



上海乾菲诺农业科技有限公司
Zealquest AgriPheno Co., Ltd.

AgriPheno™
Phenotyping Future

2020年9月 | 第13卷 | 第三期

快讯 NEWSLETTER
AgriPheno™

AgriPheno™
Phenotyping Future

2020年 第13卷 第三期

2020年 第13卷 第三期

AgriPheno 泽泉 Zealquest NEWSLETTER

泽泉
Zealquest®

泽泉快讯

ZEALQUEST NEWSLETTER

2020年9月 | 第13卷 | 第三期

泽泉
Zealquest®

上海泽泉科技股份有限公司
Zealquest Scientific Technology Co., Ltd.



泽泉快讯

ZEALQUEST NEWSLETTER

2020年9月 | 第13卷 | 第3期

《泽泉快讯》编委会

主 编：徐静萍

责任编辑：王吉生

编委会：甘宇宏 苟水燕 郭 峰 何红梅

黄亚东 吕中贤 马 霞 潘 婕

史建国 沈天跃 王 强 王阳阳

储一青 郑宝刚 赵志鸿 王玉杰

电 话：021-32555118

传 真：021-32555117

地 址：上海金沙江路1038号华东师大科技园2号楼8楼

E-Mail: newsletter@zealquest.com



《泽泉快讯》版权声明

《泽泉快讯》由上海泽泉科技股份有限公司印制，属于上海泽泉科技股份有限公司内部刊物

版权所有：©上海泽泉科技股份有限公司，并保留所有权利

本刊物内之所有数据均为上海泽泉科技股份有限公司版权所有，并受版权及拥有权条款所保障

未经版权持有人上海泽泉科技股份有限公司的书面许可，任何人或机构一律不得复印、分发及编辑本刊物内之所有数据。

上海泽泉科技股份有限公司已尽力确保本刊物内所有数据或其数据之来源均为可靠。所有数据并不存有任何形式的授权、代理、引申及认可。上海泽泉科技股份有限公司对任何人士采用或依靠此等方式，一概不会承担任何法律责任。

注：本期刊为公司内部刊物，不做任何商业用途

03

企业新闻 CORPORATE NEWS

- 03 泽泉科技叶绿素荧光PAM原理与应用网络研讨会成功举行
- 04 泽泉科技差示吸收技术P700、P515/535原理与应用网络研讨会成功举行
- 05 泽泉科技泛谈根系生态学研究内容与方法网络研讨会成功举行
- 06 叮咚~您有一份来自远方的数据等待查收

11

企业文化 CORPORATE CULTURE

- 11 一寸山河一寸血 我辈更需当自强
—泽泉科技党支部主题党日活动、泽泉科技工会观影活动
- 14 夏日炎炎送清凉 滴滴关怀暖人心
—泽泉科技工会委员会“送清凉”活动

15

行业动态 INDUSTRY DYNAMICS

- 15 YSI台式水质仪（5000/5100）产品升级
- 17 《叶绿素荧光仪基础实验教程》第二版发布
- 22 超微型浮游植物（Picophytoplankton）：沿海海洋变化的先兆
- 29 新书推荐
《生态站野外常用监测仪器分类与选择》

32

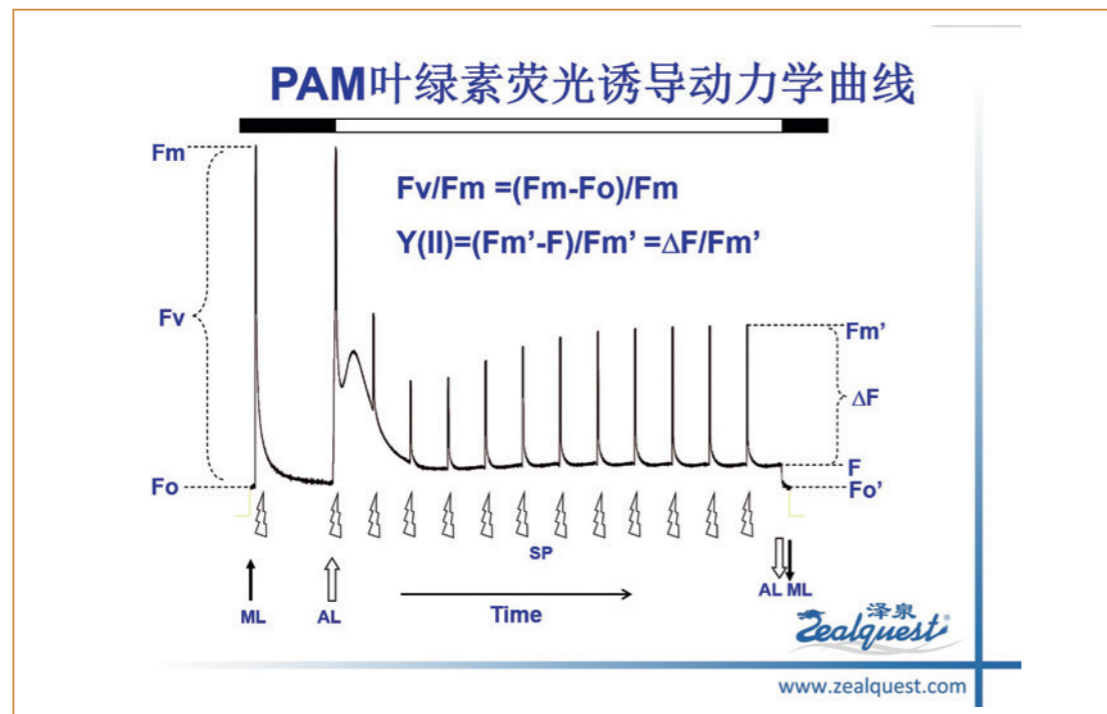
技术文章 TECHNICAL ARTICLE

- 32 Ampha Z32花粉活力分析仪的应用：优质番茄花粉的筛选
- 36 Ampha Z32阻抗流式细胞仪在纳米材料毒性筛选中的应用
- 40 CytoSense应用：夏秋过渡期英吉利海峡西部到中部浮游植物的分布
- 44 利用CytoSense数据优化丝状真菌的生物处理

泽泉科技叶绿素荧光PAM原理与应用网络研讨会成功举行

文/郭峰

为了让大家更好地理解光合作用基本过程，叶绿素荧光的测量原理，应用案例和实验注意事项，泽泉科技于2020年6月19日成功举办叶绿素荧光PAM原理与应用网络研讨会，300多位光合荧光研究领域的专家和学者应邀参会。



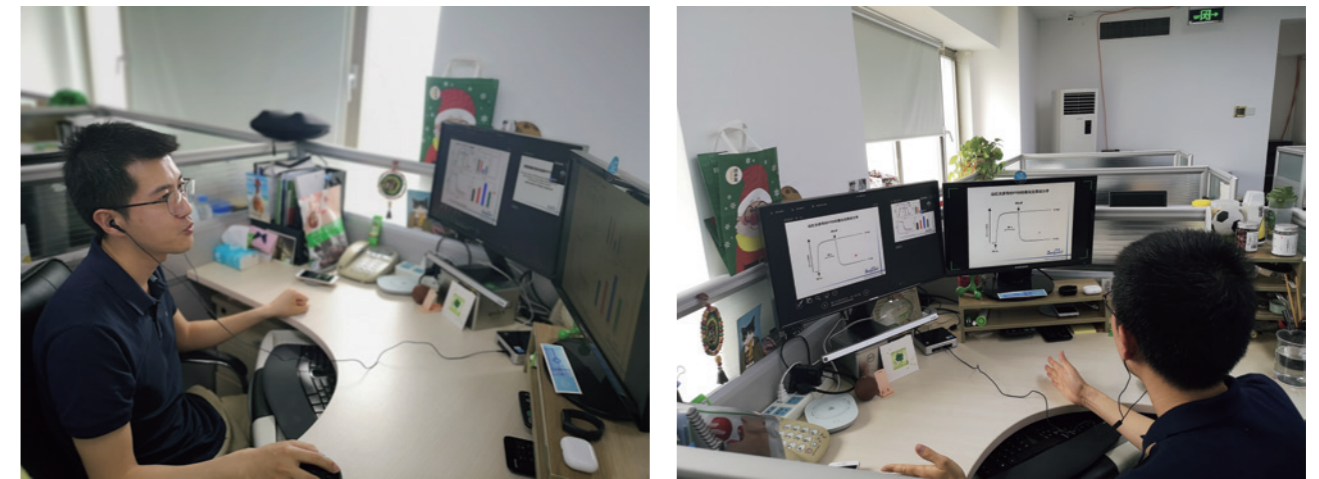
本次网络研讨会主要介绍了光合作用的基本过程、电子传递链、叶绿素荧光的测量原理、常用荧光参数的生物学意义、荧光仪应用案例解析，丰富多彩的PAM荧光仪种类和各自特点，及实验过程中需要注意的问题和测量技巧等。研讨会期间，与参会嘉宾就光合荧光的相关问题进行了讨论和交流。

如需叶绿素荧光PAM原理与应用网络研讨会资料，请识别以下二维码，提交资料索取，谢谢！



泽泉科技差示吸收技术P700、P515/535原理与应用网络研讨会成功举行

文/郭峰



为了让大家更好地理解P700、P515/535、环式电子传递、PQ库、跨膜电位等基础理论、测量原理和应用案例，泽泉科技于2020年6月29日成功举办差示吸收技术P700、P515/535原理与应用网络研讨会，近200位光合荧光研究领域的专家和学者应邀参会。

本次网络研讨会主要介绍了光系统I、差示吸收、P700氧化还原动力学曲线、PQ库、质子浓度梯度差 (ΔpH)、跨膜电位 $\Delta\psi$ 、ATP酶通透性、质子流速 (gH^+) 等的测量原理和应用等的测量原理和应用，还介绍了与光合仪联用的应用案例等内容，会后与参会嘉宾就光合荧光P700的相关问题进行了讨论和交流。

如需本次网络研讨会的资料，请识别以下二维码，提交资料索取，谢谢！



泽泉科技泛谈根系生态学研究内容与 方法网络研讨会成功举行

文/高巧

为了让大家更好地理解根序分级/根系功能模块化理论、先锋根/纤维根、根系拓扑构型分析、根及菌根真菌介导的根际过程、根系分泌物及其介导的根际过程、土壤呼吸、根系动态、根系经济谱等根系生态学研究热点内容及其研究方法，泽泉科技于2020年7月3日成功举办泛谈根系生态学研究内容与方法网络研讨会，300多位根系生态学研究专家和学者应邀参会。

本次网络研讨会主要围绕根系生态学前沿热点，介绍了根系分析系统WinRHIZO Pro在根系形态、根系构型、细根分级等领域的强大功能；根系生长监测系统CI-600/CI-602在细根周转和根系物候研究中的应用思路，也介绍了菌根生态学、根系生理相关研究方法和测量参数。同时通过案例梳理了不同环境胁迫、不同组织尺度的测量参数。研讨会期间，与参会嘉宾就根系生理生态的相关问题进行了讨论和交流。



如需本次研讨会的相关资料，请识别以下二维码，提交资料索取，谢谢！



叮咚~ 您有一份来自远方的数据等待查收

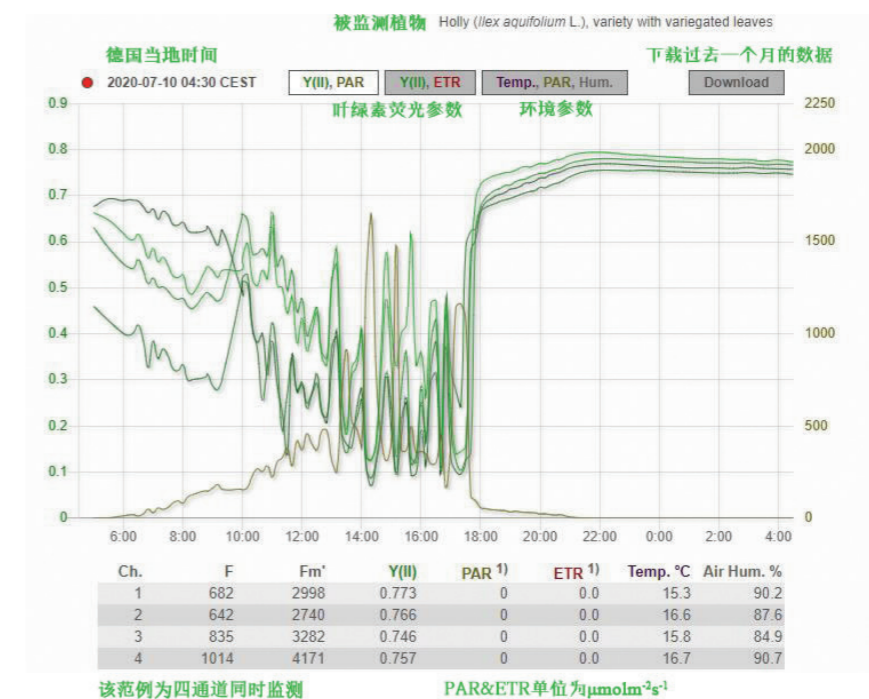
文/郑宝刚

这是一份来自德国小镇Effeltrich的实时在线数据，它的发送者是德国WALZ公司于2019年秋季推出的最新产品MICRO-PAM。紧凑型多通道长期监测荧光仪MICRO-PAM系统包括多个轻型叶绿素荧光测量头，可供实验现场多位点同时使用。多位点，程序化监测植物光合作用，特别适用于研究植物对自然环境变化和受控条件下的响应研究。根据采样间隔设置，MICRO-PAM续航可达数周和数月的时间。MICRO-PAM可以测量植物叶片，但其紧凑型设计的测量头，可以完美适用于测量小体量的样品。MICRO-PAM最初就是为测量极地环境生物结皮的光合作用而设计，原型机阶段一直在极地监测生物结皮的叶绿素荧光，可谓是出身硬核。除测量叶绿素荧光外，MICRO-PAM测量头还通过外部环境传感器记录光强度（PAR）和温度（Temp），通过内置环境传感器记录湿度（RH）。

信息时代，数据承载，扫描右方二维码即可查看远方的实时数据：



进入链接你将看到如下内容：



发送数据的MICRO-PAM现场如下图所示：



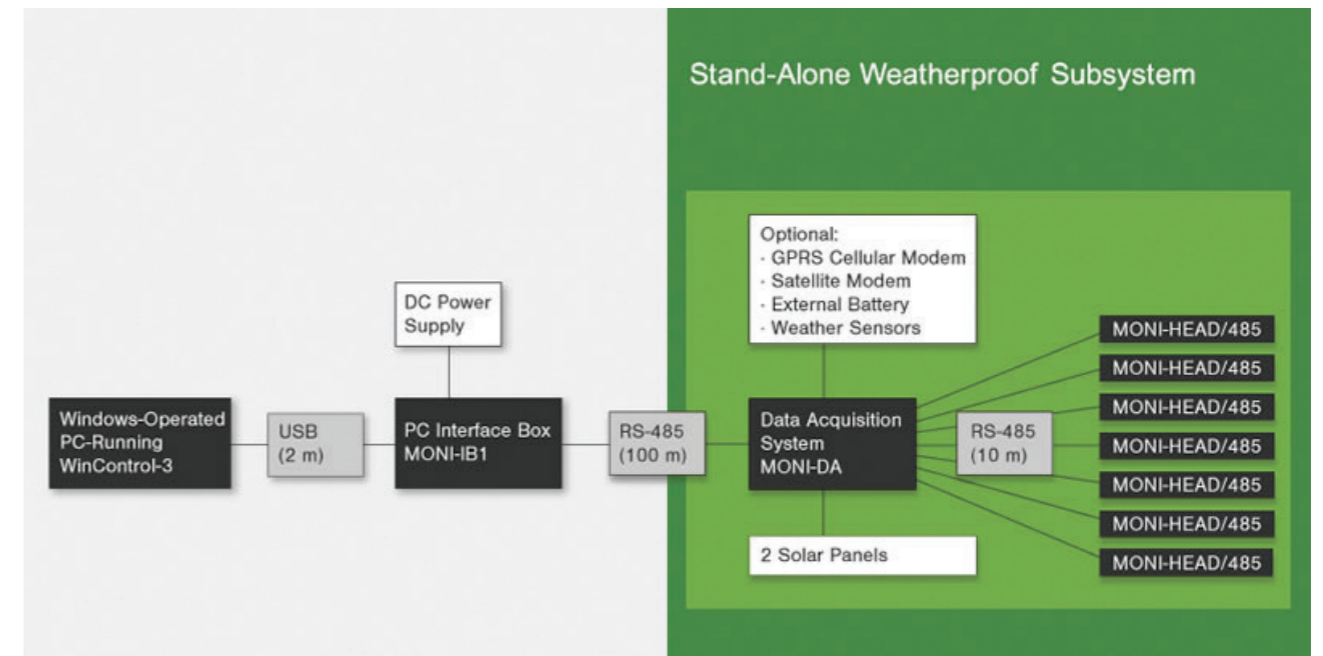
2020年初，正值春节假期，突如其来的新冠疫情使得广大科研人员返回实验室的行程变得波折，导致很多实验计划被迫暂时中断。虽然6个月过去了，但是，现在全国范围内的人员流动还远没到来去自由的时候。很多高校，研究所还处在“先许可，后进入”的模式。

在过去的6个月里，我们陆续接到了好多老师的电话咨询：“有没有可以连续监测的叶绿素荧光仪，实现无人值守的测量植物光合作用相关的叶绿素荧光？”当然有，那就是德国WALZ公司专为监测目的而设计的多通道连续监测荧光仪MONITORING-PAM和MICRO-PAM。

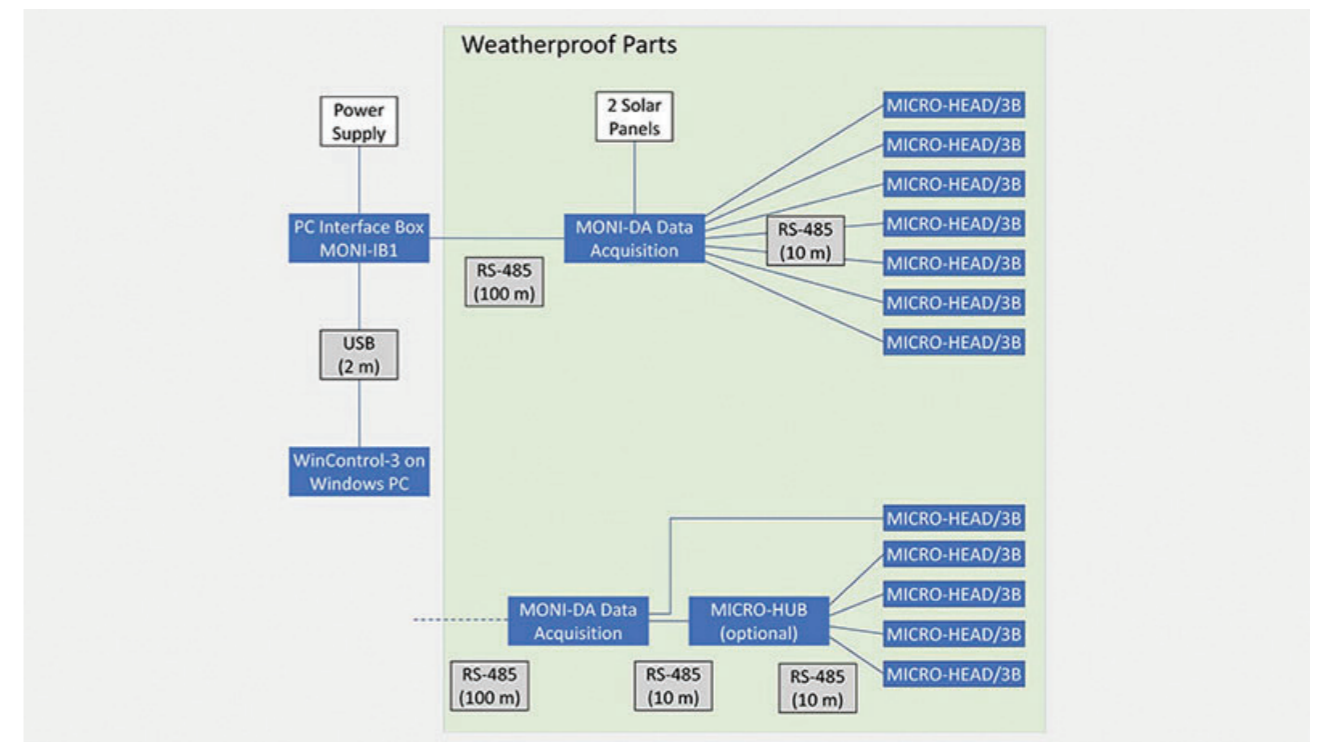
MONITORING-PAM面世时间为2005年，在全球范围已有15年的应用。MICRO-PAM原型机阶段一直在极低监测生物结皮的叶绿素荧光，可谓是出身硬核。



开展野外站点的全生长季观测，研究植物对光照，温度变化的响应，连续监测是非常有效的解决方案。MONITORING-PAM和MICRO-PAM离线版本均配置了MONI-DA数据采集器，数据采集器电池续航时间长，以每小时采集一次数据为例，可以维持约2个月，如果连接太阳能电池板或者供电条件允许，可以实现更长时间的监测，自动记录环境参数（光强PAR&温度Temp）以及叶绿素荧光参数（Y(II)&ETR等）。



MONITORING-PAM离线版配置，MONI-DA最多可同时连接7个MONI-HEAD



MICRO-PAM离线版配置(最多可以接16个MICRO-HEAD)
MONI-DA可同时连接4个MICRO-HEAD和3个MICRO-HUB
每个MICRO-HUB可以接4个MICRO-HEAD

近期我们在国内某单位的野外实验站安装了一套6探头的MONITORING-PAM，从大豆幼苗阶段开始连续观测其叶绿素荧光参数随环境的变化。同时该站点还配置了14通道的SIF（Solar Induced Fluorescens）观测系统，SIF系统为客户自主设计并开发了算法的，在此我们不做赘述。下图是MONITORING-PAM在野外的布放现场。



MONITORING-PAM和MICRO-PAM有两种运行模式，分别是Clock Mode和Batch Mode。Clock Mode是以固定的时间间隔采集数据，时间可以根据实验需求进行调整，几分钟到几小时均可。Batch Mode时MONITORING-PAM和MICRO-PAM会根据Batch文件内的程序指令在指定的时间执行特定的测量。如凌晨3:00测Fo,Fm, 其余时间执行Sat Pulse测F和Fm'，然后以每天为单位指定一天内的循环次数。

```

20200624_EP02.wcb
Edit Run Stop Step Delay:
while 1
at 04:00:00 // Wait until specified time of day (HH:MM:SS)
$FOFM = 1 // Start Fo, Fm determination
wait $FOFM = 0 // Wait until measurement finished
delay 7200 // Pause for specified nr. of seconds
for $loopvar = 1 to 13 // Start repetition block with specified number of repetitions
$a = 1 // avoid compiler optimisation
delay 10 // time to wakeup
$$ = 1 // Start saturation pulse
wait $$ = 0 // Wait until measurement finished
delay 10 // keep monida awake
$a = 2 // avoid compiler optimisation
delay 3600 // Pause for specified nr. of seconds
next
wend // End of repetidion block

```

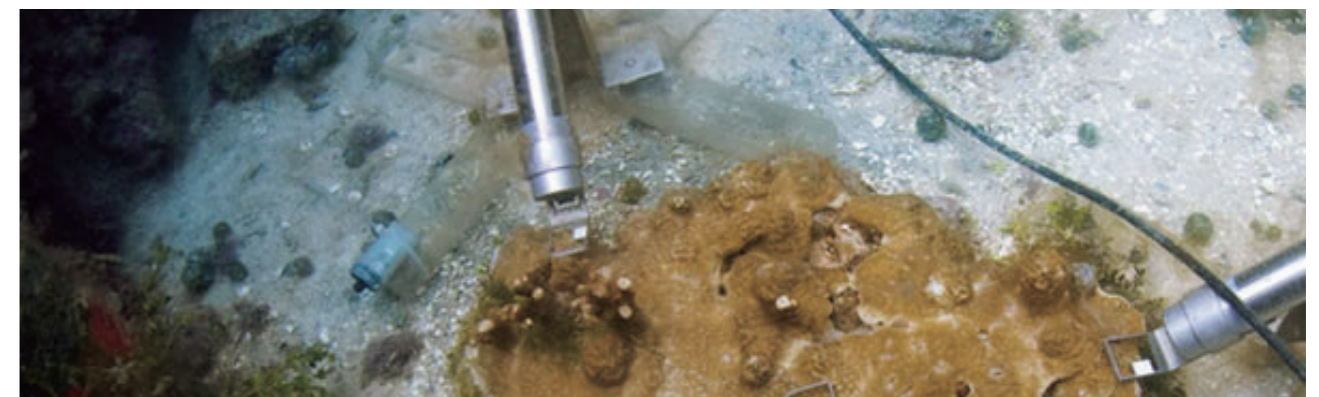
MONITORING-PAM和MICRO-PAM均为防水设计，所以您根本不用担心风吹雨淋。另外MONITORING-PAM还有水下版，可以用于珊瑚礁监测。着实称得上是上山下海，乘风破浪的叶绿素荧光测量利器。



MICRO-PAM



MONITORING-PAM陆地版



MONITORING-PAM水下版

炎热的夏天已经到来，您可以坐在实验室享受空调，WIFI，西瓜。叶绿素荧光测量就交给MONITORING-PAM或MICRO-PAM吧！

一寸山河一寸血，我辈更需当自强

——泽泉科技党支部主题党日活动、泽泉科技工会观影活动

文/王阳阳

1937年淞沪会战的最后一段，“八百壮士”奉命坚守上海四行仓库，以少敌多顽强抵抗四天四夜。

9月4日，天地软件园党委、工会组织我司党员及团员青年同志观看了爱国主义影片《八佰》。如果不是这部电影，这场战役在我也只是中学历史课本背过的一次失败的战役，如果不是这部电影，四行仓库的存在以及其曾经承载的故事在历史的长河里也就一行字的描述。

我们常说人生苦短，电影里的端午

说家乡的晚稻还没有收，只是想和弟弟借打扫战场来大上海看看，老算盘家里

介绍的对象都还没见过面……电影毫不掩饰地描绘了对战争的畏惧、对金钱的觊觎、对生命的渴望，可我们国家的人民善良淳朴，只想能过好好的日子。可在那段国民人如蝼蚁生命如草芥的苦难日子里，仅仅四天四夜，人生却显得很漫长，漫长的想逃又想死。可只要还活着，一切就要继续前进，哪怕只是为后面的留下一点点光，也能让整个民族后代冲破黑暗，免遭灭亡。中国人经历的苦难太多了，外敌入侵的时候，没有人求死，都是在求生，求家国与民族的生，不放弃，不屈服，誓死不当亡国奴。

“上海是一个国际市场，在上海打仗，容易引起国际注意”（蒋介石语）。原来上海的那场战争，只是一场自杀式的表演。可英美列强，是不会为羸弱的中国而得罪日本的。在他们眼里，实力高于一切，利益才是道理。历史证明，将家国命运寄希望于其他国家是不靠谱的。

日军偷偷潜至仓库墙下，企图用炸药炸毁铁门和墙壁。士兵陈树生身捆数枚手榴弹从高处纵身跃下，拉响导火索与敌人同归于尽，牺牲时他只有21岁。在给老母亲的遗书中，陈树生写道：“舍生取义，儿所愿也。”随后，

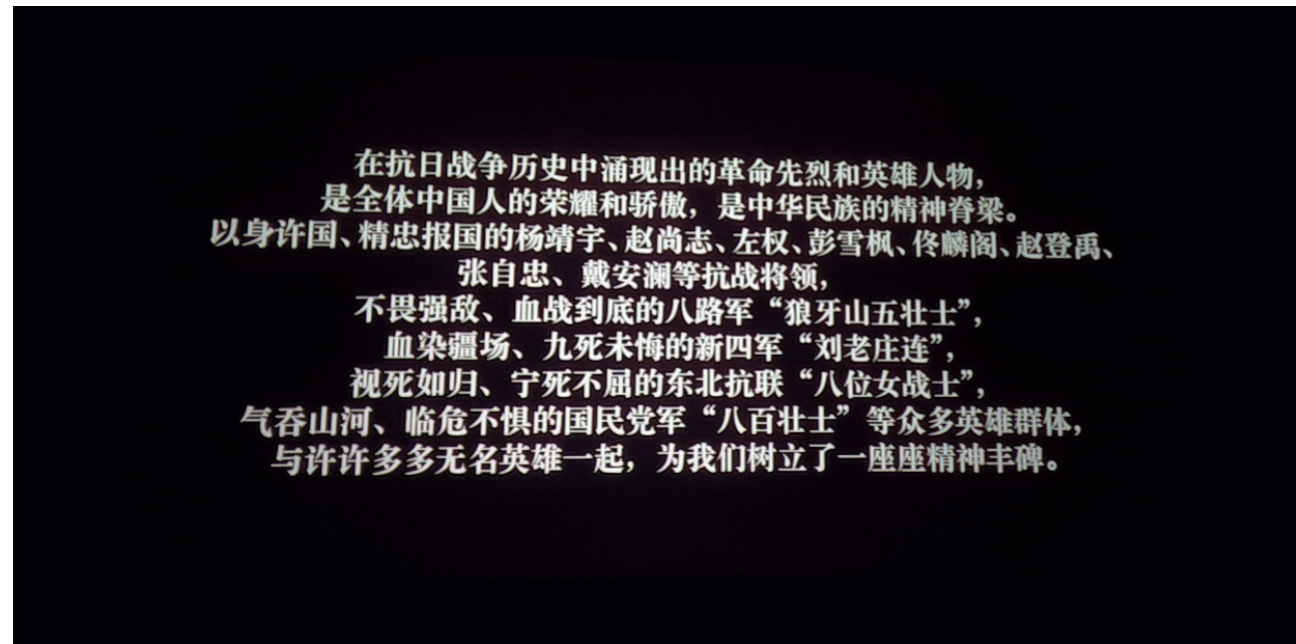


那一个个纵身一跃成了最大泪点。“把我们的血肉筑成我们新的长城”，是当时真实的写照。我们为那段国破山河碎，壮士孤军浴血的过往落泪。但中国男儿的热血不会唤起英美的同情，重温历史的我们也不应只为一时的感动。

电影《八佰》，关于曾经的屈辱，关于守卫家国的不易，四行仓库的意义是中国人最糟糕的时候仍然不屈服的精神，这精神粉碎了日本人三个月征服中国的妄想，让经历的大半年疫情、洪灾、经济受挫的我们重新振奋。前事不忘。后事之师。

电影《八佰》的最后，镜头满目疮痍的四行仓库逐渐拉升，来到当下充满生机与活力的现代化都市——上海市的远景：鳞次栉比的高楼大厦、整齐和谐的城市规划、欣欣向荣的繁华景象……恍如隔世。“硝烟将尽，尘未远余音萦绕。隔岸相顾，盼愿再无喧嚣……勿相忘，山盟海誓。无憾与你相遥，幸而留下微笑。”烟雨山河，历史沧桑，日月交辉，情怀萦绕！





1840-1949年，一百年间，我们的国家被世界列强洗劫一空。落后就要挨打，就会被屠戮、被侮辱和蹂躏。所幸，我们亿万人民靠着自己的努力终于重新站起来，现在的中国，再也不是当年的中国。四行仓库阻击战开始前，谢晋元给孙元良写了一封信：“晋元誓不轻易撤退，亦绝不作片刻偷生之计。在晋元未死之前，必向倭寇索取相当代价。”“决不负师座，不负国家。”谢晋元和他的“八百壮士”用血性和生命诠释了民族性格中的担当和坚韧，并绵延至今！

如今，我国在新冠肺炎疫情和洪灾当前，医护人员和武警官兵的担当和坚韧依然守护着我们，在暗藏危机的国际关系面前，国家面临“百年未有之大变局”，我辈当传承革命先烈的大无畏精神，自强不息，创新发展，守护这来之不易的家国安宁。

愿世界和平，各美其美，美美与共。



夏日炎炎送清凉 滴滴关怀暖人心

——泽泉科技工会委员会“送清凉”活动

文/赵志鸿

近日热浪席卷全国，高温天气的到来，给同事们带来了诸多不便，尤其是奋斗在客户现场的销售技术同事们，更是酷暑难当。

为进一步关心员工的身心健康，传递公司对员工的关爱，营造良好和谐的工作氛围，在这个“热情”的八月，泽泉科技工会委员会送上防暑降温礼包，为奋战坚守的同事们送去了丝丝凉意，也送上了一份诚挚的关怀。

感谢在酷热天气下仍然坚守岗位，恪尽职守的你们！

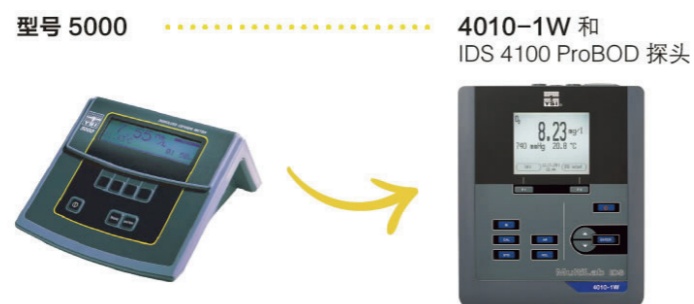


YSI台式水质仪 (5000/5100) 产品升级

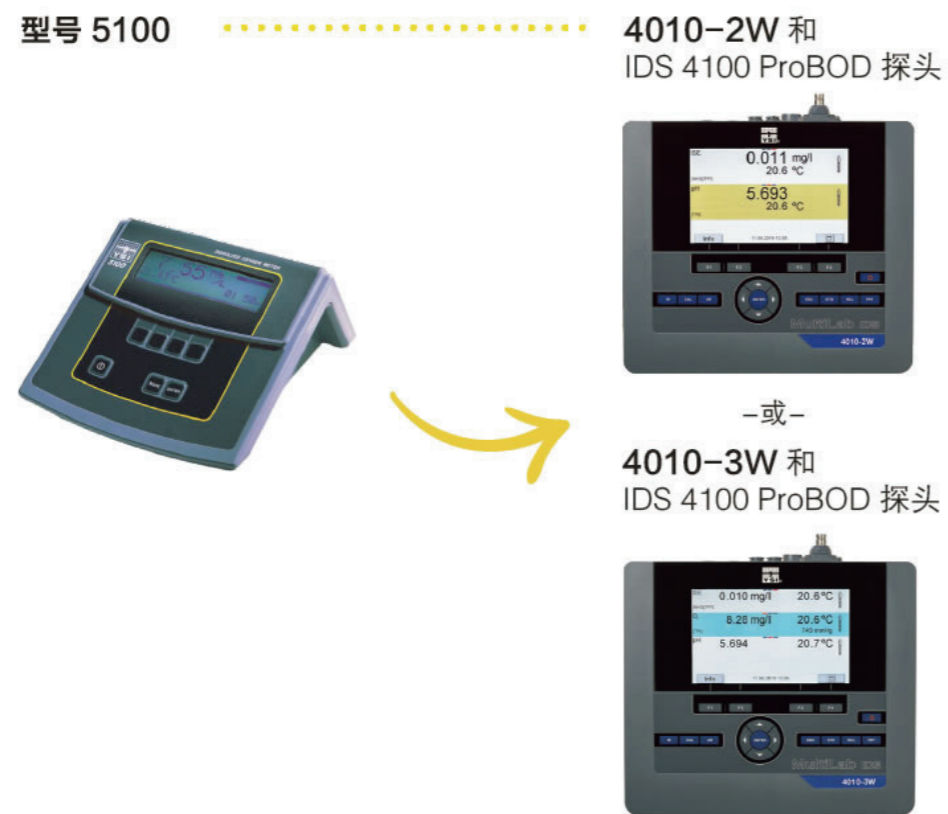
文/沈天跃

除了能够完成 5000 可以执行的所有操作外，系统还具有以下新功能：

- 多参数 (pH、电导率、ORP) - 只需添加传感器
- 内置气压计
- 与光学溶解氧传感器相兼容
- 通过 USB 而非 RS-232 传输数据提高传输速度
- 与无线传感器相兼容
- 更长的仪表保修期-3 年而不再是 2 年



MultiLab 台式仪器5000 和 5100 替换指南



除了能够完成 5100 可以执行的所有操作外，系统还具有以下新功能：

- 多参数 (pH、电导率、ORP、ISE, 例如氨) - 只需添加传感器
- 额外的测量通道
- 彩色显示屏
- 与光学溶解氧传感器相兼容
- 通过 USB 而非 RS-232传输数据提高传输速度
- 与无线传感器相兼容
- 更长的仪表保修期 - 3 年而不再是 2 年

MultiLab 升级一览 - 令人耳目一新的新功能!

- 无线传感器 - 无需电缆即可直接测量 pH、ORP、电导率和 DO (不带搅拌器的光学传感器)。将数据发送至远达 10 米 (30 英尺) 的仪器。
- 与覆膜 BOD 传感器相兼容 - 使用全新的 IDS 4100 BOD 或 5010 BOD 探头!
- 可通过一台仪表为多台 BOD 搅拌马达供电 - 提高处理量
- 在 2 和 3 通道型号中内置有 OUR/SOUR (耗氧速率/比耗氧速率) 计算功能

IDS 4100 ProBOD 探头



《叶绿素荧光仪基础实验教程》 第二版发布

文/郑宝刚

大家期待已久的《叶绿素荧光与光合作用能量转换叶绿素荧光仪基础实验教程》终于要与各位读者见面啦！

1996年11月，PAM荧光仪的发明人Ulrich Schreiber教授出版了一本名为“Chlorophyll fluorescence and photosynthetic energy conversion: Simple introductory experiments with the TEACHING-PAM Chlorophyll Fluorometer”的小册子。小册子不仅对TEACHING-PAM的原理和基本操作进行了介绍，还设计了一系列的教学实验。这些实验不仅有助于用户了解叶绿素荧光技术和仪器的操作，而且也可能为用户的科研工作提供帮助。



第一版的英文封面和中文封面，目录及实验列表

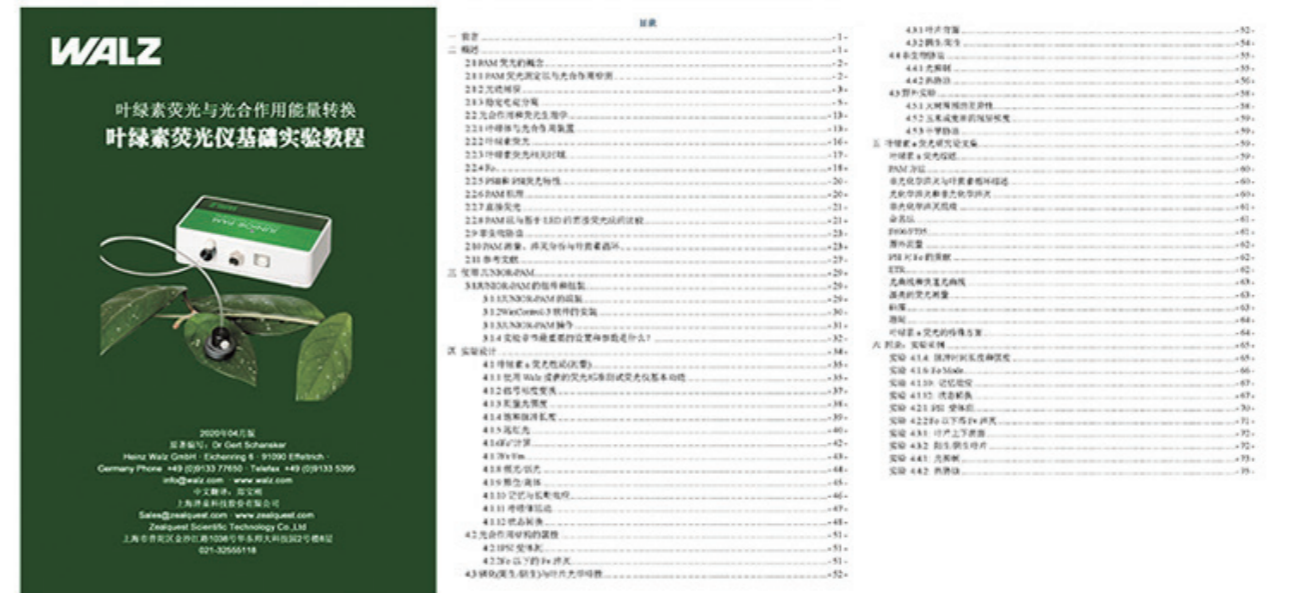
基础实验指南实际上是一个简短的实验教程，阐明了在进行叶绿素(Chla)荧光测量时应考虑的重要因素，并以简短实验的形式说明了几种叶绿素荧光现象。作为叶绿素荧光测量的重要参考文本，入门指南深受光合作用研究人员的欢迎，被广泛引用和传播，对广大WALZ产品，PAM叶绿素荧光仪的用户帮助良多，意义深远！

技术升级，TEACHING-PAM在2008年停产，取而代之的是JUNIOR-PAM。出于对新型号PAM叶绿素荧光仪使用方法的介绍，WALZ修订和更新了上述实验实验教程。新版实验教程使用的叶绿素荧光仪是JUNIOR-PAM，其中的一些实验设计也有更新。

JUNIOR-PAM是德国WALZ生产的最基础的叶绿素荧光仪，实验教程中的所有以JUNIOR-PAM描述的实验也可以用WALZ其它型号的荧光仪进行。在一些实验中，建议对绿藻或蓝藻进行重复实验。虽然JUNIOR-PAM没有比色皿版本，但是，其光纤可以插入悬浮液，或者指向装满悬浮液的比色皿顶部也可以测量。将比色皿外部用反光材料（铝箔）包裹或者使用具有反光面的样品架可以提高信号质量。

我们希望新版叶绿素荧光仪基础实验教程作为教材式文件可以帮助读者更加熟悉WALZ的叶绿素荧光仪。仔细阅读该入门指南，您就能够自信地使用PAM进行叶绿素荧光测量，开展光合作用研究。

前言由两部分内容组成。首先是由托德·卡纳(Todd Kana)撰写的一篇文章，重点介绍了使用调制测量光和饱和脉冲进行荧光测量的概念和参数。第二部分则更侧重于光合机理，它借助光合作用装置的生理特性作为叶绿素荧光测量讨论的切入点，由WALZ应用科学家 Gert Schansker博士撰写。



叶绿素荧光仪基础实验教程封面及目录

PAM (Pulse Amplitude Modulation)是一种技术, 为研究光合作用工作原理提供了可视化窗口。它的能力非常神奇和强大。通过将一束光照射到叶片上并测量叶片重新发射的荧光, 不仅可以测量光合作用的活性, 而且可以测量控制光合作用过程的几种潜在的调控机制。PAM荧光法测量叶片内部的光合作用活性, 几乎不受外界环境的影响。就像相机可以拍摄叶片的彩色图像一样, IMAGING-PAM相机也可以拍摄叶片内部的光合作用照片。在短暂的强光脉冲(<1秒)下, PAM图像被“显影”, 并产生光合电子传递速率(光合作用)的空间图像。无论是通过成像还是通过更常见的光纤式测量(本指南重点讨论的内容), 用PAM技术获得的信息已被证明对于理解光合作用的机制以及光合作用如何响应环境条件和胁迫的变化是有效的。PAM荧光测定法使我们能够监测光合作用的动态性能。

这本小册子旨在介绍PAM荧光法, 并提供一系列练习和实验, 讲授如何使用这项技术研究光合作用的行为和光合作用机理。在学习PAM荧光测定法时, 可以从理解一些基本原理开始, 并根据具有反馈效应的动态过程进行思考。我们都知道光驱动光合作用。阳生的环境比阴生的环境具有更强的光合作用驱动力。然而, 情况要比这复杂得多。必须考虑阳光驱动光合作用的有效性, 这取决于光合系统处理入射光线的的能力。生长在深荫条件下的植物具有适应能力, 使它们能够在低光强下非常有效地工作, 但当暴露在充足的阳光下时, 它们就会受到损害。经常暴露在充分阳光下的植物能够处理高光强, 但在处理低光强时往往效率不高。有效性, 或效率, 是由一系列调节和反馈机制决定的, 这些机制改变了植物利用光的能力。

不妨类比起来看。在阳光明媚的日子里, 更多的光子到达你的视网膜, 你的眼睛就像一个测光仪, 记录着明亮的光线。光合作用可以类似地“看到”光, 因为光的强度(以下称为辐照度)可以被光合作用装置感受到。你的眼睛可以通过瞳孔的扩张或收缩来调节到达视网膜的光量。试想阳光明媚的情况下进入户外。最初的致盲效应(能量过载), 之后是调整和驯化。视觉的调节是通过生物反馈机制进行的, 感觉会时刻发生改变。同样, 光合作用装置也通过反馈机制来响应这种入射光强的能量过载, 该反馈机制基于光合作用装置的实际生理状态来耗散多余的光能并改变光利用的效率。

叶绿素荧光参数表

源	方程式	样品状态	范围 (理论/实验)
PS II 最大光化学量子产量(Kitajima and Butler, 1975)	$F_v = \frac{F_M - F_0}{F_M}$	暗	[0, 1] [0, ~0.84]
PS II 实际光化学量子产量(Genty et al., 1989)	$Y(II) = \frac{F_M - F}{F_M}$	光	[0, 1] [0, ~0.84]
光诱导 (依赖 ΔpH 和玉米黄质) 的非光化学淬灭的量子产量 (Genty et al. 1996)*	$Y(NPQ) = \frac{F - F'}{F_M - F}$	光和暗	[0, 1] [0, ~0.9]
非调节性热耗散及荧光发射量子产量; 这种能量散失不包括跨膜 ΔpH 和玉米黄质的作用 (Genty et al. 1996)*	$Y(NO) = \frac{F}{F_M}$	光和暗	[0, 1] [0, ~0.9]
Stern-Volmer 非光化学荧光淬灭 (Bilger and Björkman, 1990)	$NPQ = \frac{F_M}{F_M'} - 1$	光和暗	[0, ∞] [0, ~4]
光化学淬灭系数 (Schreiber et al. 1986 as formulated by van Kooten and Snel, 1990)	$q_p = \frac{F_M' - F}{F_M' - F_0}$	光 若要计算 F ₀ 则需要光和暗	[0, 1] [0, 1]
光化学淬灭系数 假定 PS II 天线相互连接 (Kramer et al. 2004)	$q_L = q_p \cdot \frac{F_0'}{F}$	同上	[0, 1] [0, 1]
非光化学荧光淬灭系数 (Schreiber et al. 1986 as formulated by van Kooten and Snel, 1990)	$q_N = 1 - \frac{F_M' - F_0'}{F_M - F_0}$	光和暗	[0, 1] [0, ~0.95]

*Kramer 等 (2004) 为 Y(NO)和 Y(NPQ)推导出更复杂的方程式。Klughammer 和 Schreiber (2008) 表明由 Kramer 等 (2004) 推导出的方程可转化为 MINI-PAM-II 和 WinControl-3 中的所使用的简单公式 (GENTY 等, 1996 年)。

常用叶绿素荧光参数的意义, 计算公式, 参数范围

四 实验设计

通过本章设计的一系列实验, 可以帮助光合作用, 叶绿素荧光研究人员清楚的了解那些可以用叶绿素 a 荧光来探测和表征的现象。此外, 这些实验设计的另一个目的是提醒广大科研人员, 我们要感谢生物化学研究奠定的基础, 只有在这些基础之上, 我们才有可能对数据进行详细的解释。

这本实验指南中的实验分为几个主题: 1.深入了解叶绿素 a 荧光性质和叶绿素 a 荧光信号测量的实验, 2.深入了解光合机构性质的实验, 3.与驯化(阳生/阴生)和叶片光学性质有关的实验, 4.与非生物胁迫有关的实验。

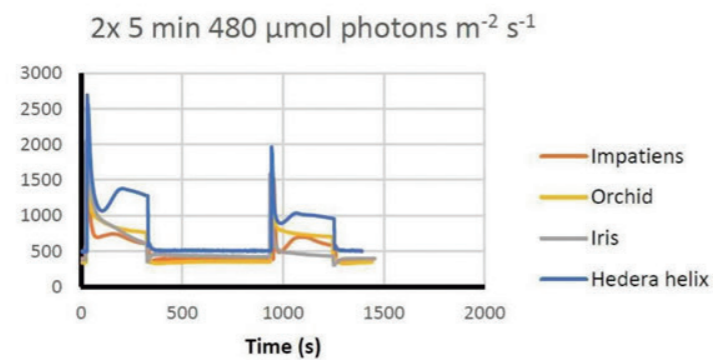
下面实验列表都带有详细的实验设计, 并进行了分类。术语“technical”是指与叶绿素 a 荧光测量相关的主题。术语“basic”是指与理解荧光测量相关的主题。至于“Advanced”, 与其说是困难, 不如说是指那些很好知道但与简单的荧光测量没有直接关系的话题。术语“physiology”指的是教给我们一些关于所研究有机体的生物学知识的主题。最后, 术语“设置”指的是帮助决定在进行特定测量时应该选择哪些设置的主体。

		基础	技术	设置	高级	生理学
5.1.1	荧光标准的使用	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5.1.2	信号缩放	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5.1.3	测量光强度	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5.1.4	饱和脉冲长度	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
5.1.5	远红光	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
5.1.6	F ₀ ' 计算	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5.1.7	F _v /F _m	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
5.1.8	强光/弱光	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5.1.9	原位与离体	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5.1.10	记忆和长期效应	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
5.1.11	叶绿体运动	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
5.1.12	状态转换	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
5.2.1	PSI 受体侧	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
5.1.2	F ₀ 以下的 F _v 淬灭	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
5.3.1	叶片背面	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
5.3.2	阳生/阴生叶片	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
5.4.1	光抑制	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
5.4.2	热胁迫	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>

叶绿素荧光仪基础实验教程实验设计分类

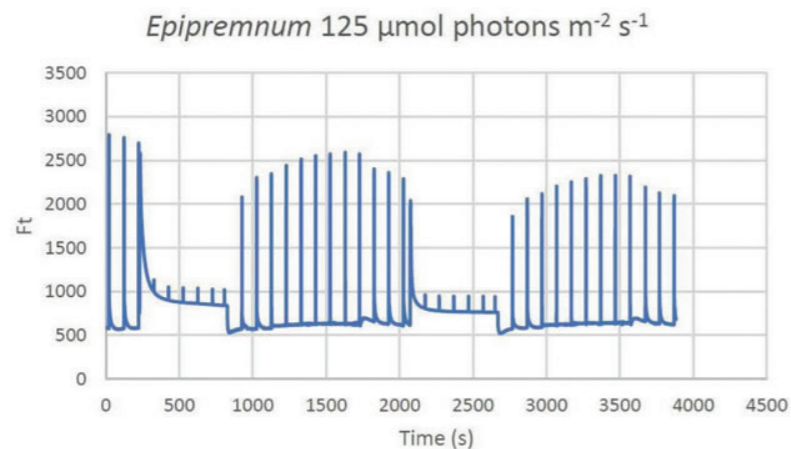
生理状态的概念对于理解PAM荧光测定法是很重要的。生理状态通常与最近经历的环境条件(记忆效应)有关，特别是那些具有胁迫效应的环境条件，以及它们是如何在生理上表现出来的。例如，干旱或高温会引起光合作用装置的变化，从而影响光的利用和光合作用速率，在胁迫缓解后，生理状态可能会保持良好的恢复。如果胁迫对光合作用装置造成了损害，就好比伤口需要时间才能愈合。即使环境中不太持久的胁迫，如阴天辐照度的快速变化，或与树枝和树木在风中移动(太阳黑子)有关的森林中闪烁的光，也可能对光利用效率产生可衡量的影响。环境的动态变化在许多不同的时间尺度上发生，并且响应于许多环境变量。植物感知这些变化，并通过反馈机制相应地改变其生理状态。正是这种状态决定了光合作用对辐射瞬时响应。这些变化可以通过PAM荧光仪进行测量和监测。

实验 4.1.10: 记忆效应



记忆效应意味着光合作用过程的动力学会受到之前发生的事情的影响。在胁迫的情况下，这可能是提前几天或更长时间发生的事情。这里，短时间间隔(10分钟)用于表征记忆效应。诱导动力学的轨迹在两次照光过程中是不同的。此外，诱导动力学与物种密切相关。

实验 4.1.12: 状态转换



叶绿素荧光仪基础实验教程附录实验范例结果

超微型浮游植物 (Picophytoplankton) : 沿海海洋变化的先兆

文/王阳阳

澳大利亚海洋现状与趋势报告 (原文: <http://www.imosoceanreport.org.au/>)

数据来源于澳大利亚的综合海洋观测系统 (IMOS), 该系统由国家合作研究基础设施战略 (NCRIS) 支持。

超微型浮游植物, 原绿球藻和聚球藻, 是小型 (直径<2微米) 的光合蓝藻细菌, 为世界的开放海洋贡献了大部分初级生产力 (Worden等人, 2004)。这两个属都生活在特定的生态位。原绿球藻生长在营养成分少, 光照充足, 温暖的热带水域, 对沿海水域不耐受。相反, 聚球藻分布在亚热带地区, 在营养丰富浊度较高的上升流地区或沿海地区最丰富。由于其体积很小, 超微型浮游植物的表面积与体积之比很大, 这使得它们与周围的海水有着密切的接触。这就使得细胞能够快速获取营养物质, 使它们能够对不断变化的环境条件做出快速反应。超微型浮游植物重量轻, 有浮力, 因此能够被洋流带到很远的地方。因此, 超微型浮游植物是我们沿海海洋变化的敏感指标。

澳大利亚的沿海海洋正在发生变化, 即主要边界洋流, 东海岸向南流动的东澳大利亚洋流和西海岸的利文流 (Leeuwin) 正在改变, 并进一步向南渗透温暖的热带水, 有时会导致毁灭性的海洋热浪。这些变化导致了澳大利亚南部海岸线的“热带化”, 并对海草草甸、海带森林、物种迁移以及渔业和水产养殖产生影响。然而, 人们对于变化不太明显的构成海洋食物网基础的海洋微生物群落知之甚少。西澳大利亚大学的研究人员分析了位于永加拉岛、玛丽亚岛和罗特涅斯特岛的综合海洋观测系统 (IMOS) 国家参考站 (NRS) 的样本, 这些地点代表了受澳大利亚边界洋流强烈影响的地区。研究分析了2009年至2018年期间浮游生物的丰度, 结果显示最小尺寸的浮游植物, 即超微型浮游植物, 正在向南移动。作为变化的敏感生物标志物, 它们在南部水域的出现可能预示着未来海洋微生物群落变化, 对我们的蓝色经济具有启示意义。

Key Data Streams

增强的边界流和阵发性的海洋热浪将热带和亚热带的原绿球藻和聚球藻等超微型浮游植物带到阿斯曼尼亚和澳大利亚西南部附近温和的南部水域, 对人类和生态系统都有影响。作为暖洋流的生物标志物, 超微型浮游植物是热带/亚热带微生物群落的敏感指标: 1) 可以让我们窥见未来南大洋变暖后的微生物群落; 2) 可以帮助我们模拟病毒疾病、病原体和其他微生物在海岸线的传播。利用敏感的生物标志物,



National Reference Stations

如超微型浮游植物，将有助于我们了解海洋食物链底端海洋微生物群落的变化及其对环境和海洋产业（如水产养殖）的影响。

研究方法

每月从多个深度的混合水样中采集三份1毫升海水样品，固定至最终浓度0.5%的戊二醛，并在液氮中冷冻至分析。用标准流式细胞仪方法分析了超微型浮游植物的丰度，并根据其叶绿素a（红色）和藻红蛋白（橙色）色素的相对自身荧光对原绿球藻和聚球藻丰度进行区分。

2009年开始，使用Beckton Dickinson Fasco流式细胞仪分析样本。

2015年9月开始使用CytoSense 分析样本。

两种仪器数据计数的校准：确定2013-2017年四年期间采集的重复样本之间的关系，并计算相应的换算系数。我们使用同一水样中的辅助色素二烯基叶绿素a（一种原绿球藻的标记物）来帮助纠正错误的检测。在没有检测到二烯基叶绿素a的地方，去除了由粒子和电子噪声引起的计数。我们根据IMOS NRS站的海水温度和盐度时间序列以及影响该站的已知事件（如气旋、季风降雨和海洋热浪）与浮游微藻的丰度匹配。

结果

在永加拉岛自然资源保护区，海水温度、盐度和超微型浮游植物丰度的季节模式说明了超微型浮游植物的优势生态位（图1）。原绿球藻通常在春季和夏季最为丰富，此时海水温度在温暖、清澈的太平洋水域的影响下上升，而太平洋水域正是原绿球藻的来源。

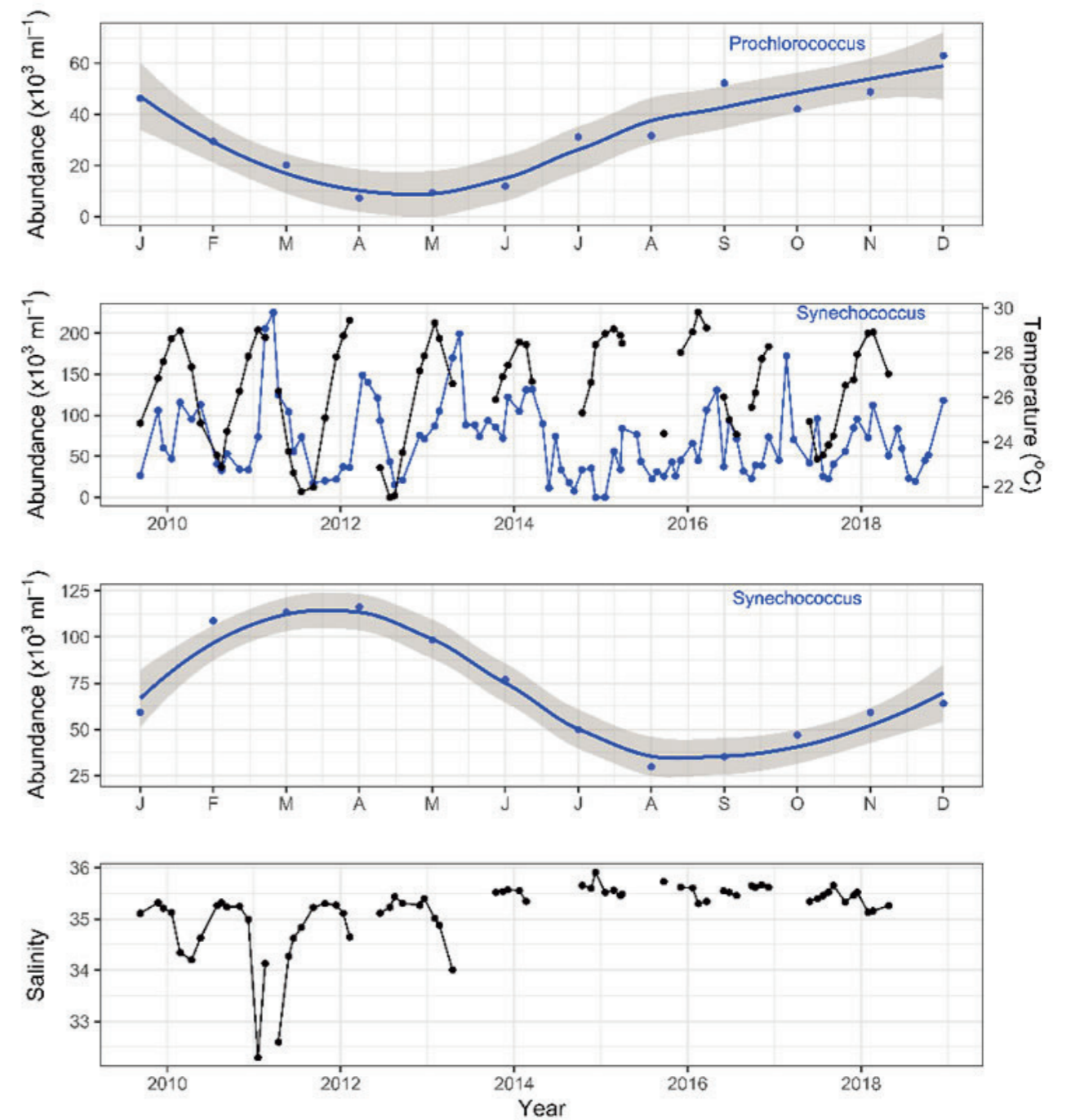
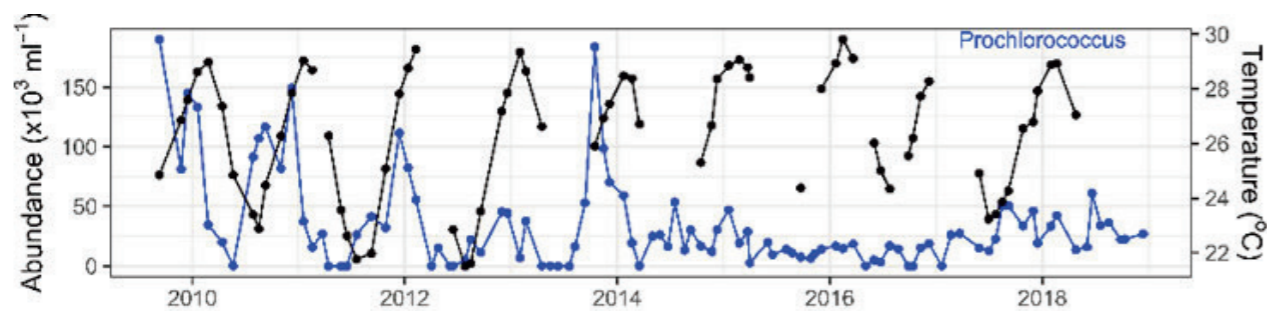


图1

然而，由于气旋（如2011年的热带气旋Yasi）引起的降雨导致海水盐度下降幅度相对较大，或12-3月间的季风影响，原绿球藻的丰度在年初突然降低。气旋和高降雨量也会导致水体混合和形成沉积物径流，从而增加营养盐浓度和浊度（数据未显示），不利于原绿球藻生长。相反，从夏末到秋季，聚球藻的丰度增加，然后随着冬

季气温的降低而下降，这证实了它们更喜欢温暖、浑浊和营养丰富的海水。从长期来看，超微型浮游植物丰度的模式似乎受到厄尔尼诺- ENSO的影响，在拉尼娜或中立年（2009-2014年）期间，其丰度可能高于厄尔尼诺年（2015年以后）。

在罗特尼斯特岛NRS，海水温度在2009-2018年间在18°C-23°C之间，2011-2012年期间温度达到25°C（图2）。2011年2月开始的高温是利文流强度创纪录并持续到2012年的严重海洋热浪的结果。2012年出现的低盐度海水（利文流的标志）证实了这一点。

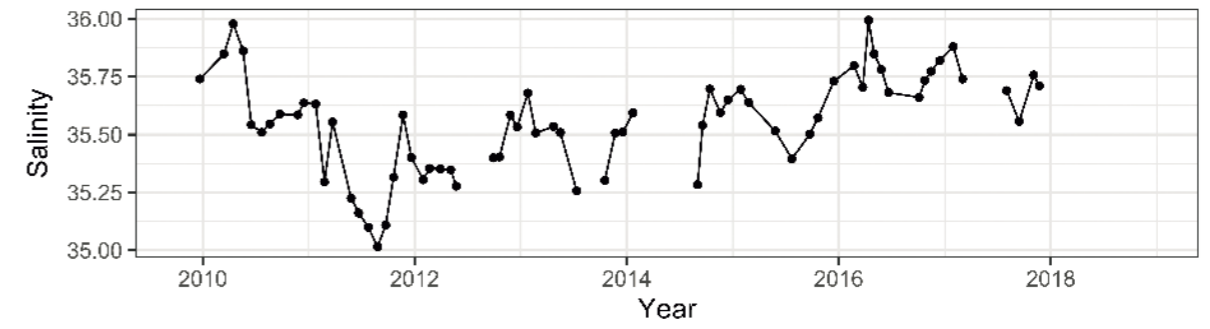
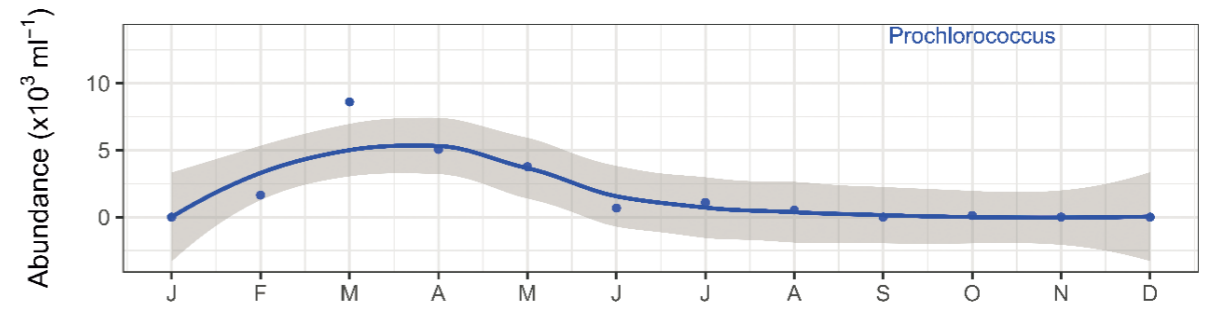
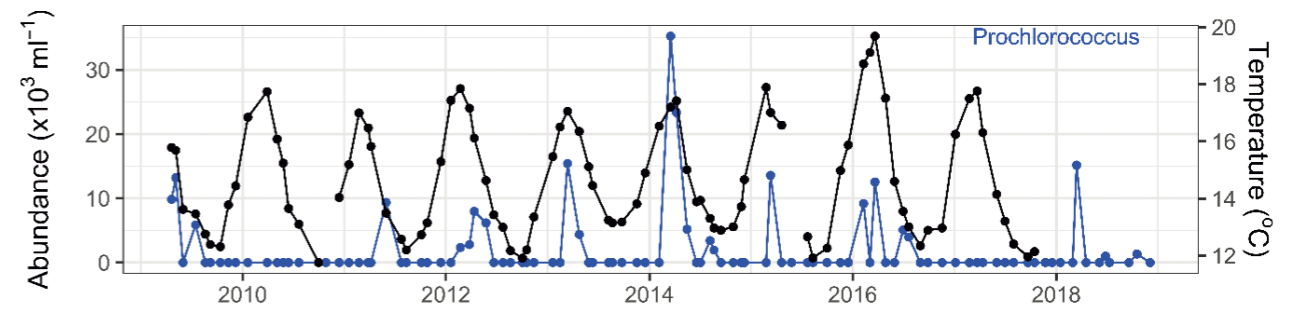
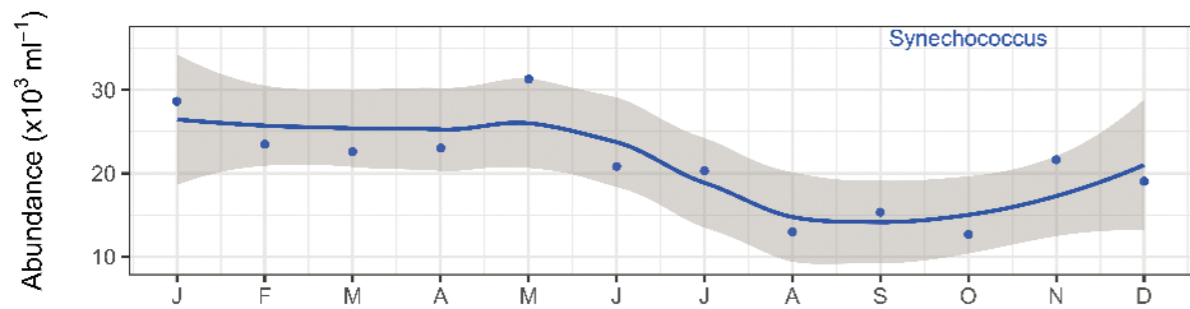
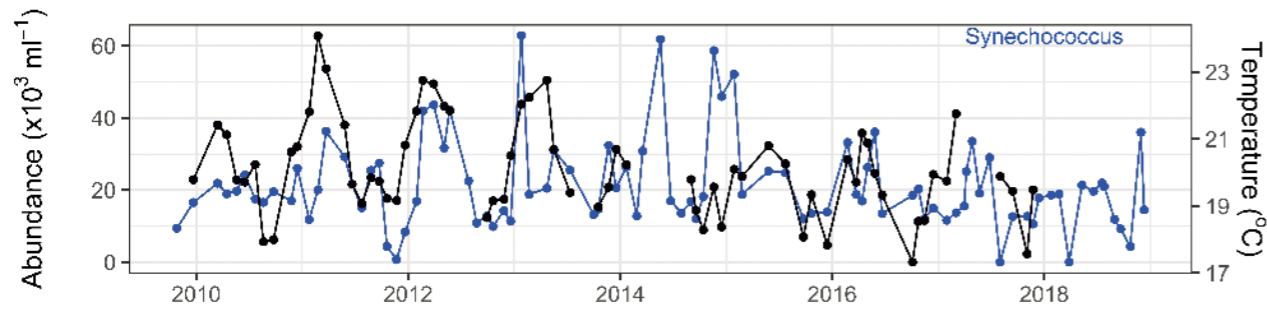
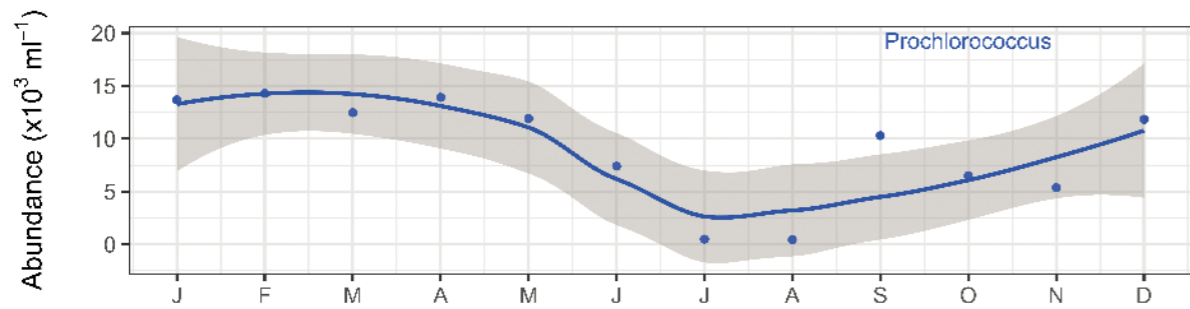
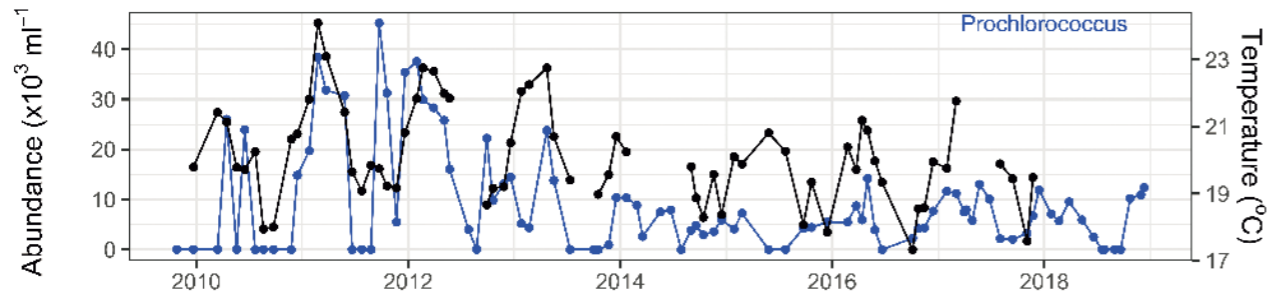


图2

热浪的一个直接影响是热带原绿球藻在罗特尼斯岛NRS的反常出现，其丰度至少是热浪条件外观察到的数值的两倍。此外，在2011-2012年期间，由持续的利文流，原绿球藻数量一直保持升高。在这个站点，聚球藻的丰度与海洋热浪条件的相关性很差，而且似乎更多地受到近岸向北流动的海岬流的沿岸上升流的影响。

在玛利亚岛NRS，海水温度具有明显的季节性循环，每年夏末达到高峰（图3）



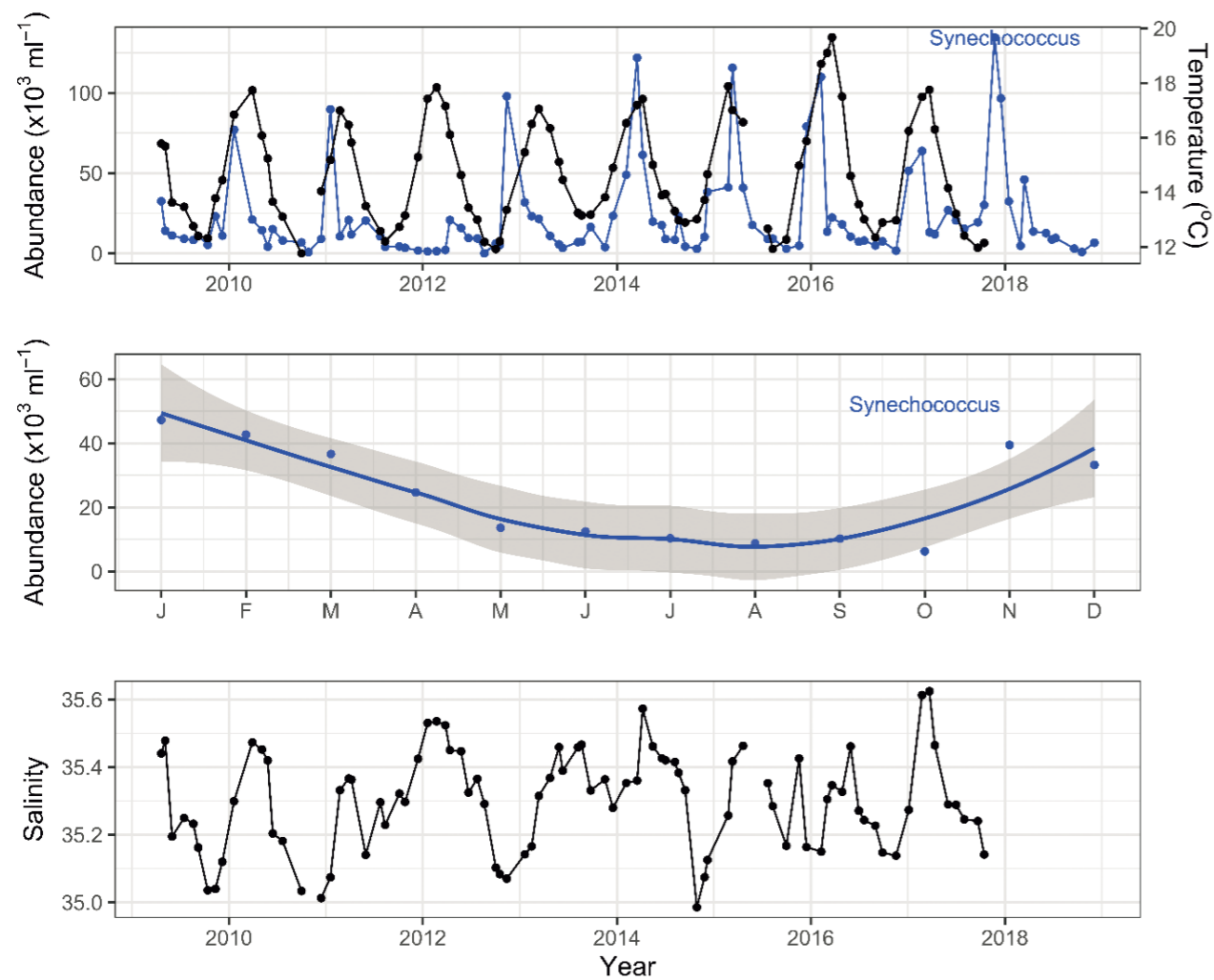


图3

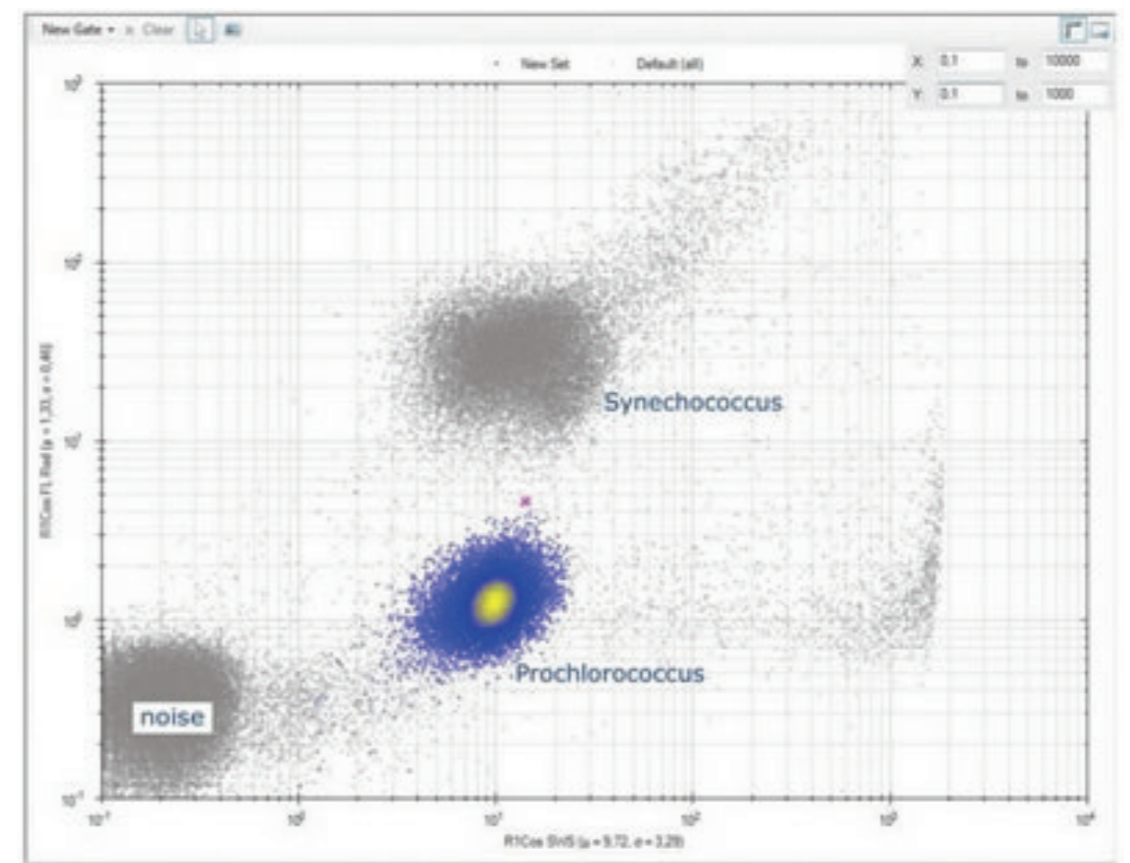
自2009年以来，在这个温带地带，热带原绿球藻的丰度在夏季出现了小高峰，高达40000cells/ml。亚热带聚球藻在大多数夏季也有记录，并且在2014年之前似乎大量增加，直到最近的观察显示，都在保持浓度稳定升高。此外，在2014年之前只有一个月发现了聚球藻丰度的峰值，但从2014年起至少连续两个月发现了聚球藻丰度峰值，表明暴露在热带水域的时间被延长。在过去的50年里，玛丽亚岛NRS记录有变暖的趋势，塔斯马尼亚东海岸自2015年至今经历海洋热浪。逐渐变暖和海洋热浪都归因于2014年EAC扩展的强度增加，以及2015年以来其涡流加剧的影响。因此，热带和亚热带超微型浮游植物的出现似乎是EAC沿阿斯曼海岸向南迁移的直接结果。

对人类和生态系统的影响

IMOS NRS数据表明，超微型浮游植物是环境条件的敏感生物标志物。超微型浮游植物具有特殊的环境生态位，对不断变化的环境条件（如降雨导致的盐度降低和气旋的通过）反应迅速。以上研究表明，澳大利亚南部水域的

热带和亚热带超微型浮游植物数量正在增加，这可能是由于海洋热浪的间歇作用和/或通过边界流增强造成的。这些丰度的增加产生了直接的生态影响，并与南部海岸线变暖的其他影响一致，如鲍鱼死亡、鱼类死亡、物种迁移和海带森林的消失。超微型浮游植物的意义是什么？作为暖流的生物标志物，这些轻盈的漂浮细胞可以作为了解病毒疾病、病原体和其他微生物在我们海岸线的传播以及海洋热浪影响的代表。例如，阿斯曼尼亚的牡蛎养殖在2015年首次受到太平洋牡蛎死亡综合征（POMS）的严重影响。以前，POMS仅在新南威尔士州发现。这种病毒是由EAC传播到阿斯曼水域的吗？超微型浮游植物向南迁移，使得这一过程和其他病原体的转移成为可能。此外，由于超微型浮游植物是热带海水的生物标志物，它们很可能是热带微生物群落的标志物，可能此外，由于超微型浮游植物是热带海水的生物标志物，它们很可能是热带微生物群落的标志物，可能具有与当地种不同的粒级、种类组成和营养质量。虽然海洋热浪期间高温的压力会影响野生贝类（包括鱼类）和养殖贝类（如养殖牡蛎），但潜在微生物群落的变化很可能是导致营养水平更高的慢性压力应激的原因。最后，就像我们正在经历热带化的南部海岸线一样，超微型浮游植物标记物也可能让我们窥探未来温暖的南部海洋中的微生物群落。

注：原绿球藻直径约为0.6μm，是已知最小的光合有机体。同时也是地球上最丰富的光合生物。使用CytoSense浮游植物流式细胞仪对海洋原绿球藻进行定量分析，可了解其在海洋生态系统中的作用。下图为CytoSense测定的散点图，可清楚的区分原绿球藻和聚球藻。



新书推荐

《生态站野外常用监测仪器分类与选择》

随着我国生态环境建设越来越受到社会的关注，野外生态监测及研究工作也得到了高度重视。但是，由于生态监测仪器涉及专业背景广泛、类型复杂、型号众多，迄今为止，还没有专门的书籍对野外常用生态监测仪器的用途、类型、原理、优缺点等作系统总结。很多一线工作者及科研人员知道自己需要做什么，但不清楚市场上有什么，更不清楚自己应该买什么。盲目的设备购置不仅造成了资金浪费，而且不能获得预期的监测数据。为此，国家林草局生态定位观测网络中心办公室倡议编写了《生态站野外常用监测仪器分类与选择》一书。

2020年1月，由李永华等编著、中国林业出版社出版的《生态站野外常用监测仪器分类与选择》正式发行。本书编写人员通过对国内生态



生态站野外常用监测仪器分类与选择

解仪器的原理及操作，还望读者自己查找相关文献及使用说明书。另外，面对众多仪器类型、设备型号、生产厂商，笔者在总结阐述过程中难免出现疏漏与不足，敬请广大读者批评指正。

本书编写人员有（按姓氏拼音排序）：包岩峰、陈欢欢、陈新均、董雪、段经华、段福兴、傅宁、黄维岳、李思瑶、李新承、李永华、卢康宁、罗凤敏、马强、辛智鸣、姚斌、张群、张正国、朱雅明。

李永华
2019年6月14日

前言

1 位置与通讯生态监测仪器 1

1.1 GPS定位仪 1

1.2 全站仪 2

1.3 野外通讯设备 3

1.3.1 野外长距离通讯设备 3

1.3.2 野外中短距离通讯设备 5

1.4 仪器/方法的选择与推荐 6

1.4.1 常规地理坐标测定 6

1.4.2 精确地理坐标、地形地貌测定 6

1.4.3 野外无手机信号区域通讯 6

2 气象生态监测仪器 7

2.1 风（风速、风向）测定 7

2.1.1 分类与测定原理 8

2.1.2 仪器/方法的比较与选择 10

2.2 温度测定 11

2.2.1 分类与测定原理 11

2.2.2 仪器/方法的比较与选择 12

2.3 空气湿度测定 13

2.3.1 分类与测定原理 13

2.3.2 仪器/方法的比较与选择 15

2.4 降水（雨、雪）测定 15

站及主要生态仪器销售厂商的走访、调查，以及大量文献资料的查阅，基于测定指标与传感器类型、原理，对不同用途的传感器优缺点及使用环境进行了筛选，同时，选择推荐了不同环境下使用的仪器型号，为研究中做什么、市场有什么、选什么提供参考。

生态站野外常用监测仪器分类与选择

2.4.1 分类与测定原理 16

2.4.2 仪器/方法的比较与选择 17

2.5 辐射测定 18

2.5.1 分类与测定原理 19

2.5.2 仪器/方法的比较与选择 19

2.6 蒸发测定 20

2.6.1 分类与测定原理 20

2.6.2 仪器/方法的比较与选择 21

2.7 气压测定 22

2.7.1 分类与测定原理 22

2.7.2 仪器/方法的比较与选择 23

2.8 仪器/方法的选择与推荐 23

2.8.1 常见自动气象监测系统 24

2.8.2 常见自动气象监测传感器 24

2.8.3 气体颗粒物和负氧离子监测仪器 27

3 水文生态监测仪器 29

3.1 水位测定 29

3.1.1 分类与测定原理 30

3.1.2 仪器/方法的比较与选择 31

3.1.3 仪器/方法的选择与推荐 31

3.2 流速测定 32

3.2.1 分类与测定原理 32

3.2.2 仪器/方法的比较与选择 33

3.2.3 仪器/方法的选择与推荐 33

3.3 泥沙含量测定 34

3.3.1 分类与测定原理 34

3.3.2 仪器/方法的比较与选择 35

3.3.3 仪器/方法的选择与推荐 35

3.4 便携式水质监测仪 36

生态站野外常用监测仪器分类与选择

4 土壤生态监测仪器 37

4.1 土壤水分测定 37

4.1.1 分类与测定原理 38

4.1.2 仪器/方法的比较与选择 40

4.1.3 仪器/方法的选择与推荐 41

4.2 水势测定 41

4.2.1 分类与测定原理 42

4.2.2 仪器/方法的比较与选择 43

4.2.3 仪器/方法的选择与推荐 43

4.3 水分入渗测定 44

4.3.1 分类与测定原理 44

4.3.2 仪器/方法的比较与选择 44

4.3.3 仪器/方法的选择与推荐 44

4.4 土壤呼吸测定 45

4.4.1 分类与测定原理 45

4.4.2 仪器/方法的比较与选择 46

4.4.3 仪器/方法的选择与推荐 46

5 植物生态监测仪器 48

5.1 根系测定 48

5.1.1 分类与测定原理 48

5.1.2 仪器/方法的比较与选择 49

5.1.3 仪器/方法的选择与推荐 50

5.2 茎干液流测定 50

5.2.1 分类与测定原理 50

5.2.2 仪器/方法的比较与选择 51

5.2.3 仪器/方法的选择与推荐 51

5.3 茎干液流测定 52

5.4 茎干生长测定 52

5.4.1 分类与测定原理 52

5.4.2 仪器/方法的比较与选择 53

5.4.3 仪器/方法的选择与推荐 53

5.5 茎叶水势测定 54

5.5.1 分类与测定原理 54

5.5.2 仪器/方法的比较与选择 55

5.5.3 仪器/方法的选择与推荐 55

5.6 叶片形态测定 56

5.6.1 分类与测定原理 56

5.6.2 仪器/方法的比较与选择 56

5.6.3 仪器/方法的选择与推荐 57

5.7 叶绿素测定 57

5.7.1 分类与测定原理 57

5.7.2 仪器/方法的比较与选择 58

5.7.3 仪器/方法的选择与推荐 59

5.8 叶绿素荧光测定 59

5.8.1 分类与测定原理 60

5.8.2 仪器/方法的选择与推荐 60

5.9 叶片光合速率测定 61

5.9.1 分类与测定原理 61

5.9.2 仪器/方法的比较与选择 62

5.9.3 仪器/方法的选择与推荐 62

5.10 蒸腾测定 63

5.10.1 分类与测定原理 63

5.10.2 仪器/方法的比较与选择 63

5.10.3 仪器/方法的选择与推荐 64

5.11 叶面积指数测定 64

5.11.1 分类与测定原理 64

5.11.2 仪器/方法的比较与选择 65

5.11.3 仪器/方法的选择与推荐 66

5.12 其他类型的仪器 67

生态站野外常用监测仪器分类与选择

6 风沙生态监测仪器 68

6.1 沙丘（沙地、沙漠）移动测定 68

6.1.1 分类与测定原理 68

6.1.2 仪器/方法的比较与选择 69

6.1.3 仪器/方法的选择与推荐 69

6.2 风蚀与风积测定 69

6.2.1 分类与测定原理 69

6.2.2 仪器/方法的选择与推荐 70

6.3 颗粒、跃移与悬移通量测定 70

6.3.1 分类与测定原理 70

6.3.2 仪器/方法的选择与推荐 72

6.4 沙尘浓度测定 72

7 动物生态监测仪器 73

7.1 观鸟镜（望远镜） 73

7.2 相机 74

7.3 红外相机 74

7.4 鸟环 76

7.5 GPS项圈 77

8 生态站建设 78

8.1 生态站设备购置流程 78

8.2 设备常规维护与稳定运行 80

8.3 数据采集与传输 82

8.4 生态站能力提升与优化 84

8.5 无人机应用 87

8.5.1 无人机分类 87

8.5.2 无人机数据采集传感器 88

8.5.3 无人机常用数据处理软件 91

《生态站野外常用监测仪器分类与选择》共包含8章，第1章至第7章分别介绍位置与通讯、气象、水文、土壤、植物、风沙、动物生态监测仪器分类及选择。第8章生态站建设包含了生态站设备购置流程、设备常规维护与稳定运行、数据采集与传输、生态站能力提升与优化以及无人机应用等内容。附录中介绍了几家国内生态监测仪器（代理）公司。

生态站野外常用 分类与选择

域、临时测定时推荐选用压力室水势仪。对于无叶柄叶片及肉质、易折目标的测定，推荐选用露点水势法。
压力室水势仪推荐使用美国 SEC 公司生产的 3115 型便携式植物压力室。该型号如手提箱般小巧，压力管的密封性好，而且只有 7kg，适合野外使用。
露点水势仪推荐使用美国 Wesco 公司生产的 PSYPRO 便携式露点水势仪。该型号可测量土壤水势或叶片的水势，也可测量液体水势。仪器便携、操作简单，可自动测量、记录和存储数据并带数字显示。最多可连接 8 个样品室，并以 MPa 形式直接读数。另外，美国 Meter 公司生产的 WP4C 露点水势仪可快速、准确测定叶片、土壤等样品的水势。其测定准确度高、量程范围大、操作简单。

5.6 叶片形态测定

叶片形态体现了不同生境下植物长期进化的生存策略，是研究植物生存、演化与适应策略的最直观的参数之一。描述叶片形态的参数很多，最为常见的包括叶面积、叶片长宽、厚度、叶齿等参数。

5.6.1 分类与测定原理

以往常用卷尺、卡尺等量取法测定叶片长、宽，用方格纸描画法、打孔称重法等人工测定换算法求算叶面积，或通过面积与叶片长、宽的经验方程，通过叶片长、宽测定估算叶面积。这些方法测定速度较慢、精度较低，人为影响较大。现在，随着计算机及计算机图形处理方法的进步，图形扫描分析法已基本替代了以往的手工操作分析。该方法基本排除了人为干扰，数据处理迅速而准确，获取参数丰富。因此，本节仅介绍几种图形扫描分析法在叶片形态测定中的应用。涉及仪器包括手持叶面积仪、手持便携扫描仪、常规扫描仪以及几款叶片形态分析软件。

5.6.2 仪器/方法的比较与选择

叶片的图像扫描与记录可以分为活体扫描和离体扫描两种。活体扫描设备中，有手持叶面积仪、手持便携扫描仪等，前者是专业测定叶片形态参数的仪器，后者需要叶片扫描存储后通过软件分析。手持叶面积

植物生态监测仪器

仪价格相对昂贵，叶片形态参数较少。手持便携扫描仪同样实现了活体测定，通过专业图像分析软件可以获取较为丰富的叶片形态参数数据。此外，目前市场上最普通的扫描仪都可以作为叶片离体扫描设备，价格便宜，且能够同时完成多片叶子的扫描，但需要叶片保存完好。

5.6.3 仪器/方法的选择与推荐

对于叶片形态分析，目前有多款成熟的国内外软件可以选择，例如 LA-S、WINFOLIA、Image-Pro Plus、WINDIAS3、ImageJ 等，其中 ImageJ 为开源免费软件。这些软件图像处理分析准确、快速，均可以获得丰富的叶片形态参数，有些软件甚至还包含了根系、年轮等分析功能。

实际应用中，考虑价格因素，对于活体叶片的测定，推荐选择手持便携扫描仪；资金允许的情况下，可选购测定便捷的手持叶面积仪。对于叶片形态参数的分析，推荐采用 Image-Pro Plus 软件。

手持叶面积仪推荐使用美国 CID 公司生产的 CI-203 叶面积仪。该型号采用激光扫描原理，不受叶片颜色深浅的限制，非常轻便，可测量叶片的长度、宽度、面积、长宽比、周长和形状因子等参数。

5.7 叶绿素测定

在光合作用中参与吸收、传递光能或引起原初光化学反应的色素主要有叶绿素、类胡萝卜素和藻胆素。高等植物和大部分藻类的光合色素是叶绿素 a、b 和类胡萝卜素；在许多藻类中除叶绿素 a、b 外，还有叶绿素 c、d 和藻胆素。类胡萝卜素（包括胡萝卜素和叶黄素）和藻胆素等是对叶绿素捕获光能的补充，称为辅助色素。本节主要将简要介绍野外便携式使用的叶绿素测定仪器。

5.7.1 分类与测定原理

常见叶绿素测定方法包括：分光光度法、透射吸收光谱法、反射吸收光谱法、荧光光谱法、荧光分析法、可见光色阶法和遥感法。

(1) 分光光度法。利用丙酮法等不同方法提取叶绿素，获取叶绿素提取液，利用分光光度计测定叶绿素提取液在最大吸收波长下的吸光

生态站野外常用 分类与选择

物质经某种波长的入射光照射，吸收光能后进入激发态，并且立即发出比入射光波长长的出射光（通常波长在可见光波段）；很多荧光物质一旦停止入射光，发光现象也随之立即消失。具有这种性质的出射光就被称为荧光。另外，有一些物质在入射光撤去后仍能较长时间发光，这种现象称为余辉。在日常生活中，人们通常广泛地把各种微弱的发光统称为荧光，而不去仔细追究和区分其发光原理。

光合组织荧光变化几乎能够反映光合作用的全部过程，它不仅是光化学原初反应过程，而且与光电子传递、ATP 合成和二氧化碳固定密切相关。

5.8.1 分类与测定原理

荧光测定与光合放氧、气体交换并称为光合作用测量的三大技术。用于测定叶绿素荧光的仪器分为连续激发荧光仪和调制荧光仪（全称为脉冲振幅调制叶绿素荧光，Pulse-Amplitude-Modulation, PAM）。调制荧光仪能够对激发荧光的测量光进行频率调制，检测器只记录与测量光同频的荧光，因此调制荧光仪允许测量所有生理状态下的叶片荧光。调制技术的出现，才使得叶绿素荧光由传统的“黑匣子”（避免环境光）测量走向了野外环境下测量，由生理学走向了生态学。调制荧光仪测量快速、简单、可靠且测量过程对样品生长基本无影响，是研究植物光合及生理适应性的重要工具。

随着技术的进步，目前市场上已逐步出现了以整株、小区域移动测试为目标的荧光成像系统，进一步推动了植物生理与生态学的融合研究。荧光成像系统主要用于室内或固定区域，但便携式小探头荧光成像系统可以带到野外，方便了生态学的监测与应用。

另外，随着高光谱及超光谱相机的应用，通过卫星、无人机高空拍摄，可以在区域尺度上反演叶绿素荧光分布特征。

5.8.2 仪器/方法的选择与推荐

推荐使用以下荧光仪。

(1) 德国 Walz 公司生产的 Mini-PAM-II 便携式荧光仪。该型号仪器小巧轻便、耐用，电池续航时间长，性价比高，非常适合野外生态测

植物生态监测仪器

查研究使用。在湿地生态站，如测量沉水植物和大型藻类，可选择 Diving-PAM-II 全防水荧光仪；如需测量水体中的浮游植物，可选择 Water-PAM 水样荧光仪；如需进一步对浮游植物进行分类，分别得到蓝藻、绿藻、硅藻和隐藻的比例及活性，可选择功能更强一些的 Phyto-PAM-II 浮游植物分类荧光仪。

(2) 德国 Walz 公司生产的 Mini-Imaging-PAM 小探头荧光成像仪。该仪器便于野外使用，可直接成像，并可与光合仪联合同步测量。

(3) 德国 Walz 公司生产的 Monitoring-PAM 连续监测荧光仪。设备最多可按 7 个探头，可配置太阳能供电，长期放置在野外对植物进行连续监测，也可在湿地生态站监测沉水植物。

5.9 叶片光合速率测定

现有植物光合速率测定仪器或方法获取的几乎都是净光合速率，即总光合速率与呼吸速率的差值。有关叶片呼吸速率（包括光呼吸和暗呼吸）的测定与净光合速率的测定技术与原理基本一致，只是测定过程的环境不同，本节不再进行赘述。

5.9.1 分类与测定原理

常见植物光合速率的测定方法包括称重法、气体浓度测定法、红外气体分析法等 3 种方法。

(1) 称重法。常见称重法包括半叶法、打孔法。半叶法以及改良半叶法是过去测定叶片净光合速率经典方法。该方法首先需要确保同一叶片上一半叶子不进行光合作用，一半进行光合作用，一段时间后，通过烘干称重与差值计算，获取叶片的二氧化碳净同化速率。打孔法是用固定面积的打孔器，取不同时间段的叶片，根据单位面积上的重量差值获得植物净光合速率。

(2) 气体浓度测定法。光合将导致一定空间内二氧化碳及氧浓度的改变，通过测定二氧化碳或氧浓度的变化量或变化速率，即可换算成植物净光合速率。以往该方法主要通过化学吸收进行测定，现在亦可以通过传感器实时动态测定（如极氧传感器）。

(3) 红外气体分析法也是通过气体浓度检测测定叶片光合的方法。

Ampha Z32花粉活力分析仪的应用：优质番茄花粉的筛选

文/郭爱娟

番茄原产于南美西部高原，属喜温蔬菜，对温度比较敏感。研究表明，番茄的整个生长发育过程中，生殖生长时期对温度最为敏感，这主要是因为花粉发育时期尤其是减数分裂和配子形成时期是植物生殖过程中高敏感阶段，高温容易造成花粉败育，从而导致授粉受精不良、座果率下降、畸形果率升高等问题。应对全球变暖这一严峻的环境问题，授粉前对花粉活性进行检测和筛选，则成为番茄产量和品质的重要保障。

本实验利用Ampha Z32花粉活力分析仪（IFC法）测试了来自多个国家的1000份番茄花粉的活性。图1为1000份花粉活性的百分比堆积柱状图，其中绿色为活性花粉占比，红色为死亡花粉的占比，红圈内为Ampha Z32花粉活力分析仪测量得到细胞散点云图。如图所示，图中最左侧样本的花粉活性几乎达到了100%，最右侧样本的花粉活性几乎为0%，细胞散点云图中清晰区分出活性细胞类群和失活细胞类群。对于第900-1000个样本的花粉活性小于10%，不适用于育种或种子生产，将直接被淘汰。

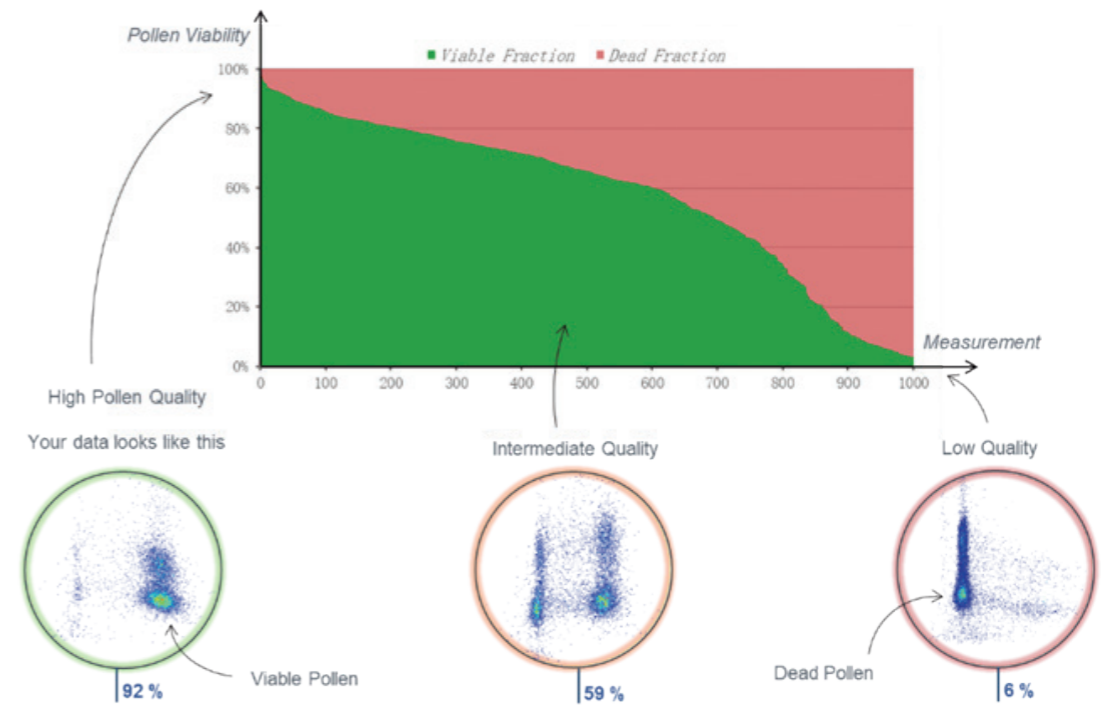


图1花粉活性百分比堆积柱状图

此外，本实验还利用体外萌发法验证了该方法的可靠性，分别采用标准发芽琼脂培养基和改良的液体发芽缓冲液进行培养。如图2所示，对于IFC法测量的活力大于80%的花粉，使用标准琼脂培养基进行培养，花粉的萌发率小于20%，二者差异显著；而使用改良后的萌发缓冲液，花粉的萌发率明显增高且与IFC法测量结果一致。由此可见，番茄花粉的萌发受培养基类型的影响差异较大，选择合适的培养基是准确判断花粉萌发率的前提，在合适的培养条件下，IFC法与体外萌发法一致性极高，是一种可靠、便捷的测试方法。

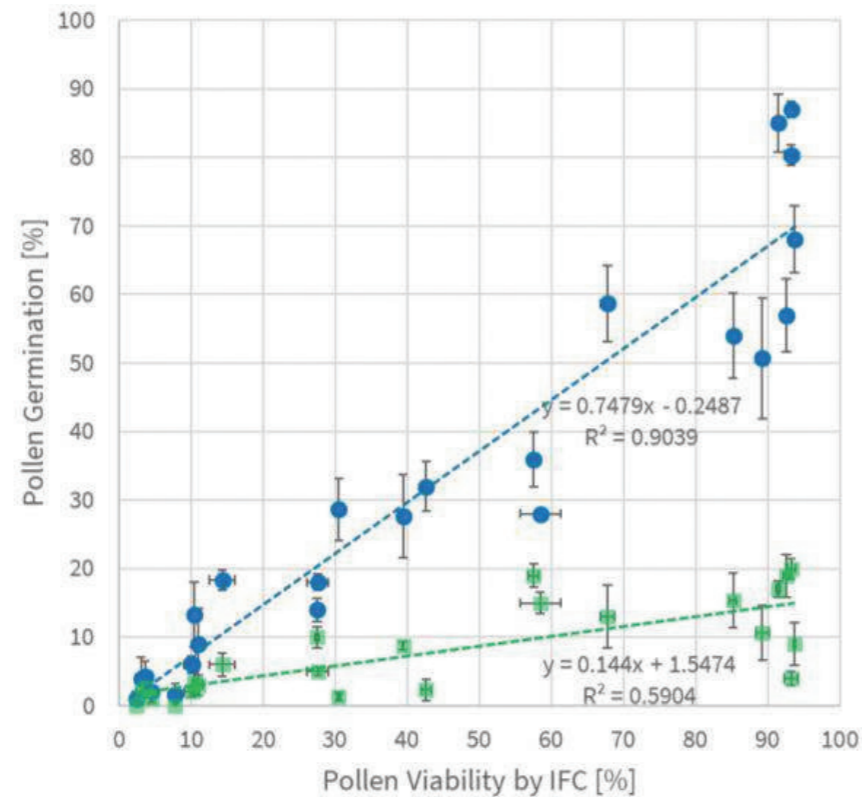


图2. IFC法与体外萌发法的相关性分析

标准发芽琼脂培养基(■)和改良的液体发芽缓冲液(●)。蓝色和绿色虚线分别代表相应的相关性方程和相关系数，Y误差线表示萌发法的标准偏差，X误差线表示IFC法的标准偏差。

对比1000份番茄花粉的活性散点图（横坐标为相对活性，纵坐标为相对大小），我们发现大部分花粉的活性散点图，失活细胞相较于活性细胞可划分为两个部分，一部分细胞的位置与活性细胞一致，而另一部分则明显低于活性细胞，结合显微镜镜检，我们发现这部分位置靠下的细胞体积较小且形状不规则。由此，我们将花粉细胞三个类群：成熟的活花粉，成熟的死花粉以及异常花粉，如图3所示。

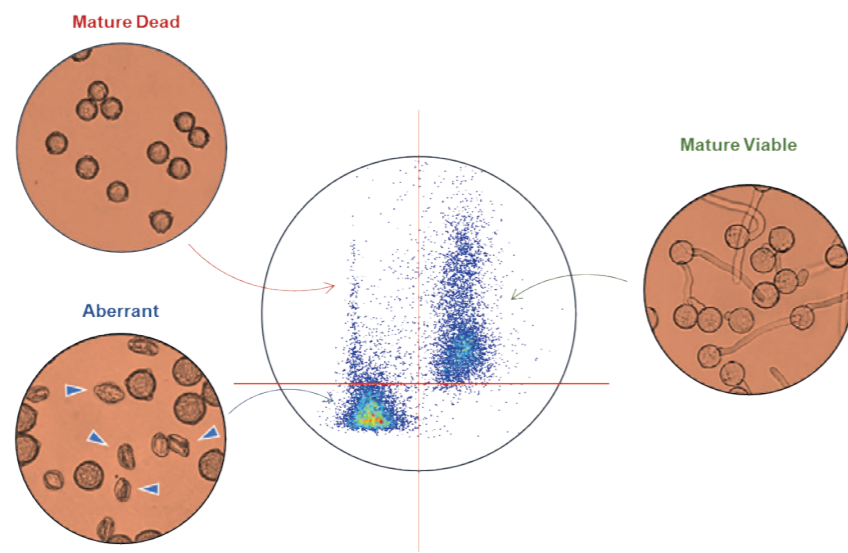


图3. 花粉的活性散点图中的花粉类别

为进一步了解异常花粉对花粉活性的影响，本实验研究了1000个样本中，异常花粉在失活花粉中的占比以及异常花粉在整个花粉样本中的占比。

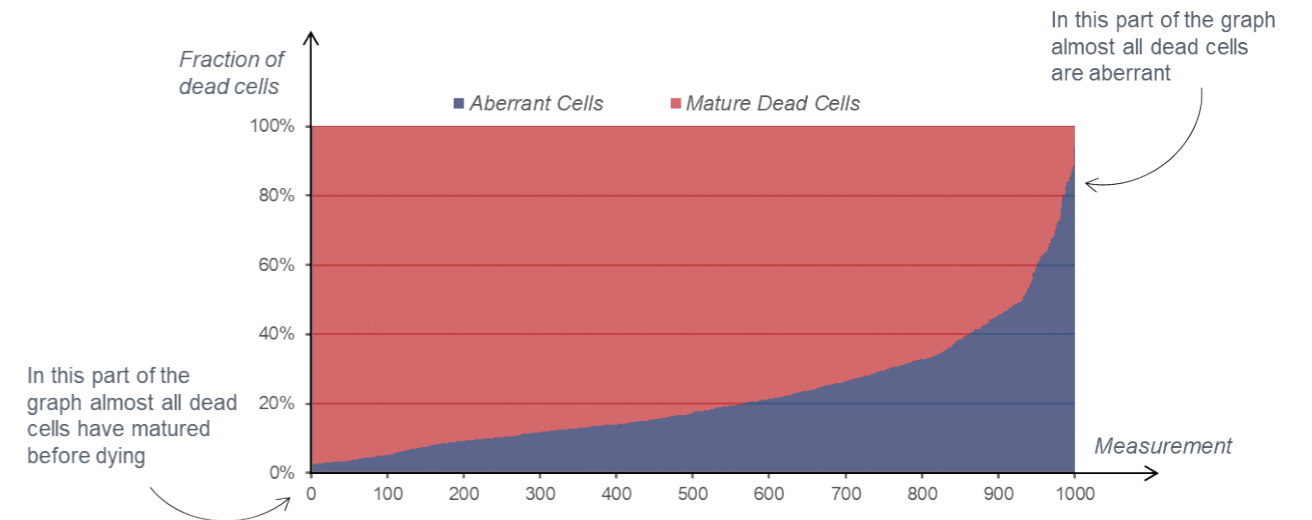


图4. 异常花粉在死亡花粉中的占比排序图

图4为异常花粉在失活花粉中的占比排序图，红色为成熟的死花粉，蓝色为异常花粉。如图可见，这1000个样本基本都含有异常花粉，其中有10%的样本，异常花粉在失活花粉中的占比达到了40%以上。

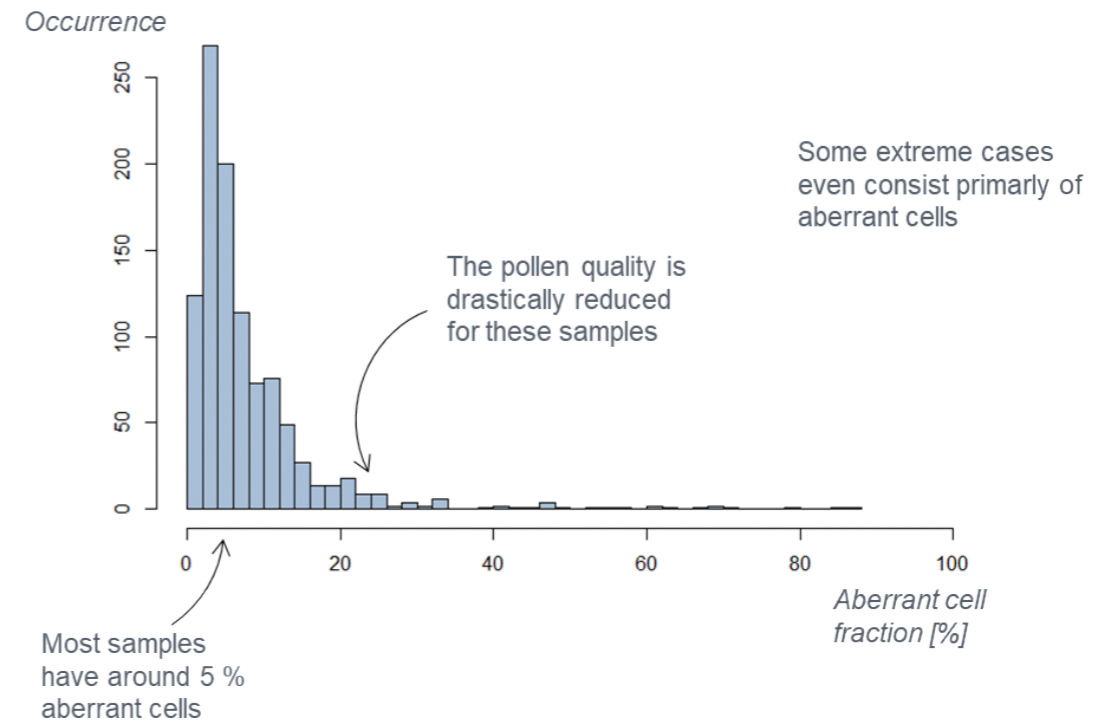


图5. 异常花粉在整个样本中的占比

图5为异常花粉在整个样本中的占比，从图中我们可以看出，对于大多数样本来说，异常花粉的占比约为5%，而个别样本的异常花粉却超过了50%，甚至达到了87.3%。显然，异常花粉是导致这部分样本花粉活力降低的主要因素。这些异常花粉主要为花粉发育的过程产生空花粉、不育花粉、退化花粉、损伤花粉或畸形花粉，它们体积小，形状皱缩不规则，与花粉发育过程中受到的胁迫，尤其是热胁迫密切相关，可作为判断番茄在生长中是否受到胁迫的指标。

最后，本实验通过对比1000份番茄花粉的活性散点图，按散点图类型进行了分类，如图6，总体可分为四类：
1) 花粉活性较高，且几乎没有异常花粉；2) 花粉活性适中，基本没有异常花粉；3) 花粉活性非常低，基本没有异常花粉；4) 花粉活性中等，但含有大量的异常花粉。根据以上结果，我们可以在今后的番茄生产过程中，尽可能的筛选活性高且无异常细胞的优质花粉进行授粉；以异常花粉的占比作为番茄生长是否受到胁迫的重要指示，帮助及时调整生产环境；此外，还可以帮助我们进行耐热抗旱品系筛选。

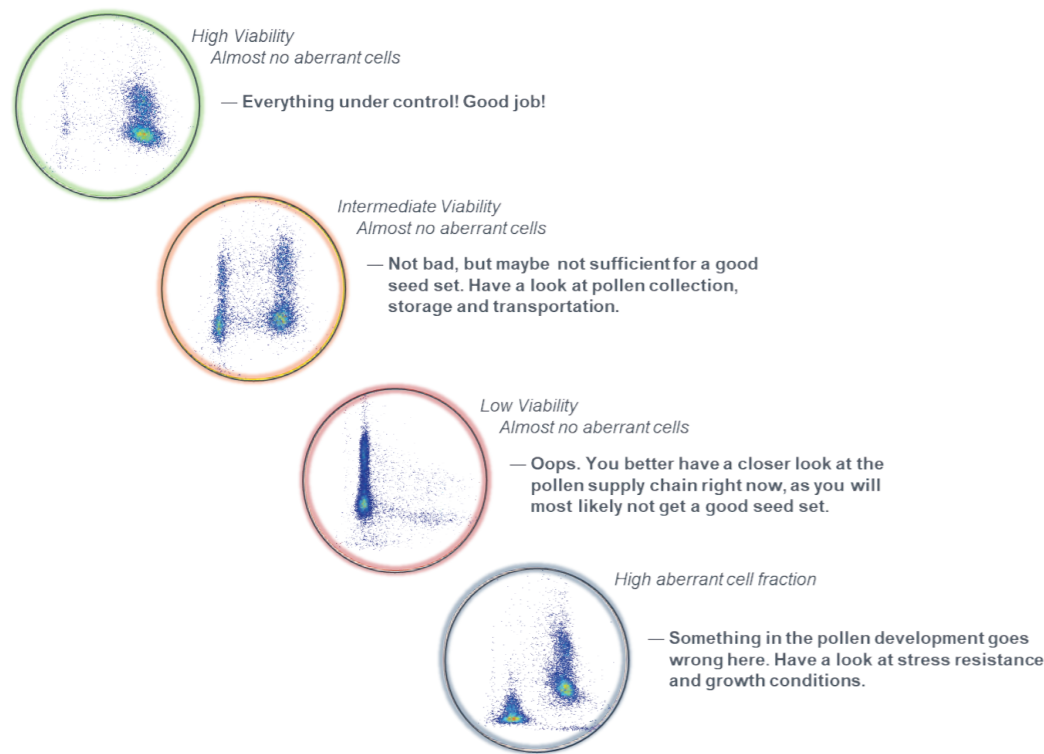


图6. 不同质量的番茄花粉散点图

本实验表明Ampha Z32花粉活力分析仪（IFC法）无需染色等预处理，能够快速、高通量、准确测量花粉活性，并且可以通过对比筛选出优质花粉，是一种可靠的测试方法，可为番茄产量和品质的重要保障。

本次实验由瑞士Amphasys公司应用科学家和荷兰瑞克斯旺种苗集团公司（Rijk Zwaan）的育种团队共同完成。

Ampha Z32阻抗流式细胞仪在纳米材料毒性筛选中的应用

文/郭爱娟

纳米材料（NMs）因其所具有的独特性能而被广泛应用于日常生活的方方面面。然而，随着纳米技术的迅速发展，人们对纳米材料安全性及其生物效应的信息需求不断增加，纳米材料的毒性及其对环境的影响已经引起科学界和政府有关部门的重视。但通常传统毒性检测方法不仅需要标记细胞，还容易受到纳米材料特异性干扰的影响，造成假阴性或假阳性的检测结果。因此，开发一种可靠且经济高效的方法来评估纳米材料的毒性，对于正确识别其对人类健康的影响以及确保纳米技术的安全发展至关重要。

近期，发表在《Nature》上的一项研究中，调查了无标记阻抗流式细胞仪（Ampha Z32，瑞士）在体外纳米材料毒性筛选中的可靠性和适用性，并将其检测结果与台盼蓝（TB）染色排除法和常规流式细胞法（FC）的检测结果进行了比较。结果表明，Ampha Z32阻抗流式细胞仪与两种传统方法的检测结果一致，是一种稳定、可靠、无需标记且不易受到干扰的检测方法。

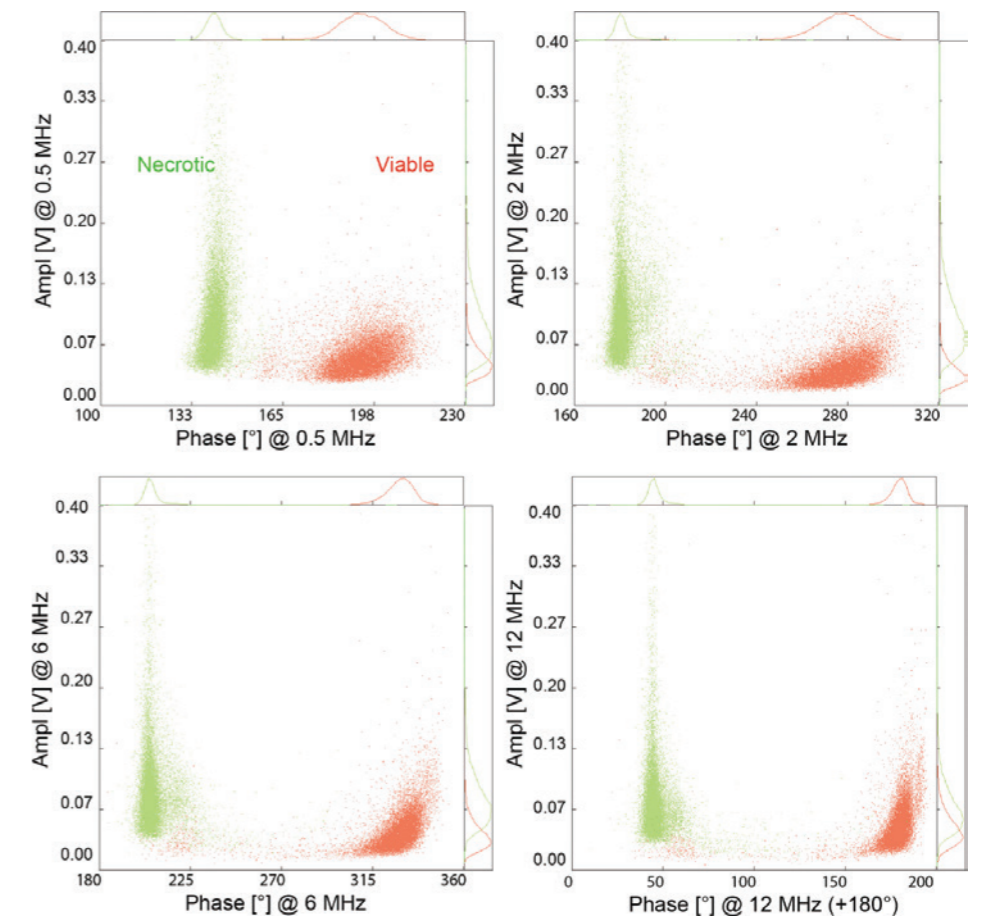


图1 不同频率下，失活细胞（绿色）与活性细胞（红色）的分离

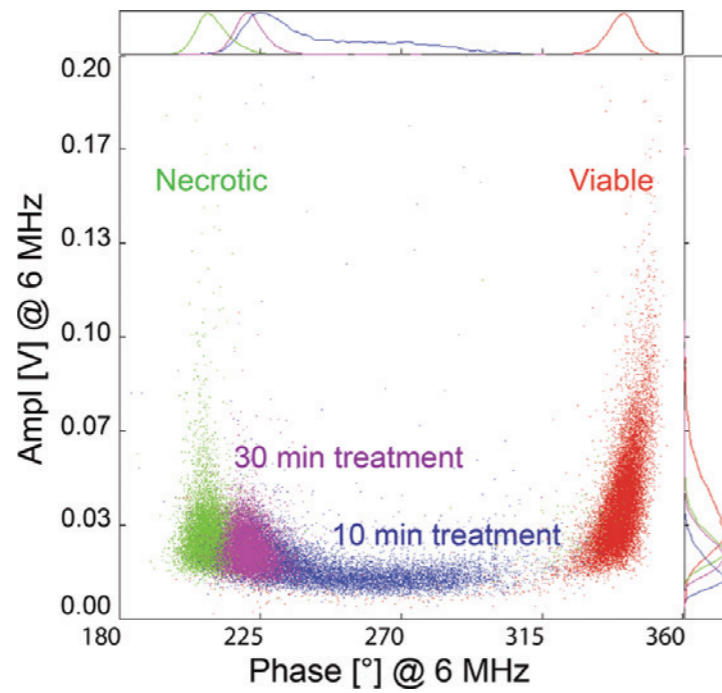


图2 通过IFC检测的U937细胞对NM-300K (Ag, 100µg/ mL) 的急性毒性效应
活细胞 (红色), 暴露在NM-300K中10min (蓝色), 暴露在NM-300K中30min (紫色) 和坏死细胞 (绿色)

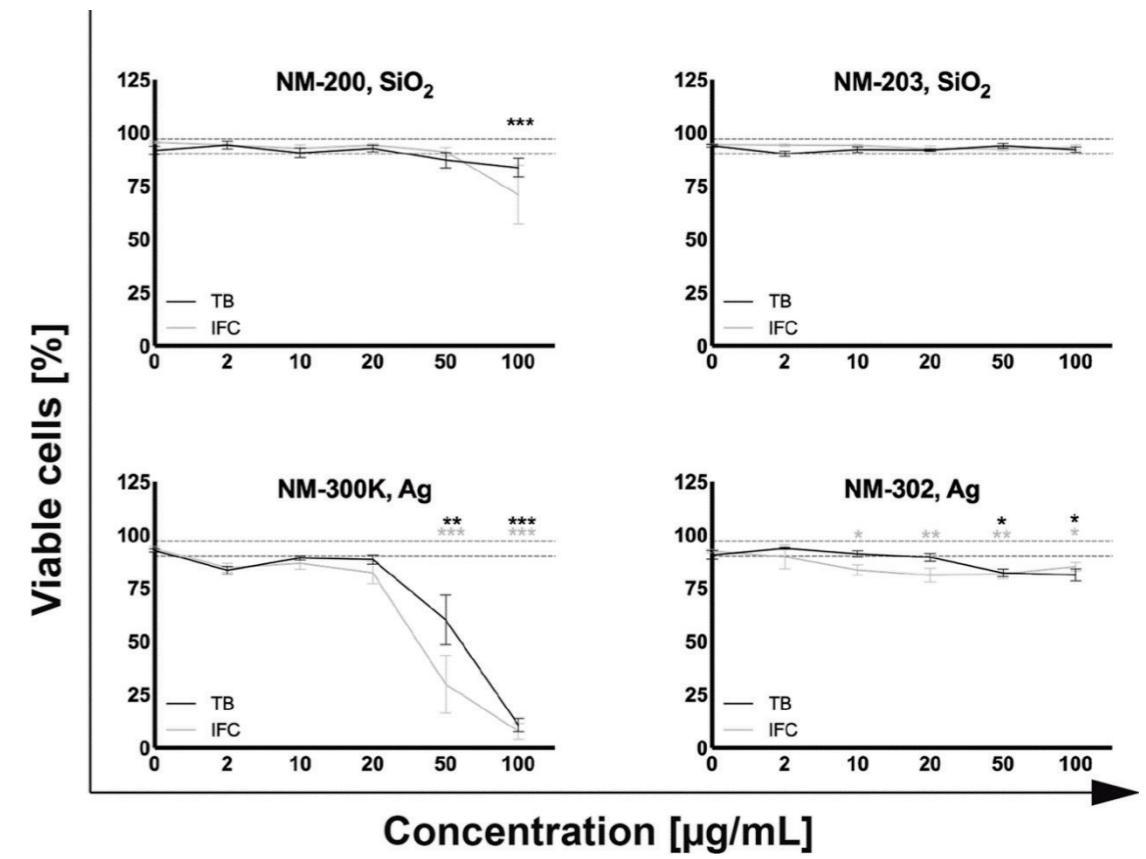
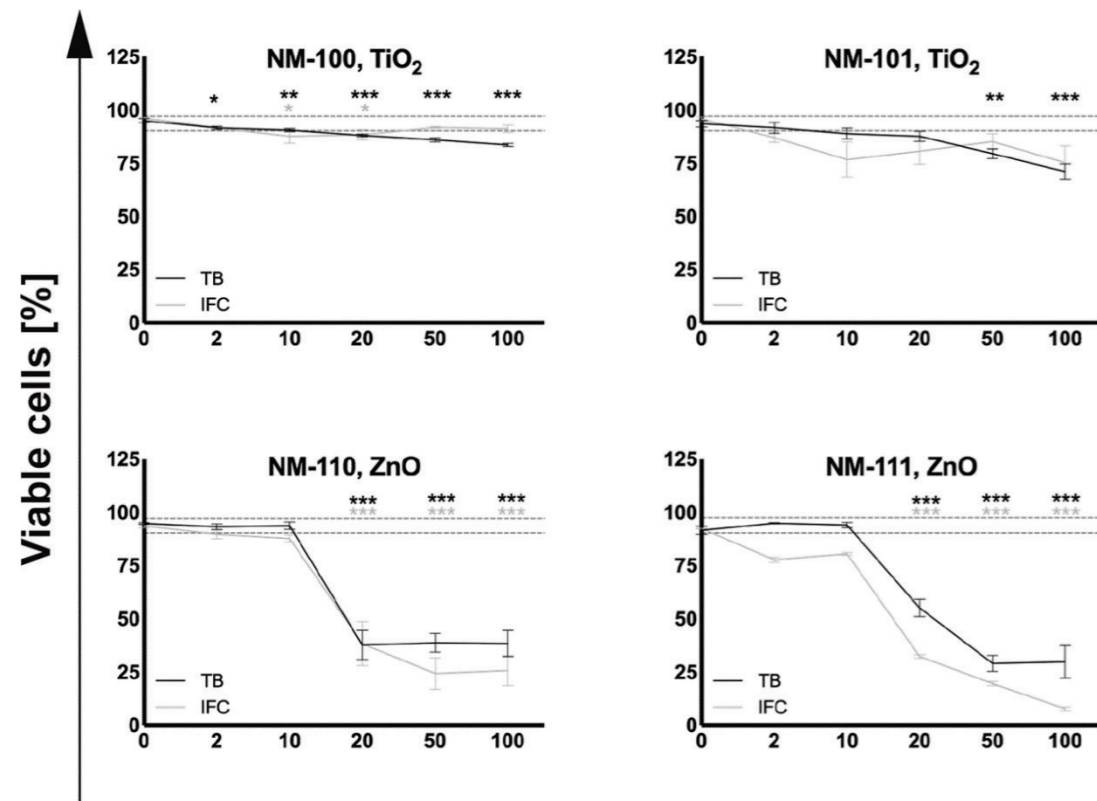


图3 剂量反应曲线: TB&IFC分析
灰色虚线为阴性对照, 即健康细胞的平均值“SE” (%). 与对照组 (0µg/ml) 相比
单次方差分析 (n≥3) 结果显示, 毒性效应具有统计性意义 (P≤0.05、**P≤0.01和***P≤0.001)



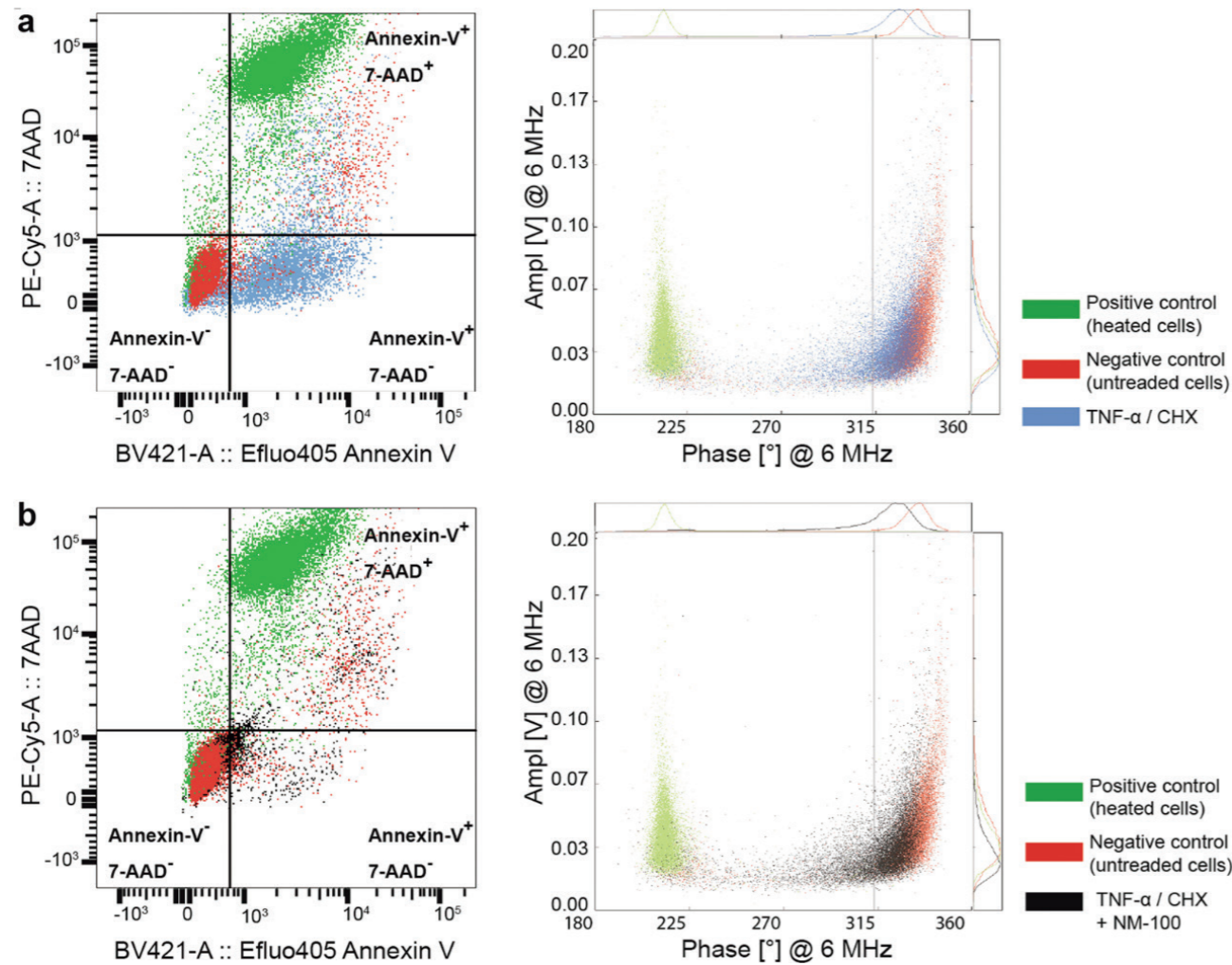


图4 FC（常规流式细胞仪）& IFC（Ampha Z32阻抗流式细胞仪）测量结果对比

以上结果表明，IFC法无需染料/标记，不易受纳米特性的干扰，克服了传统活力分析的局限性，是一种高效、快速、环境友好且可靠的纳米毒性筛选工具。

参考文献

Ostermann, M., Sauter, A., Xue, Y. et al. Label-free impedance flow cytometry for nanotoxicity screening. *Sci Rep* 10, 142 (2020).

CytoSense应用：夏秋过渡期英吉利海峡西部到中部浮游植物的分布

文/王阳阳

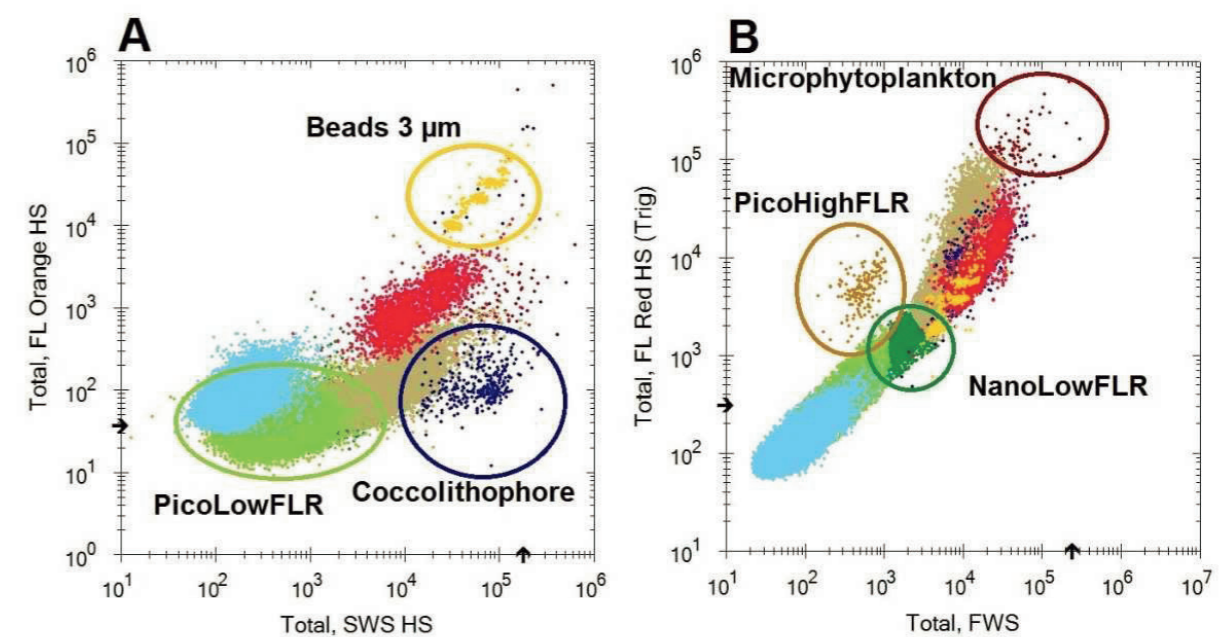
法国里尔大学海岸研究所,海洋和地球科学实验室,
马赛大学应用自动脉冲形状记录流式细胞仪

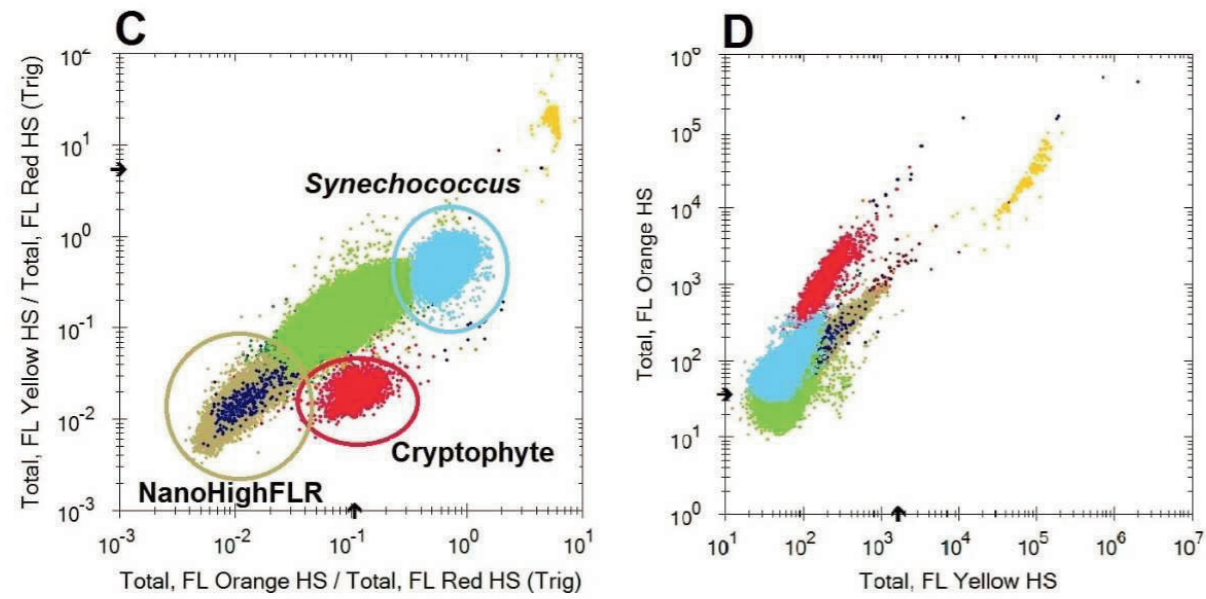
CytoSense研究了英吉利海峡中、西部夏季过渡期分层混合水团中浮游植物的高频空间分布。从单个细胞的光学特征衍生出的细胞脉冲形状可以表征八个浮游植物群。

用CytoSense分析了6个主要的功能群：类聚球藻细胞（Synechococcus-like cells）、微微型真核生物（Picoeukaryotes）、微型真核生物（Nanoeukaryotes）、类隐藻细胞（Cryptophyte-like cells）、类颗石藻细胞（Coccolithophore-like cells）和小型浮游植物（Microphytoplankton）。此外，根据它们的红色荧光水平，在微微型真核生物组和微型真核生物组进行了亚群表征。最后，我们定义了三个微微型浮游植物类群（ $<3\mu\text{m}$ ）：类聚球藻细胞、PicoLowFLR、PicHighFLR；四个微型真核生物类群（ $3\text{-}20\mu\text{m}$ ）：类隐藻细胞、类颗石藻细胞、NanoLowFLR和NanoHighFLR；以及一个小型浮游植物类群（ $>20\mu\text{m}$ ）。

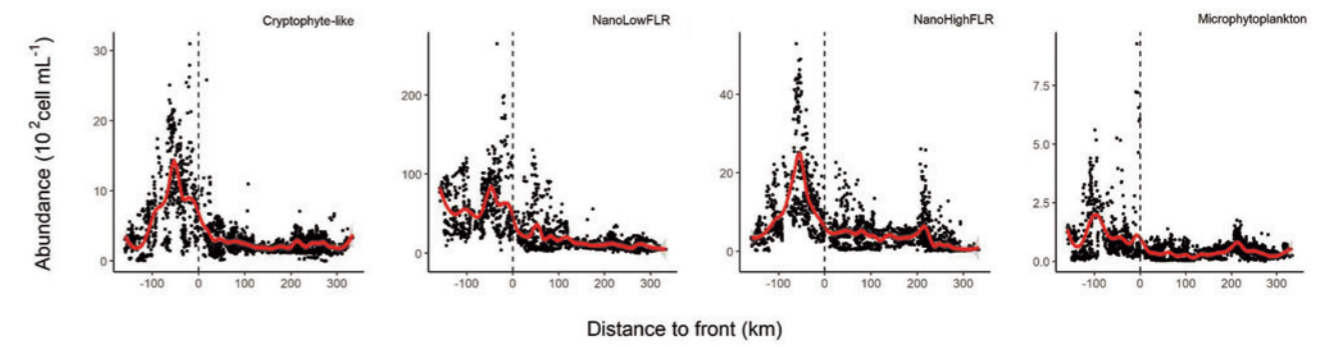
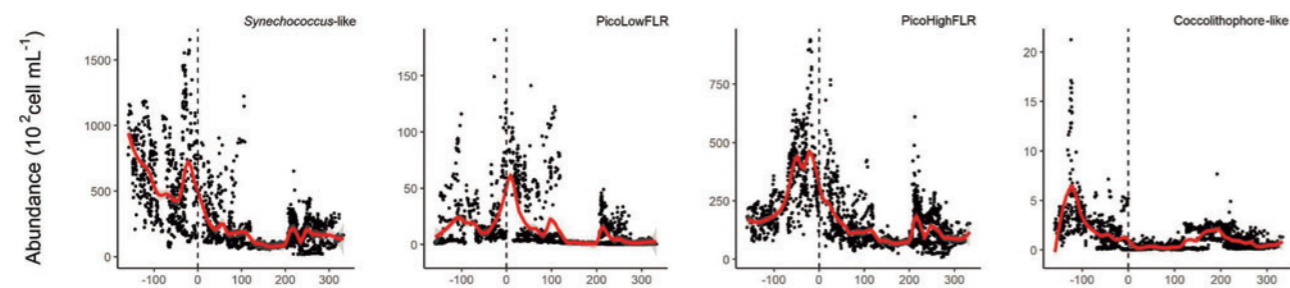
Highlights

- Automated flow cytometry addresses phytoplankton community changes at high frequency.
- Eight cytometric groups are characterised from pico-to microphytoplankton size range.
- Variation in cytometry-derived traits can be characterised between communities.
- Frontal structures drive phytoplankton spatial distribution at sub-mesoscale.

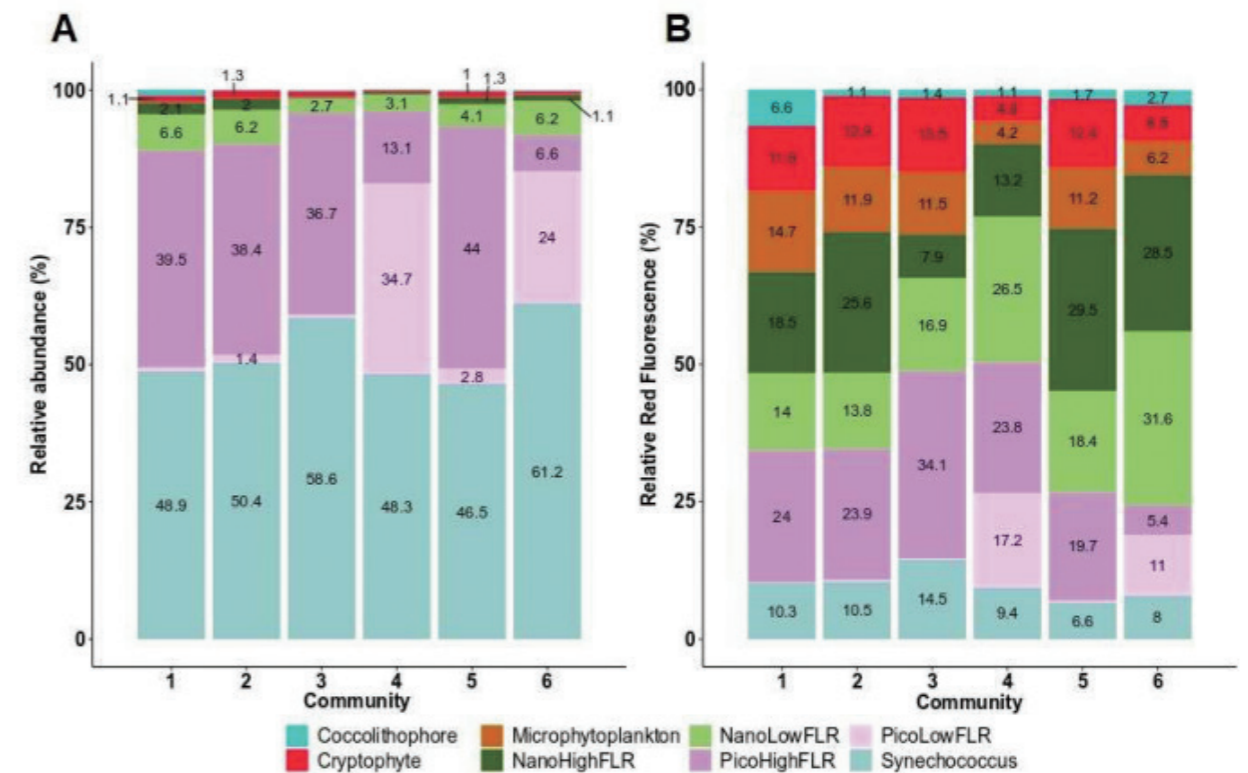




以叶绿素a自发荧光和丰度为指标，对6个浮游植物群落进行了测定。它们的分布显示出高度的空间异质性。8组丰度中6组呈现出纵向梯度，并在巡航过程中连续发生极大的变化。最大值通常位于西英吉利海峡的Ushant front附近。受塞纳河河口影响的英吉利海峡中部水域呈现纬度梯度。微微型浮游植物（类聚球藻细胞和微微型真核生物）占总丰度的96%，占塞纳湾附近群落总红色荧光的一半，而微型真核生物和小型浮游植物分别仅占总丰度的4%和不到1%。英吉利海峡中部群落的红色荧光以微型真核生物和小型浮游植物为主。对各组内性状的研究表明，群落间性状具有高度的变异性。性状之间的比较表明，在某些群体中，它们是相互独立的（PicoHighFLR和类聚球藻的大小和每个细胞的红色荧光；所有群体的橙色和红色荧光），而在其他群体中，这些性状相互依赖的（每个细胞红色荧光取决于微微型浮游植物，NanoLowFLR、NanoHighFLR、类隐藻细胞和小型浮游植物的大小）。方差分析结果表明，环境参数（温度、盐度和浊度）对群落形成的影响小于空间参数（物理和生物过程）。水文结构（锋面结构、漩涡和潮汐流）是造成浮游植物斑块化的主要原因，并确定了该地区中尺度以下（1-10公里）的浮游植物群落结构。

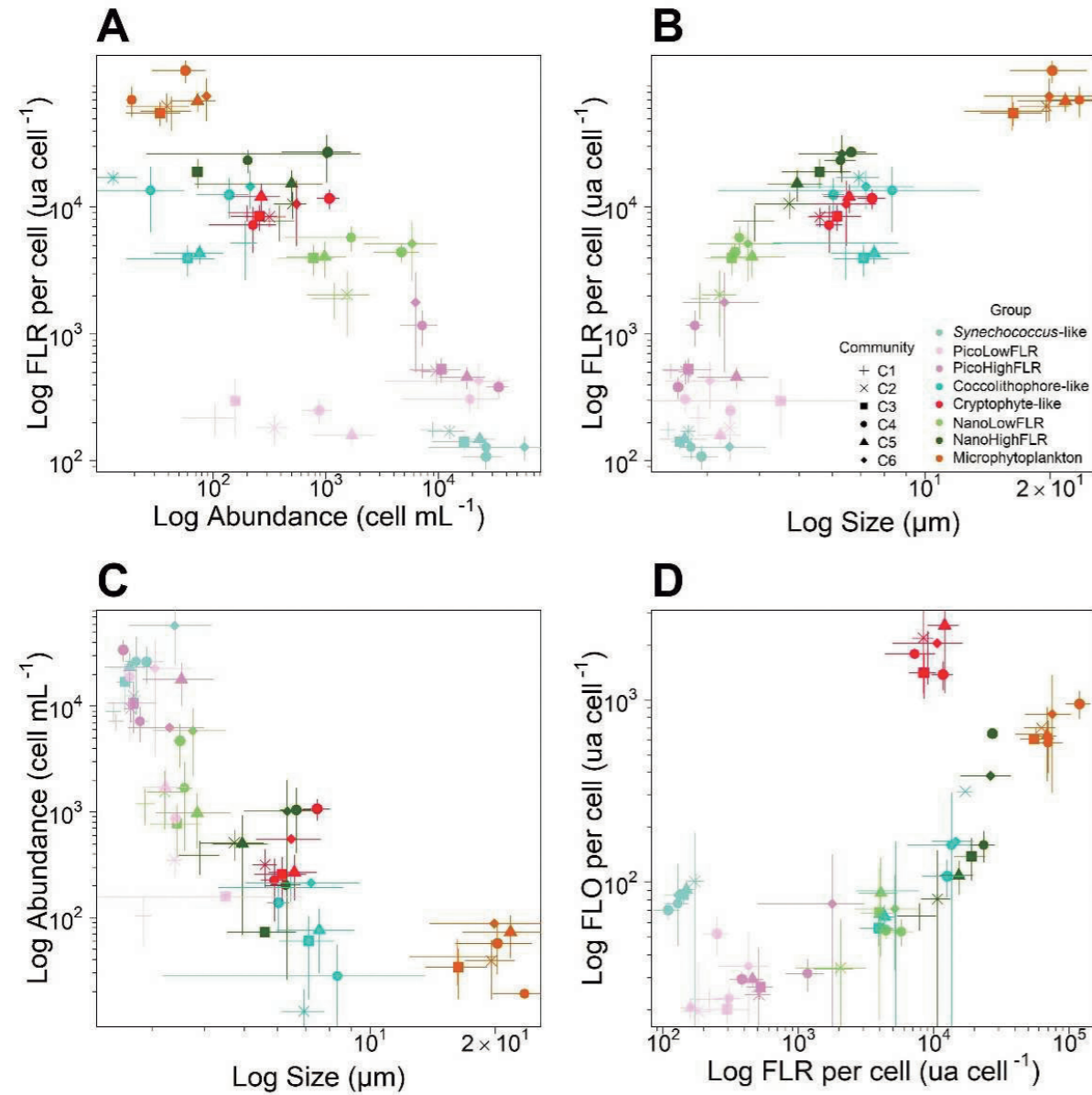


以CytoSense测量特征定义的八个浮游植物类群的丰度分布与到Ushant的距离（km）有关。浮游植物的丰度主要是由浮游植物（PicoLowFLR和PicoHighFLR）和类聚球藻细胞组成。它们沿东西向纵向梯度递减，但在空间分布上显示出重要的异质性。西英吉利海峡丰度高，而中英吉利海峡丰度低，而在英吉利海峡的西入口也记录到了低丰度。然而，类聚球藻细胞的丰度在海峡外和西部中较高，而在中部较低。英吉利海峡外丰度低，沿海和近海水域急剧增加，丰度升高，然后在东部急剧减少，丰度降低。类聚球藻细胞在河道外表现出高丰度，而在其他地方丰度仍然较低。英吉利海峡外的浮游生物丰度很低。然后，在西部近海水域观察到高丰度的斑块。



虽然我们观察到每个簇的总红色荧光的异质性，但CytoSense为我们提供了有关单细胞水平特征的信息。因此，在个体水平上的工作使我们研究了考虑到细胞衍生特性的群体变异性。在这里，我们首先关注每个细胞的红色

荧光，然后关注细胞大小。在群落中，每个细胞的红色荧光和细胞大小的空间格局是不同的。尽管细胞大小和丰度发生了变化，但所有群落中类聚球藻细胞的每个细胞的红色荧光都保持不变。不同群落间细胞大小差异显著 ($p < 0.01$)。在C4和C6两个群落中，微微型真核生物群两个亚群（即PicoLowFLR和PicoHighFLR）的每个细胞都显示出最重要的红色荧光 ($p < 0.05$)。



参考文献

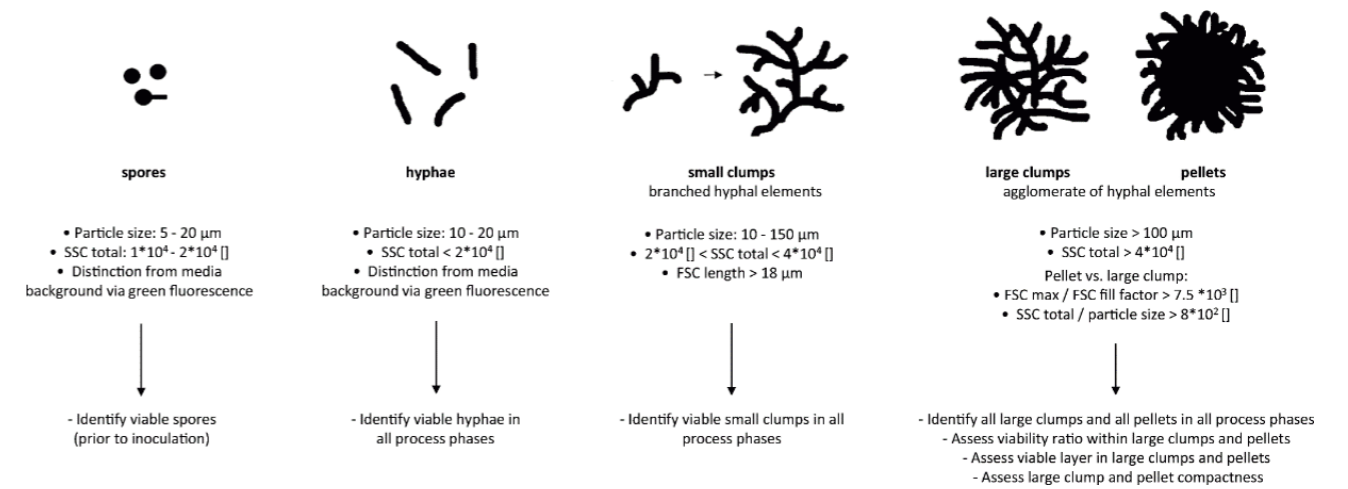
Louchart A, Lizon F, Lefebvre A, et al. Phytoplankton distribution from Western to Central English Channel, revealed by automated flow cytometry during the summer-fall transition. Continental Shelf Research, 2020: 104056.

利用CytoSense数据 优化丝状真菌的生物处理

文/王阳阳

早在2016年，澳大利亚维也纳科技大学Daniela Ehgartner 博士利用CytoSense和FDA/PI 双染色方法，成功对产黄青霉菌的孢子萌发进行了在线监测。

在最近Veiter等人发表的新研究中，使用CytoSense，通过形态学和生理学控制，可最大限度地提高真菌培养的活力和生产力。此前，Veiter和Herwig在他们的论文 “The filamentous fungus *Penicillium chrysogenum* analysed via flow cytometry - a fast and statistically sound insight into morphology and viability” (2019)中使用了CytoSense将形态学分析与现场环境中丝状真菌的生存力评估相结合。



丝状真菌的培养策略以特定的真菌形态为特征，包括多种形态；从均匀分布的菌丝到密集的团聚体。使用真菌产黄青霉菌（*Penicillium chrysogenum*）的工业生物过程有利于球形颗粒的形成，但由于颗粒核心层和外层之间的代谢差异，这通常会导致生物量的降低。因此，需要对团粒进行在线监测（如CytoSense）以实现稳健的过程控制，而随后对衍生的形态描述分析有助于最大限度地提高其补料分批处理的可行性和生产率。

本研究旨在探讨发酵参数（能量输入、溶解氧浓度、底物吸收）对真菌形态、生物量活力及生产力的影响。用CytoSense测量的新的形态学描述（颗粒致密性和活颗粒层）对这些参数进行分析。

以下是通过CytoSense来测定参数：※ 与所有形态类别相关的颗粒体积比（颗粒比，单位%）（图1）※ 颗粒的平均尺寸（单位， μm ）※ 颗粒致密性，可从SSC（侧向散射）信号长度与颗粒尺寸结合获得，如图2所示。※ 可行的颗粒层（单位： μm ）（关于方法的更多细节，包括数据评估，可在文章 Veiter and Herwig,2019找到）

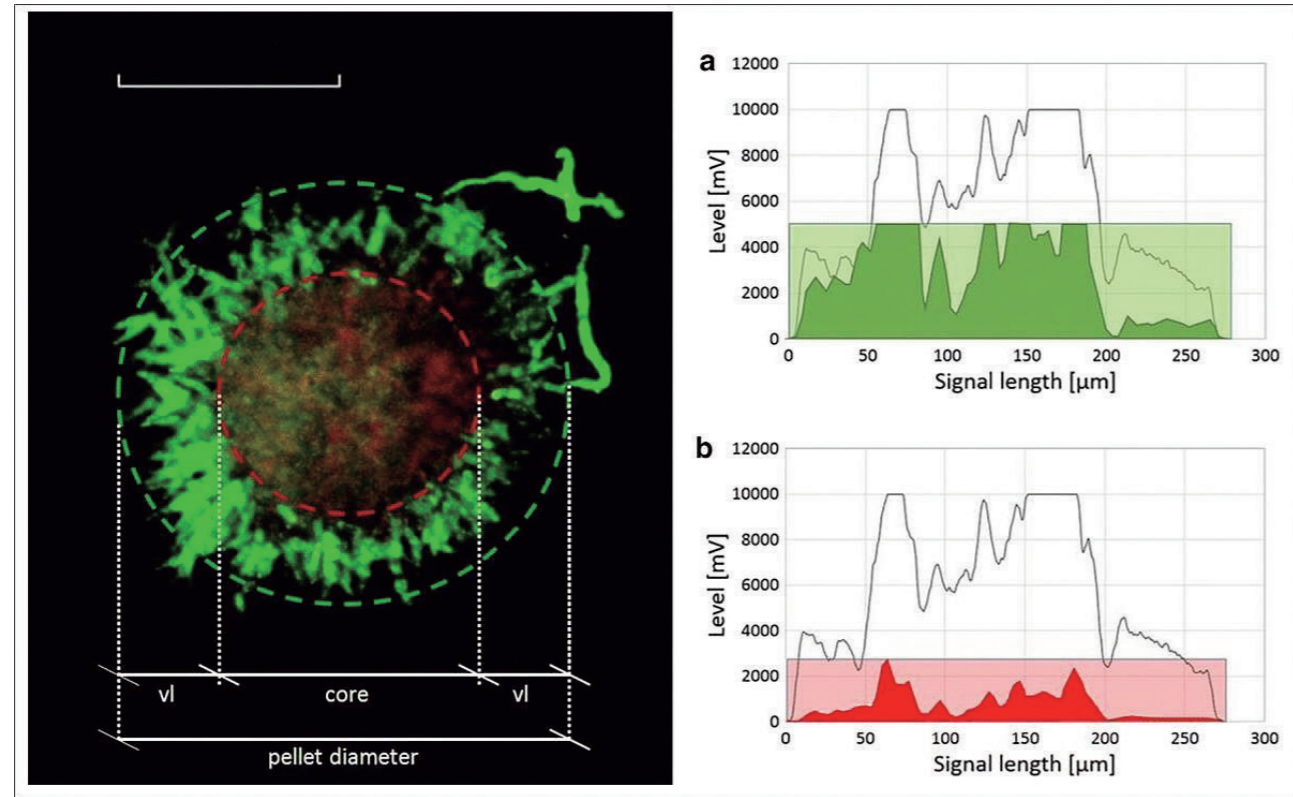


图1：左图：共聚焦显微镜下显示颗粒直径、活性层 (vl)、致密核心区（红色圆圈）和多毛外部区（绿色圆圈）
比例尺：50 μm 。右图：CytoSense的相应扫描信号剖面，
描绘了（a）颗粒直径上的活性区域和（b）颗粒核心的降解区域（图取自Veiter等人，2020）

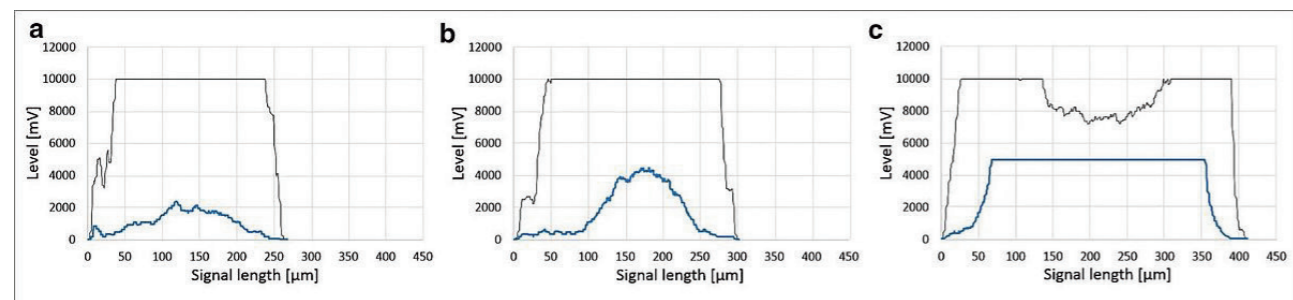
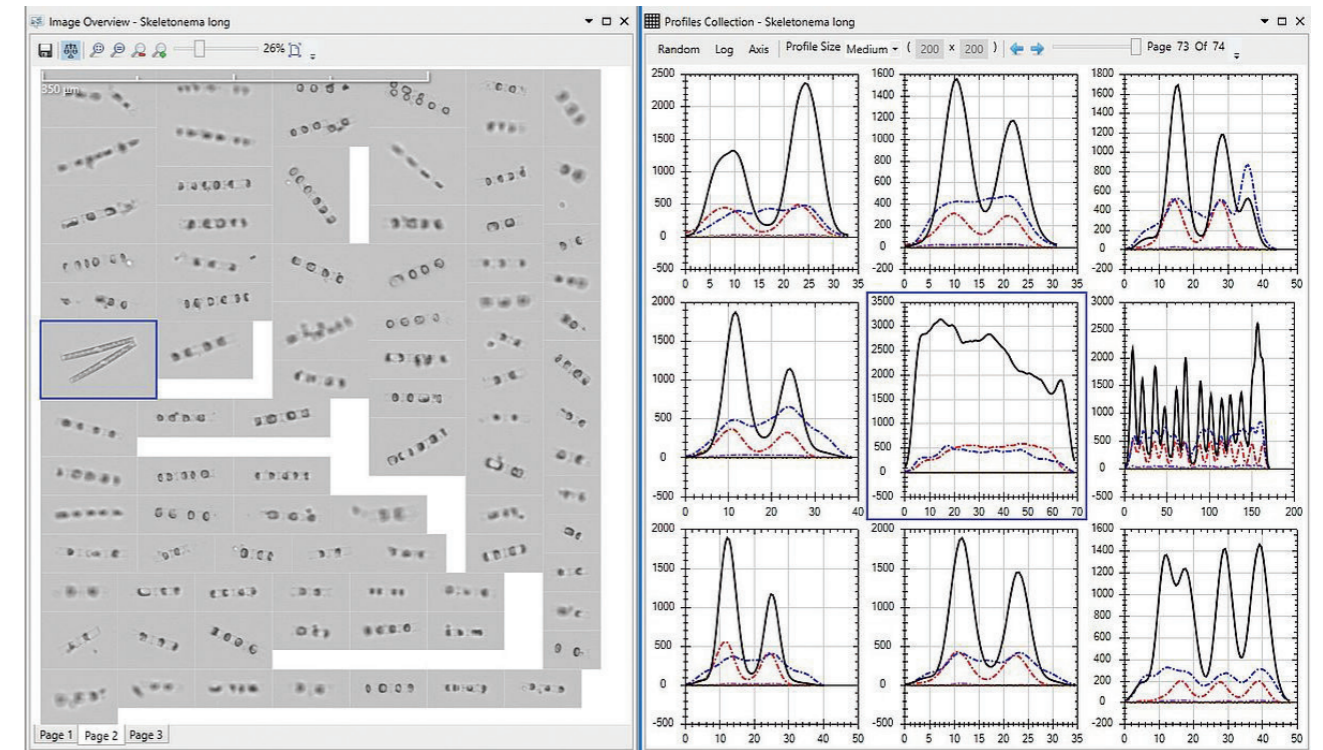


图2：空间分辨团粒信号剖面，FSC信号（黑色）和SSC信号（蓝色）
a. 参考SSC信号，为具有性的颗粒
b. 参考SSC信号，为具有高致密性的颗粒
c. 根据饱和SSC信号和颗粒直径增大及整体密度较高时的FSC信号，为破损颗粒（图取自Veiter等人，2020）

作者设想所提出的方法（通过形态和生理特征控制优化生物处理）适用于任何过程性能高度依赖于形态的生物体，例如已经适用于糖化工程酵母（Pekarsky等人，2018）



除了颗粒的信号轮廓外，CytoClus的新特征还包括缩放选项（防止信号饱和）和交互式查看所有成像颗粒及其脉冲形状，以便更快地定义细胞的变化。



参考文献

Veiter L, Kager J, Herwig C. Optimal process design space to ensure maximum viability and productivity in *Penicillium chrysogenum* pellets during fed-batch cultivations through morphological and physiological control. *Microbial cell factories*, 2020, 19(1): 1-14.

AgriPheno™ 快讯

AGRIPHENO NEWSLETTER

2020年9月 | 第13卷 | **第3期**

《AgriPheno 快讯》编委会

主 编：徐静萍

责任编辑：王吉生

编委会：甘宇宏 苟水燕 郭 峰 何红梅

黄亚东 吕中贤 马 霞 潘 婕

史建国 沈天跃 王 强 王阳阳

储一青 郑宝刚 赵志鸿 王玉杰

电 话：021-32555118

传 真：021-32555117

地 址：上海金沙江路1038号华东师大科技园2号楼8楼

E-Mail: newsletter@zealquest.com



《AgriPheno™ 快讯》版权声明

《AgriPheno™ 快讯》由上海泽泉科技股份有限公司印制，属于上海泽泉科技股份有限公司内部刊物

版权所有：©上海泽泉科技股份有限公司，并保留所有权利

本刊物内之所有数据均为上海泽泉科技股份有限公司版权所有，并受版权及拥有权条款所保障

未经版权持有人上海泽泉科技股份有限公司的书面许可，任何人或机构一律不得复印、分发及编辑本刊物内之所有数据。

上海泽泉科技股份有限公司已尽力确保本刊物之内所有数据或其数据之来源均为可靠。所有数据并不存有任何形式的授权、代理、引申及认可。上海泽泉科技股份有限公司对任何人士采用或依靠此等方式，一概不会承担任何法律责任。

注：本期刊为公司内部刊物，不做任何商业用途

03

企业新闻 CORPORATE NEWS

03 AgriPheno订阅号推送文章汇编
2020年7月-2020年9月

07

科研动态 RESEARCH TRENDS

07 根系分泌物：从收集方法到结果度量

12 南京农大周济教授团队成功研发高通量作物种子发芽表型监测平台

17 肠道菌群对动物健康的影响

AgriPheno订阅号推送文章汇编 2020年7月-2020年9月

文/王吉生

AgriPheno订阅号专注于持续更新植物生理生态、植物表型组学和基因组学、基因分型、智能化育种及应用、激光雷达探测技术及数据分析等领域，国内外最新资讯、战略与政策导读。本文节选了2020年7月-2020年9月推送的代表性文章，以供大家参阅。

植物逆境研究

• 基于深度卷积神经网络的条锈病自动检测方法

本文提出了一种新的基于深度卷积神经网络（DCNN）的方法，该方法可以使用高空间分辨率的高光谱图像（通过无人机捕获）来自动检测作物病害。

• 高通量植物表型在林木幼苗性状量化和干旱响应评估中的应用

本研究使用VIS-NIR本研究使用高通量植物表型分析系统，结合RGB和高光谱相机，来量化木本植物幼苗的生长和发育，并评估它们在受控环境下对干旱胁迫的响应。

• 田间及受控条件下冬小麦抗旱种质筛选：低成本表型分析

本研究的目的是评估搭载消费级数码相机的低成本表型分析系统是否可以用于鉴定抗旱种质。

• 水稻抗旱性分析的高通量表型平台

本研究利用各种成像技术获取和分析水稻抗旱突变体osphyb的表型数据，建立水稻抗旱性的早期和定量筛选平台。

• Review: 用于抗旱/耐旱品种筛选的高通量表型方法比较

本文综述了近年来发展起来的用于抗旱/耐旱品种筛选的高通量表型方法和平台。

植物根系研究

• 基于X射线CT的水稻根系构型高通量三维可视化

本研究利用X射线CT技术开发了水稻根系构型三维可视化的高通量处理流程。

• Shovelomics: 田间高通量根系表型研究方法

Shovelomics技术是一种简单、廉价的作物田间高通量根系表型研究方法，可用于评价根系系统及其对环境变化的响应。

• 菌根真菌及其相关因子对植物种群和群落生物学的影响

本文认为菌根真菌通常是决定植物种群和群落动态的关键因子。菌根真菌对植物种群和群落生物学有很强的影响，菌根类型对种子散布、幼苗建立、土壤生态位分化、种间和种内竞争以及植物多样性都有影响。

• 土层深度对吸收根和运输根功能属性塑性的影响不同

本文测量了表层土壤（0-10 cm）和亚表层土壤（20-30 cm）前五级细根各根序级的生物量、解剖结构、形态、化学和生理功能属性，以期揭示上述功能属性和生物量分配对与土层深度增加相关的资源可利用性变化的响应。

植物表型研究方法/方案

• 多年生黑麦草氮利用效率的快速筛选：基于图像的高通量表型分析

本研究的目的是建立一种基于图像的多年生黑麦草NUE快速筛选方法，并探讨在低N（0.5 mM）和中N（5 mM）水平下黑麦草育种群体中NUE的遗传变异。

• Review: 果树表型技术及其应用研究进展

本文旨在对果树表型研究技术进行全面而深入的综述，包括VIS-NIR光谱、数字摄影、多光谱和高光谱成像、热成像和激光雷达（LiDAR）等技术，并从结构参数、色素和营养成分、水分胁迫、果实生化参数、病害检测等方面总结了这些技术的应用。

• 无人机激光雷达在作物生物量和作物高度估算中的应用

本文对三种不同作物（马铃薯、甜菜和冬小麦）进行了无人机激光雷达数据采集，并评估作物生物量和作物高度的潜力。

• 基于商用无人机平台的表型分析方法及应用

本文综述了使用具有成本效益的商用无人机平台（低于5000美元）进行表型分析的各种方法和应用。



光谱技术

• 高光谱成像估算小麦叶片N含量能力的评估

本文通过比较三台高光谱相机和一台非成像光谱仪，评估了高光谱成像和非成像传感器对小麦叶片中N含量的估算能力。

• 用于种子质量评估的热成像技术：原理和应用

本文概述了热成像技术的理论和基本原理，探讨了热成像技术在评估种子质量参数方面的潜在应用，包括种子活力的估计、病虫害的检测、种子损伤和杂质的检测、种子分类和品种鉴定等。

• 不同光谱组成对红掌切花低温贮藏性能的影响

本文研究了不同光谱组成对红掌切花低温贮藏性能的影响。

• 拉曼光谱在植物缺氮早期诊断与管理中的应用

本文研究了拉曼光谱在植物氮元素状态的早期诊断与管理中的应用。

• 基于无人机系统的能源甘蔗产量及木质纤维素含量预测

本研究的目的是利用无人机RGB和多光谱图像来预测能源甘蔗新种质的产量和总纤维素含量（total cellulosic content, TCC）。

新观点/新技术

• 新兴等离子体技术：缓解作物早期生长阶段的环境压力

本文综述了不同类型的等离子体处理对植物早期生长过程中种子表面环境（种子损伤和病原菌灭活）和生理过程（增强的抗氧化系统和激活的防御反应）的影响及其应用前景。

• 优质番茄花粉的筛选：基于花粉活力分析仪(IFC法)

本实验利用Ampha Z32花粉活力分析仪（IFC法）测试了来自多个国家的1000份番茄花粉的活性。

• 南京农大周济教授团队成功研发高通量作物种子发芽表型监测平台

本文对自主开发的自动化表型采集和分析平台SeedGerm如何完成作物种子发芽的自动化时序拍摄、基于图像的表型分析和基于监督式的机器学习、针对不同作物类型的高通量性状分析进行了详细的介绍。

• GrowScreen-Agar：琼脂培养基中小植株根和芽表型分析的自动化平台

为了缩小表型差异，Nagel KA等开发了一个自动化的表型平台GrowScreen-Agar，用于透明琼脂培养基中小植株根系和芽性状的无损表型分析。

• 填补表型鸿沟：用于大豆生长分析的高时间分辨率无人机数据

在本文中，Borra-Serrano I等采集大豆田间试验的高时间分辨率无人机RGB图像，并从中提取冠层盖度和冠层高度数据；采用Gompertz函数和Beta函数分别拟合冠层盖度和冠层高度数据，得益于数据的高时间分辨率，拟合的生长曲线精度大于90%。

植物生理生态研究

• PAM-2500测量诱导曲线（IC）和快速光曲线（LC）的FAQ

• 如何用PAM-2500叶绿素荧光仪测量慢速荧光诱导动力学曲线

• 如何用PAM-2500叶绿素荧光仪测量快速光曲线

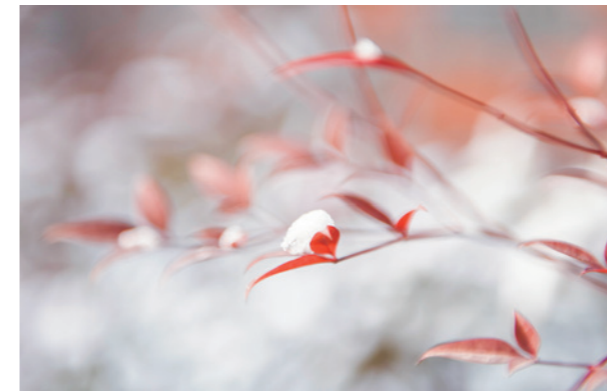
• PAM-2500测量诱导曲线和快速光曲线的数据提取和筛选

• 利用简易NIR敏感RGB相机和机器学习方法精确估算NDVI

基于机器学习的理念，本文提出了一种利用RGBN相机成像系统（Ncam）估算NDVI的低成本方法。

• 针叶树光合作用物候的可靠跟踪：基于高通量无人机遥感技术

本研究的主要目标是开发一个基于无人机的表型分析工具，以评估和预测白云杉幼苗群体的光合作用物候。



人工智能/机器学习

• 基于计算机视觉和深度学习的幼苗发育监测

本文提出了一个完整的图像处理 and 机器学习流程，用于监测幼苗的生长。

• 高通量表型分析的数据处理流程优化助力植物育种决策

本文利用定制的Python应用程序和PostgreSQL数据库为田间高通量植物表型平台开发了一个数据工作流程。

• 基于纹理特征和Frangi滤波器的麦穗自动检测

本文提出了一种改进和扩展的方法：（i）将小波振幅作为基于Laws纹理能量的神经网络的输入，而不是原始的灰度图像；（ii）通过将神经网络预测结果与Frangi滤波图像相结合来抑制非穗结构（如叶片）。

其他

• 《叶绿素荧光仪基础实验教程》第二版发布

这本小册子旨在介绍PAM荧光法，并提供一系列练习和实验，讲授如何使用这项技术研究光合作用的行为和光合作用机理。

• 叮咚~您有一份来自远方的数据等待查收

这是一份来自德国小镇Effeltrich的实时在线数据，它的发送者是德国WALZ公司于2019年秋季推出的最新产品MICRO-PAM。

• 新书推荐：《生态站野外常用监测仪器分类与选择》

本书编写人员通过对国内生态站及主要生态仪器销售厂商的走访、调查，以及大量文献资料的查阅，基于测定指标与传感器类型、原理，对不同用途的传感器优缺点及使用环境进行了筛选，同时，选择推荐了不同环境下使用的仪器型号，为研究中做什么、市场有什么、选什么提供参考。

感谢各位老师、同学的关注、推荐与积极转发，AgriPheno将不忘初心，坚持把国内外最新资讯、战略与政策导读分享给大家，以支持到大家的研究工作。作为开放公众平台，我们欢迎大家撰写各自已发表文章的介绍投稿，分享最新研究成果。此外，如您有最新的业内信息需要推送，我们也乐意效劳。



扫描以下二维码 即可阅读以上推文

根系分泌物： 从收集方法到结果度量

文/高巧

根系分泌物是指植物在生长过程中，通过根系不同部位主动或被动向周围土壤持续释放大量有机物质的总称，是一种复杂的非均一体系；是植物与土壤进行物质交换和信息传递的重要载体物质；是植物响应外界胁迫的重要途径；是构成根际微生态系统活力与功能特征的内在驱动因素；是根际概念与根际过程存在的重要前提和基础，且植物根际过程与调控机理研究是当前土壤学最活跃、最敏感的研究领域。

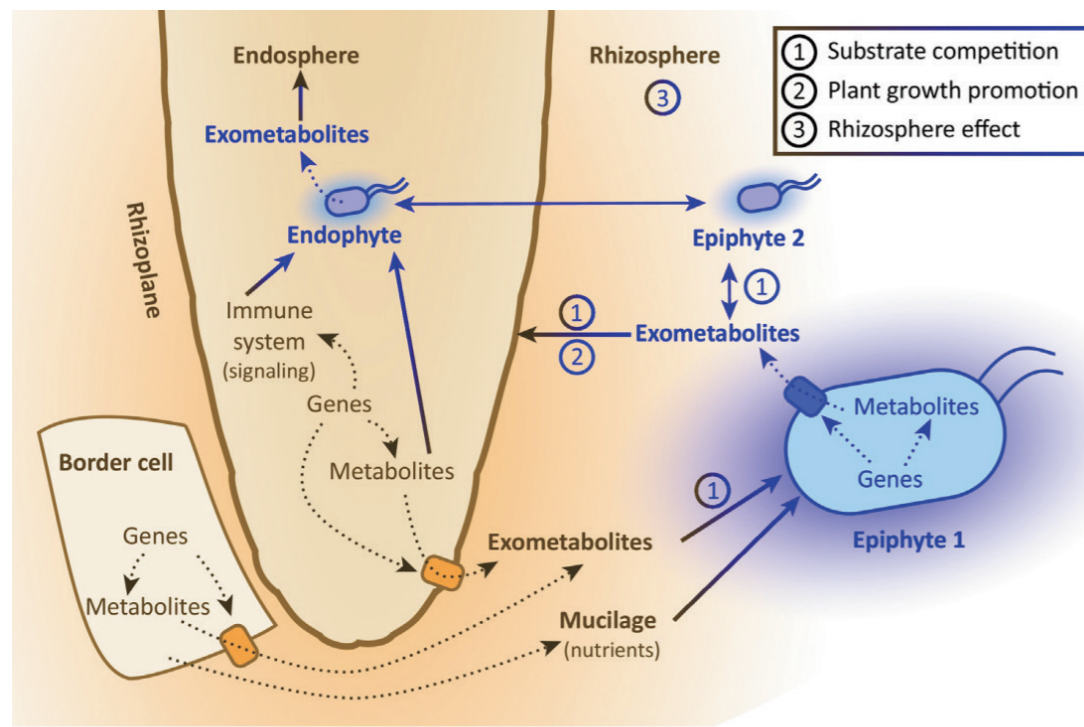


图1 植物和微生物的代谢产物网络

Trends in Plant Science

M. Luke McCormack等 (M. Luke McCormack, et al., 2017) 将根系分泌物归至根系的生理属性，具体研究根系分泌物的通量和组成。但是要研究根系分泌物的通量和组成，首先面临的问题就是如何收集根系分泌物？就树木根系分泌物原位收集而言，比较经典的方式是Richard P Phillips等 (Richard P Phillips, et al., 2008) 报道的森林土壤可溶性根系分泌物收集方法。

根系分泌物是指植物在生长过程中，通过根系不同部位主动或被动向周围土壤持续释放大量有机物质的总称，是一种复杂的非均一体系；是植物与土壤进行物质交换和信息传递的重要载体物质；是植物响应外界胁迫的重要途径；是构成根际微生态系统活力与功能特征的内在驱动因素；是根际概念与根际过程存在的重要前提和基础，且植物根际过程与调控机理研究是当前土壤学最活跃、最敏感的研究领域。

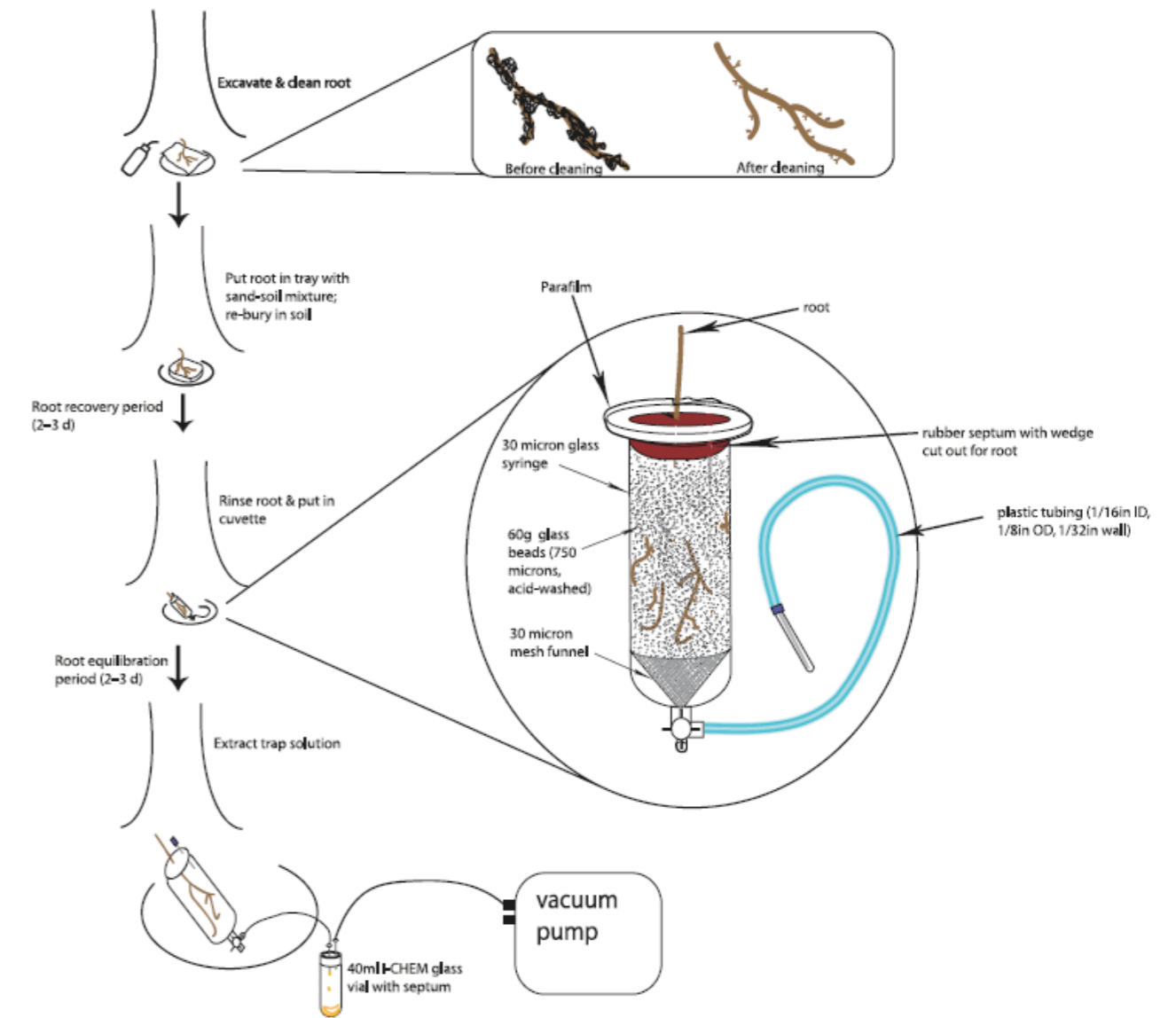


图2 森林土壤可溶性根系分泌物收集方法

当然，这也不是根系分泌物收集的唯一方法。Eva Oburger和David L. Jones (Eva Oburger and David L. Jones, 2018)综述了根系分泌物的收集方法。

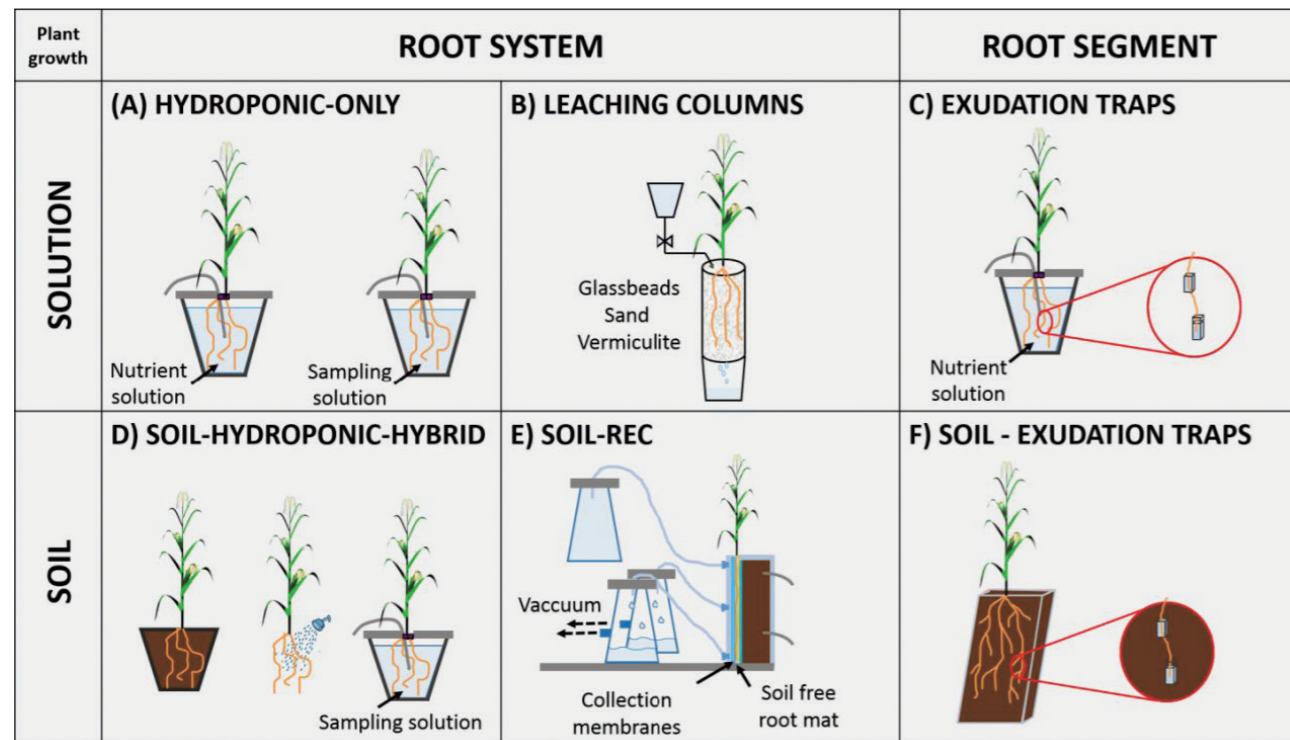


图3 根系分泌物收集方法

以Richard P Phillips等报道的根系分泌物收集方法为例，收集根系分泌物的操作过程还存在诸多细节，可参见中国科学院成都生物研究所孙庚等题为“草地草本植物根系分泌物原位收集方法”发明专利。

要获取根系分泌物通量，接下来需要对收集得到的培养液进行分析，获取溶液总有机碳浓度等；同时，获取根系分泌物收集装置内培养的根系的生物量。进而计算得到单位时间单位生物量根系释放有机碳的量，用于度量根系分泌物释放速率。

至此，解决了根系分泌物研究的一大难题，但还存在另外一个亟需解决的难题，就是根系分泌物的影响区域。年根系分泌物通量大约消耗净初级生产力的5-10%。但由于根系分泌物途径向根际土壤输入的物质多为易被土壤微生物直接利用的含碳有机物，可有效地改变根际微生物数量和活性，进而深刻地影响土壤有机质分解和养分转化过程。毋庸置疑，这种影响会随着到根系表面的距离增加而减小（Yakov Kuzyakov and DaviBahar S. Razavi, 2019），故需人为定义一个根际区域作为根系分泌物影响区域，非根际区域视为不受根系分泌物影响。在此基础上，再去考虑根际和非根际之间的差异，用根际效应（RE, [rhizosphere process rate-bulk soil process rate]/bulk soil process rate）度量（Huajun Yin, et al., 2014）。

近期，北京大学地下生态学研究团队孙丽娟博士等以题“Root exudation as a major competitive fine-root functional trait of 18 coexisting species in a subtropical forest”在New Phytologist上发表了亚热带森林根系分泌物研究的新进展，该文试图将根系分泌物关联到现有的细根经济谱，探讨根系分泌物在植物获取、使用资源方面的作用，旨在实现利用简单、易测量的细根功能属性预测根系分泌物通量。

研究表明，细根分泌物与竞争型功能属性（细根呼吸和根氮含量）有着稳健的正相关关系，与保守型功能属性（根组织密度）有稳健的负相关关系。说明根系分泌物是一种竞争型细根功能属性，意味着根系分泌物的碳通量增加可以促进植物根系获取土壤资源，验证了假设1。

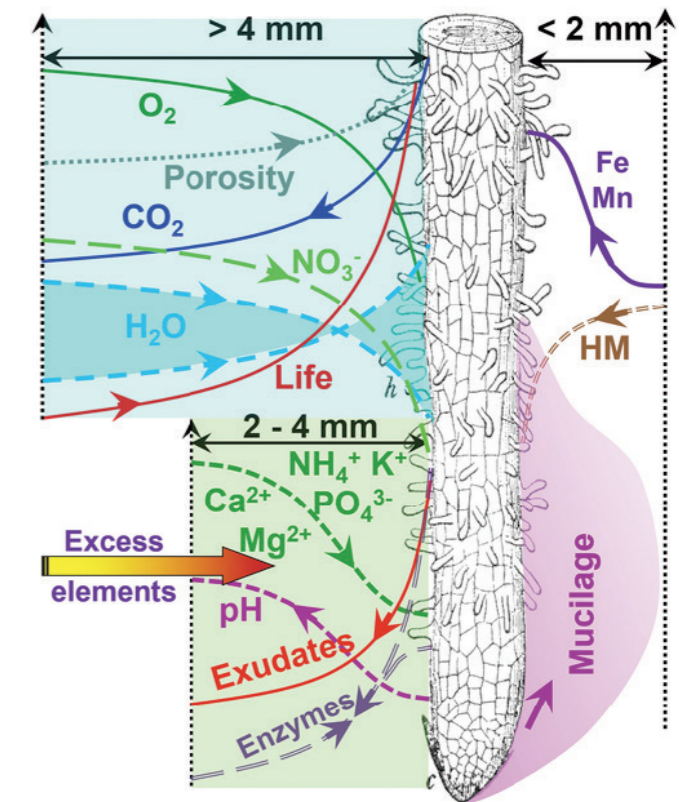
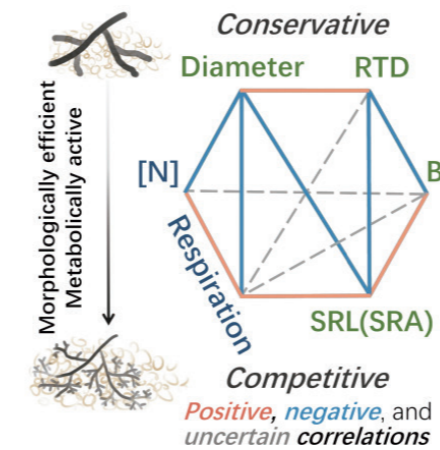


图4 根际过程及其对应的根际区域

(a) Conceptual framework of a single-dimensional root trait coordination



(b) Working hypotheses

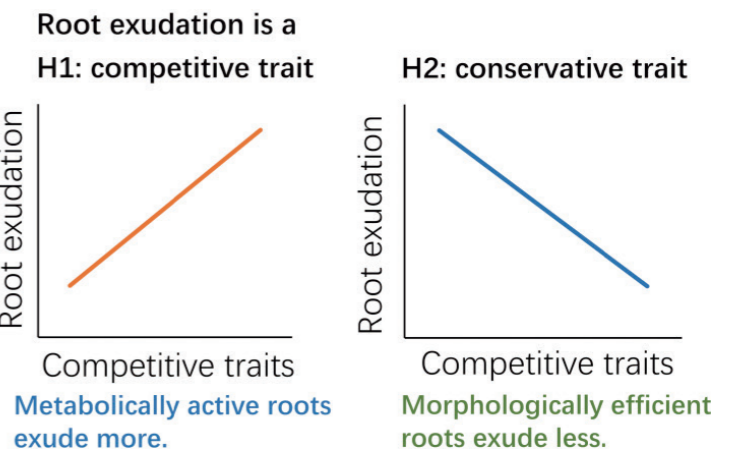


图5 a.细根经济谱概念图；b.研究假设

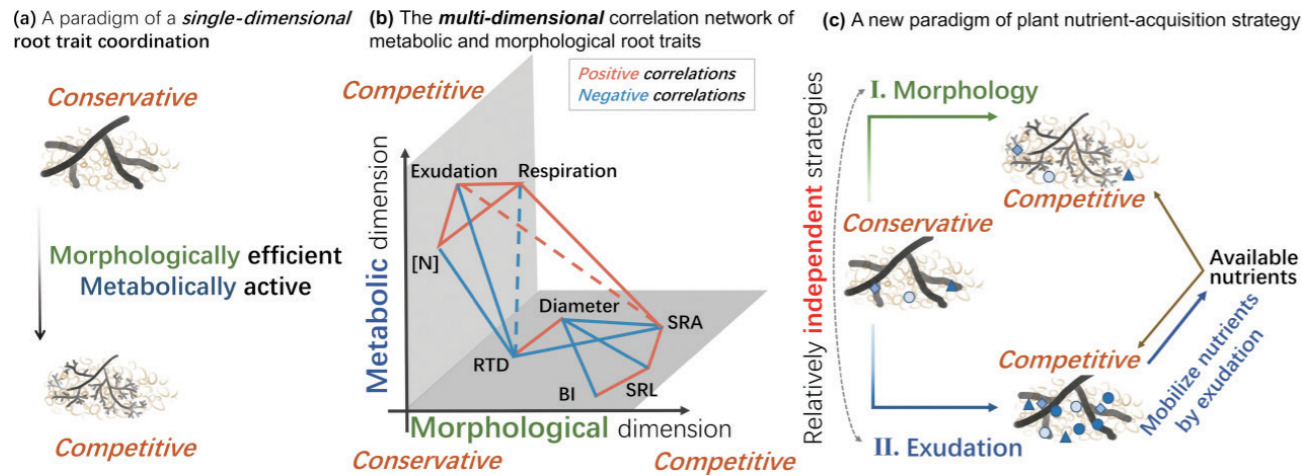


图6 多维细根经济谱的新概念框架

参考文献

- Joelle Sasse, Enrico Martinoia, Trent Northen (2017). Feed Your Friends: Do plant exudates shape the root Microbiome? Trends in Plant Science, 10.1016/j.tplants.2017.09.003.
- M. Luke McCormack, et al. (2017). Building a better foundation: improving root-trait measurements to understand and model plant and ecosystem processes. New Phytologist, 215, 27-37.
- Richard P. Phillips, Yael Erlitz, Raven Bier, Emily S. Bernhardt (2008). New approach for capturing soluble root exudates in forest soils. Functional Ecology, 22, 990-999.
- Eva Oburger, David L. Jones (2018). Sampling root exudates - mission impossible? Rhizosphere, 10.1016/j.rhisph.2018.06.004.
- 孙庚, 张楠楠, 类延宝, 刘琳, 陈冬明, 唐中林 (2016). 草地草本植物根系分泌物原位收集方法. CN 106053135 A.
- Yakov Kuzyakov, Bahar S. Razavi (2019). Rhizosphere aize and shape: Temporal dynamics and spatial stationarity. Soil Biology and Biochemistry, 135, 343-360.
- Lijuan Sun, et al. (2020). Root exudation as a major competitive fine-root functional trait of 18 coexisting species in a subtropical forest. New Phytologist, doi: 10.1111/NPH.16865.
- 尹华军, 张子良, 刘庆 (2018). 森林根系分泌物生态学研究: 问题与展望. 植物生态学报, 42 (11), 1055-1070.
- 吴林坤, 林向民, 林文雄 (2014). 根系分泌物介导下植物-土壤-微生物互作关系研究进展与展望. 植物生态学报, 38 (3), 298-310.

南京农大周济教授团队成功研发高通量作物种子发芽表型监测平台

Colmer, J., O'Neill, C.M., Wells, R., Bostrom, A., Reynolds, D., Websdale, D., Shiralagi, G., Lu, W., Lou, Q., Le Cornu, T., Ball, J., Renema, J., Flores Andaluz, G., Benjamins, R., Penfield, S. and Zhou, J. (2020), SeedGerm: a cost-effective phenotyping platform for automated seed imaging and machine-learning based phenotypic analysis of crop seed germination. New Phytol. doi:10.1111/nph.16736.

近日, 南京农业大学作物表型组学交叉研究中心周济教授作为第一通讯作者与英国约翰·英纳斯中心 (John Innes Centre) 的Steven Penfield教授、先正达种业集团 (Syngenta Seeds, 欧洲区) 的Rene Benjamins博士共同在国际植物学著名期刊《新植物学家》(New Phytologist) 上发表了关于种子发芽表型自动化采集和基于机器学习分析的高通量作物种子发芽表型监测平台——SeedGerm: a cost-effective phenotyping platform for automated seed imaging and machine-learning based phenotypic analysis of crop seed germination。New Phytologist 是一个百年老牌 (1902年建刊) 顶尖植物学SCI期刊, 最新影响因子高达8.512。主要出版植物科学研究及应用领域的最新高质量和创新性研究内容, 包括生理学与发育学、环境、相互作用和进化, 所刊载的文章涵盖了从细胞内现象到全球环境变化等广泛主题。



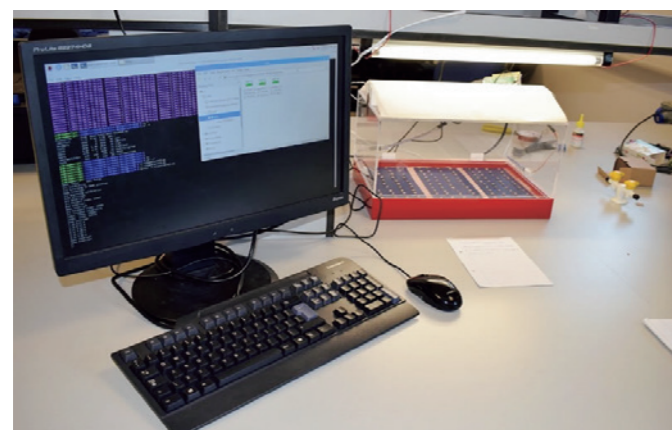
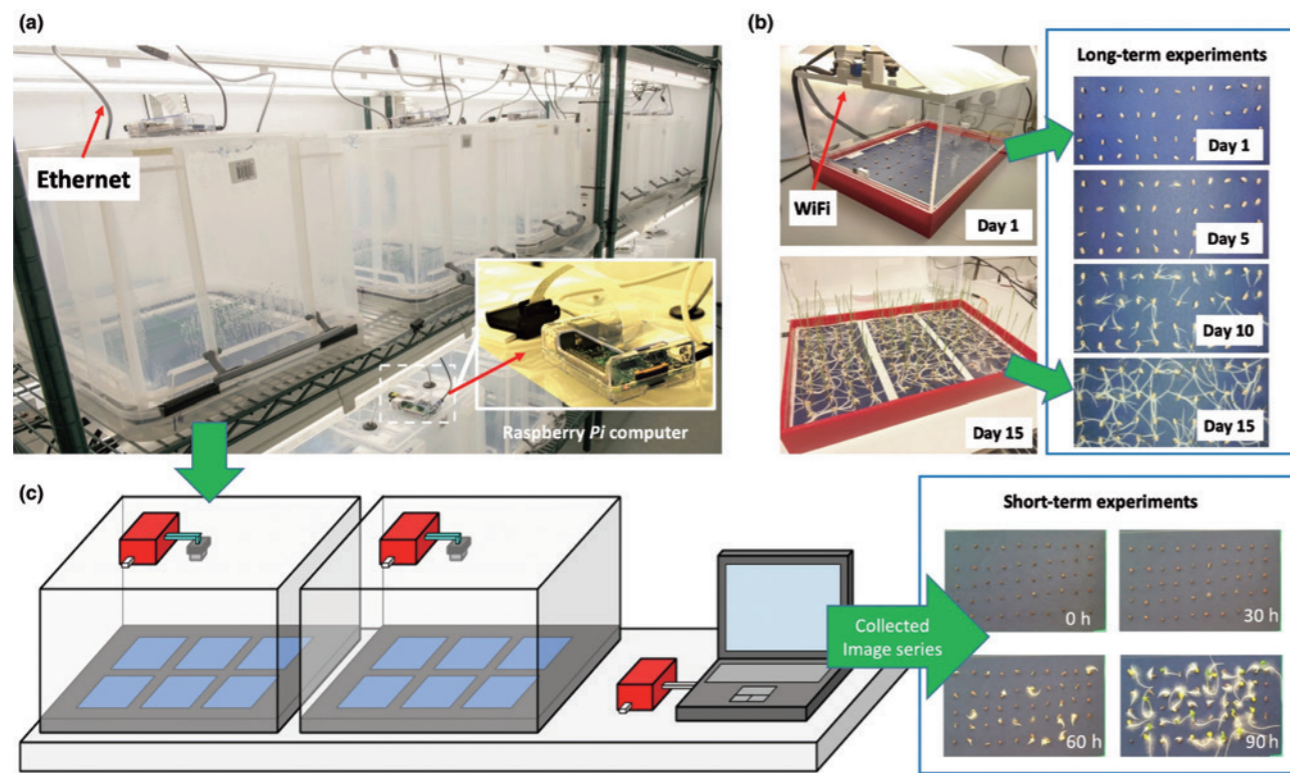
Methods

SeedGerm: a cost-effective phenotyping platform for automated seed imaging and machine-learning based phenotypic analysis of crop seed germination

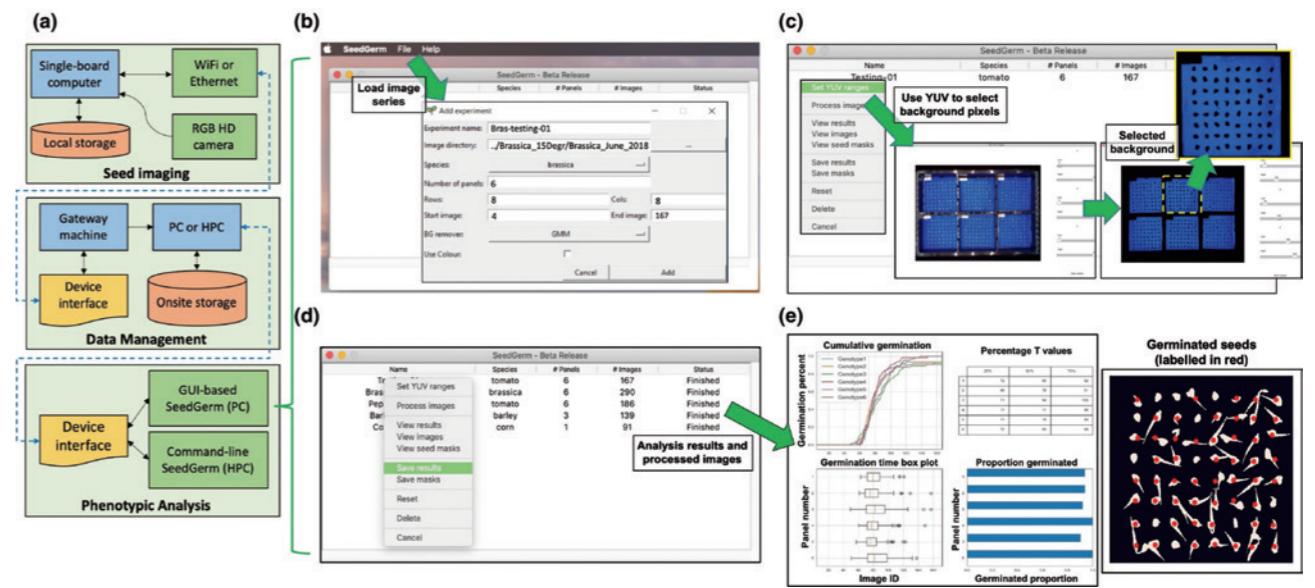
Joshua Colmer^{1*} , Carmel M. O'Neill^{2*}, Rachel Wells^{2*} , Aaron Bostrom¹ , Daniel Reynolds¹ , Danny Websdale¹, Gagan Shiralagi², Wei Lu³, Qiaojun Lou⁴, Thomas Le Cornu¹, Joshua Ball¹ , Jim Renema⁵, Gema Flores Andaluz⁵, Rene Benjamins⁵, Steven Penfield² and Ji Zhou^{6,7}

¹Engineering biology, Earlham Institute, Norwich Research Park, Norwich, NR4 7UZ, UK; ²Crop Genetics, John Innes Centre, Norwich Research Park, Norwich, NR4 7UH, UK; ³College of Engineering, Nanjing Agricultural University, Nanjing, Jiangsu 210095, China; ⁴Shanghai Agrobiological Gene Center, Shanghai Academy of Agricultural Sciences, Shanghai 201106, China; ⁵Syngenta Seeds BV, Enkhuizen 1601 BK, the Netherlands; ⁶State Key Laboratory of Crop Genetics & Germplasm Enhancement, Plant Phenomics Research Center, Jiangsu Collaborative Innovation Center for Modern Crop Production co-sponsored by Province and Ministry, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; ⁷Cambridge Crop Research, National Institute of Agricultural Botany, Cambridge, CB3 0LE, UK

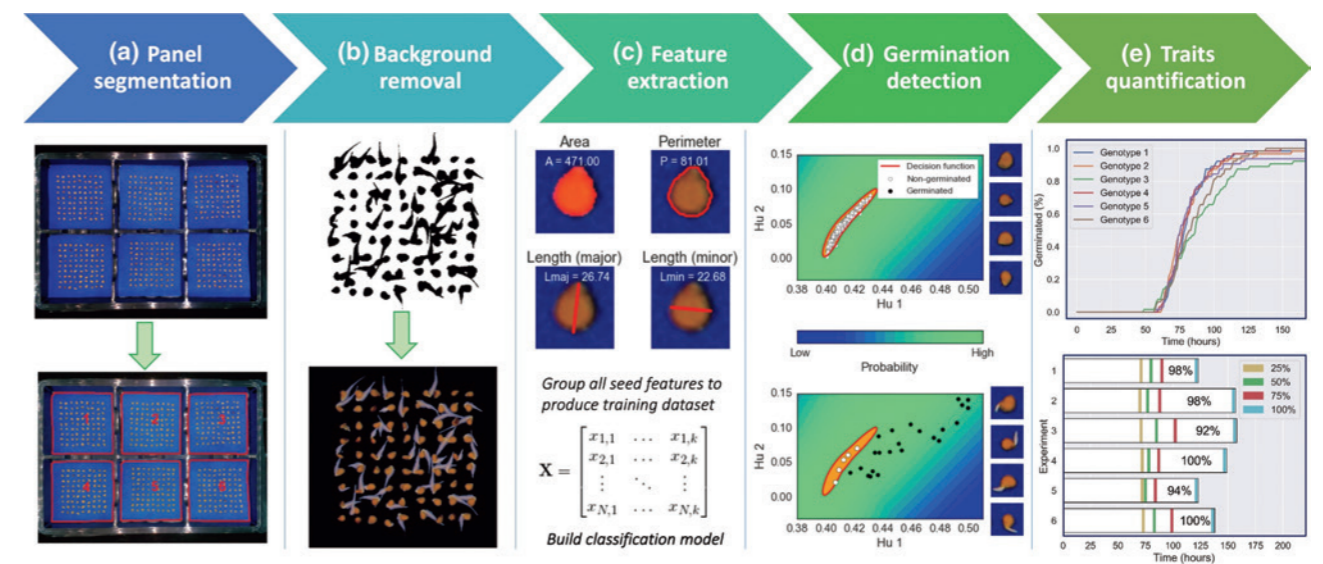
文中介绍了自主开发的自动化表型采集和分析平台SeedGerm，对如何完成作物种子发芽的自动化时序拍摄、基于图像的表型分析和基于监督式机器学习的、针对不同作物类型的高通量性状分析进行了详细的介绍。本研究推出的SeedGerm系统，基于经济型的硬件和开源软件设计涵盖了对小麦、大麦、玉米、番茄、辣椒和油菜等不同作物类型的种子发芽试验、发芽时序图像，泛化图像处理、实时训练和基于机器学习的表型性状分析；最终，生成可靠的发芽性状分析数据集以供量化分析。本文还从统计上分析了幼根突破种皮的时间和评价标准，通过和生物学家的评判相关性、动态发芽曲线、多个发芽率梯度等重要发芽性状，对88个油菜品种进行基因型-表型关联分析，并定位到了一个关于脱落酸（abscisic acid, ABA）信号转导的相关基因。此外，本文还介绍了开源SeedGerm系统在作物发芽研究、育种和种子监测中的应用，显示了其在科学研究和生产实践中广泛的应用前景。



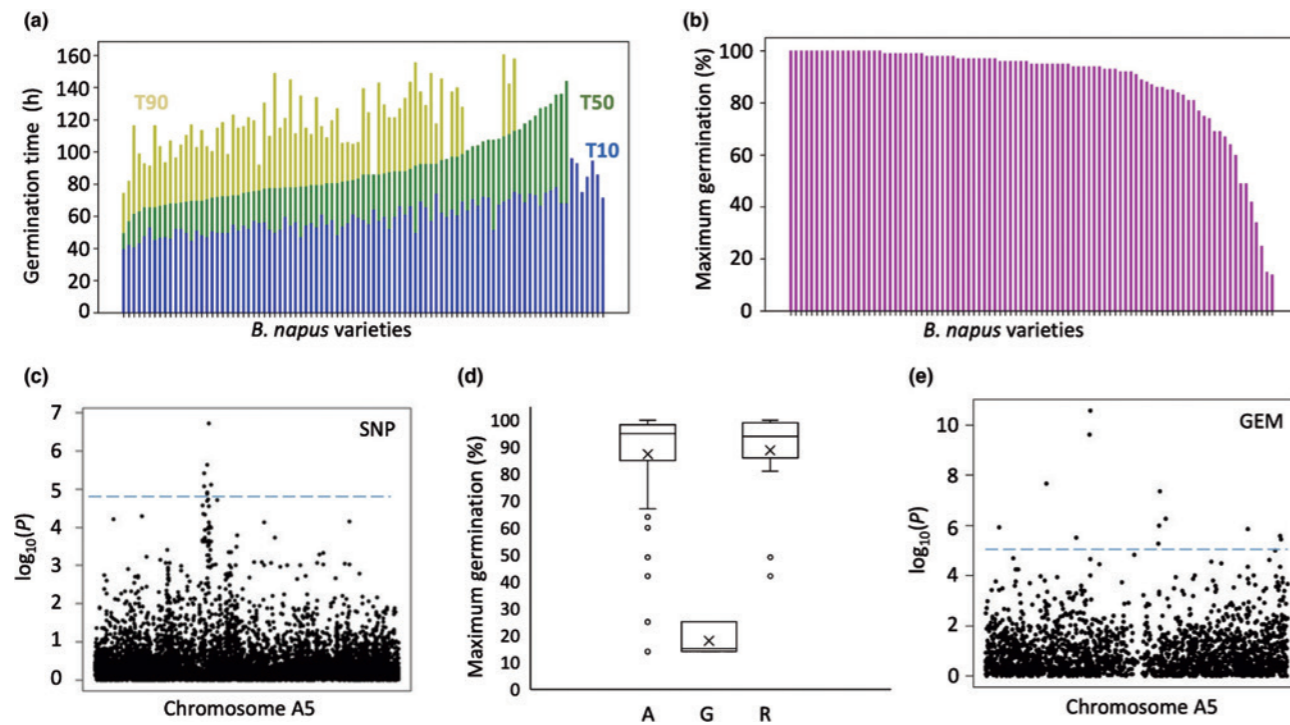
SeedGerm的硬件设备
(两种类型：有线和无线连接)



SeedGerm的软件系统



SeedGerm的核心分析算法



SeedGerm用于检测88种具有不同发芽特性的甘蓝型油菜的遗传差异

特别是随着基因组学和测序技术的飞速发展，基因型数据海量扩充，而高质量表型数据的匮乏已经逐步成为鉴定基因-性状关联、解析环境对性状的影响，进而实现作物改良和加快植物研究的瓶颈。近年来，信息技术、人工智能和农业大数据等新兴研究领域的不断完善，多学科交叉为高通量、自动化作物表型组研究奠定了坚实的基础。以植物生命史和田间生产的起点——发芽为例，种子发芽和幼苗建成不仅是自然界植物群落形成的主要瓶颈，也是粮食作物和很多园艺作物在田间快速、整齐生长发育的关键步骤。在科学研究和农业生产中都是考评品种表现、栽培管理水平的重要依据。当前大部分种子发芽表型的获取依然依靠人工识别，对经验和专业知识有较高要求，通量也收到极大的限制。此外，不同科研人员之间在评判上会有一些的偏差，很难实现完全客观的量化分析。因此可用于多物种的种子发芽表型性状的高通量、高精度、标准化获取和分析方法的开发尤为重要和迫切。

南农大作物遗传与种质创新国家重点实验室、作物表型组学交叉研究中心和江苏省现代作物生产协同创新中心为第一通讯单位。此外，上海农科院农业生物基因中心和南农大工学院卢伟副教授也参与了本项目。英国国立农业植物研究所（National Institute of Agricultural Botany, NIAB）下属的剑桥作物研究中心（Cambridge Crop Research Centre）也共同参与了本项目的研发、分析和测试。

周济，中国国籍，英国皇家生物学会会士（The Fellow of the Royal Society of Biology, FRSB）；南京农业大学作物表型组学交叉研究中心特聘教授，周济实验室主任，博导；英国国立农业植物研究所、剑桥作物研究中心数字

科学研发部门主管（Head of Data Sciences）、创新实验室主任，博导。在传统表型采集和分析算法基础上，依托南农大、剑桥大学植物科学系和超算中心，专注于高通量植物表型分析算法、计算机视觉和人工智能算法在表型分析中的开发和应用。2011年博士毕业至今，以生物信息学专家的身份参与完成多项交叉基础、应用研究项目。做为主要完成者在Nature, Nature Plants, Plant Cell, New Phytologist, GigaScience和Horticulture Research等国际顶级期刊撰写发表学术论文25篇，总影响因子超过180，自2015年起被引证超过1000次，其中以第一、通讯、共同通讯作者发表论文18篇。定期为多家国际顶级学期刊审稿。获得国际发明专利1项，英国发明专利1项。研究成果多家欧洲媒体报道或专访，包括英国国家媒体如ITV, BBC, Guardian, Cambridge Network等。

原文链接：

Colmer, J., O'Neill, C.M., Wells, R., Bostrom, A., Reynolds, D., Websdale, D., Shiralagi, G., Lu, W., Lou, Q., Le Cornu, T., Ball, J., Renema, J., Flores Andaluz, G., Benjamins, R., Penfield, S. and Zhou, J. (2020), SeedGerm: a cost-effective phenotyping platform for automated seed imaging and machine-learning based phenotypic analysis of crop seed germination. *New Phytol.* doi:10.1111/nph.16736.

英国Anglia A.I.公司PhenoSeed自动化种子发芽分析系统

PhenoSeed自动化种子发芽分析系统是由英国Anglia A.I.公司研发的一款可实时对种子发芽性状自动分析的系统，PhenoSeed系统可高通量分析种子发芽的形态特征、形态分类、发芽率等，数据稳定可靠、重复性高，PhenoSeed系统完全兼容Jacobsen发芽床。



应用领域

适用于小麦、玉米、苜蓿、水稻、谷子、高粱、蔬菜、花卉、树木种子等的种子性状研究，也可根据研究需求定制其它物种。

应用领域

- 种子大小、颜色、形状、发芽率、发芽时间、种子排序(1~5)、种子活力（基于形态变化）、发芽颜色等
- 对上述分析的种子进行种子分级

肠道菌群对动物健康的影响

文/刘晓峰

肠道菌群系统作为动物肠道内最复杂的微生态系统，其大量微生物参与动物的营养物质的吸收、分布、代谢以及机体的免疫，并影响动物生长和健康。肠道菌群的失调可引起多种疾病，如顽固性便秘、炎症性肠病（IBD）、肠易激综合征（IBS）、代谢综合征等。因此，了解肠道菌群与营养物质之间的关系，对调节肠道菌群平衡对动物体健康有重要意义。

肠道菌群概述

动物肠道可为多种微生物提供良好的生活环境，研究发现在动物肠道中存在约500种细菌，总数量高达10¹⁴个。肠道菌群是微生物多种群有机整体，肠道微生物与宿主共同构成了一个相对稳定的内环境，互利共生。研究发现，肠道菌群的平衡有利于提高动物免疫力，保证动物体的健康。初生动物的肠道处于无菌状态，之后细菌可从动物口、鼻和肛门进入到动物体消化道内，2h便可从其肠道内检测到肠球菌、链球菌和葡萄球菌等需氧菌的存在。日粮、环境、生理状态、遗传因素等均可影响动物肠道微生物的

组成及数量，鸡大约在出生40d后肠道菌群达到稳定状态，人大约在出生1年后肠道微生态环境趋于稳定。动物肠道菌群可促进宿主对营养物质（维生素、氨基酸、短链脂肪酸等）的消化、吸收和利用，并能够抑制有害菌增长，阻止病原菌、致病菌的入侵，增强宿主免疫功能。不同种类动物的肠道微生物与相同动物不同肠道部位的微生物组成及数量均存在差异性。43日龄健康仔猪肠道内的优势菌群以乳杆菌、肠球菌和梭菌等厌氧或兼性厌氧菌为主，其次是双歧杆菌，但胃和十二指肠内的优势菌群为双歧杆菌，其次为乳酸杆菌；回肠内的优势菌群为双歧杆菌，其次为肠球菌；盲肠内优势菌群为双歧杆菌，其次为小梭菌；直肠中优势菌群为双歧杆菌，其次为乳酸杆菌。40日龄鸡的肠道菌群主要由粪链球菌、大肠杆菌、拟杆菌亚种和乳杆菌属亚种构成，但其小肠内的优势菌群为乳酸杆菌，其次是梭菌、粪链球菌和大肠杆菌；盲肠内梭菌为优势菌属，其次是梭杆菌属、拟杆菌属和乳杆菌属。反刍动物的瘤胃微生物复杂多样，包括瘤胃细菌、厌氧真菌、古细菌和瘤胃原虫，还有少

量噬菌体，每克瘤胃内容物中细菌数量为10¹¹个，约有200个种类；每克瘤胃内容物中瘤胃原虫约10⁵~10⁶个，覆盖24个属；此外瘤胃内还存在数量较少但对营养物质的发酵降解有重要作用的厌氧真菌。不同动物之间肠道菌群组成及数量差异较大，肠道菌群多样性与动物生长以及健康均具有重要作用。

调控动物肠道菌群作为一种治疗方法

随着不断的研究的进展，控制动物肠道菌群作为一种治疗方法正越来越受到人们的重视，尤其是随着各种高通量测序（16S和宏基因组测序）带来的便利，我们在人类疾病中越来越多的实验证据表明肠道菌群跟人类各种疾病，比如各种代谢类疾病相关性非常大，跟很多恶性肿瘤的相关性也非常大。上海中国科学院上海药物研究所耿美玉研究员更是依照治疗肠道菌群的思路，主导研发了国际首个兼具病程改变与症状改善双重作用的寡糖抗AD新药GV-971，是16年来国际上首个3期临床研究成功的抗AD新药，

击败了国外的数家大药企都无法攻克的难题，进行了药物研发的弯道超车。

而我们想通过改进动物的肠道菌群同样可以改善动物的健康，无论是家庭宠物，农场的动物还是在野生动物的保护。这种调控肠道菌群的方法，我们考虑包括整个环境的变化，例如粪便，微生物群移植，益生元，益生菌和抗生素等，并且更具针对性的一些比如噬菌体疗法和CRISPR-Cas等方法。当然尽管很多对肠道菌群用于治疗的基本生物学仍然有很多的未知，但是通过肠道菌群在人类医学方面的快速发展以及益生菌和其他微生物群疗法在个别动物群体中的应用反馈，从马到

火蜥蜴再到蜜蜂。尤其是在研究动物肠道菌群的时候，动物的饮食和宿主遗传多样性相比人类研究更容易标准化（至少在人类驯化和圈养的动物研究中），而且动物更容易进行各种实验研究操作，所以对数据的采集和共享更容易，所以我们相信这些调控肠道菌群的技术的前景在未来是十分广阔的，面对牲畜，宠物和野生动物的肠道菌群研究将会各自具有重要的经济和社会意义。

肠道菌群在动物疾病诊断中的作用

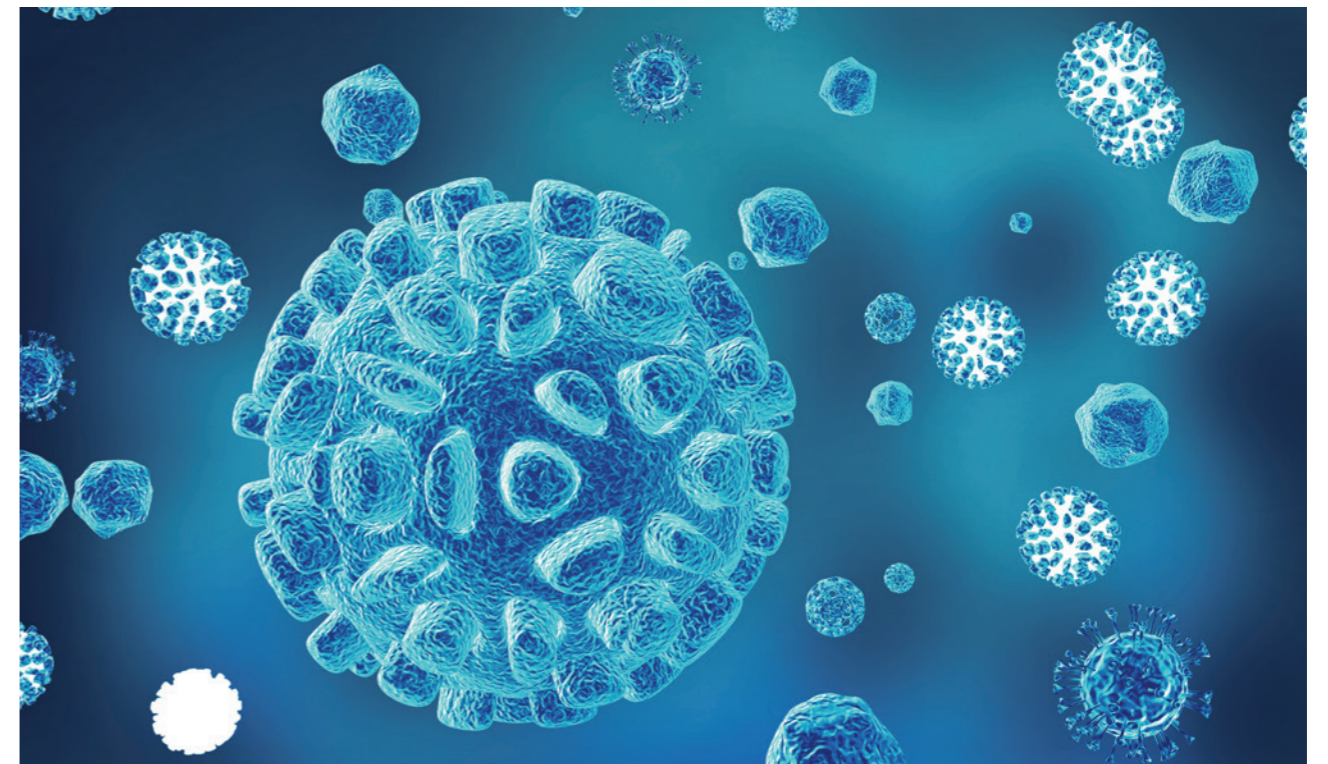
制定有效疗法的第一步是确定要治疗的健康问题。但是，这是一项模糊的任务，以及有关我们如何能做到的问题。我们期望通过读出肠道

菌群的情况来评估动物的健康状况。例如，通过PCR或基于质谱的分析，动物感染的各种病原体通常很明显且易于被检测到，但是以此来评估总体肠道菌群的健康相比要更加困难。不过研究表明，典型肠道微生物群的“失衡”通常与负面的健康状况有关。

肠道菌群的“失衡”可能以多种方式出现：

- 致病菌的过度生长，
- 某种原因导致缺乏有益菌群
- 肠道菌群的整体上总量减少或者缺乏多样性

但是，哪些菌群被定义为有益的还是有害的，不是很容易，更多的是要看肠道菌群整体系统是否跟机体达到了一种适应（请参阅方框



1)。在某些情况中，抗生素的使用显然具有更复杂的影响，这超出了其本意只对病原体的影响，尽管我们给抗生素往往是想要治疗动物的疾病。抗生素可以消灭目标病原体，也可以同时消灭有益菌群，并导致负面的健康后果。例如，在蜜蜂中，用抗生素治疗会大大减少细

菌含量和几个核心细菌类群的绝对含量，这反而会导致死亡率增加。抗生素破坏肠道的类似证据也在马，鸡，狗和猫中有所报道，尽管抗生素的治疗并不全部会导致负面的临床症状。

我们也发现了圈养的灵长类动物更容易出现胃肠道问题，而且他们的

肠道菌群系统跟野生更健康的灵长类动物的肠道菌群系统完全不一样。某些得炎症性肠病（IBD）的动物中，有害肠道菌群跟患IBD的病人的肠道菌群也不同。在患有结肠炎的马中我们发现，肠道菌群的各个菌群的比例更重要，而不是某个菌群有或者没有更重要。

色（原本的菌群）和蓝色（干预后新的有益菌群）不同，但是一旦确定了对红色（有害外源的感染病原体）的优势后，动物疾病被有效的控制甚至已经变得健康了。

通过生物工程进行操纵菌群的方法

研究表明，通过生物工程的方式，对肠道菌群的操纵，可以成为重塑动物健康的有力工具，可以稳定（或者恢复）动物的不良疾病反应。

在这里，我们重点介绍三种通用方法（图2）：

基于益生菌或益生元等的补充

移植供体的菌群给受体

选择性定位-基因编辑，定向杀死或者增强某些菌群

除了上述的三种方法之外，已经有大量文献报道，关于使用抗生素作为药物对菌群的使用效果。但是数十年广泛在畜牧业和水产养殖业中使用抗生素，也引起了人们对安全问题的担忧，尤其是越来越多的抗生素耐药性有关报道。因此，抗生素将不会是这方面的重点。而其他替代性的生物工程方法来调节肠道菌群将是更重要的方法。

感染引起的不良反应或肠道菌群进行适应性转变？

疾病跟肠道菌群的之间影响既有病因也有病果，当感染了某个病原体，肠道菌群会做出一些适应性的转变，这些适应性转变可能代表了一种免疫形式，会跟外来侵入的病原体进行竞争性抑制。

通常一种病原体侵入，会导致原有的有益菌群大量减少，机体是否能变的健康还是屈服于疾病，可能部分是由于肠道菌群对病原体增殖的反应速度，也就是适应性转变速度影响的（图1（a））。同样，我们也可以通过调控肠道菌群（图1（b）），可以预防或恢复疾病。

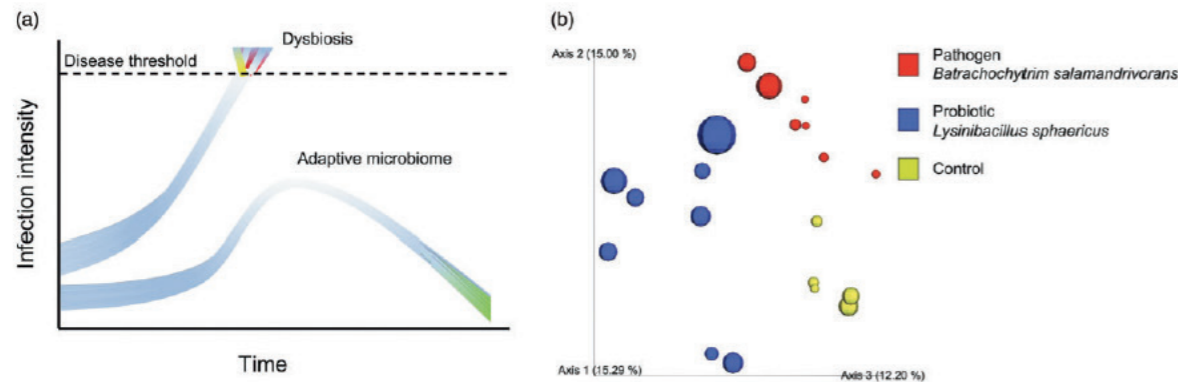


图1. (a) 肠道菌群中适应性转变的概念图，它是宿主免疫力的延伸。

感染的轨迹受病原体繁殖速度的影响，比如压力或传染剂量（初始时间点），并且可能会迅速发展至疾病阈值（虚线），或者也可能发展得更慢。在这两种情况下，肠道菌群会做出一些适应性变化来应对感染，包括α-多样性（线宽）或β-多样性（线色）的变化。会出现可以与病原体竞争的菌群的优势倾向。但是一旦通过疾病阈值后，肠道菌群就会变成有害菌群的天下。

或者，免疫反应与菌群的适应性转化相结合可以降低感染强度，从而导致宿主从疾病中快速恢复。我们对菌群的人为干预，可以加快这种自然过程，并赋予宿主比病原体更大的优势。（b）我们对菌群进行干预后，尽管黄

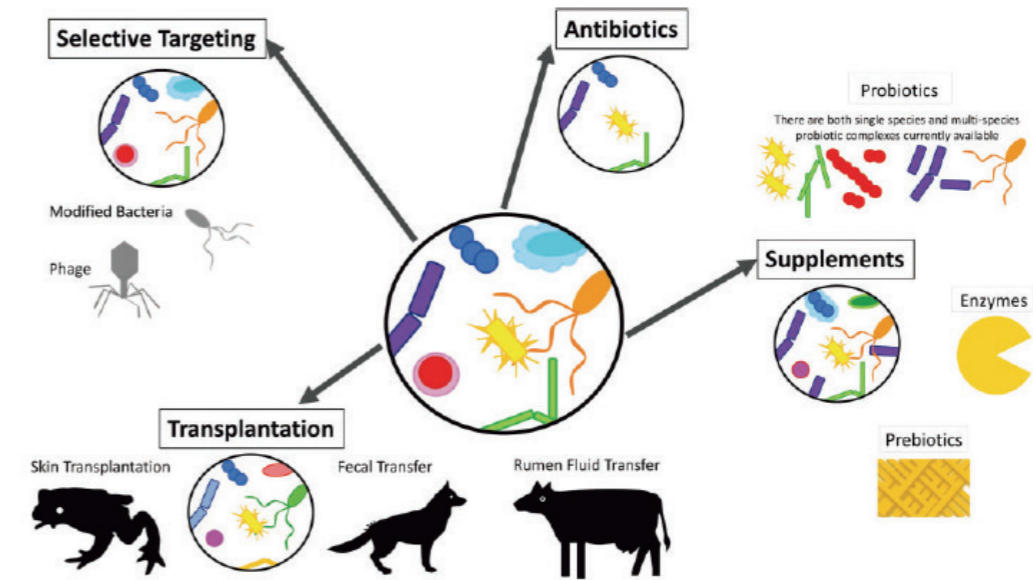


图2. 菌群操作的不同模式的概述

除了能消除我们预期的目标菌群外，抗生素还可以消除整个微环境中的非目标菌群。而补充的方式包括：益生菌，向微环境中添加单一或组合的有益培养菌株，添加促进有益菌群生长所需营养的益生元，或添加有益菌群产生的生物活性酶。移植的方法是通过供体提供的健康的有益菌群直接给受体，以改变接受者中的现有菌群环境，而直接选择性疗法是通过如噬菌体和基因编辑技术，直接干预有害的目标菌群或者增强有益的目标菌群，而不影响微环境中的其他菌群。

补充或增强特定有益菌群的生长/活性

在菌群研究中发展最迅速的就是开发肠道益生菌（由ISAPP定义为“活微生物，如果给予足够的量，会对宿主产生健康益处”）和益生元（促进有益菌群生长的营养素）作为补充剂。这是因为在人类健康研究中，使用益生菌和益生元促进健康相比治疗感染或者传染病，对于监管负担和产品的预期都有非常不错的收益。而动物的成长或福祉通常要比人类少得多。因此，很多研究的重点一直放在开发易于管理的产品，大多数益生菌或菌群副产物（例如酶）上，这些产品也很容易通过美国联邦药物管理局或欧洲食品安全局提供的食品安全性检测。所以结果是，在牲畜饲料和宠

物中添加益生菌的食品正变得司空见惯，尽管相关的研究数据十分有限。益生菌的日益普及，反过来提供了大量的数据，对研究肠道菌群对治疗的意义。目前可以明确的是益生菌可以缓解临床症状，如腹泻，并通过特定的方式减少或清除感染的外源病原体。例如，通过研究蜜蜂发现肠道益生菌对对抗感染的功效和促进肠道更有效地从食物中吸取营养，从而获得更好的生长性能。在牲畜，家禽和水产养殖中，研究表明益生菌也可以可能导致牛，猪，鸡有类似抗生素使用的结果，而没有抗生素的副作用，所以之后会变成益生菌代替抗生素使用的发展趋势。某些益生菌，例如活酵母可以帮助稳定肠道pH，降低酸中毒的风险，这些会影响反刍动物的常见疾病。益生菌还用于帮助改善周边养殖整体环境质量（例如水产养殖或家庭池塘的水质）或减少动物环境中的病原体，从而降低感染的风险。这些做法将来可



能会在水产养殖中盛行。

益生菌也可以提供给宿主针对外来病原微生物产生的特异免疫力，让宿主改变生物膜和上皮细胞，并产生抗菌分子。部分益生菌也已被用于靶向蛇和蝙蝠的传染性病原体（例如白鼻真菌），这显示出益生菌在保护受到传染病威胁的动物方面的巨大潜力。目前研究最好，应用最广泛的益生菌是乳酸菌（LAB；图3），例如乳酸杆菌 spp。目前通常被添加到与健康有关发酵食品。据认为，LAB能产生细菌素，各种抗菌化合物，帮助宿主免疫力战胜其他细菌的能力（包括致病性的）。目前有研究显示嗜酸乳杆菌可帮助减少由产肠毒素引起的发病机理。幼猪中的益生菌可以保护并减少大肠杆菌，激活宿主免疫反应。在鸡的研究中显示，乳酸杆菌DSMs喂养的动物物种会导致更高的抗体产生，减少肠道病原体，例如大肠杆菌和沙门氏菌等。

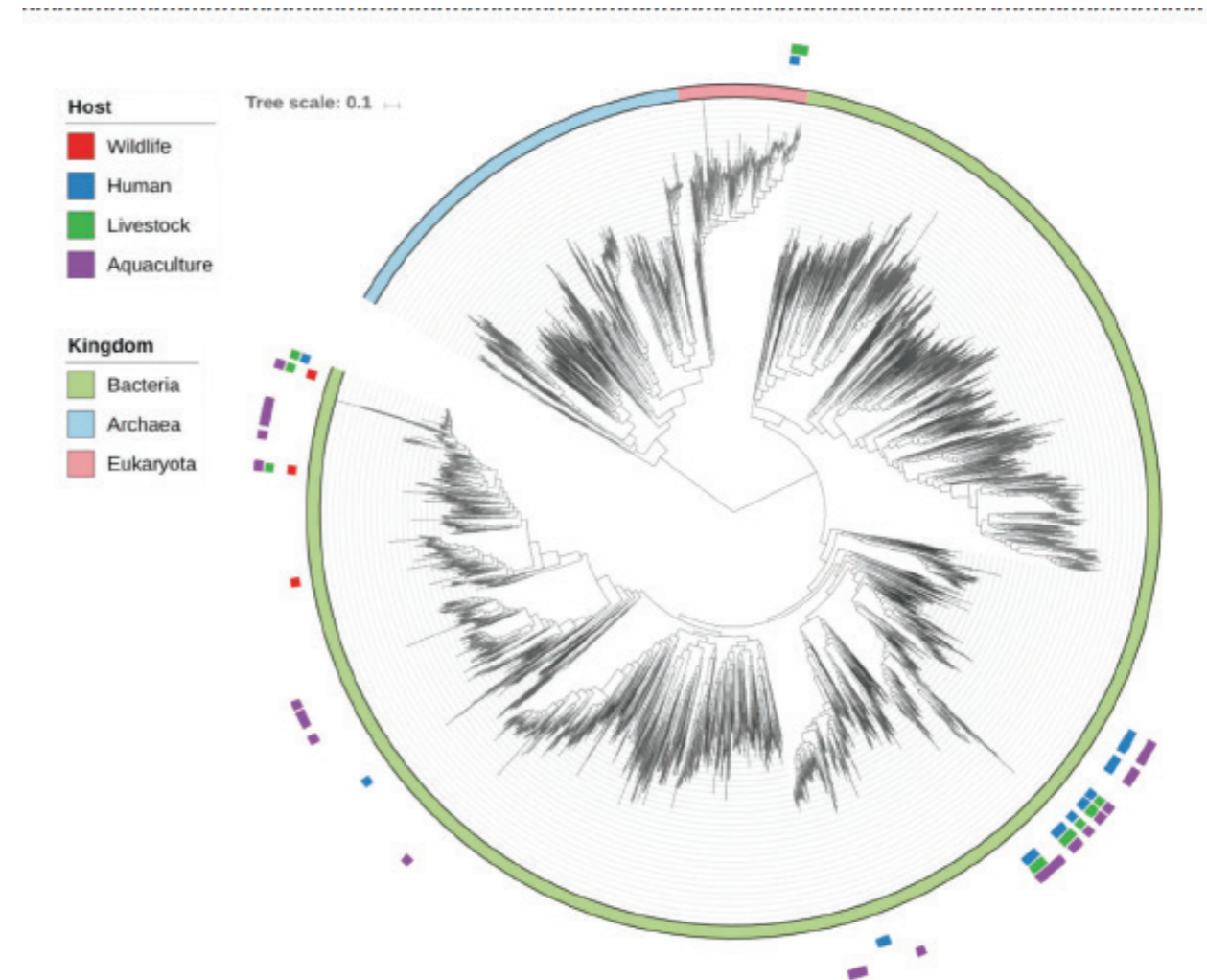


图3. 突出显示属的微生物生命树已被测试为益生菌（直接进食，产生酶或添加饲料）。共有37个微生物属从最近的评论中被挑选出，并使用iTOL在微生物系统树上进行了注释。它们主要由细菌群组成和乳酸杆菌（LAB），但也包括双歧杆菌，肠球菌，乳球菌（LAB），巨球菌，双球菌（LAB），丙酸杆菌和真菌（分为曲霉菌，酿酒酵母和裂殖酵母等）。方框代表使用益生菌的宿主。颜色条表示所有分支提示上的微生物级别分类法。

不过目前我们很难评估益生菌是否具有一般功效或动物宿主之间的特异性，以及这些模式是否跟其他的因素互相影响（例如温度，丰度等）。对于某些菌群，比如罗伊氏乳杆菌显示出高水平的宿主特异性。同样，益生菌的有益与否也应考虑不同发育阶段的不同需求。例如，小牛的饮食可能要求肠道菌群

能够利用纤维，而成年母牛将需要能够利用淀粉的肠道菌群，以便快速生长和生产。

移植整个肠道菌群

治疗高度异常的肠道菌群的另一种方法是通过移植引进一个新的肠道菌群群落，类似于一个益生菌的鸡

尾酒疗法。粪便菌群移植（FMT）的概念在中国文学中首次被提及是从四世纪就有的，但是最近由于该方法在动物实验中显示出了不可思议的功效，因此对该方法重新引起了人们的兴趣。在动物中，牛的菌群移植记录曾经治疗消化系统疾病的历史可以追溯到1700年代后期。在鸡的研究者中，益生菌和/或粪

便移植方法已显示出保护作用，尤其针对许多致病性的细菌感染，包括大肠杆菌，沙门氏菌，产气荚膜梭菌，李斯特菌和弯曲杆菌等，粪便移植也被证明可以减少与猪圆环病毒导致的疾病相关的发病率和死亡率。有趣的是，分枝杆菌 vaccae，一种土壤细菌，被证明与老鼠的社交压力有关。因此生存环境的菌群来改变生理，甚至动物的行为特征都值得进一步实验证明。

然而，最近一些治疗尝试实验也表明FMT的功效有时候也是有限的，

比如在细小病毒感染的幼犬中进行菌群移植手术，虽然更快地解决腹泻问题，然而，死亡率并没有显著降低。当然迄今为止大多数的动物研究，都使用了小样本量和有限的采样时间点，这相对于人类和啮齿动物的复杂粪便或盲肠移植的研究而言，非常的有限制。

选择性定位-基因编辑

这种方法可以针对整个菌群群落中的特定成员，而不去改变整个微生物菌群（尽管总有潜在的级联效

应，尤其是如果你改变的单个目标生物是整个微生物生态环境中的关键物种的话）。噬菌体疗法是特异性的引入针对单个细菌物种或菌株的噬菌体。噬菌体疗法可以和抗生素一样有效针对牲畜的某些感染以及预防食用动物对人类的下游影响。通过CRISPR-Cas进行基因编辑，其中特定基因靶点位于特定菌株，这是一种新兴技术，在动物健康中可能有许多应用领域。例如，CRISPR-Cas系统的特定性质允许其作为非常有效的抗菌剂潜在使用，通过基因组的自我靶向破坏或缺失



编码毒力因子的基因组区域。有一些细菌可以分泌一些物质，将宿主的靶向细胞的细胞膜通透性进行改变，这样的细菌可以被改造成工程细菌，用来将一些抗体药物，蛋白，疫苗等进行靶向输送进入宿主的细胞内。噬菌体，除了可以清除目标有害细菌外，也还可以做为精确的基因编辑的工具。

但是，在未来使用这些精细的工具肯定也有很多的挑战和风险的。例如，与抗生素一样，噬菌体治疗中使用的细菌对噬菌体的耐药性也一样可以迅速进化，而CRISPR-Cas核酸酶可以引起除了目标的基因编辑外的，非特异性的脱靶基因编辑，对未来造成的影响是未知的。

结论及展望

肠道菌群是动物肠道功能的重要组成部分，直接影响肠道内营养物质的吸收利用，脂肪酸的合成与代谢，对动物的消化、免疫以及代谢疾病等方面具有重要影响。但是，由于动物体肠道菌群结构和功能的复杂性，目前对肠道菌群参与机体代谢的部分机制尚不明确，随着科学技术的发展，不同菌群的功能，菌群之间的协同互动，菌群对代谢的影响机制，菌群对健康的促进作用等科学问题必会被逐一揭示。肠道菌群与宿主的互惠共生关系也将

会得到更好的阐释和应用。

另外，很多的研究发现，非哺乳类动物中，并不一定存在菌群和宿主的共生关系，很多蚂蚁的个别种群中，其肠道内几乎不含有菌群，还有一些昆虫中，其肠道的菌群并没有建立一个稳态，仅仅是吃的植物和环境中所带的菌群一过性的经过肠道，没有在肠道内稳定下来。所以并不是所有物种都有这种肠道菌群与宿主的互惠共生关系。而另外一些物种中，肠道菌群在同一物种的不同的个体中有非常大的差异，并不是一致的，尽管他们各自都从各自的肠道菌群中受益。

这里重点介绍的研究和对菌群进行操作的技术，可用于主动的影响动物健康。但是，治疗效果可能在不同的物种中并不一致。而且，有些肠道菌群一次性的操作就可以达到非常好的效果，而有一些情况，如IBD和自闭症的治疗中需要反复进行FMT，而不是一次移植才有所效果。其次，特定方法的功效可能取决于在动物的不同发育阶段，有的发育阶段，对菌群的改变并没有显著的影响，而且随着免疫系统的建立，菌群也相应的变化。不过有一点几乎是共识，发育早期越早的接触环境菌群和良好的肠道菌群，能够越早的建立一个完善的免疫系统

和肠道稳态环境。第三，益生菌的研究，尤其是菌株可以分离，培养并带入动物体内并以稳定的形式治疗的产品，目前还是太少，相比更多的潜在的菌群，我们目前已知菌群作用的仅仅只有37种。另外，对于动物宿主情况的研究，也往往仅仅局限在一些特定的动物物种研究中，在目前的动物肠道菌群研究中，只有不到2%的研究以保护动物自身为目标的，相比之下，农业动物生产的研究占66%（水产养殖，畜禽和农作物）。因此，发现新的益生菌的机会和靶向肠道菌群的疗法的应用仍处于起步阶段，我们强调肠道菌群如何帮助我们监测动物的健康状况，在野生种群的运动和疾病传播，以及圈养繁殖计划的管理等，如果更广泛的应用肠道菌群甚至是工程改造菌群等，都有很多的工作需要做。