

基于图像处理华中五味子叶面积的回归测算

卜海东¹, 顾蔚^{1,2,*}, 齐永平¹, 王喆之^{1,2}

陕西师范大学¹生命科学学院,²教育部药用植物资源与天然药物化学重点实验室, 西安 710062

Regressive Estimation of Leaf Area of *Schisandra sphenanthera* Rehd. et Wils. Based on Image Processing

BU Hai-Dong¹, GU Wei^{1,2,*}, QI Yong-Ping¹, WANG Zhe-Zhi^{1,2}

¹College of Life Sciences, ²Key Laboratory of Education for Medicinal Plant Resource and Natural Pharmaceutical Chemistry, Shaanxi Normal University, Xi'an 710062, China

摘要: 采用数字图像处理法测定华中五味子叶面积, 分别构建了老枝和新梢上叶片的面积与叶形特征值(叶长、叶宽和叶长宽乘积)的相关性回归方程, 并进行检验的结果显示, 叶长宽乘积与叶面积的相关性最高, 以其构建的回归方程测算的叶面积精确度最高, 是一种简便而科学的非破坏性的测定华中五味子叶面积的方法。

关键词: 华中五味子; 叶面积; 数字图像处理; 回归方程

叶片是植物进行光合作用制造有机养分的主要器官, 植物体内约 90% 的干物质是通过叶片合成的, 叶面积是生理生化、遗传育种和作物栽培等研究的常用参考指标(高山等 2000; Arias 等 2007)。华中五味子叶面积的大小直接影响植株的生长发育、浆果的产量和品质。五味子中, 有人曾对北五味子[*Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill.] 新梢上的叶面积进行过回归测算(艾军等 1999), 而华中五味子叶面积的测定尚未见报道。二者同属不同种, 其地理分布和生境不同(中国科学院中国植物志编辑委员会 1996), 引起叶片表型有差异, 因此叶面积的测定方法也有所不同。叶面积的测定方法有多种, 如方格纸法、剪纸称重法、打孔称重法、复印称重法和叶面积仪测定法等(柏军华等 2005; 陶洪斌和林杉 2006; 薛义霞等 2006)。近年来随着数码照相技术和图像处理软件的不断改进, 应用数码照相与 Photoshop 相结合的数字图像处理法测定叶面积越来越受人们的重视(肖强等 2005; 苑克俊等 2006)。加上回归方程法具有简便和准确的特点, 可毋需破坏叶片就迅速测算出叶面积, 适合于叶生长动态的研究(陈超君等 2007; Rouphael 等 2007)。本文采用数字图像处理法测量华中五味子老枝和新梢上叶面积, 将叶面积与叶形特征值(叶长、叶宽和叶长宽乘积)作回归分析, 以期建立最佳的叶面积测算回归方程和非破坏性的测算华中五味子叶面积的方法。

材料与方法

1 实验材料

2007年6月下旬从秦岭南坡柞水县营盘镇野生华中五味子(*Schisandra sphenanthera* Rehd. et Wils.)的老枝和新梢上采集形态典型和大小各异的叶片(图1)各30片, 编号后装于塑封袋中, 立即带回实验室, 置于4℃冰箱中保存。

2 实验方法

2.1 标准面积图的制作与数字图像处理法的条件优化 数字图像处理法即通过数码照相获得图像, 采用 Adobe Photoshop CS3 软件处理图像, 得到图像的像素值, 通过计算得出图像的面积。像素值越大测得的面积越大, Photoshop 处理图像时, 容差和分辨率对测得的像素值均有较大影响。标准面积图为在 Word 文档中绘制并打印出的不同直径的黑色实心圆, 各圆面积均可据圆面积公式求得。通过数字图像处理法测定出标准面积图上各圆(图 2-b)的像素值, 将测出的像素值与圆实际面积作相关分析, 确定数字图像处理法测定面积的最佳条件。操作步骤为:(1)在 Word 文档中绘制直径为 1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5、4.0、

收稿 2008-02-13 修定 2008-05-26

资助 国家“十一五”科技支撑计划项目(2006BAI06A13-06)。

* 通讯作者(E-mail: weigu@snnu.edu.cn; Tel: 029-85310266)。

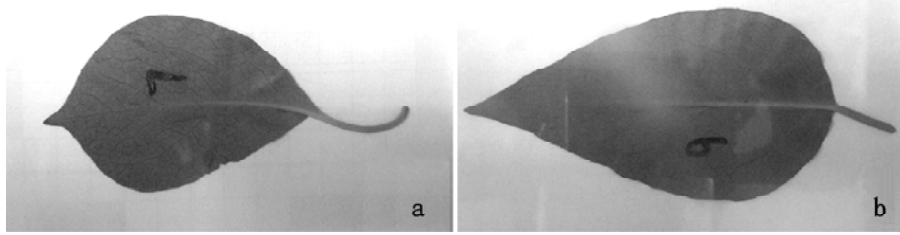


图1 华中五味子叶片
a : 老枝上的叶片 ; b : 新梢上的叶片。

4.5、5.0、5.5、6.0、6.5、7.0、7.5、8.0 cm 的圆, 将其线条设置为无色, 填充黑色, 打印作为标准面积图(图 2-a), 将其展平固定在塑料板上, 数码拍照, 输入计算机。(2)用 Photoshop CS 软件打开照片, 点击“图像” “图像大小”, 在复选框中调整照片的分辨率, 点击“窗口” “直方图”, 在工具栏点击魔棒工具, 调整“容差”, 应用“魔棒”工具中的“添加到选区” 点击标准面积图上的单个待测圆, 当整个圆都被选上并且直方图中“像素” 趋于稳定时, 记录该圆的像素值。(3)应用不同的容差(30、35、40、45、50、55、60)和照片分辨率(72 dpi、120 dpi), 测定标准面积图上各圆的像素值, 将所测的像素值与其实际面积作回归分析, 确定数字图像处理法测定面积的最佳条件。

2.2 对照面积图的制作与用数字图像处理法测定叶面积 以对照面积图作为拍照背景(图 2-c), 以免拍照受到数码相机位置、景深、图片中叶片大小等的限制(肖强等 2005)。操作步骤为 : (1)在 Word 文档中绘制 9 个面积为 1 cm×1 cm 正方形, 其线条设置为无色, 填充黑色, 打印作为对照面积图(图 2-a), 将其展平固定在塑料板上, 作为拍照背景, 将待测叶片平展在中央(图 2-c), 以透明塑料板压平, 数码拍照。(2)数字图像处理法测定叶面积的条件以 2.1 优化结果为准, 方法同 2.1 中步骤(2), 测定叶片的像素值(P_F), 同时也测定叶片四周每个正方形的像素值, 求出正方形像素平均值($P_{对照}$)。(3)叶面积(LA)计算: $LA=(P_F/P_{对照}) \times S_{对照}$, 其中 $S_{对照}$ 为对照面积图上单个正方形的平均面积(图 2-c)。(4)用上述方法测定华中五味子老枝和新梢上各 30 枚叶片面积。

2.3 叶面积回归方程的建立 测量每个叶片的叶长(L, 叶基到叶尖的距离, 不含叶柄)和叶宽(W, 与主脉垂直的最大宽度), 精确到 0.1 cm, 计算

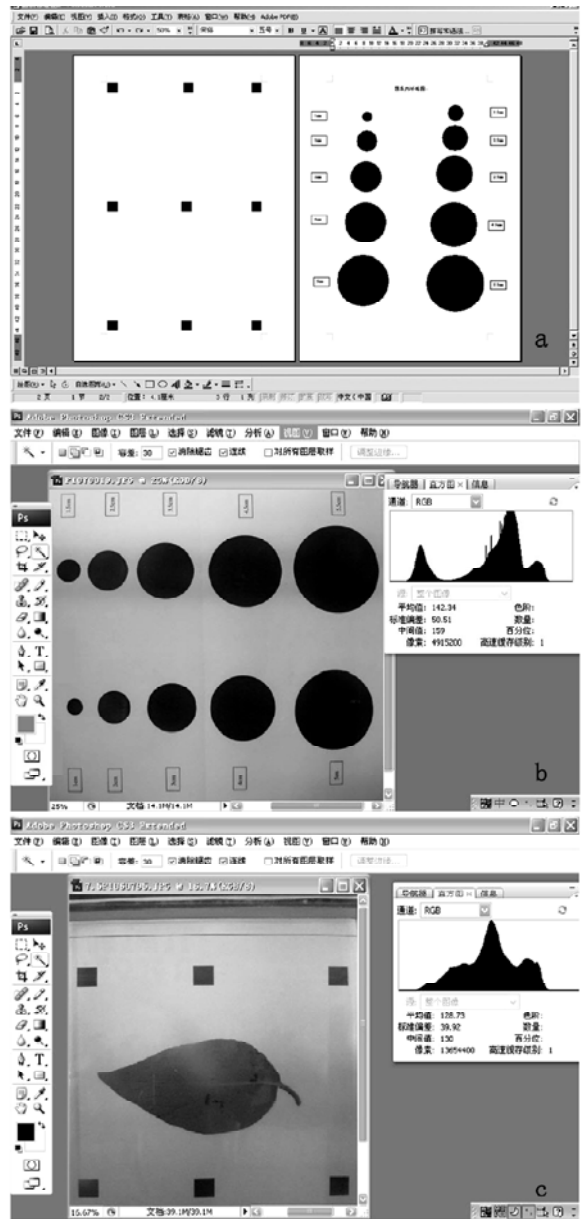


图2 标准面积图的制作和Photoshop处理的截图

与主脉垂直的最大宽度), 精确到 0.1 cm, 计算

叶长宽乘积(LW)。用 SPSS 13.0 分别对老枝和新梢上叶片的形态特征值与数字图像处理法测得的对叶面积进行回归分析, 得出相应的叶面积回归方程。

2.4 最佳叶面积回归方程的建立和检验 采用所得的回归方程分别测算出新梢和老枝上叶片面积, 并与实测叶面积(CI-202 型便携式叶面积仪, 美国 CID 公司)作回归分析和检验。相关系数(*R*)越大, 回归方程标准误(SE)越小, 残差(测算面积与实测面积的差值)越小, 表明回归方程测算越精确。若可靠性检验为不显著(ns), 则测算面积与实测面积间差异不显著, 表明回归方程可靠。通过比较, 筛选出测算华中五味子叶面积的最佳回归方程。

结果与讨论

1 数字图像处理法的优化与检验

1.1 数字图像处理法的优化 Photoshop 处理标准面积图, 应用不同的容差和分辨率, 测得其上各圆的像素值, 将其与对应的实际面积做回归分析, 从不同处理测得各圆的像素值与其实际面积的相关系数(图 3)可见, 分辨率为 120 dpi 测得的相关系数均高于 72 dpi 的。通过比较, 优化出数字图像处理法测定叶面积选用分辨率 120 dpi、容差 30 处理图像。

1.2 数字图像处理法的检验 用数字图像处理法测得 15 个不同直径圆的面积与对应实际面积作回归分析和可靠性检验(表 1), 结果显示两者相关系数(*R*)达到 0.9993, 呈极显著相关($P < 0.01$), 回归方程标准误(SE)较低, 最大残差、最小残差和标准差均较低; $t < t_{14,0.05}$, 数字图像处理法测得面积与实际面积无显著差异, 表明数字图像处理法测定面积精确、可靠。

2 华中五味子叶面积回归方程的建立与检验

2.1 老枝和新梢上叶片叶形指数 *F* 检验 对华中五

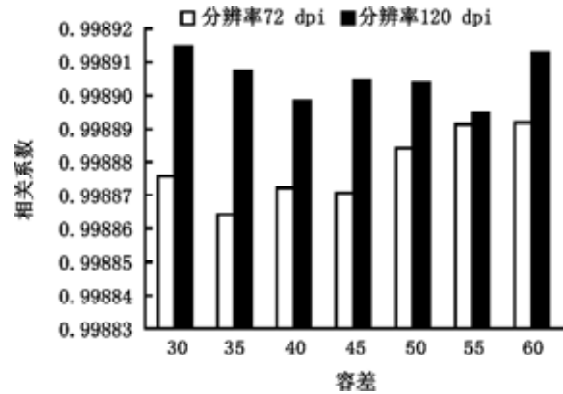


图 3 不同容差和分辨率所测得的圆的像素值和实际面积相关性的比较

味子老枝和新梢上叶片的叶形指数(叶长/叶宽)进行 *F* 检验。结果表明, 叶形指数差异极显著($F=17.5235$, $P=0.0001 < 0.01$), 应分别建立回归方程来测算各自的面积。

2.2 叶面积回归方程的建立 通过回归分析, 建立一元线性回归方程, 并对所建方程作显著性检验分析(表 2)。所有回归方程在 1% 水平均呈极显著的回归关系, 比较各方程的相关系数(*R*)和回归方程标准误(SE)得出, 叶面积与各叶形特征值均呈高度正相关。回归分析结果显示, 华中五味子老枝和新梢上叶面积的回归方程, 均以叶长宽乘积与叶面积的相关性最高, 叶宽次之, 叶长最低, 这与文献报道的结果(陈超君等 2007; 薛义霞等 2006; Rouphael 等 2007)一致。叶长宽乘积与叶面积回归方程的 SE 最小, 表明以叶长宽乘积与叶面积构建的一元线性回归方程 $LA=0.6614LW+0.0260$ 和 $LA=0.6784LW-0.3442$ 的拟合性最好。

2.3 叶面积回归方程的检验 随机选取华中五味子老枝和新梢上生长良好、形态典型(图 1)叶子各 10 片, 测量每个叶片的叶长与叶宽, 求叶长宽乘积, 将各自数据代入相应的回归方程(表 2), 即得到单叶面积。同时用 CI-202 型叶面积仪测量其

表 1 数字图像处理法测得各圆面积与其实际面积的回归分析和可靠性检验

回归分析				残差分析			可靠性检验		
<i>R</i>	<i>R</i> ²	SE	<i>F</i>	最小残差	最大残差	标准差	<i>t</i>	<i>t</i> _{14,0.05}	差异显著性
0.9993**	0.9986	0.6206	9422.121	-1.0104	1.2173	0.5980	-0.139	2.145	ns

** 表示回归方程在 1% 水平下呈极显著相关。

表2 华中五味子叶面积与叶形特征值的回归分析

叶类型	叶形特征	回归方程编号	回归方程	R	R ²	SE	F
老枝上叶片	叶长	方程 1	LA=5.3355L-16.8360**	0.9694	0.9397	2.0494	140.144
	叶宽	方程 2	LA=9.7429W-21.1920**	0.9895	0.9791	1.2070	421.017
	叶长宽乘积	方程 3	LA=0.6614LW+0.0260**	0.9971	0.9942	0.6354	1542.816
新梢上叶片	叶长	方程 4	LA=5.3695L-22.5670**	0.9472	0.8972	3.422	174.643
	叶宽	方程 5	LA=8.2107W-8.9508**	0.9895	0.9792	1.5387	942.787
	叶长宽乘积	方程 6	LA=0.6784LW-0.3442**	0.9982	0.9964	0.6373	5591.388

** 表明回归方程在 1% 水平下呈极显著回归关系。

面积, 并对回归方程测算的叶面积进行检验的结果(表 3、4)显示, 6 个方程测算出华中五味子的叶面积与叶面积仪测得面积均无显著差异 ($t < t_{9,0.05}$), 表明以这 6 个方程测算华中五味子的叶面积是可行的(表 4)。其中 LA=0.6614LW+0.0260 和 LA=0.6784LW-0.3442 的残差最小, 用这两个方程分别测算华中五味子老枝和新梢上的叶片面积较其他方程测算的更准确可靠。

总之, 通过优化数字图像处理法测定叶面积

的条件, 得出分辨率 120 dpi、容差 30 条件下应用 Photoshop 处理图像, 测定叶面积精确度最高。华中五味子叶长、叶宽和叶长宽乘积与叶面积均呈高度正相关, 以叶长宽乘积与叶面积构建回归方程的拟合性最好。检验表明, 以 LA=0.6614LW+0.0260 和 LA=0.6784LW-0.3442 分别测算华中五味子老枝和新梢上的叶面积, 其可靠性大, 精确度高。此回归方程测算华中五味子的叶面积, 操作简便、成本低、误差少、易普及, 适合华中五

表3 各回归方程测算叶面积与叶面积仪测得面积的比较

叶片 编号	老枝上叶片面积 /cm ²				新梢上叶片面积 /cm ²			
	方程 1 测算	方程 2 测算	方程 3 测算	叶面积仪测定	方程 4 测算	方程 5 测算	方程 6 测算	叶面积仪测定
1	21.43	16.81	18.47	18.19	26.13	31.84	30.2	31.05
2	18.18	18.75	17.77	17.50	31.35	29.53	31.57	32.42
3	33.24	34.54	35.48	34.82	16.93	12.98	12.98	13.10
4	28.76	60.64	30.04	28.99	12.75	11.06	10.52	10.26
5	23.06	24.60	23.22	22.73	22.36	19.91	19.60	19.49
6	15.73	17.78	16.12	16.30	24.66	24.14	23.69	23.57
7	23.47	18.75	20.46	20.26	23.10	22.99	22.09	21.77
8	13.29	14.86	13.79	13.66	15.05	12.98	12.35	12.32
9	12.88	11.35	12.28	11.89	6.27	5.29	5.97	6.24
10	7.79	11.15	10.11	10.43	5.02	5.67	5.86	5.81

表4 华中五味子叶面积回归方程的检验

叶的类型	回归方程编号	残差分析			可靠性检验		
		最小残差	最大残差	标准差	t	t _{9,0.05}	差异显著性
老枝上叶片	方程 1	-3.0840	2.9159	1.8641	0.337	2.262	ns
	方程 2	-1.9582	1.4147	1.2689	0.320	2.262	ns
	方程 3	-0.3518	0.3919	0.2527	-1.936	2.262	ns
新梢上叶片	方程 4	-3.9635	2.4965	2.2674	1.814	2.262	ns
	方程 5	-2.5804	1.2812	1.1792	0.518	2.262	ns
	方程 6	-0.4360	0.5449	0.3439	1.285	2.262	ns

味子叶的生长动态研究。

参考文献

- 艾军, 李爱民, 王玉兰, 赵淑兰(1999). 北五味子叶面积的回归测算法. 特产研究, (1): 43~45
- 柏军华, 王克如, 初振东, 陈兵, 李少昆(2005). 叶面积测定方法的比较研究. 石河子大学学报(自然科学版), 23 (2): 216~218
- 陈超君, 黄敏, 尹小红(2007). 广金钱草叶面积测量方法的研究. 作物杂志, (5): 46~48
- 高山, 洪晓波, 尹光, 朱立武(2000). 中国李叶片特征值与叶面积及平均果重的相关回归分析. 安徽农业科学, 28 (3): 359~360
- 陶洪斌, 林杉(2006). 打孔称重法与复印称重法和长宽校正法测定水稻叶面积的方法比较. 植物生理学通讯, 42 (3): 496~498
- 肖强, 叶文景, 朱珠, 陈瑶, 郑海雷(2005). 利用数码相机和Photoshop 软件非破坏性测定叶面积的简便方法. 生态学杂志, 24 (6): 711~714
- 薛义霞, 栗东霞, 李亚灵(2006). 番茄叶面积测量方法的研究. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 34 (8): 116~120
- 苑克俊, 刘庆忠, 李圣龙, 陈秀霞(2006). 利用数码相机测定果树叶面积的新方法. 园艺学报, 33 (4): 829~832
- 中国科学院中国植物志编辑委员会(1996). 中国植物志(第三十卷, 第一分册). 北京: 科学出版社, 252~260
- Arias D, Calvo-Alvarado J, Dohrenbusch A (2007). Calibration of LAI-2000 to estimate leaf area index (LAI) and assessment of its relationship with stand productivity in six native and introduced tree species in Costa Rica. Forest Ecol Manag, 247: 185~193
- Rouphael Y, Colla G, Fanasca S, Karam F (2007). Leaf area estimation of sunflower leaves from simple linear measurements. Photosynthetica, 45 (2): 306~308