

双雄性交配器官大口涡虫的首次发现

王磊 林逸涛 辛帆 冯伟涛 汪安泰*

深圳大学生命与海洋科学学院, 深圳市海洋生物资源与生态环境重点实验室 深圳 518060

摘要: 大口涡虫属所有物种均为雌雄同体, 具一套交配器官。作者于 2015 年在广东省的两处淡水环境, 首次发现 2 个具有双雄性交配器官的大口涡虫 (*Macrostomum* sp.) 标本。通过对活体、整装片、连续组织切片的显微镜观测, 发现 2 只标本的两套交配器官呈左右排列; 每套交配器官具备完整的假储精囊、储精囊、颗粒囊与交配刺; 假储精囊与储精囊内具有精子; 雄孔分别为 1 个与 2 个; 交配刺的结构与中国已经记录的物种都不相同。本研究对其做了较为详细的描述, 并初步探讨了大口涡虫多交配器官发生的原因。

关键词: 涡虫; 大口涡虫属; 交配器官; 畸形; 形态学

中图分类号: Q954.52 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263 (2017) 03-423-08

The First Discovery of *Macrostomum* spp. with Duplicated Male Copulatory Organs

WANG Lei LIN Yi-Tao XIN Fan FENG Wei-Tao WANG An-Tai*

Shenzhen Key Laboratory of Marine Bioresources and Eco-environmental Science, College of Life Sciences and Oceanography, Shenzhen University, Shenzhen 518060, China

Abstract: All the species of *Macrostomum* are hermaphrodite and have only one set of male copulatory organs. In this study, the authors found two specimens of *Macrostomum* (deformed *Macrostomum* sp. 1 and deformed *Macrostomum* sp. 2) which have duplicated male copulatory organs in the freshwater environment for the first time in Guangdong Province in 2015. With the observation of living bodies, dyed specimen and whole body sections (Fig. 1, Fig. 2), we found that their two sets of copulatory organs arrange in a left-to-right-hand sequence. Each set of copulatory organs has an intact false vesicula seminalis, vesicula seminalis, vesicula granulorum and penis stylet. The false vesicula seminalis and vesicula seminalis contain numerous spermatozoa. And they have one and two male gonopores, respectively. In addition, these four penis stylets' structures are different from those of the species of *Macrostomum* that have been recorded in China. In this paper, morphology of these two specimens are described in details (Table 1) and the reasons why these

基金项目 广东省“大学生创新创业训练计划”项目 (No. 201710590041, 201710590043), 2017 年广东省大学生科技创新培育专项资金 (攀登计划) 项目 (No. pdjh2017a0429);

* 通讯作者, E-mail: wang118@szu.edu.cn;

第一作者介绍 王磊, 男, 本科生; 研究方向: 动物多样性; E-mail: 2904984353@qq.com。

收稿日期: 2016-09-29, 修回日期: 2017-01-18 DOI: 10.13859/j.cjz.201703008

phenomena happened are briefly discussed.

Key words: Flatworm; *Macrostomum*; Copulatory organs; Malformation; Morphology

大口涡虫隶属扁形动物门 (Platyhelminthes) 被杆体纲 (Rhabditophora) 大口虫目 (Macrostomida) 大口虫科 (Macrostomidae) 大口涡虫属 (*Macrostomum*), 在淡水、咸淡水和海水中广泛分布, 营自由生活, 雌雄同体, 繁殖快, 是探索低等两侧对称动物生殖机理、发育生物学、基因功能等生物问题的理想材料 (Ladurner et al. 2005)。

大口涡虫身体扁平透明, 其交配刺形态学特征是分类鉴定最为传统与重要的依据 (Rieger 1977, Ladurner et al. 2005)。21 世纪以来, 随着生物技术的发展, 对于大口涡虫的研究逐渐深入并受到重视 (Pfister et al. 2007, Higuchi et al. 2008)。2007 年, 全球的大口涡虫研究者汇聚比利时布鲁塞尔大学, 成立了世界大口涡虫学会, 每年召开一次学术交流会议, 遗憾的是没有中国学者与会。目前全球已记录大口涡虫约 200 种 (<http://macrostomorpha.info/>)。中国学者记录的大口涡虫起始于 1934 年 (Tu 1934), 之后时隔整整 70 年才记录第 2 个物种 (汪安泰等 2004)。迄今, 共记录大口涡虫 12 种 (Tu 1934, 汪安泰等 2004a, b, 汪安泰 2005, 赵鹏飞等 2011, Sun et al. 2015, Fang et al. 2016)。

作者于 2015 年在广东两处淡水环境分别发现一例具 2 套雄性交配器官的畸形大口涡虫个体, 并对其做了形态学观测、描述与分析。

1 材料与方 法

参照 Sun 等 (2015) 方法进行水样采集, 体视显微镜下分离涡虫。整装片: 涡虫清洗后, 置于载玻片上, 滤纸吸干载玻片上水分, 6% 乙醇麻醉, Bouin 固定液 (按照涡虫组织特性, 将原配方调整为, 苦味酸饱和溶液与甲醛与冰醋酸体积比为 68 : 25 : 7) 固定, 盖玻片轻压虫体, 15 min 后, 更换新固定液固定 4 ~ 12 h,

高纯水换洗多次, 至虫体无黄色, H.E 染色, 二甲苯透明, 中性树胶封片。连续切片: 清洗与麻醉同整装片。固定 24 h, 高纯水换洗数次, 常规乙醇脱水、二甲苯透明、浸蜡 1.5 ~ 3 h, 包埋后连续水平切片, 切片厚 6 μm 。摊片烤片后, H.E 染色, 二甲苯透明, 中性树胶封片。Olympus BX51 微分干涉显微镜下观测标本, Olympus DP72 数码相机拍照, DP 2-BSW 专业软件测量。Adobe Photoshop CS 5 编辑数码图片, 并绘制生物图。

2 结 果

2.1 畸形大口涡虫 1 (deformed *Macrostomum* sp. 1, DM 1)

DM 1 标本: PLA-Ma ~ D1 (扁形动物门-大口涡虫属 ~ 畸形个体 1), 连续水平切。活体标本于 2015 年 10 月采集于广东省惠州市东江支流中凤眼莲 (*Eichhornia* sp.) 的根系 (23°9'1"N, 114°22'26"E), 水温 26°C。采集人王磊。标本保存于中国科学院国家动物博物馆。

形态描述 (图 1a ~ i, 表 1)

虫体呈扁平长条形, 无色素, 自由伸展时体长 2 200 μm , 宽 350 μm 。虫体表皮密布杆状体, 全身被纤毛。全身稀疏分布有感觉毛, 每簇 1 ~ 3 根, 长 15 ~ 16 μm 。虫体前端呈扁平状, 前缘附有单根分布的半刚性触毛, 长 6 ~ 12 μm 。眼点位于虫体的前 1/8 处, 离吻端 270 μm , 呈肾形 (图 1d), 眼间距 58 μm 。咽纵裂, 位于眼点后方, 呈长椭圆形, 口裂长 312 μm 。咽腺环绕于咽的腹侧。咽后连接消化道, 大小随其内容物的量而变化。尾端呈圆弧形, 其尾端腹侧具粘附腺体。

雌性生殖器官由卵巢、输卵管和雌腔组成。卵巢一对, 位于消化道 1/2 两侧腹面, 长 317 μm , 宽 110 μm 。卵巢后端连接输卵管, 输卵管连接雌腔, 雌腔位于虫体后 1/4 处的消化道后方。

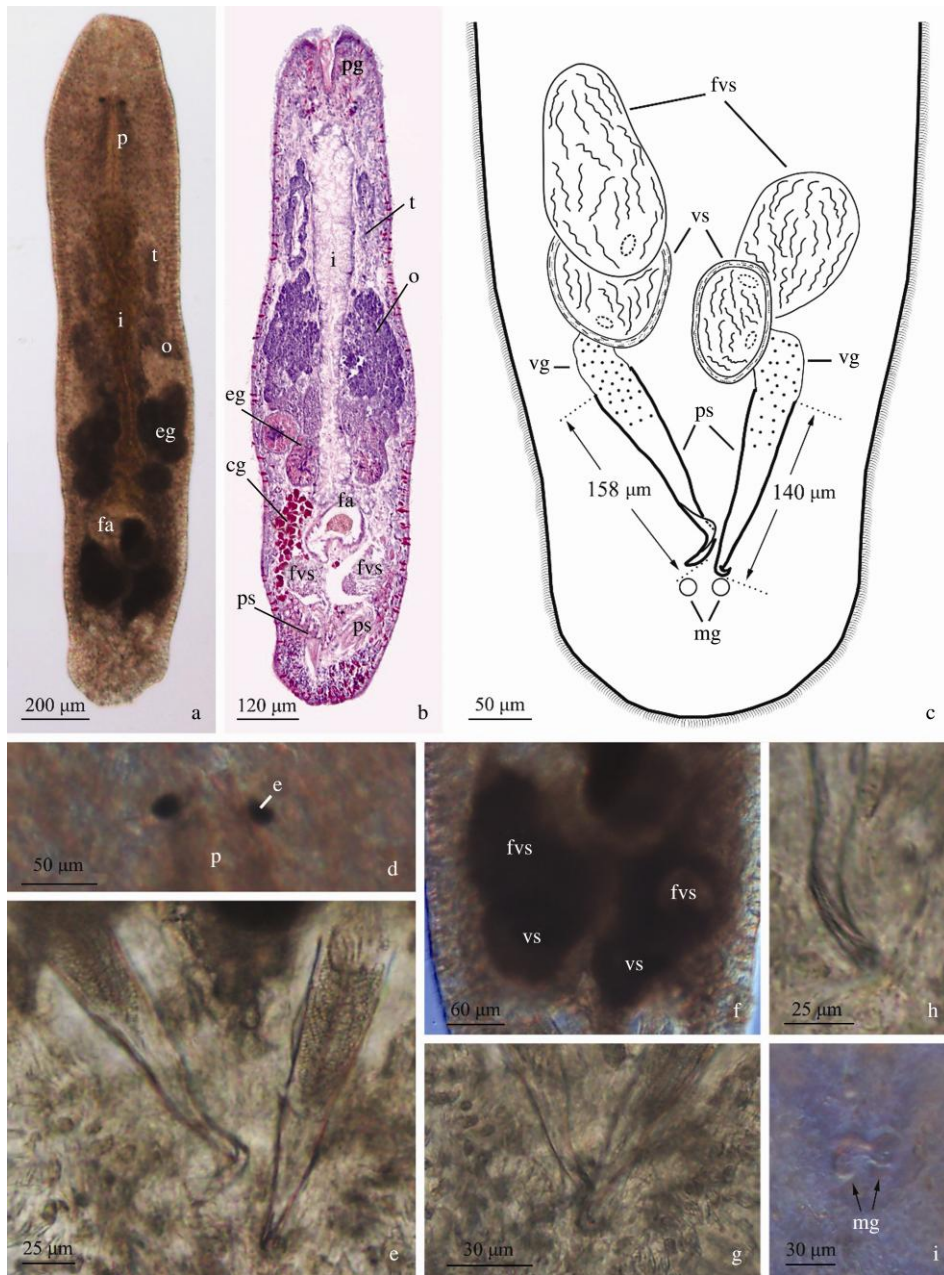


图 1 畸形大口涡虫 1 标本 (腹面观)

Fig. 1 Deformed *Macrostomum* sp. 1 (ventral view)

a. 活体; b. 水平切片; c. 雄性交配器官模式图; d. 眼点; e. 一对交配刺; f. 一对假储精囊和储精囊; g. 交配刺末端; h. 右侧交配刺的薄膜; i. 两个雄孔。

a. Living body; b. Horizontal whole body section; c. Mode pattern of the male copulatory organs; d. Eyes; e. A pair of penis stylets; f. A pair of false vesicula seminalis and vesicula seminalis; g. The distal tip of these two penis stylets; h. Thin film of the right-hand penis stylet; i. Two male gonopores.

cg. 卵壳腺; e. 眼点; eg. 卵; fa. 雌腔; fvs. 假储精囊; i. 消化道; mg. 雄孔; o. 卵巢; p. 咽; pg. 咽腺; ps. 交配刺; t. 精巢; vg. 颗粒囊; vs. 储精囊。

cg. Cement gland; e. Eyes; eg. Egg; fa. Female antrum; fvs. False vesicula seminalis; i. Intestine; mg. Male gonopore; o. Ovary; p. Pharynx; pg. Pharynx gland; ps. Penis stylet; t. Testes; vg. Vesicula granulorum; vs. Vesicula seminalis.

雌腔外围有密集的卵壳腺。雌孔开口于雌腔腹侧。

雄性生殖器官包括精巢、输精管、假储精囊、储精囊、颗粒囊和交配刺（图 1c）。精巢一对，位于消化道前 1/3 处的两侧，呈长椭圆形，长 293 μm ，宽 85 μm 。精巢后方连接输精管。虫体拥有 2 套交配器官，位于雌腔后方，呈左右分布。每套交配器官由假储精囊、储精囊、颗粒囊和交配刺组成。右侧假储精囊呈近椭圆形，储精囊紧密排列于假储精囊后方背面，近似圆球形，假储精囊后方背面连接颗粒囊。颗粒囊与交配刺相连接，大部分深入交配刺腔。角质阴茎整体呈钩状，长 210 μm ，直线长 158 μm 。基部直径 37 μm ，中部直径 22 μm ，前 1/2 附有肌肉质层。交配刺从基部至末端逐渐缩窄，远端 1/5 处呈 110° 弯曲，曲部具翼膜（图 1h）。左侧假储精囊呈椭圆形，右后方腹面

连接椭圆形的储精囊。储精囊后方左侧背面连接颗粒囊。交配刺整体呈锥形，长 155 μm ，直线长 140 μm 。基部直径 36 μm ，中部直径 26 μm 。从基部到末端直径逐渐变窄，交配刺远端呈钩状弯曲，曲部呈半圆状。两根交配刺分别指向一侧雄孔。

2.2 畸形大口涡虫 2 (deformed *Macrostomum* sp. 2, DM 2)

DM 2 标本: PLA-Ma ~ D2 (扁形动物门-大口涡虫属 ~ 畸形个体 2)，整装片，活体标本于 2015 年 3 月采集于肇庆市七星岩景区下方水池的黑藻 (*Hydrilla verticillata*) 上 (23°04'33"N, 112°28'43"E)，水温 23°C。采集人林逸涛。标本保存于中国科学院国家动物博物馆。

形态描述 (图 2a ~ g, 表 1)

虫体扁平，无色素，游动个体长 1 400 μm ，

表 1 畸形大口涡虫 1 和 2 标本主要形态特征对比

Table 1 Comparison of main morphological characteristics between DM 1 and DM 2

主要形态特征 Main morphological characteristics	畸形大口涡虫 1 DM 1 Deformed <i>Macrostomum</i> sp. 1	畸形大口涡虫 2 DM 2 Deformed <i>Macrostomum</i> sp. 2
体长 Body length (μm)	2 200	1 400
体宽 Body width (μm)	350	300
眼点距吻端距离 Distance from eyes to head (μm)	270	226
精巢长 Length of testes (μm)	293	238
精巢宽 width of testes (μm)	85	58
卵巢长 Length of ovary (μm)	317	142
卵巢宽 width of ovary (μm)	110	70
右侧交配刺全长 Right-hand stylet length (μm)	210	124
左侧交配刺全长 left-hand stylet length (μm)	155	162
右侧交配刺最长直线距离 The longest straight distance from basal stylet to distal stylet right-hand (μm)	158	85
左侧交配刺最长直线距离 The longest straight distance from basal stylet to distal stylet left-hand (μm)	140	142
右侧交配刺基部直径 Diameter of basal stylet right-hand (μm)	37	25
左侧交配刺基部直径 Diameter of basal stylet left-hand (μm)	36	29
雄孔直径 Diameter of male gonopore (μm)	17	15
雄孔数量 (个) The number of male gonopore	2	1

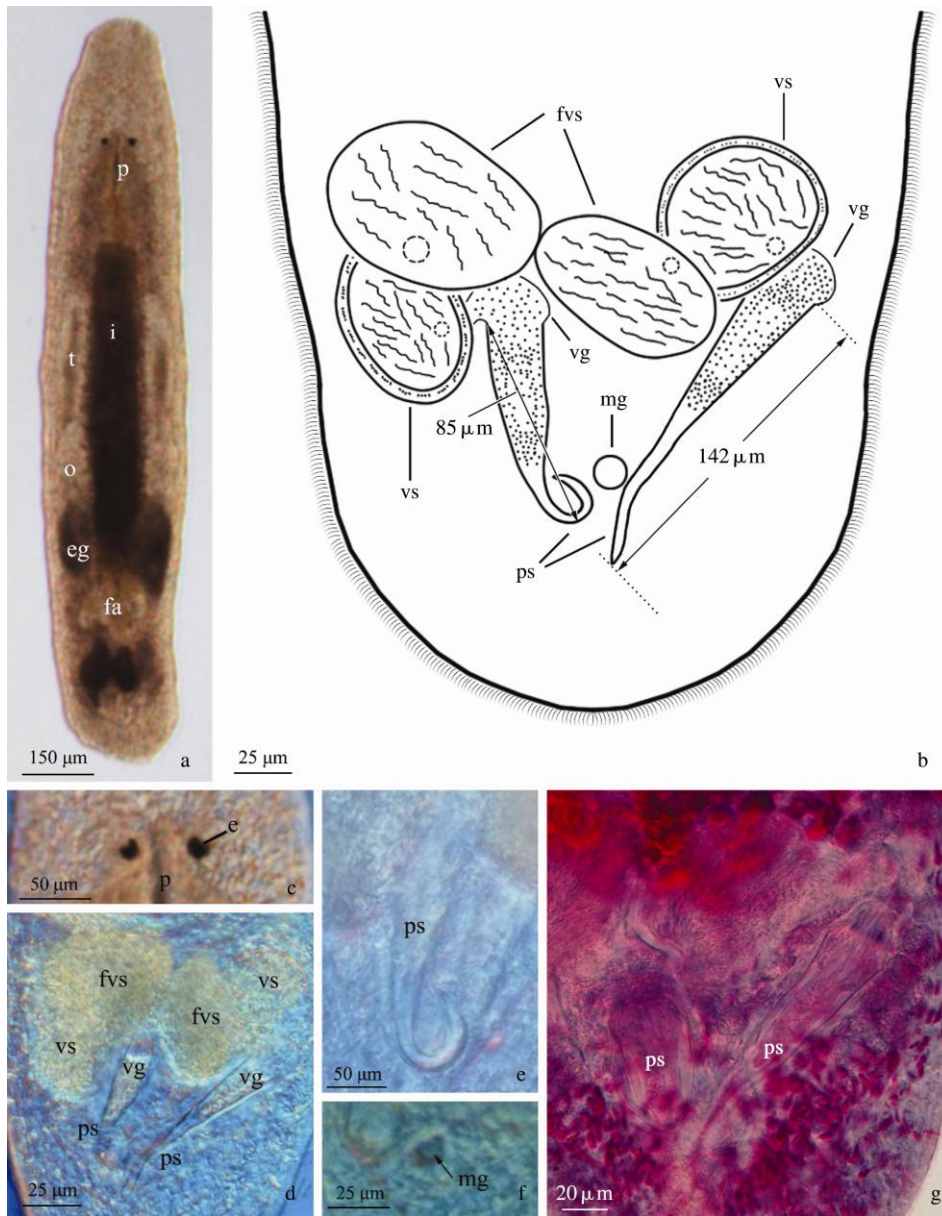


图 2 畸形大口涡虫 2 标本（腹面观）

Fig. 2 Deformed *Macrostomum* sp. 2 (ventral view)

a. 活体; b. 雄性交配器官模式图; c. 眼点; d~e. 交配器官; f. 雄孔; g. 整装片标本尾部（示 2 根雄性交配刺）。

a. Living body; b. Mode pattern of the male copulatory organs; c. Eyes; d~e. Copulatory organs; f. Male gonopore; g. The posterior end of the dyed body (showing 2 penis stylets).

e. 眼点; eg. 卵; fa. 雌腔; fvs. 假储精囊; i. 消化道; mg. 雄孔; o. 卵巢; p. 咽; ps. 交配刺; t. 精巢; vg. 颗粒囊; vs. 储精囊。

e. Eyes; eg. Egg; fa. Female antrum; fvs. False vesicula seminalis; i. Intestine; mg. Male gonopore; o. Ovary; p. Pharynx; ps. Penis stylet; t. Testes;

vg. Vesicula granulorum; vs. Vesicula seminalis.

宽 300 μm 。虫体体表密布杆状体, 全身被纤毛。体缘稀疏排列有感觉毛, 每簇 1~3 根, 长 9~18 μm 。虫体前端呈长弧形, 头前缘和尾后缘分布有半刚性触毛, 长 9~14 μm 。眼点呈肾形(图 2c), 距吻端 226 μm , 眼间距 50 μm 。咽纵裂, 位于眼点后方, 口裂长 170 μm , 咽腹面两侧有丰富的咽腺。消化道连接于咽后, 其两端窄, 中间宽, 长 690 μm , 最宽为 130 μm 。虫体尾端呈圆弧形, 有丰富的粘附腺体。

雌性生殖器官包括卵巢、输卵管和雌腔。卵巢位于消化道 1/2 两侧腹面, 长 142 μm , 宽 70 μm 。卵巢和雌腔通过输卵管相连。雌腔位于身体后 1/4 处, 消化道后方, 周围有大量卵壳腺。雌孔开口于雌腔腹侧。

雄性生殖器官(图 2b)中的一对精巢位于消化道 1/2 两侧, 呈长椭圆形, 长 238 μm , 宽 58 μm 。2 套交配器官位于雌腔后方, 呈左右排列, 分别由假储精囊、储精囊、颗粒囊和交配刺构成。右侧假储精囊呈椭圆形, 后方背面连接储精囊。储精囊左侧为颗粒囊, 颗粒囊大部分深入交配刺腔。位于右边的交配刺整体呈钩状, 长 124 μm , 直线长 85 μm , 基部直径 25 μm 。交配刺远端 1/3 处弯曲。左侧假储精囊在近背侧连接储精囊, 2 者均为椭圆形, 前后排列。颗粒囊位于储精囊后方, 大部分深入交配刺腔。左侧交配刺长 162 μm , 直线长 142 μm , 基部直径 29 μm , 至全刺 3/4 处逐渐变小至 6 μm 。交配刺远端 1/4 处向左弯曲, 形成 150° 的夹角, 刺末端为一斜切口。左右两根交配刺指向中间同一雄孔。

3 讨论

3.1 畸形体大口涡虫的形成原因

大口涡虫在淡水、咸淡水和海水中广泛分布。全球已知的大口涡虫属物种近 200 种, 具有共同的生殖结构: 具有精巢一对、输精管一对, 假储精囊、储精囊、颗粒囊、交配刺以及雄孔均为单个; 且交配刺的形态特征是大口涡虫属物种鉴定最为重要的依据 (Rieger 1977,

Ladurner et al. 2005)。近来发现其精子形态也是分类性状之一 (Schärer et al. 2011)。

本文发现的 2 个大口涡虫个体, 其雄性交配器官的假储精囊、储精囊、颗粒囊和交配刺均为 2 个; DM 1 具有两个雄孔, 而 DM 2 有一个雄孔。

本文两畸形个体的 4 根交配刺形态上各不相同, 其中 DM 1 右侧的钩状交配刺的形态与 *M. saifunicum* (Nasonov 1929) 较为相似, DM 2 左侧的交配刺与 *M. longituba* (Papi 1953) 相似。其余两个刺未找到与它们形态相似的已记录物种, 它们或许属于未被发现的自然界物种, 如属实, 则 DM 1 和 DM 2 可能是异种杂交的产物。这个推理还有待后续实验的验证。

2004~2016 年作者曾多次在不同地点采集水样, 仅发现 2 只畸形个体, 概率极小, 因此这种畸形体或许是基因突变的结果。基因突变多与外界因素有关, DM 1 采集于惠州东江支流水中, 其岸边堆弃了大量的生活垃圾, 多个排污口向水中排放污水, 整个水体浑浊, 水面上漂浮着大量的凤眼莲。有研究指出, 凤眼莲的爆发与工农业以及生活污水的排放污染有关 (Sinkala et al. 2002), 也可以作为一个地区重金属污染的指示植物 (Ajmal et al. 1985, Pfeiffer et al. 1986)。DM 2 发现于肇庆七星岩景区下方水池, 周围有一些污水排入其中, 水体稍浑浊。综合两个采集地的生态环境, 或许是水体中的某些污染因素导致个体发生基因突变, 从而产生了两套雄性交配器官。

由于采集到的标本都仅有一个, 无法进行分子系统学分析, 上述推理有待后续验证。

3.2 中国的大口涡虫属物种与分布情况

中国在世界动物地理区划分中属于东洋界 (Oriental) 和古北界 (Palearctic), 两界的分界线以喜马拉雅山脉及其以东的秦岭山脉为主。中国学者最早于北京清华大学发现的间大口涡虫 (*M. intermedium*) (Tu 1934) 位于古北界; 管大口涡虫 (*M. tuba*) (汪安泰等 2004a) 和帆大口涡虫 (*M. saifunicum*) (赵鹏飞等 2011)

全世界广泛分布; 厦门大口涡虫 (*M. xiamensis*) (汪安泰等 2004b), 中国大口涡虫 (*M. sinensis*)、针大口涡虫 (*M. acus*)、钝大口涡虫 (*M. obtusa*) (汪安泰 2005), 异尾大口涡虫 (*M. bicaudatum*)、河源大口涡虫 (*M. heyuanensis*)、东源大口涡虫 (*M. dongyuanensis*) (Sun et al. 2015), 珠江大口涡虫 (*M. zhujiangensis*)、宝安大口涡虫 (*M. baoanensis*) (Fang et al. 2016) 均分布在东洋界的水域中, 但局限于华南地区。

3.3 中国的大口涡虫属物种的生境

大口涡虫属于原始的三胚层动物, 在淡水、咸淡水和海水中广泛分布, 其体型微小, 对水体污染较为敏感。中国学者记录的大口涡虫中, 珠江大口涡虫和宝安大口涡虫 (Fang et al. 2016), 分别发现于咸淡水的鱼塘和人工湖中, 其余 10 种大口涡虫均分布于淡水的溪流、池塘和湖泊等地。作者十余年的野外涡虫采集发现, 一些地方的水体未受有毒化学物质污染或受污染程度很小, 大口涡虫属物种多样性较为丰富。在一些污染较为严重的水体中, 大口涡虫属物种单一或绝迹。

3.4 展望

随着中国经济的快速发展, 水环境污染日渐严重, 适于大口涡虫生活的环境越来越少。作者近十年的野外采集发现, 一些涡虫物种在一些淡水水域已经灭绝。至 2016 年底, 中国的大口涡虫记录 12 种, 占全球的 6%, 而中国的大口涡虫研究起步较晚 (全球将近 200 年), 且中国地域辽阔, 气候和地理条件多样, 应存在更多大口涡虫物种。因此, 保护水环境, 加快中国涡虫多样性研究, 还需政府的重视和更多学者的参与。

致谢 深圳大学生命科学学院生物科学专业本科 2014 级鲍思全和周靖同学在野外采集中给予帮助, 2013 级方楚玉同学协助进行相关实验, 在此一并致谢!

参 考 文 献

Ajmal M, Khan M A, Nomani A. 1985. Distribution of heavy metals

in plants and fish of the Yamuna river (India). *Environmental Monitoring & Assessment*, 5(4): 361–367.

Fang C Y, Wang L, Zhang Y, et al. 2016. Two new species of brackish-water *Macrostromum* (Platyhelminthes, Macrostromida) from southern China. *Zootaxa*, 4170(2): 298–310.

Higuchi S, Macke M. 2008. Cost-benefit analysis for the optimal rehabilitation of deteriorating structures. *Structural Safety*, 30(4): 291–306.

Ladurner P, Schärer L, Salvenmoser W, et al. 2005. A new model organism among the lower Bilateria and the use of digital microscopy in taxonomy of meiobenthic Platyhelminthes: *Macrostromum lignano*, n. sp. (Rhabditophora, Macrostromorpha). *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 43(2): 114–126.

Nasonov N V. 1929. Zur Fauna der Turbellaria Rhabdocoelida der Japanischen Süßwasserbecken. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences de l'URSS*, 18: 423–428.

Papi F. 1953. Beiträge zur Kenntnis der Macrostromiden (Turbellarien). *Acta Zoologica Fennica*, 78: 1–32.

Pfeiffer W C, Fiszman M, Malm O, et al. 1986. Heavy metal pollution in the Paraíba do sul River, Brazil. *Science of the Total Environment*, 58(1/2): 73–79.

Pfister D, Mulder K D, Philipp I, et al. 2007. The exceptional stem cell system of *Macrostromum lignano*: Screening for gene expression and studying cell proliferation by hydroxyurea treatment and irradiation. *Frontiers in Zoology*, 4(1): 9.

Rieger R M. 1977. The relationship of character variability and morphological complexity in copulatory structures of Turbellaria-Macrostromida and -Haplopharyngida. *Mikrofauna Meeresboden*, 61: 197–216.

Schärer L, Littlewood D T, Waeschenbach A, et al. 2011. Mating behavior and the evolution of sperm design. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(4): 1490–1495.

Sinkala T, Mwase E T, Mwala M. 2002. Control of aquatic weeds through pollutant reduction and weed utilization: a weed management approach in the lower Kafue River of Zambia. *Physics & Chemistry of the Earth Parts A/b/c*, 27(11/22): 983–991.

- Sun T, Zhang L, Wang A T, et al. 2015. Three new species of freshwater *Macrostomum* (Platyhelminthes, Macrostomida) from southern China. *Zootaxa*, 4012(1): 120–134.
- Tu T J. 1934. Notes on some Turbellarians from the Tsing Hua Campus. *The Science Reports of National Tsing Hua University Series B: Biological and Psychological Science*, 1: 191–206.
- 汪安泰. 2005. 中国大口涡虫属三新种 (扁形动物门, 大口虫目, 大口虫科). *动物分类学报*, 30(4): 714–720.
- 汪安泰, 胡好远, 罗振国. 2004a. 管大口涡虫生物学特性的观察. *动物学杂志*, 39(4): 55–58.
- 汪安泰, 罗振国. 2004b. 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*, 29(4): 700–703.
- 赵鹏飞, 罗慧琳, 汪安泰. 2011. 大口涡虫属中国一新纪录 (扁形动物门, 大口虫目) 及其分类性状. *四川动物*, 30(1): 39–44.