

镉胁迫下菊苣叶片原位高光谱响应特征与定量监测研究

李岚涛 申凤敏 马文连 樊 婕 李亚蓉 柳海涛

(河南农业大学资源与环境学院, 郑州 450002)

摘要: 探究镉胁迫下菊苣叶片高光谱响应特征,以实现基于叶片原位高光谱技术的作物镉胁迫快捷、精准监测。采用室内水培实验,供试品种为“欧洲菊苣”、“美洲菊苣”和“黔育一号”,设置 0、5、10、25、50、100、200 $\mu\text{mol/L}$ 共 7 个镉胁迫梯度,于菊苣苗期测试叶片镉质量比及其原位高光谱反射率。分别利用逐步回归 (SWR)、主成分回归 (PCR) 和偏最小二乘回归 (PLS) 的统计分析方法对叶片原始光谱 (R) 及一阶微分光谱 (FDR) 进行镉质量比预测,确定最佳光谱监测方式和有效波段,提高镉胁迫估测的时效性。此外,为进一步检验上述模型的稳定性,再次布置 9 个独立菊苣品种镉胁迫光谱验证实验 (镉浓度为 50 $\mu\text{mol/L}$)。结果表明,镉胁迫显著影响菊苣叶片镉质量比及高光谱反射率变化特征;随镉梯度增加,3 个品种菊苣镉含量均显著提升,叶片高光谱反射率在可见光-近红外区 (400 ~ 1 300 nm) 逐步降低,中红外区 (1 300 ~ 2 400 nm) 则未表现出一致性变化规律。全波段光谱分析模型间,以基于 FDR 光谱的 PLS 监测模型 (FDR-PLS) 表现最优,其独立验证集决定系数 (R^2)、均方根误差 (RMSE) 和相对分析误差 (RPD) 分别为 0.92、181.3 mg/kg 和 2.96。根据 FDR-PLS 模型中各波段无量纲评价指标:变量重要性投影值 (VIP),确定菊苣叶片镉质量比有效波长分别为 659、725、907、1 026、1 112、1 255、1 630 nm,实现了光谱降维和便捷分析的目的。此后,再次构建基于上述有效波段的菊苣叶片镉质量比 FDR-PLS 监测模型,其独立验证集 R^2 、RMSE 和 RPD 分别为 0.834、222.4 mg/kg 和 2.41,9 个供试品种验证集 R^2 、RMSE 和 RPD 分别为 0.817、13.0 mg/kg 和 1.77,预测效果较为理想,能够满足无损和精准监测需求。

关键词: 菊苣; 镉胁迫; 叶片原位高光谱; 有效波段; 监测模型

中图分类号: S548; S24 文献标识码: A 文章编号: 1000-1298 (2020)03-0146-10

OSID:



Response Characteristics and Quantitative Monitoring Models Analyzed Using *in situ* Leaf Hyperspectra under Different Cd Stress Conditions

LI Lantao SHEN Fengmin MA Wenlian FAN Jie LI Yarong LIU Haitao
(College of Resources and Environment, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China)

Abstract: Accurate and nondestructive estimation of cadmium (Cd) status of *Cichoriumintybus* L. is important for site-specific crop heavy metal stress management. Aiming to rapidly and precision assessment of leaf Cd concentration in *Cichoriumintybus* L., a hydroponic experiment with three cultivars, i. e., Europea chicory, America chicory and Qianyu no.1 chicory, was conducted in Henan Agricultural University from Dec. 2018 to Mar. 2019. Seven different Cd concentration treatments (0 $\mu\text{mol/L}$, 5 $\mu\text{mol/L}$, 10 $\mu\text{mol/L}$, 25 $\mu\text{mol/L}$, 50 $\mu\text{mol/L}$, 100 $\mu\text{mol/L}$ and 200 $\mu\text{mol/L}$) were established with five replications per treatment, and the *in situ* leaf hyperspectra were taken on at six-leaf and ten-leaf stages. Meanwhile, chemical assays of these *Cichoriumintybus* L. samples were performed in the laboratory. Moreover, data from an independent experiment under 50 $\mu\text{mol/L}$ Cd stress condition with nine varieties in Mar. 2019 was also collected to test the transferability of the established optimal monitoring model for leaf Cd concentration prediction. After correlation analysis, stepwise regression (SWR), principal component regression (PCR) and partial least square (PLS) were used to perform the relationship between raw spectral reflectance (R), the first derivative reflectance (FDR) and leaf Cd

收稿日期: 2019-06-28 修回日期: 2019-07-14

基金项目: 河南农业大学青年英才专项基金项目 (30500427、30500671)、河南省高校国家级大学生创新创业训练计划项目 (201810466011) 和山东农业大学作物生物学国家重点实验室开放基金项目 (2018KF05)

作者简介: 李岚涛 (1987—),男,讲师,博士,主要从事作物营养光谱诊断研究,E-mail: lilantao@henau.edu.cn

通信作者: 柳海涛 (1984—),男,副教授,博士,主要从事作物营养逆境生理研究,E-mail: liuhaitao@henau.edu.cn

concentration, respectively. The results showed that leaf Cd concentration in *Cichoriumintybus* L. was increased with the increase of Cd stress conditions, and the changes *in situ* leaf spectral reflectance under varied Cd rates were highly significant in the visible-near infrared region (400 ~ 1 300 nm), with consistent patterns across the different cultivars and growth stages. Using a validation dataset, the best models were calculated with the FDR - PLS method, which yielded the highest coefficient of determination (R^2) of 0.92 and the lowest root mean square error (RMSE) and relative percent deviation (RPD) of 181.3 mg/kg and 2.96, respectively. The variable importance in projection (VIP) score resulting from PLS regression model was used to determine the effective wavelengths and reduce the dimensionality of the hyperspectral reflectance data. The newly developed FDR - PLS model using the effective wavelengths (659 nm, 725 nm, 907 nm, 1 026 nm, 1 112 nm, 1 255 nm and 1 630 nm) performed well in leaf Cd concentration prediction with R^2 of 0.834 and RPD of 2.41. The validation in the nine varieties' experiments also indicated an excellent accuracy between the observed and predicted values for leaf Cd concentration (R^2 was 0.817, and RPD was 1.77). The overall results demonstrated the applicability and feasibility of the FDR - PLS model for estimating the Cd status of *Cichoriumintybus* L. using *in situ* leaf hyperspectral reflectance data.

Key words: *Cichoriumintybus* L. ; Cd stress; *in situ* leaf spectroscopy; effective wavelengths; monitoring model

0 引言

镉 (Cadmium, Cd) 是作物非必需、但毒性最强的重金属元素之一, 具有很高的潜在污染风险和较强的水溶性, 极易通过作物吸收而进入人体, 不仅影响环境安全, 同时也会危害人类健康^[1-3]。因此, 快速和精准识别作物镉胁迫程度及范围, 对于降低和控制镉污染、制定安全有效防控措施具有重要意义^[4]。目前, 传统的作物镉胁迫监测主要以田间样品采集、实验室测试化验为主, 该方法虽然可以获得较为准确的结果, 但在分析过程中存在工作量大、操作繁琐、周期长和成本高等问题, 监测结果具有一定的滞后性, 限制了其发展应用^[5-6]。近年来, 随着高光谱遥感技术的发展, 利用镉胁迫作物与正常生长作物在光谱维上的差异性开展无损、高效和原位监测成为一种可能, 并得以快速应用和发展。

当作物受到镉胁迫时, 宏观上易造成植物叶片枯萎变黄, 新生叶生长缓慢, 植株长势瘦弱, 生物量、叶面积与光合色素等指标显著降低; 微观上则表现出叶片变薄, 细胞渗透压降低, 生理代谢紊乱, 叶肉海绵组织和栅栏组织排列紧密, 胞间隙减小等^[5,7-8]。上述症状均会明显影响叶片对光的吸收与反射性能, 改变光在植物体内反射与折射路径, 继而产生不同的光谱反射率, 形成反射率不同的光谱曲线, 并且上述特征波长光谱反射率变化对镉胁迫程度的响应十分敏感, 这也是利用叶片原位高光谱开展作物镉胁迫定量监测的营养及生理生化基础^[9]。

目前, 高光谱技术已广泛应用于作物重金属胁迫

监测方面。关丽等^[10]通过分析镉胁迫水稻生理生化参数(色素、水分、LAI、镉浓度等)与高光谱响应特征间定量关系, 确立了镉胁迫诊断的植被指数和定量监测模型。RATHOD 等^[11]研究认为, 不同镉胁迫下大麦叶片高光谱反射率具有明显的差异性, 利用叶片原位高光谱技术可实现作物镉质量分数的精准监测。ABDEL-RAHMAN 等^[12]利用偏最小二乘回归模型(PLS)定量监测了瑞士甜菜叶片镉含量, 获得了较好的预测效果。另有一些研究通过分析镉胁迫下作物叶绿素、水分等生理生化指标变化, 并量化其与高光谱间关系, 从侧面验证高光谱技术在作物镉胁迫监测上的适宜性及可行性^[3, 13-14]。分析发现, 已有利用高光谱技术开展作物镉胁迫的监测研究大都集中于构建植被指数、生化指标反演和明晰光谱响应关系等, 且主要以粮食和经济作物为主, 而系统探究不同镉胁迫下菊苣叶片原位高光谱变化规律, 筛选能稳定指示叶片镉质量比变化有效波段, 并构建定量监测模型的研究仍相对较少。基于此, 本文以菊科菊苣属一年或多年生草本植物、具有多种用途(可作为高档蔬菜、新型优质牧草、香料和药材等)并对重金属具有较强吸收特性的菊苣为供试材料, 通过设置不同品种及镉浓度胁迫水培实验, 探究其与叶片原位高光谱间定量关系, 筛选能稳定指示镉浓度变化的有效波段, 并构建高鲁棒性的监测模型, 以期作为作物镉胁迫的早期快速、无损和原位监测提供实验参考和理论支撑。

1 材料与方 法

1.1 供试材料

供试菊苣 (*Cichoriumintybus* L.) 品种分别为“欧

洲菊苣”、“美洲菊苣”和“黔育一号”，其中，“欧洲菊苣”与“美洲菊苣”购自北京百绿种业有限公司，“黔育一号”由贵州省草业研究所提供，均为市场上常见和广泛种植的代表品种。菊苣培养营养液采用 Hoagland’s 营养液^[15]。

1.2 实验设计

水培实验于 2018 年 12 月至 2019 年 3 月在河南农业大学资源与环境学院水培实验室进行。选取籽粒饱满、大小均一的上述 3 个品种菊苣种子，先后分别用 15% H₂O₂ 浸泡 15 min，再用蒸馏水完全洗净后放入 30℃ 左右的温水中浸泡 20 min，而后均匀放入装有少量水的专用育苗盘内，置于 25℃ 恒温培养箱暗培养 72 h 后转入人工气候室。待菊苣长到两叶一心时，选取长势一致的菊苣幼苗移到 1/8 Hoagland’s 营养液

8 cm) 进行培养。塑料盒上盖有带均匀小圆孔的黑色泡沫塑料板，将菊苣幼苗用海绵固定于小圆孔内。每间隔 3 d，随菊苣幼苗长势增大，逐步将营养液浓度调整为 1/4、1/2 和全量 Hoagland’s 浓度。水培试验均在人工气候室进行，昼夜时间 16 h/8 h，昼夜温度为 25℃/20℃，相对湿度为 60% ~ 70%。

菊苣幼苗在营养液中生长 12 d 后，开始浇灌添加不同浓度镉 (0、5、10、25、50、100、200 μmol/L，镉以 CdCl₂ 形式添加) 的 Hoagland’s 完全培养液，使镉胁迫程度为低 (5、10 μmol/L)、中 (25、50 μmol/L)、高 (100 μmol/L) 和严重 (200 μmol/L) 4 个等级。每 3 d 更换一次营养液，同时控制营养液的 pH 值在 6.0 左右 (图 1)。每个处理 5 个重复，共计 105 盆。此外，于菊苣生长期间每 2 d 随机调整水培盒的位置，降低实验误差。

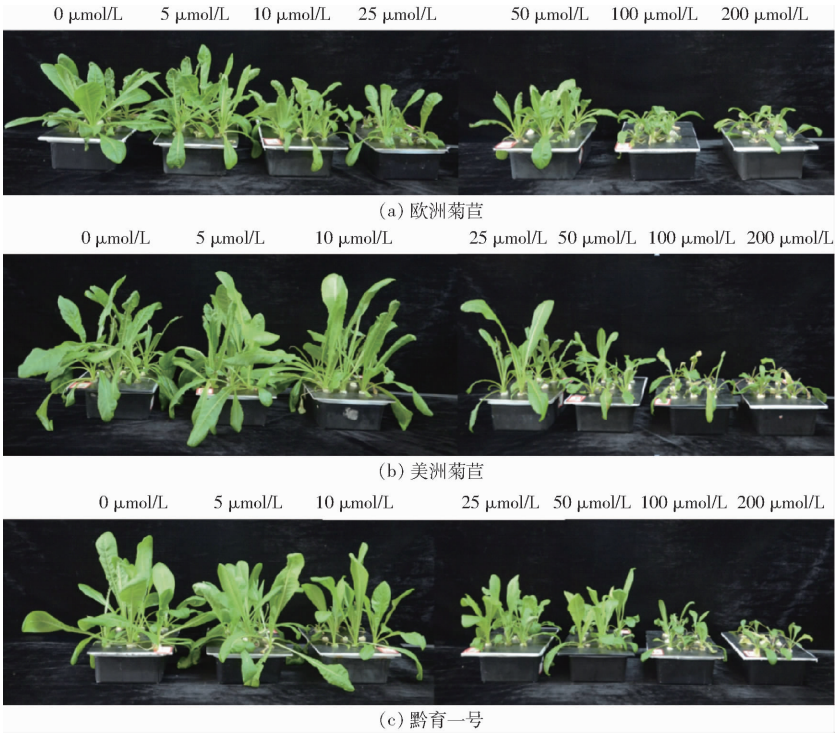


图 1 不同镉胁迫下菊苣生长照片
Fig. 1 Photographs of chicory under different Cd stress conditions

1.3 测定指标与方法

1.3.1 菊苣叶片原位高光谱

分别于菊苣六叶期 (2019 年 1 月 20 日) 和十叶期 (2019 年 2 月 3 日)，采用美国 ASD (Analytical spectral devices) 公司生产的 FieldSpec Pro FR 型便携式高光谱仪，沿菊苣主茎自上而下，测定不同镉浓度胁迫下第 4 片完全展开叶中部叶片光谱反射率。该仪器测量波段范围为 350 ~ 2 500 nm，350 ~ 1 000 nm 光谱分辨率与采样间隔分别为 3 nm 和 1.4 nm，1 000 ~ 2 500 nm 分别为 10 nm 和 2 nm。测试时，利用光谱仪自带叶片夹将叶片夹持固定，采用光谱探

头测定叶片光谱反射率。每个重复测试 4 株叶片光谱，每株采集 10 条光谱曲线，将 4 株叶片光谱数据取平均后作为该重复的叶片光谱反射率。为提高光谱监测精度，增强光谱信噪比，综合两次光谱测试结果，删除 350 ~ 400 nm 和 2 400 ~ 2 500 nm 受噪声影响较大的波段，剔除后共有 2 001 个有效波段数据。

1.3.2 菊苣叶片镉质量比

上述叶片光谱测试结束后，将菊苣叶片从水培盒中取出并依次用自来水和高纯水洗涤、擦净，剪除根部。而后将叶片置于 105℃ 干燥箱中杀青 30 min，70℃ 干燥至质量恒定。用剪刀将样品剪碎，称取

0.20 g 置于消煮管中,采用 $\text{HNO}_3 - \text{HClO}_4$ (体积比 3:1) 消化法制备待测液,原子吸收分光光度计 (AAS,ZEEnit70d0, Analytikjena, 德国) 测定叶片镉质量比 (mg/kg)。

1.4 数据处理与分析

1.4.1 建模集与验证集划分

综合分析菊苣品种的代表性及稳定性,同时考虑到数据变化范围与模型构建的稳定性和普适性,将本实验所获取 210 个样本数 (3 个菊苣品种、7 个镉胁迫处理、5 次重复和 2 次生育期数据采集) 按 2:1 划分为建模集和验证集两部分,计算分析两数集平均值、标准差 (SD) 和变异系数 (CV,%)。其中,“欧洲菊苣”和“黔育一号”两品种实验所采集数据用于构建光谱监测模型 ($n = 140$),“美洲菊苣”实验数据则为验证集 ($n = 70$)。

此外,为进一步验证上述所构建模型的鲁棒性,明确镉胁迫下菊苣叶片光谱响应特征及建立精准度较高的光谱监测模型。在上述实验基础上,采用同样水培装置及方法,于 2019 年 3 月再次布置 9 个菊苣品种独立验证实验 (普那、欧洲、美洲、黔育一号、将军、香槟、益丰、阔叶和奥利维亚菊苣),镉胁迫浓度设为 $50 \mu\text{mol/L}$,5 次重复,分别于六叶期和十叶期沿菊苣主茎自上而下测试第 4 片完全展开叶片光谱反射率和镉质量比,以检验前期所构建模型的准确性能 ($n = 90$)。

1.4.2 一阶微分光谱变换

对原始光谱 (R) 进行变换是降低环境噪声干扰,提高光谱信噪比和光谱监测精度的有效措施。一阶微分 (First derivative reflectance, FDR) 光谱是目前应用十分广泛且行之有效的光谱变换方法。研究表明,作物叶片原始光谱 (R) 经 FDR 变换后可有效降低基线或其它环境背景干扰,弱化混合重叠峰,增强特征波段信息强度与分辨率,提高光谱诊断灵敏度^[16]。此外,FDR 光谱还可有效消除部分线性或接近线性的噪声光谱对目标光谱的影响,提高光谱监测识别度,其反射率计算公式为^[17]

$$R'(\lambda_i) = \frac{R(\lambda_{i+3}) - R(\lambda_{i-2})}{\Delta\lambda} \tag{1}$$

式中 λ_i ——波段 i 波长, nm

$R'(\lambda_i)$ ——一阶微分光谱反射率

$\Delta\lambda$ ——波长 λ_{i+3} 到 λ_{i-2} 的间隔

本实验利用 Matlab R2012a 软件对所获取菊苣叶片原始光谱 (R) 进行 FDR 变换,光谱间隔设置为 5。

1.4.3 模型构建与应用

为有效分析菊苣叶片镉质量比与其原位高光谱反射率间定量关系,明确不同镉浓度胁迫下光谱响

应特征并构建定量监测模型,本研究首先以菊苣叶片原始光谱 (R) 和 FDR 光谱为自变量,以镉质量比为因变量,分别采用逐步回归 (Stepwise regression, SWR)、主成分回归 (Principal component regression, PCR) 和偏最小二乘回归 (Partial least square, PLS) 统计方法研究两者间关系,确定最佳监测模型。

SWR 分析目前应用较多并可有效解决自变量间存在的多重共线性问题,其公式为

$$Y_i = \beta_1 + \beta_2 X_{2i} + \beta_3 X_{3i} + \cdots + \beta_n X_{ni} \tag{2}$$

式中 $\beta_1, \beta_2, \cdots, \beta_n$ 为回归系数; $X_{2i}, X_{3i}, \cdots, X_{ni}$ 为回归分析自变量。SWR 主要思想是对每个逐步引入的自变量进行 F 检验,并对已引入自变量进行 t 检验,当已引入自变量由于新变量的引入而变得不显著时,则将引入变量剔除。

PCR 分析则从海量高光谱数据中寻求对应变量影响较大的主控因子并构建定量回归方程,回归方程公式同 SWR。主成分分析中,首先将原始数据标准化并计算相关系数矩阵;其后求取相关矩阵的特征根、特征向量和方差贡献率,确定主成分数;而后使用主成分替代原始变量再次进行多元回归,公式为 $Y_k = \alpha_1 + \alpha_2 X_{2k} + \alpha_3 X_{3k} + \cdots + \alpha_n X_{nk}$;最后将原始变量代入建立主成分回归模型并进行系统分析。

PLS 分析是一种新型的多元统计分析方法,可以有效处理自变量个数 (波段数) 远大于因变量 (如镉质量比) 且自变量间具有高度多重共线性的高光谱数据。PLS 集典型相关分析、主成分分析和多元线性回归分析为一体,不仅可以降低光谱分析维数,同时又可从高维光谱数据中找到影响因变量 (镉质量比) 的主控因子,使所构建模型具有更高的鲁棒性。

模型预测精准性采用实测值与预测值间决定系数 (R^2)、均方根误差 (RMSE) 和相对分析误差 (RPD) 来表征。其中, R^2 表示模型拟合度,其值越高模型越稳定;RMSE 表示模型精确度,值越小则模型预测能力越高;RPD 则是表征光谱监测模型通用性高低的关键指标,RPD 小于 1.4 表示模型不可用,RPD 为 1.4 ~ 2.0 可用,RPD 大于 2.0 则表示模型精准度较高,通用性能好^[18]。

1.4.4 有效波段选取与应用

在确定最佳光谱监测模型基础上,从海量高维高光谱数据中筛选出能有效表征菊苣叶片镉质量比时空变化特征的有效波段或重要波段,对降低光谱分析维度,增强光谱监测时效性和准确度均具有重要意义。本文利用 PLS 分析模型中的无量纲评估指标: 变量重要性投影值 (Variable important in projection, VIP) 从全波段 (400 ~ 2 400 nm) 光谱范围

内优选出菊苣叶片镉质量比的有效波段。VIP 值可定量、快速和直观地反映出各个波段在预测因变量时的重要程度,其临界值为 1.0,VIP 越高,表示该波段预测性能越强。此外,在确定有效波段时还应遵循以下 2 个原则:所筛选有效波段应符合作物光谱营养学监测基本原理,即镉胁迫影响菊苣叶片物质和结构等生理生化指标变化,继而影响光谱吸收与反射性能;基于有效波段构建的监测模型与全波段反演模型相比其精准度不应差别过大。

同时,为深入评估所确定有效波段的鲁棒性及普适性,首先利用验证集数据对基于有效波段构建的模型进行精准度检验,同时采用 9 个品种独立实验数据进行再验证,并绘制 1:1 比例图。

利用 Excel 2007 进行基础数据输入和分析; Matlab R2012a 软件将所测叶片光谱数据进行预处理并进行模型的定量评估与有效波段选择(SWR、PCR 和 PLS);采用 Origin 8.5 软件绘图。

2 结果与分析

2.1 镉胁迫对苗期菊苣叶片镉质量比的影响

不同生育期菊苣叶片镉质量比随镉胁迫程度增加而迅速提高,该结果在 3 个品种间变化趋势相一

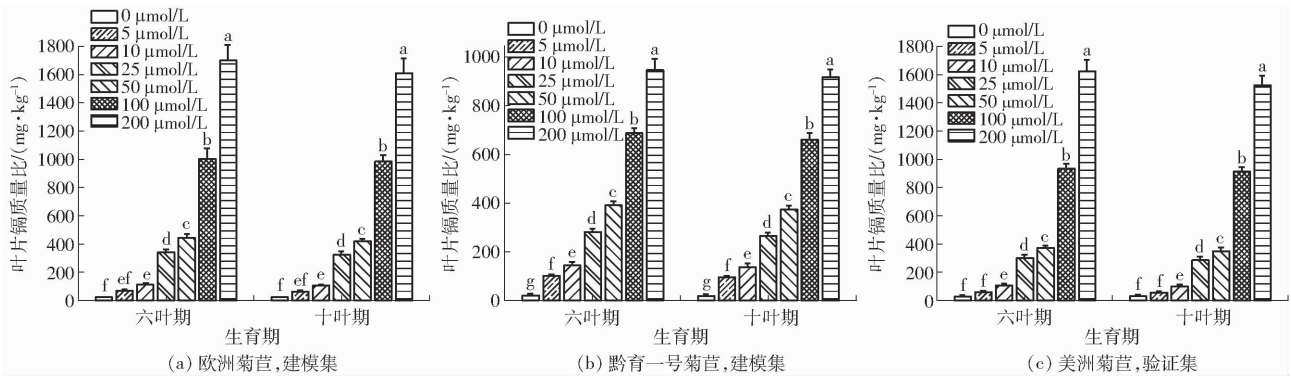


图 2 不同镉胁迫下苗期菊苣叶片镉质量分数动态变化

Fig. 2 Effects of Cd stress on dynamic variation of leaf Cd concentration of chicory at seedling stage

2.2 镉胁迫对苗期菊苣叶片高光谱变化的影响及其与镉质量比相关性分析

以建模集数据分析为例,阐释镉胁迫对菊苣叶片原位高光谱反射率变化特性的影响(图 3a、3b)及其与叶片镉质量比间定量相关关系(图 3c、3d)。结果表明,不同镉浓度胁迫下菊苣叶片光谱反射率具有明显的绿色植被光谱特征,即 400 ~ 600 nm 具有中等反射值,反射率在 0.05 ~ 0.15 之间;550 nm 附近呈现叶绿素强吸收峰,680 nm 附近具有一个较低的反射谷;800 ~ 1 300 nm 进入一个平台期,反射率高达 0.50 ~ 0.60;1 300 ~ 2 500 nm 则是水分的强吸收区,反射率变幅较大,为 0.05 ~ 0.25(图 3a、3b)。可见光区(400 ~ 715 nm),随镉胁迫程度增加,叶片

致,表明外源镉的添加可显著影响菊苣对镉的吸收与积累特性(图 2,图中同一生长期的不同字母表示各质量比间差异显著)。对于建模集数据,其叶片镉质量比变化范围为 15.6 ~ 1 802.7 mg/kg,平均值、标准差和变异系数分别为 437.2 mg/kg、460.7 mg/kg 和 105.4%,验证集数据上述 4 个指标分别为 18.4 ~ 1 702.5 mg/kg、476.9 mg/kg、536.1 mg/kg 和 112.4%。该结果显示本实验验证集菊苣叶片镉质量比数据变幅均位于建模集内,且无论建模集亦或验证集,其变异系数均大于 100%,表明两数据集均具有较高的离散度和变异性,其所表征的菊苣镉质量比具有较高的指示范围,可反映目前条件下菊苣叶片镉质量比的整体变幅。因此,本实验将“欧洲菊苣”和“黔育一号”数据用于模型构建“美洲菊苣”作为独立实验验证集具有较高的可行性和普适性,为构建高稳定性的光谱监测模型奠定了良好基础。此外,变异系数高于 100% 则说明本实验所采集数据具有强烈的变异性、数据代表性和覆盖能力,同时也显示菊苣对镉具有很高的吸收与富集能力,为筛选对镉响应敏感并具有高吸收与高积累特性的“新物种”和基于叶片原位高光谱技术实现快速、无损监测提供了参考。

光谱反射率呈下降趋势;近红外区(715 ~ 1 300 nm)低镉浓度胁迫时(0 ~ 5 μmol/L)叶片反射率相对较高,中高胁迫(10 ~ 100 μmol/L)反射率虽有差异但相对集中,严重胁迫时(200 μmol/L)叶片反射率则最低;中红外区(1 300 ~ 2 400 nm)不同镉浓度胁迫间叶片光谱反射率未表现出较为一致性变化规律。

此后,采用相关性分析的方法将建模集全波段(400 ~ 2 400 nm)原始光谱(R)和 FDR 光谱反射率与叶片镉质量比进行定量相关分析($n = 140$)并绘制决定系数曲线(R^2)(图 3c、3d)。结果发现,对于原始光谱(R),不同波段范围间其决定系数变异较大,可见光区平均决定系数为 0.286,达 99% 显著性

水平,最大值为 0.347,位于 670 nm 红光附近。此外,红(640 ~ 715 nm)、橙(640 ~ 610 nm)、黄(610 ~ 530 nm)、绿(505 ~ 525 nm)、蓝(505 ~ 470 nm)和紫(470 ~ 400 nm)光区平均决定系数分别为 0.293、0.301、0.229、0.308、0.335 和 0.307。近红外区决定系数则进入一个平台期,平均决定系数为 0.548,波段间差异不大;中红外区决定系数则呈现跳跃式

变化特征,平均值为 0.137,相对较低。相比于原始光谱(R),FDR 光谱与叶片镉质量比间相关性整体具有较大的提高,但不同波段范围间差异较大,跳跃性则更为显著,分别在 717、954、1 026、1 091、1 291、1 629、1 750 nm 处出现峰值。该结果为后续筛选能稳定反映叶片镉质量比变化特征的有效波段提供了较好的数据支撑。

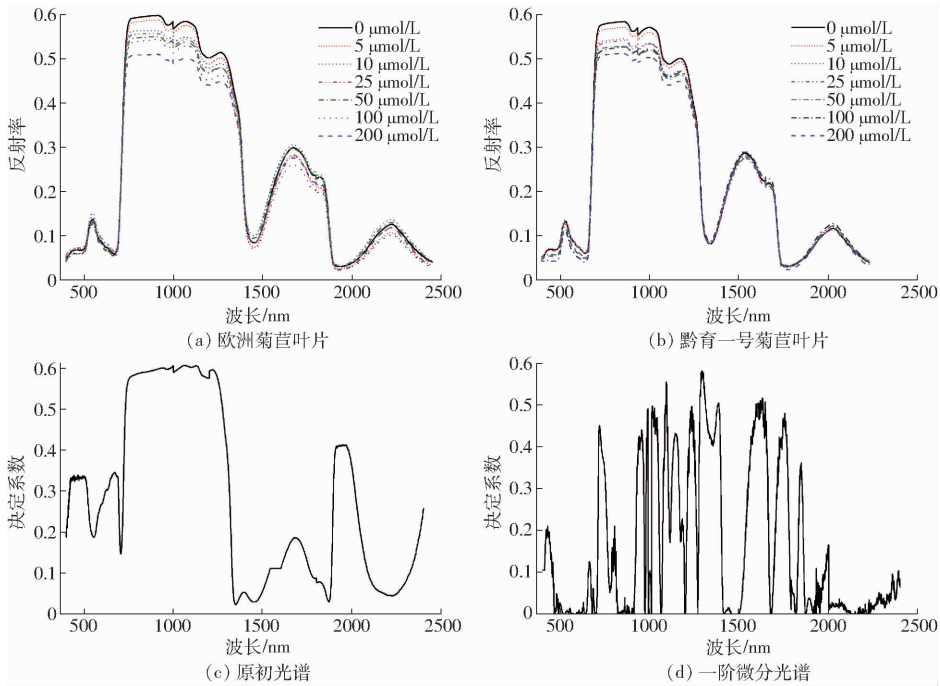


图 3 不同镉胁迫下菊苣叶片原位高光谱反射率变化特征及其与镉质量比相关性分析
Fig. 3 Effects of Cd stress on variation of *in situ* leaf spectral reflectance of chicory and correlation analysis between leaf Cd concentration and spectra

2.3 基于叶片原位高光谱的镉质量比光谱监测模型构建

为进一步探究菊苣叶片高光谱与其镉浓度间定量回归关系,构建定量反演模型,实现光谱监测的定量化。在相关性分析基础上,以叶片原始光谱(R)和 FDR 光谱为自变量,镉浓度为因变量,分别采用逐步回归(SWR)、主成分回归(PCR)和偏最小二乘回归(PLS)的整体光谱分析技术定量表征两者间关系(表 1)。结果表明,与叶片原始光谱(R)光谱相比,对光谱进行一阶微分变换后(FDR)对叶片镉质量比预测性能明显提高。对于建模集,SWR、PCR 和 PLS 3 种模型采用光谱(R)的 RPD 分别为 2.51、3.45 和 4.03,虽然预测性能均较理想,但与 FDR 光谱相比,RPD 值仍分别降低 23.7%、6.8% 和 63.2%;验证集原始光谱(R)采用 SWR 模型 RPD 仅为 0.82,稳定性较差,PCR 和 PLS 的 RPD 也仅在 2.0 左右,与 FDR 3 种光谱预测模型 RPD 值的 1.66、2.54 和 2.96 相比,表现出较大的差异性。不同光谱预测模型间,无论原始光谱(R)亦或 FDR 光

谱,建模集亦或验证集,其变化趋势均由小到大表现为 SWR、PCR、PLS,如对于 FDR-PLS 菊苣叶片镉质量比光谱监测模型,建模集和验证集决定系数(R^2)分别高达 0.99、0.92,相对分析误差(RPD)则分别为 10.95、2.96。综上,本文采用基于 FDR-PLS 的光谱定量监测模型来深入分析菊苣叶片镉质量比与其光谱反射率间关系,揭示指示镉质量比时空变化的稳定特征波段,实现光谱镉胁迫监测的便捷化和无损化。

2.4 基于 FDR-PLS 监测模型的叶片镉质量比特征波段确定

2.4.1 主成分因子权重分析

在确定 FDR-PLS 光谱诊断模型来定量监测菊苣叶片镉质量比后,明晰该模型中各波段权重或载荷效应对有效明确不同自变量(X ,400 ~ 2 400 nm 光谱反射率)对因变量(Y ,叶片镉质量比)总体潜在影响的重要性,阐明不同 X 对 Y 总体潜在影响比重,对快速筛选出叶片镉质量比的有效波段具有重要意义。本实验中,基于 FDR-PLS 的光谱监测模

表 1 基于原初和一阶微分光谱的菊苣叶片镉质量比高光谱不同监测模型对比分析

Tab.1 Comparison of results analyzed by different models for chicory leaf Cd concentration prediction based on raw spectral reflectance and the first derivative reflectance

模型	建模集						验证集					
	原始光谱(R)			一阶微分光谱(FDR)			原始光谱(R)			一阶微分光谱(FDR)		
	R^2	RMSE/ ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	RPD	R^2	RMSE/ ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	RPD	R^2	RMSE/ ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	RPD	R^2	RMSE/ ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	RPD
SWR	0.85	183.6	2.51	0.94	139.9	3.29	0.72	655.8	0.82	0.84	323.0	1.66
PCR	0.93	133.5	3.45	0.93	124.4	3.70	0.79	262.6	2.04	0.86	211.0	2.54
PLS	0.95	114.3	4.03	0.99	42.1	10.95	0.86	228.7	2.34	0.92	181.3	2.96

型中主成分 1 和主成分 2(PC1 和 PC2)可有效解释光谱自变量和叶片镉质量比因变量的信息 61.3% 与 61.5%,其不同镉胁迫对菊苣叶片镉质量比影响的效应载荷和权重如图 4 所示。对于 PC1,各波段

权重绝对值较高的波长分别位于 659、717、954、1 026、1 093、1 234、1 295、1 630、1 745、1 845 nm,PC2 则分别为 503、604、659、979、1 026、1 075、1 255、1 405、1 943 nm,两者出现较多的波段重合或邻近。

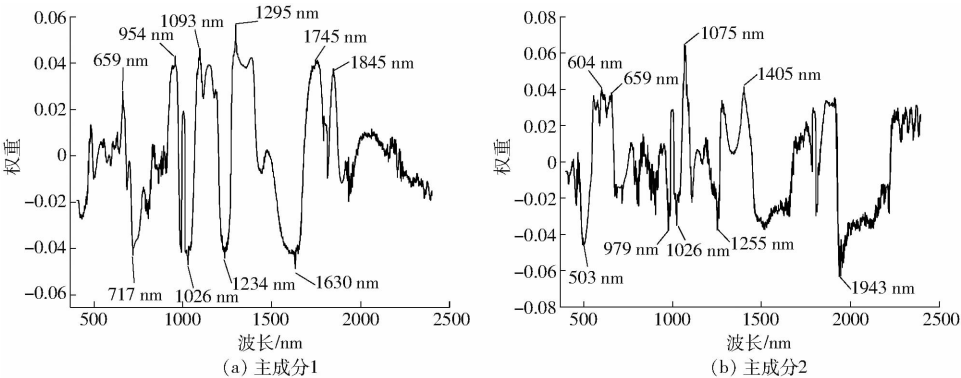


图 4 基于 FDR-PLS 的菊苣叶片镉质量比监测模型主成分 1 与主成分 2 各波长权重
Fig.4 Loading weights over wavelengths for the 1st and 2nd principal component (PC1 and PC2) of FDR-PLS model for chicory leaf Cd concentration prediction

2.4.2 基于 FDR-PLS 分析的叶片镉质量比有效波段确定

明确了菊苣叶片镉质量比最优光谱监测模型(FDR-PLS)和各波段权重之后,为进一步筛选菊苣叶片镉质量比快速反演的有效波段,降低光谱诊断复杂度,提高光谱分析便捷性和时效性,采用 PLS 模型中的定量评价指标:变量重要性投影值(VIP)的研究方法,分别计算全光谱中(400~2 400 nm)各波段对菊苣叶片镉质量比影响大小的 VIP 值(图 5)。VIP 临界值通常为 1.0,本研究中由于高于 1.0 的特征波段较多且十分集中,难以有效区分和筛选,因此以 VIP 取 2.5 为菊苣叶片镉质量比有效波段选取的临界值。基于此,确定菊苣叶片镉质量比有效波长分别为 659(红光)、725(红边)、907、1 026、1 112、1 255(近红外)、1 630 nm(中红外),该结果与上述主成分因子效应载荷分析 PC1 和 PC2 中各波段权重绝对值较大的特征波段相吻合,进一步说明本有效波段选择的可靠性与稳定性,同时也为作物镉胁迫的快速和精准监测提供了实验参考和理论依据。

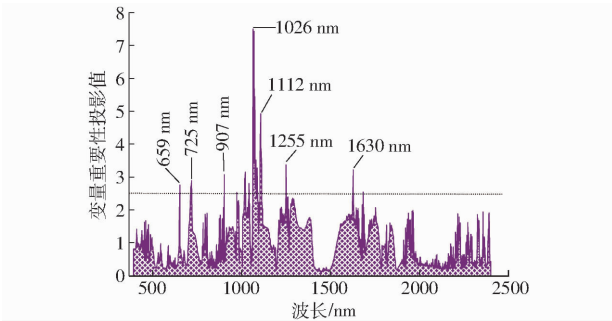


图 5 基于 FDR-PLS 监测模型的菊苣叶片镉质量比有效波段确定
Fig.5 VIP for each wavelength based on FDR-PLS model for chicory leaf Cd concentration prediction

2.5 基于有效波段的模型验证

2.5.1 独立验证集验证

基于 VIP 分析方法确定菊苣叶片镉质量比有效波段,使光谱监测波段维数由 2 401 个减为 7 个,极大降低了光谱分析的复杂性。为进一步检验基于上述有效波段所构建 FDR-PLS 模型在预测镉质量比时的准确度,利用“美洲菊苣”独立实验数据对上述模型进行再次验证,以 R^2 、RMSE 和 RPD 来综合评

价模型的鲁棒性,并绘制 1:1 比例图来直观展示新 FDR - PLS 模型的精准性(图 6)。与全波段 FDR - PLS 光谱监测模型相比,采用降维后基于有效波段新构建 FDR - PLS 模型预测性能虽有所降低,但仍具有较强的精准度,建模集和验证集决定系数分别

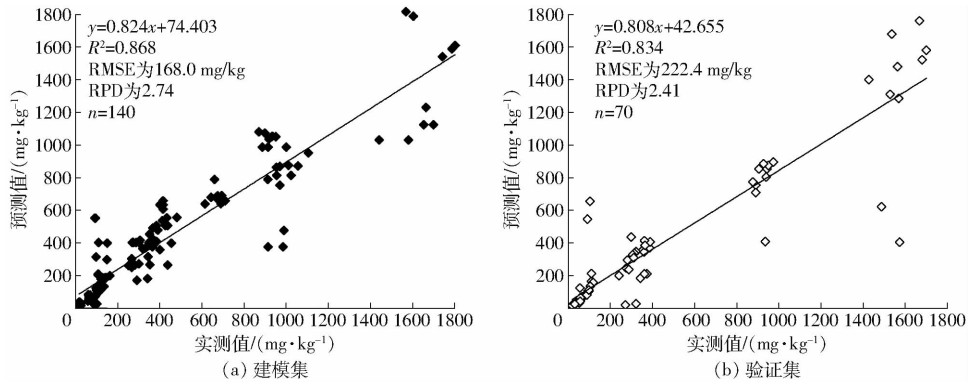


图 6 基于有效波段的菊苣叶片镉质量比独立验证集实验模型精度验证

Fig. 6 Revalidation of models for chicory leaf Cd concentration prediction from validation dataset based on effective wavelengths

2.5.2 不同菊苣品种实验再验证

在上述验证基础上,再次采用目前市场上常见的 9 个菊苣品种在 50 $\mu\text{mol/L}$ 镉胁迫时的独立实验数据,进一步检验基于有效波段所构建 FDR - PLS 模型在预测镉质量比时的稳定性(图 7)。结果表明,独立实验验证集 R^2 、RMSE、RPD 分别为 0.817、13.0 mg/kg、1.77,生物学意义为基于有效波段新构建 FDR - PLS 模型的实测镉质量比可以解释 81.7% 的预测集,其误差为 13.0 mg/kg,效果较为理想,满足模型预测准确度需求。但同时也应看到,验证集 RPD 为 1.77,位于 1.40 ~ 2.0 范围,表示模型的精确性符合“可接受”范畴但仍有进一步提高空间。综上分析,本实验所确定菊苣叶片光谱定量监测模型(FDR - PLS)和 7 个有效波段具有较强的精准度和可利用性,为开展作物外源重金属胁迫的高光谱快速及无损监测提供了参考与借鉴。

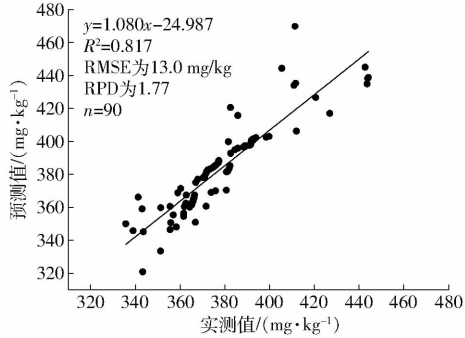


图 7 基于有效波段的菊苣叶片镉质量比不同菊苣品种实验集模型精度验证

Fig. 7 Revalidation of models for leaf Cd concentration prediction from nine chicory varieties experiment based on effective wavelengths

为 0.868 与 0.834,相对分析误差(RPD)则分别为 2.74 和 2.41,符合模型稳定监测的标准及需求。该结果表明本实验所采用光谱分析技术和优选有效波段是可行和可靠的,具有很强的代表性与应用性。

3 讨论

3.1 镉胁迫对菊苣叶片高光谱反射率变化特性影响的营养机制

研究表明,镉胁迫对作物生长发育具有极强的危害性,较低浓度镉即对植株幼苗光合色素(叶绿素 a、叶绿素 b 和类胡萝卜素等)与叶片结构(生物量、叶面积、叶片解剖参数等)产生明显的毒害作用,而两者则是影响叶片光谱变化的最关键因素^[19-21]。本实验中,不同浓度重金属镉胁迫下菊苣叶片光谱反射率表现出较大的差异性,尤其是在可见光至近红外区(400 ~ 1 300 nm)(图 3)。与金铭^[22]研究结论相一致,随镉胁迫程度加剧,3 个菊苣品种叶片光谱反射率均表现为叶绿素强吸收带深度变浅,550 nm 附近光谱反射率降低;近红外区叶片光谱对镉胁迫具有敏感响应,主要是由于 Cd^{2+} 进入植物体后首先在细胞壁产生积累,而后与膜蛋白亲离子基相结合,继而引起膜结构、细胞解剖结构和叶片宏观长势发生改变,影响光在叶片及细胞间传输路径,继而在光谱上形成了反射率不同的波谱曲线。以“欧洲菊苣”为例,六叶期 0、5、10、25、50、100、200 $\mu\text{mol/L}$ 镉浓度下其叶绿素含量平均为 1.64、1.51、1.47、1.28、1.11、0.83、0.54 mg/g,地上部叶片鲜质量则分别为 10.84、9.68、9.18、5.15、2.14、1.31、0.87 g/株,差异显著。1 300 nm 之后中红外区不同镉浓度下叶片光谱反射率变化趋势则不尽一致,主要原因是由于虽然镉胁迫对菊苣长势产生了明显影响,但处理间叶片含水率(本实验中,菊苣叶片含水率均在 86% ~ 91% 之间)相比于叶片色素和生

物量差异则不明显,而该区域又是水的强吸收带^[23]。

3.2 菊苣镉胁迫高光谱监测的稳定模型构建

相比于逐步回归 (SWR) 和主成分回归 (PCR) 分析,基于偏最小二乘回归 (PLS) 的菊苣叶片镉质量比定量监测模型无论是原始光谱 (R) 亦或 FDR 光谱,其准确度 (R^2) 和精确度 (RMSE 和 RPD) 表现均相对最优 (表 1)。研究认为,PLS 是集典型相关分析、主成分分析和多元线性回归分析为一体的新型多元统计分析方法,能够有效利用所有自变量信息构建高鲁棒性预测模型^[24]。同时,PLS 能够有效抑制或避免多个自变量间的共线性问题,优化变量信息,最大化自变量和因变量间的共线性,特别适合于自变量数较高且明显多于因变量的光谱数据分析^[25]。光谱变换方式间,采用 FDR-PLS 的菊苣叶片镉质量比预测性能则明显优于 R-PLS,主要原因可能是由于 FDR 处理有效降低了背景环境中空气吸收和散射对目标光谱的影响,且 FDR 还可部分去除线性或接近线性背景、噪声光谱对实验结果的影响^[26-27],该结果与笔者前期对其他作物研究结论均一致^[28],进一步表明采用 FDR-PLS 模型在预测菊苣镉质量比时的可行性与可靠性。

3.3 菊苣镉胁迫高光谱监测的有效波段确定

在明确重金属镉胁迫光谱响应特征及构建稳定监测模型基础上,寻求能稳定预测镉胁迫程度及镉浓度时空变化的特征波段或有效波段,对提高光谱诊断时效性和分析效率,降低开发便携式光谱监测仪器成本等均具有重要意义。本研究中,基于 FDR-PLS 中各波段 VIP 值,确定菊苣叶片镉质量比有效波长为 659、725、907、1 026、1 112、1 255、1 630 nm (图 5)。其中,659、725 nm 波长位于可见光区的“红边”范围,该区域是由于作物叶绿素强吸收和叶片结构的高反射所致,是指示作物镉胁迫程度、营养状况及群体结构的重要波段^[29-30]; 907、1 026、1 112、1 255 nm 波长则位于近红外区,是反映作物结构特性的关键波段。本实验中,随镉胁迫程度增加,菊苣植株变小,茎秆纤细,叶面积和叶片厚度均明显降低,显著影响叶片对光的吸收与利用性能,而上述特征变化在光谱曲线上的响应则主要集中在近红外区 (图 3)。1 630 nm 波长则位于中红外区,是

指示叶片水分状况的特征波段,虽然不同镉浓度胁迫间菊苣叶片含水率差异不大,但整体而言,随镉胁迫程度加剧其叶片呈发黄枯萎状,叶片含水率则相对较低,进一步说明基于叶片原位高光谱对反演作物镉胁迫状况的准确性与灵敏度。此外,基于上述有效波段所构建 FDR-PLS 模型仍然获得了相对较好的预测性能,独立验证集和品种验证相对分析误差 (RPD) 分别为 2.41 与 1.77,表明前述所确定菊苣叶片镉质量比有效波段是合理与适宜的,可以用于镉质量比的快速和准确监测 (图 6、7)。虽然本研究数据融合了多个品种与镉浓度胁迫效应,但实验的开展是在特定的室内水培条件下获得的,因此,在后续研究中可将本实验结果与土培甚至田间试验相融合,以进一步扩大本研究结果的推广应用性。

4 结 论

(1) 镉胁迫显著影响菊苣叶片镉质量比及原位高光谱反射特性。随镉胁迫程度的增加,其叶片镉质量比在 3 个供试品种间均明显提升;叶片原位高光谱反射率在可见光-近红外区 (400 ~ 1 300 nm) 则逐步降低,且近红外区处理间差异程度弱于可见光区,中红外区 (1 300 ~ 2 400 nm) 光谱反射率未表现出明显或一致性变化规律。

(2) 全波段光谱分析模型间,以基于一阶微分光谱 (FDR) 的偏最小二乘回归 (PLS) 模型预测性能表现最优,即 FDR-PLS,其独立验证集决定系数 (R^2)、均方根误差 (RMSE) 和相对分析误差 (RPD) 分别为 0.92、181.3 mg/kg 和 2.96,满足模型精准预测需求。

(3) 在明确菊苣叶片镉质量比最佳预测模型 FDR-PLS 后,根据各波段无量纲评价指标 VIP 值,确定其特征波长分别为 659、725、907、1 026、1 112、1 255、1 630 nm,实现了光谱便捷和高效分析的目的。此后,基于上述有效波长构建 FDR-PLS 监测模型,其独立验证集 R^2 、RMSE、RPD 分别为 0.834、222.4 mg/kg 和 2.41,9 个供试品种验证集 R^2 、RMSE、RPD 则分别为 0.817、13.0 mg/kg 和 1.77,预测效果较为理想。

参 考 文 献

[1] YUAN G L, SUN T H, HAN P, et al. Source identification and ecological risk assessment of heavy metals in topsoil using environmental geochemical mapping: typical urban renewal area in Beijing, China [J]. Journal of Geochemical Exploration, 2014, 136(1): 40-47.

[2] KULAEVA O A, TSYGANOV V E. Molecular-genetic basis of cadmium tolerance and accumulation in higher plants [J]. Russian Journal of Genetics: Applied Research, 2011, 1(5): 349-360.

[3] 孙俊,张跃春,毛罕平,等. 基于计算机视觉的土壤镉胁迫生菜叶片污染响应分析[J/OL]. 农业机械学报,2018,49(3): 166-172.

SUN Jun, ZHANG Yuechun, MAO Hanping, et al. Responses analysis of lettuce leaf pollution in cadmium stress based on

- computer vision [J/OL]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2018, 49(3): 166–172. http://www.j-csam.org/jcsam/ch/reader/view_abstract.aspx?flag=1&file_no=20180320&journal_id=jcsam. DOI: 10.6041/j.issn.1000-1298.2018.03.020. (in Chinese)
- [4] 李苑溪, 陈锡云, 罗达, 等. 铜胁迫下玉米叶片反射光谱的红边位置及其与叶绿素的关系 [J]. 光谱学与光谱分析, 2018, 38(2): 546–551.
- LI Yuanxi, CHEN Xiyun, LUO Da, et al. Effects of cuprum stress on position of red edge of maize leaf reflection hyperspectra and relations to chl_a content [J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2018, 38(2): 546–551. (in Chinese)
- [5] FENG X P, CHEN H M, CHEN Y, et al. Rapid detection of cadmium and its distribution in *Miscanthus sacchariflorus* based on visible and near-infrared hyperspectral imaging [J]. Science of the Total Environment, 2019, 659: 1021–1031.
- [6] 李旭青, 李龙, 庄连英, 等. 基于小波变换和 BP 神经网络的水稻冠层重金属含量反演 [J/OL]. 农业机械学报, 2019, 50(6): 226–231.
- LI Xuqing, LI Long, ZHUANG Lianying, et al. Inversion of heavy metal content in rice canopy based on wavelet transform and BP neural network [J/OL]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2019, 50(6): 226–231. http://www.j-csam.org/jcsam/ch/reader/view_abstract.aspx?file_no=20190625&flag=1&journal_id=jcsam. DOI: 10.6041/j.issn.1000-1298.2019.06.025. (in Chinese)
- [7] 王晓娟, 王文斌, 杨龙, 等. 重金属镉(Cd)在植物体内的转运途径及其调控机制 [J]. 生态学报, 2015, 35(23): 7921–7929.
- WANG Xiaojuan, WANG Wenbin, YANG Long, et al. Transport pathways of cadmium (Cd) and its regulatory mechanisms in plant [J]. Acta Ecologica Sinica, 2015, 35(23): 7921–7929. (in Chinese)
- [8] WATANABE T, BROADLEY M R, JANSEN S, et al. Evolutionary control of leaf element composition in plants [J]. New Phytologist, 2007, 174(3): 516–523.
- [9] DAUD M K, MEI L, AZIZULLAH A, et al. Leaf-based physiological, metabolic, and ultrastructural changes in cultivated cotton cultivars under cadmium stress mediated by glutathione [J]. Environmental Science and Pollution Research, 2016, 23(15): 15551–15564.
- [10] 关丽, 刘湘南. 水稻镉污染胁迫遥感诊断方法于试验 [J]. 农业工程学报, 2009, 25(6): 168–173.
- GUAN Li, LIU Xiangnan. Experimental research on remote sensing diagnosis method of Cd pollution stress in rice [J]. Transactions of the CSAE, 2009, 25(6): 168–173. (in Chinese)
- [11] RATHOD P H, BRACKHAGE C, MEER F D V D, et al. Spectral changes in the leaves of barely plant due to phytoremediation of metals- results from a pot study [J]. European Journal of Remote Sensing, 2015, 48(3): 283–302.
- [12] ABDEL-RAHMAN E M, MUTANGA O, ODINDI J, et al. Estimating Swiss chard foliar macro- and micronutrient concentrations under different irrigation water sources using ground-based hyperspectral data and four partial least squares (PLS)-based (PLS1, PLS2, SPLS1 and SPLS2) regression algorithms [J]. Computers and Electronics in Agriculture, 2017, 132: 21–33.
- [13] KAHRIMAN F, DEMIREL K, INALPULAT M, et al. Using leaf based hyperspectral models for monitoring biochemical constituents and plant phenotyping in maize [J]. Journal of Agricultural and Science and Technology, 2016, 18(6): 1705–1718.
- [14] LIU Yaolin, CHEN Hui, WU Guofeng, et al. Feasibility of estimating heavy metal concentrations in *Phragmites australis* using laboratory-based hyperspectral data—a case study along Le'an River, China [J]. International Journal of Applied Earth Observation and Geoinformation, 2010, 12(Supp. 2): 166–170.
- [15] HOAGLAND D R, ARNON D I. The water culture method for growing plants without soil [M]. Circular; California Agricultural Experiment Station, 1950: 347.
- [16] 于雷, 洪永胜, 耿雷, 等. 基于偏最小二乘回归的土壤有机质含量高光谱估算 [J]. 农业工程学报, 2015, 31(14): 103–109.
- YU Lei, HONG Yongsheng, GENG Lei, et al. Hyperspectral estimation of soil organic matter content based on partial least squares regression [J]. Transactions of the CSAE, 2015, 31(14): 103–109. (in Chinese)
- [17] 黄敬峰, 王福民, 王秀珍. 水稻高光谱遥感实验研究 [M]. 杭州: 浙江大学出版社, 2010.
- [18] WANG S Q, LI W D, LI J, et al. Prediction of soil texture using FT–NIR spectroscopy and PXRF spectrometry with data fusion [J]. Soil Science, 2013, 178(11): 626–638.
- [19] 詹金熹, 陶宗娅, 罗学刚, 等. 菊苣幼苗对铯、镉的生理响应 [J]. 农业环境科学学报, 2013, 32(5): 902–909.
- ZHAN Jinxi, TAO Zongya, LUO Xuegang, et al. The physiological response of *Cichoriumintybus* L. seedlings to treatments with cesium and cadmium [J]. Journal of Agro-Environment Science, 2013, 32(5): 902–909. (in Chinese)
- [20] AI J Q, CHEN Q H, ZHANG L J, et al. Hyperspectral remote sensing estimation models for foliar photosynthetic pigment contents at canopy level in an invasive species, *Spartina alterniflora* [J]. Acta Ecologica Sinica, 2015, 35(4): 1175–1186.
- [21] LU X A, MARTINKA M, VACULIK M, et al. Root response to cadmium in the rhizosphere: a review [J]. Journal of Experimental Botany, 2011, 62(1): 21–37.
- [22] 金铭. 水稻镉污染胁迫高光谱分形模型研究 [D]. 北京: 中国地质大学, 2011.
- [23] MAIMAITIYIMING M, GHULAM A, BOZZOLO A, et al. Early detection of plant physiological response to different levels of water stress using reflectance spectroscopy [J]. Remote Sensing, 2017, 9(7): 745.
- [24] PULLANAGARI R R, YULE I J, TUOHY M P, et al. In-field hyperspectral proximal sensing for estimating quality parameters of mixed pasture [J]. Precision Agriculture, 2012, 13(3): 351–369.
- [25] LI X C, ZHANG Y J, BAO Y S, et al. Exploring the best hyperspectral features for LAI estimation using partial least squares regression [J]. Remote Sensing, 2014, 6(7): 6221–6241.
- [26] 浦瑞良, 宫鹏. 高光谱遥感及其应用 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2000.
- [27] SMITH K L, STEVEN M D, COLLS J J. Use of hyperspectral derivative ratios in the red-edge to identify plant stress response to gas leaks [J]. Remote Sensing of Environment, 2004, 92(2): 207–217.
- [28] 李岚涛, 汪善勤, 任涛, 等. 基于高光谱的冬油菜叶片磷含量诊断模型 [J]. 农业工程学报, 2016, 32(14): 209–218.
- LI Lantao, WANG Shanqin, REN Tao, et al. Evaluating models of leaf phosphorus content of winter oilseed rape based on hyperspectral data [J]. Transactions of the CSAE, 2016, 32(14): 209–218. (in Chinese)
- [29] ZHU L H, CHEN Z X, WANG J J, et al. Monitoring plant response to phenanthrene using red edge of canopy hyperspectral reflectance [J]. Marine Pollution Bulletin, 2014, 86(1–2): 332–341.
- [30] LI L T, LU J W, WANG S Q, et al. Methods for estimating leaf nitrogen concentration of winter oilseed rape (*Brassica napus* L.) using *in situ* leaf spectroscopy [J]. Industrial Crops and Products, 2016, 91: 194–204.