

## 遥感技术对早期植物病毒病的诊断

熊克娟 周履谦 薛翠峰 孙富林

(中国科学院武汉病毒研究所, 武汉430071)

韩锡勤 黄广思

(国家地震局地震研究所, 武汉430071)

## 提 要

本文讨论了利用遥感技术对植物病毒病早期诊断的实验研究。试验表明, 该方法对植物病毒的检测是很敏感的。本研究结果为今后利用航空、卫星遥感进行大面积植物病害的监测提供了依据。

关键词: 遥感 植物病毒

遥感是用各种传感器, 接受来自各类地物的各种电磁波信息, 并对这些信息进行加工处理, 从而对不同的地物及其特性进行远距离探测和识别的综合技术<sup>[1]</sup>。在国外发达国家遥感技术已普遍用于水稻, 麦类及蔬菜等经济作物的感病监测及发病趋势的预测<sup>[2]</sup>, 而在我国遥感用于植物病害的早期探测还未见报道。我们利用遥感和酶联免疫吸附测定技术(ELISA)同时对感病植株在未显症的潜隐期, 依接种的不同天数作了动态研究。本文报道利用遥感进行植物病毒病早期诊断的结果。

## 材 料 与 方 法

## 一、材料

## 1. 光谱测试用:

①辐射源, 200瓦的白炽灯光。

②标准板: 采用中国科学院安徽光机所灰色参考板( $P\lambda$ 值 $0.39_{0.6} \sim 0.336_{2.0}$ )。

③仪器选用: 地物波谱仪, 为长春市第一光学仪器厂出品, 波长范围为 $0.5 \sim 2.5\mu\text{m}$ , 通过PC-1500步进马达和模数转换器(A/D), 使波长转换, 数据采集和记录全部自动化。以避免转换波长和手工记录时可能出现的人为误差, 提高精确度和测量速度。

④目标物: 为播种后1.5—2月的健康植株普通烟草, 设供试株K<sub>1</sub>组2盆, 每盆3株。设对照株L<sub>1</sub>组2盆, 每盆3株。

本文于1990年11月8日收到, 1991年1月30日修回。

## 2. 酶联试验材料

①毒源及血清：烟草花叶病毒作实验毒源，取于实验室温室中普通烟上活体保存 TMV 的寄主植物。血清由中国科学院武汉病毒所本实验室自制。

②供试验植株：为播种后 1.5—2 月的健康植株普通烟 K<sub>2</sub> 组 2 盆，每盆 3 株。

③抗兔 IgG (羊) 酶标抗体：由军事医学科学院微生物流行病学研究所提供。

## 二、方法

1. 光谱测试在室内进行，选择 K<sub>1</sub> 组与 L 组各两盆长势高度相似的健康烟苗，K<sub>1</sub> 组与 L 组中各选一相似大小的叶片为一叶片对应组，每天定时对所选择的叶片测试，每次测 2—3 个叶片组，在叶片未接毒之前进行 5—7 天的观测。在 K<sub>1</sub> 组接毒之后每天又与健康株 L 组对比测试，直至叶片出现症状为止。将地物波谱仪信息采集孔径对准目标物植株叶片，高差为 0.6m，200 瓦白炽灯光源与地物波谱仪前方水平夹角为 28 度左右，选择出适宜的高度与角度，使叶片既充分得到光辐射，又不因太强光使叶片枯萎。光源距离与强度，地物波谱仪与叶片的高差试验期间保持不变。利用灯光对叶片进行照射，其反射光通过地物波谱仪信息采集孔进入，再通过模数转换器将数据记录后输入计算机处理描绘成图，便得出了被测叶片的光谱特征曲线<sup>[1]</sup>。对同一叶片在接毒前后依次每天进行测试，就可得到 R 值目标物 (叶片) 光谱变化趋势图。根据能量守恒的原理，到达植物表面的太阳辐射能量可分为反射、吸收和透射三种，叶面的能量守恒公式为<sup>[1]</sup>：

$$I_{\lambda} = R_{\lambda} + A_{\lambda} + T_{\lambda}$$

(其中 I—入射能量，R—反射能量，A—吸收能量，T—透射能量，λ—波长)

在 0.3~3.0μm 波段内，因为大多数遥感器所测得的都是反射能量<sup>[1]</sup>，即反射能量等于入射能量减去吸收能量和透射能量。

$$R_{\lambda} = I_{\lambda} - (A_{\lambda} + T_{\lambda})$$

当植物细胞出现病变时，其正常的呼吸和光合作用减弱，细胞对光辐射的吸收能就减弱，叶片的光反射率则相对产生变化，因此可区别正常植株与患病植株的差别。

## 2. ELISA 方法<sup>[6,7]</sup>

取感染后第 1 天至第 7 天 K<sub>2</sub> 组的叶片 0.2g 作抗原，病叶研磨后用 0.1mol/L pH9.6 碳酸缓冲液稀释，分别加入 40 孔微量聚苯乙烯板 (在各板上每次抗原重复三次)，每孔 200μl，37℃ 2 小时，然后在 4℃ 过夜，次日弃去抗原，用 pH7.4 PBS-吐温 20 作洗涤液洗 3 次，每次 5 分钟，每孔加 1:20 血清稀释液 200μl，37℃ 2 小时洗 3 次，每次 5 分钟。每孔各加入 200μl 由 PBS-吐温 20 pH7.4 稀释 100 倍的抗兔 IgG 酶标抗体；37℃ 2 小时洗 3 次，每次 5 分钟。每孔加底物溶液 200μl，室温下 15 分钟显色后，加 2mol/L H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 50μl，用 PG3021 酶联免疫检测仪，在 492nm 波长下进行测定。每板设阳性、阴性对照。结果判断：当 P/N ≥ 2 时为阳性，其中 P 为待测样品的 OD 值，N 为阴性样品的 OD 值。

## 结果与讨论

### 1. 使用光谱测定法对植物病毒病早期诊断的结果

根据所测数据的连续性和接种病毒时间，选取自 6 月 27 日至 7 月 10 日的观测结果。K<sub>1</sub> 组接种病毒日期是 7 月 1 日。从整体上看这类烟草植株的光谱反射曲线可分为三个部分：在 0.5—1.2μm 附近为具有低谷的高反射区，背景反射率一般为 30—40%，低谷主要分布在 0.6—0.7μm 段内，一般反射率在 20% 或稍低。1.2—1.9μm 段为起伏的中等反射率区，一般反射率在 10—15%，1.9—2.5μm 为低反射率区，反射率稳

定在4—9%之内。此曲线为本试验中烟草平均反射光谱曲线。见图1a(图线用“—”表示)具有0.6—0.7 $\mu\text{m}$ 处的叶绿素吸收谷,也具有1.4 $\mu\text{m}$ 处的水吸收谷。在1.9 $\mu\text{m}$ 处不明显,却在1.7 $\mu\text{m}$ 附近呈现水吸收低谷。这种光谱响应特征曲线与标准的绿色植物曲线<sup>[9,7]</sup>比较一致。唯有2.0—2.5 $\mu\text{m}$ 均为低值,没有在2.2 $\mu\text{m}$ 附近出现高反射峰,并且1.9 $\mu\text{m}$ 处的水吸收带受其影响而不突出。标准图见图1b(图1b是各种绿色植物反射光谱响应特征的综合图形,图线用“...”表示)。

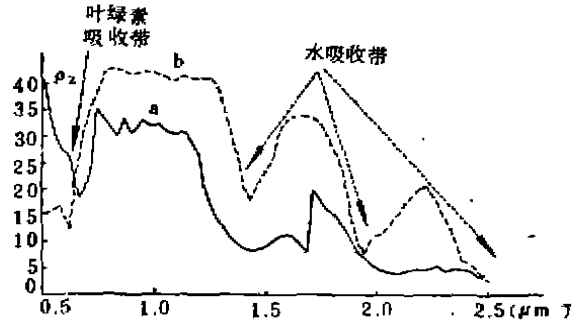


图1a “—” 烟草平均反射光谱曲线  
 Fig1a “—” Characteristics of the mean reflection for *Nicotiana tabacum*  
 图1b “...” 绿色植物的主要光谱响应特征(据 P.H.Swain)  
 Fig1b “...” Spectral feature of green plant

为了以后利用卫星或航空遥感对作物病害预测的实际应用,本次仅分析与航天、航空遥感窗口相适应的0.5—0.7 $\mu\text{m}$ , 0.74—1.1 $\mu\text{m}$ 和2.08—2.36 $\mu\text{m}$ 三个波段。图2中纵坐标是反射率 $\rho$ ,横坐标为观测日期,图2A是第一波段,为可见光波段;图2B是第2波段,为近红外波段;图2C是第3波段,为中红外波段。从图2A看,自7月5日—9日 $K_1$ 组的反射率明显高于6月27日—7月4日,也就是说 $K_1$ 组(接毒组)在接毒前及接毒后三天内的光反射率明显低于接毒第四天后的光反射率,并且 $K_1$ 组(接毒组)与L组(对照组)在7月5日后光谱差异明显。从图2B看, $K_1$ 组和L组形态相近,在7月5日中稍现较高的反射率,其前、后均保持固有水平。近红外波段 $K_1$ 组在接毒前后光谱无明显差异,此波段 $K_1$ 组与L组是同步升降,即接毒组与对照组也无明显差异。图2c中两组反射率十分平稳且相互一致,除7月5日的 $K_1$ 组稍显高, $K_1$ 组一直保持在8—9%的水平,L组在5—6%的水平。即中红外波段的 $K_1$ 组在接毒前后也无明显差异。上述试验说明:1.在每天观测条件不变的情况下,即光源距离与强度,仪器与叶片的高差等在实验期间保持固定,以致观测条件相对影响不大,因而观测结果可靠。2.本试验中病害尚未引起中红外波段患病植株接毒前后的明显差异,也未引起近红外波段患病植株接毒前后的明显差异,患病植株与对照健康植株比较波段也是同步。因此这两波段的光谱曲线在这次实验中对植物病害早期诊断尚无明显特征。而在可见光波段中出现的 $K_1$ 组光谱反射率明显

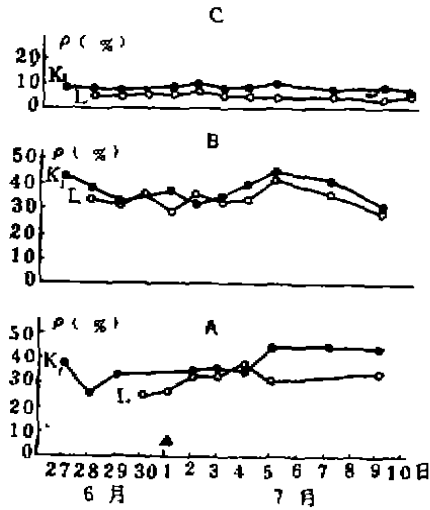


图2. 分波段 $K_1$ 组和L组反射波谱 (A)0.5—0.7 $\mu\text{m}$ . (B)0.74—1.1 $\mu\text{m}$ . (C)2.08—2.36 $\mu\text{m}$ .  
 Fig2. Reflection of groups K and L in Various bands (A)0.5—0.7 $\mu\text{m}$  (B)0.74—1.1 $\mu\text{m}$ . (C)2.08—2.36 $\mu\text{m}$ . (▲为接毒日期)

在接毒前后光谱无明显差异,此波段 $K_1$ 组与L组是同步升降,即接毒组与对照组也无明显差异。图2c中两组反射率十分平稳且相互一致,除7月5日的 $K_1$ 组稍显高, $K_1$ 组一直保持在8—9%的水平,L组在5—6%的水平。即中红外波段的 $K_1$ 组在接毒前后也无明显差异。上述试验说明:1.在每天观测条件不变的情况下,即光源距离与强度,仪器与叶片的高差等在实验期间保持固定,以致观测条件相对影响不大,因而观测结果可靠。2.本试验中病害尚未引起中红外波段患病植株接毒前后的明显差异,也未引起近红外波段患病植株接毒前后的明显差异,患病植株与对照健康植株比较波段也是同步。因此这两波段的光谱曲线在这次实验中对植物病害早期诊断尚无明显特征。而在可见光波段中出现的 $K_1$ 组光谱反射率明显

变化的原因就归结为植物病毒的影响, 见图2。

图3是  $K_1$  组在  $0.5-0.7\mu\text{m}$  波段中按日期分布的均差曲线。纵坐标是各次观测的实际值与平均值的差值, 横坐标为日期, 0 值线为反射率的均值(37%)。从图3上可以看出, 7月4日以前的反射率低于平均值, 一般低2—4%, 个别的低11%, 仅6月27日稍高于平均值。7月4日以后的反射率均高于平均值, 高达7—8%。

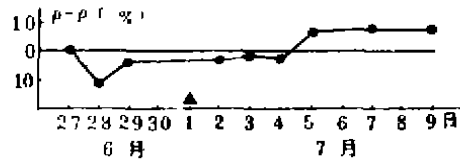


图3.  $K_1$  组第一波段反射率均差曲线 (▲处为接种日期)

Fig 3. Differential from mean of reflection of band I for group  $K_1$

从图2 B、C中可见,  $K_1$  组比 L 组的反射率要高些, 第二波段平均高3%, 第三波段平均高4%, 第一波段在7月4日前  $K_1$  组比 L 组高2%。这种差异可能与两组植株的发育程度和复盖率的差异有关。但在第一波段的7月4日之后,  $K_1$  组反射率比 L 组高出11%, 也同样说明病毒对反射率造成的明显影响。根据研究表明, 绿色叶子在可见波段的蓝色区域和红色区域上反射率都非常低, 这就是叶绿素吸收带所造成的<sup>(4)</sup>。当植物患病时, 叶绿素产生减少了。因而导致叶绿素吸收带的强度减弱, 使得这个波段的反射率增加<sup>(4)</sup>。从本试验中受病害植株在可见光波段反射率的明显增加, 可以看出接种到植株内的病毒主要侵害了叶绿素的生成。这与有关理论和大量的实际测量结果是一致的。从上述分析结果可以得出如下结论: (1) 病毒侵害了烟草的叶绿素, 因而造成可见光波段反射率的明显上升。在利用航空或卫星遥感监测作物病害时应特别重视此波段的光谱变化特性; (2) 本试验中植株接种病毒的第四天光谱变化十分明显, 早于植物显症之前, 可为遥感技术用于植物病害的早期诊断提供一定的实验依据。

## 2. 使用 ELISA 对植物病毒早期诊断的结果

抗原的稀释范围为 1:5—1:15, 酶标抗体的最适稀释度为 1/100—1/200, 所使用的

的抗体最适工作浓度为 1:15—1:20。在血清稀释度为 1:15, 酶标记抗体稀释度为 1/100 的条件下, 接种第四天以后呈阳性反应, 见表1。这一结果与光谱检测结果颇为一致。本实验中植株感染 TMV 后在第七天出现症状, 开始为退绿、黄化、逐渐呈花叶及坏死。

上述结果表明用遥感和 ELISA 方法对植物病毒的检测都是很敏感的。ELISA 用于植物病毒的诊断特异性强, 能确定是何种病毒侵染, 但要有特异性的抗体以及相应的酶标抗体, 故有一定的局限性。而配合利用航空、卫星遥感技术对大面积植

表1 ELISA 检测结果

Table 1. The result of the experiment of ELISA

接种后天数	OD 值	结果判断
1天	1.806	-
2天	1.738	-
3天	1.856	-
4天	2.403	+
5天	2.407	+
6天	2.367	+
7天	2.404	+
阳性对照	2.362	+
阴性对照	1.182	-

物病害进行监测, 以便采取必要的防治措施, 有其重要的经济意义。

### 参 考 文 献

- [1] 马菊乃, 1984, 遥感概论, 第1页, 科学出版社。
- [2] 冠有观, 1988, 农业遥感, 第224—231页, 农业出版社。
- [3] (美) P.H. 斯韦思, S.M. 戴维, 1984, 遥感定量方法, 科学出版社。
- [4] 冠有观, 1988, 农业遥感, 第21页, 农业出版社。
- [5] 梁训生, 1985, 植物病毒血清学技术, 第209—221页, 农业出版社。
- [6] 田波, 1987, 植物病毒研究方法, 第247—251页, 科学出版社。
- [7] Philp P.H. Swain et al., 1978, The Quantitative Approach, McGraw-Hill International Book Company.

## Detection of Plant Viral Diseases by Remote Sensing

Xiong Ke-juan

Zhou Lu-qian

Xue Cui-feng

Sun Fu-jin

(Wuhan Institute of Virology, Academia Sinica, Wuhan 430071)

Han Xi-qin

Huang Guang-si

(Institute of Seismology, State Seismological Bureau, Wuhan 430071)

This paper is focused on the discussion about early diagnosis for plant diseases using remotely sensed technique. The experimental results indicate that spectral reflection is very sensitive to plant diseases, and the experiment provides a basis for monitoring plant diseases in large area with the use of remote sensing.

**Key words,** Remote Sensing    Plant Viruses