



全国高等农林院校新体系实验教材

动物生理学 实验教程

王月影 朱河水 主编

DONG WU
SHENG LI XUE SHI YAN JIAO CHENG



中国农业大学出版社

ZHONGGUONONGYEDAXUE CHUBANSHE

全国高等农林院校新体系实验教材

动物生理学实验教程

王月影 朱河水 主编

中国农业大学出版社

·北京·

图书在版编目(CIP)数据

动物生理学实验教程/王月影,朱河水主编. —北京:中国农业大学出版社, 2010.9

ISBN 978-7-5655-0089-3

I. ①动… II. ①王…②朱… III. ①动物学:生理学-实验-高等学校-教材
IV. ①Q4-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2010)第 171063 号

书 名 动物生理学实验教程

作 者 王月影 朱河水 主编

策划编辑 潘晓丽

责任编辑 潘晓丽

封面设计 郑 川

责任校对 王晓凤 陈 莹

出版发行 中国农业大学出版社

社 址 北京市海淀区圆明园西路 2 号

邮政编码 100193

电 话 发行部 010-62731190,2620

读者服务部 010-62732336

编辑部 010-62732617,2618

出 版 部 010-62733440

网 址 <http://www.cau.edu.cn/caup>

e-mail cbsszs@cau.edu.cn

经 销 新华书店

印 刷 涿州市星河印刷有限公司

版 次 2010 年 9 月第 1 版 2010 年 9 月第 1 次印刷

规 格 787×980 16 开本 9.5 印张 170 千字

印 数 1~3000

定 价 16.00 元

图书如有质量问题本社发行部负责调换

参编人员名单

主 编 王月影 朱河水
副主编 王林枫 韩立强 查光明
编 委 (以姓氏笔画为序)

王月影(河南农业大学)
王林枫(河南农业大学)
宁红梅(河南科技学院)
司晓辉(四川农业大学)
朱河水(河南农业大学)
江青东(郑州牧业高等专科学校)
吕锦芳(安徽科技学院)
苏丽娟(河南农业大学)
李和平(河南农业大学)
李留安(天津农学院)
杨雪峰(河南科技学院)
查光明(河南农业大学)
栾新红(沈阳农业大学)
韩立强(河南农业大学)

前 言

国家中长期人才发展规划纲要(2010—2020年)提出高等学校要探索并推行创新型教育方式方法,突出培养学生的科学精神、创造性思维 and 创新能力。与此相对应,国家中长期教育改革和发展规划纲要(2010—2020年)明确指出高等学校要全面实施高校本科教学质量与教学改革工程。教师要把教学作为首要任务,不断提高教育教学水平,加强实验室、课程教材等教学基本建设。

本教程编者根据以上两个纲要的精神,结合动物生理学实验课程的特点,编写了此实验教材,以期适应我国高等教育新形势下加强实践教学环节的要求,达到培养学生发现问题、分析问题、解决问题能力以及实践创新能力的目的。本教程内容安排上前半部分为动物生理学实验的基本理论和技术,侧重学生基本知识和基本技能的培养,为学生自主学习、自我设计实验打下基础。后半部分为参考实验项目,实验项目的选定基于动物机能学的整体观点,结合了动物生理学、病理学、药理学课程的联系,使本教程符合动物科学、动物医学、动物检疫、生物工程、药物制剂、生物科学、水产养殖等专业的培养计划和需要。具体实验项目的内容安排上结合了实验指导和实验报告两个部分,并采用可拆式活页形式,便于学生实验过程中的学习、记录以及资料的汇集和整理。实验内容上既有传统的实验目的、实验原理、实验材料、实验步骤与记录、结果与分析、注意事项等,又有思考题以及背景知识,从而希望不但培养学生的动手能力和分析问题的能力,而且通过激发学生的兴趣,充分调动学生学习的积极性和主动性,培养学生发现问题的能力,为创新打下基础。

总之,本教材在内容上侧重理论与实践相结合,集实验指导、实验报告为一体,在装订形式上采用活页方式,期望学生不但能在实验中验证理论,同时也能在实验中学会发现问题,并大胆假设,通过自我设计实验而小心求证,达到学以致用、用而有效的目的。

感谢河南农业大学教务处和中国农业大学出版社对本书出版给予的指导和帮助。由于编写人员水平有限,本书肯定存在疏漏和不足之处,恳请各院校师生在使用过程中批评指正,以便进一步修订和完善。

编 者

2010年7月

目 录

动物生理学实验的目的、方法和要求	(1)
动物生理学实验的基本操作技术	(6)
实验一 蛙坐骨神经—腓肠肌标本制作	(21)
实验二 刺激强度、刺激频率与肌肉收缩的关系	(26)
实验三 出血时间的测定	(32)
实验四 凝血时间的测定	(34)
实验五 红细胞沉降率(血沉)测定	(37)
实验六 血红蛋白(Hb)的测定	(40)
实验七 红细胞渗透脆性实验	(44)
实验八 红细胞计数	(48)
实验九 白细胞计数	(53)
实验十 不同因素对血液凝固的影响	(56)
实验十一 蛙心正常起搏点的观察	(60)
实验十二 不同理化因素和递质对离体蛙心的影响	(63)
实验十三 不同电刺激对心肌收缩的影响	(67)
实验十四 微循环观察	(70)
实验十五 家兔血压和减压神经放电的同步记录和观察	(73)
实验十六 不同因素对兔呼吸运动的影响	(78)
实验十七 胸内压的测定	(83)
实验十八 小肠吸收和渗透压的关系	(87)
实验十九 胰液、胆汁的分泌	(90)
实验二十 胃肠运动的直接观察	(94)
实验二十一 离体小肠平滑肌的生理特性	(98)
实验二十二 小动物能量代谢的测定	(102)
实验二十三 影响尿液生成的因素	(106)
实验二十四 脊髓反射的基本特征和反射弧分析	(113)
实验二十五 大脑皮层运动机能定位和去大脑僵直	(119)

实验二十六 胰岛素和肾上腺素对血糖的调节	(125)
实验二十七 摘除肾上腺对动物的影响	(128)
附录一 生理实验常用试剂	(133)
附录二 常用实验动物部分生理参数	(138)
附录三 常用消毒药物配制及用途	(139)
附录四 标准状态(STPD)气体容积的换算系数	(140)
参考文献	(142)

动物生理学实验的目的、方法和要求

一、动物生理学实验的目的

动物生理学是一门实验学科,其发展建立在实验和观察分析的基础上。动物生理学实验课的目的是通过实验使学生逐步掌握动物生理学实验的基本操作技术,了解动物生理学实验设计的基本原理和获得动物生理学知识的科学方法,验证某些讲授过的基本理论,帮助学生理解、巩固和掌握部分理论内容。更重要的是通过实验,使学生学会科学的思维方法,提高分析问题和解决问题的能力,培养学生对科学实验的严肃的态度、认真的精神、严谨的工作方法和实事求是的工作作风。

二、动物生理学实验的研究方法

动物生理学实验的研究方法一般根据动物的组织器官是在整体条件下进行实验,还是将其解剖取下,置于人工环境条件下进行实验,而分为离体实验方法和在体实验方法。

(一)离体实验方法

离体实验是根据实验目的和对象的需要,将所需的动物器官或组织按照一定的程序从动物机体上分离下来,置于人工环境中,设法在短时间内保持它的生理功能,而进行研究的一种实验方法。此种方法的优点在于能摒弃组织或器官在体内受到的多种生理因素的综合作用,能比较明确地确定某种因素与特定生理反应的关系。但由于离体实验的实验对象已去除了整体时中枢神经的控制,所以离体实验得出的结论还不能直接推广至整体时的情况。

(二)在体实验方法

在体实验是在动物处于整体条件下,保持预研究的器官于正常的解剖位置或从体内除去(拟从反证的角度),研究动物或某器官生理功能的实验方法。在体实验又可分为活体解剖实验和慢性实验。

1. 活体解剖实验 在动物麻醉(或破坏脑髓)情况下,对其进行活体解剖,以便观察组织、器官机能在不同情况下的变化规律。这种方法比慢性实验方法简单,易

于控制条件,有利于观察器官间的相互关系和分析某一器官功能活动过程与特点,但与正常功能活动仍有一定差别。

2. 慢性实验 是使动物处于清醒状态,观察动物整体活动或某一器官对于体内情况或外界条件变化时的反应。在慢性实验前,首先必须对动物进行较为严格的消毒、手术,根据实验目的要求,对动物进行一定处理,如导出或去除某个器官,或埋入某种药物、电极等。手术之后,使动物恢复接近正常生活状态,再观察所暴露器官的某些功能、摘除或破坏某器官后产生的生理功能紊乱等。

慢性实验以完整动物为实验对象,所取得的结果能比较客观地反映组织或器官在正常活动时的真实情况,比离体实验有更大的真实性,但是由于动物处于体内各种因素综合控制下,因此,对于实验结果所产生的原因比较难以确定。

由于离体实验和活体解剖实验过程不能持久,实验后动物往往不能存活,故又称为急性实验法。

三、动物生理学实验的要求

(一)实验前要求

(1)仔细阅读《动物生理学实验教程》中的有关内容,了解本次实验的目的、要求,充分理解本次实验的原理,熟悉实验项目、操作步骤和程序,了解实验的注意事项。

(2)结合实验阅读相关理论知识,必要时还需要查阅一定的资料,做到充分理解实验原理与方法,力求提高实验课的效果。

(3)预测实验各个步骤应得的结果,对预测的结果尽可能地做出合理的解释。估计实验中可能出现哪些异常现象并拟定对策。

(4)熟悉所用仪器的性能和手术的基本操作方法。

(5)进入实验室后及时清点并安放实验器材,在方便使用的基础上,力求整齐、清洁、有条不紊。

(6)实验小组内人员进行合理分工,在确保实验顺利进行的同时兼顾每个人的动手机会。

(二)实验中要求

(1)遵守实验室规则。

(2)按程序正确操作仪器和手术器械,按实验步骤进行实验,不随意更改,不进行与实验无关的活动。

(3)爱惜实验动物和标本,使其保持良好的兴奋性;节约药品、水、电,爱护实验

设备,确保实验完成。

(4)认真听指导教师的讲解和示教操作,对于一些经验性的提示需特别注意。

(5)仔细、耐心地观察和记录实验过程中出现的各种现象,进行认真思考和分析。如出现了什么现象;为什么出现这种现象;这种现象有什么生理意义;若出现非预期结果,还应分析其原因,尽可能地及时解决。

(6)实验中要有耐心,必须等前一项实验基本恢复正常后,才能进行下一项实验,注意观察实验的全过程。

(7)实验过程出现疑难之处,先自己设法排除。若一时解决不了则及时向指导教师汇报情况,请求协助。

(8)注意个人安全,特别是使用易燃易爆和腐蚀性试剂时要规范操作规程。

(三)实验后要求

(1)将实验所用器械擦洗干净并妥善安放。如有损坏或缺少,及时向任课教师报告。做好实验室的清洁工作,检查水电,关好门窗,并将实验动物放置于指定地点。

(2)整理实验记录,进行合理的分析处理后作出实验结论。

(3)认真撰写实验报告,按时交任课教师评阅。

四、动物生理学实验结果的记录和分析

(一)实验结果的记录

实验结果的记录是实验中最重要的一部分,负责将实验过程中所观察到的现象如实地记录下来。凡属于测量性质的结果(如:高低,长短,多少,快慢等),均应以正确的单位和数值定量,如呼吸频率,不能只说加快或减慢,而应标出呼吸频率加快或减慢的具体数值和单位;一般凡有曲线记录的实验,都应在曲线上标注说明(如:标注刺激记号、具体项目)。

实验结果的记录要求是:

1. 真实性 真实地记录实验结果和现象,不管实验结果与自己预测的是否相同,都应实事求是地记录。记录要真正反映客观事实。

2. 原始性 要及时记录实验最原始的现象和数据,如果不能保持原始实验现象和数据,就失去了真实性。

3. 条理性 记录要整洁而有顺序,学会用简明的词记下完整的结果,以便于实验结束后整理和总结分析。

4. 完整性 完整的实验记录应包括题目、方法和步骤、结果、实验日期和实验

者等。

(二) 实验结果的分析

实验过程中所得到的结果应以实验教学班为单位进行整理和分析,求出均数、标准差及进行差异显著性检验。对于实验过程始终进行连续记录的曲线,可以将有代表性的曲线进行编辑,并作出相应的注释。实验所获数据、资料进行必要的统计学处理之后,为了便于比较、分析,提倡将实验结果中某变量的增减以及诸变量之间的相互关系以图表的方式明确地表达出来,这种直观的印象有助于理解和记忆,而且可以节约文字。作表时,一般将观察项目(如刺激的各种条件)列在表内左侧,由上向下逐项填入,表的右侧可按时间或数量变化的顺序由左至右逐格写入。绘图时,根据是否为连续性的变化,常选用曲线图和柱状图。图表的绘制是动物生理学实验的基本要求,也是今后科学研究资料的整理和论文写作的一项必不可少的技能。

五、动物生理学实验报告的撰写

动物生理学实验课中无论是学生自行操作,还是示教的实验项目,每一位学生都应按照实验的具体内容独立、认真地完成实验报告。实验报告是对实验的全面总结,是理论联系实际和应用知识的重要环节,是对学生撰写科学论文能力的初步培养,可为今后的科学研究打下良好的基础。实验报告要文字简练、条理清楚、观点明确、字迹清楚,正确使用标点符号。在使用计算机生物信号采集处理系统进行实验时,实验报告可采用网上提交。实验报告有一定的格式,如下所示:

动物生理学实验报告

姓名 班级 组别 日期

实验序号及实验题目

实验目的、原理

材料

方法步骤

实验结果

讨论分析

书写实验报告时需要注意以下几点:

(1) 实验目的、原理尽可能简明扼要地说明。

(2) 实验方法如与《动物生理学实验教程》所提的方法相同,可简写为“见《动物生理学实验教程》××页”即可。若在实验仪器或方法上有所变动,或因操作技术

影响观察的可靠性时,可将变动之处作简要的说明。

(3)实验结果是实验报告中最为重要的部分,应将实验过程中所观察到的现象经过处理后的原始资料进行忠实、正确、详细地描述。有记录曲线的应进行合理的剪切、归类,在实验报告的适当位置进行粘贴,并加以标注和必要的文字说明,如曲线的序号、名称;施加(或撤销)刺激(药物)的标记;刺激及显示、记录参数(或药物名称、浓度或剂量)、定标单位;效(反)应时程的变化过程。有的实验结果是数据,可绘制成图表进行表达,使结果更形象生动;也可用表格,使结果更清晰,便于相互比较;或者几种方法综合运用。

(4)讨论分析是实验报告中最具有创造性的工作部分,是学生独立思考、独立工作能力的具体体现,因此应该严肃、认真,不能盲目抄袭书本和他人的实验报告。进行实验结果的讨论,首先要判断实验结果是否为预期的,然后根据已掌握的理论或查阅资料所获得的知识,对实验结果进行有针对性的解释、分析,并指出其生理意义。如果出现和预期的结果相矛盾的地方,也应分析其产生的原因。如实验中尚有遗留问题没有解决,学生可尽可能地对问题的关键提出自己的见解。

动物生理学实验的基本操作技术

一、实验动物的捉拿和保定

常用实验动物的捉拿及保定方法如图 1 至图 10 所示。



图 1 小鼠捉拿法

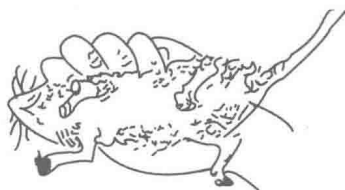


图 2 大鼠捉拿法

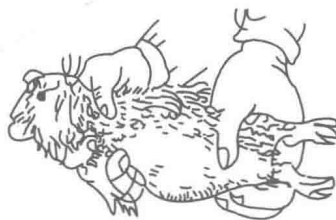


图 3 豚鼠捉拿法

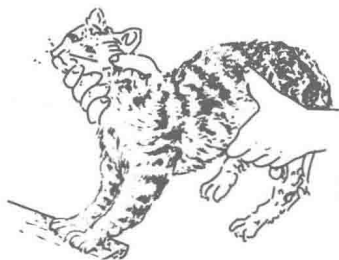


图 4 猫捉拿法



图 5 蟾蜍捉拿法

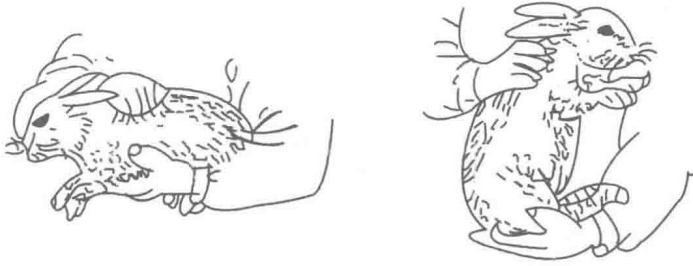


图6 家兔捉拿法

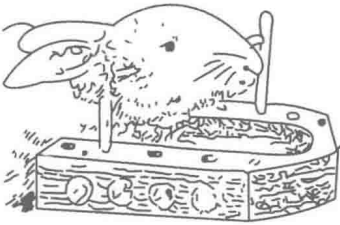


图7 马蹄形头位固定器固定兔头部

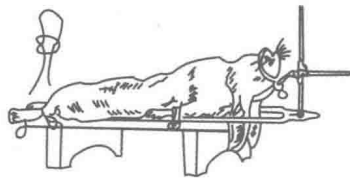


图8 家兔的保定

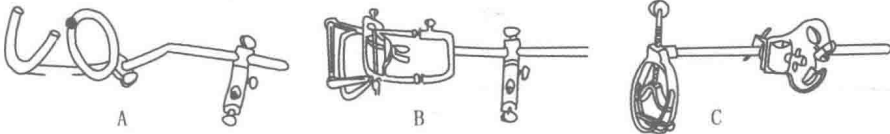


图9 实验动物保定头夹

A. 兔头夹 B. 猫头夹 C. 犬头夹

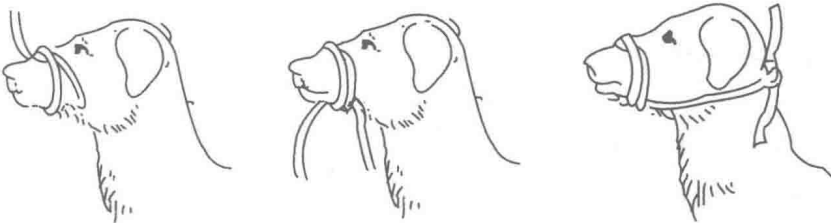


图10 犬嘴捆绑法

二、实验动物的麻醉

在急、慢性动物实验中,手术前恰当的麻醉对保证实验的顺利进行和获得满意的实验结果有着十分重要的作用。由于麻醉药品的作用特点不同,动物的药物耐

受性有种属或个体间差异及实验内容及要求不同,因此正确选择麻醉药品的种类、用药剂量及给药途径十分重要(表 1)。

表 1 常用麻醉药的剂量和用法

药物名称	动物种类	给药途径	药物浓度 /%	剂量 /(mg/kg 体重)	维持时间/h
乙醚	各种动物	吸入	—	适量	约 0.5
戊巴比妥钠	犬、猫、兔	I. V、I. P	3	30	2~4
	鼠类	I. P		45	
	鸟类	I. M		50~100	
氨基甲酸乙酯	犬、猫、兔	I. V、I. P	10~25	1 000	2~4
	鼠类	I. P		1 000	
	鸟类	I. M		1 250	
	蛙类	淋巴囊		2 000	
氯醛糖	犬、兔	I. V	1	60~80	3~4
	猫	I. P		60~80	
	鼠类	I. P		80~100	
氯氨合剂	猫、兔	I. V、I. P		氯 75 氨 750	5~6
酒精生理盐水合剂	兔	I. V、I. P	40	7~8	2~3

I. V:静脉注射;I. P:腹腔注射;I. M:肌肉注射;氯:氯醛糖;氨:氨基甲酸乙酯。

(一)全身麻醉

1. 吸入麻醉 挥发性麻醉药经面罩或气管插管进行开放式吸入麻醉。常用的吸入麻醉剂是乙醚,可用于多种动物的麻醉。麻醉时对动物的呼吸、血压无明显影响,麻醉速度快,维持时间短,适合于时间短的手术和实验,如去大脑僵直、小脑损毁实验等,也可用于凶猛动物的诱导麻醉。

2. 注射麻醉 非挥发性麻醉剂可用作腹腔注射或静脉注射麻醉,其操作简便,是常用的方法。腹腔给药麻醉常用于小鼠、大鼠、沙鼠、豚鼠,而较大的动物如兔、狗等常用静脉注射给药进行麻醉。在进行静脉注射时,剂量的前 1/3 药物可以较快的速度注入,以期快速度过兴奋期,其余药物注入速度宜慢些,且应边注入边观察动物的反应,当确定已达到麻醉效果时,即可停止给药。麻醉或手术过程中动物未达到要求时可追加不超过 1/5 的剂量。

(二)局部麻醉

局部麻醉药物能可逆地阻断神经纤维传导冲动,从而产生局部麻醉作用。进

行局部麻醉时,药物浸入神经纤维的方式主要有两种:

(1)用作表面麻醉时,药物通过点眼、喷雾或涂布作用于黏膜表面,转而透过黏膜接触黏膜下神经末梢而发挥作用。该类药物除具有麻醉作用外,还有较强的穿透力,如丁卡因、利多卡因。

(2)作浸润麻醉时,用注射的方法将药物给药到神经纤维旁。此类药物只需有局部麻醉作用,不一定要具有强大的穿透力,如普鲁卡因(对氨基甲酸酯)、布比卡因、利多卡因(其效力是普鲁卡因的2倍)。

麻醉注意事项:

(1)麻醉前应正确选用麻醉药品、用药剂量及给药途径。

(2)进行静脉麻醉时,先将总用药量的 $1/3$ 快速注入,使动物迅速度过兴奋期,余下的 $2/3$ 量则应缓慢注射,并密切观察动物麻醉状态及反应,以便准确判断麻醉深度。

(3)如麻醉较浅,动物出现挣扎或呼吸急促等,需补充麻醉药以维持适当的麻醉。一次补充药量不宜超过原总用药量的 $1/5$ 。

(4)麻醉过程中,应随时保持呼吸道通畅,并注意保温。

(5)在手术操作复杂、创伤大、实验时间较长或麻醉深度不理想等情况下,可配合局部浸润麻醉或基础麻醉。

(6)实验中注意液体的输入量及排出量,维持体液平衡,防止酸中毒及肺水肿的发生。

三、实验动物的处死方法

(一)脊椎脱位法

此法是将实验动物的颈椎脱臼,断离脊髓致死,为大、小鼠最常用的处死方法。操作时实验人员用右手抓住鼠尾根部并将其提起,放在鼠笼盖或其他粗糙面上,用左手拇指、食指用力向下按压鼠头及颈部,右手抓住鼠尾根部用力拉向后上方,造成颈椎脱臼,脊髓与脑干断离,实验动物立即死亡。

(二)断头法

此法适用于鼠类等较小的实验动物。操作时,用左手按住实验动物的背部,拇指夹住实验动物右腋窝,食指和中指夹住左前肢,右手用剪刀在鼠颈部垂直将鼠头剪断,使实验动物因脑脊髓断离且大量出血死亡。

(三)击打法

此法主要用于豚鼠和兔的处死。操作时抓住动物尾巴或两后肢,提起,用力摔

击其头部,使大脑中枢遭到破坏,动物痉挛后立即死去。用木槌等硬物猛烈击打实验动物头部,也可致死。由于重击头颅骨中心,脑大范围出血而使其中枢神经系统功能得以阻抑。

(四)急性大失血法

此法适用于各种实验动物,采用使动物在短时间内大量失血的方法处死动物。如用鼠眼眶动脉和静脉急性大量失血方法使鼠立即死亡;对于较大的动物(犬、兔、猫等)可采用切断股动、静脉和颈动脉放血的处死办法,一般在3~5 min内即可致死。使用这种方法的好处是,动物安静,不损伤脏器,需要时还可以采集其血液。

(五)空气栓塞法

处死兔、猫、犬常用此法。在实验动物的静脉内注入一定量的空气,形成肺动脉或冠状动脉空气栓塞,或导致心腔内充满气泡,心脏收缩时气泡变小,心脏舒张时气泡变大,从而影响回心血流量和心输出量,引起循环障碍、休克、死亡。空气栓塞处死法注入的空气量,猫和兔为20~50 mL,犬为90~160 mL。

(六)静脉注射麻醉药

此法多用于处死豚鼠和家兔。快速过量注射非挥发性麻醉药(给药量为深麻醉时的30倍),或让动物吸入过量的乙醚,使实验动物中枢神经过度抑制,导致死亡。

四、常用动物生理学实验手术方法介绍

(一)气管插管术

采用手术暴露、游离出动物(以家兔为例)气管,并在气管下穿一较粗的线。用剪刀或专用电热丝于喉头下2~3 cm处的两软骨环之间,横向切开气管前壁约1/3的气管直径,再于切口上缘向头侧剪开约0.5 cm长的纵向切口,整个切口呈“⊥”。若气管内有分泌物或血液要用小干棉球拭净。然后一手提起气管下面的线,一手将一适当口径的气管插管斜口朝下,由切口向肺方向插入气管腔内,再转动插管使其斜口面朝上,用线结扎于套管的分叉处,加以固定。

(二)颈动脉插管术

事先准备好插管导管,取适当长度的塑料管或硅胶管,插入端剪一斜面,另一端连接于装有抗凝溶液(或生理盐水)的血压换能器或输液装置上,让导管内充满溶液。给动物静脉注射肝素(500 U/kg),使全身肝素化(也可不进行此操作),分离