

免疫荧光法显示贝居腹盾吸虫肌肉神经组织的实验研究

张静 李健科 刘柳 张浩*

齐齐哈尔医学院 齐齐哈尔 161006

摘要: 从背角无齿蚌 (*Anodonta woodiana*) 围心腔内检获自然感染的贝居腹盾吸虫 (*Aspidogaster conchicola*), 根据虫体内睾丸、卵巢、子宫及卵黄腺 4 种生殖器官的发育程度, 将所获虫体分为幼虫组和成虫组, 所有虫体用 4% 甲醛固定后, 分别采用鬼笔环肽染色法和乙酰化微管蛋白免疫组织化学法显示贝居腹盾吸虫成虫和幼虫的肌肉纤维和神经纤维, 使用激光共聚焦显微镜观察。结果显示, 鬼笔环肽荧光染色的贝居腹盾吸虫成虫较幼虫肌肉组织更为发达, 口周围、盾盘附着器、子宫末段及阴茎囊肌肉纤维分布较为密集。乙酰化微管蛋白荧光染色的贝居腹盾吸虫成虫较幼虫神经网络更为复杂, 在部分生殖器官如子宫末段、阴茎囊和睾丸部位存在神经纤维。双重染色结果显示, 该吸虫不同器官上的肌肉纤维分布与神经纤维的分布相互吻合。该结果提示, 贝居腹盾吸虫可能通过神经系统对其肌肉活动进行调控。

关键词: 贝居腹盾吸虫; 荧光染色; 肌肉纤维; 神经纤维

中图分类号: Q955 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263 (2024) 01-095-08

Experimental Study on the Display of Muscle and Nerve Tissue of *Aspidogaster conchicola* by Immunofluorescence

ZHANG Jing LI Jian-Ke LIU Liu ZHANG Hao*

Qiqihar Medical University, Qiqihar 161006, China

Abstract: [Objectives] The study aims to understand the regulation of the *Aspidogaster conchicola* nervous system on muscles. **[Methods]** The naturally infected *Aspidogaster conchicola* were collected from the pericardium of *Anodonta woodiana*. According to the development degree of the testis, ovary, uterus, vitelline glands, and other reproductive organs in the insect body under the microscope, the insect body was divided into larva group and adult group. After being fixed with 4% formalin, the muscle fibers and nerve fibers of the larva and adult were observed by phalloidin staining and acetylated tubulin immunohistochemistry, respectively, and were observed by confocal laser microscopy. **[Results]** Through phalloidin fluorescent

基金项目 齐齐哈尔医学科学院项目 (No. QMSI2023Z-04), 黑龙江省普通高等学校医学病原学 (BSL3) 重点实验室开放基金项目;

* 通讯作者, E-mail: 805676596@qq.com;

第一作者介绍 张静, 女, 硕士研究生; 研究方向: 寄生虫学; E-mail: 3178223686@qq.com.

收稿日期: 2023-04-11, 修回日期: 2023-09-18 DOI: 10.13859/j.cjz.202423065

staining, we found that the muscle tissue of adult was more developed than that of larvae, and there are two different types of muscle fibers distributed in the body wall, the outer layer is longitudinal muscle fibers, the inner layer is annular muscle fibers, and the muscle fibers are reticulate (Fig. 2a), and the muscle fibers of oral sucker (Fig. 2b), uterus and cirrus pouch (Fig. 2f), and adhesive disc (Fig. 2g) was more densely distributed. Fluorescence staining of acetylated tubulin showed that the neural network of adults was more complex than that of larvae, and some nerve fibers of reproductive organs could be seen (Fig. 4b, c). The results of double staining showed that the distribution of muscle fibers and nerve fibers on different organs of the fluke were consistent with each other (Fig. 5). [Conclusion] The trematode may regulate its muscle activity through the neural network.

Key words: *Aspidogaster conchicola*; Fluorescent staining; Muscle fiber; Nerve fiber

贝居腹盾吸虫 (*Aspidogaster conchicola*) 隶属于吸虫纲盾盘亚纲, 该亚纲是吸虫纲中种类最少的亚纲, 处于较原始的进化地位 (唐仲璋等 1980)。盾盘亚纲吸虫在我国福建、黑龙江和湖北等地均有发现。关于这类吸虫神经系统方面的研究最早见于 Rohde (1968, 1971) 用硝酸银染色法对 *Multicotyle purvisi* 的神经结构进行了详细的研究。Timofeeva (1971) 采用显示乙酰胆碱酯酶组织化学定位法对 *A. conchicola* 的成虫和幼虫的神经系统进行了研究, 为该类吸虫神经递质的研究提供了证据。其后 Fredericksen (1978) 采用组织化学方法对 *Cotylogaster occidentalis* 幼虫神经系统进行研究。国内学者张浩 (2006) 对东方簇盾盘吸虫 (*Lophotaspis orientalis*) 的神经系统进行了一些研究, 虽然方法上有些改进, 但仍属于组织化学类的染色方法。随着研究方法的进步, Tolstenkov 等 (2010) 利用免疫荧光方法对贝居腹盾吸虫体内五羟色胺的分布进行了描述, 拓展了对吸虫神经递质的认识, 但研究未能显示神经细胞等细微结构。目前关于神经系统对吸虫生理功能的调控作用机理知之尚少。为了解贝居腹盾吸虫神经系统对其肌肉活动的调节作用, 本研究采用鬼笔环肽染色和乙酰化微管蛋白染色, 分别对吸虫肌肉纤维和神经纤维进行荧光标记, 采用双重染色方法在激光共聚焦显微镜下观察二者的分布和叠加情况, 了解肌肉纤维和神经纤维在解剖位置上的相关性。

1 材料与方法

1.1 吸虫来源

背角无齿蚌 (*Anodonta woodiana*) 俗称河蚌, 采集自黑龙江省齐齐哈尔市嫩江流域明月岛码头附近的水域, 送至实验室剖检, 在河蚌围心腔内获得贝居腹盾吸虫虫体。

1.2 标本制备

所获虫体置于生理盐水中, 在 4 °C 冰箱中保存备用。染色前将虫体放在单凹载玻片上, 盖上盖玻片, 在光学显微镜 (Olympus, 日本) 下观察子宫内是否存在虫卵, 无虫卵判定为幼虫阶段, 出现虫卵判定为成虫阶段。所有虫体均采用背腹位或侧位压片, 用 4% 甲醛进行固定。

1.3 实验方法

1.3.1 显示肌肉纤维的荧光染色 先将甲醛 (沈阳市华东试剂厂) 固定后的虫体在 PBS (北京索莱宝科技有限公司) 中冲洗 3 次, 每次 10 min。用毛笔将虫体挑出, 放入含有 0.3% Triton X-100 (上海爱必信生物科技有限公司) 溶液中通透 2 h, 再放入 2% 的牛血清白蛋白 (北京酷来博科技有限公司) 封闭 2 h。将虫体放入鬼笔环肽工作液 (北京索莱宝科技有限公司, 按照 1 : 100 稀释于 PBS 中), 4 °C 孵育 48 h, 然后用 PBS 冲洗 3 次, 每次 10 min。该方法阳性结果为红色荧光。

1.3.2 显示神经纤维的荧光染色 先将甲醛

固定后的虫体在 PBS 中冲洗 3 次, 每次 10 min。用毛笔将虫体挑出, 放入含有 0.3% Triton X-100 溶液中通透 2 h, 用 2% 的牛血清白蛋白封闭 2 h。将虫体放入一抗 (小鼠抗乙酰化微管蛋白, 美国 Sigma-Aldrich 公司, 按照 1:500 稀释于 PBS 中), 4 °C 孵育 48 h, 然后用 PBS 冲洗 3 次, 每次 10 min。再将虫体放入二抗 (山羊抗小鼠 IgG, 爱博泰克生物科技有限公司, 按照 1:100 稀释于 PBS), 4 °C 孵育 48 h, 最后用 PBS 冲洗 3 次, 每次 10 min。该方法阳性结果为绿色荧光。

1.3.3 乙酰化微管蛋白和鬼笔环肽双重荧光染色 分别取幼虫组和成虫组贝居腹盾吸虫按照上述乙酰化微管蛋白荧光染色步骤, 二抗孵育结束后, PBS 冲洗 3 次, 每次 10 min, 然后用毛笔将虫体挑出, 放入鬼笔环肽工作液中 (按照 1:100 稀释于 PBS 中), 4 °C 孵育 48 h, 然后用 PBS 冲洗 3 次, 每次 10 min。该方法阳性结果为黄色荧光。

1.4 观察方法

将染色过的虫体放入激光共聚焦板中, 加入 5 μ l 的 PBS, 防止虫体皱缩, 先在倒置荧光显微镜 (Olympus, 日本) 下观察, 拍照保存, 然后在蔡司 LSM710 激光共聚焦显微镜下扫描、拍照。图像使用 ZEN 软件进行处理。

2 结果

2.1 鬼笔环肽染色显示的肌肉纤维分布

2.1.1 贝居腹盾吸虫幼虫期 贝居腹盾吸虫幼虫个体微小, 腹面有盾盘附着器。虫体具备口、咽和肠道等消化器官, 但生殖器官发育不完备。荧光染色结果显示, 在口周围、咽和盾盘附着器 (腹吸盘) 部位出现红色强荧光, 其他部位未见荧光着色 (图 1)。提示这些部位有较丰富的肌肉纤维。

2.1.2 贝居腹盾吸虫成虫期 成虫体壁肌肉组织有两种不同类型的肌肉纤维分布, 外层为纵行肌肉纤维, 内层为环行肌肉纤维, 肌肉纤维呈网状分布 (图 2a)。口周围呈红色强荧光,

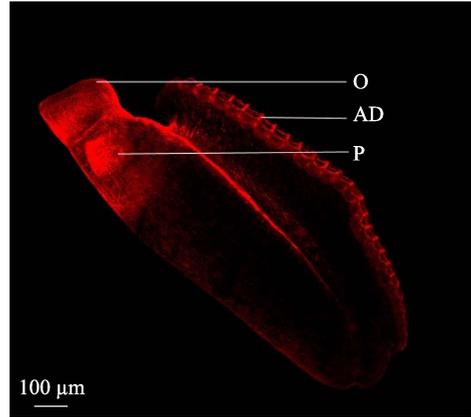


图 1 鬼笔环肽荧光染色的贝居腹盾吸虫幼虫期个体 (100 \times)

Fig. 1 Phalloidin fluorescence staining of *Aspidogaster conchicola* at the larval stage (100 \times)

AD. 盾盘附着器; O. 口; P. 咽

AD. Adhesive disc; O. Oral; P. Pharynx

提示存在大量的肌动蛋白, 口孔前半部以纵行的肌肉纤维为主, 后半部以环行肌肉纤维为主, 分布密集 (图 2b)。咽为球形, 咽部表层可见规律分布的环行纤维, 深部显示可见短促纤维 (图 2c, d)。

肠道与咽相连, 肠壁上肌肉纤维密集呈网格状分布 (图 2e)。成虫内部生殖器官发育完备, 子宫末段和阴茎囊呈红色强荧光, 提示子宫末段和阴茎囊壁有较厚的肌肉层, 阴茎囊壁上以纵行纤维密集分布 (图 2f)。睾丸和卵巢部位未见荧光着色。该吸虫有一个很大的盾盘附着器位于虫体的腹面, 呈红色强荧光, 它由间隔膜分成许多浅的小吸盘 (图 2g)。

2.2 乙酰化微管蛋白染色显示的神经纤维分布

2.2.1 贝居腹盾吸虫幼虫期 口、咽部呈现绿色强荧光着色, 提示口周围神经网络发达。盾盘附着器有荧光着色, 虫体末端周围有细小的神经纤维, 分布无规律 (图 3)。

2.2.2 贝居腹盾吸虫成虫期 成虫口周围、咽部呈现绿色强荧光着色, 提示口周围神经网络

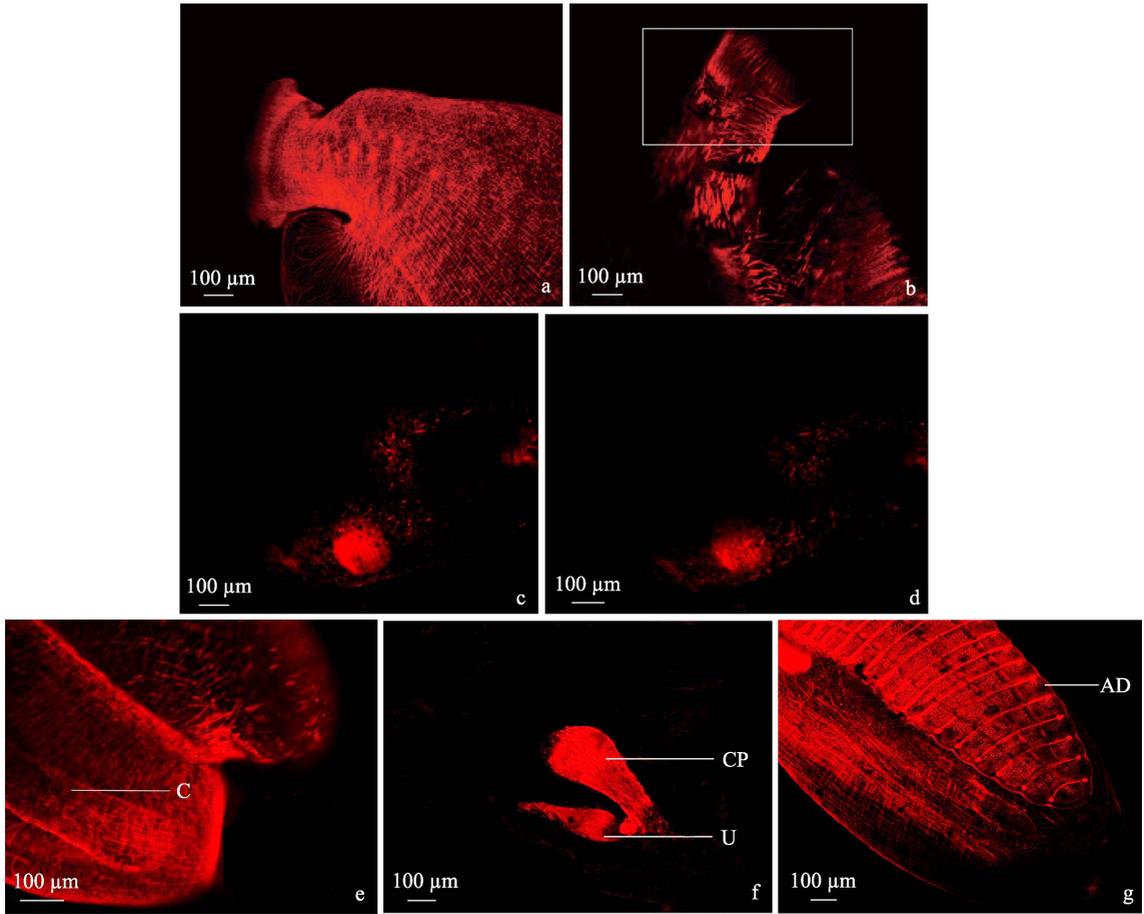


图 2 鬼笔环肽染色的贝居腹盾吸虫成虫期 (100 ×)

Fig. 2 Phalloidin fluorescence staining of *Aspidogaster conchicola* at the adult stage (100 ×)

a. 肌肉纤维网状分布; b. 口周围肌肉纤维; c. 咽部表层肌肉纤维; d. 咽深层肌肉纤维; e. 肠道肌肉纤维的分布; f. 生殖器官肌肉纤维的分布; g. 盾盘附着器上肌肉纤维的分布。AD. 盾盘附着器; C. 肠; CP. 阴茎囊; U. 子宫

a. Muscle fibers of body wall are distributed in a network; b. Distribution of muscle fibers around the mouth; c. Muscle fibers of superficial pharynx; d. Muscle fibers of deep pharynx; e. Distribution of intestinal muscle fibers; f. Distribution of muscle fibers in reproductive organs; g. Distribution of muscle fibers in adhesive disc. AD. Adhesive disc; C. Caeca; CP. Cirrus pouch; U. Uterus

发达。咽部可见发出一条较粗大的神经纤维沿着整个虫体向下延伸 (图 4a), 神经纤维愈向体后方延伸愈纤细。

成虫内部生殖器官发育完备, 子宫末段、阴茎囊和睾丸呈绿色荧光着色 (图 4b, c)。卵巢未见荧光着色。睾丸位于卵巢后, 附近可见发出较细的神经纤维延伸至虫体末端。若干个神经细支分布在体侧, 在虫体的后半部可见双极神经细胞 (图 4d)。

2.3 乙酰化微管蛋白和鬼笔环肽双重染色结果

2.3.1 贝居腹盾吸虫幼虫期 口、咽部和盾盘附着器双染叠加呈黄色荧光着色 (图 5a)。

2.3.2 贝居腹盾吸虫成虫期 口、咽部双染叠加呈黄色强荧光着色 (图 5b), 咽部可见神经纤维环绕。

内部生殖器官发育完备, 子宫、阴茎囊壁呈黄色强荧光着色 (图 5c)。子宫周围有细

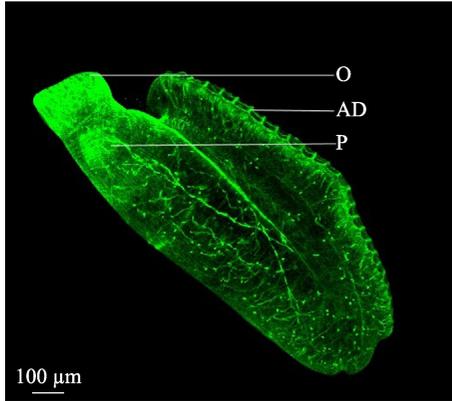


图 3 乙酰化微管蛋白荧光染色的贝居腹盾吸虫幼虫期 (100 ×)

Fig. 3 Acetylated tubulin fluorescence staining of *Aspidogaster conchicola* at the larval stage (100 ×)

AD. 盾盘附着器; O. 口; P. 咽

AD. Adhesive disc; O. Oral; P. Pharynx

小的神经纤维 (图 5b)。睾丸和卵巢部位未见荧光着色。盾盘附着器呈黄色强荧光着色, 盾盘附着器上的小吸盘也有明显的强荧光着色, 在附着器的周围有散在无规律的神经纤维分布 (图 5d), 提示该吸虫的肌肉组织内有丰富的神经网络, 虫体的活动可能受神经的调控。

3 讨论

鬼笔环肽是一种环状七肽毒素, 能与纤维状肌动蛋白 (F-actin) 结合发挥功能, 且对鬼笔环肽进行荧光标记后仍具有使微管保持稳定的特性, 使其成为研究细胞内肌动蛋白微丝的有力工具 (Wehland et al. 1977, Barden et al. 1987, Cooper 1987)。既往研究表明, 鬼笔环肽染色多用于阐明吸虫的肌肉分化。吸虫具有发达的附着器官, 吸盘肌肉性, 由纵行、环行

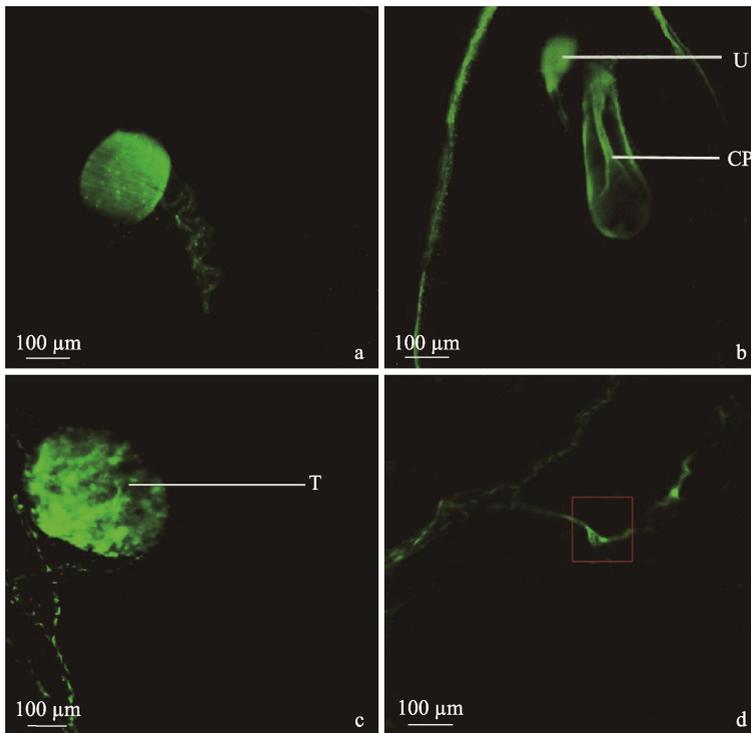


图 4 乙酰化微管蛋白荧光染色的贝居腹盾吸虫成虫期 (100 ×)

Fig. 4 Acetylated tubulin fluorescence staining of *Aspidogaster conchicola* at the adult stage (100 ×)

a. 咽部; b. 生殖器官; c. 睾丸; d. 双极神经细胞。CP. 阴茎囊; T. 睾丸; U. 子宫

a. Pharynx; b. Reproductive organs; c. Testis; d. Bipolar nerve cell. CP. Cirrus pouch; T. Testis; U. Uterus

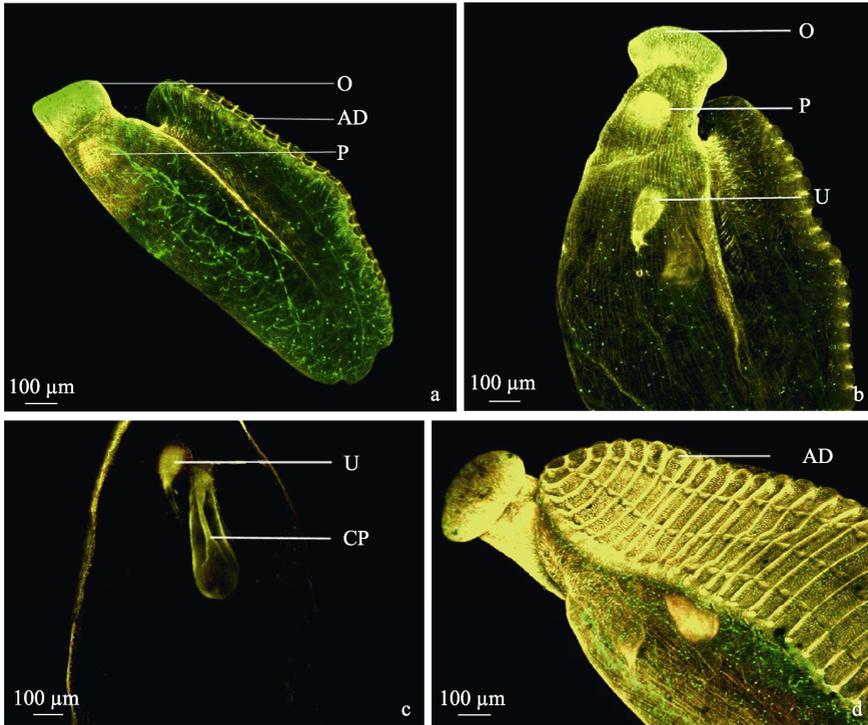


图 5 乙酰化微管蛋白和鬼笔环肽双重染色的贝居腹盾吸虫 (100 ×)

Fig. 5 Double staining using acetylated tubulin and phalloidin in *Aspidogaster conchicola* (100 ×)

a. 幼虫期; b. 成虫期; c. 成虫期生殖器官; d. 成虫期盾盘附着器。AD. 盾盘附着器; CP. 阴茎囊; O. 口; P. 咽; U. 子宫
 a. Larval stage; b. Adult stage; c. Reproductive organs of adult; d. Adhesive disc of adult. AD. Adhesive disc; CP. Cirrus pouch; O. Oral; P. Pharynx; U. Uterus

及辐射行的肌肉纤维组成, 通过各类肌肉纤维的协调活动打开或关闭吸盘 (Mair et al. 1998, Sebelová et al. 2004, Krupenko et al. 2015)。盾盘类吸虫具有复杂的腹盘结构, 但鲜有关于盾盘类吸虫肌肉组织的报道。本研究采用鬼笔环肽染色, 结果显示成虫较幼虫肌肉纤维更为发达。贝居腹盾吸虫成虫体壁的肌肉纤维主要由纵行和环行肌肉纤维组成, 咽部表层可见规律分布的环行纤维, 深层有无规律分布的短促纤维。肠道与咽相连, 可见纵行的肌肉纤维分布。子宫末段是一个膨大的肌肉质结构, 阴茎囊和阴茎被鬼笔环肽染色后呈强荧光着色, 提示该部位有肌肉纤维分布。卵巢和睾丸未见荧光着色。

在神经系统中, 微管蛋白作为一种可视化神经元荧光显色反应的抗原, 参与到神经突触

的生长调节中 (Voronezhskaya et al. 2002, Croll 2006)。梁爱华 (1988) 应用 γ -微管蛋白抗体标记八肋游仆虫 (*Euplotes octocarinatus*), 结果显示在纤毛和棘毛基部出现荧光标记。本研究通过采用乙酰化微管蛋白染色, 取得了较好的染色效果, 观察到幼虫和成虫阶段虫体荧光显色的部位有明显的差异。幼虫期只显示出部分器官的神经网络及细小的神经纤维, 而对于发育完备的成虫期, 咽前部位的荧光反应更为强烈。在子宫末段、阴茎等肌肉质器官上可见细小纤维的分布。输卵管和睾丸可见神经纤维的分布, 这一结果显示随着虫体的发育, 神经网络趋于复杂化, 也进一步提示吸虫的运动、消化及生殖功能可能与神经系统相关。

国外对于吸虫神经系统的研究主要侧重于神经递质分布、体壁肌肉组织以及吸虫内部附

着器官的描述。在对曼氏血吸虫 (*Schistosoma mansoni*) 的研究中, 发现血清素在肌肉组织中起到重要作用 (Ribeiro et al. 2012)。而对于盾盘类吸虫神经系统的相关研究多采用乙酰胆碱酯酶组织化学法, 该方法虽较清晰地展示了神经系统整体的结构, 但不能显示神经细微结构 (Timoffeeva 1971, 张浩等 2016)。张浩等 (2020) 采用硝酸银染色法, 观察到贝居腹盾吸虫前端脑神经节附近存在单极、双极和多极神经细胞。在咽、肠道、子宫末段、阴茎囊、睾丸、卵巢表面有神经分布。对于贝居腹盾吸虫神经系统已有初步探索, 但未对于生理功能进行探讨。本研究在此基础上, 初步探索贝居腹盾吸虫神经系统与肌肉组织在解剖学上的关系, 采用鬼笔环肽和乙酰化微管蛋白双重染色, 无论是幼虫期还是成虫期, 口和腹吸盘部位都出现荧光叠加现象, 提示该部位既存在肌肉纤维又存在神经纤维。咽部体表肌肉组织下有丰富的神经网络, 成虫期咽部可见细小的神经纤维围绕。这些结果提示吸虫通过神经系统来调节肌肉活动。同样, 可见生殖器官局部显示强荧光叠加现象, 提示生殖器官的生理活动也存在肌肉与神经的协同作用。

本研究虽然显示了贝居腹盾吸虫的肌肉纤维和神经纤维分布, 提示肌肉活动可能与神经调控相关, 但神经调控的机制及与其他生理功能的关系尚待深入研究。

参 考 文 献

- Barden J A, Miki M, Hambly B D, et al. 1987. Localization of the phalloidin and nucleotide-binding sites on actin. *European Journal of Biochemistry*, 162(3): 583–588.
- Cooper J A. 1987. Effects of cytochalasin and phalloidin on actin. *The Journal of Cell Biology*, 105(4): 1473–1478.
- Croll R P. 2006. Development of embryonic and larval cells containing serotonin, catecholamines, and FMRFamide-related peptides in the gastropod mollusc *Phostilla sibogae*. *The Biological Bulletin*, 211(3): 232–247.
- Fredericksen D W. 1978. The fine structure and phylogenetic position of the cotylocidium larva of *Cotylogaster occidentalis* Nickerson 1902 (Trematoda: Aspidogastrea). *The Journal of Parasitology*, 64(6): 961–976.
- Krupenko D Y, Dobrovolskij A A. 2015. Somatic musculature in trematode hermaphroditic generation. *BMC Evolutionary Biology*, 15(1): 189.
- Mair G R, Maule A G, Shaw C, et al. 1998. Muscling in on parasitic flatworms. *Parasitology Today*, 14(2): 73–76.
- Ribeiro P, Gupta V, El-Sakkary N. 2012. Biogenic amines and the control of neuromuscular signaling in *schistosomes*. *Invertebrate Neuroscience*, 12(1): 13–28.
- Rohde K. 1968. The nervous systems of *Multicotyle purvisi* Dawes, 1941 (Aspidogastrea) and *Diaschistorchis multitesticularis* Rohde, 1962 (Digenea). Implications for the ecology of the parasites. *Zeitschrift für Parasitenkunde*, 30(1): 78–94.
- Rohde K. 1971. Untersuchungen an *Multicotyle purvisi* Dawes, 1941 (Trematoda, Aspidogastrea)-VIII. Elektronenmikroskopischer Bau des Exkretionssystems. *International Journal for Parasitology*, 1(3/4): 275–286.
- Šebelová Š, Stewart M T, Mousley A, et al. 2004. The musculature and associated innervation of adult and intramolluscan stages of *Echinostoma caproni* (Trematoda) visualised by confocal microscopy. *Parasitology Research*, 93(3): 196–206.
- Timoffeeva T A. 1971. The structure of the nervous system of *Aspidogaster conchicola* K Baer. 1827 (Trematoda, Aspidogastrea). *Parasitology*, 5(6): 517–523.
- Tolstenkov O, Terenina N, Kreshchenko N, et al. 2010. The pattern of FM-RFamide and serotonin immunoreactive elements in the nervous system of *Aspidogaster conchicola* K. Baer, 1827 (Aspidogastrea, Aspidogastrea). *Belgian Journal of Zoology*, 140(Suppl): 133–116.
- Voronezhskaya E E, Tyurin S A, Nezhlin L P. 2002. Neuronal development in larval chiton *Ischnochiton hakodadensis* (Mollusca: Polyplacophora). *The Journal of Comparative Neurology*, 444(1): 25–38.
- Wehland J, Osborn M, Weber K. 1977. Phalloidin-induced actin polymerization in the cytoplasm of cultured cells interferes with cell locomotion and growth. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 74(12): 5613–5617.

梁爱华. 1998. 八肋游仆虫 γ -微管蛋白及其基因的研究. *水生生物学学报*, 22(4): 325-329.

唐仲璋, 唐崇惕. 1980. 两种盾盘吸虫的生活史及吸虫纲系统发生的讨论. *水生生物学集刊*, 7(2): 153-174.

张浩. 2006. 东方簇盾吸虫神经系统的研究. *厦门大学学报: 自然科学版*, 45(4): 585-588.

张浩, 柏青杨, 杜凤霞, 等. 2016. 不同发育期贝居腹盾吸虫体内乙酰胆碱酯酶分布特征. *动物学杂志*, 51(4): 655-662.

张浩, 杜凤霞, 郭家, 等. 2020. 贝居腹盾吸虫神经纤维分布及神经细胞形态观察. *中国血吸虫病防治杂志*, 32(1): 73-77, 82.

(上接第 80 页)

该巢被发现时已是雏鸟期, 在排除巢寄生的情况后 (Lindell 1996), 推测可能是 (1) 黄腹花蜜鸟侵占长尾缝叶莺或暗尾山鸫的缝叶型鸟巢, 或利用其空巢; (2) 学习行为使黄腹花蜜鸟发展出缝叶型巢; (3) 缝叶型巢为黄腹花蜜鸟未被记载的另一种巢型。具体原因仍待进一步探索与验证。



图 1 黄腹花蜜鸟以缝叶型鸟巢进行繁殖的线索依据

Fig. 1 Cues of utilizing leaf-sewing nest for reproduction by Olive-backed Sunbird *Cinnyrus jugularis*

- a. 黄腹花蜜鸟的典型巢; b~d. 被黄腹花蜜鸟利用的缝叶型巢; e. 黄腹花蜜鸟雄鸟在缝叶型巢中喂食雏鸟; f. 黄腹花蜜鸟雌鸟在缝叶型巢中喂食雏鸟; g. 出飞前的黄腹花蜜鸟雏鸟; h. 某种蛇捕食黄腹花蜜鸟雏鸟。
- a. Typical nest of *Cinnyrus jugularis*; b - d. Leaf-sewing nest utilized by *C. jugularis*; e. Nestlings fed by male parent; f. Nestlings fed by female parent; g. Two near fledged nestlings; h. *C. jugularis* nestlings predated by a snake.

吴将文 李启黄 陈忠 杨灿朝*

热带岛屿生态学教育部重点实验室, 海南师范大学生命科学学院 海口 571158