

学校编码: 10384

分类号\_\_\_\_\_密级\_\_\_\_\_

学号: 20120051403121

UDC \_\_\_\_\_

厦门大学

博士学位论文

自由生活线虫发育的研究及寄生吸虫  
幼虫期的观察

Study on the Development of Free Living Nematodes and  
Observe on the Parasitic Larval Trematodes

王逸难

指导教师姓名: 唐崇惕 教授

专业名称: 动物学

论文提交日期: 2008年11月16日

论文答辩日期: 2008年12月24日

学位授予日期: 2009年 月 日

答辩委员会主席: \_\_\_\_\_

评阅人: \_\_\_\_\_

2008年11月

## 厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为( )课题(组)的研究成果,获得( )课题(组)经费或实验室的资助,在( )实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名):

年 月 日

## 厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

1. 经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，  
于 年 月 日解密，解密后适用上述授权。

2. 不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

年 月 日

# 目 录

摘 要 .....	1
ABSTRACT .....	3
第一部分 三种自由生活线虫的发育研究 .....	5
前 言 .....	5
材料和方法 .....	13
1. 材料 .....	13
2 实验方法 .....	15
3. DE MAN 公式常用测量项目及符号 .....	17
工作结果 .....	19
1. 三种线虫的种类观察 .....	19
1. 1 小杆科 (Rhabditidae Oerley, 1880) .....	19
1. 1. 1 小杆线虫属 ( <i>Rhabditis</i> Dujardin, 1845) .....	19
1. 1. 2 离唇属 ( <i>Distolabrellus</i> Anderson, 1983) .....	23
1. 2 头叶科 (Cephalobidae (Filipjev, 1934), Chitwood & Chitwood, 1934) .....	30
1. 2. 1 拟丽突属 ( <i>Acrobelloides</i> (Gobb, 1924), Thorne, 1937) .....	30
2. 三种线虫的发育 .....	35
2. 1. <i>Rhabditis</i> sp. 的发育 .....	35
2. 1. 1 <i>Rhabditis</i> sp. 未交配雌虫与有交配雌虫的对比 .....	35
2. 1. 2 <i>Rhabditis</i> sp. 有交配雌虫的虫卵发育 .....	35
2. 2. 厦门离唇属线虫新种 <i>Distolabrellus xiamenensis</i> n. sp. 的发育 .....	50
2. 2. 1 <i>Distolabrellus xiamenensis</i> n. sp. 未交配雌虫与有交配雌虫的对比 .....	50
2. 2. 2 <i>Distolabrellus xiamenensis</i> n. sp. 有交配雌虫的虫卵发育 .....	51
2. 3. <i>Acrobelloides</i> sp. 的发育 .....	64
3. 三种线虫 SSU rDNA 序列的比对分析 .....	72
3. 1. 三种线虫的 SSU rDNA 序列测序结果 .....	72
3. 2. <i>Acrobelloides</i> sp. 与头叶科其他三种线虫的 SSU rDNA 序列比对 .....	81
讨 论 .....	90
1. 三种线虫生殖方式的对比 .....	90
2 三种线虫生殖系统形态结构的比较 .....	91
3. 三种线虫胚胎发育的比较 .....	91
4. 三种线虫童虫生殖系统发育的比较 .....	93
5. 对三种线虫 SSU rDNA 序列的相关讨论 .....	94
第二部分 寄生吸虫无性生殖世代幼虫期的观察 .....	95
前 言 .....	95
材料与方法 .....	96
工 作 结 果 .....	97
1. 汉寿目平湖钉螺感染吸虫幼虫期种类的情况 .....	97

---

2. 汉寿目平湖鲶鱼感染外睾类吸虫的情况.....	97
3. 血吸虫幼虫期在外睾类吸虫阳性钉螺体内受拮抗的情况.....	101
讨论 .....	101
总 结.....	103
附录 .....	104
参考文献.....	106

厦门大学博硕

---

## CONTENTS

Abstract in Chinese.....	1
Abstract.....	3
Part 1 Studying the development of 3 species of nematodes.....	5
Preface.....	5
Materials and Methods.....	13
1. Materials.....	13
2 Methods.....	15
3. De Man formula.....	17
Results.....	19
1. The classification of 3 species of nematodes.....	19
1. 1 Rhabditidae Oerley, 1880.....	19
1. 1. 1 <i>Rhabditis</i> Dujardin, 1845.....	19
1. 1. 2 <i>Distolabrellus</i> Anderson, 1983.....	23
1. 2 Cephalobidae (Filipjev, 1934), Chitwood & Chitwood, 1934.....	30
1. 2. 1 <i>Acrobeloides</i> (Cobb, 1924), Thorne, 1937.....	30
2. The development of 3 species of nematodes.....	35
2. 1. The development of <i>Rhabditis</i> sp. ....	35
2. 1. 1 Comparison between fertilized and unfertilized female <i>Rhabditis</i> sp.....	35
2. 1. 2 The development of eggs of <i>Rhabditis</i> sp.....	35
2. 2. The development of <i>Distolabrellus xiamenensis</i> n. sp.....	50
2. 2. 1 Comparison between fertilized and unfertilized female <i>Distolabrellus xiamenensis</i> n. sp.....	50
2. 2. 2 The development of eggs of <i>Distolabrellus xiamenensis</i> n. sp.....	51
2. 3. The development of <i>Acrobeloides</i> sp.....	64
3. Comparison on SSU rDNA sequences of 3 species of nematodes.....	72
3. 1. The results of comparison.....	72
3. 2. Comparison on SSU rDNA sequences of <i>Acrobeloides</i> sp. and other nematodes of Cephalobidae.....	81
Discussion.....	90
1. Comparison on the modes of reproduction.....	90
2. Comparison on the types of reproductive systems.....	91
3. Comparison on the development of embryo.....	91
4. Comparison on the development of juvenile.....	93
5. The discussion of SSU rDNA sequences.....	94
Part 2 Observation on asexual generation of the parasite larval trematodes.....	95
Preface.....	95
Materials and Methods.....	96
Results.....	97
1. The species composition of larval trematode in the snails at Muping Lake.....	97
2. The status of infection of <i>Exorchis</i> in <i>Parasilurus asoyus</i> .....	97
3. The rejection of larval <i>Schistosoma japonicum</i> in the snails infected <i>Exorchis</i> .....	101
Discussion.....	101
Summary.....	103

---

Appendix.....	104
References.....	106

厦门大学博硕

## 摘 要

本论文包括两个部分：

### 1、三种自由生活线虫的发育研究：

本文对在厦门地区采集的三种小杆目自由生活线虫：小杆科中的 *Rhabditis* 属 *Rhabditis* sp. 和 *Distolabrellus* 属的 *Distolabrellus xiamenensis* n.sp., 以及头叶科中的 *Acrobeloides* 属 *Acrobeloides* sp. 进行了鉴定和描述，以这三类小杆目自由生活线虫作为试验材料在实验室进行人工培养，对它们的整体，尤其生殖系统的形态结构、生殖方式、胚胎发育以及胚后生殖系统的发育进行了观察对比与研究。试验结果表明：此三类线虫的生殖系统形态结构不同，*Rhabditis* sp. 是双生殖腺；*Distolabrellus xiamenensis* n.sp. 和 *Acrobeloides* sp. 是单生殖腺，但是 *Distolabrellus xiamenensis* n.sp. 没有后阴子宫囊而 *Acrobeloides* sp. 有。*Distolabrellus xiamenensis* n.sp. 和 *Rhabditis* sp. 的生殖方式是严格的两性生殖，*Acrobeloides* sp. 是孤雌生殖。在 25℃ 的条件下，*Distolabrellus xiamenensis* n.sp. 和 *Rhabditis* sp. 的卵内胚胎发育早期的受精卵分裂方式和时间间隔比较相似，胚胎发育在大约 12-14h 完成；*Acrobeloides* sp. 卵内胚胎发育早期的卵细胞分裂方式与前两种线虫不同，完成胚胎发育的时间较长，需要 53-55h。在三种线虫刚孵化出的第一期幼虫体内，*Distolabrellus xiamenensis* n.sp. 和 *Rhabditis* sp. 的生殖原基早期有 4 个细胞，*Acrobeloides* sp. 的生殖原基早期有 3 个细胞。*Distolabrellus xiamenensis* n.sp. 和 *Rhabditis* sp. 的生殖原基都在虫体中部附近未来出现阴门的位置，*Distolabrellus xiamenensis* n.sp. 的阴门位置在虫体的尾端，但其生殖原基也是在体中部附近。

本文还对这三种线虫的部分核糖体小亚基序列 (SSU rDNA 序列) 进行了测序，结果显示它们的 SSU rDNA 序列有差别。将头叶科 *Acrobeloides* sp. 的 SSU rDNA 序列与基因库 (GeneBank) 中的其他三种头叶科线虫的 SSU rDNA 序列进行比对后发现，它们的相似度极高，所以不能利用该段序列对头叶科线虫进行种类鉴定，在进行头叶科以下的系统进化分析时也需慎重。

### 2. 寄生吸虫无性生殖幼虫期的观察：

复殖类吸虫的生活史要经过有性生殖世代和无性生殖世代的交替，无性生



殖世代是在它们的第一中间宿主贝类的体内进行。为了要观察扁形动物门复殖类吸虫无性生殖世代幼虫期，作者选择了血吸虫病媒介钉螺为材料，观察它们体内各种的吸虫幼虫期。

血吸虫病是我国最严重的人兽共患寄生虫病之一，病原血吸虫在我国南方湖泊和长江水域比较严重，该病的中间宿主湖北钉螺（*Oncomelania hupensis*）在疫区水域大量滋生，病害不能根除。导师唐崇惕教授根据一螺体通常只存在一种吸虫幼虫期的规律（唐崇惕，唐仲璋等，2005）<sup>[87]</sup>，提出用钉螺的另外一类寄生吸虫外睾类吸虫幼虫期对血吸虫病原幼虫期进行生物控制的设想。为了要考察我国湖北钉螺栖息地可作生物控制血吸虫病原的吸虫种类存在情况及要观察血吸虫病原在外睾吸虫阳性钉螺体内发育是否受阻，唐崇惕教授于2006年12月带领我们研究生到湖南汉寿县目平湖血吸虫病疫区，进行野外调查及实验室内的系列人工感染试验。本人参与了在该地区钉螺天然感染各种吸虫幼虫期的调查工作，及阴性湖北钉螺的实验室双重感染的初步工作。调查与实验结果显示，调查的5个地点中有4个地点的钉螺中查获有血吸虫、外睾类吸虫、斜睾类吸虫和背孔类吸虫的幼虫期，外睾吸虫的终宿主已知是鲶鱼<sup>[86,87,89,91]</sup>，我们在野外同时检查了该湖区的鲶鱼，发现它们体内外睾吸虫的感染率达到了100%，感染强度平均高达每尾鲶鱼外睾类吸虫224.66条；实验室对钉螺用人工感染外睾类吸虫后，再进行血吸虫的双重感染，结果显示血吸虫在此钉螺体内不能正常发育。

**关键词：**自由生活线虫，发育，吸虫幼虫，外睾类吸虫，日本血吸虫

## Abstract

There are two parts in this article.

### 1. Studying the development of 3 species of nematodes.

We have collected and described 3 species of nematodes( Rhabditida ), *Rhabditis* sp., *Distolabrellus xiamenensis* n.sp.and *Acrobeloides* sp.. These nematodes were cultivated clean-bredly as research materials. We compared the reproductive system, the reproductive type and development of the 3 species with each other. The results showed some diversities of these nematodes. *Rhabditis* sp. is didelphic , *Distolabrellus xiamenensis* n.sp. and *Acrobeloides* sp. are monodelphic. *Acrobeloides* sp. has postvulvar sac but *Distolabrellus xiamenensis* n.sp. hasn't. *Distolabrellus xiamenensis* n.sp. and *Rhabditis* sp. are gonochoristic, *Acrobeloides* sp. is parthenogenetic. At 25 °C , the cleavage patterns in the early embryonic development of *Distolabrellus xiamenensis* n.sp. and *Rhabditis* sp. are similar, and the embryonic developments need about 12-14h. *Acrobeloides* sp. has a different cleavage patterns in the early embryonic development, and completes the embryonic development in 53-55h. The hatched larvae of *Rhabditis* sp. have a 4-cells gonad in the middle of the body where the vulva will develop. *Distolabrellus xiamenensis* n.sp.' larvae have a 4-cells gonad in the middle of the body too, but the vulva will develop nearby the anus. *Acrobeloides* sp.'s larvae have a 3-cells gonad in the similar region, and the location of vulva is nearby the anus.

We compared the partial SSU rDNA sequences of the 3 nematodes, the results showed that they are different. The partial SSU rDNA sequences of *Acrobeloides* sp. was compared with the sequences of other 3 species of Cephalobidae nematodes, and they are identical. So we can't categorize Cephalobidae nematodes with the sequences ,and it must be carefully to use the sequences as a taxonomy under the family Cephalobidae.

### 2. Observation on asexual generation of the parasite larval trematodes.

Digenea have alteration of generations with sexual generation and asexual generation. In order to observe asexual generation of the parasite larval trematodes and compare with nematodes which have no asexual generation during the development, we choose the larval trematodes in snail as observed objects. Schistosomiasis is the most serious parasite diseases in southern China , and we couldn't deracinate the pathogeny , *Schistosoma japonicum*, in the water area where

the intermediate host , *Oncomelania hupensis*, lived prolificly. Although one species of snail can serve as the intermediate host of several species of trematodes in one endemic area , however, each snail usually harbors only one species of larval trematode. In Dec. 2006, based on this fact, a survey on the pathogen biological control over schistosomiasis and experiment on infection in *Oncomelania hupensis* were made in endemic area at Muping lake region of Hunan province by the leading of g-ti. From 984 *O. hupensis* collected and examined 4 species of larval trematodes, including those of *S. japonica*, *Exorchis*, *Plagiorchis* and *Notocotylus* were found. The rate of *Exorchis* infection in *Parasilurus asoyus* was 100%, and the average intensity of infection for each *P. soyus* was 224.66 per fish. In the histological sections of *O. hupensis* experimentally infected with *Exorchis* eggs and then infected with miracidia of *S. japonicum*, all the intra-molluscan larvae of *S. japonicum* were damaged without further development.

**Key words:** free living nematode, development, larval trematode, *Exorchis* , *Schistsoma japonicum*

# 第一部分 三种自由生活线虫的发育研究

## 前言

线虫（Nematode）是一类两侧对称具原体腔的无脊椎动物，它们的种类与数量都非常庞大，广泛的存在于水体和陆地上<sup>[1]</sup>。

以取食方式可以将线虫大致分为两类。一类是寄生线虫<sup>[1]</sup>，包括动物寄生线虫和植物寄生线虫<sup>[2]</sup>。另一类是自由生活线虫。与必需依赖其他生物存活的寄生线虫相比，自由生活线虫摄取营养的方式使其分布范围更加的多样化。我们在土壤，腐殖质，腐烂的植物组织，淡水以及海水中都可以找到不同的自由生活线虫<sup>[3]</sup>。据报道已被描述的自由生活线虫的种类数量超过了 11 000<sup>[4]</sup>，然而，一般认为仍然有许多的自由线虫种类没有被发现<sup>[5]</sup>。

从传统的形态分类学来看，Chitwood等<sup>[6]</sup>根据线虫虫体后部侧尾腺的有无将线虫分为两大类：无侧尾腺纲（Adenophorea）和侧尾腺纲（Secernentea）。无侧尾腺亚纲包括所有的水生线虫的嘴刺目（Enoplida）和色矛目（Chromadorida）等和部分土壤线虫以及植物线虫的矛线目（Dorylaimia）；而侧尾腺亚纲包括几乎所有的寄生线虫如圆线目（Strongylina），垫刃目（Tylenthina），蛔目（Ascaridina）及旋尾目（Spirurida）和大多数土壤线虫，而土壤线虫中的自由生活线虫大都属于小杆目（Rhabditida）的小杆亚目（Rhabditina）。

在土壤中存在的线虫包括自由生活线虫和寄生线虫，其中主要为自由生活线虫。这些土壤自由生活线虫通常具有比较相似的形态：它们的形体较小，一般长 1—2mm，宽在 50 $\mu$ m 以下；虫体呈线型圆柱状，在虫体的前端有口部和口腔，没有口针；在靠近虫体尾端的位置有肛门；虫体是透明的，可以很容易在光学显微镜下观察到其内部结构，包括咽部、食道、肠道和生殖腺等<sup>[7]</sup>。

### 有关线虫生殖系统的形态特点

线虫的各部分器官组织结构一直是线虫学研究中重要的内容,通过对线虫形态结构上的异同对比可以增加对线虫群类的了解。其中,线虫的食道与口腔及生殖系统的结构,都是重要的分类性状。尤其对线虫的生殖系统的研究,不论在对线虫的分类鉴定方面还是对线虫的生殖发育方面都有着很重要的意义。

一般来说,线虫的生殖系统从结构上来看,在不同种类的相同性别之间都比较相似。在雌虫体内,一般有一条或者两条生殖系统(极少数线虫有两条以上的生殖系统)<sup>[6]</sup>,每一条生殖系统包括卵巢(Ovary)、输卵管(Oviduct)、受精囊(Seminal receptacle)、子宫(Uterus)、阴道(Vagina)和阴门(Vulva)等。雄虫的体内也有一条或两条的生殖系统。每一条系统包括精巢、储精囊、输精管、射精管和交合刺等。

然而,从细节上来观察,自由生活线虫不同种类的生殖系统其实有相当多的差异。Seurat(1913)<sup>[76]</sup>就曾经对双生殖腺雌虫的生殖系统按照形态学上的特点进行了较为详细的描述与区分。Seurat 首先将雌虫的生殖系统分为子宫对生(uteri opposed)的和子宫平行(uteri parallel)两大类。然后再依据阴道的长度、形态,子宫的长短及是否折叠,输卵管的有无,卵巢是否折叠以及生殖系统各部分的相对位置等种种特点,将子宫对生的生殖系统与子宫平行的生殖系统各自又细分为7种类型(有的类型还进行了进一步的细分)共14种类型。

Chitwood 等(1937)<sup>[6]</sup>线虫学家接受了 Seurat 对线虫生殖系统的描述方式,并对其研究进行了修正与拓展。线虫的生殖系统被定义为以下四种<sup>[1,6]</sup>(图1):

- 1、 单子宫型(monodelphic): 生殖系统只有一个子宫(图1A-C)。
- 2、 双子宫型(didelphic): 生殖系统具有两条管状构造,细分为二子宫向后行的后子宫型(opisthodelphic type); 二子宫向前行的前子宫型(prodelphic type)(图1H-I); 二子宫前后行的对子宫型(amphidelphic type)(图1D-G)等。
- 3、 四子宫型(tetradelphic): 有四条完整的生殖系统。
- 4、 多子宫型(polydephic): 有四条以上完整的生殖系统。

在土壤自由生活线虫的主要类群小杆目线虫中,其生殖系统的形态主要有单生殖腺和双生殖腺两种类型。与其他线虫相比较,小杆目自由生活线虫的雌虫生殖系统是最简单的<sup>[6]</sup>。

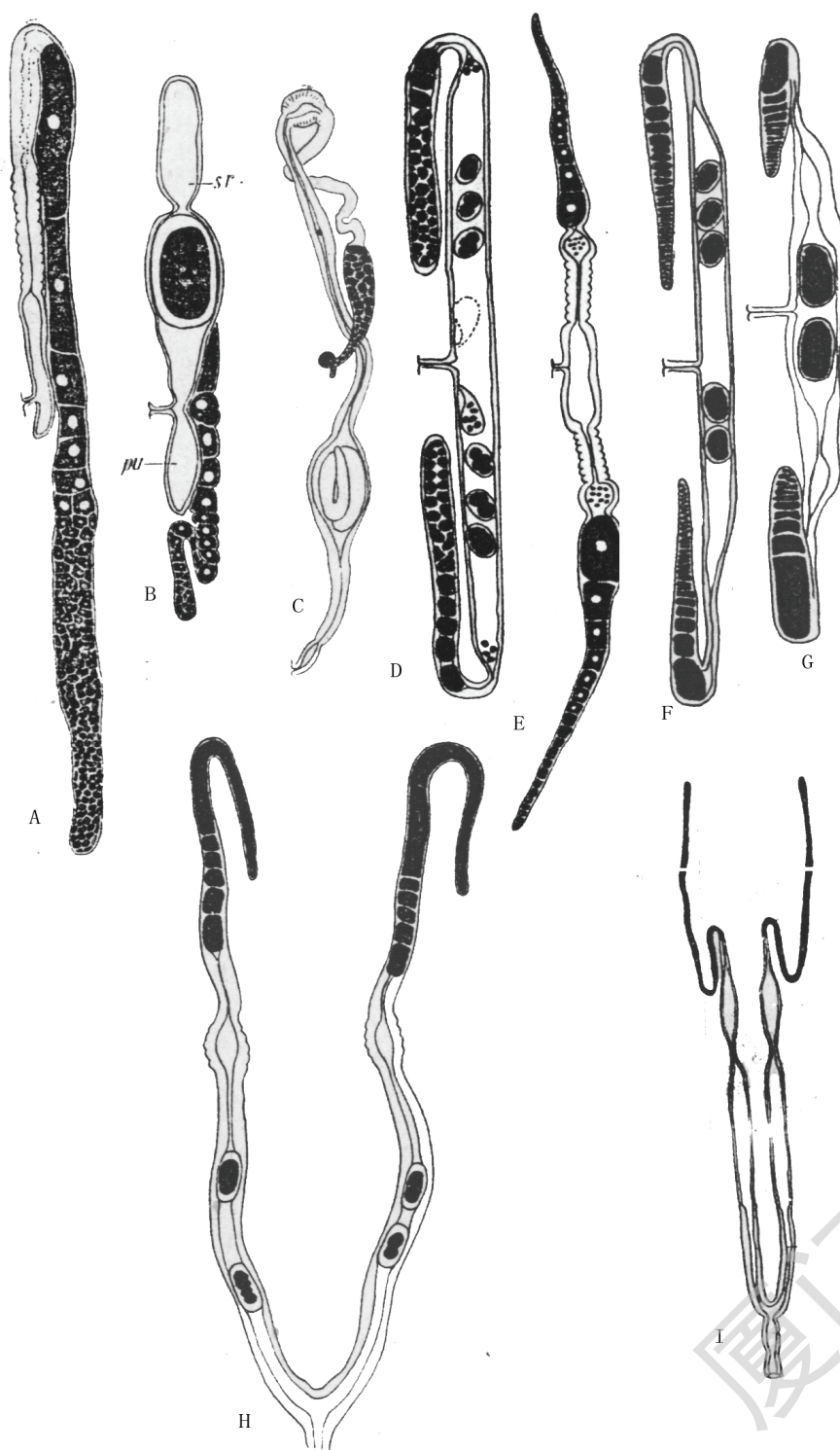


图 1. 雌虫生殖系统

Fig. 1. Diagrams of female reproductive systems

A. *Panagrolaimus heterocheilus*(按 Steiner,1935); B. *Cephalobus persegnis*(按 Thorne,1937); C. *Lanidurus gulosa*(按 Thapar ,1925); D. *Rhabditis strongyloides*; E. *Tylenchorhynchus dubius*(按 Goody,1932); F. *Anaplectus granuloso*; G. *Mononchus lacustris*; H. *Heterodera marioni*; I. *Kiluluma brevivaginata*(按 Thapar,1925).

Chitwood 等 (1937) [6]对小杆目自由生活线虫的生殖系统进行了较详细的总结。小杆目自由生活线虫的雌虫其阴道通常很简单,或多或少的垂直伸向虫体的体轴,没有特殊的肌序,子宫也同样较简单。单生殖腺与双生殖腺都很常见。在双生殖腺的线虫中,阴门往往在虫体中部的位罝,而且在单生殖腺的线虫中,头叶科 (Cephalobidae) 线虫的阴门也是特有的在虫体的中部位罝。而在其他的单生殖腺线虫中,阴门的位置是在体后部肛门前。有虫卵的子宫往往由较薄的上皮细胞围成,而在年轻的雌虫体内,子宫腔往往较小且上皮细胞壁较厚。在生殖腺单生的线虫中,有些线虫有后阴子宫囊。在不同的线虫种类中受精囊存在或没有。在大多数小杆线虫中,不论在形态结构上有无特化的受精囊,雌虫子宫的一端往往具有储存精子和使卵子受精的功能。输卵管在有些线虫中是较明显的管状,而有些线虫则没有输卵管。与寄生线虫相比,自由生活线虫的卵巢往往没有盘绕且比较短小。线虫的生殖腺往往会有折叠,实际上,在自由生活线虫中,卵巢本身折叠是非常少见的,更常见的是折叠发生在卵巢和子宫交接处,或者卵巢和输卵管的交界处。

在小杆目的自由生活线虫的雄虫中,生殖管道往往由三部分构成:

- 1、精巢 (testis), 通常有一层上皮细胞覆盖;
- 2、储精囊 (seminal vesicle), 是储存精子的器官结构;
- 3、输精管 (vas deferens), 雄虫生殖管道的主要部分。

其中,输精管的结构是多样的。在一些雄虫的体内,输精管与储精囊的交接处有一个比较明显的收缩,与输精管后面的无腺体区域或射精管相比,输精管往往在有腺体的区域没有完全的分化 (图 2C、F)。在另外一些雄虫体内,输精管距精巢的远端往往再细分为两部分,这两部分的上皮细胞的构成与分泌腺都有区别 (图 2D、E)。在后一类线虫,输精管的前部与后部有较明显的瓣。还有一类雄虫,输精管有两个大的、侧面的、向前端伸展的袋状结构 (图 2A)。这种输精管包括构成其前端部分的纯粹的上皮细胞,以及构成袋状结构的射精管有腺体细胞部分的输精管。这种袋状结构被称为射精腺。而有些线虫的射精腺的袋状结构则不明显 (图 2B) [6]。

另外,在寄生线虫有兼具两性特征 (intersex) 但只有雌性生殖系统得到发育的现象,但这样的线虫在自由生活线虫中并没有见到报导[6]。

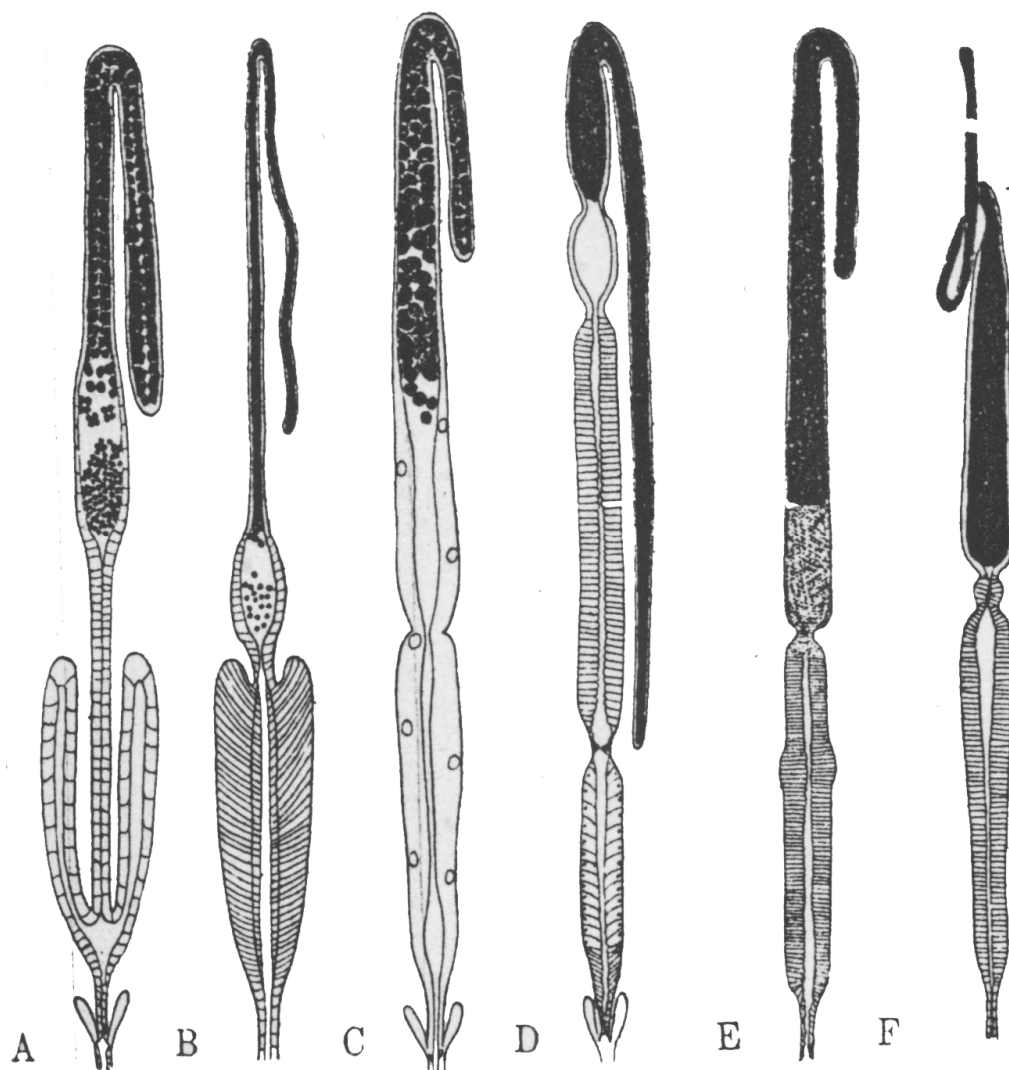


图 2. 雄虫生殖系统 (按 Yamaguti, 1935)

Fig. 2. Diagrams of male reproductive system (After Yamaguti, 1935)

A. *Rhabditis strongyloides*; B. *Oesphagostomum dentatum*; C. *Rhabditis lambdiensis*;  
D. *Spironoura affine*; E. *Rhigonema infectum*; F. *Heliconema anguillae*



Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to [etd@xmu.edu.cn](mailto:etd@xmu.edu.cn) for delivery details.

廈門大學博碩