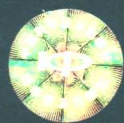


★ 21世纪高等院校规划教材

基础生物学 实验教程

王德良 周小慧 主编



中国科学技术出版社

★ 21世纪高等院校规划教材

基础生物学实验教程

王德良 周小慧 主编

中国科学技术出版社

• 北 京 •

图书在版编目 (CIP) 数据

基础生物学实验教程/王德良, 周小慧著. —北京:
中国科学技术出版社, 2006. 7

ISBN 7-5046-4433-1

I. 基... II. ①王... ②周... III. 生物学—实验—
高等学校—教材 IV. Q—33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2006) 第 077388 号

自 2006 年 4 月起本社图书封面均贴有防伪标志, 未贴防伪标志的为盗版图书

中国科学技术出版社出版

北京市海淀区中关村南大街 16 号 邮政编码: 100081

电话: 010-62103198 传真: 010-62183872

科学普及出版社发行部发行

北京北七家印刷厂印刷

*

开本: 787 毫米×1092 毫米 1/16 印张: 32.5 字数: 758 千字

2006 年 7 月第 1 版 2006 年 7 月第 1 次印刷

定价: 48.00 元

《基础生物学实验教程》编委会

主 编：王德良 周小慧

副主编：梁文斌 马英姿 吴若炎 王义强

何 钢

前 言

实验教学是培养生命科学各专业人才的重要环节，随着教育的不断深入，许多高校也在进行基础生物学实验教学内容 and 体系的改革探索，并急需适用的实验教材。根据课程改革的需要和 21 世纪我国高校生命科学各专业实验教学的改革思路，我们依托近 10 年来的教学实践并参照其他高校的成功经验，参考了国内各个专家、学者编著的大量优秀教材，编写了这本《基础生物学实验教程》。

从强化基础、培养能力、提高素质的教学目标出发，本教材以生物学实验的基本操作、基本技能和基本理论为基础，精选基础生物学各门课程的验证性实验，增设综合性实验，以及知识范围、操作难度适宜的设计性和自选性实验。在内容和项目设置上，既注意将生物学的基本原理贯穿始终，又注重农林高校类的学科特色，同时还考虑到基础生物学各门课程间的联系。

本教材共包含 10 门实验课程、155 个实验项目。10 门课程包括植物学、动物学、微生物学、生物化学、植物生理学、遗传育种学、动物生理学、细胞生物学、分子生物学、生物显微技术。

本教材在编写过程中得到我校许多老师和专家的大力支持和协助。编写组成人员如下：

植物学：	马英姿	动物学：	王德良
微生物学：	谭长征 王德良	生物化学：	周小慧
植物生理学：	邢伟一	遗传育种学：	吴若炎
动物生理学：	王德良 晏毓晨	细胞生物学：	王义强 韩文军
分子生物学：	何 钢	生物显微技术：	梁文斌

全书由王德良完成统稿。本教材在编写的过程中得到校内外许多同行专家的热情支持和帮助，全体编写人员在此表示衷心的感谢。

本教材的编写是进行生物科学实验教学改革初步尝试，书中缺点和错误在所难免，恳请各位同仁和读者提出批评指正！

感谢北京中教京师教育咨询中心的杨开才先生、张永青女士，对他们的辛勤劳动在此谨表谢意！

编 者

2006 年 7 月

目 录

第一部分 植物学实验指导

实验一	显微镜的使用和植物细胞基本结构(一)	(3)
实验二	植物细胞基本结构的观察(二)	(5)
实验三	有丝分裂过程的观察	(7)
实验四	植物的组织	(9)
实验五	种子结构及幼苗形成过程的观察	(11)
实验六	根的初生结构和次生结构	(13)
实验七	芽与茎的形态构造	(16)
实验八	叶的形态与构造	(20)
实验九	被子植物与裸子植物的有性生殖	(22)
实验十	果实的基本类型	(24)
实验十一	藻类植物的形态结构	(26)
实验十二	苔藓植物的形态结构	(29)
实验十三	蕨类植物的形态结构	(31)
实验十四	被子植物常见代表科的观察	(33)
附 录	显微镜及实验技术	(37)

第二部分 动物学实验指导

实验一	动物组织的制片及观察	(45)
实验二	蛙的早期胚胎发育	(50)
实验三	蛔虫与环毛蚓的比较	(53)
实验四	螯虾(或日本沼虾)和棉蝗的比较	(56)
实验五	昆虫和其他节肢动物的分类	(65)
实验六	无脊椎动物的采集、培养与固定保存	(73)
实验七	鱼的系列实验	(78)
实验八	鱼纲分类	(84)
实验九	蛙的催青及人工受精	(91)
实验十	两栖纲及爬行纲分类	(93)
实验十一	家鸽的外形和内部解剖	(98)
实验十二	鸟纲分类	(102)
实验十三	家兔的外形和内部解剖	(109)

实验十四 哺乳纲分类	(115)
------------------	-------

第三部分 微生物学实验指导

实验一 牛肉膏蛋白胨培养基的制备	(123)
实验二 微生物细胞大小的测定	(126)
实验三 微生物细胞的显微直接计数法	(129)
实验四 稀释平板测数法	(132)
实验五 细菌的简单染色和革兰氏染色	(135)
实验六 代表性微生物菌落的识别	(139)
实验七 霉菌水浸标本片的制备与观察	(142)
实验八 营养元素对黑曲霉生长的影响	(144)
实验九 紫外线杀菌试验	(146)
实验十 化学药剂对微生物的作用	(148)
实验十一 细菌的生理生化试验	(150)
实验十二 酸奶的制作	(154)
实验十三 固定化酵母细胞发酵啤酒实验	(156)
实验十四 土壤中真菌的分离与计数	(158)
实验十五 乳酸发酵	(161)
附 录 微生物实验室基本常识	(163)

第四部分 生物化学实验指导

实验一 蛋白质浓度测定(1)—总氮量的测定	(177)
实验二 蛋白质浓度测定(2)—双缩脲法	(181)
实验三 蛋白质浓度测定(3)—考马斯亮蓝染色法	(183)
实验四 改良双缩脲试剂测定种子蛋白质含量	(185)
实验五 血清蛋白醋酸纤维素薄膜电泳	(187)
实验六 细胞色素 C 的制备和测定	(191)
实验七 影响酶活性的因素	(194)
实验八 乳酸脱氢酶活力测定	(197)
实验九 淀粉酶活性的测定	(199)
实验十 超氧化物歧化酶活性测定	(202)
实验十一 维生素 C 的定量测定——2,6-二氯酚靛酚滴定法	(204)
实验十二 植物 DNA 的提取	(207)
实验十三 酵母核糖核酸的提取及测定	(209)
实验十四 脂肪酸价的测定	(213)
实验十五 植物组织中总酸度的测定	(214)
实验十六 糖的定量测定——蒽酮反应法	(215)

实验十七	淀粉的分离制备与净化	(217)
实验十八	总淀粉量的测定	(218)

第五部分 植物生理学实验指导

实验一	植物组织中可溶性糖的测定	(223)
实验二	植物组织中过氧化氢含量及过氧化氢酶活性测定	(226)
实验三	抗坏血酸含量及抗坏血酸过氧化物酶活性的测定	(229)
实验四	叶绿体色素的提取、分离和理化性质测定	(231)
实验五	叶绿体色素的定量测定	(234)
实验六	改良半叶法测定叶片光合速率	(236)
实验七	真空渗入法测定环境因子对光合作用的影响	(238)
实验八	滴定法测定植物的呼吸速率	(239)
实验九	植物组织含水量的测定	(241)
实验十	小液流法植物组织水势的测定	(242)
实验十一	生长素类物质对根、芽生长的影响	(244)
实验十二	种子生活力的测定	(245)
实验十三	花粉活力的测定	(247)
实验十四	植物春化作用和光周期现象的观察	(249)
实验十五	植物组织逆境伤害程度的测定——电解质外渗量法	(251)
实验十六	植物体内游离脯氨酸含量的测定	(253)
实验十七	植物组织中超氧化物歧化酶活性测定	(255)

第六部分 遗传学实验指导

实验一	细胞有丝分裂及减数分裂过程的观察	(259)
实验二	用孚尔根反应法测定细胞中的 DNA	(262)
实验三	植物染色体组型分析	(264)
实验四	基因分离规律	(269)
实验五	独立分配规律与基因互作	(271)
实验六	基因的连锁与交换	(273)
实验七	链孢霉的分离和交换	(275)
实验八	辐射诱导染色体结构变异的观察	(280)
实验九	植物多倍体的诱发	(281)
实验十	树木自然变异的观察	(282)
实验十一	花粉贮藏与生活力的测定	(284)
实验十二	树木有性杂交技术	(287)
实验十三	树木嫁接技术	(289)
实验十四	优树选择	(294)

第七部分 动物生理学实验指导

附录 1	MS4000U 生物机能仪器系统操作技能	(303)
附录 2	动物实验的一般知识与基本操作技术	(322)
附录 3	常用实验动物生理常数值	(340)
附录 4	实验动物的饲养标准	(341)
附录 5	常用生理溶液的名称及成分	(342)
实验一	刺激强度和刺激频率与骨骼肌收缩的关系	(343)
实验二	神经干动作电位引导、兴奋传导速度及不应期的测定	(346)
实验三	蛙心起搏点	(349)
实验四	期前收缩与代偿间歇	(351)
实验五	蛙心灌注	(353)
实验六	交叉配血	(356)
实验七	红细胞比容测定	(357)
实验八	影响血液凝固的因素	(359)
实验九	药物对离体心脏的影响	(361)
实验十	心血管活动调节及药物影响	(363)
实验十一	呼吸运动的调节与膈肌放电	(366)
实验十二	脊髓半离断	(368)
实验十三	去小脑动物的观察	(370)
实验十四	泌尿生理及利尿作用	(372)
实验十五	动物侧迷路破坏的效应	(374)
实验十六	子宫收缩药对离体子宫的影响	(376)

第八部分 细胞生物学实验指导

实验一	特殊光学显微镜的使用与细胞结构的观察	(381)
实验二	细胞生长、分化与衰老特征的观察	(386)
实验三	细胞核型分析	(389)
实验四	动物细胞培养	(393)
实验五	原生质体的制备与融合	(398)
实验六	叶绿体的分离、纯化及检测	(400)
实验七	植物组织培养	(401)

第九部分 分子生物学实验指导

实验一	质粒 DNA 的制备	(407)
实验二	琼脂糖凝胶电泳检测质粒 DNA	(411)

实验三	DNA 的纯化	(415)
实验四	紫外吸收法检测 DNA 纯度及浓度	(417)
实验五	DNA 的酶切反应	(419)
实验六	目标 DNA 片断的回收	(421)
实验七	DNA 的连接反应	(427)
实验八	大肠杆菌 E. coli 感受态细胞的制备技术	(430)
实验九	重组 DNA 的转化及克隆筛选	(432)
实验十	PCR 基因扩增	(436)
实验十一	DNA 核苷酸序列分析	(439)
实验十二	细胞总 RNA 的抽提	(443)
实验十三	植物总 DNA 的快速少量抽提(CTAB 法)	(447)
实验十四	核酸探针标记	(450)
实验十五	Southern 杂交	(452)
实验十六	Northern 杂交	(457)
实验十七	Western 杂交	(459)
实验十八	mRNA 差异显示法分离特异表达的基因片段	(462)
实验十九	土壤农杆菌介导的植物基因转化	(466)
实验二十	外源基因在原核细胞中表达和初步纯化	(472)
附 录 1	常用试剂和缓冲液的配制	(478)
附 录 2	DNA 相对分子质量标准	(482)

第十部分 生物显微技术实验指导

实验一	徒手切片法	(485)
实验二	木材切片法	(486)
实验三	石蜡切片法	(489)
实验四	压片法	(493)
实验五	简单的显微化学试验方法	(495)
实验六	显微摄影技术	(498)
附 录	常用药品配方	(507)
主要参考文献		(508)

第一部分

植物学实验指导



实验一 显微镜的使用和植物细胞基本结构（一）

[实验目的]

了解显微镜的构造、使用和保养；了解实验材料的准备与保存；了解植物细胞的基本结构；学习临时装片法及材料的观察与绘图。

[实验器材]

器具 显微镜，镊子，载玻片，双面刀片，吸水纸，蒸馏水，番红或醋酸洋红，碘液。

材料 洋葱鳞叶

[实验步骤]

1. 光学显微镜的构造及使用方法

- 1.1 熟悉显微镜的聚光镜、物镜、目镜、调焦等部分。
- 1.2 取一张永久切片，进行显微镜操作练习。
- 1.3 观察完毕，按要求整理和收藏好显微镜。

2. 洋葱鳞片叶表皮细胞结构的观察

- 2.1 把载玻片、盖玻片擦干净，在载玻片中央滴一滴水。

2.2 取洋葱头新鲜的肉质鳞片，用镊子从其内表面撕下一条透明的、薄膜状的内表皮，再用刀片切取 $3\sim 5\text{mm}^2$ 的一小块，外切向壁朝上置于载玻片上的水滴中，盖上盖玻片（盖盖玻片时，用镊子轻轻地夹住盖玻片一侧，先放下相对的一边，然后再慢慢地将整个盖玻片放下，以防产生气泡）。取表皮时速度要快，以防发生卷曲。

2.3 将装片置显微镜下观察。先用低倍镜，可看到表皮由许多方形的“小格子”组成，每个小格子就是一个细胞。再换用高倍镜，观察一个典型的细胞结构，区别下列部分：

细胞壁 包围在细胞的原生质体的外面，比较透明，因此只能看到细胞的侧壁。初看时，似乎两个相邻的细胞只有一层壁。但是调节细调焦螺旋和虹彩光圈时，就能发现这层细胞实际上是三层，即两侧为相邻两个细胞的细胞壁，中间是粘连两个细胞的中胶层（胞间层）。

细胞质 为无色透明的胶状物，紧贴在细胞壁以内，被中央的大液泡挤成一薄层，仅细胞的两端较明显。当缩小光圈使视场变暗时，在细胞质中可以看见一些无色发亮的小颗粒，是白色体。

细胞核 为扁圆形的小球体，由更为浓稠的原生质体组成，总是沉没在细胞质中，由于有中央大液泡的形成，所以使它和细胞质一样紧贴着细胞壁。有的细胞核贴近细胞的侧壁，只能看到某侧面。而不少的细胞核则紧贴上面和下面的细胞壁，就可以看到它的宽面，此时可清楚地看到其内有一个或两个核仁，偶尔还可见到三个核仁的细胞核。有时在撕取表皮时，细胞已破裂，核与质均流出，就看不见核仁了。



一般的细胞核都包括下列三部分：核膜，包围在细胞核的外面；核质，充满整个细胞核；核仁，为核质中1~3个发亮的小颗粒。

液泡 有一个或几个，位于细胞的中央，里面充满细胞液，所以比细胞质透明。液泡的多少是细胞是否成熟的标志，观察洋葱细胞液泡的多少，并判断洋葱细胞是否成熟。

按上述要求观察了活的洋葱表皮细胞之后，取下制片，从盖玻片的一侧边缘滴加一滴碘液，再用吸水纸从相对的一侧吸水，使染料流入材料中，进行染色。此时细胞已被杀死，细胞质被染成浅黄色，细胞的各部分显示得较为清楚。

3. 参考下图理解植物细胞结构和绘图的基本要求

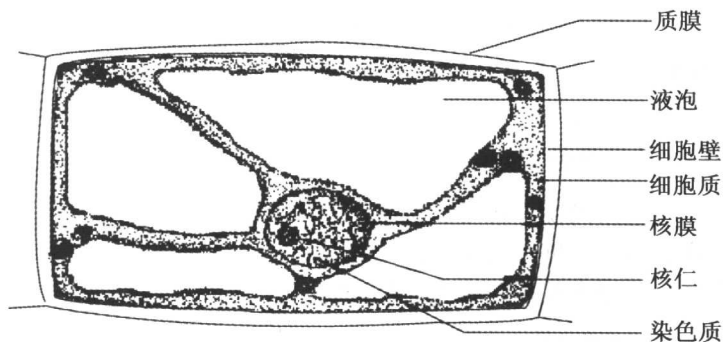


图 1-1-1 植物细胞的构造

[注意事项]

在使用高倍镜时，注意在转换镜头时要观察高倍镜镜头是否配套，否则要及时调整镜筒高度，以防压碎玻片，损坏镜头。

[作业与思考题]

- (1) 如何正确使用显微镜？
- (2) 多细胞植物体的细胞是如何相互联系的？
- (3) 绘洋葱表皮细胞图，并标明各部分结构。



实验二 植物细胞基本结构的观察（二）

[实验目的]

掌握植物细胞的基本结构；观察质体的形态；了解细胞壁的构造；观察纹孔和胞间连丝的形态，并理解其功能；观察细胞中的几种贮藏物质——淀粉、脂肪、蛋白质等，在细胞中的分布情况及其形态特征。

[实验器材]

器具 显微镜，镊子，载玻片，双面刀片，吸水纸，蒸馏水，番红或醋酸洋红，碘液。

材料 黑藻，红辣椒，毛竹幼茎或喜树皮孔永久片，大白菜，柿胚乳永久切片，杉木茎永久横切片，松木材三切面永久切片，马铃薯块茎，蓖麻种子，花生种子。

[实验步骤]

1. 质体的观察

1.1 叶绿体及细胞质运动现象 取一片黑藻茎尖嫩叶，放入载玻片的水滴中，盖上盖玻片，在高倍镜下观察，叶绿体也是浸没在细胞质中的，紧贴细胞壁之内，有时紧贴细胞的上壁或下壁，常呈扁圆形；有时则紧贴侧壁，使我们看到的是其狭窄面。同时在黑藻叶片细胞里还可看到叶绿体随胞质运动而作一个或几个方向的流动（温度在 25℃ 左右最适宜）。

1.2 白色体 白色体是不含色素的质体，所以无色。多存在于植物体的幼嫩细胞或不见光的细胞中。取大白菜的幼叶或叶柄做徒手切片，或者撕取表皮，用蒸馏水装片置于显微镜下观察，在细胞质中无色的颗粒就是白色体。

1.3 有色体 有色体是仅含叶黄素和胡萝卜素的质体，由于二者比例不同，可呈黄色、橙色或橙红色，常存在于成熟的果肉细胞中或黄红色的花瓣里。取新鲜红色辣椒，撕去表皮，取其果肉细胞，制成临时装片，在显微镜下观察，细胞质中的许多橙红色颗粒即为有色体。如果细胞过于老熟，有色体的蛋白质解体，则呈不规则色素结晶。

2. 细胞壁结构及胞间连丝的观察

2.1 细胞壁的结构 取杉木茎横切片，找到被染成红色的部分，注意观察红色壁上颜色的深浅不同。

胞间层 位于两相邻细胞的交界面上，主要成分为果胶质，在显微镜下折光性最强，加之被染成红色，故在两细胞间呈亮红色的一条亮线便是胞间层。

初生壁 位于亮线的两侧各有一条狭窄的黑线，便是它所在的位置。由于初生细胞壁极薄，故它与胞间层紧紧相连，无法截然分开。

次生壁 在黑线初生壁的内侧，一稍厚的红色部分便是，它紧接细胞腔。

2.2 胞间连丝 取柿胚乳细胞永久切片，在低倍镜下观察可见到细胞壁明显增厚的细胞，其细胞腔很小，其内的原生质体被染上颜色或在制片过程中已被丢失而成为空



腔。在相邻两细胞加厚的细胞壁上，选择胞间连丝清晰而比较集中的地方，转换高倍镜进行观察。那些微细的暗色细丝即为胞间连丝，它们把相邻两细胞的原生质体联系起来（观察胞间连丝时，光线不能太强）。

3. 纹孔的观察

单纹孔 撕取新鲜红辣椒的表皮一小块，用刀片刮去表皮以内的果肉细胞（沿辣椒表面切取表皮薄片也可以），然后以表皮的外切向壁朝上装片。先选择薄而清晰的区域用低倍镜观察，然后换用高倍镜寻找呈念珠状的两个相邻细胞的细胞壁，其上多处发生相对凹陷，即单纹孔对。

具缘纹孔 取松树木材三切面切片，在显微镜下观察，管胞是一个两头稍尖的长细胞，略呈梭形。可看到管胞壁上有显著的同心环状的具缘纹孔正面观，中心最小的圈为纹孔口，最外的大圈为纹孔腔腔底的界限，中间的一环是裸子植物特有的纹孔塞的阴影。

4. 细胞内贮存物质的观察

淀粉粒 用镊子从马铃薯块茎上刮取少量薄壁细胞放入载玻片的水滴中，用解剖针将其分散，盖上盖玻片，置显微镜下观察，可见到许多细胞中挤出来的淀粉粒，其上具有轮纹，各层次轮纹以脐点为中心环绕着。加入碘液后，淀粉粒染成蓝色，轮纹更清楚。

脂肪 取花生种子的子叶作徒手切片，挑选薄片放在载玻片上用苏丹Ⅲ溶液染色数分钟，然后盖上盖玻片。在低倍镜下观察，可见到在细胞内有染成红色的油滴。

贮藏蛋白质 用蓖麻种子胚乳作徒手切片，选取薄片放入盛有 100% 酒精的培养皿中洗涤数分钟，使切片中的脂肪溶解在酒精中，然后取出切片用蒸馏水装片，置显微镜下观察，可以看到胚乳细胞内的糊粉粒存在，它是由贮藏在液泡中一种蛋白拟晶体、球蛋白体充填的无形胶体共同组成，如果在切片中加一滴碘液，其蛋白质会呈黄色。

[注意事项]

(1) 观察柿胚乳细胞时要将视野的光线略调暗些，并仔细调节细调螺旋和虹彩光圈，这样更容易看到胞间连丝。

(2) 淀粉粒染色时，不要加太多的碘液，否则染色太深，不易看到轮纹。

[作业与思考题]

- (1) 在黑藻叶片细胞里可看到叶绿体随胞质运动有几个流动方向？
- (2) 绘柿胚乳二个细胞的胞间连丝图。
- (3) 绘马铃薯块茎淀粉粒形状图。



实验三 有丝分裂过程的观察

[实验目的]

观察植物细胞增殖的主要方式——有丝分裂的全部过程；掌握徒手压片的制作方法。

[实验器材]

器具 显微镜，镊子，载玻片，双面刀片，吸水纸，蒸馏水，醋酸洋红或地衣红。实验报告纸及绘图工具自备。

材料 洋葱根尖有丝分裂永久制片，新鲜的洋葱根尖或蚕豆根尖。

[实验步骤]

1. 有丝分裂的观察

取洋葱根尖的永久制片放在低倍镜下观察，首先找出生长点。生长点位于根冠之后，其细胞壁薄，原生质浓，细胞核大，细胞排列紧密，无明显的胞间隙。然后换用高倍镜仔细观察，可找出各个分裂时期的细胞。

分裂间期 在切片上这个时期的细胞最多，核无明显的变化，核内染色质分布均匀，核膜、核仁均存在。

前期 细胞由不分裂状态逐渐转变为分裂状态，细胞核内的染色质形成丝状或颗粒状的染色体，在核膜内互相缠绕而似线团状。到前期结束时，形成具有一定数目的、外表光滑的染色体，每一条染色体由两条互相平行且紧密贴紧的染色单体组成，核膜、核仁消失，由纺锤丝开始形成纺锤体。

中期 染色体移动、排列在纺锤体赤道面上，纺锤体也完全形成。构成纺锤体的纺锤丝有两种情况：一种是纺锤丝的一端与染色体着丝点相连，另一端则集中于极端，称为染色体牵丝；另一种是纺锤丝并不与染色体相连，而是从一极直接伸到另一极，称为连续丝。染色体在染色体牵丝的牵引下，向着两极的中央移动，最后都排列在赤道面上。中期染色体的形态，通常作为每一种染色体的基本形态。

后期 每一个染色体的着丝点分裂，两个染色单体彼此分离，在纺锤丝的牵引和着丝点的导向下，各自移向纺锤体的两端。

末期 已分到两端的染色体逐渐积聚，并变模糊。随后，核膜、核仁重新出现，逐渐进入间期核形态。新的细胞壁产生，两个新的子细胞形成，回复到间期核的形态。

2. 徒手压片观察

压片的制作 取已经过固定离析的洋葱根尖或蚕豆根尖一个，放在干净的载玻片上，用镊子将此根尖压裂，滴上两滴醋酸洋红或地衣红染色，放置几分钟后再盖上盖玻片。用铅笔上的橡皮头，对准盖玻片下的材料在盖玻片上轻轻敲击，使材料压成均匀的、单层细胞的薄层。用吸水纸吸去溢出的药液，即可在显微镜下检查。此时可以看到许多离散的细胞。如果此时细胞核的染色质或染色体的颜色还不是暗红色，可取下压片