

# 植 病 研 究 基 本 技 术

( 森林保护, 植病检疫通用 )

赵 光 材 编

西南林学院病理教研室

一 九 九 二 · 九 ·

# 植 病 研 究 基 本 技 术

(森林保护, 植病检疫通用)

赵 光 材 编

## 第一章 场地及实验室要求

### 第一节 场地条件

#### 一、场地布局的原则及要求

检疫工作的进行, 根据专业特点和要求, 为有效地开展工作, 按不同组织机构和组织形式及在检疫工作进行中, 有所侧重地布局各种场地, 但一般地讲, 场地必须具备下列条件。

(一) 场地面积的确定, 必须按检疫对象所处的地理位置和交通情况的不同, 所辖面积的大小及被检对象的种类、数量而定。

(二) 任何检疫场地, 都必须隔离, 严防病原逃逸。

(三) 所处的位置应在交通要道上, 机动车辆可进入, 方便工作及进行灾害处理。

(四) 场地种类的选建, 必须符合相应的组织机构及形式, 不能脱离地区特点, 但也要有长远规划, 并还应考虑科研内容。

#### 二、场地建立

##### (一) 中心检疫实验室

在一切检疫机构中, 中心检疫实验室是不可少的重要部份。它承担着组织指挥各检疫点的全部业务, 也是解决重要疑难问题, 指导试验研究的核心, 根据地区特点, 被检对象的生物学特性, 技术力量的强弱, 工作内容的轻重与频率, 较系统全面的建成各种实验室。

(1) 病害检疫部份各室与昆虫检疫各室及杂草检疫各室既要集中, 又要分开, 但不宜相连, 各自有专人组织及管理。

(2) 在大型的国际港口、国际机场、交通枢纽所建的检疫机构, 还应与动物检疫相结合一起规划设计。

### 三、场地设计要求

(一) 送检场地 该场地主要用于:

- 1、到货地点初检认为需要进行隔离的;
- 2、整批量需进行检疫的;
- 3、初检后,或因故暂不能进行检疫的物品,但又属气传或易受其它人为因素传播的病害,要进行某些方式的取样或研究鉴定的,一律应送往该场地进行检疫。

因此,该场地的设置位置应设在受车辆闹市环境等干扰较小并便于检疫程序进行的地方。

该场地的附属设备主要以检疫的必备工具,较简易的实验室及所必须的仪器、表格和便于取样的地形地势与梯架行车路标等的设置。

该场不能解决的疑难问题、尚须进行详细鉴定的病原,一律送交中心检疫室进行研究处理。

(二) 除害处理场 凡是经过到货地点检疫、或送检场地检疫、中心检疫室检后认为需要进行除害处理的,一律送往该场进行处理,因此,该场首要的是建好农药仓库,该库应将液体挥发性农药、固体喷洒的农药及用于浸渍处理的农药按性质、顺序进行存放,并严格做好防毒、防火、防爆工作,建立严格的使用与管理制度。

该库房应保持阴凉、通风、干燥、避光,用电线路和灯具安装一律严格按照技术要求,使用铜芯绝缘线,绝对避免电弧的产生和漏电、雷击等问题的发生,内装排毒风扇,以便入库前的排毒或定时排毒,以控制挥发毒剂在库内空气中的浓度。

仓库距离除害处理区均不能太远,以便于随时取用。

除害处理按应检对象的特点、工作内容及要求分为三种处理区:

1、浸渍喷洒区,由以下几个部分组成:

①消毒处理部分 主要对被检物进行药剂喷洒,以达消毒的目的。②浸渍处理部分

a、药液浸渍池数个;

b、热水浸渍池数个,但温度控制需准确。

③灭菌清水漂洗部分 凡种子、芽条或接穗经药物处理后,必须用灭菌清水洗涤,方能使用,在检疫场不能进行的,必须在处理证书上注明。

这个区应设在水源充足,便于排水处理,离药库不远,又便于工作和管理的位置上。

2、熏蒸处理区 设可密闭又可通风的熏蒸房数个,可用排烟机或其它使药剂挥发的方法(如提高温度)进行熏蒸,并备有多个可行临时熏蒸的帐幕。这个区的设置首要考虑的是常风方向和周围的环境,应最大限度的减少对周围环境的影响乃至人畜安全。

3、土壤处理区 该区应常备有肥沃无菌的可调pH值的土壤,以备引入或运出种苗换土之用,对换下的土壤,应立即进行彻底的灭菌处理。因此,这个区实际上应由土壤供给、出壤灭菌、土壤营养元素添加、换土场地、土壤除害处理几个工序组成。

(三) 隔离圃的建立与管理 对于潜伏期较长,一时难于鉴定的病害,在财力物力不足

的条件下,只有采取隔离试种进行鉴定,其规模的大小,区域设计方式据被检对象的多少,

被检对象的特点而定,还要根据地区特点,由几家合办,跨区设置或在本区内设置,设置的条件要求:

- 1、远离种植区,确保不被以任何形式的传播方式导致病害的传出或传入。
- 2、生态条件必须是以自然的或可行人工控制的既适于寄主植物生长发育,又有利于发病。
- 3、隔离圃边缘林木及林木组成不能是被检病原的寄主。其隔离林木面积的大小以病原传播特点,孢子寿命长短而定,一般以水平半径 5—10km 为好。
- 4、对于同种寄主不同病原的种植设计,一定要使病原互相能隔离,避免相互传染。
- 5、栽植密度不大于 700 株/亩,其中阔叶树的株行距以  $1 \times 1\text{m}$  为好,针叶树以  $80 \times 80\text{cm}$ ,根部病害以  $50 \times 50\text{cm}$  即可,供试地在排水良好,土地平整的条件下,可不起畦。

在管理上,要求管理人员是通过选择、培训的有一定的业务基础和苗圃工作经验的人员。并要建立苗木进出的控制这种及他种病原外逸,或传入其它病害及在管理中定期鉴定的制度,制订出结合地区特点的苗圃管理技术措施。

## 第二节 实验室的设计安装要求

### 一、规模确定

不同的学科,有不同的特点;相同的学科,工作内容不同,实验条件的要求也有很大差异;工作内容和任务不同,又形成了实验工作特有的繁杂程序及相应的特殊性。但是,无论实验有多复杂,据学科特点所决定的技术性有多强,首要的问题仍是因地制宜地建立适应工作需要的实验室。其规模的大小,在一般情况下,植病实验室的规模是按下列条件决定的:

(一)当前工作的需要及长远规划中内容任务的要求:无论何时何地,都有结合生产、结合科研正在进行的工作及今后还要开展的工作。这些工作的内容、要求、发展规模,是决定实验室大小的因素之一;在今后的工作中,短期性的工作和长期性的工作,以及它们的研究内容及水平要达到的标准,是因素之二。在这个实验室建成后的有效使用期中,能否经济有效地全面得以满足使用,这些问题,在设计前都要优先进行考虑,才能避免建设中的盲目性和建后因增补、修改而导致不必要的浪费。

(二)单位的编制、技术力量及与之相应的工作人员数量:检疫工作,是病害研究的一种方式,它和病害的研究一样,既有内业;也有外业;既有观察研究,也有实验研究;既含病害种类及其发生规律的认识,也有防治的试验研究,这些工作的项目和内容,依不同地区、不同病害特点、专业化的程度、工作择重点的不同而不同。即使确定了某项工作内容,这项工作需要的人数与其它项目需要的人也不同,加上临时增减的因素,构成了业务方面对实验室容量设计的一个要素;另一方面,按国家规定的规模和机构标准,构成了一定的编制范围。所建的实验室,必须适应这种编制的需要。在科技人员中,技术水平高的多,承担的工作任务相应多,设备条件和工作人员也相应增多,实验室的数量和容量也要

与之相应。

(三)适应当前受限而不影响今后变动的可行性因素 实验室建设受限的首要条件是资金,无论是国家投资还是自筹,如果不够,在保证质量的前提下只有减小规模或分期、分批建设;第二个限制因素是由于材料、地形地势、交通运输等原因造成的,如果在其中的某一方面造成困难,则以减小规模或因地制宜、因陋就简地充分利用有利条件使问题得到最大限度的解决,完成或基本完成建设计划;第三个因素是集中通用部分,减少因各实验项目和各分支单位都共同需要的重要部分,达到既提高了通用部分的利用率,也利于更有效地建好具有特殊要求的分支实验室;第四,随发展规划的需要,建成既能满足当前需要,也可随发展变化而改成其它使用内容的实验室。就一个研究单位而言,土化实验室改为植物生理实验易改而经济,反之易改而不经济;精密仪器室和工作室改作任何实验室都可以,但不经济。在一般情况下,在建设中把必备的水、电系统设置安装在内,就增加了改动的灵活性,提高了可变动的因素。植病实验室所配套的各分支室,分离接种室的建设成本较高,作任何改用都是不经济的工作室和病理解剖室既可分开,又可合并;病理研究室中又设菌种保存室,因为菌种保存室不宜过大。总之,急用的和必备的部分应先建、建好,其它需要部分充分利用可行性因素给予基本满足,使实验室成为利用率高、一专多能的系统实验室。

## 二、设计条件

(一)当地的温湿条件 在植物病害研究过程中,由于病原菌是直接受温湿度影响的,因此,实验室建设中对当地气象条件的选择利用非常重要。理想的气象条件是年平均温度为 $16-20^{\circ}\text{C}$ ,最热月平均气温不超过 $30^{\circ}\text{C}$ ,最冷月平均气温不小于 $4^{\circ}\text{C}$ ;年平均相对湿度 $70-80\%$ ,雨季最湿月平均不超过 $92\%$ ,旱季最干月平均不小于 $55\%$ 。因此,如果在气温较高的地区,要考虑降温问题,温度过低的地区,则要考虑保温的问题;相对湿度过大的地区,利用较高的地势在建设中建成通透性良好的条件,相对湿度低的地区则要在保证水源供给的条件下能有效地控制和改善湿度条件。

(二)地形地势的选择运用 植病研究实验室不同的组成部分有不同的特殊要求,例如,洗印室需要水源方便,小而避光,有一定的通透性;生化测定室除水的供给要有保证之外,特别要求通透性要好;标本室和精密仪器室要求干燥、采光好,通透性好;菌种保存又以阴凉、干燥,具有一定的通透性为佳。楼层越高,通透性越好,采光条件也越好,但湿度和温度条件的控制有困难;楼层越低,采光条件又差,湿度增大,条件与高楼层相反。建设时,应据各室要求的特点进行布局,并可充分利用地形地势,例如,坡地可依坡建造,建成台阶式或平地上楼式;平地楼房要作好水平摆布,要有充分的空间以保证通透性。这样,使实验室建得又紧凑,又经济美观而适用。

(三)材料来源的方便性 主体工程的材料,一般不致构成大问题,但室内装修材料,有的要求耐酸,有的要求耐小洗,并且都要便于擦洗,包括美化装饰的各种用材。如小磨用材、瓷砖、马赛克、地砖、特殊性能的油漆材料,塑料制品等等,在建设中都要提出技术要求,如果没有,使用其它材料代替,这些代替品能否达到使用要求,都需要予以充分考虑。

(四)各分支实验室(又称子实验室)的布局原则 技术性不同的工作,都有它自身的

工作特性决定了的工作程序，按照这个工作程序进行工作，就可以减少繁杂，节约时间，避免错误发生。植病实验室各分支室的布局就是按植病工作的顺序结合使用条件来进行布局的，这种布局特点就是由这项工作的特点和内容决定了的。

三、各分支（子）实验室的布局形式及使用内容

（一）布局的形式与内容

根据上述布局原则，依植病工作的工作程序，一般常见的有下列几种布局形式（图 1—1），室内设置的分离接种室的形式如图（1—2）。

图 1—1：a、走廊正式式：

优点：占地紧凑，使用方便。

缺点：不利通风。

|            |            |            |            |       |              |     |     |
|------------|------------|------------|------------|-------|--------------|-----|-----|
| 病 理<br>解 剖 | 分离培养       | 菌 种<br>保 存 | 库 房        | 试剂房   | 杂物间          | 洗印室 | 标本室 |
| 工 作<br>室   | 病 理<br>研 究 | 生化测定       | 精 密<br>仪 器 | 备 用 室 | 绘图、复<br>印、打字 |     |     |

b、走廊一侧式：

优点：有利通风，光线充足，回旋余地大。

缺点：占地面积大，使用较分散。

|             |                  |                  |                  |                  |             |                  |        |                  |                                      |             |
|-------------|------------------|------------------|------------------|------------------|-------------|------------------|--------|------------------|--------------------------------------|-------------|
| 工<br>作<br>室 | 病<br>理<br>解<br>剖 | 分<br>离<br>培<br>养 | 病<br>理<br>研<br>究 | 精<br>密<br>仪<br>器 | 备<br>用<br>间 | 生<br>化<br>测<br>定 | 库<br>房 | 菌<br>种<br>保<br>存 | 绘<br>图<br>、<br>复<br>印<br>、<br>打<br>字 | 标<br>本<br>室 |
|             |                  |                  |                  |                  |             |                  |        |                  |                                      | 洗印间         |

c、楼上楼下式：（主廊设一侧）

优点：回旋余地大，通透性好。

缺点：如楼口设计不当，工作不便。

|     |       |       |      |      |            |       |    |
|-----|-------|-------|------|------|------------|-------|----|
| 上 层 | 病理解剖  | 精密仪器  | 分离培养 | 库 房  | 菌种保存       | 标 本 室 |    |
| 下 层 | 办 公 室 | 备 用 间 | 病理研究 | 生化测定 | 复 印<br>绘 图 | 打字    | 洗印 |

分离接种室的形式

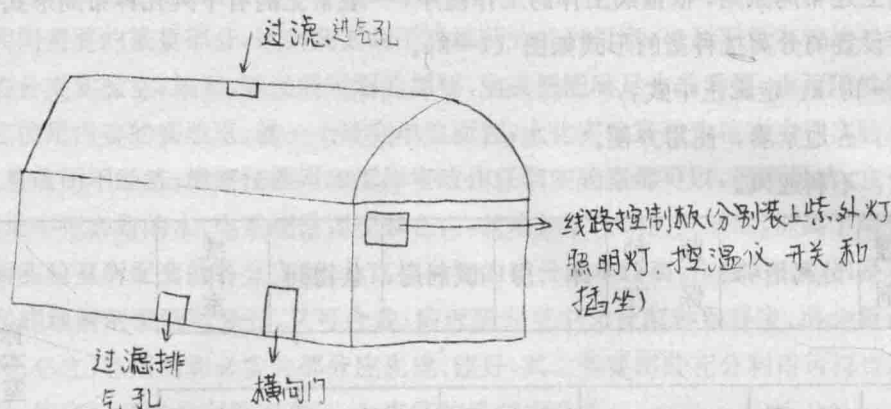


图 1-2 分离接种室的形式

## (二) 各实验室的水、电、气要求

各室的电源线路及水道安装的要求见表 1-1。

表 1-1 线路和水道要求

| 实 验 室         | 三相四线 | 单相三线 | 室内水槽 | 室外水槽 | 排风 | 空调 |
|---------------|------|------|------|------|----|----|
| 办 公 ( 工 作 ) 室 |      | △    | △    |      |    | △  |
| 病 理 解 剖       | △    | △    | △    |      |    | △  |
| 分 离 培 养       | △    | △    |      | △    | △  |    |
| 病 理 研 究       | △    | △    |      | △    | △  |    |
| 精 密 仪 器       | △    | △    |      |      | △  |    |
| 备 用           | △    | △    | △    | △    | △  |    |
| 生 化 测 定       | △    | △    | △    | △    | △  |    |
| 库 房           |      | △    |      |      |    |    |
| 菌 种 保 存       | △    | △    |      | △    | △  |    |
| 洗 印 室         |      | △    | △    | △    |    |    |
| 标 本 室         | △    | △    |      | △    | △  |    |

△：表示需设

安装说明：

- 1、照明线路除外。
  - 2、导线一律暗装，并采用铜芯线。
- 单相线路离地 1.6~2M。
- 三相线路在提角线之上。

### 3、几种电器及材料符号:

RR——日光灯

BVR——铜芯软塑料线

RL——冷 白

BVRL——铝芯软塑料线

S——细 型

BX——铜芯橡胶线

Br——铜芯塑料线

BLX——铝芯橡胶线

LJ——铝绞线

TY——硬铜线

### (三) 常设的工作室

一般中等的以真菌研究为主的实验室应据工作的内容程序由下列各子室组成

1、工作室 编写计划、整理资料、业务研究讨论,亦可称办公室。

2、病理解剖室 病组织的解剖切片,病原鉴定,标本整理、干燥,制片,分离培养的准备。

3、分离培养室 病原的分离培养,内设无菌室及二级种子扩大培养室,经分离的病原能在其中以不同条件进行培养。(图—②)

4、菌种保存,观察鉴定室 用于病原的观察、摄影、菌种保存。

5、生化室 用于病原真菌生化性能的测定,石蜡切片的染色过程。按化学实验室的要求设计,内设二个通风厨。

6、病原研究室 主要用于病原生物学学习性的研究。

7、精密仪器室 应分为3—4间,如高精度天秤,万用显微镜,高精度的分析仪器,高(超)速离心机,冰冻切片机一类常用,共用的精密仪器。

8、库房 内分放置仪器,玻璃器材,化学试剂,常用工具等的单间。

9、标本室 放置已鉴定的实物标本及所制切片等,其中分四室:存放室、工作室、查阅室、缓冲间。

10、标本洗印、放大暗室必须附设。

11、备用实验室 作为新设备的增加和使用等的备用。

在一般情况下,无菌室(分离室)、种子培养室(二级)均设于分离培养室内,上、下均需通气,气孔用玻璃纤维过滤,使通入室内的空气保持无菌;二级种子室采用保温层建设方能满足中试以上的种子菌培养之用,温度采用控温仪室外控制。

两室内设紫外灯和日光灯并附5A三眼及双眼插座各一个,园顶建设,校门。

通风厨建设必须精细,达到光线充足,排风良好,下不漏气,保证安全。

标本室内的分隔间、暗室及精密仪器分隔间的分隔,根据实际情况而定。

此外:3—7室均设排风装置。

### (四) 线路安装及要求

1) 设施要求见表一。

2) 线材要求 户外线 $>25\text{mm}^2$ , LJ, 进户横担用铁担, 三号绝缘子, 进墙需穿管。

室内干线 $>4\text{mm}^2$ , BV 塑料线, 支线用  $2.5\text{mm}^2$ , BV 塑料线, 如用 BLV, 则相应依最大允许电流负荷量加大选择; 但分离培养室、生测室、病原研究、精密仪器等室一定要用 BV

线，以防氧化。铜铝接头用瓷接头，如没有则需要用压钳紧密嵌合。

3) 导线选择方法

1、条件 用 I 表示电流，V 表示电压， $\cos\phi$  表示功率因素，“容”表示容许，“工”表示工作，“降”表示下降

- ①  $I_{容} > I_{工}$ ;
- ② 机械强度必须符合使用技术标准;
- ③  $V_{降} < 10\%$ ，进产后的  $V_{降}$  可不计，但须计算其使用电流量。

a、电压损失的计算

公式： $V_{损}\% = \text{单位电压损失} (\%/KwKm)$

$\times \text{输送功率} (Kw) \times \text{距离} (Km)$

例：某实验室用电功率 20 千瓦，全系感应做功的电机，其电流量为 39A， $\cos\phi = 0.8$ ，离变压器 0.4km，应选何种规格的铝或铜导线。

| 电 压 损 失<br>COSφ | 380V 三相架空线路单位电压损失 |       |         |      |       |
|-----------------|-------------------|-------|---------|------|-------|
|                 | 导线型号<br>LJ—16     | LJ—25 | TY—4    | TY—6 | TJ—16 |
| 1.0             | 1.35              | 0.88  |         | 2.12 | 0.83  |
| 0.8             | 1.53              | 1.06  | 强度 (不够) | 2.30 | 1.01  |
| 容许电流量           | 105               | 135   | 50      | 70   | 143   |

- (a) 查不同导线容许电流表，找出可容的导线型号，及机械强度是否够。
- (b) 分别计算其电压损失，在上例中，TY—4 机械强度不够，应选用 TY—6 或选用 LJ—

16

如用 LJ—16，则

$V_{损} = 1.53 \times 20 \times 0.4 = 12.24\%$

大于 10%，不合要求。

选用 LJ—25

$V_{损} = 1.06 \times 20 \times 0.4 = 8.4\%$

小于 10%，可用。

用 TY—6

$V_{损} = 2.3 \times 20 \times 0.4 = 18.4\%$

大于 10% 不合要求，改用 TJ—16

$V_{损} = 1.01 \times 20 \times 0.4 = 8.08\%$

小于 10% 可用。

另外还可电压损失来选择导线，公式：

单位电压损失 ( $\%/ \text{千瓦} \cdot Km$ ) =

$$\frac{\text{允许电压损失}}{\text{输送功率} (\text{千瓦}) \times \text{距离} (Km)} = \frac{10}{20 \times 4} = 1.25$$

据此式及上例

查上表  $V_{\text{损}} = \text{LJ}-25$  在  $\cos\varphi = 0.8$  时电压损失为 1.06

$\text{TJ}-16$  在  $\cos\phi = 0.8$  时电压损失为 1.01

均小于 1.25, 故可选用之。

b、电流量的确定 ( $P$ ——功率,  $I$ ——电流,  $V$ ——电压)

$$\text{据 } P=VI \quad I=\frac{P}{V}$$

因是并联电路, 故  $I=I_1+I_2+I_3+\cdots+I_n$

但, 热电器  $\cos\phi=0.7-0.8$ , 白炽灯、电炉  $\cos\phi=0.9-1$ , 其它仪器一般在  $0.4-0.8$  之间, 一般以 0.6 作计算。电机电流量即为它的额定电流量。

c、保险丝 (熔丝的选择):

(a) 电机

熔丝额定电流 (A)  $=1.5-2.5 \times$  电机额定电流

单相及以三相三角形接法电机以 2—2.5 倍 3 相星形接法以 1.5—2 倍

原理: 据  $Q=0.24I^2Rt$ ; 起动瞬间增至原电量的 6—8 倍。

(b) 几台电机总熔丝额定的电流 (A)  $=1.5-2.5 \times$  容量最大的电机电流 + 其余电动机容量电流之和。

(c) 电灯, 电热器熔丝额定电流  $>$  支线上所有电器设备的工作电流之和。

(d) 电器总熔丝

熔丝的额定电流  $=0.9-1 \times$  电度表额定电流, 当用电设备超过电度表额定电流时, 则需增装电流互感器, 否则电表烧坏, 甚至危及配电间安全。

即  $I_{\text{总}} \leq I$  电度表

但  $I_{\text{总}} > I$  全部工作在超过  $I_{\text{表}}$  时, 装电流互感器以解决之。但安装电流互感器电度表的读数  $=$  变数比  $\times$  读数。如用 100/5 电流互感器, 其变流比为 20, 假设电度表读数为 8, 则实际用电量为  $20 \times 8 = 160$  度。

(4) 地线的要求

一般实验室使用电压都在 150—500V 之间, 故一定要接地或接零, 其接地的电阻 ( $R$ ) 要求是据设备要求, 土壤导电率  $P$  来计算的, 一般  $R \leq 10$  欧, 避雷  $\leq 20$  欧。变压器中性点  $R \leq 4$  欧, 其计算、设计、安装及技术要求请参考有关专业书。

此外, 为避免雷击, 还需在线路上安装阀型避雷器以确保安全。

(5) 配电线路的设计及安装要求

一般的配电线路, 即要选择距离短, 又要避开一些重要的建筑等障碍物, 这也以地形地势条件, 长远规划有密切的关系, 但在整个线路施工中, 每个环节都必须严格按技术标准要求进行施工; 其中设计者应对杆型、线型、绝缘子型号、横担材料等作充分计算。估价, 以提出施工方案。绘制电路图。

总电屏的选择安装是非常重要的工作, 必须复算多次再行选型或自装, 切不可马虎大意。

其置放位置必须方便管理、方便快速操作，而又要安全为主要条件。

### 第三节 常用的仪器及设备

#### 一、主要仪器的使用与维护

显微镜，是工作中不可少的必备仪器，每个植病工作者必须充分了解它、熟练使用它，用好它。

(一)显微镜的种类 显微镜的种类很多，据不同光学原理设计的显微镜有不同的名称，使用自然光和灯光照明的显微镜叫明视场显微镜，它是极其常见与常用的显微镜，也是显微镜发展的基础。如果不使照射被检物体的光线直接射入物镜，而是利用被检物体表面散射的光线来观察明视野显微镜所看不到的物体的，称为暗野显微镜，以符号 XSA 表示；如果设计使光波通过物体时波长(颜色)与振幅(亮度)发生变化，以增大物体明的反差，用来观察标本的细微结构及其变化的显微镜，称为相差显微镜，以 XSX 表示；如果利用紫外光的照射，使标本内的荧光物质转化为不同颜色的荧光后，来观察标本的称为荧光显微镜，以 XSY 表示；如果利用生物体中某些组织成份光学性质的不同，使在镜检时产生偏光来鉴别细微结构的光学性质，并鉴别组织中的化学成份的称为偏光显微镜，以 XPA 或 XPT 表示；如果附件齐全，结构及性能都精密，可行多用途的称为研究用显微镜或万能显微镜，以 XSJ 表示；用于摄影的称摄影显微镜。用 XSS 表示；可行投影观察的，称为投影显微镜，用 XST 表示；可行电视观察的显微镜，称电视显微镜，以 XSD 表示；作倒置观察的，称为倒置显微镜，用 XSZ 表示等等。由于显微镜大多用于生物观察，因此它的系列符号近年来，已日趋统一，即用 X 表示显微镜，S 表示生物用，P、T、S 等表示用途，折线后面的数字或符号表示生产厂的改型符号；例如：XSP—5，表示普通生物显微镜的第五种改型。XSA—5D 表示暗视场生物显微镜的第五种改型中的 D 型。XSS—1 表示摄影生物显微镜的第一种改型等等。

关于进口的各类显微镜，目前常见的厂家有：

日本：奥林巴斯 (olympus)；

光学工业公司 (Niken)；

岛津 (Shimadzn)；

西德：奥普托 (opton)；

莱茨 (Leitz)；

东德：蔡司 (Zeiss)；

英国：瓦特逊 (watson)。

美国

关于各国各厂家所生产的显微镜型号，须查阅有关产品介绍，即可选购。

近年来，光学显微镜已发展到非光显微镜——电子显微镜，它的基本结构与光学显微镜相似，但它是用电子流代替了照明光线，用电子源代替了光源，用特殊的电极或磁极代替了光学显微镜中的集光器、目镜和物镜的作用，由于电子波长较光波短 10 万倍以上，分

辩率比光学显微镜提高了8万倍，可看到光学显微镜所看不到的亚显微结构，这种显微镜需要专著来说明，此间不再讲述。

(二) 显微镜的结构原理、名称

1、结构组成及名称 显微镜是由机械结构和光学系统两部分组成，光学系统决定着光学性能的优劣，但它必须依靠机械结构的良好与配合才能发挥其作用。因此，两者在设计

和制作上的优良与否，将决定显微镜质量的好坏。关于结构和名称见图(1-3)

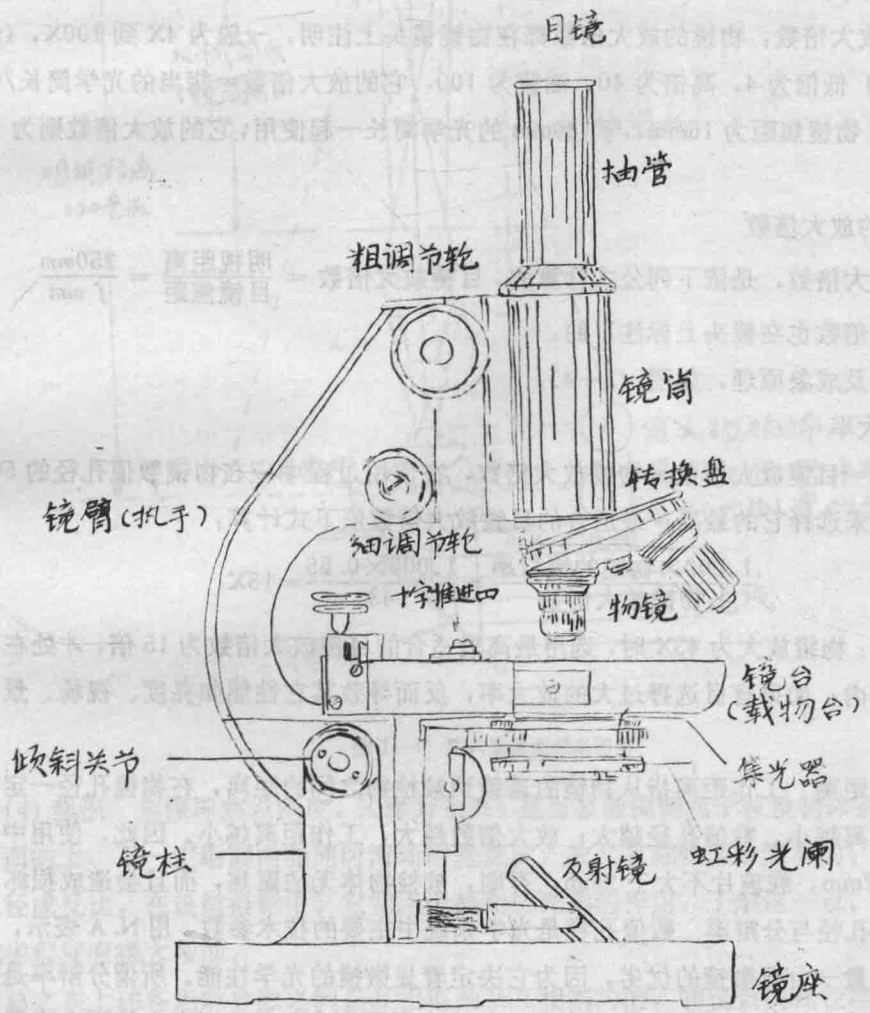


图 1-3 复式显微镜

物体置于集光器与物镜之间，平行的光线经反射镜折入集光器，再穿过透明的物体进入物镜后，就在目镜的焦点平面（光阑附近或它的部位）形成倒置实像，从实像射出的光经目镜的接目透镜而到达眼球，这时的光线已成平行或接近平行，这些平行光线透过眼球

水晶体就在网膜上形成实像,这样,眼球也就成了显微镜系统的一个组成部分了。这时从镜中看到是放大的倒置虚像,和网膜上所造成的实像是吻合的。

由于正常人的眼睛习惯观看 25cm 处的物体在视网膜上成像最清晰,眼本身不必调整能看清物体,久了也不易疲劳。因此,在显微镜设计中,把从眼球水晶体到放大虚像之间的长度设计为 250mm,是明视镜中物体最适的距离,叫做明视距离。把从镜筒抽管上缘到物镜旋肩部之间的长度称作机械筒长度,一般为 160mm (也有为 170mm 的),由物镜的上焦平面到目镜的下焦平面之间的距离称为光学筒长,其长度随机械筒长及物镜而异。

### (三) 显微镜的主要技术参数

#### (1) 总放大率

1、物镜放大倍数:物镜的放大倍数都在物镜镜头上注明,一般为 4X 到 100X, (读作 4 倍到 100 倍) 低倍为 4, 高倍为 40, 油镜为 100, 它的放大倍数=相当的光学筒长/物镜的焦距。例如:物镜焦距为 16mm, 与 160mm 的光学筒长一起使用;它的放大倍数则为  $160/16=10X$ 。

#### 2、目镜的放大倍数

目镜的放大倍数,是依下列公式计算的:  $\text{目镜放大倍数} = \frac{\text{明视距离}}{\text{目镜焦距}} = \frac{250\text{mm}}{f \text{ mm}}$

它的放大倍数也在镜头上标注了的。

光学系统及成象原理,如图 (1-4)。

#### 3、总放大率

总放大率=目镜放大倍数×物镜放大倍数,在使用过程中应在物镜数值孔径的 500—1000X 范围内来选择它的最高、最适合的目镜放大倍数依下式计算:

$$\frac{1,000 \times \text{物镜的镜口率}}{\text{物镜放大倍数}} = \frac{1,000 \times 0.65}{43} = 15X$$

上式说明:物镜放大为 43X 时,选用最高最适合的目镜放大倍数为 15 倍,才处在有效放大率的范围内;如果盲目选择过大的放大率,反而导致其它性能如亮度、视场、景深的降低。

(2) 工作距离 工作距离指从物镜的透镜到被检物之间的距离,在物镜孔径一定的条件下,工作距离越小,数值孔径越大;放大倍数越大,工作距离越小。因此,使用中要求盖玻片厚 0.17mm,载玻片不大于 2mm,否则,被检物体无法聚焦,而且会造成损坏。

(3) 数值孔径与分辨率 数值孔径是光学系统中主要的技术参数,用 N.A 表示,很大程度上可以衡量一台显微镜的优劣,因为它决定着显微镜的光学性能。所谓分辨率是指物镜能分辨两物体点的最小距离,用 R 表示:如小点间距离大于 R,标本上的两个点就能被物镜分辨,否则,这两个点就分辨不清了,所以 R 越小,表示物镜分辨率越高, R 的大小与光的波长和数值孔径 NA 的关系是:

$$R = \frac{\text{波 长}}{2 \times \text{数值孔径}} = \frac{\lambda}{2NA}$$

※NA 是 Numerical aperture 的缩写。

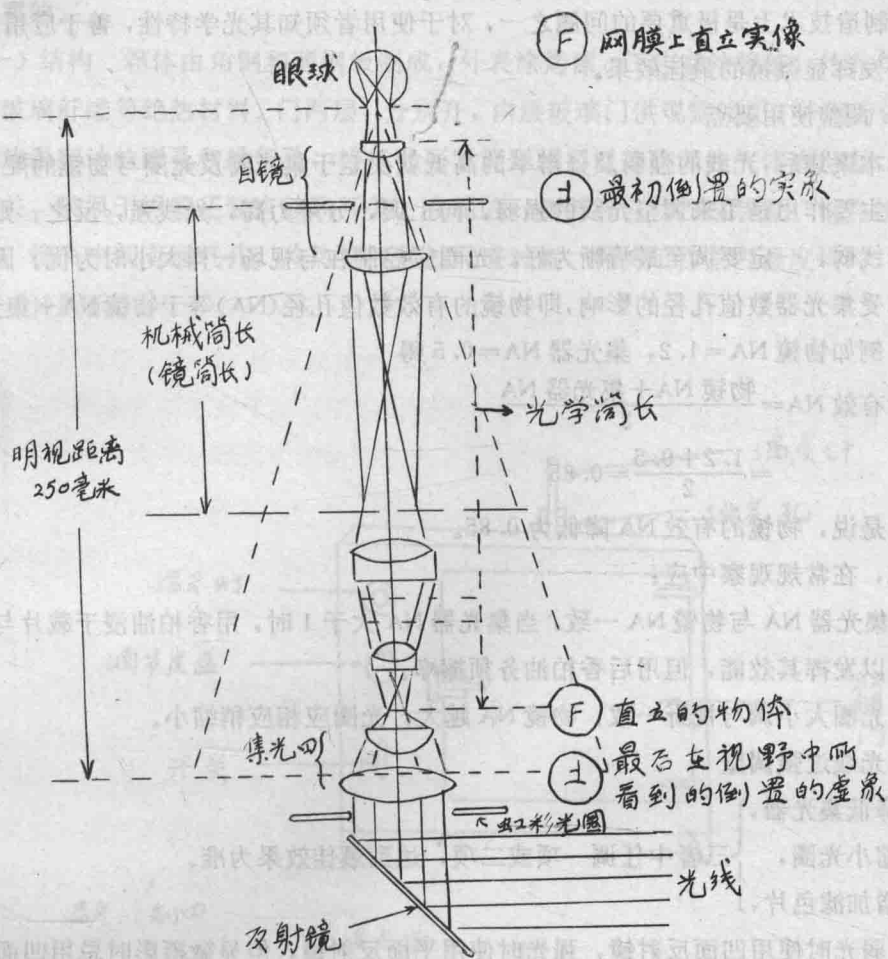


图 1-4 复式显微镜成像图解

(4) 焦深 焦深即焦点深度，又称为景深，是当显微镜调焦于被检物体某一平面后，在这平面的上、下一定距离内能同时清晰的垂直度，故又有称垂直分辨率的、它与物镜的数值孔径成反比，在显微摄影中，它相当于照相机光圈的作用，了解这一点，对显微摄影质量优劣程度有很大帮助。

总之在上述各光学参数之间是互相连系又互相制约的，物镜数值孔径越大，鉴别率越高，放大率也越高，但它又与物镜的景深、视场、工作距离成反比，即数值孔径越大、视场变小，工作距离变短，景深也小，镜检时多感不便，而且景深小，给显微摄影带来困难，制造上的难度也就越高。

另外，无论是物镜或目镜，由于都是由透镜组成，当光通过透镜后，白光被透镜的分光作用分成单色光，不同波长的单色光焦点不一样，即不能同时聚于同一焦点而形成由红

到紫的光环,这种现象称为色象差或色差;又由于透射入透镜边缘的光线曲折度大于中央部分,也造成焦点的参差,成象不明晰,这种特性称为球面差或球差。为了消除色差及球差,在制造上对物镜有消色差物镜和分消色差物镜之分,目镜又有正负目镜和补偿目镜之分,这在制造技术上是极重要的问题之一,对于使用者须知其光学特性,善于应用和鉴别,才能充分发挥显微镜的最佳效果。

#### (四) 调整使用要点

当标本聚焦后,光线的强弱及分辨率的高低就决定于集光器及光圈与物镜的配合使用,集光器的主要作用是用来调整光线的强弱,向上调,分辨率高,光线强,反之,则分辨率降低,光线弱,一定要调至最清晰为好。光圈应控制在与视场一样大小时为优。因为物镜的分辨率受集光器数值孔径的影响,即物镜的有效数值孔径(NA)等于物镜NA+集光器NA被2除。例如物镜NA=1.2,集光器NA=0.5得

$$\begin{aligned}\text{物镜有效 NA} &= \frac{\text{物镜 NA} + \text{集光器 NA}}{2} \\ &= \frac{1.2 + 0.5}{2} = 0.85\end{aligned}$$

这就是说,物镜的有效NA降低为0.85。

因此,在常规观察中应:

(1) 集光器NA与物镜NA一致,当集光器NA大于1时,用香柏油浸于载片与集光器上面之间以发挥其效能,但用后香柏油务须擦净。

(2) 光圈大小调与视野一致,物镜NA越大,光圈应相应稍缩小。

(3) 光线过强调整

- |          |                      |
|----------|----------------------|
| 1、降低集光器, | 三者中任调一项或二项,达到最佳效果为准。 |
| 2、缩小光圈,  |                      |
| 3、增加滤色片, |                      |

(4) 弱光时使用凹面反射镜,强光时使用平面反射镜,但显微摄影时忌用凹面镜。

#### (五) 使用注意事项

在使用中要四忌

一忌灰尘污染,化学试剂腐蚀 房间要清洁明亮,干燥无腐蚀性或挥发性试剂侵扰;台桌地板要清洁干净,用前用后要除去镜上各部灰尘,镜头不得用手触摸,更不得沾染试剂、灰尘,要用绸布和擦镜纸清洁。用后须用防尘罩罩住。

二忌剧烈受振,放置桌面边缘 放、用、收都要轻拿轻放,长途搬动要包装可靠;取、移须一手托座一手提臂,放置在台桌上离外缘不得少于15cm。

三忌物镜下压,镜检顺序由低倍到高倍 镜检时,应先用低倍物镜由最低点一面观察一面上提聚焦,高倍时要特别注意切勿相反,损坏镜头和标本。

四忌用毕后物镜,集光镜相对,十字推进器伸出载物台外缘 即收放时物镜收成高倍镜在后,低倍镜在前的八字形,推进器前后左右的移动部分要移入载物台上,不使外露,以免造成镜头、机械部分的损伤。

## 二、各种温度控制箱类

各种培养箱，干燥箱乃至水浴锅，它们的类型、规格、型号很多，但箱体的结构大致相同，控温的原理大体就是几种，掌握它们的恒温原理，对使用、维护、识别都是非常必要和重要的。

(一) 结构 箱体由角钢和薄钢板制成，外表涂烤漆，工作室涂银浆，外壳与工作室之间填充玻璃纤维等绝热材料。门两层，分别开，内层玻璃门供观察使用，外层为保温门。箱顶设有放温度计的园孔和排气孔，排气孔可紧旋开闭用以排除浑浊气体或保温，箱正面有电源开关，鼓风干燥箱还装有鼓风开关。在箱的一侧装有自动控温装置。电热丝装于工作室底部，箱底中间有通气孔，冷热空气通过风道对流，保持工作室温度均匀，其结构如图(1-5)所示：

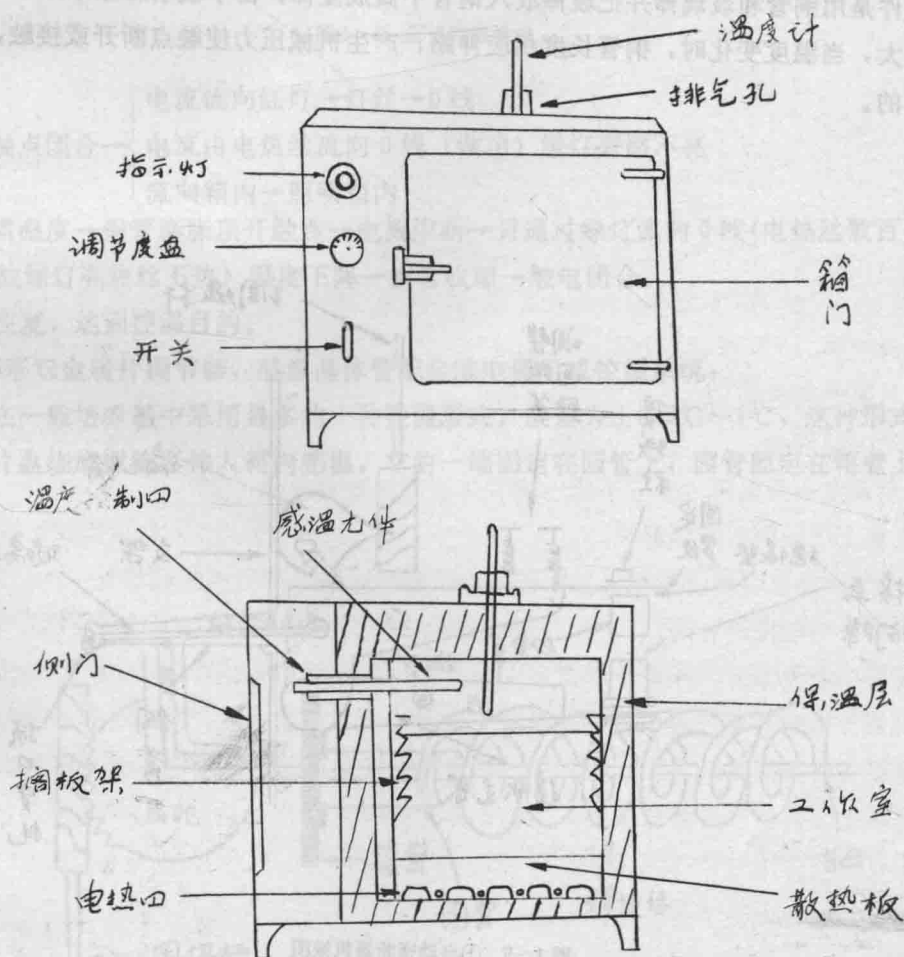


图 1-5 培养箱的结构组成

## (二) 自动控温装置及原理

1、双金属片直接控温 在箱底一壁装有二片金属片，金属片前端装有铂金触点，后端共同固定在箱壁内凸出的绝缘轴上，轴的前后端分别接电热丝和指示灯（两者互相绝缘），金属片近箱壁的一片微向外变呈弧形，由多片膨胀系数不同的金属片组成，片中部靠一个可由箱外螺旋式前后调整的绝缘点。通电时，转动旋组向前，使铂金触点接触，这时既接通电热丝加温，也接通指示灯亮；当温度升高时，金属片外层膨胀系数较内层小，由于内层膨胀把触点断开，升温停；当温度下降时，由于内层膨胀系数大，内层收缩又使触点接触，使电热丝接通而升温，如此往复达到恒温的目的。这种形式的培养箱，误差为 $\pm 3^{\circ}\text{C}$ 左右，近年来已不采用。

2、棒形控温装置及工作原理 这种控温形式，广泛应用于多种培养箱、烘箱、真空干燥箱、及恒温水浴锅、水箱等，误差为 $\pm 1^{\circ}\text{C}$ ，它的控制器如图（1-6）。在图（1-6）中，感温元件是用铜管和玻璃棒并把玻璃棒放入铜管中做成复棒，由于玻璃膨胀系数小，铜的膨胀系数大，当温度变化时，铜管长度相应伸缩，产生机械压力使触点断开或接触，达到控温的目的。

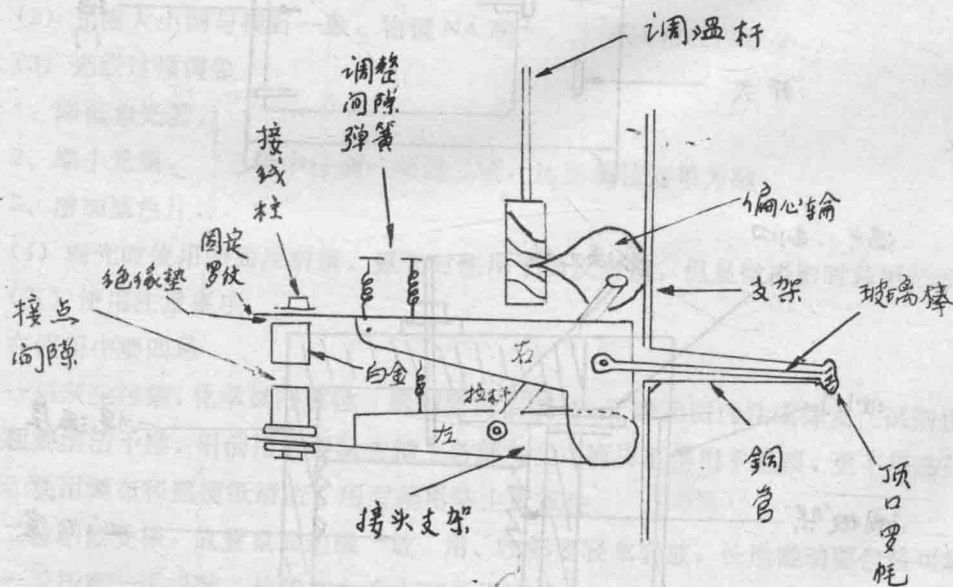


图 1-6 ① 自动通断器机械图

工作原理如下图所示：

在图中：