

光合作用数据分析与模型拟合

基因有限公司农业环境科学部，北京，2004-12

近些年来我们国家植物生理生态学研究方兴未艾，其中光合作用研究属于热点研究方向，其涉及到全球变化、碳循环、遗传、植物生理等多个研究角度。目前我们国家从美国进口的 LI-6400 光合仪（美国 LI-COR 公司生产，基因公司在中国大陆和香港地区独家代理）已经超过 200 多台，在科学研究工作中起到了重要的作用。

目前的研究工作中，随着我们公司培训工作的不断细化，国内用户在仪器的软硬件使用方面已经基本上达到熟练程度。但是在数据的进一步分析处理与数学统计方面，国内的研究人员应用的还不是很多。目前许多研究人员还使用二次曲线来拟合光曲线或 ACI 曲线。这种拟合方式尽管拟合方程的效果很好，但是由于缺乏机理方面的论证而无法进一步准确解释数据，导致我们的文章难以在国际上著名的杂志得到权威认可。20 世纪 70-80 年代，国内外学者建立了许多光合作用的机理模型，影响最深远的是基于光合作用的羧化和电子传递两个基本过程、描述光合作用与生物化学之间相互关系的叶片的 Farquhar 模型等。本文试图利用光曲线的数据为例，通过二次曲线和模型拟合两种方法来讨论这两种方法的优缺点和相关参数的计算方法。

1.二次曲线拟合

采用某个样本光曲线数据，我们利用 Excel 软件来制图并进行二次曲线拟合。得到结果如图 1。

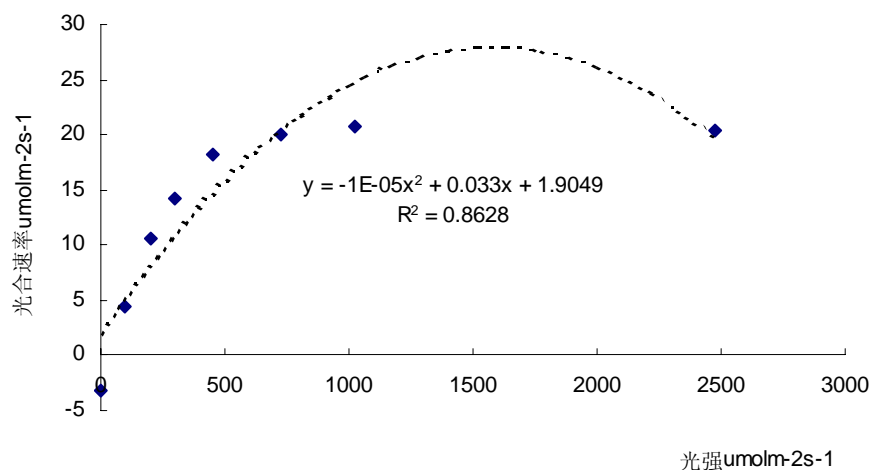


图 1 光曲线数据二次拟合方程与图形

通过这个图形我们可以首先设光强为零，得出光暗呼吸速率为 1.9049（这是错误的，因为呼吸

速率应该是负值)。另外，我们可以大致得出饱和点在 $1500\mu\text{mol}\cdot\text{s}^{-1}\text{m}^{-2}$ 左右。而利用光合速率为零来测量光补偿点，显然也会得出错误的数值状况。同时这种统计手段存在无法解释的致命弱点。

2. 直线拟合的情况

当然您也可以利用植物叶片在 $200\mu\text{mol}\cdot\text{s}^{-1}\text{m}^{-2}$ 以下的光强时，光曲线符合直线方程来准确计算出光补偿点、暗呼吸速率和表观量子效率等参数。我们重新利用同一数据进行拟合如图 2。

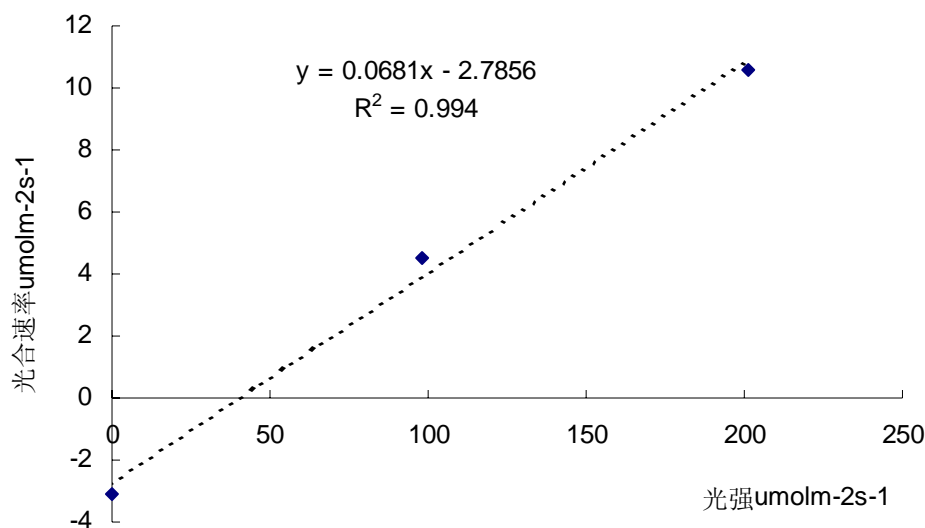


图 2 $200\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 以下直线拟合方程图形

通过图 2 我们可以发现拟合的效果要好得多。通过这个直线方程，我们可以利用图 1 同样的原理得出暗呼吸速率是 -2.7856，而光补偿点是 $2.7856/0.0681=40.9\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。而表观量子效率就是此直线方程的斜率是 0.0681。一般情况下，表观量子效率在 0.03-0.06 之间，图 2 所计算的数据基本属于正常。唯一的缺点是我们在 200 以下取的测量点太少了，略显美中不足。

3. 模型拟合

接下来，我们采用经典的 Farquhar 模型来进行拟合。统计方法我们采用 SPSS10.0 统计软件，利用其中的非线性统计分析模块。首先，我们来介绍一下本模型的理论公式：

$$A = (\text{light} * Q + A_{\text{max}} - \sqrt{(Q_i * \text{light} + a_{\text{max}})^2 - 4 * Q_i * A_{\text{max}} * \text{light} * k}) / (2 * k) - R_{\text{day}}$$

其中 A 为净光合速率， A_{max} 是最大净光合速率，Q 是表观量子效率，K 为曲角， R_{day} 是光下呼吸速率。

我们首先需要把我们的光曲线数据复制到 SPSS 的数据文件中。为每个变量如图 3 一样设计好变量名称。

	light	photo	var	var	var	var
1	.00	-3.10				
2	98.00	4.50				
3	201.00	10.60				
4	299.00	14.20				
5	453.00	18.30				
6	725.00	20.00				
7	1022.00	20.70				
8	2474.00	20.30				
9						
10						

图 3 SPSS 数据表

点击其中 **Analyze** 菜单，并进一步选择 **Regression**（回归分析）中 **Nonlinear**（非线性回归）。图 4 的窗口将弹出来。

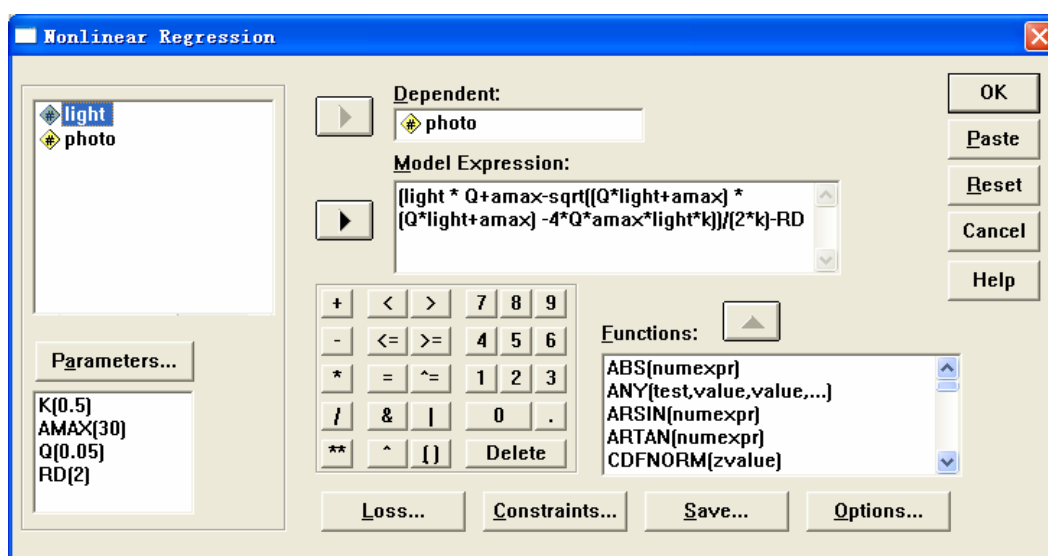


图 4 SPSS 的非线性回归窗口

请首先把光合速率变量选入 **Dependent** 区域内（利用中间箭头）。而在 **model expression** 模型表达式中输入我们的模型的公式。如果您不熟悉，请按照图 4 输入即可。在左下方的 **Parameters** 模块选项中，请按参数框内一样设置需要计算得到的参数及其初始值，一共有四个参数，曲角（K）、最大净光合速率（AMAX）、表观量子效率（Q）和光下呼吸速率（RD）。继续点击打开中间下边的 **Constraints** 的按钮，进一步设置前边四个参数的限制范围。一般而言， $0 < K < 1$ ， $A_{max} < 50$ ，Q 在 0 和 0.125 之间。在 **Save** 按钮中设置您需要保存下来的预测值 **Predict values**。

全部设置完毕后点击窗口右上角的 **OK** 按钮来确定，软件将自动迭代计算出统计分析结果。见图 5。

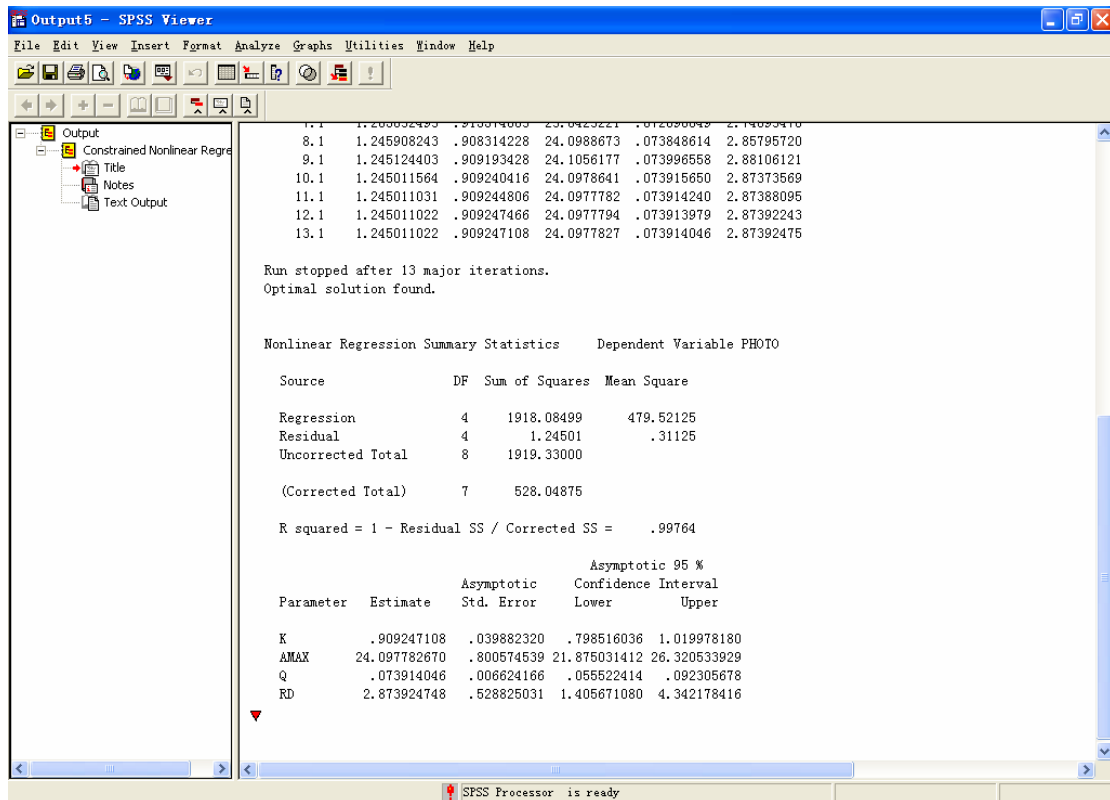


图 5 统计分析结果

最后得出曲角为 0.909，Amax是 24.097，表观量子效率是 0.0739，光下呼吸速率是 2.87。R² 为 0.99764，效果非常好。进一步利用这些数据我们可以做出拟合图，见图 6。

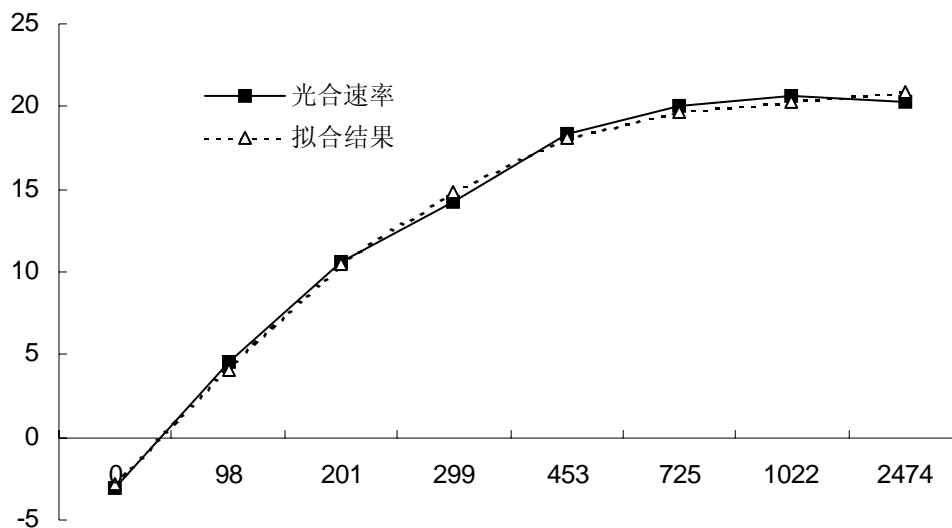


图 6 模型拟合结果与图形

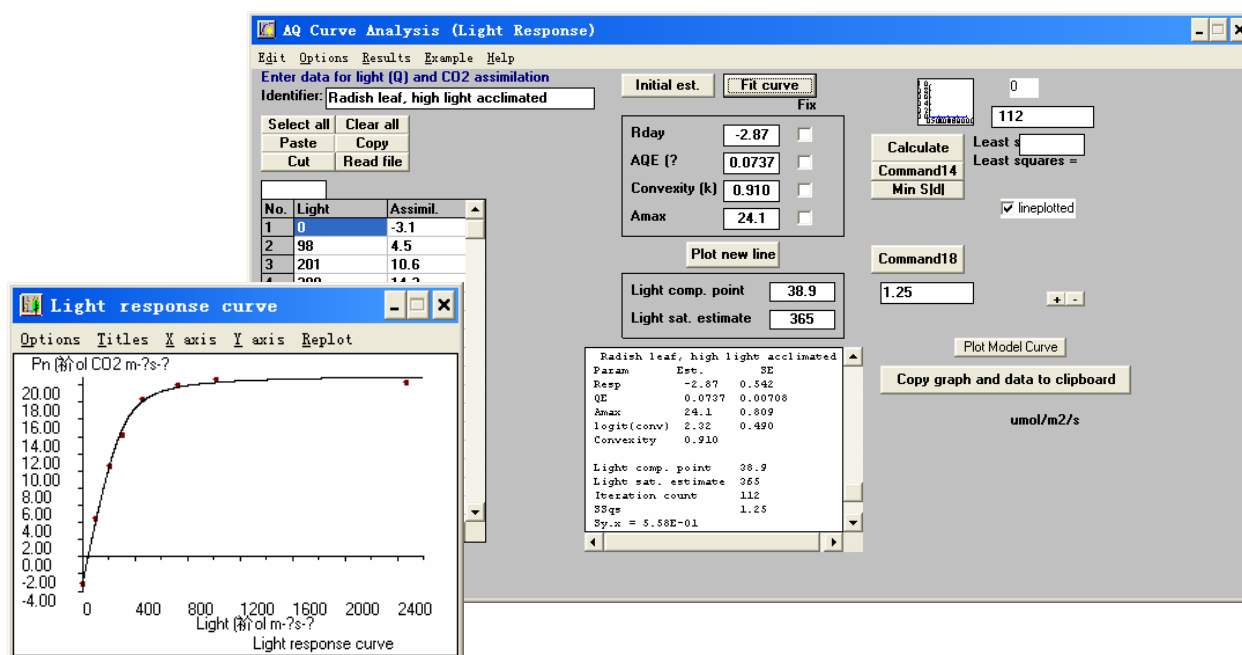
以上图形我们可以看出，显然，模型拟合效果最为理想，同时我们比较全面的计算出了所有相关参数。利用计算得出的最大光合，我们可以把 200 以下的直线方程与最大净光合速率与X轴平行的这两条直线相连，得出交点，其Y轴的数值即为光饱和点 (Walker,1989)，这和我们一般意义上的

饱和点是不同的，但是是唯一客观计算得出的。本例子中我们得出最大光合速率为 $395\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 。

以上的讨论中唯一美中不足的是我们在例子中没有考虑到 KOK 效应对模型的影响。请感兴趣的研究人员进一步分析论证。您也可以采用不同的光合模型来进行拟合，并从中选出最适合的一种。

4. 光合统计软件分析

国际上目前唯一商业化的光合数据分析软件是 Photosyn assistant。由英国 Dundee Scientific 公司销售。其联系地址是 14 Menzieshill Road, Dundee, DD2 1PW, United Kingdom。电子邮件为 sales@scientific.force9.co.uk。感兴趣的研究人员可以自行购买。



利用这一软件您可以自行选择把您的数据复制到其中还是直接读入，并直接计算出所有参数。

以上软件的好处是简便易用，但是缺点是其主要依据 Farquhar 模型，用户不能自己选择模型或增加模型，这在很大程度上限制了我们的应用能力。

5. 结论与讨论

光合数据分析中二次曲线拟合尽管在国内有很多人采用，但其不是正确的统计方法。这一点我们通过考察国外的经典文献可以看出，因此我们不建议您采用。利用高级的统计分析软件如 SPSS 的非线性回归功能可以非常灵活地采用不同的模型进行统计分析，是我们推荐的首选。当然您也可以把这些手段应用到 ACI 曲线的分析上。Photosyn assistant 软件尽管具有一定的权威性，但由于不能选择模型导致其具有致命的弱点。当然，最后我们要提醒您的是，请注意统计分析软件如 SPSS 等软件正版的问题。我们强烈推荐您使用正版软件，尽管我们不销售此类软件。

参考文献

1. Walker DA, 1989, Automated measurement of leaf photosynthetic O₂ evolution as a function of photon flux density. Philosophical transactions of the Royal Society London B. 323, 313-326.
2. Graham D.F. Farquhar et al. 2001. Models of photosynthesis. Plant Physiology. 125: 42-45
3. F. P. Healey et. Al. 1971 The Kok Effect in *Chlamydomonas reinhardtii*, Plant Physiology. 47:373-379

致谢：

本文在构思的过程中得到了中国科学院植物研究所樊大勇博士、中国林业科学研究院森林保护与生态环境研究所赵广东博士和中国林业科学院资源与信息研究所雷相东博士的大力支持和协助，他们提供了很多宝贵的意见和计算方法上的指导以及正版的 **SPSS** 统计分析软件。同时，北京大学城市与环境学院的贺金生教授也给予了鼓励和支持。在此一并对他们的无私和专业精神致以衷心的感谢！

最后感谢基因公司提供正版的 **photo assistant** 软件使本文得以最后完成。