

基础生物

实验技术

陈永富 主编

JI CHU SHENG WU SHI YAN JI SHU

哈尔滨工程大学出版社

基础生物

实验技术

陈永富 主编

JI CHU SHENG WU SHI YAN JI SHU

哈尔滨工程大学出版社

内 容 简 介

本书配合《基础生物学》、《微生物学》、《遗传学》、《细胞生物学》等理论课开设,内容四个板块:基本技能实验、综合设计实验、研究创新型实验、基本实验技能的测试与实验设计及实施能力的测评,共三十七个实验项目。以基础生物实验技术中的基本操作、基本技能和基本理论为基础,精选、重组验证性实验,增加综合性实验。可作为生物技术、生物工程类专业的实验教材。

图书在版编目(CIP)数据

基础生物实验技术/陈永富主编.—哈尔滨:哈尔滨工程大学出版社,2009.2

ISBN 978-7-81133-349-7

I. 基… II. 陈… III. 生物学-实验技术-高等学校-教材 IV.Q-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2009)第 018938 号

出版发行 哈尔滨工程大学出版社
社 址 哈尔滨市南岗区东大直街 124 号
邮政编码 150001
发行电话 0451-82519328
传 真 0451-82519699
经 销 新华书店
印 刷 四川西南建筑印务有限公司
开 本 880mm × 1 230mm 1/32
印 张 6
字 数 150 千字
版 次 2009 年 3 月第 1 版
印 次 2009 年 3 月第 1 次印刷
定 价 15.00 元

<http://press.hrbeu.edu.cn>

E-mail:heupress@hrbeu.edu.cn

序

001

近年来,随着生命科学的迅猛发展和教育改革的不断深入,浙江万里学院的基础生物实验教学改革也在不断进行着。构建基础生物实验技术的课程项目体系、改革实验教学模式及建立科学合理的实验考评考核方式是应用型人才培养的必要措施。本实验指导书根据浙江省实验示范中心《生物与环境基础课实验教学中心》课程改革要求,结合近几年的实践教学经验,编写了这本《基础生物实验技术》。

《基础生物实验技术》配合《基础生物学》、《微生物学》、《遗传学》、《细胞生物学》等理论课开设,达到理论与实践相结合的效果。该书内容分为四部分:基本技能实验、综合设计实验、研究创新型实验、基本实验技能的测试与实验设计及实施能力的测评,共三十七个实验项目。以基础生物实验技术中的基本操作、基本技能和基本理论为基础,培养学生的专业素质、创新意识和实践能力。在实验内容上,精选、重组验证性实验,增加综合性实验。突出实验基础性,与后续课程的实验内容相对错开,避免重复。总之,我们拟建立一个与理论课互为补充、遥相呼应实验项目体系,在培养学生动手能力的同时,理论联系实际,培养学生的独立思考能力、综合分析能力和创新能力,全面提高学生的



综合素质。

本书特色：规范操作技能，优化实验项目，强化动手能力，操作性和实用性强；实验所用材料方便易得，方法易行，操作过程交代详尽，并附有实验研讨。

本教材适合于生物技术与生物工程专业学生使用。

本教材由陈永富、陈吉刚、王忠华、贾永红等老师编写，由陈永富老师统稿。教材编写过程中得到了学院教学院长朱秋华老师、系主任尹尚军老师的热忱关怀与帮助，对全书的结构与书稿的编撰给予了具体的指导。在此，表示由衷的感谢。

本书作为本科基础实验教材，我们力求使之具备完整性、系统性、实用性、可操作性，以满足基础生物实验技术的教学需要。但是，限于我们的学识和水平，本实验指导一定还会存在许多不足和不当之处，敬请各位老师与同学提出宝贵意见。谢谢！

编 者

2008年8月

目 录

MULU

第一章 前 言	001
一、《基础生物实验技术》教学目的和意义	001
二、《基础生物实验技术》的基本要求	002
三、《基础生物实验技术》内容体系	002
四、《基础生物实验技术》研讨课教学安排	003 001
五、《基础生物实验技术》考核考评方式	005
六、实验室规则、安全守则和急救常识	005
第二章 基本技能实验	007
实验一 培养基的配制	007
实验二 高压蒸汽灭菌及玻璃器皿的洗涤、包扎及灭菌	011
实验三 细菌的接种技术	018
实验四 细菌形态的观察	020
实验五 细菌单染色法及口腔微生物的观察	022
实验六 细菌的革兰氏染色	024
实验七 细菌鞭毛染色及其运动的观察	026
实验八 细菌芽孢、荚膜的染色及观察	028
实验九 放线菌的形态观察	031
实验十 细菌大小的测定	034
实验十一 微生物数量的测定	037
实验十二 微生物的生理生化反应	048
实验十三 厌氧微生物的培养	058



实验十四 显微镜的结构、使用和保养与细胞形态观察	064
实验十五 生物绘图	073
实验十六 细胞生物学活性检测与成分提取	075
实验十七 动植物组织的形态结构观察	081
实验十八 血细胞的数量测定与血型鉴定	088
实验十九 被子植物根的结构与发育	092
实验二十 被子植物茎的结构与发育	097
实验二十一 植物组织水势的测定 (小液流法)	102
实验二十二 植物染色体组型分析	103
实验二十三 植物多倍体的诱发及细胞学鉴定	106
第三章 综合设计实验	109
实验二十四 叶的系列实验	109
实验二十五 原生动物系列实验	117
实验二十六 蛙的系列实验	123
实验二十七 植物群落特征调查	139
第四章 研究创新型实验	148
实验二十八 水中细菌学检查	148
实验二十九 实验室环境和人体表面微生物的检查	157
实验三十 微生物菌种保藏	162
实验三十一 微生物的诱变育种	167
实验三十二 乳酸发酵与乳酸菌饮料	170
实验三十三 酒精发酵及糯米甜酒的酿制	174
实验三十四 双歧杆菌酸口服液的发酵制备	176
实验三十五 果蝇形态特征、生物习性研究和果蝇唾腺染色 体观察	179
第五章 基本实验技能的测试与实验设计及实施能力的测评	184
实验三十六 基本实验技能的检测	184
实验三十七 实验设计及实施能力的测评	187

第一章 前言

一、《基础生物实验技术》教学目的和意义

001

《基础生物实验技术》是生物技术、生物专业等专业学生的必修专业基础课程。它是一门与生命科学密切相关的综合性基础实验课，其内容丰富，包括生物学、微生物学、细胞生物学、遗传学等内容。

《基础生物实验技术》课程配合相关理论课同时开设，达到理论与实践相结合的效果。在增强学生动手能力的同时，也使学生达到对生物界基本结构、功能有一个整体的了解，也为学生学习其他相关课程作好基础准备。在实验教学中，提高学生学习兴趣。

本课程以培养学生的生物学能力，提高学生的生物学素养为总目标。通过本课程的学习，达到以下具体目标。

1. 了解《基础生物实验技术》的性质、地位、价值、研究范围、研究方法、学科进展和发展方向。

2. 验证理论知识，把理论知识应用到对实际材料的观察中，并加深和巩固所学的理论知识，开发学生的智力，启发学生的学习兴趣。

3. 掌握一定的基础生物实验技术和研究的基本技术和技能。培养学生独立工作能力，培养学生严肃认真的科学态度与实事求是的工作作风。



4. 学会运用基本理论及其基本原理去解决实际问题。培养学生独立思考及唯物辩证的思想方法。初步形成对生物科学领域的整体认识,培养学生的创新意识和实践能力。

二、《基础生物实验技术》的基本要求

1. 上实验课前必须预习相关内容,并上网站进行预习检测,明确实验目的、实验内容和操作步骤。做好相关内容的理论知识储备,并把由个人准备的物品带到实验室。

2. 必须提前 5 分钟进入实验室,做好实验前的准备工作。

3. 认真听指导教师在实验前对实验操作重难点的讲解,并明确本次实验的具体要求。

4. 实验时,根据实验指导认真操作、仔细观察、分析比较、记录与绘图。遇到困难时,应积极思考、分析原因,自己排除障碍,实在解决不了时,再请指导教师帮助。

5. 实验结果要及时、准确地用文字、图、表等记载在实验记录本上,按时交实验报告。实验报告应书写规范,要简明扼要、条理清楚。实验报告是记录学生在实验中观察到的内容和对观察的解释,不可照抄实验指导和教材中的内容。

6. 必须严格遵守实验室规则。

三、《基础生物实验技术》内容体系

1. 原核生物

微生物的形态、结构、培养特性、生产实际中的应用。

2. 菌物

真菌、酵母的形态、结构、培养特性、生产实际中的应用。

3. 植物

植物细胞的形态结构、细胞器的提取。

4. 动物

动物细胞的形态结构、细胞的特性、组织的构成。

四、《基础生物实验技术》研讨课教学安排

(一) 分组原则

1. 以一个自然班为分组基本单位, 在原来的实验分组的基础上 (每组 2~3 人), 将 3~4 组组成一个实验课讨论小组。

2. 每一实验课讨论小组由指导老师指定一名有责任心的同学担任该研讨小组组长。研讨小组组长的职责是确定讨论时间和讨论地点; 研讨活动中的具体任务分解与分配; 主持每次活动的发言; 收集每个实验小组所提交的书面材料。

3. 每个实验小组组长负责收集整理自己小组的实验经过、操作体会以及对实验结果的分析, 并形成书面材料; 并代表本小组在课堂上发言。

4. 记录员负责小组讨论时的记录工作; 每份讨论记录中要包括时间、地点、主持人、参加人员、记录员、所讨论主题和各级的研讨材料。

5. 一般组员必须服从组长讨论课的任务安排, 不得拒绝; 准时参加所在研讨小组的研讨活动; 协助组长做好发言报告。

(二) 小组研讨活动的基本规则

1. 研讨活动应符合专业的基本范畴; 也可从多角度、多学科交叉对实验原理、基本操作、实验结果进行分析。

2. 小组成员应就所讨论实验问题、现象, 从不同层面、不同角度展开全面深入的讨论;

3. 每位小组成员均应参与讨论, 发表自己的意见。

(三) 分组研讨活动流程及相关要求

1. 每个实验后, 都有相应的研讨主题, 也可由学生自己提出相关的研讨内容。

2. 由实验指导教师就所带的实验拟订若干备选研讨主题, 再提交课程改革小组集体讨论确定。



3. 主题选择主要涉及实验内容中的一些重要原理、操作难点、对实验结果的分析探讨以及与别的学科交叉知识。

(四) 研讨任务的分配

指导教师向各实验研讨小组分配任务, 由研讨小组组长组织实施, 敦促每个实验小组完成讨论内容的准备。

(五) 研讨资料的收集

1. 在指导教师指导下, 各分组就研讨主题开展资料收集工作; 将所收集的资料电子文稿或纸质资料交于指导老师。

2. 每一组员应认真阅读并归纳总结所收集的资料。

(六) 研讨活动相关资料的汇集、整理与上交

1. 由组长负责在实验研讨活动结束后, 将有关的书面资料与电子文稿按要求加以汇集整理, 并形成《实验研讨课书面材料汇编》, 在规定时间内及时上交给指导老师。

2. 材料汇编包括封面与目录, 分组研讨记录表; 每个实验小组的讨论资料, 包括: 手写资料、收集的资料(电子或纸质文稿), 研讨实验小组评分表, 每个研讨小组整体评分表。

(七) 实验研讨小组评分内容

1. 资料清单

从资料数量、质量、格式规范等几个方面进行考核, 占实验研讨成绩的 10%。

2. 研讨主题

从研讨主题所涉相关资料及其他组员观点的归纳概括是否全面、分析是否详实, 最终结论是否明确、论证是否充分, 格式是否规范等方面进行考核, 占实验研讨成绩的 30%。

3. 实验结果分析

从实验结果是否正确, 对实验分析是否有理有据, 能否运用自学的新的知识进行探讨等方面进行考核, 占实验研讨成绩的 30%。

4. 研讨现场评分

从语言是否清晰流畅, 观点是否明确、分析是否合理, 答问是否敏捷、多学科知识是否丰富等几方面进行考核, 占实验研讨

成绩的 20%。

5. 书面材料汇编

从制作是否清晰、填写是否完整,汇编材料是否齐全,提交是否及时等几方面进行考核,占实验研讨成绩的10%。

五、《基础生物实验技术》考核考评方式

1. 实验预习与设计

实验网站预习,通过预习测评。

2. 实验报告

上交每次实验报告,重点考核实验附录中的思考题。

3. 实验操作考试

每个实验确定知识点与技能点,明确测评内容和要求,考试 005
时由学生抽取 1 个考题,当场操作完成,当场评定打分。

4. 实验原理理论考试

针对每个实验原理进行理论考试。

5. 平时操作与出勤等

由教师巡回指导实验、监测学生操作,根据学生的准备、实验后的清理、结果分析等给予相应的成绩。

6. 实验总成绩构成

实验研讨成绩 (20%)、实验预习与设计 (20%)、实验报告 (10%)、实验操作考试 (20%)、实验原理理论考试 (20%)、平时表现与出勤等 (10%)。

六、实验室规则、安全守则和急救常识

(一) 实验室规则和安全守则

1. 学生应遵守学习纪律,按时进入实验室,不迟到,不早退;实验时保持安静。不得进行与实验无关的活动。

2. 按号使用显微镜和解剖镜。使用前要检查,使用后要擦拭

整理,并作好使用登记,妥善保管。如发现损坏或发生故障要及时报告指导教师。

3. 爱护仪器和标本,节约药品和水电。损坏物品时应主动向教师报告,并及时登记。

4. 易燃、易爆物质的操作要远离明火;有毒、有刺激性的气体的操作要在通风柜内进行;小心使用酒精灯和电炉等,注意安全。

5. 不允许随意混合各种化学药品,以免发生意外事故。

6. 有毒废液要回收到指定的废液筒中,严禁倒入水池。

7. 实验室内严禁饮食、严禁吸烟或带进餐具。

8. 实验室所有药品、实验用品、材料仪器、实验动物等均不得携带出室外。

9. 保持实验室的整洁。不准随地吐痰和乱丢纸屑、杂物。书包和衣物应放指定地点。每次实验用的一切工具,在使用前应核对清楚;实验后清洗干净,查点清楚,原样放回。实验结束后,小组长督促清洁整理好实验桌面、收回实验凳、上交领用物品,并由学生轮流打扫实验室。

10. 最后离开实验室的人要负责管好门窗水电及锁门。

(二) 实验室急救常识

1. 实验室一旦发生火灾,切不可惊慌,应保持镇静。首先立即切断室内一切火源和电源,然后根据具体情况积极正确地进行抢救和灭火。

2. 如果有人触电时应立即关闭电源或用绝缘的木棍、竹竿等使被害者与电源脱离接触。急救者必须采取防止触电的安全措施,不可用手直接接触受害者。

3. 受玻璃割伤及其他机械损伤时,首先检查伤口内有无玻璃或金属碎片,然后用硼酸水洗净,再涂擦碘酒或红汞水,必要时用纱布包扎。若伤口较大或过深而大量出血,应迅速在伤口上部和下部扎紧血管止血,立即到医院诊治。

4. 强酸和强碱引起的烧伤,先用大量自来水冲洗,再用5%硼酸溶液或2%乙酸溶液涂洗。

第二章 基本技能实验

007

实验一 培养基的配制

一、目的要求

掌握培养基的配制与灭菌方法，为后续实验打下基础。

二、原理

培养基是供微生物生长、繁殖、代谢的混合养料。由于微生物具有不同的营养类型，对营养物质的要求也各不相同，加之实验和研究的目的不同，所以培养基的种类很多，使用的原料也各有差异，但从营养角度分析，培养基中一般含有微生物所必需的碳源、氮源、无机盐、生长素以及水分等。另外，培养基还应具有适宜的 pH 值、一定的缓冲能力、一定的氧化还原电位及合适的渗透压。

琼脂是从石花菜等海藻中提取的胶体物质，是应用最广的凝固剂。加琼脂制成的培养基在 98~100℃ 下融化，于 45℃ 以下凝固。但多次反复融化，其凝固性降低。

任何一种培养基一经制成就应及时彻底灭菌，以备纯培养用。一般培养基的灭菌采用高压蒸汽灭菌。



三、材料

(一) 器皿及材料

天平、称量纸、牛角匙、精密 pH 试纸、量筒、刻度搪瓷杯、试管、三角瓶、漏斗、分装架、移液管及移液管筒、培养皿及培养皿盒、玻璃棒、烧杯、试管架、铁丝筐、剪刀、酒精灯、棉花、线绳、牛皮纸或报纸、纱布、乳胶管、电炉、灭菌锅、干燥箱。

(二) 药品试剂

蛋白胨、牛肉膏、NaCl、 K_2HPO_4 、琼脂、 $NaNO_3$ 、KCl、 $MgSO_4$ 、 $FeSO_4$ 、蔗糖、麦芽糖、木糖、葡萄糖、半乳糖、乳糖、土豆汁、豆芽汁、磷酸铵、5%NaOH 溶液、5%HCl 溶液。

四、流程

称药品→溶解→调 pH 值→融化琼脂→过滤分装→包扎标记→灭菌→摆斜面或倒平板。

五、步骤

(一) 牛肉膏蛋白胨培养基的配制

牛肉膏蛋白胨培养基是一种应用最广泛和最普通的细菌基础培养基。

1. 称量药品

其配方如下：牛肉膏 3g，蛋白胨 10g，NaCl 5g，琼脂 15~20g，水 1000mL，pH7.4~7.6

2. 溶解

用量筒取一定量（约占总量的 1/2）蒸馏水倒入烧杯中，在放有石棉网的电炉上小火加热，并用玻棒搅拌，以防液体溢出。待各种药品完全溶解后，停止加热，补足水分。如果配方中有淀粉，则先将淀粉用少量冷水调成糊状，并在火上加热搅拌，然后加足水分及其他原料，待完全溶化后，补足水分。

3. 调节 pH

根据培养基对 pH 的要求，用 5%NaOH 或 5%HCl 溶液调至所需 pH。测定 pH 可用 pH 试纸或酸度计等。

4. 溶化琼脂

固体或半固体培养基须加入一定量琼脂。琼脂加入后，置电炉上一面搅拌一面加热，直至琼脂完全融化后才能停止搅拌，并补足水分（水需预热）。注意控制火力不要使培养基溢出或烧焦。

5. 过滤分装

先将过滤装置安装好。如果是液体培养基，玻璃漏斗中放一层滤纸，如果是固体或半固体培养基，则需在漏斗中放多层纱布，或两层纱布夹一层薄薄的脱脂棉趁热进行过滤。过滤后立即进行分装。分装时注意不要使培养基沾染在管口或瓶口，以免浸湿棉塞，引起污染。液体分装高度以试管高度的 $1/4$ 左右为宜。固体分装装量为管高的 $1/5$ ，半固体分装试管一般以试管高度的 $1/3$ 为宜；分装三角瓶，其装量以不超过三角瓶容积的一半为宜。

6. 包扎标记

培养基分装后加好棉塞或试管帽，再包上一层防潮纸，用棉绳系好。在包装纸上标明培养基名称，制备组别和姓名、日期等。

7. 灭菌

上述培养基应按培养基配方中规定的条件及时进行灭菌。普通培养基为 121°C 、 20min ，以保证灭菌效果和不损伤培养基的有效成份。培养基经灭菌后，如需要作斜面固体培养基，则灭菌后立即摆放成斜面，斜面长度一般以不超过试管长度的 $1/2$ 为宜；半固体培养基灭菌后，垂直冷凝成半固体深层琼脂。

8. 倒平板

将需倒平板的培养基，于水浴锅中冷却到 $45\sim 50^{\circ}\text{C}$ ，立刻倒平板。

(二) 高氏1号培养基的配制

高氏1号培养基是用于分离和培养放线菌的合成培养基。其配方如下：

可溶性淀粉 20g ， KNO_3 1g ， NaCl 0.5g ， $\text{K}_2\text{HPO}_4\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 0.5g ， $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5g ， $\text{FeSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.01g ，琼脂 $15\sim 20\text{g}$ ，水 1000mL ， $\text{pH}7.4\sim 7.6$ 。



1. 称量和溶解

先计算后称量,按用量先称取可溶性淀粉,放入小烧杯中,并用少量冷水将其调成糊状,再加至少于所需水量的水,继续加热,边加热边搅拌,至其完全溶解。再加入其他成分依次溶解。对微量成分 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 可先配成高浓度的贮备液后再加入,方法是先在 1000mL 中加入 1g 的 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$,配成浓度为 0.01g/mL 的贮备液,再在 1000mL 培养基中加入以上贮备液 1mL 即可。待所有药品完全溶解后,补充水分到所需的总体积。如要配制固体培养基,其琼脂溶解过程同牛肉膏蛋白胨培养基配制。

2. pH 调节、分装、包扎及无菌检查

同牛肉膏蛋白胨培养基配制。

(三) 马丁氏培养基的配制

马丁氏培养基是用于分离真菌的选择培养基。其配方如下:

K_2HPO_4 1g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5g, 蛋白胨 5g, 葡萄糖 10g, 琼脂 15~20g, 水 1000mL, 自然 pH。

1. 称量和溶解 先计算后称量,按用量称取各成分,并将其溶解在少于所需的水中。待各成分完全溶解后,补充水分到所需体积。再将孟加拉红配成 1% 的水溶液,在 1000mL 培养液中加入以上孟加拉红溶液 3.3mL,混匀后,加入琼脂加热融化,方法同牛肉膏蛋白胨培养基配制。

2. 分装、包扎、灭菌及无菌检查同牛肉膏蛋白胨培养基配制。

3. 链霉素的加入 链霉素受热容易分解,所以临用时,将培养基融化后待温度降至 45℃ 左右时才能加入。可先将链霉素配成 1% 的溶液(配好的链霉素溶液保存于 -20℃),在 100mL 培养基中加 1% 链霉素 0.3mL,使每毫升培养基中含链霉素 30μg。

六、注意事项

称药品用的牛角匙不要混用,称完药品应及时盖紧瓶盖。调 pH 时要小心操作,避免回调。不同培养基各有配制特点,要注意具体操作。