

百 科 小 叢 書

顯 微 鏡

費 鴻 年 著

王 雲 五 主 編

商 務 印 書 館 發 行



舊



由國家圖書館數位化、  
典藏

書叢小科百

鏡 微 顯

著年鴻費

編主五雲王

行發館書印務商





8327

# 顯微鏡

## 目次

第一章	緒論	一
第二章	顯微鏡之原理	八
第三章	顯微鏡之構造	一七
第四章	顯微鏡之鑑定	三〇
第五章	顯微鏡實驗室及其設備	三四
第六章	顯微鏡使用方法	四一
第七章	顯微鏡在普通生物學上之應用	四七
第八章	顯微鏡在組織學上之應用	五五



顯微鏡

第九章 顯微鏡在工業上之應用……

二

七二



# 顯微鏡

## 第一章 緒論

工欲善其事，必先利其器；學問之道，亦莫不然。試考科學發達之歷史，知學術之進步，端賴於器械之發明。有測定空間及時間之器械，而能知天體之位置及其運動之速度，有望遠鏡之發明，而能使刻卜勒 (Kepler) 創天體運動之法則；有擺 (pendulum) 之應用，而能使伽利略 (Galileo) 確立落體之定理。餘如化學上之有天秤 (balance)，而物質細微之分量，方能測定；物理學上之有測電計 (galvanometer)，而神祕不可思議之電，亦能顯其性質。生理學家霸勒夢 (Bois-Reymond) 應用此器，發見神經之中，亦有電之存在，遂開後世電生理學 (electro-physiology) 研究之端緒。器械對於學術之影響，於此可見一斑矣。

顯微鏡者，近代科學利器之一也。能擴大一切物像，以補吾人肉眼所不及，故其對於學術之貢

決定鋼鐵優劣之主要原因，而其檢查，如分析方法，頗難施行，近則應用顯微鏡，由其結構形狀，以斷定成分優劣，於斯業之前途，實有重大之關係，至於檢定紡織材料之纖維，或考察染色程度之優劣，均非應用顯微鏡不可，故顯微鏡者，實可謂為科學不可缺少之器械也。

雖然，顯微鏡之對於科學之貢獻，固如此之廣，而其由來亦非一朝一夕之事。考其最初之發明，惟史跡缺乏，已難追溯，古代希臘文記載，則西歷紀元一世紀之辛尼加 (Seneca) 氏，發見圓玻璃球，滿充以水，則能擴大物像之第一人，惟辛氏對於擴大物像之原因，以為由於水之作用，而未顧及玻璃球之作用。且當時常以此聚集光線之焦點而點火，並未利用其擴大之能力。直至後世，方用以窺測微物。其後培根 (Roger Bacon, 1214—1294) 氏由阿拉伯著名學者阿爾哈增 (Alhazen, 996—1021) 所著光學書中，得光學原理，遂製成雙凸透鏡 (convex lenses) 為後世單顯微鏡之起源。至於應用數透鏡，行相當組合，而成複顯微鏡者，當以十六世紀荷蘭人戎松 (Zacharias Jansen) 氏為最早。惟坡耳塔 (Porta) 氏在其著作中，已有組合凸透鏡及凹透鏡以擴大物體之記載，而伽利略又用此二種透鏡組成望遠鏡，故複顯微鏡或發見於戎松氏之前，亦未可知，但其構

造則雖經多數學者探究，尙未詳悉。據休克 (Heurck) 氏所著顯微鏡 (The Microscope, P. 223) 書中，關於戎松氏顯微鏡之記載，則爲一細長圓筒，兩端嵌以透鏡，一爲雙凸透鏡，一爲單凸透鏡，與望遠鏡無異。至於完全之複顯微鏡，當以虎克氏所著微物論 (Micrographia) 中所記載者爲最早。虎克氏之顯微鏡，在光學裝置及機械裝置上，均與近代顯微鏡之原理相近，且應用油燈，使燈光通過水球及凸透鏡而射於檢視之物體上，以助光線，而鏡筒附着於鏡柱，有螺旋可以上下；其接物鏡爲一強度雙凸透鏡，而接目鏡爲兩個平常凸透鏡製成，其擴大度約有一百倍。當時所謂英國式顯微鏡者，卽虎克氏顯微鏡 (第一圖) 也。

至一六八五年，則叨套那 (Torres) 氏最初用光線通過物體以射入鏡內；而一六九一年，波喃尼 (Bonanni) 一七零四年麻紹爾 (Marshall) 復應用虎克氏之集光鏡裝置，使光線通過透鏡而再通過物體，以射入鏡內。波氏之顯微鏡爲水平式，



第一圖

而麻紹爾者則爲垂直式，以是而顯微鏡之構造，又進一步。

至一七一六年，赫忒爾 (Herhel) 氏最初使用自由轉動之反光鏡，而顯微鏡之照暉 (illumination) 裝置，又進一步。至一七三〇年，則有三脚柱之卡爾拍珀 (Culpeper) 氏顯微鏡發現，最初用凹面透鏡之反光鏡，而鏡台中間開一圓採光孔，又附以集光器，漸與近代之顯微鏡形狀相接近。至一七五〇年左右，有克夫 (Cuff) 氏顯微鏡發現，其裝置形式與近代之顯微鏡，更爲接近矣。

十八世紀以後，光學器械之工業，逐漸發達，而顯微鏡遂更形進步。其中對於近代顯微鏡上，最有貢獻者，莫如德國則斯 (Zeiss) 及阿柏 (Abbe) 氏，如集光裝置之發明，及消色透鏡之製作，無不受賜於二氏，故其在科學之功績，實永遠不朽者也。

顯微鏡之發明，經此複雜之歷史，其應用方法，亦全賴多數學者之考究，方能達我人之目的。蓋無論何物，欲取顯微鏡以觀察者，必須先行適當之處理；不然，則雖有顯微鏡，亦不能收效。故使用是器，以從事研究者，必先知其原理，考其構造，更進而習其使用之方法，處理物體之技術，方不致望洋

與歎。本書之目的，即在敘述此種事項，以供初用顯微鏡者之參考，故關於技術上，亦祇以普通原則及最重要之方法為限。閱者能讀完此書，而欲作進一步之研究，則著者之所望也。



## 第二章 顯微鏡之原理

應用顯微鏡以行實驗，不可不明顯微鏡之原理，前已言及矣。惟其構造既頗複雜，故欲一一求其底蘊，斷非一二言所能盡明。本書僅將顯微鏡成像及擴大之大概陳述，至於精密之計算，則可參考光學專書。

### 第一節 光學法則

顯微鏡擴大之理，不外根據光學之法則。光學法則中關於普通光線之性質，約有四事，最為重要：

- (一) 光線有一定之廣狹 (breadth)。
- (二) 光線在同一媒質(媒質即通過光線之物質)中，必為直行。



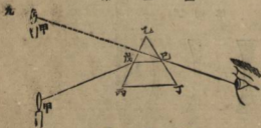
(三) 光線由一媒質至他媒質，而其濃度不同者，一部分必彎曲（稱曰曲折），而一部分反射，(四) 光線乃由多數曲折率不同之各色線合成。

反射與曲折二者，為光線之最重要性質，亦即顯微鏡所以成立之理。曲折之程度，隨光線所通過二媒質濃度之相差程度而定。例如玻璃之濃度，較空氣為大，故光線自空氣通過玻璃，不能依原有之方向進行，必行曲折（第二圖）。由玻璃出至空氣，則又曲折至與原方向相同，但其路徑與原光線已相距若干（圖中等於A、A'間距離）。因有此種作用，故物體在水底時，從上面望下，一若物體浮於水中也。

惟在三稜鏡，則光線通過後，與原有方



第二圖



第三圖

向不同，而向底面曲折，其彎曲程度，隨其濃度及形狀而定（第三圖）。

## 第二節 透鏡

眼鏡或擴大鏡，均由玻璃製成，或兩面為球面，或一面為球面，此種玻璃鏡稱曰透鏡 (Lens)。

透鏡分兩大類：均可視為兩三稜鏡合成者。一為底與底相接者，即凸透鏡 (convex lens) (第四圖)；一為

頂與頂相接者，即凹透鏡 (concave lens) (第五

圖)。因光線通過透鏡均向三稜鏡之底曲折，故光線

通過凸透鏡而集合，通過凹透鏡而擴散。此外種種透

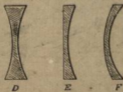
鏡，均以此二種為標準。

今若有平行光線通過凸透鏡 (第六圖)，必曲折而達於一點 F，稱曰焦點 (focal point)。

反之，若光線置於此點，則光線通過鏡後又各變平行。若平行光線由反對方向而來，則通過凸透鏡



第 四 圖



第 五 圖

又於他側合成一焦點，故每凸透鏡有兩焦點，而其焦點與鏡面之距離，稱曰焦點距離。

若光線通過透鏡之中心，而又與焦點相合者，稱曰透鏡之主軸 (principal axis)。凡光線通過透鏡之光學中心者，均可不曲折而直進。光學中心隨透鏡之形狀而定，不一定在透鏡之內。凡除主軸之外，任意通過光學中心而直行之光線，稱曰副軸 (secondary axis)，例如圖中之 *pe* 線。

至於凹透鏡，則平行光線通過後，常向周圍擴散而不集為實在之焦點，但將各擴散光線延長之，則在光線之一側，亦能集合於主軸之一點，稱曰虛焦點 (virtual focus) (第七圖)。

### 第三節 物像

如第八圖以燭代表一物體，在主焦點之外 (例如複顯微鏡之接物鏡)，則物體各點均有光



第六圖



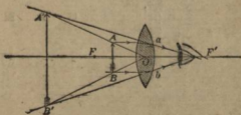
第七圖

線向各方面發射。今假定燭之頂端有二光線，一為平行光線，一則通過光學中心。平行光線通過透鏡，曲折而通過焦點。通過光學中心之副軸，不起曲折。故二光線必在一點相交，在此點結成燭之頂部之像。依同一法則，可以求得燭之底部之結像處。以是而結像之距離，可以決定。故其像為倒立，而其大小反減。

若物體立於透鏡與焦點之間，如（第九圖）由物體而來之平行光線，曲折後，集於一焦點 $F'$ 。置目在此處，必可見一大而直立之像。考其所以擠然，乃因副軸及曲折光線之延長虛線，在光線之一側相交而結像，故其透鏡愈圓，則其透鏡之焦點距離愈短，而其光線曲折愈甚，因而擴大度亦愈大。



第八圖



第九圖

第四節 單顯微鏡擴大之理

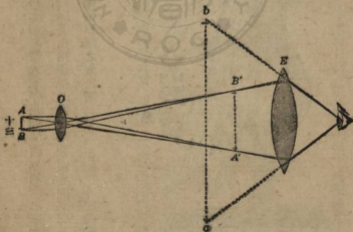
單顯微鏡（即普通之擴大鏡）之作用，即根據於上述之理，故其所成之像，較大而直立，（第十圖）。

用單顯微鏡，物體應置於與顯微鏡距離幾何之處，為最適宜，乃一應加考究之問題。從理論上言之，凡物體置於焦點距離以內，均能擴大，而與透鏡愈近者，擴大度愈小。惟擴大度愈大，則物像必生色彩，故以適中為佳。

### 第五節 複顯微鏡擴大之理

複顯微鏡之原理，可以第十一圖表示之。物體

AB在接物鏡之第一透鏡（實際上為數透鏡合成）主焦點以外，則生A'、B'之倒像。此像再以接目鏡



第十圖

視之而使物像在接目鏡焦點以內，則此接目鏡即與上述之擴大鏡作用相同，而成擴大之像。但實際上複顯微鏡之接目鏡，不能僅視為一擴大鏡，因其由兩個平凸透鏡接合而成，而其間甚密接，故由接物鏡而來之光線，不能即合，而必須先通過接目鏡之大透鏡 (field lens)，方能成像。故

實際上所視之像，乃在接目二透鏡之間，此種

接目鏡，稱曰消極接目

鏡 (negative ocular)，

普通所用，多為此式。蓋

大透鏡之作用，不獨可

使實像先行收縮，且可

使像更明瞭，而擴大度

更為增加也。



第十一圖

至於積極接目鏡 (positive ocular) 則其實像造於接目鏡之外，祇在低倍之顯微鏡用之。

## 第六節 顯微鏡擴大度之計算

凡顯微鏡之擴大，為接物鏡與接目鏡之作用。其擴大度可依下列方式計算之。

$$N = \frac{X}{f_1} \times \frac{L}{f_2}$$

式中  $N$  為擴大倍數， $X$  為映寫距離，或稱常視距離（定為二百五十種）， $f_1$  為所用接物鏡之焦點距離， $L$  為光學的筒長， $f_2$  為接目鏡之焦點距離，故前式可分為  $2 \frac{X}{f_1}$  為接物鏡，以擴大倍數，而  $\frac{L}{f_2}$  為接目鏡之擴大倍數。

今若所用接物鏡之焦點距離為八種，則  $\frac{X}{f_1} = \frac{250}{8} = 31.25$ ，即接物鏡擴大度為三十一倍餘。

又光學的筒長為百四十種，而接目鏡焦點距離為三十五種，則  $\frac{L}{f_2} = \frac{140}{35} = 4$ ，即接目鏡擴大度

顯微鏡

爲四倍。故  $Z = \frac{X}{f_2} \times \frac{L}{f_1} = 31.25 \times 4 = 125$ 。全倍數爲百二十五倍。





## 第三章 顯微鏡之構造

### 第一節 顯微鏡之種類

欲研究顯微鏡之構造，當先知顯微鏡之種類，大別之可分爲二：一曰單顯微鏡 (simple microscope)，一曰複顯微鏡 (compound microscope)。其區別在構造之有簡有繁，別無他故。

單顯微鏡，大多用以解析生物。最簡單者，稱曰擴大鏡，又稱蟲目鏡，乃以一枚兩凸透鏡造成。或嵌於長一寸許之角質圓筒之下端，可以掛於人目下，以便觀察物體。



第十二圖

或嵌於圓三脚架中，有螺旋可使較準透鏡之焦點。

至於普通所謂解剖顯微鏡 (dissecting microscope) 雖爲單顯微鏡之一種，但其形式介乎單複之間，且其透鏡可以由螺旋昇降以較準焦點，下端亦有反光鏡，故比擴大鏡更爲便利，其所用之透鏡，稱曰斯坦因赫爾消色式透鏡 (Steinheil's splanatic lense)，擴大度自十倍至四十倍不等。

複顯微鏡，卽普通所謂顯微鏡者是也。其構造亦精粗不一，可以分成多數之階級，本節所述，卽以關於此種複顯微鏡爲主。

## 第一節 器械之裝置

顯微鏡之器械之裝置，卽指鏡台及其附屬之一切裝置而言。鏡台之形式，本有英國式與歐陸式二種；但時至今日，英國式已次第消滅，而歐陸式已成通用之式。茲將其主要部分，列述於下：

架脚 (Jag) 爲顯微鏡之基礎，位於鏡之最下部，用重金屬製成馬蹄形或鼎足形 (英

圖式) 使支重點分於三處，而謀顯微鏡之安定者也。

鏡柱 鏡柱 (pillar) 位於鏡脚之上，為重金屬製成之直立圓柱。其中可分二部，由載物台以上曰上鏡柱，由載物台以下曰下鏡柱。上柱為中空之圓柱，外附鏡鞘，內嵌彈簧，頂端有微動螺旋。下柱為實質，較複雜者，則由屈伸自由之關節，與載物台相連結，故能使載物台以上之部分，作四十五度至九十度之傾斜，以便長時間窺鏡者，不致疲倦。反光鏡，亦即附着在此。

載物台 載物台 (stage) 為金屬製之黑板，突出於鏡柱之前，以便安放物體者也。形有各種，或方或圓，中有小孔以導光線，旁有彈夾 (clip) 以夾標本。在大顯微鏡載物台，有上下兩層，互相



第十三圖

嵌合，故能自由迴轉，並有螺旋以調節之。此種載物台，特稱曰可動載物台 (movable stage)。更精密者，則於可動載物台之上，再附以縱橫微尺器，由螺旋之作用，可使載物台移動時，知移動之相互距離。在研究運動性細菌時，最稱必要。

鏡筒 鏡筒 (tube) 爲堅固圓筒，由齒刻與鏡柱之附屬腕相連結，而由螺旋以使之升降。鏡筒除簡單者外，大都由內部兩筒製成。內筒可以伸縮，並由其表面之刻度，隨所需而伸縮。其長短常有一定，如製顯微鏡，爲百六十種。而賴意志製顯微鏡，則以百七十種爲標準。鏡筒之上端，安接目鏡，下端則有螺旋，以安置接物鏡。

較高倍之顯微鏡，往往在鏡筒下端，又有轉換器 (revolver)。此器由二部造成，一爲附着於鏡筒之部，一爲具三孔之金屬環。環可迴轉，使孔中所嵌之倍數不同接物鏡，能隨時轉至筒下，故可省改換接合器之勞。

昇降裝置 用顯微鏡以檢查物體時，隨所用接物鏡焦點距離之長短，及研究者之目力，而對物鏡須與物體有一定之距離。昇降鏡筒之裝置，卽爲達此目的。普通有精粗二法。粗法者，在低倍顯

微鏡鏡筒之外，常另有外鞘，以夾持鏡筒，故欲使此種鏡筒上下時，可用手握鏡筒，以昇降之。至於較複雜者，則另有齒輪以升降之。精法則不問顯微鏡之形式，均由微動螺旋 (micrometer adjust-head)，以司理之。螺旋位於鏡柱之內，頂端有一車輪，右旋上昇，左旋下降。若較精密者，則輪上另有刻度，凡迴轉一度，鏡筒上下百分之一種。

新式微動螺旋，在粗動螺旋之後側，為兩個小輪，露出於鏡柱之兩旁者。右輪之內側，又有輪環。環面刻分百度，每轉一度，能使鏡筒上下千分之一種。該裝置內部之構造頗繁。兩螺旋之中間，聯以螺旋軸。螺旋軸之上方，更有齒輪二枚，旋動器亦固着焉。旋動器之上，有緩動器，由旋動器之上下，而傳達於緩動器，再及於鏡筒。

初學者使用顯微鏡時，須略知接物對於玻璃片之大概距離。今就賴意志製品而論，則如下表所列：

對物鏡號數	焦點距離 (種)	鏡口 (種)	物體間距離 (種)
-------	----------	--------	-----------

油浸系	乾燥系			
	十二分之一	七	六	三
一·八	三·二	四·〇	一六·二	四〇·〇
一·三〇	〇·八五	〇·八二	〇·三一	〇·一一
〇·一七	〇·二九	〇·四二	五·五	三四·五

由此可知弱度之對物鏡，與物體之距離，當可豫測。而高倍接物鏡最宜注意，否則有與蓋玻片衝突而破損之虞。

### 第三節 光學之裝置

所謂光學之裝置者，即接目鏡、接物鏡、與反光鏡之三部是也。接目與接物兩鏡，均由透鏡配合而成，故透鏡之優劣，直接影響於顯微鏡之優劣甚大。茲先述透鏡之配合法，再及於接目接物兩鏡。

光學裝置之缺點 光鏡通過透鏡，而屈折分散，往往不能集合於一焦點，而發生朦朧現象。光學上即稱曰參差 (aberration)。參差有二種：一曰球面參差 (spherical aberration) 一曰色彩參差 (chromatic aberration)。前者爲光線通過透鏡時，其通過近於鏡緣之光線，或近於鏡心之光線，不能集合於一焦點，故必須設法除去通過周緣之光線，或以兩種不同之透鏡配合之，可以減少此弊。後者由於光線通過透鏡，起分光作用，而分成多色。各色之屈折率，既多不同，故其焦點亦不一致。因而在鏡中常生色彩，欲除此弊，宜以二種性質不同之透鏡配合。凡透鏡之已設法防除此球面參差者，稱曰消差透鏡 (aplanatic lens)。而已設法防除此色彩參差者，稱曰消色透鏡 (chromatic lens)。

造此種透鏡之原料，向來均用鉛玻璃 (flint glass) 或鈣玻璃 (crown glass)。二者屈折率相似，而分散率不同。故以鉛玻璃之單凹透鏡與鈣玻璃之雙凹透鏡配合，即可成消色透鏡。惟嚴密言之，則其配合法非常複雜。自阿柏氏等創製所謂耶拿 (Jena) 玻璃以來，則又併用螢石，而對於防除色彩，更進一步。凡用螢石而對於色彩完全消除之透鏡，特稱曰完全消色透鏡 (achromat-ic lens)。

the lens)

接物鏡 接物鏡 (objectives) 爲顯微鏡中最緊要之部分，故其製作須賴精巧之技術，其構造隨擴大度而分爲弱、中、強三級。弱度接物鏡，由一個或兩個完全消色透鏡造成，焦點距離爲五十至十六糎。鏡口角度爲三十五度以內，鏡口率數爲 $0.30$ 。而擴大度約爲五十倍。

中度接物鏡由三組透鏡造成，位於最前端者爲一單透鏡，稱曰先端透鏡 (front lens)。其餘二組，悉爲消色透鏡。擴大度全由先端透鏡而定。其餘則僅爲矯正其缺點之用。焦點距離爲十五至四糎。鏡口角度約百五十度以內。鏡口率數大約 $0.80$ 。而擴大度約爲四百倍。

強度接物鏡由四組透鏡造成。先端透鏡已達半球形



強度接物鏡

中度接物鏡

弱度接物鏡



以上。故嵌於金屬製之筒內，爲製作上最困難之工作。使用時亦當十分注意。焦點距離爲三至一。五種。鏡口角度約以百四五十度爲限。（現在雖有達百八十度者，但其效力仍不出此度數。）鏡口率數約一·四〇。擴大度爲一千五百至一千七百倍。

至於表示此各級之記號，各製造者均各有特別號數。例如賴意志製者有1號3號爲弱度，6號7號等爲中度。而1/12號等爲高度。其記號別無學理上之意義。

高倍接物鏡因焦點距離甚短，而鏡口（直徑）又小，常需極強之光線。故在先端透鏡與蓋玻璃之間，須加與玻璃同屈折率之透明物質，以防光線之逸散，而使物像更爲顯明。與玻璃同屈折率者，莫如水與油。故普通常用松油（cedar oil）一滴，加於蓋玻璃之上，使先端透鏡浸於油中，即可達此目的。凡高倍接物鏡之必須用水者，稱曰水浸系（water immersion），而必須用油者，稱曰油浸系（oil immersion）。

接物鏡之優劣，常隨其鏡口角度（öffnungswinkel）及鏡口率數（aperture）而定。所謂鏡口角度者，卽一定之等邊三角形之頂尖角度，卽物像通過鏡口而成三角形。故鏡口愈大者，角度愈

小；鏡口愈小者，角度愈大。所謂鏡口率數者，爲鏡口角度之折半數正弦（ $n$ ）乘接物鏡與蓋玻片間物質（即空氣水油）之屈折率所得之值（即  $\text{num. ap} = n \cdot \sin U$ ）。凡接物鏡之解像力，及區劃力，直接與鏡口率數成正比例。

接眼鏡 接眼鏡之效用，僅能輔佐接物鏡，而其自身之擴大度則不强。普通有積極性接眼鏡（positive ocular）與消極性接眼鏡（negative ocular）之二種。平常所用之接物鏡稱曰海耳史氏接眼鏡（Huygen's ocular），即消極性接物鏡之一種。鏡由長短不同之圓筒造成。上下兩端嵌以平凸透鏡，〔上端者稱接目透鏡（ocular lens），下端者稱集合透鏡（collective lens）〕又稱大透鏡（field lens）。〕平面向上，凸面向下，兩透鏡之間，尙有一金屬製圓輪，稱曰橫隔膜，用以減少透鏡周緣送來之光線，而防參差。其結像點，在接目透鏡與集合透鏡之中間。

至於積極性接目鏡，爲藍茲登氏接目鏡（Ramsden's ocular），亦由平凸透鏡二面造成。惟其凸面互相對着而接近，故其結像點在集合透鏡之下。普通用者甚少。

接目鏡之號數，亦隨製造者而不同，如賴意志製者有○I、II、III、IV、V等號。○號倍數最低，而V

號最高。

普通接目鏡之外，尚有稱曰修正接目鏡 (compensating ocular) 者，係一種特別構造之接目鏡，在使用全消色接物鏡時用之。其號數有 2、4、8、12、18 等，高倍顯微鏡使用之。

又有在普通接目鏡之上，另裝一回轉細針，為指示鏡內所示物像之位置等之用，於教授上頗為便利，稱曰指示用接目鏡 (demonstration ocular)。

反光鏡 (mirror) 反光鏡附着於鏡柱之下部，可以左右迴轉，使光線反射於鏡台之小孔，而通過物體。其鏡有平凹兩面。需弱光時用平面；需強光時用凹面。

遮光器 遮光器為調節反光鏡送來光線之用，普通附着於鏡台之下面，其形狀構造隨顯微鏡之種類而不同。約言之，有圓形遮光器、圓筒狀遮光器、及虹彩遮光器三種。圓形遮光器為一穿多數不同小孔之圓金屬版，可以隨意迴轉，使該小孔置鏡台之彩光孔下，以節製導入之光線，普通顯微鏡即屬於此種。圓筒遮光器則為一接目鏡狀之圓筒中，嵌有小孔之薄板，此板有數塊，其所穿之孔大小不一，故可隨需光之多少，而更換薄板。此筒插入載物台之下側，即可達遮光之目的。至於虹

彩遮光器，為高倍顯微鏡特有之裝置。式如螺旋，係由極薄之銅板製成，作卷疊狀。外束一環，環外附有一柄，可以任意左右，而使環內之薄板一離一合，以開閉孔之大小。

集光器 (Condenser) 集光器由二三個透鏡組合而成，乃集合返光鏡射入之光線，穿過採光孔，而達於接物鏡者也。蓋高倍顯微鏡之尖端透鏡既為極小，則其所需光線，亦不得不用極小之遮光孔。孔小則射入光線亦少，以之檢查細微物體，必難明瞭，故置此器於返光線與標本之中間，則光線集合而物像自明。高倍顯微鏡之所以常有此器者，正為此也。

#### 第四節 雙眼顯微鏡

雙目顯微鏡 (Binocular microscope) 為近時所創之一種顯微鏡，其構造與普通顯微鏡無甚差異。惟其接物鏡及接目鏡各為兩個，且應用三角鏡之理，而所映之像，為立像而非倒像。研究胚胎等時，用之最宜。最近高倍顯微鏡中，亦有用



第十五圖

雙接目鏡者，爲免除目之疲勞而作。其他一切作用，則與普通高倍顯微鏡無異。



## 第四章 顯微鏡之鑑定

顯微鏡之裝置，頗爲複雜，一經破壞，不易修理，價格又昂，故在購買時須加意鑑定。惟此非易事。若無學識經驗，必不能勝任。今舉鑑定上之要點，以供參考。

現今通用之顯微鏡有三種，概爲歐陸式，卽德國賴意志式，及則斯 (Zeiss) 與奧國賴哈特 (Richard) 式是也。三家製品之價格，各有不同。則斯所製者爲最貴，以其構造較精而擴大度又多也。賴意志製品之佳，雖不及則斯，但其式樣較爲美觀，且價格又較低，故現在用者甚多。惜乎時有不良之透鏡混入，故購買時尤爲注意。賴哈特雖價廉物美，但在中國不易購置，因無特約經售店也。又如美國之斯賓塞 (Spencer) 公司製品，近年在中國學校中應用甚廣，而其價值較廉，但究不及德國製品遠矣。

顯微鏡之接目接物兩鏡，最爲重要。故隨研究之目的，而須購相當之數目。普通如賴意志製者，

接物鏡乾燥系3、6、(或7)及油侵系1、12爲不可少。而接眼鏡爲I、III、或I、II、III三種。若能購一消色接物鏡及補正接目鏡則尤佳。凡此數鏡，連高倍鏡鏡台全體，價約在二百元以上。

鑑定顯微鏡之優劣，程序如下：

(一) 先視顯微鏡之器械之裝置，有無損傷及鐵鏽剝落等弊。

(二) 次檢視各機關堅固與否，以及大顯微鏡之屈曲裝置緩緊適宜否。

(三) 次取顯微鏡之接物接目兩鏡，用麂皮揩拭透鏡表面，然後裝於鏡筒內，回轉返光鏡及接光器，引入適宜之光線，檢視透鏡污點之有無。先旋轉接目鏡，若見污點亦隨之移動，則其污點必在接目鏡上無疑。反之若迴轉接物鏡，而污點隨鏡動，則污點必在接物鏡。既明污點之所在，然後將鏡折開，拭去透鏡內面之污物，拭後回復原狀，再行檢查。若猶有污點附着，則可知其必非塵埃，而爲透鏡之瑕矣。

(四) 次檢查視限明瞭否？面積廣大否？如審察一物，見其邊像朦朧，或回轉鏡筒之際，物像亦隨之移動，則接物鏡與接目鏡之各透鏡中心，非在一直線上。此種弊病，實爲顯微鏡所最忌。近

來製作所中常有廉價出售者，大多爲此種顯微鏡，不可不慎。若爲高倍顯微鏡時，尙須檢查兩鏡之透鏡中心與集光器之透鏡中心，是否成一直線。

(五) 以上各事均已完畢後，選多數同一符號之接物鏡或接目鏡，比較之。而擇其視限鮮明而廣大者。若見物像之周圍，有色彩雜生其間，或視限初爲明瞭，而次第由中心而周圍，變成模糊時，即可斷定其爲參差之現象，不可取以爲良鏡也。

(六) 若顯微鏡爲學生用之低倍顯微鏡時，則宜注意鏡筒與夾着鏡筒之鏡鞘間，能否保適度之鬆緊。過緊則插入費力，過鬆則易於滑落，均有損傷尖端透鏡及標本片之弊。故鑑定時，亦不可不注意及之。其法即將鏡筒插入鏡鞘中，視察物體既明後，經暫時再視物像，能否明瞭如前，苟朦朧失明，卽爲滑落之證。

(七) 昇降裝置亦爲顯微鏡之主要部分，宜檢查其螺旋迴轉時，鏡筒動搖與否。其法以接目接物二鏡，插入筒內，迴轉螺旋時，若見視限向左右動搖者，卽爲此弊，不可採用。至於微動螺旋之彈簧伸縮若何，可由迴轉螺旋時鏡筒上下有障害否定之。又備有新式昇降螺旋者，則宜檢查



其螺旋軸活動是否自如。

(八) 檢查顯微鏡之擴大度，可用接目鏡微尺器，或載物台微尺器，以測定之。或由轉寫器以測定其擴大度，然後再對照顯微鏡之擴大表，以選其準確者為要。

顯微鏡各部檢定上之要點，上述大略已備，鏡之能完此要旨者，已可稱為完全無缺矣。至於所以鑑定者，蓋因顯微鏡之構造精密，無論技術如何精良，製造上猶不免有缺點。故簡單顯微鏡損壞少，而複雜顯微鏡損壞多。今將顯微鏡製造上至難之點，述之於次，以供鑑定時之參考：

(甲) 研磨玻璃為透鏡，而保其適當之角度。

(乙) 研磨透鏡嵌入接物鏡之下端。

(丙) 嵌入後，定各透鏡之焦點距離，及中心成直線。

(丁) 微動螺旋器之彈簧。

以上四項中，前三項為光學裝置生障害之主因，而末一項為機械裝置中生障害主要之原因。

## 第五章 顯微鏡實驗室及其設備

### 第一節 總論

當用顯微鏡實驗時，最重要者，即光線之適宜與否是也。如對太陽，則光線過強，有損目力。若在暗室，則光線過弱，物影難明。欲得光線之適宜，必先選適宜之位置，此實驗室之所宜設備也。

實驗室建築之要點，以空氣流通，光線充足為主。故宜選擇四周廣闊，而通風透光之處建築之。多開窗戶，牆之內壁或用白色瓷磚，以便洗擦，或用粗磚，而塗灰砂，粉刷以石灰，以便常常刷新。屋之頂板宜用白色，窗上宜鑲無色之玻璃。若是之裝置，不患光線之不足矣。室中各方向之位置，最適當者為北窗；次之為東北窗，或西北窗。下距窗之一尺處，安置一台，毋使動搖，上置顯微鏡，即可實驗矣。實驗室東西兩向之窗，向光線射入，每嫌過強，故宜掛白布窗幔，可隨時張捲。南向之窗戶，亦須

施以同樣之方法。夜間檢鏡，僅用燈火之光線，多為黃色強光，實屬非宜；用青色玻璃板嵌入遮光孔，庶免強焰之直射也。

## 第二節 實驗桌

常用顯微鏡實驗之時，所用藥品如色素液等，易染於桌面，而生腐蝕，故顯微鏡實驗用之桌，必須用堅固之木材製之，如檜木、麻栗等類是。桌之四周，均加漆，惟桌面則浸以油，為保護起見，可塗以  
下列之藥料：

### 一 硫酸銅防蝕劑

硫酸銅	一〇〇克
氫酸鉀	五〇克
水	六一五厘
氫化亞尼林	一〇〇克

## 乙液

氫化亞莫尼亞……四〇克

水……六一五厘

## 二氫化銅防蝕劑

氫化銅……六七克

## 甲液

氫化鈉……六七克

水……一〇〇〇厘

## 乙液

氫化亞尼林……一五〇克

水……一〇〇〇厘

上述二種防蝕劑，均可隨意採行。但甲乙二液，皆須互用，先用毛刷塗甲液於台面，待其乾燥後，再塗乙液，如是約三次，乃靜置一日，俟桌面十分乾燥，而生結晶末，以微溫水洗之，更塗以熱亞麻仁油，則桌面自能光滑，而呈黑色，宛如黑檀木。再用肥皂洗去剩餘之油質，即可耐久不壞，如此，則色素及藥品侵蝕之害可免矣。

### 第三節 實驗用機

用顯微鏡實驗時，坐須端正，故應有合宜之實驗用機。其構造之適宜者，面為圓形，以木為之，裝三脚，有螺旋可以自由調節其高低。且有旋轉之裝置，可以任意左右回轉。惟如此之機，價格不廉，故不通用。尋常所用，祇得圓面，而裝三脚或四脚，無自由旋轉之構造者。機之高低，以在檢鏡時，兩目便於接近於接目鏡口為要。

以上所述為實驗室之主要裝置。惟在實驗時，除顯微鏡之外，常須有種種附着器具，如解剖器、切片器、孵卵器、熔蠟器、消毒器等，均為實驗室所應備，今述其大略於次。

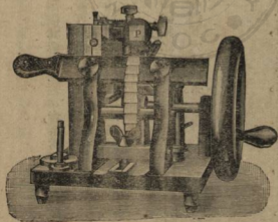
### 第四節 解剖器

解剖器 (dissecting apparatus) 種類繁多，或置於箱，或盛於盒。普通不可缺者，為鑷子、剪刀、針、刀等。使用後，均宜一一塗油，以防生銹。又有所謂解剖皿者，為長方形之框，大小隨所解剖之動物

大小而定。框底注適宜之蠟油，俟其凝固，以代護膜，且色黑而光滑，可以識別細微器官，普通採用之。蠟油之製法，為用黃蠟一兩，生蠟七錢，混合而成。

### 第五節 切片機

研究動植物之組織，除用手切之外，較精密之材料，非用切片機 (microtome) 不可。但種類甚多，難一一說明。今時最通用者，為邁諾特 (Minot) 氏迴轉切片機。其構造如第十六圖。圖中 T 為附着材料，而可以整方位之裝置；P 為附着所欲切片之蠟之處，X 為附着刀之部分，可以前後移動迴轉輪時，P T 之部分，上下而向矢之方向前進。以是而物體即成薄片而連成帶狀。此器乃將刀固定而物體移動者。又有令刀移動，



第 十 六 圖

而物體固定之形式。

## 第六節 孵卵器

孵卵器 (Incubator) 者，用以保一定之溫度，而孵卵，並培養細菌者也。故又稱曰定溫器。種類甚多，實際上所常用者，即石油燈定溫器是。該器以銅板或鋅板製成二重之壁。壁間充之以水，前面設二重門扉，內重嵌以玻璃，外重製以金屬。中間設有網架，可以安置材料。外設石油燈，並有溫度調節器，可以調節其燈火，調節器之原理，在於由溫度之高低，而開閉燈上之蓋，以節制燈火之熱度。此外更附驗溫器，以便測定器內之溫度。孵卵器之上壁，側面有小孔，為注入溫水之處。近來有電力孵卵器，乃藉電力以保持一定溫度者，惟其價值較昂，不易購置。

## 第七節 消毒器

消毒器雖有多種，而顯微鏡實驗上，以科和 (Koch) 氏消毒器為最普通。此器以銅板或鋅板

製成圓筒，直徑凡三十粉高一呎左右，外圍裹以毛巾，以防溫度之發散。器底盛水，上架有孔之架，以載殺菌之物件。當使用時，將底部充水，盛物品於格上，直接受炭火之熱，使水煮沸，發散其水蒸氣，經架面而上昇，接觸器內之消毒物。凡達攝氏百度約三十分至一時間，必可殺滅器內之細菌孢子矣。

## 第八節 標本片

標本片 (slide) 者，所以盛載及壓持物體之玻璃片也。普通分爲兩種，盛載物體者，曰載玻片 (slide)，壓持物體者，曰蓋玻片 (cover-glass)。因其應用之不同，而形狀亦異。載玻片，普通有關狹數種，而蓋玻片除大小之外，更有方圓之別。惟其厚薄則在  $\text{O} \cdot 1$  至  $\text{O} \cdot 17$  釐爲度，常有一定。玻片爲實驗上最要物品，故宜浸於酒精中，用時以布片拭之。若有樹膠附着時，則宜用偏蘇恩洗之。此外常有不可不備之器具如下：小洗濯瓶，小玻璃瓶，酒精燈，液量計，試驗管，試驗紙，三足架，燒皿，時計皿，漏斗，乳棒及乳鉢等。若備顯微鏡照相器尤佳。至於藥品則隨研究之目的，而各有不同，可參考下述數章。



## 第六章 顯微鏡使用方法

顯微鏡之構造裝置，無論其如何整備，而其顯像之明否，全賴檢視者之手法如何。此顯微鏡使用法之不可不講求也。然顯微鏡之裝置，既有繁簡不同，使用法亦不得不因之而異。今特將普通顯微鏡與高倍顯微鏡之使用順序及法則，略述於下，以供初學者之取效焉。

### 第一節 普通顯微鏡使用法

普通顯微鏡之使用程序如次：

(一) 先定實驗之位置，而後將顯微鏡由箱中取出，安置於台上，用柔軟麂皮，或潔白棉布，仔細拂拭鏡之各部及透鏡表面，以爲檢視之預備。

(二) 拔起鏡筒，先取低倍接物鏡置入鏡筒之下端，裝於鏡鞘。而後以接目鏡插入於筒之上端。

(三) 迴轉反光鏡，引光線入鏡內，至明晰爲度。遂又迴轉遮光器之孔，加減其大小，務使光線適宜，合於檢查者之目的。在普通六七百倍之顯微鏡，常取全面呈淡青色或淡灰色爲適度。

(四) 將製成之標本，安放於顯微鏡載物台上。

(五) 用左手按住鏡腳，右手輕握鏡筒，徐徐下降，接近標本面，約距離一玻片許之間隙而止。再向上移動，至略見物像而止。

(六) 用右手旋轉微動螺旋，略使鏡筒昇降，以完明視之距離。因其右旋爲進，左旋爲退，故若左旋時所見者爲別物，右旋時所見者卽實體矣。爾時復用左手將標本前後左右微動，使映出鮮明之物像可也。

(七) 凡用顯微鏡檢視物體，最初裝置低倍擴大度接物接目鏡，以行全體之視察，而後更換高倍擴大度者，以行局部之精細檢查。

(八) 檢視完畢，先去接目鏡，再拔鏡筒，取去接物鏡，拂拭後安置於箱內。

## 第二節 高倍顯微鏡使用法

高倍顯微鏡中，以使用油浸系接物鏡為標準，述其使用順序於下：

(一) 檢視預備 先定其應用之光學裝置。普通油浸系為則斯製之接目鏡 2 號，與接物鏡 1 $\frac{1}{2}$  號。賴意志製接目鏡 II 與接物鏡 1 $\frac{1}{2}$  號。其他視察細菌之形態運動，或細胞內部之精細構造等，則尚須更換較高倍之接物接目鏡也。

(二) 安置標本於載物台 預製切片標本或細菌標本，注松油 (Cedar oil) 一滴於蓋玻片上之中央。而後取之安放於載物台上，令油滴之部分，直對接物鏡之透鏡。

(三) 浸接物鏡尖端於油滴中 仔細注視油滴，然後迴轉粗動螺旋，下降鏡筒，使尖端透鏡達於油滴中。復向反對之方向迴轉，使鏡筒上昇，而接物鏡與油滴相隔若干距離。

(四) 引導強度光線 迴轉反光鏡，引導光線。全開遮光器，以圖多量光線之射入。

(五) 旋轉粗動螺旋 用左手按住標本，右手旋轉粗動螺旋，使筒下降，至物像略有影像而止。

(六) 旋轉微動螺旋 當旋轉粗動螺旋後，立即旋轉微動螺旋，使物像達明瞭之境。同時更略動反光鏡，並使集光器昇降，以調節光線之射入，而物像自能纖維畢露矣。

(七) 檢查後鏡筒上舉 用高倍顯微鏡檢視物體時，接物鏡透鏡與標本片相距之間隙頗微，一旦誤觸鏡筒，則透鏡與標本終不免於衝突損壞，此所以檢畢時，必須旋轉粗動螺旋，使鏡筒充分上昇，以免此弊。

### 第三節 顯微鏡使用上之注意

前節所述為使用顯微鏡之普通順序。若依法則，養成習慣，自能操作敏捷，而無損傷破壞之弊。惟尚有數端，為初學所宜注意者，列舉於下，以供考察。

(一) 實驗顯微鏡之時，須兩目合作，庶可隨時交換，以行長時間之檢視，否則一目開視，一目閉合，一手動作，一手閑置，勞逸不均，事多牽制，不第有害檢查，即精力亦感偏損，斷難持久。故初學者宜兩目並開，兩手並用，應練既久，自成習慣。至若不得已而用一目時，與其取用右目，不如用左目；否則轉寫繪畫時之不便，有不可勝言者矣。

(二) 使用顯微鏡，最宜清潔，故對於顯微鏡之各部，均不可染以藥液。若鏡部透鏡之內面有污

點，須善爲拆開，拭去之。但事宜周到，切勿慢不經心，以致改變透鏡之舊位，而各中心不能成一直線，妨害檢查也。

(三)用高倍顯微鏡行實驗，常取油浸裝置，實驗完畢時，必須將接物鏡之尖端透鏡，用吸水紙微壓之，而後以極細質之脫脂綿，浸以本品(Benzene)少許，而除去其油質。若染以標本片之樹膠時，則以西羅兒拭之可也。

(四)顯微鏡擴大物像之理，既如前述其所成之像，倒置而非豎立。故當實驗時，欲視其右，宜將標本向右移動。欲視其左，宜將標本向左移動。欲前必後移；欲後必前移。初次實驗手法不易純熟，若經練習稍久，便能移動自如也。

(五)初用顯微鏡時，最危險者，卽爲接物鏡與標本片衝突一事。欲避此弊，宜兩目注視接物鏡與標本片之間隙，而用手把持鏡筒，或轉粗動螺旋，使其下降，至相當距離。然後再用微動螺旋使其上昇，以物像顯明爲止。檢視中左手宜常按住微動螺旋，以便隨時使鏡筒上下。近時有顯微鏡降至一定距離，不能再降者，可免與標本片衝突之虞，尤適於初學者之用。

以上諸事，均爲實驗上所當注意之點，熟悉此項要訣，則自無困難矣。



## 第七章 顯微鏡在普通生物學上之應用

生物學之應用顯微鏡最廣。其應用方法，隨使用之材料，及觀察之目的而異。茲舉最重要之數種方法，略述於下。

### 第一節 原生動物觀察法

欲採取原生動物，以行觀察，應先從事培養。其法以污濁池水，置玻璃盆內，中間混以腐敗水草，或加稻草，放於有光而溫暖之處。經一二星期後，則水面生一薄膜，用水管吸取此液一滴，置於載玻片上，加蓋玻片，即可置於顯微鏡以窺其有無原生動物。若見有變形蟲 (Amoebæ) 等時，則將原有液體分成數盆，再加污水，則其繁殖必速。如欲裝成永久標本，則於載玻片上先塗布黏液蛋白液，然後以含原生動物之液體一點，加於其上，俟水分蒸發後，將此玻片浸入奇爾遜固定液（見下節）變

分鐘，用水洗滌後，浸入次第增濃之酒精中，然後依切片方法，染色固封可也。至於多數原生動物，除用此法採集之外，或由蛙之腸中及兔之血液中亦能採得之。

### 第一節 海綿觀察法

將石灰海綿一小塊，加五%之氫氟化鈉液，煮數分鐘。或用刀切成薄片，即可以觀察針刺之形狀。至於細微之淡水海綿，則可用普通固定液固定之後，再用適當染料染色更佳。

### 第三節 浮游生物之採集及固定法

所謂浮游生物 (Plankton) 者，係指普通浮游於水中之微小生物而言。欲採集浮游生物，可用細絹製成圓錐形之袋，袋口徑約一尺餘，而深約二尺。袋口附以長繩，將此袋浮於水中，隨走隨拖，則水中生物，即可集於袋內。然後將袋內生物置於瓶中，加五%福爾馬林液，靜置數分鐘後，略行攪拌，即可保存，其中微細者，欲裝成標本片時，可先洗數分鐘，再用稀海麥托克霖液 (Hematoxylin)



染色三十分鐘至數時間，然後將染色液洗去，而浸於甘油 (Glycerin) 中。另以凹窩載玻片，可以熱氣，使窩中濕潤，加甘油用吸水管將物體移入窩內，上覆蓋玻片，再用水泥 (Cement) 封其周圍，即可永久保存，供顯微鏡觀察之用矣。

此法不限於浮游生物，如水虱及透明之各種小幼蟲，以及水蠅 (Hydra) 等，均適用之。

#### 第四節 小甲殼類處理法

小甲殼動物，如水虱 (*Daphnia*, *Cyclops*, *Oypria*) 等，可先將其連水置於凹窩載玻片之窩中，微微加熱以殺之。吸去其水，整理其位置，然後以甘油膠 (Glycerin-jelly) 充滿凹窩，上覆蓋玻片，用水泥封其周圍，甘油膠之製法，為以膠 (Gelatin) 六克，加水四十二厘，約半小時後，略加微熱，再加蛋白五厘，加熱半小時 (不可過攝氏七五度)，則蛋白凝固而沈澱，而膠質中之微細塵埃，亦可除去。然後加甘油五〇厘及石灰酸二克，即成膠狀物質。用時宜先以溫湯使其溶解。甘油膠比純甘油為佳，因其在平常溫度時亦能凝固也。

## 第五節 渦蟲之處理法

渦蟲 (Planaria) 常在溪水中石塊之底面。先將此蟲置於微溫水中，俟蟲體伸長時，急以昇汞液注入，約經三十分鐘，以水洗滌，然後移入略加五〇%酒精中，用稀海麥托克西林液染色。再水洗之，而移入三五%五〇%七〇%酒精，各十五分鐘。如染色太濃時，可於酒精中加稀鹽酸一滴，以去色。然後以此蟲夾於兩玻璃片間，使其扁平而延長，再入九五%酒精一晝夜，純酒精一小時，而羅兒 (Xylol) 數小時。俟其透明時，於載玻片上加樹膠，而以此蟲置於膠中，上加蓋玻片，用夾夾住，俟膠質乾燥後，則將缺取去，即成一永久標本片。

如寄生於牛肝之吸蟲，以及各種纖蟲，均可依照此法處理，作成標本片，以供顯微鏡之觀察。

## 第六節 昆蟲之處理法

昆蟲之中，如蚊、蚜蟲等微細動物，可先以哥羅芳漠 (chloroform) 或氰化鉀殺之，然後浸於

松油 (Goshal oil) 一小時，用吸水紙吸淨，仔細將蟲之肢脚展開，然後如前法用樹膠固封之，可也。又如昆蟲之有硬殼者，以及蠕蟲等，則宜浸於一〇%之氫氰化鉀液中，煮沸之，至其變軟而透明時，再用松油浸之，而以樹膠固封。昆蟲之幼蟲，則宜用凹窩載玻片。其方法或依用樹膠法，或依用甘油膠法。

以上各項，爲用顯微鏡觀察小動物之大概方法，至於欲檢視各器官之組織構造，則可參考本書第八章之組織學上方法。

## 第七節 細菌觀察法

觀察細菌有三種方法，或塗於蓋玻片，或懸滴於凹窩玻片，或將含細菌之組織切片，而行觀察，此三法中，前二法應用最多，第三法應用較少。

(一) 塗於蓋玻片之方法 先以白金線彎成圓圈，在火焰中燒紅，俟冷後，入含細菌之培養液（牛乳血牛肉乳等）中，取起少許之液體，塗於預先消毒之蓋玻片。俟其乾後，將此玻片在火焰上通

過二三次（塗細菌之面向上）。次將此片塗細菌之一面，加染色液數滴，約五分鐘後，用水洗之。染色液可用科和（Koch）氏液。製法爲 *gentian violet* 之酒精飽和液 1 〇 喱，加 *anilin water*（即 *anilin oil* 四喱加水九 〇 喱又加酒精二 〇 % 而成）越一晝夜即可使用。科和氏液染色洗滌之後，再用格蘭模（Gram）氏液染之（*Iodine 1 gr., iodine of potassium 2 gr., water 300 c.c.*）。俟其色呈黑色，入九五%酒精中。俟紫色幾盡消失，用水洗之，入純酒精液十分鐘，再入西羅爾中，而用載玻片加樹膠固封之，或於染色後再染 *Bismack Brown* 液（五百分之一溶液），五至十分鐘一次更佳。

(一)懸滴法 預將凹窩載玻片及蓋玻片，用火消毒，以含細菌之培養液一滴，注於蓋玻片上，如培養液爲膠質而凝固者，可略加生理食鹽水（即 〇・七%食鹽水），以此滴倒懸於凹窩，即可用顯微鏡觀察矣。此法在觀察細菌之運動，及孢子發生等，常用之，或用凡士林（*Vaseline*）封其周圍亦可。

(二)切片法 細菌在組織中用切片方法觀察者，可依照下節之組織標本製造法，惟其染色

宜用上述之細菌染色法。

(甲)海膽之人工受精法 欲用顯微鏡以觀察動物之受精現象及分割作用，用海膽 (*Scap.urchin*) 爲最便。海膽生於海岸之石塊，形如毛粟，頗易採集。當七八月之時，海膽成熟，可採取其雌雄各若干，用刀切開，以吸水管吸取卵巢或卵丸（形狀相同）之液汁，各置於盛海水之玻璃皿中，製成白色極稀乳漿，次將雄之乳漿一二滴加於盛雌之乳漿之皿內，略行攪拌，則以此液一滴置於顯微鏡下視之，即可見多數精子圍繞於卵子之周圍。約五十分鐘後，而卵子分割作用開始，而一分二，二分四，在顯微鏡下可以逐一觀察矣。

(乙)雞胎之處理法 欲觀雞胎之發生情形，宜以受胎之雞卵置於孵卵器中，保持攝氏三十九度（即華氏一〇二度）之溫度，不可使其超過四十度以上，否則雞胎即死。經數小時以後，取出數個或每經一日取出數個，以觀察其發育之程度。觀察之法，用左手橫握雞卵，右手用刀柄輕輕在卵之中部擊之，使其殼生裂紋，以卵浸於溫湯中（食鹽水），用鑷子將殼徐徐取去，即見卵黃之面，有一小黃輪，是名胎盤 (*blastoderm*)，雞胚即在此處，孵卵器中置時較久者，則其輪亦大，可以

肉眼見胚體，後用剪刀將輪之周圍剪開，使胚盤與卵黃分離，後以鑷子輕輕夾住圓輪之周緣，移至食鹽水中，另以載玻片托持胚盤移至固定液（見下章），即可依切片方法處理之。若祇欲觀察其全體形態者，則可省去切片之一步，而行固封法。

至於植物方面，用顯微鏡以觀察者，大多為植物組織，故須先行切片，並經種種處理。可參考下章所述之技術。如海藻之類，則可不用切片，祇用上述之甘油法固封可也。

此外又有組織培養法 (*Tissue culture*)，乃以動物胎體之組織一小粒，置於蓋玻片，又加淋巴液或生理食鹽水一滴，使其懸垂於凹窩載玻片，即可觀察其組織上之變化。但其法雖簡單而實際上頗不易成功，欲從事此種研究者，不得不有種種預備知識也。

## 第八章 顯微鏡在組織學上之應用

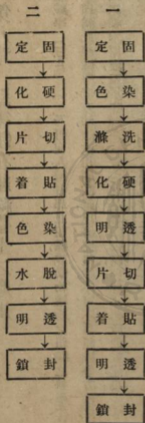
組織學 (Histology) 乃研究人體各部之組織，或動物植物之組織之科學，生物學上最重要之方法，即爲此組織學之方法，故欲用顯微鏡，以研究組織，不可不悉組織學方法之大要。本章所述，乃組織之根本原理，至於詳細之處，宜求之於專門書籍，非此小冊所能盡述也。

### 第一節 材料之選擇

凡研究動植物之細胞，或各部組織，均須選擇適當之材料，方可得圓滿之結果。如研究細胞，則宜選擇細胞較大之物體。最簡單之材料，爲洋葱之薄膜，用手剝取此膜，加適當染料，蓋以蓋片，即可見細胞之大概形狀。又如口內黏膜表面，採取少許，亦可供實驗。若欲見細胞內部之構造，則可取新發芽之蠶豆根，用適當方法固定，再依後述切片標本製作之順序造成。動物方面，以兩棲類如蛙、鯢

魚等爲最良之材料。若研究各機關之組織，動物方面以哺乳類及兩棲類爲最佳。惟其材料均以新鮮爲要；否則其組織已起變化，所得結果必難正確也。

材料選定後，用以研究，必先有一定之處理。其處理之主要目的，在於此物體切成薄片而設法使之透明，合於顯微鏡之考察，同時使各部之形態顯現，故必須染以適當色料，其順序大略有二種，列舉如下：



至若血液及細菌之類，可不必切片，故可省去幾許手續。



## 第二節 屠殺及固定法

研究動物屠殺之情形，影響於研究之結果者不少。殺小動物，如昆蟲等，可用熱湯，辟克列酸，或醋酸毒之，或納於氰化鉀之瓶中殺之。熱湯，辟克列酸，與醋酸，兼有固定之作用，故凡研究材料，浸入其中，俟冷後取出，用十度以內之酒精，洗滌之後，置於二〇%之酒精中，經一晝夜，俟酒精變淡黃色，再更換之；直至酒精之色不變，即可保存矣。

殺兩棲類時，用剪刀切斷其頭椎，將針從創口插入頭蓋腔及脊椎管，以破壞其腦及脊髓。殺哺乳類時，宜用哥羅芳謨 (chloroform) 或抱水克魯拉兒 (chloral hydrate)。務須不與動物以十分之苦痛，故愈速愈妙，切不可用殘酷之方法，最為緊要。

動物殺死後，即切開其軀體，用刀切取某器官之一小塊，置於適當之液體中，以固定之，固定或行於殺死之後，或與殺死同時施行之。二法無分優劣，惟較大之動物，宜用前法；後法則宜施於固定液之有殺死作用者時。

固定組織之藥液，稱曰固定液 (Fixing fluid)，種類甚多，不勝枚舉。其目的在保持組織固有之形狀，而又可使組織各部起光學上之差異。故選擇此液，當擇其效力迅速，而使組織不起收縮或膨脹，不致溶解，不害貯藏，而又能對於染色不起障害者為要。惟一種物質，能兼具此多數要點者，不易多得，故固定液常由數種原料，混合而成。現今應用最多之原料為澳斯密酸 (osmic acid)，又名銻酸，酪酸 (chromic acid)，重酪酸鉀 (bichromate of potassium)，辟克列酸 (picric acid)，昇汞 (corrosive sublimate)，醋酸 (acetic acid)，福爾馬林 (formalin) 等。而澳斯密酸雖為細胞學上最有力之固定劑，但其價值甚貴，(現價每克約銀三十元)。不易購置，非專門研究者，使用甚少。重酪酸鉀固定小片成績甚佳，惟透明乏力為其缺點，今舉其最主要之混合固定液於下：

(一) 福爾馬林食鹽水液

福爾馬林(即坊間所售者)

五·厘

七%食鹽水

二〇·厘

此液在固定液中為最普通，而成績又極佳良者。細胞學上常用之。固定時間約一二日，再以

水洗滌之。

(二)佛留敏氏液 (Flemming's solution)

1% 酪酸 (chromic acid)

十五分

2% 澳斯密酸 (osmic acid)

四分

冰醋酸(臨用時加下)

一分

此液用於研究細胞核，最為適宜。材料務必切成極小。約浸二十四小時至一星期後，用流水洗滌。

(三)增刻氏液 (Zenker's fixing fluid)

重酪酸鉀 (bichromate of potassium)

二·五克

昇汞 (bichloride of mercury)

五·〇克

硫酸鈉 (sodium sulphate)

一·〇克

水

100 厘

冰醋酸(臨時加下)

五厘

在此液中約浸二十四小時至四十八小時後，即用流水洗滌，然後入於漸次增加濃度之酒精中，惟宜滴加碘酒液，俟此酒精液所染之碘酒色澤，不變時為止。否則恐後有昇汞之沉澱，發生於組織中，此液在固定神經組織時用之最多，但浸時宜長。

(四)昇汞硝酸 [季爾辛 (Gillson) 氏液]

昇汞

五克

硝酸(八〇%)

四厘

冰醋酸

一厘

酒精(七〇%)

二五厘

蒸溜水

一二〇厘

約浸十二小時，可以見效。材料細微者，約六小時，再用水洗滌。

(五)波印 (Bonin) 氏辟克列福爾馬林 (picro-formol) 液

辟克列酸(水中飽和液)

七五分

福爾馬林

二五分

冰醋酸

五分

約浸二十四小時，即可以流水洗滌，而入酒精中。

以上所述，爲固定液中之最普通者，至於其他尚有種種液體，因篇幅有限，不能具述。惟不論用何種固定液，對於固定組織時，宜注意下列諸點：

(一) 固定前，先宜準備藥液，務使物體死後，至液入固定液之時間不長，且不可先用水洗滌。  
(如附有血液等時，宜用食鹽水洗之。) 至於固定液之容積，至少須有物體之五〇至一〇〇倍。

(二) 固定液常須透明，若物體浸入液中後，漸起溷濁，宜改換新液。亦有浸漬不及一時，即起溷濁者，故不可不加以注意。

(三) 固定物體以小爲貴，通常不得過二立方厘米以上。若固定大物體時，當以小刀切數口，使藥液易於滲入。

(四) 物體浸藥液中，必須四周離空，勿與器皿相接觸。故器底能敷絮一層爲最佳。

固定爲顯微鏡學上最重要之處理，其得宜與否，對於結果所生影響甚大。故在組織學方法中，

最當注意。且固定時間，須由經驗而定，故尤以熟練爲第一要件。

### 第三節 洗滌與硬化

組織固定之後，必須以流水或酒精洗滌之，使藥液不至流於組織內，而爲以後各種處理之障礙。用流水洗滌時，宜以極細之水管將水流入於盛組織之瓶中，切不可使水之壓力，及於組織。其時間約一日爲度。洗滌之後，則移入酒精中，漸次改用較濃之酒精，而使組織得以硬化，以便後來之處理。

硬化法之順序，先以洗過之組織，置於三〇%或五%之酒精中。約經一日再移於七〇%酒精中，再經一日或半日而移入於九〇%酒精中，即保存於此液中。以後如該組織使用時，再順次入九五%九八%，以至於純酒精中一晝夜，即可行以後之切片處理法。置於純酒精中，爲硬化最後之手續，稱曰脫水法 (Dehydrating)。普通店中所售之純酒精，往往爲九八%之酒精，故宜以硫酸銅之結晶製成細末，用火灼之，使其變成白色後，置於酒精瓶中，而密封之。則水分被硫酸銅吸收，而硫

酸銅末恢復原有之色澤。然後將粉末再用火灼之，再置於瓶中，俟其細末不再變色時爲度，其酒精即成純酒精矣。

如骨及齒牙之類，含有石灰質，故不適於切片，宜先用弱酸浸漬之，是爲石灰質消除法 (Decalcification)。酸類之中，常用二至一五%之硝酸水溶液。或於一〇或一五%食鹽水中，加純鹽酸一至三厘，約浸一日夜後，用水洗滌，略加鹼水以中和之。俟酸性全失，即可貯於九〇%酒精中。

#### 第四節 切片法

供顯微鏡研究之組織，既不透明，故必須切成薄片，方可觀察。是以有切片法。切片法之中，最簡單者，爲徒手切片法 (Freehand section)。如植物之莖、葉、芽等，常可應用此法。其法甚簡單，惟其技術，全賴熟練，左手握住已固定之材料或新鮮材料，右手用剃刀將材料向內切薄片，即成。其後用染色法等處理，即可固封，惟欲得極薄之片甚難。或以接骨木縱剖之，將葉片等嵌於剖面間，則可得較薄之片，但較之後述二種切片法，究屬幼稚多矣。在動物組織方面，則以硬化之肝代接骨木，以已

固定之材料嵌於中間而切之，亦可得薄片。用徒手切片之處理方法，可省若干手續。今以新鮮薔薇之幼莖為例，先將此莖用手切片後，依下列手續處理之：

(一) 切片置於九五%酒精中，閱時二〇至三〇分鐘。

(二) 置於沙付拉寧液 (Saffranin) (一克加九五%酒精五〇厘水五〇厘) 十二至二十四小時。

(三) 置於五〇%酒精中，約二至十分鐘，(以色彩漸鮮明為度)。

(四) 水，五分鐘 (更換數次)。

(五) 戴拉菲氏海麥脫西林 (Delafield's Hemat) 製法見後，三分至三〇分鐘。

(六) 水，五至二十分鐘。

(七) 五〇%九〇%酒精，各一分鐘。

(八) 一〇〇%酒精，五分鐘。

(九) 西羅兒，一至五分鐘。



(十) 樹膠 (Balsam)。

(十一) 蓋玻片固封。

經以上之處理後，其組織已染兩種色彩，即可供顯微鏡檢查矣。惟染色液種類甚多，或用其他染料，亦無不可。可參考以後所述染色一節，自能明瞭矣。

至於用他種物質先行包埋而切片之製作法，又有二種：一為以蠟為包裹物而切片者，稱曰拍拉菲恩法 (paraffin method)。一為以賽洛亭為包裹物者，稱曰賽洛亭法 (celloidin method)。賽洛亭者，為製綿花火藥之部洛亭 (collidin) 物質，更精製而成，拍拉菲恩則為蠟狀之細微結晶體，其溶解度各有不同。惟二法順序不同，故當分別述之。

(甲) 拍拉菲恩法 用拍拉菲恩以為包裹時，當先使脫水之物體透明。其法乃以組織置於純西羅兒 (xylol) 中，約三十分至五六小時，即可。然後移入於西羅兒與拍拉菲恩之混合液，再入於已溶解之拍拉菲恩中一晝夜以上。拍拉菲恩之熔度不一，普通硬者為五十度，軟者四十五度。夏季宜用硬者，冬季宜用軟者。溶解此種拍拉菲恩之熔蠟爐，種類甚多，普通為重壁之金屬爐。壁間注加

熱水，下置酒精燈，上插溫度計，將盛蠟之器，置於其內，即令蠟融化。組織浸於蠟中時，即置於爐內，以便蠟不致硬固。但其溫度，宜時時留意，不可使其昇至七十度以上。否則對於組織頗有損傷，不適於切片。

組織浸於蠟中，宜換蠟一二次，時間約一日至二日。然後以硬紙折成小方匣，先將蠟注入，見其下部次第硬固，將組織投入，用熱針整理組織之位置，後即將此匣浮於水面，使其急冷而硬固。經少許時，蠟已硬固，切去紙匣，將蠟塊中組織周圍用刀切去。然後修正成小方塊，或三角形，而附着於小木塊上，以便嵌入切片機（參考第十三圖）即可切成薄片矣。蠟之軟硬，刀之利鈍，及室中溫度等，對於切片有極大影響。蠟硬時，切片宜較薄；蠟軟時，切片宜較厚。否則切成之片，卷曲不平，不能得連續帶狀之切片，於處理上頗為費事。

切片完成之後，宜行貼着法，即用雞卵，單取其白，攪拌濾過，加同量之純甘油（Glycerin），以此液滴加於載玻片之中央，用手擦之，使其平均塗布片上，再加蒸溜水一小滴，而以切片排列於塗布甘油之處。略加熱，使切片稍為舒展，即除去剩餘之水分，而待切片之乾燥。然不用甘油，而用稀膠

質溶液約〇二%亦可。蒸溜水雖亦可用。但切片易於脫落，故宜十分注意方可。俟切片十分乾燥後，卽入西羅兒中，以溶去蠟質，再順次移入九〇%、七〇%、五〇%酒精中，以行染色。

(乙)賽洛亭法 用賽洛亭以包裹時，先以材料浸於純酒精中，使其完全脫水之後（約二三日），再浸於無水阿波東 (Aceton)（市間所售者，宜用灼過之硫酸銅粉末，吸收水分，與處理酒精之法同）。中約二十四或四十八小時，以除去其脂肪分。再移入於純酒精與以脫 (ether) 之等量混合液中，歷二十四至四十八小時，然後移於賽洛亭之稀薄溶液。溶液之製法，以乾燥賽洛亭十克加純酒精及純以脫等分混合液百瓏為基本液。置於密閉之瓶中，再以此溶液一分加酒精以脫等分混合液一分為第一稀釋液。以第一稀釋液一分，加酒精以脫等分混合液一分為第二稀釋液。先入第二稀釋液中二日，再入第一稀釋液，而入基本液，約共一星期而組織內部賽洛亭已完全浸入（其間均宜密閉），然後將材料及賽洛亭液移入於紙匣中，見酒精及以脫已發散，而賽洛亭次第硬化，可移入七〇乃至八〇%之酒精中，促其硬化。於是削去材料周圍之賽洛亭，而貼入於小木塊上，以供切片之用。貼於木塊之法，乃先定所需切片之方向，然後以包裹材料之賽洛亭塊底面，塗以

少許之純酒精，再塗純酒精與以脫之混合液，另於木塊上，滴加賽洛亭液，使底面與此相接着，再浸於酒精中少時，二者即結合不易脫落矣。至於切片之法，與拍拉菲法無異，惟其切片機以曳切法爲佳（即物體固定而乃移動者），其餘手續亦均相同故省略之。

二法本無長短，惟較大之物體，宜用賽洛亭法，而細微之物體則以拍拉菲恩法爲宜。普通所用者，大多爲拍拉菲恩法。學者苟熟習之，則已明組織學方法之大半矣。

## 第五節 染色法

欲明組織各部分之區別，不得不行染色法。染色或行於切片之前，或行於切片之後，但普通總以後者之成績爲佳。染色之液體甚多，應隨染色之目的而選擇之。普通有染核性染色液與染細胞質性染色液之區別。如海麥托克西林 (haematoxylin) 爲核染色染料；而伊沃興 (eosin) 爲細胞質染料。今舉其最主要之染色液及其應用法如下。至其他各法，因篇幅有限，不能詳述：

(一) 赫登雷氏鐵海麥托西林液 (Heidenhain's iron-haematoxylin)

第一液  
鐵明礬 二·五克  
蒸溜水 一〇〇〇

第二液  
海麥托西林 〇·五克  
蒸溜水 一〇〇〇

第二液放置三四星期成熟之後，方可應用，應用此液，先將切片經過西羅兒純酒精，酒精及水後，入於第一液中，約三十分至一小時，再用流水洗五分鐘，再入第二液約一小時，再用流水洗之，再入第一液，俟組織各部色彩分明後，再用水洗二十分鐘，然後移入於九五%酒精，而入純酒精西羅兒，即可加樹膠而固封矣。

若欲與其他色彩混染時，則於上述染色水洗之後，再入 Congo Red 中數分鐘，或一%之 Orange G. 液中二小時，再用水洗之，移入酒精西羅兒中固封，則細胞核呈藍色而細胞質呈淡紅色或橙色，於觀察上更為明瞭矣。

(1) 德拉飛爾氏海麥托克西林液 (Delafield's haematoxylin)

先製一百哩之亞莫尼亞鐵 (ammonia alum) 飽和液。次以海麥托西林一克，溶於酒精一  
○哩中，將此液滴加於亞莫尼亞鐵液中，開放其瓶，靜置數星期，俟其色彩呈葡萄酒狀時，乃爲成熟，  
可加甘油二五哩及梅起爾酒精 (methyl alcohol) 二五哩，卽成母液。用時可十倍稀釋之。今以  
腸之切片爲例，貼於載玻片之切片，先浸於西羅兒中十分鐘，使其溶去拍拉非恩，然後依下列順序  
行之。入純酒精一分鐘，以除去西羅兒。

(一) 入純酒精一分鐘，以除去西羅兒。

(二) 順次入各種酒精 (九五%，七○%，五○%，三○%) 各半分鐘。

(三) 入德拉飛爾液十分至三十分鐘，以染成相當藍色爲度。

(四) 水浸五分鐘。

(五) 入三○%，五○%，七○%酒精。

(六) 入加稀鹽酸一滴之酒精五分鐘，俟其色彩變成帶紅，再入加○·一%之重碳酸鈉液

(Bicarbonate of soda) 酒精中少時。

(七) 在九五%酒精中浸三分鐘，純酒精中五分鐘，西羅兒中十分鐘。

(八) 將載玻片之切片周圍，用白布拭淨。如玻片亦染有色時，將色素除去，加稀薄樹膠數點於中間，然後以拭淨之蓋玻片覆於其上。覆時宜注意，勿使其生氣泡。

(九) 在載玻片之一側，貼以標籤，記載其材料固定液、染色液、及製作之法。

如欲重染色者，依上述手續行至(六)後，入〇·五%之意沃興 (Eosin) 酒精溶液中，歷半小時至一小時。再依上述之(七)行之。

## 第九章 顯微鏡在工業上之應用

顯微鏡在近代工業上之應用雖廣，然其最主要者，莫如鋼鐵及纖維之研究。普通所謂金屬構造學 (metallography) 者，即應用此顯微鏡以觀察金屬內部之組織及其合金者也。顯微鏡除研究金屬內部構造之外，又常用以研究耐火性物質及熔巖，最初應用顯微鏡以觀察金屬之表面者，為發見細胞之虎克氏。彼於一六六五年所發表之微物論 (Micrographia) 書中，即有用顯微鏡觀察剃刀邊緣之記載及圖畫。至一七二二年有勒繆 (Reaumur) 氏用顯微鏡檢查鋼鐵之碎片表面，發見溫度對於形態上之影響。其後一八六四年，索比 (Sorby) 氏發表其用顯微鏡研究鋼鐵之結果，而引起多數學者之注意。惟用高倍顯微鏡實始於一八八六年，索氏曾謂彼雖已從事用顯微鏡以檢查鋼鐵二十餘年，而用六百五十倍之顯微鏡，實為彼後期之工作。且發見用高倍顯微鏡時，其鋼鐵之構造，與用低倍時，全然不同，而到處有真珠之光澤形呈平行狀。考所以發此光澤



之理，在於鋼鐵雖為碳質化合物，但其中有不合碳質之部分，較含碳質之部分，更為堅固，故有一種之閃光發現。由此種現象，即可定鋼鐵中含碳之量。其後又經多數學者研究，而關於鋼鐵之顯微鏡，研究太盛。總括之，則其結果約有六項：

- (一) 由顯微鏡，可決定鋼鐵中之含碳量。
- (二) 由顯微鏡，可決定鋼鐵是否為生鐵或熟鐵。
- (三) 由顯微鏡，可決定鋼鐵受熱之程度。
- (四) 由顯微鏡，可決定鋼鐵曾在冷時受壓。
- (五) 由顯微鏡，可決定鋼鐵之有無缺陷及鐵滓。
- (六) 由顯微鏡，可決定碳質之分布平均否。

現時工業上應用顯微鏡以檢查新材料之性質，雖不及化學分析之盛。但在決定溫度與鋼鐵之關係上，常較別法為佳。故在製鋼鐵時使用最多。其觀察約分兩種：一為用擴大鏡，以檢視鋼鐵表面之有無破裂及其他熔滓，稱曰大概檢查 (macro-examination)。一為用高倍顯微鏡，將鋼鐵

或其他金屬合金先製成薄片，以檢查其內部組織及成分者，稱曰顯微檢查 (micro-examination)。供檢查之鋼鐵，須先切成半英寸平方，而其表面必須平坦。檢查時，先將其用手工或磨粉或機械磨成極薄之片。用磨粉者，須加水同磨；然後於表面加以一定之化學品使其與鋼鐵或合金之某種成分起作用，立刻將其洗去，而入酒精中，又即刻使其乾燥，即可供顯微鏡之觀察矣。

在紡織工業上，常用顯微鏡以檢查纖維之性質。而最近因棉織物常發生細菌，以是引起工業上之注意。蓋細菌繁殖甚速，往往使織物或織物之原料變色而腐敗，其損失甚大，故用顯微鏡以檢查後，若有細菌發生，即用相當之方法處理之，以免其害之擴大，對於工業上之貢獻，實不小也。

中華民國二十二年四月初版

(二〇三二六)

二二〇一二四  
南小館

百叢書  
顯微鏡一冊

每冊定價大洋貳角

外埠酌加運費匯費

\*\*\*\*\*  
\* 版 權 所 有 \*  
\* 翻 印 必 究 \*  
\*\*\*\*\*

著 者

費 鴻 年

主 編 者

王 雲 五

發 行 人

王 雲 五

印 刷 者

上 海 河 南 路  
商 務 印 書 館

發 行 所

上 海 及 各 埠  
商 務 印 書 館

3801443



中華民國壹零肆年玖月柒日 贈送



國家圖書館



004850518



.73  
27

籍