

生物学制片学

張宗炳編著

商 务 印 書 館

生物学制片学

康定烈主编

高等教育出版社

生物学制片学

張宗炳編著

商务印书馆

1960年·北京

生物学制片学

张宗炳编著

商务印书馆出版

北京东总布胡同 10 号

(北京市书刊出版业营业许可证书字第 107 号)

新华书店总经售

上海大东集成联合印刷厂印刷

统一书号 16017·8

1951 年 10 月初版

开本 850×1168 1/32

1957 年 4 月 2 版

印张 6 1/16

1960 年 6 月上海第 3 次印刷

印数 6,501—8,500

定价 (10) 0.90 元

前 言

此書先在北京師範大學生物系印成講義，試用一年。因為一般中學教員亦需用作參考，而製片學之大學課本尚無中文本，因此將全書完全修改，並增加了幾段，再版以應以上之需要。在本版中，加上的有：

- | | |
|------------------------|---------|
| (1) Euparal 樹膠作為封藏劑的用途 | 第一部第一章 |
| (2) 玻璃片擦乾淨法 | 第二部第一章 |
| (3) 除砂作用 | 第二部第八章 |
| (4) 西理辛法及甲基苯酸鹽法 | 第二部第十三章 |
| (5) 二氧陸圓應用時應注意之點 | 第二部第十三章 |
| (6) 植物學製片法，全章 | 第二部第十七章 |

在書末加上了一個附錄，是採譯 Guyer 書後的附錄：動物一般器官及組織的製片法。另外，加上了(1)中西文名辭對照表；(2)西文人名表；及(3)索引，以便查考。

本書的主要參考書是：

Guyer: Animal Microtomy 第四版。

McClung: Microscopic Technique.

Lee: Microtome Vade Mecum 第十版, J. Bronte 改編。

書中雖然加上了第十七章，對於植物材料的製片法還是不夠詳細。因為本人不是學植物學的，未免有些偏向，這是十分引為遺憾的。

書中的譯名，在目前譯名尚未統一之前，一定有許多不妥的地方。有的無書籍可查，祇好杜撰。有的是作者本人改譯。這些也許不妥當。希望讀者多多指正，並提意見：

吳寶鈴先生爲此書校對，並爲譯名統一，費了不少功夫。沒有他，此書決不能印出，特此誌謝。

一九五〇年八月二十八日

北京大學動物系

凡 例

(一)本書分二部：第一部爲製片學原理；第二部爲製片之方法。用作教本時，可按第二部作實驗，第一部作爲參考或作講授。

(二)第二部之各章次序，可以更換。本書內之排列法爲按實驗之簡單與複雜之次序排列。但，亦可先講授整體製片、蠟切片法，然後二氧陸圓法、膠棉切片法、凍切片法。

(三)第二部每章前所述之實驗材料，亦可更改，視當地容易採集到之材料而改變。

(四)在第二部中，共有十七章，原意爲一學期製片學十七個實驗之用，甘油法、甘油膠法、落葉松膠法可合成一次實驗，浸漬分離法、微體解剖法及血及細菌之製片亦可合成一次。蠟切片之時間至少需四星期，膠棉切片法亦需三星期，可與骨與齒之製片，細胞學之製片及胚胎學之製片合成一起作。

(五)如感覺實驗材料太多，或許多製片法不能在一學期作完，可以(1)減少些不重要的製片法，如落葉松膠法、甘油膠法、微體解剖等，祇有講授而不作實驗；(2)將細胞學製片及胚胎學製片在蠟切片中附帶講授，而不單獨作實驗；(3)增加實驗至每星期二次，成34次實驗。

(六)目前譯名尙未統一，故書末附有中西文對照。西文人名一例不譯，用原名。

(七)書末附錄(一)爲動物一般器官及體素之製片，可供參考。(二)製片常用之儀器，可供教此課程者及同學之參考。

目 錄

前言

凡例

第一部 製片學原理	1
第一章 製片學之一般原理	1
第二章 固定與固定液	7
第三章 染色劑及染色之理論(上)	24
第四章 染色劑及染色之理論(下)	42
第五章 其他製片用之藥劑	49
第二部 製片法	57
第一章 整體製片	57
第二章 乾製片及不透明製片	61
第三章 徒手切片法	64
第四章 甘油法及甘油膠製片法	69
第五章 落葉松膠製片法	74
第六章 浸漬分散法	77
第七章 微體解剖及製片	80
第八章 骨與齒之製片	84
第九章 血及細菌之製片	88
第十章 膠棉切片法	96
第十一章 凍切片法	101

第十二章	蠟切片法	105
第十三章	二氧陸圓製片法	120
第十四章	金屬物沉澱顯示構造法	124
第十五章	胚胎學之製片	129
第十六章	細胞學之製片	137
第十七章	植物製片法	147
附錄		156
(一)	動物一般器官及體素之製片法	156
(二)	製片學常用之儀器	170
西文人名表		172
中西文名辭對照表		174
索引		177

附圖目錄

圖 1. 製片學常用之儀器(1).....	56
圖 2. 製片學常用之儀器(2).....	56
圖 3. 玻片求得中心.....	58
圖 4. 加蓋玻璃片側面.....	59
圖 5. 製成之片.....	59
圖 6. 轉盤.....	61
圖 7. 瀝青封藏後側面.....	63
圖 8. 井型切片機.....	64
圖 9. 徒手切片之方向及角度.....	65
圖 10. 乾燥器.....	69
圖 11. 銅三角板架.....	88
圖 12. 蓋玻璃片鑷子.....	89
圖 13. 滑動切片機.....	96
圖 14. 凍切片機.....	101
圖 15. 凍切片機之冷凍管.....	102
圖 16. 旋轉切片機.....	105
圖 17. 簡單之溫箱.....	106
圖 18. 摺紙盒法.....	108
圖 19. 切片刀之角度.....	109

第一部 製片學原理

第一章 製片學之一般原理

欲觀察動植物細微之構造，必須將動植物製成玻片，以便在顯微鏡下觀察。製片之法雖多，但其原理則不外乎五點：

- (1) 殺死與固定；
- (2) 切成薄片或塗成薄片；
- (3) 去水與透明；
- (4) 染色；
- (5) 封藏。

一 殺死與固定

製片之第一條件，即必須使製成玻片內之動植物與實際生存時之動植物並無改變。欲達到此目的，則必須將動植物迅速殺死，使其形態及構造不致於死亡時起任何之改變。將動植物迅速殺死，使其形態固定而不發生改變者，即為固定液；此一步驟即為殺死與固定 (killing and fixation)。

固定之目的為保存動植物原有之形態。另一目的則為使固定之體素能顯示其構造。故固定液必須具有以下之條件：

(一)迅速將原生質殺死，則在此殺死之短時間中，細胞形態不致有改變。

(二)不可使體素收縮或伸展，必須使其保有其原來之大小。

(三)固定液必須爲一保存液(preservative)，則體素固定後不致腐爛。

(四)固定液必須有滲透能力，使體素內外各部同時固定，否則外部雖固定，而內部因固定液不能透入，可能發生變化。

(五)固定後之體素必須柔硬適中，以便切片，如太硬，則切片時即甚困難。

(六)固定後之體素必須能染色，以顯示其構造。

固定液中無一能具備以上之全體條件者，故往往用數樣藥劑配合成一固定液，各取其優點，來湊合以上之條件。因此目前最好之幾種固定液皆不是一種藥劑，而爲配合劑。例如冰醋酸之殺死力極強，滲透亦極速，且能防止體素之收縮，但此酸對於細胞內之微粒線體(mitochondria)及高爾基體(golgi body)，皆能破壞，故細胞學之製片，如欲顯示微粒線體之構造，則不能用冰醋酸；再如鐵酸(osmic acid)乃一絕好之固定藥，殺死力極強，而使體素不改變，但其滲透極遲，故祇能用於小塊體素，有時則尚需與其他藥劑合用之；鉻酸(chromic acid)、氯化汞，此三者皆爲常用之固定藥，但有時皆易與體素內起化學作用；苦酸(picric acid)、硝酸、酒精等則有時使原生質凝結。

動植物在固定液中平常皆須使其迅速殺死，以減少其形態改變之可能，但有時亦有例外：有種動植物之感應極靈，往往一受刺激即收縮成一團，此類動植物之殺死，則必須先將其麻醉，使它在殺死時不能收縮，而後固定之。麻醉之藥，常用者爲醚(ether)、迷蒙精(chloroform)、水合氯醛(chloral hydrate)、可羅吞(chloretone) 二氧化碳、尼古丁

(nicotine)、古柯鹼(cocain)、酒精(ethyl alcohol)等。海洋內大部份無脊椎動物及寄生之蛭等有時可用清水使其鬆弛，而後殺死固定。

二 切片或塗片

動植物如欲製成玻片，必須爲一薄片，方能放在玻璃片上。如爲一大塊，一則不能加蓋片，二則亦不透明，不能觀察其內部構造。製成薄片之法，因物而異。

(一)有本身極小，或即爲一薄片者，則不經製作即可。如臭蟲爲一薄形蟲及扁形蟲類的寄生蛭及渦蟲、水螅等皆可全體製片。昆蟲之翅爲一層薄膜；鳥之羽毛，魚之鱗片等本身皆爲薄片，皆不需經製即成薄片。

(二)切片法。本身爲一塊，則必須用刀切成薄片。切片之法，如物體較硬，可以徒手切片；如極軟，可以凍結切片，普通切片法爲塊藏於石蠟(paraffin)或膠棉(celloidin)中，前者名爲蠟切片法，後者名爲膠棉切片法。

(三)動植物體素之可以撕散成小片者，用浸漬撕散法。如肌肉欲顯示其各個細胞之形狀，則切片法殊不合宜，應將肌肉浸在藥劑內，使各個細胞分開，而後製片。再如昆蟲之口器，則切片法不能顯示其口器各部之構造，必須解剖分開之，使口器各部皆成爲小片，而後製片。

(四)液體不能切成薄片，則可塗在玻片上。如血液、精液，皆可塗在玻片上，而後染色製片。原生動物可用培養液塗在玻片上（下用蛋白黏劑使其黏在玻片上），細菌、大便內寄生蟲卵之檢查，皆用塗片法製片。

三 去水與透明

切片欲在顯微鏡下觀察，必須使其透明，因顯微鏡之構造乃使光自

下反射向上，如光線透過，則透過之物件即能被觀察，如光線不能透過，則自上面看，即爲一黑影。（唯一例外，因光線亦可自上照在物件上，則可觀察此物件之表面形態，此類製片謂之不透明製片。）故製片之體素皆須使其透明。

透明之法，即爲浸入油中，因空氣最不透明，水次之，油劑最爲透明。少數物件在水中即可透明，但爲保存永久計，最好浸入油中，因體素在水中頗易發生變化。但體素不能自水中立即浸入油中，必須經過脫水（dehydration）之手續，其法乃將體素浸入各種濃度之酒精中，先自水放入 10% 酒精，再放入 20% 酒精中，然後 30%、40%，以至 100% 酒精時，則水份盡去，乃可自無水酒精中放入油中使其完全透明。所以用各種濃度酒精，乃因體素如自水中立即放入高度之酒精中，常有收縮或其他之改變。

另一透明之方法則爲用甘油，甘油與水可混合，故體素可直接由水中放入甘油內，其法較之用酒精爲簡單。

去水及透明雖然必要，但亦不宜過份，因有時去水過多，則不是脫水，而成乾燥（dessication）。用酒精及二甲苯（xylol）時，常有此缺點，浸時如過長，往往體素變成乾脆而捲起，近來製片學不用二甲苯而改用二氧陸圓（dioxan）及第三丁醇（tertiary butyl alcohol）即爲此故。有時用酒精，而油劑用香柏油（cedar oil），亦爲避免物體變脆硬或收縮之故。

四 染色

細胞內部之構造大半皆不易分辨，故必須用染色法以鑒別之。染色法之原理爲生物構造之各部對於各種染色藥劑，其反應不一，有時某部份能染色，而另一部份則不能染色。（例如細胞核與細胞質往往不能用

同一染色藥劑染色，因此用染色法即可將此二部分別。) 染色之原理實爲染色藥劑與生物體素間之化學作用及物理吸附作用，故所用之染色藥劑亦有各種，有酸性，有鹼性，有中和性者，有的染色藥劑對於一般體素皆可染色，有的專爲某種細胞構造之染色。

染色之理論及染色法詳第三章，關於較詳細之理論，可參閱 Lee: *The Microtome's Vade-Mecum* 及 C. E. McClung: *Handbook of Microscopic Technique*。關於染色液之用途，化學組成以及染色之價值可參閱 Conn's *Biological stains, A Handbook on the Nature and Uses of the Dyes Employed in the Biological Laboratory*。

五 封藏(Mounting)

體素切片，染色透明後最後之一步，即須將其封藏在玻璃片與蓋玻璃片之間，以保存之。封藏之法常用者有三：

(一)自水中直接至甘油者，用甘油膠封藏，如即用甘油，可在加蓋玻璃片後，在蓋玻璃片四週，用瀝青(asphalt)或貼金膠(goldsize)封口。

(二)不透明製片及乾製片可即放在玻璃片與蓋玻璃片之間，亦用瀝青或貼金膠水封口。

(三)脫水而在油劑中透明之體素，用加拿大樹膠(Canadian balsam)滴在玻璃片上，放入物體，加蓋玻璃片即成。近來，用達瑪膠(gum damar)溶在二甲苯中者漸多，後者作封藏更爲可靠。其他可用之膠尚有 hyrax 及 euparal 膠。euparal 膠國內用者尙少，但其用途亦有其特點。euparal 膠有二種：一種無色；一種有淺綠色。後者專爲用洋蘇木液染色後用，因其可以使洋蘇木之染色特別顯著。euparal 膠之優點爲：(1)物體可以直接自 95% 酒精中浸入 euparal 膠中，省去純

酒精及浸油之步驟。(2) euparal 膠的折射指數(refractive index)是 1.483, 比加拿大樹膠 1.535 為低, 因此許多細微未染色或染色太輕的構造, 在加拿大樹膠中看不出的, 在用 euparal 膠封藏便能顯出。細胞分裂的紡錘絲便是一例。(3) euparal 膠乾得極快, 24 小時後即完全乾卻, 不必等很長久。

第二章 固定與固定液

生物體素及細胞之固定可用物理法或化學法。用物理法固定者如用高熱，或用乾燥。例如血塗片不用任何藥劑，僅使其乾燥，則血球細胞即為固定。昆蟲之體素如為薄片可在火上微烤，使內部原生質立即凝結，此亦為用物理法固定。但一般之體素及細胞皆用化學藥液以殺死固定之。

化學藥液以殺死而固定體素或細胞者，統名為固定液(fixative)。固定液可分為四類：

一 純粹的液體

(一)醋酸或冰醋酸 冰醋酸為最佳而最常用之固定液之一，但目前常與其他藥劑合用，不單獨使用。有時如欲殺死一動物，而該動物極為靈敏，易於收縮，則可用冰醋酸使其迅速殺死。用時最好將冰醋酸加熱，使其殺死力更為增高，殺死後，則該動物在十分至十五分鐘後必須取出，否則可能使體素有害，取出後可用 30% 或 50% 酒精沖洗，最後放入 70% 酒精內。

冰醋酸對於細胞之作用是使之脹大，故用此藥時，往往加另一藥劑，略有收縮性者，使二者之作用互相抵消。

(二)酒精 酒精亦可單獨用作固定液，其所用之度數為 30% 或 100%。用 100% 酒精，其作用乃使體素立即殺死；用 30% 酒精，則殺死之為時較長，但二者固定二十四小時後皆需移入 70% 酒精，前者乃防其去水過多，後者防其腐敗作用。