

冬季温度变化对钉螺一氧化氮合酶的影响

杨坤¹, 周晓农², 梁幼生¹, 洪青标¹, 张燕³, 孙乐平¹, 杨国静¹, 熊希凯³

[摘要] **目的** 了解冬季气候变暖影响钉螺生存繁殖的作用机理。**方法** 冬季采集的钉螺放入不同温度的恒温培养箱,模拟外界气候变暖。用酶组织化学技术观察不同温度下钉螺中枢神经节、雌雄生殖腺一氧化氮合酶(NOS)的变化。**结果** 中枢神经节 NOS 的含量 0℃ 组及 -4℃ 组明显高于对照组($P < 0.05$)。睾丸组织 NOS 的平均灰度值随着温度的降低呈上升的趋势, -2℃ 以下的实验组同对照组相比差异有显著性($P < 0.05$)。卵巢组织 NOS 的平均灰度值变化较为复杂,其平均灰度值呈先上升后下降,然后再上升的变化趋势。**结论** 温度变化对钉螺的生存和繁殖都产生较大的影响,生殖腺对外界温度的变化敏感度明显大于神经节。冬季温度升高会使钉螺体内的 NOS 发生变化,使其更利于生存。

[关键词] 钉螺; 血吸虫病; 气候变暖; 一氧化氮合酶; 酶组织化学

[中图分类号] R383.24 [文献标识码] A

IMPACT OF TEMPERATURE ON NITRIC OXIDE SYNTHASE OF *ONCOMELANIA HUPENSIS*

DURING WINTER Yang Kun¹, Zhou Xiaonong², Liang Yousheng¹, Hong Qingbiao¹, Zhang Yan³, Sun Leping¹, Yang Guojing¹, Xiong Xikai³ (1 Jiangsu Institute of Parasitic Diseases, Wuxi 214064, China; 2 Institute of Parasitic Diseases, Chinese Center for Disease Control and Prevention, China; 3 Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, China)

[Abstract] **Objective** To understand the mechanism of the global warming impact on survival and reproduction of *Oncomelania hupensis* during winter. **Methods** The snails collected in the winter were incubated in different temperature which simulated to the warming scenario in the winter. The changes of NOS in the centric ganglion and gonad of *Oncomelania hupensis* was observed by using the enzyme-histochemistry technology. **Results** The gray density of NOS of the centric ganglion in the 0℃ group and -4℃ group was higher than that in the control group significantly ($P < 0.05$). The gray density of NOS in testicle presented the rising trend with the drop of temperature, the density of NOS in the group in the temperature lower than -2℃ was significantly higher than that of the control group($P < 0.05$). The change of NOS density in ovary was complex with a decline trend after a rise and then rise again. **Conclusion** The change of temperature impacts the living and reproduction of snail, with a higher sensitivity of gonad than that the centric ganglion. The increase of temperature in winter influences the changes of snail NOS which is advantaged to the survival and reproduction of snails.

[Key words] *Oncomelania hupensis*; Schistosomiasis; Weather warming; NOS; Enzyme-histochemistry

This investigation received financial support from Chinese National Science Foundation (NO.300070684)

血吸虫病是我国最严重的寄生虫病之一,钉螺是日本血吸虫唯一的中间宿主,流行病学资料显示,

钉螺的分布范围与血吸虫病流行区呈高度一致,而钉螺的分布与温度、光线、雨量等自然因素密切相关,温度和光线影响钉螺的生存、繁殖。钉螺在大陆分布最北端位于江苏宝应县(北纬 33°15′),最南至广西玉林市(北纬 22°37′),分布于 1 月份平均气温 0℃ 以上的地区^[1]。某一地区的最低气温同样决定该地区的钉螺分布,周晓农等^[2]利用空间分析模型观

[基金项目] 国家自然科学基金(No.300070684)
[作者单位] 1 江苏省血吸虫病防治研究所(无锡 214064); 2 中国疾病预防控制中心寄生虫病预防控制所; 3 华中科技大学同济医学院
[作者简介] 杨坤(1976-),男,硕士。研究方向:血吸虫病流行病学

察到我国血吸虫病流行区的北界线与 1 月份平均最低温度 -4°C 等值线相吻合。越来越多的资料显示,近百年来全球平均气温在不断波动中呈逐步上升趋势,特别是 1920 年以后,全球气候明显变暖,到 1980 年代全球气温上升更为明显,全球气候变暖所引起的降雨和温度变化势必影响血吸虫病的原分布格局,早在 1990 年政府气象委员会(IPCC)预测全球气候变化可能影响媒传寄生虫病和病毒性疾病的传播^[3]。1999 年周晓农等^[4]提出了研究全球气候变暖对钉螺和血吸虫病流行影响的必要性,其中环境温度变化对于血吸虫中间宿主钉螺的影响是其研究的核心。为探讨气候变化对钉螺的影响,在实验室模拟冬季气候变化的条件下,以酶组织化学的方法对不同温度下钉螺组织 NOS 的变化进行观察。

材料与方法

1 实验钉螺

于 2001 年 12 月底采自江苏省南京市江浦长江洲滩,系湖北钉螺指名亚种,以群体逸蚴法剔除阳性钉螺,选择活动力强,7~8 旋的成螺备用。

2 钉螺饲养和样本采集

将实验钉螺,按饲养环境温度不同,随机分为 5 组,即对照组、 10°C 、 5°C 、 0°C 组和 S 组。对照组钉螺放入平均室内温度为 8°C 的实验室内, 10°C 、 5°C 、 0°C 组钉螺分别饲养于 10°C 、 5°C 、 0°C 的恒温培养箱,饲养 1 个月;S 组先放入 -1°C 的恒温培养箱饲养 1 周后,复苏去掉死亡钉螺,再调节到 -2°C ,饲养 1 周,以此类推,直至 -4°C 饲养 1 周。以上各实验组钉螺均置于方形搪瓷盘中,盘底层衬以海绵,上层铺一层粗草纸,加少量水使其半湿半干,S 组较其它实验组更为干燥一些。每组均每周定期去掉死亡钉螺。各实验组钉螺饲养 1 个月后,随机挑选活螺标本按李赋京破螺法^[5],解剖镜下去壳暴露软体,用手术刀分离头足部和雄雌生殖腺团,分别挑选无机械性损伤的组织置于含有 0.5 ml PBS 的离心管中,迅速冷冻 -30°C ,备用。S 组分别在饲养的 1、2、3、4 周解剖部分钉螺,放入 PBS 溶液中,同样 -30°C 保存,分为 S1(-1°C)、S2(-2°C)、S3(-3°C)、S4(-4°C) 实验组。

3 酶组织化学观察

3.1 切片与孵育 采用 Leica CM 1850 恒冷切片机作冷冻,软体标本置于切片机冻冷台上冻冷 10 min 后(冷冻台温度为 -20°C),作连续切片,切片厚度约 15 μm ,将切片贴于 $18\text{ mm} \times 18\text{ mm}$ 盖玻片上。置于染色缸内,按 NADPH-d 酶组织化学法显示

NOS^[6]。反应时设去除孵育液中的底物做阴性对照,以小鼠的脑或肝组织切片与钉螺切片同缸孵育染色,做阳性对照。反应完成后标本按常规方法脱水、透明、封片。

3.2 定性分析 光镜下观察组织着色反应深浅,NOS 根据着色强度在光镜下分 4 类即,强阳性(蓝黑色和紫黑色)、中度阳性(蓝色和紫色)、弱阳性(浅蓝色和浅紫色)和阴性(不着色)反应。

3.3 定量分析 各实验组随机抽取 4 张切片,每张切片选 5 个视野,采用上海复日公司 Smartscap-2002 型全自动图像分析仪测定 NOS 的平均灰度值(平均灰度值同被检成分酶含量或活性成反比),输入计算机建立数据库,进行 *F* 检验,并进行不同温度的两两比较。

结 果

1 定性

1.1 对照组 除去底物组的切片不着色,呈阴性反应。小鼠的脑或肝组织 NOS 呈强阳性反应。

1.2 NOS 反应 对照组的中枢神经节的中央纤维区为蓝黑色呈 NOS 强阳性反应,神经元胞浆着色浓密,呈蓝黑色;神经节周围胞体浅蓝色示呈弱阳性反应(图 1)。 10°C 组和 5°C 组着色无明显变化, 0°C 组及 S 组的明显着色减弱,呈中度阳性(图 2); -4°C 组(S4 组)呈弱阳性(图 3)。卵巢内的成熟卵细胞对照组的着色深,呈强阳性反应(图 4), 0°C 组着色变浅呈弱阳性(图 5),S 组 -1°C 组到 -3°C 组随着温度降低,着色反而变深(图 6),S 组的 -4°C 组的着色又明显变浅,呈弱阳性(图 7)。NOS 在对照组睾丸内的精原细胞、精细胞和成熟精子为蓝色呈中度阳性(图 8), 10°C 、 5°C 、 0°C 组着色并无明显改变,而 S 组的 -2°C 、 -3°C 、 -4°C 组的着色变浅,呈弱阳性反应(图 9,表 1)。

2 定量

钉螺不同组织图像分析结果即平均灰度值见表 2,图 10。 0°C 组和 S 组中枢神经节 NOS 的平均灰度值与对照组差异有显著性($P < 0.05$),明显高于对照组。 -4°C 组与 -3°C 组两两比较差异也有显著性。睾丸组织的 NOS 的平均灰度值随着温度的降低呈上升的趋势,但只有 S 组的 -2°C 、 -3°C 、 -4°C 组同对照组相比差异才有显著性($P < 0.05$)。 0°C 组卵巢组织的平均灰度值明显高于对照组,而 S 组的 -1°C 、 -2°C 、 -3°C 组随着温度下降其平均灰度值却明显降低,且 -2°C 、 -3°C 组的平均灰度值显著低于对照组($P < 0.05$),S 组的 -4°C 组的平均灰度值

又迅速升高,同时也显著高于对照组($P<0.05$)。

表 1 不同温度下钉螺 NOS 反应的定性观察

Table 1 The qualitative observation of NOS of Oncomelania snails in different temperature			
温度 Temperature	中枢神经节 CNS	睾丸 Testes	卵巢 Ovary
对照组 Control group	+++	++	+++
10℃组 10℃ group	+++	++	+++
5℃组 5℃ group	++(↓)	++	+++~++
0℃组 0℃ group	++(↓)	++	+(↓)
-1℃组 -1℃ group	++(↓)	++~+	+~++(↓)
-2℃组 -2℃ group	++(↓)	+(↓)	++~+++
-3℃组 -3℃ group	++~+(↓)	+(↓)	+++
-4℃组 -4℃ group	+(↓)	+(↓)	+(↓)

注: - 阴性; + 弱阳性; ++ 中度阳性; +++ 强阳性; ↓ 反应强度照下降; ↑ 反应强度上升
Note: - Negative; + Positive; ++ Middle positive; +++ Higher positive; ↓ The intensity of action decrease; ↑ The intensity of action increase

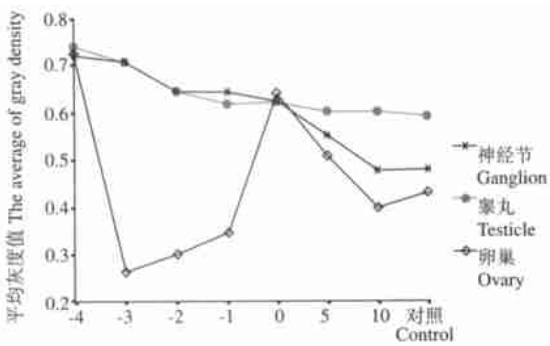


图 10 不同温度下钉螺 NOS 变化
Fig. 10 The chart of NOS in snail tissues under different temperature

注: “对照”为室温对照组(平均室内温度为 8℃)
Note: Control means control group (8℃ on average)

表 2 不同温度下钉螺组织 NOS 平均灰度值
Table 2 The mean of gray density of NOS in snail tissues under different temperature

分组 Group	一氧化氮合酶 (NOS)		
	中枢神经节 CNS	卵巢 Ovary	睾丸 Testicle
对照组 Control group	0.481 6 ± 0.047 ⁽¹⁾	0.432 7 ± 0.115 ⁽¹⁾	0.591 7 ± 0.019 ⁽¹⁾
10℃ 10℃ group	0.479 1 ± 0.070 ⁽¹⁾	0.398 8 ± 0.133 ⁽¹⁾	0.602 8 ± 0.064 ⁽¹⁾
5℃组 5℃ group	0.552 4 ± 0.084 ⁽¹⁾	0.509 8 ± 0.136 ⁽¹⁾	0.603 4 ± 0.037 ⁽¹⁾
0℃组 0℃ group	0.626 0 ± 0.081 ^(1,2)	0.640 5 ± 0.088 ^(1,2)	0.621 8 ± 0.015 ⁽¹⁾
-1℃组 -1℃ group	0.641 9 ± 0.072 ^(1,2)	0.346 1 ± 0.078 ⁽¹⁾	0.618 8 ± 0.045 ⁽¹⁾
-2℃组 -2℃ group	0.641 8 ± 0.044 ^(1,2)	0.300 1 ± 0.057 ^(1,2)	0.645 6 ± 0.040 ⁽¹⁾
-3℃组 -3℃ group	0.710 0 ± 0.090 ⁽²⁾	0.263 3 ± 0.008 ^(1,2)	0.705 7 ± 0.056 ⁽²⁾
-4℃组 -4℃ group	0.720 3 ± 0.061 ⁽²⁾	0.724 2 ± 0.012 ⁽²⁾	0.739 9 ± 0.047 ⁽²⁾
F 值 F value	34.728	60.015	20.692
P 值 P value	<0.05	<0.05	<0.05

(1) -4℃组与其它实验组两两比较。Comparison between the -4℃ group and the other group $P<0.05$. (2) 实验组与对照组比较。Comparison between the experimental group and control group $P<0.05$.

讨 论

自从 1988 年 Garthwaite^[7]提出 NO 作为一种

信息传递物质在中枢神经系统起重要作用以来,引起广大学者的极大兴趣,其在软体动物的研究也逐渐开展起来,但主要集中在中枢神经系统(CNS)研

究。NOS 是催化 NO 生物合成的唯一限速酶,该酶的活性与合成 NO 成正相关。钉螺中枢神经节的组织学结构是由纤维鞘、神经节胞体区及神经纤维网三部分组成,本实验观察 NOS 在钉螺中枢神经节中主要分布在中央纤维区,周围胞体很少,这与 Pisu MB 等^[8]用酶组织化学和免疫组织化学观察椎实螺 (*Helix aspersa*) 中的 NOS 结果相似,并认为 NO 不但参与了神经回路(nervous circuits),而且参与神经蛋白(neuroprotein)和神经肽(neuropeptide)的形成过程。本次研究显示,随着温度下降,钉螺的活动及摄食明显减少,NOS 的活性或含量下降,提示钉螺中枢神经节的 NO 不但作为神经递质,调节钉螺的活动、摄食等活动,同时还可能通过神经系统参与钉螺的新陈代谢及对外界环境的适应能力。Park JH^[9]也证明了在椎实螺(*Lymanaea stagnilis*)中 NO 同样作为突触信使和非突触信使发挥生理作用,并在软体动物的嗅觉形成、摄食等活动中占有极其重要的地位。

当温度降低到 0℃ 以下 NOS 的活性或含量下降,由于神经之间的信息传递下降,神经所支配的肌肉活动能力随之下降,同时外周神经活动也随之下降,造成机体的代谢及适应外界环境变化的能力降低,可能与最终导致钉螺死亡密切相关。与对照组相比,10℃、5℃ 组虽然有差异,但差异都无显著性,而 0℃ 组和 S 组的 NOS 的活性明显下降,且 S 组的 -1℃ 组饲养只有 1 周,说明温度降低引起钉螺的死亡不只是因为 NO 活性下降造成钉螺活动的降低,还会有其它的病理生理作用参与。同时可以看出钉螺对 0℃ 以下的外界环境更加敏感,钉螺的生存同冬季的最低气温密切相关。

钉螺的生殖腺呈季节周期性变化,外界环境改变也可引起生殖腺的变化。虽然冬季钉螺的生殖腺呈萎缩状态,但冬季环境变化如低温,仍可影响春季生殖腺的发育。梁幼生等^[10]于 11 月份在北纬 33°15' 以北的不同纬度地区设点饲养钉螺,并于次年 3 月份解剖,观察到生殖腺发育受到抑制,生殖能力下降,生殖腺的这种变化可能与生殖细胞凋亡有关。钉螺雌雄生殖细胞 NOS 的活性均高,并随着外界环境变化其活性也变化,表明 NO 直接参与钉螺生殖细胞发育与凋亡过程。睾丸 NOS 的活性随着温度降低,其活性也随之下降,提示 NO 抑制生殖细胞的凋亡。NO 抑制细胞凋亡可能与 bcl-2 (B-cell lymphoma/leukemia-2) 表达有关。bcl-2 在线粒体有大量分布,与氧化代谢有关,有抗氧自由基作用,NO 可使 bcl-2 表达大量增加,来减轻氧自由基造成的结

构破坏^[10]。

本次结果显示,当冬季温度低于 -1℃ 时,睾丸 NOS 活性明显降低,这也与我国钉螺分布于 1 月份平均气温在 0℃ 以上地区相一致。卵巢 NOS 的变化较复杂,S 组 -1℃ 组到 -3℃ 组随着温度升高其活性反而升高,-1℃ 组与 -3℃ 组仍有显著性差异,-4℃ 组其活性又迅速降低。NOS 分神经元型(neuronal NOS, nNOS)、内皮型(endothelial NOS, eNOS)和诱生型 NOS(inducible NOS, iNOS)三类,低温是否可诱导 iNOS 的表达,使机体 NO 生成过多,造成钉螺机体的损伤,有待于进一步探讨。睾丸 NOS 虽然同温度变化有相关性,但其变化程度不及卵巢明显,提示外界环境变化会对钉螺的生殖腺产生影响,卵巢对外界温度变化的敏感性可能会更高一些。

本次研究说明,冬季气温的变化对钉螺的生存和繁殖产生较大的影响,低温对生殖腺的影响明显大于神经节,生殖腺中卵巢对外界温度变化的敏感性强于睾丸。故冬季的温度升高,将可能有利于生殖腺细胞的产生、发育,使钉螺的繁殖力上升。同时,冬季温度升高也会使钉螺体内其它器官的酶活性发生变化,更有利于对外界的适应(另有发表),最终造成春季钉螺的数量及繁殖力上升。因此,全球气候变暖特别是冬季气温升高时,可能有利钉螺的生存和繁殖,促使钉螺分布区域向北扩展及密度上升(本文图 1-9 见封二)。

[参考文献]

- [1] 毛守白. 血吸虫生物学与血吸虫病防治[M]. 北京:人民卫生出版社,1990.260-328.
- [2] 周晓农,胡晓抒,孙宁生,等. 地理信息系统应用于血吸虫病的监测 II. 流行程度的预测[J]. 中国血吸虫病防治杂志,1999,11(2):66-77.
- [3] IPCC. Scientific assessment of climate change: Report to IPCC from Working Group[M]. Geneva: World Meteorological Organization & UN Environment Programme,1990.365-370.
- [4] 周晓农,杨国静,孙乐平,等. 地理信息系统在血吸虫病研究中的应用[J]. 中国血吸虫病防治杂志,1999,11(6):378-381.
- [5] 李赋京. 钉螺解剖与比较解剖[M]. 武汉:湖北人民出版社,1956.1-44.
- [6] 贾长恩,李树庚. 组织化学[M]. 北京:人民卫生出版社,2001.427-430.
- [7] Garthwaite J, Chraless SL, Chess-Williams R. Endothelium-derived relaxing factor release on activation of NMDA receptors suggests role as intracellular messenger in the brain[J]. Nature, 1988,336(6197):385-388.
- [8] Pisu MB, Comfort E, Scherini E, et al. Gastrin-cholecystokinin immunoreactivity in the central nervous system of *Helix aspersa* during rest and activity[J]. J Exp Zool, 2000,287(1):29-37.

[9] Park JH, Straub VA, O'Shea M. Anterograde signaling by nitric oxide: characterization and *in vitro* reconstitution of an identified nitrenergic synapse [J]. J Neuroscience, 1998, 18(14) :5463-5476.

[10] 梁幼生, 肖荣炜, 宋鸿煮, 等. 钉螺在不同纬度地区生存繁殖的研究[J]. 中国血吸虫病防治杂志, 1996, 8(3) :259-262.

[11] Krajewski S, Tanaka S, Takayama S, et al. Investigation of the subcellular distribution of the bcl-2 oncoprotein: residence in the nuclear envelope, endoplasmic reticulum, and outer mitochondrial membranes[J]. Cancer Res, 1993, 53(19) :4701-4714.

[收稿日期] 2003-01-14 [编辑] 黄一心

[文章编号] 1005-6661(2003) 02-0097-01

· 防治经验 ·

硼矿石粉灭螺效果观察

EFFECTS OF SNAIL CONTROL BY USING BORON ORE POWDER

阚家桂, 夏民

[中图分类号] R383.24 [文献标识码] B

硼矿石粉为南京市血吸虫病防治院新筛选出的一种杀螺药物。2001-2002 年我们对南京市鼓楼区江滩、草滩、鱼塘等有螺环境, 采用硼矿石粉进行灭螺, 现报告如下。

1 材料与方法

1.1 基本情况 鼓楼区江东街道属江滩型血吸虫病流行区, 有螺环境较复杂, 主要分布在江滩、草滩沟、渠、河埂边、菜地等处, 四季都有植被覆盖。多年来采用药物喷洒、环境改造等综合性措施灭螺, 有螺面积有所下降。但近年来, 多处环境钉螺复现, 长江洪水使江滩钉螺面积增加并向通江河道扩散, 钉螺面积难以控制。

1.2 药物来源 硼矿石粉由南京市血吸虫病防治院从西北某矿厂加工成粉剂后直接运抵灭螺区域。

1.3 方法 为了使硼矿石粉与地表钉螺充分接触, 在灭螺

前组织当地农民对有螺环境进行了必要的清场。具体做法是清除麦田、菜地的农作物, 河沟边、鱼塘边的杂草, 草滩有水处开沟沥水。通江河道两边江滩芦苇杂草丛生处, 先割草, 运出, 再用钉耙把芦苇根部的杂腐草等清理干净。采用硼矿石粉 200 g/m² 进行干粉撒药灭螺。灭螺期间, 气温在 6-20℃ 之间, 多为晴天、阴天, 无大雨, 有 2-3 h 的小雨。灭后 3 个月、6 个月观察结果。

2 结果

灭螺 3 个月后进行调查, 10 个有螺环境中 8 个环境未查到钉螺, 2 个环境查到少量活螺。经过硼矿石粉 200 g/m² 复灭 1 次。6 个月后, 对上述 10 个有螺环境又进行了调查, 未发现活螺。不同环境钉螺死亡率见表 1。

表 1 硼矿石粉灭螺不同环境钉螺死亡率

环境类型	灭螺面积(m ²)	活螺平均密度(只/框)	3 个月死亡率(%)	6 个月死亡率(%)
省木材公司江滩	1 200	0.8	100(41/41)	100(29/29)
市木材公司江滩	800	1.1	94.6(35/37)	100(21/21)
电化厂外江滩	780	0.9	100(20/20)	100(9/9)
油库码头江滩	1 020	1.1	95.7(22/23)	100(11/11)
黑水桥草滩	840	0.6	100(9/9)	100(10/10)
解放闸草滩	630	0.7	100(18/18)	100(16/16)
三队鱼塘周边	480	0.4	100(7/7)	100(5/5)
丁家鱼塘周边	530	0.6	100(13/13)	100(8/8)
鱼塘边菜地	500	0.6	100(18/18)	100(7/7)
鱼塘边长沟	870	0.4	100(11/11)	100(7/7)

3 讨论与小结

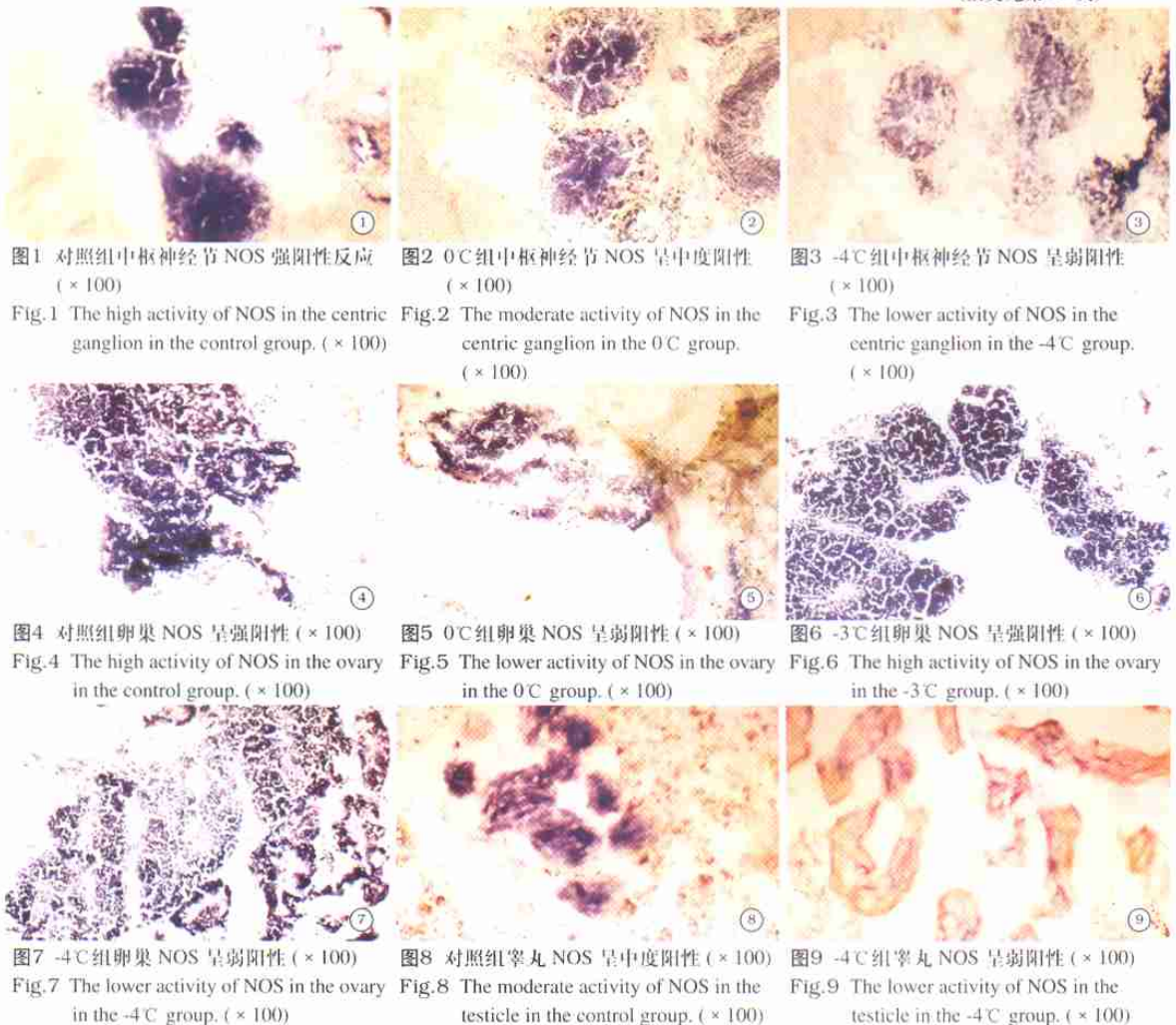
2001-2002 年 2 次灭螺结果表明, 硼矿石粉对钉螺有较好的杀灭作用, 且鱼塘等环境灭螺时未发现鱼、蚌死亡, 在使用硼矿石粉灭螺时进行开沟沥水, 清理环境可提高灭螺效果, 日晒对硼矿石粉无影响, 但大雨会冲走药物, 影响灭螺效果。因此, 用药前应注意天气预报, 最好能保证撒药时有 5 d 左右的阴、晴天。

该药粉无气味, 对皮肤、粘膜无刺激性, 对植物的生长影响较小, 作为灭螺药物易被当地群众接受。在对复杂环境和常年流水处等有螺环境撒药时, 应增加用药量。硼矿石粉灭螺后 3 个月和 6 个月要观察 1 次灭螺效果, 如有活螺可复灭 1 次。

硼矿石粉系粉剂, 保管和使用都很方便。只需手撒药粉, 不需要任何机械设备, 这就大大节约了灭螺经费的开支。灭螺时不需要水源, 这为缺少水源地区的药物灭螺提供了一种新的方法。

冬季温度变化对钉螺一氧化氮合酶的影响 IMPACT OF TEMPERATURE ON NITRIC OXIDE SYNTHASE OF ONCOMELANIA HUPENSIS DURING WINTER

(正文见第 93 页)



Fura-2/AM 荧光法测定日本血吸虫培养细胞内游离钙离子浓度 DETERMINATION OF INTERCELLULAR FREE Ca^{2+} CONCENTRATION IN THE CULTURED CELLS FROM *SCHISTOSOMA JAPONICUM* BY USING FURA-2/AM

(正文见第 139 页)



图1 Fura-2 负载后日本血吸虫培养细胞内的绿色荧光 (460×)
Fig.1 Green fluorescence of Fura-2 loading cultured cells from *S. japonicum*. (460×)