

生物科学
生物技术
系列

GENERAL BIOLOGY EXPERIMENT GUIDE

普通高等教育“十三五”规划教材

普通生物学 实验指导

第二版

王元秀 主编



化学工业出版社



普通高等教育“十三五”规划教材

普通生物学实验指导

第二版

王元秀 主编



化学工业出版社

·北京·

《普通生物学实验指导》(第二版)包含36项普通生物学基本实验,涉及细胞生物学实验、植物学实验、动物学实验、解剖生理学实验、遗传学实验等内容,通过普通生物学实验使学生掌握生物绘图、显微镜的使用、生物制片、生物的解剖等技能,为后续课程打下基础。

本书可供高等院校的生物技术、生物工程等专业本科生使用;也可供其他生命科学相关专业学生参考。

图书在版编目(CIP)数据

普通生物学实验指导/王元秀主编.—2版.—北京:化学工业出版社,2016.8
普通高等教育“十三五”规划教材
ISBN 978-7-122-27517-2

I. ①普… II. ①王… III. ①普通生物学-实验-高等学校-教学参考资料 IV. ①Q1-33

中国版本图书馆CIP数据核字(2016)第149789号

责任编辑:魏巍 赵玉清
责任校对:宋玮

装帧设计:关飞

出版发行:化学工业出版社(北京市东城区青年湖南街13号 邮政编码100011)

印装:三河市延风印装有限公司

710mm×1000mm 1/16 印张8 $\frac{1}{4}$ 字数151千字 2016年9月北京第2版第1次印刷

购书咨询:010-64518888(传真:010-64519686) 售后服务:010-64518899

网 址: <http://www.cip.com.cn>

凡购买本书,如有缺损质量问题,本社销售中心负责调换。

定 价:25.00元

版权所有 违者必究

《普通生物学实验指导》(第二版) 编写人员名单

主 编：王元秀

副主编：王 军 张维建 张春华

编 者 (按姓氏汉语拼音排序)：

侯进慧 (徐州工程学院)

王 军 (济南大学)

王明山 (枣庄学院)

王元秀 (济南大学)

叶春江 (济南大学)

张春华 (山东省医学科学院)

张更林 (山东省医学科学院)

张维建 (山东建筑大学)

前 言

普通生物学是生物学、农学、医学、药学等与生命科学相关专业的必修课程，可以为学生打下较为坚实的生物学基础，对今后在专业方面的学习与工作至关重要。生命科学是一门实验性很强的学科，因此实验课程的开设不仅是必须而且也非常重要。普通生物学实验是一门综合性实验，编者多年的教学经验表明，若使内容难易适度，保证实验顺利流畅地进行，需要一本好用实用的教材。编写一本与普通生物学理论教材相匹配，难度适中、可操作性强的实验教材是编写本书的初衷。

本书是全国高校应用型本科生物类专业系列教材之一《普通生物学》的配套教材，第一版于2012年获“中国石油和化学工业优秀出版物奖（教材奖）”二等奖。本书第二版仍遵循第一版的编写指导思想，通过普通生物学实验使学生掌握生物绘图、显微镜的使用、生物制片、生物的解剖等技能，为后续课程打下基础。全书包括36项实验，涉及细胞生物学、植物学、动物学、解剖生理学、遗传学等部分内容，通过使用显微镜观察细胞（洋葱表皮细胞、口腔上皮细胞）、染色体（有丝分裂、减数分裂、果蝇唾腺染色体）、组织与个体（根尖、花、原生动物、胚胎发育等）以及人体组织细胞的结构等实验内容，进行生物绘图；使用解剖器械解剖河蚌、龙虾、家鸽、小白鼠等，从而观察其外形及内部解剖情况，并进行生物绘图；调查学校附近环境的动植物种类、人们关注的水质，并进行分析，培养学生独立科研能力。

本书第二版增加了脊椎动物解剖实验——鲫鱼，水质有关的实验——水体中浮游生物的调查及其与水质的关系；有关动物生理学的实验——脊髓反射，使本书内容更为完善。其余各实验进行了部分调整完善。

感谢程利霞、刘建涛、马井喜、戎茜、孙永君、唐业刚、谢振文、徐庆华、余晓丽、于少波、朱清等对本书第一版编写工作付出的努力。教材的修订工作难度较大，虽然我们做了很大的努力，但限于编者水平，难免存在疏漏之处，恳请专家和读者不吝指正。

编 者

2016年4月

目 录

生物实验室安全守则	1
生物实验室实验操作守则	2
实验一 光学显微镜的使用	3
实验二 植物细胞的形态结构	8
实验三 人体口腔上皮细胞的观察	11
实验四 植物细胞的有丝分裂	13
实验五 减数分裂	16
实验六 染色体组型分析	19
实验七 植物组织	22
实验八 动物组织	27
实验九 菜豆和小麦种子的形态结构	32
实验十 植物根的形态与结构	34
实验十一 花的形态和结构	38
实验十二 叶绿体色素的提取与分离	41
实验十三 植物激素配制与应用	43
实验十四 动物胚胎发育	45
实验十五 普通果蝇的培养及生活史	49
实验十六 果蝇唾腺染色体的观察	52
实验十七 果蝇的杂交	54
实验十八 藻类植物	59
实验十九 真菌	62
实验二十 苔藓与蕨类植物	65
实验二十一 种子植物	68
实验二十二 原生动物	71
实验二十三 河蚌	75
实验二十四 对虾	78
实验二十五 鲫鱼	82
实验二十六 家鸽	86

实验二十七	小白鼠	91
实验二十八	运动系统	95
实验二十九	血细胞的观察与计数	99
实验三十	血型鉴定与红细胞渗透性测定	102
实验三十一	心音听诊与动脉血压测定	104
实验三十二	脊髓反射	107
实验三十三	植物多样性	110
实验三十四	动物多样性	114
实验三十五	生物微核对环境污染的指示	116
实验三十六	水体中浮游生物的调查及其与水质的关系	118
实验报告书写范例一		120
实验报告书写范例二		121
附录	常用染色液与试剂配制方法	122
参考文献		124

生物实验室安全守则

- (1) 第一次实验前应详细阅读生物实验室安全守则。
- (2) 有患病或精神欠佳者不应进入实验室进行实验，实验前应向教师提出请假。
- (3) 进入实验室不宜穿着过于宽松的衣服（如领带、颈巾），不宜配戴颈链、手链等，禁止穿拖鞋及凉鞋，蓄长发者应束扎起来。
- (4) 实验桌上不要放置与实验无关的物品，如有需要可存放于抽屉中。
- (5) 在实验室不得奔跑、打闹、嬉戏及进食，以免造成安全及健康隐患。
- (6) 每次实验前应完全了解该次实验的潜在危险。
- (7) 实验室内的工作桌面及地面要保持干爽清洁，湿的实验室桌面及地面应立刻抹干。
- (8) 离开实验室前应检视各仪器电源及水龙头等各种开关是否关闭。
- (9) 使用各种药品及进行活体试验后，需先洗手后方能进食。

生物实验室实验操作守则

- (1) 实验进行中时，若有任何疑问应立即发问。
- (2) 不可以用手触摸刚加热完成之器皿，待冷却后再行处理。
- (3) 实验完毕，各组将器材洗净、整理，并放回指定处。
- (4) 使用后的废弃物严禁倒入水槽，应倒入专用收集容器中回收或经特殊处理。
- (5) 任何不溶性的物品不可弃置在水槽内。
- (6) 在试剂瓶内取出的化学品，不可再倒回瓶内。

实验一 光学显微镜的使用

一、实验目的

了解普通光学显微镜的构造、成像原理和操作规程，学习并掌握正确的使用方法。

二、实验器材

生物切片标本、显微镜、二甲苯、香柏油、擦镜纸等。

三、实验原理

1. 显微镜的构造

普通光学显微镜是生物学实验课中最常用的光学仪器。光学显微镜的式样虽有不同，但它们的基本结构相同（图 1-1），都是由机械部分和光学部分组成。

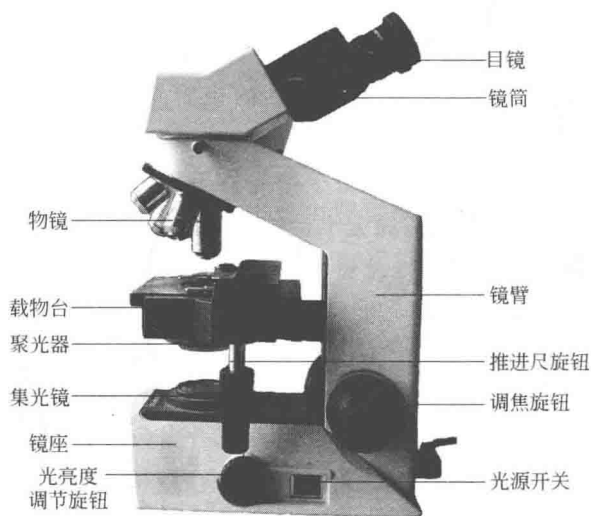


图 1-1 普通光学显微镜结构

机械部分包括镜头转换器、镜筒、粗细调焦螺旋、镜臂、镜台（载物台）、镜座等，光学部分包括：物镜、目镜、聚光器和光源等。

(1) 机械系统

① 镜座 镜座位于显微镜底部，用以支持镜体，使显微镜放置稳固。其上直立的短柱部分为镜柱，支持镜臂和载物台。

② 载物台 放置玻片标本的平板。中央有通光孔，载物台上有标本移动器（或称推进尺），既可固定载玻片又可转动螺旋前后左右移动标本。有的标本移动器上还带有标尺，可利用标尺上的刻度寻找所要观察的标本位置。

③ 镜臂 镜柱之上弯曲的部分，便于持握显微镜。

④ 镜筒 镜臂上端的圆筒部分。其顶端安置目镜，下端连接镜头和转换器。由物镜到目镜的光线由此通过。

⑤ 镜头转换器 镜筒下端可旋转的圆盘。其上可装接数个不同倍数的物镜，观察时可随意换用。

⑥ 调焦螺旋 分粗调焦螺旋和细调焦螺旋，能使载物台升降，调节物镜和观察材料间的距离，得到清晰的图像。粗调焦螺旋升降的距离较大，约为50mm，主要用于寻找目的物。由低倍镜观察标本时，用粗调焦螺旋调焦距。细调焦螺旋升降的幅度较小，约为1mm，能精确地对准焦点，取得更清晰的物像。

(2) 光学系统

光学系统包括照明系统和成像系统。前者由光源、聚光器和虹彩光圈组成，后者由物镜和目镜组成。

① 光源 多数为普通电光源，位于显微镜的下方。少数显微镜利用平、凹双面的反射镜，接受外来光线。

② 聚光器 在载物台的下面，由2~3块凹透镜组成。作用是使光线聚集增强，射入镜筒中，并使整个物镜所包括的视野均匀受光，提高物镜的鉴别能力。

③ 虹彩光圈 又名可变光阑，位于聚光器下面，由许多金属片组成。推动操纵光圈的调节杆，可改变光圈的大小，约束上行光线的强弱，适于观察。

④ 物镜 由数组透镜组成，起放大物体的作用。透镜的直径越小，放大倍数越高。其中放大40倍（40×）以下的称为低倍镜，一般为10倍（10×）；放大40倍（40×）以上的称为高倍镜；放大100倍（100×）以上称为油镜。

⑤ 目镜 装于镜筒上端，其作用是将物镜所放大和鉴别的物像进行再放大，放大倍数一般为10倍（10×）。

2. 显微镜的成像原理

光学显微镜是利用光学的成像原理（图1-2），观察生物体结构。首先光线通过聚光器把光线汇聚成束，穿过生物制片（样品），进入到物镜的透镜上。经过物镜时，将制片上的结构放大为倒立的实像，这一倒立的实像经过目镜的放大，映入眼球内为放大的倒立的虚像。

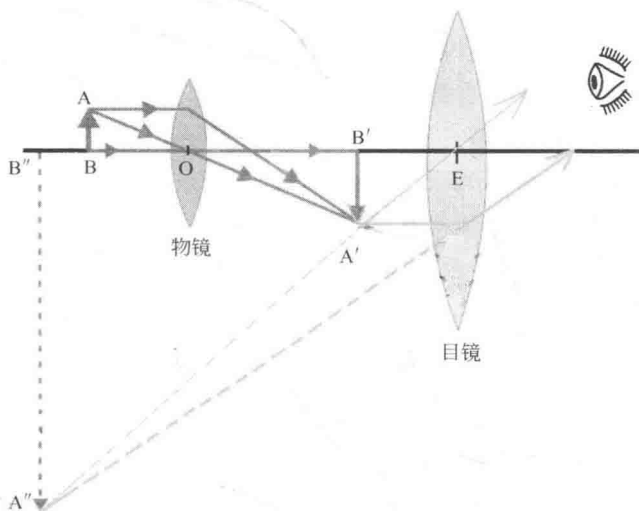


图 1-2 光学显微镜成像原理

从成像的原理来看，物镜在成像过程中起主要作用。因此，物镜质量的优劣直接影响成像的清晰程度，目镜只不过是放大物镜所成的像，而不能增加成像的清晰度。

光学显微镜放大的倍数是由目镜、物镜和镜筒的长度所决定。镜筒长度一般为 160mm，物体最终被放大的倍数为目镜和物镜二者放大倍数的乘积。理论上光学显微镜的最大放大倍数可以达到两千多倍，但是目前不仅由于受分辨率的限制，还由于制造工艺水平的限制，最好的光学显微镜的最高有效放大倍数只能达到 1000 倍左右。

四、实验步骤

(1) 检镜对光 使用显微镜前，首先要调节好光源。为了迅速而正确地对光，应先用 $10\times$ 物镜，将可变光阑调到最大孔径；一般将亮度调节旋钮旋转到中间位置，光线适合观察。

(2) 低倍镜下观察 把制片放在显微镜的镜台上，要观察的部位应准确地移动到物镜的下面，然后用压片夹夹紧。进行观察时，应先用 $10\times$ 物镜。先转动粗调焦螺旋将载物台升到最高；然后反方向转动粗调焦螺旋，使载物台逐渐下降，接近制片；载物台下降过程中用眼睛观察目镜视野，直到制片中的影像出现；再调节细调焦螺旋，得到清晰的图像。

(3) 高倍镜下观察 需详细观察制片中某一部分细微结构时，可先在低倍物镜下找到最合适的地方，并移至视野中央，然后转动镜头转换器用高倍物镜 ($40\times$) 观察。当换到高倍物镜后，应该看到制片中的影像。如果影像不清楚时，

顺时针或逆时针方向转动细调焦螺旋，直到影像清晰为止。如果转换高倍物镜后看不到影像，可能所观察的对象没有在视野中央的位置，需要转换到低倍物镜，重新调整制片位置。当影像看到以后，还要用可变光阑调节光束的粗细。如果光线过强，将使一些较为透明的结构不易看清；如果光束过细，光量不足，将使影像灰暗不清。因此必须调节光阑，达到最好的观察效果。

(4) 油镜观察 用高倍镜找到目的物，并推移到视野中央，用粗调节器提升镜筒（约 2cm），将油镜头转至镜筒正下方，在已找好的观察部位滴上一滴香柏油，用粗调节器将镜筒小心下降，同时目光应从显微镜的侧面观察，直至油镜头浸入油滴。注意一定不要将油镜头压到玻片上，以免损伤镜头和压坏标本。再从目镜观察，进一步调节光线，并用粗调节器使镜筒慢慢上升，当出现目的物的物像时，改用细调节器，使物像清晰。如油镜头已离开油面，还未见物像，可再按上述操作重新进行。油镜观察完毕后，用擦镜纸沾一滴二甲苯擦去油镜上的香柏油，再用干净的擦镜纸将镜头抹干。

(5) 复镜 显微镜使用完毕，将物镜转换到低倍镜下，转动粗调焦螺旋使镜筒下降，然后取下制片，旋转物镜转换器，将两个物镜分开成“八”字形。

五、注意事项

(1) 手持显微镜时应右手握住镜臂，左手平托镜座，不可歪斜，保持镜体直立。将显微镜置于实验台上时，应放在身体的左前方，离桌子边缘 5~6cm 处。观察时要两眼同时睁开，不可左眼开，右眼闭。

(2) 显微镜出现故障时，如旋钮转动有困难或观察不到图像时，要向指导教师说明，帮助解决。不可随意拆卸显微镜的任何部分。

(3) 一般用低倍物镜观察时，用粗调焦螺旋就可以调好焦距，不用或尽量少用细调焦螺旋。使用高倍物镜如需要用细调焦螺旋聚焦时，其旋钮转动量最好不要超过两圈。换制片时，严禁在高倍镜下取下或装上制片，以免污染、磨损物镜。

(4) 保持显微镜的清洁。机械部分上的灰尘应随时用纱布擦拭。必须尽量避免试剂或溶液沾污或滴到显微镜上，这些都可能损坏显微镜。特别是高倍物镜很容易被染料或试剂沾污，如被沾污时，应立即用擦镜纸擦拭干净。擦时要将擦镜纸蘸取少量乙醚-酒精清洁液，绕着物镜或目镜的轴旋转以轻轻擦拭，并保持一个旋转方向。每擦一次，擦镜纸就要折叠一次。显微镜用过后，应用清洁棉布轻轻擦拭（不包括物镜和目镜镜头）。

六、思考题

- (1) 在高倍镜下观察时，为什么要先用低倍镜观察？
- (2) 要观察到 1000 倍的图像，怎样选取目镜和物镜？

七、附录

显微镜的两个重要光学参数

1. 分辨力 (resolving power, R)

分辨力也叫分辨本领或解像力。光学显微镜分辨力定义为在 250mm 明视距离处能分辨清楚尽可能靠近的两点的能力。辨认两点之间的距离愈小,则分辨本领愈高,人眼的分辨力约为 $100\mu\text{m}$,显微镜的分辨力 R 则以下列公式计算:

$$R = 0.61\lambda / NA$$

式中 λ ——所用的光线波长;

NA ——数值孔径。

从上述公式可以看到,决定显微镜的分辨力主要有两个因素,一是数值孔径,一是波长。数值孔径愈大,波长愈短,能分辨清两点距离愈小,显微镜的分辨力愈高。

2. 数值孔径 (numerical aperture, NA)

也称镜口率,由两个参数组成,即:

$$NA = n \cdot \sin\alpha$$

式中 n ——物空间介质的折射率;

α ——物方孔径角。

孔径角亦称镜口率,是从物方光轴上的物点发出的光线,与物镜前透镜有效直径的边缘所张开的角度。 α 是轴上点光线在干燥系统的孔径角, $\sin\alpha$ 最大值不超过 1,油浸物镜由于 n 值变大, NA 值也随之变大,目前最多可达 1.4。而照明波长最短为 400nm,代入公式则 $R = 0.61 \times 0.4 / 1.4 = 0.17$,即光学显微镜最大分辨力约为 $0.2\mu\text{m}$,约等于可见光最短波长的一半。

实验二 植物细胞的形态结构

一、实验目的

- (1) 学会临时装片的基本制作方法，掌握植物细胞的基本结构。
- (2) 了解生物绘图意义，掌握生物绘图法。

二、实验器材

显微镜、载玻片、镊子、解剖针、蒸馏水、1%曙红溶液、0.1%碘液、吸水纸、擦镜纸、洋葱或菠菜等材料。

三、实验原理

植物细胞的形状是多样的，有球状体、多面体、纺锤形和柱状体等。植物细胞的体积是很小的，一般种子植物细胞的直径为 $10\sim 100\mu\text{m}$ 。

植物细胞由原生质体和细胞壁两部分组成。原生质体是由生命物质——原生质所构成，它是细胞各类代谢活动进行的主要场所。在光学显微镜下，经过染色可以观察到细胞核以及叶绿体、线粒体等细胞器结构。

在光学显微镜下观察植物细胞的结构时，必须将生物的细胞、组织或器官做成薄的制片，才能观察，这些制片不能过厚（一般以一层细胞的厚度最好）。要做效果好的制片可以用不同的方法，如用离析的方法把细胞“打散”分开，也可用切片刀徒手或用切片机切成薄片，如果观察植物的表皮细胞可以采用另一种方法——撕片法。

四、实验步骤

洋葱表皮细胞的观察实验如下。

(1) 制片——撕片法 先取一洋葱鳞片，用解剖刀纵切为两半（如鳞片过大也可纵切为四）。取一片肉质鳞片叶，用刀片在其凹下的一面画一个 $0.5\text{cm}\times 0.5\text{cm}$ 的正方形，再用镊子轻轻夹住表皮，并朝一个方向撕下（凹面的表皮较易撕下，有时凸面也可以用）。将撕下的表皮迅速放在滴有蒸馏水的载玻片上，用解剖针展开，镊子夹住洗净擦干的盖玻片的一边，使另一边接触水滴的边缘，

然后慢慢地放下，以便驱走盖玻片下的空气，不致产生气泡。用吸水纸吸去盖玻片周围的水，置显微镜下观察。

(2) 染色 为了更清楚地显示洋葱表皮细胞的结构，可用1%曙红或稀碘液染色。染色时，将玻片从载物台上取下，于盖玻片的一侧加1滴曙红或碘液，用吸水纸从盖玻片另一侧吸引，使曙红或碘液通过洋葱表皮以染色；或直接滴加染料，重复步骤(1)中的制片步骤。

(3) 观察 在低倍镜下，可见洋葱表皮细胞略呈长方形，排列紧密，每个细胞内有一圆形或扁圆形的细胞核，核内有染色的核仁(图2-1)。

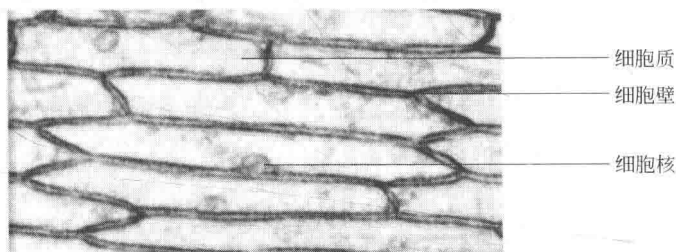


图 2-1 洋葱鳞片表皮细胞

用低倍镜找一个清楚的细胞移至视野中央，再换高倍镜观察，可见细胞最外面为细胞壁所包围，包括两层初生壁和中间的中层(胞间层)。在高倍物镜下可以看到细胞壁的厚度并不均匀。细胞壁以内是着色较浅近于透明的细胞质。细胞质内有一个或几个，或大或小的透明的液泡。在细胞中央或靠近细胞壁，有一细胞核，核内有染色的核仁。细胞质外围有一薄层细胞质膜，在生活细胞中不易分清。

五、注意事项

(1) 撕下的表皮一定要平铺在有水的载玻片上，内面最好朝上放在载玻片上，以利于染色。如发生折皱或重叠可用解剖针将其铺平，折皱和重叠都将影响观察效果。

(2) 在光学显微镜下小的气泡，由于与水的折光率不同，而出现黑的圆形的像，初学者时常把气泡误认为细胞。

(3) 对细胞结构的观察，一般不需要用最低倍物镜(4×)，首先用10×物镜然后转换到高倍(40×)物镜进行仔细观察，由低倍物镜转换为高倍物镜时，高倍物镜头碰到载玻片上不能转换，这可能是把制片放反了。

六、思考题

(1) 细胞核沉没在细胞质中，在成熟细胞中，它总是位于细胞的边缘，但有时也会发现有的细胞核位于细胞的中央，仔细思考这是为什么？

(2) 绘制洋葱表皮细胞结构示意图。

七、附录

生物绘图方法

在实验报告中，或是在相关的科学实验总结报告中，都需要画一些细胞结构图或轮廓图来表示细胞、组织或器官的结构，因此在生物学实验课中就应掌握绘图方法。

(1) 准备 准备好绘图铅笔(2H或3H)、橡皮、刀、尺子及实验报告纸，将实验报告纸放在观察物的右边，纸下不要垫书或纸张。

(2) 观察 画图前先要把所要画的对象观察仔细，各部分的结构都要看清楚。同时要把正常的、一般的结构与偶然的、人为的一些“结构”区分开。然后选那些有代表性的典型的部位进行绘图。

(3) 设计 画图前还要确定你所要画的图在报告纸上的位置和大小，然后才能开始去画。一般根据在报告纸上要画几个图来确定位置。图的位置、大小要适宜，图占报告纸左上方 $\frac{2}{3}$ 的面积，并考虑注字的位置。如果要画两个图，那么先要在报告纸上留下一部分空当，以便写本次实验名称和班级、姓名。左侧一边要留有一定边缘，以备装订之用。下余部分，可一分为二，作为画两个图的地方。当画图的位置确定以后，就要确定图的大小。一般要尽可能地把图画大一些。如果画的是细胞图，为了清楚地表明细胞内部结构，所画细胞不宜过多，只画3~4个即可。如画轮廓图或图解图，也不一定把全部切面(如根或茎的横切面)画出，只画 $\frac{1}{8}$ ~ $\frac{1}{6}$ 部分即可。

(4) 构图 画图时起草，如果画细胞结构图，要把细胞的轮廓轻轻描出。描图时要不断地观察显微镜，注意细胞轮廓的大小、宽狭、长短等是否与观察的细胞相符合。同时也要注意细胞的内部结构，例如细胞壁的厚度、细胞核的大小，以及与整个细胞的比例等都要与实际相符合。当草图与实物基本相符合后，用铅笔把各部分的结构画出来。

(5) 衬阴 细胞壁要用平行的双线表示出，原生质体内的结构(如细胞质、细胞核等)要用不同疏密的小圆点表示。细胞与其他细胞相连接处要画出来，以表示所画的细胞不是孤立的。要注意各部分结构的比例、大小。

(6) 标注 图画好后，要再与显微镜下实物对照，检查一下有无遗漏或错误，然后把各部分的名称注出。注字时要尽可能详细些，所注的字最好在图右边的一侧，排列整齐。每一个图下面要注明图的名称、放大倍数。