

DOI: 10.11829/j.issn.1001-0629.2013-0548

5种牧草叶片上不同部位的 SPAD 值比较

陈琴, 陈莉敏, 郑群英, 肖冰雪, 张昌兵,
张洪轩, 刘刚, 杨满业

(四川省草原科学研究院, 四川 成都 611731)

摘要: 利用 SPAD-502 叶绿素仪测定青引 1 号燕麦 (*Avena sativa* cv. Qinghai No. 1)、青海甜燕麦 (*A. sativa* cv. Qinghai)、黑麦 (*Secale cereal*)、特高多花黑麦草 (*Lolium multiflorum* cv. Tetragold)、长江 2 号多花黑麦草 (*L. multiflorum* cv. Changjiang No. 2) 5 个牧草品种叶片上的 SPAD 值, 发现青海甜燕麦和青引 1 号燕麦的 SPAD 值显著高于黑麦和两个多花黑麦草品种 ($P < 0.05$); 同一叶片上的 SPAD 值都表现出叶尖部 > 叶中部 > 叶基部的特点; 叶中部的 SPAD 值更接近平均值, 且数据稳定, 可以作为试验牧草 SPAD 值测定的适宜部位。

关键词: 牧草; 叶绿素仪; SPAD 值

中图分类号: S540.1; Q945.11 文献标识码: A 文章编号: 1001-0629(2014)07-1318-05*¹

SPAD value of different parts in 5 forage grass leaves

CHEN Qin, CHEN Li-min, ZHENG Qun-ying, XIAO Bing-xue,
ZHANG Chang-bing, ZHANG Hong-xuan, LIU Gang, YANG Man-ye
(Sichuan Academy of Grassland Sciences, Chengdu 611731, China)

Abstract: In the present study, SPAD values of different positions on the same leaf were measured using the equipment SPAD-502 (Soil Plant Analysis Development) for 5 herbage grasses, including *Avena sativa* cv. Qinghai No. 1, *A. sativa* cv. Qinghai, *Secale cereal*, *Lolium multiflorum* cv. Tetragold, and *L. multiflorum* cv. Changjiang No. 2. The results indicated that SPAD values of *A. sativa* cv. Qinghai No. 1 and *A. sativa* cv. Qinghai were significantly higher than that of *S. cereal*, *L. multiflorum* cv. Tetragold and *L. multiflorum* cv. Changjiang No. 2. Moreover, the SPAD value stabilization varied from position to position on the same leaf. SPAD value from the same leaf declined from the tip to the middle part and to the bottom of a leaf. The measured SPAD values at the middle part of a leaf were more stable than those from the tip and the bottom which could be used as the appropriate candidate part for SPAD measure.

Key words: forage grass; SPAD-502; SPAD value

Corresponding author: CHEN Li-min E-mail: chenlimin1986816@126.com

植物叶片中的叶绿素含量可作为植物本身生长健康状况的一个指标, 叶绿素含量的高低直接影响着作物光合作用的强弱和植物体内有机质的合成, 一般而言, 植物越健康, 叶绿素含量越高; 而氮素是叶绿素的主要组成物质, 在指导氮肥施用, 对植物

含氮量的评价往往和对叶绿素含量的评价相关联^[1]。测量叶绿素的传统方法是分光光度计法, 其能精确测量叶绿素的含量, 但是方法过程繁琐, 且对叶片组织造成破坏, 而利用 SPAD-502 (Soil Plant Analysis Development) 叶绿素仪, 能够快速无损地

。 收稿日期: 2013-09-25 接受日期: 2014-02-22

基金项目: 公益性行业(农业)科研专项课题——青藏高原红原、白玉社区饲草增产增效关键技术(201203007)

第一作者: 陈琴(1976-), 女, 四川成都人, 助理研究员, 硕士, 主要从事杂志编辑与牧草栽培研究。E-mail: 543262962@qq.com

通信作者: 陈莉敏(1986-), 女, 四川广汉人, 实习研究员, 硕士, 主要从事牧草科研工作。E-mail: chenlimin1986816@126.com

测定植物叶绿素的相对含量^[2]。这一测试方法在农作物生产、果树栽培等方面得到了广泛应用,有研究^[3-6]表明,SPAD值与叶片氮素浓度、叶绿素含量都显著相关。叶绿素含量的消长规律是反映叶片生理活动变化的重要指标之一,利用叶绿素仪可以对阔叶树种的光环境及叶片健康水平进行评价^[7-8]。SPAD值与牧草叶片叶绿素含量、蛋白含量的相关性较好地反映出牧草营养状况,李辉等^[9]对羊草(*Leymus chinensis*)叶片进行了SPAD值与叶绿素含量的相关研究,发现羊草叶片的叶绿素含量随着SPAD值的增加而增加。刘井良等^[10]、李杰勤等^[11]也发现黑麦草(*Lolium perenne*)的SPAD值与叶绿素含量、蛋白含量呈显著的正相关。

叶绿素在植物叶片中的分布会因物种、测定时期、测定位置的不同而不同。柯娴氛等^[12]利用叶绿素仪SPAD-502对南方4种木本植物的叶绿素相对含量测定发现,4种植物的叶绿素相对含量均存在显著差异,同种植物同一叶片上不同部位的叶绿素含量分布表现为叶尖部<叶中部<叶基部。李刚华等^[13]研究发现,水稻(*Oryza sativa*)SPAD值在不同叶位的叶片上与氮含量和叶绿素有着不同的相关性,而禾本科牧草叶片较长,相同牧草,叶片上不同部位的叶绿素含量可能由于光照、水分等因素而不相同。有关自然条件特殊的川西北地区不同品种牧草叶片上叶绿素含量的分布情况和差异,以及利用SPAD叶绿素仪测量牧草叶片哪个位置的SPAD值能代表该牧草的叶绿素相对含量水平,目前尚未有明确回答。

为此,本试验选用川西北牧区引进的一年生牧草青引1号燕麦(*Avena sativa* cv. Qinghai No. 1)、青海甜燕麦(*A. sativa* cv. Qinghai)、黑麦(*Secale cereal*)、特高多花黑麦草(*Lolium multiflorum* cv. Tetragold)、长江2号多花黑麦草(*L. multiflorum* cv. Changjiang No. 2)5个牧草品种为研究材料,利用SPAD-502叶绿素仪测量5个品种在苗期不同叶片位置的SPAD值,研究不同品种牧草间叶绿素水平的差异,探索相同品种的牧草叶片上不同测量位置与叶绿素含量的关系,确定5种牧草适宜的SPAD测量位置,以期对评价5种牧草在川西北地区的生长性能和营养状况提供参考。

1 材料和方法

本试验设在四川省阿坝州红原县(101°51′—

103°23′ E, 31°51′—33°19′ N),海拔3 500 m,地处青藏高原东南缘,属大陆性高原寒温带季风气候,空气稀薄,年均日照时间2 158.7 h,年均降水量749.1 mm^[14]。试验材料为一年生牧草青引1号燕麦、青海甜燕麦、黑麦、特高多花黑麦草和长江2号多花黑麦草5个牧草品种。每个牧草品种选择30片健康展开的叶片,并要求叶片长度为45 cm左右,将叶片SPAD值的测量部位选择在该叶片的3个部位,即叶基部(距离叶柄基部5 cm)、叶中部(距离叶柄基部20—25 cm)和叶尖部(距离叶柄基部35—40 cm)。由于叶脉对SPAD-502的读数有影响,因此,测量时避开叶脉集中的部位,以保证测量的准确性。

牧草相同叶片上不同位置的SPAD值不同,鱼欢等^[15]认为确定能够代表该叶片叶绿素水平的SPAD值,主要通过综合SPAD值的代表系数(Representation)和变异系数(CV)来表示。本研究采用同一叶片不同测量位置SPAD值的平均值为参考,各测试位置SPAD值与平均值差值的绝对值即为代表系数,代表系数越小表示所测SPAD值越能代表该叶片的SPAD值;不同测量位置SPAD值的稳定性通过变异系数来判断,变异系数为不同牧草品种的SPAD值的标准差(Std. Deviation)与平均值(Mean)的比值(SD/Mean),变异系数越小,说明该部位的SPAD值越稳定。

代表系数 = |测试位置的SPAD值 - 平均值| ;
变异系数(CV) = 标准差 / 平均值。

数据采用Microsoft Excel和SPSS 16.0进行统计分析,用平均值和标准误差表示测定结果,分别对不同品种牧草的SPAD值,同一品种牧草的叶基部、叶中部和叶尖部的SPAD值进行单因素方差分析,并用LSD法对各测定数据进行两两比较;Excel软件作图。

2 结果与分析

2.1 5个牧草品种的SPAD值的比较

对5个牧草品种SPAD值进行测定,比较发现(图1),青海甜燕麦的SPAD值最高,为38.052,长江2号多花黑麦草的SPAD值最低,为26.862。方差分析结果显示,青海甜燕麦与青引1号燕麦间无显著差异($P > 0.05$),但两者均显著高于特高多花黑麦草、长江2号多花黑麦草及黑麦($P < 0.05$)。青海甜燕麦的SPAD值比特高高18.4%,比长江2

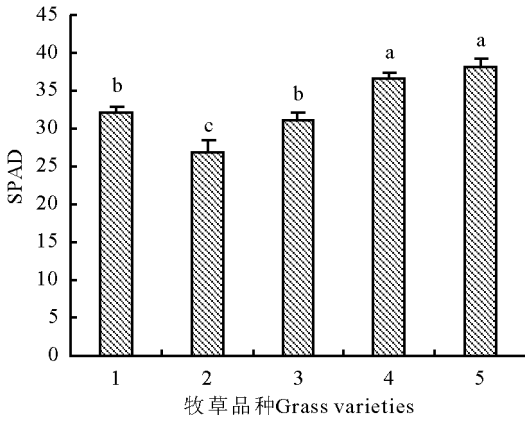


图 1 5 个牧草品种的 SPAD 值比较

Fig. 1 Comparison of SPAD value among 5 forage grass varieties

注:1 为特高多花黑麦草,2 为长江 2 号多花黑麦草,3 为黑麦,4 为青引 1 号燕麦,5 为青海甜燕麦。下同。

Note:1, *Lolium multiflorum* cv. Tetragold; 2, *Lolium multiflorum* cv. Changjiang No. 2; 3, *Secale cereal*; 4, *Avena sativa* cv. Qinghai No. 1; 5, *Avena sativa* cv. Qinghai.

号高 41.7%, 比黑麦高 22.7%。

2.2 SPAD 值与叶片测量位置的关系

叶片不同位置上的 SPAD 值不一样(图 2),同一叶片上的 SPAD 值都表现出叶尖部 > 叶中部 > 叶基部的特点。5 种牧草 3 个部位的 SPAD 值都与测量位置呈显著正相关($P < 0.05$),相关性分析结果显示,特高多花黑麦草、长江 2 号多花黑麦草、黑麦、青引 1 号燕麦、青海甜燕麦的 SPAD 值与测量位置的相关性系数分别为 0.513、0.779、0.680、0.864 和 0.904。5 个品种均表现出越靠近叶尖端,SPAD 值越高,越靠近叶基部,SPAD 值越低的特点,此外叶片中部的 SPAD 值与平均值最为接近。

2.3 叶片不同测量位置 SPAD 值的变化规律

SPAD 叶绿素仪的测定值是叶片测定位置叶绿素含量的相对大小,叶片部位的选择是 SPAD 叶绿素仪使用的关键。测试部位的 SPAD 值越接近该叶片 SPAD 平均值,则代表系数越低;变异系数越小,说明数据稳定性越高。代表系数越低且变异系

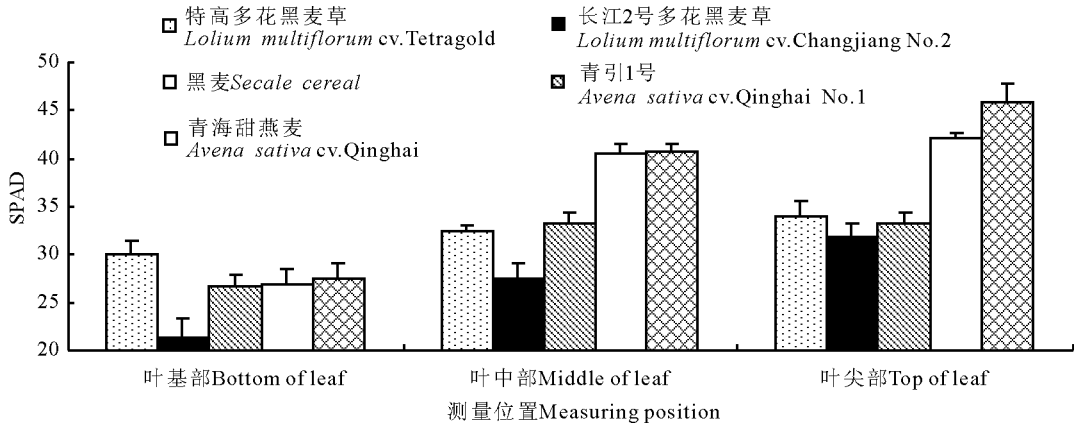


图 2 5 个牧草品种相同叶片上不同位置的 SPAD 值

Fig. 2 SPAD values at different position of the same leaf

数越小的 SPAD 值越能真实地反映该叶片的叶绿素相对含量。

试验结果表明(表 1),特高、黑麦、青引 1 号燕麦和青海甜燕麦代表系数低的测量部位都在叶中部和叶尖部;长江 2 号代表系数低的测量部位是叶中部。5 种牧草比较一致地表现出叶基部 SPAD 值的代表系数较高,说明叶基部的 SPAD 值不适宜代表该叶片的叶绿素相对含量,而叶中部 SPAD 值相对适宜代表该叶片的叶绿素相对含量水平。

特高叶片 3 个位置的 SPAD 值无显著差异

($P > 0.05$),但叶中部 SPAD 值的变异系数最小,相对较稳定;长江 2 号叶片的 SPAD 值叶基部显著小于叶中部和叶尖部($P < 0.05$),叶中部和叶尖部的变异系数较小,相对较稳定;同理,黑麦和青引 1 号燕麦 SPAD 值较稳定的部位在叶中部和叶尖部;青海甜燕麦 SPAD 值稳定的部位在叶中部。

综上所述,5 种牧草叶片的 SPAD 值均在叶片中部表现出代表系数低、且数值相对稳定的特点,因此测定 5 种牧草叶片的 SPAD 值时,选择叶片中部最为适宜。

表1 牧草叶片不同部位的 SPAD 值的代表系数和稳定性比较

Table 1 Representation and stability comparison of SPAD values on different measuring positions of forage grass leaves

牧草品种 Forage grass	测量部位 Measuring position	代表系数 Representation	SPAD	变异系数 CV
特高多花黑麦草 <i>Lolium multiflorum</i> cv. Tetragold	叶基部 Bottom of leaf	1.98±1.27a	30.16±2.94a	0.10
	叶中部 Middle of leaf	-0.20±0.58b	32.34±1.61a	0.05
	叶尖部 Top of leaf	-1.78±1.31b	33.92±3.66a	0.11
长江2号多花黑麦草 <i>Lolium multiflorum</i> cv. Changjiang No. 2	叶基部 Bottom of leaf	5.52±0.74a	21.34±4.39b	0.21
	叶中部 Middle of leaf	-0.58±0.50b	27.44±3.79a	0.14
	叶尖部 Top of leaf	-4.94±0.35c	31.80±3.16a	0.10
黑麦 <i>Secale cereal</i>	叶基部 Bottom of leaf	4.40±0.75a	26.62±2.81b	0.11
	叶中部 Middle of leaf	-2.22±0.71b	33.24±2.65a	0.08
	叶尖部 Top of leaf	-2.18±0.60b	33.20±2.69a	0.08
青引1号燕麦 <i>Avena sativa</i> cv. Qinghai No. 1	叶基部 Bottom of leaf	9.65±0.94a	26.84±3.47b	0.13
	叶中部 Middle of leaf	-4.05±0.60b	40.54±2.10a	0.05
	叶尖部 Top of leaf	-5.59±0.44b	42.08±1.43a	0.03
青海甜燕麦 <i>Avena sativa</i> cv. Qinghai	叶基部 Bottom of leaf	10.51±0.68a	27.54±3.37c	0.12
	叶中部 Middle of leaf	-2.65±0.80b	40.70±1.74b	0.04
	叶尖部 Top of leaf	-7.87±1.18b	45.92±4.45a	0.10

注:同列不同小写字母表示同一品种不同部位间在 0.05 水平上差异显著($P < 0.05$)。

Note: Different lower case letter within the same column for the same variety show significant difference among different measuring positions at 0.05 level.

3 讨论与结论

SPAD-502 叶绿素仪用来诊断牧草营养状况具有快速、简便和无损等特点,在农作物的生产和研究中应用较多,也较为成熟,牧草研究与生产中的也有报道^[9-11,16],但主要集中在 SPAD 值与叶绿素、蛋白含量、含氮量和草产量之间的相关性研究,对于叶片上适宜的测量部位的研究未见涉及。吕玉兰等^[17]使用叶基、叶中、叶尖 3 个部位的 SPAD 值得平均值作为所测叶片的 SPAD 值,试验测量的数据量较大;刘井良等^[10]、李杰勤等^[11]试验中并未明确所测 SPAD 值是在叶片的哪个部位,禾本科植物叶片较长,存在所测 SPAD 值差异较大的可能。本试验探讨了 5 种牧草叶片上不同测量部位的 SPAD 值,确定了适宜的测量部位,以便更加准确快速地反映植物叶片的叶绿素相对含量。

通过对 5 种一年生牧草 SPAD 值的比较发现,不同品种牧草的 SPAD 值差异较大。青引 1 号燕麦和青海甜燕麦两种牧草在苗期的 SPAD 值显著

高于黑麦和两种多花黑麦草长江 2 号和特高,也就是说苗期的青引 1 号燕麦和青海甜燕麦的叶绿素含量相对更为丰富。青引 1 号燕麦与青海甜燕麦同为燕麦的两个品种,二者 SPAD 值差异不显著;而多花黑麦草两个品种,特高和长江 2 号的 SPAD 值差异显著,说明同种牧草不同品种的 SPAD 值可能相近,也可能存在很大差异。

5 种牧草的 SPAD 值与测量的位置存在显著正相关性,均表现为叶尖部 > 叶中部 > 叶基部,这一研究结果与柯娴萁等^[12]的研究结果相一致。这可能是因为植物叶片叶尖部接受阳光的面积更大更为充分,因此光合作用更强,叶绿素更为丰富,SPAD 值也就更高。

参考鱼欢对胡椒(*Piper nigrum*)叶片 SPAD 值的研究^[15],牧草 SPAD 值的适宜测量部位需要综合考虑 SPAD 值的代表系数和稳定性。特高多花黑麦草、黑麦和青引 1 号燕麦 SPAD 值的适宜测量部位是在叶中部和叶尖部,长江 2 号多花黑麦草和青海甜燕麦 SPAD 值的适宜测量部位仅在叶片中部。

5个牧草品种 SPAD 值的适宜测量部位略不同,但叶中部的 SPAD 值均更为接近平均值,数据也相对稳定更能说明总体叶绿素相对含量。另外,叶尖部由于较窄不便于实际测量,因此将叶中部作为适宜的 SPAD 值测量位置。对水稻的研究^[13]发现,叶中部的 SPAD 值较大且稳定,是适宜的测量部位,这与本试验结果相一致。叶绿素相对含量在叶片 3 个部位存在差异可能是植物叶肉组织成熟程度的差异所造成,也可能是植物光生态情况引起的差异^[12]。

叶绿素仪的使用也有一定的局限性,读数受植

物品种、发育时期、叶片测定位置等多个因素的影响^[18],所测数据为相对值,田间生产和试验需要比较多的测量经验以获得经验值进行比较,反映的是植物叶绿素的相对水平,如果需要植物叶绿素的精确含量,仍需采用传统的分光光度计法。

而针对川西北地区不同品种的牧草,在不同时期,SPAD 值与叶绿素的线性关系,SPAD 值和氮含量、蛋白含量、牧草产量的关系,这有待于下一步的研究和分析。

参考文献

- [1] 王璞. RGB 颜色传感器叶绿素仪的研究[D]. 天津:天津大学,2008.
- [2] Markwell J, Osterman J C, Michell J L. Calibration of the Minolta SPAD-502 leaf chlorophyll meter[J]. *Photosynthesis Research*, 1995, 46: 467-472.
- [3] 艾天成, 李方敏, 周治安, 张敏, 吴海荣. 作物叶片叶绿素含量与 SPAD 值相关性研究[J]. *湖北农学院学报*, 2000, 20(1): 6-8.
- [4] 李志宏, 刘宏斌, 张福锁. 应用叶绿素仪诊断冬小麦氮营养状况的研究[J]. *植物营养与肥料学报*, 2003, 9(4): 401-405.
- [5] Schaper H, Chacko E K. Relation between extractable chlorophyll and portable chlorophyll meter reading in leaves of eight tropical and portable chlorophyll meter reading in leaves of eight tropical and subtropical fruit tree species[J]. *Plant Physiology*, 1991, 138: 674-677.
- [6] 雷泽湘, 艾天成, 李方敏. 草莓叶片叶绿素含量、含氮量与 SPAD 值间的关系[J]. *湖北农学院学报*, 2001, 21(2): 138-140.
- [7] 邢艳秋, 黄超, 陈世宏. SPAD 叶绿素仪在评价树木叶片光环境与健康水平上的应用初探[J]. *森林工程*, 2011, 27(1): 1-4.
- [8] Coste S, Baraloto C, Leroy C, Marcon E, Renaud A, Richardson A D, Roggy J, Schimann H, Uddling J, Herault B. Assessing foliar chlorophyll contents with the SPAD-502 chlorophyll meter; a calibration test with thirteen tree species of tropical rainforest in French Guiana[J]. *Annals of Forest Science*, 2010, 67: 607.
- [9] 李辉, 白丹, 张卓, 郭平, 周婵, 乌兰. 羊草叶片 SPAD 值与叶绿素含量的相关分析[J]. *中国农学通报*, 2012, 28(2): 27-30.
- [10] 刘井良, 王丽华, 李杰勤, 刘睿. 10 个黑麦草品种叶片 SPAD 值、叶绿素含量和蛋白质含量的相关性研究[J]. *中国农学通报*, 2012, 28(27): 83-86.
- [11] 李杰勤, 王丽华, 詹秋文, 周克海. 2 个黑麦草品种 SPAD 值和叶绿素及粗蛋白含量的相关性研究[J]. *草业科学*, 2010, 27(10): 39-42.
- [12] 柯娴氨, 贺立静, 苏志尧. 南方 4 种木本植物相对叶绿素含量指标及其分布[J]. *中南林业科技大学学报*, 2010, 30(8): 82-86.
- [13] 李刚华, 薛利红, 尤娟, 王绍华, 吴昊, 杨文祥. 水稻氮素和叶绿素 SPAD 叶位分布特点及氮素诊断的叶位选择[J]. *中国农业科学*, 2007, 40(6): 1127-1134.
- [14] 刘长秀, 张宏, 泽柏. 灌丛对川西北高寒草甸土壤资源的影响[J]. *山地学报*, 2006, 24(3): 357-365.
- [15] 鱼欢, 祖超, 杨建峰, 邬华松, 郑维全, 王辉, 王华. 应用 SPAD 叶绿素仪测定不同位置胡椒叶片的 SPAD 值[J]. *热带作物学报*, 2012, 33(10): 1890-1895.
- [16] 贾良良, 陈新平, 张福锁. 作物氮素营养诊断的无损测试技术[J]. *世界农业*, 2001(6): 36-37.
- [17] 吕玉兰, 王跃全, 杨蓓, 杨旸, 张晓芳. 施氮对多花黑麦草叶片叶绿素和鲜草产量的影响[J]. *草业科学*, 2013, 30(4): 606-609.
- [18] 李刚华, 丁艳锋, 薛利红, 王绍华. 利用叶绿素计 (SPAD-502) 诊断水稻氮素营养和推荐追肥的研究进展[J]. *植物营养与肥料学报*, 2005, 11(3): 412-416.