

利用数码相机和 Photoshop 软件非破坏性测定叶面积的简便方法^{*}

肖强 叶文景 朱珠 陈瑶 郑海雷^{**}

(厦门大学生命科学学院, 厦门 361005)

摘要 采用数码相机获取叶片的数字图像,用 Photoshop 图像处理软件计算叶面积,并与目前常用的剪纸法和叶面积仪测定法进行比较分析。结果表明,本方法和上述传统测定方法测定结果存在极显著线性相关;不同拍摄分辨率、单位叶面积存储像素个数和拍摄角度对测定结果无显著影响。和其它方法相比,本方法具有准确、快速、成本低廉、适合非破坏性动态连续观测等优点,适用于植物生理生态学研究中叶面积的测定。

关键词 图像处理,叶面积测量,数码照相

中图分类号 TP391.41 **文献标识码** A **文章编号** 1000-4890(2005)06-0711-04

A simple non-destructive method to measure leaf area using digital camera and Photoshop software. XIAO Qiang, YE Wenjing, ZHU Zhu, CHEN Yao, ZHENG Hailei (School of Life Sciences, Xiamen University, Xiamen 361005, China). *Chinese Journal of Ecology*, 2005, 24(6): 711 ~ 714.

A method for measuring leaf area was developed using digital camera and Photoshop software. The measured data from digital camera was compared with the values from paper-cut and instrumental scanning methods and etc. The results showed that there was highly significant correlation between the results of digital image processing method and other traditional methods. The resolution pixel number of leaf picture and camera angle had no significant influence on the results of the method. Relative low variation, accuracy, non-destructive and low price are the main advantages of the method, which is applicable and reliable in plant physiological ecology research.

Key words leaf area measurement, digital camera, image processing.

1 引言

作为植物光合作用和蒸腾作用的主要器官,叶片面积的大小对植物生长发育、抗逆性等生理功能有很大影响,是评价环境因子效应的重要生长指标。通过动态测定和比较研究叶面积变化,可以为胁迫效应研究提供重要参考。植物受到病虫害侵染后,会出现不连续的枯黄和斑点,给原位测定绿色部分面积带来困难。因此,建立简便、快速准确、非破坏性的叶面积测定方法,对于植物生理生态研究具有重要意义。

目前常用叶面积测定方法主要有以下几种^[1]:光电测定法、剪纸法、打孔测定法、排水量测定法、系数测定法、数格测定法等。随着数码照相技术和图像处理软件的不断改进,使利用计算机系统采用简便而又成本低廉的方法测定叶面积成为可能^[2]。数字图象技术广泛用于叶面积指数测定、森林垂直分布结构以及防风林孔隙度测算等植物生理生态研究领域^[3,4,6,7]。本文旨在利用现有数码设备和图

像处理软件,寻找一种简便、迅捷、准确、连续、非破坏性计算叶面积的方法,为植物生理生态研究提供服务。

2 材料与方法

2.1 供试材料及测定方法

试验选择已知面积(75 cm²)标准坐标纸和完整的、大小各异的含笑叶片 50 片。叶面积仪采用美国 LFCOR 公司的 LF3000A 便携式叶面积仪。剪纸法是将叶片在 A4 纸上沿边缘准确画线并剪下,准确称量其质量,测定标准面积纸张质量,算出 1 cm²的纸张质量,计算叶面积。

2.2 图像处理技术测定步骤

1) 将一张坐标纸紧密固定在不易变形的硬塑料板上,作为拍照背景底板;2) 将待测叶片平展于底板上,用透明塑料板压平,确保叶片完全伸展;3) 用适

^{*}福建省自然科学基金项目(D0210001)和国家自然科学基金资助项目(30271065)。

^{**}通讯作者

收稿日期:2004-05-08 改回日期:2004-06-20

当的拍摄分辨率、图像存储像素和拍摄角度对叶片进行拍摄,拍摄结束后将图片导入计算机;4)在 Photoshop 图像处理软件中打开叶片图像,用软件中“磁性套索”或者“魔棒”工具选取图片中叶片部分,然后打开菜单中“图像”,选取“直方图”选项,记录显示参数中的“像素”数值(图 1);5)用软件中“多边形套索”工具,选取底板坐标纸任意已知面积方格,记录选区“像素”数值,作为计算系数(图 2);6)叶面积 = 叶片像素点数/选取方格像素点数 \times 方格面积。

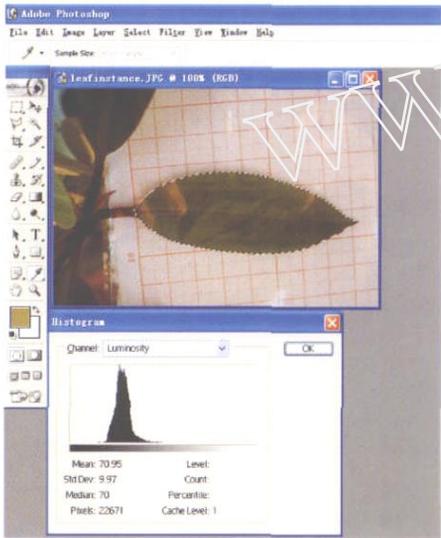


图 1 计算叶片像素个数
Fig. 1 Calculation of the pixel of leaf

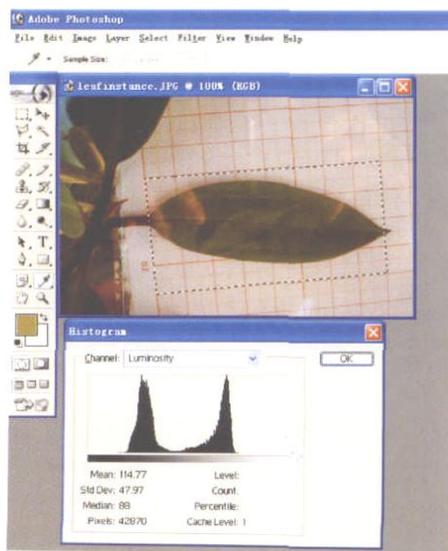


图 2 计算方格像素个数
Fig. 2 Calculation of the pixel of grid

3 结果与分析

3.1 拍摄分辨率对叶面积测定的影响

不同拍摄分辨率、存储格式和图像缩放比例均会对图像像素个数产生一定影响,为了消除这一影响,本方法用坐标纸作为拍摄背景,确保了所拍摄叶片和选用的计算系数来源尽量一致,从而使拍摄不受数码相机所处位置、景深、图片中叶片大小等条件限制,非常适合野外测定和活体测定。

通过 Adobe 公司的 Photoshop 7.0 软件,对同一叶片不同分辨率下叶面积进行测定。方差分析表明(表 1),不同分辨率下测定结果之间差异不显著($P < 0.01$)。说明市面上分辨率一般的普通相机就能满足测定要求。

表 1 不同拍摄分辨率对叶面积测定的影响

Tab. 1 Effects of different resolution on the measurement of leaf area

拍摄分辨率	叶面积(cm^2)	变异系数(%)
640 \times 480	9.09 \pm 0.08	0.83
1024 \times 768	9.06 \pm 0.04	0.42
1600 \times 1200	9.11 \pm 0.06	0.66
2048 \times 1536	9.06 \pm 0.05	0.50

3.2 单位叶面积存储像素个数对叶面积测定的影响

在实际拍摄过程中,取景框中待测叶片大小决定所占用的存储空间,也会影响图像像素个数,通过前述步骤研究单位面积叶片所占存储像素个数(个 cm^{-2})对测定结果的影响。方差分析表明,单位面积叶片不同存储像素个数对测定结果无显著影响(表 2, $P < 0.01$),即在较低图像分辨率和占用较小存储空间情况下,利用数码相机结合数字图像处理技术,仍然可以获得良好效果,这对于野外大量叶片测定十分有利,可以利用相机的有限存储空间,获得更多叶片信息。如以 8000 像素 cm^{-2} 存储,每一图片大约占用 65 K 存储空间,一个具有 128M 存储容量的数码相机可以存储约 2000 张叶片图像,足可满足一般生理生态野外研究需要。

表 2 单位面积叶片不同存储像素个数对叶面积测定的影响

Tab. 2 Effects of different counted pixel number on the measurement of leaf area

单位面积像素个数 (个 cm^{-2})	叶面积(cm^2)	变异系数(%)
< 8000	9.08 \pm 0.07	0.76
8000 ~ 30000	9.07 \pm 0.05	0.51
> 30000	9.09 \pm 0.06	0.66

3.3 拍摄角度对叶面积测定的影响

在使用数码相机进行拍摄过程中,相机镜头光轴与叶片所在平面夹角(拍摄角度)不同,会引起照片产生透视变形,为了研究这种透视变形对叶面积测定的影响,选取同一叶片,采用不同拍摄角度进行拍摄,每个角度拍摄5张,按照前述方法计算叶面积。结果表明,不同拍摄角度对叶面积影响差异不显著(表3, $P < 0.01$),说明在通常拍摄角度下(30~90度),测定结果都是准确的,因为采用坐标纸作为比较背景,最大限度地消除了透视变形对图像分析过程的影响。

表3 不同拍摄角度对叶面积测定的影响

Tab.3 Comparison among results from different angle for leaf area measurement

拍摄角度(度)	叶面积(cm^2)	变异系数(%)
90	13.53 \pm 0.03	0.19
85	13.50 \pm 0.04	0.28
75	13.47 \pm 0.02	0.17
60	13.44 \pm 0.03	0.22
45	13.44 \pm 0.04	0.27
30	13.47 \pm 0.01	0.08

3.4 数字图像处理方法与常用方法比较

选取已知准确面积(75 cm^2)坐标纸作为对象,通过几种方法分别测定其面积,每一方法测定5次,方差分析表明,3种测定方法的测定结果差异不显著($P < 0.01$)。而数字图像处理法绝对误差和相对误差最小,变异系数介于叶面积仪法和剪纸法之间,说明数字图像测定法适用于叶面积测定。

表4 已知准确面积纸片(75 cm^2)不同测量方法结果之间的比较Tab.4 Comparison between different methods of leaf area measurement for a known area paper (75 cm^2)

测定方法	叶面积(cm^2)	绝对误差	相对误差	变异系数(%)
叶面积仪法	75.30	0.30	0.40	0.54
剪纸法	75.26	0.26	0.35	0.29
数字图像处理法	74.92	0.08	0.11	0.44

图3为采用不同方法对同一叶片5次重复测定的结果。可以看出,在相同条件下对同一叶片进行叶面积测定,数字图像处理法测定结果变异最小,平均变异系数为0.49%,曲线变化平稳,重现性好;剪纸法因受叶片形状和操作熟练程度等因素影响,测定结果变异系数最大,平均变异系数达到1.38%;叶面积仪测定方法的测定结果介于数字图像处理法和剪纸法之间,平均变异系数为0.79%。

通过几种方法分别测定50片含笑的叶面积,采用SPSS软件对其进行统计分析。结果表明,任何两种测定方法之间都极显著相关,其中剪纸法与叶

面积仪法、数字图像处理法与叶面积仪法、数字图像处理法与剪纸法的相关系数 R^2 分别为0.9964^{**}、0.9947^{**}和0.9992^{**},证明数字图像处理技术适合于叶面积测定。

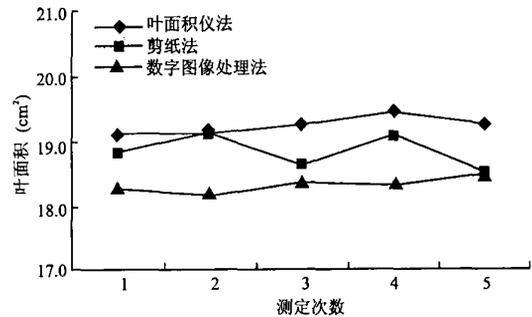


图3 不同测定方法对同一叶片叶面积比较

Fig.3 Comparison among results from different methods for leaf area measurement on the same leaf

3.5 数字图像处理方法对病斑叶片叶面积的测定

由于图像处理软件 Photoshop 拥有功能强大的选区选择工具和颜色范围选取工具,可以任意选取叶片特定区域,为解决植物叶面受到环境胁迫、病害和昆虫破坏部位的定量分析提供了可能。图4为在坐标纸上画出已知面积圆圈(2.84 cm^2)并着色以模拟病斑情况的测定结果。从中可以看出,该方法对病斑测定结果变异系数为0.63%,其相对误差为1.07%,能够反映叶片在各种环境因子作用下叶面积所发生的变化。

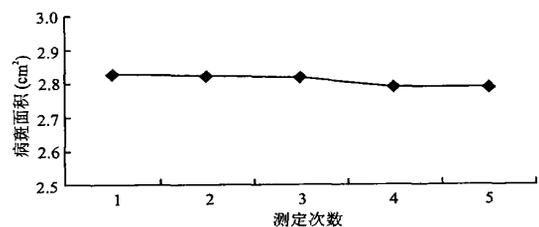


图4 数字图像处理法对模拟病斑叶面积比较

Fig.4 Comparison among results from the digital method for leaf area measurement on the same leaf dot

4 结论

除了叶面积仪法和系数测定法,上述其它方法都是在破坏植物的基础上进行的。剪纸法简单、方便,但对于不规则形状的叶片其精确度降低,也不适合作物苗期和具有较小叶片植株的叶面积测量,其精确度也受人为因素、纸张的均匀性等因素影响。打孔测定法的不足之处在于,如遇粗大叶脉容易产

生误差。排水量测定法受植物本身水分状况影响较大。系数测定法可用于活体测定,但不同植物、品种、不同叶龄叶片需分别测定系数。数格交叉法测定结果相对准确,但需要消耗大量人工,且对于形状不规则叶片测量精度大大降低,甚至无法测量象三叶草等植物的复杂类型叶片,而且在计数时受人为因素影响较大。由加拿大 REGENT 公司生产的 Win/ MacFOL IA 阔叶图像分析系统以及 CID 公司生产的 AM200 便携式叶面积仪虽然可以快速测定叶面积,且操作简单,可用于受到环境胁迫、病害和昆虫破坏植物叶面积的定量分析,但该系统成本高、价格昂贵,限制了其推广普及。而且,在手持式仪器进行测量时,叶片的扫描速度对测定结果影响较大。数字图像处理法建立在计算机图像处理基础上,广泛适用于阔叶植物叶面积测定,便于连续动态观测不规则叶片生长变动趋向,尤其对于植物突变株生长情况研究具有特殊价值^[5]。由于图像分辨率对测定结果没有影响,所以可以采用较低分辨率使数码相机在有限容量中存贮更多图片,且可大大缩短图像处理时间,非常适合野外、大量样本测定。相对于进口设备,普通数码相机在价格上也具有较

大优势。关于本方法对针叶林叶面积测定方面的应用价值有待于进一步研究。

参考文献

- [1] 乔富廉. 2002. 植物生理学实验分析测定技术[M]. 北京: 中国农业科学技术出版社, 67~70.
- [2] 杨劲峰, 陈清, 韩晓日, 等. 2002. 数字图像处理技术在蔬菜叶面积测量中的应用[J]. 农业工程学报, 18: 155~158.
- [3] 姜凤歧, 朱教君, 曾德慧, 等. 2003. 防护林经营学[M]. 北京: 中国林业出版社, 131~135.
- [4] Chen JM, Black TA, Adams RS. 1991. Evaluation of hemispherical photography for determining plant area index and geometry of forest stand[J]. *Agric. For. Meteorol.*, 56: 129~143.
- [5] Dario L, Claudio V, Paolo P, et al. 1999. Large-scale evaluation of plant growth in *Arabidopsis thaliana* by non-invasive image analysis[J]. *Plant Physiol. Biochem.*, 37: 671~678.
- [6] Inge J, Stefan F, Kris N, et al. 2004. Review of methods for in situ leaf area index determination: Part I. Theories, sensors and hemispherical photography[J]. *Agric. For. Meteorol.*, 121: 19~35.
- [7] Zhu JJ, Matsuzaki T, Gonda Y. 2003. Optical stratification porosity as a measure of vertical canopy structure in a Japanese coastal forest[J]. *For. Ecol. Man.*, 173: 89~104.

作者简介 肖强,男,1970年生,博士研究生,主要从事植物生理生态学研究。E-mail: xiaoqiang 761 @ tom.com
责任编辑 王伟