

广东艾美虫发育的研究*

苏 晓 群**

(中国科学院水生生物研究所, 武汉)

提 要

广东艾美虫寄生于乌鳢的消化道, 其发育周期可分为裂体生殖、配子生殖和孢子生殖三个阶段。这三个阶段均在一个寄主体内完成。裂体生殖和配子生殖发生在幽门盲囊和前肠上皮细胞核之上方。成熟裂殖体为球形或椭圆形, 含有 8—14 个香蕉形裂殖子。大配子的整个发育过程没有发现嗜伊红颗粒, 嗜碱性颗粒在卵囊壁形成前后发生变化。成熟小配子母细胞内有许多新月形的小配子。孢子生殖在幽门盲囊和整条肠管内进行。

关于鱼类寄生艾美虫 (*Eimeria*) 的发育及生活史研究, 国内外已先后报道过 *Eimeria mylopharyngodoni*, *E. cheni*, *E. subepithelialis*, *E. sinensis*, *E. dingleyi*, *E. variabilis*, *E. funduli*, *E. iroquoina* 8 种^[1,2,6,8-10,13,14]。

作者对寄生乌鳢 (*Ophiocephalus argus*) 的广东艾美虫 (*E. kwangtungensis* Chen et Hsieh) 的发育过程进行了较详细的研究, 不仅能为鱼类寄生虫学研究提供参考资料, 对鱼病防治也有一定的实际意义。

材 料 与 方 法

材料鱼大部分采自湖北省黄冈县团风镇附近的长江及湖泊, 还有部分采自武昌、鄂城、咸宁和孝感等地区的养殖场鱼池和湖泊。从 1983 年 10 月至 1985 年 4 月, 共解剖乌鳢 124 尾 (其中感染广东艾美虫的有 40 尾, 感染率为 31%)。对每尾乌鳢, 按常规方法进行解剖检查。将严重感染广东艾美虫的幽门盲囊和肠管 (二种艾美虫混合感染者除外) 剪成 3—5 毫米的小段, 用 Bouin 氏液固定, 切成 5—8 微米的薄片, 用海氏苏木精 (Heidenhain's haematoxylin) 及伊红对染, 磷钨酸退色。

结 果

广东艾美虫寄生于乌鳢的肠道和幽门盲囊。它的发育有无性与有性两个世代交替现象, 这两个世代在同一寄主体内进行。无性世代有裂体生殖和孢子生殖, 有性世代是配子

* 本文是硕士研究生毕业论文的一部分, 曾得到业师陈启鑑教授的精心指导, 并承蒙审阅文稿, 谨致以衷心感谢!

** 现在陕西师范大学生物系工作。

1985 年 12 月 5 日收到。

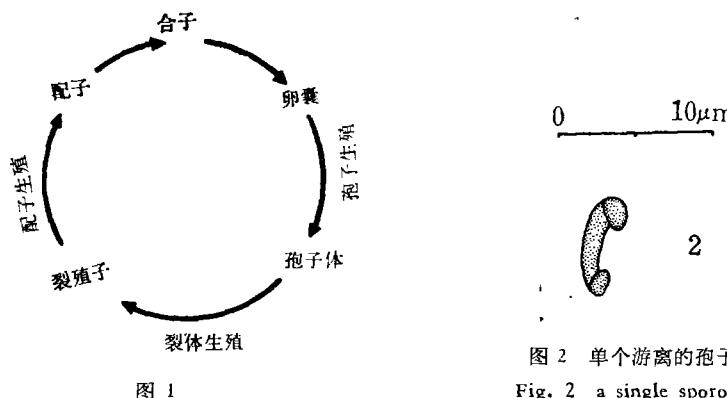


图 1

图 2 单个游离的孢子体;
Fig. 2 a single sporozoite

生殖(图 1)。

1. 裂体生殖 (schizogony)

内部发育周期是从成熟的卵囊 (oocyst) 经口腔进入寄主消化道之后开始。成熟的卵囊在乌鳢消化道中, 卵囊壁和孢子膜破裂, 孢子体 (sporozoites) 释放出来。在活体涂片中, 可以看到这种游离的孢子体 (图 2), 其运动方式有两种, 即前后伸屈或绕身体的纵轴旋转。孢子体借自身运动进入寄主幽门盲囊和前肠粘膜的上皮细胞, 在细胞核的上方发育成为球形裂殖体 (schizont), 其外周有寄生囊泡 (parasitic vacuole) (图 3)。裂殖体的体积增大, 细胞核经分裂形成二核裂殖体, 亚球形, 大小约 6×5 微米, 细胞核亦增大, 苏木精染色呈深蓝色, 细胞质呈细致的颗粒状 (图 4)。二核裂殖体继续分裂, 形成 4 个核, 细胞成为椭圆形, 体积增大到 7×5.8 微米, 细胞质较均匀 (图 5)。四核裂殖体细胞核再进行多次分裂, 产生 8—14 个子核, 此时, 细胞质亦同时分裂。每个核被其周围的部分细胞质包围, 形成椭圆形的裂殖子 (merozoites), 长 1.5—1.8, 宽 1.0—1.2 微米。整个裂殖体呈椭圆形, 体积增大, 长 8.8—10.0, 宽 5.2—7.0 微米。寄生囊泡此时消失 (图 6)。裂殖子进一步发育, 成为香蕉形, 长 3—4 微米, 宽 0.8—1 微米, 细胞核明显, 位于裂殖子前端 1/4 处, 在裂殖体内呈簇状排列。裂殖体显著增大, 球形 (10 微米) 或椭圆形 (9.2×6 微米) (图 7)。

裂殖子成熟后, 当寄主肠上皮细胞膜随裂殖体细胞膜破裂时, 裂殖子被释放到肠腔, 重新侵入其他肠上皮细胞, 产生了性的分化, 发育成为大、小配子母细胞。

2. 配子生殖 (gametogony)

主要在幽门盲囊和前肠粘膜上皮细胞内、细胞核的上方进行。

大配子的形成 大配子母细胞 (macrogametocyte) 明显的特征是细胞内有一个大而圆的细胞核。早期大配子母细胞呈球形, 较小, 约 4.8 微米, 细胞质均匀, 胞核位于中央, 球形, 直径 2 微米, 整个细胞被包围在寄生囊泡里 (图 8)。大配子母细胞进一步发育, 体积增大, 形态发生变化。当细胞达 7—7.6 微米时, 细胞质内出现 4—7 个被苏木精染成蓝色的球形小颗粒, 细胞核增大到 3—3.2 微米, 位于偏离细胞中心位置, 寄生囊泡比前期增大 (图 9)。在以后的发育过程中, 细胞核增大到 3.5—4 微米, 并偏离中心更远位置。细胞

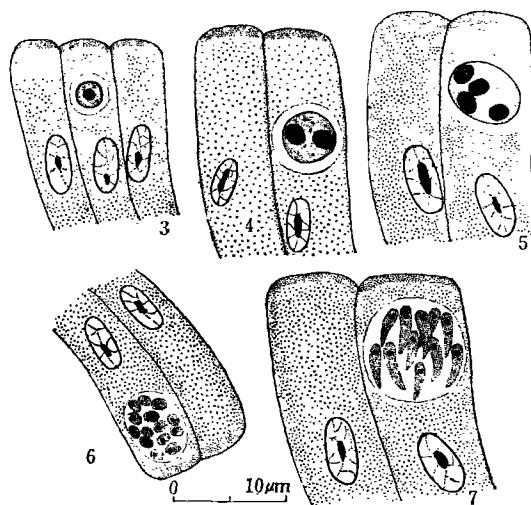


图3—7 裂体生殖；

图3 早期裂殖体；图4—5 分裂中的裂殖体；图6—7 裂殖子形成期

Figs. 3—7 schizogony

Fig. 3 Young schizont Figs. 4—5 schizont division Figs. 6—7 formation of merozoites

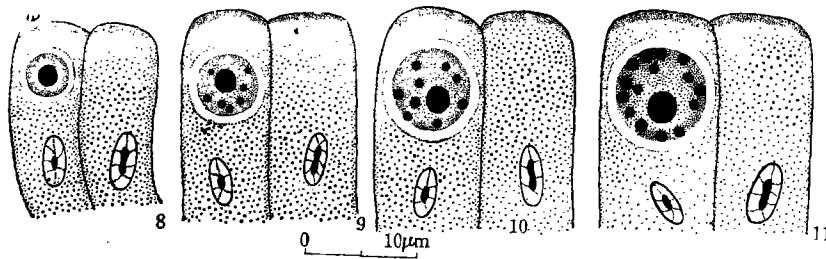


图8—11 大配子形成

图8 早期大配子母细胞 图9—10 发育中的大配子母细胞 图11 成熟的大配子

Figs. 8—11 formation of macrogamete;

Fig. 8 Young macrogametocyte; Fig. 9—10 developing macrogametocyte

Fig. 11 mature macrogamete

质内嗜碱性颗粒 (basophilic granules) 数目增多, 体积增大 (图 10)。成熟的大配子 (macrogamete) 呈球形或椭圆形, 直径约 9.5—9.8 微米。细胞内嗜碱性颗粒增加到 12—16 个, 多数分布在细胞边缘, 细胞核没有明显变化, 寄生囊泡仍然存在 (图 11)。

小配子的形成 早期的小配子母细胞 (microgametocyte) 呈球形, 直径 4.5 微米, 细胞核小而圆, 位于细胞质中央, 细胞质均匀细致, 细胞外有寄生囊泡包围 (图 12)。早期的小配子母细胞细胞核经一次分裂, 形成 2 个球形核, 细胞仍为球形, 比前期稍有增大, 直径 4.7—5.0 微米 (图 13)。胞核继续分裂, 形成许多细小的子核, 母细胞较大, 约 6—6.5 × 4.8—5 微米, 细胞质分布不均, 各部分染色程度不一 (图 14)。胞核进一步经多次分裂, 数目不断增加, 着色加深。在核分裂的同时, 细胞质也分裂, 形成许多小胞质体; 每个小胞质体包含一个核, 没有参与胞质体形成的细胞质成为残余体, 位于细胞中央, 这时的小

配子母细胞达 $8-9 \times 5-5.8$ 微米, 寄生囊泡也随之增大(图 15, 16)。小配子母细胞继续发育, 小胞质体形成许多对苏木精着色很深的新月形小配子 (microgametes), 排列一般不大规则, 成熟的小配子母细胞呈球形或椭圆形, 约 8-9 微米或 7.8×6 微米, 残余体位于偏中心位置, 直径约 3 微米。寄生囊泡在整个发育过程中都存在(图 17—19)。

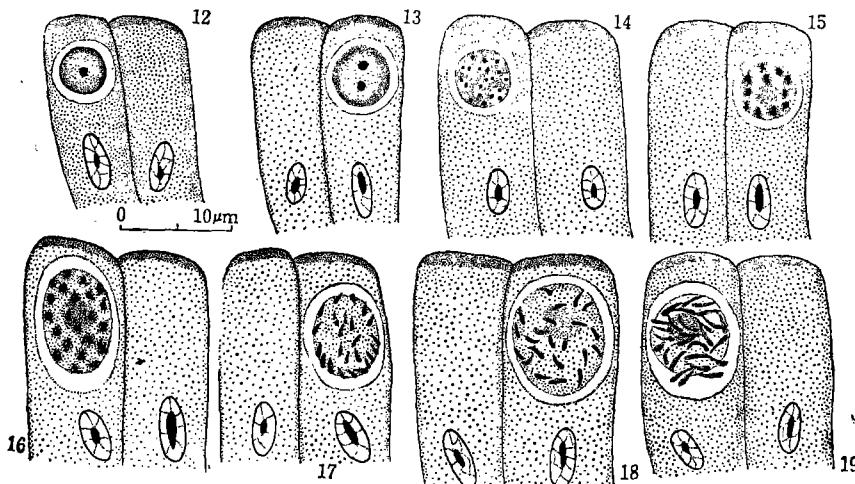


图 12—19 小配子形成

图 12 早期小配子母细胞; 图 13 细胞核开始分裂; 图 14 细胞核进一步分裂;
图 15—16 细胞质分裂 图 17—18 小配子出现; 图 19 小配子成熟

Figs. 12—19 formation of microgametes;

Fig. 12 young microgametocyte; Fig. 13 nucleus dividing;

Fig. 14 further dividing of nucleus Figs. 15—16 Cytoplasm dividing;

Figs. 17—18 occurrence of microgametes; Fig. 19 showing mature microgametes

卵囊的形成 小配子成熟后, 小配子母细胞膜破裂将其释放出来, 遇到大配子, 经受精作用形成合子 (zygote), 合子细胞质内嗜碱性颗粒全部排列在细胞边缘, 细胞核位于偏中心位置(图 20)。继而, 嗜碱性颗粒消失, 细胞外周出现了卵囊壁, 卵囊形成, 有性生殖结束。

3. 孢子生殖 (sporogony)

发生在肠道各段, 多数情况下, 在肠上皮细胞内核之上方进行, 在细胞核下方的现象有时也可发现。

刚形成而尚未分裂的卵囊呈球形, 新鲜标本直径为 9.0—11.9 微米, 卵囊壁较厚, 约 0.5—0.6 微米, 细胞质呈淡绿色的粗颗粒状原质团, 没有完全充满卵囊腔。胞核球形, 直径约 2 微米, 位于细胞质偏中心位置。靠近细胞核有一个大而圆的空泡(图 21)。组织切片观察, 卵囊壁不着色, 细胞质颗粒明显, 胞核被苏木精染成蓝色(图 22)。卵囊进一步发育, 细胞质经二次分裂形成 4 个未完全分开的胞质团和 1 个球形极体 (polar body), 每个胞质团有 1 个深蓝色的球形细胞核(图 23)。

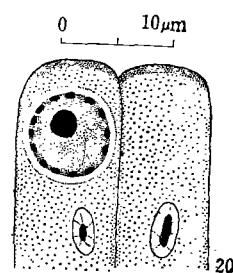


图 20 合子

Fig. 19 zygote

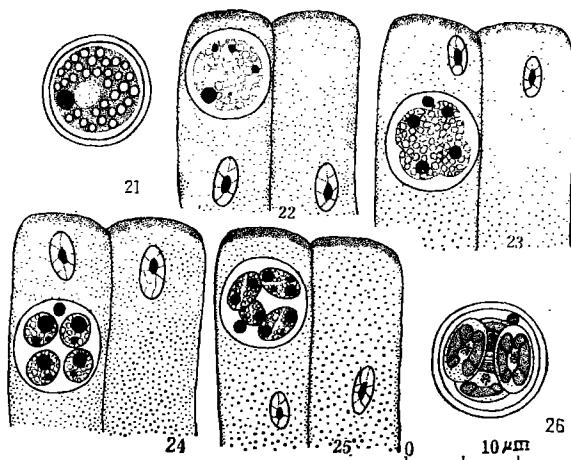


图 21—26 孢子生殖

图 21 肠腔中的未分裂卵囊; 图 22 肠上皮细胞内的未分裂卵囊; 图 23 卵囊内细胞质开始分裂;
图 24 孢子母细胞形成; 图 25 孢子母细胞开始分裂; 图 26 成熟卵囊

Figs. 21—26 sporogony

Fig. 21 undivided oocyst in the gut lumen; Fig. 22 undivided oocyst in the intestinal epithelium; Fig. 23 oocyst in division; Fig. 24 formation of sporoblasts; Fig. 25 sporoblasts in division; Fig. 26 mature oocyst

胞质团完全分开, 形成 4 个卵形的孢子母细胞 (sporoblasts), 细胞质颗粒较小, 胞核增大, 直径 2—2.4 微米, 除细胞核外, 有时还可看到 1—2 个折光体 (图 24)。孢子母细胞进一步发育, 成为椭圆形, 细胞质分裂为明显的两部分, 每团胞质内有一个细胞核 (图 25)。孢子母细胞继续发育形成 4 个椭圆形的孢子 (spores), 长 6.1—8.0 微米, 平均 7.1 微米, 宽 4.4—5.0 微米, 平均 4.7 微米。每个孢子最终分裂成两个香蕉形、两端呈钩状弯曲的孢子体, 长 6.5—8.3 微米, 平均 7.5 微米, 宽 1.5—2.0 微米, 平均 1.7 微米。孢子残余体系由小颗粒构成的近似球形的集团 (图 26)。

讨 论

从现有文献看来, 寄生鱼类艾美虫的发育周期, 都无例外地分为 3 个阶段, 即裂体生殖、配子生殖和孢子生殖。但各阶段的发生部位却有不同。Dykova 和 Lom^[4] 根据鱼类寄生艾美虫各发育阶段与寄主细胞的关系, 将其生活史分为 6 种类型: 1) 三个阶段均在细胞质内进行; 2) 三个阶段都发生在细胞核内; 3) 裂体生殖和配子生殖在体内完成, 但孢子生殖却能在体内及体外同时进行; 4) 裂体生殖和配子生殖在细胞质内进行, 孢子生殖在体外进行; 5) 裂体生殖和配子生殖在细胞外完成, 孢子生殖在细胞质内完成; 6) 裂体生殖和配子生殖发生在细胞外, 孢子生殖在体外完成。从广东艾美虫的整个发育过程来看, 应属于第一种类型。陈启鑑报道的青鱼艾美虫和陈氏艾美虫的发育应属于第一种^[1]。到目前为止, 国内还未见有关其它艾美虫的发育情况报道。关于球虫对寄主的危害作用, Fernando^[3] 认为: 寄生于肠道的种类, 其危害性较寄生于肝、肾等器官的危害性小; 而寄生于肠上皮细胞的艾美虫对其寄主的危害要比寄生于固有膜等深层组织的小。

根据这一观点,广东艾美虫对乌鳢的损害作用不会很大。本研究也发现,即使感染强度很高的乌鳢,其身体表面和消化道表面都未见严重的病理变化。

寄生于温血动物的艾美虫,其大配子内有两种颗粒:嗜伊红 (eosinophilic) 的壁形成体以及被核染料染色的嗜碱性颗粒。前者参与卵囊壁的形成,这一点已得到公认,后者的作用尚无定论,一种意见认为它是贮藏物质,而另一种意见则认为它也参与卵囊壁的形成^[12]。寄生鱼类的艾美虫大配子中是否有壁形成体,这个问题目前还有争议。Marincek 在 *E. subepithelialis* 的大配子中发现了两种颗粒,并观察到嗜碱性颗粒参与孢子外壳的形成,另一种颗粒参与卵囊壁和孢子膜的形成^[8]。Molnar 在 *E. sinensis* 的大配子中也看到了嗜伊红的壁形成体^[9]。Hawkins 等^[7]报道 *E. funduli* 的大配子超微结构中有两种形式的壁形成体。但 Davies 采用电镜观察及化学分析法,在 *E. dingleyi* 和 *E. variabilis* 中均未看到壁形成体^[3]。Paterson 和 Desser^[11]在 *E. iroquoina* 大配子超微结构观察中,得到的结果与 Davies 一致,并发现卵囊壁的形成与内质网有关。Desser 和 Li^[3]根据 Hawkins 等 (1983) 报道,认为壁形成体与 *E. laureleus* Molnar 和 Fernando, 1974 大配子超微结构中的一种细胞内含物相同,这种内含物参与孢子残余体的形成,与卵囊壁的形成无关。作者在广东艾美虫的大配子发育中没有发现嗜伊红颗粒;嗜碱性颗粒在卵囊壁形成之前排列在细胞边缘,卵囊壁形成以后消失。这说明嗜碱性颗粒可能参与了卵囊壁的形成,但要证实这一点,还有待于今后进一步深入的研究。

参 考 文 献

- [1] 陈启鑑, 1956 a。青、鲩、鳙、鲢等家鱼寄生原生动物的研究。I. 寄生青鱼的原生动物。水生生物学集刊, (1): 19—42。
- [2] Davies, A. J., 1978. Coccidian parasites of intertidal fish from Wales: systematics, development and cytochemistry. *J. Protozool.*, 25(1): 15—21.
- [3] Desser, S. S. & L. X. Li, 1984. Ultrastructural observations on the sexual stages and oocyst formation in *Eimeria laureleus* of perch, *Perca flavescens*, from lake Sasajewun, Ontario. *Z. Parasitenkd.* 70: 153—164.
- [4] Dykova, I. & J. Lom, 1981. Fish Coccidia: critical notes on life cycle, classification and pathogenicity. *J. Fish Dis.* (4): 487—505.
- [5] Fernando, M. A., 1982. Pathology and pathogenicity. *The Biology of the Coccidia*. p. 291. Edward Arnold London.
- [6] Fournie, J. W., 1983. True intermediate host for *Eimeria funduli* (Apicomplexa) from estuarine fishes. *J. Protozool.*, 30(4): 672—675.
- [7] Hawkins, W. E., Solangi, M. A. & R. M. Overstreet, 1983. Ultrastructure of the macrogamont of *Eimeria funduli*, a coccidium parasitizing killifishes. *J. Fish Dis.*, (6): 33—43.
- [8] Marincek, M., 1973. Development d'*Eimeria subepithelialis* (Sporozoa, Coccidia) parasite de la carp. *Acta. Protozoologica*, (12): 195—215.
- [9] Molnar, K., 1976. Histology study of coccidiosis caused in the silvercarp and bighead by *Eimeria sinensis* Chen, 1956. *Acta. Vet. Sci. Hungaricae. Tomus.* 26(3): 303—312.
- [10] Paterson, W. B. & S. S. Desser, 1981. The biology of two *Eimeria* species in their mutual fish host in Ontario. *Can. J. Zool.*, 60: 764—775.
- [11] Paterson, W. B. & S. S. Desser, 1981. Ultrastructure of macrogametogenesis, macrogametes and young oocysts of *Eimeria iroquoina* Molnar & Fernando, 1974 in experimentally infected fathead minnows (*Pimephales promelas*, Cyprinidae). *J. Parasitol.*, 67(4): 495—504.
- [12] Pellerdy, L., 1974. *Coccidia and Coccidiosis*. 2nd ed. Akademiai Kiado, Publ. House Hungarian Acad. Sci., Budapest.
- [13] Solangi, M. A. & R. M. Overstreet, 1980. Biology and pathogenesis of the coccidium *Eimeria funduli*

infecting killifishes. *J. Parasitol.*, **66**: 513—526.
[14] Upton, S. J. & D. W. Duszynski, 1982. Development of *Eimeria funduli* in *Fundulus heteroclitus*. *J. Protozool.*, **29**(1): 66—71.

A STUDY ON THE DEVELOPMENT OF *EIMERIA KWANGTUNGENSIS* CHEN ET HSIEH

Su Xiaoqun

(Institute of Hydrobiology, Academia Sinica, Wuhan)

Abstract

The present paper deals with the development of *Eimeria kwangtungensis* Chen et Hsieh, 1960 inside its host *Ophiocephalus argus*. Taking place in the same host this eimerian species has three developmental stages, schizogony, *viz.* gametogony and sporogony. Both schizogony and gametogony occur at the place above the nucleus of the epithelia cells of pyloric caeca and anterior intestine. Mature schizonts are spheric or elliptic, with 8—14 merozoites in the shape of banana. Eosinophilic granules were not found throughout the developmental course of macrogamete. Basophilic granules vary before and after the formation of oocyst wall. Mature microgametocyte has many microgametes of crescent shape. Sporogony takes place in pyloric caeca and whole intestine.

Key words *Eimeria kwangtungensis*, development, schizogony, gametogony, sporogony