

倪氏复口吸虫在稀有鮈鲫体内的移行及其耳石微结构的影响

孙 军 姚卫建 聂 品

(中国科学院水生生物研究所;淡水生态与生物技术国家重点实验室,武汉 430072)

摘要:倪氏复口吸虫是我国淡水鱼类的一种常见的危害严重的寄生虫。利用稀有鮈鲫作为寄主,研究了倪氏复口吸虫在其体内的移行途径,并观察了复口吸虫的感染是否在寄主耳石上留下标记轮。倪氏复口吸虫尾蚴从稀有鮈鲫体表的各个部位侵入,但主要集中在头部,侵入体内的尾蚴通过肌肉和结缔组织直接进入眼球。感染倪氏复口吸虫的稀有鮈鲫耳石表面微结构发生变化,部分鱼耳石上出现明显的标记轮。

关键词:倪氏复口吸虫;稀有鮈鲫;移行途径;耳石

中图分类号:S941.5 **文献标识码:**A **文章编号:**1000-3207(2003)04-0333-006

复口吸虫 (*Diplostomum*) 是一种常见的寄生虫,已报道的有近 30 种^[1],其中一些种类可严重危害作为第二中间寄主的鱼类,从而倍受寄生虫学和水产病害研究者的关注。其主要研究内容集中于复口吸虫尾蚴的入侵部位、在鱼体的移行和发育以及所引起的病理和免疫反应、复口吸虫后囊蚴的生态学以及所引起病害的流行病学^[1-6]。近年来,复口吸虫尾蚴头腺的功能^[7-9]以及复口吸虫与环境因子的相互关系也引起了科学家的兴趣^[10]。

到目前为止,我国报道有三种复口吸虫,即湖北复口吸虫 (*D. hupehensis*)、倪氏复口吸虫 (*D. niedashui*)、山西复口吸虫 (*D. shanxinsis*)^[3,11]。在湖北复口吸虫和倪氏复口吸虫的形态、生活史、尾蚴释放规律和生态学等方面已进行了比较详细的研究^[3,12-14]。潘金培和王伟俊^[3]研究了倪氏复口吸虫在鲢 (*Hypophthalmichthys molitrix*) 体内的移行途径,认为倪氏尾蚴 (*Cercaria niedashui*) 是通过神经系统经视神经而到达眼球的,但只提供了间接的证据。为了进一步探讨这个问题,作者用稀有鮈鲫 (*Gobio-cypris rarus*) 作为中间寄主研究倪氏尾蚴的移行途径,并观察了倪氏复口吸虫的感染是否引起稀有鮈鲫耳石微结构的变化。

1 材料与方法

1.1 材料鱼的获得与饲养 稀有鮈鲫受精卵由中

国科学院水生生物研究所提供,两批受精卵分别来自两对亲鱼,在 25℃ 下孵化,将孵出日期作为每批鱼的编号,分别为稀有鮈鲫 20000410 和 20000414。刚孵出的稀有鮈鲫在直径 12cm 的培养皿中饲养,投喂人工孵化的卤虫,10d 后转到水族箱 (400mm × 200mm × 350mm) 中,投喂经 2% NaCl 消毒的水蚯蚓,温度控制在 25±1℃。而感染后的稀有鮈鲫饲养于水族箱 (600mm × 400mm × 450mm) 中,投喂经 2% NaCl 消毒的水蚯蚓,室温。

1.2 尾蚴的获得 1999 年 5—7 月间,从武汉市东西湖区池塘采集静水椎实螺 (*Lymnaea stagnalis*) 暂养于实验室,而后把单只椎实螺放入培养皿中,次日上午观察是否有尾蚴释放。对释放的尾蚴根据潘金培和王伟俊^[5]描述的形态特征进行种类鉴别 (图版 I : G),获得倪氏尾蚴的阳性螺,收集其释放的倪氏尾蚴,准备感染实验。

1.3 藻素络合物 (Alizarin complexone; ALC) 标记实验 在研究稀有鮈鲫耳石微结构中发现,通过藻素络合物的标记,能在稀有鮈鲫的耳石上产生标记轮,可作为识别耳石环纹的起始标志。固体藻素络合物经加热溶解于双蒸水中,浓度为 500mg/L。然后在水族箱 (600mm × 400mm × 450mm) 中加入一定量的曝气自来水,倒入藻素络合物溶液,使藻素络合物终浓度为 100mg/L,固体 NaOH 调 pH 值至中性。放入要标记的鱼,充气,浸泡 12h,标记完成后,稀有鮈鲫

收稿日期:2002-11-15;修订日期:2003-03-18

基金项目:国家杰出青年科学基金资助 (30025035)

作者简介:孙 军 (1976—),男,湖北宜昌人;博士研究生;从事寄生虫学与免疫学研究

通讯作者:聂 品, E-mail: pinnie@ihb.ac.cn

的活动和摄食正常,饲养于水族箱中,留待下一步实验。

1.4 感染实验 为观察倪氏复口吸虫对稀有³鲫的感染过程,取 ALC 标记的稀有³鲫 20000410 批 120 尾、20000414 批 60 尾,体长范围为 2.0—2.5cm,设为 3 个感染组和 3 个对照组,每组 30 尾。将感染组放入 3 个装有 500mL 曝气自来水的容器中,连续 2d 内分 4 次加入尾蚴,每次加入尾蚴量为 600 个(20 个/尾鱼),间隔 1h;对照组同样操作,但不加入尾蚴。感染过程结束后分别放入 6 个水族箱饲养,每天定时过量投喂一次消毒水蚯蚓,并清理残饵,3d 换水三分之一,室温。

感染后每 8d 对取样的稀有³鲫称重,双目解剖镜下测量体长,并用解剖针剖出耳石,双蒸水冲洗,100%酒精干燥,二甲苯透明,中性树胶封固于载玻片上,逐一编号,每组样本数(表 1)。

为观察复口吸虫尾蚴在鱼体的移行,取稀有³鲫 16 尾(体长为 1.5—2.0cm)于 500mL 容器中,加入尾蚴 320 个(20 个/尾鱼),1h 后再次加入尾蚴 160 个,第一次感染后 0.5h 开始取样,每隔 0.5h 取样一次,每次四尾,用波恩氏液固定,常规石蜡方法整体切片,H·E 染色。

由于稀有³鲫幼体全身透明,在解剖镜下对一条约 10mm 长的稀有³鲫进行感染,并活体观察了尾蚴的入侵部位及其在鱼体的移行。

1.5 数据、图像的获取和处理 在显微镜下观察耳石样品和稀有³鲫整体切片,计数耳石标记轮,把图像摄入计算机进行处理和存储,并对部分切片进行拍照。数据运用 STATISTICA 统计软件进行分析。

2 结果

2.1 稀有³鲫感染复口吸虫尾蚴的症状

稀有³鲫感染复口吸虫后焦躁不安,有的在水中狂游或上冲。经过 15min,部分鱼螺旋式下冲或上浮,头部有出血现象。继而,头部向下,尾部向上在水面作旋转式挣扎,浮于水面,腹部向上,如此反复,部分鱼开始死亡。死亡个体的眼眶周围大量充血,眼球外突,部分鱼出现脊柱弯曲现象。没有死亡的部分个体在养殖一段时间后,脊柱弯曲现象会消失。

2.2 复口吸虫尾蚴在稀有³鲫体内的移行途径

尾蚴在水中螺旋运动接触到鱼体时,即附着其体表。如果所在部位没有鳞片覆盖,则尾蚴头部开始向鱼体内钻,尾叉不脱落且不断旋转,头部完全钻

入后尾叉才分离。在鱼体表面可看到大量脱落的尾叉,整个过程大约 15min。如果所在部位有鳞片覆盖,则尾蚴从鳞片间钻入。稀有³鲫全身都可观察到尾蚴的侵入,但主要集中于头部。

活体观察与切片观察表明,部分进入脊索的囊蚴(尾叉脱落后称为囊蚴),在脊索中向脑部移行(图版 I :A),但没有观察到经过脑部而到达眼球的尾蚴。在视神经的入口处,没有观察到囊蚴,且其周围也没有观察到囊蚴的聚集(图版 I :B)。大部分囊蚴通过黏膜层和肌肉层向头部移行(图版 I :C),移向眼球。到达眼球外围后,一些囊蚴通过角膜与虹膜的交接处(图版 I :D)以及水状液,直接进入晶状体,在感染 0.5h 内晶状体中即可观察到囊蚴。一些囊蚴亦直接进入眼球(图版 I :E),因此在玻璃体中可以观察到大量囊蚴。

2.3 复口吸虫后囊蚴在稀有³鲫眼球晶状体中的发育

在取耳石的同时对感染复口吸虫的稀有³鲫进行了眼球压片观察,发现晶状体中囊蚴都发育成了后囊蚴的形状,但定居于晶状体的后囊蚴随着时间推移而逐渐减少($X_{\text{开始}}=14.2$, $X_{\text{结束}}=4.3$,ANOVA, $F=9.84$, $P<0.01$)。在实验的后期可以观察到死亡的后囊蚴及其死亡后变成的囊状物痕迹(图版 I :F)。

2.4 复口吸虫尾蚴感染稀有³鲫后的耳石环纹变化

观察耳石表面微结构,可见其上留有一轮较深的环纹(图版 I :H,I)即 ALC 标记轮。在部分耳石的 ALC 标记轮外缘,还发现有另一相对较浅的标记轮,计数两标记轮之间的环纹,发现其与从 ALC 标记耳石到尾蚴感染稀有³鲫所历经的天数相同,提示此标记轮是在感染时产生,称之为感染标记轮(图版 I :H)。比较 20000410 组和 20000414 组,发现前者耳石具感染标记轮的个体比例较高;而对照组和感染组相比较,感染组出现感染标记轮的个体比例较高(表 1)。

3 讨论

活体观察和切片证实倪氏尾蚴接触稀有³鲫体表,并在鱼体各处侵入,但相对集中于头部。这与 Erasmus^[15], Ratanarat-Brockelman^[16] 和 Höglund^[17] 的发现相似,因此认为复口吸虫的尾蚴是通过鱼体头部进入的。然而,如果尾蚴的入侵有选择性,则尾蚴直接通过眼角膜到达晶状体也许能最有利于逃避宿

主的免疫反应^[4-6]。虽然直接通过眼角膜侵入已经通过实验证实^[18],但这也也许不是经常发生的,更多的可能是尾蚴偶然接触到寄主的某一部位而移行到眼球,而后随机侵入眼球。

表 1 稀有鳊感染倪氏复口吸虫后耳石上出现标记轮的个体比例							
Tab.1 The percentage of the rare minnow <i>G. rarus</i> with checks on otoliths when infected with <i>D. niedashui</i>							
			20000410 组		20000414 组		
			感染组	对照组	感染组	对照组	
			Infected	Control	Infected	Control	
样本数 Sample size			18	18	20	20	
感染率 Prevalence(%)			100	0	75	0	
感染强度 Abundance(x±S·D)			17.7±56.6	0	4.4±9.5	0	
感 染 标 记 轮 比 例 (%)	微耳石		97.2%	63.9%	60%	27.5%	
	Lappilli					37.5%	15%
	星耳石		58.3%	19.4%	42.5%	12.5%	12.5%
	Asterisks						7.5%

复口吸虫尾蚴在鱼体的移行途径一直是研究者所关注的问题,且有着不同的观点。Davis^[19]用蝌蚪作寄主研究 *D. flexicaudum* 时,认为循环系统是尾蚴移行的主要途径。Ferguson^[18]和 Betterton^[20]发现 *D. flexicaudum* 的囊蚴在虹鳟 (*Salmo gairdneri*)和匙形复口吸虫 (*D. spathaceum*)的囊蚴在褐鳟 (*S. trutta*)中的移行途径也主要是通过循环系统。潘金培和王伟俊^[8]研究了湖北复口吸虫和倪氏复口吸虫的在鲢体内的转移途径,认为湖北尾蚴钻入鱼体后是通过循环系统经视血管进入眼球内,而倪氏尾蚴是通过神经系统经视神经到达眼球的。Johnson^[21]也认为虹鳟的循环系统是 *Cotylus erraticus* 尾蚴的移行途径。但 Larson^[22]和 Ratanarat-Brockelman^[16]排除了循环系统作为 *D. flexicaudum* 的囊蚴在鲈 (*Ictalurus melas*)和匙形复口吸虫的囊蚴在鳊 (*Phoxinus phoxinus*)的移行途径。Hoffman 等^[23]和 Erasmus^[15]发现 *D. baerieucaiae* 的囊蚴和“*Cercariae X*”分别在溪红点鲑 (*Salvelinus fontinalis*)和三棘刺鱼 (*Gasterosteus aculeatus*)体内是通过肌肉和结缔组织移行的,在心脏和神经系统中的囊蚴则是偶然侵入的。而 Graczyk^[24]认为囊蚴在寄主体内的移行途径的不同是由尾蚴在寄主的不同入侵点所决定的。作者研究证实囊蚴直接通过脉络膜进入眼球,绝大多数囊蚴在很短的时间内到达眼球并转变成后囊蚴,这表明是一个相当快速的途径。对此最有可能的解释是囊蚴主动通过肌肉和结缔组织定向移行到达寄主的眼球。

复口吸虫的第二中间寄主范围通常非常广泛。鲤科 (Cyrinidae) 鱼类、鲈科 (Cobitidae) 鱼类中的大鳞副泥鳅 (*Paramisgurnus dabryanus*)、鲴形目 (Cyprin-

odontiformes) 的食蚊鱼 (*Gambusia affinis*)、合鳃目 (Synbranchiformes) 的黄鳝 (*Monopterus albus*) 以及鲈形目 (Perciformes) 的罗非鱼 (*Tilapia mossambica*) 等都可被倪氏复口吸虫寄生,养殖条件下对鲢、鳙危害严重^[2, 12, 14, 25]。但目前尚没有稀有鳊感染复口吸虫的报道,这也可能是尚无人研究过稀有鳊的寄生虫的原因。在本实验中,稀有鳊能被大量倪氏复口吸虫尾蚴所感染,但是否能在稀有鳊眼球晶状体中发育成可感染下一寄主的后囊蚴,尚有待实验证实。感染实验中,不同的感染水平可能是由于尾蚴感染力的差异或者来源于不同椎实螺的原因。

鱼类耳石标记轮的形成是由于外界环境压力或自身性因素等原因而影响了内部节律平衡所导致的^[26]。鱼类耳石记录了鱼类每天经历的事件,许多生活史事件像新陈代谢或生境的改变都可以影响耳石日轮宽度的变化(即标记轮)或组成元素的变化^[27-29]。感染倪氏复口吸虫尾蚴后,稀有鳊耳石上标记轮的形成说明尾蚴的侵入及其在体内的移行过程对稀有鳊的内部节律造成了影响。另外,对照组耳石上的标记轮也可能是由于水环境的改变所引起的^[30]。有学者报道鱼类生活史中一些事件的发生时间及与此相关的生长变化都能通过检查耳石上的标记轮或元素组成的变化来估计^[27],那是否也可以通过耳石环纹的变化来推测鱼类在其生活史中感染过某种寄生虫或者疾病是值得继续研究的问题。

在此实验中王剑伟博士提供了稀有鳊鱼卵及孵化场所,常剑波研究员提供了素络合物及LECIA 数码摄像系统,特此致谢!

参考文献:

- [1] Pike A W, Lewis. Parasitic disease of fish [M]. Dyfed. UK; Samara Publishing Limited, 1994, 59—86
- [2] Höglund J. Experiments on second intermediate fish host related cercarial transmission of the eye fluke *Diplostomum spathaceum* into rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *Folia Parasitol*, 1995, **42**: 49—53
- [3] Pan J P, Wang W J. Studies on Diplostomiasis and its control, with descriptions of two new species [J]. *Acta Hydrobiol. Sin.*, 1963, **1**: 1—45. [潘金培, 王伟俊. 复口吸虫病的研究及其防治方法, 包括二新种的描述. 水生生物学集刊, 1963, **1**: 1—45]
- [4] Whyte S K, Allan J C, Secombes C J, et al. Cercariae and diplostomules of *Diplostomum spathaceum* (Digenea) elicit an immune response in rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson [J]. *J Fish Biol*, 1987, **31A**: 185—190
- [5] Whyte S K, Chappell L H, Secombes C J. Cytotoxic reactions of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, macrophages for larvae of the eye fluke *Diplostomum spathaceum* (Digenea) [J]. *J Fish Biol*, 1989, **35**: 333—345
- [6] Bortz B M, Kennedy G E, Pauley G B, et al. Prevalence of two site-specific populations of *Diplostomum* spp. in eye infections of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, from lakes in Washington State, U.S.A [J]. *J Fish Biol*, 1988, **33**: 31—43
- [7] Moczon T. A cysteine proteinase in the cercariae of *Diplostomum pseudospathaceum* (Trematoda, Diplostomidae) [J]. *Parasitol Res*, 1994, **80**: 680—683
- [8] Moczon T. A serine proteinase in the penetration glands of the cercariae of *Plagiorchis elegans* (Trematoda, Plagiorchiidae) [J]. *Parasitol Res*, 1996, **82**: 72—76
- [9] Mikeš L, Horák P. A protein with lectin activity in penetration glands of *Diplostomum pseudospathaceum* cercariae [J]. *Int J Parasitol*, 2001, **31**: 245—252
- [10] Morley N J, Crane R, Lewis J W. Toxicity of cadmium and zinc to *Diplostomum spathaceum* (Trematoda: Diplostomidae) cercarial survival [J]. *Int J Parasitol*, 2001, **31**: 1211—1217
- [11] Zheng X Y. Studies on the Diplostomiasis of rainbow trout (*Salmo irideus*) and its biology of pathogens [D]. Wuhan: Institute of Hydrobiology, the Chinese Academy of Sciences, 1987. [郑小英. 虹鳟复口吸虫病及其病原生物学的研究. 武汉: 中国科学院水生生物研究所, 1987]
- [12] Lü J Y. Studies on the life histories of *Diplostomum niedashui* and *Diplostomum hupehensis* I. The experimental bionomics of the early larvae [J]. *Acta Hydrobiol Sini*, 1987, **11**: 310—319. [吕军仪. 倪氏复口吸虫和湖北复口吸虫生活史的研究, I. 早期幼虫的实验生态. 水生生物学报, 1987, **11**: 310—319]
- [13] Lü J Y. Studies on the life histories of *Diplostomum niedashui* and *Diplostomum hupehensis* II. Descriptions of the early larvae and adults [J]. *Acta Hydrobiol Sini*, 1990, **14**: 265—273. [吕军仪. 倪氏复口吸虫和湖北复口吸虫生活史的研究, II. 各期幼虫及成虫形态的描述. 水生生物学报, 1990, **14**: 265—273]
- [14] Nie P. Frequency distribution and seasonal dynamics of *Diplostomum* spp. In eyes of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*), big-head carp (*Aristichthys nobilis*) and grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) [J]. *Acta Parasitol. Med. Entomol. Sin.* 1996, **3**: 256—259. [聂品. 寄生鲢、鳙和草鱼复口吸虫的频率分布和季节动态. 寄生虫与医学昆虫学报, 1996, **3**: 256—259]
- [15] Erasmus D A. The migration of *Cercaria* X Baylis (Strigeida) within the fish intermediate host [J]. *Parasitology*, 1959, **49**: 173—190
- [16] Ratanart-Brockelman C. Migration of *Diplostomum spathaceum* (Trematoda) in the fish intermediate host [J]. *Z Parasitenkd*, 1974, **43**: 123—134
- [17] Höglund J. Ultrastructural observations and radiometric assay on cercarial penetration and migration of the digenean *Diplostomum spathaceum* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *Parasitol Res*, 1991, **77**: 789—794
- [18] Ferguson M S. Migration and localization of an animal parasite within the host [J]. *J Expl Zool*, 1943, **93**: 375—401
- [19] Davis D J. Pathological studies on the penetration of the cercariae of the strigeid trematode *Diplostomum flexicaudum* [J]. *J Parasitol*, 1936, **22**: 329—329
- [20] Betterton C. Studies on the host-specificity of the eye fluke, *Diplostomum spathaceum* in brown and rainbow trout [J]. *Parasitology*, 1974, **69**: 11—29
- [21] Johnson J A. The migration of *Cotylurus erraticus* cercariae (Trematoda: Strigeidae) in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) and their effects on the host [J]. *J Parasitol*, 1971, **57**: 244—251
- [22] Larson O R. Cercarial penetration, localization, and lenticular hernia in the black bullhead, *Ictalurus melas* [J]. *J Parasitol*, 1965, **15** [Suppl]: 23—24
- [23] Hoffman G L, Hoyme J B. The experimental histopathology of the tumour on the brain of the stickleback caused by *Diplostomum baeriewaliae* Hoffman and Hundley, 1957 (Trematoda: Strigeidae) [J]. *J Parasitol*, 1958, **44**: 374—378
- [24] Graczyk T. Opinions on the ways of reaching the eyeball by cercaria of the *Diplostomum* genus [J]. *Wiad Parazytol*, 1990, **36**: 91—97
- [25] Zhang J Y, Qiu Z Z, Ding X J, et al. Fish Parasitology [M]. Beijing: Science press, 1990, 188—192. [张剑英, 邱兆祉, 丁雪娟等. 鱼类寄生虫学. 北京: 科学出版社, 1990, 188—192]
- [26] Campana S E. Feeding periodicity and the production of daily growth increments in otoliths of steelhead trout (*Salmo gairdneri*) and starry flounder (*Platichthys stellatus*) [J]. *Can J Zool*, 1983, **61**: 1591—1597
- [27] Stevenson D K, Campana S E. Otolith microstructure examination and analysis [J]. *Can Spec Publ Fish Aquat Sci*, 1992, **117**: 1—11
- [28] Pannella A. Fish otoliths: daily growth layers and periodical patterns [J]. *Science*, 1971, **173**: 1124—1127
- [29] Campana S E, Neilson J D. Microstructure of fish otoliths [J]. *Can J Fish Aquat Sci*, 1985, **42**: 1014—1032
- [30] Campana S E. Interactive effects of age and environmental modifiers on the production of daily growth increments in otoliths of plainfin midshipman (*Porichthys notatus*) [J]. *Fish Bull*, 1984, **82**: 165—177

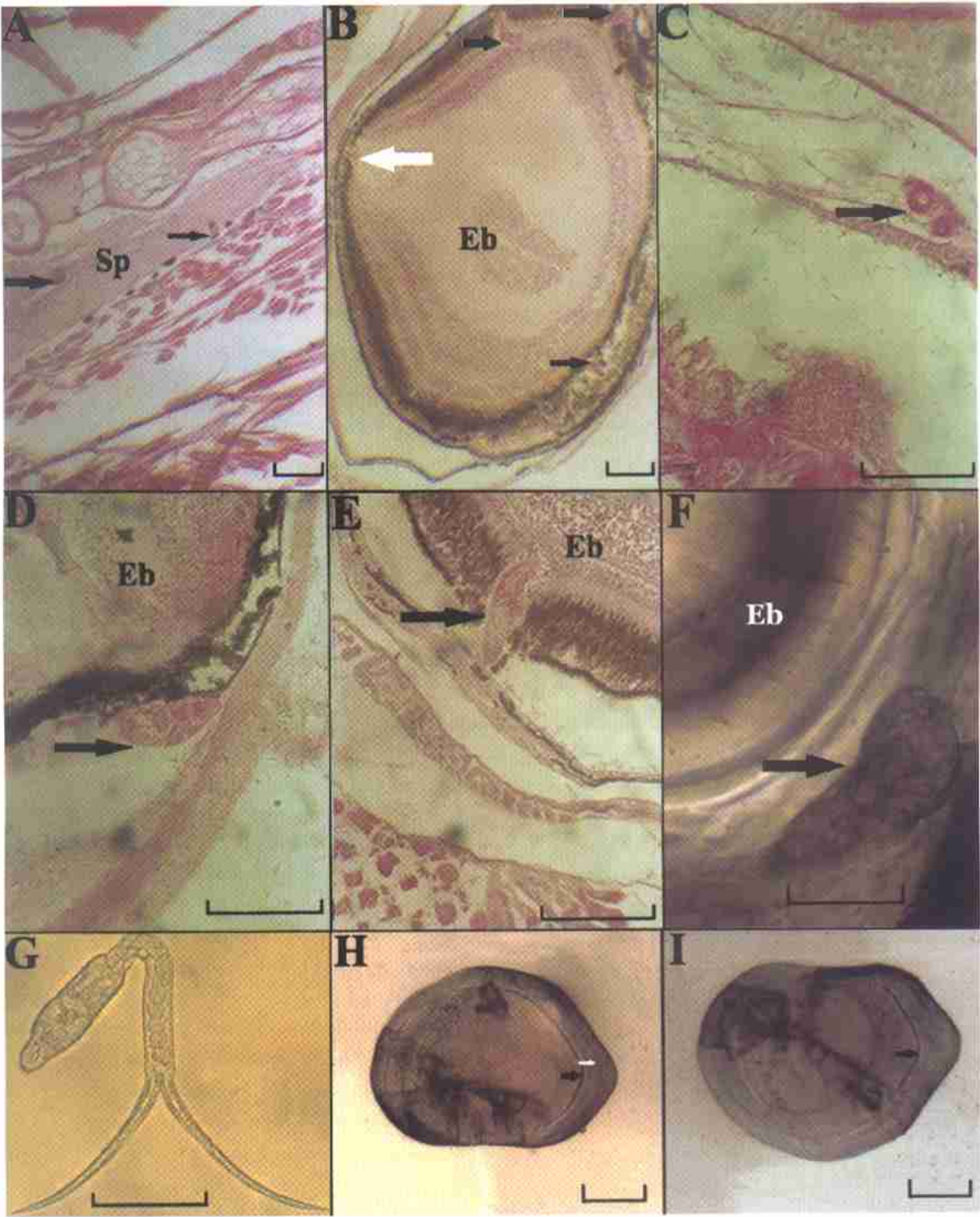
MIGRATION OF *DIPLOSTOMUM NIEDASHUI* CERCARIAE IN THE RARE MINNOW
GOBIOCYPRIS RARUS WITH OBSERVATION ON THE
PARASITE-INDUCED OTOLITH CHECKS

SUN Jun, YAO Wei-Jian and NIE Pin

(Institute of Hydrobiology, The Chinese Academy of Sciences, State Key Laboratory of Freshwater Ecology and Biotechnology, Wuhan 430072)

Abstract: The penetration and migration of the eye fluke *Diplostomum niedashui*, a common parasite of freshwater fish in China were investigated using the rare minnow *Gobiocypris rarus* as the second intermediate host. The first intermediate host, *Lymnaea stagnalis* was collected from a fish farm in Wuhan, Hubei province of China, and the snails shedding cercariae were maintained in the laboratory. The cercariae of *D. niedashui* were identified according to the original description, and used to infect the rare minnow. Infected fish were either fixed in Bouin's solution and then sectioned before being stained in H-E, or observed live under microscope. Otoliths of some infected fish were dissected out for the examination of checks. The penetration of cercariae was observed on the whole body surface of the fish, while most cercariae were found on the head region of the fish, suggesting that the head region is the main site for the penetration. Although the penetrated cercariae were observed in the notochord, no meta-cercariae were found in the optic nerve, nor to migrate to the brain and to the eye through the nervous system. The metacercariae were found frequently in muscles and connective tissues of the fish and found moving directly into the lens through the muscle and connective tissue of the fish. The examination of otolith microstructure revealed some differences between the infected and un-infected fish, and checks on the otolith were found when the infection occurred, indicating that the parasite infection may induce the formation of checks on otoliths.

Key words: Eye fluke; *Diplostomum niedashui*; Rare minnow, *Gobiocypris rarus*; Migration; Otolith



图版 I

A: 稀有 鲫脊索中的囊蚴; B: 稀有 鲫眼球视神经的入口(白色箭头); C: 稀有 鲫颊部结缔组织中的囊蚴; D: 稀有 鲫角膜和巩膜结合处的囊蚴; E: 正在直接进入稀有 鲫眼球的囊蚴; F: 稀有 鲫眼球玻璃体中死亡的囊蚴; G: 倪氏尾蚴。黑色大箭头指示囊蚴; Eb: 眼球; Sp: 脊索。H: 感染了倪氏尾蚴的稀有 鲫耳石上有两个标记轮; I: 没有感染倪氏尾蚴的稀有 鲫耳石上只有一个 ALC 标记轮。黑色箭头示 ALC 标记轮, 白色箭头示感染导致的标记轮。比例尺: 0.1mm。

FigA-F: The sections of the rare minnow *Gobiocypris rarus* infected with the eye fluke *Diplostomum niedashui*. A: The cercaria and the cercaria in the notochord of *G. rarus*; B: The entry of the optic nerve into eyeball (big white arrow); C: The cercaria in connective tissue of head; D: The cercaria in the interface of cornea and sclera; E: The cercaria penetrating eyeball; F: *Cercaria niedashui*. The big black arrow indicating cercariae. Eb: Eyeball. Sp: Notochord. FigH-I: The otoliths of *C. rarus*. A: Otolith of the infected fish; B: Otolith of uninfected fish. The black arrow indicating ALC check; The white arrow indicating the parasite-infection caused check. The scale bar is equal to 0.1mm.