

精准氮素评估专题

- 1 现代农业氮素评估新技术
- 2 Dualex 3 植物精准氮素检测仪
- 3 Dualex 4 植物氮平衡指数测量仪
- 4 利用多酚评估植物氮素技术原理
- 6 几种氮素评估常用仪器的对比
- 7 Dualex 系列仪器在农业上的应用



引言

氮素是影响作物生长发育、品质形成的最重要的营养元素之一，因此建立科学的方法进行精准氮素评估，在农业管理中占有极其重要的地位。

现代精准农业管理要求不仅能快速准确评估氮素，且对样本和环境不构成损害，无损测量技术就是适应这一要求而发展起来的。目前在国内科研和生产中应用较多的是光谱遥感技术和叶绿素仪。遥感技术能迅速省力的获得大量的数据，但传统的多波段反射光谱所计算出来的植被指数因其空间分辨率低而导致测量偏差大，此外，遥感技术还容易受到叶片含水量、冠层结构、大气对光谱的吸收等影响。叶绿素仪监测植物氮素状况，一方面受品种、发育阶段、测定叶位和叶片上测点位置的影响，另一方面，当植物受到环境胁迫时，叶绿素含量变化有滞后现象，不能准确反应氮含量的变化。

Dualex系列多酚测量仪采用植物荧光技术，无损测量植物多酚，并利用多酚与氮素浓度的显著相关性来评估氮素状态。当植物叶片发生胁迫，特别是当营养元素减少而限制了植物生长时，多酚的含量会显著的增加。当氮限制植物生长时，根据营养平衡假说，碳水化合物会聚集在植物组织内，碳水化合物浓度的增加导致了多酚含量的增加。所以对多酚的测定可以评估植物氮的状态。

除了具备能无损伤的迅速、准确、便捷的反映植物体内氮素的状态外，Dualex多酚测量技术与其它氮素评估技术相比，具有准确率高，不受冠层结构、天气环境等影响的优点；同时对氮的含量变化反应极其敏感，能及时反映植物氮素的状态，准确判断施肥时间。

Dualex 3 FLAV 精准植物氮肥管理检测仪

目前，国际上很多农业种植者，农业研究专家以及环境保护方面的专家学者非常关心适量地施用植物所需要的肥料，以避免过多施放的肥料被冲入地下水中，以保护地下水资源。

国内的用户长期以来普遍使用叶绿素仪来评估植物的氮肥亏缺，叶绿素仪是通过测量植物的叶绿素的相对含量来间接反映植物的N肥亏缺情况。这种测量方式的测量时机是在对植物催肥之后，已表现出相对明显的性状时来测量，这种测量方式的缺点就是测量时间晚，测量时可能已造成N肥过量，造成污染。

法国Force-A公司以及国际研究中心通过15年来对植物多酚，荧光以及光谱的研究，应用植物多酚，荧光技术成功研制出Dualex 3 FLAV 精准植物氮肥管理检测仪，Dualex 3 FLAV可以在早期对植物催肥之前就可进行植物氮肥评估，防止氮肥施用过量造成对植物与环境的损害。



技术参数:

- 测量对象：植物叶片，可选浆果
- 测量参数：表层光学吸收率
- 测量区域：5mm直径
- 最大插入深度：70mm
- 吸收范围：从0.0到3.0
- 吸光率精度：<0.01
- 相应时间：<500ms
- 光源：2个发光二极管（LED）：
 FLAV：UV-A和红光；
- 探测器：1个硅光电二极管
- 存储容量：40000个多参数数据
- 使用界面：2×16数字LCD显示器
- 数据通讯：串口，可选RS232—USB转换器
- 温度范围：5—35° C（操作温度）
- 电源：可充电锂电池
- 电源工作时间：10小时
- 最大充电时间：2小时
- 总重量：950g
- 叶夹尺寸：185 x 43 x 33 mm
- 容器尺寸：150 x 100 x 55 mm
- 可选非叶绿素样品适配器

应用领域:

- 农林作物的培育（富含多酚蔬菜水果的培育、生长阶段的判断、N肥亏缺等）；
- 植物生理研究（多酚的生理功能等）；
- 植物保护领域（无公害农药的研制、农药残留等）。



Dualex 4 植物氮平衡指数测量仪

氮是植物生育必需的大量元素，是肥料三要素之一，在植物的生长发育过程中发挥着重要的营养功能，主要构成植物体内的蛋白质、核酸、叶绿素、酶、植物激素生物碱等重要物质。

现在较为普遍使用的植物氮素精准评估的方法是以土壤速效氮含量、叶绿素相对含量，以及NDVI等作为衡量标准，但这些方法都有自己的局限性，例如测量土壤氮含量忽略的氮的利用率；叶绿素含量发现氮肥亏缺的时间较晚，当反映出氮肥亏缺时，已经错过了施肥的最佳时期；NDVI等植被指数和叶绿素含量相似，而且测量结果受地被物等环境的影响，误差较大。

法国Force-A公司以及国际研究中心通过15年来对植物多酚、荧光以及光谱的研究，应用植物荧光技术成功研制出 Dualex 4 植物氮平衡指数测量仪，与其他同类型仪器相比，该仪器提出了更为准确的氮平衡指数NBI，仪器不但测量了叶绿素的含量，而且测量植物多酚的含量，在植物发生氮肥亏缺的早期就可以发现情况，避免错过最佳施肥时间。

应用领域：

- 植物营养学（氮肥精准管理）；
- 作物栽培学（氮肥精准管理、生长阶段的判断）；
- 植物生理生态学。

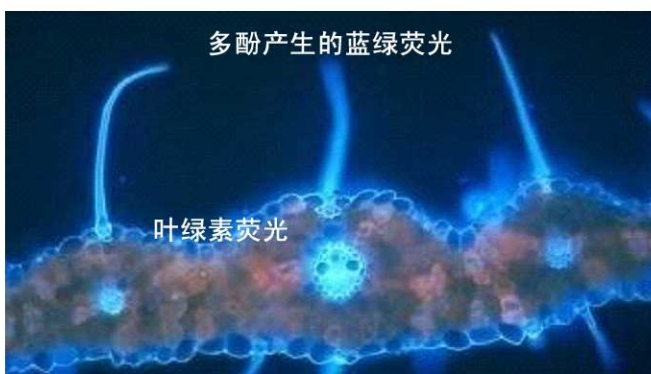
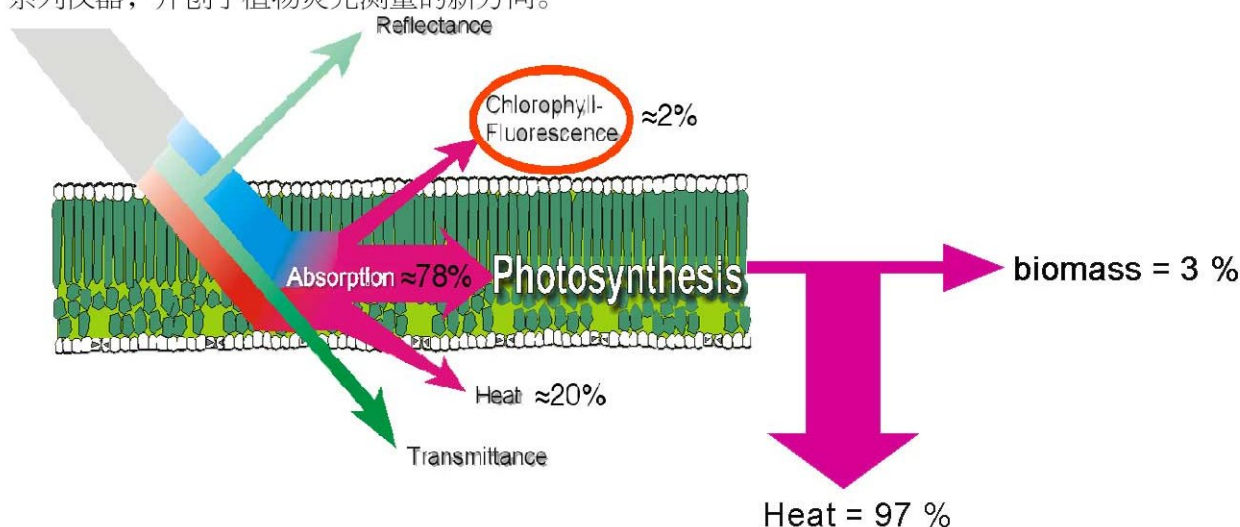
主要功能：

- 测量叶绿素
- 测量类黄酮
- 测量氮平衡指数NBI

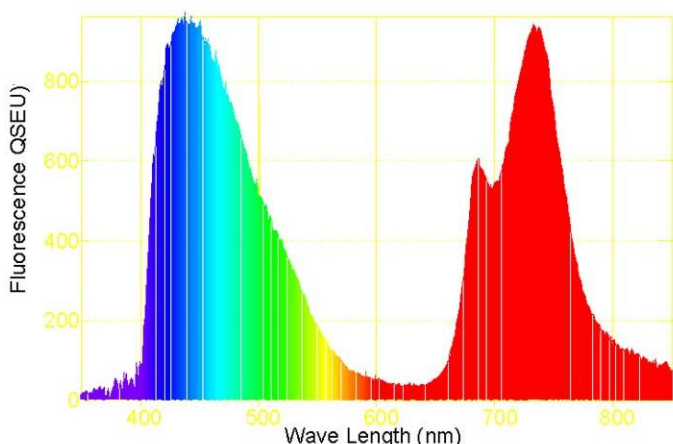


基本原理

太阳光线照射在植物叶片上时，会分为三部分，有一部分被叶片反射回大气中，还有一部分会穿过叶片，其余部分被截留在叶片中，而留在叶片的能量也不能被叶片完全吸收，大概20%的能量会以热的形式释放，有2%左右的能量以荧光的形式释放，其余78%的能量参与植物的光合作用。越来越多的研究证明，植物荧光是植物生理研究一个重要探针，代表着相关研究的先进水平。在这样的科研背景下，法国Force-A公司联合法国国家科学院等科研机构，多年致力于植物荧光研究，开发了Dualex系列仪器，开创了植物荧光测量的新方向。



小麦叶片的荧光显微成像



小麦叶片的荧光激发光谱

多酚光线吸收属性:

UV和可见光吸收范围;
植物表皮多酚对荧光的防护;
叶绿素红外荧光的激发率。

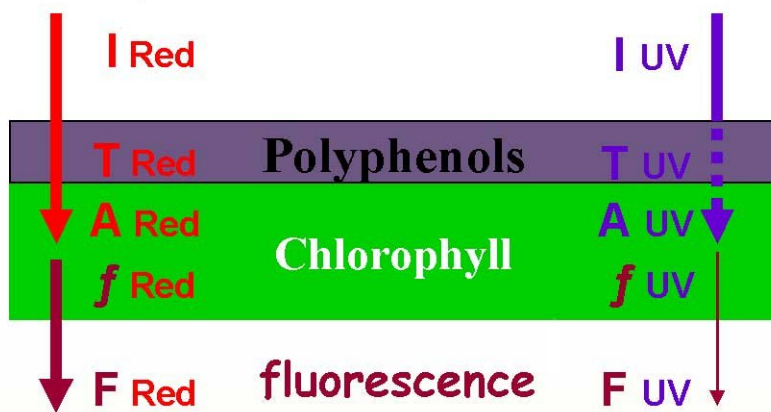
多酚荧光属性:

UV和可见光激发荧光;
可见光释放;
荧光释放比率及特征。

多酚组分:

类黄酮;
花青素。

I_{Red} = RED LIGHT EXCITATION
 I_{UV} = UV RADIATION EXCITATION
 I = IRRADIANCE
 T = EPIDERMAL TRANSMITTANCE
 A = MESOPHYLL ABSORBANCE
 f = FLUORESCENCE YIELD
 F = CHLOROPHYLL FLUORESCENCE



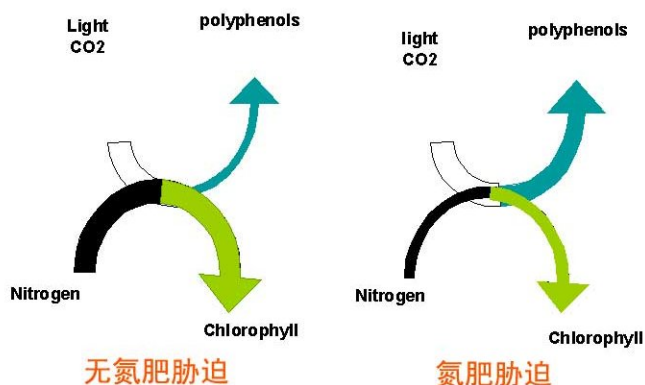
$$F_{Red} = I_{Red} * T_{Red} * A_{Red} * f_{Red}$$

$$F_{UV} = I_{UV} * T_{UV} * A_{UV} * f_{UV}$$

for $T_{Red} = 1$

and $\frac{I_{Red} * A_{Red} * f_{Red}}{I_{UV} * A_{UV} * f_{UV}} = \text{constant}$

$$\log \frac{F_{Red}}{F_{UV}} = \log \frac{1}{T_{UV}} = A_{Flav}$$

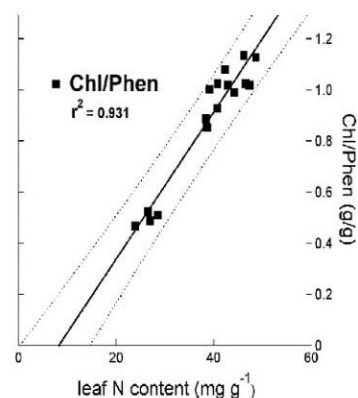


当未发生氮肥胁迫时，植物生长健康，生成叶绿素较多，而生成多酚较少；

当发生氮肥胁迫时，植物营养不平衡，生成较多的多酚，生成叶绿素较少。

法国Force-A公司联合法国国家科学院等科研机构，经过15年的相关研究，提出了更加精确的植物氮肥评估指标——氮平衡指数NBI (Nitrogen Balance Index) : $NBI = Chl/Phen$ (Chl: 叶绿素吸光度; Phen: 多酚吸光度)。

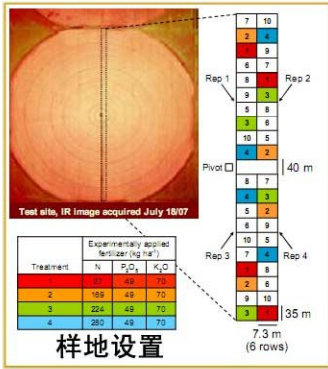
研究表明，NBI更能精确确定植物氮素状况，如右图所示：NBI与植物叶片氮素含量的相关系数高达0.931。



(Bryant et al. 1983)
(Coley et al. 1985)
(Hems & Mattson 1992)

几种植物氮素评估仪器之间的比较

加拿大农业与食品研究中心 (Agriculture and Agri-Food Canada, Research Centre) 使用几种常见氮素评估仪器对施肥后的马铃薯进行氮素评估, 并进行对比分析。



研究方法:

- 1、选取需氮量较多的马铃薯 (Russet Burbank) 为研究对象;
- 2、在一个生长季内分别对4块样地施加不同数量的氮肥;
- 3、施肥后的不同阶段, 分别用SPAD、GreenSeeker和Dualex 进行测量;
- 4、对测量数据进行对比分析。

SPAD 502 叶绿素仪

测量叶片的红光及近红外光透射率, 计算公式:

$$Chl = NIR/Red$$



GreenSeeker 便携式光谱仪

测量冠层反射的红光及近红外光反射率, 计算公式:

$$NDVI = (NIR - Red) / (NIR + Red)$$



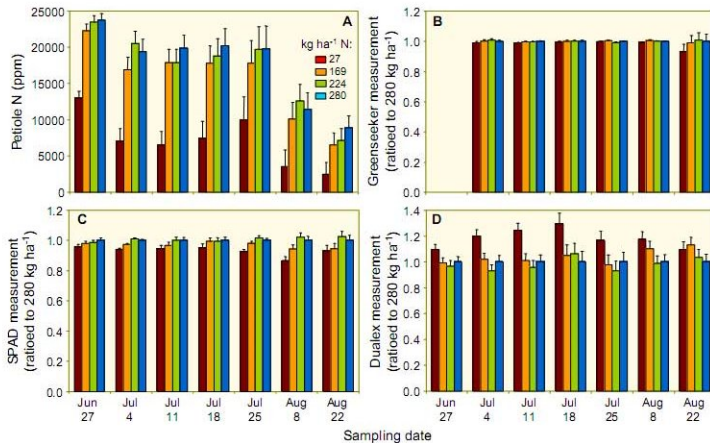
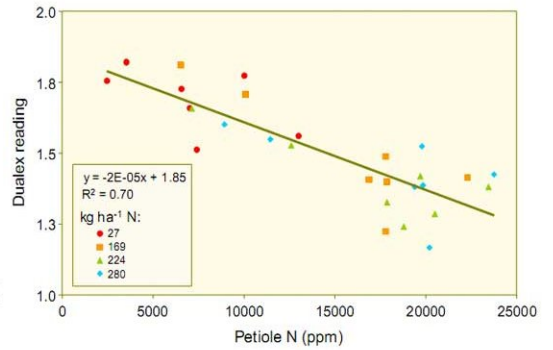
Dualex 3 精准植物氮素检测仪

测量植物叶片紫外光和红光的荧光比率。



结果分析

- 1、各样地施肥量不同, 但马铃薯产量没有受施肥量的影响, 大约在35~41吨/公顷范围内;
- 2、在氮肥施加量为27千克/公顷的样地中, 马铃薯叶片中氮的含量明显较低, 而在其它样地中, 叶片含氮量没有明显差别;
- 3、在经氮肥处理的样地中, GreenSeeker测量结果时空动态均不显著;
- 4、SPAD 502 测量结果随时间有一定的变化趋势, 但局限于个别时间和地点;
- 5、除6月27日和8月8日两次测量外, Dualex 测量结果变化较为明显, 特别是在氮肥施加量为27千克/公顷的样地中更为显著。
- 6、Dualex测量结果和叶柄氮素含量曲线拟合结果较好。



结论:

初步研究, Dualex可以为马铃薯的氮肥管理提供参考, 而且在其他农作物的氮素精准管理上有很大的潜力。

参考文献: Anne M. Smith, Gary L. Larson, and Shelley A. 2008, WoodsDeveloping diagnostic tools for nitrogen management in potatoes, Agriculture and Agri-Food Canada

Evaluation of the Dualex for the Assessment of Corn Nitrogen Status

Personal Authors : Nicolas Tremblay, Zhijie Wang, Carl Blec

Journal of Plant Nutrition, Volume 30, Issue 9 September 2007 , pages 1355 – 1369

The Dualex is a new leaf-clip instrument that can be used to monitor corn nitrogen (N) status. It is based on the measurement of polyphenolics (Phen), which are secondary metabolites affected by stress factors. The purpose of this study was to compare Dualex to SPAD (chlorophyll meter), the latter having been used for several years in monitoring crop N status. As well, the interest of combining Dualex and SPAD information in Chl/DUAD (ratio of SPAD to Dualex reading on adaxial side), Chl/DUAB (ratio of SPAD to Dualex reading on abaxial side), and Chl/Phen (ratio of SPAD to the sum of DUAD and DUAB) ratios were considered. Significantly positive and negative correlations with corn leaf N concentration were found for SPAD and Dualex, respectively. Successful N status diagnosis could be achieved with either Dualex or SPAD for corn within 21 days after topdressing while the Dualex lost sensitivity at later stages. Dualex measurements could be limited to leaves abaxial side or adaxial side, instead of adaxial + abaxial sides, with no inconvenience. Among all parameters considered, the combined ratios with SPAD (Chl) and Dualex readings, Chl/DUAD, Chl/DUAB, and Chl/Phen were strongly related to applied N dose at all samplings dates, and found the most sensitive and robust through the season.

利用Dualex 评估玉米氮素水平状态

摘要: Dualex 是用来监测玉米氮素水平的一种新型的叶夹式仪器。它是基于对受应激因素影响的次生代谢产物多酚的评估, 本文的目的在于比较Dualex与SPAD叶绿素仪, 后者在监测玉米氮素水平状态已经有多年的应用。同时考虑到综合 Dualex 与 SPAD 比率的信息, 比如 Chl/DUAD (SPAD与 Dualex 近轴面读数比), Chl/DUAB (远轴面读数比), Chl/Phen (SPAD与近轴面和远轴面读数和之比)。值得注意的是, 玉米叶片氮的含量与SPAD和Dualex的读数分别成正相关和负相关, 玉米顶肥处理后21天内, 氮元素状态的诊断可以从 SPAD或者 Dualex的读数来判断, Dualex在后期阶段失去了敏感性。Dualex测量限于近轴面或远轴面来取代整个叶片, 也非常方便。抽样数据显示, 所有考虑的因素中, SPAD 和 Dualex 读数的比率, 如 Chl/DUAD, Chl/DUAB, and Chl/Phen与N的含量密切相关, 可以据此找到玉米最敏感和最健壮的时期。

参考文献

1. A. Cartelat, Z G. Cerovic, Y. Goulas et. al. (2005) Optically assessed contents of leaf polyphenolics and chlorophyll as indicators of nitrogen deficiency in wheat (*Triticum aestivum* L.) *Field Crops Research*, Vol 91, Issue 1, 35-49
2. S. Meyer,ZG.Cerovic,Y.Goulas, et.al.(2006)Relationships between optically assessed polyphenols and chlorophyll contents, and leaf mass per area ratio in woody plants: a signature of the carbon nitrogen balance within leaves? *Plant, Cell and Environment*, Vol 29, Issue 7, 1338-1348
3. Oswaldo AR, Patrick HB, Steven AW, et. al. (2009) Evaluating foliar nitrogen compounds as indicators of nitrogen status in *Prunus persica* trees. *Scientia Horticulturae*, Vol 120, Issue 1, 27-33
4. S. Barthod,Z. Cerovic,D. Epron, (2007) Can dual chlorophyll fluorescence excitation be used to assess the variation in the content of UV-absorbing phenolic compounds in leaves of temperate tree species along a light gradient? *Experimental Botany*, 58(7):1753-1760
5. Rickard Mellgren. (2008) Effect of irrigation and nitrogen treatments on yield, quality, plant nitrogen uptake and soil nitrogen status and the evaluation of sap test, SPAD chlorophyll meter and Dualex to monitor nitrogen status in broccoli. Swedish University of Agricultural Sciences, Master thesis in the Horticultural Science Programme 2008:445 hp ISSN 403-099
6. C A.Kolb,E E.Pfündel. (2005) Origins of non linear and dissimilar relationships between epidermal UV absorbance and UV absorbance of extracted phenolics in leaves of grapevine and barley.*Plant,Cell & Environment*.Vol 28, Issue 5, 580-590

Indicators of nitrogen status for ornamental woody plants based on optical measurements of leaf epidermal polyphenol and chlorophyll contents

Personal Authors: Sabine Demotes-Mainarda, Rachid Boumazaa, Sylvie Meyerb and Zoran G. Cerovicb

Scientia Horticulturae, Volume 115, Issue 4, 21 February 2008, Pages 377-385

Indicators of plant nitrogen (N) status adapted to woody ornamental plants are essential for the adjustment of fertilization practices in nurseries. The objective of this study was to investigate whether optical measurements of leaf epidermal polyphenol (EPhen) and chlorophyll (Chl) contents could be used as N status indicators for woody deciduous and evergreen ornamental plants. One-year-old plants of *Lagerstroemia indica*, *Callicarpa bodinieri* and *Viburnum tinus* were grown outdoors in containers. They received low (TN1, 4 mgL⁻¹) or high (TN2, 105 mgL⁻¹) levels of N during 2 months in spring and summer. TN1 treatment limited shoot growth from 28 to 37 days after treatment initiation in *Lagerstroemia* and *Callicarpa*, respectively. Shoot growth was unaffected until day 176 in *Viburnum*. The mass-based leaf N content (NM) of a sample of young expanded leaves exposed to direct sunlight was tightly correlated with shoot N content and differentiated treatments several weeks before shoot growth reduction for the three species was therefore used as an index of plant N status. EPhen and Chl contents were recorded with Dualex™ and SPAD-502 leaf-clip meters, respectively. Dualex values were strongly and negatively correlated with NM, and differentiated the treatments early in the experiment, in all three species. SPAD values were positively correlated with NM for *Lagerstroemia* and *Callicarpa*, but not for *Viburnum*, because large variations in leaf mass per area (LMA) in this species compensated for variations in leaf dry mass invested in Chl. The SPAD/Dualex ratio was used to assess changes in the proportion of leaf dry mass allocated to proteins and polyphenols in response to fertilization. It differentiated between the treatments early in the experiment and was correlated with NM in all three species.

基于光学仪器评估的叶片表皮多酚和叶绿素含量来作为观赏树木氮素状态的指标

摘要: 适应与园林树木的植物氮素状态的指标对于调整苗圃施肥实践十分重要, 本文目的在于考察应用光学仪器评估叶片表皮的多酚和叶绿素含量来作为氮素状态的指标对于落叶植物和常绿观赏树木是否合适。分季节在3不同的树种紫薇 (*Lagerstroemia indica*)、紫株 (*Callicarpa bodinieri*)、地中海荚蒾 (*Viburnum tinus*) 中施不同水平的氮肥, 作为样本的平展嫩叶直接暴露在太阳下, 与茎中的氮含量密切相关, 选择其单位质量的叶片的含氮量 (NM), 作为该植物氮水平状态的指标。多酚和叶绿素的含量分别有 Dualex 和 SPAD 来测量。Dualex 值与 NM 密切负相关, SPAD/Dualex 读数比用来衡量根据施肥量来分配给蛋白质和多酚的叶干物质含量。结果表明, 三种植物早期的施肥试验结果是有区别的, 但均与 NM 密切相关的。

参考文献

1. Y. Goulas, ZG. Cerovic, A. Cartelat et. al. (2004) Dualex: A New Instrument for Field Measurements of Epidermal Ultraviolet Absorbance by Chlorophyll Fluorescence, *Applied Optics*, Vol. 43, Issue 23, 4488-4496
2. EE. Pfündel, NB Ghozlen, S. Meyer et. al. (2007) Investigating UV screening in leaves by two different types of portable UV fluorimeters reveals in vivo screening by anthocyanins and carotenoids. *Photosynthesis Research*, Vol 3, No 1-3, 205-221
3. ZG. Cerovic, N. Moise, G. Agati, et. al. (2008) New portable optical sensors for the assessment of winegrape phenolic maturity based on berry fluorescence. *Food Composition and Analysis*, Vol 21, Issue 8, 650-654
4. G. Agati, S. Meyer, P. Matteini, et al. (2007) Assessment of anthocyanins in grape (*Vitis vinifera* L.) berries using a non-invasive chlorophyll fluorescence method. *Agricultural and Food Chemistry*, 55, 1053-1063
5. Z G. Cerovic, N. Moise, G. Agati, et. al. (2008) New portable optical sensors for the assessment of winegrape phenolic maturity based on berry fluorescence. *Food Composition and Analysis*, Vol 21, Issue 8, 650-654

