

动物解剖学与组织学实验

主讲教师：方静 潘康成 陈正礼

实验一 家畜全身主要骨、关节 和骨性标志的识别

- 目的要求 在标本、活体上识别牛（猪）等主要的骨、关节和骨性标志。
- 实验材料 牛（猪）等的骨骼标本、整体骨架标本、活牛。

- 实验步骤

1、在牛（猪）等的骨骼标本上识别头骨、躯干骨、四肢骨的主要特征；兽医教学参考,兽医临床交流,犬病辅助诊断系统。

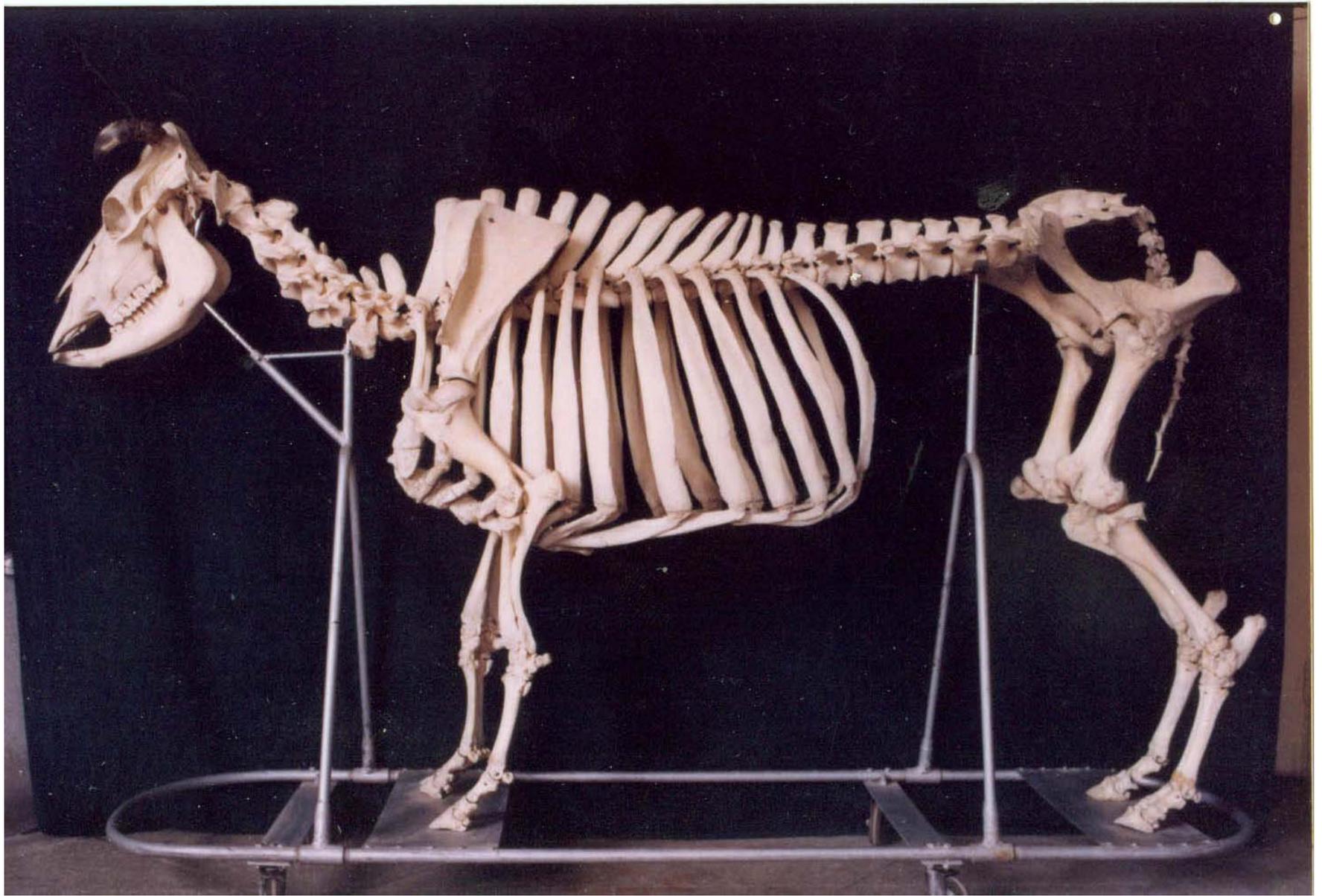
2、在牛（猪）等的整体骨骼标本上观察头骨、躯干骨、四肢骨的位置关系，前后肢的主要关节。

3、在牛（猪）等活体上识别前后肢的主要关节和骨性标志。

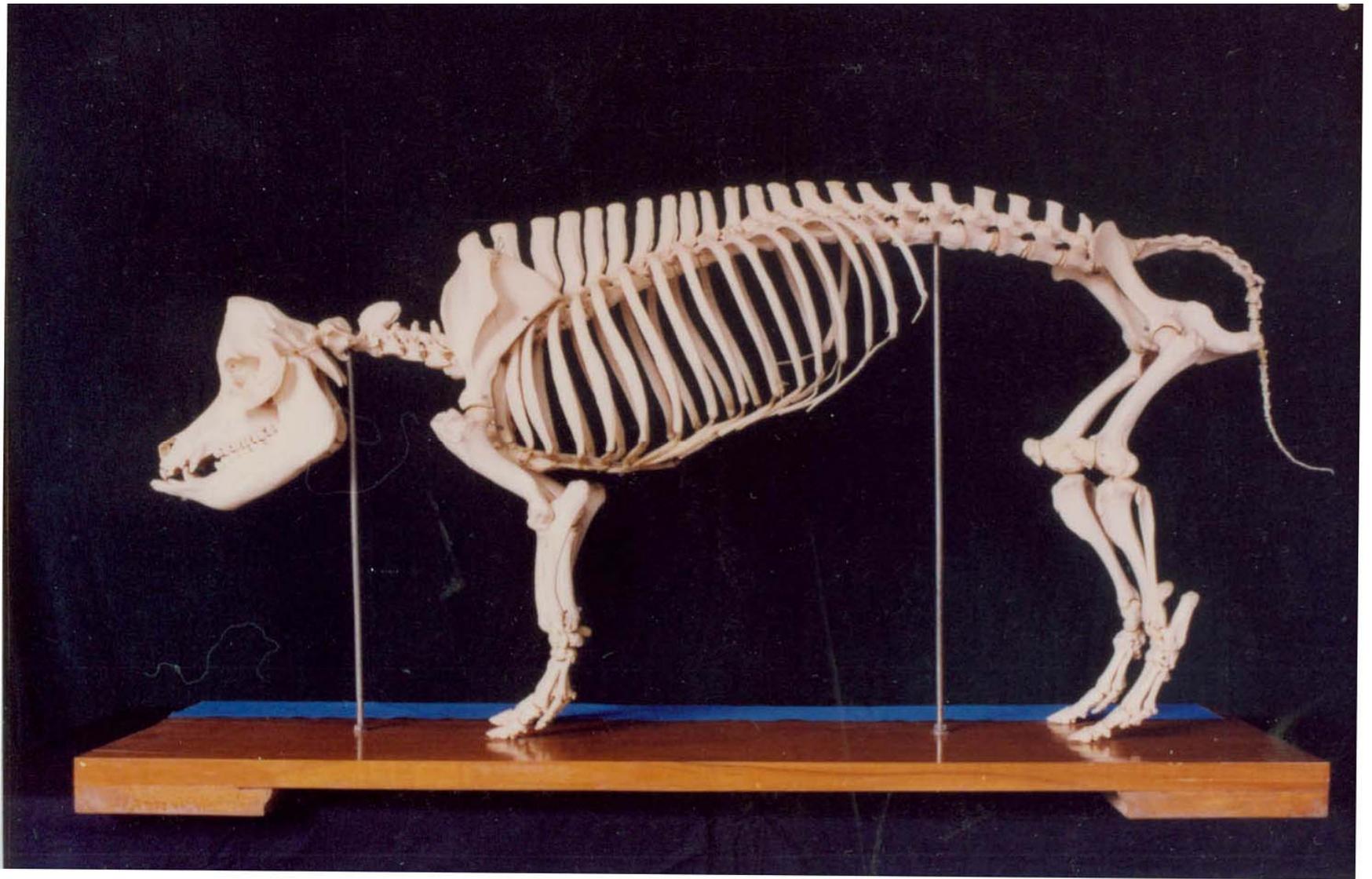
- 技能考核

1、能在牛（猪）等的骨骼标本上正确识别头骨、躯干骨、四肢骨的名称，并能区分四肢骨的左右； 兽医教学参考|兽医临床交流|犬病辅助诊断系统!

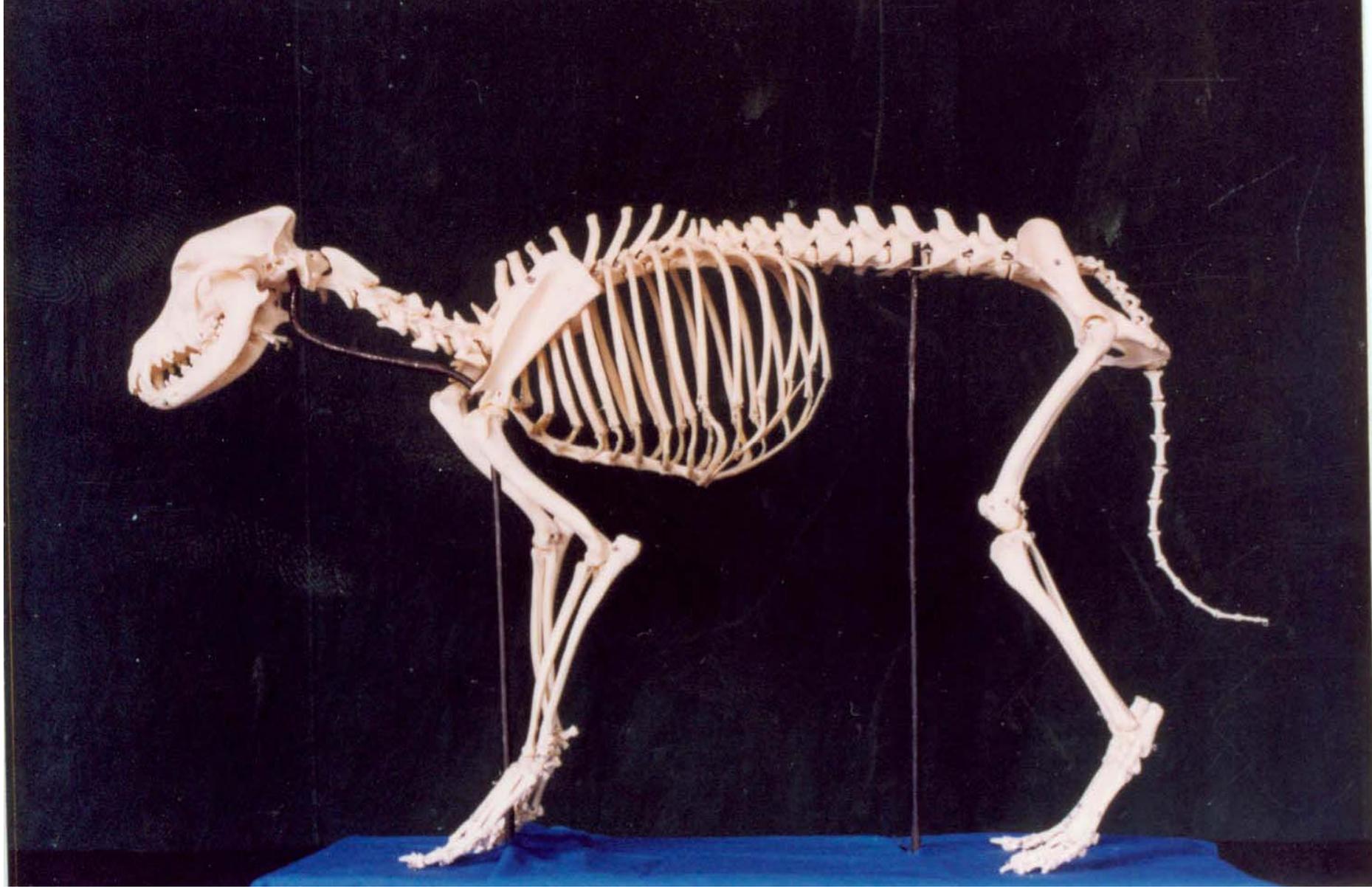
2、能在牛（猪）等的整体骨骼标本上识别躯干、四肢关节。



牛全身骨骼



猪全身骨骼



犬全身骨骼



实验二 小型动物透明骨骼标本的制作

- 实验目的

学会小型脊椎动物骨骼标本制法。

- 实验原理

脊椎动物的骨骼是包裹在皮肤和肌肉中的，不能直接观察到。假如设法除去它们的皮肤，用药物使肌肉变得透明，如果再用药物使它们的骨骼染上颜色，效果更佳。

- 材料器具

小型脊椎动物如鱼、小白鼠及胎儿；解剖器，标本瓶，玻璃片，注射器，绳；95%乙醇，氢氧化钾溶液，茜素红，甲醛，过氧化氢溶液，纯甘油。

● 实验步骤

- 1.取材 新鲜的小型脊椎动物，如鱼、蛙等，长度在10~20厘米，以活体为好。
- 2.固定 材料洗干净。如果是鱼，应该先去鳞，再洗净。然后，放入**95%**乙醇中固定**1~2**天。如果材料已经用**5~10%**甲醛液保存过，则要用清水漂洗后再浸在**95%**乙醇中，使它充分固定。
- 3.去皮 用解剖器剥去小动物的外皮。
- 4.脱脂 把去皮后的标本用绳缚在玻璃片上，整理好姿势，浸在**3%**重铬酸钾溶液中几天，除去材料表面的脏物和脂肪粒块。当溶液变混浊时，更换新液，直到溶液不混浊为止。取出标本，用清水洗干净，再浸入**95%**乙醇中脱脂一周左右。

- 5.透明 标本转入20%氢氧化钾溶液中。一周左右，见肌肉呈半透明状态，里面骨骼隐约可见，即终止透明。
- 6.染色 把透明后的标本浸入0.01%茜素红染液中2~3天，到骨骼染上红色为止。
- 7.褪色 先把标本放入2%氢氧化钾溶液中浸1天，然后转入褪色液中10天左右，到肌肉上的颜色褪至淡粉红为止。
- 8.漂白 用稀过氧化氢溶液，浸至肌肉完全透明，骨骼呈紫红色为止。
- 9.保存 先用注射器抽去标本内的气泡，再放入纯甘油中保存。







实验三、显微镜的构造和使用 方法，组织切片的制做程序

实验目的

1. 掌握显微镜的基本结构及使用方法，培养同学们观察、比较、分析、综合各种客观现象的思维方法和独立思考的能力。
2. 了解组织切片制做过程，有助于观察切片，并验证和巩固所学的理论知识。

实验内容

一、一般光学显微镜的构造及其使用方法和保护

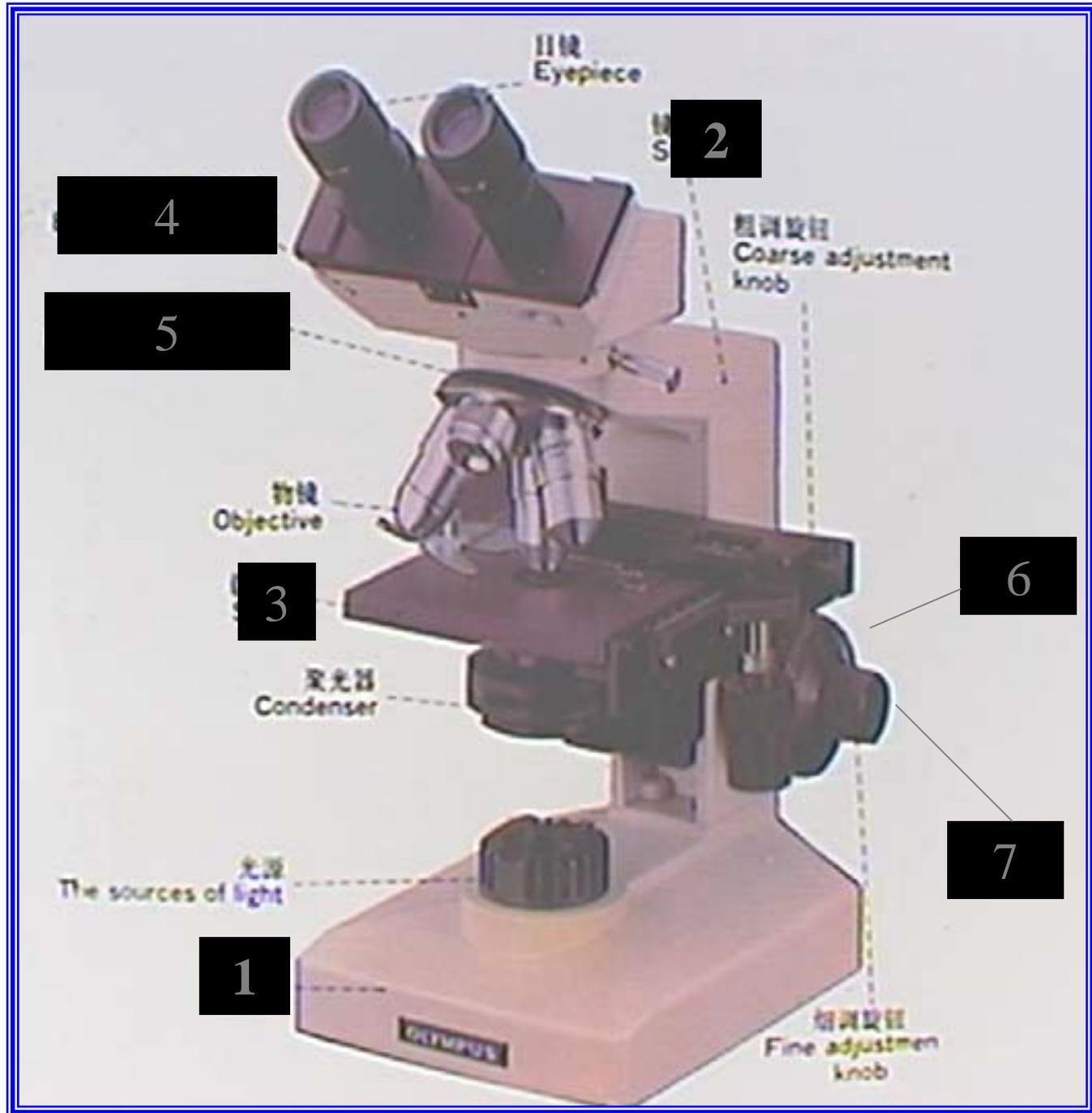
(一) 光学显微镜的构造

一般光学显微镜的基本结构

包括两部分：机械部分和光学部分。

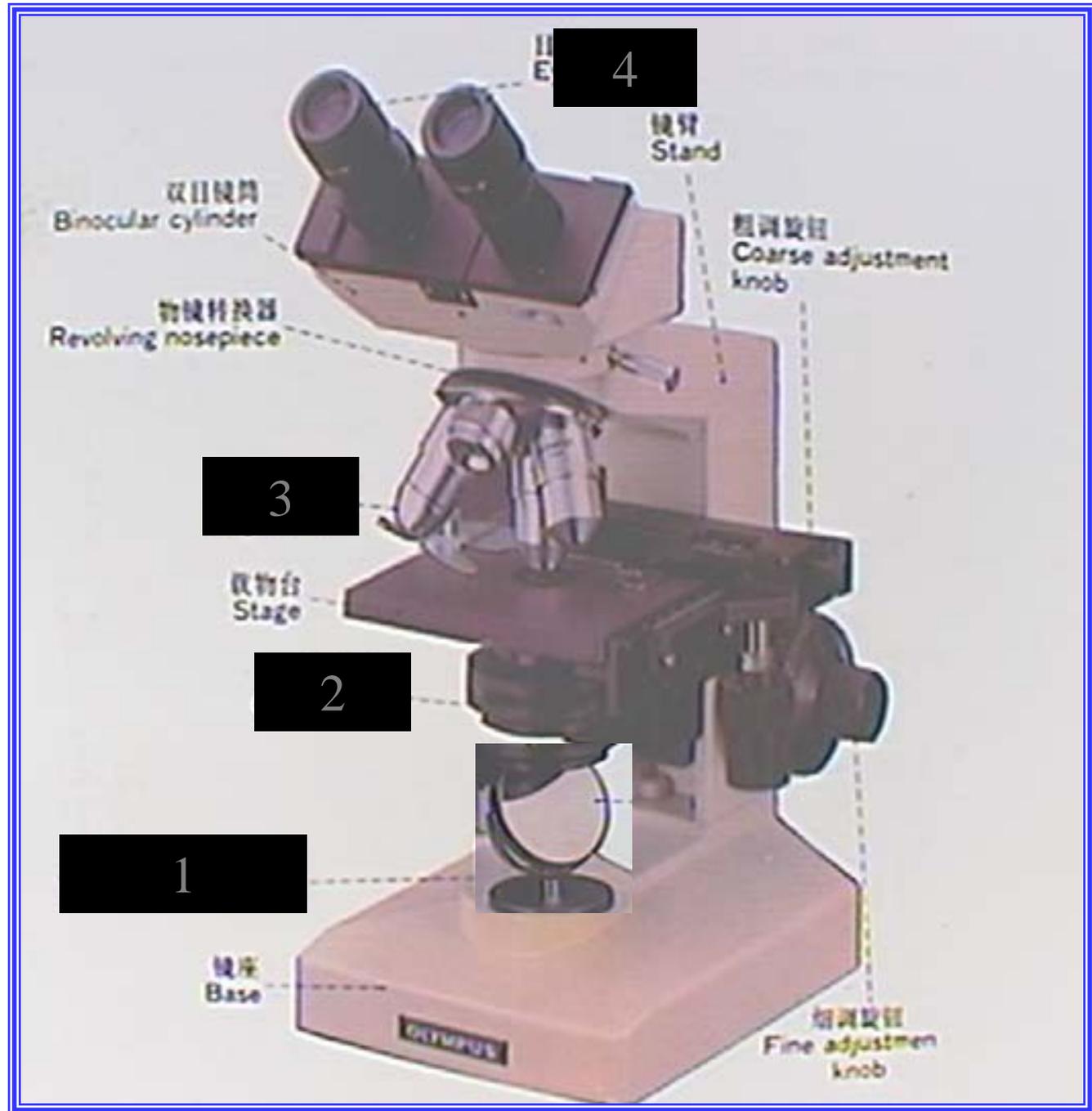
机械部分
主要包括
下列部件

1. 镜座
2. 镜臂
3. 载物台
4. 镜筒
5. 物镜转换器
6. 粗调螺旋
7. 微调螺旋



光学部分 主要包括

1. 反光镜
2. 聚光镜
3. 物镜
4. 目镜



(二) 光学显微镜的使用方法

低倍镜的使用：

1. 对光：转动粗调节螺旋，降低载物台；旋转物镜转换器，使10倍物镜头对准镜台孔；然后升高聚光镜，打开光圈，将反光镜的凹面对准光源，直至视野明亮为止。
2. 将要观察的切片放在载物台上，固定好，并将要观察的部位移至中央。
3. 调焦距：旋转粗调螺旋，升高载物台，至物镜距玻片约0.5cm时，再缓慢降低镜台，直到看清图像为止。
4. 调节两瞳孔间的距离：一边用双眼自目镜中观察，一边用双手握住两个目镜管，前后或左右移动，直到双眼看到一共同视野为止。
5. 为使右眼图像更清晰，可轻轻转动微调螺旋，欲使左眼图像清晰，需旋转镜管长度调节环。

高倍镜的使用:

用低倍镜看清图像后，将要进一步放大的结构移至视野中央，一边从侧面观察，一边旋转物镜转换器，将高倍镜头对准镜台孔；升高聚光镜，将光线调节到最亮的程度；然后，稍微转动微调螺旋，即可观察到清晰的图像。

油镜的使用:

用低倍镜看清图像后，将所要观察的结构移至视野中央，在标本所要观察的部位滴一滴镜油，旋转物镜转换器，将油镜头对准镜台孔，使油镜头下端与镜油接触，然后，轻轻转动微调螺旋，即可看清物像。使用油镜时，应把聚光镜的光圈充分开大。用完油镜后，必须用擦镜纸蘸清洗剂，将镜头和玻片擦净。

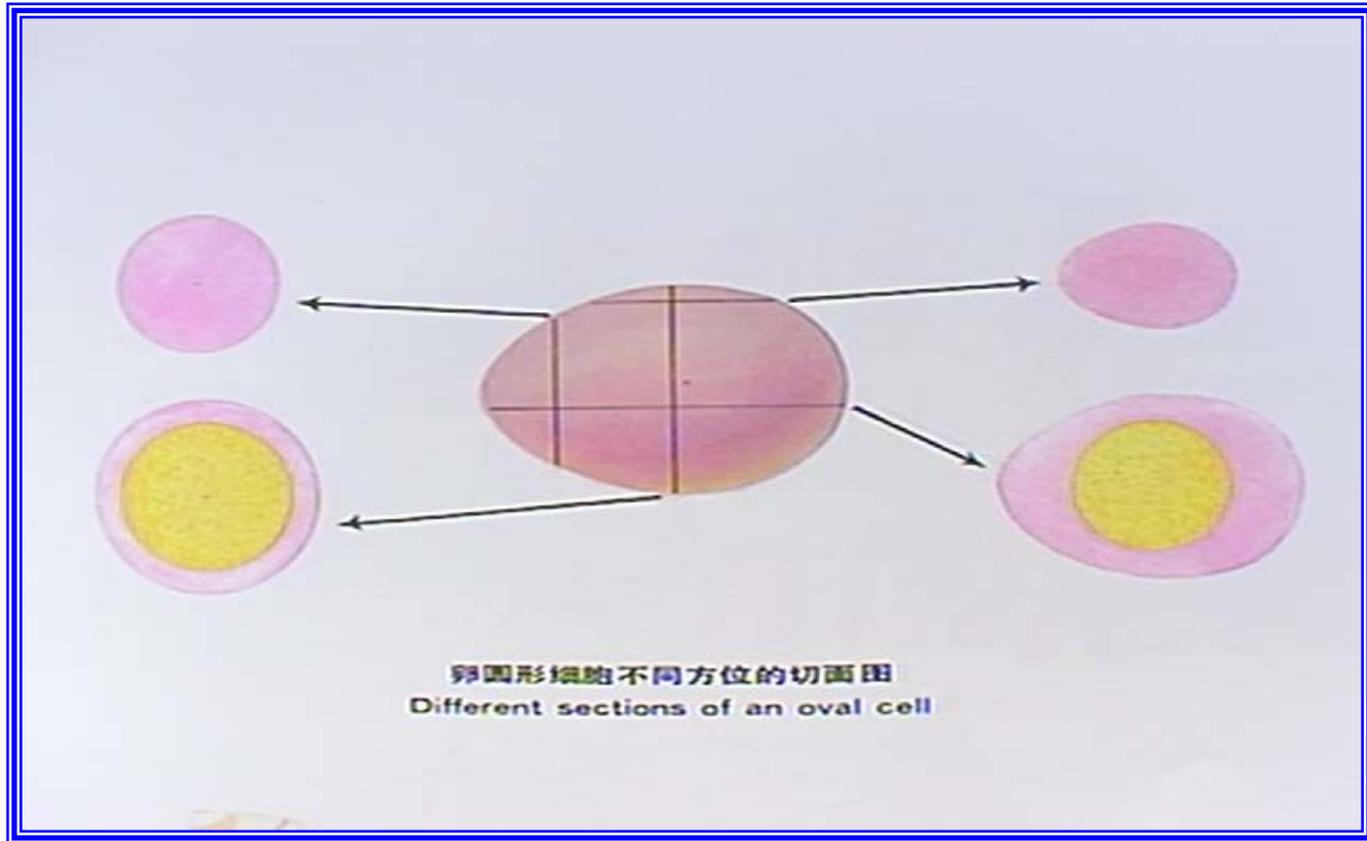
(三) 显微镜的保护

1. 搬动显微镜时，应该用右手握镜臂，左手托镜座，平贴胸前，以防撞碰。切勿用一只手斜提，前后摇摆。
2. 每次使用显微镜前，要检查显微镜的主要部件有无缺损，发现问题，及时报告。使用时，要严格按操作程序，正确地缓慢移动有关机械部分。
3. 禁止拆卸显微镜的各个部件，更不允许与其它显微镜对换，以免安装不当影响观察效果。
4. 如镜头表面有灰尘，应该用擦镜纸擦，不允许用口吹、手指抹，或用其它纸、布擦。
5. 显微镜用完后，将4倍镜头对准镜台孔，升高镜台，降下聚光器，打开光圈，盖好防尘罩，放回原处。

（四）标本观察注意事项

1. 取切片标本时，一定要认清标本盒的反正，其正面（有字的一面）朝上，方能打开盒盖。按号取出标本，用完后，按号放回，损坏要赔偿。
2. 观察标本时，先用肉眼观其大体形态，再用低倍镜观其一般结构，需要进一步观察的部位，换用高倍镜，一般不用油镜。放标本时，一定要使有盖玻片的一面向上。旋转调节螺旋时，动作要轻；低倍镜换高倍镜时，注意不要使镜头碰到切片。
3. 观察切片时，注意力要集中，密切联系课堂所学理论，有步骤地进行观察。要求课前复习有关理论，预习实验指导，以便在课堂上作到主动。

4. 观察标本时，要注意组织细胞的断面形态与立体形态的关系。同一细胞或组织，在不同的断面上，其形态不一样。



二、切片标本制作

制作光镜组织学标本最常用的方法是石蜡包埋切片法,即用石蜡把组织块包起来,使组织变硬,便于切薄。其主要步骤如下:

1. 取材、固定

取材一般在动物死后2小时以内取。将取下的新鲜的组织块迅速投入固定液中进行固定。固定液常用10%的福尔马林。固定的目的在于使组织中的蛋白质迅速凝固,以停止其死亡前的变化,从而保持标本的结构接近于其生前的正常状态。



2. 脱水、透明、浸蜡

固定后的组织用水冲洗后，组织中充满水分，妨碍石蜡的侵入，必须用不同浓度的酒精将组织中的水分脱净，这一过程称为脱水。脱水后组织中含有酒精，仍不能与石蜡相融，要用二甲苯或氯仿替代酒精，组织经过二甲苯后呈现透明状态，这一过程称为透明。把透明后的组织块投入融化的石蜡中浸润，使组织内的空隙充满石蜡，产生一定的硬度，这叫浸蜡。



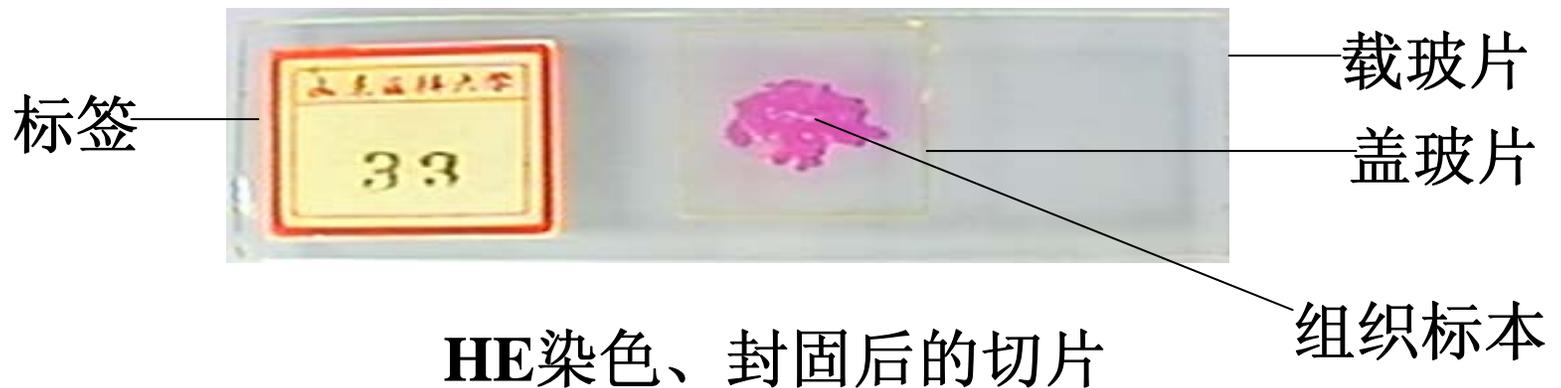
3 . 包埋、切片

浸蜡后，把组织块放入装有溶化的固体石蜡的包埋器中，待石蜡凝固后，组织块便被包埋在里面，成为蜡块，这一过程称为包埋。把包埋好的蜡块修好，粘在木块上，便可放到切片机上，切成5--6um厚的薄片，然后贴在干净的载玻片上，置于50℃左右的温箱内烤干。



4. 染色、封固

贴好的切片，经过脱蜡、酒精浸水等过程后，即可进行染色。常用H E染色法。苏木素是一种碱性染料，可使组织细胞中的酸性物质（又称嗜碱性物质）染成紫蓝色，如细胞核中的染色质等；伊红是一种酸性染料，可使组织细胞中的碱性物质（又称嗜酸性物质）染成红色，如多数细胞的细胞质、核仁等在H&E染色的切片中均呈红色，很易跟细胞核区别。染色后，经酒精脱水、二甲苯透明，即可封固。封固时，在切片标本上滴一滴树胶，盖上盖玻片，干后即成为既可以在镜下观察又能够长期保存的标本。



三、切片观察及绘图

绘图时，要选择结构清楚的部位，不要抄画，也不要乱画。图上的注字要清楚、端正。图的布局：

