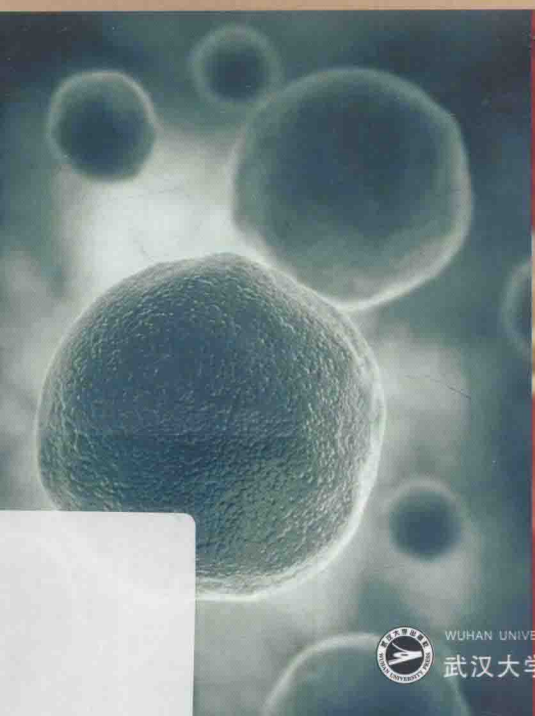
基础生物学实验

谢志雄　黄诗笺　戴余军　鲁旭东　编



WUHAN UNIVERSITY PRESS
武汉大学出版社

基础生物学实验

谢志雄　黄诗笺　戴余军　鲁旭东　编

WUHAN UNIVERSITY PRESS
武汉大学出版社

图书在版编目(CIP)数据

基础生物学实验/谢志雄等编. —武汉:武汉大学出版社,2015.5
ISBN 978-7-307-15597-8

Ⅰ.基… Ⅱ.谢… 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(2015)第 089351 号

责任编辑:黄汉平　　责任校对:汪欣怡　　版式设计:马　佳

出版发行:**武汉大学出版社**　(430072　武昌　珞珈山)
(电子邮件:cbs22@whu.edu.cn 网址:www.wdp.com.cn)
印刷:崇阳县天人印刷有限责任公司
开本:880×1230　1/32　印张:5.125　字数:144 千字　插页:1
版次:2015 年 5 月第 1 版　　2015 年 5 月第 1 次印刷
ISBN 978-7-307-15597-8　　定价:14.00 元

版权所有,不得翻印;凡购买我社的图书,如有缺页、倒页、脱页等质量问题,请与当地图书销售部门联系调换。

内 容 提 要

本书精选了动物学、植物学、微生物学、遗传学、生物化学和分子生物学等领域的28个基础实验，分为9个部分，从宏观到微观，从个体到细胞分子水平，在不同层面以点带面，安排了显微镜观测、常规的生物制片、代表性的生物解剖、定量检测、现代分子生物学方法与技术等实验内容，兼顾传承经典，融合传统与现代的不同教学需求。本书可满足综合性院校公共理科平台生物学实验课程教学需要，也可作为普通高等院校生命科学专业本、专科生及环境科学、医学、药学、农学等相关专业学生基础生物学实验教材。

前　言

20世纪50年代以后，生命科学迅速发展，在与其他学科间的交叉渗透过程中诞生了许多新兴学科和前景无限的生长点，生命科学已成为推动21世纪自然科学和人类社会发展的关键性学科。随着“宽口径、厚基础”已成为新世纪高等教育人才培养的基本目标模式，大类基础教育已是高等学校人才培养的重要趋势，作为提高科学文化素质的基础生物学通识教育也得到迅速发展，许多高校已将基础生物学课程列为全校通识课或全校公共理科平台课程，其中基础生物学实验课也已成为深受大学生青睐的素质教育实验课程。

编者从事基础生物学实验教学已有二十余年的经验，在深入研究基础生物学实验教学的特点和规律的基础上，对基础生物学实验教学体系和内容进行了不断优化整合，本书的编撰是对长期实验教学改革实践的阶段性总结。全书分为9个部分，包括28个实验、4个附录。从宏观到微观，从个体到细胞分子水平，在不同层面以点带面，精选了显微镜观测、常规的生物制片、代表性的生物解剖、生物定量检测、现代分子生物学方法与技术等实验内容，兼顾了传统与现代、经典与创新的不同教学需求，涵盖了动物学、植物学、微生物学、遗传学、生物化学和分子生物学实验涉及的基本实验技能与内容。附录4为每一部分实验单独编制了实验报告，在实验报告没有涉及的实验后设计了思考题，帮助学生学习思考。本书可满足综合性院校公共理科平台生物学实验课程教学需要，也可作为普通高等院校生命科学专业本专科生及环境科学、医学、药学、农学等相关专业学生基础生物学实验教材。

本书的编写与出版得到武汉大学本科生院和武汉大学出版社的

此为试读，需要完整PDF请访问：www.ertongbook.com

大力支持，获武汉大学“十一五”规划教材项目资助，顺利完成前期的编写调研工作。本书编写过程中，除对原有实验讲义和教学内容的凝炼外，也充分借鉴了近年来国内外部分优秀的相关实验教材和论文，向这些编（作）者表示感谢。黄诗笺老师参与本书规划设计和全书的审校工作；部分实验设计与改进得到朱丽华、高卫星老师的大力支持和高经纬、唐纬坤、樊俊鹏、邵明、王环宇等各位助教的协助，文中部分插图由樊俊鹏、姜桢绘制，在此一并表示衷心的感谢。同时，也要感谢湖北工程学院的大力支持，鲁旭东、戴余军等老师参与部分实验内容的编写和审订工作。

生命科学发展日新月异，新技术、新方法不断涌现，由于编制水平有限，难免挂一漏万，书中定有不足之处，敬请读者批评指正，以便不断提升改进。

编　者

2015 年 2 月

目　录

第一部分　生物显微观察与绘图 …… 1
实验 1　显微镜的结构与使用 …… 1
实验 2　显微测微技术 …… 7
实验 3　生物绘图的主要技法、基本技能 …… 10

第二部分　植物学实验 …… 12
实验 4　植物组织制片与植物营养器官观察 …… 12
实验 5　植物繁殖器官观察 …… 20
实验 6　植物标本制作 …… 26

第三部分　动物学实验Ⅰ …… 29
实验 7　动物组织的制片与观察 …… 29
实验 8　原生动物的形态结构与生命活动 …… 39
实验 9　螯虾的形态结构 …… 42
实验 10　昆虫标本制作 …… 47

第四部分　动物学实验Ⅱ …… 51
实验 11　鲤（鲫）鱼的形态结构 …… 51
实验 12　蛙的形态结构 …… 56
实验 13　家鸽的形态结构 …… 64
实验 14　小白鼠和家兔的形态结构 …… 69

第五部分　微生物形态结构观察 …… 79
实验 15　环境微生物检测 …… 79
实验 16　细菌和真菌形态观察 …… 81
实验 17　乳酸发酵实验 …… 84

第六部分　生物多样性观察 …… 87
实验 18　植物多样性观察 …… 87
实验 19　动物多样性观察 …… 90

第七部分　遗传学实验 …… 94
实验 20　核型分析 …… 94
实验 21　微核实验 …… 97

第八部分　生理学实验 …… 101
实验 22　植物光合色素的提取、测定和分离 …… 101
实验 23　植物光合作用强度的测定 …… 104
实验 24　血细胞的数量测定和血型鉴定 …… 107
实验 25　人体动脉血压测定 …… 113

第九部分　生化与分子生物学实验 …… 117
实验 26　果蔬中维生素 C 含量测定 …… 117
实验 27　PCR 检测幽门螺杆菌 …… 120
实验 28　核酸制备、检测及限制性酶切指纹分析 …… 122

附录一　实验须知 …… 129
附录二　试剂配制 …… 131
附录三　722 分光光度计的使用及注意事项 …… 134
附录四　实验报告 …… 136

参考文献 …… 154

第一部分　生物显微观察与绘图

实验 1　显微镜的结构与使用

显微镜的发明与应用，使生命的研究从宏观领域进入到了微观领域，能够对生物体的细微结构进行观察研究，生命科学研究进入细胞、亚细胞水平。目前被广泛使用的普通光学显微镜从当初单筒式、外光源的简单结构形式发展到具有双目镜、内光源，并衍生出许多具有特殊功能的光学显微镜。

相差显微镜：独特之处是在聚光镜下面装有一个环状光阑（加绿色滤光片），其物镜是安有相板的相差物镜（标有“Ph”）。环状光阑形成一个空心的光线锥，造成透过标本的光线分离成直射光和衍射光两组光线，这两组光线分别从相板上的环区和环外区通过，导致它们之间微弱的相位差被放大增强，在上面透镜的收敛作用下，这两组光线发生干涉效应，使得相位差转变成振幅差（即明暗差），反差增强，因而可以利用相差显微镜观察普通显微镜难以观察到的细胞细微结构。

暗视野显微镜：依据丁达尔（Tyndall）光学效应原理，在普通光学显微镜基本结构上换装暗视野聚光镜，使照射被检物体的光线不能直接进入物镜与目镜，而利用被检物体表面的散射光线来观察，其分辨力可达 0.2～0.004μm。黑暗的视野中可见明亮的被检物体明细外貌特征及其运动，但是看不见被检物体内部的细微结构。

偏振光显微镜：利用偏振光来鉴别生物体内某些有序结构的光学性质，同时也可用来鉴别某些组织中的化学成分。在普通光学显

微镜的结构基础上，加上两块能使光线偏振的尼科尔棱镜，装在聚光镜下面的为起偏镜，装在目镜与物镜之间的为检偏镜，这两块棱镜中的一块固定，另一块可以旋转（或者两块均可旋转）。偏振光显微镜可用来鉴别晶体和生物体内某些有序结构的光学性质，同时也可用来鉴别某些组织中的化学成分。

荧光显微镜：利用激发光的照射，使标本内的荧光物质被激发出各种不同颜色的荧光，从而分辨标本内某些物质的性质和位置。主要用于观察材料中具有荧光特性的物质或被荧光染料着色的物质等特殊成分。

倒置显微镜：光路反转，光线由上往下照射被检物体。此种显微镜聚光镜与载物台之间工作距离大，主要用来观察培养的整瓶细胞和进行显微操作，亦可被用作普通光学显微镜使用。

体视显微镜：将通过物镜的光按一定角度分为 2 条光路，分别进入 2 个目镜，成像是正的立体像，一般可连续变倍，工作距离长、视野宽，便于进行解剖观察实验，但放大倍数较普通光学显微镜小。

一、实验目的

（1）学习、了解普通光学显微镜的基本构造，并且能够较熟练地使用。

（2）学习、了解体视显微镜的基本构造，并且能够较熟练地使用。

（3）了解各种生物显微镜的原理与用途。

二、实验材料

轮藻，马铃薯，水绵，草履虫，培养细胞，生物切片标本，昆虫标本。

三、仪器设备

普通光学显微镜，体视显微镜，相差显微镜，暗视野显微镜，偏振光显微镜，荧光显微镜，倒置显微镜，擦镜纸，载玻片，盖玻

片，镊子。

四、药品试剂

10g/L 碘液，蒸馏水，香柏油，擦镜液（乙醚：无水乙醇 = 7 : 3，V : V）。

五、实验操作与观察

（一）显微镜的构造与使用（图 1-1）

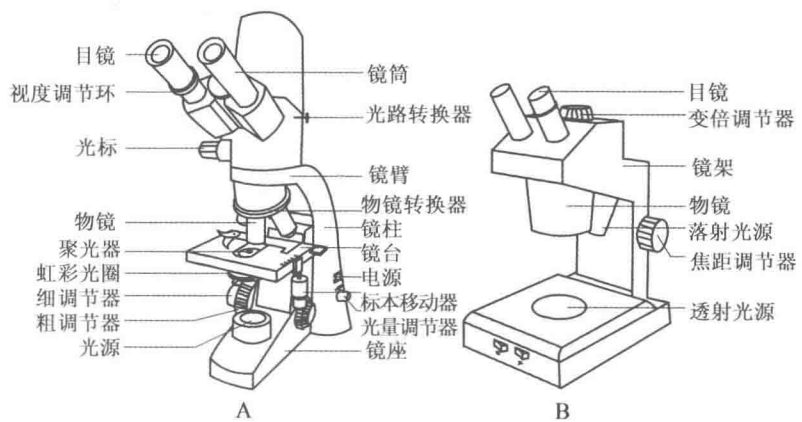


图 1-1　普通光学显微镜（A）和体视显微镜（B）的构造

普通光学显微镜由机械系统、光学系统及光源系统三部分组成。

1. 机械系统

主要对光学系统和光源系统起支持和调节作用。由镜座与镜柱、镜臂与镜筒、镜台与标本移动器、镜头转换器和焦距调节器等部分组成。

（1）镜座与镜柱：镜座是显微镜底部的承重部分，其后方的短柱称为镜柱，支持镜台。

（2）镜臂与镜筒：镜柱以上的一个斜柄为镜臂，移动显微镜

此为试读，需要完整PDF请访问：www.ertongbook.com

时便于手把握。镜臂的顶端安装有镜筒和镜头转换器。镜筒是镜臂前端的两个圆筒，内装目镜镜头。通过调节左右镜筒之间的距离，可以使左右目镜的视野完全重合，以适应观察者两眼的瞳距。

（3）镜台与标本移动器：镜台亦称载物台，是放置玻片标本的平台。其中央的圆孔为镜台孔，来自下方的光线由此通过。镜台上装有标本移动器，标本移动器上的压片夹用以固定载玻片，镜台右下方有标本移动器调节螺旋，转动上下螺旋可前后左右移动玻片标本。

（4）镜头转换器：镜筒下端可旋转的圆盘为镜头转换器，其上一般装有4个不同放大倍数的物镜镜头，转动转换器可换用不同倍数的物镜。

（5）焦距调节器：位于镜柱的左右两侧，有粗、细两个螺旋形调节器，能使镜台升降，以调节物镜和观察标本之间的距离，获得清晰的图像。粗、细调节器组合在一起，外圈螺旋为粗调节器，其升降距离较大，仅用于低倍物镜下寻找观察目标；内圈周径较小的是细调节器，其升降距离较小，用于精确地对准焦点，获得更清晰的物像。

2. 光学系统

即光学成像系统，由目镜和物镜构成。

（1）目镜：是在一个金属圆筒上端装有一块较小的透镜、下端内侧装有一块较大的透镜构成，其作用是将物镜所放大的物像进行再放大。一般有10×、12.5×等放大倍数的目镜。

（2）物镜：由数组透镜组成，透镜的直轻越小，放大的倍数越高；物镜聚集来自光源的光线和利用入射光对被观察的物像做第一次放大；每台显微镜一般配4个倍数不同的物镜，放大40×以下的为低倍镜，一般有4×、10×；放大40×以上的为高倍镜，放大100×的为油镜。

3. 光源系统

由光源、聚光器和虹彩光圈构成。

（1）光源：在镜台孔正下方的镜座上有一个内置式电光源，镜座或镜柱的侧面有电源开关和光量调节器，用以调节光源光线的

强弱。

（2）聚光器：在镜台孔下方，由两三块凸透镜组成。作用是聚集来自下方的光线，使光线增强，通过镜台孔射在标本上，并使整个物镜的视野均匀受光，以提高物镜的分辨力。

（3）虹彩光圈：亦称可变光阑。位于聚光器下面，由许多金属片组成。拨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。

（二）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，轻放桌上距离桌子边缘几厘米处，让目镜对着观察者。

2. 检查

检查各部件是否完好，镜身、镜头必须清洁。

3. 调光

旋转镜头转换器，使低倍镜头对准镜台孔。升高聚光器，打开光圈，再打开电源开关，并调节光量，使视野内的亮度达到明暗适宜。在镜检全过程中，根据所需光线的强弱，可通过扩大或缩小光圈、升降聚光器加以调节。

4. 玻片标本安放

光线调好后，将玻片标本放在镜台上，有盖玻片的一面朝上，被检物体对准圆孔正中，用标本移动器上的压片夹卡紧。

5. 低倍镜观察

以 4×物镜对准光路，从侧面观察，转动粗调节器，将镜台升至最高（物镜与镜台之间应有足够的空间）。然后自目镜观察，慢慢转动粗调节器降低镜台，同时移动标本移动器，直到基本看清标本物像。再轻轻转动细调节器，以便得到清晰的物像。如果观察的目标不在视野中央，可调节标本移动器，使之恰好位于视野中央。若光线不适，可拨动虹彩光圈的操纵杆，调节光线至适宜。

6. 高倍镜观察

在低倍镜下将欲详细观察的目标移至视野中央，再转动镜头转换器，将高倍物镜转至工作位置。适当调节亮度后，只需微微转动

细调节器，就可看到更清晰的物像，此时不能使用粗调节器。由于显微镜下观察的被检物有一定厚度，故在观察过程中必须随时转动细调节器，以了解被检物不同聚焦平面的情况。用高倍镜观察后，若有必要，可再换用油镜观察。

7. 油镜观察

转动镜头转换器，移开高倍物镜。在玻片标本待观察的区域上滴1滴香柏油，将油镜头转至工作位置（从低倍镜侧转，以免高倍物镜沾上香柏油），用细调节器调至物像清晰，此时还应适当增加光的亮度。如果镜头已提出香柏油而尚未见到物像时，应按上述过程重复操作。使用完毕，将镜头从香柏油中脱离，取下玻片，用擦镜纸擦去镜头上的香柏油，再用擦镜纸蘸少许擦镜液擦拭镜头上的油迹，然后用干净擦镜纸擦去镜头上残留擦镜液。

8. 复原

显微镜使用完毕，关闭电源，降下镜台，将物镜镜头转离镜台孔，取下玻片。关闭光圈，降下聚光器至原位。擦净载物台和物镜，以4×物镜对准光路，装镜入箱。

（三）体视显微镜的构造与使用

1. 体视显微镜的构造

体视显微镜结构较普通光学显微镜简单，也可分为机械系统、光学系统及光源系统三部分组成。机械系统由底座、镜柱、镜架、镜台与调焦调节器（连续变倍调节钮和焦距调节钮）等部分组成，没有标本移动器和镜头转换器；光学系统由目镜和物镜构成，物镜只有单一放大倍数。光源系统分为透射光源和投射光源，依据观察需要选用。

2. 体视显微镜的使用

使用相对简单，将待观察物体放在观察台板上，旋转变倍调节器至放大倍数最小（视野最大），调整物体，使其在视野中央；旋转调焦调节器，使观察的物像清晰。如需进一步放大，可以通过变倍调节器增加放大倍数，注意调整观察物体位置，以免离开视野。

（四）特殊显微镜观察（示范）

（1）相差显微镜：观察轮藻胞质环流。

（2）暗视野显微镜：观察草履虫的形态及运动。

（3）偏振光显微镜：观察马铃薯淀粉粒。

（4）荧光显微镜：观察水绵叶绿体。

（5）倒置显微镜：观察培养细胞。

六、实验建议

（1）目前普通光学显微镜都是配置的同焦镜头，使用油镜时不必再降低镜台，高倍物镜下选择好观察视野后，直接滴加香柏油，转换油镜头，稍调节一下细调节器即可。

（2）显微镜的使用是以后相关实验的基础，要求熟练掌握使用方法。可以组织随堂显微镜使用操作考核，及时发现、纠正显微镜使用中出现的问题，帮助同学尽快熟练规范地掌握显微镜使用要领。

实验 2　显微测微技术

细胞直径大多数在 10～100μm 之间，需要借助显微镜测微尺测量其大小，测微尺由镜台测微尺（台尺）和目镜测微尺（目尺）组成。

镜台测微尺是一特制的载玻片，上面贴有一个圆形盖玻片，其中央具有精确刻度的标尺，专门用于校正目镜测微尺每格长度，标尺全长为 1mm，共等分为 10 大格，每一大格又等分为 10 小格，共 100 小格，每一小格长 0.01mm，即 10μm。也有的全长为 2mm，共等分成 200 小格，每小格的长度不变。在标尺的外围有一小黑环，便于找到标尺的位置。校正时将镜台测微尺放置于载物台上，因为其标尺是在载玻片上，所以每格的长度（10μm）就是实际测量的长度。

目镜测微尺是一个可放入目镜内的特制圆形玻片，在中央刻有不同形式的标尺。通常用来测量长度的标尺为直线式，一般长 5mm，等分成 5 大格，每一大格又等分为 10 小格，共计 50 小格。有的标尺同样长度却分为 100 小格。测量时，将它放在目镜中的光阑上。目镜测微尺测量的是显微镜放大后物像的大小。

由于不同显微镜（目镜、物镜）放大倍数不同，故目镜测微尺每格实际代表的长度随显微镜放大倍数的不同而异。因此，在使用前需用镜台测微尺校正，以获得在一定物镜和目镜等光学系统下目镜测微尺每格代表的实际长度。

一、实验目的

学习并掌握测量细胞大小的基本原理与方法。

二、实验材料

人血液涂片。

三、仪器设备

普通光学显微镜，擦镜纸，目镜测微尺，镜台测微尺。

四、实验操作与观察

（一）测微尺的使用

1. 目镜测微尺的校正（图 2-1）

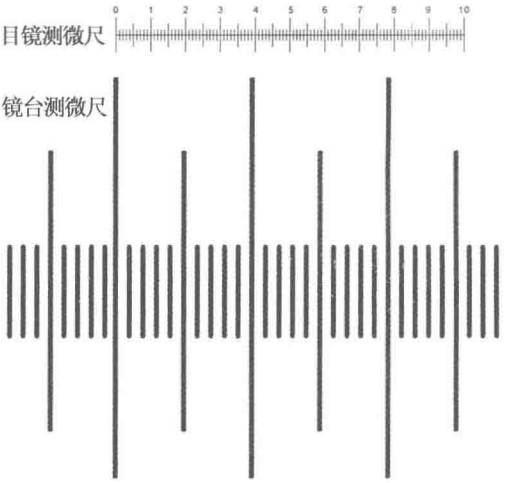


图 2-1　目镜测微尺的校正

（1）首先把目镜上的透镜旋下，将目镜测微尺轻轻地装入目镜的隔板上，有刻度的一面向下，再将目镜的透镜旋上。

（2）将镜台测微尺置于载物台上，有刻度一面朝上并对准光路。先在低倍镜下将镜台测微尺移至视野中央，然后换用测量细胞时所用物镜准焦，观察清楚镜台测微尺上标尺的刻度。

（3）转动目镜，使目镜测微尺的刻度与镜台测微尺的刻度平行，再移动标本移动器，使镜台测微尺左侧其一刻度线与目镜测微尺的零线相重合，然后向右找出第二条重合线，并准确读出和记下两端重合线之间目镜测微尺和镜台测微尺各有多少格。

（4）按下列公式计算出所校正的目镜测微尺每小格所代表的实际长度：

目镜测微尺每小格长度（μm）= 两个重合线间镜台测微尺的格数×10/两个重合线间目镜测微尺的格数。如：若目镜测微尺 20 小格等于镜台测微尺 5 小格，则目镜测微尺上每小格的大小为 5×10/20=2.5（μm）。如果用不同倍数的物镜或目镜，就必须重新校正，方法同前。

2. 细胞大小的测量

目镜测微尺校正好后，移去镜台测微尺，换血液涂片观察。人的红细胞呈圆饼状，用目镜测微尺来测量红细胞直径占有几格，测出格数乘上目镜测微尺每个格的长度即等于该红细胞的直径。

在同一涂片上测定 10 个红细胞或白细胞的直径，求出平均值，即代表人的红细胞或白细胞直径的大小。

五、实验建议

（1）白细胞数量远少于红细胞，而且白细胞种类较多，建议选择数量较多的嗜中性粒细胞或淋巴细胞测量。

（2）如有条件，可以安排学生体验显微镜配备的显微图像采集分析系统的相关测量功能。显微图像采集分析系统可以通过连接到显微镜上的图像采集系统完成图像采集、调整、分析、处理并输出报告，设定好参数和测量范围后，软件可以对采集图像中的目标

此为试读，需要完整PDF请访问：www.ertongbook.com