	文件名称: Walz /IMAG-PAM 叶绿素荧光成像系统操作规程		版本号: GGPT-SOP-257	
	编制	刘丽萍	发布实施日期	2016-4-1

一、目的

为规范叶绿素荧光成像系统的基本操作、维护保养、异常处理程序,防止人为操作失误,确保叶绿素荧光成像系统的正常和有效使用,实现对叶绿素荧光成像系统实验工作的有效控制,特制定本规程。

二、适用范围

本公共实验平台叶绿素荧光成像系统(设备编号:)叶绿素荧光成像系统的使用。

所在实验室: 植物组织化分析实验室[S13]

三、职责

本程序的实施者为叶绿素荧光成像系统操作者,公共实验平台技术管理员负责对本程序的实施情况进行监督。日常运行及维护、定期维护、定期点检及保养由公共实验平台技术管理员负责。

四、开机前准备

- 4.1 使用本仪器前,操作人员须接受过相关培训并仔细阅读说明书。
- 4.2 检查实验室电源、温度和湿度等环境条件,实验室温度保持在 15~30℃之间,湿度小于 80%。
- 4.3 放置仪器的工作台应平坦、牢固和结实,不应有震动或其他影响仪器正常工作的现象。强烈电磁场、静电及其他电磁干扰,都可能影响仪器的正常工作,放置仪器应尽可能远离干扰源。仪器放置应避开化学腐蚀气体的地方,如硫化氢,二氧化硫和氨气等。供电线路应提供良好的接地,可进一步电气安全性和系统可靠性。

五、操作程序

5.1 仪器的开机及设置

- (1). 打开主机和电源开关(在测定之前,需充满电或确保连接在通电的插座上)。
- (2). 电脑上双击运行 ImagingWinGige.exe, 选择探头 MAXI--
- (3). 将被测材料放置好。

- (4). 勾选 ML, 勾选 Measure, 等待 5~10s 后 Image 会完整显示材料的实时荧光图像。
- (5). 添加兴趣点 (在窗口右侧的 AOI 区域, 先单击 Add, 然后在叶片相应区域单击选定) 可添加多个兴趣点, 也可点击 Reset 全部清空, 或 Delete 删除特定的兴趣点。选择区域之后, 旁边会显示该测量区域的序号及荧光值, 同时按“shift 和+”可以放大 AOI 区域, 单独按“-”可以缩小 AOI 区域, 或者直接使用小键盘的“+”和“-”来调节 AOI 区域的大小。
- (6). ★选择窗口上部 Setting 选项卡, 进行基本设置。通常设置 Meas. Light (测量光) 和 Act. Light (光化光) 即可【设置 Meas. Light 的 intense 和 gain, 经验值:ML 的 int: 2~4 ; gain:2, 使 AOI 区域 (即目标区域旁边显示的红色数值) 的荧光值在 0.1~0.2 之间。 Act Light 可根据需要设置光化光的强度 (注意: 荧光诱导曲线达到稳态后, ΔF 在 F_v 的 1/3~2/3 之间时的光化光强度比较合适, 见图 2), 数字对应的光强在 AL-List 菜单中查看, 一般选用植物生长环境的光强。Act. Light 的 int 值一般在 5~9 (仅供参考), 降低 int 值, 可以提高曲线峰度, 反之则降低。

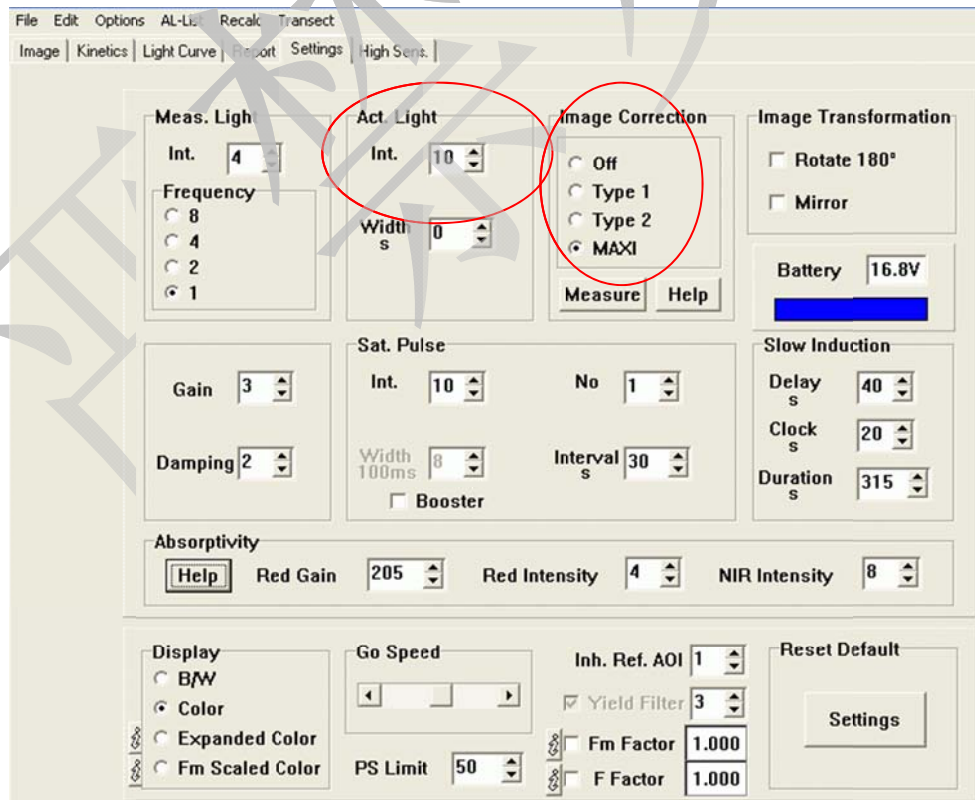


图 1 基本参数设置界面

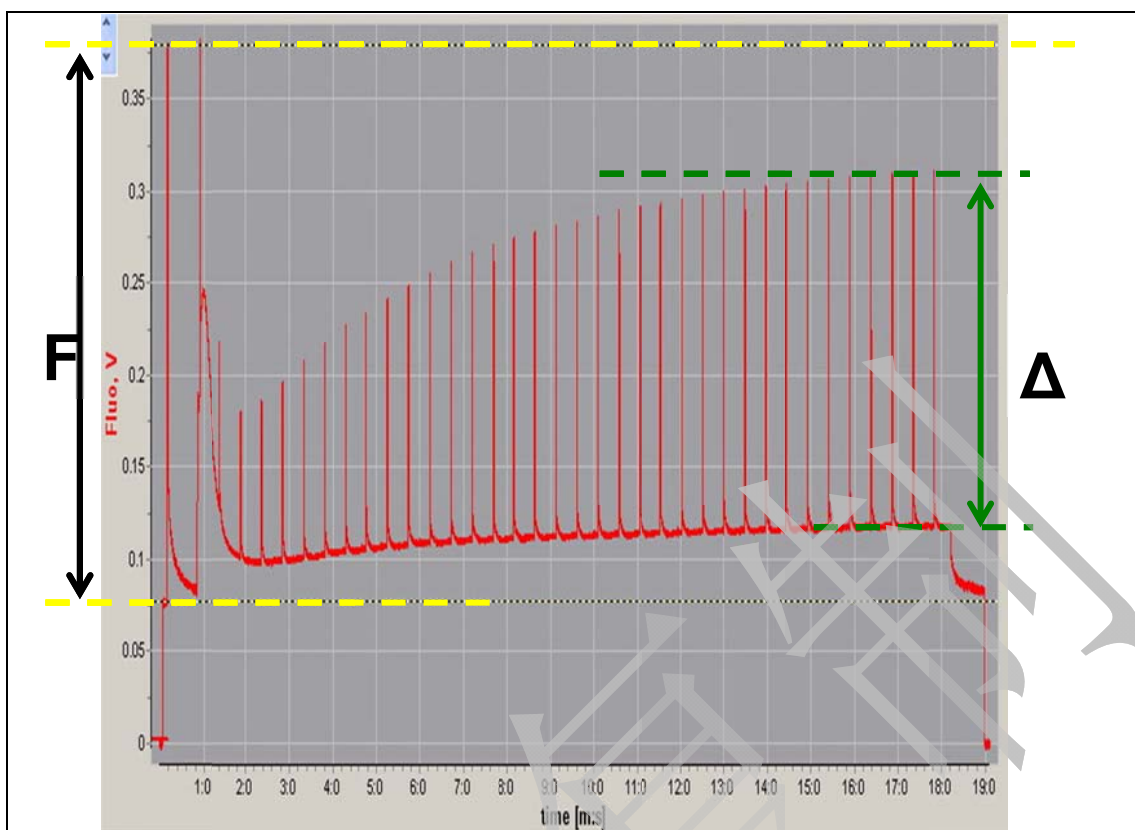



图2 荧光诱导曲线（光化光选择依据）

备注：ML--Measure light；AL--Act light；Int.--Intense；PAR—光照强度 ($\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)；Ext—External Light Source on/off；PS II--光系统 II；F—荧光；Ft—实时荧光；fo—基础荧光；Fm--暗适应后的最大荧光；Fm'--光下最大荧光；Fv—饱和脉冲光导致的荧光产额增加量；NPQ—非光化学淬灭；NO—


5.2 荧光诱导动力学曲线(所有参数)的测量步骤:

- (1). 用黑布将待测叶片或枝条蒙上，暗适应处理 20 分钟以上。（最好开机之前就进行提前处理完毕）
- (2). 选择窗口上部 Kinetic 选项卡，单击窗口右侧的 Start 按钮，仪器开始测定荧光诱导曲线（持续约 5min）。曲线自动测量。窗口上面有一行空白，可根据要求加注实验名称等。
- (3). 结束后，选择窗口上部 Report 选项卡，在窗口右侧选择需要的参数，点击窗口上部的  按钮，将数据导出为 csv 文件（该文件可用 Excel 打开）。健康的对照组可参考的数值区间为 YNQ 为 0.1~0.2，Y（II）为 0.3~0.4。



5.3 单测 Fv/Fm 及 Yield 的步骤:

- (1). 用黑布将待测叶片或枝条蒙上，暗适应处理 20 分钟以上。（最好开机之前就进行提前处理完毕）
- (2). 点击窗口下面的 F0, Fm 按钮，一秒钟之后，最大光量子产量 Fv/Fm 测量完毕。
- (3). 将窗口下面的 AL（光化光）前的方框打钩，打开光化光。
- (4). 待荧光值稳定后（大约三到五分钟），点击窗口下面的“SAT-PULSE”，即可测量 Yield 及其他所有参数。**所有操作请尽量用黑布将测量头遮盖，避免外界光对实验的影响。**

5.4 快速光曲线的测量：

- (1). 选择窗口上部 Light Curve 选项卡，单击窗口右侧的 Edit 按钮，打开光强列表，在 intense 一列中更改光强梯度，由小到大进行设置（对应的 PAR 强度会自动更改），在时间一栏一般填 2 或 3。选为 0 表示软件运行到该光强会自动停止。点 OK 设置完毕。
- (2). 点击 Start 按钮，一起开始测定快速光响应曲线。（如弹出要求保存数据可根据需要保存）。窗口上面有一行空白，可根据要求加注实验名称等。
- (3). 结束后，选择窗口上部 Report 选项卡，在窗口右侧选择需要的参数，点击窗口上部的  按钮，将数据导出为 csv 文件（该文件可用 Excel 打开）。

5.5 实验数据的导出保存：

- (1). **测量数据导出：**选择窗口上部 Report 选项卡，在窗口右侧选择需要的参数，点击窗口上部的  按钮，将数据导出为 csv 文件（该文件可用 Excel 打开）。
（注意，文件打开之后需要进行分列。具体方法是：将第一竖列数据选中，点击工具栏中的“数据”——）“分列”——》“按照分隔符”——》分号前打钩——》完成）。
- (2). **图片导出：**选择窗口上部 Imag 选项卡，在软件绿色 measure 前取消“对勾”，选择所要的参数的图片，然后在左下角选择测定的时间，点击旁边的  按钮，即可保存出图片。
- (3). **测量原始文件导出与保存：**点击窗口左下面的文件保存图标，即可保存为 PIM 文件。该文件含所有实验测定时的数据，可用 IMAGWIN 软件重新打开。

六、注意事项

测定完成并数据保存之后，先关软件，然后关机，再将电源线从插线板上拔出。

七、技术支持

售后服务电话：

联系人：刘丽萍 18367121691