

基于智能手机水稻叶色的最佳测试位置的确定及RGB值与SPAD值的关系

任红军^{1*}, 许桂玲¹, 冯跃华^{1,2#}, 梁涛¹, 王晓珂¹, 宋正丽¹, 郭彦君¹, 卢林亚¹, 龙天雨¹,
Phonenasay Somsana¹, Latif Muhammad Usama¹

¹贵州大学农学院, 贵州 贵阳

²贵州大学山地植物资源保护与种质创新教育部重点实验室, 贵州 贵阳

收稿日期: 2023年5月28日; 录用日期: 2023年7月11日; 发布日期: 2023年7月19日

摘要

为探明水稻叶色的最佳测试位置, 最佳的颜色特征参数, 并构建颜色特征参数与SPAD值的关系模型。利用叶绿素计(SPAD-502型)获取叶片的SPAD值及智能手机获取的颜色空间RGB值, 分析叶片各测试位置的SPAD值之间的关系及颜色特征参数与SPAD值之间的关系。结果表明, 水稻叶片中间1/2及上下3 cm处的SPAD值的平均值与整片叶的SPAD值平均值相关系数最高; 水稻叶片两侧SPAD值的平均值、标准差、变异系数的大小分别为, 光滑侧 > 粗糙侧、光滑侧 < 粗糙侧、光滑侧 < 粗糙侧, 正背面接近1:1关系; 颜色特征参数G-B值与SPAD值的相关性最好, 并构建函数关系模型, $Y_{SPAD} = -0.4541X_{G-B} + 64.4618$ ($n = 48$, $df = 45$, $R^2 = 0.7475$, $F = 133.2052$, $p < 0.01$)。综上, 基于智能手机的颜色识别器测量水稻叶色, 能为代替价格昂贵、性价比低、操作繁琐等仪器的水稻氮营养监测提供新方法。

关键词

水稻, SPAD值, 智能手机, RGB值

Determination of the Optimal Testing Location for Rice Leaf Color Based on Smartphones and the Relationship between RGB Value and SPAD Value

Hongjun Ren^{1*}, Guiling Xu¹, Yuehua Feng^{1,2#}, Tao Liang¹, Xiaoke Wang¹, Zhengli Song¹,
Yanjun Guo¹, Linya Lu¹, Tianyu Long¹, Phonenasay Somsana¹, Latif Muhammad Usama¹

*第一作者。

#通讯作者。

文章引用: 任红军, 许桂玲, 冯跃华, 梁涛, 王晓珂, 宋正丽, 郭彦君, 卢林亚, 龙天雨, Phonenasay Somsana, Latif Muhammad Usama. 基于智能手机水稻叶色的最佳测试位置的确定及 RGB 值与 SPAD 值的关系[J]. 有机化学研究, 2023, 11(3): 109-115. DOI: 10.12677/jocr.2023.113011

¹ College of Agronomy, Guizhou University, Guiyang Guizhou

² Laboratory of Plant Resource Conservation and Germplasm Innovation in Mountainous Region (Ministry of Education), Guizhou University, Guiyang Guizhou

Received: May 28th, 2023; accepted: Jul. 11th, 2023; published: Jul. 19th, 2023

Abstract

To identify the optimal testing location and color feature parameters for rice leaf color, and to construct a relationship model between color feature parameters and SPAD values, a chlorophyll meter (SPAD-502 type) was used to obtain the SPAD value of leaves and the RGB value of color space obtained by a smartphone to analyze the relationship between SPAD values at various test positions of leaves and the relationship between color feature parameters and SPAD values. The results showed that the correlation coefficient between the average SPAD values at the middle 1/2 and upper and lower 3cm of rice leaves and the average SPAD values of the entire leaf was the highest. The average value, standard deviation, and coefficient of variation of SPAD values on both sides of rice leaves are as follows: smooth side > rough side, smooth side < rough side, smooth side < rough side, with a close 1:1 relationship between the front and back sides. The correlation between the color feature parameter G-B value and SPAD value is the best, and a functional relationship model is constructed, $Y_{SPAD} = -0.4541X_{G-B} + 64.4618$ ($n = 48$, $df = 45$, $R^2 = 0.7475$, $F = 133.2052$, $p < 0.01$). In summary, color recognition devices based on smartphones can provide a new method for monitoring rice nitrogen nutrition, replacing expensive, cost-effective, and cumbersome instruments.

Keywords

Rice, SPAD Value, Smartphone, RGB Value

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

叶绿素计(SPAD-502)用于快速测定叶绿素的相对含量,进而诊断作物的氮素营养状况,并已在水稻上进行了大量的研究[1]。李刚华等[2]指出,利用叶绿素仪进行田间测定时,一定要注意叶片位点的选择,但研究者在最佳的水稻叶片测试位点的观点有所差异。贾良良等[3]认为,距离水稻叶基部 1/2 处是最佳的测试位置;王绍华等[4]认为是距叶尖的 1/3 处;郭晓艺等[5]则认为,不同水稻叶片选择测试位置不同。此外, Peng 等[6]以水稻叶基部 1/2 处及上下 3 cm 位置的平均值代替整片叶的 SPAD 值的平均值;徐梅宣等[7]则认为水稻叶 1/2 处、叶基部的 1/3 处、叶尖部的 1/3 处的平均值可以代表整片叶的 SPAD 值。前人在研究 SPAD 计测试水稻叶片的位置时,缺乏统一性且主要关注的是叶片的长度位置,而对水稻叶片两侧的确定的考虑较少。Yuan 等[8]、李杰等[9]研究表明,水稻叶片两侧 SPAD 值有所差异。因此,在利用水稻叶色进行氮素营养诊断时,不仅要注意叶片长度上位点的选择,同时还应考虑叶片两侧叶色的差异。

虽然 SPAD 计能快速的诊断水稻氮营养丰缺,但因其仪器价格昂贵、性价比低、操作繁琐,在推广应用时受到了一定限制。因此,一些研究者在 SPAD 仪的替代物上开展了一定的研究,杨爱萍等[10]运用数码相机设备、孙爱珍等[11]运用平板扫描仪、龚刚猛等[12]运用中晶彩色扫描仪研究均表明,颜色空间 RGB

值与 SPAD 值密切相关。虽然数码相机、扫描仪等仪器一定程度上能够代替 SPAD 仪,但依然存在仪器价格较高、操作繁琐、图片处理需要较高的技术水平等问题,也难以推广应用。为此,本研究在前人大量研究的基础上,探索水稻叶色的最佳测试位置,分析基于智能手机叶片颜色空间 RGB 值与 SPAD 值的关系,以期得到一种快速、简便、精准的水稻叶色估测方法,为水稻叶色的数字化和可视化研究提供科学依据。

2. 材料与方法

2.1. 试验设计

本试验于 2022 年在贵州省黄平县旧州镇寨碧村(107°43'58.90"E, 26°59'44.59"N)的中等肥力的地块中进行。试验品种为宜香优 2115 (四川省绿丹种业有限责任公司)、Q 优 6 号(重庆中一种业有限公司) 2 个杂交籼稻品种。

2.2. 测定内容与方法

2.2.1. 水稻叶片 SPAD 值的测定

SPAD 值的测定使用由日本 Minolta 生产的 SPAD-502 型叶绿素计,于孕穗期(2022 年 7 月 24)进行测定。选取田间营养状况有差异其无病虫害的 6 穴水稻主茎,自剑叶往下 4 片叶的 SPAD 值。光滑侧背面(SB, Smooth side back),测量叶片长度的 1/2 处及(向叶基部、叶尖长度延伸)每隔 3 cm 处、其宽度的 1/2 (叶片总宽度的 1/4,下同)的 SPAD 值;光滑侧正面(SF, Smooth side front),测量其长度的 1/2、宽度的 1/2 及其离该点的上下 3 cm 处的 SPAD 值;粗糙侧背面(RB, Rough side back),测量其长度的 1/2、宽度的 1/2 及其离该点的上下 3 cm 处的 SPAD 值。SB 表示水稻叶片先展开侧、自然生长状态下对着大地面;SF 表示水稻叶片先展开侧、水稻植株自然生长状态下对着天空面;RB 表示水稻叶片后展开侧、水稻植株自然生长状态下对着大地面。

2.2.2. 颜色空间 RGB 值的获取

利用手机下载颜色识别器 APP(开发者:林志谋)实时工具栏,实时测量水稻叶片 SB 长度的 1/2、宽度 1/2 及其离该点的上下 3 cm 处的颜色空间 RGB (red, green, blue)值。

3. 结果与分析

3.1. 最佳测试位点的确定

3.1.1. 水稻叶片长度上的位置确定

由表 1 可知,从 SPAD 值的变化来看,2 个品种 SPAD 值读数均是中间位置 > 叶基位置 > 叶尖位置,呈抛物线函数趋势。从相关系数来看,测试位点的 SPAD 值与整片叶的 SPAD 值的相关系数越大越能代表这片叶的叶色。单个位点的代表性大小顺序,对 Q 优 6 号,中间位置 > 叶尖 > 叶基;对宜香优 2115,中间位置 > 叶基 > 叶尖;2 个品种均表现为 3 个位点的平均值的代表性大于单个位点。此外,2 品种测试位点的 SPAD 值与整片叶 SPAD 值的平均值相关系数的来看,相关系数均在 0.9 以上的有中部 1 个位点 SPAD 读数和中间 3 个位点平均 SPAD 读数,其中以中间 3 个位点平均 SPAD 读数相关系数最大,其值分别为 0.9629、0.9549。综上,可选择叶片的 1/2 及离该点的上下 3 cm 处作为最佳的长度上测量位置。

3.1.2. 水稻叶片两侧及正背面的确定

由表 2 可知,对 Q 优 6 号品种 SPAD 值、标准差、变异系数的大小顺序分别为 SF = SB > SR、SF = SB < SR、SF < SB < SR。对宜香优 2115 种 SPAD 值、标准差、变异系数的大小顺序分别为 SF > SB > SR、SF < SB < SR、SF < SB < SR。虽然 SF、SB、SR 的 SPAD 值、标准差、变异系数均有一定差异,而 SF 与 SB 的差异较小,而 SF、SB 与 RB 差异较大。因此,在测量时应选择光滑侧进行测定。

Table 1. Distribution characteristics of SPAD readings at different testing sites of different varieties
表 1. 不同品种不同测试位点 SPAD 读数的分布特点

测量位置	SPAD 值		相关系数(r)	
	Q 优 6 号	宜香优 2115	Q 优 6 号	宜香优 2115
全部位点平均 SPAD 读数	42.3	40.0	1.0000**	1.0000**
中间 1 个位点 SPAD 读数	43.2	40.5	0.9415**	0.9123**
中间 3 个位点平均 SPAD 读数	43.2	40.6	0.9629**	0.9249**
叶基 1 个位点 SPAD 读数	41.6	40.2	0.7246**	0.8541**
叶基 3 个位点平均 SPAD 读数	42.0	39.7	0.8632**	0.9065**
叶尖 1 个位点 SPAD 读数	38.5	38.2	0.8214**	0.7821**
叶尖 3 个位点平均 SPAD 读数	40.3	39.4	0.9298**	0.8876**

注: 表中数据为 SB (光滑侧背面) 的 SPAD 值数据, r 表示不同测试位点的 SPAD 值与全部位点 SPAD 值的相关系数, n = 24, *表示显著水平, **表示极显著水平。

Table 2. Comparison of mean, standard deviation, and coefficient of variation for different leaf sides and faces
表 2. 不同叶侧、叶面的平均值、标准差、变异系数的比较

测试位点	Q 优 6 号			宜香优 2115		
	mean	s	cv%	mean	s	cv%
SF	43.2	4.9	11.4	40.9	2.9	7.0
SB	43.2	4.9	11.3	40.6	3.0	7.4
RB	42.1	5.6	13.2	40.3	3.8	9.5

注: SB 表示光滑侧背面, SF 表示光滑侧正面, RB 表示粗糙侧背面。

通过一元一次 0 截距函数分析(图 1), 光侧 2 个面的 SPAD 值读数接近 1:1 的关系(Q 优 6 号: $y = 0.9989x$, n = 24, df = 23, $R^2 = 0.9984$, F = 14130.3432, $p < 0.01$; 宜香优 2115: $y = 0.9919x$, n = 24, df = 23, $R^2 = 0.9992$, F = 31547.4383, $p < 0.01$), 表现出正反面差异不明显。综上, 测量时选择光滑侧测量, 无需考虑正背面。

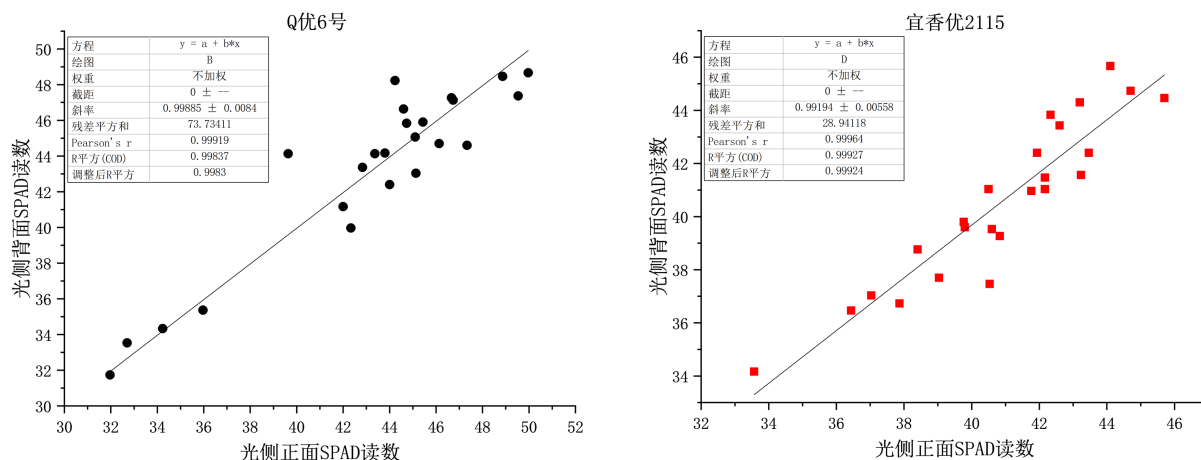


Figure 1. Functional relationship of SPAD on two sides of different varieties

图 1. 不同品种 2 面 SPAD 值的函数关系

3.2. 水稻叶色颜色空间 RGB 值与 SPAD 值读数的关系

由表 3 可知, 2 个品种 SPAD 值与颜色特征指标 R、G 值均呈负相关、颜色特征指标 B 值呈正相关。从单个品种来看, 对 Q 优 6 号, 相关系数大小顺序为, $R-B > G-B = (R-B)/(R+B) = R/B >$ 其他; 对宜香优 2115, 相关系数大小顺序为, $G-B > G-B > R/B >$ 其他; 从 2 个品种整体来看, 相关系数大小顺序为, $G-B > G/(R+G+B) > G/B >$ 其他。综上, 颜色特征参数 G-B 是拟合 SPAD 值的最佳参数, 并构建 SPAD 值与颜色特征参数函数关系(图 2), $Y_{SPAD} = -0.4541X_{G-B} + 64.4618$ ($n = 48, df = 45, R^2 = 0.7475, F = 133.2052, p < 0.01$)。

Table 3. Correlation coefficients between SPAD values and color feature parameters

表 3. SPAD 值与颜色特征参数的相关系数

颜色特征参数	相关系数		
	Q 优 6 号(n = 24)	宜香优 2115(n = 24)	混合品种(n = 48)
R	-0.17	-0.77**	-0.14
G	-0.48*	-0.79**	-0.62**
B	0.64**	0.09	0.37*
R+G	-0.36	-0.79**	-0.46**
R+B	0.32	-0.50*	0.13
G+B	0.09	-0.62**	-0.25
R-G	0.73**	0.66**	0.59**
R-B	-0.92**	-0.80**	-0.40**
G-B	-0.89**	-0.83**	-0.84**
R+B+G	0.01	-0.69**	-0.24
R/(R+G+B)	-0.81**	-0.72**	0.05
G/(R+G+B)	-0.82**	-0.54**	-0.76**
B/(R+G+B)	0.87**	0.71**	0.63**
(R-G)/(R+G)	0.60**	-0.20	0.41**
(R-B)/(R+B)	-0.89**	-0.75**	-0.42**
(G-B)/(G+B)	-0.86**	-0.68**	-0.73**
R/G	0.59**	-0.21	0.42**
R/B	-0.89**	-0.76**	-0.45**
G/B	-0.87**	-0.70**	-0.74**

注: *表示显著水平, **表示极显著水平。

4. 讨论

在测量水稻叶片叶色叶片长度上的位置时, 王绍华等[4]认为距离叶尖 1/3 是最佳的测量位置; 李刚华[13]等认为距离叶尖 30%处是最佳的测量位置; 郭晓艺等[5]则认为不同时期不同叶片最佳测试位点不同; 徐海宣等[7]研究表明水稻叶片长度的 1/2 处、距叶尖 1/3、距叶基 1/3 个位点是更能代表整片叶的 SPAD

值。本研究表明,测量水稻叶色叶片长度上 1/2 处、离该点上下 3 cm 处的 SPAD 值的平均值,代替整片叶的 SPAD 值比较合理,与王绍华、李刚华、郭晓艺、徐海宣等研究结果不太一致,这是由于这些研究者是将水稻叶片,从叶基部至叶尖按叶片长度的比例进行研究,而本文通过测量叶片长度的 1/2 处及每隔 3 cm 处(从叶片 1/2 处,向叶基部、叶尖长度延伸)进行研究。本研究结果与 Peng 等[6]认为水稻叶片叶色最佳测试位点,为叶片长度的中点及其上下 3 cm 处的观点一致。

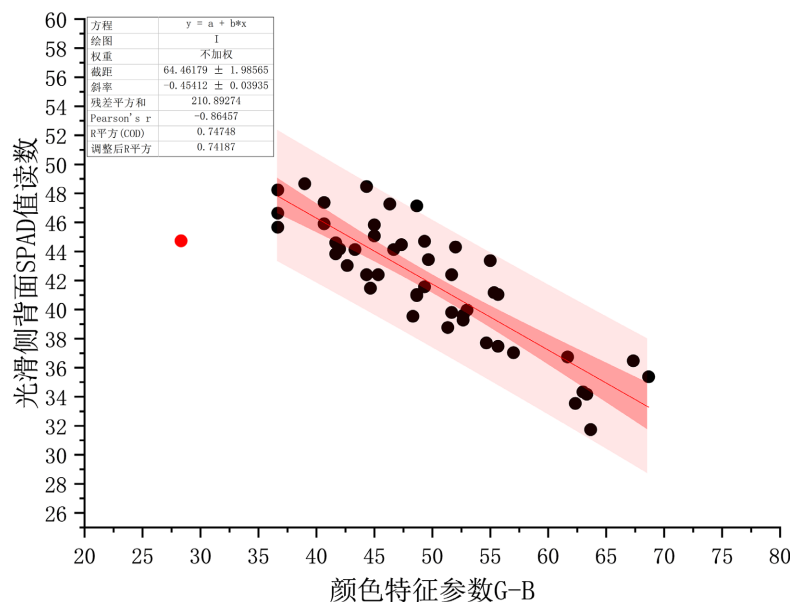


Figure 2. Univariate linear function relationship between color feature parameter G-B and SPAD value
图 2. 颜色特征参数 G-B 与 SPAD 值的一元线性函数关系

叶片的两侧的不对称上,李杰等[9]研究表明,水稻叶片光滑侧 SPAD 值高于粗糙侧;Yuan 等[8]研究表明,水稻叶片两侧宽度、厚度、单位质量氮含量、单位面积氮含量以及 SPAD 值等方面的有所差异。本研究表明,水稻叶片两侧 SPAD 值的平均值、标准差、变异系数的大小分别为,光滑侧 > 粗糙侧、光滑侧 < 粗糙侧、光滑侧 < 粗糙侧,正背面接近 1:1 关系,与李杰等、Yuan 等研究的一片不对称性结果一致。

杨爱萍等[10]研究结果表明,颜色分量 R/B、R-B 与 SPAD 值之间的密切相关;孙爱珍等[11]、龚刚猛等[12]构建 R、G、B 分量与 SPAD 值之间关系判定系数较高。本文研究结果显示,G-B、R-G、R-B、R/B、G/B、G/(R+G+B)、B/(R+G+B)等颜色特征参数与 SPAD 值极显著相关(表 3),与杨爱萍等、孙爱珍等、龚刚猛等可以利用颜色空间值来预测 SPAD 值的研究结果一致。高等植物叶绿体色素中叶绿素与类胡萝卜素的分子比例约为 3:1,叶绿素 a 与叶绿素 b 也约为 3:1 [14]。叶绿素 a 在叶绿体色素中占的比重较高,且颜色为蓝(B)绿(G)色,另外颜色特征参数 G-B 与 SPAD 值的相关性最好。因此,选择 G-B 为最佳颜色特征参数。

5. 结论

测试水稻叶色的最佳位置为光滑侧的 1/2 及其上下 3 cm 处,无需区分正背面;最佳的颜色特征参数为 G-B,并建立 2 个品种通用模型, $Y_{SPAD} = -0.4541X_{G-B} + 64.4618$, $R^2 = 0.7475^{**}$ 。智能手机有着非破坏性、实时实地、性价比高、功能强大、轻巧便携、操作简单和无需电脑软件分析图像等优点,可以代替高光谱、叶绿素计、数码相机等仪器对水稻进行氮营养监测。

基金项目

国家自然科学基金(32260531);
国家重点研发计划项目子课题(2022YFD1901500/2022YFD1901505-07);
贵州省高层次创新型人才项目(黔科合平台人才[2018]5632, 5632-2)。

参考文献

- [1] 王磊, 卢艳丽, 自由路. 主要粮食作物基于 SPAD 的氮素营养诊断方法研究进展[J]. 植物营养与肥料学报, 2022, 28(3): 546-554.
- [2] 李刚华, 丁铨锋, 薛利红, 等. 利用叶绿素计(SPAD-502)诊断水稻氮素营养和推荐追肥的研究进展[J]. 植物营养与肥料学报, 2005(3): 412-416.
- [3] 贾良良, 陈新平, 张福锁. 作物氮营养诊断的无损测试技术[J]. 世界农业, 2001(6): 36-37.
- [4] 王绍华, 曹卫星, 王强盛, 等. 水稻叶色分布特点与氮素营养诊断[J]. 中国农业科学, 2002(12): 1461-1466.
- [5] 郭晓艺, 张林, 徐富贤, 等. 杂交中稻叶片 SPAD 值的田间测定方法研究[J]. 中国稻米, 2010, 16(5): 16-20.
- [6] Peng, S.B., Laza, M.R.C., Garcia, F.V., et al. (1995) Chlorophyll Meter Estimates Leaf Area-Based Nitrogen Concentration of Rice. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, **26**, 927-935. <https://doi.org/10.1080/00103629509369344>
- [7] 徐梅宣, 陈飞帆, 彭效东. 基于 SPAD 的水稻氮素含量测量指标及模型研究[J]. 现代农业装备, 2019, 40(6): 55-60.
- [8] Yuan, S., Li, Y. and Peng, S.B. (2015) Leaf Lateral Asymmetry in Morphological and Physiological Traits of Rice Plant. *PLOS ONE*, **10**, e129832. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0129832>
- [9] 李杰, 冯跃华, 麻井彪, 等. 2 个超级杂交水稻剑叶主脉两侧 SPAD 值的差异表现[J]. 核农学报, 2017, 31(4): 777-786.
- [10] 杨爱萍, 张坤, 段里成, 等. 基于 RGB 与 HSV 颜色空间的水稻齐穗后叶片 SPAD 值估测方法研究[J]. 江西农业学报, 2019, 31(8): 106-112.
- [11] 孙爱珍, 杨红云, 何火娇. 基于 SPAD 值的水稻叶色变化过程可视化模拟[J]. 计算机工程与应用, 2017, 53(11): 233-236.
- [12] 龚刚猛, 杨珺, 何火娇, 等. 水稻叶色 RGB 组分与 SPAD 的关系研究[J]. 中国农学通报, 2015, 31(24): 19-24.
- [13] 李刚华, 薛利红, 尤娟, 等. 水稻氮素和叶绿素 SPAD 叶位分布特点及氮素诊断的叶位选择[J]. 中国农业科学, 2007(6): 1127-1134.
- [14] 毛自朝. 植物生理学[M]. 武汉: 华中科技大学出版社, 2017: 418.