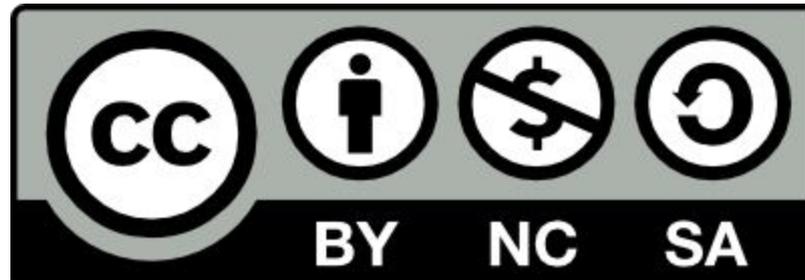


Este trabajo tiene licencia bajo CC BY-NC-SA 4.0.

Para ver una copia de esta licencia, visite:

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Para materiales traducidos, le sugerimos dar crédito al autor(es) original y a (los) traductor(es).



# Teoría de los instrumentos de intercambio de gases

Cómo funciona el  
LI- 6800 y qué  
puede decirle

Copyright © 2019 LI-COR, Inc. Todos los derechos reservados.  
Póngase en contacto con LI-COR para obtener permiso de  
redistribución.

Usado con permission de LICOR (Noviembre, 2023)

**LI-COR**<sup>®</sup>

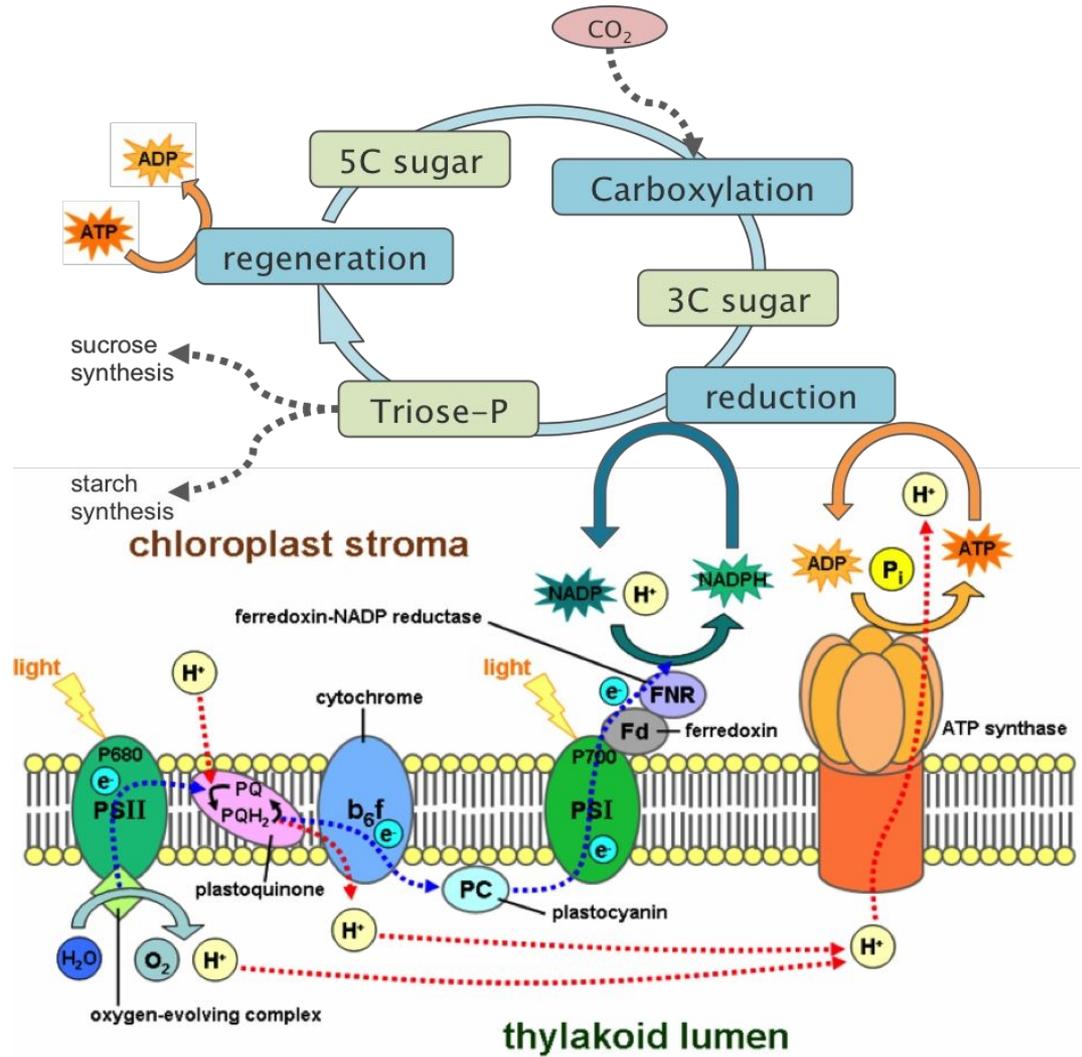
Traducido por Tyler Roman (usando DeepL Translate), Ana Maria Restrepo Acevedo, y Camilo Rey-Sanchez (tyler.roman@fs-ip.us, anarestrepo@utexas.edu, areysan@ncsu.edu)

# ¿Cómo se mide la fotosíntesis?

- Fotosíntesis

- Intercambio de gases

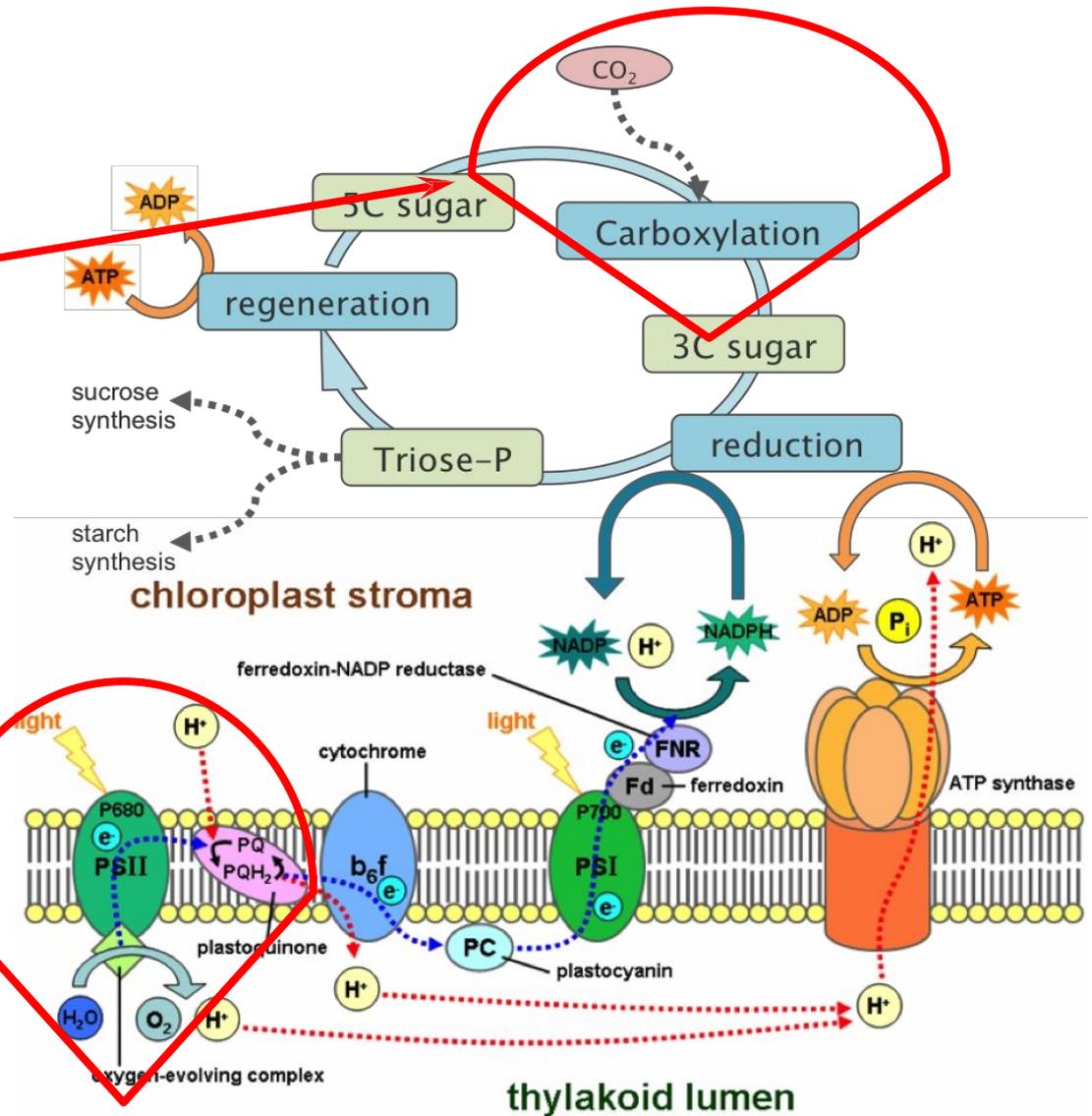
- Asimilación



# ¿Cómo se mide la fotoquímica?

Intercambio de gases

Fluorescencia de la clorofila



# ¿Cómo se mide el intercambio gaseoso?

- Primero hay que medir la concentración de uno o varios gases

$$A'_{(\nu)} = 1 - e^{-k_{(\nu)}wl}$$

$w$  = densidad del  
absorbedor  
 $l$  = longitud de la  
trayectoria  
 $\nu$  = longitud de onda

$A'$  = absorción de la luz  
 $k(\nu)$  = coeficiente de  
absorción

# ¿Cómo se mide el intercambio gaseoso?

- Absorción de infrarrojos por gases

$$\alpha + T = 1$$

$$\alpha = 1 - T$$

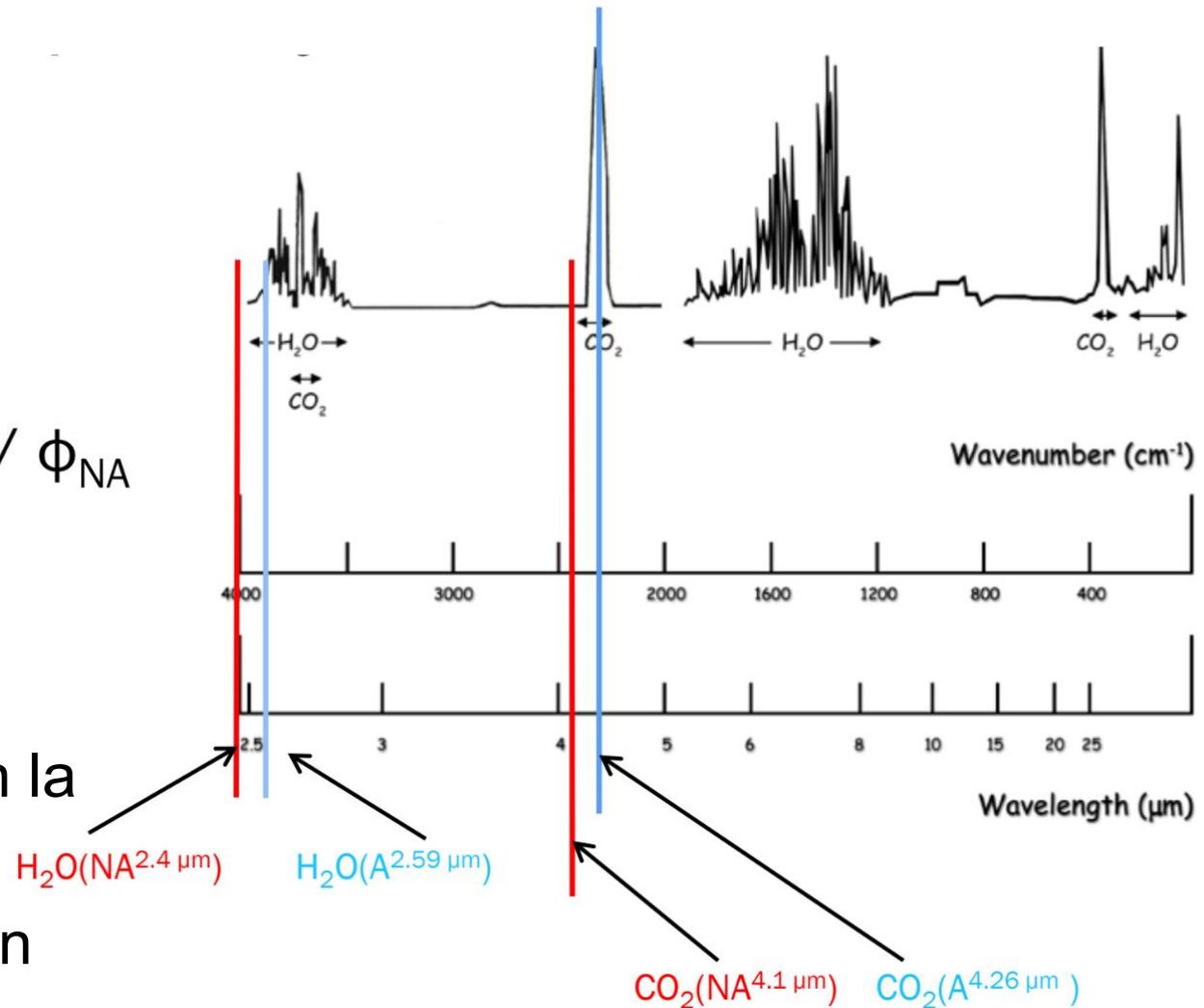
$$\alpha = 1 - \frac{\Phi_A}{\Phi_{NA}}$$

$\alpha$  = absorbancia

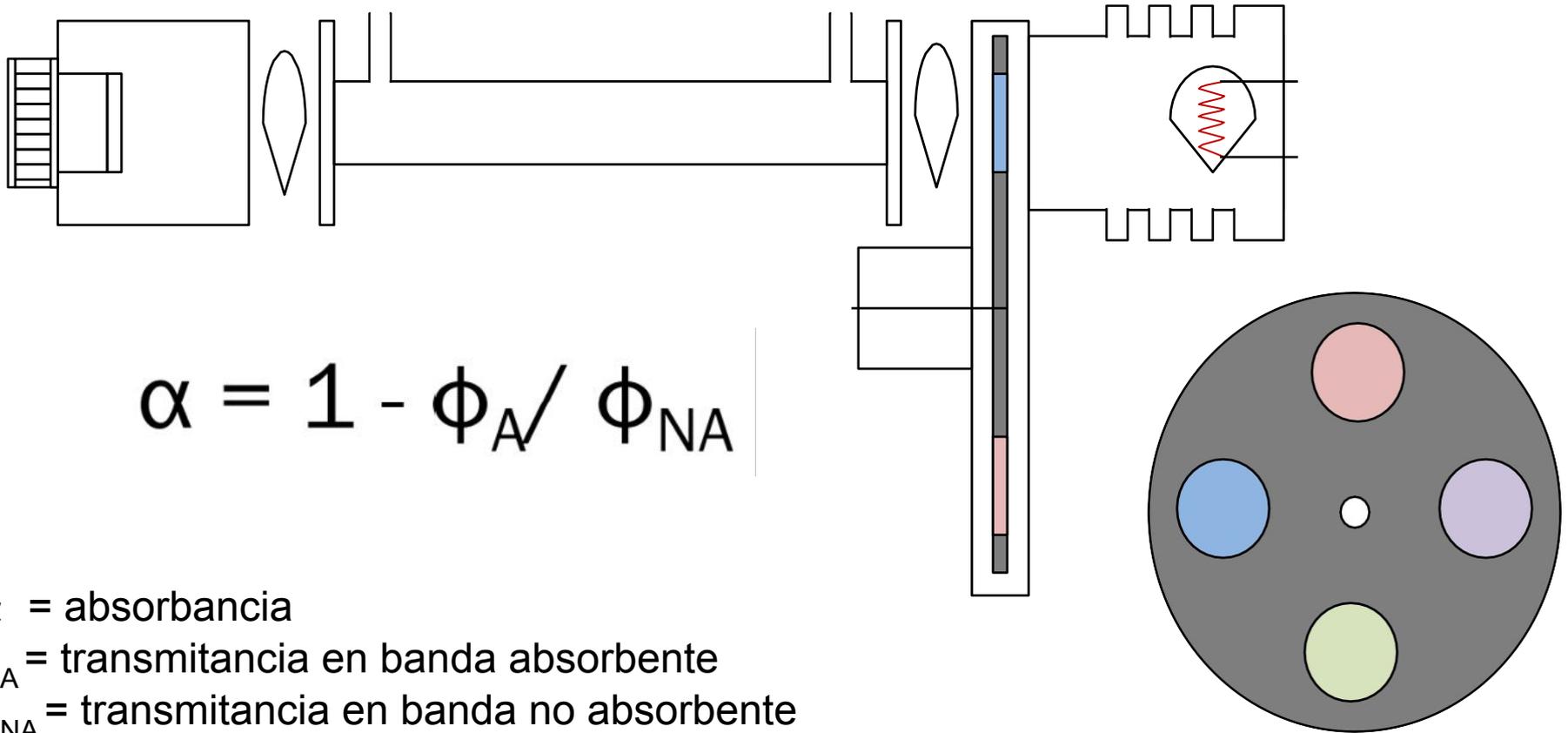
$T$  = transmitancia

$\Phi_A$  = transmitancia en la región absorbente

$\Phi_{NA}$  = transmitancia en región no absorbente

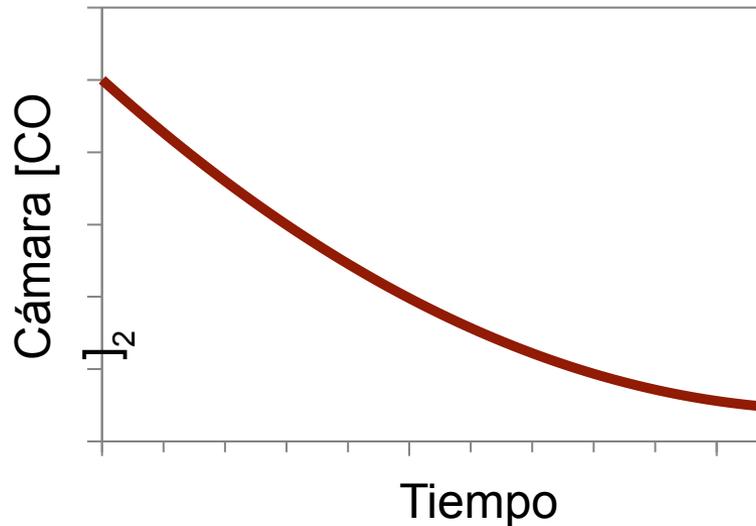


# IRGA diferencial óptico básico



# Sistemas de intercambio de gases

- Transitorios cerrados
- Compensación



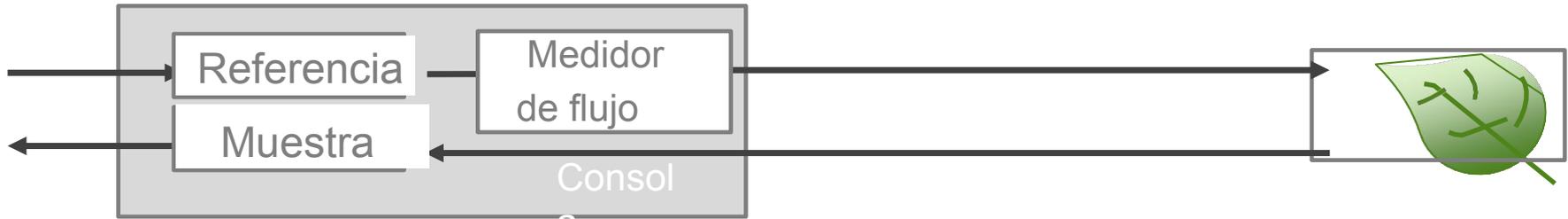
# Sistemas de intercambio de gases

- Transitorios cerrados
- Compensación
- Flujo abierto 'a través de'

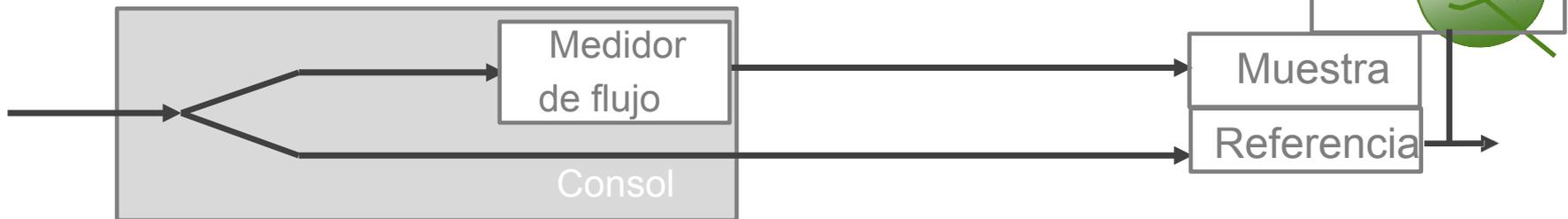


# Flujo del sistema

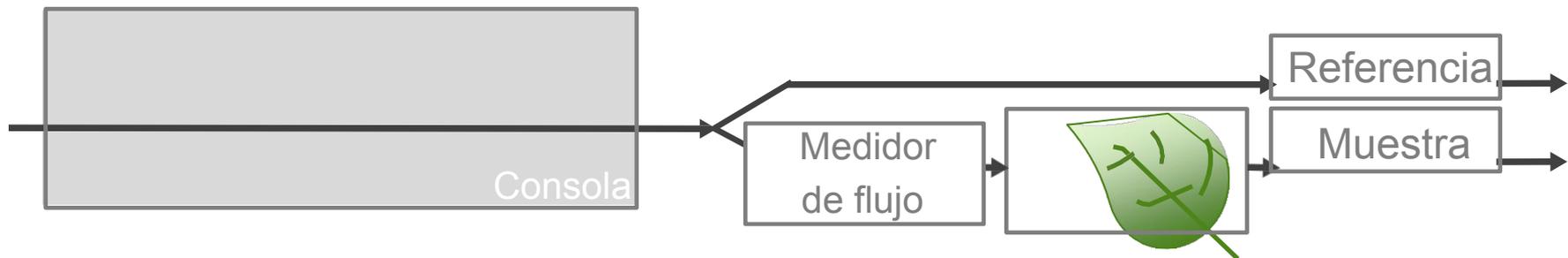
Sistema abierto tradicional



LI- 6400/XT



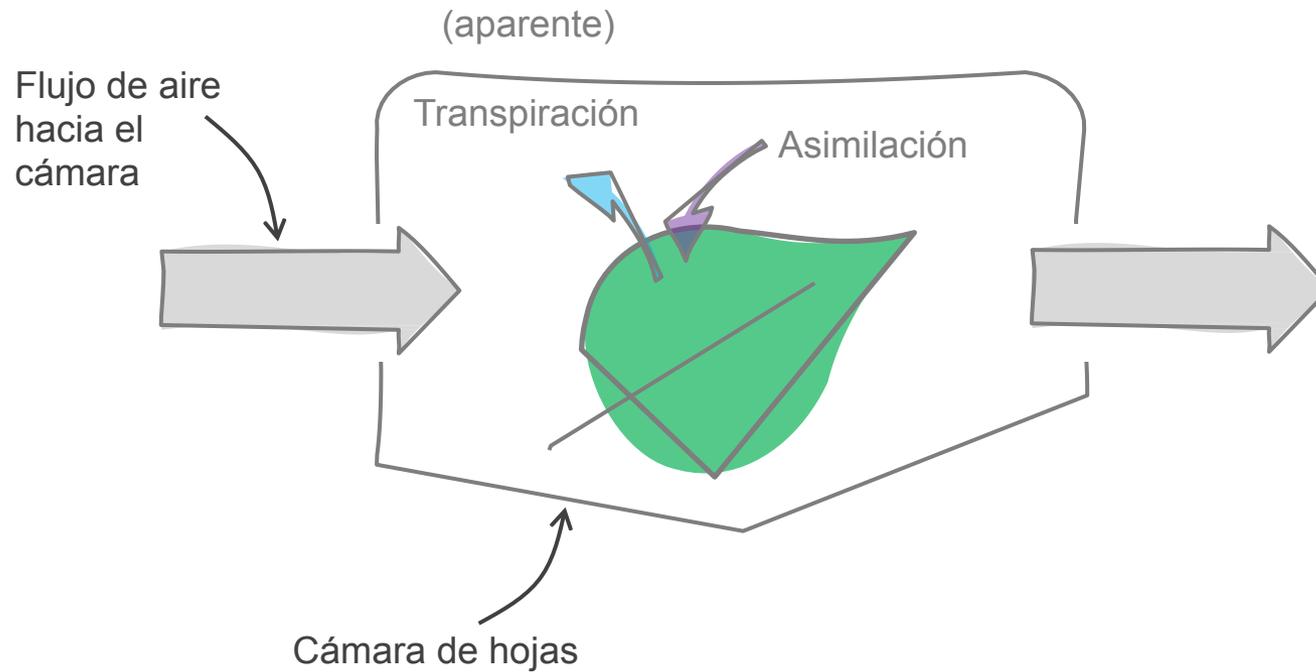
LI-680



# Parámetros básicos *calculados*

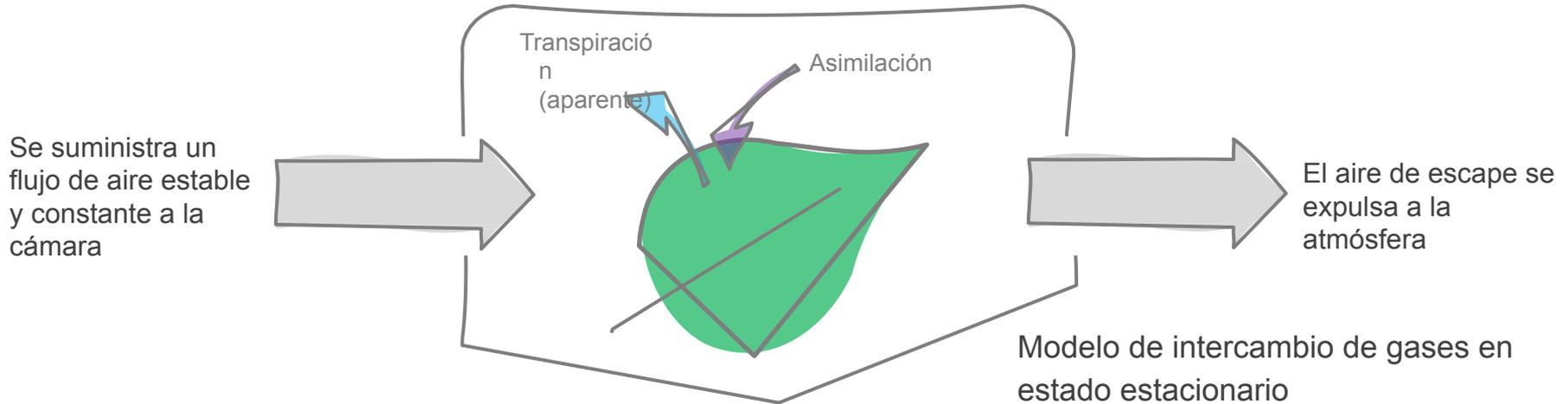
- Flujos a partir del balance de masas
  - A - Tasa de asimilación
  - E - Tasa de transpiración aparente
- Parámetros adicionales
  - $g_{sw}$  - Conductancia estomática al vapor de agua
  - $C_i$  - Concentración intercelular de CO<sub>2</sub>

# Equilibrio de masas en un sistema abierto



# Balance de masas para el intercambio de gases

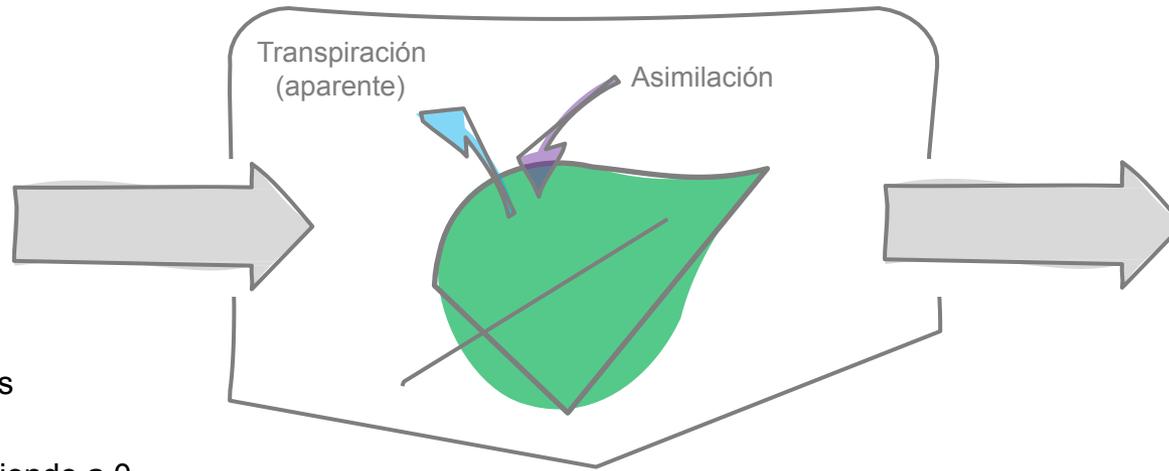
Modelo de intercambio de gases en estado estacionario



$s$  = Superficie de la hoja  
 $f_x$  = Flujo de gas x

$U_{in}$  = Caudal de aire molar que entra en la cámara.  
 $U_{out}$  = Caudal molar de aire que sale de la cámara.  
 $X_{in}$  = Fracción molar de x que entra en la cámara  
 $X_{out}$  = Fracción molar de x que sale de la cámara.

# Balance de masas para el intercambio de gases



Cuando se cumplen los supuestos de estado estacionario,  $\rho v \frac{dx}{dt}$  tiende a 0

$$Sf_x = u_{out}x_{out} - u_{in}x_{in}$$

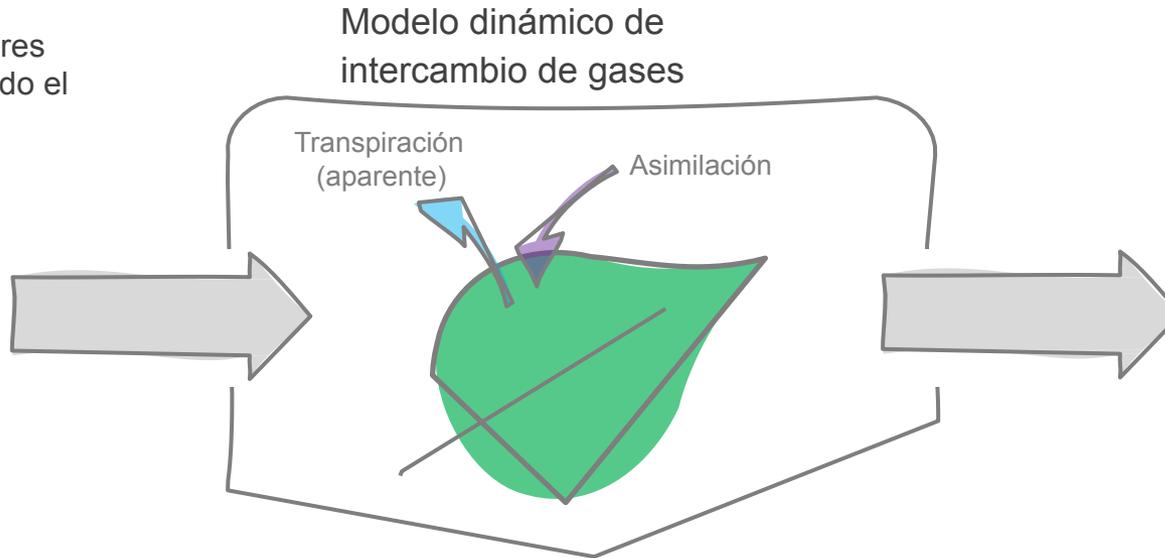
Modelo de gas en estado estacionario

$$Sf_x = u_{out}x_{out} - u_{in}x_{in} + \rho v \frac{dx}{dt}$$

Modelo dinámico

# Balance de masas para el intercambio de gases

Sustituyendo los valores medidos y reordenando el modelo dinámico...



El caudal que sale de la cámara no se mide. Se contabiliza suponiendo que  $u_{out} = u_{in} + sK$ , y E es el único flujo significativo. E es generalmente  $10^3$  o  $10^4 > A$ .

$$E = \frac{u_{in}}{s(1 - w_{out})} \left( w_{out} - w_{in} + \frac{\rho v}{u_{in}} \frac{dw_{out}}{dt} \right) \quad A = \frac{u_{in}(1 - w_{in})}{s} \left( c'_{in} - c'_{out} + \frac{\rho v}{u_{in}} \frac{dc'_{out}}{dt} \right)$$

$E$  = Apparent transpiration

$A$  = Carbon assimilation

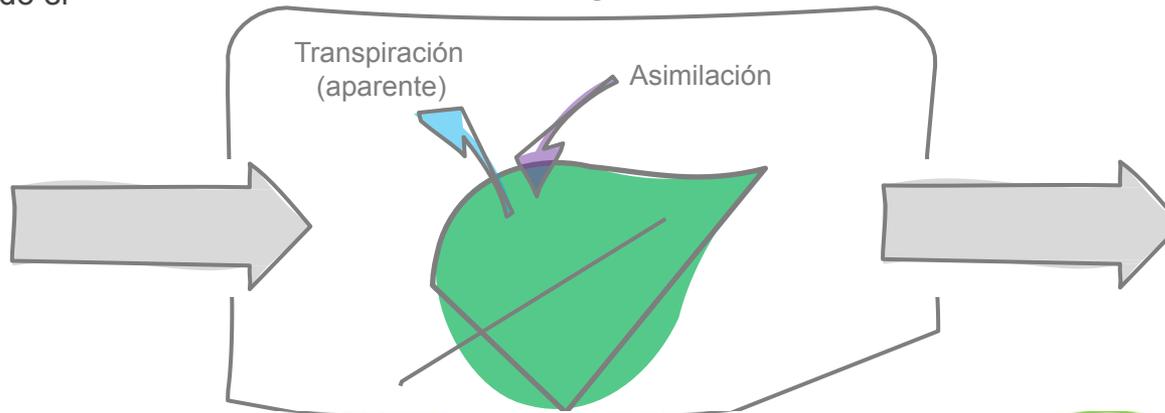
$w_x$  = Water vapor mole fraction

$c'_x$  =  $CO_2$  dry mixing ratio =  $\frac{c_x}{1 - w_x}$

# Balance de masas para el intercambio de gases

Sustituyendo los valores medidos y reordenando el modelo dinámico...

Modelo dinámico de intercambio de gases



El caudal que sale de la cámara no se mide. Se contabiliza mediante suponiendo que  $u_{out} = u_{in} + sK$ , y E es la única flujo significativo. E es generalmente  $^{103}$  o  $^{104} > A$ .

$$E = \frac{u_{in}}{s(1 - w_{out})} \left( w_{out} - w_{in} + \frac{\rho v}{u_{in}} \frac{dw_{out}}{dt} \right)$$

$$A = \frac{u_{in}(1 - w_{in})}{s} \left( c'_{in} - c'_{out} + \frac{\rho v}{u_{in}} \frac{dc'_{out}}{dt} \right)$$

E = Apparent transpiration

A = Carbon assimilation

$w_x$  = Water vapor mole fraction

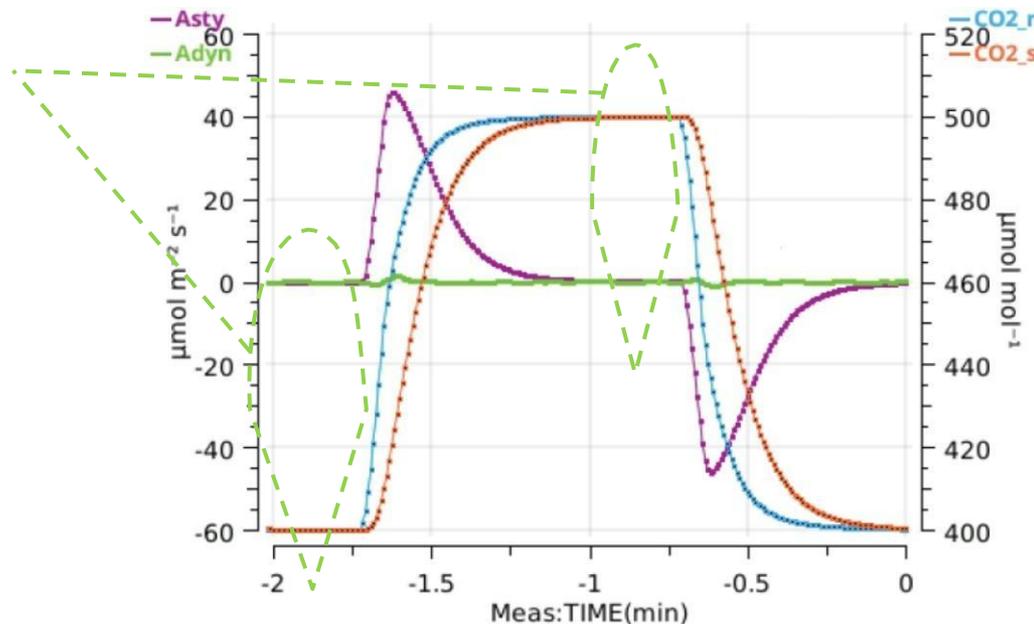
$c'_x$  =  $CO_2$  dry mixing ratio =  $\frac{c_x}{1 - w_x}$

En estado estacionario, los términos transitorios son cero y las ecuaciones son equivalentes a las que se han utilizado siempre en el LI-6400/XT y el LI- 6800

# Estado estacionario frente a dinámico

Ejemplo de datos de una cámara vacía (Asimilación = 0)

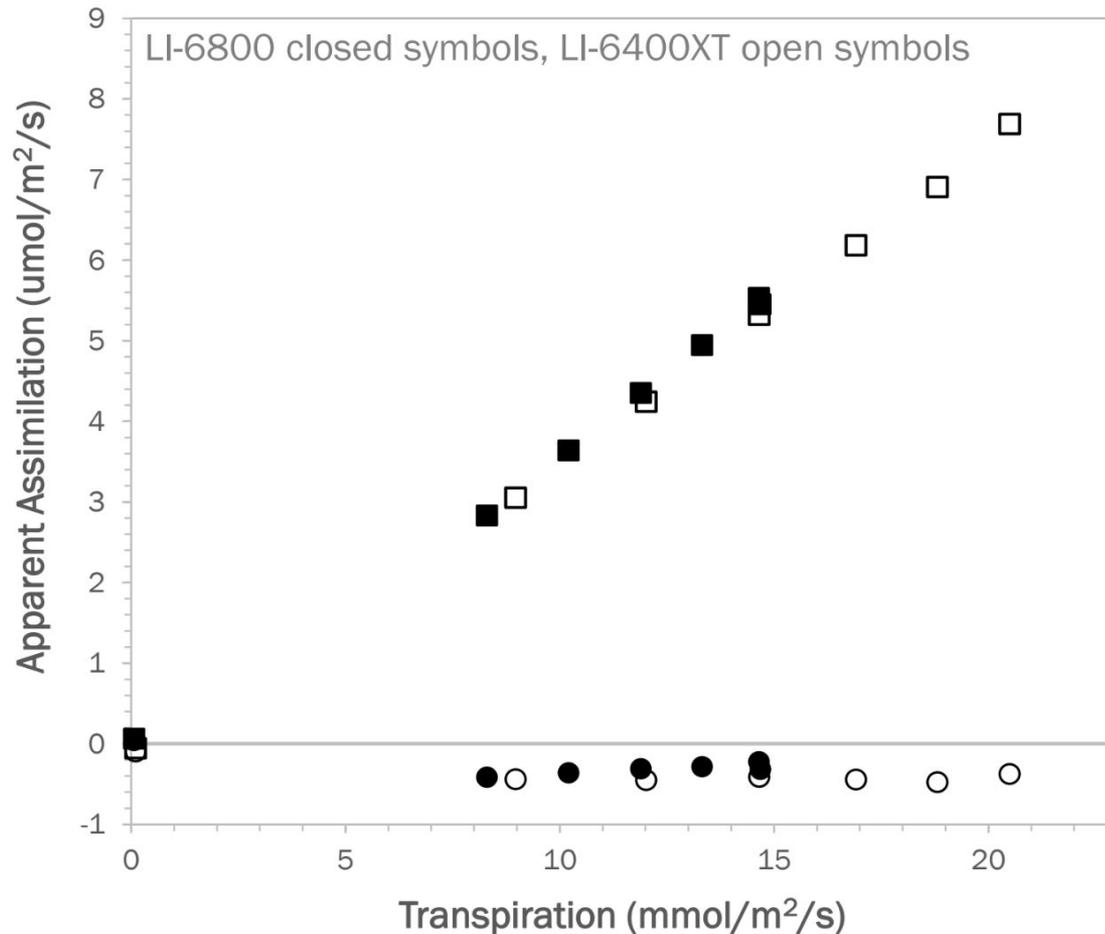
En estado estacionario, el término transitorio es cero y los flujos coinciden



Tras un cambio brusco en el  $\text{CO}_2$  el modelo de estado estacionario da un falso flujo impulsado por el lavado.

El modelo dinámico lo tiene en cuenta y sigue mostrando una asimilación nula.

# Contabilización de la dilución



$$A = \frac{F(C_r - C_s)}{100S}$$

$$A = \frac{\overline{F} \overline{C}_r - C_s \overline{C}}{100S} \frac{1000 - W_r}{1000 - W_s} \frac{\overline{C}}{\overline{C}}$$

# Más sobre correcciones de agua...



APPLICATION NOTE

## The Importance of Water Vapor Measurements and Corrections

Application Note #129

Water vapor is known to influence the measurement of carbon dioxide by infrared gas analysis in several ways, which can lead to significant measurement errors. Spectral cross-sensitivity due to absorption band broadening, and inherent instrument cross-sensitivity can both cause overestimations of CO<sub>2</sub> mole fraction in samples containing water vapor when their effects are not accounted for. Dilution of samples by the addition of water vapor may not be important when measuring actual CO<sub>2</sub> mole fractions, but can lead to significant errors in flux measurements. In this note we describe the basis of each of these three processes and discuss how each can affect the measurement of CO<sub>2</sub>.

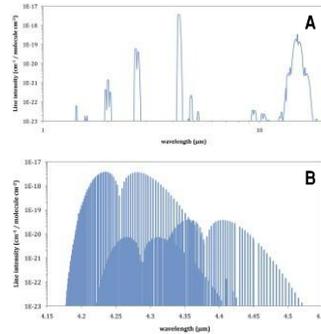
### Infrared Absorption by Gases and Absorption Band Broadening

At the sub-molecular scale the positions of atoms within molecules are not entirely fixed. As they move they stretch and bend their bonds, creating vibrations within the molecule. Energy differences between the possible vibrational states that result from this movement make it possible for the molecule to absorb infrared radiation. Changes in angular momentum as the molecule rotates about its axis can also cause infrared radiation to be absorbed. The energy differences resulting from changes in the vibrational and rotational states of the molecule cause fluctuations in its dipole moment. These oscillations interact with the alternating electrical field of electromagnetic radiation and if the frequencies of oscillation match, the radiation will be absorbed by the molecule.

Since the frequency of oscillation for electromagnetic radiation ( $\nu$ ) is the inverse of its wavelength ( $\lambda=1/\nu$ ) and the various energy states that lead to its absorption by a molecule are the result of the molecule's structure, the absorption of infrared radiation is both wavelength and absorber species dependent. For a given molecular species, absorption of infrared radiation will occur in bands at various wavelengths across the infrared region of the spectrum (Figure 1A). Each of these absorption bands is comprised of individual absorption lines (Figure 1B) that result from rotational transitions, and have a generally Lorentzian line shape described by

$$k(\nu) = \frac{S}{\pi} \frac{\alpha}{(\nu - \nu_0)^2 + \alpha^2} \quad (1)$$

where  $k(\nu)$  is the absorption coefficient  $k$  of radiation at frequency  $\nu$ ,  $S$  is the line strength,  $(\nu - \nu_0)$  is the change in frequency across the absorption line and  $\alpha$  is the absorption line half width.



**Figure 1: Absorption spectrum of CO<sub>2</sub>.** Carbon dioxide absorption data from HITRAN96 (Rothman et al. 1998). A. The absorption spectrum of CO<sub>2</sub> in the infrared region of the electromagnetic spectrum. B. The absorption of CO<sub>2</sub> in the 4.2  $\mu$ m region.

For infrared gas analysis with LI-COR gas analyzers, we are interested in measuring the total absorption of infrared light across a given waveband to determine absorber species concentration. The total absorption measured by the analyzer,  $A$  is in principle the result of integrating the absorption across the entire band as shown by

$$A = \int A'(\nu) d\nu \quad (2)$$

where  $A'(\nu)$  is the absorption of infrared radiation at a given radiation frequency, and is given by Beer-Lambert's Law

$$A'(\nu) = 1 - \exp[-k(\nu)wl] \quad (3)$$

where  $w$  is the absorber concentration and  $l$  is the optical path length (Burch and Williams 1964). These relationships form the basic principles behind

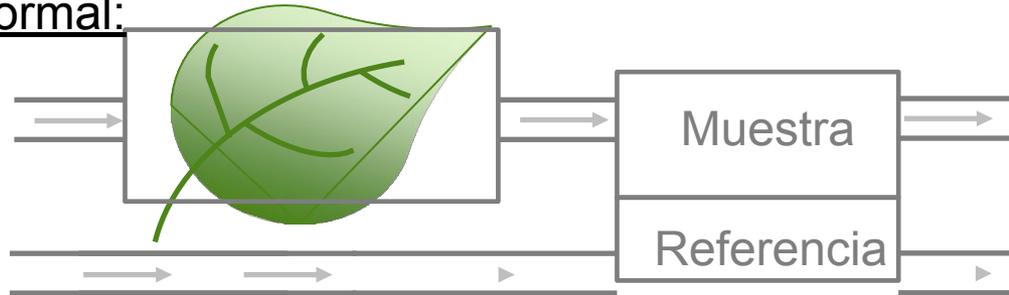
- Explica la base de la ampliación y la presión efectiva
- Derivar las correcciones de dilución
- Cómo funcionan las IRGA

# Emparejamiento de IRGA

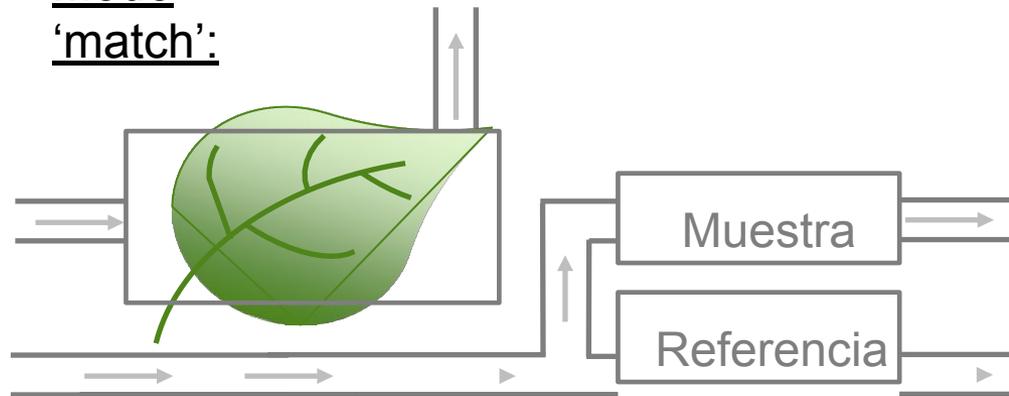
LI-6800

Modo de funcionamiento

normal:



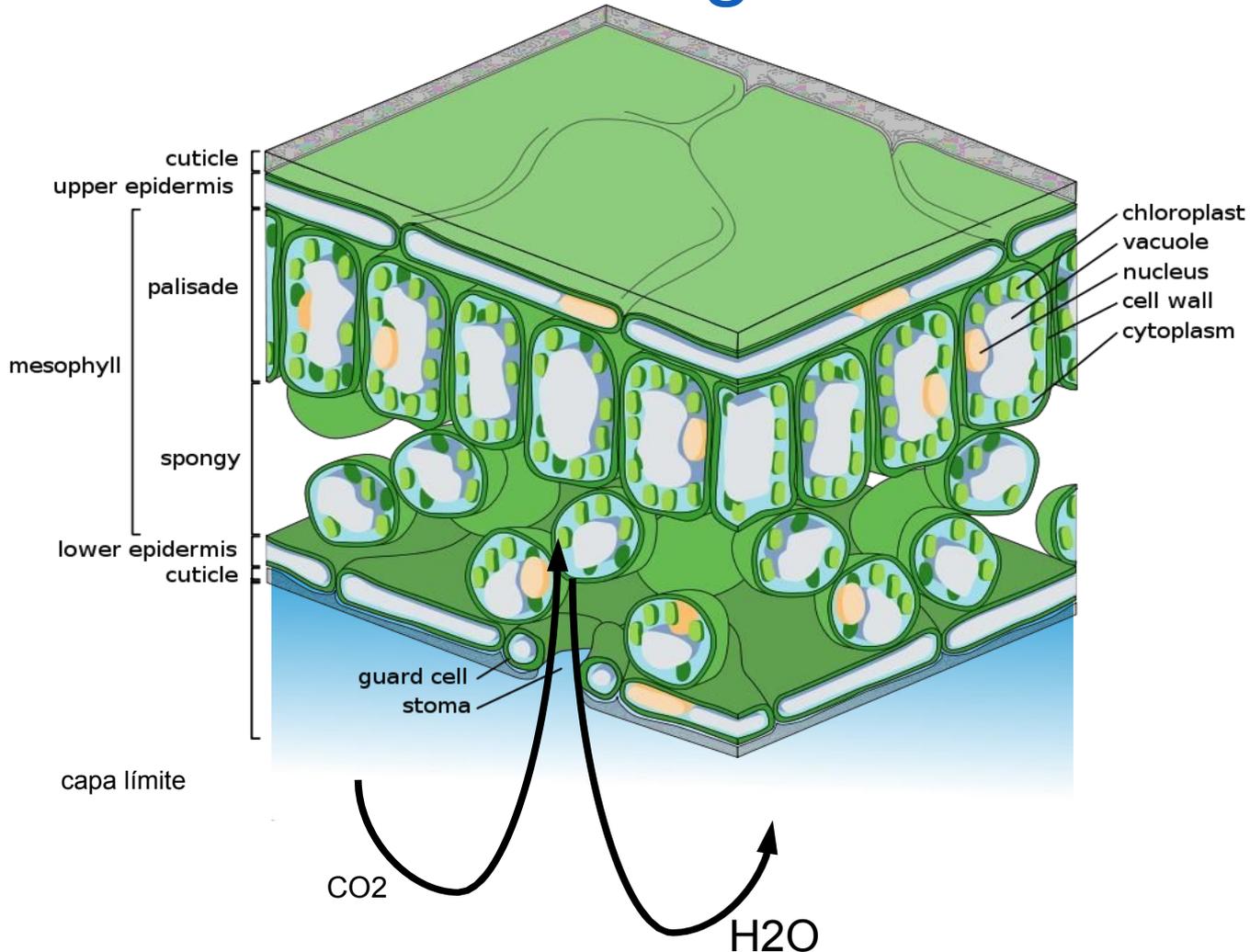
Modo  
'match':



# Parámetros básicos *calculados*

- Flujos a partir del balance de masas
  - A - Tasa de asimilación
  - E - Tasa de transpiración
- Parámetros adicionales
  - $g_{sw}$  - Conductancia estomática al vapor de agua
  - $C_i$  - Concentración intercelular de CO<sub>2</sub>

# ¿Qué más podemos determinar con el intercambio de gases?



# ¿Qué más podemos determinar con el intercambio de gases?

- Primera ley de Fick

$$J_j = -D_j \frac{\partial c_j}{\partial x} = g_j \Delta c_j$$

$J_j$  = flujo

$D_j$  = coeficiente de difusividad

$\partial c_j / \partial x$  = cambio en la concentración

$g_j$  = conductancia

$\Delta c_j$  = gradiente de concentración

# ¿Qué más podemos determinar con el intercambio de gases?

$$\cancel{E} \approx g_{total}^{H_2O} (\cancel{W}_i - \cancel{W}_a)$$

$$\cancel{A} \approx g_{total}^{CO_2} (\cancel{C}_a - C_i)$$

- Medida E y  $w_a$  ( $w_a = w_s$ )
- Medir la temperatura de las hojas
- Calcular  $w_i$
- Despejar  $g_{H_2O}^{total}$
- Medir A y  $C_a$  ( $C_a = C_s$ )
- $g_{CO_2} = g_{H_2O} / 1.6$
- Despejar  $c_i$

# ¿Qué más podemos determinar con el intercambio de gases?

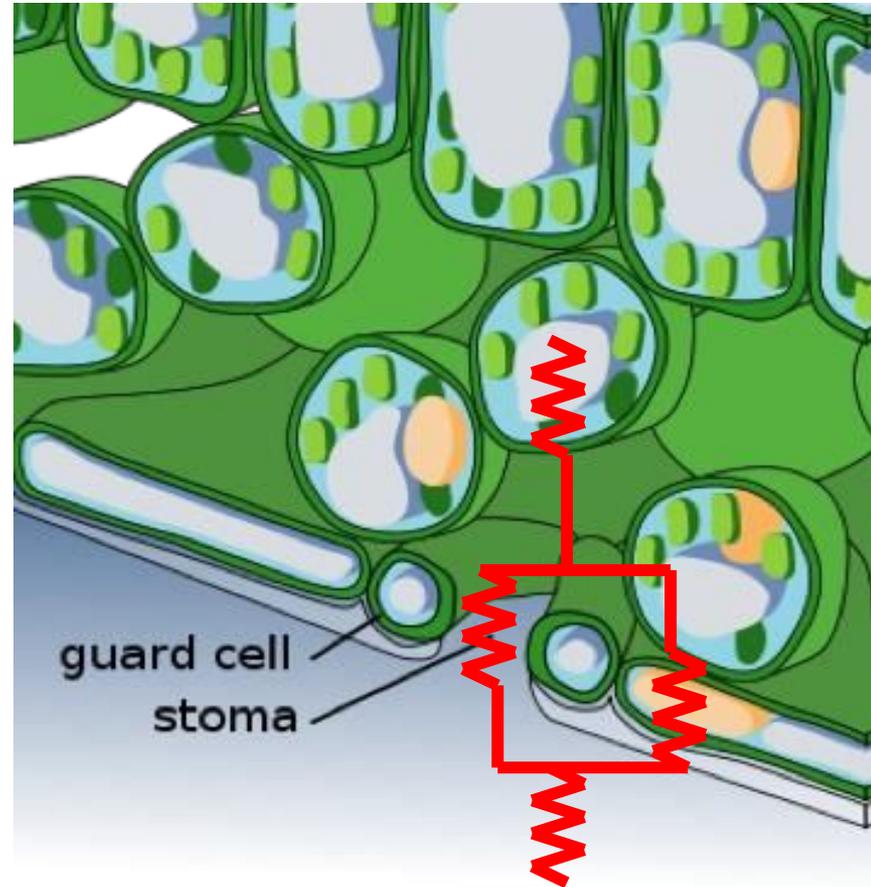
Analogía de la Ley de Ohm

$$r_{total} = r_{bl} + \frac{1}{c} + \frac{1}{r_c} + r_{mes}$$

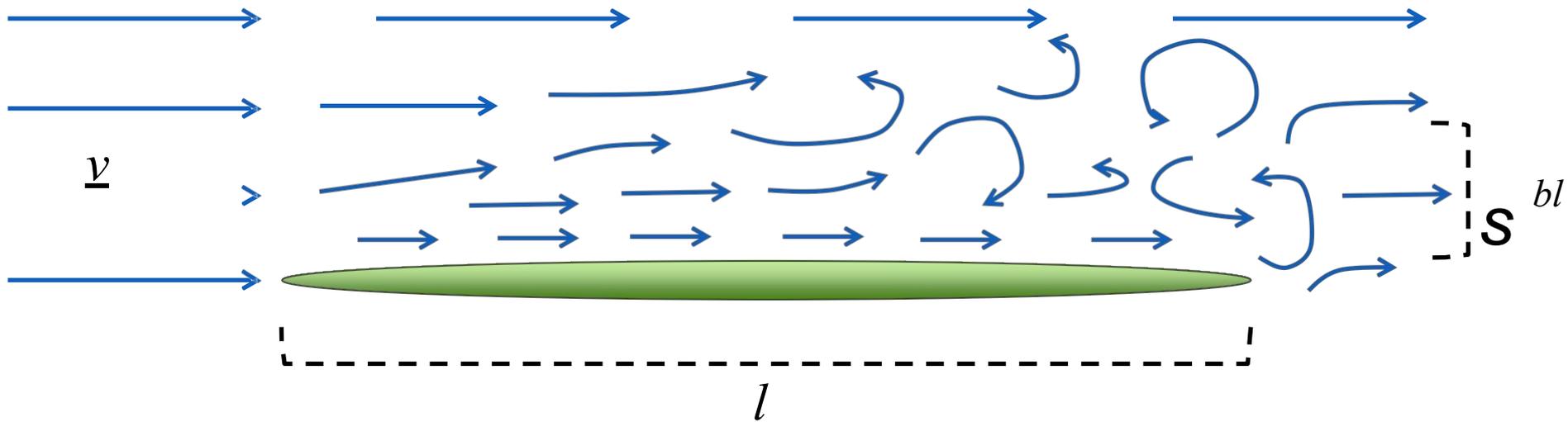
Suposiciones:

- el punto final de la ruta de difusión es el mesófilo superficie
- la resistencia cuticular es casi infinita

$$r_{total} \approx r_{bl} + r_s$$



# Capa límite

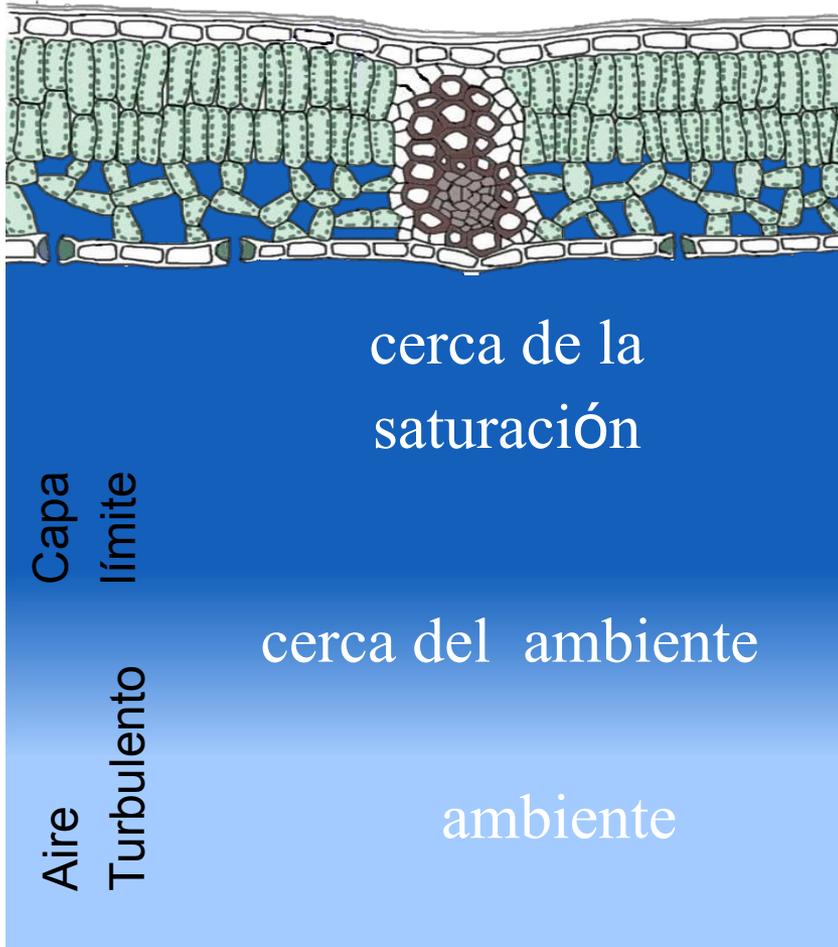


$$s^{bl} = 4 \sqrt{\frac{l}{v}}$$

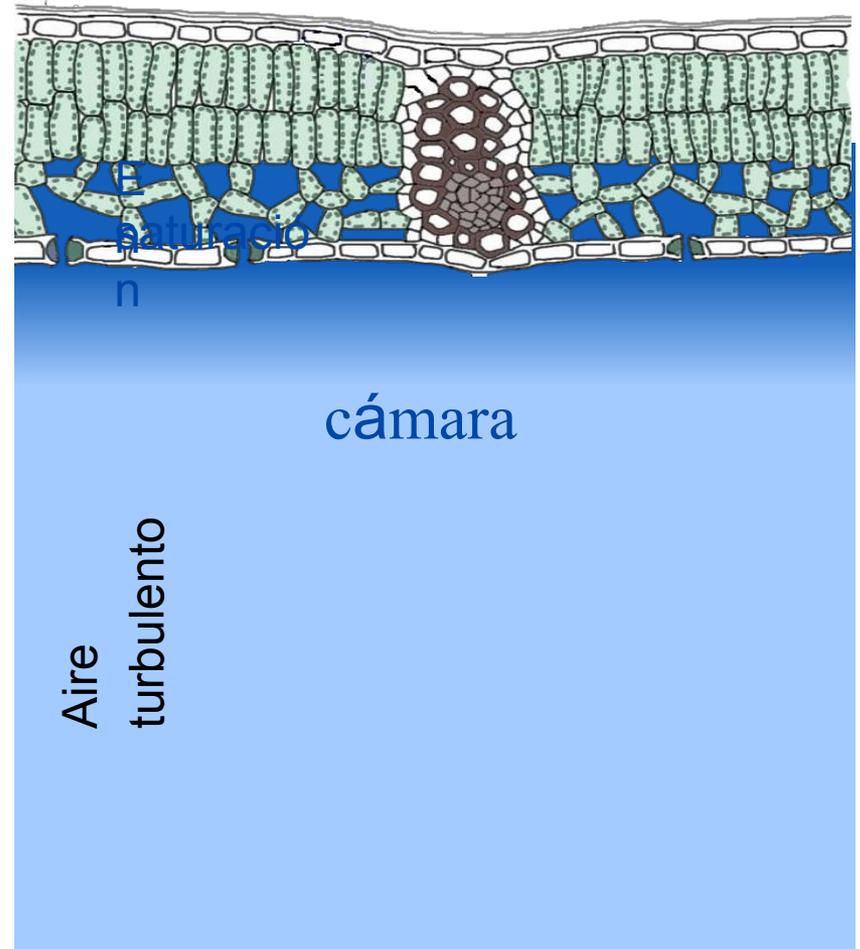
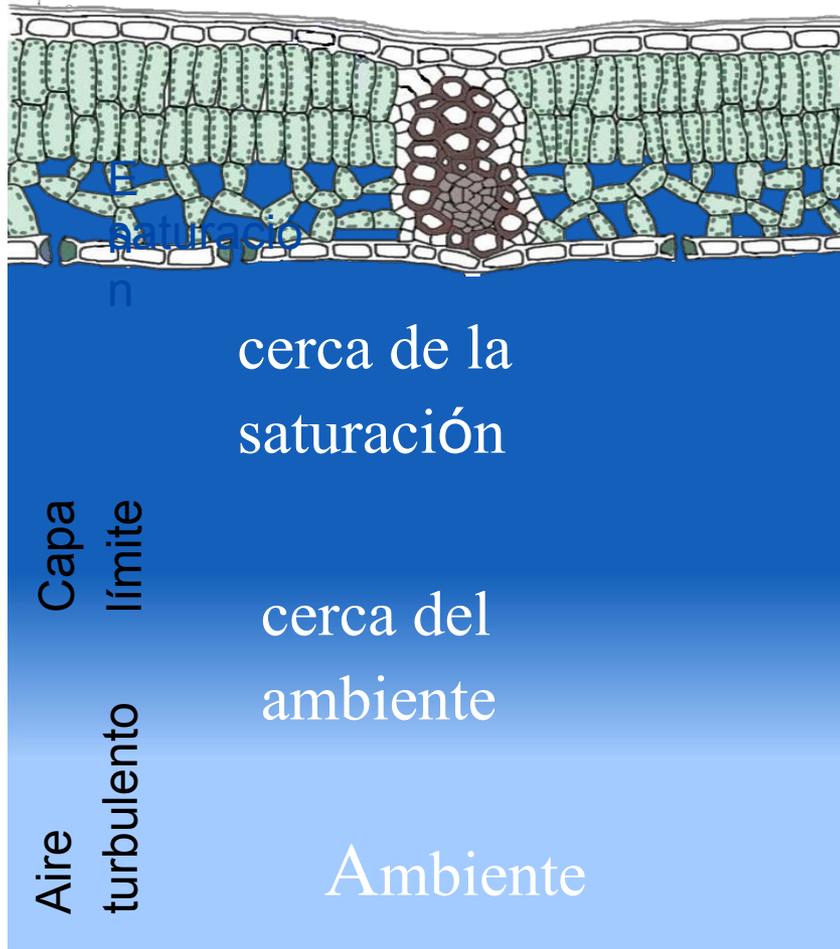
$s^{bl}$  = espesor de la capa límite

$v$  = velocidad del aire

# Condiciones de la capa límite



# Condiciones de la capa límite



# ¿Qué significa esto para hacer mediciones?

- Para H<sub>2</sub>O: condiciones de la capa límite del entorno objetivo.

$$RH (\%) = \frac{e_c}{e_{T_{air}}} * 100$$

$$e_c (kPa) = W_s P$$

$$VPD_{leaf} (kPa) = e(T_{leaf}) - e_c$$

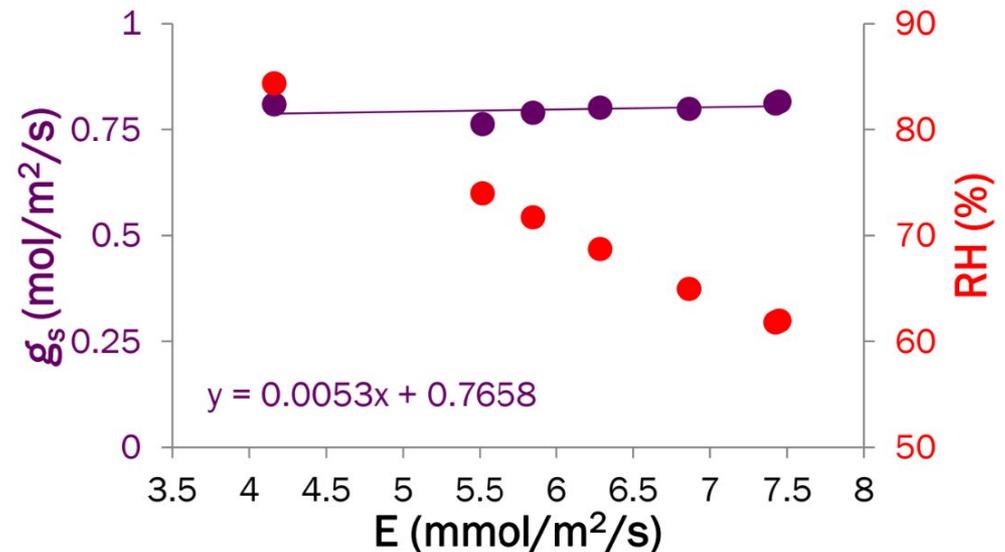
En el LI-6800 utilice VPD constante (1 a 1,5 kPa)

# ¿Qué significa esto para la interpretación de los datos?

- E = Recuento real de moléculas de H<sub>2</sub>O

que salen de la hoja

$$g_s = \frac{E}{(w_i - w_a)}$$



# ¿Qué significa esto para la interpretación de los datos?

- Eficiencia en el uso del agua
- Instantáneo frente a intrínseco

$$W_t = \frac{A}{E} = \frac{A}{g_s (w_i - w_a)} = \frac{A}{g_s D_a} = W_g D_a$$

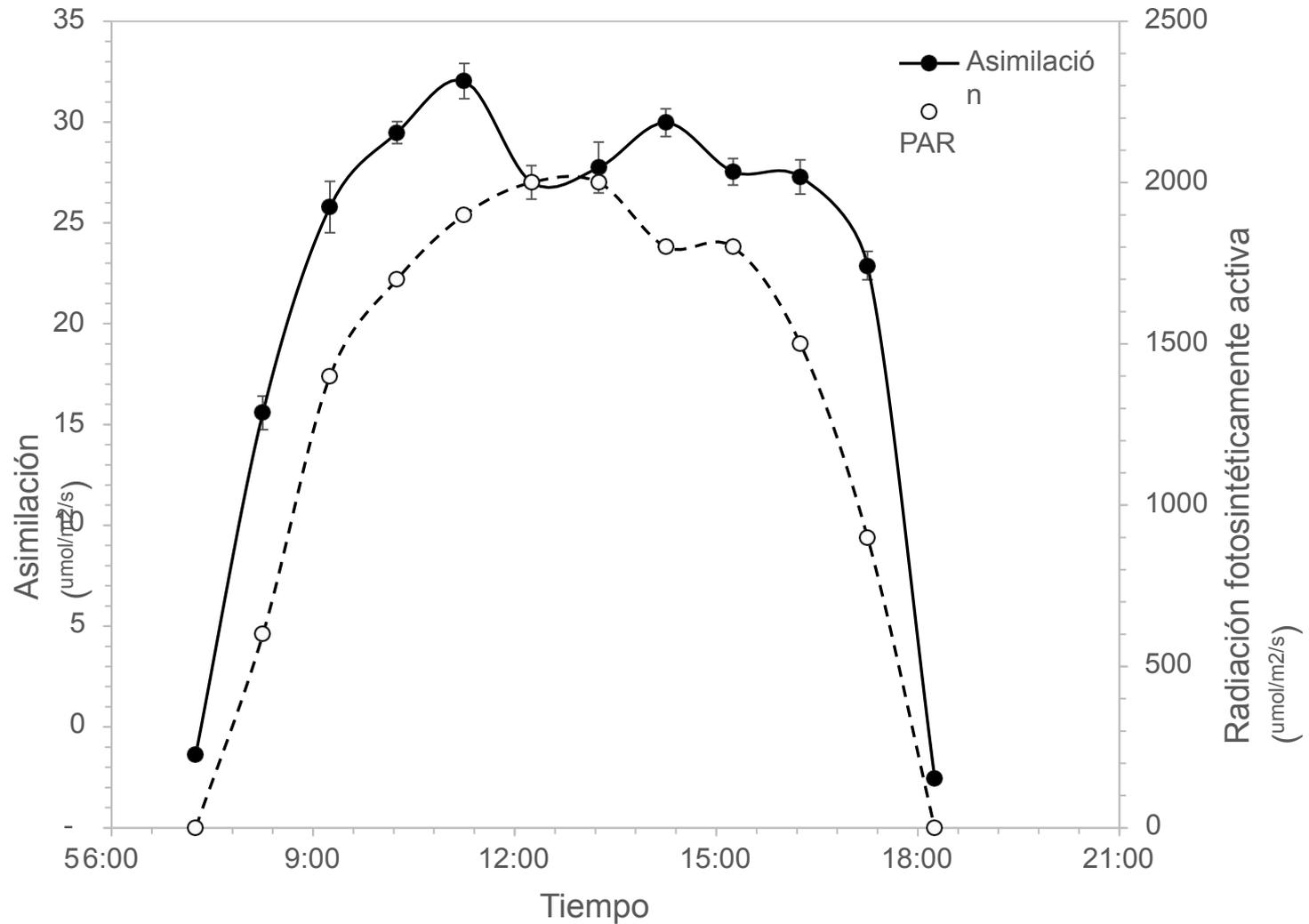
$$W_g = \frac{A}{g_s}$$

Seibt *et al.* 2008. *Isótopos de carbono y eficiencia en el uso del agua: sentido y sensibilidad.* Oecologia

# Las medidas se dividen en dos categorías

- Curva de respuesta - condiciones impuestas
  - Curva de respuesta a la luz
  - CO<sub>2</sub> Curva de respuesta
- Encuesta
  - Imagen *in situ* en condiciones ambientales

# ¿Cuándo hacer mediciones?



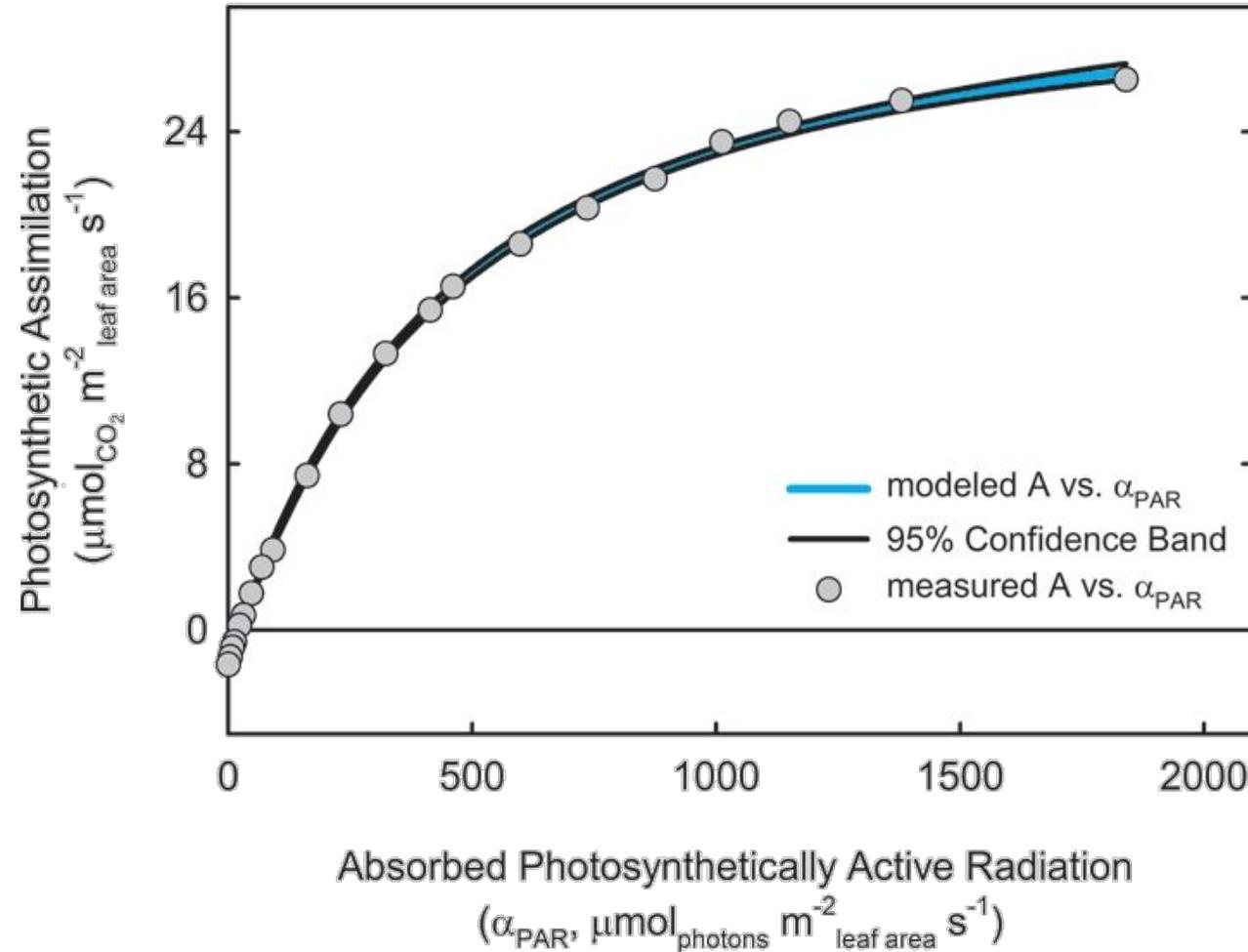
# Curvas $A-C_i$ y AQ

- Respuesta a  $[CO_2]$
- Respuesta a la luz

# Parámetros de la respuesta AQ

$$A_{\text{sat}} = 34.28 \pm 0.778 \quad r^2 = 0.9995$$

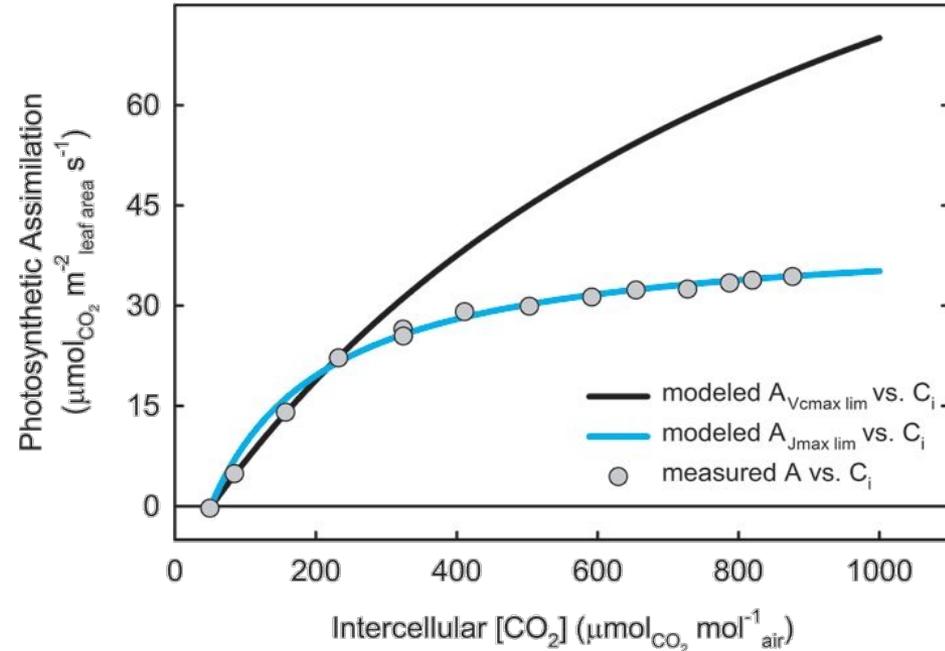
$$R_d = -1.492 \pm 0.117$$



- $A_{\text{sat}}$  - fotosíntesis a luz saturada
- $R_d$  - Tasa de respiración oscura
- LCP - Punto de compensación luminosa
- $\phi$  - Rendimiento cuántico

# Parámetros de la respuesta $A_{ci}$

- $V_{c,max}$  - velocidad de carboxilación
- $J_{max}$  - transporte de electrones para la regeneración de RuBP
- inflexión  $C_i$  - transición de  $V_{c,max}$  a  $J_{max}$
- $I$  - limitación estomática de la fotosíntesis
- $g_m$  - conductancia mesófila
- $\Gamma^*$  - Punto de compensación de  $CO_2$
- TPU - trios-fosfato utilización

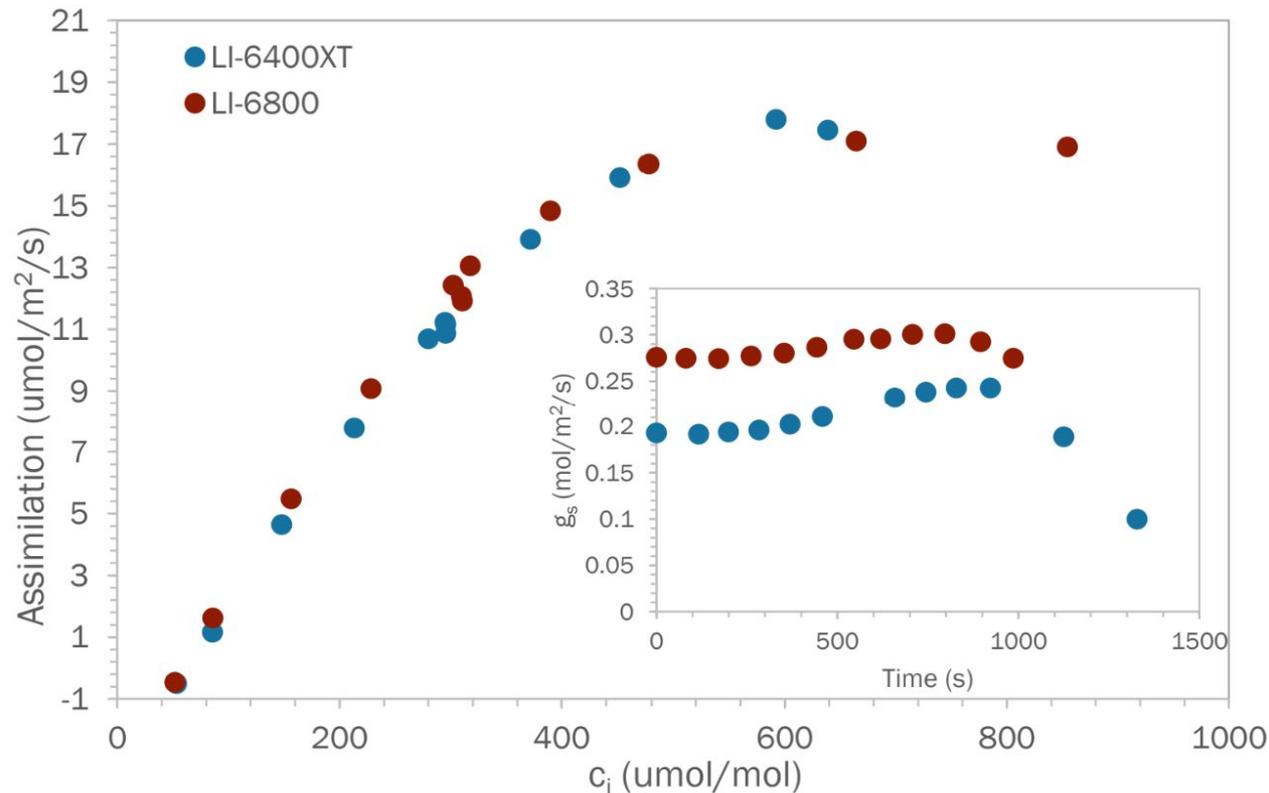


# Consideraciones para las mediciones Aci

- Luz saturada
  - El efecto del  $\text{CO}_2$  sobre la fotosíntesis se confundirá con los efectos de la luz
- Control medioambiental
  - **Referencia** frente a muestra
  - La humedad altera la apertura estomática
  - Control de la temperatura para la cinética enzimática
- Partido en cada punto

# Es importante utilizar pasos temporales cortos

- Desactivación de Rubisco
- Cierre estomático



# Herramientas de ajuste de curvas ACi ACi

PCE\_1710\_ACi curve fitting model.xls

Home | Layout | Tables | Charts | SmartArt | Formulas | Data | Review

Font: Arial, 10 | Alignment: Wrap Text | Number: General | Format: Normal | Cells: Insert, Delete, Format | Themes: Themes

C4 | fx | 28

**A/Ci curve fitting utility version 2007.1**

Instructions for use:  
 1. Enter data in white cells, delete any extra "A" values  
 2. Estimate limiting factors (1= rubisco, 2= RuBP regeneration, 3= TPU)  
 (assign at least one point to limitation 3, enter 0 to exclude points)  
 3. Press the "Solve" button  
 4. Adjust limiting factor if needed (use 0 to disregard a data pair)  
 5. Press the "Save" button to save to your computer and/or  
 6. Cut and paste outputs if desired

Please enter your values:  
 T leaf: 28 °C  
 Patm: 101 kPa  
 O<sub>2</sub>: 21 kPa

Estimate Limiting	Enter A	Enter either c, ppm*	Enter C, Pa
1	-3.27	20.7	2.09
1	3.49	77.5	7.93
1	10.8	135	13.64
1	17.8	197	19.90
0	23.5	266	26.87
0	27.6	344	34.74
2	30.5	428	43.23
2	31.7	517	52.22
2	33	606	61.21
3	33.3	698	70.50
3	33.3	791	79.89

Make no changes here				Error terms		
Calculated Cc	A <sub>0</sub>	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	0.480	0.110	0.000
2.40	-8.62	-7.70	33.30	0.125		
7.50	4.63	8.01	33.30	0.291		
12.61	10.87	16.07	33.30	0.005		
18.21	17.86	21.32	33.30	0.059		
24.64	24.36	25.14	33.30			
32.12	31.31	28.06	33.30			
40.33	37.95	30.23	33.30	0.073		
49.21	44.18	31.87	33.30	0.031		
58.07	49.62	33.08	33.30	0.006		
67.34	54.60	34.04	33.30	0.000		
76.73	59.06	34.79	33.30	0.000		

\* If you enter c, C<sub>i</sub> will be calculated, do not delete equations in the C<sub>i</sub> column

Use solver to minimize this sum of squares: **0.590**

Outputs:

	@ T leaf	@ 25 °C
V <sub>c</sub> max	130	100 μmol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>
J	167	140 μmol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>
TPU	11.4	9.7 μmol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>
R <sub>g</sub>	0.93	0.77 μmol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>
g <sub>m</sub> *	10.53	8.64 μmol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> Pa <sup>-1</sup>

\* R<sub>g</sub> is constrained to be >0 and g<sub>m</sub> is constrained to be 30 or less

To cite this estimating utility:  
 Sharkey, T.D., Bernacchi, C.J., Farquhar, G.D., Singaas, E.L. (2007) In Practice: Fitting photosynthetic carbon dioxide response curves for C3 leaves. Plant, Cell & Environment 30:XXX-XXX  
 Version 2007.1  
[Link to paper](#)

To refresh your copy and for updates to this application please visit [www.blackwellpublishing.com/plantsci/pcecalculation/](http://www.blackwellpublishing.com/plantsci/pcecalculation/)

Sharkey et al. 2015. Lo que los datos de intercambio de gases pueden decirnos sobre la fotosíntesis. Planta, Célula y Medio Ambiente

A/C<sub>c</sub> curve

Legend: ● Acbs, — Rubisco, — RuBP\_regen, — TPU

The graph plots CO<sub>2</sub> assimilation rate (y-axis, -10 to 50) against CO<sub>2</sub> concentration (C<sub>c</sub>, Pa) (x-axis, 0 to 100). The Acbs data points (blue dots) follow a curve that levels off at approximately 35 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>. The Rubisco (red line) and RuBP\_regen (green line) curves are steeper and reach higher assimilation rates at higher CO<sub>2</sub> concentrations. The TPU (yellow line) is a horizontal line at approximately 35 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, indicating that TPU is the limiting factor at high CO<sub>2</sub> concentrations.

# Herramientas de ajuste de curvas ACi

- Leafweb.ornl.gov
  - Plataforma ACi de ajuste de curvas e intercambio de datos
  - Desarrollado y alojado por el Laboratorio Nacional Oak Ridge
- Paquete Plantecophys R
  - Duursma RA. 2015. Plantecophys - *An R package for analysing and modeling leaf gas exchange data*. PLoS ONE

# Otras opciones de cámara para el LI-6800

¡Nuestra discusión sobre  $g_s$  y  $c_i$  hasta ahora se ha basado en suposiciones que se rompen en toda la escala de planta/dosel!



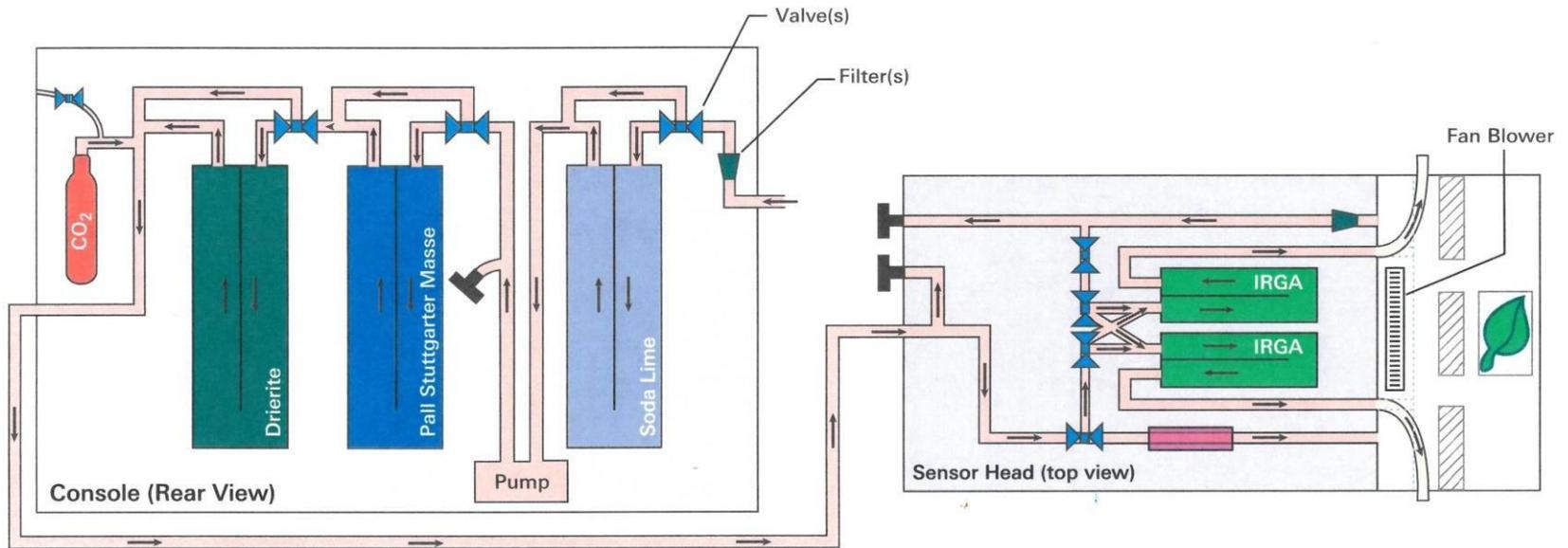
# ¿Seleccionar la cámara adecuada?

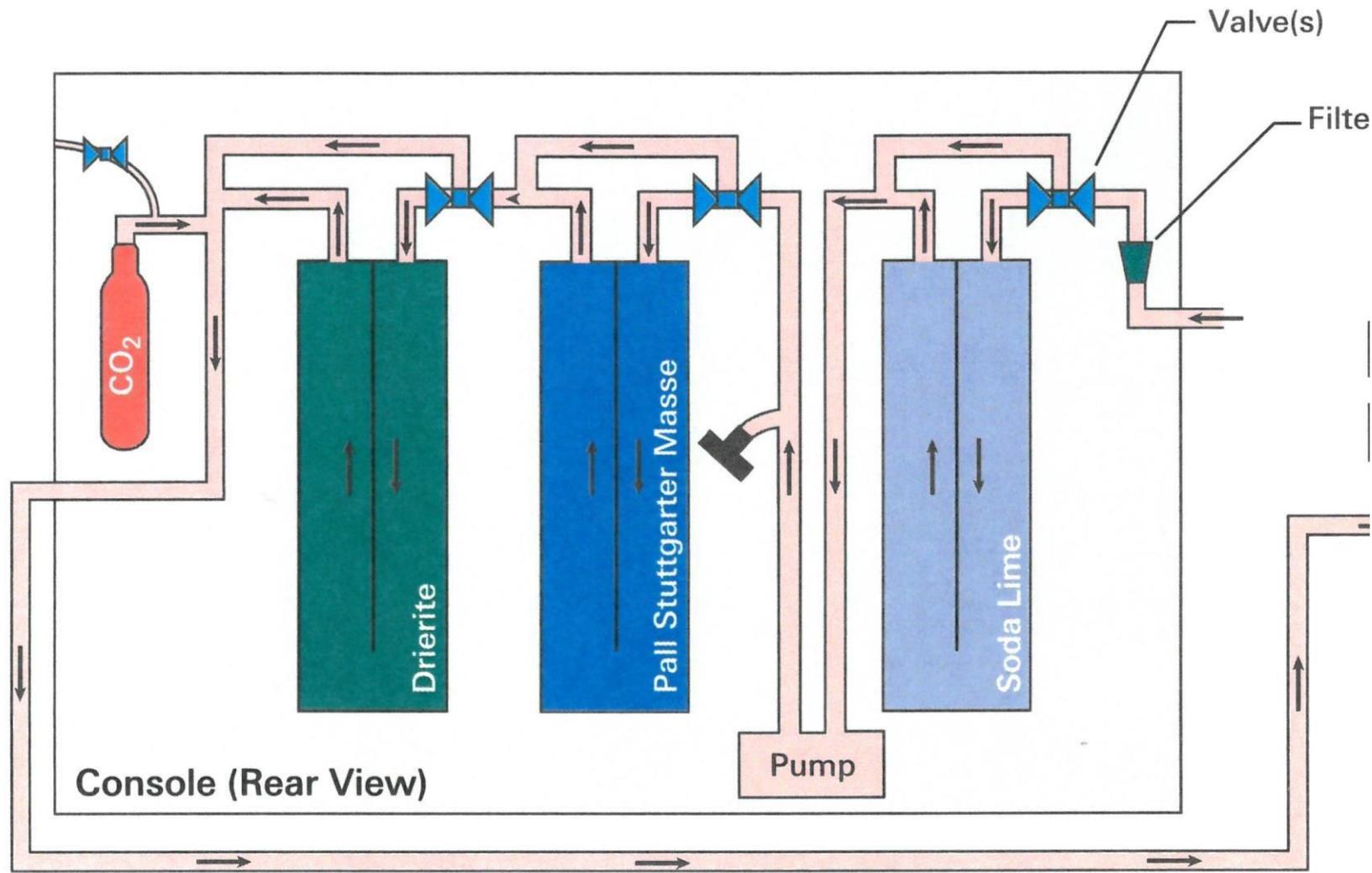
- Apertura de la cámara: ¡más grande puede ser mejor!
- Control de la intensidad luminosa
- ¿Qué datos necesita?

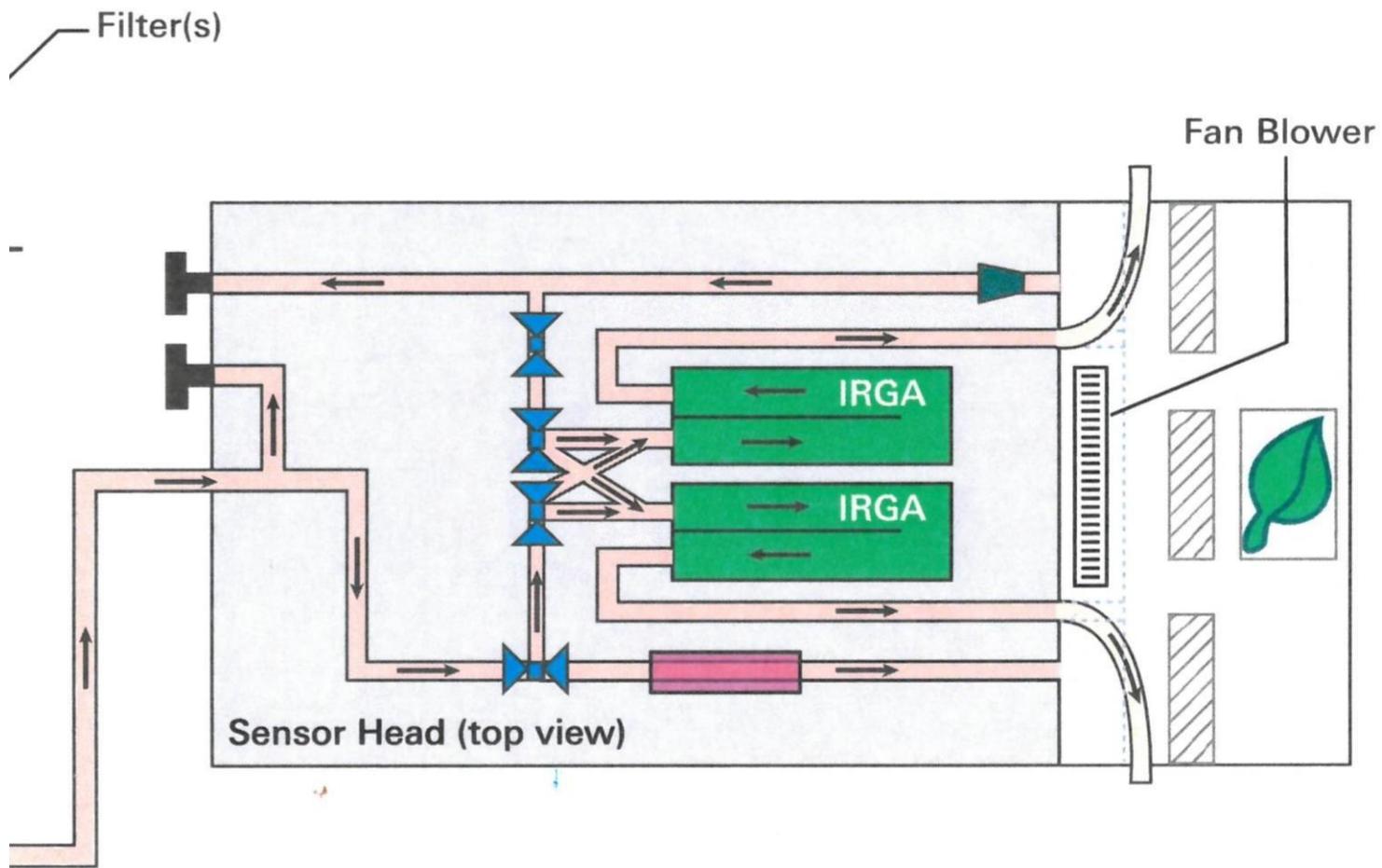


# Ruta de flujo de la consola LI-6800:

Control por software rápido y estable de CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>O







# Leaf photosynthesis and carbohydrate dynamics of soybeans grown throughout their life-cycle under Free-Air Carbon dioxide Enrichment

A. ROGERS<sup>1,4</sup>, D. J. ALLEN<sup>2,3,\*</sup>, P. A. DAVEY<sup>1,2,†</sup>, P. B. MORGAN<sup>2</sup>, E. A. AINSWORTH<sup>1</sup>, C. J. BERNACCHI<sup>2,3</sup>, G. CORNIC<sup>5</sup>, O. DERMODY<sup>2</sup>, F. G. DOHLEMAN<sup>1</sup>, E. A. HEATON<sup>1</sup>, J. MAHONEY<sup>4</sup>, X.-G. ZHU<sup>2</sup>, E. H. DELUCIA<sup>2</sup>, D. R. ORT<sup>1,2,3</sup> & S. P. LONG<sup>1,2</sup>

