

基于可见/近红外反射光谱的梨树叶片钾含量的快速测定研究^①

赵化兵, 王 洁, 董彩霞*, 徐阳春

(南京农业大学资源与环境科学学院, 南京 210095)

摘要: 利用可见/近红外反射光谱定量分析技术对梨树鲜叶钾素含量进行快速测定研究。对 150 个梨树叶片样本进行光谱扫描, 其中 120 个做建模集, 30 个做验证集。通过对样品的可见/近红外光谱进行多种预处理, 并建立钾素预测模型, 探讨了可见/近红外光谱数据预处理对预测精度的影响。结果表明, 通过原始光谱与 S-G(3)平滑相结合的预处理方法, 用 17 个主成分建立的偏最小二乘法模型最好, 其交叉验证集和预测集模型的决定系数(R^2)分别为 0.722 7 和 0.679 1, 交叉验证均方根误差(RMSECV)为 1.171, 预测的平均相对误差为 6.81%, 能高效、快速地预测梨树叶片钾素含量, 为梨树钾素快速测定提供了新的手段。

关键词: 钾含量; 梨; 可见/近红外反射光谱; 偏最小二乘法

中图分类号: S123; S661.2

钾是果树生长发育、开花结果过程中必需营养元素之一。钾与氮、磷等营养元素不同, 它不参与果体内有机物的组成, 但却是果树生命活动中不可缺少的元素, 它与代谢过程有着密切关系, 并为多种酶的活化剂, 参与糖和淀粉的合成、运输和转化^[1-2]。因此, 准确、快速、经济地判断植株钾素状况、确定果树钾肥需要量具有重要意义。传统的植物钾素营养诊断方法是基于叶片的实验室分析, 该法要求破坏植株样本, 而且采样、烘干、称重、研磨以及使用有潜在危害性的药品进行测试, 需消耗大量的时间、人力和物力, 时效性差, 成本太高^[3]。近年来, 随着光谱技术的快速发展与不断完善, 尤其是利用可见/近红外反射光谱(Vis/NIR)数据对多种植物生化组分含量进行快速与准确测定已成为现实^[4-5]。

乔欣等^[6]采用连续统去除法提取光谱吸收深度这一特征参数, 分析波长 660 nm 和 1 450 nm 两处敏感吸收深度和大豆钾素水平的相关关系, 建立了非线性回归模型, 相关系数为 0.721 5, 平均误差为 24.37%。刘岱松等^[7]对烟叶的近红外光谱和含钾量的相关关系进行了研究, 建立的偏最小二乘(PLS)预测模型决定系数(R^2)为 0.909, 预测均方根误差为 0.119。目前, 有关基于光谱估测作物营养元素的研究主要集中在大田作物上, 对果树作物, 尤其是梨树钾素的光

谱诊断未见报道。

钾对叶绿素的形成具有重要作用, 钾的丰缺与植物叶片结构、水分等状况密切相关, 其结果必然会影响到其可见/近红外等波段的光谱信息^[8-9]。本研究以梨树鲜叶为研究对象, 采用便携式地物光谱仪测定其可见/近红外反射光谱, 建立梨树鲜叶全钾含量与可见/近红外光谱之间的关系模型, 以期能为梨树叶片钾素快速诊断和合理施用钾肥提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

样品于 2011 年 7 月 19 日采自江苏省宜兴市新街镇紫云山梨园, 共采集 150 个新鲜叶片样本, 包括翠冠和黄花梨两个品种。随机多点取样。每棵树按东、南、西、北 4 个方位, 采集冠层外围当年生枝条中部叶片。将样品迅速装入保鲜袋、封口, 放入冰盒内带回实验室测定。

1.2 光谱采集

利用美国 ASD 公司生产的 FieldSpec 3 便携式地物光谱仪测定叶片光谱。波段值为 350 ~ 2 500 nm, 其中 350 ~ 1 000 nm 光谱采样间隔为 1.4 nm, 光谱分辨率为 3 nm; 1 000 ~ 2 500 nm 光谱采样间隔为 2 nm, 光谱分辨率为 10 nm, 输出波段数为 2 151 个(重采样

基金项目: 公益性行业科研专项(201203013)资助。

* 通讯作者(cxdong@njau.edu.cn)

作者简介: 赵化兵(1984—), 男, 山东人, 硕士研究生, 研究方向为梨树营养诊断与施肥。E-mail: 496036640@qq.com

间隔为 1 nm)。在完全黑暗的实验室内利用植被探头和参考白板,采集每个叶片中部叶脉对称的 2 个点,采样面积为 3.14 cm^2 (直径为 2 cm 圆的面积),每点记录 10 条光谱,以其平均值作为该样品的光谱反射率。

1.3 光谱预处理与模型构建

利用光谱仪自带处理软件 ViewSpec 对原始光谱数据导出和转换,再将原始光谱(OS)、一阶微分光谱(FDS)、二阶微分光谱(SDS)、倒数光谱(1/R)、对数光谱(Log R)和倒数的对数光谱(Log(1/R))等数据导入 Unscrambler 9.7 中处理,利用该软件对光谱数据进行移动平均平滑(MAS)、Savitzky-golay 平滑(S-G)、多元散射校正(MSC)、归一化(normalize)、消噪(noise)、基线校正(baseline)、变量标准化(SNV)等预处理,以减少光程变化、样品粒度和粗糙度、光谱平移和旋转对光谱产生的影响。同时,运用 Unscrambler 9.7 中偏最小二乘法(PLS)功能构建模型,默认最大主成分数为 20,该软件能自动输出最优主成分下的 PLS 模型,因此不会出现模型过拟合或拟合不足的情况。模型采用内部验证对其性能进行评价,由模型校正相关系数(R_c)、交互验证相关系数(R_{cv})、校正均方根误差(RMSEC)和交互验证均方根误差(RMSECV)进行评价。模型的相关系数越高, RMSEC 和 RMSECV 越小,且越接近,则模型的预测能力越强。RMSECV 可按下式计算:

$$\text{RMSECV} = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2}$$

式中, y_i 和 \hat{y}_i 为交互验证集第 i 个样本钾含量的预测值和实测值; n 为交互验证集中样本数。

1.4 钾素含量测定

叶片测定完光谱于 105°C 恒温杀青 30 min, 70°C 烘至恒重,用研钵磨碎装入自封袋备用。采用 $\text{H}_2\text{SO}_4\text{-H}_2\text{O}_2$ 法消煮,火焰光度计测定含钾量。

2 结果与讨论

2.1 梨树叶片钾素可见/近红外光谱特征

图 1 是部分梨树叶片样本原始光谱曲线图。在整个光谱区域内,光谱的趋势都是大致相同的,这是由梨树叶片的物质组成基本相同决定的,但是在某一波长处各样本的反射率大小存在差异;此外,各样本的波峰和波谷也不全在同一波长处,说明叶片内部组成存在差异。在可见光区域($350 \sim 680 \text{ nm}$),由于色素(叶绿素、类胡萝卜素等)对光的强烈吸收,透射光和反射光很少,所以反射率很低。尤其是在 460 nm 的蓝光区域和 680 nm 的红光区域形成两个吸收谷;叶绿

素对绿光的吸收较弱,所以在 560 nm 处形成一个中等反射峰,反射率一般在 $0.1 \sim 0.3$;而在 $680 \sim 750 \text{ nm}$ 区域内,反射率急剧上升,曲线陡而接近于直线的形状,其间有一个拐点,即反射率对波长的二次微分等于 0,该拐点所对应的波长被称为“红边”,红边的变动只与叶片组成密切相关。 $750 \sim 1300 \text{ nm}$ 区域是近红外高反射平台,光曲线高且略有波动,吸收很少,反射率较高,一般在 0.6 以上。 $1360 \sim 1510 \text{ nm}$ 和 $1850 \sim 2100 \text{ nm}$ 波段是水和二氧化碳的强吸收带,由于梨树新鲜叶片存有大量水分和二氧化碳,因此在 1430 nm 和 1920 nm 附近出现明显的低谷,导致在这两个吸收谷之间,出现两个反射峰,分别位于 1650 nm 和 2220 nm 附近。

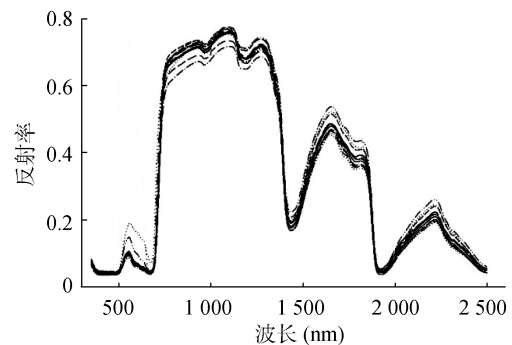


图 1 梨树叶片样本原始光谱曲线图

Fig. 1 Visible and near infrared spectra of pear leaves

2.2 梨树叶片钾素状况

据 K-S 算法将 150 个样品随机分为建模集($n = 120$)和验证集($n = 30$)两组。梨树叶片中钾含量的统计值如表 1 所示,建模和验证样本的钾含量均包含了较大的变异,并且验证样本的范围在建模样本的范围之内,这有益于所建模型的预测能力。

表 1 7 月份梨树叶片钾素状况(g/kg)
Table 1 Statistics for potassium content of pear leaves

样品	样本数	最小值	最大值	平均值
全部	150	6.13	17.25	11.77 ± 2.22
建模集	120	6.13	17.25	11.66 ± 2.22
预测集	30	7.76	17.11	12.21 ± 2.20

2.3 梨树叶片钾含量预测模型的建立

2.3.1 不同光谱波段对模型精度的影响 图 2 是不同波段处梨树叶片钾含量与光谱反射率的相关系数曲线图。从图 2 可以看出,梨树正叶片的钾含量与光谱反射率在全波段($350 \sim 2500 \text{ nm}$)光谱区域内主要呈正相关,在少部分波段呈负相关。正相关表明,在此波段内光谱反射率随钾含量的增加而增大;负相关表明,光谱反射率随钾含量的增加而减小。根据梨鲜叶钾含量和反射光谱的相关性分析,选择

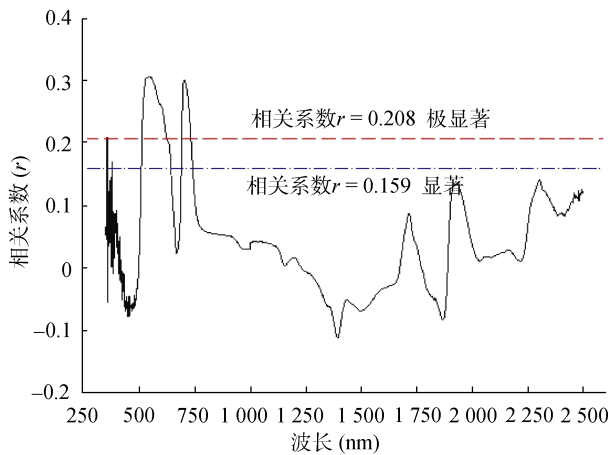


图 2 不同波段梨树叶片钾含量与光谱反射率的相关系数曲线

Fig. 2 Correlation between potassium content and spectral reflectance under different wave bands in pear leaves

相关系数达极显著水平下的 3 个波段建立 PLS 模型, 波段 1 : 513 ~ 623 nm ; 波段 2 : 692 ~ 713 nm ; ALL : 350 ~ 2 500 nm。

表 2 是不同光谱波段的 PLS 模型结果, 可以看出全波段的建模效果最好, 波段 513 ~ 623 nm 的建模效果最差, 因此本文选用全波段建模。

2.3.2 不同光谱形式对模型精度的影响 不同的光谱形式建立的模型精度也不同, 从而改变光谱的建模效果。从表 3 可以看出, 原始光谱形式建立的 PLS 预测模型精度最高, 因此下文中只采用原始光谱形式进行预处理。

表 2 不同光谱波段的 PLS 模型结果
Table 2 Modeling results of PLS with different spectrum wave bands

波段	主成分数	建模集		内部交叉验证	
		R^2_c	RMSEC	R^2_{cv}	RMSECV
1	5	0.391 6	1.722 7	0.163 5	1.832 3
2	7	0.434 9	1.660 3	0.300 2	1.859 5
1+2	8	0.414 6	1.689 7	0.290 0	1.870 3
ALL	15	0.852 8	1.270 7	0.679 3	1.257 5

表 3 不同光谱形式的 PLS 模型结果
Table 3 Modeling results of PLS with different spectrum style methods

光谱形式	主成分数	建模集		内部交叉验证	
		R^2_c	RMSEC	R^2_{cv}	RMSECV
ALL_FDS 3	4	0.530 9	1.512	0.345 9	1.807
ALL_FDS 9	12	0.840 5	0.882	0.552 0	1.493
ALL_FDS 3+LOG R ⁻¹	4	0.484 9	1.585	0.295 3	1.862
ALL_LOG R ⁻¹	7	0.572 3	1.444	0.405 0	1.718
ALL_R	15	0.852 8	1.271	0.679 3	1.257
ALL_SDS 3	4	0.380 6	1.738	0.213 3	1.972
ALL_SDS 9	8	0.747 9	1.109	0.484 4	1.601

2.3.3 不同光谱预处理对模型精度的影响 表 4 为不同光谱预处理类型的 PLS 建模结果。不同预处理光谱的校正和交互验证的相关系数绝大多数在 0.67 ~ 0.89, 达到了极显著相关水平($n = 120, r_{0.01} = 0.232$), 从 RMSEC 和 RMSECV 值尽量小且大小接近

表 4 不同光谱预处理的 PLS 模型结果
Table 4 Modeling results of PLS with different spectrum pretreatment methods

光谱预处理	主成分数	建模集		内部交叉验证		预测	
		R^2_c	RMSEC	R^2_{cv}	RMSECV	R^2_p	RMSEP
OS	15	0.852 8	1.270	0.679 3	1.257	0.580 6	1.406
MAS(3)	13	0.808 7	0.966	0.686 6	1.251	0.639 4	1.304
SGS(3)	17	0.872 7	0.7879	0.722 7	1.172	0.679 1	0.825
Normalize	14	0.853 1	0.8465	0.706 6	1.208	0.616 3	1.345
MSC	13	0.848 4	0.8598	0.696 3	2.230	0.593 0	1.385
Noise	4	0.897 7	0.7063	0.272 2	1.899	0.220 3	1.918
Baseline	14	0.850 7	0.8533	0.700 2	1.219	0.573 2	1.419
SNV	13	0.850 9	0.8527	0.700 0	1.220	0.608 7	1.358

的原则考虑, 原始光谱经 S-G 平滑(窗口大小为 3)后建立的模型最佳, PLS 模型交叉验证结果如图 3。此时, R^2_c 和 R^2_{cv} 分别为 0.872 7 和 0.722 7, RMSEC 和 RMSECV 分别为 0.787 9 和 1.172。

2.4 PLS 回归模型验证的结果

用此模型对已测定全钾含量的 30 个样品进行预

测, 剔除两个异常样本后, 所得预测结果如图 4。模型预测决定系数(R^2_p)和预测均方根误差(RMSEP)分别为 0.679 和 0.826, 预测值的平均相对误差为 6.81%, 表明该模型性能可以满足实际应用。因此, 可以用经 S-G(3)校正方法预处理的原始光谱构建梨树叶片钾含量的预测模型。

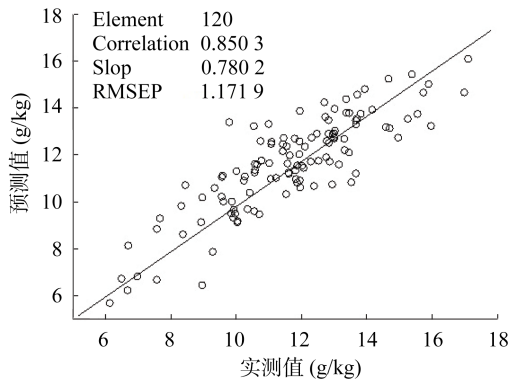


图 3 梨树叶片钾含量交叉验证结果

Fig. 3 Plotting of K contents of pear leaves between predicted results and experimental results

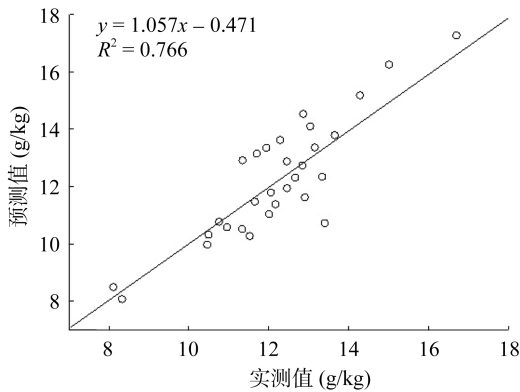


图 4 30 个未知样本的预测结果

Fig. 4 Prediction of 30 samples in validation set by PLS model

3 讨论

在植物体中，钾主要以离子状态存在，具有很强的移动性，并且钾在果树生长发育、开花结实的生命过程中具有多种生理作用和功能。钾素虽然不能直接影响光谱的吸收反射，但其可以通过影响叶片中的化合物间接地影响光谱的吸收反射^[10]，如图 5。从图 2 可以看出，钾含量与 420~500 nm 波段反射率呈负相关，表明在此波段光谱反射率随着钾含量的增多有相反的趋势。钾含量的增多，不仅有利于叶绿素合成酶活性和叶绿素合成，同时也有利于叶绿体基粒的形成^[11]，提高了 420~500 nm 波段光的吸收和光合效率，这与王珂等^[12]对水稻冠层不同钾营养水平下的反射光谱特征研究结果一致。研究表明，钾素有利于提高植物叶片中蔗糖和淀粉的含量^[13-14]，而蔗糖和淀粉在 1 230~1 670 nm 波段中具有多处吸收峰^[15]，因此钾素含量与 1 230~1 670 nm 波段的反射率呈负相关。另外，由于钾素含量影响了叶片含水量和气孔开放，而水分和二氧化碳在 1 390 nm 具有强烈的吸收，因此钾素含量与光谱反射率在 1 390 nm 处有较强的负相关^[16]。

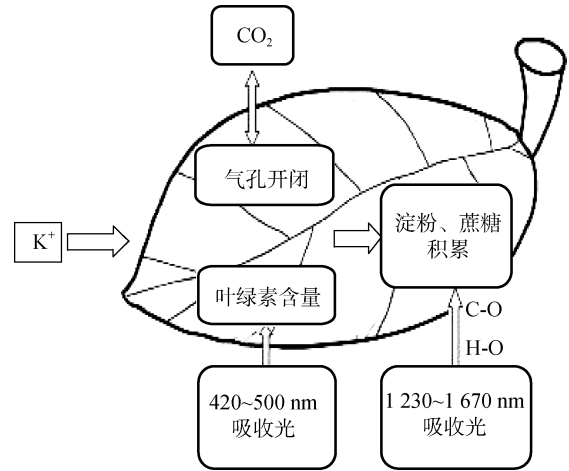


图 5 钾离子对叶片可见/近红外光吸收的影响

Fig. 5 Effect of potassium on leaf on absorption of visible/near infrared spectra

由于光谱仪本身的性能、采集光谱的环境条件、基线漂移和光散射等不利因素的影响，需对原始光谱进行预处理。易时来等^[17]采用二阶微分光谱和多元散射校正相结合的光谱预处理方式得到了最佳柑橘钾素 PLS 预测模型。邢东兴和常庆瑞^[18]通过在苹果树上的研究发现，波长间隔为 5 nm 时一阶微分光谱的 PLS 预测模型最佳。由于钾素不能直接对光谱做出反应，只能通过影响其他化合物进而间接地影响光谱，所以同一样本中钾素预测模型一般不如氮素预测模型的精确度高。Ward 等^[19]通过在草坪上的研究发现，氮和钾预测模型的决定系数 R^2 均为 0.77，但两个模型的 RER 分别为 9.32 和 6.56(RER，一种评价模型精度的指标，其值越大，模型的精度越高)。Liu 等^[20]记录了油菜叶片的氮和钾预测模型决定系数 R^2 分别为 0.95 和 0.86，RMSEP 分别为 0.145 和 0.179。

本文采用 Unscrambler 9.7 处理实验数据，通过对 150 个样品进行分析。在利用偏最小二乘法(PLS)及完全交叉验证建立模型时，选择软件默认的最大主成分数 20 进行模型拟合，该软件能自动输出最优主成分下的 PLS 模型，因此不会出现模型过拟合和拟合不足的情况。通过对其 6 种光谱形式的 7 种预处理方式分析发现，原始光谱经 S-G(3)校正方法预处理后，主成分 17 时，模型最佳。利用该模型对验证集的中 30 个样本进行预测，预测的平均相对误差为 6.81%，实测值与预测值的相关系数 r 为 0.875，研究结果为田间开展梨树钾素营养无损诊断奠定了基础。落叶果树如苹果、梨的营养诊断一般是采集当年生枝条的中下部叶片，该叶片养分含量可以代表整株的营养状况^[21]。本文对梨树叶片的采集始终选择的是当

年生枝条的中下部分叶片,这部分的叶片钾素含量的高低即能表示当时整株钾素营养状况。

本文光谱采集中,利用植被探头和叶片夹持器共同完成,内置光源,能为叶片光谱采集提供稳定的工作环境。本文采集的梨树品种只包括翠冠和黄花梨,因此本文的模型不一定很好地适用于其他品种的梨树。为了完善模型,后期的工作将会增加不同树龄以及不同品种的梨树叶片进行分析,以提高模型的适用性。

参考文献:

- [1] 黄显淦,曾有志,钟泽,辛保军. 果树营养施肥及土壤管理[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 1993
- [2] 郑诚乐. 钾素营养对果树的增产增质效应[J]. 福建果树, 1993(1): 27-30
- [3] Cecilia S, Luis RS. Application of NIR and MIR spectroscopy in quality control of potato chips[J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2009(6): 596-605
- [4] WANG L, BAI YL. Nutrients change and spectral response of spring corn leaf for varying amounts of potassium fertilization[J]. Journal of Remote Sensing, 2007, 11(5): 641-646
- [5] Cozzolino D, Cynkar W, Shah N, Smith P. Quantitative analysis of minerals and electric conductivity of red grape homogenates by near infrared reflectance spectroscopy[J]. Computers and Electronics in Agriculture, 2011(77): 81-85
- [6] 乔欣,马旭,张小超,梁留锁. 大豆叶绿素和钾素信息的冠层光谱响应[J]. 农业机械学报, 2008, 39(4): 108-112
- [7] 刘岱松,金兰淑,杨朝辉. 烤烟烟叶钾含量的近红外光谱法快速测定[J]. 土壤通报, 2010(2): 417-419
- [8] 钟平. 钾对果树产量和果实质量的影响[J]. 中国果树, 1994(1): 40-41
- [9] 蒋阿宁,黄文江,赵春江,刘克礼,刘良云,王纪华. 基于光谱指数的冬小麦变量施肥效应研究[J]. 中国农业科学, 2007, 40(9): 1 907-1 913
- [10] Givens DI, Deaville ER. The current and future role of near infrared reflectance spectroscopy in animal nutrition: A review[J]. Australian Journal of Agricultural Research, 1999, 50: 1 131-1 145
- [11] Allen V. Barker. Nutritional factors in photosynthesis of higher plants[J]. Journal of Plant Nutrition. 1979, 1(3): 309-342
- [12] 王珂,沈掌泉,Abou Ismail O, Yaghi A, 王人潮. 不同钾营养水平的水稻冠层和叶片光谱特征研究初报[J]. 科技通报, 1997, 13(4): 211-214
- [13] 崔丽娜,许珍,董树亭. 施钾对夏玉米子粒发育过程中糖代谢相关酶活性的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2011, 17(4): 869-880
- [14] Lavon R, Goldschmidt EE, Salomon R, Frank A. Effect of potassium, magnesium, and calcium deficiencies on carbohydrate pools and metabolism in citrus leaves[J]. Journal of the American Society for Horticultural Science, 1995, 120(1): 54-58
- [15] 李民赞. 光谱分析技术及其应用. 北京: 科学出版社, 2006
- [16] Tsai CL, Chen JC, Wang WJ. Near-infrared absorption property of biological soft tissue constituents[J]. Journal of Medical and Biological Engineering, 2001, 21(1): 7-14
- [17] 易时来,邓烈,何绍兰,郑永强,毛莎莎. 锦橙叶片钾含量光谱监测模型研究[J]. 中国农业科学, 2010, 43(4): 780-786
- [18] 邢东兴,常庆瑞. 基于光谱分析的果树叶片全氮、全磷、全钾含量估测研究[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2009, 37(2): 141-154
- [19] Ward A, Nielsen AL, Møller H. Rapid assessment of mineral concentration in meadow grasses by near infrared reflectance spectroscopy[J]. Sensors, 2011, 11: 4 830-4 839
- [20] Liu F, Nie PC, He Y. Nondestructive determination of nutritional information in oilseed rape leaves using visible/near infrared spectroscopy and multivariate calibrations[J]. Science China information sciences, 2011, 54: 598-608
- [21] 李港丽,苏润宇,沈隽. 从叶分析结果试论提高我国几种落叶果树产量和品质的问题[J]. 中国农业科学, 1988, 21(2): 56-63

Fast Determination of Potassium Content in Fresh Pear Leaves Using Visible/Near Infrared Spectroscopy Technique

ZHAO Hua-bing, WANG Jie, DONG Cai-xia^{*}, XU Yang-chun

(College of Resources and Environmental Science, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: The objective of this paper was to study the potential of visible/near infrared reflectance spectroscopy (Vis/NIR) for nondestructive determination of potassium (K) content in fresh pear leaves with an ASD FieldSpec 3 spectrometer. All the samples were divided randomly into two groups, one with 120 samples as the calibration set, and the other with 30 samples as the validation set. Different spectra wave bands, spectra preprocessing in different ways and different spectra styles were used in the prediction model of K content. The results showed that, after the preprocessing of original spectral with the whole wave band plus S-G (3) smoothing, the prediction model calibrated with 17 principal component factors had the best performance by the partial least squares (PLS) regression, in which the determination coefficient (R^2) of calibration and cross-validation was 0.722 7 and 0.679 1, respectively, and the root mean square error of cross-validation (RMSECV) was 1.171. Test of the best PLS model with 30 samples in the validation set showed that the predicted average relative error was 6.81%. Therefore, it could be concluded that Vis/NIR has a huge potential for the determination of total potassium content in fresh pear leaves in a rapid and nondestructive way.

Key words: Potassium content, Pear, Visible/near infrared spectroscopy, Partial least squares