

第一章 引言

生物學和其他科學的發展，促成了顯微技術各方面的進步和成就。植物顯微技術的發展，促進了我們對於植物生活史和彼此血緣系統關係的認識，我們對於植物技術學應當有一深切的了解，一方面可以憑藉牠去探索植物界的淵源與真理；一方面精益求精的把牠自身的內容更加充實。

現代綜合化學的成就，給予動物與植物學家們不少寶貴的知識，提供了許多試劑。過去一般實驗者腦海裏所呈現的幻想和信念，經現在好些實驗者的努力，通過了化學試劑的嘗試，把牠變成事實了，這給後來技術家們許多的鼓勵。但是，不要忘掉，植物之間構造的複雜與生活現象的不同，是不能千篇一律的應用一種或某些化學試劑所可解決問題的。

雖然，還有好些陳舊的觀念和舊式的方法，存留和保守在一班技術家們的意識裏，但其中仍不乏孕育了好些新的、進步的、健全的方法和信念。我們也不能一腳踢開完全不要，以為所有舊的都是不好的；新的全是盡美盡善，實驗者只要能批判的去接受「存其精華」，來幫助發展新的，這才是技術家們應該擅長的任務。譬如以前有一個堅牢的信念，認為完全脫水，含純酒精而外，再沒有別的法子可以代替。後來經過許多實驗者的嘗試，借鑒於臨床實驗的方法，毅然的放棄了以前的只顧及時間為本質的舊方法，採用了一種試劑級度的程序去脫水，結果異常之好，這在顯微技術上可說是別開生面了。可是，沒有一種現代化學中的新試劑，能够以單純的濃度，普遍的應用於各方面而可達成任務的，我們不要忘記：植物是活的，牠們循着一定的規律在變動，把牠們當作靜止不動的東西去處理是不妥當。何況植物一如人類一般，牠有牠的個性、生活環境與生活史？所以技術家們處理植物材料的時候，不能等是齊觀，應當了解某一階段中或某一一部分的物理性和化學性是不同的，同時還要了解某種材料的合適試劑的化學反應。基於此，所以技術家們須具備充分的物理和化學知識，才可領悟到染料與試劑的性能，彼此之間的反應，以及作用於植物體上後來所產生的後果。

往日技術家們的英雄主義的「驚人絕技」，因時代的推移與知識的堆積，已經成了過去，漸漸為一般新的方法所代替了。顯微技術不是很簡單的純技術問題，而是須要掌握這個技術的知識的問題，換言之，也許再沒有別的行當比顯微技術

更需要多方面知識——尤其是理化知識，和機智的。一個有成就的顯微技術家他不但要遵循成法，而且要融會貫通，推陳出新有所發揮，這裏提出一個保證：只要實驗者在澈底了解許多成功方法之後，他天賦的會自然而然的去追求知識，不斷的學習，他更會領悟到怎樣恰當其時的去掌握所進行的事務。說得更逼近點吧！甚至他在每一程序中，隨時隨地都有發生偏差的可能，有遭遇到困難和失敗的可能，這要看實驗者如何運用他的機敏與能力，去克服那些困難。經驗告訴我們，理論一定要實踐去充實和發揚，所以顯微技術更需要多的實踐。處理一塊頑強的植物材料頭頭是道，至於那一個方法是正確，那一個不正確，兩者之間的選擇與取舍須實驗者自己去決定，惟其如此，實驗者才有機會去揣摩、體會，因而發明了新的方法，以至使後來的學者受惠無窮。

實驗者在初次採用某種程序時，務必先嚴格依循指導，澈底執行；進而才可希望在沒有嘗試某一程序之前，也許會比原作者還更有成就。假使他已經領會了他所遵循的途徑的話，他並不是沒有權利去推議一不同的新製方法的。以往許多專家們提供的好些試劑，應用公式，各種主要染色方法和程序等等，大可作為初學者的參考。例如貝林氏（Belling）所擬用的纖維—緋酸洋紅方法，就其染色原理來說，已經是奉為圭臬了。實驗者儘可事先熟識這個方法，等達到了一恰當程度之後，再來把牠改良應用。假使不必要時最好能依照原來的程序進行，免得將來發生的偏差沒法解釋。

最後，要提醒實驗者，須有能耐和勇氣去掌握事務的進行，不要在遭遇到困難的時候而氣餒下來，以為無可救藥，其實就是最熟練的，有經驗的技術家，有時對某一種不熟悉的材料也會遭到同樣的困難。在一程序的操作，首先要了解適當的殺死與固定的手續，次之脫水與浸透和染色等，如果了解得不透澈，出毛病的機會愈多，唯一補救的方法，只有再去嘗試，力圖改進，按部就班去作，結果沒有不令人滿意的。（譯者改寫）

第二章 實驗室規則

初學者必須遵守下列各規則，以免鑄成大錯。

1. 第一須保持各物的清潔。
2. 了解你的工作，如有疑難，須立刻停止，寧願從頭作起，不要潦草從事，一有錯誤，將無法挽救，細微末節，亦須小心處理，不得使氣，宜多加忍耐。
3. 保持案桌清潔整齊，放置各物須有一定地點，標明所用各藥品試劑及溶液，不要信賴記憶與感覺去辨別。
4. 配製試劑，除指定需要特別容器外，須用清潔玻璃器具，用過後宜趁潮濕時，放在流水中清潔。
5. 保持手的清潔和乾燥，尤其放置石臘切片帶於玻璃上時，要特別注意，同時留心勿使手或衣服上沾染有毒物質（如氰化汞，石炭酸等），最好能穿著橡皮工作服，以防意外。
6. 應用酸類時，須特別小心，酸類所發出的氣味，大多有刺激性，稀釋時，須永遠牢記：將酸到入水中，絕對不可將水到入酸中，如有熱放出時，每次宜小量加入，並待稍冷後，再繼續加添。
7. 裝盛縮水溶液（Anhydrous Solution）的容器，瓶塞要塞緊。不要應用殘留的溶液來脫水，因為殘留的溶液，已失去縮水功用。應用揮發性或喜水性液體時，在容器的蓋上或瓶口處，須用凡士林或石臘油（Petrolatum）等固封。
8. 手頭所應用的各種材料，最好製成簡明卡片，便於查考，不要單憑記憶，以免多錯誤。
9. 稱量各種固體試藥時，須墊用紙片，保護稱盤或天秤，以免沾損。
10. 不要將固體物，棉膠（Celloidin）溶液，拋入水槽，以免堵塞。如傾有酸類或染色液在水槽中時，須沖洗乾淨。
11. 要分別應用滴管，每種酒精，二甲苯（Xylol），染料或酸類等，各用一個，不要紊亂。
12. 不要精製鉻酸（Osmic acid）溶液，因鉻酸價值昂貴，花費太大。同時要竭力避免鉻酸的氣味，尤須絕對禁止接近眼睛，以免傷害。
13. 阿拉伯樹膠瓶，須置於避光處，暴露太久，容易使之變為酸性，致礙所着

染的顏色。

14. 從植物體上或水中採集的材料，須迅速固定，以免其細胞容易改變，就誤的時間愈短愈好，最長也不過幾秒鐘。取用材料時，最好不要壓碎，材料稍大時，宜將外部體素移去，切成適當的小塊，然後固定。

15. 在殺死和固定體素以前，須選擇一適當的固定液，最好首先同時試用幾種固定液，將來選擇其中最合適的，事先須將溶液配好，以便應用。

16. 採用染料時，須先查考清楚，然後才可應用。

17. 預算時間，以便操作，如有經驗的技術員，常常可以同時開始幾種實驗工作，因為他能預算時間，非常經濟。

18. 體素放在殺死液劑，或脫水液劑，以及石臘(Paraffin)溫箱中，要有定時，不可太久。

19. 常常嚴密的檢討各種準備工作，必要時得請益於熟練的專家們，不要以為結果平常，而引以自滿，要常常檢討殺死(Killing)，固定(Fixing)，浸透(Infiltrations)，切片(Microtoming)，染色(Staining)和封藏(Mounting)等等手續，即是已經知道結果不良，是由於材料或某一步驟所致，也得要誠實加以檢討，假若能虛心自責，然後再歸咎到材料或步驟上去，那你不愧為一個很好的技術家。

20. 在任何情形之下，不得灰心，必須再接再厲，要追求你失敗的因素，如同李伯萊(Bdles-Lee)(最有名的一位動物技術家)說：『最有經驗的技術家，在他當初的試驗裏，也有過多少的錯誤』。

第三章 用 具

開始學習植物顯微技術時，應先漸漸了解和運用各種不同的方法，因此必得具備下列各種用具。

載物片(玻片)(Slides)數盒，標準大小： 25×75 公厘(m.m.)，(1×3英吋)。

蓋玻片(Coverslips 或 Coverglass)第一號 (No.1)中等厚度的較為通用，并須備有下列各種樣式：方片22公厘，圓片18或22公厘，長方片22×40公厘等。

100 c.c.量筒(Graduate)(或 30 c.c. 和 500 c.c. 都可)。

普通滴管(Pipettes)數枚。

大吸管(Giant pipette)。

全鋼解剖刀(Scalpel)或普通小刀。

長骨柄薄頁解剖刀，修割切片台繼續地用。

有柄針數根。

大小適宜的脫毛刷子二三個。

大小剪刀兩把。

大小鑷子兩把。

防水印第安墨水或鉛筆若干。

鏡面玻璃若干。

克伯林染色瓶(Coplin jar)若干。

斯吞德染色缸(Stender dish)若干。

平底染色碟(Flat staining dishes)。

100 c.c. — 500 c.c. 試劑瓶數個。

酒精燈，(須用清潔酒精，如含有二甲苯，將蒸發盡玻片)。

有玻璃棒的樹膠瓶一個。

方玻碟(Square petri dishes)數個，供塗抹(Smear)用。

吸管(Water faucet)或抽吸筒(Suction pump)。

中國毛筆若干枝。

顯微鏡(Microscope) — 顯微技術上，需要一架帶有低倍鏡和一接目鏡的，價值較廉的顯微鏡。事實上用不着研究顯微鏡，因為常恐有些試藥或其他意外的

事體，怕損壞的原故。顯微鏡的鏡台須用玻璃板保護，有時候或者用幻燈片(Lantern slide)代替，但裝置時不要太貼緊鏡台，以便易於移動，潮濕的載物片在玻璃板上移動時，頗不方便，但在幻燈片上則較容易，檢查玻片時最好避免潮濕，必要時移動玻璃板以資調節。

切片機(Microtome)——初學者尚不需要此種機械，往後應用的機會很多，在此略加介紹。新式的切片機，是非常精確而有高度效率的一種機械，大致分為兩種：一，滑動切片機(Sliding microtome)；一，旋轉切片機(Rotary Microtome)。這些機械的優劣無從分辨，要看技術家的機械能力如何為斷，假使他有很高超的技術，就是操作滑動切片機也能有很好的成績。然而初學者或少有經驗的人，只能靠旋轉切片機來工作。

旋轉切片機，只能用在切石蠟包埋的材料，而滑動切片機，可用於其他切片方法中，初學者只能先應用一種簡單的滑動切片機，等到技術慢慢純熟以後，再用比較精確的機械。

旋轉切片機又分為兩種：一、老式的如巴希爾羅布公司(Bausch & Lomb Optical Company)出品的密羅特切片機(Minot microtome)，其前進運動部分，全靠上下運動，這兩種動作，如果分別動作時，結果甚為良好，只要有很純練的技術，用這種機械切片，成績異常之好。二、新式的即斯賓塞第 820 號切片機(Spencer No. 280 microtome)，其平行與垂直運動，完全彼此不相關連，操作時既穩定又精確，可是其上面裝放材料的關節夾(Joint clamp)，雖然結構簡單，對於初學者頗不易操作。

切片刀(Knives)，旋轉切片機上面的切片刀，可以來回更換，既不化費，又感方便。另外此滑動切片機上可裝置一特別的把手，在滑動塊(Sliding block)上夾放刀片，私人是否需要備有這種切片刀，要看他的選擇如何，假設他喜歡滑動切片刀，而不慣用旋轉切片機，那麼，他自己非備用這種刀子不可。有時候在旋轉切片機上，所用的刀子，也可以用到滑動切片機上去。

學生必須熟練去磨快所用的切片刀，欲想切出很完全的切片，磨刀是非常要緊的事。切片刀千萬不能交付磨刀的人或鎖匙匠去磨，同時也不能交付給磨解剖刀的人去磨，因為這些人沒有一特殊磨刀的技术，往往只有把刀子弄壞的。若是刀子上發見有了些缺刻，必須把它送到原來的工廠去修理，磨刀時用兩種磨石(Hones)，一、黃色比利時磨刀石(Belgian hones)第一次用，一、細的金剛砂磨石

(Carborundum hones)最後用,但是平常許多人都只有前面那一種磨石。

磨刀的手續:把刀背(back)和刀柄裝上去,在互利時磨石上放上清水,平置桌上,一端對着自己,然後將刀子放在磨石的他端,使刀柄靠近磨石,刀口向內,偏向刀的對角方面內曳,達到磨石近端為止;引曳時千萬不能使力,因刀子本身有一重量。再把刀子沿着刀背反過來,直向磨石外端,以刀柄沿對角方向輕輕外曳,達到外端為止。如是來回不已,十數分鐘後,檢查刀口,用大姆指甲在刀口上試擦,如刀口上發見有很微小的缺刻,指甲上有阻礙的感覺時,那麼,須再繼續琢磨,直到完好為止。

在市面上有自動磨刀的機器,只要很熟諳這種磨刀方法,其用磨刀石的好,若有指導可節,那更省而省事。

磨刀,須在堅硬的皮帶,或將磨帶裝置于木塊上。硬的皮帶易使刀口搖損。磨刀時仍須帶上刀背,操作方式與磨刀相同,但方向相反。不然,容易割裂皮帶,絕對不要如理髮師一般的,將刀子在皮帶上打擊。

刀口的任何一部份,只能應用一次,宜避免在刀口一處,剝切很多的切片,當看到所切就的切片,粗糙而有損壞時,這證明刀口微處已起變亂,須另換部位,或者將刀面清潔磨盪,常常用小指頭去清潔刀面上所切下來的石臘片,或所切下來的東西。

保安切片刀柄(Safety Razor Blades Holders):光學儀器公司常常備有一種夾吉來特式(Gillete)保安刀片的夾子,但無多大的用處,新式的克雷一威爾遜(Craig-Wilson)刀柄,比其他成品為佳。刀柄中可以灌注冰水,便於切割很薄的切片。如果需切成25或更厚一點的切片時,可以灌注微溫的水,使刀片不冷,能切成很長的切片帶。當應用這種刀片夾時,刀片不要像切片機上一樣弄得直直的,要弄得彎彎的,刀柄不要向石蠟塊傾斜,須得保持一垂直地位,以免因石蠟塊發生震盪。

保安刀片(Safety Razor Blades):刀片的種類與品質,何者對於切片最為適合,各種意見不同,製造廠家的宣傳,頗不足信,應用切片第一要注意的:就是不要刀片過於薄弱,吉來特刀片,尚可應用,不過須挑選一種合用的才行,依著者意見,以杜白黑(Dublekeen)刀片較好,除此之外還須備有好質料的泰克賴斯(Twinplex)磨刀帶一根,常常可以磨磨刀片。磨磨刀片時,必須先將刀片上黏着的石蠟用二甲苯擦去才行。

石蠟包埋溫箱(Paraffin Imbedding Ovens):溫箱的種類不一,繁簡各有不同,溫度終年或終天稍有變化的地方,可採用簡單的溫箱,不然,須用雙層絕緣壁的溫箱,著者用錫爾可(Thelco)簡單電溫箱(Newark, N. J. 公司出品),有好幾年經驗。在人多而又大的實驗室中,須用較大的溫箱,坊間的真空溫箱最為理想。

染色碟(Staining dishes):常用的染色用具有兩種,(1)斯吞德染色缸(Stender dish)或克柏林染色缸(Coplin jar)(通常簡稱為斯吞德或克柏林),克柏林因結構造特別,不容易清潔,但牠比斯吞德方便,載物片放在裏面可常保持一定的位置。有的人喜歡這種,也有的人喜歡那種,通常多半都用克柏林作裝盛染料和各種度的酒精;而斯吞德派來用盛洗滌液或媒染劑等。在精細工作中,如果只須裝就少數玻片時,都用克柏林,用某一種方式裝備大批玻片,不須單獨一個個完成此種程序時,用一能盛1 升的大容器代替,未嘗不可。但是,在這種大的容器中,要安放一個玻片架(坊間有賣),作者自行設計,製就亦可。最簡單的方法,用適當粗細的鋼絲燒成幾英寸直徑大小的鋼絲圈,將玻片夾在兩圈之間,應用甚為方便。又著者曾經用金屬圈條代替也行。應用金屬玻片架時,只限于水、酒精或二甲苯中,但不能放于染料或媒染劑的器具裏。

載物片(Slides):載物片(或玻片)的種類非常之多,合用的究屬有限,我們將在「原料的來源」一章裏,當詳細討論,載物片的標準厚度為1公厘,這種比較薄的玻片,多半用於精細的細胞學研究工作上,很少作普通用。有的玻片從邊上看去,稍帶綠色,普通適用也用不着純白的玻片;綠色玻片反而不易侵蝕。

內凹玻片(Depression slides):內凹玻片常稱為「培養玻片」(Culture slides),用來封藏較大的材料,可是應用既感價昂,又覺不便,因為定型的內凹標準,深度與寬度無法變更,故常用一個齒輪和磨擦器,裝置在一旋轉主軸上,來磨成隨磨所需的大小內凹玻片。近來有一種小型電動磨器,更為方便,著者常用漢地(Handee)磨器(芝加哥Wheel & Manufacturing Company)成績頗佳,該器的轉輪上,裝有一硬質或炭化物的磨擦器,應用時,塗上松節油或樟腦膠等滑劑,以免磨擦玻璃時損壞轉輪,并須注意到轉輪不要太貼緊在玻璃上,欲磨製內凹玻片,須選相當厚的玻片,磨過的玻片上面,相當粗糙,要塗抹一層樹脂,一則使之平滑,一則不礙於在顯微鏡下觀察。

蓋玻片(Coverslips 或 glass):蓋玻片厚度不一,通常有四種,用號碼0,1,2,3等表示,第一號蓋玻片的標準厚度為0.17公厘,有圓形或方形的,標準大小為

15, 18, 22, 25公厘, 長方形的, 其大小為22或24公厘寬, 30, 40, 50, 60或70公厘長。至於其他大小的蓋玻片, 須另行訂製。蓋玻片除非是一個可靠公司的出品, 不然我們應用時, 須以一標準蓋玻片校正其厚度。假若使用油鏡(Immersion lens)觀察時, 最好加蓋第0號的蓋玻片。圓蓋玻片多半用於全部封藏法(Whole-mount method), 及徒手切片(Free hand sections)中, 因為便於玻片在轉台上固封。大的蓋玻片和載物片為一班動物學家與病理學者所樂用, 植物技術上應用很少。

玻片與玻璃器具的清潔(Cleaning slides & Glassware): 技術上應用的玻片, 蓋玻片和玻璃器具, 須加以清潔, 清潔用劑, 最好用酸類, 尤其應用在石蠟切片方面的玻片等, 常常必須用化學清潔處理。不然, 裝成的切片, 易被沖洗。常用的清潔劑為:

重鉻酸鉀 (Potassium dichromate)	20 g.
水	100 c.c.
濃硫酸 (Concentrated sulphuric acid)	100 c.c.

先將重鉻酸鉀溶解於水, 徐徐小量加入硫酸, 俟稍冷卻, 再將酸加入。製就的液體, 儲存在玻璃瓶中, 以備臨時反覆應用, 直到液體變或黑色時為止, 洗滌玻璃器具時, 將其浸入清潔液中數小時後取出, 用清水沖洗乾淨, 再用蒸溜水清洗一遍, 清潔液還有一種是一分濃硝酸和四分濃鹽酸合成的, 這種液劑不能夠保持長久, 而且氣味很大, 清潔用器時, 浸泡數小時, 後再用流水洗淨。

假若欲製備照像玻片時, 最好不用已經用過的玻片和蓋玻片。因為已經用過的玻片, 被切片或黏貼劑(Adhesive)所沾染, 其所生的像, 仍舊顯于底片上, 尤其在底片曝光較長久時, 更易顯出。

玻片盒(Slide containers): 安放製就玻片的盒子, 有種種型式, 玻片盒不宜應用紙質的, 以木質的為宜, 裝25片玻片的藏刻木盒, 方便合用, 比其他樣式的較為普遍。木盒大概分為兩種: 一種其上蓋內面稍起, 嵌入下底; 一種上蓋蓋覆在下底的內凹緣邊上。後者商家多採用, 便於包裝運輸, 前者, 樂用的也不少。另外有兩種裝12片玻片的, 與木紙板盒裝100片的, 都很常用。不論那種玻片盒, 放玻片後, 最好能豎立, 保持玻片平放的位置。尤其是全部封藏的玻片, 若是玻片側着放, 或歪于平着放, 易使片中有料流向一邊, 或者聚於一處。同時假如樹膠沒有十分乾透, 凝固時容易產生氣泡。

大吸管(Giant pipette): 為一長約8.5公分的橡皮球, 及一口徑適中, 長約25公分的玻璃管同成, 常用此種大吸管從池沼中吸取單細胞藻類, 或排吸水分。

第四章 試劑

普通試劑

在顯微技術中，酒精 (Alcohols) 是最重要的試劑，用途非常廣泛，酒精的種類雖多，而用作普通試劑的，只有乙醇 (Ethyl alcohol) 一種。次之為福靈 (Formalin) 液。

乙醇——在本書中，或其他地方，平常一提到酒精，大都是指乙醇而言，如果是指其他酒精，一定須另外加一說明。

純粹的酒精，通常稱為 100% 的酒精或純酒精 (Absolute alcohol)，在商業上稱為 200% 或「200—proof」。這種酒精價值非常昂貴，而且不易得到。純酒精自己也可以製備，但是手續異常繁重。最好的方法：就是用氯化鈣蒸餾酒精，即用低度酒精與氯化鈣混合，攪勻後，使上清液，再在混合的酒精中又加氯化鈣。之後，在蒸餾板上加熱，慢慢使酒精蒸餾，酒精裏面的水份為氯化鈣所吸收。第二個方法把硫酸銅 (Cupric sulphate) 加熱，熱至使之變成白色粉末為止，然後將此縮水的硫酸銅加入普通 95% 的酒精中，酒精中的水分，旋即為縮水硫酸銅所吸收，而變為藍色，最後趁熱在一乾燥而緊密的瓶中過濾，即得。有人為防止純酒精吸水起見，特在盛純酒精的瓶中，加放一小袋縮水硫酸銅。

檢驗一純酒精中，是否有些微水分存在，最靈敏的方法，就是：取可疑的純酒精數滴加于縮水氯仿 (Anhydrous chloroform) 與液體石蠟中，只要有一點濕氣存在，即就產生渾濁現象。

乙醇普通常用 95—96% 的強度，除了某種特別的目的而外，已經算相當強烈了，可是一班植物技術家，很着重應用純酒精，有時某種體素或玻片，須經數次交換純酒精，使水完全脫盡才可。據著者和多人的經驗，像這種浪費的方法，似乎大可不必。在叔丁醇法 (Tertiary butyl alcohol method) 中只須用純酒精一次，其起用繁重的二甲苯來，既省時間，又省金錢。如果用丁香油 (Clove oil) 作二重染色 (Counter-stain) 的片子，以 95% 的酒精脫水足够了，但在第一次用丁香油沖洗之前，最好加用點純酒精，以除水氣。

酒精的稀釋基液 (Stock) 有 15, 33, 50, 75 和 85% 不等，視需要如何而定。這

些稀釋液當由95%的酒精(決絕不用純酒精來稀釋)用蒸溜水來稀釋。稀釋最簡便的方法是用 100c.c. 的量筒, 將被稀釋的酒精傾入筒中, 達到所需要的某種百分數的級度, 然後加入蒸溜水, 充滿到被稀釋酒精百分數的原來級度為止。所稀釋得來的酒精, 就是所要的某種強度的酒精。例如: 由 85% 的酒精要配成 35% 的酒精, 即在量筒中裝 35c.c. 的 85% 酒精, 然後將蒸溜水注滿到 85c.c. 處為止, 即是 35% 的酒精了。通常正實驗室中, 多半是加五倍計算, 用 500c.c. 容量的玻璃瓶來裝盛配成的各種酒精。

甲醇 (Methyl alcohol) —— 又名木精 (Wood alcohol) 有毒, 強度通常是 90%, 比乙醇價廉, 在植物技術上, 不能應用乙醇時, 很謹慎的才肯用。英國所謂甲醇化酒精 (Methylated spirits) 或變性酒精, 即是指乙醇中加有 10% 的甲醇而言。

蟻醛液 (Formalin) 又稱 (Formol) 或 (Formolose)。商品上即 38—40% 的甲醛 (Formaldehyde) 水溶液, 如 5% 液的蟻醛液, 是指 5c.c. 的商業蟻醛液, 再加上 95c.c. 的水, 酒精或其他液體而言。商業蟻醛液, 常含有蟻酸 (Formic acid) 在內, 可是應用時, 無關重要, 不一定將蟻酸除掉。事實上蟻酸存在, 反而有利。如果須用中性蟻醛液時, 必須將蟻醛液加以蒸溜, 除去蟻酸, 其法: 將蟻醛液盛於燒瓶中, 加重碳酸鈉 (Sodium bicarbonate), 蒸溜以後, 旋即使用。不然蟻酸又可立即產生。

蟻醛液有時一部分或整個分解而生白色沉澱, 這種變性的蟻醛液, 對於精細工作, 不宜應用, 如果在蟻醛液裏先加稍許甘油 (Glycerin), 可以防止牠分解。

脫水試劑

試劑中有喜水性質的, 常用來脫除體系中的水分, 完善的脫水試劑須: (1) 易與水、乙醇、樹脂或石蠟混合, 同時要 (2) 不使體系水解 (約翰森 Johansen, 1935), 目前只有氧化二乙稀 (Dioxan) 和叔丁醇 (Tertiary butyl alc.) (甲基代乙醇) 兩種, 但其他試劑也常用來作為脫水劑, 不過牠們不大與石蠟樹脂混合在一起。

丙酮 (Acetone) —— 為相當好而安全的脫水劑, 但不溶解石蠟, 經過丙酮處理或浸透的材料, 仍可應用第二級或第三級丁醇, 氯仿 (chloroform), 或苯 (Benzene)。丙酮能溶解脂肪、松脂、蠟或油, 同時還可以使蛋白質沉澱。

氧化二乙稀 —— 除少數紅藻以外, 牠不硬化或凝結植物體系, 但有一個不方

無之處，就是：牠能溶融的石蠟很重，所以用氧化二乙烯，要特別小心，在包埋以前，要竭力除蠟，須應用較溶融石蠟為輕的試劑如苯、氯仿、第二級丁醇之類去克服這個困難，才能使所有氧化二乙烯去掉。之後，再行浸透於石蠟中。氯化鈣也是一個很好的脫水劑，尤其是在潮濕天氣之下，但牠的不好處，就是常能穿透到材料的體素中去。

乙醇——以前常用乙醇為一普通的脫水劑，因為感到牠有使體素萎縮與硬化的毛病，所以用其他試劑代替，可是在低度酒精如5%的酒精等，却仍是相當安全的，之後，將材料轉入別的試劑，而此試劑，要不與水、75%—80%的酒精混合的，但要與石蠟或樹脂混合的才好。

叔丁醇 (Hygrobutol)——為一特別的第三級丁醇，特別用於一種只能全部封藏于樹脂中的材料(約翰森 1937—1938)，可是相當花費。在石蠟法中，採用叔丁醇之處，可用普通的第三級丁醇代替牠。

異丙醇 (Iso-propyl alcohol)——除用為殺死劑以外，牠還可以代替乙醇，結果相當完滿，並不會與乙醇處理材料一般，使之變得很硬化。

二甲醇縮甲醚 (Methylal) ——性質與氧化二乙烯相同，在植物顯微技術上雖同樣應用，可是比氧化二乙烯更不經濟。

正丁醇 (Normal butyl alcohol)——與第三級丁醇的分子構造不同。觸之有肥皂性感覺，對於材料有萎縮或變硬的作用，商品正丁醇常含有10%左右的水在內，可將其放置於氯化鈣上，過二十四小時之後，使水氣完全放釋，可得純正丁醇。正丁醇溶於水以體積比例而言，大概至多能溶到8%。

正丙醇 (Normal propyl alcohol)——在植物顯微技術中很少應用到，動物方面用途較廣，無萎縮或硬化體素的弊病，動物體素從水中取去，即換二三遍正丙醇，就可放入石蠟中。

第三級丁醇 (Tertiary butyl alcohol)——為初學者最安全的脫水劑，其價值也是所用醇中最便宜的，因為能溶融的石蠟輕，所以比氧化二乙烯好，此外，這兩種試劑，應用於顯微技術上的，差不多完全相似，能與普通實驗中所應用的試劑混合，從石油中提煉出來的第三級丁醇，其性能比別的較為可靠。

清 淨 劑

大部分的清淨劑不與水混合，所以材料中欲清淨的，必須先行完全脫水。

山毛櫸蒸木油 (Beechwood creosote)——脆弱而易於壓壞的材料，(如蕨類原葉體等)，在較高度的酒精中脫水時，為避免變硬起見，一達到 80% 酒精，即行打住，將材料轉入山毛櫸蒸木油中。換上一二次，脫水程序便可完成。再用樹脂溶劑 (氧化二乙基、叔丁醇、苯或二甲苯等)，漸漸將牠溶掉，再將材料置於稀稀約五倍的樹脂中，讓樹脂慢慢蒸發。

有些二重染料，溶解於山毛櫸蒸木油中。例如處理蕨類的原葉體，首先用哈利斯蘇木精 (Harri's Hematoxylin) 染了之後，經過 80% 酒精，再轉到山毛櫸蒸木油中，在此油裏加 0.5% 快綠 (定綠) (Fast green) 作二重染色，又換一次山毛櫸蒸木油後，末了以樹脂滲透。

野梨油 (Bergamot oil) ——以前的植物學家都樂於應用野梨油，材料一開始，就可放在 95% 酒精裏面，慢慢將野梨油滴入，直到完全代替酒精為止。在包埋之前，雖有油存在於材料中，却無多大妨礙。野梨油對於炭焦染料不起作用，故有時可用為染色材料的清淨劑。

香柏油 (Cedar oil) ——很好的香柏油，不易得到。香柏油一種是為油鏡用，一種為清淨劑用，普通商品香柏油，多摻雜有二甲苯或其他溶劑在內。如材料經過處理而變脆時，可改浸於香柏油中，用時同二甲苯級度相差大點，也無妨礙。材料浸存在此油中，可經久不變。但是，清淨作用相當緩慢。

氯仿 (Chloroform) ——氯仿為某些特殊材料的指定清淨劑，代替二甲苯時要用在丁醇之前，在浸透的最後階級中牠比去二甲苯容易除掉；可是較去丁醇要難。一分氯仿，混合一分二硫化炭，是一很好的清淨劑。氯仿可使棉膠變硬，同時牠容易破壞精細的染色，是故氯仿不宜用在染色的玻片上。

丁香油 (Clove oil) ——切片在封藏於樹脂之前，常用丁香油為清淨劑，封藏好了以後，所殘留在玻片上的油，必須用二甲苯除淨，不然，易使染色渾暗不明，材料放置於丁香油中，稍久即行變脆。丁香油中含有 80% 丁香酚 (Eugenol)。有時丁香酚可以代替丁香油，不過不太經濟。

一烯萜醇 (Terpineol) ——即混合松節油，含有幾種揮發油在內，用途很廣，動物學家樂於採用為包埋于棉膠中的材料的清淨劑，如果製片從水中到二甲苯，其中不需要經過酒精的 (Volkmann 1933)，那麼可用一烯萜醇來代酒精的作用。牠對於大多數的染色，沒有損害，但據著者的經驗，有時牠常使材料萎縮得厲害。

三氯乙稀(Trichloroethylene)——爲二甲苯的最好代替品，當清淨用時，並不侵害染色。石蠟容易溶于三氯乙稀，用樹脂封藏的玻片，拿牠來清淨，比用二甲苯還好(Oltman 1935)。

二甲苯(XyloI, xylene)——應用二甲苯時，材料須完全脫水，才可放入純二甲苯中。用二甲苯都是一個極消磨時間而不經濟的方法，二甲苯僅僅只能與純酒精混合，(但有時可與微量的 95% 酒精混合)混合的極度愈接近愈好，材料在每一個混合極度裏，要擱置幾小時之久，到了純二甲苯，須要更換數次。由二甲苯到石蠟也要一級一級的慢慢前進，是一相當煩重的步驟，存在於材料中的二甲苯，務須去淨。不然，在包埋時，石蠟有結晶的弊病。又材料不可長久存放在二甲苯中，久之易使之變硬。然而，二甲苯對用樹脂或其他樹脂的封藏切片，仍不失爲一種極重要的清淨劑。

二甲苯須絕對隔離水分和酸類，檢驗二甲苯是否純粹，不含水分，可滴入少許二甲苯於石蠟油，如果有渾濁產生時，就知有水存在。

黏 貼 劑

黏貼劑爲液體物質，用以黏貼切片於玻片上，普通應用的有下列數種：

郝布特(Haupt)黏貼劑——爲最好的一種黏貼劑，不但用以黏着切片，同時能黏貼好些單細胞或是集羣體藻類，其製法爲：用 1 克樂格膠(Knox gelatin)或其他純膠溶於 100 c.c. 蒸餾水中 (在 36°C. 溫度之下)，等到完全溶解後，加二克石炭酸(Phenol)結晶體，再加 15c.c. 純甘油，攪勻過濾即得。另外準備一 3—4% 蟻醛液，以爲漂移切片之用，先滴一滴黏貼劑於清潔的玻片上，塗抹成很勻淨的薄層，旋即滴上一滴蟻醛液，再將切片置於液上。之後，將玻片放在溫台(Warm-table)上，(溫台上的溫度大概爲 40°—43°C.)，石蠟的凝點爲 58°—60°C.) 直到切片已經攤平爲止。取下玻片，使片上的液體慢慢冷卻，同時設法除去玻片上多餘的水分，使之乾燥。當潮濕玻片移入溫箱中時，可另外用一兩個鐘頭玻璃裝滿強度蟻醛液，一并移入，因爲蟻醛液所放出的氣體，能促使黏貼膠的凝固。

梅爾(Mayer)黏貼劑——這是一個比較舊的黏貼劑，製法：蛋白少許，加同量純甘油或柳酸鈉(Sodium salicylate)或磨研過的麝香草酚(Thymol)，搖勻後，用消毒棉花或紗布過濾即得。黏貼切片時，可用清水漂移切片，新製的黏貼劑可保存六個月之久。可是經過一相當長的時間，約一個月左右，其黏貼効力漸漸

減低。爲方便計，有時亦可隨時用過濾的蛋白代替。梅氏黏貼劑，比蘇氏黏貼劑効力小，同時易於沾染發焦。

棉膠 (Celoidion) —— 厚的木料切片或連串的某種海藻切片等，難於貼附在玻片上的，就用 1—2% 棉膠 (用同量的純酒精和澱與棉膠混合) 來黏貼。但須先用蘇氏黏貼劑，使牠完全乾透後，才用棉膠，去蠟時可用酚——二甲苯 (10% 酚 [即石炭酸] 加於二甲苯)，再用 95% 酒精去酚——二甲苯，在普通情形之下，有時於純酒精——二甲苯和 95% 酒精之間，加入 1% 棉膠溶液，可使玻片染色時，牢固不掉。

伍立奇 (Ulrich) 黏貼劑 —— 製法：100 c.c. 蒸溜水中加 1c.c. 標準水玻璃溶液，再加 1c.c. 濃氨。黏貼切片，乾就以後，用二甲苯去蠟，經過幾度酒精時，可加一滴鹽酸於 20% 酒精中，以便中和所攜帶來的氨。

漂 白 劑

下面所提各種漂白方法，不過是供普通應用，至於其他方法，腐後再行討論。當應用漂白劑時，須時時觀察漂白劑作用進行的程度，須隨時可以完全停止其作用才好。不然，繼續作用，使體素水解，或使體素離析。

過氧化氫 (Hydrogen peroxide) —— 通常 2—3% 過氧化氫就够用，有時也可用到很强的或 50%。牠與水或 50—70% 酒精同用均可。其實 30% 強度的過氧化氫 (Merek's superoxol) 已經很够用了。

過氧—氨 (Peroxide—Ammonia) —— 氨水，可以加速過氧化氫的作用，其配製如下：

10% 過氧化氫	10 c.c.
水	200 c.c.
氨水	1 c.c.

從水中將材料或已封藏的玻璃片，轉入此漂白劑中，漂白後，用水徹底洗淨即可。

包 埋 劑

石蠟 (Paraffin) —— 曾得到很好的石蠟，頗不容易，商品石蠟，對於植物技術上沒有什麼價值。爲使切片容易和美麗，常將橡皮酌量加入石蠟中，以增加其

硬皮。事先將生橡膠加於黃蠟 (Parawax) 作成基液，以備應用。生橡膠以錫蘭海松橡膠為佳，其融點須剛好在黃蠟之下，先將橡膠剪成很小的塊，再加熱於黃蠟，直到高熱而不使之冒烟為止，保持溫度不變，徐徐將小橡膠塊加入，攪和至使橡膠融勻，最後將此混合物傾入一錫罐中，使之冷卻後，除去錫罐即得。大概 100 克黃蠟溶於 20 克橡膠，欲作成包埋石蠟，須再摻合一下。通常用基液 3—5 克，黃蠟 100 克，再加上地蠟 (Ceresinwax) 3—5 克（按：由一種礦物地蠟 Ozocerite 提煉而來），但其配合的成分，視特別的需要而定。

棉膠 (Celloidin) ——為硝化纖維的一種，極易着火，但不爆炸，常作成小片，儲存於水中，以備應用。

乙二醇硬脂 (Glycol stearate) ——為水溶性的蠟，其融點為 48.5°C ，小片體素之類，可直接從水中放入融溶的乙二醇硬脂中（在溫箱中）。經過 48 小時之後，連續換上五六次蠟，然後讓牠在保溫下凝固。用這種方法，可以切成很薄的切片。再用氣仿去蠟，經過純酒精，然後染色。

封 藏 劑

丹麥樹膠 (Dammar balsam) ——有人認為牠比加拿大樹膠還好。生膠中含雜質很多，須經過一次處理以後，才能應用。取生膠融溶，傾入苯 (Benzene, Benzol) 或二甲苯中，用粗濾紙過濾後，再用細濾紙過濾即得。加拿大樹膠封藏製片，往往產生渾濁，可是丹麥樹膠沒有這個毛病。

加拿大樹膠 (Canada balsam) ——取固體樹膠溶融於二甲苯或苯中即得。用於徒手切片時，稍須要濃一點，用於石臘切片的可稍淡一點。通常多用二甲苯、氧化乙烯、或三氯乙烯為稀釋劑。樹膠絕對不能加熱，如其顏色變黑時，不是受熱而破壞，就是溶劑放得太多。最要緊是：樹膠須隔離發熱，膠瓶須放暗處，或於瓶上塗蓋黑色物避免光線，同時瓶中可常置換一新鮮的小塊大理石（按：大理石為碳酸鈣，作緩衝劑用）。用樹膠封藏切片時，切片必須經過苯、二甲苯或三氯乙烯處理的才可。

有巴那膠 (Euparal) ——由達拉克膠 (Sandarac) 三聚乙醛 (Paraldehyde) 和加利油 (Eucalyptol) 等混合而成。比加拿大樹膠的折光率要強，又能使蘇木精染色明顯，所以常為此種染色製片的封藏劑，切片可由 95% 酒精，直接封藏於有巴那膠中。有巴那膠對於棉膠略有作用，因之，致使切片變硬或捲起，所以在蓋

上蓋片之先，要把切片平鋪在玻片上。在封藏時如有巴那膠發生霉霧，可微熱玻片，使霉霧退除後再行封藏。(按：Sandarac 即 Sandarac-tree, *Callitris Quadralvis* 所提煉出之樹脂。)

黛尔 (Diaphane) —— 美國人採用較多，其折光率比有巴那膠小，切片也可從 95% 或純酒精中封藏於黛尔中，但須注意避免霉霧，黛尔無氧化作用，可以保存精美的染色。

安息香油 (Styrax) —— 為一種綜合的封藏樹脂，其折光率很強，普通多用於觀察矽藻細胞壁上的花紋，應用時，最好用二甲苯稀釋。經二甲苯或苯的處理的切片，都可用此物封藏。

海拉克斯油 (Hyrax) —— 與安息油相似，用途亦同，適用於從巴西木精染色的除抹玻片，經苯處理的材料也可用此物封藏。

香柏油 (Cedar oil) —— 用於油鏡的香柏油，如作封藏用，其邊緣即行變硬，內部仍保持液狀；材料最好是用二甲苯處理，然後再用香柏油封藏。香柏油可以保存很好的顏色。

威尼斯松節油 (Venetian Turpentine) —— 歐洲落葉松 (*Larix europaea*) 的樹脂，多用於威尼斯松節油全部封藏方法中。但有一缺點，就易生結晶現象，使材料損壞。

乳酸苯酚 (Lactophenol) —— 為等量的苯酚 (石炭酸) 結晶體、乳酸、甘油與蒸溜水合併而成，必要時，甘油可酌量多增加一倍，或加入其他染料均可，如欲保存材料的綠色，可加入少許醋酸銅於乳酸苯酚中。

克羅 (Karo) —— 有時為甘油膠 (Glycerine jelly) 的最好代替品。商品以藍色標記的為好，克羅為糊精 (Dextrin)、右旋糖 (Dextrose)、麥芽糖 (Maltose) 的混合物，乾燥後不結晶，小型材料可以從水中或低度酒精中直接封藏於克羅中。克羅可用水或低度酒精去稀釋。有時因為蒸發的關係，當封藏時，變得相當黏滯。乾了以後和樹脂一樣的牢固，蓋片周圍不需再行封閉。但在很潮濕的天氣下為例外。

綜合樹脂 (Synthetic Resins) —— 近來綜合樹脂有代加拿大樹脂而起之勢，其中最好的一種，要算克雷來特 (Clarite) 綜合樹脂，這種樹脂無色透明，中性，化學遲緩，質地均勻，容易乾燥，80% 溶液 (溶於二甲苯) 很適宜於封藏植物標本之用。但溶於二甲苯的 60% 溶液，多用於動物體系的切片上。克雷來特不能耐