

1. 安全指导

1. **安全指导：**在使用仪器前请仔细阅读安全指导和操作手册。请将安全指导和操作手册放在触手可及的地方以便随时参考。
2. **安全警告：**请注意写在仪器上的和操作手册中的所有安全警告。请严格按操作手册的要求操作仪器。不要眼睛直视仪器内部的激发光源。
3. **防水防潮防尘：**仪器应当远离靠近水或潮湿的地方，仪器应当远离灰尘、沙子、污物。
4. **通风：**请永远保持仪器所处位置通风良好。不要将仪器放在床、沙发、地毯等柔软的物体上，以防止阻碍通风。
5. **远离热源：**请让仪器远离热源。
6. **电源：**仪器只能连接 220V 交流电，且必须是含接地的三孔插座。
7. **清洁：**仪器的微尘请用强力冷吹风机；对于不能用吹风机清洁的斑痕可使用柔软的布或纸巾擦拭；切不可用湿布大面积地擦拭仪器。
8. **当仪器不用时：**请先关闭仪器总开关后，将所有插头拔下。
9. **防止异物进入：**请注意防止液体或气体异物进入仪器内部。
10. **仪器出现故障时：**请不要拆卸仪器，请联系卞殷旭 15558089835，qq:752571225，邮箱：byx@zju.edu.cn

2. 仪器简介

炬像植物荧光成像系统主要用于研究光合活性的二维异质性。系统采用脉冲-振幅-调制技术来测量叶绿素荧光产量。蓝色发光二极管（LED）不仅可以提供调制测量光，还可以提供光化光（驱动光合作用）和饱和脉冲（暂时抑制光合作用）。利用饱和脉冲技术可以非破坏性地测量植物光合机构运转状况，特别是测量PSII光化学能量转换的量子产量（光合效率），后者受生理状态、光环境、不同胁迫因子等多重内源或外部因素的影响。炬像植物荧光成像系统也可以测量 F_0 、 F_m 、 F_t 、 F_m' 、 F_v/F_m 、 $\Delta F/F_m'$ 、 qP 、 qN 、 NPQ 、 $rETR$ 等参数，并且可以测量荧光诱导曲线和光响应曲线。炬像植物荧光成像系统的最大优点在于可以检测叶片面积上每个像素的光合活性，通过荧光成像来反映叶片生理状态的异质性。

3. 系统组件与连接

炬像植物荧光成像系统的基本构成包括：

- 1) 主控单元(控制电路、电源模块等)
- 2) 蓝色 LED 阵列光源
- 3) CCD 检测器
- 4) 遮光护眼的机身
- 5) 安装了炬像植物荧光成像分析软件的电脑

其中，主控单元、LED 阵列光源、CCD 检测器、遮光护眼的机身集成于一体，组成了系统主体。

3.1 系统主体

炬像植物荧光成像系统主体由主控单元、LED 阵列光源、CCD 检测器、遮光护眼的机身组成。

系统背侧有电源线与电源开关，控制系统电源的开关。引出的两根接口线（USB 线和网口线），在需要测量时，分别与电脑的 USB 口和以太网口相连。

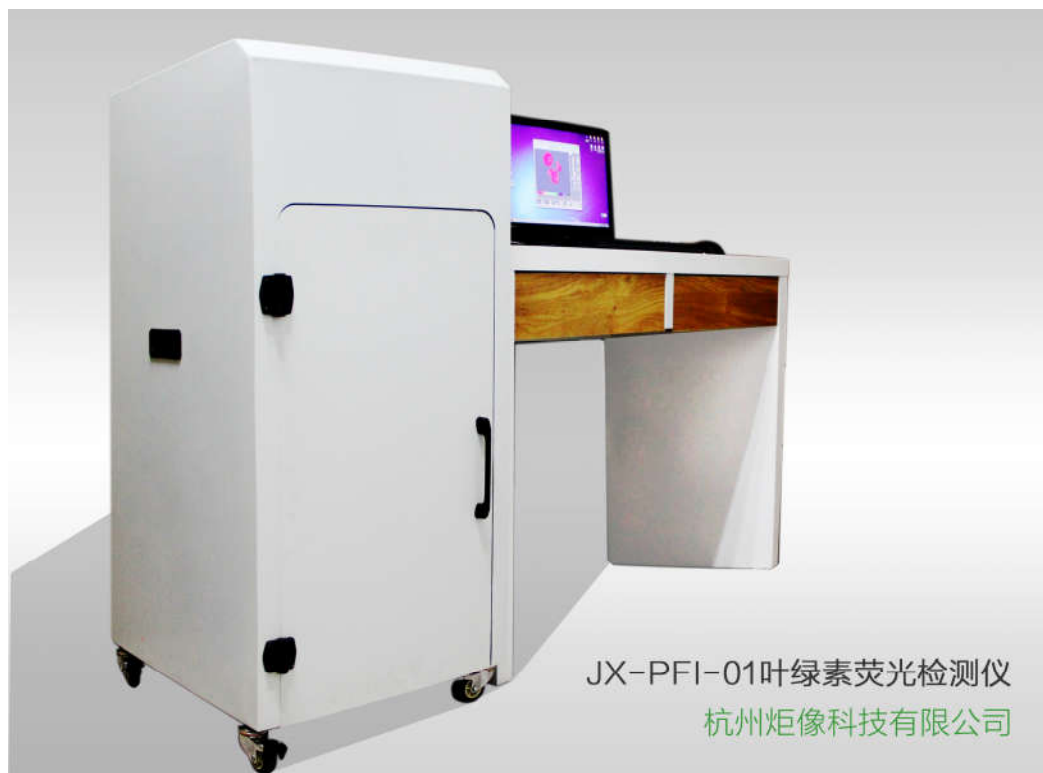


图 1 系统主体机箱

3.2 电脑

电脑配置要求：

- ① 2GB 内存及以上；
- ② 内置千兆以太网口；
- ③ 内置 USB 接口；
- ④ Win7/Win8 操作系统；

电脑控制炬像植物荧光成像分析软件工作时,CPU 处于高速运转状态,因此电脑必需具备很好的通风系统为 CPU 降温。

3.3 连接

炬像植物荧光成像系统的线缆连接主要包括以下三条：

- ① 电源线：在使用前，请与电源插座相连，使用完毕，请拔掉电源线
- ② USB 线：连接主控单元与电脑
- ③ 千兆以太网口：连接 CCD 检测器与电脑

警告：在打开仪器主机、电源和电脑前，务必将所有线缆连接好！

4. 仪器开机准备

4.1 网口设置

炬像植物荧光成像系统通过千兆以太网口连接电脑和 CCD 检测器，实现图像传输。为确保电脑与 CCD 检测器成功相连，需设置电脑 IP 地址与 CCD 检测器在同一网段。CCD 检测器出厂设置的默认 IP 地址为 192.168.1.111，在一般情况下，请务必擅自修改 CCD 检测器的 IP 地址。

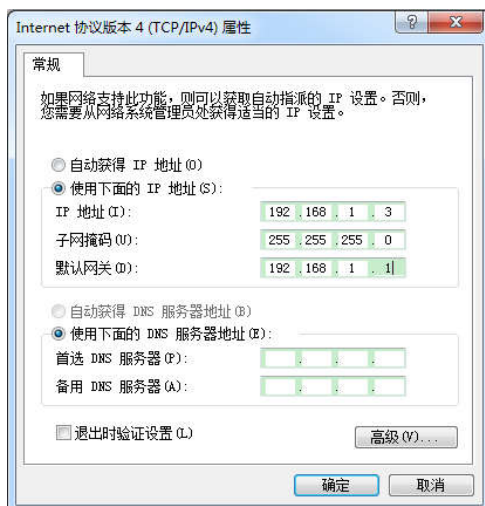


图 2 将电脑 IP 地址与 CCD 检测器设置为同一网段

4.2 串口设置

炬像植物荧光成像系统通过 USB-串口连接电脑和主控单元。在将 USB 口与电脑相连后，请通过“我的电脑”——“管理”——“设备管理器”——“端口”，查看当前所占用的端口号。

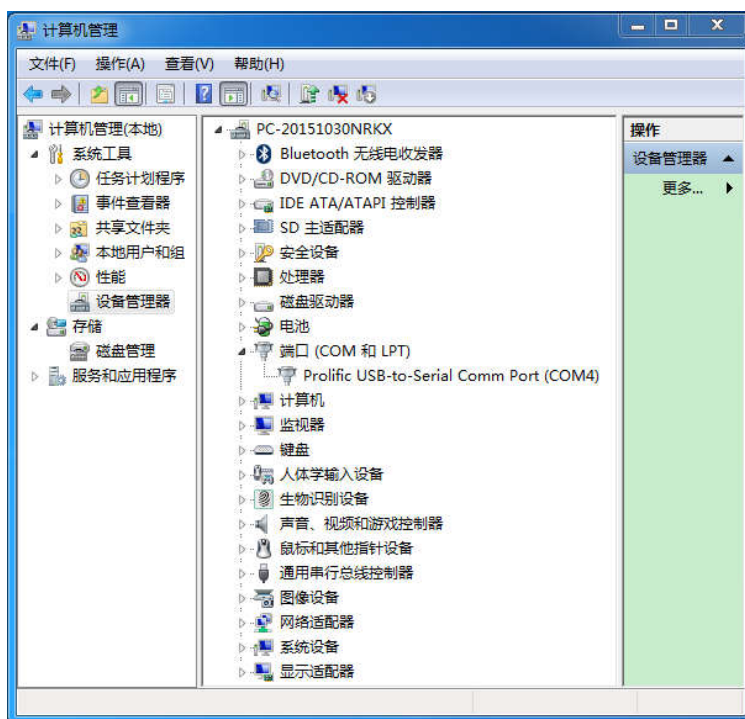


图 3 通过设备管理器确认设备串口号

当启动荧光成像系统分析软件时，若要测定数据，需在软件界面中选择相应的设备端口号，点击“连接”按钮连接。只有在设备端口为连接状态的情况下，才能正常地测定数据。

5. 软件操作

除了主控单元和电源开关以外,炬像植物荧光成像系统完全通过电脑上的荧光成像分析软件来控制。图 4 显示了用户电脑屏幕上软件的操作界面。

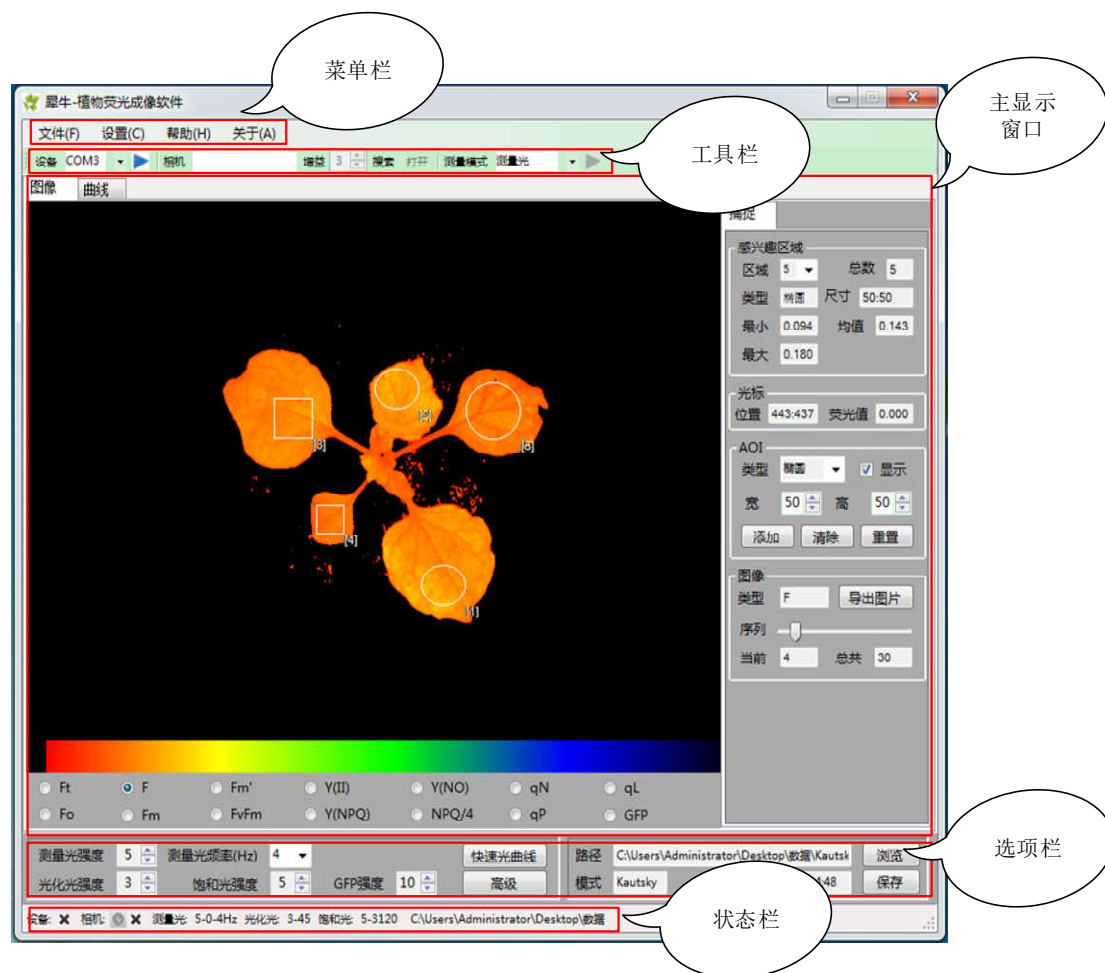


图 4 软件操作界面

屏幕主要分为上、中、下三个部分,其中上部分包括**菜单栏**和**工具栏**。其中菜单栏分为“文件”、“设置”、“帮助”、“关于”。工具栏包含设备端口选择和连接/断开、相机连接/断开和增益调节、测量模式选择和启动/停止。

软件界面中间部分主要包括一个特殊的**显示窗口**,可选择“图像”和“曲线”两种显示窗口。其中在“图像”显示窗口中,可以根据下方的“图像类型选择框”显示不同类型的图像。在“曲线”显示区域,显示的是选定的不同特征区域的植物光学参数曲线。程序启动后,显示窗口默认为图像窗口,曲线窗口的显示通过选择相应的选项卡来切换,不同的窗口将在后面的章节逐一介绍。

软件界面软件下部分包括**选项栏**和**状态栏**。其中选项栏提供了部分光学参数的快捷设置

功能，并能浏览和保存测量的数据。状态栏显示当前状况，包括设备连接状态、相机状态、光学参数、存储路径等。

5.1 菜单栏

菜单栏包括文件、设置、帮助和关于选项。其中，

文件选项：

包括打开、保存、存储路径三个子选项，用于测量数据的读取、存储、默认存储路径的设置，测量数据默认以“.cfd”文件格式保存。其中，打开快捷键操作为 Ctrl+O, 保存快捷键操作为 Ctrl+S, 存储路径快捷键操作为 Ctrl+P。

设置选项：

包括设备、相机、光学参数（测量参数）、快速光曲线参数四个子选项。其中，

设备子选项可以选择端口号，打开/断开连接，快捷键操作为 Ctrl+D。

相机子选项可以搜索/打开/关闭相机，调节相机增益等，快捷键操作为 Ctrl+C。

测量参数子选项可以设置多种测量模式下的光学参数，快捷键操作为 Ctrl+L。

快速光曲线子选项专用于设置快速光曲线不同光化光阶段的光强和持续时间，快捷键操作为 Ctrl+Q。

帮助：打开炬像植物荧光成像系统操作手册，快捷键操作为 Ctrl+H。

关于：软件版本号和公司相关信息，快捷键操作为 Ctrl+A。

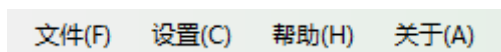


图 5 (A) 菜单栏



图 5 (B) “文件”和“设置”中的子选项及其对应快捷键

5.1.1 设备

“设备”子选项可以查看/选择当前设备端口、波特率（默认 115200）与连接状态。

“设为默认”按键可使软件重启动时，以当前设置的端口号为默认端口号。



图 6 设备子选项

5.1.2 相机

“相机”子选项可以查看当前 CCD 检测器的 IP、像素、曝光时间，可以搜索、打开 CCD 检测器，并调节 CCD 的增益。“设为默认”按键可使软件重启动时，以当前设置的增益为默认 CCD 增益。

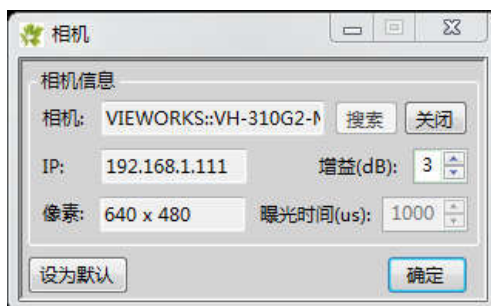


图 7 相机子选项

5.1.3 光参数

光参数子选项分为“基本光类型强度选项框”、“基本模式持续时间选项框”、“混合模式参数选项框”、“图像处理参数”和“PAR 列表”。

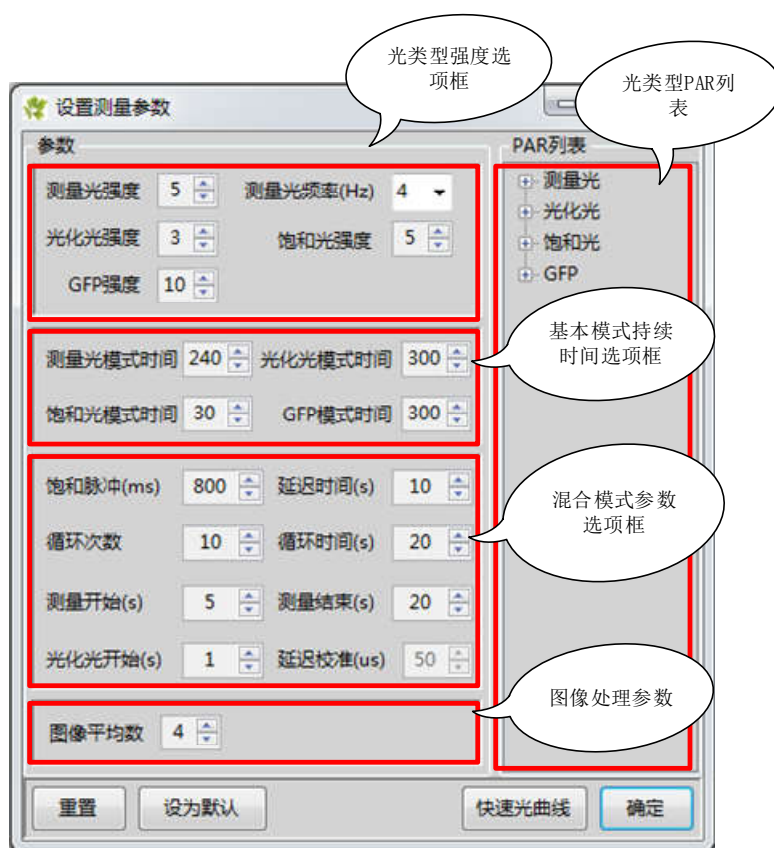


图 8 光学参数子选项

(1) 基本光类型强度选项框

炬像植物荧光成像系统提供四种不同类型的光：测量光、光化光、饱和脉冲光和 GFP。其中测量光、光化光和饱和脉冲光均用于植物叶绿素荧光的生理检测，GFP 用于植物中绿色荧光蛋白的检测。

测量光是脉冲调制式的，有相对较短的 LED 脉冲（大约 100 微秒）组成。这些短的饱和脉冲是非常强的，并且以相对较低的重复频率（1~8Hz）发射，不能使植物进行光合作用。测量光的光照强度是可调的，系统提供 1-15 级的调节范围，根据测量植物的不同，可以选择不同的测量光强度。

光化光可以驱动植物进行光合作用，系统提供 1-20 级的调节范围。

饱和脉冲光（SP）用于最大荧光产额（ F_m 或 F_m' ）的测定。荧光产额 F_t 在打开饱和脉冲之前被快速测定。打一次饱和脉冲就意味着一次测定的完成，测定的结果被自动保存到缓存中。系统为饱和脉冲光提供 1-10 级的可调节范围。

GFP 专用于植物中是否含有绿色荧光蛋白的检测，提供 1-20 级的调节范围。

(2) 基本模式持续时间选项框

四种基本光类型（测量光、光化光、饱和光、GFP）对应着四种基本的测量模式——测

量光模式、光化光模式、饱和光模式、GFP 模式，这四种模式都只包含了一种光类型。基本模式持续时间选项框提供对这四种基本模式持续时间的设置功能。

（3）混合模式参数选项框（动力学参数选项框）

测量模式中除四种基本模式外，还包括 FoFm 模式、连续饱和脉冲模式、动力学曲线模式和快速光曲线模式。剩下的这几种模式中都包含了多种不同类型的光，称为混合模式，需要额外设置相应的一些参数。混合模式参数选项框提供对这些参数的设置功能。

动力学参数用于动力学窗口暗-黑诱导曲线预编程序的记录。当开始测定 Fo 和 Fm 之后，光化光打开之前，会有一段时间让荧光产额降低至最初的 Fo 水平，我们称这段时间为“延迟时间”，用户可以根据需要自行设定该时间，仪器默认 15 秒。“循环时间”决定连续饱和和脉冲之间的时间间隔，此过程中 F 和 Fm' 便会被测定。“循环次数”表示连续饱和脉冲的次数，而“饱和脉冲”表示每次饱和脉冲的持续时间。“测量开始”和“测量结束”表示每次诱导曲线测定过程中的开始和结束的等待时间。

（4）图像处理参数和 PAR 列表

图像处理参数中的“图像平均数”用于设置对获得的多幅图像做平均处理，以减少用单幅图像计算时随机噪声引起的误差。

PAR 参数列表显示不同强度等级的测量光、光化光、饱和脉冲和 GFP 对应的实际光强 PAR 值，以便于根据植物的生理特性，选取合适的光强等级。

此外，“快速光曲线”按钮可以打开“快速光曲线”设置界面，进一步设置快速光曲线的相关参数；“重置”可以恢复修改前的参数；“设为默认”将当前的参数存入启动配置文件，在软件重启后，以当前的参数启动。

5.1.4 存储路径

“存储路径”子选项为文件的存储和读取设置默认的目录。

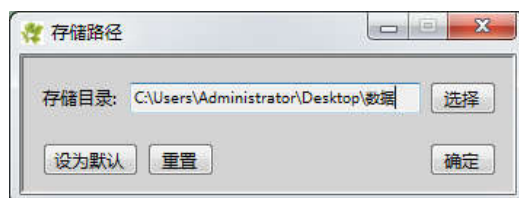


图 9 存储路径

5.1.5 快速光曲线

“光速光曲线”子选项用于设置在测量光速光曲线过程中的光强梯度和持续时间。炬像植物荧光成像系统提供 20 个光强梯度的定义。图中的光强表示不同的光强等级，PAR 表示

在特定光强等级下的 PAR 强度。时间一栏用于设定在该光强下的持续时间。

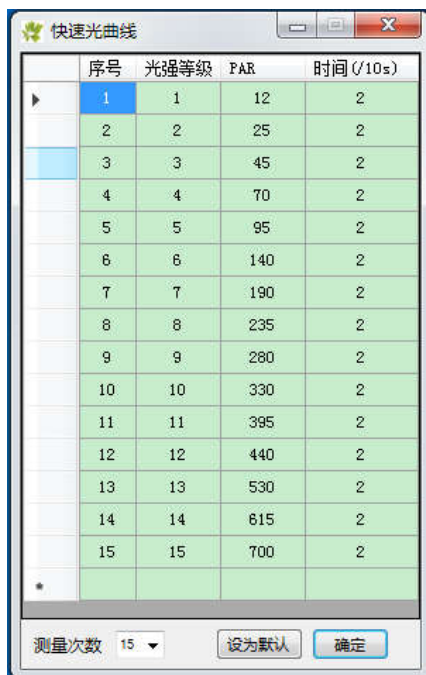


图 10 快速光曲线

5.2 工具栏

工具栏包括设备端口选择、打开/断开，相机搜索/打开/断开、相机增益调剂，测量模式选择、运行/停止等功能。工具栏界面如下所示：



图 11 工具栏

软件在启动时，会从启动配置文件中读取默认端口号，并尝试打开设备端口和相机。若端口号不正确，会弹出提示信息。若为搜索到相机或相机打开失败，也会弹出相应的提示信息。若要测量数据，测量运行按钮只有在设备端口和相机已打开情况下，才能被按下。若只是浏览之前测量的数据，在不打开端口且没有相机的情况下，软件也能正常运行。

5.3 选项栏

选项栏包括两部分——“基本光类型强度选项框”和“存取文件选项框”。

其中，“基本光类型强度选项框”功能与“菜单栏—设置—光参数”中的“基本光类型强度选项框”功能一致。由于基本光类型强度是经常调节的参数，通过放置在选项栏中，可以便于用于修改这些参数。

“存取测量文件选项框”与“菜单栏—文件”中的“保存”和“读取”子选项功能一致，用于读取和存储测量数据。其中，“路径”显示的是当前正在浏览的数据文件的路径，“模

式”和“时间”指的是浏览的数据的测量模式和测量时间。

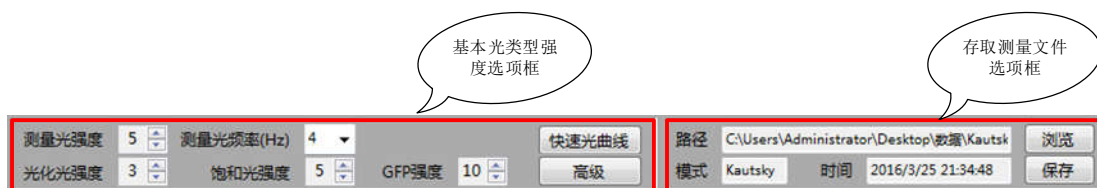


图 12 选项栏

5.4 图像窗口

图像窗口的主要部分用来显示当前参数的荧光图像，并在图像下方有一个默认色码条，从左到右依次为黑、红、橙、黄、绿、蓝、靛、紫，代表 0~1 之间的数值。因此，所有测定的或者计算出来的荧光参数值，都会被标准化到 0~1 之间。

图像区域的下方是图像类型选择区域，14 个图像类型可供选择，它们决定了图像窗口显示的图像类型。每个荧光参数的含义将会在接下来的章节中一一介绍。

图像区域的右侧，还列出了大量图像获取和分析的功能单元。

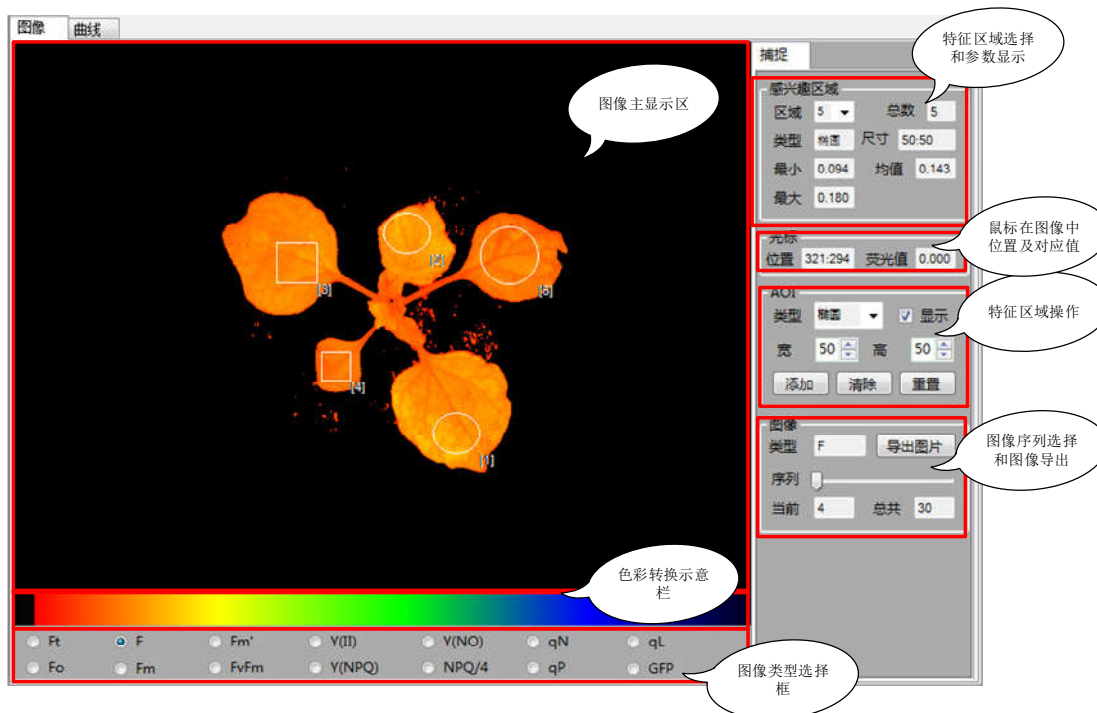


图 13 图像窗口

5.3.1 不同类型的图像

实时荧光 F_t :

在测定模式下，实时荧光 F_t 默认被选中，在图像显示区域中，实时荧光产额 F_t 是被连续监测和显示的。

基础荧光 F_o :

样品进行一段时间的暗适应之后，通过选择 F_o, F_m 模式，可以测定暗荧光产额 F_o 。暗适应的目的主要是为了使 PSII 的反应中心完全开放，从而获得最大的光化学淬灭值，但这并不意味着 F_o 为最小的荧光产额。在光照条件下，通过强烈的非光化学淬灭诱导，可以使 F_o 的水平进一步降低。一旦 F_o 的测定过程被触发，程序会自动 F_t 值进行平均来作为 F_o 值。

荧光 F :

与其它所有荧光参数 (F_t 除外) 一样，荧光产额 F 的测定也是通过打开饱和脉冲光来实现的。当打开饱和脉冲后，程序会自动把 F_t 值进行平均来作为 F 值，图像则存储在缓存中。

暗适应后的最大荧光 F_m :

经过一段暗适应后，选择 F_o, F_m 模式，可以测定最大荧光产额 F_m 。样品达到平衡状态时，打开一次饱和脉冲，可以测定 F_m 的值，该过程中测量光的频率会自动切换到最高设置， F_m 的测定值包含了图像记录的平均。通常情况下， F_m 图像是不会改变的，除非开始了新一轮的测定并确定了新的 F_o 和 F_m 的值。另外， F_m 和 F_m' 是不同的， F_m 是不变的，而 F_m' 则在每次打饱和脉冲时发生变化。

光下最大荧光 F_m' :

光照一段时间后，可以测定光下最大荧光产额 F_m' ，由于非光化学淬灭的影响， F_m' 往往低于 F_m 。样品达到平衡状态时，打开一次饱和脉冲，可以测定 F_m' 的值，该过程中测量光的频率会自动切换到最高设置， F_m 的测定值包含了多个图像记录的平均。对于一个给定的样品，根据其打开饱和脉冲时的照光状态， F_m' 图像可以无限大。另一方面，同一样品则只有唯一的 F_o 和 F_m 图像，这是由样品的暗适应过程决定的。

PSII 最大光合效率 F_v/F_m : 经过一段暗适应后，才能测定 PSII 的最大光合效率 F_v/F_m 。
计算公式为: $F_v/F_m = (F_m - F_o)/F_o$ 。

PSII 实际光合效率 $Y(II)$: $Y(II) = (F_m' - F)/F_m'$ 。所有的光量子产额始终接近于 1。
根据 Kramer et al. (2004) 发表的文章 (Photosynthesis Research 79:209-218)，还有

另外两种量子产额：Y(NPQ) 和 Y(NO)，它们分别代表了 PSII 调节性和非调节性的能量耗散，加上之前的光化学量子产额，有 $Y(II) + Y(NPQ) + Y(NO) = 1$ 。

调节性能量耗散的量子产额 Y(NPQ)：

$$Y(NPQ) = 1 - Y(II) - 1 / (NPQ + 1 + qL(Fm / Fo - 1))$$

参数 NPQ 为非光化学荧光淬灭，反映 PSII 耗散过剩光能进行自我保护的下调作用。参数 qL 反映的是“湖泊模型”中处于开放态 PSII 反应中心的分数。Y(NPQ) 较大，一方面表明光是过剩的，另一方面表明植物有能力通过自身的调节机制耗散掉过剩的光能而自我保护。如果植物没有这种自身的耗散机制，过剩的光能会诱导产生单线态氧或者自由基，这对植物的非常有害的。Y(NPQ) 的荧光图像所有像素值都为 0，图像为黑色，这主要是由于 $F_v/F_m = 0$ 。

非调节性能量耗散的量子产额 Y(NO)：

$$Y(NO) = 1 / (NPQ + 1 + qL(Fm / Fo - 1))$$

参数 NPQ 为非光化学荧光淬灭，反映 PSII 耗散过剩光能进行自我保护的下调作用。参数 qL 反映的是“湖泊模型”中处于开放态 PSII 反应中心的分数。Y(NO) 较大，一方面说明光化学能量转换和自我调节机制都是比较弱的，另一方面说明植物无法耗散过多的光能。因此，植物已经受到伤害或者即将造成光损伤。要想获得极端的 Y(NO) 值，可以用除草剂处理样品，这样不仅可以阻断 PSII 的反应中心，并且能够抑制跨膜质子梯度的形成，而后者是植物非光化学淬灭的先决条件。Y(NO) 的荧光图像所有像素值都为 1，图像为红色，这主要是由于 $F_v/F_m = 0$ 。

非光化学淬灭 NPQ/4：

$$NPQ = (F_m - F_m') / F_m'$$

与 qN 相比，NPQ 的值往往大于 1 而小于 4。因此，NPQ/4 便可以将数值控制在 0~1 之间，能够使用默认的色码尺来表示。NPQ 的定义是指天线色素的矩阵模型，它反映天线色素系统对激发能的热耗散。NPQ 是过剩光能的指示计，植物主要通过跨膜质子梯度介导的叶黄素循环来耗散多余光能。另一方面，NPQ 还能够反映类囊体膜的激发状态。NPQ 的测定需要首先对样品进行暗适应，然后测定 F_o 和 F_m ，从而计算出 NPQ。暗适应状态下，NPQ=0。

非光化学淬灭系数 qN：

$$qN = (Fm - Fm') / (Fm - Fo')$$

qN 值在 0（暗适应）到 1（所有可变荧光淬灭）之间。上述公式不仅涉及照光条件下可变荧光（反应中心关闭诱导）的非光化学淬灭，还考虑到暗适应荧光（所有反应中心开放）的非光化学淬灭，而非光化学淬灭的能量主要用于热耗散。为了准确的估算 Fo'，必须在非光化学淬灭之前，关闭光化光并在远红光的作用下快速氧化 PSII 受体。但这种方法在 XX-PAM 中是不可行的，因为远红光会进入 CCD 检测器，从而大大干扰荧光图像。因此，采用另外一种测定方法（Oxborough 和 Baker, 1997）近似估算 Fo' 的值：

$$Fo' = Fo / (Fv / Fm + Fo / Fm')$$

该公式成立的前提是 Fm' 对 Fo' 的淬灭机制与 Fm 对 Fo 的淬灭机制相同。淬灭系数 qN 对叶绿体能量状态的改变是非常敏感的，而这种变化受多种因素影响，比如环境胁迫因子导致的气孔关闭，阻断了 CO₂ 到 O₂ 的电子流并引起 PSII 能量转化速率的下调。因此，可以说 qN 是环境胁迫的指示计，并已经被证明为检测早期胁迫最敏感的参数。qN 的测定需要首先对样品进行暗适应，然后测定 Fo 和 Fm，从而计算出 qN。暗适应状态下，qN=0。

光化学淬灭系数 qP

光化学淬灭系数 qP 反映的是 PSII 反应中心的开放程度，值在 0~1 之间，它的计算需要知道 Fo'（光照下最小荧光产额，由于非光化学淬灭作用其值低于 Fo），具体计算公式如下：qP = (Fm' - F) / (Fm' - Fo')

正确估算 Fo' 需要远红光，但远红光会干扰荧光成像。但是 Fm' 对 Fo' 的淬灭机制与 Fm 对 Fo 的淬灭机制相同，因此可以通过 Fm' 的测定估算 Fo'，如下：

$$Fo' = Fo / (Fv / Fm + Fo / Fm')$$

qP 的测定需要首先对样品进行暗适应，然后测定 Fo 和 Fm，从而计算出 qP。暗适应状态下，qP=1。qP 的公式是建立在“沼泽模型”基础上的。通常情况下，利用“湖泊模型”对 PSII 的天线色素系统的描述更多也更真实，意思是说每一个 PSII 的反应中心的天线色素分子彼此连接，保证激发能能够高概率的从关闭的反应中心转移到相邻的开放反应中心，这样 PSII 开放反应中心的数量就被大大高估了。基于“湖泊模型”估算 PSII 开放反应中心的参数为 qL。

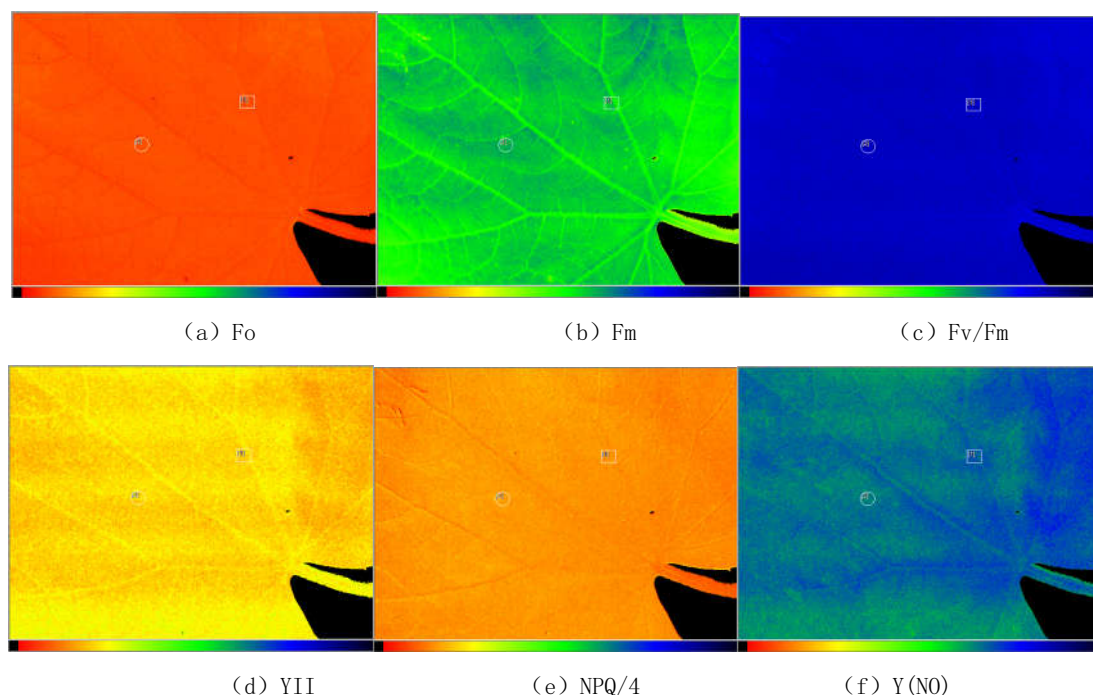


图 14 黄瓜叶在一次测量中的不同类型的图

5.3.2 图像捕捉和分析

荧光图像捕捉和分析功能单元位于图像窗口的右侧。

1) 特征区域 (AOI) 操作

炬像植物荧光成像分析软件获得的荧光图像包含 640×480 (也就是 307200) 个像素点, 每一个像素值都包含了特殊的荧光信息, 原则上有 307200 条光响应曲线被记录下来, 而在实际应用过程中如此庞大的信息量是需要缩减的。基于以上原因, AOI (Area of Interest) 的概念被提了出来。所有包含在 AOI 区域中的像素值会被平均。利用这种方法, 像素噪音将被大大降低。电脑运行分析软件程序后, 可以通过“添加”按钮添加 AOI。定义完毕的 AOI 是不能被更改的, 最后添加的 AOI 可以被移除 (通过“清除”), “重置”键删除全部 AOI。

“显示”前面的复选框对应着图像上的 AOI 会相应的出现和隐藏。



图 15 设置感兴趣区域

2) 特征区域显示: AOI 监管窗口

如果鼠标选择任一 AOI, 该特征区域的参数值便会通过此像素窗口显示:

Min.: 所有像素点的最小值;

Max.：所有像素点的最大值；

Mean：所有像素点的平均值；

位置：光标位置；

荧光值：光标所在位置的荧光值；



图 16 像素显示窗口

3) 图像序列选择和导出：



图 17 显示模式选择窗口

当图像类型选择框中选择不同的图像类型时，“图像序列”栏中会显示当前选中的图像类型名称。对于有些图像类型，在完整的测量过程中，可能存在多幅同一类型的图像，这多幅图像会以测量过程中的时间先后顺序记录下来，组成图像序列。拖动滑动按钮，可显示指定图像类型的不同测量时间记录的图像。“导出图像”按钮可将当前显示的图像以 Jpeg 的图像格式导出至指定目录。

5.5 曲线窗口

曲线窗口实现了动力学曲线和快速光曲线的复用。

5.4.1 动力学曲线

在诱导曲线（动力学曲线），可以绘制荧光参数随时间的变化曲线，具体选择“动力学曲线”测量模式。随着每新一轮测定的开始，所有的测定值都被保存到缓存中，信息以曲线的形式在曲线窗口中绘制出来。

图 18 显示的一条标准的诱导曲线，为了图像清晰，只显示了一个 AOI 中的部分荧光参数。图中可以看出，Ft 曲线是连续测定（不同于其他参数）的。但值得注意的是，Ft 只记录所定义的 AOI 区域的曲线，相比较于其他参数，它不能记录之后重新定义的 AOI 数据曲线，

并且 F_t 不能在开始一次新测定之后进行后台记录。为了获得一致的坐标范围（0-1）， F_t 以 F_m 值作为参考，也就是绘制 F_t/F_m 随时间变化的曲线。

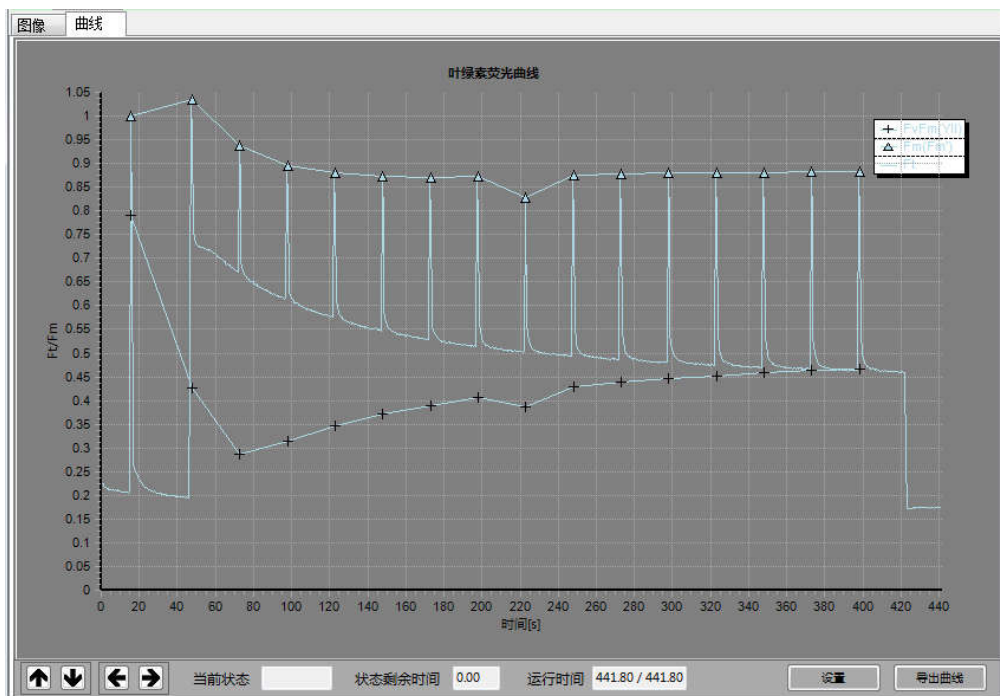


图 18 标准动力学曲线

曲线窗口下方是选项栏。其中，“上下左右箭头”可以实现曲线横/纵坐标的缩放。“当前状态”、“状态剩余时间”、“运行时间”用于显示测量过程中的状态信息。“导出曲线”可以将当前显示的曲线以 Jpeg 的图片格式导出至指定文件夹。

“设置”选项可以选择要显示的曲线类型。通过“设置”选项，可以选择控制相应的 AOI 的数据显示在诱导曲线窗口，几个 AOI 或者所有 AOI 同时选择，数据便能在诱导曲线窗口中叠加。诱导曲线窗口中，最多可以同时显示多个荧光参数随时间的变化曲线。鼠标点击指定曲线，可以实现该曲线的显示或隐藏；双击指定行的行标，该行所有曲线显示或隐藏；双击指定列的列标，该列所有曲线显示或隐藏。

设置												
	序号	F_t	$F_o(F)$	$F_m(F_m')$	$F_v F_m(VII)$	$NPQ/4$	qN	qP	qL	$Y(NPQ)$	$Y(NO)$	ETR
▶	1	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
	2	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
	3	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
	4	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
	5	√	x	√	√	x	x	x	x	x	x	x

图 19 设置选项——曲线类型选择界面

5.4.2 光曲线

光曲线的记录包含了一系列的光照梯度，在每一个梯度的末尾，通过一次饱和脉冲确定 PSII 的实际量子产额。X 轴表示光照强度（PAR），由仪器预先设定的光强列表决定，并可以通过“设置”—“快速光参数”或快捷键“Ctrl+Q”查看当前列表。ETR 的计算公式为： $ETR=0.5 \times Yield \times PAR \times 0.84$ 。ETR 光响应曲线类似于传统的光响应曲线，但是时间却短了很多。通常情况下，ETR 光曲线会受到暗-光诱导效应的影响，后者可以通过样品预照光降至最低。

想要在光曲线中显示数据，需要至少定义一个 AOI 区域。通过选择“快速光曲线”测量模式，开始测定光曲线，并可以通过点击“停止”按钮随时停止测定。通过选择不同的 ETR 复选框，可以选择控制相应的 AOI 的 ETR 数据显示在光曲线窗口。下图显示了多个 AOI 区域电子传递速率（ETR）随着光强变化的情况。

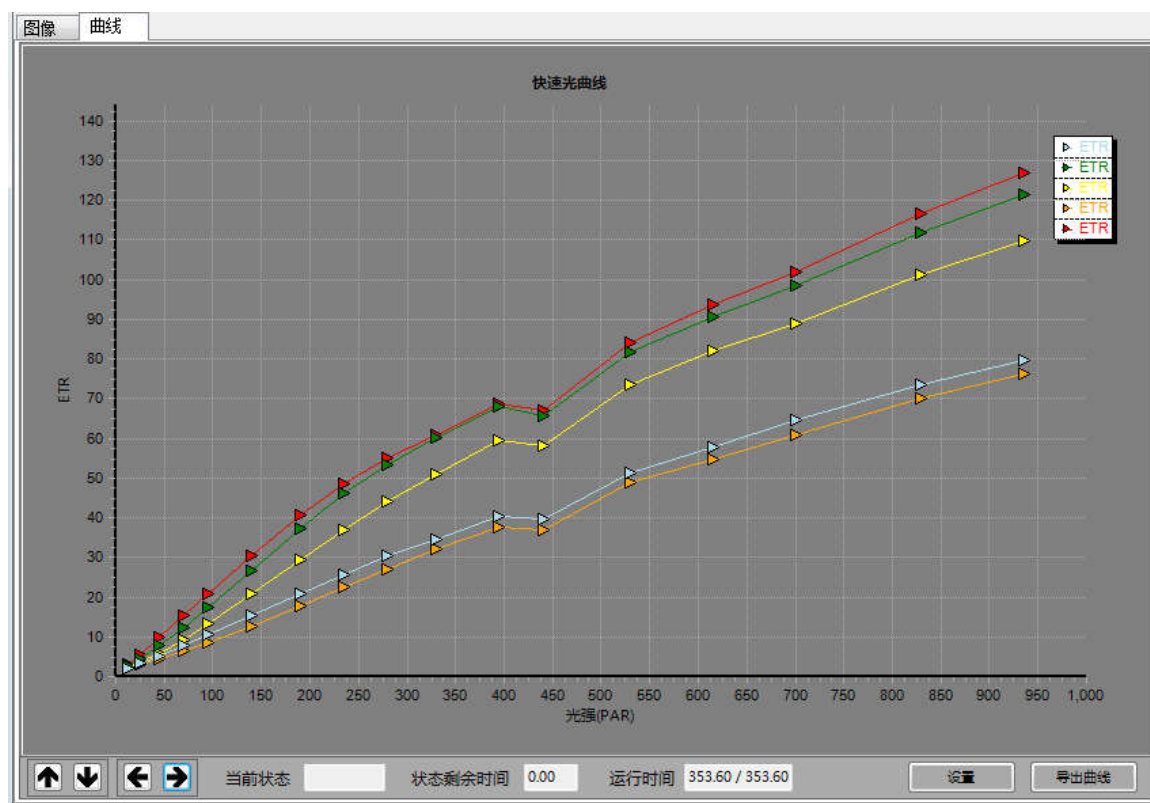


图 20 快速光曲线

5.6 状态栏

在软件的最下方，是当前状态的显示栏。显示着当前软件运行的状态，包括设备端口的连接状态、相机的状态、当前测量光的光强和频率、光化光和饱和光的等级和 PAR、存储的目录等。



图 21 状态显示栏

6. 快捷键操作

Ctrl + O : 打开文件

Ctrl + S : 保存文件

Ctrl + D : 打开设备设置选项框

Ctrl + C : 打开 CCD 设置选项框

Ctrl + L : 打开光参数设置选项框

Ctrl + P : 打开存储路径设置选项框

Ctrl + Q : 打开快速光曲线设置选项框

☆新加的 GFP 荧光成像功能

GFP 荧光成像原理: GFP,即绿色荧光蛋白 (Green Fluorescent Protein), 绿色荧光蛋白不仅无毒,而且不需要借助其他辅酶,自身就能发光,可以让科学家在分子水平上研究活细胞的动态过程。当绿色荧光蛋白的基因和我们感兴趣的有机体内所拟研究的蛋白质基因相融合时,蛋白质既能保持其原有的活性,绿色荧光蛋白的发光能力也不受影响。通过显微镜观察这种发光的“标签”,科学家就能做到对蛋白质的位置、运动、活性以及相互作用等一目了然。

GFP 吸收的光谱,最大峰值为 395nm (紫外),并有一个峰值为 470nm 的副峰 (蓝光);发射光谱最大峰值为 509nm (绿光),并带有峰值为 540nm 的侧峰。

按照中国热带农业科学院言普老师的建议,我们采用最大峰值为 395nm (紫外)的紫光 LED,作为激发光源;成像探测器前面为选择透过波长 500nm-550nm 的光谱滤光片。由于紫光长久照射可能对生物活性产生影响,本仪器采用独特的电路系统,使得植物被紫光照射时间控制在 3ms/s,及每秒钟只有 3ms 的时间,植物被紫光照射;在 3ms 的时间内,探测器对绿色荧光同步成像。

GFP 荧光成像参数如下:

激发光源	395nm
激发时长	3ms/s

成像面积	40cm*30cm（标准距离）
成像分辨率	640*480（可选，可提高）
探测荧光光谱	500nm-550nm

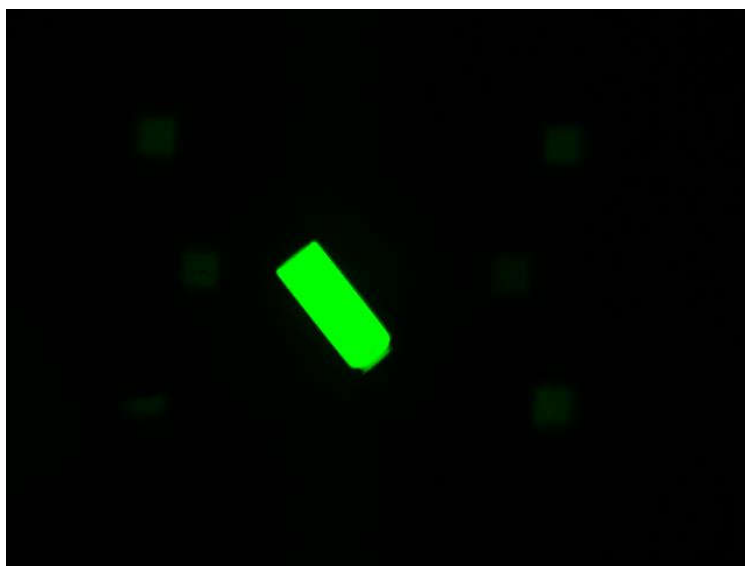


图 22 绿色荧光蛋白水溶液在 GFP 模式下的成像情况

☆叶绿素荧光成像和 GFP 荧光成像被封装在同一个仪器系统里面。