

鱼 卵 切 片 技 术

张 中 英

(国家水产总局长江水产研究所)

鱼类成熟的游离卵球,卵黄十分丰富,连续切片很不容易。若按过去的一般方法,切片易碎,显微照相亦欠佳,同时容易褪色,镜片标本不易长期保存。如果在固定、脱水、染色等方面加以改进,切片即不易脆碎,可得比较满意的结果,且处理过程也较简单。

一、固 定

配制新鲜的波恩氏液: 甲醛 25 毫升,苦味酸饱和水溶液 75 毫升,冰醋酸 5 毫升等药剂混合而成。7 毫升固定液可固定 15—20 个卵。约固定 6—12 小时,倾去固定液(超过 12 小时,鱼

卵则易脆化,造成连续切片的困难),用 70% 的酒精重复冲洗卵球,使其内部所含的酸类去净。为此,一天需更换几次酒精溶液。待苦味酸洗净后,去酒精,更换 5% 的福尔马林溶液保存备用。如仍保存在 70% 的酒精溶液中,时间长了,鱼卵则易脆化。

二、包 埋

石蜡包埋之前卵球必须脱水。

用 70% 酒精保存的卵球,取出即可进行脱水,若用 5% 福尔马林保存的卵球,还须先用 50% 和 70% 的酒精各浸 5—10 分钟,再投入脱

水甲剂(纯酒精 6 份+氯仿 3 份+冰醋酸 1 份), 经 15—30 分钟, 更换脱水乙剂(正丁醇 6 份+氯仿 3 份+冰醋酸 1 份), 经 10—20 分钟, 再更换纯松油醇(又名萜松醇 *Terpineol*, 分子式 $C_{10}H_{18}O$), 透明 15—30 分钟。这里特别要指出的是, 脱水时间不要超过 4 个小时, 透明时间不要超过 1 小时, 若时间过长, 切片虽能完整不碎, 但卵球收缩, 切片的卵黄上会有裂隙(图 1、2 见封 3, 下同)。

卵球经脱水和透明后, 移至溶化的石蜡、松油醇各半的混合液中(置于 50°C 左右的温箱中最为适宜), 经 5—10 分钟, 更换溶化的纯石蜡 I、II(石蜡的熔点以 $54—56^{\circ}\text{C}$ 左右为宜, 再加些蜂蜡, 可调节软硬度; 夏季宜用熔点较高的; 冬季宜用熔点较低的。久用的老蜡不易结晶, 不产生气泡, 比新蜡好), 各经 10 分钟后, 即须取出蜡皿, 随研究目的使卵球定位于预先制好的包埋纸船中加蜡包埋, 然后移纸船于水面上, 使蜡徐徐凝固至一定程度, 便可全部沉于水底, 包埋手续全部结束。

三、切 片

采用常用的石蜡切片法, 切片厚度为 6—8 微米。蜡带用梅野氏贴片剂(鸡蛋白 50 毫升充分击碎, 过滤, 加入等量的甘油混和后, 再加入柳酸钠或麝香草酚约 1 克, 过滤即可)。固定在

载玻片上。蜡带上的连续切片应完整不碎, 不易脱落(图 3、4)。

四、染色与封片

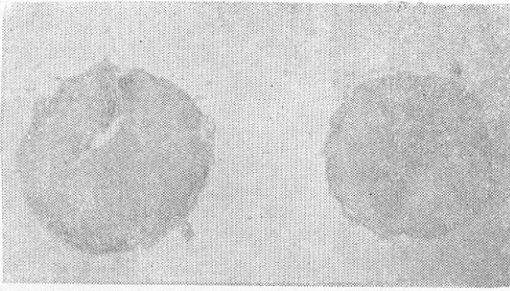
使用海登海恩(Heidenhain)氏苏木精染色和伊红复染, 显微照相的效果特别好(图 5)。染色之前, 先使贴有蜡带的载玻片通过二甲苯脱蜡, 再通过纯酒精, 并依次通过 95%、90%、80%、70% 酒精, 最后保存在水里等待媒染和染色。通过各种酒精时, 所需的时间, 约 5 分钟左右即可。

从水中取出片子, 移入媒染剂(2.5 克铁矾溶于 100 毫升蒸馏水), 经 20—30 分钟, 然后将片子取出稍经清水洗涤, 即将片子浸入铁苏木精染液(先将苏木精 0.5 克溶于 95% 的酒精 10 毫升, 再加 90 毫升蒸馏水, 装入无色广口瓶中, 置于明亮处, 瓶口塞以棉花或纱布, 约 4—5 星期, 待呈葡萄酒色即可应用。染液可保存半年)里, 经过 20—30 分钟, 镜检染色的程度, 若染色太浓, 可再移入媒染剂中褪色, 直至染色适宜为止。然后, 再用流水冲洗 5 分钟, 洗去铁矾溶液, 再用 1% 的伊红水溶液复染半分钟即可。只要将片子经过常规的脱水手续, 然后移到二甲苯中, 待用中性树脂胶封固。

这种方法制成的片子, 可以长期保存不褪颜色, 显微照相的结果也比较理想(图 6—8)。

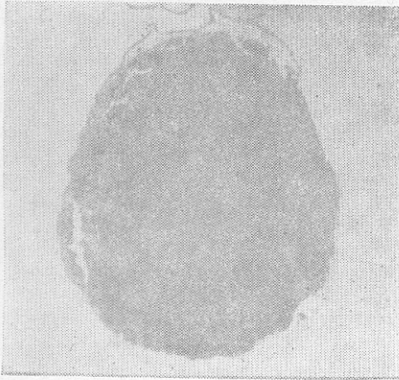
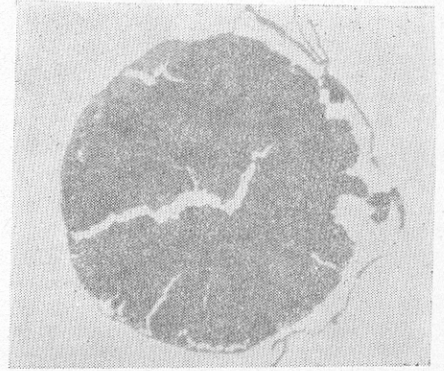
魚卵切片的細胞學技術(文的附圖)

(正文見45頁)



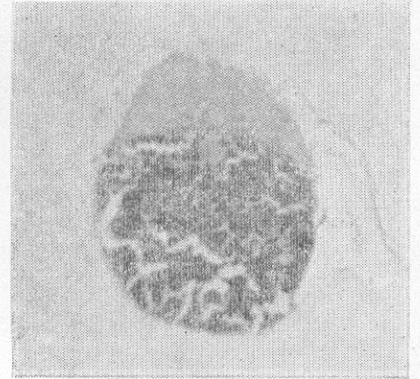
△1. 因脫水與透明的時間過長, 連續切片雖完整不碎, 但卵黃已消化成片。(×61.6)

▷2. 卵黃消化成片, 且收縮, 出現裂隙。(×88)

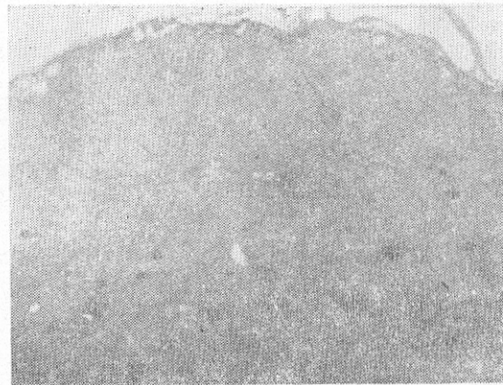


◁3. 切片完整不碎。(前期卵)
(×88)

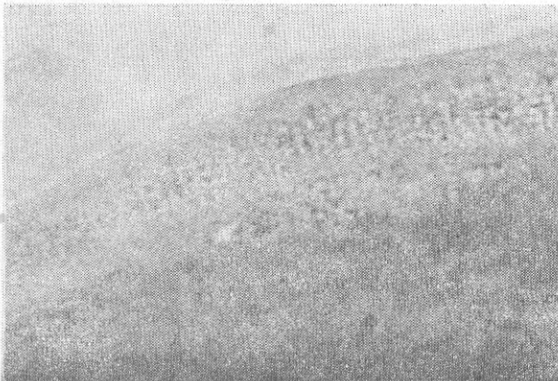
▷4. 切片完整不碎。(后期卵)
(×88)



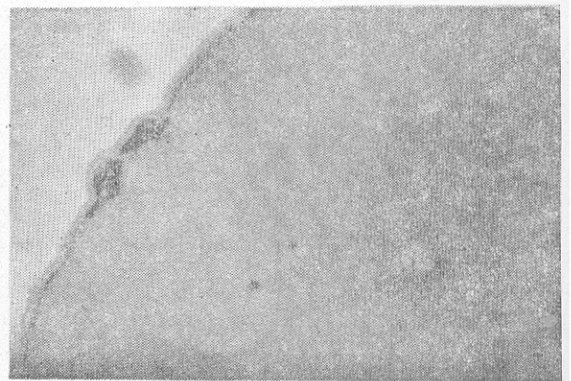
△5. 染色體排列於赤道板上。
(×3800)



◁6. 切片完整不碎, 且染色清楚。雌、雄兩性原核互相接合。
(×693)



△7. 卵膜的放大相貌。(×3800)



△8. 雌、雄兩性原核融合成爲一個合子核。(×1109)