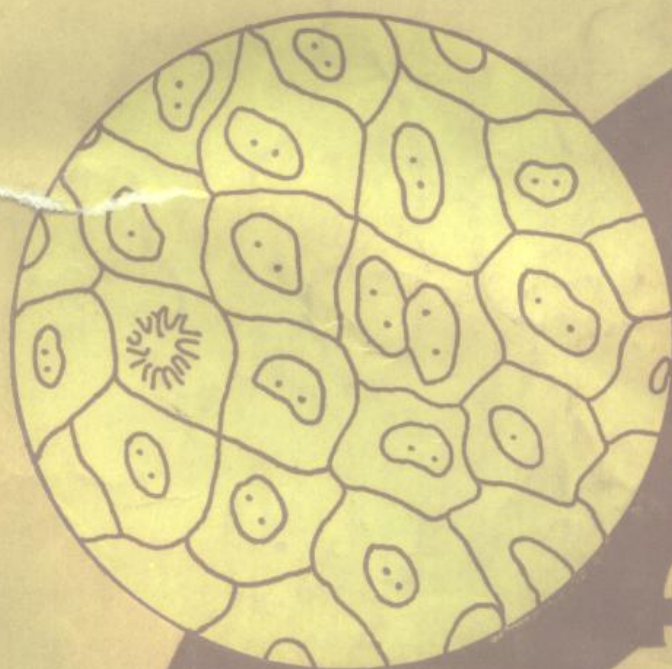


组织学实验指导

王 平 主编



北京出版社

R329-33/WP

组 织 学 实 验 指 导

王 平 主编

北 京 大 学 出 版 社

2150/36 07

编写说明

本教材的内容基本上是根据1980年教育部生物学教材大纲和教材编写规划会议上，拟定的“组织学实验大纲”，安排了十七个实验。后面附有“显微镜的构造和使用”和“显微制片技术简介”供同学学习参考。

教材的编写是根据过去在崔之兰教授指导下编写的教材，经过多次使用、补充和修改编著的，由王平主编，参加编写的有曹焯和陈茂生。

在出版本教材之际，我们谨对崔之兰教授志以深切的悼念。

北京大学生物学系
动物形态学教研室
组织学小组 1980年7月

组织学实验指导

北京大学出版社出版
(北京大学校内)

新华书店北京发行所发行

武汉地院北京研究生部印刷厂印刷

787×1092毫米 16开本 4.5印张 5万字

1981年1月第一版 1981年第一次印刷

印数：1—7000册

统一书号：13209—13

定价：0.50元

目 录

I、前言	1
II、组织学实验的注意事项	2
III、实验内容	7
一、细胞	7
二、上皮组织	9
三、血液	12
四、结缔组织	15
五、软骨和骨	17
六、肌肉组织	19
七、神经组织	21
八、神经系统	24
九、循环系统	27
十、淋巴器官	29
十一、皮肤	31
十二、消化系统	33
十三、呼吸系统	37
十四、泌尿系统	39
十五、生殖系统	41
十六、内分泌系统	44
十七、感觉器官	46
实验学时分配表	48
IV、显微制片技术简介	49
一、石蜡切片法	49
二、冰冻切片法	54
三、血液涂片染色法	56
四、细胞和组织中某些化学成分的定位方法简介	57
附：常用试剂和染料的配制方法	61
V、显微镜的构造和使用	65
一、显微镜的构造	65
二、显微镜的使用方法	68
三、显微镜的保护	69

I、前 言

一、组织学实验是组织学教学的一个重要组成部分

组织学是生物系动物专业、生理专业和细胞生物学专业的一门基础课，是在学习动物学大体解剖的基础上，进一步学习器官显微结构的一门课程。根据各专业的要求，本门课程的目的使同学在动物的形态结构方面，了解细胞如何构成组织，以及组织如何构成器官的规律。重点培养同学能掌握构成动物和人体的四种基本组织的特点及基本组织构成器官的一般规律。本课程基本技能的培养是通过实验课使同学能较熟练地使用光学显微镜分析和辨认器官的显微结构，并能了解几种常用的组织学和组织化学的制片方法。

二、组织学实验的内容和要求

实验课是贯彻理论联系实际，培养同学灵活运用基本理论和基本知识的重要环节。实验课内容密切配合课堂讲授，一般都是先讲课，再做实验。

要求同学在实验课前能复习课堂讲授的内容，预习实验指导，明确本次实验课的目的要求和主要内容，有准备地上好实验课。

实验课的主要内容是观察指定的制片标本。通过观察切片，一方面加深对基本知识和基本理论的理解，另一方面培养同学正确使用光学显微镜观察、分析和识别切片的能力。

观察制片标本时要注意联系器官的解剖结构与生理机能去理解显微结构。要充分运用比较法，对比各种组织和器官组织结构的异同，有助于识别各种组织、器官的特点和掌握鉴别它们的要点。

少量电子显微镜图片和组织化学制片的示范是为了加深课堂讲授的印象，以及对显微结构的深入认识和理解。

重要的和较复杂的器官系统如消化系统，在同学观察指定的切片后，可给以未知切片让同学分析辨认，用以培养同学分析与解决问题的能力。

本课程因学时较少，只能要求同学通过绘少量的图，学习组织学绘图的要领，用以记录观察的结果。

每个实验的思考题是根据目的要求提出的，为的是帮助和引导同学思考问题，培养综合与分析问题的能力。可用做实验小结时的参考题。

三、使用本教材时的几点说明

1. 教材中的17个实验是本课程的主体。安排上可根据具体情况选作或合并。

2. 选修组织学实验的同学，虽然在普通生物学或动物学课程中学习过有关细胞的内容，但一般说来，对光学显微镜下细胞的大小和形态结构印象不深。以示范方式安排一些与组织学有关的细胞学内容，对组织学的学习会起到一个承上启下的作用。

3. 显微镜是本课程学习的主要工具。在实验开始时，有必要根据情况，再加强一次正确使用显微镜的指导。

4. 组织切片是本课程观察的主要标本。将组织制片过程做一次示范, 对同学理解切片与整体, 经固定染色的制片与新鲜材料的关系都有帮助。

5. 实验用材料的选择, 限于我们的实践, 仅供参考。我们力求以成体哺乳动物(主要是实验动物)的材料为主, 辅以必要的人体材料。示范中稍稍涉及一些比较组织学的内容, 只是为了提醒同学, 不同动物的组织除了一般的共性, 还应注意它们的特殊性。

6. 基本组织实验结束后, 在系统小结的基础上, 可以选用四种基本组织具备、层次分明的哺乳动物小肠制片, 先让同学自己分析, 以巩固对四种基本组织的认识。最后通过教师总结, 引导同学了解四种基本组织如何构成一个器官的一般规律。

II、组织学实验的注意事项

一、实验课的任务是通过观察制片, 加深理解和巩固课堂讲授的基本知识和基本理论。同时要学习正确使用显微镜观察, 分析和识别不同的组织切片的能力。

二、每次实验课前必须结合课堂讲授进行预习, 明确每次实验的目的要求和主要内容。

三、观察切片要注意切面与整体的关系。

在显微镜下观察的切片, 只是一块组织或一个器官的一个平面或一个薄片的一小部分, 但我们要以它为代表, 从这个薄片或连续的许多薄片, 经过我们的观察与思考, 建立起三度空间的立体结构的概念来。为了此目的, 我们必须了解切片过程中由整体到切散成片, 再由切散的片合成整体的概念。观察一些切面与立体关系的模型与图解, 这样可以帮助我们建立整体的观念。

图解示: 不同方向与不同水平的切片的形状的差异(图1, 图2, 图3和图4)。

四、观察方法: 应该从整体构造到局部构造, 也就是先用低倍镜, 后用中倍镜, 再用高倍镜, 必要时用油镜。

五、实验课主要是用显微镜观察组织切片标本, 而切片标本只是组织的一个切面, 此切面又经过一系列人工处理制成的标本。因此, 首先应了解标本的基本制作过程, 有利于正确地分析与认识整体的显微结构。

六、实验课的主要工具显微镜是一种精密的光学仪器。应了解显微镜的基本原理, 才能正确使用减少误差, 得到较好的效果。

七、实验课上要完成绘图作业, 最后要根据思考题小结。

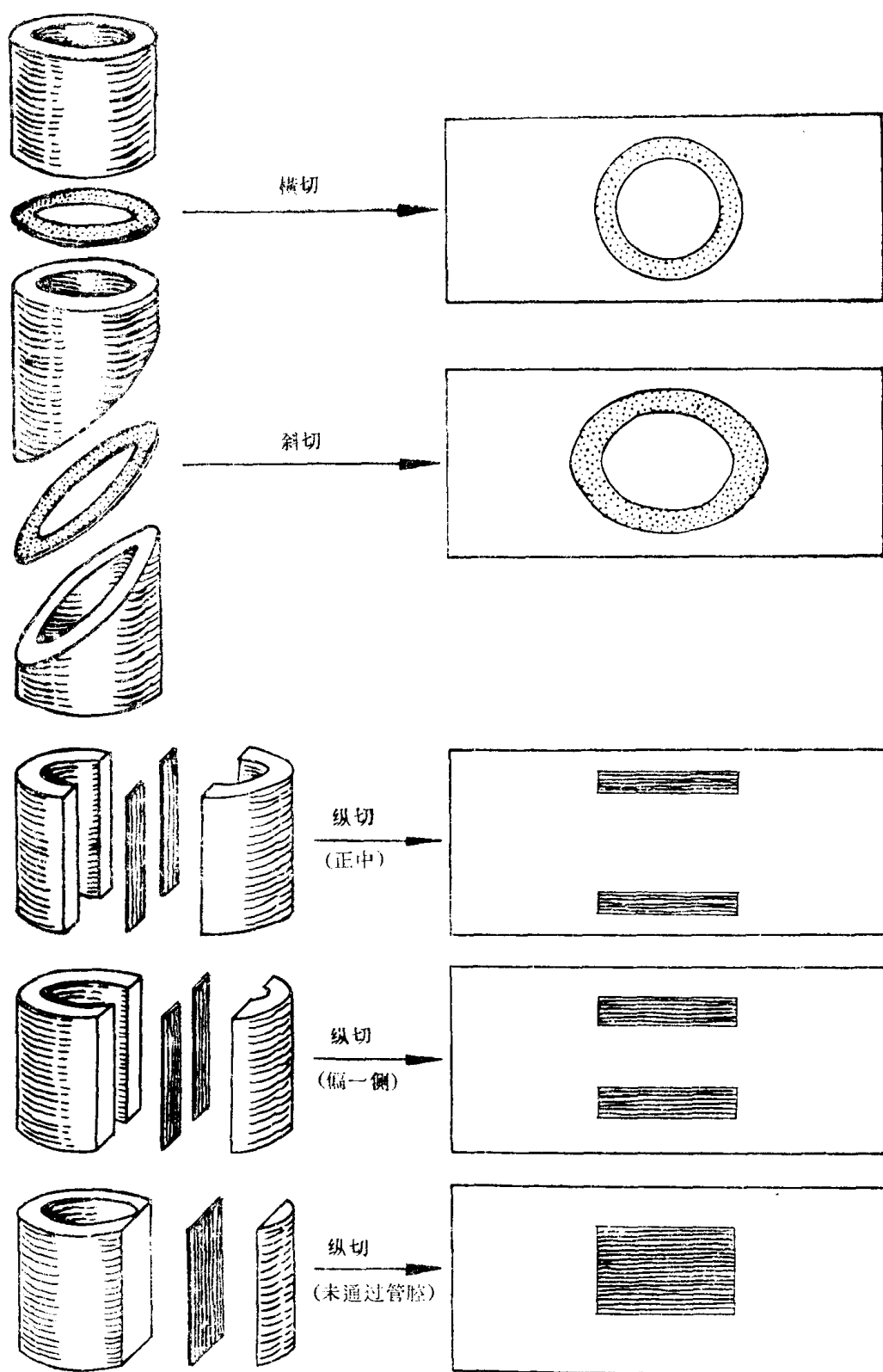


图 1 直管状标本的不同切面图解 (仿 Ham 2版)

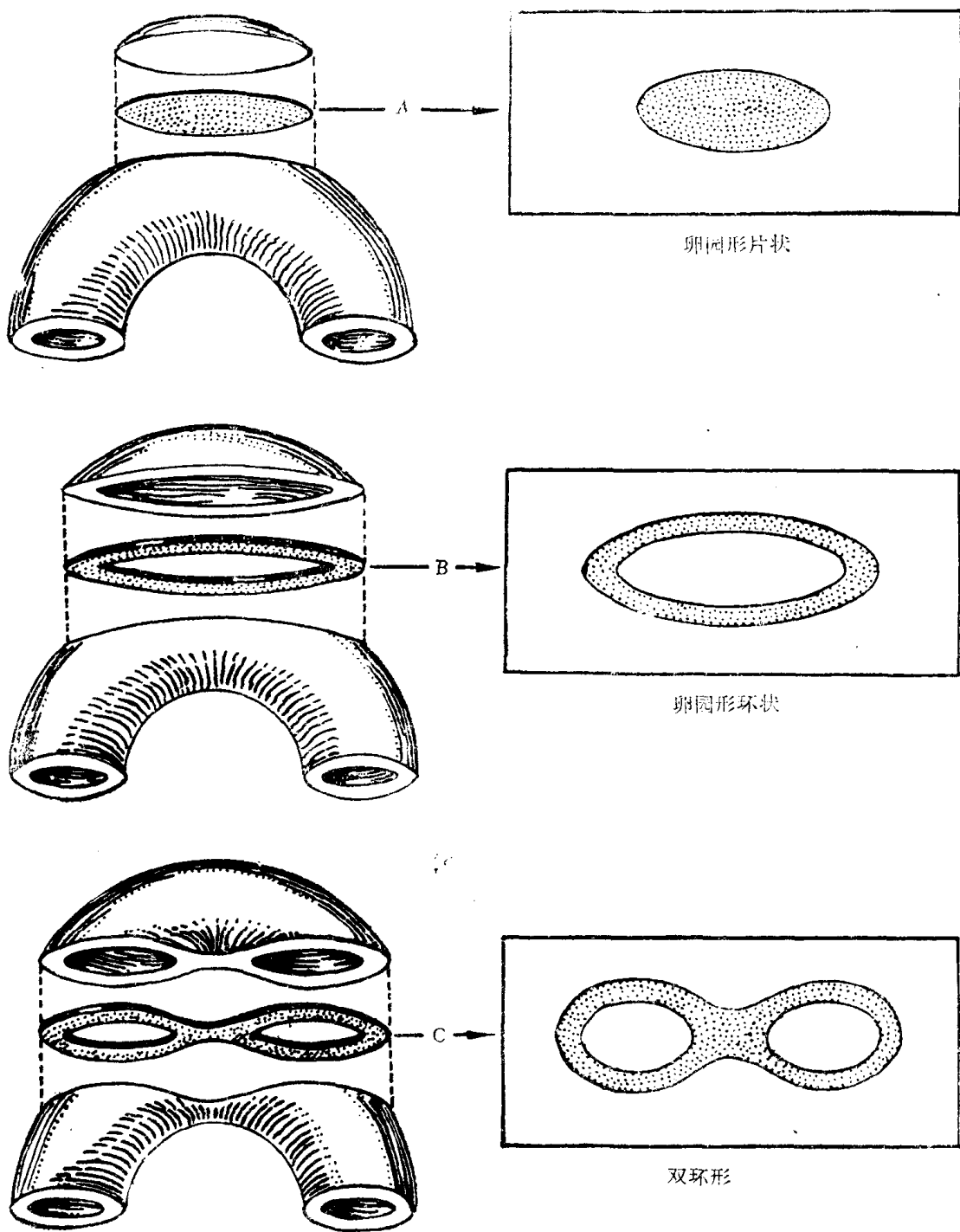


图 2 弯管不同水平的切面图解 (仿Ham 2版)

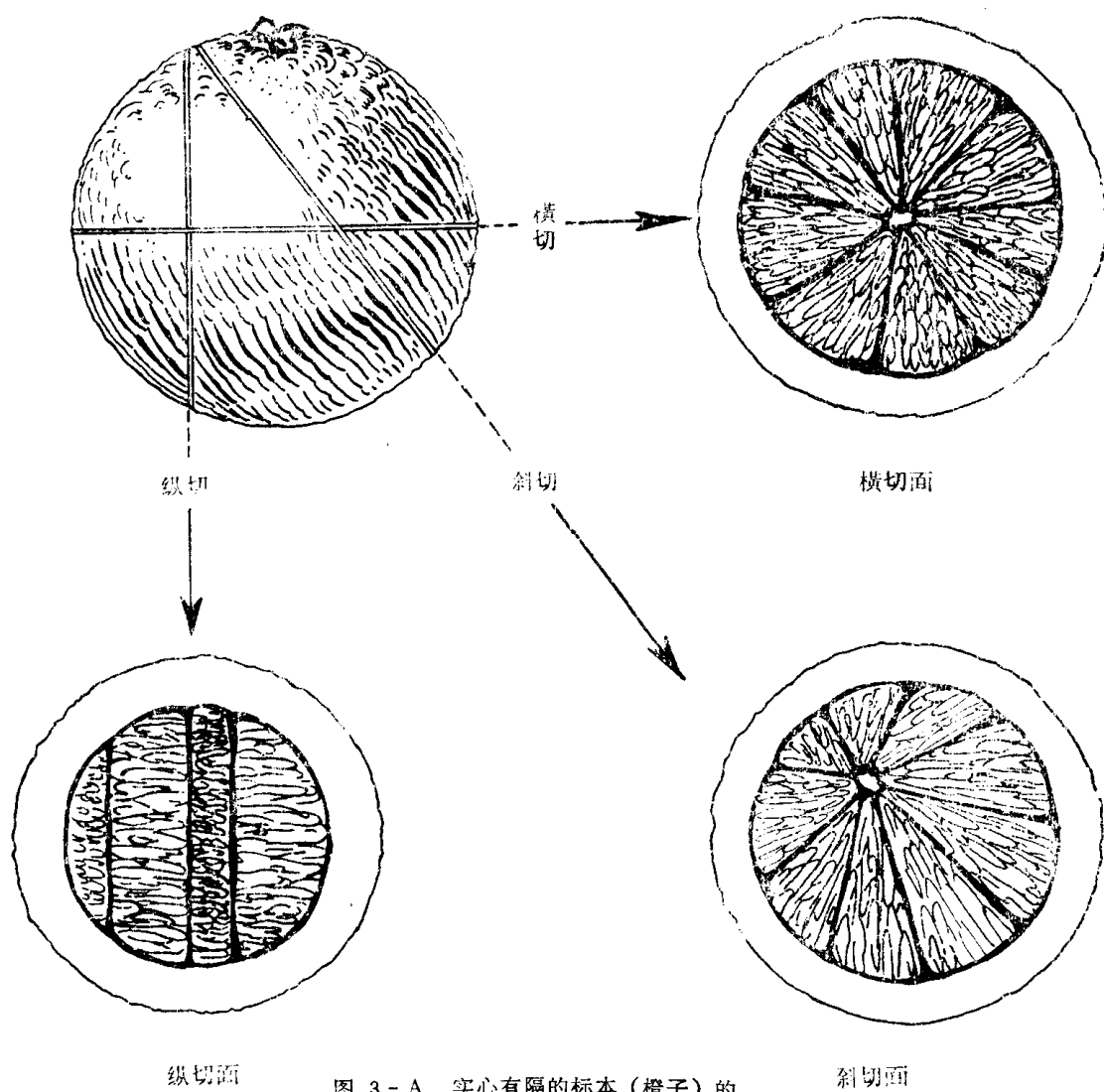


图 3-A 实心有隔的标本（橙子）的不同切面图解（仿Ham 7版）

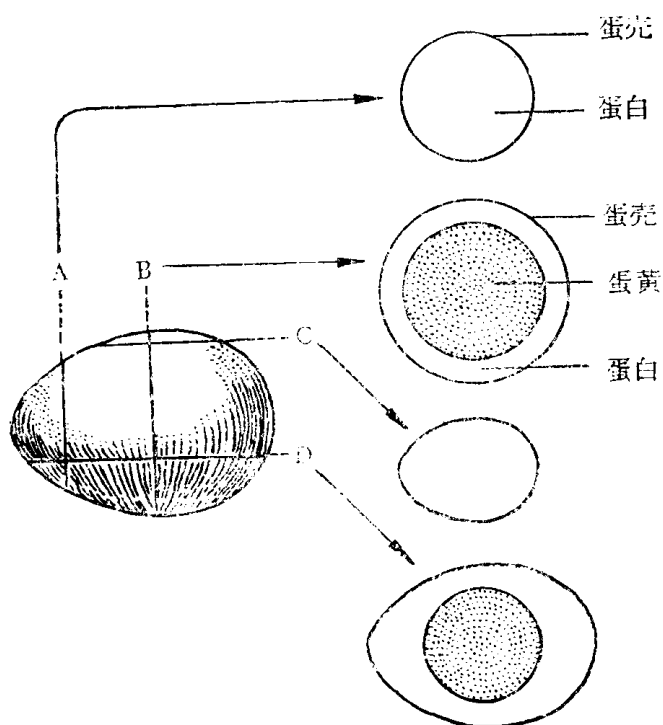


图 3-B 熟鸡蛋的不同切面图解（仿Ham 7版）

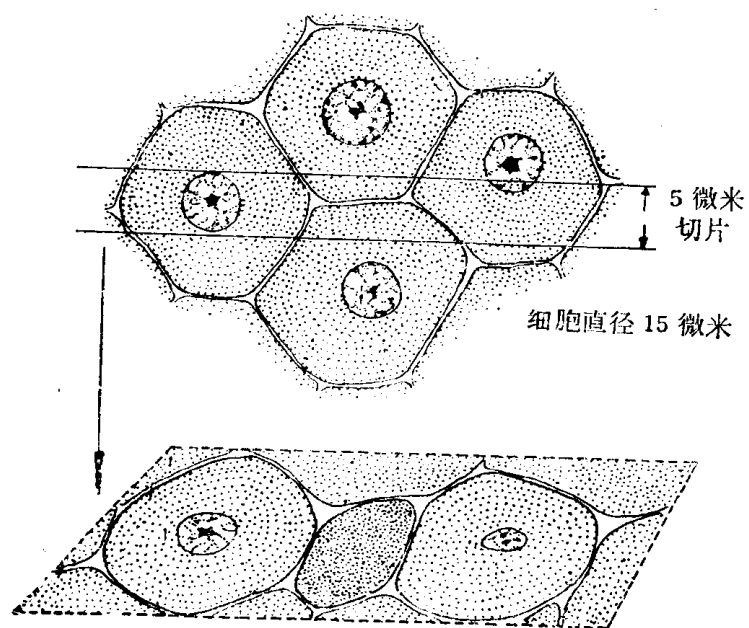


图 4 切片中示细胞的不同切面图解 (仿 Ham2 版)

III、实 验 内 容

一、细 胞

目的要求：通过观察示范及电镜图片要求了解：

1. 细胞在光镜和电镜下的基本结构。
2. 形成不同组织的细胞，由于功能不同，细胞形态的多样性。
3. 细胞的主要增殖方式——有丝分裂的过程。

主要内容：示范

- I、细胞的基本结构与形态的多样性。
- II、细胞器的显微结构与超微结构。
- III、细胞包含物。
- IV、细胞的有丝分裂。

实验内容：

I、细胞的基本结构与形态的多样性：

1. 卵细胞(ovum)——狗卵巢 H·E 染色。

重点观察大而圆的卵细胞。

细胞膜(cell membrane)：在卵细胞表面的一层很薄的细线状的膜。

细胞质(cytoplasm)：粉红色、均质。

细胞核(nucleus)：圆形（实际立体是球形），位于中央或稍偏位置，染成紫蓝色，内含1—2个染色深的核仁，胞核周围包着一层染色较深的核膜，是蓝紫色的核和粉红色胞质的分界。核内有纤细交织成网状的核网。在核网上有蓝紫色的团块，为染色质。网眼之间的空白处在生活状态下有核液，经过制片过程已看不到。

2. 精子(spermatozoon)——人精子涂片结晶紫染色。精子形状象蝌蚪。头部扁圆，大部为浓缩的细胞核占有，颈部与细长的鞭毛由细胞质构成，精子靠鞭毛而运动。

3. 神经细胞(nerve cell)——狗脊髓 H·E 染色。神经细胞包括胞体和突起两部分。

胞体：星形，细胞核大而圆，内含少量染色质，核膜清楚。核仁位于核的中央，大而染深蓝色。

突起：由胞体上直接延伸出来。

神经细胞有接受和传导神经冲动的机能。

4. 平滑肌细胞(smooth muscle cell)——兔肠肌层分离法 H·E 染色。呈长梭形，细胞膜很薄，核杆状位于细胞中部。有收缩能力。

5. 中性粒细胞(neutrophilic granulocyte)——人血涂片莱氏染色。呈圆球形，

核分叶（即核分几段，中间有细丝相连），细胞质中有均匀分布的粉红色细小颗粒（莱氏染色）。在血液中运行，并能由血管进入组织中，具吞噬消化细菌的能力。

注意：比较卵细胞与以上细胞在结构上的共同点。联系机能比较卵细胞与精子细胞的形态差异，以及神经细胞、平滑肌细胞、白细胞的形态差异。

II、细胞器的显微结构与超微结构：重点观察以下几种细胞器：

1. 线粒体 (mitochondrion) —— 蛙肾、铁矾苏木精染色。

肾小管细胞为方形，注意在胞核周围的线粒体染成黑色粒状或杆状。

电子显微镜下：线粒体为圆柱状，外面包以双层膜，内层膜向内折叠成嵴。

2. 高尔基器 (Golgi apparatus) —— 狗脊神经节、镀银法。

在大的脊神经节细胞核的周围细胞质中，可见黑色网状物即高尔基器。

电子显微镜下：高尔基器是由扁平囊群、大泡和小泡三个部分构成的。

3. 中心体与中心粒 (centrosome and centriole) —— 马蛔虫卵巢、铁矾苏木精染色。

在卵细胞分裂前期，细胞核的附近，可见 2 个小球状的中心粒，由它们构成中心体。

电子显微镜下：中心粒呈圆筒状，圆筒壁由 9 组微管围成，每组微管又由三个微管构成。二个中心粒的圆筒长轴互相垂直。

4. 核外染色质 —— 兔脊髓、苯胺蓝染色。

注意：多极神经元胞质中有深蓝色的块状物质，即核外染色质又称尼氏体。

电子显微镜下：核外染色质即粗面内质网 (RER—rough surfaced endoplasmic reticulum)，是由互相通连的扁平囊泡与附在表面的核蛋白体 (ribosome) 构成。

III、细胞包含物：

1. 脂滴 (lipid droplet) —— 兔肝、冰冻切片、苏丹Ⅲ苏木精染色。

可见多边形肝细胞质中充满大量被染成桔红色的，大小不同的脂肪滴，圆形的位于细胞中央的胞核被染成蓝紫色。

2. 糖元 (glycogen) —— 鼠肝、冰冻切片、PAS 反应。

肝细胞质中含有的紫红色团块即糖元。

3. 色素 (pigment) —— 鱼鳞片、整装片。

色素颗粒散布在鳞片细胞质中。

IV、细胞有丝分裂 (mitosis) —— 金鱼卵铁矾苏木精染色。

细胞在分裂之前的间期 (interphase)，核呈网状构造。

前期 (prophase)：核膜及核仁消失，染色质变粗大形成染色体。

中期 (metaphase)：染色体分布在纺锤体的赤道上，在纵切面上排列成赤道板。

细胞的两极各有中心粒，并由它发射出星丝。在两个细胞之间有纺锤丝形成的纺锤体。

后期 (anaphase)：染色体向细胞两端移动，后期的晚期，并在细胞中部出现缢痕。

末期 (telophase)：染色体失去整齐的轮廓，以至逐渐消失，形成具有染色质块和核仁的新细胞核。细胞质同时分为两部分。

思考题：

1. 通过观察切片与图片，说明细胞有哪些基本结构。
2. 举例说明细胞的形态与机能的相关性。
3. 细胞的有丝分裂分几期？各期的形态特点如何？

二、上 皮 组 织

目的要求:

1. 通过观察各种类型的上皮组织的结构, 掌握上皮组织的共同特点。
2. 了解各种类型上皮组织的结构与机能的关系。
3. 了解上皮组织细胞之间的联系。

主要内容:

I、上皮组织的类型:

1. 单层上皮组织 (simple epithelium)。

(1) 单层扁平上皮 (simple squamous epithelium) 表面观(示范)。

(2) 单层扁平上皮侧面观(示范)。

(3) 单层立方上皮 (simple cuboidal epithelium)。

(4) 单层柱状上皮 (simple columnar epithelium)。

(5) 假复层纤毛柱状上皮 (pseudostratified columnar ciliated epithelium) (示范)。

2. 复层上皮组织 (stratified epithelium)。

(1) 复层扁平上皮 (stratified squamous epithelium)。

(2) 变移上皮 (transitional epithelium) ——收缩状态。

(3) 变移上皮 ——膨胀状态(示范)。

II、特化的上皮组织——腺上皮 (glandular epithelium) (示范):

1. 单细胞腺体。

2. 多细胞腺体: 单泡状腺、单管状腺。

III、细胞间联系:

1. 细胞间桥 (intercellular bridge) (示范)。

2. 终棒 (terminal bar) (示范)。

实验内容:

I、上皮组织的类型:

1. 单层上皮组织:

(1) 单层扁平上皮表面观(示范) ——蛙肠系膜整装片, 镀银法。

细胞多边形, 彼此紧密相接, 细胞之间有黑棕色或黑色的波形线, 这是被银镀染的细胞间质, 细胞中可见染淡黄色的椭圆形核。

(2) 单层扁平上皮侧面观(示范) ——结缔组织中的小血管H·E染色。

注意: 细胞呈梭形。

结合表面观进一步了解单层扁平上皮的全貌。

(3) 单层立方上皮——兔甲状腺H·E染色。

用低倍镜观察，可以看到许多含胶体的滤泡。换高倍镜观察滤泡壁，多数都由单层立方上皮构成。注意立方细胞高度与宽度相等、呈立方形、核圆形、位于中央。

(4) 单层柱状上皮——蛙小肠H·E染色。

小肠的内表面是由整齐排列的高棱柱状细胞组成。胞核呈椭圆形，靠近细胞的基部。各细胞的核同样也排列在同一水平（由于切面关系常常可看到胞核有重迭现象）。细胞的游离面具有染色深的纹状缘（striated border）。

(5) 假复层纤毛柱状上皮（示范）——猫或狗气管H·E染色。

高倍镜观察气管的内表面

注意：

A. 细胞核2—4层，似复层。但细胞都和基膜相连，实为单层。

B. 底细胞、梭形细胞及具有纤毛的柱状细胞排列位置如何？

2. 复层上皮组织：

(1) 复层扁平上皮——蛙皮肤H·E染色。

蛙皮肤由紧密相连的5—7层细胞组成，表面一层染色浅，是扁平的角化细胞，在它的下面有3—5层的多角形细胞，核呈圆形或椭圆形，最后一层是柱状细胞与基膜紧密相连。

(2) 变移上皮——收缩状态。猴膀胱H·E染色。

用中倍镜观察收缩状态的膀胱上皮，有4—5层的密集细胞。换高倍镜观察，表层细胞体积较大、呈宽立方形、常有1—2核、核大卵圆形、并且细胞质浓缩、染色较红，细胞下面内凹和下方的细胞相嵌，中间几层为多角形细胞，基部为低柱状细胞。

(3) 变移上皮——膨胀状态（示范）鼠膀胱H·E染色。

随着机能状态的改变膀胱上皮的细胞也有所变化。在高倍镜下观察：

注意：

A. 细胞层次；

B. 细胞形状。

与收缩的膀胱上皮有何不同？进而了解变移上皮与机能的关系。

II、特化的上皮组织——腺上皮（示范）：

1. 单细胞腺体（杯状细胞）——小肠马氏三色（Mallory 法）染色。

在高倍镜下观察小肠内表面的上皮。在柱形上皮细胞之间夹杂有一些细胞，顶部宽大充满淡蓝色的粘液，下部狭细，细胞核位细胞基部。

2. 多细胞腺体：

单泡状腺——蛙皮肤腺H·E染色。

高倍镜观察蛙皮肤的纵切面，在皮肤上的皮层下可见单泡状腺，腺体分泌部呈泡状，由单层上皮细胞围成，以直管开口于表皮。

单管状腺——猫肠腺H·E染色。

中倍镜观察小肠的横切面，内表面的单层柱状上皮凹陷形成的肠腺即单管状腺。

注意：

(1) 腺体与被复上皮细胞的位置关系。

(2) 腺体在结构上又反映了哪些上皮组织特点？

III、细胞间联系（示范）：

1. 细胞间桥：猫脚掌皮H·E染色。

在复层扁平上皮的棘细胞层，可见细胞相互伸出许多细丝状的突起相连接，称“细胞间桥”。

参看电镜图片与图解，观察“细胞间桥”的超微结构，棘层细胞有大量细长突起伸向相邻的细胞，通过桥粒与相邻细胞的突起相连接。注意观察桥粒的下列组成部分。

- (1) 细胞间质增厚有电子致密板。
- (2) 相邻细胞膜内的电子致密板。
- (3) 相邻细胞内张力原纤维的分布。

2. 终棒：小白鼠小肠铁矾苏木精染色。

在肠上皮细胞之间的表面部分，可见成染黑色的小点，此即终棒断面，电镜下终棒由三种连接组成，表面是紧密连接，中间是中间连接，下部是桥粒连接。

参看电镜图片图解，观察以下两种联系：

- (1) 紧密连接：相邻细胞膜外层局部融合。
- (2) 中间连接：相邻细胞膜间有间隙。

思考题：

1. 上皮组织分布很广，机能也多样，但具有哪些共同特点。
2. 举二例说明上皮组织的形态与机能之间的密切关系。
3. 比较腺上皮与被复上皮的异同。

绘图：部分单层立方上皮与单层柱状上皮。

三、血 液

目的要求:

1. 以人的血液为例, 认识一般哺乳动物血液的基本有形成分。
2. 通过鸡、大鼠、兔血的观察, 了解不同动物的血液有形成分在形态上的差异。
3. 了解血涂片的制备方法。
4. 了解哺乳类成体骨髓的结构及红细胞、粒细胞形成的动向。

主要内容:

- I、制备血涂片。
- II、人血涂片的观察及白细胞分类计数。
- III、几种动物血液有形成分的特点(示范)。
- IV、血球发生的动向(示范)。

实验内容:

I、制备血涂片: 方法见 57 页。

II、人血涂片的观察与白细胞分类计数。(莱氏染色)

先用高倍镜再用油镜观察, 辨识血液中的三种有形成分——红细胞、白细胞及血小板。

1. 红细胞 (erythrocyte): 小而圆、染粉红色的无核细胞即红细胞, 是标本上最多的细胞成分。细胞边缘常较中心染色深, 何故? 注意其形状、染色特点及大小。

2. 白细胞 (leukocyte): 慢慢移动标本, 观察各种白细胞。白细胞虽然数目少, 寻找较困难, 但胞体大、细胞核明显, 极易与红细胞区别开来。

先观察各种白细胞示例, 再自己用油镜进行观察下列的细胞。

(1) 粒细胞 (granulocyte) —— 细胞质中有特殊染色颗粒, 根据颗粒对染料选择性的不同可分为:

中性粒细胞: 是白细胞中数量最多的, 体稍大于红细胞, 细胞质染粉红色。注意胞质中充满细小的被酸性染料伊红和碱性染料甲烯蓝混染的蓝紫色的细小颗粒, 核紫色, 形状变化很大, 常分叶, 二叶到五叶之间。还有一种核呈杆状, 是中性粒细胞的幼稚型。

嗜酸粒细胞 (acidophilic granulocyte) 数量少, 只占白细胞总数的 2—4%。较中性大, 注意细胞质中充满被伊红染成鲜红的大小一致的粗大圆形颗粒。细胞核淡紫色, 分成 1—3 叶, 一般为两叶。

嗜碱粒细胞 (basophilic granulocyte) 数量极少。只占白细胞总数的 1% 以下, 不易找到。注意细胞质淡紫色, 颗粒大小不一, 染成紫色或深蓝色, 分布不匀。细胞核形状不定, 圆形或分叶, 染色浅, 一般都被颗粒遮盖住, 形象不清。

(2) 淋巴细胞 (lymphocyte) 与单核细胞 (monocyte) —— 是无颗粒的白细胞, 正常血液中一般看不到大淋巴细胞。主要是小淋巴细胞和一定数量的中淋巴细胞。

小淋巴细胞一般稍大于红细胞。注意：核很大，细胞质极少只有一薄层，核的一侧有缺痕（一般不易见到此面）核染深蓝紫色。胞质染成淡蓝紫色。

中淋巴细胞约二倍于红细胞大小。核圆形或卵圆形，位于细胞中部也染成深蓝紫色。细胞质较小淋巴细胞稍多。

单核细胞一般比中淋巴细胞大，但形态与大淋巴细胞有些相似，注意单核细胞以下特点：

- ① 核约占细胞的一半，呈卵圆形或马蹄形，常在细胞的一侧。
- ② 核染色淡。
- ③ 胞质不透明，呈淡灰蓝色。

血小板（blood platelet）：形状不规则的染淡兰色的原生质小体，内有紫色颗粒聚集，经常成堆分布于红细胞之间。高倍镜下一般只能看到成堆的紫色颗粒，油镜才能看到颗粒周围的淡蓝色原生质部分。

巩固识别白细胞的分类，用自做血涂片进行白细胞的分类计数，按以下表格作记录，观察 100 个白细胞。

细 胞 种 类		计 数	总 数
中性粒细胞	杆 状 核		
	分 叶 核		
嗜 酸 粒 细 胞			
嗜 碱 粒 细 胞			
淋 巴 细 胞			
单 核 细 胞			

Ⅲ、几种动物血液有形成分的特点（示范）。

1. 兔、大鼠血涂片莱氏染色。

注意：粒细胞与人的不同。

兔：中性粒细胞的细胞质颗粒被伊红染。

大鼠：嗜酸粒细胞的核呈环状。

2. 鸡血涂片莱氏染色。

(1) 红细胞椭圆形，有核。

(2) 凝血细胞（thrombocyte）代替血小板，细胞椭圆形，有核，细胞质透明，染淡蓝色。

(3) 中性粒细胞的颗粒梭形，并嗜酸性，染色较红，所以又称假嗜酸粒细胞。

3. 蛙血涂片莱氏染色。

红细胞、凝血细胞（梭形），形态结构均与鸡血相同。

Ⅳ、血球发生的动向（示范）。

家兔红骨髓H·E-天青Ⅱ染色：

红骨髓中首先可看到大而圆，但大小不一致的空泡，有时可见染深蓝色，扁平窄小的细