

生物实验报告册

GAOZHONG

● 配人教版
SHENGWU



高中
三年级

江西科学技术出版社

编者说明

普通高中是与九年义务教育相衔接的高一层次的基础教育。高中阶段,要培养学生掌握现代社会需要的普通文化科学基础知识和基本技能,具有自觉的学习态度和自学的能力,掌握基本的学习方法,具有创新的精神和分析问题、解决问题的能力。

实验是物理、化学、生物科学的基础,理所当然是这些学科教学的基础。实验教学对于激发学生的学习兴趣,帮助他们形成科学概念,巩固科学知识,获得实验技能,培养实事求是、严肃认真的科学态度和训练科学方法有着重要的意义,因此,加强实验教学是提高这些学科教学质量的重要一环。

本实验报告册基于上述考虑,强调学生亲自动手做实验,否则实验教学的许多功能就得不到发挥。希望同学们作为新一代的公民,应逐步具备这样的素质;规范的实验操作、良好的实验习惯、科学的方法和科学的态度。同时希望大家在做实验前,进行预习,明确实验目的,理解和控制实验条件,掌握实验方法,正确使用实验仪器,认真观察、分析实验现象,处理实验数据,得出结论。

本书作者于淑秋。何云修订。因时间有限,不妥之处,请广大教师、专家指正,以期完善。

江西省教育厅教学教材研究室

2004年1月

实验一 温度对酶活性的影响

【实验预习】

了解酶的催化作用需要一定的条件,如适宜的温度和_____。

【实验报告】

(一)目的要求

1. 初步学会探索影响酶活性条件的方法。
2. 探索淀粉酶在不同温度下催化淀粉水解的情况。

(二)材料用具

1. 材料:质量分数为 2% 的新鲜淀粉酶溶液。
2. 用具:试管、量筒、小烧杯、玻璃棒、试管夹、酒精灯、温度计。
3. 试剂:质量分数为 3% 的可溶性淀粉溶液、热水、冰块、碘液。

(三)方法步骤

1. 取 3 支试管,编上号,分别注入 2ml _____。
2. 将 3 支试管分别放入 60°C 左右的热水、沸水和冰块水,维持各自的温度 5 分钟。
3. 在 3 支试管中各注入 1ml _____ 溶液,摇匀后,维持各自的温度 5 分钟。
4. 在 3 支试管中各加入_____,然后摇匀,观察 3 支试管的颜色变化:1 号试管_____,2 号试管_____,3 号试管_____。

【实验思考】

该实验要在加入淀粉酶溶液之前控制好各自的温度,若改成加入淀粉酶溶液之后再控制温度,可否?为什么?

实验二 学习微生物培养的基本技术

【实验预习】

认真阅读实验原理,细心观察实验现象。实验过程中应把握以下几个要点:

1. 试管培养基封口,用棉塞堵塞试管口不宜过紧或过松。在大批制作棉塞之前,应先试制1个,塞在试管口上,手提棉塞,若试管不脱落下来,就以这个棉塞大小为准制作其余棉塞。

2. 使用高压蒸汽灭菌锅,紧盖或开盖时,都应采用对角式均匀地转动紧固螺栓,且双手同时操作。切不可将紧固螺栓逐个拧紧或松开。其次,灭菌结束后,切勿过早打开排气阀,否则,开盖时试管内培养基会由于内、外压力不平衡冲出管口,使棉塞上沾染培养基而发生污染(高压灭菌最好由教师操作演示)。

3. 接种时,接种环(针)箍处灭菌尤为重要。也可事先将接种环这一部分插入体积分数为75%的酒精溶液中消毒,再用酒精灯火焰灼烧,以达彻底灭菌。

4. 接种画线要注意:

(1)画线方向应由里而外。

(2)线条要细而密。

(3)不要重复画线。

【实验报告】

(一)目的要求

1. 通过对牛肉膏蛋白胨培养基的配制,了解配制_____的一般步骤和方法。

2. 了解_____,以及实验室中常用的灭菌方法。

3. 初步掌握_____的基本技术。

(二)材料用具

1. 材料:芽孢杆菌或金黄色葡萄球菌,牛肉膏,蛋白胨,球脂。
2. 用具:天平、角匙、200ml 烧杯、试管、漏斗、量筒、玻璃棒、滴管、胶管、弹簧夹、铁架台、酒精灯、石棉网、三角架、火柴、纱布、____、____、线绳、____、____、精密 pH 试纸(或____)、金属小筐、____、____。
3. 药品或试剂:NaCl,浓度为____的 NaOH 溶液,体积份数为 75% 的____,____。

(三)方法步骤

1. 培养基的配制:

(1)称量:用天平称取 0.5g 牛肉膏,1g 蛋白胨,0.5gNaCl,2g 球脂。将称量好的牛肉膏、蛋白胨、NaCl 一齐放入烧杯中。

(2)溶化:向上述烧杯中加入____ 100ml,用玻璃棒搅匀后,放到酒精灯火焰上加热。当牛肉膏和蛋白胨____后,加入____,并继续用____加热。在球脂溶化过程中,要控制火力大小,并且不断搅拌,以免培养基____。待球脂完全溶化后,补加蒸馏水至 100ml。

(3)调 pH:用滴管逐滴滴入浓度为 1mol/L 的____,边滴边搅拌,并随时用____,直到 pH 值调至____为止。

(4)培养基分装:按课本上的图示,将培养基____分装到洁净的____,培养基的高度为试管高度的____。注意分装时不要将培养基沾在____和____,以免造成污染。

(5)加棉塞:培养基分装完毕,在管口上加一个棉塞。棉塞能防止____;保证____。加棉塞时,应使棉塞长度的____在试管内。

(6)包扎:每____支试管用线绳捆成一捆,并且在管口外面包上一层____,然后再用线绳扎好。在每捆试管外挂上标签,注明培养基的____,配制____,制作者姓名。

2. 灭菌(此步骤最好由教师操作或演示):

(1)打开高压蒸汽灭菌锅,将里面的____取出,向锅内加水(最好加开水),水面与底架____。高压蒸汽灭菌锅构造如课本图所示。

(2)将扎好的试管管口向上竖放在灭菌桶内,再将灭菌桶放回灭菌锅。注意:灭菌锅内物品不能放得____,否则影响灭菌效果。

(3) 加盖, 并将_____插入灭菌桶的排气槽内。以_____方式, 同时旋紧_____两个紧固螺栓, 以防漏气。

(4) 排出锅内的冷空气。接通电源, 当压力上升到_____ kPa 时, 打开排气阀放气, 当压力回到_____, 关闭排气阀。重复上述放气过程一次, 以彻底排出锅内的冷空气。

(5) 当锅内压力上升到_____ kPa 时, 控制_____, 使压力维持在 98 kPa 左右_____分钟, 切断电源。

(6) 当压力降至零以后, 打开排气阀, 10 分钟后, 放松紧固螺栓, 取出试管, 最后将灭菌锅内的水排放干净。

3. 搁置斜面: 当培养基冷却到_____左右, 将试管带棉塞的一端放在一根木棒上。搁置的长度要合适, 使培养基斜面的长度_____的一半。

4. 接种:

(1) 用_____将双手洗干净后擦干, 再用体积份数为 75% 的酒精棉球擦拭双手。

(2) 当手上的酒精_____, 才能点燃酒精灯, 否则, 容易_____。

(3) 在接种整个过程中, 都要十分小心, 不要将_____, 以免烧伤。接种操作过程如下, 图示请参看课本。

① 用_____的大拇指、示指、无名指夹住菌种试管和待接种的斜面试管, 使两试管管口_____, 并使斜面向上成_____状态。右手拧松棉塞, 但不要取下。

② 右手拿_____ (如握钢笔), 在酒精灯火焰上灼烧_____。

注意: 有可能伸入试管内的接种环的其他部分也要灼烧, 特别是箍处。

③ 在_____处用右手无名指和小指夹住两个棉塞, 将它们取下。同时_____, 灼烧管口一周, _____。注意, 不要将酒精灯碰翻, 以免烧伤。

④ 将接种环伸入菌种的试管内, 让环先接触_____部位, _____。然后_____, 立即将接种环取出。

⑤ 在_____迅速将_____的接种环伸到斜面培养基的_____, 由里而外轻轻地画_____, 线要画_____. 注意, 不要将培养基_____, 也不要让接种环接触到管壁或_____。

⑥ 抽出接种环, 再用火焰_____, 并在火焰上方将棉塞塞上。再将这种环在火焰上_____, 接种_____时更要注意这一点。将棉塞旋紧。注意_____

_____的距离要适当,以免棉塞着火燃烧。

(3)熄灭酒精灯。实验后的带菌培养基,若为致病菌,必须_____后方能倒掉。如果为非致病菌,也要经_____再倒掉。

(5)接种完毕,将所接菌种、接种_____、接种者姓名填写在标签上。

5. 培养:将接种后的试管放入_____,在 25°C 培养_____,或者在 37°C 下培养_____。

【实验思考】

1. 在高压蒸汽灭菌之前,为什么要将灭菌锅内的冷空气排尽?
2. 灭菌完毕,如果锅内压力未降至零就打开排气阀,会出现什么现象? 为什么?
3. 接种操作为什么一定要在火焰旁进行?

实验三 自生固氮菌的分离(选做)

【实验预习】

阅读课本实验原理后,要把握该实验成功的两个关键。

1. 盛装无氮培养基的培养皿必须进行彻底灭菌消毒。其方法是:将已制好的平板培养基放在 37°C 恒温箱中培养 1~2 天,无杂菌生长,方可使用。

2. 接种过程严格控制在无菌条件下进行,以确保自生固氮菌菌落不被污染。

3. 制作临时涂片时应注意:

(1) 从培养基上挑取菌落的粘液量宜少,不宜多;

(2) 涂片力求推出一层均匀的薄膜。

【实验报告】

(一) 目的要求

1. 初步学会从_____的方法。

2. 初步学会制作_____的方法。

(二) 材料用具

1. 材料:农田的_____ (土壤溶液的 pH 值不低于_____)。

2. 用具:无菌研钵,无菌玻棒,_____,天平,存放有载玻片的酒精缸,盖玻片,_____,酒精灯,火柴,镊子,恒温箱,_____,吸水纸,玻璃铅笔,已灭菌的盛有无氮培养基的培养皿。

3. 药品或试剂:结晶紫染液,无菌水。

(三) 方法步骤

1. 接种:

(1)接种前,将灭过菌的、盛有无氮培养基的培养皿放在 37°C 恒温箱中培养____天。随后,选取____的培养基供实验用。

(2)取____土壤,放在无菌研钵中,注入 5ml ____,并用无菌玻璃棒____,备用。

(3)将____放在酒精灯火焰上灭菌。略微打开____,将接种环放在培养基边缘处冷却。然后,用接种环蘸取少量稀____,轻轻地点接在培养基的____,共点接____处(注意接种时手、衣袖不要接触到火焰,以免烧伤)。

(4)接种后,轻轻地盖上培养皿盖,将培养皿放在实验桌上,并在顶盖上写上实验内容、接种人姓名、_____。

2. 培养:将接种过的培养皿放入_____恒温箱内培养____天。

3. 观察:3~4天后,取出培养皿,仔细观察培养基上稀泥浆周围长出的培养物____。黏液初为____,以后为____,最后变成____,表明含有_____。

4. 镜检:

(1)制作临时涂片:

①用镊子从存放载玻片的酒精缸中夹取一块载玻片,将载玻片放在酒精灯火焰上方____,以便除去上面的____。将载玻片放在实验桌上,待载玻片____,在载玻片中央滴一滴_____。

②在火焰旁,按接种要求,用灭过菌的接种环从_____挑取少许黏液,将黏液涂在载玻片上的水滴中,加一滴_____,混合均匀,染色_____。

③另取一片载玻片作推片。将推片自液滴____侧向____侧移动,使液滴均匀地附着在____。然后,将推片自右向左____(两片之间呈____夹角),推出_____。

(2)干燥:让临时涂片自然干燥(加热会使固氮菌荚膜破坏)。

(3)用显微镜观察:依次使用低倍镜、高倍镜观察临时涂片,可以看到染成了____的自生固氮菌。缓缓移动装片仔细观察各种自生固氮菌的形态、大小,注意观察其中有没有圆褐固氮菌(圆褐固氮菌的特点是其细胞体可被结晶紫染色,而其荚膜不易被着色而呈无色)。

【实验思考】

1. 显微镜下你看见了几种固氮菌,它们在形态上各有什么特点?

2. 为什么盛放无氮培养基的培养皿应是灭过菌的？

3. 假如黏液中有三种自生固氮菌，你能不能想出一种方法，将这三种细菌分离开来？

实习 学习植物组织培养技术(选做)

【实验预习】

认真阅读课本的相关内容,并了解实验原理,掌握实验方法,认真进行接种室、接种箱的灭菌及操作者、外植体的消毒工作。最关键的是接种工作,接种时应注意以下几点:

1. 每接种一块外植体,镊子需要先放入体积分数为 75% 的酒精溶液中消毒一次,待酒精挥发完全,在酒精灯火焰上灼烧一遍,待冷却后再接种下一个外植体。

2. 外植体放入培养基时,必须平放。每瓶放置外植体数量应根据锥形瓶大小来确定,一般情况下,以胡萝卜 3~4 块、菊的茎或叶 6~8 块为度。

3. 接种用的酒精灯的火焰不要调得太高(若太高,可用剪刀剪去一点灯芯),接种时应靠近酒精灯火焰操作(注意不要碰翻酒精灯,以免烧伤)。接种的动作要快。

4. 接种时要严防接种箱内着火。

【实验报告】

(一)目的要求

1. 了解植物组织培养技术的_____。
2. 初步学会_____的基本方法。

(二)材料用具

1. 材料:胡萝卜的根(也可用其他植物器官或组织,如菊的叶片或茎)。
2. 用具:锥形瓶(50ml)或大试管,盛有酒精棉球的广口瓶,带螺口盖的_____,培养皿,_____,镊子,滤纸,烧杯,酒精灯,火柴,线绳,_____,(大小约为 9cm×9cm),标签,铅笔,_____,喷雾器,_____

____, 接种箱。

3. 药品或试剂: 已灭菌的培养基, 质量分数为____%的次氯酸钠溶液, 体积分数为 70% 的酒精溶液, _____, 质量分数为 40% 的甲醛溶液, _____, _____。

(三) 方法步骤

在进行植物组织培养前, 首先配制培养基, 并且将培养基和接种所需的物品放在高压蒸汽灭菌锅内灭菌(这些工作均由教师在实习前完成)。

1. 接种室和接种箱的灭菌:

(1) 在接种的_____, 将接种室的_____用甲醛溶液和高锰酸钾熏蒸。准备接种时, 提前 1 小时在接种箱内用喷雾器喷洒_____ (将商品来苏水与水以 1:50 的比例混合均匀, 配成水溶液), 桌、椅也要用来苏水擦拭。接种箱内用甲醛溶液和高锰酸钾_____。

(2) 在接种箱内放好_____ ; 盛有培养基的锥形瓶或大试管, 盛有酒精棉球的广口瓶、培养皿、带螺口盖的玻璃瓶、烧杯、无菌水、酒精灯、镊子、解剖刀、火柴、滤纸。

(3) 在无菌室和接种箱内用_____ 灭菌(无菌室照射 20~50 分钟, 接种箱照射 15 分钟)。

2. 操作者的消毒: 接种前, 操作者要用_____ 洗净双手, 擦干, 再用酒精棉球擦拭双手。

3. 外植体的消毒:

(1) 向带有螺口盖的玻璃瓶中倒入适量的_____。取一小段_____ 的胡萝卜根, 浸入_____ 溶液中, 拧上瓶盖, 放在接种箱内消毒_____。消毒期间, 要将玻璃瓶摇动_____ 次。

(2) 消毒后, 打开瓶盖, 将消毒液倒入_____。在玻璃瓶中加入适量的_____, 盖上瓶盖, 摇动_____, 将水倒去, 重复 3~4 次。用无菌滤纸将胡萝卜表面的水吸干。

4. 接种: 接种时, 应在接种箱内_____ 旁操作, 接种用的工具要在酒精灯火焰上灼烧, 然后离开火焰, 待工具的温度下降至_____ 再进行操作。

注意: 手、衣袖均要与酒精灯保持一定距离, 以免烧伤。

接种操作具体如下:

(1)在培养皿中用解剖刀将胡萝卜切成_____,选取有_____部分,切成 $1\text{cm} \times 1\text{cm}$ 的小块作为外植体。

(2)用镊子夹取切好的外植体,_____接种于锥形瓶的培养基中,尽量使_____。注意,锥形瓶口应斜向火焰,在酒精灯火焰旁操作。

注意:手、衣袖不要触及火焰,不要碰翻酒精灯,以免烧伤。

(3)材料接种好后,将_____在酒精灯火焰上转动灼烧一遍,用三层纸(两层硫酸纸中间夹一层_____)封盖瓶口,然后用线绳将瓶口捆紧,以免_____,造成污染,导致培养失败。

(4)最后在瓶壁上贴上标签,注明接种_____,编号、接种日期、接种人姓名。

5. 培养:用体积分数为 70% 的酒精溶液消毒_____。把已经完成接种的锥形瓶放入恒温箱内,将温度控制在_____,培养 14 天后,取出锥形瓶,观察外植体上_____的生长情况。然后放入恒温箱继续培养,定期观察,记录愈伤组织的生长情况。

有条件的学校,可以继续培养成试管苗。

【实验思考】

1. 你培养出了愈伤组织吗? 你观察到什么实验现象?

2. 在植物组织培养的过程中,为什么要采取一系列的消毒、灭菌措施,并且要求无菌操作?

3. 用胡萝卜根进行组织培养时,为什么要切取有形成层的部分作为外植体?

参考答案

实验一

【实验预习】

pH 值

【实验报告】

(三)方法步骤

1. 淀粉溶液

3. 新鲜淀粉酶

4.1 滴碘液,不变蓝,变蓝,变蓝

(四)结论

酶的催化需要适宜的温度,温度过高或过低都将影响酶的活性。

【实验思考】

不可以。因为加入酶之后再控制各自的温度,则酶与淀粉有可能已发生反应,因此就无法探索温度对酶活性的影响。

实验二

【实验报告】

(一)目的要求

1. 培养基
2. 灭菌的基本原理
3. 细菌培养

(二)材料用具

2. 用具:棉花 牛皮纸 标签 接种环 pH 计 高压蒸汽灭菌锅 恒温箱

3. 药品或试剂:1mol/L 酒精溶液 蒸馏水

(三)方法步骤

1. 培养基的配制:

(2)蒸馏水 溶化后 琼脂 微火 溢出或烧焦

(3)NaOH 溶液 pH 试纸测 pH 7.4~7.6

(4)趁热 试管中 1/5 管口 试管上段

(5)杂菌污染 通气良好 2/3

(6)10 牛皮纸 名称 日期

2. 灭菌:

(1)灭菌桶 平齐为宜

(2)太挤

(3)排气软管 两两对称 相对的

(4)49 零

(5)98 火力大小 20 分钟

3. 搁置斜面:50℃ 不超过试管总长

4. 接种:

(1)肥皂

(2)挥发完毕后 将手烧伤

(3)酒精灯碰翻

①左手 平齐 成水平

②接种环 灭菌

③在火焰边 左腕转动 勿烧得过烫

④培养基上未长菌的部位 使环冷却 轻轻挑取少量菌体

⑤火焰旁 沾有菌体 底部 蛇形细线 密一些 划破 管口

⑥灼烧管口 烧红灭菌 致病菌时 棉塞与火焰

(4)高压蒸汽灭菌 加热后

(5)日期

5. 恒温箱 5~7天 24小时

【实验思考】

1. 若锅内冷空气未排尽,当压力上升到 98kPa,锅内的温度达不到应有温度,导致灭菌不彻底。

2. 由于锅内压力较大,使试管内培养基冲出管口。

3. 接种灯的火焰旁能形成一个无菌区域,在这个区域内操作可以避免空气中杂菌的污染。