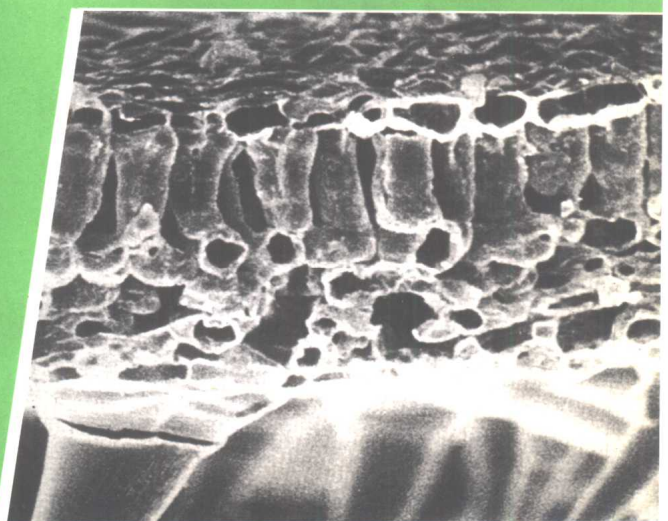
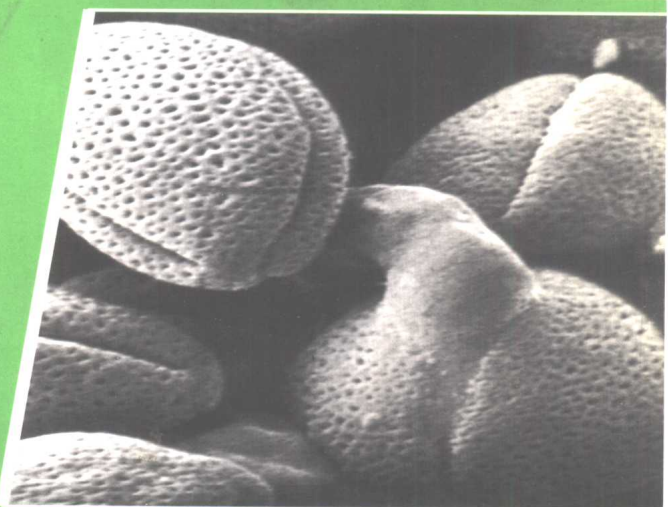
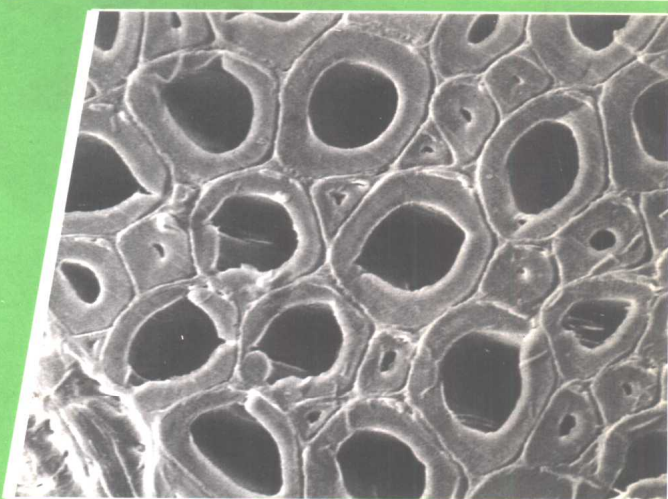
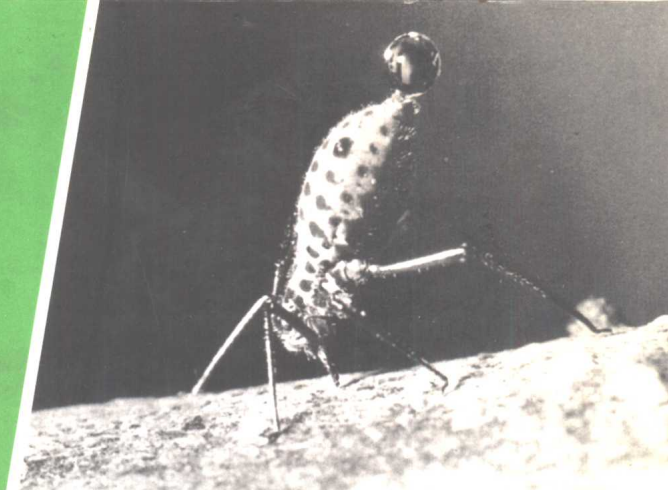


基础生物学技术教程



基础生物学 技术教程

陈建秀 黄 诚 主编



33
X

南京大学出版社

玉大图书馆

基础生物学技术教程

陈建秀 黄 诚 主编

南京大学出版社

1997·南京

内 容 提 要

本书分六篇：第一篇介绍显微镜、解剖镜、测微尺和血球计数板的构造与使用，生物绘图和显微摄影，及近年来发展迅速的图像分析技术；第二篇含各种生物制片技术；第三篇介绍日益受到重视的标准化实验动物的获得、处理、麻醉、固定、基本外科操作，以及动物解剖等技术；第四篇介绍动植物标本的采集与保存；第五篇含检索表的制作与使用、常见动植物类群的识别与鉴定技术；第六篇为课外实践篇，指导学生兴趣小组掌握食用菌栽培、微藻培养、组织细胞培养及常用免疫学诊断技术。

主 编 陈建秀 黄 诚
副主编 孟文新 黄晓笛
编 委 (以姓氏笔划为序)
马以桐 陈建秀 李朋富
孟文新 林 蓉 张立新
黄 诚 黄晓笛 薛春燕
学术顾问 金济民
责任编辑 荣翠琴

基 础 生 物 学 技 术 教 程

陈建秀 黄 诚 主编

南京大学出版社出版

(南京大学校内 邮政编码 210093)

江苏省新华书店发行 南京化工学院印刷厂印刷

开本 787×1092 1/16 印张 13.75 字数 333 千

1997 年 10 月第 1 版 1997 年 10 月第 1 次印刷

印数 1—3000

ISBN7-305-03114-3/Q·23

定价:17.00 元

(南大版图书若有印、装错误可向承印厂退换)

前 言

基础生物学技术是一门内容广泛、技术操作性强的综合性课程。它既属于普通生物学的一个重要组成部分,又是动物学、植物学、资源生物学、生态学、细胞学、发育学、生物化学、生物制药学、医学等学科必备的基础训练。

该课程作为南京大学重点改革课程,于1987年正式开设。10年来,随着生命科学的发展,该课程更新了不少内容。例如,为适应现代生物学、生物化学、生物制药、医学科学研究人才培养之需要,对原“动物解剖”部分作了相应重大改动,扩编为“实验动物操作”篇,新增了实验动物的获得、处理、麻醉、基本外科操作及安死术等方面的内容。为加强本教程的实用性,将原讲义中单纯的“显微镜使用与保养”一章扩增为“显微操作”篇,补充了显微图像定量分析技术部分。为使本教材适应整个生命科学和医学等方面的教学需要,在广泛听取和征求多方面专家意见和建议的基础上作了改进。本教材的特色在于不仅具有较强的科学性和系统性,又突出对学生多方面的实验技能训练,并注重学生独立分析问题、解决问题之综合能力的培养。同时,本教程中还增补了“课外实践”篇,包括许多实用性与应用性技术的内容,如:食用菌栽培、微藻培养、细胞与组织培养及常用临床免疫学诊断技术等。开展这些课外实践活动,既能使学生加深对前面各章节内容的理解与掌握,又可拓宽学生的知识面,强化实验操作技能的训练,力求使学生面向科研、生产实践,适应社会的多层次需要。

本课程技术性强、难度大、费时多,且许多内容特别适应以电化教学方法形象地表现。我们已为“动植物标本的采集与处理”篇制作了全套教学录像(曾在中央电视台播出)。为提高教学质量,扩大教学规模,使教学过程生动、准确、规范化,根据教学、教材改革的精神,我们计划制作与该教程全面配套的视听教材和多媒体光盘。这将是一套全面系统的视听多媒体立体化教材,含电视片1240分钟、幻灯片3000张。将由南京大学教育技术中心黄晓笛任总编导,在近年内全部陆续制作完成。

本书可供综合性大学生命科学院、师范院校生物系和农、林、医、牧、水产等专业开设“生物学技术”课程作为教材使用,也可作为大、中学生课外科技实践活动的指导材料。

本教程的编写和出版,得到南京大学教务处、南京大学出版社和南京大学生物科学与技术系各级领导的极大关心和支持。金济民先生作为本书的学术顾问热情地给予了多方面的指导和帮助。一些在教学第一线工作的同志以及江苏省动物学会教学专业委员会、实验动物专业委员会的专家都对本教程提供了许多宝贵的意见和有益的建议。免疫学与细胞培养技术部分得到南京军区总医院免疫科黄宇烽主任的悉心指导与审阅。在此我们表示深切的谢意。此外,本教材还参考了一些书刊的有关内容及插图,亦在此表示诚挚的谢意。

本书的编写由主编和副主编进行整体策划、构思,经编委多次集体讨论,根据各自专长分工编写,再互审互改,不断增删修改,并由主编统稿、再次修改。第一篇由林蓉;第二篇由黄诚;第三篇由黄诚、孟文新;第四、五篇由陈建秀、张立新、李朋富;第六篇由

林蓉、李朋富、薛春燕编写；全书插图由马以桐绘制。可以说，每个篇章的内容都含着多位编委的教学经验和心血，因此本教材是集体智慧的结晶。

书中不足和错误之处在所难免，祈盼同行不吝赐教。

编 者

1996年12月于南京大学

目 次

第一篇 显微操作	1
第一章 显微镜和解剖镜的构造与使用.....	1
第二章 显微测微尺与血球计数板的使用.....	6
第三章 生物科学绘图.....	9
第四章 显微摄影	15
第五章 图像分析仪的使用	17
参考文献	21
第二篇 生物制片	22
第一章 非切片制作.....	22
第一节 涂压制片与磨片制作	22
第二节 整体装片	24
第三节 分离法装片.....	29
第二章 切片制作	29
第一节 徒手切片(植物组织)	29
第二节 石蜡切片(动物组织)	31
参考文献	34
第三篇 实验动物的操作方法	35
第一章 实验动物的获得与处理	35
第一节 实验动物的选择	35
第二节 标准化实验动物的获得与处理	36
第三节 非标准化实验动物的获得与处理	37
第二章 实验动物的麻醉与机械保定	38
第一节 实验动物的麻醉	38
第二节 实验动物的机械保定	49
第三章 实验动物基本外科操作	50
第一节 手术器械及其用途	50
第二节 外科基本操作	53
第三节 采血	55
第四节 存活性动物外科操作	56
第五节 实验动物安死术	58
第四章 实验动物解剖	62
第一节 环毛蚓解剖及横切面观察	62

第二节	克氏原螯虾的解剖与观察	64
第三节	鱼类解剖与观察	67
第四节	两栖动物(蛙或蟾蜍)的解剖与观察	68
第五节	实验用哺乳类(兔或鼠)的解剖与观察	72
参考文献		75
第四篇	动植物标本的采集与保存	76
第一章	动物标本的采集与保存	76
第一节	无脊椎动物的采集工具	76
第二节	无脊椎动物的采集与保存	89
第三节	鱼类标本的采集与保存	98
第四节	两栖类标本的采集与保存	101
第五节	爬行类标本的采集与保存	106
第二章	植物标本的采集与保存	113
第一节	孢子植物标本的采集与保存	113
第二节	种子植物标本的采集与保存	119
参考文献		121
第五篇	常见动植物的识别与鉴定	122
第一章	生物分类学的基本知识	122
第二章	检索表的制作与使用	125
第三章	常见动物(昆虫)的识别与鉴定	131
第四章	常见植物的识别与鉴定	151
第一节	常见孢子植物的识别与鉴定	151
第二节	常见种子植物的识别与鉴定	156
参考文献		165
第六篇	课外实践	168
第一章	食用菌栽培	168
第一节	常用技术及栽培种的制作	168
第二节	栽培方法	172
第二章	微藻培养	185
第一节	微藻的重要意义和经济价值	186
第二节	几种有经济价值的微藻	188
第三节	藻种的分离和保存	188
第四节	培养设备及方式	190
第五节	培养液的制备	190
第六节	培养过程中的管理	194
第七节	微藻的采收	195
第八节	螺旋藻工厂化生产及系列产品开发	195
第三章	组织、细胞培养	196

第一节	组织、细胞培养实验准备·····	197
第二节	培养方法及操作·····	198
第三节	污染检测及处理·····	201
第四节	细胞株的保存与复苏·····	202
第四章	常用免疫学诊断方法 ·····	203
第一节	抗原抗体凝集反应·····	203
第二节	沉淀反应·····	205
第三节	对流免疫电泳·····	207
第四节	酶免疫测定技术·····	208
第五节	酶标免疫组化·····	210
第六节	补体测定·····	211
参考文献	·····	212

第一篇 显微操作

生物显微操作技术是指在显微镜下对生命有机体的微观世界进行定性观察(辨别颜色、形状、质地)、定量描述(测量、计数、绘图)以及细微结构的解剖等技术的总称。本篇内容由基本的显微镜使用开始,逐步深入地展开对显微操作技术的介绍。测微尺、血球计数板、显微绘图及显微摄影等基本操作技术的介绍使学生能顺次掌握基本操作,为以后深入地学习奠定良好基础。本篇还介绍了近年来逐渐兴盛起来的图像分析技术,把以前只能定性观察的特征上升到可进行定量描述的水平,更加贴近现代生物学技术的发展步伐。生物学是理论与实验并重的科学,研究生命科学必须具有良好的实验素质和熟练的基本实验技能。本篇力求加强对学生的基本实验技能训练,具有很强的指导性、实用性,同时兼顾生物新技术的介绍。

第一章 显微镜和解剖镜的构造与使用

一、显微镜的构造与使用

显微镜是精密的光学仪器,在生物学研究中经常使用,其类型很多,但基本原理和结构则大同小异,由机械部分和光学部分组成。

(一) 显微镜的构造

1. 显微镜的光学系统 显微镜的好坏主要取决于光学系统,它由以下部件构成。

(1) 目镜

① 目镜的用途

- A. 放大物镜映来的已放大的倒立实像;
- B. 校正物镜余留下来的像差;
- C. 将物像投射到一定的位置上,便于显微放映或照相。

② 目镜的组成 一般由两块或两块以上的平凸透镜组合而成。上面与眼接触的叫接目透镜,下面的叫视野透镜。两者之间或视野透镜下面装有一个金属圆环,叫光栏。在光栏上可安装目镜测微尺,有时可将毛发粘在光栏上做成指针。

③ 目镜的放大倍数 每台显微镜都装有不同放大倍数的目镜,常以 $5\times$ 、 $10\times$ 、 $15\times$ 等字样标明,目镜的放大倍数(M)可用下式计算:

$$M = \frac{250 \text{ mm(明视距离)}}{f \text{ mm(目镜焦距)}}$$

其中,明视距离指从眼球晶状体到目镜所放大的虚像之间的距离,一般为 250 毫米。

显微镜的分辨力和镜像亮度有关系,而镜像亮度又与目镜放大倍数相关,即目镜放大倍

数越高,镜像亮度越低。所以,要达到相同的放大倍数如 200 倍,可采用 10×的目镜与 20×的物镜配合,也可采用 20×的目镜与 10×的物镜配合,但为提高分辨力最好选择前者。

选择最适和最高的目镜放大倍数与一定的物镜配合,可用下式计算确定:

$$M = \frac{1000 \times N \cdot A (\text{物镜的数值孔径})}{W (\text{物镜的放大倍数})}$$

如:使用 100×的物镜($N \cdot A = 1.25$)时,配用的最高和最适目镜放大倍数就是

$$M = \frac{1000 \times 1.25}{100} = 12.5 \times$$

(2) 物镜

① 物镜的作用

- A. 放大微小的物体或微细的结构,形成倒立实像;
- B. 把像投射到目镜光栏处。

② 物镜的放大倍数 物镜镜头均标明了放大倍数,如:5×至 20×为低倍镜,40×至 80×为高倍镜,90×至 100×为油镜。

物镜放大倍数(W)可用下式计算:

$$W = \frac{160 \text{ mm} (\text{光学筒长})}{f \text{ mm} (\text{物镜焦距})}$$

光学筒长指物镜上、下焦点平面之间的距离,一般为 100 毫米,也有 170 毫米长的。

显微镜的总放大倍数等于物镜放大倍数乘以目镜放大倍数。

③ 物镜的数值孔径 又称镜口率,常用 $N \cdot A$ 或 A 来表示。数值孔径越大,吸光量越多,分辨力越高。可用下式计算:

$$N \cdot A = n \cdot \sin \frac{\alpha}{2}$$

其中,n 指物镜与标本之间介质的折射率; α 指镜口角。

常用物镜的放大倍数与数值孔径对应表

物镜的放大倍数	2.5×	5×	10×	20×	40×	60×	100×
数值孔径($N \cdot A$)	0.08	0.10	0.28	0.40	0.65	0.85	1.25

④ 物镜的分辨力 分辨力就是分辨被检查物体微细结构的能力,即分辨微小物体两点之间的最短距离的能力。分辨力与数值孔径有关系,数值孔径越大,分辨力越高。公式如下:

$$R = \frac{\lambda \cdot C}{2 \times N \cdot A}$$

R 指两点间最短距离(毫微米); λ 指选用光线的波长;C 是一个常数,为 1.22; $N \cdot A$ 即数值孔径。

光镜的分辨力是有极限的,显微镜的最高分辨力为 268.4 $m\mu$ (选用的可见光波长为 550 $m\mu$)。光镜是用可见光来看物体的,当光波遇到标本微粒时,会出现两种情况:

- A. 标本微粒的长度大于或等于光波长的二分之一时,标本微粒可产生阴影;

B. 当标本微粒长度小于光波长的二分之一时,标本微粒则不能产生阴影。前者能够看清楚,而后者则看不清楚。若提高物镜的 $N \cdot A$ 值,则可提高显微镜的分辨力,目前 $100\times$ 的物镜的数值孔径已达 1.4。

(3) 聚光器 聚光器由聚光镜、孔径光栏、滤光镜等组成。聚光镜与简单的物镜构造相似,它的最大数值孔径为 1.4,常用孔径光栏来改变聚光镜的数值孔径,与物镜配合使用。

① 用途:将光线集合成束,增加照明度,提高物镜的分辨力。

② 数值孔径:聚光器一般只标出它的最大数值孔径,如:1.2、1.4 等,可由孔径光栏来调节。物镜的分辨力与聚光器数值孔径有关。数值孔径的有效值可用下式求出:

$$\text{有效数值孔径} = \frac{\text{聚光器的数值孔径} + \text{物镜的数值孔径}}{2}$$

当显微镜的物镜和聚光器的数值孔径相等时,分辨力为最高。

而无聚光器时,显微镜的分辨力降低一半。

在观察无色标本时,为增加标本的反差,可用 0.7 乘物镜的数值孔径的所得值,来调节聚光器的数值孔径。

(4) 反光镜

① 反光镜的构造 反光镜具有平面和凹面两个面。反光镜可向任意方向转动,以接受不同方向的光线,反射到物镜中去。强光时常常用平面镜,弱光时常常用凹面。

② 反光镜的用途 接受侧面射来的光并反射到聚光镜中,提高照明的亮度,增强分辨力。

2. 显微镜的机械装置 生物显微镜的机械装置如图 1-1 所示。

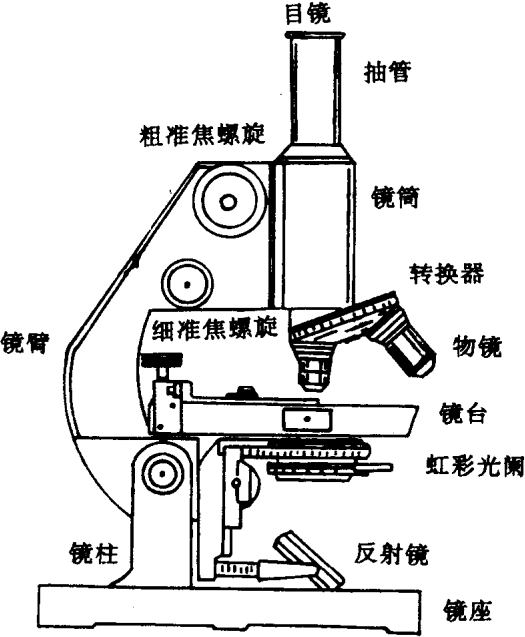


图 1-1 生物显微镜
(仿张凤岭等,1993)

(1) 镜筒 镜筒安装在镜臂上端滑道中,可上下移动,其上端安装目镜,下端安装物镜转换器 and 物镜。

(2) 镜臂 镜臂是一弧形支架,上端装有镜筒和粗、细准焦螺旋,下端与镜柱连接可使镜臂转角 90 度,与镜臂下端相连的还有载物台和聚光器等。

(3) 粗、细准焦螺旋 粗、细准焦螺旋用于调节控制镜筒的升降。粗准焦螺旋升降范围一般为 50mm。细准焦螺旋升降范围一般为 2mm,每转动一周升降 0.1mm。

(4) 载物台 载物台安装在镜臂下端聚光器的上方,是用于放置标本的平台。台中心有一圆孔,聚光器可上升到圆孔内并与载物台平齐。配有载物台移动手轮的显微镜,可通过旋转手轮使标本向前后或左右移动。

(5) 镜座 镜座是显微镜的底座。有支撑和稳定显微镜的作用。

(二) 显微镜的使用

1. 安装 根据需要装配适当的目镜和物镜;调节孔径光栏,使聚光器的数值孔径等于物镜的数值孔径;然后将显微镜放在桌上略偏观察者左侧的位置。

2. 对光 旋转转换器使低倍物镜位于光轴位置,转动反光镜使光线进入聚光器和物镜,使从目镜上所看到的视野光亮度和均匀。

3. 低倍镜的使用 使低倍物镜位于镜筒正下方,然后将玻片标本放在载物台上,使要观察的材料位于通光孔上方中央。旋转粗准焦螺旋使物镜与标本间距很小(几乎接近),再用左眼观察目镜,同时上升镜筒,当看到物像后,调节细准焦螺旋,使物像清晰。

4. 高倍镜的使用 使用高倍镜时,须先用低倍镜观察到标本,然后将所要观察的部分移入视野中央位置,接着转动转换器换上高倍物镜,同时调节聚光器的数值孔径使之与物镜的数值孔径相等。观察目镜,一般情况下只需旋转细准焦螺旋即可使物像清晰。若细调无效则可旋动粗准焦螺旋,但由于物镜与标本间距很小,调节时要小心缓慢。

5. 油镜的使用 按高倍镜使用方法找到要观察的部位使之位于视野中央,然后上升镜面,将油镜头旋至光轴中,在标本盖玻片上滴一滴香柏油。必要时还可下降聚光器,在其上面也滴一滴香柏油,再上升聚光器,使聚光镜与玻片下面接触。并调聚光器数值孔径,使之与物镜数值孔径一致。然后先下降镜筒接近玻片,再缓缓上升直到视野中看到清晰物像。

在用完油镜之后,应立即用蘸过少量二甲苯或清洁剂的镜头纸,把物镜、玻片、聚光器上的香柏油擦拭干净。

二、解剖镜的构造与使用

解剖镜又叫实体镜或立体显微镜,它能形成正立、真实感强的物像。凡不易直接用肉眼看清的微小物体,均可用它直接进行观察。它是生物解剖和形态观察不可缺少的一种工具。

(一) 解剖镜的构造(图 1-2)

解剖镜是由光学系统和机械装置两大部分组成。

1. 光学系统 由目镜、棱镜、物镜等部分组成。棱镜装在密封的金属罩壳中,并与镜体接合。

标本经物镜作第一次放大后,由五角棱镜使物像正转,再经目镜作第二次放大。这样,在目镜中看到的标本的像正立,真实感强。

物镜与工作台的距离较长,一般为 25mm~100mm,便于解剖操作。

2. 机械装置(图 1-2)

(1) 眼罩 用塑料或橡皮等材料制成,呈环状,套在目镜的上端。观察时它能遮挡住杂散光线的干扰,使镜像亮度增强。

(2) 目镜 解剖镜一般配有 $6.3\times$ 、 $10\times$ 、 $25\times$ 三对目镜。根据需要可选择不同的目镜与物镜配合使用。

(3) 镜筒 上端安装目镜,下端与镜体相连接。两个目镜镜筒之间的距离可以调整,适于瞳孔距不同的人使用。

(4) 目镜调焦环 由于观察者的两眼视力可能会有不同,为充分发挥两眼视力,可转动目镜调焦环使两眼观察的物像同等清晰。

(5) 五角棱镜组 装在目镜下端的一个密封的金属壳中。它的作用是使物像正转,使观察到的物像与标本的真实方向一致。

(6) 镜体 镜体中装有圆形转鼓,转鼓上安装着几组不同放大倍数的物镜。其上端安装双目镜筒,下端安装一个大物镜。

(7) 变倍手轮 装在镜体的两侧,它具有变换物镜的作用。

(8) 镜体架 由镜座和镜柱组成。镜座是由铸铁制成的长方形底座,中间留有直径为 100mm 的圆孔,孔中有一块圆形板,板的一面涂成黑色,另一面涂成白色。根据标本颜色不同,选用不同的背景色。镜柱固定在镜座上,是支撑镜体的支柱。

(9) 调焦手轮 粗调是由一个制紧螺钮来控制的,放松螺钮,可大幅度升降镜体,且可使镜体绕镜柱旋转一周。

镜体上的调焦手轮可供镜体小距离的升降,改变物镜与标本间的距离。

(二) 解剖镜的使用

1. 黑白板的选用 根据被观察标本的颜色来确定选用黑板。一般来说,标本的颜色与圆板颜色反差越大越好。

2. 目镜的选用 根据标本大小,选用适当的目镜,要注意低倍目镜与高倍物镜配合使用。

3. 照明灯的使用 一般情况下可用自然光;若室内光线较暗,则可利用日光灯照明。

4. 低倍镜的使用 先将标本放在圆板中心,放松制紧螺钮,调整镜体使物镜距标本约 10cm 处固定。

观察目镜,旋动变倍手轮,使低倍镜进入光轴中,再调整焦距,至标本像清晰时即可进行观察。

5. 观察时的操作 按低倍镜的要求调好焦距后,旋动变倍手轮将高倍物镜旋入光轴中,再微调调焦手轮使物像清晰。

实体镜放大倍数的计算方法同显微镜,如:目镜 $25\times$,物镜 $10\times$,则放大倍数为 $25\times 10=250$ 倍。

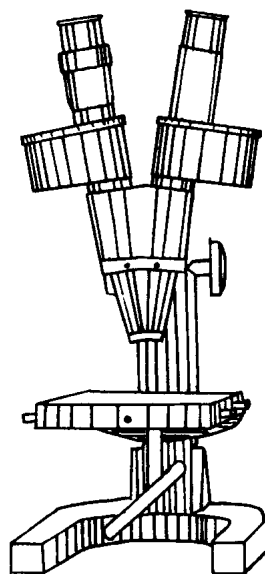


图 1-2 立体显微镜
(仿张闰生等,1991)

第二章 显微测微尺与血球计数板的使用

对微生物或细胞进行形态观察时,往往需测量它们的大小或统计它们的数目。这就要用到显微测微尺和血球计数板。

一、显微测微尺的使用

显微测微尺有目镜测微尺和镜台测微尺两种。

(一) 基本原理

目镜测微尺(图 1-3,A)是一块可放在接目镜内的隔板上的圆形小玻片。在它的中央刻有精确的刻度,有等分 50 小格或 100 小格两种,每 5 小格之间有一长线隔开。因为目镜和物镜的放大倍数有所不同,目镜测微尺每小格所代表的实际长度就不一样,所以,目镜测微尺不能直接用来测量微小标本的大小,使用前要用镜台测微尺校正,以测算出在一定的目镜和物镜下该目镜测微尺每小格的相对值,然后才能用来测量微生物的大小。

镜台测微尺(图 1-3,B)是中央部分刻有精确等分线的载玻片。一般每小格的长度是 0.01mm,是专用于校正目镜测微尺的每格长度的。



图 1-3 显微测微尺

A. 目镜测微尺

B. 镜台测微尺中央部分

(仿范秀容等,1989)

(二) 使用方法

1. 目镜测微尺的标定

(1) 放置镜台测微尺 将镜台测微尺置于显微镜的载物台上,使刻度面朝上。

(2) 放置目镜测微尺 取出目镜,旋开透镜,将目镜测微尺放在目镜的隔板上并使刻度向下,然后旋上目镜透镜,将目镜放回镜筒内。

(3) 校正目镜测微尺 先在低倍镜下看清镜台测微尺,转动目镜,使目镜测微尺的刻度平行于镜台测微尺的刻度,移动镜台测微尺使两种测微尺在某一区间内的两对刻度线完全重合,然后计数出两对重合线间各自所占的格数(图 1-4)。根据计数的结果通过以下公式算出目镜测微尺每格所代表的实际长度。

$$\text{目镜测微尺每小格长度}(\mu\text{m}) = \frac{\text{两对重合线间镜台测微尺格数} \times 10}{\text{两对重合线间目镜测微尺格数}}$$

在高倍镜和油镜下目镜测微尺每小格所代表的长度可同法校正。

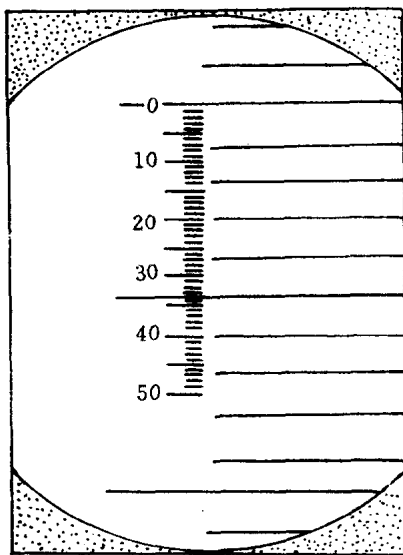


图 1-4 目镜测微尺与镜台测微尺校正时的情况
(仿范秀容等,1989)

2. 微生物或细胞大小的测定 移去镜台测微尺,换上微生物或细胞染色玻片标本,调节焦距使物像清晰,转动染色标本或目镜测微尺,测出微生物或细胞的长度和宽度所占的格数,将此结果乘以每小格所代表的长度,即可求出单个标本的大小,一般而言,为准确起见可以采用多次测量求平均值的办法确定微生物或细胞的大小。对于细菌来说多用对数生长期的菌体来进行测定。

3. 复原 取出目镜测微尺,复原显微镜,将所用过的两种测微尺擦干净放回盒内保存。

二、血球计数板的使用

在显微镜下直接计数微生物或细胞的数量,常用到血球计数板。此法直观快速。

1. 基本原理 血球计数板,通常是一块特制的载玻片,其上表面中央部分由四条槽分成三个平台。中间平台又被一短槽一分为二,每边各有一个方格网,每个方格网有九个大小相等的大方格,中间的一个大方格即计数室,就是计数微生物或细胞的部位,如图 1-5 所示。

由于计数室容积一定,只要将稀释后的待测标本均匀悬液放在计数室中并在显微镜下计数就可算出单位体积内的微生物总数目。

计数室刻度一般有两种规格,即大方格分成 25 个中方格,而中方格又分成 16 个小方格的一种(图 1-5,D);和大方格分成 16 个中方格,而中方格又成分 25 个小方格的一种(图 1-5,C)。但两种规格的计数板均有 400 个(16×25 或 25×16)小方格。

由于大方格边长为 1 毫米,载玻片与盖玻片间距为 0.1mm,所以计数室容积为 $1 \times 1 \times 0.1 = 0.1$ 立方毫米(即 0.1mm^3)。

计数时,通常数五个中方格,即四个角与中央的中方格中的待测标本数,然后算出每个

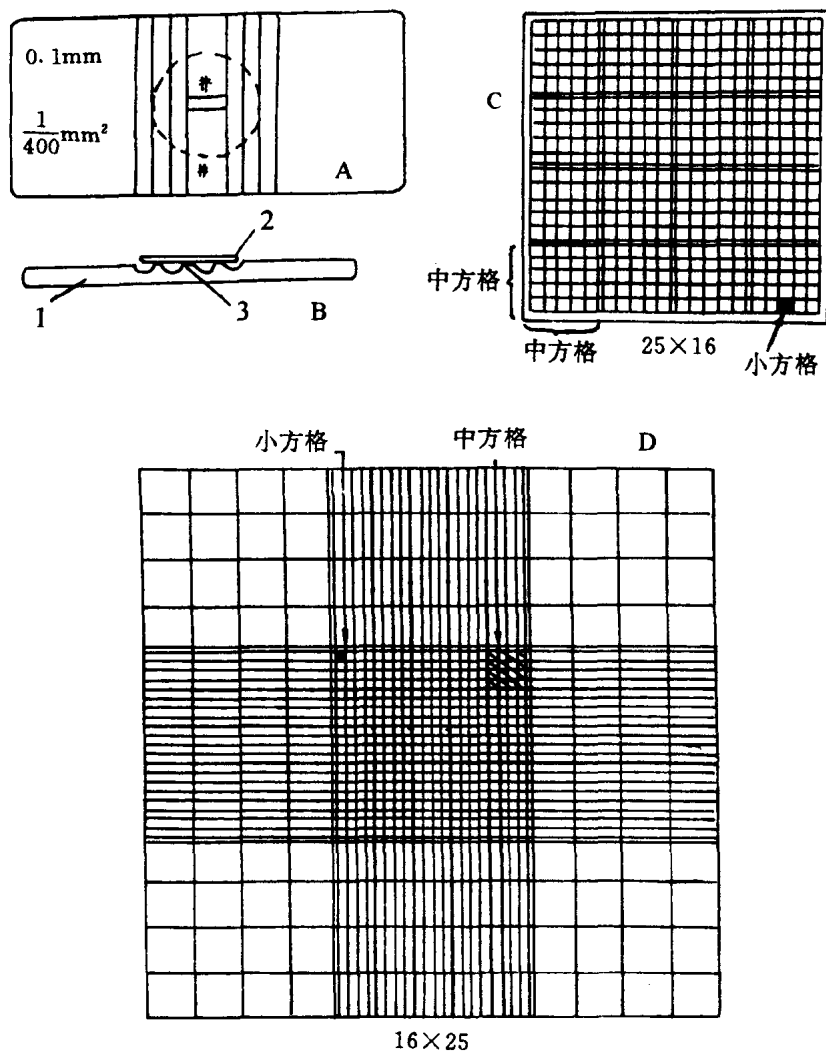


图 1-5 血球计数板构造

A. 正面图; B. 纵切面图; 1. 血球计数板; 2. 盖玻片; 3. 计数室;

C. 计数室; D. 放大后的方格网(方格网的中央为计数室)

(仿范秀容等, 1989)

中方格的平均值,再乘以 16 或 25,就得出一个大方格的总微生物数,然后换算出 1 毫升的总微生物数,公式如下:

$$1\text{ml 悬液中的微生物总数} = \frac{A}{5} \times n \times B \times 10000 = 2000ABn(\text{个})$$

其中,A 为五个中方格中的微生物总数,B 为稀释倍数,n 为每大方格中的中方格数。

2. 使用方法

(1) 稀释 将浓的标本悬液进行适当稀释。

(2) 镜检 加样前,先要检查计数室内有无污物,若有则需清洗后烘干使用。

(3) 加样 在血球计数板上盖上清洁干燥的盖玻片,用无菌的细口滴管将稀释的微生物

物悬液从盖玻片边缘滴一小滴(不宜过多)。这样通过毛细渗透作用液体可沿缝隙进入计数室,注意要使计数室中不产生气泡并且充盈稀释液。

(4) 计数 将血球计数板置于显微镜的载物台上静置 5 分钟左右,先用低倍镜找到计数室,然后将计数室移到视野中央换上高倍物镜,微调后使计数室的小方格和悬液中的微生物清晰可见,分别计数任意 5 个中方格内的微生物数(最好选 4 个角和中央的中方格)。为准确可靠,位于格线上的菌体或微生物一般只数上线和右线上的或下线和左线上的。而且要计数两个计数室求平均值。若稀释液过浓或过稀,需重新处理悬液再进行计数。

(5) 清洗 用完后,一般用水冲洗血球计数板,切勿用硬物洗刷,以免磨损计数室。洗完后要烘干或晾干。镜检,若有残留微生物或污物需重复洗涤直至干净。

第三章 生物科学绘图

生物科学绘图在生物科学研究及教学中十分重要,尤其是在分类学、形态学、组织学、解剖学和胚胎学等研究方面。生物科学绘图以绘图的技法及其特有的器材根据生物科学研究的具体要求,来描绘物体的形象。生物科学绘图是对生物体进行科学观察的客观记实,具有精确、简练、具体和形象化等特点。生物科学绘图必须具有严谨的科学性及完美的绘图技法,两者缺一不可。

一、生物绘图的种类及其特点

因为生命现象的复杂,描绘形式的多样以及使用范围的特殊等原因,使得生物绘图本身具有多种表现形式。通常生物绘图概括起来有以下几种类型。

(一) 从表现题材来分

1. 个体外部形态特征图(图 1-6) 常用于分类学方面,它要求按照生物体类群划分的原则和规律,将各个物种典型的个体形态特征和结构部位的相对位置关系及比例,生动、准确、明了地表现出来。

2. 局部解剖构造图(图 1-7,A) 常用于形态学及比较解剖学的研究。主要着重于对某些肉眼不易观察的细小器官、组织或能显示一个物种的重要性的部位及局部构造进行适当加大,并且分层分部,按照着生的顺序,一一准确地反映出来。

3. 显微玻片标本图(图 1-7,B) 常用于细胞学、组织学研究等方面。它要求把显微镜视野中所见到的微观图像,用简明的线条和点准确地描绘下来。

4. 示意图(图 1-7,C) 是为了说明生物学知识中某一个问题的,运用图解方式,专门设计绘制的一种解说性图。常用于那些不宜直接应用某一具体形象说明的实验装置与结果,生命活动的过程、生命物质的转运、生物体相互之间的关系等概念的形象化表达,它要求内容简明扼要,选材重点突出,用笔简单概括,表达逻辑性和科学性强。

5. 生态景观图 为了表明生物个体或群体的生活习性和生态环境,与自然条件的关系而创作的图画。这类图从表现手法上看,十分接近于一般绘画中的局部写生和风景写生画,但它们的创作目的、对作品的要求及各自所担负的使命不同。前者以揭示生物个体或种群