

普通高中课程标准实验教材辅导丛书

实验探究报告

实验探究报告编写组 编

配人教版

生物 必修3

稳态与环境



北京出版社出版集团
北京教育出版社

普通高中课程标准实验教材辅导丛书

实验探究报告

配人教版

生物 必修 3

稳态与环境

主 编 左开俊
编 委 许雪红 徐广梅 李星宇
陆丽平 吴志慧

 北京出版社出版集团

 北京教育出版社

图书在版编目(CIP)数据

实验探究报告:通用版. 生物. 3:必修/《实验探究报告》编写组编. —北京:北京教育出版社,2008.8

ISBN 978-7-5303-6659-2

I. 实… II. 实… III. 生物课—高中—实验报告 IV. G634.73

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2008)第 117674 号

实验探究报告 生物 必修 3(配人教版)

出版发行 北京出版社出版集团·北京教育出版社

地 址 北京北三环中路 6 号 邮编:100011

印 刷 北京顺义康华福利印刷厂

经 销 各地新华书店

开 本 787mm×1092mm 1/16

印 张 5.5

字 数 80 千字

版 次 2008 年 8 月第 1 版 2008 年 8 月第 1 次印刷

书 号 ISBN 978-7-5303-6659-2/G·6578

定 价 8.00 元

质量投诉电话:010-82755753

目 录

实验基础知识.....	1
一、生物学实验简介	1
二、实验设计的三个原则	2
三、探究性实验与验证性实验的比较	3
四、放射性同位素的应用——同位素示踪法	4
五、DNA 探针	5
六、植物组织培养	6
七、胚胎移植技术	7
八、溶液培养法(或砂基培养法)	7
九、菌种的保藏	8
实验探究	10
第 1 章 人体的内环境与稳态	10
实验 生物体维持 pH 稳定的机制	10
链接高考	13
第 2 章 动物和人体生命活动的调节	17
实验 模型建构 建立血糖调节的模型	17
链接高考	21
第 3 章 植物的激素调节	25
探究 探究生长素类似物促进插条生根的最适浓度	25
链接高考	29
第 4 章 种群和群落	35
探究一 用取样方法调查草地中某种双子叶植物的种群密度	35
探究二 培养液中酵母菌种群数量的变化	39
探究三 土壤中小动物类群丰富度的研究	43

链接高考	47
第 5 章 生态系统及其稳定性	50
调查 调查当地农田生态系统中的能量流动情况	50
探究 土壤微生物的分解作用	54
制作 设计并制作生态缸,观察其稳定性	57
链接高考	61
实验测试	66
实验测试(1)	66
实验测试(2)	74
部分参考答案	81



实验基础知识

一、生物学实验简介

生物学实验是培养学生科学素养、实践能力,特别是实验探究能力的主要手段。

新课标中对生物学实验有较高的要求,它也是高考考查的重点内容之一。我们将所有实验、实习分为四类:

1. 探究性实验

事先并不知道实验结论,而是通过实验探究得出相应的结论,从而使学生获得新的知识。该类实验让学生重视知识的发生、发展及发现过程,从而培养学生的创新能力和实践能力。该类实验主要训练学生基本的实验设计能力、实验分析能力等,其基本内容包括:

(1) 实验设计的一般程序

①明确实验目的和具体要求;②确定实验的原理和研究对象;③明确实验条件(如仪器、温度、pH等);④确定实验设计思路;⑤设计实验步骤;⑥预测和分析实验结果。

(2) 实验设计的基本原则

①科学性原则;②对照性原则;③单因子变量原则;④平行可重复性原则。

(3) 实验结果的预测和分析,要求从三个方面进行预测:“是”“不是”或“中间”。

此类实验需要对某些生物学现象作出合理化的假设并通过设计实验进行验证。如教材中“比较过氧化氢酶与 Fe^{3+} 的催化效率”“探索淀粉酶对淀粉和蔗糖的作用”“温度对酶活性的影响”“植物向性运动的实验设计与观察”等。这类实验要求高,开放性强。

2. 验证性实验

验证性实验是对已知结果的实验进行验证。对于这一类实验,我们主要理解、掌握实验的原理、方法步骤、注意事项及结果分析等。在回答问题时,一般从两个方面进行,即“是”或“否”。

(1)在此类实验中,常利用某种试剂对生物体或细胞中的成分进行鉴别,针对不同的鉴别对象,采用不同的试剂。就实验中常用的试剂归类如下表:

实验名称	鉴定对象	试剂	颜色	水浴加热	生物材料
生物组织中糖类的鉴定	淀粉	碘液	蓝色	无	脱色的叶片
	还原糖	斐林试剂 班氏试剂	砖红色	需要	含糖量高的白色或近白色的植物组织、尿液、血液
蛋白质的鉴定	蛋白质	双缩脲试剂	紫色	无	豆浆、牛奶、鸡蛋清
DNA 粗提取和鉴定	DNA	二苯胺试剂	蓝色	需要	鸡血细胞

(2) 鉴别类实验应注意的问题

①实验结论常根据特定的颜色反应来确定。

②有些可不设立对照实验,若需设立,应增设一组,加入已知的待检测物质,如验证唾液淀粉酶是蛋白质,对照组可加入稀释的鸡蛋清。



③注意选择合适的试剂,并注意试剂使用的特殊要求,如加热、煮沸等。

3. 模拟实验

对于某些限于客观条件、水平等原因不能进行的生物学实验,我们可以设计成模拟实验,从而加深对教材相关内容的理解,运用相关原理分析问题、解决问题。

4. 实习与研究性学习

“实验法”“观察法”和“调查法”是进行科学研究的主要方法。结合高中研究性学习内容,可以对学生进行全方位的训练,从而提高学生的学习兴趣,培养学生的能力。社会调查等实践活动,在培养学生的能力特别是交际能力、语言表达能力、建立良好的协作关系等方面是必不可少的,要求通过具体例子掌握两种方法在实践中的应用,学会设计、编制表格及简单的数据处理等实验方法。

此类实验常通过调查法进行,调查法中常使用统计技术和测量技术。

实习、研究性课题	调查对象	统计方法	计算公式
种群密度的取样调查	动物	标志重捕法	$\frac{\text{个体总数}(N)}{\text{初次捕获个体数}} = \frac{\text{再次捕获个体数}}{\text{重捕的标志个体数}}$
	植物	样方法	所有样方内个体数/样方的总面积
调查人群中遗传病	人类某种遗传病	汇总数	$\text{发病率} = \frac{\text{患病人数}}{\text{被调查人数}} \times 100\%$
调查环境污染对生物的影响	环境污染程度	汇总数	$\text{污染程度} = \frac{\text{污染区域}}{\text{被调查区域}} \times 100\%$

二、实验设计的三个原则

1. 对照性原则

科学、合理的设置对照可以使实验方案简洁、明了,且使实验结论更有说服力。

“实验组”与“对照组”的确认 一个实验通常分为实验组和对照组(控制组)。实验组是施加实验变量处理的被试组,对照组是不施加实验变量处理的对象组,两者对无关变量的影响是相等的,两组之间的差别,被认为是来自实验变量的结果。按照对照方式的不同可分为以下四种。

(1)空白对照:即不作任何实验处理的对照组。例如,在还原糖鉴定实验中留一部分样液不加入斐林试剂,以作对照。

(2)相互对照:即不设控制组,只在几个实验组之间相互对比。例如,在植物激素与向性的设计实验中,5个实验组的相互比较。在实验中要找出一个最佳效果点,就要采取相互对照的方法进行实验。

(3)条件对照:即给对象施加某种实验处理,虽不是检验假设需要的,但更能充分说明实验变量的对照。例如,用动物激素饲喂小动物的实验方案中,饲喂甲状腺激素的是实验组;饲喂甲状腺抑制剂的是条件对照组;不饲喂药剂的是空白对照组。



(4)自身对照:即实验与对照在同一对象上进行。例如,将过氧化氢酶加入过氧化氢溶液中证明酶是生物催化剂,可催化过氧化氢水解,即自身对照。处理前的对象状况为对照组,处理后的对象变化为实验组。

再如,在探究温度(或pH)对酶催化活性影响的实验中,温度(或pH)(0℃、50℃、100℃)为条件对照。清水(软水)、河水(硬水)对加酶洗衣粉影响的实验中,清水(软水)、河水(硬水)为相互对照。用缺素营养液培养的出现缺素症状的植株加入某元素后恢复正常为自身对照。

2. 等量性原则

每次实验所加试剂的量要相等。

3. 单因子变量原则

实验变量剖析 在实验过程中变量是指可被操纵控制的,在性质和数量上可以变化的特定因素或条件,具体分析如下:

(1)实验变量与反应变量

①实验变量是研究者主动操纵的条件和因子,是作用于实验对象的刺激变量(也称自变量),自变量须以实验目的和假设为依据,应具有可变性和可操作性。

②反应变量(又称因变量)是随自变量变化而产生反应或发生变化的变量。反应变量是研究是否成功的证据,应具可测性和客观性。

③二者关系:实验变量是原因,反应变量是结果,即具因果关系。

(2)无关变量(控制变量)是指与研究目标无关,但却影响研究结果的变量。实验者应严格控制无关变量,否则实验结果的真实性的无法得到认定。我们常在实验过程中强调“选取生长状况相同的幼苗”“数量大小相同的种子”“置于相同并适宜条件下培养”“加入等量的清水”等都是为了控制无关变量对实验结果的干扰。

三、探究性实验与验证性实验的比较

1. 概念

(1)探究性实验:指实验者在不知道实验结果的前提下,通过自己实验、探索、分析、研究得出结论,从而形成科学概念的一种认知活动。

(2)验证性实验:指实验者针对已知的实验结果而进行的以验证实验结果、巩固和加强有关知识内容、培养实验操作能力为目的的重复性实验。

2. 比较表

	探究性实验	验证性实验
实验目的	探索研究对象的未知属性、特征以及与其他因素的关系	验证研究对象的已知属性、特征以及与其他因素的关系
实验假设	假设一般采用“如果A,则B”的形式表述,是根据现有的科学理论、事实,对所研究的对象设想出一种或几种可能性的答案、解释	因结论是已知的,因此不存在假设问题



续表

	探究性实验	验证性实验
实验原理	因探究内容而异	因验证内容而异
实验过程	应有的实验步骤实际上并未完成,因探究内容而异	应有的实验步骤,可以是曾经做过或尚未做过的,因验证内容而异
实验现象	未知,可以不描述	已知,应准确描述
实验结果预测	对应假设,分类讨论。一般需讨论“如果出现结果①会怎样,如果出现结果②或③又会怎样”。但有时也会出现“预测最可能的结果”的问题。此种情况应根据已有知识推测最合理的结果	与实验假设一致或不一致(不可与探究性的结果预测相混)
实验结论	根据可能的实验结果,进行分析	对应实验目的作出肯定结论

四、放射性同位素的应用——同位素示踪法

同位素示踪法(isotopic tracer method)是利用放射性核素作为示踪剂对研究对象进行标记的微量分析方法。

同位素示踪所利用的放射性核素(或稳定性核素)及它们的化合物,与自然界存在的相应普通元素及其化合物之间的化学性质和生物学性质是相同的,只是具有不同的核物理性质。因此,就可以用同位素作为一种标记,制成含有同位素的标记化合物(如标记食物、药物和代谢物质等)代替相应的非标记化合物。利用放射性同位素不断地放出特征射线的核物理性质,就可以用核探测器随时追踪它在体内或体外的位置、数量及其转变等。稳定性同位素虽然不释放射线,但可以利用它与普通相应同位素的质量之差,通过质谱仪、气相层析仪、核磁共振等质量分析仪器来测定。放射性同位素和稳定性同位素都可作为示踪剂(tracer),但是稳定性同位素作为示踪剂,其灵敏度较低,可获得的种类少,价格较昂贵,其应用范围受到限制;而用放射性同位素作为示踪剂,有灵敏度高、测量方法简便易行、能准确地定量、准确地定位及符合所研究对象的生理条件等特点。

1. 灵敏度高

放射性示踪法可测到 $10^{-18} \sim 10^{-14}$ g 水平,即可以从 10^{15} 个非放射性原子中检出一个放射性原子。它比目前较敏感的分析天平要敏感 $10^7 \sim 10^8$ 倍,而迄今最准确的化学分析法很难测定到 10^{-12} g 水平。

2. 方法简便

放射性测定不受其他非放射性物质的干扰,可以省略许多复杂的物质分离步骤。体内示



踪时,可以利用某些放射性同位素释放出穿透力强的 γ 射线,在体外测量而获得结果,这就大大简化了实验过程,做到非破坏性分析。随着液体闪烁计数的发展, ^{14}C 和 ^3H 等发射软 β 射线的放射性同位素在医学及生物学实验中得到越来越广泛的应用。

3. 定位、定量准确

放射性同位素示踪法能准确定量地测定代谢物质的转移和转变,与某些形态学技术相结合(如病理组织切片技术、电子显微技术等),可以确定放射性示踪剂在组织器官中的定量分布,并且对组织器官的定位准确度可达到细胞水平、亚细胞水平乃至分子水平。

4. 符合生理条件

在放射性同位素实验中,所引用的放射性标记化合物的化学量是极微量的,它对体内原有的相应物质的质量改变是微不足道的,体内生理过程仍保持正常的平衡状态,获得的分析结果符合生理条件,更能反映客观存在的事物本质。

放射性同位素示踪法的优点如上所述,但也存在一些缺陷,如从事放射性同位素工作的人员要受一定的专门训练,要具备相应的安全防护措施和条件,在目前个别元素(如氧、氮等)还没有合适的放射性同位素等。

在做示踪实验时,还必须注意到示踪剂的同位素效应和放射效应问题。所谓同位素效应是指放射性同位素(或是稳定性同位素)与相应的普通元素之间存在着化学性质上的微小差异所引起的个别性质上的明显区别,对于轻元素而言,同位素效应比较严重。因为同位素之间的质量判别是倍增的,如 ^3H 质量是 ^1H 的三倍, ^2H 质量是 ^1H 的两倍,当用氘水($^3\text{H}_2\text{O}$)作示踪剂时,它在普通 H_2O 中的含量不能过大,否则会使水的物理常数、对细胞膜的渗透及细胞质黏性等发生改变。但在一般的示踪实验中,由同位素效应引起的误差,常在实验误差内,可忽略不计。放射性同位素释放的射线利于追踪测量,但射线对生物体的作用达到一定剂量时,会改变机体的生理状态,这就是放射性同位素的辐射效应,因此放射性同位素的用量应小于安全剂量,严格控制在生物机体所能允许承受的范围之内,以免实验对象受辐射损伤,而得到错误的结果。

五、DNA 探针

DNA 探针是最常用的核酸探针,指长度在几百碱基对以上的双链 DNA 或单链 DNA。现已获得的 DNA 探针数量很多,有细菌、病毒、原虫、真菌、动物和人类细胞 DNA 探针。这类探针多为某一基因的全部或部分序列,或某一非编码序列。这些 DNA 片段必须是特异的,如细菌的毒力因子基因探针和人类 Alu 探针。这些 DNA 探针的获得有赖于分子克隆技术的发展和运用。以细菌为例,目前分子杂交技术用于细菌的分类和菌种鉴定比 G+C 百分比值要准确得多,是细菌分类学的一个发展方向。加之其技术的高敏感性,使其在临床微生物诊断上具有广阔的前景。

细菌的基因组大小约 5×10^6 bp, 约含 3 000 个基因。各种细菌之间绝大部分 DNA 是相同的,要获得某细菌特异的核酸探针,通常要采取建立细菌基因组 DNA 文库的办法,即将细菌 DNA 切成小片段后分别克隆得到包含基因组的全信息的克隆库。然后用多种其他菌种的 DNA 作探针来筛选,产生杂交信号的克隆被剔除,最后剩下的不与任何其他细菌杂交的克隆则可能含有该细菌特异性 DNA 片段。将此重组质粒标记后作探针进一步鉴定,也可经 DNA



序列分析鉴定其基因来源和功能。因此要得到一种特异性 DNA 探针,常常是比较繁琐的。

探针 DNA 克隆的筛选也可采用血清学方法,所不同的是所建 DNA 文库为可表达性,克隆菌落或噬菌斑经裂解后释放出表达抗原,然后用来源于细菌的多克隆抗血清筛选阳性克隆,所得到多个阳性克隆再经其他细菌的抗血清筛选,最后只与本细菌抗血清反应的表达克隆即含有此细菌的特异性基因片段,它所编码的蛋白是该菌种所特有的。用这种表达文库筛选得到的显然只是特定基因探针。

对于基因探针的克隆还有更快捷的途径,这也是许多重要蛋白质的编码基因的克隆方法。该方法的第一步是分离纯化蛋白质,然后测定该蛋白的氨基或羧基末端的部分氨基酸序列,然后根据这一序列合成一套寡核苷酸探针。用此探针在 DNA 文库中筛选,阳性克隆即是目标蛋白的编码基因。值得一提的是真核细胞和原核细胞基因结构有所不同。真核细胞的基因中含有非编码的内含子序列,而原核细胞则没有。因此,真核基因组 DNA 探针用于检测基因表达时杂交效率要明显低于 cDNA 探针。DNA 探针(包括 cDNA 探针)的主要优点有下面三点:

①这类探针多克隆在质粒运载体中,可以无限繁殖,取之不尽,制备方法简便。

②DNA 探针不易降解(相对 RNA 而言),一般能有效抑制 DNA 酶活性。

③DNA 探针的标记方法较成熟,有多种方法可供选择,如缺口平移、随机引物法、PCR 标记法等,能用于同位素和非同位素标记。

六、植物组织培养

1. 植物组织培养步骤

第一步,将采来的植物材料除去不用的部分,将需要的部分仔细洗干净,如用适当的刷子等刷洗。把材料切割成适当大小,即灭菌容器能放入为宜。置于自来水龙头下流水冲洗几分钟至数小时,冲洗时间视材料清洁程度而异。易漂浮或细小的材料,可装入纱布袋内冲洗。流水冲洗在污染严重时特别有用。洗时可加入洗衣粉,然后再用自来水冲净洗衣粉水。洗衣粉可除去轻度附着在植物表面的污物,除去脂质性的物质,便于灭菌液的直接接触。当然,最理想的清洗物质是表面活性物质——吐温。

第二步是对材料的表面浸润灭菌。要在超净台或接种箱内完成,准备好消毒的烧杯、玻璃棒、70%酒精、消毒液、无菌水、手表等。用 70%酒精浸 10~30 s。由于酒精具有使植物材料表面被浸湿的作用,加之 70%酒精穿透力强,也很易杀伤植物细胞,所以浸润时间不能过长。有一些特殊的材料,如果实、花蕾,包有苞片、苞叶等的孕穗,多层鳞片的休眠芽等以及主要取用内部的材料,则可只用 70%酒精处理稍长的时间。处理完的材料在无菌条件下,待酒精蒸发后再剥除外层,取用内部材料。

第三步是用灭菌剂处理。表面灭菌剂的种类较多,可根据情况选取 1~2 种使用。

第四步是用无菌水涮洗。涮洗每次要 3 min 左右,视采用的消毒液种类,涮洗 3~10 次左右。无菌水涮洗作用可免除消毒剂杀伤植物细胞的副作用。

注意:①酒精渗透性强,幼嫩材料易在酒精中失绿,所以浸泡时间要短,防止酒精杀死植物细胞。②老熟材料,特别是种子等可以在酒精中浸泡时间长一些,如种子可以浸泡 5 min。③升汞的渗透力弱,一般浸泡 10 min 左右,对植物材料的杀伤力不大。④漂白粉容易导致植物材料失绿,所以对于幼嫩材料要慎用。⑤在消毒液中加入质量分数为 0.08%~0.12%的吐温



20 或 80(一种湿润剂),可以降低植物材料表面的张力,达到更好的消毒效果。

2. 植物组织培养的特点

(1) 培养条件可以人为控制

组织培养采用的植物材料完全是在人为提供的培养基和小气候环境条件下进行生长,摆脱了大自然中四季、昼夜的变化以及灾害性气候的不利影响,且条件均一,对植物生长极为有利,便于稳定地进行周年培养生产。

(2) 生长周期短,繁殖率高

植物组织培养由于人为控制培养条件,根据不同植物不同部位的不同要求而提供不同的培养条件,因此生长较快。另外,植株也比较小,往往 20~30 d 为一个周期。所以,虽然植物组织培养需要一定设备及能源消耗,但由于植物材料能按几何级数繁殖生产,故总体来说成本低廉,且能及时提供规格一致的优质种苗或脱病毒种苗。

(3) 管理方便,利于工厂化生产和自动化控制

植物组织培养在一定的场所和环境条件下,人为提供一定的温度、光照、湿度、营养、激素等条件,极利于高度集约化和高密度工厂化生产,也利于自动化控制生产。它是未来农业工厂化育苗的发展方向。它与盆栽、田间栽培等相比省去了中耕除草、浇水施肥、防治病虫害等一系列繁杂劳动,可以大大节省人力、物力及田间种植所需要的土地。

七、胚胎移植技术

胚胎移植是将优良遗传性状的母畜和公畜交配后的早期胚胎取出,或经体外受精而获得的胚胎移植到另一头生理状态相同的母畜的输卵管或子宫内,使其继续发育直至分娩的技术。该项技术主要用于遗传育种、种畜及优良母畜的扩繁生产中,其主要技术有:

受体选择、受体同期发情处理、受体鉴定、胚胎级别鉴定、胚胎移植和移植后观察等几个基本环节的技术要点是:

1. 受体母畜的选择:受体应选择体况中上、具备正常的发情周期、生殖器官正常无疾病、年龄在 3~10 岁的经产母畜。

2. 受体母畜的同期发情处理:是将受体母畜应用人为的方法和外源性激素进行处理后,使其发情时间统一,生理状态与供体母畜相同。

3. 受体鉴定:主要鉴定受体卵巢与黄体发育是否适宜移植胚胎的怀孕。

4. 胚胎鉴定:将胚胎分为 A 级、B 级、C 级、D 级。A 级、B 级胚胎为移植可利用胚胎。

5. 胚胎移植:牛的胚胎移植多采用非手术移植法,羊的胚胎移植常采用手术移植法。技术要求,胚胎在体外暴露时间要短,移植要快,部位要准。

6. 受体移植后观察:胚胎移植后,不仅要注意受体的健康状况,还要仔细观察它们在预定的时间内是否发情。移植后出现发情则说明未受孕,移植失败。

八、溶液培养法(或砂基培养法)

溶液培养法(solution culture method)也称水培法(water culture method),是在含有全部或部分营养元素的溶液中培养植物的方法;而砂基培养法(sand culture method)则是在洗净的石英砂或玻璃球等基质中加入营养液来培养植物的方法。



无论是溶液培养还是砂基培养,首先必须保证所加溶液是平衡溶液,同时要注意它的总浓度和 pH 必须符合植物的要求。在水培时还要注意通气和防止光线对根系的直接照射等。

在研究植物必需的矿质元素时,可在配制的营养液中除去或加入某一元素,以观察植物的生长发育和生理生化变化。如果在植物生长发育正常的培养液中,除去某一元素,植物生长发育不良,并出现特有的病症,当加入该元素后,症状又消失,则说明该元素为植物的必需元素。反之,若减去某一元素对植物生长发育无不良影响,即表示该元素为植物的非必需元素。

溶液培养和砂基培养不仅用于植物对矿质元素必需性的研究,而且已广泛地用于植物材料的培养和无土栽培。

九、菌种的保藏

经诱变筛选、分离纯化以及纯培养等一系列艰苦劳动得到的优良菌株,能使其稳定地保存,保持原有的特性,不死亡、不污染,这就是菌种保藏的任务。

1. 原理

人为地创造合适的环境条件,使微生物的代谢处于不活泼、生长繁殖受抑制的休眠状态。这些人工环境主要从低温、干燥、缺氧三方面设计。

2. 常用方法

菌种的保藏方法多样,采取哪种方式,要根据保藏的时间、微生物种类、具备的条件等而定。这里我们着重介绍几种常用的保藏方法。

(1) 斜面保藏法

将菌种接种在试管斜面培养基上,待菌种生长完全后,置于 4℃ 冰箱中保藏,每隔一定时间再转接至新的斜面培养基上,生长后继续保藏。对细菌、放线菌、霉菌和酵母菌均可采用。此方法简单、存活率高,故应用较普遍。其缺点是菌株仍有一定的代谢强度,传代多则菌种易变异,故不宜长时间保藏菌种。为此有人做了某些改进,如将试管的棉塞用橡皮塞或木塞代替,然后用石蜡封口,这一改进可以使保存时间延长到 10 年以上,存活率仍达 75%~100%。

(2) 液体石蜡覆盖保藏法

为了防止传代培养菌因干燥而死亡,也为限制氧的供应以削弱代谢水平,在斜面或穿刺的培养基中覆盖灭菌的液体石蜡,主要适用于霉菌、酵母菌、放线菌、好氧性细菌等的保存。霉菌和酵母菌可保存几年,甚至长达 10 年。本法的优点是方法简单,不需特殊装置。其缺点是对很多厌氧细菌或能分解烃类的细菌的保藏效果较差。液体石蜡要求选择优质无毒的,一般为化学纯规格;可以在 121℃ 湿热灭菌 2 h,或 150~170℃ 干燥灭菌 1 h。要求液体石蜡的油层高于斜面顶端 1 cm,垂直放在室温或 4℃ 冰箱内保藏。

(3) 载体保藏法

使微生物吸附在适当的载体上(土壤、砂子等)进行干燥保存的方法,最常用的有土壤保藏法,主要用于能形成孢子或孢子囊的微生物(真菌、放线菌和部分细菌)的保存。使用的土壤原则上是肥沃的耕土,灭菌后放入干燥器中使其水分逸散,然后接入菌悬液或直接接种斜面的孢子,充分干燥后,密封保存。因土壤中有大量有机质,高温下可形成抑制微生物生长的物质,故土壤应避免干热灭菌。此法简便,保藏时间较长,微生物转接也较方便,故应用范围较广。



(4) 悬液保藏法

是将微生物混悬于适当媒液中加以保藏的方法,根据所使用的媒液不同而有不同名称,其中蒸馏水保藏法较常用。酵母菌、霉菌和放线菌的大部分均适用此法保存。操作方法简便,在试管的斜面培养基中加入无菌蒸馏水少量,用灭菌吸管轻轻吹散表面菌落,使之分散均匀,然后分装至已灭菌的螺旋口小管中,将盖子盖严即可放在室温下保存。有人用本法将 66 属 147 种霉菌、酵母菌和放线菌共计 417 株在室温下保存了 1~5 年,其中 93%(389 株)仍然存活。

(5) 寄主保藏法

某些微生物(如病毒、立克次氏体、螺旋体和少数丝状真菌等)只能寄生在活着的动物、植物或细菌中才能繁殖传代,故可针对寄主细胞或细胞的特性进行保存。如植物病毒可用植物幼叶的汁液与病毒混合,冷冻或干燥保存。噬菌体可以经过细菌培养扩大后,与培养基混合直接保存。动物病毒可直接用病毒感染适宜的脏器或体液,然后分装于试管中密封,低温保存。

(6) 冷冻干燥保藏法

这是最佳的微生物菌体保存法之一,保存时间长,可达 10 年以上。低温冷冻可以用普通 -20°C 或更低 -50°C 、 -70°C 冰箱,用液氮(-196°C)更好。无论是哪种冷冻,在原则上应尽可能速冻,使其产生的冰晶小而减少细胞的损伤。不同微生物的最适冷冻速度不同。为防止细胞被冻死,保存液中应加些保护剂,例如甘油、二甲亚砜等,它们可透入细胞,通过降低强烈的脱水作用而保护细胞;大分子物质如脱脂牛奶、血清白蛋白、糊精、聚乙烯吡咯烷酮(PVP)等,可通过与细胞表面结合的方式防止细胞膜受冻伤。为了防止菌种死亡,一般菌种只能使用一次,切勿反复冻融。其缺点是手续麻烦,需要高价设备,存活率低等。

(7) 液氮保藏法

将菌种(悬液或菌块)通过预冻后放在超低温($-196 \sim -150^{\circ}\text{C}$)的液氮中长期保藏的方法。对于用其他方法保藏有困难的微生物如支原体、衣原体及难以形成孢子的霉菌、小型藻类或原生动物等都可用本法长期保藏。这是当前保藏菌种的最理想的方法。但必须将菌液悬浮于低温保护剂(如甘油、脱脂牛奶等)中,并须控制致冷速度进行预冻,以减少超低温对细胞造成的损伤。由于不同细胞类型的渗透性不同,每种生物所能适应的冷却速度也不同,因此须根据具体的菌种,通过试验来决定冷却的速度。在保存过程中要注意及时补充液氮。



实验探究

第1章 人体的内环境与稳态

实验 生物体维持 pH 稳定的机制

_____年_____月_____日

活动目标

通过比较自来水、缓冲液(如 Na_2HPO_4 、 NaH_2PO_4 等的溶液,在加入酸或碱后,能使 pH 的变化减弱)和生物材料在加入酸或碱后 pH 的变化,推测生物体是如何维持 pH 稳定的。

实验准备

1. 实验原理

血液中含有许多对酸碱度起缓冲作用的物质。每一对缓冲物质都是由一种弱酸和相应的一种强碱盐组成的,如 $\text{H}_2\text{CO}_3/\text{NaHCO}_3$ 、 $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$ 等。

细胞代谢会产生许多酸性物质,如碳酸等,人和动物吃的食物有时会含有一些_____性或_____性物质,这些酸性或碱性物质进入内环境,常使_____发生偏移。但一般情况下,机体能通过_____使 pH 稳定在一定范围内。

2. 小组合作

你们小组的成员有:_____;

组长:_____;小组成员分工:_____。

3. 材料用具

(1)实验材料:生物材料(肝匀浆、马铃薯匀浆、用水按 5:1 稀释的鸡蛋清、黄瓜匀浆)、pH=7 的磷酸缓冲液。

(2)实验用具:4 副防护手套、50 mL 烧杯 1 个、50 mL 量筒 1 个、彩色铅笔、pH 计或万用 pH 试纸、镊子 1 把、自来水、0.1 mol/L 盐酸(盛于滴瓶中)、0.1 mol/L NaOH(盛于滴瓶中)。

实验步骤

1. 将 25 mL _____ 倒入 50 mL 的烧杯中。

2. 用 pH 计或万用 pH 试纸测试 _____ 的 pH,并将测定结果记入表中。



不同实验材料 pH 变化记录表

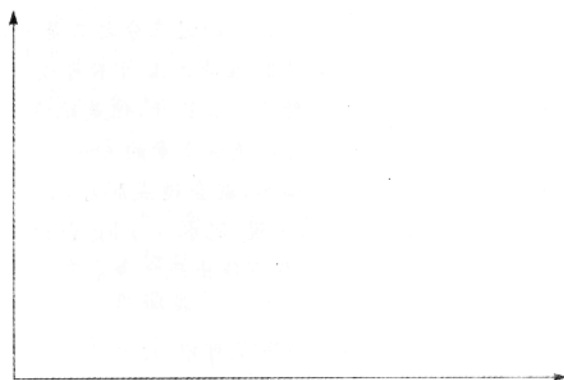
	加入 0.1 mol/L 盐酸							加入 0.1 mol/L NaOH						
	加入不同数量液滴后的 pH							加入不同数量液滴后的 pH						
	0	5	10	15	20	25	30	0	5	10	15	20	25	30
自来水														
缓冲液														
生物材料 1														
生物材料 2														

3. 一次加一滴 0.1 mol/L 盐酸,然后轻轻摇动。加入 5 滴后再测_____。重复这一步骤直到加入了_____滴为止。将 pH 测定结果记入表中。

4. 充分冲洗烧杯并向其中倒入_____,测定起始的_____并记入表中。再如步骤 3,一滴一滴地加入_____,将 pH 测定结果记入表中。

5. 充分冲洗烧杯,用缓冲液代替_____,重复步骤 1 至 4,将结果记录在表中。

6. 充分冲洗烧杯,选两种生物材料分别代替_____,重复步骤 1 至 4,将结果记录在表中。



7. 根据所得数据,以酸或碱的液滴数为横轴,以_____为纵轴,画出自来水 pH 变化的曲线。以实线表示加入酸后 pH 的变化,虚线表示加入碱后的变化。再用其他颜色的线条分别表示生物材料、缓冲液 pH 的变化情况,同样以实线和虚线分别表示加入酸、碱后的变化。

8. 推出结论:



实验作业

1. 就加入盐酸或 NaOH 后 pH 的变化来说,生物材料是更像自来水,还是更像缓冲液?
2. 分析缓冲液的 pH 变化情况为什么与自来水的不同。
3. 剧烈运动时会产生大量乳酸并进入血液,但血液的 pH 并没有明显下降,为什么?

阅读天地

剧烈运动后,我们应该喝什么水

人体剧烈运动后会大量出汗,带走身体需要的盐和糖。建议白开水加糖或盐(少量)后饮用,这是最好的补品。其他的营养就要靠吃蛋和肉了!注意补水要在运动后,当气喘匀时再喝,最好的时间是运动后 15~20 min!

水分对人体的重要性是毋庸置疑的,因为人体重的近三分之二是水,况且水分是体内进行化学反应所必需的媒介,也是人体在运动或受热时维持体温所不可或缺的物质。运动时体内的水代谢要远远高于不运动时,一般人一天大约出 0.5 L 汗,但是跑步 1 h 的出汗量就是此量的 2~3 倍;踢一场 90 min 的足球时的出汗量可以是这个量的 4~10 倍。

运动前没有合理地喝水,运动中又不注意喝水,就会造成脱水,脱水的程度也会随着运动时间的延长而加重。对于一个体重 50 kg 的人来说,脱水 0.5 kg 会出现口渴;脱水 1 kg 严重口渴、不舒服,压抑和没有食欲;脱水 7.5 kg 时就可能出现生命危险。看来我们的确不能小视失水对人体的危害。

那么,该如何正确地喝水呢?别以为瞎灌一气就可以,运动中喝水可有讲究了。

1. 喝什么水?

最好选择白开水或矿泉水。补水虽然要视不同的运动强度而定,但都要小口慢喝,水温不能过低。

2. 喝多少水?

对健身时间不超过 1 h、运动强度不大的健身者来说,出汗量不会很大,只要在运动前后各喝 1~2 杯水即可。

对健身时间在 1 h 以上,以减肥为主要目的的健身者来说,运动前应喝 1 杯水、运动中应每隔 20~30 min 喝 1 杯水,运动后应喝 1~2 杯水,每杯水 300~400 mL,水中应加少许盐,以口感有淡淡的咸味为宜。这样做的目的是尽量保持身体内环境的稳定,使运动带来的脂肪燃烧作用能够充分发挥。

最后再要提醒:口渴并不是身体需要补充水分的良好指标。所以在运动时应谨记:要尽量补充水分,尤其在炎热的天气下,运动前适当喝清水是有益的。