

海洋底栖纽形动物的采集、保存和染色方法

尹左芬

(山东海洋学院)

纽形动物又称吻腔动物，简称纽虫或吻虫(图 1A)，纽虫身体扁平不分节，多呈带状，伸缩性甚强。这类动物的主要特征是消化道具肛门，有原始的循环系统，有强有力并善于收缩的吻，吻可以自由翻出体外，是捕食、防御和挖掘的重

要工具。多数纽虫体长小于 20 厘米，少数种类长达数米，个别种类长达 30 多米。纽虫的体色多鲜艳夺目。纽虫主要生活在温带区域，营底栖生活。有的生活在石头下面，海藻丛中，泥沙中或珊瑚礁中。有的纽虫生活在自身分泌的粘

液管或透明的纸状管中，有的纽虫与其他动物营共栖生活，它们从与之共栖的动物中取得食物、氧气和掩蔽场所。在热带和亚热带海岸纽虫不常见，在北极和南极有很好的纽形动物区系，优势种很多。

据记载，全世界大约有 900 种^[4] 纽虫，它们分别隶属于两纲、4 目、36 科^[4]。由于研究纽虫需要相当复杂的方法，这包括解剖、连续的横切、纵切、矢切、染色、显微镜下的观察等。所以研究工作进展缓慢。对于纽虫的研究虽已有 160 多年的历史，但欧美各国只有为数不多的动物学家从事这项研究。在我国，纽虫的研究至今还是空白，几乎无人乐于问津。对于这种有吻的蠕虫大都被忽视，在大学或研究院的无脊椎动物学中，纽形动物仅占有几页的论述篇幅。在海洋底栖生物调查中，常常因挖掘器的限制，而采不到完整的标本。

采集人员通常在野外采集纽虫时，标本应放入盛有海水的采集瓶或采集桶中，切忌直接投入固定剂中。纽虫的身体多肌肉，吻很敏感，在遇到刺激时，体形非常容易改变，发生自切，吻往往翻出或断离身体，身体接着也断裂成许多段。此外纽虫身体呈各种不同颜色，遇固定剂后，颜色立即消逝，原色无法辨认。这样就不能很好地制成完整的标本，无法供以后的形态学和组织学的研究。为了避免上述现象，以下介绍如何从不同底质中采集标本，如何暂养和观察活体纽虫，如何绘制外形图，如何麻醉和固定以及如何保存标本，如何染色等等。希望这些基本的方法对有兴趣研究纽虫的工作者有一定的帮助。

采集方法^{[2][3]}

采集者可以在潮间带或沿岸浅水中翻开石块或成团的海藻中找到纽虫，也可以通过挖掘泥沙找到纽虫，同样筛选单位面积的泥沙也可以发现纽虫。当然不能期望用这种方法采到有种群代表性的纽虫，用这种方法所采到的纽虫仅仅是生活在采集区域的纽虫种群的很小一部分。更多的纽虫可以在不同类型底质中采到，

分别介绍如下：

泥质底质：来自泥质的纽虫，无论是用机械从深层泥中挖掘到的或是采集人员直接在港湾、浅泥滩中采到的，应立即置于盛有海水的容器内，轻轻搅动，直到泥散开。渣滓沉淀后，要注意不要使泥沙太厚，最厚不要超过 15 厘米，至少要有 2 厘米厚的水层。待水清澈后，可将较大形的动物（主要是多毛类、软体动物、甲壳类等）清除，因为它们会搅混上层的泥层，阻碍了泥中的纽虫爬到表层上来。表面愈是平整，就愈容易找到纽虫。通常泥样放置 24 小时后，就会有纽虫出现。这些纽虫可借助于灯光、放大镜，用吸管吸出。如用上述方法找不到纽虫时（一般两天之后），不要抛弃泥样品，可用吸管将表层水吸干，将表面 3 毫米厚的泥分区转移到培养皿中，用解剖镜检查，如果不再发现有纽虫，此项工作即可结束。

沙质底质：要采到生活在沙中的纽虫有数种方法。首先将采到的沙样放入采集桶中，装入三倍于沙样体积的海水并轻轻地搅动。当沙子沉淀后，将悬浮的所有生物用浮游生物网或底栖生物筛（网孔 0.6—0.8 毫米）滤出，再将生物样品转移到培养皿内，在解剖镜下挑选出纽虫标本。同一桶的沙样应进行 4—5 次上述方法加以挑选。其次用上述相同的步骤，但用 6% MgCl₂ 的自来水溶液代替海水进行清洗。将沙样盛入 2—3 升容量的玻璃量筒中加入海水，使水面高于沙样表层 1 厘米左右。静置 3—4 天后，沙样中所有动物将集中出现在 1 厘米左右沙样表层内。将所有动物转移到培养皿内，在解剖镜下检查挑选出纽虫。应注意检查小型纽虫，因沙生纽虫一般很小，体长约有 1—10 毫米。

对于那些大小不等的、肉眼易见的纽虫可以在石块下、岩石缝间的软泥中、海绵丛间、成团的海藻中找到。对于这些易见的纽虫可仔细将它们连同海藻或海绵放入盛有海水的采集瓶内，最好每一瓶内只装少量的纽虫，防止彼此干扰，发生自切现象。海水要更换几次。纽虫是避光性动物，不要把它们直接置于阳光或人工

光源之下。我国北方沿海采集纽虫的季节最好在4—7月份,此时水温不太高,又是纽虫的生殖期,容易采到质量较好的标本。至于采集水下岩洞及珊瑚礁中的纽虫,要通过潜水来解决,难度较大,此处从略。

绘 图^[2]

纽虫的分类主要是取决于内部结构,但对活体在形态、颜色、尺寸上的描述也是十分重要的。对纽虫的形态描述是依据活体和固定后的标本进行的。活体标本的描述与内部结构的描述应结合起来。

绘活体不需费时太多,只要绘一个简明扼要的铅笔图就足够了(图1B、C)。如有条件绘制活体彩色图更能反映纽虫的形态与色彩。图可以画在14×20厘米大小的纸上。这张图包括以下几个细节:1. 纽虫身体轮廓;要表现出头叶,身体尾部及尾须、侧边缘等。2. 眼点;如能辨别出眼点的数量、颜色、分布等,都应一一标出。3. 头部的头裂(沿头部两侧纵向裂缝)和头沟(沿头部横向的沟)位置和特点。4. 有些

半透明种类的吻、脑、肠、生殖腺可以由背面看出,应注明它们的颜色及位置。5. 体色和横、纵斑纹和斑点,如果可见都应注明。

对活体纽虫进行测量是必要的。如测量应注意要在无刺激情况下进行,否则纽虫会收缩。还应观察活体纽虫弯曲的趋势,有的纽虫身体极软、易弯曲或缩卷成团,有的纽虫身体比较坚挺,这些都应注意。每幅图都应编号,注明采集地点和时间。

用显微镜可以对针组目(Hoplomertini)、单针亚目(Monostilifera)纽虫的吻鞘、吻针进行观察。这个亚目的纽虫在吻针基座(Styilet base)上生有一个中央吻针(Central styilet),付针囊,此囊内有两个或两个以上的付吻针(accessory stylets)。在显微切片观察中很难重现这些吻针的全部构造,所以对活体纽虫进行吻针的观察是十分有必要的。对于小于10厘米半透明和颜色淡的纽虫,可先在载玻片上滴上1—2滴海水,放好所要观察纽虫,在盖玻片四个角上各滴1滴蜂蜡后,将盖玻片盖在标本上(蜂蜡起支持盖玻片作用)。当用显微镜观察时,可用解剖

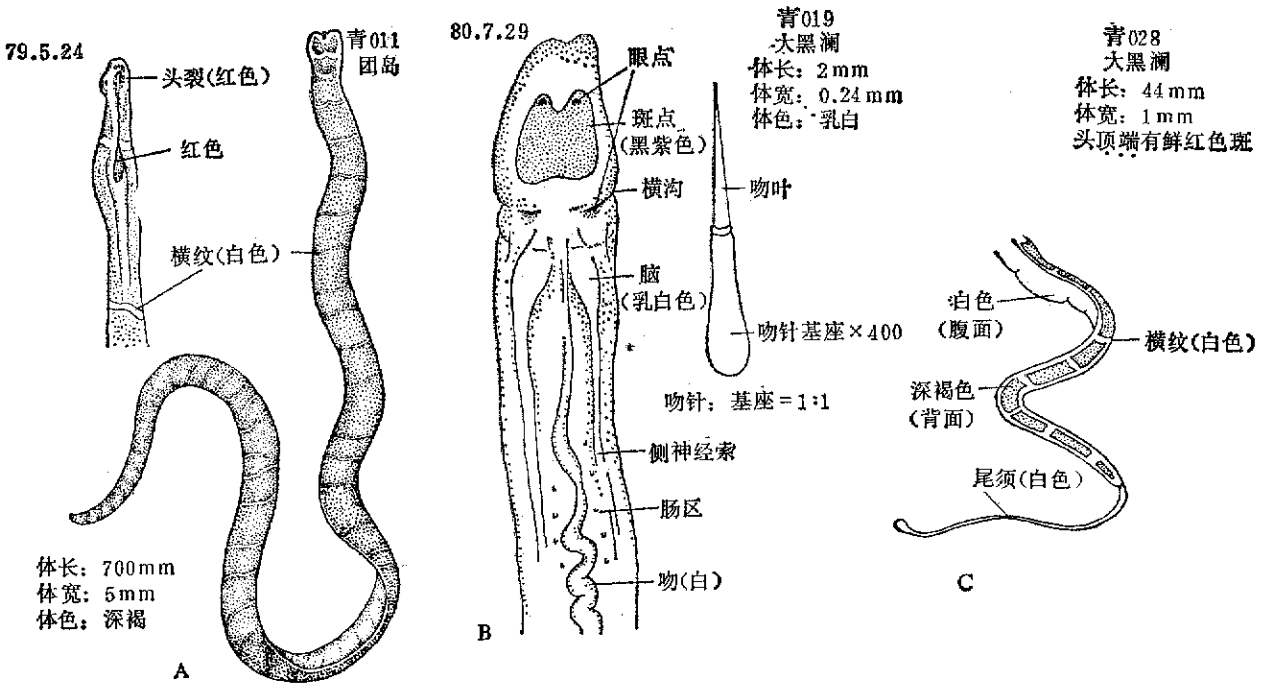


图1 纽虫外形及外部特征 A 纽虫外形图 B、C 纽虫简图示外部特征及颜色。

针轻轻压盖玻片。在观察时应注意吻针与吻针基座长度之比，在图上应注明。观察时间不得超过10分钟，否则纽虫会死亡。观察后再加几滴海水，轻轻取下盖玻片，将标本放回原来的容器内。

对较大型和颜色灰暗的针纽目的纽虫需要对吻进行观察。取出一条纽虫放入盛有海水的观察皿中，滴入70%酒精，纽虫便会吐出长长的吻。迅速切下这段吻，用上述方法进行观察。在一般情况下，必须有三条以上完整的同类标本才可以进行切吻观察。标本观察后应保存好，所观察的纽虫和它的吻应分开保存，并注明它们的关系。

麻醉方法^{[2][3]}

活体形态描述以后，就应该进行标本的麻醉和固定。在固定前必须进行标本的麻醉，以便在纽虫充分伸展状态中将其固定。这是非常关键的一步。纽虫在不良条件下很容易收缩。如果立即将其投入固定剂中，纽虫便会立即收缩并发生自切，吻也将翻出，这些现象对以后的切片制备和观察都是不利的。麻醉药品主要有以下数种：

水合氯醛(chloral hydrate)和鸬菜糖(urethane)都适于对纽虫的麻醉。将纽虫放入容器中，按其长短加入海水。体长(单位：厘米)乘60，所得积就是所要加海水毫升数。如纽虫体长15厘米，应加900毫升海水。将上述两种麻醉剂的小晶体逐渐加入海水中，最好两种麻醉剂交替使用。麻醉时间随纽虫个体大小而定。通常在半小时至2小时内纽虫便会充分麻醉失去知觉而自然伸展开。应一面观察，一面投入麻醉剂。如果在麻醉过程中发现纽虫有收缩现象或根本不伸展以及吐吻现象，这说明麻醉剂过量。在这种情况下，应该将标本立即转移到盛有新鲜海水的容器中，等其复苏后重新进行麻醉。除上述两种麻醉品可以麻醉纽虫外，8%的MgCl₂蒸馏水溶液也是良好的纽虫麻醉剂。

固定和保存^{[2][3]}

纽虫已经充分麻醉伸展后，应立即将其转移到配好的固定液中。波氏(Bouin)固定液对固定纽虫最为适合。波氏固定液的配方是：75份饱和苦味酸海水溶液，25份福尔马林溶液(浓度为40%)，5份冰醋酸。波氏固定液能很好地杀死纽虫并固定其组织，对以后的组织学观察起着良好的作用。经波氏固定液固定的纽虫，很容易进行染色。对纽虫来说，波氏固定液是目前最理想的固定液。

小于10毫米的纽虫固定时间应在3—5小时，大的个体则应固定12—24小时。固定好的标本应保存在70%的酒精溶液中。经过一段时期后若发现有黄色苦味酸在酒精中从标本上散出，就应更新70%酒精。加入碳酸锂也能使黄色消退。津克氏(Zenker)固定液也是良好的固定剂。

对于那些吐出吻的个体，应将它们单独保存，并标明。绘图的编号应与固定后的纽虫编号一致。

切片和染色^{[1][3][4]}

用于显微镜观察的纽虫切片一般为6—7微米(μm)，其切片、脱水、染色、透明处理等步骤与一般的组织切片一样。但这里有必要介绍两种适于纽虫切片染色的染色剂。目前大都采用马洛里(mallory)品红-苯胺蓝-桔黄三重染色和爱尔辛(Alcian)蓝染色。

I. 马洛里染色剂配方：

1. 酸性品红染色剂(Acid Fuchsin Solution)

酸性品红	0.5克
蒸馏水	100毫升

2. 苯胺蓝、桔黄G染色剂(Aniline Blue and Orange G Solution)

水溶苯胺蓝	0.5克
桔黄G	2克
1%磷酸铝溶液	100毫升

将配好的二种染色剂分别置于有色细口瓶内备用。经脱水、透明处理的切片先在品红染

色剂中染 1 至 3 分钟，然后不经水冲洗直接转入苯胺蓝染色剂中，复染 20—60 分钟。染完后先用 95% 酒精洗涤一次，再用纯酒精脱水。

II. 爱尔辛蓝染色剂：

1. 3% 醋酸

2. 1% 爱尔辛蓝染色剂 (Alcian Blue solution)

蒸馏水 97 毫升

冰醋酸 3 毫升

爱尔辛蓝 1 克

过滤并加入百里香结晶防腐。重过滤。pH 值为 2.6。

将处理后的切片先在醋酸中浸泡 2 分钟，不经水冲洗后直接转入 1% 爱尔辛蓝染色剂中染 30 分钟。然后用自来水流水冲洗，再用普通的福尔根 (Feulgen) 染色剂复染。福尔根染色

配方在此不重复了。

以上是采集、绘图、麻醉、固定、保存、染色的方法，其目的是对那些有兴趣从事纽虫研究的同志和大学生们提供一些研究纽虫的基本知识，希望有更多的人来参加纽虫的研究，尽早填补我国在纽虫研究上的空白。

参 考 文 献

- [1] 郑国锷：生物显微镜技术，人民教育出版社，1979.10
- [2] Kirsteuer, E. 1967b Marine, benthonic nemertean: How to collect and preserve them Am. Mus. Novit., no 2290, 1—10.
- [3] Ray Gibson. 1982. A New Series Synopsis of the British Fauna No. 24 The Linnean Society of London Cambridge Univ. Press pp. 23—26.
- [4] R. Gibson 1982 Nemertea In Synopsis and Classification of Living Organisms. ed S. P. Parker McGraw-Hill, New York 1. 823—46.