## 利用高光谱扫描技术检测小麦叶片叶绿素含量

黄 慧,王 伟,彭彦昆\*,吴建虎,高晓东,王 秀,张 静

中国农业大学工学院,北京 100083

摘 要 利用高光谱扫描技术对小麦叶片进行无损检测试验,探索精确测定小麦叶绿素含量的方法,为农 作物生长状况、植物病理诊断等提供科学依据。研究选取 90 个样本作为校正集,30 个样本作为预测集,获 取叶片的高光谱反射图像,同时用传统的分光光度计方法测定其叶绿素含量。选取波长 491~887 nm 范围 光谱,用多元散射校正、一阶导数、二阶导数 3 种方法处理,利用偏最小二乘法和逐步线性回归法分别建立 了小麦叶片叶绿素含量与光谱信号间的数学模型。研究发现多元散射校正(MSC)结合二阶导数光谱的多元 线性回归(SMLR)模型的效果较优,模型校正集和预测集决定系数分别为 0.82 和 0.79,校正均方根误差和 预测均方根误差分别为 0.69 和 0.71。研究结果表明可以利用高光谱扫描技术检测小麦叶片叶绿素含量。

关键词 叶绿素含量;高光谱;无损;小麦 中图分类号:S123 文献标识码:A DOI:10.3964/j.issn.1000-0593(2010)07-1811-04

## 引 言

叶绿素含量(Chl. C)是植物营养胁迫、光合能力、发育 阶段和病虫害监测的重要指标[1]。目前叶绿素检测的常用方 法是分光光度法,需要对样本用丙酮萃取,然后用分光光度 计进行测量。该方法耗时、费力属于有损检测。日本 Minolta Camera 公司研发生产的手持式 SPAD-502 型叶绿素仪通过 测量叶片在波长范围内的透光系数来确定叶片叶绿素含量, 常用来间接测量植物叶片含氮量[2-6],但该仪器必须接触测 定和需要测定多株平均值作为测定结果,工作量大[7]。谣感 中用机载高光谱检测植被叶绿素含量,但无法检测单叶片叶 绿素含量。由于单叶片叶绿素含量无法实现实时检测,导致 现有叶绿素含量检测限于实验室专业人员检测。因此,寻找 一种快速、无损的实时检测叶片叶绿素含量的方法,已经成 为实施精准农业变量施肥的关键。目前高光谱扫描技术已经 应用于水果和蔬菜的品质分级[8.9]、遥感检测氮含量[10]、鲜 生物量[11]、水分[12]等方面。关于使用高光谱扫描技术对小 麦叶片叶绿素含量进行定量分析研究还未见报道。

结合农田精准减量机械化施肥技术项目,探求小麦叶片 叶绿素含量与高光谱扫描数据之间的定量关系,实现无损伤 快速检测植物营养状况,为变量施肥机设计提供理论基础。

## 1 材料与方法

#### 1.1 材料

试验样本取自北京市昌平区小汤山精准农业示范区,土 地基础数据如表1所示,选用京冬-8小麦品种。

Table 1 Edaphic condition of Xiao Tangshan farm

经纬度	东经 116°45′,北纬 40°18′
土壤全氛量/(g・kg <sup>-1</sup> )	1. 43
有机质含量/(g・kg <sup>-1</sup> )	13. 57
速效氮含量/(mg・kg <sup>-1</sup> )	40. 51
速效磷含量/(mg・kg <sup>-1</sup> )	62.22
速效钾含量/(mg・kg <sup>-1</sup> )	43.74

试验设 3 个施氮水平,分别为 0 kg • hm<sup>-2</sup>(无氮)、120 kg • hm<sup>-2</sup>(适量氮)、270 kg • hm<sup>-2</sup>(过量氮)纯氮,其中基肥 50%、分蘖肥 35%、抽穗肥 15%。于小麦分蘖期(3 月 30 日)、拔节期(4 月 18 日)、抽穗期(5 月 1 日)取小麦叶片样本。选取长势和大小近似的小麦植株,分蘖、拔节期取主茎最后一张完全展开叶,抽穗期取植株冠层平整剑叶。取得叶片样本后,立刻获取叶片的光谱图像,并测定相应的叶片叶绿素含量。

e-mail:hhuangh1@126.com

收稿日期: 2009-08-08,修订日期: 2009-11-12

基金项目:国家"十一五"科技支撑技术项目(2007BAD89B04)资助
 作者简介:黄 慧,女,1986年生,中国农业大学工学院硕士研究生
 \* 通讯联系人 e-mail:ypeng@cau.edu.cn

#### 1.2 图像采集与叶绿素含量测定

实验采用的高光谱成像系统,包含高性能 CCD 相机 (Sensicam qe, The Cooke Corporation, USA)、高光谱仪 (Imspector V10E, Specim, Oulu, Finland)、电控平移台、运 动控制器等几部分。高光谱仪波长范围为  $400 \sim 1~100$  nm, 分辨率 2.8 nm,空间分辨率点半径 $< 9~\mu$ m。CCD 相机分辨 率 1  $376 \times 1~040$ 。电动平移台重复定位精度为 5 $\mu$ m,绝对定 位精度为 8 $\mu$ m。光源为普通卤钨灯。

在进行光谱测量前先测量标准白板的白背景光谱图像以 及镜头盖盖上的黑背景光谱图像。光谱测量时,将叶片样品 平铺于背景板上,用光谱仪扫描叶片的光谱反射图像。每组 叶片样品约取 500 张线图像。采集光谱图像后,马上用分光 光度计法测定叶片叶绿素含量,测定时避开叶脉。

#### 1.3 数据处理与分析

首先用黑背景光谱图像作暗电流校正、用白背景光谱图像计算光谱反射率,然后将连续扫描获得的高光谱线图像(BMP图像文件)转化为面图像(BSQ二进制文件),用ENVI软件结合 Microsoft VC++ 6.0 自编文件格式实现转化程序。图1显示为630 nm 处的叶片面图像,图中为4个并列的叶片样本。

为尽量消除误差,如图1所示,取同一叶片中心处不同 位置同样大小的区域,将每个区域所有的光谱数据在各单个 波长上取平均值,即平均反射光谱作解析建模用。图2为叶 绿素含量高、中、低的平均反射谱线,显示叶绿素含量与光 谱反射率在450~650 nm 以及780~900 nm 处存在负相关 性。



Fig. 2 Average spectra of three samples with maximum, minimum and medium Chl. C

Chl. coneent: 1: High; 2: Middle; 3: Low

#### 1.3.1 预处理方法

应用 MATLAB 7.0 软件进行数据分析。将样本光谱线 进行 5 点 Savitzky-Golay 平滑、多元散射校正(MSC),在此 基础上,分别获取一阶和二阶微分光谱。然后用偏最小二乘 回归(PLSR)和逐步多元线性回归(SMLR)分别建立小麦叶 片叶绿素含量与叶片反射光谱的线性定量分析模型。

图 3 为对原始光谱分别采用 MSC、一阶导数、二阶导数 处理后得到的光谱反射曲线和叶绿素含量在各波长下的相关 系数分布曲线。MSC 和一阶导数光谱相对二阶导数相关系 数要高。3 种处理方法在 550~800 nm 波段相关系数相对较 高。仪器波长段两端信噪比较低,故去除两端波长,选取相 关系数较高的波段 491~887 nm 作为建模波段,该波段包括 550~800 nm 波段。本研究采用 SMLR 和 PLSR 两种分析方 法结合不同预处理方法在波段 491~887 nm 建立模型。



Fig. 3 Correlation coefficient between Chl. C and reflectance based on different pretreatment methods

1: MSC+second derivation; 2: MSC; 3: MSC+first derivative

#### 1.3.2 PLSR 建模

PLSR 模型的预测指标使用交叉验证标准分析误差 (SECV)表示。用交叉证实法根据交叉验证标准分析误差最 低点可确定主成分数。图 4 为不同方法处理后不同主成分数 对应的 SECV,从图可以看出,MSC、一阶导数、二阶导数对 应的 PLSR 主成分数分别为 4,3 和 10 个。



Fig. 4 SECV for different numbers of principal component for different reflectance

1: MSC; 2: MSC+first derivative; 3: MSC+second derivative

选定主成分数后,用偏最小二乘函数建立校正模型,并 对预测样本进行预测。

#### 1.3.3 SMLR 建模

SMLR 主要是在选定 491~887 nm 波段内通过光谱数据 回归剔除无用波长,选取特征波长。表 2显示 3 种方法处理 后的光谱经逐步回归提取的波长及回归结果。所选波长均包 含在叶绿素的特征波长带内。

Table 2 Selected	wavelengths	by	SMLR	results
------------------	-------------	----	------	---------

处理方法	特征波长/nm	决定系数(R <sup>2</sup> )
MSC	520, 570, 736	0.77
MSC+一阶导数	530, 582, 660, 699	0.88
MSC+二阶导数	530, 582, 660, 704	0.86

用选定特征波长建立模型,MSC、一阶导数、二阶导数 光谱对应 SMLR 模型分别为。

$y_1 = -1.282 - 18.300x_{520} + 18.987x_{570} + 21.967x_{736}$	(1)
$y_2 = 4.629 - 183.105x_{530} + 460.369x_{582} + 198.401x_{660}$	—
67. $625x_{699}$	(2)
$y_3 = 4.614 - 155.068x_{530} + 449.413x_{582} + 370.515x_{660}$	—
61. $119x_{704}$	(3)
ロナ ハリーナー おせいかけつ しまだ とは ノレートング・ナート ハル・ノー・ファイン いい	

用以上模型对预测组样本进行预测。

PLSR 和 SMLR 预测模型通过叶绿素含量的实际值与预 测值的决定系数(R<sup>2</sup>)、校正均方根误差(RMSEC)及预测均 方根误差(RMSEP)作定量评价。

2 结果与讨论

在120个总样本中,90个样本作为校正样本,30个作为 预测样本,样本的叶绿素含量平均值、最大值、最小值和标 准差见表3,校正组和预测组选取合理,能代表各个水平的 叶绿素含量,研究具有普遍性。

Table 3 Statistics for sample measurements

参数	样品数	最大值 /(mg・g <sup>-1</sup> )	最小值 /(mg・g <sup>-1</sup> )	均值 /(mg・g <sup>-1</sup> )	标准差 /(mg・g <sup>-1</sup> )
总样本	120	4.620	1.118	2.736	0.724
校正样本	90	4.620	1.217	2.763	0.728
预测样本	30	4.254	1. 118	2.709	0.726

表 4 和表 5 是采用 PLSR 和 SMLR 两种方法进行建模获 得的结果。从表 4 和表 5 所示的结果看,采用 SMLR 建模获 得的结果好于采用 PLSR 方法建模,预测决定系数最高达到 0.79, RMSEC, RMSEP 值和差值均较小,模型更为稳定。 MSC 结合二阶导数处理方法的 SMLR 模型效果最好,校正 决定系数(R<sup>2</sup>)为0.82,预测决定系数(R<sup>2</sup>)为0.79, RMSEC 为0.69, RMSEP 为0.71。图 5 和图 6 为基于 MSC 结合二阶 导数处理方法的 SMLR 模型结果。采用特征波长 530,582, 660 和 704 nm, 受噪声影响的谐段被排除。实验叶片采自大 田,在大田采集的叶片存在一些影响因素,如叶表面灰尘厚 度影响、叶片新鲜度保持的影响等。MSC 可消除由于样品颗 粒分布不均匀及颗粒大小不同产生的散射对其光谱的影响。 导数校正可消除光谱中基线的平移,可有效消除其他背景的 干扰,分辨重叠峰,从而提高模型精度。

今后若增加用于建模和预测的样品数,进行进一步的深

 Table 4
 Prediction results with different

 reflectance using PLSR analysis

RMSEC	$R_{ m v}^2$	RMSEP
0.68	0.63	0.70
0.71	0.66	0.77
0.71	0.60	0.78
	RMSEC 0.68 0.71 0.71	RMSEC         R <sup>2</sup> 0.68         0.63           0.71         0.66           0.71         0.60

#### Table 5 Prediction results with different

reflectance using SMLR analysis

处理方法	$R_{c}^{2}$	RMSEC	$R_v^2$	RMSEP
MSC	0.77	0.66	0.63	0.69
MSC+一阶导数	0.80	0.69	0.72	0.71
MSC+二阶导数	0.82	0.69	0.79	0.71



Fig. 5 Calibration between reflectance and chlorophyll content



Fig. 6 Validation between reflectance and chlorophyll content

入研究,包括尝试不同的光检测方法(透射等)、增加小麦品 种等,将能得到更稳固、适应性更强的定量分析模型,提高 小麦叶片叶绿素含量的预测精度。

### 3 结 论

通过对 120 个小麦叶片样品利用 PLSR 和 SMLR 两种 不同方法在波段 491~887 nm 建模,发现利用 SMLR 建模获 得的结果好于采用 PLSR 方法建模。

针对不同的数据预处理方法用,发现基于 MSC 结合二 阶导数处理的 SMLR 模型效果最好,采用特征波长 530, 582,660 和 704 nm, *R*<sup>2</sup> 为 0.82, *R*<sup>2</sup> 为 0.79, RMSEC 为 0.69, RMSEP 为 0.71。这个研究结果表明,应用高光谱扫 描技术检测小麦单叶叶绿素含量是可行的。

#### 参考文献

- [1] YUAN Jin-guo, NIU Zheng(袁金国, 牛 铮). Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering(农业工程学报), 2007, 23(4); 172.
- [2] Chang S X, Robison D J. Forest Ecol. Manag, 2003, 181: 331.
- [3] Lopez-Bellido R J, Shepherd C E, Barraclough P B. Eur. J. Agron., 2004, 20: 313.
- [4] Li X L, He Y. Horticultural Science, 2008, 43(5): 1586.
- [5] QIU Zheng-jun, SONG Hai-yan, HE Yong, et al(裘正军, 宋海燕, 何 勇, 等). Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering(农业工程学报), 2007, 23(7): 150.
- [6] Noh H, Zhang Q, Shin B, et al. Biosystems Eng., 2006, 94(4): 477.
- [7] NIU Xiao-ying, QIAN Dong-ping, WANG Xiu(牛晓颖, 钱东平, 王 秀). Journal of Agricultural University of Hebei(河北农业大学学报), 2007, 30(6): 1455.
- [8] Peng Y, Lu R. Transactions of the ASABE, 2006, 49(1): 269.
- [9] Peng Y, Lu R. Post Harvest Biology and Technology, 2008, 48: 52.
- [10] WANG Ji-hua, HUANG Wen-jiang, LAO Cai-lian, et al(王纪华,黄文江,劳彩莲,等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与 光谱分析), 2007, 27(7): 1319.
- [11] Prasad S T, Ronald B S, Eddy D P. Remote Sensing of Environment, 2000, 71: 158.
- [12] Ceccato P, Flasse S, Gregoire J M. Remote Sensing of Environment, 2002, 82: 198.

# Measurement of Chlorophyll Content in Wheat Leaves Using Hyperspectral Scanning

HUANG Hui, WANG Wei, PENG Yan-kun\*, WU Jian-hu, GAO Xiao-dong, WANG Xiu, ZHANG Jing College of Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China

**Abstract** The objective of the present research was to evaluate the potential of hyperspectral scanning as a way for nondestructive measurement of chlorophyll content in wheat leaves, which can indicates the plant healthy status. One hundred twenty samples were randomly picked from Xiao Tangshan farm. Ninety samples were used as calibration set and others were used for verification set. After capturing hyperspectral image in the range of 400-1 000 nm, the chlorophyll contents of samples were measured immediately. Four different mathematical treatments were used in spectra processing in the wavelength range of 491-887 nm: multiplicative scatter correction (MSC), first derivative correction, and second derivative correction. Statistical models were developed using partial least square regression (PLSR), and stepwise multiple linear regression (SMLR) analysis technique. The results showed that the best calibration model was obtained by PLSR analysis, after processing spectra with MSC and second derivate, with a relatively higher coefficient of determination of calibration (0. 82) and validation (0. 79) respectively, a relatively lower RMSEC value (0. 69), and a small difference between RMSEC (0. 69) and RMSEP (0. 71). The results indicate that it is feasible to use hyperspectral scanning technique for nondestructive measurement of chlorophyll content in wheat leaves.

Keywords Chlorophyll content; Hyper-spectral; Nondestructive measurement; Wheat

(Received Aug. 8, 2009; accepted Nov. 12, 2009)

\* Corresponding author