~ ~ ~

DOI 10.17516/1997-1389-0397 УДК 630\*561.24:57.087

# A New Approach to Measuring Tree-Ring Density Parameters

Pavel P. Silkin\*a, Alexander V. Kirdyanov<sup>b, c</sup>,
Paul J. Krusic<sup>d</sup>, Mikhail V. Ekimov<sup>c</sup>,
Valentin V. Barinov<sup>c</sup>, Ulf Büntgen<sup>d</sup>

"Branch of the Institute of Natural and Technical Systems in Sochi
Sochi, Russian Federation

bSukachev Institute of Forest SB RAS

FRC "Krasnoyarsk Science Center SB RAS"

Krasnoyarsk, Russian Federation

cSiberian Federal University
Krasnoyarsk, Russian Federation

dUniversity of Cambridge
Cambridge, United Kingdom

Sochi State University
Sochi. Russian Federation

Received 30.06.2022, received in revised form 15.08.2022, accepted 05.09.2022, published online 24.10.2022

Abstract. Tree rings are the most reliable high-resolution proxy archive for past climate and environmental changes, and X-ray densitometry is an important tool, which significantly expands the possibilities of dendroecology and dendroclimatology. The classic X-ray densitometric laboratory DENDRO 2003 with all its advantages, however, has a number of drawbacks, such as its high price, installation size, requirement of X-ray films and experienced technical staff, etc., which forces one to look for alternatives. The paper presents a new methodological approach to measuring wood density, developing tree-ring density profiles, and constructing tree-ring density chronologies. The proposed method – pixel-contrast densitometry (PiC densitometry) – is based on the pixel contrast in a high-resolution image of tree-ring structures. Initial experimental tests using a specially developed demonstrator showed the strength and functionality of our approach, which produced results comparable to those derived by the traditional X-ray DENDRO 2003 technique. This new methodology is capable of replacing traditional DENDRO 2003 applications in a wide range of dendroecological and dendroclimatic studies.

<sup>©</sup> Siberian Federal University. All rights reserved

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (CC BY-NC 4.0).

<sup>\*</sup> Corresponding author E-mail address: ppsilk@rambler.ru
ORCID: 0000-0001-7042-822X (Silkin P.); 0000-0002-6797-4964 (Kirdyanov A.); 0000-0001-5358-9697 (Krusic P.);
0000-0001-8650-7459 (Ekimov M.); 0000-0002-3582-3440 (Barinov V.); 0000-0002-3821-0818 (Büntgen U.)

**Keywords:** PiC densitometry, anatomical densitometry, x-ray densitometry, tree-rings, density profile.

**Acknowledgements.** The study was supported by Russian Science Foundation (Project No. 18-14-00072-P). Equipment purchased under the projects of the Ministry of Education and Science of the Russian Federation No. 2020-0010 and No. 2020-0014 was used for sample preparation.

Citation: Silkin P. P., Kirdyanov A. V., Krusic P. J., Ekimov M. V., Barinov V. V., Büntgen U. A new approach to measuring tree-ring density parameters. J. Sib. Fed. Univ. Biol., 2022, 15(4)

DOI: 10.17516/1997-1389-0397

# Новый метод измерения денситометрических параметров годичных колец древесных растений

П.П. Силкин<sup>а</sup>, А.В. Кирдянов<sup>6, в</sup>, П. Дж. Крусик<sup>г</sup>, М.В. Екимов<sup>д</sup>, В.В. Баринов<sup>в</sup>, У. Бюнтген<sup>г</sup>

<sup>a</sup>Филиал ФГБНУ «Институт природно-технических систем» Российская Федерация, Сочи <sup>б</sup>Институт леса им. В. Н. Сукачева СО РАН ФИЦ «Красноярский научный центр СО РАН» Российская Федерация, Красноярск <sup>6</sup>Сибирский федеральный университет Российская Федерация, Красноярск <sup>6</sup>Кембриджский университет Великобритания, Кембридж <sup>6</sup>Сочинский государственный университет Российская Федерация, Сочи

Аннотация. Древесные кольца являются одними из наиболее достоверных источников информации об условиях окружающей среды и климата в прошлом. Рентгеновская денситометрия как один из важнейших инструментов дендроэкологии и дендроклиматологии существенно расширяет возможности исследований по реконструкции различных природных процессов. Классический рентгеновский денситометрический комплекс DENDRO 2003, обладая общепризнанными достоинствами, тем не менее имеет ряд существенных недостатков, таких как высокая стоимость, громоздкость, использование рентгеновских плёнок и т.д., что вынуждает искать альтернативные пути развития денситометрии годичных колец. В работе представлен новый методический подход к измерению профиля плотности годичных колец деревьев и построению хронологий параметров плотности древесных колец, основанный на разделении точек изображения клеточной структуры колец по их контрастности, получивший название пиксель-контрастной денситометрии (Pixel Contrast Densitometry, PiC densitometry). Проведена экспериментальная апробация разработанных

методов РіС денситометрии при помощи демонстратора, реализованного в виде программного обеспечения, позволяющего выполнять измерения профиля плотности годичных колец и получать хронологии различных его параметров. Сравнительный анализ результатов измерений и функциональных характеристик рентгеновской и РіС денситометрии показал, что денситометрический комплекс, построенный на базе разработанных методов и программного обеспечения РіС денситометрии, позволяет получать результаты, идентичные результатам рентгеновской денситометрии, обладает большей функциональностью, меньшей стоимостью и способен полностью заменить собой рентгеновский денситометрический комплекс DENDRO 2003 в широком спектре дендроэкологических и дендроклиматических исследований.

**Ключевые слова:** РіС денситометрия, анатомическая денситометрия, рентгеновская денситометрия, годичные кольца, профиль плотности.

**Благодарности.** Исследование выполнено при поддержке гранта РНФ (проект № 18-14-00072-П). При подготовке образцов использовалось оборудование, приобретенное в рамках проектов Министерства образования и науки РФ № 2020-0010 и № 2020-0014.

Цитирование: Силкин, П. П. Новый метод измерения денситометрических параметров годичных колец древесных растений / П. П. Силкин, А. В. Кирдянов, П. Дж. Крусик, М. В. Екимов, В. В. Баринов, У. Бюнтген // Журн. Сиб. федер. ун-та. Биология, 2022. 15(4). DOI: 10.17516/1997-1389-0397

# Введение

За последние шестьдесят лет рентгеновская денситометрия стала фактически стандартом измерений плотности годичных колец деревьев при решении широкого круга задач, связанных с исследованиями структуры древесных колец (Polge, 1978; Schweingruber, 1988, 1996; Bjorklund et al., 2019). Пошаговое измерение плотности годичного кольца вдоль направления его роста позволяет построить его профиль плотности, имеющий ключевое значение в денситометрии. Поскольку ксилема годичных колец формируется под влиянием совокупности всех экологических факторов, действующих на древесное растение в течение вегетационного периода, то профиль плотности годичного кольца является интегральной характеристикой клеточной структуры в каждой точке ксилемы, и хронологии его параметров служат индикаторами изменений условий роста. Так, в изменчивости максимальной плотности поздней древесины у деревьев, произрастающих на северной и верхней границе леса, содержится информация о вариациях температуры летнего периода (например, Briffa et al., 1998, 2004; Ваганов и др., 1999; Vaganov et al., 1999; Kirdyanov et al., 2003, 2007; Knorre et al., 2006; Schneider et al., 2015; Churakova et al., 2020), а минимальная плотность ранней древесины хвойных лесостепной зоны Евразии отражает изменения количества осадков начала сезона роста (Camarero et al., 2014, 2017).

Классическим примером аппаратной реализации подхода с использованием рентгеновской пленки в денситометрии является комплекс, разработанный швейцарской фирмой Walesch Electronics, включающий лабораторию подготовки образцов древесины, рентгеновскую лабораторию и компьютеризированную установку для измерения плотности годичных колец DENDRO 2003 (Official

website of Walesch Electronic). В настоящее время во всём мире эксплуатируется всего 14 таких комплексов (Bjorklund et al., 2019). Дороговизна и громоздкость комплекса, необходимость рентгеновского оборудования, требующего сертификации и отдельного защищённого помещения, использование рентгеновских плёнок, у которых на качество изображения сильно влияет технология проявки и производство которых сворачивается ввиду вытеснения их цифровыми технологиями, громоздкость проекционной оптикоэлектромеханической DENDRO системы 2003 - все это заставляет исследователей искать альтернативные методы измерения плотности годичных колец.

Критический обзор существующих методов денситометрических исследований, основанных на разных физических принципах, и их технической реализации (Jacquin et al., 2017; Bjorklund et al., 2019) позволяет заключить, что широкому применению того или иного метода препятствуют четыре основные причины, встречающиеся в разных комбинациях для рассмотренных методов. Это, прежде всего, высокая стоимость (вызванная сложностью, уникальностью технического решения), низкое пространственное разрешение, большая трудоёмкость измерения и, наконец, относительность значений измеряемой величины (измеряемая физическая величина связана с плотностью многомерной функциональной или корреляционной связью, на которую влияет ряд трудно поддающихся учёту факторов).

Развитие компьютерных технологий последнего десятилетия создаёт предпосылки для полного исключения при получении данных по плотности древесных колец как рентгеновских технологий, так и сложных проекционно-измерительных систем, с уклоном в область анализа изображений клеточной структуры годичных колец. Структура ксилемы годичных колец, как голосеменных, так и покрытосеменных, несмотря на кардинальные различия в принципах организации водопроводящих и структурных элементов, тем не менее, с точки зрения принципа распределения вещества клеточных стенок, похожи. Фактически участки с высокой плотностью вещества (клеточная стенка) чередуются с полным его отсутствием в сосудах и просветах паренхимных клеток или люменах трахеид. Таким образом, отношение объёмов вещества клеточных стенок и объёмов пустот определяет вариабельность плотности ксилемы годичных колец. Несмотря на то что клеточная стенка растительных клеток гетерогенна как по структуре, так и по химическому составу, с точки зрения измерения средней плотности участка годичного кольца клеточную стенку можно считать гомогенной и имеющей постоянную плотность, приблизительно равную  $1.5 \cdot 10^3$  кг/м<sup>3</sup> (Kellogg et al., 1975). Таким образом, для измерения плотности участка годичного кольца достаточно найти отношение суммы площадей поперечного сечения клеточных стенок к площади данного участка и умножить её на плотность клеточной стенки. Данный подход к измерению плотности годичных колец является базовым в представленной работе.

Денситометрия, построенная на анализе анатомии годичных колец, кроме очевидных плюсов в виде меньшей стоимости, отсутствия необходимости рентгеновской лаборатории и аппаратуры по проявке рентгеновских плёнок с сопутствующим набором химических реактивов, упрощения пробоподготовки, компактности, имеет дополнительные плюсы в виде возможности измерения плотности годичных колец с сильно изменённым химическим составом, например, у окаменевшей древесины или рассыпающейся от старо-

сти, когда невозможно сделать тонкие спилы образцов. Также классическая рентгеновская денситометрия не позволяет измерить плотность очень узких годичных колец, ширина которых немногим отличается от разрешающей способности рентгеновского денситометра (10 мкм), в отличие от предлагаемого подхода, который имеет разрешающую способность в доли микрометра.

Идея использования клеточной структуры для денситометрических измерений остается актуальной не одно десятилетие, и здесь можно выделить два основных направления. Первое - пошаговое измерение интенсивности отражённого света от поверхности образца. Полученный профиль интенсивности будет близок к обратному профилю плотности, так как клеточные стенки поглощают свет и более плотному участку будет соответствовать меньшее альбедо (Спиров, Терсков, 1973; Yanosky, Robinove, 1986; Sheppard et al.,1996; Bjorklund et al., 2019). Этот метод можно было бы назвать идеальным, так как он имеет относительно низкую стоимость, пространственное разрешение на уровне рентгеновского денситометра (зависит от модели планшетного сканера) и, следовательно, высокую скорость измерения, но, к сожалению, даже в пределах одного образца клеточные стенки меняют свой цвет в зависимости от вариаций их химического состава, и при этом трудно обеспечить одинаковое альбедо у клеточных пустот, что в совокупности обесценивает измерение. Кроме того, из-за этого большой проблемой будет калибровка такого денситометра, так как не представляется возможным стандартизировать альбедо люменов и клеточных стенок. Развитие идеи данного метода вылилось в метод измерения интенсивности отражённого синего цвета (Campbell et al., 2007, 2011; Bjorklund et al., 2019; Kaczka, Wilson, 2021), который стал

самостоятельной лиспиплиной. связанной с денситометрией. Второе направление связано с прямым измерением клеточных параметров каждой клетки и вычислением ее плотности или плотности отдельного участка кольца (Park, Telewski, 1993; Silkin, Kirdyanov, 2003; Decoux et al., 2004; Rathgeber et al., 2006; Силкин, 2010; Silkin, Ekimova, 2012; Bjorklund et al., 2017, 2019, 2021), считая плотность клеточной стенки постоянной (Kellogg et al., 1975). Данный подход также имеет относительно низкую стоимость реализации, и он наиболее корректен и точен, но, к сожалению, связан с измерением клеточных параметров у больших массивов клеток и поэтому крайне трудозатратен. Это, а также высокие требования к обработке и хранению больших массивов графической информации не способствовало широкому распространению данного подхода.

В данной статье предлагается третий путь развития анатомической денситометрии, совмещающий положительные стороны первых двух. В нём используются изображения клеточной структуры годичных колец с высоким разрешением, что позволило разделить точки изображения клеточных стенок и пустот, исключив влияние вариаций цвета клеточных стенок и просветов на результаты измерения. Это сняло все проблемы, связанные с калибровкой, с одной стороны, а с другой - позволило на порядки ускорить процедуру измерения из-за отказа от детального измерения и анализа целого набора параметров каждой клетки. В силу того что метод разделения отдельных точек изображения базируется на анализе их контрастности, метод получил название пиксель-контрастной денситометрии (Pixel Contrast Densitometry, PiC densitometry).

Целью данной работы являлась разработка методического подхода измерения про-

филя плотности годичных колец и построения хронологий денситометрических параметров, основанного на анализе изображения их клеточной структуры без использования рентгеновских технологий. Главным критерием приемлемости разработанных методов было получение достоверных значений основных характеристик профиля плотности годичных колец, сравнимых с данными рентгеновского денситометрического комплекса DENDRO 2003. Экспериментальная апробация результатов проведена с использованием специально разработанного демонстратора (РіС денситометра), реализованного в виде программного обеспечения, позволяющего выполнять измерение профиля плотности годичных колец и получать хронологии его характеристик.

#### Материал и методы

В основе разработанной концепции измерения профиля плотности годичных колец лежит выражение (1), устанавливающее связымежду плотностью выделенного участка годичного кольца и его анатомическими характеристиками. Среднюю плотность произвольного участка годичного кольца площадью S можно выразить как:

$$\rho = \frac{M}{V} = \frac{\rho_{wall}V_{wall}}{SL} = \frac{\rho_{wall}S_{wall}L}{SL} = \rho_{wall}\frac{S_{wall}}{S}, (1)$$

где  $\rho$  — средняя плотность выделенного участка годичного кольца, M — масса выделенного участка, V — объём выделенного участка,  $\rho_{wall}$  — плотность клеточной стенки,  $V_{wall}$  — объём клеточной стенки в выделенном участке кольца, S — площадь поперечного сечения выделенного участка кольца, L — толщина образца,  $S_{wall}$  — площадь поперечного сечения клеточной стенки выделенного участка кольца.

Цифровое изображение состоит из набора точек одинаковой площади. Следовательно, если выделенную площадь сузить до ширины одной точки, т.е. выделенной площадью S считать линию, которую можно назвать линией сканирования изображения (рис. 1), то выражение (1) можно упростить:

$$\rho = \rho_{wall} \frac{N_{wall} S_p}{NS_p} = \rho_{wall} \frac{N_{wall}}{N}, \qquad (2)$$

где  $S_p$  — площадь точки изображения,  $N_{wall}$  — количество точек на линии сканирования, принадлежащих клеточной стенке, N — общее количество точек на линии сканирования.

Плотность клеточной стенки  $\rho_{wall}$  считается константой для всего образца и определяется особенностями строения слоёв клеточной стенки и их химическим составом. Таким образом, плотность клеточной стенки может несколько варьировать в зависимости от вида древесного растения, т.е. этот параметр является видоспецифичным и должен быть уточнён для каждого вида древесного растения. Нахождение плотности клеточной стенки для каждого вида древесных растений и является, собственно, калибровкой в данном методе денситометрических измерений.

Программная реализация и алгоритм измерения профиля плотности годичного кольца имеет много общего с алгоритмом, использующимся в рентгеновской денситометрии, и выглядит следующим образом. Оператор накладывает на изображение годичных колец прямоугольник области измерения (ПОИ, рис. 1) необходимого размера и ориентации. Количество прямоугольников и их размеры ограничиваются только размером изображения и доступной для программы оперативной памятью компьютера. Средняя линия ПОИ является линией измерения профиля плотности. Перпендикулярно средней линии располагается линия сканирования изображения (рис. 1), которая играет роль фоточувствительного сенсора, как в денситометре DENDRO

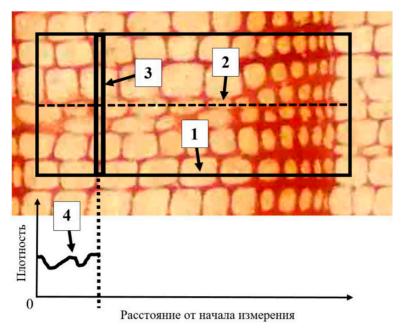


Рис. 1. Принципиальная схема измерения профиля плотности методом PiC денситометрии. 1 — периметр прямоугольной области измерения (ПОИ), 2 — средняя линия ПОИ, 3 — линия сканирования (виртуальный сенсор), 4 — измеренный профиль плотности участка годичного кольца. При измерении, линия сканирования (3) движется вдоль средней линии (2) слева направо, при этом рассчитываются точки профиля плотности (4). Линия сканирования (3) показана в виде щели. В реальности её толщина равна пикселу изображения

Fig. 1. Schematic diagram of density profile measurements by PiC densitometry. 1 – perimeter of the rectangular area of measurement (RAM), 2 – middle line of the RAM, 3 – scanning line (virtual sensor), 4 – density profile of measured tree-ring area. During the measurement, the scanning line (3) moves along the center line (2) from left to right, and the points of the density profile (4) are calculated. Scanning line (3) is shown as a slit. In reality, its thickness is equal to one pixel of the image

2003, и которую можно назвать виртуальным сенсором. Программа опрашивает каждую точку линии сканирования и строит вдоль неё профиль обратной величины яркости. Таким образом, пики на графике профиля яркости соответствуют клеточной стенке, а минимальные значения — люмену. В качестве пороговой функции, отделяющей точки люмена от точек клеточной стенки на профиле яркости, выступает линейное уравнение, коэффициенты которого рассчитываются методом наименьших квадратов. Точки профиля яркости, оказавшиеся выше пороговой функции, принадлежат клеточной стенке, ниже — люмену. Для визуальной оценки корректности рас-

познавания клеточных стенок программное обеспечение обозначает синим цветом (или другим, по выбору) те точки годичного кольца, которые она распознала как принадлежащие к клеточной стенке (рис. 2). После этого рассчитывается отношение количества точек, принадлежащих клеточной стенке к общему количеству точек линии сканирования. Вычисление плотности в точке линии измерения профиля плотности (средней линии прямоугольника) проводится по формуле (2). Данная процедура повторяется для каждой точки линии измерения в пределах текущего прямоугольника, и в результате появляется профиль плотности годичного кольца выделенного

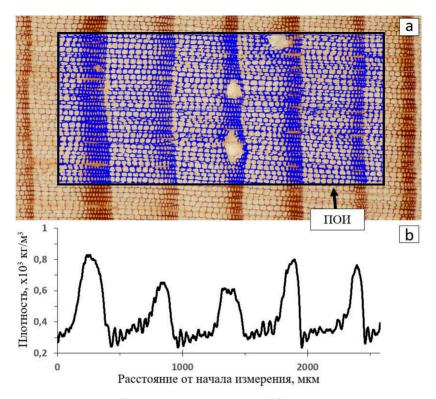


Рис. 2. Примеры измерения профилей плотности методом PiC денситометрии нормально развитых годичных колец. Ниже изображения нескольких годичных колец с выделенной областью измерений (а) показаны полученные профили плотности годичных колец (b). ПОИ – прямоугольник области измерения

Fig. 2. Tree-ring sample image with the rectangular area of measurements by PiC densitometry (a) the measured tree-ring density profiles (b).  $\Pi O M$  – the rectangular area of measurement

участка (рис. 1, 2). Затем профили плотности выделенных прямоугольниками участков последовательно объединяются в общий профиль плотности образца. Для корректного сравнения с результатами рентгеновской денситометрии построенные профили плотности сглаживаются скользящей средней шириной 10 мкм, которая сравнима с разрешающей способностью оптической системы DENDRO 2003.

В работе использовались образцы древесины сосны обыкновенной *Pinus sylvestris* L., произрастающей в условиях прохладного и влажного климата зоны бореальных лесов вблизи северной границы леса на северовостоке Финляндии (68.9° с.ш., 28.2° в.д., 200 м над уровнем моря). Из дисков стволов

были выпилены узкие полоски древесины прямоугольного сечения вдоль радиального направления в стволе, от сердцевины ствола до коры. Поверхность образца в плоскости поперечного сечения трахеид была обработана на шлифовальном станке с использованием наждачной бумаги зернистостью до Р1000. В результате была получена поверхность с чётко различимыми структурными элементами годичных колец. Изображение клеточной структуры годичных колец было получено с помощью автоматизированной системы GIGAmacro Magnify2 Robotic Imaging System (Griffin et al., 2021; Official website of GIGAmacro). Данная система в автоматическом режиме последовательно фотографирует участки годичного кольца в пределах, указанных оператором. Затем набор изображений компилируется специализированным программным модулем системы в единое изображение поверхности образца. Разрешающая способность системы может меняться в широких пределах, и в нашем случае размер точки изображения составил 0,92 мкм, что достаточно, чтобы проводить измерение минимальных структурных элементов ксилемы годичных колец, таких как клеточная стенка трахеид.

Для других образцов тех же деревьев сосны обыкновенной были проведены денситометрические измерения, согласно стандартной методике для рентгеновской денситометрии (Schweingruber et al., 1978; Schweingruber, 1988; Briffa et al., 2004), с помощью рентгеновского денситометрического комплекса DENDRO 2003 Института леса им. В. Н. Сукачёва СО РАН, г. Красноярск.

Программное обеспечение для измерения профиля плотности годичных колец (PiC денситометр) написано на языке Delphi, обладающем развитой библиотекой визуальных компонентов, что существенно ускоряет создание программного обеспечения с дружественным интерфейсом.

Для экспериментальной проверки предложенной концепции денситометрических измерений с помощью разработанного программного обеспечения были проведены измерения профилей плотности для 158 годичных колец. Плотность клеточной стенки, которая выполняет роль калибровочного коэффициента, принималась равной 1,5 · 10<sup>3</sup> кг/м<sup>3</sup>. После измерения были рассчитаны средние и экстремальные параметры профиля плотности, такие как минимальная и максимальная плотность, средние плотности ранней и поздней древесины, ширина всего годичного кольца и ширина ранней и поздней древесины, хронологии которых являются ко-

нечным результатом денситометрических измерений и используются в дальнейших дендроэкологических и дендроклиматических исследованиях.

Для оценки погрешности метода применялось базовое выражение для абсолютной погрешности косвенного измерения (3):

$$\Delta_{y} = \sqrt{\sum_{i=1}^{N} \left(\frac{\partial y}{\partial x_{i}} \Delta x_{i}\right)^{2}}.$$
 (3)

Выражение для оценки абсолютной погрешности измерения профиля плотности было получено с использованием выражений (2) и (3):

$$\Delta_{\rho} = \sqrt{\left(\frac{N_{w}}{N}\Delta_{\rho_{w}}\right)^{2} + \left(\frac{\rho_{w}}{N}\Delta_{N_{w}}\right)^{2}},\tag{4}$$

где  $\Delta_{\rho}$ ,  $\Delta_{\rho_{w}}$ ,  $\Delta_{N_{w}}$  — абсолютные погрешности точки профиля плотности годичного кольца, плотности клеточной стенки и количества точек, принадлежащих клеточным стенкам, соответственно;  $\rho_{w}$  — плотность клеточной стенки,  $N_{w}$  — количество точек текущей линии сканирования, принадлежащих клеточной стенке, N — количество точек линии сканирования.

Статистическая обработка данных проводилась с помощью статистического пакета Statistica 10 (StatSoft).

## Результаты

Проведённые исследования корректности работы алгоритма распознавания клеточных стенок показали, что алгоритм одинаково хорошо и устойчиво распознаёт клеточные структуры в годичных кольцах любой ширины и плотности (рис. 2), а также артефакты конкретного образца годичных колец, например, смоляные ходы, разрывы, трещины, посторонние микроскопические объекты и т.п.,

включение которых в область измерения влияет на измерение плотности.

Измеренные профили плотности годичных колец, полученные методом РіС денситометрии, имеют типичную форму для профилей плотности, полученных методом рентгеновской денситометрии (рис. 2, 3). Можно видеть, что профили плотности у нормально развитых годичных колец имеют разделение на зоны ранней и поздней древесины, высокие значения плотности в поздней древесине, минимальные величины в ранней древесине и наличие периодических флуктуаций плотности в ней, обусловленных периодичностью её структуры и радиальным размером трахеид, значительно превышающих ширину окна усреднения 10 мкм (рис. 2, 3). Профили плотности аномально развитых годичных колец также имеют характерную для такого типа колец форму, которую даёт рентгеновская денситометрия, с нечётким делением на зоны кольца, а иногда и его отсутствием, малыми максимальными значениями плотности последних клеток в ряду, соответствующих зоне поздней древесины.

Результаты сравнительного анализа профилей плотности РіС денситометрии с профилями плотности рентгеновской денситометрии для одних и тех же годичных колец одного образца (разные радиусы ствола одного дерева) показали практически полную их идентичность (рис. 3). Вместе с тем можно наблюдать и некоторые отличия в значениях плотности на отдельных участках профиля при общем сохранении схожести их форм.

Из равенства профилей плотности, полученных разными методами, следует и равенство их экстремальных и интегральных характеристик. Результаты корреляционного анализа показали высокую значимую линейную связь между ними, за исключением хронологий минимальной плотности. Наибольший коэффициент корреляции Пирсона наблюдался для хронологий ширины годичного кольца и ширины ранней древесины (r=0,93, p<0,05). Несколько ниже, но тоже высокий коэффициент корреляции наблюдался для хронологий ширины поздней древесины (r=0,87, p<0,05).

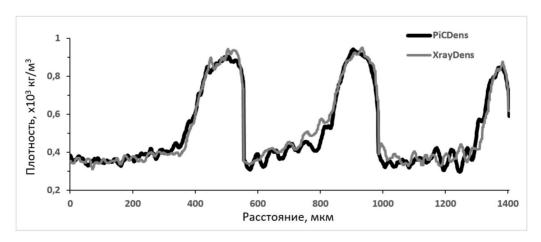


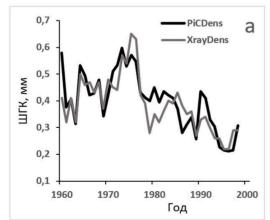
Рис. 3. Профили плотности одних и тех же годичных колец, измеренных на разных радиусах дерева методами РіС денситометрии (PiCDens, толстая линия) и рентгеновской денситометрии (XrayDens, тонкая линия)

Fig. 3. Density profiles of the same growth rings measured along different tree radii by PiC densitometry (PiCDens, black line) and X-ray densitometry (XrayDens, gray line)

Экстремальными характеристиками профиля плотности являются его минимальная и максимальная плотность. Коэффициент корреляции для хронологий максимальной плотности высок и равен r=0,83, p<0,05. Для хронологий минимальной плотности наблюдается слабая незначимая связь (r=0,18, р>0,05). Для интегральных характеристик профиля плотности, а именно хронологий средней плотности ранней древесины и средней плотности поздней древесины, также можно видеть значимую корреляционную связь, равную r=0.47, p<0.05 и r=0.81, p<0.05соответственно. Среди всех параметров профиля плотности наибольшее практическое значение в задачах дендроклиматологии и дендроэкологии имеет ширина годичного кольца и его максимальная плотность как наиболее чувствительные к изменению факторов внешней среды, поэтому на рис. 4 показаны хронологии этих параметров, полученные обоими методами. Можно видеть высокую синхронность их изменений, определяющую высокие коэффициенты корреляции между ними. Тем не менее необходимо отметить, что

в некоторые годы, особенно для хронологий поздней древесины, абсолютные величины параметров заметно отличаются друг от друга при сохранении синхронности изменений.

Оценка погрешности проводилась отдельно для зон ранней и поздней древесины, так как они имеют разную величину отношения количества точек, принадлежащих клеточным стенкам к общему количеству точек сканирования. В среднем величины этого отношения оказались равны для зон ранней и поздней древесины 0,12 и 0,3 соответственно. Плотность клеточной стенки принималась одинаковой для всех зон кольца и равной  $1,5 \cdot 10^3 \text{ кг/м}^3$ , а количество точек линии сканирования равной шестистам, что примерно соответствует двадцати рядам трахеид. Абсолютная погрешность плотности клеточной стенки принималась равной 0,15 · 103 кг/м3, что соответствует десятипроцентной относительной погрешности и отражает оценку плотности клеточной стенки разными исследователями. Абсолютная погрешность  $\Delta_N$ оценивалась как количество точек, принадлежащих к клеточной стенке, но ошибочно



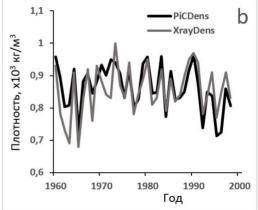


Рис. 4. Хронологии ширины годичных колец (ШГК) (a) и максимальной плотности годичных колец (b), измеренные методами PiC денситометрии (PiCDens) и рентгеновской денситометрии (XrayDens)

Fig. 4. Tree-ring width (TRW) (a) and maximum tree-ring density (b) chronologies measured by PiC densitometry (PiCDens) and X-ray densitometry (XrayDens)

отнесённых к люменам. Для каждой трахеиды количество таких точек принималось равным единице, поэтому для всей линии сканирования погрешность равна двадцати (двадцать рядов трахеид), для данных измерений с N=600 точек. Оценка абсолютной погрешности профиля плотности с помощью выражения (4) дала значения  $0.05 \cdot 10^3 \text{ кг/м}^3$ для ранней древесины и 0,07 · 10<sup>3</sup> кг/м<sup>3</sup> для поздней, что составило 13 и 10 % для относительной погрешности измерения в этих зонах соответственно. Таким образом, для оценки относительной погрешности метода следует принять наибольшее из этих значений, а именно 13 %, что сопоставимо с погрешностью рентгеновского денситометрического комплекса DENDRO 2003 (10 %).

### Обсуждение результатов

Результаты денситометрических измерений, полученные с помощью разработанных методов и программного обеспечения для РіС денситометрии, оказались в подавляющем большинстве идентичными результатам измерений рентгеновским денситометрическим комплексом, с учётом погрешностей этих методов и их аппаратно-программной реализации, которые в совокупности могут дать разницу измеренных величин до 20 %. Другой причиной некоторых наблюдаемых различий в данных, полученных двумя методами, кроме погрешностей измерения, является то, что измерения были проведены на разных участках ствола одного дерева. Ствол древесного растения в поперечном сечении далёк от идеальной окружности, часто имеет эксцентриситет, как следствие неравномерного роста и развития на разных радиусах, что приводит к различию как в ширине одного и того же годичного кольца, так и в его структуре, а, следовательно, и в денситометрических характеристиках. Например, в работе Силкина П.П. (2010) показано, что наблюдается связь размеров трахеид с шириной годичного кольца при его малых размерах, что, безусловно, окажет влияние на профиль плотности. Кроме того, по данным (Силкин, 2010; Silkin, Ekimova, 2012), вариации химического состава клеточных стенок влияют на результаты рентгеновской денситометрии, особенно в зоне ранней древесины, что также может внести различие в форму профилей плотности, полученных методами анатомической и рентгеновской денситометрии.

Из всей совокупности полученных результатов только хронологии минимальной плотности показали отсутствие значимой корреляционной связи, что не может быть полностью объяснено приведёнными выше доводами. Основная причина отсутствия связи в данном случае, кроме указанных выше, заключается в большой амплитуде флуктуаций плотности ранней древесины, измеренной методом РіС денситометрии, в профиле плотности (рис. 3). Эти флуктуации носят случайный характер и обусловлены периодичностью и особенностью клеточной структуры ранней древесины, в которой трахеиды имеют большие радиальные размеры пустот (люмены) и тонкие клеточные стенки. Радиальный размер люменов в разы превышает ширину виртуального сенсора (ширину окна усреднения профиля плотности) РіС денситометра, что и вызывает колебания плотности. Это подтверждает значимая корреляционная связь хронологий средней плотности ранней древесины (0,47, p<0,05), так как расчёт средних значений нивелирует флуктуации плотности. Подобные флуктуации плотности наблюдаются и при измерении рентгеновским денситометром в случае, если оператор проводит измерение по небольшому количеству рядов трахеид. При измерении методами РіС денситометрии также достаточно увеличить количество измеряемых рядов, чтобы сгладить эти флуктуации. Впрочем, хронологии минимальной плотности имеют небольшое практическое значение, скорее, более важны хронологии средней плотности ранней древесины, при этом они будут обладать большей устойчивостью к режимам измерения.

Основные преимущества РіС денситометрии были описаны во введении статьи. Далее обсуждаются некоторые дополнительные её положительные моменты. Прежде всего, разработанный подход кардинально упростил процедуру пробоподготовки, при проведении которой отпала необходимость в использовании специализированного дорогостоящего оборудования. Существенно упростился и процесс калибровки. Для РіС денситометра он сводится к указанию в программе физической величины, имеющей биологический смысл, - плотности клеточной стенки, величину которой можно корректировать и после измерений, что является серьёзным преимуществом по сравнению с другими методами. Также большим плюсом является простота и высокая скорость измерения для оператора, сравнимые с временными и трудозатратами при процессе измерения такой базовой характеристики в дендрохронологии, как ширина годичных колец. Кроме того, реализация измерительной процедуры в виде компьютерной программы, а не в виде громоздкой прецизионной компьютеризированной оптико-электромеханической системы, которой является собственно денситометр DENDRO 2003, позволяет проводить одновременно денситометрические измерения на любом количестве компьютеров, существенно ускоряя исследования.

В целом, обобщая полученные результаты, можно заключить, что денситометрический комплекс, построенный на базе разработанных методов и программного обеспечения РіС денситометрии, позволяет получать результаты, идентичные результатам рентгеновской денситометрии, и способен полностью заменить собой рентгеновский денситометрический комплекс DENDRO 2003 в широком спектре дендроэкологических и дендроклиматических исследований.

#### Список литературы / References

Ваганов Е.А., Кирдянов А.В., Силкин П.П. (1999) Значение раннелетней температуры и сроков схода снежного покрова для роста деревьев в субарктической зоне Сибири. *Лесоведение*, 6: 3–13 [Vaganov E.A., Kirdyanov A.V., Silkin P.P. (1999) Significance of early summer temperature and snow cover melting dates for tree growth in the subarctic zone of Siberia. *Russian Journal of Forest Science* [Lesovedenie], 6: 3–13 (in Russian)]

Силкин П.П. (2010) Методы многопараметрического анализа структуры годичных колец хвойных. Красноярск, Сибирский федеральный университет, 335 с. [Silkin P.P. (2010) Methods for multiparametric analysis of the coniferous tree-ring structure. Krasnoyarsk, Siberian Federal University, 335 p. (in Russian)]

Спиров В. В., Терсков И. А. (1973) Микрофотометрический анализатор древесины. *Лесове-дение*, 5: 63–68 [Spirov V. V., Terskov I. A. (1973) Microphotometric wood analyzer. *Russian Journal of Forest Science* [Lesovedenie], 5: 63–68 (in Russian)]

Björklund J., Seftigen K., Schweingruber F., Fonti P., Von Arx G., Bryukhanova M.V., Cuny H.E., Carrer M., Castagneri D., Frank D.C. (2017) Cell size and wall dimensions drive distinct variability of earlywood and latewood density in Northern Hemisphere conifers. *New Phytologist*, 216(3): 728–740

Björklund J., von Arx G., Nievergelt D., Wilson R., Van den Bulcke J., Günther B., Loader N. J., Rydval M., Fonti P., Scharnweber T., Andreu-Hayles L., Büntgen U., D'Arrigo R., Davi N., De Mil T., Esper J., Gärtner H., Geary J., Gunnarson B. E., Hartl C., Hevia A., Song H., Janecka K., Kaczka R. J., Kirdyanov A. V., Kochbeck M., Liu Y., Meko M., Mundo I., Nicolussi K., Oelkers R., Pichler T., Sánchez-Salguero R., Schneider L., Schweingruber F., Timonen M., Trouet V., Van Acker J., Verstege A., Villalba R., Wilmking M., Frank D. (2019) Scientific merits and analytical challenges of tree-ring densitometry. *Reviews of Geophysics*, 57(4): 1224–1264

Bjorklund J., Fonti M. V., Fonti P., Van den Bulcke J., von Arx G. (2021) Cell wall dimensions reign supreme: cell wall composition is irrelevant for the temperature signal of latewood density/blue intensity in Scots pine. *Dendrochronologia*, 65: 125785

Briffa K. R., Schweingruber F. H., Jones P. D., Osborn T. J., Shiyatov S. G., Vaganov E. A. (1998) Reduced sensitivity of recent tree-growth to temperature at high northern latitudes. *Nature*, 391(6668): 678–682

Briffa K.R., Osborn T.J., Schweingruber F.H. (2004) Large-scale temperature inferences from tree rings: A review. *Global and Planetary Change*, 40(1–2): 11–26

Campbell R., McCarroll D., Loader N. J., Grudd H., Robertson I., Jalkanen R. (2007) Blue intensity in *Pinus sylvestris* tree-rings: Developing a new palaeoclimate proxy. *Holocene*, 17(6): 821–828

Campbell R., McCarroll D., Robertson I., Loader N.J., Grudd H., Gunnarson B. (2011) Blue intensity in Pinus sylvestris tree rings: a manual for a new palaeoclimate proxy. *Tree-Ring Research*, 67(2): 127–134

Camarero J.J., Rozas V., Olano J.M. (2014) Minimum wood density of *Juniperus thurifera* is a robust proxy of spring water availability in a continental Mediterranean climate. *Journal of Biogeography*, 41(6): 1105–1114

Camarero J. J., Fernandez-Perez L., Kirdyanov A. V., Shestakova T. A., Knorre A. A., Kukarskih V. V., Voltas J. (2017) Minimum wood density of conifers portrays changes in early season precipitation at dry and cold Eurasian regions. *Trees*, 31(5): 1423–1437

Churakova O. V., Fonti M. V., Kirdyanov A. V., Myglan V. S., Barinov V. V., Sviderskaya I. V., Naumova O. V., Ovchinnikov D. V., Shashkin A. V., Saurer M., Guillet S., Corona C., Fonti P., Panyushkina I. P., Büntgen U., Hughes M. K., Siegwolf R. T.W., Stoffel M., Vaganov E. A. (2020) Ecophysiological response of conifers from high-latitude and -altitude eurasian regions to stratospheric volcanic eruptions. *Journal of Siberian Federal University. Biology*, 13(1): 5–24 (in Russian)

Decoux V., Varcin É., Leban J.M. (2004) Relationships between the intra-ring wood density assessed by X-ray densitometry and optical anatomical measurements in conifers. Consequences for the cell wall apparent density determination. *Annals of Forest Science*, 61(3): 251–262

Griffin D., Porter S.T., Trumper M.L., Carlson K.E., Crawford D.J., Schwalen D., McFadden C.H. (2021) Gigapixel macro photography of tree rings. *Tree-Ring Research*, 77(2): 86–94

Jacquin P., Longuetaud F., Leban J.-M., Mothe F. (2017) X-ray microdensitometry of wood: A review of existing principles and devices. *Dendrochronologia*, 42: 42–50

Kaczka R. J., Wilson R. (2021) I-BIND: International Blue intensity network development working group. *Dendrochronologia*, 68: 125859

Kellogg R. M., Sastry C. B.R., Wellwood R. W. (1975) Relationships between cell-wall composition and cell-wall density. *Wood and Fiber Science*, 7(3): 170–177

Kirdyanov A., Hughes M., Vaganov E., Schweingruber F., Silkin P. (2003) The importance of early summer temperature and date of snow melt for tree growth in Siberian Subarctic. *Trees*, 17(1): 61–69

Kirdyanov A. V., Vaganov E. A., Hughes M. K. (2007) Separating the climatic signal from treering width and maximum latewood density records. *Trees*, 21(1): 37–44

Knorre A.A, Kirdyanov A.V., Vaganov E.A. (2006) Climatically induced interannual variability in aboveground production in forest-tundra and northern taiga of central Siberia. *Oecologia*, 147(1): 86–95

Official website of GIGAmacro. URL: https://www.gigamacro.com/gigapixel-macro-imaging-system/

Official website of Walesch Electronic. URL: https://walesch.ch/index.php?segment=dendro&group=walesch&product=dendro2003

Park W. K., Telewski F. W. (1993) Measuring maximum latewood density by image analysis at the cellular level. *Wood and Fiber Science*, 25(4): 326–332

Polge H. (1978) Fifteen years of wood radiation densitometry. *Wood Science and Technology*, 12(3): 187–196

Rathgeber C. B.K., Decoux V., Leban J. M. (2006) Linking intra-tree-ring wood density variations and tracheid anatomical characteristics in Douglas fir (*Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco). *Annals of Forest Science*, 63(7): 699–706

Schweingruber F. H., Fritts H. C., Bräker O. U., Drew L. G., Schär E. (1978) The X-ray technique as applied to dendroclimatology. *Tree-Ring Bulletin*, 38: 61–91

Schweingruber F. H. (1988) *Tree rings: Basics and applications of dendrochronology*. Dordrecht, Netherlands; Boston, Massachusetts. USA, Kluwer Academic Publishers, 276 p.

Schweingruber F.H. (1996) *Tree-rings and Environment. Dendroecology.* Berne; Stuttgart; Vienna, Paul Haupt: Birmensdorf, Swiss Federal Institute for Forest, Snow and Landscape Research, 609 p.

Schneider L., Smerdon J. E., Büntgen U., Wilson R. J.S., Myglan V. S., Kirdyanov A. V., Esper J. (2015) Revising midlatitude summer temperatures back to A.D. 600 based on a wood density network. *Geophysical Research Letters*, 42(11): 4556–4562

Sheppard P. R., Graumlich L. J., Conkey L. E. (1996) Reflected-light image analysis of conifer tree rings for reconstructing climate. *Holocene*, 6(1): 62–68

Silkin P.P., Ekimova N.V. (2012) Relationship of strontium and calcium concentrations with the parameters of cell structure in Siberian spruce and fir tree-rings. *Dendrochronologia*, 30(2): 189–194

Silkin P.P., Kirdyanov A.V. (2003) The relationship between variability of cell wall mass of earlywood and latewood tracheids in larch tree-rings, the rate of tree-ring growth and climatic changes. *Holzforschung*, 57(1): 1–7

Vaganov E. A., Hughes M. K., Kirdyanov A. V., Schweingruber F. H., Silkin P. P. (1999) Influence of snowfall and melt timing on tree growth in subarctic Eurasia. *Nature*, 400(6740): 149–151

Yanosky T.M., Robinove C.J. (1986) Digital image measurement of the area and anatomical structure of tree rings. *Canadian Journal of Botany*, 64(12): 2896–2902