

浮游动物定性材料的处理方法

沈嘉瑞

(中国科学院动物研究所)

为了扩大淡水养殖,提高单位面积产量,满足人民生活资料日益增长的需要,我们应尽量利用各种类型的水域如湖泊、河川和水库等来开展养殖工作。同时也有必要在各种水域中深入了解鱼类生活所需的环境条件,从而改进我们的养殖技术。这些环境条件如水质和水生生物等,不但相互之间有着密切的联系,而且随着水域中鱼类的组成和季节的转变,在质量上常常发生显著的变化。这种变化,对鱼类的生长发育将产生巨大的影响。所以对这些环境条件,必需经常进行调查而掌握其变动规律。同时我们也该重视鱼类胃纳的检查,作好鱼类饵料的定性和定量分析工作,才能有助于我们如何去利用,如何去丰富鱼类的天然饵料,促进鱼类的迅速成长和健康发育。

大家知道,要作好水生生物如浮游生物和底栖生物的定量分析,必先作好定性分析,否则就不可能作出精细的定量分析,所以定性分析是定量分析的基础。但定性分析的第一步,必先掌握定性材料的处理方法,祇有经过适当的处理,才能作出准确的鉴定,才能顺利地作好定量分析。如果定性材料,没有经过适当的处理,鉴定工作就会发生困难,定量分析也不能得到满意的结果。故本文先将三类比较重要的浮游动物如原生动物,轮虫动物和甲壳动物定性材料的处理方法,介绍于下,以供有关工作者的参考,并望从现有基础上,在实践中加以革新而推广,使我们的工作,作得更为完善。

采集浮游生物定性材料,最好预备两种不同粗细的筛绢作为网料,用粗筛绢制成粗网,细筛绢制成细网,分别在水中来回捞取数次。一般定性材料集中在网底之后,设法注入30—50毫升的玻璃瓶中,通常可用5%的福马林溶液杀死与固定,或用95%的酒精作为固定剂。除

去当场固定的材料之外,还需采集一些材料,倾入广口瓶中,当场不要固定,也不要加瓶盖,带回实验室,将这些活的定性材料,分别倾入玻璃碗中,静置在接近北光的窗边。凡是浮游性的原生动物,特别是植物性的种类,常集中在有光的一边,纤毛类常在水的上层活动,变形虫类可能留在碗底杂物中。把这些活的定性材料放在这样的容器内,如温度适宜,可以保留1—2星期,这样,不但可以观察活的原生动物,又可检查活的轮虫。由于这两大类浮游动物,一经杀死与固定,常常收缩而变形,即不能作出准确的鉴定,故必需预备活的定性材料,作为参考。

1. 浮游性原生动物:用吸管吸取一滴活的定性材料,放入凹洼载玻片(depression slide)中,加上盖玻片,再用微量凡士林沿着盖玻片的四周封闭起来,以防蒸发,这样可以在高倍显微镜下,连续观察数小时。如要清楚地观察标本上的纤毛或鞭毛,必须随时注意光线的调节。在预备过程中所用的载玻片,盖玻片和吸管等都该洗擦干净。

肃静方法:纤毛类原生动物的行动很快,在高倍显微镜下观察时,常会感到困难,怎样能使它们安静下来?如用麻醉剂,它们常会改变形状和生理,不能得到令人满意的结果,也有人试用脱脂棉或擦镜纸的纤维,或采用动、植胶来阻挡它们的活动,都不能得到满意的效果,但如果采用一种粘液剂甲基赛璐珞(methyl cellulose),效果很好。配制方法也很简单,将10克的甲基赛璐珞(methyl cellulose)溶解在90毫升的水中即可。

用这种浆液和定性水样(含有原生动物标本)各一滴,混合在载玻片上,加上盖玻片,即可在显微镜下细心观察,纤毛类的运动一定会减到最低程度,而且在形状和内部生理活动诸方

面都不致起任何改变。如果在标本生活时,染上颜色,细胞核和其他内部构造,都可分辨清楚。

染色方法:次甲基蓝 (methylene blue) 是最好的染色剂,用这种染色剂的溶液,滴在载玻片上,让它蒸发干了,再吸取标本放在这一载玻片上,不久这些活标本即染上了颜色。或用1%浓度俾斯麦褐 (bismark brown) 的水溶液或中性红 (neutral red) 也能产生良好的效果。

封固与染色的方法:

(1) 暂时封固与染色:如要制备暂时封固而又染色的玻片,可以采用诺兰 (noland) 氏的固定与染色的混合溶液,它能使标本上的鞭毛与纤毛显示得很清楚,而标本的形状,不致于发生很大的改变。这种混合液的配制方法如下:

石炭酸 (Phenol) 饱和水溶液80 毫升
福马林20 毫升
甘油4 毫升
龙胆紫 (Gentian violet)20 毫克

在龙胆紫加入上述溶液之前,需用1毫升的水使之湿润,然后用一滴的配液和一滴的水样(内含标本)混合在载玻片上,加上盖玻片。

(2) 永久封固与染色:如要制备永久封固而又染色的玻片,可用各种不同的固定剂、染色剂和各种不同的手续。惟通常可用萧亭氏溶液 (Schaudinn's solution) 固定标本,配制方法如下:

氯化汞饱和水溶液66 毫升
纯酒精 或 95% 酒精33 毫升
冰醋酸1 毫升

最前列的两种药品混合后,可以经久不变,但冰醋酸必需在应用之前再加上。故配制固定液时,可照需要量按比例调配。标本固定后,尚须用百分之50、70、95和纯酒精逐步去水。每换一次酒精,最好将材料倾入离心器的玻璃管中,轻轻地摇转离心机,最后用吸管吸取在这种手续下集中起来的标本,滴一点在已经涂上鸡蛋白的载玻片上,不久再将这载玻片放入纯酒精中洗一道,即可按照染切片的方法加以染色。

浮游性的轮虫:放在北窗附近的活标本水样中,除原生动物之外,一定还有浮游性的轮虫在内。当水中氧逐渐减少时,轮虫常会集中在水的上层(如水样放在直射的阳光下,轮虫常附

着在水草上的)而且喜欢那集在光亮的一边,即可用吸管吸取。轮虫在这种暂时性的培养缸中,可以维持1—2星期之久,如果每天换入1/3新鲜的湖水。

处理方法:1. 要鉴定带甲的轮虫如臂尾轮虫 *Brachionus* 等,首先要观察盾甲的构造。处理方法比较简单,可以直接用10%的福马林杀死和固定。柔软部分收缩之后,盾甲可以被观察得更清楚。

2. 至于那些没有盾甲的轮虫,在鉴定之前,必需详细观察各部分的构造。要把详细的构造观察清楚,最好把标本保持在自然状态之下,还没有收缩之前,因此这类轮虫在杀死与固定之前,必须先行麻醉。

(1) 麻醉与固定:(甲)先用细吸管吸取一些轮虫标本,放入盛有3毫升水的表面玻璃中。如果这些标本是从酸性湖水中采得者,那么在每毫升水中,就得加上3—4滴百分之一浓度的 neosynephrin hydrochloride 溶液。每隔5分钟滴入这种麻醉剂一次,直到所有标本都沉醉在玻璃皿的底上。然后滴入3滴0.5%—1.0%的钨酸 (osmic acid),迅速地搅匀,使之固定,再将表面玻璃中的全部物质倾入一个小指管中,大约5分钟后,倒去或吸去管中大部分的溶液而换入清水。以后每隔15分钟,换水一次,这样连续进行3次即可。

(2). 如果这些标本从硷性湖水中采得,则可用5%的 novocain 溶液或 cocaine hydrochlorate 溶解在50%的 methyl alcohol 去麻醉,麻醉的结果可能比前一种麻醉剂 (neosynephrin hydrochloride) 为佳。麻醉之后,再按上法用钨酸固定。

这些麻醉剂,恐怕不容易从市上买到,可以采用其他代替品。1)如 chloretone, 再加上2% benzamine lactate 是比较有效的;2)或用2% butyn, 加上2% hydroxylamine hydrochloride, 也很有成效;3)或用 eucaine, 也是一种令人满意的麻醉剂。(用 eucaine 1克, 90% 酒精 10毫升, 蒸馏水 10毫升混合而成)。用以上药品麻醉后,都可用钨酸固定。

钨酸的用量不宜过多,同时也不能和标本

接触过久,否則标本即将变黑,如果变黑了,还可用稀淡的氢氧化钾溶液去漂白。

鐵酸的溶液可以久藏不坏,如果它溶解在 1% 浓度的 chloroplatinic acid (platinic chloride) 而儲存在塗上黑色的滴瓶中。

(丙) 許多无甲輪虫特別如椎輪虫科 (Notommatidae) 和蛭形目 (Bdelloida) 的种类,都很脆弱而又敏感,不容易被麻醉,不妨試用下列方法: 1) 加上数滴 2% 的 benzamine hydrochloride。麻醉時間,随种类的不同而有长短。麻醉后,可用 10% 的福馬林固定,再用 5% 的福馬林溶液去洗,至少 5 次。目的在去除全部的 benzamine hydrochloride, 否則这种藥品到最后会結晶出来。2) 或用少量的开水冲澆在表面玻璃中的标本上,一經杀死,标本不致收縮而且伸展得好象活的模样,最后可用福馬林固定。

保存方法: 輪虫被杀死与固定之后,可用 2—5% 的福馬林溶液保存,最好再加入数滴 2% 浓度的甘油,甚至还可加入数滴曙紅 (eosin) 液,使标本染上顏色,以后在显微镜下寻找和观察它們,也許比較方便些。

按上述方法处理而保存下来的标本,可放入凹洼載玻片中,在显微镜下观察。在观察时,盖玻片的周围如用凡士林封閉起来,即可維持数天之久而不致干掉。

封制玻片: 如果要把保存下来的标本永久封固在載玻片上,不論用甘油胶或甘油作为封固剂,首先必需將标本慢慢地从稀甘油逐步轉入純甘油中,方法可以簡化如下: 先把保存下来的标本,放入已經盛有 5% 浓度的甘油的凹洼載玻片中,松松地加上玻璃盖,使甘油中的水分漸漸蒸发,使浓甘油漸漸地渗透到标本里去,数天之后,标本就可以变得很透明,而且仍保持原有的状态,然后将一滴已融解的甘油胶放在已擦淨的載玻片上(已烘热),并迅速地在双筒鏡下用針头將預备好的标本从甘油中挑出,移入載玻片上的甘油胶內,再移到双筒鏡下,校正标本的位置,然后加上盖玻片,必要时还可校正一下标本的位置,靜止数小时后,如在盖玻片的周围溢出了多余的甘油胶,应設法去除,不足时,尚須补充,最后再用細毛笔蘸上黑的或白的瓷漆

沿着盖玻片的周围封閉起来,如一次不够,可以重复数次,即可永久保存。此外,又可将标本封固在純甘油中。先将一滴适量的甘油滴在載玻片上,如怕盖玻片压坏标本,可用細紙条或盖玻片的碎屑安置在甘油底上,使它們彼此之間有适当的距离,然后将預备好的标本(在甘油中已浸透的)移入載玻片上的甘油中,使之与載玻片接触,端正了位置之后,即可加上盖玻片。再按上法用瓷漆封閉起来,也可长期保存。

輪虫咀嚼器的处理与封固:

鑑定輪虫的属与种的主要根据,是咀嚼器(由成对的几丁質齿所构成)结构的类型。首先必須解决如何才能观察咀嚼器,而且要观察清楚。初試者必須耐心地从实践中去創造經驗。

先将 1—2 滴 Chlorox (將 1 克的葯剂溶于 10 毫升的水中) 或氢氧化钾溶液放在凹洼載玻片的中央,然后将輪虫标本移入这一溶液中,再用小鉗子將盖玻片慢慢盖上,如凹洼中的溶液不够,再用吸管补充一些,如有多余,溢出在盖玻片的周围,可用吸水紙吸去。如需端正标本的位置,可以輕輕推动盖玻片,最后在盖玻片的周围,封上少量的凡士林,以防蒸发。大約半小时后,除咀嚼器外,标本的其他部分全被溶解,就可以在显微镜下詳細观察咀嚼器的结构型式。

甲壳类: 浮游性的小型甲壳动物如枝角类和橈足类都是幼魚和成魚的良好天然餌料。可用粗、細两种浮游生物网在广闊的水域中来回捞数次,就可采得定性材料,如在近岸水草較多的区域,在网口上必需加上鉛絲或銅絲罩,以免大量水草进入网中,如在浅水的水域中采集,可能带上若干底棲的种类,这些活的定性材料帶回实验室之后,可以分別傾入玻璃缸中,放在北窗附近,然后对着光从平面上去观察标本的动态,或則从它們所在的位置,用长吸管吸取它們。

杀死与固定: 95% 的酒精是比較好的杀死与固定剂。5% 的福馬林溶液也可用来代替酒精,比較經濟。惟枝角类最好采用酒精来处理,枝角类中有些种类如裸腹溞属 (*Moina*) 和罪女溞科 (*Sididae*), 在用酒精杀死与固定之前,最好先用 chloral hydrate 麻醉,以免改变形

状。

保存：70%的酒精是标准保存液，最好再加入数滴5%的甘油，这样，储存在指管中的标本，不致因酒精蒸发或玻璃管破裂而遭受损失。

解剖与封固：1) 枝角类——在鉴定种类时，一般可以不經解剖。如要封固标本在载玻片上，可用甘油或甘油胶作为封固剂，方法可参考关于輪虫的封固法。为了避免压坏标本；在盖玻片下可用細紙条或盖玻片的碎屑加以支持。

2) 橈足类——鉴定种类时，除观察整体标本外；尚須观察各部分节肢的形态，故必需把各种肢体解剖下来，如触角、口器和胸足等等。凡是体形小而又不透明者，更需要解剖。

(i) 先把标本最好放在20%的甘油和95%的酒精的混合液中，这种混合液盛在表面玻璃皿中。或則滴1—2滴20%的甘油在凹洼载玻片中，然后将储存在95%酒精或5%的福馬林溶液中的标本一、二枚移入上述的甘油中，經数小时后，酒精与水都蒸发，标本也漸漸浸透在純甘油中，即不致变形，即可在双筒解剖显微镜下，用很細的解剖針耐心地将各对肢体按次解除下来，即按次把每对肢体分別封固在载玻片上。应用起来最方便的封固剂是 polyvenyl

alcohol (配制方法，参考动物学报第6卷第一期第24頁)，这种封固剂中，如已加入少量的染料—lignin pink，可使肢体上的刚毛等，看得更清楚。

当在甘油中解下一对肢体后，即滴一滴适量的封固剂在另一擦淨的载玻片上，然后将解除下来的肢体用解剖針在甘油中挑起，移入封固剂中，再在双筒鏡下校正了位置，同时使肢体横臥在载玻片的表面，不要悬浮在封固剂中，最后加上盖玻片，即可在显微镜下作詳細观察和繪图，如需保存較长时间，可在一、二天后，用瓷漆围封在盖玻片的周围。

(ii) 标本的整体或各种肢体，还可以用甘油胶来封固，也是比較方便的。封固以后，再用瓷漆封閉起来，可以保存較久。如要封固整体标本或后体部(腹部和尾叉等)必須在盖玻片下用細紙条或細玻璃絲加以支持，以免压坏标本。

(iii) 封固在純甘油中也可以，惟不便捷，除非用瓷漆在盖玻片的周围加以密封。

如需在解剖或封固之前，先将标本染色，对观察也有帮助。可将标本从70%的酒精移入虫紅明矾(Alum cochineal)溶液中染色，經一夜后，再用70%的酒精冲洗5—10分钟，再移入20%的甘油与95%的酒精的混合液中。