

显示三角涡虫神经系统的三种方法

薛德明 陈广文* 牛瑾芳 刘德增

(河南师范大学生命科学院 新乡 453007)

摘要: 涡虫在动物系统演化史中占有十分重要的地位,同时又具有很强的再生能力,如何显示其正常组织结构,对研究涡虫的再生具有重要意义。本文用3种染色方法(H.E染色、Masson染色、Van Gieson染色)显示了日本三角涡虫(*Dugesia japonica*)的神经系统,结果表明,尽管3种方法都能很清晰地显示涡虫的神经系统,但在显示咽部神经时,只有Masson染色能够很清晰地显示。

关键词: 日本三角涡虫;神经系统;H.E染色;Masson染色;Van Gieson染色

中图分类号: Q955 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263(2007)02-68-03

Three Methods Indicating the Nervous System of the Freshwater Planarians *Dugesia japonica*

XUE De-Ming CHEN Guang-Wen* NIU Jin-Fang LIU De-Zeng

(College of Life Science, Henan Normal University, Xinxiang 453007, China)

Abstract: Planarians is possessed of a very important position in the systematic evolutionary history, and a powerful capacity of complete regeneration. Hence, how to indicate its normal tissue structure is very important to the researches of regeneration. The nervous system of *Dugesia japonica* is revealed with H.E method, Masson method and Van Gieson method separately in this paper. The results show that the nervous system of *D. japonica* can be revealed very clearly by the three methods, but Masson method is the best to reveal the pharynx nerve.

Key words: *Dugesia japonica*; Nervous system; H.E method; Masson method; Van Gieson method

在动物系统演化历史中,涡虫纲占有十分重要的地位。从扁形动物开始,首次出现了中胚层和两侧对称的体制^[1]。同时,由于涡虫具有很强的再生能力,这为借助于RNAi技术从组织和组织发生的层面研究新基因的功能提供了便利^[2]。因此,如何显示涡虫的组织结构成为一项基础性工作,尽管国外,尤其是欧美及俄罗斯的学者在20世纪30~50年代间对涡虫的组织结构进行了一些研究^[3],但是,到目前为止,我国仅有少数学者对其进行深入研究。自从1930年林绍文开始研究我国的淡水涡虫至今,我国学者主要集中在对淡水涡虫分类区系的研究^[4-7]。由于组织学在涡虫研究中具有重要的地位,因此,本研究筛选了显示涡虫神经组

织的3种方法,以期为涡虫的再生生物学研究提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 材料 实验用淡水涡虫采自北京市房山区圣泉泉溪中,分类地位隶属扁形动物门

基金项目 国家自然科学基金(No. 30670247, 30170119),河南省杰出青年科学基金(No. 0312001100),河南省高等学校创新人才培养工程基金(豫教高[2005]126号)资助;

*通讯作者, E-mail: chengw0183@sina.com; chengw@henannu.edu.cn;

第一作者介绍 薛德明,男,高级实验师,研究方向:中国淡水涡虫资源及保护, E-mail: xuedeming2003@yahoo.com.cn.

收稿日期:2006-08-14, 修回日期:2007-01-26

(Platyhelminthes), 涡虫纲(Turbellaria), 三肠目(Tricladida), 三角涡虫属(*Dugesia*), 日本三角涡虫(*D. japonica*) 在实验室冰箱内 4℃ 养殖一个月, 实验中使用性成熟的涡虫作为实验动物。

1.2 方法 采用 Bouin 氏液固定, 70% 乙醇漂洗, 梯度乙醇脱水, 二甲苯透明, 常规石蜡切片后, 分别进行 H. E 染色, Masson 染色和 Van Gieson 染色^[8]。所有切片均为水平切。

2 结果与讨论

H. E 染色结果见图版 I : 1; Masson 染色结果见图版 I : 2, 3; Van Gieson 染色结果见图版 I : 4。3 种染色均能显示涡虫的脑部、纵神经索、横神经和侧神经, 但是只有 Masson 染色能够很明显地显示涡虫咽部的纵神经和横神经。因此在研究涡虫咽部神经再生时, Masson 染色是一种有效的检测手段。尽管 3 种染色均能显示涡虫的脑部、纵神经索、横神经和侧神经, 但是, H. E 染色结果与背景着色对比强烈, Van Gieson 染色结果与背景着色对比次之, Masson 染色结果与背景着色对比较差, 3 种染色结果起到了相互印证的作用。根据文献^[8]报道, Masson 染色的结果为: 胶原纤维蓝色, 肌肉及神经胶质纤维红色, 嗜银颗粒黑色或红色, 胞核蓝黑色。本文 Masson 染色的切片中, 涡虫的脑、纵神经索、横神经和侧神经被染成紫色, 而咽部纵神经和横神经被染成黑色。产生这种差别的原因, 从组织学角度分析, 嗜银细胞一般指的是神经细胞和内分泌细胞。神经细胞分泌的递质主要分为 3 类: 乙酰胆碱、单胺类和氨基酸类。因此, 推测产生染色差别的原因可能是由于它们所含神经递质及递质的前体不同, 或者是由于神经递质及递质前体的密度不同而引起的。镜检结果表明: 咽部仅有神经存在, 没有神经元胞体存在(图版 I : 3), 而脑部可见胞体存在(图版 I : 2), 因此推测咽部所含递质密度或递质前体的密度较大。根据所查文献, 目前未见用常规染色显示涡虫咽部神经的相关报道。

尽管 Nissl 染色、Cajal 还原银染色、Golgi 染色是公认的神组织染色的传统方法, 但在有

关涡虫的研究文献中报道不多^[9]。Kato 等研究涡虫脑部再生与运动关系时, 用 Schiff 试剂染神经组织^[10]; 李慧等研究涡虫神经再生与原始脑构建的关系时, 采用的方法是 H. E 染色^[11]。目前, 对于涡虫神经组织的染色呈现出多样化的趋势。本文所筛选的 3 种染色方法主要是考虑到有利于免疫组化染色后的复染, 以及在研究再生过程中如何最大限度地显示组织发生以及器官形成的过程。随着分子生物学技术的不断发展, 借助于 RNAi 技术等研究涡虫再生过程中与脑组织发生有关的基因及其功能的报道日渐增多^[12]。因此, 探讨适宜于涡虫神经组织染色的有效方法, 使之与现代 RNAi 技术等有机结合, 对于在组织学层面研究新基因功能将会有着广阔的前景。

参 考 文 献

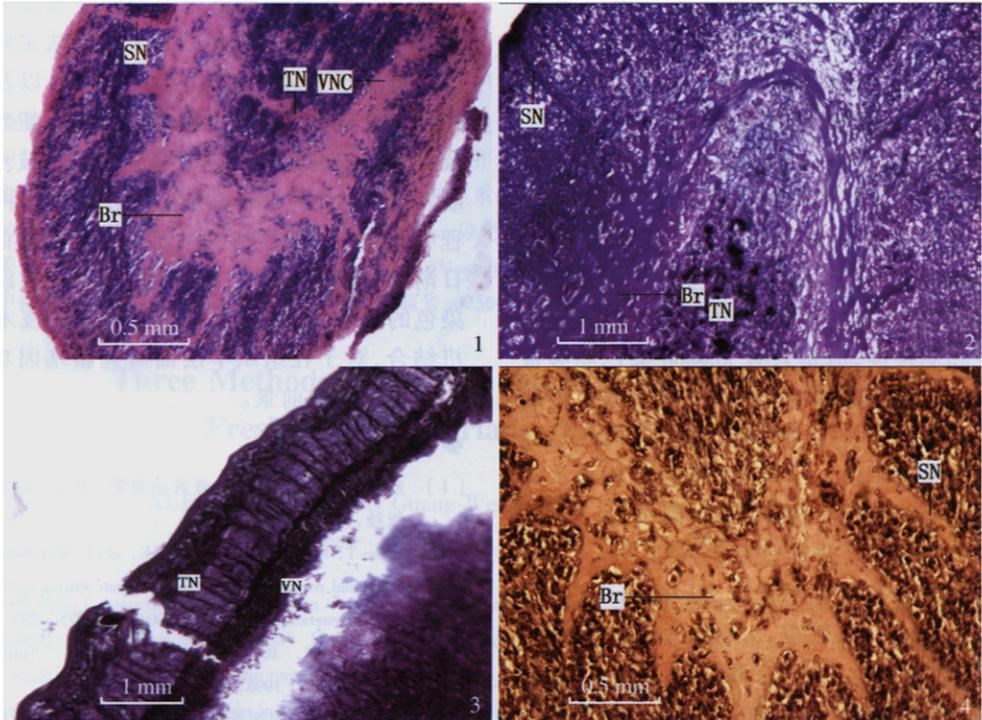
- [1] 刘凌云, 郑光美主编. 普通动物学. 北京: 高等教育出版社, 1997, 112 ~ 115.
- [2] Inoue T, Kimamoto H, Okamoto K, *et al.* Morphological and functional recovery of the planarian photosensing system during head regeneration. *Zool Sci*, 2004, **21**: 275 ~ 283.
- [3] Rieger R M. 100 years of research on 'Turbellaria'. *Hydrobiologia*, 1998, **383**: 1 ~ 27.
- [4] 刘德增编著. 中国淡水涡虫. 北京: 北京师范大学出版社, 1993.
- [5] 陈广文, 陈晓虹, 刘德增. 中国涡虫纲分类学研究进展. 水生生物学报, 2001, **25**(4): 406 ~ 412.
- [6] 汪安泰, 罗振国. 中国大口涡虫属一新种记述(大口虫目, 大口虫科). 动物分类学报, 2004, **29**(4): 700 ~ 703.
- [7] 汪安泰, 吴海龙. 达氏科中国一新记录属及三新种(扁形动物门, 单肠目, 达氏亚目). 动物分类学报, 2005, **30**(2): 300 ~ 308.
- [8] 杜卓民主编. 实用组织学技术. 北京: 人民卫生出版社, 1998, 69 ~ 71.
- [9] 王晓安, 蒋小满. 平角涡虫脑神经节的显微结构. 神经解剖学杂志, 1998, **14**(1): 35 ~ 38.
- [10] Kato C, Mihashi K, Ishida S. Motility recovery during the process of regeneration in freshwater planarians. *Behavioural Brain Research*, 2004, **150**: 9 ~ 14.
- [11] 李慧, 汪安泰. 涡虫神经再生与原始脑构建初探. 深圳大学学报理工版, 2005, **22**(4): 368 ~ 372.
- [12] Gebria F, Kobayashi C, Umesono Y, *et al.* Fgfr-related gene nou-darake restricts brain tissues to the head region of planarians. *Nature*, 2002, **419**: 620 ~ 624.

薛德明等:显示三角涡虫神经系统的三种方法

图版 I

XUE De-Ming *et al.*: Three Methods Indicating the Nervous System of the Freshwater Planarians *Dugesia japonica*

Plate I



1. H. E 染色, × 200, 示脑部、纵神经索、横神经、侧神经(标尺 = 0.5 mm); 2. Masson 染色, × 100, 示脑部、横神经、侧神经(标尺 = 1 mm); 3. Masson 染色, × 100, 示咽部纵神经、横神经(标尺 = 1 mm); 4. Van Gieson 染色, × 200, 示脑部、侧神经(标尺 = 0.5 mm)。

Br: 脑; SN: 侧神经; TN: 横神经; VN: 纵神经; VNC: 纵神经索。

1. H. E staining, × 200, showing brain, vertical nerve cable, transverse nerve and side nerve (Bar = 0.5 mm); 2. Masson staining, × 100, showing brain, transverse nerve and side nerve (Bar = 1 mm); 3. Masson staining, × 100, showing vertical nerve and transverse nerve at the pharynx (Bar = 1 mm); 4. Van Gieson staining, × 200, showing brain and side nerve (Bar = 0.5 mm).

Br: Brain; SN: Side nerve; TN: Transverse nerve; VN: Vertical nerve; VNC: Vertical nerve cable.