

等辐骨虫全形标本制片方法*

谭智源 宿星慧

(中国科学院海洋研究所)

等辐骨虫 (Acantharia) 是原生动物肉足虫纲放射虫目的一类独特代表, 身体除骨骼外, 其柔软部分包括中央囊、胶膜、肌原纤维和共生虫黄藻等, 它的细胞结构是解释原生动物形态的好材料, 有关其全形标本的制片方法, 国内外尚无报道, 作者就历年来所摸索的方法作一简要叙述。

固定液以 Bouin 氏液较好, 这种固定液渗透力强, 能完整地保存等辐骨虫的身体柔软部分, 而且虫体的骨针完全可避免溶解, 以此液保存的标本甚至历时 20 年尚可应用。

一、制 片 法

1. 素材标本涂胶制片法

将固定保存的样品用吸管吸出滴入表玻皿, 置显微镜下检查, 找出虫体保存完整的标本。然后用吸管(口径要适宜, 过小口径易将虫体挤压变形)把标本吸出, 滴于载玻片上, 用单毛挑笔将杂物与虫体分开, 以小玻璃吸管吸去杂物, 并滴入少量干净的固定液将标本洗涤干净; 吸去虫体周围多余液体后, 用融化的琼胶 (Agar) 涂片包埋虫体, 包埋的目的是使琼胶对虫体起支撑作用, 以使胶膜保持其原来的伸展状态。待琼胶冷凝后即投入各级酒精进行脱水: 开始以 75% (4—5 秒), 然后依次投入 85% (2 分钟), 95% (5 分钟), 100% (5—10 分钟), 1/2 无水酒精 + 1/2 二甲苯 (5—10 分钟), 二甲苯 (透明为度)。最后以加拿大树胶封藏。树胶调制尽可能稠, 使玻片不易下压, 以保持两玻片之间有一定的空间, 从而保持虫体原形。

以本法对棍异长针虫 (*Amphilithium clavarium* Haeckel) 制片所获结果 (如图版 I:3 所示) 是, 虫体的骨针和中央囊、胶膜、虫黄藻等均能良好保存其原形; 但因未经染色, 标本的光学反差小, 尤其是胶膜, 因其透明度较大, 轮廓不分明, 故观察较费力, 显微照片清晰度亦较差。

2. 染色标本涂胶制片法

本法与素材标本涂胶法步骤相似, 只是在制片过程中增加了一个染色程序。我们试用的效果较好的染色剂有苏木精 (Haematoxylin)、海马丹 (Hematein)、复红 (Fuchsin)、胭脂红 (Carmin) 等。染色剂的配制系按一般配方先配成原液, 使用前取一定量按要求

* 中国科学院海洋研究所调查研究报告第 1015 号。

承吴佩秋、宋裕昌同志提供部分药品及资料, 谨致谢忱。

收稿日期: 1983 年 6 月 2 日。

加以稀释。现将用苏木精和海马丹两种染色液的染色涂胶制片法之步骤简述如下：将标本选出，去掉杂物，并将虫体洗涤干净。洗涤液可用干净的原固定液，也可用酒精或水，但应视不同的标本和不同的染色液而定；骨针易溶解的种类宜用原固定液洗涤，骨针不易溶解者则可用酒精或水洗涤；但某种洗涤液如与染色液产生沉淀则不宜采用，故必须进行选择。以固定液与染色液按 1:1 比例混合，将洗净的虫体置入，染色约 5 分钟，然后吸去染色液，再滴入干净的原固定液洗涤虫体，去掉体外多余的液体（虫体周围的液体应尽量少，但应以虫体不干为度），随即涂胶包埋，投入各级酒精脱水，脱水时间为 70% 数秒，75% 1—2 分钟，80% 1—2 分钟，90% 2—3 分钟，95% 2—3 分钟，100% 2—4 分钟，1/2 无水酒精 + 1/2 二甲苯约 10 分钟，二甲苯中以透明为度。最后以加拿大树胶封藏。以此法制片的标本有尖棘十字叶虫 *Phyllostaurus cuspidatus* (Haeckel)、平面对针虫 *Amphibelone hydrotomica* (Haeckel) 和透明等棘虫 *Acanthometra pellucida* J. müller (见图版 I: 1, 4, 5)。用苏木精或海马丹对这些种类染色其各个部分均显示得较好，特别是胶膜，经染色后层次分明。

此外，用复红染色是以 70% 酒精稀释复红原液，标本染色约 5 分钟，涂胶，各级酒精脱水，然后封藏。用复红染色的紫棘十字虫 *Acanthostaurus purpurascens* Haeckel，肌原纤维和中央囊均较清晰（图版 I: 2）。

二、讨 论

我们使用的等辐骨虫全形标本制片法可以说已解决了细胞质在玻片上长期保存的问题。将活体标本制成玻片标本保存，起着“资料档案”的作用，可基本上满足形态分类备考的需要。但还不能说此方法已尽善尽美，还有进一步提高的必要，比如说，现时尚未找到较好的染色剂使肌原纤维丝鲜明着色。

关于等辐骨虫的骨骼性质，早期 Schewiakoff (1902) 做过试验，观察到骨针能被各种不同溶液溶蚀，Bottazzi, E. M. and V. T. Bowen (1971) 曾在固定液中加入缓冲剂对等辐骨虫骨骼的抗溶效果进行研究。我们的制片实践证明，在洗涤和脱水过程中，骨针往往易被溶蚀，不同种类的等辐骨虫骨针被溶解的快慢程度不一。目前对各个种的骨骼理化性质差异尚未一一了解。虽然 Schreiber (1967) 曾用剪影制作法 (photogram) 检查过长对矛虫 *Amphilonche elongata* (J. müller) 的骨针，了解到它与天青石单晶 (celestite monocrystal) 有相同的结构，但这仅是了解到等辐骨虫骨骼性质的一些端倪。进一步了解等辐骨虫不同种类的骨骼性质的差异，针对这些差异逐步完善制片方法，尚有待时日。

最后，制片好坏与固定液中保存的标本完整程度、洗涤洁净与否、染色和脱水时间、琼胶的稠度和包埋的优劣都有很大关系，因此，从选材直至技术操作都必须注意，并视具体情况而有所变化，才能获得满意的效果。

参 考 文 献

- [1] 张作人、谭智源, 1964. 东海放射虫研究 I. 等辐骨虫目. 海洋科学集刊 6: 33—78.
- [2] Bottazzi, E. M. and V. T. Bowen, 1971. Acantharia in the Atlantic Ocean, Their abundance

- and preservation. *Limnology and Oceanography* 16(4): 677—684.
- [3] Gurr, E., 1956. A Practical Manual of Medical and Biological Staining Techniques. Leonard Hill Limited, London, v—xxv, pp. 1—460.
- [4] Schewiakoff, W., 1920. Beitrage zur Kenntnis der Radiolaria-Acanthometrea. *Mem. de l'Acad. Imper. des sciences de St. Petersbourg*. 12(10): 1—40, Taf. 1—4.
- [5] Schreiber, B., 1967. Ecology of "Acantharia" in Relation of Sr Circulation in the Sea. University of Parma. pp. 1—90.

PERMANENT PREPARATION METHOD OF ACANTHARIAN SPECIMENS*

Tan Zhiyuan and Su Xinghui
(Institute of Oceanology, Academia Sinica)

ABSTRACT

The present paper recommends two new methods of permanent preparation of acantharian specimens which can preserve well both soft and hard parts. The procedure of preparation is as follows:

Fixative Bouin's solution

A. Non-stained specimen preparation

1. Pick out good specimens from the samples.
2. Wash in Bouin's solution.
3. Embed in agar.
4. Dehydrate with alcohol 75% (4 sec), 85% (2 min) 95% (5 min), 100% (5—10 min), absolute alcohol+xylol (5—10 min).
5. Clean in xylol and mount in Canada balsam.

Results: All the gelatinous membrane, central capsule, myonemes and spines are well preserved, but the gelatinous membrane is not manifested distinctly (see pl. I. fig. 3).

B. Stained specimens preparation

a. Haematoxylin stain

1. Pick out good specimens from the samples.
2. Wash in Bouin's solution.
3. Stain in haematoxylin or haematein solution+Bouin's solution (1:1).
4. Wash again in Bouin's solution.
5. Embed in agar.
6. Dehydrate with alcohol 70% (4—5 sec), 75% (1—2 min), 80% (1—2 min). 90% (2—3 min), 95% (2—3 min), 100% (2—4 min).
7. Clean in xylol and mount in Canada balsam.

Results: Same as in the non-stained specimen preparation, but gelatinous membrane is manifested very distinctly (see pl. I. figs. 1, 4, 5.).

b. Fuchsin stain

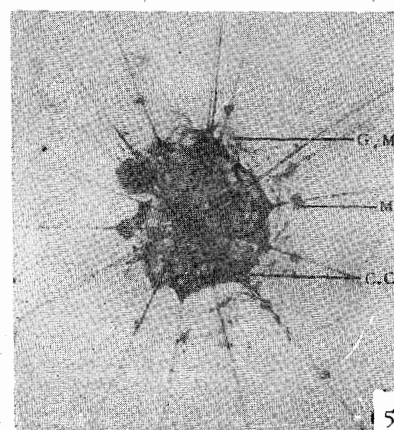
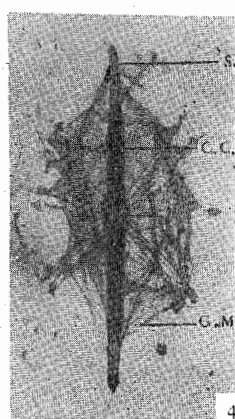
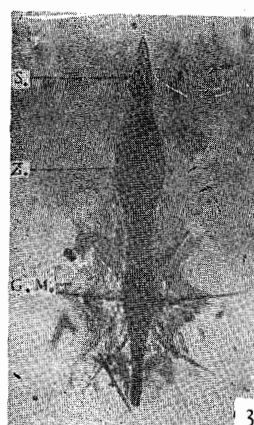
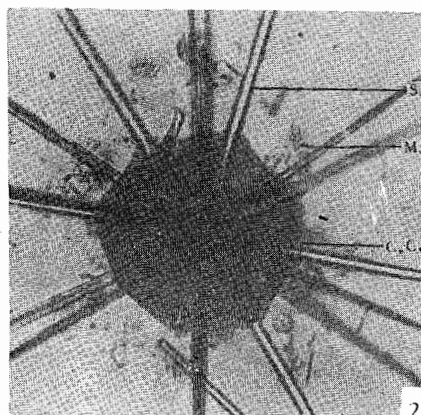
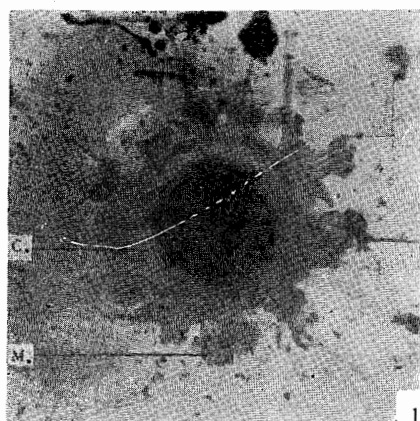
Stain in Fuchsin solution (diluted with 70% alcohol), for 5 min. Embed in agar,

* Contribution No. 1015 from the Institute of Oceanology, Academia Sinica.

dehydrate in ascending grades of alcohol (same as above), clean in xylol and mount.

Results: The myoneme and central capsule are clearly manifested. (see pl. I. fig. 2.).

Note: Optimum staining (or dehydration) time varies according to different species.



图注：C. C. 中央囊 Central capsule M. 肌原纤丝 Myoneme Z. 虫黄藻 Zooxanthellae
G. M. 胶膜 Gelatinous membrane S. 骨针 Spine

1. 尖棘十字叶虫 *Phyllostaurus cuspidatus* (Haeckel) 海马丹染色 Hematein stain (IOAS-R538)
2. 紫棘十字虫 *Acanthostaurus purpurascens* Haeckel 复红染色 Fuchsin stain (IOAS-R539)
3. 楫异长针虫 *Amphilitium clavarium* Haeckel 未染色 Non-stained preparation (IOAS-R540)
4. 平面对针虫 *Amphibelone hydrotomica* (Haeckel) 苏木精染色 Hematoxylin stain (IOAS-R541)
5. 透明等棘虫 *Acanthometra pellucida* J. Muller 苏木精染色 Hematoxylin stain (IOAS-R542)