植物生理实验室规则

1. 实验室必须保持安静、整洁。

2. 除指定的仪器外，不得动用其他仪器。使用仪器前，应了解其性能和操作方法，并注意爱护；使用完毕，应记录仪器使用情况。

3. 使用药品和试剂应注意安全，公用药品必须在原来放置的地方取用，并注意节约。

4. 实验材料严禁倒入水槽内，有腐蚀性的废液必须小心倾倒入废液桶(以便做统一处理)。

5. 实验过程要小心谨慎，万一损坏仪器设备，应如实报告教师，并办理登记手续。如属违反操作规则而造成损失，视情节轻重赔偿或处分。

6. 实验完毕，应清洗玻璃仪器、收拾台面，值日生应负责整个实验室清洁卫生工作（包括关水电、抹台面、扫地、倒垃圾）。

需要全本请访问 www.ertongbook.com

实验 1　植物组织含水量的测定

【实验原理】

植物组织含水量是植物生理状态的一个指标。如水果、蔬菜含水量的多少对其品质有影响，种子含水量对安全贮藏更有重要意义。利用水遇热蒸发为水蒸气的原理，可用加热烘干法来测定植物组织中的含水量。植物组织含水量的表示方法，常以鲜重或干重的百分比表示，有时也以相对含水量表示。后者更能表明它的生理意义。

【仪器设备】

电子天平、干燥器、烘箱、称量瓶、坩埚钳、吸水纸。

【实验步骤】

1. 自然含水量法

(1) 称量瓶的恒重：将洗净的两个称量瓶编号，放在 105℃恒温烘箱中，烘 2h 左右，用坩埚钳取出放入干燥器中冷却至室温后，在电子天平上称重，再于烘箱中烘 2h，同样于干燥器中冷却称重，如此重复 2 次(2 次称重的误差不得超过 0.002g)，求得平均值 m_1，将称量瓶放入干燥器中待用。

(2) 将待测植物材料（如叶子等）从植株上取下后迅速剪成小块，装入已知的称量瓶中盖好，在分析天平上准确称取质量，得瓶与鲜样品总质量 m_2，然后于 105℃ 烘箱中干燥 4～6h(注意要打开称量瓶盖子）。取出称量瓶，待其温度降至 60～70℃后用坩埚钳将称量瓶盖子盖上，放在干燥器中冷却至室温，再用电子天平称重，然后再放到烘箱中烘 2h 在干燥器中冷却至室温，再称重，这样重复几次，直至恒重为止。称得质量是瓶与干样品总质量 m_3。烘时注意防止植物材料焦化。如系幼嫩组织，可先用 100～105℃杀死组织后，再在 80℃下烘至恒重。

(3)记录及计算(见表 1)

表 1　测定组织含水量记载表　　日期＿＿＿＿　　记录人＿＿＿＿

编号	称量瓶重(m_1)	瓶重＋样品鲜重(m_2)	瓶重＋样品干重(m_3)

样品鲜重 $m_f = m_2 - m_1$

样品干重 $m_d = m_3 - m_1$

含水量%(占鲜重%) $= \dfrac{m_f - m_d}{m_f} \times 100\%$

2. 相对含水量法

相对含水量法是以植物组织的饱和含水量为基础来表示组织的含水状况，因为作为计算基础的组织饱和含水量有较好的重复性，而组织的鲜重、干重不太稳定（鲜重常随时间及处理条件而变化，生长旺盛的幼嫩叶子，常随时间而会显著增加，所以要进行不同时期含水量的对比就不恰当）。一般认为，采用相对含水量表示组织的水分状况比用自然含水量表示好。

(1)同 1，先求得组织鲜重 m_f，然后将样品浸入蒸馏水中数小时，使组织吸水达到饱和状态（浸水时间因材料而定）。取出用吸水纸吸去表面的水分，立即放于已知质量的称量瓶中称重，再浸入蒸馏水中一段时间后取出吸干外面水分，再称重，直至与上次相等为止。此即为植物组织在吸水饱和时的质量，称饱和鲜重 m_t。再 如 1 法将样品烘干，求得组织干重 m_d。$m_t - m_d$ 即为饱和含水量。

(2)计算

相对含水量 % （组织含水量占饱和含水量的百分比）$= \dfrac{m_f - m_d}{m_t - m_d} \times 100\,\%$

实验 2　植物组织中自由水和束缚水含量的测定

植物组织中的水分以自由水和束缚水两种不同的状态存在。 自由水与束缚水含量的高低与植物的生长及抗逆性有密切关系。自由水／束缚水比值高时，植物组织或器官的代谢活动旺盛，生长也较快，抗逆性较弱；反之，则生长较缓慢，但抗逆性较强。 因此，自由水和束缚水的相对含量可以作为植物组织代谢活动及抗逆性强弱的重要指标。

【实验原理】

束缚水被细胞胶体颗粒所吸附，水势较低，故不易移动、蒸发和结冰，不能作为溶剂，也不易被夺取。可根据这些特点测定束缚水含量。将植物组织浸入浓糖液中脱水，经过一定时间后易移动的自由水可全部进入糖液中，组织中剩余的水分可看作束缚水。根据糖液浓度变化可测得自由水量 。由植物组织的总含水量减去自由水量，即可求出束缚水量

【实验材料】

小白菜、棉花叶片

【仪器设备】

阿贝折射仪、分析天平或电子天平（感量 0.1mg）、烘箱、干燥器、称量瓶、打孔器（面积 0.5cm² 左右）、烧杯、瓷盘、托盘天平（感量 0.1g)、量 筒

【试剂药品】

质量分数为 60%～65%的蔗糖溶液：用托盘天平称取蔗糖 60～65g 置烧杯中，加蒸馏水 40～35g 使溶液总质量为 100g ，溶解后备用

【实验步骤 】

（1）取称量瓶 6 个 ,编 号（设 3 次重复）,分别称准质量。

（2）在田间选取生长一致的待测植物数株，各选部位、长势、叶龄等一致的有代表性的叶子数片

（3）用打孔器在叶子两侧（避开主脉）对称地打取小圆片共 300 片，分别随机地放入已编号的 6 个称量瓶中(各 50 片），盖紧，以免水分散失

（4）准确称取各瓶质量，求出各瓶样品鲜重然后将其中 3 瓶置烘箱中于 105℃下 10min 杀青，再于 80℃下烘至恒重，求出组织含水量（%）。将 另 3 瓶中各加入 60%～65%(质量分数)蔗糖溶液 5mL， 再准确称重，算出各瓶糖液质量。于暗处放置 4～6h，其间不时轻轻摇动

（5）到预定时间后，充分摇动溶液，用折射仪分别测定各瓶糖液浓度，同时测定原来的糖液浓度（折射仪用法见附注），按下式求组织中自由水和束缚水含量（%）。

$$\text{自由水含量}(\%)=\frac{\text{糖液量}(g)\times\dfrac{\text{糖液原来浓度}(\%)-\text{浸叶后糖液浓度}(\%)}{\text{浸叶后糖液浓度}(\%)}}{\text{植物组织鲜重}(g)}\times 100$$

束缚水含量(%)＝组织含水量(%)－自由水量(%)

（6）把测定结果记入表 2

表 2　测定组织自由水和束缚水含量记载表

日期＿＿＿＿

植物	处理	组织含水量(%)	组织鲜重(g)	糖液质量(g)	糖液浓度(%)		自由水量(%)	束缚水量(%)	自由水量/束缚水量
					原浓度	浸叶后			

【思考题】

（1）测定植物组织中自由水和束缚水含量有何意义？

（2）自由水／束缚水比值的大小与植物生长、代谢活动及抗逆性关系如何？

【附注】

阿贝折射仪的构造（见图 1）及使用方法：

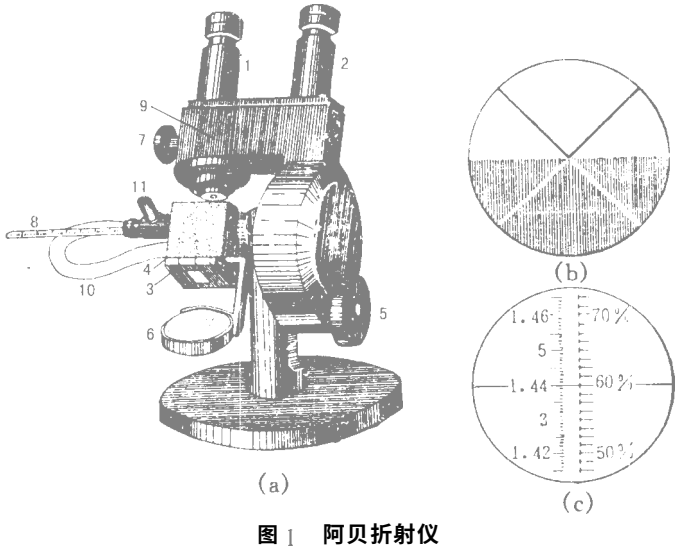


图 1　阿贝折射仪

1—望远镜；2—标尺镜；3、4—棱镜；5—转动螺旋；6—反光镜；7—补偿棱镜调节器；8—温度计；9—校正螺丝；10、11—通水保温装置

需要全本请访问 www.ertongbook.com

根据光学原理，当光线从某种透光介质射入密度不同的另一介质时，其方向即发生改变，这种现象称为折射或折光，入射角正弦与出射角正弦之比称为折光率或折光系数。折光系数视介质的种类及浓度而异，亦随温度而变化，因此在同一温度之下，可以鉴别不同物质或同一物质的不同浓度。阿贝折射仪的构造，如图 a，使用时把仪器放在光亮处，调节反光镜、转动棱镜手轮，使望远镜中光线明亮，打开棱镜，滴上测定液 2～3 滴，将棱镜锁紧，使溶液在两个棱镜间成一薄层无气泡，此时望远镜视野中当可见到明暗不同的两个半圆，调节阿米西棱镜手轮，消除因色散而产生的虹彩，只余黑白二色，再调节棱镜转动手轮，使明暗交界线正通过十字交叉线的交点，如图 b。此时十字线如不清晰，可转动望远镜上的目镜，至清晰为止。然后从标尺镜中读出折光系数或相当于含糖量的百分数，如图 c。查表 3 求出温度在 20℃时的含糖百分率，如温度不是 20℃，则应查表 4 加以校正。

表 3　温度 20℃时折光系数测定糖液中的含糖量

折光系数（20℃）	糖（%）	折光系数（20℃）	糖（%）	折光系数（20℃）	糖（%）	折光系数（20℃）	糖（%）
1.3330	0	1.3460	9.0	1.3604	18.0	1.3757	27.0
1.3337	0.5	1.3468	9.5	1.3612	18.5	1.3700	27.5
1.3344	1.0	1.3475	10.0	1.3620	19.0	1.3774	28.0
1.3351	1.5	1.3483	10.5	1.3629	19.5	1.3783	28.5
1.3358	2.0	1.3491	11.0	1.3637	20.0	1.3792	29.0
1.3365	2.5	1.3499	11.5	1.3645	20.5	1.3801	29.5
1.3372	3.0	1.3507	12.0	1.3654	21.0	1.3810	30.0
1.3379	3.5	1.3515	12.5	1.3662	21.5	1.3819	30.5
1.3386	4.0	1.3522	13.0	1.3671	22.0	1.3828	31.0
1.3393	4.5	1.3530	13.5	1.3679	22.5	1.3838	31.5
1.3400	5.0	1.3538	14.0	1.3687	23.0	1.3847	32.0
1.3408	5.5	1.3546	14.5	1.3696	23.5	1.3856	32.5
1.3415	6.0	1.3554	15.0	1.3704	24.0	1.3865	33.0
1.3423	6.5	1.3562	15.5	1.3713	24.5	1.3874	33.5
1.3430	7.0	1.3571	16.0	1.3721	25.0	1.3884	34.0
1.3438	7.5	1.3579	16.5	1.3730	25.5	1.3893	34.5
1.3445	8.0	1.3587	17.0	1.3739	26.0		
1.3453	8.5	1.3596	17.5	1.3748	26.5		

表 4　温度不足 20℃时折射仪的读数校正数

温度(℃)		试样中糖分含量(%)									
		5	10	15	20	30	40	50	60	70	80
		含糖百分数中减去(或增加)以下数值									
15		0.25	0.27	0.31	0.31	0.34	0.35	0.36	0.37	0.36	0.36
16	减	0.21	0.23	0.26	0.27	0.29	0.31	0.31	0.32	0.31	0.29
17		0.16	0.18	0.20	0.20	0.22	0.23	0.23	0.23	0.20	0.17
18	去	0.11	0.14	0.14	0.14	0.15	0.16	0.16	0.15	0.12	0.09
19		0.06	0.08	0.08	0.08	0.08	0.09	0.09	0.08	0.07	0.05
21		0.06	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07
22		0.12	0.14	0.14	0.14	0.14	0.14	0.14	0.14	0.14	0.14
23		0.18	0.20	0.20	0.21	0.21	0.21	0.23	0.21	0.22	0.22
24	增	0.24	0.26	0.26	0.27	0.28	0.28	0.30	0.28	0.29	0.29
25		0.30	0.32	0.32	0.31	0.36	0.36	0.38	0.36	0.36	0.37
26		0.36	0.39	0.39	0.41	0.41	0.43	0.46	0.44	0.43	0.44
27	加	0.43	0.46	0.46	0.48	0.50	0.51	0.55	0.52	0.50	0.51
28		0.50	0.53	0.53	0.55	0.58	0.59	0.63	0.60	0.57	0.59
29		0.57	0.60	0.61	0.62	0.66	0.67	0.71	0.68	0.65	0.67
30		0.64	0.67	0.70	0.71	0.74	0.75	0.80	0.76	0.73	0.75

实验 3　植物组织水势的测定

一、小液流法

【实验原理】

测定植物组织水势的方法较多，小液流法是其中一种本法是将植物组织置于不同浓度（也即不同水势）的蔗糖溶液中，寻找到一种浓度的蔗糖溶液，其水势与植物组织的水势相等，然后计算该浓度蔗糖溶液的水势，从而知道植物组织的水势。

蔗糖溶液的水势 $\Psi_w - \Psi_s = -icRT$，其中 i 为解离常数（蔗糖的 $i=1$），c 为溶液的浓度，R 为气体常数(即 $8.31\text{J}/(\text{mol}\cdot\text{K})$，$T$ 为绝对温度，即 $273+t$（测定时的摄氏温度），Ψ_s 为渗透势，单位为 Pa(1 大气压 $=1.013\times10^5\text{Pa}$)

如何知道哪一浓度蔗糖溶液的水势与植物组织的水势相等呢？我们知道，水势的高低决定了水分的流动方向。如图 2所示，若将植物细胞浸于蔗糖溶液中，当植物细胞的水势大于外界蔗糖溶液的水势时，细胞失水，外界溶液相对密度变小；当植物细胞的水势小于外界蔗糖溶液的水势时，细胞吸水，外界溶液的相对密度变大；只有当植物细胞的水势与外界蔗糖溶液的水势相等时，植物细胞将既不吸水又不失水（实际情况应是吸水和失水达到动态平衡），而蔗糖溶液的相对密度将不发生变化。因此，测定外界蔗糖溶液的相对密度变化就可确定哪一浓度的蔗糖溶液的水势与植物细胞的水势相等。

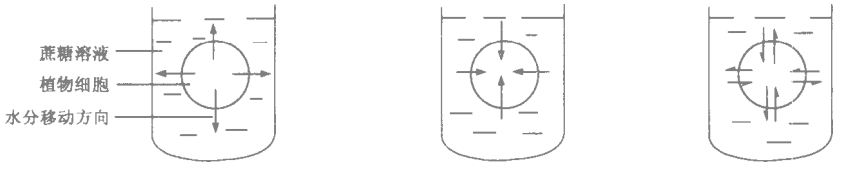


图 2　植物组织水分移动示意图

测定蔗糖溶液相对密度的变化，可采用如下简便的方法：即利用毛细管吸取已浸过植物组织的蔗糖溶液（为便于观察，可用甲烯蓝先染上颜色），放一小滴到与其对应的相同浓度的蔗糖溶液中，然后观察滴出的小液滴（蓝色）的移动方向，即可知道浸过植物组织的蔗糖溶液相对密度的变化(“小液流法”即由此而来）。若小液滴向上移动，则表示浸过植物组织的蔗糖溶液的相对密度变小；相反，向下移动，则表示相对密度变大；若静止不动，则表示相对密度未变化，说明该浓度蔗糖溶液的水势与植物组织的水势相等。

【实验材料】

白兰或其他植物的叶片

【仪器设备】

试管架、5mL 带塞试管 6 支、10mL 带塞试管 6 支、毛细管 6 支、打孔器、镊子、移液管、吸球等

【试剂药品】

1mol/L 蔗糖溶液、甲烯蓝粉末。

【实验步骤】

(1) 取 6 支 5mL 带塞试管编号，排列于试管架上；另取 6 支 10mL 的带塞试管编上相同的号码，与 5mL 试管对应排列于试管架上。所用试管一定要干燥。

(2) 取 1mol/L 蔗糖溶液作母液，用蒸馏水将其稀释成下列各浓度：0.1mol/L、0.2mol/L、0.3mol/L、0.4mol/L、0.5mol/L、0.6mol/L，各 10mL。然后充分摇匀，加塞

(3) 用移液管从 10mL 试管中，取出不同浓度的蔗糖溶液 1mL，分别装人相对应的 5mL 试管中，立即加塞。移液管与浓度一一对应。

(4) 取生长状态一致的植物叶片数片（擦干表面水分），在叶片的相同部位（应避免叶脉）用打孔器打取小圆片，用镊子向 5mL 试管中各投人 10 片，使溶液浸没小圆片，加塞放置约 30min，其间经常摇动小试管，并保持小圆片浸没于溶液中打取小圆片及投人试管中时，动作应尽量快速。

(5) 到时间后，向 5mL 试管中各加入甲烯蓝粉末少许（以染成蓝色为度），摇匀，使溶液着色

(6) 取干燥毛细管 6 支，分别从 5mL 试管中吸取蓝色溶液（约为毛细管的一半以上），用吸水纸将毛细管外壁的蓝色溶液擦干净，然后插人与 5mL 试管相对应的 10mL 试管中，使毛细管内的液面高于试管内的液面 1～2cm，然后缓慢放出蓝色溶液一小滴，保持毛细管静止不动（可将毛细管壁靠在试管口上），观察蓝色小液滴的移动方向，然后缓慢取出毛细管插回 5mL 试管中插人和取出毛细管时动作应缓慢并保持毛细管内溶液不漏出。毛细管与浓度应一一对应。

(7) 将蓝色小液滴移动方向填人表 5 中，若小液滴向上移动，则说明叶片组织水势大于该浓度蔗糖溶液的水势；若向下移动则相反；若静止不动，则说明叶片组织的水势与该蔗糖溶液的水势相等；如果在前一浓度中向下移动，而在后一浓度中向上移动，则植物组织的水势可取两种浓度蔗糖溶液水势的平均值。

表 5 小液流法现象观察记载表

蔗糖浓度(mol/L)	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6
小液滴移动方向						

(8) 记录实验时的温度（℃）

二、压力室法

【实验原理】

植物在土壤—植物—大气连续系统中，根不断从土壤中吸收水分，而叶片又不断向周围环境散失水分，在这种水势梯度系统中，植物根—茎—叶也存在水势梯度，使木质部导管中的细小水柱受空气低水势的负压影响，形成水分向上运输的拉力。当植物枝条或叶片被切下时，导管中这种被拉紧的水柱断裂，水柱会从切口向上端内侧收缩。将切下的材料装入仪器的压力室内（操作程序见下），使切口一端伸出室外密封起来，加压使枝条或叶片内的张力重新平衡，把小水柱推回恰到切口表面时为止，所加的压力即为植物的水势值，用负号表示，查表计算。

【实验材料】

小麦、棉花、天竺葵。

【仪器设备】

压力室水势测定仪(图 3)、贮气瓶。

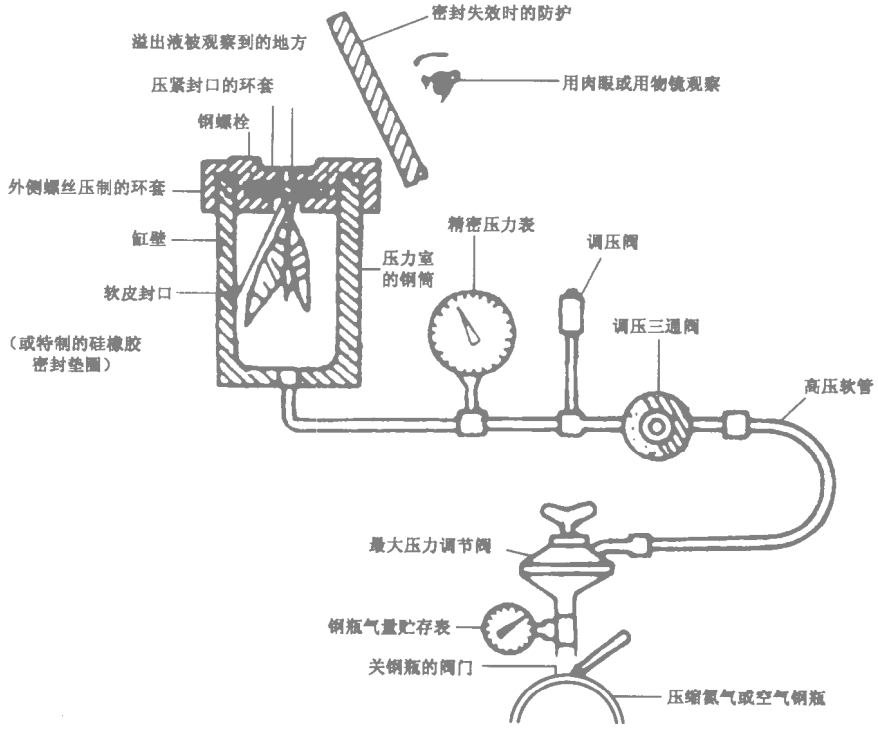


图 3 压力室构造简图

【实验步骤】

1. 仪器的准备

用高压金属软管通过过渡接头把贮气瓶与水势测定仪连接好。打开仪器箱，取下压力室盖，按测定材料的需要安装好相应大小的孔（缝）金属垫片和橡胶密封垫，放在仪器台上的凹陷处。关闭进气阀和排气阀。为了避免仪器加压过高引起压力室内升温和空气变干的影响，可用湿润的纱布块放在压力室底部（注意不要堵塞进气孔）或罩在材料上。

2 取样和装样

用小刀取供试样品（枝条、具柄叶片、禾本科植物叶片或植物苗期地上部分等），叶柄和枝条应有多于 3 cm 的长度用于固定到密封垫上，试样如不能立即测定时，应迅速将其装入塑料袋或微湿润的纱布内，放入带盖的瓷盘中防止水分散失。材料的切面应力求平整，否则应再做一次薄的垂直平滑切割。将它穿过盖上的孔（缝）使切割端露出几毫米，转动具有把手的压帽将材料夹好，要做到密封又不损伤材料（这需要操作经验）为了减少水分丧失，应尽快将盖放回，使它沿槽下降并按顺时针转动，使盖上的字码与筒体字码重合（或转动受阻时为止），关好压力室，切记不可疏忽大意，在未盖好盖子时加压，使压力室盖脱出造成危险。

3. 加压测定

打开贮气瓶阀少许（不宜开得过大），仪器台面上的小压力表指针转动，停下的位置示贮气瓶气压。轻微打开进气阀，使压力以 1.96×10^5 Pa/s 的速度上升，并用发光放大镜在压力室上部旁边从 35。处观察材料切面。当切面呈现湿润时立即关闭进气阀，从精密压力表上记下读数，此值即为被测样品水势的绝对值。如果操作时光线不好或在夜间工作，可打开发光放大镜开关观察（用法见仪器说明书）。操作中如密封垫因未压紧漏气时，可轻轻将压帽进一步拧紧到不漏气为止。读数结束后，打开排气阀使压力室内的气体逸出，精密压力表指针回到零处. 打开室盖取下材料，关闭排气阀，进行下一次测定工作结束后关闭贮气瓶阀门，把仪器中的气体放尽，做好清洁工作，把箱盖盖好

4. 野外操作

用仪器背带通过粘扣将仪器捆好，背至工作地点，装好铝管支架方可开始工作，仪器箱盖必要时还可暂作坐凳使用。

5. 节省气体操作

当测定样品为棒状枝条或禾本科植物叶片时（大叶片可取中脉旁的一部分），可将附件木筒放入压力室内，填充室内容积 50%，以减少气体用量和操作时间，提高工效，还可减少去野外工作携带的气体的数量。

【注意事项】

(1)压力室盖一定要关闭到位。测量完后要排放完压力室内的气体，方可打开室盖更换样品。

(2)操作时切记不要把手和脸放在压力室的上方，避免因疏忽未盖好压力室盖，或材料未固定好发生滑出，造成损害

需要全本请访问 www.ertongbook.com

（3）加压速度不应过快，过快会因传导滞后效应使得到的结果偏高。

（4）仪器上的精密压力表，经过一段时间使用后，应按说明校验。仪器应注意轻搬轻放，强烈振动会影响仪表精度。

（5）仪器勿超压使用，当出现超压时，安全阀会发出泄气声，应立即停止加压。

（6）所用气体为 N_2，如果含 CO_2、O_2 太多，会对细胞有害，影响结果。

【思考题】

（1）试述小液流法测定植物组织水势的原理。

（2）压力室法测定植物组织水势，应注意些什么？

（3）小液流法测定植物组织水势时，为什么应强调所用试管、毛细管应保持干燥，打取小圆片并投入到试管中时动作应迅速，加入甲烯蓝时不能太多？

实验 4　植物细胞渗透势的测定(质壁分离法)

植物细胞的渗透势(osmotic potential)主要取决于液泡的溶质浓度，因此又称溶质势(solute potential)。渗透势与植物水分代谢、生长及抗逆性等有密切关系。已知在干旱、盐渍等条件下，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，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。渗透调节能力的大小可以用逆境条件下细胞的渗透势的降低值来表示，在水分生理与抗逆性生理研究中经常需要测定。

【实验原理】

将植物组织放入一系列不同浓度的蔗糖溶液中，经过一段时间，植物细胞与蔗糖溶液间将达到渗透平衡状态。如果在某一溶液中细胞脱水达到平衡时刚好处于临界质壁分离状态，则细胞的压力势 ψ_p 将下降为零。此时细胞液的渗透势 ψ_π 等于外液的渗透势 $\psi_{\pi 0}$，即 $\psi_\pi = \psi_{\pi 0}$　此溶液称为该组织的等渗溶液，其浓度称为该组织的等渗浓度，即可计算出细胞液的渗透势(ψ_π)。实际测定时，因为临界质壁分离状态难以在显微镜下直接观察到，所以一般均以初始质壁分离作为判断等渗浓度的标准。处于初始质壁分离状态的细胞体积，比吸水饱和时略小，故细胞液浓缩而渗透势略低于吸水饱和状态时的渗透势称基态渗透势。

【实验材料】

洋葱或大葱鳞茎、小麦叶片。

【仪器设备】

显微镜、载玻片与盖玻片各若干、温度计、尖头镊子、刀片、小培养皿（直径为6cm）、试剂瓶、烧杯、容量瓶、量筒、吸管等、吸水纸适量。

【试剂药品】

（1）1mol/g 蔗糖水溶液。称取预先在 60～80℃下烘干的蔗糖 34.2g 溶于 100g 蒸馏水中，即为 1 质量摩尔浓度的蔗糖溶液。

（2）0.03% 中性红溶液。

（3）蔗糖系列标准液。取干燥洁净的小试剂瓶 9 支编号，用 1mol/L 蔗糖水溶液依 $c_1V_1 = c_2V_2$ 公式配制 [redacted] 0.55mol/L、0.60mol/L、0.65mol/L、0.70mol/L 等一系列不同浓度的蔗糖水溶液（具体范围可根据材料不同而加以调整），贮于试剂瓶中，瓶口加塞以防蒸发浓缩。

【实验步骤】

（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，使之成一薄层，盖好皿盖备用。

（2）用镊子剥取供试材料下表皮或用刀片小心刮取小麦叶片上表皮，大小以 0.5 cm^2 为宜。吸去切片表面水分，立即浸入不同浓度的蔗糖溶液中，每一浓度 4～5 片。为便于观察，可先将切片于 0.03% 中性红内染色 5 min 左右，吸去水分，再浸入蔗糖溶液中，但如不加染色即能区别质壁分离时，仍以不染色为宜。

（3）切片在蔗糖溶液中浸泡 20～30 min，同时记录室温，取出放在载玻片上，滴一滴相同浓度的糖液，加盖玻片，在显微镜下观察，确定引起 50% 以上细胞发生初始质壁分离（即原生质体刚从细胞壁的角隅分离）的浓度，每一制片观察的细胞不应少于 100 个。如果在两个相邻浓度的切片中，一个切片没有发生质壁分离，另一个切片发生质壁分离的细胞数超过 50%，则这两个浓度的平均值为其等渗浓度。检查时可先从中间浓度开始。

【结果计算】

由所得到的等渗浓度和测定的室温，用下式计算供试溶液的渗透势（ψ_π），即为细胞的渗透势。

$$\psi_\pi = \psi_{\pi 0} = -icRT(\mathrm{MPa})$$

式中，$\psi_{\pi 0}$ 为供试溶液的渗透势，MPa；c 为供试溶液的浓度，mol/L（以水作溶剂）；R 为气体常数，0.008314 [L·MPa/(mol·K)]；T 为绝对温度，(273 + t℃)，K；i 为解离系数，蔗糖 = 1。

表 6　植物细胞渗透势测定记载表

实验人_____　日期_____　材料名称_____　实验时室温_____

蔗糖浓度(mol/L)	渗透势(MPa)	质壁分离的相对程度(作图表示)
0.30		
0.35		
0.40		
0.45		
0.50		
0.55		
0.60		
0.65		
0.70		

【思考题】

（1）配制蔗糖溶液时为何用质量摩尔浓度（mol/g）而不用物质的量浓度(mol/L)?

（2）质壁分离法除了用于细胞渗透势测定外，还有什么用处？

实验 5　蒸腾强度的测定（容积法）

【实验原理】

蒸腾强度是指植物在一定的时间内单位叶面积蒸腾的水量，一般用每小时每平方分米所蒸腾的水量(g)来表示，即

$$Q = m/(t \cdot S)$$

式中，Q 为蒸腾强度，$g/(dm^2 \cdot h)$；m 为蒸腾的水量，g；t 为时间，h；S 为叶面积，dm^2。

容积法测定植物的蒸腾强度，是将带叶的植物枝条通过一段乳胶管与一支滴定管相连，管内充满水，组成一个简易蒸腾计(如图 4所示)。蒸腾一定时间(t)后，即可从滴定管刻度读出蒸腾失水的容积，换算成质量即为蒸腾的水量（m），然后用质量法测定出枝条中叶的总面积（S)。得到以上数据后，代入上述公式即可求出蒸腾强度。

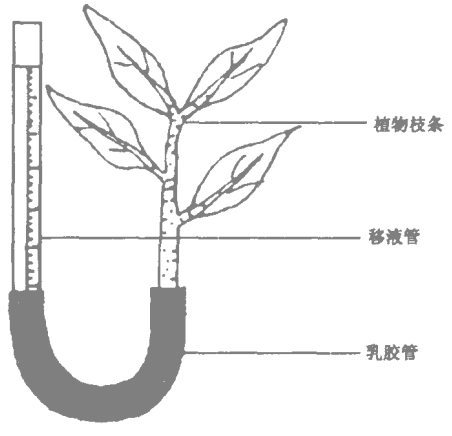


图 4　简易蒸腾计

质量法测定叶面积的原理是：假定一张白纸各部分分布均匀，那么纸的面积（b）就与纸的质量(a）成正比，该纸单位质量的面积为 b/a，即知道质量就可求出面积。今将枝条上的叶片的实际大小描在白纸上，并沿笔线剪下来，然后称其总质量（x)，则叶的总面积 $S=(b/a)\cdot x$

【实验材料】

白兰或其他植物枝条。

【仪器设备】

1 mL 移液管 1 支、铁架台及滴定管夹、乳胶管、剪刀、白纸（或报纸）数张、药物天平一架、铅笔等。

【实验步骤】

(1) 取植物枝条（不能太粗或太细，以能插入乳胶管并保持密封为度），保留几片叶子，然后于水中将枝条剪断，以免导管内进入空气。

(2) 在水盆中将移液管和乳胶管内注满水，于水中将移液管下端与乳胶管一端相

连，调节管内水位在 0 刻度以下。

（3）将枝条在水中插入乳胶管的另一端，接口处不能漏水（若漏水可用凡士林封住）。管内务必不能有气泡。

（4）将安装好的简易蒸腾计固定在滴定管夹上成 U 型装置。轻轻擦干叶片表面水分，开始计时并记下移液管内的初始水位，填入表 7。

表 7　蒸腾强度测定记载表

蒸腾开始	时间	
	水位	
蒸腾结束	时间	
	水位	
某张白(报)纸	面积(b)	
	质量(a)	
与叶片同等大小的白(报)纸总质量(x)		
叶的总面积 $S=(b/a)x$		
蒸腾强度 $Q=m(t\cdot S)$		

（5）30～60 min 后，记录移液管水位刻度，然后将枝条上的叶子全部剪下，用质量法计算出叶片总面积，填入表 7。

【思考题】

（1）为何要在水中剪断枝条，以免导管内进入空气？乳胶管内为何务必不能有气泡？

（2）称重前，若剪下的纸被水打湿，将对结果产生什么影响？

需要全本请访问 www.ertongbook.com