

636-134
高等学校教学用书

植物顯微化学 实验指導

Л. И. 德日阿帕利捷著

高等教育出版社

高等学校教学用书



植物顯微化学实验指導

Л. И. 德日阿帕利捷著
余 名 崙 譯

高等教育出版社



本書系根据苏联“苏维埃科学”出版社（Государственное издательство “Советская наука”）出版的德日阿帕利捷（Л. И. Джапаридзе）著的“植物顯微化学实验指導”（Практикум по микроскопической химии растений）一書 1953 年版譯出。原書經苏联高等教育部審定为國立大学用教学参考書。

担任本書翻譯工作的为江西師范学院余名崙同志。

植物顯微化学实验指導

Л. И. 德日阿帕利捷著

余名崙 譯

高等教育出版社出版

北京琉璃廠一七〇號

（北京市書刊出版業營業許可證出字第〇五四號）

蕭文印刷廠印刷 新華書店總經售

書號 653(課 547) 開本 850×1168 1/32 印張 5 5/16 插頁 12 字數 129,000

一九五六年六月上海第一版

一九五六年六月上海第一次印刷

印數 1—6,500

定價(10) 洋 1.20

目 錄

序	5
緒論	7
顯微化學的目的和意義	7
顯微化學的特點	8
研究材料的制備	11
制作切片時的一般注意事項	13
物質的顯微化學鑑定法	17
碳水化合物(醣類)	17
淀粉	17
纖維素	21
糖類(可溶性醣類)	27
蛋白質	35
脂類(脂肪)	39
樹脂和揮發油	45
樹脂	45
揮發油	47
分泌物	50
橡膠和古塔波膠	52
色素	55
質體色素	55
葉綠素	56
胡蘿卜素	56
葉黃素	58
細胞液色素	58
花青素	59
黃色素	60
細胞壁	61
纖維素	63
木質素	67
木栓質和角質	72
樹膠	76
黏液	77
果膠質	79

生物鹼	80
通論	80
几种生物鹼的測定。秋水仙鹼	85
咖啡鹼	85
毒芹鹼	86
顛茄鹼, 莨菪鹼, 东莨菪鹼	86
菸鹼	87
龍葵鹼	88
配醣物	89
歐鼠李甙	90
楊梅甙	91
松甙	91
苦杏仁甙	92
甘草甜素	95
丹寧物質	96
通論	96
丹寧酸与苯三酚	99
根皮鞣紅	100
無機物質	100
氮(硝酸鹽)	100
鋁	101
鉄	102
谷胱甘胜	102
醇類(衛矛醇, 甘露醇, 山梨醇, 乙醇)	104
草酸	106
不溶性草酸鹽的測定。草酸鈣	107
草酸鎂	108
可溶性草酸鹽	108
酶	109
蔗糖酶	109
氧化酶	110
过氧化物酶	110
过氧化氫酶	111
pH 的測定	112
菌根	114
配方	116
固定劑与保藏劑	117
透明劑与浸潤劑	119
顯微化學試劑与染色劑	124

序

不論在教學實驗室或研究實驗室中，當研究植物材料的時候，非常廣泛地應用顯微化學的許多方法。我們祖國的科學家，曾在顯微化學方面有過很多貢獻，特別是記載種種植物中所發現的物質，和這些物質在各種植物的組織與細胞中的分佈特性方面；同時，他們也對通用的方法作了許多新的變更和各種各樣的改良，並提供了用以解決顯微化學上有關國民經濟方面的一些具體問題的許多新方法。

可惜，顯微化學種種方法的很多知識，都分散在許多參考資料和專門著述中，而沒有綜合成為一本基礎參考書。但是，即使撇開較大的綜合集子不談，大家對這樣一冊集有在適當反應的應用與實施上最必需的知識的參考書，還是感到很需要的。

我們所編寫的“植物顯微化學實驗指導”，也就是顯微化學工作者可能需要的我們認為是基本的一些指導的極簡明的集子。在編寫本“實驗指導”時，主要注意力是放在技術方面——分析的方法和配方的方法。幾乎完全未述及顯微化學最廣泛的部分，也就是沒有提到植物組織中物質的分佈與狀態問題。

本參考書是由那些為編者在自己研究工作過程中應做的各種筆記編寫而成的。在我們實踐中使用了這樣編寫出來的參考書，已經證明該書在應用上是適宜的，同時也使我們有可能補充一些我們認為可能有用的提示和意見。

本書插圖的繪制，生物學碩士 T. A. 喀捷里 (T. A. Кезелл)，即我們所進行的顯微化學方面大部分研究的參加者，曾給予了很

大的幫助。

編者完全理解,如此編寫而成的“實驗指導”一定不可能滿足於我國研究工作者多方面科學征詢的要求,因为它還沒有可能收羅多方面的材料。然而,如果這本參考書的問世能引起其他作者編寫出一本較完善的,極感需要的參考書,也將使作者感到十分滿意了。

J. 德日阿帕利捷

緒 論

顯微化學的目的和意義

植物顯微化學是以測出器官、組織與細胞中物質的微細含量和確定這些物質的分佈與所在部位為目的的。實際上，植物顯微化學乃是應用極靈敏方法的定性化學。由於應用了能夠觀察在肉眼看來外表上完全隱蔽的反應的顯微鏡，反應的靈敏性便增加了很多倍。參與顯微化學反應的研究物質，它們的量不是以毫克來表示，而是以微克——百萬分之一克(μ 或 γ)來表示的。

對顯微化學重要性的判斷，是非常不一致的。有些人給了它很高的評價，甘心無條件地信賴於它的結果。在這種情況下，他們是忽略了作為一個比較年青的研究領域，它的發展是要依賴於一般性化學和許多其他學科的成就的，顯微化學本身，仍然包含着很多沒有經驗過的東西，因而絕不能將它估價過高。

在另一方面，往往又可以遇到對顯微化學抱著極其懷疑的態度，像懷疑一個不能認為正確的科學部門那樣。在這種情況下，他們是忘記了有很多很多這樣的場合：由於有機體體積很小，而卻又不可能一下子獲得較多數量的有機體，於是常量化學（макрохимия）竟成為完全無能為力。最近，在植物性食料、香料、原料與藥材的研究方面，顯微化學的作用在一天天增長着。

植物顯微化學告訴我們，植物的親緣與植物的化學本性有着密切的聯繫，因而，植物顯微化學在植物分類學中也就有了相當重大的意義。許多研究者已在應用着許多專門的方法，進行着稱為

“系統顯微化學”的這一個科學部門的研究。

不論是應用常量化學或顯微化學，彼此結合起來進行研究，乃是植物有機體化學研究上最正確的方法。不過，在有些情況下，常量化學具有着主要的作用，這種情況可能較多，而在另一些情況下，由於條件和要求的特殊，首要地位則屬於顯微化學了。

顯微化學的特點

如同研究周圍自然界的任何其他方法那樣，顯微化學有着本身的優點和缺點。充分地理解這些優缺點，對每一個在自己工作中採用顯微化學方法的人說來，是完全必要的。不充分理解顯微化學的特點，就有可能會發生能夠導向不正確地解釋所獲得的結果的大錯誤。現將這些特點中的幾點引述於下：

靈敏度 顯微化學能夠適用於數量極其微小的研究材料，是一個非常重要的特性。可以不影響準確性來查出顯微鏡組織切片中的一系列不同的物質，這是一般性化學所做不到的。在這種情況下，顯微反應的靈敏性通常都是非常高的。例如，若干元素尚能產生反應的極限量是：

鉀，以氯化鉍沉淀時	—0.8 γ
鎂，以磷酸銨鎂沉淀時	—0.0012 γ
鈣，以硫酸鹽沉淀時	—0.04 γ
磷，以磷酸銨鎂沉淀時	—0.008 γ
氯，以氯化鈦沉淀時	—0.1 γ
碘，以碘化淀粉沉淀時	—0.17 γ

用稱為生物學方法來引起反應時，靈敏度還要增高。例如測出光譜某一部分中葉綠體氧的釋放和根據細菌趨性的恩格里芒法就是這樣。在低等植物生物學中所熟知的許多本能現象也都屬於這一類。

工作速度 顯微化學的操作與一般性化學分析中的繁複操作

比較起來，其所需要的時間遠少得多。如測定淀粉、纖維素、木質素、脂肪與許多其他物質，簡直只是幾分鐘的事情。這樣，當有大量材料需要檢查時，顯微化學的意義就顯得提高了。大家都知道，當進行蘇聯植物中橡膠植物的研究時，顯微化學曾起過很大的作用。

方法的簡易性 顯微化學的方法通常都是極為簡單、精練、同時又是確切可信的。只有在某些個別情況下，顯微化學方法才可能是由許多順序手續組成的較為複雜的方法。如果我們碰到一大套測定某一化合物的形形色色的反應和方法，那末，這樣的複雜性的確已是一種缺點了，通常，這種複雜性是由於方法未改善而產生的。顯微化學在其本身的發展中，以取消效果較小的方法和改進較合用的方法來力求簡化這些個別的複雜的測定法。但是，可能還會存在一些仔細檢驗過的可以作為相互對照的反應。方法的簡便，以及必要設備體積很小，使得顯微化學成為在考察勘查時極為便利的方法。這種方法的“可攜帶”性，加上工作的迅速，使顯微化學已成為在考查時不可或缺的研究方法了。

反應的局部性 能夠精確地測定待測物質在一定範圍內（組織、細胞）所佔據的地方，是顯微化學一個很特殊的特點。我們所得到的關於植物有機體中極其多樣性的物質在分佈上的詳細知識，只有歸功於顯微化學這一種方法。然而，在測定時也必須估計到顯微反應不僅常常會局部地發生，而且也常常會擴散地發生的。在後一種情況下，反應中所產生的是溶解物質，它們從形成的地方四散（擴散）開來，以後在或大或小的原來着生在植物體上時全然沒有這些被研究物質的組織（或細胞）中也可以看到它們了。這種情形是顯微化學的缺點之一，遺憾的是這種缺點未必能夠消除。例如，糖的反應和硝酸鹽的二苯胺試驗，都屬於這樣的擴散反應。

細胞內含物組成上的複雜性，給顯微化學研究帶來很多困難。

細胞結構中含有無數彼此有種種联系的極為不同的物質，這種在細胞結構上的巨大複雜性，對細胞內任何化學成分的單獨測定有極大的妨碍。經常會有這種可能：在測定一種物質時，其他一些物質可能對反應的進行發生了影響，尤其是當所有這些形形色色的物質共同處在一個不大面積內的時候。

細胞的死亡 通常，當測定細胞的某種物質時，細胞即被殺死了。所應用的試劑，大多數是能毒害和殺死原生質的毒物。由於這些試劑的使用，原生質的結構被破壞了，物質分佈的秩序也被破壞了，而以前在空間上被隔離的那些物質便混雜起來，這樣一來，甚至可以引起新化合物的形成。因此，我們必須經常注意到死后生成物質出現的可能性，使不致把死后生成物質錯認為生前已經存在的。可以引証墨西哥勝紅薊 (*Ageratum mexicanum*) 以作為明顯的例子。這種植物在生活狀態下連微量的香豆素也沒有。但當它枯萎而漸漸乾燥時或有些凍壞時，體內就形成了具有非常強烈的特殊氣味的香豆素。正如這種情形一樣，有許多顏料和生物鹼是死后生成的化合物，決不可以認為正常生活組織中就存在有這一些物質。

反應的可靠性 反應的完全可靠性乃是一種理想，可惜顯微化學常常不能夠達到這一理想。顯微化學的充分可靠性，現在還是很少有的；通常，幾種物質能夠產生同一反應。因此，進行幾種相互對照的反應，就有了必要。例如在研究糖、脂肪、丹寧、樹脂、和生物鹼的時候，進行這種措施就是必要的。每一個顯微化學工作者，應當遵守這個規則：僅在進行了幾個相互對照的反應以後才作出結論。

已知的顯微反應不夠多 尚有極多的物質我們現在還不能夠去研究，那是因為我們還不能安排適當的顯微反應的緣故。另外有許多物質，我們所提出的推論沒有足夠的根據，也是由於這一原

因。

切片制作上預備工作的影响 已經指出过，細胞的死亡是使細胞內相互關係發生改變的一个巨大的因素。但是，即使細胞仍保持着生命活動，而材料制作上的一切預備工作（將材料送到實驗室，制作切片，洗滌）也会引起重大的變化：如滲透性、電態等的變化。許多物質的分佈和相互聯系的變動，都是由於這種結果而發生的，在這種情況下所得到的研究結果，也就不会是生活組織（或細胞）的正常狀態的反映了。

研究材料的制备

供顯微化學研究的材料，不僅直接採用新鮮的或生活狀態下固定起來和凝結起來的材料（也等於新鮮材料），而且也常常採用保藏的（保藏在酒精和福爾馬林中）或干燥的材料（如藥材、蠟葉標本）。必須精確地估計到，在那一種情況下可以使用那一種材料。

直接研究的新鮮材料，似乎應該可以不受任何非議了。但是，研究新鮮材料也必須注意到某些情況。例如，十分顯然，植物的生長時期和被研究的器官的年齡，對所研究的材料的顯微化學狀況是會沒有影響的。例如在若干情況下，在芽開放以前可以含有大量的配醣物，然而在生長期中，則含量就逐漸降低了（如丁香素）。我們也應當考慮到晝夜的時間。葉子中碳水化合物含量的晝夜變動情形，是大家都知道的；其他許多物質也是如此。僅進行一次的研究，就可能會得到該植物（器官）沒有這種物質的推斷，因此，對含有物起着變動的材料，有進行重複研究的必要。

人們老是將所採集的材料保存在水中以保持其新鮮狀態，但必須非常謹慎地對待這件事。須知長時期將材料保存在水中，它的化學本性就會發生進一步的變化；貯藏物質會部分地被消耗掉（如糖、配醣物），其他物質可能會發生分解（如秋水化鹼），因之也

就不可能將其發現了。

新鮮材料的固定和凝結，有的時候甚至是必要的。大家知道，當研究細胞核時，這樣處理就是必要的了；當研究易於溶解的黏液、膠液、原生質和雜色體時，也需要有這樣的處理。固定的方法全視研究的目的而定。凝結主要是用尋常的酒精，而黏液則用醋酸鉛和醋酸銅使其凝結。

材料的保藏也視研究的目的而定。酒精、福爾馬林稀釋液、苦味酸酒精等常供保藏之用。酒精保藏的材料，只能稍稍和固定的材料相比。因為在保藏時常只用 70% 酒精，由於材料中所含有的水分以及陸續的蒸發（如反覆打開材料貯藏罐），保藏的酒精便變得更淡。此外，這樣的酒精不能迅速滲透到所保藏材料粗大部分的組織中，以使材料充分固定和凝結。純酒精太貴，同時它也會引起材料較強烈的卷縮與皺縮。

能溶解於酒精的物質，自然是會被沖失的；但是有許多不因酒精的作用而破壞的酶，却仍在酒精所保藏的材料中繼續進行着自己的作用。在這種情況下，很顯然，甚至可能會產生使某些發酵過程特別明顯的條件。例如，亞歷山大羅夫與契莫費耶夫，以及後來亞歷山大羅夫與德日阿帕利捷，都曾觀察到保藏材料中草酸鹽的溶解過程和顯然是與草酸鹽相結合的淀粉微粒的析出。

同時，水溶性物質（菊根粉、磷酸鹽、以及其他無機鹽類）也可在這種情況下析出。葉綠素和其他色素都能被酒精所抽出，由於色素的抽出，材料就在某種程度上褪了色，但因為酶的作用仍在繼續，此時也發現材料的變白或者變黑。只有把採來的材料放入沸酒精，而後保藏於普通酒精，則以後就不致於再變色了。

如果用肥皂、皂角甙等物質來減少水的表面張力，則當切片從酒精移入水中時，給切片帶來的損害就可以避免。

酒精蒸氣的應用是非常值得推薦的。

在密閉罐的底部注入少許純酒精，或放入用酒精洒過的棉花。將材料用線懸掛在塞子上，使材料不致觸到酒精。这个方法較簡便的辦法是：將準備供顯微化學分析的材料（如枝）置入於注有酒精的密閉罐中（酒精只注在底部即可），放在溫暖房間中以加強蒸氣的產生。時常震盪罐子以加速保藏作用。這樣保藏時，材料下部浸到酒精的部分，自然不能供研究之用（根據第比利斯植物研究所實驗室的實踐）。

酒精保藏的材料是脆性的，因而容易切碎；這可將其在水與甘油的混合液中浸 1—2 小時，以增加制作切片時所需要的足夠彈性。

保藏於酒精的材料，常會發生卷縮和褪色，如欲避免這一缺點，可用福爾馬林來保藏。市售的福爾馬林（40%），供保藏時用 2—3 倍蒸餾水將其稀釋。必須將這種溶液僅放於密閉罐的下部。這樣保藏時，除了花瓣的顏色和變成棕黃色的丹寧物質外，材料的顏色大體上都能保存下來。

干燥的材料決不能用來供顯微化學的研究。只有在特殊情況下（如細胞核、雜色體、木質素、木栓）才可以應用這種干燥的材料。緩慢的干燥會促進物質的發酵分解；迅速干燥可以免除這種分解，但此時卻又會加強揮發性物質的散失。溶液狀態的物質，當其干燥時會浸染細胞的外部，逐漸透入並浸潤了細胞壁。正在昇華着的許多物質，如果未全部揮發掉，它們就會轉移到原來未含這些物質的組織中去，或者結晶起來。干燥材料較之用上述任一“濕”法所貯備的材料更為遠離生活狀態，那是很顯然的。

制作切片時的一般注意事項

預備供顯微化學研究用的切片，多半是用普通剃刀（在特殊情況下，用銅制的或骨制的刀，參見鐵的測定一節）徒手切成的。如

果材料不便於用手執持，可將其夾入接骨木髓中；如果材料過分粗糙或堅硬，則可將其夾入預先充分煮過的縱劈開的軟木塞中。

不經過任何處理的干材料，通常就可以很好地進行切片。就獲得薄而勻的切片來說，材料的各種事先處理（如水浸、稀鹼或氨處理）並不經常都能比干切，即從植物體上或從材料保藏罐中取來後切口上不蘸水而直接切片，得到更好的結果的。這些在精細的解剖學研究中常常需要的處理，在顯微化學工作中應當小心使用，應當考慮到含有可能浸出所要研究的物質或發生化學作用。只有當材料過脆而易於切碎時，才將其置於濕室中一夜。不放硫酸而放水的干燥器，或者將玻璃鐘罩置於磨砂的或塗過油脂的玻璃板上，都可充當濕室之用。將一碟水—碟材料放在濕室中。在任何情況下，材料不可與水接觸，材料應當由濕室空氣中的水蒸氣來濕潤。這種方法在時間上比用水浸或在沸水蒸汽濕透以使材料發軟的那些方法要長。但是它是準備供顯微化學研究的材料的唯一適當的處理方法，因為它能保障細胞內含物的完整，免得使細胞內含物因洗滌、昇華與過分膨脹、黏液化等這一類隨伴着其他種種軟化材料的方法而發生的現象而受到損失。

材料可在濕室中放一晝夜（較硬的材料放 2—3 晝夜）。甚至再放長一些時候也不會發生有害的影響；不過應當在水里加少許石炭酸以避免發霉。

這個方法的缺點，就是在材料中會留下大量在做好的切片中所不應有的空氣。

如果需要測定某一細胞中某種物質的存在，或這種物質在組織中的分佈狀況，那末顯微反應必須對未損傷的一些細胞進行。各個分離的細胞（如單細胞植物、花粉等），為了免得被蓋玻片壓壞，可在蓋玻片下墊上支撐物（四角各塗一小滴用 3 份蠟 4 份松節油所配成的蠟）。蓋玻片的碎片，也可墊入以作為簡便的支撐物。

切片中至少應該含有一層完全沒有損傷的細胞，有二層這樣的細胞則更好；這樣一來，切片就必須有相當的厚。很長的解剖部分，如巨大的異常細胞和貯藏囊，可以進行橫切。在這種情況下，還要用縱切面和表面的切面的觀察來補充橫切面的觀察。將反應切片與對照切片進行比較；除此以外，也常常將各種各樣的切片進行相互比較，以確定它們之間反應上的差異。因此，所有進行研究的切片必須有一樣的厚薄，因為厚度不同，顏色的深淺就會發生影響。

繼續觀察切片，在許多情況下常是必要的，例如在形成沉淀和結晶的時候就是如此。在這種情況下，切片須檢查 2—3 天，有時甚至須檢查整整一個星期。當切片非常緩慢地逐漸乾燥時，會出現在蓋玻片下所析出的結晶，這些結晶多半接近於蓋玻片的邊緣。在另一些情況下，與此相反，常須防止切片中試劑的蒸發。這可用凡士林或用蠟（3 份）與松節油（1 份）的混合物塗在蓋玻片的邊緣。懸滴法觀察是較好的觀察方法。懸滴觀察時，如無特殊的磨光凹窩載玻片，也可以想辦法將其解決；只要用厚紙做一小框，浸濕後放到載玻片上即成。將已放有一滴試劑與切片的蓋玻片反轉來覆在這個小框上。以後視厚紙框的乾燥程度用少許的水直接加在小紙框外將其潤濕。

在顯微化學中，有各種在特殊研究場合下所應用的專門性的技術操作，但是在这里我們沒有將它們介紹出來。不過就一般說來，正如上面所見到的，顯微化學的技術是非常簡單的，它不會給顯微鏡工作者帶來什麼困難。但正由於技術上的過分簡單，就可能會容易忘記小心從事工作的必要性。當進行顯微化學的工作時，我們必須經常記住下列這一些簡單的、但却是非常重要的規則：

1. 所研究的材料，必須與新鮮健全的植株的狀況極相接近。最好用直接從新鮮而健全的植物上所切取的切片進行工作。

2. 观察必須有重複,使不会因生長的時期,外界条件的影响,有機体新陳代謝的季節變動与晝夜變動等所引起的有機体狀況的變化,而得到不正确的結論。

3. 制作切片应当不附加任何額外的影响,如果發生反应的專門規程中不要求这些影响,那么不消說,甚至用水蘸濕也是不必要的。

4. 工作中所应用的溶液和試劑、移液管、玻片、以及其他用具,应当保持絕對清潔。

5. 应当事先考慮到,除了所要探究的物質以外,什么样的物質也可能会参与反应,而后採取适当的办法來除去这些物質(如何除去,在應該講到的地方会提到)。

6. 尽管上一条規則已經做到,我們还应当再用適當方法除掉了所要探究的物質的切片來進行平行的对照反应(參見生物碱一章)。

7. 必須养成这样的習慣,隨時用書面寫成反应結果的詳細記載,並用繪圖器和不褪色的顏色筆与水彩顏料添上反应結果的寫生圖。