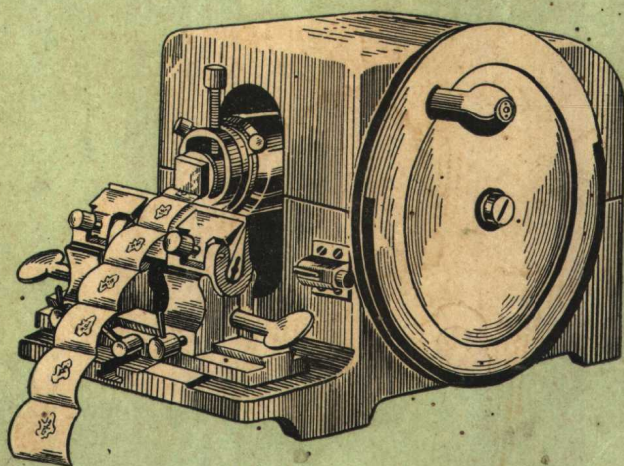


植物制片技术学

上 冊

朱浩然 編



本书系編者根据近几十年来所接触到的有关这门科学材料及在教学中所积累的經驗加以系統地整理編写而成。书中除了詳細地叙述了各种实际操作以外，还在理論方面加以充分的說明，使讀者可以获得一套完整的各种必要的制片技术及其基本原理。尤其对于初学制片的人來說，是有很大帮助的。

全书共分上、下两册出版。

上册包括第一、二两篇：第一篇是基本訓練；第二篇是植物制片法。

本书可作为綜合大学生物系师生、植物学工作者及有关的各門科学的工作者的参考。

植物制片技术学

上册

朱浩然編

人民教育出版社出版 高等学校教材編輯部
北京宣武門內承恩寺7号
(北京市书刊出版业营业許可証出字第2号)

商务印书館上海厂印刷
新华书店上海发行所发行
各地新华书店經售

統一書号 13010·786 开本 850×1168 1/32 印張 14 4/16
字數 348,000 印数 1-6,000 定价(5) 1.80
1960年6月第1版 1960年6月上海第1次印刷

目 次

第一篇 基本訓練

第一章 規則及設備	1
第一节 實驗室的一般規則	1
第二节 儀器及用具	3
第二章 制片技術中植物器官的分割法	8
第一节 概論	8
第二节 切割材料時所用的切割面	9
第三节 葉的分割法	11
第四节 莖、根等的分割法	12
第三章 植物制片技術中的若干基本技術訓練	15
第一节 概論	15
第二节 封藏技術	16
第三节 密封技術	20
第四节 用具的清潔	24
第五节 載玻片及蓋玻片的選擇及清潔	25
第六节 載玻片及蓋玻片的重用	27
第七节 磨刀技術	28
第八节 抽氣技術	36
第九节 漂白技術	39
第四章 植物制片技術中常用的重要藥劑的種類及其用法	42
第一节 普通藥劑	42
第二节 脫水劑	44
第三节 透明劑	44
第四节 粘附劑	45
第五节 包埋劑	47
第六节 封藏劑	47
第五章 植物制片技術上的第一個基本步驟——殺生及固定	50

第一节 概論	50
第二节 固定的目的	51
第三节 固定剂	52
第四节 简单固定剂的种类及其运用	55
第五节 混合固定剂的种类、配法及其运用	61
第六节 固定时必须注意的要点	83
第七节 变硬	90
第六章 植物制片技术上的第二个基本步骤——冲洗、保存及脱水	91
第一节 冲洗的目的, 冲洗剂及应用时的注意事项	91
第二节 冲洗的方法	91
第三节 保存	93
第四节 脱水	94
第七章 制片技术上的第三个基本步骤——染色	101
第一节 染色的目的	101
第二节 染剂的性质及分类标准	101
第三节 染色时应注意的几点要点	104
第四节 溶媒的选择	105
第五节 溶液的浓度	106
第六节 染剂的选择	107
第七节 染媒剂的应用	111
第八节 固定剂对于染色的影响	112
第九节 分色的酸化作用	113
第十节 染色的理論	114
第十一节 直接染色及間接染色	118
第十二节 染色瓶的排列	119
第八章 制片技术上的第三个基本步骤——染色(續)	121
第一节 概論	121
第二节 染色方法	121
第三节 巴西木素的配合方法及其应用	123
第四节 苏木色素的种类、配合方法及其应用	123
第五节 靛青族	142
第六节 洋紅族的种类、配合方法及其应用	143
第七节 煤焦染剂的种类及配合方法	148
第八节 二重染色	167
第九节 三重染色	187

第十节 四重染色	197
第十一节 无机染剂的种类、配合方法及其应用	200
第九章 制片技术上的第四个基本步骤——透明及封藏	203
第一节 透明的目的	203
第二节 透明剂的种类及其运用	203
第三节 各种透明剂的折光系数	210
第四节 封藏的目的及封藏剂	211
第五节 标注	213

第二篇 植物制片法

第十章 暂时封藏法	214
第一节 暂时封藏的目的	214
第二节 简易的观察方法	214
第三节 原生质运动的观察	216
第四节 动孢子及配子的散放情形的观察	217
第五节 孢子及花粉的萌发情形的观察	218
第六节 花粉的有丝分裂的观察	219
第十一章 整体封藏法	220
第一节 概論	220
第二节 水封藏法	221
第三节 甘油封藏法	222
第四节 甘油胶封藏法	228
第五节 甘油-乳酸-苯酚法	231
第六节 甘油二甲苯法	232
第七节 叔丁醇树脂法	233
第八节 氧化二乙烯法	237
第九节 蒸木油法	238
第十二章 涂抹制片法	241
第一节 概論	241
第二节 基本技术	242
第三节 花粉粒的涂抹制片法	244
第四节 浮游藻类涂抹制片法	264
第五节 細菌的涂抹制片法	266

第十三章	松脂精制片法	269
第一节	概論	269
第二节	制片步驟	270
第三节	染剂及染色步驟	273
第十四章	組織分离制片法	276
第一节	概論	276
第二节	基本技术	276
第三节	表皮細胞制片法	277
第四节	碳酸鈣植物的分离制片法	280
第五节	木材組織分离法	283
第十五章	徒手切片法	287
第一节	徒手切片法的意义	287
第二节	徒手切片法的优缺点	287
第三节	用具和葯剂	288
第四节	基本技术	290
第五节	制片步驟	292
第六节	染色方法	293
第七节	手切片机及其用法	298
第十六章	滑溜机切片法	299
第一节	概論	299
第二节	滑溜切片机的种类及构造	300
第三节	滑溜切片机的使用步驟	302
第四节	切片技术	305
第五节	染色、脫水及其他	306
第十七章	木材及其他硬組織的制片法	308
第一节	概論	308
第二节	木块的准备	308
第三节	空气的抽除	309
第四节	木材的軟化	309
第五节	切片的方法	311
第六节	染色及脫水	314
第七节	透明及封藏	315
第十八章	冰冻切片法	317
第一节	概論	317
第二节	仪器及用具	318

第三节	冰冻媒剂(填充剂)	321
第四节	切片方法	322
第五节	染色、脱水、透明及封藏	328
第十九章	火棉胶制片法	330
第一节	概論	330
第二节	火棉胶的制备	331
第三节	火棉胶液的配合	332
第四节	几种常用的火棉胶制片法	332
第五节	材料的变硬及保存	335
第六节	包埋及制块	335
第七节	切片	336
第八节	染色、脱水、透明及封藏	339
第九节	快速火棉胶制片及干切火棉胶制片法	341
第十节	木材的火棉胶制片法	342
第十一节	火棉胶及石蜡的双重包埋法	346
第十二节	溶纤维素包埋法	347
第二十章	石蜡制片法	349
第一节	概論	349
第二节	用具和药品	350
第三节	材料的采集	363
第四节	杀生及固定	364
第五节	冲洗	366
第六节	脱水和变硬	367
第七节	透明	374
第八节	石蜡渗入作用	375
第九节	包埋	384
第十节	切片	389
第十一节	切片的技术	396
第十二节	切片中常遇到的困难及补救的方法	401
第十三节	蜡片的粘貼	409
第十四节	石蜡的去除	415
第十五节	染色、透明及封藏	415
第十六节	快速石蜡制片法	420
第二十一章	特殊制片法	424
第一节	大形材料的制片法	424
第二节	石組織的切片法	425

第三节	化石植物材料制片法	426
第四节	厚的片子的制片法	427
第五节	分解材料的制片法	427
第二十二章	細胞学上的制片法	429
第一节	原生质連續絲制片法	429
第二节	鞭毛(或纤毛)的制片法	435
第三节	粒綫体的染色法	438
第四节	菌根的制片法	443
第五节	精子的制片法	444
第六节	羧酸染色法	445
第七节	福尔根氏核反应法	446
第八节	核仁染色法	448

第一篇 基本訓練

第一章 規則及設備

第一节 實驗室的一般規則

初學者必須遵守下列各項規則，以免在工作中發生困難或造成錯誤。

1. 必須保持各物的清潔，尤其是顯微鏡應特別注意，因為植物制片術上所用的很多化學藥品能損害鏡頭或鏡台。最好在鏡台上放一塊玻璃板，如用較舊的但鏡頭尚好的顯微鏡更為適宜。不要用高級顯微鏡來觀察未製成的切片。

2. 在做一件工作或工作中的一个步驟時，要了解所做的工作；如發生疑問，須立刻停止，寧可從頭做起，不要倉卒從事。

3. 保持實驗桌的清潔整齊，放置各物須有一定地位；藥品應放在第一排；某些藥品（如酒精等）應按濃度依次排列，不可顛倒亂放。在所有的盛物品、藥劑、溶液等的瓶外，都要貼標籤，注明名稱、成分、濃度及應用時的階段等；不要信賴記憶，也不要相信感覺去辨別，否則都容易發生錯誤！

4. 盛藥劑的玻璃瓶，一定要乾淨而清潔；如果玻璃瓶尚潮濕，須等完全乾燥後才可以應用；用過的瓶宜趁潮濕時洗，洗時不可草率從事，應先用肥皂水洗刷，然後再用自來水沖洗，如果玻璃瓶內部很脏，應先用清潔劑洗，然後用清水反復洗。

5. 保持兩手的清潔和乾燥，尤其在放置石蠟切片於載玻片上

时,应当特別注意。同时要留心不要使手或衣服沾染有毒物质(如氯化汞及石碳酸等),最好能圍橡皮裙或穿工作服,以防意外。

6. 各种主要藥品,例如酒精、油类、酸类等,使用时最好用吸管吸取,不要直接傾注;吸管必須分別使用,即每支吸管只可应用于一种葯剂,切不可用一支吸管吸各种藥品,因为混用以后,葯品的性質就会发生变化,影响制片效果。

7. 应用酸类时应特別小心;酸类所发生的气味大多有刺激性,能刺激眼鼻等。須牢牢記住,稀釋酸类时,必須將酸慢慢傾入水中,切不可將水傾入酸中;否則会发生爆炸,非常危險;將酸注入水中时,要緩緩进行,每次宜少量加入,如有热气放出时,应暫時停止,等它稍冷后,再繼續加添。

8. 裝盛容易吸收水气的葯剂(如純酒精、二甲苯等)的容器,要用軟木塞或橡皮塞塞紧,如一、二天内暫不应用,必須用凡士林密封,如能再用膀胱膜紙包扎更好。

9. 要随时將实验結果記錄在記錄册或記錄卡上,每一頁或每一張卡片都要編号,詳細記錄材料的种类、日期、所用的葯品、時間、手續、結果等等;总之,有关实验的一切情况,都应毫无遺留地記載下来,不要单凭記憶,以免发生錯誤。

10. 在日历或記錄册上,記載当天做到那一步和明天(或后天)要做的事,例如,葯剂的更換,切片时应进行的各種步驟等;在你进入实验室后,应立即翻閱記錄册,这样,工作时就不致发生差誤。

11. 秤量各种固体藥品时,天平的秤盘中須墊白紙,然后用清洁的角匙自瓶中取出藥品放在白紙上,切不可將藥品直接倒在秤盘中,以免沾污或侵蝕秤盘。

12. 盛有葯品的玻瓶,必須貼标签;用过的葯瓶,須立即塞紧,切勿忘記加塞。

13. 配好的葯品或溶液,应立即盛入清洁瓶中,瓶外一定要貼

标签, 标签上要詳細注明名称、成分、配制日期等等。必要时可注明配合的步骤; 这样, 下次配合时, 就不必再翻书本了。

14. 不可将固体物品或火棉胶溶液倒在水槽内, 以免堵塞。酸类和染料可傾入水槽中, 但在傾入之前, 应先在水槽内放水。

15. 应用鐵酸溶液时, 应特別小心, 要避免鐵酸的气味吸入鼻中, 尤須絕對禁止接近眼睛。鐵酸是一种极貴重的葯剂, 使用时应节省, 切勿任意浪費。

16. 加拿大樹膠瓶須置于阴暗之处, 不可曝于日光下, 否則樹膠会变成酸性; 封藏后能使染色的材料褪色。

17. 从植物体上或水中采集的材料, 应立刻固定, 以免細胞发生变化, 耽擱的时间愈短愈好, 最长也不可超过几分钟。大形的材料, 最好将外部的組織除去, 或将它切成适当的小块, 使固定剂能很快透入(参考第二章第三、四两节)。

18. 在离开实验室之前, 应将一切用具揩拭干净, 并放在原来的地方, 切勿乱放, 以免临时应用时找不到。

19. 要注意工作的結果, 不要因为稍有成績而自滿, 也不要因为失敗而失望; 不要挑剔所用的材料, 要时时对自己有更高的要求; 这样才能成为一个优秀的切片技术工作者。

20. 工作时要細心, 要忍耐, 切忌大意和草率。

第二节 仪器及用具

下列各种仪器及用具都是制片技术上必不可少的。

一、仪器

1. 显微鏡——是制片技术上的重要用具之一。制片技术中所用的显微鏡只要带有一个低倍接物鏡及一个低倍与一个高倍接目鏡的价格較低的显微鏡就可以了, 不必用高級的研究显微鏡; 如果有較旧而鏡頭尚好的显微鏡則更好。显微鏡的鏡台須用玻璃板或

做幻灯用的玻片保护,以防止葯剂的侵蝕。关于显微鏡的构造、用法及放大倍数的計算法等,将在下册中詳細叙述,此处从略。

2. 解剖显微鏡。

3. 切片机——切片机的种类很多,主要的有:旋轉切片机;冰冻切片机;滑溜切片机;火棉胶切片机。

4. 熔蜡炉——用电气的或用煤油灯的。

5. 旋轉台。

6. 温台。

7. 天平——理化天平与調剂天平(附砝碼)。

8. 切片机的附属用具——主要的有四种(詳見第三章第七节):(1)切片刀:随切片机的种类而异(須附刀柄及彈簧夹);(2)刀夹(保安刀片用);(3)磨刀石:以細青石为最好;(4)鋸刀皮。

二、用具

1. 玻璃用具——主要的有:

(1) 染色瓶(詳見第二十章第二节)。

(2) 表面皿:种类很多(图 1, 1—3),如无表面皿,可用小培养皿代替。

(3) 树胶瓶:須附有玻璃滴棒(图 1, 4)。

(4) 量筒:容量 100 毫升(图 1, 5)。

(5) 量杯:容量 500—1000 毫升;有广口及狭口两种,以狭口的較适用。

(6) 滴瓶(图 1, 6)。

(7) 酒精灯。

(8) 烧杯:容量 500—1000 毫升。

(9) 烧瓶:以平底的較适用,容量 500—1000 毫升(图 1, 7)。

(10) 細口瓶:容量为 125、250、500、1000 毫升的各若干个,1000 毫升的盛酒精用,500 毫升的盛固定剂用,125、250 毫升的



图 1. 普通玻璃用具:

1—3—表面玻璃; 4—胶水瓶; 5—量筒; 6—滴瓶; 7—烧瓶;
8—細口瓶; 9—蒸馏水瓶; 10—油鏡用双层滴瓶。

盛各种染剂及其他用量不多的药剂用。如无細口瓶, 可用其他的药瓶等代替(图 1, 8)。

(11) 蒸馏水瓶: 容量 5000—10000 毫升(图 1, 9)。

(12) 漏斗。

(13) 油鏡用双层滴瓶(图 1, 10)。

(14) 其他玻璃用具: 視临时需要而定, 例如玻璃管、玻璃棒、玻璃开关等等。

2. 其他用具:

(1) 玻片盘: 一般可容 30—50 片, 詳見石蜡制片法(参考第二十章第二节)。

(2) 镊子: 有弯头、直头、細头、粗头等多种, 大小也不同, 最好各备一把(图 2, 1, 2)。

(3) 滴管(图 2, 3)。

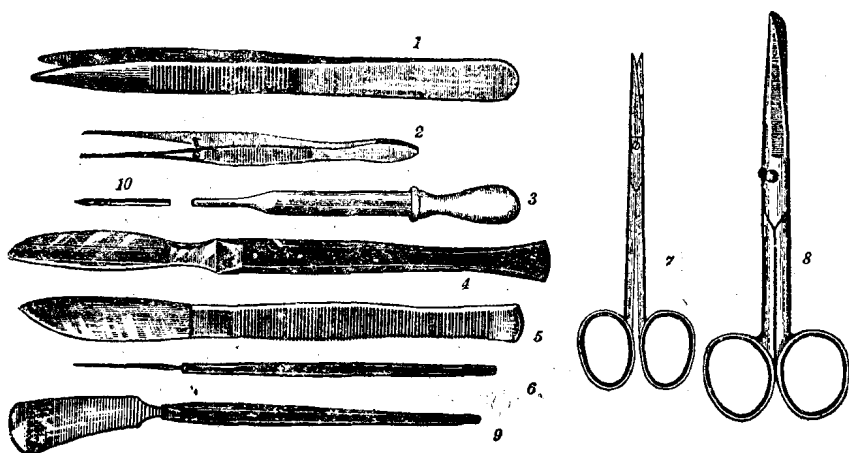


图2. 各种零星用品:

1、2—鑷子；3—滴管；4、5—解剖刀；6—針；
7、8—剪刀；9—移片鏟；10—筆。

(4) 解剖刀(图2, 4、5)。

(5) 解剖針(图2, 6)。

(6) 剪刀:式样很多,每种一把(图2, 7、8)。

(7) 摄氏溫度計。

• (8) 移片鏟(图2, 9)。

(9) 三脚鉄架:須附有石棉鉄絲网。

(10) 乳鉢。

以上各种用具的种类及用法等,在以后使用时还要叙述,此处从略。



图3. 圓窩載玻片。

(11) 普通載玻片:要質量好的,大小为75×25毫米。

(12) 圓窩載玻片:大小也是75×25毫米(图3)。

(13) 盖玻片:須备下列几种式样:

- (a) 圓盖玻片——直徑 18 毫米,中等厚薄的較适用。
- (b) 方盖玻片—— 18×18 毫米,中等厚薄的較适用。
- (c) 长盖玻片—— 25×50 或 25×60 毫米,中等厚薄的,作为封藏石蜡切片中的連續切片之用。

(14) 玻片匣:有各种式样,大多用木板制成,也有用硬紙板做成的,每个学生根据情况配备 1—2 个(参考第二十章第二节);容量有:容 100 片的、50 片的、25 片的。

关于玻片匣的种类与式样等,将在石蜡制片法中詳細叙述,此处从略。

- (15) 标签。
- (16) 毛笔。
- (17) 西式剃刀(图 14):如无西式剃刀,可用中国剃刀代替。
- (18) 记录册:作实验时记录用,紙張大小以 75×100 毫米較适用。

- (19) 清洁的布。
- (20) 铅笔:以 3H 的为佳。
- (21) 橡皮。
- (22) 繪图紙。

第二章 制片技术中植物器官的分割法

第一节 概論

植物制片技术中所用的材料,在于精而不在于多,在于小而不在于大,尤其是后者更为重要。其次,尽可能采用新鲜的材料,如能在采割后立即固定就更好。因为材料自植物体上分离下来后,因受外界物理和化学的刺激及自身内部的变化,在极短的时间内就发生很大的变化;时间相隔愈久,变化就愈大;研究植物制片学的人,尤其是研究细胞学的人,对此更应注意。

至于采割材料为什么不要大块的而要小块的?原因很简单,我们如将两块一大一小的材料置于同一种固定剂中,其结果是完全不同的;在小形的材料,药剂很快由外面渗入到材料的各个部分,在短時間內,将原生质杀死并固定起来。因此,所固定的材料虽不能绝对与原来的形态和构造完全相同,但不致有极大的差别。在大形的材料,药剂透入较慢,在药剂尚未达到内部组织时,原生质早已发生变化,或开始分解;因此,以后即使被杀死并且固定,它们的形态和构造也不能和原来的一样了。同样,用多量的固定剂去固定少量的材料,药力集中,容易发生效力;反之,如用少量的药剂去固定大量的材料,则药力分散,效力自然减少。

高等陆生植物体各器官的表面,大多被一层厚薄不等的角质层或木栓层,尤其是木本植物的根、茎的外面,木栓层更厚;这种构造能阻碍固定剂的透入;因此如将整块的植物体投入固定剂中,药力渗入很慢;但如将植物体分割成许多小块再投入固定剂中,药力渗入就快得多了。

本章的目的，就是解释为什么在制片时要把材料分割成小块的原理及介绍切割植物体各器官的方法。

凡柔软而新鲜的材料，可用保安刀片分割成若干小块；如果材料是叶片，可放在潮湿的吸水纸上，用手指压住后切割，如果是幼嫩的茎，可用大拇指、食指、中指执住切割，切时用力须均匀，不可用力太大，以免损坏叶肉或嫩茎的绿色组织；这种因用力过大所造成的缺点，往往在切割时并不觉得，但在切片时，甚至在封藏后才发现，这时已无法补救了。一般用力过大的结果是表皮的撕裂与破坏以及内部组织的歪曲。

第二节 切割材料时所用的切割面

在切割植物器官时，应先确定要割取的那种面；现以茎或根为例，先讲一下材料的切割面。

植物器官的切割面，一般可分为二类：

一、横切面 就是用刀横越茎的横断面的切面（图4，1）；从横切面的切片，可观察材料自外向内的各种组织，这些组织围绕着一个共同的中心点作规则的排列，各种组织的地位、厚度、宽度等都可从这种切面上辨别出来。

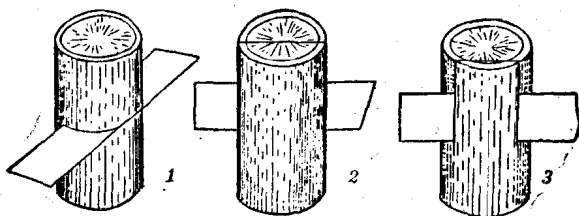


图4. 示植物茎的三种切割面：

1—横切面；2—纵切面中的直径切面；3—纵切面中的切线切面。

二、纵切面 就是以刀直切材料所成的切面，这种切面又可分为两种：