

水稻叶片叶绿素、类胡萝卜素含量估算的归一化色素指数研究

王福民¹, 黄敬峰^{1*}, 王秀珍²

1. 浙江大学农业遥感与信息技术应用研究所, 浙江 杭州 310029

2. 浙江省气象研究所, 浙江 杭州 310029

摘 要 测定了水稻叶片的高光谱反射率, 以及相应的叶绿素、类胡萝卜素含量, 采用一种将 350 ~ 2 500 nm 范围内所有光谱波段两两组合的方法, 构建所有可能的归一化比值色素指数, 并建立这些指数与叶绿素、类胡萝卜素含量的统计模型, 然后将构成最佳模型的指数确定为最适合相应色素估算的指数, 并进行验证以及与已知归一化色素指数进行了比较。结果表明, 本研究所给出基于叶片水平的色素指数 $(R_{1729} - R_{707}) / (R_{1729} + R_{707})$, $(R_{1554} - R_{572}) / (R_{1554} + R_{572})$, $(R_{1729} - R_{706}) / (R_{1729} + R_{706})$, $(R_{1536} - R_{707}) / (R_{1536} + R_{707})$ 可以较好地估算叶绿素、类胡萝卜素含量。构成这些色素指数的指数波段主要位于 700 nm 附近, 其次为绿光长波区域; 构成指数的参照波段主要位于短波红外区域。这说明短波红外区域在色素指数的构建中也有重要作用。这些色素指数对叶绿素、类胡萝卜素含量的估算效果一般要好于各已知的归一化比值色素指数, 或者与最好的已知色素指数估算效果相当。

关键词 水稻; 叶绿素; 类胡萝卜素; 归一化比值色素指数

中图分类号: S127 **文献标识码**: A **DOI**: 10. 3964/j. issn. 1000-0593(2009)04-1064-05

引 言

叶绿素含量是描述植被状态的一个重要指标, 其变化可用于评价植被的光合能力、净第一生产力, 指示植被生长发育阶段、营养和环境胁迫以及病虫害等^[1], 因为叶片中大量的氮包含在叶绿素分子之中, 因此叶绿素含量又与氮含量密切相关^[2], 通过叶绿素含量可以间接估算叶片中的氮含量^[3]。

高光谱遥感提供了一种高效、无损的叶绿素、类胡萝卜素含量估算方法^[4], 已经被应用到各种植被包括水稻叶绿素等色素含量的监测中^[5-8]。在各种色素中, 叶绿素 a、叶绿素 b、类胡萝卜素是主要的光合色素。由于这些色素某些吸收波段重叠, 仅仅使用单一波段很难准确估算各种色素含量。因此, 一些研究者开始使用比值指数来进行色素含量的估算, 以来解决不同色素吸收区域重叠问题, 以及叶片、冠层结构等的影响^[9], 由于这些因素的变化一般在近红外和短波红外区域有比较明显的反映, 所以虽然叶绿素的吸收波段只局限于可见光波段, 但是各种比值指数中不仅包括可见光波段, 还有近红外波段。

大量的研究表明比值叶绿素指数可以较为准确地估算叶绿素、类胡萝卜素含量, 许多研究者使用归一化比值指数对

叶绿素含量进行估算(如表 1)。这些归一化比值叶绿素指数一般都是针对某一种或几种植被叶片类型或是冠层类型发展的, 并且一般为经验性使用某两个波段构成的, 但这两个波段未必是最合适的组合, 因为光谱波段有上千个可供选择。此外, 构成各种现存的色素指数的波段一般位于可见光和近红外光谱区域, 很少有涉及短波红外区域。正是基于以上分析, 本研究将所有波段两两组合构建所有可能的归一化比值色素指数, 以来确定适合水稻叶片叶绿素含量估算的归一化比值色素指数, 并与已知色素指数进行分析、比较。

1 材料和方法

1.1 试验设计

(1) 试验地点设置在浙江大学试验场, 东经 120°10', 北纬 30°14'。试验设计为 4.76 m × 4.68 m 的小区, 行株距为 17 cm × 13 cm。设置 4 个重复, 试验小区完全随机排列。

(2) 试验水稻品种为秀水 110 和协优 9307, 其中秀水 110 株型紧凑; 协优 9307 叶型具有随着生长发育由披散转为直立的特点。6 月 25 日为移栽日期, 秀水 110 于 9 月 2 日开始抽穗; 协优 9307 于 8 月 30 日开始抽穗。

(3) 设 3 个氮素水平: 0, 120, 240 kg · hm⁻²。另外, 施

收稿日期: 2007-11-22, 修订日期: 2008-02-26

基金项目: 国家自然科学基金项目(40571115), 国家“863”课题项目(2006AA10Z203)和国家科技支撑课题项目(2006BAD10A01)资助

作者简介: 王福民, 1978 年生, 浙江大学农业遥感与信息技术应用研究所博士研究生 *通讯联系人 e-mail: hjf@zju.edu.cn

用过磷酸钙 533.3 kg · hm⁻² 作基肥, 氯化钾 300 kg · hm⁻² 作穗肥。采用多品种、多氮素水平的目的是为了造成更广泛的差别, 从而使研究结果具有相对普适性。

1.2 数据获取

1.2.1 光谱数据获取

(1) 获取水稻叶片光谱反射率使用是 ASD FieldSpec Pro FRTM 光谱仪, 波段范围为 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。

(2) 分别在分蘖期、拔节期、孕穗期和抽穗期开始后每隔数天采样测叶片光谱及叶片、穗的叶绿素和类胡萝卜素。光谱测量时, 用三角架固定光谱仪探头, 并使光谱仪探头垂直向下正对待测叶片正中部, 光谱仪视场角为 8°, 距样品表面距离 0.10 m, 光源用光谱仪所带的 50 W 卤素灯, 距样品表面距离 0.45 m, 与水平面成 70° 角。

1.2.2 叶绿素、类胡萝卜素测量

本试验采用混合液(丙酮 无水乙醇 蒸馏水 = 4.5 4.5 1)(Φ) 提取法测定水稻叶片和稻穗的叶绿素含量, 用分光光度计比色, 测定并计算得到叶绿素、类胡萝卜素含量。

叶绿素以及类胡萝卜素含量的统计情况如表 1, 本研究中使用 202 个样本进行建模, 使用 50 个样本进行验证, 建模数据集与验证数据的选取是随机的。

1.3 归一化比值指数的构建

本研究采用一种严密的经验方法构建水稻色素含量估算的归一化比值色素指数, 即将从 350 ~ 2 500 nm 范围内所有波段反射率进行两两组合, 构建一个包含所有可能组合的归一化比值指数。归一化比值指数的一般公式形式为

$$NDRPI_{(ref, index)} = \frac{R_{ref} - R_{index}}{R_{ref} + R_{index}} \tag{1}$$

其中, NDPI_(ref, index) 为由参照波段(ref)和指数波段(index)构建的一个归一化色素指数; R_{ref} 和 R_{index} 分别为参照波长反射率、和指数波长反射率。

Table 1 Published ratio based normalized difference pigment indices

色素指数 Pigment index	出处 Reference
$(R_{800} - R_{680}) / (R_{800} + R_{680})$	BlackBurn(1998) ^[10]
$(R_{800} - R_{635}) / (R_{800} + R_{635})$	
$(R_{750} - R_{705}) / (R_{750} + R_{705})$	Gitelson 等(1994) ^[11]
$(R_{780} - R_{550}) / (R_{780} + R_{550})$	Gitelson 等(1996) ^[12]
$(R_{680} - R_{430}) / (R_{680} + R_{430})$	Péñuelas 等(1994) ^[13]
$(R_{415} - R_{435}) / (R_{415} + R_{435})$	Marie 等(2004) ^[14]
$(R_{550} - R_{531}) / (R_{550} + R_{531})$	Gamon 等(1992) ^[15]
$(R_{570} - R_{531}) / (R_{570} + R_{531})$	
$(R_{774} - R_{677}) / (R_{774} + R_{677})$	Zarco-Tejad 等(2001) ^[16]

在 350 ~ 2 500 nm 范围内包含着 2 151 个光谱波段, 所以可以构建 2 151 × 2 151 = 4 626 801 个归一化比值色素指数。因此, 表 2 给出的各种归一化形式的叶绿素指数只是所有可能指数中的一种, 但未必是最合适的选择。所以, 本研究将所有波段组合构成的归一化色素指数与叶绿素、类胡萝卜素含量分别建模, 在所有这些模型中选择出最佳模型, 然后进行验证, 从而确定适合水稻叶片叶绿素、类胡萝卜素含量估算的最合适色素指数形式。

Table 2 Statistical analysis of chlorophyll and carotenoid contents

样本数	色素	最大值	最小	平均值	方差	标准差	变异系数/ %
252	叶绿素 a	3.758 1	0.765 8	2.316 3	0.278 9	0.528 1	22.80
	叶绿素 b	1.131 9	0.243 8	0.753 3	0.025 3	0.159 2	21.13
	总叶绿素	4.890 1	1.009 5	3.069 7	0.465 5	0.682 3	22.23
	类胡萝卜素	1.302 1	0.351 8	0.833 4	0.025 2	0.158 9	19.06

2 结果与分析

2.1 绘制决定系数 R² 分布图

将 350 ~ 2 500 nm 范围内的所有光谱波段两两组合构建归一化形式的色素指数, 然后分别建立叶绿素 a、叶绿素 b、叶绿素总量、类胡萝卜素含量与这些指数之间的一元线性方程, 获取拟合方程的决定系数 R², 这些由两两波段对应的 R² 就构成了一个 R² 矩阵。

为了清晰的显示出拟合方程 R² 随着波段组合变化而变化的情况, 将 R² 三角矩阵用图形分级表示(归一化指数形式是对称的, 只用一个三角矩阵就可以表示)。由于水吸收可能影响拟合效果的稳定性, 所以将 1 350 ~ 1 480 nm, 1 780 ~ 1 990 nm, 2 400 ~ 2 500 nm 几个水吸收光谱区域去除(图 1)。在图中, 点的颜色决定了 R² 的大小。R² 越大, 使用

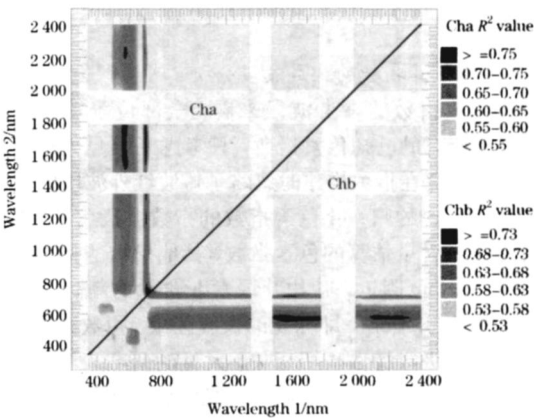


Fig 1 R² distribution of the linear fitted equations between chlorophyll a, chlorophyll b contents in leaves of rice and all the possible combinations of NDPI

越暗的颜色表示。图中的每个点分别对应的横纵坐标表示构成相应归一化形式叶绿素指数的两个光谱波段。这里只给出了叶绿素 a、叶绿素 b 的 R^2 分布图。

2.2 新归一化指数与已知指数对叶绿素、类胡萝卜素含量估算效果的比较

2.2.1 各个色素指数估算效果比较

根据图 1 及其对应的数据选择出具有最大 R^2 的模型，

然后将该模型对应的色素指数确定为最适合的归一化比值色素估算指数(表 3)。从构成水稻叶片色素估算的归一化色素指数的两个波段来看，参照波段全部位于短波红外光谱区域，对于叶绿素 a、叶绿素 b、叶绿素总量、类胡萝卜素分别为 1 729, 1 554, 1 729, 1 536 nm; 指数波段主要出现在 700 nm 附近，对叶绿素 a、叶绿素 b、类胡萝卜素分别为 707, 706, 707 nm，但对叶绿素 b 为绿光长波区域的 572 nm。

Table 3 Pigment indices selected using the best fitted models for estimating contents of chlorophyll and carotenoid in leaves of rice and validations of the models

色素	归一化比值色素指数	R^2	RMSE _{CV}	RMSE
叶绿素 a	$(R_{1\,729} - R_{707}) / (R_{1\,729} + R_{707})$	0.773 816	0.254 098	0.282 761
叶绿素 b	$(R_{1\,554} - R_{572}) / (R_{1\,554} + R_{572})$	0.750 138	0.080 377	0.095 564
总叶绿素	$(R_{1\,729} - R_{706}) / (R_{1\,729} + R_{706})$	0.774 147	0.327 969	0.369 226
类胡萝卜素	$(R_{1\,536} - R_{707}) / (R_{1\,536} + R_{707})$	0.653 667	0.095 563	0.095 744

为了比较新构建的归一化色素指数与其他已知的归一化色素指数(表 1)对叶绿素、类胡萝卜素含量的估算效果，由光谱数据计算得到各个色素指数，并将其与叶绿素、类胡萝卜素含量建立模型，并求算其交叉检验 RMSE_{CV}和独立检验 RMSE(表 4)。由表可见，各已知色素指数中，指数 $(R_{750} - R_{705}) / (R_{750} + R_{705})$ 具有最好的估算效果，其次为 $(R_{800} - R_{635}) / (R_{800} + R_{635})$ 。对于 RMSE_{CV}，新构建色素指数的 RMSE_{CV} 小于所有的已知的指数的 RMSE_{CV}，对于独立检验

RMSE 而言，除了使用新色素指数估算叶绿素 b 含量时 RMSE 值略大于使用 $(R_{750} - R_{705}) / (R_{750} + R_{705})$ 估算的结果，对于其他情况，新构建的指数的 RMSE 都小于已知色素指数估算的 RMSE。从总体看，新的色素指数在估算叶绿素、类胡萝卜素含量时要好于已知色素指数的估算效果，但在叶绿素 b 含量估算时，新指数 $(R_{1\,554} - R_{572}) / (R_{1\,554} + R_{572})$ 与 $(R_{750} - R_{705}) / (R_{750} + R_{705})$ 效果相当。

Table 4 Results of the published pigment index tested against the experimental data of rice leaves

公式	叶绿素 a		叶绿素 b		总叶绿素		类胡萝卜素	
	RMSE _{CV}	RMSE	RMSE _{CV}	RMSE	RMSE _{CV}	RMSE	RMSE _{CV}	RMSE
$(R_{800} - R_{680}) / (R_{800} + R_{680})$	0.425 7	0.396 9	0.130 5	0.121 1	0.550 0	0.511 8	0.139 4	0.119 1
$(R_{800} - R_{635}) / (R_{800} + R_{635})$	0.316 1	0.301 7	0.099 4	0.096 2	0.407 3	0.389 9	0.116 3	0.099 4
$(R_{750} - R_{705}) / (R_{750} + R_{705})$	0.268 1	0.287 9	0.084 1	0.090 4	0.342 4	0.369 6	0.100 2	0.096 3
$(R_{780} - R_{550}) / (R_{780} + R_{550})$	0.287 3	0.330 8	0.084 9	0.100 8	0.362 8	0.424 1	0.101 5	0.106 3
$(R_{680} - R_{430}) / (R_{680} + R_{430})$	0.496 8	0.504 6	0.146 5	0.151 5	0.638 1	0.651 3	0.151 1	0.142 0
$(R_{415} - R_{435}) / (R_{415} + R_{435})$	0.529 5	0.473 3	0.160 4	0.148 3	0.685 2	0.616 3	0.162 2	0.141 5
$(R_{550} - R_{531}) / (R_{550} + R_{531})$	0.533 6	0.502 9	0.160 8	0.153 2	0.689 7	0.650 6	0.161 7	0.143 8
$(R_{570} - R_{531}) / (R_{570} + R_{531})$	0.421 4	0.353 4	0.127 3	0.115 0	0.542 4	0.461 9	0.143 2	0.114 4
$(R_{774} - R_{677}) / (R_{774} + R_{677})$	0.422 9	0.385 4	0.131 0	0.119 7	0.547 8	0.498 7	0.139 7	0.117 5

2.2.2 色素估算指数的构成波段分析

从新构成指数的参考波段来看，全部位于短波红外区域。而对于所有的已知色素指数，只考虑了可见光或近红外区域，以往研究在指数构建时忽略了短波红外波段的使用。

对于新构建的归一化色素指数的指数波段(公式 1)，除了对叶绿素 b 含量估算的色素指数，其他指数的指数波段基本都位于 700 nm 附近，叶片叶绿素 b 含量的新色素指数的指数波段位于 572 nm，即绿光的长波区域。指数波段的出现位置与色素的吸收特性密切相关，大量的研究表明，叶绿素的吸收波段主要位于红光区域和蓝光区域，但是这两个区域通常不被用来估算叶绿素等色素含量，这是因为一方面蓝光区域是包括叶绿素等多种色素的吸收区域，吸收波段重叠，另一方面，在光谱反射谷 670 nm 附近，当色素含量低时比

较敏感，当色素含量中等或偏上时易于饱和。因此 Gitelson 等认为在 530 ~ 630 nm 以及 700 nm 附近，光谱反射率对叶绿素变化一直具有较高的敏感性^[12, 17]，本研究中指数波段

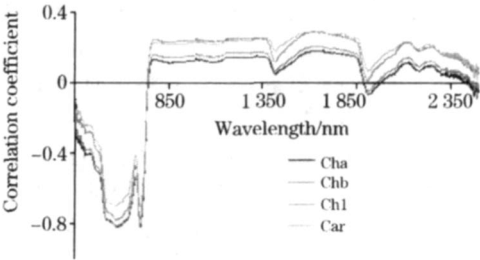


Fig 2 Correlation coefficients between hyperspectral reflectance and chlorophyll, carotenoid contents

也正好处于这两个叶绿素敏感区域。

另外,从叶绿素类胡萝卜素含量的相关系数也可以看出(图2),与叶绿素a、叶绿素b、总叶绿素、类胡萝卜素含量相关性较好的波段位于绿光的长波区域和700 nm附近,说明这两个区域对各色素含量变化较敏感。

3 结论与讨论

本研究从叶片水平给出叶绿素、胡萝卜素含量估算的较好归一化比值色素指数,然后对指数进行了验证,并与各种已知归一化色素指数进行了比较。结果表明,叶片水平叶绿素a,叶绿素b,总叶绿素和类胡萝卜素含量估算的较好归一化指数分别为 $(R_{1729} - R_{707}) / (R_{1729} + R_{707})$, $(R_{1554} - R_{572}) /$

$(R_{1554} + R_{572})$, $(R_{1729} - R_{706}) / (R_{1729} + R_{706})$, $(R_{1536} - R_{707}) / (R_{1536} + R_{707})$ 。这些指数对色素含量的估算效果一般好于本研究中提到的各已知色素指数。文中是通过经验的方法,提出了对水稻色素估算的新的归一化色素指数,这些指数相对于其他自知的归一化色素指数估算效果较好,但是并没有与所有其他类型的指数相比较,在这方面还有待更深入研究。

这些归一化色素指数的参考波段都分布在短波红外区域;其指数波段主要位于700 nm附近,其次为可见光的长波区域,这两个区域都是对叶绿素的色素变化比较敏感的区域,与色素相关性高。由构成新归一化比值色素指数波段可见,差别的部分主要在参照波段,这种差别是由叶片结构引起的。

参 考 文 献

- [1] Datt B. International Journal of Remote Sensing, 1999, 20(14): 2741.
- [2] Daughtry C S, Walthall C L, Kim M S. Remote Sensing of Environment, 2000, 74: 229.
- [3] Gitelson A A, Gritz Y, Merzlyak M N. Journal of Plant Physiology, 2003, 160(3): 271.
- [4] Tang Y L, Wang R C, Huang J F. Pedosphere, 2004, 14(4): 467.
- [5] JIANG Jin-bao, CHEN Yun-hao, HUANG Wen-jiang(蒋金豹, 陈云浩, 黄文江). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2007, 27(7): 1363.
- [6] XUE Li-hong, LU Ping, YANG Lin-zhang(薛利红, 卢萍, 杨林章). Journal of Plant Ecology(植物生态学报), 2006, 30(4): 675.
- [7] TANG Yan-lin, HUANG Jing-feng, WANG Ren-chao(唐延林, 黄敬峰, 王人潮). Chinese Journal of Rice Science(中国水稻科学), 2004, 18(1): 59.
- [8] JI Hai-yan, WANG Peng-xin, YAN Tai-lai(吉海彦, 王鹏新, 严泰来). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2007, 27(3): 514.
- [9] Blackburn G A, Steele C M. Remote Sensing of Environment, 1999, 70: 278.
- [10] Blackburn G A. International Journal of Remote Sensing, 1998, 19(4): 657.
- [11] Gitelson A A, Merzlyak M N. Journal of Plant Physiology, 1994, 143: 286.
- [12] Gitelson A A, Kaufman Y J, Merzlyak M N. Remote Sensing of Environment, 1996, 58: 289.
- [13] Peñuelas J, Gamon J A, Fredeen A L, et al. Remote Sensing of Environment, 1994, 48: 135.
- [14] Marie G, François C. Remote Sensing of Environment, 2004, 89: 1.
- [15] Gamon J A, Peñuelas J, Field C B. Remote Sensing of Environment, 1992, 41: 35.
- [16] Zarco-Tejada P J, Miller J R, Noland T L. IEEE Transactions on Geoscience and Remote Sensing, 2001, 39(7): 1491.
- [17] Gitelson A A, and Kaufman Y J. Remote Sensing of Environment, 1998, 66: 343.

Normalized Difference Ratio Pigment Index for Estimating Chlorophyll and Carotenoid Contents of in Leaves of Rice

WANG Fu-min¹, HUANG Jing-feng^{1*}, WANG Xiu-zhen²

1. Institute of Agriculture Remote Sensing & Information System Application, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China

2. Institute of Meteorology, Zhejiang Province, Hangzhou 310029, China

Abstract The objective of the present study was (1) to construct new pigment indices based on making full use of all the spectral bands in the 350-2 500 nm region and (2) to compare the performance of these new pigment indices with that of the published normalized difference ratio pigment indices in estimating pigment content of rice. The 252 leaves of rice were sampled at different development stages, representing a wide range of pigment contents. The hyperspectral reflectance of leaves of rice and the corresponding chlorophyll contents and carotenoid contents were measured. A rigorous method using all the wavebands in the range of 350-2 500 nm was applied to generate all possible two-band normalized difference pigment indices, and then the linear models between these indices and chlorophyll and carotenoid contents were constructed. Finally, the index with the highest determination coefficients was selected as the optimal index for corresponding pigment. The model was tested and these selected indices were compared with the published indices. The result indicated that the indices $[(R_{1729} - R_{707}) / (R_{1729} + R_{707})]$, $(R_{1554} - R_{572}) / (R_{1554} + R_{572})$, $(R_{1729} - R_{706}) / (R_{1729} + R_{706})$, $(R_{1536} - R_{707}) / (R_{1536} + R_{707})$ can relatively accurately estimate chlorophyll and carotenoid contents. The reference bands of these new indices are mainly located in short wave infrared spectral region, which indicate that the spectral bands in the short wave infrared region are significant to construct normalized ratio pigment index, while the index bands of these indices are mostly in the region near 700 nm, and the longer bands of green region in the next place. Compared to the published indices, in general, the new indices give more accurate estimation of chlorophyll and carotenoid contents, or they behave the same as the best published index.

Keywords Rice; Chlorophyll; Carotenoid; Normalized difference ratio pigment index

(Received Nov. 22, 2007; accepted Feb. 26, 2008)

* Corresponding author

《光谱学与光谱分析》对来稿英文摘要的要求

来稿英文摘要不符合下列要求者, 本刊要求作者重写, 这可能要推迟论文发表的时间。

1. 请用符合语法的英文, 要求言简意明、确切地论述文章的主要内容, 突出创新之处。

2. 应拥有与论文同等量的主要信息, 包括四个要素, 即研究目的、方法、结果、结论。其中后两个要素最重要。有时一个句子即可包含前两个要素, 例如“用某种改进的 ICP-AES 测量了鱼池水样的痕量铅”。但有些情况下, 英文摘要可包括研究工作的主要对象和范围, 以及具有情报价值的其他重要信息。在结果部分最好有定量数据, 如检测限、相对标准偏差等; 结论部分最好指出方法或结果的优点和意义。

3. 句型力求简单, 尽量采用被动式, 通常应有 2000 个印刷字符, 300 个英文单词为宜, 不能太短; 也不要太长。用 A4 复印纸单面隔行打印。

4. 摘要不应有引言中出现的内容, 换言之, 摘要中必须写进的内容应尽量避免在引言中出现。摘要也不要对论文内容作解释和评论, 不得简单重复题名中已有的信息; 不用非公知公用的符号和术语; 不用引文, 除非该论文证实或否定了他人已发表的论文。缩略语、略称、代号, 除相邻专业的读者也能清楚地理解外, 在首次出现时必须加以说明, 例如用括号写出全称。