

利用高光譜資料建立小果番茄缺水逆境早期預測模型

杜元凱¹ 陳涵葳¹ 紀銘坤² 方士倫³ 姚銘輝⁴ 郭寶錚^{5,*}

摘要

杜元凱、陳涵葳、紀銘坤、方士倫、姚銘輝、郭寶錚。2022。利用高光譜資料建立小果番茄缺水逆境早期預測模型。台灣農業研究 71(2):87–99。

高光譜資料收集為非破壞性檢測方法，所得光譜資料可應用於判斷植物是否處於逆境生理狀態及有無病害發生。番茄 (*Solanum lycopersicum* L.) 為我國重要的鮮食蔬菜，合適的水分管理對於品質與產量具關鍵影響。為建立番茄缺水逆境生理之預測方法，便於早期偵測缺水逆境，及早進行水分管理，本研究以小果番茄「玉女」品種進行缺水逆境處理，利用蒸散速率、氣孔導度和碳同化率等界定其生理狀態，處理期間收集冠層葉片高光譜資料，並以淨最小平方-判別分析 (partial least squares-discriminant analysis; PLS-DA) 建立缺水逆境預測模型。結果顯示番茄植株蒸散速率、氣孔導度和碳同化率分別於缺水處理 8、9 和 10 d 後顯著低於對照組 ($P < 0.05$)，外觀形態則在處理 11 d 後才出現肉眼可觀察之葉片乾枯、萎縮現象，顯示早期缺水逆境生理反應約落於處理 10–11 d 時發生。利用 348–1,052 nm 高光譜資料建立的 PLS-DA 模型之準確度、敏感度和特異度分別為 0.90–0.93、0.87–0.89 和 0.92–0.95，顯示 PLS-DA 模型針對早期缺水逆境狀態發生具有不錯的判別能力。此外，透過迴歸係數和變數投影重要性 (variable importance in the projection) 篩選出 4 個特徵波段：348–584 nm、638–817 nm、937–950 nm 和 1,016–1,052 nm，並進一步使用這些特徵波段建立新的 PLS-DA 模型，該模型之準確度、敏感度和特異度分別為 0.87–0.93、0.79–0.92 和 0.90–0.92，顯示若僅使用特徵波段建立 PLS-DA 模型，將能降低資料蒐集和後續運算的成本。

關鍵詞：高光譜、小果番茄、缺水逆境、淨最小平方判別分析。

前言

根據 2018 年經濟部農業用水量統計報告，台灣 2008–2018 年間旱、澇加劇及頻仍，水情不穩導致對農業灌溉用水的營運及植物生產影響甚鉅，加以 2021 年上半年發生近 50 年來最嚴重的旱災，如何有效利用水資源為現今農業的重要課題。番茄 (*Solanum lycopersicum* L.) 是台灣重要的蔬菜作物之一，食用方式多元，尤其小果番茄管理更加精緻，多採設施栽培方式生產，為目前經濟價值較高的番茄類型，主

要栽培品種為「聖女」、「玉女」和「嬌女」等，其中又以「玉女」為目前最主要的商業品種。

小果番茄從定植到採收約需 110–130 d，栽培期間水分供給量會顯著影響產量與品質，當水分供給不足時導致土壤水分潛勢 (water potential) 過低，或因高溫、低相對溼度等環境因素導致蒸氣壓差 (vapor pressure deficit; VPD) 過高，番茄植株無法維持水分潛勢而進入缺水逆境。缺水逆境對植物的影響取決於缺水嚴重程度與持續時間，植物在遭逢逆境初期，會進行生理狀態策略性的轉移與改變，以

投稿日期：2021 年 8 月 13 日；接受日期：2021 年 11 月 23 日。

* 通訊作者：bjkuo@nchu.edu.tw

¹ 農委會農業試驗所生物技術組助理研究員。台灣 台中市。

² 農委會農業試驗所生物技術組計畫助理。台灣 台中市。

³ 國立中興大學農藝系碩士班學生。台灣 台中市。

⁴ 農委會農業試驗所農業工程組研究員。台灣 台中市。

⁵ 國立中興大學農藝系教授。台灣 台中市。

減輕逆境所造成的負面影響。而若逆境無法移除或負面影響仍持續，將導致植株生長受限、花粉乾縮及果實無法正常發育，並致使落花與落果率上升及成熟果實重量下降，造成品質與產量的損失 (Lichtenthaler 1998)。研究指出‘Ryna[®]’番茄在開花期或果實發育期若遭遇缺水逆境，減產約 25% (Nangare *et al.* 2016)。然而，若於植物出現明顯外表形態改變前的早期缺水逆境狀態下，移除逆境壓力，則植物可迅速恢復活力 (Lichtenthaler 1998)。因此，為避免缺水逆境造成作物產量下降，開發可信度高且能偵測早期缺水逆境的逆境偵測技術，以及早因應缺水對作物栽培造成影響，已為重要農業研究項目之一 (Nemeskéri & Helyes 2019)。

判斷番茄植株是否處於缺水逆境生理狀態的方法，除直觀地記錄肉眼可察覺之植株外觀形態外，也可透過合適的生理指標加以判別。當番茄遭遇與感受缺水逆境，將逐漸由正常生理狀態轉換為缺水逆境生理狀態，葉綠素螢光係數 (Fv/Fm)、蒸散速率 (transpiration rate)、碳同化率 (assimilation rate) 及氣孔導度 (stomatal conductance) 等生理參數將產生變化，以反應番茄水分含量、傳導和相關反應的變化及累積效應 (Nemeskéri & Helyes 2019; Parkash & Singh 2020)。其中，蒸散速率、碳同化率和氣孔導度等 3 個指標由於可以連續觀察其數值變化，且在不同品種及植物的營養生長期、開花期與果實發育期等生育階段均能穩定反應植物在缺水下的生理變化與受損嚴重度，已常作為偵測植物缺水逆境的主要生理指標 (Liang *et al.* 2020)。

光譜資料收集與分析具有快速獲取大量資料、非破壞性與無須與待測物接觸等特性，近年逐漸應用於植物逆境生理相關研究 (Cotrozzi & Couture 2020)。研究植物生理變化的光譜波長範圍，主要包括可見光 (visible, 400–700 nm)、近紅外光 (near infrared, 700–1,100 nm) 和短波紅外光 (short-wave infrared, 1,100–2,400 nm) 區域。高光譜 (hyperspectral) 通常係指檢測一系列小於 10 nm 的窄波段連續光譜訊號，優點在於能獲得大量光譜資訊，可切實反應植物生理變化，且具備田間應用的潛力。如葡萄

(*Vitis vinifera* L. cv. ‘Rosario Bianco’) 和番茄等作物中，植株冠層反射光譜與葉片及植株含水率均具備高度相關性 (Suhandy *et al.* 2006; Ihuoma & Madramootoo 2020)。在利用高光譜資料進行模型建構時，由於高光譜資料具有高維度與高度共線性 (collinearity) 的特性，若使用最小平方方法 (least squares) 進行分析，所建構的模型預測能力通常不佳 (Mariotto *et al.* 2013)。淨最小平方方法 (partial least squares; PLS) 可以處理高維度與高度共線性資料，Barker & Rayens (2003) 結合 PLS 與線性判別分析 (linear discriminant analysis) 所發展出的淨最小平方-判別分析 (partial least squares-discriminant analysis; PLS-DA)，屬於一種監督式 (supervised classification) 的判別分析方法，經常用來處理分類與判別問題。PLS-DA 相當適合應用於分析高光譜資料，透過重要變數挑選流程，可進一步找到決定分類與判別結果的特徵波段。

小果番茄為台灣重要的蔬菜作物，缺水逆境會造成品質、產量下降，為建立一套非破壞性之小果番茄缺水逆境早期預測方法，本研究利用光譜儀收集缺水與正常處理之小果番茄冠層葉片反射率資料，並以重要生理指標界定番茄生理狀態，最後以高光譜與生理狀態資料進行 PLS-DA 模型建構與特徵波段挑選。所建立之預測模型期能提供栽培者於番茄進入缺水逆境生理狀態早期即有效以予判斷，俾於及早進行合適水分管理，穩定品質與產量。

材料與方法

植物材料

試驗材料選用目前溫室栽培主要的小果番茄品種「玉女」作為供試品種。種子以 3 mg L⁻¹ 的次氯酸鈉溶液消毒，隨後播種於無菌水浸濕濾紙 (No. 541, Whatman[®], Maidstone, UK) 並置於塑膠培養皿。待種子的胚根突破種皮後，將小果番茄種子移到含 Bas Van Buuren (BVB, De Lier, The Netherlands) 育苗用培養土之塑膠穴盤，並於台中市霧峰區行政院農業委員會農業試驗所生物技術組溫室培養。

水分逆境試驗

當小果番茄具有 3–4 片完全展開本葉，將每個塑膠透網籃以細紗網包覆後，填入 4 kg BVB 培養土後，澆灌 7 L 水至土壤完全潮濕。試驗處理分為缺水處理組和對照組兩組，缺水處理組定植後不再給水，對照組則每日供水 800 mL 直至水分由土壤中排出。

植株生理特性調查

葉片相對含水量

參考 Zhou *et al.* (2017) 方法，取樣處理組與對照組定植 5 d 後的小果番茄，逐日取由頂芽往下第 1–3 片完全展開葉的小葉進行試驗，至植株葉片萎凋為止。以 1 株為 1 重複，每重複取 3 片小葉進行調查，共進行 5 重複。並以精密天秤 (AB204-S/FACT, Mettler Toledo, Columbus, OH, USA) 稱量小葉葉片鮮重 (fresh weight; FW)，之後將葉片懸浮於去離子水中，在常溫避光環境中靜置 4 h。以吸水紙擦乾葉片稱量其膨潤重 (turgor weight; TW) 後，放入烘箱以 60°C 烘至完全乾燥，記錄乾重 (dry weight; DW)，換算為葉片相對含水量，公式如下：

$$\begin{aligned} & \text{葉片相對含水量 (\%)} \\ &= \frac{\text{FW (g)} - \text{DW (g)}}{\text{TW (g)} - \text{DW (g)}} \times 100\% \end{aligned}$$

氣體交換參數

缺水處理與正常給水植株之氣體交換參數、葉溫及葉綠素螢光參數，係利用攜帶型光合作用測量系統 LI-6800 (LI-COR, Lincoln, NE, USA) 進行量測。本試驗中處理組與對照組在定植後第 5 天開始測量，於每日上午 10–12 時期間以 LI-6800 測量處理組與對照組植株葉片之氣體交換參數，測量葉片選擇由頂芽而下之第 1–3 片完全展開葉，每日測量 1 次，至植株葉片萎凋為止。所有處理組均以 1 株番茄植株為 1 重複，每重複測量 3 片葉片，共進行 5 重複。

葉綠素螢光測量

依 Liang *et al.* (2020) 方法，利用葉綠素螢光計 (FluorPen FP110-LM/D, PSI, Praha, Czechia) 葉片夾夾取試驗植株葉片進行暗適應 (dark adaptation) 處理。葉片夾夾取每植株由上往下第 1–3 片完全展開葉片，暗適應處理 30 min 後，以葉綠素螢光計測量葉片 Fv/Fm 變化。以 1 株為重複，每重複量測 3 片葉片，共進行 5 重複。

光譜資料收集

小果番茄冠層葉片反射光譜以光譜儀 (MS-720, EKO, Tokyo, Japan) 進行收集。反射光譜波段收集範圍為 348–1,052 nm，解析度為 3 nm，光譜儀收集反射光的鏡頭角度為 45 度。依據 Asaari *et al.* (2018) 方法進行反射光譜測量與分析，測量前光譜儀分別以硫酸鋁白板和不含植物的土壤表面作為完全反射值和背景值進行相對反射率的計算，其計算公式如下：

$$\begin{aligned} & \text{相對反射率 (\%)} \\ &= \frac{\text{測量值} - \text{背景值}}{\text{白板反射值} - \text{背景值}} \times 100\% \end{aligned}$$

於晴朗無雲的天氣下，將待測植物移至日照充足的位置，並以腳架將光譜儀固定於植株頂芽垂直上方 30 cm 處，量測處理組與對照組植株葉片的反射光譜。所有量測過程須調整待測植株位置，避免溫室屋頂骨架、腳架或光譜儀在待測植株葉片上形成陰影，影響反射光譜量測結果。以 1 株為重複，每重複收集 3 次植株冠層葉片反射光譜變化，共進行 5 重複。

光譜資料處理與標定

依光譜儀 MS-720 解析度將所收集的反射光譜波段收集範圍 348–1,052 nm 分割為 211 個波段區間，每波段區間所收集到的葉片反射率視為一解釋變數，並以番茄生理狀態做為反應變數標定的標準。其中，光譜資料若界定為正常生理狀態則標定為 0，界定為缺水逆境生理狀態者則標定為 1。若處理組番茄葉片的蒸散速率、氣孔導度和碳同化率與對照組相比，至少有一項無顯著差異時 ($P \geq 0.05$)，則

將該葉片其所對應的高光譜資料標示為正常生理狀態 (0)；若處理組番茄葉片的蒸散速率、氣孔導度和碳同化率與對照組相比，三者均顯著低於對照組數值 ($P < 0.05$)，則將該葉片其所對應的高光譜資料標示為缺水逆境生理狀態 (1)。

PLS-DA 模型建立與特徵波段挑選

PLS 模型分解形式表示如下：

$$X = TP^T + E \quad (1)$$

$$Y = UQ^T + G \quad (2)$$

其中， P 為預測變數 X 的負荷量矩陣 (loading matrix)， Q 為反應變數 Y 的負荷量向量， Y 為類別資料，而 T 與 U 分別為 X 與 Y 的得點矩陣 (score matrix)。具有相關性的 X 矩陣經過分解之後，所產生的潛在變數 (latent variables; LVs) 之間無關聯性，且得點向量間 (t) 與負荷量向量間 (p) 均為直交 (orthogonal)，每一個 p 則具有正則 (orthonormal) 的特性。 E 與 G 為誤差項。

而因 T 為 Y 的預測變數，式 (2) 可改寫成式 (3)：

$$Y = TQ^T + F \quad (3)$$

而 P 與 Q 可透過最小平方方法估計：

$$Q^T = (T^T T)^{-1} T^T Y \quad (4)$$

$$P^T = (T^T T)^{-1} T^T X \quad (5)$$

潛在變數必須同時包含預測變數 X 與反應變數 Y 的最大共變異程度，而為了使充分潛在變數包含 Y 的訊息，則必須透過負荷量權重 W (loading weights) 建立。因此，式 (2) 可進一步改寫成式 (6)：

$$Y = TQ^T + F = XWQ^T + F = XB + F \quad (6)$$

為了評估各個波長在 PLS-DA 模型中的重要性，本研究參考 Fernández-Navales *et al.*

(2018) 的方式，使用各波長的變數投影重要性 (variable importance in the projection; VIP) (Wold *et al.* 1993) 與迴歸係數來進行特徵波段 (長) 的挑選。其中，VIP 分數大於 1 者將被視為重要波段 (Wold *et al.* 1993)。

PLS-DA 模型預測準確度評估與交叉驗證

若真實為 1 且模型判斷為 1，此為真陽性 (true positive; TP)；若真實為 0 且模型判斷為 0，此為真陰性 (true negative; TN)；若真實為 1 但模型判斷為 0，此為偽陰性 (false negative; FN)；若真實為 0 但模型判斷為 1，此為偽陽性 (false positive; FP)。準確度即是模型整體的分類正確率 [式 (7)]，而敏感度為真陽性率 (true positive rate)，即實際為 1 的樣本中 TP 的比例 [式 (8)]；特異度則為真陰性率 (true negative rate)，即實際為 0 的樣本中 TN 的比例 [式 (9)]。

$$\text{Accuracy} = (TP + TN) / (TP + TN + FP + FN) \quad (7)$$

$$\text{Sensitivity} = TP / (TP + FN) \quad (8)$$

$$\text{Specificity} = TN / (TN + FP) \quad (9)$$

交叉驗證採用十折交叉驗證 (10-fold cross-validation)，數據集將隨機分成 10 等份，輪流將其中 9 份作為建模數據，1 份作為驗證數據進行驗證。最終，將 10 次驗證結果的正確率的平均值作為模型準確度的估計。

結果

外表形態變化

「玉女」小果番茄在缺水處理過程中，處理 10 d 後外觀形態與對照組無顯著差異，處理 11–12 d 後處理組植株出現明顯葉面積減小、葉片下垂、軟化和捲曲等典型缺水障礙形態變化 (圖 1A、B)。

生理指標評估

缺水處理組與正常給水處理組之葉片相對水分含量變化如圖 2 所示，處理 5–10 d 之缺水處理組葉片的相對水分含量與對照組

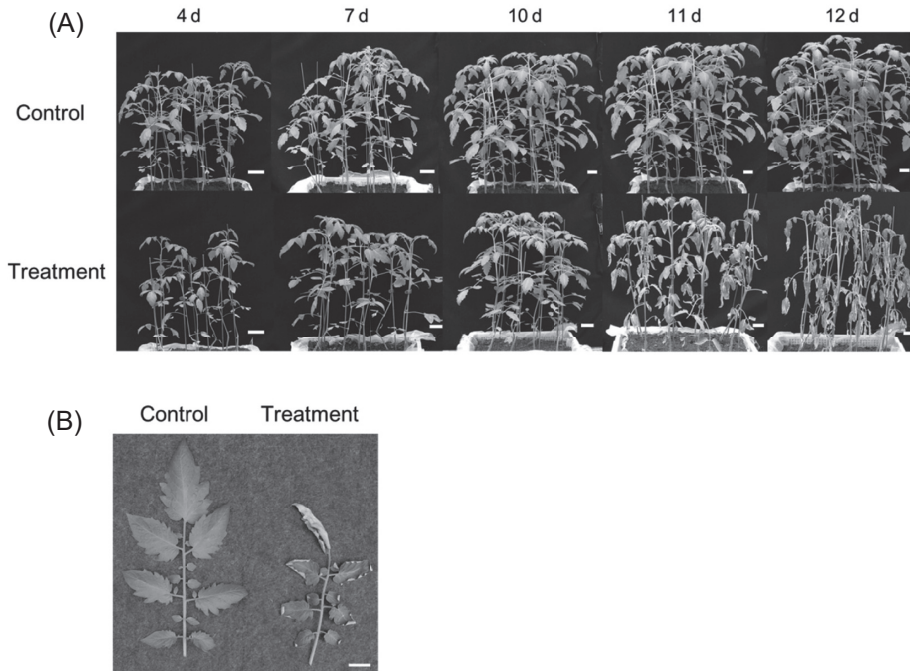


圖 1. 「玉女」小果番茄苗株的對照組和缺水處理組之外表型變化。(A) 對照組與處理組處理 4、7、10、11 及 12 d 時全株形態變化；(B) 對照組與處理組處理 12 d 時葉片的形態變化 (bar = 5 cm)。

Fig. 1. The phenotypic changes of 'Rosada' cherry tomato seedlings in the control and drought treatment. (A) The changes of the whole plant in the control and the treatment on 4, 7, 10, 11 and 12 d; (B) The changes of the leaves in the control and the treatment group on the 12 d (bar = 5 cm).

葉片無顯著差異，在此期間葉片的相對水分含量均維持在 84–92% 之間。直至處理 11 d 後，缺水處理組葉片的相對水分含量方降至 79.52%，顯著低於對照組。缺水處理組葉片的 F_v/F_m 值在處理 4 d 時與對照組無顯著差異，處理 7 d 後處理組葉片的 F_v/F_m 值為 0.75，顯著低於對照組 (圖 3A)。由 LI-6800 收集葉片光合作用相關指標的連續變化結果顯示，缺水處理組葉片蒸散速率在處理 8 d 後為 $0.0049 \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ，顯著低於對照組；氣孔導度和碳同化率變化，則分別於處理 9 d 後和 10 d 後方顯著低於對照組，數值分別為 $0.21 \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ 和 $10.01 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (圖 3B–D)。番茄植株發生外表形態改變前，蒸散速率、氣孔導度和碳同化率均顯著下降 (圖 1、圖 3)。

高光譜資料標定

缺水處理組與對照組葉片反射光譜圖 (348–1,052 nm) 如圖 4，對照組冠層葉片的反

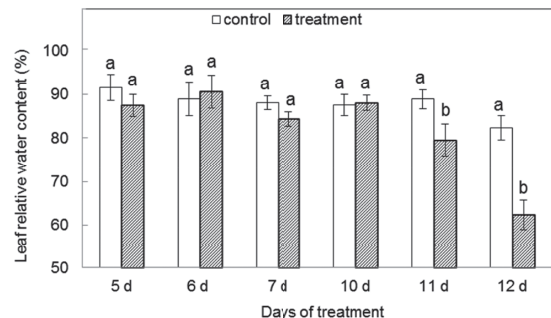


圖 2. 溫室內「玉女」小果番茄苗株正常給水的對照組和缺水處理組處理 5、6、7、10、11 及 12 d 時的葉片相對水分含量變化。誤差線為平均值標準差 ($N = 5$)，各平均值上示以相同字母表示為 5% 水準下經非成對 t -檢定未達顯著差異。

Fig. 2. The leaf relative water content of the control and the drought treatment of the 'Rosada' cherry tomato seedlings in the greenhouse when they were treated for 5, 6, 7, 10, 11 and 12 d. Error bar is the standard deviation of the mean ($N = 5$). The same letter means that two treatments are not significantly different at 5% level by unpaired Student's t -test.

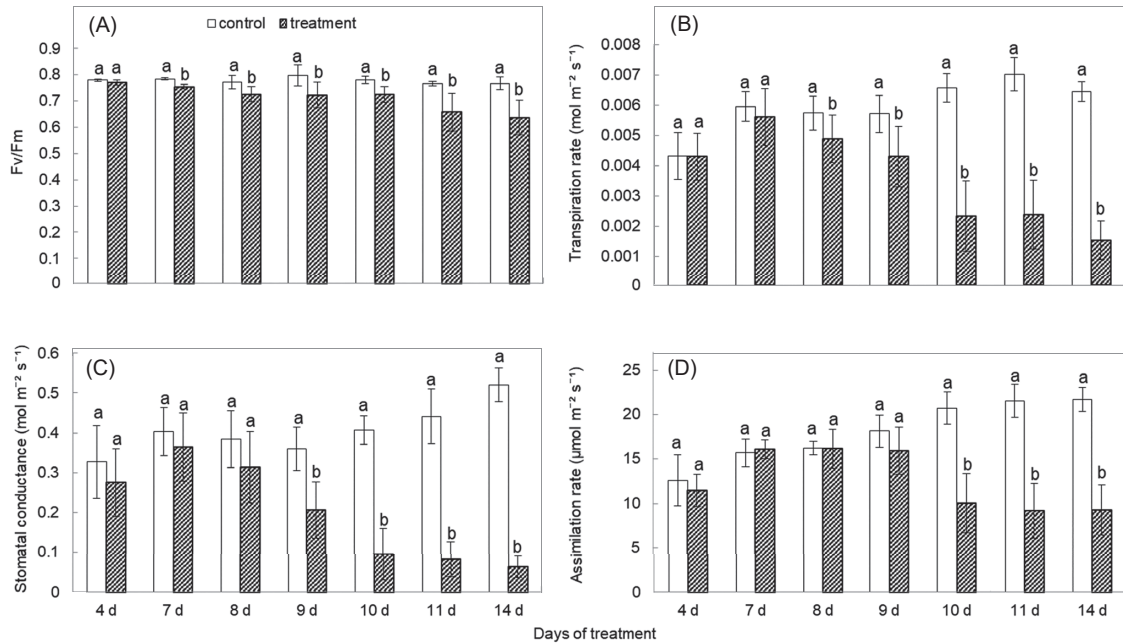


圖 3. 「玉女」小果番茄苗株正常給水的對照組和缺水處理組處理 4、7、8、9、10、11 及 14 d 時各生理指標變化。(A) Fv/Fm 值；(B) 蒸散速率；(C) 氣孔導度；(D) 碳同化率。誤差線為平均值標準差 ($N = 5$)，各平均值上示以相同字母表示為 5% 水準下經非成對 t -檢定未達顯著差異。

Fig. 3. Biological indicators of the control and the drought treatment of the 'Rosada' cherry tomato seedlings when they were treated for 4, 7, 8, 9, 10, 11 and 14 d. (A) Fv/Fm value; (B) transpiration rate; (C) stomatal conductance; and (D) assimilation rate. Error bar is the standard deviation of the mean ($N = 5$). The same letter means that two treatments are not significantly different at 5% level by unpaired Student's t -test.

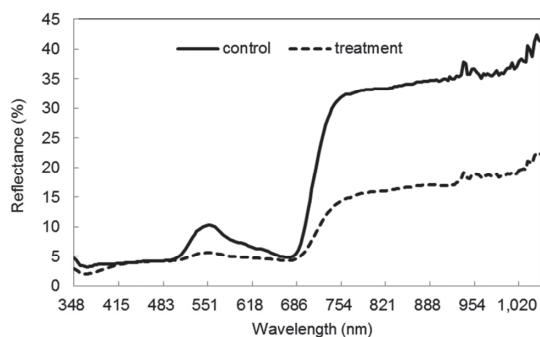


圖 4. 「玉女」小果番茄苗株於蒸散速率、氣孔導度和碳同化率均出現顯著差異後，對照組 ($N = 32$) 和處理組 ($N = 35$) 冠層葉片反射率平均值的變化。

Fig. 4. Changes of the average values of canopy reflectance in the control ($N = 32$) and the treated ($N = 35$) 'Rosada' cherry tomato seedlings after transpiration rate, stomatal conductance and carbon assimilation rate appeared significantly different morphology.

射率在 490–610 nm、690–1,020 nm 等波段區間明顯高於處理組。光譜資料依 3 個生理指標界定為正常生理狀態並標定為 0 者有 335 筆，屬於早期缺水逆境生理狀態並標定為 1 者有 175 筆，共 510 筆光譜資料。

PLS-DA 預測模型建立、表現評估和特徵波段挑選

依據全波段高光譜資料所建構之 PLS-DA 模型 (模型 I)，預測準確度為 0.93，敏感度為 0.89，特異度為 0.95，十折交叉驗證之準確度為 0.90，敏感度為 0.87，特異度為 0.92 (表 1)。而由圖 5 得知，全波段 PLS-DA 模型在包含 8 個隱藏變數即具有相對低的分類錯誤率 (misclassification rate)，故將模型精簡為使用 8 個隱藏變數的模型 II，模型 II 之預測準確度

為 0.92，敏感度為 0.89，特異度為 0.94，十折交叉驗證之準確度為 0.91，敏感度為 0.87，特異度為 0.93 (表 1)。模型 I 和模型 II 的迴歸係數分布結果如圖 6A、B，兩模型的趨勢大致相同，波峰波谷皆位在第 40–60 個、第 100–140

個和第 200 個之後的解釋變數區間，所對應到的波段包括 479–547 nm、682–817 nm 及 1,016–1,052 nm 等 3 波段。將前述 3 個波段作為特徵波段進一步建立 PLS-DA 模型 III，其預測準確度為 0.93，敏感度為 0.92，特異度

表 1. 「玉女」小果番茄苗株對照組和缺水處理組高光譜資料之 PLS-DA 模型分析結果比較。

Table 1. Comparison of partial least squares-discriminant analysis (PLS-DA) model analysis results of hyperspectral data collected from the control and the treated 'Rosada' cherry tomato seedlings.

Model	Spectral band (nm)	Process	Sensitivity	Specificity	Accuracy
I	348–1,052	cal ^z	0.89	0.95	0.93
		cv ^y	0.87	0.92	0.90
II	348–1,052	cal	0.89	0.94	0.92
		cv	0.87	0.93	0.91
III	479–547 682–817 1,016–1,052	cal	0.92	0.93	0.93
		cv	0.88	0.92	0.90
IV	348–506 638–767	cal	0.79	0.91	0.87
		cv	0.79	0.90	0.86
V	348–388	cal	0.85	0.94	0.91
	516–584	cv	0.83	0.91	0.88
	655–756				
	937–950				
	1,026–1,052				

^z calibration.

^y 10-fold cross-validation.

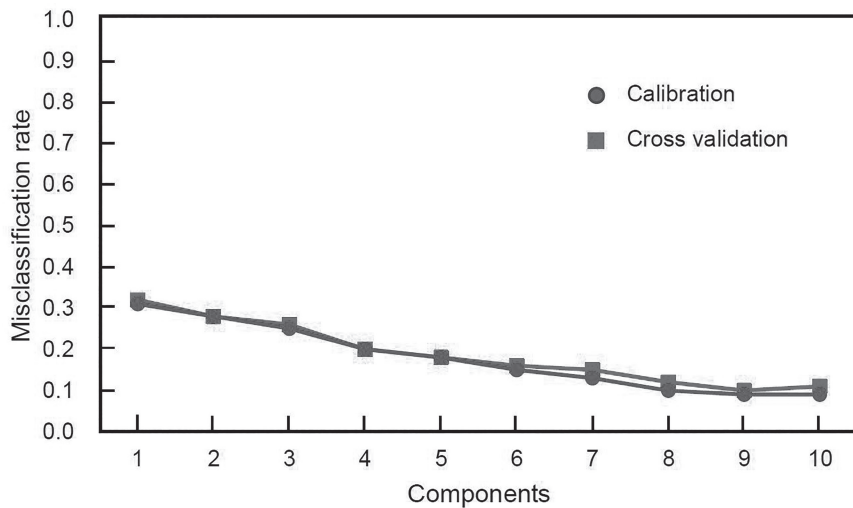


圖 5. 「玉女」小果番茄苗株對照組和缺水處理組高光譜資料之 PLS-DA 預測模型採用的隱藏變數個數和相對應的分類錯誤率。

Fig. 5. The number of latent variables and the misclassification rate used in the partial least squares-discriminant analysis (PLS-DA) prediction model of the hyperspectral data collected from the control and the treated 'Rosada' cherry tomato seedlings.

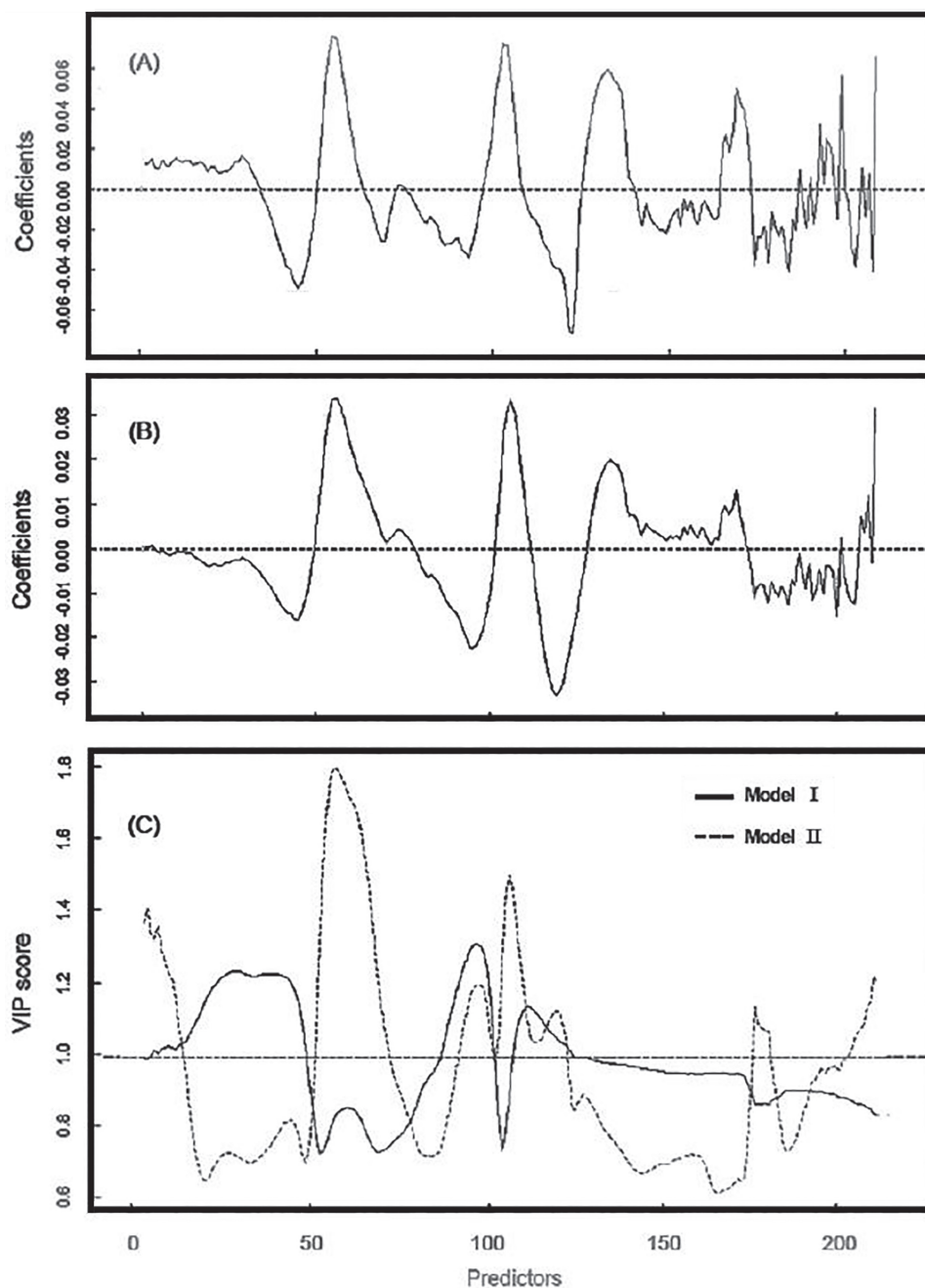


圖 6. 「玉女」小果番茄苗株對照組和缺水處理組高光譜資料之 PLS-DA 預測模型 I、II 各變數之迴歸係數與 VIP 分數。(A) 模型 I 之迴歸係數；(B) 模型 II 之迴歸係數；(C) VIP 分數。

Fig. 6. The regression coefficient and variable importance in the projection (VIP) score of variables used in the partial least squares-discriminant analysis (PLS-DA) prediction model I and II of the hyperspectral data collected from the control and the treated 'Rosada' cherry tomato seedlings. (A) Regression coefficient of model I; (B) regression coefficient of model II; and (C) VIP score.

為 0.93，十折交叉驗證準確度為 0.90，敏感度為 0.88，特異度為 0.92 (表 1)。另一方面，模型 I 和模型 II 以 VIP 分數大於 1 為標準，所找出的特徵波段則略有差異 (圖 6C)。模型 I 利用 VIP 法找出的特徵波段為 348–506 nm 及 638–767 nm，以這兩個波段建立 PLS-DA 模型 IV，其預測準確度為 0.87，敏感度為 0.79，特異度為 0.91，十折交叉驗證準確度為 0.86，敏感度為 0.79，特異度為 0.90 (表 1)；模型 II 利用 VIP 法找出的特徵波段為 348–388 nm、516–584 nm、655–756 nm、937–950 nm 及 1,026–1,052 nm，以這 5 個波段建立 PLS-DA 模型 V，其預測準確度為 0.91，敏感度為 0.85，特異度為 0.94，十折交叉驗證準確度為 0.88，敏感度為 0.83，特異度為 0.91 (表 1)。

討論

本研究利用「玉女」小果番茄進行缺水與正常給水處理，試驗期間調查正常生理、早期缺水逆境等狀態下外觀形態差異以及葉片相對水分含量、Fv/Fm、蒸散速率、氣孔導度和碳同化率等生理數據，同時進行非破壞性葉片反射光譜資料收集。相關數據資料以 PLS-DA 進行模型建構與特徵波段挑選，期望建立一有效的小果番茄早期缺水逆境預測模型。

番茄植株經缺水處理後，葉片相對水分含量在處理 11 d 時下降至 79%，開始與對照組出現顯著差異，並在處理 12 d 時下降至 62% (圖 2)，與 'Arvento' 番茄在缺水逆境下，葉片相對含水量由 82% 降至 50% 的結果相似 (Zhou *et al.* 2017)。此外，當植物遭逢缺水、高溫逆境時，會造成 PSII 系統中的 D1 蛋白質受到破壞而降解，導致 Fv/Fm 值下降，Fv/Fm 比值下降是反應植物遭逢非生物逆境處理的早期生理指標之一 (Poudyal *et al.* 2019; Parkash & Singh 2020)。本研究結果顯示，Fv/Fm 值在處理 7 d 時即出現顯著下降，並隨處理時間的增加，Fv/Fm 值下降幅度越大，與前人研究番茄處於缺水逆境生理狀態下的結果一致 (Nangare *et al.* 2016; Liang *et al.* 2020)。說明

本研究施加之缺水處理，可有效使番茄由正常生理狀態進入逆境生理狀態，並導致早期 Fv/Fm 值與後期葉片相對水分含量的變化。

依據 Nemeskéri & Helyes (2019) 研究指出，當作物遭逢缺水逆境，會由正常生理狀態轉移到逆境生理狀態，以反應逆境對作物產生的負面影響，在缺水逆境早期經常發生肉眼不可見的生理反應，主要由於植株內部水勢逐漸降低，導致葉片保衛細胞萎縮與氣孔關閉。而葉片水分大約有 80% 是由氣孔蒸散，因此氣孔關閉會抑制水分蒸散以維持植株水分含量，氣孔關閉同時將抑制環境中 CO₂ 進入葉片細胞，進一步抑制光合作用與碳同化速率 (Lawson & Matthews 2020)。若缺水逆境無法移除，將加劇對作物的危害，因而逐漸發展出肉眼可見的生理障礙，如葉片萎凋、黃化與生長勢弱化等直至凋零死亡。綜上，由缺水逆境所引起可見以及不可見的生理狀態改變為一連續性的進展。本試驗中番茄葉片的蒸散速率和氣孔導度分別在缺水處理 8 d 和 9 d 後顯著下降，而碳同化率則於處理 10 d 時才開始顯著下降。由於在缺水逆境中番茄各生理指標除受缺水影響外，溫度、溼度等非生物性因素與病蟲害等生物性因素均會對生理指標產生影響，如以單一生理指標評估缺水逆境可能有高估現象。

本試驗目的在於建立一番茄缺水逆境預測模型，希望在外表型態發生改變前即可判斷番茄是否已進入早期缺水逆境生理狀態，以及早移除缺水逆境壓力。前人研究已有使用氣孔導度與蒸散速率進行早期缺水逆境的標定 (Fernández-Navales *et al.* 2018)，然而，蒸散速率除受到水分逆境會顯著下降外，在高相對濕度和低 VPD 等環境條件下，蒸散速率也會顯著下降 (Tu *et al.* 2021)。此外，在本研究收集資料過程中也發現，少數植株的氣孔導度與蒸散速率數值顯著低於控制組植株會發生在同一天，綜合考慮植株個體差異及無法排除的環境影響因素，為更加準確界定番茄植株是否處於早期缺水逆境生理狀態，因此本試驗以相對嚴格的生理指標 (氣孔導度、蒸散速率、碳同

化速率)皆顯著低於對照給水組植株為標準，以二元分類(binary classification)區分番茄是否處於早期缺水生理狀態(圖 3)。

Carter (1991) 研究了 6 種不同植物的葉片在不同的水分含量下對葉片光譜反射特性的影響，發現 1,300–2,500 nm 波段反射率受水分對輻射的直接吸收所影響(初級影響)，對 400–1,300 nm 波段反射率的影響，則是由水分含量變化造成的葉片內部結構的變化引起的(次級影響)。在輕微乾旱時，水分的次級影響大於初級影響；在重度乾旱時則主要由水分的初級影響決定。因此，若想早期偵測植株水分狀態，可先著重在 400–1,300 nm 範圍內進行特徵波段選取(Carter 1991)。本研究在番茄在缺水處理後，於蒸散速率、氣孔導度和碳同化率均出現顯著差異，而外觀形態尚未發生變化期間，缺水處理組在與對照組冠層葉片反射光譜資料在 490–610 nm、690–1,020 nm 等波段區間出現分離現象(圖 4)。「Picus」小果番茄在以 20、40、60、80 和 100% 水分灌溉處理時，在 450–900 nm 的波段區間也可觀察到光譜資料分離的現象(Ihuoma & Madramootoo 2020)。顯示本研究的小果番茄經缺水逆境處理後所造成的生理狀態轉變與相關反應，亦將反應至光譜數值的變化。進一步將 348–1,052 nm 範圍分割為 211 個波段，並進行 PLS-DA 模型配適，該模型(模型 I)的預測準確率為 0.93，十折交叉驗證準確率為 0.90(表 1)。為減輕運算上的負荷，本研究觀察分類錯誤率降低的情形，將模型隱藏變數精簡至 8 個得到模型 II，該模型的預測準確率為 0.92，十折交叉驗證準確率為 0.91，且敏感度和特異度亦與模型 I 無明顯差異(表 1)。表示此處將模型精簡，並未影響模型的預測能力。

另一方面，為降低反射光譜波段使用數目，並篩選出與缺水逆境的較為相關之特徵波段，本研究利用 PLS-DA 模型迴歸係數與 VIP 分數兩種方法進行特徵波段篩選。模型 I 和模型 II 以迴歸係數法得到的波段大致相同(圖 6A、B)，為 479–547 nm、682–817 nm 及 1,016–1,052 nm 等 3 波段。然而，模型 I 和模型 II 以 VIP 分數所找出的特徵波段則略有差異(圖 6)，分別為 348–506 nm、638–767 nm 以及 348–388 nm、

516–584 nm、655–756 nm、937–950 nm、1,026–1,052 nm。可見以不同方法進行特徵波段篩選結果將不盡相同，但仍有許多重疊之處。此外，模型 III、IV、V，其預測準確度分別為 0.93、0.87、0.91，十折交叉驗證準確率為 0.90、0.86、0.88(表 1)，與模型 I、II 相比，除模型 IV 模型表現較差，模型 III、V 並未有明顯落差。表示縮減光譜波段範圍與數目，並不會明顯影響模型的預測能力。進一步將本研究所找出的特徵波段進行疊合，重疊範圍為 348–584 nm、638–817 nm、937–950 nm 及 1,016–1,052 nm 等 4 個區間。Rapaport *et al.* (2015) 分析缺水逆境下葡萄葉片反射光譜結果時發現 530–570 nm、700–750 nm、1,380–1,420 nm 及 1,450–1,590 nm 對於水分潛勢和氣孔導度的評估甚是重要。Elvanidi *et al.* (2018) 研究結果則指出 451–554 nm、640–670 nm 及 700–1,000 nm 等波段反射值變化對於番茄是否遭逢缺水逆境相當敏感，而 Köksal (2011) 和 Schlemmer *et al.* (2005) 亦指出上述波段亦能用於偵測玉米(*Zea mays* L.) 和菜豆(*Phaseolus vulgaris* L.) 的缺水逆境。本研究所挑選之特徵波段與前述研究之結果均有重疊，符合過去的研究。

結論

本研究使用葉片蒸散速率、氣孔導度和碳同化率等生理指標區分「玉女」小果番茄正常生理與早期缺水逆境的生理狀態，並以光譜儀收集冠層葉片的高光譜反射率，利用 PLS-DA 進行早期缺水逆境預測模型建構，預測準確可達 0.93。結果亦顯示，可提早 1–2 d 預知早期缺水逆境已發生，評估現行溫室番茄栽培滴灌系統應已有充足時間可以即時因應並給水。此外，利用迴歸係數與 VIP 篩選特徵波段結果與前人研究相符，同時發現若僅使用特徵波段對於模型預測效能並無明顯影響，但能簡化高光譜資料收集的技術門檻，提升未來應用高光譜資料進行非破壞性檢測之應用潛力。

誌謝

本研究承蒙科技部整合計畫 MOST 108-

2321-B-055-001 計畫經費支持，使本研究得以順利執行，謹此致謝。

引用文獻

- Asaari, M. S. M., P. Mishra, S. Mertens, S. Dhondt, D. Inzé, N. Wuyts, and P. Scheunders. 2018. Close-range hyperspectral image analysis for the early detection of stress responses in individual plants in a high-throughput phenotyping platform. *ISPRS J. Photogramm. Remote Sens.* 138:121–138. doi:10.1016/j.isprsjprs.2018.02.003
- Barker, M. and W. Rayens. 2003. Partial least squares for discrimination. *J. Chemom.* 17:166–173. doi:10.1002/cem.785
- Carter, G. A. 1991. Primary and secondary effects of water content on the spectral reflectance of leaves. *Amer. J. Bot.* 78:916–924. doi:10.1002/j.1537-2197.1991.tb14495.x
- Cotrozzi, L. and J. J. Couture. 2020. Hyperspectral assessment of plant responses to multi-stress environments: Prospects for managing protected agrosystems. *Plants People Planet* 2:244–258. doi:10.1002/ppp3.10080
- Elvanidi, A., N. Katsoulas, K. P. Ferentinis, T. Bartzanas, and C. Kittas. 2018. Hyperspectral machine vision as a tool for water stress severity assessment in soilless tomato crop. *Biosyst. Eng.* 165:25–35. doi:10.1016/j.biosystemseng.2017.11.002
- Fernández-Novales, J., J. Tardaguila, S. Gutiérrez, M. Marañón, and M. P. Diago. 2018. In field quantification and discrimination of different vineyard water regimes by on-the-go NIR spectroscopy. *Biosyst. Eng.* 165:47–58. doi:10.1016/j.biosystemseng.2017.08.018
- Ihuoma, S. O. and C. A. Madramootoo. 2020. Narrow-band reflectance indices for mapping the combined effects of water and nitrogen stress in field grown tomato crops. *Biosyst. Eng.* 192:133–143. doi:10.1016/j.biosystemseng.2020.01.017
- Köksal, E. S. 2011. Hyperspectral reflectance data processing through cluster and principal component analysis for estimating irrigation and yield related indicators. *Agric. Water Manag.* 98:1317–1328. doi:10.1016/j.agwat.2011.03.014
- Lawson, T. and J. Matthews. 2020. Guard cell metabolism and stomatal function. *Annu. Rev. Plant Biol.* 71:273–302. doi:10.1146/annurev-arplant-050718-100251
- Liang, G., J. Liu, J. Zhang, and J. Guo. 2020. Effects of drought stress on photosynthetic and physiological parameters of tomato. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 145:12–17. doi:10.21273/JASHS04725-19
- Lichtenthaler, H. K. 1998. The stress concept in plants: An introduction. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 851:187–198. doi:10.1111/j.1749-6632.1998.tb08993.x
- Mariotto, I., P. S. Thenkabail, A. Huete, E. T. Slonecker, and A. Platonov. 2013. Hyperspectral *versus* multispectral crop-productivity modeling and type discrimination for the HypIRI mission. *Remote Sens. Environ.* 139:291–305. doi:10.1016/j.rse.2013.08.002
- Nangare, D. D., Y. Singh, P. S. Kumar, and P. S. Minhas. 2016. Growth, fruit yield and quality of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) as affected by deficit irrigation regulated on phenological basis. *Agric. Water Manag.* 171:73–79. doi:10.1016/j.agwat.2016.03.016
- Nemeskéri, E. and L. Helyes. 2019. Physiological responses of selected vegetable crop species to water stress. *Agronomy* 9:447. doi:10.3390/agronomy9080447
- Parkash, V. and S. Singh. 2020. A review on potential plant-based water stress indicators for vegetable crops. *Sustainability* 12:3945. doi:10.3390/su12103945
- Poudyal, D., E. Rosenqvist, and C. O. Ottosen. 2019. Phenotyping from lab to field-tomato lines screened for heat stress using *Fv/Fm* maintain high fruit yield during thermal stress in the field. *Funct. Plant Biol.* 46:44–55. doi:10.1071/FP17317
- Rapaport, T., U. Hochberg, M. Shoshany, A. Karnieli, and S. Rachmilevitch. 2015. Combining leaf physiology, hyperspectral imaging and partial least squares-regression (PLS-R) for grapevine water status assessment. *ISPRS J. Photogramm. Remote Sens.* 109:88–97. doi:10.1016/j.isprsjprs.2015.09.003
- Schlemmer, M. R., D. D. Francis, J. F. Shanahan, and J. S. Schepers. 2005. Remotely measuring chlorophyll content in corn leaves with differing nitrogen levels and relative water content. *Agron. J.* 97:106–112. doi:10.2134/agronj2005.0106
- Suhandy, D., N. Khuriyati, and T. Matsuoka. 2006. Determination of leaf water potential in tomato plants using NIR spectroscopy for water stress management. *Environ. Control Biol.* 44:279–284. doi:10.2525/ecb.44.279
- Tu, Y. K., H. W. Chen, S. L. Fang, M. H. Yao, Y. Y. Tseng, and B. J. Kuo. 2021. Establishing of early discrimination methods for drought stress of tomato by using environmental parameters and NIR spectroscopy in greenhouse. *Acta Hortic.* 1311:501–512. doi:10.17660/ActaHortic.2021.1311.64
- Wold, S., E. Johansson, and M. Cocchi. 1993. PLS -

- Partial least squares projections to latent structures. p.523–550. *in*: 3D QSAR in Drug Design: Theory, Methods and Applications. (Kubinyi, H. ed.) ESCOM Sci. Pub. Leiden, The Netherlands. 759 pp.
- Zhou, R., X. Yu, C. O. Ottosen, E. Rosenqvist, L. Zhao, Y. Wang, W. Yu, T. Zhao, and Z. Wu. 2017. Drought stress had a predominant effect over heat stress on three tomato cultivars subjected to combined stress. *BMC Plant Biol.* 17:24. doi:10.1186/s12870-017-0974-x

Establishment of the Early Prediction Model of Water Deficit Stress for Cherry Tomato Using Hyperspectral Data

Yuan-Kai Tu¹, Han-Wei Chen¹, Min-Kun Chi², Shih-Lun Fang³, Min-Hwi Yao⁴, and Bo-Jein Kuo^{5,*}

Abstract

Tu, Y. K., H. W. Chen, M. K. Chi, S. L. Fang, M. H. Yao, and B. J. Kuo. 2022. Establishment of the early prediction model of water deficit stress for cherry tomato using hyperspectral data. *J. Taiwan Agric. Res.* 71(2):87–99.

Hyperspectral data collection is a kind of non-destructive detection method, which can be applied to determine the physiological status and disease occurrence of plants. Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) is an important vegetable in Taiwan, and proper water management during growth process has crucial impacts on quality and yield. In order to establish a method for predicting the early stage of water deficit stress for tomatoes, ‘Rosada’ tomato seedlings were administrated with drought treatment and physiological parameters including the transpiration rate, stomatal conductance and assimilation rate were determined. During the period of experiments, the hyperspectral reflectance data of the leaf canopy were collected as well. The physiological status of tomato was further determined by the results of physiological parameters. Coupling with the hyperspectral data, the partial least squares-discriminant analysis (PLS-DA) was constructed to predict the early stage of stress status induced by drought treatment. The results showed that the transpiration rate, stomatal conductance, and assimilation rate were significantly lower than those of the control group 8, 9 and 10 d after drought treatment ($P < 0.05$), while the morphology appeared obvious phenotypic variation 11 d after drought treatment. We concluded that the early physiological response to water deficit stress occurred approximately 10–11 d after drought treatment. The prediction accuracy, sensitivity and specificity of the PLS-DA models obtained from 348–1,052 nm were at the range of 0.90–0.93, 0.87–0.89 and 0.92–0.95, respectively. The results indicated that the PLS-DA model possessed acceptable prediction performance. Furthermore, four important characteristic bands, 348–584, 638–817, 937–950 and 1,016–1,052 nm, which were selected from the regression coefficients and variable importance in the projection (VIP) scores. We established additional PLS-DA models by these characteristic bands, and the prediction accuracy, sensitivity and specificity were 0.86–0.93, 0.79–0.92 and 0.90–0.92, respectively. These results showed that PLS-DA models established by the characteristic bands had no significant improvement to the model performance. However, the models could reduce the cost of data collection and subsequent operations.

Key words: Hyperspectral data, Cherry tomato, Water deficit, PLS-DA.

Received: August 13, 2021; Accepted: November 23, 2021.

* Corresponding author, e-mail: bjkuo@nchu.edu.tw

¹ Assistant Research Fellows, Biotechnology Division, Taiwan Agricultural Research Institute, Taichung City, Taiwan, ROC.

² Project Assistant, Biotechnology Division, Taiwan Agricultural Research Institute, Taichung City, Taiwan, ROC.

³ Master’s student, Department of Agronomy, National Chung Hsing University, Taichung City, Taiwan, ROC.

⁴ Research Fellow, Agricultural Engineering Division, Taiwan Agricultural Research Institute, Taichung City, Taiwan, ROC.

⁵ Professor, Department of Agronomy, National Chung Hsing University, Taichung City, Taiwan, ROC.

