# 利用叶片正反面反射光谱估算叶绿素含量

王 鑫,王梓樟,尤文强,鹿 凡,赵云升,卢 珊\*

东北师范大学地理科学学院,吉林长春 130024

摘 要 叶片叶绿素含量的快速无损估算方法对研究植被生长和环境胁迫都具有重要意义。传统叶绿素光 谱估测方法,主要是基于叶片正面光谱信息。而在实际遥感观测中,传感器不仅会接收植被叶片正面光谱信 息, 植被叶片反面光谱信息也会同时被接收。该研究主要目的是找到在同时考虑叶片正反面光谱信息时也 能精确估算叶片叶绿素含量的分析方法。对比了简单差值植被指数(SD),简单比值植被指数(SR),归一化 植被指数(ND)与偏最小二乘(PLS)建模方法,并对检验样本集进行了精度比较。结果发现用 PLS 方法估算 两种植被正反面叶片的叶绿素含量与真实叶片叶绿素含量的拟合精度更高,  $R^2$  为 0.91, RMSE 为 5.21  $\mu$ g • cm<sup>-2</sup>。因此可以认为 PLS 方法在同时考虑植被叶片的正反面光谱信息时对植被叶片叶绿素含量的估算更 准确。

关键词 叶片正反面; 叶绿素含量; 偏最小二乘; 植被指数 中图分类号: TP79 DOI: 10.3964/j.issn.1000-0593(2018)08-2524-05 文献标识码:A

# 引 言

叶片叶绿素含量可以反映植被的生理健康状况,是植被 重要的生化参数之一[1]。叶片的光谱特征与植被内部生物化 学含量相关,用遥感光谱测量的方法可以获取叶片和冠层的 植被生化参数<sup>[2]</sup>。因此,利用叶片的反射信息是估算植被叶 绿素含量的无损、精准、有效的手段。

以往研究叶片叶绿素估算方法时,多用到植被指数的方 法<sup>[3-6]</sup>。已开发的植被指数可以按波段个数大致分为单波段 植被指数(如  $R_{680}$ )<sup>[7]</sup> 和多波段植被指数(如 MCARI: [( $R_{700}$  $-R_{670}$ )-0.2( $R_{700}$ - $R_{550}$ )]( $R_{700}/R_{670}$ )和 $R_{750}/R_{550}$ )<sup>[8-9]</sup>。

还有一些研究用到了植被叶片的全光谱信息估算叶片叶 绿素含量,如因子分析,逐步回归、神经网络分析和偏最小 二乘法(partial least square, PLS)等,而其中更多用到的是 偏最小二乘法[10-12]。偏最小二乘法是一种新型多元统计方 法,适用于自变量个数多于试样个数,且自变量之间存在严 重多重相关性的建模情况[13]。在建模前会先对自变量进行 主成分分析,提取出潜在变量参数,潜在变量即是自变量的 线性组合,之后对自变量进行多元线性回归分析。偏最小二 乘法与植被指数相比使用到更多的有效波段,往往模型的预 测精度会比较高。Zhang 等<sup>[14]</sup>利用 PLS 分别估算了叶绿素 a, 叶绿素 b, 叶绿素总含量和类胡萝卜素, 都得到了较好的 预测精度, 预测相关系数均超过了 0.8。 丁永军等用 PLS 方 法估算温室番茄叶绿素含量,预测系数可达 0.89。丁希斌 等<sup>[15]</sup>利用全波段 PLS 方法建模估算油菜叶片 SPAD 值,得 到预测相关系数为 0.83。

但是,以上研究都仅用到了植被叶片正面光谱信息,未 考虑植被叶片反面光谱信息。而在实际遥感测量中,由于冠 层结构,干旱胁迫和风等原因,传感器在接受光谱信息时不 仅有叶片正面的信息,叶片反面的信息也同样会被接收到。 本研究将获取垂榆和银白杨叶片样本的叶绿素含量信息和正 反两面的光谱信息,分别用简单差值植被指数(SD),简单比 值植被指数(SR),归一化植被指数(ND)和偏最小二乘法 (PLS)对建模样本集进行模型的建立,再对检验样本集进行 检验,寻找对叶片正反面不敏感的叶绿素预测模型。

# 1 实验部分

## 1.1 样本获取

采样地点位于吉林省长春市东北师范大学校园内。实验 样本为两个北方常见阔叶树种,分别是银白杨和垂榆,这两

#### 收稿日期: 2017-09-10,修订日期: 2018-01-28

e-mail: wangx203@nenu.edu.cn

e-mail: lus123@nenu.edu.cn \* 通讯联系人

基金项目: 吉林省科技厅自然科学基金项目(20180101313JC), 国家重大研究与发展项目(2016YFA0602301), 国家自然科学基金项目 (41001258, 41671347), 东北师范大学重点实验室开放课题(130028674)资助

作者简介: 王 鑫, 1994 年生, 东北师范大学地理科学学院硕士研究生

种植被叶片正反面结构差异较大。随机选择银白杨叶片 55 枚,42枚用于建立模型,另13枚用于检验模型;垂榆叶片 60枚,45枚用于建立模型,15枚用于检验模型。采集到的 叶片立即装进不透光塑料袋中并冷藏带回实验室。光谱测量 以及叶绿素含量的测量都会在叶片收集后的4h内完成。

### 1.2 光谱测量

采样后将样本立即带入实验室,使用的 ASD FieldSpec<sup>®</sup> 3 便携式光谱仪与叶面夹进行叶片正反面光谱测量。光谱仪 记录的是 350~2 500 nm 的光谱,在 350~1 000 nm 之间采 样间隔为 1.4 nm,1 000~2 500 nm 之间采样间隔为 2 nm。 因为叶绿素对叶片反射光谱的影响主要在可见光与近红外范 围,所以本研究只截取了 400~1 000 nm 的波段的反射光 谱。在测量叶片光谱时,每个样本的正面或反面分别测量 3 次取平均值作为该测量的反射光谱值,每测量一个样本会用 白板校准一次。叶片夹的光源垂直照射叶表面,探测角为 23°左右,测量样本光谱时,为去除背景影响,样本置于黑色 粗糙表面之上。

# 1.3 叶绿素含量测定

进行光谱测量后,利用 Yaxin-1241 叶面积仪对每一叶片 样本进行叶片面积的测量。用 Mackinney 1941 年<sup>[16]</sup>提出的 萃取方法,先将叶片剪碎,并用石英砂和碳酸钙进行充分研 磨,然后用 80%的丙酮溶液对叶绿素进行萃取,接着将萃取 液倒入至 50 mL 的深棕色容量瓶内进行定容。最后用紫外分 光光度计 Lambda 900(美国 Perkin Elemer 仪器公司)对萃取 液在最大吸收波段 664 nm(叶绿素 a 吸收波段)和 647 nm(叶 绿素 b 吸收波段)处读取其吸光值,根据 Wintermans 等的经 验公式计算叶绿素的总含量<sup>[17]</sup>。

#### 1.4 数据分析

已有常用的植被指数可以大体划分为3种形式,分别 是:(1)差值植被指数(SD);(2)比值植被指数(SR);(3)归 一化植被指数(ND)。这些指数都是用到可见光、近红外波谱 范围内的2个不同波段进行计算得出的,公式如下

$$SD(R_{\lambda 1}, R_{\lambda 2}) = R_{\lambda 1} - R_{\lambda 2}$$
 (1)

$$\mathrm{SR}(R_{\lambda 1}, R_{\lambda 2}) = \frac{R_{\lambda 1}}{R_{\lambda 2}}$$
(2)

ND(
$$R_{\lambda 1}, R_{\lambda 2}$$
) =  $\frac{\mid R_{\lambda 1} - R_{\lambda 2} \mid}{R_{\lambda 1} + R_{\lambda 2}}$  (3)

实验中,将400~1000 nm的所有波段进行循环,得到 建模样本拟合效果最佳的波段组合,建立指数模型。最 后,利用检验样本对模型进行检验。

偏最小二乘法是一种新型多元线性统计分析方法,将多 元线性回归、主成分分析以及典型相关分析结合起来<sup>[18]</sup>。在 本实验中,将波段作为自变量,叶绿素含量作为因变量进行 计算。在建立 PLS 拟合式前,先利用留一法交叉验证,筛选 出变异系数较大的波段作为自变量,建立 PLS 模型。最后, 利用检验样本对模型进行检验。

# 2 结果与讨论

#### 2.1 叶片正反面对叶绿素含量估测的影响

采集的样本根据不同物种及正反面可分为 9 个样本集, 分别为垂榆,银白杨及两种植被的正面,反面及正反面混合 的样本集,每种样本集约为 3 : 1 的比例划分为建模样本和 检验样本。根据不同样本集的建模样本建立了 SD, SR, ND 指数及 PLS 的最佳拟合模型,并计算了每种模型在检验样本 中的预测叶绿素的精度(表 1),表中拟合结果均通过显著性 检验, p 值皆小于 0.01。

从表1可以发现对于单种植被的叶片单面样本集(即垂 榆叶片正面,垂榆叶片反面,银白杨叶片正面和银白杨叶片 反面),这四种方法的预测叶绿素值与实际叶绿素值之间拟 合效果都比较好, R<sup>2</sup> 皆大于 0.91。其中植被指数中 SR 与 ND 指数在银白杨叶片反面样本集中的拟合优度 R<sup>2</sup> 都大于 0.97; 而 PLS 在这四个样本集中 R<sup>2</sup> 都大干 0.97, 特别是在 银白杨叶片反面样本集中拟合优度 R<sup>2</sup> 更是达到 0.99, RMSE为 1.58  $\mu$ g·cm<sup>-2</sup>。然而对于每种植被叶片的正反面 混合样本集(即垂榆叶片正反面和银白杨叶片正反面)时,这 四种方法的预测叶绿素值与实际叶绿素值之间拟合效果都会 降低。植被指数中 SD 指数在银白杨叶片正反面样本集中的 拟合效果最好, R<sup>2</sup> 为 0.88, RMSE 为 7.04 μg · cm<sup>-2</sup>。PLS 在这两个样本集中的拟合效果分别为,垂榆叶片正反面的  $R^2 = 0.91$ , RMSE = 4.10  $\mu$ g · cm<sup>-2</sup>, 而银白杨叶片正反面的  $R^2 = 0.93$ , RMSE = 5.42 µg · cm<sup>-2</sup>。从以上可以看出在考虑 叶片正反面光谱信息时 PLS 建模的方法相对于其余三种植 被指数方法更适用于叶片叶绿素含量的估算。

图 1-图 4 分别为 SD, SR, ND 植被指数及 PLS 建模方 法对于垂榆正反面叶片,银白杨正反面叶片及两种植被混合 正反面叶片的叶绿素含量的预测结果。PLS 方法对实测叶绿 素含量拟合的 RMSE 最小而且拟合斜率最接近于 1。



measured chlorophyll content in the validation samples using SD

# 表 1 SD, SR, ND 和 PLS 对检验样本叶片叶绿素含量预测的精度和模型参数

#### Table 1 Prediction accuracy of the SD, SR, ND and PLS methods and model parameters

in estimating leaf chlorophyll content for the validation samples

		adaxial	abaxial	adaxial & abaxial
Chinese elm	PLS	$R^2 = 0.98$	$R^2 = 0.97$	$R^2 = 0.91$
		RMSE = 2.08	RMSE=2.31	RMSE=4.10
		波段个数: 41 参数个数: 4	波段个数: 44 参数个数: 3	波段个数:54 参数个数:22
	SD	$R^2 = 0.92$	$R^2 = 0.94$	$R^2 = 0.81$
		RMSE=4.21	RMSE=3.56	RMSE=6.15
		$R_{747} - R_{748}$	$R_{746} - R_{749}$	$R_{425} - R_{713}$
	SR	$R^2 = 0.95$	$R^2 = 0.97$	$R^2 = 0.78$
		RMSE=3.34	RMSE=2.70	RMSE=6.52
		$R_{748}  / R_{747}$	$R_{749}/R_{738}$	$R_{ m 418}/R_{ m 701}$
	ND	$R^2 = 0.95$	$R^2 = 0.96$	$R^2 = 0.77$
		RMSE=3.34	RMSE=3.05	RMSE=6.71
		$ R_{747} - R_{748}  / (R_{747} + R_{748})$	$ R_{746} - R_{749}  / (R_{746} + R_{749})$	$ R_{418} - R_{701}  / (R_{418} + R_{701})$
White poplar	PLS	$R^2 = 0.97$	$R^2 = 0.99$	$R^2 = 0.93$
		RMSE=3.48	RMSE=1.59	RMSE=5.42
		波段个数:10参数个数:6	波段个数: 39 参数个数: 12	波段个数:26参数个数:9
	SD	$R^2 = 0.93$	$R^2 = 0.97$	$R^2 = 0.88$
		RMSE=5.49	RMSE=3.66	RMSE=7.04
		$R_{747} - R_{748}$	$R_{742} - R_{744}$	$R_{433} - R_{708}$
	SR	$R^2 = 0.93$	$R^2 = 0.98$	$R^2 = 0.83$
		RMSE=5.59	RMSE=3.12	RMSE=8.18
		$R_{747}/R_{748}$	$R_{ m 747}/R_{ m 720}$	$R_{ m 423}/R_{ m 581}$
	ND	$R^2 = 0.93$	$R^2 = 0.97$	$R^2 = 0.81$
		RMSE=5.59	RMSE=3.34	RMSE=8.66
		$ R_{747} - R_{748}  / (R_{747} + R_{748})$	$ R_{739} - R_{740}  / (R_{739} + R_{740})$	$ R_{430} - R_{516}  / (R_{430} + R_{516})$
All plants	PLS	$R^2 = 0.94$	$R^2 = 0.96$	$R^2 = 0.91$
		RMSE=4.30	RMSE=3.76	RMSE=5.21
		波段个数:16参数个数:6	波段个数:51参数个数:11	波段个数:63参数个数:12
	SD	$R^2 = 0.88$	$R^2 = 0.88$	$R^2 = 0.87$
		RMSE = 6.31	RMSE = 6.18	RMSE=6.43
		$R_{441} - R_{709}$	$R_{412} - R_{712}$	$R_{434} - R_{709}$
	SR	$R^2 = 0.85$	$R^2 = 0.82$	$R^2 = 0.83$
		RMSE=7.01	RMSE=7.64	RMSE=7.27
		$R_{ m 437}/R_{ m 595}$	$R_{456}/R_{594}$	$R_{ m 451}/R_{ m 603}$
	ND	$R^2 = 0.83$	$R^2 = 0.86$	$R^2 = 0.82$
		RMSE=7.45	RMSE=6.83	RMSE=7.47
		$ R_{434} - R_{589}  / (R_{434} + R_{589})$	$ R_{411} - R_{701}  / (R_{411} + R_{701})$	$ R_{426} - R_{582}  / (R_{426} + R_{582})$

注:此表中所有拟合结果均通过显著性检验, p值皆小于 0.01。

# 2.2 对不同植被种类与叶片正反面都稳定的叶绿素估算方法

对于两种植被叶片混合的样本集,四种方法在估测叶片 叶绿素时精度都会降低。植被指数中 SD 指数在两种植被叶 片的正面数据集中表现拟合效果最佳  $R^2$  为 0.88, RMSE 为 6.31  $\mu$ g • cm<sup>-2</sup>,对于两种植被正反面混合的数据集中 SD 指 数的拟合效果最佳  $R^2$  为 0.87, RMSE 为 6.43  $\mu$ g • cm<sup>-2</sup>。而 PLS 建模方法对两种植被叶片正面混合的数据集的  $R^2$  为 0.94, RMSE 为 4.30  $\mu$ g • cm<sup>-2</sup>,对两种植被叶片反面混合 的数据集的  $R^2$  为 0.96, RMSE 为 3.76  $\mu$ g • cm<sup>-2</sup>, 而对于正 反面混合的数据集中 PLS 的拟合效果为  $R^2 = 0.91$ , RMSE = 5.21  $\mu$ g • cm<sup>-2</sup>。可见 PLS 建模方法不仅对单种叶片正反 面不敏感,还可以有效估算出混合种类植被的叶片叶绿素含 量。虽然当有反面叶片光谱信息混入遥感传感器中, PLS 的 估算精度会有所降低,但是估算叶绿素含量和真实叶绿素含 量的拟合效果仍可以保持在一个较高的水平上。所以, PLS 可以被认为是一种对植被种类和叶片正反面较为稳定的估测 叶片叶绿素的方法。



# 3 结 论

植被在自然生长状态下,遥感获取的植被信息可能包含 植被叶片的正面与背面,会导致评估植被生物量的模型预测 精度降低,所以在预测植被生物量时,为提高预测精度,需 要考虑植被叶片反面的信息。这种叶片层次的叶绿素含量估 算的研究是进一步进行冠层尺度以及遥感卫星观测植被色素 含量信息的基础工作,具有很重要的意义。通过对 SD, SR 和 ND 等植被指数的比较,发现偏最小二乘法在植被正反面 反射信息同时存在的情况下,对叶片叶绿素含量的预测具有 更高的精度。这可能是由于偏最小二乘法在模型建立时使用 到更多对叶绿素含量估算有效的波段,使其具有更优越的估 算能力。本研究仅用到了东北地区典型的阔叶植被——垂榆 和银白杨叶片作为研究样本,其余叶片结构的植被种类的模 型有效性需要进一步验证。

# References

- [1] Lu X, Lu S. International Journal of Remote Sensing, 2015, 36(5): 1447.
- [2] Lu S, Lu X, Zhao W, et al. Journal of Experimental Botany, 2015, 66(18): 5625.
- [3] Gitelson A A, Merzlyak M N. Journal of Plant Physiology, 1996, 148(s 3-4): 494.
- [4] Datt B. Remote Sensing of Environment, 1998, 66(2): 111.
- [5] Blackburn G A. International Journal of Remote Sensing, 1998, 19(4): 657.
- [6] Vogelmann J E, Rock B N, Moss D M. International Journal of Remote Sensing, 1993, 14(8): 1563.
- [7] Blackburn G A. International Journal of Remote Sensing, 1998, 19(4): 657.
- [8] Lichtenthaler H K, Gitelson A, Lang M. Journal of Plant Physiology, 1996, 148(148): 483.
- [9] Daughtry C, Walthall C, Kim M, et al. Remote Sensing of Environment, 2000, 74: 229.
- [10] Coops N, Dury S, Smith M L, et al. Australian Journal of Botany, 2002, 50(5): 567.
- [11] O'Neill A L, Kupiec J A, Curran P J. Remote Sensing of Environment, 2002, 80(1): 134.
- [12] Tumbo S D, Wagner D G, Heinemann P H. Transactions of the Asae, 2002, 45(3): 1.
- [13] Vila, Hugalde, Filippo D I. Ria Revista De Investigaciones Agropecuarias, 2011, 37(1): 277.
- [14] Zhang C, Wang Q, Liu F, et al. Measurement, 2017, 97: 149.
- [15] DING Xi-bin, LIU Fei, ZHANG Chu, et al(丁希斌,刘 飞,张 初,等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2015, 35(2): 486.
- [16] Mackinney G. Journal of Biological Chemistry, 1941, 140(2): 315.
- [17] Wintermans J F, De M A. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biophysics Including Photosynthesis, 1965, 109(2): 448.
- [18] KAI Nan, LIU Yong-mei, LI Jing-zhong, et al(凯 楠, 刘咏梅, 李京忠, 等). Chinese Journal of Ecology(生态学杂志), 2017, 36(4): 1150.

# Estimation of Chlorophyll Content by Reflectance Spectra of the Positive and Negative Blades

WANG Xin, WANG Zi-tong, YOU Wen-qiang, LU Fan, ZHAO Yun-sheng, LU Shan\* School of Geographical Sciences, Northeast Normal University, Changchun 130024, China

**Abstract** The rapid and nondestructive estimation of leaf chlorophyll content is significance of the monitoring of vegetation growth and environmental stress. The traditional method of chlorophyll estimation is mostly based on the spectral information of upper leaf side. However, in the actual remote sensing observation, the sensor not only receives the adaxial spectral information of leaves, but also receives the spectral information from the abaxial surface of leaf. The main purpose of this study is to find an accurate method to estimate the chlorophyll content of leaves when considering both the adaxial and abaxial spectral information of the blade. This paper compared the simple difference vegetation index (SD), simple ratio vegetation index (SR), normalized difference vegetation index (ND) and partial least squares (PLS) regression modeling method. It was found that PLS regression modeling method had the highest precision in all of the methods to estimate leaf chlorophyll content of two species with two surfaces reflectance. The  $R^2$  was 0.91 and the RMSE was 5.21 g  $\cdot$  cm<sup>-2</sup> Therefore, it can be concluded that the PLS method is more accurate in estimating leaf chlorophyll content when considering both adaxial and abaxial leaf spectral information.

Keywords Adaxial and abaxial leaf surfaces; Chlorophyll content; Partial least square; Vegetation index

(Received Sep. 10, 2017; accepted Jan. 28, 2018)

\* Corresponding author