

圆形碘泡虫和关桥碘泡虫孢子的光镜及扫描电镜观察

吴英松 汪建国

(中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072)

摘要: 对寄生于鲫的圆形碘泡虫(*Myxobolus rotundus* Nemecek, 1911) 及异育银鲫的关桥碘泡虫(*M. guanqiaoensis* Wu & Wang, 1997) 的成熟孢子进行光镜及扫描电镜观察。圆形碘泡虫主要寄生于鲫体表、头部、鳃、吻部及鳍条, 形成许多大小不一的乳白色胞囊。关桥碘泡虫主要寄生于异育银鲫的肝脏, 肝脏基本上被虫体所充满, 肝脏组织被破坏。扫描电镜观察表明圆形碘泡虫成熟孢子表面光滑, 缝脊直而明显, 宽 0.2 μ m, 缝脊上下两侧对称。关桥碘泡虫成熟孢子表面皱褶, 其程度不等, 有的虫体一侧向内凹陷形成盆状, 缝脊呈“S”形, 宽 0.5 μ m, 缝脊上下两侧不对称, 其中间有一不很明显凹陷的沟。

关键词: 圆形碘泡虫; 关桥碘泡虫; 孢子; 光镜; 扫描电镜

中图分类号: S941.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1009-3207(2003)03-0264-05

粘孢子虫除少数种类寄生在蠕虫、两栖类和爬行类外, 绝大部分寄生于鱼类, 可以说粘孢子虫是鱼类特有的寄生原生动物类群。自 Gluge 首次发现粘孢子虫以来, 至今国内外已报道有近 1200 种^[1], 其中在我国淡水鱼类中寄生的就有 600 余种^[2]。几乎在鱼体的所有器官都有粘孢子虫寄生, 并在鱼的体表和内脏形成许多大小不一的孢囊, 使鱼失去商品价值, 严重时可导致鱼类大量死亡, 给鱼类养殖生产带来巨大的经济损失。作者通过对寄生于鲫的圆形碘泡虫和异育银鲫的关桥碘泡虫的形态学观察, 为粘孢子虫病的检测及防治奠定基础。

1 材料和方法

1.1 材料鱼来源 二龄鲫鱼 [*Carassius auratus* (L.)] 52 尾, 个体体重 300—400g, 取自湖北省鄂州市莲花庄; 异育银鲫 [*Carassius auratus gibelio* (Bloch)] 10 尾, 个体体重 20—30g, 取自中国科学院水生生物研究所关桥养殖基地。活体运回实验室, 暂养于水族箱。

1.2 诊断 按照鱼病诊断与防治手册^[3] 中寄生虫的诊断方法进行检查。

1.3 吉姆萨染色 将新鲜孢子涂片后, 置空气中自然干燥, 然后用 10% 福尔马林固定, 吉姆萨染色 10min, 封片、镜检。

1.4 H.E 染色 用 10% 福尔马林固定粘孢子虫标本, 系列乙醇脱水, 二甲苯透明, 石蜡包埋, 切片厚度 7—8 μ m, 切片脱蜡双染色 (Ehrlich's 苏木精染液和伊红染液), 镜检。

1.5 扫描电镜观察 从病鱼中剥离的胞囊, 用磷酸缓冲液 (PBS, pH 8.0) 洗 3 次, 匀浆器匀浆, 蔗糖密度梯度离心提纯孢子; 2.5% 戊二醛溶液 (PBS, pH 8.0 配制) 于 4℃ 下预固定 2h; PBS 洗 3 次, 每次 15min; 用 1% 锇酸于 4℃、黑暗条件下后固定 1h; 系列乙醇脱水, 磷酸戊二酯渗透, 换液 3 次, 每次 15min。HCP-2 型 CO₂ 临界点干燥 2h, 镀膜, Amray 1830 型扫描电镜观察。

2 结果

2.1 病鱼的临床症状

患病鲫在水中游动缓慢, 眼睛和鳍条严重出血, 一些病鱼鳍条腐烂, 吻部红肿, 体表有大量的粘液, 最明显的特征是在鲫的体表、头部、鳃、吻部及鳍条

收稿日期: 2001-11-13; 修订日期: 2002-12-18

基金项目: 中国科学院重大项目 (KZ951-B1-111); 中国科学院知识创新项目 (KSCX2-1-04); 中国科学院生命科学与生物技术青年科学家小组项目 (1999051); 湖北省自然科学基金课题 (98J019) 资助

作者简介: 吴英松 (1974—), 男, 浙江义乌人; 博士; 现工作单位为中国人民解放军第一军医大学。桂建芳研究员和周莉博士提供异育银鲫材料, 特此致谢

通讯作者: 汪建国, 研究员, Email: wangjg@ihb.ac.cn

上有许多大小不一的乳白色圆形胞囊(图版 I : 1—3)。患病异育银鲫在水中游动缓慢, 腹部膨大、隆起, 体表分泌大量的粘液, 剖开病鱼可见腹腔积水较多, 一个大胞囊几乎充满整个肝脏, 其他内脏器官被挤到一侧。

2.2 粘孢子虫种的描述

患病鲫中剥离的胞囊近圆形, 乳白色, 长 82 (32—125) μm , 宽 73 (37—95) μm 。成熟孢子壳面观呈圆形或近圆形, 缝面观呈凸透形, 缝脊宽而直, 孢壳厚而均匀, 后部有时表现 5—6 个“V”形缺刻, 囊间突明显, 两个极囊呈犁形, 大小相等, 呈“八”字形分开, 约占整个孢子长度的 1/2, 极丝清晰可见约 7 圈。孢子长 9.32 (8.06—9.89) μm , 宽 8.31 (7.56—8.64) μm , 厚 5.67 (5.17—6.44) μm , 极囊长 4.65 (3.81—5.53) μm , 宽 3.10 (2.72—3.34) μm 。圆形嗜碘泡明显, 两个极囊核位于极囊底部, 孢质中含两个胚核(图版 I : 4)。根据以上特征, 鉴定寄生鲫鱼的粘孢子虫为圆形碘泡虫 (*Myxobolus rotundus* Nemerz, 1911)。鉴定寄生异育银鲫的粘孢子虫为关桥碘泡虫 (*M. guangiaoensis* Wu & Wang, 1997) (图版 I : 5), 其种的描述见文献^[4]。

2.3 虫体染色观察

从吉姆萨染色的标本中可见关桥碘泡虫成熟孢子极丝的释放情况, 极丝的长度约是成熟孢子长的 5 倍(图版 I : 6)。通过 H. E 染色, 圆形碘泡虫的 2 个极囊清晰可见, 每个孢子含 4 个核, 2 个极囊核, 位于 2 个极囊的下方, 2 个胚核(图版 I : 7)。关桥碘泡虫的孢子质细胞也存在 2 个细胞核(图版 I : 8)。

通过对感染有关桥碘泡虫的病鱼肝脏的病理切片观察, 可见病鱼的正常肝组织被破坏, 整个肝脏基本上被虫体所充满, 形成一个大大胞囊, 内含许多小胞囊, 在小胞囊的四周, 可见一些肝细胞(图版 I : 9)。

2.4 扫描电镜观察

2.4.1 圆形碘泡虫

成熟孢子表面光滑, 无条纹状的结构, 缝脊直而明显, 宽 0.2 μm , 两个壳片缝合得较好, 缝脊上下两侧对称, 其中间及两边无凹陷的沟, 孢子后部无黏膜状物质覆盖(图版 II : 5—7)。

2.4.2 关桥碘泡虫

成熟孢子个体较大, 表面皱褶, 其程度不等, 有的较轻(图版 II : 1), 有的严重, 如图版 II : 2 的虫体一侧向内凹陷形成盆状, 孢子无条纹状的结构, 缝脊呈“S”形, 宽 0.5 μm , 缝脊上下两侧不对称, 其中间有一不明显凹陷的沟, 孢子后部无黏膜状物质覆盖(图版 II : 3—4)。

3 讨论

3.1 光镜观察

圆形碘泡虫感染率较高, 在检查的 52 尾鱼中有 36 尾感染圆形碘泡虫, 感染率 69.2%。另外, 圆形碘泡虫仅在病鱼体表寄生, 内脏器官内未发现感染, 属于体表寄生的种类。圆形碘泡虫首先由 Nemerz^[5]发现, 根据他的描述, 除极丝的圈数稍有差别外, 其他构造无显著差别, 故认为是同种。刘立庆等^[6]报道在青海湖裸鲤中寄生的圆形碘泡虫与本种在孢子和胞囊的大小、囊间突的存在与否等方面有所不同, 作者认为他描述的圆形碘泡虫可能是全圆碘泡虫 (*M. rotundatus* Acherov)。从寄生有关桥碘泡虫的异育银鲫病鱼肝脏组织切片中可见, 病鱼的肝组织破坏严重, 整个肝脏基本上被虫体所充满, 肝脏的正常功能严重受损, 致使病鱼死亡。

3.2 孢子的扫描电镜观察

Lom 等^[7]和 Desser 等^[8]分别对脑粘体虫和碘泡虫一新种的孢子进行了扫描电镜的观察, 发现孢子的后部都有一层黏膜覆盖; 而圆形碘泡虫和关桥碘泡虫的孢子表面并无黏膜成分, 同样 *M. cartilaginis* 孢子也没有黏膜覆盖^[7]。Desser 等^[8]认为黏膜的缺失可能是在制片过程中关键点干燥时所致, 并认为制片技术对保持孢子结构的完整性是相当重要的。在光镜下, 也未观察到这两种粘孢子虫的孢子后部有黏膜成分的存在, 孢子表面有无黏膜覆盖可能是不同种之间的差异。

圆形碘泡虫的孢子表面光滑, 类似于 *M. herrickson*、*M. cyprini* 和 *M. pharyngens* 等孢子的表面^[9]; 而关桥碘泡虫孢子表面较皱褶; 如 *Myxidium serum*、*M. durum* 和 *M. mindanoensis* 等两极虫的孢子表面有条纹结构^[10]; 因此, 孢子表面的一些特征可以作为粘孢子虫分类的依据之一。

在扫描电镜下, 孢子表面的结构特征比较清晰, 一些在光镜下不易观察到的表面结构也可被观察到。因此, 孢子的扫描电镜观察可作为粘孢子虫分类的辅助手段, 它可提供更多的特征信息。

参考文献:

- [1] Lom J. Myxosporea: a new look at long known parasites of fish[J]. *Parasitol. Today*, 1987, 3(11): 327—332
- [2] Chen Q L, Ma C L. Fauna sinica Myxozoa: Myxosporea[M]. Beijing: Science Press. 1998. [陈启鏊, 马成伦. 粘孢子虫志. 北京: 科学出版社, 1998]
- [3] Pan J P. Handbook of the diagnoses and the prophylactics and their

peutics of fish diseases[M]. Shanghai scientific and technical publishers [潘金培. 鱼病诊断与防治手册. 上海: 上海科学技术出版社, 1988, 5—8]

[4] Wu Y S and Wang J G. A new species of myxosporidian from Allogynogenetic silver crucian carp (Myxosporaea: Bivalvulida, Myxobolidae) [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 1997, **21**(3): 268—270. [吴英松, 汪建国. 寄生异育银鲫的碘泡虫一新种(粘孢子纲: 双壳目, 碘泡科). 水生生物学报, 1997, **21**(3): 268—270]

[5] Nemeczek A. Beitrage zur Kenntnis der Myxo- und Microsporidien der Fish [J]. *Archiv für Protistenkunde*, 1911, **22**: 143—169

[6] Liu L Q, Wang B D, Yang T. Studies on myxosporidia from *Gymnocypris przewalskii przewalskii* (Kessler) in Qinghai Lake [J]. *Acta Biologica Plateau Sinica*, 1982, 61—68. [刘立庆, 王宝铎, 杨涛. 青海湖裸鲤寄生粘孢子虫的研究. 高原生物学集刊, 1982, (1): 61—68]

[7] Lom J, Hoffman G L. Morphology of the spores of *Myxosoma cerebralis* (Hofer, 1903) and *M. acilaginis* (Hoffman, Putz, and Dunbar, 1965) [J]. *J. Parasitology*, 1971, **57**: 1302—1308

[8] Desser S S, Paterson W B. Ultrastructural and cytochemical observations on sporogenesis of *Myxobolus* sp. (Myxosporida: myxobolidae) from the common shiner *Notropis cornutus* [J]. *J. Protozool*, 1978, **25**: 314—326

[9] Mitchell L G, et al. Light and electron microscopy of *Myxobolus herricksoni* sp. nov. (Myxozoa: Myxobolidae) infecting the brain of the fathed minnow, *Pimephales promelas* Rafinesque [J]. *J. Fish. Dis*, 1985, **8**: 75—89

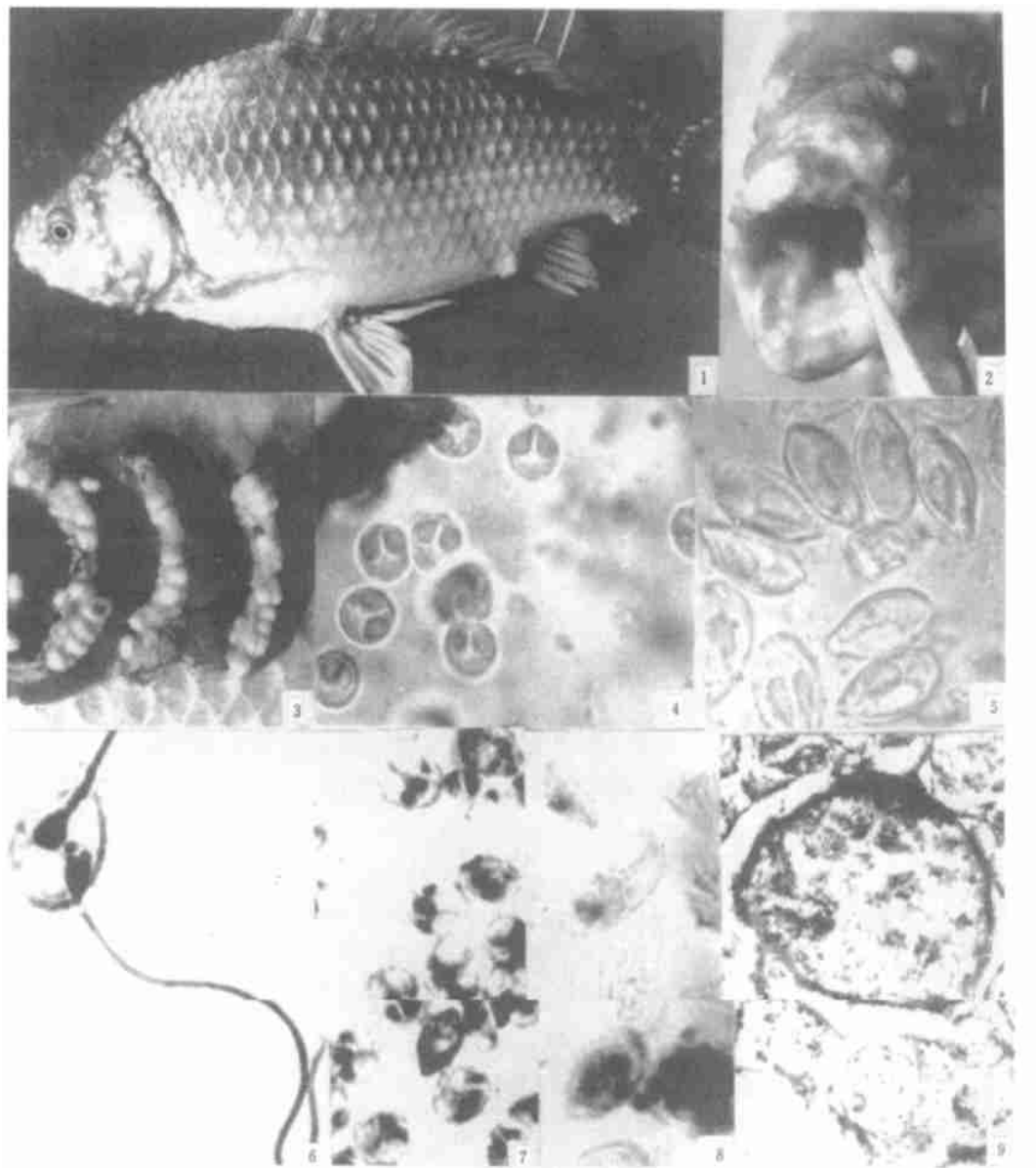
[10] Hine P M. A review of some species of *Myxidium* Butschli, 1882 (Myxozossporea) from eels (*Anguilla* spp.) [J]. *J. Protozool*, 1980, **27**(3): 260—267

STRUCTURE OF THE SPORES OF MYXOBOLUS ROTUNDUS AND MYXOBOLUS GUANQIAOENSIS UNDER OPTICAL AND SCANNING ELECTRON MICROSCOPY

WU Ying-Song and WANG JiarGuo
(Institute of Hydrobiology, The Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072)

Abstract: This paper dealt with the structure of the mature spore of *Myxobolus rotundus* Nemeczek, 1911 and *Myxobolus guanqiaoensis* Wu & Wang, 1997 under the optical and scanning electron microscopy. *M. Rotundus* was found in the body surface, head, gill, lip, and fin of *Carassius auratus*. It formed various inch cysts. *M. guanqiaoensis* was found in the liver of allogynogenetic silver crucian carp. It was found by histopathological observations that heavy infection of the spores could destroy the hepatic tissue. Under scanning electron microscopy, surface of the spore of *M. rotundus* was generally smooth. Its sutural line was straight and distinctive, running near the middle of the valves. Width of the sutural ridge was about 0.2 μm. Surface of the spore of *M. guanqiaoensis* was lightly shrunk. Its sutural line was S shaped and about 0.5 μm in width. The both valves of the spore were not bilateral symmetry. A furrow was observed in middle of sutural ridge. No striation pattern was found on surface of the spore, and no mucous envelope was around the spore in the two species.

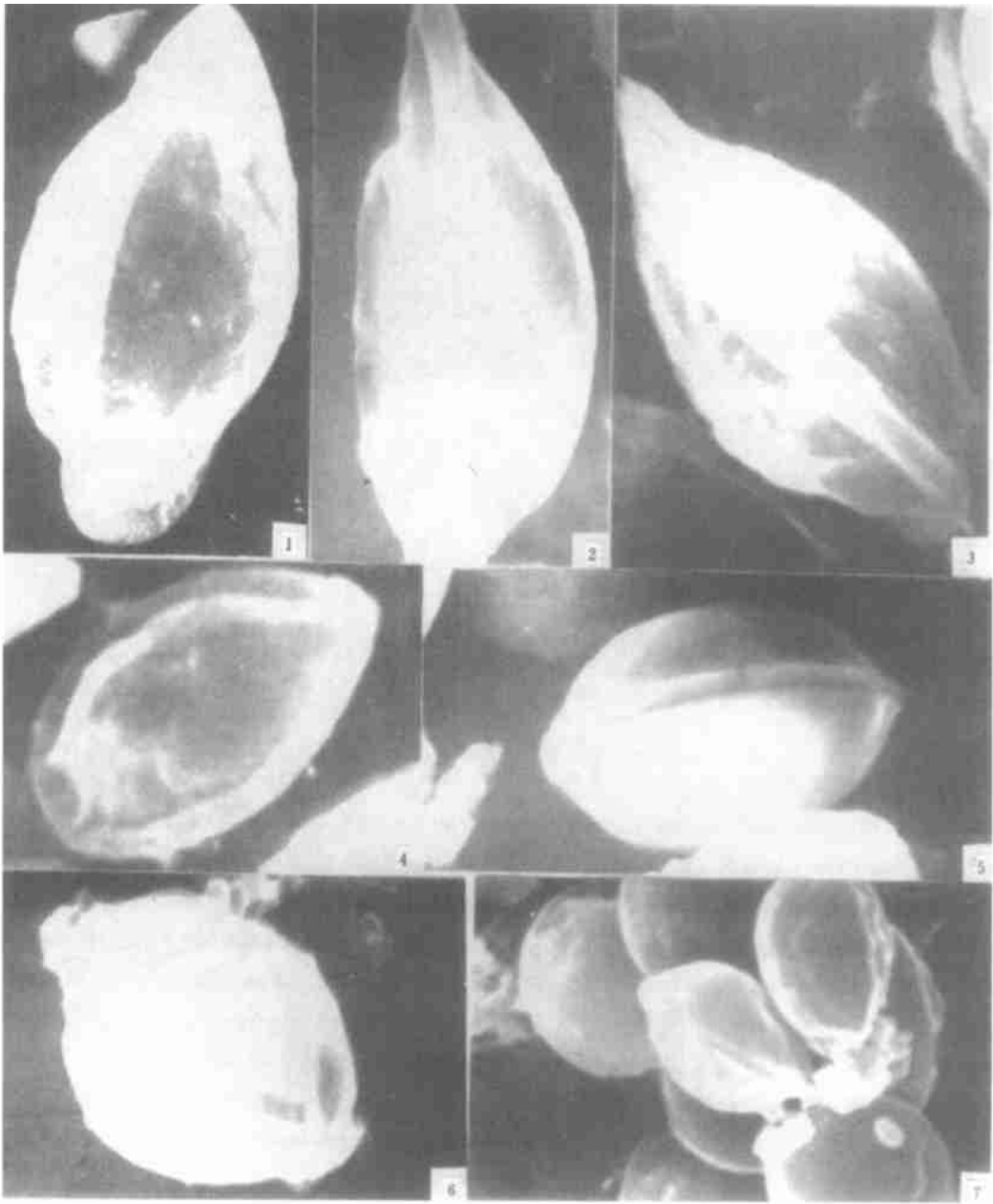
Key words: *Myxobolus rotundus*; *Myxobolus guanqiaoensis*; Spore; Optical microscopy; Scanning electron microscopy



图版 I

1—3 患圆形碘泡虫病的鲫鱼; 4. 圆形碘泡虫新鲜孢子, $\times 600$; 5. 关桥碘泡虫新鲜孢子, $\times 765$; 6. 关桥碘泡虫, 吉姆萨染色, $\times 1000$; 7. 圆形碘泡虫, 苏木精-伊红染色, $\times 700$; 8. 关桥碘泡虫, 苏木精-伊红染色, $\times 1000$; 9. 患关桥碘泡虫病鱼的肝脏切片, 苏木精-伊红染色, $\times 120$

1—3. *Carassius auratus* infected with *Myxobolus rotundus*, $\times 600$; 4. Fresh spores of *M. Rotundus*, $\times 600$; 5. Fresh spores of *Myxobolus guangjiaoensis*, $\times 765$; 6. *M. guangjiaoensis*, stained by Giemsa, $\times 1000$; 7. *M. rotundus*, stained by hematein & eosin, $\times 700$; 8. *M. guangjiaoensis*, stained by hematein & eosin, $\times 1000$; 9. The liver of allogynogenetic silver crucian carp parasitized by *M. guangjiaoensis*, stained by hematein & eosin, $\times 120$



图版 II

1—4 关桥碘泡虫的扫描电镜照片, 1. $\times 4250$ 2. $\times 5200$ 3. $\times 3200$ 4. $\times 6260$; 5—7. 圆形碘泡虫的扫描电镜照片, 1. $\times 6000$ 2. $\times 9000$ 3. $\times 8500$
1—4. Scanning electron micrographs of *Myxobolus guanqiaoensis*, 1. $\times 4250$ 2. $\times 5200$ 3. $\times 3200$ 4. $\times 6260$;
5—7. Scanning electron micrographs of *Myxobolus rotundus*, 1. $\times 6000$ 2. $\times 9000$ 3. $\times 8500$