

# 羊草叶面积的测定方法

李亚军, 纪澎琴, 张守伟, 陈成成

(1. 吉林大学数学学院, 吉林长春 130026; 2. 长春工业大学信息传播工程学院, 吉林长春 130012)

**摘要** [目的] 研究一种羊草叶面积方便、快捷的测定方法。[方法] 试验在分析羊草叶面积和叶长宽积之间关系的基础上, 以数字图像法为对照进行比较研究。[结果] 确定了计算羊草叶面积的修正系数 $k$  值为0.655 5, 通过相关回归分析和误差分析结果表明, $k$  值精确度较高。[结论] 利用长宽数据计算得到的结果与对照实测结果相比具有较高的一致性, 适于野外羊草叶面积的快速、无损测定。

**关键词** 叶面积; 长宽法; 修正系数

中图分类号 S11+8 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2009)15-06819-01

**The Determination Method of Leaf Area on** *Leymus chinensis*

**Li Ya-jun et al** (College of Mathematics, Jilin University, Changchun, Jilin 130026)

**Abstract** [Objective] The quick and convenient testing method of *Leymus chinensis* leaf area was studied. [Method] On the base of the analysis of the relationship between leaf area and the ratio of leaf length and width, the comparative study on them was conducted with a digital image method. [Results] The regression analysis and error analysis result indicated that the  $K$  value, a correcting coefficient, in the calculation of leaf area was 0.655 5, which had higher accuracy in actual test. [Conclusion] There was high consistency in leaf area testing between the result calculated with the ratio of leaf length and width and of the actual test, which was suitable for its quick and non-destructive determination outside working.

**Key words** Leaf area; Ratio of leaf length and width; Correcting coefficient

羊草(*Leymus chinensis*)是根茎型禾草,常为群落的建群种,其生物学特性比较特殊,抗逆性较强<sup>[1]</sup>,一直是人们重点研究的对象。叶面积指数是羊草生理生态、栽培育种中一个重要的生物学指标,目前常用的叶面积测定方法有网格法、叶面积仪法、数字图像处理法、复印称重法等<sup>[2-4]</sup>,这些方法各有利弊。在野外大量采样时,羊草叶面积的测定工作十分繁重,目前还缺乏一种简单、准确的测定方法。笔者基于实测的羊草叶片面积与叶片长度、宽度数据,对羊草叶片采用长宽法对叶面积进行了估算,为羊草叶面积的快速、无损测量提供了简便实用的方法。

## 1 材料与方

**1.1 材料** 试验材料取自吉林省大安市安广镇镇东草甸内的野生羊草群落,采样点的背景资料参见相关文献<sup>[5]</sup>。于2007年8月下旬选择不同生境下的羊草冠层叶片30片,用直尺测定长宽度,然后将羊草叶片放在背景印有0.5 cm × 0.5 cm方格的A<sub>4</sub>打印纸上,用400万像素数码相机进行拍照,采用数字图像处理法测定各叶片的面积。

**1.2 叶面积数字图像处理法原理与方法** 得到羊草叶片在背景印有0.5 cm × 0.5 cm方格打印纸的数码照片后,只要运用Photoshop软件获得影像中叶片的像素值和方格的像素值,就可以根据叶片像元与已知面积为0.25 cm<sup>2</sup>方格像素值之间的对应关系,求出羊草叶片的实际叶面积。

在Photoshop软件中打开数码照片,选择工具栏中的“缩放工具”,将图片放大到视野内目标叶片最大可视范围。然后粗选照片里的目标叶片,选择工具栏中的“魔棒工具”,勾选选项栏中的“连续的”,点击目标叶片将其外廓选中。然后将图片放大到100%,用“多边形套索工具”选择超过叶片范围以外的选定区域,将目标叶片以外的区域减掉。最后查看“窗口-直方图”中叶片的像素值并记录。

**1.3 数据处理** 根据公式 $k = A / (L \times W)$ 计算羊草叶片的

修正系数。其中, $k$ 为修正系数; $A$ 为运用数字图像处理法得到的羊草叶片叶面积(cm<sup>2</sup>), $L$ 和 $W$ 分别为叶片的最大长度(cm)和最大宽度(cm)。采用Excel软件对数据进行相关回归分析,并建立回归方程。建立回归方程的目的是希望在测量方法间找到一种换算方法,使叶面积指数具有可比性。

## 2 结果与分析

**2.1 背景方格的精度确定** 叶面积是通过羊草叶片的像素值和背景0.5 cm × 0.5 cm方格像素值之间的对应关系求出的,因而背景方格的像素值精确与否直接关系到叶面积测定的准确性。为此,设定了一种简单的背景方格精度确定方法。

分别对4、9、16、25、36个0.5 cm × 0.5 cm方格组成1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 cm的大方格进行取样,测定以上6个方格的像素值,并求出平均数,作为每个方格的平均数。最后根据不同取样方格求得的单个方格像素值取平均,最终得到单个方格的像素值为352.81,这意味着每个方格352.81像素值的对应面积为0.25 cm<sup>2</sup>。

**2.2 叶面积长宽法测定修正系数计算及结果验证** 根据实测得到叶面积和叶片最大长度与宽度数据,通过回归分析建立叶面积与长宽积之间的回归方程,确定羊草的修正系数 $k$ 为0.655 5( $n=30, R^2=0.965 1$ )。验证各样本,根据回归得到的修正系数 $k$ 和实测得到的羊草叶片长度与宽度指标,按公式计算得到羊草的计算值与实测值并进行比较可以发现,叶面积计算结果与采用网格法测得到的结果之间具有较好的一致性(图1),计算值与测定值之间的决定系数 $R^2$ 高达0.965 1;相对误差分析显示,长宽法计算得到的叶面积结果的相对误差绝对值的平均值分别为9.2%。定义相对误差绝对值小于10%为合格,统计得到羊草长宽法计算结果的合格率均达到90%以上。

## 3 结论与讨论

**3.1 结论** 针对羊草叶片叶面积的测定,采用长宽法计算羊草叶面积。结果表明,采用长宽法计算叶面积的修正系数

作者简介 李亚军(1965-),男,吉林通榆人,副教授,从事数值逼近与数字图像处理方面的研究。

收稿日期 2009-03-02

剂盒标准品各点的  $A_{450}$  下降了12%，但标准品零点和高点的  $A_{450}$  比值仍大于0.8，其他检测参数均未改变。

### 3 结论与讨论

随着对ZEN研究的不断深入，人们对ZEN危害的认识逐步加深。ZEN除具有较强的雌激素活性外，还有肝毒性、免疫毒性及基因毒性。目前，ZEN的测定方法可分为2大类，一类是物理化学方法，包括薄层色谱法(TLC)<sup>[4]</sup>，高效液相色谱法(HPLC)<sup>[5]</sup>和免疫亲和柱法<sup>[6]</sup>等。其中TLC法操作简单，无需特殊仪器，在早期的ZEN测定中应用广泛。但该方法灵敏度低，现已逐渐被其他方法所取代。HPLC法准确度、灵敏度高，是ZEN测定的参考方法，但该方法操作繁琐，需昂贵仪器，一次只能测少量样本，在ZEN测定中具有一定的局限性。免疫亲和柱法检测成本高且不能应用于大量筛查。另一类测定ZEN的方法是以RIA<sup>[7]</sup>、ELISA<sup>[8-9]</sup>等为代表的免疫学方法，该类方法因采用抗原、抗体反应，具有很高的特异性，另外还应用了示踪物的放大效应，灵敏度较高，且该方法测量过程简单、样品无需特殊处理，可应用于大量筛查。由于RIA采用放射性同位素标记，标记物半衰期短、环境污染严重，因此该方法逐渐被ELISA等方法取代。

该研究在用ELISA法检测ZEN时引入了生物素-链霉亲和素系统。每个链霉亲和素能结合4个分子的生物素，且两者间亲和力极强。该研究基于生物素与链霉亲和素的反应特点，用Streptavidin包被板条，再加入生物素化的ZEN-BSA，此时ZEN-BSA用量约为用ZEN-BSA直接包被板用量的1/10，节省了试剂。此外，生物素化过程简单，普通实验室即可合成，因此可将Streptavidin用作通用包被板，用于其他物质的检测。该研究所建立的检测方法的灵敏度为0.8 ng/ml，测

(上接第6819页)

为  $k = 0.6555$ ，与实测结果具有很好的一致性，其测量相对误差值小于10%，能够满足要求。误差较小且使用方便，是一种有推广应用价值的方法，特别适用于野外大量的叶面积测量工作。

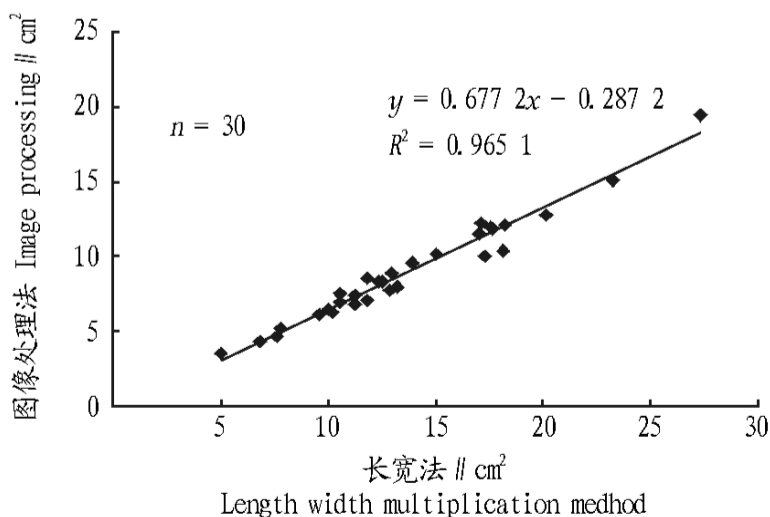


图1 羊草叶片叶面积计算结果分析

Fig.1 The calculation results analysis of leaf area of *Leymus chinensis*

**3.2 讨论** 羊草一般生长在相对干旱的环境中，空气湿度较小，羊草叶片在离体后一般10min内就发生萎蔫，影响了

量范围为0.8~150 ng/ml，批内、批间变异系数分别为5.1%和8.6%，平均回收率为91.2%。抗ZEN单克隆抗体与玉米赤霉醇的平均交叉反应度为12.3%，与OTA、DON、AFB1无交叉反应，说明该方法的特异性较好。ZEN ELISA相关试剂在4℃存放180 d后各检测参数基本无变化，说明该方法较稳定。用该方法和商品ELISA试剂盒同时测定样本ZEN，两者检测结果的相关系数为0.9432，说明该方法测量结果较准确。综上所述，ZEN ELISA法具有测量准确、检测灵敏度高、操作简便等优点，适合用于ZEN的大量筛查。

### 参考文献

- [1] KUPER GOODMANT, SCOTT P M, WATANABE H. Risk assessment of the mycotoxin zearalenone [J]. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 1987, 7: 253 - 306.
- [2] KUMAGA S, SHIMZU T. Neonatal exposure to zearalenone causes persistent anovulatory estrus in the rat [J]. *Arch Toxicol*, 1982, 50: 279 - 286.
- [3] PLACITA C M, D'ELLO J P F, MACDONALD A MC. A review of worldwide of cereal grains and animal feed with Fusarium mycotoxin [J]. *J Animal Feed Sci and Technol*, 1999, 78: 21 - 37.
- [4] 罗雪云, 胡霞, 李玉伟. 小麦, 小麦制品中玉米赤霉烯酮的薄层色谱法测定 [J]. *卫生研究*, 1993, 22(2): 112 - 115.
- [5] BAGNARIS R W, WARE G M, GAUL J A. Liquid chromatographic determination of zearalenone and zearalenol in animal feeds and grains using fluorescence detection [J]. *J Assoc Off Anal Chem*, 1986, 69: 894.
- [6] VISCONI A, PASCALE M. Determination of zearalenone in maize by means of immunoaffinity clean up and high performance liquid chromatography [J]. *J Chromatogr A*, 1998, 815: 133 - 140.
- [7] THOUVENOT D R, MORHIN R F. Radioimmunoassay for zearalenone and zearalenol in human serum: production, properties, and use of porcine antibodies [J]. *Appl Environ Microbiol*, 1983, 45: 16 - 23.
- [8] HUUMT. Indirect enzyme-linked immunosorbent assay for mycotoxin Zearalenone [J]. *J Appl Environ Microbiol*, 1985, 50: 332 - 336.
- [9] 路戈, 刘春霞, 计融. 玉米赤霉烯酮单克隆抗体酶联免疫测定方法的建立及初步应用 [J]. *真菌学报*, 1996, 15(4): 292 - 296.

羊草叶面积的准确测量。为此，需要对新采的叶片马上测量结果才能尽可能准确；若无法立即测量，需要将叶片淋水保湿，保持羊草叶片坚挺，利于后期测量。

叶面积的修正系数与遗传因素密切相关<sup>[6]</sup>，应用长宽法测定的叶片修正系数受遗传性支配，受环境影响不大，各叶片的修正系数不同是由不同的基因决定的，虽然叶面积的大小易受肥水的影响，叶面积的修正系数却较为稳定<sup>[7]</sup>。因此，该研究所得的修正系数k值，也可以在不同施肥量和光照、水分等不同生态因子的条件下使用。

### 参考文献

- [1] 祝廷成. 羊草生物生态学 [M]. 长春: 吉林科学技术出版社, 2004.
- [2] 柏军华, 王克如, 初振东, 等. 叶面积测定方法的比较研究 [J]. *石河子大学学报: 自然科学版*, 2005, 23(2): 216 - 218.
- [3] 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.
- [4] 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.
- [5] 邓伟, 袁善文, 梁正伟. 中国大安碱地生态试验站区域生态环境背景 [M]. 北京: 科学技术出版社, 2006.
- [6] LYNC PJ, 陈子华. 80年内燕麦农艺和生理性状的遗传改良 [J]. *国外农学*, 1994(4): 13 - 14.
- [7] 李雁鸣. 燕麦叶面积测定方法的初步研究 [J]. *河北农业大学学报*, 1993(1): 25 - 28.