

大學叢書

# 植物生理學實驗

湯佩松等編

商務印書館出版

## 序 言

這本“植物生理學實驗”是我們在北京農業大學教授植物生理學課程用的。講到它的沿革，還是十二年前殷宏章教授在昆明西南聯大的時候，根據 Loomis 與 Shull 所編的“植物生理實驗法”(Methods in Plant Physiology)，薈集一些材料，編成一本實驗指導，供理學院生物系應用。以後我們在清華大學農學院及理學院教授本課程的時候，又將其加以修改補充。過去兩年內在農大授課期間，又經過植物生理教研組同人根據幾年來的教學經驗及研究結果，加進一些新的材料，重新改寫成本書。

植物生理學在農大是全年課程，每週講演二小時，實驗一次三小時。這些實驗是盡量配合着課程的講演安排的。但是值得提出來的是：實驗做到最後關於生長及發育的部分的時候，因為需要時間很長，並且實驗的時間與講演的時間往往不能符合，不易得到理想的結果。我們覺得這個困難的解決辦法只能由教學人員根據當地的課程進度與季節情況加以適當的調劑。

根據我們的經驗，礦質營養的實驗極不容易得到滿意的結果。原因很多，主要的是藥品的純潔及培養條件問題。我們建議在同學做實驗之前或同時，指導實驗的先生做一個精細而較大規模的示範。

關於春化作用等發育生理的問題是很重要而有興趣的實驗，但因為條件困難，過去多不能做。本書加進一些簡單的方法，希望同學能得到較深刻的瞭解，這方面我們得感謝農大沈篤教授供給我們資料，還有我們曾參考中國科學院金成忠與倪晉山兩先生的實驗結果，也要一併致謝。

最後，我們要特別提出，這本實驗指導雖然經過幾年的修改補充同試用，內容一定還有許多不全或不妥的地方，我們誠懇地歡迎對於本書的批評與指教。

湯佩松 婁成後 薛應龍 閻龍飛 韓碧文

一九五一年八月 北京農業大學農業化學系

## 目 次

實驗一	膠體的性質	1
實驗二	膜的透性	5
實驗三	滲透作用及滲透壓	8
實驗四	吸漲作用	11
實驗五	植物的含水量	13
實驗六	植物的含灰量	14
實驗七	植物灰分中的礦質元素	15
實驗八	細胞壁的構成物質	17
實驗九	植物的碳水化合物	19
實驗十	植物的脂肪	22
實驗十一	植物的蛋白質	24
實驗十二	消化作用與植物酵素(一)	27
實驗十三	消化作用與植物酵素(二)	31
實驗十四	植物的呼吸作用	33
實驗十五	植物的呼吸酵素	39
實驗十六	無氧呼吸與發酵	41
實驗十七	植物的色素	43

實驗十八	光合作用	49
實驗十九	環境因素對於光合作用的影響	53
實驗二十	無機鹽類與植物生長的關係	56
實驗二十一	植物體中水分的損失	61
實驗二十二	水分的傳導作用	66
實驗二十三	食物的運輸作用	69
實驗二十四	植物的生長	72
實驗二十五	植物生長素	77
實驗二十六	植物的發育	80
實驗二十七	春化作用	84
實驗二十八	種芽嫁接	86
實驗二十九	植物的運動	88
實驗三十	植物的激感現象	91
附錄		93

# 植物生理學實驗

## 實驗一 膠體的性質

植物原生質爲一膠體系統，從液狀的溶膠(sol)以至相當硬的凝膠(gel)。原生質中的固體物質如蛋白質、糊精、樹膠等都有在水中很容易形成膠體的特徵。膠體的性質與植物生命過程有着十分密切的聯繫。但應用膠體化學於植物生理學中，有許多問題尙不很明瞭。本實驗只是希望說明一些膠體性質的基本原則。

### I 膠體的製備

置 10 c.c. 95% 的酒精於一小燒杯中，加一小撮硫黃粉，放於水浴中煮沸，酒精沸騰一二分鐘後，將燒杯從水浴中取出，待未溶解的硫黃沈降後，傾注上層的清液於 100 c.c. 蒸餾水中，觀察並解釋其結果。

### II 疏水溶膠的沉澱

先製備一硫化亞砷溶膠如下：置 2 克  $As_2O_3$  於 1000 c.c. 蒸餾水中，煮沸並攪拌至完全溶解。將溶液放冷至室溫，緩緩通入硫化氫，直至溶液變爲深黃且不透明爲止。硫化氫可用硫化鐵及鹽酸製備，通常多用 Kipp 氏發生器。再通入空氣一小時或稍久，以洗去多餘的硫

化氫，必要時可過濾，以去掉較大的硫化砷顆粒。

取三個試管，每個試管加 5 c.c. 硫化砷溶膠。然後第一管中加一滴 0.01M 的氯化鈉溶液，第二管加一滴 0.01M 的氯化鈣，第三管加一滴 0.01M 的氯化鋁。立刻觀察，數小時後或次日再觀察。描寫並解釋其結果。

電解質之使疏水溶膠沉澱，有什麼一般原則？

### III 親水溶膠的結聚作用

加 1 克粉末狀的阿拉伯樹膠於 100 c.c. 沸騰的蒸餾水中，不停地攪拌，直到完全溶解為止。取三個試管，每一管中加 3 c.c. 阿拉伯膠液，在第一管中加 7 c.c. 95% 酒精，將試管倒轉搖動數次，觀察其結果。將液體傾出一半，加入剩下液體體積三倍的蒸餾水於試管內，觀察並解釋其結果。

在第二管內同樣加進 7 c.c. 95% 酒精並搖動，然後加 0.2 克固體  $AlCl_3$ ，搖盪直至溶解，觀察並解釋其結果。

在第三管內先加 0.2 克  $AlCl_3$ ，搖盪並觀察。然後再加 7 c.c. 95% 酒精，觀察並解釋之。

用圖解表示上列結果及各種試劑對膠體穩定性的影響。

### IV 親水溶膠的凝固作用

從黃豆芽壓榨出 50 c.c. 汁液，過濾去掉其中懸浮的物體。這樣的汁液中含有許多物質分散成溶液或膠體狀態。後者中為許多植物蛋白質。取四個試管，每個管中倒入 10 c.c. 汁液。取一個作為對照，保存在冷地方。其餘三管作以下的處理：

1. 加熱煮沸，
2. 加等量的酒精，充分搖盪。

3. 加固體  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ，直至汁液飽和，並充分搖盪。

將每個試管放置數小時，然後仔細觀察管底是否有沉澱存在。

何謂“鹽析”？以上那個試管中發生鹽析現象？

#### V 乳狀液相的互換

在試管中置 10 c.c. 1% 肥皂溶液，然後加橄欖油或棉子油，每次加 1 c.c.，用大指堵着管口，用力搖盪，直至約加到 10 c.c. 油為止，這時滯性大增，如再加油即難以使之分散，乳狀液成爲純白色。

加數滴蘇丹 III 溶液，因其只與水相接觸，並不溶解，故乳狀液不染色。

再加數滴  $\text{N}/20 \text{ BaCl}_2$  溶液，每次一滴，觀察其結果，加到三四滴之後，液體發生大震動，相即互換，水成爲分散相而油成爲連續相。這時蘇丹 III 很快地溶於油中，乳狀液現橘紅色。

#### VI 溶化作用與膠化作用

秤 1 克瓊脂粉末，放在燒杯中，加蒸餾水 50 c.c.，加熱並攪拌成一均勻的溶液。將此新鮮製成的瓊脂液倒入一 U 形管中，約盛滿兩管高度的  $\frac{1}{2}$ 。在 U 形管之一管中插入一溫度計，使其恰在 U 形管內液體的水平面上。將 U 形管浸入盛有溫水的燒杯中，使水慢慢冷卻，當瓊脂剛剛開始停止流動時，記錄當時的溫度。此溫度即爲瓊脂膠化作用的最高溫度。

膠化作用的溫度確定後，逐漸加熱燒杯中的水，並不斷攪動，時時傾斜 U 形管，看瓊脂是否流動。當瓊脂開始流動時，記錄溫度，此即溶化作用的最低溫度。

#### VII 勃朗運動

在載物片上放一滴水，加少許墨汁，蓋上蓋玻片。如可能，最好



用懸滴法。然後放在高倍顯微鏡或油浸鏡頭下觀察，最好用暗視野照明。

觀察各個小微粒的運動。如可能，追蹤一些微粒運動的路線，並繪圖表示之。

勃朗運動的原因為何？

## 實驗二 膜的透性

由於膜的化學及物理性質，它能改變通過其中瀰散的物質的速率。這包含許多複雜錯綜的關係，但其最終結果為膠體物質不能透過膜或者極慢，溶質通過其中瀰散的速率則隨其分子量、水化及帶電性質等有所不同，而水能很快地通過一般生物膜。半透膜的名詞即指水可透過而溶質不能透過的膜。本實驗及實驗三說明半透膜的一些性質。

### I 滲析

預備一個火棉袋，其製法為溶解 10 克火棉於 200 c.c. 等量的純酒精及無水乙醚中，使之成一漿糊狀液體，最初一二天內須時時搖動使火棉溶解。傾倒 5 c.c. 火棉溶液於潔淨乾燥的大試管或錐形瓶中，立刻旋轉試管以得到一層很薄而勻的火棉膜。同時吹空氣到管內將大部分乙醚趕掉，然後在管內裝滿水，靜置數分鐘，如果火棉膜中乙醚太多，則膜在水中變白變硬；如果火棉膜中酒精蒸發太多，則膜的透性遲緩。最後小心將膜鬆動取出。在應用前將膜保存在水中。

在一個火棉袋中放進 10 c.c. 1% 澱粉溶膠及 10 c.c. 5%  $\text{Cu SO}_4$  溶液，用細線把袋口束緊，然後懸在一個燒杯的水中。注意火棉袋外水的顏色有無變化。30 分鐘後用 I-KI 溶液及  $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$  溶液測驗燒杯中的水，解釋其結果。

根據實驗結果說明分子大小與膜的透性有什麼關係。

## II. 沉澱膜的形成

取試管加 10 c.c. 5%  $K_4Fe(CN)_6$  溶液，再取一小粒  $CuCl_2$  結晶體放入  $K_4Fe(CN)_6$  溶液中，在  $CuCl_2$  結晶的四週形成一層膠狀的膜，不要搖動試管，移此試管於見光處，觀察膜的表面發生什麼變化？靜置二三小時後，比較與前有無不同？

敘述沉澱膜的形成，並寫出其化學反應方程式。

## III 植物細胞膜的透性

(1) 溫度對於細胞膜透性的影響。

取紫蘿蔔去皮後，切六片大小相同 5 mm. 厚的薄片，用蒸餾水沖洗後，分別放在三個燒杯中，加一定量的蒸餾水將紫蘿蔔浸沒，然後作如下處理：

1. 將一個燒杯放在冰箱中，
2. 一個燒杯放在室溫中，
3. 另一燒杯慢慢加熱到  $70^{\circ}C$  約半小時，然後放在室溫中。

24 小時後，用 Benedict 氏溶液測定水中的還原糖及蔗糖的有無及多少（蔗糖須先加酸水解，方法見實驗九），同時比較溶液顏色的深淺。

從實驗結果說明溫度對於細胞膜透性的影響。糖類是否能從細胞膜中透過？透過的是還原糖還是蔗糖？

(2) 強酸鹼與弱酸鹼對於細胞膜透性的影響。

預備紅色花瓣或紅色葉子，它們的細胞內都含有紅色的花青素。

預備四個錶玻璃，下面襯一張白紙，依次分別加少量的 0.025N 鹽酸，0.025N 醋酸，0.025N 氫氧化鉀及 0.025N 氫氧化銨溶液於其中。

在氫氧化鉀溶液中放進二片紅色花瓣或葉子，在氫氧化氨溶液中放六片花瓣，然後觀察顏色的變化並記錄變色的時間。等到氫氧化氨溶液中的花瓣變色後，取出其中四片用蒸餾水充分洗淨，將其中二片加到醋酸中，另二片加到鹽酸中，再觀察顏色的變化，並記錄變色的時間。等到在酸中的花瓣都變色後，分別取出用蒸餾水洗淨，再放回氫氧化氨溶液中，觀察是否還能變回原來在鹼溶液中的顏色。

從實驗結果說明強酸、弱酸、強鹼、弱鹼對於細胞膜透性的關係。

#### IV 區別透性膜

加 5 c.c. 氯仿於一試管中，在氯仿的液面上加一層盡可能薄的水面（水內加甲烯藍使成藍色），加時用 1 c.c. 吸管輕輕將水滴在氯仿液面上，然後在水面上用吸管加 5 c.c. 乙醚，加時盡量輕微，不使水面震動。將試管塞嚴後，垂直放置。在水面下層作一標記。

照上述手續另外預備一組，但將上層的乙醚換成二甲苯。

一星期後，觀察兩個試管中水面的升降，並說明升降的原因。

## 實驗三 滲透作用及滲透壓

### I 滲透作用

(1) 預備一個漏斗管(Thistle funnel), 在球形部分蒙一塊豬膀胱, 用線嚴密縛緊, 內注滿 10% 蔗糖溶液, 注意膜外要絕對無蔗糖溶液流出, 漏斗管的上面接一段 1 米高的玻璃管, 夾在鐵架上。然後將漏斗管的球形部分浸在蒸餾水中, 水平面要與漏斗管內蔗糖溶液的液面等高。

每天觀察玻璃管內液面的高度, 並測定有無蔗糖自膜內滲透至外面水中。

說明玻璃管內液面上升的原因。

(2) 取一塊馬鈴薯塊莖, 把尖端切去一小塊, 使之能直立不倒, 在另一端用鑽孔器挖一直徑 2 cm. 深約 4 cm. 的小洞。按照此法預備三個馬鈴薯, 分別放在三個培養皿中, 作以下的處理:

1. 馬鈴薯小洞中加滿一半蔗糖, 培養皿中加 10—15 c.c. 蒸餾水。
2. 馬鈴薯小洞中加滿一半蔗糖, 但培養皿中不加蒸餾水。
3. 馬鈴薯小洞中不加蔗糖, 但培養皿中加 10—15 c.c. 蒸餾水。

三小時觀察馬鈴薯小洞中有何變化? 以後每天再觀察一次, 直到下次實驗時為止。

將觀察到的結果加以說明。

### II 原生質分離

取紫鴨跖草 (*Tradescantia*) 葉在背面中肋處撕取表皮組織一塊，放載物片上，用水封固後，在顯微鏡下觀察細胞的正常形態。然後用 0.25 M 的氯化鈉溶液將水替出，即可見到原生質有從細胞壁分離的趨勢，不久原生質即顯示脫離細胞壁，此現象稱為原生質分離。

然後用蒸餾水再把氯化鈉溶液替出，觀察原生質已分離的細胞有什麼變化？把正常的細胞及原生質分離的細胞各畫一簡圖。

另外取少許水綿 (*Spirogyra*) 浸在 95% 酒精中約五分鐘，依照上述方法觀察其原生質分離。並與生活的水綿細胞作一比較，在死細胞中是否仍顯示原生質分離？

### III 細胞的滲透壓

植物細胞中細胞液滲透壓的大小，用原生質分離的方法可以測定得相當準確。

置水綿絲於蒸餾水中數分鐘，自其中取出幾根放載物片上，用蒸餾水封固後，置顯微鏡下觀察其正常情形。然後把水綿絲取出，分別放數條到下列各種濃度的蔗糖溶液或氯化鈉溶液中：

蔗糖溶液 (M)——0.10, 0.15, 0.20, 0.25, 0.30, 0.35, 0.40, 0.45, 0.50。

NaCl 溶液 (M)——0.10, 0.15, 0.20, 0.25, 0.30, 0.35, 0.40。

經過 15 到 30 分鐘後，在顯微鏡下觀察每種溶液中水綿細胞原生質分離的情形。如果在兩個相差 0.05 M 的蔗糖溶液中，一個使細胞開始有原生質分離的現象，而一個沒有原生質分離的跡象，則與細胞液等滲的溶液即在此二種濃度之間。細胞的滲透壓可以從以下公式求出：

滲透壓 = 蔗糖溶液的濃度 (M)  $\times$  22.4。

比較用氯化鈉溶液所得的結果，解釋其與蔗糖溶液不同的原因。

要探求細胞在正常狀態下的滲透值  $O_n$ ，可用測微尺在顯微鏡下量度細胞壁及開始的原生質分離時細胞質的長度與寬度，然後用下列方程式計算：

$$O_n = O_i \frac{V_p}{V_c}$$

$O_i$  = 開始的原生質分離的滲透值，

$V_p$  = 開始的原生質分離時細胞質的體積，

$V_c$  = 細胞壁以內細胞質的體積。

$V_p$  及  $V_c$  的數字均可由測量的數字中計算得到。

## 實驗四 吸漲作用

### I 種子的吸漲作用

預備黃豆或豌豆種子，先在  $100-105^{\circ}\text{C}$  烘箱中烘乾，並將烘乾的種子貯藏在乾燥器中。稱取 20 克，須稱至第二位小數。然後用替代水位法測量種子的體積，即預備一刻度精確的量筒，加一定量的水，再把要測量的種子加到量筒中，水位的上升量就是種子的體積。

種子測量體積後，置於蒸餾水中，在  $20^{\circ}\text{C}$  左右經 24 或 48 小時的吸水後，再稱重量及量體積一次。計算種子經吸漲作用後，重量及體積變化的百分率。

說明什麼是吸漲作用，並說明體積、吸水量與吸漲組織之間的關係。

### II. 滲透壓對於吸漲作用的影響

配製 40c.c. 濃度為 4M 的 NaCl 溶液，取其中的 20c.c. 分別稀釋成各 20c.c. 的 2M, 1M 及 0.5M 溶液。上列各濃度的 NaCl 溶液依次約等於 132, 72, 38 及 19 個大氣壓。

稱五組小麥或其他種子，每組約 10 克左右，一組浸在蒸餾水中，其餘四組分別浸於 4M, 2M, 1M 及 0.5M 的 NaCl 溶液中，24 小時後，把種子取出吸乾，再稱其重量。

將結果用曲線圖解表示，以每克種子的吸水量為縱坐標，不同滲透壓的 NaCl 溶液為橫坐標。並將結果加以說明。外界濃度如何影



響吸漲作用？爲何有此影響？

### III 氫游子濃度對於吸漲作用的影響

取黃豆種子 55 克，最好預先烘乾，分爲 11 組，每組秤 5 克，分別放在小燒杯中，加下列不同氫游子濃度的緩衝溶液：

pH 值 —— 3.6, 4.2, 4.8, 5.4, 6.0, 7.2, 7.8, 8.4, 9.0, 9.6。

經過 24 小時後再秤種子的重量。

將結果用曲線圖解表示，以每克黃豆種子的吸水量爲縱坐標，不同的 pH 爲橫坐標。那種 pH 最適於吸漲作用？解釋爲何曲線在兩個最高點之間下降？

### IV 吸漲作用與能的關係

預備一燒杯內盛 20c.c. 水，調節水的溫度與室溫相同。迅速地秤取 20 克玉蜀黍澱粉，澱粉須先在 100—105°C 烘箱中烘乾，並保存於乾燥器中。將澱粉加到潔淨乾燥的保溫瓶中，同時立刻將 20c.c. 水加進，用玻璃棒加以攪拌，然後用溫度計量其溫度的上升。

說明溫度上升的原因。