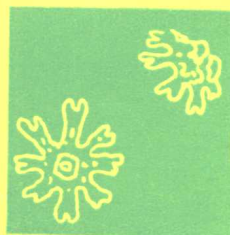
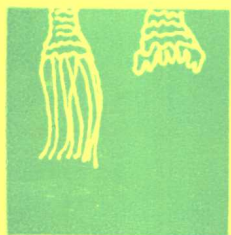
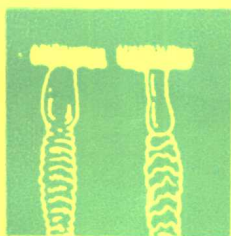


无脊椎动物 的采集、培养 与玻片制作手册

张瑞清 著



北京大学出版社



内 容 简 介

本书共分为18个门，从原生动物门直到头索动物亚门，以每门中纲的代表型动物为主兼顾非主要动物等而编写的采集、培养、玻片标本制作；并附写了各种主要染液、固定剂、各级酒精、各种工具等制作方法。全书贯彻了作者多年工作积累的丰富实践经验而进行阐述使用原理及细则。

本书对大专院校实验室技术人员、教师、学生有一定帮助，也适用于中学教师的采集工作。

无脊椎动物的采集、培养与玻片制作手册

张瑞清 著

责任编辑：李蕙兰

北京大学出版社出版

（北京大学校内）

北京大学印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

787×1092毫米 32开本 5印张 100千字

1988年9月第一版 1988年9月第一次印刷

印数：00001—3000册

ISBN7-301-00249-1/Q-002

定 价：1.85元

前 言

1933年，我帮助陈桢先生工作。当时是在清华大学生物学系，大学一年级的课由陈先生讲授，除教学工作外，还开展了对金鱼的研究工作。那时候不但显微镜要进口，就是做试验用的模型、玻片等标本都从国外进口。

一天，陈先生下课后对我说：“我打算把这门课所用的实验材料，由我们在国内采集一套，制成各种标本备用，以后，讲自己国家的生物，用自己采集的标本，就不要从外国进口实验材料了，你把采集等工作担任起来”。我听了很高兴，也很愿意这样做，但又顾虑完不成任务。陈先生看透我的心思，又说：“不要怕，有困难一起解决”。我大胆的答应了。

此后，班上实验所用的生物材料由我采集、供应，并逐渐做了些固定、保存和玻片标本，几十年来在这方面花了不少工夫。近年来，我将这部分工作进行了总结和整理，编写成书供有关读者参考。限于水平，错误难免，希望同志们指教。

这本手册的编写承蒙北京大学生物系陈守良先生的启发、鼓舞和杜芝兰先生的协助，作者同此致谢。

张瑞清 1985.1.

目 录

一、原生动物门.....	(1)
1. 鞭毛虫纲——眼虫(附:团藻、实球藻、 衣藻、盘藻).....	(1)
2. 肉足虫纲——变形虫(附:有孔虫类、 放射虫类).....	(9)
3. 纤毛虫纲——草履虫(附:钟虫、 蛙片虫).....	(13)
4. 孢子虫纲——疟原虫(附:簇虫类).....	(17)
二、多孔动物门.....	(20)
1. 钙质海绵纲——毛壶.....	(20)
2. 寻常海绵纲——淡水海绵.....	(22)
三、腔肠动物门.....	(25)
1. 水螅纲——水螅、薏枝螅(附其他水螅、 水母类:筒螅、钩手水母、僧帽水母).....	(25)
2. 钵水母纲——海月水母(附:海蜇).....	(33)
3. 珊瑚纲——海葵(附:海鸡冠、 海鳃、红珊瑚).....	(36)
四、栉水母动物门.....	(41)
球栉水母.....	(41)
瓜水母.....	(41)
五、扁形动物门.....	(43)
1. 涡虫纲——真涡虫.....	(43)

2. 吸虫纲——羊肝蛭、华枝睾吸虫、	
日本血吸虫·····	(47)
3. 绦虫纲——猫绦虫、犬复孔绦虫、	
孟氏裂头绦虫·····	(49)
六、纽形动物门·····	(53)
纽形动物·····	(53)
七、线形动物门·····	(55)
1. 线虫纲——醋线虫、猪蛔虫、	
十二指肠钩虫、旋毛虫·····	(55)
2. 附：线形纲——铁线虫·····	(59)
八、轮虫动物门·····	(61)
旋轮虫·····	(61)
九、棘头动物门·····	(64)
猪巨吻棘头虫·····	(64)
十、环节动物门·····	(65)
1. 多毛纲——沙蚕、背鳞虫、	
鳞沙蚕、龙介类·····	(65)
2. 寡毛纲——环毛蚓、其他寡毛虫类·····	(67)
3. 蛭纲——水蛭·····	(72)
4. 吸口虫纲——吸口虫·····	(74)
十一、星虫门、螯虫门·····	(75)
星虫、伯螯·····	(75)
十二、软体动物门·····	(76)
1. 双神经纲——石鳖·····	(76)
2. 腹足虫纲——蜗牛、蛞蝓、裸鳃类动物·····	(77)
3. 掘足纲——角贝·····	(83)
4. 头足纲——乌贼、枪乌贼、章鱼·····	(83)

5. 瓣鳃纲——河蚌、海产的瓣鳃类·····	(85)
十三、节肢动物门 ·····	(89)
1. 甲壳纲——丰年虫、水蚤、介形虫类、 剑水蚤、蔓足类、蟹奴、等足类、 端足类、十足类、口足类·····	(89)
2. 多足纲·····	(96)
3. 蛛形纲·····	(97)
4. 昆虫纲——蝗虫·····	(98)
十四、苔藓动物门 ·····	(100)
草苔虫·····	(100)
羽苔虫·····	(101)
十五、腕足动物门、帚虫动物门、毛颚动物门 ·····	(103)
腕足动物·····	(103)
帚虫动物·····	(103)
毛颚动物——箭虫·····	(104)
十六、棘皮动物门 ·····	(105)
1. 海星纲——海盘车·····	(105)
2. 蛇尾纲——蛇尾·····	(106)
3. 海胆纲——海胆·····	(107)
4. 海参纲——海参·····	(108)
5. 海百合纲——海百合·····	(109)
十七、半索动物门 ·····	(111)
肠鳃纲——柱头虫·····	(111)
十八、脊索动物门 ·····	(112)
1. 头索动物亚门——文昌鱼·····	(112)
2. 半索动物亚门——海鞘、复海鞘·····	(112)
附录一 固定剂制备法·····	(114)

附录二	染液制备法·····	(120)
附录三	其他用液制备法·····	(123)
附录四	载玻片和盖玻片的洗净法·····	(126)
附录五	固定物洗涤法·····	(127)
附录六	各级酒精制备法·····	(129)
附录七	整体制片·····	(129)
附录八	火棉切片法·····	(132)
附录九	石蜡切片法·····	(134)
附录十	采集用具·····	(145)
附录十一	培养、固定、保存用具·····	(149)
附录十二	制片用具·····	(149)
附录十三	切片室的一般规则·····	(150)

一、原生动物门 (Protozoa)

这一门的动物，在讲课时常被取以为代表的，主要有四种。它们有的生活在淡水里，在河泽、池塘中可以采集到，如眼虫、变形虫、草履虫以及其他几种绿色鞭毛虫类；有的生活在海水中，要到海滨岩石上、海滩上的泥沙中，或水桩以及石柱上面去采取，如有孔虫类与放射虫类；还有寄生于人体或某些动物体内，如疟原虫和蛙片虫之类。

1. 鞭毛虫纲 (Mastigophora)

眼虫 (附：团藻、实球藻、衣藻、盘藻)

眼虫 (*Euglena*)

野外采集

春季——在这个季节里，冰溶雪化，和风送暖，北京大学北部的莲塘，碧水清明透底，反映出天上的白云，山上的绿树，山形、阁影如见真宫。在这样的池塘里，常可发现许许多多的小型绿色个体，群聚排成不定型的队列，初看上去很像是一缕水绵。它们随着风吹水波，上升下降和不断的改变着队形，向着岸边游进。它们就是适合于这样的水域中生活的眼虫 (图1) 单一群体。

春天，除去以上的环境条件外，在小的流水沟中，烂叶

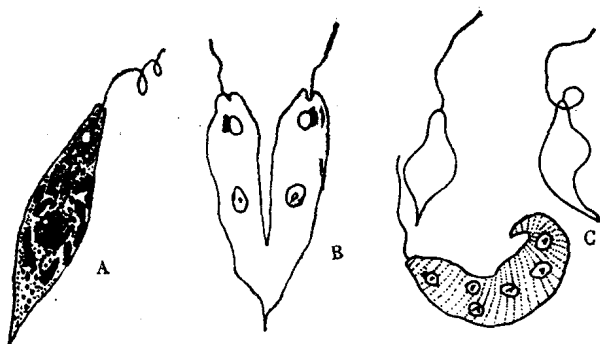


图1 眼虫

- A. 游动的眼虫； B. 眼虫的纵分裂繁殖；
C. 眼虫收缩了的形状。

堆积的地方，或于秽水倾倒处的附近，也常常发现眼虫。倘若将下水道中的污水通入小流水沟的上游，那么这条小水沟的下游，就更适宜于眼虫的生长，繁殖的也就更为茂盛。不过在这样的环境里，眼虫常是与其他原虫伴生的。

夏季——春季里大量生长眼虫的沟渠中，在夏季大雨以后，眼虫常被雨水冲刷得干干净净。但是雨后的天气转晴而炎热，又是眼虫发生的好时光，在农村路旁低洼之处，积水超过三、四天的地方，常会有眼虫生出来。但此水洼面积不大，不能维持很久的时间就干掉了。在农村水井附近，凸凹不平的路沟中，和大车（畜力车）道两旁雨后存水之处，及农村中猪圈、马厩旁边水坑里，都是产生眼虫的好地方。这样的小洼、小坑，在夏季的农村里是到处易见的，所以夏季采集眼虫是比较容易的。

秋季——这一季节里的天气，一天天逐渐变冷，寒冷给野外采集带来的困难也就一天比一天大，到了秋末，已没有什么

原虫能在浅水沟、池塘中生活了，这时候就应到积水深的池塘里去找眼虫。当找到水清而呈绿色的水坑时，水面上又看不到眼虫的情况下，可用木棍或其他工具伸入水中，在靠近自己面前的水域划圆圈，搅动的力量不可太猛，但要达到接近池底。生活在水底的眼虫，一会儿就会浮游于水面，颇便于我们观察和采集。（注意一定不能把水搅浑）。

冬季——北方的冬季很冷，地面上的池塘、河流都已被冰封冻起来，加上北风呼啸，大雪横飞，许多人认为在这种情况下，不可能采到眼虫。冬季采集眼虫虽说是事无先例，可是只要了解眼虫的营养方式，在冬季也不是绝对采集不到的。

眼虫有两种营养方式，即植物性营养和腐生性营养。植物性营养的眼虫，要求清明的水质，在冬季这种水一定是冻结的，不便于采集眼虫，然而腐生性营养的眼虫，必须生长在腐烂物质多的水中，由于有机物质在腐烂过程中，产生一定的热量，可使水温增高，所以虽是在冬天水也不易冻结。眼虫能抵抗低水温，在 5°C 左右它还能生活，因此，它给冬季采集创造了条件。

在北京大学校园里，有一条窄小的水沟，上游与校外河流相通，引进来的水输送到未名湖里，这小水沟的底比地面低下五、六尺，水深一、二尺，水流不急。在沟的上游，还有下水道的污水通入，所以水内腐质较多，沟深窄，沟内水温不易扩散。这条小水沟具备了眼虫腐生性营养的条件，就在这条水沟里，采到正常生活的眼虫。

室内培养

培养眼虫的方法比较多，过去有人用面汤培养法、小

麦煮剂培养法、或制备混合剂培养等。比较以上方法的效果，都不如“土水培养液”维持的时间长久，取材方便，制备容易。一般的河底泥、莲塘泥、稻田泥、菜畦泥以及农村中长期通过畜力车道沟中的泥土，都可以用来制作“土水培养液”，效果同样良好。

制备方法：将上述任何地处取来的泥土，经过晒干或烘干、压碎、筛细。贮存于大型玻璃器皿里，盖严、防潮、备用。

取200ml的小型广口玻璃瓶，放入准备好的细土20g，加入150ml自来水或清水，用纱布包新棉花做塞，塞住瓶口，但不宜塞的太紧，使之达到既防尘又通空气的目的。然后把瓶放入蒸气消毒锅内，于90℃半小时，或用高压消毒器进行消毒，待凉后，把瓶取出放在桌上，次日可用以接种眼虫。

用纯种的眼虫直接接种，每瓶接种的数目以二、三十个眼虫为合适，少了则繁殖的速度慢，有使培养失败的危險。将接种后的培养瓶，放置在南面窗戶下，不要经受阳光直晒，培养室内温度以15—20℃为宜。三日后瓶水呈微绿色，表示眼虫逐渐增多，约一周后瓶水呈显深绿色，是为眼虫繁殖盛期。

固定保存

眼虫应使用强烈固定剂进行固定，即必须使固定剂迅速生效，才能避免其因受固定剂刺激而改变了原形。固定时，先把眼虫用吸管吸入小型玻璃皿中(尽量少吸培养液)，然后将小玻璃皿放于阳光直晒处数分钟，以使眼虫恢复正常状态。此后，迅速注入鲍氏固定剂(附录一,4)或肖氏固定剂(附

录一，2) 中固定，固定时间为5—30分钟。

固定后的眼虫，须进行洗净（附录五），经30%、50%而进入70%酒精脱水，最后保存于70%酒精中。各级酒精中需时10—30分钟，更换酒精时，必须等待虫体沉落皿底，注意不使眼虫丢失。

玻片固定法，先将载玻片或盖玻片擦净（附录四），如果玻片没擦干净，粘附的眼虫在制片过程中，容易从玻片上面脱落下来而丢失。粘着法：滴马氏蛋白胶（附录三，1）少许于玻片中央，用无名指外侧把胶涂成薄层，然后用洁净的吸管将含眼虫的培养液滴于玻片中央胶层上，并使之均匀摊开，放于平稳处待干，至水将干而虫体处微湿时，以四氧化钨气（附录一，5）固定数分钟。经洗净后，即可按序（附录七）制成玻片标本。

玻片制作（整体）

粘附着眼虫的玻片经洗净后，在豆氏苏木精液（附录二，1）及曙红染液（附录二，3）中染色，或用海氏苏木精液（附录二，2）染色亦可，然后制成玻片标本（附录七）。如需大量固定，制作过程相同，但要在进入二甲苯后，才能将标本吸出放到载玻片上，加香脂。加盖玻片而完成。

团藻 (*Volvox*) 和实球藻 (*Pandorina*)

野外采集

在北京附近的深水池塘里，看不到团藻（图2）的踪迹。根据几年来观察的情况，发现它喜欢在小水洼中生长、

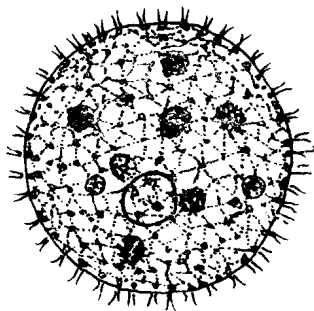


图2 团藻

繁殖，但维持的时间比较短暂，每发现一凹团藻后，不到三、四天的工夫就被太阳晒干了，因此，有人说北京没有团藻。其实团藻在京郊农村中，是连年都有出生的，不过是生存的期限短，不容易逢时就是了。如果我们能不时的去到野外观察，抓住时机，在北京是不难采集到团藻的。

北京在夏末秋初之际，八、九月间，天气的特点是早、

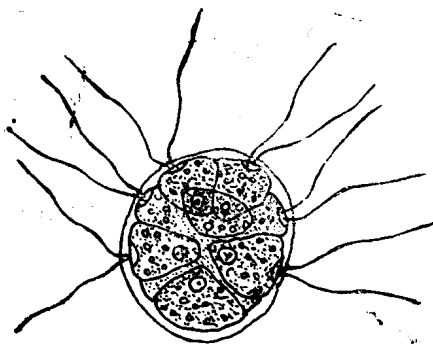


图3 实球藻

晚较凉爽，而中间一段时间却又很热，由于这样的气候，造成降雨时来。雨后的乡间路旁沟洼不平之处，以及畜力车道沟中都易于存水，这样的小贮水坑、洼，经过几天的曝晒，就可能会有团藻生出来。在以上的自然环境里，所发现的团藻群体中，有的是杂生着大量的实球藻（图3）。不论是单一的或是杂生的，它们的生长密度大，个体强壮，看起来颜色浓绿，游动活跃。

室内培养

团藻可用“土水培养液”进行室内培养，室温以18—20℃为宜，在这样的温度范围里生活的团藻，不但是个体强壮，其群体繁殖也很茂盛。培养液的养分可以维持三个星期或更长。如果把温度降低到15℃以下时，培养繁殖速度显然降低，最后停止，生活个体逐渐脆弱而消失。若使温度升高到22℃以上时，培养液的养分维持的时间减短，增加了制作培养液的工作量。

固定保存

团藻可用肖氏固定剂（附录一，2）固定，保存于70%酒精中，或用5%福尔马林（附录一，6）固定并保存于其中，但必须把福尔马林更换1—2次。如需要使团藻的绿色维持久些，可直接固定与保存于以下混合液中：

50%酒精	90ml
福尔马林	5ml
甘 油	2.5ml
冰 醋 酸	2.5ml
氯 化 铜	10 g

衣藻 (*Chlamydomonas*) 和

盘藻 (*Gonium pectorals*)

野外采集

衣藻 (图 4) 又名单胞藻, 它和盘藻常常是生活在同一环境中, 春、夏、秋三个季节里都容易发现, 尤以夏、秋为多见, 凡雨后存水的沟、塘中, 水面上漂浮着一层新黄色的泡沫, 这就是衣藻生活最盛期的现象。过几天后, 新黄变为嫩葱绿色了, 这种颜色的变换, 表明衣藻单一生活时期过去了, 而改为衣藻同盘藻 (图 5) 生活在一起的繁茂时期。由于它们都是浮游的小生物, 生活在近水面的水层, 所以常被

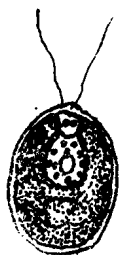


图 4 衣藻

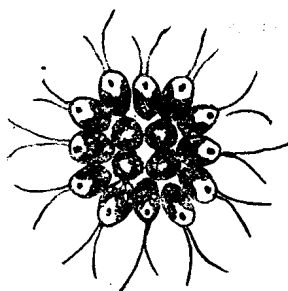


图 5 盘藻

风吹到水池的某一角, 于是我们就可以在水池的角落地方, 采到密度大的衣藻和盘藻。这些藻类的培养、固定、保存方法与玻片制作法都和眼虫相同。但须注意团藻的个体比较大, 在最后封盖玻片时, 容易把它压破, 所以要把较薄的载玻片敲碎, 取其两面平的、细小的碎玻璃渣, 平放在盖玻片的四角下面, 这样就可以得到完整的团藻玻片标本。

2. 肉足虫纲 (Sarcodina)

变形虫 (附: 有孔虫类、放射虫类)

变形虫 (*Amoeba*)

野外采集

早春时候, 天冷水凉, 采集变形虫, 要到深水池塘的塘岸转弯处和阳光直晒的地方, 这里在年前夏季常是芦苇或其他植物聚集生长的场所, 如今只剩些残梗败叶于水中。将这些水下的香菖蒲梗叶部分剪下, 带回实验室, 用小刀从这些植物梗叶上刮下些附着物, 放于载玻片上, 加上一滴水和盖玻片, 在显微镜下检查, 可得到变形虫 (图 6), 但所得虫体较小, 在低倍镜下很容易忽略过去。

夏秋之际地面多有贮水之处, 大小沟、塘都是变形虫生活、繁殖的好地方。这个季节的中午, 阳光曝晒, 浅水池、沟中由于水层薄, 太阳光的热可以穿过水层达到池底, 在池底由泥渣烂叶等结成的表面吸热后生出许多气泡而漂浮到水面上来, 这些泥渣烂叶结成的物质中, 是变形虫生活繁殖的好场所。这种环境里生长的变形虫, 不但数量多, 而且个体壮大, 在显微镜下观察, 就象书上画的那么清楚, 细胞结构、内含物质, 般般俱见。

冬季能采集到眼虫, 也能采集到变形虫但比采集眼虫的难度较大, 因为变形虫要求在 20°C 以上的温度里才能生活、繁殖。自流井水中找不到, 山泉水里也没有。有一天来到一个农村, 见有一个小水池, 面积约有 50m^2 , 水深约二、三寸, 中间池底高露出水面, 形如湖中小岛, 全部池水没有结

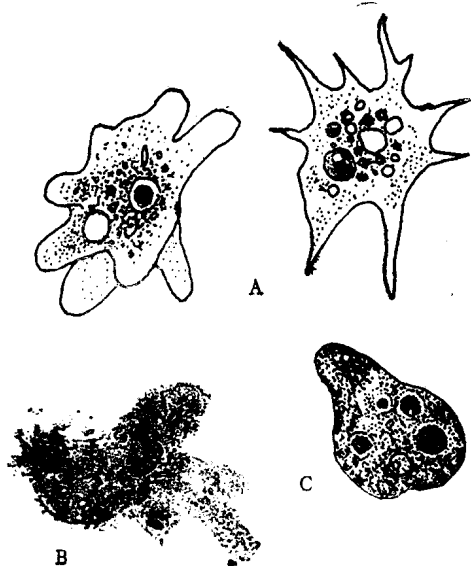


图6 变形虫

- A. 两种不同形状的伪足；
- B. 显微镜下的变形虫；
- C. 痢疾内变形虫。

冻，并且冒着热气。池中还遗留着收割后的稻茬，池底表面上的陈腐烂叶与其他杂质结合在一起而呈显着黄褐色。把这黄褐色的泥渣、烂叶一并带回实验室，取样在显微镜下观察，大型的变形虫采到了，并且密度很大。

室内培养

培养变形虫的方法，试作了几个选记于下：

1) 稻草剂培养法：把干稻草少许，剪成小段(1.5cm)，放进自来水或清水中煮沸15分钟，停火待凉倒入洁净的玻璃