

农作物锈病叶傅里叶变换红外光谱检测方法研究

杨卫梅¹, 刘刚^{1*}, 刘雨¹, 林浩坚¹, 欧全宏¹, 安冉¹, 时有明²

1. 云南师范大学物理与电子信息学院, 云南 昆明 650500
2. 曲靖师范学院物理与电子工程学院, 云南 曲靖 655011

摘要 在农作物生产中, 不合理使用化学农药来防治植物病害的现象普遍存在, 严重影响产品品质及食用安全, 快速鉴别植物病害并采取合理的防治措施对提高农作物品质具有重要意义。利用红外光谱三级鉴别法(傅里叶变换红外光谱(FTIR)、二阶导数红外光谱(SD-IR)及二维相关红外光谱(2D-IR))对蚕豆、玉米、葱和蒜正常叶、锈病叶病斑处及病斑附近绿色部位进行了研究。结果显示, 正常叶、病斑附近绿色部位及锈病叶病斑处的光谱吸收峰强度和形状存在微小差异。原始光谱中正常叶、病斑附近绿色部位及锈病叶病斑处的几个吸收强度比存在差异, 蚕豆的正常叶、病斑附近绿色部位及锈病叶病斑处的吸收强度比 A_{1410}/A_{1646} 分别为 0.698, 0.624 和 0.616, A_{2926}/A_{1646} 相应比值分别为 0.665, 0.638 和 0.552; 玉米的相应比值 A_{1649}/A_{1055} 分别为 0.813, 0.696, 0.691, A_{1382}/A_{1055} 相应比值分别为 0.552, 0.478 和 0.465, A_{2926}/A_{1055} 相应比值分别为 0.574, 0.467 和 0.469; 葱的相应比值 A_{1382}/A_{1061} 分别为 0.843, 0.821 和 0.704, A_{2923}/A_{1061} 相应比值分别为 0.707, 0.680 和 0.489; 以上锈病叶病斑处及病斑附近绿色部位的几个峰强均比正常叶小。二阶导数红外光谱在 $1800\sim 800\text{ cm}^{-1}$ 范围内, 正常叶、病斑附近绿色部位及锈病叶病斑处的吸收峰的形状及强度显示明显差异。二维相关红外光谱显示, 正常叶、锈病叶病斑处及病斑附近绿色部位在 $860\sim 1690\text{ cm}^{-1}$ 范围内自动峰和交叉峰的位置、数目及强度存在显著差异。蚕豆正常叶出现 4 个强自动峰, 2 组强的正交叉峰; 病斑附近绿色部位出现 5 个强自动峰, 4 组强正交叉峰; 锈病叶病斑处出现 2 个最强自动峰和 5 个中强自动峰, 5 组强正交叉峰; 蚕豆锈病叶病斑处自动峰强度最强, 而正常叶的各个自动峰的强度最低。玉米正常叶出现 9 个强自动峰, 12 组强的正交叉峰; 病斑附近绿色部位出现 11 个强自动峰, 3 组最强的正交叉峰和 11 组中强正交叉峰; 锈病叶病斑处出现 6 个强自动峰, 3 组强正交叉峰; 蒜正常叶出现 9 个强自动峰, 8 组强的正交叉峰; 病斑附近绿色部位出现 2 个最强自动峰和 9 个次强自动峰, 10 组强正交叉峰; 锈病叶病斑处出现 6 个强自动峰, 1 组强正交叉峰; 玉米和蒜病斑附近绿色部位的各个自动峰的强度最强, 而锈病叶病斑处自动峰和交叉峰强度最弱。葱正常叶出现 9 个强自动峰, 5 组强的正交叉峰; 病斑附近绿色部位出现 8 个强自动峰, 3 组强正交叉峰; 锈病叶病斑处出现 3 个强自动峰, 无正交叉峰出现。葱正常叶的各个自动峰的强度最强, 而锈病叶病斑处自动峰强度最弱。结果表明, 利用傅里叶变换红外光谱结合二阶导数红外光谱及二维相关红外光谱能简单、快速地鉴别研究农作物锈病叶, 有望为农作物病害提供一种光谱检测方法。

关键词 农作物锈病; 傅里叶变换红外光谱; 二阶导数红外光谱; 二维相关红外光谱

中图分类号: O657.3 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3964/j.issn.1000-0593(2019)02-0435-08

引言

锈病是由真菌寄生引起的一种常见植物病害, 危害植物的叶片, 有时也危害花梗和果实, 病情严重时, 病斑将布满

叶片两面, 像铁器生锈, 影响作物产量, 葱蒜类将失去食用价值^[1-2]。在农作物生产中, 不合理使用化学农药来防治植物病害的现象普遍存在, 严重影响产品品质及食用安全; 快速、准确地鉴别植物病害并采取合理的防治措施对提高农作物品质具有重要意义^[3]。

收稿日期: 2017-12-30, 修订日期: 2018-04-21

基金项目: 国家自然科学基金项目(31760341)和云南省高校科技创新团队支持计划资助

作者简介: 杨卫梅, 女, 1992年生, 云南师范大学物理与电子信息学院硕士研究生 e-mail: 1090887515@qq.com

* 通讯联系人 e-mail: gliu66@163.com

根据病害叶症状的传统形态检测方法,有一定的主观性;还有利用分子生物学方法、显微镜技术^[4]、镶入式图像处理^[5]及分子标记法^[6]检测植物锈病方法,这些方法成本高,需丰富经验,耗时费力。

傅里叶变换红外光谱(FTIR)技术具有制样简单、灵敏度高、快速、无损等优点,广泛用于中药材鉴定、食品品质检验、农产品分析等领域^[7-8],如 Cardinali 等^[9]利用 FT-IR 结合偏最小二乘回归法鉴别巴西柑橘病害;何志遥等^[10]利用 FT-IR 技术研究葱蒜锈病叶;欧全宏等利用 FT-IR 技术研究稻瘟病、玉米锈病和蚕豆锈病叶;Sankaran 等^[11]利用可见-近红外光谱及热成像结合支持向量方法鉴别柑橘的病害叶与正常叶;Pereira 等^[12]利用激光荧光成像技术研究柑橘黄龙病;二维光谱鉴别尚未见报道。

二维相关红外光谱(2D-IR)引入外界微扰来研究各组分分子振动行为差异,运用数学方法将传统红外光谱信号扩展到二维来提高光谱分辨率,可提供更多细节信息,在食品、中草药分析鉴别等领域广泛应用^[13]。如 Qu 等^[14]利用 FT-IR 结合 2D-IR 分析和筛选沉香药材的掺假。本利用傅里叶变换红外光谱结合二阶导数红外光谱和二维相关红外光谱研究蚕豆、玉米、葱和蒜正常叶、锈病叶病斑处及病斑附近绿色部位,有望为农作物病害检测提供一种快捷、准确的方法。

1 实验部分

1.1 仪器设备与测试条件

美国 Perkin Elmer 公司生产的 Frontier 型红外光谱仪,配备 DTGS 探测器,测定范围 $4\ 000\sim 400\text{ cm}^{-1}$,分辨率为 4 cm^{-1} ,累计扫描 16 次。温控仪为 EURO THERM 公司生产的 SYD-TC-01 型温度控制仪,温度控制范围为 $50\sim 120\text{ }^{\circ}\text{C}$,升温速率为 $2\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$,每隔 $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ 采集一次光谱得到动态光谱。

1.2 样品制备及检测

所有样品均采自云南省陆良县,将所有样品进行烘干,分别取同一品种、同一生育期、同一程度病害叶的病斑部位,正常叶取与病害叶对应相同部位测试,将样品放入玛瑙研钵中磨为细粉,再加入适量的溴化钾搅磨均匀,压片测试光谱,测量的所有光谱均扣除纯溴化钾背景。

1.3 光谱预处理和数据分析

利用光谱处理软件(OMNIC 8.0)对原始光谱进行自动基线校正、纵坐标归一化、平均谱图、平滑点数为 5 的 Savitsky-Golay 二阶导数预处理。利用 Origin 8.6 软件进行原始红外光谱、二阶导数红外光谱数据处理,再利用 Perkin Elmer 公司的 Spectrum 10.03 软件对动态原始光谱进行基线修正和基线交互修正预处理,然后用清华大学开发的 TD 4.2 软件对动态谱进行二维相关红外光谱分析。

2 结果与讨论

2.1 四种作物正常叶的光谱特征

图 1 为蚕豆、玉米、葱和蒜正常叶的原始红外光谱(10 次测量值的平均红外光谱),可以看出,四种作物正常叶有一些共同的特征峰,归属如下:在 $3\ 200\sim 3\ 400\text{ cm}^{-1}$ 附近呈现强而宽吸收峰,归属为多糖和蛋白质的 $-\text{OH}$ 和 $-\text{NH}$ 伸缩振动;在 $2\ 926$ 和 $2\ 851\text{ cm}^{-1}$ 附近的吸收峰为 $-\text{CH}_2$ 的反对称和对称伸缩振动^[8]; $1\ 737\text{ cm}^{-1}$ 附近的弱吸收峰是 $\text{C}=\text{C}$ 伸缩振动; $1\ 645\text{ cm}^{-1}$ 附近的峰是蛋白质酰胺 I 带吸收峰,葱和蒜在 $1\ 515\text{ cm}^{-1}$ 附近的弱峰为蛋白质酰胺 II 带吸收峰^[13]; $1\ 415\text{ cm}^{-1}$ 附近的吸收峰为 $\text{C}-\text{H}$ 剪式振动;玉米和葱在 $1\ 383\text{ cm}^{-1}$ 附近的强峰为 $-\text{OH}$ 弯曲振动; $1\ 244\text{ cm}^{-1}$ 附近的峰为 $\text{C}-\text{O}$ 伸缩振动; $1\ 200\sim 950\text{ cm}^{-1}$ 范围内为多糖的吸收区,在 $1\ 156\text{ cm}^{-1}$ 附近出现弱吸收峰为多糖的 $\text{C}-\text{O}$ 伸缩振动, $1\ 057\text{ cm}^{-1}$ 附近强峰为 $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ 伸缩振动^[14]; $950\sim 750\text{ cm}^{-1}$ 附近为糖类异构体吸收峰。

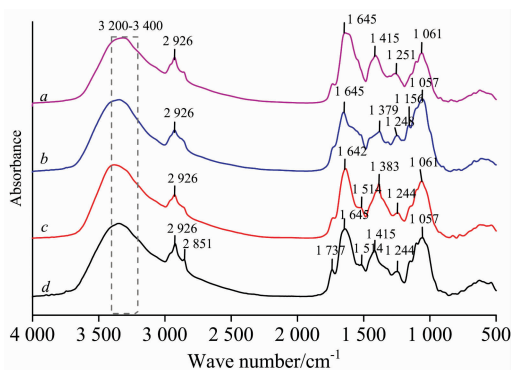


图 1 四种作物正常叶的傅里叶变换红外光谱

a: 蚕豆叶; b: 玉米叶; c: 葱叶; d: 蒜叶

Fig. 1 FTIR spectra of healthy leaves of four crops

(a): Healthy broad bean; (b): Healthy corn;

(c): Healthy allium fistulosum; (d): Healthy garlic leaves

2.2 蚕豆正常叶和锈病叶的光谱分析

图 2 为蚕豆正常叶(a1)、病斑附近绿色部位(a2)及锈病叶病斑处(a3)的原始红外光谱(10 次测量值的平均红外光谱),原始红外光谱显示,在 $1\ 417$, $1\ 105$ 和 921 cm^{-1} 附近, $a1$ 的吸收强度比 $a3$ 强;在 $1\ 740$ 和 $1\ 650\text{ cm}^{-1}$ 附近, $a3$ 的吸收强度比 $a1$ 强; $a3$ 在 $1\ 067\text{ cm}^{-1}$ 附近的吸收峰强度强于 $a2$ 。 $a1$, $a2$ 和 $a3$ 吸收强度比 $A_{1\ 410}/A_{1\ 646}$ 分别为 0.698 , 0.624 和 0.616 ; $A_{2\ 926}/A_{1\ 646}$ 相应比值分别为 0.665 , 0.638 和 0.552 ; $a1$, $a2$ 及 $a3$ 吸收强度比依次变小。

二阶导数光谱[图 2(b)]在 $1\ 800\sim 800\text{ cm}^{-1}$ 范围内存在明显差异,在 $1\ 740$, $1\ 658$, $1\ 543$, $1\ 414$, $1\ 147$ 和 $1\ 107\text{ cm}^{-1}$ 附近的峰强度, $a1$ 强于 $a2$ 和 $a3$;在 $1\ 075$ 和 875 cm^{-1} 附近的峰强度, $a1$ 和 $a3$ 强于 $a2$;在 $1\ 598$ 和 961 cm^{-1} 附近的峰强度, $a3$ 强于 $a1$ 。在 $1\ 542$, $1\ 515$ 和 841 cm^{-1} 附近的峰强度, $a2$ 强于 $a3$,而在 $1\ 075$, $1\ 050$, $1\ 014$ 和 961 cm^{-1} 附近的峰强度, $a3$ 强于 $a2$ 。 $a1$ 在 991 和 894 cm^{-1} 附近及 $a2$ 在

1 372 cm^{-1} 附近出现明显吸收峰, a_3 在此处无吸收峰出现。

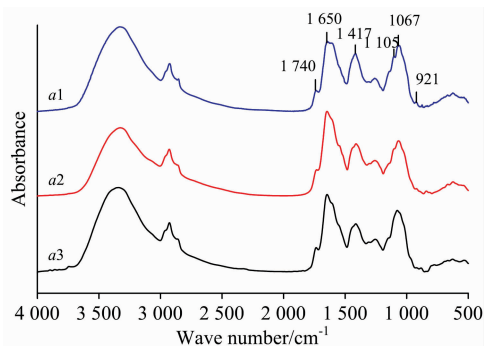


图 2(a) 蚕豆叶的傅里叶变换红外光谱

a_1 : 正常叶; a_2 : 病斑附近绿色部位; a_3 : 锈病叶病斑处

Fig. 2(a) FTIR spectra of broad bean leaves

a_1 : Healthy; a_2 : Green area near rust;

a_3 : Rust spot

在 860~1 690 cm^{-1} 范围的二维相关红外光谱[图 2(c)], 正常叶(a_1)出现 4 个强自动峰分别为 1 197, 1 414, 1 560 和 1 650 cm^{-1} 附近, 最强峰 1 560 cm^{-1} 附近, 最弱峰为 1 197 cm^{-1} , 两组较强的正交叉峰。病斑附近绿色部位(a_2)出现五个强自动峰在 1 000, 1 218, 1 456, 1 562 和 1 606 cm^{-1} 附近, 最强峰在 1 562 cm^{-1} 附近, 最弱峰 1 218 cm^{-1} 附近, 出

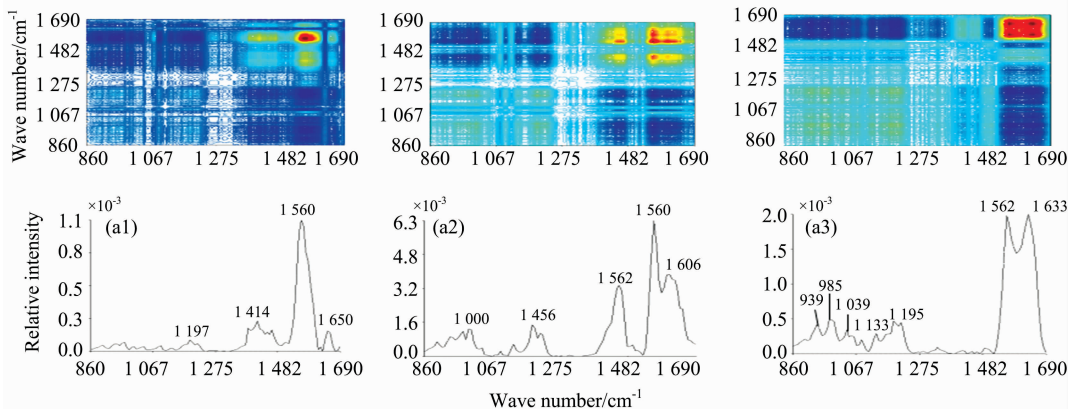


图 2(c) 蚕豆叶在 860~1 690 cm^{-1} 范围的二维相关红外光谱

a_1 : 正常叶; a_2 : 病斑附近绿色部位; a_3 : 锈病叶病斑处

Fig. 2(c) 2D-IR spectra of broad bean leaves in the range of 860~1 690 cm^{-1}

(a_1): Healthy; (a_2): Green area near rust; (a_3): Rust spot

以上特征分析, 表明蚕豆正常叶、病斑附近绿色部位和锈病叶病斑处的光谱存在明显差异, 表明它们的蛋白质、多糖相对含量不同。

2.3 玉米正常叶和锈病叶的光谱分析

图 3(a) 是玉米正常叶(b_1)、病斑附近绿色部位(b_2)及锈病叶病斑处(b_3)的原始红外光谱(10 次测量值的平均红外光谱), 可以看出, 在 1 653, 1 383, 1 243 和 1 159 cm^{-1} 附近, b_1 的吸收强度比 b_3 强; 在 780 cm^{-1} 附近, b_3 的吸收强度比 b_1 和 b_2 强; 在 1 243 cm^{-1} 附近, b_2 的吸收强度比 b_3 强。同时 b_1 和 b_2 在 1 057 cm^{-1} 附近出现吸收峰, b_3 在 1 078 cm^{-1}

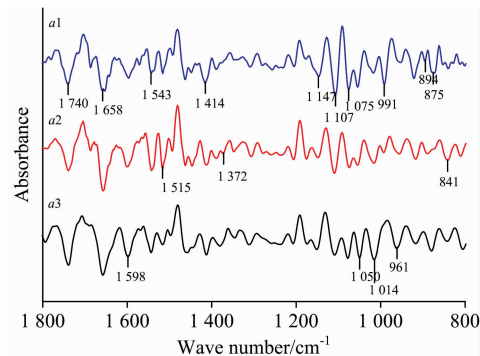


图 2(b) 蚕豆叶在 1 800~800 cm^{-1} 范围的二阶导数红外光谱

a_1 : 正常叶; a_2 : 病斑附近绿色部位; a_3 : 锈病叶病斑处

Fig. 2(b) Second derivative FTIR spectra of broad bean leaves in the range of 1 800~800 cm^{-1}

a_1 : Healthy; a_2 : Green area near rust spot

a_3 : Rust spot

现四组强正交叉峰。锈病叶病斑处(a_3)出现两个最强自动峰为 1 562 和 1 633 cm^{-1} 附近, 五个中强自动峰分别在 939, 985, 1 039, 1 133 和 1 195 cm^{-1} 附近, 最强峰 1 633 cm^{-1} 附近, 最弱峰为 1 133 cm^{-1} 附近, 五组强正交叉峰。 a_2 , a_3 与 a_1 相比较, a_3 在 1 456 cm^{-1} 附近的自动峰强度低于 a_2 , 其余自动峰强度增强, a_1 的各个自动峰的强度最低, 数目最少。

附近出现吸收峰, 相差 21 cm^{-1} 。 b_1 , b_2 , b_3 吸收强度比 $A_{1\ 649}/A_{1\ 055}$ 分别为 0.813, 0.696 和 0.691; $A_{1\ 382}/A_{1\ 055}$ 相应比值分别为 0.552, 0.478 和 0.465; $A_{2\ 926}/A_{1\ 055}$ 相应比值分别为 0.574, 0.467 和 0.469; 以上比值均看出, b_2 和 b_3 吸收强度比均比 b_1 相应比值变小。

二阶导数光谱[图 3(b)]显示出明显差异, 正常叶(b_1)在 1 777 cm^{-1} 附近出现中强峰, 而锈病叶病斑处(b_3)和病斑附近绿色部位(b_2)在此处无吸收峰出现, b_3 在 1 639 cm^{-1} 附近出现弱吸收峰, 而 b_1 和 b_2 在此处无明显吸收峰。 b_1 在 1 350~1 320 cm^{-1} 附近出现两个吸收峰, 分别在 1 348 和

1 336 cm^{-1} 附近, 而 b_2 和 b_3 在此范围无明显吸收峰出现。在 1 691, 1 548 和 1 492 cm^{-1} 附近的峰强度, b_3 强于 b_1 , 在 1 740, 1 654, 1 517, 1 463 和 1 313 cm^{-1} 附近峰强度, b_1 强于 b_3 ; 在 1 203, 1 163, 989, 924 和 896 cm^{-1} 附近的峰强度, b_1, b_2 和 b_3 依次减弱, 同时在 1 440~1 380, 1 110~1 070, 960~910 cm^{-1} 范围内, b_1, b_2 和 b_3 的峰形状和强度明显不同。

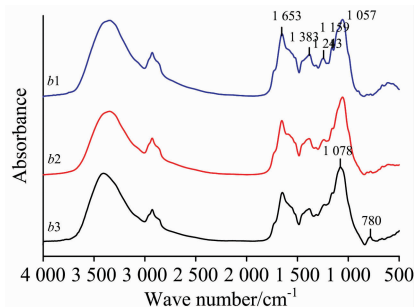


图 3(a) 玉米叶的傅里叶变换红外光谱

b_1 : 正常叶; b_2 : 病斑附近绿色部位; b_3 : 锈病叶病斑处

Fig. 3(a) FTIR spectra of corn leaves

b_1 : Healthy; b_2 : Green area near rust spot

b_3 : Rust spot

在二维相关红外光谱[图 3(c)]中, 在 860~1 690 cm^{-1} 范围内, 正常叶 (b_1) 有九个自动峰, 分别为 880, 955, 1 010, 1 095, 1 147, 1 212, 1 290, 1 558 和 1 632 cm^{-1} 附近, 最强峰在 1 629 cm^{-1} 附近, 最弱峰为 1 290 cm^{-1} 附近, 12 组强的正交叉峰。病斑附近绿色部位 (b_2) 只出现 11 个自动峰, 分别为 883, 971, 1 010, 1 094, 1 149, 1 197, 1 294,

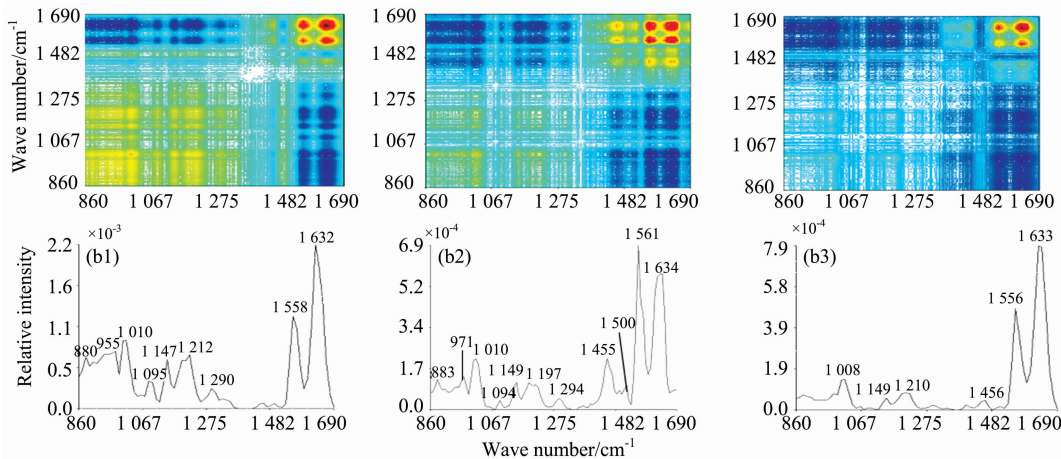


图 3(c) 玉米叶在 860~1 690 cm^{-1} 范围的二维相关红外光谱

b_1 : 正常叶; b_2 : 病斑附近绿色部位; b_3 : 锈病叶病斑处

Fig. 3c 2D-IR spectra of corn leaves in the range of 860~1 690 cm^{-1}

(b_1): Healthy; (b_2): Green area near rust; (b_3): Rust spot

根据以上特征, 表明玉米正常叶、病斑附近绿色部位和锈病叶病斑处的蛋白质、多糖含量存在明显差异。

2.4 葱正常叶和锈病叶的光谱分析

葱[图 4(a)]正常叶 (c_1)、病斑附近绿色部位 (c_2) 及锈病

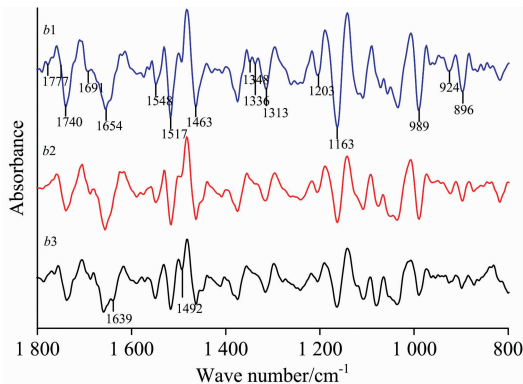


图 3(b) 玉米叶在 1 800~800 cm^{-1} 范围的二阶导数红外光谱

b_1 : 正常叶; b_2 : 病斑附近正常部位; b_3 : 锈病叶

Fig. 3(b) Second derivative FTIR spectra of corn leaves in the range of 1 800~800 cm^{-1}

b_1 : Healthy; b_2 : Green area near rust spot

a_3 : Rust spot

1 455, 1 500, 1 561 和 1 634 cm^{-1} 附近, 最强峰在 1 561 cm^{-1} 附近, 最弱峰为 1 094 cm^{-1} 附近, 三组最强的正交叉峰, 11 组强的正交叉峰, 与 b_1 相比, 在 1 455 和 1 561 cm^{-1} 附近的自动峰增强, 其余的自动峰强度减弱。锈病叶病斑处 (b_3) 只出现六个自动峰, 分别为 1 008, 1 149, 1 210, 1 456, 1 556 和 1 633 cm^{-1} 附近, 最强峰在 1 633 cm^{-1} 附近, 最弱峰为 1 456 cm^{-1} 附近, 三组强的正交叉峰, 与 b_2 比较, 在 1 633 cm^{-1} 附近的自动峰强度增强, 其余的自动峰强度减弱。可看出, b_3 的自动峰和交叉峰数目最少, 强度最低。

叶病斑处 (c_3) 的原始红外光谱 (10 次测量值的平均红外光谱) 显示, 在 1 740, 1 516, 1 383 和 1 101 cm^{-1} 附近, c_1 的吸收强度比 c_3 强; 在 1 058 和 822 cm^{-1} 附近, c_3 的吸收强度比 c_1 强; c_2 在 1 637 cm^{-1} 附近的峰强度最低。 c_1 和 c_3 最强吸

收峰分别为 $1\ 628$ 和 $1\ 650\ \text{cm}^{-1}$ 附近, 两者相差 $22\ \text{cm}^{-1}$; c_2 最强峰在 $1\ 055\ \text{cm}^{-1}$ 附近。 c_1 , c_2 和 c_3 吸收强度比 $A_{1\ 382}/A_{1\ 061}$ 分别为 0.843 , 0.821 , 0.704 ; $A_{2\ 923}/A_{1\ 061}$ 相应比值分别为 0.707 , 0.680 , 0.489 ; 可看出, c_1 , c_2 及 c_3 吸收强度比依次变小。

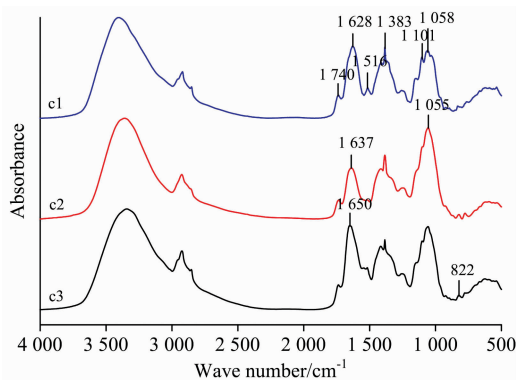


图 4(a) 葱叶的傅里叶变换红外光谱

c_1 : 正常叶; c_2 : 病斑附近绿色部位; c_3 : 锈病叶病斑处

Fig. 4(a) FTIR spectra of allium fistulosum leaves

c_1 : Healthy; c_2 : Green area near rust; c_3 : Rust spot

在二阶导数光谱[图 4(b)]中, 在 $1\ 159$, $1\ 105$ 和 $957\ \text{cm}^{-1}$ 附近, 正常叶(c_1)的吸收强度比病斑附近绿色部位(c_2)和锈病叶病斑处(c_3)强; 在 $1\ 740\ \text{cm}^{-1}$ 附近, c_3 的吸收强度比 c_1 和 c_2 强; 在 $1\ 383\ \text{cm}^{-1}$ 附近, c_2 峰强度最强, 可看出 c_1 , c_2 及 c_3 的吸收峰形状和强度存在明显差异。

二维相关红外光谱[图 4(c)]显示, 在 $860\sim 1\ 690\ \text{cm}^{-1}$ 范围内, 正常叶(c_1)出现九个强自动峰, 分别为 $941, 985,$

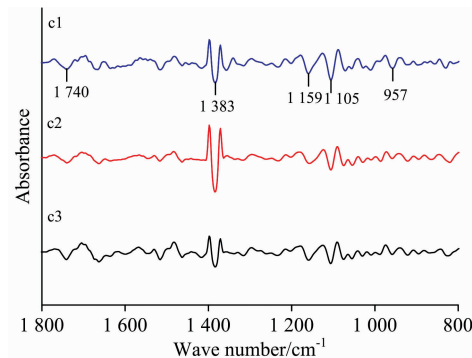


图 4(b) 葱叶在 $1\ 800\sim 800\ \text{cm}^{-1}$ 范围的二阶导数红外光谱
 c_1 : 正常叶; c_2 : 病斑附近正常部位; c_3 : 锈病叶

Fig. 4(b) Second derivative FTIR spectra of allium fistulosum leaves in the range of $1\ 800\sim 800\ \text{cm}^{-1}$

c_1 : Healthy; c_2 : Green area near rust; c_3 : Rust spot

$1\ 039, 1\ 089, 1\ 129, 1\ 206, 1\ 352, 1\ 377$ 和 $1\ 604\ \text{cm}^{-1}$ 附近, 最强峰 $1\ 377\ \text{cm}^{-1}$ 附近, 最弱峰为 $1\ 129\ \text{cm}^{-1}$ 附近, 五组强的正交叉峰。病斑附近绿色部位(c_2)出现八个自动峰, 分别为 $885, 941, 999, 1\ 208, 1\ 325, 1\ 397, 1\ 450$ 和 $1\ 617\ \text{cm}^{-1}$ 附近, 最强峰在 $1\ 397\ \text{cm}^{-1}$ 附近, 最弱峰为 $885\ \text{cm}^{-1}$ 附近, 三组强的正交叉峰; 与 c_1 相比较, 自动峰和交叉峰数目减少, 强度降低。锈病叶病斑处(c_3)只出现三个自动峰, 分别为 $1\ 385, 1\ 581$ 和 $1\ 648\ \text{cm}^{-1}$ 附近, 最强峰在 $1\ 385\ \text{cm}^{-1}$ 附近, 最弱峰为 $1\ 581\ \text{cm}^{-1}$ 附近, 无较明显的正交叉峰出现。 c_1 , c_2 及 c_3 相比较, c_1 的自动峰和交叉峰数目最多, 强度最强, 而 c_3 的自动峰和交叉峰数目最少, 强度最低。

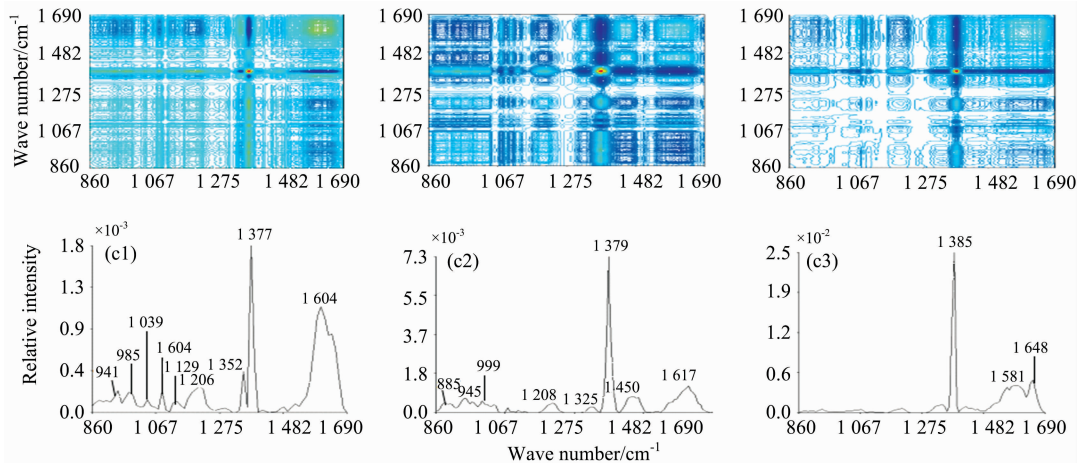


图 4(c) 葱叶在 $860\sim 1\ 690\ \text{cm}^{-1}$ 范围的二维相关红外光谱

c_1 : 正常叶; c_2 : 病斑附近绿色部位; c_3 : 锈病叶病斑处

Fig. 4(c) 2D-IR spectra of allium fistulosum leaves in the range of $860\sim 1\ 690\ \text{cm}^{-1}$

c_1 : Healthy; c_2 : Green area near rust; c_3 : Rust spot

以上分析结果得出, 葱正常叶, 病斑附近绿色部位和锈病叶病斑处的光谱存在明显差异, 表明它们的蛋白质, 多糖相对含量不同。

2.5 蒜正常叶和锈病叶的光谱分析

图 5(a)为蒜正常叶(d_1)、病斑附近绿色部位(d_2)及锈病叶病斑处(d_3)的原始红外光谱(10次测量值的平均红外光谱)显示, d_1 和 d_3 最强吸收峰在 $1\ 644\ \text{cm}^{-1}$ 附近, 而 d_2 最强峰在 $1\ 625\ \text{cm}^{-1}$ 附近, 相差 $19\ \text{cm}^{-1}$ 。在 $1\ 740, 1\ 245,$

1 103 和 1 053 cm^{-1} 附近, $d1$ 的吸收强度比 $d3$ 强; 在 1 644 cm^{-1} 附近, $d3$ 的吸收强度比 $d1$ 强, 在 1 511 cm^{-1} 附近, $d2$ 的吸收强度比 $d1$ 和 $d3$ 强。在 1 415 cm^{-1} 附近, $d1$ 和 $d2$ 出现单峰, 而 $d3$ 出现双峰分别在 1 412 和 1 381 cm^{-1} 附近。

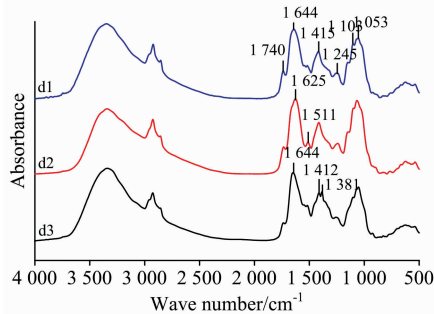


图 5(a) 蒜叶的傅里叶变换红外光谱

$d1$: 正常叶; $d2$: 病斑附近绿色部位; $d3$: 锈病叶病斑处

Fig. 5(a) FTIR spectra of garlic leaves

$d1$: Healthy; $d2$: Green area near rust;
 $d3$: Rust spot

二阶导数光谱[图 5(b)]显示出明显差异, 在 1 741, 1 546, 1 261, 1 230, 1 158, 1 105 和 958 cm^{-1} 附近的峰强度, 正常叶($d1$)强于锈病叶病斑处($d3$); 在 1 517, 1 415, 1 373, 1 050, 989, 921, 853 和 831 cm^{-1} 附近的峰强度, $d3$ 强于 $d1$; 在 1 463 和 1 415 cm^{-1} 附近的峰强度, $d3$ 强于病斑附近绿色部位($d2$); 在 1 158, 1 105, 958 和 893 cm^{-1} 附近的峰强度, $d2$ 强于 $d3$ 。在 1 492 cm^{-1} 附近, $d3$ 出现单峰, 而 $d1$ 出现双峰为 1 505 和 1 492 附近; $d2$ 在 1 630~1 560 cm^{-1} 范围无明显吸收峰; 同时在 1 780~1 740, 1 590~1 550 和 1 400~1 300 cm^{-1} 范围, $d1$, $d2$ 及 $d3$ 的峰形状和强度明显不同。

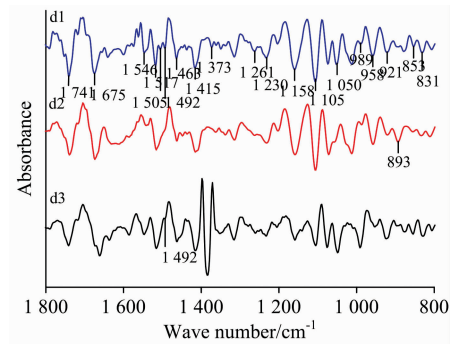


图 5(b) 蒜叶在 1 800~800 cm^{-1} 范围的二阶导数红外光谱

$d1$: 正常叶; $d2$: 病斑附近绿色部位; $d3$: 锈病叶病斑处

Fig. 5(b) Second derivative FTIR spectra of garlic leaves in the range of 1 800~800 cm^{-1}

$d1$: Healthy; $d2$: Green area near rust;
 $d3$: Rust spot

在二维相关红外光谱[图 5(c)]中, 在 860~1 690 cm^{-1} 范围内, 正常叶($d1$)出现九个自动峰, 分别为 937, 1 060, 1 204, 1 316, 1 383, 1 448, 1 521, 1 575 和 1 646 cm^{-1} 附近, 最强峰在 1 575 cm^{-1} 附近, 最弱峰为 1 316 cm^{-1} 附近, 八组强的正交叉峰。病斑附近绿色部位($d2$)出现两个最强峰分别为 1 000 和 1 587 cm^{-1} 附近, 九个次强峰分别为 885, 949, 1 078, 1 110, 1 214, 1 385, 1 443, 1 521 和 1 652 cm^{-1} 附近, 最强峰在 1 587 cm^{-1} 附近, 最弱峰为 1 385 cm^{-1} 附近, 10 组较强的正交叉峰。锈病叶病斑处($d3$)只出现六个强自动峰, 分别为 895, 953, 1 018, 1 204, 1 420 和 1 631 cm^{-1} 附近, 最强峰在 1 631 cm^{-1} 附近, 最弱峰为 1 018 cm^{-1} 附近, 一组较强的正交叉峰, 与 $d1$, $d2$ 比较, $d3$ 的自动峰和交叉峰数目减少, 强度减弱。

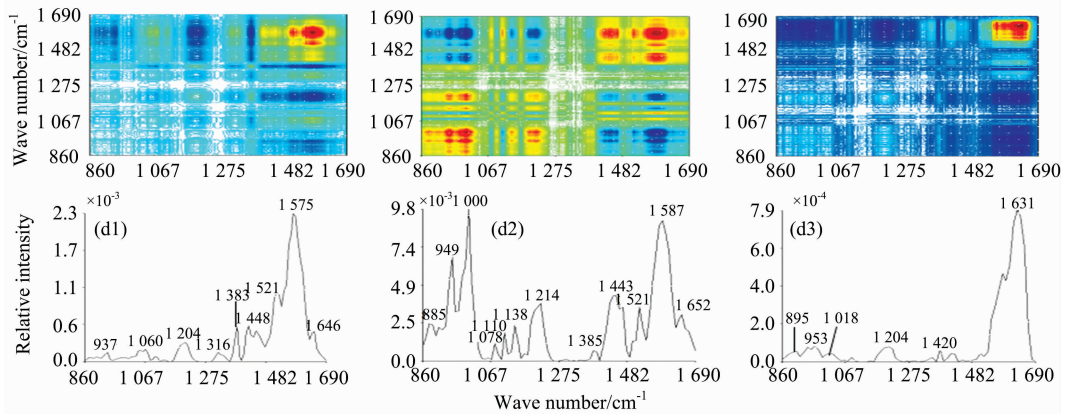


图 5(c) 蒜叶在 860~1 690 cm^{-1} 范围的二维相关红外光谱

$d1$: 正常叶; $d2$: 病斑附近绿色部位; $d3$: 锈病叶病斑处

Fig. 5(c) 2D-IR spectra of garlic leaves in the range of 860~1 690 cm^{-1}

($d1$): Healthy; ($d2$): Green area near rust; ($d3$): Rust spot

以上分析结果得出, 蒜正常叶, 病斑附近绿色部位和锈病叶病斑处之间存在明显差异, 表明它们的蛋白质, 多糖含

量明显不同。

3 结 论

利用红外光谱三级鉴别法(傅里叶变换红外光谱,二阶导数红外光谱及二维相关红外光谱)鉴别研究蚕豆,玉米,葱和蒜的正常叶,锈病叶病斑处及病斑附近绿色部位。结果显示,锈病叶病斑处及病斑附近绿色部位的几个吸收强度都比正常叶相应比值小,且正常叶,锈病叶病斑处及病斑附近绿色部位的原始红外光谱存在微小差异;在二阶导数光谱

1 800~800 cm^{-1} 范围内,峰位置,强度及形状存在明显差异。在二维相关红外光谱 860~1 690 cm^{-1} 范围内,正常叶,锈病叶病斑处及病斑附近绿色部位的自动峰和交叉峰的位置,数目及强度有显著差异,正常叶自动峰数目最多,强度最强;锈病叶病斑处自动峰数目最少,强度最低。结果表明傅里叶变换红外光谱结合二维相关红外光谱在研究农作物病害方面具有快速,简便的优点,有望发展为农作物病害的光谱检测方法。

References

- [1] Shabana Y M, Shahin A A, El-Sawy M M, et al. *Egyptian Journal of Basic & Applied Sciences*, 2016, 4(1): 67.
- [2] Caubel J, Launay M, Ripoché D, et al. *European Journal of Agronomy*, 2017, 90: 53.
- [3] Casassola A, Brammer S P, Chaves M S, et al. *Physiological & Molecular Plant Pathology*, 2015, 89(2015): 49.
- [4] ZHANG Li, LI Lun, LIU Gang, et al(张黎,李伦,刘刚,等). *Journal of Electron Microscopy(电子显微学报)*, 2012, 31(2): 169.
- [5] Xu P, Wu G, Guo Y, et al. *Procedia Computer Science*, 2017, 107: 836.
- [6] SUI Jian-shu, WANG Hua-lu, XIN Zhi-hai, et al(隋建枢,王化陆,辛智海,等). *Seed(种子)*, 2016, 35(5): 41.
- [7] Liu Y, Li J, Fan G, et al. *Journal of Molecular Structure*, 2016, 1124: 180.
- [8] Yan R, Chen J B, Sun S Q, et al. *Journal of Molecular Structure*, 2016, 1124: 110.
- [9] Cardinali M C D B, Boas P R V, Milori D M B P, et al. *Talanta*, 2012, 91: 1.
- [10] HE Zhi-yao, LIU Hai-li, WU Qiu-juan, et al(何志遥,刘海丽,吴秋娟,等). *Journal of Anhui Agricultural Sciences(安徽农业科学)*, 2011, 39(27): 16659.
- [11] Sankaran S, Maja J M, Buchanon S, et al. *Sensors*, 2013, 13: 2117.
- [12] Pereira F M V, Milori D M B P, Rodrigues E, et al. *Computers and Electronics in Agriculture*, 2011, 79: 90.
- [13] Qu L, Chen J B, Zhou Q, et al. *Journal of Molecular Structure*, 2016, 1124: 216.
- [14] Qu L, Chen J B, Zhang G J, et al. *Spectrochimica Acta Part A Molecular & Biomolecular Spectroscopy*, 2016, 174: 177.

Detection Method for Crop Rust by Fourier Transform Infrared Spectroscopy

YANG Wei-mei¹, LIU Gang^{1*}, LIU Yu¹, LIN Hao-jian¹, OU Quan-hong¹, AN Ran¹, SHI You-ming²

1. School of Physics and Electronic Information, Yunnan Normal University, Kunming 650500, China

2. School of Physics and Electronic Engineering, Qujing Normal University, Qujing 655011, China

Abstract In crop production, the unreasonable use of chemical pesticides to prevent from plant diseases is widespread, which affects product quality and food safety seriously. Therefore, it is of great significance to identify plant disease quickly and adopt appropriate control measures to improve the quality of crops. In this paper, the healthy leaves, rust spot and green area near the spot of rust diseased leaves of broad bean, corn, allium fistulosum and garlic were studied by a tri-step IR spectroscopy method, including Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy, second derivatives infrared (SD-IR) spectroscopy and two-dimensional correlation infrared (2D-IR) spectroscopy. The results showed that tiny differences were observed in the intensities and shape of several peaks in the original spectra of each crop leaves. And several peak intensity ratios in the original spectra were different. The peak intensity ratio A_{1410}/A_{1646} of the healthy leaves, green area near spot and rust spot of rust diseased leaves of broad bean were 0.698, 0.624 and 0.616 respectively, and the corresponding ratio A_{2926}/A_{1646} were 0.665, 0.638 and 0.552 respectively. The corresponding ratio A_{1649}/A_{1055} of corn were 0.813, 0.696 and 0.691 respectively, and the corresponding ratio A_{1382}/A_{1055} were 0.552, 0.478 and 0.465 respectively; the corresponding ratio of A_{2926}/A_{1055} were 0.574, 0.467 and 0.469 respectively. The corresponding ratio A_{1382}/A_{1061} of allium fistulosum were 0.843, 0.821 and 0.704 respectively; the corresponding ratio of A_{2923}/A_{1061} were 0.707, 0.680 and 0.489 respectively. It can be seen that the intensity ratios of the rust spot and the green area near the spot of rust leaves were lower than that of the healthy leaves. More significant differences were ex-

hibited in their SD-IR spectra in the range of $1\ 800\sim 800\ \text{cm}^{-1}$, and clearer differences in the position and intensity of auto and cross peaks were observed in the range of $860\sim 1\ 690\ \text{cm}^{-1}$ in 2D synchronous correlation spectra. The healthy leaves of broad beans showed 4 strong auto-peaks and 2 strong positive cross peaks, and 5 strong auto-peaks and 4 strong positive cross peaks were revealed in the green area near the spot of rust diseased leaves, and 2 strongest auto-peaks, 5 medium strong auto peaks and 5 strong positive cross peaks were appeared in the rust spot of rust diseased leaves. The intensity of auto-peaks of the rust spot of broad bean rust leaves were the strongest while the intensity of auto-peaks of the healthy leaves were the weakest. There were 9 strong auto-peaks and 12 strong positive cross peaks in the healthy leaves of corn, and 11 strong auto-peaks, 3 strongest positive cross peaks and 11 medium strong positive cross peaks in the green area near the rust spot on the diseased leaves, and 6 strong auto-peaks and 3 strong positive cross peaks in the rust spot of rust diseased leaves. There were 9 strong auto-peaks and 8 strong positive cross peaks in the healthy leaves of garlic, and 2 strongest auto-peaks, 9 medium strong auto-peak and 10 strong positive cross peaks appeared in the green area near spot of rust diseased leaves, and 6 strong auto-peaks and 1 strong positive cross peaks in the rust spot of rust diseased leaves. The intensity of auto-peaks of the green area near the spot of rust diseased leaves of corn and garlic were the strongest while the intensity of auto-peaks of the rust spot of rust diseased leaves were the weakest. There were 9 strong auto-peaks and 5 strong positive cross peaks in the healthy leaves of *allium fistulosum*, and 8 strongest auto-peaks and 3 strong positive cross peaks in the green area near the spot of rust diseased leaves, and 3 strong auto-peaks in the rust spot of rust diseased leaves. The auto-peaks of the healthy leaves of *allium fistulosum* were the strongest, while the auto-peaks of the rust spot of the rust leaves were the weakest. It is demonstrated that FT-IR combined with SD-IR and 2D-IR spectroscopy could be used to discriminate the crops rust leaves rapidly and effectively. Tri-step IR spectroscopy might provide a spectral method for detecting crop disease.

Keywords Crop rust; Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy; Second derivative infrared (SD-IR) spectroscopy; Two-dimensional correlation infrared (2D-IR) spectroscopy

(Received Dec. 30, 2017; accepted Apr. 21, 2018)

* Corresponding author