

植物組織學實習法

管光地編著

正中書局印行

第一章

總論

在十七世紀末，生物學界發現一利器，而生物學之研究，遂擴大其境界，其物蓋即顯微鏡也。自十七世紀之 Hook 與 Grew 兩氏，至十九世紀之 Schleiden 與 Schultze 兩氏，彼等之組織學技術，甚為幼稚，皆用其自造之顯微鏡，與其他自造之器械，而工作焉。將植物之莖，或其他材料，夾於手中，而以剃刀切之，使成薄片。如材料過大，則以針撕之成小塊，然後切之。其後經許多學者漸次研究，以成今世之科學技術。雖一百合花粉之微，可切之成五十片，且其次序絕不紛亂。硬如化石，亦可製成一層細胞厚薄之片，皆可染成複雜美麗之色，而供顯微鏡下之詳細研究，科學之力亦大矣。

凡研究植物學，皆當詳細研究此項切片學之技術。蓋此項技術之能成功與否，實為其研究植物學問成敗所繫。若鄙視之為一技術者，已足為之，則大誤矣。因今世之切片技術，實為植物化學進步之結晶，非熟知植物與化學之學識，且賦有堅忍耐久之心者，不易入其門也。

學者當常至田野，採集標本，其事甚苦，其益甚大，蓋植物之習性與野生狀態，多不見於書籍，非至田野，躬自採取，不得而知之。植物之生殖地點，發生時期，可因此而熟知焉。例如大雨之後，藻類多因之毀滅，繼之以烈日曝曬，則黏菌與其他菌類，每易採得，團藻每集於山地池底。凡此數事，皆自平常經驗得來。不但採集首重經驗，切片之學，亦不能例外，學者當持以恆，再接再勵，不懼失敗，則其庶幾乎

第二章

工 具

顯微鏡進步,生物學因之進步故植物學除少數研究外,莫不賴顯微鏡之利用,而進行其研究顯微鏡各部名稱如下:

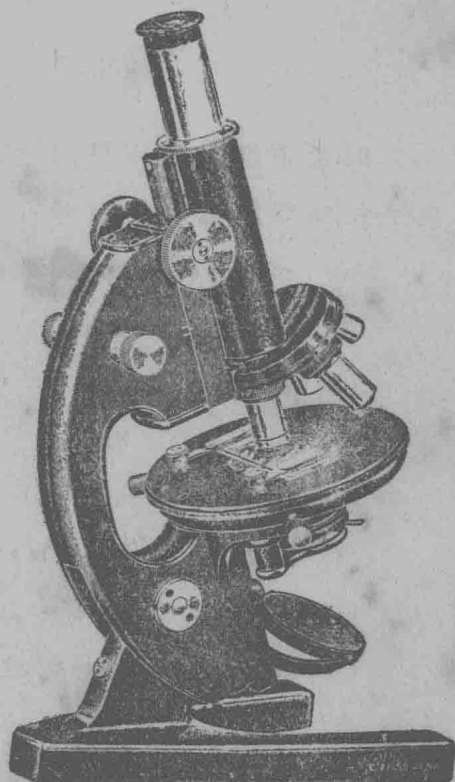
- (1) 接眼鏡 (Eyepiece or ocular)
- (2) 抽管 (Draw tube)
- (3) 伸物齒 (Rack)
- (4) 鏡筒 (Body tube)
- (5) 轉換器 (Nose-piece)
- (6) 接物鏡 (Objective)
- (7) 適正器 (Pinion head)
- (8) 適微器 (Micrometer head)
- (9) 鏡臂 (Arm)
- (10) 載物臺 (Stage)
- (11) 壓夾 (Spring clip)
- (12) 集光器與虹彩光圈 (Condenser and iris diaphragm)
- (13) 傾斜關節 (Inclination joint)

- (14) 鏡柱 (Pillar)
- (15) 反射鏡 (Mirror)
- (16) 鏡坐 (Base)

如第一圖，爲普通顯微鏡，經售公司甚多，且各公司之出品，各有其特點，是在用者擇之。

除顯微鏡外，尚需甚多之工具，以爲切片之用，而供顯微鏡下之觀察，下列數件，爲切片工作上所必需：

- 切片機 (Microtome)
- 刀 (Razor)
- 磨刀石 (Hone)
- 鑄刀皮 (Strop)
- 熔蠟爐 (Paraffin bath)
- 轉臺 (Turn table)
- 解剖刀 (Scalpel)
- 長針兩個 (Needles)
- 剪刀 (Scissors)
- 夾鑷 (Forceps)
- 染色盆 (Staining dish)



第一圖 顯微鏡

移片鏟 (Section lifter)

錶面皿 (Watch glass)

瓶 (Bottles)

量杯 50 cc.—100 cc. (Graduate)

吸管 (Pipettes)

玻璃片 1×3 吋 (Slides)

圓蓋玻璃片 18 mm. (Round cover glass)

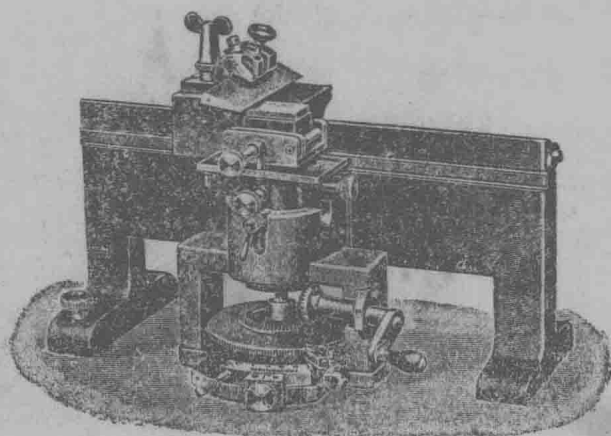
方蓋玻璃片 18 mm. (Square cover glass)

長蓋玻璃片 25×60 mm. (Long cover glass)

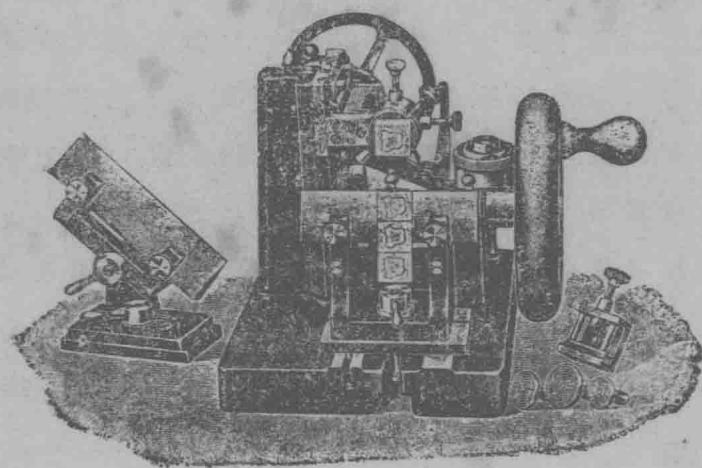
各種器具皆當保持清潔，常塗以油類，免使生銹。顯微鏡之載物臺上，當置一四寸見方之薄玻璃片，以免試驗材料時，將化學溶液，污於載物臺上。至非試驗材料時，然後可將此玻璃片取下。為防萬一起見，當試驗材料時，可用簡單之舊顯微鏡，因其價值低下，萬一損壞，不甚可惜。又當顯微鏡藏置之處，切不可置有強酸類如濃硫酸等，強鹼類亦不可置於附近，否則顯微鏡之鏡頭，每易損壞。總之藏顯微鏡處，一切化學藥品，皆當遠離為是。

切片之主要工具為切片機，普通可分兩種，滑走切片機 (Sliding microtome) 與旋轉切片機 (Rotary microtome) 是也。普通任何材料，一滑走切片機已足應付。然如石蠟長條切片 (Paraffin ribbons)，則非旋轉切片機不可。有時需要甚薄之片，如 1μ 或 $\frac{1}{2}\mu$ ，普通亦非滑走切片機所能奏效。此兩種切片機，

各有其特點。材料之較粗大，硬度較高者，滑走切片機最爲適用。連串切片 (Series section)，比較輕小之材料，則旋轉切片機爲宜矣。

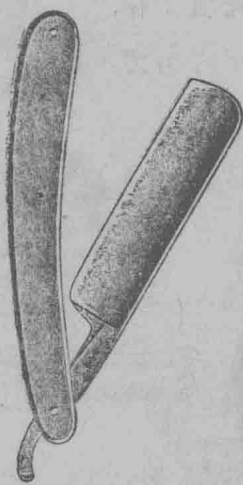


第二圖 滑走切片機

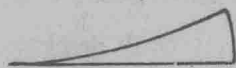


第三圖 旋轉切片機

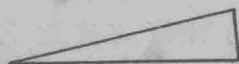
切片機所用之刀,皆係特製者,其刀口雖在高倍顯微鏡下,皆視成平線,快利已極。刀之形狀有數種,如第五圖之刀,上面成曲斜狀,下面爲平正之線,此種刀可用於旋轉切片機,而不可用於滑走切片機,因刀口較薄,不能吃重力也。第六圖之刀,上面平斜,下面成平線,兩種切片機,皆可用之,爲最適宜之刀形。第七圖之刀,上下兩面皆成曲斜線,此刀最不合切片之用。普通切片所用較重之刀,每附有刀背夾及木製刀柄,所以便於磨刀也。又普通所用之剃刀(第四圖),當備一把,以爲手切之用。



第四圖 剃刀



第五圖



第六圖



第七圖

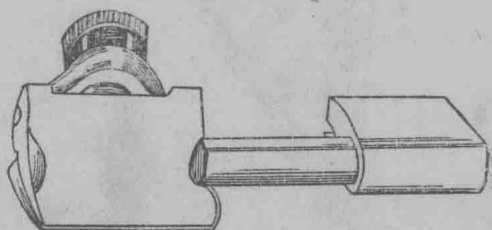
磨刀爲切片重要工作之一,各國植物專家,每躬自磨刀,以供自需,其重視也如此。故當學生之做切片實習,磨刀一事,每爲重要課程之一。磨刀石計有兩種,油磨石(Oil stone)與水

磨石(Water stone)是也。此種石塊每配以木匣，油磨石用油磨刀，水磨石以水磨焉。切不可亂用，否則其刀即成廢物。亦有用鑷刀器(第八圖)者，四側皆蒙有皮革。然此種鑷刀器，精細工作，皆不用之，因甚粗糙也。惟於手切法時，或偶一用焉。磨刀時多先磨以水磨石，及刀鋒之將利也，再磨以油磨石，試以手指，覺略一用力，刀鋒即將刺入肌肉爲止，再於鑷刀皮上鑷之數次，即可應用。但有時祇用水磨石或油磨石磨後，再於鑷刀皮上鑷之，亦無不可。總之，此項工作，首重感覺，是在學者試之，然後乃知如何用力，而可得利鋒。

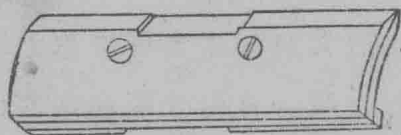


第八圖 鑷刀器

切片之刀，價既貴昂，磨礪又不易爲，有人思以別法代之。於是乃有保險刀片之利用。夾以特製之夾，安於切片機上，亦可運用自如，其便利初不下於特製之切片刀焉。然如粗大較硬之材料，則仍以用第六圖之刀爲適宜。夾保險刀片之夾，有兩種，即滑走切片機用夾與旋轉切片機用夾。

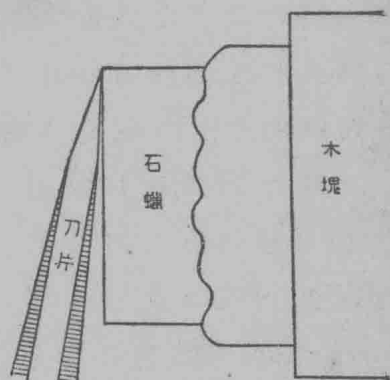


第九圖 滑走機保險刀片夾 (仿張伯倫)



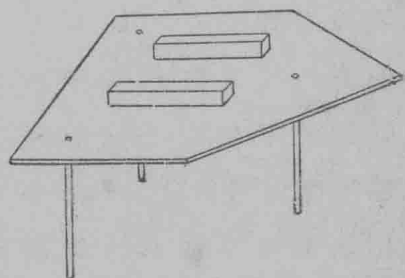
第一〇圖 旋轉切片機保險刀片夾

是也(第九,一〇圖).用此工具時,當注意兩事,刀片並非任何種類皆可應用,必擇其較硬者.又刀片與被切材料之角度,須注意焉.如第一一圖爲適當之角度,刀片幾與材料成平行.但切不可成平行面,否則刀片切石蠟成粉塊,而黏於刀口之內面下方.其角度不可太斜,否則不能切成片狀.



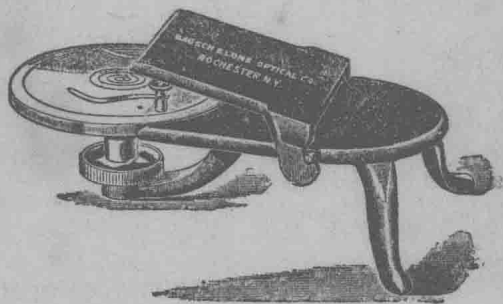
第一一圖
保險刀片與被切材料之適宜角度
(仿張伯倫)

熔蠟爐如第一二圖,爲一銅製之熔爐.法取兩三毫米厚之紫銅片,下接三腳,上置兩三個十釐米長之紫銅長方盒,以便置石蠟.火置於銅板之尖端熱之,如留心其溫度之升降,管理得宜,可得甚佳之效果.



第一二圖 熔蠟爐(仿張伯倫)

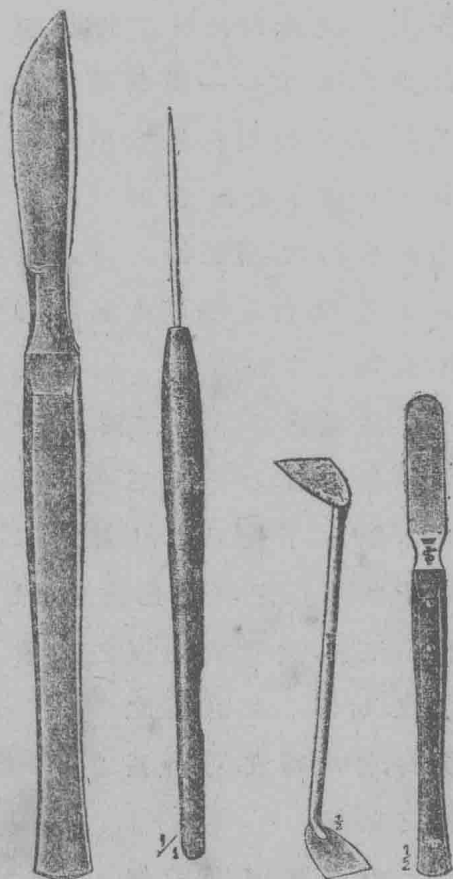
轉臺雖因樹脂切片法之進步,以代替甘油切片法之故,而功用減少;但如海索麪



第一三圖 轉臺

(Nemalion) 及苔之原生體等,仍用甘油切片法以製之,故轉臺仍爲必需品,購時需注意其旋轉之動向,是否平穩,如略有傾斜,則將來畫圖形時,必不能得一正確圖形。

解剖刀爲切片所必需,但可以保安剃刀片代之,如‘吉士’(Gits)與‘老人頭’(Ever-ready)兩種,皆可用,尤以後者爲佳,因其刀背有厚夾,可不傷手也。有時必須將刀置火上燒紅,以便切石蠟成方塊,例如石蠟切片法中,將已埋藏材料黏於黏材料盤(Object plate),則簡直可用我國之修腳刀,因其價廉,而功效則與舶來品之解剖刀,初無上下也。



第一四圖 第一五圖
解剖刀 長針

第一六圖
移片鏟

長針以有長柄者爲佳,可將木桿削成十釐米長之細圓柱,其一端插以

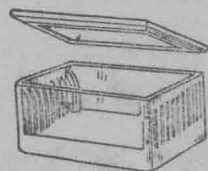
四釐米長之針,即可應用,如恐被燒毀,則至銅作店定做銅柄者,其價亦不過二角一枚,移片鏟爲銅製之鏟,裝以木柄,或角

質柄,或金屬柄,亦可於銅作店定做之,其價與長針相若,剪刀與夾鑷則國貨甚佳,更不必舶來品矣。

染色盒普通多用 60×90 mm. 者,如欲於同時染多數切

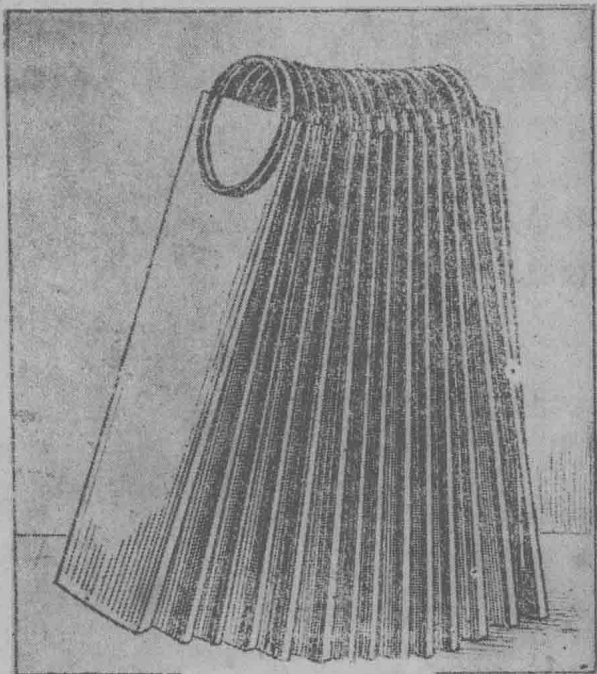


第一七圖 染色盒



第一八圖 可伯林染色缸

片,則往往用夾片圈夾之,其直徑為 0.064 英寸,紫銅絲所製,可夾十五片。又有一種染色用具,曰可伯林染色缸 (Coplin Jar),缸中有夾隔,以便夾片,有置五片者,有置十片者,通常可以二片背對背置於夾隔中,如是則可



第一九圖 夾片圈

置十片或二十片，但須注意脫水(Dehydrate)與向下入水時，必先將二片暫拆開，置於所欲置之液中，然後再背對背置於一處，否則每將水帶至二甲苯內，致二甲苯成乳色，不可用矣。或將二甲苯帶至水中，亦不便焉。

玻璃片與蓋玻璃片二者，皆當購其佳者，佳者所有之條件如下，須平薄光滑，切不可有紋路於片上，須全無氣泡，白色片較青色片為佳，其有乳白色狀者，切不可購。因此種玻璃片，雖以硫酸之清潔液洗之，亦不生效也。普通購得之玻璃片及蓋玻璃片，多不潔淨，可以清潔液洗之，配法如下：

重鉻酸鉀 (Potassium dichromate)	20 g.
硫酸 (Sulphuric acid)	30 g.
水	250 cc.

用水洗去此液，浸於肥皂水內二十四小時，所以將酸質移去也。再用水洗淨之，如不將酸液洗淨，則染色時每不易收佳果。

下列各條初學者須留意焉：

1. 保持各種器具清潔。
2. 藏各種材料與器具於一定處，而理之成秩序。
3. 備一簿冊，將各種材料切片所用之方法、染色時間、材料名稱，筆之於冊，以供參考之比較，收益甚大。
4. 另備一冊，將須做之事，如換溶液等，筆之於冊，每日至實習室之前讀之，然後依次做之，以免慌忙遺忘。

5. 當將裝溶液於瓶內時,應將此瓶切實洗淨之,如裝二甲苯時,則更當使瓶內完全乾燥,不用時當蓋之.

6. 每一吸管可用於一種溶液,切不可以此吸水,更以之吸二甲苯.

7. 各種溶液皆當黏以標籤,書以液名,必要時可附以配法.

8. 凡各工作須忍耐小心.

第三章

藥品 (Reagents)

第一項 致死與固定 (Killing and Fixing).

切片之先,必先將植物之生活突然停止.換而言之,殺死植物於俄頃之間,同時將細胞內各部結構,與所含之物保存其原來狀況,是曰固定.此二作用每同時以起,故一種藥品可同時擔此二種工作.固定用之藥品與其配合,種類甚多,要皆近世植物學家之心血,非一人之力也.彼等率兼爲精練之化學家,故能應用其化學智識,而施之於植物.尤以最近十餘年,有所謂植物化學者 (Phyto-chemistry) 興,而化學之與植物之關係,愈加密切矣.

固定之原理,計有二種,一曰凝結 (Coagulation), 一曰沉澱 (Precipitation). 植物體質內含有蛋白質,蛋白質遇酒精即凝結成塊,此即凝結固定之現象也.油類脂肪類遇鉻酸 (Osmic acid) 而起黑色之沉澱,此即沉澱固定之現象也.

每一種固定劑,須有下列之性質,方爲合用:

1. 能保存其生活形狀.

2. 能生出可看見之構造,而此構造能受染色作用,否則亦須本體含有色素,以便觀察。

3. 能於短快之時間,殺死細胞,而使其組織不變。

4. 不生收縮與伸脹二作用。

5. 有保存防腐作用,而於植物死後,亦不稍變其形狀。

6. 浸透全體,可不致有不均之患。

固定液之體量,對於被固定材料體量之比例,普通可自20至50倍,寧可多用,切不可使不足。主要用品,爲酒精、氯仿、鉻酸、重鉻酸鉀、碘化鉀、冰醋酸、鐵酸、蟻酸、苦味酸、氯化汞、福爾馬林,分述於後:

酒精 A. 95% 酒精 多供粗糙工作固定之用,因其易致細胞收縮也。固定致死、保存三種功用,酒精皆兼有之。通常保存材料,多用95%者。95%以下之酒精,不作固定用。但如80%,70%仍可用以保存材料。浸存日久,每使材料成脆性而易碎,可加以等量之甘油,搖均之,則脆性略可免去。固定時間所須甚短,如普通菌類一分鐘已足,洋蔥根及百合花藥半小時亦可,較大之材料每須一小時。

B. 純酒精 (100%)。此種酒精,較之95%者爲佳,因其固定時,收縮甚微也。固定時間與95%者相同。

C. 卡老宜氏液 (Carnoy's Fluid)。

純酒精 (Absolute alcohol) 60%.

氯仿 (Chloroform) 30%.

冰醋酸 (Glacial acetic acid) 10%.

此液固定甚速,如洋葱根約二十分鐘即可.洗以純酒精,至無冰醋酸與氯仿之氣味為止.靛藍(Cyanin)、真曙紅(Erythrosin)、一品紅(Fuchsin)、碘綠(Iodin green)等,皆可染之。

普通冰醋酸所含之冰醋酸,不能少於百分之三十六,碳酸鈣可以此溶去之,而醋酸鈣則不能溶去.冰醋酸爲甚佳之固定劑,普通各種固定劑內,多有其成分.酒精每致細胞有少許收縮,而冰醋酸則使之少許膨脹,以復原狀.但細胞質內之組織,如粒線體與高爾基體(Golgi Body)等,易因之損壞,即核內之一部,亦有影響.故有人以爲除預備染色體切片外,簡直可將冰醋酸除去不用.然普通情形,則冰醋酸對細胞核之固定,實甚佳也,故仍多用之.亦有以福爾馬林代替之者,則其固定時更可較速.任何固定液中之冰醋酸,皆可因需要而自由增減之,不得多過百分之十,不得少過百分之一。

D. 醋酸酒精(Acetic alcohol). 冰醋酸30cc.,加純酒精60cc.,便是.如紫鴨跖草之根尖,以此液固定之,二十分鐘已足,再以純酒精洗淨之。

E. 福爾馬林酒精(Formalin alcohol) 配法有數種如下:

a. 福爾馬林2cc.—10cc.+70%酒精100cc.

b. 福爾馬林4cc.—10cc.+50%酒精100cc.

材料置於此種混合液內,固定二十四小時後,以水洗淨之,即將材料儲藏其中,至欲用時,再取出洗淨之,亦無不可.故