

武汉大学出版社

普通生物学

实验指导

黄诗笺 杨代淑 编著

普通生物学实验指导

黄诗笺 杨代淑 编著

武汉大学出版社

内 容 提 要

本书共编入60个实验,包括生命物质的鉴定、细胞、动植物组织、个体解剖、生理、繁殖、遗传、生物类群、生物与环境 和生物绘图、制片、标本的制作等方面的内容,能帮助学生印证理论,学习和训练基本实验技能。实验后附有思考题,能启发和开阔学生的思路,培养综合与分析问题的能力。

本书内容丰富,适用面广,可供综合性大学、师范、农、林、医等院校有关专业作为普通生物学实验教材,也可供有关专业人员和中学教师参考。

普通生物学实验指导

黄诗笺 杨代淑 编著

武汉大学出版社出版发行

(430072 武昌 珞珈山)

湖北孝感报社印刷厂印刷

787×1092毫米 1/32 9印张 197千字

1990年12月第1版 1990年12月第1次印刷

印数: 1—2200

ISBN 7—307—00489—5/Q·15

定价: 1.45元

前 言

《普通生物学实验指导》一书，是为了与再版的南开大学、武汉大学、复旦大学、四川大学四校合编的《普通生物学》配套而编写的。它总结了编者及有关教师十多年的教学实践经验，在原有实验教材的基础上，进行反复的补充修改，并吸收了国内外有关教材的精华和最新技术成就。

本书从理论联系实际，加强基础课的观点出发，一方面重视生物学基本理论的印证，另一方面注重给学生以扎实的基本实验技能的训练。在内容总体设计上，既有生命物质基础、细胞、动植物组织器官的结构与生理、繁殖、类群、遗传、生物与环境等密切结合课堂教学的内容，又包括显微镜的使用、生物绘图、生物制片、生物标本的制作、实验材料的采集和培养、动物解剖等多种基本实验方法，共计60个实验。在编排上与《普通生物学》基本同步。

本书的特点是内容丰富，适用面广，取材方便，简单易行，有利于不同院校不同专业根据具体教学内容和实验条件自行选择，灵活安排。每个实验后有“作业与思考”，对学生综合与分析问题的能力不无裨益。全书共有插图49幅，密切配合实验内容，便于在操作过程中参考。

我们在编写过程中得到了不少同行的关心支持。全书插图由李小迎绘制，在此一并致谢。

由于编者水平有限，疏漏错误在所难免，敬请使用本书的师生对不当之处给予指正。

编者 1990年6月

目 录

实 验 一	显微镜的构造和使用	(1)
实 验 二	生物绘图技术	(10)
实 验 三	显微镜测微技术	(15)
实 验 四	糖的性质	(19)
实 验 五	脂肪的组成和性质	(22)
实 验 六	蛋白质的性质	(25)
实 验 七	核酸的水解及其产物的鉴定	(28)
实 验 八	维生素的定性测定	(30)
实 验 九	酶的性质	(32)
实 验 十	细胞的形态与结构	(38)
实验十一	细胞膜的通透性和原生质的运动	(43)
实验十二	细胞的有丝分裂	(45)
实验十三	细胞的减数分裂	(49)
实验十四	徒手切片制作玻片标本	(52)
实验十五	植物组织	(55)
实验十六	植物根的形态与结构	(62)
实验十七	植物茎的形态与结构	(66)
实验十八	植物叶的形态与结构	(73)
实验十九	植物的繁殖器官	(77)
实验二十	植物蜡叶标本的制作	(83)

实验二十一	外界条件对种子萌发的影响·····	(85)
实验二十二	植物体内物质的运输·····	(88)
实验二十三	植物叶绿体色素的提取和测定·····	(91)
实验二十四	植物的光合作用·····	(95)
实验二十五	植物气孔的比较观测和蒸腾速度的测定 ·····	(100)
实验二十六	植物呼吸强度的测定·····	(104)
实验二十七	植物生长素对植物生长的影响·····	(108)
实验二十八	动物组织 (一) ·····	(110)
实验二十九	动物组织 (二) ·····	(118)
实验三十	小肠的吸收·····	(127)
实验三十一	血细胞的计数·····	(131)
实验三十二	血红蛋白含量的测定·····	(139)
实验三十三	ABO血型鉴定·····	(142)
实验三十四	人体动脉血压的测定·····	(146)
实验三十五	蛙类心搏过程的观察·····	(151)
实验三十六	蛙类微循环的观察·····	(155)
实验三十七	刺激支配膀胱的神经引起的反应·····	(159)
实验三十八	脊蛙反射及反射弧的分析·····	(162)
实验三十九	小白鼠脊髓半横切·····	(166)
实验四十	损毁小白鼠小脑的效应·····	(168)
实验四十一	小白鼠防御性条件反射·····	(171)
实验四十二	盲点及色盲的测定·····	(175)
实验四十三	动物一侧迷路破坏的效应·····	(178)
实验四十四	胰岛素惊厥·····	(180)
实验四十五	青蛙早期胚胎发育的观察·····	(183)
实验四十六	人体 X 染色质的观察·····	(187)

实验四十七	骨髓细胞染色体的制备与观察.....	(190)
实验四十八	细菌和真菌的形态观察.....	(194)
实验四十九	植物的类群(一) 孢子植物.....	(197)
实验五十	植物的类群(二) 种子植物.....	(200)
实验五十一	无脊椎动物类群(一).....	(207)
实验五十二	无脊椎动物类群(二).....	(220)
实验五十三	原索动物及脊椎动物类群(一) 鱼类	(233)
实验五十四	脊椎动物类群(二) 两栖类.....	(241)
实验五十五	脊椎动物类群(三) 爬行类和鸟类	(250)
实验五十六	脊椎动物类群(四) 哺乳类.....	(258)
实验五十七	植物的感应性与运动.....	(272)
实验五十八	动物血糖值的测定.....	(273)
实验五十九	生物的种间竞争.....	(277)
实验六十	种群的增长.....	(279)

实验一 显微镜的构造和使用

【目的要求】

了解普通光学显微镜的构造和各部分的性能，学习并掌握正确的使用技术。

【材料与用品】

生物切片标本；显微镜；二甲苯、香柏油。

【方法与步骤】

一、了解显微镜的构造和性能

光学显微镜是研究生物学的常用工具，由一组光学放大系统和支持及调节它的机械系统组成，有的还带有光源部分。其结构见图1。

1. 机械系统

(1) 镜座与镜柱 镜座是显微镜底部的沉重部分，它使显微镜重心较低，以使之不致倾倒。其上直立的短柱部分为镜柱，支持镜臂和镜台。

(2) 镜台 又名载物台，是放置玻片标本的平板。其中央有一圆孔，称镜台孔，以便从下方来的光线由此通过。镜台上有压片夹用以固定标本。较好的显微镜装有标本移动器（或称推进尺），既可固定载玻片又可转动螺旋前后左右移动标本。有的标本移动器上还带有标尺，可利用标尺

(4) 臂筒 为镜臂上端的圆筒部分。其顶端安置目镜, 下端连接镜头转换器。由物镜到目镜的光线便由此通过。

(5) 镜头转换器 是镜筒下端一个可旋转的圆盘。其上可装置数个接物镜, 以便观察时换用不同倍数的物镜。

(6) 调焦螺旋 有粗调节器和细调节器, 能使镜筒或镜台升降, 调节物镜和观察材料间的距离, 以求得清晰的图象。粗调节器升降镜筒的距离较大, 约为50毫米, 主要用于寻找目的物。由低倍镜观察标本时, 用粗调节器调焦距。细调节器升降的幅度较小, 约为1.8~2.2毫米, 能精确地对准焦点, 取得更清晰的物像。使用时, 一般拧动不超过一圈。由低倍镜转高倍镜观察时, 则用细调节器调焦距。调焦螺旋是显微镜上的一个重要装置, 因为对不准焦距就看不清被观察的物体。

2. 光学系统

光学系统包括照明系统和成像系统。前者由反光镜、聚光器和虹彩光圈组成。后者由接物镜和接目镜组成。

(1) 反光镜 为一圆形的平、凹双面镜, 位于显微镜的下方, 接受外来光线并将光线反射到聚光器。平面镜反光较弱, 用于光线较强的情况下。凹面镜反光较强, 用于光线较弱的情况下。反光镜的方向可以任意转动调节, 便于收集来自任何方向的光线, 以选择适合的镜面和适当的角度。

(2) 聚光器 在载物台的下面, 由二、三块凹透镜组成。作用是聚集来自反光镜的光线, 使光线增强, 射入镜筒中, 并使整个物镜所包括的视野均匀受光, 提高物镜的鉴别

能力。聚光器可以升降，其上还附有光圈，以调节进入物镜的光线。所以在使用高倍镜时，必须配以聚光器。

(3) 虹彩光圈(可变光阑) 位于聚光器下面，由许多金属片组成。推动操纵光圈的调节杆，就可调节光圈的大小，使上行的光线强弱适宜，便于观察。

(4) 接物镜(物镜) 由数组透镜组成，可放大物体。透镜的直径越小，放大的倍数越高。每架显微镜均备有几个倍数不同的目镜，其上放大40倍($40\times$)以下的叫低倍镜，一般为10倍($10\times$)；放大40倍($40\times$)以上的叫高倍镜；放大100倍($100\times$)以上的叫油镜。物镜是显微镜取得物象的主要部件，其作用为聚集来自任何一点的光线和利用入射光对被观察的物体做第一放大的造像。

每个物镜上通常标有表示物镜主要性能的参数。如10倍物镜上标有10/0.25和160/0.17,10为物镜的放大倍数(即 $10\times$)；0.25为数值孔径($N\cdot A$)；160为镜筒长度(160毫米)；0.17为所要求的盖玻片厚度(0.17毫米)。数值孔径为光线投射到物镜上的最大角度(称为镜口角)的一半正弦值和玻片与物镜间介质的折射率的乘积，可用以下公式表示：

$$N\cdot A = n \sin\alpha$$

n = 介质折射率

α = 最大入射角的半数，即镜孔角的半数。

因此，光线投射到物镜的角度愈大，显微镜的效能就越大(图2)，该角度的大小决定于物镜的直径和焦距。

显微镜的分辨力是指显微镜能够辨别两点之间最小距离的能力。它与接物镜的数值孔径成正比，与光波长度成反

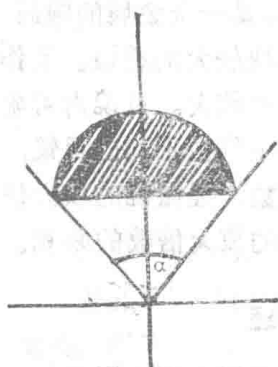


图2 物镜的光线入射角

比，因此，接物镜的数值孔径愈大，光波长度愈短，则显微镜的分辨力愈大，被检物体的细微结构也愈能区别。一个高的分辨力意味着一个小的可分辨距离，二者成反比关系。

$$\text{能辨别两点之间的最小距离} = \frac{1/2 \text{ 光波长度}}{\text{数值孔径}}$$

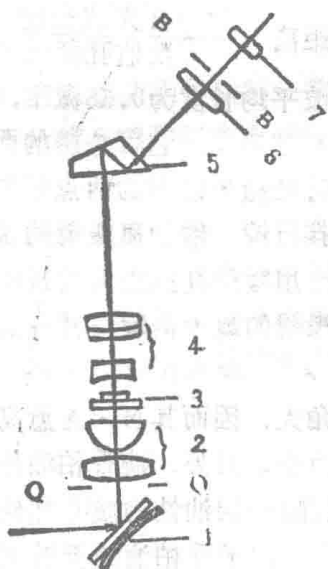
人们肉眼所能感受的光波平均长度为0.55微米，假如用数值孔径为0.65的接物镜（高倍镜），它可分辨的两点之间最小距离为0.42微米，而在0.42微米以下的两点距离就分辨不出，即便使用倍数更高的接目镜，增加显微镜的总放大率，也仍然分辨不出。只有改用数值孔径更大的接物镜，增加其分辨力才行。所以，显微镜的放大倍数与其分辨力是有区别的。

油镜头的焦距短，镜口角大，因而其N·A愈高，光波就愈短，则所能辨析的物体愈小。另外，滴香柏油作为介质使用时，物镜与载玻片之间仅隔一层油性物质（其他的物镜与载玻片之间隔着一层空气）。由于香柏油的折射率等于1.52，与玻璃相同，所以当光线通过载玻片后，可直接通过香柏油进入物镜而不发生折射，可使视野光线充足。相反，玻片与物镜之间的介质为空气时，当光线通过玻片后，受到折射发生散射现象，进入物镜的光线显然减少，这样就减低了视野的照明度，影响分辨力。

(5) 接目镜(目镜) 是一个金属的圆筒,上端装有一块较小的透镜,下端装有一块较大的透镜。其作用是将物镜所放大和鉴别的物象进行再放大。目镜内可附加指针和测微尺。每架显微镜常备有几个倍数不同的目镜,其上也刻有 $5\times$ 、 $10\times$ 、 $12.5\times$ 等放大倍数,显微镜的放大倍数即是所用的目镜放大倍数跟所用物镜的放大倍数的乘积。

二、了解显微镜的成像原理

光学显微镜是利用光学的成像原理(图3),观察生物



体的结构。首先利用反光镜将可见光反射到聚光器中,把光线汇聚成束,穿过生物制片(观察物),进入到物镜的透镜上。因此所观察的制片都要很薄(一般为 $8\sim 10$ 微米),光线才能够穿透制片,经过物镜将制片上的结构放大为倒立的实像。这一倒立的实像经过目镜的放大,映入眼球内成为放大的倒立的虚像。

图3 显微镜的光学系统

1. 反光镜 2. 聚光器 3. 标本 4. 物镜
5. 半五角棱镜 6. 场镜 7. 目镜
Q. 聚光器孔径光阑 B. 目镜视场光阑

三、显微镜的使用 方法

1. 安放显微镜

打开镜箱，右手紧握镜臂，左手平托镜座，轻放桌上使镜臂正对自己的左胸，距离桌子边缘几厘米处。

2. 检查

检查各部件是否完好，镜身、镜头必须清洁。

3. 对光

显微镜的光源一般用天然光源，也可用日光灯或显微镜灯，但不能用直射日光。因直射日光影响图像的清晰，损坏光源装置和镜头，而且刺伤眼睛。对光时，首先将光圈的孔径调至最大，将聚光器升至最高点，再将低倍镜对准镜台孔，镜头离载物台约1厘米。这时，一面把反光镜转向光源，一面用左眼（两眼睁开）从目镜中观察，直到视野中的光线既明亮又均匀时为止。当光线过强时，宜用平面镜；光线过弱时，宜用凹面镜。对好光后不要再移动显微镜，否则又需要重新对光。

此外，在镜检全过程中，根据所需光线的强弱，还可通过扩大或缩小光圈、升降聚光器和旋转反光镜以调节之。

4. 调焦

光线对好后，就可将制片放在载物台上，有盖片的一面朝上，被检物体对准圆孔正中，用压夹压紧，或用标本移动器卡紧，开始调焦。先用低倍镜观察，因为低倍镜视野范围较大，易于全面地观察材料和寻找材料中需要重点观察的部分。转动粗调节器，使镜筒缓缓下降，这时必须由侧面仔细观察，直至物镜与盖片相距5 mm以下时，再用左眼从目镜中观察，右眼也要睁开。这样，不仅便于绘图，而且眼睛也不易疲劳。同时转动粗调节器，使镜筒缓缓上升（注意：拧动调节器的方向，切勿弄错，以免物镜与载玻片碰撞，否则，既压碎玻片又损伤镜头），直至看清标本物像。然后，再轻轻转

动细调节器，以便得到更清晰的物像。

5. 低倍镜观察

低倍镜下调准焦距找物像时，若被检物体不在中央，可用标本移动器略微移动玻片，使物像恰好位于视野中央。若光线不适，可拨动虹彩光圈的操纵杆，调节光线，使物像最清晰为止。

6. 高倍镜观察

推动转换器，将高倍接物镜头转至镜筒正下方（转换时切勿动调节器）。这时，只要将细调节器向反时针方向轻轻转动，就可看清楚目的物。注意：此时不可用粗调节器，否则会压碎玻片并损伤镜头。由于显微镜所观察的生物材料是立体的，故在观察时必须随时转动细调节器，才能了解不同光学平面的情况。

在高倍镜下，将制片中的被检物按从上到下，从左到右的顺序移动，观察一遍。再换成低倍镜并又转高倍镜反复观察几次，以熟练高倍镜的使用。

用高倍镜观察完后，若有必要，可再换用油镜头观察。

7. 油镜观察

用粗调节器将镜筒拉起约1.5—2厘米，将油镜头转至镜筒下方。滴加一滴香柏油于载玻片要观察的部位上。眼睛从侧面注视，用粗调节器缓缓降下镜筒，直至油镜头浸没于香柏油内，几乎与载玻片相接触，但注意绝不能相碰，以免压碎玻片和损伤镜头。然后从目镜中观察，首先调节光圈与聚光器，使光亮适当加大，用粗调节器极其缓慢地提升镜筒至出现物像为止。再用细调节器调至物像清晰。如果镜头已提升出香柏油面而尚未见物像时，应按上述过程重复操作。使用完毕，将镜筒提升，取下载玻片，用擦镜纸擦去镜

头上的香柏油，再取擦镜纸沾取少量二甲苯擦镜头，然后用干净擦镜纸擦去镜头上残留的二甲苯。二甲苯用量不宜过多，擦试时间应短。

8. 复原

显微镜使用完毕，先将镜筒升高，取下玻片，擦净载物台和物镜，将各部分还原，反光镜垂直于镜座，并转动镜头转换器，将物镜从镜台孔挪开，成八字形，并将镜筒降至最低处，同时把聚光镜降下，扶正镜身，装镜入箱。

四、示范——实验室常用的几种显微镜

1. 双目生物显微镜

2. 双目立体显微镜（双目解剖显微镜）

3. 摄影生物显微镜

【作业与思考】

1. 了解显微镜的结构，熟悉各部分名称和用途。
2. 如何正确使用显微镜观察生物标本？使用时应注意什么？
3. 镜检玻片标本时，为什么要先用低倍镜观察，而不能直接用高倍镜或油镜观察？
4. 如何正确使用油镜？

实验二 生物绘图技术

【目的要求】

1. 了解生物绘图的主要技法。
2. 学会生物绘图的基本技能。

【材料与用品】

蚕豆叶下表皮玻片标本；显微镜、铅笔、橡皮、小刀、直尺、绘图纸。

【方法与步骤】

一、了解生物绘图的主要技法

生物绘图的技法可概括为“线”、“点”、“涂”、“染”四个字。根据我们的实验要求主要是“线”和“点”的技法。

1. 线

在黑白墨线图中，通常估计约有70%左右是运用线条来表现物体的轮廓、特征、层次和明暗的，所以运用线条对生物绘图是很重要的。生物绘图对线条的要求是：

- ① 线条均匀，一般不可时粗时细。
- ② 圆润而光滑，线条边缘不能毛糙不整。
- ③ 行笔要流畅，不能中间顿促凝滞。

常用的线条可分以下几种类型：