

六种并殖吸虫成虫的数量分类

徐秉锐 李桂云 詹希美

(寄生虫学教研室)

周传智

(南海水产研究所)

并殖吸虫病是一种人畜共患的自然疫源性疾病,世界上很多国家及地区都有发现,在我国分布也较广泛。该病病原为并殖科吸虫(*Family Paragonimidae*)。自1850年Diesing首先报道*Paragonimus rudis*以来,距今已有一百多年历史。其间学者们在病原生物学、流行病学、临床学等方面做了大量工作,取得了很大的成绩。但在病原分类学上仍存在一些分歧。1916年Ward和Hirsch提出以成虫的形态结构作为虫种分类根据。此方法迄今仍被沿用。1940年陈心陶根据对怡乐村并殖吸虫的研究,指出成虫结构结合生活史各期形态在并殖吸虫分类中的重要性^[1]。随着科学的发展,近十几年来遗传学、免疫学、分子生物学等方法已逐渐应用到并殖吸虫分类中来,并且取得一些可喜的成果。这些学科的渗入,无疑给古老的分类学输进了新的血液。惟目前这些新方法仍在探讨阶段,尚不能完全取代传统的以成虫形态为主的分类法。

以成虫形态结构为基础的分类法,很少单靠某一项特征进行鉴别的,一般都需要以多个特征综合比较才能将某一虫种与其它种鉴别开来,但问题在于选取的这些特征意义有多大,依靠这些结构差异而建立的新种与其它种的关系有多大,种内各虫的相似程度如何,形态差异较大的虫有多少,若能弄清这些问题将有助于病原的确定、解决种与种之间的相互关系即系谱的问题。

数量分类学是近二十多年来才兴起的一门新学科。它将数学理论借助电子计算机技术应用于生物分类,从而把一门描述性、定性的传统分类学提高到更精确地定量水平。目前数学分类学已越来越广泛地应用于动植物的分类,但应用于蠕虫的分类文献上尚未见报道。本文借助电子计算机,对六种并殖吸虫成虫结构特征进行数量分类,初步报告如下。

材料与方 法

1. 标本的选取及测量 将巨睾狸殖(*Pagumogonimus macrorchis* Chen, 1962), 斯氏狸殖(*Pagumogonimus Skriabini* Chen, 1959)、四川并殖(*Paragonimus Szechuanensis* Chun & T'saio 1962)、卫氏并殖(*P. Westermani* Kerbert, 1878)、大平并殖(*P. Ohirai* Miyazaki, 1939)、怡乐村并殖(*P. iloktsuensis* Chen, 1940)六种虫各取10条。其中怡乐村并殖10条、斯氏狸殖7条、巨睾狸殖5条为陈心陶定种时的正、

副模标本,上述三种标本各为同地、同批、同种动物感染所获得的。不足10条者从其同批标本中随机抽取。大平并殖来源于广州郊区鹅掌潭同一批囊蚴感染的同种动物。卫氏并殖取自于一只自然感染该虫的老虎肺。四川并殖来源于四川雅安、灌县。后三种均按随机抽取原则。每条虫测量计算目前常用的7项成虫结构特征,即虫体长宽比例、最宽处与顶端相对距离、腹吸盘相对位置、口、腹吸盘之比、卵巢类型、卵巢与腹吸盘距离、两睾丸平均长度与体长之比(为便于分析,体棘特征另作比较)。这样,六种虫60个样本各7个数字特征构成 60×7 这样一个原始二维数组。

在上述每种虫中再选取体棘较清楚者各5条,按陈心陶所述体棘公式^[2]测定两吸盘间、腹吸盘侧、两睾丸之间三个部位体棘,每个部位测定20簇。上述各项测量均采用统一标准由一人进行。

2. 方法 对体棘部分先计算统计量,包括位置特征统计量:极小值、极大值、均值;散度特征统计量:极差、标准差、标准均差及分布特征统计量:标准偏度系数、标准峰度系数。这样,六种虫的三个部位的体棘特征实际上构成了30个样本的24个数字特征。

由于各种数字特征值的量纲不同、大小悬殊,影响计算实体间的相似系数。因此这两部分数据均进行标准化。

本实验采用系统聚类分析(最大相关系数法),其计算过程简述如下:

(1)对s条虫进行f个属性的观察得矩阵:

$$X = \begin{pmatrix} x_{11} & x_{12} & \cdots & x_{1f} \\ x_{21} & x_{22} & \cdots & x_{2f} \\ \cdots & \cdots & \cdots & \cdots \\ x_{s1} & x_{s2} & \cdots & x_{sf} \end{pmatrix}$$

第一下标表示样品(虫),第二下标表示变量(属性)。任意两条虫的相似性可用该两条虫若干变量(属性)的相关系数来表示。

(2)相关系数可由如下公式计算:

$$R_{ij} = \frac{\sum_{l=1}^f (x_{li} - \bar{x}_i)(x_{lj} - \bar{x}_j)}{\sqrt{\sum_{l=1}^f (x_{li} - \bar{x}_i)^2 \sum_{l=1}^f (x_{lj} - \bar{x}_j)^2}} = \frac{\sum_{l=1}^f x_{li}x_{lj}/f - \bar{x}_i\bar{x}_j}{\sigma_i\sigma_j}$$

得初始相关系数矩阵:

$$R_{s \times s} = \begin{pmatrix} r_{11} & r_{12} & \cdots & r_{1s} \\ r_{21} & r_{22} & \cdots & r_{2s} \\ \cdots & \cdots & \cdots & \cdots \\ r_{s1} & r_{s2} & \cdots & r_{ss} \end{pmatrix}$$

(3)从R中挑一个最大的(并非指绝对值),设 $R_{i0j0} \geq R_{ij}$ ($i, j=1, 2, \dots, s$)。其值都解于0至1之间,±1都为数学上最相关,不过+1是属于同类,越接近于+1,表示关系越接近,而-1表示正相反。

(4) 将第 i_0 , j_0 号虫的 f 个属性按下列公式进行合并

$$x'_{i_0 l} = \frac{w_{i_0} X_{i_0 l} + w_{j_0} X_{j_0 l}}{w_{i_0} + w_{j_0}} \quad l=1, 2, \dots, f$$

$$w'_{i_0} = w_{i_0} + w_{j_0}$$

式中 w_{i_0} 为第 i_0 号虫 (后来为 i_0 组) 的权数, w_{j_0} 为第 j_0 号虫 (后来为 j_0 组) 的权数, 初始状态 $w_i = 1$ 。合并后删去第 j_0 (组) 的原始数据。

(5) 对剩下的 $S-1$ 组重新计算 $R(S-1) * (S-1)$ 。

重复 (3)、(4)、(5) 直到全部聚类完毕。根据计算结果绘出“谱系分枝图” (Hierarchical dendrogram)。

本实验调用南海水产研究所 XIJL 程序, 并在该所 ALCOM-C₅ 电子计算机上运算。

结 果

图 1、2 分别为根据六种并殖吸虫成虫结构与体棘的特征值计算结果而绘制的谱系分枝图。

从图 1 中可以看到: 这六种虫明显地可分两大类。第一类由巨睾狸殖、斯氏狸殖、四川并殖组成。第二类包括卫氏并殖、大平并殖、怡乐村并殖。每一类分二组, 第一类包括巨睾狸殖组、斯氏狸殖—四川并殖组, 它们的相关系数为 0.19。第二类包括大平并殖—怡乐村并殖组、卫氏并殖组, 这一类相关系数为 0.07。各组相关系数: 巨睾狸殖组为 0.37, 斯氏狸殖—四川并殖组为 0.63, 大平并殖—怡乐村并殖组为 0.34, 卫氏并殖组为 0.83。卫氏并殖组相关系数最大, 斯氏狸殖—四川并殖组小于卫氏组而大于巨睾狸殖组。大平并殖—怡乐村并殖组最小。各组包含的虫数也不尽相同。第一组 11 条, 其中巨睾狸殖 9 条、四川并殖 2 条。第二组 18 条, 其中斯氏狸殖 10 条、四川并殖 8 条。这二种虫的位置互相嵌插, 无论怎样划线无法把它们明显分开。第三组 21 条, 其中大平并殖 10 条、怡乐村并殖 10 条、巨睾并殖 1 条。这一组虽任意划线也不能将大平并殖与怡乐村并殖分开, 但大平并殖有靠上而怡乐村并殖有靠下的趋势。第四组 10 条, 全部为卫氏并殖。

从图 2 可以看出: 这六种虫的体棘可分为三类。第一类包括二组: 巨睾狸殖组与大平并殖—怡乐村并殖组, 这一类相关系数为 0.27。巨睾狸殖组包括巨睾狸殖 4 条、大平并殖 2 条, 这一组相关系数为 0.43。大平并殖—怡乐村并殖组包括大平并殖 3 条、怡乐村并殖 4 条, 这二种虫位置互相嵌插, 它们的相关系数为 0.63。第二类包括四川并殖 5 条、巨睾狸殖 1 条、斯氏狸殖 1 条, 这一类的相关系数为 0.07。第三类包括斯氏狸殖 4 条、卫氏并殖 5 条, 其相关系数为 0.37。

讨 论

关于上述六种并殖吸虫成虫结构的分类特征, 除本实验应用的 7 个外, 见诸文献的

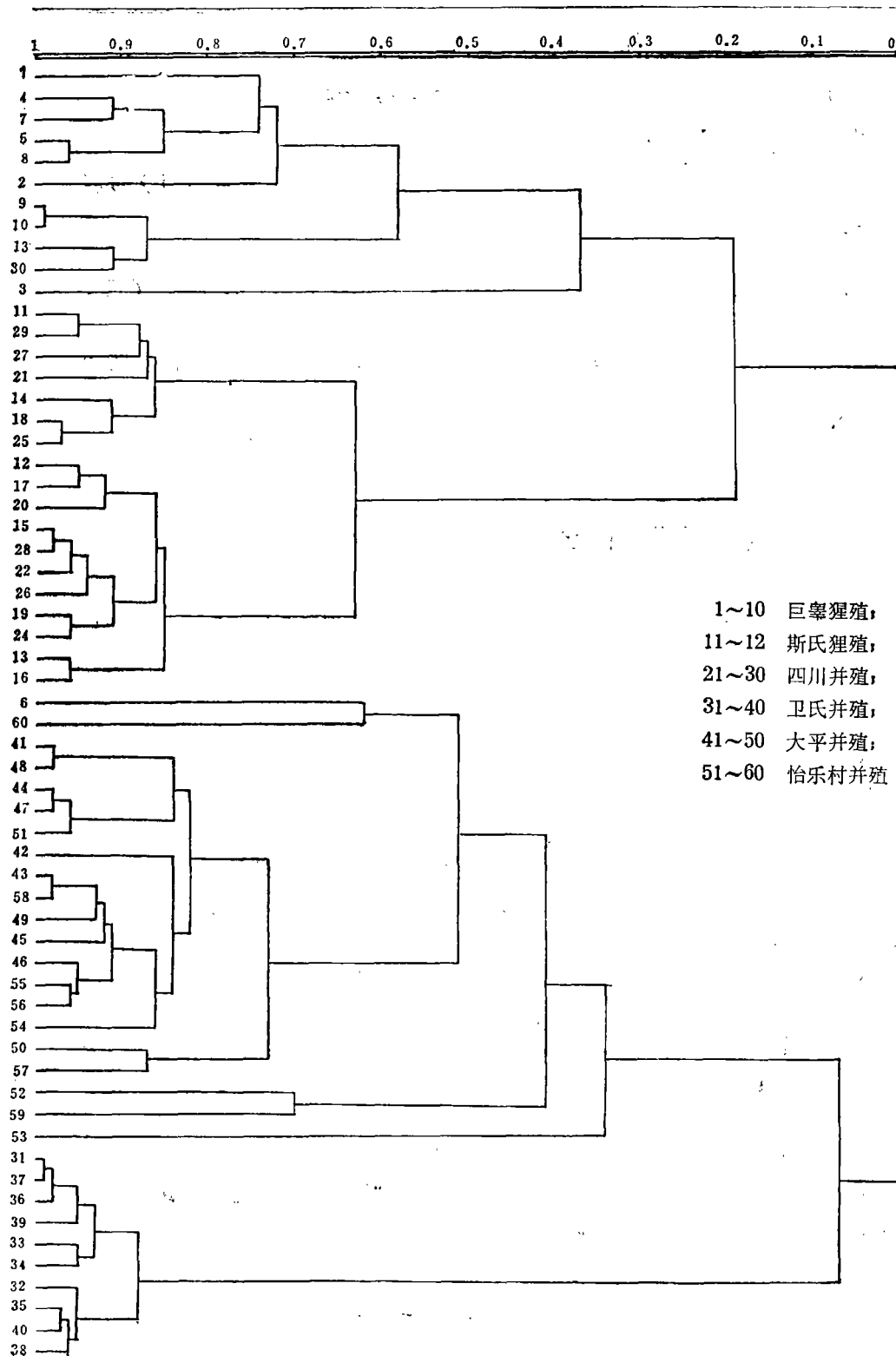


图1 六种并殖吸虫谱系分枝图(根据成虫的7项形态特征)

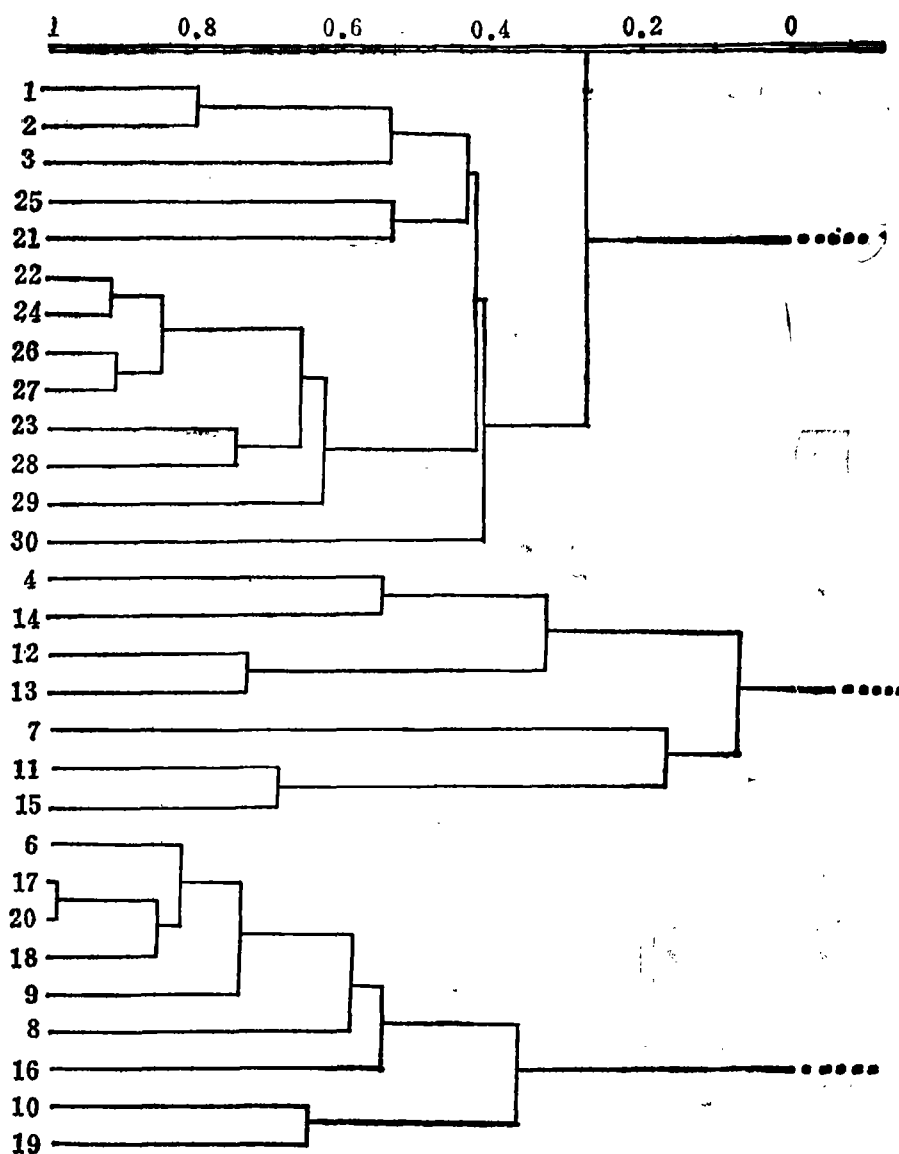


图2 六种并殖吸虫谱系分枝图(根据成虫的体棘形态特征)

1~5 巨睾狸殖; 6~10 斯氏狸殖;
 11~15 四川并殖; 16~20 卫氏并殖;
 21~25 大平并殖; 26~30 怡乐村并殖

还有以卵巢、睾丸面积以及这两种生殖腺面积与虫体面积之比对大平并殖与怡乐村并殖并殖进行鉴别。本次在预试验中已先做了这两种虫长、宽、卵巢和睾丸大小的 t 检验, 结果差别不显著, 故未被列入运算。本实验所用 7 个成虫特征仍被目前多数人所采用。在预试验中就这 7 个特征各种之间均做了 t 检验, 差别显著, 故将这些特征值列入运算。根据这些特征值, 采用系统聚类分析法, 计算的结果说明可将上述六种并殖吸虫分

成两大类。它们之间的相似性很小,也就是说,这两类虫的关系不密切。陈心陶在并殖吸虫分类系统中,将上述虫种分别置于两个属,即并殖属与狸殖属^[3]。本实验支持陈氏这一分类法。

本实验能够将卫氏并殖吸虫成虫全部鉴别出来,诊断率为100%。对巨睾狸殖的诊断率为90%,漏诊率为10%。但未能将斯氏狸殖与四川并殖、大平并殖与怡乐村并殖分开。原因可能有二,其一是目前常用的这些判别标准尚不是准确的鉴别依据。另一原因是它们可能是同一种虫。特别是斯氏狸殖与四川并殖,它们的相关系数为0.63,这比巨睾并殖种内相关系数还要大。若将斯氏狸殖—四川并殖视为一种,那么对它的诊断率为90%,漏诊率为10%。也就是说,上述四种虫的诊断率仍然是很高的。少数漏诊的原因是由于这些虫形态差异较大。从这一点看,漏诊率可能反映该种虫的变异程度。例如巨睾并殖的漏诊率为10%,表示在这10条虫中有1条虫的形态结构与其它9条的形态差异较大,根据上述7项特征无法将此虫鉴别出来。

体棘谱系分枝图中的三类符合通常所称的群生、混生、以单生为主三种体棘类型。以单生为主的斯氏狸殖、卫氏并殖不与群生型的巨睾狸殖、怡乐村并殖—大平并殖相混。这表明体棘的组成在虫种鉴别上可能具有一定的意义。但是各类型的相似性都较小,特别是第二类混生型的相关系数只有0.07,说明它们的变异性很大。这一类型既包含有四川并殖又包含有巨睾狸殖及斯氏狸殖。也就是说,若只从体棘特征进行鉴别,当某一条虫体棘为混生型时,除考虑为四川并殖外,还得考虑为斯氏狸殖及巨睾狸殖。因此不能单凭体棘特征而必须结合成虫结构特征进行鉴别。

关于大平并殖与怡乐村并殖的鉴别问题,1940年陈心陶认为这两种成虫难以区分,但从囊蚴壁层数即能辨认出来。1959年富村保^[4]认为从睾丸、卵巢比例可以鉴别之。横川宗雄^[5]、李树华^[6]观察了这两种虫的尾蚴粘腺,认为它们在数目上、排列、形态上不一样,以这些特征能将这两种虫鉴别。1965年陈心陶^[7]比较了这两种虫的体棘组成,认为体棘数目可以做为鉴别的参考。本实验对成虫结构特征及体棘进行数量分析,仍未能将此两种虫鉴别。看来,似乎还需寻找更准确的标准或从生活史各期形态特征才能将这两种虫鉴别。

本实验只是在成虫结构特征的基础上进行数量分析。若能结合生活史各期形态、超微结构、生理生化、免疫、遗传等方面的资料,可能会取得更好的效果。可惜目前这些方面的资料仍很不全,有待于今后的努力。

本实验采用系统聚类分析(最大相关系数法),由于对各条虫的各个变量的相似性进行简单的一对一的逻辑比较,因而能从数量上说明虫与虫、种与种之间的关系。根据结果所描绘的谱系分枝图对各虫、各种及各类群的相似性、相异性均一目了然。这将有助于并殖吸虫系统分类即系谱的建立、检索表的制定、新种的确定及虫种的鉴定。这些工作尚待进一步完成。

小 结

本实验根据六种并殖吸虫成虫7项结构特征,借助电子计算机,采用系统聚类分析

法对其进行数量分类。结果表明：能将这六种虫分为两大类。第一类包括巨睾狸殖、斯氏狸殖、四川并殖，第二类包括大平并殖、怡乐村并殖、卫氏并殖。能将巨睾狸殖、卫氏并殖鉴别出来，诊断率分别为90%、100%，但未能将斯氏狸殖与四川并殖、大平并殖与怡乐村并殖分开。

对六种虫的体棘数量分析表明：体棘组成型式明显地分为三类，与通常所称的群生、混生、以单生为主三型相符合。单生型与群生型能截然分开，而混生型组成较复杂。这三型的相似性都比较小，提示它们具有较大的变异性。

参 考 文 献

- [1] Chen H T: Morphological and developmental Studies of *Paragonimus iloktsunensis* with some remarks on other species of the genus (Trematoda: Trogotremitidae). Lingnan Science Journal 19(4): 429, 1940
- [2] 陈心陶: 巨睾并殖(吸虫)的形态研究和并殖科分类的探讨。动物学报16(3): 381, 1964
- [3] 陈心陶: 从并殖吸虫研究的发展评论并殖科吸虫的种类问题。《中国动物志》《吸虫分册》广州会议学术交流资料汇编。第109页, 1977
- [4] 富村保: 大平肺吸虫と小型大平肺吸虫の種別標徴の比較研究(1)睾丸と卵巣の大きさの比較, 殊に犬感染虫体について。(2)睾丸と卵巣の大きさの比較, 殊に白鼠感染虫体について。(3)睾丸と卵巣の大きさ比較, 殊に猫感染虫体について。寄生虫学雑誌8(4): 12, 27, 43, 1959
- [5] 横川宗雄: 大平肺吸虫(*Paragonimus ohirai* Miyazaki, 1939)の幼虫の形態について。寄生虫学雑誌9(5): 1, 1930
- [6] 李树华: 怡乐村并殖吸虫囊蚴壁的形成及其组织化学的研究。寄生虫学报1(2): 153, 1964
- [7] 陈心陶: 1935我国并殖吸虫研究的进展。高等学校自然科学学报: 生物学版试刊(3): 249, 1965

Numeral Classification of Six Species of Lung Flukes

Xu Bingkun Li Guiyun Zhan Ximei

(Zhong Shan Medical College)

Zhou Chuanzhi

(South China Sea Fisheries Institute)

Abstract

Six species of lung flukes (*Paragonimus westermani* Kerbert, 1878, *P. szechuanensis* Chung & T'sao 1962, *P. ohirai* Miyazaki, 1939, *P. iloktsuensis* Chen, 1940, *Pagumogonimus skrjabini* Chen, 1959 and *P. macrorchis* Chen, 1962) were studied with the cluster analysis by computer, basing on seven characters commonly used in classical taxonomy of Family Paragonimidae, namely the length-width ratio, the broadest width of the body, the position of the acetabulum, the ratio of the oral sucker to the acetabulum, the type of ovarian structure, the distance from ovary to the acetabulum and the ratio between the length of the testes and of the body. The results indicate that among the six species, *P. macrorchis*, *P. skrjabini* and *P. szechuanensis* pertain to one group, and *P. westermani*, *P. ohirai* and *P. iloktsuensis*, to the other. *P. macrorchis* and *P. westermani* could be differentiated from the rest species with the diagnostic rates of 90% and 100% respectively. Numeral analyses of their tegumental spines indicate that three patterns of spine-distribution are present: "single spaced pattern", "grouped growth pattern" and "pooled growth pattern". Species of "single spaced pattern" are markedly different from that of "grouped growth pattern" in hierarchical dendrogram with the exception of "pooled growth pattern". The matching coefficients of the three patterns are small.