

扁玉螺中枢神经系统解剖及显微结构观察

冼黎^① 王晓安^{①*} 张丽莉^②

(^①鲁东大学生命科学学院 烟台 264025; ^②华东师范大学生命科学学院 上海 200062)

摘要:对扁玉螺(*Neverita didyma*)中枢神经系统的大体解剖和显微结构进行了初步研究。结果表明,扁玉螺中枢神经系统包括一对口球神经节、一对脑神经节、一对侧神经节、一对足神经节及一个脏神经节。各神经节均由神经节被膜、胞体区及中央纤维网三部分组成。左右脑神经节之间和左右足神经节之间的联合以及脑侧、脑足和侧足神经节之间的连索均较短。足神经节有明显的分区现象。

关键词:扁玉螺;神经系统;显微结构

中图分类号:Q954.5 文献标识码:A 文章编号:0250-3263(2007)06-90-06

The Central Nervous System of *Neverita didyma*: A Morphological Study

XIAN Li^① WANG Xiao-An^{①*} ZHANG Li-Li^②

(^①College of Life Science, Ludong University, Yantai 264025;

^②School of Life Science, East China Normal University, Shanghai 200062, China)

Abstract: The anatomy and microscopic structure of the central nervous system (CNS) of *Neverita didyma* are preliminarily described. The CNS includes paired cerebral ganglia, pedal ganglia, pleural ganglia and unpaired visceral ganglion. Every ganglion is composed of a surrounding sheath, a cell body region and a neuropile region. The *N. didyma* has a short commissure between the left and right cerebral ganglia as well as the left and right pedal ganglia. A short connective between cerebral-pleural, cerebral-pedal or pleural-pedal ganglia is also observed. The distribution of neurons in pedal ganglia shows zonation obviously.

Key words: *Neverita didyma*; Nervous system; Microscopic structure

对于软体动物神经系统的研究,国外有较长的研究历史,其中大蜗牛(*Helix*)^[1]、海兔(*Aplysia*)^[2]、静水椎实螺(*Lymnaea*)^[3]、褐云玛瑙螺(*Achatina fulica*)^[4,5]、枪乌贼(*Loligo*)^[6]等中枢神经系统作为细胞电生理学、细胞化学、药理学和行为学的研究的模式动物,已有较多的研究。我国在20世纪80年代以后陆续报道了脉红螺(*Rapana venosa*)^[7]、钉螺(*Oncomelania hupensis*)^[8]、中国蛤蜊(*Macra chinensis*)^[9,10]等软体动物的神经系统研究,并着重描述神经系统的大体结构和细胞类型。本实验所选的材料扁玉螺(*Neverita didyma*)属前鳃亚纲腹足目玉螺科的软体动物,生活在潮间带到浅海、沙或泥沙滩上,在全国沿海均有分布^[11,12]。目前已有关

于其消化系统组织结构及鳃的形态学研究^[13~16]。扁玉螺中枢神经较为集中且在活体中呈鲜艳的红色,明显区别于周围组织,好解剖、易观察,是进行神经生物学研究的一种理想材料,至今未见其相关的形态学研究报道。本实验观察了其神经系统的解剖和主要神经节的显微结构,以期对软体动物比较神经生物学研究提供形态学基础。

基金项目 鲁东大学研究生教育基金资助项目;

* 通讯作者, E-mail: wangxiaonan@163.com;

第一作者介绍 冼黎,女,硕士研究生;研究方向:海洋动物学; E-mail: misaiah.xian@gmail.com。

收稿日期2007-05-14,修回日期2007-09-20

1 材料与方 法

1.1 取材与切片 扁玉螺购买于烟台水产市场,实验室新鲜海水中暂养。选取壳高35 mm左右,壳宽45 mm左右的个体。去掉贝壳,解剖分离中枢神经,用Duboscq-Brasil 固定液(乙醇120 ml,蒸馏水30 ml,苦味酸1 g,37%~40%甲醛60 ml,冰醋酸15 ml;经1年熟化后使用^[17])固定,经梯度乙醇脱水,二甲苯透明,常规石蜡包埋。Leica RM2125 切片机连续切片,切片厚8 μm 。

1.2 Holmes-Best 还原银法染色^[17] 常规石蜡切片脱蜡至水。20% AgNO_3 避光孵育2~3 h;蒸馏水冲洗5 min;浸染液(0.2 ml/L 硼酸27.5 ml,0.05 ml/L 硼酸钠22.5 ml,1% AgNO_3 5~20 ml,二盐酸吡啶2~10 ml,加蒸馏水至250 ml,pH调至8.4) 37℃孵育48 h;显影液(对苯二酚3 g,无水亚硫酸钠15 g,加蒸馏水至300 ml)中反应5 min;流动的自来水冲洗5 min,2%草酸5 min,0.2% AuCl 调色5~10 min;蒸馏水漂洗1 min,2%草酸5 min;蒸馏水冲洗3 min;5%硫代硫酸钠3 min;自来水充分漂洗。常规梯度乙醇脱水,二甲苯透明后中性树胶封片^[18]。在Olympus BX51 显微镜下镜检,Olympus-DP70 拍照记录结果。

2 结 果

2.1 大体解剖 扁玉螺的中枢神经位于食道周围,主要包括一对脑神经节、一对侧神经节、一对足神经节及一个脏神经节。另有一对口球神经节和一个食道上神经节分别与脑、侧神经节相连。

口球神经节位于口球周围,通过脑口球神经连索与脑神经节相连。左、右口球神经节间通过口球神经联合相连。脑神经节一对,向前外侧发出神经与口球神经节相连,背外侧通过极短的脑侧连索与侧神经节相连。腹后侧通过脑足连索与足神经节相连,内侧通过脑联合将左右脑神经节相连。侧神经节一对,紧贴同侧脑神经节背后方,腹内侧经侧足连索与足神

经节相连,背侧近脑侧连索处通过侧脏连索与脏神经节相连。足神经节一对,前背侧通过脑足连索与脑神经节相连,外侧通过侧足连索与侧神经节相连,前、后均有神经干伸向足部肌肉层中,内侧有很短的足联合将左、右的足神经节相连。脏神经节一个,两端分别与左、右侧神经节相连,脏侧连索扭曲为“8”字形。食道上神经节一个,一端通过短的神经索与左侧神经节联系,另一端有神经分支通向食道(图1)。

2.2 显微结构 扁玉螺各神经节均由表面的神经节被膜和近表面的胞体区以及中央神经纤维网所组成。神经节被膜与神经连索、神经联合的结缔组织鞘膜相延续。神经细胞属单极神经元,集中在胞体区,还原银染色中,胞质为深棕色,胞核为黄色,核仁为棕黑色。神经元突起伸向中央纤维网区,还原银染色中多数呈浅黄色。各神经节联合及神经连索中无神经元胞体分布,其纤维着色均比中央纤维网深。

2.2.1 口球神经节 口球神经节中胞体的分布有一定的区域性,大多分布于神经节的四周,后端和内侧的神经胞体最多,前端次之,内侧最少。由胞体发出的突起向内进入中央纤维网(图版I:A、B)。口球神经节的胞体可分为大、中、小三种类型。大型细胞的胞体呈梨形,直径约为25~35 μm ,胞质染色较深,在核的附近有一空泡区域。胞核椭圆形,染色极浅,多居于胞体近突起一侧,核仁一个或多个,染色很深,居于核的中央或偏于一侧。大型细胞主要分布于口球神经节的后端和内侧。中型细胞的胞体呈卵圆形或圆形,直径在15~25 μm ,分布于神经节各胞体层中,胞质染色较深。核椭圆形,多位于胞质中央或胞体近突起一侧,染色极浅。小型细胞数量较多,混杂于神经节胞体层各部。胞体直径约10 μm 左右,胞质染色较深,胞核圆形,染色较浅,核仁一个,染色较深。

2.2.2 脑神经节 脑神经节的胞体区多位于神经节的周边区域,后端的神经元胞体最多,前端次之,外侧和内侧最少。靠近外层的神经元胞体较大,直径为30~45 μm 左右,多为圆形或卵圆形,其细胞核多位于中央部,突起较短。内

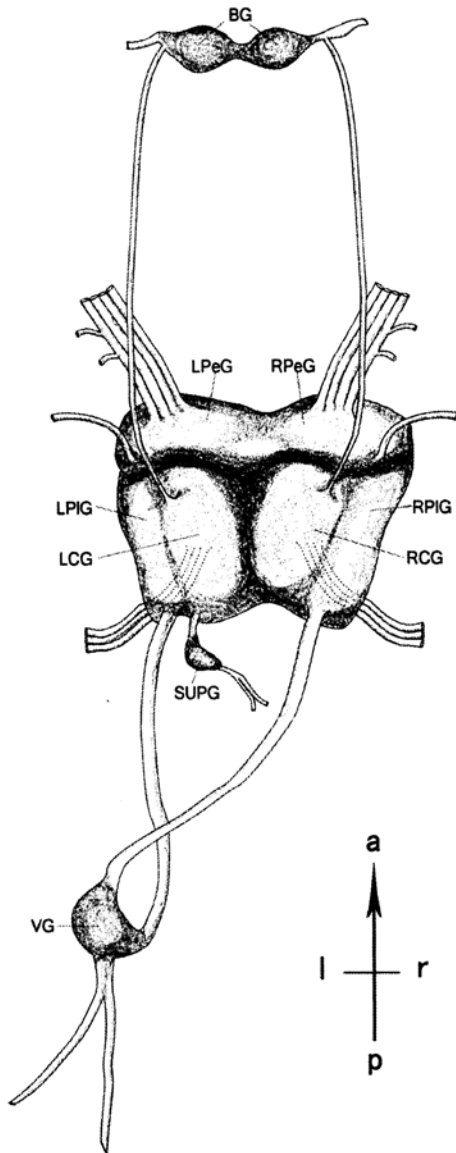


图1 扁玉螺神经系统背面观

Fig.1 Dorsal view of the nervous system of *Neverita didyma*

BG:口球神经节;LPeG:左足神经节;RPeG:右足神经节;LPeG:左侧神经节;RPeG:右侧神经节;LCG:左脑神经节;RCG:右脑神经节;VG:脏神经节;SUPG:食道神经节。

图中神经节的方位:a.前,p.后,l.左,r.右。

BG: Buccal ganglia; LPeG: Left pedal ganglion; RPeG: Right pedal ganglion; LPeG: Left pleural ganglion; RPeG: Right pleural ganglion; LCG: Left cerebral ganglion; RCG: Right cerebral ganglion; VG: Visceral ganglion; SUPG: Supraesophageal ganglion.

Orientation of the ganglia is shown by axes indicating anterior (a), posterior (p), left (l) and right (r).

层的细胞相对较小,胞体直径在20 μm 左右,多为卵圆形或梨形,其细胞核常位于突起基部,突起较长,伸向中央纤维网。在各神经的发出部位,常有成团的小细胞存在,胞体多为圆形或卵圆形,细胞核位于一侧或在细胞中央部(图版 I:C)。

2.2.3 侧神经节 侧神经节内侧胞体多为卵圆形,其细胞核常位于突起基部,突起伸向中央纤维网。内侧主要以侧足神经连索与足神经节相连,外侧部可见一相对集中的小型胞体区,胞体直径约10~20 μm (图版 I:D)。后端的胞体较少,由此发出较多的神经干。

2.2.4 脏神经节 脏神经节胞体区主要分布于神经节的前端,在靠近通向外周的神经旁还有少量神经细胞。神经细胞分布未见明显的分区现象。胞体常为梨形或卵圆形,直径约10~25 μm ,胞质染色较深。核圆形,居中或偏于一侧,染色极浅,核仁染色很深(图版 I:E)。

2.2.5 足神经节 足神经节的胞体区多位于神经节的外层,以前端及内侧神经元最多,神经细胞有明显的分区现象,常有神经节鞘膜延伸进入胞体区将其分为多个小叶(图版 I:F、G、H),胞体有明显的大小之分。大型胞体较多,直径为35~50 μm ,呈卵圆形,其细胞核位于突起发出端,核仁明显,突起伸向中央纤维网;中型胞体多为圆形,直径约为15~20 μm ,常成团分布,细胞核多位于中央部,突起较短或不明显。神经节后端及外侧细胞较少,胞体多为卵圆形,细胞核、核仁和突起的情况与位于前端的神经细胞较相似。中央纤维网区在中央偏外侧,左、右足神经节通过较短的神经联合相连(图版 I:F)。

2.2.6 食道上神经节 位于神经节表层的胞体区可分为直径40~45 μm 的大型细胞和直径约15~30 μm 的中、小型细胞。大型胞体数量较少,散布于胞体层中,多为梨形,细胞核多位于突起基部,核仁明显,突起伸向纤维网区;中、小型胞体呈圆形或卵圆形,胞质均匀,染色较深,核染色浅,核仁明显,突起不明显(图版 I:I)。

3 讨 论

还原银浸染技术在脊椎动物神经解剖学的研究中有很长的历史,但在无脊椎动物神经解剖中的应用还较少,尤其在软体动物的神经解剖学研究中还没有稳定成熟的方法。本实验尝试将昆虫神经解剖学中 Holmes-Best 还原银染色技术应用于软体动物中,同样得到了较为理想的染色效果。该法能够很好地染色显示神经细胞及其纤维,切片反差较大,背景染色很浅,能有效区分各种类型的细胞,是软体动物神经解剖学研究的一种理想染色方法。

根据本研究发现,扁玉螺的中枢神经系统集中程度较高,大体解剖中呈现高度愈合状,在显微切片上观察时,脑神经节和侧神经节也明显愈合,但从其神经细胞的分布、类型及发出神经的走向上来看,仍然可以分辨脑、侧神经节。左、右脑神经节之间以及左、右足神经节之间均有较短的连索,侧足神经节间的神经连索较短。这与前人对脉红螺的研究有一定差异,脉红螺无脑侧、脑足和侧足神经连索^[7]。

扁玉螺的足神经节非常发达,神经细胞数量多且有明显的分区分布现象,提示该神经节执行的功能比较复杂。因为扁玉螺的足除了担负运动机能以外还是其重要的捕食器官,这些都需要完善的神经调节进行支配。这与我们以前在一些植食性腹足类软体动物如嫁 (*Cellana toreuma*) 的研究结果有较大差异^[19],嫁属于植食性且运动能力较弱的种类,其中枢神经的足神经节细胞类型相对比较少,也没有明显的分区现象。

腹足类软体动物中有许多种类如蜗牛 (*H. lucorum*, *H. pomatia*)^[1]、海兔^[2]、静水椎实螺^[3]被用于神经生物学研究,而且作为比较理想的模型用于动物行为发生机制的研究^[20-21]。从扁玉螺神经系统的解剖和显微结构的研究可以看出,其中枢神经系统较为集中,胞体较大,是进行电生理研究比较理想的材料,如果进一步结合神经束路追踪技术和神经递质的定位研究,详细阐明其神经联系的通路和神经调节机理,

即有可能将其作为一种模式研究动物运用于运动、取食等行为的机理研究。

参 考 文 献

- [1] Zakharov I S, Balaban P M. Neural mechanisms of age-dependent changes in avoidance behaviour of the snail *Helix lucorum*. *Neuroscience*, 1987, **23**(2): 721 ~ 729.
- [2] Gospe J S M, Cook L L, Grutcher K A, et al. Biochemical and histochemical studies of the effect of reserpine in *Aplysia californica*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology*, 1981, **70**(2): 273 ~ 276.
- [3] Soffe S R, Benjamin P R. Morphology of two electrotonically-coupled giant neurosecretory neurons in the snail, *Lymnaea stagnalis*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 1980, **67**(1): 35 ~ 46.
- [4] Groll R P. Distribution of monoamines within the central nervous system of the juvenile pulmonate snail, *Achatina fulica*. *Brain Research*, 1988, **460**(1): 29 ~ 49.
- [5] 包美燕, 戴鸿佐. 褐云玛瑙螺中枢神经系统乙酰胆碱酯酶的分布. *解剖学杂志*, 1998, **21**(4): 321 ~ 324.
- [6] Hochner B, Shomrat T, Fiorito G. The octopus: a model for a comparative analysis of the evolution of learning and memory mechanisms. *Behav Brain*, 2006, **210**(3): 308 ~ 317.
- [7] 李国华, 程济民, 王秋雨等. 脉红螺 (*Rapana venosa*) 神经系统解剖的初步研究. *动物学报*, 1990, **36**(4): 345 ~ 351.
- [8] 金志良. 钉螺神经系统的显微解剖. *动物学报*, 1993, **39**(3): 229 ~ 238.
- [9] 王宜艳, 孙虎山. 中国蛤蜊神经系统的初步观察. *生物学通报*, 1997, **32**(4): 41 ~ 42.
- [10] 王晓安, 蒋小满. 中国蛤蜊神经系统显微结构的初步研究. *动物学杂志*, 1999, **34**(4): 6 ~ 8.
- [11] 宋鹏东, 李映溪, 王桂云等. 大连沿海无脊椎动物实习指导. 北京: 高等教育出版社, 1989, 123 ~ 124.
- [12] 姜在阶, 刘凌云. 烟台海滨无脊椎动物实习手册. 北京: 北京师范大学出版社, 1986, 226 ~ 240.
- [13] 崔龙波, 唐慧. 扁玉螺 (*Neverita didyma* Röding) 消化系统的形态学研究. *烟台大学学报(自然科学与工程版)*, 1999, **12**(2): 122 ~ 126.
- [14] 崔龙波, 唐慧. 扁玉螺 (*Neverita didyma* Röding) 消化系统的组织化学研究. *烟台大学学报(自然科学与工程版)*, 1999, **12**(4): 263 ~ 267, 308.
- [15] 崔龙波, 常国全. 扁玉螺鳃的形态学研究. *齐鲁渔业*, 1999, **16**(3): 6 ~ 9.
- [16] 刘迅, 任虹. 扁玉螺植物消化特性的初步研究. *烟台大学学报(自然科学与工程版)*, 1997, **10**(3): 199 ~ 202.
- [17] Strausfeld N J, Miller T A. *Neuroanatomical Techniques: Insect Nervous System*. New York: Springer-Verlag, 1980, 97 ~ 118.

- [18] 芮菊生,宋懋琴,陈海明等.组织切片技术.北京:高等教育出版社,1980 98~106.
- [19] 王晓安,傅更锋.螺 神经系统结构初步研究.动物学杂志,1998,33(4):11~14.
- [20] Tsyganov V V, Sakharov D A. Locomotor rhythms in the pond snail *Lymnaea stagnalis*: site of origin and neurotransmitter requirements. *Acta Biologica Hungarica*, 1999, 51(2-4):189~196.
- [21] Hernadi L E L, Hripi L, Elekes K. The possible roles of the monoaminergic system in the feeding of the snail *Helix pomatia*. *Acta Biologica Hungarica*, 1999, 51(2-4):177~188.

图 版 说 明

扁玉螺中枢神经系统 Holmes-Best 还原银染色法显微结构图

A:口球神经节水平切×133;B:口球神经节水平切×233;C:脑神经节横切×50;D:侧神经节水平切×110;E:脏神经节水平切×86;F:足神经节横切×46;G:足神经节横切×85;H:足神经节水平切×60;I:食道神经节水平切×113。

N:神经元;Np:神经纤维网;Ln:大型神经元;Mn:中型神经元;Sn:小型神经元;SnG:小细胞团;Ne:神经元分区;Pc:足联合;Gs:神经节鞘膜。

Explanation of Plate

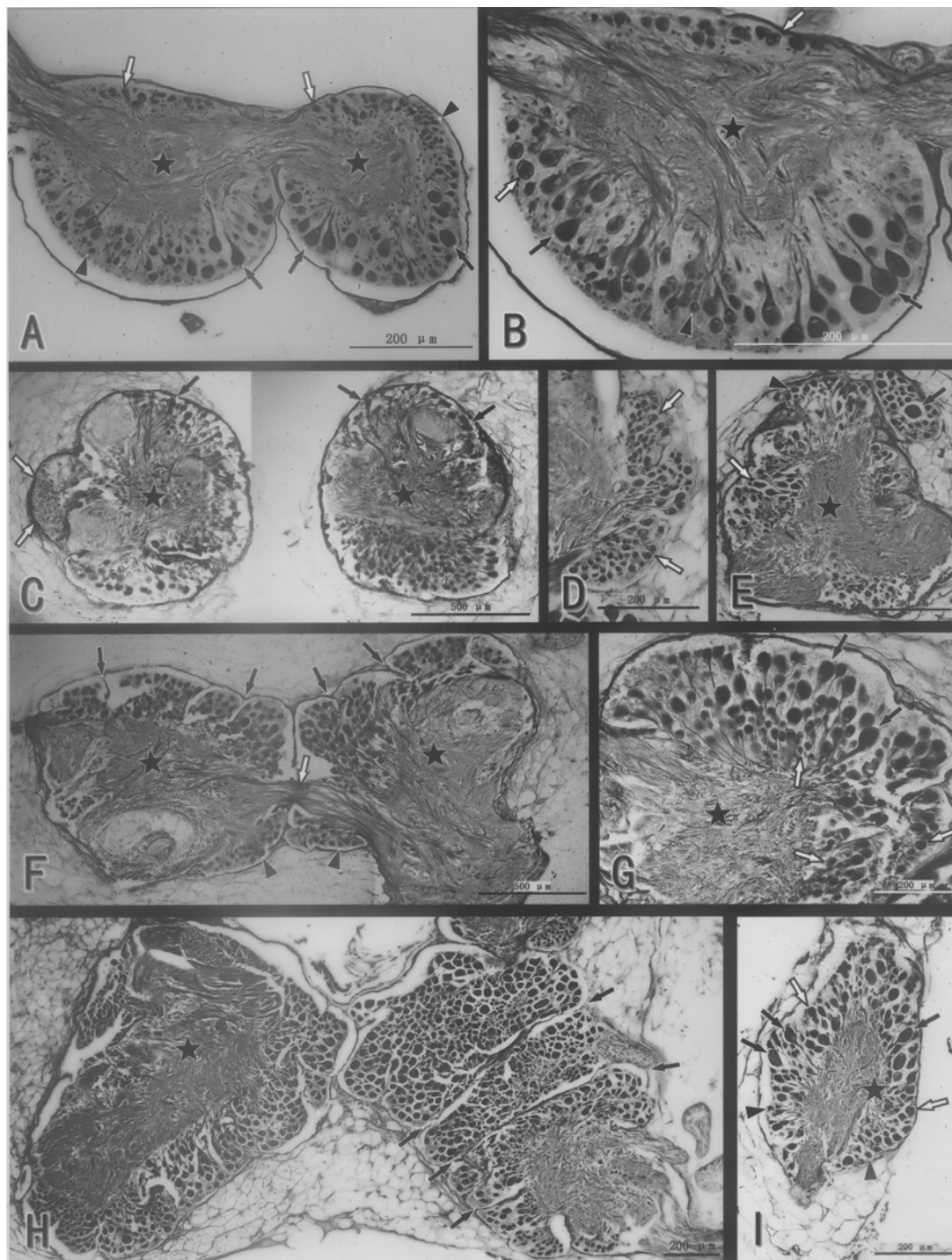
Microscopic structure of central nervous system of *Neritina didyma* stained by Holmes-Best reduced silver

A,B:Horizontal section through the buccal ganglia (A.×133,B.×233);C:Transverse section through the cerebral ganglia,×50;D:Horizontal section through the pleural ganglion,×110;E:Horizontal section through the visceral ganglion,×86;F:Transverse section through the pedal ganglia,×46;G:Magnified of transverse section through the pedal ganglion,×85;H:Horizontal section through the pedal ganglia,×60;I:Horizontal section through supraoesophageal ganglion,×113.

N:neurons;Np:neuropile;Ln:large neurons;Mn:medium-sized neurons;Sn:small neurons;SnG:small neurons groups;Ne:clusters of neurons;Pc:pedal commissure;Gs:sheath of ganglion.

洗 黎等:扁玉螺中枢神经系统解剖及显微结构观察

图版 I

XIAN Li *et al.*: The Central Nervous System of *Neverita didyma*: A Morphological Study Plate I

图版说明见文后