

21

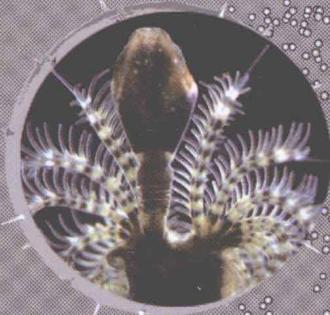
世纪高等院校生命科学实验系列教材



动物 DONGWU 生物学实验指导

SHENGWUXUE SHIYAN ZHIDAO

汪安泰 李荔 黄瑛 编著



华南理工大学出版社
SOUTH CHINA UNIVERSITY OF TECHNOLOGY PRESS

21

世纪高等院校生命科学实验系列教材

动物 DONGWU 生物学实验指导

SHENGWUXUE SHIYAN ZHIDAO

汪安泰 李荔 黄瑛 编著



华南理工大学出版社

SOUTH CHINA UNIVERSITY OF TECHNOLOGY PRESS

·广州·

内 容 简 介

本书分为基础性实验与探索研究型实验两部分。基础性实验为动物界各主要门类代表动物的外形与内部结构的实验观察。为配合研究型实验的教学，本书在传统教材的基础上强化了水螅与涡虫的实验。探索研究型实验针对中国动物学研究的缺项，根据编著者多年教学实践经验，整理出水螅、涡虫及其他微型动物研究的系列技术。为便于初学者开展研究，本书首次整理了开展水螅、涡虫分类学研究必需的系列入门数据，以期初学者通过研究型实验的实训，其动手能力与创新能力获得一定提升。

本书编写通俗易懂，内容新颖，编排设置合理，适用于高等院校生命科学类实验教学与探索探究型实验教学，同时可供研究生、中学生物教师、生物科学工作者及爱好者参考。

图书在版编目（CIP）数据

动物生物学实验指导/汪安泰，李荔，黄瑛编著. —广州：华南理工大学出版社，2011.8
21世纪高等院校生命科学实验系列教材

ISBN 978-7-5623-3510-8

I. ①动… II. ①汪…②李…③黄… III. ①动物学：生物学－实验－高等学校－教学参考
资料 IV. ①Q95－33

中国版本图书馆 CIP 数据核字（2011）第 167434 号

总 发 行：华南理工大学出版社（广州五山华南理工大学 17 号楼，邮编 510640）

营销部电话：020 - 87113487 87110964 87111048（传真）

E-mail：scutc13@scut.edu.cn http://www.scutpress.com.cn

责任编辑：黄丽谊

印 刷 者：湛江日报社印刷厂

开 本：787mm×1092mm 1/16 印张：12 字数：308 千

版 次：2011 年 8 月第 1 版 2011 年 8 月第 1 次印刷

印 数：1 ~ 1200 册

定 价：26.00 元

前　　言

本书对经典的实验做了较大幅度的删减，把分类学的内容放在《动物学野外实习指导》一书中，设立基础性实验 13 个，主要为动物界各主要门类代表动物的外形与内部结构的解剖与观察。鉴于中国对淡水水螅与涡虫研究的不足，本书对经典的水螅、涡虫两个实验的内容做了较大幅度的补充与修正，以期为后续的动物学探索研究型实验做些前期铺垫。

本书第二部分是探索研究型实验，介绍了研究型实验的教学模式与实验筹备及管理，设置了 4 个实验模块（实验 14～29），重点阐述了水螅、涡虫等微型水生动物的采集与培养，石蜡切片、整装片、数码显微镜与体视镜、数码图片编辑、数码生物图绘制、实验数据处理、动物微型分类型状分离、组织化学等实验技术。介绍了水螅、涡虫的分子系统学实验（供后续课外研究实验使用），以及动物学论文写作等。最后展示了进行水螅、涡虫生物学研究的一些重要的入门数据，以供部分有兴趣的同学在课外进行探索研究时参考使用。

探索研究型实验的设计以解决科学问题为目的与导向，依据研究目的需要，分别从 4 个实验模块中自由挑选一些实验开展探索研究活动，把对学生研究能力的培养融合在实验教学中，在探索研究过程中掌握系列实验与技能，了解基本的研究方法与相关理论知识。

研究型实验的教学是集中授课，学生课外进行自主实验。利用建立的“集群网”、QQ 聊天工具、手机等进行交流、答疑、指导、上传文献、提交论文等。学生通过课程学习，掌握动物学研究的一些基本知识与技能，学会自主学习、解决问题，以及与他人协同学习等。编著者实施该类型实验教学 10 年，

前　　言

近6年选课同学毕业前在动物学核心期刊发表第一作者论文20余篇，参加大学生课外学术论文“挑战杯”竞赛，获全国二等奖两项，广东省一等奖一项、二等奖六项、三等奖一项，学生的动手能力与创新能力得到明显提升，少数本科生被国内外名校直录为博士研究生。

本书编写分工如下：第一部分的实验1～5以及第二部分由汪安泰负责编写；实验6～10由李荔负责编写；实验11～13由黄瑛负责编写。

刘洪涛、李佳、郑东敏、赵晨曦等参与了实验20、23～29的写作；赵晨曦、谢洪青、李世昌等参与了本书的绘图与图版制作工作，在此一并致谢。

由于作者水平所限，书中不当之处恳请读者、同行批评指正。

汪安泰
2011年6月于深圳

目 录

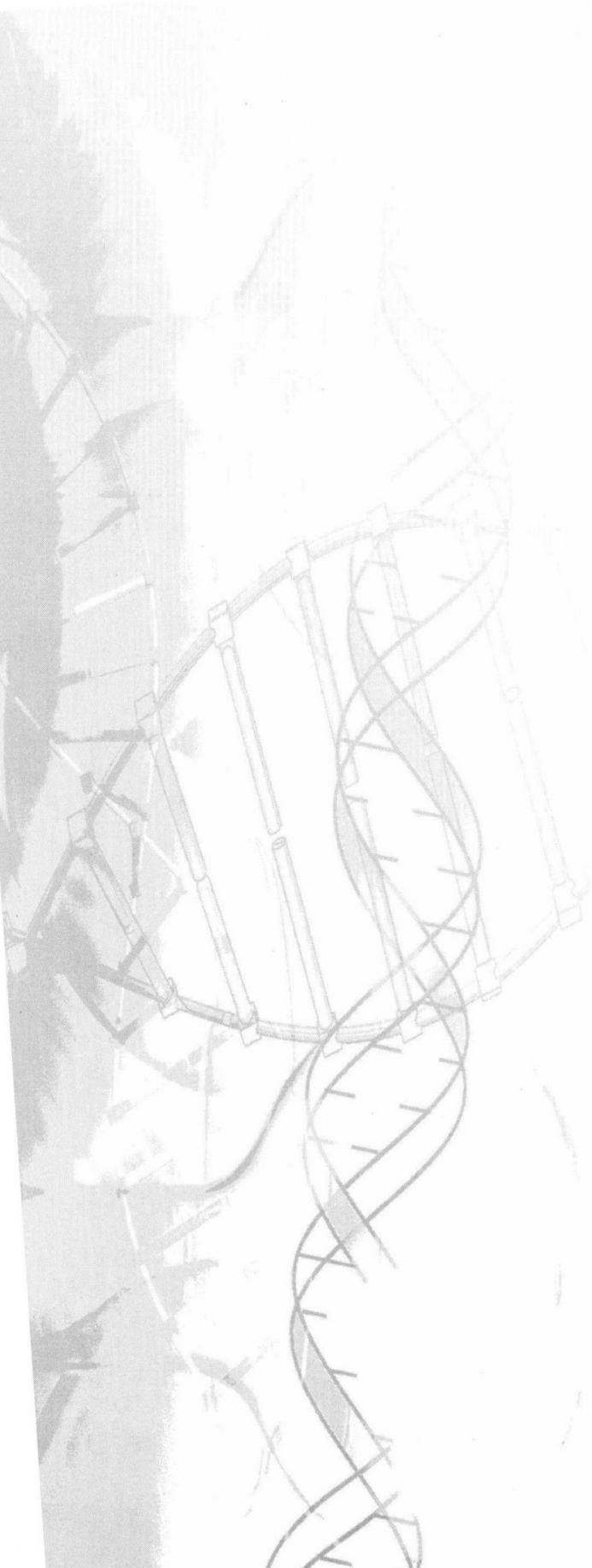
第一部分 基础性实验	1
实验 1 体视显微镜与草履虫培养	3
附 1 实验报告模板	5
实验 2 光学显微镜与微型生物观察	6
实验 3 常见原生动物的观察	10
实验 4 淡水水螅的实验观察	15
实验 5 涡虫的实验观察	19
实验 6 人体常见寄生虫与虫卵的鉴别	27
附 2 常见寄生虫卵的收集方法	34
实验 7 轮虫的形态与分类	36
附 3 轮虫的实验室培养	38
实验 8 环毛蚓与河蚌的比较解剖	39
实验 9 虾的解剖及枝角类与桡足类的鉴别	46
实验 10 鲫鱼的解剖	53
实验 11 蛙的解剖	59
附 4 蛙与蟾蜍的主要结构比较	64
附 5 黑斑蛙的肌肉系统与骨骼系统	65
实验 12 家鸽的解剖	68
实验 13 兔的解剖	75
附 6 兔的神经系统与骨骼系统	88
第二部分 探索研究型实验	91
课程介绍与实验筹备	93
附 7 成绩评定方式与标准	97
附 8 课外自主实验申请书	98
附 9 实验题目、实验目的和实验方案	98
附 10 所需设备、药品和耗材以及其他开支	99

目 录

附 11 自主实验注意事项	99
★模块 I：水生微型动物采集与培养技术★	100
实验 14 草履虫培养	100
实验 15 蚊状溞的培养	103
实验 16 水螅和涡虫的采集与培养	105
★模块 II：组织学与分子系统学研究技术★	107
实验 17 水螅组织嫁接	107
实验 18 微型动物整装片制作技术	109
实验 19 微型动物骨质分类性状的分离与观察	114
实验 20 微型动物神经系统的化学解剖	117
附 12 AChE 组织化学孵育液配方调整记录表	120
附 13 AChE 组织化学实验过程记录表	121
实验 21 石蜡切片	122
实验 22 免疫组织化学	126
附 14 免疫组化溶液配制表	128
实验 23 水螅与涡虫的分子系统学技术	129
★模块 III：数码显微镜技术★	132
实验 24 数码显微镜使用演示	132
实验 25 Leica MZ16 研究级数码体视显微镜	133
实验 26 Olympus BX51 数码显微镜系列装置	137
★模块 IV：数码图片编辑与实验数据统计★	143
实验 27 数码图片编辑	143
实验 28 生物数码插图简易绘制技术	144
实验 29 利用 Excel 进行实验数据的一元回归和相关分析	149
附录	153
附录 1 动物学论文写作	155

目 录

附录 1.1 实验课程论文的格式与要求	155
附录 1.2 动物生物学论文写作	157
附录 2 水螅、涡虫分类学研究入门数据	162
附录 2.1 水螅与涡虫研究部分专业数据库	162
附录 2.2 涡虫类主要分类阶元的学名与中文名	163
附录 2.3 大口涡虫属中国常见种类	164
附录 2.4 单肠目涡虫中国常见种类	167
附录 2.5 暗体目涡虫分类学研究现状	172
附录 2.6 水螅分类学原始文献目录	173
附录 2.7 世界水螅名录与性别及其中文名	175
附录 2.8 水螅分类鉴定的关键数据	177
附录 3 深圳大学本科生动物学研究成果	181
参考文献	183



第一部分

基础性实验

实验1 体视显微镜与草履虫培养

体视显微镜是生物学与医学领域最常用的设备之一。通过体视显微镜可以观察到细微生物的外形与表面结构，可以在镜下分离或解剖一些不能直接观察的微小生物。普通的体视显微镜能放大 $10\sim40$ 倍，研究级体视显微镜可放大 $1\sim200$ 倍，且可无限变倍。原生动物是一大类单细胞结构的微小动物，草履虫是最常见的原生动物之一，通过分离与培养草履虫的实验，熟练掌握体视显微镜的性能与使用方法。

【实验目的】

了解普通体视显微镜的基本构造与性能，熟练掌握正确的使用方法与操作技能。通过对草履虫的分离与培养实验，初步了解原生动物的培养方法。

【实验内容】

(1) 了解体视显微镜的基本结构、性能与使用方法。了解实验室其他型号体视显微镜的基本结构与性能。

(2) 利用体视显微镜分离草履虫。

【实验材料和用具】

(1) 材料：载玻片，盖玻片，吸管， $200\mu\text{L}$ 一次性枪头，直径 6 cm 和 9 cm 的一次性塑料培养皿，小麦粒，滤纸，池水或水族箱培养水，原生动物与轮虫的混合液。

(3) 设备：双目体视显微镜。

【实验操作及观察】

一、体视显微镜的基本结构与使用方法

用右手握紧镜臂，将体视显微镜自镜柜取出，左手托住镜座，保持镜体直立，轻放于桌上。体视显微镜基本结构见图1-1。

1. 光源使用

取出体视显微镜，插上电源，打开主电源开关，再分别打开上电源开关与下电源开关，调节体视显微镜底座右侧的亮度旋钮，检查照明配件是否正常。一般情况下，不同时使用上、下光源。观察原生动物、水螅、轮虫、水蚤、涡虫等，使用下光源；观察三角涡虫及体型略大的标本使用上光源。观察时将光源调节到适宜自己的亮度。光源太强，容易使眼睛疲劳。上光源和下光源使用时间长了，其底座上的圆形玻璃载物台会发热，影响小水体内微型动物的生存。使用时应注意，上光源的圆柱形灯罩是金属制品，使用时间长了，会因温度升高而烫手。若实验期间暂时不用，可把亮度调到最暗。实验完毕，先把亮度调到最暗，再关闭主电源开关。

2. 使用方法

(1) 取数毫升原生动物培养液于培养皿或表面皿，置于体视显微镜底座上，打开下光源开关。



图 1-1 MOTIC SMZ-140 体视显微镜

- (2) 取专用擦镜纸沾 70% 酒精擦洗目镜。【防止眼疾传播。】
- (3) 从目镜内观察原生动物，旋转镜臂两侧的调焦旋钮，至物像清晰。
- (4) 适当调节变倍旋钮，了解其功能。
- (5) 双手分别握住左右目镜的基部，调节两个目镜的间距，使两眼同时观察时不会出现重影。
- (6) 调节左右目镜焦距：一只眼闭着，另一只眼通过目镜观察物像，调节目镜镜筒至最佳清晰度。用相同方法调整另一侧目镜。【每个人的眼间距和两眼的视力有区别，每次实验前均需做调整。】

二、草履虫的分离与培养

- (1) 取草履虫水样数毫升，移入表面皿，置于体视显微镜下。
- (2) 准备两副一次性培养皿，每皿倒入 3 mL 用滤纸过滤的池水或水族箱培养水，放在体视显微镜右边。
- (3) 取玻璃吸管和 200 μL 的一次性枪头，枪头套在吸管口上。
- (4) 开启体视显微镜的下光源。先把放大倍数调至最低。按上述方法调节两目镜的间距与目镜焦距。【经自己多次尝试不能调清晰者，请指导老师帮助。】右手握住调焦旋钮，另一只手握住变倍旋钮，双眼同时观察皿内的草履虫，逐渐增加放大倍数，并同时调焦至清晰。初学者使用时，不宜把体视显微镜的倍数调得太大，否则会影响实验操作。
- (5) 左手扶器皿，右手拿吸管，先排除管内空气，把吸管的尖头移近器皿中央，通过体视显微镜观察草履虫。枪头一边靠近草履虫一边略松胶头，把草履虫一只只吸入管内，

再排放到准备好的培养皿内，反复多次。

(6) 检查吸出的草履虫培养液，一般会有不少杂质和其他微型动物，必须对其再次逐级分离2~3次。

(7) 取100mL水，放入30粒小麦，电炉上煮开，冷却。取实验室水族箱水约15mL，滤纸过滤。取过滤水9份和1份麦粒水倒入含有纯草履虫的培养皿，再放入1粒小麦，盖上盖子。

(8) 每周检查一次，7~10d更换麦粒。

【注：分离与培养出来的草履虫材料要妥善保存，在“实验3”上课时用。】

【作业】

每位同学按要求保管好自己的培养皿。实验3上课前10min检查每组培养草履虫的效果，根据培养草履虫的密度、纯度等评分。

评分标准：参加实验者最低为60分。取出皿内麦粒，吸管冲洗3次后，取一滴培养液于载玻片上进行观察：无杂虫，有草履虫30只以上，满分；20只以上90分；10只以上80分；低于10只的70分。发现轮虫，每只扣5分；发现水蚤，每只扣10分。

附1 实验报告模板

标题（居中）

一、实验目的

1.

二、实验内容

1.

2.

三、实验操作及观察

1.

2.

四、作业

1.

2.

【注意事项】

(1) 实验报告需使用两张实验报告纸和一张封面。

(2) 除作业外，其他部分需在课前完成。

(3) 实验结束后清洁自己的器具与桌面，提交作业后才能离开实验室。

(4) 改好的作业自己保存，学期结束前按实验顺序（按实验前后顺序上下叠放）整理装订后上交，丢失作业者不计成绩。

实验 2 光学显微镜与微型生物观察

光学显微镜是观察和研究微小生物与组织切片必不可少的设备，其最大有效放大倍数为 1000 倍。普通显微镜的物镜头有 4 个，其放大倍数分别为 $4\times$ 、 $10\times$ 、 $40\times$ 和 $100\times$ ；目镜头的放大倍数为 $10\times$ 。研究用的显微镜通常有暗视野显微镜、相差显微镜、微分干涉显微镜、荧光显微镜及共聚焦显微镜（全称激光扫描共聚焦显微镜）等，一般有 $4\times$ 、 $10\times$ 、 $20\times$ 、 $40\times$ 、 $60\times$ 和 $100\times$ 等六种物镜。暗视野显微镜主要用于观察一些很透明的活体微小生物的表面结构。相差显微镜用于观察活体透明生物或细胞的内部结构，在没有进行活体染色的情况下，可以分辨出细胞、细胞核的结构，其缺点是观察的物像外有黑色边框。微分干涉显微镜是 21 世纪常用的产品，可以观察到微小透明生物的表面和内部结构，具有很强的立体感，无暗视野与相差显微镜的明显缺点，且能替代前两种显微镜。荧光显微镜用来观察物像的荧光成像，没有独立的荧光显微镜，一般在上述显微镜上连接一个专用的激光发生器。共聚焦显微镜价格昂贵，操作复杂，主要用来观察物像的三维结构。本实验主要了解普通光学显微镜的外部结构，熟练掌握其使用方法，为以后使用研究级显微镜打好基础。

【实验目的】

了解光学显微镜的基本构造与性能，熟练掌握正确的使用方法与操作技能。初步了解现代生物显微镜的类型与性能。

【实验内容】

- (1) 淡水微型生物活体装片观察。
- (2) 通过反复观察操作与清晰度比较，了解光学显微镜的外部结构与性能，熟练掌握其使用方法。
- (3) 了解实验室其他型号显微镜的基本结构与性能。

【实验材料和用具】

- (1) 观察材料：培养水螅水族箱底部沉渣。或取池塘、湖泊水生植物叶子以及水底枯叶、石块在水桶内冲洗，先用昆虫网滤除粗渣，再用 25 号水生生物网淘除泥浆，取网内物倒入大培养皿备用。
- (2) 器具：载玻片，盖玻片，吸管，小镊子，卫生纸，擦镜纸，擦镜液（无水乙醚 7 份与无水乙醇 3 份的混合液），显微镜专用油。
- (3) 设备：光学显微镜。

【实验操作及观察】

一、普通光学显微镜的基本结构与使用方法

用右手握紧镜臂，将显微镜自镜柜取出，左手托住镜座，保持镜体直立，轻放于桌上。光学显微镜的基本结构见图 2-1，对照图片上的注释，先熟悉显微镜上的部件与名称，再

按以下步骤进行操作。

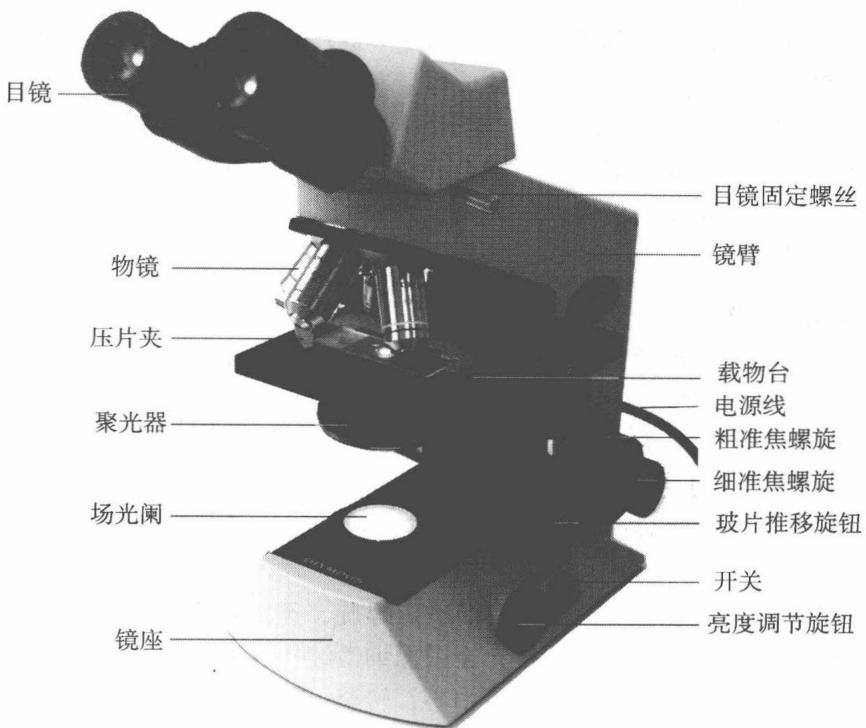


图 2-1 OLYMPUS CX21 光学显微镜

(1) 在载玻片一端的毛面上用铅笔写上一个字，毛面朝上放在显微镜载物台上。左手手指水平推开压片夹，右手指轻轻把载玻片水平前推，同时靠紧压片框的底边和右边，慢慢松开左手指，使压片夹自然夹住载玻片。

(2) 插上电源线，打开底座上的电源开关，找到“亮度调节旋钮”，并按顺时针方向调节亮度。

(3) 找到“玻片推移旋钮”杆，杆的上面串联有两个带齿纹的旋钮，分别慢慢地朝不同方向旋转其旋钮，观察载物台上玻片的移动方向。最后载玻片的毛面区移到光源中心。

(4) 旋转物镜上方转盘，把 $4\times$ 的物镜旋到垂直状态，听到一声很轻的声音，表明已经旋转到位。也可在目镜中观察，若视野中可见光影呈圆形，则表示已经调节到位。不允许直接抓住物镜旋转。

(5) 场光阑内有可调的光栅叶片，左右轻轻调节，了解亮度变化，最后把场光阑全部放大。场光阑缩小时，千万不能用力，用一根指头轻轻调节。

(6) 转动粗准焦螺旋，将载物台慢慢向上抬起。闭右眼，用左眼通过左目镜观察载玻片，找到玻片毛玻璃面时，微调细准焦螺旋，至可见凹凸的毛玻璃表面为止。下一步用 $10\times$ 物镜观察，略缩小聚光器光栅，微调细准焦螺旋，至图像清晰。

(7) 闭左眼，用右眼通过右目镜观察，右手指扶着右目镜有齿纹的部分，左右旋动，至图像清晰。

(8) 两眼同时通过两个目镜观察，如果图像有重影，双手同时扶住目镜基部，调节目



镜间距，至图像无重影为止。【单眼观察容易疲劳，必须养成双眼观察的习惯。】

(9) 调节凳子高度，使自己观察时能保持上身和脖子挺直。【含胸低头观察容易疲劳，时间长了，会使观察者的脖子和背部出现酸痛等不适症状。】

(10) 观察玻片上自己写的字。【字体成像情况如何？】

(11) 取草履虫液一滴于载玻片上，置于载物台上观察。先调节粗准焦螺旋，再调节细准焦螺旋。低倍镜看毕，盖上盖玻片后转至高倍镜（ $40\times$ ）进行观察。【注意：把观察物像移至视野中央后，直接换高倍镜，千万不要变动准焦螺旋旋钮！】通过目镜观察，微调细准焦螺旋至物像清晰。

二、新鲜微型生物观察

用小镊子取培养皿底沉渣，在载玻片中央拍打数次后弃之。用镊子尖头刮除玻片上的粗渣，取一张盖玻片呈 30° 盖在载玻片上，置于载物台上观察。【观察期间请不要问老师这是什么东西，请记下问题，并在后续实验中找答案。如果经自己努力后依然看不清楚镜下物像，可以请老师帮助。】左手手指扶在左边的调焦旋钮上，一般情况下不使用粗准焦螺旋，右手手指扶在玻片推移旋钮上，双眼观察，观察时双手协调活动。【注意自己的坐姿。】

(1) 先从 $4\times$ 物镜开始观察，先微调细准焦螺旋，至图像清晰。再分别调节亮度调节旋钮、聚光器光栅大小、升降聚光器等，至图像细微结构清晰为止。

(2) 选择一个不游动的动物移到视野中心，转至 $10\times$ 物镜下进行观察。如果在高一级放大倍数物镜下不能观察到自己选定的动物，表明上一级物镜下选定的物像不在视野中心，需重新调节。【注意：养成每提高一级放大倍数，均按此步骤操作的习惯。（为什么？）镜下发现绿色或淡黄色的物像大多是植物类绿藻与硅藻。大多数单细胞动物会运动，有的体内有共生的绿藻。对于动物，有兴趣的同学可以绘制出来，也可以利用简易相机或手机拍摄记录，有助于后续课程学习。】

(3) 按上述方法，在 $40\times$ 物镜下观察，把亮度调到最亮，聚光器升到顶部，边观察边调节聚光器光栅大小。调节过程中注意观察动物体表的刚毛或纤毛。如果看不清楚，缩小光栅，并降低聚光器。【注意：①不要花太多时间关注动物的行为与形态，重点要掌握显微镜的性能与使用技巧，这关系到后续实验的学习效果与效率；②物镜从低倍旋转到高一级放大倍数时，千万不要降低载物台，直接旋转物镜即可。有“降低载物台”习惯的同学必须及时彻底纠正。20世纪50年代的显微镜精度有限，需要先降低载物台后再转换高倍物镜，操作费时。现代显微镜完全没有这种操作要求！】

(4) 把 $40\times$ 物镜旋离中轴，在有光源照射的载玻片位置加一滴显微镜专用油，把 $100\times$ 物镜调到观察位置进行观察。如果观察不到物像，说明物镜没有接触到显微镜油。将物镜左右移动两次，排除空气，再进行观察，微调细准焦旋钮，至清晰后，把亮度调到最亮，聚光器升至最高，最后调节光栅。【注意：千万不要让显微镜油接触到 $40\times$ 物镜。 $40\times$ 物镜比较难擦洗，实验结束前污染该镜头的，需及时擦洗镜头。】

三、显微镜维护

(1) 实验前10分钟，取出显微镜，把亮度调节旋到最小，插上电源，开启光源，取显微镜纸，叠成小块，沾擦镜液擦洗目镜，目的是清污，防止眼疾传播。再用一张干净的显

微镜纸再擦一遍。如果发现显微镜漏电，应立刻报告老师。

(2) 取载玻片放在载物台上，调节好显微镜参数，如适合自己的目镜间距、两目镜的焦距差等。检查 $40\times$ 物镜是否清晰，如果模糊，镜头上可能遗留有显微镜油，要立刻擦洗。【每位同学的眼间距与左右眼的视力均有一些差别，在上课前需要做好调节准备。】

(3) 实验完毕，把亮度调节旋到最小，关闭显微镜上的电源开关。拔下电源插头。先用显微镜纸擦除物镜上的油污，再取新纸沾擦镜液擦洗，最后用干净的显微镜纸再擦一遍。【擦洗时，把纸叠成2~4层，用1个指头顶住镜头朝一个方向擦，并不断变换纸的位置，擦过的位置不能重复使用。(为什么?)】

(4) 把显微镜平托着送回显微镜柜存放。

【作业】

1. 显微镜使用是否先下调载物台，再安放载玻片？
2. 从低倍物镜转换为高倍物镜，是否先下调载物台，再转换至高倍物镜？
3. 从低倍物镜转换为高倍物镜，是否把物像先调整到视野中心，下调载物台，再转换至高倍物镜？
4. 从低倍物镜转换为高倍物镜，是否把物像先调整到视野中心，再直接转换至高倍物镜？
5. 两个目镜的焦距不同，该怎样调整？
6. 被观察的对象太透明，应调节显微镜的哪部分器件？聚光器、聚光器光栅、电源亮度应如何调节？
7. 微分干涉显微镜主要用于观察哪些类型的生物标本？
8. 相差显微镜主要用于观察哪些类型的生物标本？与微分干涉显微镜有何区别？
9. 体视显微镜的镜像与显微镜的镜像一致吗？
10. 使用 $100\times$ 物镜，需要用什么介质？需要用什么试剂擦洗？如何擦洗？