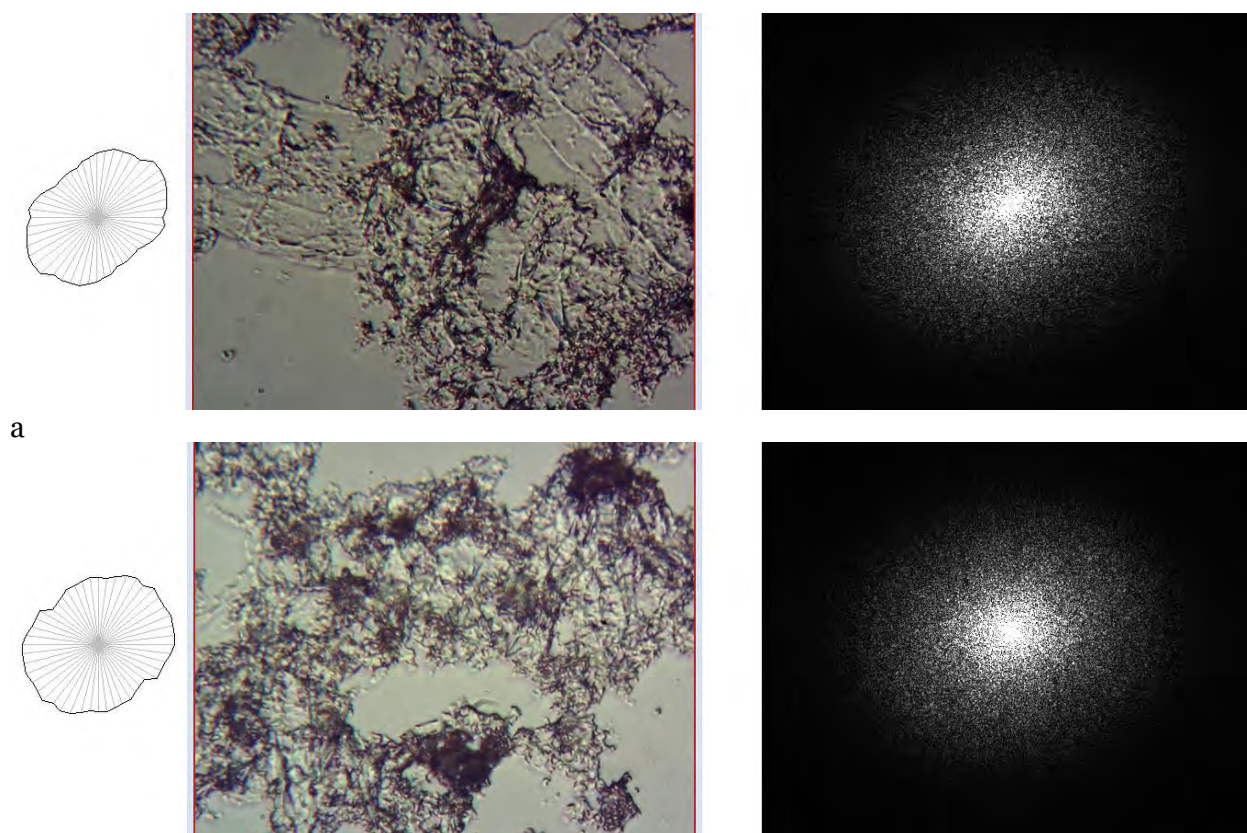
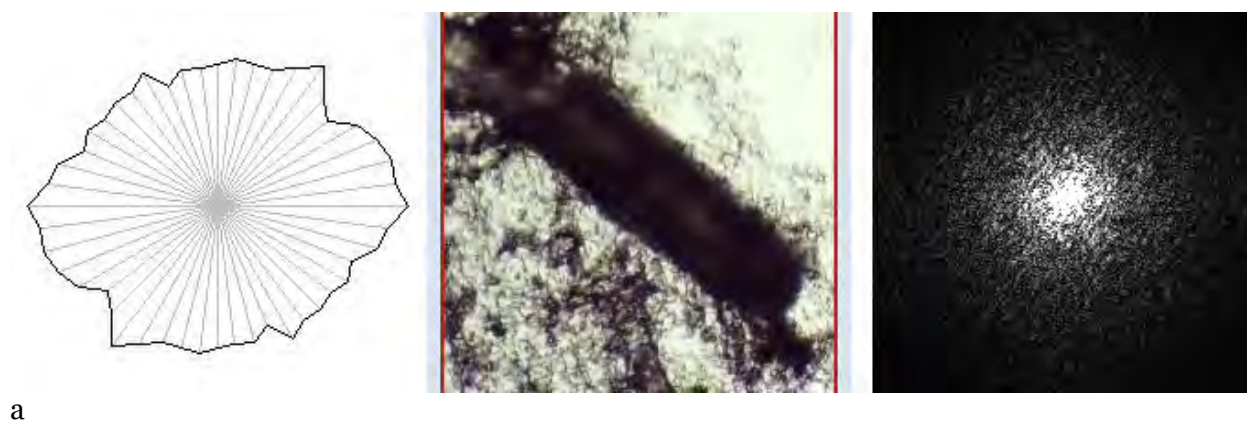


Рис. 9. Выраженность 2D гало возрастает по мере приближения к детриту / дебрису

При изменении ориентации осветителя на штативе относительно волокон или тканевого дебриса "эллиптичность" огибающей интегральной пространственной характеристики может меняться.

Выраженность основного пика дифракции, в зависимости от положения источника света, также может существенно варьироваться от слабой (заглушаемой гало) и до экстремально сильной ([Рисунки 10а, б](#)).

Этот эффект подобен эффекту астигматизма в сканирующей электронной микроскопии, когда, варьируя "на глаз" астигматизм, можно либо подчеркнуть отдельные структуры/текстуры соответствующей ему ориентации, либо заглушить (элиминировать) их сигнал по заданной ориентации.



а

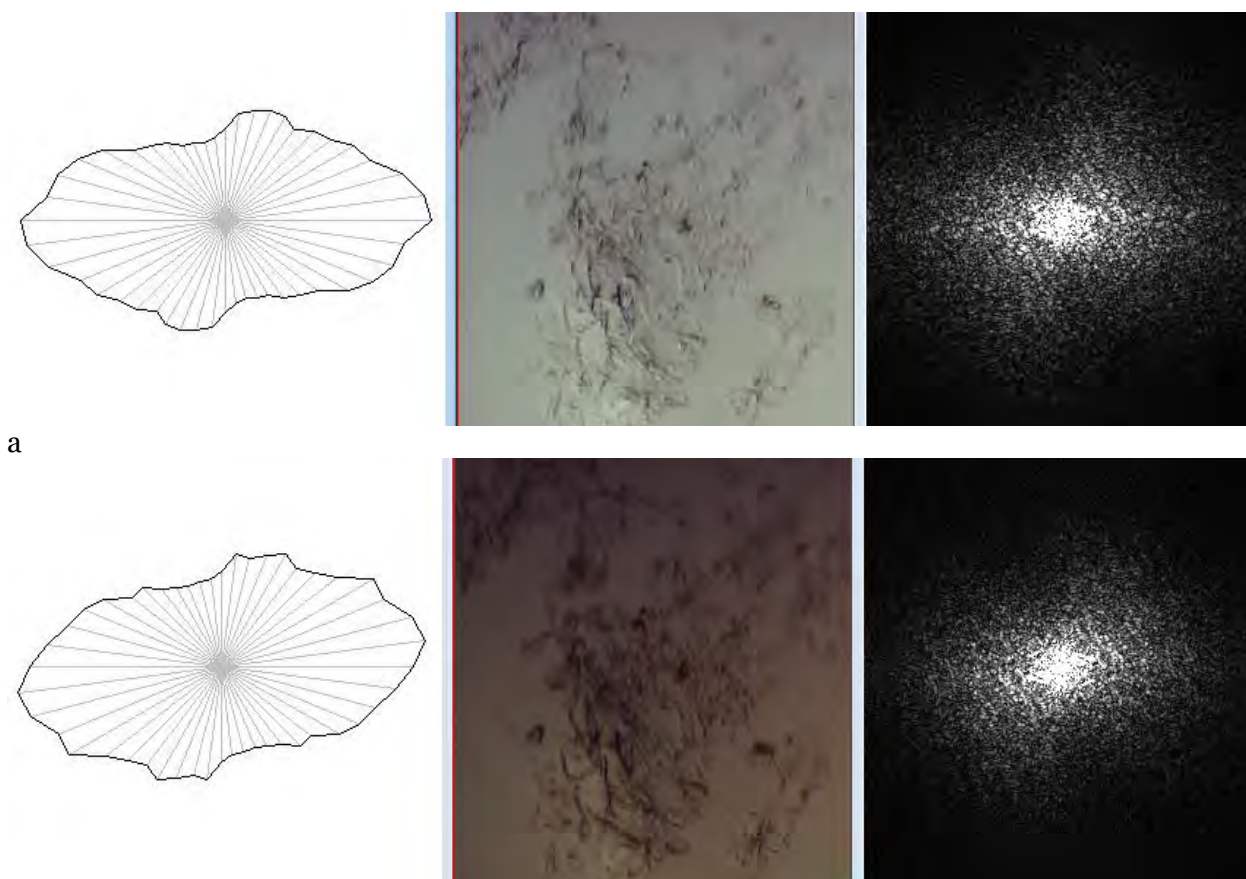


б

Рис. 10. Изменение выраженности основного пика дифракции, в зависимости от положения источника света.

6. Стабильность/воспроизводимость результатов измерений растительных структур от интенсивности освещения

При понижении интенсивности освещения "геометрия"/"морфология" интегральной пространственной характеристики (или огибающей изофот двумерного Фурье-спектра) сохраняется в основных абрисах. Это показано на [Рисунках 11а, б](#) (диффузная фаза) и [Рисунках 12а,б](#) (четко выраженная дифракция).



а

б

Рис. 11. Иллюстрация сохранения общих абрисов геометрии Фурье-спектра и расчетных характеристик, выполненных на его основе (начало)

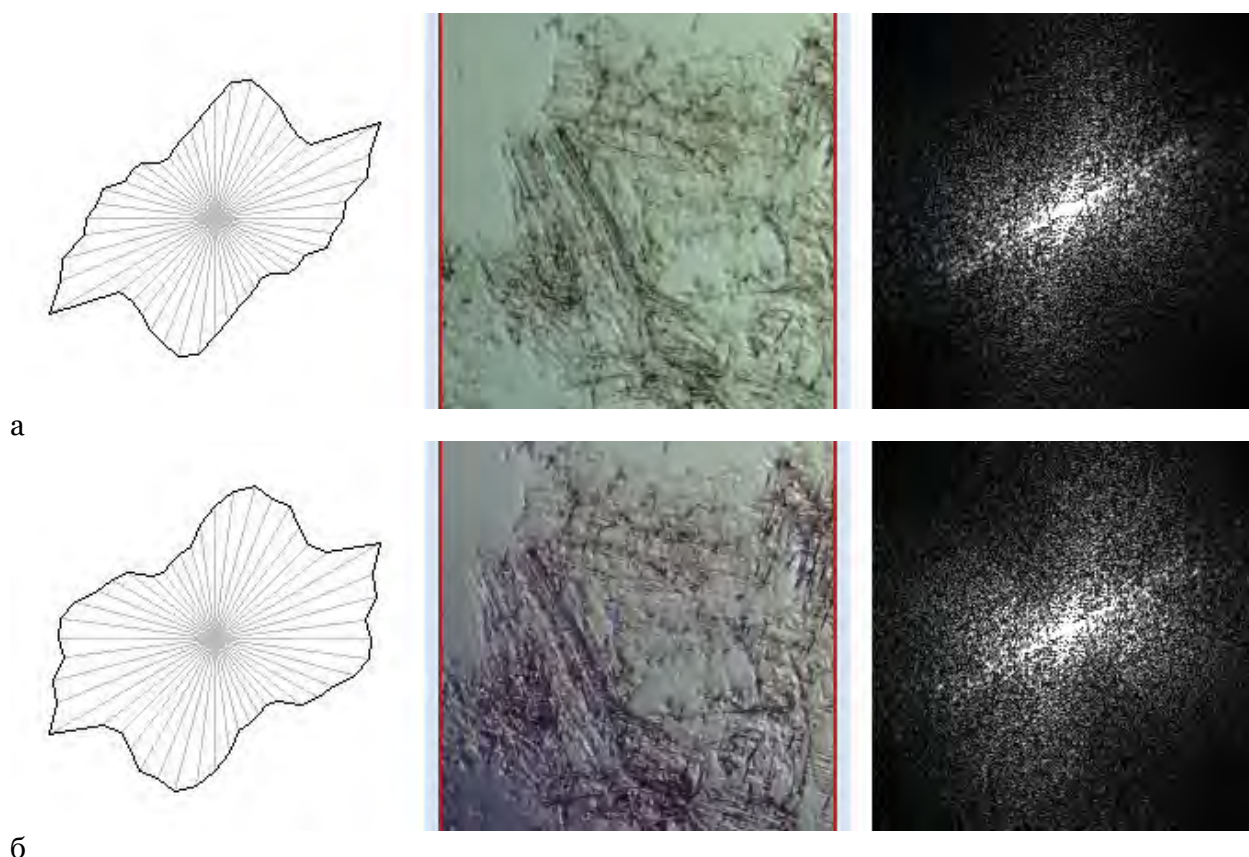
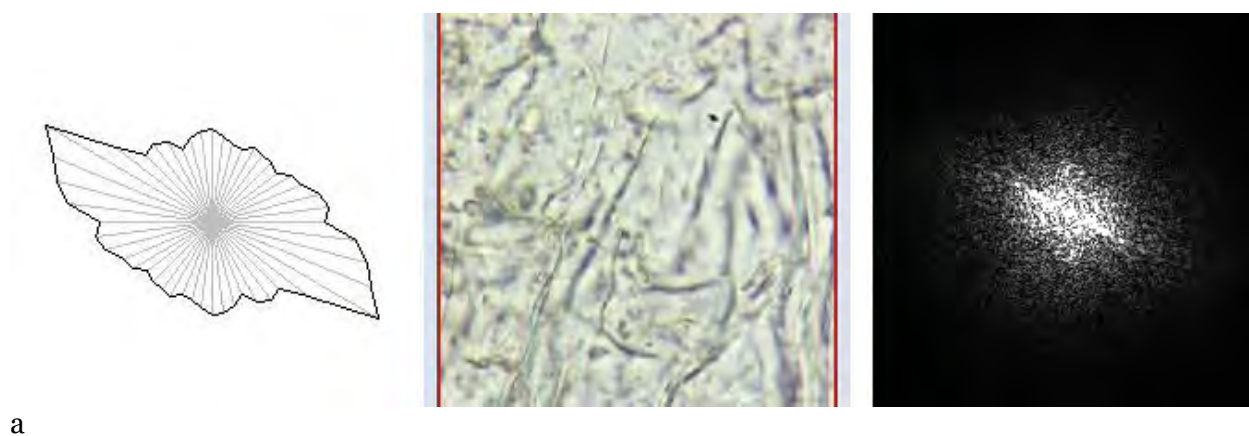


Рис. 12. Иллюстрация сохранения общих абрисов геометрии Фурье-спектра и расчетных характеристик, выполненных на его основе (продолжение)

Однако крутизна интегральной пространственной характеристики (в зависимости от угла дифракции) будет меняться, как это показано на [Рисунках 13а-в](#). Это свойственно как для результатов регистрации с использованием освещения по Келлеру, так и для результатов регистрации с опак-иллюминатором/ультраопак-иллюминатором.



а

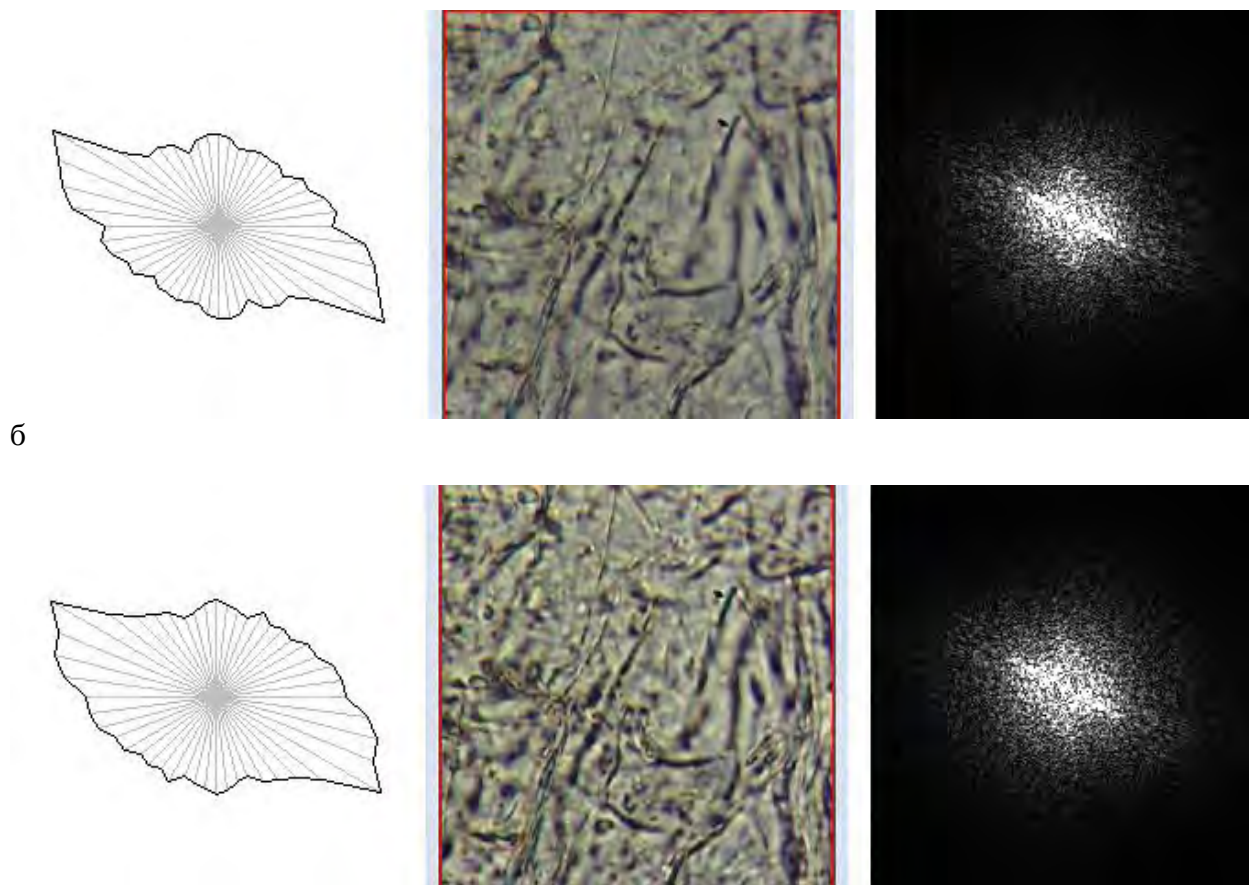
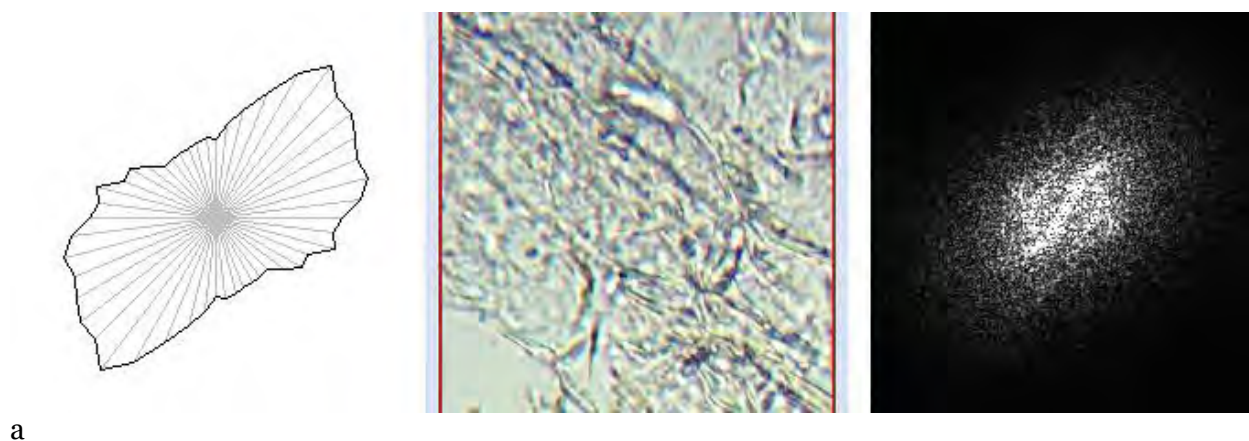
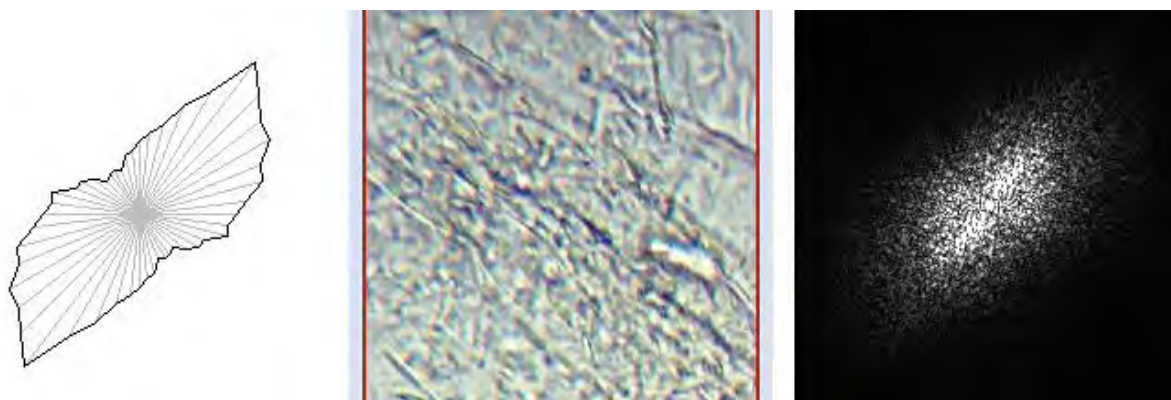


Рис. 13. Иллюстрация сохранения общих абрисов геометрии Фурье-спектра и расчетных характеристик, выполненных на его основе (окончание). Иллюстрируется влияние режима иллюминации на локальную крутизну интегральной пространственной характеристики

7. Влияние наличия пекулярных микроструктур на тканевых текстурах на результаты измерений при трансляции вдоль волокон и неприемлемость анализа сингулярных микроструктур, в силу артефактов

При трансляции вдоль одного волокна (осуществляемой физически, как правило работой с предметным столом) отдельные пекулярные структуры не будут воспроизводиться вдоль волокна от фрейма к фрейму (от ROI к ROI). Поэтому двумерный Фурье-спектр (2D FFT) и интегральная пространственная характеристика будут варьироваться в серии фреймов / кадров, как это показано на [Рисунках 14а, б](#).

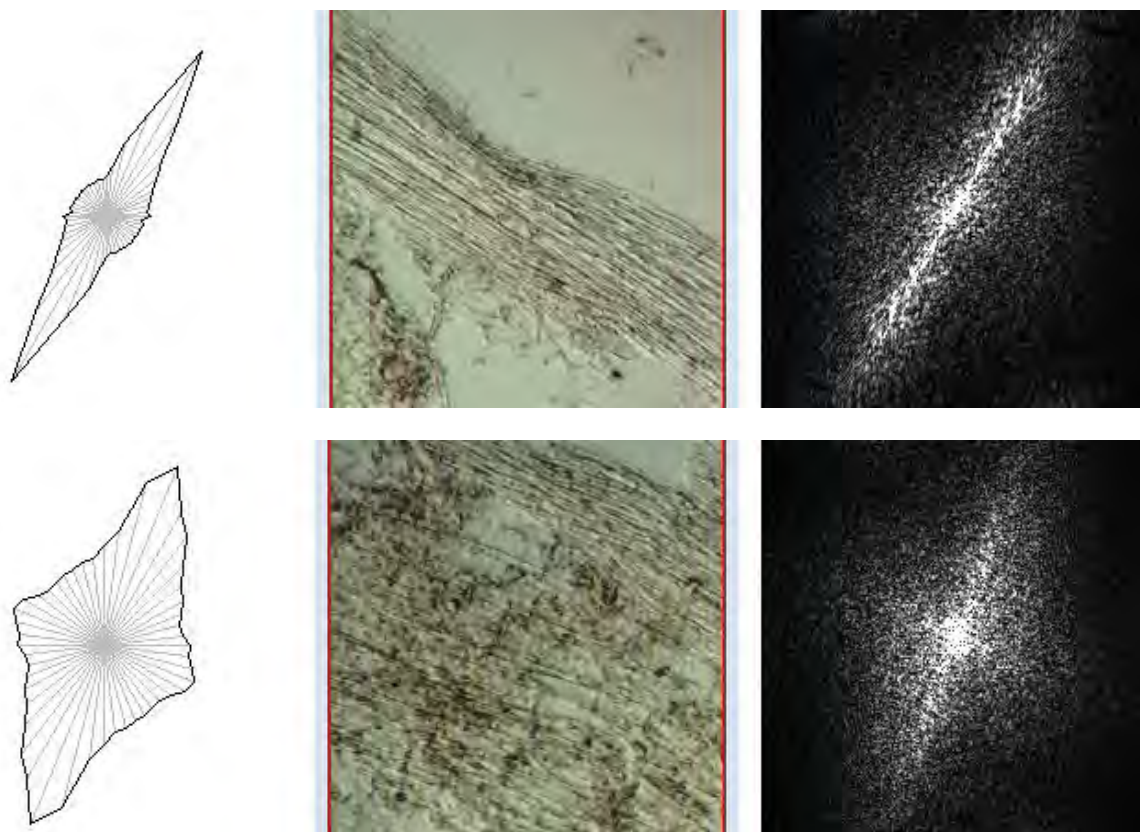




б

Рис. 14. Варьирование двумерного БПФ-спектра и его расчетной диаграммы при наличии палочковидной структуры

Для поперечно сжатых и продольно натянутых коллинеарных (параллельных в модельных приближениях) элементов механических тканей узость центрального пика будет больше, чем для более рыхлых элементов. Это показано на [Рисунках 15а, б](#).

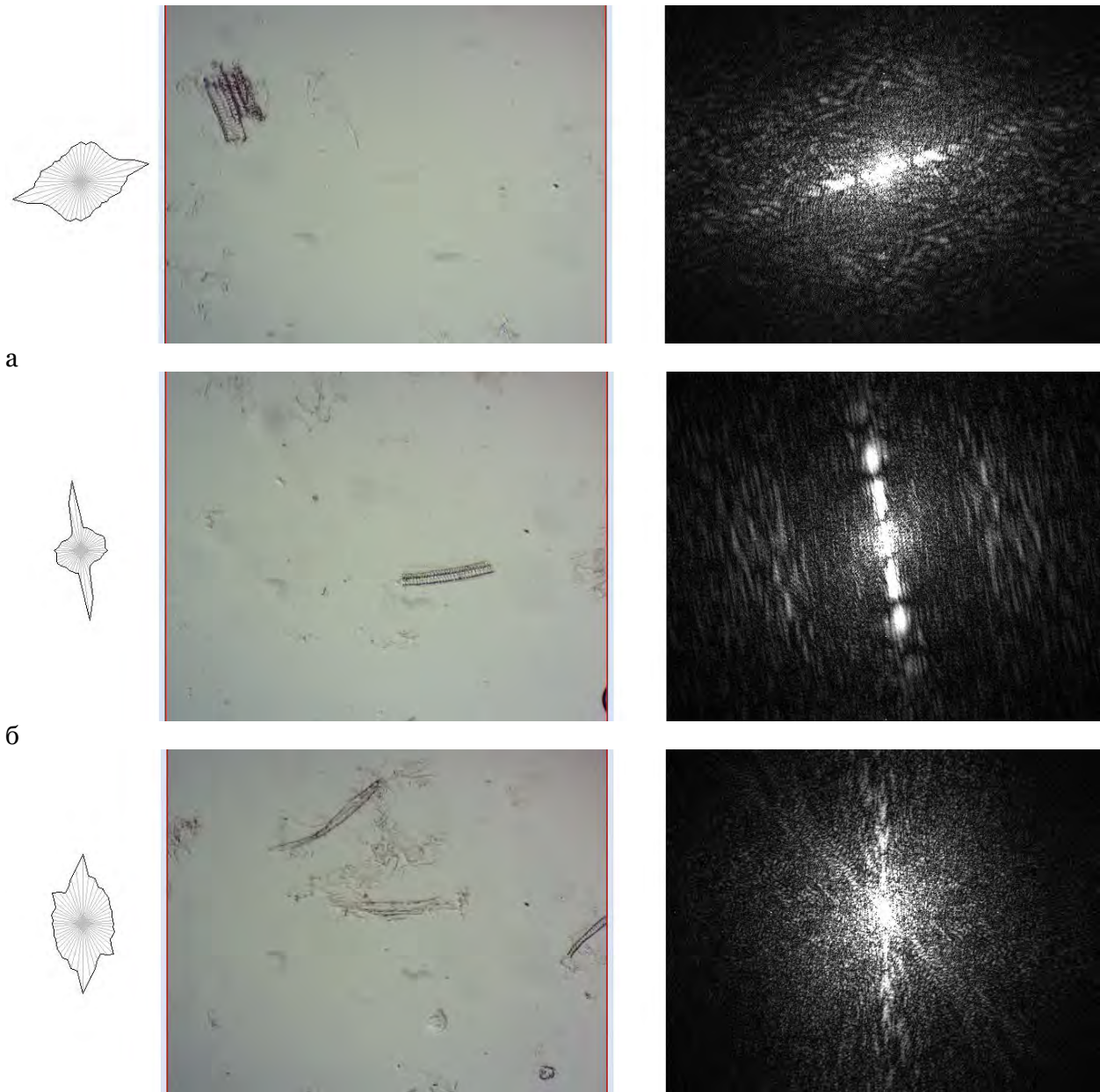


а

б

Рис. 15. Сравнение дифрактометрических характеристик для сжатой и рыхлой ткани

При регистрации необходимо избегать "сингулярности" детектируемых микрообъектов в области анализа (в ROI). В противном случае при автонормировании интенсивности по области отображения спектра будут возникать ложноположительные артефакты "высокой организации", что показано на [Рисунках 16а-в](#).



В

Рис. 16. Возможные артефакты сингулярных микрообъектов

8. Различные режимы дифракции в анализе биоматериала: дифракция на решетке, дифракция на щели, дифракция на кольцевых элементах

При преобладании продольных растительных волокон будет обрабатываться "дифракция на решетке" (Рисунок 17а), при наличии топологических неодородностей (колец, ситовидных трубок, поперечных элементов флоэмы и т.д.) будет обрабатываться режим дифракционной оптики, близкий к дифракции на кольцевых элементах (Рисунок 17б), при появлении сложных многорядных текстур (не волокна и не одиночные срезы ткани, а элементы среза, содержащие в себе 2 и более рядов четко выраженных клеток) на спектре будут проявляться как продольные, так и поперечные элементы (Рисунок 17в).

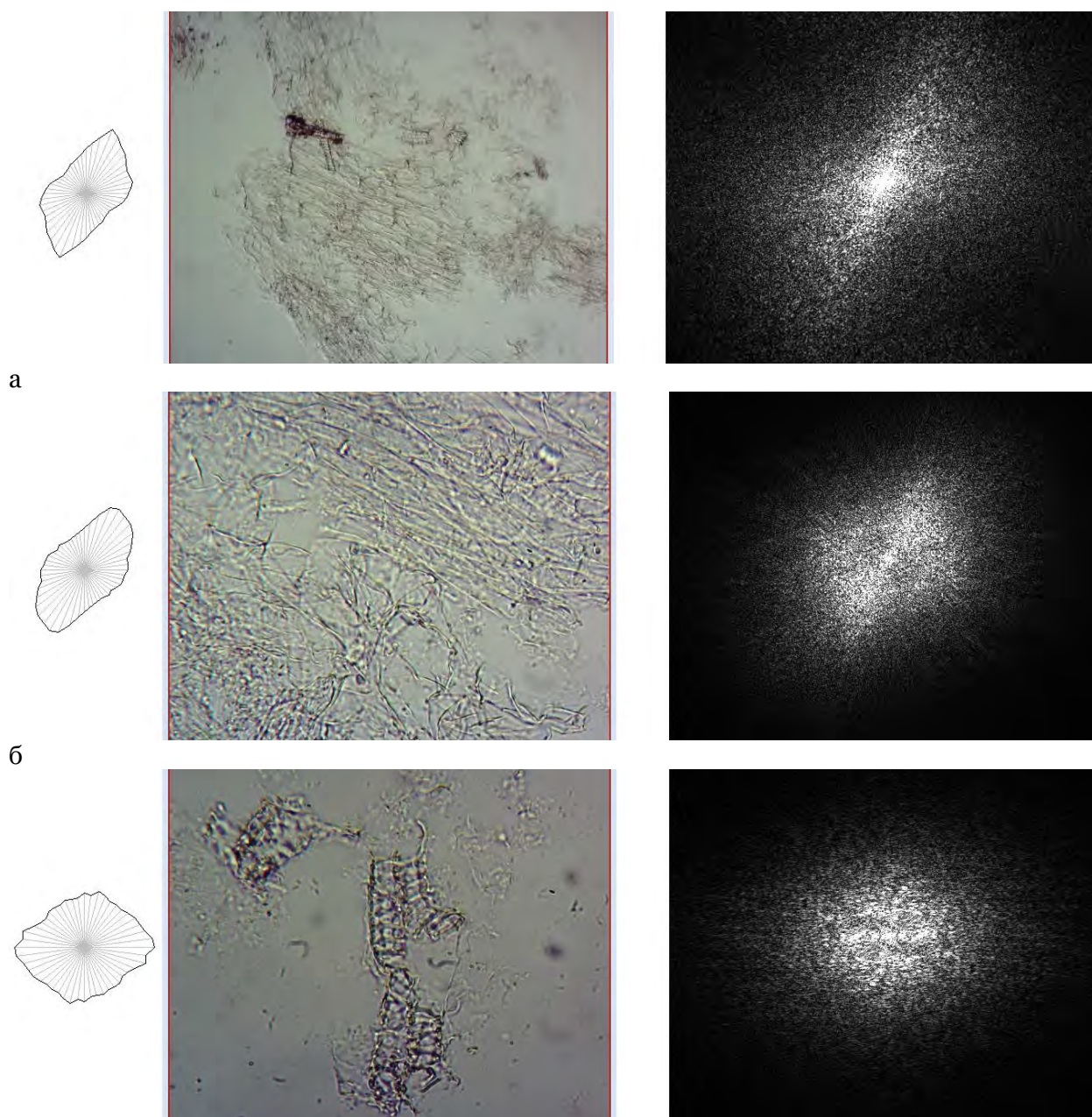


Рис. 17. Формы дифракции при наличии продольных растительных волокон ("дифракция на решетке": а) при наличии скрытых топологических неодородностей (с "дифракцией на кольцевых элементах"); б) при появлении сложных многорядных текстур с различными по угловой ориентации элементами (в)

Самый идеальный пример рассеяния на круговых/кольцевых структурах может быть продемонстрирован на неизбежно встречающихся в препаратах пузырьках (Рисунки 18а, б). Точность отработки данной картины может являться калибровочным сигналом для установки настроек освещения на микроскопах, так как при неоптимальном сдвиге источника "кольца"/"концентрические окружности" меркнут.

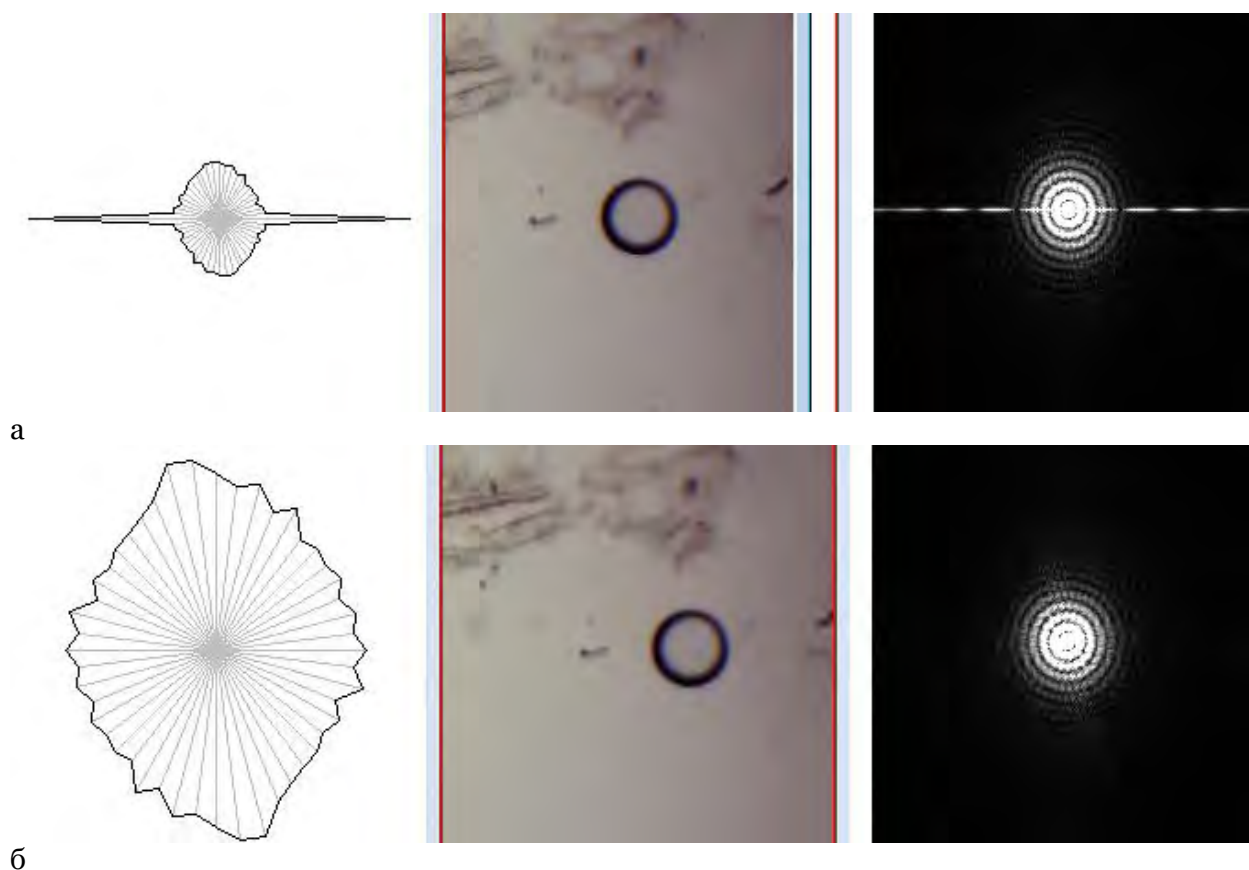
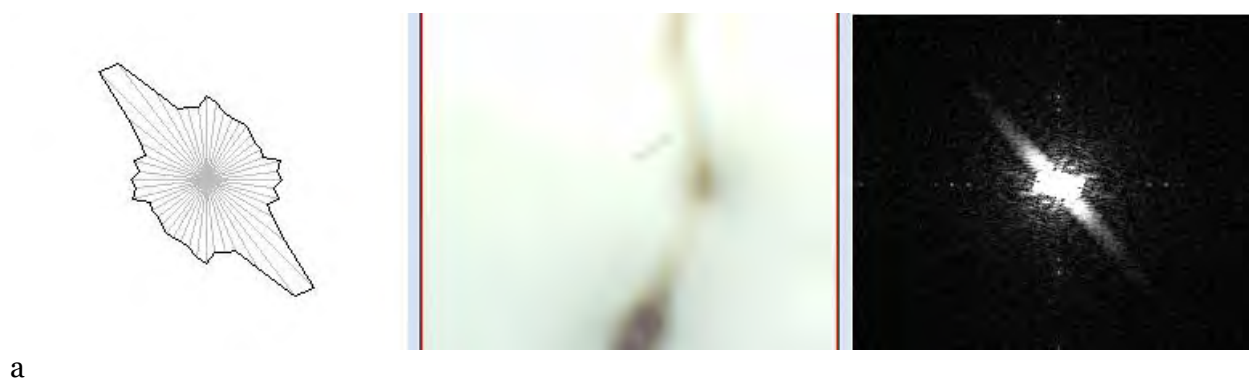


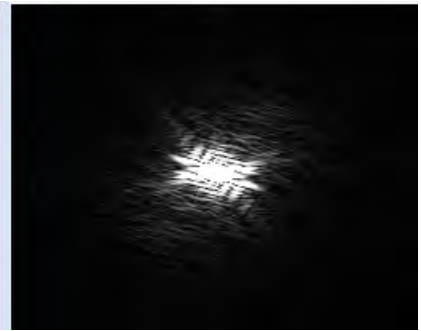
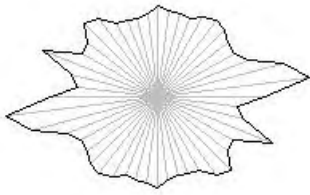
Рис. 18. Пример дифракции на круглых и кольцевых структурах: пузырьки воздуха, часто попадающиеся в метаболически активных препаратах, в которых продолжается фотосинтез с газовыделением.

9. "Фокускопические" тесты: как меняется форма дифрактометрических характеристик при варьировании высоты предметного стола?

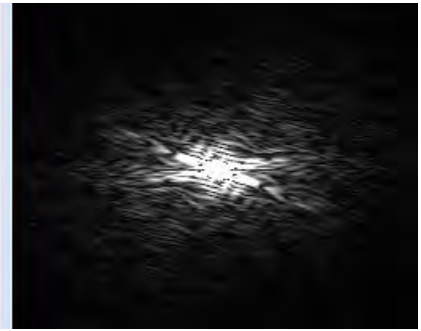
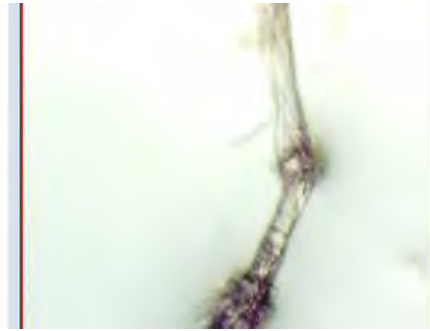
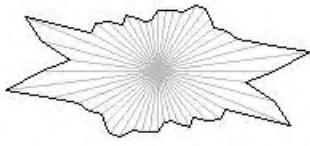
Как выглядит зависимость двумерного Фурье-спектра и интегральной пространственной характеристики от фокусировки на растительном образце? Это можно проиллюстрировать на примере серии снимков, снятых при различной фокусировке или высоте предметного стола, как это показано на [Рисунках 19а-ж](#).



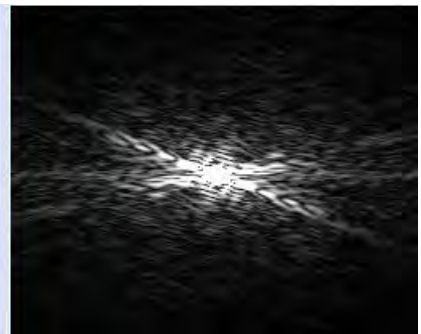
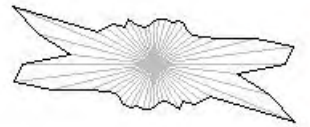
б



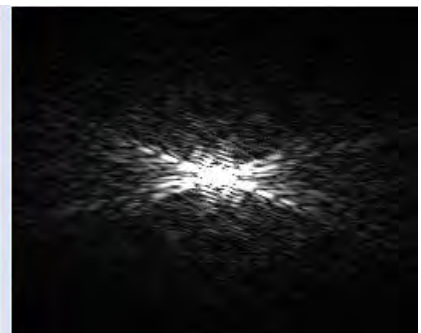
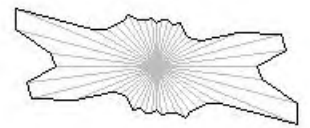
в



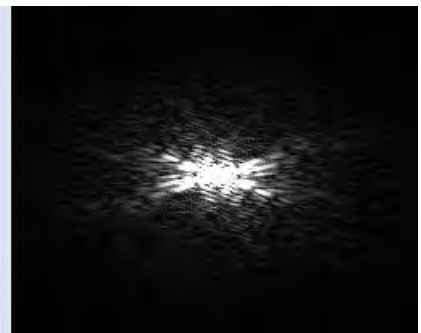
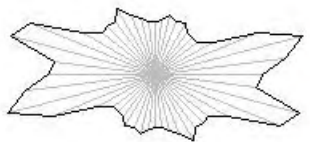
г

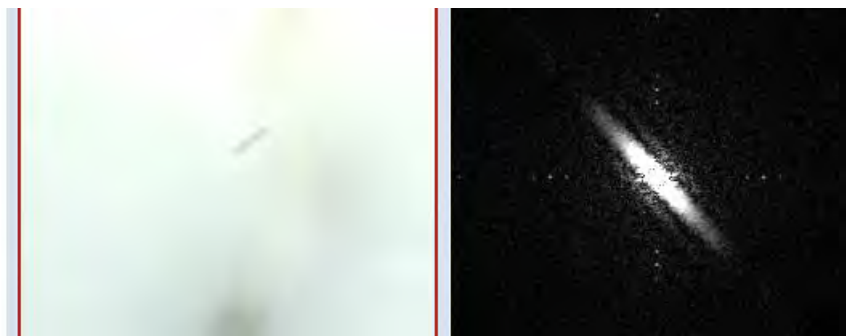
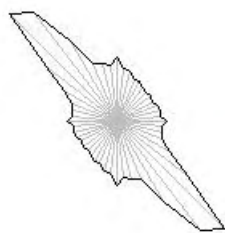


д



е



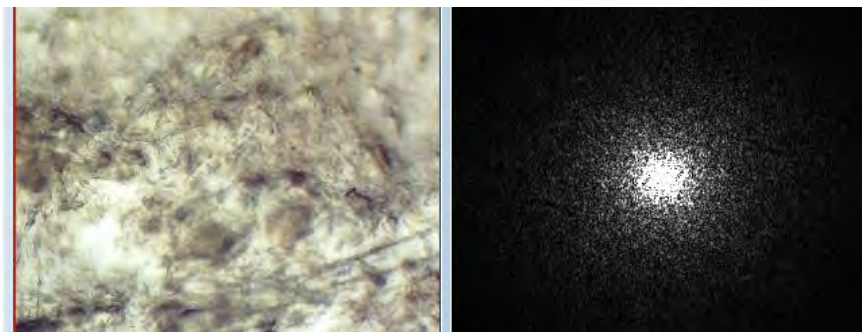
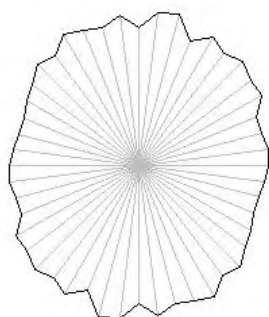


ж

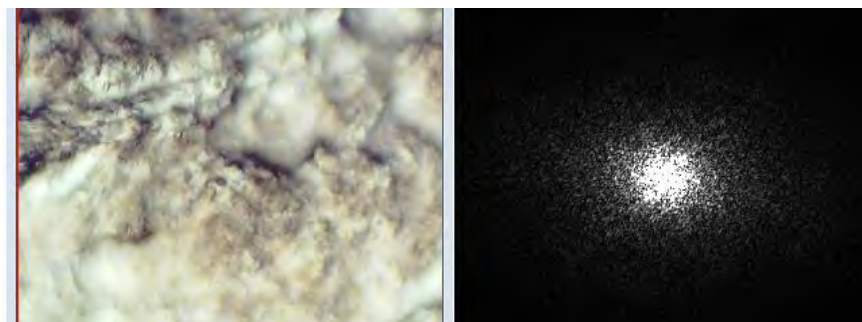
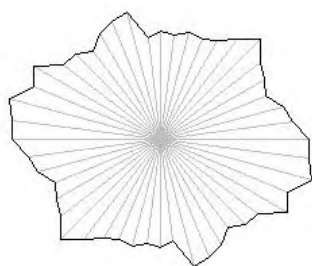
Рис. 19. Изменения двумерного Фурье-спектра и интегральной пространственной характеристики растительного образца при варьировании фокусировки столом

10. Анализ растительных «композитных» структур, содержащих аморфную часть.

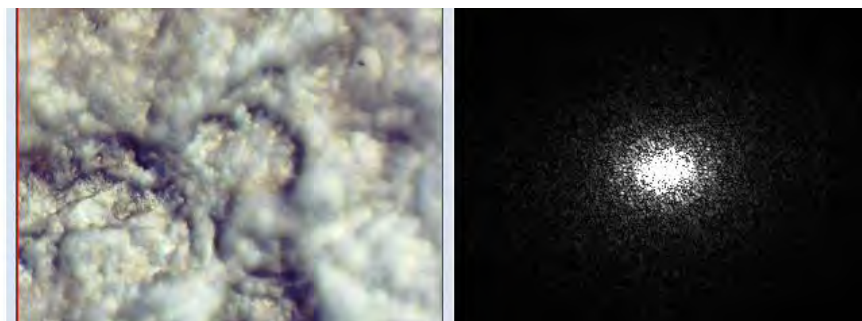
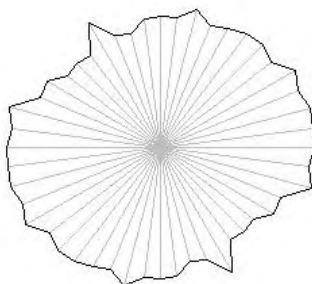
Особо сложным является выделение структурных элементов организации растительного материала в композитах на основе биогенных частично упорядоченных сред/коллоидов/геоколлоидов, а также эксудатов растений (в частности гуттационного происхождения) и симбиотических ассоциатов (типа клубеньковых бактерий на корнях). В этих случаях, как правило, организованный элемент соседствует с аморфной стохастически рассеивающей и не дающей выраженных пиков средой, маскирующей наличие организованных элементов. Это показано на примерах на серии изображений, приведенных на [Рисунках 20а-д](#).



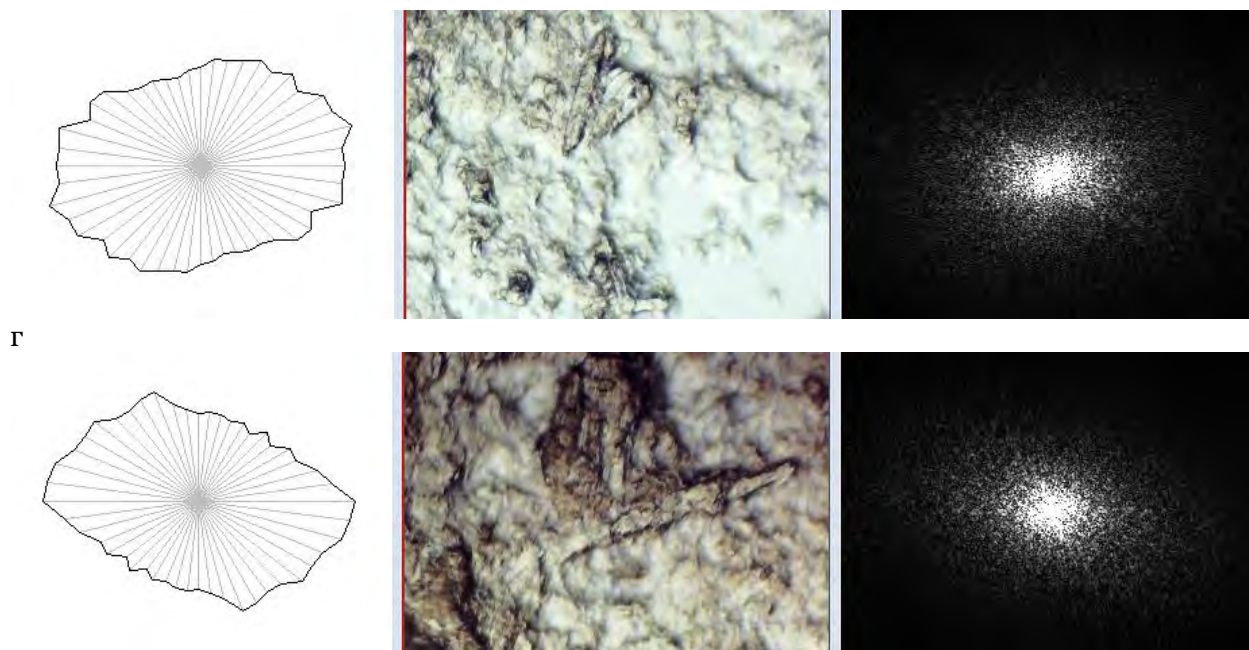
а



б



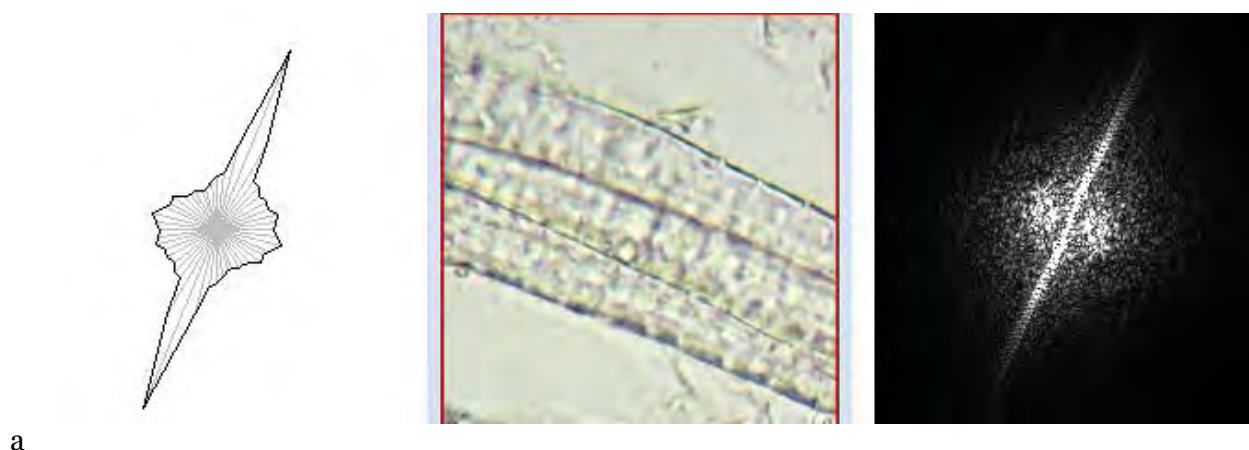
в



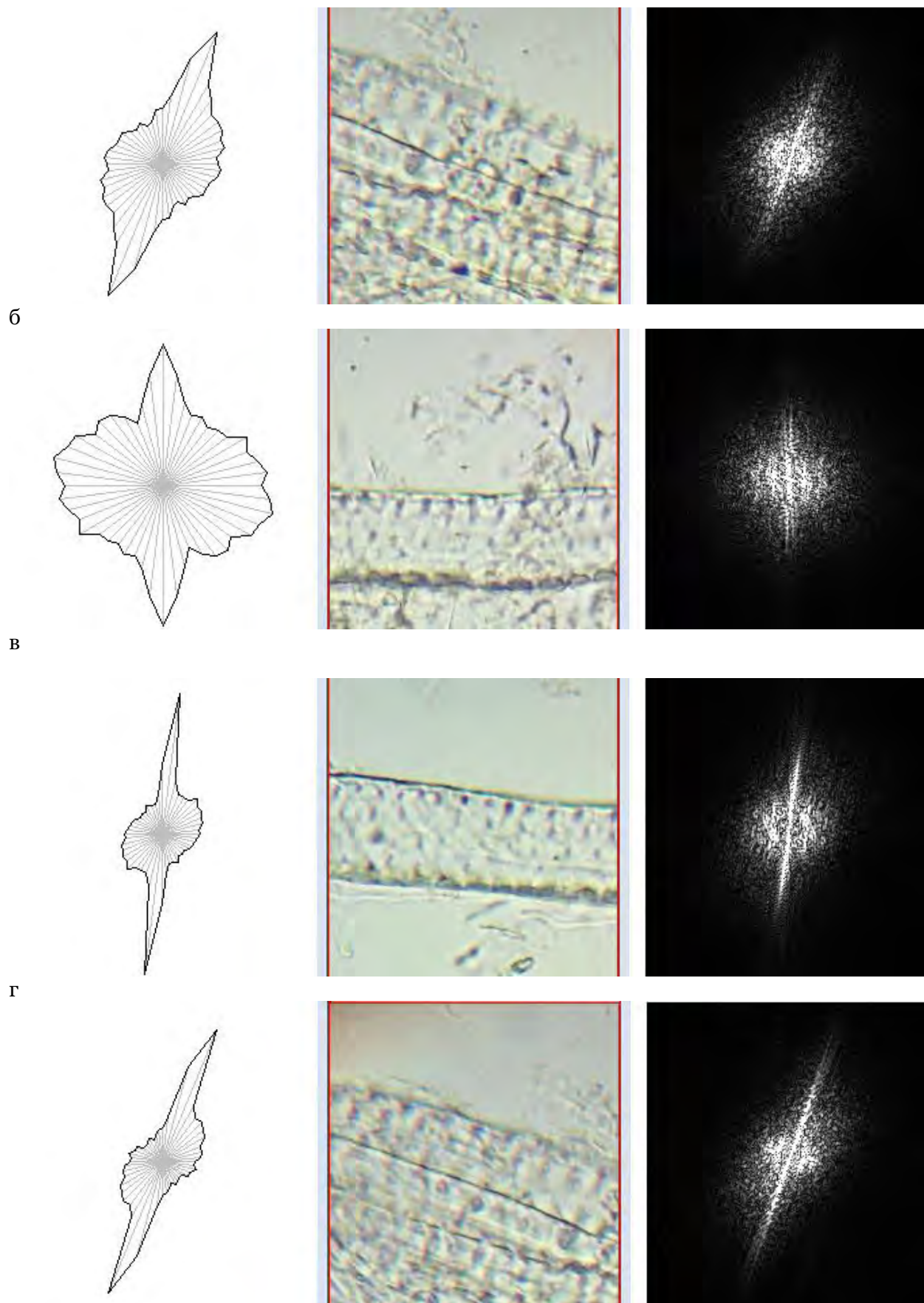
Д
Рис. 20. Дифрактометрия образцов с морфологически аморфной компонентой. Подобные ситуации возникают при обогащенности образца биогенной гидрогелевой компонентой

11. Воспроизводимость результатов измерений и их независимость от угла положения объекта

Принципиальным является то, что для всех однотипных структурных элементов растения можно накопить статистику воспроизводимости двумерных Фурье-образов и расчетных интегральных пространственных характеристик в классе. Так, например, для элементов корня, содержащих и продольные волокна, и клетки, аппроксимируемые сферическими (в случае паренхимной формы) или эллиптическими (в случае прозенхимной формы) типами аппроксимант, можно найти десятки примеров подобных паттернов 2D FFT и огибающих интегральных пространственных характеристик, не зависящих от ориентации элементов в пространстве. На них всегда будет наблюдаться одиночный пик (разной ширины) и "гало" дифракции, в основе имеющее характерную кольцевую симметрию. Пример этого дан на [Рисунках 21а-д](#).



а



а
б
в
г
д
Рис. 21. Инвариантная к углу наклона воспроизводимость оптико-дифрактометрических характеристик растительных тканей

Степень фокусировки несущественно влияет на данные паттерны, как это показано на [Рисунках 22а, б](#).

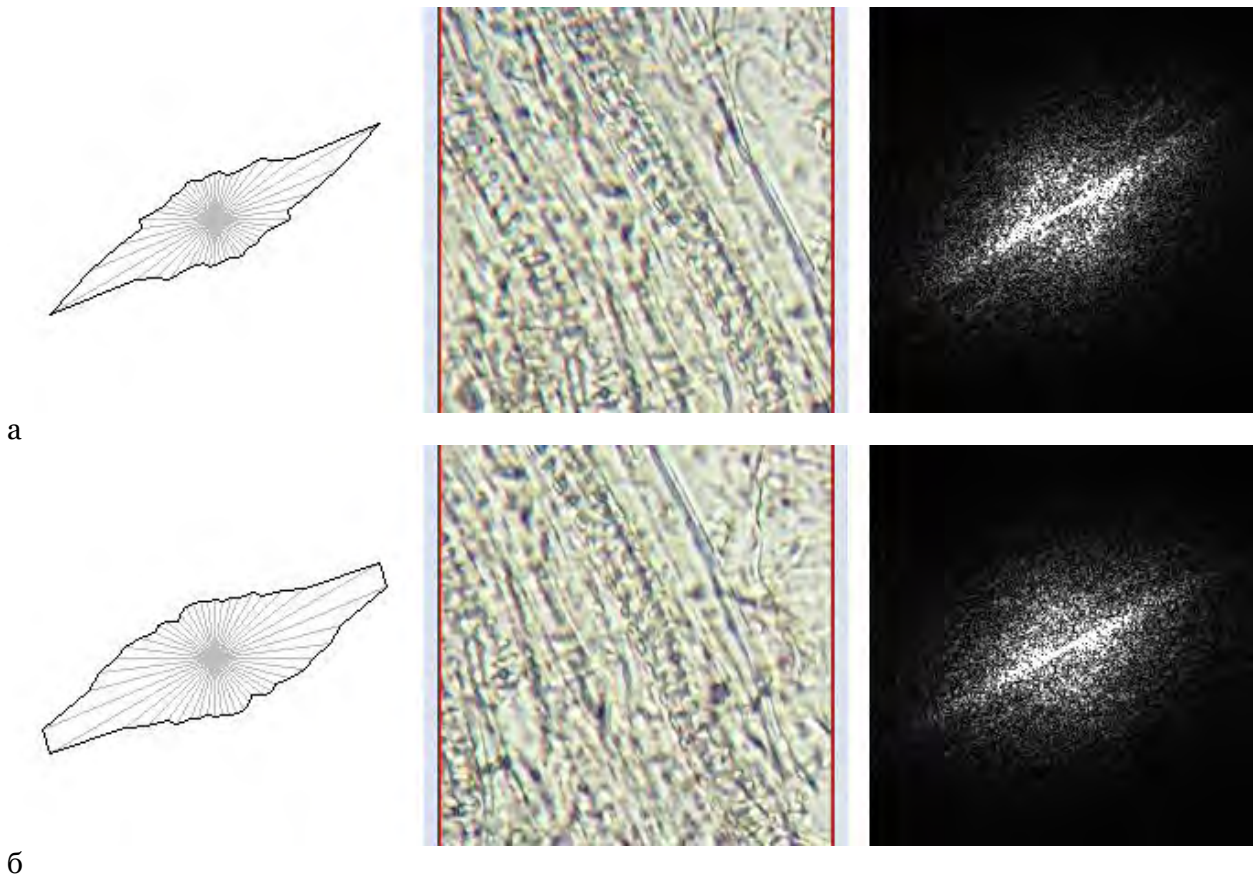
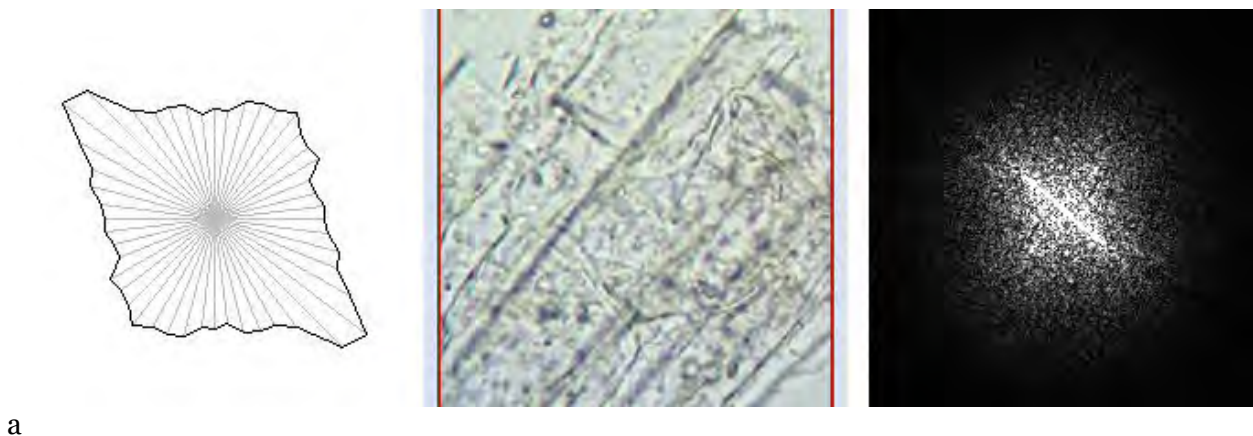
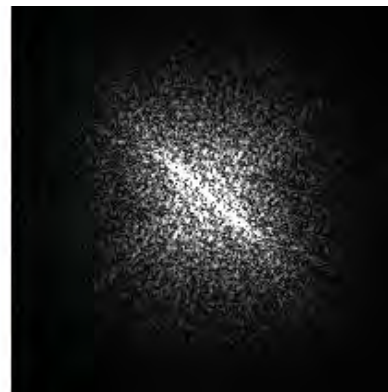
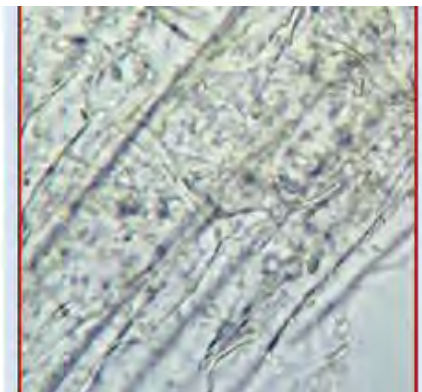
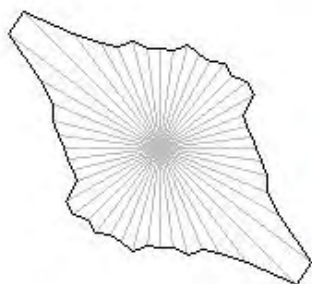


Рис. 22. Инвариантность двумерных Фурье-спектров (не считая границы отсечки) к частичному изменению фокусировки (предметным столом)

12. Рассеяние на растительных тканях в режиме дифракционной решетки и влияние поперечных перегородок/клеточных стенок на результат измерений

В структурах, где волоконный компонент остался в большей сохранности, чем округлые клетки, превалировать будет рассеяние как на дифракционной решетке. Это показано на [Рисунках 23а, б](#), где, несмотря на гало и наличие небольших почти перпендикулярных компонент, преобладает дифракция на продольных растительных волокнах.



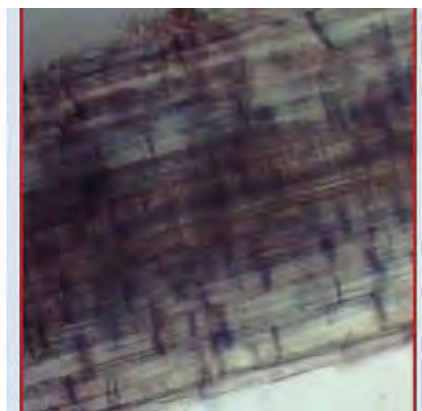
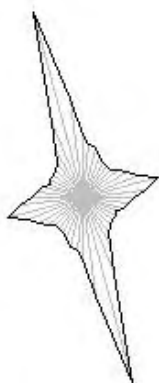


б

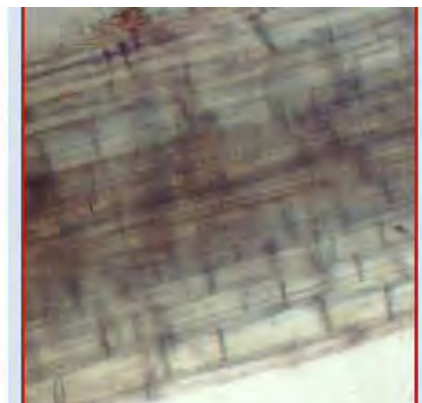
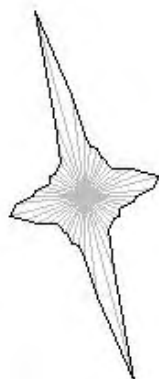
Рис. 23. Пример структуры с преобладанием дифракции на продольных волокнах

Если клетки или иные структурные элементы/модули текстуры имеют несферическую и неэллиптическую форму, но ориентация их отличается от ориентации главного волокна, то это будет проявляться на двумерных Фурье-спектрах, интегральных пространственных характеристиках как пики, не соответствующие главному пику, отвечающему волоконным компонентам главной (превалирующей) ориентации. Это иллюстрируется на серии изображений на [Рисунках 24а-ж](#). Для показываемого случая, когда в ткани присутствуют поперечные перегородки или стенки клеток, то будут видны боковые пики, соответствующие этим стенкам клеток.

Так как они ортогональны/перпендикулярны волокну, с существенной вероятностью, эти пики будут ортогональны/перпендикулярны пикам, отвечающим расположению основного волокна. Интенсивность пиков будет зависеть от того, насколько много (в пространственном аргументе) занимают поперечные клеточные стенки относительно регулярного базового волокна. Так, на рис. видно, что сигнал от поперечных клеточных стенок занимает менее 1/3 от сигнала целого волокна.



а



б

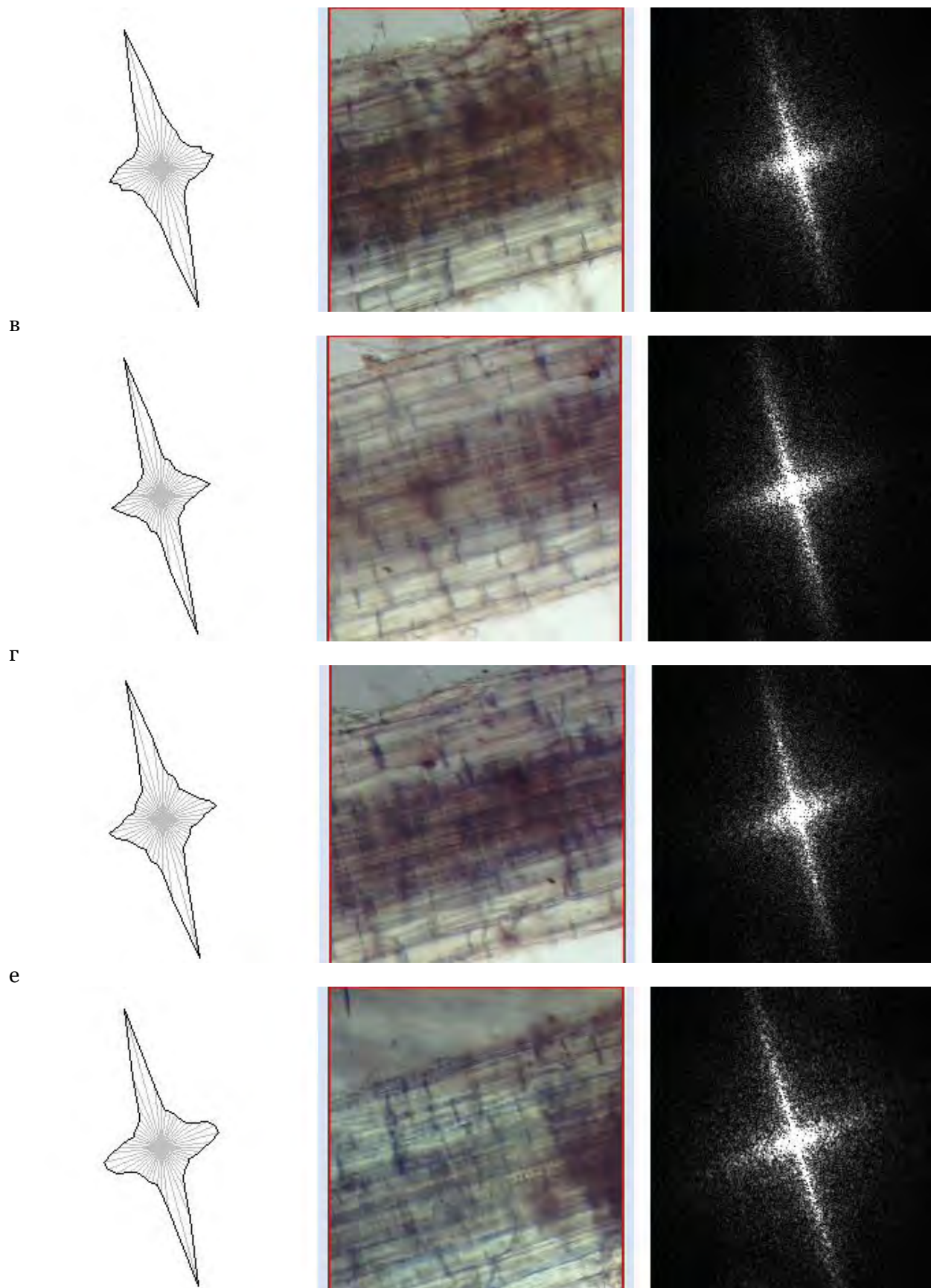


Рис. 24. Пример структуры с дифракцией и на продольных волокнах, и на поперечных клеточных стенках

Можно провести контрольный эксперимент, повернув волокно на 90 градусов. Тогда его главный пик также повернется на 90 градусов, но сигнал от поперечных стенок клеток (он также повернулся на 90 градусов) останется на спектре не превышающим 1/3 от мощности центрального волокна. Один из многочисленных реализованных нами примеров данного тестирования приведен на [Рисунках 25а,б](#).

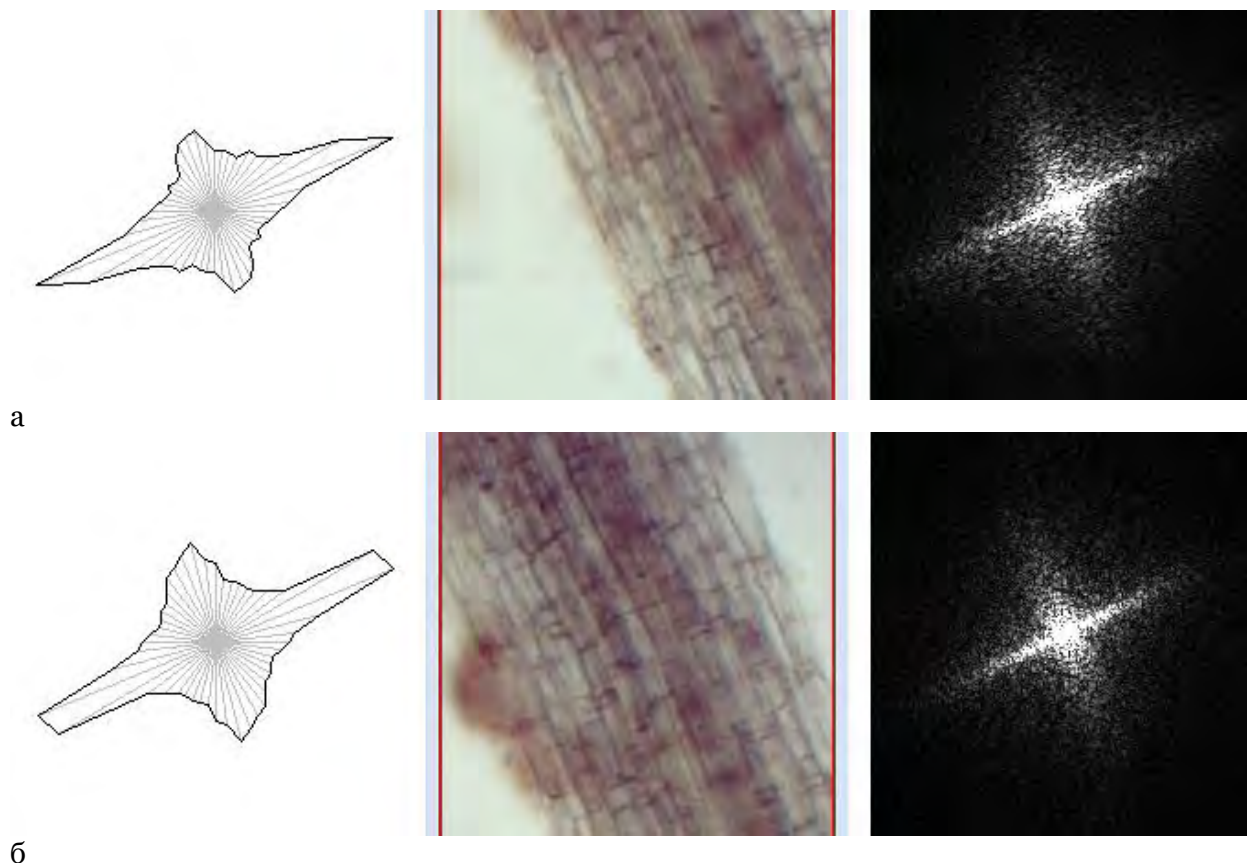
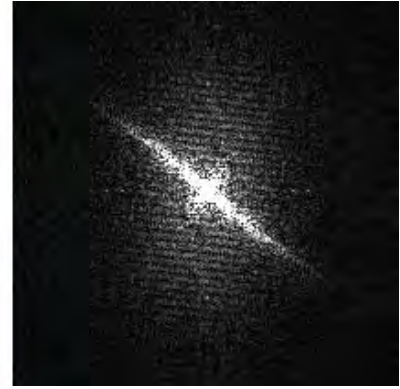
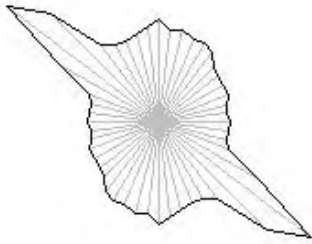


Рис. 25. Сохранение соотношения уровней сигнала по перпендикулярным составляющим при повороте образца

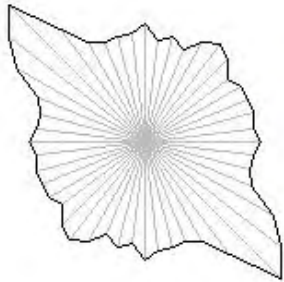
Иногда мы можем не видеть глазом тонкие элементы пространственной ориентации, но из этого нельзя делать вывод, что их не существует (как делали ранние фитоаномы XIX в. – периода до Шлейдена и Шванна). Их наличие/отсутствие можно детектировать прямым физическим путем (через использование оптической дифрактометрии на установках, один пример которых дан во введении) либо эмулирующим математическим цифровым путём – с помощью двумерного БПФ изображений, захватываемых с экрана в реальном времени в ходе микроскопии. Пример такого детектирования на серии ROI приведен на [Рисунках 26а-е](#).



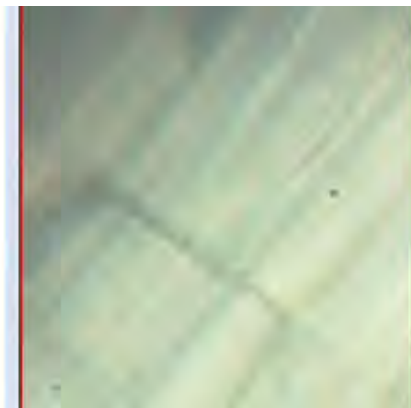
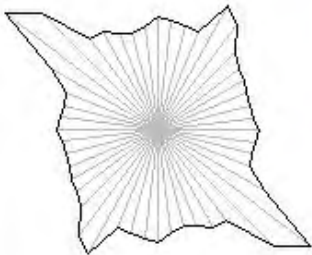
а



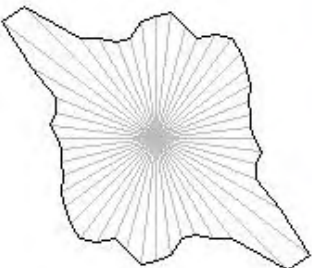
б



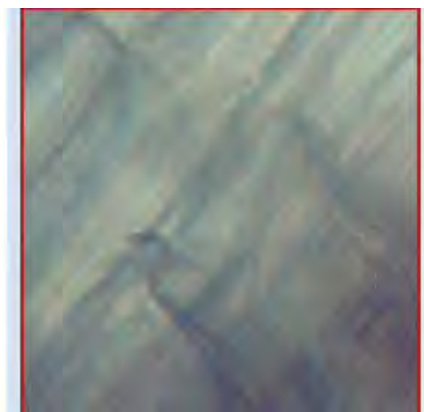
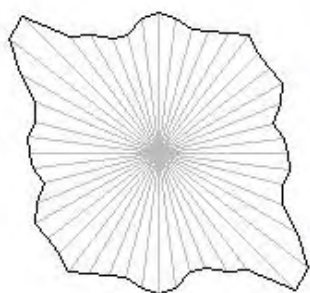
в



г



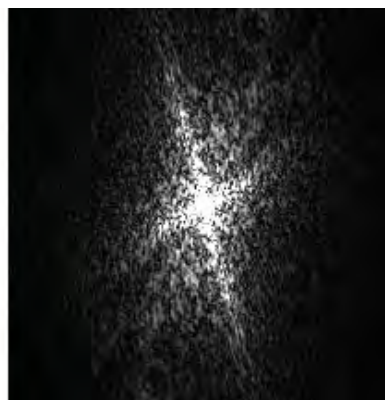
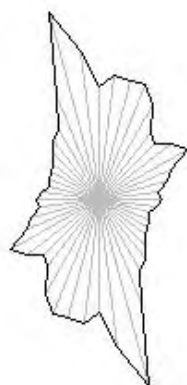
д



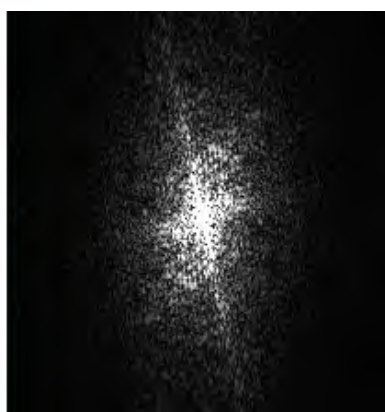
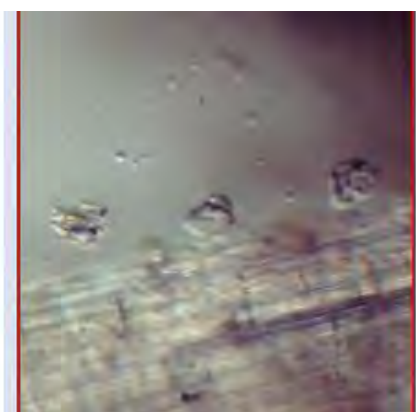
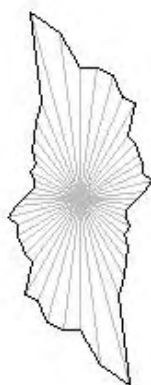
е

Рис. 26. Детектирование редких, скрытых и замаскированных поперечных элементов при использовании корреляционно-спектрального анализа как цифровой эмуляции оптической дифрактометрии

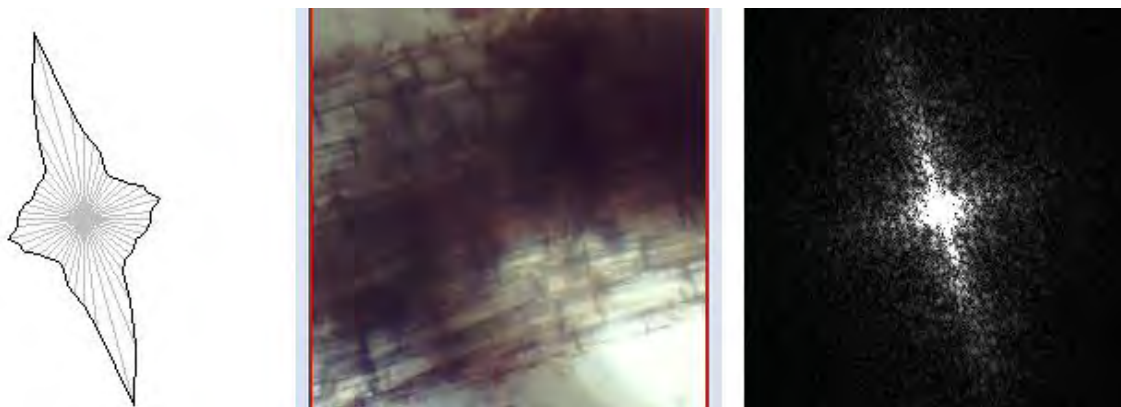
Помехоустойчивость данного алгоритмического подхода в фитоанатомии можно доказать, анализируя наличие поперечных и сдвинутых по углу компонент на зашумленных, маскированных детритом и затемненных изображениях, как это сделано на [Рисунках 27а-в](#). Можно видеть, что распознавание их в большинстве случаев происходит достоверно.



а



б



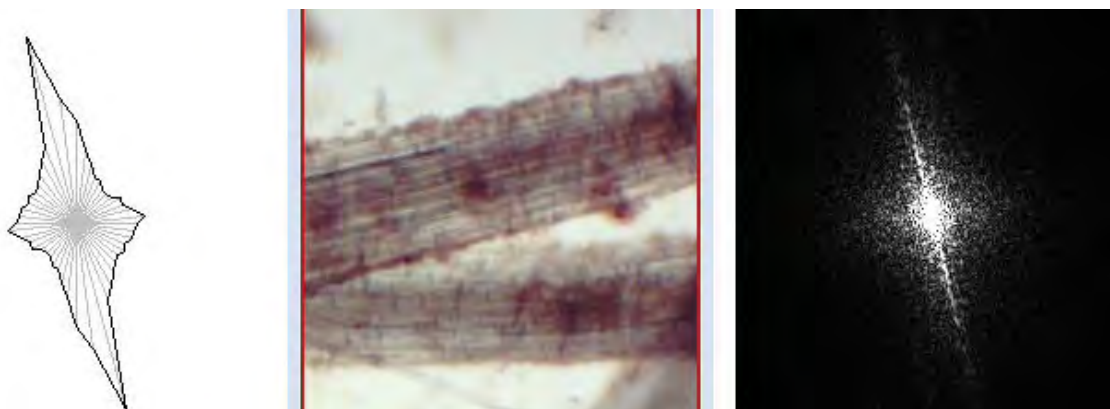
В

Рис. 27. Анализ наличия поперечных и сдвинутых по углу расположения компонент на зашумленных, маскированных детритом и затемненных изображениях

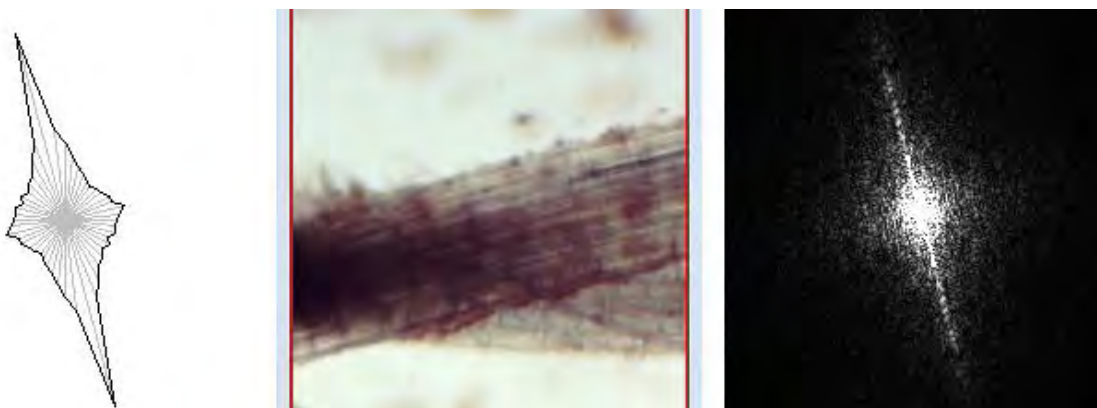
13. Опасности измерений множества сохранных волокон на (сверх)малых увеличениях.

Казалось бы, следует рекомендовать данные исследования, начиная с крупных сохранных волокон, хорошо видимых и на малых увеличениях. Однако есть два проблемных момента:

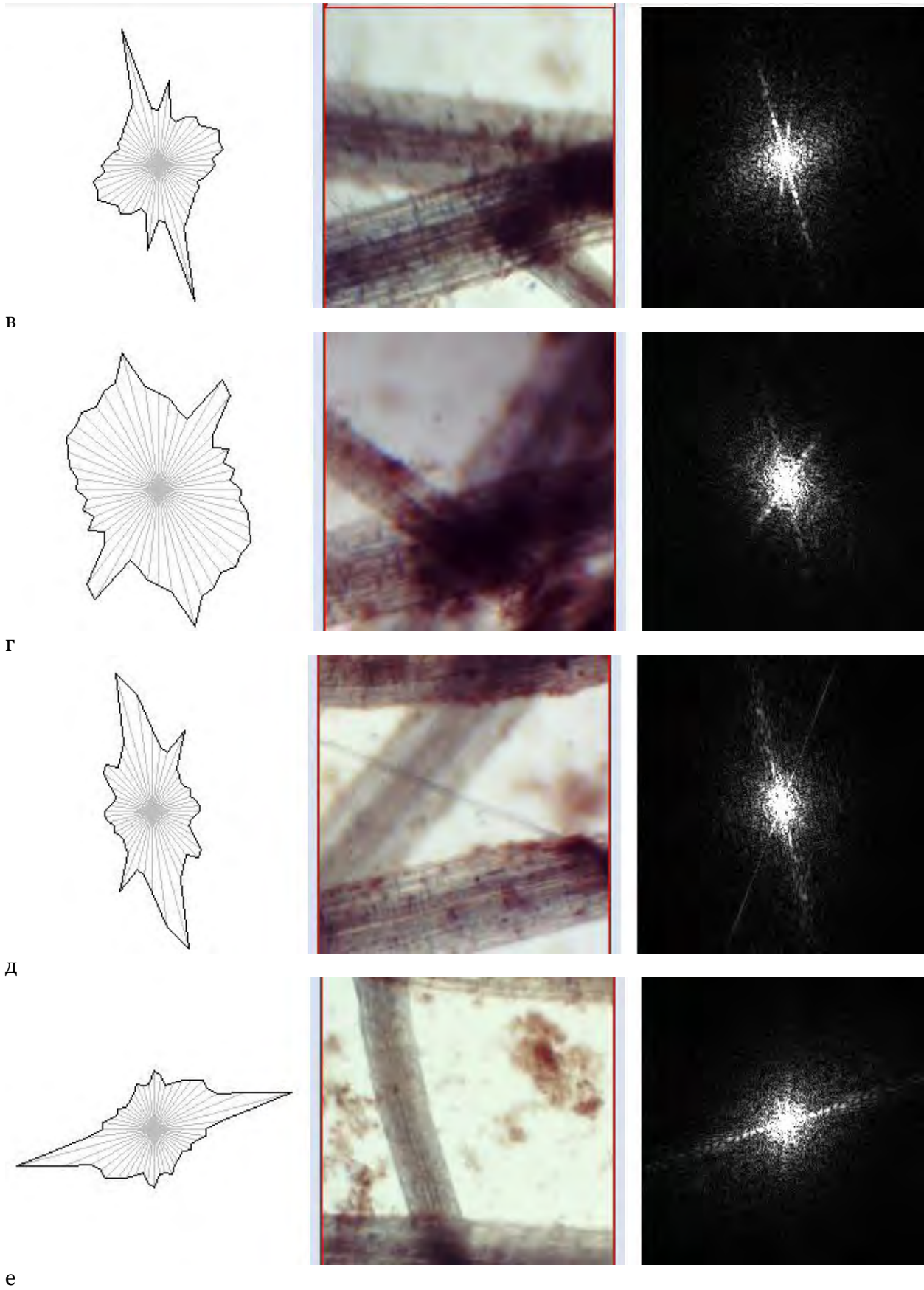
- а) распознать целостность микроволокон на малых увеличениях не всегда возможно
- б) на малых увеличениях в поле зрения всегда попадают несколько волокон, которые в ряде случаев (особо при попадании в один фокус) существенно смещают дифрактограмму, как это показано на примерах на [Рисунках 28а-и](#).

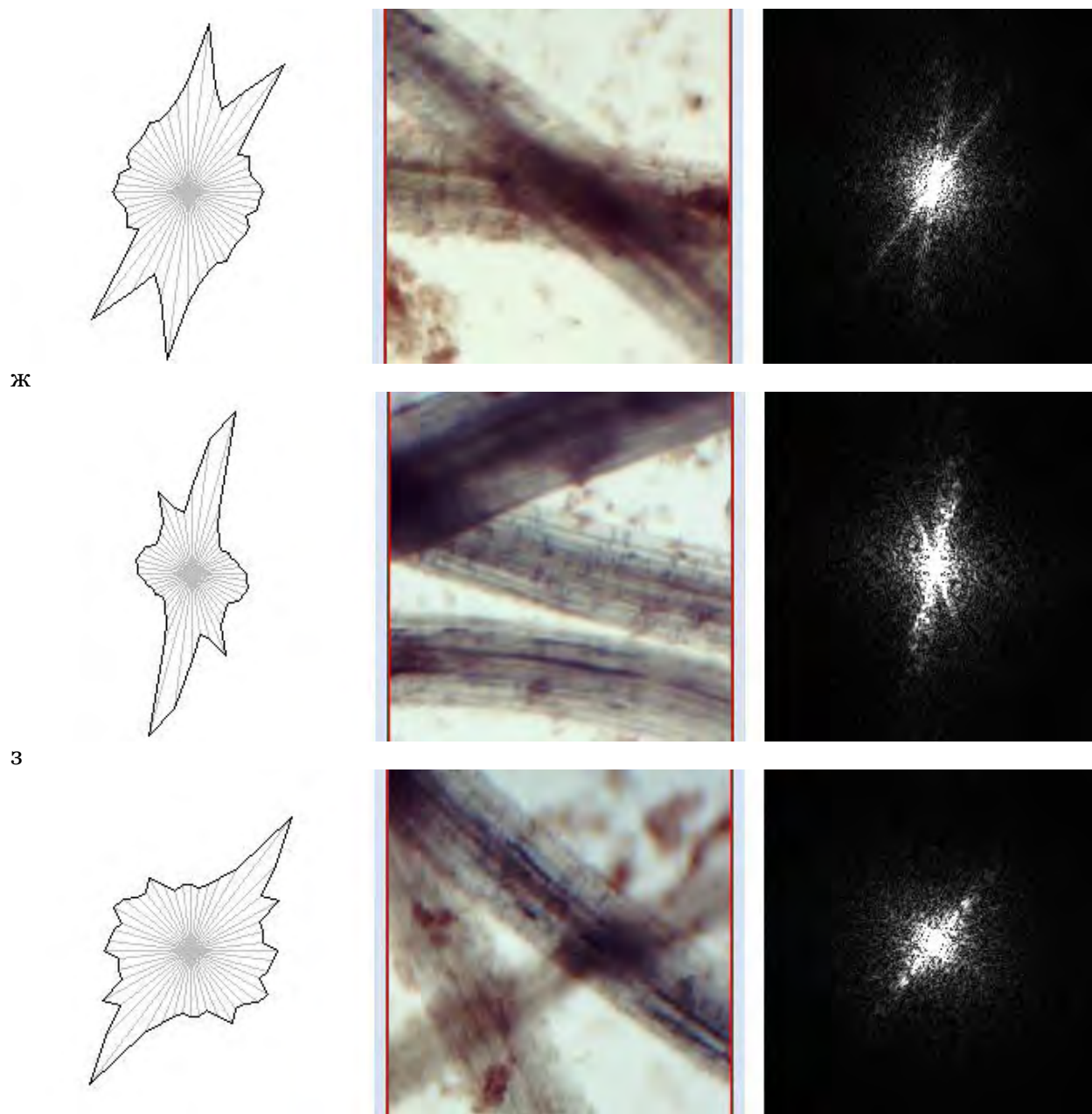


а



б



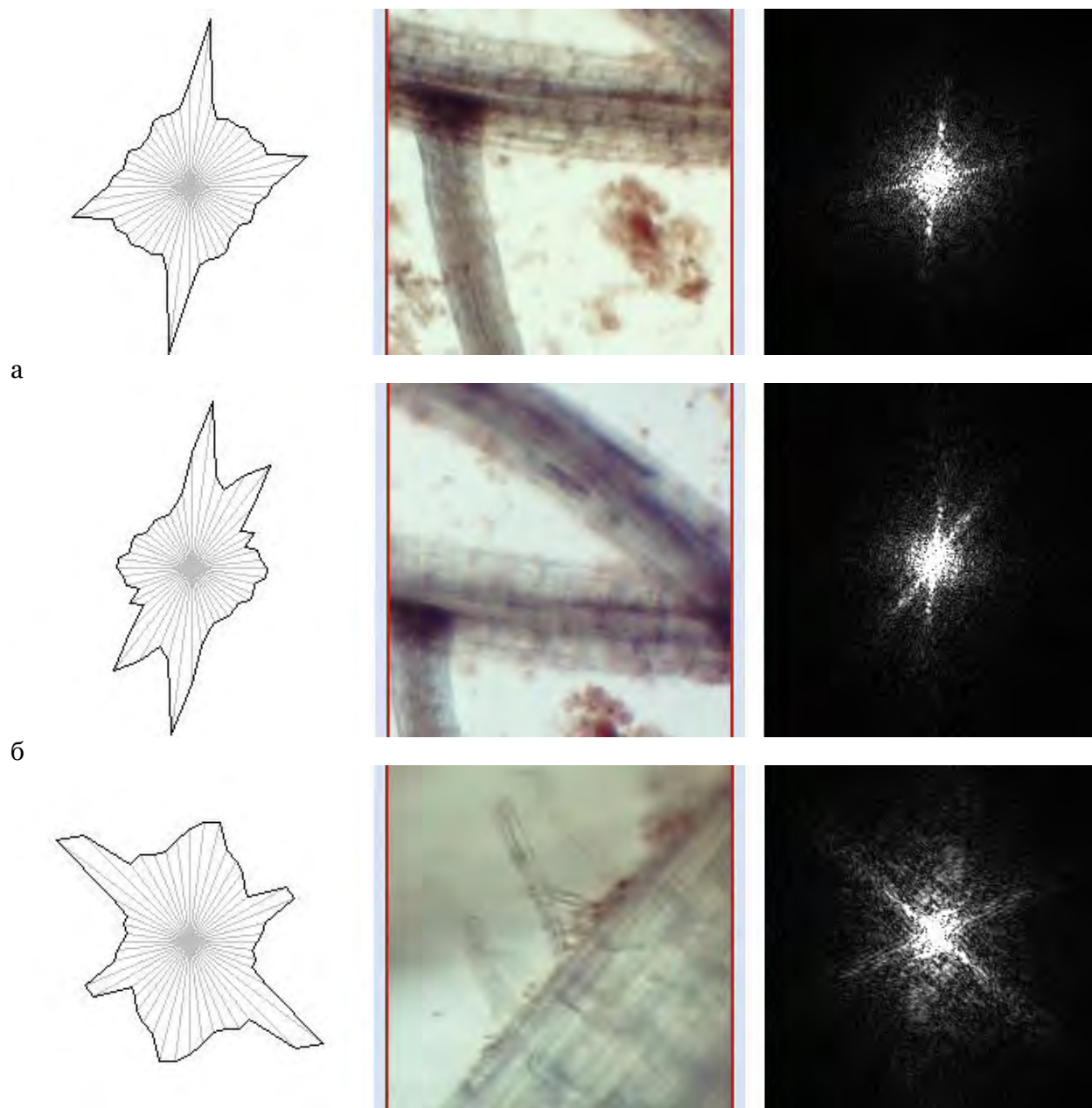


и

Рис. 28. На малых увеличениях в поле зрения всегда попадают несколько волокон, которые часто существенно смещают дифрактограмму и вычисляемые характеристики

14. Сигналы при наличии изломов и боковых ответвлений, а также корневых волосков.

Более того, многие из этих структурных элементов ветвятся или являются отходящими от корня, как корневые волоски. Поэтому возникают дополнительные максимумы, которые могут быть как угодно ориентированы относительно основного ([Рисунки 29а-в](#)), что зависит от геометрии и тропизмов конкретных органов в анатомии растения.



в

Рис. 29. При наличии ответвлений или корневых волосков возникают дополнительные максимумы, которые могут быть произвольно ориентированы относительно основного

Также весьма искаженные картины, как и множественные максимумы, Фурье-спектров и интегральных пространственных характеристик могут быть следствием артефактов типа изгиба или излома биоматериала при приготовлении препарата или при технологическом процессе, результат которого кваллиметрируется данным путем. Это показано на [Рисунках 30а, б.](#)

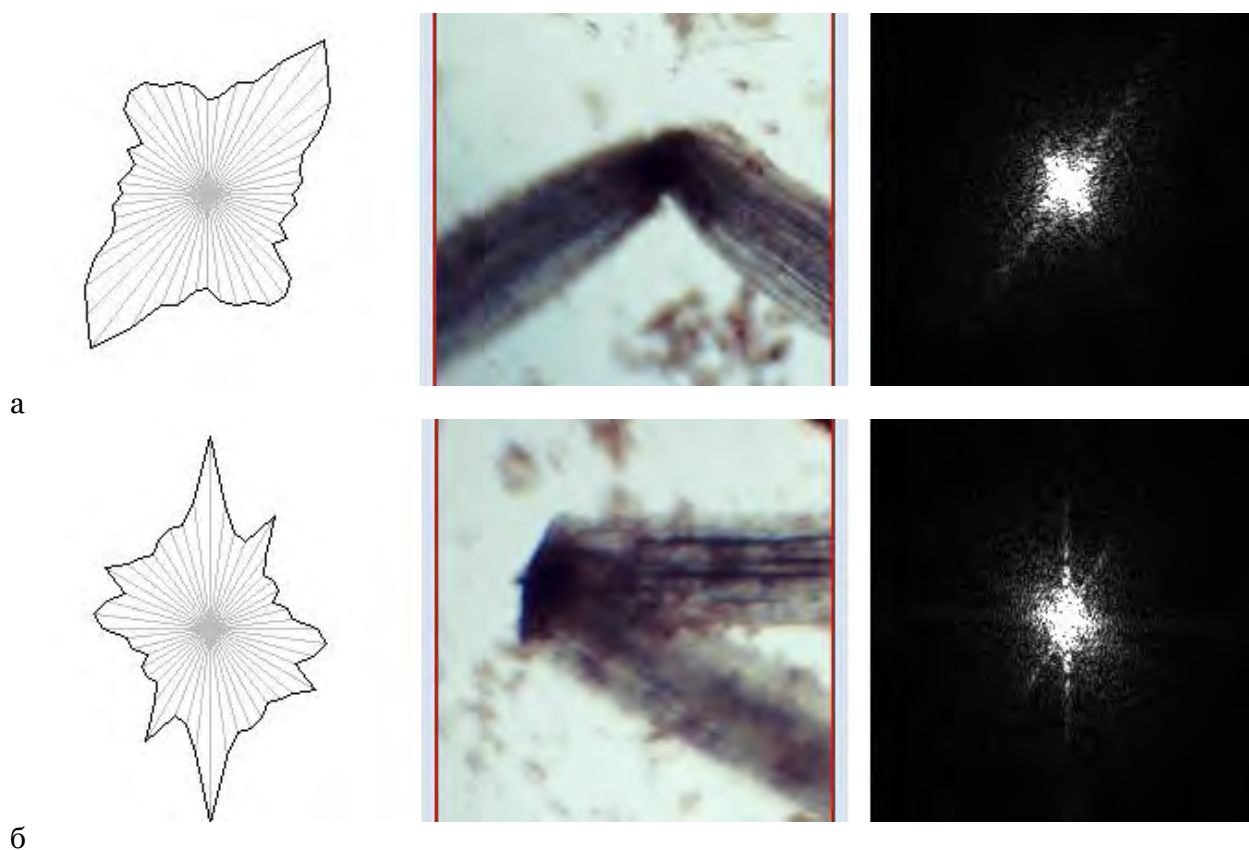


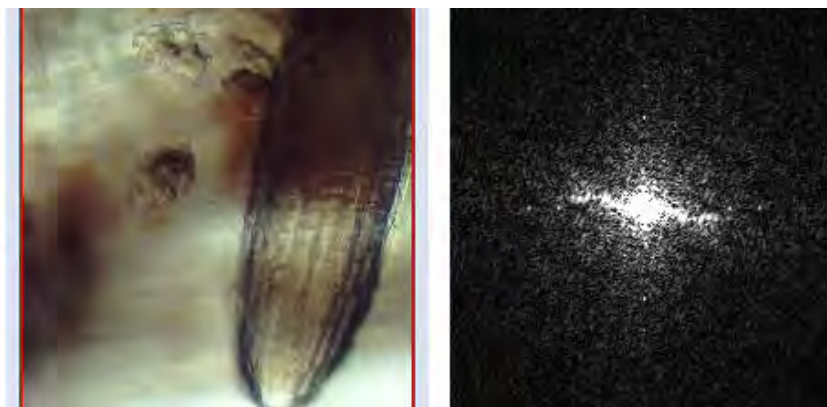
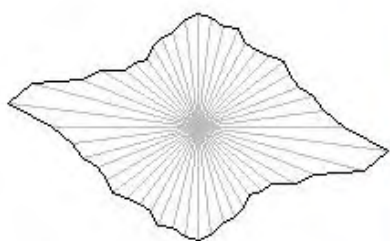
Рис. 30. Влияние технического изгиба или излома на дифракционные характеристики

15. Пекулярные элементы и артефакты: как дифференциально проявляются и как их отделить друг от друга

Часто при работе с естественным биоматериалом находят нефрагментированные части растения или закономерным образом фрагментированные элементы, соответствующие их физиологической роли в исходном живом растении. Например, встречаются целые и невредимые корневые волоски или гипокотили (Рисунки 31а, б), целые мацераты с ситовидными трубками и т.д.



а



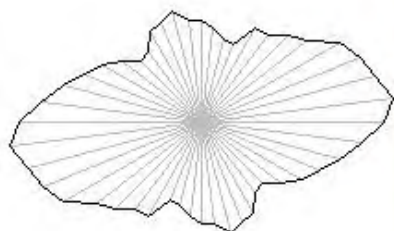
б

Рис. 31. Гипокотиль и его дифракционная сигнатура (а – для правильного позиционирования; б – с уширением при неправильном позиционировании и попадании в кадр нежелательных элементов, образующих гало)

Рассмотрение такой "фрагментарной анатомии", которая может появляться в проточном микрофлюидном/оптофлюидном цитометрическом анализе с использованием 2D БПФ в реальном времени, а также в простом анализе фрагментированных микропрепаратов (как это сделано в настоящей статье) и детектироваться/идентифицироваться по паттернам 2D БПФ, должно являться предметом отдельной работы, ограничиваемой в данной статье (по причинам её биологической специфичности) лишь одним "каталожным" разделом, представляющим, скорее, атлас микрофотографических изображений и соответствующих им двумерных спектров и расчетных характеристик, чем полноценное описание анатомии данных компонент. При этом для упрощения понимания биологами приводятся краткие и запоминающиеся "дидактические" названия соответствующих спектров, а не физические / математические обоснования их получения с результатами моделирования (проведенного О.В. Градовым из ФИЦ ХФ РАН), так как в задачи данной статьи входит не техническое / алгоритмическое описание, а популяризация метода для агроботаников.

15-а. Метамерные компактные структуры, дающие спектр в форме "бабочки"

Метамерные компактные структуры с различной "фазированностью" слоев клеток дают спектр в форме симметричной "бабочки" (Рисунки 32а-д). Если размер структуры вырастает, а метамерия, асинфазность слоев и абрисная эллиптичность в строении сохраняется, то те же спектры мы видим и на крупных фрагментах корней, при условии отсутствующей или маскированной продольной волокнистой структуры (весьма существенно отличающей их от вышеприведенных примеров).



а

* Подобные двумерные спектры мы получали при анализе изображений ряда докембрийских форм и более поздних ископаемых ракообразных и отпечатков личинок членистоногих.

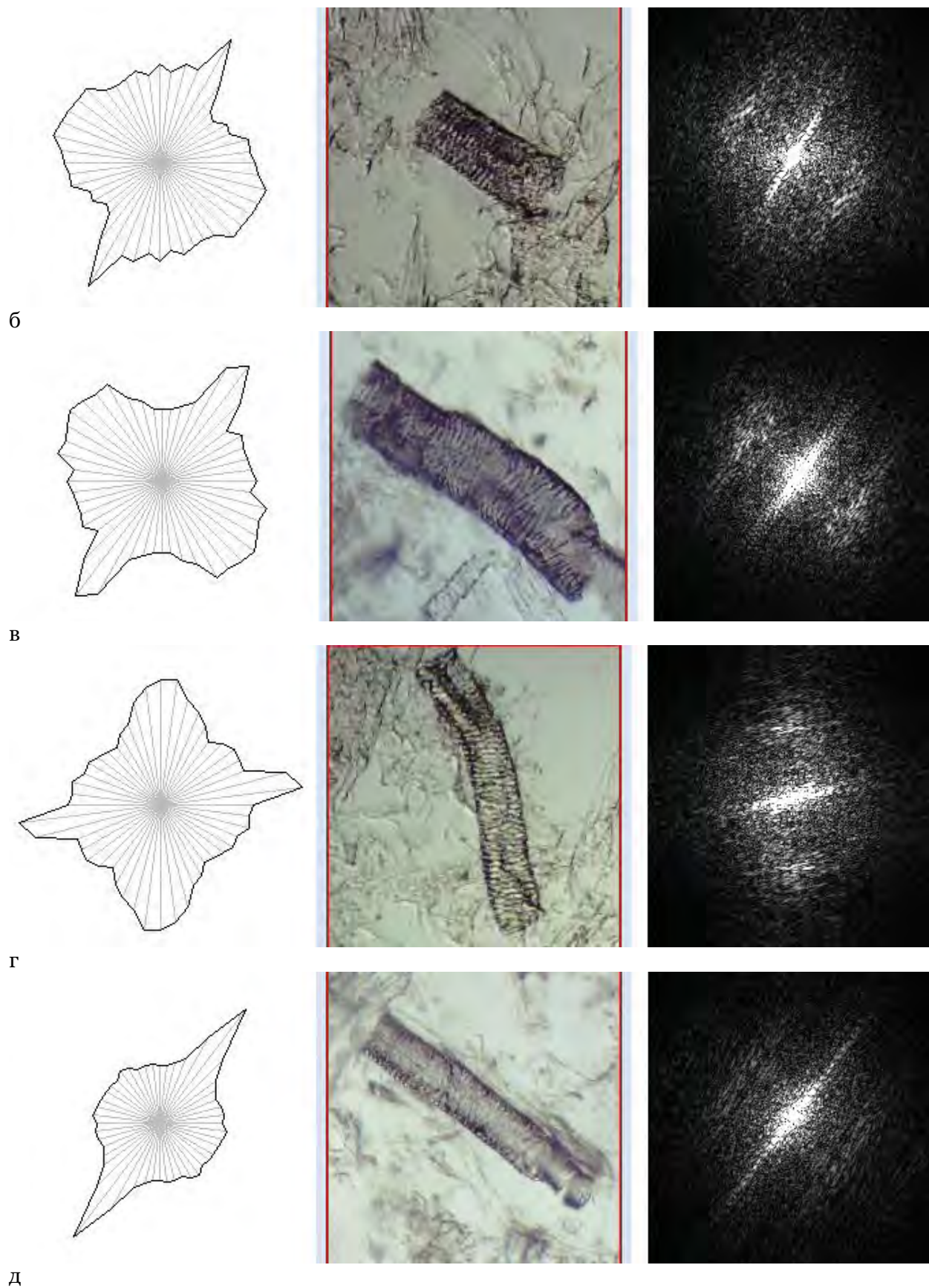


Рис. 32. Образование спектра в форме "бабочки" и его эволюция при изменении фазности и росте текстурной монолитности фрагментов биоматериала

Остатки подобного поведения спектра с симметричными компонентами можно отметить и у некоторых разрушенных в ходе препарирования фрагментов, но там они выражены на остаточном уровне и, как правило, не привлекают внимание оператора или нейросети (т.е. действуют ниже порога отсечки, threshold-a), что является причиной ложноотрицательных артефактов (Рисунки 33а, б).

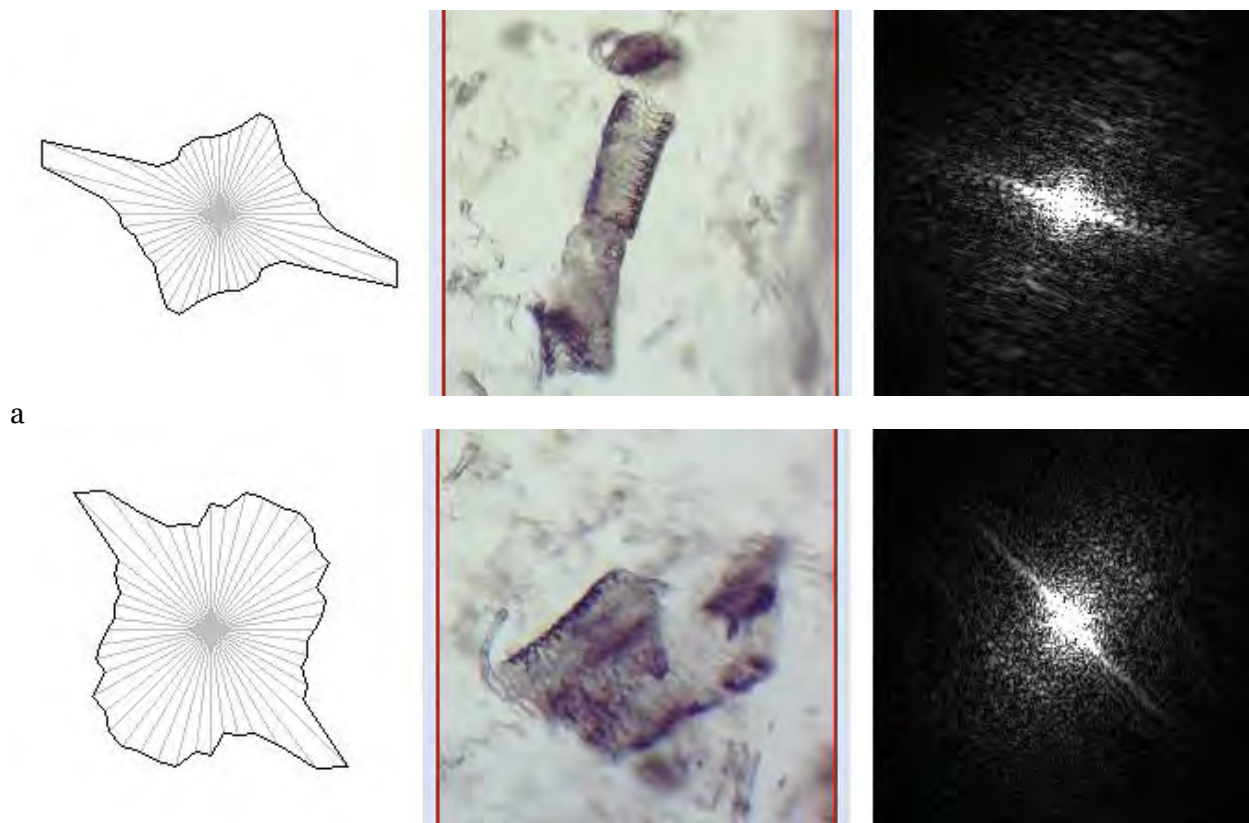
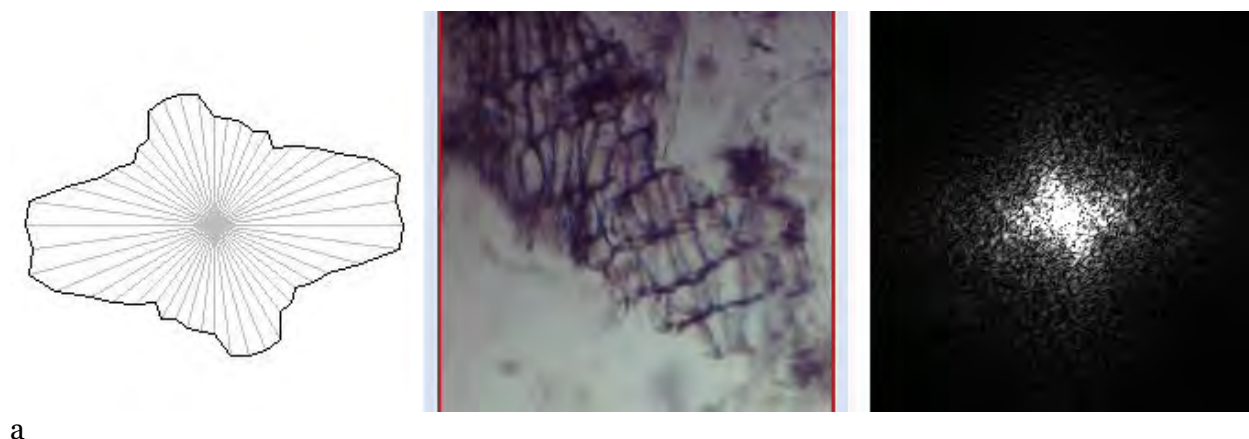


Рис. 33. Остаточные элементы спектра типа "бабочки" у разрушенных элементов

15-б. Спектры сжатых "ретикулярных" (клетчатых) текстур

Спектры сжатых "ретикулярных" текстур являются следствием компрессии на стадии фрагментации биоматериала, а в ряде методов пробоподготовки могут возникать в ходе центрифугирования. При малой степени компрессии на них хорошо отслеживаются и продольные, и поперечные компоненты (хотя нередко и слабоинтенсивные), как показано на Рисунках 34а-д. Нередко сигнал от сопутствующих компонент в окружении перебивает сигналы от подобных компонент и их "недооценивают" в автоматическом анализе, что опять же ведет к ложноотрицательным заключениям о фракционном составе пробы и свойствах образца (как показано на последнем примере в этой серии).



а

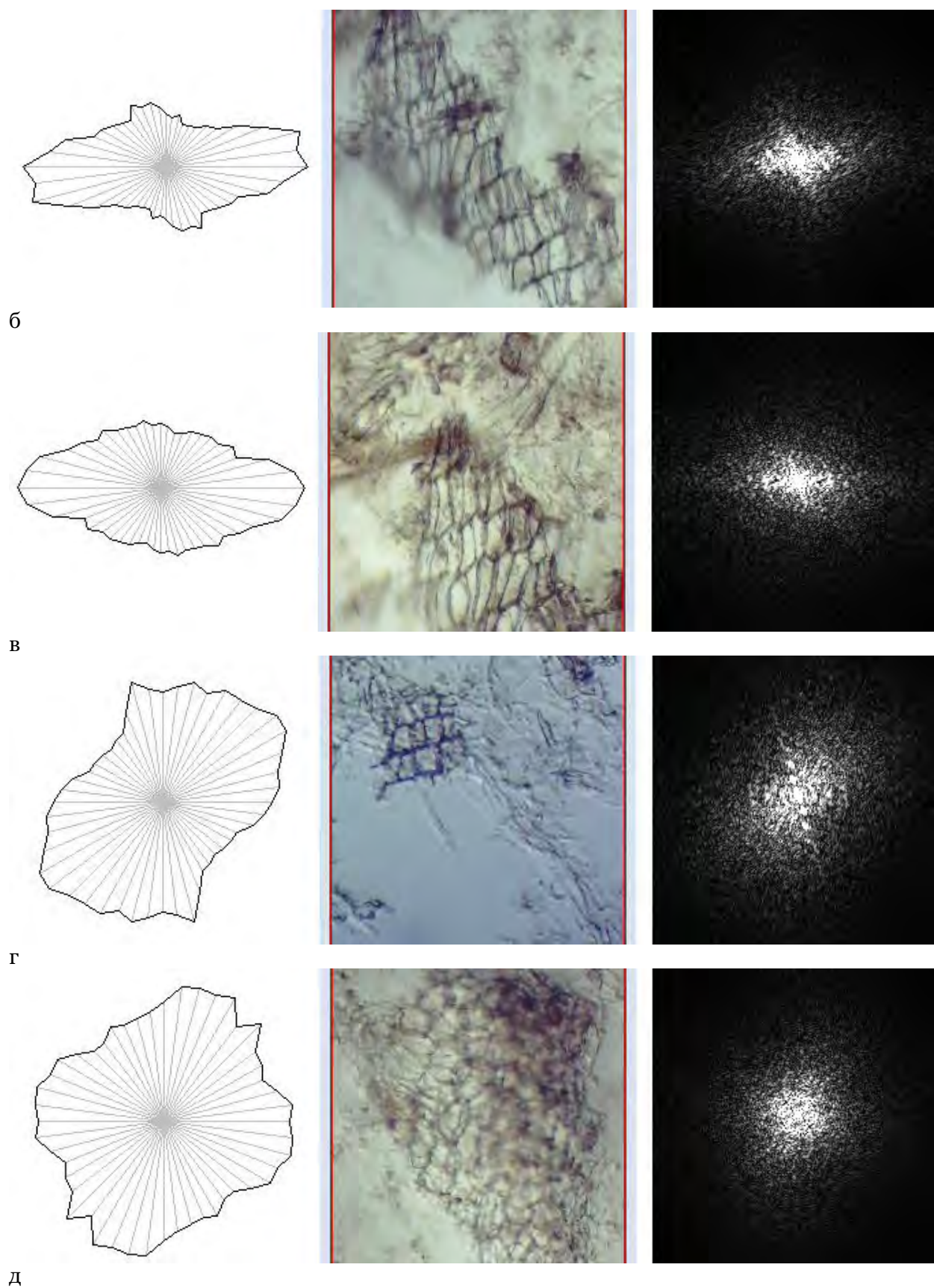


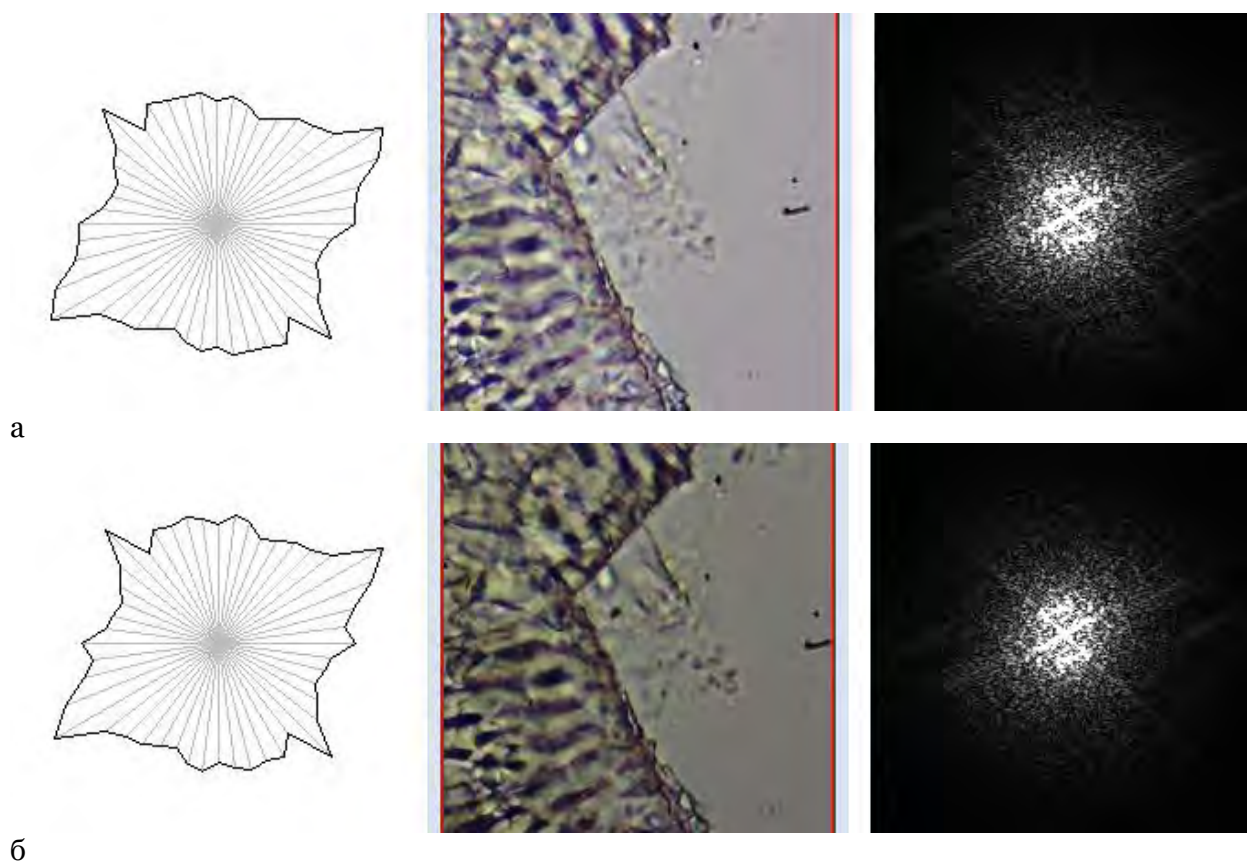
Рис. 34. Спектры сжатых "ретикулярных" (клеточных) текстур

При компрессии одни клетки сжимаются больше, чем другие/одни слои "мнутся" более, чем другие. Поэтому в итоге уже на небольших лоскутах ткани (порядка десятка

клеток) в реальности наблюдается переход от порядка к хаосу, полная фазовая асинхронность (из-за анизотропии сжатия) и устранение когерентной ориентации клеток, свойственной слоям в вышерассмотренных примерах. Пример этого приведен на [Рисунке 34-д](#). На таких 2D спектрах едва можно выделить ориентацию, в случае, если не рассматривать максимумы на интегральной частотной характеристике.

15-в. Слои с изломами, связанными с препарированием образца и нарушением симметрии.

Жесткие механические нарушения структуры микропрепарата, которые нельзя перепутать с собственными морфогенетическими особенностями растения, заключаются в изломах, в которых "неестественным образом" теряется собственный ход клеток растения, приводя к возникновению весьма специфических ("пекулярных", как сказали бы в астрономической спектроскопии) спектров. Например, одним из таких эффектов, возникающих в процессах излома, является спектр в форме "перечеркнутой литеры Z" (символ в шестнадцатиричном Юникоде Z – 01B5 или z – 01B6), возникающий в суперпозиции неортогональных угловых отношений излома и ложного воспроизведения эффекта "спектра бабочки" (см. выше), что связано с собственной метамерной текстурой образцов. Пример этого приведен на [Рисунках 35а-г](#). Таким образом, на границах таких структур формируется спектр, адекватный углу излома.



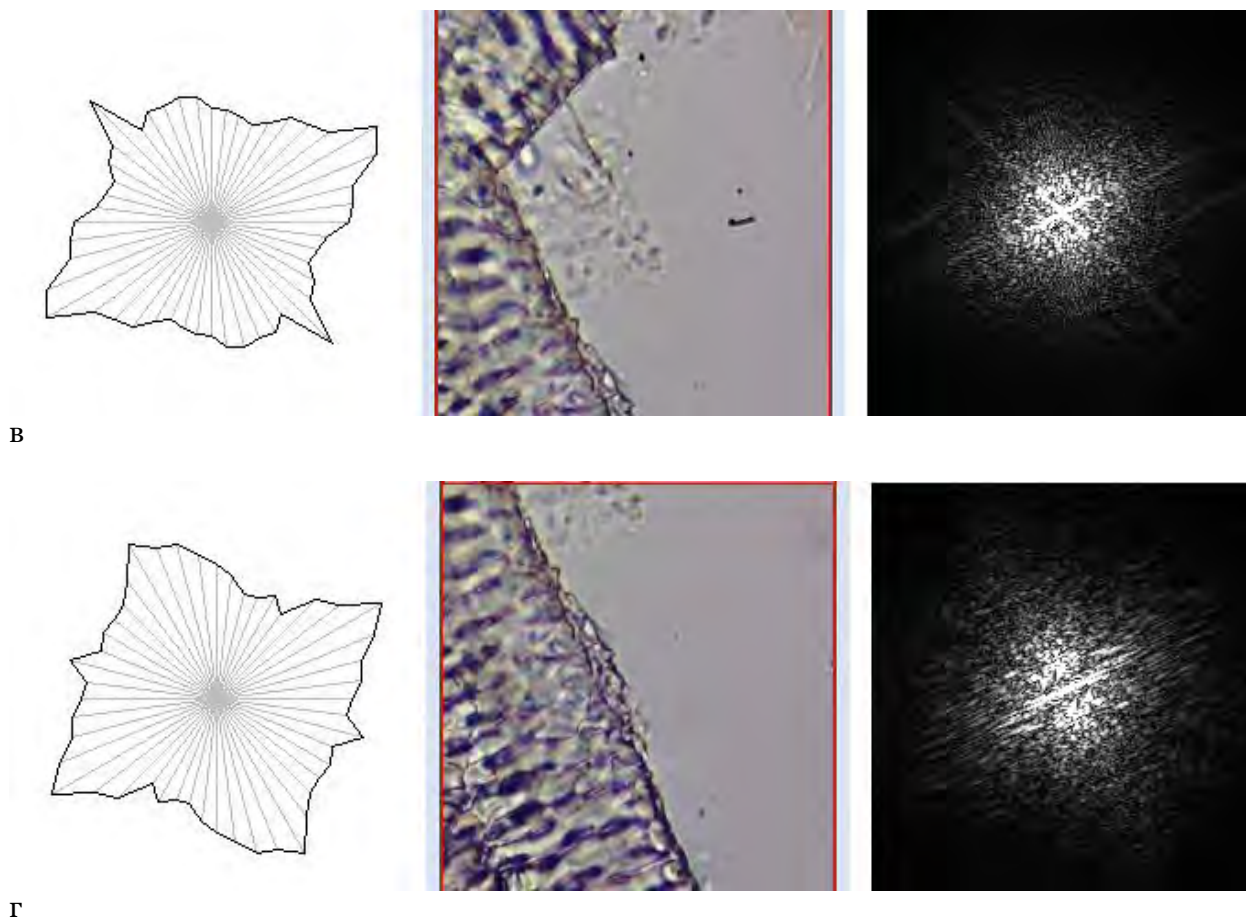


Рис. 35. Спектр в форме прямой или отраженной "перечеркнутой литеры Z" (символ в шестнадцатиричном Юникоде Z – 01B5 или z – 01B6)

Он возникает из обычного спектра "бабочки". Отметим, что для таких случаев нами часто применялся также вторичный способ детектирования - нейросетевая муарография, смысл которой состоит в регистрации муарограмм наложенных тканей и вычленении различных мотивов ориентации/структурной организации с целью недопущения кросс-артефактов – продуктов перекрытия разных клеточных слоев, детектируемых и сепарируемых данным методом.

15-г: Области отрыва

Ещё одним примером пекулярных структур, детектируемых как возможный артефакт (так как потенциально нормированных и соответственных вышеописанному случаю, в котором циркулярные и кольцевые компоненты клеточной/тканевой организации сосуществуют на одном кадре), является зона отрыва или излома ткани с распавшимися при оном клетками, искривленной (по линии изгиба / деформации при отрыве) областью отрыва и мягкими (в силу собственных механико-реологических свойств растительного материала) обводами с конформными слоями одинаково поведшего себя волокнистого материала. Можно видеть, что такие структуры показывают наличие в спектре кольцевых и радиальных компонент, в то время как по микрофотографии заключить о существовании выраженных сферических / округлых элементов (типа протопластов или клеток паренхимы) невозможно (Рисунки 36а,б). В силу этого целесообразно сопоставлять представления оператора-морфолога и результат программы.

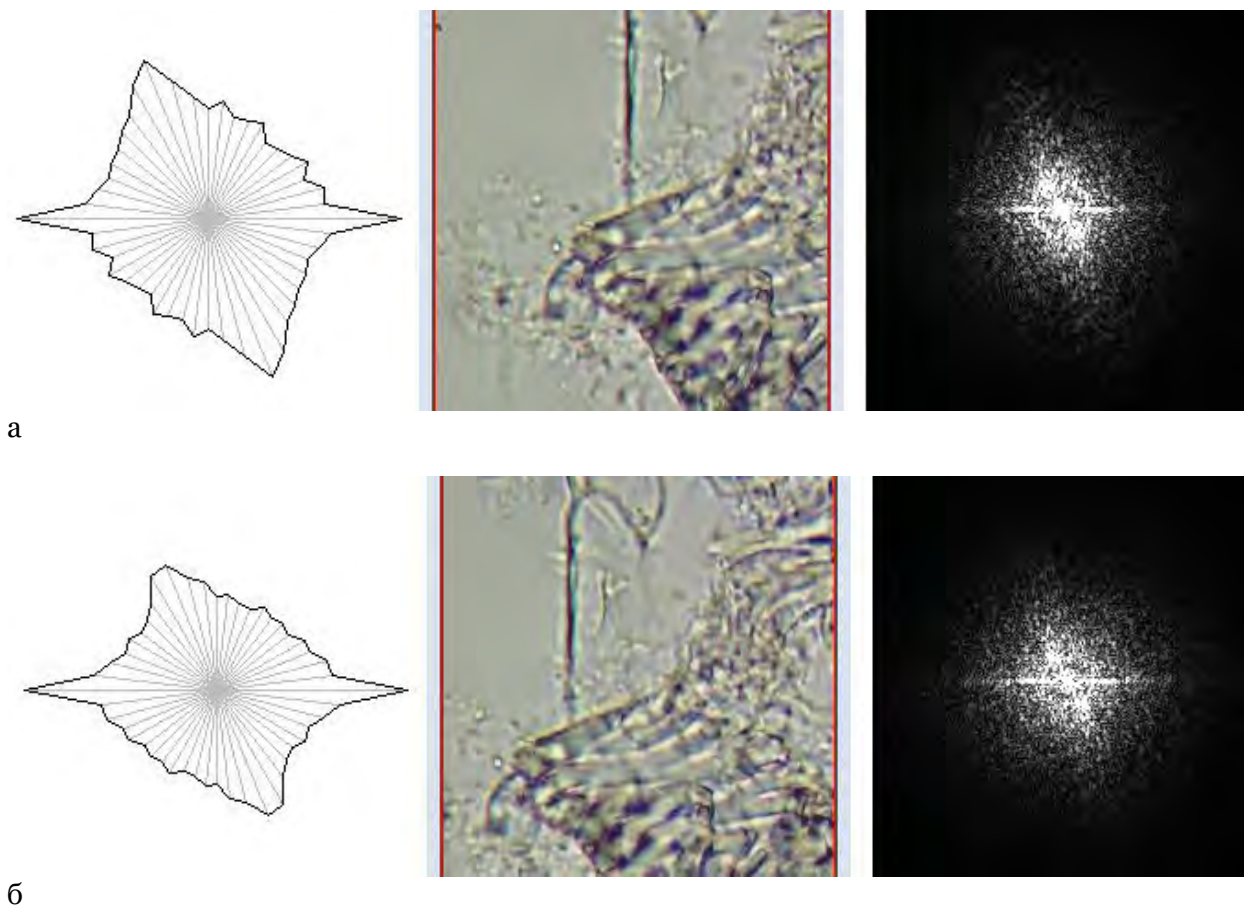


Рис. 36. Артефактивный спектр зоны отрыва, не соответствующий текстуре нативной ткани

15-д. Артефакты ложной регулярности неразрешенных сингулярных структур

Ещё одним случаем, следующим из вышерассмотренного "критерия несингулярности" в анализе структур является проблема ложноположительных результатов для субструктур с размерами порядка единиц пикселей. Рассмотрим отдельный пример для "доказательства от абсурдного" (см. серию на [Рисунках 37а-в](#)). В поле зрения находится один элемент корневого волоска с сравнительно невысокой оптической плотностью и один более оптически плотный и неразрешенный на клеточном уровне элемент. Объекты снимаются в сравнительно однородном светлом поле и не содержат выраженных элементов метамерии. Однако на спектре срабатывает эффект, известный у спектроскопистов под жаргонным названием "духи решетки". В силу этого, в Фурье-спектре очевидным образом проявляются регулярные элементы, проявляющие ряд пекулярных свойств по симметрии и ориентации (чего не может быть). При сдвиге кадра, как это показано на последнем коллаже серии, регулярность теряется, а спектр эмулирует отклик, свойственный сигнатурам кардинально отличным по свойствам структур. То есть следует учесть, что устойчивость сигнала при сдвиге образца в поле зрения является, как минимум, валидационным/верификационным критерием, а как максимум, требованием, которое должен обеспечить любой экспериментатор в процессе анализа биоматериала.

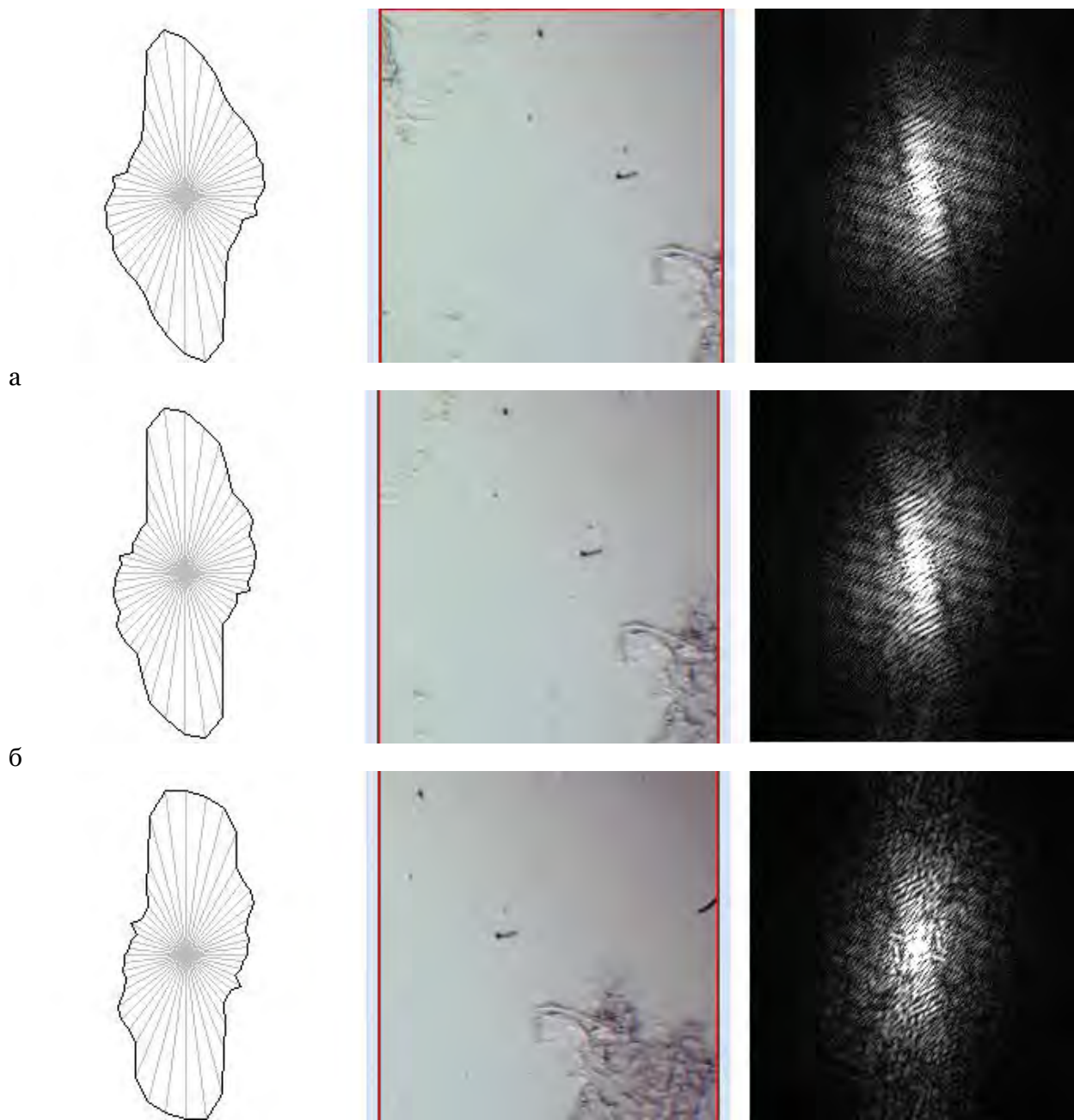
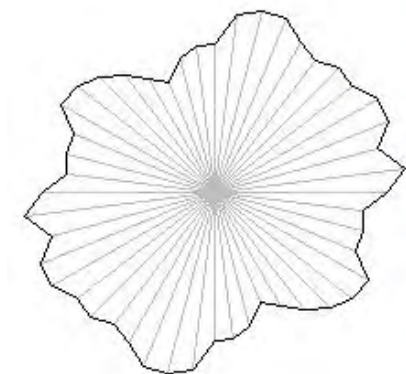


Рис. 37. Артефакты ложной регулярности неразрешенных сингулярных структур (муар)

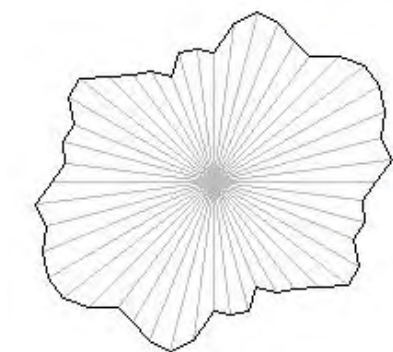
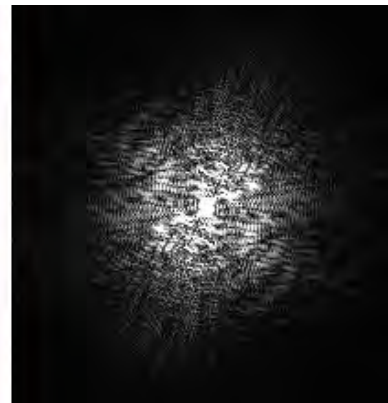
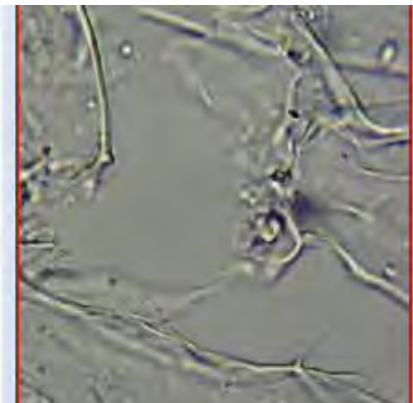
15-е. "Спектры василькового типа"

В данном случае речь идёт, естественно, не о ботаническом происхождении образца и не о его колориметрических характеристиках, а о том, что при наличии множественных осевых направлений структур, свойственных разложенному (как правило, биохимически) образцу (в особенности, с использованием гидролитических процессов), спектр приобретает много смещенных осей симметрии с разной интенсивностью, свидетельствующих о рассеянии на этих микроструктурах. В связи с этим спектр становится похож на "цветок василька" (а само название "васильковый спектр" предложено нам белорусскими коллегами, когда методика машинного зрения и корреляционно-спектрального анализа тестировалась на белорусских агропродуктах и ботанических образцах коллегами из ОДХБП ФИЦ ХФ РАН в ходе длительных командировок).

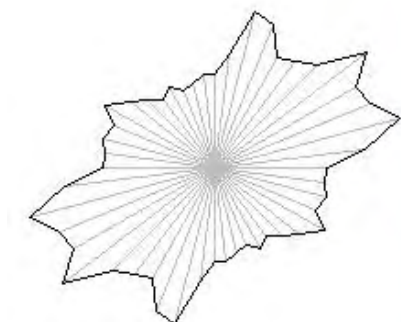
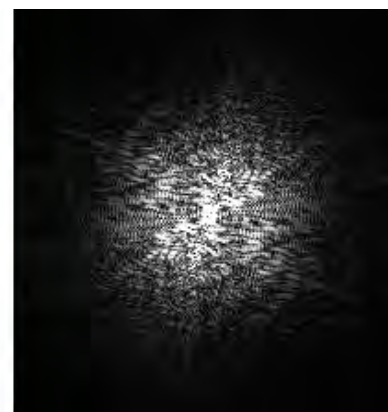
Нужно сказать, что при достаточно небольших сдвигах "рамки считывания"/ROI/предметного стола данная "васильковость" пропадает, сменяясь обычными многоугольными спектрами, как это показано на [Рисунках 38а-д](#).



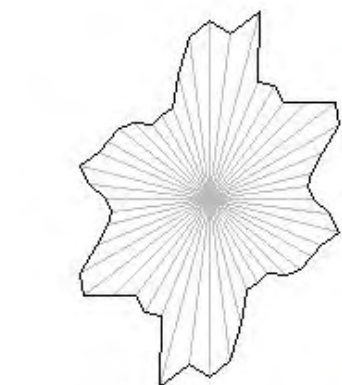
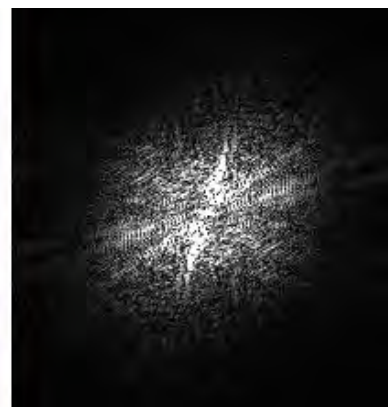
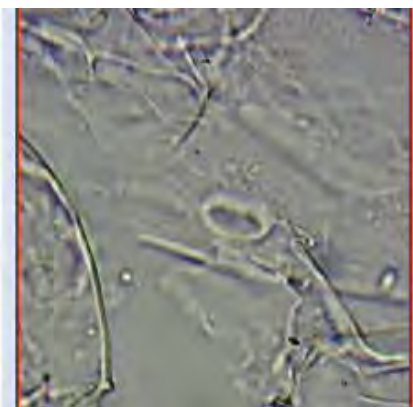
a



б

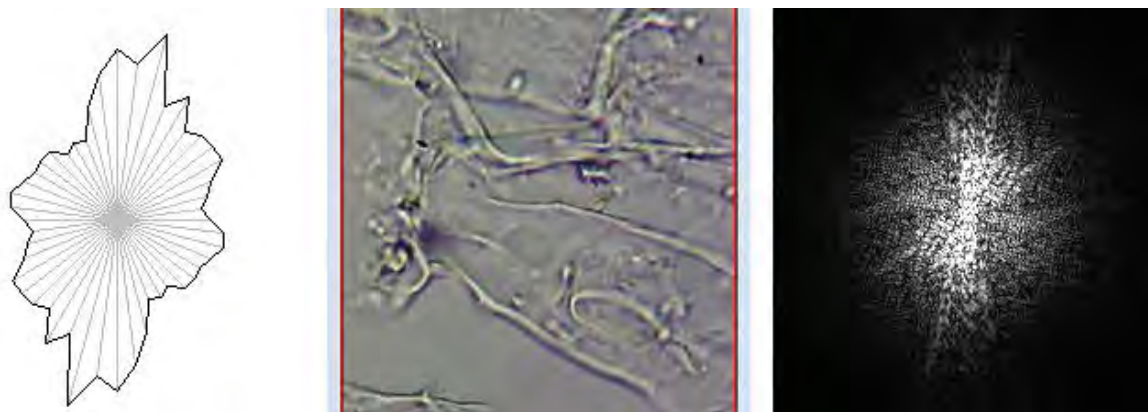


в



г





д
Рис. 38. Спектры "василькового типа" и их редукция

4. Заключение

Из приведенного комплекса результатов и упрощенных теоретических соображений об интерпретации полученных данных можно видеть/заключить, что:

- Предложенный подход воспроизводимо детектирует и идентифицирует различные структуры корня (вплоть до hypocotyls и корневых волосков) и сопутствующего биоматериала.
- Существуют спектральные сигнатуры как биогенных структур, так и их искажений в ходе пробоподготовки или в технологических процессах.
- Возможно оценивание воспроизводимости на корневом биоматериале средствами, имитирующими резольвометрическую аппаратуру и оптические дифрактометры.
- Существует ряд пекулярных форм двумерных спектров и их ключевых артефактов, которые следует принимать во внимание при работе в рамках данного подхода.
- Апробированный подход может быть рекомендован к целевому использованию как агроботаникам, так и специалистам в области квалиметрии агропродукции. Также в ряде случаев он может быть использован в задачах карантина растений.

5. Благодарности

Авторы благодарят О.В. Градова (Институт Химической Физики РАН, Отдел динамики химических и биологических процессов; ИНЭПХФ РАН, Группа биофизического приборостроения Лаборатории биологического воздействия наноструктур) за предоставление полного текста аналитического обзора и отчета по анализу корней с использованием методов корреляционно-спектрального анализа, выполненного совместно с первым автором данной статьи для агробиологической лаборатории, базирующейся в ИБХФ РАН. Авторы выражают благодарность её заведующему Ю. Мартиросяну, являющемуся также заведующим лабораторией в институте сельскохозяйственной биотехнологии, за инспиративный вклад в работу с корнями хрена и предоставление корней хрена, выращенных методами аэропоники. Также мы выражаем сожаление тому факту, что он не решился войти в соавторы данной статьи, не сочтя себя компетентным в области лазерной биофизики и методов биооптики. Выражается особая благодарность коллегам из ТОИ ДВО РАН, разработавшим гениальные программы с возможностью двумерного FFT-анализа в реальном времени (QAVIS).

Литература

Гончарова и др., 2012 – Гончарова А.А., Фищенко В.К., Дубина В.А. Применение программы экспресс-анализа изображений и видео QAVIS в задачах спутникового мониторинга // *Современные проблемы дистанционного зондирования Земли из космоса*. 2012. 9(3): 293-298

Градов и др., 2019 – Градов О.В., Александров П.Л., Градова М.А. Исследование образцов релевантных для пустынных местонахождений минералов методами программного корреляционно-спектрального анализа регистрограмм сканирующей электронной микроскопии: от 2D-Фурье-спектров до он-лайн-анализа статистики

интегральных пространственных характеристик // *Программные системы и вычислительные методы*. 2019. 4: 125-171. DOI: 10.7256/2454-0714.2019.4.31379

Градов и др., 2018 – Градов О.В., Насиров Ф.А., Гончарова А.А., Фищенко В.К., Яблоков А.Г. Технологии безлинзовой голографической трихоскопии и трихометрии на чипе: микроинтерференционные, 2D-Фурье-спектральные (интегральные частотные и пространственные) и коррелографические техники в клинической трихологии // *Морфология*. 2018. 12(2): 7-21. DOI: <http://dx.doi.org/10.26641/1997-9665.2018.2.7-21>

Дубина и др., 2011 – Дубина В.А., Фищенко В.К., Константинов О.Г., Митник Л.М. Интеграция спутниковых данных и наземных видеонаблюдений в системах мониторинга // *Современные проблемы дистанционного зондирования Земли из космоса*. 2011. 8(3): 214-220.

Семченко, Хахомов, 2007 – Семченко И.В., Хахомов С.А. Лабораторный практикум по оптике. Министерство образования Республики Беларусь, Гомельский государственный университет им.Ф.Скорины. Гомель: ГГУ им. Ф. Скорины, 2007. 223 с.

Скрынник и др., 2018 – Скрынник А.А., Оганесян В.А., Яблоков А.Г., Градов О.В. Система для полуавтоматической классификация тканей с использованием оптического дифрактометра для анализа биополимерных структур // *Морфология*. 2018. 12(3): 164-171. DOI: <http://dx.doi.org/10.26641/1997-9665.2018.3.164-171>

An et al., 2010 – An Q.L., Yang X.J., Feng L., Mao B.Z., Kuang, B.J., Li J. D. Using orthogonal sectioning with a laser scanning confocal microscopic system to determine endophytic colonization of plant roots by GFP-tagged bacteria // *J Chin Electr Microsc Soc*. 2010. 29: 354-360.

Askraba et al., 2016 – Askraba S., Paap A., Alameh K., Rowe J., Miller C. Laser-stabilized real-time plant discrimination sensor for precision agriculture // *IEEE Sensors Journal*. 2016. 16(17): 6680-6686. DOI: <https://doi.org/10.1109/JSEN.2016.2582908>

Bawiec et al., 2019 – Bawiec A., Garbowski T., Pawęska K., Pulikowski K. Analysis of the algae growth dynamics in the hydroponic system with LEDs nighttime lighting using the laser granulometry method // *Water, Air, & Soil Pollution*. 2019. 230(1): 17. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11270-018-4075-8>

Choudhary et al., 2015 – Choudhary A., Radhika M., Chatterjee A., Banerjee U.C., Singh I.P. Qualitative and Quantitative Analysis of *Potentilla fulgens* Roots by NMR, Matrix-assisted Laser Desorption/Ionisation with Time-of-Flight MS, Electrospray Ionisation MS/MS and HPLC/UV. *Phytochemical Analysis*. 2015. 26(2): 161-170. DOI: <https://doi.org/10.1002/pca.2547>

Dinoev, 2006 – Dinoev S. Laser: a controlled assistant in agriculture // *Problems Eng. Cybernetics Robotics*. 2006. 56: 86-91.

Dolgikh et al., 2019 – Dolgikh G.I., Fishchenko V.K., Goncharova, A.A. Potential for recording of waves and sea level fluctuations in the world ocean coastal areas by internet video analysis // *Doklady Earth Sciences*. 2019. 488: 1264-1267. DOI: <https://doi.org/10.1134/S1028334X19100209>

Dong et al., 2015 – Dong B., Yang X., Zhu S., Bassham D.C., Fang N. Stochastic optical reconstruction microscopy imaging of microtubule arrays in intact *Arabidopsis thaliana* seedling roots // *Scientific reports*. 2015. 5(1): 1-14. DOI: <https://doi.org/10.1038/srep15694>

Dubrovsky et al., 2006 – Dubrovsky J.G., Guttenberger M., Saralegui A., Napsucially-Mendivil S., Voigt B., Baluška F., Menzel, D. Neutral red as a probe for confocal laser scanning microscopy studies of plant roots // *Annals of Botany*. 2006. 97(6): 1127-1138. DOI: <https://doi.org/10.1093/aob/mcl045>

Eeckhaoudt et al., 1992 – Eeckhaoudt S., Vandeputte D., Van Praag H., Van Grieken R., Jacob W. Laser microprobe mass analysis (LAMMA) of aluminum and lead in fine roots and their ectomycorrhizal mantles of Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst.) // *Tree Physiology*. 1992. 10(2), 209-215. DOI: <https://doi.org/10.1093/treephys/10.2.209>

Erler et al., 2020 – Erler A., Riebe D., Beitz T., Löhmansröben H.G., Gebbers R. Soil nutrient detection for precision agriculture using handheld laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS) and multivariate regression methods (PLSR, Lasso and GPR) // *Sensors*. 2020. 20(2): 418. DOI: <https://doi.org/10.3390/s20020418>

Espinoza et al., 2018 – Espinoza C.Z., Rathnayake A.P., Chakraborty M., Sankaran S., Jacoby P., Khot, L.R. Applicability of time-of-flight based ground and multispectral aerial imaging for grapevine canopy vigour monitoring under direct root-zone deficit irrigation // *International Journal of Remote Sensing*. 39(23): 8818-8836. DOI: <https://doi.org/10.1080/01431161.2018.1500047>

Fellows et al, 2003 – *Fellows R.J., Wang, Z., Ainsworth, C.C.* Europium uptake and partitioning in oat (*Avena sativa*) roots as studied by laser-induced fluorescence spectroscopy and confocal microscopy profiling technique // *Environmental science & technology*. 2003. 37(22): 5247-5253. DOI: <https://doi.org/10.1021/es0343609>

Fischenko et al., 2021 – *Fischenko, V.K., Goncharova, A.A., Dolgikh, G.I., Zimin, P.S., Subote, A.E., Klescheva, N.A., Golik, A.V.* Express image and video analysis technology QAVIS: application in system for video monitoring of Peter the Great Bay (Sea of Japan/East Sea) // *Journal of Marine Science and Engineering*. 2021. 9(10): 1073. DOI: <https://doi.org/10.3390/jmse9101073>

Fischenko et al., 2022 – *Fischenko V., Mitnik L., Dolgikh G., Goncharova A., Zimin P., Klescheva N., Golik A.* QAVIS technology: Measuring wave processes in coastal zones based on the analysis of internet video broadcast // In: *IGARSS 2022-2022 IEEE International Geoscience and Remote Sensing Symposium*. 2022. (pp. 6801-6804). IEEE. DOI: <https://doi.org/10.1109/IGARSS46834.2022.9883487>

Ghosh et al. 2016 – *Ghosh A., Ta S., Ghosh M., Karmakar S., Banik A., Dangar T.K., Mukhopadhyay S.K., Das D.* Dual mode ratiometric recognition of zinc acetate: nanomolar detection with in vitro tracking of endophytic bacteria in rice root tissue // *Dalton Transactions*. 2016. 45(2): 599-606. DOI: <https://doi.org/10.1039/C5DT03431K>

Hansen et al., 1997 – *Hansen M., Kragelund L., Nybroe O., Sørensen J.* Early colonization of barley roots by *Pseudomonas fluorescens* studied by immunofluorescence technique and confocal laser scanning microscopy // *FEMS microbiology ecology*. 1997. 23(4): 353-360. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.1997.tb00416.x>

Hassan et al., 2013 – *Hassan H.E., Rahman A.A.A., El-Sherbini E.A., El-Fattah Z.A., Tawab A.R.A.* Laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS)-an assessment of treated industrial wastewater using water hyacinth roots // *Journal of Applied Sciences Research*. 2013. 9(2): 1074-1082. DOI: <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/20133206045>

Heeren et al., 2020 – *Heeren B., Paulus S., Goldbach H., Kuhlmann H., Mahlein A.K., Rumpf M., Wirth B.* Statistical shape analysis of tap roots: a methodological case study on laser scanned sugar beets // *BMC bioinformatics*. 2020. 21(1): 1-17. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12859-020-03654-8>

Hernandez, 2010 – *Hernandez A.C., Dominguez P.A., Cruz, O.A., Ivanov, R., Carballo, C.A., Zepeda B.R.* (2010). Laser in agriculture // *Int. Agrophys*. 2010. 24(4): 407-422.

Hogekamp et al., 2011 – *Hogekamp C., Arndt D., Pereira P.A., Becker J.D., Hohnjec N., Küster H.* Laser microdissection unravels cell-typespecific transcription in arbuscular mycorrhizal roots, including CAAT-box transcription factor gene expression correlating with fungal contact and spread // *Plant Physiology*. 2011. 157(4): 2023-2043. DOI: <https://doi.org/10.1104/pp.111.186635>

Honghong, Zhengu, 1998 – *Honghong C., Zhengu C.* The Possibility Comparison Experiment of Laser Bioeffects in Agriculture and Mathematical Statistics // *Acta Laser Biology Sinica*. 1998. 7(4): 269-273.

Hulse, Braselton, 2019 – *Hulse J.D., Braselton J.* Three-Dimensional rendering of an unidentified Plasmodiophorid Slime Mold in *Cucurbita maxima* roots using laser scanning confocal microscopy // *Acta Scientific Agriculture*. 2019. 3: 205-210.

Jaiswal et al., 2018 – *Jaiswal Y., Liang Z., Ho A., Chen H., Williams L., Zhao Z.* Tissue-based metabolite profiling and qualitative comparison of two species of *Achyranthes* roots by use of UHPLC-QTOF MS and laser micro-dissection // *Journal of pharmaceutical analysis*. 2018. 8(1): 10-19. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2017.06.006>

Klink et al., 2005 – *Klink V. P., Alkharouf N., MacDonald M., Matthews B.* Laser capture microdissection (LCM) and expression analyses of Glycine max (soybean) syncytium containing root regions formed by the plant pathogen *Heterodera glycines* (soybean cyst nematode) // *Plant molecular biology*. 2005. 59(6): 965-979. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11103-005-2416-7>

Klink et al., 2007 – *Klink V.P., Overall C.C., Alkharouf N.W., MacDonald M.H., Matthews B.F.* Laser capture microdissection (LCM) and comparative microarray expression analysis of syncytial cells isolated from incompatible and compatible soybean (*Glycine max*) roots infected by the soybean cyst nematode (*Heterodera glycines*) // *Planta*. 2007. 226(6): 1389-1409. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00425-007-0578-z>

Klink et al., 2009 – *Klink V.P., Hosseini P., Matsye P., Alkharouf N.W., Matthews B.F.* A gene expression analysis of syncytia laser microdissected from the roots of the *Glycine max*

(soybean) genotype PI 548402 (Peking) undergoing a resistant reaction after infection by *Heterodera glycines* (soybean cyst nematode) // *Plant molecular biology*. 2009. 71(6): 525-567. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11103-009-9539-1>

[Koper et al., 1996](#) – *Koper R., Wójcik S., Kornas-Czuczwar B., Bojarska U.* Effect of the laser exposure of seeds on the yield and chemical composition of sugar beet roots // *International agrophysics*. 1996. 10(2): 103-108. DOI: <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/19970704164>

[Krzyzanowska et al., 2012](#) – *Krzyzanowska D., Obuchowski M., Bikowski M., Rychlowski M., Jafra S.* Colonization of potato rhizosphere by GFPtagged *Bacillus subtilis* MB73/2, *Pseudomonas* sp. P482 and *Ochrobactrum* sp. A44 shown on large sections of roots using enrichment sample preparation and confocal laser scanning microscopy // *Sensors*. 2012. 12(12): 17608-17619. DOI: <https://doi.org/10.3390/s121217608>

[Kuya, Sato, 2011](#) – *Kuya, N., Sato, S.* The relationship between profiles of plagiogravitropism and morphometry of columella cells during the development of lateral roots of *Vigna angularis* // *Advances in space research*. 2011. 47(3): 553-562. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.asr.2010.09.009>

[Levy et al., 1983](#) – *Levy A., Milo J., Ashri A., Palevitch D.* Heterosis and correlation analysis of the vegetative components and ajmalicine content in the roots of the medicinal plant-*Catharanthus roseus* (L.) G. Don // *Euphytica*. 1983. 32(2): 557-564. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00021468>

[Li et al., 2012](#) – *Li S., Sun Y., Han R.* Influence of He-Ne Laser Irradiation and Ultraviolet-B Radiation on Nitrogen Metabolism Enzymes in Wheat Seedling Roots [J] // *Journal of Shihezi University* (Natural Science). 2012. [Machine Translation Card].

[Liu et al., 2018](#) – *Liu F., Shen T., Kong W., Peng J., Zhang C., Song K., Wang W., Zhang C., He Y.* Quantitative analysis of cadmium in tobacco roots using laser-induced breakdown spectroscopy with variable index and chemometrics // *Frontiers in plant science*. 2018. 9: 1316. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01316>

[Martinière et al., 2018](#) – *Martinière A., Gibrat R., Sentenac H., Dumont X., Gaillard I., Paris N.* Uncovering pH at both sides of the root plasma membrane interface using noninvasive imaging // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2018. 115(25): 6488-6493. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.1721769115>

[Meng et al., 2013](#) – *Meng Y., Di B., Zhang G., Feng X. G., Xu C.L., Tian J.* The correlation analysis of soluble sugar and starch contents with electrical impedance in *Betula platyphylla* Suk. Roots under waterlogging and flooding stresses // *Acta Biophysica Sinica*. 2013. 29(6): 450-460.

[Meyer, Fricker, 2000](#) – *Meyer A.J., Fricker M.D.* Direct measurement of glutathione in epidermal cells of intact *Arabidopsis* roots by twophoton laser scanning microscopy // *Journal of microscopy*. 2000. 198(3): 174-181. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2818.2000.00697.x>

[Moradi et al., 2010](#) – *Moradi A.B., Swoboda S., Robinson B., Prohaska T., Kaestner A., Oswald S.E., Wenzel W.W., Schulin R.* Mapping of nickel in root cross-sections of the hyperaccumulator plant *Berkheya coddii* using laser ablation ICP-MS // *Environmental and Experimental Botany*. 2010. 69(1), 24-31. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2010.02.001>

[Mounier et al. 2020](#) – *Mounier T., Navarro-Sanz S., Bureau C., Antoine L., Varoquaux F., Durandet F., Périn C.* A fast, efficient and highthroughput procedure involving laser microdissection and RT droplet digital PCR for tissue-specific expression profiling of rice roots // *BMC molecular and cell biology*. 2020. 21(1): 1-17. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12860-020-00312-y>

[Pan, Li, 2012](#) – *Pan T., Li C.* A Study on the Biological Effects of Laser-induced Mutation on Fibrous Roots of Yellow Skin Onion // *Agricultural Biotechnology*. 2012. 1(4): 15. DOI: <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/20133301033>

[Peng et al., 2016](#) – *Peng J., Liu F., Zhou F., Song K., Zhang C., Ye L., He Y.* Challenging applications for multi-element analysis by laser-induced breakdown spectroscopy in agriculture: A review // *Trends in Analytical Chemistry*. 2016. 85: 260-272. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.trac.2016.08.015>

[Popp et al., 2020](#) – *Popp C., Wamhoff D., Winkelmann T., Maiss, E., Grunewaldt-Stöcker G.* Molecular identification of Nectriaceae in infections of apple replant disease affected roots collected by Harris Uni-Core punching or laser microdissection // *Journal of Plant Diseases and Protection*. 2020. 127: 571-582. DOI: <https://doi.org/10.1007/s41348-020-00333-x>

Pradhan, Mezaal, 2018 – Pradhan, B., Mezaal, M.R. Data mining-aided automatic landslide detection using airborne laser scanning data in densely forested tropical areas // *Korean Journal of Remote Sensing*. 2018. 34(1): 45-74. DOI: <https://doi.org/10.7780/kjrs.2018.34.1.4>

Qianli et al., 2001 – Qianli A., Xuejian Y., Yuemei D., Lijie F., Baijian K., Jiudi L. Using confocal laser scanning microscope to visualize the infection of rice roots by GFP-labelled *Klebsiella oxytoca* SA2, an endophytic diazotroph // *Acta Botanica Sinica*. 2001. 43(6): 558-564.

Rahman et al., 2020 – Rahman G., Sohag H., Chowdhury R., Wahid K.A., Dinh A., Arcand M., Vail, S. (2020). SoilCam: A fully automated minirhizotron using multispectral imaging for root activity monitoring // *Sensors*. 2020. 20(3): 787. DOI: <https://doi.org/10.3390/s20030787>

Richter-Brockmann et al., 2020 – Richter-Brockmann S., Garbert K., von Bremen-Kühne M., Wehe C. A., Reifschneider O., Sperling M., Wallrad L., Schmitz-Thom I., Kudla, J., Karst U. Elemental bioimaging of Na distribution in roots of *Arabidopsis thaliana* using laser ablation-ICP-MS under cold plasma conditions // *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*. 2020. 35(9): 2057-2063. DOI: <https://doi.org/10.1039/DOJA00151A>

Roberts et al., 2010 – Roberts T.J., McKenna S.J., Du C.J., Wuyts N., Valentine T.A., Bengough A.G. Estimating the motion of plant root cells from in vivo confocal laser scanning microscopy images // *Machine Vision and Applications*. 2010. 21(6): 921-939. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00138-009-0207-x>

Roux et al., 2014 – Roux B., Rodde N., Jardinaud M.F., Timmers T., Sauviac L., Cottret L., Carrère S., Sallet E., Courcelle E., Moreau S., Gamas P. An integrated analysis of plant and bacterial gene expression in symbiotic root nodules using laser-capture microdissection coupled to RNA sequencing // *The Plant Journal*. 2014. 77(6): 817-837. DOI: <https://doi.org/10.1111/tpj.12442>

Scherer et al., 1992 – Scherer G.F., vom Dorp B., Schöllmann C., Volkmann D. Proton-transport activity, sidedness, and morphometry of tonoplast and plasma-membrane vesicles purified by free-flow electrophoresis from roots of *Lepidium sativum* L. and hypocotyls of *Cucurbita pepo* L. // *Planta*. 1992. 186(4): 483-494. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00198027>

Schuller et al., 2014 – Schuller A., Kehr J., Ludwig-Müller J. Laser microdissection coupled to transcriptional profiling of *Arabidopsis* roots inoculated by *Plasmodiophora brassicae* indicates a role for brassinosteroids in clubroot formation // *Plant and Cell Physiology*. 2014. 55(2): 392-411. DOI: <https://doi.org/10.1093/pcp/pct174>

Sekulska-Nalewajko et al., 2014 – Sekulska-Nalewajko J., Goclawski J., Wielanek M., Gajewska E., Tamborski S. A method for thiarubrine canals extraction in optical coherence tomography images of *Schkuhria pinnata* roots // *Image Processing & Communications*. 19(2-3): 151-160. DOI: <https://doi.org/10.1515/ipc-2015-0019>

Shelden et al., 2020 – Shelden M.C., Gilbert S.E., Tyerman S.D. A laser ablation technique maps differences in elemental composition in roots of two barley cultivars subjected to salinity stress // *The Plant Journal*. 2020. 101(6): 1462-1473. DOI: <https://doi.org/10.1111/tpj.14599>

Shiono, Taira, 2020 – Shiono K., Taira S. Imaging of multiple plant hormones in roots of rice (*Oryza sativa*) using nanoparticle-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2020. 68(24): 6770-6775. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c00749>

Shiono et al., 2017 – Shiono K., Hashizaki R., Nakanishi T., Sakai T., Yamamoto T., Ogata K., Harada K.I., Ohtani H., Katano H., Taira S. Multi-imaging of cytokinin and abscisic acid on the roots of rice (*Oryza sativa*) using matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2017. 65(35): 7624-7628. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b02255>

Stopka et al., 2017 – Stopka S.A., Agtuca B.J., Koppelaar D.W., Paša-Tolić L., Stacey G., Vertes A., Anderton C.R. Laser-ablation electrospray ionization mass spectrometry with ion mobility separation reveals metabolites in the symbiotic interactions of soybean roots and rhizobia // *The Plant Journal*. 2017. 91(2): 340-354. DOI: <https://doi.org/10.1111/tpj.13569>

Su et al., 2008 – Su T.F., Jia X.F., Zhao G.Z., Han P., Wang Y.J., Li Y., Zhou B., Song C.P., Chang J.F., Gong C.R. Characterization of original and expanded leaf-roots of tobacco by terahertz spectroscopy and X-ray microanalysis // *Materials Letters*. 2008. 62(17-18): 2779-2782. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2008.01.043>

Suhua et al., 2012 – *Suhua S.Y.C.H.L., Rong L.X.H.* Effect of He-Ne laser and UV-B radiation enhancement on apoptosis in the roots of wheat seedling // *Chinese Journal of Lasers*. 2012. 39(7): 0704001-6. DOI: <http://dx.doi.org/10.3788/CJL201239.0704001>

Sun et al., 1998 – *Sun W., Liu S., Liu Z., Song F., Fang, S.* A study of aconitum alkaloids from aconite roots in *Aconitum carmichaeli* Debx using matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry // *Rapid Communications in Mass Spectrometry*. 1998. 12(13): 821-824. DOI: [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0231\(19980715\)12:13%3C821::AID-RCM242%3E3.0.CO;2-Z](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0231(19980715)12:13%3C821::AID-RCM242%3E3.0.CO;2-Z)

Thakur, Gathania, 2017 – *Thakur, S., Gathania, A.K.* Structural and optical studies on the crushed roots of *Saccharum munja* grass: a new low cost red phosphor source for optical applications // *Indian Journal of Physics*. 2017. 91(6): 623-627. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12648-017-0967-5>

Tirlapur, König, 1999 – *Tirlapur, U.K., König, K.* Near-infrared femtosecond laser pulses as a novel non-invasive means for dye-permeation and 3D imaging of localised dye-coupling in the *Arabidopsis* root meristem // *The Plant Journal*. 1999. 20(3): 363-370. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.1999.00603.x>

Ueno et al., 2016 – *Ueno R., Pham N.T.Q., Inoue N., Kurauchi N., Kato F.* Relationship between tomato vegetative growth and violet laser-induced fluorescence from water in hydroponic culture // *Bulletin Shinshu University Alpine Field Center*. 2016. (14): 1-5. DOI: <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/20163196847>

Vainshstein, 1973 – *Vainshstein B.K.* Three-dimensional electron microscopy of biological macromolecules // *Soviet Physics Uspekhi*. 1973. 16(2): 185-206. DOI: <https://doi.org/10.1070/PU1973v016n02ABEH005164>

van den Berg et al., 1998 – *van den Berg C., Hage W., Weisbeek P., Scheres B.* Laser ablation in *Arabidopsis* roots: a tool to study cell-to-cell communication // *NATO ASIS*. 1998. 104: 237-250. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-642-72117-5_21

Veysi et al., 2020 – *Veysi S., Naseri A.A., Hamzeh S.* Relationship Between Field Measurement of Soil Moisture in the Effective Depth of Sugarcane Root Zone and Extracted Indices from Spectral Reflectance of Optical/Thermal Bands of Multispectral Satellite Images // *Journal of the Indian Society of Remote Sensing*. 2020. 48(7), 1035-1044. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12524-020-01135-2>

Vierheilig et al., 2001 – *Vierheilig H., Knoblauch M., Juergensen K., van Bel A.J., Grundler F.M., Piché Y.* Imaging arbuscular mycorrhizal structures in living roots of *Nicotiana tabacum* by light, epifluorescence, and confocal laser scanning microscopy // *Canadian Journal of Botany*. 2001. 79(2): 231-237. DOI: <https://doi.org/10.1139/b00-156>

Vierheilig et al., 1999 – *Vierheilig H., Böckenhoff A., Knoblauch M., Juge C., Van Bel A. J., Grundler F., Piche Y., Wyss U.* In vivo observations of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* in roots by confocal laser scanning microscopy // *Mycological Research*. 1999. 103(3): 311-314. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0953756298007576>

Wagner, 2010 – *Wagner B.* 3D modeling of tree roots: combining 3D laser scans & 2D tree-ring data (Doctoral dissertation, ETH Zurich), 2010.

Wang et al., 2018 – *Wang J., Shi M., Zheng P., Xue S., Peng R.* Quantitative Analysis of Ca, Mg, and K in the roots of *Angelica pubescens* f. *biserrata* by Laser-induced breakdown spectroscopy combined with artificial neural networks // *Journal of Applied Spectroscopy*. 2018. 85(1): 190-196. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10812-018-0631-7>

Wójcik, 1994 – *Wójcik S.* Effects of seed irradiation with laser on the yield and chemical composition of sugar beet roots // *International agrophysics*. 1994. 8(3): 539-542. DOI: <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/19942402020>

Yang et al., 2016 – *Yang C., Odvody G.N., Thomasson J.A., Isakeit T., Nichols R.L.* Change detection of cotton root rot infection over 10-year intervals using airborne multispectral imagery // *Computers and Electronics in Agriculture*. 2016. 123: 154-162. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.compag.2016.02.026>

Youssef et al., 2019 – *Youssef M.S., Mira M.M., Millar J.L., Becker M.G., Belmonte M.F., Hill R.D., Stasolla, C.* Spatial identification of transcripts and biological processes in laser micro-dissected sub-regions of waterlogged corn roots with altered expression of phytoalbumin // *Plant Physiology and Biochemistry*. 2019. 139: 350-365. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.03.036>

Yu et al., 2001 – Yu Q., Kuo J., Tang C. Using confocal laser scanning microscopy to measure apoplastic pH change in roots of *Lupinus angustifolius* L. in response to high pH // *Annals of Botany*. 2001. 87(1): 47-52. DOI: <https://doi.org/10.1006/anbo.2000.1297>

Zargar et al., 2015 – Zargar S.M., Fujiwara, M., Inaba S., Kobayashi M., Kurata R., Ogata Y., Fukao, Y. Correlation analysis of proteins responsive to Zn, Mn, or Fe deficiency in *Arabidopsis* roots based on iTRAQ analysis // *Plant cell reports*. 2015. 34(1): 157-166. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00299-014-1696-2>

Zheng et al., 2014 – Zheng Q., Zhao Y., Wang J., Liu T., Zhang B., Gong M., Li J., Liu H., Han B., Zhang Y., Song X., Li Y., Xiao X. Spectrum-effect relationships between UPLC fingerprints and bioactivities of crude secondary roots of *Aconitum carmichaelii* Debeaux (Fuzi) and its three processed products on mitochondrial growth coupled with canonical correlation analysis // *Journal of ethnopharmacology*. 2014. 153(3): 615-623. DOI: DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2014.03.011>

References

An et al., 2010 – An, Q.L., Yang, X.J., Feng, L., Mao, B.Z., Kuang, B.J., Li, J.D. (2010). Using orthogonal sectioning with a laser scanning confocal microscopic system to determine endophytic colonization of plant roots by GFP-tagged bacteria. *J Chin Electr Microsc Soc*. 29: 354-360.

Askraba et al., 2016 – Askraba, S., Paap, A., Alameh, K., Rowe, J., Miller, C. (2016). Laser-stabilized real-time plant discrimination sensor for precision agriculture. *IEEE Sensors Journal*. 2016. 16(17): 6680-6686. DOI: <https://doi.org/10.1109/JSEN.2016.2582908>

Bawiec et al., 2019 – Bawiec, A., Garbowski, T., Pawęska, K., Pulikowski, K. (2019). Analysis of the algae growth dynamics in the hydroponic system with LEDs nighttime lighting using the laser granulometry method. *Water, Air, & Soil Pollution*. 2019. 230(1): 17. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11270-018-4075-8>

Choudhary et al., 2015 – Choudhary, A., Radhika, M., Chatterjee, A., Banerjee, U.C., Singh, I.P. (2015). Qualitative and Quantitative Analysis of *Potentilla fulgens* Roots by NMR, Matrix-assisted Laser Desorption/Ionisation with Time-of-Flight MS, Electrospray Ionisation MS/MS and HPLC/UV. *Phytochemical Analysis*. 26(2): 161-170. DOI: <https://doi.org/10.1002/pca.2547>

Dinoev, 2006 – Dinoev, S. (2006). Laser: a controlled assistant in agriculture. *Problems Eng. Cybernetics Robotics*. 56: 86-91.

Dolgikh et al., 2019 – Dolgikh, G. I., Fishchenko, V. K., & Goncharova, A. A. (2019). Potential for recording of waves and sea level fluctuations in the world ocean coastal areas by internet video analysis. *Doklady Earth Sciences*. 488: 1264-1267. DOI: <https://doi.org/10.1134/S1028334X19100209>

Dong et al., 2015 – Dong, B., Yang, X., Zhu, S., Bassham, D. C., Fang, N. (2015). Stochastic optical reconstruction microscopy imaging of microtubule arrays in intact *Arabidopsis thaliana* seedling roots. *Scientific reports*. 5(1): 1-14. DOI: <https://doi.org/10.1038/srep15694>

Dubina et al., 2011 – Dubina, V.A., Fischenko, V.K., Konstantinov, O.G., Mitnik, L.M. (2011). Integration of satellite data and ground based video data in the monitoring systems. *Current Problems in Remote Sensing of the Earth from Space* (Sovremennye problemy distantsionnogo zondirovaniya Zemli iz kosmosa). 8(3): 214-222. [in Russian]

Dubrovsky et al., 2006 – Dubrovsky, J.G., Guttenberger, M., Saralegui, A., Napsucialy-Mendivil, S., Voigt, B., Baluška, F., Menzel, D. (2006). Neutral red as a probe for confocal laser scanning microscopy studies of plant roots. *Annals of Botany*. 97(6): 1127-1138. DOI: <https://doi.org/10.1093/aob/mcl045>

Eeckhaoudt et al., 1992 – Eeckhaoudt, S., Vandeputte, D., Van Praag, H., Van Grieken, R., Jacob, W. (1992). Laser microprobe mass analysis (LAMMA) of aluminum and lead in fine roots and their ectomycorrhizal mantles of Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst.). *Tree Physiology*, 10(2): 209-215. DOI: <https://doi.org/10.1093/treephys/10.2.209>

Erlor et al., 2020 – Erlor, A., Riebe, D., Beitz, T., Löhmansröben, H. G., Gebbers, R. (2020). Soil nutrient detection for precision agriculture using handheld laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS) and multivariate regression methods (PLSR, Lasso and GPR). *Sensors*. 20(2): 418. DOI: <https://doi.org/10.3390/s20020418>

Espinoza et al., 2018 – Espinoza, C.Z., Rathnayake, A.P., Chakraborty, M., Sankaran, S., Jacoby, P., Khot, L.R. (2018). Applicability of time-of-flightbased ground and multispectral aerial imaging for grapevine canopy vigour monitoring under direct root-zone deficit irrigation. *International*

Journal of Remote Sensing. 39(23): 8818-8836. DOI: <https://doi.org/10.1080/01431161.2018.1500047>

Fellows et al, 2003 – Fellows, R.J., Wang, Z., Ainsworth, C.C. (2003). Europium uptake and partitioning in oat (*Avena sativa*) roots as studied by laser-induced fluorescence spectroscopy and confocal microscopy profiling technique. *Environmental science & technology*. 37(22): 5247-5253. DOI: <https://doi.org/10.1021/es0343609>

Fischenko et al., 2021 – Fischenko, V.K., Goncharova, A.A., Dolgikh, G.I., Zimin, P.S., Subote, A.E., Klescheva, N.A., Golik, A.V. (2021). Express image and video analysis technology QAVIS: application in system for video monitoring of Peter the Great Bay (Sea of Japan/East Sea). *Journal of Marine Science and Engineering*. 9(10): 1073. DOI: <https://doi.org/10.3390/jmse9101073>

Fischenko et al., 2022 – Fischenko, V., Mitnik, L., Dolgikh, G., Goncharova, A., Zimin, P., Klescheva, N., Golik, A. (2022). QAVIS technology: Measuring wave processes in coastal zones based on the analysis of internet video broadcast. In: *IGARSS 2022-2022 IEEE International Geoscience and Remote Sensing Symposium* (pp. 6801-6804). IEEE. DOI: <https://doi.org/10.1109/IGARSS46834.2022.9883487>

Ghosh et al. 2016 – Ghosh, A., Ta, S., Ghosh, M., Karmakar, S., Banik, A., Dangar, T.K., Mukhopadhyay, S.K., Das, D. (2016). Dual mode ratiometric recognition of zinc acetate: nanomolar detection with in vitro tracking of endophytic bacteria in rice root tissue. *Dalton Transactions*. 45(2): 599-606. DOI: <https://doi.org/10.1039/C5DT03431K>

Goncharova et al., 2012 – Goncharova, A.A., Fischenko, V.K., Dubina, V.A. (2012). [Use the express-analysis program QAVIS for the satellite monitoring] (Primenenie programmy jekspress-analiza izobrazhenij i video qavis v zadachah sputnikovogo monitoringa). *Current problems in Remote Sensing of the Earth from Space* (Sovremennye problemy distantsionnogo zondirovaniya Zemli iz kosmosa). 9(3): 293-298. [in Russian]

Gradov et al., 2018 – Gradov, O.V., Nasirov, P.A., Goncharova, A.A., Fischenko, V.K., Jablov, A.G. (2018). [On-chip lens-less holographic trichoscopy/trichometry technologies: microinterferometric, Fourier spectral and correlographic techniques for clinical trichology] (Tehnologii bezlinzovoj golograficheskoj trihoskopii i trihometrii na chipe - mikrointerferencionnye, 2d-fur'e-spektral'nye (integral'nye chastotnye i prostranstvennye) i korrelograficheskie tehniki v klinicheskoj trihologii). *Morphologia*. 12(2): 7-21. DOI: <http://dx.doi.org/10.26641/1997-9665.2018.2.7-21> [in Russian]

Gradov et al., 2019 – Gradov, O.V., Aleksandrov, P.L., Gradova, M.A. (2019). [Study of mineral samples relevant for desert locations using software correlation spectral analysis of scanning electron microscopy registers: from 2D Fourier spectra to online analysis of statistics of integral spatial characteristics] (Issledovanie obrazcov relevantnyh dlja pustynnyh mestonahozhdenij mineralov metodami programmnoogo korreljacionno-spektral'nogo analiza registrogramm skanirujushhej jelektronnoj mikroskopii: ot 2D-Fur'e-spektrov do on-lajn-analiza statistiki integral'nyh prostranstvennyh harakteristik). *Software systems and computational methods* (Programmnye sistemy i vychislitel'nye metody). 4: 125-171. DOI: <http://dx.doi.org/10.7256/2454-0714.2019.4.31379> [in Russian]

Hansen et al., 1997 – Hansen, M., Kragelund, L., Nybroe, O., Sørensen, J. (1997). Early colonization of barley roots by *Pseudomonas fluorescens* studied by immunofluorescence technique and confocal laser scanning microscopy. *FEMS microbiology ecology*. 23(4): 353-360. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.1997.tb00416.x>

Hassan et al., 2013 – Hassan, H.E., Rahman, A.A.A., El-Sherbini, E.A., El-Fattah, Z.A., Tawab, A.R.A. (2013). Laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS)-an assessment of treated industrial wastewater using water hyacinth roots. *Journal of Applied Sciences Research*. 9(2): 1074-1082. DOI: <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/20133206045>

Heeren et al., 2020 – Heeren, B., Paulus, S., Goldbach, H., Kuhlmann, H., Mahlein, A.K., Rumpf, M., Wirth, B. (2020). Statistical shape analysis of tap roots: a methodological case study on laser scanned sugar beets. *BMC bioinformatics*. 21(1): 1-17. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12859-020-03654-8>

Hernandez, 2010 – Hernandez, A.C., Dominguez, P.A., Cruz, O.A., Ivanov, R., Carballo, C.A., Zepeda, B.R. (2010). Laser in agriculture. *Int. Agrophys*. 24(4): 407-422.

Hogekamp et al., 2011 – Hogekamp, C., Arndt, D., Pereira, P. A., Becker, J. D., Hohnjec, N., Küster, H. (2011). Laser microdissection unravels cell-typespecific transcription in arbuscular

mycorrhizal roots, including CAAT-box transcription factor gene expression correlating with fungal contact and spread. *Plant Physiology*. 157(4): 2023-2043. DOI: <https://doi.org/10.1104/pp.111.186635>

Honghong, Zhengu, 1998 – Honghong, C., Zhengu, C. (1998). The Possibility Comparison Experiment of Laser Bioeffects in Agriculture and Mathematical Statistics. *Acta Laser Biology Sinica*. 7(4): 269-273.

Hulse, Braselton, 2019 – Hulse, J.D., Braselton, J. (2019). Three-Dimensional rendering of an unidentified Plasmodiophorid Slime Mold in Cucurbita maxima roots using laser scanning confocal microscopy. *Acta Scientific Agriculture*. 3: 205-210.

Jaiswal et al., 2018 – Jaiswal, Y., Liang, Z., Ho, A., Chen, H., Williams, L., Zhao, Z. (2018). Tissue-based metabolite profiling and qualitative comparison of two species of Achyranthes roots by use of UHPLC-QTOF MS and laser micro-dissection. *Journal of pharmaceutical analysis*. 8(1): 10-19. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2017.06.006>

Klink et al., 2005 – Klink, V.P., Alkharouf, N., MacDonald, M., Matthews, B. (2005). Laser capture microdissection (LCM) and expression analyses of Glycine max (soybean) syncytium containing root regions formed by the plant pathogen Heterodera glycines (soybean cyst nematode). *Plant molecular biology*. 59(6): 965-979. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11103-005-2416-7>

Klink et al., 2007 – Klink, V.P., Overall, C.C., Alkharouf, N.W., MacDonald, M.H., Matthews, B.F. (2007). Laser capture microdissection (LCM) and comparative microarray expression analysis of syncytial cells isolated from incompatible and compatible soybean (Glycine max) roots infected by the soybean cyst nematode (Heterodera glycines). *Planta*. 226(6): 1389-1409. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00425-007-0578-z>

Klink et al., 2009 – Klink, V.P., Hosseini, P., Matsye, P., Alkharouf, N.W., Matthews, B.F. (2009). A gene expression analysis of syncytia laser microdissected from the roots of the Glycine max (soybean) genotype PI 548402 (Peking) undergoing a resistant reaction after infection by Heterodera glycines (soybean cyst nematode). *Plant molecular biology*. 71(6): 525-567. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11103-009-9539-1>

Koper et al., 1996 – Koper, R., Wójcik, S., Kornas-Czuczwar, B., Bojarska, U. (1996). Effect of the laser exposure of seeds on the yield and chemical composition of sugar beet roots. *International agrophysics*. 10(2): 103-108. DOI: <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/19970704164>

Krzyzanowska et al., 2012 – Krzyzanowska, D., Obuchowski, M., Bikowski, M., Rychlowski, M., Jafra, S. (2012). Colonization of potato rhizosphere by GFPtagged Bacillus subtilis MB73/2, Pseudomonas sp. P482 and Ochrobactrum sp. A44 shown on large sections of roots using enrichment sample preparation and confocal laser scanning microscopy. *Sensors*. 12(12): 17608-17619. DOI: <https://doi.org/10.3390/s121217608>

Kuya, Sato, 2011 – Kuya, N., Sato, S. (2011). The relationship between profiles of plagiogravitropism and morphometry of columella cells during the development of lateral roots of Vigna angularis. *Advances in space research*. 47(3): 553-562. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.asr.2010.09.009>

Levy et al., 1983 – Levy, A., Milo, J., Ashri, A., Palevitch, D. (1983). Heterosis and correlation analysis of the vegetative components and ajmalicine content in the roots of the medicinal plant-Catharanthus roseus (L.) G. Don. *Euphytica*. 32(2): 557-564. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00021468>

Li et al., 2012 – Li, S., Sun, Y., Han, R. (2012). Influence of He-Ne Laser Irradiation and Ultraviolet-B Radiation on Nitrogen Metabolism Enzymes in Wheat Seedling Roots [J]. *Journal of Shihezi University* (Natural Science), [Machine Translation Card].

Liu et al., 2018 – Liu, F., Shen, T., Kong, W., Peng, J., Zhang, C., Song, K., Wang, W., Zhang, C., He, Y. (2018). Quantitative analysis of cadmium in tobacco roots using laser-induced breakdown spectroscopy with variable index and chemometrics. *Frontiers in plant science*. 9: 1316. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01316>

Martinière et al., 2018 – Martinière, A., Gibrat, R., Sentenac, H., Dumont, X., Gaillard, I., Paris, N. (2018). Uncovering pH at both sides of the root plasma membrane interface using noninvasive imaging. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 115(25): 6488-6493. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.1721769115>

Meng et al., 2013 – Meng, Y., Di, B., Zhang, G., Feng, X. G., Xu, C. L., Tian, J. (2013). The correlation analysis of soluble sugar and starch contents with electrical impedance in Betula

platyphylla Suk. Roots under waterlogging and flooding stresses. *Acta Biophysica Sinica*. 29(6): 450-460.

Meyer, Fricker, 2000 – Meyer, A.J., Fricker, M.D. (2000). Direct measurement of glutathione in epidermal cells of intact Arabidopsis roots by twophoton laser scanning microscopy. *Journal of microscopy*. 198(3): 174-181. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2818.2000.00697.x>

Moradi et al., 2010 – Moradi, A.B., Swoboda, S., Robinson, B., Prohaska, T., Kaestner, A., Oswald, S. E., Wenzel, W.W., Schulin, R. (2010). Mapping of nickel in root cross-sections of the hyperaccumulator plant Berkheya coddii using laser ablation ICP-MS. *Environmental and Experimental Botany*. 69(1): 24-31. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2010.02.001>

Mounier et al. 2020 – Mounier, T., Navarro-Sanz, S., Bureau, C., Antoine, L., Varoquaux, F., Durandet, F., Périn, C. (2020). A fast, efficient and highthroughput procedure involving laser microdissection and RT droplet digital PCR for tissue-specific expression profiling of rice roots. *BMC molecular and cell biology*. 21(1): 1-17. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12860-020-00312-y>

Pan, Li, 2012 – Pan, T., Li, C. (2012). A Study on the Biological Effects of Laser-induced Mutation on Fibrous Roots of Yellow Skin Onion. *Agricultural Biotechnology*. 1(4): 15. DOI: <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/20133301033>

Peng et al., 2016 – Peng, J., Liu, F., Zhou, F., Song, K., Zhang, C., Ye, L., He, Y. (2016). Challenging applications for multi-element analysis by laser-induced breakdown spectroscopy in agriculture: A review. *Trends in Analytical Chemistry*. 85: 260-272. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.trac.2016.08.015>

Popp et al., 2020 – Popp, C., Wamhoff, D., Winkelmann, T., Maiss, E., Grunewaldt-Stöcker, G. (2020). Molecular identification of Nectriaceae in infections of apple replant disease affected roots collected by Harris Uni-Core punching or laser microdissection. *Journal of Plant Diseases and Protection*. 127: 571-582. DOI: <https://doi.org/10.1007/s41348-020-00333-x>

Pradhan, Mezaal, 2018 – Pradhan, B., Mezaal, M.R. (2018). Data mining-aided automatic landslide detection using airborne laser scanning data in densely forested tropical areas. *Korean Journal of Remote Sensing*. 34(1): 45-74. DOI: <https://doi.org/10.7780/kjrs.2018.34.1.4>

Qianli et al., 2001 – Qianli, A., Xuejian, Y., Yuemei, D., Lijie, F., Baijian, K., Jiudi, L. (2001). Using confocal laser scanning microscope to visualize the infection of rice roots by GFP-labelled Klebsiella oxytoca SA2, an endophytic diazotroph. *Acta Botanica Sinica*. 43(6): 558-564.

Rahman et al., 2020 – Rahman, G., Sohag, H., Chowdhury, R., Wahid, K. A., Dinh, A., Arcand, M., Vail, S. (2020). SoilCam: A fully automated minirhizotron using multispectral imaging for root activity monitoring. *Sensors*. 20(3): 787. DOI: <https://doi.org/10.3390/s20030787>

Richter-Brockmann et al., 2020 – Richter-Brockmann, S., Garbert, K., von Bremen-Kühne, M., Wehe, C.A., Reifschneider, O., Sperling, M., Wallrad, L., Schmitz-Thom, I., Kudla, J., Karst, U. (2020). Elemental bioimaging of Na distribution in roots of Arabidopsis thaliana using laser ablation-ICP-MS under cold plasma conditions. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 35(9), 2057-2063. DOI: <https://doi.org/10.1039/DOJA00151A>

Roberts et al., 2010 – Roberts, T.J., McKenna, S.J., Du, C.J., Wuyts, N., Valentine, T.A., Bengough, A.G. (2010). Estimating the motion of plant root cells from in vivo confocal laser scanning microscopy images. *Machine Vision and Applications*. 21(6): 921-939. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00138-009-0207-x>

Roux et al., 2014 – Roux, B., Rodde, N., Jardinaud, M. F., Timmers, T., Sauviac, L., Cottret, L., Carrère, S., Sallet, E., Courcelle, E., Moreau, S., Gamas, P. (2014). An integrated analysis of plant and bacterial gene expression in symbiotic root nodules using laser-capture microdissection coupled to RNA sequencing. *The Plant Journal*. 77(6): 817-837. DOI: <https://doi.org/10.1111/tpj.12442>

Scherer et al., 1992 – Scherer, G.F., vom Dorp, B., Schöllmann, C., Volkmann, D. (1992). Proton-transport activity, sidedness, and morphometry of tonoplast and plasma-membrane vesicles purified by free-flow electrophoresis from roots of *Lepidium sativum* L. and hypocotyls of *Cucurbita pepo* L. *Planta*. 186(4): 483-494. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00198027>

Schuller et al., 2014 – Schuller, A., Kehr, J., Ludwig-Müller, J. (2014). Laser microdissection coupled to transcriptional profiling of Arabidopsis roots inoculated by *Plasmodiophora brassicae* indicates a role for brassinosteroids in clubroot formation. *Plant and Cell Physiology*. 55(2): 392-411. DOI: <https://doi.org/10.1093/pcp/pct174>

- Sekulska-Nalewajko et al., 2014 – *Sekulska-Nalewajko, J., Gocłowski, J., Wielanek, M., Gajewska, E., Tamborski, S.* (2014). A method for thiarubrine canals extraction in optical coherence tomography images of *Schkuhria pinnata* roots. *Image Processing & Communications*, 19(2-3): 151-160. DOI: <https://doi.org/10.1515/ipc-2015-0019>
- Semchenko, Khakhomov, 2007 – *Semchenko, I.V., Khakhomov, S.A.* Laboratornyi praktikum po optike [Laboratory workshop on optics]. Ministry of Education of the Republic of Belarus, Gomel State University named after F. Skorina. Gomel: GGU im. F. Skorina, 223 p. [in Russian]
- Shelden et al., 2020 – *Shelden, M.C., Gilbert, S.E., Tyerman, S.D.* (2020). A laser ablation technique maps differences in elemental composition in roots of two barley cultivars subjected to salinity stress. *The Plant Journal*. 101(6): 1462-1473. DOI: <https://doi.org/10.1111/tpj.14599>
- Shiono, Taira, 2020 – *Shiono, K., Taira, S.* (2020). Imaging of multiple plant hormones in roots of rice (*Oryza sativa*) using nanoparticle-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 68(24): 6770-6775. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c00749>
- Shiono et al., 2017 – *Shiono, K., Hashizaki, R., Nakanishi, T., Sakai, T., Yamamoto, T., Ogata, K., Harada, K.I., Ohtani, H., Katano, H., Taira, S.* (2017). Multi-imaging of cytokinin and abscisic acid on the roots of rice (*Oryza sativa*) using matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 65(35): 7624-7628. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b02255>
- Skrynnik et al., 2018 – *Skrynnik, A.A., Oganessian, V.A., Jablovkov, A.G., Gradov, O.V.* (2018). Sistema dlja poluavtomaticheskoy klassifikacija tkanej s ispol'zovaniem opticheskogo difraktometra dlja analiza biopolimernyh struktur [System for semiautomatic tissue classification based on optical diffractometer for biopolymer structure analysis]. *Morphologia*. 12(3): 164-171. DOI: <http://dx.doi.org/10.26641/1997-9665.2018.3.164-171> [in Russian]
- Stopka et al., 2017 – *Stopka, S.A., Agtuca, B.J., Koppenaar, D.W., Paša-Tolić, L., Stacey, G., Vertes, A., Anderton, C.R.* (2017). Laser-ablation electrospray ionization mass spectrometry with ion mobility separation reveals metabolites in the symbiotic interactions of soybean roots and rhizobia. *The Plant Journal*. 91(2): 340-354. DOI: <https://doi.org/10.1111/tpj.13569>
- Su et al., 2008 – *Su, T.F., Jia, X.F., Zhao, G.Z., Han, P., Wang, Y.J., Li, Y., Zhou, B., Song, C.P., Chang, J.F., Gong, C.R.* (2008). Characterization of original and expanded leaf-roots of tobacco by terahertz spectroscopy and X-ray microanalysis. *Materials Letters*. 62(17-18): 2779-2782. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2008.01.043>
- Suhua et al., 2012 – *Suhua, S.Y. C.H.L., Rong, L.X.H.* (2012). Effect of He-Ne laser and UV-B radiation enhancement on apoptosis in the roots of wheat seedling. *Chinese Journal of Lasers*. 39(7): 0704001-6. DOI: <http://dx.doi.org/10.3788/CJL201239.0704001>
- Sun et al., 1998 – *Sun, W., Liu, S., Liu, Z., Song, F., Fang, S.* (1998). A study of aconitum alkaloids from aconite roots in *Aconitum carmichaeli* Debx using matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*. 12(13): 821-824. DOI: [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0231\(19980715\)12:13%3C821::AID-RCM242%3E3.0.CO;2-Z](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0231(19980715)12:13%3C821::AID-RCM242%3E3.0.CO;2-Z)
- Thakur, Gathania, 2017 – *Thakur, S., Gathania, A.K.* (2017). Structural and optical studies on the crushed roots of *Saccharum munja* grass: a new low cost red phosphor source for optical applications. *Indian Journal of Physics*. 91(6): 623-627. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12648-017-0967-5>
- Tirlapur, König, 1999 – *Tirlapur, U.K., König, K.* (1999). Near-infrared femtosecond laser pulses as a novel non-invasive means for dye-permeation and 3D imaging of localised dye-coupling in the *Arabidopsis* root meristem. *The Plant Journal*. 20(3): 363-370. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.1999.00603.x>
- Ueno et al., 2016 – *Ueno, R., Pham, N. T. Q., Inoue, N., Kurauchi, N., Kato, F.* (2016). Relationship between tomato vegetative growth and violet laser-induced fluorescence from water in hydroponic culture. *Bulletin Shinshu University Alpine Field Center*. (14): 1-5. DOI: <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/20163196847>
- Vainshtein, 1973 – *Vainshtein, B.K.* (1973). Three-dimensional electron microscopy of biological macromolecules. *Soviet Physics Uspekhi*. 16(2): 185-206. DOI: <https://doi.org/10.1070/PU1973v016n02ABEH005164>

- van den Berg et al., 1998 – van den Berg, C., Hage, W., Weisbeek, P., & Scheres, B. (1998). Laser ablation in Arabidopsis roots: a tool to study cell-to-cell communication. In: *Cellular Integration of Signalling Pathways in Plant Development* (pp. 237-250). Springer, Berlin, Heidelberg. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-642-72117-5_21
- Veysi et al., 2020 – Veysi, S., Naseri, A.A., Hamzeh, S. (2020). Relationship Between Field Measurement of Soil Moisture in the Effective Depth of Sugarcane Root Zone and Extracted Indices from Spectral Reflectance of Optical/Thermal Bands of Multispectral Satellite Images. *Journal of the Indian Society of Remote Sensing*. 48(7): 1035-1044. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12524-020-01135-2>
- Vierheilig et al., 2001 – Vierheilig, H., Knoblauch, M., Juergensen, K., van Bel, A.J., Grundler, F.M., Piché, Y. (2001). Imaging arbuscular mycorrhizal structures in living roots of *Nicotiana tabacum* by light, epifluorescence, and confocal laser scanning microscopy. *Canadian Journal of Botany*. 79(2): 231-237. DOI: <https://doi.org/10.1139/b00-156>
- Vierheiling et al., 1999 – Vierheiling, H., Böckenhoff, A., Knoblauch, M., Juge, C., Van Bel, A. J., Grundler, F., Piche, Y., Wyss, U. (1999). In vivo observations of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* in roots by confocal laser scanning microscopy. *Mycological Research*. 1999. 103(3): 311-314. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0953756298007576>
- Wagner, 2010 – Wagner, B. (2010). 3D modeling of tree roots: combining 3D laser scans & 2D tree-ring data (Doctoral dissertation, ETH Zurich).
- Wang et al., 2018 – Wang, J., Shi, M., Zheng, P., Xue, S., Peng, R. (2018). Quantitative Analysis of Ca, Mg, and K in the roots of *Angelica pubescens* f. *biserrata* by Laser-induced breakdown spectroscopy combined with artificial neural networks. *Journal of Applied Spectroscopy*. 85(1): 190-196. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10812-018-0631-7>
- Wójcik, 1994 – Wójcik, S. (1994). Effects of seed irradiation with laser on the yield and chemical composition of sugar beet roots. *International agrophysics*. 8(3): 539-542. DOI: <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/19942402020>
- Yang et al., 2016 – Yang, C., Odvody, G.N., Thomasson, J.A., Isakeit, T., Nichols, R.L. (2016). Change detection of cotton root rot infection over 10-year intervals using airborne multispectral imagery. *Computers and Electronics in Agriculture*. 123: 154-162. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.compag.2016.02.026>
- Youssef et al., 2019 – Youssef, M.S., Mira, M.M., Millar, J.L., Becker, M.G., Belmonte, M.F., Hill, R.D., Stasolla, C. (2019). Spatial identification of transcripts and biological processes in laser micro-dissected sub-regions of waterlogged corn roots with altered expression of phytoalbumin. *Plant Physiology and Biochemistry*. 139: 350-365. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.03.036>
- Yu et al., 2001 – Yu, Q., Kuo, J., Tang, C. (2001). Using confocal laser scanning microscopy to measure apoplastic pH change in roots of *Lupinus angustifolius* L. in response to high pH. *Annals of Botany*. 87(1): 47-52. DOI: <https://doi.org/10.1006/anbo.2000.1297>
- Zargar et al., 2015 – Zargar, S.M., Fujiwara, M., Inaba, S., Kobayashi, M., Kurata, R., Ogata, Y., Fukao, Y. (2015). Correlation analysis of proteins responsive to Zn, Mn, or Fe deficiency in *Arabidopsis* roots based on iTRAQ analysis. *Plant cell reports*. 34(1): 157-166. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00299-014-1696-2>
- Zheng et al., 2014 – Zheng, Q., Zhao, Y., Wang, J., Liu, T., Zhang, B., Gong, M., Li, J., Liu, H., Han, B., Zhang, Y., Song, X., Li, Y., Xiao, X. (2014). Spectrum-effect relationships between UPLC fingerprints and bioactivities of crude secondary roots of *Aconitum carmichaelii* Debeaux (Fuzi) and its three processed products on mitochondrial growth coupled with canonical correlation analysis. *Journal of ethnopharmacology*. 153(3): 615-623. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2014.03.011>

Использование цифровой системы корреляционно-спектрального анализа в реальном времени для выделения морфометрических классов тканей корней растений как альтернатива лазерной дифрактометрии (2D FFT)

Федор Константинович Орехов ^{a, *}, Наталья Анатольевна Рубцова ^a

^a ФИЦ ХФ РАН, ОДХБП, Российская Федерация

Аннотация. В данной статье мы предлагаем использовать системы корреляционно-спектрального анализа в реальном времени (ДВО РАН) для выделения морфометрических классов корней растений и рассматриваем это решение как полноценную альтернативу устаревшей аналоговой лазерной/оптической дифрактометрии и лазерной Фурье-техники с вычислением показателей Лендариса и построением проекционных трансформант. Предлагаемая техника может быть реализована с использованием ПК, ноутбука или планшета со старыми операционными системами. Простота и дешевизна делает эту технику доступной для пользователей из агроотрасли, не являющихся специалистами в области оптики или лазерной физики. В настоящей статье мы попытались на понятном языке, не обращаясь к формулам, объяснить ботаникам и агроспециалистам, чем, по сути, является рассматриваемый метод, какие преимущества он несет ботаникам - практикам и какую информацию можно извлечь с его использованием (не исключая описание артефактов и ошибок, которые могут привести к разочарованию в методе, в основе которого лежит ошибка, а не некорректность предлагаемого метода). Во второй части статьи приводится атлас-каталог Фурье-спектров и микрофотографических изображений соответствующих ботанических форм и структур.

Ключевые слова: корни растений, 2D БПФ, лазерный дифрактометр, агрокалиметрия.

* Корреспондирующий автор

Адреса электронной почты: theorehov@gmail.com (Ф.К. Орехов)