

动物生理学实验 及自学指导

王文荪 李荣慧 杨静英 编

中央广播电视大学出版社

动物生理学实验及自学指导

王文荪 李荣慧 杨静英 编

中央广播电视大学出版社

(京)新登字163号

动物生理学实验及自学指导

动物生理学实验及自学指导

王文荪 李荣慧 杨静英 编

中央广播电视大学出版社出版

新华书店总店科技发行所发行

顺义县北方印刷厂印刷

开本787×1092 1/16 印张4.25 千字105

1990年4月第1版 1992年2月第2次印刷

印数 1901~2800

定价2.00元

ISBN 7-304-00499-1/Q·13

前 言

《动物生理学实验及自学指导》一书，是与中央广播电视大学农科（两年制）的主教材《动物生理学》配套使用的教学用书。内容包括实验指导和自学指导两部分。

实验指导部分较详细地介绍了二十八个实验，各基层教学单位可根据当地教学条件选择使用。少数较复杂的实验可向学生进行演示。为了给准备实验和建设实验室提供方便，本书增加了动物生理学实验常用仪器、手术器械、药品及常用试剂配制等内容。

自学指导部分是以不同的形式，如填空、名词解释、问答题及思考题等，体现每章的学习范围、重点和难点。填空题覆盖面大，提示应该了解的范围；名词解释提供了需要明确了解的概念；问答题除指出应掌握的范围外，还指明了一些要点；而思考题则主要体现了重点和难点的内容。编者对三分之一的问答题、思考题做了解答，其目的在于引导学员如何分析和解决问题，起到举一反三的作用。书中凡是标有“参考”字样的内容，是属于加深理解的内容，不在教学大纲规定的范围之内。

本书也适用于同类学校（大专）动物生理学教学，供中等农业学校和普通中学教师及其他自学人员参考。

本书编者王文荪，李荣慧和杨静英参加制定本书编写大纲，确定编写内容和原则，审阅和修改初稿以及最后定稿等工作。

对自学指导书的编写尚为初次尝试，谬误与不足之处，欢迎批评指正。

编 者

89.11.

目 录

实验指导部分

生理学实验的基本知识	(1)
一、生理学的实验方法	(1)
二、实验室规则	(1)
三、生理实验控制动物的常用方法	(2)
四、急性和慢性实验时应注意的事项	(3)
血液生理	(4)
实验一 血液的组成	(4)
实验二 红细胞比容的测定	(5)
实验三 红细胞计数	(6)
实验四 白细胞计数	(8)
实验五 血红蛋白的测定	(9)
实验六 红细胞沉降率(血沉)的测定	(10)
实验七 各种理化因素对血液凝固的影响	(11)
实验八 红细胞的凝集现象和人类ABO血型系统血型的鉴定	(12)
循环生理	(13)
实验九 蛙心起搏点	(13)
实验十 心音听诊	(14)
实验十一 蛙血管内血液流动观察	(15)
实验十二 人体动脉血压的间接测定	(16)
实验十三 动脉血压的直接测定及其影响因素(示教)	(17)
呼吸生理	(20)
实验十四 呼吸运动的调节(示教)	(20)
实验十五 人类肺活量的测定	(21)
消化生理	(22)
实验十六 胃肠运动的直接观察	(22)
实验十七 胃内容物的分层分布	(23)
实验十八 瘤胃内容物在显微镜下的观察	(23)
排泄生理	(24)
实验十九 尿的分泌及其影响因素(示教)	(24)

神经肌肉生理	(25)
实验二十 蛙坐骨神经腓肠肌标本的制备.....	(25)
实验二十一 肌肉的单收缩和强直收缩的观察.....	(27)
实验二十二 生物电现象的观察.....	(28)
实验二十三 反射弧的分析.....	(29)
实验二十四 破坏蛙一侧小脑的观察.....	(30)
内分泌与生殖生理	(31)
实验二十五 甲状腺对蝌蚪变态的影响.....	(31)
实验二十六 胰岛素和肾上腺素对血糖的影响.....	(31)
实验二十七 雌激素对雌性动物的效应.....	(32)
实验二十八 雄激素对鸡冠发育的作用.....	(33)
附录	(34)
一、 常用生理溶液的配制.....	(34)
二、 几种巴比妥类药物的实验动物用量.....	(35)
三、 生理实验常用药品 (不包括麻醉药).....	(36)
四、 生理实验常用仪器及物品.....	(36)

自学指导部分

第一章 生理学基础知识.....	(40)
第二章 血液.....	(41)
第三章 循环.....	(43)
第四章 呼吸.....	(46)
第五章 消化和吸收.....	(48)
第六章 新陈代谢和体温.....	(49)
第七章 肾脏排泄.....	(51)
第八章 肌肉和运动.....	(54)
第九章 神经系统生理.....	(55)
第十章 内分泌.....	(57)
第十一章 生殖.....	(59)
第十二章 泌乳生理.....	(60)
第十三章 家禽的生理特点.....	(61)

实验指导部分

动物生理学实验是学好动物生理学的重要环节，它一方面可以加深对本学科理论的理解，同时还能培养学生分析问题和解决问题的能力，也是对学生进行基本操作的训练过程。现将有关生理学实验的几个共同性问题作一介绍。

生理学实验的基本知识

一、生理学的实验方法

动物生理学实验常用的方法主要有急性实验和慢性实验两大类。

(一) 急性实验法是在麻醉或破坏大脑的条件下，解剖动物，暴露某种器官，给予各种刺激，进行观察记录和分析；或者从动物体内取出某种器官，使它在体外能短时间存活，以便进行实验和研究。前一种方法叫做活体解剖实验法，后一种叫做离体组织器官法。

(二) 慢性实验法是先无菌条件下对健康动物进行手术，暴露需要研究的器官（如消化道各种造瘻手术）或摘除、破坏某一器官（如摘除睾丸、卵巢等）。待动物手术恢复后，在尽可能接近正常生活的条件下，进行长期的、系统的观察。

两种实验方法各有优缺点。急性实验的优点是操作比较简单，实验条件较易掌握，对器官能够直接进行细致的观察；它的缺点是不一定能代表器官在机体内的正常活动情况。而慢性实验却能较好地反映器官在机体内的正常活动，但其缺点是实验条件难于掌握，也不便于分析其他因素对这一器官的影响。为了达到理想的实验效果，最好是急性和慢性实验互相结合。

二、实验室规则

(一) 实验课前必须认真阅读实验指导和相关的理论部分。

(二) 实验室内应保持安静，不得嬉笑和高声谈话，实验进行时，要随时注意观察、记录实验结果，不得在实验室内做与实验无关的工作。

(三) 实验开始前，各小组应作好适当分工，以免实验时忙乱，影响实验的正常进行。

(四) 要重视节约水、电和药品，爱护公共财物。公用的仪器、药品等不得随便移动。

(五) 仪器发生故障时，若自己不能修理，应立即报告教师；如有仪器损坏或丢失，应书面报请教师处理。

(六) 实验所用动物，由教师统一发给，未经教师同意，不得擅自取用。

(七) 实验完毕后，应进行实验室的清洁整理工作，将动物尸体放在指定的容器内，所有实验用器材收拾干净。

(八) 将实验中所记录到的实验结果，进行分析和讨论，并根据教师的要求写出实验报告。

三、生理实验控制动物的常用方法

(一) 动物的麻醉 一般均使用麻醉药使动物在实验或手术中保持安静和不挣扎，以保证实验或手术的顺利进行。麻醉药的种类众多，作用原理也不尽相同，应用时应根据动物的种类以及实验或手术的需要选择适当的麻醉药。现将生理实验中几种常用的麻醉药介绍如下：

1. 乙醚 (Aether)：用于吸入麻醉。麻醉深度容易控制，安全度大，并能有效地控制中枢神经系统，而对其他系统无不良作用，适用于一般实验动物，尤其是小动物（如猫、狗、兔、鼠等）。因乙醚对粘膜有强烈的刺激作用，会使呼吸道分泌大量粘液，所以在麻醉前最好先在皮下注射阿托品0.1~0.3毫克/千克体重。

2. 戊巴比妥钠 (Pentobarbitalum Natrium)：对实验动物有良好的麻醉效果。应用时，配成2~4%的水溶液，以每千克体重20~30毫克静脉注射。在注射时，前半剂量可用较快的速度注入，后半要缓慢，并随时观察麻醉深度。一般用于急性实验。

此药对体重超过100千克的猪应用时，其剂量不能超过20毫克/千克体重。

3. 硫喷妥钠 (Thiopentalum Natrium)：配成2.5%的溶液（大动物则配成5~10%）进行静脉注射。此药毒性不大，比较安全，对各种动物均可作基础麻醉。应用剂量狗与兔为20~30毫克/千克体重，猪15毫克/千克体重，羊20~25毫克/千克体重。

4. 乌拉坦 (Uretanum)：又称氨基甲酸乙酯。作用快而强，对呼吸中枢作用极弱，为小动物的一种常用安全麻醉药。静脉或腹腔注射，剂量为1.0~1.5克/千克体重。

5. 普鲁卡因 (Procainum)：或称奴佛卡因 (Novocainum)，在腹腔器官的慢性手术中，用2%的溶液作脊髓神经的传导麻醉。用作浸润麻醉时，则配成0.25~0.5%的溶液。

6. 水合氯醛 (Chloralum hydratum)：在猪可按每千克体重150~170毫克配成20%溶液注入耳静脉。也可直肠灌注，剂量为5~10克，应配成10%淀粉溶液使用。猫及家兔，则按每千克体重500毫克配成7%的溶液作皮下注射。

同种动物不同个体对麻醉药的耐受性和敏感性有着很大的差异，以上所述的各种动物各种麻醉药的用量是常规用量。在实际应用中必须注意个体的差异，以免造成动物在麻醉过程中死亡。麻醉的深浅可以从动物呼吸的速度、深度、角膜反射的有无、四肢和腹壁肌肉的紧张度以及皮肤对夹捏的反应进行判断。适合于进行实验和手术的麻醉深度应该是：呼吸深而平稳，角膜反射消失，运动反应消失，肌肉松弛。

(二) 蛙的制止运动法 蛙是动物生理实验中常用的实验动物，在实验过程中为了避免蛙的扰动，一般可用以下两种方法来制止蛙的运动。

1. 毁坏蛙的脑脊髓

(1) 用左手持蛙，将食指和中指挟住蛙的前肢，无名指和小指挟住其后肢，拇指压住

蛙头，使头下俯30°。先将蛙针垂直刺入枕骨大孔内少许，随后向上捣毁蛙脑，向下破坏脊髓。如破坏完全，则蛙全身瘫软不动。

(2) 用左手的拇指和食指挟住蛙的脊柱，用剪刀伸进蛙口（尽量靠近口角），将蛙头剪断，然后把蛙针插入椎管，以破坏脊髓。

2. 麻醉法

(1) 乙醚：将蛙罩在玻璃钟罩或烧杯内，内放用乙醚浸透的棉花。也可将蛙固定在蛙板上，用浸过乙醚的棉花，贴在它的鼻孔上进行麻醉。

(2) 水合氯醛：每克体重用0.5毫克作皮下注射。

四、急性和慢性实验时应注意的事项

(一) 急性实验时的注意事项

1. 实验前不要使动物缺水或长期饥饿，但也不能喂得过饱。

2. 动物的麻醉不要过深或过浅，更要防止动物因麻醉而死亡。

3. 防止和减少手术时出血，若遇出血应立即进行止血。若少量出血，可用温生理盐水纱布轻轻地擦几下即可止血；若出血过多则需用止血钳夹住然后用线结扎；若打开头骨时发生出血，可用融化的骨蜡涂抹在出血部位进行止血。

4. 在手术过程中特别要细心，分离组织时，应当用止血钳，切勿用尖锐的器具；如须切断时，应看清部位，一层层地进行，不可用刀任意切割，以免损伤血管而引起大出血。在寻找和分离神经时，要用小镊子和玻璃分针，并且不能用力拉扯，以免损伤神经。

5. 注意保温。动物处于麻醉情况下，体温往往下降，或者失去体温调节的能力，所以必须注意保温。

6. 做离体器官或组织实验时，各种离体组织必须浸泡于人工营养液中，或经常用人工营养液加以湿润。

7. 做活体解剖实验时，必须将动物牢固地固定于手术台上。中、小动物(狗、猫和兔)用特别的头夹将头固定，并用绳将四肢牢绑于手术台上。

(二) 慢性动物实验的注意事项

除了手术本身是否成功之外，术前动物的选择和准备，术后动物的护理则是关系到慢性实验能否成功的重要因素。

1. 术前对实验动物的选择和准备 作为慢性实验的实验动物必须选择健康的动物。为了解实验动物是否健康，必须对动物进行呼吸、脉搏和体温等方面的检查。在选择好实验动物后，还要根据实验手术性质、保定方法和手术所需时间的不同而作好手术动物的术前准备。如作消化道手术时，一般术前应禁食半天到一天（特别是在仰卧或横卧保定时）；反刍动物在术前应内服制酵药，同时胃肠减压（穿刺），此外必要时还可注射阿托品，它可阻断副交感神经的作用，减少唾液的分泌，以防止造成异物性肺炎。

2. 手术后对手术动物的护理

(1) 手术后必须按规定定时注射一定量的抗菌素。

(2) 全身麻醉的动物在未完全苏醒前，应有专人护理，以免摔伤。在吞咽尚未恢复之前禁止饮水或饲喂。

(3) 每天应上、下午各作一次体温检查，并观察其呼吸、精神状态、食欲、排粪状况。

(4) 补给容易消化而富含蛋白质和维生素的饲料。瘤胃手术后数天内不可饲喂大量或粗糙的饲料。

(5) 保持厩舍内的卫生，防止切口与墙壁或地面接触。

(6) 在蚊蝇孳生的季节，伤口周围应涂抹驱蝇油类。

(7) 对感染可能性大的手术则术前即应使用抗菌素。

(8) 若发现体温持续上升，则可能已经感染，应及时使用抗菌素等进行治疗。

(9) 对带有瘰管的动物要特别加以照顾，以免损伤手术部位和瘰管；对肠的体外吻合瘰管要经常用细的橡皮管进行疏通，以免堵塞，每星期至少通2~3次。

血液生理

实验一 血液的组成

【目的】 了解血液的组成，区别血浆、血清及纤维蛋白。

【原理】 血液由血浆和血细胞组成。加柠檬酸钠或草酸钾，使血液抗凝后，静置或经过离心，可将血细胞和血浆分离。上面无色（或淡黄色）透明的部分为血浆，下面红色部分为红细胞，在红细胞之上有一薄层灰白色部分为白细胞和血小板。若不加抗凝剂任其自然凝固或去纤维蛋白，就可区别血清、血块及纤维蛋白。

【材料及用具】 新鲜血、抗凝血、离心管、离心机、带有开叉橡皮管的玻棒、烧杯、试管架、试管、天平。

【方法及步骤】

1. 取抗凝血（1毫升血液加柠檬酸钠5毫克，或1毫升血液加草酸钾2毫克）10毫升（如抗凝血放置过久，还须将其充分摇匀），置于有刻度的离心管中。将离心管放入电动离心机中，以每分钟3000转的速度旋转20~30分钟，使血细胞完全沉于管底，然后取出离心管观察，其上层为血浆，底层为压紧的深红色的红细胞。血浆与红细胞之间有一薄层白细胞和血小板。

观察并记录血浆和血细胞颜色、透明度等特性。

2. 取刚刚采出未加抗凝剂的血液50毫升放在小烧杯中，以带有开叉橡皮管的玻棒或小木棒搅动数分钟后，可见到开叉的橡皮管上有许多丝状物缠绕，此即为纤维蛋白。用水冲洗后，观察其颜色及韧性。脱去纤维蛋白的血液则称去纤维蛋白血液或脱纤血。

3. 取“去纤维蛋白血液”10毫升，依1法离心后，上层为血清，下层为血细胞。观察其颜色及透明度（注意：此时血清如带红色，乃系部分红细胞破坏，放出血红蛋白之故）。

4. 取新鲜血10毫升，静置数分钟，则见有凝固现象发生，凝块称血块。血块回缩，挤出的液体为血清。

【注意事项】 使用离心机时，应用天平称量使离心机旋转轴两侧相应的两个套筒及其内容物的总重量相等。开动离心机应由慢而快，使转速逐渐达到3000转/分，停止时应由快而慢逐渐停止。

【思考题】

1. 血液由哪几部分组成？
2. 什么叫做血浆、血清？它们的主要区别是什么？

实验二 红细胞比容的测定

【目的】 了解红细胞比容及其测定方法。

【原理】 将抗凝血放在特制有刻度的玻璃管(温氏分血管)中，经过离心沉淀，使血细胞与血浆分离。红细胞下沉，彼此压紧而又不改变每个血细胞的正常形态。根据玻璃管刻度的读数，可以计算出红细胞在全血中所占的容积百分比——即红细胞比容。

【材料及用具】 温氏分血管(图1)、长颈滴管、5毫升试管、草酸钾、草酸铵、离心机、动物(羊或兔)、注射器、针头、天平。

【方法及步骤】

1. 草酸盐抗凝剂的配制：草酸钾0.8克加草酸铵1.2克，再以蒸馏水加至100毫升。每1毫升血液可用0.1毫升上述溶液。将混合草酸盐抗凝剂溶液加入试管或温氏分血管内，置于60~80℃烘箱内烘干备用。

2. 采血：先消毒注射用具和采血部位。羊自颈静脉采血，如用兔血，可直接由心脏采血。采血2毫升后拔出针头，立即将血液缓缓注入有抗凝剂的试管中，用拇指堵住管口，倒转试管两、三次，使血液与抗凝剂混合。

用长颈滴管吸取试管内的抗凝血，然后将滴管插入温氏分血管的底部，缓缓地将滴管内的血液注入分血管内(不得有气泡)，使血液正确地装到刻度10厘米处。

3. 离心：将温氏分血管放入离心机中，以每分钟3000转的速度离心30分钟。取出分血管，观察红细胞所占的容积并记录其数值(不包括白细胞和血小板沉积所形成的灰白色薄层)。然后以3000转/分速度离心5分钟，如红细胞的容积与上次记录相同，表明红细胞已被压紧，读数即为红细胞的比容(如读数为4.0厘米，即表示100毫升血液中，红细胞容积占40毫升)。

【注意事项】

1. 在离心后，如红细胞表面是斜面，则应静置数分钟，待红细胞表面平坦后读取数值，或取倾斜部分的平均值。
2. 在操作过程中应防止水分的蒸发，故试管或分血管应加堵塞。
3. 为防止溶血或水分蒸发，操作过程应在采血后2小时内完毕。



图1 温氏分血管

实验三 红细胞计数

【目的】 了解红细胞计数的原理并掌握计数的方法。

【原理】 用红细胞吸管或血红蛋白吸管吸取一定量的血液，以稀释液稀释一定的倍数（100倍或200倍），再将稀释的血液置于计数室中，在显微镜下计算一定容积的稀释血中的红细胞数，再将所得到的结果以公式换算成一立方毫米血中的红细胞数。

【材料及用具】 血球计算器（血球计）、显微镜、采血针、酒精棉球、95%酒精、75%酒精、生理盐水、蒸馏水、乙醚、1%氨水。

【血球计的组成及其构造原理】

1. 血球计的组成：血球计由红细胞吸管、白细胞吸管及血球计数板三部分组成（图2）。

2. 红白细胞吸管的构造：红白细胞吸管为一种特制的吸管。前端为毛细吸管部分，中间为膨大部，末端为细管部。在吸管的毛细吸管部，红白细胞均有0.5和1两个刻度。在膨大部上端即细管部，红细胞吸管刻有101而白细胞吸管则为11，刻度表示吸管各段的容积比例。在使用红细胞吸管时，如先吸取血液至刻度0.5，再吸稀释液至101刻度，则血液被稀释200倍；如先吸血至刻度1，再吸稀释液至101时，则血液被稀释100倍。在使用白细胞吸管时，如先吸血液至0.5刻度，再吸稀释液至刻度11时，则血液被稀释20倍；如先吸血至刻度1，再吸稀释液至11时，则血液被稀释10倍。吸管的膨大部分内有一个小玻璃球，可供血液稀释时搅拌之用。

3. 计数板的构造：计数板为一块特制的长方形厚玻璃板，中间有四条平行槽沟，在中间的两条槽沟之间，有一条横槽沟，使其构成长方形的平台。平台比整个玻璃板的平面低0.1毫米，所以当搁上一块盖玻片后，平台与盖玻片之间距离（即高度）为0.1毫米。两平台中心部分各有一个计数室（图3计数板构造）。

4. 计数室的构造：计数室为每边3毫米长的方格，将其三等分为9个大方格（每个大方格的面积为1平方毫米，其体积为0.1立方毫米），四角的大方格又各分为16个中方格，适用于白细胞计数。中央的大方格（红细胞计数用）又分成25个中方格（中方格之间用双线加以区分），每个中方格又分为16个小方格。这样一个大方格又被分成面积相等的400个小方格（图2计数室的构造）。

5. 红、白细胞吸管及计数板的洗涤方法

（1）吸管的洗涤方法：应严格按照下列顺序进行洗涤。先用蒸馏水洗三遍，然后用95%酒精洗两次以除去管内的水分，最后用乙醚洗1~2次。经过以上顺序洗涤后若吸管内的玻璃球可自由转动，管壁上无污垢则可认为吸管是清洁的，否则将重新洗涤。每次排除管内洗涤液时不要用嘴吹（防止水气进入吸管内），可把胶皮管折叠起来，挤压数次，便可驱尽。如吸管内有血迹时，应先用1%氨水洗涤数次，等血液溶解后，再按上法洗涤干净。

（2）计数板的洗涤方法：计数板只能用自来水清洗几遍，再用蒸馏水冲洗，然后用绢轻轻拭净，切不可用酒精和乙醚洗涤。

【红细胞稀释液的配制】 红细胞稀释液的配方种类很多，目前常用的有下列三种：

1. 0.9% NaCl溶液（即生理盐水）
2. 3% NaCl溶液

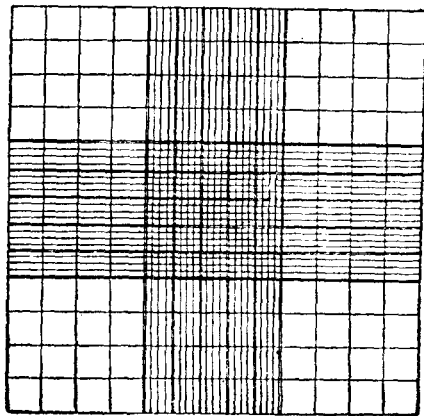
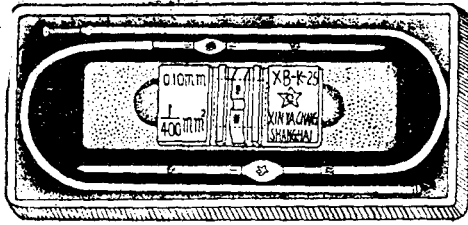


图2 血细胞计数器及计数室的构造
 上图 血细胞计数器（红、白细胞吸管、计数板）
 下图 计数室的构造

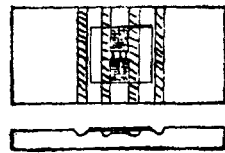
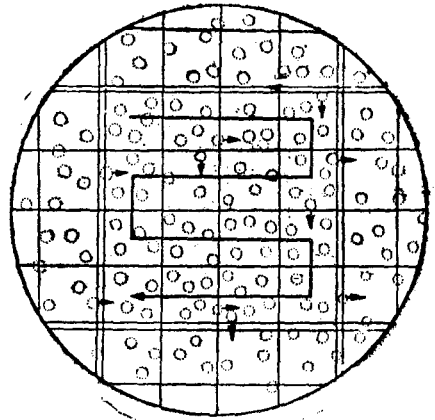


图3 上：红细胞计数顺序及压线细胞计数法
 下：血细胞计数板（正面和侧面观）

3. 亨氏液 (Hayem氏液)

异汞	0.5g(克)	硫酸钠	5g(克)
NaCl	1.0g(克)	蒸馏水	200ml(毫升)

【实验方法及步骤】

1. 吸血及血液的稀释：吸血及血液的稀释均在红细胞吸管中进行，所以在吸血前首先检查红细胞吸管是否清洁，若不清洁则应按上述方法重新洗涤。吸血和稀释过程如下：以75%的酒精棉球消毒动物的采血部位，待其干燥后，用消毒后的采血针刺破皮肤，使血液流出，第一滴血用干棉球拭去不要，当第二滴血积聚较多时，迅速以红细胞吸管插入血液深部，吸血至刻度0.5处，当吸血超过0.5时，可继续吸血至刻度1.0。如果血液稍超过刻度时，可用手指轻触试管口，慢慢移动，可以吸出一些血以达到要求的刻度（若吸血超过刻度过多或有气泡均应重做）。用干棉球擦去吸管外面的血液，立即吸取红细胞稀释液至刻度101处，然后用手指按住吸管的上下端，轻轻摇动吸血管，使血液与稀释液充分混合均匀。至此即可等待作红细胞计数用。

2. 推片及充液：在推片和充液前，应先在显微镜下检查计数板和盖玻片是否清洁，如不清洁，应清洗干净后再进行推片。所谓推片就是指用食指将厚盖玻片固定在计数板的正中计数室部分的边缘，然后用大拇指将其缓缓地推进，使盖玻片牢固地贴在计数室两侧的槽上，若将计数板倒过来时，盖玻片不往下掉，这表示推片合格，否则要重推。

充液：将稀释好的血液摇匀后先弃去前1~2滴，然后用半滴放于计数室与盖玻片交界

处，溶液则可通过毛细管自动地渗入计数室内即完成了充池的工作。在充池过程中，滴入的溶液不可过多，若过多则可因盖玻片浮起，体积不准而影响计数结果。但溶液亦不可过少，过少可因充液不足，经多次充液，易造成气泡而影响计数结果。遇到上述两种情况，均应洗净计数室，干燥后重新充液。

3. 计数：血液的稀释液经充液而进入计数室，须静置2~3分钟后在低倍镜下，数中央大方格中四角的四个中方格和中央的一个中方格（共数五个中方格）的红细胞总数。计数时应循一定的路径，以免遗漏或重复。对横跨刻度上（即压线）的红细胞，依照“数上不数下，数左不数右”的原则进行计数（图3红细胞计数的方式）。

4. 计算：计数之后的结果可按下列公式进行计算： $x = \frac{N}{80} \times 400 \times 10 \times \text{稀释倍数}$

x = 1立方毫米容积内的红细胞数

N = 80小方格内的红细胞总数

400 = 一个大方格中的小方格总数

10 = 计数室的高度

稀释倍数 = 200（吸血至刻度0.5时）或100（吸血至刻度1时）

以上公式可简化成 $x = 10000 \times N$ 或 $5000 \times N$

【注意事项】

1. 采血部位彻底剪毛后，涂一薄层凡士林可以使血液成滴，便于吸血。吸血时将吸管下端开口放于血滴中部，尽量利用毛细现象使血液自动进入吸管。

2. 各中方格之间的红细胞数相差超过15个时，表示红细胞分布很不均匀，应重做。

3. 吸血管、盖玻片及计数板等用过之后应按照规定的方法，必须立即洗涤干净。

【禽类红细胞计数法】 禽类红细胞计数方法、原理、用具、稀释液及结果的计算与哺乳动物的完全相同。

附：红细胞计数的试管法：临床上常用测定血红蛋白的吸管吸取20立方毫米的血液，再加入到事先盛有4毫升红细胞稀释液的试管内，使血液稀释201倍（但仍按稀释200倍计算，虽有0.5%的误差，但影响不大），并混匀，计数时用玻璃棒或滴管取出1小滴放在计数室内计数。计数和计算方法与常规法同。这种方法可以节省洗涤吸管的时间，但在充液之前必须充分地混合均匀，否则将影响结果。

实验四 白细胞计数

【目的】 了解白细胞计数的原理，并掌握其计数的方法。

【原理】 用白细胞吸管吸取一定量的血液，以白细胞稀释液加以稀释一定的倍数（10或20倍），将稀释过的血液置于血球计数室中，计数一定容积血液中的白细胞数，将所得的结果换算成每一立方毫米血液中的白细胞数。

【材料及用具】 除增加白细胞稀释液外，其他同红细胞计数。

【方法及步骤】

1. 采血前吸管的检查和洗涤方法与红细胞计数时相同。

2. 吸血和稀释时用白细胞吸管，稀释液用白细胞稀释液。吸血和稀释的方法与红细胞

计数时相同（白细胞吸管的构造前面已作介绍）。

3. 白细胞稀释液的配制：白细胞稀释液常用的有两种：（1）3%醋酸；（2）特克氏液（冰醋酸1毫升和1%龙胆紫1毫升加入到100毫升蒸馏水中配制而成）。醋酸可破坏红细胞，而龙胆紫可使白细胞着色而易于计数。

4. 推片和充液的方法与红细胞计数时相同。

5. 计数：在低倍镜下计数计数室四角4个大方格的所有白细胞数。

6. 计算： $x = \frac{w}{4} \times 10 \times \text{稀释倍数}$

$w = 4$ 个大方格里的白细胞总数

10 = 计数室高度

稀释倍数 = 20或10

以上公式可简化为 $x = 50 \times w$ 或 $25 \times w$

【禽类白细胞计数法】 因禽类的红细胞有细胞核，所以不能用哺乳动物白细胞稀释液来稀释禽类的血液进行白细胞计数。

1. 禽类的白细胞稀释液分甲、乙两种

甲液：中性红25克和NaCl0.9克加蒸馏水至100毫升。

乙液：结晶紫12毫克、柠檬酸钠3.8克和福尔马林0.8毫升加蒸馏水至100毫升。

两种稀释液配好后分别保存，临用前分别过滤。

2. 吸血及血液的稀释：在吸血前先分别将甲、乙两液加温至 $41^{\circ} \sim 42^{\circ} \text{C}$ 之间，并经常保持在这一温度。用红细胞吸管进行吸血和稀释。其吸血和稀释过程如下：由翼下臂静脉采血，用红细胞吸管吸血至刻度1处，然后吸甲液到总容量的一半处，再吸乙液至刻度101处，振荡血球吸管3分钟左右，即可进行计数。

3. 计数：推片和充液方法与哺乳动物的一样。计数四个大方格的所有白细胞数（因红白细胞同时存在，计数要根据形态和着色来区别红白细胞。白细胞呈圆形，并被染成兰紫色）。

4. 计算公式： $x = \frac{w}{4} \times 10 \times 100 = 250 \times w$

$x = 1$ 立方毫米白细胞数

$w = 4$ 个大方格白细胞的总数

100 = 稀释倍数

【附：白细胞计数的试管法】 用血红蛋白吸管吸血20立方毫米，加入事先装有0.38毫升白细胞稀释液的试管中，充分摇匀即可计数。此时的血液被稀释20倍。注意这种方法只适用于哺乳动物的白细胞计数。计数和计算的方法和常规法相同。

实验五 血红蛋白的测定

【目的】 学会用比色法测定血红蛋白含量的方法并掌握其原理。

【原理】 加少量稀盐酸溶液于定量的血液中，使血红蛋白的亚铁血红素部分转变为高铁血红素。后者使溶液呈现较为稳定的棕黄色，用水稀释后与标准色比较，求出每100毫升血

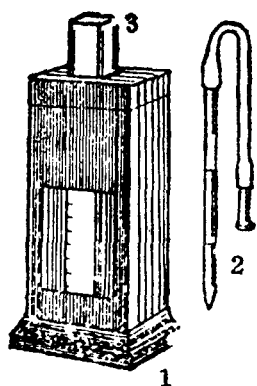


图4 血红蛋白计

1. 比色箱 2. 血红蛋白吸管
3. 测定管

液中所含的血红蛋白克数。

【材料及用具】 血红蛋白计(图4)、采血针、0.1mol/L盐酸、蒸馏水等。血红蛋白计包括：血红蛋白吸血管、比色箱、测定管、玻璃棒和滴管。

【方法及步骤】

1. 将0.1mol/L盐酸加入测定管至刻度“2”或“10%”处。并将测定管放入比色箱中。

2. 按常规要求采血，然后用血红蛋白吸管吸血至刻度20立方毫米处；用干棉球揩净吸管周围血液，再将吸管插入装有0.1mol/L盐酸的测定管底部，徐徐的将血液吹入盐酸之中，再反复吸吹几次吸管，使吸管壁中的血液全部洗入测定管之中。在吹吸时要防止产生气泡。用玻璃棒将血液与盐酸混合，静放10分钟左右即可进行比色。

3. 比色：用蒸馏水逐滴加入以上测定管中，每次加入蒸馏水后都要用玻璃棒搅拌或摇匀；再插入比色箱中进行比色。这样测定管中的颜色逐渐变淡，直至与比色箱中的标准比色板相同为止。

4. 读数：经比色后，取出测定管，读出其中液体凹面的刻度。测定管两面均有刻度，一面为表示克数的绝对值，如液体凹面在刻度15处则表示100毫升血中含有15克血红蛋白，其另一面的刻度则表示百分率，它与克数之间的关系，因血红蛋白计的形式不一，一定要参照说明书进行换算。例如国产的沙里氏(Sahli氏)型血红蛋白计通常100%相当于14.5克，实际应用时很少用百分率，一般都要求绝对值。

5. 仪器的洗涤：血红蛋白吸管的清洗方法与红、白细胞吸管洗涤方法相同。测定管应先用自来水洗2~3遍，再用蒸馏水洗两遍晾干即可。

【注意事项】

1. 往测定管内吹血时，应将细管插入测定管底部，缓慢吹出血液，当血液快吹完时应边吹边将管子上提而逐渐离开液面，这样可防止出现气泡。

2. 血液和盐酸的作用时间不得少于10分钟，否则影响结果。

3. 加蒸馏水时，开始可以稍多加几滴，随后则不能过快，以防稀释过头。

4. 比色应在自然光下或日光灯下进行，而不要在黄色灯光下进行。

【思考题】 红细胞数和血红蛋白含量之间存在着什么关系？

附：这种测定方法也适合于禽类的血红蛋白含量的测定。

实验六 红细胞沉降率(血沉)的测定

【目的】 掌握红细胞沉降率的测定方法。

【原理】 用血沉管吸取一定量的抗凝血，垂直放置于血沉架上，观察单位时间内红细胞下沉的距离，即为红细胞沉降率。

【材料及用具】 血沉管和血沉架(图5)、3.8%柠檬酸钠溶液、采血针、注射器等。

【方法及步骤】

1. 抗凝血的准备：大动物可通过颈静脉采血，小动物可心脏采血。将采出的血液与3.8%柠檬酸钠溶液以4:1的比例进行混合。此抗凝血就可做血沉实验。

2. 用血沉管将以上抗凝血吸至刻度“0”处，然后将其垂直固定于血沉架上，分别在15分钟、30分钟、45分钟、1小时、2小时，检查血沉上部血浆的高度，以毫米表示之。在实际工作中，每次读数的时间间隔可根据需要来定。此外也可用预先加好一定比例抗凝剂的注射器采血，并用注射器直接将血液注入血沉管内，这种方法既省血又不易起泡。特别是对小动物最好采用这种方法。以上方法亦适用禽类血沉的测定。

【注意事项】

1. 在吸血之前，必须将血液充分摇匀，且血沉管内不得出现气泡。
2. 血沉管必须垂直地固定在血沉架上，不能稍有倾斜。
3. 血沉管必须是清洁的。
4. 吸血时切勿将血液吸入口中。

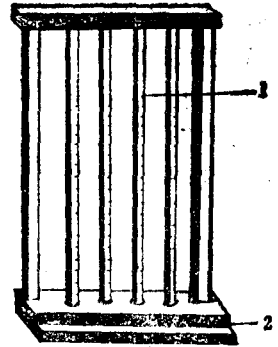


图5 测定红细胞沉降率的装置
1. 血沉管 2. 血沉台(架)

实验七 各种理化因素对血液凝固的影响

【目的】 了解血液凝固的基本过程及影响血凝的各种理化因素。

【原理】 血液凝固是一种极为复杂的生物化学反应过程。它的本质是血浆中可溶性的纤维蛋白原在一系列凝血因子的作用下转变为不溶性的纤维蛋白的过程。血液中加入或除去某些物质或造成不同情况，使血液的成分发生改变，都将影响血液凝固。

【材料及用具】 试管、试管架、吸管、秒表、3.8%柠檬酸钠、新鲜血、1%氯化钙、5%草酸钾、烧杯、酒精灯、肝素、液体石蜡、冰瓶、温度计、带有开叉橡皮管的玻棒等。

【方法及步骤】

(一) 影响血凝的物理因素

1. 取试管(或表面皿)3支，一支管内加少量棉花，一支管内壁涂少许液体石蜡，一支对照。

2. 将以上三管分别加入新鲜血液2毫升，每30秒轻轻地倾斜试管一次，分别记录三管的凝血时间。为什么三管的凝血时间不同?

(二) 温度对血凝的影响 取试管两支，分别加入新鲜血液2毫升。一管置于常温或37℃水浴中，一管放在低温或冰箱内，比较两管凝血时间。为什么不同?

(三) 钙离子对血凝的影响

1. 取试管3支，一支放入3.8%柠檬酸钠3滴，一支加入5%草酸钾3滴，一支对照。然后，再向各管分别加入1毫升新鲜血液，混合后观察血凝情况，记录之。

2. 在加入柠檬酸钠和草酸钾的试管中分别再加1%CaCl₂1~2滴，结果如何?为什么?

(四) 肝素的作用 取一支试管放肝素8单位，再加入新鲜血液1毫升，摇匀后，观察