# LI-6800 新一代光合作用全自动测量系统

# 使用手册

Version 2.0



# 北京力高泰科技有限公司 基因有限公司农业环境科学部

北京力高泰科技有限公司即基因有限公司农业环境科学部主要代理农林业、生态、环境等领域的国际先进科研仪器,为国内科研单位提供售后服务。基因有限公司是1992年成立于香港的一家高科技公司,长期致力于引进及研发国际先进科研仪器,并为国内科研工作者提供系统解决方案。公司多年代理美国 LI-COR 公司、Dynamax 公司、METER公司(原美国Decagon 和德国UMS公司)、意大利VELP的产品。高品质产品、高素质团队和高质量服务一直是我们努力的方向。

#### 高品质产品

力高泰先后为科技部973、863项目,国家211、985工程,农业部、国家林业局948项目、中国生态系统研究网络(CERN)、中国森林生态系统定位研究网络(CFERN)等提供了大量先进的仪器设备。例如:

- 经典畅销产品 LI-6400/XT光合仪在中国大陆地区的数量近2000台;新一代光合仪 LI-6800也有近600台工作在科研一线;
- LI-7500 系列开路式 CO<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>O分析仪 (涡度相关研究设备中全球占有率95%以上) 国内安装超过500套;
- LI-7700 开路式 CH<sub>4</sub> 分析仪为全球首款开路式、低功耗甲烷分析仪,迄今仍是全球 涡度协方差研究设备中甲烷监测的佼佼者。

#### 高素质团队

- 秉承 "让专才为专家服务 /LET PROFESSIONALS SERVE PROFESSIONALS" 的一贯 宗旨;
- 由博士、硕士组建的、具备专业研究背景的技术支持和市场推广团队,为广大科研人员提供切实可行的研究方案,并在第一时间解答来自科研一线的咨询;
- 具备多年维修经验的维修工程师团队快速、高效地解决产品问题;
- 定期邀请国内、外专家进行内部培训,提高专业素质。

#### 高质量服务

- ●一贯以提供优质、专业的售后服务为工作重心;
- 定期在全国各地举办仪器使用培训班;
- 每年邀请厂家和国内相关专家为广大用户举办高级研讨会;
- ■通过网站、微信公众平台(力高泰服务号)和邮件系统及时提供国内外最新技术和研究进展等。

## 联系我们

电话: 010-66001566

网址:www.ecotek.com.cn 邮箱:info@ecotek.com.cn

地址:北京市西城区西直门南大街2号成铭大厦A座22F



# ecotek 北京力高泰科技有限公司

# 目录

第-	一章 LI-6800 <b>简介</b>	1
	1.1 气体交换系统	2
	1.2 荧光测定系统	3
	1.3 系统硬件组成介绍	4
	1.3.1 主机(part number: LI-6860)	4
	1.3.2 分析器头部(part number: LI-6850)	5
	1.3.3 电缆连接线组件(part number: 9968-092)	6
	1.3.4 配件	6
第二	二章 组装 LI-6800	10
	2.1 仪器的准备	10
	2.1.1 CO2 注入系统	10
	2.1.2 化学药品管	11
	2.1.3 安装 LI-190R 光合有效辐射传感器	13
	2.2 使用三脚架、单脚架、云台以及背带	
	2.3 LI-6800 的供电	17
	2.4 LI-6800 的闲置存放	18
第	三章 操作界面导引	
	3.1 新版本界面发生变化	20
	3.2 任务向导 Tools	
	3.3 光源等外围设备设置	
	3.4 荧光功能	
第	四章 学习使用 LI-6800	
	4.1 开机检查	
	4.2 匹配分析器 Match	
	4.2.1 匹配界面	
	4.2.2 区间匹配 Range match	
	4.2.3 区间匹配稳定性	
	4.2.4 数据文件中的匹配信息	
	4.2.5 区间匹配数据的保存	
	4.2.6 推荐的区间匹配操作	
	4.2.7 匹配失败提示信息	
	4.3 LI-COR 最新动态同化技术 DAT	
	4.3.1 DAT 技术优点	
	4.3.2 使用 DAT 需要考虑的一些因素	
	4.3.3 正确使用 DAT	
	4.3.4 DAT 测试	
	4.3.5 DAT 模型详解	
	4.4 夹上叶片	
	4.5 多种测量举例	
	4.5.1 调查式测量	
	4.5.2 CO <sub>2</sub> 响应曲线	
	4.5.3 光响应曲线	69

# ecotek 北京力高泰科技有限公司

	4.5.4 荧光实验	72
	4.5.5 荧光和气体交换实验	
4.6	实验测量技巧	
	各种叶室安装与使用	
	系统自检,提醒及故障排除	
	预热和系统检查	
	提示消息解读	
0.2	6.2.1 状态信息解读	
	6.2.2 警示信息解读	
6.3	故障排除	
0.5	6.3.1 分析器上的记录键不正常工作	
	6.3.2 CO <sub>2</sub> 小钢瓶用的很快	
	6.3.3 无法在环境控制菜单里进行设置	
	6.3.4 输入了流速设置值,仪器无响应?	
	6.3.5 无法维持稳定的 CO <sub>2</sub> 设定值?	
	6.3.6 无法达到流速设定值?	
	6.3.7 不能维持/达到湿度设定值	
	6.3.8 漏气 Leak	
	6.3.9 异常数据	
	6.3.10 供电问题	
第七章	维护和校准	
	校准	
	7.1.1 红外分析器 IRGA 零点	
	7.1.2 跨度校准	
	7.1.3 流量计和叶室气压传感器调零	
7.2	进气口空气过滤器维护	
	化学药品管维护	

# 郑重声明:

- 1. 本手册翻译编辑源于 LI-COR 公司 LI-6800 英文手册,请从以下网址下载原文手册学习: https://www.licor.com/env/support/product?p=6800
- 2. 鉴于翻译水平有限,此手册仅供初学者参考,本公司不担负任何法律责任,谢谢大家的理解!

# 第一章 LI-6800 **简介**

在植物叶片水平的光合作用研究上,LI-6800 的设计就如一套无损伤探针一般,帮助研究者剖析光合作用全过程。LI-6800 可以对光合作用两大过程进行实时同步准确测量。

首先,LI-6800 利用红外气体分析器准确测定叶片同化  $CO_2$  和释放水汽。 通过叶室内  $CO_2$  和  $H_2O$  进出叶室的质量平衡法,计算净  $CO_2$  同化 (A) 和蒸腾作用 (E),以及其他生理学参数,包括叶片温度,及由此计算得到的一系列重要的植物生理参数,如:气孔导度  $(g_{sw})$  和胞间  $CO_2$  浓度  $(C_i)$  等。

其次,LI-6800 还能够测量光系统II中叶绿素 a 释放的荧光强度( $\Phi_F$ ),即使用特定检测器检测到的由低强度调制光源激发光系统 II 产生的荧光强度。荧光强度能够反应植物光合作用光反应过程的信息,包括光系统II量子效率( $\Phi PSII$ ),电子传输速率(ETR)及其他过程,例如非化学淬灭 (NPQ)等。配备有荧光叶室的 LI-6800 可同时测定同一叶片同一位置上的气体交换参数和叶绿素荧光参数。

综上所述,LI-6800 能够提供完整又实时的植物光合作用光反应和碳反应过程的信息。下图详细介绍了各光合作用参数及其计算。

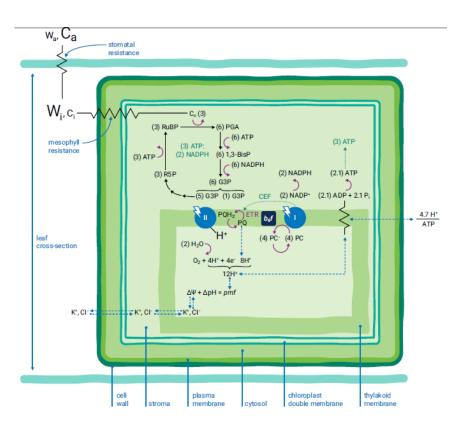


Figure 1. Cross section of a simplified leaf composed of a single cell with a single organelle: the chloroplast. This leaf schematic has many of the biophysical and biochemical photosynthetic processes represented. Resistance symbols (N) indicate resistance to diffusion. The relative concentrations of gases are indicated by the size of characters.

# 1.1 气体交换系统

LI-6800 是开路式气体交换系统,即光合作用和蒸腾作用的测定是根据气流进出叶室的  $CO_2$  和  $H_2O$  的差值得到的(如下图 1-1)。

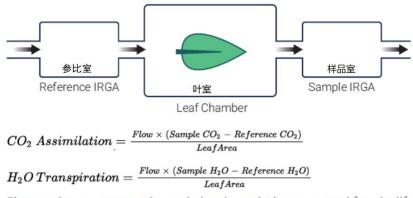


Figure 1-1. In an open system, photosynthesis and transpiration are computed from the differences in  $CO_2$  and  $H_2O$  between air that is affected by the leaf (sample) and air that is not (reference).

#### LI-6800 不同于传统光合仪。最主要的三大不同有:

- 第一, 气体分析器在头部,紧挨叶室;
- 第二, 气流在分析器头部分流,进入参比室和样品室,而不是在主机中分流。这说明气体在到达传感器头部之前一直是完全相同的,并没有经过两个不同的管路;
- 第三, 仪器支持相对较高的流速,从而保证叶室内气体的快速交换。

这些特点消除了由于仪器管路导致的时间滞后效应,并且能够快速的响应叶片的变化。例如, 当气孔关闭,系统会立刻检测到水汽下降并进行补偿。同样地,当突然改变光强度时,通过 观察 CO<sub>2</sub> 浓度的变化就能确定光合速率的瞬时变化情况。

LI-6800 能**自动调节**进入仪器的气体中的  $CO_2$  和  $H_2O$  浓度(如下图 1-2),通过增加或减少气流中  $CO_2$  和  $H_2O$  浓度来满足测定过程中所需的或设定的稳定气体浓度。

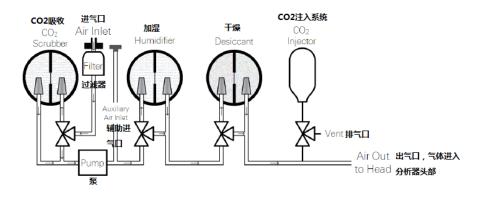


Figure 1-2. LI-6800 flow path through the console. In addition to the indicated components, there are pressure sensors, flow controllers, mixing volumes, proportioning valves, and vents.

在分析器头部有一套阀系统可以调节经过参比室和样品室的流量。当进行匹配时,阀门也会排出叶室内的气体。阀门还可以通过控制流量来微调叶室压强。

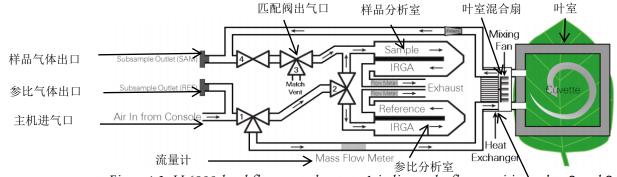


Figure 1-3. LI-6800 head flow control system. 1 indicates the flow partition valve, 2 and 3 are the match valves, and 4 is the chamber pressurization valve.

热交换机

# 1.2 荧光测定系统

LI-6800 可配备多相闪光 Multiphase Flash<sup>TM</sup> 荧光仪,包括光源和叶室,可同步测量叶片的气体交换参数和叶绿素荧光参数,或其中任意一套参数。Multiphase Flash<sup>TM</sup> 荧光仪使用多种颜色的 LED 灯发光,同时配有检测器来测定荧光(见下图与表的说明)。关于荧光测定系统的使用请参考后续内容及 LI-6800 实验手册。

LED 灯	中心波段	功能	备注
蓝光	475 nm	稳态、作 用光 Actinic	最大稳态强度: 1000 μmol·m <sup>-2</sup> ·s <sup>-1</sup>
红光	625 nm	稳态、作 用光 Actinic;饱 和闪光、 多相闪光	最大稳态强度: 2000 μmol·m <sup>-2</sup> ·s <sup>-1</sup> ; 最大饱和闪光强度: 16000 μmol·m <sup>-2</sup> ·s <sup>-1</sup>
红光 (调制光 Modu- lating)	625 nm	荧光调制 测量	调制频率: 1~250kHz@1μs 脉冲宽度; 调制光强度取决于峰值设置和调制频率;最大稳态峰值强度: 100 μmol·m <sup>-2</sup> ·s <sup>-1</sup> 。
红外光	735 nm	稳态和暗 脉冲	最大稳态强度: 20 μmol·m <sup>-2</sup> ·s <sup>-1</sup>



# 1.3 系统硬件组成介绍

当您收到 LI-6800 时, 先检查所订的各部分硬件是否齐全。以下介绍 LI-6800 各硬件及功能。

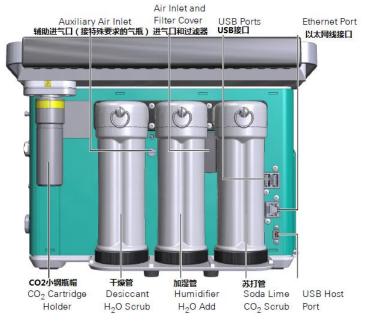
## 1.3.1 主机 (part number: LI-6860)

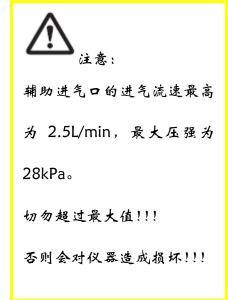
主机配备有操作系统、界面、气流控制系统和数据记录功能等。主机右侧有开关键、分析器及荧光光源线缆接口、给分析器供气的接口、电源线接口,同时还配有一些可扩展用的接口或辅助接口(见下图),其中 Accessory connector 可用来连接和控制第二光源。



Figure 1-4. Console cable connections and air outlet.

在主机的背面(见下图)有以太网连接端口 LAN 用于和电脑通讯;两个并列的 USB 口可插 U 盘导出或导入数据; USB host port 暂时不用。主机背面有苏打管、加湿管、干燥管和  $CO_2$  注入系统等用于控制气流中  $CO_2$  和  $H_2O$  浓度的装置。气体进入系统之前先经过过滤器,确保 气路清洁性;辅助进气口用于通入特殊要求的气体,例如低氧气体等。





# 1.3.2 分析器头部 (part number: LI-6850)

分析器头部包括样品室和参比室分析器、流量计、弹簧式闭锁装置、帕尔贴(Peltier) 热电控温装置以及阀系统。叶室和其他可选光源可以直接连接到分析器头部。

LI-6800 的叶室设计有独立铰接的铰链,对表面不规则的叶片也能形成良好的密封。叶室有三种开闭状态:

- ◆ Open (打开状态): 叶室底部完全打开, 便于放置叶片。
- ◆ Parked (半关闭停歇状态): 轻轻按压手柄闭合叶室时叶室保持的第一状态; 既不是完全打开, 也不是完全紧闭。该状态主要用于在夹紧叶片之前调整叶片位置,也是仪器在保存或运输过程中 保持的状态。
- Closed (闭合状态): 这个状态下通常用于测量,用劲压紧手柄到终点,关闭叶室直到压紧垫片, 保证气密性。



Figure 1-6. The head features the handle and latch mechanism, interchangeable leaf chambers, a display, LI-190R quantum sensor, the log button, and scroll buttons.



Figure 1-7. The connectors on the front of the head. The stabilizing posts (part number 9868-518; not shown) are included with the head.

#### 1.3.3 电缆连接线组件 (part number: 9968-092)

包括通讯线、电源线,气路管等。连接时注意接头处红点与分析器头部接口和主机接口的红点相对,直插直拔,切勿旋转。

#### 1.3.4 配件

LI-6800 带有以下配件:

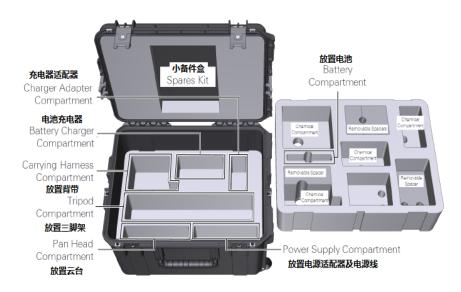
- ◆ 外置光量子传感器(190R-6800): 安装在分析器头部,包括传感器、安装板和连接线。
- ◆ 可充电电池(442-11807)。LI-6800 带有三块电池,在运输中处于半充满状态,首次使用前务必充满。电池长期处于亏电状态有损电池寿命。通常情况下,一块电池可以连续使用大约6个小时,当然,具体使用时间要根据实际使用情况而定。
- ◆ 气体控制组件: LI-6800 带有三个化学药管(用于装苏打、干燥剂和加湿剂或去离子水) 以及 CO₂ 注入系统和 CO₂ 小钢瓶,以此来进行准确的气体浓度控制。
- ◆ 主机电源线 (9968-232): 当连接到交流电时,电源线可同时为仪器供电并对主机内电池 进行充电。通常使用的电源为 110V 60Hz 和 240V 50Hz 的交流电。
- ◆ 电源适配器 (9968-242): 可选,可通过外部电源(如深循环电池)为 LI-6800 供电。
- ◆ 以太网线(616-06116):线长2.1米(7英尺),以太网线端口在主机背面,标有LAN。

#### 特别注意:请勿使用 616-06116 以太网线之外的其他网线!可能导致错误电信号!!

◆ 仪器箱 (9968-222): 内置厚泡沫垫的坚硬外壳箱体,用来放置主机、分析器头部和其他 配件。仪器必须放置在仪器箱内运输,以便在运输途中更好的保护仪器。



◆ 配件箱 (9968-223): 购买 LI-6800 的某些配置会带有配件箱,配件箱有两层。



- ◆ 三脚架(609-15790): 可选,用于支撑主机或分析器头部。
- ◆ 单脚架 (609-15792): 可选, 用于支撑分析器头部。
- → 云台 panhead (609-15791): 可选,用于固定分析器头部到三脚架或单脚架上,可调节不同倾斜角度或位置,有助于确保分析器头部稳定。
- ◆ 背带(9968-221): 可选,可将主机固定在操作者胸前,方便携带和操作仪器。包括肩带, 腰带和其他硬件。
- ◆ 单电池充电器 (590-11830): 用于给一块电池充电,包括电源线和 12V 适配器。
- ◆ 取样套件(9968-210): 可选,用于提取进入叶室之前(即参比室)和之后(即样品室) 的气体,另做其他分析。
- ◆ CO<sub>2</sub> 气瓶适配套件 (9968-109): 可选,用于连接用户自备的纯 CO<sub>2</sub> 气瓶,包括英制和公制组件。
- ◆ 零点校准配件 (9968-258): 包括两个化学药品管,将装有药品的药品管 (一次只能安装一个)安装在主机和分析器相连的进气管之间,确保校准 CO₂或 H₂O 的零点时将气路中的 CO₂或 H₂O 吸收干净。例如校准 CO₂,则在药品管内装上苏打药品,并将药品管安装在主机和分析器相连的进气管之间,校准 CO₂;以此类推 H₂O 的校准。
- ◆ 分析器头部内置化学药品瓶 (9968-094): 分析器头部内置化学药品瓶能确保分析器内部 无 CO₂ 无 H₂O,以确保仪器准确测量。一般建议每三年更换一次。
- ◆ 小备件盒(9968-173): 备件盒内装有 LI-6800 主机和分析器头常用的工具、配件(可更换、备用配件)等。该备件盒放置在配件箱的顶部。

#### ◆ 叶室、光源和备件

您所购买的 LI-6800 可能包含以下一种或多种叶室和光源:

- ▶ 6800-01A 多相闪光 Multiphase Flash<sup>TM</sup> 荧光仪: 带有叶室、叶室适配器(面积 6cm²或 2cm²)和荧光光源,也支持水生藻类测量室联用;带有专用配件包(9968-270)。
- ▶ 单侧叶片测量套件 (9968-013): 可用于隔离叶片的一侧,以便使用荧光仪进行单侧叶片的测量。详见"licor.com/env/support/LI-6800/topics/one-sided-leaf-measurements.html"
- ▶ 6800-12A 透明叶室: 3×3 cm, 可以和 3×3 cm 红蓝光源(6800-02) 搭配使用。使用一个叶温热电偶测定叶片温度,以及光量子传感器测定叶室内的光合有效辐射,包含三种叶面积规格的叶室适配器(1×3 cm , 2×3 cm , 3×3cm), 还带有专用配件包(9968-269)。
- ▶ 6800-02 红蓝光源(3×3 cm): 可以直接安装在 6800-12A 透明叶室的顶部来使用;红蓝光源的垫片已包括在 6800-12A 的配件包(9968-269)中。
- ▶ 6800-13 透明叶室 (6×6 cm): 使用两个热电偶测定叶片温度,以及光量子传感器测定叶室内的光合有效辐射,可以和 6800-03 光源搭配使用;带有专用配件包(9968-207)。
- ▶ 6800-03 光源(6×6cm): 可直接安装在 6×6 cm 透明叶室(6800-13)、小植株叶室(6800-17) 和苔藓叶室(6800-24) 上使用。该光源带有专用配件包(9968-249)。
- ▶ 小树枝(Sprig)适配器(9968-271):可安装在6×6cm的透明叶室上,增大体积以容纳带有轮生叶的小枝条/嫩枝,以便对其进行气体交换的测量;可以在自然光下使用,也可结合一个或两个大光源使用。
- ➤ 光源延长线 (9968-243): 通过 LI-6800 主机 Accessory 接口,使用该延长线可以同时同步控制两个光源。
- ➤ 6800-17 小植株叶室:专门用于整株拟南芥或其他小植株的气体交换测量的设计。配有两种小花盆/容器:直径 65mm/38mm;顶部为透明膜,可以直接在自然光下测量,也可结合 6800-03 光源控制不同光强的红绿蓝光下使用。带有专用配件包(9968-231)。
- ▶ 6800-24 苔藓叶室:适用于苔藓、地衣、藻类等。顶部为透明膜,可以直接在自然光下测量,也可结合 6800-03 光源控制不同光强的红绿蓝光下使用。带有专用配件包(9968-248)
- ➤ 6800-19 自制叶室适配器:用于将用户自制的气室连接到 LI-6800 气体交换系统,适 配器中包含一个供电接口,用于连接外部电源设备,如混合风扇;带有专用配件包 (9968-254)。

- ▶ 6800-89 昆虫呼吸室: 适用于测量昆虫或小动物的呼吸速率。
- ▶ 叶室弹簧 (Chamber springs): 三种类型的弹簧可用来关闭不同张力水平的叶室; 通常, 仪器在出厂时所安装的弹簧 (下图中银色弹簧 9968-131) 适用于绝大多数植物; 但是, 如果所测的植物材料比较脆弱,可以选择弹力较轻的弹簧 (下图左白色弹簧 9968-240)。注意: 弹簧力度减小可能会导致叶室垫片周围发生漏气。

图中从左到右分别为:

白色弹簧(9968-240): 标配,在仪器自带的小备件包 (9968-173)中;

银色弹簧(9968-131):标配,适用于绝大多数植物,出厂时配置;

黑色弹簧(9968-239): 可选,用于6×6cm的叶室;

Figure 1-8. Low pressure springs (white; part number 9968-240) are included in the instrument spares kit. Use these springs if measuring delicate leaves that are damaged by the standard springs. Medium pressure springs (silver; part number 9968-131) are suitable for most leaves. High pressure springs (black; part number 9968-239) are used with the 6×6 cm chamber.

- ▶ 6800-09 土壤呼吸气室: 适用于测量土壤的 CO₂ 通量,带有专用配件包 (9968-290)。 6800-09 土壤呼吸气室的操作手册为单独成册,请从力高泰网站或微信公众号查询或留言索取。
- ➤ 6800-18 水生生物/藻类测量室: LI-6800F 配置可加配 6800-18 水生生物/藻类测量室,即可实现在实验室内测量藻类/珊瑚等水生生物的气体交换参数与叶绿素荧光参数,带有专用配件包(9968-333)。第一篇使用 6800-18 水生生物/藻类测量室研究三种不同类型真核藻株对光照的响应的文献 https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102399 已正式发表于 Algae Research 期刊 2021 年 10 月第 58 卷; 文献电子版支持从以下网站下载: Simultaneously measuring carbon uptake capacity and chlorophyll a fluorescence dynamics in algae ScienceDirect。6800-18 水生生物/藻类测量室的操作手册为单独成册,请从力高泰网站或微信公众号查询或留言索取。

# 第二章 组装 LI-6800

本章将指导大家组装 LI-6800 的各个部分,以及使用前和长时间存放仪器前的准备工作。

# 2.1 仪器的准备

到货拆箱验收时,一定要去除所有的包装材料。仪器包括主机、分析器头部、电缆线组件、CO<sub>2</sub> 小钢瓶、干燥管、苏打管及加湿管。

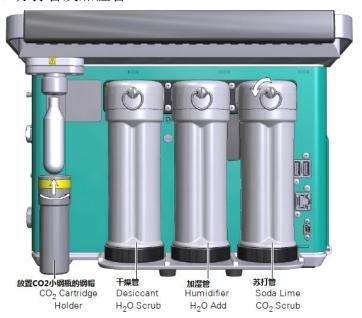


Figure 2-1. The LI-6800 uses an 8-gram CO<sub>2</sub> cartridge for the CO<sub>2</sub> supply. Chemical columns are removed by turning the clasp ¼ turn counterclockwise.

#### 2.1.1 CO2 注入系统

CO<sub>2</sub> 注入系统:包括内部控制器和外部小钢瓶连接器。一旦刺穿,一个小钢瓶可以持续供应 8 小时气体(不管使用与否)。

警告: CO2 小钢瓶内含高压 CO2。请遵守钢瓶制造商提供的操作注意事项。

卸下已经刺破的钢瓶需小心,应慢慢松开,直到气体泄出再卸下 CO₂ 小钢瓶,以免压缩气体快速泄出带来的危害。卸下的钢瓶可能会变得比较凉,要小心。远离光照,放置在 50°C 以下的环境中。不要乱扔钢瓶。放置在儿童接触不到的地方。

8g 小钢瓶: 将小钢瓶放入钢帽,大头在下,顺时针旋紧钢帽,当遇到较大阻力时,快速拧动钢帽以刺穿小钢瓶的顶端。

注意:如果购买的小钢瓶非 LI-COR 公司生产,必须保证无油。一旦油进入  $CO_2$ 注入系统,可能造成 仪器故障,需要寄到公司进行维修后方可再使用。

如果需要大剂量  $CO_2$  长期连续供气,也可以选配  $CO_2$  气瓶适配器套件 (9968-109),连接自配的纯  $CO_2$  大气瓶替代 8g 小钢瓶。适配器对于其它  $CO_2$  来源方式的接入非常有用。注意: **适配器的压强范围为**: 500-2000KPa (73-290psi)。

## 2.1.2 化学药品管

主机背面有 3 个化学药品管,可调控仪器的进气。仪器使用过程中, 3 个化学药品管(干燥 管、加湿管及苏打管)应时刻连接在主机上,除非换药品或测量结束关机后取下。运输及存 储时,记得取下加湿管,防止水分进入主机内。



#### 填充化学药品管

- 1、 检查过滤器: 确保每个化学管的两个过滤器状态良好并且没有脏。如有 需更换请见章节 7.3 化学药品管的维护。
- 2、填充至左图 Fill Line 螺纹线处: 晃动时保留一定的空间即可。
- 3、清理螺纹及 O 型圈上的残留药品: 用湿纸巾擦拭残留在螺纹线、化学管 边缘及 O 型圈上的固体药品,以免拧盖时损坏化学管和盖帽,保证化学 管的气密性。
- 4、拧紧盖帽。
- 5、固定好化学药品管:将扣钩顺时针旋转90度,扣紧化学药品管。

#### 干燥管:

干燥管中的干燥剂,可去除空气中的水气。现在有 Sorbead®Orange CHAMELEON®和 Drierite®两种类型干燥剂。Sorbead Orange CHAMELEON 干燥剂的成分是一种指示型的铝酸 盐硅酸盐凝胶, Drierite 干燥剂的成分是 98%的 CaSO4和 2%的 CoCl2。在某些禁止使用 Drierite 干燥剂的地区, LI-COR 推荐使用 Sorbead 干燥剂, 其他地区两种干燥剂均可使用。



#### 干燥剂的回收利用:

无水 Drierite 干燥剂是蓝色的,吸水变粉,表示失效,应回收利用。 无水 Sorbead 干燥剂是橙色的,吸水变为无色或透明,表示失效,应 回收利用。

- 1. Drierite 干燥剂在 210 °C 下烘 60 分钟: Sorbead 干燥剂在 120 °C 下烘 60 至 120 分钟: 预热烘箱, 在平底盘上铺上一层颗粒, 然后烘干即可。 切记: 高温短时间或低温长时间都不可以!!。
- 2. 在干燥剂颜色恢复后 (Drierite 为蓝色, Sorbead 为橙色),将烘干 的热的干燥剂放入玻璃容器中,盖好盖子。干燥剂储存在密封的 玻璃瓶中,不能使用塑料容器。

注意: 重复多次回收利用后, 烘干后的干燥剂颜色可能会有变化, 变 得不易区分。如果变黑,代表加热过度。Sorbead 干燥剂珠子可能会随 着使用时间的延长而破裂,但性能不会受到影响。

#### 加湿管:

◆ 最新出厂的 LI-6800 配置了全新的选择性离子膜 Nafion™ 加湿管对进入系统的气体加湿。Nafion™ 加湿管内装常温过滤水,如果水很冰冷需要等待温度达到室温再加入管中。加水时留出一定空间不要加太满,方便旋紧底盖,将加湿管安装在仪器上之后观察有没有水漏出,如果漏水,取下底盖检查密封性。**当加湿管内的水只有 1/4 时再加常温过滤水补充**。



◆ 以前的 LI-6800 采用 Suttgarter Masse 加湿剂,一种可持水的多孔陶瓷基质,加入适量水变湿润后,可对进入系统的气体进行加湿。

注意: 不要给加湿管内注入过多的水! 水太多可能会对仪器造成伤害,维修费用很高!

**管中有积水、气流经过时会产生气泡以及颗粒基质形成水块状,都代表水添加过多**。出现水多情况,可将颗粒基质倒在吸水纸巾上吸收多余的水分,之后再将颗粒基质放入到加湿管内。

我们推荐使用软化水、蒸馏水、去离子或反渗透过滤水;避免使用硬水,因为矿物质可能会积存 在基质颗粒表面,长期使用会导致气路不通畅。

警告: Suttgarter Masse 很安全无毒,但不要吸入粉尘,若不慎吸入,请马上呼吸新鲜空气并继续正常呼吸即可。

#### 安全方式:

下面介绍一种安全可靠的不至于加入过量水 又能浸透加湿颗粒的方法:

- 1、往烧杯中倒入约 150mL 体积的干加湿剂;
- 2、加过滤水至完全浸泡。
- 3、倒出多余的水,留下吸饱水的加湿颗粒;
- 4、将 3-4 张纸巾叠在一起,将吸饱水的加湿 颗粒倒在纸巾上,让纸巾吸收多余的水;
- 5、将这些潮湿的加湿颗粒装入加湿管;
- 6、擦拭管口和盖子螺纹等处,去除残留的固体颗粒,然后拧紧盖子。

#### 快速方式:

当然也可以直接往加湿管里加过滤水,但存在 加水过量的风险:

- 1、首先,将加湿剂倒入加湿管中,如果**加湿剂 处于完全干燥状态**,则均匀缓慢的加入 30ml 过滤水;
- 2、擦拭管和盖子,去除残留的固体颗粒,然后 拧紧盖子并轻轻地摇晃加湿管使其被颗粒 完全均匀吸收。



#### 加湿剂变干后,需要重新加湿,那么怎么判断是否需要加水了?

- ▶ 观察加湿剂的颜色,湿润时是灰白色;干燥时是纯白色,这个时候就需要加水了。
- ▶ 在 Starup>System Tests>Drier-Humidifier 下做湿度检测,结果不能通过检测,也说明需要加水了。
- ▶ 如果管壁上看不到水汽凝结形成的小水滴,这也说明需要加水了。

加水时既可以按照上述安全方式操作,也可以直接加 10-15ml 水重新润湿加湿剂;并轻轻地摇晃加湿管使其被颗粒完全均匀吸收。

#### 苏打管 (CO2 吸收管):

管内装的是苏打碱石灰(Ca(OH)<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O, NaOH, 和 KOH)。苏打管从白色变为蓝紫色。苏打药品更换频率取决于具体使用情况。当 CO<sub>2</sub> 无法下降到零点附近并维持稳定时,则说明药品已失效,需要更换。

警告: 碱石灰遇水会造成严重烧伤。应佩戴合适的手套和眼睛、面部保护罩。放置在儿童接触不到的地方。万一进入眼睛,应立即用大量的水冲洗,并寻求医生建议。

#### 苏打(碱石灰)药品的再利用:

- ◆ 在干燥的环境下,苏打管吸收 CO<sub>2</sub> 的能力下降明显。当药品吸收近乎饱和时,同样会降低它对 CO<sub>2</sub> 的吸收能力。出现以上两种情况时,并不需要直接更换新的药品,而是可以通过向苏打管中加入约 10ml 的水来延长使用时间,提高 CO<sub>2</sub> 吸收能力。
- ◆ 缓缓地向苏打管内加水,让药品充分地吸收,然后,水平地摇晃管子弄散成块的颗粒。避免添加过多的水,否则,在测量过程中管内水分流出会导致仪器某些部件被腐蚀。

## 2.1.3 安装 LI-190R 光合有效辐射传感器

将 LI-190R-6800 光合辐射传感器安装在 LI-6800 的头部, 并将它的校正信息输入软件中。

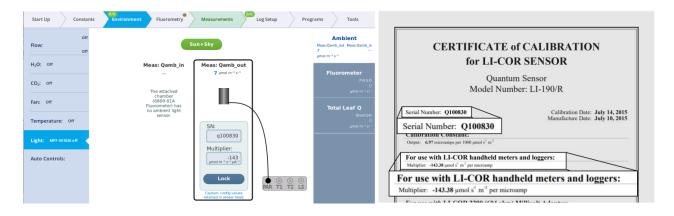
遮盖帽(红色)的作用是在运输和储存过程中保护传感器,测量时,需取下遮盖帽,以便监测外界光合有效辐射强度。





- 见右图,用两颗螺丝将传感器安装在分析器头部的手柄上。
- 2. 取下接头盖, 电缆线插入标有 PAR 的接口, 重新装上接头盖。
- 3. 输入校准信息: LI-190R 的校准单在仪器的文件中; 也可以在 www.licor.com/env/support.中搜索。
- 4. LI-6800 开机。
- 5. 点击 Environment>Light>Ambient; 在 Meas: Qamb\_out 下点击 unlock,输入序列号 SN 和校准参数(Multiplier); 见下图。此处选用的校准参数为 For use with LI-COR handheld meters and loggers 对应的参数,应该是个负数,见以下举例:
- 6. 检查光合辐射传感器是否响应正常:如果在室内,这个值一般都低于10。用手遮住传感器,这个值应该下降至零附近。





### 2.1.4 连接电缆线

主机和分析器头部通过电缆线连接。电缆线两端是一样的,每一端都可连接主机或分析器。

#### 注意:

不要在仪器开机状态下连接或断 开电缆线,否则将会损坏内部的 电路系统,维修费用会很高。

所以再次强调:一定要在关机的 状态下连接或断开电缆线。



Figure 2-2. Cable and air supply connections on the head and console. Red dots face up.

电缆线的一端连接在主机的 HEAD(1)或 HEAD(2)的接口,另一端连在分析器的接头上。在仪器关机状态下,确保红点相对,然后抓住有螺纹的金属套上,直接拔插,切勿旋转!

气路管连接在主机标有 AIR OUT 的排气口以及分析器的气路管接头上。均为快速接头,抓住有外围金属套上,直接拔插即可。

# 2.2 使用三脚架、单脚架、云台以及背带

LI-COR 公司提供的三脚架、单脚架、云台以及背带非常耐用,适合野外工作。你也可以将分析器和主机安装在照相机的三脚架或单脚架上。建议使用有大张角的三脚架。

## 用于光合作用系统的三脚架

LI-6800 在某些配置中包含三脚架(609-15790)。三脚架用螺丝固定在主机或分析器的底部。 注意:使用三脚架之前请阅读手册中的使用说明,确保正确操作。

1) 轻轻放倒主机, 让有化学药品管的一面着地。

- 2) 取下三脚架头部的保护螺纹帽,让处于收缩状态的三脚架旋入主机底部螺孔,直至旋紧 (见下左图);或将云台固定到三脚架顶部(将用于固定分析器头)。
- 3) 延长三脚架支撑脚。每个支撑脚有 3 个卡扣,松开卡扣即可延长至想要的支撑脚长度,**再 锁紧卡扣固定**(见下右图)。





- 4) 扩大三脚架的张开角度。 按下左图所示按钮,张开角度。大的角度更为稳固,所以尽量张开大一点的角度。
- 5) 延长三脚架主杆高度。

三脚架主杆可以在垂直或水平方向进行延长,若要将主杆移动到水平位置,需保证主杆在垂直方向上完全伸展;按下主杆底部按钮,使主杆能够进一步延长,直至旋转到水平位置(如最右图所示)。注意:保证三脚架的稳定性,不要让它跌倒!



#### 云台 panhead

无论将分析器安装在三脚架上还是单脚架上,都需要一个云台将分析器调整至合适的位置,云台(可选,609-15791)的使用有厂商自带的详细使用说明书。

注意:使用云台之前请阅读云台手册中的使用说明,错误的操作可能会使得分析器头部固定不牢而摔下去。

#### 当使用云台时:

1) 卸下手柄处的布带:如下图所示,紧握手柄,卸下布带。



#### 2) 取下固定板:

捏住安全闭锁远离云台,然后旋转约90° 直至固定板松开。闭锁将锁定在打开位置。



3) 将固定板安装在分析器底部;注意朝向。右图朝向错误。注意:不要拆卸分析器底部的垫脚,垫脚是起减缓震动的作用。





4) 将固定板装回云台,闭锁将锁上,确保分析器头部与云台固定完好。

### 单脚架

您可以为 LI-6800 配置单脚架 (可选,609-15792,见右图),在测量过程中,用于支撑分析器头部。

固定分析器的云台可以在水平和垂直方向上任意旋转,方便在测量时保证分析器头部固定在任意合适的角度。云台既可以安装在三脚架上,也可以安装在单脚架上。具体安装细节详见手册说明书。

#### 背带 Harness

背带(可选,9968-221)可将主机背挂在操作人员的前方,方便对主机进行操控。背带工具包中有肩带、腰带、D型扣(193-15728)和固定 D型扣的螺丝(150-15736; M5,10mm 长)。

肩带扣在主机上面的 D 型扣上,腰带扣在主机下面的 D 型扣上。



Figure 2-4. Install the D-rings with the flat edge against the console.





# 2.3 LI-6800 的供电

LI-6800 可以通过仪器自带的电池供电,也可以使用电源适配器供电,还可以使用用户自备的电源供电。

### 电源适配器

电源适配器可连接 50Hz 或 60Hz 100-240V 的交流电, LI-6800 可以通过电源适配器进行供电, 同时适配器也可以给安装在仪器内部的电池充电。

#### 电池

仪器标配带有 3 块电池 (422-11807), 仪器侧面电池槽内可以安装两块电池。仅需安装一块电池, 仪器就可以正常工作。安装电池时注意方向。



Figure 2-5. Insert the batteries with the groove toward the columns and the tab away from the columns.

电池是 14.4V 的锂离子电池, 6.8 安时, 两块电池可以供电 12 小时以上, 具体使用时间取决于实际测量时的设置。如要使用光源且设定高光强源或者要控制与周围环境差异较大的温度, 这种情况耗电量大, 电池电量下降比较快。野外实验请提前考虑好电池的使用时间!

#### 在主机内给电池充电

当主机内装有一块或两块电池时,连接电源适配器后随时都可以给电池充电。LI-6800 支持热拔插,只要有一块可供电的电池装在仪器内,可以随时把另一块电池取出,测量不会受影响。主机上显示剩余电量或者时间百分数。电池有一个充电计(Charge Gauge),见右图,可显示电池充电状况。



#### 利用外部充电器给电池充电

单片充电器(590-11830;激发能源 CH7000A)一次给一块电池充电。使用时,将插头插入插座,然后再将电池与充电器相连。充电器可以兼容 50-60Hz 的 100-240v 的交流电,处于充电状态时,灯持续闪烁,电池充满时,灯停止闪烁,为绿灯常亮。

注意:可以利用车载适配器给LI-6800电池充电,充电过程中,为了不至于让汽车电池电压过低,请**在 汽车行驶过程中充电**。

警告: 只能用 SMBUS 兼容级别 2 或 3 充电器给电池充电! 温度不能超过 80°C。请勿拆开电池,禁止焚烧电池、避免短路,否则将引发火灾,爆炸,泄漏等事故,造成人身伤害。更换电池时请注意型号的统一,使用型号不同的电池可能导致火灾或爆炸的危险。注意远离儿童!

#### 利用外部电源供电

可以使用 12-18v 的直流电电源给 LI-6800 供电,至少 20 安时,并需要一个电源线适配器(9968-242) 给仪器供电。

Table 2-1. Power inputs for the auxiliary power supply connector.

Connector	Pins	Description
(5 (1)	1 and 5	=== 24 VDC, 8.4 A; LI-COR power source
(4 <sup>6</sup> <sub>2</sub> )	3 and 4	12-18 VDC, 14.3 A; custom power source
(3)	2 and 6	Ground

#### 开机与关机

LI-6800 的开机方式为按一下电源开关即可开机;关机时点击 Start Up>Standby/Power Off>Power Off,将看到 Cancel 取消、Restart 重启、Shutdown 关机三个选项,点击 Shutdown, 仪器自动关机。出于某些原因,仪器可能无法通过正常的方式关闭,可以持续按住电源开关 5 秒执行硬关机。

从 1.5 版本开始,主机侧面的电源开关键新增一个功能,在 1/2 秒内双击电源开关键能在不影响 Python 程序运行的情况下重启交互界面。例如,屏幕响应变得很慢时或屏幕卡顿住或界面显示出现异常时,可以尝试该功能来重启交互界面。

在主机中若选择保存测量数据为 Excel 文件,则需在关闭原始数据文件后,稍等片刻,再进行关机操作,否则 Excel 文件可能会损坏。

# 2.4 LI-6800 的闲置存放

如果仪器只是短期存放,那么不需要特殊的处理,只需要确保加湿管已从主机上取下,**叶室** 保持在 Park 状态(即半关闭状态)即可。

对于长期存放(一个月或者更长),**建议卸下电池**,**注意保持仪器处于干燥状态。**用干的软布擦拭仪器。使用镜面清洁剂喷在软布上清洁仪器屏幕。

LI-6800 存放必须在箱内,存储的温度范围为-45-50℃,相对湿度小于 85%。

存放时,干燥管和苏打管可放在主机上一起存放。但是,重新使用仪器时可能需要更换药品。确保仪器的存储温度在 50℃以下。在存储或运送仪器之前,我们建议如下:

- ▶ **移除 CO₂ 小钢瓶。**释放气体使小钢瓶减压然后移除它。防止二氧化碳吸附到内部主机组件。 这一点特别重要,当将仪器存储在封闭的情况下,将捕获排放的二氧化碳气体。
- ▶ 清空 Nafion™ 加湿管中的过滤水或直接从主机上卸下放箱内单独保存;
- ▶ 叶室内不得残留植物或其它残体;
- ▶ **叶室处于 Parked 状态**(既不是完全打开也是完全关闭),以免挤压泡沫垫片。

#### 电池的闲置存放

电池在电量为30~50%时存放。存放过程中,每6个月补充一次电量。

电池没有记忆功能,所以不需要对电池进行完全放充电。

存放过程中,如果温度过高或电量负载阈值,一个非自恢复的保险丝将断开,电池不能正常工作。电池过度放电时,充电器将提供3分钟的唤醒充电。

#### 取出电池

取电池时, 先打开电池盖(见章节 2.3, 图 2-5), 抓住电池上的 tab, 将电池取出。

#### 电池的处理

锂电池必须安全处理。不能将电池丢入未分类的垃圾桶中或焚烧炉中,电池处理不当将对环境和人体健康产生危害。可将废旧电池送至当地的回收点,按照当地的规定来处理废旧电池。

#### 运输前的准备工作

当需要运输 LI-6800 时, 建议您采取以下操作:

- ▶ 清空化学药品管,有助于减轻运输重量以及减轻主机的压力;
- ▶ 卸下加湿管并放置在箱内。一定要注意,不可使加湿管内的水进入主机内。
- ▶ 卸下 CO₂注入系统的钢套,谨慎取出小钢瓶,注意高压气体的排出。
- ▶ 让叶室处于 Park 状态 (半关闭状态), 防止叶室泡沫垫片被挤压。
- 主机的放置: 断开电缆线和气路管,将主机放置在箱内。
- 分析器的放置: 断开分析器电缆线和气路管, 叶室可以和分析器连在一起, 统一放置 在箱内对应位置。
- ▶ 扣紧,锁好箱子。采取合理措施保证箱体关闭紧实,比如,用扎线带捆好箱子等。

# 第三章 操作界面导引

考虑到绝大部分用户熟悉平板电脑的使用,而 LI-6800 采用大屏触摸屏,界面操作与平板电脑使用类似,故将此章内容糅合到实验手册中。需要学习界面操作的请关注力高泰微信公众号,在"找资源">"LI-6800">"培训相关"找到 LI-6800 培训视频。

此处重在介绍 LI-6800 软件系统从 Bluestem 1.x 版本升级到 Bluestem 2.0.x 版本后界面的调整 及功能的概略介绍。

# 3.1 新版本界面发生变化

Bluestem1.x 版本和新版本 2.0.x 菜单结构对比,有 8 个功能界面有改动,见以下数字标识。

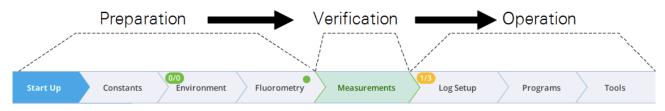
#### Bluestem Version 1



#### Bluestem Version 2

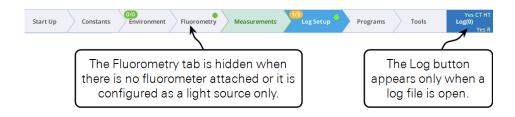


在 Bluestem version 2.0 中,菜单栏推荐的测量流程:



- 准备 系统配置(叶室,光源等),确保一切正常(预热自检等)。
- **确认** 查看 Measurement 界面中的测量值和计算值,判断数值是否正常。如果数值异常,从前端系统设置中找原因。
- **测量** 系统按照预期运行,记录测量数据(手动或自动)。

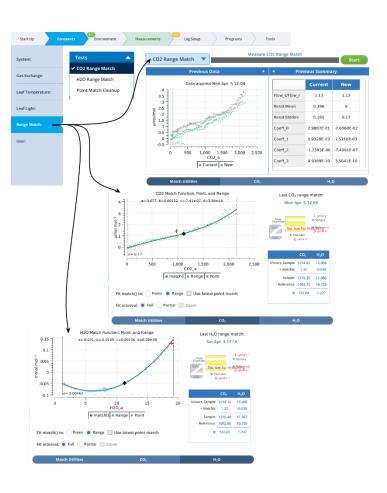
有经验的用户可能注意到没有 Log 按钮或出现 Fluorometry 栏。菜单栏会根据需要显示或隐藏:例如没有连接荧光叶室,或将荧光叶室设置为"Light Souce Only(仅为光源)"的,就不会出现 Fluorometry 栏;只有打开了文件,才会出现 Log 按钮等。



# 3.1.1 区间匹配 Range Match

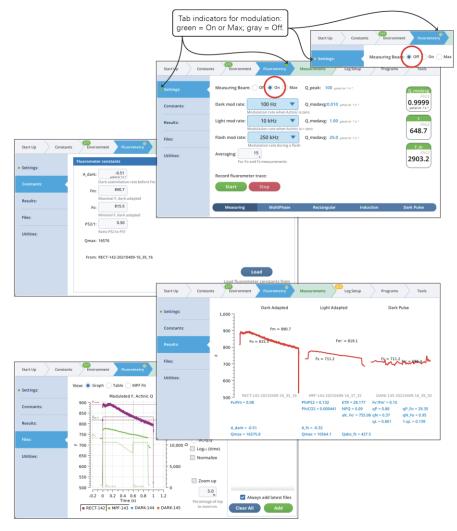
区间匹配界面移到 Constants > Range Match。

- ➤ 在 Match Utilities 界面 获得区间匹配曲线;
- ➤ 在 CO<sub>2</sub> 或 H<sub>2</sub>O 界面选 择是否使用区间匹 配以及如何应用其 功能的设置。



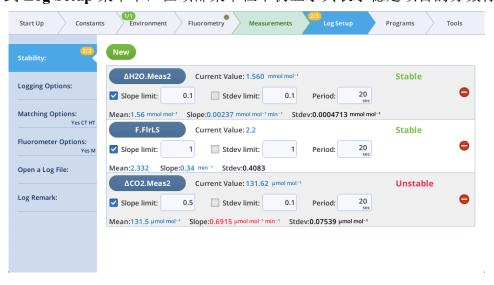
# 3.1.2 荧光测量 Fluorometry

Fluorometry 菜单下多数界面都是从旧版本 Environment 菜单移过来重新排版。



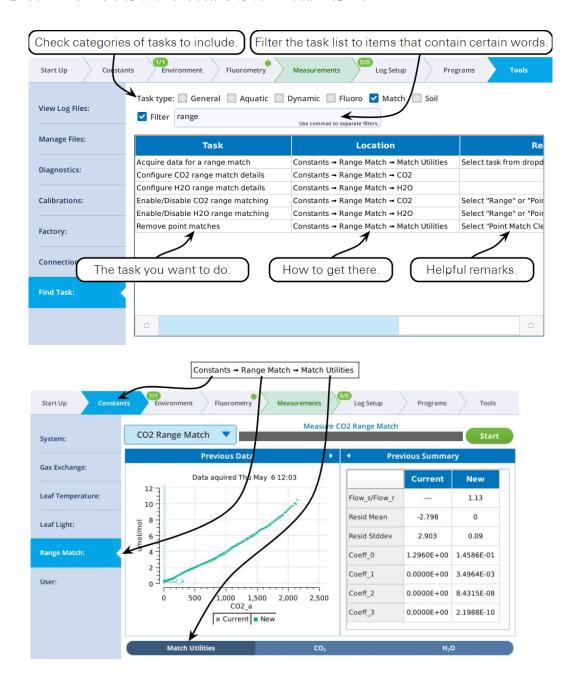
# 3.1.3 稳定性 Stability

Stability 移到 Log Setup 菜单下,在顶部菜单栏中仍显示其表示稳定项目的分数标识。



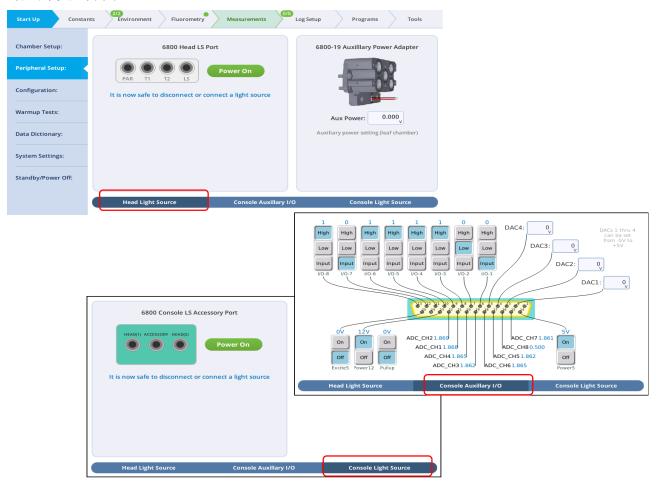
# 3.2 任务向导 Tools

Version 2.0 中的一个新功能是对执行各种任务界面做了系统导向查询。**Tools>Find Task** 提供了筛选列表,列出了需要用到的功能及实现此功能的步骤。

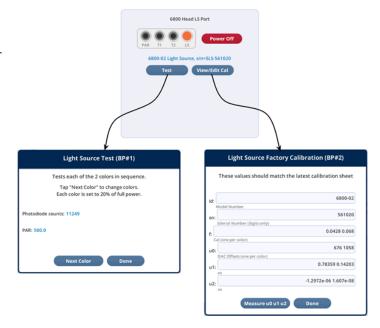


# 3.3 光源等外围设备设置

Start Up > Peripheral Setup 界面可显示分析器的光源接口 Head LS Port、6800-19 辅助电源接口,25 针的主机 USER I/O 接口(Console Auxiliary I/O),主机光源接口(Console Light Source)对应的设置界面。

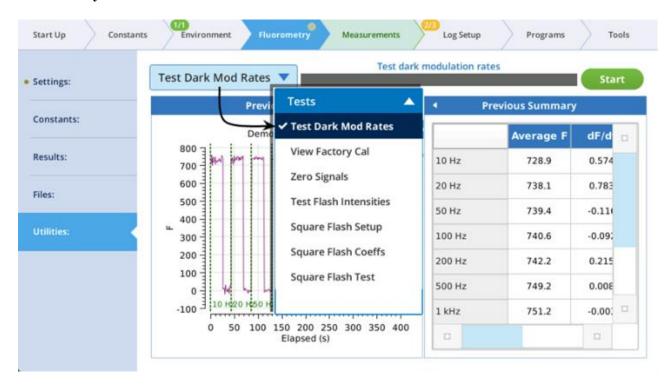


连接光源后,可对光源进行测试及查看校准系数。

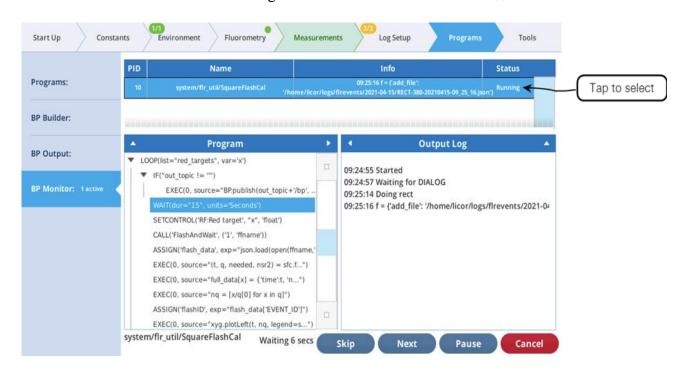


# 3.4 荧光功能

Fluorometry > Utilities 界面包含多项荧光相关的应用程序。



Utility 界面布局遵循 "Constants Dynamic > Utilities/Tests"及"Constants > Range Match > Match Utilities"一样的模式: 选择 Tests 中的一个任务,点击"Start"按钮,运行结束后结果会显示在 界面的图表中。每一个选项任务点击"Start"按钮就开启对应的一个 BP 程序。如果您想查看相 应的程序在后台如何运行,点击 Programs > BP Monitor,点击需要查看的 BP 程序即可:

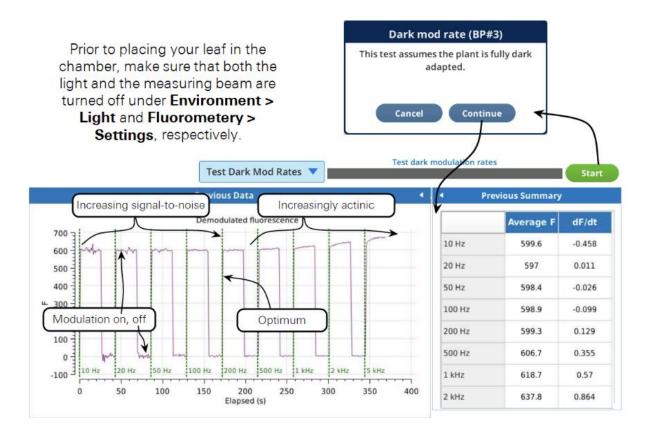


## 3.4.1 测试暗适应模式调制频率

此功能通过权衡提高调制频率(提升信噪比)与调制频率提高后集成光强变成作用光 Actinic 诱导光化学作用的风险之间,找到最佳暗适应荧光调制频率。

在将**完全暗适应的叶片**夹入叶室之前,首先确保光源 Environment>Light 和 Fluorometry> Settings 的测量光都为 OFF 状态,然后夹入叶片,点击 start,程序将自动设置不同的暗适应 荧光调制频率,同时打开测量光检测荧光信号。每设置一个新调制频率前会关闭测量光使荧光信号得以恢复到初始暗适应状态。

下图是对暗适应大豆叶片做的调制频率测试。



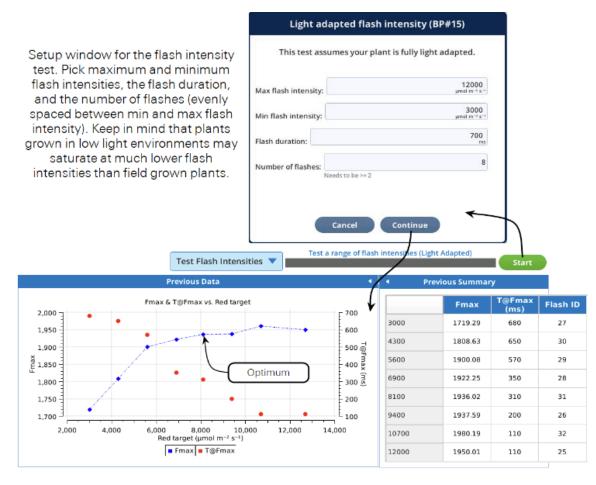
上图显示出调制频率为 500~Hz 时荧光信号出现轻微增加,说明在该调制频率下集成光强  $0.05\mu mol~m^{-2}~s^{-1}$  足以变成作用光 Actinic。因此对于此大豆来说,最佳暗适应调制频率是 200Hz。

#### 3.4.2 测试饱和闪光强度

此功能用于**找出最佳的饱和闪光强度和持续时间**。首先运行用户设定的最小闪光强度,在闪光期间记录最大荧光(Fmax)以及产生 Fmax 的时长(T@Fmax),等待荧光稳定后,打下一个闪光,直到完成用户设定的所有闪光强度。当程序完成后,会根据闪光强度绘制出一个图,从图中选择 Fmax 不随闪光强度增加而显著增加的闪光强度与持续时长。

如果使用矩形闪光,需确保选择的闪光持续时长 T@Fmax 小于设置的测试持续时长,否则 重新设置时长重新运行测试程序或者选择较高的闪光强度。如果使用此测试来选择最佳 MPF 设置,请使用相同的方法选择闪光强度,并使用 T@Fmax 来设置阶段 1 的持续时长。

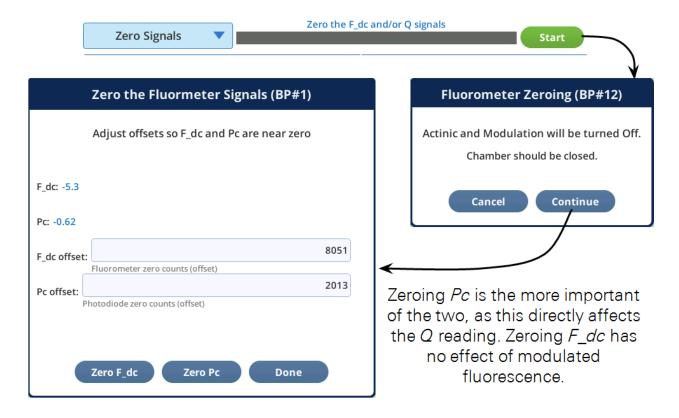
注意:在运行此测试之前,需将**叶室光强设置为实验所需光强**,并**夹入叶片使其充分的光适应**,然后再进行此测试。下图为测试完全光适应的向日葵叶片的最佳闪光强度及持续时长。



根据上图的曲线,Fmax 在 1950 左右趋于稳定,闪光强度为 8000µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> 时对于矩形和 MPF 都是最佳。如果我们没有看到曲线达到一个平台阶段,我们可以使用 MPF 或用更高的 闪光强度重新测试。对于矩形闪光,我们可以看到 T@Fmax 发生在 300ms 左右,持续时间 700ms 可以确保我们在闪光期间捕获 Fmax。如果想用 MPF 测试,那第一、二、三阶段的最 佳持续时间均为 300ms。

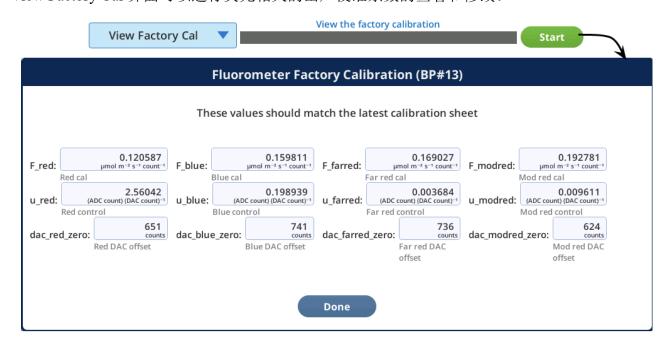
#### 3.4.3 荧光信号调零

LI-6800 荧光计有两个可以调零的荧光检测器,零点漂移主要与温度有关。



## 3.4.4 查看出厂校准系数

View Factory Cal 界面可以进行荧光相关的出厂校准系数的查看和修改。



# 第四章 学习使用 LI-6800

本章节介绍使用 LI-6800 的一些基本概念,从左向右依次进行,当然也可以根据个人需要跳过某些标签。



# 4.1 开机检查

每天首次开机后,您可以考虑做以下几项工作:

- 1. 气源准备: 新 CO<sub>2</sub> 钢瓶和新鲜的化学药品?
  - 1) 安装一个新的 CO<sub>2</sub> 钢瓶。
  - 2) 干燥剂: 查看干燥剂是否新鲜是否需要更换,详见章节 2.1.2 的内容;若干燥剂部分吸水饱和并且比较紧实,需卸下干燥管并加以摇晃,打破药品结块。
  - 3) 加湿剂:详细见章节 2.1.2 的内容。
  - 4) 苏打药品: 若苏打由白色变为蓝紫色,更换为新鲜的苏打; 若部分变为蓝紫色,卸下苏打管,添加 10 ml 的蒸馏水,摇晃苏打管使得苏打吸收水。
- 2. 选择配置文件: 若先前已经存储配置文件,从菜单中选择 Load Configurations, 然后选择配置,如果没有,按步骤设置仪器即可。
- 3. 进行 Warmup Tests (预热检查): 关闭叶室, Start Up > Warmup/System Tests > Warmup Tests, 点击 Start, 仪器会进行一系列的检查, 大约耗时 10~15 min。
- 4. 如果安装了荧光叶室,进行 Fluorometer Tests (检查荧光光源)。
- 5. 查看检查后的信息反馈,如果有 Failed (未通过检查项),详见第六章内容查找应对措施。
- 6. 匹配 IRGAs: 无论叶室是否夹叶片,都可以进行匹配 IRGAs 操作,建议测量前都要进行匹配。匹配在 Environment>Match IRGAs>Auto Match,具体操作见章节 4.2。
- 7. 夹上叶片,准备开始测量。详见章节 4.3 内容,或参考 LI-6800 实验手册。

# 4.2 匹配分析器 Match

LI-6800 气体交换计算的核心是样品室浓度( $C_s$ )和参比室浓度( $C_r$ )的差值( $\Delta$ )(这里的 C 表示浓度,代表  $CO_2$ 或  $H_2O$ )。为了确保 $\Delta$ 值计算准确,需要给两个分析仪 IRGAs 通相同的气流,并且让  $C_r = C_s$ ,我们称此为匹配,并用来测量校正因子 M。

$$M=(C_r-C_s)\mid m$$

式中的 | m 表示这些浓度都是在匹配模式下读取的, M 用于校正后续的测量。

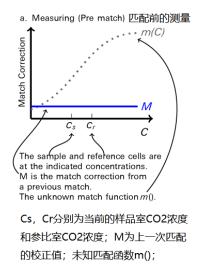
$$\Delta = C_s + M - C_r$$

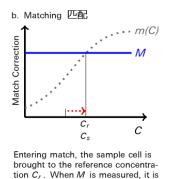
在进行下一次匹配之前,M 值不会变。M 值的稳定与否,与样品室和参比室之间的差有关系,这个差值可能与进气浓度,运行时间,温度,以及操作人员给一个或两个分析仪 IRGA 做调零或跨度校准有关。我们将此匹配关系定义为函数 m(C),强调其对浓度的潜在依赖性。我们不知道 m(C)是什么样子,但每次匹配时,我们会在特定浓度、时间、温度等条件下获取。由于匹配是基于参比室浓度下完成的,可以表述如下:

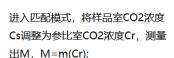
$$M=m(C_r \mid m) 4-3$$

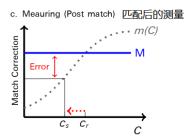
#### 问题 1: 经常匹配能保证数据的准确性吗?

可能不会。事实证明函数 m(C)的曲线形状非常重要。下图 4-1 说明了潜在的问题。









After the match the sample cell receives chamber air once again, but M stays put. If m() isn't flat, this introduces an error.

匹配后,样品室重新开始接收来自气室 的气体,但M值保持不变;如果m()曲线 形状不是平的,这次匹配就可能产生新 的误差:

Figure 4-1. Illustration of a hypothetical error function m(C) and its role in a potential post-match error

the value of  $m(C_r)$ .

匹配后的误差可以用分数表示:

$$E = \frac{m(C_r) - m(C_s)}{C_r - C_s}$$

 $E \neq m(C)$ 在区间(Cs: Cr)上的斜率。这个误差(分数或百分比)与  $\Delta$  的大小无关。这意味着如果 m(C)有 1%的斜率,浓度匹配后的误差也为 1%。

因此,m(C)函数的曲线形状至关重要: 曲线斜率越大,当浓度发生变化,您需要进行的匹配次数就越多,但是每次匹配后仍存在误差。因此倾斜的m(C)曲线差,平坦的m(C)曲线最好。

## 问题 2: 如果 m(C)是一个未知函数,我们如何知道其斜率?

版本 1.4 中的匹配界面上有  $CO_2$  和  $H_2O$  的匹配图。该图显示当前和之前的匹配值(例如,M 值)。如果你在一个浓度范围内进行多次匹配,你会得到 m(C)的整体斜率(下图 4-2)。

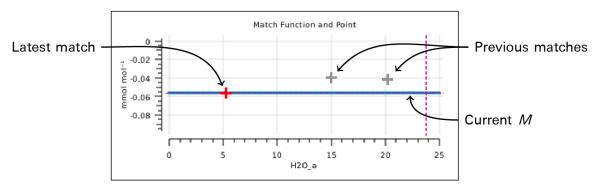
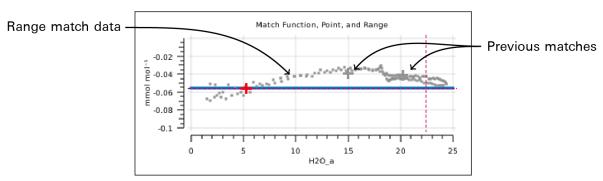


Figure 4-2. The H2O graph from the match page, shows the history of recent point matches.

另外,1.4 版本提供了一种获取"区间匹配数据"(Range match data)的功能,见下图 4-3,这是大约 5 分钟内在整个浓度范围内获取的 M 值的集合,并显示了该时间段内 m(C)非常详细的预估。



*Figure 4-3. The H2O graph showing recent point matches (+), and range match data (1).* 

### 问题 3: 可以校正有斜率的 m(C) (即展平) 吗?

可以。倾斜的 m(C)表示存在可以校正的不准确匹配。当浓度为 0 时,M 值应该也为 0,如果不等于 0,则需要对分析仪 IRGAs 做零点校准。在高浓度下,M 值偏大可能是由于分析仪的调零不当或跨度校准不正确导致(详见图 4-4)。

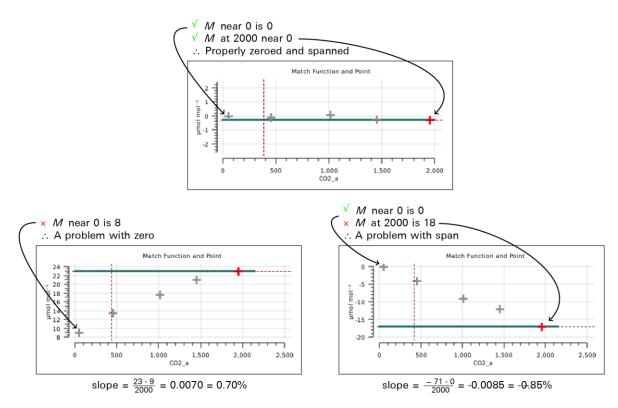


Figure 4-4. Three distributions of CO2 match points, one with a bad zero, one with a bad span.

# 问题 4: 以上匹配后的误差问题是基于 M 为常数的假设, M 一定是常数项吗?

1.4 版本软件将匹配校正 M 定义为基于 Cs 的三阶多项式,它可以适合区间匹配数据,从而产生一个随 Cs 变化而不断更新的 M (见图 4-5)。这不仅消除了匹配后的误差,而且减少了浓度变化时的匹配次数。换句话说, $M(C) \approx m(c)$ ,而不是常数 M。

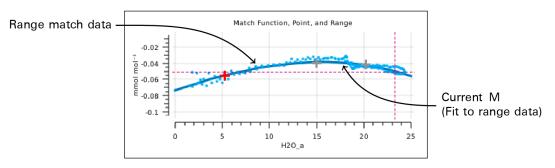


Figure 4-5. The H2O graph from the match page, with M fit to the range match data.

#### 4.2.1 匹配界面

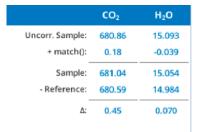
版本 2.0 的匹配界面有变化,点匹配(point match)在 Measurement 界面下,见下图 4-6。通过点击 Auto Match 或 Manual Match 按钮完成点匹配。中间的状态栏显示了当前的  $\Delta$  值是如何计算的。图显示了开机之后做过的点匹配(灰色+)和当前匹配随浓度变化的函数(绿色或蓝色曲线)。



Figure 4-6. Getting in and out of the new Match screen.

# 汇总表 Summary table

汇总表(图 4-7)显示了 match 函数正在做什么。由于 match 的偏移量是潜在的未校正样品室 浓度的函数,我们将其标记为"*match()*"。



Start with the uncorrected sample cell concentration. Add the match correction...

- ...to get the sample cell concentration.
- Subtracting the reference cell concentration...
- ... yields the  $\Delta$ , on which gas exchange computations are based.

Figure 4-7. Match status table.

在匹配过程中,表中会有一些变化(图 4-8)。由于两个分析仪都通的相同的气体,理想的  $\Delta$  值应该为零;如果它不为 0,就表示当前的 match()值是错误,标记其为  $\epsilon$ ;还有一个稳定性指标, $d\epsilon$ =dt,表示误差随时间的变化率。

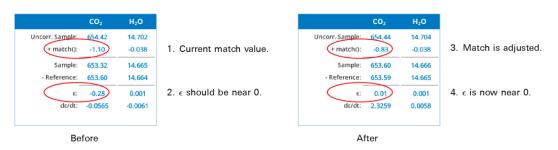


Figure 4-8. Before the match (left), the  $CO_2$  match value is too high by 0.28. After the match adjustment (right), the new match() gives an  $\epsilon$  much closer to 0.

#### 图形解读:

"Match"页面上的图形显示三个内容: 当前匹配函数(带色彩的实心线)、最近一次做的点匹配 point match(红色)和区间匹配 range match 数据(如果之前做过)。图 4-9 中, $CO_2$  的匹配图显示出做过 range match,有基于时间 t 的区间匹配函数; 而  $H_2O$  的匹配图显示出没有做过 range match。

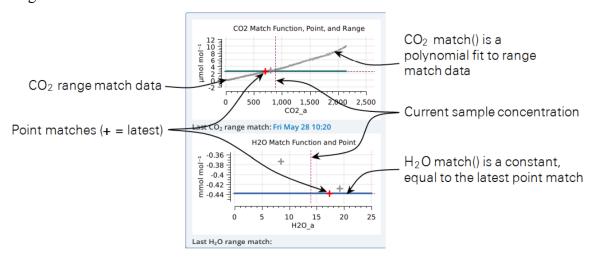


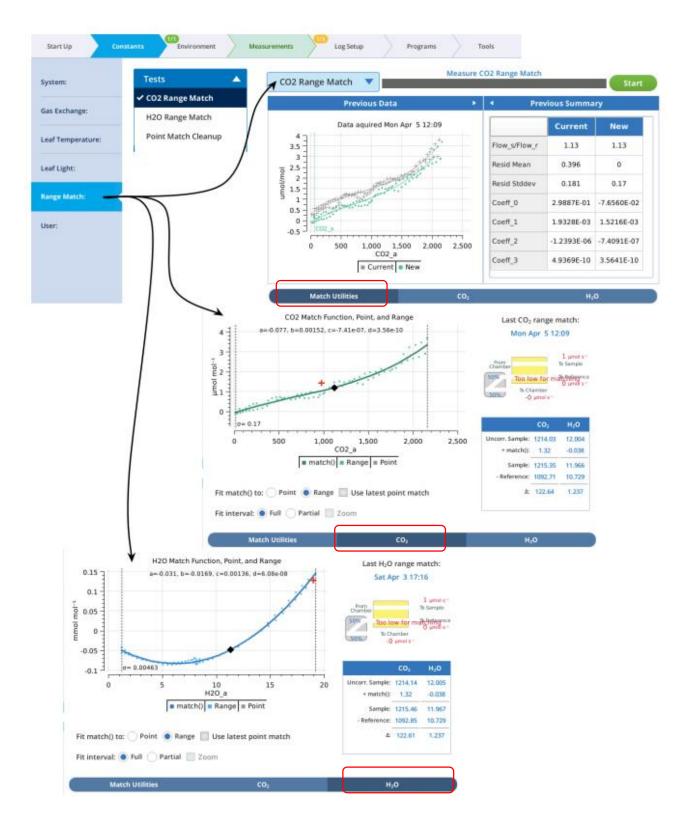
Figure 4-9. Match page graphs.

### 4.2.2 区间匹配 Range match

版本 2.0 的匹配界面有变化,区间匹配(Range Match)在 Constants 界面下。

#### 匹配管理

在 Range Match 界面下呈现三个菜单项目: CO<sub>2</sub> Range Match (CO<sub>2</sub> 区间匹配), H<sub>2</sub>O Range Match (H<sub>2</sub>O 区间匹配), 和 Point Match Cleanup (清除点匹配数据),以及三个子目录"Match Utility"、"CO<sub>2</sub>"和"H<sub>2</sub>O",见下图。

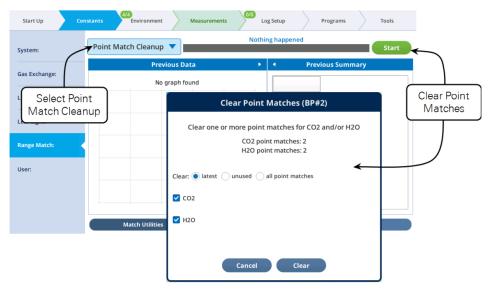


在"Match Utility"页面下,可以通过选中"CO<sub>2</sub> Range Match"或"H<sub>2</sub>O Range Match"再点击绿色的 Start 按钮开始获取(**Acquire**)对应气体的区间匹配。



# 清除点匹配数据:

选择 Point Match Cleanup,可以选择最近的点匹配"latest"或未使用过的点匹配"unused"或所有点匹配数据"all point matches",见下图。



当 range match 区间匹配数据可用时(图 4-10),您可以选择 Fit *match()*to **range**,将匹配函数与其匹配,以及是否使用最近做的 point match 对匹配函数做调整。



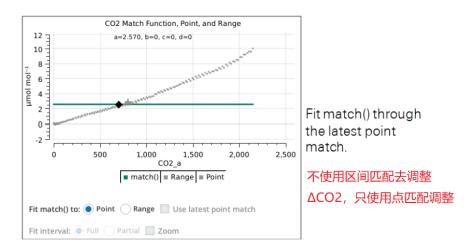
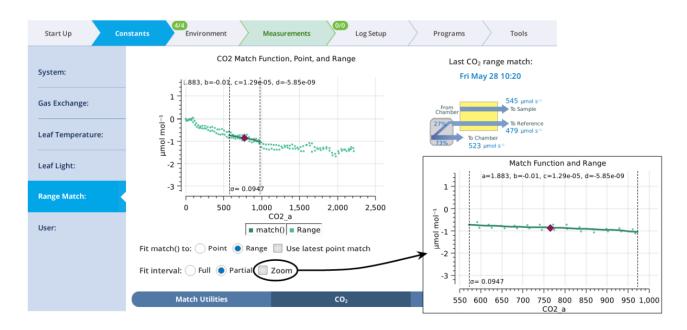
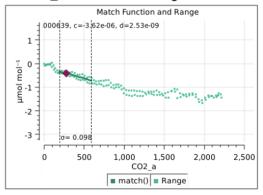


Figure 4-10. If range match data is available, you can select between using it or not.

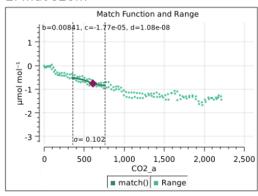
可以选择 Fit interval: Full,使用全量程的匹配数据去调整匹配函数;也可以选择"Fit interval: Partial",使用包含当前样本浓度的窄区间匹配数据去调整匹配函数。随着样品室浓度的变化,这个波段会自动移动,见下图 4-11。



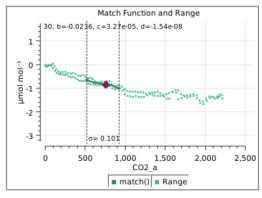
#### 1. CO2\_a at 250 and rising...



#### 2. ...at 620...



#### 3. ..at 750...



#### 4. ...at 930...

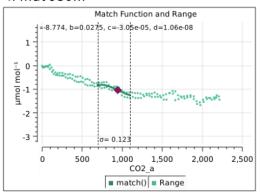


Figure 4-11. When Fit Interval is Partial, a subset of the range match data is fit. This narrower fit interval shifts automatically as needed to keep the sample cell concentration within its domain.

在"Match Utility"页面下,选中" $CO_2$  Range Match"或" $H_2O$  Range Match"再点击绿色的 Start 按 钮将开启区间匹配程序(图 4-12)。这个过程需要几分钟的时间,而且应该在空叶室状态下进行,因为做 range match 过程中没有气流提供给叶室。

获取区间匹配的"Acquire"程序将覆盖尽可能宽的浓度范围。对于  $CO_2$  的 range match,执行前需要确保使用新鲜的苏打和有效的小钢瓶。对于  $H_2O$ ,执行前需要确保使用新鲜的干燥剂和湿润的加湿管。

运行开始后,Acquire 程序将执行以下操作: a)将所有气流送到分析仪,并在样品室和参比室之间进行分配。 b)浓度从低到高,然后再回到低。 c)记录在上升和下降过程中未校正的样品室与参比室之间的浓度差异。



Figure 4-12. Acquiring range match data

当程序完成后,对话框将提示是否保留新完成的区间匹配 range match 数据集,点击 Retain 按钮保留,点击 Cancel 则不保留,见图 4-13。

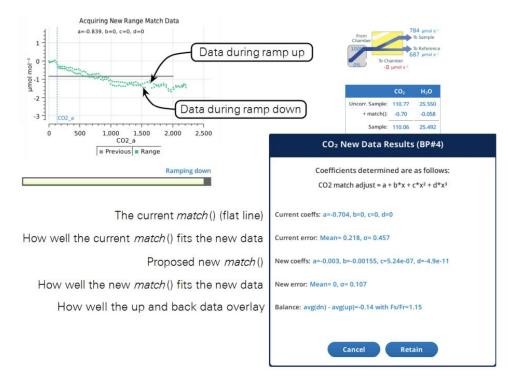


Figure 4-13. The Acquire program closing dialog.

浓度上升的点应该与下降的点尽可能的重叠。如果没有重叠,则调整流量配比(Flow\_s/Flow\_r) 参数进行补偿。耗时越短,浓度速度越快,差异凸显越明显;因此您可以用更快的速度运行几次"Acquire",以尝试获得最佳的 Flow\_s/Flow\_r 配比值。然后再使用正常速度运行 Acquire New CO<sub>2</sub> range match 时,重叠会更好。

- ◆ 如果"返回"的值(即浓度从高到底的值)高于"上升"值(即浓度从低到高的值),则应降低 Flow\_s /Flow\_r。
- ◆ 如果"返回"的值(即浓度从高到底的值)低于"上升"值(即浓度从低到高的值),则应提升 Flow s /Flow r。

做 CO<sub>2</sub> range match, Flow s /Flow r 通常在 1.10~1.20; H<sub>2</sub>O 一般在 Flow s /Flow r: 1.3~1.4。

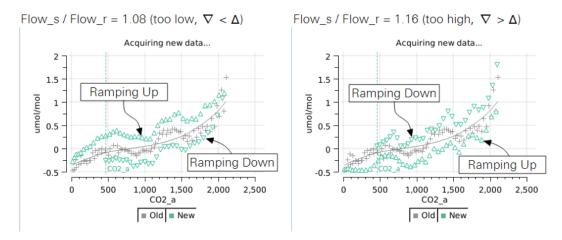


Figure 4-14. The effect of flow ratio on data overlap. Note that  $\Delta$  symbols are plotted when concentration is increasing, and  $\nabla$  when concentration is decreasing.

#### 4.2.3 区间匹配稳定性

#### 零点和跨度校准对其的影响:

任何时候做分析仪的零点或跨度校准都会使区间匹配数据无效。这些校准会将匹配函数重置为偏移量为0的0阶多项式,您需要在零点或跨度调整后再运行"Acquire"重做 range match。

#### 预热时长对其的影响

仪器预热时长对区间匹配数据通常有一定影响,图 4-15 对两种区间匹配数据进行了比较,一种是前一天完全预热后采集的区间匹配数据(灰色),另一种是从 16 小时休眠中被唤醒后等待不同时间进行的区间匹配数据(绿点)。

最大的差异出现在从休眠状态退出后仅等待 1 分钟进行的区间匹配数据,此时曲线在低端下降了 0.2 ppm,在高端下降了 1 ppm。在等待 2 小时后,绿色点基本与灰色点重合。幸运的是,曲线的总体形状是一致的。这表明您可以通过执行一次点匹配,并勾选 use the latest point match 将整条曲线平移到正确位置,而不需要重新测量区间匹配数据来补偿差异。

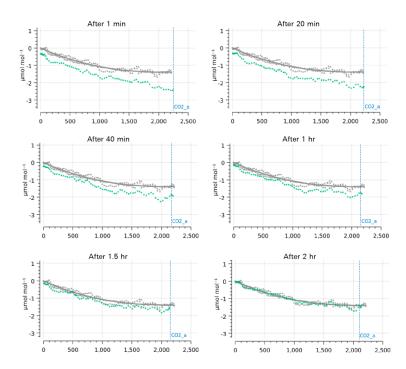


Figure 4-15. An illustration of the effect of warm up on range match data. The time label above each plot is the time since the instrument was waked up after a 16 hour sleep. The gray data points (same in each plot) are the original range match data from a previous measurement.

### 4.2.4 数据文件中的匹配信息

从 1.4 版本开始,数据文件中存储的内容进行了一些更改,以适应新的匹配基础结构。

- ◆ MchEvent 替代了原来的 Match;
- ◆ 新增分组: *MchStatus* ("match status")
- ◆ MchStatus 和 MchEvent 会被记录到数据文件中,非可选项;
- ◆ 变量 CO2 a 和 H2O a 从 Meas2 移动到 Meas;

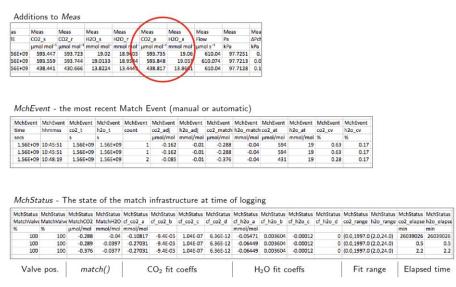


Figure 4-16. Match information as shown in an Excel data file.

# 4.2.5 区间匹配数据的保存

区间匹配数据是对应于分析器头的,数据集存储于主机内,并与对应的分析器头部序列号相 关联。因此,如果将其他分析器头部与该主机相连,则需要针对这个新的分析器头部再完整 建立一个新的区间匹配数据集。

### 4.2.6 推荐的区间匹配操作

以上我们介绍了关于区间匹配的重要细节,以下是推荐的区间匹配操作。

### 1) 获取 CO<sub>2</sub>和 H<sub>2</sub>O 的区间匹配数据。

完成  $CO_2$  和  $H_2O$  的 range match 之后,如果发现值不小(纵坐标),或者曲线的斜率很明显,则根据需要进行零点和跨度的调整,然后再做一次检查。一个好的有效的 range match data 应该是值很小,斜率几乎为 0。

### 2) 通过执行区间匹配来处理残余校正。

区间匹配可以消除由于浓度变化而需要重新再做匹配的情况。

### 3) 可以考虑将数据记录中有关 H2O 匹配设置为"Never match";

原因如下: 在测量过程中,通常参比室气体比样品室气体湿度低(样品室内有叶片蒸腾存在)。 匹配校正是针对样品室的浓度,而不是参比室的浓度,区间匹配 range match 能提供正确浓度 下的校正,而点匹配 point match 不是。而且,点匹配不仅在"错误"的浓度下进行,而且对于 样品室而言,执行  $H_2O$  的点匹配可能需要更长的平衡时间,如果等待时间不足就会在错误的 浓度下给出错误的校正。使用区间匹配则可以避免以上所有问题。

### 4) 对于二氧化碳,进行区间匹配,如果温度有变化,则定期进行点匹配。

### 4.2.7 匹配失败提示信息

除了操作人员取消导致的匹配未进行,其他原因导致仪器未能完成匹配时,在屏幕右上角会有提示信息,见下图。这个提示信息会在进行完下次匹配之后消失。



如果 CO<sub>2</sub> 匹配完成,而 H<sub>2</sub>O 没有完成匹配,或者反之,将会出现以下提示: "No H<sub>2</sub>O (或 CO<sub>2</sub>) match: timed out";

因为流量太低导致匹配没有完成,则会出现以下提示: "No Match: Flow too low":

# 4.3 LI-COR 最新动态同化技术 DAT

2020年LI-COR研发并应用在LI-6800上一项全新技术,动态同化技术(Dynamic Assimilation<sup>TM</sup> Technique,简称 DAT),支持更通用的动态方程通量计算模型,放宽了系统对于稳定状态(二氧化碳和水的变化速率在零或接近为零)的要求。详见以下 DAT 技术介绍。

### 4.3.1 DAT 技术优点

DAT 技术的最大优点是无需等待叶室进入稳定状态。图 4-17 显示了一个**密闭**的**空**叶室在  $CO_2$  浓度由 400ppm 升高到 500ppm 过程中记录的数据。**根据稳定状态方程计算得到的同化速率**  $A_{sty}$  在此期间变化峰值达到 40  $\mu$ mol  $m^{-2}$   $s^{-1}$ ,约 45 秒后降为 0。而根据动态方程计算得到的同 化速率  $A_{dvn}$  在此期间变化峰值不到 1.5  $\mu$ mol  $m^{-2}$   $s^{-1}$ ,并能够在约 15 秒内降为 0。

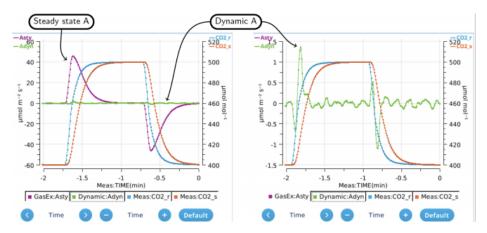


图 4-17  $CO_2$ 浓度骤变:  $A_{dyn}$  比  $A_{sty}$  更快达到真实通量结果。右图显示的是与左图相同时间序列下不显示  $A_{sty}$  只显示  $A_{dyn}$  的数据图

下面再做一个实验,同样是密闭的空叶室,改变  $CO_2$  浓度,在 400ppm 到 500 ppm 之间来回变化,变化速度是 100 ppm/min,记录的数据如图 4-18 所示。 $A_{sty}$  在  $CO_2$  浓度上升过程中比真实值高 10  $\mu$ mol  $m^{-2}$   $s^{-1}$ ,在  $CO_2$  浓度下降过程中比真实值低 10  $\mu$ mol  $m^{-2}$   $s^{-1}$ ,而  $A_{dyn}$  在全程  $CO_2$  变化过程中稳定保持在 $\pm 0.1$   $\mu$ mol  $m^{-2}$   $s^{-1}$ 。

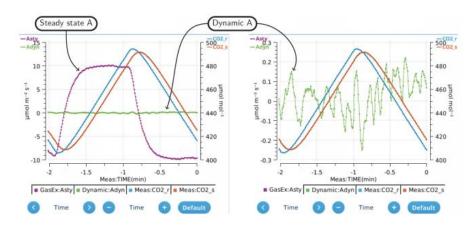


图 4-18 CO<sub>2</sub> 浓度匀速调整: CO<sub>2</sub> 变化速率为 100 μmol mol<sup>-1</sup> min<sup>-1</sup> 时,空叶室的数据

图 4-19 比较了叶片在光强迅速变化时的  $A_{dyn}$  和  $A_{sty}$ 。此过程控制稳定的参比室  $CO_2$  浓度,样品室内  $CO_2$  浓度的变化来源于光强的改变。光强变低会降低同化速率,使得样品室内  $CO_2$  浓度增加,导致  $A_{sty}$  比  $A_{dyn}$  高(如图 4-18 中  $CO_2$  浓度升高时一样),反之,当光强变高时,同化速率加大,样品室内  $CO_2$  浓度降低, $A_{sty}$  比  $A_{dyn}$  低。

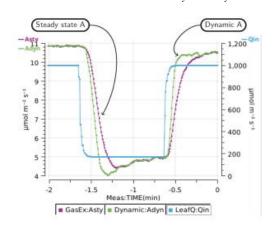


图 4-19 光强改变时的 Advn 和 Astv

### 4.3.2 使用 DAT 需要考虑的一些因素

#### 1) 区间匹配 Range matching

在稳态测量模式中,分析仪需要在当前  $CO_2$  浓度下做有效匹配。而在一系列非稳态测量过程中, $CO_2$  浓度一直持续处于变化过程中,分析仪在一个单点  $CO_2$  浓度的匹配效果肯定比不上在整个  $CO_2$  浓度变化范围内的全量程匹配效果,而 LI-6800 能够提供方便快捷的区间匹配(Range mach)功能完美契合了动态测量模式的需求。

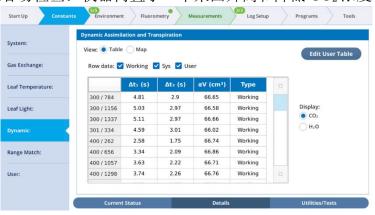
#### 2) 动态调整 Dynamic tuning

使用动态同化模型首先要了解一些额外的参数,这些参数与叶室、流经叶室的流速、流经参比分析器的流速都相关。当这些参数设置正确后,不管叶室内浓度以多快的速度线性增加或 降低,动态方程均会计算出准确的通量结果。

对于每一个支持动态方程的叶室而言,系统会提供一个可视化的参数列表,以便您在使用时提供参考。该列表位于 Dynamic > Details > Table > Sys 中。

每台仪器内该列表中参数的有效性均很容易检查: 仪器内置了一个来回升高和降低 CO2 浓度

的密闭空叶室测试。无论浓度升降,计算得到的动态通量结果都应该是 0,前提是 range match 正确。如果不是的话,最佳的拟合值会被重新计算,并被记录到 Dynamic > Details > Table > User下。该调整过程在一个固定的流速下会耗费几分钟,建议您在做快速 A-Ci曲线 (*RACiR*) 时进行该操作。



### 3) 噪声影响 Noise

在稳定状态下,由于变化率项,动态模型会比稳态模型噪声偏大,这一点可以从模型公式中 体现出,当环境条件稳定时,变化率 slope 很小,反弹出噪声。

为解决这一问题,LI-6800 使用了一个"最小可用斜率 minimum usable slope"值,该值需要被 设置为高于密闭空叶室中期望的斜率值的水平( $CO_2$  默认值为  $0.02~\mu$ mol mol<sup>-1</sup> s<sup>-1</sup>, $H_2O$  默认 值为  $0.005 \text{ mmol mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$ )。当斜率的绝对值保持低于这个值时,在动态计算中实际使用的斜 率值会通过随着时间推移迭代计算进而抑制该值。方法是通过将斜率除以(1+t/2)来实现的, 其中 t 是斜率一直低于阈值的秒数。例如, 10 秒后, 计算中使用的斜率为实际值的 1/6; 20 秒 后,为实际值的 1/11。这样可以越来越多地降低噪声,使动态性能与稳定状态性能一致。但 是,一旦实际斜率超过最小可用斜率时, t 会重置为 0, 因此该方法没有滞留效应。

图 4-20 展示了空叶室获取"最小可用斜率"的实验。参比室 CO2 在过去 1 分钟内改变 1 ppm 的 带状图。蓝线为样品室  $CO_2$  斜率,红线为  $A_{stv}$  (稳态同化速率),绿色线为  $A_{dvn}$  (动态同化速 率)。随着斜率抑制(左图), $A_{sty}$ 和  $A_{dyn}$ 的噪声变得具有可比性。如果没有斜率抑制,二者之 间则不具备可比性(右图)。

Minimum usable slope: 0.0 µmol CO<sub>2</sub> mol<sup>-1</sup> s<sup>-1</sup> Minimum usable slope: 0.02 µmol CO<sub>2</sub> mol <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup>

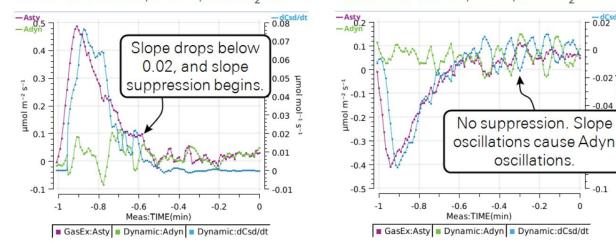


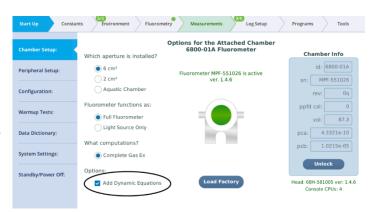
图 4-20. 斜率抑制的效果。左图为 CO2 浓度为 400 变为 401ppm 有斜率抑制时的参数; 右图为 CO2 浓度为 401 变回 400ppm 无斜率抑制时的参数。

### 4.3.3 正确使用 DAT

# 1) A<sub>dyn</sub> 的启用

如右图所示,在 Start Up 界面的 Chamber Setup 页面勾选 Dynamic Equations.

当勾选 Dynamic 之后,系统同时提



O.02

-0.02 둨

L -0.1

-0.2

供稳态计算和动态计算两种模型与计算结果,不管是记录数据前还是记录数据后,用户都可以自己决定选用稳态计算公式测量的通量结果( $A_{sty}$  和  $E_{sty}$ )或者动态公式计算的通量结果( $A_{dyn}$  和  $E_{dyn}$ )。

### 2) 快速浏览

点击 Constants > Dynamic > Current Status (图 4-21),您可以查看并比较实时的稳态值 ( $A_{sty}$  和  $E_{sty}$ ) 和动态值 ( $A_{dyn}$  和  $E_{dyn}$ ),以及动态值使用的一些主要输入值,包括工作表中的拟合系数。

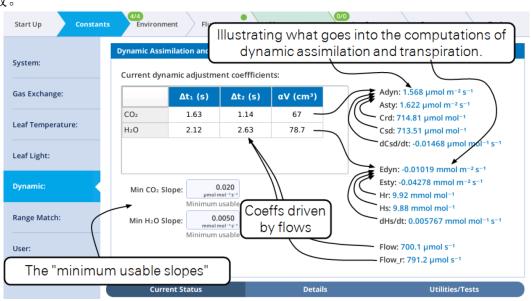


图 4-21 Current Status 界面

上图左边显示的是当前的拟合系数。当流速发生变化(或更换了叶室)时,会发生变化。

#### 3) 参数是否合理?

点击 Constants > Dynamic > Utilities/Test 可以测试和修改动态系数。通过测量当  $CO_2$ (或  $H_2O$ )在几分钟内循环升高或降低时的已知通量速率(0,空叶室),然后计算动态通量值,最开始使用的是初始系数,然后通过数据拟合来改进动态系数。

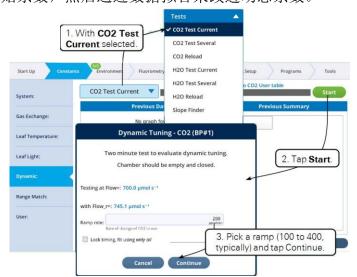


图 4-22 使用 CO<sub>2</sub> Test Current 程序

当该测试在运行时(图 4-23),同时显示动态通量与样品室和参比室的浓度。理想情况下,浓度与通量之间没有相关性。测试完成后(图 4-23 底部),动态通量的标准偏差以及通量与样品浓度之间的相关系数会被计算并显示在表格的 Before 列中。最终,最佳拟合值  $\Delta t1$ , $\Delta t2$  和  $\alpha V$  以及这些结果的统计数据会被显示在表的 After 列中。如果 After 列的数据优于 Before 列(StDev 标准差更小),您可以通过点击 Yes 按钮添加该结果到 User table 中,反之,点击 No。

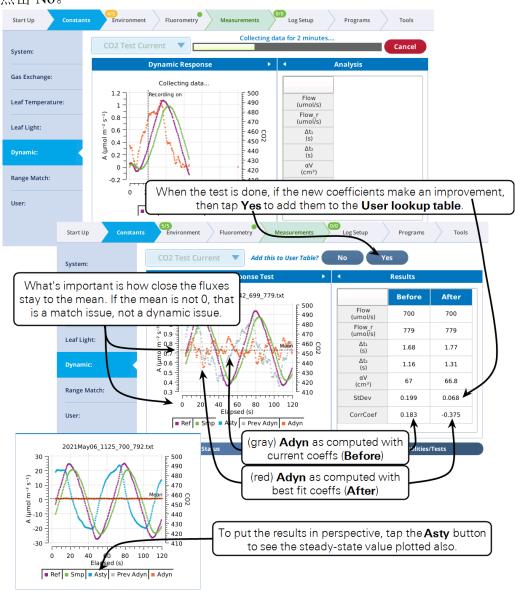


图 4-23 CO<sub>2</sub> Test Current 运行界面(上)及结束界面(下)

#### 4) 完成一条快速 A-Ci 曲线

- 1) 让仪器充分预热,且与环境温度保持一致(如 2h)。
- 2) 检查 CO<sub>2</sub> 和 H<sub>2</sub>O range matching。
- 3) 确定做 A-Ci 曲线所需要用到的流速。
- 4) 运行"CO<sub>2</sub> Test Current"调整 CO<sub>2</sub> 动态系数。
- 5) 运行"H<sub>2</sub>O Test Current"调整 H<sub>2</sub>O 动态系数(非必须)。
- 6) 建立一个新文件。
- 7) 使用 BP 文件中的三个 DAT 程序中的一个进行实验。注意:这三个程序触发的数据

记录需遵循以下原则:

- ◆ CO<sub>2</sub>和 H<sub>2</sub>O 都不用进行匹配;
- ◇ 荧光事件记录关闭。

用于测量快速 A-Ci 曲线(*RACiR*)的三个背景程序路径为/home/licor/apps/dynamic(图 4-24): 要测量一个连续"斜坡"(上升或下降)的 A-Ci 曲线,使用 DAT\\_CO2\\_Continuous(图 4-25)。要重复执行此操作,使用 DAT\\_CO2\\_Cont\\_Rep(图 4-27)。想从环境值开始,然后下降,再恢复到环境值,然后上升,请使用 DAT\ CO2\ Split(图 4-26)。

注意,三种程序都在 Log Options 里根据您的记录间隔相匹配的自动设置数据平均时间。 这样做的好处是记录的数据反映了所有的测量,而不是以不可能的频率计数。

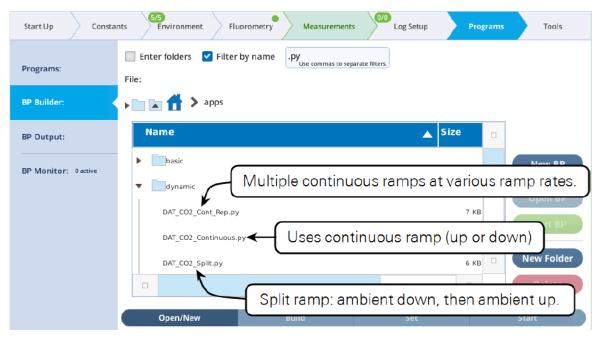


图 4-24 BP 路径下的三个快速 A-Ci (RACiR) 曲线的 DAT 程序

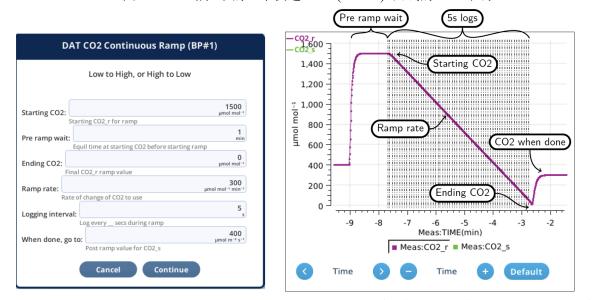
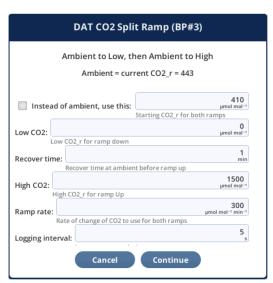


图 4-25 DAT\_CO2\_Continuous 配置示例以及该配置所记录的系统条带图。"斜坡"可以上升或下降,取决于开始和停止时的浓度



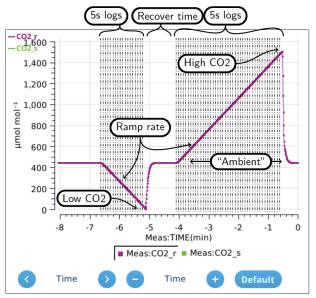
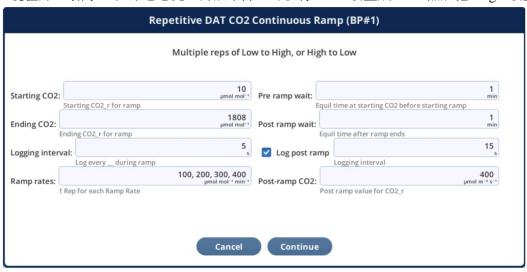


图 4-26 DAT\_CO2\_split 配置示例及该配置下所记录的系统条带图。斜坡总是由环境值降至最低然后从环境值升至最高。(如果您想先上升后下降,可以将"Low"设置成 1500 然后把"High"设置成 0)



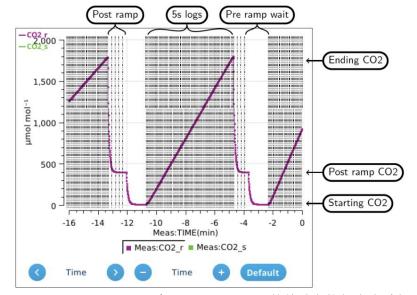


图 4-27 DAT CO2 Cont Rep 在 continuous ramp 的基础上执行多次重复

# 5) 在 Excel 文件中执行 DAT 重计算

在动态通量计算中会涉及到三个调整参数:  $\Delta t_1$  和  $\Delta t_2$  为参考浓度和斜率计算的时间偏移量, $\alpha V$  为有效体积。仅有  $\alpha V$  存在 Excel 文件中,分在 Dynamic 组( $\alpha Vc$  为 CO<sub>2</sub>,  $\alpha Vh$  为 H<sub>2</sub>O)。另外两个参数( $\Delta t_1$  和  $\Delta t_2$ )已经被用来计算参比室和样品室浓度以及变化速率,所以在 Excel 文件中更改这些参数已经没有意义了。

对于快速 A-Ci 曲线(*RACiR*)而言,如果在生成 A-Ci 曲线之前没有进行适当的动态调整,您仍然可以在实验之后进行重计算,但务必确保以下几点:

- ◆ 使用相同的流速;
- ◆ 运行"CO<sub>2</sub> Test Current", 勾选"Lock timing"(图 4-28), 这一步可以确保校正 αV 项。
- ◆ 在 Excel 中的 Dynamic 组中的 Vc 值里使用"After"栏中的 αV 值。

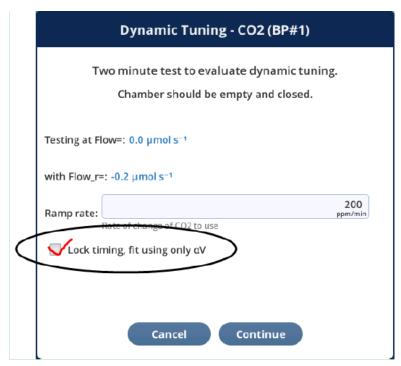


图 4-28 如果您在实验之后来调整动态参数,勾选图示复选框以获得 αV 的最佳拟合结果,该结果可以在 Excel 中进行修改来进行动态通量的重计算。

### 6) 可视化查找表

点击 Constants > Dynamic > Details(图 4-29),您可以查看用于不同流速下的动态参数。该表格可以以图形或列表的形式进行查看。实际上每个  $CO_2$  和  $H_2O$  均有三种表格,对应名称为 Sys,User 和 Working。

图形查看显示了 Sys 和 User 如何结合形成 Working 列表。

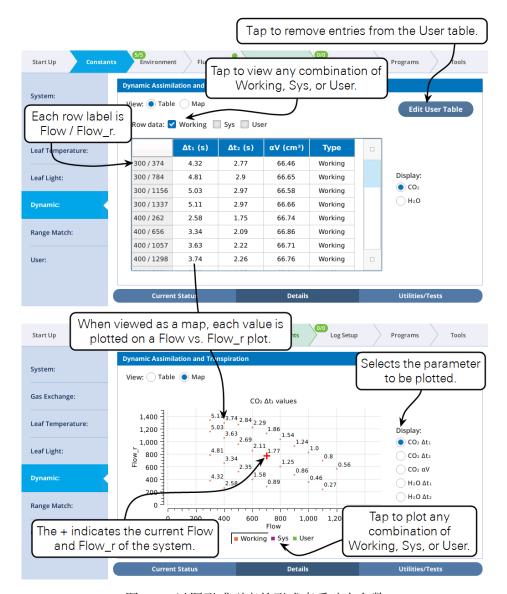


图 4-29 以图形或列表的形式查看动态参数

User 表中的参数可以通过点击 Edit User Table 进行编辑(图 4-30)。轻按要选择的条目行, 单击 Delete Rows 可以删除选定的行,Save Changes 可以保存修改好的参数,单击 Close User Table 可以离开编辑器。可以在 Utilities/Tests 界面下点击"CO<sub>2</sub> Reload"或"H<sub>2</sub>O Reload" 将已删除的条目恢复到 User 表中。



图 4-30 编辑 User Table

### 7) 动态配置选项

启用动态方程后,存储和加载配置文件时,系统会显示一个动态主题 (图 4-31)。包括  $CO_2$  和  $H_2O$  的最小可用斜率以及 User 表中的相关条目。需要注意的是表中参数是对应叶室专用的。如果您保存了一种类型的叶室的相应配置文件,并在使用其他类型叶室时加载了该文件,列表中的参数会被忽略。

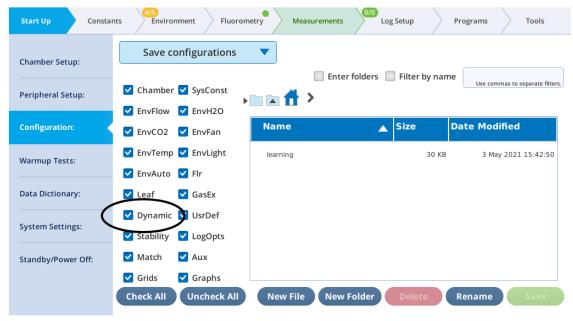


图 4-31 动态选项包含最小可用斜率及用户表选项

点击 Start Up>Chamber Startup, 您可以在 Load Factory Defaults 选项中进入 Dynamic 栏 (图 4-32)。此处加载 Dynamic 出厂设置,即将最小可用斜率设置成出厂值(CO<sub>2</sub>为 0.02, H<sub>2</sub>O 为 0.005),并将 CO<sub>2</sub>和 H<sub>2</sub>O 的一些用户自己设置的参数清空。



图 4-32 Factory Default 界面

#### 4.3.4 DAT 测试

### 1) CO<sub>2</sub>测试

 $CO_2$  动态测试是通过使用一个密闭的空叶室, 控制参比室  $CO_2$  浓度进行一系列升降来进行的, 每次升降持续 30 秒。升降过程中, $CO_2$  浓度低值为 400ppm,高值  $CO_2$  浓度为 400+r/2,其中 r 代表浓度升降的速率(ppm/min)。当升降过程开始 20 秒后,仪器会记录 2 分钟的数据。

仪器提供两种  $CO_2$  测试(图 4-33): 一种是 " $CO_2$  Test Current",执行当前流速下的测试,最后给出是否将结果添加到 User table 中的选项;另一种是 " $CO_2$  Test Several",在一定的流速范围内进行测试,并自动将测试结果保存至 User table 中。

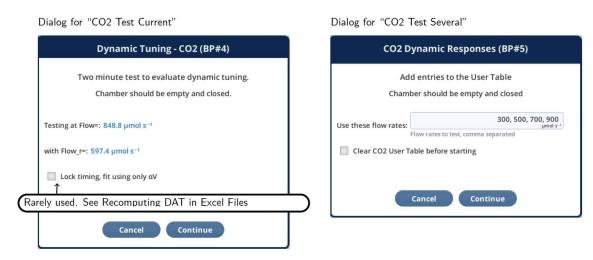


图 4-33 两种 CO2 动态测试对话框

开始收集数据时(图 4-34),系统会实时呈现  $CO_2$  浓度、通量值,以及根据 Working table 当前状态计算得到的动态通量值( $A_{dyn}$ )。理想情况下,您期望看到  $A_{dyn}$  变化的最小值,且与浓度升降方向无相关性。要想深入查看  $A_{dyn}$  行为,点击" $A_{sty}$ "按钮,可以同时查看稳态通量图。

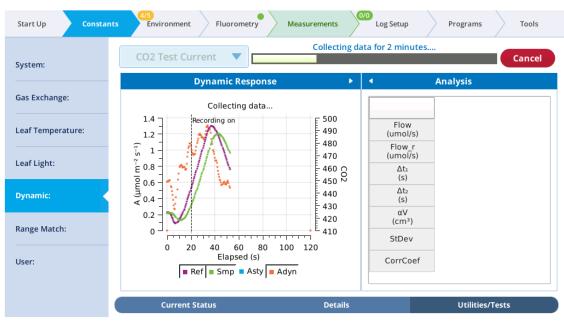


图 4-34 运行 CO2 动态测试

当数据收集结束后(图 4-35), $A_{dyn}$ 的标准差(StDev)以及与样品室浓度的相关系数(CorrCoeff)会被计算出来,结果会同三个拟合参数一起显示在表格中的 Before 栏内。然后会运行最佳拟合程序,以获取调整系数使得结果平均值的变化最小;这些值会显示在"After"栏中。

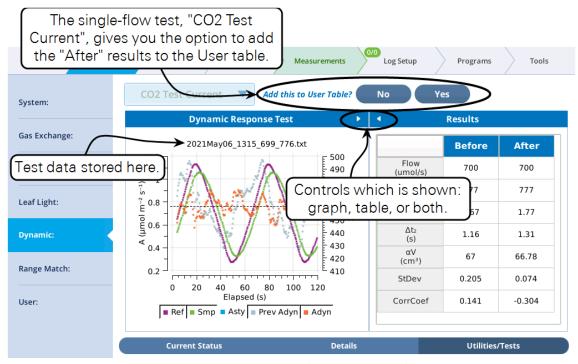


图 4-35 CO<sub>2</sub> 动态测试结果,图形和表格

"CO<sub>2</sub> Test Current"测试会提示您是否将结果添加至 User 表格中; "CO<sub>2</sub> Test Several"会自动添加结果,但是会在开始时提供是否清空 User 表格的可选项。

测试中记录的数据会被保存在一个文件内,文件会根据叶室的类型,流速,参比室流速和浓度变化速率进行命名,路径为:/home/licor/logs/dynamic/chamber/co2/flow\_flow\_r\_ramp.txt,例如,如果叶室为 6800-01A,流速为 600,参比室流速为 823,浓度变化速率为 200,文件名为:/home/licor/logs/dynamic/6800-01A/co2/600 823 200.txt。

#### 2) H<sub>2</sub>O 测试

H<sub>2</sub>O 动态测试也是通过使用一个密闭的空叶室,控制 H<sub>2</sub>O 浓度进行一系列升降变化来进行的,每次浓度升降变化持续 30 秒。浓度升降变化的幅度一般为 1~2mmol/mol;这一过程中是通过保证加湿管阀门打开保持在 80%,改变干燥管阀门打开程度在 20~30%之间变化。

仪器提供两种  $H_2O$  测试(图 4-36),一种是 " $H_2O$  Test Current",执行当前流速下的测试,最后给出是否将结果添加到 User table 中的选项;另一种是 " $H_2O$  Test Several",在一定的流速范围内进行测试,并自动将测试结果保存至 User table 中。

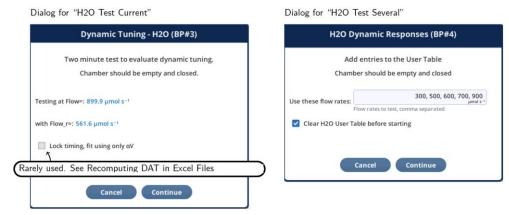


图 4-36 两种 H<sub>2</sub>O 动态测试界面

开始收集数据时(图 4-37),系统会实时呈现  $H_2O$  浓度、通量值,以及根据 Working table 当前状态计算得到的动态通量值( $E_{dyn}$ )。理想情况下,我们期望得到  $E_{dyn}$  变化的最小值,并且与浓度升降方向无相关性。要想深入查看  $E_{dyn}$  具体情况,可以点击 " $E_{sty}$ " 按钮,同时查看稳态通量图。



图 4-37 运行一个 H<sub>2</sub>O 动态测试

当数据收集结束后(图 4-38), $E_{dyn}$ 的标准差(StDev)以及与样品室浓度的相关系数(CorrCoeff)会被计算出来,结果会同三个拟合参数一起显示在表格中的 Before 栏内。仪器会运行最佳拟合程序,以获取最佳调整系数,使得结果平均值的变化最小;这些值会显示在"After"栏中。

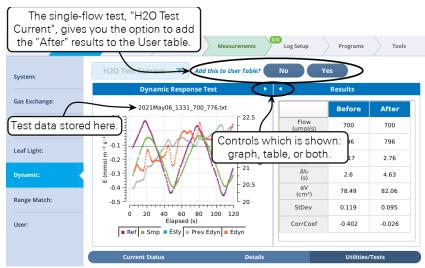


图 4-38 H<sub>2</sub>O 动态测试结果,图形和表格

"H<sub>2</sub>O Test Current"测试会提示您是否将结果添加至 User 表格中; "H<sub>2</sub>O Test Several"会自动添加结果,但是会在开始时提供是否清空 User 表格的可选项。

测试中记录的数据会被保存在一个文件内,文件会根据叶室的类型,流速,参比室流速进行命名,路径为:/home/licor/logs/dynamic/chamber/h2o/flow\_flow\_r\_ramp.txt,例如,如果叶室为6800-01A,流速为600,参比室流速为823,升降速率为200,文件名为:/home/licor/logs/dynamic/6800-01A/h2o/600 823 200.txt

# 3) 加载一个测试结果

在 Utilities/Test 界面下,允许重新加载之前的测试结果。在本例中,对话框中显示了 CO<sub>2</sub> 测试的一系列文件供您选择,这些文件并没有保存在 User 表格里。

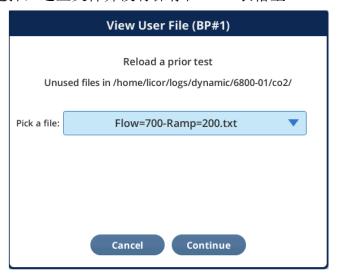


图 4-39 重新加载一个之前的 CO<sub>2</sub> test

如果您选择了一个文件。该文件会被读取并图形显示,结果呈现和上文 Text Current 测试一样,如图 4-35 和 4-36。

#### 4) 测试最小可用斜率

Slope Finder 菜单可供您设置一个最小可用斜率的最适值。运行该测试时,您需要设置您期望进行测试的 CO<sub>2</sub>、H<sub>2</sub>O、流速和风扇转速值。叶室必须保持密闭且不夹叶片。

该测试只包括记录一段时间内的  $CO_2$  和  $H_2O$  的变化速率,并确定其在该时间段内的最大斜率 (图 4-40)。

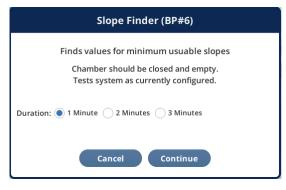


图 4-40 Slope Finder 界面

当该测试运行时,图形显示斜率对数的绝对值及当前最小可用斜率的对应结果(图 4-41)。测试结束后,您可以选择是否应用最后的建议值,该建议值是测量最大斜率的 2 倍。



图 4-41 上图: Slope Finder 运行中。下图: 测试结束并显示推荐结果

### 4.3.5 DAT 模型详解

# 1) 方程推导

空气流经一个单一体积且混合均匀的叶室时,其水分平衡可根据方程 4-5 计算得到:

$$sE=u_ow_o-u_ew_w+
ho vrac{dw_o}{dt}$$

4-5

表 4-1 参数及说明 (蒸腾速率)

Symbol	Units (s)	Description
E	mol H <sub>2</sub> O m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>	Transpiration rate 蒸腾速率
S	m <sup>-2</sup>	Leaf area 叶片面积
ρ	mol m <sup>-3</sup>	Air density 空气密度
$u_e$	mol s <sup>-1</sup>	Flow of air entering chamber 流入叶室的流速
$u_o$	mol s <sup>-1</sup>	Flow of air leaving chamber 流出叶室的流速
ν	m <sup>3</sup>	Chamber volume 叶室的体积
we	mol H <sub>2</sub> O (mol air) <sup>-1</sup>	Water concentration entering chamber 进入叶室的H2O浓
Wo	mol H <sub>2</sub> O (mol air) <sup>-1</sup>	Water concentration leaving chamber 流出叶室的H2O浓度

因  $u_o = u_e + sE$ ,我们可以消除未测量的  $u_o$ ,转换得到

$$E = \frac{u_e}{s(1-w_o)} \left( w_o - w_e + \frac{\rho v}{u_e} \frac{dw_o}{dt} \right)$$

空气流经一个单一体积、混合均匀的叶室,计算  $CO_2$  物质量平衡时,可以通过考虑等效的干摩尔分数  $c'_e$  和  $c'_o$  来消除水的稀释效应:

$$sa' = \frac{sa}{1 - w_e} = u_e c'_e - u_e c'_o + \rho v \frac{dc'_o}{dt}$$
4-7

表 4-2 参数及释义(CO2同化速率)

Symbol	Units (s)	Description
a'	dry moles CO <sub>2</sub> m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>	Assimilation rate (dry equivalent) 干CO2同化速率
a	$mol CO_2 m^{-2} s^{-1}$	Assimilation rate CO2同化速率
$c'_e$	mol CO <sub>2</sub> (mol dry air) <sup>-1</sup>	Dry equivalent CO <sub>2</sub> entering chamber 流入叶室的干CO2%
$c'_{o}$	mol CO <sub>2</sub> (mol dry air) <sup>-1</sup>	Dry equivalent CO <sub>2</sub> leaving chamber 流出叶室的干CO2浓
$c_e$	mol CO <sub>2</sub> (mol air) <sup>-1</sup>	CO <sub>2</sub> entering chamber 流入叶室的CO2浓度
$c_o$	mol CO <sub>2</sub> (mol air) <sup>-1</sup>	CO <sub>2</sub> leaving chamber 流出叶室的CO2浓度

$$a = \frac{u_e(1-w_e)}{s} (c'_e - c'_o + \frac{\rho v}{u_e} \frac{dc'_o}{dt})$$
4-8

等效干摩尔分数为:

$$c'_{o} = \frac{c_{o}}{1 - w_{o}}, \quad c'_{e} = \frac{c_{e}}{1 - w_{e}}$$

注意,对于稳态  $(dw_0/dt=0$  且  $dc'_0/dt=0$ ),方程 4-6 和方程 4-8 可简化为:

$$E_{sty} = \frac{u_e(w_o - w_e)}{s(1 - w_o)}$$
 4-10

$$a_{sty} = rac{u_e}{s}(c_e - c_o rac{1 - w_e}{1 - w_o})$$
 4-11

动态(非稳态)蒸腾速率为:

$$E_{dyn} = \frac{F}{100S} \left( W_s - W_r + \left[ \frac{1000PV}{8.314(T + 273.15)F} \right] \frac{dW_s}{dt} \right) \left( \frac{1000}{1000 - W_s} \right)$$

$$4-12$$

非稳态  $CO_2$  同化速率  $A_{dyn}$  ( $\mu$ mol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) 为:

$$A_{dym} = \frac{F}{100S} \left( C_{rd} - C_{sd} - \left[ \frac{1000PV}{8.314(T + 273.15)F} \right] \frac{dC_{sd}}{dt} \right) \left( \frac{1000 - W_r}{1000} \right)$$

$$4-13$$

表 4-3 参数及释义

Symbol	Units (s)	Description
$A_{dyn}$	µmol CO <sub>2</sub> m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>	Assimilation rate 同化速率
$C_{rd}$	µmol CO <sub>2</sub> (mol dry air) <sup>-1</sup>	Equivalent dry reference concentration 等效于CO2%
$C_{sd}$	µmol CO <sub>2</sub> (mol dry air) <sup>-1</sup>	Equivalent dry sample concentration 等效于co2浓
$E_{dyn}$	mmol $H_2O$ m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>	Transpiration rate 蒸騰速率
F	µmol s <sup>-1</sup>	Flow entering the chamber 进入叶室的流速
P	kPa	Chamber atmospheric pressure 叶室内大气压
T	С	Chamber air temperature 叶室内空气温度
V	cm <sup>3</sup>	Relevant volume 相关体积
$W_r$	mmol H <sub>2</sub> O (mol air) <sup>-1</sup>	Reference water concentration 参比室水汽浓度
$W_{s}$	mmol H <sub>2</sub> O (mol air) <sup>-1</sup>	Sample water concentration 样品室水汽浓度

# 4.4 夹上叶片

如果您之前没有使用过 LI-6800,或没有气体交换测量的经验,您可以参考本章节实验。

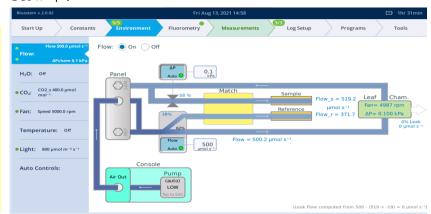
1. 选择待测的植物和叶片。

选择在阳光下生长、灌溉充分、叶片能充满叶室的植物,将叶室放置在待测叶片附近,但现在不夹入叶片。建议初学者先从测量这类植物入手熟悉气体交换测量及仪器操作,如果选择受胁迫的植物或长时间处于弱光环境(如室内)的植物,则会给测量带来难度。

2. 设置流速, 在 Environment > Flow 下:



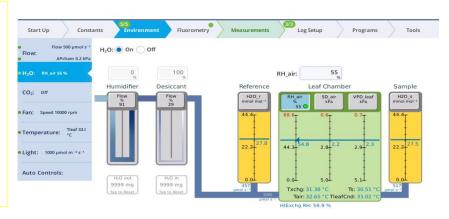
- > Pump Speed: Auto
- Flow Setpoint: 500 μmol·s<sup>-1</sup>
- > ΔP auto: 0.1 kPa



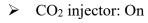
3. 设置 H<sub>2</sub>O, 在 Environment > H<sub>2</sub>O 下:

➤ H<sub>2</sub>O: On

➤ 选中RH或VDP\_leaf 设置为:RH在50%~75%; 或 VPD\_leaf 为 1.3 kPa 注意: 此处 1.3 kPa 仅为 举例,在高温高湿天气无 法实现,VDP\_leaf 控制要 根据具体实验具体情况 而定;



4. 设置 CO<sub>2</sub>,需要安装 CO<sub>2</sub> 钢瓶, 在 Environment >CO<sub>2</sub> 下:

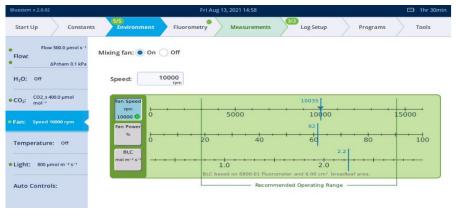


- Soda Lime: Scrub Auto
- 设置 CO2\_s:
   400 μmol mol<sup>-1</sup> (此为 举例,具体控制根据 实验而定)

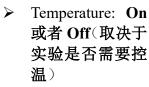


5. 设置混合风扇转速,在 Environment > Fan 下:





6. 设置温度,在 Environment > Temperature 下:



Tleaf: On (如果 要控温)可保持 默认或实验设 计。



7. 光强设置, 在 Environment > Light 下:

➤ 如果没有安装光源,选择 Light> Ambient > (Sun+Sky),调整叶室方 位,确保叶片不被叶室壁遮光;

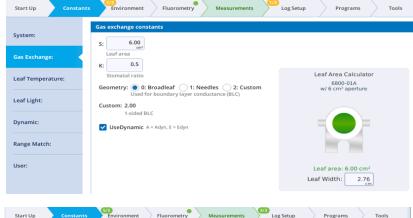


- ➤ 若使用红蓝光源 LED,选择 Light>Head Light Source>Control Mode>Tracking(光强与外界环境同步变化),在 color spec 下输入 r90;
- ➤ 若使用荧光光源,选择 Environment> Auto Controls>Qin ,设置 F(t) 为 Tracking> Qamb\_out ,并 勾 选 AutoRepeat 后点击开始。程序运行后, 在 Environment> Light,查看,显示参 数处于自动控制的状态;



# 8. 检查常数设置

Exchange 下: 确认叶面积; 叶片不能充满叶室,则需要计算叶面积,在 Leaf Area Calculator 输入叶室内叶片平均宽度,仪器自动计算出叶面积;



全 Constants >User下,可以给测定数据增加标签提示。在数据测量中,随时可以修改这些提示,对数据做标识说明。



➤ 在 Constants >下的其他选项先保持默认。

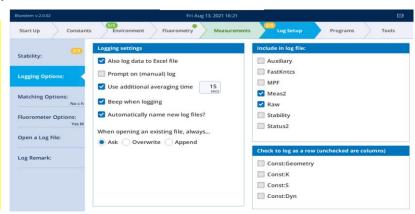
#### 9. 夹上叶片

仪器和叶片稳定一段时间,在 Measurement 下观察 CO<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>O 浓度,气孔导度 gsw 及光 合速率 A 是否稳定,再参考下表设置的 Stability 中的 slope 是否稳定,然后再进行测量。 Stability 设置(可选)仅供参考,同一套设置不可能适用于所有植物和环境

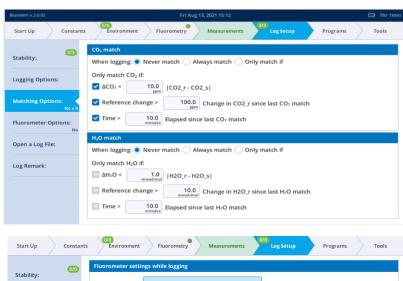
Variables	Slope Limit	Period(s)
CO <sub>2</sub> R & CO <sub>2</sub> S. Meas	1	20
H <sub>2</sub> 2OR & H <sub>2</sub> OS. Meas	1	20
gsw.GasEx	0.1	20
A.GasEx	1	20
F.FlrLS	10	20

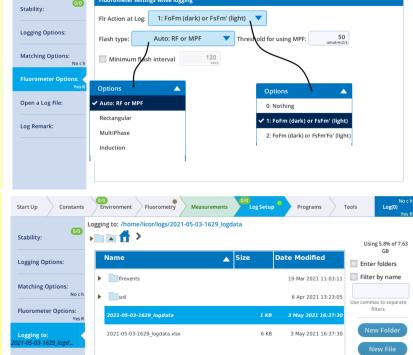
#### 10. 数据记录文件设置 Log Files。

- ➤ 在 Log Setup > Logging Options 数据记录选项 见右图。
- Also log data to Excel file 必须选中;
- ▶ 想对数据添加标注 Prompt,选中 Prompt on (manual) log。



- ➤ 在 Log Setup > Match Options 设置什么情况 进行匹配,参考章节 4.2 的内容;
- ➤ CO<sub>2</sub> Match 可以选择 Only Match if 或者选 择 Always Match;
- ➤ H<sub>2</sub>O Match 可以选择 Never Match:
- Log Setup> Fluorometer Options 设置是否记录 荧光数据以及使用什么类型饱和闪光。
- ➤ 如果要记录荧光参数, 见右图,选 1 或 2,区 别在于要不要测 F。'。
- ➤ Flash type: 建议 Multiphase
- ➤ Log Setup >Open a Log File 设置文件名与文 件存储路径
- ▶ 点击 New Folder,可以 新建一个文件夹,例如 自己的名字拼音(便于 多人共用仪器区分数 据);打开该文件夹,点 击 New file,起一个文 件名,开始本次测量。

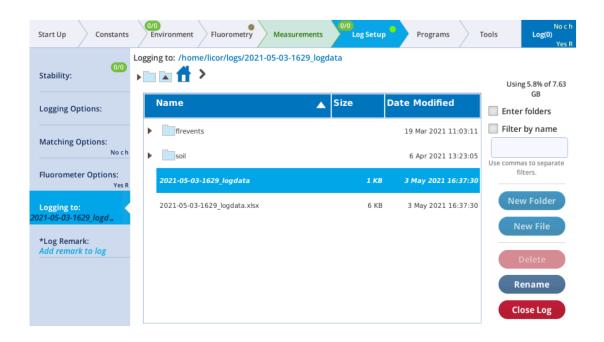




### 11. 查看 Environment 栏。

Environment 栏顶部会出现一个分数,如 6/6,表示设定了 6 项控制,且都达到设定值。每一项环境控制前都有圆点标识,绿色圆点表示已稳定,黄色圆点表示还未稳定。

- 12. Measurements 菜单下观察各项参数值(详见第 9 步的描述)。
- 13. 测量达到稳定后,点击 Log 按钮,如果你选中"prompt on Log",系统会提示您是否修改 prompt,修改完成或不修改,按 continue 键,仪器会进行匹配并记录读数。
- 这样,一个测量就完成了。更换叶片继续测量。最后关闭文件,见下图,点击"Close Log"。



# 4.5 多种测量举例

本节内容将以如下情况作为前提: 您已经组装好仪器; 您会操作仪器的软件; 您掌握了如何控制叶室条件; 基于这些, 我们开始介绍以下几种测量。

# 4.5.1 调查式测量

调查式测量(Survey Measurements)(选用 3×3cm 透明叶室或光源)主要是为了描述一个植物群体的特征,通常通过短时间内对大量叶片进行取样测量来达到此目的,这便意味着在单个叶片测量上耗用尽量少的时间,以求在有限时间内尽可能获取最大的样品量信息。

如果最终目的是对一个生物群落(或者一定数量的植物)进行特征描述的话,则每个叶片需要在**相似的条件下进行测量**。叶室内条件应该与植物所处的外界环境尽量保持一致。这样做可以节约测量时间,因为只需要等待叶室达到平衡,而不需要等待叶片适应叶室内的环境。

#### 光照

**光照是最重要的因素**,注意测量前和测量过程中光照的变化情况。将叶片夹入叶室的过程中尽量避免叶片遮阴,测量过程中保持叶室朝向不变。了解叶片最近的光照变化情况。

如果要测量阳生叶,不要选择小光斑下生长的叶片或者需要移除附近的枝叶才能使之照光的叶片。

避免叶室内光照条件发生大幅变化,产生这种错误的常见方式是在**测量过程中**改变叶室的朝向,导致叶室内叶片的光合参数随光照变化而变化。

对于室外调查式测量,晴朗的天气是最佳的,多云天气是最糟糕的。多云天气,叶片一直处于不稳定的状态中,这种情况下测出来的光合速率和气孔导度几乎无法进行解释,数据可能会毫无意义。此时光源的作用就非常突显,即使在晴天,使用光源也可以避免突然出现的云对测量产生的干扰,避免外界光环境快速变化导致的数据不稳定。在多云天气,外置光源可以让叶片在某一固定光强下进行平衡,耗时大约 10~15 min,这样数据较为真实稳定,但是会减缓调查测量的进度。

#### $CO_2$

光合速率是关于 CO<sub>2</sub> 变化的函数,所以要尽量保持叶室内 CO<sub>2</sub> 浓度不变,这一点很重要!为此,**建议对样品室 CO<sub>2</sub> 浓度进行控制,目标值设为 400μmol mol**<sup>-1</sup> 左右。

# 湿度 (Humidity)

建议湿度设置在 50%~75%RH 范围内。设置湿度时,需要考虑叶室混合扇会降低叶片的边界层厚度,因此设置值需要比外界环境湿度稍高一些,以保持叶片环境稳定并且叶片夹入叶室后不会大幅度改变气孔开放程度。

### 流速 (Flow)

对于叶室中的叶片,固定的流速使得系统平衡时间最短,因此建议设置固定流速,中速(Pump Speed:Auto),Flow 设置为  $500\mu$ mol  $s^{-1}$ ,如果光合较低,也可以适度调低流速,例如设置为  $200-300 \mu$ mol  $s^{-1}$ ,当然,相对平衡时间会延长一些。

#### 温度 (Temperature)

关于温度控制和调查式测量是个有待权衡考虑的选择:其一,如果需要电池使用更长时间,可以不控制温度;其二,如果需要避免叶室在阳光下长时间工作带来的温度升高,可以控制叶室内温度。具体怎么设置,需要用户根据自己的实际情况去确定。

要注意:温度变化很大时会影响光合速率,如果外界温度变化迅速或者调查式测量是日变化曲线的一部分时,建议进行温度控制。

#### 匹配分析器 (Matching the IRGAs)

第一个叶片测量前进行一次匹配,此后 30 min 左右匹配一次即可,温度变化较大时建议匹配。

#### 记数时注意事项

- ➡ 叶片面积对吗?如果叶片不能充满叶室,需要计算出正确的叶面积,并输入系统。当前输入正确的叶面积还是过后计算?需要系统在每次测量前提示你注意叶面积吗?
- 需要记录其他信息吗?例如给每个叶片做标记便于处理数据时区分?如果需要,请设置 user constants,并在 Log Files 下的 Logging Options 中勾选 Prompt on log。

- 应该建立多少个数据文件?所有的测量值应该存在一个文件内,还是应该有几个文件?如果有几个,分组的理由是什么?测量的顺序是否重要?
- ↓ 什么时候可以记数?如何判断稳定?请参考章节4.4的相关内容。

# 4.5.2 CO2 响应曲线

为什么要进行  $CO_2$  响应曲线的测量? 一条 A-Ci 曲线可以反映很多植物或者叶片的生物化学信息,例如:

- ightharpoonup CO<sub>2</sub>补偿点: 光合和呼吸平衡时的 Ci 值。
- ▶ 羧化效率: CO₂响应曲线的初始斜率,对于 C₃植物,该斜率可以反映 Rubisco (核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶/加氧酶)的最大活性,有时也叫做叶肉导度。
- ▶ 气孔限制: CO₂响应曲线可以定量气孔限制的大小。
- ▶ 羧化限制: 在叶肉细胞中, 羧化限制可以从电子传递限制中分离开来。

### CO<sub>2</sub> 响应曲线测量注意:

### 光 (Light)

光强在测量过程中应保持恒定且为非限制强度值,即所设光强不应该对植物产生光限制。LED 光源或者荧光光源对  $CO_2$  响应曲线的测量都非常适宜,如果对植物熟悉可以设置光强为该植物正常接收光照的最大值,等待一段时间让植物适应光强达到平衡。

#### $CO_2$

如何设置 CO<sub>2</sub> 响应曲线中的 CO<sub>2</sub> 梯度?这取决于实验人员在测量过程中最看重的是哪些参数。推荐设置:以环境浓度开始,然后降低浓度,再返回到环境浓度,最后增大至高浓度。原因是在 CO<sub>2</sub> 低浓度时,Rubisco 可能失活;高浓度下,气孔关闭:如此设置避免在最低和最高点耗时过长。

#### 温度:

CO<sub>2</sub>响应曲线需要在温度恒定条件下测量,请进行叶片温度控制。

#### 湿度控制

仪器相对湿度设置为 50%~75%之间,也可以控制叶片的 VPD。不清楚具体设置多少时,叶室相对湿度 50%~70%范围内时夹上叶片,查看叶片 VPD 参数值,进行参考设置。

#### 匹配:

测量过程中 CO2浓度变化幅度较大,建议 CO2match: Always match; H2Omatch: Never Match。

### CO<sub>2</sub>响应曲线手动测量步骤

以下步骤指导如何进行**手动 CO<sub>2</sub> 响应曲线的测量**(注:以下列出的参数设置适用于大部分植物,若您测量的植物叶片光合速率相对较低时,您需要改变相关参数的设置。)。

- 1. 进行环境控制的设置。
  - 设置流速: Flow: On; Pump Speed: Auto; Flow Setpoint: 500μmol s<sup>-1</sup>(对于叶片面积较小或 光合速率较弱的叶片适度降低流速); Press. Valve: 0.1 kPa.
  - ▶ 设置 H<sub>2</sub>O: H<sub>2</sub>O: On; and RH air: 50%~75%.
  - ▶ 设置 CO<sub>2</sub>: CO<sub>2</sub> injector: On; Soda Lime: Scrub Auto; 设置 CO<sub>2</sub>\_s: 400 μmol mol<sup>-1</sup>.
  - ▶ 设置叶室混合扇: Mixing fan: On; Fan Speed: 10,000 rpm。
  - ➤ 设置温度(是否设置温度,请见章节 4.4.1 的解释): 如果要设置温度,先查看当前温度值; Temperature:On; Tleaf: 控制值与环境温度相近。
  - 》 光源(HeadLS 或 Fluor): 对于大田植物,可设置 PAR 为 1,500 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>;而对于温室或气候室生长的植物,光强减半,可设置为 750 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>。如果没有光源,请在生长室或室外进行测量,**但要注意,没有稳定的光强控制,测量结果是没有意义的。**
- 3. 查看图像 A/B/C/D 查看数据的稳定性或在 H 页查看已记录的 A-Ci 数据图/曲线。
- 4. 关于读数的稳定性判断,请见章节4.4 中第9 步的相关介绍。
- 5. Log Files 下设置记录选项,并打开一个记录文件。
  - Match options: CO<sub>2</sub>match: Always match; H<sub>2</sub>Omatch: Never Match.
  - ➤ Logging options: 若使用荧光叶室,设置 Flr action at log: 0 Nothing (表示不记录荧光 参数)。
  - ➤ Open a LogFile 打开记录文件: 找到自己建立的 Folder 文件夹, 进入, 点击 New File, 输入文件名字, OK, 命名文件为"Sample CO<sub>2</sub> curve", 或其他类似的名字。
- 6. 等待稳定,记录第一个数据。
- 7. 然后逐步降低 CO<sub>2</sub> 浓度值,例如每次降低 100 μmol mol<sup>-1</sup>,等待稳定,记录数据。
- 8. 重复步骤7,直至完成。

 $CO_2$ 浓度依次设置为: 300, 200, 100, 和 30 ( $C_3$  植物) 或 0 ( $C_4$  植物)。最后一个点设置在  $CO_2$  补偿点以下, $CO_2$ 浓度设置点的变化会短时间内打破系统的稳定性,第一个  $CO_2$ 浓度设置点和最后一个之间设置 4~5 个点,最后一个  $CO_2$ 浓度设置点  $C_3$  植物为 30 左右, $C_4$  植物为 0。

9. 返回第一个 CO2 浓度设置点。

CO<sub>2</sub> s 浓度再次设置为 400 μmol mol<sup>-1</sup>,记录光合速率值恢复到正常值需要多久的时间。

10. 设置一些高于环境 CO2 浓度的点并依次进行测量。

例如: 600 μmol mol<sup>-1</sup>, 800 μmol mol<sup>-1</sup>, 1000 μmol mol<sup>-1</sup>, 和 1200 μmol mol<sup>-1</sup> 等等。每个浓度下都等待稳定,记录数据。

11. 分析数据。

用图像进行分析: CO<sub>2</sub> 补偿点是多少? 在试验过程中湿度是否保持恒定? 测量过程中气孔导度变化多少? 等等。

#### CO<sub>2</sub> 响应曲线自动测量步骤

- 1. 环境控制选项的设置
  - ▶ 设置流速: Flow: On; Pump Speed: Auto; Flow Setpoint: 500 μmol s<sup>-1</sup>; Press. Valve: 0.1kPa.
  - ▶ 设置 H<sub>2</sub>O: H<sub>2</sub>O: On; and RH air: 50%-75%.
  - ▶ 设置 CO<sub>2</sub>: CO<sub>2</sub> injector: On; Soda Lime: Scrub Auto;设置 CO<sub>2</sub> s: 400 μmol mol<sup>-1</sup>.
  - ▶ 设置叶室混合扇: Mixing fan: On; Fan Speed: 10,000 rpm。
  - ▶ 设置温度: 先查看当前温度值; Temperature:On; Tleaf:27.0 °C 或者与环境温度相近。
  - 外置光源: HeadLS or Fluor: 1,500 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, 或者对植物无光抑制的光照强度。
- 2. 设置叶面积和气孔比例。查看 Constants > System Constants 下的值是否正确?
- 3. 打开一个记录文件。确保进行了匹配设置 (Match Options) 和记录设置 (Logging Options)。
- 4. 夹上叶片;
- 5. 打开自动程序

Auto Programs > CO<sub>2</sub> Response, 设置 CO<sub>2</sub> 响应曲线或者使用默认设置 400,300,200,100,30(C<sub>3</sub>) 或 0(C<sub>4</sub>),400,400,600,800,1000,1200,1500,1800,点击 Start。

6. 查看曲线

Measurements 菜单下,查看 CO2\_r 和 CO2\_s 参数,也可以查看 H 图里的 A-Ci 曲线。数据储存在 log file 中,查看路径: Tools>View Log Files 下选择文件,在 Data 页查看数据。

#### 4.5.3 光响应曲线

为什么要进行光响应曲线的测量?完全黑暗的环境下,光合作用无法进行,叶片对最开始出现的少量光量子吸收的效率最高,而后随着光强的增强,吸收效率降低,最后光强增加,光合速率增加幅度很小或者不再增加。因此,光响应曲线可以提供以下信息:

- ✔ 暗呼吸速率: 无光时的同化速率;
- ✓ 光补偿点: 光合作用和呼吸作用平衡时对应的光量子通量密度;
- ✓ 量子效率:同化速率的最初斜率;
- ✓ 光饱和最大光合速率: A<sub>sat</sub>。

和阳生植物相比,阴生植物暗呼吸速率往往偏低,光补偿点也低,最大光合速率也较低,但是具有较高的量子效率。

## 光响应曲线的几种测量方法

根据不同的测量目的,以下介绍一些推荐测量方法:

#### 1) 快速光响应曲线

光合器官对于光强的变化响应是最快的,基本上是实时响应,尤其是**光强从高到低改变**时。快速测量方法是叶片先在强光下进行适应,而后降低光强,降低梯度为 200μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> 或更小,每个数据点耗时 1~2 min。当进行快速光响应曲线测量时,气孔无法随着光强的变化进行及时调整,在光强降到较低时,气孔导度仍然保持较高,这可以从稳定增大的 Ci 反映出来。这并不表示测量有问题,只是需要注意的是怎么使用快速光响应曲线测量得到的气孔导度值,因为这些数值是非平衡下的数值。

#### 2) 慢速光响应曲线

相对于快速光响应曲线,另一种方法就是做慢速光响应曲线测量,在每一个光强梯度都等待足够长的时间让气孔进行平衡。因为速度很慢,所以光强梯度可以由小变大,也可以由大变小。在每个光强下等待15~20分钟,您会发现Ci值在测量过程中相当稳定,反映了气孔是在该条件下进行了充分稳定的调整。实际上,除了最低光强那个点以外,Ci值可以作为判断每个梯度下数值记录的指标。

#### 3) 调查式光响应曲线

第三种测量光响应曲线的方法是使用一系列光强度下平衡的叶片数据做光响应曲线。优点是测量快速,数据平衡稳定。遇到的挑战是不同叶片之间的生长差异和其他因子的差异会带入到响应曲线中。调查式光响应曲线对于某些物种可能会比较适宜。比如,对于落叶树,冠层中叶片位置与叶片年龄没有太大的关系。做调查式光响应曲线时,选择照光角度不同或遮阴

程度不同的叶片进行试验。另外要注意的是叶片的朝向和方位。对于标准叶室,叶片夹入叶室后,太阳的方位可能造成叶室壁遮阴从而对测量有影响;建议使用外置光源,可以先设置合适的光强值(根据外置 PAR 传感器测到的环境光强做参考),以避免叶片受叶室壁遮阴的影响。

## 4) 光斑和遮光方法

第四种测量光响应曲线的方法是光斑和遮光方法,在最初的光照水平插入新的光强梯度,并给予时间以进行平衡,例如: 100,1000,1800,500,1800,300,1800 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>。这种方法得到的数据可能有助于回答一些冠层内光强明暗变化对光合、气孔等的影响的问题。

#### 光响应曲线测量注意事项

在确定了测量哪一种光响应曲线之后,接下来需要考虑的就是需要如何设置叶室控制项和怎样采集数据。

## 光 Light

测量光响应曲线的最好光源是 3×3 cm 的光源或者荧光光源。没有光源的话,光响应曲线无法自动测量,但也可以使用其他方法来实现。例如使用滤光片,可以定量的降低光强。其中上文讨论的调查式光响应曲线的测量就可以在无光源情况下进行。

#### 温度 Temperature

光响应曲线最好是在温度相对稳定的环境下测量的,建议测量过程中对叶片进行控温。

#### 湿度控制 RH

设置 RH 为 50%~75%之间,也可以控制叶片的 VPD。如果想控制 VPD,但又不清楚控制多少合适,可以这样操作:夹上叶片,先确保叶室相对湿度在 50%~75%范围内,查看叶片 VPD 值,选择在 RH 为 50%~75%范围内的一个 VPD 值进行控制即可。

#### 匹配

由于光响应曲线测量必须控制稳定的  $CO_2$  浓度, 所以测量过程中分析器内气体浓度变化不大, 所以没有必要在每个数据点测量前都进行匹配,建议曲线开始测量前匹配一次,然后设置为  $CO_2$  Match: Only match  $CO_2$  if  $\Delta CO_2 < 5$ ppm。

#### 自动程序

自动程序允许使用者按照预先的设置对曲线进行自动测量。

## 光响应曲线自动测量操作步骤(以"快速光响应曲线测量"为例)

## 1. 环境控制选项的设置

- ▶ 设置流速: Flow: On; Pump Speed: Auto; Flow Setpoint: 500; Press. Valve: 0.1 kPa。
- ▶ 设置 H<sub>2</sub>O: H<sub>2</sub>O: On; and RH air: 50%-75%.
- ▶ 设置 CO<sub>2</sub>: CO<sub>2</sub> injector: On; Soda Lime: Scrub Auto;设置 CO<sub>2</sub> s: 400 μmol mol<sup>-1</sup>.
- ▶ 设置叶室混合扇: Mixing fan: On; Fan Speed: 10,000 rpm。
- ▶ 设置温度: **先查看当前温度值**; Temperature:On; Tleaf: 与当前温度相近值。
- ▶ 外置光源: HeadLS or Fluor: 1800 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, 或其他不对植物产生限制的最大光照强度。

## 2. 夹上叶片

#### 3. 设置叶面积和气孔比例

查看 Constants > Gas Exchange 下的值是否正确?

## 4. 打开一个记录文件

确保进行了记录设置(Log Setup>Logging Options)和匹配设置(Log Setup>Match Options)。

#### 5. 查看图像设置

该版本在 Measurements > Graph G,默认为 AQ 曲线,可点击"…"进行翻页,找到"clear graph" 或"clear all graphs"选择清空当前的图或清空所有的图。

#### 6. 选择自动程序

Auto Programs > Light Response, 对设置进行调整或者使用默认设置(光强从高到低设置,如: 1800,1500,1200,900,600,300,200,150,100,70,30,0)。

#### 7. 点击 Start 开始自动测量

在 Measurements 栏下查看实时数据或图形。

## 4.5.4 荧光实验

以下实验包含一些基本的荧光测量,内容有助于了解荧光测量原理和多相闪光技术 (Multiphase Flash<sup>TM</sup> Fluorometer)。

## 实验一: $F_v/F_m$ 的测量

 $F_{\text{v}}/F_{m}$ 是 PSII反应中心最大光化学量子效率的估计值,由  $F_{o}$ 和  $F_{m}$ 两个参数计算而来。 $F_{o}$ 是充分暗适应的植物在 PSII最初受体全部"开放"( $Q_{A}$ 全部氧化)时的荧光水平; $F_{m}$ 是充分暗适应的植物在应用饱和闪光后 PSII最初受体全部"关闭"( $Q_{A}$ 全部还原)时的最大荧光水平;可变荧光  $F_{v}$ 则为  $F_{m}$ 与  $F_{o}$ 之间的差值。 $F_{v}/F_{m}$ 一般在  $0.75\sim0.85$  之间,主要与叶片的健康程度、叶龄和前处理有关系。本实验只研究荧光参数,所以暂时不考虑气体交换参数。

#### 1. 叶片进行充分暗适应

最好的方法是暗适应一个晚上。有时候也可以采用铝箔包裹住整个叶片,或者将离体叶片放在黑箱子里(时间不要太久,避免叶片萎蔫)黑暗处理至少20分钟可能也实现暗适应。

## 2. 确保作用光 Actinic 为关闭状态

Environment > Light > Fluorometer 下,设置为 OFF,确保作用光关闭。

#### 3. 配置测量光。

Fluorometry > Settings > Measuring Beam: On; Dark mod rate: 50 Hz.

#### 4. 设置矩形闪光 (Rectangular flash)

Fluorometry > Settings > Rectangular:

- > Red target: 8000 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>.
- Duration: 1000 ms.
- > Output rate: 100 Hz.
- Margin: 5 points.

#### 5. 打开记录文件并设置选项

注意:没有建立记录文件时,可以进行饱和闪光,但数据无法存储。

- ✓ Log Setup > Logging Options: 按照需要勾选;
- ✓ Log Setup > Match Options: Never match;
- ✓ Log Setup > Fluorometer Options: 选择 1:  $F_o F_m$  (dark) or  $F_s F_{m'}$  (light); Flash type: Rectangular。

## 6. 荧光图像查看

该版本在 Measurements > Graph F,默认为荧光图像。

## 7. 夹上叶片

查看 F 图像, 会看到叶片荧光数值会很快稳定下来。但是如果测量光过高, 荧光稳定会很慢, 此时需要调低 Dark mod rate。

The moment the chamber was closed onto the leaf

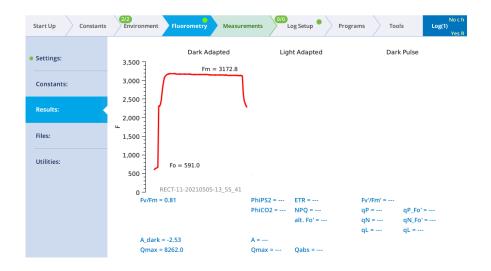


# 8. 稳定后, 点击 Log 按钮, 这时饱和闪光在图像上很明显

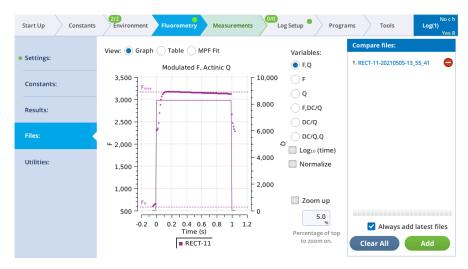


## 9. 查看饱和闪光数据结果

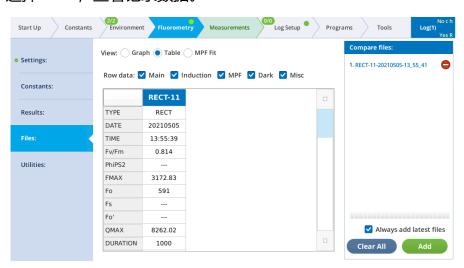
Fluorometry>Results, 查看数据。



# 10. 点击 File, 查看闪光和荧光发射信号图像。



## 11. 选择 Table, 查看记录数据。



其他样品重复以上步骤,对不同植物的荧光参数进行比较、或者对健康植物和受胁迫(水/温度胁迫)植物进行比较等。

## 实验二: 测量 PSII的量子效率

 $\Phi PSII$ ( $\Delta F/F_m$ '),PSII吸收的光量子被用于光化学过程的比例,针对光适应叶片进行的测量。由参数  $F_s$  和  $F_m$ '计算而来, $F_s$  为稳态荧光, $F_m$ '是光适应的叶片在应用饱和闪光后得到的最大 荧光(Genty et al. 1989)。

## 1. 选择光适应的叶片。

待测叶片至少在目标光强下充分适应 20 min 以上,实验之初,需要准备多个待测叶片(相同叶龄,适应相同的光照环境),实验后期您可能想再进行一些叶片在其他光照强度下的测量(例如遮阴叶片和阳生叶片比较的实验)。

## 2. 荧光图像设置: 同实验一。

## 3. 设置荧光:

设置作用光/活化光 Actinic: 在 Environment > Light > Fluorometer 下

- ▶ 选中 Setpoint 并设置强度,可参照 Ambient 栏里对应的叶片当前光强 Qamb out。
- ➤ Color Spec: 一般设定 r90 即可。默认 r90B40, 仅为举例, 小写字母表示该种光所占比例, 大写字母为该种光的绝对强度。

设置测量光 Measurement: Fluorometry > Settings > Measuring 下,

Dark mod rate:默认设置
 Light mod rate: 50 kHz
 Flash mod rate: 250 kHz

设置饱和闪光 Flash: Fluorometry > Settings 下,有两种设置:单一强度饱和闪光(Rectangular)或者多相饱和闪光(MultiPhase)。一般**测量光适应叶片的荧光参数,建议设置多相饱和闪光(MultiPhase)**,请见以下介绍及下图设置。



**Multiphase Flash<sup>TM</sup> (简称 MPF)**是在闪光中使用不同的光强,然后通过荧光图中的 Y 轴截 距与光强倒数的比值来计算真实的光下最大荧光产额  $^EF_m$ '("true" $F_m$ ')。相比于使用单一强度 饱和闪光的传统荧光计测得的  $^4F_m$ ', $^EF_m$ ' 更加准确。大量研究实验表明, $^4F_m$ ' 会随着单一饱和闪光强度的增加而增加。不准确的  $F_m$ '会导致由此计算的  $\Phi PSII$  误差在 15-30%;而  $^EF_m$ ′ 要比任何光强的  $^4F_m$ '高,且在一定强度光强之后, $^EF_m$ ′ 是稳定的;这一特性对于某些对光强较为敏感,易造成光损伤的植物的测量比较适宜,因为只需要使用较低光强的饱和闪光,利用 Multiphase Flash<sup>TM</sup> 多相闪光技术就可以得到准确的  $^EF_m$ '。(详情请见 LI-COR 网站:https://www.licor.com/env/products/photosynthesis/LI-6800/gas\_exchange\_fluorescence.html;以及 Loriaux S.D., Avenson T.J., Welles J.M., etc. Plant, Cell & Environment, 2013)

#### 4. 打开记录文件并设置选项

Log Setup 栏下,

- ▶ Logging Options: 默认即可,注意要勾选住 Also Log data to excel file。
- ▶ Match Options 匹配选项: 选择 Only match CO<sub>2</sub> if :ΔCO2<1 ppm;
- ➤ Fluorometer Options 荧光选项:
  - Flr Action at Log: 选 1: FoFm (dark) or FsFm' (light).
  - Flash type: 选择 Multiphase 或 Rectangular
- ➤ Open a Log File 下自建文件或自建文件夹等。

对于处于低光环境的植物,单一强度饱和闪光(Rectangular Flash)也比较适宜,例如温室中或气候室内的植物;而对于暴露在充分阳光下的植物,多相闪光(Multiphase Flash<sup>TM</sup>)更为适合,我们会在后面的实验进行详细说明。

#### 6. 夹上叶片。

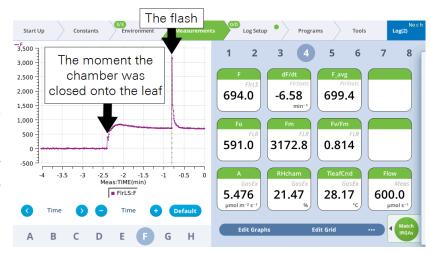
查看荧光图像,会看到叶片荧光数值会很快稳定下来。但是如果测量光过高,荧光稳定相对较慢,此时需要调低 Dark mod rate。

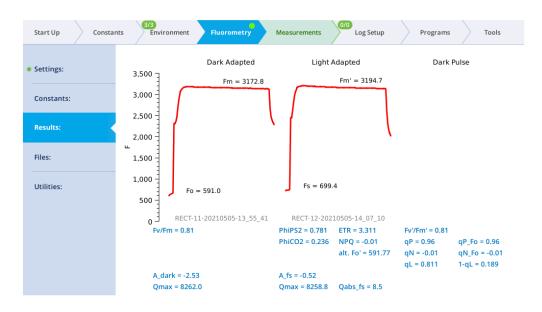
# 7. 点击 Log 按钮, 查看 ΦPSII。

请见右图第5页数据

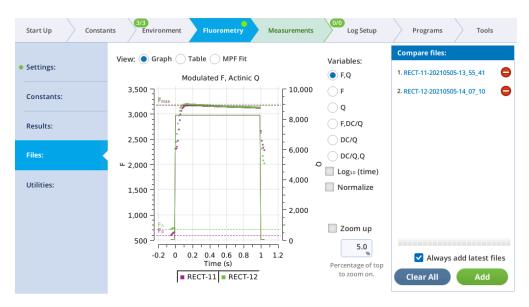
#### 8. 查看荧光数据。

Fluorometry > Results 下,如果 实验一结束后接着进行实验二, 会看到暗适应(实验一)的荧光 参数和光适应(实验二)的荧光 参数。





## 9. Fluorometry > Files 下查看饱和闪光和荧光信号图像。



更换相似叶龄和照光的叶片,重复步骤7和8,进行测量。

进一步的研究可以尝试一下不同光照强度,比较强光(2,000 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>)和弱光(100 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>)条件下,叶片的 PSII 量子效率(ΦPSII)有何区别。

# 低光和高光下的叶片 $\Delta F/Fm'$ ( $\Phi PSII$ ) 有什么差别?

叶片的  $\Phi PSII$  一般在弱光条件下较高,因为吸收的光主要用于光化学过程,这部分光占总吸收光的比例最高;强光照射下的叶片  $\Phi PSII$  低,因为强光下多数吸收的光可能会通过非光化学过程进行耗散了,这部分光占吸收光的比例较高。

## 实验三, $F_{\nu}'/F_{m}'$ 与荧光猝灭系数的测量

本实验会对其他三个比较有用的荧光参数进行剖析。 $F_v'/F_m'$ 代表了在光下开放的 PSII 反应中心的能量捕获效率。与叶绿素荧光竞争的两个过程分别为光化学猝灭(qP)和非光化学猝灭(qN)。

很多学科或研究领域都会用到这些参数,但是后面两个参数  $(qP \ n \ qN)$  对胁迫生理研究很是有用。这三个参数的计算都需要  $F_o$ '的参与, $F_o$ '是光适应的叶片在黑暗中的最小荧光。如何对 $F_o$ '进行测量呢?一种方法是将样品进行暗适应,直至所有的 PSII反应中心全部氧化(一般20min 左右)。另一种相对便捷的方法是使用远红光优先激发 PSI 系统,加速 PSII向 PSI 泵入电子;这种方法只需要照射几秒钟远红光即可完成。LI-6800 荧光仪采用第二种方法,程序中设有暗脉冲"Dark Pulse"的方法,针对光照下的植物测量  $F_o$ "。

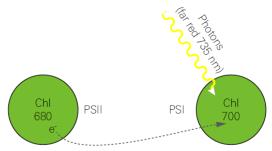


Figure 4-1. PSI is preferentially excited by far-red light, which drives electron transport of PSI, and thus drains electrons from PSII. This is a method of rapid equilibration for determining Fo'.

#### 1. 选择植物

这个实验需要暗适应和光适应的植物叶片。

## 2. 按照实验一配置荧光

除了实验一的配置,还需要进行以下设置,Fluorometry > Settings > Dark Pulse 下,

- FarRed target: 25 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> (暗脉冲适宜值)
- ▶ Duration: 5 (作用光关闭时间)
- ▶ Before: 1 (作用光关闭前 1s 远红光打开)
- ▶ After: 1 (作用光关闭后 1s 远红光关闭)
- Margin: 5 (Number of data points before and after)

## 3. 设置荧光图像, 夹上暗适应叶片。

同实验一设置, 等待 F 稳定。

#### 4. 打开记录文件,并设置相关选项。

▶ Match Options: 同实验二;

## > Fluorometer Options:

Flr Action at Log: 选择 2: FoFm (dark) of FsFmFo' (light).

Flash type: Rectangular, 先以矩形闪光开始。

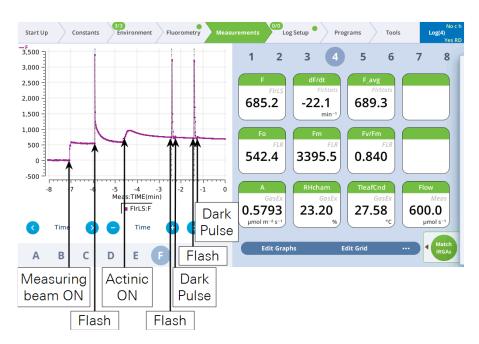
## 5. 等待 F 稳定后, 按 log 按钮记录 Fv/Fm。

## 6. 设置并打开作用光 Actinic 并等待植物适应。

在 Environment > Light > Fluorometer 下设置作用光/活化光 Actinic 强度为植物中午时平均 PAR 水平,根据图像 F 的稳定情况判断植物是否已经适应该光照条件。

# 7. 等待 F 稳定后,点击 Log 按钮。

系统会自动打出饱和闪光和暗脉冲, 图形类似下图。

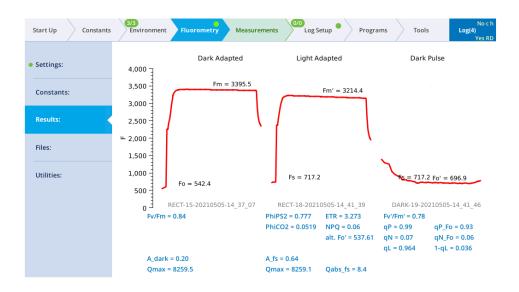


#### 8. 查看暗脉冲详细信息。

查看暗脉冲期间荧光 F 信号是否稳定,判断暗脉冲设置是否合适。在 Fluorometry>Results 和 Files 下查看数据。

#### 9. 比较 F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub> 和 F<sub>v</sub>'/F<sub>m</sub>'。

查看  $F_v'/F_m'$ 的计算公式,可以看出来  $F_v'/F_m'$ 应该小于  $F_v/F_m$ ,因为  $F_v/F_m$ 是最大的量子效率,而  $F_v'/F_m'$ 是在某一光强水平下的有效量子效率,由于存在其他过程与光化学过程竞争光能,所以  $F_v'/F_m'$ 会低于  $F_v/F_m$ 。



# 10. 查看猝灭系数。

qP 和 qN 的数值在  $0\sim1$  之间,完全暗适应的植物,qP=1 和 qN=0;作用光强度逐渐升高时,两者成相反方向变化。

其他叶片重复以上步骤。

## 实验四, 荧光诱导动力学的测量

本实验在于测量叶绿素荧光诱导动力学曲线(OJIP)。需要提前准备好暗适应的叶片,最好是整个晚上充分暗适应的叶片。

- 1. 确保叶室内没有光源打开的前提下,夹入经过充分暗适应的叶片;
- 2. 在 Fluorometry > Settings > Measuring 设置测量光
  - Measuring Beam: On
     Dark mod rate: 500 Hz
     Light mod rate: 1 kHz
     Flash mod rate: 125 kHz
  - > Averaging: 15 s
- 3. 在 Fluorometry > Settings > Induction 下设置闪光强度
  - Red target: 15000 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>
  - Duration: 1000 msMargin: 5 points
- 4. 按 Flash Now 按钮。如果想通过点击 log 按钮来测量,则建立一个文件。
- 5. 在 Fluorometry > Results 下查看完整闪光信息。



#### 注意:

分析 OJIP 数据时,您将注意到数据集开始处的一个异常值(如果您的 margin 是 5,则是第 6 个点,即 flash 开始后的第一个值),也可能是数据集结束处的一个异常值(flash 期间的最后一个值)。这是由调制的交流信号的计算方法产生的伪影。您可以从数据集中删除异常值。

# 4.5.5 荧光和气体交换实验

以下两个实验将气体交换和荧光参数测量结合起来,测量气体交换数据请确保分析器零点准确,匹配正常。

## 实验五: 荧光光响应曲线

在本实验中,主要研究 phiPS2 and phiCO<sub>2</sub> 这两个参数。 $\Phi$ PSII 是由荧光参数计算出来的 PSII 的量子产率, $\Phi$ CO<sub>2</sub> 是由 CO<sub>2</sub> 同化过程计算的量子产率。要想获得者两个参数,需要得到 CO<sub>2</sub> 总的同化量,包含光下 CO<sub>2</sub> 同化量与黑暗下的 CO<sub>2</sub> 同化量(黑暗条件下的 CO<sub>2</sub> 同化量需要提前测定),同样需要确定  $O_{abs}$ ,它的计算需要测得入射的 PAR 强度和叶片吸收率。

注意:如果测定  $C_0$  植物,最好在无光呼吸的条件下进行测量。实现方法是:向 LI-6800 inlet 口接入 <2%氧气的气瓶,借助适宜的调节器(减压阀)、T 型支管和流量计,控制合适流速给泵供气,并有合适的位置将过量的流速气体排掉(详见 LI-6800 实验手册)。否则,得到的 OPSII 和  $OCO_0$ 之间可能就不是线性关系了。 $C_4$  植物则不存在这样的问题。

本实验,我们借助 Light Response 自动程序进行,以光适应的叶片开始测量,然后逐步降低光强以提高量子效率和产率。

## 1. 选择光适应的叶片。

#### 2. 配置叶室环境:在 Environment 栏下,

✓ Flow: On , 500  $\mu$ mol s<sup>-1</sup>

✓ CO<sub>2</sub>S: 样品室 400 µmol mol<sup>-1</sup>左右

✓  $H_2O: 50\% \sim 75\%$  RH or VPD leaf

✓ Fan: 10,000 rpm

✓ Temperature: 接近环境温度

✓ Light > Set Point:  $1800 \mu mol m^{-2}s^{-1}$ , r90.

## 3. 设置荧光常量,在 Fluorometry>Constants 栏下进行设置。

- ✓ Adark: 0.5 或者之前试验中测得到的数值;
- ✓ PS2/1: 默认 0.5, 可以修改。

## 4. 打开记录文件,配置相关选项。

- ✓ Match Options: 同实验二
- ✓ Fluorometer Options: Flr Action at Log: 选 1: FoFm (dark) of FsFm' (light).
- ✓ Fluorometer Options: Flash type: Multiphase

## 5. 对 Light Response 自动程序进行配置。

- ✓ Light values: 从高到低,如 2000, 1500, 1000, 500, 200, 100, 50, 0 µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>
- ✓ Min wait: 60 seconds✓ Max wait: 180 seconds
- ✓ 选中 Early match

## 6) 对图像进行设置。等待稳定。启动自动程序。查看曲线。

Measurement 界面图像 G 默认为光响应曲线设置, clear graph 开始显示新的图像。

#### 实验六: 荧光诱导动力学与气体交换同步测量

- 1. 选择暗适应的叶片, 夹入叶室;
- 2. 配置叶室环境:在 Environment 栏下,
  - ✓ Flow: 500 µmols<sup>-1</sup>
  - ✓  $H_2O$ : 50%-75%RH or VPD leaf
  - ✓ CO<sub>2</sub>S: 400 µmolmol<sup>-1</sup>
  - ✓ Fan: 10000 rpm
  - ✓ Temperature: 接近环境温度

#### 3. 在 Fluorometry > Settings > Measuring 设置测量光

✓ Measuring Beam: On

✓ Dark mod rate: 500 Hz

✓ Light mod rate: 1 kHz

✓ Flash mod rate: 125 kHz

✓ Averaging: 15 s

## 4. 在 Fluorometry > Settings > Induction 下设置闪光强度

✓ Red target: 15000 µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>

✓ Duration: 1000 ms ✓ Margin: 5 points

## 5. 打开记录选项,配置文件选项。

✓ Match Options 匹配选项: 同实验二

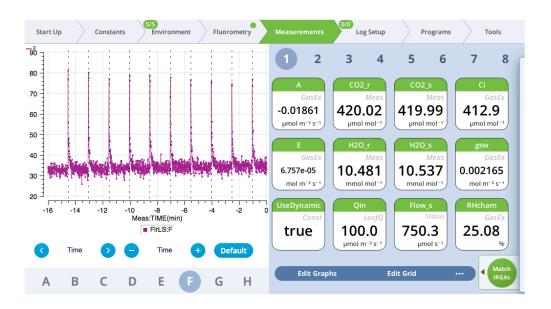
✓ Fluorometer Options 荧光选项: Flr Action at Log: 选 1: FoFm (dark) or FsFm' (light); Flash type: 选择 Multiphase 或 Rectangular

#### 6. 新建自动程序

点击 Autolog,设置测量间隔 150s,测量时长 1200s。

## 7. 植物准备好后, 夹上叶片, 运行自动程序。

仪器将在记录气体交换数据时打饱和闪光。



# 4.6 实验测量技巧

本节内容介绍一些小技巧帮助您更好地使用 LI-6800。

## 保持主机直立

保持主机直立,能够确保气流通过化学药品管! 主机倾斜时,药品会倾向一侧,影响药品对气体的充分吸收。

注意: 主机倾斜会导致控制  $CO_2$  和  $H_2O$  到设定浓度点的时间延长,或者无法达到设置点。此外,主机倾斜可能会造成  $CO_2$  和  $H_2O$  浓度控制不稳定,还会造成测定的  $A, E, g_s$  和 Ci 数值波动加大,数据不稳定。

如果您的实验不可避免的会出现主机倾斜的情况,请将每个化学管尽量装满药品(非 Nafion<sup>TM</sup> **加湿管内不能有液态水,否则仪器很可能进水!!!**)。这样主机倾斜时,药品很难倾斜,但是同时也很难通过晃动将板结的药品在药品管内晃开,所以这是一种折衷的办法。

关注报警信息和达到控制点的耗时时长,时间过久时,需要摇晃化学管或者补充药品。

## 延长苏打使用寿命

往苏打管中添加 5~10 ml 蒸馏水,轻微摇晃化学管使水被药品颗粒均匀、充分吸收,延长苏打药品的使用寿命。

#### 减轻负载

仪器可以只安装一块电池,另一块随身携带,但移除第一块电池之前必须先安装第二块电池。

# 第五章 各种叶室安装与使用

# 更换叶室

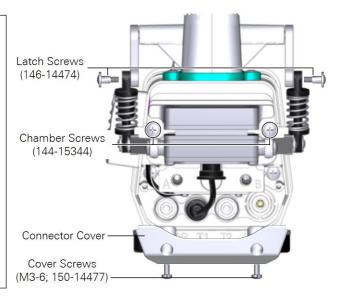
更换叶室非常简单。每一种叶室都以相同的方式与分析器相连,每一个叶室都自带芯片,所以一旦连接好,分析器可自动识别叶室,自动调用所需要的参数信息。

## 卸下叶室

## 注意:必须在关机状态下卸下叶室!

- 1. 卸下分析器底部的接头盖:
- 2. 拔下 LI-190R 和叶温热电偶电缆线接头;
- 3. 打开叶室,卸下 2 个闭锁螺丝(latch screws), 并完全松开叶室螺丝 (Chamber screws);
- 4. 最后卸下叶室。





警告: 虽然配备了软件锁,可以防止拆叶室时操作,但是不要在没有叶室的情况下操作混合风扇。以免造成人身伤害或损坏风扇。

## 安装叶室

- 1、叶室在安装之前,需要检查如下几项:
  - 1) 查看叶室的 O 型圈(192-14438)是否损坏,如有损坏及时更换, O 型圈放置在备件包里。
  - 2) 查看叶室垫片(6568-327)是否损坏, 如有损坏及时更换。
  - 3) 检查分析器头部过滤器和除尘器,清除灰尘等杂物,及时更换损坏的过滤器。
  - 4) 检查下叶室的黑色橡胶软管是否有损坏,如有损坏及时更换(很少发生)。



- 2、将叶室放置到合适的位置,闭锁螺丝对准手柄,拧紧两颗叶室螺丝。
- 3、安装闭锁螺丝: 打开闭锁, 拧动螺丝到合适位置, 再次检查每个螺丝都已拧紧。
- 4、如尚未接好外置光量子传感器电缆线,将传感器接头插在标有 PAR 的接口。
- 5、将叶温热电偶的接头接在标有 T1 或 T2 的接口上。
- 6、装上接头盖。

更换叶室之后,在 Start up>Chamber Setup 下检查软件是否正确识别叶室,在 Start up>Warmup Tests>Chamber Leak 下查看叶室是否漏气

# 叶室或光源的安装视频

为方便您更直观的学习 LI-6800 多种叶室与适配器的安装与更换,我们在公司微信公众号以视频的形式呈现给大家,搜索途径如下:

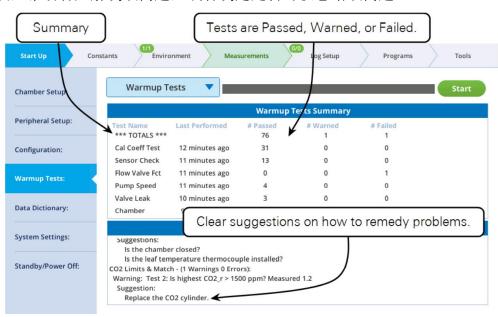
- 1、微信搜索公众号"北京力高泰科技有限公司"或者通过微信扫一扫功能,扫描下图二维码,点击"关注公众号"。
- 2、进入聊天界面后,点击最下方的"找资源",选定"LI-6800",进入LI-6800 专栏界面,点击"叶室更换",您可观看到相关叶室及适配器更换视频。如果您需要相关视频与指导文件,请与公司技术部联系,谢谢合作!



# 第六章 系统自检, 提醒及故障排除

# 6.1 预热和系统检查

从 Bluestem 1.4 版本开始,系统将自检出现的问题划分成了提醒 Warned(可能需要当下解决也可能不需要)和失败 Failed(严重的问题)。当 Failed 或 Warned 出现时,系统会给出一条或多条建议,帮助客户解决该问题,或者决定是否可以忽略该问题。



## 静默检查

所有依赖于流速状态的系统测试中,都会包括一个静默检查,用于检查流速系统的状态。静默表示仅当有问题时才会记录下来。若流速存在问题,则会取消系统检查,并给出原因。如果是主机的漏气问题,系统建议如下:

```
Chamber_Pressure started at 2019-09-25 13:15:34
Overpressure test, Pump=high
*** Fail *** Test 1: Abandoning Test. System Flow Fault.
Suggestion: 系统流速检测出错; 建议: 主机漏气。干燥管或加湿管底盖松了?
Console Flow Leak. Desiccant or Humidifier tube cap loose?
Chamber_Pressure stopped at 2019-09-25 13:15:46
```

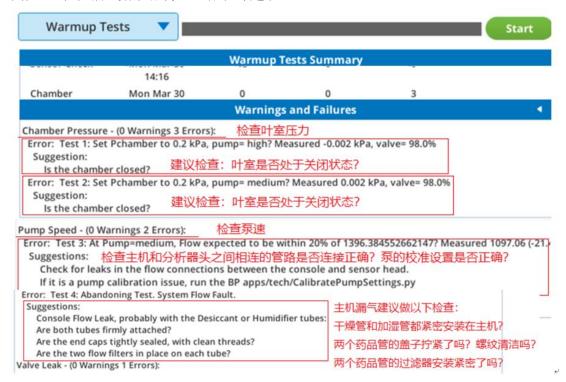
#### 如果是低流速问题,系统建议如下:

```
Chamber_Pressure started at 2019-09-25 13:18:35
Overpressure test, Pump=high
*** Fail *** Test 1: Abandoning Test. Expected flow > 100. Measured - 0.0.
Suggestions: 主机与分析器头相连接的管路两端是否接好? 检查快速接头是否完全推入。
Is the flow tube from the console firmly connected to the head?
Is the pump functioning? 泵的工作正常吗?
Chamber_Pressure stopped at 2019-09-25 13:18:46
```

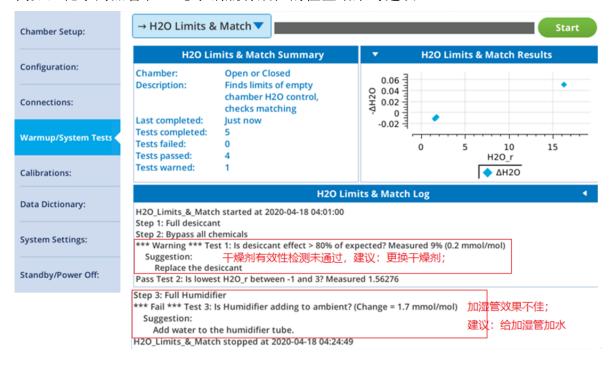
## 预热检查 Warmup Tests

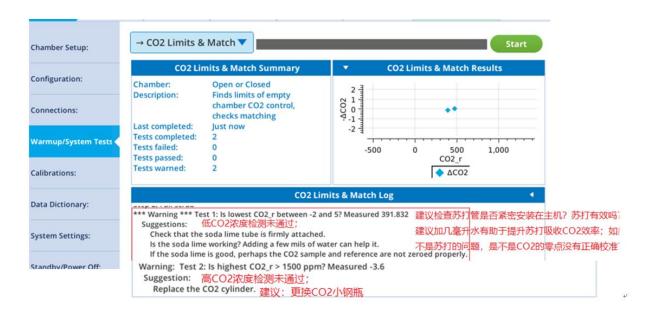
预热检查是为日常使用所设计,用于获取可能影响测量的信息。常见的未通过检测的报告主要是有关系统漏气,化学药品的有效性,CO<sub>2</sub> 小钢瓶的有效性等等。

例如,系统漏气相关的检查结果与建议:



例如, 化学药品管和 CO2 小钢瓶有效性的检查结果与建议:





其它报告可能是某个设置或测量值超过了预期范围,在这种情况下,使用人员可自行决定是去解决这个问题或者忽略该问题。例如检查校准参数 Cal Coeff Test,是用于确认当前用户的校准设置是否在预期范围内。如果某个值不在此范围,则会标记为"不通过(failed tests)",但这并不一定意味着有问题,需要进一步检查确定。例如,如果调零参数检查结果显示 Failed,但是该值确实是传感器正确调零获取的结果,则无需理会。但是要注意,前提一定要确保传感器调零的操作是正确的。

# 6.2 提示消息解读

LI-6800 配备了强大的自检功能,并在显示屏左上角(见下图)显示仪器警示信息(Warning Messages)和状态信息(Status Messages),提醒客户仪器出现问题。请关注这些信息,任何一个警示信息的忽视都可能会导致实验结果和数据质量的不理想。系统用不同的颜色来表征问题的严重程度,红色表示不可忽视的问题,黄色表示需要关注。表 6-1 列出了可能出现的状态提示信息及解读;表 6-2 列出了可能出现的警示信息及解读。



#### 6.2.1 状态信息解读

表 6-1 显示屏上可能出现的状态信息提示及含义

信息	含义
**Log Pending**	在记数过程中出现,会很快消失,或者在测量荧光等待荧光事件时,会出现几秒;或者在系统匹配时,出现几秒钟。
<autoprogram name=""> paused</autoprogram>	自动程序正在运行,但被暂停;

<autoprogram name=""> running</autoprogram>	自动程序正在运行;
Auto CO <sub>2</sub>	多种环境条件均可被系统自动控制。出现哪一个提示,就表示对应的环境条件正处于自动控制中。当多种环境条件都在自动控制时,会逐条滚动显示。
Auto Fan	
Auto Flow	
Auto H <sub>2</sub> O	
Auto Light	
Auto Temp	
Auto Match	系统正在进行自动匹配;
Manual Match	仪器处于手动匹配模式,等待客户进行匹配操作及退出。(按OK键,退出该模式);
SysTest: <name></name>	正在进行预热检查或系统检查;
AutoDry	当叶室或分析器内相对湿度高达99%,系统会自动运行干燥程序;
PostFlash	在执行饱和闪光时,冻结其他环境因子的控制程序。当要执行荧光程序的饱和闪光,
	系统同时又在控制温度,以及或者正在控制水分,那么,在执行饱和闪光前,这些环
	境条件的控制将被暂时锁定,不会对饱和闪光造成的叶片温度脉冲产生反应。这将
	持续30秒。

# 6.2.2 警示信息解读

表 6-2 显示屏上可能出现的警示信息及含义

衣 6-2 並示屏上中能出现的誊示信息及含义		
信息	含义	
<list more="" of="" one="" or="" temperatures=""></list>	当温度传感器读数>80℃或小于-20℃,会出现此类报警。温度传感器包括叶温(Tleaf、Tleaf2),还有Ts(样品室温度),Tr(参比室温度),Tirga(IRGA模块温度)和Tair(叶室的空气温度)。	
Chopper Not Locked	无法识别光学斩波器位置。解决该问题,可以将仪器设置为休眠模式,然后再退出休眠模式;或者重启仪器;若仍然无效,则联系公司技术工程师。	
Close Cmbr for <xxx> ctrl</xxx>	当控制样品室的CO2浓度或H2O浓度时,必须关闭叶室。出现此报警,请关闭叶室。	
CO2 Cartridge Low/Empty	当CO2_FLOW_STATUS 值低于0.5时出现此报警;如果控制低CO2浓度时出现此情况,表	
CO2 too high to control	示CO2小钢瓶可能空了;如果CO2小钢瓶快要空了,则无法控制高浓度CO2。	
Console flow leak?	该信息表示主机气路可能存在问题,漏气(药品管没有正确安装,盖子松动)或者气路堵	
Constricted flow?	塞。当PUMP_PRESSURE_STATUS值>4.9V表示有气路堵塞; < 0.1V 表示有漏气。	
Cooler target less than Td	表示要控制的温度低于露点温度。解决方法:设置一个较高的温度。	
Cooler Td limited	控温模块不能正常快速的降温,可能是因为要降的的温度低于露点温度.这并不是表示冷凝存在问题,只是意味着控温模块无法像在干燥的空气中那样容易被驱动。	
Fan Fail	冷却风扇或机箱风扇工作异常;解决方法:多次开机重启,若未解决,请联系技术工程师。	
Flow_r low	打开流量控制,发现Fr或Fs <25 μmol s <sup>-1</sup> . 一般而言,Flow_s低可能是叶室未关闭,所引起	
Flow_s low	的问题在开机检查中也会出现。	
Flr DC Overrange	荧光仪的调制信号超量程,这个不会损坏到什么,只是会抑制调制荧光信号。这种情况很难出现:它几乎需要直接看到太阳并且反射到检测器,才会超量程。	
Flr DC Saturated	荧光仪的DC信号达到饱和。	
Flr Measuring Off	仪器测量光关闭(Qmod_avg是0)(一般是荧光仪在运行,但是测量光强度为0。大多数情况是测量光被关闭)。	
Flr Mod Off	荧光仪的调制是关闭的。这应该是一个暂时的状态,因为荧光叶室只有连接了主机才能被 识别,而主机会尝试重新打开它。	

Flr Q Saturated	荧光仪的光电二极管饱和了。
Flr Temp Warning	荧光仪具有温度问题。解决方法:关掉荧光仪,让其自然冷却几分钟。
Head Powered Off	分析器头处于低电状态(Power Saver (2)),但不是主机设置的。
High RH: xx% <sensor></sensor>	当叶室或分析器内的相对湿度高于90%,会出现高湿报警。同时显示对应的湿度和位置(以
	温度传感器区分)。 Ts或Ta表示样品室,Tr或Tb表示参比室,其余的(Tleaf, Tair, Txchg)
	表示叶室。如果RH超过99%,仪器自动干燥程序会自动启动,以降低湿度避免损坏仪器。
LI-6850 FactoryCal	表示一或多个出厂校准参数被改变或丢失,在Start Up >Calibration下,可到Factory
	Coefficients
Low Battery	低电压报警,请更换电池或者连接主机电源。
Match Valve Open	表示气路处于匹配状态,在匹配时或者进行系统自检时,会出现该提醒。可以进入匹配界
	面,选择手动匹配,点击OK,退出匹配模式。
No Console	表明传感器头与主机没有"反向通道"连接,这意味着传感器头将无法控制主机的泵或化学
	管等。同时,流量控制,CO <sub>2</sub> 控制,H2O控制将受到不利影响。重启电源以解决问题。
Power Saver (1)	当选择"Conserve Chemicals"时 会出现该提醒,此时所有环境因子的控制处于关闭状态
Power Saver (2)	当选择"Conserve Power and Chemicals"时,会出现此提醒,表示处于节能和省药品模式,
	该模式下,不消耗药品且传感器头处于低功耗状态。
TEC Fail	表示热电冷却器不工作,或者更可能是过载保护。重启解决问题。
TLeaf	叶温传感器(Tleaf和Tleaf2)未连接或者读数>80℃或<-20 ℃。
x Ver Flr (need y)	固件版本不匹配,表示分析器或荧光仪的固件系统版本和主机的固件系统版本不符合。
x Ver Head (need y)	国厅派华小型配,农小力切奋以火儿区的四门东纪城平和主机的四门东统城华小竹石。
QMQTT Remote Host Closed	用户界面无法与主机通讯。 若仪器正在运行自动程序,它可能会继续运行,因此,若仪器
	正在测量中,请等待测量完成。 然后,在Start Up>Conections下,通过单击"Disconnect"和
	"Conenct"来解决。若仍无法连接,请重启仪器。

# 6.3 故障排除

如果某些问题在警告提示信息中仍无法找到解决方法,可以在此章节寻找解决办法。

# 6.3.1 分析器上的记录键不正常工作

- 1) 是否打开记录文件?只有打开记录文件才能记录数据。
- 2) 按下 Log 按钮持续时间足够吗?按下 Log 按钮不松开直到记录,一次只记录一个数据。

#### 6.3.2 CO<sub>2</sub> 小钢瓶用的很快

- 1) 小钢瓶安装时拧的足够紧吗?确保安装小钢瓶时扎破的瞬间快速拧紧,保持好的气密性。
- 2) 螺纹脏了?安装前检查钢套内螺纹清洁程度,清除杂质碎屑,清洁干净螺纹再安装新的小钢瓶。
- 3) 针孔周边是白色 O 型圈还在吗?如果丢失或有破损,请从配件包中找替换 O 型圈(货号192-14864)。
- 4) CO2 小钢瓶的型号正确吗?如果是自行购买的 CO2 小钢瓶可能大小与钢套不吻合,出现 拧的很紧仍然漏气的可能。

## 6.3.3 无法在环境控制菜单里进行设置

通常有如下几种情况:

- 1) 仪器是否正在运行自检?如果是,等待自检过程结束或者取消自检,然后重新设置。
- 2) 仪器是否正在运行自动控制 Auto Control? 如果是,取消自动控制。
- 3) 仪器是否正在运行自动程序?如果是,取消自动程序。
- 4) 设置值是否超过湿度阈值?如果叶室、热交换器或 IRGA 内的湿度设置太高,为了防止冷凝,系统会拒绝执行湿度设置。
- 5) 是否正在改变温度来源?温度传感器检测出异常值。检查叶温热电偶是否正常连接,传感器是否正常响应。

## 6.3.4 输入了流速设置值, 仪器无响应?

流速是否打开?点击 Environment>Flow,勾选 ON,确保泵已打开。当开启自动程序或自动控制时,泵不一定处于启动状态。

## 6.3.5 无法维持稳定的 CO2 设定值?

- 1) 在 Warmup Tests 下单独运行  $CO_2$  limits and match test。如果测试都能通过(Passed),则可能需要冲刷干燥管和加湿管,方法如下:设置  $CO_2$  injector 为 ON,设置  $CO_2$ s 或  $CO_2$ r 为 0,手动控制干燥管和加湿管阀门打开程度为 100%。观察  $CO_2$  下降,直到  $CO_2$ s 和  $CO_2$  r 都降到 0 附近,再调整会正常设置状态。
- 2) 化学药品是否新鲜? 当苏打药品接近失效时, CO<sub>2</sub>\_r 浓度的波动值在 2-5 μmolmol<sup>-1</sup>, 或更大。稍微摇晃化学管,可以获得一段时间稳定的操作,但是最好的解决方式是更换成新鲜药品。如果加湿剂中水分太多,也会出现 CO<sub>2</sub> 读数不稳定的情况。
- 3) CO<sub>2</sub> 钢瓶内 CO<sub>2</sub> 是否纯净?某些 8g 的 CO<sub>2</sub> 钢瓶含有其他气体成分,请检查钢瓶标签,确认是否是纯 CO<sub>2</sub> 钢瓶。如果没有标识或不确定,请更换为绝对确定的纯 CO<sub>2</sub> 钢瓶。

#### 6.3.6 无法达到流速设定值?

- 1) 流量计是否需要调零?点击 Tools>Calibrations>Flow/Pressure 进行流量计调零。
- 2) 系统是否有漏气?在 Warmup Tests 下单独运行 pump speed test,如果有未通过的检查,按章节 6.3.8 的内容尝试解决。

#### 6.3.7 不能维持/达到湿度设定值

- 1) 加湿管中试剂太干(旧款加湿管)? 检查加湿管内药品是否充分湿润。如果干燥,加入5至10毫升的水;如果是新 Nafion<sub>TM</sub> 加湿管,查看管内水量是否低于 1/4。详见章节 2.1.2 关于加湿管的介绍。
- 2) 检查加湿管或干燥管的过滤器是否堵塞,如有明显污垢,用备件包中的过滤器进行更换 (详见 7.3 章节内容)

- 3) IRGAs 零点是否错误?如果之前 H<sub>2</sub>O 零点校准是在非干空气下进行的,这会导致测量过程中显示的 H<sub>2</sub>O 浓度永远比真实的数值低。在这种情形下控制低 VPD 或高 RH 都会出现控制不到的情形。解决方法:重新做 H<sub>2</sub>O 零点校准,按照正确步骤进行。
- 4) 系统太热/太冷?如果系统不能给进气加湿到目标湿度,可以考虑降低叶室内温度(T<sub>air</sub>)来实现。如果需要将叶室温度控制在一个较暖的温度下,且在该温度下控制目标湿度,此时需要将整个系统,主机(三个药品管)及分析器头,所处环境的温度都升上去,才有助于给整个气路加湿到目标湿度。
- 5) 改变流速。高流速更快冲刷系统会导致湿度降低。可以降低流速来提升叶室内湿度。

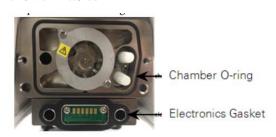
### 6.3.8 漏气 Leak

漏气问题可能会出现在漏气检查,流速检查或者泵速检查的报告中(Start Up>Warmup/System Tests)。以下提醒可能会出现在屏幕的左上角: Console Flow Leak?, Flow\_s Low, or Flow\_r Low。

- 1) 如果 Flow 能够达到设定值,但是 Flow\_s 接近 0 或远低于到达叶室的流速,则可能是叶室存在漏气。请检查以下内容:
  - A. 确保叶室是被两个螺丝(货号144-15344)紧紧固定,且处于关闭状态。



- B. 检查叶室垫片,若垫片被压扁或破损,请更换。黑色垫片在松弛状态下放置一晚形状就可恢复,但是白色泡沫垫片不可恢复,白色聚合物垫片(乳胶垫片)恢复更快,推荐使用。叶室配件包中有备用垫片,具体更换方法请查看第7章相关内容。
- C. 确保叶温热电偶安装正确,同时,确保安装处的 O 型密封圈(货号 192-14435)安装正确。
- D. 有些叶室下半部分有两个黑色的橡胶套管(货号 6368-345),随着时间的推移,它们可能会磨损,若需要,请更换。套管很少会损坏,但是如果在拆卸或安装过程中发生扭结,则可能会导致漏气。确保管道的边缘卡在凹槽中。
- E. 移除叶室头部后,可以看到一个大的叶室 O 型圈(货号 192-14438)和电子垫片(货号 6568-327)。 若损坏,请更换。



- F. 如果使用有适配器的叶室(6800-01A或6800-12A),检查叶室上面的适配器是否密封牢固。同时确保适配器中的O型圈良好且安装正确。
- G. 将 ΔP (Environment > Flow) 设置为 0 KPa 或者 0%, 若 Flow\_s 增加或显示的漏气的百分比降低,请与公司技术人员联系。
- 2) 如果 Flow s 或 Flow r 比较低,同时 Flow 不能达到设定的流速值,请检查以下内容:
  - A. 确保干燥管和加湿管(货号 9968-225)已安装在主机上(在运输和存储过程中,需要取下来)。检查化学管的外壁上是否有裂纹。
  - B. 检查药品管的盖子及管子的螺纹上是否堆积了药品颗粒或其他东西,这将影响盖子的密封。这种现象在旧加湿管中尤为明显(新的 Nafion™ 加湿管只加水,不会出现这个问题)。可使用湿巾或湿布擦拭螺纹处,盖子和管子边缘以及 O 型圈,去除药品颗粒等异物,也同样有利于保护化学管和盖子。

Before cleaning up



After cleaning up



- C. 为了确认干燥管还是加湿管存在漏气,可用苏打管替代有问题的管子的位置(苏打管可以是空的,因为在气路中,苏打管处于泵的上游,故而不存在漏气问题),如果问题得到解决,则被更换的管子有问题。
- D. 检查药品管的 O 型圈 (货号 192-14541) 在盖子中放置正确。
- E. 每个药品管上方左右两端各有一个套有橡胶塞(货号 6368-225)的过滤器(300-14319)。检查是 否丢失,断裂,或未装好。
- F. 确保主机的出气口和分析器头的进气口上接的气管连接紧密。抓住透明气路管,轻拉,若连接紧密,气路管不会松动。若松动,重新连接气路管(确保将快速接头插入底,直到听到咔哒声)。若仍松动,可能需要更换快速接头(货号300-07125)。气路管的两头都需要检查。
- 3) 如果 Pump Speed Tests 没有通过检测又无法找到漏气之处,请在 Environment > Flow 界面设置 flow split 为 100%,叶室关闭,测试每一个泵速(High, Medium, Low, Minimum, OFF),并记录 Flow,Flow s 和 Flow r 值,查看在某个泵速下是否会出现以下情形:
  - A. Flow  $r \ge 50 \mu \text{mol s}^{-1}$ ,则可能存在阀门漏气;
  - B. Flow r 在 0 附近, Flow 和 Flow s 也都很低, 还是主机漏气;
  - C. Flow=0 或 2400 μmol s<sup>-1</sup>, 但是 Flow s 随着泵速升高而升高,则流量计坏了。

若上述方法仍未解决漏气问题, 烦请联系公司技术工程师。

#### 6.3.9 异常数据

对于刚接触气体交换测量的人来说,可能首先最关注的是以下几个重要指标是否正常: 光合速率 (A),气孔导度  $(g_{SW})$  以及胞间  $CO_2$  浓度  $(C_i)$  或者其它值。遇到这些测量结果异常时,可能首先怀疑是不是算错了,其实这是不可能的,仪器的数据处理中心只按照固化的模型计算相关的值,这些计算出的结果出错,只能说明用于计算的自变量参数(直接测定的数值和输入的数值)有问题。应该通过分析模型,找到参与计算某一参数的自变量参数,再分析这些自变量参数是否是可信合理的,从而找到问题,解决问题。

## 看上去很异常的光合速率

如果仪器上显示的光合速率变化非常大,试试以下的建议:

1) 有没有耐心等待读数稳定?

当环境控制条件发生变化,例如 CO<sub>2</sub> 浓度设置进行了一个大的改变,系统在接下来的一个时间段(约 2 分钟),相关计算参数将会变化很大,直到气体分析仪达到新的平衡值。如果在这个时间段记录数据,则得到的光合速率等参数值看上去会非常异常。

2) 变化的幅度有多大?

任何测量参数或计算参数的显示值都会有一定的变化。那么变化是否过度?是由于分析仪的正常噪音造成的吗?请记住,在低光合速率下,噪音效应在  $CO_2$  的差异中较明显。所以,判断一下  $\Delta CO_2$  的 RMS 是否大于  $0.1~\mu mol~mol^{-1}$ ?

- 3) 观察流速值
  - 检查并排除故障时,请设置固定流速(点击 Environment>Flow)。
- 4) 进气浓度 (CO<sub>2</sub>\_r) 是否稳定?

观察  $CO_{2_r}$  浓度 15 秒钟。看浓度的波动有多大?在大气浓度环境下预期 RMS 应该在 0.1  $\mu$ mol  $\mu$ mol  $\mu$ 0.1 附近。如果波动值远大于这个值,很可能出现了问题。

5) 样品室浓度(CO<sub>2</sub>\_s)稳定吗? 如果参比室 CO<sub>2</sub> 浓度稳定,但样品室的 CO<sub>2</sub> 浓度(CO<sub>2</sub> s)不稳定,可进行漏气检查。

#### 6.3.10 供电问题

仪器中没有需要客户更换保险丝的地方。如果怀疑保险丝烧了,烦请联系 LI-COR 或 LI-COR 代理公司(北京力高泰科技有限公司)。

# 第七章 维护和校准

这部分介绍了正常操作 LI-6800 过程中的日常维护。除了本章介绍的操作以外其他维护和校准操作都需要由 LI-COR 工作人员或北京力高泰科技有限公司的专业人员进行。其他人员不得违规操作。

# 7.1 校准

Tools > Calibration 显示了所有先前校准的类型和日期,除了 History 历史校准记录之外,还有以下四个选项。

- ▶ IRGA zeros: 你可以进行 IRGA 零点校准。见章节 7.1.1 的相关内容。
- ▶ CO<sub>2</sub> Span: 你可以进行 CO<sub>2</sub> 跨度校准。见章节 7.1.2 的相关内容。
- ▶ H<sub>2</sub>O Span: 你可以进行 H<sub>2</sub>O 跨度校准。见章节 7.1.2 的相关内容。
- ▶ Flow/Pressure: 你可以对流量计和气压传感器进行校准。见章节 7.1.3 的相关内容。

## 7.1.1 红外分析器 IRGA 零点

在 Tools > Calibration > IRGA zeros 下进行红外气体分析器的零点校准。一次零点校准会在某个固定量上改变整条响应曲线。例如,分析器内通入无  $CO_2$  的气体,但是分析器读数显示为 2  $\mu$ mol mol<sup>-1</sup>,进行零点校准,将读数调整为 0,这样整条响应曲线的每个  $CO_2$  浓度点都至少改变了-2  $\mu$ mol mol<sup>-1</sup>(在高  $CO_2$  浓度下调整值可能达到 -4  $\mu$ mol mol<sup>-1</sup>)。

注意: IRGA 零点校准必须连接零气标气气瓶或者校准管(校准管内装新鲜有效的药品,苏打或者无水 Drierite 干燥剂(蓝色),一次只能装一种药品给对应吸收的气体做零点校准)! 没有做到以上两项的任意一项,则不能进行零点校准。对药品或气瓶纯度有疑惑的情况下就不做零点校准。请注意: 要清楚药品的购置来源与购置时间; 要清楚药品的存放环境和存放方式; 即使刚更换的药品, 也不能保证一定是有效的。

# 校准界面状态指示灯解析,请见以下系列图:

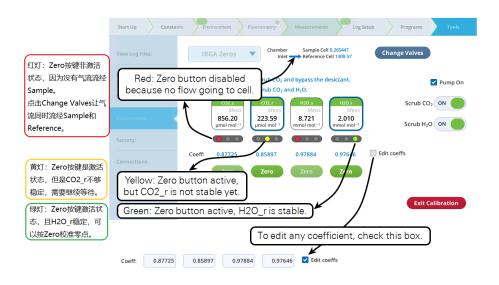


图 7-1 IRGA Zero 校准 界面状态指示灯解析

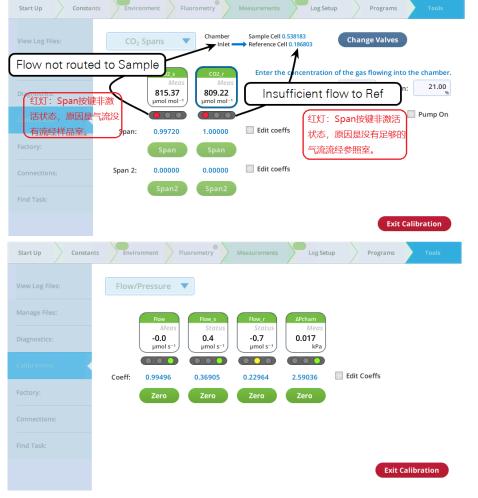


图 7-2 CO<sub>2</sub> Span 校准 界面状态指示灯解析, 红灯可以表示没有气 流流经腔室或者没有 足够的气流流经腔室。

图 7-3 Flow/Pressure 零 点校准按键一直都是

激活状态,黄色表示还 没稳定,绿色表示稳 定。

## 检查零点

你可以在测量的任何时候检查零点,不需要进入校准模式。

1) 开始检查 CO2 零点

Constants

在 Tools > Calibration > IRGA zeros 下检查零点,点击 Begin Calibration。 注意当检查/校准零点时,气流只流经分析器的腔室并不经过叶室。使用 Change Values 按 钮可以控制气流流经分析器的样品室和/或参比室(见下图)。

- ▶ 检查零点之前,检查 苏打药品和干燥剂 是否新鲜。
- ➤ 如果只打算调 CO<sub>2</sub> 零点,就完全吸收 CO<sub>2</sub> (Scrub CO<sub>2</sub> 为 ON, 绿色, 见右图), 但不吸收 H2O(Scrub H<sub>2</sub>O 为 OFF, 红色, 见右图)。

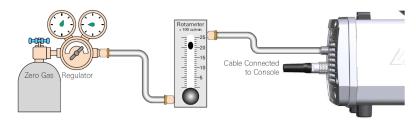


- 2) 如果仪器一切正常, 你应该能看到 CO<sub>2</sub> 值非常接近零。
- 3) 检查 H<sub>2</sub>O 零点。要打开 Scrub H<sub>2</sub>O (见上图, Scrub H<sub>2</sub>O 为 ON, 绿色, Scrub CO<sub>2</sub> 为 OFF)。
- 4) 查看气流流经腔室对应的  $H_2O$  的读数( $H_2O_r$  或  $H_2O_s$ )。 相对于  $CO_2$  零点检查时的响应速度, $H_2O$  的读数变化会比较慢,大约要等 10 分钟,甚至 20 分钟才能达到真实零点状态,请判断读数是否降到最低。如果一分钟后读数下降到 0.2 或 0.3 mmol mol<sup>-1</sup>,且下降非常缓慢,这就可以了。当然,如果读数是负值,且一分钟后仍然下降,可能会降到更低,这可能需要重新校准零点了。
- 5) 请务必对样品室和参比室的 CO2 和 H2O 的零点都做检查。

## 使用标气调零

如果有条件的话, 你可以使用已知  $CO_2$  和  $H_2O$  浓度为 0 的标气来校准  $CO_2$  和  $H_2O$  的零点。

- 1) 连接主机和分析器之间的电缆, 仪器开机。
- 2) 分析器进气口通入零气。 零气可以是没有 CO<sub>2</sub> 和 H<sub>2</sub>O 的空气或氮气。储气罐供气流 速设定为约 2 升/分钟(如果你 想节约气体,至少需要 0.5 升 /分钟)。必须使用流量调节器。



配件箱里有一根 Bev-a-line 软管和一个快速接头。

- 3) 开始调零。
  - 在 Tools> Calibration> IRGA zeros 下,点击 Begin Calibration。 这个程序会对分析器 IRGAs 进行调零。注意气体通入的腔室(参比室或样品室)就是正在调零的腔室。在调零过程中,气流不通过叶室。
- 4) 分流气体确保气体同时进入两个分析器。 点击 Change Values 使气体同时进入样品室和参比室。
- 5) 不要选择 Pump On 复选框(见下图), 让气体自然流通。
- 6) 如果仪器一切正常, 你应该能看到 CO<sub>2</sub> 和 H<sub>2</sub>O 的值非常接近于零。



7) 检查 H<sub>2</sub>O r 和 H<sub>2</sub>O s 读数。

当读数稳定后,点击 Zero  $H_2OR$  和 Zero  $H_2OS$  按钮。**IRGA 调零一定要先进行 H\_2O 调零**,再做  $CO_2$  调零,因为水汽会影响  $CO_2$  的测量。

- 8) 检查 CO<sub>2</sub>\_s 和 CO<sub>2</sub>\_r 读数。 当读数稳定后(它们应该稳定非常快), 点击 Zero CO<sub>2</sub>S 和 Zero CO<sub>2</sub>R 按钮。
- 9) 如果你对结果满意,就退出校准(点击 Exit Calibration 按钮)。

## 使用校准管 (内装化学药品) 调零

尽管最佳校准方式是使用罐装标气(零气),但您也可以使用校准套件调零。要想确保准确调零,请注意以下几点:

- ▶ 清楚化学药品是在何时、从何处购买的。
- ▶ 清楚化学药品是如何保存的、保存在哪里。
- ▶ 即使你最近刚更换了化学药品,也不能说明当前管内的药品是适合校准调零用的。
- 1) 连接主机和分析器之间的电缆。进气的软管不用连接。
- 2) 校准套件中的调零管(Zero Column)内装满 **Drierite** 干燥剂(蓝色)。注意:一定不要使用硅胶干燥剂校准 H<sub>2</sub>O 零点。
  - 一定要先做水汽调零,因为水汽会影响 CO<sub>2</sub> 的测量。
- 3) 安装装满干燥剂的校准管。

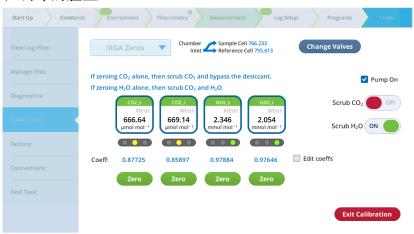
校准管连接在主机和分析器头部之间(见下图)。



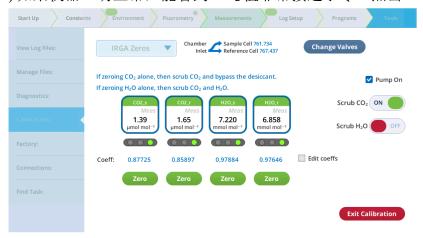
4) 开始 H<sub>2</sub>O 调零。

在 Tools > Calibration>IRGA Zeros 下,点击 Begin Calibration。

这个程序会对分析器 IRGAs 进行调零。注意气体通入的腔室(参比室或样品室)就是正在调零的腔室。



- 5) 分流气体使之同时进入两个分析器。 点击 Change Values 使气体同时进入样品室和参比室。
- 6) 如果仪器一切正常, 你应该能看到 H<sub>2</sub>O 值非常接近于零。
- 7) 点击 Zero H<sub>2</sub>OR 和 Zero H<sub>2</sub>OS 按钮。 检查结果是否满意。
- 8) 下一步进行 CO2 调零。
- 9) 另一个调零管(Zero Column)中加入新鲜的苏打药品。
- 10) 同上,校准管连接在主机和分析器头部之间。
- 11) 如果仪器一切正常,能看到 CO2 值非常接近于零。点击 Zero CO2S 和 Zero CO2R 按钮。



- 12) 检查确认零点正常。
- 13) 如果你对结果满意,就退出校准。

存放校准管以备将来使用。您不需要倒出化学药品,只需在校准管上标记出日期和化学药品名,并在两边安装盖子,良好保存校准管。

#### 7.1.2 跨度校准

CO<sub>2</sub> 和 H<sub>2</sub>O 跨度校准需要准备不同 CO<sub>2</sub> 浓度的标准气体和 LI-610 露点发生器。用户可以自己准备标准气体进行跨度校准,也可以将仪器送往公司售后部门进行校准。如果想自己做跨度校准,请联系公司技术部索取相关指导手册。

注意: 如果没有使用  $CO_2$  标准气体却在该界面上进行  $CO_2$  跨度校准操作,或者没有通已知  $H_2O$  浓度的气体也没有使用 LI-610 露点发生器却在该界面上进行  $H_2O$  跨度校准操作,将导致测量数据的错误!!!

#### 7.1.3 流量计和叶室气压传感器调零

- 1) 在 Tools > Calibration 下, 进入 Flow Meter Zeroing 界面;
- 2) 点击 Begin Calibration, 做传感器调零。 等 4 个状态指示灯都变绿后, 依次点击 4 个按钮调零。

# 7.2 讲气口空气过滤器维护

在主机进气口有一个空气过滤器,常规仪器使用,需要每年更换一次过滤器。如果仪器无法达到设定的流速值,过滤器可能堵塞了。按照下面的步骤更换进气口过滤器:

- 1) 取下加湿管和苏打药品管。
- 取下过滤器。
   逆时针旋转进气口过滤器盖帽 1/4 圈,拉出,过滤器和盖帽会一起取出。
- 从盖帽上取下过滤器。
   过滤器是一次性用品,如果堵塞的话就扔掉。
- 4) 检查盖帽上和主机里的 O 型圈是否有裂缝或破损。 如果你看到破损,需要更换。它们是固定在上面的, 可以使用牙签慢慢挑出 O 型圈,更换。但要非常小 心,不要留下划痕或掉入杂物。







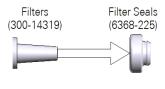
# 7.3 化学药品管维护

干燥剂管、苏打管和加湿管添加药品的完整方法请见章节 2.1.2。

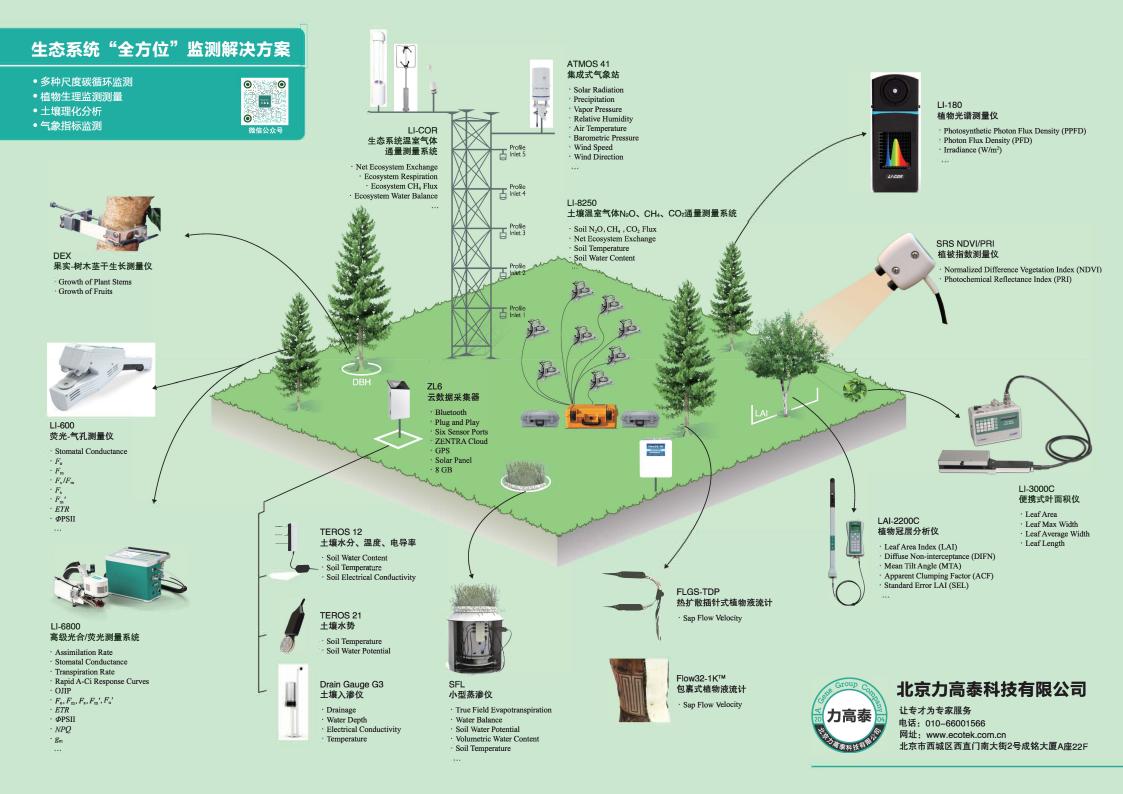
# 药品管内的过滤器

每个化学药品管都有两个过滤器(300-14319),用橡胶密封圈(6368-225)固定。长期使用,过滤器可能会变脏或堵塞,这时需要清洁或更换它们。备用的过滤器在配件盒里。步骤如下:

- 1) 取下旧过滤器和橡胶密封圈:过滤器和橡胶密封圈是作为一个整体被取出来。
- 2) 组装新过滤器:在配件中找到过滤器(300-14319)和橡胶密封圈(6368-225)。将过滤器插入橡胶密封圈。密封圈的一侧与过滤器紧密连结。
- 3) 安装新过滤器:将组装后的新过滤器压入药品管上的对应位置。在主机上重新安装该药品管。进行漏气检测以确认仪器可以跟之前一样正常工作。







# 基因有限公司农业环境科学部





微信号: Gene-ecotek

# 北京力高泰科技有限公司

## 北京总部

电话: 010-66001566

网址: www.ecotek.com.cn

技术支持邮箱:support@ecotek.com.cn

地址: 北京市西城区西直门南大街2号成铭大厦A座22F

邮编:100035

#### 广州办事处

电话: 020-85576373

地址: 广州市天河区东郊工业园路建工路8号6楼B室

#### 成都办事处

电话: 138 1093 8447

地址: 成都市武侯区磨子街7号新棕北商务大厦1606室

#### 武汉办事处

电话: 139 1163 2420

地址: 武汉市洪山区珞瑜路95号融科珞瑜中心T1-2座1208室