

徐绶峻 编著

实用生物学制片手册



湖南教育出版社

徐 缓 峻 编 著

实用生物学制片手册

湖南教育出版社

实用生物学制片手册

徐绶峻 编著

责任编辑：刘百里

*

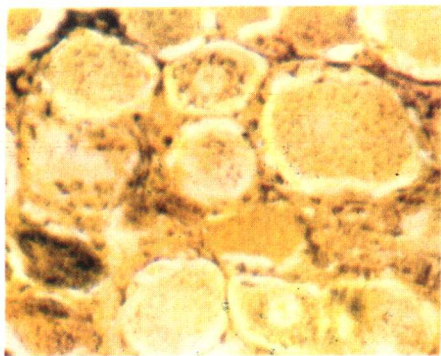
湖南教育出版社出版发行(长沙展览馆路3号)
湖南省新华书店经销 湖南省新华印刷二厂印刷

1987年4月第1版 1987年4月第1次印刷

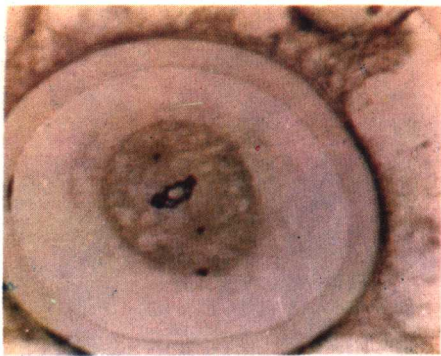
字数：250,000 印张：10.875 印数：1—1,500

ISBN 7—5355—125—7/G·126

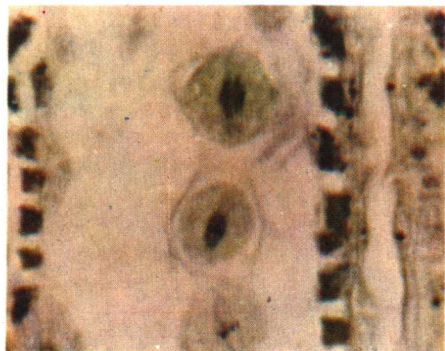
统一书号：7284·870 定价：3.20元



犬神经节 (400×) Aoyama氏染色法 高尔基体呈棕黑色



马蛔虫卵 (536×) Heidenhain氏苏木精染色 染色体、中心体、极体呈蓝黑色



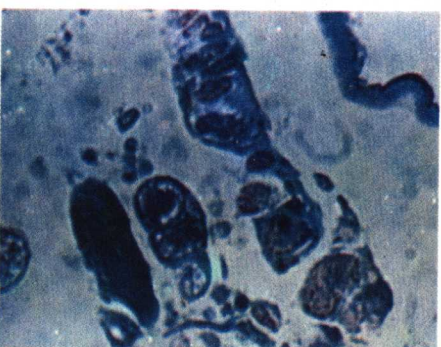
水稻花粉母细胞 (536×) 苏木精、固绿染色 减数分裂染色体呈蓝黑色



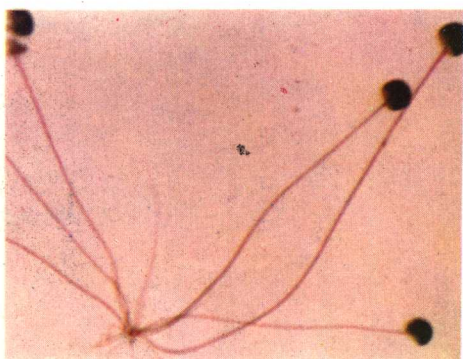
人外周血淋巴细胞染色体 (1000×) C式分带技术 着丝粒显带呈深紫红色



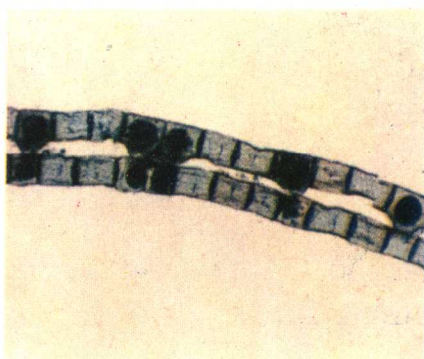
苏芸金杆菌 (1000×) Blendon氏染色法 菌体、鞭毛呈棕黑色或棕色



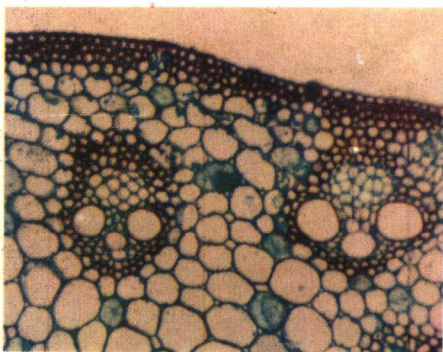
棉铃虫幼虫 (400×) Hamm氏染色法 核型多角体病毒的包含体呈红色



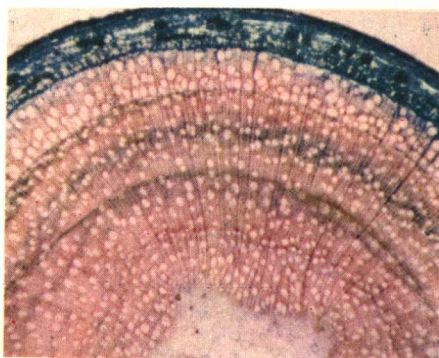
根霉(20×) 曙红染色 菌体呈红色 孢子囊呈红黑色



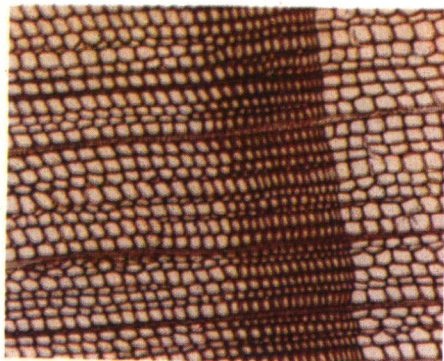
水绵(20×) 苏木精、固绿染色 接合子呈蓝黑色、叶绿体呈绿色



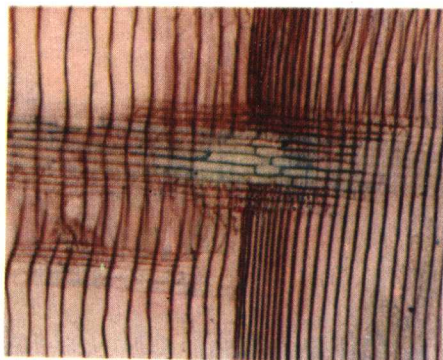
玉米茎(400×) 蕃红、固绿染色 表皮、机械组织、木质部呈红色、薄壁组织呈绿色



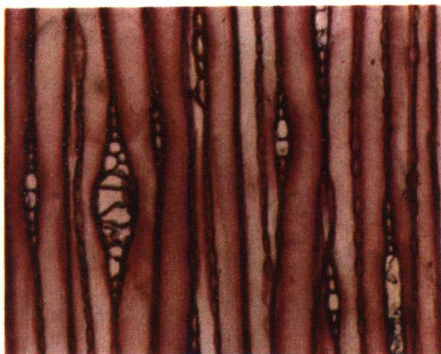
白杨树茎(20×) 蕃红、固绿染色 树皮呈棕黑色, 皮层、髓部呈绿色, 年轮呈红色



松木材横切面(50×) 蕃红染色 形成层、年轮、髓射线呈红色



松木径向切面(50×) 酸性复红、碘绿染色 髓射线(纵切)呈绿色



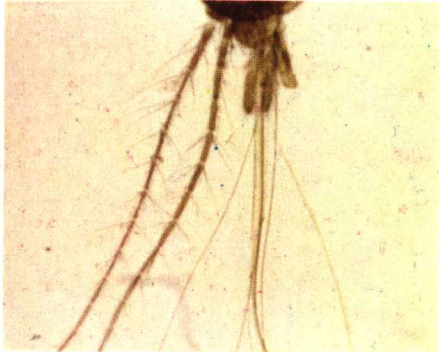
松木弦向切面 ($100\times$) 蕃红染色
髓射线(横向)呈红色



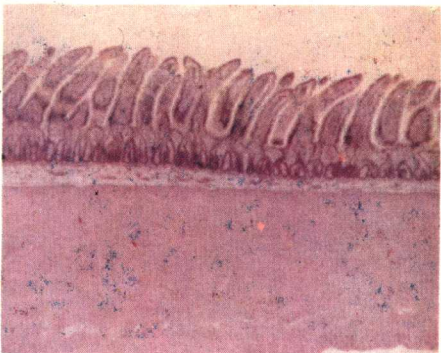
水稻种子局部 ($20\times$) 固绿染色
胚根、胚茎、胚芽呈绿色



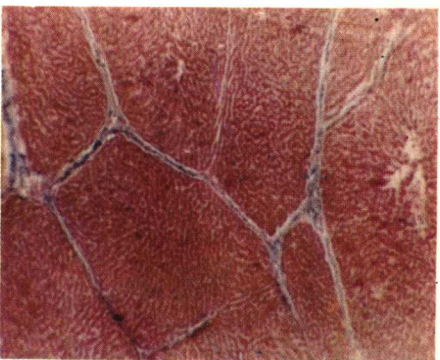
日本血吸虫尾蚴 ($100\times$) 酒精洋
红染色 虫体呈浅红色、口吸盘、咽、
肠管、腹吸盘、排泄囊呈红色



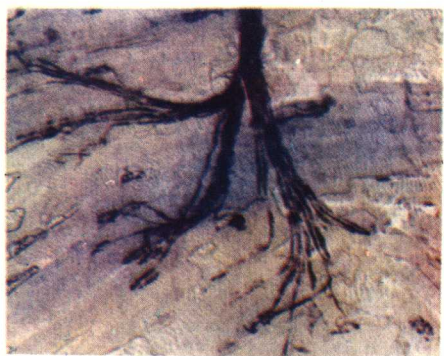
雌蚊口器 ($20\times$) 上唇、下唇、上
颚、下颚、下唇瓣、舌呈棕色



兔十二指肠 ($20\times$) 苏木精曙红
(H,E) 染色粘膜、粘膜下层、肌层等
细胞核呈蓝黑色 细胞质呈红色



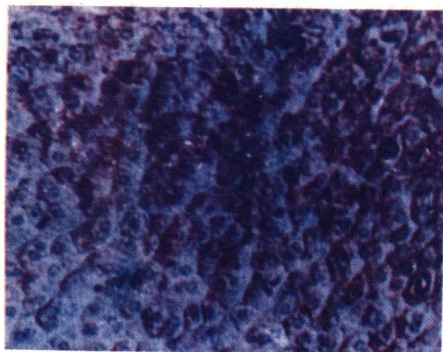
猪肝脏 ($40\times$) Mallory氏酸性复
红、桔黄、苯胺蓝染色法 小叶间结缔
组织呈蓝色、肝细胞呈红色



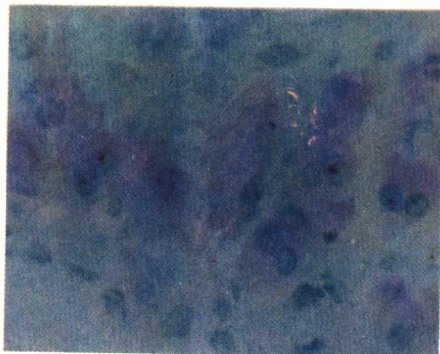
兔肋间肌(60×)硝酸银法 运动神经终板呈紫黑色



24小时鸡胚(20×)酒精洋红染色 头褶、神经褶、四对体节呈红色



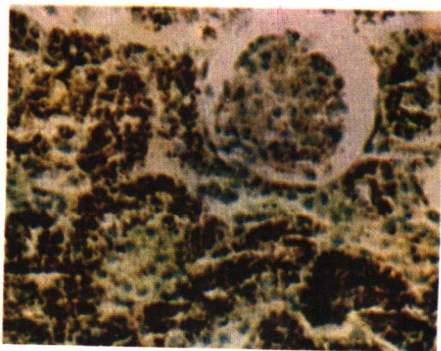
大白鼠肝(400×)Unna-Pappenheim法 核糖核酸(RNA)呈红色, 脱氧核糖核酸(DNA)呈绿色



大白鼠肝(20×)PAS染色 糖元呈红色, 细胞核呈蓝黑色



大白鼠肾(268×)硝酸铅法(Gomori) 近侧曲管细胞之酸性磷酸酶活性部位呈棕黑色沉淀



大白鼠肾(268×)钙—钴法(Gomori) 近侧曲管细胞刷状缘之碱性磷酸酶活性部位呈棕黑色沉淀

前 言

生物学制片技术是细胞生物学、植物学、动物学、微生物学、组织胚胎学、病理解剖学研究细胞结构与组织化学的一种主要方法，是大专院校生物系、医学院校、农林院校以及有关科学研究单位的一项基本实验技术。现在中学讲授生物学的基础知识和基本技能也离不开玻片标本。因而生物学制片技术在教学和科研领域内被广泛使用着。

前苏州东吴大学生物标本所由已故中国科学院学部委员胡经甫教授创办于1924年，并由先后执教于东吴大学的谈家桢、徐荫祺、张和岑、李惠林、武兆发、陆近仁、李琮池、顾昌栋诸教授直接领导下开展工作，故积累的制片方法相当丰富。现在为了适应教学实验、科学研究需要，这里将生物标本所的传统方法与近代国内外一些切实可行的制片技术，结合本人三十多年来的实践体会，加以整理，供生物学工作者、医学、农林科技人员，高等院校、中等学校师生参考。

本书在阐述制片原理的同时，比较注重介绍实例，技术方法力图具体实用，还希望对其它标本的制片能起到触类旁通的作用。在编著中也注意了利用简易设备，这是为了适应条件尚不完善的单位能因陋就简开展工作。

本书是在华中师范大学生物系名誉系主任李琮池教授、刘秉正教授指导下编著，以后又审阅了全稿。

编著期间，承蒙中国科学院学部委员、水生生物研究所所长刘建康教授以及华中师范大学、苏州医学院各级领导的热情鼓励与支持。

2 前言

同时还得到复旦大学芮菊生副教授，华中师范大学陈曲侯、张昌杰、汪义慰副教授，广州师范学院蔡亚娜副教授以及武汉教学仪器厂许如骏、赵钧奇、柳宜勤老师，武汉大学徐树华、周慧新老师，华中农学院施高明、刘如姣老师，武汉同济医科大学王鸿章、云永令老师，南京师范大学黄志和老师，苏州医学院苏玉平、陈颖、杨莉玲老师的支持与协助。在此，一并致谢！

但由于本人水平有限，因此缺点错误在所难免，深盼读者批评指正，以便再版时修改。

编著者 1985年6月20日

目 录

绪 论

第一章 制片用的器材与工作守则

一、基本仪器	3	三、玻璃器材	14
(一) 切片机	3	(一) 载玻片	14
(二) 切片刀与磨刀技术	4	(二) 盖玻片	14
(三) 显微镜	8	(三) 染色缸	15
(四) 恒温箱	9	(四) 树胶瓶	15
(五) 冰箱	9	(五) 培养皿	16
(六) 天平	9	(六) 量筒	16
(七) 载玻片染色机	10	(七) 烧杯	16
(八) 电热恒温水浴锅	10	(八) 染色碟	16
(九) 酸度计	10	(九) 微型凹面皿或凹 面载玻片	16
(十) 微型真空泵	10	(十) 试剂瓶	17
(十一) 电动离心机 (或手 摇离心机)	11	(十一) 双层滴瓶	17
(十二) 转台	11	(十二) 玻璃滴瓶	17
二、常用工具	11	(十三) 称量瓶	17
(一) 剪刀	11	(十四) 玻璃漏斗	17
(二) 镊子	11	(十五) 酒精灯	17
(三) 解剖刀	11	(十六) 双重蒸馏器	17
(四) 解剖针	12	四、普通试剂	18
(五) 取片匙	13	(一) 脱水剂	18
(六) 毛笔	13	(二) 透明剂	19
(七) 放大镜	13	(三) 粘贴剂	20
(八) 刀片	13	(四) 包埋剂	21
(九) 切片盒与烘片架	13	(五) 封固剂	21
(十) 笔式金钢钻 (玻璃 刀)	13	五、工作守则	22

第二章 标本的选择与固定

一、标本的选择原则	24	法	34
(一) 取材准确	24	(四) 杰尔森(Gilson)氏	
(二) 取材典型	24	固定液配法	34
(三) 取材完整	25	(五) 肖丁(Schaudinn)	
(四) 取材适时	25	氏固定液配法	34
(五) 取材清洁	25	(六) 苏萨(Susa) 固定	
二、固定的注意事项	25	液配法	34
(一) 要求麻醉标本	25	(七) 丹恩契可夫(Dan-	
(二) 要求尽早固定	26	chakaff) 氏固定	
(三) 要求小而薄的组织		液配法	35
块	26	(八) 武斯特(Worcester)	
(四) 要求小心切割标本	28	氏固定液配法	35
(五) 要求保持组织原形	28	(九) 本斯利(Bensley)	
(六) 要求预先确定切削		氏固定液配法	35
面	28	五、重铬酸钾类固定液	36
(七) 要求抽除组织块内		(一) 苗勒(Müller) 氏	
空气	30	固定液配法	36
(八) 要求固定后洗涤	31	(二) 奥塞(Orth)氏固定	
三、固定形象与固定液的选		液配法	36
择	31	(三) 特利逊士克(Tell-	
(一) 两种固定形象	31	yesnicky) 氏固定	
(二) 选择固定液的原则	32	液配法	36
四、二氯化汞类固定液	32	(四) 史密斯(Smith)氏	
(一) 曾克(Zenker) 氏		固定液配法	37
固定液(简称Z.A)		(五) 厄利(Erlicki) 氏	
配法	33	固定液配法	37
(二) 赫利(Helly) 氏固		(六) 查西奥(Ciaccio)	
定液(简称Z.F)配		氏固定液配法	37
法	33	六、苦味酸类固定液	37
(三) 马克西莫(Maxi-		(一) 波因(Bouin) 氏固	
mow) 氏固定液配		定液配法	38

(二) 木耶(moyer) 氏固 定液配法.....39	氏固定液配法.....43
(三) 细中胞心体固定液 配法.....39	(三) 戈尔德斯米斯(Go- ldsmith)氏固定液 配法.....43
(四) 盖奇(Gage) 氏固 定液配法.....39	(四) 弱铬酸-醋酸 固 定 液配法.....44
(五) 苦味酸-硫酸 混 合 固定液配法.....39	(五) 适度铬酸-醋酸 固 定液配法.....44
(六) 拉伯尔(Rabl)氏固 定液配法.....39	(六) 强铬酸-醋酸 固 定 液配法.....44
(七) 弗恩拉思(Vonrath) 氏固定液配法.....39	(七) 铬酸-醋酸-甲醛混 合固定液配法.....44
(八) 苏萨(Susa) 改良 波因氏固定液配法...40	(八) 佩伦夷(Perenyi) 氏固定液配法.....44
七、酒精类固定液40	(九) 那瓦新(NaWashin) 氏固定液配法.....45
(一) 卡诺(Carnoy) 氏I 固定液配法.....40	十、甲醛类固定液45
(二) 卡诺(Carnoy)氏II 固定液配法.....40	(一) 植物通用 固 定 液 (简称FAA) 配 法...46
(三) 卡诺-莱勃苯(Car- noy-Lebrun) 氏固 定液配法.....40	(二) 甲醛-丙酸-酒精固 定液(简称FPA)配 法.....46
八、银酸类固定液41	(三) 洛夫特斯克(Lov- dowsky)氏固定液 配法.....46
(一) 药液配制.....41	(四) 莫斯曼(Mossman) 氏固定液配法.....46
(二) 漂白方法.....42	(五) 卡尔(Kahle) 氏固 定液配法.....47
九、铬酸类固定液43	
(一) 弗莱明(Flemming) 氏改良固定液配法...43	
(二) 德斯梯(Destim)	
第三章 染料与染色液的应用	
一、染色原理48	(二) 化学作用.....48
(一) 物理作用.....46	二、各种常用染料49

(一) 天然染料.....49	(三) 硼砂洋红染色液配 法.....57
(二) 煤焦染料.....50	(四) 钾矾胭脂红染色液 配法.....57
三、各种苏木精染色液52	(五) 格林拉 (Grenacher) 氏染色液配法.....57
(一) 汉登海 (Heiden- hain) 氏苏木精染 色液 (又称铁矾苏 木精染色液) 配法...52	(六) 迈耶 (Mayer) 氏洋 红染色液配法.....57
(二) 德拉菲尔德 (Dela- field) 氏苏木精染 色液配法.....53	(七) 比尔 (Beal) 氏洋红 染色液配法.....57
(三) 哈里斯 (Harris) 氏 苏木精染色液配法...54	(八) 粘液洋红染色液配 法.....58
(四) 埃利希 (Ehrlich) 氏苏木精染色液配 法.....54	五、其它染色液58
(五) 迈耶 (Mayer) 氏 苏木精染色液配法...54	(一) 曙红染色液.....58
(六) 粘液苏木精染色液 配法.....54	(二) 藻红染色液配法.....59
(七) 美尔蓝 (Mallory) 氏苏木精染色液配 法.....55	(三) 番红染色液.....59
(八) 鲍牟尔 (Bönner) 氏苏木精染色液配 法.....55	(四) 固绿染色液.....59
(九) 汉森 (Hansen) 氏 苏木精染色液配法...55	(五) 酸性复红染色液配 法.....60
四、各种洋红染色液56	(六) 波尔多红染色液配 法.....60
(一) 酒精洋红染色液配 法.....56	(七) 中性红染色液配法...60
(二) 醋酸洋红染色液配 法.....56	(八) 雷琐辛复红染色液 别名维格雷特氏弹 性纤维染色液配法...60
	(九) 刚果红染色液配法...61
	(十) 龙胆紫染色液.....61
	(十一) 甲烷紫染色液配法...61
	(十二) 青苔别名喹啉蓝染 色液配法.....61
	(十三) 里昂蓝别名酒精溶 性苯胺蓝染色液配

法.....62	(十八) 俾士麦棕染色液配 法.....63
(十四) 丹纳绿染色液配法...62	(十九) 地衣红染色液配法...63
(十五) 亮绿染色液配法.....62	(二十) 硫堇别名劳氏青莲 染色液配法.....63
(十六) 甲基绿染色液配法...62	
(十七) 桔黄G染色液.....62	
第四章 石蜡切片制作方法	
一、脱水.....64	(一) 用具.....78
二、透明.....66	(二) 切割方法.....78
三、兼脱水作用的透明剂...67	(三) 切割质量低劣的分 析与改正措施.....79
(一) 正丁醇使用法.....68	八、脆硬组织难以切割时 的补救办法.....82
(二) 粘品醇使用法.....68	(一) 水软化法.....82
四、浸蜡.....69	(二) 氢氧化钠或三氯醋 酸软化法.....82
(一) 浸蜡药品与用具.....69	(三) 氢氟酸-甘油软化法...83
(二) 浸蜡方法.....70	(四) 冰冻法.....83
五、石蜡包埋.....71	九、蜡片的贴附.....83
(一) 石蜡包埋药品和用 具.....71	(一) 温水展平粘贴法...83
(二) 两种石蜡包埋方法...72	(二) 玻璃条展平粘贴法...85
(三) 石蜡包埋后出现混 浊结晶的原因分析...73	(三) 切片脱落原因的 分析.....85
(四) 快速石蜡包埋法...74	十、石蜡切片苏木精-曙红 染色法.....86
六、石蜡包埋块的修整.....75	(一) 用具与药品.....86
(一) 石蜡包埋块的分割...75	(二) 染色程序与方法...86
(二) 蜡块在台木上的装 置.....76	(三) 注意事项.....88
(三) 蜡块细修整.....77	
七、石蜡包埋块的切割.....78	
第五章 火棉胶切片制作方法	
一、脱水.....89	三、火棉胶包埋.....91
二、浸火棉胶.....90	(一) 用具与药品.....91
(一) 主要用具与药品.....90	(二) 火棉胶包埋方法...91
(二) 浸火棉胶方法.....90	四、火棉胶包埋块的修整...92

(一) 包埋块的分割.....92	(三) 切削质量低劣的原 因分析.....95
(二) 火棉胶包埋块在台 木上的装置.....92	六、火棉胶切片苏木精-曙 红染色法96
五、火棉胶包埋块的切削 ...94	(一) 用具与药品.....96
(一) 用具与药品.....94	(二) 染色程序与方法.....96
(二) 切削方法.....94	
第六章 冰冻切片制作方法	
一、取材与固定99	三、冰冻切片贴附与苏木精-曙 红染色法102
二、冰冻与切削方法99	(一) 用具与药品.....102
(一) 二氧化碳冰冻切片.....99	(二) 贴附与染色方法...102
(二) 半导体致冷器冰冻 切片.....100	
第七章 其它切片法	
一、聚苯乙烯包埋切片 ...103	三、徒手切片108
(一) 主要用具与药品...103	(一) 标本的选择.....108
(二) 包埋技术.....104	(二) 用具与药品.....108
(三) 切片与粘附.....105	(三) 切削方法.....109
(四) 染色.....105	(四) 染色方法.....110
二、碳蜡包埋切片106	四、假包埋切片与无包埋 切片110
(一) 主要用具与药品...106	
(二) 制备方法.....106	
第八章 非切片法	
一、整体装片111	二、涂布法114
(一) 甘油与甘油胶封固 法.....111	三、压碎法115
(二) 正丁醇树脂胶封固法112	四、离析法115
(三) 甘油、二甲苯、树 胶封固法.....112	(一) 铬酸-硝酸分离法115
(四) 二甲苯树脂胶封固法113	(二) 硝酸-氯酸钾离析 法.....116
	(三) 盐酸-氢氧化钾法...116
第九章 细胞学制片	
一、线粒体117	氏染色法.....117
(一) 里戈特 (Regaud)	(二) 哈木德 (Harmond)

氏染色法(1950).....118	(四) 人外周血淋巴细胞 示染色体127
(三) 汉登海 (Heiden- hain)氏苏木精-苦 味酸-复红染色法 (Mallorog氏改良, 1968)119	(五) G式分带显示法 (Gallmon Richa- rdson 1973).....131
(四) 本塞利-考德里 (Bensley-Cowdry) 氏染色法.....120	(六) C式分带显示法 (Sumner 1972) ...132
(五) 白细胞活体染色法.....120	(七) R式分带显示法 (Dulrillaux 等 1971).....133
二、高尔基体121	(八) 姐妹染色单体差别 染色法(改良)133
(一) 阿耶马 (Aoyama) 氏法.....121	四、细胞分裂134
(二) 雷蒙·爱·凯杰尔 (Ramon y cajal) 氏法.....122	(一) 洋葱根切片示植物 细胞有丝分裂.....134
(三) 达·范诺 (Da Fano) 氏法.....123	(二) 马蛔虫卵切片示动 物细胞有丝分裂、 纺锤丝、中心体.....135
三、染色体123	(三) 蚕豆、玉米、水稻 花粉母细胞示减数 分裂137
(一) 洋葱、蚕豆根尖细 胞示染色体.....123	(四) 雄蝗虫精巢切片示 减数分裂(成熟分 裂).....139
(二) 大麦、蚕豆、洋葱染 色体C式分带显示法 ...124	
(三) 果蝇唾腺示染色体...126	

第十章 微生物学制片

一、多角体病毒140	二、细菌143
(一) 棉铃虫幼虫示核型 多角体, 松毛虫示 质型多角体涂片.....140	(一) 革兰(Gram) 氏染 色法143
(二) 棉铃虫幼虫示核型 多角体, 松毛虫示 质型多角体切片.....140	(二) 罗弗(Leffer)氏染 色法144
	(三) 浦飞弗尔 (Pfei- ffer)氏染色法144

(四) 细菌三型简易制片.....145	四、真菌.....149
(五) 青虫菌、松毛虫杆 菌芽孢染色法.....145	(一) 酵母菌示出芽生殖 涂片149
(六) 钾细菌(硅酸盐细 菌)荚膜染色法.....146	(二) 根霉装片150
(七) 细菌鞭毛染色法 (Blendon 1965).....146	(三) 青霉装片150
三、放线菌148	(四) 青霉切片151
(一) 石炭酸-复红染色 法.....148	(五) 曲霉装片152
(二) 结晶紫-苦味酸-洋 红染色法.....148	(六) 地衣切片152
	(七) 麦锈菌春孢子、夏 孢子、冬孢子切片.....153
	(八) 伞蕈示担子及担孢 子切片154
第十一章 植物学制片	
一、藻类155	三、蕨类.....163
(一) 团藻、空球藻、实 球藻、衣藻装片.....155	(一) 水韭示雄孢子囊、 雌孢子囊纵切片163
(二) 衣藻示鞭毛装片.....156	(二) 石松球果、卷柏球 果纵切片164
(三) 硅藻多种装片.....157	(三) 蕨叶示孢子囊群切 片165
(四) 水绵、双星藻、刚 毛藻、间生藻、颤 藻装片.....158	(四) 蕨原叶体示精子 器、颈卵器、孢子 叶装片166
(五) 轮藻示精子囊、卵 囊装片.....159	(五) 槐叶蕨孢子囊果纵 切片167
(六) 昆布示孢子囊切片.....160	
二、苔藓类161	四、被子植物.....167
(一) 钱苔精子器、颈卵 器、孢子体纵切片.....161	(一) 根167
(二) 地钱精子器、颈卵 器、孢蒴杯纵切片、 藓精子器、颈卵器、 孢蒴纵切片.....162	(二) 茎172
	(三) 叶180
	(四) 花183
	(五) 种子与果实187