

蒸汽压渗透压计测定植物组织渗透势

一、概述

植物细胞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。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。

蒸汽压渗透压计是一种通过测定溶液蒸气压的变化来测定样品渗透势的仪器。该仪器使用灵敏的热电偶，能够精确测定样品渗透势的细微变化。其优点是不需要改变样品的物理状态；样品用量少（10 μ L 体积）；可以测定任何生物液体的渗透势，如血液、血清、血浆、尿液、汗液以及榨取动、植物组织样品的混合溶液等。

二、蒸汽压渗透压计的工作原理

渗透势是溶解在整个溶液中的粒子浓度的体现，与粒子的体积、密度、外形和电荷无关。对于一种溶液来说，溶质颗粒数的增加改变了溶剂分子的自由度，导致溶剂分子的蒸汽压、冰点和沸点等特性的改变。与纯的溶剂相比较，溶液的蒸汽压和冰点下降，而沸点升高。溶液中粒子的增加量与溶液的蒸汽压、冰点和沸点的相对变化呈线性相关，称为溶液的“依数”性。溶液浓度的变化会引起溶液的依数性的变化。通过测定依数性中任一特性的改变，既可以测定溶液的浓度或渗透势。

蒸汽压渗透压计测定溶液渗透势的原理是：将加有样品溶液的载物台上推入样品小室并封闭，经一定时间后，样品室内的空气和样品溶液将达到室温下的平衡状态，即：空气的饱和蒸气压等于组织汁液的渗透势，因此，只要测出样品室内空气的饱和蒸气压，便可得知植物组织汁液的渗透势。由于空气的饱和蒸气压与其露点温度具有严格的定量关系，通过测定样品室内空气的露点温度而得知其饱和蒸气压，进一步推算植物组织汁液的渗透势。本仪器装有高分辨能力的热电偶，热电偶的一个结点安装在样品室的上部，通过控温装置降低样品室内的温度，当热电偶结点温度降至露点温度以下时，将有少量液态水凝结在结点表面，此时停止降温，并根据热电偶的输出电位测定结点温度变化。开始时，结点温度因热交换而很快上升，当温度上升到露点温度时，结点表面水分开始蒸发，并带走热量，使其温度保持在露点温度，呈现短时间的稳衡状态；待结点表面水分蒸发完毕后，其温度将再次上升，直至恢复原来的温度平衡。记录下稳衡状态的温度（露点温度），便可将其换算成待测样品的渗透势。

三、植物组织汁液渗透势的测定

1、材料准备

准备瓷盘及配套的纱网若干。在瓷盘上放置纱网，纱网上摆放小麦种子，瓷盘中放适量的水或者培养液，小麦幼苗培养 10 天左右备用。

2、材料处理

设清水培养为对照，用 20% PEG-6000 进行水分胁迫处理，胁迫处理时间 1~2 天。

3、细胞液的制备

(1) 分别取清水培养和 PEG 处理的小麦幼苗叶片若干，迅速用铝铂纸将植物材料包裹好，放入液氮中约 1~2 分钟或于 -30℃ 的低温冰箱中 3 小时以上，杀死植物组织。

(2) 从液氮中取出植物材料，置于室温中融冰，放入干燥的注射器中榨取汁液于干燥的小离心管中，用于测量组织汁液渗透势。

四、5520 蒸汽压渗透压计操作步骤

1、开机预热

打开仪器电源开关，屏幕显示：

Initialization (初始化)
Please Wait (请等待)

仪器自动进行初始化，75 秒后，屏幕出现：

Chamber Empty (空样品室)
READY> (已准备好)

在显示屏下方显示：

— ...◆.....○..... +
Temp **drift**

当光标稳定移动到中间圆圈“O”处时，表示预热结束，可以进行样品测定，否则不能进行测定。

2、仪器的校正（略，仪器已经校正）

3、样品液的测定

(1) 逆时针方向扳动样品室手柄，打开样品室。屏幕显示主菜单（四种测定模式）：

READY> (已准备好)
Normal Mode (常规方式)
Average (平均方式)
Auto Repeat (自动重复方式)
Process Delay (测定滞后方式)

仪器默认“Normal Mode (常规方式)”测定模式。

(2) 拉出样品室，用绸布清洁样品槽。不能用面巾纸清洁，防止纤维污染样品室中的热电偶探头。

(3) 用镊子取一片圆形滤纸片放入样品室中（切勿多放置），用加样器沿着加样架准确加入 10μL 组织汁液。

(4) 推入样品室，顺时针方向扳动样品室手柄，关闭样品室，仪器自动开始进行测定。

(5) 测定过程中，仪器显示“In Process”，测定完毕后，仪器发出鸣叫声，并显示出测定值 (mmol/kg)，记录测定结果。

(6) 逆时针方向扳动样品室手柄，打开样品室，再拉出样品室，用绸布清除已测样品，并清洁样品室。按以上步骤进行其它样品的测定。

(7) 渗透势的计算：

$$\Psi_s \text{ (MPa)} = -C_i \times 0.008314 \times (273+t) \times 10^{-3}$$

式中：Ci 为显示屏读数；t 为测定时的环境温度。

五、5520 蒸气压渗透压计菜单功能与校正

1、Mode 测定方式菜单

(1) Normal Mode (常规方式)：该测定方式为仪器的默认设置。通常对一个样品的测定方式，不显示统计数据。

(2) Average Mode (平均方式)：可以对 32 个样品的测定数据进行统计并显示统计结果，包括测定的样品数、平均值、标准差、最高值和最低值。

(3) Auto Repeat Mode (自动重复方式)：用来检测仪器对同一样品测定的重复性。仪器自动对同一样品（一般是 1000mmol/kg 标准液）重复进行 10 次测定，并显示出统计结果。每两次测定间隙，有短暂的停留时间，此时仪器显示“SENSOR DRYING”。如果样品室污染，测定数据会出现差异。

(4) Process Delay Mode (处理滞后方式)：对复杂的样品如叶片及其它水分不易蒸发的样品，需要较长的时间达到蒸气压平衡，该测定方式可以延长测定的循环周期，直到按 ENTER 键为止。

2、Function 功能菜单

当样品测定后，按 SELECT 键便显示该菜单。

(1) Calibrate (校正)：使用 290、1000 和 100mmol/kg 的标准液校正仪器。

(2) Clean Test (探头清洁测试)：检测探头的清洁度。首先用 100mmol/kg 标准液测定，显示测定结构后，按 SELECT 键，选择 Clean Test，按 ENTER 键，屏幕显示 Sensor Drying，几分钟后仪器自动进行第 2 次测定，测定完毕后，仪器显示出第 2 次测定结果及污染程度（Contamination Level=X），如果污染程度大于 15，则探头需要清洗。如果仪器一直处于 Sensor Drying 状态，不能完成清洁测试工作，说明探头污染程度严重，需要清洗探头。

(3) Delete Resul (删除数据)：只在“Average Mode”下使用。可删除数据组中的最后一个测定结果。

(4) Returning to Mode Menu (返回测定方式菜单)：当箭头指在 Mode Menu 上时，按 ENTER 键，退出 Function 菜单，返回到 Mode 菜单。

3、仪器的校正方法

仪器配有三种不同浓度的标准液，校正时使用标准液的顺序是 290、1000、100mmol/kg。如果一次校正不能通过，应进行多次重复校正。如果已知被测样品的浓度范围。

(1) 逆时针方向扳动样品室手柄，打开样品室，显示主菜单，选择“Normal Mode”种模式。

(2) 拉出样品室，用绸布清洁样品室。

(3) 用镊子取一张圆滤纸片放入样品室中，用加样器沿着加样架加入 10μL 标准液。

(4) 推入样品室，关闭样品室手柄，仪器自动进行测定，结束后显示测定数据。

(5) 数据显示后，如果读数超出标准液的误差范围（±3mmol/kg），按 Select 键显示：

Calibrate	(校正)
Clean Test	(清洁测试)
Delete Result	(删除结果)
Mode Menu	(测定方式菜单)

(6) 选择 Calibrate 后, 按 Enter 键即可自动校正到标准液的读数。

六、注意事项

(1) 如果样品在样品室中超过 4 分钟, 或样品室拉出后超过 2 分钟未推入, 仪器便发出报警声, 提示你进行下一步操作。

(2) 如果加样不当, 或者没有很好的清洗样品室, 测定时会使测定探头(热电偶)污染。严重污染会导致仪器无法校正。

(3) 测定完毕后, 千万不能用镊子取出样品室中的滤纸片, 以免划伤样品室。

(4) 不能用面巾纸和纱布擦拭样品室, 用面巾纸和纱布擦拭易在样品室内驻留长纤维, 污染探头。用不易脱落碎屑的丝绸或棉布轻轻擦出滤纸片以及残留物, 必要时用去离子水清洗样品室。不能用手触摸样品室。

(5) 当仪器无法校正时, 说明探头已经被污染, 应该清洗探头。清洗方法见仪器操作说明书。清洗时不可用手或其它物品触及热电偶。清洗完毕后用吹风机或洗耳球吹干。

(6) 环境温度变化影响仪器的稳定性, 应在环境温度相对稳定的室内进行测定。

七、思考题

1、什么是渗透调节能力? 该指标与植物抗逆性关系如何?

2、理论上可以通过哪些途径提高植物的渗透调节能力?

植物组织渗透势测定结果记载表

日期:

实验材料	处理	重复值 (mmol/kg)				渗透势 (Ψ_s) (MPa)	胁迫(%)
		1	2	3	平均		

教师签字: