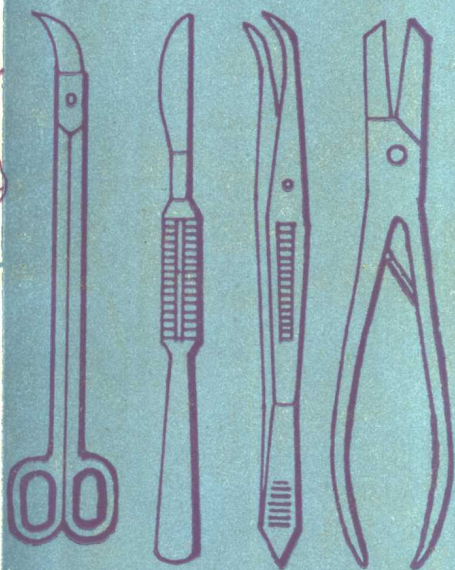


生物实验操作技术

麦鹤云 邱才训 编著



广东科技出版社

生物实验操作技术

麦鹤云 邱才训 编著

广东科技出版社

粤新登字04号

生物实验操作技术

SHENGWU SHIYAN CAOZUO JISHU

编著译者: 麦鹤云 邱才训

出版发行: 广东科技出版社 (广州市环市东路水荫路11号)

经 销: 广东省新华书店

印 刷: 肇庆新华印刷厂

规 格: 787×1092 1/32 9.375印张 字数 200 000

版 次: 1991年11月第1版 1991年11月第1次印刷

印 数: 1—1,100册

ISBN 7-5359-0798-9/Q·5

定 价: 4.00元

目 录

第一章 绪言	(1)
第二章 动物标本的制作方法	(4)
一、动物整体浸制标本的制作方法	(4)
(一) 原生动物	(4)
(二) 腔肠动物	(6)
(三) 扁形动物	(6)
(四) 线形动物	(7)
(五) 环节动物	(8)
(六) 软体动物	(9)
(七) 节肢动物	(10)
二、海滨动物标本的制作方法	(11)
(一) 常用麻醉药	(11)
(二) 各类动物标本的制作方法	(13)
三、动物解剖浸制标本的制作方法	(17)
(一) 解剖浸制标本的原色保持	(18)
(二) 解剖浸制标本的着色处理	(19)
(三) 动物内脏解剖浸制标本的制作方法	(20)
(四) 动物系统解剖浸制标本的制作方法	(22)
四、动物剥制标本的制作方法	(24)
(一) 鱼	(24)
(二) 鸟兽类动物	(25)
五、动物透明标本的制作方法	(30)
(一) 骨骼系统	(31)

(二) 血管系统·····	(34)
六、脊椎动物骨骼标本的制作方法·····	(36)
七、昆虫标本的采集和制作方法·····	(39)
(一) 常用的昆虫采集工具·····	(39)
(二) 针插昆虫标本的制作和保存方法·····	(43)
(三) 盒装昆虫生活史标本的制作和保存方 法·····	(47)
第三章 植物标本的制作方法 ·····	(51)
一、藻类植物·····	(51)
二、菌类植物·····	(52)
三、苔藓植物和蕨类植物·····	(52)
四、种子植物·····	(53)
(一) 采集植物标本的用具·····	(53)
(二) 采集植物标本的方法·····	(56)
(三) 压制标本的制作方法·····	(57)
(四) 叶脉标本的制作方法·····	(60)
(五) 透明标本的制作方法·····	(61)
(六) 植物标本的原色保存·····	(63)
第四章 显微制片 ·····	(67)
一、基本设备·····	(67)
(一) 常用仪器·····	(67)
(二) 常用玻璃器皿及其清洗方法·····	(73)
(三) 常用药品·····	(75)
(四) 各级浓度酒精的配制方法·····	(76)
二、一般制片方法概述·····	(77)
(一) 切片法的一般程序·····	(78)

(二) 非切片法的一般程序·····	(78)
三、固定液的种类和性能·····	(79)
(一) 单一固定液·····	(79)
(二) 混合固定液·····	(85)
四、冲洗、脱水与脱水剂·····	(97)
(一) 冲洗·····	(97)
(二) 脱水与脱水剂·····	(101)
五、透明与透明剂·····	(104)
(一) 透明的目的·····	(104)
(二) 常用透明剂·····	(105)
六、透入与包埋·····	(107)
(一) 透入与包埋的目的·····	(107)
(二) 透入包埋剂的种类·····	(108)
(三) 几种切片法的优缺点·····	(120)
七、组织切片的染色与染色剂·····	(121)
(一) 染色的目的·····	(121)
(二) 染色的原理·····	(122)
(三) 酸性染料和碱性染料·····	(123)
(四) 常用染料及其特性·····	(123)
(五) 媒染剂、助染剂和分色剂·····	(148)
(六) 活体染色·····	(148)
(七) 荧光染色·····	(152)
(八) 几种常用的切片染色和整体染色方法·····	(152)
八、超声波和塑料在显微切片中的应用·····	(168)
(一) 超声波在显微切片中的应用·····	(168)
(二) 塑料包埋切片技术·····	(171)
九、制片中常用的粘贴剂、软化剂及封藏剂·····	(175)

(一) 粘贴剂的配制·····	(175)
(二) 软化剂的使用·····	(176)
(三) 封藏剂的配制·····	(178)
第五章 组织培养·····	(181)
一、组织培养及其应用·····	(181)
二、动物组织和细胞的培养·····	(182)
(一) 培养基的种类·····	(182)
(二) 培养方法·····	(183)
三、植物组织和细胞的培养·····	(184)
(一) 常用的培养基·····	(185)
(二) 单个细胞的培养·····	(185)
(三) 原生质体的分离、培养和细胞融合·····	(186)
(四) 脱分化和再分化·····	(190)
第六章 显微量尺、描绘器及显微照相术·····	(196)
一、显微量尺的种类和测量方法·····	(196)
(一) 显微量尺的种类·····	(196)
(二) 显微量尺的测量方法·····	(199)
二、描绘器的种类及其使用·····	(201)
(一) 阿贝氏(Abbe's)描绘器的使用·····	(201)
(二) 放映描绘器的使用·····	(203)
三、显微照相术·····	(204)
(一) 显微照相装置·····	(204)
(二) 显微照相程序·····	(206)
第七章 生物光学显微镜的保养、维修及镜检 技术·····	(216)

一、常用的工具和材料·····	(216)
二、镜头的保养和擦拭·····	(217)
(一) 镜头发霉的原因及防霉措施·····	(217)
(二) 镜头发霉的检查和除霉办法·····	(218)
(三) 镜头的擦拭方法·····	(220)
(四) 镜头的拆装·····	(220)
三、机械部分的常见故障和维修·····	(225)
(一) 粗调节器的常见故障和维修·····	(225)
(二) 微调节器的常见故障和维修·····	(226)
(三) 镜头转换器的常见故障和维修·····	(227)
(四) 其他部分的常见故障和维修·····	(228)
四、各种显微镜的镜检技术·····	(229)
(一) 暗视野显微镜的镜检技术·····	(229)
(二) 荧光显微镜的镜检技术·····	(230)
(三) 相差显微镜的镜检技术·····	(232)
(四) 电子显微镜的镜检技术·····	(233)
(五) 偏光显微镜的镜检技术·····	(233)
(六) 放射自显影术·····	(236)
(七) 显微操作技术·····	(237)
(八) X射线衍射技术·····	(238)
第八章 生物教学挂图、模型及幻灯片的制作·····	(239)
一、生物教学挂图的制作·····	(239)
二、生物教学模型的制作·····	(241)
(一) 模本的制作·····	(241)
(二) 模子的制作·····	(242)
(三) 模型的制作·····	(244)

(四) 模型制作举例·····	(247)
三、生物教学幻灯片的制作·····	(251)
(一) 一般黑白幻灯片的制作·····	(251)
(二) 蓝底幻灯片的制作·····	(252)
第九章 显微制片操作实验举例·····	(255)
一、植物显微制片实验·····	(255)
(一) 整体制片法·····	(255)
(二) 花粉母细胞涂片法·····	(257)
(三) 测定花粉生活力的方法·····	(258)
(四) 徒手切片法·····	(261)
(五) 滑走切片机切片法及蒸汽切片法·····	(263)
(六) 细胞质连丝滑走切片法·····	(265)
(七) 石蜡切片法·····	(266)
(八) 炭蜡切片法·····	(268)
(九) 解离法·····	(270)
二、动物显微制片实验·····	(271)
(一) 原生动物整体制片·····	(271)
(二) 孵化鸡胚的整体制片·····	(273)
(三) 血液涂片·····	(275)
(四) 双翅目幼虫唾腺染色体的压片法·····	(277)
(五) 水螅整体装片及石蜡切片法·····	(278)
(六) 胃制片法——马洛黎氏三色染色法·····	(280)
(七) 冰冻切片法·····	(281)
(八) 火棉胶切片法·····	(283)
(九) 磨片法·····	(285)
参考文献·····	(288)

第一章 绪 言

生物实验操作技术包括标本制作和仪器操作等技术，是生物技术学的组成部分，也是生物技术学的基础。

生物技术学又称生物工艺学，是一门既古老而又年轻的学科。从生物科学的萌芽，到分子生物学的发展；从古老的农业，到现代的基因工程，一部浩瀚的生命科学发展史，既记载着生物技术的发展过程，也记载着生物技术在生物科学发展中的作用。达尔文的成就，与他重视对各种生物标本的采集、制作和保存是分不开的；基因工程在农业、工业和医疗领域中的应用已举世瞩目，它也离不开生物技术。随着生物科学研究的迅猛发展，虽然生物技术学又开辟了象基因工程、细胞工程、酶工程和发酵工程这些崭新的技术领域，但生物实验操作技术在生物科学的教学和研究中，仍然是必不可少的，学习和研究这门技术，仍然是学习和研究生物科学的重要组成部分。我们可以从以下几个方面看到生物实验操作技术在生物科学中的地位和作用：

首先，在生物教学中，标本是一种直观的教具，不论是讲授动、植物的形态结构，还是在讲授生物学理论时列举的实例（包括细胞学、遗传学、生态学等的实例），都需要演示各种标本。生物科学的不断发展，并不等于可以摈弃前人的发现和总结，相反，任何一项成就都是在学习前人成就的基础上取得的。因此，在生物教学中把讲授书本知识与演示各种标本结合起来，以资验证前人的发现和总结，化抽象为

具体，更有助于提高教学质量。

生物标本在教学中能起直观作用，在于它能真实地反映动、植物等的形态和结构，有些系列标本甚至能反映生物的某个生理过程或运动原理。而且，生物标本是不动的，对观察十分有利，尤其是可以观察那些细微的结构，对比之下，很多动物由于不停地运动，给观察带来了许多麻烦。因此，利用生物标本进行教学，能使学生迅速地获得准确的概念，并牢牢地记住它。这些在教学法的研究中已有许多经验总结足以证明。

比起活的生物来，生物标本应用于教学的优越性，还在于生物标本不受时间和空间的限制。例如，生活在北方的动、植物，制成标本后可以拿到南方的课堂上讲授和观察，同样，南方的动、植物标本也可以拿到北方去；又如，将变态发育动物胚胎发育的各个阶段制成系列标本，就能让学生一下子了解到它的整个发育过程，大大缩短了观察时间。上述这些在自然状态下都是不易做到的。

其次，在生物学的研究中，标本也是必需的材料。大家知道，生物学研究方法中有所谓“描述法”、“比较法”和“实验法”。描述是对所观察的生物类型或生命现象的记载，有对活体的描述，更多的是对标本的描述，因为对标本的观察容易做到细致入微。例如描述动、植物标本的形态特征，应用于分类学；描述动、植物体的解剖标本，应用于解剖学、组织学、胚胎学等等。又如观察微观的形态特征，必须借助先进的工具（如各类显微镜）和手段，于是玻片标本应运而生。

比较是对生物类型、生命现象或过程进行比较分析，区别它们的异同，从中找出规律。标本也常常用来作为比较的

材料，最著名的例子不过于达尔文进化论的创立。达尔文于1831年12月至1836年10月作了长达五年之久的环球旅行，在世界各地进行了动、植物的考察，发掘古生物，采集各地动、植物区系标本，获得了丰富的材料，也奠定了他的进化论思想。但是，他的名著《物种起源》的问世，还在于他环球旅行之后十多年的继续努力。在这十多年中，达尔文继续收集材料，并做了大量的工作，其中包括对所得材料进行深入的比较分析。可以说，如果达尔文不重视对各种生物标本的采集、制作和保存，不懂得对各种生物标本进行外部形态、地理分布和适应特征的比较分析，就不可能对进化论作出严密的论证。

实验是在一定条件下对生命现象进行观察，其过程是先提出假说，然后设计实验程序，最后验证所得结果是否符合预期的结论。实验法不是超然产生的，它是在描述和比较的基础上发展起来的，因此它往往同描述法和比较法一起综合应用，在这一意义上，标本仍然是许多实验必不可少的材料。

再次，学习生物标本制作技术对于培养学生的志趣和解决问题的能力都有重要的作用。生物学教学的任务一方面是要培养学生对生物科学的爱好，另一方面是要使学生获得对生物类型、生命现象和过程进行描述、比较和分析的技能。学习生物标本制作技术在完成这一任务中所起的作用是显而易见的。例如到野外采集标本，不但可以使学生开阔眼界，更加热爱大自然，而且有助于学生了解生物与环境的关系，并学会标本材料的采集、保存、记载及初步分类等技能。另外，将学习生物标本制作技术作为校外科技活动的主要内容之一，既可以起到活跃第二课堂的作用，从长远观点看，对培养生物学人材，也有积极的作用。

第二章 动物标本的制作方法

一、动物整体浸制标本的制作方法

(一)原生动物 (Protozoa)

原生动物都是单细胞动物，体形一般都很小，适于制作装片，用显微镜观察。

1. 眼虫

眼虫属于鞭毛虫纲，营自由生活，在含有丰富的有机物的静水池塘中较多，在夏季繁殖盛期使水呈绿色，几乎在一年中温暖季节都可采到。

培养：取池塘水一些，用3 000转/分的离心机离心2分钟，去掉上清液，取浓缩液来繁殖。在制备的培养液中滴入几滴浓缩的种原，经过半个月，水液变绿即是眼虫繁殖的结果。

培养液的配制：小麦10克，池塘水2 500毫升，煮烂、过滤，用时略为稀释。如要长期保种，每周必须更换新培养液，再接种一次。

2. 变形虫

变形虫属于伪足纲，生活在含大量有机物的清水池塘

中，附着在泥底或荷叶、水草上或在水面泡沫中。

用采集网把淤泥杂物同水一起采上盛入玻璃缸中，静置一天，取底物上的水滴，用显微镜观察寻找。找到变形虫以后，把它分离出来。变形虫有受震附着特性，就是当它饱食之后，突然受震会附着在其他物体上。取一滴有变形虫的水放在载片上，震动一下，用水洗去其他生物，再把载片放入培养液之中进行培养，或用吸管吸取变形虫，进行纯种培养。

培养液的配制：稻草（1寸长）10克，池塘水1 000毫升，煮沸15分钟，冷却后备用。

接种时，用震动法取出变形虫放入培养液，经过一周可见大量变形虫出现，若长期培养可在一个月后移植到新培养液进行培养。

3. 草履虫

草履虫属于纤毛虫纲，生活在光线充足和腐植质多的池塘中，体长0.15—0.30毫米，肉眼可见。

草履虫有趋向牛肉汁的敏感性，据此先在载片上滴一滴牛肉汁，再在相距2厘米处滴一滴培养液，用解剖针在两滴之间引一水线，草履虫就会逐渐游向肉汁端，取之，放入培养液进行培养。

干稻草浸液培养：先将干稻草剪成1寸长的草段，称10—15克，放在1 000毫升井水中煮沸3—5分钟，冷却后用双层纱布过滤，然后往滤液中加入适量的含有草履虫的池水，放入玻璃培养缸中，在无直射光处培养5—7天，镜检可发现多量草履虫。

(二) 腔肠动物 (Coelenterata)

腔肠动物有海水产的和淡水产的，但以海水产的种类较多，常见的种类有水螅、水母、海蜇等。下面以水螅为例介绍腔肠动物整体浸制标本的制作方法。

水螅生活在静止、干净、无臭的池塘中，营固着生活，附在水草上，张开触手捕食，如遇危险时，则收缩为无色或淡黄胶状小粒。

采集：在有水螅的池水中，连同水草一起采集，放在玻璃缸中，盛入池水。

培养：水螅的培养方法比较简单，如果采集来的池水经过检查证明有水螅的话，那么只要把池水连同水草移到比较大的培养缸内，添加足够的池水培养就可以了。在培养过程中，最重要的工作是给水螅投放食饵。水螅最好的食饵是水蚤，即一般所说的鱼虫。约半个月换池水一次，如条件适宜，水螅繁殖很快，5月或10月便出现有性生殖。

(三) 扁形动物 (Platyhelminthes)

扁形动物常见的种类有涡虫、吸虫和绦虫等。现以吸虫和绦虫为例，介绍扁形动物整体浸制标本的制作方法。

1. 吸虫

无论是长吸虫、肝吸虫、肺吸虫，还是血吸虫，其终宿主不是人就是动物，所以要取得标本，应在寄主动物身上找，有的依赖于屠宰场，有的可以自己屠宰，如华肝蛭在一

些猫、狗的肝中常可找到，特别是在流行区的猫、狗身上，更容易寻找。有些吸虫还可以求助医院协助解决。取到的吸虫，应首先把它放在1%的食盐水中轻轻洗涤，然后用70%的酒精1份、醋酸1份、浓福尔马林1份、蒸馏水2份的混合液杀死及固定，24小时后，移至70%的酒精中保存或转入制片过程。

吸虫一般形体都很小，最适于制作装片，但大的种类，也不妨连同一部分寄主组织制成浸制标本。

2. 绦虫

比较容易取得的绦虫是猪绦虫。猪绦虫的成虫寄生于人体，囊尾蚴寄生于猪身。寻找绦虫的成虫可请医院协助，趁病患者在医院驱虫之机取得材料。

材料取到后，应立即把它放在温和的1%食盐水中洗涤干净，此时要注意防止绦虫体节离断，尤其头节绝对不可损坏。洗涤后放在固定液中杀死及固定（一般用津克尔氏液）。由于绦虫由多节片组成，一般都很长，所以在处理的时候，可先把它缠绕在适当宽的玻璃片上，然后放在津克尔氏液中杀死约15分钟，再取出重新整理姿态，把它上下来回折曲成束，缚在玻璃片上，头节和颈部要明显地摆在旁边，最后部的若干成熟节片，也要明显地摆在与头节相对应的一侧，姿态整理完毕还要放回津克尔氏液中固定2—3天，以后移至80%的酒精中保存。

（四）线形动物（Nemathelminthes）

线形动物包括蛔虫、钩虫、线虫、旋毛虫等许多种类，

其中不少是营寄生生活的，寄生于人体、动物体或植物体中，有一部分则在土中或水中营自由生活。

1. 蛔虫

寄生于人体的蛔虫很容易找到，通过医院可以随时取到蛔虫。取到后，应立即放在清水中洗涤，然后投入70%酒精中杀死、固定，固定需要2—3日，固定后，把蛔虫顺序放在玻璃片上，用白线绑缚数道，最后用80%酒精保存。最好每一玻璃片上缚两条，一雄一雌。

2. 蛲虫

小儿有蛲虫的不少，可从医院获得。蛲虫的体形较小，体壁也薄，找到后不要用镊子夹取，应用火柴杆一类的细杆从粪便上挑取，然后放在温和的0.5%食盐水中轻轻洗涤，再用吸管移到小广口瓶中，用70%酒精10毫升、5%福尔马林5毫升、醋酸5毫升、蒸馏水15毫升的混合液杀死、固定24小时后，移至盛有70%酒精的指形管里，把指形管缚在深蓝色的玻璃片上，最后保存于装有70%酒精的小标本瓶里。如果制作装片，则在固定后转入制片过程。

(五) 环节动物 (Annelida)

环节动物的种类很多，其生活习性、身体构造和体形大小等各异，所以在采集、处理和标本制作方法上也有所区别。现以蚯蚓为例介绍环节动物标本的制法。

蚯蚓喜生于肥沃的潮土中，在有机质含量高的土壤中常常可以找到。材料取到后，先放在装有清水的玻璃容器里（此