

文章编号: 1001-3806(2012)04-0459-04

基于激光散射图像小麦叶片叶绿素检测研究

张翠红^{1,2} 张小娟^{1*} 朱大洲² 王成²

(1. 中国民航大学理学院, 天津 300300; 2. 国家农业智能装备工程技术研究中心, 北京 100097)

摘要: 为了实现叶绿素含量的无损检测研究, 采用激光后向散射图像技术来测量小麦叶片光学特性参量的方法, 进行了理论分析和实验验证。利用 670nm 和 970nm 的半导体激光器和视频成像系统获得了小麦叶片的激光后向散射图像, 通过漫反射理论分析了叶片组织表面的漫射光分布和在这两个波长下绿叶、黄叶、干叶的激光后向散射图像的变化特征, 取得了其光学特性参量数据(约化散射系数和吸收系数), 并与叶片的叶绿素相对含量值建立对应的函数关系。结果表明, 小麦叶片的光学特性参量与叶绿素相对含量值呈现线性相关, 其中利用约化散射系数建立的叶绿素相对含量值预测模型中, 预测集样本的相关系数为 0.9095, 预测均方根误差为 5.9; 利用吸收系数建立的叶绿素相对含量值预测模型中, 预测集样本的相关系数为 0.8366, 预测均方根误差为 7.5, 说明激光后向散射图像技术测定植物叶绿素含量是可行的。这一结果对激光散射图像实现农作物长势诊断是有帮助的。

关键词: 激光技术; 激光后向散射图像; 约化散射系数; 吸收系数; 叶绿素; 叶绿素相对含量

中图分类号: TN247; Q631 文献标识码: A doi: 10.3969/j.issn.1001-3806.2012.04.007

Detection of chlorophyll content of wheat leaves based on laser scattering images

ZHANG Cui-hong^{1,2}, ZHANG Xiao-juan¹, ZHU Da-zhou², WANG Cheng²

(1. College of Science, Civil Aviation University of China, Tianjin 300300, China; 2. National Engineering Research Center for Intelligent Agricultural Equipments, Beijing 100097, China)

Abstract: In order to realize nondestructive test of the chlorophyll content, the optical characteristic parameters of wheat leaves were measured with laser backscatter images. Firstly, the laser backscatter images of wheat leaves were obtained with 670nm and 970nm of semiconductor lasers and a video imaging system. Secondly, based on the diffuse theory, diffusive light distribution of the leaf surface was analyzed, and the laser backscatter images of green leaves, yellow leaves and dry leaves were compared at both the above wavelengths. The optical characteristic parameter data (the reduced scattering and absorption coefficient) were obtained, and the function corresponding to the relative contents of chlorophyll was established. The results show the optical characteristic parameters of wheat leaves and are linear with the relative contents of chlorophyll. In the model predicting the relative contents of chlorophyll value based on the scattering coefficients, the correlation coefficient prediction samples is set 0.9095, prediction root mean square error (RMSE) is 5.9. In the model predicting the relative contents of chlorophyll value based on the absorption coefficients, the correlation coefficient prediction samples is set 0.8366, prediction RMSE is 7.5. The results show that it is feasible to detect plant chlorophyll content and diagnose the crop growth conditions with laser backscatter image technology.

Key words: laser technique; laser backscatter image; reduced scattering coefficient; absorption coefficient; chlorophyll; soil and plant analyzer development

引言

叶绿素在农作物光合作用过程中起着关键的作

用, 其含量及分布是作物光合作用能力、营养胁迫及生长状况的指示剂^[1]。对作物叶绿素含量进行检测, 可以用来监测其生长发育状况, 从而科学指导栽培、施肥管理工作, 确保作物长势良好, 提高作物品质和产量, 对实践精准农业具有重要的意义^[2]。

传统的叶绿素测定方法是分光光度法, 该方法需先用化学试剂提取叶绿素, 再用分光光度计进行测定^[3-4]。这种方法具有耗时长、对叶片有破坏性、不便于野外测量等诸多缺点。基于光透射吸收原理的 SPAD502 叶绿素测定仪具有无损测量的优点, 能够现场快速测定叶绿素相对含量 (soil and plant analyzer

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(60278004); 北京市农林科学院科技创新能力建设专项基金资助项目(KJXC201104010); 中央高校基本科研业务费专项资助项目(ZXH2010D015)

作者简介: 张翠红(1984-), 女, 硕士研究生, 现从事生物医学光子学的研究。

* 通讯联系人。E-mail: lzhangxiaojuan@126.com

收稿日期: 2011-11-08; 收到修改稿日期: 2011-12-21

development, SPAD)。SPAD 测定仪是点接触式测量,读取的数值仅是仪器探头触点处的叶绿素含量,如要获取大区域的叶绿素含量需要进行多次测定取平均值,该仪器主要适合较薄的植物叶片,对于测量较厚植物叶片叶绿素含量时,LED 光难以透过,测量精度会受到影响^[5-6]。

激光与生物组织的相互作用的研究成为当今科学研究的一个热点。在体无损检测生物组织的光学特性参量是此研究热点中重要的一项。生物组织的光学特性参量主要包括吸收系数 μ_a , 散射系数 μ_s , 相位函数 $p(\theta)$ (θ 为散射角度), 以及各向异性因子 $g = \langle \cos\theta \rangle$ 和有效散射系数 $\mu_s' = \mu_s(1 - g)$ 等^[7-9]。目前的研究大多是通过测量生物组织表面漫反射光的分布来研究生物组织本身的光学特性^[10-12], 主要应用在医学领域, 在农作物组织的光学特性研究方面较少, 但近年来有一定进展。QIN 等人将积分球法和空间分辨光谱法应用到了农产品检测方面, 测定了猪肉水分、新鲜度, 对牛奶、苹果和番茄等光学参量的测量得到了较好的结果^[13-15]。因此, 作者以小麦叶片为研究对象, 使用 CCD 测量系统获得小麦叶片的激光后向散射图像, 通过数据分析获取组织表面的漫射光分布, 反演出叶片的光学特性参量, 研究激光图像的光学特性参量与叶片叶绿素相对含量的 SPAD 值之间的关系, 对于未知叶片, 探索利用激光后向散射图像技术快速测定植物叶绿素含量的可行性。

1 材料和方法

1.1 样品的制备

试验中用的小麦叶片共 120 个, 来自于小麦生长阶段的各个时期, 包括返青期、拔节期、孕穗期、抽穗期、开花期、灌浆期和成熟期。采集的叶片包括绿叶、黄叶和干枯的叶片。采集完马上使用日本的美能达公司产的 SPAD-502 测量每个叶片的 SPAD 值, 每个叶片用 SPAD-502 测量 10 个点取平均值为该片叶子的 SPAD 值, 测量完后采集每个叶片的激光后向散射图像, 从采集到样品的测量全过程在 8h 内完成。这 120 个数据分为两组, 其中 100 个数据用来建立模型, 20 个数据用来进行模型的验证。

1.2 激光后向散射图像的采集及实验装置

测量小麦叶片的激光后向散射图像的实验装置如图 1 所示, 光源为 670nm 和 970nm 的半导体激光器, 光束通过光衰减片衰减到不大于 10mW, 以小角度 ($5^\circ \sim 10^\circ$) 入射到叶片样品表面, 小的探测角度可避免垂直入射时样品表面的镜面反射对 CCD 成像的影响, 且其对结果产生影响可以忽略。用 2 维 CCD 探测器摄

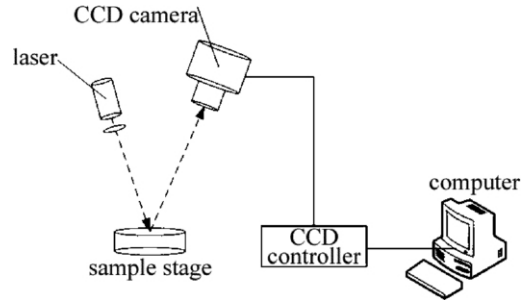


Fig. 1 Experiment system for laser backscatter image

取光在叶片表面产生的后向散射光图像, 分辨率为 760×480 像素, 由 CCD 探测器获取的图像经 CCD 控制器输送到计算机进行图像分析和数据处理。采用 CCD 摄取图像的激光功率较小, 通过衰减片以防止 CCD 饱和, 调节 CCD 镜头光圈以达到最佳的成像效果。摄取的激光后向散射图像采用 MATLAB 进行图像分析和处理。

2 实验结果与分析

2.1 叶片的激光后向散射图像分析

在波长 670nm 和 970nm 波长下通过采集绿叶、黄叶、干叶等 3 种不同的小麦叶片, 可以发现 3 种叶片的激光后向散射图像有明显的不同, 见图 2 和图 3。从图 2 中看出, 在波长 670nm 下, 绿叶、黄叶与干叶的激光后向散射图像的区别较明显: 绿叶的饱和区较大, 光晕明显; 黄叶、干叶的光饱和区依此减小。这主要是由于绿叶中含有叶绿素较多, 在组织层中发生了明显吸收, 因而形成了规则的光晕, 而黄叶与干叶由于叶绿素含量低, 受叶片物理条纹及表面不平整的影响, 形成了不规则的光晕, 黄叶和干叶的激光后向散射图像区别不是很明显, 很难用肉眼区分。从图 3 中可以看出, 在 970nm 波长下, 3 种叶片均有明显的光晕, 黄叶和干叶的后向散射程度比绿叶还强一些, 这主要是因为 970nm 波段下为水的吸收峰, 绿叶含水量高于黄叶和干叶, 因此吸收更强而散射偏弱。3 种叶片的光强分

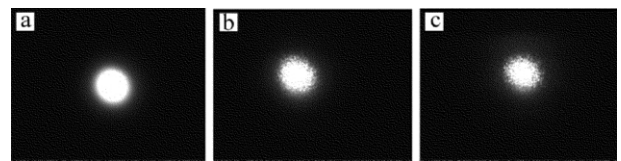


Fig. 2 Laser backscatter images at wavelength of 670nm
a—green leaves b—yellow leaves c—dry leaves



Fig. 3 Laser backscatter images at wavelength of 970nm
a—green leaves b—yellow leaves c—dry leaves

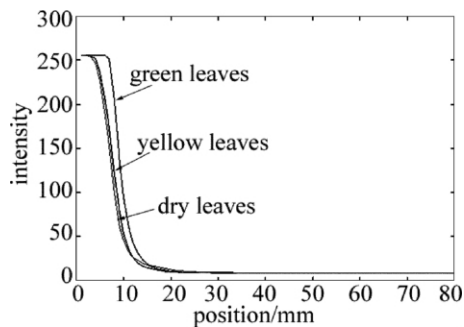


Fig. 4 Light intensity distribution curve for different leaves at 670nm

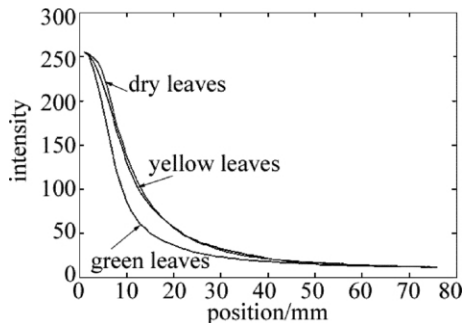


Fig. 5 Light intensity distribution curve for different leaves at 970nm

布曲线如图 4 和图 5 所示(横轴代表距离,纵轴代表光强像素值),离光斑中心越远,光强逐渐下降。从图 4 中可以发现,在 670nm 下绿叶的光强下降沿有向后移动的趋势,黄叶和干叶的变化趋势相似。从图 5 中看出,在 970nm 下绿叶的光强下降较快,黄叶和干叶光强下降较慢,黄叶和干叶的变化趋势相似。

2.2 不同波长下叶片的光学参量

采用了漫反射理论和非线性拟合的方法确定组织光学特性,拟合图见图 6。绿叶、黄叶、干叶 3 种不同叶片在 670nm 和 970nm 的激光光学特性及其差异见表 1,表明植物组织的光学特性参量,即约化散射系数和吸收系数是随着激光波长的变化而变化的,其约化散射系数的变化范围较大,且有随着波长增大而变小的趋势,特别是绿叶的约化散射系数在 670nm 下为 31.7055mm⁻¹,970nm 下为 9.1374mm⁻¹。黄叶和干叶在两个波段下的约化散射系数都比较接近,在 670nm 下分别为 19.3424mm⁻¹和 19.3378mm⁻¹,在 970nm 下分别为 6.6688mm⁻¹和 6.8168mm⁻¹。而吸收系数有随着波长增大而增大的趋势,绿叶的吸收系数在 670nm 下为 0.1267mm⁻¹,在 970nm 下为 0.1549mm⁻¹;黄叶和干叶的吸收系数在 670nm 下分别为 0.0937mm⁻¹和 0.0751mm⁻¹,在 970nm 下分别为 0.1111mm⁻¹和 0.1126mm⁻¹。

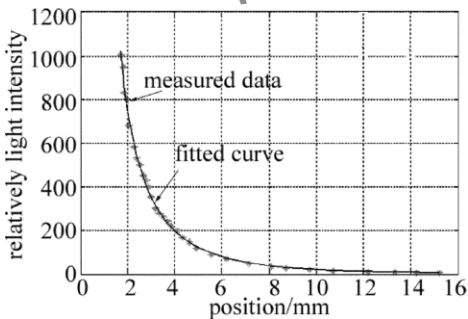


Fig. 6 Fit chart based on diffusion theory

Table 1 Optical parameters of leaves at different wavelengths

wavelength /nm	green leaves		yellow leaves		dry leaves	
	μ_s'/mm^{-1}	μ_a/mm^{-1}	μ_s'/mm^{-1}	μ_a/mm^{-1}	μ_s'/mm^{-1}	μ_a/mm^{-1}
670	31.7055	0.1267	19.3424	0.0937	19.3378	0.0751
970	9.1374	0.1549	6.6688	0.1111	6.8168	0.1126

的趋势,特别是绿叶的约化散射系数在 670nm 下为 31.7055mm⁻¹,970nm 下为 9.1374mm⁻¹。黄叶和干叶在两个波段下的约化散射系数都比较接近,在 670nm 下分别为 19.3424mm⁻¹和 19.3378mm⁻¹,在 970nm 下分别为 6.6688mm⁻¹和 6.8168mm⁻¹。而吸收系数有随着波长增大而增大的趋势,绿叶的吸收系数在 670nm 下为 0.1267mm⁻¹,在 970nm 下为 0.1549mm⁻¹;黄叶和干叶的吸收系数在 670nm 下分别为 0.0937mm⁻¹和 0.0751mm⁻¹,在 970nm 下分别为 0.1111mm⁻¹和 0.1126mm⁻¹。

2.3 模型建立

使用波长为 670nm 的半导体激光照射下的 120 个叶片组织的光学特性参量(约化散射系数 μ_s' 和吸收系数 μ_a),并与该对应的叶片 SPAD 值建立函数关系,结果如图 7 和图 8 所示。图 7 表明,SPAD 与约化散射系数的公式为 $y = 4.5759x - 74.507$,相关系数 $R^2 = 0.7826$,显著相关($p < 0.01$);图 8 中显示了 SPAD 与吸收系数的公式为 $y = 393.62x - 23.697$,相关系数 $R^2 = 0.7418$,显著相关($p < 0.01$)。上述结果可以反映光学特性参量与 SPAD 值的一定关系。

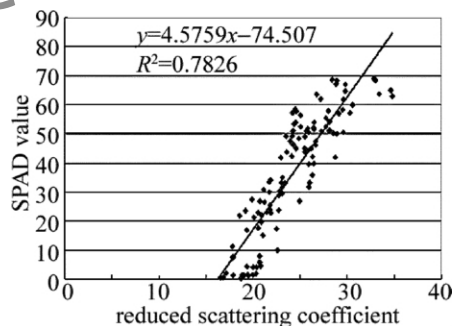


Fig. 7 Linear regression relationship between SPAD and reduced scattering coefficient

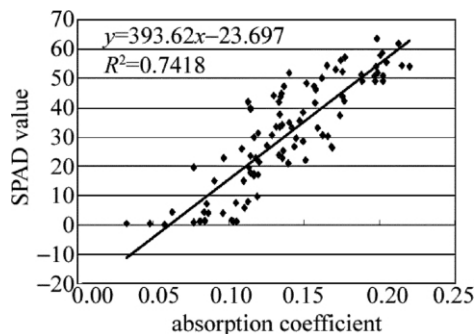


Fig. 8 Linear regression relationship between SPAD and absorption coefficient

利用另外 20 个数据对构建的模型进行了验证,结果如图 9 和图 10 所示,约化散射系数模型中预测的决定系数 $R^2 = 0.9095$,预测均方根误差为 5.9,相对误差为 16%;吸收系数模型中预测的决定系数 $R^2 = 0.8366$,预测均方根误差为 7.5,相对误差为 18.1%;这表明建立的模型有较高精度。

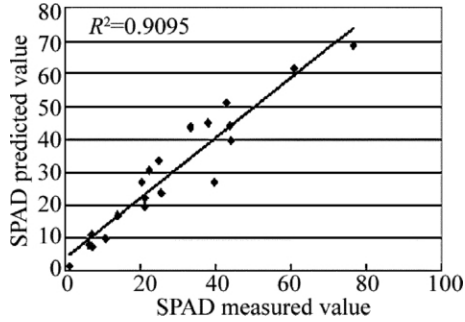


Fig. 9 Verification modeling of reduced scattering coefficient

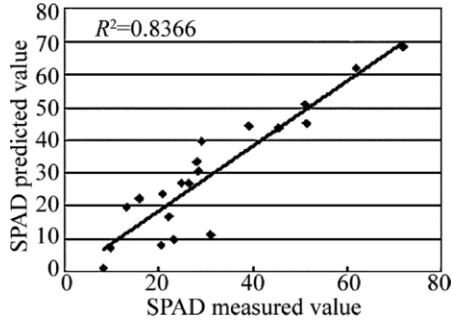


Fig. 10 Verification modeling of absorption coefficient

3 结论

通过研究表明,利用激光后向散射图像测定植物叶片叶绿素含量的方法是可行的,叶片组织的光学特性参量与叶片的 SPAD 值存在一定的函数关系,建立了初步的叶绿素相对含量的反演模型,该模型具有较高的精度,可以真实地反映小麦叶片的叶绿素相对含量,更精确的函数关系有待进一步研究,可望代替费工、费时的理化测定方法。该方法具有无损、快速测定特点,有望开发出一种新型的叶绿素测定仪器,使激光后向散射图像技术及光学特性参量在农业领域发挥更好的作用。

参考文献

- [1] YANG F, FAN Y M, LI J L *et al.* Estimating LAI and CCD of rice and wheat using hyperspectral remote sensing data [J]. Transactions of the CSAE 2010 26(2): 237-243(in Chinese).
- [2] XU Zh L, WANG Zh Y, HUANG L *et al.* Investigation of measure-

- ment methods for determining the optical properties of agricultural products tissue [J]. Laser Journal 2005 26(6): 87-89(in Chinese).
- [3] HU Sh F, LIU M H, LIN H W. A Study on detecting pesticide residuals on fruit surface by using laser imaging [J]. Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis 2006 28(6): 872-876(in Chinese).
- [4] ZHANG X Zh. A comparison of methods of measurement of chlorophyll in plants [J]. Journal of Shenyang Agricultural College, 1985, 16(4): 81-84(in Chinese).
- [5] WANG K R, LI Sh K, WANG Ch T *et al.* The detection system of chlorophyll content based on computer vision [J]. Acta Agronomica Sinica 2006 32(1): 34-40(in Chinese).
- [6] DAM J S, DALGAARD T, FABRICIUS P E *et al.* Multiple polynomial regression method for determination of biomedical optical properties from integrating sphere measurements [J]. Applied Optics 2000 39(2): 1202-1209.
- [7] ZHANG L Sh, ZHANG X H, WANG Zh Zh. Determination of optical coefficients of biological tissue by means of diffuse image [J]. Laser Technology, 2011, 35(5): 675-677(in Chinese).
- [8] ZHANG X J, LIU Y, GAO Z H. Spatial-resolved diffuse reflectance of tissue close to source [J]. Chinese Journal of Lasers 2005 32(4): 571-575(in Chinese).
- [9] JOHNS M, GILLER C, GERMAN D *et al.* Determination of reduced scattering coefficient of biological tissue from a needle-like probe [J]. Optics Express 2005 13(13): 4836-4842.
- [10] PENG Y, LU R. Prediction of apple fruit firmness and soluble content using characteristics of multispectral scattering images [J]. Journal of Food Engineering 2007 82(2): 142-152.
- [11] LU R. Predicting firmness and sugar content of sweet cherries using near-infrared diffuse reflectance spectroscopy [J]. Transactions of the ASAE 2001 44(5): 1265-1271.
- [12] ZUDE M, HEROLD B, ROGER J M *et al.* Non-destructive tests on the prediction of apple fruit properties at the tree and in shelf life [J]. Journal of Food Engineering 2006 77(2): 254-260.
- [13] QIN Zh Sh, JI B P, SHI B L *et al.* Improving apple fruit quality predictions by effective correction of Vis-NIR laser diffuse reflecting images [J]. Spectroscopy and Spectral Analysis 2008 28(6): 1273-1277.
- [14] WANG Zh Y, HUANG L, HOU R F *et al.* Light transport in multi-layered farm products by using Monte Carlo simulation and experimental investigation [J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering 2007 23(5): 1-7.
- [15] WU Y H, ZHAO J W, CHEN Q Sh *et al.* Nondestructive measurement of optical properties of fruit by laser imaging [J]. Journal of Jiangsu University(Natural Science Edition) 2007 28(1): 7-11(in Chinese).