叶绿素计 SPAD-502 在水稻氮素营养诊断中的应用*

张金恒, 王　珂, 王人潮
(浙江大学 农业遥感与信息技术应用研究所, 浙江 杭州 310029)

[摘　要]　基于水稻氮素营养及氮肥诊断的意义, 在比较了几种氮素营养诊断方法的利弊之后, 重点阐述叶绿素计的工作原理和作为氮素营养诊断工具的优缺点以及研究进展。并对叶绿素计诊断水稻氮素营养可能的发展前景进行了阐述。

[关键词]　叶绿素计 SPAD; 氮素; 营养诊断; 水稻
[中图分类号]　TH79　　[文献标识码]　A　　[文章编号]　1671-9387(2003)02-0177-04

氮素营养在确定自然环境和农业环境下植物的光合能力中起着关键作用[1], 并且氮素为植物光合作用和生态系统生产力提供着重要的支持, 是作物的一种最重要的养分。除非氮素作为一种肥料施入, 否则, 氮素缺乏几乎到处都发生, 并且在很多系统中, 氮素作为有限的资源存在[2~4]。提高氮素管理, 最终将取决于对土壤或作物氮素状况的精确评价[5]。一般推荐的氮肥施用量没有考虑田间的差异和季节内的动态变化。因为作物生长反映了所有氮素源的全氮供应, 所以作物氮素状况是适时诊断作物氮素有效性的较好指示器[6]。

1　氮素营养诊断的方法

1.1　常用方法

传统的氮素营养诊断和评价植物氮素状况的方法主要是基于土壤和植物组织的实验室分析, 这些分析普遍要求破坏土壤和植被样本。从采集大量的样本、烘干、称重、研磨直到使用有潜在危害性的药品进行测试, 需耗费大量的时间、人力和物力。由于花费时间过长, 以至于测试结果不具有适时性, 而且试验室分析需要有经验的专业分析人员和大量的分析试剂与设备, 这些条件很多国家不具备, 特别是发展中国家[5,7~13]。

有些人曾经努力寻找非破坏性预测植物氮素的方法, 例如: ①多光谱反射数据和激光, 包括叶绿素荧光特性拟合各种模型[14]。该方法需要精密昂贵的仪器, 并要求试验者具备一定的经验[7]。②肥料窗口法。该方法是一种简单实用的氮肥调控方法, 其做法是在大田中留出微区, 微区中的施氮水平比大田整体稍少, 在作物生长过程中当微区表现出缺氮的症状, 如叶色变浅, 表明大田作物处于缺氮边缘。该法可以在土壤变异不显著的区域对下一次追肥做出判断, 但是不能量化追肥量, 还需要常规测试[13]。③叶色卡法。研究表明, 水稻叶色级与叶片全氮含量间存在很好的线性关系, 因此可用叶色级来表征叶片的氮素营养状况。该方法简单、方便、营养诊断半定量化, 但是不能区分作物失绿是由于缺氮引起的还是由于其他因素引起的[13]。该法还受到品种、植被密度、导致土壤氮素状况和叶绿素含量变化的作物胁迫因素的影响[6]。④叶绿素计法。是一种非损伤的水稻氮素诊断工具。

1.2　SPAD-502 诊断氮素营养

1.2.1　SPAD-502 的原理和特点　叶片进行光合作用时, 与其他植物组织相比, 需要更多的氮素。进行光合作用的器官中的氮素主要存在于光反应的色素蛋白质及与光合作用碳消耗循环相关的蛋白质中[15]。由于叶片含氮量和叶绿素含量之间的变化趋势相似[16], 所以可以通过测定叶绿素含量来监测植株氮素营养。

叶绿素吸收峰是蓝光和红光区域, 在绿光区域是吸收低谷, 并且在近红外区域几乎没有吸收。基于此, 选择红光区域和近红外区域测量叶绿素。日本产叶绿素计(Chlorophyll Meter SPAD-502)是由发光二极管(light-emitting diodes)发射红光(峰值波长大约 650 nm)和近红外光(峰值大约在 940 nm)。透过样本叶的发射光到达接收器, 将透射光转换成为相似的电信号, 经过放大器的放大, 然后通过 A/D 转换器转换为数字信号, 微处理器利用这些数字信

* [收稿日期]　2002-04-15
[基金项目]　国家自然科学基金资助项目(30070444)
[作者简介]　张金恒(1973-), 男, 吉林敦化人, 在读博士, 主要从事农业遥感研究。

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

号计算 SPAD 值, 显示并自动存储。计算 SPAD 值的步骤如下:

①标准状态下(无被测样本), 2 个光源依次发光, 并转变成为电信号, 计算强度比。

②插入样本叶片之后, 2 个光源再次发光, 叶片的透射光转换成为电信号, 计算透射光强度比值。

③运用以上 2 个步骤的计算结果计算 SPAD 值[17]。

简言之, SPAD 读数是基于测定特定光谱波段叶绿素对光的吸收而获得的[18]。

影响 SPAD 读数的因素包括品种, 特别是基因型、植株密度、环境条件、营养状态和导致植株枯黄的各种生物的和非生物的胁迫及其他养分亏缺或者毒性(主要是 P、Fe、Mn、Zn)等[9, 13, 19], 另外 SPAD 读数受光辐射照度的影响较大[20]。有研究表明[7], 叶绿素计读数能评价特定基因型稻在特定生长期内株茎的氮素含量, 还能用于区别具有相似叶面积和分蘖数乘积值的水稻基因型。对于其他植物品种来说, 正是基因型和生长阶段使得叶绿素计评价基于干重的叶片氮素浓度变得复杂[21], 而不是环境和其他胁迫因素。

叶绿素计(SPAD)是简单而又方便的诊断工具。利用它能够在原处测定稻作物氮素状况, 确定施氮肥的适时性。这种测定有助于根据水稻本身的需求和氮素诊断结果来改变对水稻的氮素供应。由于叶绿素计的价格较高, 特别对于发展中国家来说, 普通农户拥有叶绿素计还不太现实。但是在大田调查和没有足够仪器进行实验室试验的情况下, 叶绿素计的确是一种很好的氮素诊断仪器。利用当地的品种和作物环境条件来校正叶绿素计测定值, 就能用叶绿素计精确监测作物氮素状况, 进而建议农民对水稻进行合理施肥[6]。

1.2.2 SPAD-502 诊断水稻氮素状况 作物生长反映了所有氮素源的全氮供应, 所以利用 SPAD 值监测作物氮素状况是一个较好的方法。SPAD 值随着作物品种和生育期的不同而变化。研究表明[18], 叶绿素计读数和叶片氮素浓度之间具有线性相关性, 这种线性关系之间是有差别的, 其差别取决于品种、发育阶段、测定的叶位及叶片上测点的位置[18]。另有研究表明[9], 基于重量的叶片氮素浓度和 SPAD 值之间存在线性关系。在每一生长阶段, 基于干重的叶片氮素浓度和叶绿素计读数之间也存在线性关系, 但是线性关系有着显著的差异, 这种回归系数之间的差异取决于生育阶段和品种[8, 18]。

由于环境和其他胁迫因素的影响, SPAD 值只能确定特定生长阶段的氮肥需求水平[12, 22]。也可能是由于叶绿素浓度或者光吸收能力的变化, 导致单独依赖 SPAD 值指示作物氮素含量的失败[8], 所以应借助 SPAD 和其他农学参数之间的相关性研究, 以变换后的 SPAD 值来指示作物氮素含量。

Peng 等[10]研究表明, 如果水稻叶片含氮量以叶面积为基础来表示, 叶片厚度或者叶片重量对 SPAD 读数的影响将被消除。利用基于面积的水稻叶片氮素浓度来校正 SPAD 读数将在所有生长阶段产生单独的线性关系。吴良欢等[23]研究也发现, 水稻 SPAD 读数能反映单位面积叶片含氮量。另外, 基于叶绿素计读数、叶面积和分蘖数确定移栽水稻的地上部分含氮量, 是一种评价水稻氮素状况的迅速的、非损伤性的方法[7, 8]。Peng 等[18]利用 SPAD/SLW 对 SPAD 值进行调整, 提高了基于干重预测水稻叶片氮素浓度的预测精度(r^2= 0.93, 0.87; SLW = 干重/叶面积), 但是利用调整后的 SPAD 值预测水稻叶片氮素浓度, 就减弱了 SPAD 值的快速、简便、非损伤性的特点。PENG Shao-bing 等[24]研究表明, 在水稻每一个生育期内, 特别是在中后期生长阶段, 叶绿素计基于叶面积的对叶片氮素浓度评价的效果明显好于基于干重的评价效果。Jagdish 等[7]利用 SPAD 读数、叶面积和分蘖数的乘积来研究水稻地上部分氮素含量, 表明在开花期各个品种地上部分氮素含量与 SPAD 读数、叶面积和分蘖数的乘积高度相关, 相关性最好的叶位是倒三叶, 说明 SPAD 读数、叶面积和分蘖数乘积能用于评价经过不同氮素处理的不同品种水稻整个生长期特定生长阶段的氮素吸收状况。

1.2.3 SPAD-502 诊断水稻氮肥需求状况 对于水稻来说, 土壤氮素比氮肥的作用更大, 正如日本谚语所言: "水稻生长靠土壤肥力, 大麦生长靠施肥"[4]。因此, 如果将氮肥调整到土壤供氮能力, 氮肥的利用率将增加, 故诊断水稻氮肥需求状况很重要。土壤固有的肥力水平特别是土壤供氮能力, 决定了在利用 SPAD 指导氮素管理时, 是否需要施用氮素基肥[6]。研究表明[10], 利用 SPAD 指导氮素管理提高了氮素供应和作物需氮的相关性, 导致高产、高氮素利用率和高收获指数。叶绿素计读数和叶片氮素浓度都与土壤表层矿质氮素之间存在着很好的相关性[25], 叶绿素计测定值也与整株作物氮素含量和土壤表层铵含量 2 个参数具有很好的相关性[26]。

研究表明[10], 叶绿素计可以用于确定水稻氮素需求量, 例如可以确定半矮生水稻在幼穗分化前期和幼穗分化期的氮肥需求量[12]。Carreres 等[8]针对水稻进行不同氮素处理试验, 在不同生长期测定作物的氮素状况, 研究叶绿素计是否能用于确定氮肥

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

施用量。结果表明, 在氮素含量和 SPAD 值之间存在显著相关性, 但是这种相关性较差, 不同生长阶段回归方程显著不同, 从营养生长期到抽穗期, SPAD 读数增加到该品种的最大值, 然后逐渐下降, 表明 SPAD 值可以确定分蘖中期的氮肥施用量。

上面所说的 SPAD 读数的特定值可以定义为 SPAD 临界值, 即在一个标准氮素水平下的 SPAD 读数, 低于该读数, 水稻缺氮并产生减产现象。它可以用 SPAD 读数和基于叶面积的氮素浓度之间的关系来计算。Peng 等[10]就成功地使用 SPAD 临界值 35 确定水稻 IR 72 品种的施氮量。Turner 等[12]将 40 确定为半矮化水稻的一个 SPAD 临界值, 在水稻幼穗分化始期和孕穗期, 随着 SPAD 值读数超过 40, 施氮肥并未引起产量的增加。沈阿林等[27]研究了水稻叶色与施氮量之间的相关性, 提出水稻齐穗前倒二叶 SPAD 临界值 37 可作为是否追施氮肥的参考指标。

2　国内研究现状与发展前景

上述利用 SPAD-502 诊断水稻氮素营养绝大多数都是国外的研究成果。到目前为止, 国内利用 SPAD 开展水稻氮素营养诊断研究的报道较少。有些研究基本上停留在对叶绿素计读数(SPAD-501 和 SPAD-502)、叶片叶绿素含量和叶片含氮量之间相关关系的分析上[28~30], 只有沈掌泉等[31]提出一种利用上下部叶片 SPAD 读数比值来诊断水稻氮素营养的方法。

氮素不足时, 由于叶绿素合成受阻, 老叶失绿发黄, 导致全株色较淡。氮在体内易转移, 老叶中含氮化合物如蛋白质、叶绿素等分解受阻后的氮可转移到幼叶, 并在幼叶中合成新的含氮化合物, 使缺氮症状从老叶开始向上扩展, 下部老叶易早衰、脱落[32]。同时在叶片衰老时, 植物组织中的叶结构遭到破坏, 导致作物光谱响应特性发生变化[33], 在叶片结构中的叶绿素含量和叶片光谱特性之间又存在强相关性[34, 35]。因此根据这些农学机理, 研究不同品种水稻在不同生育期的功能叶位叶绿素计读数及其与光谱透射率、反射率、吸收率以及光谱指数(包括高光谱)之间的相关关系[36], 或许能找出基于叶绿素计和便携式光谱仪两种方法相结合的监测水稻氮素状况和推荐施肥的有效途径[33, 37, 38]。另外, 可通过水稻不同生育期不同叶位 SPAD 值组合的数学算法, 分别建立适用于不同品种、不同生育期和不同生长条件的水稻氮素状况和推荐施肥诊断模型。

[参考文献]

[1] Abrol Y P, Chatterjee S R, Kumar P A, et al. Improvement in nitrogen use efficiency: physiological and molecular approaches[J]. Curr. Sci, 1999, 76: 1357- 1364.

[2] Field C, Mooney H A. The photosynthesis-nitrogen relationship in wild plants[A]. Giunish T. On the economy of plant form and function[C]. New York: Cambridge University Press, 1986. 25- 55.

[3] Lee J A, Hammer R, Ignaciuk R. Nitrogen as a limiting factor in plant communities[A]. Lee J S, McNeill I, Rorison. Nitrogen as an ecological factor[C]. Oxford: Blackwell, 1983. 95- 112.

[4] Shouichi, Yoshida. Fundamentals of Rice Crop Science[M]. Philippines: International Rice Research Institue, 1981. 135.

[5] Carlos Costa, Lianne M D, Pierre Dutilleul. Inter-relationships of applied nitrogen, SPAD, and yield of leafy and non-leafy maize genotypes [J]. Journal of Plant Nutrition, 2001, 24(8): 1173- 1194.

[6] Balasubramanian V, Morales A C, Cruz R T. On-farm adaptation of knowledge-intensive nitrogen management technologies for rice systems[J]. Nutrient Cycling Agroecosystems, 1999, 53: 59- 69.

[7] Jagdish K L, Agnes T P, Gloria C, et al. Nondestructive estimation of shoot nitrogen in different rice genotypes[J]. Agron J, 1998, 90: 33- 40.

[8] Carreres R, Sendra J, Ballesteros R. Effects of preflood nitrogen rate and midseason nitrogen timing on flooded rice[J]. Journal of Agricultural Science, 2000, 134: 379- 390.

[9] Turner F T, Jund M F. Assessing the nitrogen requirements of rice crops with a chlorophyll meter method[J]. Aust J Exp Agric, 1994, 34: 1001- 1005.

[10] Peng S, Garcia F V, Laza R C, et al. Increased N-use efficiency using a chlorophyll meter on high-yielding irrigated rice[J]. Field Crops Res, 1996, 47: 243- 252.

[11] Duru M. Evaluation of chlorophyll meter to assess nitrogen status of cocksfoot sward[J]. Journal of Plant Nutrition, 2002, 25(2): 275- 286.

[12] Turner F T, Jund M F. Chlorophyll meter to predict nitrogen topdress requirement for semidwarf rice[J]. Agron J, 1991, 83: 926- 928.

[13] 陈新平, 贾良良, 张福锁. 无损伤测试技术在作物氮素营养诊断及施肥推荐中的应用[A]. 冯　锋, 张福锁, 杨新泉. 植物营养研究——进展与展望[C]. 北京: 中国农业大学出版社, 2000. 197- 206.

[14] Filella I, Serrano L, Serra J, et al. Evaluating wheat nitrogen status with canopy reflectance indices and discriminant analysis[J]. Crop Sci, 1995, 35: 1400- 1405.

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

[15] Evans J R, Seemann J R. Difference between wheat genotypes in specific activity of ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase and the relationship to photosynthesis[J]. Plant Physiol, 1984, 74: 759- 765.
[16] Evans J R. Photosynthesis and nitrogen relationships in leaves of C_3 plants[J]. Oecologia, 1989, 78: 9- 19.
[17] Minolta Co. Chlorophyll SPAD-502 instruction manual[M]. Osaka, Japan: Radiometric Instruments Operation, 1989. 17- 21.
[18] Peng S, Garcia F V, Laza R C. Adjustment for specific leaf weight improves chlorophyll meter's estimate of rice leaf nitrogen concentration[J]. Agron J, 1993, 85: 987- 990.
[19] Turner F T, Jund M F. Chlorophyll meter to predict nitrogen topdress requirement for semidwarf rice[J]. Agron J, 1991, 83: 926- 928.
[20] Hoel B O, Solhaug K A. Effect of irradiance on chlorophyll estimation with the Minolta SPAD-502 leaf chlorophyll meter[J]. Annals of Botany, 1998, 82(3): 389- 392.
[21] Smeal D, Zhang H. Chlorophyll meter evaluation for nitrogen management in corn[J]. Commun Soil Sci Plant Anal, 1994, 25: 1495- 1503.
[22] Smeal D, Zhang H. Chlorophyll meter evaluation for nitrogen management in corn[J]. Commun Soil Sci Plant Sci, 1995, 75: 179- 182.
[23] 吴良欢, 陶勤南. 水稻叶绿素计诊断追氮法研究[J]. 浙江农业大学学报, 1999, 25(2): 135- 138.
[24] PENG Shao-bing, Laza R C, Garcia F V, et al. Chlorophyll meter estimates leaf area-based nitrogen concentration of rice[J]. Commun Soil Sci Plant Anal, 1995, 26(5- 6): 927- 935.
[25] Follet R H, Follet R F. Use of a chlorophyll meter to evaluate the nitrogen status of dryland winter wheat[J]. Commun Soil Sci Plant Anal, 1992, 23(7- 8): 687- 697.
[26] Vaughan B, Westfall D G, Barbarick K A, et al. Spring nitrogen fertilizer recommendation models for dryland hard red winter wheat[J]. Agron J, 1990b, 82: 565- 671.
[27] 沈阿林, 宋保谦. 沿黄稻区主要水稻品种的需肥规律. 叶色动态与施氮技术研究[J]. 华北农学报, 2000, 15(4): 131- 136.
[28] 艾天成, 李方敏. 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.
[29] 陈 防, 鲁剑巍. SPAD-502 叶绿素计在作物营养快速诊断上的应用初探[J]. 湖北农业科学, 1996, 2: 31- 34.
[30] 张文安. SPAD-501 型叶绿素仪在测定水稻叶绿素含量中的应用[J]. 贵州农业科学, 1991, 4: 37- 40.
[31] 沈掌泉, 王 珂, 朱君艳. 叶绿素计诊断不同水稻品种氮素营养水平的研究初报[J]. 科技通报, 2002, 18(3): 173- 176.
[32] 增广文. 植物生理学[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 2000. 36.
[33] Horler D N H, Dockray M, Barber J, et al. Red edge measurements for remotely sensing plant chlorophyll content[J]. Advances in Space Research, 1983, 3: 273- 277.
[34] Madeira A C, Mendonca A, Ferreira M E, et al. Relationship between spectroradiometric and chlorophyll measurements in green beans[J]. Communication in Soil Science and Plant Analysis, 2000, 31(5- 6): 631- 643.
[35] Josep Penuelas, John A G, Kevin L G. Assessing community type, plant biomass pigment composition and photosynthetic efficiency of aquatic vegetation from spectral reflectance[J]. Remote Sensing of Environment, 1993, 46: 110- 118.
[36] Irena Rajcan, Lianne M D, Matthijs T R. Note on relationship between leaf soluble carbohydrate and chlorophyll concertration in maize during leaf senescence[J]. Field Crops Research, 1999, 63: 13- 17.
[37] Gitelson A A, Merzlyak M N, Lichtenthaler H K. Detection of red edge position and chlorophyll content by reflectance measurements near 700 nm[J]. Journal of Plant Physiology, 1996, 148: 501- 508.
[38] Lichtenthaler H K, Gitelson A A, Lang M. Nondestructive determination of chlorophyll content of leaves of a green and an aurea mutant of tobacco by reflectance measurements[J]. Journal of Plant Physiology, 1996, 148: 483- 493.

Application of chlorophyll meter SPAD-502 in diagnosis of nitrogen status and nitrogenous fertilizer in rice

ZHANG Jin-heng, WANG Ke, WANG Ren-chao

(*Institute of Agriculture Remote Sensing and Information System Application, Zhejiang University, Hangzhou, Zhejiang* 310029, *China*)

Abstract: Basing on the significance of diagnosis of nitrogen status and nitrogenous fertilizer in rice, the article compares the advantages and disadvantages of those measures, which are used to diagnose the nitrogen status and nitrogenous fertilizer in rice, and pays attention to expatiate the measuring principle, characteristic and methods of the chlorophyll meter SPAD-502. And the development of the study using the chlorophyll meter SPAD-502 is introduced in this article. Finally, the author gives some suggestion about how to diagnose nitrogen status and nitrogenous fertilizer in rice using the chlorophyll meter SPAD-502.

Key words: chlorophyll meter; nitrogen; diagnosis of nutrition; rice

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net