

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。

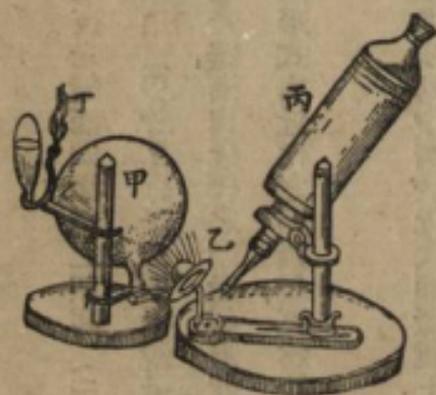
顯微鏡者，近代科學利器之一也。能擴大一切物像，以補吾人肉眼所不及，故其對於學術之貢

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 (Hertel) 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

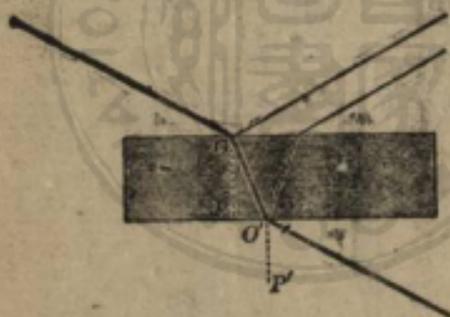
顯微鏡擴大之理，不外根據光學之法則。光學法則中關於普通光線之性質，約有四事，最爲重要：

- (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，必爲直行。

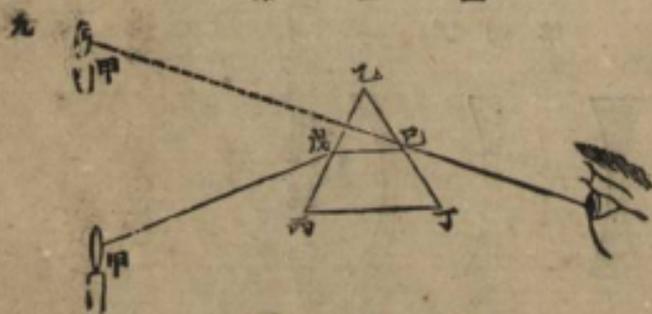
(三) 光線由一媒質至他媒質，而其濃度不同者，一部分必彎曲（稱曰曲折），而一部分反射，(四) 光線乃由多數曲折率不同之各色線合成。

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

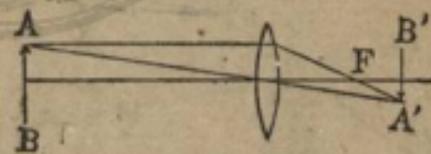
又於他側合成一焦點，故每凸透鏡有兩焦點，而其焦點與鏡面之距離，稱曰焦點距離。

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。

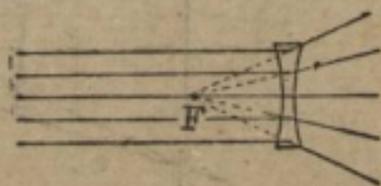
至於凹透鏡，則平行光線通過後，常向周圍擴散而不集為實在之焦點，但將各擴散光線延長之，則在光線之一側，亦能集合於主軸之一點，稱曰虛焦點 (virtual focus) (第七圖)。

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



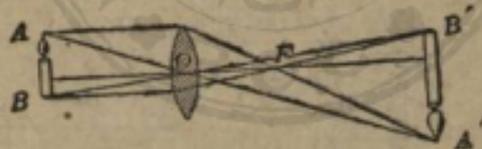
第六圖



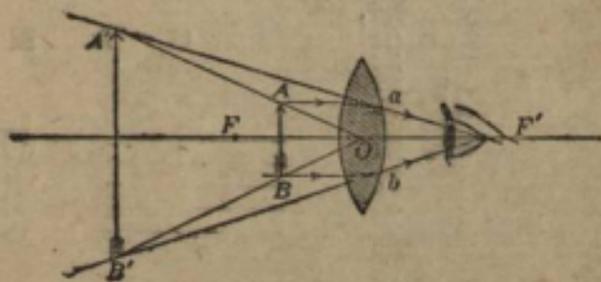
第七圖

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

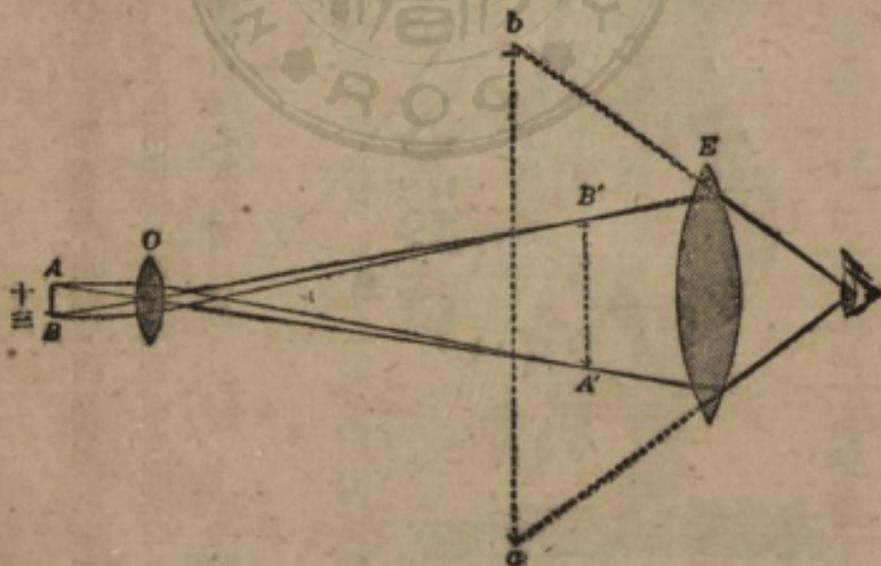
單顯微鏡（即普通之擴大鏡）之作用，即根據於上述之理，故其所成之像，較大而直立，（第十圖）。

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

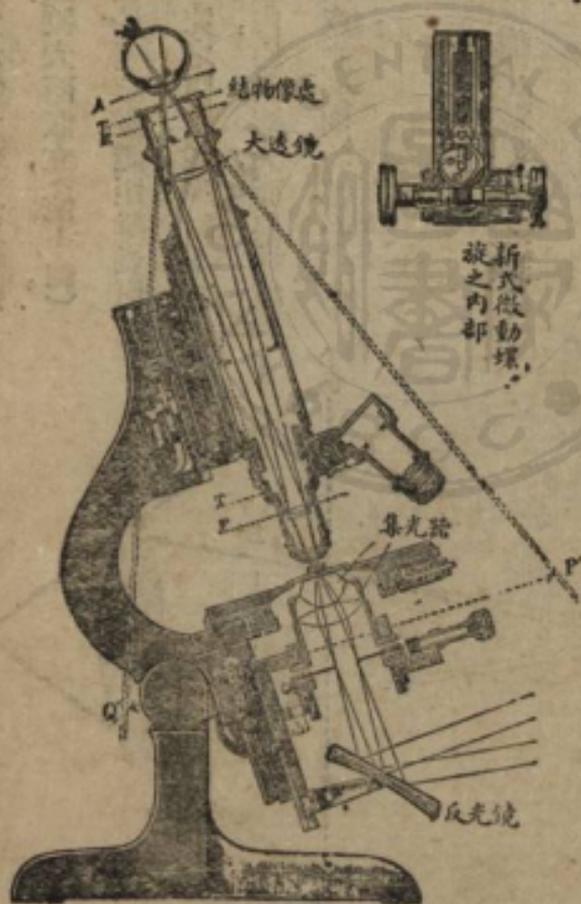
複顯微鏡之原理，可以第十一圖表示之。物體

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，不能僅視爲一擴大鏡，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，多爲此式。蓋大透鏡之作用，不獨可使實像先行收縮，且可使像更明瞭，而擴大度更爲增加也。



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。返光鏡, 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)。

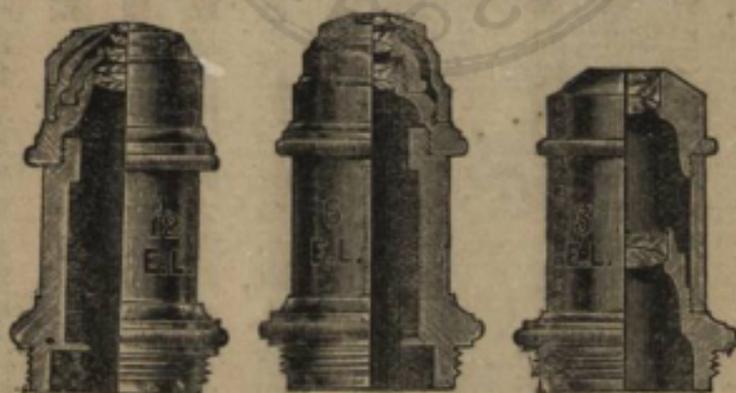
造此種透鏡之原料，向來均用鉛玻璃 (flint glass) 或鈣玻璃 (crown glass)。二者屈折率相似，而分散率不同。故以鉛玻璃之單凹透鏡與鈣玻璃之雙凹透鏡配合，即可成消色透鏡。惟嚴密言之，則其配合法非常複雜。自阿柏氏等創製所謂耶拿 (Jena) 玻璃以來，則又併用螢石，而對於防除色彩，更進一步。凡用螢石而對於色彩完全消除之透鏡，特稱曰完全消色透鏡 (achromat-ic lens)。

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厘。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厘。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度。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，及區別力，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。

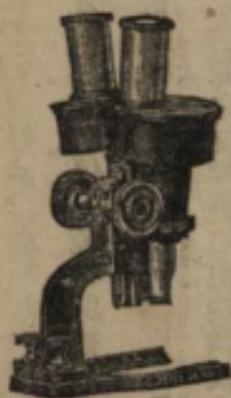
遮光器 遮光器為調節反光鏡送來光線之用，普通附着於鏡台之下面，其形狀構造隨顯微鏡之種類而不同。約言之，有圓形遮光器、圓筒狀遮光器、及虹彩遮光器三種。圓形遮光器為一穿多數不同小孔之圓金屬版，可以隨意迴轉，使該小孔置鏡台之彩光孔下，以節製導入之光線，普通顯微鏡即屬於此種。圓筒遮光器則為一接目鏡狀之圓筒中，嵌有小孔之薄板，此板有數塊，其所穿之孔大小不一，故可隨需光之多少，而更換薄板。此筒插入載物台之下側，即可達遮光之目的。至於虹

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

甲液	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……六一五瓩

二氫化銅防蝕劑

氫化銅……六七克

甲液

氫化鈉……六七克

水……一〇〇〇瓩

乙液

氫化亞尼林……一五〇克

水……一〇〇〇瓩

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，面爲圓形，以木爲之，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爲要。

以上所述爲實驗室之主要裝置。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，均爲實驗室所應備，今述其大略於次。

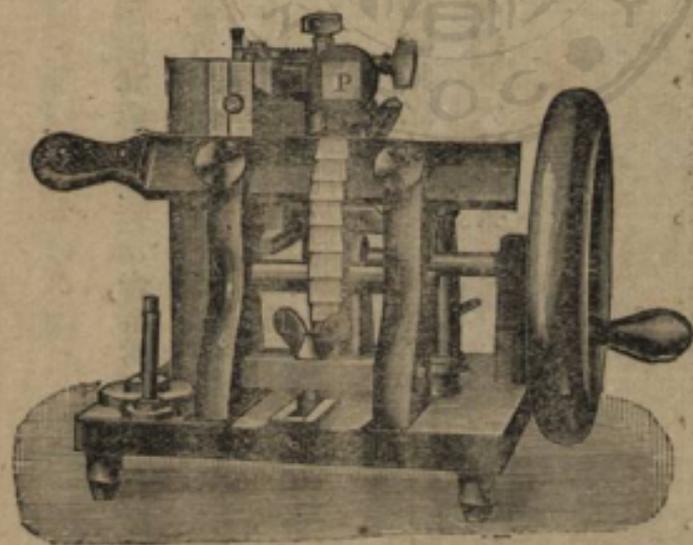
第四節 解剖器

解剖器 (dissecting apparatus) 種類繁多，或置於箱，或盛於盒。普通不可缺者，爲鑷子、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，爲長方形之框，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，爲用黃蠟一兩，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，爲邁諾特 (Minot) 氏迴轉切片機。其構造如第十六圖。圖中 T 爲附着材料，而可以整方位之裝置；P 爲附着所欲切片之蠟之處，X 爲附着刀之部分，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。以是而物體卽成薄片而連成帶狀。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 0.1 — 0.5 — 0.7 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，以及各種繸蟲，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，以及蟻蟲等，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. hichin*) 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

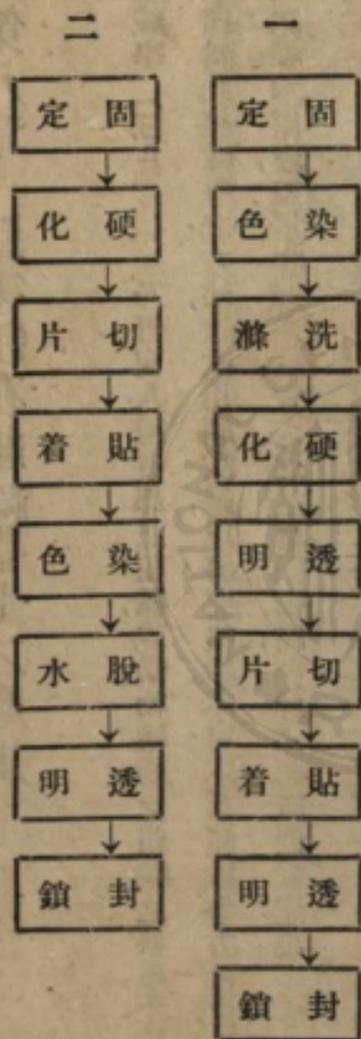
組織學 (Histology) 乃研究人體各部之組織，或動物植物之組織之科學，生物學上最重要之方法，即爲此組織學之方法，故欲用顯微鏡，以研究組織，不可不悉組織學方法之大要。本章所述，乃組織之根本原理，至於詳細之處，宜求之於專門書籍，非此小冊所能盡述也。

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)

七%食鹽水

五·哩

二〇·哩

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(Gilson)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(Bouin)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。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 一册

每册定價大洋貳角

外埠酌加運費匯費

費鴻年

王雲五

上海河南路

王雲五

上海河南路

商務印書館

上海及各埠

商務印書館

發行所

印刷者

發行人

主編者

著作者

* 版 權 所 有 *
* 翻 印 必 究 *

3801443



中華民國壹零肆年玖月柒日 贈送



國家圖書館



004850518



.73

27

籍