

中华血簇虫的生活史研究(复顶门:孢子纲)

II. 中华血簇虫在中华鳖中的发育*

柴建原 陈启鏊

(中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072)

提 要

中华血簇虫^[1]在其无脊椎动物寄主中的发育已另有文描述^[2]。这里报道的是中华血簇虫在中华鳖中的发育。这一时期包括三个阶段:组织细胞内裂体增殖、深部血红细胞内的裂体增殖和外周血红细胞内的裂体增殖。组织细胞内裂殖体产生14—32个裂殖子。深部血红细胞内的裂殖体分为两类:一类是X裂殖体,它产生14—18个小裂殖子;另一类是Y裂殖体,它产生4—6个大裂殖子。外周血红细胞内的初期裂殖体可产生多至14个裂殖子,而随后的裂殖体增殖却产生越来越少的裂殖子,且裂殖体和裂殖子的大小也渐趋变小。外周血晚期的裂殖体只形成2个裂殖子。配子母细胞来源于Y裂殖子。营养体是由上一代裂殖子向下一代裂殖体发育的中间时期。

关键词 中华鳖,裂体增殖,外周血,中华血簇虫

Danilowsky (1885)^[5] 最早记述了血簇虫这类原生动物,接着 Reichenow (1910)^[14] 研究了 *Haemogregarina stepanowi* 的生活史,发现了它在欧洲池龟 *Emys orbicularis* 中的发育情形。该虫在龟骨髓的红细胞内行裂体增殖,产生12—14个裂殖子,在外周血红细胞中的裂体增殖产生6—8个裂殖子,不在组织细胞内进行这种繁殖。同年,Robertson (1910)^[15] 研究了斯里兰卡水龟 *Nicoria trijuga* 中的 *Haemogregarina nicoriae*,发现这种血簇虫在龟的肺毛细血管腔中行裂体增殖,产生70多个裂殖子,而在外周血红细胞中则也产生6—8个裂殖子。Acholonu (1974)^[3] 在拟龟 *Pseudemys scripta elegans* 中发现了 *Haemogregarina pseudemydis* 的寄生,它在龟外周血红白细胞中均有裂体增殖,产生35—140±5个裂殖子。1976年, Patterson 和 Desser^[12] 描述了鳄龟 *Chelydra serpentina* 中寄生的 *Haemogregarina balli*,它在肝、肺、脾以及 Kupffer 氏细胞中行裂体增殖,产生13—25个裂殖子,外周血及深部血红细胞里的裂殖体也产生6—8个裂殖子。Misra (1974)^[9-11] 在印度的恒河鳖 *Trionyx gangeticus* 里记述了另一种血簇虫 *Haemogregarina gangetica* 的寄生,它在肺毛细血管的内皮细胞里行裂体增殖,外周血红细胞内的裂殖体产生8个裂殖子。Ray 和 Bhattacharjee^[13] 在印度的西孟加拉邦的水龟 *Lissemys punctata punctata* 中又发现了另一种血簇虫的寄生,即 *Haemogregarina*

* 本文蒙倪达书先生审阅,谨致谢忱。
1987年10月22日收到。

choudhuryi, 它在肺毛细血管的上皮细胞内行裂体增殖, 产生 20—35 个裂殖子, 而在红细胞中的裂体增殖则产生 6 个裂殖子。

我国除了作者已发表的两篇文章外, 尚无有关龟鳖类血簇虫的更多报道。本文是对中华血簇虫在中华鳖中发育的描述。

材 料 和 方 法

试验用鳖主要来自市场。从 1984 年 3 月到 1985 年 3 月, 用于试验的鳖共计 248 只。外周血涂片、组织涂片(包括心、肺、肝、脾和肾)和骨髓涂片均用甲醇固定, 吉姆萨液染色。组织切片用波恩液固定, 海苏木精或 H·E 染色。文中测量数据均以 μm 为单位。

结 果

1. 组织细胞内的发育

中华血簇虫的组织细胞内发育仅见于肝脏, 在其它组织器官中均未发现。由肝组织涂片, 可以看到早期的裂殖体, 大小为 $15.10—15.30 \times 7.14—8.16$ (测量 15 个标本), 细胞质染色浅, 核不明显或呈松散状。在红细胞内时, 使红细胞极度膨大, 有时会造成红细胞核解体。但更多的是游离在寄主细胞外。肝组织切片可看到这样的裂殖体存在于 Kupffer 氏细胞中。但无论出现在何处, 虫体周围都有一个宽大的膜囊包被, 使裂殖体周围形成一个空腔。这个膜囊就是嗜寄生虫泡 (parasitophorous vesicle)。稍晚一些的裂殖体体积明显增大, 细胞质染色变深, 呈网状或颗粒状, 核也明显起来。随着裂殖体的体积增大, 裂殖体中的核团数由少变多, 并可见核分裂的状态, 核团无秩序地堆积或分散在裂殖体中。随着裂殖体的成熟, 核团逐渐变得有序而规整, 从切片上可看到裂殖子开始分化出来。裂殖子前端向外, 后端向内, 围绕裂殖体的残余体呈辐射状排列 (图版 I: 1, 2)。残余体呈颗粒状, 随着裂殖体的成熟, 残余体越来越小。成熟的裂殖体为 $17.45—18.26 \times 14.80—15.47$ (测量 15 个标本), 产生 14—32 个裂殖子。裂殖子释放时, Kupffer 氏细胞解体。组织裂殖子呈茄形, 核略前端。裂殖子大小为 $8.46—9.28 \times 2.32—2.62$ (测量 15 个标本)。裂殖子侵入红细胞, 来到外周血中 (图版 I: 3)。

2. 外周血中的营养期

含有组织裂殖子的红细胞来到外周血后, 较细的虫体后部弯向侧面, 形成所谓的双臂型营养体。虫体周围有嗜寄生虫泡形成的空腔。幼的双臂型营养体为 $8.04—8.25 \times 2.80—3.15$ (测量 15 个标本)。稍大一点的营养体, 两臂近于等长, 核更接近臂弯处。成熟的营养体为 $15.02—15.84 \times 5.98—6.43$ (测量 15 个标本), 小臂长是大臂长的 $1/2$ 以上, 核位于臂弯处大臂一侧, 寄主红细胞核被挤到一旁 (图版 I: 4)。成熟的营养体常逸出红细胞, 在寄主细胞外运动, 这用悬滴法活体观察时即可看到。双臂型营养体有时在出红细胞前即伸展开来, 这时, 嗜寄生虫泡就留在红细胞内, 存留一段时间即自行消失; 有时, 营养体在逸出红细胞后才伸展, 这样, 嗜寄生虫泡就被带出红细胞。带出红细胞的嗜寄生虫泡,

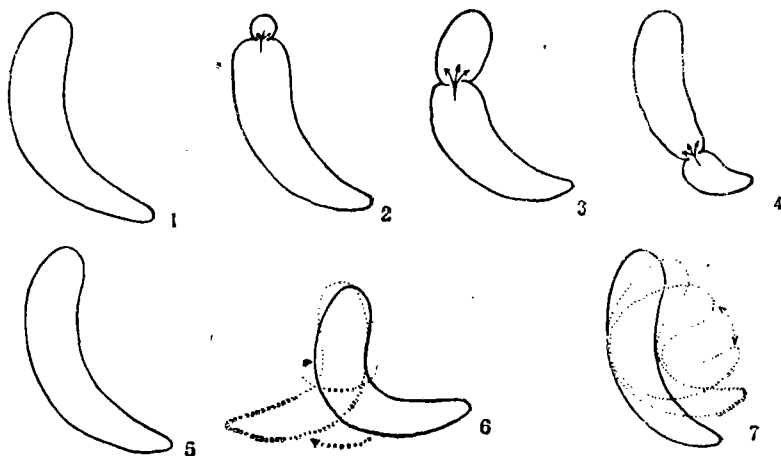


图 1—7 1—5 滑动 6 旋转 7 折曲

fig. 1—7 1—5 sliding; 6 rotation; 7 folding

待营养体伸展后,即成为一个空泡,由虫体后端牵着在细胞间运动。运动一段时间后,拖在虫体后面的空泡就脱落下来,游离的营养体继续运动。

营养体的运动通常表现为三种形式(图 1—7):滑动、旋转和折曲。滑动时,虫体前端的质膜收缩,形成一条横缢带,使营养体前端出现一个突出的“小头”。接着,横缢带后面的原生质慢慢地向带前流动,使带前部分逐渐增大,带后部分逐渐变小。粗看起来,仿佛是横缢带的后移,但实际上是原生质的向前流动。随着这种流动的继续,横缢带后面部分的虫体逐渐消失,使营养体向前滑动出一个营养体长度的距离。随后,虫体前部再次出现横缢带,并重复上述过程,使虫体不断地滑动向前。旋转运动是营养体以前端粘贴在一点上,虫体后部弯曲起来,作绕环运动。这种运动不引起虫体在空间上的位移。折曲运动是虫体弯曲,头尾相互靠近,然后再突然伸展开来,伴随着这种伸展,虫体就会被弹出一段距离。这样不断地折曲伸展,营养体就运动向前了。

用悬滴法观察时,营养体的运动可持续 9h,以后逐渐减弱,最后完全停止。而寄生在寄主细胞内时,却从未见有任何明显的运动迹象。营养体逸出红细胞运动的意义还不清楚。有趣的是,庞大的营养体在出红细胞时,并不引起红细胞的解体。没有观察到营养体进入红细胞的情形。在红细胞外伸展的营养体(图 1—5)大小为 $25.25-26.04 \times 4.82-5.20$ (测量 15 个标本)。

3. 在肝深部血红细胞中的发育

在肝涂片中,常能看到成熟的双臂型营养体寄生在红细胞中,但有些营养体的双臂已融合在一起,形成一个粗柱体,大小为 $15.62-16.22 \times 6.73-7.20$ (测量 15 个标本)。原来位于大臂一侧的核也渐渐伸向对侧,与虫体等宽。随后,核开始分裂,形成一些不规则的核团,堆积在原来核的位置。这便是深部血红细胞中的裂殖体。核团增多后,无秩序地散到整个裂殖体的胞质中。近成熟时,裂殖体内的核团变得规则而有序,渐渐分化出裂殖子。裂殖子在裂殖体中的排列形式不定,有时平行裂殖体的长轴排列,有时则垂直裂殖体的长轴排列。成熟的裂殖体为 $17.14-19.18 \times 8.16-9.18$ (测量 15 个标本),使寄主细胞

极度膨大,常常胀破红细胞,游离在深部血中(图版 I:6)。这种裂殖体产生 14—18 个裂殖子(图版 I:7)。裂殖子呈楔状大小为 $6.84-7.18 \times 2.56-3.10$ (测量 20 个标本),核近中位。深部血红细胞中还存在着另外一种裂殖体,大小与上一种相近,但只形成 4—6 个比较大的裂殖子(图版 I:8, II:9),呈香蕉状,大小为 $10.65-11.10 \times 2.84-3.12$ (测量 20 个标本),核中位。这种裂殖子较上一种裂殖子染色浅。为区别起见,我们称前一种裂殖体为 X 裂殖体,后一种为 Y 裂殖体。

4. 外周血红细胞中的发育

外周血中的血簇虫比较复杂,有组织裂殖子、不同大小的双臂型营养体、X 裂殖子和 Y 裂殖子、两性配子母细胞、不同时期的裂殖体及裂殖子等。这些不同时期的虫体,常常可能同时存在于一只鳖的外周血中。但通过连续的外周血涂片,我们可以看到在不同时间取血,外周血中血簇虫不同发育期的组成不同。由此我们可以判断出发育的先后进程。把外周血中以 X 裂殖子为主的鳖进行连续的外周血涂片,可看到 X 裂殖子在红细胞中长大,并出现核分裂,形成裂殖体。这种裂殖体的细胞质染色深,呈颗粒状,大小为 $13.45-16.82 \times 8.04-8.53$ (测量 15 个标本,图版 II:12),产生 6—14 个裂殖子(图版 II:13)。裂殖子呈黄瓜形,大小为 $7.82-8.25 \times 2.04-3.16$ (测量 20 个标本),核大,居中,约占虫体长的一半,细胞质呈颗粒状。成熟的裂殖体解体释放裂殖子时,寄主红细胞也同时解体。释放出的裂殖子侵入红细胞,又发育成裂殖体,大小为 $10.84-11.23 \times 6.04-6.48$ (测量 15 个标本,图版 II:14),产生 6—10 个裂殖子(图版 II:15)。裂殖子狭长, $6.04-6.25 \times 1.86-2.08$ (测量 20 个标本),核致密而狭长, $3.48-3.60 \times 1.82-1.96$ (测量 20 个标本),细胞质染色浅淡。裂殖子释放时,寄主细胞也解体。这种裂殖子侵入红细胞后,继续进行裂体增殖。到最后,外周血中的裂殖体大小只有 $6.82-7.34 \times 2.00-2.16$ (测量 10 个标本)。这样的裂殖体在分裂时,首先核沿虫体的长轴方向拉长,接着,虫体中部出现横缢。继之,分裂为 2 个裂殖子(图版 II:16)。

外周血中的配子母细胞与外周血中的裂体增殖没有直接联系,它们来源于深部血中的 Y 裂殖子,因此,在深部血涂片中也能看到大量含配子母细胞的红细胞。雌配子母细胞短棒状(图版 II:11),虫体略弯,胞质染色浅,核近中位,虫体大小为 $8.24-10.02 \times 3.86-4.14$ (测量 15 个标本);雄配子母细胞呈蝌蚪状,有一较细的尾巴弯向虫体侧面,染色较深,虫体大小为 $8.62-10.82 \times 3.80-4.20$ (测量 15 个标本,图版 II:10)。配子母细胞在外周血中比较稳定,长时间内都能查到。

通过试验观察,我们认为,中华血簇虫的生活史可划分为五个时期,在鳖穆蛭中的配子生殖和孢子生殖已另文介绍了^[2]。在中华鳖中的发育可分为组织细胞内的裂体增殖、深部血红细胞内的裂体增殖和外周血红细胞内的裂体增殖三个时期(图 8)。

5. 对鳖的感染状况以及所造成的病理性影响

在血检的 248 只中华鳖中,只有 40 只没有发现血簇虫的感染,总感染率为 83.9%,感染强度最高可达 19.7% (感染强度以 1000 个红细胞中被感染的红细胞数计算)。每年的 5—9 月,血簇虫的感染率和感染强度均表现出高峰。这是由于寄主的活跃运动和血簇虫

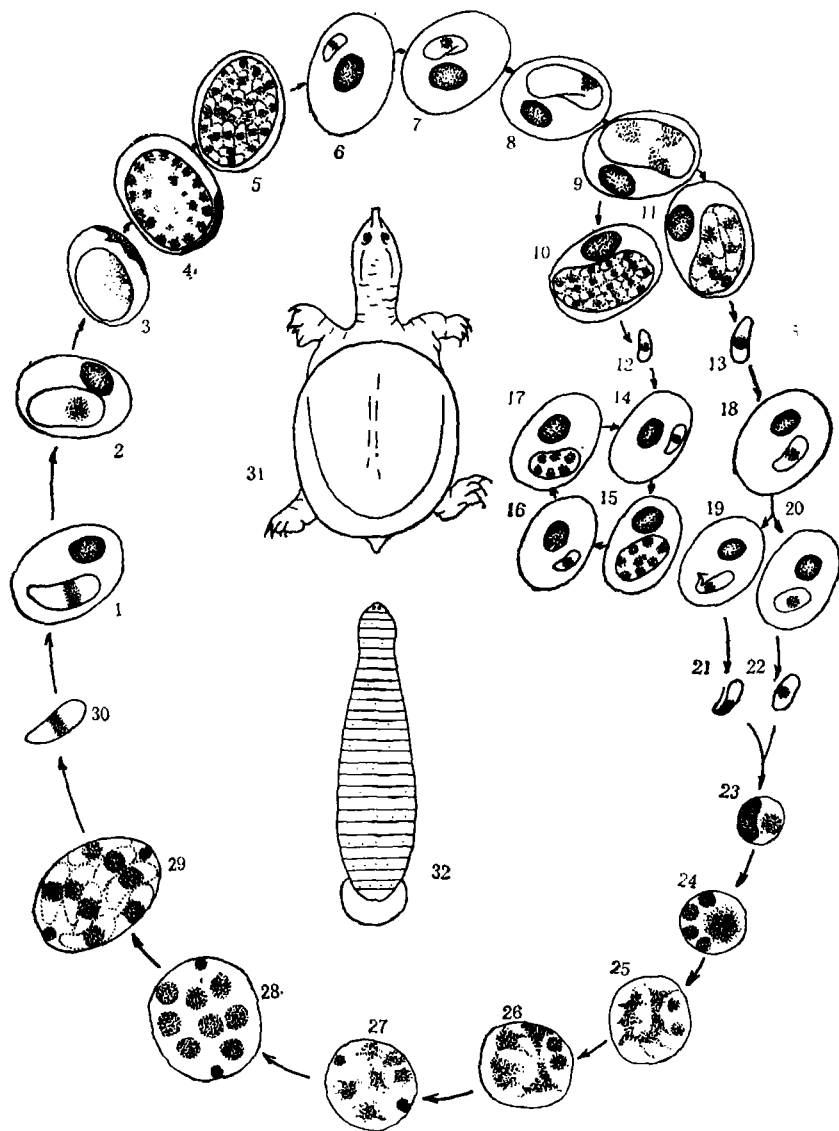


图8 中华血簇虫生活史概览

1. 子孢子侵入红细胞; 2. 子孢子发育成裂殖体; 3—5. 组织细胞内的裂体增殖; 6. 组织裂殖子侵入红细胞; 7—8. 双臂型营养体的发育; 9—11. 深部血红细胞内的裂体增殖; 12. X-裂殖子; 13. Y-裂殖子; 14—17. 外周血红细胞内的裂体增殖; 18—20. 配子母细胞生成; 21—24. 在蛭消化道中的配子生殖; 25—30. 在蛭消化道中的孢子生殖; 31. 中华鳖; 32. 鳖穆蛭

Fig. 8 The life cycle of *Haemogregarina sinensis*

1. a sporozoite in host erythrocyte; 2. a schizont developed from a sporozoite; 3—5. schizogony occurred in Kupffer's cell; 6. a merozoite in peripheral erythrocyte; 7—8. trophozoite in red blood cell; 9—11. schizogony occurred in the deep blood cell; 12. X-merozoite; 13. Y-schizont; 14—17. schizogony occurred in the peripheral blood cell; 18—20. the development of gametocytes; 21—24. gametogony occurred in the gastric ceca of leeches; 25—30. sporogony occurred in the gastric ceca of leeches; 31. *Trionyx sinensis*; 32. *Moorestorix cotylifer*

旺盛的裂体增殖的结果。这样高的感染率和感染强度给寄主内环境造成严重的破坏。被

感染的红细胞内常挤满了血簇虫,寄主细胞核被挤到一边,细胞严重膨大,变形,失去正常的生理功能。特别是当血簇虫在红细胞内进行裂体增殖时,会造成大量红细胞的解体,外周血中出现许多幼红细胞,这是一种代偿性增生。白细胞表面常能看到许多伪足状突起,表明其生理活动的加强。

讨 论

1. 裂体增殖 中华血簇虫生活史的大部分时间,是在无性的裂体增殖活动中度过的。虽然依其发生部位的不同,划分了三个时期,但从总体上来看,这是一个连续的过程。由下面列出的情况,即可反映出这个过程的特征所在。

裂殖体的大小:组织裂殖体($17.45-18.26 \times 14.80-15.47$)→深部血裂殖体($17.14-19.18 \times 8.16-9.18$)→外周血早期裂殖体($13.45-16.82 \times 8.04-8.53$)→外周血后期裂殖体($6.82-7.34 \times 2.00-2.16$)。

裂殖子数:组织裂殖子(14—32)→深部血裂殖子(14—18)→外周血早期裂殖子(6—14)→外周血晚期裂殖子(2)。

裂体增殖的部位:组织细胞(肝 Kupffer 氏细胞)→组织内血红细胞(肝深部血红细胞)→外周血红细胞。

由此可见,随着血簇虫的发育,裂体增殖的部位由组织深部向外周循环系统迁移,同时,裂殖体的体积逐渐变小,产生裂殖子数也渐次减少。另外,裂体增殖的发生与温度有关。随着冬季的到来,鳖中的裂体增殖现象越来越少,到 12 月、1 月和 2 月,就几乎找不到裂体增殖的情形了。直到 3 月份以后,才又逐渐表现出裂体增殖活动来。而且,随着气温的升高,裂体增殖也逐渐旺盛起来。

2. 营养体 所谓血簇虫的营养体,是指由上代裂殖子(或子孢子)发育为下代裂殖体所经历的中间过程。在各阶段的营养体中,双臂型营养体是血簇虫的共同特征。Mackerras (1961)^[3]曾把这个时期的虫体当作配子母细胞,并以其对寄主细胞的影响作为分种依据而编立检索表。但根据我们的观察,这种影响是不稳定的,看不出明显的种的特征。关于血簇虫出红细胞的运动,早在 1885 年 Danilowsky^[2]就作了描述,本世纪初 Reichenow (1910)^[14]和 Robertson (1910)^[15]也分别都有记述。但最为系统的描述还要数 Desser 和 Weller (1973)^[6]的文章。我们观察的情况基本上与这些学者的描述类似。双臂型营养体出红细胞运动的意义还不清楚, Hahn(1909)^[7]认为,可能是缺氧的原因。但 Baker 和 Lainson (1967)^[4]发现,无论多么迅速取血,都能看到这种情形,故此,他们认为这可能是血簇虫生活史的一个阶段。

参 考 文 献

- [1] 柴建原、陈启盛, 1990. 龟鳖类寄生血簇虫六新种. 水生生物学报, 14(2): 129—137.
- [2] 柴建原、陈启盛, 1990. 中华血簇虫的生活史研究 I. 中华血簇虫在鳖穆蛭中的发育. 水生生物学报, 14(3): 260—264.
- [3] Acholonu A. D., 1974. *Haemogregarina pseudemydis* n. sp. and *Pirkemocyton chelonarum* n. sp. in turtles from Louisiana. *J. Protozool.*, 21: 659—664.
- [4] Baker J. R. & Lainson R., 1967. The fine structure of the gametocyte of an Adeleine haemogregarine.

- J. Protozool.*, 14: 233—238.
- [5] Danilowsky B., 1885. Die haematozoen der kaltbluter. *Arch. f. Mikro. Anat.*, 24: 588—598.
- [6] Desser S. S. & Weller I., 1973. Structure, cytochemistry, and locomotion of *Haemogregarina* sp. from *Rana berlandieri*. *J. Protozool.*, 20: 65—73.
- [7] Hahn C. W., 1909. The stages of *Haemogregarina stepanowi* Danilowsky found in the blood of turtles with special references to changes in the nucleus. *Arch. Protistenkd.*, 17: 307—376.
- [8] Mackerras M. J., 1961. The haematozoa of Australian reptiles. *Austral. J. Zool.*, 9: 61—122.
- [9] Misra K. K., 1976. *Haemogregarina gangetica*, a new name for *Haemogregarina simondi* of a river turtle *Trionyx gangeticus* Cuvier. *Acta Protozool.*, 15: 21—22.
- [10] ———, 1981. Erythrocytic schizogony in *Haemogregarina gangetica* of a river turtle, *Trionyx gangeticus* Cuvier. *Proc. Zool. Soc. Calcutta*, 32: 141—143.
- [11] Misra K. K., Nandi N. C., Raut S. & Choudhury A., 1974. *Haemogregarina simondi* sp. n. a new haemogregarine from a river turtle, *Trionyx gangeticus* Cuvier. *Acta Protozool.*, 12: 345—350.
- [12] Patterson W. B. & Desser S. S., 1976. Observations on *Haemogregarina balli* n. sp. from the common snapping turtles *Chelydra serpentina*. *J. Protozool.*, 23: 294—301.
- [13] Ray R. & Bhattacharjee A., 1984. *Haemogregarina choudhuryi* sp. n. in common pond water turtle, *Lissemys punctata punctata* from West Bengal. *Acta Protozool.*, 23: 67—74.
- [14] Reichenow E., 1910. *Haemogregarina stepanowi* Die entwicklungsgechichte einer haemogregarine. *Arch. Protistenkd.*, 20: 251—350.
- [15] Robertson M., 1910. Studies on Ceylon haematozoa. No.2 Notes on the life cycle of *Haemogregarina nicoriae*. *Quart. J. Micro. Sci.*, 55: 741—762.

STUDIES ON THE LIFE CYCLE OF *HAEMOGREGARINA SINENSIS* CHAI ET CHEN (APICOMPLEXA: SPOROZOASIDA)

II. OBSERVATIONS ON DEVELOPMENT OF *HAEMOGREGARINA SINENSIS* IN A CHINESE TURTLE, *TRIONYX SINENSIS*

Chai Jianyuan and Chen Qiliu

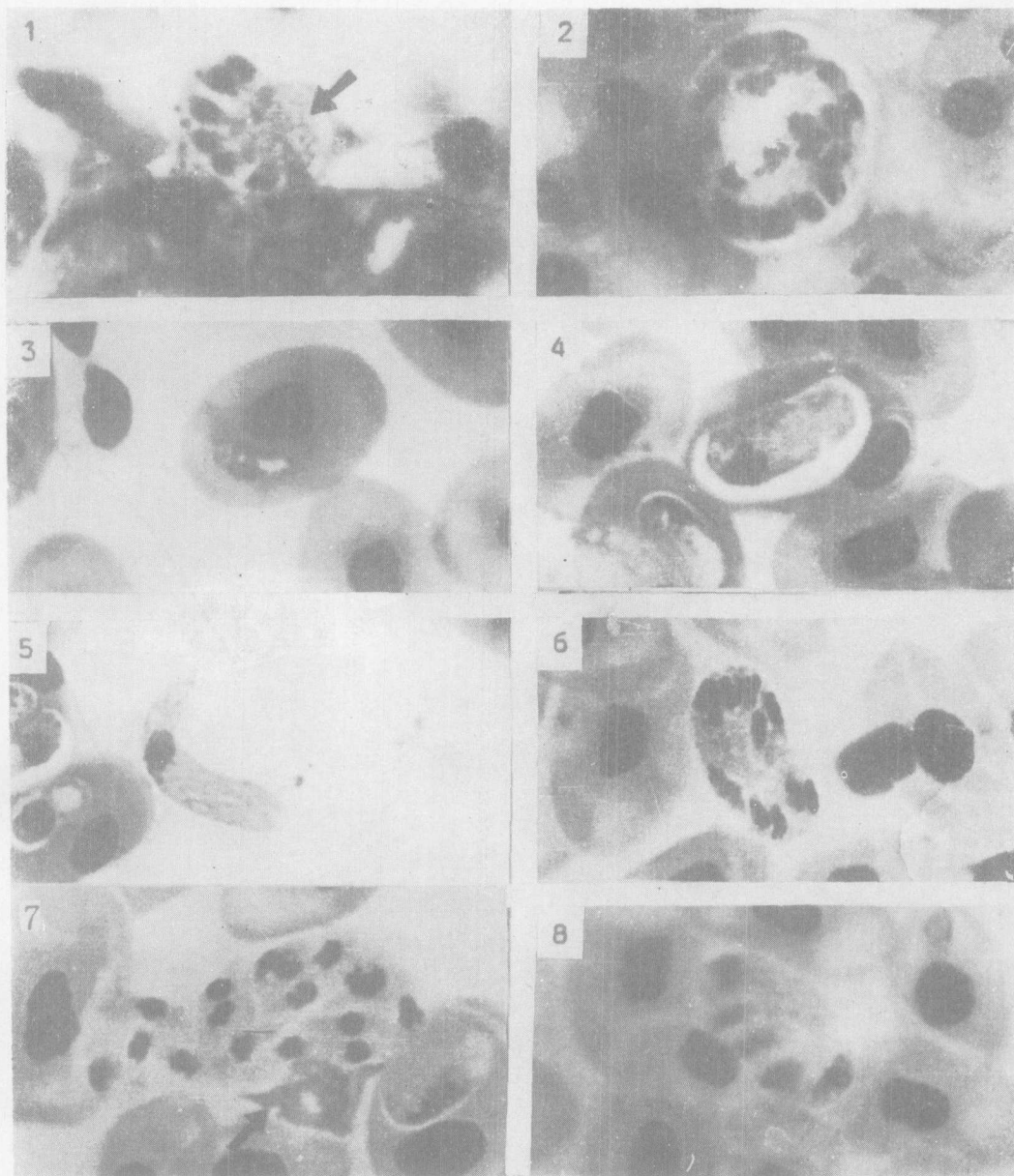
(Institute of Hydrobiology, Academia Sinica, Wuhan 430072)

Abstract

Haemogregarina sinensis in its life cycle requires two hosts: the vertebrate host *Trionyx sinensis* and the invertebrate host *Mooreotrix cotylifer*. This paper describes the developmental stages of this parasite in a Chinese turtle, *Trionyx sinensis*, which consists of schizogony in the Kupffer's cells in the liver, schizogony in the deep blood cells and schizogony in the peripheral red cells. Schizonts with 14—32 merozoites were found in the Kupffer's cells. X-schizonts containing 14—18 merozoites and Y-schizonts containing 4—6 merozoites were recorded from liver imprints. The male-and female-gametocytes in peripheral red cells probably come from Y-merozoites. In peripheral erythrocytes, the initial schizonts produced 14 merozoites; whereas in the last stage of schizogony they produced only 2 merozoites. Movement of trophozoites was observed in peripheral blood.

Key words *Trionyx sinensis*, Schizogony, Peripheral blood, *Haemogregarina sinensis*

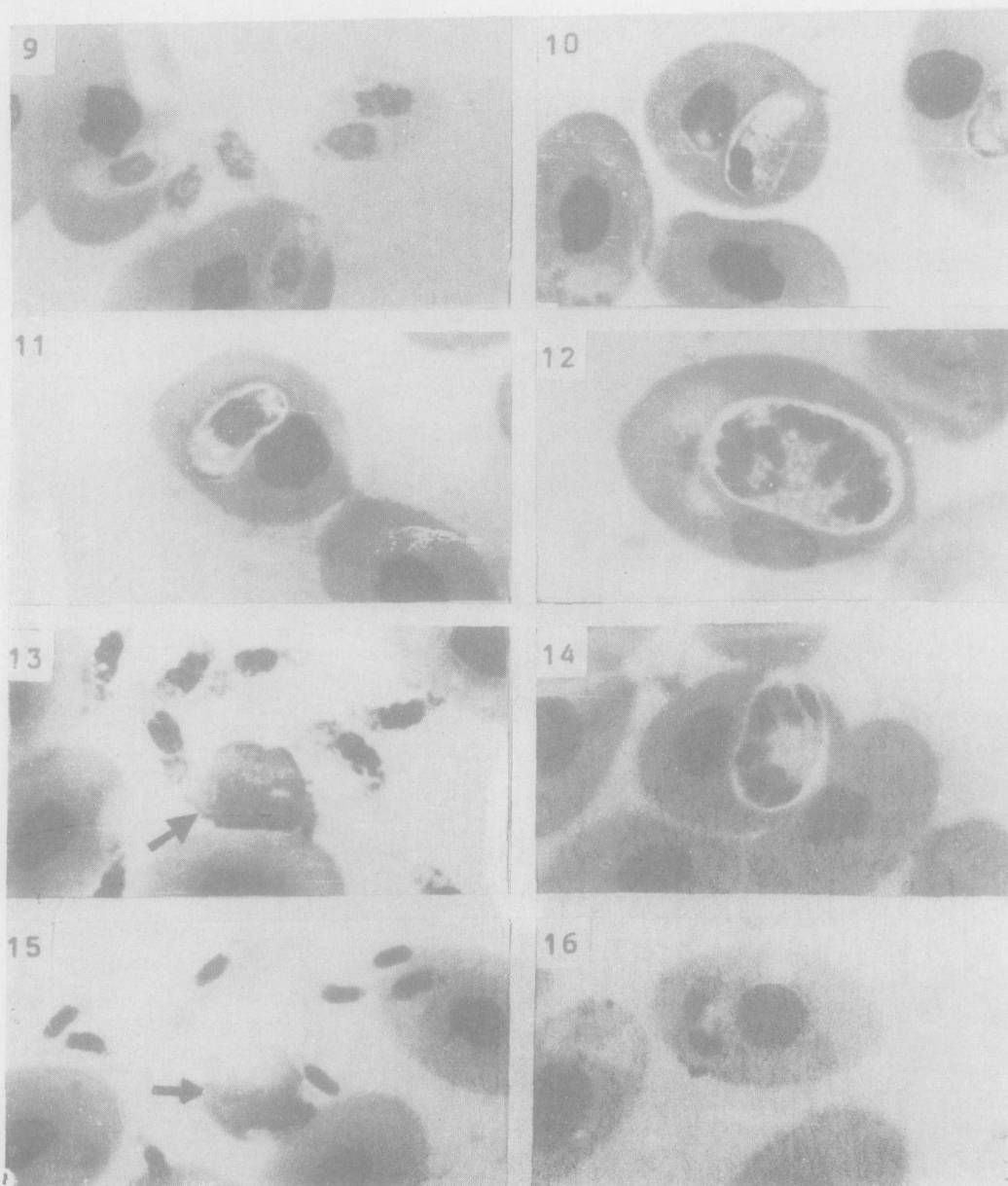
II. 中华血簇虫在中华鳖中的发育



1. 肝切片中的裂殖体, 箭头所示残余的胞质团, $\times 1600$; 2. 肝涂片中的裂殖体, $\times 1600$; 3. 组织裂殖子释放后, 侵入红细胞, $\times 1600$; 4. 成熟的双臂型营养体, 箭头所示嗜寄生虫泡, $\times 1600$; 5. 出红细胞运动的营养体, $\times 1400$; 6. 成熟的 X-裂殖体, $\times 1500$; 7. X-裂殖子的释放, 箭头所示解体后的红细胞核, $\times 1500$; 8. 成熟的 Y-裂殖体, $\times 1500$.

1. schizont in Kupffer's cell from liver section, arrow showing residual body, $\times 1600$; 2. schizont in liver imprint, $\times 1600$; 3. after released from liver, merozoite entering erythrocyte, $\times 1600$; 4. mature trophozoite in red cell, arrow showing parasitophorous vesicle, $\times 1600$; 5. moving trophozoite after escaping from red cell, $\times 1400$; 6. mature X-schizont, $\times 1500$; 7. X-merozoites released from red cell, arrow showing host cell nucleus $\times 1500$; 8. mature Y-schizont, $\times 1500$.

II. 中华血簇虫在中华鳖中的发育



9. Y-裂殖子的释放, $\times 1500$; 10. 雄配子母细胞, $\times 1400$; 11. 雌配子母细胞, $\times 1400$; 12. 外周血中的早期裂殖体, $\times 1500$; 13. 外周血中早期裂殖子的释放, 箭头所示残留的红细胞核, $\times 1500$; 14. 外周血中较后期时期的裂殖体, $\times 1500$; 15. 后期裂殖体释放裂殖子, 箭头所示解体的红细胞核, $\times 1500$; 16. 外周血晚期裂殖体, $\times 1500$

9. Y-merozoites releasing, $\times 1500$; 10. male gametocyte, $\times 1400$; 11. female gametocyte, $\times 1400$; 12. initial schizont in peripheral blood cell, $\times 1500$; 13. released initial merozoites, arrow showing the residual of host cell nucleus, $\times 1500$; 14. later schizont in peripheral blood cell, $\times 1500$; 15. later schizont releasing merozoites, arrow showing the residual of host cell nucleus, $\times 1500$; 16. the last stage of schizogony in peripheral blood cell, $\times 1500$