

高等学校教学参考书

生物显微技术

郑国锴 主编

人民教育出版社

高等学校教学参考书

生物显微技术

郑国锴 主编

※

人民教育出版社出版

新华书店北京发行所发行

人民教育出版社印刷厂印装

※

1978年7月第1版 1979年1月第1次印刷

书号 14012·048 定价 0.98 元

前 言

本书是根据 1977 年综合大学生物系学科教材编写会议上讨论通过的生物显微技术教学大纲编写而成。全书共分四部分：第一篇，一般原理及方法；第二篇，显微镜及显微照相术；第三篇，植物制片技术实例（植物专业用）；第四篇，动物制片技术实例（动物专业用）。

生物显微技术为高等学校生物系各专业的基础课，讲授此课目的在于使学生掌握制作动植物显微切片，使用光学显微镜及其附属用具所必备的基本理论、基本知识和基本技术。为此，必须要求学生能按照本书所载内容反复实践和不断总结，希望能在本课程结束时，基本上掌握几种主要的显微切片技术，熟练地使用光学显微镜及其附属用具。

一、按照四年制教学，本课程可排于第六学期或第七学期，共 17 周，每周一次实验，每次 4 学时，共 68 学时。全部讲授内容在实验时间内结合进度穿插进行，也可在每周另外增加一小时的课堂讲授，全学期上课与实验共为 85 学时。除课堂讲授外，其中一部分讲授内容留在实验时讲，一部分由学生自学和参考。

本课程的重点在实验，共安排 14 次，其余 3 次为机动时间，可由学生自行选择材料和设计进行石蜡切片，以培养他们的独立工作能力，并作为测定学生实验课成绩的一部分。

动植物两专业所做的实验内容，基本方法是相似的，但所用实验材料则不相同，植物专业全部用植物材料，动物专业全部用动物材料，讲课与实验的具体安排如下表。生物学、微生物学、遗传学等专业所用材料可根据具体需要灵活应用。有些院校（如海洋学院、师范大学）采用本教材时，可将教材内容作适当的增删，以适应

各该专业的具体要求。

讲课与实验的安排表

讲 授 内 容		学时	实 验 内 容			
			植 物	次数	动 物	次数
第一篇	1.一般准备 2.采集与分割 3.一般方法概述	2	徒手切片法	1	准备工作	1
	4.固定与固定液	4	木材切片法	1	整体制片法	1
	5.脱水与透明 6.透入与包埋 7.切片与贴片	2	石蜡切片法	6	同 左	6
	8.染料与染色 9.封藏	3	整体制片法	1	展片法或整制法	1
			压碎法	1	磨 片 法	1
			涂布法或离散法	1	涂布法、压碎法 或离散法	1
	10.其它方法	2	冰冻切片法与显微化学	1	同 左	1
	11.显微镜	2	显微镜附属用具的使用	1	同 左	1
	12.显微照相术	2	显微照相	1	同 左	1
	表中共排实验 14 次,其余 3 次为机动时间,可由学生自行选择材料和设计进行石蜡切片, 以培养他们的独立工作能力。					

二、第三、四篇所选的制片实例,大部分都在兰州大学生物系实验动物学教研组、细胞学及遗传学教研组生物显微技术实验时反复实验过,结果都较好,各校在应用时,可根据各地具体情况和经验,在实验材料、内容及方法作适当的调整以满足教学中的具体要求。

三、本教材由兰州大学生物系细胞学及遗传学教研组、实验动物学教研组有关同志集体编写,第一、二两篇由郑国锷执笔;第

三篇由杨汉民、王耀芝编写；第四篇由同允栩、葛瑞昌编写。全书初稿编完后由耿欣莲、葛瑞昌、同允栩、杨汉民、王耀芝、王怀民等同志校阅原稿并提供了不少宝贵意见；田超、张云湘同志抄写了原稿，杨庆兰同志担任了部分核对工作；编者对这些同志深表谢意。

由于编者知识有限，经验不足，书中错误以及编排不当之处在所难免，敬希读者加以批评指正。

编 者

1978 年 6 月于兰州大学

目 录

前 言

第一篇 一般原理与方法

第一章 一般准备	1
第一节 实验室守则	1
第二节 玻璃器皿的清洁	2
第三节 溶液的配制	3
一 百分比溶液	3
二 克分子溶液	4
三 当量溶液	4
第四节 实验计划	6
第五节 日程与记录	7
第二章 一般方法概述	9
第一节 切片法	9
第二节 非切片法	11
第三章 材料的采集、分割与麻醉	12
第一节 植物材料的采集与分割	12
一 材料的采集	12
二 材料的分割	14
第二节 动物的麻醉与材料的割取	16
第四章 固定与固定液	17
第一节 固定的目的与性质	17
第二节 固定液的种类与性能	18
一 单纯固定液	18
二 混合固定液	26

第三节	固定液的作用与选择	38
第四节	固定时的注意事项	42
第五章	冲洗、脱水与透明	43
第一节	冲洗	43
一	水冲洗法	43
二	酒精洗涤法	43
第二节	脱水	44
一	脱水的目的	44
二	脱水剂及其脱水法	44
第三节	透明	48
第四节	药品的回收与再用	52
第六章	透入与包埋	53
第一节	透入	53
一	包埋剂与包埋用具	53
二	石蜡透入法	57
第二节	包埋	58
一	包埋的操作过程	58
二	包埋中出现的问题及其解决办法	59
第七章	切片与贴片	61
第一节	切片	61
一	石蜡块的固着与整修	61
二	切片机与切片刀	63
三	切片的方法	68
四	影响切片成败的因素及补救办法	71
第二节	贴片	71
一	用具	71
二	粘贴的方法	76
三	切片脱落的原因及防止的办法	78
第八章	染料与染色	79

第一节 染料	79
一 天然染料	79
二 人工染料	85
第二节 染色	88
一 染色的理论	88
二 应用染料时的一般注意事项	90
三 染色的方法	92
第九章 封藏	109
第一节 封藏剂	111
第二节 封藏法	112
第十章 冰冻切片法	113
第一节 仪器和用具	114
一 冰冻切片机	114
二 冰冻附着器	114
三 液体二氧化碳钢筒	115
第二节 制片方法	115
一 固定	115
二 切片	115
三 贴片	119
四 明胶包埋	119
五 染色与封藏	120
第十一章 整体制片法	120
第一节 暂时和半永久性制片法	121
一 甘油法	121
二 甘油胶冻法	121
三 乳酸-苯酚法	122
第二节 永久性整体制片法	122
一 威尼斯松节油法	123
二 叔丁醇树胶法	123

三 二氧六圆树胶法	124
第十二章 涂布法与压碎法	125
第一节 涂布法	125
第二节 压碎法	127
一 醋酸洋红(或醋酸地衣红)压碎法	127
二 孚尔根压碎法	129
三 醋酸-铁明矾-苏木精压碎法	130
第十三章 解离法与梳离法	132
第一节 植物材料解离法	132
一 铬酸-硝酸解离法	132
二 铬酸-硫酸-硝酸细胞分离法	133
第二节 动物材料解离法与梳离法	136
一 肌纤维的分离法	136
二 神经纤维分离法	137
第十四章 显微化学	138
第一节 一般注意事项	138
第二节 无机物质的鉴定	139
一 钙	139
二 镁	140
三 铁	141
四 磷酸盐	142
第三节 有机物质的鉴定	143
一 碳水化合物	143
二 类脂物	150
三 蛋白质	151
四 核酸	154
五 酶	155
第十五章 活体染色与超活染色	159
第一节 活体及超活染色的目的及注意事项	160

一 活体及超活染色的目的	160
二 进行活体及超活染色时的注意事项	160
三 悬滴标本的制法	161
第二节 活体染色的技术	162
一 准备工作	162
二 染色方法	164

第二篇 显微镜与显微照相术

第十六章 显微镜	168
第一节 显微镜的种类	168
一 单式显微镜	168
二 复式显微镜	168
第二节 显微镜的光学原理	170
一 物镜	170
二 目镜	174
三 集光器	176
第三节 显微镜的使用及其注意事项	179
一 显微镜的使用	179
二 显微镜使用时的注意事项	182
第四节 显微镜的附属用具	185
一 微量尺	185
二 描绘器	189
第五节 各种显微镜	192
第十七章 显微照相术	200
第一节 显微照相装置	200
一 显微照相机	200
二 照明装置	203
第二节 照相的程序	206
一 照相机的安装	206

二 感光片的选择	206
三 滤光片的选择	208
四 曝光	212
第三节 洗印	214
一 底片的显影和定影	214
二 感光纸的显影与定影	218

第三篇 植物制片技术实例

实验一 徒手切片法	220
实验二 木材切片法	222
实验三 冰冻切片法	223
实验四 石蜡切片法 (一) 根的制片	225
实验五 石蜡切片法 (二) 茎的制片	228
实验六 石蜡切片法 (三) 叶的制片	230
实验七 石蜡切片法 (四) 根尖的制片	232
实验八 石蜡切片法 (五) 胚胎的制片	234
实验九 整体制片法	236
实验十 压碎法	237
实验十一 涂抹法	240
实验十二 离散法	241
实验十三 显微镜附属用具的使用	242
实验十四 显微照相术	245

第四篇 动物制片技术实例

实验一 整体制片法 (一)	246
I 原生动物的整体制片	246
II 吸虫的整体制片	247

Ⅲ	昆虫及其附属构造的整体制片	248
实验二	整体制片法(二) 孵化 33 小时鸡胚整体制片	249
实验三	展片法(伸展制片法或铺片法)	251
一	肠系膜制片	251
二	疏松结缔组织制片	252
实验四	磨片法	253
实验五	涂布法、压碎法、离散法	255
I	涂布法——血液涂片法	255
II	压碎法——双翅目幼虫唾液腺染色体制片法	256
III	离散法——平滑肌分离制片法	257
实验六	石蜡切片法(一) 青蛙小肠制片——固定到包埋	259
实验七	石蜡切片法(一) 青蛙小肠制片——切片与贴片	260
实验八	石蜡切片法(一) 青蛙小肠制片——苏木精曙红染色法	260
实验九	石蜡切片法(二) 胃制片法——马洛赖氏三色染色法	261
实验十	石蜡切片法(三) 蝗虫精巢制片法——铁矾苏木精染色法	262
实验十一	石蜡切片法(四) 精巢制片法——孚尔根染色法	264
实验十二	冰冻切片法——显示脂肪制片法	265
实验十三	显微镜附属用具的使用(同植物制片技术实例实验十三)	266
实验十四	显微照相术	266
附录:		
一	用具、药品与染料	267
二	度量衡表	274

三 常用的配方	275
四 缓冲溶液	278
五 各种培养液	282
主要参考资料	287
索引	290
(一) 汉文索引	290
(二) 外文索引	295

宏观标本制作的作用和种类

第 1 节 宏观标本制作的意义和作用

在生物学教学和科学研究过程中,在博物馆标本陈列室中,都要应用宏观标本。因此,掌握制作宏观标本的技能,对生物学教学工作者、科学研究工作者和博物馆工作者来说,都是很有必要的。

宏观标本制作的意义和作用有下列五方面:

1. 在生物学教学中的意义和作用

在生物学教学中,宏观标本是重要的直观教具。运用宏观标本进行教学,有助于提高教学质量。生物学知识本来都是经过前人的观察研究而得出的结论,大都有实物可资验证。在教学过程中,应该将书本知识尽可能同具体事物结合起来。也就是说,教师讲授的大部分知识都应该演示它们的标本。这样的

7. 用过的药瓶、酒精灯、染色缸等须立即塞紧或加盖,切勿忘记,并忌“张冠李戴”。

8. 利用显微镜检查未制成的切片,要防止染料或试剂沾污镜头和镜台。也不要再用高级显微镜观察。

9. 节约药品,切勿浪费。用过的废酒精、二甲苯等要分别倒在一定的瓶中,以便回收处理后再用。

10. 所有固体废物、酸类、染料等应倒在废物缸内,不可倒在水槽中。

11. 能损坏桌面油漆的试剂(如酒精、二甲苯、酸、碱等),注意不要洒在桌上。

12. 在离开实验室前,应将一切用具拭净,物归原处,并关闭水、电及煤气供应。

第二节 玻璃器皿的清洁

一、玻璃器皿的清洁:在开始工作之前,必须将应用的玻璃器皿彻底洗净,其方法如下:

1. 将玻璃器皿放在肥皂水中煮沸约 30 分钟。
2. 用清水冲净后晾干。
3. 在清洁剂中浸 10 分钟左右。
4. 再用清水冲净晾干后待用。

清洁剂的配法如下:

重铬酸钾	20 克
浓硫酸(工业用)	100 毫升
清水	100 毫升

将重铬酸钾溶解于水中,然后将硫酸一滴一滴加入,不使发热。配好后可盛在有玻璃塞的玻璃容器内,以防氧化变质。此液

可反复使用,一直到变为蓝黑色为止。

二、新旧载玻片及盖玻片的清洁:新载玻片和盖玻片可在2%的盐酸酒精(95%酒精100份加盐酸2份)中浸泡几小时,再用流水冲洗干净,然后取出浸于95%酒精中备用。

陈旧或不适用的切片标本,如欲再用其载玻片和盖玻片,清洁步骤如下:

1. 将不适用的切片标本在肥皂水中煮沸5—10分钟。
2. 在热水中洗去残留的树胶和浆糊。
3. 清水冲洗。
4. 在清洁剂中浸30分钟。
5. 用清水洗去余留的清洁剂。
6. 用蒸馏水洗净。
7. 在95%酒精中浸几分钟,即可取出擦干备用。

盖玻片很薄,在清洁时须特别小心。在擦拭时应一只手夹住盖玻片的两边,另一只手持清洁纱布用大拇指及食指同时擦拭盖玻片的两面,两指用力须均匀,着力点也应一致。

第三节 溶液的配制

溶液大多数以水为溶媒,其浓度随溶媒的容量和溶质的重量而定。溶液的浓度通常用下列三种方法来表示。

一、百分比溶液 浓度用溶质对全部溶液量的百分比表示。

(一)稀溶液的配法:

例1. 1%的番红水溶液——即将番红1克溶解于100毫升的蒸馏水中(一般溶液如不说明溶媒是什么,即指水溶液)。

例2. 0.1%固绿酒精溶液——即将固绿0.1克溶解于100毫升的95%酒精中。

(二)浓溶液的配法：配制高浓度的溶液，应在 100 毫升的水中减去溶质重量的水。例如 15% 的食盐水溶液，则应以 $100 - 15 = 85$ ，即量取 85 毫升的水加入 15 克食盐即得 15% 的食盐水溶液。

二、克分子溶液 浓度用 1 升溶液中所含溶质的克分子数表示。用这个方法表示溶液的浓度称为克分子溶液 (molar solution)，常以 M 代表。例如 $0.2M$ 溶液即为 1 升溶液中含 0.2 克分子溶质的溶液， $2M$ 溶液即为 1 升溶液中含 2 克分子溶质的溶液。其配制方法如下：

例如 $0.5M$ 蔗糖溶液

1. 先计算蔗糖的分子量 ($C_{12}H_{22}O_{11} = 342.2$)。
2. 再称取 0.5 克分子的蔗糖 $\frac{C_{12}H_{22}O_{11}}{2}$ ，即 171.1 克。
3. 投入容积为 1 升的量瓶中，瓶颈上有刻线标明容积到此线上恰等于 1 升。
4. 注入蒸馏水使蔗糖溶解，水加到刻线为止。

三、当量溶液 浓度用 1 升溶液中所含溶质的克当量表示。这种溶液称为当量溶液或规定溶液 (normal solution) 以 N 表示。如 1 升溶液中含 1 克当量，即称为 1 当量溶液 ($1N$)，如含 0.1 克当量即为十分之一当量溶液 ($0.1N$) 等。

在配制当量溶液时，其当量的计算因各种化合物（酸、碱、盐）而异。酸的当量是以酸分子中可被金属取代的氢原子数去除。碱的当量等于其分子量被碱中金属的原子价去除。至于盐类的当量可用其分子中金属的原子数及金属的原子价去除分子量求得。

例如：

$$HNO_3(\text{分子量 } 63) \text{ 的当量等于 } \frac{63}{1} = 63$$