

叶面积测定方法的研究效果初报

冯冬霞, 施生锦

(中国农业大学资源与环境学院气象系, 北京 100094)

摘要: 详细介绍了测量叶面积的各种方法, 并指出每种方法的精度、适用范围等特点, 以供科学研究时进行合理选择。最后还提出中国叶面积测量方法在未来的研究方向是研制便携式叶面积仪和开发集成的叶片图象处理软件。

关键词: 叶面积; 测量方法; 回归分析; 图象处理

Research on Night Measurement Methods of Leaf Area

Feng Dong xia, Shi Shengjin

(Department of Application Meteorology, College of Resource and Environment, China Agricultural University, Beijing 100094)

Abstract: In the paper, all kinds of measurement methods for leaf area was introduced in detail, and pointed out the accuracy and application range of every method for selecting the reasonable methods of science and research work. At last, as the development direction of measurement methods for leaf area in China, designing the portable leaf area meter and the soft of leaf area image processing were brought out.

Key words: Leaf area, Measurement method, Regression analysis, Image processing

叶片是光合作用的物质基础, 是制造营养物质的“绿色工厂”, 是蒸腾作用的媒介, 它不仅是植物的生长发育、产量形成和品种特性重要指标, 也是对作物进行合理的栽培管理以及病虫害发生发展监测的重要手段, 因此叶面积是生理生化、遗传育种、作物栽培等方面研究所经长考虑的内容。在作物栽培中, 常用叶面积指数来衡量作物群体的生长状况, 并以此作为确定栽培措施的参考指标^[1]; 此外, 测定害虫食叶面积是研究害虫危害损失、经济阈值的重要内容^[2]。

叶面积的正确测量是研究叶面积的前提。目前叶面积的测量方法已经有很多种, 各种测量叶面积的方法都有其局限性和使用范围, 因此针对不同的作物、不同品种和不同目的, 选择合适的测量方法是必不可少的。笔者详细介绍了测量叶面积的各种方法及其适用范围, 供科学研究时进行合理的选择。

1 叶面积测量方法

1.1 叶面积仪 叶面积仪利用光学反射和透射原理, 采用特定的发光器件和光敏器件, 测量叶面积的大小。从选用的光学器件来分, 叶面积仪可分为光电叶面积仪, 扫描叶面积仪和激光叶面积仪三类; 从测量

过程中是否移动叶片来分, 可分为移动式 and 固定式测量。叶面积仪测量叶面积精确度高, 误差小, 操作简单, 速度快。

目前进口叶面积仪主要为美国 LICOR 公司的 LI-3000, LI-3100 叶面积仪, 美国 CID 公司的 CI-202 扫描叶面积仪, CI-203 激光叶面积仪, 英国 AD 公司生产的 AM100、AM200、AM300 便携式扫描叶面积仪。价格昂贵, 维修困难。

1.2 求积仪 求积仪分为点子求积仪和机械求积仪, 使用时将叶片摘下, 平铺于白纸上描出叶片轮廓后, 使用求积仪测量该图形面积^[3]。

目前使用的求积仪多为日本进口的 KN-90 数字式求积仪, 要求严格按照使用指导使用。求积仪的误差多来源于设计本身和使用过程, 王俊河等研究还表明求积仪的误差除了本身机械误差外, 还跟叶形有关: 叶子的长宽比越大, 误差就越大; 周长越大, 误差也越大^[4]。

1.3 方格纸法 将叶片摘取后, 平铺于 1mm² 小方格的组成方格纸上, 用铅笔描出叶片的形状, 或将透明方格纸(膜)平压在叶片上, 然后统计叶片(图形)所占

的方格数,再乘以每个方格的面积即得到叶片面积。对于处在叶片(图形)边缘的不完整方格按实际情况进行取舍,常用的比例为1/2或1/3,当叶片(图形)所占面积大于此值时算一个方格,相反则忽略不计^[9]。这种取舍是方格纸法的最主要误差来源,要求设置合理的取舍比例。

1.4 称重法 称重法有打孔称重法和称纸重法,都要求精度很高的称重设备。

打孔称重法使用直径一定的打孔器在叶片上均匀取一定的孔,这几个孔的重量与其面积之比为单位叶面积重量,再称出叶片重量,则叶面积为叶片重量比单位叶面积重量;因叶片的状况分为秤干重法和称鲜重法。打孔法破坏叶片,耗时耗力,测量结果受叶片

的厚薄、叶龄、打孔位置以及叶片含水量影响很大。

称纸重法将叶片的形状描到纸上,将叶子形状剪下来称重得图形重量,用图形重量除以单位面积纸重量即可得到叶面积^[9]。纸重法排除了叶片含水量、厚薄、叶龄的影响,结果准确,可作为标准叶面积。

1.5 图形分解法 根据叶片的形状特征总结出近似形状,将形状按几何分解方法分解为几个规则的可计算面积的图形,分别求面积后求和得到叶面积。这种方法简单快捷,可活体测量。龚建华等提出黄瓜叶面积可以看作等腰三角形,以此估算的叶面积与实际叶面积无显著差异^[9]。同时还指出不同叶龄的叶片有一定的差异,需要校正系数,如表1。

1.6 抛物线法 根据叶子的轮廓特征,把叶面积分为

表1 津优1号和津春4号黄瓜叶面积折算指数

品种	大叶	中叶	小叶	平均
津优1号	0.9835	0.9792	0.9332	0.9710
津春4号	1.0374	0.9912	0.9609	1.0053

注:叶长>19cm为大叶,16cm<叶长≤19cm为中叶,叶长≤16cm为小叶。以上数据来自参考文献^[9]

几个抛物线围成的面积,利用积分原理求出叶面积。王永坤等提出对于可以用抛物线模拟的叶片面积从如下公式得出^[6]:

$$y = \frac{2}{3}xy \dots\dots\dots (1)$$

x为叶长,y为最大叶宽,s为叶面积。苑克俊等又提出利用辛普松公式法求叶面积^[7]:

$$S = \frac{d}{3} [(y_0 + y_n) + 2(y_1 + y_2 + \dots + y_{n-2}) + 4(y_2 + y_3 + \dots + y_{n-1})] \quad (2)$$

y_n为第n等份点上的宽度值,d为最大长度的等n份分割的距离。辛普松法测量数据多,一般直尺不易于测量,可用纵横测量尺测量^[7]。

抛物线法和辛普松法适用于规则边缘的叶面积计算,对于不规则边缘的叶面积估算误差较大。苑克

俊,孙瑞红等试验结果得到,对多数果树分4等份时误差在1.06%~2.52%;分6等份时误差范围0.27%~1.13%;分8等份时误差范围0.43%~1.09%,一般6等分就可以达到精度要求^[7]。

1.7 系数法 利用叶片的长度和最大宽度乘积与叶片实际面积之间的线性关系,确定的系数称叶面积指数,叶面积系数=叶面积÷(叶长×叶最大宽)。叶面积系数受叶形的制约,而叶形又受控于几对等位基因^[8]、光周期和温度,因此不同的品种、叶龄和环境的叶片具有不同的叶面积系数。Bryan和Mullinix用NC2326研究认为,叶面积系数在不同年份间有轻微变化,但在同一年内基本保持稳定^[9]。

研究表明,各种植物的叶面积系数有很大区别,

表2 近年来得出的各种植物的叶面积系数

植物	叶面积系数	植物	叶面积系数
烟草 NC89	0.6497 ^[13]	魔芋 (小裂片)	0.6344 ^[10]
砀山酥梨	0.7423 ^[11]	鸭梨	0.6788 ^[11]
苹果	0.708 ^[12]	龙须草	0.67 ^[13]
玉米	0.75 ^[14]	薏苡	0.727 ^[14]
小麦	0.833 ^[14]	高粱	0.75 ^[14]
头季稻	0.75 ^[14]	再生稻	0.72 ^[14]

如表2,其中小麦的叶面积系数最大;同样,同一作物不同品种的叶面积系数的变化差异也很明显,如表3,西瓜的四个品种间系数差异达到0.1。针对这种差异朱德峰等提出了用叶片平均宽度和最大宽度的比值来不同品种间系数的差异^[1],再邦定提出用叶片长宽比值与叶面积系数之间的线性关系来校正叶面积系数,这两种方法的结果与实际叶面积显著相关。

此外,不同叶位的系数也不同,孙继超等研究表

明灿优63蓄留再生稻的剑叶、倒二叶、基部叶的系数依次为0.694,0.753,0.712^[10]。

1.8 回归方程法 根据叶片的简单测量值建立数学模型来预测叶面积,成为回归方程法。模型通常由叶片长度、最大宽度以及长宽之积、之和与实际叶面积来建立,然后根据模型制成叶面积查算表,进行快速测量。

回归方程法主要有一元线性回归法、多元线性回归法和多元非线性回归法,其中非线性回归法精度最

表 3 西瓜不同品种间叶面积系数的差异^[15]

西瓜品种	新红宝	京心王	巨宝	金钟冠龙
系数	0.54	0.47	0.46	0.47

高,其次为多元线性回归法,最后是一元线性回归法,但是这三种回归方法结果都与实际叶面积显著相关。

近年来研究表明,多数植物叶面积与叶长、叶宽和长宽之积都显著相关,与长宽之积相关系数最高,其次为叶宽,最后为叶长^[17-20];侯立群等对板栗分析后得到长宽之和的相关性较长和宽更好^[21];何文林等提出酿酒葡萄叶面积与叶宽相关性最好^[22]。

多元回归法常采用叶长、叶宽和两者之积做因子,结果比简单线性回归更为准确。史燕山等对柿树叶面积进行多元线性回归分析后,得到复相关系数为 0.9783。

非线性回归多为叶长和叶宽的二元指数关系,安树康用叶长和叶宽对皮胎果梨叶叶面积进行二元指数回归分析后得到 $A=aL^{0.8266}W^{1.1569}$,复相关系数为 0.9922,显著性分析后与实际值无差异^[23];A.O.AJAYI 指出卵形叶片的叶面积对数与叶片其长宽乘积对数有显著的线性关系;

1.9 图像处理法 图像处理法是建立在计算机图像处理基础之上的,具有严密的科学性,其原理为:计算机中的平面图像是由若干个网状排列的像素组成的,通过分辨率计算出每个像素的面积,然后统计叶片图像所占的像素个数,再乘以单个像素的面积就可以得到叶面积^[24]。

图像通常用扫描仪和数码相机获取,然后通过计算机对进行处理,获得叶面积^[25-26]。获取图像过程中,不仅要垂直取图或有一定面积的对照物,还要有合理的算法,这样才能减小误差。曹志刚等人针对不同叶形设计了不同的对照板来提高取样精度^[26]。

2 叶面积测量方法的比较

2.1 精度比较 选择叶面积测量的方法,其目的在于避免或减少人为的误差,得到精确可靠测量结果。研究表明,叶面积仪、求积仪、方格纸法测量精度最高,可作为叶面积测量中的对照,其次为图像处理法、回归法,然后是系数法、称重法、图形分解法和抛物线法。

叶面积仪和求积仪要求严格按照使用指导,避免叶片卷曲;对于移动式叶面积仪,还要保证叶片移动速度,降低人为误差;方格纸法工作量大,效率低,易出错;回归法和系数法不能在品种及种类之间通用;图像处理法在计算机图像处理时需要合理的算法和精确的对照;称重法受叶形、叶位、含水量影响大,应谨慎选用;图形分解法和抛物线法适用于形状规则的

叶片和边缘光滑的叶片,对不规则叶片,结果误差大,因此适用于精度要求不高的情况。

2.2 叶子的破坏情况比较 选择测量方法除了减小误差,提高精度外,还要求测量时间短,工作效率高,对植物无破坏作用。求积仪、称重法、方格纸法、图像处理法都要求离体测量,不仅破坏叶片,而且过程复杂;系数法、回归方程法、图像分解法和抛物线法可以活体测量,且测量速度快,适于大量同一品种植物的叶面积测量;尽管叶面积仪有活体测量和离体测量两种不同的种类,而且测量速度快,精度高,但仪器本身稳定性差,误差因人而异。

3 中国叶面积测量方法的发展方向

方格法、称重法、图形分解法、抛物线法、系数法、回归法等过程繁琐,计算复杂,耗时耗力,容易出错,误差也比其他几种方法大。目前国外普遍使用图像处理法和叶面积仪测量叶面积,速度快,精度高,省时省力。

国外已经有完整的图像处理系统,如加拿大 Regent 公司的 WinFOLLA 和英国的 Delta-T 公司的 WinDIAS 叶片图像处理系统等都应用很广,能够快速、精确地同时测量叶面积、周长、最大宽度以及分析病虫害程度等。中国的图象处理法近几年才开始探索,张恒敢,鲍雅静等利用扫描仪、曹志刚等利用数码相机得到数字图像,然后用 Photoshop, CAD 等图像处理软件处理图象,从而计算叶面积^[24-27]。但至今,图像处理方面还没有一个稳定的、精度高的算法。未来的研究重点是:选择方便、快速、准确的图象获取方法和图象处理算法,设计一体化的叶面积处理软件,以其简化测量过程,提高测量精度,推广图像处理方法的使用范围。

国外于 20 世纪 70 年代初 LI-COR 公司首先研制出光电叶面积仪,随后英国、荷兰等国相继研制出精度很高的叶面积仪,国内科研使用的多为美、英等国的叶面积仪和日本的 KN-90 型面积仪。中国的叶面积仪研制工作始于 80 年代初,至今只有哈尔滨光学仪器厂研制出了 WDA-300A、WDA500-A 和 SHY-150 型面积仪,但是精度不够,还需要离体测量,破坏叶片。提高已有叶面积仪的分辨率和精度,或者研制出高精度的,能活体测量的便携式叶面积仪,是未来叶面积测量方面的又一重点。

进口的图象处理系统和(叶)面积仪价格昂贵,难于维修,重复使用率低,因此提高中国的叶面积测

后快速浸提(见表1),以95%乙醇浸提效果最好,80%丙酮浸提效果最差,丙酮中加入乙醇或甲醇后稳定性增加明显,但含乙醇的浸提液稳定性更好。快速浸提法效果不及研磨法的原因是快速浸提过程中未设暗处理,光、温双重作用致使叶绿素含量下降明显。研磨法在冷冻前后的测定值差异较大,主要原因是样品鲜重测定是在冷冻前后分别进行的,在冻融的过程中样品水分散失,从而导致同样重量的叶片叶绿素含量提高。

3 小结

6种玉米叶片叶绿素提取液的吸收光谱基本相似,故可以沿用 Arnon 法的计算公式进行叶绿素含量的测定。

室温下,混合液浸提法要优于研磨法。浸提法中混合液提取叶绿素,速度快于单独用丙酮或乙醇提取,即丙酮与乙醇(甲醇)存在协萃作用,该结论与洪法水等^[9]的结论相似。丙酮乙醇(水)配伍虽然提取速度不及含甲醇的提取液,但其叶绿素提取量多,叶绿素稳定性好,加之甲醇有毒,故室温下宜采用含乙醇的丙酮溶液提取叶绿素。

叶片冷冻后快速浸提确实能加速叶绿素提取速度,但叶绿素受光热影响的降解随之增加,故应加置遮光设施以减少叶绿素的光分解。另外,为了增加不同测定方法之间的可比性,样品在冷冻前应称量分装好。

参考文献

- 1 苏正淑,张宪政.几种测定植物叶绿素含量的方法比较[J].植物生理学通讯,1989,5:77~78
- 2 陈福明,陈顺伟.混合液法测定叶绿素含量的研究[J].林业科技通讯,1984,(2):4~8
- 3 张宪政.植物叶绿素含量测定—丙酮乙醇混合液法[J].辽宁农业科学,1986,(3):26~28
- 4 洪法水,魏正贵,赵贵文.菠菜叶绿素的浸提和协同萃取反应[J].应用化学,2001,18(7):532~535
- 5 彭运生,刘恩.关于叶绿素方法的比较研究[J].北京农业大学学报,1992,18(3):247~249
- 6 刘绚霞,董振生,刘创社,等.油菜叶绿素提取方法研究[J].中国农学通报,2004,20(4):62~63
- 7 吴志旭,张雅燕.叶绿素 a 测定方法的改进及最优提取时间探讨[J].甘肃环境研究与检测,2003,16(2):150~152
- 8 潘照明.苹果叶面积测量新方法.北方园艺,1991,76(8):35~37
- 9 曾晓珊,邹冬生,孙焕良,等.龙须草叶面积测定方法的初步研究.作物研究,2004,(1):31~32,35
- 10 范巧佳,吴卫,袁继超.蕹苣叶片的生长与叶面积的研究.四川农业大学学报,1997,15(2):211~217,262
- 11 宋吉清,崔爱娜,孙玉君,等.西瓜叶面积测量方法的研究.中国果菜,2002,(6):17
- 12 袁继超,孙晓辉,马均.灿优 63 蓄留再生稻的叶片生长与叶面积.西南农业学报,1996,9(4):6~13
- 13 史燕山,骆建霞.柿树叶面积测定方法的研究.果树科学,1996,13(4):253~254
- 14 盖新敏,刘金顺.女贞叶面积快速测定.信息,1991,(8):35~37
- 15 秦仲麒.用回归方程法测定猕猴桃叶面积.北方果树,1998,(1):8~9
- 16 高志红,章镇,姜晓明.用回归方程法测定不同果梅品种叶面积.江苏农业科技,1999,(3):65~67
- 17 侯立群,杜振宇,李秀芬,等.板栗叶面积测算方法的探讨.河北林果研究,2002,17(1):48~51
- 18 何文林,冯玉民,孙杨军,等.酿酒葡萄叶面积的测定方法研究.河北职业技术学院学报,2001,15(2):40~43
- 19 安树康.皮胎果梨叶片营养成分及叶面积测定方法的研究.甘肃农业科技,1995,(2):19~20
- 20 张恒敢,杨四军,等.应用数字图像处理测定作物叶面积的简便方法.江苏农业科学,2002,(1):20~21,25
- 21 鲍雅静,李政海,张颖,等.羊草叶面积测量方法的比较.内蒙古大学学报,2002,33(1):62~64
- 22 曹志刚,冯仲科,龙春玲,等.基于数字摄影与计算机图形技术的植物叶面积测量方法.河北科技师范学院学报,2004,18(1):39~41
- 23 程鸿,吕军芬.CAD 图形处理技术在植物叶面积测量中的应用.甘肃农业大学学报,2003,38(4):467~470
- 1 朱德峰,亢亚军.水稻叶面积测定方法探讨.上海农业学报,1996,12(3):82~85
- 2 袁哲明,傅凌才.用扫描仪测定害虫食叶面积.湖南农业大学学报,1997,23(5):472~473
- 3 刘贯山.烟草叶面积不同测定方法的比较研究.安徽农业科学,1996,24(2):139~141
- 4 王俊河,李艳彩.叶形影响求积仪测算叶面积精度的分析研究.山西林业科技,1993,(3):43~44
- 5 龚建华,向军.黄瓜群体叶面积无破坏性速测方法研究.中国蔬菜,2001,(4):7~9
- 6 王永坤,吕芳芝.植物叶面积测定的研究.农业与技术,1997,98(3):15~17
- 7 苑克俊,孙瑞红.果树叶面积的一种新测算方法.中国果树,1994,(3):41~42
- 8 akehurst B C, Tobacco (Second edition).New York:Longman press,1981. 51~58
- 9 Bryan W, Ben Mullinix. Comparing six models of various complexity for calculating leaf area from measurement of leaf width and length. Toec Sci, 1992,36:40~42
- 10 李雁鸣,胡冰华,张建平,等.魔芋叶面积测定方法的初步研究.河北农业大学学报,2000,23(4):23~25
- 11 李道德,黄海帆.梨树叶面积计算方法探讨.河南农业科学,1995,(7):29~31

(上接第 152 页)

量精度和效率将大大降低科研经费在这方面的投入,提高研究速度和效率,促进科学技术,尤其是农学类科学技术的发展,有利于早日解决中国的“三农”问题。

参考文献