

应用 SPAD 和光谱技术研究油菜生长期间的氮素变化规律

裘正军¹, 宋海燕^{1,2}, 何 勇¹, 方 慧^{1*}

(1. 浙江大学生物系统工程与食品科学学院, 杭州 310029; 2. 山西农业大学工程技术学院, 太谷 030801)

摘 要: 为了掌握油菜生长期间氮素的变化规律和指导科学施肥, 应用 SPAD 仪对从顶部算起的第 3 分枝处完全展开叶进行了跟踪测试, 得出了蕾苔期与开花期的过渡期为田间氮肥管理和检测的最佳时期。采用可见-近红外光谱仪分析了油菜叶片的光谱特性, 建立了油菜叶片光谱反射率与 SPAD 值之间的定量分析模型。结果表明, 684 nm 处一阶微分光谱的线性回归模型可较好地预测油菜叶片的 SPAD 值, 预测样本的相关系数达到 0.801。

关键词: SPAD; 可见-近红外光谱; 油菜; 氮含量; 光谱技术

中图分类号: S123; S565

文献标识码: A

文章编号: 1002-6819(2007)7-0150-05

裘正军, 宋海燕, 何 勇, 等. 应用 SPAD 和光谱技术研究油菜生长期间的氮素变化规律[J]. 农业工程学报, 2007, 23(7): 150-154.

Qiu Zhengjun, Song Haiyan, He Yong, et al. Variation rules of the nitrogen content of the oilseed rape at growth stage using SPAD and visible-NIR[J]. Transactions of the CSAE, 2007, 23(7): 150-154. (in Chinese with English abstract)

0 引 言

为了及时掌握作物生长情况, 需要对作物的营养状况进行诊断。其中氮素对作物生长发育和产量的影响最大, 施用量也最大, 因此, 氮素诊断是植物营养诊断的重点。传统的氮素营养诊断和评价植物氮素状况的方法主要是基于土壤和植物组织的实验室分析, 这些分析普遍要求破坏土壤和植被样本, 需耗费大量的人力和物力, 且时效性差, 不利于推广应用。无损测试技术在作物氮素营养诊断及氮肥施用量的管理中得到了广泛的关注, 它可以在不破坏植物组织结构的基础上, 利用各种手段对作物的生长、营养状况进行监测, 并能根据田间的情况提供追肥所需要的信息。其中, 叶绿素计法(SPAD)和光谱分析方法是目前作物氮素诊断研究中的热点^[1]。叶绿素计法通过测定与叶绿素含量相关的“绿色度”值来反映叶片的氮含量, 仪器体积小、质量轻、测定方法简单, 能够在原处测定作物氮素状况, 但只能测量叶片上某个点的值, 难以准确反映整个植株或冠层的氮素水平。当作物出现缺肥症状时会引起叶片颜色、厚度以及形态结构等发生一系列变化, 从而引起光谱反射特性的变化。光谱仪可以从植物的冠层对作物养分进行实时监

测和快速诊断, 但光谱分析法存在背景干扰误差、仪器价格昂贵、操作技术要求高等不足。因此本研究将 SPAD 和光谱相结合实现从叶片到冠层的养分监测。

1972 年 Thomas 等通过测定甜椒叶片的光谱反射率来估测氮素含量, 建立了估算氮素含量的相关模型, 其精度约为 90%^[2]。Al-Abbas 等研究了不同营养胁迫下不同叶位叶片的光谱特性, 认为在所有营养胁迫条件下叶片的叶绿素含量都会降低, 但降低程度不一, 缺氮时叶绿素含量最低^[3]。Wu 等采用叶绿素仪对不同氮素处理下的棉花进行了研究, 表明采用叶绿素仪可以对棉花进行追肥管理^[4]。Daughtry 等对玉米叶片的光谱进行了分析, 并模拟田间试验对土壤和玉米冠层的光谱进行了分析^[5]。Carreres 等对水稻进行不同氮素处理试验, 在不同生长期测定作物的氮素状况, 研究叶绿素计是否能用于确定氮肥施用量, 在氮和 SPAD 值之间呈显著相关性, 但这种相关性随不同植物有较大变化^[6]。王人潮、周启发等从“七五”开始对水稻氮素营养水平与光谱特征的关系作了系统深入的研究, 认为缺氮使得早稻叶片在 680 nm 波段附近的吸收谷变浅, 在近红外区域的反射率降低, 在可见光区域的反射率增加; 也进行了用 SPAD 诊断水稻氮素水平的研究, 提出可以利用上下部叶片比值来诊断作物氮素营养^[7,8]。赵春江等人也分别对小麦、水稻、玉米、棉花的冠层光谱特性进行了研究, 得出这些作物的生物物理参数与其光谱特征具有一定的相关性^[9-14]。王福民等对不同氮素水平下的油菜冠层光谱的反射特征进行了初步研究^[15]。

综上所述, 在现有的采用叶绿素计法和光谱分析方

收稿日期: 2005-12-19 修订日期: 2007-05-25

基金项目: 国家十一五科技支撑项目(2006BA D10A09); 国家自然科学基金资助(30270773); 浙江省重大科技攻关项目(2005C12029)

作者简介: 裘正军(1971-), 男, 博士, 副教授, 主要从事农业信息化与自动化研究。杭州 浙江大学生物系统工程与食品科学学院, 310029。Email: zjqiu@zju.edu.cn

*通讯作者: 方 慧(1973-), 女, 博士。杭州 浙江大学生物系统工程与食品科学学院, 310029。Email: newxfh@gmail.com

法获取作物氮素含量的研究中,大多数都集中在水稻、玉米和小麦这些大田作物上,对油菜这一经济作物研究的甚少。而且在采用叶绿素仪进行测量时,没有系统地研究过同一植株中 SPAD 值随生长过程的变化规律,而这些是对作物氮肥精细管理的基础。为了能够进一步分析油菜在不同施肥条件下,SPAD 值随其生长过程的变化规律,本研究对油菜同一植株上固定叶片的 SPAD 值进行了跟踪试验,深入地分析了在整个生长过程中,油菜叶片 SPAD 值的变化规律,为今后油菜田中的氮肥管理奠定了基础。

1 试验设计和测量方法

1.1 田间肥料设计

试验田位于浙江大学试验农场内,小区面积为 3.6 m²,每小区种 15 株油菜,设 2 个重复,试验小区按随机排列布置。油菜品种为甘蓝型油菜,油菜移栽时间为 2004 年 11 月 18 号。肥料设 3 个氮素水平,使油菜人为地呈缺氮、适量氮、过量氮的状态。氮肥分基肥和腊肥,基肥在移栽前施入,腊肥在 2004 年 12 月 28 号施入。

1.2 测量方法

采用日本美能达公司生产的 SPAD-502 叶绿素计测定油菜叶片的相对叶绿素含量。光谱测量选用美国 ASD (Analytical Spectral Device) 公司的便携式光谱仪,波段范围为 325~1100 nm,分辨率为 3.5 nm,采样间隔为 1.5 nm。探头视场角为 20°,采用镜头加长装置使探头易于对准叶片,以漫反射方式采集样品光谱。

为了能够达到跟踪测试的目的,油菜叶片的 SPAD 值测量开始于 2005 年 3 月 21 日,此时的油菜已经进入蕾苔期。测量时根据油菜植株 SPAD 值分布规律,对从顶部算起的第 3 分支处的完全展开叶作了跟踪测量标志。光谱测定选择晴朗无云、无风天气,测量时间为上午 10:00~12:00。测量时在保证光谱仪距被测叶片距离不变的情况下,在每小区选择一些叶片进行测量,然后再测量所取叶片的 SPAD 值。测量时及时进行标准白板校正,标准白板的反射率为 1,这样所测得的是无量纲的相对反射率。为了检测在该试验条件下,土壤背景信息是否会对油菜叶片的光谱特征造成影响,在具体测试过程中,对不同背景条件下(黑布、白纸、土壤)油菜叶片的光谱特征进行了测量和分析。结果表明,油菜叶片的反射率在不同的背景条件下只是简单的平移,而这些通过光谱预处理技术便可消除^[16]。

2 数据处理和分析

2.1 跟踪叶片的选取

研究表明,叶绿素计读数和叶片氮素浓度之间具有

线性相关性,这种线性关系之间是有差别的,取决于品种、发育阶段、叶片位置及叶片上测定点的位置等^[17]。冯雷等通过对油菜叶片的 SPAD 值和氮含量的测试和分析,建立了油菜叶片的 SPAD 值和氮含量之间的数学模型,相关系数 r 达到 0.862,说明油菜叶片的 SPAD 值可以反映其氮含量^[1],该结论为研究奠定了基础。

SPAD 值受被测对象和生育期、叶片位置的影响比较严重,为了能选择一个具有代表性的测量位置,本试验对整个油菜植株的叶绿素分布情况进行了研究。图 1 为随机选取的两个植株的 SPAD 值分布图。

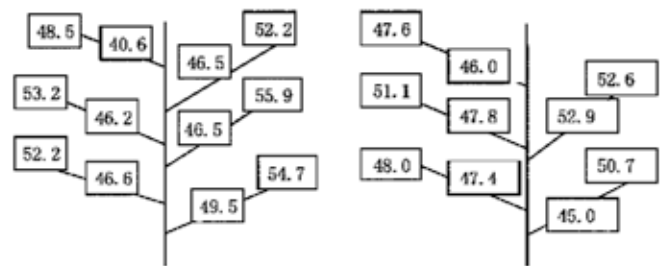


图 1 植株的 SPAD 分布示意图

Fig. 1 Distribution map of SPAD values in a plant

从图 1 可以看到,在同一植株上,不同分枝处的 SPAD 值不同,并且在同一分枝处,最顶端叶片的 SPAD 值与中间部位的值也不同,遵循顶端部位的 SPAD 值略大于中间部位的 SPAD 值的原则。对于不同分枝,遵循最底端分枝处的 SPAD 值大于最顶端分枝处的 SPAD 值,这与氮素在植物体内的运动规律是一致的,即作物的氮素营养都是从下部叶片向上部叶片转运,但其变化过程并不是按照逐渐变小的规律,这可能是由于不同分枝处的叶片面积或光照强度不同而引起的。在具体测试过程中,虽然底端的叶片都基本展开,属于成熟叶片,但很容易在短时间内枯死,为了能够延长跟踪测试时间,达到跟踪测试的目的,并没有选择底端的叶片。而对于顶端的叶片由于其属于不完全展开叶,不能完全反映测量时整个植株的情况,因此选择了从顶部算起的第三分支的完全叶进行了跟踪测量。

对于同一叶片,测量部位不同,SPAD 值也不同,叶片最顶端的 SPAD 值大于最底端的。实际测量中,在同一叶片中至少选取 10 个测量点,取其平均值作为该叶片的 SPAD 值。

2.2 不同生育时期 SPAD 值的变化与施肥关系研究

从 2005 年 3 月 21 日油菜进入蕾苔期到 2005 年 4 月 28 日油菜进入角果发育成熟期,对油菜固定叶片的 SPAD 值变化情况进行了研究(每小区选择 5 株:对角线 2 株,中间 1 株,两边 2 株,将其平均值作为该区的 SPAD 值)。4 月 28 日跟踪叶片出现衰老、枯黄、枯死的

症状,在具体分析中只对从3月21日到4月21日这一生长阶段的SPAD值变化情况进行了分析(图2a)。从图中可以看出:过量施肥区的SPAD值最大,在3月21日和3月31日这一生长阶段其变化规律明显区别于正常施肥和少量施肥的情况,3月31日(蕾苔期与开花期过度时期)SPAD值达到最大,这可能是由于土壤中的肥料充足,在该生长阶段有足够的肥料继续供给叶片进行光合作用,叶片生长旺盛的原因。此后随生长阶段的

推移,SPAD值逐渐变小,在4月13日油菜进入角果成熟期时,SPAD值开始急剧下降,其主要原因是在角果发育成熟期后,跟踪叶片已开始出现衰老,绿色叶片内的营养物质向角果转移,叶绿素分解,叶片开始转黄。此外,在3月21日到4月13日这一生长阶段,过量施肥区的SPAD的变化率最大,少量施肥区的SPAD的变化基本上不是很明显。

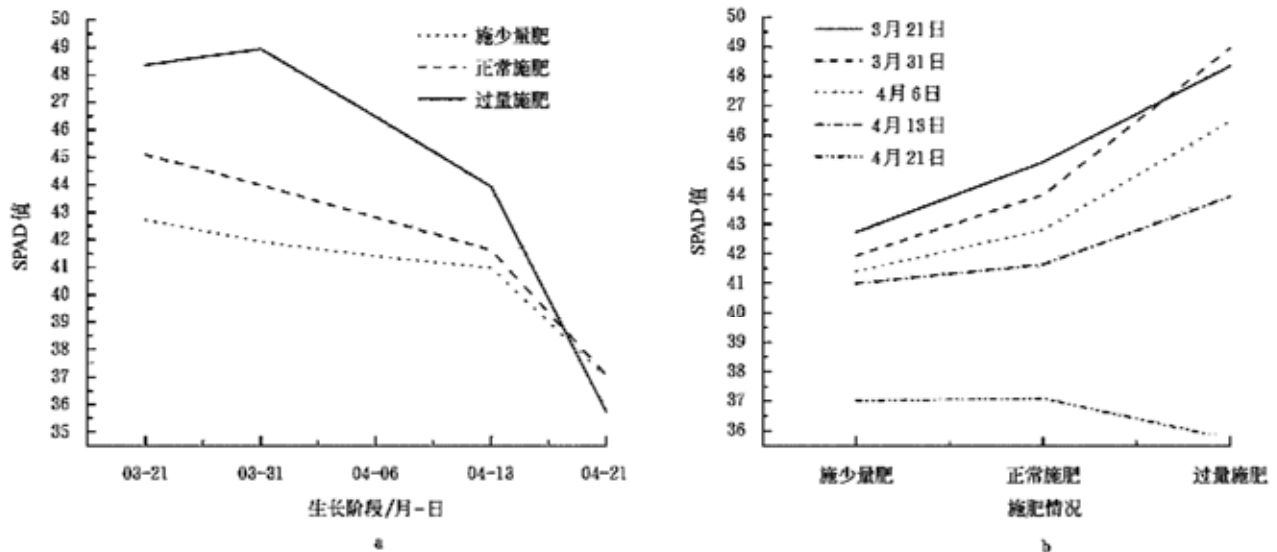


图2 SPAD值与生长阶段和田间施肥情况的变化规律

Fig. 2 Variation rules of SPAD values at different growth stages and fertilization levels

对SPAD值与田间施肥情况的关系也进行了研究(图2b),从图中可以看出,4月21日测得的SPAD值的变化规律明显区别于前几个测量时间,少量施肥区和正常施肥区的SPAD值基本没有很明显的变化,而过量施肥区的SPAD值低于少量施肥和正常施肥区域的SPAD值。可能是由于该阶段油菜已经进入角果成熟期,大多数叶片已开始转黄。其它测量时间的SPAD值随施肥量的变化规律基本一致,即随着施肥量的增加,SPAD值也呈上升趋势。另从图中可以明显看到3月21日测得的SPAD值与施肥量基本上呈线性关系,说明这一时期是油菜吸收氮含量的高峰时期,随着施氮量的增加,SPAD也呈逐渐上升趋势。而从3月31日(蕾苔期与开花期过度时期)开始,SPAD值随施肥情况的变化情况在正常施肥处出现一个拐点,呈折线状态,明显区别于3月21日(蕾苔期)。该拐点将少量施肥与过量施肥区域SPAD的变化趋势明显区分开来。因此根据这一特点,可以选择在此阶段进行田间氮肥的检测和管理。

2.3 油菜叶片的光谱特性

由于在室外条件下能真实地反映各种物体的光谱

辐射特性。为了获取油菜叶片的真实光谱特性,本试验在尽量保证光谱仪距叶片高度一致的前提下,对油菜叶片的光谱特性进行了研究。图3是不同施肥区域油菜叶片的光谱特性。从中可以看出,该条件下测得的油菜叶片的光谱反射率呈现典型的植物光谱特征^[18,19]:在400~500 nm与600~700 nm之间,具有较低的反射比,一般低于10%;而从500 nm起叶子的吸收减少,在550 nm处形成一个小的反射峰,反射率大约在15%左右;然后在700 nm处反射率突然上升,进入近红外波段后曲线平缓起来,成为高反射平台区,达到40%~50%。此外还可以看出,随供氮水平的提高,叶片的反射率反而下降。这可能是因为供氮水平高的区域油菜叶片面积比较大,光合作用能力增强,对红光和蓝光的吸收增强,红光与蓝光波段的强吸收使绿色波段的反射率逐渐突出,从而使其形成的反射峰低于其它施肥情况。

2.4 油菜叶片SPAD值与光谱反射率的相关性分析

为了能够定量分析油菜叶片的SPAD值与其光谱反射率之间的关系,对油菜田中随机选取的26个叶片的光谱特性进行了研究。考虑到一阶微分光谱可以消除或减弱在测量过程中由于土壤背景和测量高度等对光

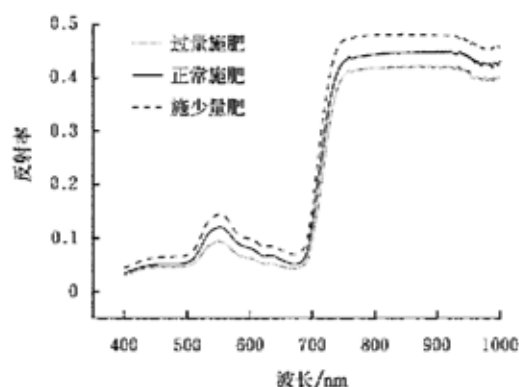


图 3 油菜叶片在不同施肥条件下的光谱特性
Fig. 3 Spectral properties of the oilseed rape leaf at different fertilization levels

谱特性的影响,同时又能从重叠混合光谱中提取大量有用信息^[20],在定量分析时以一阶微分光谱进行了分析。另外由于随机噪音一般都是高频信号,如果对原光谱直接进行微分,则可能会进一步放大噪声使得谱图的信噪比变大。因此在微分光谱前先对原光谱进行了间隔为 3 的平滑处理。

该光谱仪采集的是离散型的数据,因此可以通过如下公式近似计算一阶微分光谱数据:

$$R'(\lambda) = \frac{R(\lambda_{i+1}) - R(\lambda_{i-1})}{\lambda_{i+1} - \lambda_{i-1}} \quad (1)$$

式中 R' ——反射率光谱的一阶微分光谱; R ——反射率; λ ——波长; i ——光谱通道。

通过近红外光谱对样品组分含量进行定量分析是近红外光谱分析的一个重要应用。常用的定量分析方法有多元线性回归分析、主成分回归分析、偏最小二乘回归分析等,其中多元线性回归分析法因其操作简单方便,在处理一些不太复杂的体系中应用较多。但多元线性回归要求参加回归的变量数不能超过校正集的样本数。为了解决这一问题,在具体处理过程中将采集的 26 个叶片光谱的微分光谱数据以间隔 20 nm 求一次平均,这样可以得到 22 个光谱波段。然后采用 SPSS 软件中的相关分析,建立 SPAD 值与光谱之间的相关关系,最后找出在 653~694 nm 之间一阶微分光谱与 SPAD 值之间的相关系数最大为 0.82,呈极显著关系。

根据以上分析,将随机选取的 20 个样本用来建模,其余 6 个样本用来预测,在 653~694 nm 之间对一阶微分光谱数据采用多元线性逐步回归分析方法建立了 SPAD 值与光谱反射率之间的关系。结果表明在此波段范围内 684 nm 为最佳波段,相关系数为 0.911。回归方程的 F 检验值为 87.98,达到极显著水平。回归方程为

$$y = 53.302 - 5270.534x_{684} \quad (2)$$

用该模型对其余 6 个样本的 SPAD 值进行了预测,结果如表 1 所示。测量值和预测值之间的相关系数为 0.801,预测精度达到 84% 以上,表明利用 684 nm 处一阶微分光谱的一元线性回归模型可较好地预测油菜叶片的 SPAD 值。SPAD 仪只能对单个点的氮素进行测量,而光谱仪可以对整个冠层进行测量,特征波段的确定有助于研制低成本的专用作物氮素光谱测定仪。

表 1 预测样本的预测统计参数

Table 1 Statistic parameters of the six testing samples

| | 测量值 | 预测值 | 相对误差/% |
|------|------|-------|--------|
| 样本 1 | 37.4 | 43.10 | 15.24 |
| 样本 2 | 51.4 | 47.50 | 7.59 |
| 样本 3 | 39.1 | 41.71 | 6.68 |
| 样本 4 | 42.5 | 43.82 | 3.11 |
| 样本 5 | 41.6 | 40.40 | 2.88 |
| 样本 6 | 46.1 | 44.34 | 3.82 |

3 结 论

应用 SPAD 对油菜生长期氮肥的变化规律进行了研究,对从顶部算起的第 3 分枝处完全展开叶进行了跟踪测试。结果表明不同生育时期油菜叶片 SPAD 值的变化规律不一样,对于正常施肥和少量施肥的小区,SPAD 值随生长阶段的推移呈逐渐减小的趋势,对于过量施肥的小区,在蕾苔期与开花期过度期最大,随后随生长阶段的推移呈逐渐减小的趋势。SPAD 值与施肥量之间存在较大的相关性,推荐在蕾苔期与开花期过度期进行田间油菜长势的监测和氮肥的管理。

应用可见-近红外光谱仪对油菜叶片的光谱特性进行了探索性的研究,采用多元线性逐步回归分析方法分析了油菜叶片光谱的一阶微分光谱与 SPAD 值之间的关系,提出利用 684 nm 处一阶微分光谱的一元线性回归模型可较好地预测油菜叶片的 SPAD 值,预测样本的相关系数可达到 0.801,为今后大面积油菜氮素的快速检测和氮肥管理奠定了基础。

[参 考 文 献]

- [1] Feng Lei, Hu Xingyue, He Yong, et al. Ground based nitrogen status of canola leaves using charged coupled device imaging sensor[A]. Proceedings of the 2005 IEEE, Engineering in medicine and biology 27th annual conference, Shanghai[C]. China, 3125- 3128.
- [2] Thomas J R, Oerther G F. Estimating nitrogen content of sweet pepper leaves by reflectance measurements [J]. Agronomy Journal, 1972, 64: 11- 13.
- [3] Al-Abbas A H, Barr R, Hall J D, et al. Spectra of normal and nutrient-deficient maize leaves[J]. Agronomy

- Journal, 1974, 66: 16– 20.
- [4] Wu Feibo, Wu Lianghuan, Xu Fuhua. Chlorophyll meter to predict nitrogen sidedress requirement for short-season cotton (*Gossypium hirsutum* L.) [J]. Field Crops Research, 1998, 56: 309– 314.
- [5] Daughtry C S T, Walthall C L, Kim M S, et al. Estimating corn leaf chlorophyll concentration from leaf and canopy reflectance[J]. Remote Sensing of Environment, 2000, 74: 229– 239.
- [6] Carreres R, Sendra J, Ballesteros R. Effects of pre-flood nitrogen rate and midseason nitrogen timing on flooded rice[J]. Journal of Agricultural Science, 2000, 134: 379– 390.
- [7] 张金恒, 王珂, 王人潮. 叶绿素计 SPAD-502 在水稻氮素营养诊断中的应用[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2003, 31(2): 177– 180.
- [8] 沈掌泉, 王珂, 朱君艳. 叶绿素计诊断不同水稻品种氮素营养水平的研究初报[J]. 科技通报, 2002, 18(3): 173– 176.
- [9] 赵春江, 黄文江, 王纪华, 等. 不同品种、肥水条件下冬小麦光谱红边参数研究[J]. 中国农业科学, 2002, 35(8): 980– 987.
- [10] 景娟娟, 王纪华, 王锦地, 等. 不同氮素营养条件下的冬小麦生理及光谱特性[J]. 遥感信息, 2003, 2: 28– 31.
- [11] 张金恒, 王珂, 王人潮, 等. 水稻叶片反射光谱诊断氮素营养敏感波段的研究[J]. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 2004, 30(3): 340– 346.
- [12] 王秀珍, 王人潮, 李云梅, 等. 不同氮素营养水平的水稻冠层光谱红边参数及其应用研究[J]. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 2001, 27(3): 301– 306.
- [13] 唐延林, 王秀珍, 黄敬峰, 等. 棉花高光谱及其红边特征(I)[J]. 棉花学报, 2003, 15(3): 146– 150.
- [14] 唐延林, 黄敬峰, 王秀珍, 等. 水稻、玉米、棉花的高光谱及其红边特征比较[J]. 中国农业科学, 2004, 37(1): 29– 35.
- [15] 王福民, 王渊, 黄敬峰. 不同氮素水平油菜冠层反射光谱特征研究[J]. 遥感技术与应用, 2004, 19(2): 80– 84.
- [16] 郑咏梅, 张铁强, 张军, 等. 平滑、导数、基线校正对近红外光谱 PLS 定量分析的影响研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2004, 24(12): 1546– 1568.
- [17] Peng S, Garcia F V, Laza R C. Adjustment for specific leaf weight improves chlorophyll meter's estimate of rice leaf nitrogen concentration[J]. Agronomy Journal, 1993, 85: 987– 990.
- [18] 金震宇, 田庆久, 惠凤鸣, 等. 水稻叶绿素浓度与光谱反射率关系研究[J]. 遥感技术与应用, 2003, 18(3): 134– 137.
- [19] 张喜杰, 李民赞, 张彦娥, 等. 基于自然光照反射光谱的温室黄瓜叶片含氮量预测[J]. 农业工程学报, 2004, 20(6): 11– 14.
- [20] 王秀珍, 王人潮, 黄敬峰. 微分光谱遥感及其在水稻农学参数测定上的应用研究[J]. 农业工程学报, 2002, 18(1): 9– 13.

Variation rules of the nitrogen content of the oilseed rape at growth stage using SPAD and visible-NIR

Qiu Zhengjun¹, Song Haiyan^{1,2}, He Yong¹, Fang Hui^{1*}

(1. College of Biosystems Engineering and Food Science, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China;

2. College of Engineering and Technology, Shanxi Agricultural University, Taigu 030801, China)

Abstract: In order to obtain the variation rules of the nitrogen content of oilseed rape at its growth stages, and to guide suitable fertilization, the completely expanding leaves in the third branch counted from the top branch were tracked and analyzed by SAPD meters. The result shows that interim of the bud to anthesis was the best period for nitrogen fertilizer management. Spectral properties of the oilseed rape leaves were also measured using visible-near infrared reflectance spectrometer (Visible-NIR) with natural illumination. Multiple linear stepwise regression technique was used to analyze the relationships between SPAD values and the reflectance spectra. The result shows that single linear regression model with the first derivative reflectance spectra in 683 nm can accurately predict SPAD values. The correlation coefficient of the predicted samples was 0.801.

Key words: SPAD; Visible-NIR; oilseed rape; nitrogen content; spectroscopy