

21 世纪生物学基础课系列实验教材

# 植物生理学实验技术

刘 萍 李明军 主编

科 学 出 版 社

北 京

## 内 容 简 介

本书是河南师范大学植物生理学教学组与部分兄弟院校在多年从事实验教学和自编实验指导的基础上完成的。内容包括基础性实验、综合性实验和设计性实验三大部分,涉及植物的水分生理、矿质营养、光合作用、呼吸作用、有机物的转化与运输、植物生长物质、生长生理、生殖生理、成熟与衰老生理、抗性生理,以及植物分子生物学等方面,共62个实验,既有经典的植物生理学实验,又有近年来出现的新技术和新方法。每个实验内容之后都有注意事项和思考题,便于学生完成实验和理解、掌握实验内容。在附录中介绍了植物组织培养常用的几种基本培养基的成分,常用缓冲液的配制方法以及植物生理学中常用计量单位及其换算等,便于读者查阅使用。

本书可供综合性大学、师范院校和农林院校有关专业的大学本科生教学使用,也可作为从事植物生理学教学和研究的教师、研究生及科研人员的参考书。

### 图书在版编目(CIP)数据

植物生理学实验技术/刘萍,李明军主编.—北京:科学出版社,2007

(21世纪生物学基础课系列实验教材)

ISBN 978-7-03-020290-1

I. 植… II. ①刘…②李… III. 植物生理学-实验-高等学校-教材 IV. Q945-33

中国版本图书馆CIP数据核字(2007)第174360号

责任编辑:陈 露 朱 强/责任校对:连秉亮

责任印制:刘 学 /封面设计:耕者设计工作室

科 学 出 版 社 出 版

北京东黄城根北街16号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

江苏省句容市排印厂印刷

南京理工出版信息技术有限公司照排

科学出版社发行 各地新华书店经销

\*

2007年12月第 一 版 开本:B5 (720×1 000)

2007年12月第一次印刷 印张:14

印数:1—3 200 字数:267 000

定价:23.00元

## 《植物生理学实验技术》编写人员

主 编 刘 萍 李明军

副主编 李成伟 刘怀攀

编 者 (以作者姓氏笔画为序)

丁义峰 刘怀攀 刘 萍

刘海英 李成伟 李明军

张晓丽 赵喜亭 崔长海

# 前 言

植物生理学是生物学领域中实验性极强的学科之一。植物生理学实验作为其教学的重要组成部分,不仅可加深学生对理论和实验基本原理的理解、训练学生的操作技能,而且在培养学生严谨的科学作风、提高学生分析和解决问题的能力及独立工作能力等方面均具有十分重要的作用。为适应 21 世纪我国高等院校植物生理学教学改革和发展的需要,河南师范大学植物生理教学组联合部分兄弟院校,在历年实验教学经验和自编实验指导的基础上,参阅近年来国内外植物生理学实验教材和相关文献,在刘萍教授和李明军教授的主持下,集体编写了这本植物生理学实验教材。

本书实验内容系统全面,包括基础性实验、综合性实验和设计性实验三部分,涉及植物的水分生理、矿质营养、光合作用、呼吸作用、有机物的转化与运输、植物生长物质、生长生理、生殖生理、成熟与衰老生理、抗性生理,以及植物分子生物学等方面的内容,共 62 个实验。附录部分包括植物组织培养常用的几种基本培养基、常用缓冲液的配制方法及植物生理学中常用计量单位及其换算表等,以便读者查阅。本书可供综合性大学、师范院校和农林院校有关专业的大学本科生使用或参考,还可作为从事相关教学的教师、相关研究的科研人员和研究生的参考书。

本书在编写的过程中,借鉴了国内外近年来出版的一些新教材和新文献,既注重经典和传统的实验,又注意吸收近几年出现的新技术和新方法,力求文字简洁,内容条理,方便阅读。本书在编写和出版过程中得到了河南师范大学生命科学学院和科学出版社的大力支持,在此深表谢意。同时,也向书中所有参考文献的作者一并表示衷心的感谢。

本书基础性实验 7、23,综合性实验 11、22、26 和设计性实验 1(XI)由河南师范大学刘萍编写;基础性实验 4、26、32,综合性实验 7、20、24,设计性实验 2 和附录 1 由河南师范大学李明军编写;基础性实验 2、8、16、19、25、30,综合性实验 8、10、16、17,设计性实验 1(III、X)和附录 2、4、9、11 由商丘师范学院李成伟编

写;基础性实验 3、13、14、18,综合性实验 2、4、13,设计性实验 1(Ⅳ、Ⅴ、Ⅷ)和附录 5、12 由周口师范学院刘怀攀编写;基础性实验 15、22、29,综合性实验 3、23,设计性实验 1(Ⅵ)和附录 8 由河南师范大学赵喜亭编写;基础性实验 1、5、10、21、27,综合性实验 1、5、14、25,设计性实验 1(Ⅰ、Ⅱ)、3、4 和附录 3、6 由河南师范大学刘海英编写;基础性实验 6、17、20、24、28,综合性实验 9、15、21,设计性实验 1(Ⅸ)和附录 10 由河南师范大学丁义峰编写;基础性实验 9、11、12、31,综合性实验 6、12、19,设计性实验 1(Ⅶ)和附录 13 由河南师范大学张晓丽编写;综合性实验 18 和附录 7 由河南师范大学崔长海编写。最后,由刘萍教授和李明军教授统稿。

限于编者的理论水平和实践经验,加上编写时间仓促,书中缺点错误在所难免,敬请读者给予批评指正。

编者

2007 年 7 月

# 目 录

## Contents

前言

### 第一部分 基础性实验 1

实验 1	植物组织渗透势的测定	1
实验 2	植物组织水势的测定	6
实验 3	植物组织中自由水与束缚水含量的测定(马林契可法)	14
实验 4	蒸腾速率的测定	16
实验 5	气孔密度和面积的测定及钾离子对气孔开度的影响	23
实验 6	环境因子对植物吐水的影响	25
实验 7	植物根系对离子的交换吸附	26
实验 8	植物根系对离子的选择吸收	28
实验 9	单盐毒害及离子间的拮抗作用	30
实验 10	植物的溶液培养及缺素观察	31
实验 11	叶绿体色素的提取、分离及理化性质	35
实验 12	植物叶片叶绿素含量的测定	39
实验 13	光合速率的测定	42
实验 14	光合作用的必要条件	49
实验 15	植物叶片光呼吸速率和 CO <sub>2</sub> 补偿点的测定	51
实验 16	呼吸速率的测定	53
实验 17	呼吸商的测定(丹尼管法)	59
实验 18	植物组织中抗坏血酸含量的测定	61
实验 19	植物呼吸酶的组化定位鉴定	63
实验 20	生长素的生物试法(小麦芽鞘切段伸长法)	67



实验 21	细胞分裂素的生物试法(苋红素合成法)	69
实验 22	赤霉素的生物试法(水稻幼苗法)	71
实验 23	脱落酸的生物试法(气孔开度法)	72
实验 24	乙烯的生物试法(三重反应法)	73
实验 25	种子生活力的快速测定	74
实验 26	种子萌发时有机物的转化	79
实验 27	植物组织中可溶性蛋白质含量的测定	82
实验 28	植物组织中可溶性糖含量的测定(蒽酮法)	86
实验 29	植物组织中花青素含量的测定	88
实验 30	糖和硼对花粉管萌发与生长的影响	89
实验 31	低温对植物的伤害	92
实验 32	植物组织中核酸的分离及含量测定	94

## 第二部分 综合性实验 97

实验 1	硝酸还原酶活力的测定	97
实验 2	植物根系活力的测定(TTC 法)	101
实验 3	植物细胞质膜 $H^+$ -ATPase 活力的测定	104
实验 4	叶绿体的分离制备和希尔反应活力的测定	106
实验 5	二磷酸核酮糖羧化酶/加氧酶(Rubisco)羧化活力的测定	108
实验 6	二磷酸核酮糖羧化酶/加氧酶(Rubisco)加氧活力的测定	110
实验 7	磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶活力的测定	112
实验 8	乙醇酸氧化酶活力的测定(比色法)	114
实验 9	植物叶片光饱和点与光补偿点的测定	116
实验 10	抗坏血酸氧化酶活力的测定	119
实验 11	多酚氧化酶活力的测定	122
实验 12	过氧化物酶活力的测定	123
实验 13	过氧化氢酶活力的测定	125
实验 14	谷物种子萌发时 $\alpha$ -淀粉酶活力的测定	130
实验 15	果糖-1,6-二磷酸酯酶活力的测定	132

实验 16	高效液相色谱法测定赤霉素含量	134
实验 17	高效液相色谱法测定细胞分裂素含量	136
实验 18	气相色谱法测定乙烯含量	139
实验 19	酶联免疫吸附法(ELISA)测定植物激素含量	141
实验 20	吲哚乙酸氧化酶活力的测定	144
实验 21	超氧化物歧化酶活力的测定	147
实验 22	植物组织衰老过程中丙二醛含量的测定	150
实验 23	植物体内氧化型和还原型谷胱甘肽含量的测定	152
实验 24	植物种质资源的超低温保存	154
实验 25	植物超氧化物歧化酶同工酶的凝胶电泳及活力显示	158
实验 26	植物组织中超氧阴离子产生速率的测定(羟胺氧化法)	162
<b>第三部分</b>	<b>设计性实验</b>	<b>165</b>
实验 1	植物生长物质的应用	165
实验 2	植物组织培养	182
实验 3	赤霉素诱导 $\alpha$ -淀粉酶的形成	186
实验 4	不同程度干旱条件下植物组织中游离脯氨酸含量的变化	188
<b>附 录</b>		<b>192</b>
附录 1	植物组织和细胞培养常用的培养基成分	192
附录 2	常用缓冲液的配制	193
附录 3	一般化学试剂的分级	198
附录 4	各种碳水化合物及其主要性质	198
附录 5	常用酸、碱及其主要性质	200
附录 6	摩尔数与摩尔浓度	201
附录 7	植物生理学中常用计量单位及其换算表	201



附录 8 常用酸碱指示剂	207
附录 9 离心力和离心机转速测算表	208
附录 10 光的能量单位之间的关系	209
附录 11 易变质及需要特殊方法保存的常用试剂	209
附录 12 常用有机溶剂及其主要性质	209
附录 13 不同温度下空气饱和的水中的氧含量	211

<b>参考文献</b>	<b>212</b>
-------------	------------

# 第一部分 基础性实验

## 实验 1 植物组织渗透势的测定

植物组织的渗透势主要取决于细胞液的溶质浓度,因此又称溶质势。已知在干旱、盐渍等逆境条件下,一些植物常在细胞内主动积累溶质,以降低其渗透势,增加吸水能力,从而在一定程度上维持膨压,保障细胞的生长和气孔的开放,这种现象叫做渗透调节作用。细胞渗透调节能力的大小可以用逆境条件下细胞渗透势的降低值来表示,在水分生理与抗性生理研究中经常需要测定植物细胞的渗透势。以下介绍两种测定植物细胞渗透势的方法。

### I. 质壁分离法

#### 【实验原理】

植物组织细胞和周围溶液组成一个渗透系统,当细胞放入低水势的溶液中时,液泡的水分则向外渗出,原生质体的体积缩小,产生质壁分离现象。当细胞与外界溶液达到渗透平衡且此时的细胞又处于临界质壁分离状态时,细胞的压力势等于零,细胞的水势等于其渗透势并与外液的渗透势相等,该外液的浓度就是细胞的等渗浓度。

将某种植物组织分别投入一系列浓度梯度的溶液中,观察细胞质壁分离现象。细胞的等渗浓度界于刚引起初始质壁分离(即初始质壁分离)和尚未发生质壁分离的最高外液浓度之间。将细胞的等渗浓度代入公式即可计算出该组织细胞的渗透势。

#### 【材料、设备与试剂】

##### 1. 材料

大葱、洋葱鳞茎内表皮或蚕豆、紫鸭跖草、小麦、玉米等植物叶片的表皮。

##### 2. 设备

显微镜、载玻片与盖玻片、温度计、尖头镊子、刀片、小培养皿(直径 6 cm)、试剂瓶、小烧杯、容量瓶、量筒、滴管、移液器或移液管、镜头纸、吸水纸。

### 3. 试剂

1 mol/L 蔗糖溶液(母液):称取 342.3 g 预先在 60~80 °C 下烘干的蔗糖,用蒸馏水配制定容至 1000 mL。

不同浓度的蔗糖溶液:取干燥洁净的小试剂瓶编号,用 1 mol/L 蔗糖溶液(母液)依  $C_1 V_1 = C_2 V_2$  公式配制成 0.30、0.35、0.40、0.45、0.50、0.55、0.60、0.65、0.70 mol/L 等一系列不同浓度的蔗糖溶液(具体浓度范围可根据材料的不同加以调整),贮于试剂瓶中,瓶口加塞以防蒸发浓缩。

1%中性红溶液。

### 【方法与步骤】

(1) 取干燥洁净的培养皿 9 套编号,将配制好的不同浓度的蔗糖溶液按顺序加入各培养皿中使成一薄层。向每一个浓度的溶液中分别滴加 1% 中性红溶液 1~2 滴,充分摇晃均匀后盖好培养皿盖备用(若选用的材料为有色素的表皮可不加中性红)。

(2) 用镊子撕取供试材料,大小以  $0.5 \text{ cm}^2$  为宜,立即浸入不同浓度的蔗糖溶液中,每一浓度 4~5 片。

(3) 材料在蔗糖溶液中浸泡 20~30 min,同时记录室温。

(4) 从高到低浓度依次取出材料放在滴加相同糖液的载玻片上,盖好盖玻片。显微镜下观察确定细胞处于临界质壁分离的外液浓度(即细胞的等渗浓度)。

如果在两个相邻浓度的材料中,一个没有发生质壁分离或质壁分离的细胞数不足 50%,该浓度即为没有引起细胞发生质壁分离的最高外液浓度;另一个发生质壁分离的细胞数超过 50%,则该浓度即为引起细胞发生质壁分离的最低外液浓度。可粗略地将这两个浓度的平均值作为细胞的等渗浓度。

(5) 将所得到的等渗浓度和记录的室温代入下列公式计算出细胞等渗溶液的渗透势即为细胞的渗透势( $\Psi_s$ ):

$$\Psi_s = -icRT$$

式中  $\Psi_s$  为溶液的渗透势(与细胞的渗透势相等,MPa);

$c$  为等渗浓度(mol/L);

$R$  为气体常数( $0.0083 \text{ L} \cdot \text{MPa}/\text{mol} \cdot \text{K}$ );

$T$  为绝对温度(K),即  $273 + t$  °C (实验当时温度);

$i$  为溶液溶质的解离系数(蔗糖  $i = 1$ ),  $i = 1 + \alpha(n - 1)$ , 其中  $n$  为溶质电离的离子数, $\alpha$  为溶质的电离度。

(6) 也可用  $\text{CaCl}_2$  或  $\text{NaCl}$  代替蔗糖,但须改变式中等渗系数。 $\text{CaCl}_2$  的  $i$  值为 2.6,  $\text{NaCl}$  一般为 1.8。

**【注意事项】**

- (1) 配制的系列蔗糖溶液浓度要准确。
- (2) 材料要完全浸没在溶液中。

**【思考题】**

某植物叶片吸水饱和时的渗透势经测定为 $-0.8\text{ MPa}$ ，又用质壁分离法测出其渗透势为 $-0.9\text{ MPa}$ ，请计算质壁分离状态的细胞液体积相当于饱和时细胞液体积的百分数。

**II. 冰点下降法****【实验原理】**

根据拉乌尔(Raoult)冰点下降原理,任何溶液,如果其单位体积中溶解的溶质的颗粒(分子和离子)总数目相同时,则引起溶液冰点下降的数值也相同。 $1\text{ mol}$ 的任何非电解质溶解于 $1000\text{ g}$ 水中,则使水的冰点由 $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下降至 $-1.857\text{ }^{\circ}\text{C}$ ;而 $1\text{ mol}$ 的电解质溶于 $1000\text{ g}$ 水中,其冰点下降值为解离的离子与不解离的分子的总摩尔数同 $1.857$ 的乘积,即冰点下降值与溶质的总颗粒数有关。因此,欲求某一溶液的溶质颗粒数目,可先测其冰点下降值,然后代入公式算出。

$$OS = \Delta t / 1.857$$

式中 $OS$ 为 $1000\text{ g}$ 水中所溶解的溶质的颗粒数目,即质量渗(透)摩尔浓度,也就是总颗粒浓度 $i_c$ 值;

$\Delta t$ 为冰点下降值( $^{\circ}\text{C}$ );

$1.857$ 为水的摩尔冰点下降常数。

溶液的冰点下降值可用冰点渗透压计测定,该仪器以高灵敏度感温元件测量冰点,并转换为渗透摩尔浓度单位( $OS\text{ mol}$ )。冰点是指溶液的固态和液态处于平衡状态下的温度。对于水溶液,在从液态向固态冷却变化的过程中,温度虽已达到甚至低于冰点而不发生结冰的现象称之为“过冷现象”,处于过冷状态下的液体是极不稳定的,任一扰动便可“触发”其立刻结晶而变为固态,释放出“晶化热”,将使过冷的溶液在冰晶形成瞬间产生温度回升现象。上述过程,可用“结冰曲线”来描述(图 1-1-1)。

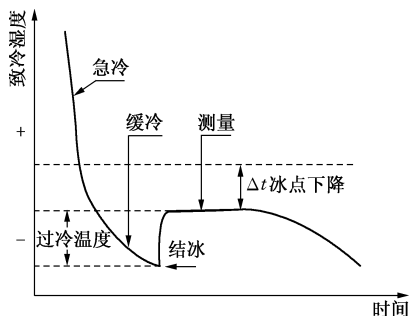


图 1-1-1 结冰曲线

从结冰曲线可以看出,过冷的溶液在结冰释热后有一段温度平稳的时间,这段较平稳的温度即为溶液的冰点,本实验所用冰点渗透压计即根据对这一温度的测量求出被测液体的冰点,并将冰点下降值换算成  $ic$  值,且显示读数。然后根据公式便可计算出溶液的渗透势:

$$\Psi_s = -icRT$$

式中  $\Psi$  为溶液的渗透势(MPa);

$R$  为气体常数( $0.0083 \text{ L} \cdot \text{MPa}/\text{mol} \cdot \text{K}$ );

$T$  为绝对温度(K),即  $273+t$  °C(实验当时温度);

$c$  为溶液的摩尔浓度(mol/L);

$i$  为溶液溶质的等渗系数。

## 【材料、设备与试剂】

### 1. 材料

小麦叶片。

### 2. 设备

FM-4 型冰点渗透压计、离心机、离心管、温度计、注射器、纱布。

## 【方法与步骤】

### 1. 仪器调试

参照仪器结构图(图 1-1-2)进行以下操作:

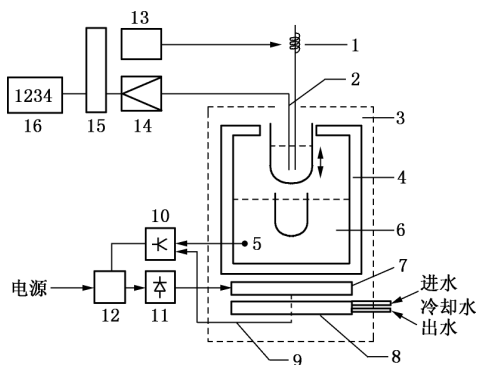


图 1-1-2 冰点渗透压计仪器结构示意图

1. 振棒; 2. 热敏电阻; 3. 保温层; 4. 冷却槽; 5. 热敏电阻; 6. 不冻液; 7. 致冷器; 8. 冷却水箱; 9. 断水报警; 10. 致冷温控; 11. 整流; 12. 降压; 13. 振幅变换; 14. 检测放大; 15. 程控操作; 16. 显示

(1) 从制冷槽口加入 40 mL 左右不冻液,观察仪器的液面刻度(红线),至刻度为止。

(2) 打开冷却水,调节水流量为 0.5 L/min 左右。

(3) 在冷却水循环后,打开电源开关,预热仪器 20~30 min。

(4) 按下调零键,如数字不为“0.000”,可用螺丝刀调节“调零”电位器,使数字为“0.000”,而前面的“+”,“-”符号任意,放开调零键,应显示一个数字(与测量数字无关)。

(5) 将温度计插入制冷槽,仪器制冷器的最低温度一般应调至

-7~-8℃左右,可用螺丝刀调节温度调整螺栓,并观察液面后面的指示灯(指示灯亮为降温)。

(6) 在洁净干燥的测定管中倒入1 mL参考液(300或800),将测定管放入制冷槽,用洁净卫生纸把测量探头的热敏电阻和振棒擦净。按“下降”键,此时测量探头缓慢下降在测量管内,显示数字开始从正数下降至负数,至-1000左右时会听到测定管内的振棒发出强振声,同时测量探头自动提升到中位,如果提升数字不在-1000左右,可调节“提升”电位器。

(7) 提升到中位后,所显示的数字的绝对值由大到小,退到最小的数字即是样品的渗透浓度值,如果数字回升变大,可按“高位”,提升测量探头到原位,测量完毕。

(8) 测量出的数字若与“300”参考液数据有误差,调整“校正Ⅰ”电位器(应显示300);如果与“800”参考液数据有误差,可调整“校正Ⅱ”电位器(应显示800)。

## 2. 植物样品渗透势的测定

(1) 取植物叶片,用潮湿纱布轻轻擦去表面灰尘,放入洁净的塑料袋中,立即放入-30℃低温冰箱3 h以上,以杀死植物细胞。

(2) 从低温冰箱中取出材料,融冰后用剪刀将材料剪碎,放入注射器内,将细胞液压出,存于0.3 mL或1 mL测定管内(视细胞液多少而定),盖好塞子。压出液应不少于0.3 mL才能测定。

(3) 榨出液中若含有较多的残破细胞壁或大量淀粉粒、叶绿体等,需要先经离心。可用台式离心机,2 mL的具塞塑料锥形离心管,5000 r/min离心2 min,取上清液测定。

(4) 测定步骤参考仪器调试第(6)~(7)步,以经过离心的材料压出液代替参考液进行测定。

## 【注意事项】

(1) 试验条件不同时,结冰曲线的形状会有变化,从而影响冰点测定结果,为此必须通过反复试验,选择能产生一段较为稳定而线性较好的结冰曲线的实验条件。

(2) 在测定过程中,如果自来水突然断水,必须立即停机,以免烧坏半导体制冷器。

(3) 测量探头的热敏电阻比较容易损坏,在移动测量探头时一定要注意保护。

(4) 在测量过程中,显示数字达-1000左右,但样品测定管内未发出强振声,同时也未提升,即自动提升失灵,此时可按“中位”键提升,随后显示测量数字。

## 【思考题】

(1) 测量时,振棒的振动起什么作用?

(2) 测量探头自动提升后,为何显示数字(绝对值)由大变小,变到最小时才是被测溶液的渗透摩尔浓度?

(3) 对含有较多悬浮物的榨出液,为何要先离心再测定?

## 实验 2 植物组织水势的测定

水势是指每偏摩尔体积水的化学势差,纯水的水势为零,是水势的最高值,因此任何溶液的水势均为负数。水分总是从水势高的系统向水势低的系统转移,植物体细胞之间、组织之间及植物体与环境间的水分移动方向都是由水势差决定的。根据这一原理,可以用小液流法、压力室法、热电偶湿度计法和折射仪法等方法测定植物组织的水势。

### I. 小液流法

#### 【实验原理】

当植物组织或细胞分别放在一系列浓度递增的蔗糖溶液中时,由于植物组织具有一定的水势,梯度蔗糖溶液也各有一定的渗透势(外液  $\Psi_p = 0$ ,  $\Psi_s = \Psi_w$ ),水总是由水势高处流向水势低处,因而会使蔗糖溶液的浓度发生变化。用毛细吸管小心吸取浓度发生变化后的糖液(为便于观察可染色)滴入与其对应浓度(未浸入植物组织的)的糖液内,观察液滴的流动的方向。若向上流动,说明组织细胞的水势高于周围糖溶液的渗透势,因而向外排水,糖液变稀,比重减轻;若向下流动,说明组织细胞的水势低于周围糖溶液的渗透势,而向内吸水,使糖液变浓,比重加大;若液滴停留不动,说明组织细胞向外排水与向内吸水的量相等,水分保持动态平衡,此时植物组织中的水势等于溶液的渗透势。因溶液的浓度是已知的,可根据公式计算出其渗透势即为植物组织的水势。

$$\Psi_w = -icRT$$

#### 【材料、设备与试剂】

##### 1. 材料

棉花、小麦或其他植物的叶片。

##### 2. 设备

刻度试管、移液器或移液管、弯头毛细滴管、镊子、打孔器、培养皿、青霉素小瓶、大头针。

### 3. 试剂

1 mol/L 蔗糖溶液:称取 342.3 g 预先在 60~80 °C 下烘干的蔗糖,用蒸馏水配制定容至 1000 mL。

系列不同浓度的蔗糖溶液:取干燥洁净的小试剂瓶编号,用 1 mol/L 蔗糖溶液依  $C_1 V_1 = C_2 V_2$  公式配制成 0.25、0.3、0.35、0.4、0.45、0.5、0.55、0.6、0.65 mol/L 等一系列不同浓度的蔗糖溶液(具体范围可根据材料的不同加以调整),贮于试剂瓶中,瓶口加塞以防蒸发浓缩。

甲烯蓝粉末。

### 【方法与步骤】

(1) 取干燥洁净的刻度试管 9 个为甲组,各管分别加入 0.25~0.65 mol/L 蔗糖溶液约 8 mL;另取 9 个干燥洁净的青霉素小瓶为乙组,各小瓶中分别加入 0.25~0.65 mol/L 蔗糖溶液约 2 mL,上述各管和小瓶均加标签注明浓度。

(2) 取待测叶片数片,用打孔器打取小圆片约 100 片放至培养皿中混合均匀。用镊子分别夹入约 10 个小圆片到盛有不同浓度甲烯蓝蔗糖溶液青霉素小瓶中(乙组),使叶圆片全部浸没于溶液中,加塞。放置约 30 min,其间应经常摇动小瓶,以加速溶液与植物组织细胞间的水分交换。

(3) 打开瓶塞,用大头针向每个小瓶中挑入少许甲烯蓝粉末,充分摇匀,使溶液呈蓝色。

(4) 用弯头毛细滴管吸取乙组各小瓶的蓝色糖液少许,将弯头滴管插入对应浓度甲组刻度试管溶液的中部,小心地放出少量液流,观察蓝色液流的升降动向。若液流上升,说明浸过小圆片的蔗糖溶液浓度变小(即植物组织失水),表明叶片组织的水势高于该浓度糖溶液的渗透势;如果蓝色液流下降则说明叶片组织的水势低于该糖溶液的渗透势;若蓝色液流静止不动,则说明叶片组织的水势等于该糖溶液的渗透势,此浓度即为与叶片组织细胞水势相等的糖液浓度。

(5) 结果计算:将求得的与细胞水势相等的蔗糖浓度值代入下列公式,计算出该溶液的渗透势即为组织细胞的水势。

$$\Psi_w = -icRT$$

式中  $\Psi_w$  为溶液的渗透势(与植物组织细胞的水势相等,MPa);

$c$  为与细胞水势相等的蔗糖溶液浓度(mol/L);

$R$  为气体常数(0.0083 L·MPa/mol·K);

$T$  为绝对温度(K),即  $273 + t$  °C (实验当时的摄氏温度);

$i$  为溶液溶质的解离系数(蔗糖  $i = 1$ ),  $i = 1 + \alpha(n - 1)$ , 其中  $n$  为溶质电离的离子数,  $\alpha$  为溶质的电离度。



### 【注意事项】

- (1) 配制的系列蔗糖溶液浓度要准确。
- (2) 向每个小瓶中加入的甲烯蓝粉末量要适中,以防止对溶液浓度的改变。
- (3) 每次测定均要用待测浓度的甲烯蓝蔗糖溶液清洗几次弯头滴管。

### 【思考题】

- (1) 测定同一植物上部及下部叶片的水势有何差别?为什么?
- (2) 用小液流法测定植物组织水势与用质壁分离法测定植物组织细胞渗透势都是以外界溶液的浓度算出的渗透势为根据,它们之间的区别何在?

## II. 压力室法

### 【实验原理】

进行蒸腾的植物,其导管中的水柱由于蒸腾拉力的作用,承受着一定的张力或负压,使水分连贯地向上运输。当叶片或枝条被切断时,木质部中的液流由于张力解除迅速缩回木质部。将叶片装入压力室钢筒,叶柄切口朝外,逐渐加压,直到导管中的液流恰好在切口处显露时,表明所施加的压力正好抵偿了完整植株导管中的原始负压。这时所施加的压力值(通常称为“平衡压”)将叶片中的水势提高到相当于开放大气的导管中液体渗透势  $\Psi_s$  的水平。由于通过导管周围完整活细胞半透膜进入木质部导管的汁液其渗透势常接近于零,因此,将所测得的平衡压标以负号就等于被测叶片原来的水势。平衡压( $P$ )、叶片中的水势( $\Psi_w$ )和进入木质部导管汁液的渗透势( $\Psi_s$ )之间的关系可用下式表示:

$$P + \Psi_w = \Psi_s \approx 0 \quad \therefore \Psi_w = -P$$

式中  $P$  为平衡压(正值);

$\Psi_w$  为叶片或枝条的水势(负值);

$\Psi_s$  为进入木质部汁液的渗透势(接近于零)。

### 【材料、设备与试剂】

#### 1. 材料

木本植物带叶片的小枝、带叶柄的单个叶片或小苗的地上部分。

#### 2. 设备

压力室(有多种型号,图 1-2-1 为压力室基本结构)、充满压缩氮气(95%左右)的钢瓶、剪刀、双面刀片、放大镜、塑料袋、纱布。

## 【方法与步骤】

下面以美国土壤水分仪器公司生产的3005型压力室为例,介绍测定方法。

(1) 将压力室的高压软管末端与钢瓶的出气口对接。压力室主控阀旋转到“关闭”位置。顺时针方向旋紧计量阀。取下压力室的压帽,逆时针旋转压帽上的固定样品的螺栓,将压帽竖放在样品处理板的凹槽内。打开高压气瓶的气封阀。在钢筒内侧粘贴一层湿滤纸,以减少水分蒸发导致的水势降低。

(2) 选取一定叶位的叶片(或小枝条),从叶柄处切断,切口要平(若室外取样,可将叶片放入塑料袋中,在塑料袋中放一块潮湿纱布,迅速带回,防止失水)。

(3) 将叶片迅速装入夹样器的中央孔中,切口露出垫圈3~5 mm,旋紧螺旋环套。将夹样器迅速放入钢筒内,顺时针方向旋转锁定夹样器。

(4) 旋转调压三通阀到“加压”位置,打开调压阀,以每秒30~50 kPa的速度加压。左手持放大镜从侧面仔细观察样品切口的变化,当切口出现水膜时,迅速关闭调压三通阀,记录压力表读数,此即平衡压。

(5) 旋转三通阀排气,使压力读数降低0.1~0.2 MPa,再重新测定平衡压。用两次结果的平均值表示样品水势值。

(6) 把调压三通阀旋转至“排气”位置,放气,压力表指针退回零位。将夹样器逆时针方向旋转,取出夹样器,再进行第二个样品的测定。

## 【注意事项】

- (1) 装样时螺旋环套不要拧得太紧,以免压伤植物组织。
- (2) 加压速度不能太快,接近叶片水势时加压速度要放慢,否则会影响测量精度。
- (3) 注意安全,加压时不要使脸部处于钢筒顶盖正上方。
- (4) 高压钢瓶有危险,搬运或使用时要按规则进行。

## 【思考题】

试比较压力室法和小液流测定植物叶片水势的优缺点。

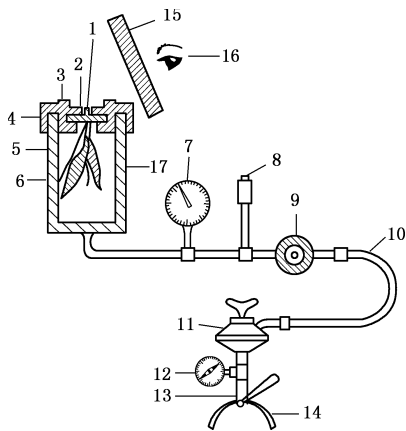


图 1-2-1 压力室构造简图

1. 溢出液被观察到的地方; 2. 压紧封口的环套; 3. 高度抗强的钢螺栓; 4. 外侧的螺丝压制环套; 5. 缸壁; 6. 软皮封口(或特制硅橡胶密封垫圈); 7. 精密压力表; 8. 调压阀; 9. 调压三通阀; 10. 柔韧的高压软管接氮气钢瓶; 11. 钢瓶最大压力调节阀; 12. 钢瓶气量贮存表; 13. 钢瓶开关阀门; 14. 钢瓶壁; 15. 防护镜; 16. 肉眼观察位置

### III. 热电偶湿度计法

#### 【实验原理】

在装入被测样品的密闭室中,插入热电偶湿度计,滴加纯蒸馏水于热电偶环上。由于样品水势低于纯水,导致热电偶环上水分丧失,经过一段时间后样品室达到平衡状态。热电偶环上水分丧失导致温度略有下降(Richard 效应),这种温度变化可转为电压变化,因而在纳伏计上可读出数字的变化。然后,据此换算成水势值。

#### 【材料、设备与试剂】

##### 1. 材料

小麦或其他植物叶片、种子或土壤样品。

##### 2. 设备

SC-10A 热电偶湿度计、NT-3 纳伏计、分析天平(感量万分之一)、滤纸条(宽 12 mm,长 45 mm 左右)。

##### 3. 试剂

0.05、0.1、0.3、0.5、0.7、0.9、1.0 mol/L 的 NaCl 或 KCl 标准溶液。

#### 【方法与步骤】

##### 1. 仪器检查及连接

打开 NT-3 纳伏计电源开关,将温控指示(heat/read/cool)开关打到“heat”或“cool”位置,当读数低于-600 nV 时,须更换电池。然后再将 NT-3 纳伏计连接到 SC-10A 热电偶湿度计上,当纳伏计的温控指示开关在“read”位置时,如读数接近零,则说明仪器连接正确。

##### 2. 标准曲线的绘制

(1) 转动热电偶湿度计的“选择旋钮”分别位于 1~9 位置,用位于其下部的升降器取出各个样品室,在每个样品室的内壁环绕一个已剪好的宽 12 mm,长 45 mm 左右的滤纸条。用移液管在 1 号杯室加入已配好的 0.05 mol/L 的 NaCl 或 KCl 标准溶液后,迅速放入样品杯室的 1 位置后加盖。同样将 0.1、0.3、0.5、0.7、0.9、1.0 mol/L 的标准溶液加入其余各个样品室内,并分别放置在样品室的 2、3、4、5、6、7 位置。注意加入的标准溶液应以完全湿润滤纸条且盖住室底为宜。

(2) 转动“选择旋钮”到 0 位,用升降器取出上有一个小孔的塑料小杯(大小同样品室),在上面的小孔内加入蒸馏水后放回原位,同时转动“选择旋钮”以使热电偶位于空样品室之上(8 或 9 位)。

(3) 经过 15~20 min,热电偶湿度计内部达到热平衡后,转动“选择旋钮”使 0

位置在“read”位,用位于热电偶湿度计下部的提升杠杆抬高0位置的塑料小杯到顶以湿润热电偶环,迅速归位后转动1位置到“read”位(对应的标准溶液浓度为0.05 mol/L)。同样抬高样品杯到顶以形成一个密闭小室且持续2 min左右,当读数稳定后在纳伏计上分别读取电压值及温度值。重新回到0位湿润热电偶后,再到“2”位置以读取第二对电压及温度值(0.1 mol/L的标准溶液)。同样按上述步骤分别读取3、4、5、6、7位标准溶液的电压及温度值。

(4) 表1是不同浓度KCl和NaCl在20℃(T = 293 K)下的水势值,根据 $\Psi_T = \Psi_{293} \cdot T/293$ ,可换算成测定时温度下的水势值 $\Psi_T$ 。式中: $\Psi_T$ 代表测定温度为T时的水势,T为测定时的温度(以绝对温度表示),以水势值为横坐标,以相应的纳伏计读数为纵坐标,即可绘出水势与电压值之间的标准曲线(见图1-2-2)。

表1-2-1 不同浓度KCl和NaCl溶液在20℃(293 K)下的水势值

浓度(mol/L)	0.05	0.10	0.20	0.30	0.40	0.50	0.60	0.70	0.80	0.90	1.00
水势值 NaCl	-2.32	-4.54	-9.01	-13.49	-17.93	-22.42	-26.99	-31.59	-36.18	-40.37	-45.58
(bar) KCl	-2.32	-4.52	-8.88	-13.26	-17.60	-21.90	-26.22	-30.61	-35.01	-39.31	-43.72

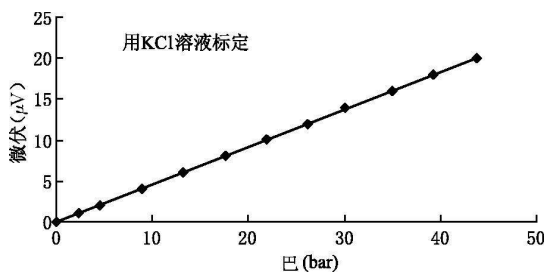


图1-2-2 KCl溶液水势—电压值标准曲线

### 3. 样品测定

(1) 将不同处理的植物叶片、种子或土壤样品加入不同样品室内。植物叶片应切成滤纸条大小且环绕内壁,土壤样品应用刀片削成锥形,以免污染热电偶。

(2) 在0位置的塑料杯内加入蒸馏水。

(3) 按标准曲线的制作方法进行样品测定,平衡时间应延长到30 min,同时记录电压及温度值。

(4) 如样品测定时温度与制作标准曲线时温度相同,则直接在标准曲线上读取水势值,如果温度不同,则按下式计算实际水势值:

$$\Psi = \Psi_m [1 - 0.025(T_m - T_c)]$$

式中 $\Psi$ 和 $\Psi_m$ 分别为实际和标准曲线上读取的水势值;

$T_m$  和  $T_c$  分别为样品测定和标准曲线制作时的温度(以绝对温度表示)。

### 【注意事项】

(1) SC-10A 热电偶湿度计的铝制外壳虽能保证测定的恒温条件,但测定应尽量在温度变化小的环境下进行,且操作者应避免直接接触外壳。

(2) 测定一般样品时,纳伏计读数开关放在  $200 \mu\text{V}$  挡(NT-3 纳伏计的读数为微伏)。

(3) 校正或测定时,热电偶环应放在空样品室上,否则水分会凝结在热电偶室内而影响读数。

(4) 应小心地抬高或降低升降器或提升杠杆,以免污染热电偶而影响测定精度。加入样品或标准溶液后,应细心擦净样品杯边缘,以免污染热电偶室而影响测定精度。

### 【思考题】

实验过程中加入样品室的标准溶液和待测液为什么应以完全湿润滤纸条且盖住室底为宜?

## IV. 折 射 仪 法

### 【实验原理】

利用折射仪可以测定溶液的折光率,折光率的大小与溶液的浓度和温度有关,温度一定时,溶液浓度变大,其折光率就提高;浓度变低,折光率下降;如果浓度不变,其折光率也不变。将待测的植物组织放入不同浓度的外液中,经过一段时间后,若植物组织水势低于外界溶液的渗透势(水势),植物组织吸水,外液浓度增加,其折光率变大;反之则变小。若外液的折光率不变,说明外液与植物组织的水势相等,该外液浓度即为与植物组织水势相同的溶液浓度。然后根据公式计算出溶液的渗透势,即为植物组织的水势。

溶液渗透势的计算公式为:

$$\Psi_w = -icRT$$

### 【材料、设备与试剂】

#### 1. 材料

植物叶片或马铃薯块茎等。

#### 2. 设备

阿贝折射仪、试管(25 mL)、青霉素小瓶、打孔器、镊子、解剖针、移液管、温

度计。

### 3. 试剂

1 mol/L 蔗糖溶液:称取 342.3 g 预先在 60~80 °C 下烘干的蔗糖,用蒸馏水配制定容至 1000 mL。

系列不同浓度的蔗糖溶液:取干燥洁净的小试剂瓶编号,用 1 mol/L 蔗糖溶液依  $C_1 V_1 = C_2 V_2$  公式配制 0.05、0.1、0.2、0.3、0.4 和 0.5 mol/L 等一系列不同浓度的蔗糖溶液(具体范围可根据材料的不同加以调整),贮于试剂瓶中,瓶口加塞以防蒸发浓缩。

## 【方法与步骤】

(1) 取干燥洁净的试管 6 支,取一系列浓度梯度的蔗糖溶液(0.05、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 mol/L)各 10 mL,注入编号好的试管中,各管都加上塞子,按编号顺序在试管架上排成一排。

(2) 用折射仪分别测定 1~6 管蔗糖溶液的折光率,记录结果。

(3) 选取均匀一致的植物叶片 8~10 片,叠在一起,用打孔器打取叶圆片 8~10 片,分别放入盛有 4 mL 不同浓度蔗糖溶液的青霉素小瓶中,使叶片浸入溶液,盖紧瓶塞,放置 30 min,其间多次摇动,以加速水分平衡。然后用折射仪再次测定各瓶中蔗糖溶液的折光率,并记录放入植物组织后不同浓度蔗糖溶液折光率的变化,分析各自的水分状况,如下表所示。

表 1-2-2 折射仪法测定植物组织水势记录表

蔗糖浓度/(mol/L)	0.05	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
放入叶片之前的折光率						
叶片反应后的折光率						
折光率变化值						
反应液浓度变化						
植物组织水势变化						

(4) 通过分析上表,比较叶片放入之前和叶片放入达动态平衡时的测定结果,找出折光率未变的糖液浓度或平均相邻两管(折光率一个增加,一个下降)的浓度值,即为与植物组织水势相等的溶液浓度。

5. 用温度计记录室温,根据公式计算出组织的水势。

$$\Psi_w = -icRT$$

式中  $\Psi_w$  为溶液的渗透势(与植物组织细胞的水势相等,MPa);

$c$  为与细胞水势相等的蔗糖浓度(mol/L);

$R$  为气体常数(0.0083 L·MPa/mol·K);

$T$ 为绝对温度(K),即  $273+t^{\circ}\text{C}$ (实验当时的温度);

$i$ 为溶液溶质的解离系数(蔗糖  $i=1$ ),  $i=1+\alpha(n-1)$ , 其中  $n$ 为溶质电离的离子数, $\alpha$ 为溶质的电离度。

### 【注意事项】

- (1) 所取材料在植株上的部位要一致,打取叶圆片要避免主脉和伤口。
- (2) 取材及打取叶圆片的过程操作要迅速,以免叶片失水。
- (3) 实验所用试管、青霉素小瓶应保持干燥。
- (4) 折射仪在前后两次测定溶液的折光率时的温度必须一致。

### 【思考题】

- (1) 测定植物组织水势时,为什么所用试管、青霉素小瓶应保持干燥?
- (2) 打取叶圆片投入试管中时的动作为什么要越快越好?

## 实验3 植物组织中自由水与束缚水含量的测定 (马林契可法)

### 【实验原理】

植物组织中的水分是由被原生质胶粒所吸附的束缚水及不被原生质胶粒所吸附的自由水两部分所组成。束缚水不能移动、不易蒸发和结冰,不能作为溶剂,也不易被夺取。故将植物组织浸入较浓糖溶液中脱水,经过一定的时间后仍未被夺取的水分为束缚水,而已经移动进入糖溶液中的水分为自由水。自由水的量可根据定量糖液浓度的降低量来计算;由植物组织的总含水量减去自由水量,即可求出束缚水量。

植物组织中自由水和束缚水的含量及其比值与植物的生长与抗性有密切关系。自由水与束缚水比值较高时,原生质处于溶胶状态,代谢活动旺盛,生长速度较快,但抗性往往降低;自由水与束缚水比值较低时,原生质为凝胶状态,代谢活动减弱,生长速度变缓,但抗性较强。因此,自由水和束缚水的相对含量可以作为植物代谢活动及抗性生理的一个重要的生理指标。

### 【材料、设备与试剂】

#### 1. 材料

小麦、油菜、棉花等作物的叶片。

#### 2. 设备

阿贝折射仪、电子天平、烘箱、钻孔器、称量瓶、烧杯、量筒、滴管、移液管、瓷盘。





### 【注意事项】

(1) 从田间取回样品后,应快速用钻孔器打下小圆片,放入对应称量瓶中,盖紧盖子并称量,以免水分蒸发,影响实验结果。

(2) 用于计算含水量的小圆片和用于测定的小圆片必须在同一叶片的对称位置上取下。

(3) 用折射仪测定蔗糖浓度时温度必须控制在 20 °C。

### 【思考题】

(1) 植物组织中的自由水与束缚水的生理作用有何不同?

(2) 测定植物组织中自由水和束缚水的含量有何意义?

(3) 自由水和束缚水比值的大小与生长及抗性的关系如何?

## 实验 4 蒸腾速率的测定

植物体内的水分以气体状态通过植物体的表面(主要是叶片)从体内散失到体外的现象被称为植物的蒸腾作用,它是植物的一个重要的生理过程,既受植物本身的调节和控制,同时也受外界环境中温度、湿度、光照等条件的影响。

在一定的时间内单位叶面积散失的水量被称为蒸腾速率(常用  $\text{g} \cdot \text{H}_2\text{O}/\text{m}^2 \cdot \text{h}$  表示),它是反映植物水分状况的一个重要的生理指标。

本实验学习三种测定蒸腾速率的方法。

### I. 离体快速称重法

#### 【实验原理】

植物蒸腾失水后引起重量减轻,故可用称重法测得植物材料在一定时间内的失水量,即可算出植物的蒸腾速率。用电子天平或扭力天平可以进行快速称重。植物叶片剪离植株后,短时间(数分钟)内在生理上尚无大的变化,测得的蒸腾速率与实际情况相近。但随着时间的延长,失水量增加,气孔逐渐开始关闭,蒸腾速率将逐渐降低,故此实验应在短时间内完成。

#### 【材料、设备及试剂】

##### 1. 材料

小麦、花生、狗尾草等植株。

## 2. 设备

电子天平或 JN-A 型精密扭力天平、镊子、剪刀、硫酸纸、干湿球温度计、计时器。

### 【方法与步骤】

- (1) 打开电子天平, 预热 20 min。
- (2) 选择生长正常的叶子, 在叶片顶端剪取 3~5 cm 长的部分, 立即放在电子天平上迅速称重, 称重后记录时间和重量。
- (3) 将称过的叶片从天平上取下后放在硫酸纸上, 记录当时的温度和相对湿度。
- (4) 3~5 min 后, 进行第二次称重, 准确记录蒸腾失水量(即两次称量的差值)。
- (5) 重复 3 片叶子, 求叶片的平均失水量。
- (6) 按下式计算结果:

$$\text{蒸腾速率}[\text{g}/(\text{kg} \cdot \text{h})] = \frac{\text{平均失水量}(\text{mg}) \times 1000 \times 60}{\text{平均鲜重}(\text{mg}) \times \text{测定时间}(\text{min})}$$

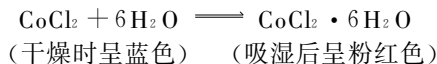
### 【注意事项】

- (1) 要正确使用电子天平(或扭力天平), 并注意其使用规范。
- (2) 在整个实验操作过程中, 要做到认真、准确快速, 否则影响实验结果。

## II. 钴 纸 法

### 【实验原理】

氯化钴纸在干燥时为蓝色, 当吸收水分后转变为粉红色。根据变色所需时间的长短, 则可以相对地比较作物蒸腾作用的强弱。



### 【材料、设备及试剂】

#### 1. 材料

白菜、萝卜、葎草等植物的叶片。

#### 2. 设备

干燥器、镊子、载玻片、粗滤纸、烘箱、玻璃板、白色广口瓶、打孔器、小号书夹、计时表、照度计、玻璃刀。

#### 3. 试剂

10%氯化钴溶液: 称取 18.4 g  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  用蒸馏水配成 100 mL, 滴几滴盐

酸调成弱酸性。

## 【方法与步骤】

### 1. 氯化钴纸的制备

取粗滤纸,浸入10%的氯化钴溶液中,待浸透后取出,用吸水纸吸取多余的溶液,将其平铺在干洁的玻璃板上,然后置于60℃左右的烘箱中烘干,选取颜色均一的钴纸,按需要用打孔器打成小圆片,烘干后取出放于装有无水氯化钙的广口瓶中,再将其放入氯化钙干燥器中备用。

### 2. 测定夹的制备

取一块载玻片,用玻璃刀将其横切为二,剪取自自行车内胎一小块(大小和玻璃块一致)在中央用打孔器打 $1.76\text{ cm}^2$ 的小圆孔,用合成乳胶或者万能胶将开有小孔的橡皮圈粘在玻片上。

### 3. 测定

用镊子从广口瓶中取出一片钴纸,放在玻片中央的橡皮小圆孔中,立即置于待测植物叶片的背面(或正面),将另一玻片放在叶片正面(或背面)的相应位置。用夹子夹紧,同时记录时间。注意观察钴纸的颜色变化,待钴纸全部变为粉红色时,记下时间、温度、相对湿度和光照强度,比较植物叶片正、反两面变色的时间。

## 【注意事项】

(1) 制好的钴纸不要直接用手取出,取时需用镊子。

(2) 用镊子从广口瓶中取出钴纸后,应立即盖上瓶盖,以免湿空气进入瓶中使钴纸变色。

## Ⅲ. 恒态气孔计法

气孔是 $\text{CO}_2$ 、 $\text{H}_2\text{O}$ 等进出叶片的门户,气孔的开闭对于调节光合与蒸腾速率,使水分利用效率达到最优化具有至关重要的作用。因此在植物生理生态研究中,需要经常对蒸腾速率和气孔扩散阻力进行量化描述。LI-COR公司生产的LI-1600恒态气孔计(Steady State Porometer)是迄今最先进的一种,现将该仪器的测定原理及使用方法作简要介绍。

## 【实验原理】

蒸腾作用的结果是使叶片周围的空气湿度增加。只要测得叶片周围一定体积空气在一定时间内相对湿度的变化,即可求得叶片的蒸腾速率,这种测定方式称作非恒态测定,其主要缺点是在测定过程中,叶片周围空气中不断增大的相对湿度会使蒸腾速率持续下降,很难测得蒸腾速率在某种稳恒条件下的恒定值。而LI-1600

恒态气孔计则在测定过程中不断向叶室补充干空气,利用湿度传感器反馈给流量自动控制器的信号,使干空气的流量恰好能使叶室中的湿度维持在开始测定时的设定值,从而实现了恒态测定;仪器借助于其中的微处理器和温度、湿度、流量等传感器,自动测出进入叶室的干、湿空气和流出叶室的空气温度、湿度、流量,以及叶片温度等参数,并对测得的各个参数进行运算,即可显示出蒸腾速率、气孔阻力(或气孔导度,即气孔阻力的倒数)等结果。

对于蒸腾速率  $E$  [ $\text{mg}/(\text{cm}^2 \cdot \text{s})$ ],有:

$$E = (\rho_e - \rho_a) \frac{F}{A} \quad (4-3-1)$$

$\rho_e$  为叶室内空气的水汽密度,可由当时空气温度下的饱和水汽密度(有关数据已贮存在仪器中)乘以测得的相对湿度求出( $\text{mg}/\text{cm}^3$ );

$\rho_a$  为补充的干空气的水汽密度(其值一般固定在相对湿度为 2%)( $\text{mg}/\text{cm}^3$ );

$F$  为干空气的容积流量( $\text{cm}^3/\text{s}$ );

$A$  为叶面积( $\text{cm}^2$ )。

既然蒸腾作用是水汽分子的扩散,其过程应符合费克扩散定律,即水汽的扩散通量与扩散途径两端的水汽密度梯度成正比,而与扩散途径的阻力成反比。因此,蒸腾速率还可用下式表示:

$$E = \frac{\rho_i - \rho_e}{R} \quad (4-3-2)$$

$\rho_i$  为叶肉细胞间隙中的水汽密度( $\text{mg}/\text{cm}^3$ );

$R$  为叶片对水汽的扩散阻力( $\text{s}/\text{cm}$ )。

此式与欧姆定律十分相似,可以按照类比方法进行处理。在实际测量时,可把  $\rho_i$  视为被测叶片叶温下的饱和水汽密度,只要测得叶片温度,即可按现成公式计算或查表求得(已贮存在仪器的微处理器中);如前所述, $\rho_e$ 、 $E$  均可由仪器测得。获得这些参数后,便可按上式计算出叶片扩散阻力  $R$ ,或叶片导度  $G$ 。

$$R = \frac{\rho_i - \rho_e}{E} \quad (4-3-3)$$

$$G = \frac{1}{R} = \frac{E}{\rho_i - \rho_e} \quad (4-3-4)$$

叶片的扩散阻力还可细分为气孔阻力( $r_s$ )、角质层阻力( $r_c$ )和界面层阻力( $r_b$ )三部分。由于气孔在调节蒸腾作用方面具有特殊的重要性,因而成为研究的重点;角质层虽然具有一定的透水性,但除了尚未完全展开的幼叶以外,一般成长叶片的角质层阻力很大(即角质层导度很小),致使角质层蒸腾十分微弱,故常略而不计;界面层阻力指叶表面空气滞留层对气体扩散产生的阻力,它的大小与叶表面的性

质、叶片大小和风速有关,叶表面愈光滑,叶片愈小,风速愈大,则界面层阻力愈小;反之则较大。直接测定叶片界面层阻力比较困难,一般用变通的方法,即将浸湿的滤纸片代替叶片置放在仪器中,用内置风扇吹以标准的风速,测定单位时间内叶室内湿度的增加值,在这种情况下,湿滤纸相当于被剥去表皮的叶片,气孔阻力为零,只有界面层阻力  $r_b$  存在,所以根据公式 4-3-3 计算出的  $R$  值就是界面层阻力  $r_b$ 。实际上,没有必要对每张叶片都测定一次界面层阻力,因为表面性质相近的叶片,  $r_b$  值差异不大。仪器的设计者已根据实测资料,将不同种类植物叶片的界面层阻力分为若干类型输入到仪器中,测定时只须选择其中相近的数据输入即可,对于大多数叶片,仪器将  $r_b$  设为  $0.15 \text{ s/cm}^2$ 。

由水蒸气的扩散途径可以看出,  $r_s$  和  $r_b$  相当于串联电路中的两个电阻,因此叶片总阻力  $R$  等于两者之和:

$$R = r_s + r_b \quad (4-3-5)$$

将公式 4-3-5 代入式 4-3-3,整理,得气孔阻力的运算值如下:

$$r_s = \frac{\rho_i - \rho_e}{E} - r_b \quad (4-3-6)$$

在大多数场合,学者们更习惯于用气孔导度  $g_s$  来代替气孔阻力  $r_s$ ,两者是互为倒数关系:

$$g_s = \frac{1}{r_s} \quad (4-3-7)$$

导度的优点是与通量成正比关系,容易进行数据处理;而阻力与通量则呈双曲线关系,数据处理常有不便。

阻力的常用量纲为  $\text{s/cm}$ ,导度的量纲则为  $\text{m/s}$ ;本仪器中,同时给出了另一种表示方法,即气体密度以摩尔分数( $\text{mol/mol}$ )表示,这是一个无量纲单位,在此情况下,气孔导度的量纲即与蒸腾速率的量纲相同,均为  $\text{mol/m}^2 \cdot \text{s}$ 。具体操作时,两类量纲可供使用者任选。

恒态气孔计由两大部分组成:读数控制台和感应探头。

读数控制台(图 1-4-1)包括:电源开关及充电装置,与感应探头相通的插孔,干空气通道及其控制装置,读数显示装置,数据输出插孔。

感应探头亦可叫做叶室,其中有湿敏电阻、混合风扇,上部孔口附有夹叶片的叶夹和孔帽,近手柄处有“HUM.SET”、“HOLD”开关,还有测叶温的热电偶及测定光照的光量子探头(图 1-4-2)。

## 【材料、设备及试剂】

### 1. 材料

小麦、白菜、萝卜等植物的叶片。

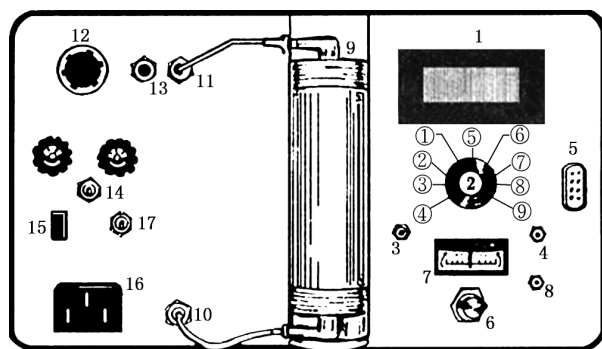


图 1-4-1 恒态气孔计的读数控制台

1. 显示窗; 2. 读数转换旋钮; ①叶温挡位; ②叶室温度挡位; ③气流速度挡位; ④输入测定面积挡位; ⑤相对湿度挡位; ⑥光子量子密度挡位; ⑦扩散阻力挡位; ⑧蒸腾强度挡位; ⑨输入大气压挡位; 3. 输入测定面积电位计; 4. 输入大气压电位计; 5. 数据输出连接插孔; 6. 零点调节阀; 7. 零点调节指示器; 8. 零点增益调节电位计; 9. 干燥剂管; 10. 干空气进入处; 11. 干空气输出处; 12. 探头电线连接插孔; 13. 探头软管连接插孔; 14. 外接电源插孔; 15. 电压选择开关; 16. 交流电插销; 17. 开关

## 2. 设备

LI-COR 公司生产的 LI-1600 恒态气孔计。

## 【方法与步骤】

### 1. 测定前的准备

(1) 在接通交流电源之前, 务必将电压选择开关拨至 230 VAC (我国大部分地区电压为 220~230 V), 并装配合适的保险丝。

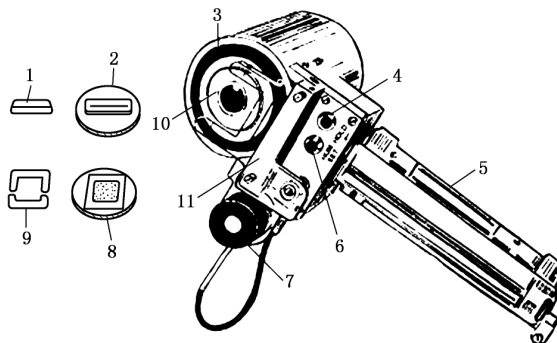


图 1-4-2 恒态气孔计探头部分

1. 窄叶叶夹; 2. 窄叶孔帽; 3. 阔叶孔帽; 4. 控制开关; 5. 探头干燥剂管; 6. 输入湿度开关; 7. 光子量子探头; 8. 方形孔帽; 9. 方形叶夹; 10. 阔叶叶夹; 11. 叶夹座