

• 科学教育专业系列教材

生命科学通论 实验指导

Shengming

Kexue Tonglun Shiyān Zhidao 胡兴昌·主编



科学出版社

科学教育专业系列教材

生命科学通论实验指导

胡兴昌 主编

科学出版社

北 京

内 容 简 介

本书全面、系统地介绍了与《生命科学通论》教材相关的实验基本技能、实验操作步骤和实验方法,既包括传统的生物学实验,如“细胞膜的渗透性”、“果蝇唾腺染色体的制备与观察”等,也适当编排了各系统涉及的常用实验方法,如“花卉快速繁殖方”、“昆虫、植物标本的采集与制作”等。同时本教材选择性地介绍了生物学拓展实验知识和技术、生物学实验设计的基本知识,并安排了实验基本技能训练。全书分为细胞学实验、遗传学实验、动物学实验、植物学实验、微生物学实验、生态学实验、综合性实验以及附录八部分。本书是一本指导普通生物学实验操作技能的参考教材,以面向 21 世纪生物学的发展趋势及其实际教学的需要为原则编写。

本书可供高等院校普通生物学课程作为教材使用,还可作为中学生物学教学的参考用书,同时也可供从事相关工作的人员作为参考用书使用。

图书在版编目(CIP)数据

生命科学通论实验指导 / 胡兴昌主编. —北京:
科学出版社, 2011.9
ISBN 978-7-03-032215-9

I. ①生… II. ①胡… III. ①生命科学—实验—高等
学校—教学参考资料 IV. ①Q1-0

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2011)第 176571 号

责任编辑:朱 灵 / 责任校对:刘珊珊
责任印制:刘 学 / 封面设计:殷 靓

科 学 出 版 社 出 版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

南京展望文化发展有限公司排版

江苏省句容市排印厂印刷

科学出版社出版 各地新华书店经销

*

2011 年 9 月第 一 版 开本: B5(720×1000)

2011 年 9 月第一次印刷 印张: 8 1/4

印数: 1—2 200

字数: 154 000

定价: 25.00 元

《生命科学通论实验指导》 编写人员

主编：胡兴昌

编者：(按姓氏笔画排序)

易怀玉 胡兴昌 章 骏 雷小凤

前 言

本实验指导系《生命科学通论》配套教材,因此编写时注重结合《生命科学通论》教材的内容,充分考虑各章节重要内容涉及的相关实验。本书既包括传统的生物学实验如“细胞膜的渗透性”、“果蝇唾腺染色体的制备与观察”等,也适当编排了各系统涉及的常用实验方法,如“花卉快速繁殖方”、“昆虫、植物标本的采集与制作”等,同时本教材选择性地介绍了生物学拓展实验知识和技术、生物学实验设计的基本知识,并安排了实验基本技能训练。本教材对普通生物学实验内容也进行了更新、整合和优化,教材中将过去传统实验中多为验证性的实验改变为技能性和综合性的实验,降低验证性实验比重,增加设计性、综合性实验项目的比重,注重与现实生活的联系,尽可能反映生命科学的特点,较详尽地阐述了普通生物学实验中的基本操作、基本技能和基本理论,力求在培养学生动手能力的同时,培养学生独立思考 and 综合分析的能力以及创新意识,全面提高学生的综合素质。本教材综合了国内普通生物学目前正在开设的实验内容,内容涵盖基础性实验和综合性实验,既重视基础性和科学性,又适应科学教育专业发展方向,较好地体现本学科的特点与我国科学教育专业的发展方向。全书包括细胞学实验、遗传学实验、动物学实验、植物学实验、微生物学实验、生态学实验、综合性实验以及附录八个部分,共 33 个实验和 8 则附录。本教材以面向 21 世纪生物学的发展趋势及其实际教学的需要为原则编写,全面、系统地介绍了与《生命科学通论》教材相关的实验基本技能、实验操作步骤和实验方法,各校可根据实际情况选取相关实验内容。

本教材除可供科学教育专业学生使用外,还可作为各高等院校理、工、农、医的普通生物学课程教学选择使用,也可作为中学生物学教学的参考用书。

在本书编写过程中,得到了陕西师范大学、浙江师范大学、山西师范大学、西北师范大学、宁波大学、广东第二师范学院等院校同行的大力支持,同时还参考了大量国内外学者的著作和论文,在此对这些同行和作者表示感谢。由于水平有限,在编写过程中虽然做了很大的努力,难免会存在一些缺点和不足,恳切希望读者提出指正。

编 者

2011 年 5 月

目 录

前言

第一部分 细胞学实验

实验一	生物显微制片	1
实验二	细胞膜的渗透性	4
实验三	细胞质的流动	6
实验四	细胞的活体染色	8
实验五	植物细胞质壁分离与复原	11

第二部分 遗传学实验

实验一	植物细胞有丝分裂的制片与观察	13
实验二	植物花粉母细胞减数分裂观察	16
实验三	果蝇唾腺染色体的制备与观察	20
实验四	分离现象的观察与统计	23
实验五	人类染色体的识别与核型分析	25

第三部分 动物学实验

实验一	原生动动物实验	29
实验二	腔肠动物和环节动物的观察	31
实验三	鱼的形态及解剖	36
实验四	蛙的解剖及坐骨神经腓肠肌标本的制备	38
实验五	人体结构观察	41
实验六	血细胞观察、计数与血型鉴定	47

第四部分 植物学实验

实验一	植物组织装片及营养器官的观察	51
实验二	植物根、茎、叶形态与结构观察	54
实验三	植物繁殖器官——花、果实、种子的解剖与观察	57

实验四	苔藓、蕨类植物的形态特征及分类	61
实验五	种子植物实验	64
实验六	植物叶绿素的提取分离和理化性质观察	66

第五部分 微生物学实验

实验一	细菌的简单染色和菌体形态的观察	70
实验二	微生物直接计数法及测微技术	72
实验三	放线菌、酵母菌及霉菌的形态观察	76

第六部分 生态学实验

实验一	生态环境中综合生态因子的观察与测定	81
实验二	鱼类对温度、盐度耐受性的观测	83
实验三	植物群落调查及物种多样性的测定	85

第七部分 综合性实验

实验一	小鼠骨髓细胞染色体制片与观察	90
实验二	反射时测定和反射弧分析	92
实验三	常见植物群落特征调查与观测	94
实验四	饮用水中的微生物检验	97
实验五	生态系统的观察与分析	99

附 录

附录一	生物绘图方法	102
附录二	显微测微尺的使用	103
附录三	果蝇饲料的配制与果蝇的饲养	105
附录四	甲状腺素对蝌蚪变态的影响	107
附录五	花卉快速繁殖方法	109
附录六	土壤中微生物分离纯化培养方法	110
附录七	昆虫、植物标本的采集与制作	112
附录八	生态规划方法	121

主要参考文献	123
--------------	-----

第一部分 细胞学实验

实验一 生物显微制片

【实验目的】

1. 初步了解显微制片技术。
2. 掌握徒手切片法,并制作临时装片观察。

【实验原理】

显微标本的制作技术是组织学、胚胎学、生理学及细胞学等学科研究观察细胞与组织的生理、病理形态变化的一种主要方法。大多数的生物材料,在自然状态下是不适合显微观察的,也无法看到其内部结构。因为材料较厚,光线不易透过,以致不易看清其结构。另外,细胞内的各个结构,由于其折射率相差很小,即使光线可透过,也难以辨明。但在经过固定、脱水、透明、包埋等手续后就可把材料切成薄片,再用不同的染色方法就可以显示不同细胞组织的形态及其中某些化学成分含量的变化,就可以在显微镜下清楚地看到其中不同的区域组分状态,切片也便于保存,所以是教学和科研中常用的方法。

【实验材料和用品】

1. 实验材料
自选植物叶片。
2. 实验用品
显微镜、刀片、毛笔、培养皿等。

【实验方法与步骤】

生物显微制片有许多不同的方法,一般可分为非切片法与切片法两大类:非切片法有涂片、铺片、压片、磨片、整装片等。切片法包括石蜡切片法、火棉胶切片法、冰冻切片法等。显微制片技术虽是生物学中很基本的操作技术,但由于生物材料的个体差异,化学试剂的多样性,因此操作技术相当细致而复杂,方法也很多,每一步骤的失误都可能导致整体的失败,因此需要耐心细致,不断总结经验,才能得到较好的结果。

1. 非切片法

操作简单快捷,其中铺片法、封藏法可使原有组织结构不被破坏,涂片法、压片法弥

补了用包埋、切片法不可能观察清楚的不足,因此是显微标本制备中常用的手段。

(1) 涂片法 主要用于血液、精液、尿液、痰液、微生物等不能切成薄片的液态颗粒性材料,可在载玻片上涂成单层细胞,再经固定、脱水、染色等手段制成永久标本。

(2) 铺片法 主要用于动、植物组织的表皮层观察,可活体取待观察动、植物组织,用尖镊子撕去一层表皮,迅速平铺在载玻片上。例如,洋葱表皮细胞的铺片制备。

(3) 压片法 一些较幼嫩的、柔软的材料可将其置于载玻片上,用小解剖刀将其分散,加染料一滴,再盖上盖玻片,用拇指垂直用力挤压,使组织散成一薄片,再进行观察,如植物根尖观察染色体、花粉粒观察发育阶段等。

(4) 离析法 该方法是利用化学试剂使组织的细胞间质溶解,使细胞能分散成单个体。经染色、脱水、透明即可观察其个体形态,适用于肌肉、叶片、茎等部位。

(5) 磨片 用于很坚硬的组织,如骨和牙。

2. 切片法

切片法是必须依靠手或切片机将组织切成薄片来进行观察的方法,为了能清晰地观察到动、植物的组织结构及细胞形态,必须先经过一系列步骤向组织内渗入某些支持物质,使组织变硬以利于切成薄片,根据所用支持剂的种类不同,可分为徒手切片法、石蜡切片法、火棉胶切法、冰冻切片法等类型,切成薄片后还需要去蜡、染色、脱水、透明等步骤,将其制成永久标本。

下面以石蜡切片为例,介绍显微标本的制备方法。

(1) 取材 根据不同的实验目的,选择相应的材料,材料要求新鲜、准确、完整,材料要避免挤压、挫伤、干枯。所采集材料应立即放入固定剂,并编号,注明采集时间、地点、名称、组织部位,所取组织块要大小适当,既要能说明问题,又要考虑固定剂的穿透能力。一般组织学取材稍大,细胞学取材稍小,植物组织取材稍小,动物组织取材要稍大。

(2) 固定 动、植物的任何组织部位,要制成切片,首先用化学试剂将其固定,固定的作用在于通过固定剂,在尽量短的时间内使原生质体停止生命活动,并如同生前一样精细地保存其细胞结构,同时易于后步骤的染色,所以良好的固定剂应该具备以下条件:迅速渗入组织杀死原生质体,在短时间内,组织内外完全固定;尽可能避免使组织膨胀或收缩,并且软硬适合于切片;增加细胞内含物的折光程度,易于鉴别,同时增加媒染作用和染色能力。固定液同时是防腐液,使材料不致变质。

(3) 脱水 脱水是用一种既能与水又能与透明液混合的液体来逐渐置换样品中游离的水。现采用的脱水剂一般是丙酮或乙醇来进行梯度脱水,脱水的时间

可根据组织的类型、大小而定。

脱水的过程一般是：乙醇 30%→50%→70%→80%→90%→100%→100%。

脱水应逐步而不应跨越太大地进行，否则将引起组织强烈的收缩或变形，在经无水乙醇处理时，应保证试剂的纯度。

(4) 透明 透明是用一种既能与酒精又能与包埋介质混合的液体来置换样品中的酒精，从而为最终的包埋创造一个有利的条件。现采用的透明剂一般是二甲苯、甲苯、氯仿等。

其过程为：1/3 二甲苯+2/3 乙醇混合液→1/2 二甲苯+1/2 乙醇混合液→2/3 二甲苯+1/3 乙醇混合液→二甲苯→二甲苯。

二甲苯是使用最广泛的一种透明剂，它具有渗透力强，溶解石蜡量大，又易挥发的优点，其缺点是易使组织收缩、变硬、变脆，因此透明时间应根据组织块大小及质地酌情而定。

(5) 渗蜡 将完成透明步骤的组织块浸入透明剂与石蜡混合液中，不断提高石蜡的比例，直至用石蜡完全置换了组织块中的透明剂，便于今后的包埋与切片。石蜡有液态与固态两种，渗蜡要在恒定温箱(60℃)中进行，以保证石蜡处于液态中。

(6) 包埋 组织块经石蜡渗透后，其内部间隙已完全被石蜡占据，此时还需要用同种硬度的石蜡包埋成蜡块以利于后面的切片，包埋可用相同的器具，也可折叠成一牛皮纸盒。将液态石蜡缓缓倒入纸盒中，再用镊子轻轻将浸好蜡的组织块夹入纸盒，浅埋在石蜡内，待石蜡冷却成固态即包埋完毕。至此，一块组织已完成前期处理过程，可以切片，前面的步骤表明看来既无高深的理论，又无复杂的技术，一切看似简单，但一步做不到都会造成整个制片的前功尽弃。

(7) 切片 ① 修块：切片前需修整蜡块，即将包埋好的一大块蜡块切开，使每一小块都含有一块组织，并将这组织周围的石蜡切除，将组织修成一小块蜡块并黏在大小适宜的硬木块上，以便于固定在切片机上。② 贴片：一手持毛笔，一手转动切片机，切片的蜡片连成一长条蜡带，切下的蜡带放在一干净黑纸上，用小刀根据需要切成数段，分别贴在干净载玻片上。在恒温展片台上展平，烘干。

(8) 染色 切片可用不同方法，使其干燥，然后进行染色。因为每一张载片上粘贴的是蜡带，因此必须先用二甲苯去除石蜡再用酒精去除二甲苯，再进入水中，才能染色，染色的方法很多，要根据每个标本要求显示的目的选择不同的染剂，最常用的是苏木精、伊红染色(简称 H·E 染色)。苏木精使细胞核显深紫色，伊红使细胞质显粉红色，以此显示清晰的细胞形态和核的大小、位置，染色后再根据制片的基本原理，使带水的载片经历脱水→透明步骤，最后用树脂封片。

基本步骤如下：二甲苯×2(脱蜡)→酒精+二甲苯(1:1)→100%酒精×2→

90%酒精→80%酒精→70%酒精→50%酒精→30%酒精→水→苏木精染色(镜检)→水→50%→70%→90%→0.5%伊红(95%酒精配制)→95%→100%×2→二甲苯:酒精(1:1)→二甲苯×2→树胶封片。

3. 徒手切片法操作

(1) 切片前在小培养皿内盛适量清水,并准备毛笔、刀片等用具。

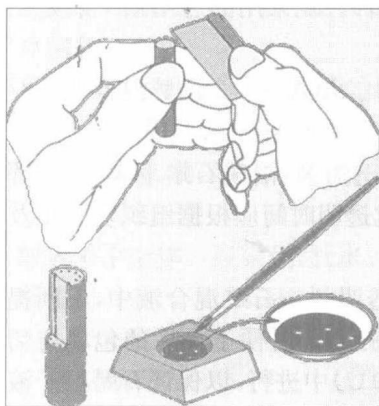


图 1-1 徒手切片手势

(2) 切片时,用左手的拇指、食指与中指夹住实验材料,大拇指应低于食指 2~3 mm,以免被刀片割破。材料要伸出食指外约 2~3 mm,左手拿材料要松紧适度,右手平稳地拿住刀片并与材料垂直。然后,在材料的切面上均匀地滴上清水,以保持材料湿润。将刀口向内对着材料,并使刀片与材料切口基本上保持平行,用右手的臂力(不要用手腕力),刀片平放于左手食指上,自左前方向右后方滑行连续切片。此时,左手的食指一侧应抵住刀片的下面,使刀片始终平整。连续地切下数片后,将刀片放在培养皿的水中稍一晃动,切片即漂浮于水中(图 1-1)。

(3) 用毛笔从培养皿中挑选薄而透明、平整的切片 1~2 片放在载玻片中央,制成临时装片。

(4) 在显微镜下观察临时装片。

【实验报告】

绘制所观察到的细胞结构图。

实验二 细胞膜的渗透性

【实验目的】

1. 了解细胞膜的渗透性。
2. 了解各种物质进入细胞的速度。

【实验原理】

细胞膜是细胞与环境进行物质交换的选择通透性屏障,是一种半透膜,可选择性控制物质进出细胞。将细胞放在低渗盐溶液中,水分子大量渗入细胞,可使细胞胀破,将细胞放在等渗盐溶液中,由于细胞膜对各种溶质的通透性不同,有的溶质可进入,有的溶质不能进入,进入细胞的溶质能提高细胞的渗透压。由于溶质渗入

速度不同,因此,细胞破裂和皱缩现象所需时间长短可作为测量物质进入细胞速度的一种指标。本实验选用红细胞作为细胞膜透性的实验材料,将其放入不同的介质溶液中,观察红细胞的变化。

【实验材料和用品】

1. 实验材料

兔血(或小鼠血、鸡血)

2. 实验用品

试剂: 0.17 mol/L 氯化铵, 0.17 mol/L 氯化钠, 0.17 mol/L 硝酸钠, 0.12 mol/L 硫酸钠, 0.10 mol/L 草酸钠, 0.10 mol/L 醋酸钠, 0.32 mol/L 葡萄糖, 0.32 mol/L 甘油, 0.32 mol/L 乙醇, 0.32 mol/L 丙醇。

器具: 显微镜、注射器、小烧杯、滴管、试管、试管架、载玻片、盖玻片、秒表。

【实验方法与步骤】

1. 用注射器在兔耳静脉处取血,取小烧杯 1 只,分别加 1 份经肝素抗凝的兔血和 10 份 0.17 mol/L 氯化钠,配成一种不透明的红色液体,即稀释的兔血。

2. 取试管 1 支,加入 10 ml 蒸馏水,然后再加入 1 ml 稀释的兔血,注意观察溶液的颜色变化,溶液由不透明的红色变为澄清,红细胞发生破裂,造成所有红细胞溶血,使光线容易通过。显微镜下观察溶血前后红细胞的形态。

3. 观察红细胞对各类物质的渗透性: 取试管 10 支,分别加入上述 10 种试剂各 5 ml,再加入 0.5 ml 稀释的兔血,记下时间,轻轻摇动,混匀后静置于温室中,注意观察是否发生溶血。若发生溶血,将实验结果记录于表 1-1。

表 1-1 红细胞对各类物质的渗透性

编号	溶液种类	是否溶血	溶血所需时间	结果分析
1				
2				
3				
4				
5				
6				
7				
8				
9				
10				

【实验报告】

记录实验观察到的现象,并对实验结果进行分析和比较。

【注意事项】

试管中有红细胞核测试溶液时,不应强力摇晃,以免造成人为的红细胞破裂。

【思考题】

1. 推断下列溶液的溶血反应如何,并做实验证实。

0.10 mol/L 硫酸钾、0.10 mol/L 柠檬酸钠、0.10 mol/L 醋酸钾、0.12 mol/L 氯化镁、0.12 mol/L 氯化钙、0.17 mol/L 氯化钾、0.17 mol/L 氯化铵、0.32 mol/L 甘油、0.32 mol/L 乙醇、0.32 mol/L 丙酮。

2. 比较各低渗、等渗溶液造成红细胞溶血的时间快慢,并分析溶血时间不同的原因。

实验三 细胞质的流动

【实验目的】

1. 观察植物的叶绿体在细胞质基质中的形态和分布、细胞质流动现象,了解影响细胞质流动的因素。

2. 理解细胞质的流动是一种生命现象。

【实验原理】

在多种植物的细胞中都能观察到植物细胞质流动现象,它是细胞活动强弱的重要指标。细胞质流动现象的产生,是细胞骨架中微丝肌动蛋白与肌球蛋白相互滑动的结果,此过程要消耗能量,受各种因素诸如温度、渗透压及各种离子的影响。

【实验材料和用品】

1. 实验材料

紫鸭趾草花丝,黑藻(水王荇、轮叶黑藻)叶。

2. 实验用品

试剂: 1 mol/L 氟化钠, 1 mol/L 丙二酸钠, 0.7 mol/L 2,4-二硝基酚(DPN)。

器具: 显微镜、载玻片、盖玻片、尖头镊子、刀片。

【实验方法与步骤】

1. 取1块载玻片,滴1~2滴蒸馏水。
2. 用镊子取紫鸭趾草花中的1枚雄蕊(图1-2),迅速置于载玻片上的水滴中,切去花蕊,加盖玻片,用显微低倍物镜($10\times$)观察。注意花丝周围附着许多“含珠链”状的花丝毛,每1粒“念珠”是1个单毛细胞。取黑藻叶(图1-3)用同样的方法观察。



图1-2 紫鸭趾草花(雄蕊)

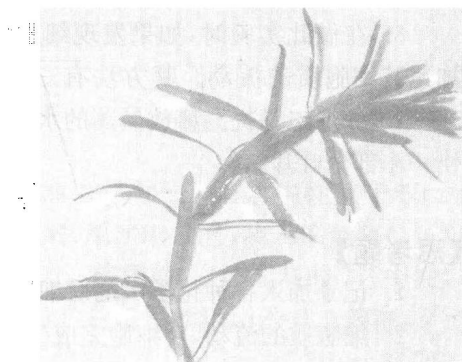


图1-3 黑藻

3. 用高倍物镜($40\times$)观察,可以看到细胞质中的颗粒和显著的细胞质,细胞质之间是液泡,内含水溶性花青素(anthocyanin)。注意观察花丝毛细胞核的部位,观察哪一部位可见到细胞质流动(图1-4)及其流动的速度如何。

4. 用吸水纸吸干水,加1滴1 mol/L 氟化钠,观察细胞质停止流动的时间。

细胞质停止流动后,用吸水纸吸去氟化钠,滴入清水,注意流动是否能恢复。

5. 依上述操作,加1滴1 mol/L 丙二酸钠或0.7 mol/L 2,4-二硝基酚(DPN)。注意观察细胞质流动速度是否发生改变;用吸水纸吸去药液后,加入蒸馏水,再观察细胞质流动的变化。

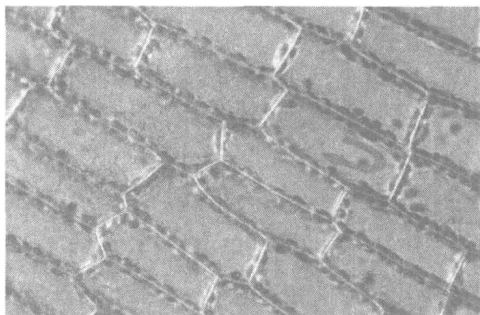


图1-4 箭头示细胞质流动方向

【实验报告】

绘制紫鸭趾草花丝细胞的细胞质流动图。

【注意事项】

1. 观察细胞质流动必须是活体材料,因而在观察过程中材料要始终浸在载玻片的水滴中。

2. 观察部位的选择。在外界条件下,同一黑藻叶片不同部位的细胞中细胞质的流动速度不尽相同。由显微镜观察,在黑藻叶片的中轴区域,亦称“中脉”或“中肋”,即叶片中央的一条主脉,通常由多层狭长而壁厚的细胞组成,在此区域及其附近,细胞质流动较快,观察时很容易看到细胞质的流动。

3. 在做此实验时,如果发现细胞质不流动,或者流动很慢,应立即采取措施,加速其细胞质的流动。其方法有三种:一是进行光照,即在阳光或灯光下放置 15~20 min;二是提高盛放黑藻的水温,可加入热水将水温调至 25℃ 左右;三是切伤一小部分叶片。

【思考题】

1. 记录加入各种化学试剂后细胞质流动停止的时间,并分析原因。
2. 细胞质的流动,对细胞完成生命活动具有什么意义?

实验四 细胞的活体染色

【实验目的】

1. 观察活细胞内线粒体和液泡系的形态、数量和分布。
2. 掌握细胞活体染色原理、技术及观察方法。

【实验原理】

活体染色是利用某些无毒或毒性很小的染料来显示细胞内某些天然结构,而不影响细胞的生命活动或产生任何物理、化学变化以致引起细胞的死亡。活体染色的机制是染料的堆集,利用染料的“电化学”特性起作用。由于染料(碱性染料)的胶粒表面带有阳离子,酸性染料的胶粒表面带阴离子,而被染部分本身具有阴离子或阳离子,这样,它们彼此之间发生吸引作用,染料就被堆集下来。

活体染料多为碱性染料,如中性红、詹纳斯绿 B、次甲基蓝、甲苯胺蓝、亮焦油紫等,它们解离后带正电,其中有的染料与胞内某些结构产生专一性接合。例如,中性红染液泡系,詹纳斯绿 B 染线粒体。中性红为弱碱性染料,对液泡系(高尔基体)的染色有专一性,只将活细胞中的液泡系染成红色,细胞核与细胞质完全不着色。

【实验材料和用品】

1. 实验材料

人口腔上皮细胞,青蛙胸骨剑突软骨细胞,黄豆根尖细胞。

2. 实验用品

试剂: Ringer 溶液、1%中性红溶液和 1/3 000 中性红溶液、1/5 000 詹纳斯绿 B 溶液。

(1) Ringer 溶液

氯化钠	0.85 g
氯化钾	0.25 g
氯化钙	0.03 g
蒸馏水	100 ml

(2) 1%中性红溶液和 1/3 000 中性红溶液 称取 0.5 g 中性红于 50 ml Ringer 溶液中,稍加热(30~40℃)使其很快溶解,用滤纸过滤,装入棕色瓶(1%溶液)于暗处保存,否则易氧化沉淀,失去染色能力。临用前,取已配制的 1%中性红溶液 1 ml,加入 29 ml Ringer 溶液混匀,装入棕色瓶备用,即为 1/3 000 溶液。

(3) 1/5 000 詹纳斯绿 B 溶液 称取 50 mg 詹纳斯绿 B 溶于 5 ml Ringer 溶液中,稍加微热(30~40℃),使之溶解,用滤纸过滤后,即为 1%原液 1 ml,加入 49 ml Ringer 溶液,即生成 1/5 000 工作液,装入瓶中备用。最好现用现配,以保持它的充分氧化能力。

器具:显微镜、恒温水浴锅、解剖盘、剪刀、镊子、双面刀片;载玻片、盖玻片、吸管、牙签、吸水纸。

【实验方法与步骤】

一、人口腔黏膜上皮细胞线粒体活体染色观察

(1) 滴 2 滴詹纳斯绿 B 溶液于清洁的载玻片上。

(2) 实验者用牙签宽头在自己口腔黏膜处稍用力刮取上皮细胞,将刮下的黏液状物放入载玻片的染液滴中,载玻片放在 37℃恒温水浴锅的金属板上染色 10~15 min(注意不可使染液干燥,必要时可再加滴染液),盖上盖玻片,用吸水纸吸去四周溢出的染液,置显微镜下观察。

(3) 在低倍镜下,选择平展的口腔上皮细胞,换高倍镜或油镜进行观察。可见扁平状上皮细胞的核周围胞质中,分布着一些被染成蓝绿色的颗粒状或短棒状的结构,即是线粒体(图 1-5)。

二、液泡系活体观察

1. 青蛙胸骨剑突软骨细胞液泡系

软骨细胞能分泌软骨黏蛋白质和胶原纤维等,具有发达的粗面内质网和高尔基体,用中性红染色后,能明显地显示出液泡系。

(1) 将青蛙处死,剪取胸骨剑突最薄的部分一小块,放到载玻片上,滴 1/3 000 中性红染液染色 5~10 min。

(2) 用吸管吸去染液,滴加 Ringer 液,盖上盖玻片进行观察。

(3) 高倍镜下可见软骨细胞为椭圆形,细胞核及核仁清楚易见,在细胞核的上方胞质中,有许多被染成玫瑰红色大小不一的泡状体,这一特定区域叫“高尔基区”,即液泡系。

2. 黄豆根尖细胞液泡系

(1) 实验前,在培养皿内置放 1 张潮湿滤纸,让黄豆在上面发芽,培养根长到 1 cm 以上。

(2) 用双面刀片小心切根尖一纵切面(1~2 cm),放入载玻片上的 1/3 000 中性红染液滴中,染色 5~10 min。

(3) 吸去染液,加 1 滴 Ringer 溶液,盖上盖玻片,并用镊子轻轻地下压盖玻片,使根尖压扁,利于观察。

(4) 在高倍镜下,先观察根尖生长点细胞,可见细胞质中有很多大小不等的染成玫瑰红色的圆形小泡,这是初生的幼小液泡。然后由生长点向延长区观察,在一些已分化长大的细胞内,液泡的染色较浅,体积增大,数目变少(图 1-6)。成熟区细胞中,一般只有 1 个淡红色的巨大液泡,占据细胞的绝大部分,将细胞核挤到细胞一侧贴近细胞壁。

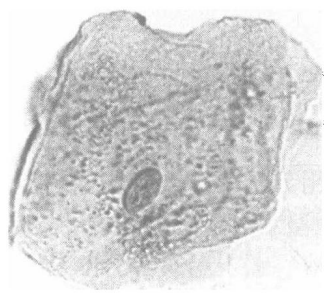


图 1-5 口腔上皮细胞的线粒体分布



图 1-6 植物根尖液泡的中性红染色

【实验报告】

1. 绘制口腔上皮细胞示线粒体形态与分布。
2. 绘制青蛙胸骨剑突软骨细胞核黄豆根尖细胞液泡系形态图。