

医学软体动物标本制作技术的探讨

张仪, 周晓农, 刘和香

【提要】 目的 建立医学软体动物的标本制作技术, 用于科学研究、教学与卫生宣传教育。方法 采集医学软体动物, 分别用软体浸制法、螺壳干制法制作标本。结果 用规范的方法制作成的标本, 符合生物学研究要求。干壳标本螺壳完整, 色泽保持原样, 无异味, 可以永久保存。软体浸制法制作的标本个体分开, 软体完整, 各软体结构部分易于解剖分离, 长久保存质量保证。结论 建立了能用于分类、分子生物学及形态学等研究, 而且可长久保存的软体浸制法、螺壳干制法标本制作规范。

【关键词】 标本; 制作; 医学软体动物

中图分类号: Q959.21

文献标识码: A

Exploration on Specimen Preparation for Medical Mollusks

ZHANG Yi, ZHOU Xiao-nong, LIU He-xiang

(National Institute of Parasitic Diseases, Chinese Center for Disease Control and Prevention, WHO Collaborating Centre for Malaria, Schistosomiasis and Filariasis, Shanghai 200025, China)

【Abstract】 **Objective** To establish techniques to prepare the specimens of the medical mollusks for the purpose of scientific research, teaching and public education. **Methods** After collection of the mollusks samples, the shell specimens and soft body specimens were prepared in accordance with the standard of making dried specimens and immersed specimens, separately. **Results** All of specimens prepared based on the method described in the paper meet the basic requirements of the specimens to be used in biological research. The shells and softbody can be preserved for longer time base on the standard of making dried specimens and immersed specimens. Shells are integrated, its colour are hold and no peculiar smell. The softbody can be separated. The structures of softbody can be used for anatomized. **Conclusion** The specimen prepared by the standard criteria not only can be used for research purpose on molecular biology and morphology, but also can be preserved permanently.

【Key words】 Specimen; Preparation; Medical mollusk

Supported by the Natural Resource Platform Project from Ministry of Science and Technology (No. 2004DKA30480; 2005DKA21104)

可传播寄生虫病的软体动物称为“医学软体动物”^[1]。螺传播的寄生虫病流行病学调查、动植物检疫或野外调查时, 均离不开对医学软体动物的调查。医学软体动物的采集与标本制作, 是研究工作的基本环节之一, 在寄生虫病流行病学研究、科学防治和教学等工作中十分重要。规范制作的医学软体动物标本可长期保存, 用途广泛, 而且是鉴别寄生虫种类等的重要手段。作者等在多年的实践中, 总结了一套医学软体动物的制作方法。

材料与方法

1 医学软体动物采集范围

基金项目: 科技部自然资源平台项目(No.2004DKA30480;2005DKA21104)
作者单位: 中国疾病预防控制中心寄生虫病预防控制所, 卫生部寄生虫病原与媒介生物学重点实验室, 上海 200025

据统计, 世界上传播疾病的重要软体动物约有 96 种(亚种), 其中 95%以上是淡水螺。目前我国已知能传播寄生虫病的软体动物有 89 种(亚种), 分属于软体动物门 2 纲 20 种 37 属, 其中 88%为淡水贝类^[1,2]。因此, 我国医学软体动物的采集主要集中于淡水贝类。

2 采集前的准备工作

在去采集地之前, 首先查阅相关资料, 并从多方面了解相关情况(如水系、植被、土壤、地形等)。然后, 根据不同的生态环境, 选择采集点, 拟定出调查计划, 并结合实际情况随时修改。

3 采集用具与相关试剂

采集工具: 一般包括手提采集箱、拖网、小型器材等。采集用的小型器材包括大小不等的广口瓶(塑

料瓶为好) 或纸袋、镊子、剪刀、标签、H 型铅笔、线绳、纱布、棉花、塑料袋、标本记录本、温湿度计、pH 试纸、海拔仪、数码相机和便携式 GPS 仪等。化学试剂: 包括乙醇 (70% 或 75%)、甲醛、包氏液、硫酸镁、薄荷、多聚己醛、硼砂、苏打等^[3,4]。

4 采集方法

4.1 单个采集法 确定好合适的地点后, 搜寻陆地、水沟(渠)、水(池)塘等处的泥表面、草丛中、树干内侧或背面、岩石底下的软体动物, 戴手套直接检获或用镊子逐个捡获。检获后, 按大小分别作好标记, 放入广口瓶或纸袋中, 保存在采集箱内, 带回实验室处理^[5]。

4.2 水面打捞法 确定具体地点后, 用长柄网在水中或水面的水草上打捞, 去除杂草等废物, 挑出软体动物后, 作好标记, 保存在采集箱内, 待带回实验室处理、鉴定^[6]。

4.3 水底拖网法 确定地点, 乘船把三角拖网或渔民用的小型渔具抛入水底, 让船缓慢拖行, 刮取水底的软体动物。拖一定距离后拉网, 分离网中的标本, 做好标记, 保存在采集箱内, 带回实验室处理、鉴定^[6]。

5 采集记录

随时记录采集标本的相关内容, 主要包括标本编号、采集日期、地点、标本种名、标本土名、标本色泽、采集地水温、气温、水深、海拔、水 pH 值、采集地环境类型、植被等信息, 绘制采集地环境图, 标注采集者姓名。若有摄影条件, 可保存相关生态环境图像信息。

采集记录需放入标本管内, 同时也需在标本管外写明。特别注意在干制螺壳标本管内也需要放入小的标签, 以免标本管外标签遗失或腐蚀后, 造成混淆。

6 标本处理

用小毛刷或毛笔轻轻刷洗从现场采集来的标本, 清洗干净后放入标本瓶(广口瓶)内, 进行麻醉。麻醉方法如下。

6.1 闷杀法 将标本置于盛满水的瓶中盖紧, 使之慢慢窒息而伸展身体。

6.2 化学试剂麻醉法 将装有标本的容器置于光线稍暗的地方, 加入少量硫酸镁(薄荷或多聚己醛等药品)进行麻醉, 避免震动。

7 标本制作

7.1 浸制标本制作

7.1.1 一般浸制标本制作 小型浸制标本制作: 取经麻醉而伸展后的软体动物, 放入容器中以 70%~75% 乙醇固定。小型或幼螺可直接装入较小的玻璃管内, 放入 70%~75% 乙醇, 1~2 d 后, 把玻璃管中的 70%~75% 乙醇倒去, 换入新的等体积 70%~75% 乙醇, 连续 3 次换 70%~75% 乙醇后, 装满 70%~75% 乙醇, 用凡士林密封瓶盖, 即可长期保存。注意最后放入标本瓶(广口瓶)内标本量不超过其总容量的 2/3, 另外, 每半年必须检查一次瓶内乙醇, 乙醇挥发或液面下降, 要及时补充, 以保证标本瓶内至少有 2/3 乙醇或乙醇必须浸没标本。每个标本瓶内需有用 H 型铅笔书写的标签, 标签的规格根据标本瓶的大小而定。

较大型浸制标本制作: 取经麻醉而伸展后的软体动物, 先用浓度 5%~7% 甲醛溶液进行浸泡固定后, 按小型浸制标本操作步骤进行。

无壳标本制作: 取经麻醉而伸展后的无壳标本(如蛞蝓), 先测量并记录活体大小, 其他操作步骤同小型浸制标本。

7.1.2 特殊用途浸制标本制作 用于软体切片浸制标本制作: 取经麻醉而伸展后的软体动物, 放入包氏液固定或直接放入 -20 °C 保存。然后按切片标本制作方法制作成玻片标本或直接进行冷冻切片。

用于分子生物学研究浸制标本制作: 取经麻醉而伸展后的软体动物, 放入 70% 乙醇或 100% 甲醛保存, 或将活螺直接放入 -20 °C 保存。大型的有壳类软体动物, 用止血钳等轻压螺壳, 使之有缝隙, 然后放入 70% 乙醇或 100% 甲醛保存。其他操作步骤同小型浸制标本。

7.2 干制标本制作

7.2.1 单壳类标本制作 煮沸法: 将采集到的单壳软体动物, 放入容器中, 用沸水煮 10~15 min, 然后, 用解剖针挑出软体部分将空壳内外洗净、阴干。按壳体积大小放入不同的玻璃指管、纸盒等容器中。将标签放入容器内一起保存。最后放入标本柜内, 在每个柜子外面标有卡片, 按采集地点或环境分类存放。有厣的软体动物须将厣与贝壳一起保存。一般可用棉花填入空壳内, 再将厣贴附在壳口处。

腐烂法: 采自现场螺壳完整已死的软体动物, 用解剖针挑出其软体, 清洗螺壳内外, 阴干。以后步骤同煮沸法。

乙醇固定法: 将采集到的单壳软体动物, 用上述闷杀法或化学麻醉法处理后, 用解剖针直接挑出软体, 70%~75% 乙醇固定 24 h 后, 取出风干。其他步骤同煮沸法。

7.2.2 双壳类标本制作 将采集到的双壳软体动物放在室内,待其两壳张开后,取出软体。在壳干之前(如已干,需浸在水内使之湿润)将两壳合在一起,用线缠好,4 d 后再把线去掉,保存。其他步骤同煮沸法。

8 标本保存

标本制作完成后按分类阶元的标准分门别类存放。浸制标本与干制标本分别存放于不同的标本柜内。小型同类浸制标本在放入装有 70%~75% 的乙醇的指管后,可再放入装有 70%~75% 乙醇、大小适宜

的广口瓶中,以免乙醇过早挥发。干制标本放入大小不同的玻璃指管、纸盒等容器中后,将标签一起放入容器内保存。标本鉴定后按分类阶元的标准分门别类放入标本柜内。每个标本柜外面需标有卡片,以便查找。同时,应注意防潮防蛀。有条件者,在建立实物标本库时,同时建立数字化标本库。

结 果

按上述方法,累计制作各类标本近十多万份(表 1),制作的标本采集记录完整、便于用作参比,也可长久保存,并能符合生物学各项研究要求。

表 1 制作完成的标本名录
Table 1 Preserved specimens on medical mollusks

中文名称 Chinese name	拉丁文名称 Latin name	产地 Locality	保存类型 Types
湖北钉螺湖北亚种	<i>Oncomelania hupensis hupensis</i>	中国各地 China	干壳、浸制、低温 Shell, immersed, low temperature
湖北钉螺滇川亚种	<i>O.h.robertsoni</i>	中国 China	干壳、浸制、低温 Shell, immersed, low tem.
湖北钉螺福建亚种	<i>O.h.tangi</i>	中国 China	干壳、浸制、低温 Shell, immersed, low tem.
湖北钉螺邱氏亚种	<i>O.h.chiui</i>	中国台湾 Taiwan	干壳 Shell
湖北钉螺台湾亚种	<i>O.h.formosana</i>	中国台湾 Taiwan	干壳 Shell
湖北钉螺片山亚种	<i>O.h.nosophora</i>	日本 Japan	干壳、浸制、低温 Shell, immersed, low tem.
湖北钉螺林杜亚种*	<i>O.h.lindoensis*</i>	印度尼西亚 Indonesia	干壳 Shell
湖北钉螺夸氏亚种	<i>O.h.quadrasi</i>	菲律宾 Philippines	干壳 Shell
微小钉螺	<i>O.minima</i>	日本 Japan	干壳 Shell
开放拟钉螺 (γ 株)	<i>Tricola aperta (gamma race)</i>	老挝 Laos	干壳 Shell
开放拟钉螺 (β 株)	<i>Tricola aperta (beta race)</i>	泰国 Thailand	干壳 Shell
开放拟钉螺 (α 株)	<i>Tricola aperta (alpha race)</i>	泰国 Thailand	干壳 Shell
泥泞拟钉螺	<i>Tricola humida</i>	中国云南 Yunnan	干壳 Shell
格式拟钉螺	<i>Tricola gregoriana</i>	中国云南 Yunnan	干壳 Shell
布氏拟钉螺	<i>Tricola burchi</i>	泰国 Thailand	干壳 Shell
伯氏拟钉螺	<i>Tricola bollingi</i>	中国云南 Yunnan	干壳 Shell
山拟钉螺*	<i>Tricola montana*</i>	印度 India	干壳 Shell
长角涵螺	<i>Alocinma longicornis</i>	中国 China	干壳、浸制 Shell, immersed
赤豆螺	<i>Bithynia fuchsiana</i>	中国 China	干壳 Shell
湖北小豆螺	<i>Bithinella hupensis</i>	中国湖北 Hubei	干壳 Shell
纹沼螺	<i>Parafossarulus striatulus</i>	中国广东 Guangdong	干壳、浸制 Shell, immersed
放逸短沟蜷	<i>Semisulcospira libertina</i>	中国 China	干壳、浸制 Shell, immersed
方格短沟蜷	<i>Semisulcospira cancellata</i>	中国 China	干壳 Shell
瘤拟黑螺	<i>Melanoides tuberculata</i>	中国 China	干壳 Shell
尖口圆扁螺	<i>Hippeutis cantori</i>	中国 China	干壳 Shell
半球隔扁螺	<i>Segmentina hemisphaerula</i>	中国 China	干壳 Shell
隔扁螺	<i>Segmentina coenosus</i>	中国 China	干壳 Shell
凸旋螺	<i>Guraulaus convexiusculus</i>	中国 China	干壳 Shell
光滑双脐螺	<i>Biomphalaria glabrata</i>	美洲 American	干壳 Shell
波氏双脐螺	<i>Biomphalaria boissyi</i>	美洲 American	干壳 Shell
藁杆双脐螺	<i>Biomphalaria straminea</i>	中国广东 Guangdong	干壳 Shell
藁杆双脐螺	<i>Biomphalaria straminea</i>	香港 Hong Kong	干壳 Shell
福氏小泡螺	<i>Bulinus forskalii</i>	索马里 Somali	干壳 Shell
福氏小泡螺	<i>Bulinus forskalii</i>	埃及 Egypt	干壳 Shell
阿比西尼亚小泡螺	<i>Bulinus abyssinicus</i>	索马里 Somali	干壳 Shell
儒氏小泡螺	<i>Bulinus jousseaumei</i>	赞比亚 Zambia	干壳 Shell
耳萝卜螺	<i>Radix auricularia</i>	中国 China	干壳 Shell
小土蜗	<i>Galba perversa</i>	中国 China	干壳 Shell
景洪狭口螺*	<i>Stenothyra jinghongensis*</i>	中国云南 Yunnan	干壳 Shell
德氏狭口螺	<i>Stenothyra divaldis</i>	中国云南 Yunnan	干壳 Shell
竹拟钉螺*	<i>Tricola bambooenis*</i>	中国云南 Yunnan	干壳 Shell
吕氏拟钉螺*	<i>Tricola ludonghini*</i>	中国云南 Yunnan	干壳 Shell

表 1 制作完成的标本名录 (续)
Table 1 Preserved specimens on medical mollusks (Contiune)

中文名称 Chinese name	拉丁文名称 Latin name	产地 Locality	保存类型 Types
蝴蝶泉拟钉螺*	<i>Tricola hudiequanensis</i> *	中国云南 Yunnan	干壳 Shell
先锋拟钉螺*	<i>Tricola xianfengensis</i> *	中国云南 Yunnan	干壳 Shell
小龙门拟钉螺*	<i>Tricola xiaolongmenensis</i> *	中国云南 Yunnan	干壳 Shell
亚历山大双脐螺	<i>Biomphalaria alexandrina</i>	埃及 Egypt	干壳 Shell
菲氏双脐螺	<i>Biomphalaria pfeifferi</i>	赞比亚 Zambia	干壳 Shell
苏丹双脐螺	<i>Biomphalaria sudanica</i>	乌干达 Uganda	干壳 Shell
热带小泡螺	<i>Bulinus tropicus</i>	赞比亚 Zambia	干壳 Shell
球形小泡螺	<i>Bulinus globosus</i>	尼日利亚 Nigeria	干壳 Shell
纳苏小泡螺	<i>Bulinus nasutus</i>	肯尼亚 Kenya	干壳 Shell
截形小泡螺	<i>Bulinus truncatus</i>	埃及 Egypt	干壳 Shell
开放仿雕石螺 (α 株)	<i>Lithoglyphopsis</i> (alpha race)	中国 China	干壳 Shell
福寿螺	<i>Ampullariidae gigas</i>	中国各地 China	干壳、浸制、低温 Shell, immersed, low tem.
褐云玛瑙螺	<i>Achatina fulica</i>	中国各地 China	干壳、浸制 Shell, immersed
大沼螺	<i>Parafossarulus eximius</i>	中国 China	干壳 Shell
静水椎实螺	<i>Lymnaea stagnalis</i>	中国 China	干壳 Shell
铜锈环棱螺	<i>Bellamyia aeruginosa</i>	中国各地 China	干壳、浸制 Shell, immersed
绘环棱螺	<i>Bellamyialimnophila</i>	中国各地 China	干壳 Shell
方形环棱螺	<i>Bellamyia quadrata</i>	中国 China	干壳 Shell
梨形环棱螺	<i>Bellamyia purificata</i>	中国河南 Henan	干壳 Shell
中国圆田螺	<i>Cipangopaludina chinensis</i>	中国各地 China	干壳、浸制 Shell, immersed
滇池德拉维螺*	<i>Delawaya dianchiensis</i> *	中国云南 Yunnan	干壳 Shell
庞氏窄圆假拟锥螺	<i>Pseudobuliminus (Stenogyropsis) potanini</i>	中国甘肃 Gansu	干壳 Shell
龙骨射带蜗牛	<i>Laocathaica tropidoraphe</i>	中国甘肃 Gansu	干壳 Shell
尖山巴蜗牛	<i>Bradybaena (Bradybaena) jianshanensis</i>	中国甘肃 Gansu	干壳 Shell
同型巴蜗牛	<i>Bradybaena (Bradybaena) similaris</i>	中国广西 Guangxi	干壳、浸制 Shell, immersed
条华蜗牛	<i>Cathaica fasciola</i>	中国甘肃 Gansu	干壳、浸制 Shell, immersed
灰巴蜗牛	<i>Bradybaena ravida</i>	中国甘肃 Gansu	干壳 Shell
华金丝螺	<i>Serina cathaicus</i>	中国甘肃 Gansu	干壳 Shell
塔形环棱螺	<i>Bellamyia turritus</i>	中国 China	干壳 Shell
多棱角螺	<i>Angalyagra polyzonata</i>	中国 China	干壳 Shell
坚环棱螺	<i>Bellamyia lapillorum</i>	中国 China	干壳 Shell
球圆田螺	<i>Cipangopaludina ampulliformis</i>	中国 China	干壳 Shell
克氏龙骨螺	<i>Fenouilia kreitneri</i>	中国云南 Yunnan	干壳 Shell
卡坡罗伯特斯螺*	<i>Robertiella kaporensis</i> *	马来西亚 Malaysia	干壳 Shell
吉斯马罗伯特斯螺*	<i>Robertiella gismanni</i> *	马来西亚 Malaysia	干壳 Shell
黄蛞蝓	<i>Limax flavus</i>	中国江苏 Jiangsu	浸制 Immersed
高突足壁蛞蝓	<i>Vaginulus alte Ferussac</i>	中国广东 Guangdong	浸制 Immersed
双线嗜粘液蛞蝓	<i>Phiolomyces bilineatus</i>	中国贵州、海南 Guizhou	浸制 Immersed
网纹颈蛞蝓	<i>Deroceras aleamum</i>	中国陕西 Shaanxi	浸制 Immersed

注: * 为模式标本。 Note: * Mean Types.

1 浸制软体动物标本

保存的各类浸制标本个体分开, 各部分结构完整, 适宜于解剖、对比与分类鉴定。

浸制标本已用于多项课题的分子生物学实验研究, 研究表明 75%乙醇保存的标本可以用于提取 DNA 等分子材料, 获得的分子材料稳定可靠。

制作的用于软体动物冰冻切片及石蜡切片的标本, 其切片时无螺碎块干扰刀口, 结果可靠、效果满意。

2 干制软体动物螺壳标本

制作完成的干制标本, 螺壳颜色维持原样, 色彩饱满, 螺壳完整, 无异味, 便于观察对比。螺壳标本现已用于媒介标本馆的展示、分类研究和各种健康宣传教育等。

讨 论

软体动物的数量在动物界占据第 2^[1]。目前已确定的医学软体动物数量虽不多, 但随着全球气候变暖、交通的便利、社会的发展, 人类流动频率、人畜

(下转第 61 页)

染色步骤完成后应立即进行脱水、透明和封片操作。脱水是用脱水剂将组织内的水分脱尽,以利于组织的透明和制片保存。染色后的标本必须经脱水制片后才能长期保存。在脱水时应逐步进行,否则会引起组织强烈收缩而变形,影响观察效果。卡红染色过程中,如果水分不能完全脱尽,在封片时会使中性树胶变得混浊,不利于观察。标本经脱水等程序后体内仍可能存在一些杂质,会影响光线的透入,不利于观察,必须放置于透明剂中增加透光度。常用的透明剂大都是具有挥发性而不能与水互溶的油类。封片是标本制作的最后一道工序。目的在于使标本能永久的保存,并且便于在显微镜下观察。在封片时所滴加的中性树胶的量十分重要,过量则影响美观,不足则无法使标本与外界空气隔绝,缩短标本的保存寿命。滴加树胶时应先将树胶滴在标本的一侧,然后将盖片从树胶的一侧轻轻盖上,直至完全将标本封在其内。标本经封片后可防止与空气接触,避免被氧化而脱色以及受潮、干裂和损坏。更为重要的是,封片后的标本显得更为充实,其折光率和玻片折光相近,从而可获得更佳的镜检效果。

(上接第 57 页)

接触机会增多等诸多因素,传染病和新发传染病出现的机会增加,对其研究也会日益增多。因此在研究中,规范制作、保存各类标本,必将对科学研究有着重要意义。

血吸虫病的深入研究带动了血吸虫中间宿主钉螺的研究。全国开展了大量的钉螺调查,各地相关单位也保存了一些标本,但保存的标本质量存在问题,或腐烂、或霉变、或不完整,或浪费标本资源,尤其对一些已经消灭种类的标本、对一些稀有的种类由于标本制作、保存方法不当,失去了使用价值。本文提供的制作、保存标本方法则可保证质量,以达到各类科学研究的要求。

从制作保存标本的经验看,医学软体动物螺壳标本比浸制标本易于展示和进行初步的种类比较研究。因此,建议按以上操作规程进行,特别注意绝不能用甲醛溶液长期保存螺壳标本^[4],因甲醛溶液含游离酸,长期浸泡会侵蚀贝壳,使壳表面受损,失去标本应有的价值。长期保存的浸制标本,建议用 70%~75%乙醇保存。同时注意标本瓶瓶盖密封和定时增加

参 考 文 献

- [1] Wu HY. To discuss the quality of experiment course by improving the method of staining protoscolex [J]. J Qinghai Med College, 1997, 4: 226. (in Chinese)
(武海燕. 从改进原头蚴标本染色方法浅谈实验课的教学质量[J]. 青海医学院学报, 1997, 4: 226.)
- [2] Du NS. The Method of Making Invertebrate Glass Slide Preparation[M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1961. 36-81. (in Chinese)
(堵南山. 无脊椎动物玻片标本制作法[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1961. 36-81.)
- [3] Xiao FP. To compared the times of staining trematode preserved for different period by carmine[J]. Chin J Veter Sci Technol, 2002, 32: 41-41. (in Chinese)
(肖芳萍. 不同保存期吸虫标本胭脂红染色时间的比较[J]. 中国兽医科技, 2002, 32: 41-41.)
- [4] Zhou XN. Science on *Oncomelania* Snail[M]. Beijing: Science Press, 2005. 24-25. (in Chinese)
(周晓农. 实用钉螺学[M]. 北京: 科学出版社, 2005. 24-25.)
- [5] Chen PH, Kong DF, Li HZ, et al. The Experimental Technique of Human Parasitology[M]. Beijing: Scientific Publishers, 1988. 9-17. (in Chinese)
(陈佩惠, 孔德芳, 李惠珠, 等. 人体寄生虫学实验技术[M]. 北京: 科学出版社, 1988. 9-17.)

(收稿日期: 2006-11-10 编辑: 盛慧锋)

保存溶液。

参 考 文 献

- [1] Liu YY, Zhang WZ, Wang YX. Medical Malacology[M]. Qingdao: Ocean Press, 1993. 131-136. (in Chinese)
(刘月英, 张文珍, 王耀先, 主编. 医学贝类学[M]. 青岛: 海洋出版社, 1993. 131-136.)
- [2] Malek ET, Chang TC. Medical and Economic Malacology[M]. New York and London: Academy Press, 1974. 1-383.
- [3] Xiao F. Preparation on wildlife[M]. Beijing: Science Press, 2003. 228-239. (in Chinese)
(肖方, 主编. 野生动植物标本制作[M]. 北京: 科学出版社, 2003. 228-239.)
- [4] Zhou XN. Science on *Oncomelania* Snail[M]. Beijing: Science Press, 2005. 24-27. (in Chinese)
(周晓农, 主编. 实用钉螺学[M]. 北京: 科学出版社, 2005. 24-27.)
- [5] Chen DN, Zhang GQ. Collection, preservation on land and freshwater molluscs and pudendum, radula and jaw preparation[J]. Plant Quarantine, 1996, 30: 78-81. (in Chinese)
(陈德牛, 张国庆. 陆生和淡水贝类标本的采集、保存及其外生殖器、齿舌和颚片的制作方法[J]. 植物检疫, 1996, 30: 78-81.)
- [6] Wu M. Collection, feeding and sample preparation on land molluscs[J]. Bull Biol, 2002, 37: 61-62. (in Chinese)
(吴岷. 陆生贝类的采集饲养及标本准备[J]. 生物学通报, 2002, 37: 61-62.)

(收稿日期: 2006-11-10 编辑: 富秀兰)