

中学生生物学奥林匹克
竞赛教学用书系列



Olympics

江苏省中学生生物学奥林匹克竞赛委员会监制

中学生 生物学奥林匹克竞赛 实验教材

主 编◎杨永华
执行主编◎庞延军 杨荣武



南京大学出版社

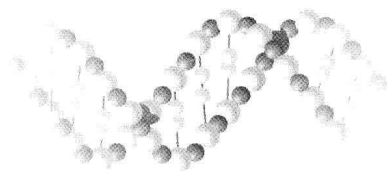
中学生生物学奥林匹克
竞赛教学用书系列



江苏省中学生生物学奥林匹克竞赛委员会监制

中学生 生物学奥林匹克竞赛 实验教材

主 编◎杨永华
执行主编◎庞延军 杨荣武



南京大学出版社

图书在版编目(CIP)数据

中学生生物学奥林匹克竞赛实验教材 / 杨永华主编

南京: 南京大学出版社, 2011.5

中学生生物学奥林匹克竞赛教学用书系列

ISBN 978-7-305-08284-9

I. ①中… II. ①杨… III. ①生物课—实验—中学—
教材 IV. ①G634.911

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2011)第 054848 号

出版发行 南京大学出版社
社 址 南京市汉口路 22 号 邮 编 210093
网 址 <http://www.NjupCo.com>
出 版 人 左 健
丛 书 名 中学生生物学奥林匹克竞赛教学用书系列
书 名 中学生生物学奥林匹克竞赛实验教材
主 编 杨永华
责任编辑 倪 琦 编辑热线 025-83592401
照 排 南京南琳图文制作有限公司
印 刷 江苏凤凰印务有限公司
开 本 787×1092 1/16 印张 10.25 字数 190 千
版 次 2011 年 5 月第 1 版 2011 年 5 月第 1 次印刷
ISBN 978-7-305-08284-9
定 价 25.00 元
发行热线 025-83594756
电子邮箱 Press@NjupCo.com
Sales@NjupCo.com(市场部)

* 版权所有,侵权必究

* 凡购买南大版图书,如有印装质量问题,请与所购
图书销售部门联系调换

中学生生物学奥林匹克竞赛实验教材

编写人员

主 编：杨永华

执行主编：庞延军、杨荣武

编 委：姜建明、喻富根、戚金亮、
 张远莉、李 俊、仲昭朝、
 庄 重

序 言

中学生生物学奥林匹克竞赛作为中学生学科奥林匹克竞赛(包含数学、物理、化学、信息学、生物学)的五个重要组成部分之一,旨在激发青少年对生物学的兴趣,发现和鼓励世界上在生物学方面具有天分的青少年,以满怀献身科学的激情,积极投身于现代生物学的研究与实践活动中。该项中学生学科竞赛活动肇始于20世纪50年代的东欧,原为东欧一些国家的国内学科竞赛。20世纪80年代末,由前苏联、波兰、捷克等国发起成立国际性组织——国际生物学奥林匹克竞赛委员会,并于1990年组织了第一届国际生物学奥林匹克竞赛(IBO),以后每年举办一届,目前世界上有近百个国家和地区组队参加这一赛事。

在我国,中国植物学会、中国动物学会共同组成了全国中学生生物学竞赛委员会,自1992年以来,已连续组织了多次全国中学生生物学竞赛(全国生物学奥林匹克竞赛,NBO)。2000年开始,每年5月组织全国中学生生物学联赛,其目的是加强我国中学生生物学教学,提高生物学教学水平,促进中学生生物学课外活动,向青少年普及生物学知识,促进中学生创造性、科学思维和分析问题的能力培养,提高青少年的生命科学素质,同时,也为参加国际生物学奥赛遴选参赛人才做准备。

我们知道,当今世界生命科学的发展日新月异,本世纪被称为生命科学的世纪,生命科学与技术的发展正在深刻地改变着我们的生产方式、生活方式和思维方式。近年来,我省中学生生物学奥林匹克委员会在江苏省科学技术协会、江苏省教育厅的领导和支持下,在江苏省青少年科技中心的指导下,依托南京大学生命科学学院及其国家级生命科学实验教学示范中心和省市相关生物学协会,强化组织管理,规范竞赛机制,积极创新科普教学实践,我省生物学奥林匹克竞赛成绩得到显著提升,在NBO中的作用和地位日益提高。自2004年以



来,总共已获得国际奥赛金牌 2 个,全国金牌 7 个、银牌 11 个。2009—2010 年已连续两年在全国竞赛中每年获得 2 金 2 银的成绩,名列全国前三甲。

中学生学科奥林匹克竞赛旨在培养中学生的学科兴趣,拓宽其知识面,提高科学素质,是让学有余力、兴趣浓厚的学生开展科学探索和学习的重要课余活动。根据多年的教学实践与经验积累,成功参赛的关键是梳理好各层次知识,辅以一定的系统学习和培训。我很高兴本丛书作为竞赛系列教材的出版,顺应了当今生命科学从微观到宏观,从结构到功能,交叉与整合的发展趋势,是以杨永华教授为团队带头人的各位作者们多年来从事该项活动的心得并加以不断总结的产物,也是他们所倡导的“系统性整合生命科学教学与实验体系”在中学生物学教学和中学生物奥赛培训等方面的具体实践结果。

本丛书从生物科学知识结构和实验技能的整体性出发,根据上述教学与实验体系,系统编排了竞赛理论与实验多个相关内容,以“基础性—综合性—研究性”层次来展开各种训练,既注意到知识覆盖面,又强调了重点、难点;既注意到基本概念的阐述,又强调了训练掌握。在阅读中理解基本概念,并在理解中应用基本概念,达到增强能力、举一反三的效果。

我相信本丛书的出版将十分有助于提升我国中学生的科学意识、学习兴趣和创新能力,对中学生未来的成长和国家培养创新型人才具有积极的意义。我十分期待全国的中学生们努力开拓视野、相互学习、共同进步,使自己的生命科学知识和生物学科竞赛水平达到一个新的高度。

中国工程院院士
江苏省科学技术协会主席
中国生物工程学会理事长
2011 年 3 月 24 日

目 录

第一章 显微技术方法	1
实验目标	1
背景知识	1
一、玻片标本的制作技术	1
二、显微镜的使用	4
三、双筒解剖镜的使用	8
四、单细胞的计数方法	9
五、显微测微尺的使用方法	12
六、简单的显微化学鉴定	13
七、显微结构图的绘制技巧	14
要点剖析	14
训练掌握	15
一、死细胞及活细胞的鉴定	15
二、细胞的凝集反应实验	20
三、细胞膜的渗透性实验	23
第二章 植物学实验方法	28
实验目标	28
背景知识	30
一、种子植物组织的多样性	30
二、根的多样性	39
三、茎的多样性	53
四、叶的多样性	63
五、花与果实的多样性	71
要点剖析	72
一、徒手切片	72
二、花公式和花图式	74
三、植物各种器官解剖与观察方法	75
四、花的解剖	75
训练掌握	78



一、纤维素的观察·····	78
二、石细胞及纹孔的观察·····	78
三、淀粉粒·····	79
四、糊粉粒·····	79
五、厚角组织·····	80
六、南瓜茎横切片——双韧维管束·····	80
七、区分厚壁组织和厚角组织·····	82
八、石细胞比较观察·····	83
九、小麦叶表皮·····	83
十、周皮的观察·····	84
十一、单子叶植物根的初生结构·····	84
十二、双子叶植物根的初、次生结构·····	86
十三、蚕豆侧根的发生·····	88
十四、双子叶植物茎的初、次生结构·····	88
十五、木质茎的横切结构·····	90
十六、裸子植物茎的结构·····	90
十七、根茎过渡区的结构·····	91
十八、花的形态,花序,果实的类型·····	92
第三章 动物学实验方法 ·····	96
实验目标·····	96
背景知识·····	96
一、触角的结构和类型·····	96
二、昆虫口器的类型·····	98
三、昆虫翅的类型·····	100
四、胸足的各种类型·····	102
五、昆虫变态的类型·····	103
要点剖析·····	104
一、观察无脊椎动物形态结构的基本方法·····	104
二、无脊椎动物解剖的注意事项·····	104
训练掌握·····	105
一、小型无脊椎动物的解剖技术·····	105
二、实验要点·····	106
三、昆虫纲常见的分类鉴定方法·····	110



第四章 生态学实验方法	111
实验目标	111
背景知识	111
要点剖析	111
一、种群密度测定的技术	111
二、测量水污染的方法	113
三、空气中尘埃污染的测定方法	114
四、生态考察技术	114
训练掌握	115
浮游藻类的调查	115
第五章 遗传学实验方法	118
实验目标	118
背景知识	118
一、孟德尔性状的遗传分析技术	118
二、符合度的测定方法	120
要点剖析	120
训练掌握	121
减数分裂实验	121
第六章 微生物学实验方法	125
实验目标	125
背景知识	125
一、培养基的制作技术	125
二、分离细菌技术	126
三、染色技术	128
要点剖析	128
训练掌握	129
土壤中好氧性细菌的分离与计数	129
第七章 生理生化实验方法	133
实验目标	133
背景知识	133
一、分离技术	133
二、测定技术	136



三、光合作用强度的测定方法	138
四、蒸腾作用的测定方法——氯化钴检验法	139
要点剖析	140
训练掌握	140
一、唾液淀粉酶的性质	140
二、叶绿体色素的提取和分离(纸层析法)	141
三、植物光合速率的测定	143
第八章 测试题选编	146
测试题一	146
测试题二	146
测试题三	147
测试题四	147
测试题五	148
测试题六	149
测试题七	149
测试题八	150
测试题九	150
参考资料	152
后 记	153

第一章 显微技术方法

实验目标

1. 学会使用常用的实验工具,如放大镜、小型解剖器具、显微镜、实体镜等;学会配制和使用常用药品、溶液、试剂、培养液等,对生物体进行解剖、观察和实验。
2. 学会制作生物细胞结构、细胞分裂的玻片,并能有序地观察和科学地绘图。
3. 学会通过制作、观察玻片,识别生物体各种组织,能绘图并显示其结构特点,正确注明各部分的结构名称。

背景知识

一、玻片标本的制作技术

制作玻片标本对认识生物体的形态结构具有重要意义。玻片标本分为临时玻片标本(如涂片、压片、临时装片)和永久玻片标本(如永久装片、切片)。

(一) 涂片法

涂片法是将材料均匀地涂布在载玻片上的一种制片方法。涂片材料有单细胞生物、小型藻类、血液、细菌培养液、动植物的疏松组织、精巢、花药等。

涂片时应注意以下几点。

- (1) 载玻片必须清洁。
- (2) 载玻片要持平。
- (3) 涂层要均匀。涂抹液应滴在载玻片中间偏右位置,用解剖刀刀刃或牙签等涂匀。
- (4) 涂层要薄。用另一载玻片作推片,沿滴有涂抹液的载玻片(两载玻片的夹角应为 $30^{\circ}\sim 45^{\circ}$)由右向左轻轻推动,涂成均匀的薄层。
- (5) 固定。如需固定可用化学固定剂或干燥法(细菌)固定。

(6) 染色。细菌用亚甲基蓝染色,血液用瑞氏染液染色。染色时应注意染色液要盖住全部涂面。

(7) 冲洗。冲洗后要用吸水纸吸干或烤干。

(8) 封片。如需长期保存,应使用加拿大的树胶封片。

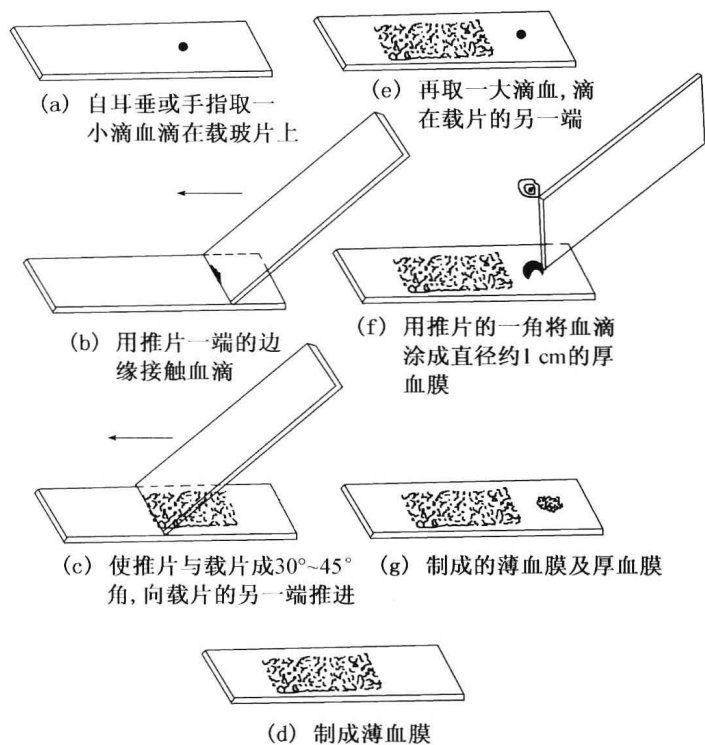


图 1-1 血液涂片法

(二) 压片法

压片法是将生物材料置于载玻片和盖片之间,施加一定压力,将组织细胞压散的制片方法。

压片法的一般过程为:将材料放在载玻片上,加一滴清水或染液,盖上盖玻片后用拇指用力按压玻片。

(三) 装片法

装片法是将生物材料整体封固制成玻片标本的方法,用此法可将生物材料制成临时装片或永久装片。

装片材料有:微小生物如衣藻、水绵、变形虫、水螅,植物的叶表皮,昆虫的翅、足、口器,人的口腔上皮细胞等。

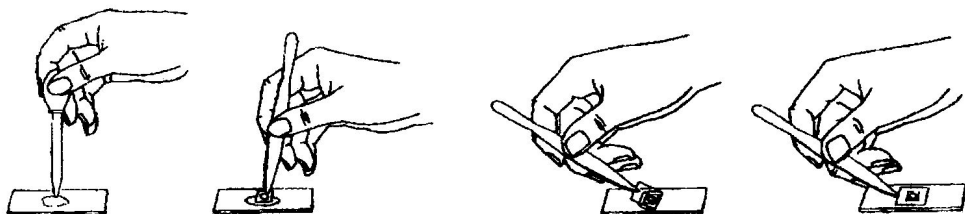


图 1-2 装片法

用装片法制作玻片标本时应注意以下几点。

(1) 手持载玻片时,应注意持平,或放在平台上。滴水时水量要适当,应恰好被盖玻片盖满。

(2) 应将材料用解剖针或镊子展开,材料不能重叠,应展平在同一平面上。

(3) 放盖玻片时,应将盖玻片从一侧慢慢盖在水滴上,防止出现气泡。

(4) 染色时,将一滴染色液滴在盖玻片的一侧,用吸水纸从另一侧吸引,使盖玻片下的标本均匀着色。着色后,用同样的方法,滴一滴清水,把染色液吸出,将玻片标本放在显微镜下观察。

(四) 整体装片的制备

整体装片的制作可以用于封固小形动植物的整个身体或个别组织和器官,制成永久装片后能长期保存。现以水螅整体装片为例说明制作技术,其步骤如下。

1. 配制固定液

固定液选用波因(Bouin)氏固定液,配制时向 75 mL 苦味酸饱和水溶液中加入 25 mL 甲醛,使用时再加入 5 mL 冰乙酸。

2. 固定与去色

固定水螅时,先在表面皿里放入少量水,用吸管把水螅从培养缸中吸出,放在表面皿内。当水螅的身体和触手慢慢伸展后,用加热后的波因氏液($30^{\circ}\text{C} \sim 40^{\circ}\text{C}$)固定。固定液要多些,倾倒时要迅速,倒在水螅身上,使水螅不收缩。将水螅在固定液中固定 4~8 h,然后浸入 70%乙醇中,每天更换一次乙醇,直至洗去标本上固定时染上的苦味酸的黄色为止。

3. 染色与褪色

将标本浸入硼砂洋红染液中,染色 24 h,再用 1% 盐酸乙醇褪色,时间为 0.5~1 min,褪色至能看清楚内部器官为止。

4. 脱水和透明

依次将标本浸入 70%, 80%, 95% 乙醇及无水乙醇中脱水,用二甲苯透明。

5. 封片

用树胶封片。

(五) 组织离析法制片

离析法的原理是将一些化学药品配成离析液,使细胞的胞间层溶解,因而细胞彼此分离,获得分散的、单个的完整细胞,以便观察不同组织的细胞形态和特征。

离析液的种类很多,最常用的是铬酸-硝酸离析液,它是将 10% 铬酸和 10% 硝酸等量混合而成,适用于离析木质化的组织,如导管、管胞、纤维、石细胞等。

离析法制片的具体步骤如下。

1. 离析

将植物材料(如木材、枝条、果壳等)先切成小块或小条(火柴棍粗细,长约 1 cm),放入平底试管中,加入离析液,离析液的量约为材料的 10 倍,盖紧瓶塞,放在 40℃ 左右的保温箱中 1~2 天。具体浸渍的时间可因材料的大小而不同,如果两天后仍未分离,则可换新的离析液继续浸渍。草本植物可不必加温。

2. 检查材料是否离析完全

材料离析完全的状态以细胞间的胞间层溶解、细胞彼此能够分开为宜。检查时,可取出材料少许,放在载玻片上的水滴中,加盖玻片,用滴管的橡皮头轻轻敲压,若材料分离,表明浸渍时间已够。

3. 洗酸保存

倒去离析液,用清水浸洗已离析好的材料。将平底试管静置,待材料下沉后,再倒去上面的清液,如此反复多次,至没有任何黄色为止(如有离心机,可将材料转入离心管,用离心机洗酸更为迅速),然后转移到 70% 酒精中保存备用。

需要时,可将材料按临时装片法制片观察,或制成永久性的玻片标本。

二、显微镜的使用

(一) 低倍镜(4X、10X)的使用方法

显微镜的操作主要包括以下两个方面。

1. 光度调节

正确对光是能否成功地观察到物像的首要条件。对光时,先把聚光器上提,打开可变光阑,转动反光镜。这时一边看镜内视野,一边调节聚光器螺旋,直至视野内得到均匀而明亮的光线。



2. 焦距的调节

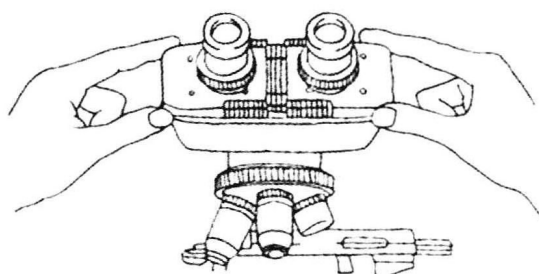
调焦时,先把观察的切片用推进器对准通光孔中央,再分两步调焦。先用粗准焦螺旋定焦,用左眼看目镜,使粗准焦螺旋慢慢上升,直到能清楚地看到标本为止,然后调节细准焦螺旋,使镜筒微微升降,使物像更清晰。



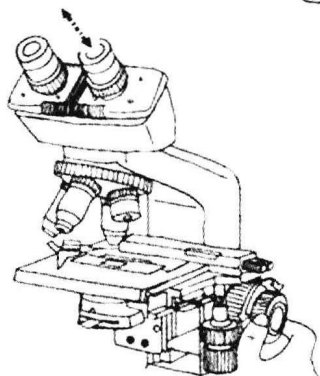
图 1-3 双目显微镜



图 1-4 单目显微镜



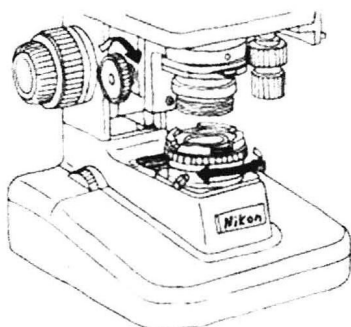
(a) 调节目镜距



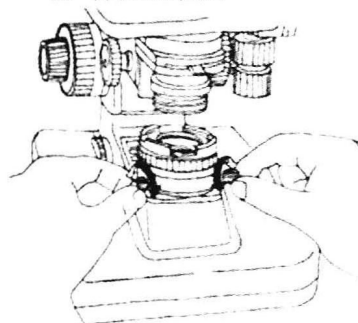
(b) 调节右眼焦距



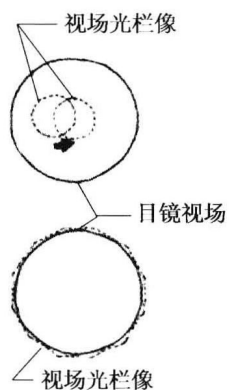
(c) 调节左眼焦距



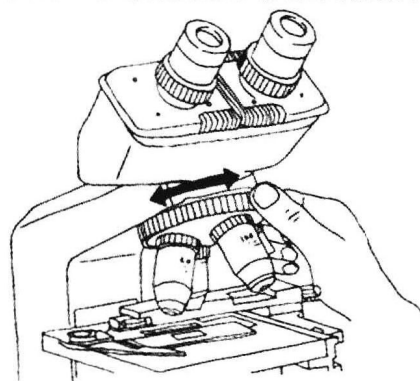
(d) 调节视场光阑



(e) 调节调中心螺钉, 将视场光阑像调到与视场同心



(f) 视场光阑像与目镜视场



(g) 转换物镜

图 1-5 低倍镜的使用方法



(二) 高倍镜(40X)的使用方法

高倍镜的使用步骤如下。

- (1) 将在低倍镜中找到的物像欲放大部分移到视野中央。
- (2) 转动物镜转换器,使 40X 物镜对准通光孔,转动时从侧面注视物镜,以防镜头紧压玻片。
- (3) 调节细准焦螺旋,使物像清晰。

(三) 油镜(100X)的使用方法

1. 油镜的使用步骤

油镜的使用步骤如下。

- (1) 先用低倍镜找到欲观察的细微结构,将其结构移至视野中央换高倍镜。
- (2) 下降镜台,在玻片标本上滴一滴香柏油,转换油镜。从侧面注视油镜,将镜台上升,使油镜头浸在香柏油滴中。
- (3) 转动细调螺旋,使物像清晰,进行观察。
- (4) 观察完毕,用镜头纸擦去油镜头和玻片上的香柏油,再用少许二甲苯或乙醚-无水乙醇把镜头擦干净。

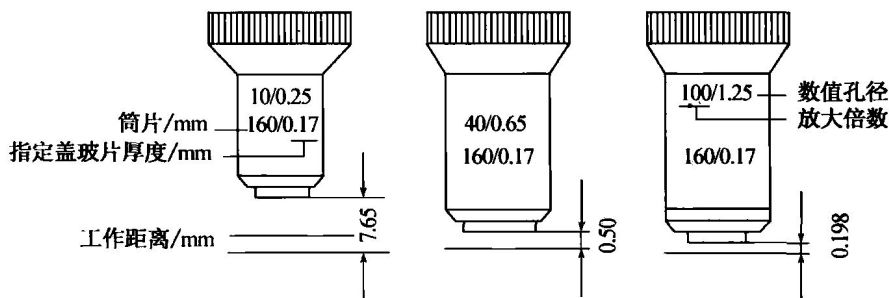


图 1-6 一般镜头和油镜镜头

2. 显微镜油浸物镜的原理

$$\text{显微镜的最小可分辨距离} = \frac{0.5\lambda}{n \sin q}$$

式中: λ ——所用光源波长;

q ——物镜镜口角的半数,取决于物镜的直径和工作距离;

n ——玻片与物镜间介质的折射率,空气($n=1.0$),水($n=1.33$),香柏油($n=1.52$),玻璃($n=1.54$)。

使用油镜时在物镜与盖玻片之间滴加了香柏油,由于香柏油的折射率为