

國立中央圖書館



0025197

生物學的顯微鏡技術

劉棠瑞 編著

生物學的顯微鏡技術

劉棠瑞 編著

國家圖書館典藏
正由國家圖書館數位化

368
8785

生物學的顯微鏡技術

劉棠瑞 編著



正中書局印行



75963
N867

8785

3
57
序

關於顯微鏡之檢查技術，歐美日本各國均有優良之著作出版，若德國 R. Krause 之 Enzyklopadie der Mikroskopischen Technik，英國 A. B. Lee 之 The Microtomist's Vade-Mecum，美國 C. E. McClung 之 Handbook of Microscopical Technique，東鄰日本鈴木文太郎之顯微鏡及鏡檢術式等，均不朽之名著也。其有裨益於各該國學士之參考研習者甚大，無怪乎其國家生物學之蒸蒸日上，進步無有止境也。吾國大學生物學一部門，雖有生物學技術一科，然關於是項之參考文獻至少，雖然可間接求之於西文日文書中，但僅限於能通曉該國文字者，欲予以普遍之應用，不可得也。

予執鞭於東南各大學，教授生物學技術垂十年，深感生物學學子之購買外文參考書之不易，即買得亦以閱讀為苦，而亟有求取該科中文本參考之必要，抑尤有甚者。民國三十一年廣東省教育廳與國立中山大學師範學院合辦中學教師暑期講習會，著者不敏，忝任該會生物學講席，於講授之暇，每與諸學員談論，提及生物學教學時，彼等咸謂講授易而實驗難，蓋設備不周，更乏關於技術方面之良好參考書故，因是益感該科中文書之不可少，乃自不揣謏陋，開始編著，而題名曰‘生物學的顯微鏡技術’。

詎稿甫寫及半，衡陽之保衛戰掀起，粵北机陞不安，時予任職於

(1)

南京 13332

025197

廣東省立文理學院，乃隨院遷往粵西江之羅定，途經連、賀諸縣，叢山萬嶺，至為艱險，過西江且幾遇敵騎，飽受虛驚，而行李書物之將失者再，幸終免於難，故稿件亦得保存。

復員歸來，將稿續完，適同事廣東省立文理學院教務長子明陳先生語予，以正中書局願刊印是項書物，並允予介紹，故本書之能出版，實陳先生之力也，謹此致謝。

本書倉卒付印，誤漏自所不免，又近年歐美出版關於斯學之新書，未能參閱取材，亦頗有過時代之感，希望在不久之將來，有所改正或增補，然‘拋磚引玉’為著者之又一意旨，切盼關於該方面之權威著述，從而問世，以嘉惠學子，促進吾國生物科學之進步，則幸甚焉。

中華民國三十六年元旦憲法頒布之日

劉棠瑞序於廣州石榴崗

廣東省立文理學院

目次

序	1
第一章 一般準備	1
第一節 實驗室	1
第二節 實驗用具	2
第三節 新舊玻璃器具之清淨利用法	12
第四節 溶液濃度	14
第二章 實驗用藥品及其用法(脚註)	17
第三章 顯微鏡及其附屬器具	41
第一節 顯微鏡之種類	41
第二節 接物鏡之種類及浸涵系	51
第三節 接目鏡之種類及其效用	56
第四節 集光器	58
第五節 顯微鏡擴大倍率之計算法	61
第六節 接目鏡接物鏡及廓大倍數表	63
第七節 使用顯微鏡時之注意	67
第四章 顯微鏡及其附屬器具(續)	71
第一節 標本推動器及加溫器	71
第二節 顯微量尺及標本厚度測定方法	72
第三節 描繪器	74
第四節 圖之製版(脚註)	78
第五節 顯微鏡照相	79

第一節 組織培養基之製法 251

第二節 培養方法 254

第三節 組織培養必要之注意事項... .. 256

第四節 培養組織之檢查方法... .. 256

參 考 文 獻

甲、西文之部... .. 258

乙、日文之部... .. 260

丙、中文之部... .. 260

附 錄

長度,重量及容量略記

西中名詞對照表

A-Z 263-279

第一章 一般準備

欲作生物學之正確實驗，必先佈置適當之實驗室及設備必需之器具。

第一節 實驗室

實驗室(Laboratory)宜選擇光線透射充分及室內清潔之所，直射光線光力極強，於使用顯微鏡頗不適當，故宜取而臨北向而開有多窗之室，設或僅有向東或面對南西之處，則應準備白布窗幔，張掛窗口以免光線之直射，但窗幔必須可以自由張捲者。

室內不清潔，必多混雜塵埃及其他污穢之物，此在實驗時，常易引起錯誤。

設欲作生理及細菌培養實驗，尤須於實驗室之傍，添設一暗室，定溫室及細菌培養室等。

暗室中可裝置顯微照相器，紫外光線發生器及暗視野裝置等。

定溫室乃指室內有可自由調節溫度之裝置而言，其同時兼能調節室內之明暗者，則謂之定溫暗室。

細菌培養室應具備一孵卵器(Incubator)及殺菌用之 Koch 氏蒸氣消毒釜(Steam sterilizer)或高壓殺菌器(Autoclave)，此外尚須設置乾熱殺菌器(Hot air sterilizer)等器具。



第二節 實驗用具

實驗室內應常具備之用具，有下述各種：

1. 實驗檯 高約為二尺三、四寸，並須附有抽屜者，其大小形狀，則可隨實驗之情形而定之。

實驗檯應以堅硬而笨重之木材製之，其表面須鉋光，使之平滑，為使其遇強酸，強鹼及色素等而不起變化，其表面可塗布下列藥劑，以預防之。

A. 硫酸銅塗布劑：

硫酸銅(Copper sulphate)	100gr.	} 甲液
氯酸鉀(Potassium chlorate)	50gr.	
水	615cc	
氯化苯胺(Aniline chloride)	100gr.	} 乙液
氯化銨(Ammonium chloride)	40gr.	
水	615cc	

用法：將甲、乙二液輪流塗布，連續四、五次後，再以煮沸之亞麻仁油塗之，然後用肥皂水洗淨即可，實驗檯經此藥劑塗布後，呈現暗黑色。

B. 氯化銅塗布劑

氯化銅(Copper chloride)	67gr.	} 甲液
氯酸鈉(Sodium chlorate)	67gr.	
水	615cc	

氯酸苯胺(Aniline chlorate)	150cc	} 乙液
水	1000cc	

用法與 A 同。

2. 實驗凳 以形圓有螺旋裝置，可以隨意調節其高低而能旋轉者，為最合用。

3. 大櫃 用以貯藏顯微鏡及其他器具。

4. 解剖顯微鏡 將於第二章說明。

5. 複式顯微鏡 將於第二章詳作說明。

6. 切片機 附切片刀將於第三章詳加說明。

7. 解剖器(Disecting apparatus). 如:

a. 解剖刀(Scalpel)(第一圖, 4, 5).

b. 解剖剪(Disecting scissors). 粗細剪各一把, (第一圖, 7, 11). 另須具備直咀與彎咀者各一. (第二圖, 12).

c. 鑷子(Forceps). 粗細頭及彎咀者各一副(第一圖, 8. 第二圖, 13, 14).

d. 切片鏟(Section lifter or spatula)(第一圖, 10).

e. 解剖針(Disecting needles)(第一圖, 6).

8. 西式剃刀(Section razor)(第二圖, 15).

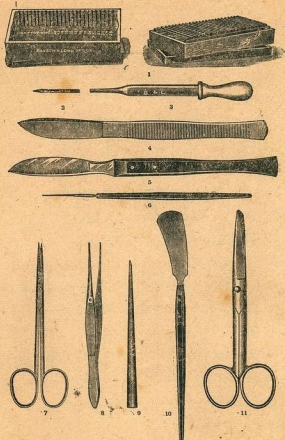
9. 砥革(Strop)(第五十圖).

10. 砥石(Whetstone)(第四九, 五一 a 圖).

11. 定針(Pins).

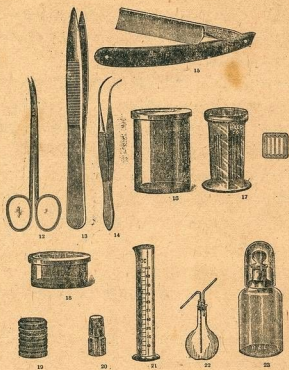
12. Cornet 式蓋玻片鑷子(Cover glass forceps).

13. 載玻片(Slides). 另須具備中央有圓凹窩之 Hollow slides



第一圖 實驗用具

- | | | | |
|----------|----------|---------|-----------|
| 1. 切片標木盒 | 2. 毛刷管 | 3. 吸管 | 4. 5. 解剖刀 |
| 6. 解剖針 | 7. 細解剖剪 | 8. 細顯顯子 | 9. 吹管 |
| 10. 切片鏟 | 11. 粗解剖剪 | | |



第 二 圖 實 驗 用 具

- | | | |
|-----------|----------|----------------|
| 12. 彎咀鑷 | 13. 粗頭鑷子 | 14. 彎咀鑷子 |
| 15. 西式剃刀 | 16. 染色瓶 | 17. Coplin 染色瓶 |
| 18. 扁平玻璃皿 | 19. 培養皿 | 20. 樹膠瓶 |
| 21. 量筒 | 22. 洗瓶 | 23. 火棉膠瓶 |

多枚，以作懸滴裝置(For Hanging drop)之用(第三圖, 1)。

14. 蓋玻片(Cover glass). 有圓形(直徑有 16mm. 與 18mm. 兩種), 方形(18×18mm.) 及大形(25×40—50mm.) 三種, 大形蓋玻片最便於安放成組之切片。

15. 切片標本盒(Slide box). 另須具備能將切片標本平放之扁平標本盒多個。此種標本盒可以硬厚紙製之, 底上將其間隔較載玻片略長大之空格若干格, 以便標本封固後不久, 加拿大樹膠等裝置劑未乾前之放置(第一圖, 1)。

16. 解剖盤(Dissecting pan).

17. 吸管(Pipette)(第一圖, 3)。

18. 量筒(Measuring cylinder), 有 10, 50, 100, 500cc 者名, 應各具備一件(第二圖, 21)。

19. 洗瓶(Wash bottle)(第二圖, 22)。

20. 燒瓶(Boiling flasks). 有平底圓底(flat or round bottom)兩種, 應各具備若干。

21. 蒸餾瓶(Distilling flasks).

22. 錐瓶(Erlenmeyer flasks).

23. 燒杯(Beakers). 有大小諸種, 應各具備若干。

24. 試藥瓶(Reagent bottles). 有細口廣口(Narrow or wide mouth)兩種, 應各具備若干(第三圖, 4, 5)。

25. 染色瓶(Staining jars). 至少須具備 20 個以上, 染色瓶之種類頗多, 其中以 Coplin 染色瓶最切用(第二圖, 17)。

26. 色素瓶(Colouring bottles)(第三圖, 10)。



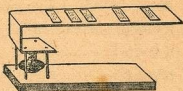
第三圖 玻璃器具

- | | | |
|----------|----------|--------------|
| 1. 圓高載玻片 | 2. 時計皿 | 3. 蒸發皿 |
| 4. 細口試藥瓶 | 5. 廣口試藥瓶 | 6. 7. 8. 點滴瓶 |
| 9. 樹膠瓶 | 10. 色素瓶 | 11. 揮發瓶 |

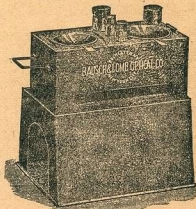
27. 標本瓶(Specimen jars). 大小形狀有各種,應各具備若干.
28. 火棉膠瓶(Cellodin bottle)(第二圖,23).
29. 加拿大樹膠瓶(Balsam bottle)(第二圖,20 及第三圖,9).
30. 點滴瓶(Drop bottle). (第三圖,6,7,8).
31. 揮發瓶(Capped bottle). (第三圖,11).
32. 小藥瓶(Vials).
33. 培養皿(Petri dishes). 有大小深淺各種,應各備若干. (第二圖,19).
34. 時計皿(Watch glass). 直徑有 60,75,90,100mm. 各種,應各備若干. (第三圖,2).
35. 試管(Test tubes).
36. 試管架(Test tube support of wood).
37. 滴管(Burette).
38. 玻璃管(Glass tubes). 口徑有 1-3,4-12,13-24,25-40mm. 者各種.
39. 玻璃棒(Glass rods).
40. 漏斗(Glass funnels).
41. 分液漏斗(Separating funnels).
42. 漏斗架(Funnel stand).
43. 冷卻器(Condenser).
44. 冷卻器臺(Condenser stand).
45. 酒精燈(Alcohol burner).
46. 蒸發皿(Evaporating dishes), (第三圖,3).



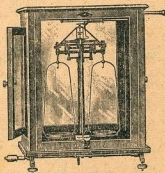
第四圖
化學用溫度計



第五圖 埋漬磅

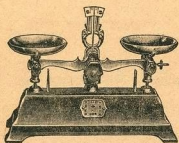


第六圖 簡單等爐之一種

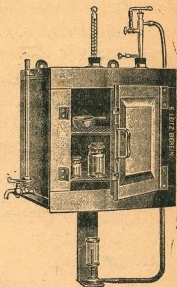


第七圖 理化學天平

47. 蒸餾器(Distillation apparatus).
48. 化學用溫度計(Chemical thermometer), (第四圖).
49. 寒暑表(Thermometer).
50. 液體比重計(Hydrometer).
51. 酒精比重計(Alcoholmeter).
52. 理化學天平附分析用精密法碼 (Balance, for chemical & physical purposes, with analytical weights), 可感重至 $\frac{1}{10}$ mgr. (第七圖).
53. 調劑用天平附法碼 (Balance for pharmacists with weights). (第八圖).
54. 熔蠟爐 (Paraffinapparat, Paraffin bath), 製組織切片時, 用以熔解石蠟. (第六圖).
55. 埋漬檯或稱暖檯 (Imbedding table or warming table). (第五圖).
56. 定溫箱(Thermostat). (第九圖).
57. 定溫電氣爐(Constant temperature electric oven). (第十圖).
58. 遠心力分離器(離心器)(Centrifuger). (第十一圖).
59. 除濕缸(Desiccator).
60. 水槽(Water bath).
61. 玻璃罩鐘(Glass bell).
62. 磁杯(Porcelain cups).
63. 磁製研鉢附研棒 (Porcelain mortar with spout and



第八圖 調劑用天平



第九圖 定溫箱 (用煤氣加入者)



第一〇圖 定溫電氣爐



第一一圖 遠心力分離器

pestle)。

64. 注射器(Syringes)。

65. 土瓦鉢。

66. 濾紙(Filter paper)。

67. 石蕊試紙(Litmus-paper)。

68. 揩鏡軟紙(桑皮紙 Lens paper)，用普通之杭綢或絨布亦可。

69. 綿。

70. 白布。

71. 木髓(Pith)，即接骨木(Elder)，向日葵(Sunflower)等之髓心。

72. 標籤(Label)。

除上列各種外，實驗室內應備之其他用器，為數尚多，不及一一枚舉。

第三節 新舊玻璃器具之清淨利用法

生物學任何一實驗，其所用之玻璃器具，非令其清淨不可，至清淨之方法，茲分項列述於下：

【1】新玻璃器具之清淨法 新購入之玻璃器具，可以 60°C 上下之肥皂水(Soap water)，用毛刷或毛布將其裏面摩擦洗滌，然後以水洗之，但肥皂水之熱度不能過高，因恐其能損破玻璃故也。

【2】用後玻璃器具之清淨法 使用完畢之玻璃器具，特別如吸管，色素瓶等，不能聽其污染而乾燥，用畢如尚有餘物先將其傾入

廢物缸內(若餘物中含有危險之病原細菌等則須經過殺菌或其他適當之處置手續,方可傾倒),即以水二、三回洗滌即可,其不能洗淨者照上法,以肥皂水,毛刷洗之,如仍不能洗淨時,則須用洗濯液(Cleaning mixture),此液之製法:

重鉻酸鉀(Potassium bichromate)	10分
硫酸(Sulphuric acid)	50分
溫水(Hot water)	50分

先將重鉻酸鉀溶解水,俟其冷卻徐徐加入硫酸,此液在混合時常發生高熱,應以陶製容器盛之,欲洗濯之器具,將其表裏之水分拭乾投入之,經數分或數小時後取出,再以肥皂水或清水充分洗之即可,玻璃器具經此法處置後,大致可以洗淨,至因特殊藥劑而污染者,當使用能溶去此之適當藥品,自不待論。

洗濯液在其變為黑褐色或綠色為止,可以反覆用之。

【3】新舊載玻片與蓋玻片之清淨法,新載玻片與蓋玻片經2%鹽酸酒精(普通酒精中加入2%之鹽酸)後,如屬必要再浸於酒精與醚之等量液中,以脫脂棉拭之,即可應用,使用前須通過火焰數回。用完後即須水洗或投諸洗濯液中,其經塗有洋杉油(Cedar oil)者更非即時漬淨之不可,否則恐不堪再用。

經加拿大樹膠裝置之標本,因過於陳舊不清晰或其他理由,如不能再用,此際欲將其載玻片與蓋玻片再用,可將此種廢標本片投諸二甲苯(Xylol),樟木油或松節油(可利用經脫臘後之廢液)中一、二週後,因樹膠溶解,蓋玻片與載玻片各自脫離,能預先煮沸,投入之收效更快,脫離後之載玻片與蓋玻片,將其移入新二甲苯中若干時,

經酒精(可以利用經脫水者),肥皂水洗,更浸入新酒精中,然後取出拭乾之即可,或者於樹膠溶解後,經水洗而以苛性鈉之稀薄液(1%)處置之,更以水洗,然後浸之於醚酒精中至使用時為止,惟此種用過之玻璃片如以濃鹼液煮之,常於玻片面生出白色濁點或雲翳,設遇此情形時,應以橘汁或檸檬液擦之,可以補救。

一度使用之玻璃片,經上述方法處置,尙不見完全時,則投諸鹽酸與 95% 酒精之等量混液中數小時,次取出水洗,然後移入醚酒精中至使用時為止。

第四節 溶液濃度

物質溶解於水或其他溶媒(Solvent)中之液體,稱為溶液(Solution),溶液大多數以水為溶媒,其濃度雖隨溶媒之容量及溶質(Solute)之重量而定,但溶媒常隨溫度而有顯著之變化。

普通水在空氣中之溫度為 15° , 17.5° , 20°C 時,其 1 公斤之容量,即可當作 1 公升(Mohr's Litre)用之。

【1】百分比溶液 溶解於百容積之蒸餾水(有時用酒精或其他溶媒)中之溶質,依此溶質之重量,稱為百分之幾之溶液,而用“%”符號以表示之。

百分比溶液,對於溶質所含結晶水與否無關重要。

百分比溶液,例如將碘 10gr. 溶之於 100cc 水中,則此溶液即為 10% 碘溶液,本書中屢見之百分之幾之溶液,即係指此百分比溶液而言者,惟配製較高濃度之溶液,應以減去溶質之重量之水加入之,例如製作 12% 之硫酸銅溶液,則應以 $100 - 12 = 88$, 即量取

88cc 之水加入於 12gr. 之硫酸銅粉末中方可。

【2】公分分子溶液 一公分分子量溶質，溶解於 1 公升之溶媒中，此溶液稱為公分分子溶液 (Molar solution)。如含 2, $\frac{1}{2}$, $\frac{1}{10}$ 公分分子量時，各稱為 2, $\frac{1}{2}$, $\frac{1}{10}$ 公分分子溶液。

例：

溶 質	公 分 分 子 量	一公分分子	二公分分子
		溶 液	溶 液
		(每公升應含公分數)	(每公升應含公分數)
HCl	36.46	36.46	72.92
H ₂ SO ₄	98.08	98.08	196.16
NaOH	40.00	40.00	80.00

【3】規定液 溶液一公分當量，溶解於 1 公升之溶媒中，此溶液稱為規定液 (Normal solution)，其與公分分子溶液不相同者，僅在重視當量而已。例如 HCl。其公分分子溶液與規定液均相同，若 H₂SO₄ 等二價酸類，在公分分子溶液中，溶解 98.086gr. 即可，在規定液則應溶解 $\frac{98.086}{2} = 49.043$ gr. 易言之，規定液在酸、鹽基，以其價數將分子量除之，其所除得之商數，將相當於此商數之公分數重量溶之即可。

規定液以 n 表示之，稀釋為 $\frac{1}{10}$, $\frac{1}{20}$ 之溶液，可書作 $\frac{n}{10}$, $\frac{n}{20}$ 。

規定液之製法有多種，茲舉酸、鹼二三例分述於下：

A. 草酸規定液：

$$\frac{C_2O_4H_2 + 2H_2O}{2} = 63.03.$$

秤純草酸(Oxalic acid)63.03gr. 置蒸餾水中溶為1公升,即可得草酸之規定液.

B. 碳酸鈉規定液:

$$\frac{Na_2CO_3}{2} = 53.0gr.$$

置 53.0gr. 之碳酸鈉於 15°C 之蒸餾水中, 溶解為 1 公升即可.

碳酸鈉多含結晶水, 應脫水用之. 因 Na_2CO_3 之純粹者, 得之最難, 故普通取約 86gr. 之碳酸氫鈉 ($NaHCO_3$), 用白金坩鍋反覆加熱, 使成 Na_2CO_3 , 至重量不變為度, 然後秤取 53.0gr. 以製溶液.

C. 硫酸規定液:

$$\frac{H_2SO_4}{2} = 49.08gr.$$

秤硫酸 49.08gr., 置 15°C 之蒸餾水中, 溶為 1 公升即得. 或量比重 1.8 之濃硫酸 30cc 稀釋為 1 公升, 亦可成硫酸規定液.

第二章

實驗用藥品及其用法*

純酒精(純醇)(Absolute alcohol; Ethyl alcohol) C_2H_5OH 比重為 0.791, 用為脫水劑或固定劑, 惟其市價高昂, 亦可以自製之, 其法係將硫酸銅碾成粉末, 加熱使變白色, 隨投於 96% 酒精中, 使其硫化物吸收酒精中之水分, 大概酒精每 100 cc. 加入硫酸銅粉末 15 gr. 為宜. 硫酸銅吸水後, 復現青綠色, 須取出再加熱去水, 去水後復投入之, 如是反覆施行, 至硫酸銅在酒精中不變色為止, 惟經硫酸銅處置之純酒精, 微帶酸性, 易使染色標本脫色, 宜加注意, 同時須過濾始可利用, 純酒精易於吸濕, 平時宜密閉, 以貯藏之, 純酒精之純否, 可滴二、三滴松節油或二甲苯驗之, 如其起乳白混濁, 即為不純.

醋酸 (Acetic acid) CH_3COOH 有效固定劑, 又可作各種有機物之溶媒, 其 3% 溶液可使碳酸鈣之結晶 (Crystals of calcium carbonate, cystolith) 溶解, 但於草酸鈣 (Calcium oxalate) 則不起作用.

醋酸洋紅 (Acetic acid carmine) 染色劑.

醋酸甲烷綠 (Acetic acid methyl green) 染色劑.

* 實驗用藥品及其用法原為第一章中之一節, 因其繁複另闢章敘述較為便利.

丙酮(Aceton) 脫水劑可代替酒精之脫水，又為樹脂，樹膠，油脂等之溶解劑。

酸性品紅(Acid fuchsin) 用作染色劑。

酸酒精(Acidulated alcohol) 由70%酒精99cc加入鹽酸1cc合成，為標本之脫色劑。

瓊膠(Agar-Agar) 作微生物及其他之培養基用，瓊膠培養基在100°C溶解，42-43°C開始凝固，0.5%溶液用於水綿(Spirogyra)之結合。

卵白(Albumen) 卵白(Egg-albumen)50分，甘油50分，1%水楊酸鈉或百里香精1分，混合後濾過用之，又名之為Mayer's albumen。用作切片之黏貼劑。

卵白甘油(Albumen glycerine) 黏貼劑。

酒精(Alcohol) 市上販賣者，其濃度約為92-96%。在生物學技術上，酒精之用途至廣，並須將其攪成各級不相同之濃度而使用之，酒精濃度之攪稀方法：

1. 利用酒精比重計。
2. 利用次頁之Gay-Lussac之酒精攪稀表。

酒精以外，凡屬同種之兩溶液，欲將其攪混為某一濃度之溶液，均可照上法得之，以減少浪費。

50%苦酸酒精溶液為絲狀藻類之優良固定劑。

酒精與甘油等量合用，可使因貯藏於酒精中硬化之組織而軟化。

其他各級濃度酒精，均可用為脫水劑，固定劑及凝固劑。

攪稀 之酒精	上欄爲酒精(有%表示者)之原有濃度,下欄數字爲每100c.c.中應 加入之水量									
	95%	90%	85%	80%	75%	70%	65%	60%	55%	50%
90%	6.50									
85%	13.36	6.56								
80%	20.16	13.79	6.83							
75%	29.63	21.89	14.48	7.20						
70%	39.16	31.65	23.14	15.35	7.64					
65%	50.66	41.53	33.03	24.66	16.37	8.15				
60%	63.16	53.65	44.48	35.44	26.47	17.58	8.73			
55%	78.36	67.87	57.90	48.07	38.32	28.63	19.02	9.47		
50%	96.36	84.71	73.90	63.04	52.43	41.73	31.25	20.47	10.35	
45%	117.86	105.34	93.30	81.38	69.54	57.78	46.09	34.46	22.90	11.41
40%	144.85	130.80	117.34	104.01	90.76	77.58	64.48	51.43	38.46	25.55
35%	178.86	163.58	148.01	132.88	117.82	102.84	87.93	73.08	58.31	43.59
30%	224.40	206.22	188.57	171.05	153.61	136.04	118.94	101.71	84.54	67.45

鹼酒精 (Alkaline alcohol) 滴加數滴之 0.1% 碳酸氫鈉液於 70% 酒精中而成。凡材料用蘇木精色素染色,經酸酒精分色(變爲紅色),然後用此液以回復蘇木精色素之藍色。

Alkanna tincture, 其酒精溶液 (95%) 用於樹脂、脂肪類之染色。

茜草素紅 (Alizarin red) $C_{14}H_8O_4$ 黃紅色酸性染料,此色素如有鐵之存在現藍紫,有鉻之存在則呈褐紫,小無脊椎動物之神經組織用爲生體染色。

明礬 (Alum) 媒染劑、分色劑。

明礬洋紅 (Alum carmine) 用作染色劑。

氯化鋁(Aluminium chloride) 爲 Mayer's pararubine 之一組成分。

氨(Ammonia) NH_3 水溶液爲組織之透明劑,若與硝酸共用,可使蛋白化合物呈黃色反應,又可使臘葉標本軟和,便於觀察。

氨明礬(Ammonia alum) 媒染劑。

氧化銅氨液(Ammonia copper oxide, Copper ammonoxide) 可使纖維素膨脹溶解,詳見第八章第五節。

戊醇(Amyl alcohol) $\text{C}_5\text{H}_{11}\text{OH}$ 爲山達膠封固劑之組成分。

生色精藍(苯胺藍 Aniline blue, water sol.) 強酸性染料,此色素常與橙黃 G, 酸性品紅等併用而爲動物組織之複色染色劑。

生色精油(Aniline oil) 透化劑兼媒染劑。

生色精水番紅花紅(Aniline water safranin) 用作染色劑。

大茴香醚(Anisole) 一種芳香液體,具揮發性,可以代替洋杉油,用作油涵液。

土瀝青膠(Asphalt lac) 封固劑。

硃基金黃(Auramine) 爲美麗黃色之染料,常與生色精藍共用而爲植物木質組織之複染色。

Aurantia 酸性黃色染料, Champy-Kull 法以之與甲苯胺藍或酸性品紅共用而爲粒線體之染色。

天青藍一(Azure 1) 爲四甲基藍之氧化生成物 Giesma 法用以作血液及細菌之染色。

天青藍二(Azure 2) 由天青藍一加入等量之四甲基藍製成,用法同上。

貝加摩柑油 (Bergamot oil) 自貝加摩柑 (Citrus bergamia, Risso) 之新鮮果皮中所榨出之油, 帶淡綠色而有芳香。

苯(石油精) (Benzene, Benzine, Benzol) 顯微鏡等之塗擦劑, 俗稱之爲本精。

俾斯麥褐 (Bismarck brown) 褐色鹽基性染料。

硼砂洋紅 (Borax carmine) 染色劑。

波爾多紅 (Bordeaux red) 酸性染色劑, 用於細胞質之染色, 有時與 Lauth 氏紫及甲基綠共用而作胰、精巢及肝臟之切片染色。

巴西紅 (Brazilin) $C_{16}H_{14}O_5 + 1\frac{1}{2}H_2O$ 自巴西木 (Cesalpinia crista) 抽出之色素, 其性質類似蘇木精, 但爲紅色, 其用法、調製法等均與蘇木精同, 亦須經過氧化作用始生效果。

褐封固膠 (Brown cement) 蟻醛埋漬時用作封固劑, 其製法將蟲膠溶於木精中使成糖蜜狀, 次加等量之海膠 (Marine glue), 更以木精稀釋之, 至流動狀爲止。

Brilliant cresyl blue 鹽基性染料, 常用作血小板及 Reticulated corpuscles 之指示染色。

輝綠 (Brilliant green) 鹽基性染料, 細菌學者用於特種培養基中, 以作塞扶斯菌之分離, 又用於水中 Colcn organism 之研究, 在培養基中因其對於某種微生物有選擇性抑制之作用故。

Brom thymol blue 酸性染料, 且爲最常用之一種指標劑 (Indicator), PH 值之範圍自 6.0 以至 7.6, 而包括中性點在內, 生體染色用之, 以作細胞或組織之 PH 反應指標劑。

加拿大樹膠 (Canada balsam) 封固劑, 此膠乃自加拿大產松

杉之皮中所抽出之油，初無色，久之變黃色而透明。其香則芬芳，但味苦，可溶於醚、綠仿、苯、二甲苯、四氯化碳及 Tetralin 中，其屈折率為 1.51578。

在生物學技術上，加拿大樹膠常用二甲苯為溶解劑，但因其帶酸性，尤在含水分過多時，易使標本脫色。為補救此缺陷，須使其變中性，變中性之法，將樹膠溶於多量二甲苯中，後加碳酸鈉粉末，使之中和，至石蕊試紙不變紅色為度，如是靜止一日，濾過後始可應用。

蔗糖(Cane-sugar, sucrose) 2-5% 溶液用於植物細胞之生體觀察液。3-13% 液用於花粉之萌發與花粉管之培養，15-20% 溶液則可為原形質之退膜 Plasmolysis 劑。關於花粉管之培養，最好將蔗糖製為培養基(蔗糖 12gr., 瓊膠 1gr. 水 100cc 加熱過濾)，此時之 PH 約為 6.4。

氯化鈣(Calcium chloride) CaCl_2 乾燥去濕劑。

樟腦(Camphor) 殺蟲劑、防腐劑。

石炭酸(Carbol)又名之為酚(Phenol) 為無色針狀結晶體，染色劑、醫藥上用之為消毒。

石炭酸二甲苯(Carbol-xylol) 以石炭酸 1 分，二甲苯 3 分之比混合之，用作脫水劑。

四氯化碳(Carbon tetrachloride) CCl_4 為無色具不快臭氣之液體，可作石蠟之溶解劑，較二甲苯、氯仿等價廉，而溶解力大，又為極有效之殺蟲劑。

洋紅(Carmine) 重要之紅色染料，乃自臙脂蟲(Coccus cacti) 之煎汁所製出者，由洋紅酸(Carminic acid)及洋紅紅(Carmine red)

等合成，前者為染色之主要成分。

苛性鈉(Caustic soda) NaOH 。

洋杉油(Cedar oil) 為油涵接物鏡之油浸液，非蒸發性且為乾性油。洋杉油又可為加拿大樹膠之代替品，其光學性質(屈折與分散)幾與冕號透鏡相同，因而稱之為均勻浸涵液(Homogeneous immersion fluid)，其屈折率為 1.52，油浸系須其屈折率為 1.515 者，如過分濃厚，可以二甲苯適宜稀釋之。

火棉膠(Celloidin) 切片材料之埋漬劑。

含水氯(Chloral hydrate) $\text{CCl}_3\text{-CH}(\text{OH})_2$ 白色粉末，其水溶液可使澱粉粒膨脹，濃水溶液(約為含水氯 5 分水 8 分之比之混合液)又可為透明劑，脫色劑及麻醉劑。

三氯甲烷(氯仿 Chloroform) CHCl_3 易流動之無色液體，具揮發性，為脂肪及揮發油之溶解劑，又為動物之麻醉劑，其蒸氣亦具麻醉作用。

葉綠素液(Chlorophyll solution) 其濃厚溶液常用栓質及角皮之反應，而使此等現濃綠色，若纖維素及細胞膜之已木化者，則不着色。

鉻醋酸(Chrom-acetic acid) 由鉻酸 0.7gr. 醋酸 0.3gr 及水 99cc 混合而成，適於藻類之固定，時間 24 小時。

碘氯化鋅(Chlorozinc Iodine) 溶解 25 分之純氯化鋅與 8 分之碘化鉀於 8.5 分之蒸餾中，另以飽和之碘加入之而成。可使纖維素現紫色，木質與栓質呈黃褐色及細胞質為淡黃色。

鉻明礬(Chrome alum) $\text{MCr}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 染色劑。

鉻酸(Chromic acid) 1% 水溶液用於鞣質之檢出反應,又為絲狀藻類之極優良固定劑,固定時需 12—24 小時,25% 水溶液可使花粉粒之膜溶解,再較此以上之濃水溶液則用作組織之分離劑。

氟化鉻(Chromium fluoride) 與重鉻酸鉀共用而為 Weigert 氏染色法之媒染劑。

樟腦油(Cinnamon oil) 脫酒精劑。

丁香油(Clove oil) 分色兼透化劑。

古柯鹼(Cocaine) 麻醉劑,以 2% 古柯鹼 3 分,木精 1 分,蒸餾水 6 分之比混合用之。

胭脂(Cochineal) 染色劑。

火棉膠(Collodium) 黏貼劑。有用酒精(5%) 溶液者亦有用 0.1% 水溶液者。

火棉膠漆(Collodium varnish) 由火棉膠 6oz. 醚 6cc 酒精 8cc 混合溶解後加樟腦製成,用為塗封劑。

剛果紅(Congo red) 酸性染料,動植組織上多常用之,又可為 PH 之指標劑。

醋酸銅(Copper acetate) 鞣酸之檢出藥,將鞣酸浸之於此飽和溶液中約 8—10 分,然後滴加 0.5% 醋酸鐵溶液,即可使鞣酸變為青色或綠色。

硫酸銅(Copper sulphate) $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 純酒精吸水劑,有毒。

昇汞(Corrosive sublimate 即係 Mercuric chloride) HgCl_2 白色結晶,可溶於水,亦易溶於酒精及醚,有違毒,昇汞有害金屬,處置時宜用玻璃器具。

蒸木油(Creosote 木焦油) 組織切片之透化劑。

結晶紫(Crystal violet) 詳龍胆紫。

Cresyl violet 鹽基性染料，具強變色性，可染核為紫色，原形質為藍色，澱粉狀顆粒及黏液素(Mucin)等為紅色，又為神經組織之優良染色劑。

大麗紫(Dahlia) 鹽基性染料，具多色染色性，動物組織學上常用之，尤適於 Amyloid, 巨細胞(Mast cell)之染色。

但馬膠(Damarin Damar) 封固劑。

Eau de Javelle 為 K-Hypochlorite ($KOCl$) 之溶液，由 A (氯化鈣 20gr. 水 100cc) B (碳酸鉀 15gr. 水 100cc) 兩液混合濾過製成，可為植物生長點之透化劑，其稀釋液(約加三倍水)又可為蛙卵卵膜(Egg membrane)之溶解劑。

Eau de Labarraque 為 Sodium-hypochlorite 之水溶液，與前種同，僅用碳酸鈉代替碳酸鉀而已，用途亦同。

曙紅(Eosin, Yellowish Eosin, Water sol. E.) $K_2C_{20}H_6Br_4O_5$ 水溶性紅色酸性染色劑，為細胞質之良好染料，通常與蘇木精色素及青色或藍色鹽基性染料併用而為複染色劑，大多數用於各種血液之染色。

愛利斯洛新紅(Erythrosin) $C_{20}H_6I_4O_5Na_2$ 酸性染料，有 Yellowish 與 Blueish 兩種，後者為組織學上之紅色複染色劑，近時又用作土壤細菌之染色。

醚(Ether) 醫藥上用作麻醉劑，生物學技術上則用作火棉膠之溶劑，又可作各種油體之溶解。醚為無色透明液體，易揮發而又易

燃燒，其分子式為 $C_2H_5 \cdot O \cdot C_2H_5$ 。

酒精溶性曙紅(Ethyl eosin, alc. sol.) 爲 Delafield 氏蘇木精處置後之複染色劑。

四氯化乙烯(Ethylene tetrachloride) 用法與四氯化碳相同，材料可直接自 95% 酒精移入。

Euparal 由 Camsal, Sandarac, Eucalyptol 及 Paraldehyde 四原料混合而成，屈折率爲 1.483。有無色與帶綠色兩種，後者因含銅鹽之故，其爲封固劑也，謂有加強蘇木精染色之效。

Eycleshymer 氏透化液 由貝加摩柑油 1 分，洋杉油 1 分及無水石炭酸 1 分混合而成。

硫酸鐵銨(Ferric ammonium sulphate)。

三氯化鐵(Ferric chloride) $FeCl_3$ 黃褐色結晶其水溶液可使鞣酸呈暗藍色、綠色或黑色。

硫酸亞鐵(Ferrous sulphate) 帶綠色結晶可使鞣酸變黑。

甲醛(蟻醛 Formalin, Formol) 市販之甲醛(Commercial formalin) 約爲 40% 之 Formaldehyde 之飽和水溶液，其中屢含蟻酸，故須投少量碳酸鉀以中和之，本書常見之 2%，4%……甲醛液乃指市上販賣之甲醛 2cc, 4cc 加入於 98, 96cc 之水中而言者。甲醛爲組織之硬化劑及固定劑，其 4% 溶液又爲植物新鮮材料之良保存劑。

酸性品紅(Fuchsin, acid) 爲細胞質染色劑中最常用者之一，Van Gieson 氏以之與苦味酸併用作蘇木精處理後之染色，而使平滑肌自結締組織分色，Ehrlich-Biondi 染色法及 Ehrlich 氏三酸染色法

均用以與甲基綠及橙黃 G 併用而作塗布血液之染色，又 Mallory 氏生色精藍結締染色法則以之與甲基綠併用而作粒線體之染色。

鹽基性品紅 (Fuchsin, Basic) 紅紫色染料，其結晶則呈有光輝之綠色，為強有力之核染色劑，且多用作細菌之染色，如 Ziehl-Neelson 法，用之作肺結核病菌之診斷。

Gallocyanin ($C_{15}H_{12}O_5N_2$) 青紫色染料，常與鉻明礬 (Chromium alum) 併用，而為 Weigert 氏染色法之染色液。

汽油 (Gasoline) $C_6H_{14}C_7H_{16}$ 透化劑，又可代替二甲苯而作溶蠟及脫臘劑。

白明膠 (精膠 Gelatine) 為凍結切片之埋漬材料，又可作花粉粒之培養基。

龍胆紫 (Gentian violet) 鹽基性染料，為核之優良染料，細胞學、組織學及細菌學 (Gram 氏染色法) 上均常用之，因其對於某種細菌有抑制作用，又可用作治療劑 (Therapeutic agent)，Flemming 氏以之與橙黃番紅花紅供用，而作三色染色。

冰醋酸 (Glacial acetic acid) 濃醋酸溶液，低溫呈冰狀結晶，為數種固定劑之重要成分。

葡萄糖 (Glucose, Dextrose) 白色結晶。

甘油 (Glycerine) $C_3H_5(OH)_3$ 其屈折率為 1.472050% 甘油以 KI 加之，使之飽和，可作水溶性材料之浸滲液，普通如澱粉等不能用裝置之物質，須用此以檢視之。15% 溶液用於原形質之退膜。

甘油膠 (Glycerine jelly, G. gelatine) 標本埋漬劑，其配成方法有三種：

第一法：水 42cc, 甘油 38cc, 精膠 7gr., 石炭酸 1gr. 先將精膠投入水中約 2 時許, 使之軟和, 次加熱溶解, (以不過 75°C 為宜, 過之則精膠變為 metagelatin, 在常溫而不易硬固故), 再次加入甘油與石炭酸, 繼續加熱 10—5 分, 然後乘熱過濾, 即可使用, 加熱時須時時攪拌, 濾時不用濾紙, 而用玻璃棉(glass wool).

第二法：水 6 分, 精膠 7 分, 甘油 7 分, 每 100cc 加石炭酸 1gr. 先投精膠於水中軟和, 次加熱, 然後加入甘油及石炭酸, 再熱 10—15 分鐘, 濾過後即可使用。

第三法：水 40cc 精膠 6gr., 甘油 50cc 石炭酸結晶 2gr., 卵白 5cc 先將精膠浸水中, 次加熱溶之, 更加入卵白煮半小時, 此際卵白沉澱而帶去膠中之微粒灰塵, 因之變為透明, 過濾後加甘油、石炭酸, 再熱 10—15 分, 充分攪勻之即可。

甘油樹膠 (Glycerine gum) 由阿拉伯樹膠 (Arabian gum) 10gr. 水 10cc, 甘油 40—50 滴配合而成, 製作蘚苔類之葉, 花粉粒, 小形種子等之切片時, 用為埋漬劑。

氯化金 (Gold chloride) 末梢神經之金屬着色劑。

貼金膠水 (Gold-size) 甲醛埋漬時之封固劑。

阿拉伯樹膠 (Gum arabic)。

蘇木精 (Hæmatoxylin) 生物學技術上最重要之染色劑, 其分子式為 $C_{16}H_{14}O_6 \cdot 3H_2O$ 。

鹽酸 (Hydrochloric acid) 濃鹽酸 (25%) 與藤黃精併用, 可使木質 (Lignin) 呈紅紫色, 栓質 (Suberin) 現黃褐色, 纖維素則不着色, 其 0.5—1% 之稀薄溶液, 則用為脫色劑。

氟酸 (Hydrofluoric acid) 木材之軟化劑，氟酸有腐蝕玻璃之性，其盛瓶內面須塗蠟以保護之。

過氧化氫 (Hydrogen di-oxide, Hydrogen peroxide) H_2O_2 用作漂白劑，凡切片經鐵酸之處置而黑變者，均以此漂白之。

靛藍 (Indigo blue) 青色染料，生物學技術上現不常用。

靛洋紅 (Indigo carmine) $C_{16}H_8O_2N_2(SO_3Na)_2$ 青色粉末，溶於水，與洋紅相對而為細胞質之染料。

碘 (Iodine) 生物學技術上之染色劑，醫藥上之治療劑。

玻璃用墨汁 (Ink for writing on slide) 13% 蟲膠酒精溶液 3 分，13% 硼砂水溶液 5 分，次甲基藍多量混合製成，用以書寫玻璃及載玻片等。

碘綠 (Iodine green) 鹽基性染料，為核或染色質之染料，因其有選擇性染色之性質，故有種種特殊用法，例如與酸性品紅、苦味酸合用以染神經組織，與鹽基性品紅併用則染植物細胞之細胞質，又與酸性品紅併用，以染木質部中之木化部分，此外又作 mucin, amyloid 之染色。

碘液 (Iodine solution) 澱粉等之顯微化學着色反應劑，碘液對於原形質之殺生作用最快，而使其染成深褐色，尤以核及有色體最為顯著。

碘酒 (Iodine tincture) 為碘之酒精溶液，其配法為碘 1 分，90% 酒精 10 分，可使澱粉呈藍色，糯米澱粉呈紅紫色，糊粉粒呈黃色，與硫酸併用則使纖維現青色，木質、栓質變黃褐色，50% 酒精溶液可除去在昇汞固定劑中之材料之昇汞。

醋酸鐵(Iron acetate) 其稀薄水溶液加硝酸 1 滴,可為鞣酸之檢出反應。

鐵明礬(Iron alum) 媒染劑,為紫色結晶。

Isopropanol (Iso-propyl-alcohol) 水溶液為生物材料之良好保存劑,用以代替 Ethyl alcohol。

詹納斯綠(雙頭神綠)(Janus green B) 鹽基性染料,生體染色時用作粒線體之指示,又與中性紅併用而作胚胎切片之染色。

Javelle 氏液 為含碳酸鉀之低氯酸鈉(NaOCl)水溶液,用作漂白劑。

蟲膠(Lac) 封固劑。

乳酚油(Lactophenol) 由乳酸(Lactic acid) 20gr., 石炭酸(結晶) 20gr., 甘油 40gr. 水 20cc 配合而成,為各種植物切片之裝置劑,又為臘葉標本,各種生藥之軟化液,特別適於藻類標本之軟化。

光綠(Light green, SF, yellowish) 酸性染料,為重要之細胞質染色劑,但接觸陽光而褪色,是則其缺點,常與番紅花紅相對併用而作精子(Spermatozoa)染色以染細胞質,植物組織學上則用以染細胞質及纖維素。

亞麻仁油(Linseed oil) 為黃色或暗黃色之油,用作塗料。

碳酸鋰(Lithium carbonate) 苦味酸之黃色褪色劑。

蘇方木(Logwood) 即係蘇木精。

Lugor 氏液 由碘 1gr. 碘化鉀 2gr. 水 300cc 配製而成,為昇汞之清除劑,澱粉之顯微化學反應劑。

Lyons blue 即係生色精藍之鹽基性染料,適於胚胎組織(神

經組織)之染色。

Magdala red. 藻類染色劑。

品紅(Magenta) 即係 Fuchsin, basic 之別名。

氯化鎂(Magnesium chloride) 麻醉劑,用法同硫酸鎂。

硫酸鎂(Magnesium sulphate) 麻醉劑,最適於一般海產動物之麻醉,其用法加少量結晶於海水中即成,或製成海水之飽和水溶液加入之亦可。

木精(Methyl alcohol) CH_3OH 又稱之為 Methanol。

孔雀綠(Malachite green) 弱鹽基性染料,當植物受菌類之侵襲時,植物病理學者用之以作寄主組織之染色,此染料現時已為甲基綠所取而代之矣。

Menthol 為海產大形動物(如 Anemones, Ascidia 及多數 Mollusca 等)之麻醉劑,其法係投少量之此藥之結晶於水面浮之,靜置一夜即可。

甲基藍(Methyl blue) 酸性染料,為優良之複染色劑,常與番紅花紅或洋紅等紅色核染色劑相對使用。

甲基綠(Methyl green) 鹽基性染料,細胞學組織學多常用之,為核染色質之優良染色劑,又常與酸性紅、橙黃等併用而作複染色,植物學者則以與酸性紅併用,作木質部中木化部分之染色。Pappenhein 氏染色法,將其與 Pyronin 併用,而作淋球菌(Gonococcus)之染色。此外甲基綠又為原生動物染色質之優異染色劑。

甲基橙(Methyl orange) 染色劑。

甲基紫(Methyl violet) 即係龍胆紫之別名。

次甲基藍(四甲基藍 Methylene blue) 鹽基性染料, 為病理學及細菌學上最優異之染色劑, 其特點為強鹽基性而無過染色之弊, 且具多色性. 其重要之染色法有四: 第一用於核染色; 第二用於細菌之染色, 包括牛乳之檢驗, 白喉之診斷, 第三神經組織之生體染色及第四與曙紅併用而作血液之染色.

次甲基綠(Methylene green) 為甲基綠之代用品, 植物學上用作木材及細胞固定後染色質之染色, 與曙紅併用作複染色亦有良好結果.

次甲基紫(Methylene violet) 為次甲基藍氧化生成物之一種, 具多色性, 乃核及細胞中顆粒之染色劑, 此染料之一定量與次甲基藍, 天青藍 A, 及曙紅混合溶之於木精, 即成功 Mac Neal 氏之四色染色劑, 以為血膜(Blood film)之染色.

三氧化鉬 (Molybdenum trioxide, molybdic acid) MoO_3 無色粉末.

藻類裝置液(Mounting fluid for Algae) 欲保存藻類之天然色狀態, 可用此液, 其製法為醋酸銅 1gr. 樟腦水 130cc 水 130cc 冰醋酸 20 滴, 甘油 260cc, 混合濾過而成.

樟腦水(Camphor water) 其製法, 則用酒精 8 分, 樟腦 4 分之比混合, 上覆白布, 曝露於空氣中, 使酒精蒸發然後再加入蒸餾水至 500 容積即可.

硫代硫酸鈉 (Natrium thiosalphate) 0.25—0.3% 溶液可作碘之清除劑.

中性加拿大樹膠 (Neutral balsam) 樹膠之加入碳酸鈉成

中性者。

中性甲醛 (Neutral formalin) 甲醛液中加入碳酸鉀振蕩之即可。

青黑精 (Nigrosin) $C_{36}A_{27}N_3$ 水溶性鹽基性染料，單獨用或與蘇木精等併用，而作各種組織之染色。又用於藻類，真菌類之研究染色，Dorner 氏孢子染色法尤特別用之，以染細菌，蓋其能除去細胞之營養部分之鹽基性品紅色素，而於生殖部分（即孢子）不起作用，故在灰色之背景中可顯示孢子之品紅染色。

中性紅 (Neutral red) 弱鹽基性染料，為優良之生體染色劑兼有名之 PH 指標劑，因其為弱鹽基性，又無毒害，故常用之作核，溫室中血液及原生動物等之生體染色，又用於神經細胞中尼斯爾顆粒之檢出，若與詹納斯綠併用，則可為胚胎組織之複染色。

尼羅藍 (Nile blue, Nile blue sulphate) $C_{20}H_{19}ON_3$ 鹽基性染料，呈青綠色。L. Smith 氏脂肪染色法，用之以染脂肪，其用法為將此染料與稀釋之硫酸沸煮，使其一部分轉變為 Oxazone 染料，此色素呈紅色，為脂肪溶性，尼羅藍自身不為脂肪溶性，但易與脂肪酸結合，故 Smith 法用之以作組織中之游離脂肪與中性化脂肪 (Neutralized fats) 之區別，蓋游離脂肪酸遇尼羅藍而呈藍色，中性化脂肪，遇 Oxazone 則現紅色故也。

硝酸鉀 (Nitrate of potassium, Potassium nitrate) 10% 溶液可使原形質退縮。

硝酸 (Nitric acid) 濃溶液可使草酸鈣之結晶 (Crystals of oxalate) 溶解，與鹽酸合用則使組織分離。

橄欖油(Olive oil) 檢查蓖麻種子中之糊粉粒(Aleurone grain)時用之,又可作組織之透化劑。

檸檬油(Oil of lemon) 植物花粉粒之透化劑。

橙黃 G (Orange G) 酸性染料,重要之組織複染色劑之一, Flemming 氏三色染色法以之與番紅花紅,龍胆紫共用,作各種組織之染色,若與甲基綠,酸性紅共用則成爲 Ehrlich-Biondi-Heidenhain 染色法, Mal'ory 氏用則以之與生色精藍,酸性紅合用,作結締組織之複染色。

甲苯二酚 (Orcin) 其酒精溶液爲菊糖(Inulin)之顯微化學反應劑。

鉻酸 (Osmic acid) OsO_4 固定劑,又爲脂肪之染色劑(染爲黑色),鉻酸易揮發,其蒸氣含毒性,使用宜留心,不使吸入體內。

石蠟(Paraffin) 埋漬劑,依其熔點之高低,有軟硬之別,軟蠟熔點爲 45°C ,硬者爲 56°C ,隨季節寒暖之不同,可以彼此適宜攪和用之。

百補登(Peptone) 白色或黃色粉末,作培養基用。

石油本精(Petroleum benzine) 易引火之揮發性液體,溶解劑。

酚酞(Phenolphthalein) ($\text{C}_{20}\text{H}_{14}\text{O}_4$) 無色結晶,指標劑,遇鹼呈紅色。

藤黃精(Phloroglucin, Phloroglucinol) $\text{C}_6\text{H}_3(\text{OH})_3$ 白色或帶黃色之結晶,與濃鹽酸併用,可使木質着紅紫色,與硝酸合用,則爲骨之脫灰劑。

磷鉬酸 (Phosphomolybdic acid) 1% 水溶液可使酸性品紅固定而不致褪色。

苦味酸 (Picric acid) $C_6H_2(NO_2)_3OH$ 黃色強酸性染料，其飽和水溶液為良好之固定劑。又溶解於海水中為海藻之固定劑，普通之苦味酸酒精乃指 50% 酒精之飽和溶液而言者，在 Van Gieson 之結締組織染色劑中，苦味酸與酸性品紅共用而作組織之染色。

新桃紅 (Phloxine) 紅色酸性染料，常與 thiazin 族之藍色染料併用，而為複染色劑，此色素在 Mallory 之曙紅—次甲基藍染色法中，較曙紅更有染色效果，有時又用作細菌之染色，Chamberlain 氏謂其為較 Magdala red 尤優之藻類染色劑。

氯化鉑 (Platinum chloride) 金屬着色劑。

鉀明礬 (Potassium alum) 媒染劑，單稱明礬。

重鉻酸鉀 (Pot. bichromate) 加 1/2 容之濃硫酸，可洗淨用過之污玻璃器具，2—4% 水溶液可為動物神經之固定兼硬化劑。

碳酸鉀 (Pot. carbonate) 甲醛中蟻酸之中和劑，又可用作漂白劑。

氯酸鉀 (Pot. chlorate) 與硝酸共用構成 Schultze 氏液而為木材之分離液。

氰化鉀 (Pot. cyanide) 金屬鍍色之分色劑。

氯化鉀 (Pot. chloride) 白色結晶。

赤血鹽 (Pot. ferricyanide) 與礬砂共用而為 Weigert 氏染色法之分色劑，亦為鍍金之分色劑，此藥品為淡紅色結晶，其分子式為 $K_3Fe(CN)_6$ 。

氫氧化鉀(Pot. hydroxide)KOH 見鉀液之項。

碘化鉀(Pot. iodide)KI 白色結晶。

碘碘化鉀(Pot. Iodide Iodine) 由碘 0.5gr. 碘化鉀 2.0gr. 水 150cc 配合而成, 用於澱粉之反應。

高錳酸鉀(Pot. permanganate) 1%水溶液為生色精類之媒染劑, 又可作黴菌類之殺菌用。

吡啶(Pyridine) 神經組織之透明劑, 為無色具不快臭氣之液體, 其分子式為 C_5H_5N 。

焦性沒食子酸(Pyrogallic acid) $C_6H_6O_3$ 白色片狀結晶。

木醋酸(Pyroligneous acid) 與鉻酸等量混合, 以作纖粒體之固定。

Pyronin B. 紅色染料 Pappenhein 染色法中, 以之與甲基綠共用而作各種嗜鹼細胞(Basophile elements), 如 mast cells 等之染色, 又作淋球菌塗布標本之染色。

硃基玫瑰紅(Rhodamine)B. 弱鹽基性玫瑰紅色染料, 與餛酸共用而作固定劑同時兼染色劑, 又與次甲基藍, 甲基綠相對併用而作各種組織之染色。

玫瑰生色精(Rosaniline) 為鹽基性品紅之一種。

玫瑰生色精紫(Rosaniline violet) $C_{20}H_{21}ON_3$ 染色劑。

孟加拉玫瑰紅(Rose bengal) 酸性紅色染料, 較 Phloxine 而尤紅, 但染色後則略現紫影, 細菌染色劑。

番紅花紅(Safranin) 鹽基性染料, 為最重要之核及染色質染色劑之一, 植物學者用之, 以作木化組織與栓質化組織之區別, 又用

爲蛋白質之染色，在 Benda 法與光線併用，Flemming 三色染色法則與龍胆紫，橙黃 G 合用，而作染色質之染色，細菌學上之 Gram 法亦常用之作複染色。

山達膠(Sandarac) 由 Gum sandarac (自 Sandarac 樹所提出之一種樹膠) 25gr., 蓖麻油 3gr. 及戊醇 50cc 混合而成，其屈折率爲 1.45—1.48. 可代替加拿大樹膠，而爲封固劑。

Scharlach R. 脂肪染色劑，可爲蘇丹 III 之代替品。

蟲膠(Shellac) 可溶於醋酮、戊醇、木精，及純酒精，其溶於純酒精中者成糖蜜狀，濾過後可作封固材料。

硝酸銀(Silver nitrate) 金屬着色劑。

碳酸氫鈉(Sodium bicarbonate) 加入加拿大樹膠中使膠變成中性。

酸式硫酸鈉(Sodium bisulphate) NaHSO_4 加入蘇木精中，可使其能長久良好保存。

碳酸鈉(Sodium carbonate, Soda) Na_2CO_3 洗滌用。

食鹽(Sodium chloride, Table-salts) 其 0.7% 水溶液，稱之爲生理食鹽水(Saline water)，其濃度與動物之淋巴相等。人類血液普通用其 0.75—1.0% 溶液，兩棲類用 0.8%，若海產魚類則須用其 1.5—2.0% 者。又氯化鈉之 5—10% 溶液可作原形質之退縮劑。

氫氧化鈉(Sodium hydroxide)。

次氯酸鈉(Sodium hypochlorite) 蛙卵膠質膜之溶解劑。

低亞硫酸鈉(Sodium hyposulphite) 爲碘之黃色漂白劑。

水楊酸鈉(Sodium salicylate) 卵白黏貼劑中用以防腐。

硫代硫酸鈉(Sodium thiosulphate).

硫酸鈉(Sodium sulphate) 與重鉻酸鉀合用作固定劑。

矽酸鈉(Sodium water glass) Na_2SiO_3 Ullrich 氏黏貼劑之一構成分。

鉀液(Solution of caustic potash) 即係氫氧化鉀液,其 5—6% 稀薄水溶液用為透明劑,10% 溶液用於同化澱粉之觀察,50% 水溶液可作薄膜組織(Pareachyma)之分離液。又可使栓質呈黃色反應,至其濃水溶液則可使細胞膜膨脹,澱粉粒溶解。

澱粉糊(S arch paste) 1% 澱粉糊用於花粉之培養。

三脂蠟酸甘油(Stearine) 加入石蠟中作組織脆弱材料之埋漬。

蘇丹 III(Sudan III, Fettponceau G) 弱酸性脂肪溶解性染料,可使脂肪染成橙色。切片、片塊染色均可用之。

蘇丹 IV(Sudan IV) 為蘇丹 III 之 dimethyl derivative. 染脂肪為 Scarlet 色,因其在顯微鏡切片上之染色生動而顯著,故組織學上常用之,以代替蘇丹 III。

硫酸(Sulphuric acid) 濃硫酸(95%)2 分,水 1 分之混合液可使細胞膜膨潤,草酸鈣結晶、澱粉、糊粉粒等溶解。

無水亞硫酸(Sulphurous anhydride) SO_2 可除去材料因重鉻酸鉀固定而生之黃色。

亞硫酸(Sulphurous acid) H_2SO_3 漂白劑,溶少量硫酸鈉於水中,再加 2—4 滴鹽酸,即可發生亞硫酸。

Terpineol ($\text{C}_{10}\text{H}_{17}\text{OH}$) 透化劑,材料可自 90% 或 80% 酒精

移入。

Tetralin ($C_{10}H_{12}$) 用法與氯化乙烯同。

鞣酸(單寧酸 Tannic acid) 其 0.5% 水溶液可除去澱粉因碘而着之藍色。

百里香精 (Thymol) 10% 酒精溶液可為菊糖之鑑定, 即先注以此液, 然後滴加硫酸二、三滴, 即可使菊糖變紅色。

百里香精藍 (Thymol blue) 酸性染料, PH 指標劑, 生體染色亦常用之。

Thionin (勞斯氏紫 Lauth's violet) 鹽基性染料, 為染色質與 Mucin 之優良染色劑, 因其具高度之 Meta-Chromasy, 尤見實用。又此色素不僅可供生體染色用, 且為動物及人體組織 (特別 Tumors 等) 等凍結切片之染色劑, 又為細菌羣落之染色, 以便於計算。

甲苯胺藍 (Toluidin blue) 鹽基性染料, 極近似次甲基藍, 而同天青藍 A. 故有人用之, 以代替天青藍 A. 此色素又可代替 Thionin, 作組織之凍結切片染色, Albert 氏法則用之以染白喉菌 *Corynebacterium diphtheriae*。

甲苯 (Toluol, Toluene) 透化劑。易蒸發, 較二甲苯為快, 但較苯為慢。

三氯化醋酸 (Trichlor acetic acid) 固定兼硬化劑, 又為強有力之脫灰劑, 均用其 4—5% 水溶液, 固定時間 (神經細胞) 8—24 時, 酒精洗滌。

Trypan blue. 酸性染料, 可供各種組織之生體染色, 1—2% 海水溶液可為雙鞭毛藻之細胞膜板之染色 (淡藍色)。

松節油 (Turpentine oil) 無色液體，可作透化劑，抗戰軍興以還，因二甲苯之價值高昂，且不易購得，故多數實驗室咸採其純潔者用作脫臘劑，以替代二甲苯，並舉有良好結果。

尿素 (Urea) CON_2H_4 以 0.5—2% 之此藥結晶加入於固定劑中，可使染色體更清晰顯現。

無水硫酸銅 (Unhydrous copper sulphate) 為硫酸銅之不含水分者。

Ullrich 氏黏貼劑 由矽酸鈉 1gr. 強氨水 1cc 及水 100cc 合成。

凡士林 (Vaseline) 塗封用。

威尼斯樹脂 (Venetian turpentine) 自 *Larix europea* 之樹脂加熱去其水分而成，易溶於純酒精，亦為一重要之封固劑，其用法將與蓋玻片等長之鐵線，燒熱，蘸此脂塗於蓋玻片之四緣即可，材料可直接自純酒精移入。

二甲苯 (Xylol) 媒浸劑、透化劑及脫臘劑，生物學技術上至關緊要之藥品。

氯化鋅 (Zinc chloride) ZnCl_2 白色結晶粉末。

墨液 墨汁 10cc 醚與丙酮之等量混液 3cc 製火棉膠埋漬切片時，用以書火棉膠之記號，以示切片之先後順序。

玻璃專用墨水 其製法為 13% 硼砂水溶液 5 分，13% 封臘 (Seal lac) 酒精溶液 3 分，混合後加熱溶之，再加甲基綠至溶液變濃青色為度，此墨水專用以書寫玻璃。

第三章

顯微鏡及其附屬器具

第一節 顯微鏡之種類

欲作生物之顯微鏡的實驗觀察，其可以用廓大力低弱者，有廓大鏡(Magnifier)，解剖顯微鏡等，若需要廓大力之高強者，則用普通所稱之顯微鏡。

【1】廓大鏡 廓大鏡之大小形狀，種種不一，其常用者有三脚廓大鏡(Magnifier, Tripod)，有鞘廓大鏡(Folding pocket magnifier)等，此類鏡之廓大力，常在20倍以下。(第十二圖)。



第一二圖 有鞘廓大鏡二種

【2】解剖顯微鏡 解剖顯微鏡(Dissecting microscope)構造簡單，其形式一似普通之顯微鏡、有鏡腳、鏡柱、螺旋、載物臺、反射鏡以及與普通顯微鏡之接物鏡之鏡頭一個，通常一副解剖鏡常具備二個鏡頭，其廓大力常在30倍以下。載物臺之兩側附有翼狀之平鐵板，以支撐左右手，便於在鏡下解剖。

(第十三圖)。

【3】普通顯微鏡 普通顯微鏡稱之為複式顯微鏡(Compound microscope),以與上述之解剖顯微鏡等簡單顯微鏡(Simple microscope)區別。

A. 複式顯微鏡 複式顯微鏡之種類構造,雖有多種,但其主要部分之名稱則能一致如下(參閱第十六圖):

1. 屬於光學的裝置者:

接目鏡(Ocular, Eye-piece).

接物鏡(Objective, Objective-glass).

集光器(Condenser).

虹彩遮光器(Iris diaphragm).

反射鏡(Mirror).

2. 屬於器械的裝置者:

抽筒(Draw tube).

鏡筒(Body tube).



第一三圖 解剖顯微鏡

滑輪(Slides).

轉換器(Nose piece, Revolver).

A 至 P^2Q^2 爲明視距離 (250mm.), T_1 至 T 爲機械的管筒長度 (Mechanical tube-length, $T=170$ mm.), F_1 至 F 爲光學管筒長度 Δ , 光線自平面反射鏡通過集光器、載玻片、蓋玻片、接物鏡、接目鏡, 而入於目。

鏡臺(Stage).

鏡腳(Horse-shoe base, Foot).

鏡柱(Pillar, limb. stand).

微動昇降螺旋 (Micrometer screw, Micrometer of fine adjustment).

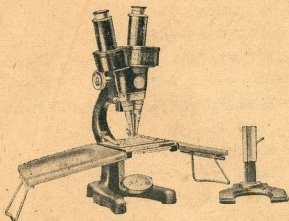
粗動昇降螺旋(Rack and pinion coarse adjustment).

壓鈹(Clips).

關於精良顯微鏡之製作所, 歐美各國均有之, 如以前德國之 C. Zeiss, E. Leitz, 美國之 Baush & Lomb 及 Spencer Lens Co. 等公司均其著者。近年我國中央研究院附設之光學儀器製作所, 亦有優良之顯微鏡出產。

複式顯微鏡中尚有以下各種顯微鏡之區別。

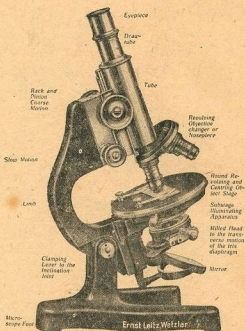
B. 雙目顯微鏡 (Biocular microscope) 乃顯微鏡上裝置之 2 接目鏡與 2 接物鏡之謂者, 其構造與普通顯微鏡無異, 僅其映出之像爲直像而非倒像, 此蓋由於利用三稜鏡反射之故, 雙目顯微鏡之特長有二: 其一, 可減少眼睛之疲勞, 另一, 映出之像爲立像, 甚宜於研究胚胎, 昆蟲解剖時之用。(第十四圖)。



第一四圖 雙目顯微鏡



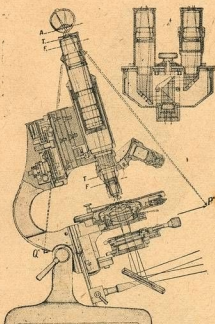
第一五圖 Zeiss 式高倍率顯微鏡



第一六圖 Leitz 式顯微鏡及其各部分之名稱

C. 超顯微鏡(Ultra microscope) 其特徵在利用暗視野照射裝置(Dark-field illumination)即為自光源射出之光線,不使其直接射入鏡內,而令其自側面照射物體之一種裝置。(第十八圖, D, E)。

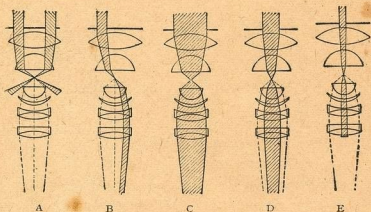
平常將普通顯微鏡之反射鏡移置於一側,棄而不用,或於普通集光鏡之中心,安放一黑色圓板(中心遮光板 Expanding stop),紙片亦可,亦可獲得一暗視野或半暗視野,但通常均應用特殊之集光裝置。



第一七圖 顯微鏡之構造與光之進射

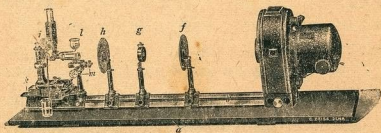
暗視野照射，依其照射裝置之不同，有細隙式(Slit-ultra-microscope)(第十九圖)及反射集光鏡式(Reflecting condenser-ultramicroscope)兩種，後者尤適於薄層媒質之檢視，茲就反射集光鏡式略作說明：

集光鏡式係利用特殊之集光器，如拋線面集光鏡及心形集光鏡(Paraboboid and cardioid condenser)等是，前者為無參差之平行光線，可以集中於一焦點之集光鏡，如第二〇圖 A 所示之拋線面集

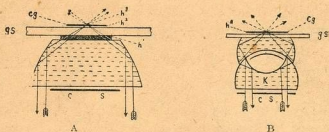


第一八圖 明、暗視野照射之光線透射

- A. 明視野照射，遮光器之半開放者。
- B. 明視野照射，遮光器之全開放者。
- C. 明視野照射，遮光板之離心的裝置者。
- D. 暗視野照射，中心遮光板(Central stop)之在集光器上者。
- E. 暗視野照射，中心遮光板之在接物鏡上者。



第一九圖 Siedentopf 與 Zsigmondy 之細線式超顯微鏡



第二〇圖 暗視野集光器

A. 拋線面集光鏡

B. 心形集光鏡

cs. 中心遮光板:

h¹. 集光鏡與載玻片間之均勻液:h². 用加拿大樹膠裝置之均勻液:h³. 蓋玻片與接物鏡間之均勻液:

cg. 蓋玻片:

cs. 載玻片:

K. 心形集光反射鏡。

光鏡，將其頂端磨平，使反射光線得再向前進，以匯集於一焦點，後者如同圖 B 所示，係利用心形之集光反射鏡，將自光源射來之平行光線，使其中之斜向光束（指集光鏡光軸之傾斜光線），得以匯集於一焦點。

應用暗視野集光鏡，須使集光鏡之中心與顯微鏡之光軸一致，又光源須強烈（用太陽之直射光，弧光燈，或 500 燭光之電燈），同時非全為平行光線不可，欲得平行光線，可於顯微與光源之間，置以凸鏡，在凸鏡之焦點位置，安放光源。

暗視野照射裝置，所用接物鏡之開口數，須在 0.9 以下，若 Zeiss 式接物鏡，用其油涵系 $\frac{1}{7}$ ($\times 50$)，甘油涵浸系 $\times 58$ (V) 等最為適當。

應用上述之照射裝置，將含有物質微粒之媒質之一點，自側面或以傾斜光束射之，在暗視野中，可見物質微粒之輝映，是則因物質

微粒觸及光線，即散亂而呈丁德爾現象 (Tyndall phenomenon) 之故，所以利用超顯微，可以窺見普通顯微鏡最高倍率所能觀察之微粒之 $\frac{1}{1000}$ 上下之粒子存在(直徑 $10^{-5} - 10^{-6}$ cm.)，生物學上常用以觀察原形質及細菌等微生物之內部構造。

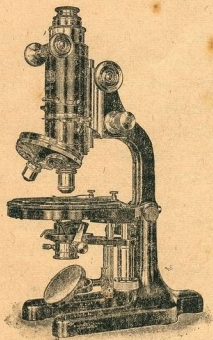
用作反射光線 (Reflecting light) 之光源，從來多用稱爲 Opakilluminator 者，以後則有 Leitz 公司出產之 Ultropak。利用此項裝置，不僅組織之表面，即其內部之細胞亦能透視之，此外用之於顯微解剖，亦極便利。

D. 偏光顯微鏡 (Polarizing microscope) 即係普通之礦物顯微鏡，普通用以觀察礦物或岩石薄片之光學之性質，因而又稱岩石顯微鏡 (Petrological microscope)，平常自太陽或其他任何光源所發射之光線(光學上通稱之爲自然光 (Natural light)，即謂其不成偏光之意)，常在與其進行方向成直角相交之平面上，起向各方向之光波振動，設在光線進行之途次，插置一如光學上之格子，祇准光線向一方向通過，則此通過之光波，僅向一方向振動。此種現象稱之爲偏光 (Polarization)，其光線則稱爲偏光光線 (Polarized ray)，使自然光變爲偏光，其裝置方法有多種，顯微鏡中利用方解石 (Calcite, CaCO_3) 之屈折偏光 (Refraction polarization)，即其中之一。

方解石具有複屈折性 (Double refraction)。故當光線自方解石之劈面射入時，光線即分爲二部，其一向方解石之長對角線之方向振動，另一則向短對角線之方向振動，利用方解石可得偏光光線，即在應用 Nicol 之三稜鏡 (Prism)。此三稜鏡係就方解石之自然劈開口面，將其沿對角線 (Diagonal) 劈開爲兩半，俟各半之劈開面磨光，

再以加拿大樹膠或亞麻仁油將其再度膠合而成。當光線射進三稜鏡時，光線分開爲二部（由於複屈折而起），一爲常光線（Ordinary ray），一爲異常光線（Extra-ordinary ray），常光線到達鏡之膠合面，即向鏡之側面起內反射，異常光線則與常光線相反，光線可直接通過鏡之膠合面自他端射出。

偏光顯微鏡即係利用兩 Nicol 三稜鏡而製作者，其中一個裝置於載物臺之下，常固定不動，稱之爲偏光鏡（Polarizer），另一個則裝



第二一圖 Zeiss 製偏光顯微鏡

置於鏡筒之內或接目鏡之上端，可以自由抽出嵌入，稱之為檢光鏡 (Analyser)，今假定光線自偏光鏡射入，成偏光光線，照射物體經接物鏡，接目鏡而出，此際在鏡軸上裝置檢光鏡，其對角線方向與偏光鏡之對角線方向完全一致，則通過之光線，除其為多色性 (Pleochroism) 外，吾人感覺其與由常光線所照射者相同，並無奇異，設將檢光鏡迴轉 90° ，使兩 Nicol 三稜鏡成直角相交，詳言之，使檢光鏡之長對角線與偏光鏡之短對角線平行重疊，則自偏光鏡而來之偏光線為檢光鏡所反射，使視野變為黑暗，此際兩三稜鏡之位置，稱之為直交三稜鏡 (Crossed nicols)。

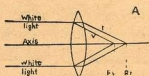
凡具有複屈折性之物體，置直交三稜鏡之間，可觀察各種特異之光學現象，纖維素膜，澱粉粒等，即其最顯著之例。

偏光顯微鏡除上述之主要特徵外，其載物臺之周緣刻有尺度，且可以迴轉，又接目鏡上劃有十字線，此等均為與普通顯微鏡所不同者。(第二一圖)。

第二節 接物鏡之種類及浸涵系

【1】接物鏡之種類 接物鏡普通有下述兩種：

A. 消色透鏡 (Achromatic lens) 白色光線通過凸鏡，紅、橙、黃、綠、青、藍、紫等色光線，因其波長不同，不能在同一方向屈折，因之，各色各有相異之焦點，普通紫色光線之焦點 (如二二圖 A. Fv.) 最靠近凸鏡，紅色光線之焦點 (如圖 A. Fr.) 離鏡最遠。因各色光線不能匯合於一焦點，致使物像欠鮮明，此種現象稱之為色彩參差 (Chromatic aberration)，矯正此缺點 (即防止色彩之分散) 之透鏡，稱為



第二二圖 表示色彩參差

Fr 爲紅色光線 (r) 之焦點

Fv 爲紫色光線 (v) 之焦點

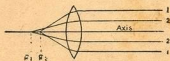
B

第二三圖
消色透鏡

消色接物鏡 (Achromatic adjective), 其構造係用含鉛之火石玻璃 (Flint glass) 之單凹透鏡與含鈣之冕牌玻璃 (Crown glass) 雙凸透鏡配合而成者, (如二三圖 B)。

B. 消色消錯透鏡 (Apochromatic lens) 透鏡除上述色彩參差之外, 尚有因其中央部與周緣部所透射而來之光線之焦點位置不同 (如二四圖), 使標本之映像欠清晰, 且可使其變形, 此種現象在光學上, 稱爲球面參差 (Spherical aberration)。此種缺點, 亦可以兩種不同之透鏡配合造成以去除之,

此外屏去鏡緣之光線, 或修正透鏡表面之形狀, 均爲補救之方法, 凡免除此缺點之透鏡, 稱爲消錯透鏡 (Aplanatic lens)。因色彩參差, 球面參差等而使透鏡



第二四圖 表示球面參差

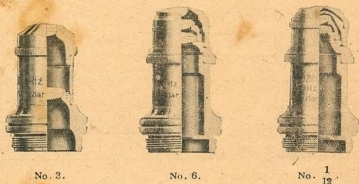
F₂ 爲透鏡周緣光線 (1) 之焦點F₁ 爲中心光線 (2) 之焦點

主軸之中心與周圍發生擴大力之差異, 令映出之物像不清晰者, 曰擴大參差 (Magnifying aberration)。所謂消色消錯接物鏡 (Apochromatic adjective) 即在矯正此弊端者也。

【2】浸涵系 接物鏡之廓大力有低倍, 中等, 高倍之差異, 如

Leitz 式之 1, 3 號為低倍, 6, 7 號為中等, 若 $\frac{1}{10}$, $\frac{1}{12}$ 號則為高倍(第二五圖), 廓大力之低弱者, 在物體與透鏡之間, 無須裝置何種液體, 即光線通過空氣, 即可以窺視, 此種裝置稱為乾燥系(Dry system), 接物鏡廓大力之高強者, 因其焦點距離特別短縮而鏡口亦小, 此際物體與透鏡之間, 須裝置液體, 以免光線通過蓋玻片屈折至接物鏡之外, 使物像朦暗不清晰, 但所用之液體, 其屈折率須與透鏡者相等.

物體與透鏡間所用之液體, 一般稱為均勻液(Homogenous liquid), 用均勻液之接物鏡, 稱為浸涵系(Immersion system), 浸涵系又有水浸系(Water immersion)與油浸系(Oil immersion)之區

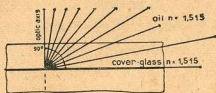


第二五圖 Leitz 式接物鏡三種

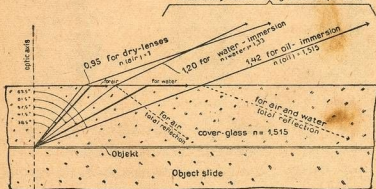
No. 3. 為普通之低倍率乾燥系接物鏡, 由兩組之消色透鏡聯合造成。

No. 6. 為中等廓大之乾燥系接物鏡, 由三組透鏡聯合組成, 其先端為一單一之半球形透鏡, 名曰先端透鏡(Front lens), 餘二組則悉為消色透鏡。

No. $\frac{1}{12}$ 為油浸系接物鏡, 由四組消色透鏡聯合造成。



Practically realisable greatest aperture



第二六圖 示乾燥系，水浸系及均勻油浸系三種透鏡所受之光量之多少，乾燥系所受之光量最少，水浸系次之，油浸系所受者最多。

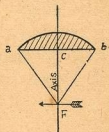
別，前者係以水為均勻液，後者則用洋杉油，此油之屈折率為 1.52，與冕牌透鏡之屈折率幾全相同，油浸系所受之光量較水浸系所受者為大。（參看第二六圖）。

浸涵系之接物鏡以 $\frac{1}{10}$, $\frac{1}{12}$ 分數式表示，詳言之，即示接物鏡之焦點距離為 1 英寸之 $\frac{1}{10}$, $\frac{1}{12}$ 之意，但消色消錯接物鏡之焦點距離則以 mm. 表示，新式之消色接物鏡亦然。

【3】鏡口角與鏡口率

A. 鏡口角 (Angular aperture) 乃指最外兩光線 (如二七圖, aF, bF) 通過接物鏡形成一物像，而在焦點所造成之角度而言者，此角度至關重要，蓋一接物鏡之鑑別率 (Resolving power, 乃指在顯微鏡，解剖鏡等所能判別之二點間極限距離或視角而言) 須視其而定，角愈大則自物體進入之光線愈多，因之物像可以清晰明視，普通低倍顯微鏡之鏡口角較大，高倍鏡者必然為小。

B. 鏡口率 (Numerical aperture) 乃指通過接物鏡形成一物像之光線相對比率，藉以表示該接物鏡之擴大效能而言者，普通鏡口角單獨尚不能表示接物鏡之光線真正容量，例如浸涵系與乾燥系可能有精確相等之鏡口角，但浸涵系因能有更多量之光線進入接物鏡，故更有為效。



第二七圖

示一接物鏡之開口角
Axis. 接物鏡之主光軸;
F. 主焦點外之物體;
acb. 接物鏡之前端直徑
及開口角之底端;
aFc. 開口角之半數 (μ);
 $a = \text{sine } \mu$.

Abb. 教授於 1873 年提出鏡口率一名詞，並介紹其公式如下：



$$N.A. = n \sin \mu.$$

上式中之 n 表示接物鏡與蓋玻片間之浸液之絕對屈折率， μ 則等於鏡口角之半數。

今設有一鏡口角 90° 之油涵透鏡於此，以求此透鏡之鏡口率，因 μ 為鏡口角 90° 之半，為 45° ，則 $\sin 45^\circ = 0.707$ ， n 為洋杉油之屈折率為 1.52 ，故 $N.A. = 1.52 \times 0.707 = 1.075$ ，即鏡口角 90° 之油涵透鏡之鏡口率為 1.075 。若油涵透鏡代之而為一乾燥透鏡，因空氣之屈折率為 1 ，則 $N.A. = 1 \times 0.707 = 0.707$ 。 1.075 與 0.707 表示有 90° 鏡口角之油涵系與乾燥系之光線相對比率，故鏡口率愈大，接物鏡之倍率愈高（參看下表）。

鏡口率表

鏡口角度 2μ	10°	20°	30°	40°	50°	60°	70°	80°	90°	100°	110°	120°	130°	140°
乾燥系 $n=1.00$	0.090	0.180	0.260	0.340	0.420	0.500	0.570	0.640	0.710	0.820	0.820	0.870	0.910	0.94
水涵系 $n=1.33$	0.120	0.240	0.350	0.460	0.560	0.660	0.760	0.850	0.941	1.021	1.091	1.151	1.201	1.25
油涵系 $n=1.52$ Mono-Bromo- Naphthalene	0.140	0.260	0.400	0.520	0.640	0.760	0.870	0.981	1.071	1.161	1.241	1.321	1.381	1.42
浸涵系 $n=1.66$	0.150	0.290	0.430	0.570	0.700	0.830	0.951	1.071	1.171	1.271	1.361	1.441	1.501	1.56

第三節 接目鏡之種類及其效用

【1】接目鏡之種類 接目鏡普通有二種，其一為消極性接目鏡 (Negative ocular)，另一為積極性接目鏡 (Positive ocular)。前者須與接物鏡配合始能窺見物體，不能單獨為顯大鏡而使用；後者如

Ramsden 氏接目鏡，由平凸兩面之二透鏡，其凸面彼此相對而成，因其互相接近，其結像點（焦點）在透鏡系之外，故能單獨成廓大鏡而使用。

平常多使用者，為 Huygens 氏接目鏡，為消極性接目鏡之一種，鏡由長短不同之圓筒造成，上下兩端均嵌有平凸兩面之透鏡，凸面向下，其在上端者稱為接目透鏡 (Ocular lens)，其在下端者，曰集合透鏡 (Collective lens)，此種接目鏡之結像點，常在接目透鏡與接集合透鏡之中間。Huygens 氏接目鏡依其強弱之不同，而有 O. I. II. III. IV. V 六種之區別，O 號最長而倍率最低，V 號最短而倍率最高。

【2】接目鏡之效用 接目鏡之效用，僅在將自接物鏡映來之倒像（真像），承受於一定距離，更將其再廓大成為正影之幻像而已。設僅用接目透鏡將映像再廓大，則不免將增加各種光學的錯差，故須以集合透鏡為媒介，而將其自接物鏡送來之映像，一度使之集束縮小，然後更用接目透鏡使之廓大，此際映像雖見其多少縮小，但能減除各種錯差，極為有利，故集合透鏡之效能，有（1）使映像狹縮，藉以增加其明度，（2）與接目透鏡相候以矯正球面及色彩參差，及（3）由於與接目透鏡有適當之聯裝，能補正映像之歪曲，即視野諸點所發生廓大上之不整齊；此外集合透鏡可使周緣部之光線集束而接近於中心。

【3】補正接目鏡 僅以消色接物鏡或消色消錯接物鏡，而欲將視野周緣之映像之色彩參差除去，殊屬難事，Abbe 教授有見及此，乃於接目鏡之焦點面之上端，更插入一對消色透鏡，以事補救，此種具特殊構造而有力之接目鏡稱為補正接目鏡 (Compensating ocular)。

補正接目鏡亦有 2、4、6、8、12、18 六等級之區別，惟此等級之記號乃表示該鏡之廓大倍數者，如 2 號表示該鏡自體廓大之二倍，4 為 2 之倍，8 則為 2 之四倍，此等與 Huygens 氏接目鏡所附之記號，全無意義而無學理上之根據者迥異。

補正接目鏡主要與消色消錯接物鏡聯用，其中之 12、18 兩號強度者應與具有 16 及 8 mm. 之焦點距離之接物鏡併用，若接物鏡為消色式，則須用其鏡口率在 0.85 以上者，如 Zeiss 公司之 *D* 以上，Leitz 公司之 7 以上者可以併用。

近時 Leitz 製作之 Periplanatic 接目鏡，其機能幾可比擬補正接目鏡，而其構造則大致與 Huyghens 氏接目鏡相同。(第二八圖)。



第二八圖

Periplanatic 接目鏡

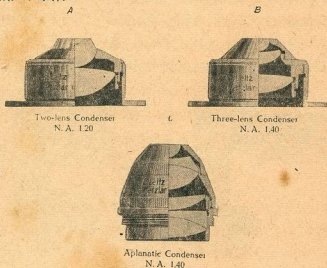
Periplanatic 接目鏡之構造與 Huyghens 氏接目鏡大致相同，僅其接目透鏡由一對膠接之透鏡造成一點不同而已。其機能與補正接目鏡相同，可矯正映像周緣之色彩參差。

第四節 集光器

用低倍率之顯微鏡檢視物體，僅以反射鏡收集之光線，亦足應用，若換置高倍率之鏡時(約 500 倍以上)，則因接物鏡之構造複雜，進入之光線不充分，致使物像朦暗不明，此際需要特殊之集光器。所謂集光器乃利用凸面透鏡而成者，常裝置於鏡臺之通光孔下，其中最精良而完善者，允推 Abbe 氏之輝照集光器(Illumination-apparatus)。

Abbe 氏輝照集光器係由集光器，虹彩遮光器及反射鏡三者聯合造成，裝於鏡臺之下端，由車輪之旋轉，可以自由取捨，惟此器用之於極高度之廓大，至為便利，若中等以下之廓大，宜撤開集光器，否則必因透徹過度，反失去鑑別上之分明。

集光器有由二個(鏡口率 1.20)或三個(同 1.40)之凸面透鏡造成者，Leitz 公司且有一種可以除去球面及色彩參差者，特稱之為沒錯性集光器(Aplanatic condenser)，(鏡口率 1.40)此器需要過度之光量時，更為有效，又在顯微鏡攝影及中心暗視野輝照時亦可利用之。(第二九圖)。

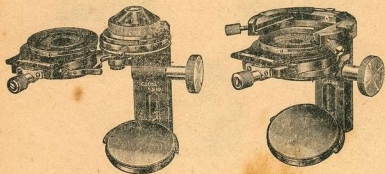


第二九圖 Leitz 式集光器三種

- A. 集光器之有二凸面透鏡者 B. 集光器之有三凸面透鏡者
C. 沒錯性集光器

集光器裝置後，即可以應用，設欲將其鏡口作充分有效之利用，則於其鏡面與載玻片之間，滴加水或油類屈折率較強之液體，如是可防止載玻片光線之反射屈折，藉以增加光量，其中以在中心暗視輝照時為尤然。

Abbe 氏輝照集光器，在鏡之下端，附裝有虹彩遮光器，此在前面業已敘及者，此虹彩遮光器由一扣鈕，可以將其自由開閉，極為精巧，其形狀儼似吾人之瞳孔，隨光線之強弱而開閉，因有是名，現時精良之顯微鏡，無不應用此式者，若小形或中等之顯微鏡，則於鏡台之直下，裝有旋轉自如之圓板遮光器或取捨自在之圓筒遮光器。前者為一圓板，周緣穿有大小不同之數孔，隨圓板之旋轉，可以增減通光孔之口徑，後者則為有大小不同之穿孔之圓盤數個，必要時可以自由更換，因其穿孔能直接與載玻片之底端接觸，故其效果更大。



第三〇圖 Zeiss 式 Abbe 氏輝照集光器

第五節 顯微鏡廓大倍率之計算法

【1】精確計算法 顯微鏡之廓大力，乃由接物鏡與接目鏡之協調作用而完成，故可以下式為準而精確計算之。

$$N = \frac{X}{f_1} \cdot \frac{\Delta}{f_2}$$

上式中之 N 表示廓大倍數， X 表示明視距離（即將物體最明晰看出時之眼與物體間之距離，Distance of distinct vision），普通定為 250mm. 或 10ins., f_1 示接物鏡之焦點距離， Δ 示光學的管筒長度（即接物透鏡之後焦點與接目透鏡之前焦點間之距離，Optical tube-length）， f_2 示接目鏡之焦點距離，故上式又可區別為二部，即 $\frac{X}{f_1}$ 表示接物鏡之廓大倍數， $\frac{\Delta}{f_2}$ 則表示接目鏡之廓大倍數。

今假定所用接物鏡之焦點距離為 8mm. 則

$$N = \frac{X}{f_1} = \frac{250}{8} = 31.25.$$

即接物鏡自身之廓大力為 31.25 倍，然光學的管筒長度為 140mm. 假定接目鏡之焦點距離為 35mm. 則

$$N = \frac{\Delta}{f_2} = \frac{140}{35} = 4.$$

即接目鏡自身之廓大力為 4 倍，故此顯微鏡之全倍率為

$$N = \frac{X}{f_1} \cdot \frac{\Delta}{f_2} = 31.25 \times 4 = 125 \text{ 倍.}$$

顯微鏡之廓大倍數，亦可以下式計算之：

$$\text{抽管長度} \div \frac{\text{接物鏡與標本間之距離}}{\text{廓大力}} \times \text{接目鏡之廓大力} = \text{顯微鏡之廓大倍數}$$

抽管長度各式顯微鏡均有一定，如 Zeiss 公司者規定 160mm.，Leitz 公司者則為 170mm. 其他公司之出品非 160mm. 而為 170mm. 今假定抽管長度為 160mm.，接物鏡與標本間之距離為 4mm. 接目鏡之廓大力為 5 倍，則此鏡之廓大力為：

$$160\text{mm.} \div 4\text{mm.} \times 5 = 200 \text{ 倍.}$$

惟晚近製造之新式顯微鏡，其接物與接目兩鏡，均用新記號而命名，一見即知其單獨之廓大力，此等記號常刻於顯微鏡之管筒或該鏡之接物鏡與接目鏡上，例如：

Zeiss 式顯微鏡：

接物鏡	8 (A)	40(D)	90(1/12)
接目鏡	5 × (2)	7 × (3)	15 × (5)

【註】() 內之數字為舊記號。

Leitz 式顯微鏡：

接物鏡	3(10.3 ×)	6(48 ×)	1/12(105 ×)
接目鏡	1I(6 ×)	1V(8 ×)	V(12 ×)

【註】() 內為其單獨之廓大力。

Zeiss 式顯微鏡，如將接物鏡 90(1/12) 與接目鏡 15 × (5) 併用

【註】倍數不必將零餘之數字記出，其記出者似乎精確，實則並非如是，蓋倍數者並非如此之精密故也。普通如 1385 一數字，以 1400 倍。又如 82.4 倍，以 80 倍記之，反而得體。

時，則 $90 \times 15 = 1350$ 倍。

Leitz 式顯微鏡，接物鏡 3 ($10.3 \times$) 與接目鏡 III ($8 \times$) 併用時，則 $10.3 \times 8 = 82.4$ 倍。

【2】複視法 係用左右兩眼，各別注視物像與尺度，互相印證比較，以求廓大力之大小者，其法以右眼注視在 250mm. 距離之白紙上所繪之尺度，左眼則注視視野中之物像，兩者互相印證比較，藉以測定廓大力之大小，此法雖不能如前法之正確，倘能熟練，亦可大約算出。

第六節 接目鏡接物鏡及廓大倍數表

茲將 Zeiss 與 Leitz 兩公司製作之接目鏡，接物鏡之種種及廓大倍率諸表，列示於下：

1. Zeiss 製 Huyghens 氏式接目鏡表

記 號	1	2	3	4	5
平均焦點距離 (mm)	50	40	30	25	20
廓 大 倍 數	3	4	5.5	7	9

2. Zeiss 製補正接目鏡表

記 號	搜索用 接目鏡						
	2	4	4*	6	8	15	18
平均焦點距離 (mm)	90	45	45	30	22.5	15	10

3. Zeiss 式消色接物鏡表

記 號	平均焦點距離 (mm.)	鏡口率	與 Huyghens 接目鏡聯用 在鏡筒長 160 mm. 計算者		
			接物鏡與物體之間距離 (mm.)	視野直徑 (mm.)	
a_0	45		33	14	乾
a_1	39		10	11	
a_2	37		30	8	
a_3	28		33	4.5	
a_4	43—29		3—53	10—25	
aa	26	0.17	14	4	蠟
A	15	0.20	9	2	
AA	17	0.30	7.5	2.5	
B	12	0.35	8	1.5	
C	7	0.40	1.8	0.9	
D	4.2	0.65	0.6	0.5	系
DD	4.3	0.85	0.4	0.5	
E	2.8	0.90	0.25	0.35	
F	1.8	0.90	0.17	0.28	
PI	52	0.11	36	4	
D	4.4	0.75	1.5	0.55	
J	1.8	1.18	0.2	0.23	
1					油滴系
12	1.8	1.30	-0.15	0.26	

4. Zeiss 式消色消錯接物鏡表

接物鏡記號	平均焦點距離 (mm.)	鏡口率	放大倍數
乾燥系 {	16	0.30	15.5
	8	0.65	31
	4	0.95	65
	3	0.95	83
水滴系 2.5	2.5	1.25	100
油滴系 {	3	1.30	83
	3	1.40	83
	2	1.30	125
	2	1.40	125
	1.5	1.30	167

5. Zeiss 製消色接物鏡與 Huyghens 氏接目鏡併用時之廓大倍數表(鏡筒長 160mm. 常視距離 250mm.)

接物鏡記號	Huyghens 氏接目鏡記號				
	1	2	3	4	5
<i>a</i> ₀	4	6	10	12	20
<i>a</i> ₁	7	10	16	20	30
<i>a</i> ₂	11	15	23	28	41
<i>a</i> ₃	20	26	38	47	68
<i>a</i> *	3—8	5—12	8—18	10—22	16—33
<i>aa</i>	24	31	46	56	81
<i>A</i>	44	56	78	97	144
<i>AA</i>	42	54	74	91	134
<i>B</i>	63	80	115	140	200
<i>C</i>	100	125	180	220	315
<i>D</i>	175	220	320	390	550
<i>DD</i>	175	220	320	390	550
<i>E</i>	270	340	495	600	860
<i>F</i>	415	520	760	930	1300
<i>Pl</i>	25	33	48	58	84
<i>D</i> *	175	220	320	390	550
<i>J</i>	415	520	760	930	1300
$\frac{1''}{12}$	420	530	770	940	1320

6. Zeiss 製消色消錯接物鏡與補正接目鏡併用時之廓大倍數表(在鏡筒長 160mm. 常視距離 250mm. 所計算者).

記 號	補 正 接 目 鏡					
	2	4	6	8	12	18
焦點距離 (mm.)	90	45	30	22.5	15	10
16	31	62	94	125	187	281
接物鏡	8	62	125	187	250	375
4	125	250	375	500	750	1125
3	167	333	500	667	1000	1500
記號	2.5	200	400	600	800	1200
2	250	500	750	1000	1500	2250
1.5	333	667	1000	1334	2000	3000

7. Leitz 製 Huyghens 氏式接目鏡表

記 號	O	I	II	III	IV	V
焦點距離(mm.)	50	40	35	30	25	20

8. Leitz 製補正接目鏡表

記 號	2	4	6	8	12	18
焦點距離(mm).	90	45	30	22.5	15.0	10.0
$\frac{250}{f_2}$ 自身放大	2.8	5.6	8.3	11.1	16.7	25.0

9. Leitz 式接物鏡表(管長170mm.)

接物鏡記號	焦距 點距 (mm)	自 身 大 小 $\frac{\Delta}{f}$	鏡口率	接物鏡 與 物 體 之 間 隔 距 離 (mm)	與 Huyghens 接目鏡 ×6 及 Periplanatic ×4 併用時之 顯微鏡值		與接目鏡 ×4 共用時 之視野中 之 物 體 直 徑	
					×6	×4		
消色式	0	56	1	0.05	55	0.143mm	=143 μ	20mm
	1*	42	2.7	0.08	40	0.058mm	=58 μ	8.5mm
	1	40	3.2	0.12	34.5	0.019mm	=49 μ	7.0mm
	1k	24	3.2	0.08	3.2	0.0445mm	=44.5 μ	7.0mm
	1b	32	4.3	0.15	27	0.037mm	=37 μ	5mm
	2	24	6	0.20	16	0.0275mm	=27.5 μ	4mm
	2b	20	8	0.25	7.7	0.0250mm	=20.0 μ	2.8mm
	3	16	10	0.25	5.8	0.0156mm	=16 μ	2.1mm
	3b	13	14	0.40	3.2	0.012mm	=12 μ	1.65mm
	4	9	20	0.45	2.0	0.008mm	=8 μ	1.10mm
	5	6	30	0.65	0.75	0.005mm	=5 μ	0.68mm
	6	4.0	45	0.85	0.32	0.0035mm	=3.6 μ	0.50mm
	6L	4.0	45	0.65	0.60	0.0036mm	=3.6 μ	0.50mm
	7	3.0	62	0.85	0.28	0.0025mm	=2.5 μ	0.35mm
	水滴系	1/7W	3.6	50	1.00	0.40	0.003mm	=3 μ
10		2.1	90	1.20	0.10	0.0018mm	=1.8 μ	0.24mm
16mm		16	10	0.25	0.65	0.016mm	=16 μ	2.20mm
油滴系	8mm	8	22	0.65	0.45	0.008mm	=3 μ	1.05mm
	1/12	1.8	100	1.30	0.11	0.0016mm	=1.6 μ	0.22mm
	6a	4.2	42	0.85	0.38	0.0038mm	=3.8 μ	0.50mm
螢石系	7a	3.2	58	0.85	0.28	0.0028mm	=2.8 μ	0.40mm
	8a	2.6	70	0.90	0.25	0.0023mm	=2.3 μ	0.30mm
	9a	2.2	85	0.90	0.13	0.0018mm	=1.8 μ	0.25mm
	1/7a	3.45	54	0.95	0.20	0.0030mm	=3.0 μ	0.40mm
	1/10a	2.6	70	1.30	0.18	0.0022mm	=2.2 μ	0.30mm
	1/12a	1.95	95	1.32	0.11	0.0017mm	=1.7 μ	0.24mm
1/16a	1.6	114	1.32	0.03	0.0014mm	=1.4 μ	0.20mm	
消色消 錯式	16mm	16	12	0.30	5.0	0.0145mm	=14.3 μ	2.00*mm
	8mm	8	23	0.65	0.85	0.0072mm	=7.2 μ	1.00*mm
	4mm	4	46	0.95	0.20	0.0035mm	=3.5 μ	0.50*mm
	3mm	3	65	0.95	0.15	0.0026mm	=2.6 μ	0.35*mm
	3mm	3	60	1.32	0.13	0.0027mm	=2.7 μ	0.35*mm
	3mm	3	6	1.40	0.13	0.0027mm	=2.7 μ	0.35*mm
	2mm	2	92	1.32	0.11	0.00175mm	=1.75 μ	0.24*mm
	2mm	2	92	1.40	0.05	0.00175mm	=1.75 μ	0.24*mm

*) 與 接目鏡 ×4 併用時所測定者

10. Leitz 製消色式及(蔡)石系接物鏡與 Huyghens 氏式接目鏡併用時之廓大倍數表(管長 170mm. 常視距離 250mm.).

接物鏡	自身廓大	接目鏡						
	$\frac{\Delta}{f} \frac{250}{f^2}$	O	I	II	III	IV	V	
		4	5	6	8	10	12	
弱度乾燥系	1*	2.7	11	13.5	16	22	27	32
	1	3.	13	16	19	26	32	38
	1a	2.0—3.1	8—12	10—16	13—19	16—25	20—31	26—38
	2	58	23	29	35	46	58	70
	3	10.3	41	51	62	82	103	123
強度乾燥系	3a	14.1	56	70	84	113	141	169
	4	18.2	73	91	109	146	182	218
	5	33.3	133	167	200	267	333	400
	6a, 6	46.0	180	230	280	360	460	560
	7a, 7	58.1	231	290	348	465	531	697
水滴系	8	69.1	276	346	415	553	691	830
	9	85.2	341	426	511	682	852	1022
水滴系 10	90.6	362	453	543	724	906	1097	
油滴系	1	70.0	280	350	420	560	700	840
	10		280	350	420	560	700	840
	12a $\frac{1}{12}$	100.0	400	500	600	800	1000	1200
1	114.0	450	570	700	900	1140	1400	
16		450	570	700	900	1140	1400	

第七節 使用顯微鏡時之注意

初學者使用顯微鏡時，常不小心，致屢生出弊病，顯微鏡自鏡箱

取出，先將接目鏡自抽管之口插入，依其自身重量徐徐落下，若抽管下端已嵌有接物鏡時，則因管內空氣之壓力，不易落下，此時宜輕手壓下之，如未嵌接物鏡時，則用左手之食指與中指將接物鏡夾住，而以右手徐徐輪轉將其裝上。

檢視顯微鏡，用左右任何一日均可，但平常均用左目觀察，蓋以其在描繪記錄時便利故，惟在窺視中，其不用之一目，亦須令其自然打開。

觀察微細物體，須於材料之上加蓋蓋玻片，蓋玻片與載玻片之間，宜裝置水液，甘油，永久標本則裝置加拿大樹膠，其目的均在防範光線自玻璃片屈折分散，臨時標本之用水液裝置者，在窺視中，水分每易蒸發，宜隨時補充，藉防乾燥，或初時以 20—30% 甘油與水混用之亦可，其尚須染色者，則將染色液滴於蓋玻片之一側緣，而以吸水紙自其相對之一側緣吸之，則染色液必隨之吸引，通過材料而染色。

反射鏡一方為平面，一方為凹面，平面鏡主要在用低倍接物鏡（100 倍上下）時用之，凹面鏡能集強度之光線，使用高倍接物鏡時，絕對必要，鏡臺下之集光器係利用其能收受平行光線而製作者，設使用集光器而光線又為太陽光時，則亦須用平面鏡。

虹彩遮光器之光孔，用低倍鏡時，可取其中等以上大之光孔，若換用高倍鏡時，則須用其細小者，但無色物體，以強光照之，反有礙觀察，此際則宜將光孔放大。

顯微鏡中所見之圓形部面，稱之為視野（Field），在視野內不見物像時，可將載玻片徐徐向前後左右移動，至求得物像而後止。

因現於視野中之像爲實物之倒影，故在視野中欲檢視像之前端，即欲觀察實物之後端，應將載玻片向前推動，欲檢視像之右方，即欲觀察實物之左端，則應將載玻片向右推動。

視野中每見有灰塵或污點，其原因在於透鏡或標本。其在接目鏡之透鏡上者，於轉動接目鏡時，灰塵或污點亦隨之轉動而知之。相反，移動載玻片而灰塵或污點亦隨之轉動者，則各在標本。若轉動接目鏡與載玻片均不見灰塵或污點之變動，則其原因必在接物鏡無疑。

臨時標本之用水裝置者，在視野內每見有大小不等之圓形或橢圓形而光輝之像，此等均爲水泡，因加蓋蓋玻片時，空氣進入所致也。

高倍接物鏡下現出之視野極狹，物體之位置僅離鏡之中軸，即不能窺見，宜先以低倍接物鏡尋得所需要觀察之部份，移於視野之中心，而以壓夾固定，然後換置高倍接物鏡以觀察之，其欲直接用高倍接物鏡者，則宜小心將抽管徐徐放下，一方面注視接物鏡頭，至其與蓋玻片面幾相接觸爲止，然後自接目鏡檢視，徐徐轉動微動螺旋將抽管提起，至合焦點爲度，此項注意在運用油涵系等高倍率之接物鏡更爲必要，蓋標本與接物鏡間之距離幾相接觸，一不留心，即易壓碎標本並傷及透鏡也。

觀察細菌等標本，必需油涵裝置，即滴洋杉油一滴於標本片上，而以油涵系檢視之，此際宜注意滴下之洋杉油不使有氣泡發生，致妨礙觀察，用畢宜即以揩鏡軟紙拭乾，其清除難者，即以揩鏡軟布蘸二甲苯或 Benzine 拂拭之，隨後再以乾布拭乾，二甲苯與 Benzine 有可溶解透鏡之膠接劑之性質，應迅速處置，不使害及接物鏡。

接物鏡如偶一不慎觸及加拿大樹膠時，宜即用軟布蘸二甲苯、松節油、或酒精少許拭去之，但不宜多量使用，庶免其侵蝕鏡頭。

顯微鏡之光學玻璃部分，每易沾污或起斑點或生雲翳，此際亦宜如上法以軟布如絨布蘸揮發油，二甲苯等輕柔拂拭，隨用乾軟布擦乾，溫熱兩帶富潮濕性，光學玻璃尤易受濕長霉，變為潤濁，故接物、接目兩鏡，在不用時，應取下裝入專供貯藏鏡頭之圓鐵筒中，撒布氯化鈣，吸收濕氣，以保乾燥。

微動螺旋使鏡筒上落之範圍，僅及 1cm. 上下，如過分使用，有損壞螺旋，特宜注意。

鏡台、鏡架、平常以軟布蘸揮油拭擦，以保清潔。

顯微鏡用畢，即應裝入原箱，或以大玻璃罩鐘罩之，以免塵埃之落下。

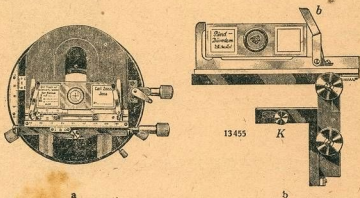
第四章

顯微鏡及其附屬器具(續)

第一節 標本推動器及加溫器

【1】標本推動器 在高倍顯微鏡之鏡台上，常有一標本推動器，即英名 Mechanical stage 者是也(第三一圖)，其構造方式雖有各種，惟其基本原理則在應用二、三精細螺旋，將固定之標本能向前後左右推動，同時因器上鑄有刻度，可以計算標本移動之多少。

茲將標本推動器之效能，列陳於下：



第三一圖 Zeiss 式標本推動器二種

- A. 運用高倍接物鏡時，推動標本最爲安全而確實。
- B. 可將標本之全體，依次追索檢視。
- C. 因其端有刻度，兼可測量標本之大小。
- D. 標本在窺視中，如發見其要點，能將縱橫兩行之刻度確記，則他日檢查同一要點亦極容易。
- E. 施行顯微鏡幻燈或攝影時，移動標本極爲輕便。

【2】加溫器 凡檢視溫血動物之新鮮組織時，必須維持與其體溫相等之溫度，因而有諸種加溫器 (Heizbarer objektisch) 之發明，其中 M. Schultze 氏式加溫器，爲將加溫器固定於鏡台之上，以酒精燈或其他熱其一端，另檢視附裝於其上之溫度計，以調節其所需要之溫度，若 Pfeiffer 氏式則爲一特製之箱函，將顯微鏡藏於其中，用電加熱，此可於一定溫度之下，連續檢視。(第三二圖)。



第三二圖

Pfeiffer 氏顯微鏡加溫器

第二節 顯微量尺及標本厚度測定方法

顯微量尺 (Micrometer) 乃在顯微鏡之下，用以測定物體之大小長短者，有接目顯微量尺與接物顯微量尺兩種之別，必須兩者相互爲用，始可完成其效用。

【1】接目顯微量尺 接目顯微量尺 (Ocular-micrometer, Eye-

piece micrometer) 乃一圓形玻璃,此玻璃可嵌入接目鏡之內者,玻璃上鐫有尺度,即刻為 50 或 100 格,每 1 格等於 $\frac{1}{10}$ 或 $\frac{1}{20}$ mm. 用時將接目鏡取下,嵌入接目顯微量尺,再將取下之接目鏡裝回即可, (第三三圖) 亦有特製之顯微量尺接目鏡 (Mikrometer okular), 用之至為方便。



第三三圖 接目顯微量尺

【2】接物顯微量尺 接物顯微量尺 (Object-micrometer) 乃為一特製之載物片,其中央膠粘一小圓玻璃片,而在此片上鐫有尺度者, (第三四圖) 普通將 1mm 劃分為 100 格,即 1 格正確等於 10μ .



A

第三四圖 接物顯微量尺



B

A. 接物顯微量尺之原物大。

B. 接物顯微量尺之放大者。

【3】測量方法 欲測量顯微鏡內物體之大小長短,須預先知曉接目顯微量尺一度(一格)等於接物顯微量尺之若干度(若干格),然後測量接目顯微量尺內物體之實在長度,即可測出該物體之大小。

今假定鏡管之長度一定,而用一定之接目鏡與接物鏡,以窺測接目顯微量尺與接物顯微量尺之度數(格數),並知接物顯微量尺之 10 度恰相當於接目顯微量尺之 34.5 度,因接物顯微量尺之 1 度為

0.01mm, 故接目顯微量尺之一度爲:

$$0.01 \times \frac{10}{34.5} = 0.0029 \text{ mm} = 2.9 \mu.$$

設物體之像等於接目顯微量尺之 8 度, 則該物體

$$8 \times 2.9 = 23.2 \mu.$$

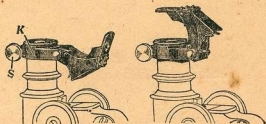
上述方法可測量物體之大小, 但如換用另一接目鏡、接物鏡, 則又非再用以上方法從新測量接目顯微量尺每度之大小不可。

【4】物體厚薄之測定方法 利用附裝於顯微鏡上之微動螺旋, 可以測量該物體之厚薄。即最初將檢視之物體上端之焦點, 並記出當時之尺度, 次將微動螺旋放下, 調整其下端之焦點, 亦記出其尺度, 此前後兩尺度之差, 即爲該物體之厚度, 但物體間之媒劑 (Medium) 及接物鏡與標本間之媒劑之屈折率如不相同時, 則其厚薄之值, 須加以補正。

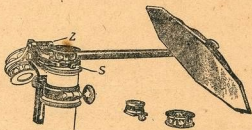
第三節 描繪器

描繪器 (Indication apparatus) 即繪圖器, 爲將顯微鏡廓大之物像, 原樣轉映, 以便描繪之一種裝置, 其式樣有多種, 如 Abbe 氏描繪器 (Camera lucida) 即其中最普遍之一種 (第三六, 三七 2 圖)。

【1】Abbe 氏描繪器 Abbe 氏描繪器係由三稜鏡及一附屬之平面鏡造成, 嵌於鏡管之上端, 在通過此鏡窺視顯微鏡時, 一面方可觀察標本現於視野中之物像, 一方面又可看見置於顯微鏡右側之紙面及鉛筆之尖端, 其詳細之用法與原理, 即先取出接目鏡, 插入繪圖器, 再將先項取出之接目鏡插回, 次置繪圖機 (Zeichentisch nach



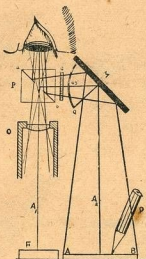
第三五圖 描繪器



第三六圖 / bbe 氏描繪器

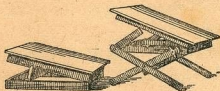
giesenhagen) 於顯微鏡之右側(第三八圖), 機上釘住圖畫紙, 通過描繪器窺視顯微鏡, 如得清晰所欲描繪之物像時, 即較準附屬之平面鏡, 使物像自接目鏡經三稜鏡而屈折反射於平面鏡上, 再自此平面鏡使之投射於圖畫紙上, 然後用鉛筆隨物像之大小形狀, 繪出其輪廓, 再行精密寫生。

描繪時所用之繪圖機, 種類形式頗多, 且多有能自由調節其高低。平常機之高度與顯微鏡之載物台相等時, 即能將視野中之物像同大小描出, 如機高於載物台, 則描出之像小, 愈高愈小, 如機低於載物台, 則繪出之圖大, 愈低愈大。



第三七圖 Abbe 氏描繪器之構造

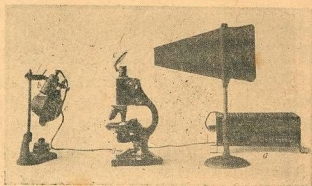
- A₁. 顯微鏡中之主軸光線。 A₂. 自圖面之主軸光線。
 AB. 描繪面。 G. Smoked glass.
 F. 鏡脚。 M. 描繪器之反射鏡。
 O. 接目鏡之上部。 P.P. 描繪面之鉛筆及描繪器之三稜鏡。
 Q. 附裝於反射鏡上之四分圓(Quadrant), 以定反射鏡之角度。
 ab. 三稜鏡上之鍍銀面, 中央開通一孔, 以爲鏡內光線之通過, 鍍銀面則將來自描繪面之光線反射出外。



第三八圖 Leitz 製之 Giesenhagen 氏繪圖機

利用描繪器且可算出寫生圖之擴大度數，其法係以與寫生所用同一之透鏡與管長及同一高度之描繪機，應用描繪器而將接物顯微量尺之度數轉映繪出，以與原繪出之圖作諸比較，則可知此寫生圖之實物之大小，其次以普通米突尺量出此寫生圖之長短，而以實物之大小除之，則得該圖之廓大倍數。

【2】Edinger 氏描繪幻燈裝置 (Zeichen-und projektionsapparat) Edinger 氏幻燈裝置亦可用之為轉映描繪，此項裝置可將顯微鏡之視野，不拘其色彩，形態，以幻燈式而轉映於水平之紙上，然後依據此映像而行繪畫。此裝置以前 Leitz, Zeiss 兩公司各有其獨特之出品。(第三九圖)。



第三九圖 顯微鏡用描繪幻燈裝置

- a. 抵抗器。 b. 裝置電球之光源。 c. 透鏡。
d. 反射鏡。 e. 反射鏡。
f. 暗箱中之玻璃板，光線自 b 發出，通過 c 經 d 而至反射鏡 e，再自 e 將視野中之物像反射而明晰映出於暗箱中之 f 板上。

第四節 圖之製版*

依據上節所述之方法，描繪之顯微鏡廓大畫圖，欲其為學術上公佈之插圖 (Text-figures, cuts) 及圖版 (Plates) 者，則必須將其製版，製版法之種類頗多，普通大別之為凸版，平版及凹版三種，若就製版之材料而言，則有木版 (Wood cut, Xylography)，鋅平版 (Zincography)，鋅凸版 (Zinc etching)，銅凸版 (Copper etching)，石版 (Lithography)，網版 (Auto type)，照相版 (Photogravure)，珂羅版 (Collotype)，及照相平版與其他 (Process, etc.)。其中以鋅凸版及網版最多應用，以下就此二者略加說明。

【1】鋅凸版(電版) 將原圖以適當之大小，用照相機映於溼板(玻璃面塗布火棉膠者)上，再將此溼板之照相陰圖晒於塗有感光物(重鉻酸銨與膠之混合物)之乾鋅板上，次水洗以去其不感光之部分，如是僅留存成版圖模形之部分，其他則完全露出鋅面，再次將此鋅板浸於稀硝酸中，因其感光部分為耐酸性，不為硝酸腐蝕而保存原形，其他部分則因腐蝕作用而漸次凹陷，然後經過水洗，乾燥，遂成為有圖案之凸版，此版插入於台板鉛字之間，即可與鉛字同時印刷。

【2】網版(照相銅版) 原圖不拘其為實物之照相，抑為墨或鉛筆之濃淡畫，更或為由點或線而成之圖畫，均能大小所欲，自由製版，其法係在原圖攝影時，插置細網(Screen)於感光板之前，隨原圖之濃淡，成細點而現於種板(溼板)上，次以此板之陰畫晒於塗有感光物(與在鋅板上所塗者同)之銅板上，然後以氯化鐵溶液，使其腐蝕而

* “圖之製版”原應闡章敘述，以其過簡，故縮為一節而編入於此。

行製版。

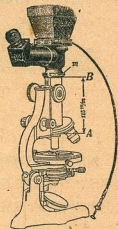
關於網眼之數量，則視紙質之良否而定，若新聞紙一類之粗面紙，祇能於 1 inch 內用 55—75 線，普通印刷紙可用 120, 133 線，若 art 紙則用至 300 線，紙質愈光滑，印出之像亦愈鮮美。

第五節 顯微鏡照相

用顯微鏡照相器 (Microphotographic apparatus) 拍攝顯微鏡視野中之物像，稱之為顯微鏡照相 (Microphotography)，此種在組織學及病理學等實驗上最為必要。

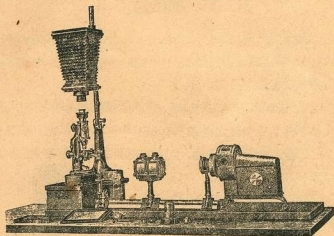
【1】顯微照像器 在前述歐、美顯微鏡製造公司均有出品，其裝置大多不外為一金屬之臺架 (Adjustable stand)，架柱可任意伸縮，柱之上端倒裝置一照像機，目的在使顯微鏡保持原來直立之位置。(第四〇，四一圖)。

【2】攝影方法 攝影時先將顯微鏡照相機置於固定不動之台上，次移顯微鏡於照相器下，使接目鏡與照相機鏡頭銜接，中用黑布圍塞，以防光線之透入，在反射鏡之前置一集光鏡，將光線集中送入切片，最後在照像機之砂玻璃板上，調節焦點，檢視映像，裝入乾板即可攝影，其須注意者如郭大在五百倍以上時，為避免鏡片之色彩錯差及球面錯差，宜用消色消錯接物鏡及補正接目鏡。



第四〇圖 顯微照像機
(可在觀察中攝影者)

惟顯微鏡照相，不一定需用如上述特製之機械，其精通照相之原理且技術熟練者，能自以紙片或木片製作暗箱以映之，又具有普通攜帶用之照像機者，祇須略加改裝，即可利用其暗箱而行顯微鏡照相，至於攝影所要時間之長短，及像之放大或縮小，與乎拍攝後之晒洗等等，則全恃乎個人舊時之技術與經驗。

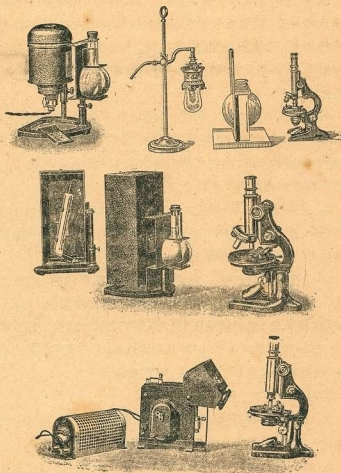


第四一圖 顯微鏡照像之裝置

第六節 人工光源

在行顯微鏡檢查或顯微鏡照相時，均需要適當之光源，日光本具強烈之光力，平常多利用之，惜其陰晴無定，而其光力瞬息而變，實際上至為不安定，因是而有諸種人工光源 (Artificial light) 之應用。

【1】人工光源之種類 人工光源之種類頗多，如電燈、白熱煤氣燈、石油燈、酒精燈等均其要者(第四二圖)。



第四二圖 顯微鏡用人工光燈各種

A. 弧光燈 電燈中以弧光燈 (Arc lamp) 之光力最強，光之強度僅次於日光，其發光裝製係通直流電氣於兩炭素棒，而此兩炭素棒保持約 40° 之傾斜角度 (據稱在此位置之光力極強)，且藏於一定之外廓中者。此兩炭素棒，其在上方者即陽極較陰極為細且長，尤能耐長時間之用。

日光與弧光燈之光力極強，其熱力勢必增加，故須有一種吸熱器 (Absorptionskammer) 以吸收熱線，吸熱器為一兩面平滑之玻璃槽，槽之厚度約 5cm. 而以煮沸除去空氣之水或明礬之水溶液充之。吸收器應置於光源與集光器之間。

B. 白熱煤氣燈及白熱酒精燈 白熱煤氣燈光力較日光弧光燈遙為弱小，但輕便而價廉頗適於應用。又 Mita 式白熱酒精燈使用輕便而簡易，亦極適於顯微鏡照相。

【2】光源過濾裝置 視標本之染色法及所用照相乾板之種類而有不同，其中有將具一定色彩之玻璃板，如鉻玻璃板 (黃綠色) 鎳玻璃板 (淡黃色) 及鈷玻璃板 (色青) 裝於光源與集合透鏡或集合透鏡與 Abbe 氏集光鏡之間，以為光線之濾過者，亦有將特製之玻璃過濾槽，內貯有一定色調之濾過液，以為濾過者。

濾過液有如下三種：

A. 苦酸飽和水溶液 液層有 2cm 厚即足，波長 50 以下之黃赤色光可以通過，青藍色一帶之光則被防止。

B. 齊托諾氏液 由乾硫酸銅 80gr. 鉻酸 8cc. 蒸餾水 120cc 配成，液層 1cm 厚即足，光譜中之黃綠線可以通過。

C. 硫酸銅氨液 為硫酸銅 10gr. 氨 40cc 之濃厚液，液層厚

1cm 即可，青色光可以通過，赤黃色一帶光線則被阻止。

平常檢視顯微鏡，在光源與反射鏡之間以圓底燒瓶，內盛上之稀薄硫酸銅氨溶液或 3% 之硫酸銅水溶液置之，以調節光線，頗舉效果。

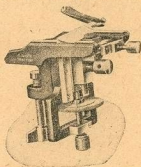
第七節 顯微解剖器

顯微解剖器可用之以作細胞、細菌等之各種理化學實驗或施以解剖手術，若化學的物質及纖維結晶等無生之物質，亦可在此機械下檢查而研究。詳第十四章。

第五章 切片機

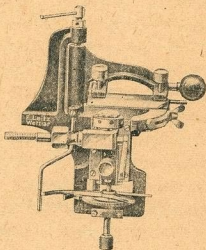
第一節 切片機之種類

切片機 (Microtome) 在欲製作薄切片或連續切片時用之, 切片機之種類型式有多種, 其中有裝置切片刀於軌道之上 (切片刀與材料均在水平位置 in a horizontal plane), 使之滑動而行切片者, 亦有將切片刀固定 (切片刀與材料均在垂直位置 in a vertical plane), 另用一輪轉推進器, 將材料轉動, 以行切片者, 前一種稱之為滑片切片機 (Sliding microtome) (第四五圖), 後一種則稱之為輪轉切片機 (Rotary microtome) (第四六, 四七圖), 此外又有一種專為製作連續切片, 而另設有附屬裝置之切片機, (第四七圖) 若凍結切片機 (Freezing microtome) (第四四圖) 則另附有蒸散醚之冷卻裝置 (Ether freezer), 或者附有如使用流動炭酸一樣裝置之附屬器。

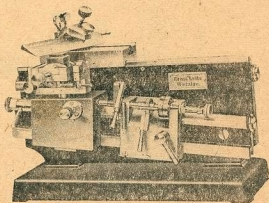


第四三圖 Leitz 製之簡單切片機

滑片切片機中如 Schlitten 式, Thoma 式 Schanze 式, Reichert 式等均其著者, 其中 Thoma 式中等大小, 最適合動物學者之用, 不



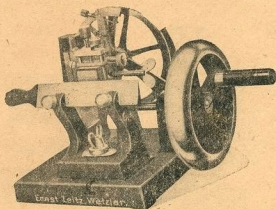
第四四圖 Leitz 製之凍結切片機（應用流動碳酸裝置者）。



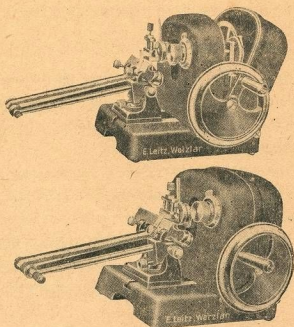
第四五圖 Leitz 製之滑片切片機並切片刀

僅適宜於切石臘或火棉膠，且可作凍結切片。惟切片刀僅其一端固定，切裁時刀片易於顫動，致切成之片，不免有厚薄不勻之弊，為補救此缺點，因而有 Cambridge Scientific Instrument Company 之大型切片機及 Leitz 與 Jung 兩公司之 Tetrander 式切片機出現，此等切片機均為將刀之兩端固定，相反，使材料滑動而行切片者。

輪轉切片機如 Leitz 與 Bausch & Lomb 製之 Minot 式，Jung 與 Cambridge Scientific Instrument Co. 製之 The New & Old Rocking Microtome，及 Spencer 之 Precision Rotary 等均其著者，此等切片機均裝置極精密之器械，最適於石臘之連續切片，且能切成極薄之片，但不宜於作火棉膠及須將刀片或材料濡溼之工作用，惟若為熟練之技術家，亦可用滑行切片機，作極薄 ($1/2\mu$ ，如植物之根端) 之石臘之連續切片。



第四六圖 Leitz 製之輪轉（手搖）切片機並切片刀



第四七圖 Leitz 製之 Minot 式新型切片機並附裝有石蠟運送切片用之托運器 (Rubber conveyor)

第二節 切片機之構造及其用法

切片機之種類型式雖多，然其主要構造，均不外為切片刀，材料推進器及調整切片厚薄之指針三部而已，其他均為附屬之構造。

切片機可任意切成 $1-30\mu$ 厚之切片，為保持切片機靈活應用，其轉動之各部分，宜不時以二甲苯、苯、或汽油等擦之，後仔細拭乾，更用石臘油 (Paraffin oil) 或其他輕機器油 (Light machine oil) 塗

之，蓋切片之良否，亦須視切片機之靈活轉動與否而定也。

第三節 切片刀及其研磨與保存法

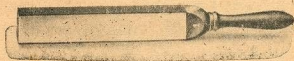
切片刀 (Knife) 以一邊凹而一邊平者為佳，其刀口則須平而銳 (Smooth and sharp)，在低倍顯微鏡下，須成一直線，蓋刀口如有缺口，雖肉眼不能見，在切片時，必有缺痕留於切片之上，此於製作標本既不美觀，且有妨礙觀察。

切片刀附有研磨用之把柄 (Setting and stropping bevel, Hardl.) (第四八圖)，又附有砥革與砥石 (Strop and whetstone) 等器具 (第四九，五〇圖) 砥革須有硬殼面 (Hardshell surface) 者。

當切片刀用久，刀口必變鈍，此時須用砥石以磨之，磨刀時，通常須經粗細二刀石，粗者用 Yellow belgian hone，以水和胰沫磨之，用等量之甘油及 70% 酒精或棕櫚油 (Palm oil) 亦可，細者則 Bluegreen



第四八圖 切片刀之研磨用把柄



第四九圖 切片刀之砥具

1. 2. 3 三面為革砥，第 4 面為砥石。



第五〇圖 切片刀之砥革



第五一圖 切片刀之研磨法

a. 用砥石之磨法, b. 用砥革之磨法.

water hone, 以石糊 (Grinding paste of softer stone) 磨之。如刀口不傷可選用細石磨之。

磨刀之石, 至少須 8×2 吋, 善磨者, 刀之每邊, 在每種刀石上約磨 12 下, 即可使刀口回復其原狀, 磨刀時, 刀口與刀石須平, 若一次不平則全功盡棄, 至刀之磨法, 先將刀石固定, 以一手執刀柄, 一手按刀之上部, 使刀面與石面接觸, 然後更延刀口向外之方向, 輕輕推去, 至刀石末端, 將刀口向上轉身, 更依刀口向內之方向, 輕輕曳之使回。如是反覆砥磨多次即可, 其推動須略帶橫行, 旋轉之動作, 須使刀口平, 而效力大。推挽之力, 略使刀石與刀口磨擦即可, 更有須注意者, 卽每一轉動之推挽, 須將兩尖端完全磨到 (第五一圖 a)。

切片刀連續使用數十次後, 刀鋒卽不利, 此時, 可以砥革砥之, 砥

革時，須先將革拖直，將刀背向前（恰與磨刀時相反），用微力緊緊推之使前，隨將刀口向上轉身，曳之使回，如是反覆 20—30 次即可（第五圖 b），蓋砥刀愈勤，其鋒必愈銳，甚有裨益於切片之工作也。

切片刀用完或砥磨後，均宜拭乾擦油以事保存，否則必生銹以致將不可再用也。

第六章

固定兼硬化劑之種類及其用法

欲製作組織標本，須使用新鮮材料，此種材料必須預以藥劑，將組織殺死以固定之，使其能保持生活當時之自然狀態，材料經固定後，可作相當時間之保存，尤可備不時之需。

又材料經固定後，一方面硬化，便於截切，一方面施以染色劑或其他藥液之處置時，易使其起光學的分化，在觀察時甚為便利，故運用藥劑以固定材料，在組織標本製作上，誠屬必要之處置也。固定藥品之種類頗多，其中有單獨用之者，有二種或多種互相混合而運用者，茲將其分別詳論於下：

第一節 單純固定劑

【1】醋酸(Acetic acid) 醋酸概與其他藥品混合使用，其為單純固定劑也，僅以其0.2—1% 溶液，用作核(主要為染色體)之固定，5% 溶液初時可使核之構造清晰，但不久即使其膨脹而變灰白，反不及濃度較此為低者之為美。醋酸對於脂肪不起作用，但能破壞細胞質中之粒線體。醋酸之滲入作用極快，而又能令材料起良好之光學

的分化，極爲一般技術家所賞用，材料經此液數分鐘間處置後，用 50—70% 酒精反覆洗滌，然後置 70—85% 酒精保存，使之硬化。

醋酸之濃度普通爲 36%，若冰醋酸則在 99.5% 以上。

【2】酒精 90—100% 之酒精，均可用作固定劑，尤以 100% 更有良好結果，酒精之滲入作用亦快。固定時間須 24 小時，惟材料開始用強度酒精處置，難於滲入，故最初宜用各低度酒精，漸次以誘導之。但材料之在水中溶解者，可直接以 100% 酒精固定之。又 Ranvier 之三分之一酒精 (One-third alcohol) 亦可將材料直接移入，時間 24 小時，事後用明礬洋紅及甲基綠染色。

用酒精固定，有使色素與脂肪質溶解及使組織收縮之弊，而染色較難亦爲一缺點，故除用作脫水，硬化劑或作應急處置外，少所利用。

【3】鉻酸 鉻酸之 0.2—1% 水溶液，常用爲固定劑，材料須置 50 倍容量之液中約 24 小時以上方可，固定後須於暗所水洗，然後漸次移於強度酒精中以硬化之，置暗所水洗及硬化者，蓋防止其生不溶性之沉渣故也。

鉻酸易使蛋白質沉澱，其硬作用亦極強，惟易使組織脆弱爲其缺點，經鉻酸固定後之染色劑，以蘇木精及數種鹽基性生色精染料爲最佳。

實驗室中須常備 1% 鉻酸爲原液。

【4】昇汞 昇汞之飽和水溶液 (約爲 7%)，或 5% 酒精 (用 50% 者) 溶液，或食鹽飽和水溶液 (昇汞 45，食鹽 5，水 950)，用於腺，上皮及其他動植物組織之固定，浸置時間至材料不透明爲度，若加熱至

60°-85°C, 尤可縮短固定時間, 普通蠶豆之根端(Root tip)百合之子房等植物材料, 固定 10-30 分鐘則可, 若加熱至 85°C 則 2-3 分即足, 材料經昇汞處置後, 須用水或 50-70% 酒精數時間洗濯, 然後置強度酒精中使其硬化。

昇汞之滲入組織頗快, 硬化作用亦大, 但易使蛋白質沉澱, 凡經此液處理之材料, 用番紅花紅、蘇木精等染色, 可得好結果, 用洋紅類尤然, 蓋其能形成 Mercuric carminate 故也。

惟材料之經昇汞或含昇汞之混合固定劑處置者, 其組織內必有昇汞之沉澱, 爲除去此沉澱, 可運用碘酒(70% 酒精加碘至呈葡萄酒色爲度)或碘碘化鉀之酒精溶液, 其方法係將材料浸置於此等液中約 12-48 小時, 其間如酒精褪色, 再以碘加入之, 如是反覆多次, 至酒精不再褪色時, 卽表示昇汞已完全除去, 然後置 80% 酒精以保存。

樟腦可代碘而加速除去昇汞之沉澱。

以碘液除昇汞, 反有因碘而使標本變色者。此黃色可由酒精浸漬或直用次亞硫酸鈉液, 施行數分鐘間漂白, 以解除之。

【5】甲醛 市販甲醛之 10% 蒸餾水溶液, 含 Formaldehyde 約爲 3.5-4%, 其爲固定劑也, 易滲透組織, 且不使收縮而硬化, 故爲一般動植物組織之固定兼硬化劑, 惟是液須避免日光, 故宜以褐色玻璃瓶以盛之。

製作凍結切片, 以此液作固定劑最宜, 且於將來之染色亦佳, 此外又爲浮游生物(Plankton)之優良固定劑。

甲醛液之固定時間, 需 48 小時以上, 固定後卽可移置 70% 酒精中或就原液至使用時爲止以保存之。

甲醛使材料硬化之作用甚強，此在解剖及組織實驗上，至為不便，為彌補此缺陷，將經此處理之材料，浸之於 1% 硝酸銀溶液，或 1% 檸檬酸溶液或 1% 氫溶液中即可，其中檸檬酸既可使組織柔軟，又可除去甲醛之殘留液。

【6】苦味酸 用其 1.2% 冷飽和水溶液為固定劑，處置時間，隨材料之大小而異，小者數分至數小時，大者則需 24 小時以上，若加熱至 85°C，則 5—10 分間即足，苦酸之酒精(70%)飽和溶液(大約苦味酸 1gr. 酒精 75cc)亦可作固定劑。

苦味酸使各種蛋白質沉澱而形成 Protein picrates，又使組織收縮之作用極強，但幾無硬化作用，固定後用 70% 酒精反覆洗滌，用 70% 以下酒精洗滌，恐失去固定目的。

苦味酸，動物胚胎學者常用之，植物學上則較少運用。

【7】重鉻酸鉀 其 2—5% 溶液，用為固定劑，其用法一如鉻酸，須先從低濃度之溶液開始，然後移入高濃度之溶液。重鉻酸鉀能使組織均勻固定，對於細胞內任何物質均不使其沉澱，其於脂肪類及粒線體之固定尤宜，但溶解染色質則其缺點，是液之固定作用需時頗長，如脊髓等須及 3 週以上，又是液之硬化作用亦慢，但為一重要之硬化劑，蓋其子組織以相當堅實也。

材料經重鉻酸鉀液處置後，須充分水洗，若因此而變黃色之材料，可以 1% 含水氯溶液或無水亞硫酸(SO₂)酒精溶液數滴，數分鐘間洗之，染色劑用洋紅類或蘇木精類均有好結果。

【8】碘 碘之為固定劑，僅適於單細胞，成羣落或絲狀之藻類，但須用碘化鉀之飽和水溶液，加多量之碘(至變淡褐色為度)，濾過

後始可用之，固定時間須 10—24 小時，水洗，如澱粉之着色不褪，可以 0.5% 之鞣酸水溶液以去之。

【9】鐵酸 鐵酸之蒸氣或 1% 水溶液，均用作固定劑，其用蒸氣者，係將材料懸掛於瓶塞上，瓶內盛鐵酸，藉其蒸氣以固定之，處置時間依材料之大小而有不同，通例在 1—40 分之間，若以溶液固定則需 24 小時以上。

鐵酸能使細胞或組織均勻固定而不起沉澱，但可使脂肪，高爾基氏體變黑，在固定中雖不使組織皺縮，但在以後之處理中，略有此現象發生。

材料經鐵酸處置後，須以流水洗濯 24 小時，然後自弱度漸移於強度酒精中以硬化之；在酒精中每有變黑色尤以含脂肪之材料為然，故須充分水流或直接用過氧化氫以漂白之，材料經此處置後染色較難，其常用之染料為蘇木精、甲基綠、明礬洋紅、苦酸洋紅及番紅花紅等。

實驗室中應常備 1% 水溶液為原液，並須以褐色瓶置暗所貯藏之，如見其還元生黑色之沉澱，則不可再用；為預防計，可於原液 100 cc 中加 5% 昇汞水 10 滴。

第二節 混合固定劑

【1】Allen Bouin 氏液：

Bouin 氏液	100 cc
鉻 酸	1.5 gr.
尿 素	2 gr.

先將 Bouin 氏液加熱，並保持其 $37^{\circ}-38^{\circ}\text{C}$ 之間，次以鉻酸加之。溶解後，投入尿素，繼續保持上述溫度 1—3 時，俟其冷卻，徐徐與 70% 酒精置換用之，是液頗適於染色體之固定。

【2】Benda 氏液(鉻鐵酸混液 Chrome-osmium):

2% 鐵酸	4cc
1% 鉻酸	15cc
冰醋酸	2—6 滴

適於粒線體及其他細胞含有物之固定。

【3】Bouin 氏液(苦味酸甲醛混液 Picro-formol):

苦味酸飽和水溶液	175cc
甲醛	25cc
冰醋酸	5cc

上液在使用前混合，苦味酸在常溫之下，投 1.2gr. 於 100cc 之水中，即成飽和溶液。

Bouin 氏液之滲入組織，相當快速，固定均勻而能保存微細之構造，用鐵蘇木精及酸性品染色，尤允稱咸宜，是液宜於無脊椎動物，脊椎動物及植物一般組織之固定。細胞學(染色體、紡錘絲)及胚胎學上多常用之，固定時間 2—24 時，但最好不超過 18 小時，處置後直移入 70% 酒精中，以去滲入組織中之苦味酸黃色色素，至淨白為止；若滴加碳酸鋰數滴於酒精中，則褪色更快而完全，經此液固定之材料，以火棉膠切片，尤必須完全脫色。

【4】Carnoy 氏液:

A.	90—100% 酒精	6分
	三氯甲烷	3分
	冰醋酸	1分
B.	純酒精	3分
	冰醋酸	1分

Carnoy 氏液有 A、B 兩式。A 式混和後置褐色瓶中，可以長久保藏，其加入三氯甲烷乃在使液之作用加速。B 式即係 Carnoy 氏之醋酸酒精 (Acetic alcohol)。

Carnoy 氏液之固定作用中庸，但極迅速，頗適於動植物一般組織，核、染色體、動物澱粉及原形質等之固定，處置時間 5 分鐘內外，有時亦須延長 30—60 分鐘者，若洋蔥之根端 15—20 分即足。

材料經此液處置後，不需水洗，可直接投入 94% 或純酒精中洗滌，至無醋酸及氯仿氣味為止，但更換酒精洗滌，經此液固定後，用任何一種染色劑，均可使之着色。

若材料之難於固定者，可用醋酸酒精之昇汞飽和混液 (Acetic alcohol with sublimate)，即：

純酒精	1分
冰醋酸	1分
三氯甲烷	1分
昇汞	飽和量

蛔蟲 (Ascaris) 之卵用上液處置 30 秒，全輸卵管 10 分間，即可。

【5】Champy 氏液：

1% 鉻酸	7分
3% 重鉻酸鉀	7分
2% 鐵酸	3分

使用前混合，細胞學上用於染色體、粒線體、高爾基氏體等之固定，處置時間 12—24 小時，水洗 24 小時，染色前須加漂白。

【6】鉻醋酸混液(Chromo-acetic solution):

A. 弱液(Shaffner's formula):

鉻酸	0.3gr.
醋酸	0.7gr.
蒸餾水	99cc

B. 強液:

鉻酸	1gr.
冰醋酸	3cc
蒸餾水	100cc

弱液、強液均適於植物胚胎組織之固定，動物胚胎學上亦常用之，固定，水洗須在 24 小時以上。

又鉻醋酸之強液，少有使原形質退縮之作用，尤適於絲狀藻類、真菌類、苔蘚植物之幼嫩組織及蕨類原葉體之固定。

【7】昇汞醋酸混液(Corrosive sublimate and Acetic acid):

昇汞飽和水溶液	100cc
冰醋酸	5—10cc

用法與昇汞液同，尤適於一般無脊椎動物之固定，時間數分至三小時。

【8】Erlicki 氏液(重鉻酸鉀硫酸銅混液 Bichromate of Potassium and Cupric sulphate):

重鉻酸鉀	5gr.
硫酸銅	2gr.
蒸餾水	200cc

適於動物充分成長之胚胎之固定，處置時間 5-10 日，次用 35%，50% 酒精於暗所反覆洗濯之，然後置 70% 酒精中以事保存。

【9】Flemming 氏液(鉻醋酸及鐵酸混液(Chromo-Aceto-Osmic acid):

A. 弱液:

1% 鉻酸水溶液	0.25%
2% 鐵酸水溶液	0.1 %
冰醋酸	0.1 %
水	100 cc

Meves 氏再加 1% 氯化鈉以用之。

B. 強液:

1% 鉻酸水溶液	15 分
2% 鐵酸水溶液	4 分
冰醋酸	1 分

使用前混和，加 0.65-0.9% 食鹽亦可。

Flemming 氏液適於核分裂之固定，尤宜於 Karyokinetic figure 之固定，故細胞學上常賞用之，固定時宜放置暗處，時間 1-2 日，後用流水(Running water)洗濯 0.5-1 日，最後用酒精脫水，並使其

硬化。

Flemming 氏弱液僅適合極微小材料之固定，其強液因滲入作用較大，略可作材料之大者之處置，材料中如含脂質，經此液處置，常變為黑色，故須用雙氧水漂白，又因鐵酸不良於染色，故須用煤染劑。

染色劑可用鐵蘇木精，番紅花紅及其他鹽基性煤焦製出染料。

C. 改良液：

2% 鐵酸	4cc
-------	-----

1% 鉻酸	16cc
-------	------

因材料不同，有時尚須稀釋用之，處理時間 18—20 時，水洗 24 時，漂白後置 Chura 氏液中 24 時，用鐵蘇木精染色，為脊椎動物之染色體之優良固定劑，因不含冰醋酸，故可作纖粒體之固定。

【10】 甲醛醋酸酒精：

甲醛	$6\frac{1}{2}$ cc
----	-------------------

醋酸	$2\frac{1}{2}$ cc
----	-------------------

50% 酒精	100cc
--------	-------

適合動植物組織之一般固定劑，且適於標本之貯藏，若原形質有收縮之感時，可略增加醋酸至 7% 之數。

【11】Gilson 氏硝酸水銀混液 (Mercuronitric mixture; Corrosive sublimate, Nitric acid mixture):

昇汞	5gr.
----	------

硝酸(約 80%)	4cc
-----------	-----

冰醋酸	1cc
-----	-----

酒精(70%)	25 cc
蒸餾水	220 cc

Gilson 氏硝酸水銀混液為優良固定劑中之一，適於動物組織之固定，材料浸於 50 倍之此液中數小時，經水洗，35%，50% 而入 70% 酒精中以保存之，普通材料之微小而柔軟者，用此液處置 10—30 分即可，若材料之大而密緻者，則須 6 時以上，要之，用此液固定，至材料不透明為度。

【12】Helly 氏液：

Zenker 基液	19 分
甲醛	1 分

用法與 Zenker 氏液相同，尤適於細胞質中顆粒狀含有物質之固定。

【13】Hermann 氏液（白金醋鐵酸混液 Platino-Aceto-Osmic mixture）：

氯化白金溶液(1%)	60 cc
鐵酸(2%)	8 cc
冰醋酸	4 cc

此液可使細胞之境界分明，細胞學研究上屢用之，用法大致與 Flemming 氏液相同，惟氯化白金價值高昂不輕於使用。

【14】Juel 氏液：

氯化鋅	2 cc
醋 酸	2 cc
40—50% 酒精	100 cc

適於植物組織之固定，處置時間 24 小時，事後用 45—50% 酒精洗滌。

【15】Lavdowsky 氏液(甲醛酒精及醋酸混液 Formol, Alcohol and Acetic acid):

甲醛	10 分
酒精	50 分
冰醋酸	2 分
蒸餾水	40 分

爲神經系統之良好固定劑，材料置此液中數日，取出後不必水洗，可逕置 70% 酒精中以保存之。

【16】Mayer 氏苦味硝酸混液(Picro-nitric acid):

苦酸飽和水溶液	100 分
硝酸(含 25% 之純粹者, N_2O_5)	5 分

上液製就經 24 小時後，須加濾過，始可運用，是液適於動物各種臟腑器官之固定，材料投此液中數小時後，用 70% 酒精洗滌 最後置 80% 酒精中以保存之。

又 Mayer 氏液加 5% 之醋酸，用 Conklin 之苦味酸蘇木精染色，可得極美麗之標本。

【17】Zenker 氏液:

重鉻酸鉀	2.5 gr.
硫酸鈉	1.0 gr.
昇汞	5.0 gr.
冰醋酸	5.0 cc
蒸餾水	100 cc

冰醋酸在用前加入，固定及水洗 24 時，材料到達 70% 酒精時加入碘酒數滴，以去昇汞，動植物材料均可適用。

混合固定劑除上列各種外，尚有 Orth 氏液，Perenyi 氏液及 Tellyesniczky 氏液等，其組成分如下：

Orth 氏液：

甲醛	1 分
Müller 氏液	10 分

適於動物胚胎材料及神經組織之固定，處置時間，常溫中 12 時，固定後用流水洗滌。

Perenyi 氏液：

10% 硝酸	4 分
酒精	3 分
0.5% 鉻酸	3 分

混合後短時間呈淡紫色，固定時間 4—5 時，70% 酒精中 24 時洗滌，94% 中數日，純酒精中 4—5 日，動物胚胎學及一般組織學上均樂用之。

Tellyesniczky 氏液 (Acetic bichromate)：

重鉻酸鉀	3gr.
冰醋酸	5cc
水	100cc

為動物胚胎之優良固定劑，固定時間 24—48 時，流水洗滌 6—8 時。

第七章

染色劑之種類及其用法

生物學技術上所用之染色色素，爲數頗多，其常用者，有三類，即洋紅類（一名動物性色素），蘇木精類（一稱植物性色素）及生色精（靛精）類是也。惟因前二者乃自動植物體所精製之色素，又合稱之爲天然色素(Natural dyes)，以與生色精類之自煤焦油(Coal-tar)製出者相別，此外尙有少數染色劑爲礦物質者，茲將各類分節詳述之。

第一節 洋紅染色劑

洋紅(Carmine)乃自胭脂蟲(Cochneal insect 其學名爲 *Coccus cacti*)之雌蟲，乾燥後碾成粉末，所製出者，爲有光輝而現深紅色或紫色之染料，常溶解於加入酸（如碳酸銣、硼酸、明礬等）或鹼之水，酒精中，以作染色劑，此色素不僅容易運用，且可使經任何固定劑處置之材料染色，故爲一般技術家所賞用。

洋紅常用於核染色，處置時間在 10 分鐘內外，但材料之經鐵酸或 Flemming 氏液固定者，則染色時間須延長 1-2 日，核經此色素作用後呈紅色，且長時不致褪色，又染色後水洗時間不必過久（約 10-20 分），對於酸類不起過敏之變化，又無過染之弊害，但染色略

難，尤以在甲醛中固定者為然。

洋紅液雖經數年之久，仍能保持其染色效力，如現混濁，可以濾過使用。

洋紅染色劑之調製有多種，茲將重要者臚列於下。

【1】醋酸洋紅 (Aceto-carmin, Schneider's fluid) 將洋紅之飽和量，溶之於 45% 醋酸 (冰醋酸 45cc 蒸餾水 55cc) 即得，或者以微量之氫氧化亞鐵加入 45% 醋酸中，再投入過量之洋紅，然後煮沸以溶解，惟須濾過，方可利用。此液之滲透作用迅速而着色尤為美麗，故最適合於動植物之新鮮組織及器官 (植物如花葯之類) 之實驗，如核與染色體之研究，新鮮材料經此色素染色，以凡士林封之，可保持至一週以上，又適於製甘油標本。

【2】明礬胭脂 (Alum cochineal):

鉀明礬	6 gr.
胭脂粉末	6 gr.
蒸餾水	90 cc

加熱沸煮 30 分鐘，傾去其上浮之液，再補充傾去之水量，復煮至變為 90cc 為止，冷卻濾過，即可使用，但須加微量之百里香精或水楊酸，以防發黴，此染色劑不使材料過染，故適於全材料之染色，處置時間約需 24—36 小時，取出水洗 15—20 分，以去明礬，然後順次自低度至高度酒精中各 1 小時左右即可，若欲行複染色，可配以 Lyons blue, 苦味酸, 橙黃 G 或光綠等。

【3】明礬洋紅 (Alum carmine):

洋紅	1 gr.
鉍明礬(2.5% 水溶液)	100 cc

20 分間沸煮，冷卻濾過即可，用法與明礬臙脂同，此液亦宜加百里香精或水楊酸，以防生黴，染色時間 12—24 分，水洗無過染之虞，不用酸酒精以脫色。

【4】硼砂洋紅(Borax carmine; Greenacher's fluid):

4% 硼酸水溶液	100 cc
洋紅	3 gr.
70% 酒精	100 cc

先將洋紅加熱，至洋紅溶解為度，然後加入酒精共濾過之，明礬洋紅，硼砂洋紅均用之於核染色，全標本染色亦宜，尤適於材料之經 Flemming 氏液固定者，染色時間 3—4 日，後用酸酒精處理 (2—3 秒)，至透明紅色為度。

【5】酒精洋紅(Beale's fluid):

洋紅	1 gr.
氨	3 cc
純甘油	96 cc
蒸餾水	96 cc
95% 酒精	24 cc

先將洋紅、氨、蒸餾水混和，置培養皿中，至氨蒸發無臭為度，次加入甘油與酒精，用時須再以等量之甘油加入之。

用法：將材料投於此液中，不用蓋塞，與另盛醋酸之培養皿，同置於罩鐘之下，24 小時放置染色，如是處理後，取出水洗，次用弱鹽

酸 0.2% 洗滌，再次水洗，然後投入低度酒精以及於高度酒精。

【6】Carm-alum (Paul Mayer 氏液):

洋紅酸	1 gr.
明礬	10 gr.
蒸餾水	200 cc

加熱溶解製成，適於全標本（植物如團藻等）之染色，且無過染之弊，又能適合各種固定劑之染色，但材料之呈鹼性反應者，則不宜用之。

【7】Mayer's paracarmine:

洋紅酸	10 gr.
氯化鋁	0.5 gr.
氯化鈣	4 gr.
70% 酒精	100 cc

適於大形材料之染色，處置後用 70% 酒精洗滌，此液雖少過染之弊，其因偶爾過染者，可以酒精加 2.5% 冰醋酸或 0.5 氯化鋁以洗去之，或逕以酸酒精分色亦可，材料經此液處理後，呈艷猩紅色，惟遇呈鹼性反應或含石灰性之材料，則不切用。

第二節 蘇木精染色劑

蘇木精乃自蘇方木 (Logwood, 其屬名為 *Campechianum*) 所製出者，市售之蘇木精呈小形結晶，有時亦有現針狀結晶者，其色澤則自淡黃 (Light yellow) 以至於銹紫色 (Rusty purple)，易溶於水、甘油及酒精，但平常均為水溶液而使用；其配製方法，為初將蘇木精結晶，溶解於少量之 95% 酒精中，然後以水加入之，使成所需要之濃

度，如欲將其長久保存，可加入微量之酸性硫酸鈉，但作漸進染色時，須用酸性物質將此保存劑預先解除，否則有礙着色。

無論經任何固定劑處置之材料，均可以蘇木精染色，尤以在鉻酸或含此鹽類之溶液中固定者為然。蘇木精可使核着青紫色，染色所需要之時間，約為 10—30 分，處理略長，亦無關緊要，惟新製之蘇木精染色劑，非經氧化，生成 Haematin 後，不能起作用，即此染色劑製後，須曝露空氣中，使之氧化成 Haematin，然後漸見有染色力。純 Haematin 市上有售，因其價昂，不合經濟。

蘇木精配製後，滴加微量之雙氧水，可促進其氧化作用，其溶液色澤則視氧化之程度而定，純 Haematin 呈藍色，若 Dioxyhaematin, Trioxyhaematin 及 Tetraoxyhaematin 等則漸變而為褐色，其中以 Trioxyhaematin 染色力最強，凡材料之經此色素處置者，必施行分色手續，核最初時現紅紫色，更以流水洗滌，則漸變為青紫色，其所以然者，以流水微帶鹼性之故，普通蘇木精色液之呈酸性者，以經過酸性溶媒處理之故，故其染成之色為紅色，若以鹼性液為溶媒而溶解者，則其染色為藍，無論其為何，此色素非經成熟 (Ripen)，決不見染色力。

關於蘇木精之染色現象，Mayer 氏曾作說明，彼謂：染色之原因，在於 Haematin 與 Alumina (礬土 Al_2O_3) 兩者之化合，此鹽類在組織 (主要為核) 中，因有機鹽或無機鹽 (如磷酸鹽類) 或其他有機物質之存在，乃起化學作用，而生沉澱，因是而着色。

蘇木精染色劑使用前，須加濾過，核之適當染色為深青，原形質除特殊情形外，僅少有着色者，如過度濃染，可以酸酒精 (70% 酒精

+1% 鹽酸液或明礬水)爲脫色劑,使之褪色。

蘇木精雖爲切片標本之良好染色劑,但不適用全標本之染色,顯微鏡技術家之樂於用者,以其染色力強,富選擇染色性,又着色精確而耐久,以及色彩美麗動人之故。

蘇木精之調製劑,亦有多種,其著者將分別陳述於下:

【1】明礬蘇木精 (Alum-haematoxylin or Böhmer's haematoxylin).

蘇木精	1gr.	} 甲
純酒精	12cc	
明礬	1gr.	} 乙
水	240cc	

甲液須放置二月,使其成熟,用時以甲液 10 滴,乙液 10cc 之比,混勻之即可,染色時間 10-20 分,事後須水洗,除核着色外,植物之纖維素膜,如松杉類細胞之重紋孔 (Bordered pits) 之閉鎖膜 (Closing membrane 即 Torus 孔托) 可染成深紫色。

又蘇木精與各種含鋁、鐵、鉻、鉬之溶液併用,可作特殊之染色。

【2】Delafield's haematoxylin(或名甘油蘇木精):

鉍明礬飽和水溶液	100cc	甲
純酒精	6cc	} 乙
蘇木精	1gr.	
甘油	25cc	} 丙
木精	25cc	

將乙液傾入甲液中，置之日光下或露之空氣中，約一週間，使其氧化，次濾過加入丙液，放置 4—5 時，俟其色充分變黑，再行濾過，然後密閉以貯藏之，設急欲運用，可滴加變中性之雙氧水，使其加速氧化，但以自然氧化者為佳，丙液之加入，目的在使鉍明礬結晶而沉澱。

又一配製方法：

蘇木精	4gr.	}	甲
純酒精	25cc		
鉍明礬	40—50gr.	}	乙
水	400cc		
甘 油	100cc	}	丙
木 精	100cc		

甲、乙、丙之混合方法如前，惟丙液加入後，須放置 2—3 月間，至液成熟，變為暗紫色為止。

速製法：用挖耳子取 2—3 匙之碘酸鉀 (Potassium iodate) 或碘酸鈉 (Natrium iodate) 於上述之甲乙兩混液中，曝露於空氣與日光之下，經 3—4 日後，過濾，加丙液即可使用。

Delafield 氏蘇木精之用法：將切片自 50% 酒精移入染色，時間須 10 分，宜其過染而後於酸酒精中分色 (約 5 秒)，水洗 5—10 分，然後移入低度以迄於高度酒精，設偶爾過度脫色，或染色不顯明時，可循原徑，返回蘇木精中再行染色。

Delafield 氏蘇木精為植物基本組織、胚胎、纖維素膜及染色質

之優良染色劑，常與番紅花紅併用而作複染色。

甘油蘇木精除上述者外，尚有 Grenacher 氏液，Friedländer 氏液及 Ehrlich 氏液等之區別，後者之配製方法如下：

蘇木精	2gr.
純酒精	100cc
冰醋酸	10cc
甘油	100cc
鉍明礬	飽和量
蒸餾水	100cc

將過量之鉍明礬投入甘油與水之混液中，然後以其他成分加入之，此液需要三週以上之時間，置日光或空氣中氧化，其有效時間，可持續一年以上。

Ehrlich 氏液為核之良好着色劑，材料可自 50% 酒精移入染色，時間約需 5—30 分，無過染之弊，故不必用酸酒精分色，曙紅、愛利斯洛新紅、橙黃 G 等為其常伴之複染色劑。

【3】Hansen's haematoxylin:

蘇木精	1gr.	} 甲
純酒精	10cc	
鉀明礬	20gr.	} 乙
蒸餾水	200cc	
高錳酸鉀	1gr.	} 丙
蒸餾水	16cc	

先將乙加熱使之溶解，冷卻後加以過濾，次注入甲液，再加丙液 3cc 煮之，沸騰後，急將容器浮諸水中，令其冷卻，再濾過後，即可以運用，此液亦可長久保存，惟液面屢起膜層，故須時常濾過。

Hansen 氏蘇木精於切片染色，其曾經酒精處理者，着色迅速，若材料之在鉻酸或含其他酸類之液中浸過者，則染色不良，如遇此種情形，可將材料移置 95% 酒精或苛性鉀溶液（以水 5cc 加苛性鉀液 3-7 滴之比所成之溶液）中，約 5-7 分，取出水洗，然可以完全染色。

【4】Heidenhain 氏鐵蘇木精 (Iron-haematoxylin):

鐵明礬	10 gr.	} 甲(原液)
蒸餾水	100 cc	
蘇木精	0.5 gr.	} 乙
純酒精	10 cc	
蒸餾水	90 cc	

甲乙製就後，分別盛之，不可混勻，甲液易起變化宜用新製者，又甲液不在染色，僅用於媒染，即在使組織易於接受乙液之作用。再者，甲液在 18°C 以上，常生氧化鐵 (iron oxide) 之帶黃色皮膜，故宜貯藏於溫度 18°C 之下。

乙液配成後，10 日間令其溶解，在此期內，宜將盛瓶時加振盪，然後靜置之，使其氧化，此液成熟需時一月，其瓶口宜以紗布覆蓋，或施棉塞，至氧化成熟為止，然後更換栓塞或玻璃蓋密閉以貯之，倘靜置於冷而無強陽光之處，可保持其長時間（六個月）之有效能力，如

遇其葡萄酒色消失，則可認為已失效，亦有將 10gr. 蘇木精溶解於 100cc 之純酒精中，以為原液者，令其呈深葡萄酒色，需時在 4 個月以上，由此原液再製所需要之水溶液（原液 4 或 5cc 加水 100cc）。

材料水洗 10—20 分，如酒精之洗除不完全，將來着色不明顯，次移置 2—4% 鐵明礬液中 30 分至 24 時以上，蒸餾水洗 2—4 時後，投乙液中 30 分至 24 時以上染色，再水洗，然後置 0.5—2% 鐵明礬液中分色，經此處置後，核以外，其他諸部分均褪色。

Heidenhain 氏鐵蘇木精為研究細胞構造之最優染色劑，染色體、中心體、澱粉核 (Pyrenoids) 等經此處理後呈亮黑色，若在鐵明礬液之時間延長，則成藍黑或紫色，材料之 Flemming 氏液或 Herman 氏液中固定者，固可染色，但最適宜於經醋酸酒精或含有昇汞之固定液處置之材料，惟切片不宜厚過 6 μ 。

【5】Mayer's haem alum:

Haematin	1gr.
95% 酒精	50cc
明 礬	50gr.
蒸 餾 水	1000cc

先以 Haematin 投入酒精中，加溫溶解，次傾入另製之明礬液中，充分攪勻，若有殘渣可以過濾，如加入微量之百里香精可以防霉。

此液調製後，即可使用，染色時間 10 分，若以 2 倍之水稀釋之，可不使材料過染，最適宜於大形材料之染色，但時間需要 10 時以上，染色後宜充分水洗以去明礬，若以 2% 冰醋酸加之，可作純粹之核染色劑。

植物之絲狀藻類、菌類、可用此染色。

第三節 生色精染色劑

生色精類為煤焦油之副產品，而有種種光輝之染料，其在生物學技術上至為重要，惟染色後，易於褪色，是則其缺點。

生色精類溶於水，亦可溶於酒精，其以酒精為溶媒者，取其30%，50%，70%或95%，但平常多用50%酒精；若欲作複染色，則宜95%或純酒精。亦有將此類色料溶解於丁香油中者，蓋以其在此染色而兼行透化作用故也，生色精類多用其飽和溶液。

生色精類最適於材料之在含鉻酸，鐵酸固定劑中處理者之染色，其須用苦味酸甲醛及醋酸混液作固定劑而必須以生色精類染色者，則須於該混液中滴加少量之 Flemming 氏液，否則於苦味酸甲醛及醋酸混液中固定後，再以 Flemming 氏液為媒浸，然後方可染色。

普通生色精類並不用媒染，但為使色澤顯明及加強着色，亦可用生色精水或1%高錳酸鉀水溶液，施行媒染，時間5—10分即可，有時有用碘液者，此則於染色後處置之。

生色精類亦可用 Xylol 為透化劑，但最後再用丁香油更為有效，蓋丁香油有透化兼分化之作用也。

生色精又有鹽基性色素 (Basic dyes) 與酸性色素 (Acid dyes) 之別，鹽基性色素云者，乃此類色素之染色基 (Staining radicle) 在鹽基之位置上，故可與細胞之酸性部分如核，酸性染色質等作用而染色，反之，酸性色素則其染色基在酸之位置上，生色精之種類，雖為數繁多，其能適合生物學技術上染色之用者，亦僅下列各種而已，茲

將其列舉於下：

屬於鹽基性色素者：

俾斯麥褐	克里西爾藍
鹽基性品紅	龍膽紫
詹納斯綠 B	甲基綠
甲基紫	亞甲基藍
中性紅	蕃紅花紅
Thionin	甲苯胺藍

上述色素概難溶於水而易溶於酒精，於核、細菌等染色用之，其中有呈異常染色 (Metachromasy) 者。

屬於酸性色素者：

Aurantia	波爾多紅
剛果紅	曙紅
酸性品紅	愛理斯洛新紅
光綠	橙黃 G
Lycens 藍	青黑精
苦味酸	蘇丹 III
Trypan 藍	

酸性色素概溶於水而難溶於酒精，細胞質染色時多用之，染色前攪入極稀薄之酸液，可增加其染色力。

【1】酸性品紅

酸性品紅 (Acid magenta)	0.5 gr.
蒸餾水或 70% 酒精	100 cc

研究細胞之構造時用之，又適於神經組織及植物胚囊，花粉粒等之染色，其 2% 水溶液可作有色體，白色體 (Chromatophores, Leucoplast etc.) 之染色，但須處置 24 時以上。另有 Altman 氏酸性品紅，其製法為酸性品紅 20gr. 生色精水 (生色精油 5-10cc, 水 100cc) 100cc.

【2】品紅(凡僅書品紅二字者，乃指鹽基性品紅而言)：

品紅	50mg.
96% 酒精	2cc
水	100cc

用於細菌、核及木質細胞膜之染色，又常用作複染色劑。

【3】石炭酸品紅(Ziehl-Neelson's carbol-fuchsin)：

品紅	1gr.
純酒精	10cc
5% 石炭酸水	100cc

石炭酸水須以蒸餾水製之。此液為極優良之細菌染色劑，細菌假令其為難着色者，以此液臨之，一分間可使其染色，若容易着色之細菌，雖以 10 倍水稀釋之，亦可發生作用，此液又適於微粒孢子之染色。

【4】生色精水品紅(Ehrlich's anilin water of fuchsin)：

品紅酒精飽和溶液	11cc
生色精水	100cc

生色精水係以生色精油 5cc 加入於蒸餾水 95cc 中充分搖勻濾過而製造者。

生色精水品紅極富染色力，亦為細菌之良好染色劑，調製後宜靜置 12-24 小時，最合於用，惟不耐於貯藏（約一週間可用），如遇瓶壁或基底起沉澱時，即漸不可用。

【5】番紅花紅：

番紅花紅	10gr.	} 原液
95% 酒精	155cc	
蒸餾水	145cc	

原液可以長久保存，用時可以下列比例混合之：

番紅花紅原液	20cc
50% 酒精	80cc

番紅花紅為鹽基性生色精染料中最常用者之一，適於染色體、仁、中心體及含木質（如維管束中之木化細胞）或栓質之細胞膜之染色，普通呈豔紅色，切片如欲以此液染色，最好宜以 Flemming 氏或 Herman 氏液固定；至染色所需要之時間，則視材料而異，有數秒至數分間即可者，亦有需 24-48 時以上者。若材料過染，可以極稀薄之酸酒精（酒精 1000 分，鹽酸 1 分）分色。

新鮮木化組織之切片，應經過 95% 酒精 1 時以上，方可移入染色，其由保存於甲醛液中之材料而切片者，則須經水洗，35%，50%，70% 酒精，而後投入染色。

光綠可削弱番紅花紅之着色，又在生色精藍或 Delafield 氏蘇木精之後，須用酸酒精分色，如與此等染色劑併用行複染色時，番紅花紅應使之濃着色。

【6】Lyon 藍：

Lyons 藍	0.3 gr.
純酒精	100 cc

此染色劑亦生色精染料中，優良者之一，常與番紅花紅、洋紅等核染色劑配合而作複染色。

【7】龍膽紫：

龍膽紫	7 gr.
純酒精	100 cc

爲有絲分裂中紡錘絲 (Spindle fibres) 等之染色劑，以 10 倍蒸餾水稀釋之，可作細菌之染色。

【8】生色精水龍膽紫 (Koch-Ehrlich's anilin water solution of gentian violet)：

龍膽紫	1 gr.
95% 酒精	20 cc
生色精水	80 cc

爲優良而常用之核及細菌染色劑，切片經生色精水龍膽紫液染色後，如以 Gram 氏液處置之，可作細菌與組織之區別，其中細菌有着色者，有否者，因之，又可作細菌種類之鑑別（參看第十章第九節特殊染色法 Gram 氏染色之項）。至染色次第，係先將切片浸置此液中，至變黑 (2—3 分) 爲止，次移於 Gram 氏液，然後用純酒精至成灰色爲止，使之分色，若以番紅花紅複染之，尤能得極美麗之標本。

【9】亞甲基藍：

第一液	亞甲基藍	1 gr.
	蒸餾水	10000—20000 cc

第二液	1% 亞甲基藍水溶液	1 cc
	0.65% 食鹽水溶液	20 cc
第三液	亞甲基藍	5 gr.
	純酒精	100 cc

第一液適於動植物組織之生體染色，染色時間約為 10—20 分，細胞呈青色。

第二液亦適合生活材料之染色，如神經系統多用之，其染色方法為將新鮮材料置於載玻片上，滴加此液 2—3 滴，經 1—2 時後，軸索染為鮮藍色，若延長染色時間，即神經髓鞘亦可着色。

第三液為細菌染色劑，用時尚須以 10 倍蒸餾水稀釋之。

注意：亞甲基藍與甲基藍有區別，不可同一視之。

【10】鹼亞甲基藍 (Löffler's alkaline methylen blue):

亞甲基藍酒精飽和溶液	30 cc
一萬倍苛性鉀水溶液	100 cc

一萬倍苛性鉀水溶液之製法，先將苛性鉀製成 1% 溶液，次將此溶液 1 cc 注入蒸餾水 100 cc 中即可。

鹼亞甲基藍液為細菌（尤以白喉菌等桿狀菌為然）染色劑，因其濃厚着色，對於各種細菌均有良好效果。

【11】甲基綠：

甲基綠	2.5 gr.
冰醋酸	1 cc
水	100 cc

為核染色劑中優秀者之一，新鮮組織中之染色體，經此液處置，

瞬間可染色，材料之在昇汞液中固定者，尤見容易，但經醋酸或含醋酸之溶液處置者，則着色不良。

【12】甲基紫 0.001% 稀薄水溶液，可作生活細胞核之染色；但需時數小時。

【13】光綠 可使細胞質美麗染色，其 0.5% 溶液，可與番紅花紅或洋紅併用而作複染色劑，此液着色甚快，材料置是液中數秒間即可着色，酒精溶液則以 95% 酒精之 0.5% 溶液，最為切用。

【14】新桃紅 B:

新桃紅	1gr.
90% 酒精	100cc

最適合藻類之全裝置染色，若為切片材料，則須將其再攪稀用之，染色時間 24 時，經 95% 純酒精脫水，而至丁香油及二甲苯中透化，然後封固之。

植物材料經此處理後，其木化、栓質化、角質化、組織及染色體、中心體、仁、澱粉核等呈紅色，如染色過強，於封固後，用白布為背景，直接置陽光下晒之，可以分色，藍、綠、紫等色均可用之，以作複染。

【15】波爾多紅:

波爾多紅	1gr.
蒸餾水	100cc

多用於細胞質之染色。

【16】蘇丹 III 蘇丹 III 之酒精飽和溶液為脂肪類之優良染色劑，處理時間約需 5—10 分，隨後即用酒精洗滌，再以甘油裝置檢視之即可，酒精有溶解脂肪之性，故時間不宜過長，材料可以 Müller 氏

液固定之。

【17】俾斯麥褐：

俾斯麥褐	1 gr.
蒸餾水	100 cc
強酒精	30 cc

將俾斯麥褐投水中加熱溶之，次注入酒精，濾過後可用，此染色劑可使細菌及細胞核着色，惟對於前者之染色力甚弱，對於核染色則作用甚速，且無過染之弊，處置後宜以 95% 酒精洗滌。

【18】曙紅 製法有二種，一為 1% 水溶液，另一則為 1% 酒精 (70%) 溶液，前者帶黃色，後者染後易脫色，曙紅液常與蘇木精或甲基藍併用而作複染色，又於血球及植物篩管內蛋白質之染色，尤有卓效。

愛理斯洛新紅之性質與曙紅略同，其染色方法亦相彷彿。

【19】剛果紅 剛果紅之濃水溶液，可作嫩細胞膜之染色，細胞學上則用其 0.5% 水溶液，此色素又為孔雀綠或生色精藍後之複染色劑，材料如木材切片等自水中移入染色，15 分後取出水洗，至 85% 酒精中時，如前此之綠色或藍色透紅色而顯現時，即移於純酒精，然後經二甲苯而封固。

【20】橙黃 G 此染料之飽和水溶液為良好之細胞質染色劑，常與洋紅、蘇木精或番紅花紅併用，作切片之複染色，但此液易起黴，不可多量製作。

此色素之 95% 酒精飽和溶液亦可染色，時間 2—5 分。

【21】苦味酸 可染細胞質，故常與洋紅、蘇木精併用而為複染

色劑，其方法為切片經核染色劑處置後，用酒精脫水，各級酒精中須預注加少量苦味酸，使細胞質在脫水操作中着色，其須用酸酒精脫色者，則苦味酸僅能加入濃度較酸酒精為高之酒精中，以用之。

【22】Thionin 與甲苯胺藍 均為異常染色性色素(或稱變色性色素 Metachromatic dyes)，其 1% 水溶液，均可使核呈青色，動物黏液，軟骨基質及肥厚細胞內之顆粒染紅色。染色時間自 10—20 分以至 12—24 時不等，惟此二色素不耐長久保存，異常染色可以水液裝置檢之，在酒精脫水期中則漸變為青色。

第四節 金屬鍍色劑

金屬物質中之可為鍍色劑者，有硝酸銀及氯化金等，其着色原因，係利用此等金屬與組織飽合，使其起沉澱或還元，以下就此分項說明。

【1】硝酸銀 利用硝酸銀之着色方法有二：

A. 硝酸銀法 (The nitrate of silver method) 硝酸銀常用於新鮮神經組織之實驗，而使其鍍色，其法係將新鮮材料先以蒸餾水洗滌，次浸於 0.5—1% 硝酸銀水溶液中，約 12—25 時間(宜放暗處)，再以蒸餾水洗滌，然後投諸水或甘油中，並移於日光之下，至組織變褐色為度曝之(約 30 分即可)，若欲將材料製為永久標本，可以滴加甘油膠，而以貼金膠水封之，其須用加拿大樹膠裝置者，則須經 70% 酒精，施行脫水。

硝酸銀宜以玻璃器具盛裝，萬不可用金屬製者。

B. 重鉻酸硝酸銀法 (Golgi's bichromate and nitrate of silver

method) Golgi 氏重鉻酸硝酸之用法有三,此處所述者為其快速法 (Rapid process) 而為一般所廣用者,是法亦用於神經系統之研究。

將極新鮮之小片神經材料(以不超過 4mm 為佳)投入重鉻鐵酸 (2-2.5% 重鉻酸鉀 8 分, 鐵酸 2 分) 混液中硬化,其須即時硬化者可以 3% 重鉻酸鉀 3 分加 1% 鐵酸 1 分之混液處置之; 固定兼硬化期中宜置暗所 (冬期可置 25°C 之孵卵器內), 並須每隔數小時將液更換之, 二、三日後取出水洗, 1-2 秒即可, 隨以吸水紙除去其水份, 然後投入 0.75% 硝酸銀液中着色, 硝酸銀液每 12 時更換一次, 亦宜貯之暗所, 浸漬時自 24-48 時, 稍久亦無礙, 硝酸銀液在材料之充分硬化者用 1% 溶液, 軟弱者用 0.5% 溶液。

硝酸銀先製為 1% 水溶液, 次將此溶液 36cc 再加蒸餾水 10cc 即成為 0.75% 溶液, 亦可以下式成之:

硝酸銀(結晶)	1.5 gr.
蒸餾水	200 cc
濃蟻酸	1 滴

材料自硝酸銀液取出後, 移置 95% 酒精中, 約 30 分間脫水, 次純酒精中 15-20 分, 其間須更換純酒精一次, 再經醚酒精 20 分, 然後照火棉膠切片法切片。

切片須置石炭酸二甲苯中數分間浸之, 隨取起置載玻片上, 以吸水紙除去二甲苯, 然後滴加加拿大樹膠以成標本(不用蓋玻片, 蓋為防止因水分而使標本褪色)。

標本置顯微鏡下檢查, 非俟樹膠乾固, 不能運用高倍鏡頭。

【2】氯化金 用於角膜 (Cornea) 末梢神經之鍍色研究, 因其

價昂，除作特別研究外，不常於用，其以神經為材料者，可依下述方法處置。

取1% 氯化金水溶液 8cc 加蟻酸 2cc 傾入於試管內，使之數次反覆沸騰，冷卻後，以約 5mm. 大之材料投入之，置暗所浸漬，約 30—50 分後取出，此際如神經附有肌肉，則肌肉變成黃色，隨將材料移入蟻酸液（蟻酸 10cc，蒸餾水 40cc），但須避免日光之直射，此際因氧化還元作用，材料之外部漸呈紅紫色，至現色為止所需要之時間約為 24—48 時。

材料經氯化金液處置後，經水洗，然後自低度酒精漸次移置高度酒精中，使之硬化，在 90% 酒精中應置暗所浸漬 8 日以上，此後可將其切片，或將其中一神經纖維及其末梢分離，加甘油膠及蓋玻片，即成標本。

第八章

分離液、脫灰液及保存液

動植物之組織與器官，固可以精密器械，將其截為薄片，以供研究，然亦有非經某項處置，不足以達到目的者，所謂某項處置，即係利用化學藥品使組織與器官軟化與脫灰，而易於切片是也，至設欲作生體觀察（最好為游離或近於游離之細胞）或組織羣中某細胞之單獨觀察，再或以器械切片，而不能達到觀察目的時，則亦惟有利用某數種化學藥劑，使其分離變成獨一之細胞而已；至其原為單獨細胞，如花粉、孢子、血球、生殖細胞及下等單細胞生物等，則當然無作是項處置之必要也。茲先請言分離液，次脫灰液，然後及其他。

分離液之種類頗多，而動植物組織所用者，亦各不盡同，茲將其分為植物組織之分離液與動物組織之分離液二節述之。

第一節 植物組織之分離液

植物組織之結合不緊密者，例如下等植物（如水綿，*Horridium* 等），根冠細胞，過水組織（*Hyperhydrische gewebe*），柱頭，葉之海綿組織（*Spongy tissue*）等，可用機械方法（*Teasing method*），使細胞獨一分離，否則須施用下列化學的方法。

【1】氨水、苦味酸及過氧化氫 三者均可作已固定之根端細胞之分離液，但有時須加熱至 $40^{\circ}-50^{\circ}\text{C}$ 方可生效，細胞內容經此等藥劑處置後，仍能保存，故細胞可以在游離之狀態觀察之。

【2】鉻酸 鉻酸之濃水溶液（25% 以上），可作各種組織之分離液。

【3】Schultze 氏分離液 (Macerating mixture):

氯酸鉀	1gr.
強硝酸	50cc

如木材等之小片材料，置此液中 2-3 分間沸煮，至發泡為度，次取下靜置之，至材料變白色（前後費時 4-5 分即足），隨後充分以水沖洗，移於培養皿中，以針尖裂之，使其分離，或移入一廣口瓶中，任意搖盪之，使其自行分離亦可，材料經分離而為獨個之細胞後，可用離心器將其收集，以便於以後染色，製作標本。

Schultze 氏分離液因能使細胞之中層 (Middle lamella) 溶解或削弱其凝結性，故細胞彼此易於分離，惟其藥性猛烈，易於損害組織，但處理時間短縮，是則其優點也。

【4】Jeffrey 氏分離液:

5-10% 硝酸	1分
5-10% 鉻酸	1分

將植物小片材料投此液中，在平常溫度之下，約經 24-48 時，即可發生作用，若微溫之，其作用更速，俟分解作用完成後，經數次之沖洗，然後如上法馴之，即得獨個之細胞。

上液之藥性較為平穩，故作用亦緩慢。

【5】氯化鉀、氯化鎂 氯化鉀 $\left(\frac{m}{100}\text{KCl}\right)$ ，氯化鎂 $\left(\frac{m}{100}\text{MgCl}_2\right)$ 二液均為根端細胞(生活材料)之分離劑，材料置任何一液中，經 12—26 時即可，至分離之原因，乃謂由於材料在不含鈣(蒸餾水亦可)之水中，細胞失去其可溶性之類脂體(Lipoide)所致，如是分離後之細胞，可用加入 1—5% 蔗糖或龍鬚菜素(Asparagine)等有機物質及 0.002% COSO_4 之 Knop 氏液或其他培養液，以培養之。

附：Knop 氏液之組成分如下：

$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 + 4\text{Aq.}$	1 gr.	KCl	0.12 gr.
$\text{MgSO}_4 + 7\text{Aq.}$	0.25 gr.	FeCl_3	痕跡
KH_2PO_4	0.25 gr.	H_2O	1000 cc

【6】苛性鉀 葉片或莖、枝上之表皮，及表皮上之毛茸、氣孔等，其難於自葉肉或皮層剝離時，可以 5% KOH 煮之，至變透明為度，即能達到目的。

第二節 動物組織之分離液

動物組織之分離液，亦視所用之材料而不相同。

【1】Gage 氏甲醛分離液(Formaldehyde dissociator)：

甲醛	0.5 cc
0.7% 食鹽水	250 cc

上液適於上皮及神經細胞之分離，其所需要之時間約數小時，材料經此處理後，移於載玻片上，加覆蓋玻片而以針柄輕微敲擊之，則細胞必自分散。

設欲將標本染色，則於蓋玻片之一緣，加明礬燕脂液一滴，以吸水紙自相對之一緣吸之，則染色液必自通過材料而流出，隨靜置之，使其染色（須留意勿使染色液蒸乾），如是二、三時，加入甘油，可以檢視之，若欲製為永久標本，則須於染色後，施行脫水，然後照普通方法，以加拿大樹膠封之。

【2】硝酸甘油液 (Mac Callum's macerating fluid):

硝酸	1分
甘油	2分
水	2分

適於肌肉，尤以心肌為然及胚胎之分離，時間平常約需 8 時至 3 日以上。

材料經上液處置，2 日後，傾去其液，更換以水，隨將容器搖盪之，以便組織分離，分離之小片組織在解剖鏡下，再以兩針尖自一端，將其剔開，如是，反覆數次，至所欲達到之目的為止。

分離之標本，假定其為纖維，經脫水、透化等步驟後，可用加拿大樹膠封固，其欲染色者，以明礬洋紅處置，另以甘油裝置檢視之。

【3】Ranvier 氏三分之一酒精 (One-third alcohol) Ranvier 氏用 35% 酒精為分離液，最為最通用之良好分離液者中之一種，適合於上皮細胞，腺細胞及橫紋肌等之分離，惟材料浸漬於此液中，須達至 24 時以上。

【4】苛性鉀液 用其 35% 水溶液，以作肌纖維之分離，材料浸置此液中 20—60 分，然後以針尖剔出之，但不必注加水液，以免破損。

經上液分離之材料，祇能作臨時標本，若能以醋酸中和其鹼性，亦可製為永久標本。

【5】鹽酸 純酸鹽用於腺小管之分離，普通以約 1cm 大之小片材料，投入 10cc 之純鹽酸中，經 10—20 時後，反覆以水沖洗之，然後將材料取出，加甘油一滴，用針尖剔開即可，如是所得之標本，可以永久保存。

【6】Schiefferdecher 氏液：

木精	5cc
甘油	50cc
蒸餾水	100cc

Schiefferdecher 氏液適於神經系統之分離，材料須浸置數日以上。

【7】重鉻酸鉀液 重鉻酸鉀之 0.2% 水溶液，適於神經細胞及上皮細胞之分離，時間約需 2—3 時。

【8】氯化鈉 氯化鈉之 10% 水溶液，為腱 (Tendon) 之優良分離劑，此液之分離原因，在於溶解上皮細胞及結締組織之固結物質 (Cement substance)，分離後之細胞，經苦酸飽和水溶液染色 (24—36 時)，水洗後，再以稀釋之酸性品紅酒精溶液處理，可以獲致良好之結果。

第三節 植物組織之脫灰液

植物如木材，果實之類，其組織之堅硬者，如欲切片，非事前施行脫灰，使其軟化不可，脫灰應用脫灰液，其要者與處置方法，詳述於

下。

【1】氫氟酸 2% 氫氟酸水溶液用於一般組織之脫灰，其須急欲收效者，則改用較濃厚之 10% 溶液，至其為極堅硬或久經乾燥之材料，則宜用更濃厚之溶液，如用 30—40% 等，惟事前須排去空氣，空氣之排除，可將材料置水中，使之煮沸，復浸於冷水中使冷，如是反覆三、四次，可使細胞間之空氣排出，材料浸於氫氟酸中，較軟者，須 1—2 週或 3 週間，至極堅硬者，則需時達數月之久，經氫氟酸處理後，須充分沖洗。

氫氟酸之軟化材料，在除去材料之礦物質，使其變軟，其與材料如木材等內之草酸鈣、樹脂、及碳酸鈣結晶體不起作用，而於材料之構造，亦無顯著之變化，Diaphenol 可代替氫氟酸而為脫灰液。

【2】鉻醋酸溶液、Flemming 氏液及昇汞醋酸液 上述三液，均可用作植物組織之脫灰。

【3】甘油酒精混液 甘油與 30—50% 酒精等量混液，可作新木材及微小種子之軟化劑。

第四節 動物組織之脫灰液

骨骼、齒牙等材料之堅實者，欲將其製片，除琢磨法外，惟一方法，祇有將其所含鈣質等灰分除去，使之軟化，然後始可依法切為薄片。

惟設欲將材料施行脫灰，則事先必予以適當之固定，如固定不完全，則材料雖已脫灰，終必獲致不良結果，雖然亦有人同時應用固定而兼行脫灰之方法者，但其所得結果，僅能偏在一方，實際上無一

舉兩全之美事也。

脫灰多應用強烈之藥力，此在組織之保存上，似不無顧慮，但亦可視處理之緩急，而略有補救者，如處理可緩者，用藥力較和緩之藥品，則其侵害組織之程度，當略能減輕，惟緩急方法之選擇，固須視組織中所含灰分之多寡及材料之大小而定也。

關於脫灰所用之藥劑，大部為酸類，其配製方法亦有多種，茲將其常用者，分項說明。

【1】硝酸 為脫灰最顯著而常用之一種，既無如鹽酸、硫酸使組織膨脹之虞，亦無生石膏沉渣之弊，用量為其 2—15% 水溶液，但亦有用酒精溶液者，其配製法為：

強硝酸	10cc
70% 酒精	90cc

處理時宜用相當之液量，並須每日更換，若嫩骨及 Fetal bones 等，可用硝酸 1 分，酒精 99 分之混合液，材料經此液處置軟化與否，可以針刺試之，其為水溶液浸軟者，再浸於 5% 明礬水液中，約 24 時，然後充分沖洗，移 70% 酒精中，加碳酸鈣，至酸性全除後，置 90% 酒精保存，其為酒精溶液處置者，可直接經 70% 酒精，而入 90% 酒精中保存。

【2】硝酸明礬液：

明礬飽和水溶液	1 分	} 甲液
水	1 分	
甲液	20 分	
濃硝酸液	1 分	

材料置上液中浸漬 2-3 日，其間須時時更換新液，明礬之作用在除去因硝酸而起之膨脹現象。

【3】鉻酸 1% 鉻酸水溶液可為分離劑，但多與硝酸合用，其配製法為：

1% 硝酸水溶液	70 分
硝酸	3 分
水	200 分

上液為良好之脫灰劑，其作用較 10% 硝酸液為慢，骨片之大者，可將鉻酸量，增加至 10%，至骨片之薄小者，則宜以下法處置之。

鉻酸	0.4 gr.
硝酸	5.0 cc
蒸餾水	100 cc

【4】藤黃精 投藤黃精 (Phloroglucin) 1 gr. 於 10 cc 純硝酸中，而以溫熱助其溶解(加熱生亞硝酸之褐紅色蒸氣同時並生熱)，然後再加水 100 cc 硝酸 10 cc 之混液，以用之。

上液之作用極迅速，嫩骨普通半小時，老骨二、三時即可，材料經此液處理後，宜充分沖洗(約需 2 日)，以 Delafield 氏蘇木精染色，再以流水沖洗 12 時，然後照通常方法封固之即可。

藤黃精本身無脫灰能力，僅在保護組織，免受硝酸之強烈損害作用而已。

【5】Von Ebner's fluid:

95% 酒精	500 cc
水	100 cc

氯化鈉	2.5 gr.
純鹽酸	2.5 cc

Ebner 氏液，亦爲一優良之脫灰劑，以骨片之基本組織並不因此而膨脹故也。

【6】苦味酸 苦味酸之飽和水溶液，可作微細骨片之脫灰，且兼可染色，材料經此液處理後，須以 70% 酒精洗滌。

此外磷酸、亞硫酸、硫酸、蟻酸、醋酸、三氯化醋酸等，均可用作脫灰劑，惟其效力微小，需要時長，或有使組織膨脹，或減低染色性者，種種弊端，不一而足。

第五節 植物組織之保存液

固定劑中有不少種除固定作用外，尚兼有保存材料之效果，此在第六章中屢有述及者，茲不厭詳，將植物組織之保存液，陳述於下，至動物組織之保存液，則於下節述之。

【1】酒精 70% 酒精爲普通植物組織之保存劑，爲減少水分之蒸發，可注加 5-20% 之甘油，若材料之較硬固者，可用 50% 酒精，如屬細胞研究材料或脆弱者，則宜用其 85% 溶液，至材料之將用火棉膠或石臘埋漬者，則忌用甘油。

【2】甲醛酒精：

70% 酒精	96 分
甲醛	4 分

爲最普通之固定兼保存液，尚有一種配方，如下：

50% 酒精	100cc
甲醛	6.5cc
冰醋酸	2.5cc

上液為植物組織之良好固定劑。

【3】甲醛 甲醛之 4% 水溶液，亦為良好之保存劑，其須用中性甲醛者，可滴加硼砂，至遇 Phenolphthalein 呈紅色為度。

【4】Keefe 氏液：

50% 酒精	90cc
市販甲醛	5cc
甘油	2.5cc
冰醋酸	2.5cc
氯化銅	10gr.
硝酸鈾	1.5gr.

Keefe 氏液，亦為良好之固定兼保存劑，若材料為黏菌類(Myxophyceae)，則宜用醋酸銅以代替氯化銅。

【5】Stromsten 氏液：

10% 鉻酸水溶液	16cc	} 2分
10% 醋酸水溶液	100cc	
水	54cc	
甲醛		1分

上液亦為佳良之固定兼保存劑。

第六節 動物組織之保存液

【1】酒精 動物組織經固定、水洗及脫水等手續後，可投入 80% 酒精中保存，以俟將來之處置，材料在 80% 酒精中，既少釀成組織之分離，較之貯藏於 90% 者中，又可節省酒精之消費，但材料之經鉻酸及其鹽類固定者宜置暗處或以褐色瓶盛裝，免除受光線之影響而生沉渣。

【2】甘油酒精混液 材料之在酒精中保存者，每因脫水時間長而常生變化，如過於硬化，並起收縮，或減低染色能力等；若欲作類脂體之觀察時，尤宜忌用；Flemming 氏有見及此，曾主張用酒精甘油混液以事代替，其配法為：

酒精	1 分
甘油	1 分
水	1 分

材料經固定後，在上液中保存，可免除在酒精中貯藏之種種弊端，Lee 氏謂，在上液中，如能加少量之醋酸（約為 0.5—0.75%），尤能增加保存效果。

【3】石蠟 酒精中保存之材料，僅能適於較粗之工作，若神經學者之欲以金屬着色者，尤不宜於用，故材料之須切片者，經脫水，透化後，以石蠟埋而保存，可謂萬全；用石蠟埋漬保存，不僅適用於動物組織，即植物材料須切片者，應用此法，極為妥當。

此外洋杉油亦可為組織之保存劑，其效果不下於石蠟埋漬，但貯藏則不便利。

第九章

顯微鏡標本之製作方法詳論

顯微鏡標本，依其保存時間之長短，有臨時標本（Temporary preparation）與永久標本（Permanent preparation）之別，茲先請言臨時標本。

第一節 臨時標本

臨時標本乃指臨時檢視所製作之標本而言者，其法甚簡便，且主於研究生材料時用之。

製作標本時，若材料為微小之生物而生活於水中者，可以吸取之，或者，在植物方面如花粉、澱粉等不須切片者，則以針尖取之，至材料之須切片者，則用剃刀之類銳刀，儘可能切為薄片，薄片切出後，即移入水中，以免乾燥卷縮，不論其為何者，總宜將材料置於載玻片之中央，除取自水中者外，並須滴加水液，加覆蓋玻片，然後置鏡下觀察之即可。

乾材料之須滴加水液，加覆蓋玻片，蓋在防除透射光線之分散，灰塵之混入，以及物體之乾燥卷縮或飛散，惟滴加之水量，如過不足，則易起汽泡，使視線不顯明。反之，過量則水溢出蓋玻片之四周，使材

料及蓋玻片浮動，亦有礙檢視，如屬前一種情形，可以吸管滴加適宜之水液於蓋玻片之一緣，則水液必漸次流入而將氣泡縮小或全壓出之，若遇後一種情形，即以吸水紙自其一緣吸之，以去其過剩之水，如是兩者均可補救。

惟材料常有因加水而變質或全不能以水處置者，此則可以甘油、酒精、3%食鹽水或其他藥液代替。生材料常因久浸水中，或膨脹或收縮而變形，以食鹽水代用為最宜。

材料之須油類裝置檢視者，應除去其水分，否則必因油質而生曇濁。

臨時標本所用材料之須切片者，多以徒手行之，稱為徒手切片 (Free hand section)，又稱為剃刀切片 (Razor section)。

如欲作核之觀察，臨時尚須施以適當之染色，如用醋酸洋紅或其他化學反應藥劑，然後更易於達到觀察目的，若檢視血球，加入1%醋酸溶液，則核更為明晰顯現。

第二節 永久標本

永久標本者，標本製作後能長久保存之謂也，永久標本之製作方法，至為複雜，製作者尤須具有廣博之智識及精巧而熟練之技術。

一般動物組織與植物組織之幼嫩部分，其標本製作方法，大致相若，惟植物組織所用於固定，硬化、埋漬、染色等之藥液，常須稀薄，且無長時間積延之必要，又植物組織須藉化學反應以研究其底蘊者不少，為此目的而使用之藥品，特稱為反應劑 (Chemical reagents)。

凡製作永久標本，須將材料固定，動物材料在固定前，尤須施行

殺生 (Killing), 然後經過硬化、水洗、脫水、埋漬、切片、染色、透化、封固等措施而成標本。

永久標本中視其切片與否, 有(一)非切片標本, (二)徒手切片標本, (三)組織分離標本及(四)切片機切片標本之別, 其製作方法將依次分述於下, 惟用切片機之切片標本製作方法, 至為繁雜, 將另立節詳論之。

【1】非切片標本之製法 材料為液狀物質, 或為小形之動植物, 或以龐大倍率低弱之顯微鏡可檢視者, 均不須切片, 可以製成標本; 其中材料為液狀物質, 如血液、精液等, 將其塗擦於載玻片之上, 而製成標本者, 曰塗布標本 (Smear over preparation 或單稱 Smear preparation)。至小形動植物之整體封固者, 則曰整體標本 (Total preparation)。

A. 塗布標本 關於細菌與血液等之塗布標本製作方法, 將於第十二章詳作說明, 此處僅就精蟲及動植物器官或組織一部之塗擦方法, 略加申述。

精蟲塗布標本之製作方法 取欲研究之某種動物之睾丸剖開之, 將其內部物質均勻塗擦於載玻片之上, 及其略乾, 注以 Bouin 氏或 Flemming 氏液, 數分間令其固定, 隨以水洗(必要時可施行漂白), 經各級酒精脫水, 在 90% 酒精中, 可以放置一夜, 然後用 Heidenhain 氏蘇木精染色, 以加拿大樹膠封固之, 即為精蟲之塗布永久標本。

花藥之塗布標本 植物器官如花藥(未成熟者)或授精而未成熟之種子, 將其置於載玻片上, 以針尖裂開, 注醋酸洋紅液 2-3 滴, 二、三分間後, 加覆蓋玻片, 輕微壓之, 使材料內部之物質散開, 然後

以凡士林圍封之，如是製作之標本，雖不能長久保存，亦可供一週以上時間之研究。

花藥之塗布標本在研究核之減數分裂 (Meiosis or Reduction division) 狀況，染色體之大小，形狀及數量等，在洋紅液處理後，更以氫氧化亞鐵 (Ferric hydroxide) 之水溶液臨之，使其由紅色變為青色，則於觀察更為清晰。

B. 整體標本 小形動植物如肝蛭、水媳、藻類、蕨類之原葉體 (Prothallium) 及浮游生物 (Plankton) 等，常將其整體封固，製為標本。

肝蛭 (*Clonorchis sinensis*) 之整體封固方法，將材料投入 Bouin 氏或昇汞液中固定，隨水洗，以硼砂洋紅染色，以酸酒精分色，然後經脫水，透化等措施，而以加拿大樹膠封固之，惟因肝蛭類之形體常伸縮不定，在用 70% 酒精脫水期間，宜將其緊夾於 2 載玻片之間，以使其扁平，而易於觀察，其體形有彎曲不正或彼此有厚薄不均者，宜即修整之。

蕨類原葉體之整體標本製作方法 取蕨類之原葉體投諸甲醛醋酸酒精混液 (甲醛 3cc、醋酸 5cc、70% 酒精 92cc) 中施行固定，在此液中可除去細胞中葉綠素及假根間之空氣，次以 50% 酒精去其酸液，再次水洗，用卵白將原葉體之表面黏貼於載玻片之上，為防止材料之皺縮，須於水中完成之；材料經此處置後，置空氣中乾燥，約需 24 時，以 50% 酒精脫水，以番紅花紅酒精溶液染色，再用 3% 光綠酒精 (90%) 溶液施行複染，然後經脫水，透化等手續，而以加拿大樹膠封固之即可。

C. 懸滴標本 懸滴標本(Hanging drop preparation)雖為永久標本,但為一稍具持久性之特殊標本,因其不須切片,故於此提及,其方法將於第十二章詳述之。

【2】徒手切片標本之製法 材料之可以徒手切片者,即以剃刀(西式剃刀最便)切之,如材料過小,不能以手指定住者,可將其夾於接骨木,木髓或硬化之肝臟中以切之,用以夾持之物體能取其與切片材料同一硬度者為佳,至其不害刀鋒之材料亦可用之。

用以夾持之肝臟,普通用牛肝或犬肝,取其大約20(5×2×2)立方公分者,浸置95%酒精中,約24時以上,使其硬化,以後更換新酒精藏之,可以備用。

徒手切片法,先將木髓沿其直徑縱開之,隨將材料夾入,用左手持住,以右手執刀,刀口平放並面對本身,向左方推切之,初時可任意截切,至得一平滑面以後,則留心用刀,以獲一欲求得之薄片。

材料之在酒精中貯藏者,在截切時,宜常將刀面用70%或80%酒精濡濕之,切片之須以水裝置者,則用針尖或毛筆移於50%酒精中,然後經35%酒精,而移入於水,浸置時間,各3-5分足矣,若欲施行染色,則處以適當之染色劑,然後經洗滌、脫水、透化等手續,置於載玻片之上,而以樹膠封固之。

在加覆蓋玻片時,須用左手之拇、食兩指將蓋玻片之相對兩邊夾住,同時使其底邊斜靠於載玻片上材料之左側,右手則用針尖將蓋玻片托住,然後使之與樹膠接觸,徐徐放下,至樹膠隨蓋玻片之放下而完全分開為可,如是,決不致有空氣或氣泡而遺留於蓋玻片之下,萬一有氣泡遺留,可以針尖輕微施壓於蓋玻片之上,以徐徐驅出

之。

凡材料之含脂質或避忌酒精及揮發油類者，不宜用樹膠而應以甘油裝置之，用甘油等液體裝置，在蓋玻片之四周，須用貼金膠水，蠟(Bermsteinlack, 或土瀝青蠟)或其他蠟劑封之。

【3】組織分離標本之製法 設欲作組織中細胞之個別研究，以明其構造與性質，或測量其大小，長短則必須用藥劑，使其自組織分離之；分離所用之藥劑，種類繁多，而動植物所用者，亦微有不同，此在前章業已述及者，至分離之方法，動植物彼此大致相若，僅隨材料之種類，藥液之性質及所要時間之長短，不同而已。

分離之細胞，其須染色者，則處以適當之染色劑，使其着色，然後經水洗、脫水、透化、將材料置於載玻片之上，加樹膠以封固之。

第三節 永久標本——切片機切片標本之製法

切片機切片標本(Section preparation)之製方法，至為繁雜，因其所用埋漬材料不同，又有石蠟埋漬切片標本，火棉膠埋漬切片標本及凍結切片標本等之別，茲將其依次詳論於下。

【1】石蠟埋漬切片標本：

A. 固定(Fixation) 係利用種種藥液，將生物體之細胞、核、原形質、細胞含有物及組織等凝結之，使其與當時之狀態無異，易言之，欲使標本材料保持其自然之狀態，須施行固定，固定所用之藥液，稱之為固定劑(Fixative, Fixing agent)，至其種類與用法在第六章業已述及，惟固定應注意之事項，為(一)不能使細胞與組織收縮或膨

脹，(二)不能使細胞內之物質融解或死後起變化及(三)於染色或其他之措施不發生障礙。

惟材料經過固定劑之處置，不免有細胞構成物質發生位置、形態、構造、性質、大小及其他物理化學上之變化，此種因固定而新發生之現象或構造，一般稱為固定構造 (Artefact)，但從狹義上解釋之，所謂固定構造，乃指因固定所發生不良之一部分構造而言者。

動物在固定前，須行殺生 (Killing)，殺生有緩急之別，緩者用醚、氯仿、碳酸氣、青酸鉀、硫酸鎂、菸葉精古柯鹼 (Nicotin-cocain) 及弱酒精等麻醉性之藥液，有時且用冰塊，徐徐將動物殺死之，若海產動物，任何一種，以硫酸鎂或醚之海水飽和溶液臨之，藉麻醉以殺生，最為有效，應用上述藥液之方法，係在組織未收縮以前，先將動物麻醉，然後取出所需用之部分，投入固定劑中，使之固定並硬化；急性殺生，係將動物投入熱湯或加熱之固定劑中，即時殺死之，同時兼有固定作用，此法於組織死後，少起變化，常為技術家所廣用。

固定藥液須使其滲透組織及細胞內，其所需時間之長短，隨藥液之性質、分量及標本之大小、種類而異，其中有固定數分間即足者，亦有需時數日以上者，普通材料小，則固定易，大抵材料取其長約 6mm. 或 3 立方 mm. 上下者即可，固定劑之量，宜為材料量之 20—50 倍，裝固定液之瓶底，須放置脫脂棉，使固定液得從四方平等滲入組織內。

海產材料較陸生者，其固定液之滲入組織較難，故須略用強烈之固定劑，又海產材料須預將其水分除去，蓋為防除酒精或其他固定劑之在標本面發生沉澱故也。

凡材料之不易下沉者，可用空氣唧筒抽去其中之空氣，則能補救。

B. 硬化(Hardening) 材料經固定劑之處置後，同時又可使其硬化，至硬化之程度，則胥視固定液之種類而定，硬化可使材料在切片時，增加適當之硬度，以便於截切。

材料經固定劑處理之後，須施行洗滌，及用酒精脫水，在脫水期間，因酒精之作用，亦可增加標本之硬度。

材料經過固定，硬化之措施後，若欲作暫時之保存者，可以酒精或甘油酒精混液以保存之，其方法見前章。

C. 洗滌(Washing) 材料在固定後，須將滲入其中之固定液洗去之，以免在染色或其他措施上發生困難，洗滌有用水(有時須流水)者，有用酒精者，用酒精洗滌，其濃度應與固定液相等，至洗滌時間，則依固定劑之種類而有不同，但最少需一時以上，其需半日，多日者亦有之。

用流水洗滌時，須將瓶口用紗布包紮，以免材料之沖壞或浮出，必用水洗者，如以酒精洗之，則材料必因此而生沉澱。

茲將固定液之可用水洗者，酒精洗者各數種列舉於下：

須水洗者：

Flemming 氏液

Zenker 氏液

鐵酸

Helly 氏液

須用酒精洗者：

Bouin 氏液

Carnoy 氏液

苦味酸

Juel 氏液

Perenyi 氏液	醋酸
------------	----

食鹽昇汞液	硝酸
-------	----

除 Garnoy 氏須用 94% 酒精外，餘均可用 70% 以下者，洗滌亦有宜用 30-40% 者。

水、酒精均可洗者：

昇汞	甲醛
----	----

Orth 氏液

D. 脫水 (Dehydration) 材料切片須用石蠟埋漬，爲使此物質易於透入組織內，必須施行脫水，以除去其中之水液，蓋組織內蓄有水液，既妨礙埋漬物質之滲入，亦易使保存中之標本脫色或腐壞。

普通用酒精以脫水，其方法係預準備 15、35、40、50、60、70、85、95 及 100% 各級酒精，然後將材料自低度酒精開始，漸次移置於高度酒精中以脫水，在每級酒精中處置所需要之時間，依材料之種類及大小，而略有不同，一般言之，均在 2-3 時以上，若在 100% 酒精中，則放置 24 時以上，亦無妨礙。

植物因有極發達之細胞膜，液體難於浸潤，故脫水措施略須延長，其較動物材料之操作，尤須徐緩行之，任何材料欲其完全脫水，須作下述長時間之處置，即將材料置 15、35、40、50% 等四級酒精中共 24 時，60、70% 酒精中共 24 時，85% 酒精中 24 時，使材料硬化最佳之處，厥在於此，宜將酒精二、三次更換之，95% 酒精 24 時，最後純酒精中 24 時，亦宜更換數次。

有用丙酮代酒精行脫水者，脫水時間在一小時以內，欲得純粹無水之丙酮，可用硫酸銅以去之，其處置方法與用硫酸銅製純酒精

者同，丙酮之脫水力甚強，沸騰點較低（ 56°C ），但使組織收縮之力甚強，則為其缺點。

Kisser (1929) 氏謂：純酒精價昂，且易使材料變脆弱，完成脫水，可以下法代替之，即將材料自 95% 酒精順次移入於 95% 酒精與二甲苯或石油精（各為 3 : 1, 2 : 2 及 1 : 3）之三種比例之混液中，次經二甲苯酒精（純二甲苯 100cc + 96% 酒精 13.6cc）或石油精酒精（純石油精 100cc + 96% 酒精 7.2cc）中，然後以純二甲苯或純石油精中而完全脫水。

E. 媒浸 (Intermedium) 欲使埋漬物質，容易滲入標本組織內，且使標本明晰，則須除去透進組織中之酒精成分，欲求達到此目的，必須將標本施行媒浸，媒浸則在利用使標本透化之藥劑，其要者，有：

二甲苯	丙酮
甲苯	四氯化碳
氯仿	松節油
汽油	醚
蒸木油	石炭酸

媒浸劑亦稱之為誘導劑，其用法依埋漬方法而不相同，在石蠟埋漬法係利用二甲苯或氯仿，其方法如下：

(a) 將材料浸置於二甲苯（或氯仿）與純酒精（約為 3 : 1）之混

注 既用酒精之利用 一經用為脫水之酒精，其在 85% 以上者，可再數次用為脫蠟，用於脫蠟之後，再三可供玻璃片之洗拭及酒精燈之燃料，至低級酒精在脫水用過後，亦可作不用玻璃片之洗滌。

液中 0.5—1 時。

(b) 置純二甲苯(或氯仿)中 0.5—3 時,用氯仿時,至材料下沉爲度,約需 5 時。

(c) 在施行透化前,可浸於洋杉油中 3 時以上,以去酒精。

標本經上述藥液處理後,如仍見曇濁時,則爲水分未脫盡之象,或者因空氣中含多量水分之故,此際可將標本投入純酒精中,以重行脫水。

F. 浸置 (Immersion) 浸置乃指使埋漬劑滲入組織內之措施而言者,其所用之浸置藥劑與方法,則隨埋漬法而不相同,以下試述石蠟埋漬法之浸置程序。

石蠟依其熔點之高低,有軟硬之別,軟蠟(Soft paraffin)之熔點爲 45°C,硬蠟(Hard paraffin)則爲 56°C,冬季或作厚切片時,用較軟之蠟,夏季或作薄切片時,則宜用硬蠟,或隨當時之氣溫,可將兩者作適宜之混合以用之,例如以軟蠟 30 與硬蠟 25 之比混合,則可作成熔點 52°C 之蠟以用之,至石蠟熔點在某一定溫度下,能作之切片厚薄,可參看下表:

室溫 (攝氏)	石蠟熔點 (攝氏)		
9°—12°	52°	48°	45°
12°—15°	56°	52°	48°
15°—18°	58°	55°	52°
18°—21°	60°	58°	55°
21°—25°	62°	60°	58°
25°—28°		62°	60°
28°—31°			62°
切片之厚度 (μ)	3—5	5—8	8—10

如用硬蠟，在使用前，須沸煮之，至變薄茶色爲度，然後易於切片，若以硬蠟 100gr. 蜜蠟或白蠟 5gr. 之比例混合煮之，尤易於作連續切片。

石蠟置融蠟器中熔解時，融蠟器之溫須高過石蠟熔點之 3°C 或略上之，過度高溫將使材料變脆弱，甚至於破壞，亦不相宜。

材料經媒浸劑處理後，可照下列次序施行石蠟浸置 (Paraffin infiltration)。

(a) 置下式之混合液中 1—2 時或 24 時以上。

二甲苯(甲苯或氯仿)	10 分	} 置熔蠟器內，可供多次應用。
軟蠟	3 分	

(b) 移於軟蠟中，放置熔蠟器內，浸置 24 時以上。

(c) 移於熔點 52°C 或較此更硬之石蠟中，亦在熔蠟器內浸置 1—2 日，其間須更換石蠟最少三次。

石蠟一度用過，可以再三利用，惟品質略變黃而已。

G. 埋漬 (Imbedding) 埋漬乃指埋漬劑已滲入組織內，同時將其包藏之，使石蠟凝固成一定之形狀而言者。

石蠟埋漬法在埋漬前，須準備使石蠟凝固之容器，容器有磁製者，有用培養皿者，亦有用鉛特製之石蠟埋漬框(即將鉛製成兩 L 字模型，用時將此二 L 字互相倒放玻璃板上，作成長方形之方框)者，亦有臨時以硬紙作成如火柴盒大之小盒以應用者，任何一種，用時塗甘油少許於框之內面，然後自熔蠟器取出石蠟連材料傾入之，隨即用燒熱之針，迅速將材料作適當之排整，而以呼氣呵之，至表面略凝固而不透明時，急投水中以凝固之，其所以急投水中凝固者，以徐

徐冷却之石蠟，品質變粗，頗不宜於切片故也。

如石蠟品質不良，或投入水中凝固，因水過冷，將使凝固之石蠟從中心發生放射狀之龜裂，又在埋漬時，因石蠟之徐緩冷却，或埋漬前石蠟之已開始凝固，或浸置期中，石蠟之更換次數不足，或氯仿二甲苯等之過量混入，凡此諸種，均可使石蠟發生白色曇濁，均不適於切片。

若組織脆弱之材料，可如下法配製之石蠟埋漬之。

熔點 60°C 之石蠟	85 分	} 置 60°C 之熔 蠟器內約一 時間熱之。
三脂蠟酸甘油(Stearine)	10 分	
白蠟	5 分	

上述方法，自固定以迄於石蠟埋漬，須時頗久（至少須一週以上），若為極小之材料（長約 2 mm. 以下者），照下法處置，能縮短時間。

(a) 固定兼脫水，材料置下液中 1.5 時：

純酒精	60 cc
丙酮	100 cc
碘(結晶)	2-3 片

上液以無水流酸銅粉末，使之充分脫水。

(b) 氯仿或四氯化碳中約 30 分。

(c) 氯仿或四氯化碳與石蠟之等量混液中約 15 分。

(d) 純石蠟中 15 分(保持攝氏 55° 之溫度)。

(e) 置 56°C 之真空中 15 分。

(f) 埋漬。

照上法在 3 小時之內，可將材料埋漬完畢。

尚有一迅速方法，適於花蕾，根端等之埋漬，其法如下：

將材料置醋酸洋紅中加熱煮沸，次以純酒精處置，然後即可以石蠟浸置而埋漬，是法最適於研究染色體之構造。

材料經埋漬成塊後，即可削整成骰子形，使其固着於木塊，以便截切，其暫時不切片者，則施以符號，摘要紀錄，投諸空瓶內以保存之。

H. 固着(Sticking) 乃指將切成骰子形之埋漬材料，使其固着於方形之木塊或其他便於截切之物體上而言者。

石蠟埋漬材料之固着方法，係用金屬製之切片鏟(Section lifter)取少許石蠟加熱熔解而滴加於木塊之一面，在凝固前迅速將切成骰子形之石蠟埋漬材料緊貼之，隨以燒紅之針尖，在石蠟附着部之四邊，融蠟少許，以加強其緊固。

木塊在用前，有經如下之處置，以除去其色素者。

(a) 投 2% 曹達液中煮數小時。

(b) 浸於酒精與醚之混液中一週以上。

1. 切片(Sectioning, Section-cutting) 切片乃指用切片機將材料切成薄片而言者，切片機之種類頗多，用任何一種均可，惟截切以前，應以銳刀就石蠟塊將截切之一面削平，至能透視埋藏於其中之材料為止，隨將其嵌定於切片機上，另裝置切片刀，切片刀俟移近材料之切面，在幾相接觸之距離間，始可定住，或轉動機輪使材料靠近刀口亦可，然後可留心切片。

在切片前後應充分注意者，有：

(a) 切片機使用前後宜清拭之，用畢應以 25° 之純石蠟油或鐘錶油塗擦，以便保存。

(b) 推進機之轉動或軌道之滑行之不靈活時，宜以軟布蘸丙酮少許，將其擦拭。

(c) 切片刀易於受傷，截切時宜以毛筆將切出之薄片取下，萬不可使用金屬器具。

(d) 切片刀宜時加研磨，其研磨之法見第五章第三節。

(e) 石蠟塊之切面，宜削為長方形，高與闊之比約為 $1:4$ ，闊面與刀口平行。

(f) 切片後，在刀之下面，如有石蠟黏貼，則須將折下，用細紗布蘸二甲苯或松節油以拭去之。

(g) 石蠟塊宜與刀口成直角以切片。

(h) 裝置切片刀，宜使刀口略為傾斜，大約自垂直線傾斜 9° 即可。

(i) 在切片中如發見故障，首宜將刀取下，以防不慎。

石蠟埋漬法能作極薄 (5μ 以下) 而成帶狀 (Ribbon-like) 之連續切片 (Series-sections)，假定其欲切成 5μ 厚之切片者，須預將指針 (指示切片厚薄之針)，對準能切 5μ 厚之刻度上，然後方可開始切片。

石蠟埋漬切片，以右手轉動機件，使材料前進切片，左手則持毛筆將切成帶狀之切片托住，令其勿斷，切完後將此帶狀而完整之切片，置於白色之紙上，且注意勿令其翻轉，勿為風及呼氣所吹散。

石蠟切片，常因石蠟之未能充分浸透組織，或石蠟硬度與室溫不能相符，或刀鋒不銳，或切片機應用不靈活，或因材料之其他關係，

有不能獲得預期之良好結果時，宜注意下列事項，希有以矯正之。

(a) 切成帶狀之切片，漸次彎曲時，其原因大概由於：

- i. 石蠟塊之切面，未能成正長方形，此時宜將四邊再修正之。
- ii. 石蠟之硬度不均勻，或一邊較其他三邊為軟，此際宜將石蠟再融解，以作修正之埋漬。

(b) 材料與刀口接觸時，每發聲響，破碎及不能成切片時，其原因約在：

- i. 材料在石蠟浸置時，過於使用高溫，此種材料宜即廢棄不可復用。
- ii. 材料因用昇汞等生結晶之藥劑所固定，未能充分洗滌，此種材料亦可廢棄。

(c) 切片起皺紋或不能成帶狀時，則由於：

- i. 刀口過鈍或刀之傾斜度不足，此際宜將刀研磨或改裝之。
- ii. 刀面附有石蠟，此時應以二甲苯拭去之。
- iii. 石蠟過軟，此際宜將石蠟取下，投冷水中，令其再凝固，或在溫度較低之處切片，或將材料略行厚切，如再不能補救，則宜改用硬蠟，重新埋藏。

(d) 切片卷曲而不能成帶狀連續時，其原因或在：

- i. 刀鋒遲鈍或刀之過度傾斜，此際宜將刀研磨或刀之固定位置調整。
- ii. 石蠟過硬，此際補救之方法，為於暖室切片，或呵溫刀

口切截，或於石蠟之傍置放本生燈火或將材料薄切，如再不能達到目的時，則惟有用軟蠟從新埋漬。

(e) 切片縱裂或起溝狀之橫裂時，則由於：

- i. 刀鋒有傷痕，此時宜更換無缺痕之部分以切之。
- ii. 材料或石蠟中混有硬粒物質，此際宜將石蠟熔解，施以透化，然後再埋漬以切之。
- iii. 材料在固定劑中，沉積結晶物質，未能洗淨，此種材料即宜廢棄。

(f) 切下之切片厚薄不勻或全不能截切時，大概由於：

- i. 器械之構造不完全，或用之過久，此際宜將切片機修繕之。
- ii. 刀之動搖不定，宜將切片刀加緊固定。
- iii. 材料過於堅硬，使刀鋒震動，如遇此種材料，須急廢棄。

(g) 在截切中，切片帶反卷或附着於刀之兩側面。此種現象或由於切片之傳電所致，其甚者須俟大氣之復常，延期切之。

(h) 切片中有材料自石蠟分離脫落者，此種情形乃由於石蠟之未充分滲透組織所致，其須注意者，有：

- i. 材料在用石蠟浸置前，須充分除去酒精。
- ii. 宜長時間在低溫中浸置，使石蠟得充分滲透組織。
- iii. 材料之用石蠟難於浸透或材料之脆弱者，宜改用火棉膠法或火棉膠石蠟混用法以切之。

J. 附貼 (Affixing, Fixation on slide) 附貼乃指將切片整齊平貼於載玻片上，使其不再移動而言者，其方法係滴下微滴卵白甘

油於載玻片上，以小指薄塗勻之（單以小指頭取津液少許塗布之，亦可應付），乾後，注加水滴，其量以切片在水面略能浮動為度，或以卵白蒸餾水（卵白附貼劑 3 滴 + 蒸餾水 30cc）滴之亦可，然後將石蠟切片帶，照切出之先後分段（段之長度視所用之蓋玻片長短而定），依次移置載玻片上，徐緩加溫，至切片在水面漸次延展，變為平滑為止，在加溫操作中，須注意整理切片之位置，使其排列井然，石蠟延展後，靠置斜處，以流去其過剩之水分，切片附貼後，其要需在載玻片上施以符號，以示切片之先後順序者，則以玻璃專用之墨水書之。

切片之須用酸或鹼處置而有緊貼之必要者，可用 Ullrich 氏附貼劑，惟在染色前須經過 70% 酸酒精之處理。

附貼切片之載玻片，如屬新購者，可浸於酒精中，以細紗布擦之，為使其脫脂，應以鉀肥皂或熱湯洗滌，再浸於醚與酒精之等量混液中，然後取出拭乾通過火焰二、三回，方可應用。

新蓋玻片亦常有為酒精所不能洗去之白點，此際可煮之於 5—10% 之鹽酸液，再經水，酒精洗滌即可。

K. 伸蠟 (Stretching out) 伸蠟乃指用溫熱使附貼之石蠟切片伸展且緊貼於載玻片之上而言者，其方法有僅用燈火以處理者，亦有利用電熱之金屬板或特製之金屬箱，箱內盛水，加熱至 50°C 內外，以處理者，載玻片置此等器具上，石蠟遇熱即漸次延伸，至用擴大鏡見組織無皺痕時，即可停止，熟練之技術家，無須用擴大鏡檢視，至石蠟延伸至某程度，即知停止。

石蠟伸展後，可放置之以令其乾燥，其欲作急乾之處置者，置於 40°C 之乾燥器中，經數時間，即可應用，切片不乾，則易致材料於脫

落。

L. 脫蠟 (Dewaxifing) 石蠟埋漬切片，因材料隨石蠟而附貼於載玻片上，為便利染色，須將此附貼之石蠟除去，因是而有脫蠟一項之措施，脫蠟用脫蠟劑，其法係將石蠟切片浸於二甲苯或松節油中 10 秒以上，用後者之脫蠟時，尤須拖長，石蠟遇脫蠟劑，即自行熔解脫落，脫蠟完畢，即須將切片移浸於 90% 以上之酒精中，約 20 秒，以洗去脫蠟劑，此後自高級酒精漸次倒退移於低級酒精，經水洗即可染色。

切片脫蠟後，在行水洗時，常見載玻片起白色污點，此乃由於所用之酒精過舊，卵白甘油之塗量過多，或石蠟之脫蠟不淨所致，其補救方法，宜按照情形，或換用新酒精，或將切片置 90% 以上之酒精中脫水，脫水以後，置石炭酸與二甲苯（以 1 : 3 混合）或松節油與二甲苯（以 1 : 5 混合）之混液中，約 10 秒間以脫酒精，然後再照前述之脫蠟法，重行脫蠟及其他措施。

M. 昇汞之除去 (Desublimatifying) 材料之在昇汞液或含昇汞之 Zenker 氏或 Helly 氏液中固定者，其組織中必有昇汞結晶物質之沉積，此在染色前，應行除之，其法係將脫蠟後經酒精處置之切片，浸於 Lugor 氏液與酒精之混液中，約 5 分間以去昇汞，隨之水洗，然後置於 0.1% 之次亞硫酸鈉液中，以去碘，碘去後，經水洗即可染色。

昇汞之除去，有於固定後，在水洗時，即行之者。

N. 漂白 (Bleaching) 標本常因其自然之色彩，或因固定為鉍酸、鉻酸等所着色，而使組織不鮮明者，必須用氯，過氧化氫 (3% 液) 或硫酸等以漂白之，漂白時間隨材料及漂白劑而有不同，大約自 2 時

至 1 日(至材料不再呈黑褐色爲止)。

Mayer 氏之氯氣漂白法(Chlorine method) Mayer 氏之氯氣法，對於自然色彩及因鐵酸着色之漂白具有卓效，其法係取氯化鉀少許置玻璃瓶中，加鹽酸數滴，至發生氯之綠色氣體時，再加 50% 酒精 5-10cc 然後將切片或浸置 70% 酒精中之材料，懸掛於瓶內，藉氯之作用，以事漂白，時間自數分以至數時不等。

Pal 氏之漂白方法 Pal 氏法須先製備下列甲、乙二液：

高錳酸鉀	0.25gr.	} 甲
蒸餾水	100cc	
草酸	1gr.	} 乙
亞硫酸鉀	1gr.	
蒸餾水	100cc	

材料投甲液中 4 分，隨入乙液中 4 分，漂白後，須充分水洗。

若材料之在 Champy 氏液(不含冰醋酸)或改良之 Flemming 氏強液固定者，則於漂白之後，宜用 Chura 氏液以增加色素之親和力，Chura 氏液之製法如下：

苦味酸飽和水溶液	50 分
冰醋酸	50 分

材料置此液中，如爲常溫須 12-24 時，在 40°C 則 2-4 時已足，隨後水洗 3-12 時。

O. 水洗(Washing) 凡脫蠟後須除去昇汞或其他有水洗之必要者，則在染色前，須施行水洗，但染色劑如爲酒精溶液，則可免除此



項手續，在酒精洗滌後，直可施行染色。

P. 媒染(Adjective staining) 爲使染色良好而易於着色，在染色前，有施行此項處置者，例如僅能使核着色之色素，如處以媒染，即可使原形質之內容亦能着色，若爲酸性色素，加以稀薄之酸液，大可增加其染色力。

媒染用媒染劑(Mordant)，其要者有：明礬、鐵明礬、生色精及石炭酸等。

Q. 染色(Staining) 在用切片機切片後而施行染色者，稱爲切片染色(Section staining)，其未經切片而將標本材料染色者，則稱爲片塊染色(Block staining)，後者多於固定，洗滌後，即置染色劑中以染之。

普通染色多僅用一種色素，其用二種或三種以上，或分別處置或製成混液以染色者，曰複染色或對比染色(Double staining, Counter stain)或三色染色(Triple staining)至複染或三色染色之方法，將於下章說明，茲從略。

染色所用之藥劑，其爲水溶液者，須將材料先行水洗或以極稀薄之酒精處理，然後置液中染色，若染色劑爲酒精溶液，則材料應以該染色液同濃度之酒精暫時處理，然後始可使之染色，其所以須作如是處理者，蓋在防止組織之急激變化，又材料自染色劑取出後，亦應作如斯之處置。

材料之不用媒染劑而染色者，或遇水，酒精而易溶解之色素，在脫水期間，概易脫色。一般言之，洋紅、蘇木精等色素其染色也較能耐久；在鐵酸或鉻酸等液中固定而難染色之材料，以此等色素臨之，頗

能收效，若生色精類色素，染色易而褪色亦快。

凡用鹽基性色素或蘇木精等遇酸而易褪色之色素，在用加拿大樹膠裝置時，樹膠宜令其成中性，至酸性色素遇鹼而易脫色者，用加拿大樹膠裝置，經相當長時間後，常因玻璃片所放出之鹼而褪色。

染色之目的，在求細胞或組織內構造之明晰，並在檢出其中所含之特殊物質，此在前節略有提及；至關於着色之理論，論之者多，惟迄無定評，茲將其要者二、三列舉於下：

一說，染色純屬一種化學現象，即由色素與被染物質起化合作用而着色。

另一說，染色謂為一種物理現象，即成溶液而分散之粒子侵入於被染物質之粒子間隙內，因受分子引力之作用，色素粒子被吸着，故而染色。根據此說，則被染物質之能否着色，胥視粒子間隙之大小而定，如色素粒子過大，不能侵入粒子間隙，則不能着色。反之，色素粒子過小，則容易脫落而呈着色不良，故被染物質之粒子間隙與色素粒子之大小，應相符合；紅色色素之分散粒子一般均認其為小，凡粒子間隙較小之被染物質，以此處之，易於染色，稱為 Xanthophil。青色或堇色色素之粒子較大，粒子間隙之大者，以此處之，亦易染色，故稱為 Cyanophil。

再三一說，浸潤染色與沉澱染色，是說為 Möllendorf 氏所倡，其中浸潤染色與第二說之解釋略同，即色素粒子浸入被染物質內，而使其着色，浸潤染色常為色素溶液之分散性與被染物質之密度所支配，又此染色現象主於酸性色素中見之，分化時可用增加色素分散性之藥品。

沉澱染色爲在鹽基性色素中所見之現象，即溶媒中分散之色素粒子沉積於酸性膠體之特殊被染物質之表面，因是而着色，酸性膠體之特殊被染物質者如核，肥厚細胞內之顆粒、軟骨、粘液、彈性纖維等一類之物質是也。

R. 褪色 (Differentiation) 標本如一旦過度染色或除去不必要部分之着色，可用分色劑，至適當濃度爲止，使之分色；分色劑之種類頗多，如水、酒精、生色精、酸液、鹼液，0.1% 冰醋酸，0.2% 鐵明礬，0.1% 明礬，0.5—1% 酸酒精及鹼酒精等均是。

S. 水洗 (Washing) 普通染色完畢或分色劑處置之後，須經水洗，洗滌時則自數秒以至一時不等。

T. 脫水 (Dehydration) 脫色，水洗後，須施行酒精脫水，惟酒精之在 75%，85% 左右者，脫色力最強，處置時間略可縮短，或者可省略此項措施，直以 94% 及純酒精處置之，各級酒精中脫水時間，均以 10 秒間爲度。

U. 透化 (Clarifying) 欲使標本之組織清晰透明，且在封固時，易使加拿大樹膠滲入，須施行透化，透化用透化劑，惟自純酒精移入任何一透化劑前，須以吸水紙除去載玻片上過剩之酒精。

凡材料之未經脫水者，必用甘油及甘油膠，若材料之已切片且經酒精脫水者，則須用二甲苯、碳酸二甲苯、松節油、蒸木油、洋杉油、生色精油 (適於含水分之材料)，丁香油、甲苯及 Euclyshymer 氏透化劑 (Clearer，爲貝加摩柑油、丁香油及無水石炭酸之等量混液)。惟一般多用二甲苯及松節油兩種，其措施係先將切片置於二甲苯 5 分與松節油 1 分之混液中 10 秒，然後置純二甲苯中 10 秒，使之透

化，惟材料自純酒精移入透化液前，尚有用酒精二甲苯（爲純酒精與二甲苯之等量混液），以免材料之急遽變化者。

細胞學爲研究細胞中之精微構造，更有配製各級濃度之二甲苯，以供應用，如 $\frac{1}{16}$, $\frac{1}{8}$, $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{2}$, $\frac{3}{4}$ 及純二甲苯等級是也。製此之方法係先將等量之二甲苯與純酒精混合，製爲 $\frac{1}{2}$ 二甲苯液，然後由此 $\frac{1}{2}$ 液依照酒精混合比例，以製其他。

丁香油較二甲苯更易透化，材料亦可自 95% 酒精移入，但最好須經過純酒精之程序，此藥劑使材料之硬化遲緩，裝置前尚須經過二甲苯之處理，丁香油有使龍胆紫溶解之弊，須留意用之。

蒸木油有使生色精色素褪色之弊，不宜於經生色精色素着色之透化。

石炭酸二甲苯最適宜於未經純酒精脫水之切片之透化，其製法如下：

二甲苯	3 分
石炭酸結晶	1 分

除上述透化藥劑外，丙酮、汽油均可爲透化用。

V. 封固（一名裝置 Mounting） 切片標本經透化後，即須封固（Enclosure），此爲製作切片之最後一步措施，封固用二甲苯樹膠或甘油膠、甘油。後二者在材料不能以純酒精脫水時用之，其法係水洗後之材料，置諸載玻片上，滴加甘油，蓋覆蓋玻片，然後以蠟膠在四周密封之（Sealing）。

用加拿大樹膠封固，須迅速行之，否則因空氣或呼氣中之水分浸潤二甲苯，將來必得不良結果。

加拿大樹膠之溶解配製法：先取適量之樹膠置熔蠟器內，約一、二時間加熱（65°C 下上），令其乾固，俟其冷卻，加適量之二甲苯以溶之即可。

W. 貼籤 (Label) 標本封固後，即宜黏貼標籤，註明材料，切片方向，日期等應記之事項，裝入顯微鏡標本盒內保存，以備觀察，（注意：在樹膠未乾固前，須將標本片平放）。

【2】火棉膠埋漬切片標本（凡與石蠟法方法相同之一步驟均省略未述）火棉膠切片之製作程序，大抵與在石蠟埋漬切片標本之項敘述者相若，所不同者，僅數項處置方法而已，茲將其不同之項，依次說明。

A. 媒浸 火棉膠埋漬，須將材料置於下製之混液中 24 時：

純酒精	1 分	} 甲
醚	1 分	
純酒精	1 分	} 乙
純醚	1 分	
無水硫酸銅	0.5 分	

甲乙兩液可以隨便應用，惟用乙液時，須取其上浮之澄清液方可。

B. 浸置 火棉膠浸置 (Cellodin infiltration) 所用之 Cellodin 與 Collodion (為棉火藥即 Tri-nitro-cellulose 之一製造品) 同質。應

用時以刀將其切成小片，置於紙上，在無灰塵之處，一日間令其乾之，隨置於 40°C 左右之定溫箱內或直接在日光之下曬乾，至變銨黃色（銨甲色）為度，然後用酒精及醚將其製成溶液。

溶液之製法(其一)

純酒精	50 cc	} 原液
醚	50 cc	
火棉膠	10 gr.	

火棉膠之溶解極為遲緩，普通須時 10—24 時以上。

原液	1.0 分	} 稀釋液
純酒精	0.5 分	
醚	0.5 分	
稀釋液	1.0 分	} 再稀釋液
純酒精	0.5 分	
醚	0.5 分	

溶液之製法(其二)

純酒精	50 cc	} 8% 液
醚	50 cc	
火棉膠	8 gr.	
8% 液	1.0 分	} 4% 液
純酒精	0.5 分	
醚	0.5 分	

4% 液	1.0 分	} 2% 液
純酒精	0.5 分	
醚	0.5 分	

溶液之製法(其三)

醚酒精	100 cc	} 第一液
火棉膠	5 gr.	
第一液	35 分	} 第二液
醚酒精	35 分	

醚酒精之配製法爲：

純酒精	50 cc
硫化醚	50 cc

火棉膠如不充分乾燥，或醚與酒精之混液中留有水分時，則極難溶解，又火棉膠液遇水則變白色而凝固，故標本之脫水，最須完全。

標本用火棉膠浸置，其程序如下：

- (a) 材料置再稀釋液中 1-5 日。
- (b) 置稀釋液中 1-5 日。
- (c) 原液中 1-5 日。

或依次置 2%，4%，8% 之火棉膠液中各 3-5 日間浸之亦可，若用第三法所製之溶液，則材料應先以醚與酒精之等量混液，作 12-24 時之處置，然後自第二液開始，次第一液各 2-5 日間浸之。

曾經用過之火棉膠，用 5% 之酒精醚溶液溶之，濾過曬乾後，可以再用。

火棉膠之保存，可用乾燥器，或直接曬乾以貯藏，置 96% 酒精之蒸氣中，亦為一保存法。

火棉膠切片之硬度，以火棉膠自原確取出當時之硬度，最為適宜。

C. 埋漬 將火棉膠液連同其中之材料，傾入於培養皿或其他容器內，如液中同時有多數材料存在時，應以醚酒精濡濕之針尖，將其分別排整，至材料之間隔距離，可隨心所欲，普通有 0.8—1cm 之間隔即可，候材料排齊後，即置玻璃罩下，約 1—3 日間，令醚與酒精揮發蒸散，以使火棉膠固結，或直接投諸氣仿，或 75—80% 酒精中，使之硬化亦可。

設欲作 10μ 以下之切片，須將火棉膠施以特殊之硬化，其法係將普通硬化之火棉膠塊，置 70% 酒精中，二日以上，次置甘油酒精（以甘油 6—10 分，80% 酒精 1 分之比混合）中 2 日以上，以處置之即可。

材料經火棉膠埋漬固結後，即可切成骰子形之方塊，以備應用，其不須切片者，則置諸 75—80% 酒精中以貯藏之，火棉膠遇純酒精而溶解，故貯藏宜用 95% 以下之酒精。

D. 固着 將切成骰子形之火棉膠塊，自 75% 酒精中取出，移置於無水醚中約 10 秒間，次迅速滴火棉膠原液少許於木塊之一面，然後取出火棉膠塊緊貼之，使其固着，惟火棉膠塊黏着後，須經相當時間（約 90 分上下），始可硬固，固着之火棉膠塊，須再浸於 75—80% 酒精中 6—7 或 12 時以上，方可應用。

在將火棉膠塊固着前，應將木塊之固着面彫刻多數平行線，以

加強其固着力。

火棉膠固着有用硬化纖維(Vulcanized fiber)或硬度之石蠟,以代替木塊者。

1. 切片 材料之經火棉膠埋漬者,以裝置刀於水平面之滑形式切片機切之,較爲便利,切片之厚度平常多在 15μ 以上。

火棉膠塊須預將其切成正方形,截切時,宜時用毛筆蘸70—80%酒精將切片刀及材料塗濕,切出之薄片,則以毛筆黏取而投之於75%酒精中,以便作切片後之其他處置。

火棉膠切片,如欲作連續排列,則於每次切完即須依次附貼於載玻片上,否則照下述方法行之亦可。

(a) 預備小形方玻璃板(有照像乾板大小即可)2枚,各置吸水紙一張,其中一張,應充分以70%酒精濕之。

(b) 以滑便之綠紙剪成細條,排置於上述之一濕吸水紙上,亦均以70%酒精充分濕之。

(c) 切下之火棉膠片以毛筆黏取而依次排列於此等濕紙條上,至各紙條均排滿爲止,隨將最初排置之紙條移於另一玻璃板之乾吸水紙上,再用另一乾吸水紙覆蓋而輕微壓之,以去酒精,此後即可以墨液依次書1,2,3...之記號於每一切片之角隅,以示其截切之先後,墨液瞬間可乾,再將此紙條投入70%酒精中,輕微搖之,則切片紛紛自紙條落入酒精內,其次之紙條亦依法行之,使切片落入酒精。

(d) 切片經染色,脫水及其他處置,然後照記號先後,裝置之即可。

火棉膠切片亦常有不能獲得預期之結果者,其原因不外爲:

- (a) 火棉膠不能充分滲入標本組織內。
- (b) 火棉膠失之過軟。
- (c) 火棉膠塊與木塊之固着不硬。
- (d) 刀口與切片機發生弊端。

凡此諸端均宜按當時之情形，作適宜之補救。

E. 伸蠟 1、2 脫蠟兩項專用於石蠟切片，在火棉膠埋漬法，無作是項處置之必要。

F. 染色 火棉膠埋漬切片，如用生色精色素染色，除預將火棉膠除去，其法係將貯藏於 70-80% 酒精之材料，移置純酒精中 10-15 分，次移浸醴與酒精之等量混液中，再次經純酒精，各低級酒精，水洗，然後始可染色，若用生色精類以外之色素劑，則無須採取此項措施。

G. 脫水 火棉膠埋漬切片不能用純酒精脫水蓋其能使火棉膠起膨脹而溶解，對於爾後之處理恐有不便之故。

H. 透化 洋杉油最宜於火棉膠切片之透化。丁香油有溶解火棉膠之弊，忌用。

以上就石蠟埋漬切片與火棉膠埋漬切片之製法，已作說明，惟兩者之利弊得失，自不能一致，茲將其比較於下：

(a) 石蠟埋漬切片標本：

- (1) 較其他方法能於短時間內行之。
- (2) 能作極薄之切片。
- (3) 能作連續切片。
- (4) 標本全體染色後，亦可作薄切片。

(5) 惟不適宜強韌或脆弱材料之埋漬。

(6) 用此方法有使標本組織收縮之弊。

(b) 火棉膠埋漬切片標本:

(1) 在室溫之下可以處理,無需要高溫,因之可不用熔蠟器或定溫器等裝置。

(2) 火棉膠不染色,故不必如石蠟之須脫蠟,直接可將標本染色。

(3) 少使標本組織收縮。

(4) 較石蠟易於滲透標本組織。

(5) 富幾丁質之材料,強韌之纖維,或其他質硬之材料,或材料過大,不宜於石蠟之埋漬者,均可以火棉膠處之。

(6) 惟火棉膠埋漬,須長久之時間,是為其缺點。

(7) 不能作如石蠟切片之薄片,普通祇能切成 15—30 μ 厚薄,若欲作 10 μ 以下之薄片,則相當困難。

【3】凍結切片標本 凍結切片(Freezing microtome sections)

係用白明膠埋漬,其製作步驟與石蠟法,火棉膠法同,亦僅數項措施相異而已,茲將其處置方法不同之處,依次分別說明。

A. 浸置 凍結切片係用白明膠漬,其浸置措施應先製備 10%, 25% 白明膠液,液之製法如下:

白明膠	2 分	} 10% 液
水	20 分	
白明膠	5 分	} 25% 液
水	20 分	

任何一液，均須加熱溶解，過濾後，方可應用。

浸置時，照下列順序：

(a) 10% 液中，在 37°C 之定溫器內，約停一日。

(b) 20% 或 25% 液中，亦在定溫器內，一日。

B. 埋漬 將白明膠液連同材料自定溫器中取出，令其冷卻凝固，然後切成適當之白明膠塊即可。

標本材料經白明膠埋漬者，投諸 10% 甲醛液中，可保存數週以上，惟長時間置甲醛液中，因酸性對於材料之染色不良，故甲醛液宜以碳酸鉀中和而後用之。

又材料經白明膠埋漬後，須水洗 1—24 時，方可切片。

C. 固着 白明膠埋漬切片，無須行固着之措施。

D. 切片 凍結切片法，如材料堅實時，不用白明膠埋漬，直可使之凍結以切片，其須白明膠處理者，則於埋漬後，即須水洗，水洗之必要在於水分透入組織，便於冰凍截切。

凍結切片法不能使材料凍結過硬，否則難於切片，故一度凍固之材料，審其開始融解時，迅速切之，切片之厚度可至 10 μ ，切成之薄片置 10% 甲醛液中保存，經水洗後，即可染色。

材料之在酒精中保存者，宜先脫酒精，然後方可使之凍結。

凍結切片製作設施 凍結係應用由醚蒸散所起之奪熱原理，生物學技術上，有種種使醚蒸散之特殊裝置，此等均可插入於任何之切片機上，以供凍切，除醚外，尚有利用流動碳酸氣或壓縮碳酸氣 (Compressed carbon-dioxide) 之裝設者，其方法係將盛於鐵砲形之圓筒內之碳酸氣，適宜放出，使材料得以凍結。

欲作應用醚之凍結切片，宜預將材料置於切片機用凍結器上，另用附有橡皮球之噴霧器，將此橡皮球一緊一鬆壓縮，使空氣進入醚瓶，而令其中之醚蒸發，自凍結器飛散，此際由醚之潛熱作用，直可使材料冰結，然後再將其裝置於切片機上，以行切片，凍結切片所用之切片刀，宜取其重而厚者。

凍結切片法之優點：

(a) 材料之欲迅速切片，以供觀察者，可以此法行之，故醫術上常應用此法，將新鮮組織切為薄片，以作病症之急速診斷。

(b) 此法可以無須使用酒精等脫水劑，既可防除組織之收縮，若脂肪等物質之在脫水劑中溶解變化，而不能達到觀察目的者，亦可以此法補救。

第十章

各項切片標本之製作方法要略

前章已將顯微鏡標本之製作方法，作詳細之論述，本章再就各項切片標本之製法，作一簡明之摘要，以便在切片製作時，易於參閱。

第一節 單色染色標本

標本僅用一種染色劑以染色者。

【1】石蠟埋漬切片標本。

A. 固定(若為動物材料，則在固定前須行殺生) 固定時間，隨固定劑之性質而有長短，若 Flemming 氏液需 2 日，並須置暗處固定。Bouin 氏液 1 日以上，至如 Carnoy 氏液，昇汞醋酸液等 5—10 分即足。

B. 洗滌 流水洗滌 0.5—1 日，在 Carnoy 氏液中固定者，不須水洗，用含昇汞之固定液處理之材料，或以水洗，或以酒精洗之，為時均須 1 日。

C. 脫水 30%，40%，50%，60%，75%，85%，94% 酒精中，各 3 時以上，100% 酒精中 12 時。

D. 脫酒精(De-alcoholisation) 洋杉油中浸置 3 時以上(有省

去此項措施者)。

E. 煤浸。

(a) 二甲苯(或氯仿)與純酒精之混液中 0.5—1 時。

(b) 二甲苯(或氯仿)中 0.5—3 時。

F. 浸置。

(a) 二甲苯(或氯仿)與熔點 45°C 石蠟之混液中 24 時以上,但須在較石蠟熔點高 3°C 之熔蠟器中之。

(b) 熔點 45°C 之石蠟中 1 日。

(c) 熔點 45°C 之石蠟中 1—2 日。

G. 埋漬 將石蠟埋漬,切成骰子形。

H. 固着 使石蠟固着於方木塊。

I. 切片 以切片機切成厚約 $5-15\mu$ 之薄片。

J. 附貼 以卵白甘油將切片黏貼於載玻片上。

K. 伸蠟 以近 50°C 上下之溫度,使蠟伸展,隨令乾之。

L. 脫蠟。

(a) 二甲苯(或松節油)中 10 秒以上,如急欲脫蠟,可將載玻片加熱,至石蠟將熔解時,迅速投入之。

(b) 90% 以上酒精中 10 秒,須反覆數次行之, 80% 酒精中 10 秒。

M. 除昇汞 僅限用於經含昇汞之固定劑處置之材料,其法為:

(a) 碘酒精溶液數分。

(b) 水洗 10 秒,水洗前能經 60%, 50% 酒精最好。

(c) 0.1% 次亞硫酸鈉中去碘,數秒。

- N. 漂白.
- O. 水洗 數秒, 染色劑如為酒精溶液, 不須水洗.
- P. 媒染.
- Q. 染色 染色時間, 視染色劑之性質而定, 若為蘇木精有 10 秒即可.
- R. 水洗 1 分間.
- S. 分色 酸酒精 10 秒.
- T. 水洗 20—60 分.
- U. 脫水 94%, 100% 酒精中各 10 秒.
- V. 透化.
- (a) 二甲苯松節油混液中 10 秒.
- (b) 二甲苯中 10 秒.
- W. 封固 用加拿大樹膠加覆蓋玻片, 即可封固.
- X. 貼籤.
- 【2】火棉膠埋漬切片標本:
- A. 固定 時間隨固定劑之種類而定.
- B. 水洗 流水中 0.5 日.
- C. 脫水 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 85%, 94% 酒精中各 0.5 日, 100% 酒精中 24 時.
- D. 媒浸 醚與純酒精之混液中 24 時.
- E. 浸置.

附注: 凡切片之厚度在 10μ 以上者, 可以直接自 95% 酒精移入於水, 相反處理之亦可, 若切片之在 10μ 以下者, 則須按照各級酒精之順序, 依次處理.

(a) 火棉膠稀釋液中 1-5 日。

(b) 火棉膠濃液中 1-5 日。

或在 2%, 4%, 8% 火棉膠中各 3-5 日。

F. 埋漬 傾入培養皿中，以玻璃鐘罩之，放置 24 時，使醚、酒精蒸發，令火棉膠凝固。

火棉膠凝固後，切成骰子形，置 75% 酒精中以保存之。

G. 固着。

(a) 爲使其膠貼於木塊，將切成骰子形之火棉膠，浸於純醚中 10 秒，次滴加濃液，使其黏貼而固着於木塊。

(b) 放置 20 分，使乾之。

(c) 浸於 78-80% 酒精中 12 時以上。

H. 切片 用毛筆塗 75% 酒精於切片刀及材料上，令其切爲 15-30 μ 之切片，然後將其投之於 75% 酒精中。

I. 水洗 水洗至切片沉下水底爲止。

J. 染色 蘇木精或其他色素染色。

K. 水洗 必要時須經分色，水洗數秒，若材料係全體染色，可略去 J 及 K 兩步驟。

L. 脫水 94%, 98% (或 96%) 酒精中各 10 秒，石炭酸二甲苯 1-5 秒。

M. 透化。

(a) 松節油二甲苯中 10 秒。

(b) 二甲苯中 10 秒。

N. 封固 用加拿大樹膠封之。

O. 貼籤。

【3】凍結切片標本 材料之脆弱及內部不充實者，可先將其固定，然後實施白明膠埋漬處理。

A. 固定 20% 甲醛液中 1 時或數日。

B. 洗滌 流水中 1 時以上。

C. 浸置。

(a) 投於 10% 白明膠中，在 37°C 能熔解白明膠程度之低溫定溫器中 1 日。

(b) 20-25% 白明膠中，在上述之定溫器內 1 日。

D. 埋漬 將白明膠連材料，自定溫器取出，令其冷卻凝固，並切成適當之形狀，投 10% 甲醛液中以保存之。

E. 水洗 1-24 時。

F. 切片 以切片機切成 10-30 μ 厚之切片，並將其浮之水上。

G. 染色 若用甲苯胺藍(0.1% 水溶液) 1 分即可。

H. 水洗 數秒。

I. 脫色 0.1% 冰醋酸水溶液數秒至 10 秒。

J. 水洗 1 分。

K. 封固 以甘油或甘油膠封之。

L. 貼籤。

【4】着色甲醛埋漬標本 藻類、黴菌及其他不須切片之材料用之。

A. 將採集之新鮮藻類或其他不用截切之材料，置諸載玻片之水滴中，並將其整齊排列之。

B. 以吸水紙儘可能吸去其不必要之水分。

C. 以吸管滴加着色甲醛液一滴。

着色甲醛液係用 2% 甲醛液而溶以少量之番紅花紅所製成者。

D. 加覆蓋玻片，玻片以用圓者為宜。

E. 將蓋玻片周圍過剩之水分吸去之。

F. 將載玻片置於實驗桌上，此際以用能迴轉者(Turn table)為便。

G. 用褐封鎖膠塗封蓋玻片之周緣。

H. 褐封鎖膠乾後，再以貼金膠水封之。

【5】甘油膠埋漬標本：

A. 材料之在 70% 酒精中固定兼貯藏者，直可切片以作標本，若材料含水分少，不必固定，即行切之。

B. 加小片甘油膠於載玻片上，加熱融之，以融就之甘油膠加之亦可，然後將切片投入其中。

C. 加覆蓋玻片。

D. 以貼金膠水將蓋玻片之周緣塗封之。

若材料水分過多，應先以甘油處置，即初用 10% 甘油，然後漸次以較高濃度之甘油處置。

【6】着色甘油膠標本 在融解甘油膠時，以色素投入之，使其溶解即可，普通 30gr. 之甘油膠，以針頭大之量之色素加入之。

色素用番紅花紅、龍胆紫、生色精藍、愛理斯洛新紅等。

A. 切片或其他材料投諸 10% 甘油中數分。

B. 切片或其他材料移置載玻片上，以吸水紙去其過多之甘油。

- C. 滴加融就之甘油膠一滴於切片上。
- D. 覆以蓋玻片。
- E. 蓋玻片之周圍以貼金膠水封之。
- F. 經 20—24 時後，甘油膠中之色素滲入組織內，標本因之着色。

若材料如藻類等含水分過多，用此法裝置，將起收縮者，可預投於 5% 甘油中，置溫暖處，數日後因甘油蒸發而成濃厚之甘油液，此際材料因甘油之充分脫水浸透，始可如上法以封固之。

第二節 複染色切片標本

【1】石蠟切片之複染色標本。

- A. 番紅花紅與 Delafield 氏蘇木精併用法(植物材料)。
 - (a) 固定。
 - (b) 水洗 24 時。
 - (c) 脫水 30% 酒精 3—4 時，50% 酒精 5—6 時，70% 酒精 12 時，90% 酒精 24 時，純酒精 48 時。
 - (d) 媒浸 25% 氯仿純酒精液 24 時，50% 氯仿純酒精液 24 時，75% 氯仿純酒精 24 時，純氯仿 24 時。
 - (e) 浸置 軟蠟與氯仿之混液中 4—5 日，在融蠟器令氯仿蒸散，硬蠟中 3—12 時。
 - (f) 埋漬。
 - (g) 切片。
 - (h) 伸蠟。

(i) 脫蠟 以二甲苯脫蠟, 100%, 90% 酒精中各數回反復處置, 以去脫蠟劑。

(j) 水洗 自 80% 酒精始, 經 70%, 50% 酒精而水洗。

(k) 染色 番紅花紅中 4-24 時。

(l) 分色 酸酒精分色。

(m) 水洗。

(n) 染色 以 Delafield 氏蘇木精作數分間之複染色

(o) 分色 酸酒精。

(p) 水洗。

(q) 脫水。

(r) 透化。

(s) 封固。

(t) 貼籤。

B. Delafield 氏蘇木精與曙紅併用法(動物材料)。

(a) 固定。

(b) 水洗 24 時。

(c) 脫水 70% 酒精中 12-24 時(或貯藏), 90% 酒精中 12-24 時, 純酒精中 3 時。

(d) 媒浸 純酒精二甲苯混液(或蒸木油甲苯混液)中 40 分, 純二甲苯(或純甲苯)中 30 分。

(e) 浸置 二甲苯石蠟(或甲苯石蠟)1.5 時, 純石蠟中 30-60 分。

(f) 埋漬。

(g) 切片.

(h) 伸蠟.

(i) 脫蠟 二甲苯中 15 分, 純酒精中 5-10 分, 90% 酒精中 5-10 分, 70% 酒精中 5-10 分.

(j) 染色 Delafield 氏蘇木精中 2-3 時.

(k) 分色 酸酒精中分色.

(l) 水洗.

(m) 染色 曙紅水溶液中數分.

(n) 脫水 70% 酒精中 5-10 分, 90% 酒精中 5-10 分, 純酒精中 5-10 分.

(o) 透化 二甲苯中 5-10 分.

(p) 封固 加拿大樹膠封固.

(q) 貼籤.

任何動植物組織, 以 Bouin 氏液固定, 而以此法行複染色, 均可得極良好之結果.

C. 鐵蘇木精、橙黃 G 併用法 (凡欲作細胞分裂及核之構造之觀察者, 以此法臨之, 可得良好結果).

(a) 脫蠟.

(b) 洗滌 95、85、70、50、30% 各級酒精中各 3 秒, 然後水洗.

(c) 媒染 Heidenhain 氏鐵蘇木精之甲液中 6-8 時.

(d) 水洗 5 分.

(e) 染色 Heidenhain 氏鐵蘇木精之乙液中 24-36 時, 此際切片如有微量之鐵明礬存在時, 則鐵蘇木精變為黑色, 但於染色力

無疑。

(f) 水洗 5 分。

(g) 脫色 再置 Heidenhain 氏鐵蘇木精之甲液中 10—30 分，以去過染之色素，至切片呈暗灰色為度。

(h) 水洗 2—3 時，如水洗不充分，仍有鐵明礬存在時，則切片以後必因此而脫色。

(i) 染色 橙黃 G(95% 酒精飽和溶液)中 30 秒。

(j) 水洗。

(k) 脫水。

(l) 透化 酒精二甲苯中 2—3 分，純二甲苯 2—3 分。

(m) 封固。

(n) 貼籤。

脫蠟以前之措施，未及列入，可參考其他之石蠟切片標本製法。

D. 番紅花紅、龍膽紫併用法(適於植物細胞之複染色，精蟲之研究，亦常以此法處之)。

(a) 脫蠟 其以前之措施與普通所述者同，茲從略。

(b) 洗滌 90%，80%，70% 酒精中各 5—10 分。

(c) 染色 番紅花紅中 3—24 時。

(d) 分色 50% 酒精中 5—30 秒。

(e) 染色 龍膽紫水溶液中複染 10 秒或 2—3 分。

(f) 分色 在水中一部分分色。

(g) 脫水 50、70、95% 酒精脫水，如為動物細胞，可置 Gram 氏液中，約 1—3 分間處置之。

- (h) 透化 丁香油中透化兼完全分色，時間 1 時以上。
- (i) 脫水 100% 酒精中完全脫水。
- (j) 透化 二甲苯中再透化，所用液體宜數次更換。
- (k) 封固。
- (l) 貼籤。

材料經此法處理後，核仁、染色體呈亮紅色，靜止核 (Resting nuclei, 其中之核仁，染色質顆粒除外) 呈深紫色，細胞分裂之前期及後期開始之核中則有紫色之染色紐 (Spireme)，染色紐上並現紅色之染色質，細胞質則現淡紫色。

此法以鉻醋酸混液固定，更有好結果，惟不能作正確及美麗之分色，則為其缺點。

動物細胞如欲以此法染色，宜用 Flemming 氏或 Hermann 氏固定。

【2】火棉膠切片之複染色標本 Delafield 氏蘇木精、曙紅併用法。

- A. 固定 Zenker 氏液或其他固定液 12-24 時。
- B. 水洗 流水中一夜。
- C. 除昇汞 以碘酒精除昇汞。
- D. 脫水 50、70、90% 酒精中各 5 時，純酒精中 12-24 時。
- E. 媒浸 酒精醚之等量混液中 12-24 時。
- F. 浸置 4% 火棉膠液中 12-24 時，8% 火棉膠中 12-24 時。
- G. 埋漬。
- H. 切片 10-20 μ 厚。

I. 水洗 70% 酒精中(數日以上無礙), 50% 酒精中 2-5 分, 蒸餾水中 2-5 分。

J. 染色 蘇木精(宜數倍稀釋用之)中數分至數時。

K. 水洗 5 分, 50% 酒精中 2-5 分。

L. 分色 顯微鏡下檢視, 至材料周緣之火棉膠無色透明為度。

M. 水洗 流水下 12-24 時。

N. 染色 曙紅(將石蠟法用之曙紅, 以數倍水稀釋之)中 5-30 分。

O. 分色 70% 酒精中, 至火棉膠無色透明為止。

P. 脫水 90, 95% 各 3-5 分, 石炭酸二甲苯中 1-5 分。

Q. 透化 二甲苯中 1-5 分。

R. 封固。

S. 貼籤。

【3】動植物組織切片之其他複染色標本。

A. 番紅花紅、生色精藍併用法(作植物組織木化部與非木化部之區別染色)。

(a) 切片 材料之在 70% 酒精中保存者, 取出切片。

(b) 染色 番紅花紅中 10 分。

(c) 分色 70% 酒精中分色(使非木化部褪色)。

(d) 染色 生色精藍(生色精藍 1 : 70% 酒精 3)溶液中複染。

(e) 分色 用 95% 酒精分色, 次以酸酒精處理, 使生色精藍着色固定而強化, 然後再以中性酒精(95%)洗滌。

(f) 脫水。

(g) 透化。

(h) 封固。

(i) 貼籤。

切片經此法處理後，木化部分及栓質之細胞膜呈紅色，非木化部分如纖維素膜、厚角組織等則現亮藍色。

B. 碘綠、明礬洋紅併用法（適於木化部與非木化部之區別染色）。

(a) 切片 材料如玉蜀黍或葡萄莖等，經鉻酸固定而貯藏在酒精中者，取出切片，切片厚可由 10—15 μ 。

(b) 水洗 數秒。

(c) 染色 碘綠中瞬間染色。

(d) 水洗。

(e) 明礬洋紅中複染 10 分。

(f) 水洗 10 分至 24 時。

(g) 脫水 用酒精或甘油脫水。

(h) 透化 二甲苯。

(i) 封固。

(j) 貼籤。

材料經上法處理後，木化部分變綠色，非木化部分及蛋白質、細胞含有物等則呈紅色。

用於植物木化部與非木化部之區別着色者，除上述二種外，尚有：

(1) Auramine——生色精藍 處置方法與‘番紅花紅——生

色精藍’同，木化組織，角皮(Cuticle)，木栓(Cork)等呈黃色，非木化部分則為藍色，經此染色之標本頗適顯微鏡攝影。

(2) 洋紅——甲基綠 處理方法與‘番紅花紅——生色精藍’同。

(3) 番紅花紅——光綠 切片置番紅花紅中 3-24 時染色，50% 酸酒精分色，光綠之酒精溶液中 1-10 分複染，70% 酒精洗滌，95% 酒精分色，透化，最後封固而貼籤，木化組織，角皮、木栓等呈紅色，纖維素，厚角組織等則現綠色。

(4) 番紅花紅——橙黃 G 處理方法同(3)項。

C. 曙紅、次甲基藍併用法(作韌皮部中篩孔‘Sieve pore’與篩板‘Sieve plate, Callus’之區別染色用)。

(a) 切片。

(b) 水洗。

(c) 染色 曙紅之飽和水溶液中 15-20 分。

(d) 水洗。

(e) 脫水 至 70% 酒精止。

(f) 染色 次甲基藍之 70% 酒精飽和溶液中 2-8 分間複染(此次染色可以生色精藍代替)。

(g) 脫水。

(h) 透化。

(i) 封固。

(j) 貼籤。

D. 洋紅、苦味酸(Ranvier's picro-carmin)併用法 為動物組

織常用之複染色法，先製出苦味酸洋紅之結晶，其法係將洋紅氫溶液（洋紅 1 分，氫 5 分）傾入於苦味酸之冷飽和水溶液中，至飽和量為度，其次將此混液加熱，至原容量之五分之一，冷後濾過，然後再行加熱，即成苦味酸洋紅之結晶狀粉末而沉澱，此苦味酸洋紅結晶之 1% 水溶液，即可用作複染色。

(a) 染色 苦味酸洋紅水溶液中 12—24 時，材料經此染色後，不能以水或弱度酒精洗滌，蓋防止苦味酸黃色之褪色故也。

(b) 脫水 各級酒精中，可加入微量之苦味酸，以增加其染色力。

(c) 透化。

(d) 封固。

任何動物組織之切片，在經鐵酸固定，而用此法處置者，則核必呈紅色，原形質現萎黃色，結締組織則染為淡紅色。

E. 礮砂洋紅、靛洋紅 (Meckel's carmine and indigo-carmin)

併用法 先製備下列二液：

洋紅	2 gr.	} 甲
礮砂	7.5 gr.	
蒸餾水	125 cc	
靛洋紅	7.5 gr.	} 乙
礮砂	7.5 gr.	
蒸餾水	125 cc	

液 15 分，乙液 20 分之比，混勻用之。

以甲、

(a) 染

色 自水中取出之切片，置洋紅與靛洋紅之混合液中。

染色 10—20 分。

(b) 濃草酸水溶液中 12 分。

(c) 水洗。

(d) 脫水。

(e) 透化。

(f) 封固。

核呈紅色，細胞質灰色，結締組織青色，肌纖維則現綠紫色。

F. 蘇木精、錳洋紅併用法 先製就下列二液：

蘇木精	3 gr.	} 甲
明礬水(1%)	100 cc.	
洋紅	3 gr.	} 乙
碳酸錳飽和水溶液	100 cc.	

(a) 染色 材料自酒精中取出，置甲液中 10 分上下。

(b) 洗滌 酒精洗滌。

(c) 分色 苦味酸飽和水溶液中，至組織現黃褐色為止分色，若分色不清晰，可滴加鹽酸少許，以作補救。

(d) 水洗。

(e) 染色 乙液中 20—40 分。

(f) 分色 以氨水分色至適當之紅色為度。

(g) 水洗。

(h) 脫水。

(i) 透化。

10. 封固.

此法簡便，費時較短，標本染色亦美麗，尤適合於任何動物組織之染色，至為實用。

第三節 三色染色標本

細胞學及動物組織學上多應用之，以作細胞內容、細胞分裂、血球，腺組織以及其他動物組織之研究。

【1】番紅花紅、龍膽紫及橙黃 *G* (Flemming's triple stains) 混用法(其一) 細胞學上用於細胞分裂及核分裂之染色，材料(如花粉母細胞等)宜用 Flemming 氏液或鉻酸固定，其在酒精中貯藏者，最初宜以 1% 鉻酸，約 24 時間處置之。

- A. 固定 用鉻酸固定。
- B. 水洗 2 時。
- C. 染色 番紅花紅酒精溶液 (番紅花紅 0.5gr. + 90% 酒精 10cc + 45% 酒精 90cc) 中 24 時以上。
- D. 洗滌 以酒精洗滌。
- E. 脫色 0.1% 鹽酸酒精中脫色。
- F. 染色 1% 龍膽紫水溶液中 3-5 分。
- G. 水洗 迅速以水洗之(不可用酒精)。
- H. 染色 0.5% 橙黃 *G* 水溶液中 1-2 分。
- I. 洗滌 以純酒精洗之(可滴鹽酸 2-3 滴)。
- J. 透化 丁香油中至龍膽紫之色彩呈青暗色為止。
- K. 封固

L. 貼籤.

材料經上法處理後，細胞中之染色體呈紫紅色、染色質暗青色、仁淡紅色、紡錘絲(Spindle fibres)暗紫色及細胞質為黃褐色。

【2】番紅花紅、龍膽紫及橙黃 G 混用法(其二) 亦作核分裂及細胞分裂之染色。

番紅花紅之 95% 酒精飽和溶液	50	} 番紅花紅液
番紅花紅之飽和水溶液	50	
龍膽紫之丁香油飽和溶液	10	} 龍膽紫液
二甲苯	90	
橙黃 G 之丁香油飽和溶液		

A. 脫蠟。

B. 脫二甲苯。

C. 洗滌 95% 酒精中 2 分。

D. 染色 番紅花紅液中 12-24 時。

E. 洗滌 95% 酒精中，至僅染色體及核着色為止。

F. 脫水 純酒精中 2 分。

G. 透化 丁香油中透化。

H. 染色 龍膽紫中 2-3 分。

I. 透化 二甲苯。

J. 染色 滴加橙黃 G 液於載玻片之切片上，0.5 分間染色。

K. 透化 二甲苯。

L. 封固

M. 貼籤.

【3】Biondi-Ehrlich's triple stain 以此染色之材料，宜用含昇汞之固定劑，Carnoy 氏，Bouin 氏液固定，適於細胞及動物組織等之染色。

先製備下液以作染色：

甲基綠	3-4 gr.	} 在 35°C 二、三日間令其完全融解，再以 100cc 之蒸餾水攪稀用之。
酸性紅	4.2 gr.	
橙黃 G	3.0 gr.	
蒸餾水	100 cc	

A. 脫蠟.

B. 脫二甲苯.

C. 洗滌.

D. 染色 24 時染色.

E. 洗滌 50% 醋酸水溶液中瞬間洗之.

F. 脫水 70%, 80%, 90%, 100% 酒精中脫水，處置時間宜迅速，即不能完全脫水，亦可於下一措施中完成之。

G. 透化 蒸木油二甲苯混液，二甲苯.

H. 封固.

切片經此方法染色，如為細胞，則其中之細胞質，中心體，及核液，仁等呈紅色，染色質則成青綠色，若為組織切片，則軟骨，黏液呈青綠色，肥厚細胞之顆粒現青藍色，結締組織，好酸性顆粒，骨齒等呈紅色，血球則現橙黃色。

【4 Van Gieson's stain 此染色法常用作神經組織或纖維之研究。組織染色分明而艷麗，但不出數月而褪色，故不適宜於作永久標本，材料以在昇汞或含昇汞之固定液中處理者為最適當。先製備下列二液。

1% 酸性品紅水溶液	10 cc	}
苦味酸飽和水溶液(濾過)	100 cc	

Hansen 氏鐵蘇木精溶液

A. 媒染 切片用 0.5% 酸酒精處理，以加強色素之着色，藉以挽救色之褪落。

B. 染色 Hansen 氏蘇木精中，使核染色，宜濃染，免為苦味酸所褪落。

C. 水洗 宜充分水洗。

D. 染色 苦味酸品紅溶液中 30 秒或 1-3 分行染色。

E. 洗滌 80% 酒精中洗滌，酒精中宜加微量之苦味酸結晶，以增加其黃色之着色。

F. 脫水 95% 酒精。

G. 透化 二甲苯透化，95% 酒精及二甲苯中亦均宜加苦味酸少許。

H. 封固。

經此法染色後，核及上皮膜 (Epithelia) 着褐色，白結締組織纖維紅色，細胞質，彈性纖維組織及肌肉 (Elastic tissue & muscle) 現黃色。

第四節 特殊染色標本

【1】細胞學上之特殊染色標本。

A. Champy-Kull 之纖粒體 (Mitochondria) 染色法 Champy-Kull 兩氏之染色方法，不僅有利於細胞學上之研究，即一般組織學上亦用之，惟標本經年即褪色，是為其缺點。

1. 固定 Champy 氏液 (Meves 氏液或 Benda 氏液均可用) 固定，材料愈小愈佳。

2. 水洗 蒸餾水中 30-60 分。

3. 木醋酸與 1% 鉻酸之等量 (或 1:2) 混液中 24 時。

4. 水洗 蒸餾水中 30-60 分。

5. 2%-3% 重鉻酸鉀液中 1-3 日。

6. 水洗 流水下 24 時。

7. 脫水。

8. 石蠟法埋漬切片，厚可 4-5 μ 。

9. 染色 Altman 氏酸性品紅中染色，即將此液滴於載玻片之材料上，用酒精燈加熱，至出蒸氣為止。

10. 水洗兼分色 蒸餾水中洗滌兼分色 1-10 分。

11. 染色 0.5% 甲苯胺藍 (或 0.5 Thionin 液) 水溶液中 1-2 分間染色。

12. 分色兼染色 0.5% Aurantia 酒精 (70%) 溶液中 1 分間分色兼染色，須在顯微鏡注視品紅之分色。

13. 分色 96% 酒精中使甲苯胺藍分色。

14. 脫水 100%.
15. 透化 二甲苯.
16. 封固 加拿大樹膠.

上法最宜於無脊椎動物材料之染色，凡經此處理者，染色質變藍色，纖粒體（有時 Golgi apparatus 亦然）呈紅色，細胞質現黃褐色及脂肪現綠色或暗綠色，高爾基氏體黑色。

B. Schridde 氏之纖粒體改良染色法 (Method for mitochondria, modified).

1. 固定.
 - (a) 甲醛 1 分, Müller 氏液 9 分之混液中 2 日.
 - (b) Müller 氏液中 2—4 日.
 - (c) 2% 鐵酸中 2 日.
2. 水洗 一夜.
3. 脫水.
4. 透化.
5. 石蠟埋漬切片 5μ 厚.
6. 脫蠟.
7. 脫二甲苯 100% 酒精.
8. 漂白 100% 酒精 80cc H_2O_2 20cc. 混液中漂白.
9. 媒染 鐵明礬之熱液中 20—30 分.
10. 染色 蘇木精之熱液 20—30 分.
11. 分色 鐵明礬之冷液中分色.
12. 水洗.

13. 脫水.
14. 透化.
15. 封固.

上法爲哺乳動物，鳥類之組織及其細胞中纖粒體之良好染色方法，與用於作染色質，染色體之染色者，略相同，惟纖粒體之着色，以濃厚爲宜。

如上法，凡材料經固定，而再以重鉻酸鉀及鉍酸處理，於日後之某種措施適合者，曰 Post-chroming 及 Post-osmication.

C. A. H. Drew 氏之甲醛，鉻酸及蘇木精特殊染色法 (Formol-chrome-haematoxylin method).

爲檢出植物細胞中桿狀小體 (Rod-like bodies, 謂其與動物細胞中之 Golgi 氏體相同) 之一種特別染色方法，動物細胞同樣可利用之，以作纖粒體及高爾基氏體之研究。

1. 固定 植物根端 (Root-tip) 置甲醛 20cc, 硝酸鈷 (Cobalt nitrate) 2gr., 氯化鈉 0.8gr. 水 100cc 之混液中 24 時.
2. 浸置 阿拉伯樹膠糖漿 (Gum-syrup) 中 1 時.
3. 切片 凍結切片法切片.
4. 附貼 水洗後，用甲醛附貼於塗白明膠之載玻片上.
5. 水洗 除過剩之甲醛.
6. 媒染 4% 鉻酸, 2% 鉍酸等量混液中，加熱 (50°—55°C) 處置 50—60 分或以上.
7. 水洗.
8. 媒染 3% 鐵明礬中 15 分.

9. 染色 $\frac{1}{2}\%$ 蘇木精液中, 約 15 分間加熱 (50°C) 染色.
10. 分色. 鐵明礬之冷液中, 至核變淡褐色爲度分色.
11. 2% 吡啶水溶液中 2 分.
12. 脫水.
13. 透化.
14. 封固.

D. Feulgen 之核特殊染色法 先準備下列三液:

甲. *N*-鹽酸液

濃鹽酸	82.5cc
蒸餾水	1000cc

乙. 品紅亞硫酸液

鹽基性品紅 1gr., 蒸餾水 200cc 加熱融解, 俟冷卻至 50°C 上下, 卽行濾過, 次加 *N*-鹽酸液 20 cc 再冷至 25°C 時, 加亞硫酸鈉 1gr. 如是靜置 24 時, 至溶液無色, 卽可應用, 應密封貯之暗所.

丙. 稀亞硫酸液

10% 亞硫酸鈉水溶液	10cc
<i>N</i> -鹽酸液	10cc
蒸餾水	200cc

使用前將甲液置定溫器內加熱, 保持 $59^{\circ}-61^{\circ}\text{C}$ 之溫度.

1. 切片置 60°C 上下之 *N*-鹽酸液中, 使材料行加水分解, 其

所要之時間，視固定劑之種類而定，參看下表。

固定劑之種類	甲液中所要加水分解之時間(60°C)
Carnoy 氏液	8 分 上下
昇汞醋酸液	5 分 上下
Allen-Fouin 氏液	22 分 上下
Flemming 氏液	16 分 上下
改良 Flemming 氏液 (不含醋酸)	25 分 上下
Champy 氏液	25 分 上下
*Regaud 氏液	14 分 上下
Hermann 氏液	不 定
Bouin 氏液	不 定

2. 水洗 5 分上下。
3. 乙液中 1—1.5 時染色。
4. 丙液中浸漬，須更換三次，每次 2 分。
5. 水洗 流水中 10—20 分。
6. 脫水。
7. 染色 光綠酒精(70%)溶液中複染。
8. 脫水 80、90、96、100% 脫水完畢。
9. 透化 二甲苯。
10. 封固。

* Regaud 氏液。3% 重鉻酸鉀 8cc，甲醣 2cc 若作昆蟲染色體之固定，可加冰醋酸一箇，處置時間 24 時。

核經此法處理後，染色體，染色質現紅紫色，細胞質及眞仁 (Plasmosome) 則呈綠色，惟色素易於褪落，作永久標本並非適當。

【2】動物組織學上之特殊染色標本。

A. Gram 氏組織切片染色法 Gram 氏染色法，係在使細菌與組織區別，而將病理組織施以特殊之染色者，其在病理組織學研究上，至不可少。

1. 水洗 切片水洗。
2. 染色 苦味酸洋紅中 2—5 分。
3. 水洗 蒸餾水反覆洗滌。
4. 染色 生色精水龍膽紫液中 1—2 分。
5. 染色 用吸水紙除去過剩之染色液，然後浸於 Gram 氏液 (碘 1gr., 碘化鉀 2gr, 蒸餾水 300cc) 2 分間染色，至組織變黑爲止。
6. 洗滌 純酒精中 30 秒。
7. 分色 3% 鹽酸酒精(100%)液中數秒，變灰色爲止。
8. 洗滌 純酒精洗滌兼分色。
9. 染色 俾斯麥褐水溶液或品紅水溶液中染色。
10. 脫水 純酒精脫水。
11. 透化 二甲苯。
12. 封固。

切片經上法處理後，如有細菌存在時，則呈淡紫色或暗黑藍色，細胞中之核，在靜止時，其中之核仁或染色質現淡白色，分裂中之核之染色質則帶黑色。

B. Mallory 氏之結締組織染色法 (Connective tissue stain)

先製備下列二液：

甲液：

磷鉬酸	1gr.
蒸餾水	100cc

乙液：

生色精藍	0.5gr.
橙黃 G	2.0gr.
草酸(或蟻酸)	2.0gr.
水	100cc

乙液宜加熱溶解，冷卻濾過，可以長久保存。

Mallory 氏染色法於石蠟，火棉膠切片之染色，均有良好之結果，惟染色時間之長短，全視平日之經驗，標本經久褪色，亦為其一缺點。

材料以 Zenker 氏液，Susa 氏液等含昇汞之固定液處理者，更適宜。

1. 染色 0.1—0.5% 酸性品紅水溶液中，約 3—20 分，必須視固定後日數之長短而定。
2. 水洗 蒸餾水中少時。
3. 甲液即 1% 磷鉬酸水溶液中 3—5 分。
4. 水洗 蒸餾水中數次更換洗滌。
5. 染色 乙液即 Mallory 氏液中 2—20 分。
6. 水洗 瞬間。
7. 分色 95% 酒精中分色。

8. 脫水.
9. 透化.
10. 封固.

對於結締組織之纖維，染色極清晰。

C. Weigert 氏之神經髓鞘染色法：

1. 固定 材料投 10% 之中性甲醛中，1 週以上固定，處理後之翌日須換液一次，如欲保存，於液中加碳酸鉀少許。

2. 洗滌 流水下一夜。

3. 媒染（第一次）置下液中 1 週以上。

重鉻酸鉀	5gr.
氟化鉻(Chromium fluoride)	2gr.
蒸餾水	100cc

先加熱融之，冷後濾過，可以供用。

4. 洗滌 蒸餾水中 2-3 分。

5. 媒染（第二次）置下液中 1-數日。

氟化鉻	2.5gr.
冰醋酸	5.0cc
醋酸銅	5.0gr.
蒸餾水	100 cc

先加熱將氟化鉻融解，次加冰醋酸及醋酸銅，濾後可供用，溶液呈透明之暗綠色。

6. 脫水.

7. 火棉膠埋漬法，埋漬並切片，切片厚可由 25—50 μ 。

8. 染色。蘇木精中 12—24 時，至切片呈濃暗藍色爲度，蘇木精之製法如下：

蘇木精結晶	10 gr.	} 基液
純酒精	100 cc	
基液	10 cc	
碳酸鋰飽和水溶液	1 cc	用前混合
蒸餾水	90 cc	

9. 洗滌 流水下 1 夜。

10. 分色 下液中分色 10—60 分。

紅血鹽 (Pot. ferricyanide)	2.5 gr.
礫砂	2.0 gr.
蒸餾水	100 cc

在顯微鏡下，神經髓鞘呈青色，灰白質 (Grey matter) 薄茶色，火棉膠無色透明。

11. 水洗 流水下一夜。

12. 脫水。

13. 透化。

14. 封固 髓鞘至是成美麗之藍青色。

第五節 金屬鍍色標本

金屬鍍色標本係利用金、銀、鉑、鐵、鐵等重金屬之溶液，使細胞

組織或細胞中之某構造成分，起氧化還元作用着色（多為黑褐色）而製作之標本，金屬中常用者，有氯化金、氯化金鉀及硝酸銀等。

【1】鍍金法（Gold impregnation method）用於鍍金者有氯化金及氯化金鉀。此等重金屬之溶液與有機性成分會合時，藉光線之作用，即起還元作用即氧化生成氧化金（ AuO ），其分子則沉着於物體之表面而現出特異之色彩，凡酸類如蟻酸、醋酸、酒石酸及鹽酸等可促進其還元作用，如鍍色過濃，可以 $\frac{1}{4}$ 或 $\frac{1}{2}$ 氰酸鉀溶液分色。

鍍金法多用於神經組織，特別為軸索之先端，肌纖維及結締組織纖維等之研究。

材料有用新鮮者，有用已固定而硬化之組織者，用新鮮材料之鍍金，稱為前鍍金（Pre-impregnation），用固定組織之鍍金，稱為後鍍金（Post-impregnation），兩者之着色情形自有差別，如前鍍金法可使核不着色，細胞質則濃着色，軸索（Axis-cylinder）則成紅紫色，後鍍金法可使核濃厚着色，細胞質蒼白色，軸索則變黑色。

A. Löwit 氏之氯化金前鍍金法。

1. 新鮮材料如皮膚等投蟻酸液（比重 1.12 之蟻酸 1 分，水 1 分）中，使之膨潤，至表皮能剝落為度。

2. 1—1.5% 氯化金中溶液中 15 分。

3. 蟻酸之稀釋液中（蟻酸 1：水 1—3）24 時。

4. 蟻酸中 24 時。

3, 4 兩步驟均須於暗所行之。

5. 切片。

6. 裝置於 Damar 或甘油中。

如材料處理得宜，僅神經着色。

B. 氯化金之後鍍金法 為檢出動物神經終端(Nerve-endings)之一鍍金法。

1. 尋出爬蟲類或哺乳類肌肉中之發動神經(Motor nerves)，同時連同其附着之肌肉小片取出，固定而保存於 10% 之甲醛液中。

2. 將此小片肌肉，投諸 10—12 倍之 10% 蟻酸液中 30—40 分。

3. 次將材料移於 8—10 倍之 1% 氯化金水溶液中 30—40 分，宜避免直接之太陽光，此際肌肉變黃色。

4. 再次將材料，移入於 25 倍之 2% 蟻酸中，至其變紫色為止，約須 24—48 時，但須在暗所進行，當神經纖維變為紅紫色時，此氧化還元之作用，至為適當。

5. 在蒸餾水中洗滌數次，1 時上下，隨移於載玻片上，在解剖鏡下，將神經自肌肉剔出，再在顯微鏡下將其中之一神經纖維及其末端自其他神經分出。

6. 加甘油膠及蓋玻片，照普通方法封固。

【2】鍍銀法(Silver impregnation method)。

A. Cajal 氏之改良鍍銀法 (The pyridinesilver method)
Ramony Cajal 氏用 Pyridine 之改良鍍銀法，為檢出神經纖維(Neurofibrils)之良好方法，其製作標本之程序如下：

1. 固定 小片神經材料置於含強氮約 1% 之純酒精中，48 時固定。

2. 洗滌。蒸餾水中 1—3 分。

3. Pyridine 中 24 時，宜換液一次，神經組織置此液中變為透明。
 4. 洗滌 蒸餾水中 24 時。
 5. 鍍銀 2% 硝酸銀水溶液中 3 日，在 35°C 之溫度下，置暗所進行。
 6. 洗滌 蒸餾水中 1-2 分。
 7. 焦性沒食子酸 (Pyrogallic acid 4gr. + 5% Formalin 100cc) 液中 1-2 日。
 8. 水洗 蒸餾水中 1 時。
 9. 脫水。
 10. 石蠟埋漬及切片，切片可 4-8 μ 厚。
 11. 脫蠟 二甲苯處置，如結果良好，可即以加拿大樹膠封之，否則再照下列步驟進行。
 12. 脫二甲苯 二甲苯純酒精，純酒精，90%，80%...30% 酒精。
 13. 水洗。
 14. 鍍金 1% 氯化金水溶液 30-60 秒。
 15. 洗滌 蒸餾水中數分。
 16. 0.5-1.0% 硫代硫酸鈉水溶液中數分。
 17. 水洗 流水下 1 時。
 18. 脫水。
 19. 透化。
 20. 封固。
- B. Cajal 氏之高爾基氏體鍍銀檢出法：

1. 固定 極新鮮之小組織片，置下液中固定 10—14 時。

硝酸鈣	1 gr.
蒸餾水	85 cc
中性甲醛	15 cc

若材料為神經組織，則改用下液：

硝酸鈣	1 gr.
蒸餾水	80 cc
中性甲醛	15—20 cc
95% 酒精	30 cc

2. 水洗 蒸餾水中數秒間洗滌。

3. 鍍銀 1—1.5% 硝酸銀水溶液中 36—48 時，置褐色瓶中處理。

4. 水洗 蒸餾水中數秒。

5. 還元 置下列之還元液中，2 時還元。

Hydroquinone	1—2 gr.
中性甲醛	15 cc
蒸餾水	100 cc
無水亞硫酸鈉	0.5 gr.

6. 水洗。

7. 脫水。

8. 石蠟埋漬法或火棉膠埋漬法切片以製標本。

第十一章

脊椎動物之胚胎切片標本製法

本章試就蛙與雞之胚胎切片標本製作方法，記其大略，蓋蛙與雞之胚胎，材料既易於獲得，而又為研究脊椎動物發生過程之代表資料故也。

第一節 蛙之胚胎切片標本製法

蛙卵之普通分裂期 (Cleavage stage)，卵黃栓期 (Yolk-plug stage) 及 3、5、7、9 mm. 四種長度之蝌蚪 (Tadpole)，將其切片或整體封固，均為研究脊椎動物胚胎發生過程之最適時期。

蛙之受精卵在春季之水田池溝中，隨時得之；惟人工授精 (Artificial fecundation) 為獲取蛙卵早期分裂最正確而最方便之方法。其法係在生殖時期，將雄蛙剖開，取出其精巢 (Testis) 或輸精管 (Vasa deferentia) 置於盛水之時計皿中並裂開之，次將自雌蛙輸卵管 (Oviduct) 之後端取出之卵加入之，五分後，將卵移置於培養皿中，其中之水不宜深過四英寸，然後計算時間，以求獲得其所欲製為切片標本之時期。

蛙卵及蝌蚪均可以 Tellyesnick 氏液固定，惟孵化以前或分裂

早期之卵，最好以 Smith 氏*液固定，其措施順序，乃將卵塊分開成小塊，每塊約為 25 卵上下，浸之於盛 Smith 氏液之培養皿中，處置 24 時，處置後經水洗，投入 5% 之甲醛水溶液中再洗滌，然後貯藏於 2% 甲醛液中即可。

蛙卵之周圍，有極厚之膠質膜 (Gelatinous membrane)，須除去之，以便作下一步驟之處理；除去之法，將卵塊（不拘其為新鮮之卵或經固定者）置於吸水紙上，前後左右滾轉，使膠質黏貼於紙上，以去之，惟至最後僅剩薄層之膠質膜時，則必須改用較光滑而略硬之紙，以防卵本體黏貼而破壞。

Whitmann 氏謂將已固定之卵塊，置諸 10% 之次氯酸鈉 (Sodium hypochlorite)，再以 5—6 倍水稀釋之溶液中，至其搖盪能分離為止，大約需時數分，此後可洗之於 35% 酒精中，以俟下一程序之處理。

固定後之卵膠質膜，亦可以下法除去之，即自固定液取出之卵塊，經 24 時水洗後，浸於以 3 倍水稀釋之 Eau de Javelle 液中，在 15—30 分內，時時搖盪之，至膜完全溶解，各卵能彼此分開為止；此後經水洗，50%，70% 而貯之於 80% 酒精中即可。

蛙卵之分裂後期及蝌蚪，均可用 Bouin 氏液固定，時間自 1—18 時不等，次之以 50% 酒精洗滌，經 70%，而貯藏之於 70—80% 酒精中，在用 70% 酒精處置時，可滴加 2—3 滴之碳酸鋰飽和水溶液，至其黃色褪去為止。

* Smith 氏固定液：重鉻酸鉀 0.5gr.，冰醋酸 2.5cc，甲醛 10cc
蒸餾水 75cc

【1】蛙胚胎之切片標本製法:

A. 蛙之胚胎早期切片標本製法 蛙卵之發生早期, 因卵黃(Yolk)之量特多, 不易切片, 可以此法處置之。

1. 固定 以下述 Tellyesenicky 氏之改良液固定。

重酪酸鉀	3 gr.
蒸餾水	100 cc
冰醋酸	5 cc
甲醛	10 cc

冰醋酸與甲醛在使用前加入。

2. 水洗 流水下 6—24 時。
3. 保存 5% 甲醛液中保存。
4. 水洗 流水下 6 時。
5. 染色 硼砂洋紅液 24—48 時。
6. 脫水 純酒精中 20 分。
7. 媒浸 純酒精與氯仿之等量混液中 5 分上下, (至卵沉下爲度), 次純氯仿中 5 分。
8. 浸置 軟蠟中 10 分, 硬蠟中 10 分, 均宜將蠟更換二回。
9. 埋漬。
10. 切片。
11. 脫蠟。
12. 透化。
13. 封固。
14. 貼籤。

B. 蛙之胚胎後期及蝌蚪切片標本製法.

1. 固定 Tellyesenicky 氏液或 Bouin 氏液中 24 時.
2. 水洗 流水下 6—24 時, 若係 Bouin 氏液固定者, 可直接移入 70% 酒精中.
3. 脫水 50%, 70% 酒精中各 3 時工作如不繼續進行, 可貯之於 70% 酒精中.
4. 染色 硼砂洋紅液中 24—48 時.
5. 分色 酸酒精中 10—60 分.
6. 脫水 70%, 80%, 96% 及純酒精中脫水.
7. 媒浸.
8. 設置.
9. 埋漬 石蠟埋漬.
10. 切片 以 10μ 厚切片.
11. 脫蠟.
12. 透化.
13. 封固.

【2】蛙之各期分裂卵及胚胎之整體封固標本製法 為便利與連續切片作比較研究, 應將蛙發生各期之卵與胚胎作整體封固.

A. 不透明之整體封固法(Opaque mounts).

1. 先製百里香精之飽和水溶液(須加熱使其充分溶解), 濾過後, 加入白明膠, 令其吸收水分至飽量為度, 然後傾去其過剩之水液.
2. 將白明膠移入試管內, 插入熱水中, 使之液化.
3. 用圓窩載玻片或於普通載玻片之上, 以凡士林或其他圍一

方框，而將液化之白明膠傾之，以俟其冷卻凝結。

4. 用燒紅之針將凝結之白明膠融成一凹穴，其大小應能充分將胚胎裝入，或者於白明膠面融開數小凹穴，以便將分裂各期之蛙卵依次裝入。

5. 將分裂各時期之卵或胚胎，隨所欲封固之位置嵌入。

6. 滴流動之白明膠液一滴於材料之上，隨後以稍燒熱之蓋玻片覆之。

7. 用牙籤或其他器具將蓋玻片周緣過剩之白明膠除去，而以貼金膠水或 Valspar 封之。

B. 透明染色之整體封固法 (Transparent stained mounts).

1. 將胚胎置過氧化氫中漂白至變白為止，大約需時一週，至材料之 80% 酒精中保存者，須先經 70%，50% 酒精及水洗各 1 時方可，其在甲醛中貯藏者，亦須水洗一時。

2. 置下式之硼砂洋紅液中，4 日以上染色。

硼砂洋紅	5 gr.
35% 酒精	95 cc
百里香精結晶	1 粒

3. 如材料過度染色，可以 1% 鹽酸酒精 (70%) 液分色。

4. 水洗 1 時。

5. 50%，80%，95%，100% 中各 1 時。

6. 置二甲苯中至透明為度。

7. 預於載玻片之中心，以假象牙 (Celluloid) 或小玻璃棒圍成一如蓋玻片大之方框，其深淺視材料而定，隨滴入加大拿樹膠數滴，

將胚胎裝置，而以蓋玻片封之即可，在操作期間勿使生出氣泡。

假象牙可以醋酐，使其固着於玻璃片上。

第二節 雞之胚胎標本製法

早期雞胚胎之前後方向鑑別法 雞之胚胎在卵殼內發育，欲知其前後左右，至為難事，下述者為其最簡易而正確之鑑別方法，此在切片標本製作上，萬不可不知者，鑑別法為將卵之鈍端放向左側，則胚胎之頭端向前以此為準，即不難得知胚胎之前後左右也。

標本製作方法(其一)：

1. 預將新鮮之受精卵，使母雞孵之，能有孵卵器則隨時可以利用，以孵卵器孵卵，須將孵卵器內之溫度保持在 $37^{\circ}-39^{\circ}\text{C}$ ，器內用皿盛水，以保持適當之濕氣，又一日中必起蓋數次，以便新鮮空氣之更換，器底敷墊棉花，方可置卵其中孵之，在孵伏期中，宜常轉動孵之位置。

2. 經過所需要之時間後，將卵取出，鈍端向上，以解剖刀將鈍端之周圍卵殼，輕叩碎之，用鑷子次第清除碎殼，使成圓孔，然後破其卵膜，即見卵黃之中央，有形成胚盤之胚。隨將其傾入於預製而保有 $37^{\circ}-39^{\circ}\text{C}$ 之生理食鹽水中。

3. 用細剪將含胚盤之血管區 (Vascular area) 之周緣剪開，使浮之液中，輕微搖之，可取出其附着之卵黃膜 (Vitelline membrane) 及卵黃 (Yolk)，如卵黃不易脫離時，可以吸管吸液以沖去之。

4. 將載玻片浸液中，細心將胚胎載於其上，切勿令其皺折，然後輕靜將載玻片自液中取出，並除去其過剩之液分。

5. 急以吸管取昇汞之飽和水溶液滴加之，靜置 30 分，使其固定。

6. 將載玻片連材料移置水中施行水洗。

7. 用碘酒精以去昇汞。

8. 用硼砂洋紅液施行染色。

(A) 材料之作全標本封固者：

9. 用酸酒精充分分色。

10. 以 70%, 95%, 100% 酒精脫水，前二者中各 1 時，後者中 2 時。

11. 二甲苯中 2 時透化。

12. 封固 腹背面之胚胎全標本，應各裝置一、二，以備對照觀察。

(B) 材料之作切片標本者：

9. 材料應濃厚染色。

10. 以 70%, 95%, 100% 酒精脫水，時間同前。

11. 以二甲苯脫酒精。

12. 照普通之石蠟浸置方法處置，全部時間約需 2—3 時，石蠟以用融點 48°C 者為宜。

13. 埋漬、切片、不論其為蛙為雞，凡胚胎應有三方向之切片，即橫斷 (Transverse section)，水平縱斷 (Frontal section) 及垂直縱斷 (Sagittal section) 三種之切片是也，切片厚度可從 20—30 μ 。

14. 以下照石蠟法切片後之其他步驟處理，以封固標本。

標本製作法(其二)：

1-3 項措施,照上法處理。

4. 胚盤在培養皿中,以吸管去皿中之液,但勿使胚胎過於乾燥。

5. 留心傾入下製之 Kleinenberg 氏之苦味酸硫酸溶液中,至胚胎能完全浸入爲度,時間 2-3 時。

苦味酸	飽和量	} 原液。
硫酸	2 分	
蒸餾水	100 分	
原液	1	
蒸餾水	3	

6. 數次更換 70% 酒精,以事洗滌,然後經 50%, 30% 酒精而至水洗。

7. 明礬臙脂液中 24 時染色,用 Conklin 氏之蘇木精液處理亦可。

8. 水洗 經 35%, 50% 及 60% 酒精,而弱酸酒精分色。

9. 脫水 自 70% 開始,經 95% 中 1 時,純酒精中 2 時以脫水。

10. 透化。

(A) 材料之作全標本封固者:

11. 用加拿大樹膠封固,腹背面之標本應各有其一。

(B) 材料之作切片標本者:

12. 照普通之石蠟浸置方法,將胚胎處理,時間 2-3 時。

13. 用軟蠟埋漬並切片,切片之厚度 20-30 μ 。

14. 照切片後之其他方法處理,以便封固。

第三節 胚胎切片之多色染色法

【1】品紅與苦味酸靛洋紅(Fuchsin and picroindigo-carmin)
之多色染色法：

- A. 切片脫蠟後，自高度酒精漸次退回各低級酒精而至水洗。
- B. 鹽基性品紅之飽和水溶液中，20 分間染色。
- C. 水洗。
- D. 苦味酸靛品紅液中，5 分間染色。

苦味酸飽和水溶液 50cc

靛洋紅飽和水溶液 50cc

E. 急速通過 70%, 95%, 100% 酒精而至二甲苯酒精中透化，其所以作急速處理者，因靛之綠色易在 70% 酒精中褪落，紅色則易在純酒精中褪落故也。

- F. 透化並封固。

【2】Oppel 氏之多色染色法(Polychromatic stain)：

- A. Bouin 氏液中固定。
- B. 礪砂洋紅液中 1—2 日間染色。
- C. 分色，脫水。
- D. 浸置，埋漬。
- E. 切片。
- F. 脫蠟。
- G. 自高度酒精退回各級低度酒精，而至水洗。
- H. 苦味酸靛洋紅液中，1—2 分間染色。

I. 苦味酸品紅液中 1 分。

苦味酸飽和水溶液 50 cc

酸性品紅飽和水溶液 50 cc

J. 水洗 5 分。

K. 95% 酒精中 2 分。

L. 石炭酸二甲苯及純甲苯中透化。

M. 封固。

第十二章

細菌及瘡原蟲之檢查法

細菌 (Bacteria) 之顯微鏡檢查方法有二，其一為無染色標本檢查，另一則為染色標本檢查，前者在觀察細菌之形態、發育及運動等生活狀態，後者則係利用染色技術，使細菌變為清晰，以便於研究細菌之種屬、形態及構造。

第一節 細菌無染色標本檢查法

細菌無染色標本檢查法乃製作懸滴標本，使細菌在生活狀態，而加以檢視之方法，其中有需要加溫之裝置，始可檢查者，以下分項敘述。

【1】懸滴標本之製作及檢視法 懸滴標本 (Hanging-drop preparation) 照下述方法可以製作之。

- A. 用圓窩載玻片，在圓窩之周緣，以毛筆塗凡士林。
- B. 將拭淨之方形蓋玻片置諸檯上，以白金耳取含細菌之液滴一小滴，置諸其中央，在操作前，須留心者，有：
 - (1) 白金耳使用前後，須於酒精燈火上燒紅殺菌。
 - (2) 蓋玻片應以純酒精拭淨，藉除脂肪等成分。

(3) 滴下之含有細菌之液滴，不宜過多，又該液滴，可能以細菌之含有量少為佳。

(4) 含多量細菌之培養液，或細菌含有之物體為固體時，或欲將細菌之聚落製為懸滴標本時，可以殺菌蒸餾水、食鹽水、或肉質培養基等稀釋之，攪稀之方法，即用白金耳取上述任何一種之液體一小滴，加於蓋玻片之中心，然後以白金針將可檢物微量攪之於液之邊緣。

(5) 欲檢視細菌或絲狀菌之運動與生長及芽胞之形成，芽胞之萌發等，可用肉質培養基或白明膠培養基，以作懸滴標本。

C. 將預塗有凡士林之圓窩載玻片反轉，使圓窩之面向下，而蓋於蓋玻片之上，並令含細菌之小滴在圓窩之中心，次將覆蓋之載玻片輕微壓之，以使蓋玻片黏着於凡士林上，並免除培養液水液之蒸發，然後迅速再將載玻片反轉，此際含細菌之液滴懸垂載玻片之凹窩內，即成所謂懸滴標本。

懸滴標本製作前後尚有須注意者：

(1) 圓窩載玻片在反轉覆蓋以前，應將其略加溫熱，否則在圓窩內因液滴而生曇濁。

(2) 蓋玻片與載玻片宜成 45° 之角度以黏着之，以便檢視完畢易於剝落。

(3) 液滴懸垂窩內，如與底面接觸時，則不適於檢視，此際宜棄置於千倍之昇汞水中，另作新片。

D. 懸滴標本製就後，即可檢視。

檢視細菌初宜用低倍接物鏡，將遮光器縮小，用平面反射鏡，以

探視液滴之邊緣，如可，則將其移於視野之中心，並固定之使其不動，次改用凹面反射鏡，將遮光器略事放大，滴加洋杉油一滴於蓋玻片之中心，轉換油涵接物鏡，即可達到檢查目的。

細菌在鏡下常呈灰白色而無構造之微體出現。

細菌之能運動者，則其運動為直進或蛇行，常變換其位置，且細菌彼此間之距離亦急速變化，與普通之分子運動，自有極大區別，後者起所謂 to-and-fro movement，其動搖範圍略有一定，且不變換其位置，故在顯微鏡下，細菌之固有運動與分子運動，不致於混淆也。

病原細菌如霍亂菌、霍亂菌、Salmonella 屬諸菌，均有固有之運動。

E. 懸滴標本檢查完畢，即宜將蓋玻片剝脫，投於鹽酸加千倍昇汞之水中，以事殺菌。

【2】懸滴標本加溫法 在低溫度之下或欲檢視細菌之發育、運動等，須施以適當之加溫，若檢視細菌之全發育過程，尤須保持數時，數日間之一定溫度，不使稍有變化，欲求達至此目的，可以利用顯微鏡之加溫裝置。

顯微鏡之加溫法，有多種，其中用法簡便者，允推 Pfeiffer 氏之加溫器（參看第四章第一節），其用法係將裝置懸滴標本之顯微鏡，藏其下半部於加溫器內，乃自下端加熱，令器內溫度保持在 37°C 上下，然後自露出外面之接目鏡，可隨時檢視。

第二節 細菌染色標本檢查法

在懸滴標本所不能觀察之菌體微細構造，或須作細菌之種別鑑

識時，須將其製為染色標本，方可達到目的，染色之法係將細菌塗布於蓋玻片，先行固定，然後以適當之色素而加以染色，普通依染色之難易或隨檢查目的，而有普通染色標本檢查法及特殊染色標本檢查法之別。

【1】普通染色標本檢查法 細菌之不需要特別處置，容易染色，且可以單一色素染色者，可以此法行之，其處理順序如下：

A. 塗抹 用白金耳取殺菌蒸餾水一滴，於清拭之載玻片上，次取微量之細菌含有物於水滴中，以白金耳充分混勻並塗抹為薄層。

若為肉質等之液體培養基，則取其液一滴，以同樣之方法塗抹之。

B. 乾燥 在空氣中令其自然乾燥，如急欲於用，以遠火烘之，非在萬不得已，不宜於作此處置。

C. 固定 將載玻片在火焰中連續通過三回，通過火焰之速度，不宜太快，亦不宜過慢，此全憑平日之經驗，固定在使細菌之蛋白質凝固，附着於載玻片上，不致因染色，洗滌等操作而使細菌流去。

D. 染色 滴加染色液於載玻片之細菌塗布面，放置1—2分間，以染色，細菌之常用染劑，有 Löffler 氏之鹼性次甲基藍，Ziehl 氏之石炭酸品紅液等，染色時間，視所用染色液之種類而不相同。

E. 分色 如染色過濃，可以酸酒精或 200 倍之醋酸水分色，一秒上下，若染色適宜，可不必經此步驟。

F. 水洗 流水中洗滌，以去染色液，洗滌時，載玻片之塗抹面向下，以免流水之沖落細菌。

G. 乾燥 洗完之載玻片，可夾於二吸水紙之間，以去水分，乾燥

後即可檢視。

H. 檢視 用油涵系裝置，反射鏡用平面，遮光器可全開。

凡塗抹標本之未封固，而用油涵裝置檢視者，於檢查完畢後，可投於二甲苯中，溶去洋杉油，以便保存。

【2】特別染色標本檢查法 細菌之特別染色法有 Gram 氏法，芽胞染色法，鞭毛染色法，抗酸性菌染色法等，其中 Gram 氏染色法應用於細菌種屬之鑑別，為常用特別染色法中之一。

A. Gram 氏染色法。

(1) 塗抹、乾燥、固定。與在普通染色標本檢查法之項所述之方法相同，以下均準此。

(2) 石炭酸龍膽紫液中 3 分間染色(無加溫之必要)。

(3) 將載玻片斜靠，以傾去染色液，隨用 Gram 氏液數回更換處理，為時約 2 分，然後以吸水紙去其水分，使之乾燥。

(4) 純酒精中分色，須換液數次，至色素不再褪落為度，約 1-2 分，時間切不可過長。

(5) 水洗，以吸水紙去其水分。

(6) 以俾斯麥褐作對比染色，2-3 分。

(7) 水洗、乾燥、顯微鏡檢視。

細菌經上法處置後，其為 Gram—陽性菌呈濃紫至暗紫色，陰性菌則着對比染色之色彩。

附：Gram—陽性細菌及陰性細菌 茲列舉 Gram 之陰陽病原細菌二、三於下，以作參考：

A. Gram—陽性細菌：

a. 除淋病菌，腦脊髓膜炎及其近緣者數種外，所有球菌均屬於此。

- b. 有芽胞細菌。
- c. 白喉菌、結核菌。

B. Gram—陰性細菌：

- a. 大多數之病原性腸內細菌(瘰扶斯菌, *Salmonella*, 赤痢, 霍亂)。
- b. 螺旋體屬之病菌(*Spirilla*), 原蟲等全部。

B. Gram—染色法之 Hucker 氏改變法 先製備下列二液：

甲液 龍膽紫結晶 0.3gr. 純酒精 20cc
 乙液 草酸鉍 0.8gr. 蒸餾水 80cc

- (1) 甲、乙兩液之混合液中, 1 分間染色。
- (2) 水洗。
- (3) Gram 氏液 (Lugol 氏液) 中 1 分間處理。
- (4) 水洗 以吸水紙去水, 乾燥。
- (5) 純酒精中 30 秒脫色。
- (6) 以吸水紙吸乾。
- (7) 番紅花紅液(以 10 倍蒸餾水稀釋番紅花紅之 2.5% 酒精溶液而製者) 中, 10 秒間對比染色。
- (8) 水洗、乾燥、鏡檢。

C. Hiss 氏之細菌莢膜染色法。

此法主用於血液, 組織液中生體材料之檢查。

- (1) 塗抹、乾燥、固定。
- (2) 下液中數秒—10 秒加溫染色。

品紅或龍膽紫之酒精飽和溶液 5cc
 蒸餾水 65—95cc

加溫染色係酒精燈之弱火，在遠火上加熱，至液之表面開始起蒸氣時，即行停止。

(3) 20% 硫酸銅水溶液中洗滌。

(4) 乾燥、鏡檢。

D. Möller 氏之芽胞染色法：

(1) 塗抹、乾燥、固定。

(2) 5% 鉻酸水溶液，約 3—10 分間處置。

(3) 水洗。

(4) Ziehl 之石炭酸品紅中，2—3 分加溫染色。

(5) 水洗。

(6) 1—3% 硫酸水中，數秒間分色。

(7) 水洗。

(8) 4 倍稀釋之 Löffler 氏次甲基藍液中 30—60 秒間染色。

(9) 水洗、乾燥、鏡檢。

染色結果菌體呈淡藍色，芽胞變紅色。

E. Löffler 氏染色法之 Gunter 氏改良鞭毛染色法：

(1) 塗抹、乾燥、固定。

鞭毛細菌不能如普通之塗抹法塗擦，應以針尖在與液面相接觸之程度，輕手將液滴攤布之，使不損傷鞭毛。

材料宜取其經 20 時左右培養之活潑菌體。

(2) 下列之 Löffler 氏媒染劑滿滴加之，約 1—2 分間處置。

20% 單寧酸水溶液 10 cc

硫酸鐵冷飽和水溶液 (FeSO₄ 1 分，水 1.8 分) 5 cc

品紅原液(品紅 11 gr. + 純酒精 100cc) 1cc

使用前須濾過，經月後不能復用。

3. 水洗 須輕靜洗滌，並於空氣中乾之。

4. 注滿生色精水龍膽紫或生色精水品紅或石炭酸品紅，加溫染色 1—2 分。

5. 水洗、乾燥、鏡檢。

菌體，被膜及鞭毛均顯明着色。

F. Ziehl-Neelsen 兩氏之抗酸性細菌染色法：

1. 塗抹、乾燥、固定。

2. Ziehl 之石炭酸品紅液約 2—5 分間加溫染色，須時時補充染色液。

3. 以 3% 鹽酸酒精分色，至不見色為止。

4. 水洗。

5. 以 4 倍稀釋之 Löffler 氏次甲基藍液，約 30 秒間再染色。

6. 水洗、乾燥、鏡檢。

結核菌等用此法染為深紅色，極易檢出。

G. Neisser 氏之異染小體染色法 先製備 Neisser 氏液

甲液：	次甲基藍粉末	0.1gr.
	純酒精	2.0cc
	冰醋酸	5.0cc
	蒸餾水	100.0cc

乙液:	龍膽紫	0.1gr.
	純酒精	1.0cc
	蒸餾水	30.0cc

以甲液 2 分, 乙液 1 分之比混合用之。

1. 塗抹、乾燥、固定。
2. Neisser 氏液中 10—15 秒間染色。
3. 水洗。
4. 0.3% Chrysoidin 水溶液中加溫染色, 爲時須數秒—10 秒。
5. 水洗、乾燥、鏡檢。

上法細菌學上常用之以作白喉菌之鑑別, 白喉菌依其特有之形狀, 柵狀與開指狀之排列及其兩端有異染體之存在異於識別。

H. 螺旋體屬 (Spirilla) 細菌染色法 (其一)。

1. 照血液之塗布方法 (參看下節, 血液之塗布標本檢查法) 將含菌之材料 (如血液、腹腔液或培養液等) 塗布於載玻片上。
2. 鐵酸蒸氣或酒精與醚之等量混液中, 約 15 分間固定。
3. 純酒精中 2—3 分間處理。
4. 下列之 Bunge 氏液中, 1 分間再固定, 水洗後即可染色。

甲醛	20cc
冰醋酸	1cc
蒸餾水	100cc

5. 染色 以 Giemsa 氏液染色, 若爲回歸熱之病原體 15—30 分即可, 若爲難染性之 *Leptospira*, *Treponema* 等則須要更長久之

時間。

6. 水洗、乾燥、鏡檢。

螺旋體屬菌呈淡紅色。

1. 螺旋體屬細菌染色法(其二)。

Fontana 鍍銀法：先製備媒染液及氨銀液、媒染液。

流動石炭酸	1 cc
單寧酸	5 cc
蒸餾水	100 cc

宜加熱溶解。

氨銀液之製法：於 1% 硝酸銀水溶液中，滴加氨水，初時呈現白色混濁，如繼續滴下，則此白色混濁液轉變為褐色，若再三繼續滴下，一面搖盪之，則此混液遂變為無色透明，在充分搖盪中將見色消失時即應停止滴加氨水。

在滴加氨水前，應留剩一部分硝酸銀液，以備氨水過量加入時之補救。

處置方法：

1. 塗抹、乾燥、固定。
2. 媒染劑中略加溫以行媒染。
3. 輕靜水洗。
4. 1% 氨銀液中(至標本現淡褐色為度)瞬時染色。
5. 充分水洗。
6. 乾燥、鏡檢。

微毒螺旋體等經此法處理後，呈暗褐色。

第三節 血液之塗布染色標本檢查法

【1】Wright 氏染色法 係改良 Leishman 氏之 Romanowsky 氏染色法而成者，在染色前須製作此法之染色劑。

(1) 先製 0.5% 之重碳酸鈉水溶液，次加入 1% 之次甲基藍液，充分搖勻。

(2) 將此混液置普通之蒸氣殺菌器中，加熱 1 時。

(3) 冷卻後，濾過以去沉澱。

(4) 每 100cc 之濾液中，加入 500cc 之 0.1% 曙紅水溶液，並使其充分攪勻。

(5) 再過濾，其所得之沉澱濾渣，使乾之，以作染料。

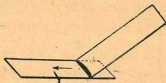
(6) 將此濾渣染料（必要時可研碎）製為 5% 之純酒精溶液，即可用以染色。

染色法：

A. 刺破手指或耳垂，使其迸出之血液，製為薄膜，薄膜之製法有二：

(a) 將迸出之血滴附着於蓋玻片上，次將此片重疊於另一蓋玻片上（使其四角各不相重，亦不可加壓），而迅速向兩邊分離之，即得平等塗布之血液薄膜片二張。

(b) Daniels 氏塗布法 以右手持蓋玻片（或載玻片），將迸出之鮮血滴於其下緣，使其反轉與操持於左手中之載物片接觸，二片所成之角度，以 40° 為宜，再次令蓋玻片（或載玻片）輕施壓力，推向載玻片之左方（前方），即可得平等塗布之薄膜血液片。（參看下列圖）。



第五二圖 血液之薄膜塗布法

B. 在空氣中乾之。

C. 加一定量之染色劑於標本塗布面，約一分間使之染色。

D. 加入與染色液等量之蒸餾水於標本面之染色液中，使此混液再作用3—4分。

E. 以蒸餾水洗滌，至血液薄膜變為淡紅色之色彩及紅血球變為黃色或淡紅色為度。

F. 至吸水紙間去水並乾之，然後用加拿大樹膠封固。

血液經上法處理後，各部分之着色情形如下：

紅血球 (Erythrocytes)——橙黃色或淡紅色而有深藍色之核。

淋巴球 (Lymphocytes)——核呈紫藍色，細胞質淡青色而有暗藍色或紫色之顆粒。

多核嗜中性白血球 (Polynuclear neutrophilic leucocytes)——核呈藍色或暗淡紫色而有帶紅色之淡紫色細胞質顆粒。

嗜曙紅白血球 (Eosinophilic leucocytes)——核藍色或暗淡紫色，細胞質藍色而有曙紅色之顆粒。

大單核白血球 (Large mononuclear leucocytes)——核為藍色或暗淡紫色，細胞質一種呈淡藍色，另一種則現藍色而有暗淡紫或深紫色之顆粒。

巨形細胞 (Mast cells)——其成不規則形態之核呈帶紫色或暗藍色，細胞質則帶藍色，其中有多數大小相異之粗球狀顆粒染為暗紫色或黑色。

Myelocytes——核呈暗藍或暗淡紫色，細胞質藍色，其中含有多數暗淡紫或紅淡紫色之顆粒。

血小板 (Blood-platelets)——藍色。

【2】Giemsa 氏染色法 染色前先準備 Giemsa 氏液，是液因係由 Romanosky 氏染色液所誘導而製出者，故先言 Romanosky 氏液於下：

甲液：	1% 次甲基藍溶液	100cc
	苛性鈉	0.3—0.5gr.
乙液：	曙紅	1gr.
	蒸餾水	100cc

甲乙兩液之混合比例：

甲液	1分
乙液	0.3—0.6分
蒸餾水	10分

Romanosky 氏染色液原用以作瘧原蟲之染色。

Giemsa 氏液之製法 先於鉀次甲基藍液中（次甲基藍與碳酸鉀之混液），因鹼之作用或氧化作用，將所生成之色素抽出，是為天青藍 (Azure) I，於此抽出之色素中再加等量之次甲基藍，以製成天青藍 II，使此天青藍 II 與曙紅結合，即變成天青藍 II 曙紅 (Azure

II-Eosin) .

天青藍 II 曙紅製出後，照下列成分比例加入其他之成分即可成原液，所宜注意者，即應先將天青藍 II 曙紅研為細末，置乾燥器中以去水分，次傾入甘油，加熱至 60°C 使其充分融解，冷卻後始可和入純酒精。

原液：

天青藍 II 曙紅	0.6 gr.
天青藍 II	0.16 gr.
純酒精	50.00 cc
純甘油	50.00 cc

染色時以原液 1 滴，蒸餾水 1cc 之比，攪稀用之。

天青藍 II 曙紅極不易配製，故多購市販者 (Grübler & Hollborn) 以用之。

染色方法：

(a) 血液之乾薄膜塗布片染色法。

1. 酒精中 2-3 分間固定。
2. 以吸水紙吸乾。
3. Giemsa 氏之稀釋液中 10-15 分間染色。
4. 流水洗滌。
5. 以吸水紙除水。
6. 空氣中再乾之。
7. 用加拿大樹膠(中性)封固，亦可不須裝置而貯藏。

(b) 血液之溼薄膜塗布片染色法：

1. 昇汞酒精液(昇汞飽和水溶液 2 分,純酒精 1 分)中 12-24 時固定。

2. 下列混液中水洗兼脫昇汞,5-10 分。

碘化鉀	2gr.
Lugol 氏液	3cc
水	100cc

3. 0.5% 之硫代硫酸鈉(Sod. thiosulphate) 中,約 10 分間處理。

4. 水洗。

5. Giemsa 氏液 1-12 時染色,半時後須換液一次。

6. 醋酮與二甲苯(醋酮 1 分,二甲苯 5 分,30 分,50 分)之各種混液以至純二甲苯中脫水。

7. 洋杉油裝置。

上法在切片標本染色,亦可適用。

或以下法處理之亦可:

1. 將血液塗布片置培養皿中,而以原液與純酒精之等量混液加之,以行染色。

2. 約 1 分後傾去此液,另以蒸餾水加之,處置 3-5 分。

3. 流水洗滌。

4. 空氣中乾燥。

5. 洋杉油裝置。

染色結果:

紅血球呈黃紅色。

核現微紅色

嗜曙紅顆粒紅色。

嗜鹼顆粒(Basophilic granules)藍色。

中性顆粒現微帶紅之紫色。

淋巴球以及大單核細胞之原形質爲藍色。

血小板微紅色。

嗜天青藍顆粒(Azurophile granula)則染成紫色。

第四節 瘧原蟲檢查法

瘧疾(Malaria)乃由於原生動物孢子蟲類之瘧原蟲(Plasmodium)寄生於紅血球而起,共有三種,一曰隔日瘧(Tertian malaria),由於隔日瘧原蟲(Plasmodium vivax)之寄生,二曰四日瘧(Quartan malaria),由於四日瘧原蟲(P. malaria)之寄生,三曰惡瘧(Tropic m.)由於惡性瘧原蟲(P. immaculatus)之寄生,關於瘧疾之診斷,可由血液檢查,檢查之法有三,即新鮮血液檢查,血液濃厚塗布片染色檢查及薄膜塗布片染色檢查是也。

【1】新鮮血液檢查法 自病患者取血液一滴,照懸滴標本製法裝置,在紅血球中,能見瘧原蟲之顆粒呈強烈反射並活潑運動,但難於斷定其種類。

【2】血液濃厚塗布片染色檢查法 滴血液四滴於載玻片之中心,將其濃塗於約半平方英寸之範圍內,在空氣中乾燥後,加入2%鹽酸酒精(95%)液,使之脫色,約需30分,次水洗數分,然後照前述之Wright氏染色法施行染色。

此法集中瘧原蟲於一小範圍內，而能於短時間發見所欲檢查之目的物，但亦難於斷定瘧原蟲之種類。

又一方法：滴血液二滴於載玻片之中心，用針尖將其攤成五分錢幣大小，在空氣中乾透（日光中一時，空氣中二時以上）注滿稀薄之 Giemsa 氏染色液，為時 15—30 分，最好加蒸餾水於染色盆中，然後將塗血之一面朝下，使與水平面相接，血色素即溶去而沉於水中，隨將塗片反轉，復用新 Giemsa 氏液染色，此後用中性蒸餾水徐徐沖洗，晾於空氣中即可。

【3】血液薄膜塗布片染色檢查法。

A. Romanowsky 氏染色法：

1. 塗布，乾燥。
2. Romanowsky 液（參看前節【2】）染色。
3. 水洗。
4. 空氣中乾燥。

B. Wright 氏或 Leishman 氏染色法 Wright 氏染色液見前節【1】Leishman 氏染色液之製法如下：

甲液：	曙紅	1gr.
	蒸餾水	100cc
乙液：	次甲基藍(Grübler)	1gr.
	碳酸鈉	0.5gr.
	水	100cc

預將乙液置 65°C 之石蠟融爐中 12 時 取出置溫室中 12 日，使

其充分成熟，隨以等量之甲液加入之，充分攪勻，再靜置之，使其沉澱，將此沉澱收集於濾紙之上，以蒸餾水洗之，至其洗液現薄淡藍色或無色為止，此後俟其乾燥，取 0.15gr. 研碎，加入於 100cc 之純酒精中，製為溶液即可。

染色方法(Wright 氏與 Leishman 氏之染色方法大致相同)。

1. 塗抹、乾燥。
2. 滴染色液二、三滴於薄膜之上，約一分間染色。
3. 以倍量之水滴加之，約 5 分間繼續染色。
4. 水洗。
5. 空氣中乾之。
6. 加拿大樹膠封固。

以上 A. B 兩法染色結果，瘧原蟲之細胞質染成藍色，染色質着紅色，至其中之色素顆粒則不現色(原帶紅褐色)。

C. Giemsa 氏染色法 Giemsa 氏染色法見前節【2】，茲從略。

關於血液薄塗片瘧原蟲之顯微鏡下診斷，可參閱下表。

人體寄生瘧原蟲之顯微鏡的診斷表(染色薄塗片)

種 別	隔日 瘧 原 蟲	四日 瘧 原 蟲	惡性 瘧 原 蟲
熱 型	隔日熱	四日熱	惡性隔日熱
人體中無性生殖環之長短	48 時	72 時	24—48 時
被侵入之紅血球之大度	較正常之血球為大	近於正常血球之大小	近於正常血球之大小
被侵入之紅血球中之斑點	Schuffner 氏斑點緋桃紅色	無	Maurer 氏斑點(綠或紅色)
分裂體(Schizont)之形狀	圓形	四邊形	圓形
分裂體之大小	大形	中等	小形
色素顆粒之大小與形狀	短桿狀	大形, 不規則	小形, 不規則
分生孢子(Merozoites)之數量	15—24	6—12	8—10 或更多
分生孢子之排列	二輪, 或不規則	一輪	二輪, 或不規則
配子母細胞(Gametocyte)之形狀	卵圓形或球形	卵圓形或球形	綠或月形

第十三章 生體染色

第一節 生體染色之目的

生體染色(Vital staining)最初由 Pfeffer(1886)施之於植物細胞,舉有效果,時至今日,則動植物任何一種材料,均無不盛用此方法以行研究,特別在細胞學研究上為尤然,蓋利用此方法,可以達到如下述之探討目的。

【1】在自然狀態之下,可以明示顯微鏡的不明之構造,又可作物質之比較區別用,例如以中性紅染空胞或液胞及以詹納斯綠染粒線體之類是。

【2】色素大多數為膠質溶液,其能浸入原形質之程度,以原形質退膜(P.asmolysis)之方法而不能知之,色素則因其色彩易知其浸入原形質內,故應用生體染色,可以作原形質透過性之研究。

【3】原形質之生死,其染色性質大有不同,故利用生體染色,可作原形質生死之鑑別,例如以0.05%中性紅與0.05%次甲基藍之等量混液,處置細胞,原形質之生者染紅色,死者則着藍色。

【4】生體染色所用之色素中,有可用作測定氫離子濃度(Hydrogen-ion concentration, pH 值)或氧化還元電位差(Oxidation-reduction potential, rH 值)之指示藥(Indicator)者,故生體染色應

用之，可作原形質之 pH, rH 之測定。

附注：應用指示藥之方法 將細胞或組織浸於指示藥之溶液中，以俟藥液滲入細胞內，或利用顯微注射法（詳見第十四章，第四節），將指示藥直接注射入細胞之內，然後依其着色程度，以推定 pH 值或 rH 值等。

指示藥應選擇於原形質無毒且易於滲入者（應用真空或遠心力浸潤法可易使指示藥滲入細胞內，又加入酸、鹽，亦可以增大色素之透過性），至指示藥之溶液濃度，應儘可能使之變小。

於原形質少有毒性而易於滲入之指示藥，有 0.01% 以下之中性紅水溶液（細胞液染色）及甲基紅（Methyl red）之飽和水溶液（原形質着色）等，此外 0.04% 以下之 Brom-cresol green, Brom-phenol blue 及 Brom-cresol purple 等之水溶液等亦極佳良。

次甲基藍 (0.01), Toluylene blue (0.12) Nil blue (—0.14), Phenol safranin (—0.25) 中性紅 (—0.34) 等為常用之氧化還元指示藥，括弧中之數字表示在 pH=7 時之基準電位 (Volt)。

【5】色素及原形質所有之荷電 (Charge) 為影響染色之一重要因素，詳言之，即原形質之帶陰電者，須以荷陽電 (Cation) 之色素染色，原形質之帶陽電者，則須以荷陰電 (Anion) 之色素染之。由染色之強弱，可以獲知荷電之種類及比較的分量。故生體染色可應用之於原形質之電解 (Electrical analysis)。

第二節 生體染色之方法

生體染色之方法有滲透方法 (Osmotic method) 與機械方法 (Mechanical method) 兩種。

【1】滲透方法 有二種：

A. 利用植物體之蒸騰作用(Transpiration),使之染色者(主用於植物組織).色素可用0.1—0.3%光綠或酸性品紅或橙黃G之飽和水溶液,色素自切口進入,時間須2—24時.

B. 利用離心力或減壓作用使之染色者.此法係應用浸潤法(Infiltration method)將動植物體之一小部或全體,施以離心力或低壓,使用於觀察之液體(不限於色素溶液,他如固定液或其他體均可)滲入細胞之周圍或細胞間隙內.

應用離心力分離器,將材料投入觀察液中,以每分鐘迴轉1700—2600次之速度(自迴轉軸至材料之距離止應為12cm.),施以約 $1/4$ —3.5分間之離心力,使觀察液滲入細胞周圍,則材料即變為透明,可作組織內細胞之觀察(Zentrifugen-infiltrations methode nach Weber).

將材料裝入具分液漏斗之瓶中,以真空唧筒減至10—15mm Hg.之壓力,一方使觀察液不斷自分液漏斗流出,一方繼續抽去其空氣,如是處置之,則材料變為透明,一如曾經離心力之處理者然,是則亦便於作生體觀察(Vakuum-infiltrations methode nach cicklhorn).

【2】機械方法 係以器具將固形之色素,置入於細胞之內,以使原形質染色,設應用顯微解剖法(參看第十四章)在無細胞膜之原形質,以固形或液狀之色素,容易置之,至具有細胞膜之細胞,則亦可利用顯微移液管注入之, Schmidtman(1924) Péterfi(1928)兩氏對此曾有改良之方法,前者係於顯微解剖針之尖端塗微量之凡士林,凡士林之上附加小片色素,若細胞之無細胞膜者,可直接置入原形質之內,若細胞之有膜者,則將色素片緊貼於細胞之表面,俟其自然

滲入，後者則製成色素之飽和瓊膠(2%)溶液，然後用顯微移液管，注射於原形質之內。

除上述滲透方法與機械方法外，在動物方面尚有多種生體染色法；其中有如普通之注射法，將色素溶液施行靜脈注射、腹腔、體腔、皮下注射者，亦有於飼料中混和色素，使動物食之，藉以行生體染色者。

【3】遊離細胞之生體染色方法 是法係以色素製為稀薄之酒精性溶液，滴於蓋玻片上，當酒精蒸發後，色素即成薄膜而留於蓋玻片面，然後於此色素薄膜上，滴下含遊離細胞之液一滴，以使其染色者。

第三節 生體染色所用色素之 種類及實驗材料

色體染色所用色素之種類，為數不少，茲將其列出，屬於鹽基性者：

中性紅	俾斯麥褐
次甲基藍	詹納斯綠 B
Naphthol blue	Nil blue sulphate
Thionin	甲基綠
Chrysoidin R	龍膽紫
甲苯胺藍	孔雀綠 $\left(\frac{1}{200} - \frac{1}{1200} \text{ mol.}\right)$
番紅花紅	

屬於酸性者:

Trypan blue	Pyrrol blue
Tolidin blue	Trypan red
Isamin blue	錚洋紅
Aurantia	曙紅
品紅 S	生色精藍
Alizarin	剛果紅
甲基橙	愛理斯洛新紅 B
Rose bengall	Zyanol extra
Brom chlor phenol blue(pH3.0-4.6)	黃-青堇
Brom cresol green(pH3.8-5.4)	黃-青
Brom cresol purple(pH5.2-6.8)	黃-紫
Brom phenol blue(pH3.0-4.6)	
Brom phenol red(pH5.2-6.8)	紅-黃
Chlor cresol green(pH4.0-5.6)	
Chlor phenol red(4.8-6.4)	
Cresol red(pH7.2-8.8)	
Cresolphthalein(弱酸性)	8.0-10.0

中性色素:

中性色素除 Sudan III 及甲基紫 (Methyl violet) 外, 其他不能用作生體染色。

【1】原形質(核、細胞質)生體染色所用之色素及材料,

色 素	適當之溶液濃度	材 料
中 性 紅	0.01%以下	【動】 Infusoria, Stentor, Opalina, Callidina, Daphnia, 白血球及蛙之舌與腸壁細胞等。 【植】 淡水藻類, Ceratophyllum.
Chrysoidin	0.002%	【植】 洋葱之表皮細胞, Hydrocharis.
Prune pure	0.001—0.0025%	【植】 洋葱之表皮細胞.
甲 基 紅	0.004%	【動】 變形蟲。 【植】 洋葱之表皮細胞.
曙 紅	0.01—0.02%	【植】 洋葱、紫萵苣草、葱、Scilla, Elodea, Vallisneria.
愛理斯洛新紅	0.01—0.02%	全 上
Brom phenol blue	0.04%以下	【植】 洋葱之表皮.
Phenol red	0.02%	全 上
蘇 木 精	1:1000	【動】 Amoeboidea, Heliozoa. 【植】 洋葱、鳶尾等之表皮細胞
次 甲 基 藍	1:80000— 1:100000	【動】 Actinia (觸手), Cydippa, Loligo 等之卵, Reniera, Spongilla, Cypris, Acraspedia, Daphnia, 白血球、蛙之舌橫紋肌及腸壁細胞等。 【植】 洋葱、鳶尾之表皮、水綿、地錢之假根, Azola, Lemna 之根及酵母菌.
Dahlia violet	極稀薄溶液	【動】 Infusoria 【植】 洋葱、蒲公英、天南星及蘭類之表皮.
龍 膽 紫	全 上	【動】 蛙之組織。 【植】 酵母菌.
甲 基 紫	1:80000	【動】 蛙之白血球。 【植】 紫萵苣草之雄蕊毛與根毛、輪藻之精蟲、葱類、蘭類、天南星之表皮.
孔雀石綠		【植】 全 上
詹納斯綠	0.005%	【動】 昆蟲之卵丸

曙紅，愛理斯洛新紅兩色素之 0.1% 溶液 50cc 加醋酸 2 滴至 2cc，亦可用作生體染色。

【2】細胞膜生體染色所用之色素及材料。

色 素	溶液濃度	材 料
剛 果 紅	0.01%	Vaucheria, Funaria, Elodea
柏林藍 (爲 $K_4[Fe(CN)_6]$. $3 \cdot 2O + FeCl_3$ 所生之藍色 沉澱)		Caulerpa 等之海藻細胞膜

【3】粒線體(Chondriom)生體染色所用之色素及材料。

色 素	溶液濃度	材 料
Dahlia violet	稀薄溶液	原生動物之 Mitochondria, 蝸牛 兩性腺之雌性細胞, 脊椎動物之胰 臟(Pancreas),
甲 基 紫	1:80000	全 上
詹納斯綠	1:5000— 1:30000	全 上

上述三種色素可用生理食鹽水溶液或 Ringer 氏液 (參看第十五章), 染色所要時間自 10—20 分不等, 除此三者外蘇木精之極薄溶液及 Cresylecht violet 等均可用作粒線體之生體染色。

【4】細胞質內液胞 (Vacuome) 生體染色所用之色素及材料。

色 素	溶液濃度	材 料
中 性 紅	1:10000— 1:50000	【動】原生動物, 脊椎動物之泌尿細胞。 【植】洋葱及其他植物之細胞。
Chlor phenol red	極稀薄溶液	全 上

除上述兩種外, 次甲基藍, Chrysoidin, Rhodamin 等均用作 Vacuom 之生體染色。

【5】動物注射所用之生體染色色素：

A. 錳洋紅 將碳酸錳投入適量之蒸餾水中，振盪之，使其溶解，至飽和狀態時，液則成乳白色，次將洋紅碾碎，以碳酸錳飽和水溶液 100cc 洋紅 2.5—4.0gr. 之比混和，再加熱融解，然後濾過之，即可應用，錳洋紅液適於靜脈注射。

B. Trypan blue. 用其 0.5% 水溶液，適於皮下注射。

C. Neutral red. 1 : 10000 以下，皮下注射靜脈注射均可。

D. 次甲基藍 極稀薄之水溶液或生理食鹽水溶液，均可用作皮下注射或靜脈，此外又可作神經組織之浸置染色，惟此色素如氧之供給不足，即還元成 Leucobase 而呈白色，故檢視前，須使之與氧接觸(氧化)而令其變藍色。

【6】混入飼料食之生體染色色素。

混入飼料之生體染色色素，以 Sudan III 爲最著，此色素可使體內之脂肪染色。

第四節 生體染色所用色素之陰陽荷電

利用生體之染色性，即細胞具有陽荷電之部分(細胞之 Anode，可以具陰荷電之色素染色，反之，細胞具陰荷電之部如核，染色體等(細胞之 Kathode)，可以具陽荷電之色素染色，能推定原形質(細胞、組織)之荷電。據 Keller(1928)氏調查所得，色素之具陰陽荷電情形如下：

具陰荷電之色素(能使具陽荷電之部位染色之色素 Anodenfarbstoffe)：

甲基紫	龍膽紫
番紅花紅	孔雀石綠
中性紅	鹼性次甲基藍
鹼性品紅	

具陽荷電之色素(能使具陰荷電之部位染色之色素 Kathodenfarbstoffe):

曙紅	甲基橙
光綠	靛洋紅
Delafield 氏蘇木精	愛理斯洛新紅
Rosolic acid($C_{19}H_{14}O_3$)	酸性品紅

細胞中之各部分雖有陰陽荷電之分,但有數種染料可使之同時着色,惟着色之情形,則因荷電不同而互有差異,下表即其例示:

色 素	細胞之荷電(+)	細胞之荷電(-)
番 紅 花 紅	赤	赤橙
中 性 紅	赤, 藍	黃, 橙
Neutral violet extra (0.025%)	赤	青
剛 果 紅	青	赤
次 甲 基 藍	綠, 藍	藍

此外尚有細胞帶陰荷電而具有陽荷電之部分(即細胞之陽極),可以俾斯麥褐, Indigo-phenol 染色, 又細胞帶陽荷電而具有陰荷電(即細胞之陰極), 可以酸性或中性之 OsO_4 , 酸性洋紅, Sudan III 及

Macallum 氏之硫化鉍染色。

附注：色素之陰陽荷電，隨其濃度、液媒及同時存在之 Ion 而有不同，因是生體染色所用色素之電荷，在蒸餾水中，未必與原初完全相同。

第五節 生體染色之實例二、三。

【1】粒線體之生體染色檢出法 以各種脊椎動物（如二十日鼠等）之胰臟為材料，將其切為薄片，投於預製之詹納斯綠 B 之 1 : 5000 - 1 : 30000 生理食鹽水溶液（即色素 1gr. 生理食鹽水 30000cc）或 Ringer 氏液中，約 10 - 20 分間染色，在預定其着色時間內，將材料用新生理食鹽水裝置，以乾燥系之高倍接物鏡就切片之周緣極薄處檢視之，如發見粒線體之着色，即以針尖在蓋玻片上輕壓之，使材料壓平，另以石蠟或樹膠塗封蓋玻片之周緣，令蓋玻片固定，然後置換油涵接物鏡作精細之檢視。

粒線體着色後，經時即漸褪色，核膜顯現（生材料之核膜不明顯），遂至細胞膜亦着色，此為材料變壞之徵兆，故生體染色觀察宜及時行之。

【2】液胞之生體染色檢出法 將自二十日鼠取出之胰臟，製為薄片，投於中性紅之 1 : 10000 - 1 : 50000 生理食鹽水溶液中，約 10 分間染色，經新生理食鹽水輕洗並裝置，而以油涵接物鏡迅速檢視之，可見液胞着紅色。

【3】粒線體與液胞之生體染色同時檢出法 亦用二十日鼠之胰臟為觀察材料，方法有 2：

A. 將切片投於中性紅生理食鹽水溶液 (1 : 500) 與詹納斯綠 B

生理食鹽水溶液(1:500)之等量混液中染色,照【1】【2】兩法檢視,可見粒線體與液胞同時着色,惟此察粒線體常消失其常規之絲狀性質,而漸開始分解為粒狀之顆體。

B. 先用中性紅之生理食鹽水溶液(濃度如【2】所述者)染色,至液胞開始着色時,即以詹納斯綠 B 處置,在詹納斯綠 B 生理食鹽水溶液中浸置 15 分後,大抵可見粒線體之着色。

【4】核之生體染色法 用洋蔥 (*Allium cepa*) 為觀察材料,將其表皮剝出而浸於愛理斯洛新紅之水溶液(1:1000)中,約 1—2 時染色,次移於 KCl 之 1 公分分子溶液中,當原形質開始退膜時(Plasmolysis),核即開始而染色,至其染色之原因由於原形質之可逆之凝固,隨後又將切片移於 CaCl_2 之 1 公分分子溶液中,則細胞因脫水,而核之着色亦漸次銷失。

第六節 生體染色後之切片方法

普通經生體染色之細胞、組織,須在生活狀態之下觀察,其因材料過大,或由注射染色,或混食染色,而不能直接檢視者,則以凍結切片法切片,或於殺生後即行切片,或將其固定,切片,以觀察之。

凍結切片法見第九章第三節【3】項及第十章第一節【3】項,茲不復贅。

【1】殺生後之即時切片觀察法 以體重約 23—25gr. 之二十日鼠為實驗材料,而以 0.7 cc 之 1.4% 中性紅生理食鹽水溶液,注射於其腹腔內,約經 1 時後,將二十日鼠立行殺生,摘取其附着於脾臟裏側之胰臟一塊,並製為薄片,以生理食鹽水裝置,用涵油接物鏡

就切片之周緣薄處檢視之，可見細胞中之液胞因注射之中性紅而着色。

惟注射之色素溶液如分量過少則染色不良，過多則可致動物於死，或於細胞中生出不自然之大液粒，Chlopin (1928) 氏，稱此等液粒曰 Krinom。

【2】生體染色後之固定與切片法。

A. 固定 生體染色後之固定，一如普通之固定法。將染色之生活組織，以固定液固定之，其間略有不同者，即應材料儘可能削為薄片，使固定液易於滲入組織內；此外固定液除將組織固定外，尚須使染着之色素保存，不令其發生變化。平素嘗用之固定劑如鐵酸、鉻酸等，易使染着之色素褪去，故此類固定液，不宜於生體染色之固定，以下數種可為色素之固定劑：

適於酸性色素之固定劑：

昇汞	濃水溶液
甲醛	10% 水溶液
甲醛	蒸氣固定

適於鹽基性色素之固定劑：

昇汞
甲醛蒸氣

1. Gurtwitsch 氏固定法 生體染色後之摘出材料，先以濃厚之昇汞液固定，次移於加入 5% 重鉻酸鉀之飽和食鹽水溶液中以去昇汞，再次移於 4% 鉬酸銨水溶液中，使色素固定，然後經水洗而至

酒精中脫水。

2. Vogt 氏固定法 Vogt 氏用下列混液，以作生體染色後之固定：

3% 重鉻酸鉀液	50cc
5% 鉬酸銨 (Ammonium molybdate)	50 cc
冰醋酸	3-5cc

生素一旦固定後，須迅速脫水，脫酒精，否則必因水、酒精而褪落。

B. 切片 材料經固定後，即用酒精脫水，此後之處置順序與普通之組織切片法相同。

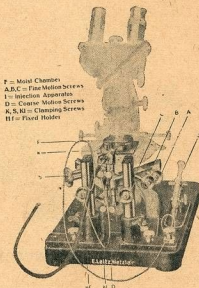
C. 染色 切片之染色，須用與生體染色之色素有明顯之區別者方可，例如在藍色之生體染色時，核宜用明礬洋紅染色，若為紅色之生體染色時，則宜用明礬蘇木精。

第十四章 顯微解剖技術

Shouten 與 Barber 兩氏發明於細胞施行手術之機械，而名之曰顯微解剖器(Micromanipulator, 或 Micro-dissection apparatus), 應用此機械之方法, 即為顯微解剖技術(Micro-manipulative technique), 此機械後經改良, 在高倍顯微鏡之下, 裝置微細之器具, 如顯微解剖針(Micro-needle) 與顯微移液管(Micro-pipette)等, 由數螺旋之作用, 可以使其向各方向自由轉動, 顯微解剖器普通裝置於顯微鏡之前方或兩側面, 附裝於此機械上之顯微解剖針與顯微移液管等, 須伸入至接物鏡之視野內, 若用倍率較低之透鏡, 可將此等器具直接插入於材料與接物鏡之間, 若用倍率較高之接物鏡則須應用濕室(Moist chamber)上, 蓋玻片之懸滴裝置, 即將材料置入懸滴中, 然後以顯微解剖針及顯微移液管之尖端操作之, 如是在蓋玻片與接物鏡之間, 無何障礙物, 即以最高倍之顯微鏡觀察亦可。

第一節 顯微解剖器

現時通用之顯微解剖器有 Taylor 型, Péterfi 型(德)及 Chambers 型(美)三種, 均可作自由自在之顯微解剖(Micro-dissection, Micrurgy)操縱, 其中 Péterfi 型(第五五圖)尤稱便利, 而 Chambers 型亦常所使用, 至其型式及操縱方法, 可參閱第五三、五四 2 圖。



第五三圖 Lietz 製 Chambers 型顯微解剖器及其操縱方法

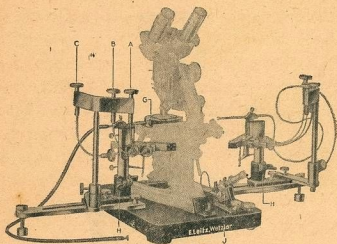
A. B. 細動螺旋，此二螺旋可操縱顯微解剖器在水平面上之顯微動作，在相對一面之對稱二螺旋，亦有同樣之作用。

C. 細動螺旋，此一螺旋係操縱顯微解剖器之上下方向之顯微動作，與此對稱之一細動螺旋，其作用相同。A, B, C 三者任何一方向之顯微動作範圍，約為 3mm。C 之下右側尚有一緊夾螺釘可以調節顯微解剖器具之上下。

D. 粗動螺旋 可使顯微解剖針及顯微移液管指向蠶室蓋玻片之下底，其動作範圍可及 16mm。

F. 蠶室 Hf. 固定支持器，將此器向前後移動，可使顯微解剖針及移液管在 K 螺釘下自由進退。

I. 顯微注射器 K, S, KI 緊夾螺釘，將 KI 螺釘放鬆，轉動 K 螺釘，可作顯微解剖器具之側向操縱，又將 S 螺釘放鬆，更可使顯微解剖器具及 K 螺釘作上下兩方向之操縱。



第五四圖 Leitz 製 Chambers 型顯微解剖器及其操縱方法

A, B 之名稱及使用法同五三圖。

H. 支持器 此器能自由移動，可以使顯微解剖針及顯微移液管等推進或曳出濕室，其基底有一螺釘，可在適宜之位置而固定。

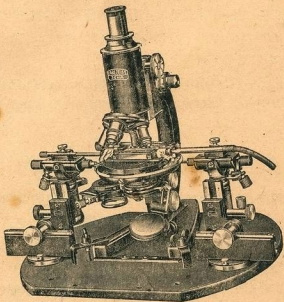
第二節 顯微解剖之顯微鏡用法

Chambers 型與 Péterfi 型之機械均能自由調節至與顯微鏡同一高度，其裝置於顯微鏡上之標本推動器亦能自由移動至濕室之端際。

在懸滴中將材料施行手術，需要焦點距離有一定之長度，因是接物鏡必須加以選擇，Leitz 式焦點距離 1.6mm. 之接物鏡，倍率較高，以其 2mm 者為宜，但普通常用其焦點距離長 3mm 者，若用如變形蟲等大形之材料，則以 Leitz 式 NO. 5 最為相宜，又 Leitz 式

NO. 2 (焦點距離 32 mm.) 於檢視顯微解剖針或顯微移液管之伸入或取出視野，至為方便。

顯微解剖普通用懸滴裝置，即將材料置於濕室之天頂，顯微解剖針及顯微移液管則自濕室之左右或前端插入，從下部或斜下部操縱，因是材料與載物檯之間，至少須有 5—10 mm. 高之空間，故集光器須用焦點距離之較普通為大者方可（普通之集光器除去其前端一個透鏡，亦可用之）。至暗視野輝照亦須使用特殊之集光器，若用 Zeiss 之 Präparier-Wechsel-Kondensor 或 Leitz 之 Ultropak（即 Halbfeld）則極為方便。



第五五圖 Zeiss 製 P'eterfi 型顯微解剖器

取熱則於電球(100 watt)與反射鏡之間,置一盛水之燒瓶即可,其裝置與普通之方法相同。

第三節 濕室

濕室有二型,其中一種僅一面(顯微鏡之前方)開放,Chambers型之機械上所用者屬之,是為顯微解剖針與顯微移液管均自此一開邊插入之濕室。

濕室之基底用薄載玻片(2×3吋上下),側壁則用長約2吋,寬約四分之一吋之玻璃片造成,高則視所用之集光器而定,普通約為10mm.,濕室之另一端亦以玻璃片閉塞之,濕室之內壁附有吸水紙,使之濕潤,以防乾燥,至濕室之頂端則覆以22×44mm.(24×50mm.)之蓋玻片,而以凡士林膠着之。

濕室之另一種,兩端均開放,Péterfi型所用者是也,此室之兩端開於顯微鏡之兩側,顯微解剖針及顯微移液管則從此兩端之開口插入於室內。

第四節 顯微解剖針與顯微移液管

顯微解剖針以硬質玻璃棒製之,普通用其直徑約3—5mm.之粗大者,其製法係將玻璃棒在普通之本生燈上引伸,至直徑約為0.3—1.5mm.之細為止,次將此粗製品於Micro-burner上燒之,再將其引伸為細針即可。

Micro-burner 焰係以直徑1mm.以下之細管,使其發出細小之火而言者。

顯微移液管用硬質玻璃管，亦可以上法製作之，即先將玻璃管燒紅拿細，而以金剛石錐折斷之，使其兩端開口就可，惟欲製作尖端極微細之移液管則須裝置於機械之上，在顯微鏡注視之下，方可製之。

至欲將顯微解剖針或顯微移液管之尖端，使之成各種角度之彎曲，則須用電燒熟之白金線，燒紅針或移液管之尖端一部以製之。

本生燈有兼具 Micro-burner 者，玻璃棒或玻璃管先在普通之本生燈上燒細，然後始用 Micro-burner 處理，為使 Micro-burner 上之小火焰顯而易見，普通以黑色為背景。

第五節 顯微注射法

利用顯微移液管，可將藥液注射於細胞或組織之內。

Chambers 型之顯微注射器，在其小形注射器之先端，附有金屬性之細管，內充以水，在此細管之先端再裝置充滿注射液之顯微移液管，注射法與用普通之注射器注射者相同。

Péterfi 型顯微注射器，係利用空氣之膨脹原理，而行注射，即在顯微移液管中裝滿注射液，利用電熱使管中之空氣膨脹，然後由其壓力將液體射出，至注射至適當之量以後，即開放活塞，減低其壓力，以停止注射。顯微移液管連接於金屬細管上，其間如有空隙，可以 Piccin 塗封之。

顯微解剖技術，可將細菌、細胞等施行手術或注射，其利用範圍至廣，現時，原生動物學，實驗發生學，實驗細胞組織學及細胞生理學等各方面多用及之。

令材料(細胞,小片組織)固着於蓋玻片之下,可用口徑約0.5-1mm.大之移液管而附有橡皮管者,在顯微鏡下,儘可能將材料周緣之液吸去,此際利用液之表面張力,如爲自動之原生動物卽行定着,爲使材料定着,便於緊壓或刺穿,可以細針二個組成之Mikropinzetten,在與針相對之一側,可將材料挾住之,或用玻璃毛管,在與針相對之材料之側緣,注以石臘,使其固着於蓋玻片上亦可。

第十五章 組織培養

組織培養 (Tissue culture, Tissue culture in vitro) 者乃用特種之培養基 (Culture media), 將生活之細胞及組織, 予以人工培養之謂也。最初在生物體外將組織培養成功之人, 爲 Ross Harrison (1907) 氏, 彼自蛙取出之淋巴液, 而將蛙之神經組織一部, 培養於其中, 發見神經組織之延長(生長), 繼之, 在此方面有 Montrose Barrows (1910) 氏之研究, 彼始以血漿代替淋巴液。血漿爲極良好之培養基, 現時多數實驗咸用及之, 鹽類溶液 (Saline Solution) 中加入器官或組織之浸出液, 亦可用作培養基, 但尙不及血漿之更有效, 凡作組織培養, 於其培養基中加入同種或異種之胚浸出液 (Extract of Embryo), 則於組織之生長頗佳, 且可增進細胞之分裂, 但植物細胞由組織培養而使其起細胞分裂, 則較爲困難, 因是植物之組織培養不及動物方面應用之廣汎。

現今組織培養最常用之培養基, 爲混有血漿與組織或胚之浸出液者。

第一節 組織培養基之製法

【1】血漿之採取方法 血漿 (Serum) 普通自血管採取之, 如人類流動性極強之血液, 自腕部之靜脈採取, 若爲鷄、兔、犬、貓或豚

鼠等，則常自頸動脈抽取，其法係將頸部之毛，羽毛除去，經酒精消毒後（70%酒精殺菌力最強），切開頸部之皮膚，然後自頸動脈抽取，抽出之血液注入預塗有石蠟之試管中，次施以離心力之處置，然後以吸管取其上部之澄清液，注入玻璃管中，置冰室藏之，以備應用。

【2】胚浸出液之製法 胚浸出液普通自孵化之卵或經過妊娠期間之一半之胚胎製之，其法在雞取其孵化約經過7—10日之卵，將有氣室（Air sac）之一端，輕輕叩破卵殼，且將卵殼碎片清淨剝去之，次以殺菌鑷子，除去氣室下之卵膜，而將胚胎取出，初用生理食鹽水洗滌，然後移置於培養皿內，若為哺乳類，則用醚使母體麻醉，除去腹部之毛，皮膚經酒精消毒後，將腹部剖開，後再將子宮剪開，然後取出胚胎置於培養皿內，任何一種胚胎在培養皿內，將其搗碎，再移於玻璃管中，用離心機施以約15—30分間之離心力，則管中之上部為胚胎之灰白色澄清抽出液，此液以吸管移之於其他玻璃管中，置冰室貯藏之即可。

【3】鹽類溶液 鹽類溶液之種類，為類頗多，除作培養液外，尚可用於洗滌，最著者有下列數種。

A. Ringer 氏液 原用作冷血動物之培養，但於溫血動物亦可適用。

氯化鈉(NaCl)	0.85 gr.
氯化鉀(KCl)	0.025 gr.
氯化鈣(CaCl ₂)	0.03 gr.
蒸餾水	100 cc

若材料為兩棲類，則氯化鈉之0.85 gr. 宜改用其0.65 gr. 此液

不能長久保存，宜於用前製之。

B. Locke 氏液 原用於溫血動物之培養。

氯化鈉	0.85gr. (冷血動物用 0.65gr.)
氯化鉀	0.042gr.
碳酸氫鈉	0.02gr.
氯化鈣	0.025gr.
蒸餾水	100cc

Lewis 氏於上液中加入 0.01—0.025gr. 葡萄糖，此液亦不能長久保存，又遊離之碳酸氣與碳酸氫鈉起作用，可發生碳酸鈣之沉澱，故決不可加熱煮之。

C. Tyrode 氏液

氯化鈉	0.8gr.
氯化鉀	0.02gr.
氯化鈣	0.02gr.
氯化鎂	0.02gr.
磷酸鈉	0.005gr.
碳酸氫鈉	0.01gr.
葡萄糖	0.01gr.
蒸餾水	100cc

上液遇高溫即變化，並起沉澱，可通過 Berkfield 濾器以殺菌。

D. Pannett & Compton's solution

甲液：

氯化鈉	8.00%
氯化鉀	0.42%
氯化鈣	0.20%

乙液:

磷酸氫二鈉($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$)	0.43%
磷酸二氫鈉($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$)	0.043%

以甲液 8 分,乙液 4 分,蒸餾水 88 分之比混合用之,是為調節液(Buffer solution),其 PH 為 7.5-7.6.

【4】培養基之配製法 用上述任何一種鹽溶液,以 4-5 倍之蒸餾水稀釋之,然後加入血漿即可應用.

此外尚有用 10% 蔗糖液或 6% 葡萄糖液為培養基者.

【5】植物組織之培養基 植物組織常用 Knop 氏液或其他溶液,以作培養基,惟於此等溶液中,須加入蔗糖,約為 1% 及龍鬚菜素(Asparagin),約為 1-5% 之有機物質.

Knop 氏液中加入 1% 之蔗糖及 0.002% 之 CoSO_4 ,為植物組織最通用之一種培養基.

植物材料如花粉母細胞可用 10% 之砂糖液,若體細胞用 3% 砂糖液則極相宜,此外 1-5% 之甘油與 0.2% 之龍芽菜素之等量混液及葡萄糖(2-5%)與龍芽菜素(0.2%)之混合液,均可作植物組織之培養.

第二節 培養方法

常用之培養方法有二,即蓋玻片法及扁平玻璃瓶法是也.

【1】蓋玻片培養法 蓋玻片培養法與細菌之懸滴標本裝置大致相同。其法係將欲養之組織，置圓窩載玻片之圓窩處，以 Ringer 氏液洗滌，藉去其血液等，組織之大小以 1—2 mm. 為適當，次取出洗滌清潔之蓋玻片（亦可以雲母片代替之）5—6 片，用吸管吸取血漿，於每片上滴下一滴，並令其成圓形散開，隨將洗就之小片組織，置此血漿中，再加胚浸出液一滴，使其與血漿充分和勻，組織經如是處置後，即將蓋玻片反轉蓋於預塗有凡士林之圓窩載玻片上。此際須注意者，為圓形之培養基應對準圓窩之中心，如培養基已凝固，更以石蠟密封之，然後置於溫度適宜之處以培養之，利用溫室蓋玻片之懸滴裝置，亦可作組織之培養。

組織之移植 蓋玻片培養法因組織片之生活範圍狹窄，且養分不充足，細胞之生活狀態必因是而漸變壞，故 2—4 日後，必須移植一次，移植時將蓋玻片自載玻片剝出，隨將組織連血漿取下，先以 Ringer 氏液洗滌，然後照先法再移植於新培養基之內。

【2】扁平玻璃瓶培養法 將血漿注入瓶中，令其均勻盪開於底面，次以殺菌鑷子將欲培養之組織移入之，隨加入含胚浸出液之 Tyrode 氏液，並令其與血漿充分混勻，當此等混液凝固時，更以液狀培養液（即胚浸出液與 Tyrode 氏液之混合液）注加之，然後施以棉塞再加上橡皮帽，置溫度適宜之處培養之即可。

此法因培養基面廣闊，養分豐富，故組織能長久生長而增殖，能一週一次更換其液狀成分，則更能長久在同一培養基中培養，而得更長大之組織。



第三節 組織培養必要之注意事項

組織培養上必要之注意事項，有培養基之性質，氧之供給，溫度及無菌狀態等諸種。

【1】培養基之性質 注意其是否與細胞等壓(Isotonic)，無毒(Non-toxic)等，同時須適合於細胞之營養，因是 Ringer 氏液，Locke 氏液中須加入葡萄糖，肉質，或加入血清、體液、胚浸出液等。

【2】氧之供給 氧之供給必須充分，因是組織儘可能使之細小，因氧之缺乏，細胞常起退化現象(Aseptic degeneration 或 Aseptic necrosis)。

【3】無菌狀態 組織培養須在無菌狀態之下行之，因是除將所用之器物消毒外，在操作期中，儘可能不使與外界空氣接觸。

此外培養基之質體(Consistency)，即其為液體抑為固體(黏性之大小)及培養基之氫離子濃度(pH)，於所培養之細胞之性質，亦大有影響。

血清學上有用同一生物個體血清者(Autospecific, Autogenic)，有用同種生物之另一個體之血清者(Homospecific, Homogenic)，亦有用異種生物個體之血清者(Heterospecific, Heterogenic)者，惟因其所用之血清不同，故培養之組織之生長情形，亦不一致。

第四節 培養組織之檢查方法

【1】生體組織檢查法 培養中之組織有無發育，發育之狀態如何，又細胞之大體構造，均可在弱度擴大及視野略暗之顯微鏡下

檢視之，若在暗視野裝置之下，可見細胞中之顆粒，脂肪滴等，有時且能觀察粒線體之運動。

【2】固定組織檢查法 固定方法與一般組織學上所用者相同，可以 Zenker 氏液，Orth 氏液，Muller 氏液固定，惟因組織微小，處理時間，水洗及染色時間等，須有若干之變更，A. Fischer 氏曾用 2% 甲醛—Ringer 氏液之混液，將組織固定 1 時，次以水靜洗 3 時，再次以蘇木精約 1—2 時間行染色，經水洗 30 分，合級酒精中脫水，每次處理 2—5 分，透化，然後以樹膠封固。

用曙紅可作組織之複染色。

至組織之有埋漬必要者，可以石蠟或火棉膠任何一法處置之，其方法與普通所用者相同。

應用組織培養法，可以研究細胞之個體性 (Individuality)，細胞之分化 (Differentiation)，細胞之遺童 (Entdifferenzierung)，以及組織間之互相作用等，蓋此類問題常為其他方法所難於解決，或解決全不可能者，又組織培養可應用之以研究細胞分裂，巨大細胞 (Giant cell) 之形成以及癌細胞之形成等，總而言之，組織培養為細胞，組織之形態學，生理學基本研究方法之一。

參 考 文 獻

甲. 西文之部

- Baker, T. R.: Cytological Technique. 1933.
- Bisceglie, V. und Juhász-Schäffer, A.: Die gewebezüchtung in Vitro.
- Chamberlin, C. J.: Methods in Plant Histology. 3rd Ed. Chicago.
- Chamot & Mason: Handbook of Chemical Microscopy. 1931.
- Churr., A.: Zeit. Wiss. Mikro, 4 (1925)
- Conn, H. J.: Biological Stains.
- Gage, S. H.: The Microscope. 12th Ed.
- Catenby, J. B. & Cowdry, E. V.: Lee, A. B. The Microtometist's Vade-Mecum. 9th Ed. 1928
- Guyer, R.: Animal Micrology.
- Krause, R.: Enzyklopädie der Mikroskopischen Technik. I, II. u. III. 1926-27. Berlin-Wien.
- Koernicke, M.: Mikroskopische Technik. Abderhaldens Handb. d. Biol. Arbeitsmeth. Abt. XI. Teil 1.
- Kisser, J.: Leitfaden der Botanischen Mikstechnik. 1926.
- Leitz, E.: The Microscope and its Application.
- Leitz, E.: R. Chambers Micro Manipulator.

- Mann, G.: *Physiological Histology*.
- Mayer, P.: *Zoomikrotechnik*, Berlin.
- McClung, C. E.: *Handbook of Microscopical Technique*. 1927.
New York.
- Mollish, H.: *Mikrochemie der Pflanze*, 3 Aufl. Jena.
- Péterfi, T.: *Mikrurgische Methodik aus Handb. der Biolog. Arbeitsmethoden von Abderhalden*, Abt. V. Teil 2.
- .: (1925, '28, '28) *Mikrotechnik. Jahresberichte über die gesamte Physiologie* 3 : 1, 5 : 1, 7 : 1.
- Péterfi, T.: *Methodik der Wissenschaftlichen Biologie*. 2 Bde. 1928.
- Patten, B. M. & Philpott: *Anatomical Record*. 21.
- Romeis, B.: *Taschenbuch der Mikroskopischen Technik*. II. Aufl.
München.
- Schneider, H. (Zimmermann, A.): *Die Botanische Mikrotechnik* 2
Aufl. 1922.
- Sieben, H.: *Einführung in die Botanische Mikrotechnik*. 2 Aufl.
1920
- Strasburger, E. u. Kerner, M.: *Das Kleine Botanische Praktikum für Anfänger*. 7 Aufl. 1913.
- ., *Das Botanische Praktikum*. 6. Aufl. 1921
- Tunmann, O.: *Pflanzenmikrochemie*. 2 Aufl. 1931.
- Zeiss: *The Use and Care of Your Carl Zeiss Microscope*.
- Zeiss: *Microscopes and Accessories for the Microscope*.

容量：

乙. 日文之部

鈴木文太郎：顯微鏡及鏡檢術式，第六版 昭和七年

進藤篤一：新訂組織學講本，技術總論，第十二版

木原均：植物細胞學實驗法

小熊捍：動物細胞學實驗法，昭和十二年

山羽兵儀：透過性與生體染色 1934

見波定治：顯微鏡的植物學實驗法

籾內收：Micro-technique

佐藤秀三：細菌學實驗提要 昭和十七年

清野謙次：生體染色總說

永井潛：理化學辭典 岩波書店

丙. 中文之部

唐 燿：中國木材學，附錄二，木材解剖術

魏岳壽：微生物學實驗法

鮑鑑清：顯微鏡的動物學實驗法

附 錄

長度、重量及容量略記

長度:

Kilometer (km.)	= 1,000 m.	仟米(公里)
Hectometer	= 100 m.	佰米(公引)
Decameter	= 10 m.	什米(公丈)
Meter (m.)	普通長度單位	米(公尺)
Decimeter	= 0.1 m. = 100,000 μ	分米(公寸)
Centimeter (cm.)	= 0.01m. = 10,000 μ	厘米(公分)
Milimeter (mm.)	= 0.001m. = 1,000 μ	毫米(公厘)
Micron(μ)	顯微測量之長度單位 = 0.001 mm. (10^{-3} mm.)	
Milimicron ($\mu\mu$ or $m\mu$)	= 0.001 μ ($10^{-3}\mu$)	

重量:

Kilogram (kg or kgm.)	普通重量單位	仟克(公斤)
Hectogram	= 0.1 kg.	佰克(公兩)
Decagram	= 0.01 kg.	什克(公錢)
Gram (gr. or gm.)	= 0.001 kg.	克(公分)
Decigram	= 0.0001 kg.	分克(公厘)
Centigram (cg.)	= 0.00001 kg.	厘克(公毫)
Miligram (mg.)	= 0.000001 kg.	毫克(公絲)

Litre (H.) 普通之容量單位		升(公升)
Decilitre	=0.1 ^公	分升(公合)
Centilitre	=0.01 ^公	厘升(公勺)
Militre (Cubic centimeter) (ml. or cc)	=0.001 ^公	毫升(公撮)

西中名詞對照表

A

Absolute alcohol 純酒精(純醇)	Alizarin red 茜草素紅
Absorptionskammer 吸熱器	Alkaline alcohol 鹼酒精
Acetic acid 醋酸	Allium cepa 洋葱
Acetic acid carmine 醋酸洋紅	Altman's acid fuchsin (Altman 氏鹼品紅)
Acetic acid methyl green 醋酸甲基綠	Alum 明礬
Acetic alcohol 醋酸酒精	Alum carmine 明礬洋紅
Acetic alcohol with sublimate 醋酸酒精之昇汞飽和溶液	Alum cochineal 明礬胭脂
Acetic-carmine 醋酸洋紅	Alum haematoxylin 明礬蘇木精
Acetone 丙酮	Alumina 礬土
Acid dye 酸性色素	Aluminium chloride 氯化鋁
Acid fuchsin 酸性品紅	Ammonia 氨
Acidulated alcohol 酸酒精	Ammonia alum 鉍明礬
Achromatic aberration 色彩參差	Ammonia copper oxide 氧化銅氨液
Achromatic adjective 消色接物鏡	Ammonium molybdate 鉬酸鉍
Achromatic lens 消色透鏡	Ammonium chloride 氯化鉍
Adjustable stand 臺架	Amoeba 變形蟲
Affixing 附貼	Amyl alcohol 戊醇
Agar-agar 瓊膠	Analyser 檢光鏡
Air sac 氣室	Angular aperture 鏡口角
Ajective staining 媒染	Aniline chlorate 氯酸苯胺
Albumen 卵白	Aniline blue 生色精藍(苯胺藍)
Alcohol 酒精	Aniline chloride 氯化苯胺
Alcohol burner 酒精燈	Aniline oil 生色精油
Alcohol meter 酒精比重計	Aniline water safranin 生色精水番紅花
Aleurone grain 糊粉粒	Anion 陰離子, 陰電
	Anisol 大茴香醚
	Anther 花葯

- Aplanatic condenser** 消錯性集光器
Aplanatic lens 消錯透鏡
Apochromatic adjective 消色消錯接物鏡
Apochromatic lens 消色消錯透鏡
Ar. bian gum 阿拉伯樹膠
Arc lamp 弧光燈
Artefact 固定構造
Arisaema 天南星
Artificial fecundation 人工受精
Artificial light 人工光源
Ascaris 蛔蟲
Ascidia 海鞘
Aseptic degeneration 退化現象
Aseptic necrosis 退化現象
Asparagine 龍鬚菜素
Asphalt lac 土源青膠
Auramine 鹵基金黃
Autoclave 高壓殺菌器
Autotype 網版
Autospecific serum 同體血清
Autogenic 同體血清
Axis cylinder 軸索
Azola 滿江紅
Azur I 天青藍 I
Azur II 天青藍 II
Azur II-Eosin 天青藍 II 曙紅
Azureophile granula 嗜天青藍顆粒
- B**
- Bacteria** 細菌
Balance, for chemical physical purpose
 理化學天平
Balance, for pharmacist's 藥劑用天平
Balsam bottle 加拿大樹膠瓶
Basic dye 鹽基性色素
Basophile elements 嗜鹼細胞
Basophilic granules 嗜鹼顆粒
Beakers 燒杯
Benda's Fluid (Benda 氏液)
Bergamot oil 貝加摩柑油
Benzene, Benzine, Benzol 苯 石油精,
 本精)
Bermsteinlack 蠟
Bichromate of Potassium and cupric sulphate 重鉻酸鉀硫酸銅混液
Biocular microscope 雙目顯微鏡
Biondi-Ehrlich's Triple stain (三色染色法)
Bismarck brown 俾斯麥褐
Bleaching 漂白
Block staining 片塊染色
Blood film 血膜
Blood platelets 血小板
Boiling flasks 燒瓶
Body tube 鏡筒
Föhmer's Haematoxylin (Böhmer 氏蘇木精)
Borax carmine 硼砂洋紅
Bordered pit 重紋孔
Bouin's fluid (Bouin 氏液)
Bordeaux red 波爾多紅
Brazilin 巴西紅
Brilliant green 輝綠
Brown cement 褐封固膠

Buffer solution 調節液(緩衝液)

Burette 滴管

C

Caesalpinia crista 巴西木

Calcite 方解石

Calcium chloride 氯化鈣

Calcium oxalate 草酸鈣

Camphor 樟腦

Camphor water 樟腦水

Canada balsam 加拿大樹膠

Cane-sugar 蔗糖

Capped bottle 揮發瓶

Carbol 石炭酸

Carbol-xytol 石炭酸二甲苯

Carbon tetrachloride 四氯化碳

Carmine 洋紅

Carminic acid 洋紅酸

Carminic red 洋紅紅

Carnoy's fluid (Carnoy 氏液)

Cation 陽離子, 陽電

Caustic potash 苛性鉀

Caustic soda 苛性鈉

Ceratophyllum 金魚藻

Centrifuger 遠心力分離器, 離心器

Cedar oil 洋杉油

Cellodin 火棉膠

Cellodin bottle 火棉膠瓶

Cellodin infiltration 火棉膠浸置

Cement substance 固結物質

Champy-kull 粒線體染色法

Chara 輪藻

Chemical reagent 反應劑

Chemical thermometer 化學用溫度計

Chloral hydrate 含水氯

Chloroform 三氯甲烷(氯仿)

Chlorophyll solution 葉綠素液

Chlorozinc iodine 碘氯化鋅

Cholera 菌

Chondriom 粒線體

Chrom-acetic acid 鉻醋酸

Chromatic aberration 色彩參差

Chrom-alum 鉻明礬

Chromatophore 有色體

Chrome-osmium 鉻鉬酸混液

Chromo-acetic solution 鉻醋酸混液

Chromo-aceto-osmic acid 鉻醋酸及鉬酸混液

Chromic acid 鉻酸

Chromium alum 鉻明礬

Chromium fluoride 氟化鉻

Chromosome 染色體

Cinnamon oil 樟木油

Citrus bergamia, Risso 貝加摩柑

Clarifying 透化

Cleaning mixture 洗濯液

Clavage stage 分裂期

Clips 壓夾

Conorchis sinensis 華肝蛭

Closing membrane 閉鎖膜

Clove oil 丁香油

Coal-tar 煤焦油

Cobalt nitrate 硝酸鈷

Cocaine 古柯鹼

- Coccus cacti 胭脂蟲
 Cochineal 胭脂
 Cochineal insect 胭脂蟲
 Collective lens 集合透鏡
 Colloidium 火藥棉
 Colloidium varnish 火藥棉漆
 Colon organism 支點狀微生物
 Collotype 珂羅版
 Colouring bottles 色素瓶
 Compensating ocular 補正接目鏡
 Compound microscope 複式顯微鏡
 Compressed carbon-dioxide 壓縮碳酸氣
 Condenser 冷却器 集光器
 Condenser stand 冷却器檯
 Congo red 剛果紅
 Copper acetate 醋酸銅
 Constant temperature electric oven 定溫電氣爐
 Copper chloride 氯化銅
 Copper etching 銅凸版
 Copper sulphate 硫酸銅
 Cork 木栓
 Cornea 角膜
 Corrosive sublimate 昇汞
 Corrosive sublimate and acetic acid 昇汞醋酸混液
 Corynebacterium diphtheria 白喉菌
 Counter staining 對比染色
 Cover glass 蓋玻片
 Cover glass forceps (Cornet's) 蓋玻片鑷子
 Creosote 蒸木油(木焦油)
- Crossed nicols 直交三稜鏡
 Crown glass 冕鏡玻璃
 Crystals of calcium carbonate 碳酸鈣結晶
 Crystals of calcium oxalate 草酸鈣結晶
 Crystal violet 結晶紫
 Culture media 培養基
 Cystolith 鐘乳體
 Cuticle 角皮
- D
- Dahlia 大麗菊
 Damar (Damarin) 但馬膠
 Dark-field illumination 暗視野照射裝置
 De-alcoholisation 脫酒精
 Dehydration 脫水
 Delafield's Haematoxylin (Delafield 氏蘇木精)
 Dewaxing 脫蠟
 Desiccator 除濕缸
 Desublimatizing 除昇汞
 Diagonal 對角線
 Differentiation 分色, 細胞之分化
 Dissecting apparatus 解剖器
 Dissecting microscope 解剖顯微鏡
 Dissecting needle 解剖針
 Dissecting pan 解剖皿
 Dissecting scissors 解剖剪
 Distance of distinct vision 明視距離
 Distillation apparatus 蒸餾器
 Distilling flask 蒸氣瓶
 Draw tube 抽筒

Drew's Formol-Chrome-Haematoxylin method (Drew 氏甲醛, 鉻酸及蘇木精特殊染色法)	Extra-ordinary ray 異常光線
Double refracti n 複屈折性	Evaporating dishes 蒸發皿
Double staining 複染色	Eycleashymer's clearer (Eycleshymer 透化液)
Drop bottle 點滴瓶	Eye-piece 接目鏡
Dry system 乾燥系	Eye-piec: micromer 接目顯微量尺
E	
Egg membrane 卵膜	Ferric ammonium sulphit: 硫酸鐵銨
Ehrlich's anilin water of fuchsin(生色精水晶紅)	Ferric chloride 三氯化鐵
Elastic tissue & muscle 彈性纖維組織及肌肉	Ferric hydroxide 氫氧化鐵
Elder 接骨木	Ferrous sulphate 硫酸亞鐵
Electrical analysis 電解	Field 視野
Enclosure 封固	Filter paper 濾紙
Entidifferenzierung 細胞之選育	Fixative 固定劑
Eosinophilic leucocytes 嗜曙白血球	Fixation 固定
Eosin, yellowish eosin, water soluble: 曙紅	Fixation on slide 附貼
Epi helia 上皮膜	Fixing agent 固定劑
Erlenmyer flask 錐瓶	Flemming's tri-color stain (Flemming 氏三色染色法)
Erythrocytes 紅血球	Flint glass 火(螢)石玻璃
Erythrosin 愛理斯洛新紅	Folding pocket magnifier 有鞘廓大鏡
Ether 醚	Fontana 鍍銀法
Ether freezer 醚蒸散冷卻器	Forceps 鑷子
Ethyl eosin, Alcohol soluble 酒精溶性曙紅	Formaldehyde 甲醛
Ethylene tetrachloride 四氯化乙烷	Formalin, Formol 甲醛(福隆)
Expanding stop 中心透光板	For hanging drop 懸滴裝置
Extract of embryo 胚浸出液	Formalin acetic alcohol 甲醛醋酸酒精
	Formic acid 蟻酸
	Free hand sections 徒手切片
	Freezing microtome 凍結切片機
	Freezing microtome section 凍結切片

Front lens 先端透鏡	Golgi apparatus 高爾基氏體	
Frontal section 水平縱斷	Golgi's bichromate and nitrate of silver method (Golgi 氏重鉻酸硝酸銀法)	
Fuchsin, acid 酸性品紅	Grey matter 灰白質	
Fuchsin, Basic 鹽基性品紅	Grinding paste of soft stone 石糊	
Fuchsin and picro-indigo-carmin 品紅與苦味酸靛洋紅	Gum arabic 阿拉伯樹膠	
Funnel stand 漏斗架	Gum syrup 阿拉伯樹膠糖漿	
G		
Gage's formaldehyde dissociator (甲醛分離液)	H	
Gametocytes 配子母細胞	Hæmatoxylin 蘇木精	
Gasoline 汽油	Hanging drop preparation 懸滴標本	
Gelatine 白明膠	Hansen's Hæmatoxylin (Hansen 氏蘇木精)	
Gelatinous membrane 膠質膜	Hardening 硬化	
Gentian violet 龍胆紫	Hard paraffin 硬蠟	
Gilson's mercuronitric mixture 硝酸水銀混液	Hard shell surface 硬殼面	
Glacial acetic acid 冰醋酸	Heidenhain's iron-hæmatoxylin (Heidenhain 氏鐵蘇木精)	
Glass bell 玻璃罩鐘	Heizbarer objektisch 顯微鏡加溫器	
Glass funnel 漏斗	Hermann's Platino-aceto-osmic mixture (Hermann 氏白金醋酸混液)	
Glass rods 玻璃棒	Heterogenic serum 異種血清	
Glass tubes 玻璃管	Heterospecific serum 異種血清	
Glucose 葡萄糖	Hollow slide 圓窩載玻片	
Glycerine 甘油	Homogenous immersion fluid 均勻滴浸液	
Glycerine gelatine 甘油膠	Homogenous liquid 均勻液	
Glycerine gum 甘油樹膠	Homogenic serum 同種血清	
Glycerine jelly 甘油膠	Hornospecific serum 同種血清	
Gonococcus 淋球菌	Horse-shoe base 鏡腳	
Gold chloride 氯化金	Hot air sterilizer 乾熱殺菌器	
Gold impregnation method 鍍金法	Hot water 溫水	
Gold size 貼金膠水(金漆)		

Hydrocharis 水蘚
 Hydrochloric acid 鹽酸
 Hydrofluoric acid 氫氟酸
 Hydrogen-ion concentration 氫離子濃

度

Hydrogen di-oxide 過氧化氫
 Hydrogen peroxide 過氧化氫
 Hydrometer 液體比重計
 Hyperhydrische gewebe 過水組織

I

Illumination-apparatus (Abbe 氏輝照集
 光器)
 Imbedding 埋漬
 Imbedding table 埋漬檯
 Immersion 浸置
 Immersion system 浸滴系
 Incubator 孵卵器
 Indicator 指示劑, 指標劑
 Indigo blue 靛藍
 Indigo carmine 靛洋紅
 Individuality 細胞之個性
 Infiltration method 浸潤方法
 Ink for writing on slide 玻璃用墨汁
 Intermedium 媒浸
 Inulin 菊糖
 Iodine 碘
 Iodine green 碘綠
 Iodine solution 碘液
 Iodine tincture 碘酒
 Iris diaphragm 虹彩雪光器
 Iron acetate 醋酸鐵

Iron alum 鐵明礬
 Iron oxide 氧化鐵
 Isotonic 等滲透壓

J

Janus green 詹納斯綠 (雙頭特綠) B
 Jeffrey's macerating fluid (Jeffrey 氏
 分離液)

K

Karyokinetic figure 核分裂之構造
 Kathodenfarbstoffe 陰極色素
 Killing 殺生
 Knife 切片刀
 Koch-Ehrlich's anilin water solution of
 gentian violet (Koch-Ehrlich 氏生色
 精水龍胆紫)

L

Label 標籤, 貼籤
 Laboratory 實驗室
 Lac 蟲膠
 Lactic acid 乳酸
 Lactophenol 乳酚油
 Large mononuclear leucocytes 大單核白
 血球
 Lauth's violet (Lauth 氏紫)
 Lavdowsky's formal, alcohol and acetic
 acid (Lavdowsky 氏甲醛酒精及醋酸
 混液)
 Lemna 浮萍
 Lens paper 描寫軟紙

- Leucoplast 白色體
 Lipoide 類脂質
 Litmus-paper 石蕊試紙
 Light green, SF. yellowish 光綠
 Light machine oil 輕機器油
 Lignin 木質
 Linseed oil 亞麻仁油
 Lithium carbonate 碳酸鋰
 Lithium-carminc 鋰洋紅
 Lithography 石版
 Löffler's alkaline methylen blue (Löffler 氏鹼次甲基藍)
 Logwood 蘇方木
 Lymphocytes 淋巴球
- M
- Magenta 品紅
 Magnesium chloride 氯化鎂
 Magnesium sulphate 硫酸鎂
 Magnifier 廓大鏡
 Magnifier, Tripod 三脚廓大鏡
 Magnifying aberration 廓大參差
 Malaria 瘧疾
 Malachite green 孔雀綠
 Mallory's connective tissue stain (Mallory 氏結締組織染色法)
 Marine glue 海膠
 Mast cell 巨細胞
 Mayer's albumen (Mayer 氏卵白)
 Mayer's chlorine method (Mayer 氏氯漂白法)
 Mayer's picto-nitric acid 苦味酸酸硝混液
- McCallum's macerating fluid (分離液)
 Measuring cylinder 量筒
 Mechanical method 機械的方法
 Mechanical tube-length 機械的管筒長度
 Meckel's carmine and Indigo-carminc (明砂洋紅—靛洋紅)
 Mechanical stage 標本推動器
 Medium 媒劑
 Meiosis 減數分裂
 Mennigcoccus 腦膜炎球菌
 Mercuronitric mixture; corrosive sublimate, nitric acid mixture 硝酸水銀混液
 Mercuric carminate 洋紅酸水銀
 Merozoites 分生孢子
 Metachromasy 異常染色
 Metachromatic dy: 異常染色性色素
 Methyl alcohol 酒精
 Methyl blue 甲基藍
 Methyl green 甲基綠
 Methyl orange 甲基橙
 Methyl red 甲基紅
 Methyl violet 甲基紫
 Methylen green 次甲基綠
 Methylen violet 次甲基藍
 Micro-dissection 顯微解剖
 Micro-dissection apparatus 顯微解剖器
 Micro-manipulative technique 顯微解剖技術
 Micro-manipulator 顯微解剖器

- Micrometer 顯微量尺
 ✓ Micrometer okular 顯微量尺接目鏡
 Micrometer of fine adjustment 微動昇降螺旋
 降螺旋
 ✓ Micrometer screw 微動昇降螺旋
 Micro-needle 顯微解剖針
 Micro-pipette 顯微移液管
 ✓ Microphotographic apparatus 顯微鏡照像器
 ✓ Microphotography 顯微鏡照像
 Microtome 切片機
 Microgy 顯微解剖
 Middle lamella 中層
 ✓ Mirror 反射鏡
 Mitochondria 纖維體
 Molar solution 公分分子溶液
 Moist chamber 濕室
 Mollusca 軟體動物
 Molybdenum trioxide 三氧化鉬
 Mordant 媒染劑
 Molybdic acid 鉬酸
 Motor nerve 發動神經
 Mounting 封固(裝設)
 Mounting fluid for algae 藻類裝置液
 Mucin 粘液素
 Myxophyceae 黏菌類
- N
- Natrium iodate 碘酸鈉
 Natrium thiosulphate 硫代硫酸
 Natural dyes 天然色素
 Natural light 自然光
- ✓ Negative ocular 消極性接目鏡
 Nerve-endings 神經末端
 Neurofibril 神經纖維
 Neutral balsam 中性加拿大樹膠
 Neutral formalin 中性甲醛
 Neutral red 中性紅
 Neutralized fats 中性化脂肪
 Nicol's prism (Nicol 三稜鏡)
 Nicotin-cocain 菸素精古柯鹼
 Nigrosin 青黑精
 Nitrate of potassium 硝酸鉀
 Nitrate of silver method 硝酸銀法
 Nitric acid 硝酸
 Nile blue 尼羅藍
 Nile blue sulphate 尼羅藍
 Normal solution 規定液
 ✓ Nose piece, Revolver 轉換器
 ✓ Numerical aperture 鏡口率
- O
- Objective, objective-glass 接物鏡
 Object micrometer 接物顯微量尺
 Ocular, Eye-piece 接目鏡
 Ocular lens 接目透鏡
 Ocular micrometer 接目顯微量尺
 Oil immersion 油浸系
 Oil of lemon 檸檬油
 Olive oil 橄欖油
 Opaque mounts 不透明之整體封固法
 Oppel's polychromatic stain (oppel 氏多色染色法)
 Optical tube-length 光學的管筒長度

- Orange G 橙黃 G
 Orcin 甲苯二酚
 ✓ Ordinary ray 常光線
 Osmic acid 鉍酸
 Osmotic method 滲透的方法
 Oviduct 輸卵管
 Oxalic acid 草酸
 Oxazone 染料
 Oxidation-reduction potential 氧化還
 元電位
- P
- Palm oil 棕櫚油
 Pancreas 胰臟
 ✓ Paraboid-and cardioid condensor 拋
 線面集光鏡及心形集光鏡
 Paraffin 石蠟
 Paraffinapparat, Paraffin bath 焯蠟爐
 Paraffin infiltration 石蠟浸置
 Paraffin oil 石蠟油
 Parenchyma 薄膜組織
 Peptone 百補登
 Permanent preparation 永久標本
 Petri dishes 培養皿
 Petroleum benzine 石油本精
 Petrological microscope 岩石顯微鏡
 Phenol 酚
 Phenol red 酚紅
 Phenol safranin 酚番紅花紅
 Phenolphthalein 酚酞
 Phloroglucin, Phloroglucinol 藤黃精
 Phloxine 新桃紅
 Phosphomolybdic acid 磷鉬酸
 Phosphoric acid 磷酸
 ✓ Photogravure 照相版
 Picric acid 苦味酸
 Picro-formol 苦味酸甲醛混液
 Pillar, Limb. stand 鏡柱
 Pins 定針
 Pipette 吸管
 Pith 木髓
 Plankton 浮游生物
 Plasmodium immaculatus 惡性瘧原蟲
 Plasmodium malaria 四日瘧原蟲
 Plasmodium vivax 三日瘧原蟲
 Plasmolysis 原形質退膜
 Plasmosome 質仁
 Platinum chloride 氯化鉑
 Plates 圖版
 Pleochroism 多色性
 Polarization 偏光
 Polarizing microscope 偏光顯微鏡
 Polarized ray 偏光光線
 ✓ Polarizer 偏光鏡
 Polynuclear neutrophilic leucocytes 多
 核者中性白血球
 Porcelain cups 磁杯
 Porcelain mortar 磁製研鉢
 Positive ocular 積極性接目鏡
 Post-impregnation 後鍍金
 Potassium alum 鉀明礬
 Pot. bichromate 重鉻酸鉀
 Pot. carbonate 碳酸鉀
 Potassium chlorate 氯酸鉀

Potassium chlorid: 氯化鉀
 Potassium cyanid: 氰化鉀
 Pot. ferricyanide 赤血鹽
 Pot. hypochlorite 次亞氯酸鉀
 Pot. hydroxide 氫氧化鉀
 Pot. iodid: 碘化鉀
 Pot. iodide iodine 碘碘化鉀
 Pot. permanganate 高錳酸鉀
 Precision rotary 切片機
 Pre-impregnation 前鍍金
 Prothallium 原葉體
 Protozoa 原生動物
 Pyrenoid 澱粉核
 Pyridine 吡啶
 Pyrogallic acid 焦性沒食子酸
 Py. oligoneous acid 木醋酸

Q

Quatan malaria 四日瘧

R

Ramsden's ocular (Ramsden 氏接目鏡)
 Rack and pinion coarse adjustment 粗重昇降螺旋
 Ranvier's one-third alcohol (Ranvier 氏三分之一酒精)
 Rapid process 快速法
 Razor section 剃刀切片
 Reagent bottles 試藥瓶
 Reduction division 減及分裂

✓ Reflecting condenser - ultra - micros-

cope 反射集光鏡式超顯微鏡
 ✓ Reflecting light 反射光線
 ✓ Reflection polarization 屈折偏光
 Reticulated corpuscles 網狀細胞
 Ribbon conveyor 石蠟切片帶運搬器
 Resolving power 鑑別率
 Rhodamine B 鹵基玫瑰紅
 Rod-like bodies 桿狀小體
 Root tip 根端
 Rosaniline 玫瑰生色精
 Rosaniline violet 玫瑰生色精紫
 Rose Bengal 孟加拉玫瑰紅
 Rotary microtome 輪轉切片機
 Ruhrbacillen 赤痢菌
 Running water 流水

S

Safianin 番紅花紅
 Sagittal section 垂直縱斷
 Saline solution 生理食鹽溶液
 Salmonella 屬細菌
 Sandarac 山達膠
 Scalpel 解剖刀
 Scilla 綿朮兒
 Schridde's method for mitochondria, modified (Schridde 氏粒線體改良染色法)
 Schizont 分裂體
 Schultze's maceratin mixture (Schultze 氏分離液)
 Sealing 密封
 Seal lac 封蠟

- Section-cutting 切片
- Section-cutting staining 切片染色
- Section lifter 切片鏟
- Section preparation 切片機切片標本
- Section razor 西式剃刀
- Sectioning 切片
- Separating funnels 分液漏斗
- Series section 連續切片
- Serum 血漿
- Setting and stropping bevel, Handle 研磨用把柄
- Shellac 蟲膠
- Silver impregnation method 鍍銀法
- Silver nitrate 硝酸銀
- Simple microscope 簡單顯微鏡
- Slides 載玻片, 滑輪
- Slide box 切片標本盒
- Sliding microtome 滑行切片機
- Slit-ultra-microscope 細隙式超顯微鏡
- Smear preparation 塗布標本
- Soap water 肥皂水
- Sodium bicarbonate 重碳酸鈉
- Sod. carbonate 碳酸鈉
- Sod. bisulphate 酸式硫酸鈉
- Sod. chlorate 氯酸鈉
- Sod. chloride, table-salt 氯化鈉, 食鹽
- Sod. hydroxide 氫氧化鈉
- Sod. hypochlorite 次氯酸鈉
- Sod. lyposulphite 低亞硫酸鈉
- Sod. salicylate 楊水酸鈉
- Sod. sulphate 硫酸鈉
- Sod. thiosulphate 一硫酸鈉
- Sod. water glass 矽酸鈉
- Soft paraffin 軟蠟
- Solute 溶質
- Solution 溶液
- Solution of caustic potash 鉀液
- Solvent 溶媒
- Spathula 切片鏟
- Specimen jar 標本瓶
- Spermatozoa 精子
- Spherical aberration 球面參差
- Spindle fibers 紡錘絲
- Spireme 染色缸
- Spirogyra 水綿
- Spirochæta 螺旋體屬細菌
- Sponge tissue 海綿組織
- Stage 鏡臺
- Starch paste 澱粉糊
- Staining 染色
- Staining jar (Coplin's) 染色瓶
- Staining radicle 染色基
- Steam sterilizer 蒸氣消毒釜
- Stearine 三脂蠟酸甘油
- Sticking 固着
- Stretching out 伸蠟
- Strop 砥革
- Strop and whetstone 砥革與砥石
- Suberin 栓質
- Sudan III 蘇丹 III
- Sudan IV 蘇丹 IV
- Sulphuric acid 硫酸
- Sulphurous anhydride 無水亞硫酸
- Sulphurous acid 亞硫酸

Sunflower 向日葵

Syringes 注射器

T

Tadpole 蝌蚪

Taylor 型

Tannic acid 鞣酸

Teasing method 機械方法

Temporary preparation 臨時標本

Tendon 腱

Tertian malaria 隔日瘧

Testis 睾丸

Test tubes 試管

Test tube support of wood 試管架

Text-figures 插圖

The nitrate of silver method 硝酸銀法

Therapeutic agent 治療劑

Thermometer 寒暑表

Thermostat 定溫箱

Thymol 百里香精

Thymol blue 百里香精藍

Tissue culture 組織培養

Tissue culture in vitro 組織培養

Toluidin blue 甲苯胺藍

Toluol, Toluene 甲苯

Tolylene blue 次甲基藍

Total preparation 整體標本

Tradescantia virginica L. 紫萼躑躅草

Transparent stained mount 透明染色標本之整體封固

Transpiration 蒸騰作用

Transverse section 橫斷

Trichloroacetic acid 三氯化醋酸

Tri-nitro-cellulose 火藥棉

Triple staining 三色染色

Tropical malaria 惡性瘧

Turpentine oil 松節油

Tyndall phenomenon 丁德爾現象

Typhus 菌

U

Ultramicroscope 超顯微鏡

Unhydrous copper sulphate 無水硫酸銅

Urea 尿素

V

Vacuum 液體

Vakuum-infiltrations method nach Gickhorn (Gickhorn 氏真空減壓浸潤法)

Vallisneria 苦草

Vasa deferentia 輸精管

Vaseline 凡士林

Vascular area 血管區

Vaucheria 無節藻

Venetian turpentine 威尼斯樹脂

Vials 小藥瓶

Vital staining 生體染色

Vitelline membrane 卵黃膜

Vulcanized fiber 硬化纖維

W

Warming table 暖櫃



Wash bottle 洗瓶
 Washing 洗滌
 Watch glass 時計皿
 Water bath 水浴槽
 Water immersion 水浸系
 Weigert 神經髓鞘染色法
 Whetstone 砥石
 Wood cut 木版

X

Xylography 木版
 Xylol 二甲苯

Y

Yeast 酵母菌
 Yolk 卵黃
 Yolk-plug stage 卵黃栓期

Z

Ziehl-Neelson's carbol-fuchsin (石炭酸
 品紅)
 Zentrifugen-infiltrations methode
 nach Weber (Weber 氏離心力浸潤法)
 Zinc chloride 氯化鋅
 Zincography 鋅平版
 Zinc etching 鋅凹版





版權所有
翻印必究

中華民國三十七年七月初版

生物學的顯微鏡技術

全一冊 定價國幣七元六角

(外埠酌加運費函費)

編 著 者 劉

發 行

校整
：大仙

國立中央圖書館

368

書 碼 8785

登錄號碼 025197



