DOI：10.19789/j.1004-9398.2022.01.009
文献引用：林权虹，陈胧，郑禹轩，等．植物比叶面积量化：ImageJ软件法与打孔称重法的比较[J]．首都师范大学学报（自然科学版），2022，43（1）：48-55. LIN Q H，CHEN L，ZHENG Y X，et al. Plant specific leaf area：comparison of ImageJ software method and disc method[J]. Journal of Capital Normal University（Natural Science Edition），2022，43（1）：48-55.

植物比叶面积量化：ImageJ软件法与打孔称重法的比较*

林权虹[1]，陈　胧[1]，郑禹轩[1]，马素辉[2]，田　地[3**]

（1. 首都师范大学生命科学学院，北京　100048；2. 北京大学城市与环境学院，北京大学生态研究中心，北京　100871；3. 北京林业大学林学院，北京　100083）

摘要：比叶面积（SLA）是重要的植物功能性状之一．为评估植物SLA常用测量方法的差异性、精确性与适用性，本文以ImageJ软件法和打孔称重法为例，分别计算39个物种1 468片叶片的SLA值，综合考虑不同方法对不同叶形和物种植物SLA测定结果的影响，并分析引起SLA差异的潜在原因．总体而言，2种方法对不同叶形植物SLA测定的影响不显著，但在不同物种SLA测定中产生显著差异，具体地：大多数物种采用ImageJ软件法得出的SLA显著低于打孔称重法（t=−26.242～4.314，P<0.05），野外常用的打孔称重法可能存在高估SLA的风险；通过2种方法测得SLA的变异系数（C_V）来衡量其精确度，结果表明22个物种采用ImageJ软件法测量的精确度更高（ΔC_V<0），8个物种采用打孔称重法测得SLA的精确度更高（ΔC_V>0）．因此，建议在野外调查中优先选用ImageJ软件法计算SLA，或考虑根据物种进行方法选择．

关键词：比叶面积；ImageJ软件法；打孔称重法；差异性；精确性
中图分类号：Q94-366

Plant specific leaf area：comparison of ImageJ software method and disc method*

LIN Quanhong[1]，CHEN Long[1]，ZHENG Yuxuan[1]，MA Suhui[2]，TIAN Di[3**]

（1. College of Life Sciences，Capital Normal University，Beijing　100048；2. Institute of Ecology，College of Urban and Environmental Sciences，Peking University，Beijing　100871；3. College of Forestry，Beijing Forestry University，Beijing　100083）

Abstract：Specific leaf area（SLA）is one of the most important plant functional traits. To evaluate the variability，precision and applicability of common measurement methods for SLA，the SLA value SLA of 1 468 leaves of 39 species were detected by ImageJ software method and disc method，respectively. The effects of species and leaf shape on the SLA derived from different measurement methods were considered comprehensively to analyze the potential causes of SLA differences. In general，the two methods had no significant effect on the SLA of different leaf-shaped plants，but showed significant differences in SLA of different species. Specifically，ImageJ software method yielded significantly

收稿日期：2021-01-31
* 国家自然科学基金项目（31800397）
** 通信作者：tiandi@bjfu. edu. cn

lower SLA than disc method for most species (t=−26.242 to 4.314, P<0.05). The disc method may have the risk of overestimating SLA. Then, the precision of two measurement methods was measured by the coefficient of variation (C_V). The results showed that the SLA obtained by ImageJ software method was more precise for 22 species than SLA measured by the disc method (ΔC_V<0), the other 8 species showed the opposite pattern (ΔC_V>0). Therefore, this study suggests to choose the ImageJ software method for the SLA detection during field investigations, or to choose the suitable detection method with consideration of plant species.

Keywords: specific leaf area; ImageJ software method; disc method; variability; precision

CLC: Q94-366

0 引 言

叶片是植物进行光合作用、呼吸作用和蒸腾作用的重要器官,也是与环境接触面积最大的器官之一[1].叶片功能性状可以反映植物的生理生态过程以及植物对环境变化的适应[2].作为重要的叶片功能性状之一,比叶面积(specific leaf area,SLA)是指叶片面积和叶片干质量的比值.在个体水平上,SLA与叶片氮含量、叶片寿命、净光合速率和植株相对生长速率等密切相关[3-5],通常SLA较高的植物,其单位质量叶片氮含量高、叶片寿命短、净光合速率较高和植株生长速率较快[6-9].在群落水平上,SLA是群落演替的重要特征之一,如Lu等[10]和胡耀升等[11]的研究表明SLA随森林演替的进程而发生不同变化.在生态系统水平上,通过SLA、叶片干物质含量和根茎性状等的变化可以预测草地生态系统对环境变化的响应[12].此外,SLA还可以通过影响冠层密度来间接调节生态系统的温度[13].因此,在不同的研究尺度上,精确测定SLA是非常必要的.

不同方法测量SLA的差异主要源于叶面积测定数据的差异性.传统的叶面积测量方法主要有方格计数法、长宽校正法和打孔称重法等,其中,方格计数法费时且复杂,不适宜在野外进行测定[14-15];长宽校正法需根据植物类型、品种、叶形和生育期等调整校正系数,不具有通用性[16-17];打孔称重法基于相近叶位叶片的SLA相对恒定的原理,通过测量选定区域叶片的面积与干质量,从而计算得到SLA,能人为避开部分植物叶脉对SLA客观准确性的影响[18-19],在传统测量叶面积中的应用较为广泛.随着技术的发展,电子测定技术和图像处理法成为目前常用的SLA测量法.电子测定技术包括叶面积仪法和求积仪法等,前者操作简单、精确度高,但对叶片的形状有一定的限制,如卷曲叶片难以测定[20],而且仪器价格昂贵、维修困难,叶片扫描速度对测定结果的影响也较大[21],导致该方法难以推广;后者易受仪器自身状况、测算方法、叶形等因素的影响[22].图像处理法是建立在计算机图像处理基础上的新方法,可以快速测量大量叶片的叶面积[23].目前最常用的图像处理软件有Photoshop、Matlab和ImageJ等.Photoshop软件可以任意选择区域,为病虫害叶片或形状不规则叶片叶面积的分析提供了可能[24],但是在测量如胡麻(*Linum usitatissimum* L.)等小叶、多叶片植物时,其工作量大、人为误差较大[25];Matlab软件具有完善的图像处理技术和高效的数据计算能力,可以批量处理图片,但是需要一定的编程水平[26];ImageJ软件通过简单的人为设置,能大批量处理样品,还可储存输出结果便于进一步分析[27],在应用上更为快捷.

不同叶面积测量方法在实验成本和操作便捷度上存在较大差异.那么,其测得的SLA数值是否存在显著差异?野外植物的物种多样性极高,哪一种方法能更加精确地测量不同植物的SLA?或者对于特定的植物而言,不同方法是否各自具有测量优势?这些问题关系到植物SLA测定的精确性,目前尚待解决.基于此,本文以ImageJ软件法和打孔称重法为例,分别测定不同物种不同叶形的SLA,比较2种方法测定结果的差异性和精确性,阐明其对不同物种和不同叶形植物SLA测定结果的影响,并分析引起SLA差异的潜在原因,以期为野外快速精确测定SLA提供方法选择上的建议,同时为其他相关研究数据分析以及模型模拟提供参考.

1 材料与方法

1.1 研究区概况

研究区位于浙江省舟山市(121°30′~123°25′E,29°32′~31°04′N)与北京市海淀区(116°03′~116°23′E,

39°53′~40°09′ N).浙江省舟山市属北亚热带季风气候,该地区植物物种丰富度高,植被受人类活动干扰少.北京市海淀区地处华北平原的北部边缘地带,属暖温带半湿润半干旱大陆性季风气候,四季分明.

1.2 叶片采集

于2019年7—8月前往浙江省舟山市的东海大峡谷(最高海拔478 m)和舟山长岗森林公园(最高海拔303 m)采集亚热带地区植物叶片;于2019年9月在北京市海淀区采集温带地区植物叶片.具体采样时,选取枝叶繁茂并能接受到全光照的植株为目标,在每棵植株向阳面的上、中、下位置分别采集若干片完整成熟的叶片[28],2个地区各物种的叶片均采集12片以上.叶片去除叶柄后,放于-4℃冰箱中低温保存.

1.3 种属鉴别与叶片信息收集

首先,根据叶形、雌雄蕊类型和果实类型等形态特征,对植物进行初步辨认;其次,针对较难确认的植物,提取植物叶片DNA,将其与美国国家生物信息中心(National Center for Biotechnology Information, NCBI)数据库(https://www.ncbi.nlm.nih.gov/)已有序列信息比对实现准确鉴定.将鉴定植物物种名录在中国植物志数据库(http://www.iplant.cn/frps)中进行检索,获取叶片形状信息.经鉴定,共获取39个物种的分类信息以及1 468片叶片的叶形概况(表1).各物种的叶片形状包括:三角卵形、宽卵形、卵状披针形、倒披针形和长圆形等,大致可归类为卵形、披针形和椭圆形这3种基本形状,各形状叶片的物种数分别为18、12和9种.

1.4 Image软件法测定叶面积

以8片叶片为1组进行编号(若叶片过大或过小,则视情况改变分组的叶片数量),展平后铺于扫描板上(佳能(中国)有限公司,型号为Canon Scan LIDE400),以300 DPI的分辨率依次对叶片进行灰度扫描,图片保存为jpeg格式.使用ImageJ软件分别计算扫描图片中的叶片总面积(S_1),单位为cm^2.

1.5 打孔称重法测定叶面积

使用打孔器(直径6 mm)对扫描后的叶片均匀打孔(避开主脉),统计打孔数量(n).常规情况下,每片叶片打孔10个,因三峡槭(*Acer wilsonii*)和臭椿(*Ailanthus altissima*)的叶面积较小,分别打孔5和6个,记录打孔所得的圆形叶片总面积(S_2),单位为cm^2.

1.6 叶片质量

将叶片按物种归类,分别封装于信封中,在65℃烘箱中烘干48 h至恒质量后,使用分析天平(精度1 mg)分别称量打孔后叶片和打孔所得圆形叶片的质量,记为m_1和m_2,单位为g.

1.7 数据处理

数据以$\bar{x}$(平均值)±S_E(标准误差)表示.对同一叶片采用ImageJ软件法和打孔称重法计算SLA的公式如下:

$$A_{SL1} = S_1/(m_1 + m_2),$$

$$A_{SL2} = S_2/m_2 = (\pi \times 0.3^2 \times n)/m_2,$$

式中:A_{SL1}为ImageJ软件法测得的SLA,A_{SL2}为打孔称重法测得的SLA,单位均为cm^2/g.

所有统计分析均采用R(R Core Team,2020)完成.首先,对2种方法获得的SLA数据进行正态分布和方差齐性检验;其次,分别进行四分位统计与配对样本t检验(对不满足正态分布或方差齐性的数据进行开方转换);再次,采用多元线性回归,分析叶形、物种和测量方法及其交互作用对SLA的影响;最后,为了剔除物种信息对SLA测定值的影响,对每个物种的所有SLA样本数据取平均值,再用每个样本的SLA值减去该平均值,由此得到该样本校正后的SLA,即去除物种信息影响后的残差,然后对该残差与测量方法进行一元线性回归分析[29].当$P<0.05$时,认为采用不同测量方法计算得到的SLA差异显著.

使用变异系数(coefficient of variance,C_V)分析数据的离散程度,基于此评估SLA测定方法的精确度,其计算公式为:

$$C_V = (S_D/\bar{x}) \times 100\%,$$

$$\Delta C_V = C_{V1} - C_{V2},$$

式中:$\bar{x}$为平均值,S_D为标准偏差,C_{V1}为ImageJ软件法的变异系数,C_{V2}为打孔称重法的变异系数,ΔC_V为2种变异系数的差值.当$\Delta C_V>0$时,认为采用打孔称重法测定SLA更适合;当$\Delta C_V<0$时,认为采用ImageJ软件法测定SLA更适合;当$\Delta C_V=0$时,在对精确度要求不高的情况下,2种方法均可采用[30].

2 结 果

2.1 测量差异性

多元线性回归结果表明,物种和测量方法存在显著的交互作用(F=201.890,$P<0.05$),在个体水平上,物种解释了72.6%的SLA变化.不同方法计算39个物种SLA的差异性与精确性的结果如表2所

表1　39个物种的物种分类信息及叶形概况

科(拉丁名)	属(拉丁名)	种(拉丁名)	编号	叶片形状	基本形状
大戟科(Euphorbiaceae)	野桐属(*Mallotus*)	野梧桐(*Mallotus japonicus*)	1	卵形、卵圆形、卵状三角形、肾形或横长圆形	卵形
豆科(Fabaceae)	紫藤属(*Wisteria*)	紫藤(*Wisteria sinensis*)	2	小叶为卵状椭圆或卵状披针形	卵形
杜英科(Elaeocarpaceae)	杜英属(*Elaeocarpus*)	杜英(*Elaeocarpus decipiens*)	3	披针形、倒披针形	披针形
		显脉杜英(*Elaeocarpus dubius*)	4	长圆形、披针形	披针形
杜仲科(Eucommia)	杜仲属(*Eucommia*)	杜仲(*Eucommia ulmoides*)	5	椭圆形、卵形或矩圆形	卵形
禾本科(Poaceae)	刚竹属(*Phyllostachys*)	紫竹(*Phyllostachys nigra*)	6	披针形	披针形
	箭竹属(*Fargesia*)	伏牛山箭竹(*Fargesia funiushanensis*)	7	披针形	披针形
	簕竹属(*Bambusa*)	佛肚竹(*Bambusa ventricosa*)	8	披针形	披针形
壳斗科(Fagaceae)	栎属(*Quercus*)	槲树(*Quercus dentata*)	9	倒卵形、长倒卵形	卵形
		麻栎(*Quercus acutissima*)	10	长椭圆状披针形	披针形
苦木科(Simaroubaceae)	臭椿属(*Ailanthus*)	臭椿(*Ailanthus altissima*)	11	小叶为卵状披针形	披针形
木樨科(Oleaceae)	连翘属(*Forsythia*)	金钟花(*Forsythia viridissima*)	12	长椭圆形、披针形或倒卵状长椭圆形	披针形
		连翘(*Forsythia suspensa*)	13	卵形、宽卵形或椭圆状卵形	卵形
葡萄科(Vitaceae)	地锦属(*Parthenocissus*)	地锦(*Parthenocissus tricuspidata*)	14	倒卵圆形	卵形
漆树科(Anacardiaceae)	盐麸木属(*Rhus*)	盐肤木(*Rhus chinensis*)	15	小叶为卵形、椭圆状卵形或长圆形	卵形
槭树科(Aceraceae)	槭属(*Acer*)	三峡槭(*Acer wilsonii*)	16	卵形	卵形
千屈菜科(Lythraceae)	紫薇属(*Lagerstroemia*)	紫薇(*Lagerstroemia indica*)	17	椭圆形、阔矩圆形或倒卵形	椭圆形
蔷薇科(Rosaceae)	梨属(*Pyrus*)	秋子梨(*Pyrus ussuriensis*)	18	卵形、宽卵形	卵形
	苹果属(*Malus*)	海棠花(*Malus spectabilis*)	19	椭圆形、长椭圆形	椭圆形
	石楠属(*Photinia*)	—	20	披针形	披针形
	桃属(*Amygdalus*)	甘肃桃(*Amygdalus kansuensis*)	21	卵状披针形、披针形	披针形
		山桃(*Amygdalus davidiana*)	22	卵状披针形	披针形
	杏属(*Armeniaca*)	杏(*Armeniaca vulgaris*)	23	宽卵形、圆卵形	卵形
	樱属(*Cerasus*)	东京樱花(*Cerasus ×yedoensis*)	24	椭圆卵形、倒卵形	卵形
		高盆樱桃(*Cerasus cerasoides*)	25	卵状披针形或长圆披针形	披针形
		毛樱桃(*Cerasus tomentosa*)	26	卵状椭圆形、倒卵状椭圆形	椭圆形
		欧洲甜樱桃(*Cerasus avium*)	27	倒卵状椭圆形或椭圆卵形	卵形
		钟花樱桃(*Cerasus campanulata*)	28	卵形、卵状椭圆形或倒卵状椭圆形	卵形
忍冬科(Caprifoliaceae)	忍冬属(*Lonicera*)	忍冬(*Lonicera japonica*)	29	卵形、矩圆状卵形	卵形
桑科(Moraceae)	榕属(*Ficus*)	矮小天仙果(*Ficus erecta*)	30	倒卵形至狭倒卵形	卵形
		无花果(*Ficus carica*)	31	宽卵圆形	卵形
	桑属(*Morus*)	桑(*Morus alba*)	32	卵形或宽卵形	卵形
山茶科(Theaceae)	木荷属(*Schima*)	木荷(*Schima superba*)	33	椭圆形	椭圆形
	山茶属(*Camellia*)	茶(*Camellia sinensis*)	34	长圆形、椭圆形	椭圆形
山茱萸科(Cornaceae)	山茱萸属(*Cornus*)	红瑞木(*Cornus alba*)	35	椭圆形	椭圆形
柿科(Ebenaceae)	柿属(*Diospyros*)	柿(*Diospyros kaki*)	36	卵状椭圆形、倒卵形或近圆形	椭圆形
卫矛科(Celastraceae)	卫矛属(*Euonymus*)	西南卫矛(*Euonymus hamiltonianus*)	37	卵状椭圆形、长圆状椭圆形或椭圆状披针形	椭圆形
蕈树科(Altingiaceae)	枫香树属(*Liquidambar*)	枫香树(*Liquidambar formosana*)	38	宽卵形	卵形
樟科(Lauraceae)	樟属(*Cinnamomum*)	樟(*Cinnamomum camphora*)	39	卵状椭圆形	椭圆形

注:—指无数据.

示,采用ImageJ软件法和打孔称重法测得的所有物种的SLA变化范围分别为(63.925±0.925)~(392.489±29.296)和(73.779±1.153)~(387.060±12.386) cm^2/g. 配对样本t检验的结果表明,与打孔称重法相比,有30个物种采用ImageJ软件法测量得出的SLA显著偏低(t=−26.242~4.314,P<0.05).

绘制不同叶形SLA的四分位数对比图(图1),可知,除7号伏牛山箭竹(*Fargesia funiushanensis*)和32号桑(*Morus alba*)以外,采用ImageJ软件法计算得出的SLA普遍要比打孔称重法低.此外,采用这2种方法测得的SLA的上下限差值、25%和75%中位数的分布范围也呈现出类似特点.

表2 不同方法计算39个物种比叶面积(SLA)的差异性与精确性

编号	ImageJ软件法		打孔称重法		ΔC_V/%	t值	P值
	A_{SL1}/(cm²·g⁻¹)	C_{V1}/%	A_{SL2}/(cm²·g⁻¹)	C_{V2}/%			
1	151.338±7.608	28.877	154.074±6.616	24.669	4.208	−1.158	0.26
2	392.489±29.296	44.785	352.080±17.740	30.232	14.553	1.847	0.07
3	240.221±2.725	5.321	272.467±3.609	6.213	−0.892	−8.367	0
4	194.537±2.394	7.383	220.701±3.167	8.610	−1.227	−12.092	0
5	229.745±5.903	8.901	243.594±6.111	8.691	0.210	−4.689	0.01
6	263.403±3.108	10.012	305.251±5.077	14.113	−4.101	−15.164	0
7	222.042±6.344	15.649	220.214±5.169	12.856	2.793	0.422	0.68
8	305.953±13.327	23.859	347.857±19.724	31.056	−7.197	−4.674	0
9	154.046±2.300	18.162	171.329±2.571	18.253	−0.091	−22.067	0
10	187.041±4.664	19.152	203.608±4.539	17.122	2.030	−9.550	0
11	243.740±9.083	23.569	273.104±11.660	27.002	−3.433	−6.437	0
12	120.346±5.101	15.283	121.711±4.532	13.425	1.858	−0.807	0.44
13	248.385±11.214	15.640	258.647±6.626	8.874	6.766	−1.001	0.34
14	241.979±4.003	5.730	246.465±3.661	5.145	0.585	−3.982	0.01
15	161.159±3.915	10.589	183.497±5.963	14.166	−3.577	−7.401	0
16	337.090±17.495	23.783	335.352±19.240	26.292	−2.509	0.175	0.86
17	130.433±2.926	12.081	127.119±2.679	11.350	0.731	4.314	0
18	190.153±2.687	5.287	203.459±5.860	10.776	−5.489	−2.275	0.04
19	124.261±4.387	18.682	133.480±5.718	22.667	−3.985	−2.930	0.01
20	63.925±0.925	9.598	73.779±1.153	10.364	−0.766	−26.242	0
21	205.375±8.587	15.075	248.975±12.693	18.382	−3.307	−10.653	0
22	289.189±12.526	16.207	308.852±15.740	19.069	−2.862	−4.368	0.01
23	305.504±8.367	12.551	387.060±12.386	14.664	−2.113	−14.999	0
24	201.090±1.744	5.553	215.905±1.890	5.606	−0.053	−12.220	0
25	216.968±3.509	11.664	220.488±4.281	14.002	−2.338	−1.336	0.19
26	250.705±5.305	14.351	257.137±5.903	15.570	−1.219	−3.618	0.01
27	242.261±5.106	16.597	263.632±5.312	15.867	0.730	−10.039	0
28	180.185±4.741	16.433	195.267±5.537	17.709	−1.276	−5.911	0
29	239.367±3.959	9.786	277.357±5.261	11.223	−1.437	−15.199	0
30	252.566±10.363	24.617	285.839±11.429	23.990	0.627	−13.754	0
31	259.742±3.380	9.293	295.413±4.376	10.578	−1.285	−12.650	0
32	169.607±9.116	18.620	155.898±8.086	17.967	0.653	1.433	0.18
33	138.502±3.133	13.944	163.643±3.966	14.941	−0.997	−16.319	0
34	137.569±4.094	12.626	162.684±5.168	13.478	−0.852	−17.116	0
35	197.505±7.212	12.650	210.523±5.320	8.754	3.896	−2.677	0.02
36	174.122±14.986	29.814	196.534±17.124	30.183	−0.369	−6.616	0
37	203.613±10.733	34.565	228.377±13.657	39.214	−4.649	−7.865	0
38	183.019±8.226	30.151	187.603±6.040	21.598	8.553	−0.955	0.34
39	124.081±1.810	18.904	141.548±2.034	18.624	0.280	−15.057	0

注:A_{SL1}和A_{SL2}分别为ImageJ软件法和打孔称重法测得的SLA;C_{V1}和C_{V2}分别为ImageJ软件法和打孔称重法的变异系数,ΔC_V为ImageJ软件法的变异系数与打孔称重法的变异系数的差值.

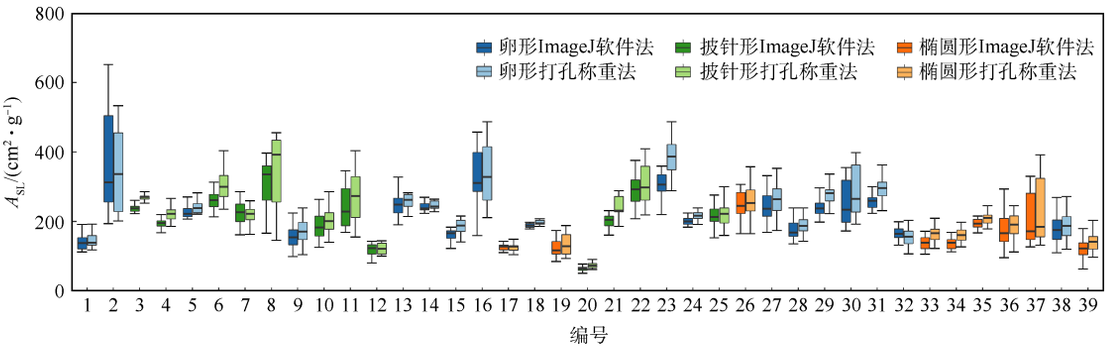


图1　不同方法计算SLA的四分位数对比

2.2　测量精确性

进一步对比SLA差异显著的30个物种的ΔC_V,其中有22个物种的$\Delta C_V<0$,说明这22个物种采用ImageJ软件法测得的SLA的离散程度更小,测得的SLA精确度更高;其余8个物种计算得到的$\Delta C_V>0$,即这8个物种采用打孔称重法得到的SLA更精确.

2.3　不同叶形与物种的影响

对39个物种分叶形进行比较,经配对样本t检验得到的SLA差异不显著的9个物种中,有6种具卵形叶片,3种具披针形叶片;在SLA差异显著的30个物种中,其叶形为卵形、披针形和椭圆形的物种数分别为12、9和9种.22个物种采用ImageJ软件法测量更精确,其叶形包括披针形(8种)、卵形(8种)和椭圆形(6种);8个物种采用打孔称重法测量更精确,其叶形包括披针形(1种)、卵形(4种)和椭圆形(3种).对不同叶形和物种的SLA进行多元线性回归分析,结果表明2种方法对不同物种SLA的测定结果有显著差异(F=2.276,P<0.05),但对不同叶形植物的SLA测定无显著影响(P=0.54).剔除物种的影响后,仅考虑测量方法对SLA影响的分析表明,大多数物种采用ImageJ软件法测得的SLA仍然比打孔称重法低(F=36.895,P<0.05).

3　讨　论

3.1　测量方法引起差异的潜在原因

前人针对采用不同方法测定叶面积展开了大量研究.如:柯娴氡等[31]利用方格纸法、纸样称重法、叶面积仪法和扫描法测定木荷(*Schima superba*)和白兰(*Michelia alba*)的叶面积,结果表明采用不同方法测得的叶面积均无显著差异;高建昌等[27]采用ImageJ软件法与传统剪纸法在测定番茄(*Lycopersicon esculentum*)叶面积时,测量结果差异不显著,且采用ImageJ软件法测定叶面积数值的稳定性更高;李治中等[32]和刘小锐等[33]也得出上述类似结论.这些研究表明采用多种方法测定单一物种或较少物种的叶面积无显著差异,但与此不同的是,本研究证实39个物种采用ImageJ软件法计算得出的SLA较打孔称重法普遍偏低,这与王家保等[34]采用不同方法测得小叶型果树的叶面积存在显著差异的结论具有一致性.

2种常用的SLA测定方法对不同物种测量结果存在显著差异,而叶形则无显著影响.剔除物种信息对SLA的影响后,即仅考虑测量方法的SLA的一元线性回归分析,表明不同测量方法对校正后的SLA仍有显著影响,这说明ImageJ软件法测得的SLA确实要低于打孔称重法.分析此结果产生的原因,可能包括:(1)打孔误差.打孔称重法易受叶片含水量、叶龄、叶形、叶脉、叶片质地、叶片厚度以及叶片大小等因素的影响[20,35].如以叶片质地为例,杜仲(*Eucommia ulmoides*)的杜仲胶容易造成打孔边缘不齐,导致打孔称重法获得的叶片实际面积与理论面积存在偏差.从叶形和叶脉的影响来看,植物叶形一般分为卵形、倒卵形、椭圆形和披针形等[36],叶脉分为叉状脉、网状脉和平行脉等[37],而叶形和叶脉往往会影响打孔的位置[38],导致SLA测量不精确.如部分植物的叶脉密度大于叶肉密度,且越靠近叶脉的位置叶片越厚,密度也越大,导致打孔所得的小圆片密度小于平均叶密度[14].(2)质量误差.打孔的叶片烘干后,存在叶屑掉落的现象,导致打孔称重法出现更大的测量误差.(3)方法局限性.以叶片局部的数据来反映整体的性质,这导致打孔称重法具有一定局限性.

3.2　测量方法的选择

基于植物功能性状预测未来气候变化,对生态系统的影响是动态全球植被模型中的重要内容[39],但是利用传统方法测量SLA费时费力.随着扫描仪的广泛使用,基于图像处理的叶面积测量越来越受

到关注[40-42].图像处理法中的ImageJ软件功能丰富,可广泛应用于农林业的研究中[43-45].本研究表明,对特定的植物而言,ImageJ软件法和打孔称重法具有各自的测量优势,有22个物种采用ImageJ软件法计算的精确度更高,有8个物种采用打孔称重法计算的精确度更高.ImageJ软件法不但可以避免破坏植物组织,而且也可以用于计算有缺损叶片或形状不规则叶片的叶面积[46],消除了打孔误差和质量误差.在传统测量法的基础上,ImageJ软件法极大地扩大了应用范围、缩短了测量时间和提高了测量精度.因此,在样本量大或重复数多的情况下,可优先选用ImageJ软件法计算SLA.

SLA主要由物种信息控制,并排除叶形对测量方法选择的影响.本研究采用卵形、披针形和椭圆形这3种形状划分叶形,但由于同一物种的叶形存在表型可塑性,如甘肃桃(*Amygdalus kansuensis*)的叶片不仅存在披针形,也存在卵状披针形这类过渡形态[47],在野外采样中,较难准确判断叶形归属以选择合适的SLA测量方法.因此,在实际应用中,仅靠叶形来选择叶面积测量方法过于粗放,应综合考虑物种信息及其相应的叶形.

4 结束语

本研究采用ImageJ软件法和打孔称重法测量了39个植物物种的SLA,从测量结果的差异性来看,有30个物种采用ImageJ软件法测量得出的SLA显著低于打孔称重法.从测量结果的精确性来看,在SLA差异显著的30个物种中,有22个物种采用ImageJ软件法计算的精确度更高,其余8个物种采用打孔称重法得到的更精确.综合叶形与物种来看,2种测量方法对不同物种SLA的测量结果产生显著影响,但对不同叶形SLA测定结果的影响不显著,可见主要由物种信息控制并排除以叶形作为SLA测定方法的判断依据.因此,在样本量大或重复数多的情况下,可优先选用ImageJ软件法计算SLA,对未来野外采样具有一定的指导意义.本研究着重探讨叶形对SLA测量的影响,尚未针对叶脉、叶片质地等性状展开分析不同测量方法的差异性和精确性;同时实验物种的数量仍较少,以叶形为指标进行划分得到的部分叶形的物种数量<10个,重复度较低.因此,在下一步的研究中可加大物种的数量,并在植物其他叶片性状与不同测量方法的适用性上进行探究.

致谢:感谢首都师范大学生命科学学院张爱兵教授课题组、本科生赵佳月、温婕、程可欣和王天汉等在实验开展过程中提供的帮助.

参 考 文 献

[1] JIN B, WANG L, JIANG K Z, et al. The effect of experimental warming on leaf functional traits, leaf structure and leaf biochemistry in Arabidopsis thaliana[J]. BMC Plant Biology, 2011, 11: 35.

[2] VENDRAMINI F, DÍAZ S, GURVICH D E, et al. Leaf traits as indicators of resource-use strategy in floras with succulent species[J]. New Phytologist, 2002, 154(1): 147-157.

[3] GONZÁLEZ-PALEO L, PASTOR-PASTOR A, RAJNOCH G, et al. Mechanisms of nitrogen conservation at the leaf-level in annual and perennial desert forbs: implications for perennial crops domestication[J]. Flora, 2019, 252: 62-68.

[4] 张林,罗天祥.植物叶寿命及其相关叶性状的生态学研究进展[J].植物生态学报,2004,28(6):844-852.

[5] ANTÚNEZ I, RETAMOSA E C, VILLAR R. Relative growth rate in phylogenetically related deciduous and evergreen woody species[J]. Oecologia, 2001, 128(2): 172-180.

[6] REICH P B, UHL C, WALTERS M B, et al. Leaf lifespan as a determinant of leaf structure and function among 23 Amazonian tree species[J]. Oecologia, 1991, 86(1): 16-24.

[7] REICH P B, WALTERS M B, ELLSWORTH D S. Leaf lifespan in relation to leaf, plant, and stand characteristics among diverse ecosystems[J]. Ecological Monographs, 1992, 62(3): 365-392.

[8] CORNELISSEN J H C, DIEZ P C, HUNT R. Seedling growth, allocation and leaf attributes in a wide range of woody plant species and types[J]. Journal of Ecology, 1996, 84(5): 755-765.

[9] WRIGHT I J, WESTOBY M. Cross-species relationships between seeding relative growth rate, nitrogen productivity and root vs leaf function in 28 Australian woody species[J]. Functional Ecology, 2000, 14(1): 97-107.

[10] LU X H, ZANG R G, HUANG J H. Relationships between community level functional traits of trees and seedlings during secondary succession in a tropical lowland rainforest[J]. PLoS One, 2015, 10(7): e0132849.

[11] 胡耀升,么旭阳,刘艳红.长白山森林不同演替阶段比叶面积及其影响因子[J].生态学报,2015,35(5):

1480-1487.
[12] KLUMPP K, SOUSSANA J-A. Using functional traits to predict grassland ecosystem change: a mathematical test of the response-and-effect trait approach [J]. Global Change Biology, 2009, 15(12): 2921-2934.
[13] LUNDHOLM J, TRAN S, GEBERT L. Plant functional traits predict green roof ecosystem services [J]. Environmental Science & Technology, 2015, 49(4): 2366-2374.
[14] 潘铜华,王云龙,杨俊伟,等.蔬菜幼苗叶面积快速测定方法筛选与优化[J].中国蔬菜,2018(8):64-69.
[15] 李乐,钟迪,贾宝军,等.蒙古栎叶面积的数字图像法测定[J].西北林学院学报,2016,31(6):96-103.
[16] 朱德峰,亢亚军.水稻叶面积测定方法探讨[J].上海农业学报,1996,12(3):82-85.
[17] 郑凤君,华南金秋,张立猛,等.长宽法测定幼苗期烟草叶面积的校正系数[J].中国烟草科学,2015,36(6):13-16.
[18] 曹栎,赵小光,王竹云,等.甘蓝型油菜叶面积测定方法的研究[J].江西农业学报,2018,30(8):33-36+41.
[19] 陶洪斌,林杉.打孔称重法与复印称重法和长宽校正法测定水稻叶面积的方法比较[J].植物生理学通讯,2006,42(3):496-498.
[20] 冯冬霞,施生锦.叶面积测定方法的研究效果初报[J].中国农学通报,2005,21(6):150-152+155.
[21] 于守超,张秀省,冀芦莎.基于Photoshop CS5的植物叶面积测定方法[J].湖北农业科学,2012,51(15):3340-3342.
[22] 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[J].山西林业科技,1993(3):43-44.
[23] 杨劲峰,陈清,韩晓日,等.数字图像处理技术在蔬菜叶面积测量中的应用[J].农业工程学报,2002,18(4):155-158.
[24] 肖强,叶文景,朱珠,等.利用数码相机和Photoshop软件非破坏性测定叶面积的简便方法[J].生态学杂志,2005,24(6):711-714.
[25] 牛保君,方子森,牛俊义,等."米格印相法"与PS法和系数法测定胡麻叶面积方法的比较研究[J].甘肃科技纵横,2019,48(7):14-18.
[26] 张万红,姬洪飞,刘勇刚.基于Matlab解析数字图像求解苹果叶面积的方法[J].北方园艺,2017(3):15-18.
[27] 高建昌,郭广君,国艳梅,等.平台扫描仪结合ImageJ软件测定番茄叶面积[J].中国蔬菜,2011(2):73-77.
[28] 许格希,史作民,唐敬超,等.海南尖峰岭热带山地雨林林冠层树种功能多样性特征[J].应用生态学报,2016,27(11):3444-3454.
[29] HE J S, WANG X P, FLYNN D F B, et al. Taxonomic, phylogenetic, and environmental trade-offs between leaf productivity and persistence[J]. Ecology, 2009, 90(10): 2779-2791.
[30] 李传华,赵军,师银芳,等.基于变异系数的植被NPP人为影响定量研究:以石羊河流域为例[J].生态学报,2016,36(13):4034-4044.
[31] 柯娴氡,古丽红,周艳玲.阔叶树叶面积测量方法的比较和评价[J].广东林业科技,2006,22(4):96-99.
[32] 李治中,谢菲,刘小梅,等.2种常用叶面积测量方法准确性的比较研究[J].中国农学通报,2013,29(19):193-197.
[33] 刘小锐,黄成东,祝红伟.叶用莴苣叶面积测定方法的研究[J].中国蔬菜,2020(12):78-81.
[34] 王家保,林秋金,叶水德,等.5种测量热带果树单叶面积的方法研究[J].热带农业科学,2003,23(1):11-14+23.
[35] 吴千华,孟祥丽,刘一鸣.植物叶面积测定方法探讨[J].热带林业,2018,46(2):37-39.
[36] 郑小东,王晓洁,高洁.面向植物分类的被子植物叶形特征自动提取[J].中国农学通报,2011,27(15):149-153.
[37] 李乐,曾辉,郭大立.叶脉网络功能性状及其生态学意义[J].植物生态学报,2013,37(7):691-698.
[38] 胡晓静,宋于洋,王伟.杨树无性系叶面积测定模型的建立[J].湖北农业科学,2015,54(22):5736-5739.
[39] 孟婷婷,倪健,王国宏.植物功能性状与环境和生态系统功能[J].植物生态学报,2007,31(1):150-165.
[40] 李震,洪添胜,吴伟斌,等.植物多叶片图像目标识别和叶面积测量方法[J].华南农业大学学报,2007,28(3):105-109.
[41] 韩殿元,黄心渊,付慧.基于彩色通道相似性图像分割方法的植物叶面积计算[J].农业工程学报,2012,28(6):179-183.
[42] 李任辉,赵仲辉,李家湘.基于Photoshop软件测量植物叶面积的白纸背景法[J].湖南林业科技,2016,43(1):138-142+148.
[43] 付艳茹,须健.基于Image J软件的水稻根毛长度测量[J].湖北农业科学,2015,54(7):1722-1725.
[44] 钟永达,李彦强,刘立盘,等.基于扫描仪和ImageJ软件的香樟种子测量与种源分析[J].西南林业大学学报(自然科学),2017,37(6):48-53.
[45] 毕利东,张斌,潘继花.运用Image J软件分析土壤结构特征[J].土壤,2009,41(4):654-658.
[46] 崔世钢,秦建华.图像处理法测定油菜叶面积的研究[J].湖北农业科学,2017,56(14):2756-2757+2767.
[47] 中国科学院中国植物志编辑委员会.中国植物志[M].北京:科学出版社,1986:23+38.

(责任编辑:王 媛)