### Измерение и интерпретация матриц Мюллера листьев ячменя

С.Н.Савенков, Р.С.Муттиах, Е.А.Оберемок, А.В.Приезжев, И.С.Коломиец, А.С.Климов

Представлены результаты измерения матриц Мюллера для трех групп образцов листьев ячменя обыкновенного (Hordeum vulgare): мутант Chlorina, этиолированный мутант Chlorina и сорта Cesaer. Продемонстрирована повторяемость результатов измерения матриц Мюллера такого сложного и сильно деполяризующего объекта, как лист растения. Показано, что листья ячменя этих трех групп могут быть достоверно идентифицированы как при рассеянии вперед, так и при рассеянии назад; оптимальным вариантом является рассеяние вперед. В обоих случаях определены наиболее информативные для идентификации матричные элементы. Показано также, что при рассеянии света назад проявляется линейный дихроизм, величина которого возрастает при уменьшении угла наблюдения.

Ключевые слова: мюллер-поляриметрия, лист ячменя, матрица Мюллера, вектор Стокса, степень поляризации, дихроизм.

### 1. Введение

Листья растений - это фотосинтезирующие химические «заводы», используемые растениями для выработки энергетических веществ (углеводов), которые необходимы им для выживания. Фундаментальным химическим соединением в этом смысле являются молекулы хлорофилла, которые содержатся внутри листа в специализированных структурах, называемых хлоропластами. Несмотря на то что химия фотосинтеза хорошо известна уже достаточно давно [1], тем не менее особенности прохождения света через поверхность и толщу листа из-за сложности последнего изучены недостаточно и представляют сегодня все больший интерес. Мюллер-поляриметрия, которая характеризуется высокой информативностью и крайне малым влиянием на исследуемый объект, является весьма привлекательной методикой исследования процессов взаимодействия света с листьями различных растений [2, 3].

Целью настоящей работы является:

– измерение матриц Мюллера листьев трех групп образцов ячменя Hordeum vulgare (группа (а) – мутант Chlorina, который выращивался при обычных условиях освещения; группа (б) – мутант Chlorina, растения которого были этиолированы (оставлены в темноте) при произрастании; группа (в) – сорта Cesaer);

– демонстрация воспроизводимости измеренных матриц Мюллера;

С.Н.Савенков, Е.А.Оберемок, И.С.Коломиец, А.С.Климов. Киевский национальный университет им. Тараса Шевченко, факультет радиофизики, электроники и компьютерных систем, Украина, 01601 Киев, Владимирская ул., 64/13; e-mail: sns@univ.kiev.ua R.S.Muttiah. Department of Civil Engineering, University of Texas-Arlington, 425 Nedderman Hall, 416 Yates St, Arlington, TX 76019 А.В.Приезжев. Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова, физический факультет, Международный учебно-научный лазерный центр, Россия, 119992 Москва, Воробьевы горы; e-mail: avpriezz@gmail.com

Поступила в редакцию 31 октября 2019 г., после доработки – 28 ноября 2019 г.

 – демонстрация возможности идентификации приведенных выше групп листьев ячменя на основе их матриц Мюллера;

 – определение наиболее информативных (чувствительных) матричных элементов в контексте рассматриваемой задачи.

# 2. Мюллер-поляриметрия и особенности проведения эксперимента

Удобным для практических приложений (особенно в случаях наличия деполяризации) описанием света является представление его в виде вектора размером  $4 \times 1$  с вещественными элементами – вектора Стокса  $S = [S_1 \ S_2 \ S_3 \ S_4]^T$  (индекс T означает транспонирование) [4, 5]:

$$S_{1} = \langle E_{x}^{2} \rangle + \langle E_{y}^{2} \rangle = I,$$

$$S_{2} = \langle E_{x}^{2} \rangle - \langle E_{y}^{2} \rangle = IP\cos(2\theta)\cos(2\varepsilon),$$

$$S_{3} = 2\langle E_{x}E_{y}\cos\chi\rangle = IP\sin(2\theta)\cos(2\varepsilon),$$

$$S_{4} = 2\langle E_{x}E_{y}\sin\chi\rangle = IP\sin(2\varepsilon),$$
(1)

где I – интенсивность света;  $E_x, E_y$  – декартовы ортогональные компоненты электрического вектора E плоской электромагнитной волны, распространяющейся вдоль оси  $z; \chi$  – фазовый сдвиг между компонентами  $E_x$  и  $E_y; \langle \rangle$  обозначает усреднение по времени;  $\theta$  и  $\varepsilon$  – азимут и эллиптичность эллипса поляризации света соответственно; P – степень поляризации света, определяемая как

$$P = \frac{\sqrt{S_2^2 + S_3^2 + S_4^2}}{S_1}.$$
 (2)

В нашем эксперименте зондирующий пучок света полностью поляризован (P = 1). После взаимодействия с исследуемыми объектами степень поляризации выходного (рассеянного) света является функцией азимута  $\theta^{inp}$  и эллиптичности  $\varepsilon^{inp}$  эллипса поляризации зондирующего

света. Как следует из (1), первый параметр Стокса  $S_1$  имеет физический смысл полной интенсивности света. Остальные три параметра Стокса описывают превалирование линейных (вертикальной/горизонтальной), ориентированных под углами ± 45°, и циркулярных (правой, левой) поляризаций соответственно.

Преобразование вектора Стокса входного света при его линейном взаимодействии с исследуемым объектом описывается матрицей размером 4×4 с вещественными элементами – матрицей Мюллера [4,5]

$$S^{\text{out}} = MS^{\text{inp}}, \quad \text{где } M = \begin{pmatrix} M_{11} & M_{12} & M_{13} & M_{14} \\ M_{21} & M_{22} & M_{23} & M_{24} \\ M_{31} & M_{32} & M_{33} & M_{34} \\ M_{41} & M_{42} & M_{43} & M_{44} \end{pmatrix}.$$
(3)

Матрица Мюллера полностью характеризует анизотропные и деполяризующие свойства исследуемого объекта на данной длине волны зондирующего света и при данных направлениях зондирования и наблюдения. Далее в тексте все матричные элементы (за исключением  $M_{11}$ ) приведены в нормированном виде:  $M_{ij}/M_{11}$ .

Для измерения матричных элементов нами использовался мюллер-поляриметр, схема которого представлена на рис.1. Поляриметр включает в себя две основные части: зондирующий канал, или генератор состояний поляризации света, и приемный канал, или анализатор состояний поляризации света. При этом зондирующий канал состоит из источника света 1 с изотропной поляризацией (циркулярная поляризация или неполяризованный свет), идеального поляризатора 2, фазовой пластинки 3 с управляемыми азимутами ориентации и уширителя пучка зондирующего света 4; элемент 5 – исследуемый объект. Приемный канал представляет собой стокс-поляриметр и состоит из фазовой пластинки 6 и идеального поляризатора 7 с управляемыми азимутами ориентации, а также фотодетектора 8. Особенности калибровки и проведения измерений с помощью такого поляриметра подробно рассмотрены в [6].

Длина волны зондирующего излучения составляла 0.632 мкм. Зондирующий пучок был уширен до 20 мм. Это сделано с целью исключения как влияния локальных индивидуальных особенностей листьев ячменя на результаты измерения, так и возможного термического воздействия на исследуемые образцы. Последнее подтверждено расчетными оценками освещенности и экспериментально (см. разд.4). Зондирование образцов при измерении матриц Мюллера осуществлялось нормально адаксиальной поверхности листа, при этом лист был ориентирован так, как показано на рис.1.



Рис.1. Схема мюллер-поляриметра, используемого в эксперименте.

Погрешность определения матричных элементов оценивалась экспериментально в ходе калибровки поляриметра. Для этого проводилось сравнение измеренных элементов матриц Мюллера с их табличными значениями в так называемом режиме измерения без объекта. Это связано с тем, что матрица Мюллера, измеряемая в этом режиме, представляет собой единичную диагональную матрицу, известную с максимально возможной точностью. Кроме того, измерялись и другие объекты, матрицы которых известны с высокой точностью: промышленно изготовленные призменные поляризаторы и волновые пластинки [4, 5]. Погрешность измерения матрицы Мюллера  $\delta M$  оценивалась по следующей формуле:

$$\delta M = \frac{\|M_{\text{theor}} - M_{\text{exp}}\|}{\|M_{\text{theor}}\|},\tag{4}$$

где  $M_{\text{theor}}$  и  $M_{\text{exp}}$  – известная точно и измеренная (нормированные на  $M_{11}$ ) матрицы Мюллера тестового объекта; метрическая норма [7]

$$\|M\| = \left(\sum_{i,j}^{4} |M_{ij}|^2\right)^{1/2}.$$
(5)

Погрешности в нашем эксперименте не превышали 2%.

## 3. Объекты исследования и их подготовка к эксперименту

Условия освещения для этиолирования растений мутантного ячменя Hordeum vulgare соответствовали описанным в работе [8]. Растения выращивались в течение 14 дней при 25 °C при плотности фотосинтетического потока фотонов 200 мкмоль · м<sup>-2</sup> · c<sup>-1</sup> и фотопериоде 16 ч. Этиолированные проростки Hordeum vulgare выращивались при температуре 25 °C в темноте в течение 7 дней, после чего их подвергали воздействию прерывистого освещения в течение 36 циклов (2 мин освещения при потоке 40 мкмоль · м<sup>-2</sup> · c<sup>-1</sup> и 118 мин темноты).

Данные условия освещения ограничивают образование молекул крахмала в листе и создают большие массивы фотосинтезирующих стеков тилакоидов. Дополнительная световая обработка с использованием вольфрамовых галогенных ламп (1000 мкмоль· $m^{-2}$ · $c^{-1}$ ) проводилась на отдельных образцах листьев, уложенных на влажную фильтровальную бумагу. Листья были при этом защищены от ИК излучения слоем воды.

### 4. Полученные результаты и их обсуждение

Результаты измерения матриц Мюллера для листьев трех видов ячменя в режиме рассеяния вперед в диапазоне углов наблюдения 0°-70°, представлены на рис.2. На рис.3 приведены результаты измерений матриц Мюллера в режиме рассеяния назад в диапазоне углов 100°-170°. Для углов наблюдения в диапазоне 70°-100° интенсивность рассеянного света близка к нулю. Каждая точка на рис.2 и 3 соответствует двум процессам усреднения: по 300 однократным измерениям для одного образца и по 10 образцам одного вида. Время экспозиции при измерении одного образца составляет 20 мин.

Из рис.2 следует, что матрицы Мюллера для всех трех групп ячменя в режиме рассеяния вперед имеют вид



Рис.2. Матричные элементы *M*<sub>ij</sub> для листьев трех видов ячменя в зависимости от углов наблюдения в режиме рассеяния вперед (■ – группа (а), ■ – группа (б), ▲ – группа (в)).

$$M^{\rm f} = \begin{pmatrix} M_{11} & 0 & 0 & 0\\ 0 & M_{22} & 0 & 0\\ 0 & 0 & M_{33} & M_{34}\\ 0 & 0 & M_{43} & M_{44} \end{pmatrix}.$$
 (6)

Отметим, что для образцов ячменя групп (б) и (в) вид матрицы (6) характерен во всем диапазоне углов наблюдения 0°-70°, в то время как для образцов группы (а) матричные элементы  $M_{34}$  и  $M_{43}$  отличны от нуля только в диапазоне углов 45°-70°.

При рассеянии назад в диапазоне углов 100°-170° матрицы Мюллера для образцов ячменя групп (а) и (б) (см. рис.3) принимают вид

$$M^{b} = \begin{pmatrix} M_{11} & M_{12} & 0 & 0 \\ M_{21} & M_{22} & M_{23} & 0 \\ 0 & M_{32} & M_{33} & M_{34} \\ 0 & 0 & M_{43} & M_{44} \end{pmatrix}.$$
 (7)

Для образцов группы (в) величины матричных элементов  $M_{23}$  и  $M_{32}$  в этом случае близки к нулю во всем диапазоне углов наблюдения.

При сравнении рис.2 и 3, учитывая, что длина волны зондирующего света выбрана нами исходя из спектральных особенностей поглощения света молекулами хлорофилла (группы (а) и (б)) [9], обратим внимание на тот факт, что матричные элементоы  $M_{12}$  и  $M_{21}$  для режима рассеяния вперед близки к нулю, а для рассеяния назад отличны от нуля во всем диапазоне углов наблюдения. Дело в том, что ненулевые значения этих элементов принято связывать с наличием анизотропного поглощения как в рамках приближения сплошных [4, 5], так и дискретных [10, 11] сред. Можно видеть, что в режиме рассеяния назад степень линейной поляризации при зондировании неполяризованным светом существенно зависит от угла наблюдения [10–12]; при этом эффект максимален для образцов групп (а) и (в), в то время как для образцов группы (б) он сравнительно невелик.

В то же время равенство нулю элементов  $M_{12}$  и  $M_{21}$  в режиме рассеяния вперед не может быть, по-видимому, однозначно связано с отсутствием анизотропного поглощения. Более реалистичной интерпретацией нам представляется то, что в режиме расеяния вперед анизотропия поглощения невелика и ее наличие «маскируется» высокой степенью деполяризациии рассеянного света. Наблюдаемая высокая степень деполяризации рассеянного света и ее возрастание при увеличении угла наблюдения объясняются, очевидно, возрастанием кратности рассеяния света [13-15]. Это подтверждается характером зависимости элемента  $M_{22}$  от угла наблюдения, отличие величины которого от 1 интерпретируется как степень деполяризации входного линейно поляризованного света [10,11]. Отметим, что в режиме прямого рассеяния величина матричного элемента М<sub>22</sub> существенно зависит от угла наблюдения, в то время как в режиме обратного рассеяния зависимость практически отсутствует. При этом матричный элемент M<sub>22</sub> является наиболее чувствительным для различения исследуемых групп образцов листьев ячменя именно в режиме прямого рассеяния. В режиме обратно-



Рис.3. Матричные элементы *M<sub>ij</sub>* для листьев трех видов ячменя в зависимости от углов наблюдения в режиме рассеяния назад (■ – группа (а), ■ – группа (б), ▲ – группа (в)).

го рассеяния чувствительность  $M_{22}$  заметно ниже, и различение всех трех групп образцов возможно только в диапазоне углов наблюдения  $130^\circ - 170^\circ$ .

Ненулевые значения матричных элементов  $M_{34}$ ,  $M_{43}$ ,  $M_{23}$  и  $M_{32}$ , по-видимому, позволяют утверждать, что наблюдается заметное изменение фазы между компонентами электрического вектора E электромагнитного излучения от длины пройденного оптического пути в объеме листа. Это наблюдается в образцах группы (в). Образцы группы (б) также демонстрируют это свойство, но в меньшей степени. Из этого мы заключаем, что состояние поляризации света играет существенную роль при взаимодействии света с листом.

С учетом значения величины  $1 - M_{22}$ , являющейся мерой несферичности рассеивающих частиц [10, 11], и отличия матричного элемента  $M_{33}$  от  $M_{44}$  для проходящего света результаты, приведенные на рис.2, позволяют сделать вывод [12] о том, что при рассеянии вперед несферические (удлиненные) частицы или структуры в листе играют определяющую роль. Для углов обратного рассеяния (см. рис.3) значения элементов  $M_{33}$  и  $M_{44}$  примерно одинаковы, что свидетельствует о превалирующем влиянии сферических частиц на характер рассеяния света назад.

Одной из целей этого исследования было определение воспроизводимости полученных экспериментальных результатов. Для этого были измерены элементы матрицы Мюллера для десяти образцов листьев ячменя группы (в) при ориентации образцов, показанной на рис.1. Измерения проводились для угла наблюдения 0°. Затем измерялись матричные элементы для этих же образцов при других ориентациях относительно оси *z* в диапазоне углов  $0^{\circ}-180^{\circ}$  с шагом  $10^{\circ}$ . После чего матрицы Мюллера для начальной ориентации всех образцов были численно повернуты до  $180^{\circ}$  с шагом  $10^{\circ}$  [7]. Полученные результаты для матричных элементов для всех шагов поворота, усредненных двумя вышеуказанными способами, представлены на рис.4.

Как видно из рисунка, для некоторых углов поворота отклонения результатов несколько превышают 2%. Это можно объяснить тем, что на практике имеются дополнительные ошибки в ориентации образцов, которые, очевидно, отсутствуют при численном расчете. Тем не менее имеет место достаточно хорошее соответствие между численными и экспериментальными данными.

Отметим, что поворот образцов листьев при измерениях осуществлялся в течение 2 ч. Это делалось для экспериментального подтверждения того, что в ходе измерений термическое воздействие на лист отсутствует. В противном случае за время проведения эксперимента, очевидно, наблюдалось бы нарастание различия экспериментальных и численных результатов.

### 5. Заключение

Представлены результаты измерения матриц Мюллера для трех различных групп листьев ячменя и продемонстрирована повторяемость результатов измерения. Выбранные для исследования группы ячменя различаются



Рис.4. Воспроизводимость результатов измерений матричных элементов  $M_{ij}$  для листьев ячменя (п – эксперимент, п – численный расчет).

внутренней структурой листа, что достигается либо за счет мутации, либо путем освещения при произрастании. Данные различия обуславливают наблюдаемые особенности поляризационных характеристик исследуемых образцов, представленные на рис.2 и 3. В этой связи особый интерес представляет вопрос, могут ли группы листьев ячменя быть идентифицированы на основе их матриц Мюллера. Анализ полученных в настоящей работе результатов дает, по нашему мнению, однозначно положительный ответ на этот вопрос.

Более того, три исследуемые группы листьев ячменя могут быть идентифицированы в двух геометриях эксперимента – при рассеянии вперед или назад. При этом, как следует из сравнения результатов, оптимальным вариантом является рассеяние вперед. Наиболее информативными в этом контексте являются матричные элементы  $M_{22}$ ,  $M_{34}$  и  $M_{43}$ , несколько менее чувствительными – матричные элементы  $M_{33}$  и  $M_{44}$ . В режиме рассеяния назад наиболее информативны диагональные элементы  $M_{22}$ ,  $M_{34}$  и  $M_{21}$  свидетельствуют о том, что при рассеянии света назад проявляется линейный дихроизм, величина которого возрастает при уменьшении угла наблюдения.

Таким образом, характер изменения элементов матриц Мюллера от угла наблюдения (см. рис.2 и 3) демонстрирует зависимость поглощения и рассеяния света листьями ячменя от состояния поляризации зондирующего света. Это имеет важное значение для понимания процесса проникновения света в лист и эволюционной адаптации внутренних структур листа к поглощению света.

Необходимо подчеркнуть, что интерпретация матриц Мюллера в нашем эксперименте проведена в контексте так называемой прямой задачи поляриметрии. Другими словами, мы говорили о параметрах некоторой эффективной модели объекта в рамках приближения дискретной среды, которая описывается матрицами Мюллера, аналогичными (6) и (7) для режимов рассеяния вперед и назад. Для предметного количественного анализа информации о деполяризующих и анизотропных свойствах исследуемых образцов листев ячменя в дальнейшем предполагается проведение анализа представленных в настоящей работе экспериментальных матриц Мюллера на основе существующих методов разложения матриц Мюллера [16-18] и деполяризационных метрик [19-21]. Кроме того, для прояснения вопросов, связанных с механизмами деполяризации зондирующего света, в том числе о вкладе флуоресценции хлорофилла в наблюдаемую деполяризацию зондирующего света, возможно понадобится проведение дополнительных экспериментов по измерению матриц Мюллера на других длинах волн и/или с использованием полихроматического (неполяризованного) зондирующего света.

Интересно отметить, что матрицы Мюллера (6) и (7) отличаются от матриц Мюллера для листьев дуба в зависимости от влагосодержания (см. (10) и (11) в [22]) и листьев пшеницы для различных режимов произрастания и уровней инфицирования (см. рис.5 и 6 в [23]), измеренных в такой же геометрии эксперимента. Данный факт и результаты анализа матриц Мюллера, представленные в настоящей работе, позволяют утверждать, что различные виды и состояния растений также могут быть достоверно различимы с помощью метода мюллер-поляриметрии. Последнее, в свою очередь, может быть использовано при решении целого ряд важных практических задач, например для оценки качества урожая при тех или иных погодных условиях или диагностики заболевания растения.

- Hall D.O., Rao K.K. *Photosynthesis* (Cambridge: University Press, 1995).
- Patty C.H.L., Luo D.A., Snik F., Ariese F., Buma W.J., Loes ten Kate I., van Spanning R.J.M., Sparks W.B., Germer T.A., Garab G., Kudenov M.W. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1862 (6), 1350 (2018).
- Patty C.H.L., Visser L.J.J., Ariese F., Buma W.J., Sparks W.B., van Spanning R.J.M., Röling W.F.M. Snik F. J. Quantum Spectrosc. Radiat. Transfer, 189, 303 (2017).
- Brosseau C. Fundamentals of Polarized Light, a Statistical Approach (New York: John Wiley & Sons, 1998).
- Azzam R.M., Bashara N.M. *Ellipsometry and Polarized Light* (New York: North-Holland Publishing Company, 1987).
- 6. Savenkov S.N. Opt. Eng., 41, 965 (2002).
- Forsythe G.E., Malcolm M.A., Moler C.B. Computer Methods for Mathematical Computation (New Jersey: Prentice-Hall Inc., Englewood Cliffs, 1977).

- Król M.I., Spangfort M.D., Huner N.P., Oquist G., Gustafsson P., Jansson S. *Plant Physiol.*, **107** (3), 873 (1995).
- Jacquemoud S., Ustin S. *Leaf Optical Properties* (London: Cambridge University Press, 2019).
- Bohren C.F., Huffman D.R. Absorption and Scattering of Light by Small Particles (New York: John Wiley & Sons 1983).
- 11. Mishchenko M.I., Hovenier J.W., Travis L.D. *Light Scattering by Nonspherical Particles* (San Diego: Academic Press, 2000).
- 12. Mishchenko M.I., Hovenier J.W. Opt. Lett., 20, 1356 (1995).
- 13. Van de Hulst H.C. *Multiple Light Scattering: Tables, Formulas and Applications* (San Diego: Academic Press, 1980).
- Mishchenko M.I., Travis L.D., Lacis A.A. Multiple Scattering of Light by Particles: Radiative Transfer and Coherent Backscattering (Cambridge: Cambridge University Press, 2006).
- Mishchenko M.I. Electromagnetic Scattering by Particles and Particle Groups: An Introduction (Cambridge: Cambridge University Press, 2014).
- 16. Cloude S.R. Optik, 7, 26 (1986).
- 17. Lu S.-Y., Chipman R.A. J. Opt. Soc. Am. A, 13, 1106 (1996).
- 18. Ossikovski R. J. Opt. Soc. Am. A, 26, 1109 (2009).
- 19. Gil J.J., Bernabeu E. Opt. Acta, 33, 185 (1986).
- 20. Chipman R.A. Appl. Opt., 44, 2490 (2005).
- 21. Espinosa-Luna R., Bernabeu E. Opt. Commun., 277, 256 (2007).
- Savenkov S.N., Muttiah R.S., Oberemok Y.A. Appl. Opt., 42 (24), 4955 (2003).
- Savenkov S.N., Mishchenko L.T., Muttiah R.S., Oberemok Y.A., Mishchenko I.A. J. Quantum Spectrosc. Radiat. Transfer, 88 (1-3), 327 (2004).