

利用普通扫描仪精确测量叶面积的技术及方法

骆 彬¹, 贾亚敏¹, 刘 彤^{1,2}, 魏 鹏

(1. 新疆石河子大学生命科学院, 832003; 2. 新疆兵团绿洲生态农业重点实验室 石河子 832003)

摘 要: 通过平台扫描仪获取叶片的数字图像, 并运用数字图像扫描技术测定植物叶面积的方法。结果表明: 图像扫描方法的测定结果, 适用于叶面积的测量工作, 和其它方法相比具有准确、快速、适用范围广、容易普及等优点, 适用于科研和生产推广使用。

关键词: 叶面积; 图像处理; 叶面积测量

中图分类号: Q-336 文献标识码: A 文章编号: 1001-0009(2007)05-0046-03

植物光合生理和形态学研究中, 精确测量不同形态、大小的叶面积是其试验的基础, 目前常用的叶面积测量大都用国外进口的叶面积仪, 以及最近国内研制出的一些辅助测量方法, 如网格交叉法、复印称重法、直接测量法等。叶面积仪虽然具有快速的特点, 但价格较高, 由于采用拉动式方法, 对过小的叶片($<2\text{cm}^2$)无法正常测量。网格交叉法和复印称重法由于测量效率低和受测量仪器的限制, 实际应用少。目前国内存在利用数字图像处理进行叶面积测量, 有利用 Photoshop 软件, GIS 软件, Mapinfo 软件进行处理, 也有不少的利用自己编写的程序进行的(杨劲峰 2002; 张恒敢 2002; 孙雪文 2005; 吴玉德 2005; 李万春 2004)。我们根据 O' Neal (2002) 提出的思路, 结合普通电脑扫描仪成像原理与分析软件对三种不同形状大小叶片进行测试, 考察其实用性, 并对测量方法进行介绍。

1 材料和方法

1.1 基本设备

普通平台扫描仪及 Scion Image 软件(Image 4.02 for windows, National Institutes of Health, Bethesda, MD, <http://www.scioncorp.com> 免费下载)。采用 Intel Celeron 200、256RAM, WindowsXP 操作系统及国产联想 UB1200 型扫描仪进行实验。

1.2 工作原理

计算机中的平面图像是由若干网格状排列的像素(pixel)组成的。单位长度的像素数就是图像的分辨率, 通常用每英寸的像素数表示(dpi)。因此, 知道了图像在宽度和高度两个方向上的分辨率, 就可以计算每个像素

占据图像的面积。用扫描仪获得待测叶片的平面图像, 统计图像中叶片所占的像素数, 乘以每个像素所占的实际面积就可以计算出叶片的面积。本文使用的 Scion Image 软件已将这一系列的复杂问题进行了简化, 我们只需做的就是对其得出的数据进行校正。

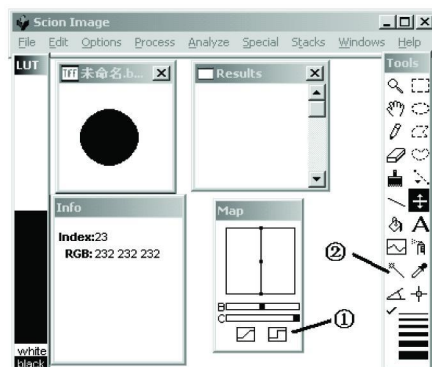


图1 Scion Image 软件操作示意图

1.3 操作步骤

1.3.1 数据采集——扫描 把待测样品平铺在扫描仪面板上(样品上衬一张白纸做背景色), 选择彩色、粗略模式($>300\text{dpi}$)。点击扫描按钮, 得到数字图像, 将其存储在特定的文件夹中作为分析之用(文件按 Tiff 图像格式存储)。

1.3.2 图像处理——在 Scion Image 下打开上述所存文件, 在 windows 菜单下选择 Map box 命令, 在 Map 工具框内, 把图片格式由彩色转变成二进制格式的黑色(图1中)。然后在 Tool box 下选取 magic wand(图1中)工具, 对待测定的图形进行选定。

1.3.3 测量——在 analyze 菜单下选取 set scale 把单位由 Pix 转化为毫米(或其他单位)。软件自动根据待测图像进行调整其比率。然后点击 measure 即可(ctrl+1), 软件可自动按顺序存贮测量结果, 按 ctrl+2 看 result 对外框。

第一作者简介: 骆彬(1981-), 男, 硕士研究生, 研究方向为进化生物学, E-mail: westcamel@126.com。

通讯作者: 刘彤(1968-), 博士, 主要从事进化生物学研究。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30360017)。

收稿日期: 2007-01-15

2 测量方法的精确度和准确度研究

我们选取了全缘倒卵形、锯齿心形、羽状浅裂三种不同叶形和大小的叶片做为研究对象,每一种叶片取 16 片。网格法测量结果作为标准面积,然后每一叶片用图像扫描法重复测量 5 次,与标准叶面积对比,考察测量面积与标准面积差异(准确度)以及重复之间的差异(精确度)。

我们用准确度(平均数)±精确度(标准误)^[5]来考察衡量图像扫描面积与标准面积之间的差异以及对同一测量目标重复观测的仪器测量的稳定性。由卡方检验全缘倒卵形叶、锯齿心形、羽状浅裂叶三种不同的叶片都表现出较高的 P 值(表 1),其中全缘倒卵形叶只有两片叶片为 P<0.9,其余都在 0.9 以上;锯齿形叶面积

有两片 P<0.9 而羽状浅裂则有 7 片叶片 P<0.9,其原因是由于羽状浅裂形状的叶片周长较长,在扫描图像由彩色转化成黑色图像时,图像边缘有一定的部分丢失的原因。网格法测量面积与图像扫描法两者之间差异不显著,反应了准确度较高。

图像扫描法 5 次重复之间,全缘倒卵形叶标准误 0.270mm²到 1.24mm²之间,锯齿形叶片标准误在 0.1891mm²到 1.9394mm²之间,羽状浅裂叶片标准误在 0.4989mm²到 2.2364mm²之间,这表明图像扫描法各重复之间相差甚小,最大不过 2.2364mm²,这是由于羽状浅裂叶片普遍较大的缘故。因而我们认为利用图像扫描法,人为因素和扫描设备两者对多次测量结果的影响较小,显示出较高的精确度。

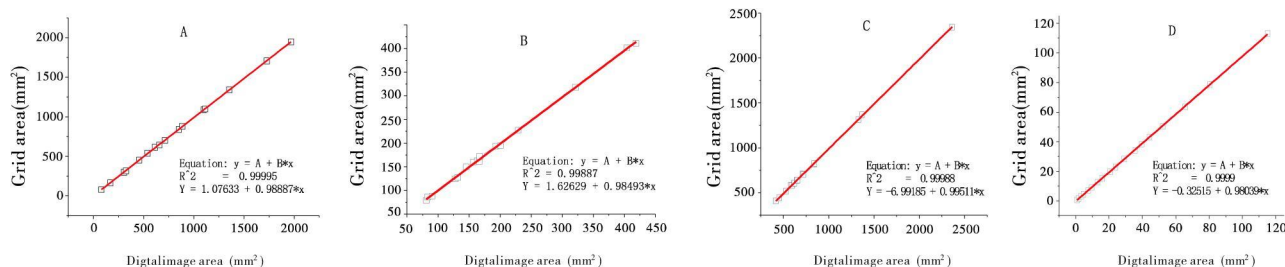
表 1 不同叶片的网格测量面积与图像扫描面积比较											
实物	网格法 (mm ²)	平均±标准 误扫描法 (mm ²)	x ²	P	校正面积 (mm ²)	实物	网格法 mm ²	平均±标准 误扫描法 (mm ²)	x ²	P	校正面积 (mm ²)
全缘倒卵形叶面积测量 A	81	80.11±0.396	0.088	>0.995	80.294	锯齿心形叶面积测量 B	78.5	80.81±0.688	0.461	>0.975	78.948
	166	167.634±1.043	0.210	>0.990	166.844		86	82.982±0.250	0.544	>0.95	86.336
	299	304.314±0.983	0.536	>0.950	302.003		88	90.17±0.264	0.283	>0.99	88.306
	318	325.708±0.326	0.941	>0.9	323.158		124	127.084±0.268	0.395	>0.975	123.766
	455.5	456.148±0.197	0.006	>0.995	452.146		127.5	131.786±0.794	0.819	>0.9	127.213
	538.5	538.946±0.298	0.005	>0.995	534.023		150	145.198±0.168	0.772	>0.9	149.376
	617	614.462±0.271	0.055	>0.995	608.698		160	156.836±0.189	0.317	>0.795	159.226
	644	655.55±0.319	1.039	>0.9	649.328		163	163.142±0.236	0.007	>0.995	162.181
	702	711.83±0.668	0.701	>0.95	704.982		161.5	166.238±1.865	1.125	>0.875	160.703
	839.5	849.71±0.739	0.634	>0.95	841.327		172	166.684±1.400	1.05	>0.9	171.046
	878.5	885.69±1.0132	0.318	>0.975	876.907		193.5	193.002±1.468	0.229	>0.99	192.223
	1 090	1 097.468±1.246	0.284	>0.99	1 086.327		195	200.624±1.607	1.07	>0.875	193.701
	1 098.5	1 112.832±0.616	0.942	>0.9	1 101.520		227	228.85±0.261	0.081	>0.995	225.221
羽状浅裂叶面积测量 C	1 341.5	1 352.806±0.525	0.480	>0.95	1 338.823	手绘标准圆形计算 D	318	321.128±0.577	0.175	>0.995	314.856
	1 706	1 725.184±1.129	1.094	>0.85	1 707.055		402	403.946±1.939	0.234	>0.99	397.596
	1 946	1 968.402±0.994	1.299	>0.85	1 947.566		411	418.872±1.845	0.92	>0.9	406.461
	410	416.204±0.623	0.488	>0.975	407.131		1.539	1.747±0.005	0.168	>0.995	1.39
	444	454.61±1.228	1.336	>0.80	445.345		3.142	3.303±0.010	0.051	>0.995	2.91
	518.5	529.992±0.509	1.284	>0.85	520.35		4.524	4.685±0.014	0.036	>0.995	4.27
	583.5	584.154±0.619	0.017	>0.995	574.241		7.069	7.523±0.016	0.177	>0.995	7.05
	580.5	593.556±0.498	1.477	>0.80	583.596		9.079	9.492±0.005	0.113	>0.995	8.98
	607	616.042±1.015	0.707	>0.950	605.969		12.566	13.105±0.006	0.139	>0.995	12.52
	609.5	620.73±0.992	1.067	>0.900	610.634		19.635	20.578±0.015	0.272	>0.995	19.85
	638	649.548±1.278	1.096	>0.875	639.308		22.902	23.928±0.011	0.276	>0.995	23.13
	641	653.888±0.890	1.32	>0.85	643.626		28.274	28.96±0.013	0.102	>0.995	28.08
	709	712.62±0.8367	0.113	>0.995	702.065		34.212	35.638±0.009	0.357	>0.995	34.61
	705	720.1±1.3591	1.669	>0.80	709.507		38.484	39.568±0.016	0.183	>0.995	38.47
	820	839.126±0.609	1.218	>0.85	827.938		43.008	44.183±0.016	0.193	>0.995	42.99
	825.5	839.546 1.027	1.398	>0.80	828.356		50.265	52.237±0.017	0.464	>0.99	50.89
	1 314	1 329.822±2.005	1.015	>0.900	1 316.181		63.617	65.733±0.019	0.422	>0.99	64.12
	1 368.5	1 369.538±1.730	0.048	>0.995	1 355.698		78.539	80.365±0.014	0.255	>0.995	78.46
	2 343	2 364.462±2.236	1.026	>0.900	2 345.648		113.09	115.04±0.018	0.2004	>0.995	112.46

3 图像扫描面积与标准面积之间相关关系

图像扫描方法具有传统方法所不能相比的优点,虽

其精确度高(即标准误差小),但其准确度有待进行数据校正,为此我们可通过建立图像扫描面积与标准面积的

回归方程(图2)。由图形可知回归方程的R值都达到了0.99。



(A. 全缘倒卵形叶 B. 锯齿心形叶 C. 羽状浅裂叶 D. 手绘标准圆形)

图2 图像扫描面积与网格法测量面积之间的相关关系

4 讨论

用图像扫描面积法所得数据表现出高的精确度,相比于其它的测量方法(如叶面积仪法)而言,人为因素不是其主要方面,其准确度主要由扫描仪决定。在实际测量中,我们应先利用网格法和图像扫描法测量10组以上数据,得出较准确的回归方程。利用方程对扫描数据进行校正即可。

本方法实际上是利用现有的数字图像软件,在扫描仪和计算机基础上,组成一台智能型的叶面积测定仪。它具有以下特点:不需要过多的设备,只需要利用一台计算机和扫描仪,利用简单的软件程序;精度高,适用于面积小于A4纸张大小的叶片,适用于绝大多数植物的叶面积的测量,对于不规则叶片更显得其优越性;速度快,对于叶面积不大的植物,可以一次扫描多张叶片,进行批量处理。根据我们准确计时,实验得出重复一次的数据共花2min 45s(扫描约需要30s);本方法对发生虫害的叶片也能够测量,并且与测量叶片的幼嫩无关。

操作中注意的问题:对图象进行切割会影响图像的像素,对于扫描成像后的文件,如果进行人为的修改(如Acidsee软件),会对实验数据产生影响,因此,建议直接

用Scion Image软件里的工具进行修改即可;同时还发现,用其它的扫描格式(如黑白、灰白、彩色细致等)扫描出来的图像,再选用Magic wand工具时,不能对图像进行选定;在操作过程中,有必要调整单位,(软件默认单位为像素)软件中自带有像素与厘米之间的转换系数,它是根据当前打开的图像进行调整的,打开的图像不同转换系数也不一。本测量方法最大的缺陷是将叶片离体测量。

参考文献:

- [1] 杨劲峰,陈清,韩晓日,等.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,2002,18(4):155-158.
- [2] 张恒敢,杨四军,顾克军,等.应用数字图像处理测定作物叶面积的简便方法[J].江苏农业科学,2002,(3):20-21.
- [3] 孙雪文,高德武,李日新.基于GIS的植物叶面积的快速精确测定方法[J].水土保持科技情报,2005,2:17-18.
- [4] 吴玉德,张鹏.基于Mapinfo的树木叶面积测定方法[J].林业调查规划,2005,30(6):23-24.
- [5] 李万春,田燕,王鹏云.基于常规扫描仪的植物叶面积计算系统[J].气象,2004,(30)8:39-41.
- [6] Matthew E. O'neal, Douglas A. Landis, Rufus Isaacs. An inexpensive, accurate method for measuring leaf area and defoliation through digital image analysis[J]. Journal of Economic Entomology, 2002, 2:1190-1194.

The Accurate Method for Leaf Area Measurement by Common Scanner

LUO Chen¹, JIA Ya-min¹, LIU Tong^{1,2}, WEI Peng¹

(1. College of life science, Xinjiang Shihezi university, Shihezi Xinjiang 832003; 2. Key Laboratory of Oasis Ecology Agriculture of Xinjiang BINGTAN, Shihezi, Xinjiang 832003)

Abstract: Based on image processing techniques obtain the real area of leaf by scanner. The digital photos was analyzed by a simply software and then computered the leaf area. The results showed that this scanning method could be used for measuring large number of samples and save a lot of time compared to the traditional method.

Key words: Leaf area; Image processing; Leaf area measurement