

植物生理学实验指导

顏季瓊 沈曾佑 張志良 編著



上海科学技术出版社

植物生理学实验指导

顏季禮 沈曾佑 張志良 編著

*

上海科学技术出版社出版

(上海南京西路 2004 号)

上海市書刊出版業營業許可證出 093 号

新华書店上海发行所发行 各地新华书店經售

上海新华印刷厂印刷

*

开本 787×1092 1/32 印張 3 22/32 字數 73,000

1959 年 12 月第 1 版 1959 年 12 月第 1 次印刷

印數 1—4,000

統一書号: 13119·320

定价: (十二) 0.44 元

前 言

几年来由于教学需要，我們曾为植物学研究班編写“高等植物生理实验指导”。1956年我們又在原有基础上，经过再次修改，并添加新的材料，編写成这本“植物生理学实验指导”。我們希望学习者做过本書中所講的这些比較精密的实验之后，能够在很短時間以內初步掌握研究植物生理学的技能和技巧，并且培养具有独立进行科学研究的能力。在几年工作中，这些内容和訓練都曾收到应有的效果。鉴于各方面缺乏这类教材，我們在我校党委和行政的鼓励和植物教研组同志們的督促下，不揣冒昧，根据現有水平加以整理出版，以应目前的需要。希望讀者提出批評和指教，借此作为他日改訂时的参考。

本書內容分为七个部分：細胞生理，水分生理，矿質营养，物質代謝，光合作用，呼吸作用和生長发育等。由于物質轉化对植物的生理作用及农业生产关系最为密切，因之我們的取材亦以这方面的分量較多。細胞生理部分一般比較难于体会，因之有关膠体的实验亦占有相当的分量。对于最基本的技术成就亦頗注意，如象用色层分析来測定糖类及氨基酸，用折光計来測定油类及糖类含量，用华氏呼吸計来作呼吸作用及光合作用的測定，用热电偶来測定植物叶子吸收光能的效应以及各种光譜对光合作用的效应，用比色法来測定磷及色素含量等等。关于植物抗性的生理指标，我們亦予以极大的注

意。最后我们还采用化学分析法来测定生长素(IAA)。由于以上种种原因,普通初级的植物生理实验在这里都从略了。

我们在本书的最后,把研究工作必备的一些基本定量工作的实验列为附录,目的是使一般初学者或初步从事研究工作的同志必要时可以查阅参考。

本书取材大部分采自国内外有关书籍和报刊,以及国内大学部分交流教材。我们在每一实验之后,均附录参考文献以便查考。虽然这本书目前尚未臻于完善,但相信它对高等院校植物生理学研究生,大专学院植物生理学专业的学生及开始从事科学研究的植物生理学工作者和农业科学研究工作者有一些帮助。

在编写过程中,承戴永楨同志、孙雪琴同志代为绘图,楊頤康同志、戚蓓静同志予以鼓励和协助,历届学习的同志、同学仔细阅读提出意见,盛情可感,特此敬致谢忱!

顏季瓊 沈曾佑 張志良

1959年3月29日于上海华东师范大学生物系

目 录

一、細胞生理	1
实验 1 膠体溶液的制备	1
实验 2 电解質混合物对憎水溶膠的凝聚作用	2
实验 3 两种膠体的相互凝聚作用	4
实验 4 动物膠对硫化砷溶膠的保护作用的測定	5
实验 5 酸碱度对动物膠沉淀的影响	6
实验 6 渗透压对凝膠吸脹作用的影响	7
实验 7 凝膠中的化学反应——李斯根現象	8
实验 8 氫离子濃度对于凝膠吸脹作用的影响	9
实验 9 乳濁液相的轉变	10
实验 10 原生質粘滯性的測定	11
实验 11 利用冰点降低法測定植物汁液的渗透压	13
二、水分生理	17
实验 1 植物組織中束縛水含量的測定	17
实验 2 測定單位叶面上气孔的数目和面积	19
实验 3 小孔的扩散	21
实验 4 植物組織吸水压的測定	22
三、矿質营养	25
实验 1 磷的比色測定	25
实验 2 植物有机体中微量錳的測定	27
实验 3 植物发育期中缺乏主要矿物質元素所受到的影响	29
四、物質代謝	33
实验 1 还原糖的快速測定法	33

实验 2	植物組織中还原糖的測定(別特蘭法).....	35
实验 3	糖的簡易紙上层析法(定性).....	39
实验 4	氨基酸的双向紙上层析法(定性).....	43
实验 5	植物組織中总氮量的測定.....	46
实验 6	脂肪的定量測定——索氏提取法.....	48
实验 7	用折光法測定种子中的油分.....	50
实验 8	环境条件对于酶活动的影响.....	51
实验 9	用淀粉酶法測定淀粉含量.....	53
实验 10	果实的汁液中干物質的折光測定.....	55
实验 11	咖啡碱的測定.....	57
实验 12	容量法測定鞣質.....	58
实验 13	脂肪的消化作用.....	60
五、光合作用		62
实验 1	叶綠体色素的提取和測定.....	62
实验 2	植物組織溫度的測定.....	66
实验 3	光性質对光合作用强度的影响.....	67
实验 4	水的光氧化作用(希尔反应).....	69
六、呼吸作用		72
实验 1	呼吸作用强度的測定.....	72
实验 2	发芽种子呼吸商的測定.....	74
实验 3	华氏微量呼吸計(一)常数区的測定.....	76
实验 4	华氏微量呼吸計(二)使用方法举例.....	85
七、生長发育		88
实验 1	大豆的光照处理.....	88
实验 2	吲哚乙酸的比色測定.....	89
实验 3	还原态抗坏血酸(維生素C)的測定.....	90
附录: 基本操作		94

1. 分析天平的使用	94
2. 溶液的配制	97
3. 标准酸液的校准	99
4. 标准碱液的校准	102
5. 氢离子浓度的电位测定法	104
6. 缓冲溶液的制备	108

一、細胞生理

實驗 1 膠體溶液的制备

(一)方法原理

膠體溶液可以用下列兩種相反的方法制备:

1. 集聚法: 由分子或分子集聚結合成膠態粒子。
2. 分散法: 粗粒子分散為膠態离子。

本實驗根据集聚的原理, 按照凝合法 (Condensation method)、复分解法 (Decomposition method) 和水解作用制备硫磺溶膠, 硫化砷溶膠和氢氧化鐵溶膠。

(二)實驗步驟

1. 硫磺溶膠的制备: 置 30 毫升 95% 酒精于一小燒杯中, 并加一小撮硫磺粉, 然后放入水浴中煮沸, 酒精沸騰 1~2 分鐘, 將燒杯取出, 待未溶解的硫磺沉降后, 傾注上层清液于 500 毫升蒸餾水中, 即得硫磺溶膠。

2. 硫化砷溶膠的制备: 于 0.2% As_2O_3 溶液中, 緩緩通入硫化氢, 直到溶液变为深黄, 且不透明为止; 然后再通入空气, 以洗去多余的 H_2S 。過濾除去較大的硫化砷顆粒, 即得硫化砷溶膠。

3. 氢氧化鐵溶膠的制备: 將 100 毫升蒸餾水加热到沸騰, 然后在沸水內滴入 5~10 毫升 2% $FeCl_3$ 溶液, 即得到深紅色的氢氧化鐵溶膠。

參 考 文 獻

1. С. А. Балежин: 物理化学和膠体化学实验, 1953年商务印書館中譯版, 96~104頁。
2. 刘培楠: 基本化学, 1949年商务印書館版, 211~213頁。
3. 顏季瓊: 研究班植物生理学講义, 华东师范大学出版社版, 22~24頁。
4. Н. П. Песков: 膠体化学教程(上册), 1953年商务印書館中譯版, 33~42頁。

实验 2 電解質混合物对憎水溶膠的凝聚作用

(一) 方法原理

多种電解質同时作用于溶膠膠粒时, 每一种電解質对膠粒都有凝聚作用, 如果它們对膠粒的沉淀效应是加强的, 称为增强作用; 如果一种電解質对膠粒的沉淀效应为另一种電解質所降低, 它們对膠粒的沉淀效应就互相减弱, 称为对抗作用。

(二) 实验步骤

(1) 單价离子和兩价离子的联合作用: 安置 3 个試管架, 每个試管架上放 6 支編号的試管, 并按照表中所示反应物裝入其中:

混合液的組成	試 管 号					
	1	2	3	4	5	6
第一組試管 (Li^+ 离子的作用)						
10 N LiCl, 毫升	0.24	0.32	0.42	0.56	0.75	1.00
水, 毫升	0.76	0.68	0.58	0.44	0.25	0.00
硫磺溶膠, 毫升	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0

第二組試管(Mg^{2+} 離子的作用)

0.1N $MgCl_2$, 毫升	0.10	0.12	0.14	0.17	0.20	0.24
水, 毫升	0.90	0.88	0.86	0.83	0.80	0.76
硫磺溶膠, 毫升	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0

第三組試管(Li^+ 和 Mg^{2+} 離子的聯合作用)

0.1N $MgCl_2$, 毫升	0.40	0.48	0.58	0.70	0.84	1.00
水, 毫升	0.60	0.52	0.42	0.30	0.16	0.00
Li^+ 十 硫磺溶膠 毫升	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0

第三組所加 10N 氯化鋰的量是在第一組中氯化鋰凝聚硫磺溶膠所需量的 $\frac{1}{4}$ 。例如：如果凝聚是在第一組第四號試管中開始，即在加了 0.56 毫升的 10N $LiCl$ 溶液，取此溶液 0.14 毫升并加入 10.0 毫升硫磺溶膠中，它即表示 Li^+ + 溶膠。

記錄在什麼濃度時，在鋰離子、鎂離子的作用下，以及兩種離子的聯合作用下，溶膠的膠凝作用才開始。

(2) 單價離子的聯合作用：安置 3 個試管架，每個試管架

混合液的組成	試 管 號					
	1	2	3	4	5	6
第一組試管(Na^+ 離子的作用)						
5N $NaCl$, 毫升	0.24	0.32	0.42	0.56	0.75	1.0
水, 毫升	0.76	0.68	0.58	0.44	0.25	0.00
硫磺溶膠, 毫升	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
第二組試管(K^+ 離子的作用)						
5N KCl , 毫升	0.24	0.32	0.42	0.56	0.75	1.00
水, 毫升	0.76	0.68	0.58	0.44	0.25	0.00
硫磺溶膠, 毫升	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
第三組試管(K^+ 和 Na^+ 離子的聯合作用)						
5N $NaCl$, 毫升	0.12	0.16	0.21	0.28	0.37	0.50
5N KCl , 毫升	0.12	0.16	0.21	0.28	0.37	0.50
硫磺溶膠, 毫升	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
水, 毫升	0.76	0.68	0.58	0.44	0.26	0.00

上放 6 支編号的試管,并按照表中所示,以反应物装入其中
记录在什么濃度时,在 Na^+ 和 K^+ 离子的分別作用下,以
及在它們同时引入膠体溶液中时,溶膠的凝聚作用才开始。

参 考 文 献

1. С.А.Балезин: 物理化学和膠体化学实验, 1953年商务印書館中譯版, 116~119頁。
2. Н.П.Песков: 膠体化学教程(下冊), 1953年商务印書館中譯版, 228~229頁。

实验 3 两种膠体的相互凝聚作用

(一)方法原理

把每一个帶电的膠粒当作一种电解質,因此可以將帶正电荷的膠粒看做为使帶負电荷膠粒凝聚的阳离子。

但是帶相反电荷的两种膠体溶液混合在一起时,只有当其中一种膠体的电荷总量中和了另一膠体相反电荷总量时,才会互相凝聚,否則不完全凝聚或根本不凝聚。

帶負电荷的三硫化砷溶膠和帶正电荷的氢氧化鉄溶膠能起相互凝聚作用。

(二)实验步骤

預备 6 支干燥的試管,按照下表所示的数量,在每支試管内注入三硫化砷溶膠和氢氧化鉄溶膠。

試 管 号	1	2	3	4	5	6
三硫化砷溶膠(毫升)	0.1	0.5	1.0	3.0	5.0	5.5
氢氧化鉄溶膠(毫升)	5.9	5.5	5.0	3.0	1.0	0.5

搖动每支試管，并靜置 2 小时，然后記下每支試管內的凝聚度，并写出沉淀上面溶液的顏色。

參 考 文 獻

1. С.А.Балезин: 物理化学和膠体化学实验, 1953年商务印書館中譯版, 111頁。
2. Н.П.Песков: 膠体化学教程(下冊), 1953年商务印書館中譯版, 230~231頁。

实验 4 动物膠对硫化砷溶膠的保护作用的測定

(一)方法原理

少量的亲水溶膠(例如动物膠)加入疏水溶膠(例如硫化砷溶膠)中,大大地增加了疏水溶膠对电解質的稳定性。亲水溶膠的这种保护作用,系由于在疏水溶膠膠粒的表面上,吸附亲水溶膠的膠粒;使它具有亲水溶膠的性質,防止它們相互間的直接接触,从而防止了疏水溶膠的凝聚作用。但为了使疏水溶膠得到完全的保护,所加入的亲水溶膠的量,要足以盖住所有疏水膠粒的表面。

本实验利用此原理測定在 10 毫升硫化砷溶膠中,加 1 毫升 10% NaCl 溶液时,防止硫化砷溶膠产生凝聚作用所需用的最低的动物膠的数量。

(二)实验步骤

將 0.01、0.1 及 1 毫升 0.5% 动物膠加入盛有 10 毫升硫化砷溶膠的 3 支試管內,在第 1 支和第 2 支試管內加水直到整个液体的体积为 11 毫升,然后再在每个試管內加 1 毫升 10% NaCl 溶液,將溶液仔細搖动。因为动物膠加入硫化砷溶膠

后,膠体顏色稍有变化,所以必需另預备 3 支試管,裝有相同量的动物膠、水、硫化砷;另以 1 毫升的蒸餾水代替食鹽溶液,作为对照。

假定在第一、第二兩支試管内观察到顏色的变化;而在第三支試管内沒有顏色变化,表示动物膠的保护作用是在 0.1 和 1 毫升之間。为了更准确的測定,应当用 0.2、0.5 及 0.7 毫升动物膠再进行实验。

假定在所有 3 支試管内都得到顏色变化,則表示动物膠的保护作用是在 0.7 和 1 毫升之間。应在这范围内再改变动物膠的濃度,再如上述方法,重新进行实验,直到准确測定为止。

参 考 文 献

1. С. А. Баледин: 物理化学和膠体化学实验, 1953 年商务印書館中譯版, 113~115 頁。
2. Н. П. Песков: 膠体化学教程, 1953 年商务印書館中譯版, 235~238 頁。

实验 5 酸碱性对动物膠溶膠沉淀的影响

(一) 方法原理

蛋白質在等电点时,呈电中性,穩定度最小,如加去水剂,极容易产生沉淀。在接近等电点的膠粒,去水后仍具有一定程度的穩定性,但一定時間后,在电解質溶液的影响下,产生沉淀。但在膠粒具有大量的电荷时,虽加去水剂,亦不产生沉淀。

(二) 实验步骤

于一試管架上放置 9 支大試管,按下表所列成分注入各試管中:

溶 液	試管号	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0.1N醋酸钠(毫升)		2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
0.1N醋 酸(毫升)		0.12	0.25	0.50	1.00	2.00	4.00	—	—	—
1N醋 酸(毫升)		—	—	—	—	—	—	0.80	1.60	3.20
1%动物溶膠(毫升)		2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
水(毫升)		3.88	3.75	3.50	3.00	2.00	—	3.20	2.40	0.80
混合液的 pH		6	5.6	5.3	5	4.7	4.1	4.1	3.8	3.5

仔細地混合各溶液，并加 8~10 毫升酒精于各試管中，若在第五試管中沒有輕微的渾濁时，应再加酒精，在 30 分鐘后，观察結果。发生沉淀最多的应该是第五管，这是由于动物膠在等电点时 $pH = 4.7$ ，但市售动物膠不是化学純粹的物質，因此常使結果发生改变。

参 考 文 献

1. С. А. Балежин: 物理化学和膠体化学实验, 1953年商务印書館中譯版, 112~113頁。

实验 6 渗透压对凝膠吸脹作用的影响

(一) 方法原理

在一定温度与一定 pH 值的条件下，凝膠的吸脹作用系决定于溶液中水的扩散压力与凝膠中水的扩散压力的差度；其差度愈大，凝膠的吸脹作用愈强。因此凝膠在純水中的吸脹作用最大，而在同一种鹽溶液中，溶液的濃度愈高，凝膠的吸脹作用愈小。

(二) 实验步骤

將等量的动物膠(1克)分別浸入純水和 4 M、2 M、1 M

及 0.5M 的 NaCl 溶液中；2 小时后，把动物膠取出吸乾，再称其重量。

將結果用曲綫图表示出来，以 1 克动物膠的吸水量为縱坐标，不同渗透压的 NaCl 溶液为横坐标。

参 考 文 献

1. Meyer and Anderson: Plant Physiology, 97~100 頁。
2. 顏季璦：研究班植物生理学講义，华东师范大学出版社版，77~79 頁。

实 驗 7 凝膠中的化学反应——李斯根現象

(一) 方法原理

物質在稀薄的凝膠中的扩散現象，如同在純粹液体中一样，几乎以相同的速度进行。但是在凝膠中溶質間的反应进行有些异常，例如：当 AgNO_3 扩散到含有 $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 的动物膠中，所形成的鉻酸銀沉淀不是均匀地分布在凝膠中，而是成层狀或环狀沉淀。凝膠中不溶解物質的层狀沉淀称为“李斯根环”。該現象的产生系由于在凝膠中，反应产物鉻酸銀达到饱和状态时，才发生沉淀。当生成沉淀时，必須吸收附近大量的 $\text{Cr}_2\text{O}_7^{++}$ ，因此在沉淀附近 $\text{Cr}_2\text{O}_7^{++}$ 濃度不足以形成沉淀，于是产生沉淀区域与非沉淀区域有規則的間隔排列。

(二) 实 驗 步 驟

將 4 克动物膠及 0.12 克重鉻酸鉀置于 120 毫升蒸餾水中，于水浴上加热，使其溶解，所得的溶液倒入培养皿和試管中。

当动物膠完全凝結后，加 5 滴 8.5% AgNO_3 溶液于培养

皿中央，然后把培养皿盖好，静置。試管中則以 5 毫升 AgNO_3 溶液从移液管沿管壁注入，經一晝夜观察有无紅色环帶。

参考文献

1. С.А.Балезин: 物理化学和膠体化学实验, 1953 年商务印書館中譯版, 142 頁。
2. Н.П.Песков: 膠体化学教程(下冊), 1953 年商务印書館中譯版, 366~368 頁。
3. 顏季瓊編: 研究班植物生理学講义, 华东师范大学出版社版, 37~38 頁。

实验 8 氫离子濃度对于凝膠吸脹作用的影响

(一) 方法原理

H^+ 或 OH^- 离子分別促进正电荷膠体或負电荷膠体的吸脹作用, 而蛋白質为兩性化合物, 在酸性溶液中, 膠粒帶正电荷, 相反地在硷性溶液中, 膠粒帶負电荷。因此蛋白質膠粒在酸硷条件下, 吸脹作用都增强; 惟独在等电点时, 吸脹作用最低。但是吸脹作用不仅决定于溶液的有效酸度, 在相同的 pH 值下不同的酸会引起不同程度的吸脹。

(二) 实验步骤

將等量的动物膠(1 克)分別浸入下列不同氫离子濃度的緩冲溶液中, 如 pH 值为 3.6、4.2、4.8、5.4、6.0、6.6、7.2、7.8、8.4; 經過 2 小时后, 再称动物膠的重量。

將結果用曲綫表示, 以 1 克动物膠的吸水量为縱坐标, 不同 pH 值为橫坐标。

参考文献

1. 顏季瓊: 研究班植物生理学講义, 华东师范大学出版社版, 80

~81頁。

2. H.П. Песков: 膠体化学教程(下册), 1953年商务印書館中譯版, 341~343頁。

实验 9 乳濁液相的轉變

(一) 方法原理

純水与油本不摻和, 但加入一种乳化剂如鈉肥皂或鈣肥皂, 以及机械震动, 可以得到油悬浮在水中或水悬浮在油中的乳濁液。根据 Wilder D. Bancroft 的溶解度理論, 把肥皂当作介于水与油中的薄膜看待, 膜弯曲的方向, 决定于膜兩側表面張力的大小。例如鈉肥皂在水中的溶解度大于在油中的溶解度, 因此靠近水的一側膜的表面張力降低, 膜向油的一側弯曲, 形成油悬浮在水中的乳濁液; 而鈣肥皂在油中的溶解度大于在水中的溶解度, 靠近油的一側膜的表面張力降低, 膜向水的一側弯曲, 因而得到水悬浮在油中的乳濁液。

本实验系根据此原理, 在純水与油中加入不同性質的、不同量的各种乳化剂, 振动后可以观察到乳濁液相的变化。

(二) 实验步骤

洗淨 16 个 25 毫升容积的大試管, 每个試管加 10 毫升以苏丹 III 染色的新鮮橄欖油, 并且其中包含有 0.5% 的油酸 (Olic acid)。

將其排列成 4 組, 每組各为 4 个試管。在每組 4 个試管中順次加入 1、2、3 和 4 毫升 0.1N NaOH; 再在加 1 毫升 NaOH 的 4 个試管中, 順次加入 0.25、0.50、0.75 和 1.00 毫升 0.1M CaCl_2 ; 其他各組类推。然后每試管加水到总体积为 20 毫升,