

# 生物實驗 材料製備法

張宗炳等著

大衆書局印行

Q-34

3887

# 生物實驗材料製備法

張宗炳 吳寶鈴  
王富全 張述祖  
合編

大學書局印行

**生物實驗材料製備法**

書號：京 071 (權)

25 K、258 P. 18000元

大眾書局印行

北京西四北大街

有版權·不准翻印

人民日報第二印刷廠印

初版：一九五一年十一月

(0001—3900)

## 前 言

一九四九年，在北京師範大學生物學系開了“標本製作法”這一課程時，我曾把幾年中零星的筆記寫成了一本講義。這一本講義只印了五十本，因為當時我總覺得寫的粗枝大葉，其中有許多的錯誤，不願意把一個不成熟的講義多流傳出去。印出之後，用講義的同學只有十個人左右，但是許多別的同学以及其他中學的生物教員都來索要，把它用作參考。另外，在教育部舉辦的工農中學師資訓練班上，這一本講義也成為教材的一部份。同時，上海及蘇州東吳大學的幾位朋友也來信要，但是這時候已經一本都不存了。

因此，一九五〇年，我便想到這本講義重新再寫一遍，有的需要添加，有的需要改正。文字方面，也需要改的通順一些。這一件工作，我自己做了一部份，此外是三位北京師範大學的同人為我幫了許多的忙。吳寶鈴先生在一九五〇年暑期去煙台海濱採集了一次，他為我寫了“海濱動物的採集、保存及標本製作法”一章。他把全稿從頭至尾抄了一遍，把文字改的通順了許多。王富全先生為我寫了“高等植物的採集、保存及標本壓製、浸製法”一章，並且請了胡先驌教授校閱了一遍。張述祖先生為我寫了“一般的植物採集培養及製片法”一章，也請了嚴楚江教授校閱過。這兩章的

加入，使本書中的最大缺點——缺少植物標本的製作法——得以補充。當然，比之動物學方面，份量還是不夠的。因為我當初寫的時候，只寫了動物一方面；但是這本書在中學作參考書用時，植物標本的製作法要是沒有，的確是不完全的。

這本書中常常提到玻片的製造，在生物學標本製作中，製片學是另成一門課程了；因此在這裏，沒有詳細的敘述。這本書是應該與“製片學”一同看做一套的，在學校內，製片學與標本製造都是一學期的課程，合成一個一年的課程。“生物學製片學”已經由商務印書館出版了。

這本書的出版，除了上面所說的三位先生幫助之外，北京大學李伯時先生為這書中的插圖費了很多時間，是特別該提出謝謝的。另有一部份的圖是北京師範大學王篆先生所繪。北京師範大學的同學也曾提出許多意見，一併在此誌謝。

這本書雖然已經是改寫了一次，錯誤還是不免的。這一方面是本人要負責任的。同時也希望各方面的讀者多多的批評指示。生物標本製作的技術，日新月異，可能目前還有許多新的方法，是本書中所沒有的，也希望讀者們指示，以便將來再度改寫時加入。

張宗炳，一九五一年三月二十日

北京大學動物學系

## 目 錄

前 言	1
第 一 章 原生動物門	1
第 二 章 海綿動物門	18
第 三 章 腔腸動物門	23
第 四 章 扁形動物門	32
第 五 章 圓形動物門	43
第 六 章 環節動物門	51
第 七 章 輪形動物門及腹毛動物門	58
第 八 章 苔蘚動物門及腕足動物門	62
第 九 章 軟體動物門	65
第 十 章 棘皮動物門	72
第 十 一 章 節肢動物門	78
第 十 二 章 昆蟲	86
第 十 三 章 昆蟲 (續)	97
第 十 四 章 海濱動物的採集、保存及標本製作法 (吳寶鈴編)	113
第 十 五 章 注射及屍體的保存	124
第 十 六 章 動物去皮及透明標本的製作法	131

第十七章	骨骼標本的製造	139
第十八章	一般的植物採集培養及製片方法(張述祖編)	143
第十九章	高等植物的採集、保存及標本壓製、浸製法 (玉富全編)	172
第二十章	生物模型的製造	197
第廿一章	生物學掛圖	202
附錄	採集時觀察些什麼	206
	一般動物採集表格	210
	固定劑，保存劑，染色劑	216
	普通實驗常用的一般器皿	220
	索引	221

## 第一章 原生動物門

在原生動物門裏，普通常用的實驗教材，有以下的四種。

(1) 變形蟲 (Amoeba) —— 屬偽足蟲綱

(2) 眼蟲 (Euglena) —— 屬鞭毛蟲綱

(3) 草履蟲 (Paramecium) —— 屬纖毛蟲綱

(4) 瘡原蟲 (Plasmodium) —— 屬孢子蟲綱

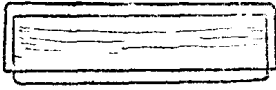
在這一章裏，要敘述這四種動物的採集、培養和製片法，其他不重要的原生動物的一般方法，也在本章裏略為敘述一下。

### 變形蟲 (Amoeba)

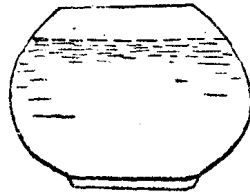
平常在實驗室裏所看到的變形蟲有好幾種，第一種是最大的，是最好的實驗材料；它們不但容易在顯微鏡下看到，而且可以看偽足的形成。另一種和它一樣，但是個兒小。平常採集到的變形蟲都是小形的，大的變形蟲必需要培養才能得到。

一、採集：取池中表面的水和其中的水草、腐爛樹葉等，放在玻璃皿中。這水不要太清，也不要太混，水流不要太急，而且要不含鹹性。可取的水草最好是金魚藻 (Ceratophyllum) 及水廬草 (Elodea)，但其他水草也一樣可以用。採集以後，這玻璃皿應該





平常用的培養皿，Petri皿



培養皿的又一種，洗手皿

放在亮處，但不要讓日光直接曬着，過一兩天後，一般重量較大的有機物都沉到水底，水面上有一層黃色的浮泡皮，在這浮泡皮裏，就可能找到變形蟲。這時便可以吸一滴水，放在顯微鏡下面仔細觀察，如果找不到的話，不要着急（注意：變形蟲十分難找，初學生物學的人，往往看到了而不認得），過一星期後再觀察，因為在這時候變形蟲最多。

採集的時候，應該多帶幾個玻璃皿，因為有時一個玻璃皿中不見得能夠找着，可能沒有。這樣採集來的變形蟲，可能維持到兩個星期之久，假如不需要培養的話，可以在實驗前一星期照以上的方法採集，一星期後正好觀察。

**二、培養：**採到變形蟲以後，可以培養起來，省得每次實驗前都得採集，培養的方法很多，重要的有下面四個：

**（甲）乾草浸劑（Hay infusion method）**

用一個乾淨的玻璃皿，放上三分之二的池水或雨水，這水必需不含腐爛物，沒有臭味，並且沒有化學藥品的沾染。然後把稻草切成一吋長左右，放在水內，約為水的五分之一，上面蓋上玻璃，放在日光不直接晒到的地方，約在一星期左右，表面上就有一層焦黃的浮衣了，這浮衣之中就有變形蟲，這個培養法是一般學校常用的方法，但是結果不如上面的採集法，變形蟲往往不夠多，因此不易找到。

用上面的方法，把稻草放入水裏以後，加上一滴採集來的水面浮泡（內含變形蟲），那麼四五天之後就可以看到大量的變形蟲，

個兒也比較大。

(乙) 小麥煮劑培養法 (Wheat culture)

用大約一公升的清水，加上小麥三十五粒，煮五分鐘，等它涼了以後，加上一滴採集來的水面浮泡（內含變形蟲），最好再加一點綠藻。七天以後，就可以看到大量的變形蟲，有時綠藻生長得好，在一個月以後，變形蟲可以很多。這樣的培養法可以維持兩個星期，假如能再煮些小麥時時加進去，那麼可以維持幾個月之久。

(丙) Monica Taylor 的方法

Taylor 的方法，是把採集來的含變形蟲的水，完全倒出來，這樣，就把其他的有機物和渣滓都拋去了，把這浮面的水（內含變形蟲），加上小麥煮劑（每一公升水裏加一克小麥），這個培養法與上面的方法大致相同，但是保存的時間更久，一兩個月都不成問題，而且變形蟲的個兒也大。

(丁) Dawson 的方法

Dawson 的方法是用少量的水，加上兩克小麥和三根稻草（一吋長，二毫米寬），煮幾分鐘後，再加 50—75cc 的清水，然後再加入採集來的水面浮泡（內含變形蟲），這個方法有時極為方便，但是有時也可能生長許多細菌，而完全失敗。

(三) 製片法：拿一塊玻片，或用蓋玻璃片，上面加上一滴變形蟲的培養劑，觀察數分鐘，使水漸漸蒸發而不要使水完全乾，這時候，變形蟲已經黏在玻片上。加一滴 Gilson's 液，或將蓋玻璃浸入 Gilson's 液中；十分鐘後，取出，在清水裏沖洗一下，放入

50%酒精 浸兩分鐘

70%有碘酒精 浸兩分鐘

90%酒精 浸十分鐘至數小時

再浸入清水內，然後浸在

鐵鉀礬 (Iron alum) 一小時

在清水內略為沖洗，放入

鐵蘇木精液 (Iron haematoxylin) 浸染一小時以上  
再取出，放回到  
鐵鉀礬 (Iron alum) 液內，褪色到染色之程度適當為止；  
再由

50%酒精 浸三分鐘

70%酒精 浸三分鐘

95%酒精 浸十分鐘

100%無水酒精 浸十分鐘

二甲苯 (Xylol) 浸二分鐘

加上樹膠 (Balsam) 封藏，便成了標本製片。

另外一個方法是 Benedict's 方法：拿一塊玻片，擦乾淨以後，加一滴蛋白黏劑 (Albumen fixative)，用小拇指把黏劑在玻片上塗勻，再在這上面加上一滴培養液，其中含有變形蟲的，讓水慢慢地蒸發，但不要讓它完全乾燥，加一點 Gilson's 液，把變形蟲固定，以下的步驟，就完全相同了。第二個方法的唯一好處，是使變形蟲黏在玻片上，不致於在染色及沖洗的過程中丟落。

### 眼蟲 (Euglena)

一、採集：一般池水裏，假如浮面上有一層綠色的浮泡，往往都是有眼蟲的；但是有的時候，沒有綠色的髒水，也有許多眼蟲，所以在淺的河溝裏，以及近糞坑的水中都能找到，眼蟲不愛十分清潔的水，所以在清潔流動的泉水中是找不到的。

平常的採集方法，是到附近的小河溝裏，上面有綠色浮泡的最好，取一些水來，在顯微鏡下觀察，眼蟲比變形蟲容易找，並且顏色鮮明，所以只要水內有，立刻就能看到的。

有時，變形蟲或草履蟲的培養液為時過長，漸漸水面上發生一層綠色的浮泡，這時去觀察，就可以看到許多眼蟲，而變形蟲等都漸漸消失了。

## 二、培養<sup>①</sup>：

(甲) 米湯或麥湯培養法：在清水內加幾粒米或小麥，煮一下，等水涼了以後，倒在一個 200cc 的玻璃瓶裏，再加上一滴採集來的綠浮泡（內中含有眼蟲）。在這玻璃瓶裏留一部分空氣，然後可以用軟木塞蓋上，眼蟲在這培養液中便能大量的繁殖，每隔三四天可以加一二粒米或小麥，這樣，這培養劑可以保持很久。

(乙) Cederstrom 的方法：Cederstrom 用 100cc 的雨水，加上 1cc 的消毒牛奶（去脂肪的），也同樣的放在一個玻璃瓶裏，其中加上一滴採集來的綠浮泡（內有眼蟲），把這玻璃瓶用棉花塞或紙蓋上，放在室溫 68°—70° F 左右而有亮光的所在，但絕對要避免陽光直接曬着，兩三天內，眼蟲便可以大量的找到。

假如用同樣的方法，不加上採集來的綠浮泡，那麼在這雨水內，眼蟲也會自己發生出來；因為雨水裏總有少量的眼蟲，這樣的培養要經過三個星期到六個星期之久，最後結果是一樣的。第二個方法所得的往往完全是同一種的眼蟲。

(丙) 用 Kleb's 液的培養法：用 100cc Kleb's 液，900cc 的蒸溜水，和 40 粒米，煮五分鐘，然後放置五天，再加採集來的綠浮泡。每三天加 10 cc，十天之後，每星期可以再加 Kleb's 液，25cc 及 10mg 的色氨酸 (Tryptophane) 粉，每一個月加五粒米，假如沒有草履蟲及輪形動物出現，這樣的眼蟲培養劑可以維持一年。

Kleb's 液的配合法如下：（這是常用的 B 式）

硝酸鉀 $KNO_3$	0.25 克
硫酸鎂 $MgSO_4$	0.25 克
單磷酸鉀 $KH_2PO_4$	0.25 克
硝酸鈣 $Ca(NO_3)_2$	1 克
色氨酸 Bacto. tryptophane Broth (粉)	0.010 克
蒸溜水——	加至 1000cc.

① 培養還有其他的方法，如用泥土煮劑等，可以參閱藻類的培養一章。

三、製片法：與變形蟲相同，最好用第二法，因為眼蟲本身不能粘在玻片上，除去鐵蘇木精（Iron haematoxylin）染色法之外，可參閱製片學用其他染色劑。

### 草履蟲（Paramecia）

平常在實驗室裏看到的草履蟲有三種，一種是大的，學名是 *Paramecium aurelia*，一種是小的，學名是 *P. caudatum*。它們的形狀相似，最顯著的不同是大小，其次是小細胞核的數目，但是這一點，不染色是不容易看清楚，第三種形狀不同，身短而比較寬，體內有綠色的共生藻，因此是綠色的，學名叫 *P. bursaria*。草履蟲平常是不用採集的，一般池沼內的水中都有，但是數目不太多，同時草履蟲的培養十分的容易，所以在實驗室裏用的草履蟲是完全用培養法得來的。

#### 一、培養：

（甲）乾草浸劑培養法：這是最常用的一種方法，和變形蟲的培養基本上是完全相同的；培養到兩個星期以後，變形蟲便漸漸地減少，而草履蟲便漸漸地增多，到最多時培養劑內就完全是草履蟲了。這樣的培養劑，在強烈的日光下可以看到近水面處有許多白色的小點，那便是草履蟲。

（乙）荷葉培養法：用一公升清水，加一把乾荷葉，煮十分到十五分鐘，然後把浮面上的渣泡除去，等它涼了以後，加上些池水或培養劑（含有草履蟲的），放在玻璃瓶內，上面用玻璃蓋上，放在亮處，不要讓日光直接曬到，一星期以後，草履蟲便繁殖很多了。

除了用荷葉以外，小麥和米粒煮湯也可以用，大約每 200cc 水中，加五六粒米或小麥就可以用了。

以上的方法，都是平常實驗室裏所用的，但是要做精確的實驗，則不但必需培養得好，並且要純是一種。以上的方法，就嫌太

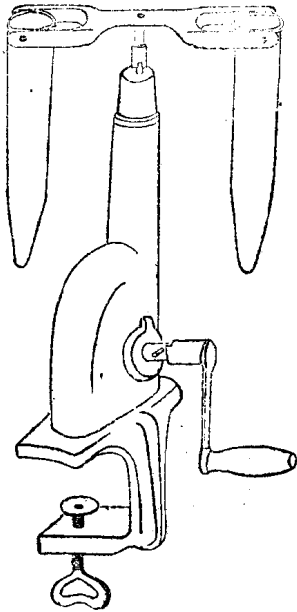
粗糙而不適用了。Rosenberg, L. E. 和 Sonneborne, T. M. 都是專門研究草履蟲的生理與遺傳的，他們的方法十分的精細。這裏，我們簡單把他們的方法敘述一下。

(丙) 草履蟲培養劑：用一公升井水，加上十克的乾草（切成小塊）煮十五分鐘，然後過濾，去掉一切的渣滓；放在消毒器裏，溫度保持在  $100^{\circ}\text{C}$  內消毒，每天消毒一小時，三天之後，再加九份同量的水，然後再把它分成三部分：第一部分與第二部分放在消毒的玻璃瓶內，一個裏面加入 *Bacillus subtilis*（細菌），一個裏面加上 *Bacillus coli communis*（大腸菌），第三部分，先用三十粒小麥，在水中煮十分鐘後，加在裏面，這三部分單獨的都放在保溫器內培養，溫度維持在  $37^{\circ}\text{C}$ 。放二十四小時以後，把它們混合在一起。這時，這培養劑就可以用了。用時放在玻璃瓶裏，約放三分之二滿，然後放入少量的草履蟲，一星期後，這培養劑內便都長滿了草履蟲。

在不用培養劑時，這三部分可以分開，臨時用的時候，再倒在一起。

以上的方法是 Rosenberg 的方法，Sonneborn 改用乾萵苣菜，以 1.5 克乾萵苣菜放在一公升水內煮三分鐘，煮好後加碳酸鈣  $\text{CaCO}_3$ ，使其 pH 值到 7.2，然後放在高溫內消毒；消毒以後，把剩餘的碳酸鈣及渣滓過濾。其他的方法相同。他所用的細菌是 *Flavobacterium brunneum* 及 *Stichococcus bacillaris* 二種。培養草履蟲的溫度，他說最好是在  $27-28^{\circ}\text{C}$ 。

二、製片：假如草履蟲培養得成功，往往在培養劑內只有草履蟲而沒有其他的原生動物。這時，可以取出培養劑少許，放在玻璃管裏，用離心器把草履蟲集合在一起，把上面的水倒去，換上清水，再用離心器把草履蟲集合在管底，把上面的水倒去，再換清水，這樣連續的幾次可以把草履蟲洗淨。最後一次，把水倒去之後，加 Schaudinn 氏固定液；一小時後，加 70% 酒精，再用離心



離 心 器

器把草履蟲集在瓶底，把上面的液體倒去，再加70%酒精，加一滴碘酒，以除去固定液中的氯化汞 $HgCl_2$ 。再洗一次以後，便可以保存在70%酒精內。

要製片的話，可以用離心器的方法，從70%酒精到

50%酒精 浸5分鐘

30%酒精 浸5分鐘

水內洗一次

染以各色的染色劑（可以分開在幾個小瓶內進行），然後再回到

10%酒精 浸3分鐘

30%酒精 浸3分鐘

50%酒精 浸3分鐘

70%酒精 浸3分鐘

90%酒精 浸3分鐘

95%酒精 浸5分鐘

100%無水酒精 浸5分鐘

二甲苯 Xylol 浸1分鐘

這時，可以把染成各色的草履蟲合在一起，最後放在乾淨的玻片上加樹膠封藏，製成玻片。用各色染色的唯一好處，就是不同的染色劑可以顯出不同的器官。否則，可以用二色染，即用 Delafield 氏蘇木精液 Delafield Haematoxylin（在水洗時染，到70%酒精時，用酸酒精褪色）及伊紅 Eosin 複染（在95%酒精時染）。其法如下：

由水內把草履蟲放入 Delafield 氏蘇木精液中，染到草履蟲成爲藍色爲止，大約在一小時左右。染後取出放在水裏面洗一下，水內洗過後，浸入10%，30%，50%，及70%酒精，每次浸三分鐘，

再浸到酸酒精裏面褪色，到細胞核還有藍色，而細胞質幾乎沒有顏色時爲止。然後放回到70%酒精內，再放入鹼酒精內一分鐘，再由70%酒精，90%酒精，95%酒精，每次浸五分鐘。浸入伊紅 Eosin 內複染，只要幾秒鐘，便立即取出放在95%酒精中略爲洗一下，再放入無水酒精中一分鐘，然後放入二甲苯油 Xylol 中使其透明，最後用樹膠封藏，製成玻片。

草履蟲有兩種特別的製片，就是（1）草履蟲的分裂與（2）草履蟲交配的玻片，製片的方法是完全相同的，但是培養時須有特別的技巧。

（1）草履蟲分裂：在平常培養劑裏，草履蟲的分裂可以偶而看到，但是爲數不多。要找到多數的分裂時期的草履蟲，可以用以下的方法：用淺的玻璃皿，裏面放上培養劑，培養劑裏本來有許多草履蟲，然後在玻璃皿中間加上一塊腐爛的麵包，到了第二天早上，在這麵包的四周，取出水一滴，其中的草履蟲有很多是在分裂的狀態。

（2）草履蟲交配：在培養劑內草履蟲生長最好的時候，也就是草履蟲最多的時候，取出一小瓶，用離心器把草履蟲都集在瓶底，然後，加平常的自來水，用量大約比本來的量大十倍，放在一淺玻璃皿內，六小時至十二小時之後，可以找到大量的草履蟲在交配的狀態中。在這時期中，時時觀察，可以找到各種交配的時期。

### 瘧原蟲 (Malaria parasite)

瘧原蟲的製片不是一般實驗室都能作的，平常瘧原蟲的玻片都是從醫院中，患瘧疾的病人塗血片製成的。假如有一個人患瘧疾，那麼用以下的方法可以製片，但是製成的玻片，未必能有瘧原蟲生活史的每個時期。

製片方法：用消毒的針，取病人的血少許，放在乾淨的玻片上，每一片上滴一滴血就足够了，用一塊蓋玻璃片斜着在玻片上



擦過，把這一滴血塗成薄薄而勻的一層，這塗血的工作是相當重要的，成功與否全在這塗片的“薄”與“勻”。假如太厚了，有幾層血球在一起，在顯微鏡下便不易觀察了。塗好之後，讓它在空氣中乾燥，完全乾了以後，加上幾滴Wright's染色液，使這染色液完全把塗血蓋上，一分鐘後，立刻加上蒸溜水，用量也是幾滴，這樣放上二到三分鐘的時候，然後用水洗，最好要用蒸溜水；洗過以後，這塗血片上應當是一層粉紅帶紫的顏色；這樣的玻片便可以觀察了；並且也能保持很久。有人願意把玻片在火上略烤一下，加上樹膠及蓋玻璃片製成永久的玻片。在這樣的玻片內，紅血球是粉紅色的，而瘧原蟲是藍色的，（要在油鏡下才能仔細的看到）。

除去瘧原蟲之外，血內的原生動物如錐蟲（*Trypanosoma* 屬鞭毛蟲綱）也可以用這個方法。（實驗室內可以用鼠的血作塗片，以作示範。）

### 一般原生動物的實驗材料

除了上述的幾種實驗材料之外，一般池沼的水內都含有大量的各種原生動物。所以，只要到附近的池沼內取一些水，加上些水草，帶回來觀察，便可以看到許多種原生動物。採集時最好用玻璃皿盛放，不要用鐵罐，萬不得已時，採集回來，也應該放在玻璃器皿內。放時，水不要放滿，留一部分空氣，上面用玻璃蓋上，放在光亮處，採集後的第二日便可以觀察；觀察的時候，最好取水草附近或玻璃皿四週的水，滴在玻片上。

另一個方法，是大量的採集水草，採集回來以後，再加清水（不要用自來水）泡上，放在光亮處，上面蓋上玻璃。這些水草就慢慢地腐爛，由此而產生了細菌，這些細菌便成了原生動物的食料。一星期之後，便可以看到水草附近的原生動物。在這一個水草腐爛的進行中，便發生了許多種原生動物；最早是變形蟲出現，以後是其他的偽足蟲綱的原生動物，鞭毛蟲在早期也有，到後來便都