

教育部六十二年審定
高級中學

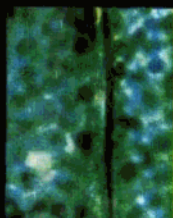
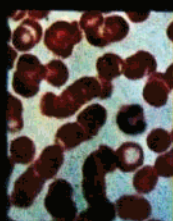
選修生物實驗

上 冊

編著者 孫克勤

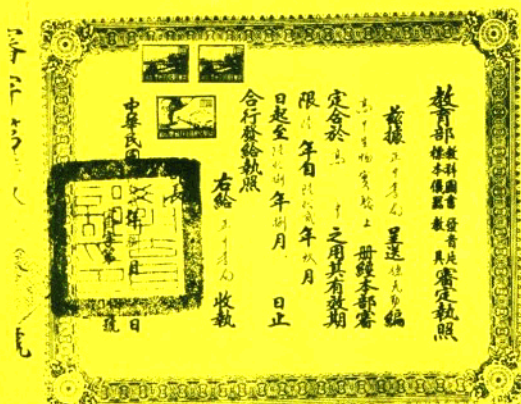
遵照教育部六十年公布
高級中學生物課程標準編著

正中書局印行



124-161

095



版權所有



翻印必究

中華民國六十二年八月臺初版

力行本 高級中學 選修生物實驗 (全二冊)
教科書

上 冊 基本定價 三角八分

(外埠酌加運費滙費)

編 著 者 孫 克 勤

發 行 人 李 潔

發 行 印 刷 正 中 書 局

(臺灣臺北市衡陽路二十號)

暫遷臺北市南昌路一段十二號

海外總經銷 集 成 圖 書 公 司

(香港九龍旺角洗衣街一五三號地下)

海 風 書 店

(日本東京都千代田區神田神保町一丁目五六番地)

東 海 書 店

(日本京都市左京區田中門前町九八番地)

內政部登記證 內版臺業字第〇六七八號(6807)清

編 輯 大 意

一、本書遵照民國六十年二月教育部頒布之高級中學課程標準選修生物編輯，供高中第三學年教學之用。

二、本書所列各實驗，與本書局編著之高中生物教科書，密切配合，理論與實驗相輔相行。

三、本書每一實驗均列有目的、材料、方法等，以便學生事先閱讀，教師亦有所準備。

四、實驗所用之藥液，均附有配製方法，以供實驗時配藥之用。

五、本書實驗，講解力求詳細，俾教師講解省事，學生易於著手。

六、本書實驗附有插圖，對於教學幫助甚大。

七、科學知識由實驗而來，學生之學習興趣，創造能力，研究精神，亦賴實驗始克提高，務望各校教師切實進行教程，完成科學教育。

八、本書所列實驗之順序及次數，教師可斟酌各校實驗室設備情形，予以選擇及調整，不必作硬性之規定。

九、本書如有欠妥或疑問之處，請與著者聯絡是幸。

實 驗 須 知

一、每次實驗之前，學生應先將實驗內容詳細閱讀，以明瞭本實驗之目的、方法及應作報告之一切事項。

二、實驗時須嚴守秩序，不可高聲談話。

三、儀器、用具及藥品，應細心保護，慎勿污損、破壞。用完之後，器具應擦洗清潔，歸還原處，放置整齊。

四、實驗時應細心觀察，繪圖或答案等，均須根據自己之觀察，切忌杜撰或抄襲。

五、實驗報告，須按時送交老師。

目 次

實驗一 微生物的技術	1
實驗二 活組織的酶	9
實驗三 細胞內的化合物	13
實驗四 滲透作用	17
實驗五 動植物內的酸鹼度及活細胞內的氧化與還原	23
實驗六 有絲分裂	31

實驗一 微生物的技術

目的

熟習處理微生物的技術，並瞭解培養及移植有關的各種問題。

材料

接種環 接種針 吸管 本生燈或酒精燈 培養皿 試管 高壓蒸氣滅菌器 定溫箱 培養基（滅菌的洋菜、試管內斜面滅菌；培養基、培養皿內滅菌洋菜，燒瓶內滅菌肉湯） 棉花塞 化學消毒劑〔氯液 (chlorine solution)，煙基氯苄銨 (benzalkonium chloride solution)，來蘇兒水或石炭酸劑 (lysol solution or phenol preparation) 〕

方法

一、滅菌技術

處理微生物時，各種玻璃用具、接種針、接種環及其他器具，必須確實清洗乾淨，不但須用肥皂水洗去肉眼能見的污穢，並且須將這些用具加以滅菌處理，以除去或殺死可能附於其上的微生物。這種使應用物品上沒有活微生物存在的技術，稱為滅菌技術。

微生物可用熱、火焰或化學藥物，如酸、鹼、鹽及其他各種化合物如酒精、石炭酸等，將其移除或殺死。用於使玻璃器具及設備滅菌的藥物稱為滅菌劑 (disinfectants)。用於活組織者（如人的皮膚）稱為消毒劑 (antiseptics)，其殺菌力比滅菌劑為弱。滅菌劑及消毒劑均可殺死微生物或抑止其生長。使用滅菌劑的目的是將細菌殺死還是抑制其生長？

(1) 為什麼？(2)

作微生物實驗時，所有用具及培養基都必須滅菌。然而當我們將微生物由一器具移植至另一器具時，會有一短暫時間暴露於含有各種並非我們需要的微生物的環境中。非需要的微生物被引進培養的微生物中，稱為染污 (contamination)，在處理微生物時，必須想像到可能使培養物染污的每一途徑而盡量設法避免。當培養物由一試管移植至另一試管，及由一有蓋的培養皿移植至另一培養皿時，列出可能被染污的途徑。(3) 如何防止染污？(4)

二、器 具

用於微生物實驗的各種器皿如圖所示。高壓蒸氣滅菌器 (autoclave) 用於不會因熱而破損的器皿及培養基的滅菌。吸管有兩型，一是有刻度的吸管，可將定量液體吸入其中；一是醫用滴管，一端裝一橡皮球，可將液體吸入管內。（注意：當用嘴吸液體入吸管時，不要讓液體進入口中。）培養皿是荷克的學生最初命名的，包括兩部分，這兩部分是有邊緣的平底玻璃碟子，培養基倒入較小的碟子，較大者用作蓋子，以防空氣中的微生物進入培養基中。任何微生物實驗的玻璃器皿，在使用前都須洗滌乾淨，並用高壓蒸氣滅菌，待乾燥後方可使用。

因為微生物太小，不能個別處理，接種針 (inoculating needle) 及接種環 (inoculating loop) 是特別為處理成羣的微生物而設計的簡單工具。在使用接種環及針前，須將其末端置於火焰中燒至通紅，以殺滅可能附著的細菌，待其在空氣中冷卻後才可使用。接種環與接種針除可觸及所要處理的材料外，不可觸及其他物品。

三、培養基

自然界中各種微生物混雜生長，在實驗室裏培養微生物時，通常要將不同的種類分離，使其分別成為純種培養 (pure culture)。使微生物成為純種培養物有何好處？(5) 培養微生物的重大問題之一是找出它們賴以生活的養料。從前用營養肉湯 (nutrient broths)，其中含有微生物所需的全部養料，這是很好的培養基。

純種培養法為柯霍 (Robert Koch) 等所創，他們發現分離微生物以做純種培養時，用固體培養基比液體培養基更為方便。1872年時舒羅特 (Johann Samuel Schroeter) 發現細菌可生長於數種物質的表面，馬鈴薯塊莖的切面即是一例。細菌在切面上形成集團，即所謂菌落 (colony)。將菌落置顯微鏡下檢視時，每一菌落包含大量細菌，不過一個菌落中的所有細菌往往是同一種的，這顯然是個別的細菌落在馬鈴薯表面，然後分別增殖成菌落。一個菌落中所有的細菌既由一個細菌而來，因此每一菌落乃形成一純種培養。

柯霍曾試以數種細菌的稀釋懸濁液散播於一固體培養基上，使細菌個別的黏在固體培養基表面的不同部位，每個單一細菌繁殖的結果，都成為菌落，分別黏在培養基的特別位置上。每一菌落分別成為一純種培養物。

馬鈴薯並不是良好的培養基，其原因為：第一，它只能用於培養部分細菌，並不是適合

所有微生物的養料；第二，它未經滅菌，刀片或空氣中的微生物可能附於其上而形成菌落，因此，這些菌落的來源便無法分辨。理想的培養基應是含有細菌生長所需的全部養料且經滅菌處理者。柯霍最初用營養肉湯與動物膠混合。將此滅菌的混合物倒入培養皿內，待其凝固後用畫線法 (streaking) 將細菌散播在培養基的表面。動物膠有其缺點，在 28°C 時即溶解，這溫度比多數細菌最適合生長的溫度為低，同時有些微生物能產生明膠酶 (gelatinase) 將動物膠消化分解，於是使培養基液化。培養基液化後，分離的純種菌落就會混亂不清。

海斯 (Hess) 女士向柯霍建議試用洋菜以代替動物膠。洋菜是海藻的提出物，用為固體培養基的成分，非常理想，因為僅有少數幾種微生物能將其破壞，且溫度達 100°C 時才會液化。液狀的洋菜冷至 42°C 才凝固。將培養物與正在冷卻而仍呈液狀的洋菜相混，然後將這混合物倒入滅菌的培養皿中，洋菜凝固後，個別的細菌乃懸於培養基的不同的位置，各在原處發育為分離的純種菌落，這種獲得純粹培養物的方法叫做倒入平碟培養法。

四、染污的預防

在任何微生物的培養中，培養基必須先經過滅菌處理，其次並須在培養基上使用遮蓋物以防雜菌之導入。自從1855年一藥劑師使用棉花塞以防止黴菌進入培養基後，利用棉花塞以濾過空氣中的微生物，便被普遍採用。製備培養基，準備有棉花塞的培養容器，使玻璃器皿及培養基滅菌，都是培養微生物不容忽略的準備工作。

五、染色技術

觀察細菌，所用的染色技術與早期應用於觀察細胞核及細胞其他部分的技術非常近似。龍膽紫可與細胞表面的 RNA 發生反應，所以那些表面含有大量 RNA 的細菌染成紫色，那些含有少量 RNA 的染成另一色。這是染色試驗的基礎，由丹麥細菌學家革蘭 (Christian Gram) 所創用。根據染色情形，細菌可分為革蘭氏陽性與革蘭氏陰性兩大類，前者能被龍膽紫染色，後者則否。因為根據細菌的構造予以分類困難甚多，所以革蘭氏染色技術在分離各型細菌方面有很大的價值。

六、顯微鏡技術

研究細菌時常常用到顯微鏡的高倍物鏡。並須使用油鏡以使產生較大的解像力。使用油鏡，必須滴一滴油在物鏡與蓋玻片之間，使這兩者連續起來。

另一常用的技術是暗視野顯微技術，這需要一特別的聚光器，使產生一黑暗的背景，因

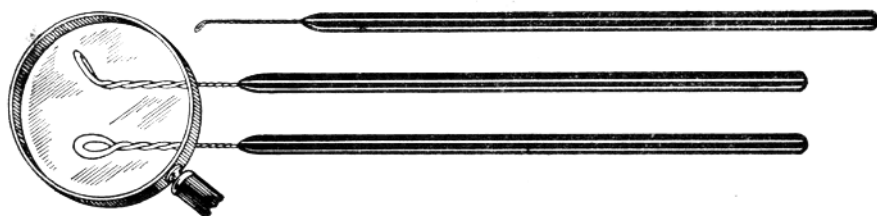
而使微生物顯得特別明亮。

七、實驗室技術

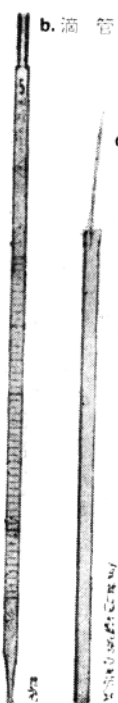
在處理微生物時，含菌材料不可隨處放置，凡能引起疾病的微生物更須小心。即使非致病性細菌，也應當作致病性微生物處理。以穩練的手法小心移植生長中的微生物，不可在工作處所留下染污。使用接種環及接種針前後一定要將其滅菌。所有培養物、容器及含有活微生物的材料都需經過滅菌處理。使用消毒劑以清潔工作場所，所有這些工作都與每個人的安全有關，不可忽視。

當你的老師示範微生物基本技術後，你可能被允許實習移植、畫線、製備培養基等，在動手作微生物實驗前，你必須練習這些技術，直到工作熟練時為止。

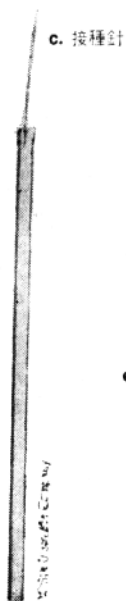
根據以上的討論示範，以及你自己的練習，回答以下各問題。為何不用軟木塞將試管和燒瓶蓋緊而寧用棉花塞？(6) 從培養皿A移植一微生物至培養皿B，一星期後發現一種與所移植者完全不同的微生物生長在培養皿內，你如何說明此事實？(7) 假如洋菜的凝固溫度是98°C而不是42°C，這種培養基好不好？(8) 為什麼？(9) 假如致病性微生物的培養物滴在實驗臺上，你如何使此實驗臺滅菌？(10)



a. 接種環

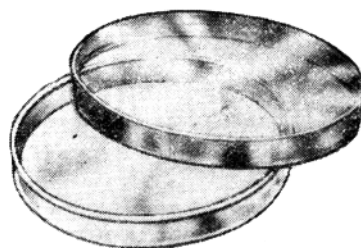


b. 滴管



c. 接種針

d. 培養皿



e. 高壓蒸汽滅菌器

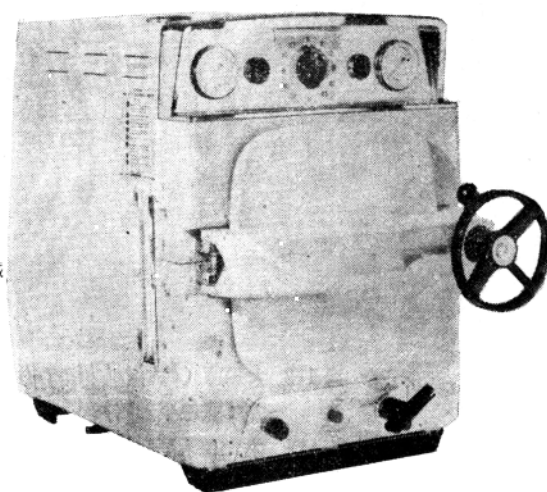


圖 1-1. 微生物實驗設備

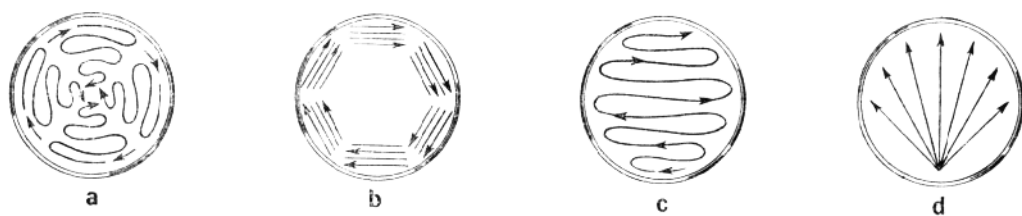


圖 1-2. 畫線法

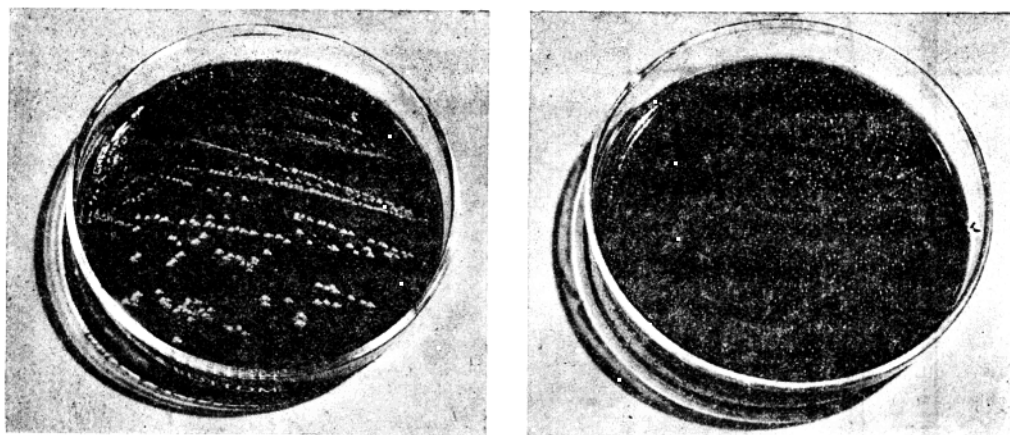


圖 1-3. 大腸菌 (*Escherichia coli*) 之培養

左：畫線平碟培養

右：倒入平碟培養

實驗報告

一、微生物的技術

姓 名 _____ 日 期 _____

座 號 _____ 學 號 _____

班 級 _____ 組 別 _____ 成 績 _____

答 案

1.

2.

3.

4.

5.

6.

7.

8.

9.

10.

實驗二 活組織的酶

目的

瞭解酶在生物組織中的作用。

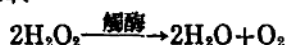
材料

試管 試管架 燒杯 漏斗 鑷子 50%過氧化氫溶液 本生燈 各種動、植物的組織（包括馬鈴薯、蛙血、蠅、蠕蟲等） 研鉢及棒 濾紙
0.1M氫氧化鈉溶液 0.1M鹽酸 細石或大理石 量筒 含澱物瓊脂的培養皿
含純瓊脂的培養皿 泡有玉米的小皿 泡有被甲醛——酒精——醋酸劑（FAA）
所殺死的玉米之小皿 碘液 剃刀片

方法

一、觸酶的實驗

過氧化氫是一種活潑的化學藥品，可用以漂白或消毒小的傷口。它在生物體內形成後，如不立即移除或分解，則對活體有害。生活細胞中含有一種觸酶（catalase），能將過氧化氫分解為無害的水及氧。



試取潔淨濾紙一片，紙上放置各種不同的動、植物組織。試管內裝入 5ml 的過氧化氫。用鑷子將一片組織投入試管的過氧化氫中，發生什麼反應？(1)

依次換投另外的組織，其反應與第一次相同嗎？(2)

列表以示各組織的名稱，並記錄其反應情形，是否所生的反應大致相同？(3)

將各組織煮沸，或浸以 0.1 M 鹽酸或 0.1 M 氫氧化鈉（注意：使用鹽酸或氫氧化鈉時要小心，不可觸及皮膚或衣服上），然後再分別投入過氧化氫中，其結果如何？(4)

另取小石一粒，投入過氧化氫中，有反應嗎？(5)

當組織投入過氧化氫後，有氣泡生出，表示觸酶的存在。那麼，由於以上的各種實驗，

你對酶下什麼結論？(6)

二、玉米所含的酶

取浸泡的玉米，用剃刀縱切，以碘液試驗之，發生澱粉反應否？(7)

試以碘液分別試驗澱粉瓊脂皿及純瓊脂皿，其反應有何不同？(8)

另取澱粉瓊脂皿二個，一皿放有切開的萌芽玉米二、三粒；另一皿放切開的萌芽玉米，但在放入皿中之前已被 FAA 固定液致死。約經二日後，以碘液試驗之。二者的反應有何不同？(9)

此項試驗如換用乾的玉米其結果一樣嗎？(10)

備註

FAA 配製法

酒精.....	50公撮
冰醋酸.....	2公撮
甲醛 (40%)	10公撮
蒸餾水.....	40公撮

實驗報告

二、活組織的酶

姓 名 _____

日 期 _____

座 號 _____ 學 號 _____

班 級 _____ 組 別 _____

成 績 _____

答 案

1.

2.

3.

4.

5.

6.

7.

8.

9.

10.

