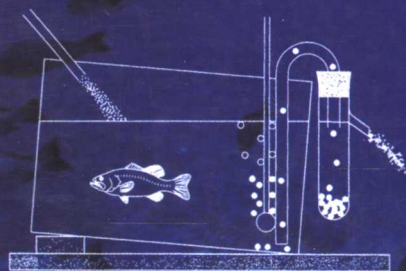
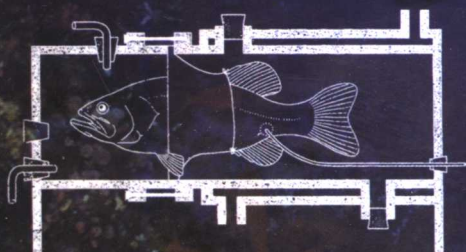
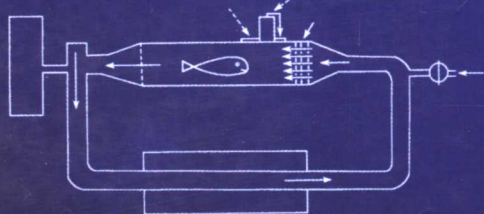


鱼类生理学 实验技术和方法

林浩然 刘晓春 编著



广东高等教育出版社

鱼类生理学 实验技术和方法

林浩然 刘晓春 编著

广东高等教育出版社

广州

图书在版编目 (CIP) 数据

鱼类生理学实验技术和方法/林浩然, 刘晓春编著. —广州: 广东高等教育出版社, 2006. 12

ISBN 7-5361-3427-4

I. 鱼… II. ①林… ②刘… III. 鱼类学: 生理学-实验方法 IV. Q959.4-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2006) 第 122729 号

广东高等教育出版社出版发行

地址: 广州市天河区林和西横路

邮政编码: 510500 电话: (020)87554153

佛山市浩文彩色印刷有限公司印刷

2006 年 12 月第 1 版 2006 年 12 月第 1 次印刷

开本: 787 mm × 960 mm 1/16 印张: 15.5 字数: 285 千字

印数: 1~3 000 册

定价: 38.00 元

内 容 提 要

本书以中山大学生命科学学院水生经济动物研究所鱼类生理学研究室教学工作中编写的实验课教材和科学研究中使用的技术方法为基础,吸收当前国内外鱼类生理学研究的一些新技术综合整理编写而成。全书包括营养、消化、呼吸、血液和血液循环、排泄、渗透压调节、生殖、内分泌、神经和感觉等鱼类生理学各个主要方面的实验技术与方法共42个。除了保留一些经典性的实验方法外,着重介绍当前国内外鱼类生理学研究较常用的新技术,书末还有6个附录,介绍鱼类生理学实验和研究的常用操作方法和基本技能。

本书可供综合性大学、师范院校、水产院校和农业院校的生物学专业、动物学专业、鱼类学专业、水产学专业、海洋生物学专业以及其他有关专业的大专、本科学生和研究生作为实验课教材,也可供从事动物生理学、鱼类生理学、比较生理学、环境生理学、比较内分泌学、生物工程学、水产养殖学、海洋生物学等研究工作的专业科技人员参考。

前 言

目前,许多综合性大学的动物学、生理学、海洋生物学等专业,以及水产院校、海洋院校与农学院的水产、养殖捕捞、环保、生态等相关专业中都开设了鱼类生理学的课程,但至今还没有一本有关鱼类生理学的实验指导出版发行。我们从1982年以来,在动物学、生理学、水生生物学、海洋生物学等专业的鱼类生理学的选课组或研究方向的本科生和研究生中开设了“鱼类生理学”课程及实验,编写了《鱼类生理学》和《鱼类生理学实验指导》的讲义,并根据教学实践情况和科学研究进展先后多次进行修改、补充和完善。

现在,《鱼类生理学》已于1999年由广东高等教育出版社出版。为了进一步满足教学和科学研究的需要,我们在《鱼类生理学实验指导》的基础上,参照近几年在科学研究中使用的技术方法,以及吸收国内外鱼类生理学研究的一些新技术进行修改和补充,重新编写了这本《鱼类生理学实验技术和方法》。全书包括营养、消化、呼吸、血液和血液循环、排泄和渗透压调节、生殖、神经和感觉等鱼类生理学各个主要方面的实验共42个。除了保留一些经典性的实验外,着重介绍当前国内外鱼类生理学研究的新技术和方法,如促性腺激素、类固醇激素和生长激素等的放射免疫测定法;脑垂体细胞的免疫细胞化学和电子显微镜观察;各种激素和药物对鱼类产卵的作用;血管导管手术和游泳能力的测定等。书末的附录介绍了鱼类生理学研究中的一些基本常规操作技能。因此,本书不仅可以作为动物学、动物生理学、鱼类学、海洋生物学等及有关专业的大学生和研究生的实验课教材,而且对从事动物生理学、鱼类生理学、环境生理学、比较生理学、生态生理学、比较内分泌学、生物工程学、海洋生物学和水产养殖等方面研究工作的科技人员来说,也是一本有用的参考书。

本书中有个别新方法可能还不够成熟或完善,但介绍出来后通过大家的共同实践可以促使其改进与提高。读者可以根据自己实验室的条件和科学研

究的需要，选用其中的一些实验或方法。

关于计量单位，本书绝大多数计量单位都采用了法定计量单位和国家新标准，但是个别单位目前在有的科学实验中仍被广泛采用，例如浓度单位 $\mu\text{g/mL}$ 、放射性活度单位 $\text{cpm}(\text{c/min})$ 、 μCi 、游泳速率 0.5 个体长/S 等，改正后可能会造成不便，暂仍保留，作为过渡措施，尚希读者理解与见谅。

限于作者水平和时间关系，错漏之处在所难免，欢迎读者提出宝贵意见。最后，对于本书的编写和出版给予热情支持的同志们表示衷心的感谢！

作 者

2006 年 6 月 30 日于广州中山大学

目 录

实验一	鱼类蛋白质利用率的测定	(1)
实验二	鱼类对饵料主要成分消化吸收率的测定 ——放射性同位素 ¹⁴ C 标记测定法	(8)
实验三	鱼类肠管对氨基酸的吸收	(15)
实验四	鱼类血管导管手术	(19)
实验五	鱼类游泳能力的测定	(23)
实验六	鱼类血红蛋白含量的测定和血细胞计数	(27)
实验七	鱼类全血量的测定	(30)
实验八	鱼类心脏灌流	(34)
实验九	温度对鱼类耗氧量的影响	(37)
实验十	鱼类的血糖调节	(42)
实验十一	鱼类肾小管的主动运输	(45)
实验十二	鱼类的渗透压调节	(50)
实验十三	鱼类的体色	(55)
实验十四	鱼类性腺切除手术	(58)
实验十五	鱼类卵黄蛋白原的测定	(64)
实验十六	鱼类的性外激素	(68)
实验十七	鱼类促性腺激素的放射免疫测定法	(71)
实验十八	鱼类促性腺激素释放激素的放射免疫测定法	(80)
实验十九	鱼类性类固醇激素的放射免疫测定法	(88)
实验二十	鱼类生长激素的放射免疫测定法	(95)
实验二十一	鱼类褪黑激素的放射免疫测定法	(101)
实验二十二	鱼类的应激反应 ——用放射免疫测定法测定血液的皮质醇含量	(106)
实验二十三	激素对鱼类排卵和产卵的影响	(110)
实验二十四	鱼类激素缓释制品的制备和作用	(114)
实验二十五	鱼类性腺发育组织学和细胞学的观察	(119)
实验二十六	鱼类脑垂体组织结构和超显微结构的观察	(129)
实验二十七	鱼类脑垂体切除手术	(141)

实验二十八	鱼类脑垂体激素分泌细胞的免疫细胞化学定位·····	(146)
实验二十九	鱼类下丘脑薄片和脑垂体碎片离体静态孵育技术·····	(152)
实验三十	鱼类脑垂体碎片离体灌流孵育技术·····	(157)
实验三十一	鱼类脑垂体细胞的分离与孵育·····	(166)
实验三十二	鱼类甲状腺对碘的积累·····	(172)
实验三十三	甲状腺激素促进鱼类生长发育的作用·····	(175)
实验三十四	鱼类细胞内抗原的免疫细胞化学定位·····	(181)
实验三十五	鱼类斯氏小囊的孵育·····	(185)
实验三十六	鱼类鳃软骨吸收放射性硫酸盐的测定 ——鱼类骨骼生长调控的研究方法·····	(191)
实验三十七	促生长剂促进鱼类生长激素分泌和鱼体 生长的测定方法·····	(196)
实验三十八	鱼类组织总脂含量的测定方法·····	(200)
实验三十九	鱼类组织脂类组成的薄层色谱分析·····	(203)
实验四十	鱼类组织总脂的脂肪酸组成分析·····	(207)
实验四十一	鱼类味觉反应的测定方法·····	(212)
实验四十二	鱼类的视网膜运动反应·····	(217)

附录:

一	鱼的保持·····	(220)
二	鱼的麻醉·····	(220)
三	鱼的标志·····	(225)
四	鱼的取血样方法·····	(227)
五	鱼的注射技术·····	(230)
六	鱼的生理盐水和组织培养液与缓冲液·····	(232)

实验一 鱼类蛋白质利用率的测定

一、实验目的

了解鱼类蛋白质利用率测定的基本原理，掌握鱼类蛋白质利用率的测定方法。

二、实验原理

食物中蛋白质的利用主要取决于它们所含有的必需氨基酸状况。食物蛋白质越是能够满足鱼类对必需氨基酸的需要，它的利用率就越高。对蛋白质营养价值的评价，目前比较普遍采用的测定与计算方法之一是蛋白质净利用率 r_{NPU} (NPU: Net protein utilization):

$$r_{\text{NPU}} = \frac{m_1 - (m_{\text{F}} - m_{\text{F}_\text{K}}) - (m_{\text{U}} - m_{\text{U}_\text{K}})}{m_1}$$

式中， m_1 为摄入的总氮量； m_{F} 和 m_{U} 分别为投喂试验饵料的鱼粪便 (feces) 和尿液 (urine) 中所含的氮量； m_{F_K} 和 m_{U_K} 分别为投喂无蛋白饵料的鱼粪便和尿液中所含的氮量，即内源性氮的失去量。

三、实验材料、仪器用具和试剂

1. 材料

鲫鱼或鲤鱼。

2. 仪器用具和试剂

水族箱、气泵、虹吸管、鱼粪便收集管；强酸性离子交换树脂柱；克氏定氮仪及定氮所需的各种常规试剂。

四、实验操作

(一) 实验装置的建立

如图 1-1 所示, 实验装置由三部分组成: ①养鱼水族箱 (A), 体积可为 $35\text{ cm} \times 20\text{ cm} \times 30\text{ cm}$ 。每次只容纳 1 尾鱼进行试验。水族箱应和水源 (E) 相连接并不断用气泵 (D) 充气, 使试验鱼处于适宜的水环境中。②粪便收集管 (B), 直径约为 3.5 cm , 长度约 25 cm , 以一虹吸管和水族箱相连。管内含有氯仿 (F), 用作粪便中氮的防腐剂; 有氢氧化铜 (G), 用作蛋白质沉淀剂; 还在管中部放置一束玻璃纤维 (I), 以防止收集的粪便 (H) 流到管外。③强酸性离子交换树脂柱 (C), 直径约 5.5 cm , 长约 60 cm , 直接和粪便收集管的出口连接, 用以吸收溶解性的尿和代谢产物的含氮化合物。

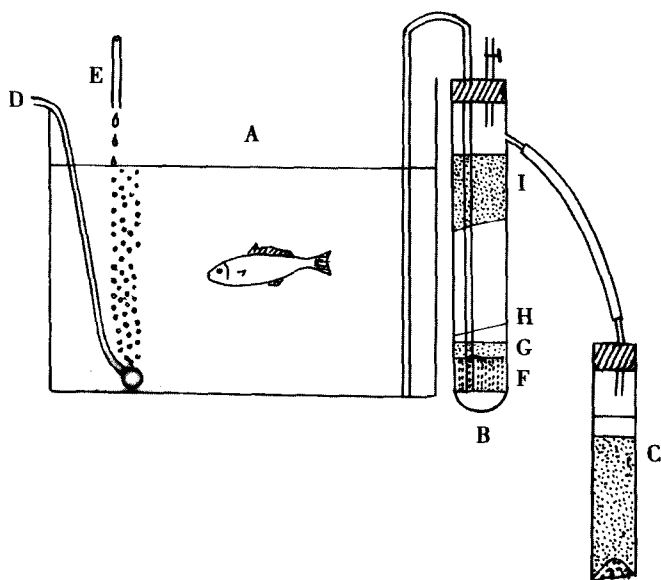


图 1-1 鱼类蛋白质利用率测定的实验装置

- A. 养鱼水族箱; B. 粪便收集管; C. 离子交换树脂柱; D. 气泵;
E. 水源; F. 氯仿; G. 氢氧化铜; H. 粪便; I. 玻璃纤维

在实验过程中, 鱼不受任何干扰, 持续的流水 (流速调节为 $50 \sim 100\text{ L/d}$) 不断输入养鱼水族箱, 水经过虹吸管进入粪便收集管, 然后进入离子交换树脂

柱。所收集的粪便以及可溶性尿和代谢产物的含氮化合物分别用克氏定氮法测定含氮量。

(二) 蛋白质净利用率测定

挑选质量 50 ~ 300 g 的试验鱼，试验前需经过水族箱投饵的适应性驯养，使鱼习惯取食所投给的饵料。

测定鱼代谢性的氮排出量（包括粪便中的氮，尿中和代谢产物中的氮），可使用含有蛋白质的试验饵料，以及使用无蛋白质的饲料作对照。测定鱼内源性的氮排出量（即在无蛋白质摄取时鱼体自身代谢所消耗的体内贮存的氮，包括尿中和粪便中的氮），可使用无蛋白质的饲料，其配方可采用：糊精 65%， α -淀粉 20%，纤维素 5%，豆油 3%，鳕鱼肝油 2%，矿物质混合物 4%，维生素混合物 1%。

试验鱼先在投饵水族箱中定量投饵。投饵量（指饲料干重）为鱼体质量的 1.9% ~ 2.5%，每日 3 次，准确记录鱼摄食的饲料量。鱼摄食后就移入试验水族箱，收集 24 h 的排泄物。每次只测定 1 尾鱼。试验期间调节适宜的流速使水源不断把水注入水族箱，通过粪便收集管和离子交换树脂柱分别收集颗粒状和可溶性的含氮化合物。24 h 后停止给试验水族箱注水，将试验鱼从水族箱取出，使水族箱内的全部水都通过粪便收集管和离子交换树脂柱。将粪便收集管内的全部收集物经过滤纸过滤后收集起来以测定其含氮量。离子交换树脂柱吸附的全部含氮化合物用 400 mL/L HCl 溶出后亦用来测定含氮量。

(三) 克氏定氮法

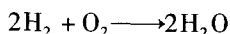
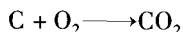
采用克氏（Kjeldahl）定氮法测定样品含氮量。其方法如下：

1. 原理

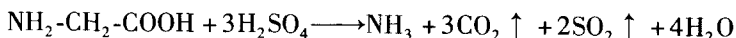
试样与浓硫酸共热，在有机物存在的情况下，硫酸在沸点（338 ℃）时分解成二氧化硫、水及氧：



产生的新生态氧具有很强的氧化力，在高温时氧化有机物中的碳成二氧化碳，而与氢结合成水。



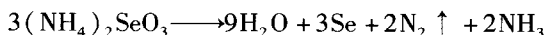
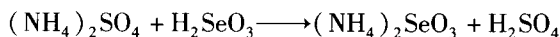
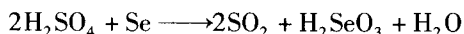
氮在二氧化硫的作用下，还原为氨。在硫酸的作用下，蛋白质分解为氨基酸，后者继续与硫酸作用。现以氨基酸中最简单的甘氨酸为例，其反应如下：



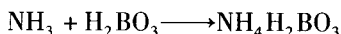
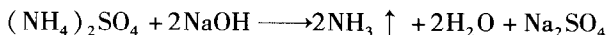
但实际上，其反应要复杂得多，生成的氨马上与硫酸结合：



这一反应过程称为试样的消化。为了加速反应，通常要在消化液中加入少量催化剂（如硫酸铜、硒及其化合物等）、提高硫酸沸点的试剂（如硫酸钾）或添加其他氧化剂（如氯酸盐、高氯酸、过氧化氢等）。以少量硒（0.1 g）为催化剂，可大大缩短消化时间（约1~3 h），但消化时间不可过长，否则可能有一部分氮以分子状态损失。



消化液中的硫酸氨与浓氢氧化钠反应，分解为氢氧化铵；后者不稳定，可分解出氨，借水蒸气蒸馏法可将氨带出，用硼酸或盐酸溶液将蒸出的氨吸收。



这一步骤称为氨的蒸馏。

最后，用标准酸溶液滴定生成的 $\text{NH}_4\text{H}_2\text{BO}_3$ （如用一定量的盐酸吸收蒸出的氨，则用标准碱溶液滴定剩余的酸——回滴法）。由此可计算试样的含氮量。

因为蛋白质的平均含氮量约为16%，故将试样含氮量乘以6.25即为试样蛋白质含量。对于不同种类的蛋白质，其含氮量稍有差异，故计算时，氮和蛋白质的换算系数需做相应修正。但在一般营养分析中，换算系数通常定为6.25。

用本法定氮，试样中的非蛋白氮也同时被测定，故称为粗蛋白含量。整个操作过程，环境中不应有氨。

2. 试剂和器材

(1) 器材。

- ①电炉 1 000 W。
- ②消化架，可用粗铁丝扎制，使克氏烧瓶可以斜靠在电炉上加热。
- ③克氏烧瓶 50 mL 或 100 mL。
- ④半微量定氮仪。
- ⑤三角锥瓶 50 mL。
- ⑥半微量滴定管，10 mL。
- ⑦量筒 5~10 mL。
- ⑧移液管 2 mL，5 mL。

⑨容量瓶 1 000 mL, 100 mL。

⑩分析天平。

⑪长镊子。

⑫小纸筒, 用绘图硫酸纸或铝箔卷成直径约 1 cm 的小纸卷, 一端折转封闭成为可装样品的小纸筒。

⑬小称瓶, 大小可以竖着放入小纸筒。

⑭电热恒温干燥箱。

(2) 试剂。

①浓硫酸 (分析纯)。

② 5g/L 硒 - 硫酸混合液: 100 mL 浓硫酸加入 0.5 g 硒粉, 用时摇匀。

③ 300 mL/L 过氧化氢 (分析纯)。

④氢氧化钠饱和溶液。

⑤ 20 g/L 硼酸溶液: 20 g 硼酸溶于 1 L 无氨蒸馏水中。

⑥混合指示剂: 0.01 g/L 溴甲酚绿的 950 mL/L 酒精溶液 10 mL 与 0.01 g/L 甲基红的 950 mL/L 酒精溶液 2 mL 混合, 此混合指示剂在碱性时呈绿色, 酸性时呈红色。

⑦盐酸标准贮备液: 取浓盐酸 (比重 1.19) 8.4 mL, 稀释到 1 L。以硼酸或无水碳酸钠标定, 调节浓度为 0.05 mL/L。

⑧盐酸标准溶液 0.01 mL/L: 用 0.1 mol/L 盐酸 100 mL 稀释, 定容至 1 L。

⑨无氨蒸馏水: 在蒸馏烧瓶的水中加进数滴甲基橙指示剂, 再滴加硫酸至红色 (稍过量), 然后进行蒸馏, 蒸出的蒸馏水即为无氨蒸馏水。试剂的配制及仪器的洗涤均用无氨蒸馏水。

3. 操作方法

(1) 样品的消化。

将小纸筒放入称瓶中, 加入约 0.5 g 试样, 然后置 105 °C 烘箱中烘至恒温, 冷却并称重后, 用长镊子夹住纸筒底部突起处, 斜向上插入到克氏烧瓶底部, 然后连烧瓶一起倒转直立, 试样即无损失地倾入瓶底, 然后小心取出纸筒, 放回称瓶中, 称重, 计算试样重量。接着, 在烧瓶中加入 6 mL 5g/L 硒 - 硫酸混合液, 轻轻转动烧瓶, 使试样全被酸湿润, 再加入 4 mL 300 mL/L 过氧化氢 (最好分几次加入, 以防止反应过于剧烈, 将试样渍出。操作应在通风橱中进行)。在剧烈反应停止后, 投入数粒玻璃珠, 置电炉上加热煮沸, 直至溶液澄清 (无色或只呈微黄色, 约需 20 ~ 30 min, 一般不超过 1 h)。冷却后, 用无氨蒸馏水定容至 100 mL, 每种样品需同时做 2 ~ 3 个平行测定。另取 2 个克氏烧瓶, 不放样品, 而分别加 6 mL 硒 - 硫酸混合液和 4 mL 过氧化氢作为空

白，往后的处理方法与样品相同。

(2) 蒸馏。

取 3 只干净的 50 mL 锥形瓶，加入 20 g/L 硼酸溶液 10 mL 及混合指示剂 4 ~ 5 滴，这时瓶内液体应呈紫葡萄色，用小烧杯盖好备用。若瓶内液体呈绿色，表示烧瓶不干净，应弃去溶液重洗。

克氏定氮仪实际上是一套蒸馏装置（见图 1-2），蒸气发生器是一容量为 2 L 的平底烧瓶，其中装入加有数滴浓硫酸和数滴沸石的蒸馏水（最好加数滴甲基橙指示剂，以便随时观察瓶中的水是否呈酸性）。克氏定氮仪在使用前需用蒸气洗涤 10 min 左右，然后将一只装有硼酸液和指示剂的小锥形瓶置冷凝管下，调节锥形瓶的高度，使冷凝管末端浸入液面以下，继续蒸馏 1 ~ 2 min，如接受液不变色，表示仪器已洗净，可以应用，移去硼酸液，用蒸馏水冲洗冷凝管口，开始样品蒸馏。

转动三通活塞。将蒸气放空，由于仪器夹层温度降低，产生负压，反应室中的残液被倒吸入夹层中，旋开排液管螺旋夹，排出夹层中的废液；转动三通活塞，导通蒸气，这时蒸气经过夹层由排液管排出，将盛有 10 mL 20 g/L 硼酸液的小锥形瓶置冷凝管下端，并使冷凝管尖端浸入液面以下，提起小玻璃杯里的棒状玻塞，用移液管准确加入样品消化液 2.0 mL 至反应室中（如果样品含氮量低，样品液可改为 5.0 mL）。用少量蒸馏水洗涤数次，使沾于小玻璃杯或玻塞的样品消化液全部进入反应室，塞回玻塞，拧紧排液管螺旋夹，在小玻璃杯中加 3 mL 饱和氢氧化钠，然后慢慢地稍提起玻塞，使氢氧化钠溶液缓慢地流入反应室中，至玻璃杯中尚有少量碱液时，塞紧玻塞，加入约 3 mL 蒸馏水，再依同法放入反应室中，然后计时；蒸馏 5 min 后，降低锥形瓶，使冷凝管口离开液面，继续蒸馏约 30 s，用少量蒸馏水冲洗冷凝管，移开锥形瓶，用小烧杯盖好留待滴定。

(3) 仪器的洗涤。

蒸馏完毕，必须把反应室中的残液吸去、洗净，这时可转动三通活塞，将蒸气放空，则反应室的残液倒吸，流入夹层，至残液刚好倒吸完，又立即导通蒸气，蒸气重又进入反应室，依前法吸去洗液。如是重复 3 次，打开螺旋夹，排出夹层中的废液，即可进行下次蒸馏。

(4) 滴定。

蒸馏液用 0.01 mol/L 盐酸标准滴定，至锥形瓶中的液体由绿色刚好转变为淡紫葡萄色，记录标准溶液耗用量。

(5) 计算。

$$\text{样品含氮量}(\%) = (\text{样品滴定值} - \text{空白滴定值}) \times \frac{c \times n}{1\,000} \times \frac{V_D}{V} \times \frac{100}{m}$$

$$\text{样品粗蛋白含量}(\%) = \text{样品含氮量} \times 6.25$$

式中, c 为标准酸液的物质的量浓度 (mol/L); n 为氮原子的摩尔质量 (14); V_D 为样品消化后定容体积 (mL); V 为用于测定的消化液体积 (mL); m 为样品质量 (g)。

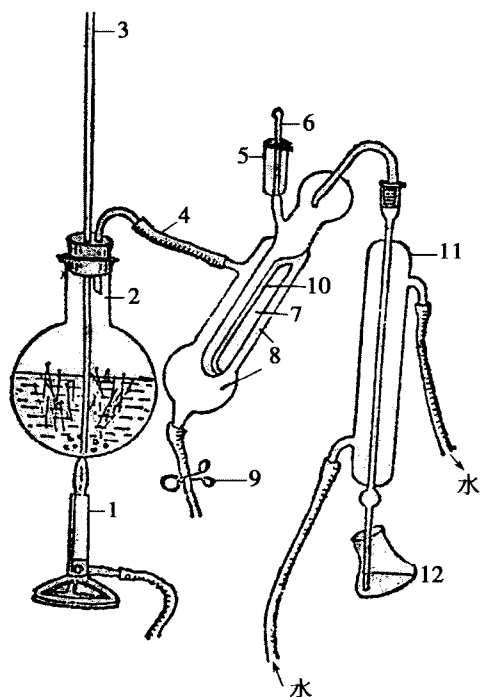


图 1-2 克氏定氮蒸馏装置

1. 煤气灯 2. 蒸汽发生器 3. 长玻璃管 4. 橡皮管
5. 小玻璃杯 6. 棒状玻璃 7. 反应室 8. 反应室外壳
9. 夹子 10. 反应室中插管 11. 冷凝器 12. 锥形瓶

(引自林鼎等:《鱼类营养与配合饲料》, 广州, 中山大学出版社, 1987)

实验二 鱼类对饵料主要成分 消化吸收率的测定

——放射性同位素 ^{14}C 标记测定法

一、实验目的

了解养殖鱼类对饵料中某种成分的消化吸收和代谢的特点；掌握应用放射性同位素对饵料成分进行标记和测定鱼类对饵料某种成分消化吸收率的基本方法。

二、实验原理

应用放射性同位素标记饵料中的某种成分，然后分离提取该成分并制成颗粒饵料投喂鱼类，分别测定鱼体内和饵料中的放射性活度。由于鱼体内的放射性活度能反映鱼对所摄食饵料某种成分的消化吸收量，因而，对比饵料中的总放射性活度和鱼体中的总放射性活度，就可计算鱼对饵料中某种成分的消化吸收率。本实验着重介绍草鱼对放射性同位素 ^{14}C 标记粗纤维的消化吸收情况。采用本实验技术和方法可以测定其他种鱼类对饵料其他成分的消化吸收情况。

三、实验材料、仪器用具和试剂

1. 材料

草鱼鱼种 10 ~ 20 尾，凤眼兰 (*Eichnornia crassipes*)。

2. 仪器用具和试剂

$\text{Na}_2^{14}\text{CO}_3$ 、水族箱、解剖用具、生物化学分析室和同位素实验室的基本设备。

四、实验步骤

(一) 放射性同位素 ^{14}C 标记粗纤维的制备

纤维素是构成植物细胞壁的主要成分，它由许多 β -葡萄糖单位所组成。获得天然的放射性糖类最常用的方法是把绿色植物叶子放在含有放射性二氧化碳的空气中进行光合作用。所以，要得到放射性纤维亦要通过植物进行光合作用，在体内合成放射性的同化产物，然后用化学方法分离和提纯。

为此，采用 $\text{Na}_2^{14}\text{CO}_3$ 和高氯酸作用产生 $^{14}\text{CO}_2$ ，并选择吸收 $^{14}\text{CO}_2$ 合成有机物能力较强的凤眼莲幼嫩植株作为进行光合作用的植物材料。

本实验采用密闭系统使植物在含有 $^{14}\text{CO}_2$ 的空气中进行光合作用。使用的仪器和方法如下（见图 2-1）：

(1) 电动单向打气泵。

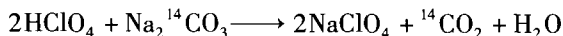
(2) 放射性二氧化碳反应瓶。其中瓶₁装 1 mol/L 高氯酸 15~20 mL，并加入几滴甲基红作为指示剂，瓶₂装 $\text{Na}_2^{14}\text{CO}_3$ 100 μCi ($3.7 \times 10^6 \text{ Bq}$)，瓶₃为安全瓶。

(3) 叶室：(a) 为钟罩形玻璃罩（容积约为 4 000 mL），作为光合作用叶室，其顶端有进出气孔；(b) 为有孔的有机玻璃板，每株凤眼莲插在有机玻璃板上；(c) 为盛水的玻璃缸，凤眼莲根部浸入其中，使植株处于正常生理状态。

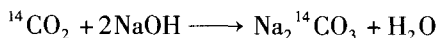
(4) 回收瓶：其中瓶₁为缓冲瓶，瓶₂和瓶₃盛过量的 NaOH 溶液。

上述四个部分以橡胶管连接起来形成密闭的循环系统，如图 2-1 所示。

光合作用开始时，接通电源，气流从单向泵进入反应瓶，产生如下反应：



回收瓶的反应如下：



在阳光下进行光合作用，喂 $^{14}\text{CO}_2$ 时间持续 30 min，回收 15~20 min。

光合作用结束后，植物在盛水的玻璃缸中经一昼夜后取出，剪弃根部，用自来水冲洗后在 105 $^{\circ}\text{C}$ 烘箱中烘干。然后用密封的磨粉机磨成微细粉末，以分离提取粗纤维。

(二) ^{14}C 标记粗纤维的提取

称取 20 g ^{14}C 标记的凤眼莲干粉置于 3 000 mL 大烧杯中，加入 2 000 mL 12.5 mL/L H_2SO_4 ，加热煮沸，同时加入数滴辛醇溶液，以防止气泡过多，并注意水分蒸发。不断用滴管加入沸水，使烧杯内溶液保持在 2 000 mL 左右。