

生物实验专题

教材实验:

实验一：蚕豆叶下表皮细胞形态结构观察和测量

(一) 蚕豆叶下表皮细胞的观察

1. 低倍镜观察

在低倍镜下观察蚕豆叶下表皮，调节粗调节器，使物象达到清晰，观察不规则形的蚕豆叶表皮细胞、肾形的保卫细胞及形成一对保卫细胞围成的气孔。

2. 高倍镜使用

在低倍镜视野中，将需要进一步放大的观察的物象部位移至视野正中心，然后转动转换器，若高倍镜头有可能与玻片相碰，应检查其原因并排除之。然后，注视目镜观察视野并微微向上下转动细调节器，直到物象清晰。如果光线较暗，可调节聚光器和光圈，使视野明亮。

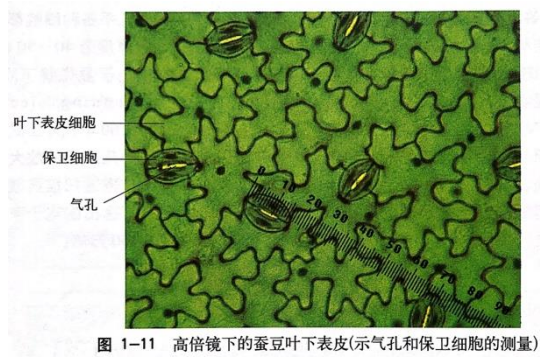


图 1-11 高倍镜下的蚕豆叶下表皮(示气孔和保卫细胞的测量)

(二) 保卫细胞大小的测量

1. 显微测微尺的使用

显微测微尺有目镜测微尺和物镜测微尺两种。目镜测微尺安装于目镜镜筒的光阑上；物镜测微尺置于载物台上，用以标定目镜测微尺每小格的长度。如已知目镜测微尺每小格的长度就不必再使用物镜测微尺了。所以，试验中需要测量物象的大小时，只需要使用目镜测微尺。

2. 保卫细胞大小的测量

在显微镜载物台上放置蚕豆叶下表皮装片，在低倍镜下将欲测量的一个保卫细胞移至视野中央，换高倍物镜，用目镜测微尺精确地测量该细胞的长度和宽度。实验时先测得它所占目镜测微尺的格数，再乘以目镜测微尺每小格的长度，即得出保卫细胞的实际长度和宽度。

经标定安装于16X目镜中的目标微尺在低倍物镜(10X)视野中每小格长度为6.71 μm ；高倍物镜(40X)视野中每小格长度为1.68 μm 。

如安装于10X目镜中，则在低倍物镜(10X)视野中每格长度为7 μm ；在高倍物镜(40X)视野中每格长度为1.75 μm 。

实验二：食物中主要营养成分的鉴定

1. 淀粉的鉴定：加入碘液，溶液变蓝色（蓝紫色）。
2. 还原性糖（葡萄糖）的鉴定：加入班氏试剂，并加热至沸腾，溶液变红黄色
3. 蛋白质的鉴定：加入双缩脲试剂（5%氢氧化钠+1%硫酸铜溶液），溶液变紫色
4. 脂肪（植物油）的鉴定：加入苏丹III染液，溶液出现橘红色油滴。

实验三：植物细胞外界浓度与质壁分离关系

1. 原生质层：a. 成熟的植物细胞(且只有在植物细胞中)的细胞膜, 液泡膜和介于两者之间的细胞质合称为原生质层。
b. 原生质层的选择透过性是生理特性, 只有活细胞才具有, 细胞死了, 原生质层就变成全透性, 水和溶质都可以自由透过。
2. 原理：a. 细胞的原生质层具有一定的伸缩性, 并且其伸缩性远远大于细胞壁的伸缩性, 所以才能产生质壁分离的现象。
b. 通过渗透作用, 失去液泡内水分
细胞液浓度小于外界溶液浓度, 则细胞失水, 发生质壁分离
细胞液浓度大于外界溶液浓度, 则细胞吸水, 发生质壁分离复原
3. 材料：紫色洋葱鳞茎外表皮（液泡呈紫色、便于观察）、30%的蔗糖溶液
4. 条件：一、细胞内外形成浓度差；二、成熟植物细胞的原生质层、细胞内外液一起构成渗透系统
5. 步骤：装片制作——显微观察（中央浅紫色大液泡, 细胞核在边缘）——侧加入 30%的蔗糖溶液（对侧用吸水纸引流）——显微镜低倍观察（液泡变小, 紫色加深, 出现质壁分离：原生质层和细胞壁分离）——滴加清水（引流）——显微观察（低倍）质壁分离复原

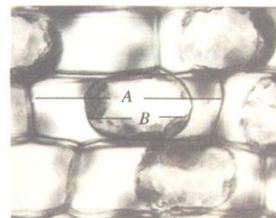


图 3-8 质壁分离细胞
测量示意图
(图中 A 表示细胞长度, B 表示原生质层长度)

实验四：探究酶的高效性

- 1) 原理：酶是生物催化剂, 其催化效率远远高于无机催化剂（高效性），约 10^7-10^{13} 倍
- 2) 步骤：
 1. 取 5 支洁净试管, 分别编号 1-5, 并注入 5ml 3%过氧化氢溶液
 2. 分别向 5 支试管中滴入蒸馏水, 新鲜猪肝匀浆(含有过氧化氢酶), 3.5%氯化铁溶液, 高温（酶失活）处理的猪肝匀浆, 高温处理的 3.5%氯化铁溶液,
 3. 将试管摇匀, 并将点燃无火焰的香放于试管口, 观察发现, 1 号试管（蒸馏水）无气泡, 线香暗淡; 2 号试管（新鲜猪肝匀浆）气泡极多, 线香有火焰燃烧; 3 号试管（3.5%氯化铁）气泡多, 线香明亮; 4 号试管（高温处理的猪肝匀浆）无气泡, 线香暗淡; 5 号试管（高温处理的 3.5%氯化铁）气泡多, 线香明亮。
- 3) 结论：肝脏中过氧化氢酶的催化效率远远高于铁离子

实验五：叶绿体中色素的提取和分离

提取原理：色素不溶于水、但溶于有机溶剂。利用无水乙醇提取叶绿体中的色素

分离原理：层析原理（色素在层析液中而随层析液在滤纸上扩散的速度不同）

步骤：

1) 提取色素:

①取材: 称取 5g 绿色叶片, 剪碎, 越细越好, 尽量去除叶脉等部分, 放入研钵中

②研磨: 加入少许石英砂(研磨充分), 碳酸钙(防止叶绿素被破坏)和 5ml 无水乙醇(分次加入)(防止过快挥发), 迅速充分的研磨。

碳酸钙: 保护叶绿素不被破坏。

无水乙醇: 溶解提取叶绿体中的色素。



图 4-15 叶绿体色素提取和分离操作示意图

③过滤: 将研磨液迅速倒入玻璃漏斗(漏斗基部放一团棉花)中进行过滤。

2) 制备滤纸条: 取一条干燥处理的滤纸, 将滤纸剪成长 6cm, 宽 1cm 的滤纸条, 将滤纸条的一端剪去两角, 并在距离这一端 1cm 处用铅笔画一条细的横线

3) 画滤液细线: 用毛细吸管取少量滤液, 沿铅笔细线画一条细直的滤液细线, 待滤液干后重复 3-5 次(多次)(积累色素)细, 直, 浓, (防止色素带重叠)

4) 分离色素: 将 3ml 层析液倒入大试管中, 将纸条画有滤液细线的一端置于层析液中, 上端固定于试管塞上。让其进行层析。(注意: 千万不要将滤液细线浸没在层析液中, 因为色素易溶解于层析液中)

5) 观察实验结果: 最后滤纸条上将分离出四条色素带, 从上往下分别是胡萝卜素(橙黄色)、叶黄素(黄色)、叶绿素 a(蓝绿色)和叶绿素 b(黄绿色)。

实验六: 颤藻和水绵细胞的比较观察

1、制作临时装片: 染色和比较观察

盖玻片一侧滴加碘液, 对侧吸水纸引流, 高倍镜观察比较两种细胞

水绵: 具有染色较深、形状固定的结构——细胞核, (真核细胞) 细胞中存在螺旋带状的叶绿体(色素分布其中), 上有呈深蓝紫的颗粒是淀粉与碘显色反应形成的

颤藻: 没有形状固定的结构(原核细胞), 无叶绿体, 色素分散在细胞质

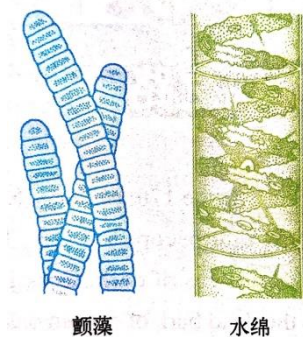


图 3-14 颤藻和水绵

实验七：探究影响光合作用的因素

二氧化碳浓度、光照强度、温度是常见的影响光合作用强度的因素，根据**控制变量原则**和**对照原则**选其中一个因子进行探究

1、真空渗水法

原理：利用真空渗水法排除叶肉细胞间隙中的空气，充以水分，使叶片沉于水中。光合作用过程中，植物吸收二氧化碳释放氧气，由于氧气在水中的溶解度小，主要积累在细胞间隙，结果可使原来下沉的叶片上浮。

测量指标：叶圆片上浮所需的时间长短，比较光合作用的强弱（叶圆片全部上浮所需时间，或单位时间内叶圆片上浮数量）

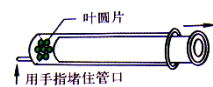


图 4-21 真空渗水法示意图

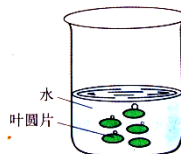


图 4-22 叶圆片上浮测量示意图

2、溶解氧传感器测定法

实验原理：溶解氧传感器可精确测出液体中氧的含量变化，利用溶解氧传感器测量植物叶片光合作用中释放氧气的量，就比较精确地了解植物光合作用的强度。

（1）材料选择 黑藻

（2）仪器和试剂 溶解氧传感器、数据提存器和计算机、40W 白炽灯、250ml 烧杯、铁架台、2%NaHCO₃ 溶液（用煮沸后急速冷却的水配制）

（3）实验方法 1. 将等量黑藻放入已盛有 2%NaHCO₃ 溶液的 3 个烧杯中，分别插入溶解氧传感器，记录液体中溶解氧的初始读数。然后对 3 个实验装置分别给以黑暗、距光源 5cm、距光源 20cm 的处理，注意计算机显示各装置中溶解氧浓度的变化。将 20min 内的变化作定量分析，收集 3 个以上的实验数据，计算平均值后制成函数曲线。

（4）实验结果记录

试验八：酵母菌的呼吸方式

实验原理：酵母菌为兼气性微生物，在有氧或无氧条件下分别进行有氧呼吸或无氧呼吸。

实验方法

1、制备酵母液：在 50mL5%葡萄糖溶液中加入 10g 酵母干粉，搅拌均匀。

2、将上述酵母培养液各 10mL 分别注入

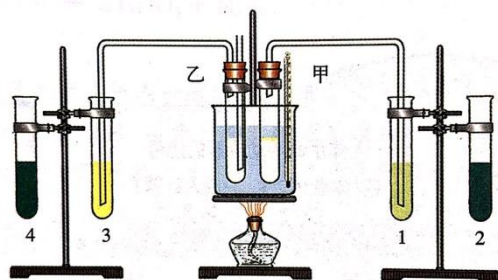
甲、乙两个大试管中。并在甲试管中加入少量石蜡油，使浮于培养液表面（**隔绝空气、制造无氧环境**），形成油膜，试管加塞。

3、在 1~4 号试管中分别加入 0.5%BTB 溶液（遇酸呈黄色、遇碱变蓝）8mL。

4、参照图 4-24 搭建实验装置。

5、甲、乙试管加塞后，于 50℃ 水浴保温，并不时以洗耳球通过

直导管缓缓向乙试管溶液内吹入空气。待培养液内有小气泡逸出时，观察 1、3 号试



管内溶液的颜色变化，分别记录**两试管内溶液自通气开始至变色的时间（测量指标）**。

（乙试管变黄色有氧呼吸需要时间短、甲试管变黄色无氧呼吸时间长）

6、5min 后，分别用酸度计（传感器或 pH 试纸）测试 1、3 号试管水溶液的 pH 并记录。**pH 值 3 号试管小于 1 号试管。**

7、拔出甲试管口的塞子，闻一闻，有什么气味？（**酒精气味**）

实验九：观察牛蛙的脊髓反射现象

实验方法

1. 剪去牛蛙的头背部（脑），然后用蘸有 **0.65%** 生理盐水的棉花球洗去伤口处的血液及躯干、四肢所沾血液。用小钩钩住剪去脑的牛蛙下颌，并悬挂在支架上（图 5—13）。

2、阅读下列实验步骤，预测实验结果：

（1） 将牛蛙的右后腿脚趾尖浸入蒸馏水中，观察右后腿的变化。

（2） 将它的右后腿脚趾尖浸入 0.5%**HCl** 溶液里，观察牛蛙的右后腿的变化，并记录到表格中，用蒸馏水洗去趾尖的酸液。

（3） 将沾有 0.5%**HCl** 溶液的小纸片贴在蛙腹部的皮肤上，观察蛙的四肢动作，并记录是否出现搔扒反射，然后洗去腹部的酸液。

（4） 在右后腿脚趾基部，用剪刀将皮肤作一环形切口（**破坏感受器**），然后用镊子剥净趾的皮肤。重复上述的第（2）步，观察趾被剥皮肤后的右后腿的动作。

（5） 将右后腿脚趾浸入 0.5%**HCl** 溶液，重复曲腿反射。实验后用蒸馏水洗净右后腿脚趾，并揩干。然后用探针插入牛蛙椎管，破坏脊髓（**破坏神经中枢**）后，再将右后腿脚趾尖浸入 0.5%**HCl** 溶液。观察并记录右后腿的变化。

（6） 重复上述第（3）步，观察并记录四肢是否出现搔扒反射动作。

实验十：观察植物细胞的有丝分裂

1) 培养洋葱根尖

2) 制作装片：

1. 固定：用卡诺固定液固定 1-2h，杀死细胞，使其定格于某一时期。取出浸入 75%乙醇中保存备用。

2. 解离：将切取的根尖立即放入 **20%盐酸**中解离 8-10min，目的是使组织细胞分散易于压片。

3. 漂洗：根尖酥软后，用镊子取出根尖，放入清水中漂洗约 **30 秒**，洗去酸性解离液便于碱性染液染色。

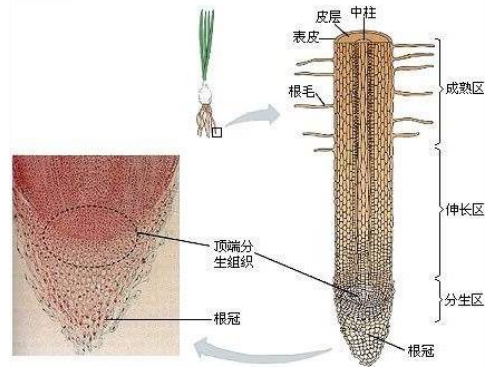
4. 染色：将根尖放在载玻片上，用刀片切去根尖上部，保留根尖白色部分 2-3mm。用镊子轻轻压扁（**容易染色**），滴加 1 滴龙胆紫染液（或醋酸洋红）染色 1-2min，倾斜玻片，用吸水纸吸去多余染液。

5. 压片：向根尖滴加 1 滴清水，盖上盖玻片，垫 2 层吸水纸，用拇指用力下压（**不能研转**），使根尖分散成均匀的细胞层，清水引流，提高装片的折光率。

6. 镜检：先低后高，

低倍镜：找分生区（细胞呈正方形、排列紧密），并将要观察的细胞移到视野中央。

高倍镜：找到有丝分裂期细胞，观察染色体形态（最好中期）及数目变化。



实验十一：植物细胞分化观察

对多细胞的高等植物来说，分生组织细胞的有丝分裂增加了细胞数目，同时在植物激素的作用下，促进了细胞分化，形成各种组织。

实验方法

1. 小麦幼苗根装片的制作

将已长 1—2cm 有根毛的小麦苗幼根（从基部取下，以保留根毛）置于载玻片上，用刀片将其纵剖，留其中的一片，用镊子将其压扁。滴 1 滴龙胆紫染液，1—2min 后用吸水纸吸去染液，滴 1 滴清水，盖上载玻片，并覆以 2 层吸水纸，用拇指垂直向下压（不能研转）使分散成一薄层细胞。

2. 镜检

用低倍镜观察幼根装片，仔细区分后，可看到染色较浅的根冠细胞；处于不同分裂时期的根尖分生组织细胞；连于其后的细胞较长的伸长区；在成熟区可看到具有环纹或螺旋纹的导管和根毛细胞。

换高倍镜，逐一对各种分化细胞进行观察，以了解各组织细胞的形态结构特点。

实验十二：果蝇唾液腺细胞染色体观察

1、由于唾液腺细胞的 DNA 经多次复制而细胞不分裂，这些染色体比一般染色体大得多，因此称其为巨大染色体。

2、在巨大染色体上有许多富有特色的横纹，这些横纹数目和位置是相对恒定的，为基因在染色体上的定位提供了便于观察的指标。

3、材料：果蝇唾液腺细胞巨大染色体的永久装片

4、染色体上宽窄不一的横纹有种种的特异性，有相对固定性，由于脱氧核苷酸组成、排列顺序差异会导致染色体上的差异，形成宽窄不一的横纹。

5、基因与染色体的关系：基因在染色体上是线性排列的，这与横纹的线性排列一致。

实验十三 10.1 模拟种群数量估计

标记重捕法是一种科学工作者用来在开放式环境中统计动物数量的调查方法。

10.2 植物物种多样性的调查

物种多样性时代表群落组织水平和功能的基本特征，在生态学考察中较多使用的表示物种多样性的指标有辛普森多样性指数。辛普森多样性指数大，表示的物种多样性高。常用的调查方法是样方法。

1. 选择样方

在校园或公园草地和小树林区选定样方地，也可以在教学楼的南面和北面，视植物密度确定样方的面积，从 0.25 m² 到 10 m²，密度高的样方可小些。用卷尺量好距离，在样方的四个角上插上竹桩，并用绳子连起来，显示出样方的边界。

2. 记录统计

统计样方内植物物种数和每一种植物的个体数。对不认识的植物科适当采样带回实验室检索确定。把有关数据计入统计表中。

3. 物种多样性指数计算

实验十四：培养基的配制

● 实验方法

1. 根据培养基配方称取各种原料成分，加入到 500mL 烧杯的少量自来水中溶解（其中牛肉膏可用 50mL 烧杯称量，并用少许水加热溶解后再加入到本烧杯中），定容至 200mL，用酒精灯加热至沸腾后加入琼脂 2g（长条状琼脂需用剪刀剪成小段），继续加热至琼脂完全熔化（加热过程中要用玻璃棒不断搅拌，以防琼脂沉淀在杯底被烧焦），然后用热水补足蒸发损失的水，使最后容积为 200mL，用精密 pH 试纸测试培养基 pH，并用滴管吸取 1~2 滴 10% 盐酸或 10% 氢氧化钠调节 pH 至 7.2~7.4。

2. 将完全熔化的上述培养基趁热倒入 250mL 的三角烧杯瓶中（注意不要把培养基沾在瓶口上，可通过一个漏斗注入三角烧瓶中），用二层牛皮纸扎紧瓶口后，置于灭菌锅中于 1.05kg / cm²、121℃ 下灭菌 15~30min。与此同时，还需将洗净干燥的培养皿若干套用牛皮纸包扎后一起灭菌。

3. 待灭菌后的培养基冷却至 50℃ 左右时（或临用前加热熔化冷却至 50℃ 左右时），在启动的超净工作台上打开三角烧瓶的包纸，并用酒精灯火焰烧瓶口后，将培养基分别倒入灭过菌的培养皿中备用（如培养皿出现冷凝水，需将培养皿倒置在 30~37℃ 温箱内干燥）。

实验十五：微生物的接种以及菌落和抗生素抑菌现象的观察

实验方法

一、接种和菌落观察

1. 将菌种和接种用具置于超净工作台上 5~10min

2. 点燃酒精灯，打开菌种试管封口后将管口在火焰上烧一下，并将试管口置于火焰附近，然后灼烧接种环，将接种环于菌种试管培养基无菌落处冷却后刮取稍许菌苔，将菌苔用划线法涂布在牛肉膏蛋白胨固体培养基表面。注意转动培养皿，在三个方向上划线，使菌种逐渐稀释，培养后出现单个菌落

3. 倒置培养皿，于 37℃ 下培养 2~3d 后观察和比较各种细菌菌落的形态。

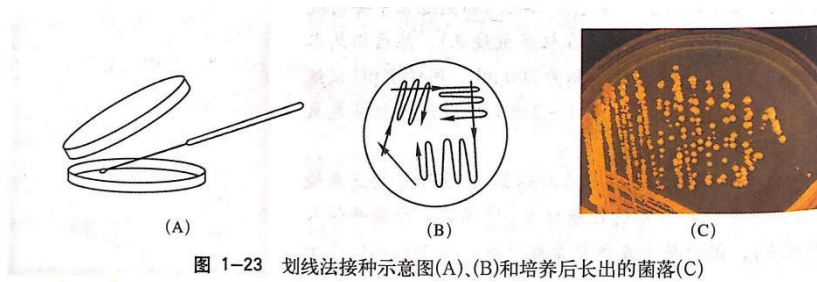


图 1-23 划线法接种示意图(A)、(B)和培养后长出的菌落(C)

二、抗生素对微生物的抑制作用

1. 用三支**无菌滴管**分别吸取上述三种细菌的悬浮液 1~2 滴，滴于三个平板培养基表面，然后分别用三个**无菌玻璃刮铲**涂匀。

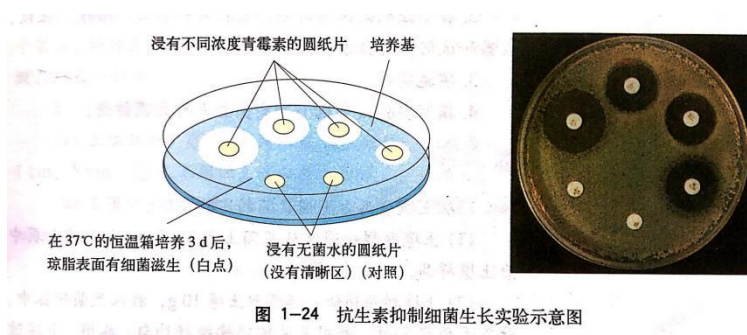


图 1-24 抗生素抑制细菌生长实验示意图

2. 用**无菌镊子**将分别浸过不同浓度的某种抗生素和无菌水的圆纸片（沥干的）均匀置于上述三个平板培养基表面（事先已在培养皿底部用记号笔做好记号）
3. 在 37° C 恒温箱中培养 2~3d 后，在培养皿底部用直尺测量每个圆纸片周围清晰区的宽度，并记录。

用选择培养基分离土壤中的自生固氮菌

1. 土壤取样：通常从菜园土表 3~5cm 以下土层中取土壤样品。
2. 土壤样品稀释：通常取土壤 10g，放入无菌研钵中，注入无菌水 5ml，并用无菌玻璃棒搅拌均匀，备用。上述过程在超净工作台上操作。
3. 培养基配制：**分离自生固氮菌的培养基，通常采用无氮培养基。在这种培养基上，其他类型的微生物不能生长而自生固氮菌能利用空气中的 N_2 做为氮源进行生长。**

（实验原理）

培养基加入 1%琼脂（需用自来水流水冲洗几天，在用蒸馏水浸泡，洗涤几次，以除去琼脂中的氮）制成固体培养基，高压灭菌后备用。

4. 接种方法：在超净台上，将接种环在火焰上灭菌后冷却，蘸取稍许上述稀释液，轻轻地点在无氮培养基表面，共点接 12~20 处；也可采用划线法接种。
5. 培养：接种后，将培养皿倒置，放在 28~30° C 恒温箱中培养 3~4d。
6. 观察：观察菌落的形状、大小和颜色。