

多肠目薄背涡虫的胚胎发育

王晓安 于 梅

(鲁东大学生命科学学院 烟台 264025)

摘要: 薄背涡虫(*Notoplana humilis*)的产卵高峰期在春末夏初。胚胎发育为螺旋式卵裂、外包法形成原肠胚,以大卵裂球储存卵黄。14~16℃下约20 d左右幼虫由卵膜中孵化,但不是典型的牟勒氏幼虫。幼虫经历一周左右的浮游生活和两周左右的底栖生活后,逐渐发育为涡虫幼体。

关键词: 扁形动物; 多肠目; 薄背涡虫; 胚胎发育

中图分类号: Q954.4 文献标识码: A 文章编号: 0250-3263(2008)02-96-05

Embryonic Development of the Polyclad *Notoplana humilis*

WANG Xiao An YU Mei

(College of Life Science, Ludong University, Yantai 264025, China)

Abstract: *Notoplana humilis* actively spawns in spring and early summer. Embryo undergoes spiral cleavage, epibolic gastrulation and uses macromeres to deposit yolk. The larva which needs about 20 days to hatch at 14–16°C, however, is not a Müller's type. The larva is planktonic for 1 week, demersal for 2 weeks, and undergoes gradual metamorphosis to become a juvenile flatworm.

Key words: Platyhelminthes; Polyclad; *Notoplana humilis*; Embryonic development

扁形动物开始形成两侧对称体制、出现中胚层,既有自由生活的种类,也有营寄生生活的类群。比较形态学的研究表明,扁形动物具有两侧对称祖先的许多基本的原始特征,如具纤毛的上皮、单一开口的肠和简单神经系统,是动物系统进化主干上早期的一个分支。因此,扁形动物是研究胚胎体轴的建立、早期神经发生和器官发生等基本发育过程的一种非常有价值的材料。而且,扁形动物极强的再生能力也是发育生物学研究中的一个重要内容^[1]。

涡虫属于扁形动物中自由生活的类群,有关其发育的研究已有很长历史,积累了大量文献资料^[2-8]。但这些工作,特别是再生发育的研究主要以三肠目种类为主。由于三肠目种类在自然条件下以无性生殖为主,有性生殖较少出现,而且早期发育多在卵袋中完成,不利于早期胚胎发育的连续观察,因此关于有性生殖

及其发育的研究报道较少^[1, 9, 10]。多肠目种类有性生殖较为常见而且容易观察,是进行发育生物学研究较为理想的材料,但目前仅见少数种类的相关研究报道^[11-15]。

薄背涡虫(*Notoplana humilis*) (图1)习见于我国北部沿海潮间带,体扁平而薄,体表色素较少,多呈淡黄色或灰色,活体观察时内部器官清晰可见,容易进行整体染色观察。由于目前尚未见关于薄背涡虫胚胎发育方面的详细资料,作者对其室内饲养和早期胚胎发育过程进行了研究,为后续工作提供参考。

1 材料与方法

实验用薄背涡虫采自烟台附近海滨潮间带

第一作者介绍 王晓安,男,教授,博士;研究方向:比较神经解剖学; E-mail: wangxiaoran@163.com。

收稿日期: 2007-05-23, 修回日期: 2008-01-05

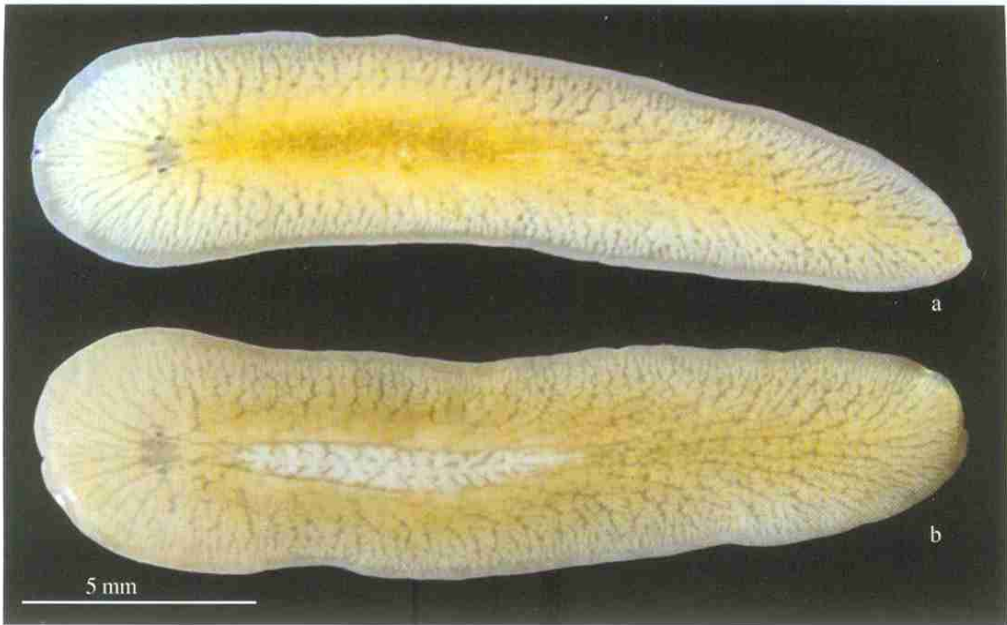


图 1 薄背涡虫

Fig. 1 *Notoplana humilis*

a 背面观; b. 腹面观。a. Dorsal view; b. Ventral view.

(水温 8~10℃), 室内用过滤的天然海水饲养 (14~16℃), 以煮熟的鸡蛋黄每周饲喂 2 次, 喂食 1~2 h 后更换新鲜海水。待自然产卵后将成体移走, 受精卵置于洁净天然海水中发育 (14~16℃), 每天更换新鲜海水。实体显微镜下观察胚胎发育情况, Olympus BX50 显微镜测量各时期细胞大小及胶膜厚度并拍照记录。

2 结 果

薄背涡虫在室内饲养时, 水温不宜超过 20℃, 保持养殖海水的洁净, 置于光线较暗的地方, 以煮熟的鸡蛋黄喂养, 可以保持性腺的正常发育。产卵时间大多在凌晨, 卵产出后以胶质附着于培养容器壁上, 卵外胶膜的厚度约 23 μm, 卵子直径平均约 132.8 μm (图版 I: A)。每次产卵约 500~1000 粒, 通常单层排列形成卵块。胚胎发育不同时期细胞大小变化见表 1。

薄背涡虫受精卵行不等全裂, 产卵后第 18 h 第 1 次分裂结束, 第 1 次卵裂沿卵轴进行均裂 (图版 I: B); 第 24 h 完成第 2 次卵裂, 卵裂面沿卵轴与第一次卵裂面垂直, 此时的 4 个卵裂

球大小相等 (图版 I: C); 第 29 h 完成第 3 次卵裂, 卵裂面与前 2 次卵裂面垂直且偏向动物极, 动物极 4 个较小的卵裂球叠放于植物极 4 个较大的卵裂球之间, 为典型的螺旋式卵裂 (图版 I: D); 第 35 h 完成第 4 次卵裂, 进入 16 细胞期, 此时植物极 4 个大细胞分裂形成下层的 4 个大细胞和中层的 4 个中型细胞, 动物极 4 个小细胞分裂后形成 8 个小细胞位于胚体上方 (图版 I: E); 第 41 h 动物极 8 个小型细胞各分裂一次, 而此时植物极 4 个中型细胞和 4 个大细胞未见分裂, 完成第 5 次分裂, 胚体共有 24 个细胞 (图版 I: F, G), 随后的发育过程中细胞分裂的同步性逐渐消失; 第 52 h, 胚体中央开始出现囊胚腔, 此时胚体主要是动物极细胞分裂, 数目不易数清 (图版 I: H); 第 64 h 开始, 动物极细胞向下包围, 植物极的大型和中型细胞逐渐被包入胚体内部; 第 88 h, 动物极细胞已将植物极细胞包围, 此时来自植物极的大细胞之一发生一次分裂 (图版 I: I); 第 120 h, 植物极细胞已完全被包入胚体内部, 胚孔清晰可见 (图版 I: J); 第 146 h, 体表出现纤毛, 胚体在卵膜内开始

表 1 薄背涡虫胚胎发育时间表(14℃)

Table 1 Embryonic development schedule of *Notoplana humilis*

发育时期 Development stage	距受精时间(h) Time after fertilization	平均直径(μm) Average diameter
受精卵 Zygote	0	受精卵 Zygote 132.8
2 细胞期 2 cell stage	18	卵裂球 Blastomere 97.8
4 细胞期 4 cell stage	24	卵裂球 Blastomere 79.0
8 细胞期 8 cell stage	29	大卵裂球 Large blastomere 70.5
		中卵裂球 Middle blastomere 47.1
16 细胞期 16 cell stage	35	大卵裂球 Large blastomere 62.4
		中卵裂球 Middle blastomere 46.5
		小卵裂球 Small blastomere 32.8
24 细胞期 24 cell stage	41	大卵裂球 Large blastomere 61.5
		中卵裂球 Middle blastomere 36.9
		小卵裂球 Small blastomere 23.5
囊胚期 Blastula stage	52	小卵裂球 Small blastomere 22.9
原肠胚期 Gastrula stage	64	胚体 Embryo 139.9
幼虫期(出膜前) Larva stage (before hatching)	146	胚体 Embryo 144.4
幼虫期(出膜后) Larva stage (after hatching)	528	幼虫 Larva 244.7 × 93.1

转动; 约经 456 h 左右的发育, 胚体开始出现第 1 对眼点(图版 I: K), 再经 24 h 后出现第 2 对眼点, 第 2 对眼点出现后约 48 h 胚体从卵膜孵出成为幼虫。幼虫背腹扁平, 前端较宽, 后端渐窄呈倒梨型(图版 I: L), 此时头尾长约 244.7 μm, 过眼点处宽度为 93.1 μm, 约经历 1 周左右时间的浮游生活, 逐渐沉入水底营底栖生活, 活动也明显减弱, 开始逐步向成体形态过渡, 至此胚胎发育结束。

3 讨论

涡虫的发育可分为内黄卵类(archeophoran)与外黄卵类(neophoran)两大类, 前者包括大口涡虫目和多肠目, 后者包括单肠目和三肠目等。内黄卵类的卵黄均存在于卵母细胞中, 受精卵行螺旋式卵裂; 而外黄卵种类的卵黄则来源于生殖腺之外的其他腺体(如卵黄腺等), 其中三肠目种类受精卵也为螺旋式卵裂, 单肠目种类为非螺旋式卵裂^[10]。本文观察到, 薄背涡虫的卵裂模式与扁形动物多肠目其他种类基本相同, 都属于典型的螺旋式卵裂。这与 Boyer 等对胃涡虫(*Hoplolana inquilina*)^[14] 以及 Anderson 对背涡虫(*N. australis*)^[15] 的研究结果相似。

薄背涡虫早期卵裂的 16 细胞期后的第 5

次分裂时, 动物极的 8 个小型细胞各分裂一次, 而植物极的 4 个大型细胞及 4 个中型细胞此时并不分裂, 因此出现 24 细胞期, 表明薄背涡虫胚胎发育过程中此时细胞分裂的同步性已开始消失。有资料表明, 无肠目种类 *Neochildia fusca* 的早期发育中经历 12 细胞期, 说明其在第 4 次卵裂时细胞同步性即开始消失。而多肠目胃涡虫发育过程中在第 6 次卵裂时其同步性消失, 经历 48 细胞期^[9]。由此可见, 涡虫早期胚胎发育过程中细胞分裂的同步性消失的时间随种类不同而有差异。

通常认为扁形动物多肠目胚胎发育过程中要经历一个牟勒氏幼虫(Müller's larvae)时期, 如胃涡虫^[14, 16], 但我们观察到, 薄背涡虫的幼虫并不是典型的牟勒氏幼虫, 其形态与成体比较接近, 也呈背腹扁平状, 没有通常描述的 8 个纤毛瓣, 这与背涡虫相似^[15]。可见涡虫类早期发育的幼虫期也存在着很大的差异。

综上所述, 薄背涡虫胚胎发育属于典型螺旋式卵裂, 作为一种研究材料, 具有许多优点: (1) 成虫分布广泛, 容易采集, 室内饲养条件简单, 而且生殖腺的发育周期较短, 早期发育对环境条件要求不高, 容易在人工饲养条件下获得大量胚胎。(2) 由于卵外胶质的粘附性, 所产的

受精卵均牢固附着于培养容器壁上,如果用聚乙烯 (polyethylene, PE)、聚氯乙烯 (polyvinyl chloride, PVC) 或聚酯 (polyester, PET) 类材料的容器培养,待产卵后即可连带卵块一起剪下培养,对于同一胚体发育的连续观察十分方便,而且容易实现胚胎操作等实验胚胎学研究。(3) 其成体薄且体表色素较少,内部器官容易分辨,为研究器官发生提供了十分便利的条件。薄背涡虫发育中的这些特点使其有可能成为一种研究细胞分化及器官发生机制理想的模式动物。

由于扁形动物是后生动物中的早期代表,是动物系统发生中首次出现中胚层和两侧对称体制的类群,对其进行深入研究,详细追踪其卵裂球的发育过程,绘制出细胞命运图,对揭示其他后生动物的发育调控机制具有重要意义。

参 考 文 献

- [1] Carlona A, Hartenstein V, Romero R. The embryonic development of the triclad *Schmidtea polychoa*. *Dev Genes Evol*, 2005, **215**(3): 109~ 131.
- [2] Berazzi M, Gremigni V. Developmental Biology of *Triclad turbellarians* (Planaria). In: Harrison F W, Cowde R R eds. *Developmental Biology of Freshwater Invertebrates*. New York: Liss, 1982, 151~ 211.
- [3] Salo E. The power of regeneration and the stem cell kingdom: freshwater planarians (Platyhelminthes). *Bioessays*, 2006, **28**(5): 546~ 559.
- [4] Agata K. Regeneration and gene regulation in planarians. *Curr Opin Genet Dev*, 2003, **13**(5): 492~ 496.
- [5] Alvarado S A. The freshwater planarian *Schmidtea mediterranea*: embryogenesis, stem cells and regeneration.

Curr Opin Genet Dev, 2003, **13**(4): 438~ 444.

- [6] Agata K, Watarabe K. Molecular and cellular aspects of planarian regeneration. *Semin Cell Dev Biol*, 1999, **10**(4): 377~ 383.
- [7] Schaeffer D J. Planarians as a model system for *in vivo* teratogenesis studies. *Qual Assur*, 1993, **2**(3): 265~ 318.
- [8] Chandebis R. Cell sociology: a way of reconsidering the current concepts of morphogenesis. *Acta Biotheor*, 1976, **25**(2-3): 71~ 102.
- [9] Le Moigne A. Study of embryonic development and regeneration in the embryo of Planaria *Polycelis nigra* (Turbellarie, Triclade). *J Embryol Exp Morphol*, 1966, **15**(1): 39~ 60.
- [10] Hartenstein V, Ehlers U. The embryonic development of the rhabdcoele flatworm *Mesostoma lingua* (Abildgaard, 1789). *Dev Genes Evol*, 2000, **210**(8-9): 399~ 415.
- [11] 王晓安. 平角涡虫早期胚胎发育的观察. *生物学通报*, 1998, **33**(2): 39~ 40.
- [12] 余顺法, 慕海丽. 海涡虫的实验观察. *生物学通报*, 1993, **28**(9): 37.
- [13] Sato K, Sugita T, Kobayashi K, et al. Localization of mitochondrial ribosomal RNA on the chromatoid bodies of marine planarian polyclad embryos. *Dev Growth Differ*, 2001, **43**(2): 107~ 114.
- [14] Boyer B C, Henry J J, Martindale M Q. The cell lineage of a polyclad turbellarian embryo reveals close similarity to coelomate spiralian. *Dev Biol*, 1998, **204**(1): 111~ 123.
- [15] Anderson D T. The embryonic and larval development of the turbellarian *Notoplana australis* (Schmarda, 1859) (Polycladida: Leptoplanidae). *Marine and Freshwater Research*, 1977, **28**(3): 303~ 310.
- [16] Henry J Q, Martindale M Q, Boyer B C. The unique developmental program of the acoel flatworm, *Neochildia fusca*. *Dev Biol*, 2000, **220**(2): 285~ 295.

图 版 说 明

A. 受精卵; B. 2 细胞期; C. 4 细胞期; D. 8 细胞期, 卵裂球呈螺旋形排列; E. 16 细胞期, 卵裂球仍然保持螺旋形排列; F. 24 细胞期, 背面观示动物极小细胞; G. 24 细胞期, 腹面观示植物极大细胞; H. 囊胚期, 中央可见囊胚腔(↑); I. 囊胚后期, 植物极大细胞之一发生 1 次分裂(↑), 其余 3 个未见分裂; J. 原肠胚期, 可见胚孔(↑); K. 未孵化幼虫, 可见第 1 对眼点(↑); L. 孵化后幼虫, 可见第 1(↑)、2(↑)对眼点。

Explanation of Plate

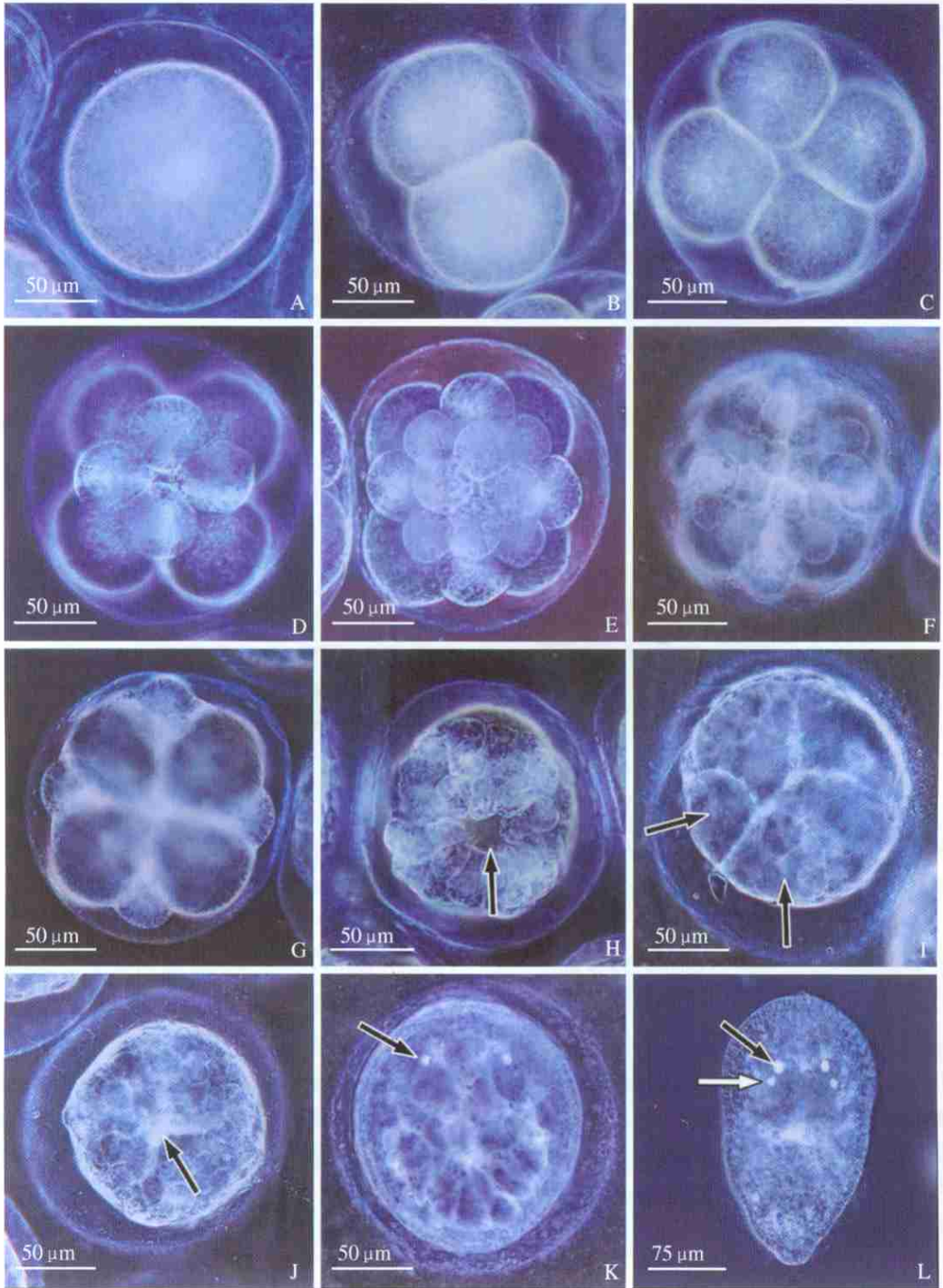
A. Zygote; B. 2 cell stage; C. 4 cell stage; D. 8 cell stage, blastomeres arrange in spire; E. 16 cell stage, blastomeres still arrange in spire; F. 24 cell stage, small cells at the animal pole are shown from a dorsal direction; G. 24 cell stage, large cells at the plant pole are shown from a ventral direction; H. Blastula stage, blastocoel is visible in the middling (↑); I. Later blastula stage, one of the large cells at the plant pole cleave once (↑), and another three large cells don't cleavage; J. Gastrula stage, blastopore is visible (↑); K. Larva before hatching, the first pair of eyespot are visible (↑); L. Larva after hatching, the first (↑) and the second (↑) pair of eyespot are visible.

王晓安等: 多肠目薄背涡虫的胚胎发育

图版 I

WANG Xiao-An *et al.*: Embryonic Development of the Polyclad *Notoplana humilis*

Plate I



图版说明见文后