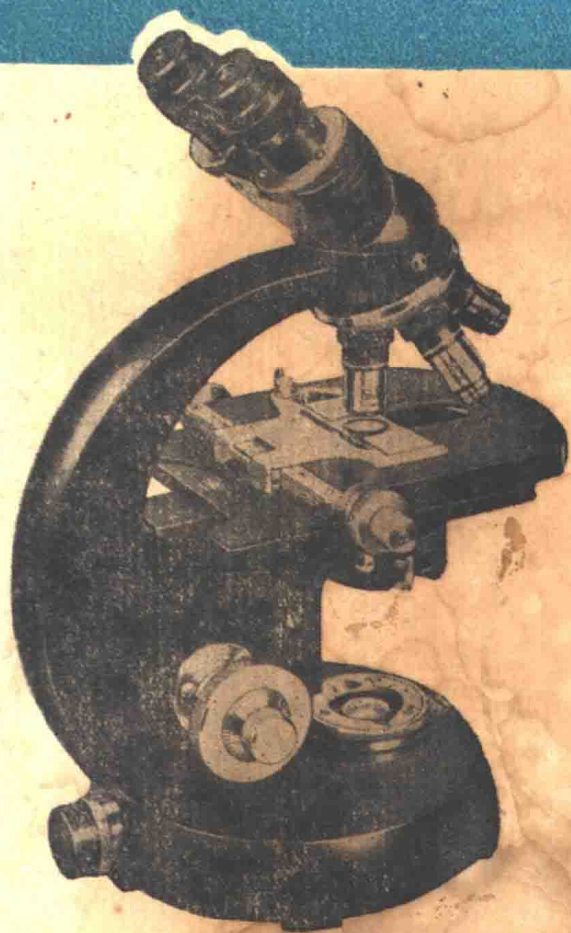


顯微鏡的用法

田中克己著



人民教育出版社

顯微鏡的用法

田中克己著
金連綠編譯

人民教育出版社

本書內容主要取材于日本東京裳華房 1937 年(第四版)出版的,日本東京医科大学醫學博士田中克己教授所著的“顯微鏡の使い方”一書。本書除了刪去原書一些不合我國需要的部分和補充更換一些較好的附圖外,基本上是由原書改譯的。

本書系統地提供全面的顯微鏡的使用方法,即從顯微鏡的起源與構造敘述起,對普通光學顯微鏡的性能、基本操作、各種照明法、測微法、描繪法、放映法、攝影法等描述得極為清晰而詳細。同時,對於近年來常用的螢光顯微鏡、偏光顯微鏡、相差顯微鏡、紫外線顯微鏡和電子顯微鏡的原理和用法也作了細致的說明。

本書可供綜合大學、師範院校生物系師生和一般科學工作者的參考。

顯 微 鏡 的 用 法

田中克己 著

金連綠 編譯

人民教育出版社出版 高等學校教材編輯部
北京宣武門內承恩寺 7 號

(北京市書刊出版業營業許可證出字第 2 號)

京華印書局印裝 新華書店發行

統一書號 13010·761 開本 850×1168¹/₃₂ 印張 7³/₁₆ 插圖

字數 172,000 印數 00001—5300 定價 (R) ¥ 0.95

1960 年 5 月第 1 版 1960 年 5 月北京第 1 次印刷

目 录

第一章 显微镜的起源与构造

1. 显微镜的种类	2
2. 显微镜的主要构成	4
3. 机械装置	4
A. 镜脚	5
B. 镜臂	5
C. 镜台	6
D. 镜箱和镜筒附着器	10
E. 镜筒	10
F. 物镜转换器	10
G. 调焦装置	12
4. 光学系统	13
A. 目镜	13
B. 物镜	18
C. 照明装置	21
5. 放大镜	26
6. 解剖显微镜(实体显微镜)	27

第二章 显微镜的维护

1. 一般注意事项	30
2. 显微镜的保管	30
A. 长期的保管	30
B. 经常使用时应注意的事项	31
C. 备品管理	31
3. 显微镜的搬运	32
A. 搬运时的注意事项	32
B. 远路的输送	32
4. 维护方法	33
A. 一般注意事项	33
B. 透镜的清扫	33
C. 调焦装置、金属部分等的清扫	35
附: 选购显微镜应注意的事项	35

第三章 显微镜的用法

1. 鏡檢的环境	39
A. 室内条件	39
B. 窗戶	39
C. 桌子	40
2. 鏡檢的准备	40
A. 用具	40
B. 姿勢	40
C. 光学系統的安装	41
D. 机械筒长	42
E. 傾斜关节	44
F. 照明装置	44
G. 被檢物体	45
3. 干燥系物鏡的用法	45
A. 工作距离	45
B. 低倍的調焦	46
C. 高倍的調焦	48
D. 微动調焦裝置的用法	49
E. 对不准焦点的原因	51
4. 浸没系物鏡的用法	52
A. 浸没系物鏡	52
B. 浸没系物鏡的調焦	52
C. 聚光鏡的浸没	53
D. 油浸系	54
E. 水浸系	55
F. 特殊物鏡	56
G. 浸没系物鏡使用后的注意事項	56
5. 观察者的視力	56
6. 中心調節(合軸調整)	57
A. 中心調節的必要	57
B. 聚光鏡的中心調節	58
C. 物鏡的中心調節	59

第四章 与标本有关的各种注意事项

A. 盖玻片厚度	61
B. 盖玻片表面	65
C. 載玻片	65
D. 特定部位的再发现	66

第五章 照明法

1. 照明种类	68
---------	----

A. 透射照明法	69
B. 落射照明法	70
2. 光源	70
A. 天然光源	70
B. 人工光源的条件	71
C. 以电灯为光源的照明用具	72
D. 弧光灯	76
E. 滤光液的配方	78
F. 滤光镜	79
3. 中心(明视野)照明法	80
A. 反射镜的用法	80
B. 光阑的用法	80
C. 聚光镜的用法	82
D. 整个照明系统的运用	85
4. 落射照明法	87
A. 落射照明灯	87
B. 垂直照明法	88
5. 斜射照明法(明视野斜射照明)	91

第六章 显微镜的能力

1. 镜口率(开口率)	95
2. 分辨率(鉴别率)	96
3. 清晰度	98
4. 放大率	99
5. 焦点深度	101
6. 镜象亮度	102
7. 显微镜视野	102

第七章 显微镜的各种测量法

1. 一般注意事项	104
2. 长度测定法	105
A. 目镜测微计和镜台测微计	105
B. 移动式目镜测微计	109
C. 移动式镜台测微计	109
D. 利用描繪或放映的测定方法	111
3. 测定面积的方法	111
4. 测定角度的方法	112
A. 利用测角目镜的方法	112
B. 利用回轉式镜台的方法	112
C. 利用描繪测定角度的方法	113

5. 测定厚度的方法	113
6. 测定体积的方法	114
7. 计算数量的方法	114
A. 干燥标本中的物体数量的计算	115
B. 液体标本中的物体数量的计算	115

第八章 描繪法

1. 描繪的必要	118
2. 简单的描繪法	118
3. 利用描繪器的描繪法	119
A. 使用描繪器的一般注意事項	119
B. 描繪稜鏡	120
C. 阿伯氏描繪器	122
D. 阿伯氏簡式描繪器	124
E. 低倍用描繪器	124
F. 图的放大率	124
G. 描繪台	137
4. 放映描繪法	128
5. 描繪器与放映裝置的長短	131

第九章 暗視野照明法

1. 暗視野照明法的特長	132
2. 中心搖光法	133
3. 暗視野聚光鏡	134
A. 暗視野聚光鏡的种类	134
B. 暗視野聚光鏡的用法	137
4. 縫隙超显微鏡	140

第十章 螢光显微鏡

A. 螢光現象	142
B. 裝置	142
C. 鏡檢的实际	145

第十一章 偏光显微鏡

1. 原理	147
A. 双折射性	147
B. 偏振現象	148
C. 尼科耳稜鏡及其作用	148
D. 正交尼科耳稜鏡下的双折射体	149
2. 裝置	150
A. 机械裝置	150

B. 光学系统	151
C. 光源	153
3. 偏光实验的准备和被检物体	154
A. 准备	154
B. 被检物体	155
4. 无畸变	155
A. 双折射体的证明	155
B. 干涉色	156
C. 微弱的双折射性的证明	157
D. 双折射体的振动方向	158
5. 干涉象	160
A. 圆锥光镜检(conoscope)	160
B. 单轴晶体的观察	161
C. 双轴晶体的观察	163

第十二章 相差显微镜

1. 相差显微术的特长	165
2. 原理	166
A. 相差	166
B. 衍射与干涉	167
C. 相板的作用	169
3. 装置	190
A. 环状光阑	171
B. 相板	173
C. 合轴调整用望远镜	176
D. 光源与滤光镜	176
E. 目镜相差显微镜	178
4. 相差镜检的实际	178
A. 准备	178
B. 调焦以及其他	178
C. 合轴调整(中心调节)	179
D. 相差镜检的关键	181
E. 相板的选择	182
5. 相差镜检用的标本	184
A. 材料	184
B. 盖玻片和载玻片	184
C. 埋封剂	185
D. 染色	186
6. 相差镜检的特殊利用	186
A. 暗视野观察及其他	186

B. 彩色相差显微镜	187
7. 可变相差显微镜	187
A. 变波长相差显微镜	187
B. 变偏光相差显微镜	188
C. 相板滑动式相差装置	190
D. 特殊聚光镜	190

第十三章 紫外线显微镜

A. 照明光线的波长与分辨率	192
B. 紫外线显微镜的原理与光学系统的设计	192
C. 镜检的实际	194
D. 反射物镜	194

第十四章 电子显微镜

A. 原理	196
B. 设备的概要	197
C. 实际操作	199
D. 电子显微镜的性能	199
E. 电子显微镜的缺点	200
F. 电子显微镜的将来	201

第十五章 显微镜摄影

1. 设备	203
A. 显微镜	203
B. 照明用具	204
C. 摄影装置	205
D. 摄影室与暗室	208
2. 摄影	209
A. 显微镜标本	209
B. 放大率	209
C. 感光材料	211
D. 照明法	211
E. 摄影机的安装	212
F. 曝光	212
3. 显影和晒印	214
A. 显影	214
B. 晒印	217
C. 放大	218
D. 齐边、上光和保存	218

附录: 物镜和目镜的新旧对照表

第一章 顯微鏡的起源與構造

顯微鏡的起源直到現在還沒有查明，據說第一架放大儀器是由荷蘭的光匠師詹森父子在 1590 年左右創造的。這架放大儀器構造非常簡單，實際上是由雙凸透鏡和雙凹透鏡組成的放大鏡，放大率也不超過 10 倍。

意大利學者伽利略在 1609 年發明了望遠鏡，第二年就把它轉用于微小物體的觀察。顯微鏡這一名詞是法伯爾在 1625 年最初使用的，以後就成了這種儀器的定名。

英國學者胡克在 17 世紀中葉創造了性能稍高的顯微鏡。這架顯微鏡的物鏡和目鏡各由兩塊透鏡組成，放大率為 40—140 倍。胡克利用這架顯微鏡作了許多觀察，在他的“顯微圖志”(Micrographia, 1665)一書中可看到木栓組織的細胞圖解。在同一時期，許多學者如呂文虎克、馬爾皮基等，也把顯微鏡應用到生物學和微生物學的研究上。

荷蘭的惠更斯在 1695 年設計並製造了惠更斯目鏡。從 18 世紀到 19 世紀中葉，顯微鏡得到進一步的改進，英、法、德、意等國的科學家相繼創造了反射鏡、消色差透鏡和物鏡校正環等等。這樣，顯微鏡的外觀也逐漸接近了目前使用的顯微鏡。

德國的阿伯教授對顯微鏡的改進有突出的功績。他在 1870 年發表了有關放大理論的重要論文，從而奠定了顯微鏡的理論基礎。此後，他在 1872 年發明了透鏡的油浸法，且在 1882 年製造了許多種優質光學玻璃。在 19 世紀末，阿伯教授與卡爾·蔡司氏合作，在德國耶拿市設立了近代化的大型光學工廠，製造出更完善的顯微鏡，放大率也被提高到 2,000 倍左右。

为了进一步提高显微镜的分辨率,德国的戈勒在 1904 年发明了紫外线显微镜(分辨率为 0.12μ);吉蒙和西登多夫在 1903 年发明了超显微镜(分辨率 $4m\mu$),但后者有不易鉴别被检物体的微细构造的缺点。

不久以前(1941 年),戈勒和鲁斯根据相差法的原理创造了相差显微镜,这种显微镜对生物学的研究提供了许多便利。

德国的库诺尔及路斯卡在 1932 年创造了利用电子射线的电子显微镜。电子显微镜经种种改良,性能迅速被提高,有效放大率已达到 25 万倍(分辨率 $8\text{\AA}$)左右。电子显微镜应用范围很广,对近代科学的进步起着很大的促进作用。

显微镜是精密的光学仪器。当使用显微镜时,如果不了解它的原理和构造,不仅不能充分发挥它的性能,而且容易损伤机件。显微镜种类很多,零件和附件也很复杂,要想正确地掌握显微镜的用法,必须了解各种显微镜的原理和构造。

1. 显微镜的种类

显微镜根据使用目的、制造厂、制造年代,有许多不同的种类和型式。通常可分为光学显微镜和非光学显微镜两大类。光学显微镜还可分为单式显微镜(magnifier)(放大镜等)和复式显微镜(compound microscope)。单式显微镜由一块或几块透镜组成,构造简单,放大率不高;复式显微镜由目镜、物镜和聚光器等组成,构造复杂,放大率较高。在研究工作中最常用的是复式光学显微镜,这里先讲一讲复式显微镜,然后再讲单式显微镜(第 6、7 节)。

复式显微镜(狭义的显微镜),根据构造、放大率、各种零件的有无和使用目的的不同,有各种不同的种类和型式。普通的复式显微镜有:研究用显微镜、实验用显微镜、教学用显微镜、袖珍显微镜、旅行用显微镜和示教显微镜等等。普通显微镜大多装有单

目镜筒，但新式高级显微镜多附有倾斜式双目镜筒(图 1)。

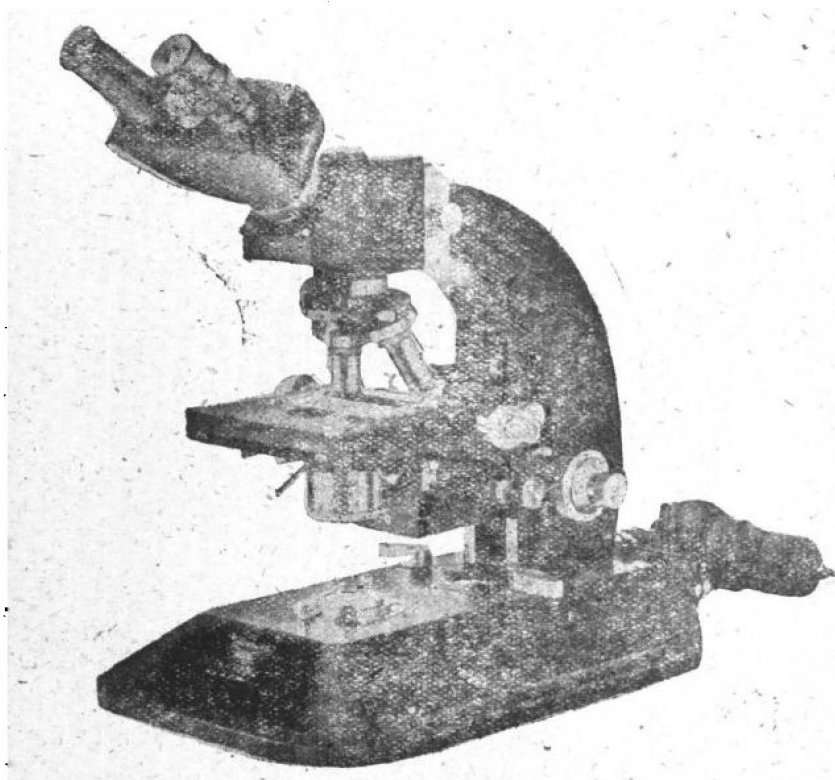


图 1. 新式显微镜。

这种显微镜装有倾斜式双目镜筒，摄影时安装直立镜筒。镜臂左右两侧各有一对共轴式镜台移动钮和粗动、微动调焦钮。光源设在镜脚后端，附有调整光度用的变压器。如把光线通过镜筒内导致聚光镜，则形成透射照明；如把光线通镜臂的一部分导致物镜上面，则形成落射照明，也能同时照射这两种照明光线。

此外，还有原理和用途完全不同的各种特式显微镜：检查金属或其他不透明物体时，使用金相显微镜(图 8)；检查矿石或岩石等时，使用偏光显微镜(第十一章)；在紫外线观察荧光现象时，使

用螢光顯微鏡(第十章);觀察極小物體如膠體粒子時,使用超顯微鏡;作相差觀察時,使用相差顯微鏡(第十二章);比較兩個標本的異同時,使用比較顯微鏡等等。

這些顯微鏡,有的更換零件或安裝附件就能改變用途,有的附有各種特殊裝置,用途很廣(萬能顯微鏡)。

使用普通顯微鏡只能作可見光綫下的觀察,但使用紫外綫顯微鏡(第十三章)就能作紫外綫下的觀察。上述各種顯微鏡都屬於光學顯微鏡;此外還有以電子顯微鏡為代表的非光學顯微鏡。電子顯微鏡近年得到迅速的改進,電子放大率也達到 5,000—250,000 倍左右,應用範圍很廣,便於分子結構、合金內部結晶、病毒等的觀察。

2. 顯微鏡的主要構成

顯微鏡種類很多,構造複雜,但是無論哪一種顯微鏡,都可分為光學系統和機械裝置兩大系統。光學系統通常由目鏡、物鏡和照明裝置(聚光鏡、光闌和反射鏡等)組成,這是顯微鏡的重要構成部分,它能利用光綫性質造成被檢物體的準確的放大象。機械裝置又叫做鏡座(stand),由各種精巧的機構組成,它能支持光學系統並能使它發揮充分的性能。

光學系統依靠機械裝置的支持和運用,才能造成被檢物體的放大象,也就是說,顯微鏡在光學系統和機械裝置的良好配合之下,才能發揮高度的性能。

3. 機械裝置

為了迅速而準確地調焦並使操作簡化,機械裝置必須具有精密而牢固的構造。詳細的分有:鏡腳、鏡臂、鏡台、鏡筒附着器、鏡筒和轉換器等。

A. 鏡脚(base, foot) 鏡脚是显微镜的基座，支持整个鏡体。为了显微镜在直立、傾斜或橫放时，都不会失掉平衡，鏡脚要有适当的形状、大小和重量。通常呈蹄鉄形，也有呈三角形、丁字形、橢圓形、圓形的。無論是哪一种形状，鏡脚下面都有三处突出部分以便在不平齐的桌面上稳定。

B. 鏡臂(arm) 鏡臂通常直立在鏡脚后側，支持鏡筒、鏡台、照明裝置和調焦裝置等。

小型显微镜大多有直立的鏡臂，鏡臂上端只有微動調焦裝置，沒有粗動調焦裝置。中型或大型显微镜，鏡臂的中央或稍靠下的部分設有傾斜关节(inclination joint)。作長時間的觀察时，作水平式的攝影、放映或描繪时，利用这个关节使鏡臂上半部向后方傾斜。

普通形式的显微镜，鏡檢时鏡臂靠近研究者，鏡台在前側，但某些新式显微镜(图 1、图 52)，此两者的位置完全相反。这种显微镜大多把光源設在鏡台下面或鏡脚內部，因鏡臂不妨碍操作，工作面积寬广。

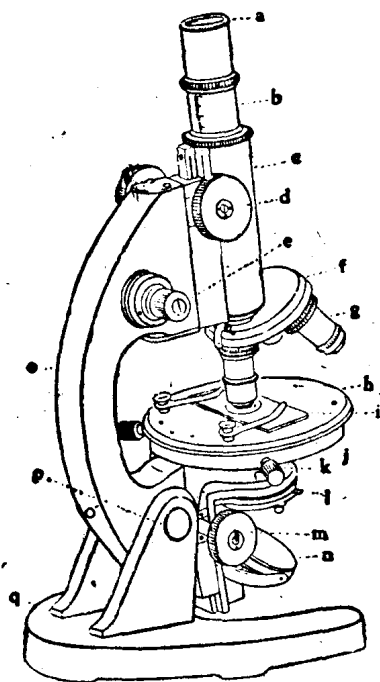


图 2. 中級显微镜的各部分名称:

- a. 目鏡; b. 抽筒; c. 鏡筒; d. 粗動調焦鈕;
e. 微動調焦鈕; f. 轉換器; g. 物鏡; h. 鏡台;
i. 标本; j. 片夾; k. 鏡台移動鈕; l. 聚光鏡和虹彩光闌;
m. 聚光鏡升降鈕; n. 反射鏡; o. 鏡臂; p. 傾斜关节; q. 鏡脚。

最簡單的显微镜，鏡臂上端有鏡鞘，其中插有鏡筒，沒有特殊

的調焦裝置。稍複雜的顯微鏡，這個部分內裝調焦裝置，外部露出粗動和微動調焦鈕。新式顯微鏡，這個部分與鏡筒受納器和轉換器連結，調焦裝置移到鏡臂下端。為了便於搬運並加寬工作空間，鏡臂大多制成鶴嘴形。

C. 鏡台(載物台)(stage) 鏡台是支持被檢物體的平台，多用金屬或硬質橡膠製造，也有用塑料製造的。有傾斜關節的顯微鏡，鏡台附着於鏡臂下端上部的鏡台附着器，與鏡臂一起傾斜。沒有傾斜關節的顯微鏡，鏡台固定於鏡臂中央稍靠下部分。無論顯微鏡的型式如何，鏡台面都應該與光學系統的光軸垂直。但有些作偏光實驗用的鏡台，能左右傾斜，也能上下前後移動。

鏡台表面平滑，中心有直徑 2 厘米左右的通光孔(鏡台孔)。某些顯微鏡，通光孔邊緣裝有環狀金屬片(圖 4)，當裝設聚光鏡、攝影或利用長焦距物鏡作廣視野觀察時，卸掉這個金屬片而使通光孔直徑擴大到 3 厘米。

通光孔後方左右側各有一個安裝片夾(clip)用的小孔。聚光鏡和虹彩光闌通常安裝在聚光鏡支架上，也有時固定在鏡台下

面。

鏡台分有：

a. 固定式鏡台 這是不能移動的鏡台，有方型和圓型兩種，大多安裝在小型顯微鏡。用這種鏡台鏡檢時，用手指移動標本(圖 3)。

b. 移動式鏡台和標本移動器 這種鏡台能前後左右移動，可分為下列幾種：

i) 旋轉式鏡台(revolving stage) 是直徑 10—15 厘米的圓形鏡台，圍繞光軸旋轉。在斜射照明下觀察物體時，測定角度或作



圖 3. 附有轉盤式光闌的固定式鏡台。

偏光实验时，可用这种镜台。作后二者的实验时，必须使用附有刻度盘的旋转式镜台，如附有副标尺更为方便。如果不要求很高的精密度，可把自制的分度圆盘安装在普通镜台上，用来代替旋转式镜台。制法如下：把厚纸截成圆盘，中心挖一个比通光孔小一点的圆孔，孔缘背面糊上环状厚纸片之后，把它固定在镜台上即可。如测定角度，就要用分度计在圆盘边缘划上分度。

ii) 带中心调节(合轴)装置 的镜台 这是镜台左右侧设有两个移动钮 (centering screw) 的旋转式镜台 (图 4)，操纵这两个移动钮就能使镜台旋转轴与光轴重合(47 页)。两个移动钮向同一方向旋转时，则前后移动；向相反方向旋转时，则左右移动。

新式显微镜也有安装滑动式镜台的，这种镜台没有移动钮，用手指加压就能使镜台前

后左右移动，移动范围在 18 毫米以内。

iii) 机械镜台 (mechanical stage) 可分圆形和方形两种。由上下两片组成，上面一片装有移动钮可向左右移动，移动距离为 6—8 厘米，下面一片装有移动钮可使上面一片前后移动，移动距离为 4—5 厘米。纵横坐标上都有标尺，读数为 0.1 毫米。这种装置可用于标本大小的测定，也可用于所需部分的标记以便以后的寻找。尤其在 高倍镜下系统地检查标本全面时，不可缺少这种镜台。某些固定式镜台，上面或侧面有 1—3 个小孔，以便安装标本移动器 (attachable mechanical stage)。利用这种标本移动器就

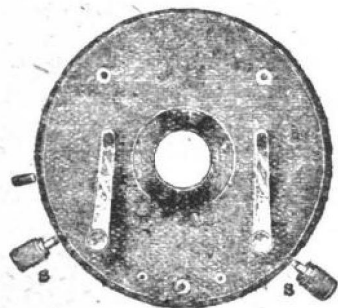


图 4. 旋转式镜台：

移动标本或调节中心时，旋转左右两侧的镜台移动钮B。通光孔后侧中央部分有两个小孔，在这个位置安装标本移动器。通光孔边缘装有环状金属片，装卸自在。

能發揮与使用机械鏡台同样的效果(图 6)。

游标尺的讀法：移动式鏡台和标本移动器都設有标尺。利用

这种标尺就可以准确地測定被檢物体的长度和角度。游标尺由主标尺和副标尺两个部分組成。測定长度的标尺：主标尺刻有 1 毫米的分度；副标尺刻有 $9/10$ 毫米的分度，讀数为 0.1 毫米(图 7)。測定角度的标尺：主标尺刻有 1° 的分度；副标尺刻有 $9/10^\circ$ 或 $19/20^\circ$ 的分度，讀数为 $6'$ 或 $3'$ 。

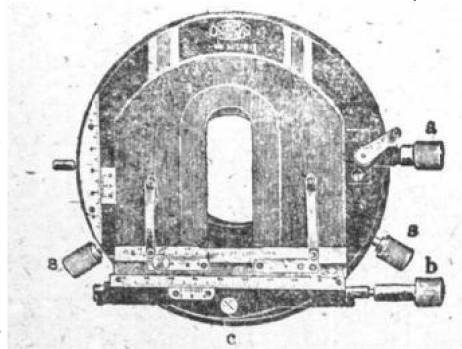


图 5. 机械鏡台：

a. 使上片前后移动的移动鈕；b. 左右移动用的移动鈕。三个标尺之中，中央的标尺通常用螺旋釘固定，只在檢查标本全面时，才使它移动；c. 固定鏡台上片用的螺旋釘。

普通显微鏡，鏡台不能上下移动，因而不适于利用落射(垂直)照明装置(vertical illuminator)观察不透明物体。用于这种目的的金相显微鏡，設有升降自在的鏡台(图 8)。

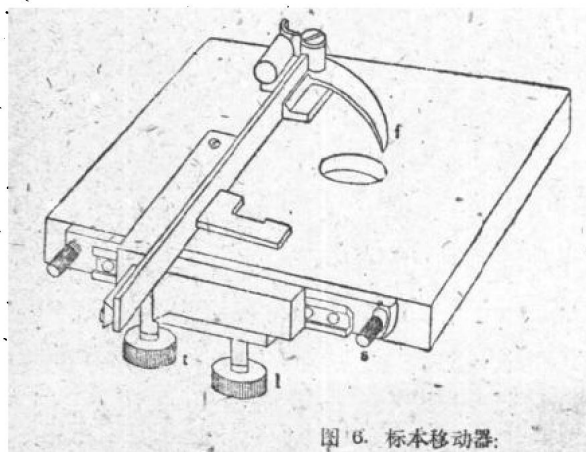


图 6. 标本移动器：

- l. 前后移动用的移动柄；
- t. 左右移动用的移动柄；
- f. 固定标本用的片夹；
- s. 装卸标本移动器的螺旋釘。