

13.613.6/-4

生物学制片手册

江西师范学院生物教具厂编写



江西人民出版社

生物学制片手册

江西师范学院生物教具厂编写

*

江西人民出版社出版

(南昌市三緯路11号)

江西省書刊出版業營業許可証出字第一号)

江西印刷公司印刷 江西省新华書店发行

*

書号★02050

开本：787×1092 1/32 • 印張：35/16 • 字数：65,000

1960年9月第一版

1960年9月第一版第一次印刷

印数：1—3,598

統一書号：T13116•50

定价：() 三 角

生物学制片手册

江西师范学院生物教具厂编写

江西人民出版社

目 录

前 言

一、固定液	(7)
二、染色剂	(10)
三、石蜡切片法	(14)
四、火棉胶切片法	(22)
五、整体装片	(25)
六、各种制片的操作方法	(26)
蜜蜂足装片	(26)
蜜蜂口器装片	(27)
昆虫复眼表面观的装片	(28)
昆虫气管的装片	(28)
人虱装片	(29)
棉蚜虫装片	(30)
水蛭整体装片	(31)
水蛭切片	(32)
华肝蛭装片	(33)
蜂虫节片装片	(34)
猪肉绦虫囊尾幼虫装片	(35)
寄生虫卵的制片	(36)
蚯蚓横切片的制作	(39)
上皮组织的制片	(42)

疏松結締組織展片.....	(43)
致密結締組織——腱的切片.....	(44)
軟骨切片.....	(45)
硬骨磨片的制备.....	(45)
血涂片.....	(48)
平滑肌分离装片.....	(51)
橫紋肌切片.....	(52)
心臟肌切片.....	(54)
脊髓的横切片染色法.....	(55)
脊髓的神經細胞涂片及染色法.....	(57)
运动神經終板的染色法.....	(58)
动、靜脉的横切片.....	(59)
人头部皮肤切片.....	(60)
小腸壁切片.....	(61)
肺切片.....	(62)
腎切片.....	(63)
腎臟血管注射切片(示腎的血管毯).....	(63)
卵巢切片.....	(65)
眼球切片.....	(65)
馬蛔虫卵的制片(示动物細胞分裂).....	(67)
玉米根尖縱切片.....	(69)
蚕豆根初生及次生構造(橫切).....	(71)
洋葱根尖縱切片(示細胞分裂).....	(72)
南瓜莖縱切片及橫切片.....	(74)
向日葵莖橫切片.....	(76)
桑皮孔切片.....	(77)
黑藻莖尖縱切片.....	(78)

極木材切片.....	(79)
鐵樹三年生枝橫切片.....	(79)
芒莖橫切片.....	(81)
甘藷葉橫切片.....	(81)
蚕豆葉下表皮裝片(示氣孔).....	(82)
蕨孢子葉切片.....	(83)
花藥橫切片.....	(84)
子房橫切片.....	(85)
花粉管萌發裝片.....	(85)
胞間聯絲之制片法.....	(86)
青黴裝片.....	(87)
黑黴(面包黴)裝片.....	(88)
細菌三型塗片.....	(89)
水綿(結合生殖)之裝片.....	(89)
衣藻裝片.....	(91)
七、洗載玻片及蓋玻片的方法	(92)
八、生物顯微玻片標本保存注意事項	(93)
九、制片用的儀器	(93)
十、化學試劑	(95)
十一、制片常用的化學試劑	(96)
十二、制片常用的染色劑.....	(98)
十三、生物學制片的中文參考資料	(99)

前 言

教育革命使我国教育事业发生了根本的变化。党的“教育为无产阶级政治服务，教育与生产劳动相结合”的教育方针，在全国各级学校开了鲜花、结了甜果。学校大办工厂、农场。我院在院党委的领导下成立了许多厂。我厂的创立为我院生物系师生增添了部分生产劳动基地，并制出大量产品支援了省内中等学校及新建立的高等院校生物学教学之用。

随着祖国教育事业的飞跃发展，我厂所承担的任务更加艰巨和繁重，要求参加我厂劳动的师生迅速掌握生产技术。我们觉得需要了解一些基本理论知识以及各种操作方法，所以虽然在百忙之中，还是决定了编写出这本生物学制片手册来，以便在生产中有所借鉴。

这本手册是根据我们几年来在工作中摸索到的经验，并参考了前人及武汉标本厂的经验而编写出来的。在编排上是按照我厂所生产的切片（主要是供给中学有关生物学科教学用的），一件一件介绍的。对中学生物学学科的教师及高等师范院校生物系师生亦有一定的参考意义。但由于我们水平有限及时间仓促，可能有不妥之处，请有机会能阅读到此手册的同志们，大力提出宝贵意见，以便将来进行修改时参考。

本手册是在系党支部具体帮助、督促和鼓励下，由我厂编

片車間技術指導龔明暄、程景福、曾小魯三人合作写成。在編
写过程中，并得到我厂技術員艾联芳同志和生物系的老师、同
学的積極帮助，在此致謝！

江西师范学院生物教具厂

1960年2月

一、固定液

制片时，将生物体的組織及細胞迅速杀死，并使細胞結構保持原狀而不变，称为固定。固定液的种类很多，現只介紹一些比較常用的：

1. 酒精（乙醇）：可单独用作固定液，但固定不同的材料所用的濃度也不同。濃度太高的酒精，会使組織产生較大的收縮，这是它的缺点。90%以下的酒精，如80%、70%的酒精一般不作固定液，而用以保存材料。

市售的酒精多为95%左右，可用酒精表測出它的濃度。若需用各种不同濃度的酒精时，可按下表进行稀釋。

所需稀釋的濃度	原有濃度	应加的蒸餾水量：即原有濃度減去所需稀釋的濃度數	应加的酒精量：即所需稀釋的濃度數
90%	95%	$95 - 90 = 5$ 毫升水	90毫升的95%酒精
80%	95%	$95 - 80 = 15$ 毫升水	80毫升的95%酒精
70%	95%	$95 - 70 = 25$ 毫升水	70毫升的95%酒精
50%	95%	$95 - 50 = 45$ 毫升水	50毫升的95%酒精
30%	95%	$95 - 30 = 65$ 毫升水	30毫升的95%酒精

2. 福尔馬林: 福尔馬林系由甲醛气 (HCOH) 饱和于水制成。饱和量最高者为40%, 低者为37%。

固定組織时多采用10%福尔馬林液。其配制法为: 取市售的福尔馬林 (即40%的甲醛水溶液) 10毫升, 与蒸馏水90毫升混合即成。用福尔馬林液固定的材料, 固定时间要稍长些, 通常固定数天至一星期以上。用福尔馬林固定后的材料, 要充分用水浸洗。把福尔馬林除去, 然后保存在70%酒精中。

3. Bouin 氏液: 其配制法为:

苦味酸饱和水溶液	75份
福尔馬林	25份
冰醋酸 (在临用时加入)	5份

Bouin 氏液是固定动物組織的一种良好的固定液, 它能迅速地渗入組織, 固定均匀且能保存細微的结构。我們固定动物組織大都采用此液。

关于此液固定的时间, 需視材料的大小而定, 常为8—24小时。

固定了的材料用70%酒精浸洗, 經常換一次新液使黄色除去为止, 若急待脱水包埋, 則可在70%酒精中加碳酸鋁少許或一兩滴氨水, 能够迅速把黄色洗去。黄色洗去后, 再換一次70%酒精。

4. Zenker 氏固定液: 其配制法为:

重鉻酸鉀	2.5克
昇汞	5—8克
蒸馏水	5毫升

将以上藥品混合后, 加熱使溶解, 即配成 Zenker 氏固定液

液。注意！临用时，在每 95 毫升的 Zenker 氏貯藏液中，还要加入 5 毫升的冰醋酸。

Zenker 氏液也是固定动物組織的一种优良固定液，經它固定的組織，細胞核及細胞膜染色頗为清晰。

用 Zenker 氏固定液固定时间为 24 小时。固定后需經流水冲洗一天。

此液中含有昇汞，所以用此液固定的材料，会有一氧化汞沉淀于組織中。若不除去沉淀物，則有碍于观察。因此在切片染色之先，还要經過 0.5% 碘酒精（0.5 公分碘溶解于 100 毫升的 70% 酒精中）及 5% 硫代硫酸鈉之水溶液。碘酒精可以除去沉淀之一氧化汞。硫代硫酸鈉液有脫碘的作用。

5. 福尔馬林醋酸酒精液（简称 F.A.A.）：固定植物組織多采用此液。

福尔馬林	5 毫升
冰醋酸	5 毫升
50%或70%酒精	90 毫升

如会使材料收縮，則可适当增加冰醋酸之份量以調节其濃度。

6. Lichent 氏固定液：此液适于筒狀藻类及菌类之固定。其配法如下：

1% 鉻酸水溶液	15 毫升
冰醋酸	5 毫升
福尔馬林	80 毫升

7. Schaudinn 氏固定液：此液常用来固定有鞭毛的生物及原生动物。其配制法为：

{ 昇汞饱和水溶液	2 份
{ 无水酒精或95%酒精	1 份

临用前再加入 1 份冰醋酸。

8. Carnoy—Letrun 氏固定液：此液为固定及渗透力最强之固定液。因此用来固定细胞分裂的材料。固定后以95%酒精浸洗。其配制法如下：

{ 无水酒精	1 份
{ 冰醋酸	1 份
{ 氯仿	1 份

再加昇汞使溶化至饱和为止。

二、染色剂

1. Delafield 氏苏木紫：其配制法为：

{ 苏木紫	4 克
{ 95%酒精	25毫升
{ 铵明矾饱和水溶液	400毫升

溶解苏木紫于95%酒精，并与明矾液混合，注入玻瓶，瓶口用纱布封住，放置在光线充足处。三、四天后，过滤，再加：

{ 甘油	100毫升
{ 甲醇	100毫升

混合均匀，瓶口仍用纱布封住，再置光线充足处，俟颜色变青紫色为止，过滤，贮于密封之玻璃瓶中。是液两月后成熟，染色力强，多年不坏。

此染色液乃动植物最常用之染色液，主要是染細胞核的染料。染色時間一般为5—10分鐘。染色后，細胞質亦稍染上顏色。于是染色瀰漫、細胞質模糊，需要分色。褪去細胞質顏色，保存細胞核顏色，使細胞构造显明，这种区别作用称为分色。分色液为0.5%或1%盐酸酒精（即0.5毫升或1毫升盐酸与99毫升的70%酒精混合而成）。

用此液染色后，大都再用伊紅复染。

2. Ehrlich 氏苏木紫染色液：配制时，藥品的用量如下：

苏木紫	2 克
冰醋酸	10毫升
甘油	100毫升
95%酒精	100毫升
蒸馏水	100毫升
鉀明矾	5 克

放在暗处約三月后成熟、顏色轉紅，即可使用。用法与 Delafield 氏苏木紫染色法相同。

3. Mayer 氏苏木紫染色液：其配制法为：

苏木紫	0.1克
蒸馏水	100毫升
鉀明矾	5 克
碘酸鈉	0.02克

此染色液須在临用前配制。配成的染色液，經一周以后，其染色效果便会逐渐降低。

4. 鐵明矾、苏木紫液（又叫 Heidenhain 氏苏木紫液）：其配法为：

甲液	鐵明矾	2—4克
	蒸餾水	100毫升

甲液要保持新鮮，所以需在臨用前不久配制。

乙液	蘇木紫	0.5克
	95%酒精	10毫升
	蒸餾水	100毫升

配制乙液时先将苏木紫溶于酒精中，溶解后再加蒸餾水。乙液需經2—4个月后才能成熟。成熟后方能使用。

乙液也可采用以下方法配制：即先配成10%之苏木紫无水酒精溶液（10克的苏木紫溶于90毫升的无水酒精中），过一个多星期后（時間久一些更好）便可以成熟使用。使用时取10%苏木紫无水酒精溶液5毫升，与100毫升蒸餾水混合。

鐵明矾苏木紫液为染細胞核內染色質的最好染液。染色时，需經以下步驟：

切片溶蜡脫水后經蒸餾水洗→浸入甲液（媒染4至24小时）→迅速用蒸餾水洗一次→乙液（染4至24小时）→蒸餾水稍洗→浸入另外一瓶甲液中分色至适当程度为止→蒸餾水洗→各級酒精脫水。

5. 伊紅染色液：伊紅有水溶性及酒精溶性两种，其配制法为：

伊紅水溶液	水溶性伊紅	0.5克（或1克）
	蒸餾水	100毫升
伊紅酒精溶液	酒精溶性伊紅	0.5克（或1克）
	95%酒精	100毫升

6. 彌砂洋紅染色液：

洋紅	1 克
4 %的硼砂水溶液	100毫升
70%酒精	100毫升

先将洋紅 1 克加入 4 %的硼砂水溶液中煮沸使溶化，然后再加入 100 毫升的 70% 酒精，冷却后过滤即成。此液多用于动物的整体装片，如水螅、條虫、吸虫类等。

7. 酒精洋紅染色液：为染动物整体装片的好染色液，如染水螅、條虫类、吸虫类等均可采用此染色液。其配制方法为：

洋紅	2 克
50%酒精	100毫升
氯化鈣	0.5 克
氯化鋁	0.5 克

将以上混合液慢慢加热煮沸，再加入冰醋酸 10 毫升及硝酸 8 滴。染色时，用 50% 酒精稀释一倍后使用。

8. 醋酸洋紅染色液：按以下方法配成：

洋紅	0.5—1 克
45%醋酸液	100毫升

煮沸 45% 醋酸液，加入洋紅粉至饱和为止。冷却，过滤即成。此液有固定兼染色作用。

9. 鉀矾胭脂紅染色液：其配制方法为：

胭脂紅	6 克
鉀矾	6 克
蒸馏水	90毫升

在燒杯中煮沸半小时后，冷却，使浮渣聚集在溶液的上面，設法捞去浮渣，再加入一些蒸馏水。加热煮沸，至溶液清

发到約剩90毫升时，冷却之，加一小粒麝香草酚或水楊酸以防腐。此染色液，为染吸虫类及絛虫类的好染色液。

10. 蕃紅染色液：蕃紅有水溶性及酒精溶性两种。我們厂內所用的蕃紅为水溶性蕃紅。配成1%的蕃紅水溶液（即1克蕃紅溶于99毫升的蒸餾水中），用来染植物的木質部。染色時間为2—24小时。

将植物組織进行块染时，則按下列方法配成苯胺蕃紅染色液：

甲液	蕃紅	5克
	95%酒精	50毫升
乙液	苯胺油	20毫升
	蒸餾水	450毫升

将甲、乙二溶液混合攪匀，过滤后即可使用。

11. 回綠（不褪色綠）染色液：在制植物切片时，此液与蕃紅染色液进行复染。配制时，先将下列藥品配成原液：

{	回綠	1克
	无水酒精	20毫升
	苯胺油	10毫升

当染切片时，将原液加入300毫升无水酒精稀釋之，染色時間为3—5分鐘。

三、石蜡切片法

这里只介紹一般原則，及所需要經過的步驟，至于具体的材料如何制片，将分別予以介紹。

1.取材：根据自己的需要和要求取材，材料尽可能采取新鮮一些的。把它切成自己所要求的大小，若不需要很大的材料，便尽可能切小，这样投入固定液內便可以很快地被固定。

2.固定：要制作动、植物装片或切片，須先将材料进行固定。新鮮材料浸入固定液，則細胞迅速被杀死，細胞原来的形狀及其构造，因而得到保存。

固定可用物理法或化学法。物理法固定者如用高热或用干燥。例如血涂片便不用任何葯剂，仅使其干燥。但一般制作生物装片或切片时，固定材料多用化学法，即用化学试剂作为固定液以固定之。

固定液之种类很多。固定不同的动、植物組織也采用不同的固定液。各种固定液所固定的時間亦有差異（詳情見后）。

3.浸洗：固定了的材料，根据固定液的不同，分別用普通水、蒸馏水或70%酒精浸洗。浸洗的目的在于洗去固定液。经过浸洗后的材料，可浸入70%酒精中长期保存。

4.脫水：包埋之第一个重要工作为脫水。將組織中水分逐漸除去，以便透明謂之脫水。脫水是采用逐漸提高酒精濃度（70%、80%、90%、95%、无水酒精），來減少組織块中水分的含量。脫水時間，应与組織块的大小成正比，較大的組織块脫水的時間要延長，而較小的組織块脫水的時間可以相应地縮短。每級酒精中浸6—24小时，但无水酒精有脆化組織的作用，所以在无水酒精中不宜浸得过久。浸在95%酒精及无水酒精中时，最好多換一次新液，更有利于脫水。脫水步驟很重要，若脫水的時間过短或酒精濃度不足，則組織块中水分不能完全脫掉，当組織块浸于透明剂——二甲苯中时便不能透明，