

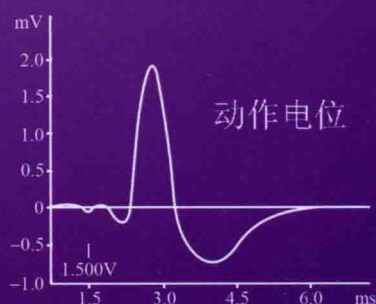
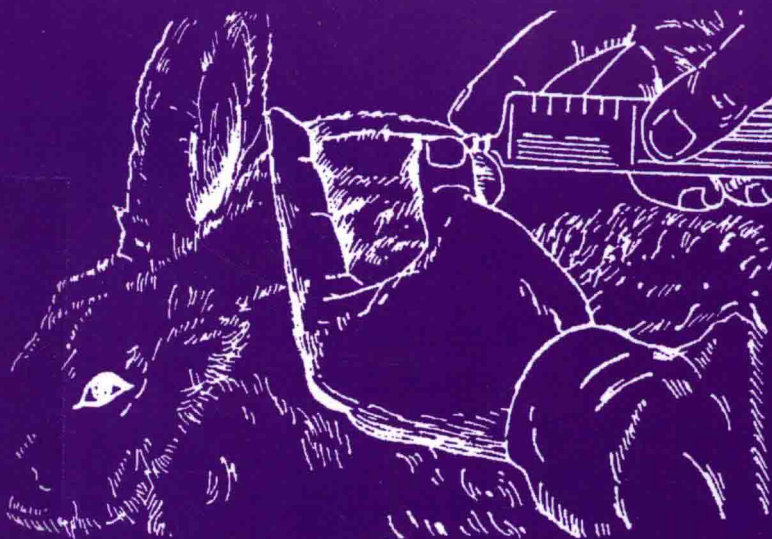


普通高等教育“十三五”规划教材

生理学实验教程

马恒东 主编

A PHYSIOLOGICAL
EXPERIMENT TUTORIAL



科学出版社

普通高等教育“十三五”规划教材

生理学实验教程

主 编 马恒东

副主编 黎德兵 白华毅 付守鹏

参 编

四川农业大学

西南大学

内蒙古农业大学

河北工程大学

西藏农牧学院

甘肃农业大学

上海交通大学

扬州大学

石河子大学

云南农业大学

吉林大学

黑龙江八一农垦大学

马恒东

黄庆洲

王纯洁

刘 娜

徐业芬

何玉琴

艾晓杰

邢 华

贾 斌

白华毅

付守鹏

郭景茹

黎德兵

王鲜忠

范春燕

范春燕

徐业芬

何玉琴

艾晓杰

邢 华

贾 斌

白华毅

付守鹏

郭景茹

王 讯

王鲜忠

王纯洁

刘 娜

徐业芬

何玉琴

艾晓杰

邢 华

贾 斌

白华毅

付守鹏

郭景茹

康 波

王鲜忠

王纯洁

刘 娜

徐业芬

何玉琴

艾晓杰

邢 华

贾 斌

白华毅

付守鹏

郭景茹

科 学 出 版 社

北 京

内 容 简 介

本书根据目前高等农林院校动物生理学实验的实际和发展需要编写,包括生理学实验基础知识和探索性生理学实验,增加了以人和水生动物等为对象的实验,编入了几个慢性生理手术及联系生产生活的内容。选取的37个实验保留了大部分经典实验,重点编写了综合性实验。依照分层次、分类别培养的理念,按实验对象和方法顺序编排,由浅入深、循序渐进。为方便学生预习和自学,增选、精绘了较多插图。

本书适合各高校动物科学、动物医学、水产养殖、生物科学、生物技术、药学、动物药学、动植物检疫、实验动物等专业使用。

图书在版编目(CIP)数据

生理学实验教程/马恒东主编. —北京:科学出版社,2017.8

普通高等教育“十三五”规划教材

ISBN 978-7-03-052782-0

I. ①生… II. ①马… III. ①生理学-实验-高等学校-教材
IV. ①Q4-33

中国版本图书馆CIP数据核字(2017)第102575号

责任编辑:丛楠 马程迪/责任校对:贾娜娜

责任印制:白洋/封面设计:铭轩堂

科学出版社出版

北京东黄城根北街16号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

三河市书文印刷有限公司印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2017年8月第 一 版 开本:787×1092 1/16

2017年8月第一次印刷 印张:6 1/2

字数:154 000

定价:25.00元

(如有印装质量问题,我社负责调换)

写在前面的话

实践教学是高等教育人才培养非常重要的环节，对培养学生学习兴趣、锻炼动手能力和创新思维及团队合作等都具有不可替代的作用，对于生理学这门理论性、实验性都很强的学科显得尤为重要。经过北京农业大学（现为中国农业大学）动物生理与生物化学专业本科和南京农业大学硕士阶段的培养，1991 年我来到四川农业大学任教，20 多年来从未脱离生理学教学。1995 年，鉴于全国高等农业院校试用教材《家畜生理学实验指导》出版已 13 年，以二道生理记录仪使用为标志的生理实验技术有了较大的发展，我根据教学实际编写了第一版校内实验指导，收入 28 个实验，增加了“要求与思考题”“组织建议”和生理实验设计内容，经过使用和意见反馈，特别是当时学校的专业拓展、实验独立设课、实验设计等课程建设与改革实践，于 2001 年改编成校内第二版。在随后学校的一系列教学改革中，动物生理学课程勇当排头兵，取得了长足的发展。2004 年前后，学校与四川科学技术出版社合作遴选出版了一批实验课程教材，也包括《生理学实验教程》（2004 年）并连续使用近十年，印刷上万册。其后我参加了南京农业大学主编的《动物生理学实验指导》第四版、第五版的编写，两版主编也采纳了我的许多建议。

联合兄弟院校共同研讨，取长补短编出一本适用的好教材是我们的一个理想。非常感谢参编院校的同仁也抱有共建共享的理念，认同分层次、分类别培养的目标，改按实验对象和方法顺序编排的体例体现循序渐进原则。根据前期各校课程开设及内容选取的调查结果，本书内容上保留经典实验，重点建设综合性、探索性实验，以及探索现代信息技术的运用。为适应多个专业及实验单独开课的需要，本书较系统全面地编入了“动物生理实验技术”，增加了实验对象，编入了几个慢性生理手术及联系生产生活的内容。为方便学生预习和自学，增选了较多图片。本书部分内容与动物医学专业的后续课，如外科手术学、临床诊断学等会有所重复，但考虑到更多专业的学生很少或没有机会学习这些后续课，这些内容又是生理实验所需要的，因此做了必要的保留。

参加本书编写修订的 12 所高校的 21 位老师来自祖国的四面八方，有工作多年的教授、博士生导师，也有较年轻的博士、讲师，均是富有教学实践和经验的一线教师，更可贵的是，新老结合、密切合作！每人分工的内容标于章节或实验末尾，相连几个实验仅标注于最后一个的末尾。引用的图表多用图注交代，主要参考文献一并列于书末。尽管我们做了很大的努力，争取编写一本适用面广、能不断成长、有生命力的教材，但是肯定还存在诸多不足。恳请各位读者指出，帮助我们不断修订完善。

中国生理学会理事、中国畜牧兽医学会
动物生理生化分会教学工作专委会副主任



2017 年 3 月于雅安

目 录

写在前面的话

第一章 生理学实验基础知识	1
一、生理学实验目的与要求	1
二、生理手术基础	4
三、生理学实验常用仪器	21
第二章 基础生理指标测定	31
实验 1 体温、呼吸频率的测定与脉搏检查	31
实验 2 血压的间接法测量	32
实验 3 心音听诊与心电图描记	34
第三章 血液学检验与实验	37
实验 4 血液的组成和红细胞比容的测定	37
实验 5 红细胞渗透脆性实验	38
实验 6 红细胞沉降率的测定	39
实验 7 血红蛋白的测定	40
实验 8 血细胞计数	41
实验 9 红细胞凝集现象观察与人 ABO 血型鉴定	44
第四章 神经-肌肉生理实验	46
实验 10 蛙类坐骨神经-腓肠肌标本制备	46
实验 11 神经干动作电位的描记及其传导速度测定	47
实验 12 刺激强度、刺激频率与骨骼肌的收缩	50
实验 13 反射弧分析与脊髓反射	52
实验 14 蛙心收缩的记录和心肌特性	53
实验 15 离体蛙心灌流	55
第五章 水生动物生理实验	59
实验 16 蟾蜍内脏血管灌流	59
实验 17 鱼类呼吸运动的描记及其影响因素	61
实验 18 迷走神经对鱼胃运动的影响	62
实验 19 鱼类耗氧率的测定	63
实验 20 鱼类肾小管的主动转运	64
实验 21 鱼类的体色反应	65
实验 22 蛙排精试验与离体跌卵试验	67
实验 23 甲状腺素对蝌蚪变态的影响	68

第六章 综合性生理实验	70
实验 24 胃肠运动的直接观察, 小肠吸收与渗透压的关系	70
实验 25 离体小肠平滑肌的生理特性	72
实验 26 家兔胆汁和胰液的分泌	73
实验 27 兔动脉血压的直接测定及其影响因素, 交感神经对兔耳血管的影响	75
实验 28 胸内压测定和呼吸运动的调节	76
实验 29 大脑皮层运动机能定位, 去大脑僵直	79
实验 30 胰岛素、肾上腺素对血糖的影响, 糖的转化与吸收	81
实验 31 影响尿生成的因素	83
实验 32 大白鼠耗氧量的测定	85
实验 33 摘除肾上腺动物应激观察	86
实验 34 雄激素对鸡冠发育的作用	87
实验 35 奶山羊的排乳反射	88
第七章 慢性生理实验	89
实验 36 反刍动物的腮腺分泌	89
实验 37 鸭的肛痿手术	90
第八章 探索性生理学实验	91
一、生理学实验设计的基本原则	91
二、生理学探索性实验的一般程序	92
三、组织与实施	93
主要参考文献	95
附录	96
附录 1 人体及动物常用生理指标	96
附录 2 生理学实验参考教学大纲	96

第一章

生理学实验基础知识

一、生理学实验目的与要求

(一) 生理学实验的内容和方法

生理学是生物科学的重要分支,是着重研究人体和动物生命活动现象及其规律的科学。生理学既是一门理论性很强的基础科学,就其研究方法和知识获得途径而言,又是一门实验性科学。实验在课程学习和知识能力掌握中具有重要作用。

生理学的知识来自对生命现象的客观观察和科学实验。所谓**生理学实验**,就是人为地创造一定条件,以利于人们对平时不易从外表观察到的隐蔽或细微的生理活动进行观察,或认识某种生理过程。生理学实验以人体、活的动物为实验对象,观察研究其细胞和分子水平(如神经、肌肉的生物电现象)、器官系统水平(如心脏搏动、胆汁分泌)及整体水平(如体温、能量代谢变化)的活动现象和规律。器官系统水平的生理学实验方法主要分为急性实验法和慢性实验法两大类。

急性实验法又可分为离体组织器官法和活体解剖法。例如,离体蛙心灌流即离体组织器官法,在体胃肠运动的直接观察即活体解剖法。急性生理实验持续时间短暂、条件简单、容易排除其他因素干扰,并有可能对研究对象进行直接的观察和细致的分析,常用于生理教学。动物实验后一般不能存活,也无需无菌条件,但所获得的结果可能与完整机体正常生理机能相差较大。

慢性实验法通常先实施慢性生理手术,在无菌条件下安置体内电极、安装瘘管或切除移植腺体等,待动物术后恢复时,再在机体清醒完整的情况下进行记录、取样等实验项目。这类实验过程较长,实验室条件要求较高,实验动物模型可使用较长时间,其机能活动更接近正常,但并不是每种组织器官的生理功能都有相应的慢性实验法来研究。因此,每种方法都有它的长处,也都存在一定的局限性,应根据研究的目的和对象选择适宜的实验方法。

(二) 生理学实验的课程关系与教学目的

生理学实验是生理学的配套课程或组成部分,是生物科学专业的专业课和动物医学、动物科学、水产养殖等专业的学科基础课,更是人才培养的主要实践环节之一。本课程

的主要先修课是动物解剖及组织胚胎学、动物学、普通生物学、物理学、生物化学,后续课为动物病理学、兽医药理学、动物繁殖学、动物营养学、家畜环境卫生学和临床诊断学及专门生理学等。

生理学实验不仅能配合、强化理论课的学习,还具有独自的教育作用。学习生理学实验有助于提高学生的实验能力、分析能力和语言文字的表达能力,培养学生提出问题、分析问题、解决问题的科学思维方法和创新能力,养成实事求是、严谨求证的工作态度和规范操作、分工协作的工作作风,以及爱科学、爱公物的素养。

通过生理学实验的学习,学生应达到以下具体目标:①掌握基本生理指标测量方法;②掌握生理实验的基本方法和常用仪器的使用;③掌握生理手术基本操作技能;④能独立分析实验结果、写出规范的实验报告;⑤了解生理实验设计的一般原则和方法,并做初步尝试。

生理学实验的独立开设,有利于将实验基础知识、基本操作、综合实验和录像示教内容混合编排、有机组合,构建较系统的生理学实验理论和方法体系,有利于学生的自主学习及创新能力培养目标的落实。

(三) 生理学实验的要求

一堂完整的实验课包括实验前、实验中和实验后三个环节。需要师生共同努力,才能做好教学工作。

1. 实验前 教师要做好实验准备和预备试验。实验准备包括动物的选购和控制饲养、仪器调试、试剂配制和器械的准备(列出提供的实验物品清单)等。对于比较复杂的实验,上课前教师应集体做预备试验;若为新教师或新实验内容,必须进行预备试验。通过预备试验这样一种集体备课的方式,检查实验准备情况,明确实验目的、统一实验要求,使教师操作进一步达到规范和熟练。

学生应有目的地做好充分准备。仔细研读实验指导,理解实验原理和基本操作方法,复习有关解剖、生理知识,预期实验中可能出现的结果和问题。这是避免被动盲目操作甚至发生错误、提高实验课质量的重要前提。有条件时可以在网上观看实验视频、做模拟实验,并做预习报告,设计记录表格,甚至提出实验调整改进建议。

2. 实验中 指导教师简要讲解实验原理和关键步骤,实验要求要明确。可以通过让学生提问和提问学生的方式检查督促学生的预习工作。首次出现的操作可以规范地示教,主要保证学生的动手机会和时间。鼓励和指导学生提出自己的意见、负责任地改变实验项目和进行操作练习。指导教师要全程监控实验过程,及时、耐心地解决学生提出的问题和遇到的困难。准备教师也要全程在场,随时解决有关动物、器械仪器及试剂等方面的问题。

实验室即课堂。学生必须严格遵守实验室规则和安全守则,入室前穿好实验服,服从教师安排和指挥,不得迟到早退,有事外出要请假。保持室内安静,坐在实验台前操作,不随意走动,不做与实验无关的事。注意节约实验器材和药品,实验动物只能由教师统一发给。实验器材每次专人负责,领取清点。已调试好的仪器不要任意调动,实验器具不得与其他组调换,整齐摆放在器械盘中、保持台面整洁,如有需要可向准备教师要求添加或更换。实验时要注意动脑思考、主动参与,实验中

希望更改或设计项目应征求同伴和教师意见。组内分工合作,认真有条理地操作,耐心细致地观察,及时准确地做好原始记录,兼顾好实验成功率与每人训练的关系。若实验过程中出现了问题,要仔细地查找原因并积极合作,努力加以解决,不得过分依赖教师,培养自己独立工作的能力。正确使用并爱护实验仪器,若仪器出现故障,应立即报告教师。

原始记录交教师审查,待教师签字认可后方能处死动物、结束实验;如有错误,须及时补做、补救。实验完成较早时,得到教师允许可以利用动物预习下次操作、补做上次内容或自行练习等,此时仍要注意规范操作和动物福利。

3. 实验后 学生各组清理好自己的场地、物品,归还实验用品,动物尸体和医疗垃圾放于指定位置。准备教师复核学生归还的实验用品是否齐全、完好和清洁,如有损坏和缺少,应详细登记,并酌情赔偿。值日生清理好公共用品和场地,检查好门、窗、水、电,报告准备教师同意后方可离开。每人转录、整理原始记录,及时写好实验报告上交。指导教师应认真批改实验报告,鼓励学生按自己的操作和理解撰写报告,具体指明报告中存在的不足,应在下次实验时下发并适当讲评。

学生应珍惜实验条件和机会,保证实验课质量;做到学风端正,操作规范,结果准确,时间观念强。实验全过程都要注意安全,严防触电、火灾、中毒、腐蚀或被动物抓伤、咬伤等事故发生。绝对不许用动物和手术器械嬉笑打闹。对实验感兴趣的同学可以申请参加实验准备和预备实验。

(四) 做好原始记录,写好实验报告

1. 做好原始记录 原始记录是生理学实验结果的直接记录,是实验报告的依据。做好原始记录是每一位科技工作者的基本功,在实验和科学试验中都具有重要的作用。

原始记录要求客观、及时、全面、准确。“客观”就是要求实事求是,尊重事实,绝不允许修改、编造数据和实验结果。“及时”就是要在事件发生的当时记录,不能靠回忆追记或猜测。为此,最好先设计好记录表格。为了保证快速、及时,原始记录可以使用自造的不一定规范的代号,但应及时誊清或补充说明,避免引起歧义。“全面”就是不仅要记录实验中直接观察到的现象、数据、描记的图形图像等内容,还要记录或标注这些结果产生的条件及干扰因素。例如,测量神经干上动作电位的传导速度,就要将刺激强度、波宽和两对电极间距离等一并记录。剪切图形时也要注意尽量包括相应的标注。“准确”就是要求观察、记录的结果描述恰当,数量和单位无误。

2. 写好实验报告 写实验报告是对所做实验的再理解、再创造的工作,是检查学生知识掌握和衡量能力的重要尺度之一,是今后撰写科技论文的初始演练。

使用学校统一印制的报告纸。填全各栏目,在左上角标明组号,“日期”一栏填做实验日期,写报告日期可标于文末。“指导教师”一栏不写,留作阅读报告人签名用。报告要求格式标准、卷面整洁、字迹端正、图表准确、内容简明精练,按时上交。写报告不得使用圆珠笔,绘图宜用铅笔。注意文字规范、语句通顺,不得使用不规范的简化

字和自造的代号。

生理学实验有的侧重于操作方法(如神经-肌肉标本制备),有的侧重于现象观察(如胃肠运动的直接观察),有的侧重于结果及分析(如影响尿生成的因素),多数则兼而有之。应根据实验类型,选用合适的报告格式并详略得当地安排各栏目。

实验报告大体上有两种格式:一种是一般实验报告式,另一种是仿学术论文式,其对应关系见表 1-1。一般认为操作类宜选用前者,而侧重结果的实验宜选择后者。

表 1-1 实验报告的基本格式

一般实验报告式	仿学术论文式
题目	题目
目的原理	引言(导言)
实验对象与实验用品	材料与方法
方法步骤	
结果与分析	结果与分析
讨论	讨论
结论或结语	结论或结语
注意事项,原始记录,实验分工,体会与建议	附录(含原始记录、参考文献、致谢等)

写报告应以事实为根据,忌抄书,尽量用自己的话表述,但应注意使用专业术语,综合利用文、图、表来表述。“目的原理”可缩写;“实验对象”是指人或动物;“实验用品”需据实列出。对于“方法步骤”,如果是首次、偏操作类的则详写,如果是再次、偏结果的可略写其梗概,但报告均应独立成章,不可用“见书第××页”字样省略必要的内容。在有的实验报告中,“结果与分析”甚至实验项目操作可以列表表达。“结果”是报告的核心内容,是对原始数据的整理和计算、统计。应在原始数据基础上予以归纳和提炼,不能照抄照搬(写“结果见原始记录”者必须重写),也不可轻易推断或引申。“讨论”是一篇报告的重点,应根据理论知识对实验结果进行科学的分析和解释,并判断实验结果是否与生理值或理论相符。如果出现矛盾,应分析其中的原因,忌就事论事或离题万里。“结果与分析”一栏可在实验小组内讨论,必要时也可以参考其他组数据(需注明),但报告必须按要求独立完成,禁止互相抄袭。提倡学生根据实验结果提出自己的独到见解,以及值得深入探索的问题。

(马恒东)

二、生理手术基础

生理学是建立在实验和观察基础上的一门科学。生理学实验方法虽然多种多样,都是以活的动物或人体作为实验材料和观察对象的。在动物实验中,通常需要先进行一定的手术操作,才能开展实验项目的观察。因此,学生应着重掌握基本的生理手术知识

和操作技术,以提高动手能力。

(一) 实验动物

动物生理学实验常用的动物有多种,如鱼、青蛙或蟾蜍、家兔、小白鼠、大白鼠及家畜、家禽等。实验所选用的动物均需健康无病。实验动物的选择必须根据实验内容而定,使其解剖和生理特点适于预定实验的要求。例如,心脏生理实验要求心脏标本存活期长,所需条件简单,可以选青蛙或蟾蜍;研究主动脉神经传入冲动的作用时,则选择家兔作为实验对象,因为家兔的主动脉神经在颈部自成一束,容易分离。接近和保定动物时必须遵守操作规程,事先向畜主或饲养员了解动物习性,穿好工作服、避免惊吓动物,密切注意动物反应。必要时使用器械,戴好手套,实验完成后用肥皂洗手及消毒,保证人和动物的安全。

1. 两栖类 青蛙和蟾蜍是生理学实验中常用的实验动物,分别属于两栖纲无尾目的蛙科和蟾蜍科。青蛙个体较小,皮肤光滑,背部有明显的侧褶,后肢有蹼。雄蛙头部两侧各有一个鸣囊,是发声的共鸣器。前肢短,后肢长,适于跳跃。蟾蜍个体较大,皮肤粗糙,表皮有许多突起,眼后有一对毒腺,所分泌的黏液为蟾酥。繁殖季节,成年雄性蟾蜍的前肢拇趾和食趾内侧有棕黑色的小突起,称为婚垫;无婚垫者则为雌性。当用左手拇指及食指捏住躯干两侧提起时,发出叫声的为雄性;将蟾蜍提起时,前肢作环抱状的为雄性,呈伸直状态的为雌性。

虽然蛙较为低等,但在生理学实验中应用非常广泛。例如,蛙的心脏在离体和适宜条件下,仍能有节奏地搏动较久,常用来研究心脏的生理、药物对心脏的作用;腓肠肌和坐骨神经可用来观察外周神经的生理功能和骨骼肌的收缩;用青蛙和蟾蜍作为实验动物还可进行脊髓休克、脊髓反射、反射弧分析、肠系膜或蹼血管微循环等实验的观察,其中蟾蜍耐受性更强。

蛙的制动一般采用损毁脑及脊髓的办法,操作见图1-1。左手握蛙,用食指将蛙头下压成直角,右手指可触摸到柔软凹陷的枕骨大孔,用蛙针刺入向前搅动捣毁脑。也可用铁剪刀自口角后缘剪去上颌(断头法),若同时捣毁脊髓,则称为双刺毁,全身肌肉将处于松弛瘫软状态。也可采用乙醚吸入麻醉或皮下注射水合氯醛。制动后的蛙可用蛙脚钉或大头针将四肢钉于木制蛙板上操作。在抓取蟾蜍时,注意勿挤压两侧耳部突起的耳后腺,以免其分泌物射进眼中。如发生这种意外,立即用清水冲洗,次日可恢复。

2. 家兔 家兔属哺乳纲兔型目,为草食性动物,盲肠发达,特有圆小囊结构,有食软粪特性(或称假反刍);产生的胆汁较多,相当于同等体重犬的7倍。家兔听觉和嗅觉都十分灵敏,胆小怕惊。在解剖学上,家兔主动脉神经在颈部自成一束,又称为降压神



图1-1 破坏蛙、脑髓脊的方法
(引自赵铁千和王雨若,1985)

经,属于降压反射的传入神经,便于研究降压神经与血管活动的关系。家兔耳部血管丰富,耳缘静脉表浅,容易进行药物注射。家兔为刺激性排卵,卵巢表面变化典型,常用于生殖生理和胚胎学研究。因此,家兔被认为是哺乳动物生理学和外科学基本教学较好的实验动物。

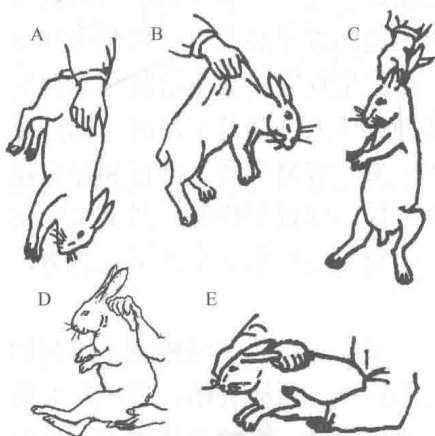


图 1-2 抓兔法

(引自陆宏开和丁衡君, 1989)

D 改为向外

家兔性情温顺,一般不会咬人、蹬人。但有的品种(如长毛兔)或在哺乳、刚产仔和有咬癖时也会咬人,所以必须防备。家兔的脚爪锐利,若不小心或方法不当(图 1-2A~C)易被其抓伤,或造成兔子的创伤甚至导致其流产等。正确的捉兔方法如图 1-2D 和 E 所示,一只手在家兔头前挡住,当它匍匐在地时,顺势大把抓住双耳及颈部皮毛,承重在颈部皮毛上,迅速提起,另一只手从背侧或腹部托住臀部和下腹,抱在胸前。实验中通常将家兔保定在小动物手术台上,用粗麻绳或纱布条做好双活扣拴在腕关节和踝关节以上,必要时用兔头夹(图 1-3A)保定好头部。

3. 鱼类 鱼类是水生变温动物,皮肤没有角质

层,鱼鳞来自真皮,为覆有表皮的钙化板。大多数鱼的主要呼吸器官是鳃,皮肤呼吸是次要的方式。鱼类肾脏除具有排泄功能外,还是较为重要的造血器官。鱼的繁殖是多样化的,有卵生和胎生。鱼类生理实验中常用鲤鱼和草鱼等来观察研究鱼类某些特殊生理现象。

鱼类的保持要有适宜的水源、水温、溶氧、光照和食饵等。

4. 小鼠 小鼠属啮齿目鼠科小鼠属,是从野生小家鼠经长期人工选择培育而成,常见的均为白色品系,又称为小白鼠,是目前医学实验中用途最广泛和最常用的动物。小鼠为杂食性动物,一般性情温顺易于捕捉和操作,但一旦逃出笼外过夜则恢复野性,行动敏捷难以捕捉。小鼠喜居光线暗淡的环境,昼伏夜动。小鼠为群居动物,但群体中雄性间好斗,源于一窝或断奶前同笼饲养的雄鼠则较少相互攻击。小鼠成熟早、繁殖力强,一般雌鼠 35~50 日龄、雄鼠 45~60 日龄性发育成熟,寿命约 2 年。发情周期不同阶段,其阴道黏膜会发生典型变化,可据此做涂片判断。

捕捉小鼠时,可用手或大镊子轻轻提起尾巴,让其前肢扒在笼子边缘,左手拇指、

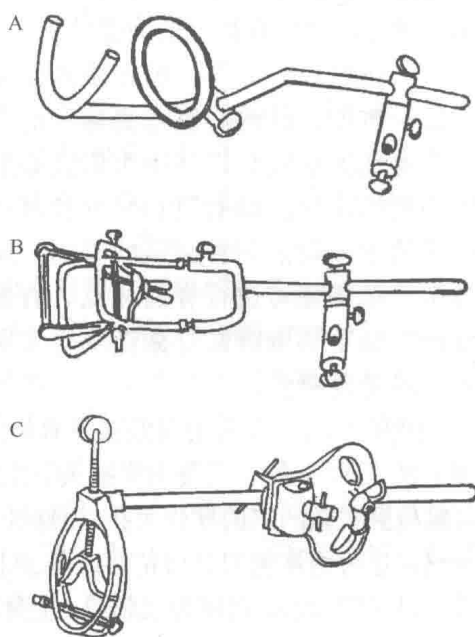


图 1-3 哺乳动物的固定头夹

(引自乔惠理, 1994)

A. 兔用; B. 猫用; C. 狗用

食指迅速捏住其双耳和颈后部皮肤,使其不能转头,将身体和尾部交由左手掌心、无名指和小指保定,腾出的右手可进行腹腔注射等操作。

5. 犬 犬属食肉目犬科。犬与人类有很漫长的共同生活和相互依赖的历史,并已家畜化。犬的寿命约15年,成年期接近2年。犬视力一般较差,嗅觉和听力很灵敏。其大脑发达,适应性强。其心血管系统、神经系统和消化系统的解剖生理特点与人近似,故常用于循环系统、消化系统和条件反射及器官移植等的研究。专供实验用的有小猎兔犬(Beagle)等。

较温顺的犬可徒手保定(图1-4),进行前肢静脉注射。凶猛的犬可用铁质狗钳钳住其颈部进行保定。

6. 羊 羊属偶蹄目反刍草食动物。常用于反刍动物消化生理实验,奶山羊还可用于泌乳实验。羊的保定方法有握角骑跨夹持法、两手围抱法和横卧保定法等。

7. 猪 猪属偶蹄目杂食动物,是畜牧兽医主要的研究对象之一。猪的循环系统、消化系统、免疫及泌尿系统等方面与人类十分相似,故猪已成为研究人类疾病的重要动物模型。因普通猪躯体肥大,不利于实验操作和管理,各国竞相培育小型猪和微型猪用于实验研究。我国已实验动物化的有贵州香猪、广西巴马小型猪和版纳微型猪等。猪的保定方法较多,常用猪横卧徒手保定法、倒提保定法和搔痒保定法等。

8. 鸡、鸭 鸡、鸭属鸟纲,鸡为鸡形目雉科、鸭为雁形目鸭科。家禽在各方面都与哺乳动物有显著区别,在生理学中常用于血细胞计数、消化和内分泌学研究。鸡、鸭易于捕捉保定,同样要防止惊吓和受伤。

实验动物和人类一样是具有生命的个体。为了人类的学习、健康和幸福,无数实验动物奉献了它们的生命。迄今为止,人类尚未找到可以有效替代动物实验的方法,因此动物实验还不得不继续进行。但人类必须尊重和善待动物,讲究动物福利,这是每一个利用实验动物资源的相关人员必须具备的伦理道德。教学、科研工作中使用动物的伦理原则是“尊重生命,科学、合理、仁道地使用动物”,在具体工作中应遵循“3R”原则,即reduction(减少)、replacement(替代)、refinement(优化)。



图1-4 犬徒手保定(引自北京农业大学和东北农学院,1993)

(二) 生理溶液

生理实验中,尤其在离体组织器官实验中,往往为维持实验对象的正常生命活动,需提供适宜的环境。在体外模仿体液成分代替其功能的溶液即生理溶液,又称为代体液。生理溶液一般应具备以下条件:与血液、组织液等渗;含有维持正常机体所必需的、比例适宜的各种无机盐离子;应含有氧气和营养物质;酸碱度应与血浆相同,并

且有一定的缓冲能力。动物种类不同，相应的生理溶液也会有区别。常用生理溶液成分见表 1-2。

表 1-2 常见生理溶液成分 (单位: g)

成分	林格液			洛克液 (哺乳类用)	蒂罗德液 (用于 哺乳类胃肠)	两栖类用 生理盐水	哺乳类用 生理盐水
	鲤鱼用	两栖类用	禽类用				
NaCl	7.526	6.500	6.800	9.000	8.000	6.500	9.000
KCl	0.417	0.140	1.730	0.420	0.200		
CaCl ₂	0.322	0.120	0.640	0.240	0.200		
NaHCO ₃	0	0.200	2.450	0.200	0		
NaH ₂ PO ₄	0.122 (KH ₂ PO ₄)	0.010	0	0	0.050		
MgCl ₂	0.095	0	0.250 (MgSO ₄)	0	0.100		
葡萄糖	2.910	2.000 或 0	0	1.000~2.000	1.000		
蒸馏水	均加至 1000mL						

注：林格（Ringer）液又称为任氏液；洛克（Locke）液又称为乐氏液；蒂罗德（Tyrode）液又称为台氏液

配制溶液时，可按表 1-2 内的数字用天平称取各种物质，然后将其溶解于蒸馏水中。为了配制过程简便，也可预先配好各种物质的浓溶液（也称原液、基础液），用量筒或吸管按比例吸取一定的容积，然后用蒸馏水稀释至所需量即可。配制方法见表 1-3。

表 1-3 配制生理溶液所需的基础液及所加量

成分	浓度/%	林格液 (两栖类)	洛克液	蒂罗德液	林格液 (禽类)
NaCl/mL	20	32.5	40.5	40.0	34.0
KCl/mL	10	1.4	4.2	2.0	17.3
CaCl ₂ /mL	10	1.2	2.4	20.0	6.4
NaHCO ₃ /mL	5	4.0	2.0	20.0	49.0
NaH ₂ PO ₄ /mL	1	1.0		5.0	
MgCl ₂ /mL	5			2.0	0.25g (MgSO ₄)
葡萄糖/g		2.0	1.0~2.0	1.0	
蒸馏水	均加至 1000mL				

(三) 麻醉剂

在慢性实验或急性在体实验中，施行手术之前必须将动物麻醉。否则，手术可使动物产生疼痛、不适和骚动，最终影响实验结果。麻醉方式有多种，除常用的药物麻醉外，还有针刺麻醉、催眠麻醉等。药物麻醉是指用麻醉药使全身或局部的神经、体液活动受到抑制或改变，引起动物机体全身或局部的感觉一时性的迟钝或消失，即全身麻醉或局部麻醉。

由于不同种属动物对不同麻醉药的敏感性不同,各种麻醉药对动物生理机能的影响及麻醉时间也不一样。因此,选择适当的麻醉药对于保证实验的顺利进行和获得正确的结果是很重要的。理想的麻醉药应该具备的条件:麻醉完全,在实验过程中无挣扎和鸣叫现象;对所观察生理指标影响较小;使用方便。20世纪五六十年代,麻醉动物只用单一种类麻醉药,后来逐步改用混合药,如将镇痛、肌松作用药品混合使用。麻醉药品种类很多,要根据动物的敏感性、解剖特点和体况、气质及手术情况进行选择,确定用药量和途径(吸入、静注、肌注、食入、灌肠等)。需要特别注意的是,麻醉药属于管制药品,需要专人负责,其购入、贮存、发放、使用和销毁均需做好记录,必要时可以及时查找或追回。学生实验结束后,严禁将麻醉药品带离实验室。

生理学实验室常用麻醉品有以下几种。

1. 勒布妥麻醉剂(Nembutal注射液) 混合麻醉剂配方为:戊巴比妥钠 5g,丙二醇 40mL,乙醇 10.5mL,加蒸馏水至 100mL。其主要成分是戊巴比妥钠,可抑制脑干网状结构上行激活系统而产生催眠和麻醉作用,加入的乙醇和丙二醇延长了麻醉时间,增强了麻醉效应。该药可采用腹腔或静脉注射,兔参考用量为 0.5mL/kg 体重,对猪、犬、鸭、鼠等效果也好,但不适用于反刍动物。由于戊巴比妥钠对心肌、血管平滑肌和呼吸中枢有抑制作用,一般不用于心血管和呼吸机能方面的研究。麻醉时需有尼可刹米备用。

2. 乌拉坦(氨基甲酸乙酯,尿烷) 其可导致较持久的浅麻醉,对呼吸无明显影响,安全系数大。家兔对其较敏感,犬、猫、鸟类(1.25g/kg 体重)、蛙类(2.00g/kg 体重)等均可用。兔、犬、猫用量为 0.75~1.00g/kg 体重,配成 20%或 25%溶液耳缘静脉注射。但该药长期接触或有致癌作用,目前仅用于血压测定等麻醉要求较高的实验中。

3. 酒精生理合剂 有效成分为乙醇,用生理盐水配成 35%~55%的溶液,成兔的参考用量为 8mL/kg 体重。适用于 2h 左右的手术。但个体间差异较大,注射量也较大,且过量易因抑制呼吸中枢而使家兔致死,故静脉注射应缓慢并随时注意动物的反应。

4. 乙醚 乙醚是无色有强烈刺激味的液体,极易挥发,其蒸气比空气重 2.6 倍,易燃易爆,是一种呼吸性麻醉剂,适用于各种实验动物。乙醚吸入麻醉的机制是抑制中枢神经系统。因为乙醚可刺激呼吸道分泌物增多,为防止呼吸道阻塞,术前可应用阿托品(0.1~0.3mg/kg 体重)皮下或肌肉注射抑制分泌活动,术中保持动物呼吸道通畅。乙醚麻醉有易于掌握、相对安全和作用时间短、恢复快等优点。但麻醉后也容易苏醒,动物在停止吸入乙醚后 1min 内可苏醒。所以实验中需注意维持麻醉深度,避免被咬伤。

5. 化学保定药类 如静松灵(二甲苯胺噻唑),具有镇静、镇痛和中枢松弛肌肉作用,羊用 2%注射液肌注 1~3mg/kg 体重,牛为 0.2~0.6mg/kg 体重。

“846”又称为速眠新,是盐酸二氢埃托啡、保定宁和氟哌啶醇复合液,对羊、犬、兔等具有良好的镇痛、镇静、肌松作用,安全范围大。其也可用作麻醉药代用品。肌肉注射时,羊、犬、兔每只 0.8~1.5mL,家兔也可按 0.1mL/kg 体重计算。

6. 局部麻醉药类 常用 0.5%~10%盐酸普鲁卡因或 2%盐酸可卡因作为局部麻醉药,用于中、小外科手术。麻醉方法有表面涂抹麻醉、局部浸润麻醉、区域阻滞麻醉和神经干(丛)阻滞麻醉等,可消除局部疼痛。例如,羊腮腺瘻手术中使用 0.3%的盐酸普鲁卡因溶液,在术部周围由深层至浅层做浸润麻醉。

7. 常用的鱼类麻醉剂 鱼类麻醉剂直接投入水中，搅匀，放入待麻醉的鱼即可。每升水中麻醉剂的用量分别为：间氨基苯甲酸乙酯甲磺酸盐（tricaine methanesulfonate，商品名为鱼安定、MS-222）0.02~0.10mL，乙醚 10~20mL，特戊醇（amylene alcohol）5~6mL，乌拉坦 5~40mg，喹那啶 0.01~0.03mL（先与等量的丙酮混合）。MS-222 是比较通用的鱼类麻醉剂，特别适合于鱼类手术过程的麻醉，但价格较高。喹那啶的麻醉效果也较好，但麻醉后鱼还保持某种程度的反射性反应，不太适宜手术过程的麻醉。如用 MS-222 和喹那啶进行混合麻醉，效果就很好。如在使用麻醉剂的同时降低水温（如加冰），麻醉效果更佳。

鱼移入麻醉剂后活动性减弱，身体失去平衡，鳃盖活动减弱以致消失，对外界刺激无反应。将鱼从麻醉液移入清水后，通常会在 1min 左右苏醒，鳃盖开始运动、恢复呼吸动作。如果移入清水中 1min 后仍未苏醒和恢复呼吸动作，就要进行人工帮助，用新鲜流水直接注入鱼口腔和鳃部，并用手帮助鱼的口部进行呼吸动作。

鱼的麻醉程度应根据实验目的掌握。如进行药物注射和采血，只需要轻度麻醉，降低鱼的活动性即可；如进行需时较长的手术（安装血管导管、切除脑垂体、胃瘘管手术等），则应进行深度麻醉，并用稀释的麻醉液不断灌注鱼鳃部，使鱼持续处于麻醉状态。

（四）手术器械

手术器械是施行手术的必需工具。手术器械的种类、样式很多，其中有些是各类手术所必须使用的基本器械，应熟悉其名称和用途，并熟练地掌握这些器械的使用方法，这有利于保证手术操作的顺利进行。

1. 手术刀 原为一体式，现多采用由活动的刀片与刀柄组装而成，当刀片被污染或刀刃用钝时可随时更换。手术刀有圆、尖、弯刃刀及长短之分，以适应不同手术的需要。手术刀用于切开皮肤和脏器，刀柄还可用于钝性分离。使用手术刀的关键在于锻炼稳重而精确的动作。一般用止血钳安装和取下刀片（图 1-5）。执刀姿势视切口大小、位置等不同而有指压式（又称琴弓式或执弓式）、捉刀式（或称抓持式）、执笔式及反挑式（外向执笔式）等持法（图 1-6）。指压式为最常用的一种执刀方法，发挥腕和手指的力量，用于切开较松软组织，力量较轻，动作较快，如腹部切口。捉刀式用于较长的皮肤切口，尤其是项背部、臀部皮肤等较坚韧的部位，力量在手腕。执笔式用以切割短小切口，用力轻柔而操作精细，如分离血管和神经及切开腹膜小口等，动作和力量主要在手指。反挑式的手法是刀刃由内向外挑开，以避免损伤深部组织或器官，如腹膜切开或挑开狭窄的腱鞘等。

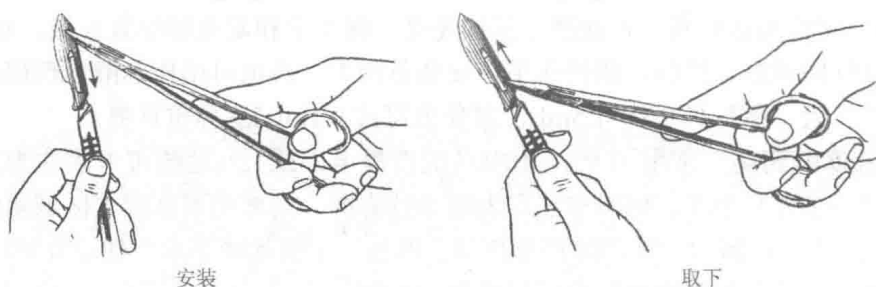


图 1-5 安取刀片法

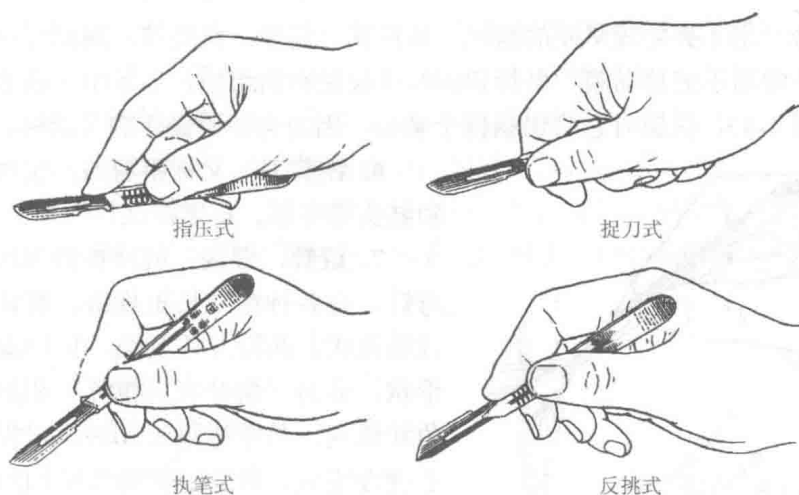


图 1-6 常用手术刀持法

2. 手术剪（外科剪、组织剪） 有长短、尖头钝头、直弯之分；弯剪多用于深部组织的分离，手和剪柄不致妨碍视线。外科剪常用来剪断软组织、分离无血管的组织、系膜、网膜等。为保护娇嫩的内脏不受损害，剪开腹膜常用尖头钝头剪（专称腹膜剪）。急性实验中手术剪也用来剪开皮肤等，但不可剪毛、剪骨。小型手术剪又称为眼科剪，剪细小组织用，一般不可用于剪皮肤。使用手术剪时，应将拇指和无名指伸入剪柄的圆环中，以第一关节为度，不宜过深，食指自然地压在剪轴处，其余二指护在剪柄相应部位，以协助掌握方向和用力，这样可使动作准确、稳定、可靠（图 1-7）。

3. 剪毛剪（简称毛剪） 剪毛剪与弯剪类似，只是尖部平钝、上翘。用于术部被毛的剪除，持法与手术剪相同。剪毛时，剪毛剪自然落下逆毛方向一次次将毛剪下。加力下压或一手提起被毛，均易剪破皮肤。剪下的毛应集中放入加有清水的污物盒内，避免四处飞扬。在兔耳缘静脉注射或鼠尾静脉注射时常用拔毛法。慢性手术中，还常用剃毛法或硫化钠等化学药品脱毛法，除毛较彻底。

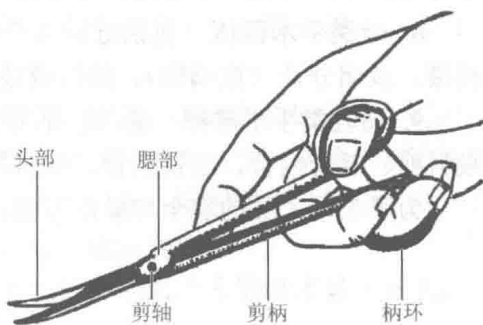


图 1-7 执剪方法（改自范振勤，1991）

4. 止血钳（血管钳） 止血钳有弯直长短之分，常用的是蚊嘴式。其作用：一是尽量少地夹住出血的血管或出血点以达到止血目的；二是用于分离组织、牵引缝线等。止血钳是生理手术中钝性分离的最常用器械，其余还有手术镊、手术刀柄、玻璃分针、玻璃钩等，后两者主要用于神经的分离。止血钳的持钳方法与持手术剪基本相同。但止血钳柄环间有齿，可咬合锁住。松钳时，可利用已套入钳环的拇指与无名指相对挤压，继而旋开；或将钳柄两个环放于手掌，拇指与其余手指向相反方向推动钳环。

5. 手术镊 大小不一，有有齿（外科镊）、无齿（解剖镊）及直头、弯头之分。用于夹住和提起组织，便于剥离、剪断和缝合；以及夹持敷料、异物。外科镊尖端有齿，