

跳虫标本的采集、制作与保存

Collection, Production and Preservation of Collembola Specimen

鄢麒宝¹, 乌云嘎^{2,3}, 吴东辉², 孙新^{1,*}

¹ 城市环境与健康重点实验室, 中国科学院城市环境研究所, 厦门, 福建; ² 中国科学院湿地生态与环境重点实验室, 中国科学院东北地理与农业生态研究所, 长春, 吉林; ³ 环境学院, 东北师范大学, 长春, 吉林

*通讯作者邮箱: xsun@iue.ac.cn

引用格式: 鄢麒宝, 乌云嘎, 吴东辉, 孙新. (2021). 跳虫标本的采集、制作与保存. *Bio-101* e1010628.

Doi: 10.21769/BioProtoc. 1010628.

How to cite: Yan, Q. B., Wu, Y. G., Wu, D. H. and Sun, X. (2021). Collection, Production and Preservation of Collembola Specimen. *Bio-101* e1010628. Doi: 10.21769/BioProtoc. 1010628. (in Chinese)

摘要: 跳虫是土壤中数量和种类极其丰富的一种微节肢动物, 几乎存在于所有的 (半) 陆生环境中, 因此经常作为模式生物用于系统学、毒理学、生态学及地理学等研究。本文介绍了土壤、凋落物、朽木、石块、灌木、乔木 6 种生境下, 跳虫的标准化采集方法, 以及与其相关的采集工具和玻片标本的制作过程。

关键词: 跳虫, 土壤动物, 标本采集, 玻片标本

研究背景

跳虫是弹尾纲 (*Collembola*) 动物的俗称, 与线虫、螨并称为三大土壤动物类群, 是一类分布极为广泛且物种多样性十分丰富的微型节肢动物 (通常 1-5 mm) (陈建秀等, 2007)。它们以凋落物、真菌、花粉、藻类、树叶和根为食, 产生的粪便对土壤的形成有着重要作用, 同时能够通过扩散作用协助植物和微生物的繁殖 (Hopkin, 1997; Rusek, 1998), 在土壤和土壤食物网中起着关键的作用 (Potapov *et al.*, 2020)。此外, 跳虫的群落组成和多样性对外界环境变化的响应敏感, 因此也是土壤质量和土壤污染的重要指示生物 (陈建秀等, 2007)。跳虫栖息的环境非常多样, 不仅生活在森林、草地、农田、湿地等生态系统的土壤中, 还生活在凋落物、朽木、石块、灌木和乔木的树干和叶片等环境中 (Potapov *et al.*, 2020)。对于不同栖息生境的跳虫, 需采用合适的采集方法对

其进行样本采集和多样性评估。土壤和凋落物样本的常用采集方法是 Berlese-Tullgren 漏斗法，灌丛样本常用吸虫器法，朽木和石块样本常使用 Berlese-Tullgren 漏斗法或吸虫器法，乔木样本常使用白布漏斗法，当需要对土壤样地进行阶段性监测时，可使用陷阱法。本文对跳虫的野外采集方法及其所需要的采集工具分别进行了阐述，同时详细介绍了其玻片标本的制作过程。

材料与试剂

1. 自封袋 (10#)
2. 塑料收集瓶 (高 50 mm, 口径 35 mm, 容量 40 ml)
3. 胶带
4. 滴管头 (90 mm)
5. 乳胶管
6. 离心管 (1.5 ml, 50 ml)
7. 铁丝
8. 白布
9. 塑料收集杯 (高 75 mm, 口径 70 mm, 容量 180 ml, 如一次性水杯)
10. 小木棍 (长 150-200 mm, 如一次性筷子)
11. 载玻片
12. 盖玻片
13. 载玻片盒
14. 标签纸
15. 实验记录本
16. 劳保手套
17. 乳酸
18. 指甲油
19. 无水乙醇
20. 水合三氯乙醛
21. 浓盐酸
22. 甘油

23. 阿拉伯树胶粉
24. 杀虫热雾剂
25. 饱和氯化钠溶液
26. Nesbitt 溶液 (见溶液配方)
27. Marc André II 封固剂 (见溶液配方)

仪器设备

1. 土钻 (孔径 60 mm)
2. 铁丝框 (200 mm × 200 mm)
3. 搪瓷解剖盘 (260 mm × 360 mm)
4. 不锈钢筛网 (10 目, 高 50 mm, 直径 200 mm)
5. 漏斗 (高 190 mm, 大口直径 220 mm, 小口直径 25 mm)
6. 隔离桶 (高 210 mm, 口径 230 mm)
7. 伸缩杆 (600-1350 mm)
8. 白炽灯 (40 W, E27 螺口)
9. 带线陶瓷灯头 (E27 螺口)
10. 插线板
11. 玻璃管
12. 橡胶塞
13. 捕虫网 (100 目)
14. 解剖针
15. 毛笔
16. 挑针
17. 卷尺
18. 记号笔
19. 枝剪
20. 头灯
21. 军工铲
22. 体视显微镜 (model: Nikon SMZ745T, 目镜: 10x, 物镜: 0.67x、1x、2x、3x、4x、

- 5x)
23. 生物显微镜 (model: Nikon ECLOISE E200, 目镜: 10x, 物镜: 4x, 10x, 40x, 100x, 其中 40x 和 100x 为相差镜头)
 24. 恒温加热台 (威铁克, model: V-1010, 功率 300 W, 温度范围: 室温-400 °C)
 25. 电热恒温鼓风干燥箱 (上海精宏, model: DHG-9146A, 功率: 2000 W, 温度范围: 室温+ 10-300 °C, 控温精度: 0.1 °C, 温度波动: ± 1 °C)
 26. 轻型脉冲式热力烟雾机 (隆瑞, model: TS-35A, 药液输出量: 10-42 L/h)

采集方法

跳虫常用的采集方法有: Berlese-Tullgren 漏斗法、吸虫器法、白布漏斗法、扫网法、手摇网筛法以及陷阱法。Berlese-Tullgren 漏斗法应用于土壤和凋落物中跳虫的采集, 该方法采集效率高, 根据不同的采样设计, Berlese-Tullgren 漏斗法采集的跳虫标本可用于系统学、生态学和地理学等研究; 吸虫器法主要用于采集灌丛、朽木、石块、树干生境下的跳虫, 该方法可以直接在原生环境下对跳虫进行采集, 也可以配合扫网法、手摇网筛法一同使用, 以提高采集效率, 吸虫器法采集的跳虫标本完整性较好, 适合作为形态学分类标本, 同时使用吸虫器法可采集活虫进行饲养, 以用于毒理学等室内控制实验; 白布漏斗法用于乔木树冠的跳虫采集; 扫网法可用于灌丛上跳虫的采集; 手摇网筛法用于土壤和凋落物中跳虫的采集, 因该方法所需时间较长, 且难以进行定量控制, 所以手摇网筛法采集的跳虫标本通常不用做生态学研究; 陷阱法适用于对实验样地的长期监测。

1. Berlese-Tullgren 漏斗法

Berlese-Tullgren 漏斗法在 Berlese 漏斗法的基础上进行了改进, 增加了白炽灯作为外置光源, 在增加光照的同时, 提高漏斗上方的温度, 加速土壤和凋落物样品的干燥, 利用跳虫的避光性和趋湿性, 提高分离效率。如图 1, 将隔离桶平稳放置, 在隔离桶底部中央放置装有 25 ml 无水乙醇的塑料收集瓶, 将漏斗架于隔离桶上方, 使得漏斗底部开口对齐塑料收集瓶的瓶口, 将伸缩杆固定于漏斗上方, 陶瓷灯头缠绕固定于伸缩杆上, 调整长度使得白炽灯底部高于筛网 200 mm 后, 使用胶带固定灯头避免松动。处理土壤或凋落物样品时, 在筛网下方放置一张 A4 纸, 将土壤或凋落物样品平铺于筛网中, 轻轻抖动筛网使样品下部的细小颗粒掉落于 A4 纸上, 在收

集瓶中放入相应的标签后，将筛网放置于漏斗上，并将 A4 纸上的样品倒入筛网中，所有样品处理完成后，打开白炽灯分离样品，分离时间 48-72 h，若分离时不使用白炽灯，分离时间 5-7 d。样品分离期间，需经常检查收集瓶中无水乙醇的余量，避免其全部挥发后对标本造成损坏。

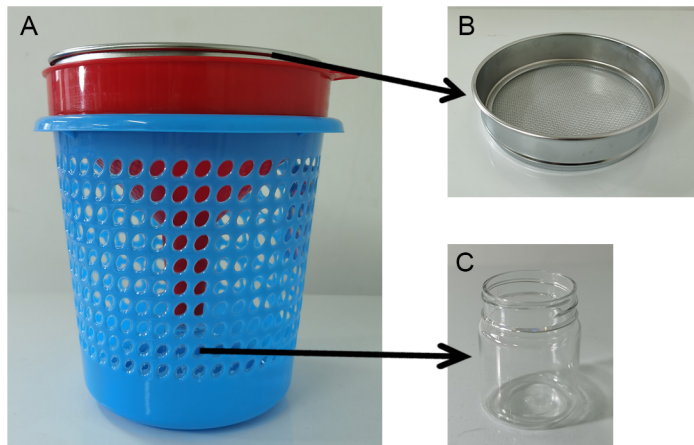


图 1. Berlese-Tullgren 漏斗法 A. 组装的漏斗 (不含伸缩杆和白炽灯); B. 不锈钢筛网; C. 塑料收集瓶

2. 吸虫器法

如图 2，吸虫器由滴管头 (90 mm)、乳胶管、玻璃管、橡胶塞以及离心管 (50 ml) 依次连接而成，吸气口所连接的玻璃管开口处需要使用纱布包裹，避免吸入虫子和沙土。采集标本时，在收集口下方放置装有无水乙醇的 1.5 ml 离心管，将吸虫口 (滴管头) 对准跳虫，从吸气口吸气，使跳虫被吸入离心管中，完成采集。需采集活体标本进行饲养时，无需放置装有无水乙醇的离心管，直接使用吸虫器进行采集。在阴暗处采集时可使用头灯增加照明。

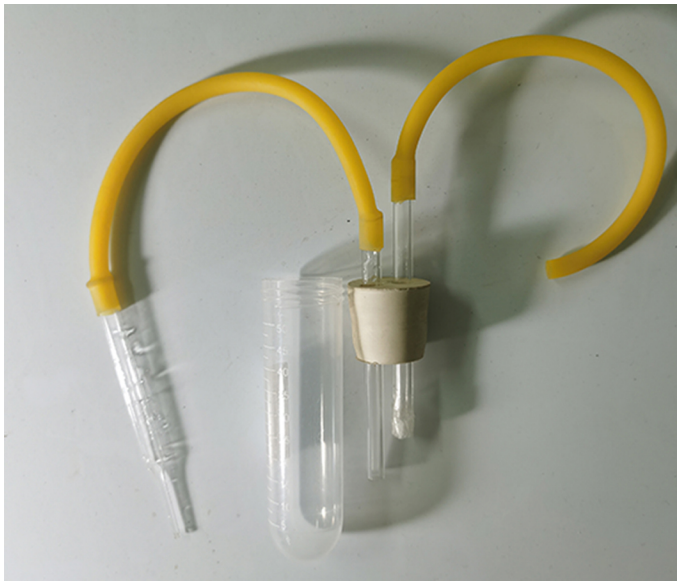


图 2. 吸虫器

3. 白布漏斗法

将铁丝制成直径一米的圆形框架，使用白布在框架上缝制倒圆锥形漏斗，底部开口方便悬挂收集瓶。如图 3，采集时用绳子将白布漏斗悬挂于林冠下，离地面约 1.5 m 高处，在收集瓶中加入 25 ml 无水乙醇并投入相应的标签，使用热力烟雾机雾化杀虫热雾剂，对树冠进行喷雾，喷雾完成后等待 2-3 h，使得跳虫有充分的时间掉落于白布漏斗的收集瓶中。采集时间应选择晴朗无风的清晨，以避免风和降雨对采集造成影响。



图 3. 白布漏斗法。A. 白布漏斗；B. 塑料收集瓶

4. 扫网法

挥动捕虫网 (100 目) 扫过植物体表面, 使得跳虫落入捕虫网中, 配合使用吸虫器采集捕虫网上的跳虫。

5. 手摇网筛法

将铁丝制作为直径 200 mm 的框架, 使用白布将框架和不锈钢筛网 (10 目) 缝制在一起, 在筛网下方再缝制可开口的布袋, 完成采集筛的制作。如图 4, 采集时抓取凋落物于采集筛中, 在采集筛下方放置搪瓷解剖盘, 摇动采集筛, 使得跳虫落入搪瓷解剖盘后, 使用吸虫器对跳虫进行采集, 布袋可以防止跳虫在摇动过程中被风吹散。该过程需要较长的时间, 若采样时间不足以在野外使用吸虫器采集, 应当直接采集凋落物于自封袋中, 同时放入相应标签并用记号笔在自封袋表面做好标记, 带回实验室后使用手摇网筛法或 Berlese-Tullgren 漏斗法进行分离采集。



图 4. 手摇网筛法

6. 陷阱法

使用土钻在地面挖出一个深约 75 mm 的洞，将塑料收集杯 (如一次性水杯) 放入其中，使得杯口和地面平齐，加入约 2/3 体积的饱和氯化钠溶液，使用小木棍 (如一次性筷子) 在杯口上方支撑一张塑料盖板，以防止青蛙、老鼠等大型动物进入陷阱，布置好陷阱后等待一周，取回陷阱，在体视镜下分离出跳虫，并保存于无水乙醇中。

实验步骤

1. 样品采集

1.1 土壤、凋落物生境

根据实验目的，选取采样地点，并设置采集单元。当实验数据需应用于统计分析时，需要采用随机取样等客观取样方法，例如在每个采样地点随机选取 4 个 1 m × 1 m 的采集单元，各采集单元间至少相距 100 m，使用铁丝框在每个采集单元中随机选取 3 个 200 mm × 200 mm 的样点进行重复采样。上述采集单元的数量、间距，采集样点的大小可根据不同的实验目的和样地情况做出相应调整。确定采集样点后，抓取样点上方的凋落物，装入自封袋中。凋落物采集后，将土钻打入下方土壤，取出土壤表层 50 mm 或 100 mm 的土芯，装入新的自封袋中。所有自封袋中放入相应标签，并用油性记号笔在自封袋表面写上相应标签。自封袋封口时保留一定的空气，将其放置于阴凉潮湿的环境中保存，同时应避免挤压，防止土壤动物在运输过程中死亡，影响后续分离。采集过程中使用枝剪剪切影响采样的藤蔓和小树根。采集的土壤和凋落物样品带回实验室后立即使用 Berlese-Tullgren 漏斗法进行分离。此外，需要对目标样地进行阶段性监测时，应当选用陷阱法进行采集，而有针对性的采集目标或对样地进行初步调查时，可以选择手摇网筛法进行采集。

1.2 朽木、石块生境

轻轻拿起朽木或石块，在搪瓷解剖盘上敲击一下，令跳虫震落于解剖盘内，即刻使用吸虫器进行采集，对于较大的朽木或石块，可直接使用吸虫器进行标本采集。

1.3 灌丛生境

根据实验目的选取样点后，将搪瓷解剖盘置于灌丛下方，自上而下拍打灌丛，令跳虫抖落于解剖盘内，即刻使用吸虫器进行采集。或在植物表面挥动捕虫网，使用吸虫器采集捕虫网上的跳虫。

1.4 乔木生境

如图 5，根据实验目的，在日出前规则性地设置漏斗或围绕特定树种设置白布漏斗，应用白布漏斗法对树冠上的跳虫进行采集，可根据采样目的及采样面积，调整杀虫热雾剂的用量和喷雾时间 (郑国等, 2015)。对于树干上的跳虫，若树干较细，可以在树干下方放置搪瓷解剖盘，敲击树干使得跳虫落入解剖盘内，使用吸虫器进行采集，而对于较粗的树干，可直接使用吸虫器在树干上进行采集。



图 5. 树冠跳虫采样

在采集过程中应穿戴能够遮蔽身体皮肤且耐磨的衣服，并佩戴劳保手套。

2. 标本制作

2.1 褪色处理

在对标本褪色处理前，拍照记录下标本的体色信息，然后在体视镜下使用毛笔挑出需要制作为玻片标本的虫体，放入盛有褪色液的表面皿中。褪色液分为乳酸溶液和 Nesbitt 溶液两种，个体小、体色浅或皱缩的标本适用乳酸褪色法，该方法是将酒精标本直接置于乳酸中，加热乳酸至沸腾，褪去色素即可；其它标本适用

Nesbitt 溶液褪色法，该方法是将酒精标本直接置于褪色液中，观察标本体表油状褪去呈透明状即可，必要时可适当加热 (张峰, 2009)。褪色后的标本若观察到明显的肠道内容物，使用解剖针将肠道内容物去除后再进行后续固定封片操作，避免因肠道内容物的存在影响标本鉴定。去除肠道内容物时从跳虫腹部体节间隙处进行解剖，避免破坏虫体表面形态学结构。

2.2 固定封片

在载玻片上滴适量 **Marc André II** 封固剂 (盖上盖玻片后封固剂恰好充满盖玻片而不溢出为宜)，使用挑针将褪色后的标本放入其中，并轻微调整姿势使其舒展，然后盖上盖玻片，并在盖玻片四角滴上指甲油固定，完成标本制作 (张峰, 2009)。对于体型较大的跳虫，直接封片会影响对标本的观察，在封片前使用解剖针将褪色标本解剖为头部、腿部、弹器、胸部和腹部 5 个部分 (愈腹跳目解剖为头部、腿部、弹器、小腹和大腹 5 个部分)，再对解剖后的标本进行固定封片。

2.3 标本烘干

制成的玻片标本需要在自然条件下晾干 (1-2 周)，或使用恒温干燥箱进行干燥处理 (30 °C, 1-2 d)。

3. 标本保存

玻片标本存放于载玻片盒，所有标本同向放置，载玻片盒竖立放置，使有标本一面朝上，标本保存环境需保持阴凉干燥。生物体标本使用无水乙醇保存于-20 °C 冰箱中，如无需进行分子实验，可使用 75% 的酒精代替。

溶液配方

1. Nesbitt 溶液:

蒸馏水	37 ml
水合三氯乙醛	40 g
甘油	1.25 ml
浓盐酸	2.5 ml

2. Marc André II 封固剂:

蒸馏水	30 ml
水合三氯乙醛	200 g

甘油 30 ml

阿拉伯树胶 20 g

新配制的封固剂较稀，需常温放置 6 个月以上待其浓稠后方可使用。

致谢

感谢国家自然科学基金项目 (41571052) 的资助。

参考文献

1. 陈建秀, 麻智春, 严海娟, 张峰. (2007). [跳虫在土壤生态系统中的作用](#). *生物多样性* 02: 154-161.
2. 张峰. (2009). [长角蚘科及爪蚘科 \(弹尾纲: 长角蚘目\) 的系统分类](#). 博士学位论文. 南京大学
3. 郑国, 李枢强. (2015). [森林冠层节肢动物](#). 科学出版社. 北京.
4. Hopkin, S. P. (1997). [Biology of the springtails \(Insecta: Collembola\)](#). Oxford University Press.
5. Potapov, A., Bellini, B. C., Chown, S. L., Deharveng, L., Janssens, F., Kováč, L., Kuznetsova, N., Ponge, J. F., Potapov, M., Querner, P., Russell, D., Sun, X., Zhang, F. and Berg, M. P. (2020). [Towards a global synthesis of Collembola knowledge: challenges and potential solutions](#). *Soil Organisms* 92(3): 161-188.
6. Rusek, J. (1998). [Biodiversity of Collembola and their functional role in the ecosystem](#). *Biodivers Conserv* 7(9): 1207-1219.