

植物木质部压力探针测定技术与方法

柏新富, 朱建军

(鲁东大学生命科学学院, 山东烟台 264025)

摘要: 木质部压力探针技术是目前直接测定植物木质部导管负压的唯一手段。在结构上, 木质部压力探针测定系统由精密操作装置、压力探针系统和信号采集-传输-显示系统三大部分组成。其测定原理是将毛细管探针刺入木质部导管, 通过传导介质将木质部导管负压传至压力传感器, 压力传感器感应压力并将压力信号输出。本文从玻璃毛细管探针的制作、去气泡水的制备以及压力探针的校准、安装、测定等方面详细介绍了木质部压力探针的使用方法和注意事项。

关键词: 木质部; 压力探针; 结构组成; 测定方法

中图分类号: Q945

文献标识码: A

文章编号: 2095-0837(2013)06-0603-06

Techniques and Methods for the Practical Use of Xylem Pressure Probes

BAI Xin-Fu, ZHU Jian-Jun

(College of Life Sciences, Ludong University, Yantai, Shandong 264025, China)

Abstract: Xylem pressure probes are the only technique used currently to measure plant xylem pressure directly. This technique includes devices for accurate positioning, pressure probe systems and signal acquisition. Negative pressure of the xylem vessels is transmitted to the pressure sensor by conduction medium when the capillary probe punctures the xylem vessels, with the pressure then detected and transmitted to the data acquisition system. In this paper, the use and precautions of xylem pressure probes are described in detail, including the preparation of glass capillary probes, degassed water, pressure calibration, installation, and measurement of pressure probes.

Key words: Xylem; Pressure probe; Structure and composition; Measurement methods

水分是植物生命活动所必需的, 轻度的水分缺乏就能引起植物的剧烈生理变化, 从而降低植物的光合作用和生产力。因此准确测定植物的水分状况一直是植物学和农林科学的一个重要研究方向。目前, 科学研究中测定植物组织水势主要有三种设备和方法: 一是压力室, 应用较多, 但必须要将待测植物一次性切断, 因而不能连续测定植物在各种条件下的水势变化^[1,2]; 二是以热电偶测温为基础的蒸汽压或冰点渗透压计, 具有很高的灵敏度^[3,4], 与特殊的探头连接后可以进行活体连续测定, 但无法进行实时测定; 三是植物木质部压力探针(Xy-

lem pressure probe), 能够连续准确地测定活体植物体内水分输导组织中的压力, 是目前世界上最先进的植物水分状况测定技术和唯一可以直接、实时测定木质部负压的方法^[5,6]。但由于植物木质部导管中的水溶液经常处在大大低于真空的负压力状态下(可达-4MPa或更低^[7,8], 这也是植物吸收水分的最主要动力), 处于容易空化的亚稳态, 常常会造成压力探针系统的空化而无法测定, 因此木质部压力探针测定的难度很高且需要精细的操作^[9,10]。目前, 在国内已有压力探针技术的相关综述性介绍^[11-13], 本实验室也使用木质部压力探针

收稿日期: 2013-08-08, 修回日期: 2013-10-16。

基金项目: 山东省高等学校科技计划项目(J09LC06)。

作者简介: 柏新富(1964-), 男, 教授, 主要研究方向为植物生理生态学(E-mail: bxf64@163.com)。

技术进行了成功的测定^[14-16]。本文结合我们自制的木质部压力探针系统和使用经验就其结构组成、测定原理、测定技术以及注意事项进行介绍,以使该项技术在植物学和农林科学研究中得到更广泛的应用。

1 木质部压力探针的测定原理

木质部压力探针技术是目前直接、实时测定木质部导管负压的唯一手段^[5,13]。其基本原理和方法是将尖端直径 10~20 μm 的毛细管探针刺入木质部导管,木质部导管的负压(低于大气压)通过水介质传至与毛细管探针相连的压力传感器,压力传感器感应压力并将压力信号转换成电信号输出,再经过信号放大、转换即可测得木质部导管中负压力的大小。

2 木质部压力探针测定系统的结构组成

植物木质部压力探针测定系统由精密操作装置(显微操作器)、压力探针系统和信号采集-传输-显示系统三大部分组成。

2.1 精密操作装置(显微操作器)

精密操作装置是植物压力探针系统的关键部件,由体视显微镜和精密操作器两部分构成,其定位准确性和推进精度决定了测定的难易程度。精密操作器由升降台、角位台、精密推进器等部件构成(图 1),其推进精度最小可达 0.5 μm。

2.2 压力探针系统

由玻璃毛细管探针、压力传感器和各种密封、紧固件组成的压力探针(图 2)是植物木质部压力探针系统的核心,它的灵敏度和抗空化能力是该系统能否应用的关键。本文介绍的木质部压力探针系统以美国 Honeywell 公司生产的高灵敏度压力传感器(灵敏度可达 10⁻⁶ MPa)为基础,选用亲水材料替代压力传感器与传导介质接触的塑料和橡胶部件,同时对外部密封、紧固件进行亲水化处理,以提高其抗空化能力。

2.3 信号采集、传输与显示系统

数据采集、传输和显示系统结构框图如图 3 所示。整个模块分测量单元、单片机、电源转换器、USB 接口和计算机等 5 个部分,实现了压力传感

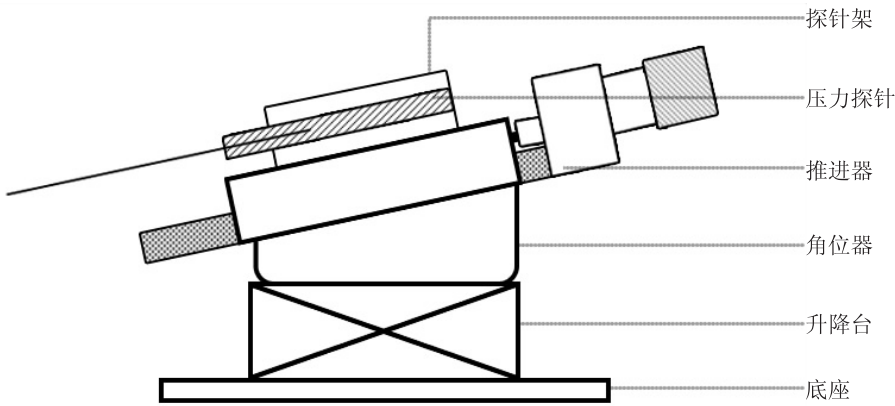


图 1 精密操作器结构示意图
Fig. 1 Schematic diagram of the precision operator

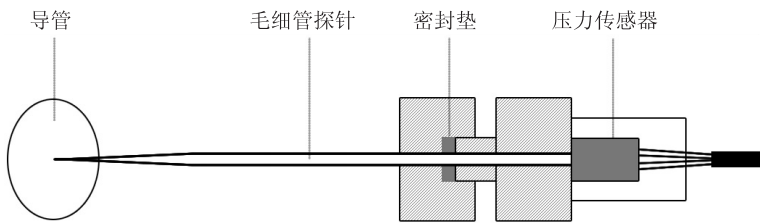
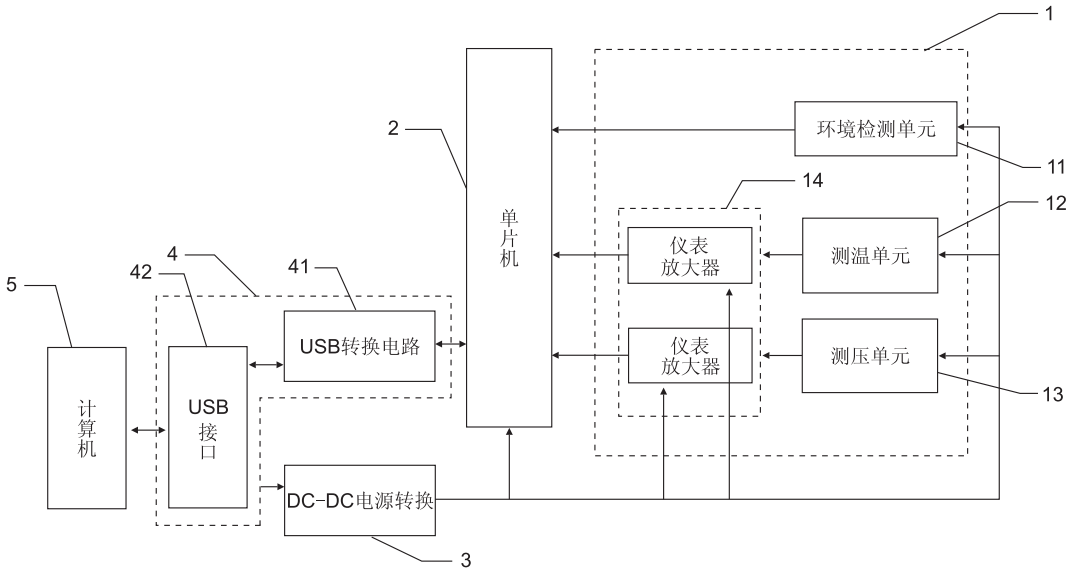


图 2 压力探针结构示意图
Fig. 2 Schematic diagram of the pressure probe system



1. 测量单元，包括环境监测单元 11、测温单元 12、测压单元 13 和信号放大单元 14，为数据采集、记录和放大的核心部分；2. 单片机，接收、转换、暂存和传输信号；3. DC-DC 电源转换器，为测量单元提供稳定的电源供应；4. USB 接口单元，包括双向数据连接的 USB 接口 42 和 USB 接口转换电路 41，用于操作控制、信号采集与显示之间的连接；5. 计算机，操作控制、调节与信号显示。

1. Measurement setup, including environmental monitoring unit 11, temperature measuring unit 12, pressure measuring unit 13 and signal magnifying unit 14 for data acquisition, recording and signal magnification. 2. Single chip, for signal receiving, transformation, temporary storage and transduction. 3. DC-DC converter to power measurement setup. 4. USB interface, including bidirectional USB data connection interface 42 and interface transform circuit 41, for connections between the monitor, signal acquisition and display. 5. Computer monitor, regulation and signal display.

图3 信号采集、传输系统结构框图
Fig. 3 Block diagram of the signal acquisition

器供电以及植物木质部压力和环境温湿度等的同步测定、记录、转换与传输。

具体工作流程为：USB 接口 42 与计算机 5 双向连接，USB 接口 42 将计算机提供的电源通过 DC-DC 电源转换器 3 分别传输至测量单元 1 中的每个部件和单片机 2 (DC-DC 电源转换器 3 可以将固定的电压转换成为测量单元 1 中的每个部件和单片机 2 所需的不同电压)，测量单元 1 中的每个部件将检测到的信号传输至单片机 2 (测温单元 12 和测压单元 13 分别将检测到的信号通过一个仪表放大器 14 放大后传输至单片机 2，环境检测单元 11 检测环境中的温度和湿度并将检测到的信号传输至单片机 2；测压单元 13 测量植物体内水的压力，将压力转换为电压信号，并将电压信号通过仪表放大器 14 传输至单片机 2)，单片机 2 与 USB 接口单元 4 中的 USB 接口转换电路 41 双向数据连接。测量单元 1 的各个部件检测被测植物体木质部导管内水的压力、被测植物体的自身温度、环境温度、环境湿度等信号并放大，继而将放大后的信号传输

至单片机 2，单片机 2 接收测量单元 1 传输过来的信号，将信号转换为数字数据并存储，进一步将数字数据依次通过 USB 接口单元 4 中的 USB 接口转换电路 41 和 USB 接口 42 传输至计算机 5 中，计算机 5 将数据显示出来。

3 测定步骤及注意事项

3.1 玻璃毛细管探针的制作

取外径 1 mm、内径 0.4~0.5 mm，长约 35 cm 的玻璃管，用玻璃毛细管拉拔器制作尖端密封的玻璃毛细管探针。注意：①玻璃毛细管探针尖端须是密封的，否则即为废品；②玻璃管和制作完成的玻璃毛细管探针必须防尘存放，且在玻璃毛细管探针存放、拿取过程中绝对不能触碰尖端部分，否则会造成尖端的折断而失去使用价值。

3.2 去气泡水的制备

用去针头注射器吸取蒸馏水至注射器容积的三分之二，然后与真空泵相连，开启真空泵抽气至水中无气泡冒出为止。注意：①注射器必须用洗涤剂

清洗,不能带有任何油渍;②抽真空时注意不断敲击注射器壁,以促使水中的气泡排出。③抽真空去气泡的水需尽可能减少与空气的接触面,最好现制现用,不能存放超过半天,以防止空气的溶入。

3.3 测试材料的固定

木质部压力探针可以用于幼根和幼茎木质部压力的测定。不管是幼根还是幼茎均需将拟扎针部位用橡皮筋固定,使之保持不动。如果测定对象是根还应使整个根系浸没在营养液中。需要注意的是,固定材料时应柔缓,不能造成测定对象的损伤或折断。

3.4 信号采集、传输和显示系统的启动

将压力传感器的输出端与信号采集、传输和显示模块相连,并通过 USB 接口与电脑连接,启动信号采集、传输和显示软件,显示器上即出现实时压力信号。

3.5 压力探针的校准

长时间没有使用或新更换压力传感器的探针均需校准。校准时先将压力传感器的开放端与大气连通,调节此时的平衡压力为 0 Pa,再在压力传感器的开放端加 100 kPa 压力,调节此时的平衡压力为 100 kPa,至此压力探针的校准完成。

3.6 探针的安装

取一根尖端密封的玻璃毛细管探针,在装有去气泡水的注射器上安装外径小于玻璃毛细管内径的细长不锈钢针头,推压注射器使针头尖端出水,然后将针头伸入玻璃毛细管探针最前端,一边推压注射器一边将针头向外抽,使玻璃毛细管探针内部充满去气泡水。再在装有去气泡水的注射器上安装外径小于玻璃毛细管内径的细长软质针头(可用移液器枪头拉制),将软质针头伸入压力传感器的开放端,推压注射器使压力传感器的开放端注满去气泡水,然后用紧固件将充满去气泡水的玻璃毛细管探针与压力传感器的开放端相连,并用力拧紧,并将安装好的压力探针固定在精密定位推进器的探针架上。注意:①玻璃毛细管探针和压力传感器内部及开放端均不能留有气泡;②玻璃毛细管探针和压力传感器开放端相连接时要保持两个连接面均有水层,以防止空气进入探针系统;③玻璃毛细管探针与压力传感器连

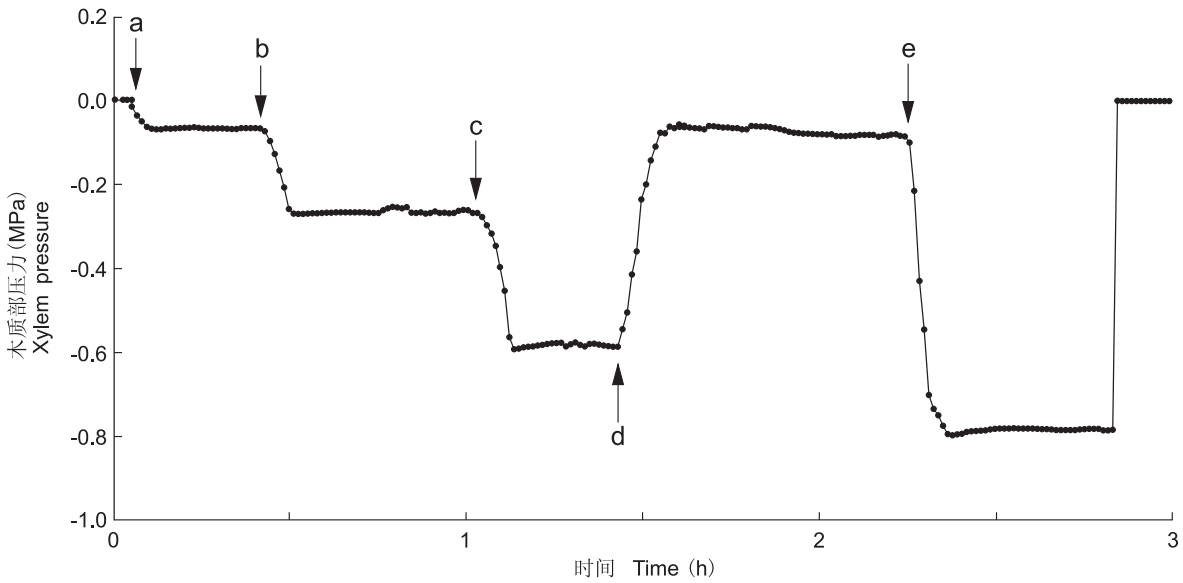
接后拧紧,此时压力传感器传输出的压力需达到 700 kPa 以上(在显示器上显示),且能够保持不降低,如果压力逐渐降低,则说明整个压力探针系统漏气,不能使用。

3.7 探针尖端的破除与测定

调节精密操作器和体视显微镜使探针的尖端在体视显微镜的视野内清晰可见,用精密操作器调节探针使其尖端轻触视野中的任何硬物,探针尖端即折断,此时压力探针系统内部与大气连通,显示的平衡压力为 0。再调节精密操作器和体视显微镜使探针的尖端对准幼根或幼茎的测定部位,然后改用细调将探针尖端刺入幼根或幼茎,并缓慢向前推进,直至刺入木质部导管。一旦探针刺入木质部导管,输出的压力会迅速下降,这是是否刺入木质部导管的标志。如果一次操作没有刺入木质部导管,可将探针退出,更换部位、再重新操作。注意:①破除探针尖端时须轻触硬物,如果用力过大,会使探针尖端折断太长,导致探针的尖端开口过大,从而无法刺入木质部导管;②探针尖端刺入幼根或幼茎时,必须缓慢推进,每次推进距离应控制在 20 μm 以内,否则容易直接刺穿导管而无法测定导管内的压力;③如果探针尖端刺入幼根或幼茎内部时出现折断现象,导致探针的尖端开口过大,应退出并更换探针;④如果测定对象是幼根,应将整个根系浸入溶液中。

3.8 测定结果的记录与作图

系统软件能够自动记录压力变化的数据和图像,并将结果实时呈现在显示器上,同时能够根据设定要求自动将数据以 Excel 格式保存。将保存的数据在 Excel、Origin 等软件中打开即可作出相应的压力变化曲线(图 4)。图 4 中 a 点以前为压力探针尖端破除后的平衡压力;a 点为探针刺入木质部导管,压力迅速下降,并很快稳定不变,此时的压力即为玉米根系处于营养液中的木质部压力;b 点是将根环境营养液更换为 100 mmol/L NaCl 溶液,压力又一次降低并很快稳定,此时的压力即为玉米根系处于 100 mmol/L NaCl 溶液中的木质部压力;c 点是根环境 100 mmol/L NaCl 溶液更换为 250 mmol/L NaCl 溶液,压力再次降低并很快稳定,此时的压力即为玉米根系处于 250 mmol/L



a. 压力探针在营养液中扎入根部木质部；b. 将根环境溶液更换为 100 mmol/L NaCl 溶液；c. 将根环境溶液更换为 250 mmol/L NaCl 溶液；d. 将根环境溶液替换为营养液；e. 将根环境溶液更换为 400 mmol/L NaCl 溶液。
a. Point when pressure probe was inserted into xylem vessel of root; b. Root bathing solution was 100 mmol/L NaCl; c. Root bathing solution was 250 mmol/L NaCl; d. Root bathing solution was nutrient solution; e. Root bathing solution was 400 mmol/L NaCl.

图 4 玉米根木质部压力随盐浓度和处理时间的变化

Fig. 4 Xylem pressure profile in maize root in response to different levels of salt stress

NaCl 溶液中的木质部压力；d 点是将根环境 250 mmol/L NaCl 溶液更换为营养液，压力迅速恢复到接近 b 点以前的水平；e 点是将根环境营养液更换为 400 mmol/L NaCl 溶液，压力再一次大幅降低并很快稳定，此时的压力即为玉米根系处于 400 mmol/L NaCl 溶液中的木质部压力；最后部分为探针从根内退出，平衡压力又回到 0 点。由图 4 可见，木质部压力探针测定技术可以准确、实时监测植物木质部压力的变化，这是目前已知的其它测定方法无法实现的。

3.9 特别提醒

木质部压力探针测定难度较大，一是需要精细操作；二是对测定环境的要求很高，操作台或测试对象的轻微移动、晃动就可能导致测定失败，所以一般只在室内实验中使用。如需在室外使用必须搭建防风防振操作台。

参考文献：

[1] Bahadur R, Tripathi R P. Sampling procedure for measurement of xylem-water potential by pressure-chamber technique[J]. *Indian J Agric Sci*, 1995, 65(11): 803–831.

[2] 王军, 孟祥增. 热电偶水势测定仪[J]. 传感器技术, 1997, 16(5): 41–45.
[3] 荆家海, 肖庆德. 利用热电偶湿度计测定水势[J]. 植物生理学通讯, 1986(1): 51–53.
[4] Martinez E M, Cancela J J, Cuesta T S, Neira X X. Review. Use of psychrometers in field measurements of plant material: accuracy and handling difficulties[J]. *Span J Agric Res*, 2011, 9(1): 313–328.
[5] Balling A, Zimmermann U. Comparative measurements of the xylem pressure of *Nicotiana* plants by means of the pressure bomb and pressure probe [J]. *Planta*, 1990, 182(3): 325–338.
[6] Zhu J J, Zimmermann U, Thurmer F, Haase A. Xylem pressure response in maize roots subjected to osmotic stress: determination of radial reflection coefficients by use of the xylem pressure probe[J]. *Plant Cell Environ*, 1995, 18(8): 906–912.
[7] Cochard H, Ewers F W, Tyree M T. Water relations of a tropical vine-like bamboo (*Rhipidocladum racemiflorum*): root pressures, vulnerability to cavitation and seasonal changes in embolism [J]. *J Exp Bot*, 1994, 45(8): 1085–1089.

- [8] Zimmermann U, Schneider H, Wegner L H, Wagner H J, Szimtenings M, Haase A, Bentrup F W. What are the driving forces for water lifting in the xylem conduit? [J] *Physiol Plantarum*, 2002, 114(3): 327–335.
- [9] Schneider H, Zhu J J, Zimmermann U. Xylem and cell turgor pressure probe measurements in intact roots of glycophytes: transpiration induces a change in the radial and cellular reflection coefficients[J]. *Plant Cell Environ*, 1997, 20(2): 221–229.
- [10] Thürmer F, Zhu J J, Gierlinger N, Schneider H, Benkert R, Geßner P, Herrmann B, Bentrup F W, Zimmermann U. Diurnal changes in xylem pressure and mesophyll cell turgor pressure of the liana *Tetrastigma voinicrianum*: The role of cell turgor in long-distance water transport [J]. *Protoplasma*, 1999, 206(1–3): 152–162.
- [11] 刘小芳, 张岁岐, 杨晓青. 压力探针技术原理及其在植物水分关系研究中的应用[J]. 干旱地区农业研究, 2008, 26(4): 172–179.
- [12] 万贤崇, 张岁岐, 张文浩. 压力探针技术在植物水分关系研究中的运用[J]. 植物生理与分子生物学学报, 2007, 33(6): 471–479.
- [13] 万贤崇, 叶清. 植物生理学研究中的压力探针技术[J]. 植物学通报, 2008, 25(4): 497–506.
- [14] 朱建军, 柏新富, 张萍, 卜庆梅. 盐胁迫下大麦根系木质部压力的自调节现象[J]. 植物生理与分子生物学学报, 2005, 31(1): 97–102.
- [15] 柏新富, 朱建军, 卜庆梅, 蒋小满. 盐胁迫对大豆根系木质部压力和 Na^+ 吸收的影响[J]. 生态学报, 2009, 29(12): 6506–6511.
- [16] Zhu J J, Bai X F, Bu Q M, Jiang X M. An analysis to the driving forces for water and salt absorption in roots of maize seedlings under salt stress [J]. *Agric Sci China*, 2010, 9(6): 806–812.

(责任编辑: 王豫鄂)