

全国普通高等院校
生命科学类“十二五”规划教材



动物生物学实验

王文彬 主编

Zoology Experiment



华中科技大学出版社

<http://www.hustp.com>

全国普通高等院校生命科学类“十二五”规划教材

动物生物学实验

主 编 王文彬

副主编 刘良国 朱宝长 闫春财

编 者 (以姓氏笔画为序)

王 莉 王文彬 刘良国 朱宝长

闫春财 陈志胜 张子惠 姜吉刚

华中科技大学出版社
中国·武汉

内 容 简 介

本书包括实验基本知识 with 技能、动物形态与结构实验、动物系统与分类实验、动物生理与生态实验、动物生物学研究性实验共五章,内容涵盖无脊椎动物和脊椎动物的细胞组织、形态、结构、分类、生理、生殖、发育、生态等方面。作为全国“十二五”规划通用实验教材,本书适用面广、可选择性强,可供全国各地各类高校的生物科学、动物科学、动物医学、水产养殖、生物技术等专业师生使用,也可作为中学生物学教师的教学参考书。

图书在版编目(CIP)数据

动物生物学实验/王文彬主编. —武汉:华中科技大学出版社,2015.5

全国普通高等院校生命科学类“十二五”规划教材

ISBN 978-7-5680-0847-1

I. ①动… II. ①王… III. ①动物学-生物学-实验-高等学校-教材 IV. ①Q95-33

中国版本图书馆CIP数据核字(2015)第 099661 号



动物生物学实验

王文彬 主编

策划编辑:罗 伟

责任编辑:孙基寿

封面设计:原色设计

责任校对:曾 婷

责任监印:周治超

出版发行:华中科技大学出版社(中国·武汉)

武昌喻家山 邮编:430074 电话:(027)81321913

录 排:华中科技大学惠友文印中心

印 刷:武汉鑫昶文化有限公司

开 本:787mm×1092mm 1/16

印 张:17.5 插页:4

字 数:473 千字

版 次:2015 年 9 月第 1 版第 1 次印刷

定 价:39.80 元



本书若有印装质量问题,请向出版社营销中心调换
全国免费服务热线:400-6679-118 竭诚为您服务
版权所有 侵权必究

全国普通高等院校生命科学类“十二五”规划教材

编委会



主任委员

余龙江 华中科技大学教授,生命科学与技术学院副院长,2006—2012 教育部高等学校生物科学与工程教学指导委员会生物工程与生物技术专业教学指导分委员会委员,2013—2017 教育部高等学校生物技术、生物工程类专业教学指导委员会委员

副主任委员(排名不分先后)

胡永红 南京工业大学教授,南京工业大学研究生院副院长

李 钰 哈尔滨工业大学教授,生命科学与技术学院院长

任国栋 河北大学教授,2006—2012 教育部高等学校生物科学与工程教学指导委员会生物学基础课程教学指导分委员会委员,河北大学学术委员会副主任

王宜磊 菏泽学院教授,2013—2017 教育部高等学校大学生物学课程教学指导委员会委员

杨艳燕 湖北大学教授,2006—2012 教育部高等学校生物科学与工程教学指导委员会生物科学专业教学指导分委员会委员

曾小龙 广东第二师范学院教授,副校长,学校教学指导委员会主任

张士瑾 中国海洋大学教授,2006—2012 教育部高等学校生物科学与工程教学指导委员会生物科学专业教学指导分委员会委员

委员(排名不分先后)

陈爱葵	胡仁火	李学如	刘宗柱	施文正	王元秀	张 峰
程水明	胡位荣	李云玲	陆 胤	石海英	王 云	张 恒
仇雪梅	贾建波	李忠芳	罗 充	舒坤贤	韦鹏霄	张建新
崔韶晖	金松恒	梁士楚	马 宏	宋运贤	卫亚红	张丽霞
段永红	李 峰	刘长海	马金友	孙志宏	吴春红	张 龙
范永山	李朝霞	刘德立	马三梅	涂俊铭	肖厚荣	张美玲
方 俊	李充璧	刘凤珠	马 尧	王端好	徐敬明	张彦文
方尚玲	李 华	刘 虹	马正海	王金亭	薛胜平	郑永良
耿丽晶	李景蕻	刘建福	毛露甜	王伟东	闫春财	周 浓
郭晓农	李 梅	刘 杰	聂呈荣	王秀丽	杨广笑	朱宝长
韩曜平	李 宁	刘静雯	彭明春	王永飞	于丽杰	朱长俊
侯典云	李先文	刘仁荣	屈长青	王有武	余晓丽	朱德艳
侯义龙	李晓莉	刘忠虎	邵 晨	王玉江	咎丽霞	宗宪春

全国普通高等院校生命科学类“十二五”规划教材

组编院校

(排名不分先后)

北京理工大学	华中科技大学	云南大学
广西大学	华中师范大学	西北农林科技大学
广州大学	暨南大学	中央民族大学
哈尔滨工业大学	首都师范大学	郑州大学
华东师范大学	南京工业大学	新疆大学
重庆邮电大学	湖北大学	青岛科技大学
滨州学院	湖北第二师范学院	青岛农业大学
河南师范大学	湖北工程学院	青岛农业大学海都学院
嘉兴学院	湖北工业大学	山西农业大学
武汉轻工大学	湖北科技学院	陕西科技大学
长春工业大学	湖北师范学院	陕西理工学院
长治学院	湖南农业大学	上海海洋大学
常熟理工学院	湖南文理学院	塔里木大学
大连大学	华侨大学	唐山师范学院
大连工业大学	华中科技大学武昌分校	天津师范大学
大连海洋大学	淮北师范大学	天津医科大学
大连民族学院	淮阴工学院	西北民族大学
大庆师范学院	黄冈师范学院	西南交通大学
佛山科学技术学院	惠州学院	新乡医学院
阜阳师范学院	吉林农业科技学院	信阳师范学院
广东第二师范学院	集美大学	延安大学
广东石油化工学院	济南大学	盐城工学院
广西师范大学	佳木斯大学	云南农业大学
贵州师范大学	江汉大学文理学院	肇庆学院
哈尔滨师范大学	江苏大学	浙江农林大学
合肥学院	江西科技师范大学	浙江师范大学
河北大学	荆楚理工学院	浙江树人大学
河北经贸大学	军事经济学院	浙江中医药大学
河北科技大学	辽东学院	郑州轻工业学院
河南科技大学	辽宁医学院	中国海洋大学
河南科技学院	聊城大学	中南民族大学
河南农业大学	聊城大学东昌学院	重庆工商大学
菏泽学院	牡丹江师范学院	重庆三峡学院
贺州学院	内蒙古民族大学	重庆文理学院
黑龙江八一农垦大学	仲恺农业工程学院	

前 言

进入 21 世纪以来,我国完成了第八次基础教育课程改革。在这次课程改革过程中,我国借鉴了美国自 19 世纪末就开始的,现正被其大、中、小学大力提倡的“以问题为中心的学习”和“以项目为中心的学习”的成功经验,引入了“研究性学习”这一新课程。这种学习方式的改变,最主要的是引导学生关注人类面临的大问题,以培养学生的创新精神与实践能力和对人类社会、对社会的责任感。与此同时,高等教育尤其是高等师范教育的教学内容和课程体系也相应地进行了比较大的调整和改革。动物学作为高校生物类专业一门传统的专业基础主干课程,随着高等教育改革的不断深入和微观生物学的快速发展,同时为适应国家素质教育的要求,高等学校人才培养模式改革向“宽口径、厚基础、重能力”的方向发展,动物学课程的学时被一再压缩,课程的名称也逐渐演变成“动物生物学”。

动物生物学实验是动物生物学教学中一个重要组成部分,对于提高学生的学习兴趣、实验技能和独立工作能力,培养学生的科学思维能力和创新意识,从而全面提高学生的综合素质等方面都具有重要意义。在创新与科学发展的大背景下,为了提高实验教学质量,许多高校对实验课程体系和教学方式进行了深入的改革。目前比较普遍的做法是,将实验部分与理论课相对独立出来,单独开设“动物生物学实验”课程,并根据不同地域的动物资源优势,各自编写具有一定地方特色的实验教材。本书是由华中科技大学出版社组编,召集全国各地普通高校教学一线的骨干教师(大多为教授或博士),根据高校各自的教学实际和多年的实践经验,并汲取各高校同类教材特点编写而成的一本适合各地普通高校的全国“十二五”规划通用实验教材。

本书的编写理念是,从“加强基础、培养能力、提高素质”出发,更多地发挥学生的主体作用,有利于学生在课余时间参加开放性实验、科学研究和各类社会活动。本书具有以下四个特点。①系统性:内容全面系统,涵盖无脊椎动物和脊椎动物的细胞组织、形态、结构、分类、生理、生殖、发育、生态等各个方面;按照实验基本知识与技能、动物形态与结构实验、动物系统与分类实验、动物生理与生态实验、动物生物学研究性实验五个章节编排。②实用性:选入的实验切实可行,且多具有一定的应用价值,旨在培养学生观察、采集、分类、制作标本等各方面的技能,初步掌握动物学野外研究的基本方法。③易行性:选入的实验力求简单、材料易得、有代表性,且容易操作;多数实验项目在“课内必做”内容后面,还安排了示范与拓展实验部分,供学有余力的学生选做。④灵活性:选入的实验项目尽可能多,其类型包括基础性实验、综合性实验和研究性实验等,以利于各高校根据不同专业和具体条件安排实验。

本书第 1 章 1.1、1.2、1.11、1.13、1.14 和第 3 章 3.6、3.7 由河北科技大学王莉编写;第 1 章 1.3 和第 4 章 4.3、4.4、4.5 由首都师范大学朱宝长编写;第 1 章 1.4,第 2 章 2.6、2.10、2.11,第 3 章 3.8 和第 4 章 4.1 由天津师范大学闫春财编写;第 1 章 1.5、1.8、1.12,第 2 章 2.1、2.12、2.14、2.15,第 3 章 3.3、3.4 和第 4 章 4.8 由湖南文理学院王文彬编写;第 1 章 1.6、1.9 和第 3 章 3.1、3.2、3.5 由湖南文理学院姜吉刚编写;第 1 章 1.7 和第 2 章 2.9、2.12、

2.13、2.16由首都师范大学张子惠编写;第1章1.10和第4章4.2、4.6、4.7、4.9、4.10、4.11和第5章5.1由湖南文理学院刘良国编写;第2章2.2、2.3、2.4、2.5、2.7、2.8由佛山科学技术学院陈志胜编写。全书由王文彬统稿,并做适当修改和补充。

本书的编写是适于全国各地普通高校通用实验教材的初步尝试,限于编者水平,书中纰漏和错误在所难免,恳请各位同仁和读者批评指正。

编 者

于二〇一五年五月

目 录

第 1 章 实验基本知识与技能 /1

- 1.1 显微镜的构造、使用和保养 /1
- 1.2 动物解剖器械的种类与使用 /10
- 1.3 实验常用溶液及试剂的配制 /11
- 1.4 动物玻片标本的制作方法 /17
- 1.5 动物浸制标本的制作与保存 /21
- 1.6 昆虫展翅标本制作技术 /23
- 1.7 鸟兽剥制的标本制作技术 /26
- 1.8 动物学绘画及图片处理 /29
- 1.9 动物学分类检索工具书的使用 /33
- 1.10 生物信号采集处理系统的使用 /36
- 1.11 动物个体方位和切面 /43
- 1.12 动物实验的伦理准则 /44
- 1.13 动物实验的生物安全与防护 /45
- 1.14 动物实验报告及论文的撰写 /52

第 2 章 动物形态与结构实验 /55

- 2.1 动物的细胞、组织及早期胚胎结构 /55
- 2.2 眼虫、变形虫和草履虫等原生动物 /61
- 2.3 水螅和涡虫的比较 /66
- 2.4 华支睾吸虫和猪带绦虫的比较 /71
- 2.5 蛔虫和蚯蚓的比较解剖 /75
- 2.6 河蚌的形态及解剖 /81
- 2.7 乌贼的解剖观察 /86
- 2.8 螯虾和棉蝗的比较解剖 /89
- 2.9 文昌鱼及其他低等脊索动物 /99
- 2.10 鲤鱼(或鲫鱼)的外形与内部解剖 /103
- 2.11 青蛙(或蟾蜍)的外形与内部解剖 /109
- 2.12 中华鳖(或石龙子)的外形与内部解剖 /119
- 2.13 家鸽(或家鸡)的外形与内部解剖 /126
- 2.14 家兔的外形与内部解剖 /130
- 2.15 脊椎动物的骨骼系统 /141

2.16 脊椎动物的皮肤衍生物 /144

第3章 动物系统与分类实验 /148

- 3.1 自由生活的原生动物的分类 /149
- 3.2 软体动物的分类 /159
- 3.3 轮虫、枝角类和桡足类的采集与分类 /173
- 3.4 动物寄生虫及其虫卵的采集与鉴别 /184
- 3.5 昆虫的分类 /191
- 3.6 鱼纲的分类 /205
- 3.7 两栖纲和爬行纲的分类 /212
- 3.8 鸟纲和哺乳纲的分类 /219

第4章 动物生理与生态实验 /234

- 4.1 草履虫的应激性及接合生殖 /234
- 4.2 河蚌的心脏搏动与水温的关系 /236
- 4.3 果蝇发育与温度定量关系的测定 /237
- 4.4 神经-肌肉标本的制备及刺激神经诱发肌肉收缩现象分析 /239
- 4.5 血液的一般生理及血型、血压测定 /243
- 4.6 蛙心收缩记录、起搏点观察和心肌特性分析 /246
- 4.7 鱼类耗氧率的测定及重金属离子对鱼类呼吸机能的影响 /250
- 4.8 蛙的胚胎发育与变态观察 /252
- 4.9 影响尿生成的因素 /256
- 4.10 脊髓反射的基本特征及其与反射弧的关系 /259
- 4.11 视野与盲点的测定 /261

第5章 动物生物学研究性实验 /264

- 5.1 研究性实验选题、设计与实施 /264

参考文献 /270

彩色图版 /273

动物生物学是一门实践性很强的专业基础课程,一般在大学一、二年级开课。有关动物生物学实验中的一些基本知识和技能,应事先让学生有所了解和熟悉,并进行初步训练,以便更有效地开展后续实验项目。

1.1 显微镜的构造、使用 and 保养

显微镜是实验室常用的仪器之一,只有很好地了解显微镜的结构和成像原理才能正确使用和维护,并充分发挥其性能。

一、普通光学显微镜

(一) 构造与原理

普通光学显微镜一般由一组光学放大系统和支持及调节它的机械系统组成,有的还带有光源部分。其结构见图 1.1-1。

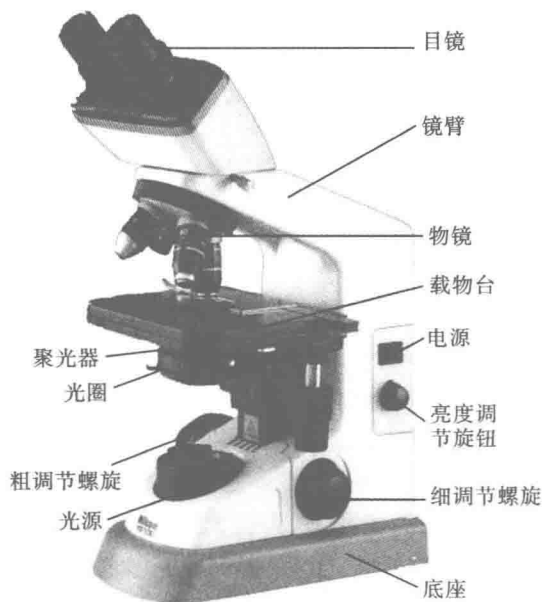


图 1.1-1 普通光学显微镜的结构

1. 机械系统

机械系统是固定、调节光学系统和移动标本的装置。

(1) 镜座和镜柱 镜座是显微镜底部的沉重部分,支撑整个显微镜,它使显微镜重心较低,使之不致倾倒,内装变压器、照明光源、聚光镜和反光镜,为显微镜提供光源。其上直立的短柱部分为镜柱,支持镜臂和镜台。

(2) 镜台 镜台又名载物台,是放置玻片标本的平板。其中央有一通光孔,以便从下方来的光线由此通过。镜台上有压片夹用于固定标本。目前的显微镜都装有标本移动器(或称推进尺),既可固定载玻片又可转动螺旋前后左右移动标本。有的标本移动器上还带有标尺,可利用标尺上的刻度寻找所要观察的标本位置。

(3) 镜臂 镜臂为镜柱之上弯曲的部分,以便于持握,能够支撑镜筒和连接镜座,分固定式和倾斜式。有些老式显微镜的镜臂与镜柱之间有一个能活动的倾斜关节,可使镜身向前、后倾斜,便于观察。新式显微镜的镜筒已是倾斜的,而且能转动,没有倾斜关节。

(4) 镜筒 双目镜筒斜位于镜臂上方,镜筒上有一个突出的圆环,为视度圈,旋转视度圈可使目镜筒升降。其顶端安置目镜,在每个目镜筒上有一圈凹槽,为基准线(屈光度调节装置便于双眼视力不同的观察者使用),在目镜筒基部各有一块瞳距调节板,左右移动该板可调节目镜间距,以适应不同观察者眼间距的差别。直筒式目镜和物镜同轴,为单筒型;斜筒式目镜和物镜光轴成 45° 角,转折处有棱镜使光线转折 45° 角,有单筒和双筒两种类型。

(5) 物镜转换器 物镜转换器是镜筒下端一个可绕中心轴旋转的圆盘。其上可装置数个物镜,以便观察时换用不同倍数的物镜。物镜按放大倍数顺序排列,旋转转换器,物镜可被转到合轴时的位置上,转换器上各种不同放大倍数的物镜基本上处于同一焦平面上。

(6) 调焦螺旋 在镜臂上有两组旋钮,用于升降镜筒,从而调节聚光器的焦距及物镜和观察材料间的距离,以得到清晰的图像。大的称为粗调节螺旋,其升降镜筒的距离较大,转动一周,镜筒约升降50 mm,常用于低倍调焦,寻找目标物。小的为细调节螺旋,其升降的幅度较小,转动一周,镜筒升降1.8~2.2 mm,能精确地对准焦点,取得更清晰的物像,多用于高倍调焦,使用时一般拧动不超过一圈。调焦螺旋是显微镜上的一个重要装置,因为对不准焦距就看不清被观察的物体。在粗调节螺旋的基部有一白色金属圈,为粗调节螺旋松紧调节环,可用于调节粗调节螺旋的松紧。

2. 光学系统

光学系统包括照明系统和成像系统。前者由反光镜、聚光器和虹彩光圈组成。后者由接物镜和接目镜组成。具体部件介绍如下。

(1) 照明光源 分天然光源和人工光源,跟成像质量有密切关系,只有强度适中而均匀的照明度才能看到清晰的图像,如果照明方法不当还可能造成假象。天然光源:不可直接利用太阳直射光(最好是白云反射来的光线),因为直射日光影响图像的清晰,损坏光源装置和镜头,而且有害眼睛,不得已时可在聚光灯下加乳白色玻片,使阳光散射以降低强度。人工光源:显微镜灯和日光灯。

(2) 反光镜 位于聚光器下面的镜座上,一面为平面镜,另一面为凹面镜,可以在水平与垂直方向上任意旋转,接受外来光线和将光线反射到聚光器。一般光线强时用平面镜,光线较暗时用聚光强的凹面镜,便于收集来自任何方向的光线。

(3) 聚光器 位于载物台的下方,聚光器可以升降,由一片或数片凸透镜和可变光阑所组成。其作用是聚集来自反光镜的光线,使光线增强并集成光束,射入镜筒中,把光线集中到

所要观察的标本上,并通过调节可变光阑的开放程度,调节不同的数值孔径而适应不同的物镜需求,并使整个物镜所包括的视野均匀受光,提高物镜的鉴别能力。在使用高倍镜时,必须配以聚光器。位于聚光器下面的可变光阑(虹彩光圈)由许多金属片组成,犹如照相机的快门,缩小或扩大孔径可改变入射光量。推动操纵光圈的调节杆,可调节光圈的大小。光圈开大则光线较强,适用于观察色深的物体;光圈缩小则光线较弱,适用于观察透明或无色的物体。为了充分发挥显微镜的性能,在使用时聚光镜和物镜两者的数值孔径应一致。有调节轮可使聚光镜连同光阑上下升降,调节透过标本进入物镜的光强度。

(4) 滤光片 滤光片是改变光线的光谱成分或减弱光强度的有色玻片。滤光片支架为可变光阑下的圆形结构,用以支持不同颜色的滤光片。乳白色玻片使阳光散射降低光强度;绿色或蓝色吸收白光中的长光波,利用透过短光波照明可提高分辨率,单色标本和无色标本(如活细胞)可用绿光片,显示最为清楚,增大了明暗反差。平时观察时,可选用一个颜色与标本颜色互补的滤光片进行观察。

(5) 接物镜(物镜) 因为它靠近被观察的物体所以称接物镜。一般实验室用的是消色差物镜,由数组透镜组成,可放大物体,它决定着显微镜的关键性能,即分辨率的高低。透镜的直径越小,放大倍数越高。每架显微镜均备有几个倍数不同的物镜,其上放大40倍($40\times$)以下的称低倍镜,一般为10倍($10\times$);放大40倍($40\times$)以上的称高倍镜; $10\times$ 和 $40\times$ 的物镜统称干燥物镜。放大100($100\times$)倍以上的称油镜(浸液物镜),特别注明了“HI”“oil”字样,并在物镜上标有一白色圈。物镜是显微镜取得物像的主要部件,其作用为聚集来自任何一点的光和利用入射光对被观察的物体做第一次放大的造像。

每个物镜上通常标有表示物镜主要性能的参数。如10倍物镜上标有10/0.25和160/0.17,10为物镜的放大倍数(即 $10\times$);0.25为数值孔径(N.A);160为镜筒长度(160 mm);0.17为所要求的盖玻片厚度(mm)。

显微镜的分辨率是指显微镜能够辨别两点之间最小距离的能力。它与接物镜的数值孔径成正比,与光波长度成反比,因此,接物镜的数值孔径愈大,光波长度愈短,则显微镜的分辨率愈大,被检物体的细微结构也愈能区别。一个高的分辨率意味着一个小的分辨距离,二者成反比关系。

$$\text{能辨别的两点之间的最小距离} = \frac{\text{光波长度}}{2 \times \text{数值孔径}}$$

人肉眼所能感受的光波平均长度为 $0.55\mu\text{m}$,假如用数值孔径为0.65的接物镜(高倍镜),它可分辨的两点之间最小距离为 $0.42\mu\text{m}$,而在 $0.42\mu\text{m}$ 以下的两点距离就分辨不出了,即便使用倍数更高的接目镜,增加显微镜的总放大率,也仍然分辨不出。只有改用数值孔径更大的接物镜,增加其分辨率才行。因此,显微镜的放大倍数与其分辨率是有区别的。

用干燥物镜观察标本时,在物镜和标本之间不加任何液体介质,以空气为介质。使用油镜时,物镜与载玻片之间仅隔一层油性物质(折射率大于1.0)。由于香柏油的折射率等于1.52,与玻璃相同,所以当光线通过载玻片后,可直接通过香柏油进入物镜而不发生折射,可使视野光线充足。相反,玻片与物镜之间的介质为空气时,当光线通过玻片后,受到折射发生散射现象,进入物镜的光线明显减少,减低了视野的照明度,影响分辨率。

(6) 接目镜(目镜) 因为它靠近观察者的眼睛,故称接目镜。它是一个金属的圆筒,上端装有一块较小的透镜,下端装有一块较大的透镜,其作用是将物镜所放大和鉴别了的物像进行再放大,相当于一个放大镜,并不增加显微镜的分辨率。目镜内可附加指针和测微尺。每架显

显微镜常备有几个倍数不同的目镜,其上也刻有 $5\times$ 、 $10\times$ 、 $12.5\times$ 等放大倍数。显微镜的放大倍数即是所用的目镜放大倍数与所用物镜的放大倍数的乘积。不要随意取下目镜,以防尘土落入物镜。

(7) 载玻片和盖玻片 显微镜对载玻片和盖玻片的厚度有一定要求:标准载片为 $(1.1\pm 0.04)\text{ mm}$;标准盖片为 $(0.17\pm 0.02)\text{ mm}$ 。

3. 成像原理

光学显微镜是利用光学的成像原理,观察生物体的结构。首先利用反光镜将可见光反射到聚光器中,把光线汇聚成束,穿过生物制片(观察物),进入到物镜的透镜上。因此所观察的制片都很薄(一般为 $8\sim 10\text{ }\mu\text{m}$),光线才能够穿透制片,经过物镜将制片上的结构放大为倒立的实像。这一倒立的实像经过目镜的放大,映入眼球便成为放大的倒立的虚像。生物显微镜的光路图及其成像原理图见图 1.1-2。

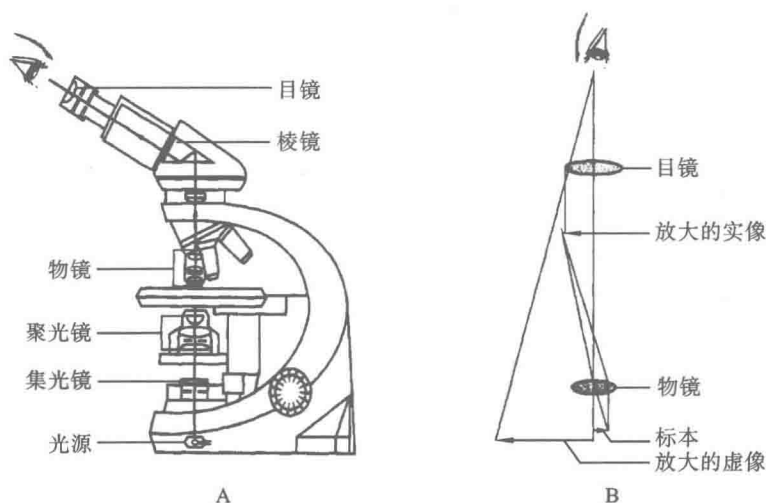


图 1.1-2 生物显微镜的光路图及成像原理图

A. 显微镜光路图; B. 显微镜成像原理图

(二) 使用方法

1. 安放

在室内搬动显微镜动作要轻稳。打开镜箱,右手紧握镜臂,左手平托镜座,镜身保持直立(禁止单手提动),轻放桌上使镜臂正向或反向朝着观察者的左胸,不要靠近水槽或加热器及桌边、桌脚,应在距实验台边缘 10 cm 处,以免碰撞或零件脱落。除去防尘罩。

2. 检查

检查各部分部件是否完好,镜身、镜头必须清洁。

3. 对光

对光时,首先将光圈的孔径调至最大,将其升到最高点,再将低倍镜对准镜台孔,镜头离载物台约有 2 cm 。使聚光器、物镜和目镜的中心同轴。这时,一方面把反光镜转向光源,一方面用左眼(两眼睁开)从目镜中观察,宜用平面镜;光线过弱时,宜用凹面镜。对好光后不要再移动显微镜,否则又需要重新对光。此外,在镜检全过程中,根据所需光线的强弱,还可通过扩大或缩小光圈、升降聚光器和旋转反光镜进行调节。聚光器的聚光焦点应正好落在标本上方能发挥物镜的分辨率,对一般显微镜来说,用平行光照明时聚光器的聚焦点在透镜中心上方约

1.25 mm 处(仅稍低于载物台平面的高度),这样聚光焦点能落到标准厚度 1.1 mm 载片的标本上。每一个聚光器有一个最大的镜口率,改变光阑开启程度可改变镜口率,聚光器和物镜的镜口率一致时显微镜的分辨率最高。或插上电源插头,打开显微镜电源开关,通过拨动旋钮调节光线亮度。

4. 调焦

光线对好后,就可将载片放在载物台上,有盖片的一面朝上,被检物体对准圆孔正中,用压夹压紧,或用标本移动器卡紧,开始调焦。先用低倍镜观察,因为低倍数视野范围较大,易于全面地观察材料和寻找材料中需要重点观察的部分。转动粗调节螺旋,使镜筒缓缓下降,这时必须由侧面仔细观察,右眼也要睁开。这样,不仅便于绘图,而且眼睛也不易疲劳。同时转动粗调节螺旋,使镜筒缓缓上升(注意:拧动调节器的方向,切勿弄错,以免物镜与载玻片碰撞,否则,会压碎玻片、损坏镜头),直至看清标本物像。然后,再轻轻转动细调节螺旋,以便得到更清晰的物像。

观察时一般用左眼看目镜(左眼视力太差可用右眼),两眼同时睁开以免疲劳,初学者可以慢慢练习。用直筒显微镜时最好不要使镜臂倾斜,因为载物台也会随着倾斜,当遇到含液体的标本时就会影响观察效果。记录纸放在显微镜的右边。观察过程中尽量避免不必要和过快的移动,特别是用高倍镜或油镜时,易引起疲劳、眩晕和恶心等不适反应。

5. 低倍镜观察

低倍镜下调焦距找物像时,若被检物体不在中央,可用标本移动器略微移动玻片,使物像恰好位于视野中央。若光线不适,可拨动可变光阑的操纵杆调节光线至物像最清晰为止。转动粗调节螺旋,使镜筒下降至低倍镜距盖片 0.5 cm 左右,然后边用目镜观察、边反向转动粗调节螺旋提升镜筒,直到视野内的结构清晰呈现,然后再用细调节螺旋调节。

6. 高倍镜观察

低倍镜观察完毕转换为高倍镜时,应先将要详细观察的部分移到视野正中央。推动转换器,将高倍接物镜头转至镜筒正下方(转换时切勿动调节器)。这时,只要将细调节螺旋向反时针方向轻轻转动,就可看清楚被检物。把用低倍镜观察时的光圈开大。★注意:此时不可用粗调节螺旋,否则会压碎玻片或损伤镜头。由于显微镜所观察的生物材料是立体的,故在观察时必须随时转动细调节螺旋,才能了解不同光学平面的情况。

在低倍镜下,将制片中的被检物按从上到下、从左到右的顺序移动,观察一遍。然后将需观察的位置移到显微镜视野的中央,将高倍镜换入即可。用高倍镜观察完后,若有必要,可再换用油镜观察。★注意:应在低倍物镜下放上和取下载玻片,不可直接用高倍镜,以免擦伤透镜。

7. 油镜观察

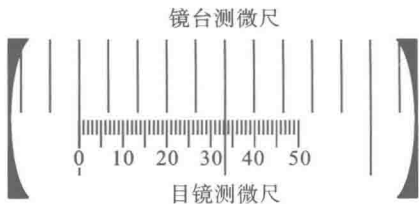
用粗调节螺旋将镜筒拉起 1.5~2 cm,将油镜头转至镜筒下方。滴加一滴香柏油于载玻片上,移动镜筒使油镜头与香柏油相接触,但注意不能与玻片相碰,以免压碎玻片和损伤镜头,然后从目镜中观察。首先调节光圈与聚光器,使光亮适当加大,用粗调节螺旋缓慢地提升镜筒至出现物像为止,再用细调节螺旋调至物像清晰。如果镜头已提升出香柏油面而未见物像时,应按上述过程重复操作。使用完毕,取下载玻片,用擦镜纸擦去镜头上的香柏油,再取擦镜纸蘸取少量镜头清洁液(乙醚 7 份,加无水乙醇 3 份)擦镜头,然后用干净擦镜纸擦去镜头上残留的清洁液。

8. 测微尺及其使用

测微尺是测量显微镜下微小物体的一种显微镜的附属工具。需由台式测微尺和目镜测微尺 2 种配合起来使用。

(1) 台式测微尺是一种特殊的载玻片,中央有标尺,有直线式和网格式两种,其上标有刻度,每小格长度为 0.01。

(2) 目镜测微尺是一圆形玻片,装在目镜中使用。也分直线式和网格式。其上有刻度,但在不同观察条件下所测得的长度是不同的,是一个相对值,因此需要用台式测微尺确定目镜测微尺每格的实际长度。



(3) 测量方法如下:令两种测微尺的刻度重合,选其成整数重合的一段,记下两者的数值。按下式计算:

$$\text{目镜测微尺每格长度} = \frac{\text{两重合线间台式测微尺的格数} \times 10 \mu\text{m}}{\text{两重合线间目镜测微尺的格数}}$$

9. 复原

显微镜使用完毕,应将载物台置于最低位置,将镜筒升高,取下玻片标本。一定要及时清除油镜上的油,擦净物镜和载物台,将各部分还原,反光镜垂直于镜座(或拔掉电源),以减少落上灰尘;转动镜头转换器,将物镜从镜台孔挪开,成八字形,不可使物镜正对着聚光器,并将镜筒降至最低处,同时把聚光镜降下,盖上防尘罩。最后装镜入箱,填写使用登记表。

(三) 保养与使用注意事项

(1) 按照规程操作。操作过程中,如发现故障和问题,应立即向指导教师报告,不可自行拆卸。

(2) 保持清洁,注意防尘。水滴、酒精或其他药品切勿接触镜头或镜台,如果污染应立即用擦镜纸擦净。

(3) 注意防潮。可将镜头取下,放入干燥器中。干燥器中应加入烘干的硅胶,还要经常将变成粉红色的硅胶烘干。

(4) 临时制片的标本上要加盖玻片。各种临时装片的上、下面不应有水溢出。放置玻片标本时要对准通光孔中央,且不能反放玻片,防止压坏玻片或碰坏物镜。

(5) 显微镜的清洁方法:可用软布擦拭机械部分的灰尘。光学和照明部分只能用擦镜纸擦拭,切忌口吹手抹或用布擦拭。积灰多时,先用洗耳球吹掉灰尘或用专用的镜头刷轻轻拂去

灰尘,以免灰尘微粒磨损透镜。用镜头清洁液擦掉镜头上的油污。具体操作是用棉棒蘸清洁液,从中心向外螺旋状擦拭(图 1.1-3)。切勿用手、较粗的布或纸擦拭镜头,以防划伤镜头。



图 1.1-3 镜头清洁需从中心向外螺旋状擦拭

防止酸碱等腐蚀性液体沾污显微镜。一旦机械部分沾上酸碱等腐蚀性液体时,应及时用吸水纸吸走,并用潮湿的布反复擦洗。一旦镜头沾上酸碱等腐蚀性的液体,需用擦镜纸吸走后再

用清洁液擦洗。

(6) 正确使用单目显微镜的方法。用一只眼睛观察,另一只眼睛睁开。养成左眼观察视野、右眼用于绘图的习惯。

(7) 使用物镜转换器旋转物镜,不能用手直接推转物镜,否则容易使光轴歪斜。

二、体视显微镜

1. 构造与原理

体视显微镜又称立体显微镜、实体显微镜、解剖镜,是一种具有正像立体感的目视仪器。其构造如图 1.1-4 所示,其工作距离很长。可以观察不透明物体表面的立体结构,常用于解剖较小标本或观察玻片标本的全貌。它具有多种形式的外加光源,也有镜体内同轴垂直照明,使光线投射到所观察的物体上。还有些兼具投射光照明器、荧光照明器等其他照明系统,应用范围较广。



图 1.1-4 体视显微镜

其原理是由一个共用的初级物镜,对物体成像后的两个光束被两组中间物镜(亦称变焦镜)分开,并组成一定的角度,称为体视角(一般为 $12^{\circ} \sim 15^{\circ}$),再经各自的目镜成像,它的倍率变化是由改变中间镜组之间的距离而获得的:利用双通道光路,双目镜筒中的左、右两光束不是平行的,而是具有一定的夹角,为左、右两眼提供了一个具有立体感的图像。实质上是两个单镜筒显微镜并列放置,两个镜筒的光轴构成相当于人们用双目观察一个物体时所形成的视角,以此形成三维空间的立体视觉效果。

2. 使用方法

(1) 根据所观察的标本,选好台板(观察透明标本时,选用毛玻璃台板;观察不透明标本,选用黑白台板),装入底座台板孔内,并锁紧。

(2) 松开调焦滑座上的紧固螺钉,调节镜体的高度,目测工作距离在 80 mm 左右(使其与所选用的物镜放大倍数大体一致的工作距离),调好后锁紧托架,将安全环紧靠调焦托架并

锁紧。

(3) 装好目镜,先将目镜筒上的螺钉松开,装好目镜后再将此螺钉拧紧(目镜放进目镜筒时,要特别小心,不要用手触摸镜头透镜表面)。

(4) 调好瞳距,当使用者通过两个目镜观察视场时发现视野中不是一个圆形视场时,应扳动两棱镜箱,改变目镜筒的出瞳距离,使之成为一个完全重合的圆形视场(说明瞳距已调好)。

(5) 观察标本(对标本调焦)。先将左目镜筒上的视度圈调至0刻线位置。通常情况下,先从右目镜筒(即固定目镜筒)中观察,将变倍筒(有变倍装置机型时)转至最高倍位置,转动调焦手轮对标本调焦,直至标本的像清晰后,再把变倍筒转至最低倍位置,此时,用左目镜筒观察,如不清晰则沿轴向调节目镜筒上的视度圈,直到标本的像清晰,然后再双目观察其调焦效果。

三、其他常用显微镜

光学显微镜是研究生物学的常用工具,除一般常见的生物显微镜外,还有暗视野显微镜、相差显微镜、倒置显微镜等。几种常见的显微镜介绍如下。

(1) 暗视野显微镜(darkfield microscope) 它与普通显微镜的区别在于聚光镜中央有挡光片,可使照明光线不直接进入物镜,只允许被标本反射和衍射的光线进入物镜,因而视野的背景是黑的,物体的边缘是亮的。利用这种显微镜能见到小至4~200 nm的微粒子,分辨率比普通显微镜高50倍。常用来观察未染色的透明样品。这些样品因为具有和周围环境相似的折射率,不易在一般明视野之下看清楚,于是利用暗视野提高样品本身与背景之间的对比。虽然其分辨率很高,但只能看到物体的存在、运动和表面特征,不能辨清物体的细微结构。

(2) 相差显微镜(phase contrast microscope) 活细胞在普通光学显微镜下一般不能分辨其细微结构,主要是由于各细微结构的折光性近似或对比不够显著。相差显微镜则是在聚光器下装一个环状光阑,形成相差聚光器。其物镜是安有相板的相差物镜。环状光阑的作用是造成空心的光线锥,使直射光和衍射光分离(一部分是物体结构的折射光,另一部分是受物体影响的光);相板的作用是使直射光和衍射光发生干涉,导致相位差变成振幅差(即明暗差),由于两束光的相移位接近半波长($\lambda/2$),因而可以观察到反差分明的图像。相差显微镜适于观察较透明的活细胞或染色反差小的细胞和微细结构。

(3) 倒置显微镜(inverted microscope) 这种显微镜光源位于标本上方,而物镜位于标本的下方。其工作距离较大,主要用于细胞或组织培养时的观察研究。

(4) 荧光显微镜(fluorescence microscope) 通过紫外光的激发和较高能级的电子跃迁可释放出一些具有特定能量的光子形成荧光。显微镜以紫外线为光源,用以照射被检物体,使之发出荧光,然后在显微镜下观察物体的形状及其所在位置。荧光显微镜用于研究细胞内物质的吸收、运输、化学物质的分布及定位等。细胞中有些物质,如叶绿素等,受紫外线照射后可发荧光(初级荧光),但大部分生物材料本身不能发荧光,需用荧光染料或荧光抗体染色后,经紫外线照射才可发荧光(次级荧光)。荧光显微镜就是对这类物质进行定性和定量研究的工具之一,它可以鉴定极少量的物质,具有较高的敏感性和特异性,通过选择滤光器,能高度特异性地鉴定特定的荧光染料。大量的组织化学、免疫细胞化学的研究都采用荧光染料进行特异性染色。