

Abiotikus stressz spektrális értékelésének módszertana alma lombozaton

SZABÓ ANDREA, TAMÁS JÁNOS, NAGY ATTILA

Debreceni Egyetem, Mezőgazdaság-, Élelmiszertudományi és Környezetgazdálkodási Kar,
Víz- és Környezetgazdálkodási Intézet

E-mail: szabo.andrea@agr.unideb.hu

Összefoglalás

Az abiotikus stresszhatások nem invazív értékelési módszertanának fejlesztése alma gyümölcsösben és adaptációja 'Early Gold' és 'Golden Reinders' fajtákra a lombozatban mérhető klorofilltartalom spektrális jellemzői alapján történt. A mintavételt hetente kétszer végeztük el 2019. július 7-től 2019. augusztus 29-ig. Minden mérési időszakban 30 mintát gyűjtöttünk mind a két vizsgált almafajtából (összesen 390 db). A levélminták spektrális adatgyűjtéséhez az AvaSpec 2048 spektrométert használtuk 400-1000 nm hullámhossztartományban, három ismétlésben. Az eredmények statisztikai elemzését az SPSS szoftverben a legnagyobb faktorsúlyú hullámhosszak azonosítására a varimax rotációval végzett PCA-t alkalmaztuk. A modellek kalibrálása az adatbázis 2/3 értékeivel, a validálás pedig az adatbázis 1/3 értékeivel történt. Az egyszerű lineáris regresszió módszerét használtuk a klorofill tartalom becslésére szolgáló modell létrehozására. A regressziós modellek erősségének összehasonlítására determinációs együtthatót (R^2), a becslő modellek pontosságának mérésére a RMSE, NRMSE, NSE, MAE és MBE függvényeket alkalmaztuk. A kapott eredmények alapján három indexet alkottunk: $Index_1 = (\lambda_{800} - \lambda_{710}) / (\lambda_{800} + \lambda_{710})$ ($R^2=0,561$, $p=0,000$), $Index_2 = (\lambda_{800} - \lambda_{710}) / \lambda_{556}$ ($R^2=0,506$, $p=0,000$), $Index_3 = (\lambda_{800} - \lambda_{556}) / \lambda_{710}$ ($R^2=0,560$, $p=0,000$). A pontossági értékek alapján a Klorofill_{modell} teljesített a legjobban (RMSE=298,3 $\mu\text{g/g}$, NRMSE=9,616%, NSE=0,601 MBE=84,59 és MAE=243,4).

Kulcsszavak: abiotikus stressz, alma, klorofill tartalom becslő modell, nem-invazív mérés

1. táblázat. Kéziratban használt rövidítések összegzése

Jelentés	Rövidítés
Részleges legkisebb négyzetek regressziója	PLSR
Főkomponens-analízis	PCA
Relatív szórásértékek	SD
Determinációs együtthatót	R ²
Négyzetes középhiba	RMSE
Normalizált átlagos négyzetes középhiba	NRMSE
Nash-Sutcliffe-hatékonyság	NSE
Átlagos abszolút hiba	MAE
Átlagos torzítási hiba	MBE
Vegetációs index	VI
Normalizált vegetációs különbség index	NDVI
Vörös Él Normalizált Vegetációs Index	REP
Vörös Él Normalizált Vegetációs Index	NDVI ₇₀₅
Szélessávú egyszerű arány	SR
Fotokémiai Reflektancia Index-	PRI
Módosított klorofill-abszorpciós arányindex	MCARI
Leaf area index	LAI
Közeli infravörös	NIR

Table 1. Summary of indices already used in tested

Bevezetés

Az elmúlt években a spektroszkópiai technológia kiemelt figyelmet kapott a szántóföldi képkalkotás területén, mivel képes a növényi növekedés és tápanyag-állapot monitorozására anélkül, hogy károsítaná a növény szerkezetét, miközben időt és költséget takarít meg, kis mintaméreteket felhasználva (Qiao et al. 2020). A növényi levelek klorofilltartalmának becslése az egyik kutatási terület a vegetáció monitorozásában, ahol a különböző vegetációs időszakok alatti eltérések tükrözhetik a fotoszintézis intenzitását és a növény növekedési időszakát (Papaevangelou és Roumeliotou-Karayannis 2010; Jiang et al. 2010; Wang et al. 2011). A legtöbb hagyományos destruktív klorofilltartalom mérést laboratóriumokban elemzik, ahol az eredmények pontosabbak, de nem képesek a levélpigmentáció változásainak egyedi, valós idejű nyomon követésére (Tahir et al. 2013; Yuan 2019). A jellemző sávok vagy hullámhosszok kiválasztása és optimalizálása hatékony módszer a Vis-NIR klorofilltartalom kimutatására (Chen et al. 2020). Egyrészt egyes, több szomszédos hullámhosszú sávok két kölcsönhatásban lévő alaprezgést vagy közel azonos rezgési frekvenciákat mutatnak, amelyek a célzott kémiai csoportok specifikitását jelezhetik (Curran et al. 1992). Másrészt a részletes hullámhosszok reflexiós értékei a spektrum csúcs- vagy völgyintenzitását jelzik (Gitelson et al. 2020). Ezért az ilyen jellegzetes sávok és hullámhosszok kimutatása fontos a

klorofilltartalom kimutatásához. Ali et al. 2019 korábbi tanulmányukban az érzékeny intervallum sávok kiválasztását és a specifikus hullámhosszok szűrését használták diagnosztikai modellek létrehozására. Ezen módszerek közé tartozik a többváltozós lineáris regresszió (Dalal és Henry 1986), a részleges legkisebb négyzetek regressziója (PLSR), a többváltozós adaptív regresszió (McCarty és Reeves 2006; Viscarra Rossel et al. 2006), valamint a főkomponens-analízis (PCA). Ezek a többváltozós statisztikai módszerek a nagy dimenziójú korrelált változók hálóba rendezése során az adatok varianciájának kevesebb hullámhosszra és sávra való csökkentésével alkalmazható. Ezáltal meghatározzák, hogy mely sávok tartalmazzák a további modellezés és elemzés szempontjából a legrelevánsabb információkat (Liu et al. 2020). A növényi levélminta fényviszaverő tulajdonságai a látható hullámhossztartományban (400-700 nm) vizsgálhatók. A növényi kloroplasztizok a 450 nm, 680 nm és 700 nm hullámhosszon nyelik el a fényt, míg a parenchima szövet és a sejtfal lignin tartalma a távoli infravörös (SWIR:1000-2500 nm, de még inkább a 2000-2500 nm) fényviszaverő képességért felelős. A levelek reflexiós tulajdonságait a sejtfalak felülete határozza meg, nem pedig a sejtek közötti tér mérete. A reflexiós értékek alakulása olyan tényezőktől függ, mint a pigment összetétel, a levélfelület minősége, a növény egészségi állapota (Nagy 2015). A levél színét különböző pigmentek, mint az antocián, a xantofill, a karotinoid és a klorofill jellemzik, amelyek a fény átalakításában és energiájának hasznosításában is fontos szerepet játszanak (Winkel-Shirley 2002; Nagy et al. 2016). A klorofill a 450-670 nm-es hullámhossztartományban erős abszorpciót mutat, mérésével elemezhetjük a növény fiziológiai állapotát. Az egészséges növényzet a beérkező energia 40-50%-át a 700-1300 nm közötti spektrális tartományban veri vissza a levél belső szerkezetének köszönhetően. A mért reflektancia fontos szerepet játszik a különböző növények és az esetleges vízstressz megkülönböztetésében, még akkor is, ha ezek a fajok a látható spektrális tartomány alapján hasonlóknak tűnnek (Nagy et al. 2014). Az oxidatív stressz által kiváltott elsődleges károsodás mellett, amely hatással van a lipidekre, fehérjékre, nukleinsavakra és a klorofill lebomlására, a szárazság stressz alatt álló növények másodlagos károsodást is szenvednek. Szélsőséges szárazság esetén a klorofill a és b mennyisége csökkenő tendenciát mutat (Sircelj et al. 2007), így a klorofillértékek felhasználhatók a növény környezeti stresszre adott válaszának vizsgálatára (Ghobadi et al. 2013; Neto et al. 2017). A klorofilltartalom szorosan összefügg a növény nitrogén tartalmával, így szorosan kapcsolódik a fotoszintézis folyamatához. Usha és Singh (2013) kimutatta, hogy a stressz okozta klorofilltartalomra vonatkozó reflexiós érzékenység a 690-700 nm-es tartományban magas, és ha a stressz elég erős ahhoz, hogy gátolja a klorofill képződést, akkor a megnövekedett reflexió először a jellemző abszorpciós hullámhosszakon mutatható ki. A növényi vízstressz meghatározására a 760-790 nm-es tartomány alkalmas (Jung 2005; Nemeskéri 2011), de a 730 és 960 nm-es hullámhosszak is a vízelnyelési sávokhoz kapcsolódnak (Yu et al. 2014).

Anyag és módszer

A mintavételi terület a Debreceni Egyetem Agrár Kutatóintézetek és Tangazdaság Pallagi Kertészeti Kísérleti Telepén található. A területen több mint 250 gyümölcsfajtát termesztenek, köztük számos almafajtát. A kísérletek egy intenzíven termesztett, mikroöntözéssel és jégpárával védett 10 éves 'Early Gold' és 'Golden Reinders' almaültetvényben történtek 0,68 hektáros parcellán, ahol minden fa M9-es alanyra volt oltva. A két fajta kiválasztásánál figyelembe vették, hogy a Golden fajták

több más fajtaého képest érzékenyebbek a szárazság- és hőstresszre (Oaussat és Allam 2017). A gyümölcsös szélsőséges vízhiánytartású homokos talajon található, ami különösen nagy kockázatot jelent a vízhiány és a hőség okozta stresszre (Nagy 2015). A mintavétel homogenitásának biztosítása érdekében a pigmenttartalom meghatározásához a kijelölt fákról levélmintákat vettünk 1,2 m magasságból, az egyik ág középső részéből Nemeskéri et al. (2009) alapján. A mintavételt 9-10 óra között végeztük el, melyhez 15-15 almafát jelöltünk ki jégálmóval védett és nem védett területről mind a két fajta esetében (összesen 390 db). A levélmintákat 4 °C-on hűtve tárolás és szállítás után laboratóriumban 6 órán belül feldolgoztuk. A mintákat 80%-os acetonnal és 1 g kvarchomokkal roncsoltuk a homogenitás érdekében. Az extrakciót követően a szuszpenziókat 3000 fordulat/perc sebességgel 3 percig Hettich ROTOFIX 32A készülékben centrifugáltuk majd a tiszta oldatot 2,5 ml-es kvarcküvetába helyeztük. Az oldat abszorbanciáját SECOMAN Anthelie Light II készülékkel mértük 470 nm, 644 nm és 663 nm hullámhosszon. A minták klorofilltartalmát Droppa et al. (2003) által közzétett egyenlet alapján határoztuk meg:

$$\text{Klorofill (a + b) } \mu\text{g/g friss tömeg} = (20,2 * A_{644\text{nm}} + 8,02 * A_{663\text{nm}}) * V/w$$

A karotinoid értékeket Lichtenthaler és Wellbum (1983) egyenlete alapján határoztuk meg:

$$\text{Karotinoid } \mu\text{g/g friss tömeg} = (1000 * A_{470\text{nm}} - 3,27 (12,21 * A_{663\text{nm}} - 2,81 * A_{644\text{nm}}) - 104 * (20,13 A_{644\text{nm}} - 5,03 A_{663\text{nm}})) / 229$$

ahol:

V = a szövetkivonat térfogata (ml)

w = a szövet friss tömege (g)

A = abszorbancia

A levélminták spektrális adatgyűjtéséhez laboratóriumi körülmények között az AvaSpec 2048 spektrométert használtuk 400-1000 nm hullámhossztartományban, 0,6 nm pontossággal, 3 ismétlésben. A rendszer egy spektrométerből, egy AvaLightHAL halogén fényforrásból és egy speciális, szabadalmaztatott mintavevő dobozból áll, amely a méréseket sötétben végzi. A minta és az érzékelő közötti egyenlő, 5 mm-es távolságot használtunk a homogén mérések biztosítása érdekében. A mérést a spektrométer fehér és sötét referenciához való kalibrálása után a levélmintát a spektrométer megvilágítása alá helyeztük. A reflexiók értékek és a relatív szórásértékek (SD) azonos intervallumokba való csoportosítás után az eredmények statisztikai elemzését SPSS szoftverrel végeztük. A varimax rotációval végzett főkomponens analízist (PCA) használtuk a klorofill érzékeny (azaz a legnagyobb faktorsúlyú) hullámhosszak azonosítására. A PCA eredmények alapján leválogattuk a klorofill érzékeny hullámhosszakokat, majd a legérzékenyebb, illetve a legkevésbé érzékeny hullámhosszak felhasználásával klorofill tartalom becselő modelleket alakítottunk ki. A modellek kialakítása során a vizsgált adatbázis 2/3 adataival történt a kalibrálás, az adatbázis 1/3-ad adataival a validálás. Egyszerű lineáris regresszió módszerét használtuk a klorofill tartalom becselésére szolgáló modell létrehozására. A regressziós modellek erősségének összehasonlítására determinációs együtthatót (R^2) alkalmaztunk. A becselő modellek pontosságának mérésére

a négyzetes középhiba (Root Mean Square Error-RMSE):

$$RMSE = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2}{n}}$$

a normalizált átlagos négyzetes középhiba (Normalized Root Mean Square Error-NRMSE):

$$NRMSE = \frac{\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2}{n}}}{(\bar{y})} \cdot 100$$

a Nash-Sutcliffe-hatékonyság (NSE):

$$NSE = 1 - \frac{\sum_{i=1}^n (\hat{y}_i - y_i)^2}{\sum_{i=1}^n (\hat{y}_i - \bar{y})^2}$$

az átlagos abszolút hiba (Mean Absolute Error-MAE):

$$MAE = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^N |\hat{y}_i - y_i|$$

az átlagos torzítási hiba (Mean Bias Error- MBE):

$$MBE = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^N (\hat{y}_i - y_i)$$

függvényeket alkalmaztuk, ahol:

y_i : becült érték;

\hat{y}_i : mért érték;

n : a validáláshoz használt minták száma.

A kialakított modellek mellett, összehasonlításképpen már meglévő és a gyakorlatban használt VI-t számoltunk. Az NDVI-t és a Red Edge Position (Vörös Él Normalizált Vegetációs Index-REP) indexet, mint a növényi levél visszaverődési spektrumának a vörös és a közeli infravörös hullámhosszak közötti maximális meredekségű pontját figyeltük meg. A Red Edge Normalised Difference Vegetation Index (Vörös Él Normalizált Vegetációs Index-NDVI₇₀₅) a hagyományos NDVI kismértékű módosítása, és a nagy spektrális felbontású reflexiós adatok (Potter et al. 2012)

felhasználására használják. A hagyományos NDVI-el ellentétben az $NDVI_{705}$ egy keskenyebb hullámsávot vesz figyelembe a klorofill abszorpciós jellemző szélén (pl. 705 nm), nem pedig a közepén (Sims és Gamon 2002; Moroni et al. 2013). Az $NDVI_{705}$ -re az NDVI-hez képest nagyobb hatással van a klorofilltartalom, és gyakori alkalmazásai közé tartozik a precíziós mezőgazdaság, az erdőfigyelés, az erdőtüzek és a vegetációs stressz kimutatása (Cundill et al. 2015). A Modified Red Edge Simple Ratio Index (Módosított Egyszerű Arány Index) a szélessávú egyszerű arány (SR) módosítása. A vörös perem sávjait használja, és a levelek tükkör reflexiójának korrekcióját tartalmazza. Alkalmazásai közé tartozik a precíziós mezőgazdaság, az erdőfelügyelet és a vegetációs stressz kimutatása. A Photochemical Reflectance Index (Fotokémiai Reflektancia Index-PRI) érzékeny az élő lombozatban lévő karotinoid pigmentek változásaira. A karotinoid pigmentek a fotoszintetikus fényhasznosítási hatékonyságot, vagyis a lombozat által az egységnyi elnyelt energiára jutó szén-dioxid felvétel mértékét jelzik. Mint ilyet, a növényzet termelékenységének és stresszének vizsgálatában használják. Mivel a PRI a növények stresszre adott válaszait méri, műholdas adatokkal vagy más távérzékelési formákkal az ökoszisztéma általános állapotának értékelésére is használható. A Modified Chlorophyll Absorption Ratio Index (Módosított klorofill-abszorpciós arányindex- MCARI) a levél klorofill koncentrációjára és a talajvisszaverődésre reagál. Általában a magas MCARI értékek alacsony levél klorofilltartalomra utalnak, NDVI-al vagy a LAI-vel együtt kell értelmezni (Nagler et al. 2000) (2. táblázat).

2. táblázat. Vizsgált gyakorlatban már alkalmazott indexek összegzése

Index neve	Index képlete
Normalized Difference Vegetation Index (Normalizált Vegetációs Index)	$\frac{NIR - R}{NIR + R}$
Red Edge Position (Vörös Él Pozíció)	$700 + 40 \frac{(\lambda_{670} + \lambda_{780})/2 - \lambda_{700}}{\lambda_{740} - \lambda_{700}}$
Red Edge Normalized Difference Vegetation Index (Vörös Él Normalizált Vegetációs Index)	$\frac{\lambda_{750} - \lambda_{445}}{\lambda_{705} + \lambda_{445}}$

Index neve	Index képlete
Modified Red Edge Simple Ratio Index (Módosított Egyszerű Arány Index)	$\frac{\lambda_{750} - \lambda_{445}}{\lambda_{705} + \lambda_{445}}$
Modified Red Edge Normalized Difference Vegetation Index (Módosított Vörös Él Normalizált Vegetációs Index)	$\frac{\lambda_{750} - \lambda_{705}}{\lambda_{750} + \lambda_{705} - 2\lambda_{445}}$
Photochemical Reflectance Index (Fotokémiai Reflektancia Index)	$\lambda_{700} - \lambda_6$
Modified Chlorophyll Absorption Ratio Index (Módosított klorofill- abszorpció arányindex)	$(\lambda_{700} - \lambda_{670}) - 0,2(\lambda_{700} - \lambda_{550})] * \left(\frac{\lambda_{700}}{\lambda_{670}}\right)$

Table 2. Summary of indices already used in tested practice

Eredmények

A klorofilltartalom reflexiós profiljait a 400-1000 nm-es hullámhossztartományban értékeltük. A klorofilltartalom legalacsonyabb értéke 1828 $\mu\text{g/g}$, a legmagasabb klorofilltartalom 4576 $\mu\text{g/g}$ volt. Az eredmények során megfigyelhető, hogy a magas klorofilltartalommal rendelkező levelek 8-10% közötti reflexiós értéket mutattak, ami a klorofill értékek csökkenésével arányosan növekvő reflexiót mutat. Alacsony, 1800-2700 $\mu\text{g/g}$ klorofill értékeknél 11-12%-os reflexiós érték volt megfigyelhető. A karotinoidok reflektancia maximuma az 520-580 nm-es hullámhossztartományban mérhető, ami magas klorofilltartalom esetén alacsony, 12% körüli reflektancia értéket adott. A klorofilltartalom csökkenésével arányosan nő a reflexiós érték a karotinoid tartalom esetében. A karotinoid alacsony klorofilltartalom intervallum értékek esetén 17-18%-os reflexiós értéket ért el. A növényi stressz az 500-700 nm-es hullámhossztartományban magas reflexiós értékekkel kimutatható (1. ábra). A levél szerkezeti tulajdonságai alapján az energia nagy része áteresztésre és visszaverődésre kerül, ami egy magas közeli infravörös (NIR) görbét hoz létre. A vörös perem, ami a reflexió erős emelkedése során a vörös és a NIR sávok között helyezkedik el, a növényi stressz kimutatására használnak és szorosabban kötődik a pigmentekhez. A vegetációs indexeket főként a vörös és NIR sávok reflexiós adataiból vezetik le, ezek olyan numerikus mérések, amelyek a növényzet spektrális jellemzői alapján mérik a biomasszát vagy a vegetációs állapot előrehaladását (Roman és Ursu 2016).

1. ábra. Az alma lombzat reflektancia (%) értékei hullámhossz függvényében a különböző klorofill tartalmú levelek esetében

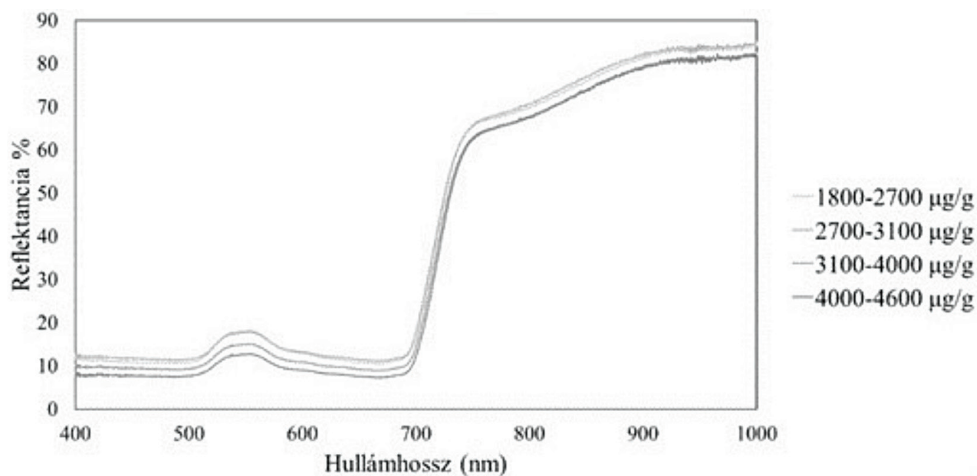


Figure 1. Reflectance (%) of apple orchard as a function of wavelength for leaves with different chlorophyll content

A levélminták spektrális jellemzőinek további vizsgálatához a reflektancia (%) érték adatainak a relatív szórás értékeit klorofilltartalom alapján négy csoportra osztottuk (1800-2700 $\mu\text{g/g}$, 1800-

3100 $\mu\text{g/g}$, 1800-4000 $\mu\text{g/g}$, 1800-4600 $\mu\text{g/g}$). Az alacsony klorofill tartalmú csoportokban alacsony standard eltérés (520 nm \pm 30 nm-ig) volt megfigyelhető. A reflektancia standard eltérése a klorofilltartalommal párhuzamosan nőtt. Ezért ez a tartomány alkalmas lehet a növényi érettségi vizsgálatok megállapítására. A standard eltérés csúcsa az adott hullámhossztartományban mért klorofill abszorpciós jellemzői miatt kiemelkedő, magas klorofilltartalomnál 670 nm-en érzékeny. Megfigyelhető, hogy az 550 nm, 670 nm és 700 nm hullámhossztartományban számított reflexiós értékek standard eltérése pigmentérzékeny. A karotinoidtartalommal egyidejűleg bekövetkező abszorpció növekedés miatt ez az érzékenység csökken. Így ez a spektrális jellemző a karotinoidtartalom növekedésével eltűnik (2. ábra). Nagy et al. (2016), valamint Zur et al. (2000) tanulmányuk során alátámasztották a falevelek pigmenttartalmának változását, és a jelen tanulmányhoz viszonyítva hasonló következtetésekre jutottak.

2. ábra. Az alma lombzat reflektanciájának relatív szórás értékei a hullámhossz függvényében a különböző klorofilltartalmú levelek esetében

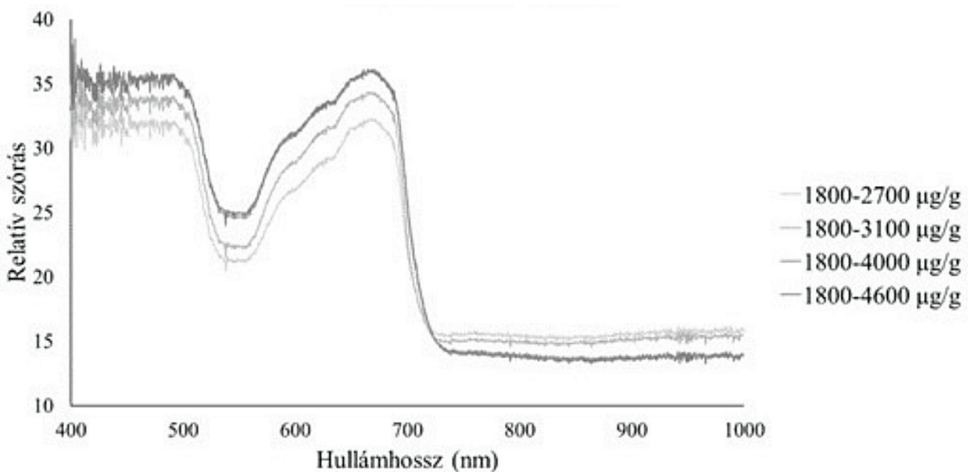


Figure 2. Relative scattering values of the reflectance of apple orchard as a function of wavelength for leaves with different chlorophyll content

A PCA összesen öt főkomponenst eredményezett. Az első komponens faktorsúlyai alapján a reflexió két legnagyobb varianciája az 556 és 710 nm hullámhossztartományon figyelhető meg. A faktorsúlyban két minimum volt, mely közül a 800 nm-es tartományt használtuk fel az 556 és 710 nm-es tartományokkal együtt a klorofill becslő indexek kialakítására (3. ábra).

3. ábra. Alma lombozat spektrális értékeinek faktorsúlyai a hullámhossz függvényében

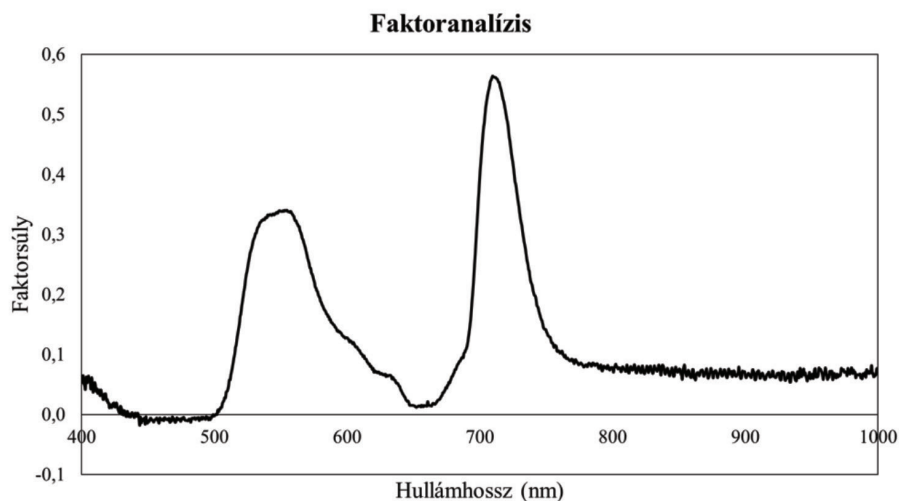


Figure 3. Factor analysis of spectral values of apple orchard as a function of wavelength

A főkomponens analízis alapján három indexet alkottunk: $Index_1 = (\lambda_{800} - \lambda_{710}) / (\lambda_{800} + \lambda_{710})$, amely lineáris regresszió alapult, erős regressziós értékkel $R^2=0,561$ ($p=0,000$). Az $Index_2 = (\lambda_{800} - \lambda_{710}) / \lambda_{556}$ modell erős korrelációt mutatott $R^2=0,506$ ($p=0,000$) értékkel. Az $Index_3 = (\lambda_{800} - \lambda_{556}) / \lambda_{710}$ modell szintén erős regressziós értéket mutatott, $R^2=0,560$ -os értékkel ($p=0,000$) (3. táblázat).

3. táblázat. A lineáris regresszió alapuló klorofill modellek statisztikái

Modell		Nem standardizált együtthatók		Standardizált együtthatók	t	Sig.	N
		B	Standard hiba	Beta			
Klorofill _{modell1}	Konstans	-468,6	210,4		-2,227	0,027	260
	Index ₁	8149	484,5	0,749	16,82	0,000	
Klorofill _{modell2}	Konstans	1504	105,7		14,22	0,000	260
	Index ₂	581,1	38,72	0,710	15,01	0,000	
Klorofill _{modell3}	Konstans	646,5	144,2		4,483	0,000	260
	Index ₃	1228	72,81	0,750	16,88	0,000	

Table 3. Statistics of chlorophyll models based on linear regression

A 400-1000 nm-es hullámhossztartományban működő Klorofill_{modell1} RMSE=298,3 µg/g, NRMSE=9,616%, NSE=0,601 MBE=84,59 µg/g és MAE=243,4 µg/g volt. A klorofill értékek 2084 és 4045 µg/g között mozogtak, az átlagos szórás $3017 \pm 394,8$ µg/g volt. Az Klorofill_{modell2} RMSE=302,4 µg/g, NRMSE=9,755%, NSE=0,595, MBE=62,59 µg/g és MAE=246,9 µg/g. A becült klorofill értékek 2371 és 4040 µg/g között mozogtak, az átlagos szórás $3039 \pm 355,6$ µg/g volt. Az Klorofill_{modell3} használata RMSE=299,3 µg/g, NRMSE=9,644%, NSE=0,601, MBE=91,48 µg/g és MAE=244,6 µg/g volt. Az becült klorofill értékek 2212 és 4218 µg/g között változtak, átlagosan $3010 \pm 395,6$ µg/g értékkel (4. ábra).

4. ábra. A klorofill modellek validálásán alapuló kialakított klorofill tartalom becslő modellek pontossága

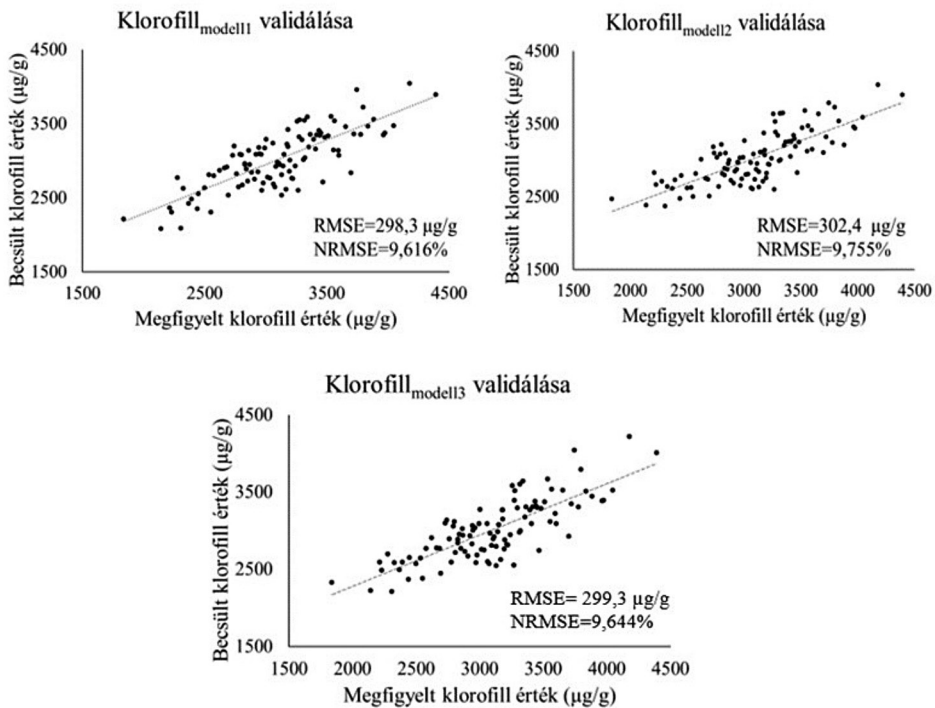


Figure 4. Accuracy of developed chlorophyll content estimation models based on validation of chlorophyll models

A kialakított modellek mellett, összehasonlításképpen már meglévő és a gyakorlatban használt VI-t számítottunk. Az NDVI esetében $R^2 = 0,112$ (NRMSE= 16,78%), a REP index során, mint a növényi levél visszaverődési spektrumának a vörös és a közeli infravörös hullámhosszak közötti maximális meredekségű pontját megfigyelve $R^2 = 0,266$ -ot (NRMSE= 14,74%) kaptunk. A Red Edge Normalised Difference Vegetation Index számítása során $R^2 = 0,388$ -at kaptunk 14,11%-s NRMSE

értékkel. A Modified Red Edge Simple Ratio Index során $R^2 = 0,091$ és $NRMSE = 16,93\%$ értéket kaptunk. A Modified Red Edge Normalized Difference Vegetation Index számításakor $R^2 = 0,242$ ($NRMSE = 14,94\%$), a Photochemical Reflectance Index során alacsony $R^2 = 0,015$ ($NRMSE = 17,58\%$) értéket kaptunk. Modified Chlorophyll Absorption Ratio Index számításakor $R^2 = 0,178$ értéket kaptunk $15,22\%$ -os $NRMSE$ mellett. A vizsgált indexek minden esetben alacsonyabb R^2 és magasabb $NRMSE$ értéket adtak az általunk kialakított indexekkel szemben (4. táblázat).

4. táblázat. Vizsgált indexek összegzése a kialakított klorofill tartalom becslő modellekkel kiegészítve

Index neve	R^2	NRMSE (%)
Normalized Difference Vegetation Index	0,112	16,78
Red Edge Position	0,266	14,74
Red Edge Normalized Difference Vegetation Index	0,388	14,11
Modified Red Edge Simple Ratio Index	0,091	16,93
Modified Red Edge Normalized Difference Vegetation Index	0,242	14,94
Photochemical Reflectance Index	0,015	17,58
Modified Chlorophyll Absorption Ratio Index	0,178	15,22
Klorofill _{modell1}	0,561	9,616
Klorofill _{modell2}	0,506	9,755
Klorofill _{modell3}	0,560	9,644

Table 4. Summary of the indices tested in combination with the developed chlorophyll content estimation models

Megvitatás

Az almatermesztés során fontossá vált a gyors spektrális alapú módszerek alkalmazása a klorofilltartalom becsléséhez és nyomon követéséhez, mivel a pigmenttartalom jó stressz mutatóként szolgál. Ezen eredmények alapján a spektrális mérések hatékony módszernek bizonyultak az almaültetvények pigmenttartalmának felmérésére. Ebben a tanulmányban a klorofill és a karotinoidok érés alatti változását, a pigmentek spektrális tulajdonságainak értékelését, valamint a lombzat klorofilltartalmának nyomon követésére szolgáló új spektrális indexek lehetséges alkalmazását tekintettük át. A legalacsonyabb klorofilltartalom $1828,06 \mu\text{g/g}$, a legmagasabb pedig $4576,08 \mu\text{g/g}$ volt. Ezek az eredmények azt mutatják, hogy a magas klorofilltartalmú levelek reflexiós értékei 8 és 10% között voltak, ami a klorofillértékek csökkenésével a reflexiós értékek növekedését jelzi. Alacsony, $1800\text{--}2700 \mu\text{g/g}$ klorofilltartalom mellett $11\text{--}12\%$ -os reflexiós értékeket figyeltek meg. A pigmenttartalom a stressz jó indikátora, ezért a hagyományos analitikai módszerek

mellett megbízható, nem invazív, költséghatékony és gyors spektrális alapú módszerekre van szükség az almatermesztésben a klorofilltartalom becslésére és nyomon követésére. Kutatásom során három klorofillbecslési modellt hoztam létre, amelyek közül az $Index_1 = (\lambda 800 - \lambda 710) / (\lambda 800 + \lambda 710)$ tartományok alapján a Klorofill_{modell1} teljesített a legjobban. Az eredmények azt mutatják, hogy a VIS spektrális indexen alapuló modellek sikeresen becsülik a klorofillkoncentrációt.

Köszönetnyilvánítás

A kutatást a TKP2021-NKTA-32 projekt finanszírozta. Projekt sz. TKP2021-NKTA-32 projekt a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Alap támogatásával valósult meg, a TKP2021-NKTA támogatási rendszer keretében finanszírozva.

Felhasznált irodalom

1. Ali, M.M., Bachik, N.A., Muhadi, N., Tuan Yusof, T.N. and Gomes, C. 2019. Non-destructive techniques of detecting plant diseases: A review *Physiol. Mol. Plant Pathol.*, 108: 101426.
2. Chen, X., Dong, Z., Liu, J., Wang, H., Zhang, Y., Chen, T., Du, Y., Shao, L. and Xi, J. 2020. Hyperspectral characteristics and quantitative analysis of leaf chlorophyll by reflectance spectroscopy based on a genetic algorithm in combination with partial least squares regression *Spectrochim. Acta Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* 243: 118786.
3. Cundill, S., van der Werff, H. and van der Meijde, M. 2015. Adjusting spectral indices for spectral response function differences of very high spatial resolution sensors simulated from field spectra. *Sensors*, 15(3): 6221-6240.
4. Curran, P.J., Dungan, J.L., Macler, B.A., Plummer, S.E. and Peterson, D.L. 1992. Reflectance spectroscopy of fresh whole leaves for the estimation of chemical concentration, *Remote Sens. Environ.* 39(2): 153-166.
5. Dalal, R.C. and Henry, R.J. 1986. Simultaneous Determination of Moisture, Organic Carbon and Total Nitrogen by Near Infrared Reflectance Spectrophotometry. *Soil Science Society of America Journal*, 50: 120-123.
6. Droppa, M., Erdei, S., Horváth, G., Kissimom, J., Mészáros, A., Szalai, J. and Kosáry, J. 2003. *Plantbiochemistry and plantphysiology in practice (In Hungarian: Növénybiokémiai és növényélettani gyakorlatok)* Budapest, 88.
7. Ghobadi, M., Taherabadi, S., Ghobadi, M.E., Mohammadi, G.R. and Jalai-Honarmand, S. 2013. Antioxidant capacity, photosynthetic characteristics and water relations of sunflower (*Helianthus annuus* L.) cultivars in response to drought stress. *Industrial Crops and Products*, 50: 29e38.
8. Gitelson, A., Solovchenko, A. and Viña, A. 2020. Foliar absorption coefficient derived from reflectance spectra: A gauge of the efficiency of *in situ* light-capture by different pigment groups *J. Plant Physiol.* 254: 153277.
9. Jiang, J.B., Chen, Y.H. and Huang, W.J. 2010. Using hyperspectral remote sensing to estimate canopy chlorophyll density of wheat under yellow rust stress. *Guang Pu Xue Yu Guang Pu Fen Xi*, 30(8): 2243-2247.
10. Jung, A. 2005. Spektrális információk alkalmazása a városklíma-kutatásban. *Doktori Értékezés.* Budapest. 22–28.
11. Lichtenthaler, H.K. and Wellbum, A.R. 1983. Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochem. Soc. Trans.* 603: 591–592.
12. Liu, T., Wu, X., Li, H., Alharbi, H., Wang, J., Dang, P., Chen, X., Kuzyakov, Y. and Yan, W. 2020. Soil

- organic matter, nitrogen and pH driven change in bacterial community following forest conversion, *Forest Ecology and Management*, 477: 118473.
13. McCarty, G., Reeves, J., Reeves, V., Follett, R. and Kimble, J. 2002. Mid-Infrared and Near-Infrared Diffuse Reflectance Spectroscopy for Soil Carbon Measurement. *Soil Science Society of America Journal*, 66: 640-646.
 14. Moroni, M., Lupo, E., Marra, E. and Cenedese, A. 2013. Hyperspectral image analysis in environmental monitoring: setup of a new tunable filter platform. *Procedia Environmental Sciences*, 19: 885-894.
 15. Nagler, P.L., Daughtry, C.S.T. and Goward, S.N. 2000. Plant Litter and Soil Reflectance. *Remote Sensing of Environment*, 71(2): 229.
 16. Nagy, A. 2015. Thermographic Evaluation of Water Stress In An Apple Orchard. *Journal of multidisciplinary engineering science and technology*, 2(8): 2210-2215.
 17. Nagy, A., Riczu, P., Juhász, Cs. and Tamás, J. 2014. Evaluability of apple orchard water balance parameters based on the spectral and thermographic parameters of the canopy. *hungarian agricultural research: environmental management land use biodiversity*. 1: 14–17.
 18. Nagy, A., Riczu, P. and Tamás, J. 2016. Spectral evaluation of apple fruit ripening and pigment content alteration. *Scientia Horticulturae*, 201: 256–264.
 19. Nemeskéri E. 2011. Növényi morfológia szerepe az alma vízkészlet-gazdálkodásában. In: Tamás J. (szerk.): *Almaültetvények vízkészlet-gazdálkodása*. Debreceni Egyetem, AGTC, Kutatási és fejlesztési Intézet; Kecskeméti Főiskola, Kertészeti Főiskolai Kar. 49–52.
 20. Nemeskéri, E., Sárdi, É., Kovács-Nagy, E., Stefanovits Bányai, É., Nyéki, J. and Szabó, T. 2009. Studies on the drought responses of apple trees (*Malus domestica* Borkh.) grafted on different rootstocks. *Int. J. Hortic. Sci.* 15(1-2): 29–36.
 21. Neto, A.J.S., Lopes, D.C., Pinto, F.A.C. and Zolnier, S. 2017. Vis/NIR spectroscopy and chemometrics for non-destructive estimation of water and chlorophyll status in sunflower leaves. *Biosystem engineering*. 155: 124–33.
 22. Oaoussat, S. and Allam, L. 2017. Functional plasticity and tolerance to drought conditions of 11 apple tree varieties grown in Morocco. *Int. J. Environ. Agric. Biotechnol.* 2(5): 2591–2598.
 23. Papaevangelou, G.J. and Roumeliotou-Karayannis, A. 2010. Using chlorophyll fluorescence to assess the fraction of absorbed light allocated to thermal dissipation of excess excitation *Physiol. Plant.* 98(2): 253-264.
 24. Potter, C., Li, S., Huang, S. and Crabtree, R.L. 2012. Analysis of sapling density regeneration in Yellowstone National Park with hyperspectral remote sensing data. *Remote Sens. Environ.* 121: 61-68.
 25. Qiao, L., Gao, D., Zhang, J., Li, M., Sun, H. and Ma, J. 2020. Dynamic Influence Elimination and Chlorophyll Content Diagnosis of Maize Using UAV Spectral Imagery *Remote Sensing*, 12(16): 2650.
 26. Roman, A. and Ursu, T. 2016. Multispectral satellite imagery and airborne laser scanning techniques for the detection of archaeological vegetation marks. In book: *Landscape archaeology on the northern frontier of the roman empire at porolissum-an interdisciplinary research project*.141-152.
 27. Sims, D.A. and Gamon, J.A. 2002. Relationships between leaf pigment content and spectral reflectance across a wide range of species, leaf structures and developmental stages, *Remote Sens. Environ.* 81(2): 337-354.
 28. Sircelj, J., Grill, D. and Batic, F. 2007. Detecting different levels of drought stress in apple trees (*Malus domestica* Borkh.) with selected biochemical and physiological parameters, 362–369.
 29. Tahir, M.N., Li, J., Liu, B., Zhao, G., Fuqi, Y. and Chengfeng, C. 2013. Hyperspectral estimation model for nitrogen contents of summer corn leaves under rainfed conditions. *Pakistan J. Bot.* 45(5): 1623-1630.
 30. Usha, K. and Singh, B. 2013. Potential applications of remote sensing in horticulture a review. *Scientia Horticulturae*, 153: 71–83.
 31. Viscarra Rossel, R.A., Walvoort, D.J.J., Mcbratney, A.B., Janik, L.J. and Skjemstad, J.O. 2006. Visible

- near infrared, mid infrared or combined diffuse reflectance spectroscopy for simultaneous assessment of various soil properties. *Geoderma*, 131: 59-75.
32. Wang, K.R., Pan, W.C., Li, S.K., Chen, B., Xiao, H. and Wang, F.Y. 2011. Monitoring models of the plant nitrogen content based on cotton canopy hyperspectral reflectance Spectroscopy & Spectral Analysis, 31(7): 1868-1872.
 33. Winkel-Shirley, B.J. 2002. Biosynthesis of Flavonoids and Effects of Stress. *Current Opinion in Plant Biology*. 5(3): 218–23.
 34. Yu, K.Q., Zhao, Y.R., Liu, Z.Y., Li, X.L., Liu, F. and He, Y. 2014. Application of visible and near-infrared hyperspectral imaging for detection of defective features in loquat. *Food Bioprocess Technology*, 7: 3077–3087.
 35. Yuan, W. 2019. “A Multi-Sensor Phenotyping System: Applications on Wheat Height Estimation and Soybean Trait Early Prediction,” BSE Thesis Faculty of The Graduate College at the University of Nebraska, University of Nebraska–Lincoln, Lincoln, Nebraska.
 36. Zur, Y., Gitelson, A.A., Chivkunova, O.B. and Merzlyak, M.N. 2000. The spectral contribution of carotenoides to light absorption and reflectance in green leaves. Second International Conference on Geospatial Information in Agriculture and Forestry. Lake Buena Vista Florida, 10–12.

Spectral assessment methodology of abiotic stress on apple orchard

SZABÓ, A., TAMÁS, J., NAGY, A.

University of Debrecen, Faculty of Agricultural and Food Sciences and Environmental
Management, Institute of Water and Environmental Management

E-mail: szabo.andrea@agr.unideb.hu

Summary

Development of a methodology for non-invasive assessment of abiotic stress effects in apple orchards and its adaptation to the Early Gold and Golden Reinders cultivars was based on spectral characteristics of chlorophyll content in the foliage. Sampling was carried out twice a week from 7th July 2019 to 29th August 2019. In each measurement period, 30 samples were collected from both apple cultivars studied (390 samples in total). For spectral data collection of leaf samples, an AvaSpec 2048 spectrometer was used in the wavelength range 400-1000 nm in three replicates. Statistical analysis of the results was performed using PCA with varimax rotation in SPSS software to identify the wavelength with the highest factor weight. The models were calibrated with 2/3 values of the database and validated with 1/3 values of the database. The simple linear regression method was used to generate the model for estimating chlorophyll. The coefficient of determination (R^2) was used to compare the strength of the regression models and the RMSE, NRMSE, NSE,

MAE and MBE functions were used to measure the accuracy of the estimator models. Three indices were created based on the results obtained: $\text{Index}_1 = (\lambda 800 - \lambda 710) / (\lambda 800 + \lambda 710)$ ($R^2 = 0.561$, $p = 0.000$), $\text{Index}_2 = (\lambda 800 - \lambda 710) / \lambda 556$ ($R^2 = 0.506$, $p = 0.000$), $\text{Index}_3 = (\lambda 800 - \lambda 556) / \lambda 710$ ($R^2 = 0.560$, $p = 0.000$). Based on the precision values, the Chlorophyll model1 performed best (RMSE=298.3 $\mu\text{g/g}$, NRMSE=9.616%, NSE=0.601 MBE=84.59 and MAE=243.4).

Keywords: abiotic stress, apple, chlorophyll estimator model, non-invasive measurement

Szerzők

Szabó Andrea (kapcsolattartó szerző) – tanársegéd, Debreceni Egyetem, Mezőgazdaság-, Élelmiszertudományi és Környezetgazdálkodási Kar, Víz- és Környezetgazdálkodási Intézet, 4032 Debrecen, Böszörményi út 138.

Tamás János – DSc egyetemi tanár, Intézetvezető, Debreceni Egyetem, Mezőgazdaság-, Élelmiszertudományi és Környezetgazdálkodási Kar, Víz- és Környezetgazdálkodási Intézet, 4032 Debrecen, Böszörményi út 138.

Nagy Attila – egyetemi tanár, Debreceni Egyetem, Mezőgazdaság-, Élelmiszertudományi és Környezetgazdálkodási Kar, Víz- és Környezetgazdálkodási Intézet, 4032 Debrecen, Böszörményi út 138.