

黄牛住肉孢子虫超微结构研究

汪明¹ 刘海虹¹ 马俊华² 肖兵南³ 张守发⁴

(1 中国农业大学动物医学院; 2 云南血吸虫病防治研究所; 3 湖南省畜牧兽医研究所; 4 延边大学农学院)

摘要 依据电镜下包囊的超微结构从黄牛肌肉中鉴别出 3 种住肉孢子虫: 枯氏住肉孢子虫、毛形住肉孢子虫和人住肉孢子虫。枯氏住肉孢子虫超微结构的特点是, 原囊壁向表面突出形成倒伏的指形突起, 突起内无纤丝、微管和致密颗粒。毛形住肉孢子虫与人住肉孢子虫的年轻包囊很难区别, 其包囊突起均为栅栏样构造, 突起内有纤丝, 而老包囊在毛形住肉孢子虫与人住肉孢子虫之间有明显区别, 前者突起的壁平滑, 突起内有纤丝, 而后者突起壁呈波浪形, 突起内有微管和致密颗粒。

关键词 住肉孢子虫属; 超微结构; 黄牛

分类号 S852.72

Studies on the Ultrastructure of Cysts of *Sarcocystis* in Cattle

Wang Ming Liu Haihong Ma Junhua Xiao Bingnan Zhang Shoufa

(College of Veterinary Medicine, CAU)

Abstract *Sarcocystis cruzi*, *S. hirsuta* and *S. hominis* from cattle have been identified by the ultrastructure of cysts under transmission electron microscopy. The primary cyst wall of *S. cruzi* was folded into finger-like protrusions, which never contained fibrils and dense granules. It is difficult to distinguish the young cysts between *S. hirsuta* and *S. hominis*, which all had a great amount of parallel palisade-like protrusions containing fibrils. However, in the old cysts there were significant differences in ultrastructure of protrusions from the both species cysts. The protrusions of *S. hirsuta* had smooth outline and fibrils, while those of *S. hominis* had irregular wavy outline, microtubules and dense granules.

Key words *Sarcocystis*; ultrastructure; cattle

电子显微镜对原虫超微结构的揭示, 对原虫分类产生了巨大的影响, 形成了顶器门 (Apicomplexa), 而把孢子虫纲置于其下。原虫的超微结构已成为原虫虫种鉴别和确定分类地位的基础^[1,2]。最早对牛住肉孢子虫进行电子显微镜观察的是 Simpson (1966) 对梭形住肉孢子虫包囊超微结构的观察和描述^[3]。对哺乳动物和鸟的 13 种包囊的超微结构^[4]研究发现, 绝大多数包囊壁的超微结构具有明显的区别。尽管寄生在不同中间宿主体内的异种包囊可能具有相似的结构, 如鲸的一种包囊与鼠的一种相似, 但寄生在同一中间宿主体内的异种包囊具有相同的超微结构还未见报道。因此, 利用包囊超微结构可作为虫种鉴定的一种可能的手段, 使我们无需了解其生活史即可依据超微结构的特点鉴别虫种。

收稿日期: 1999-12-08

国家自然科学基金资助项目 39370531

汪明, 北京圆明园西路 2 号中国农业大学(西校区), 100094

作者曾对几种家畜住肉孢子虫的感染情况进行过调查,但在光镜下无法鉴别到种,这是由于不同虫种的包囊虽有大小差别,却无形态特征可供识别,包囊壁虽有厚薄之分,却无法观察到细微结构,难以定种。本试验利用电子显微镜对黄牛住肉孢子虫包囊的超微结构进行比较研究。

1 材料和方法

样品采自湖南、云南、河北、内蒙古和吉林。

将采集的肉样,在光镜下剥离出包囊,或切出含包囊的组织块,迅速投入 2.5% 戊二醛固定液,几小时后作适当修整,换新鲜戊二醛固定液 4℃ 冰箱保存,后以 1% 锇酸液复固定 2 h,系列丙酮逐级脱水,812 树脂包埋;包埋块先切出半薄切片,甲苯胺蓝染色后,光镜下定位,LEICA 切片机制出超薄切片;醋酸铀溶液染色 20~30 min,柠檬酸铅溶液染色 10 min, JEM-100S 透射电镜下观察,拍照记录结果。

2 结果

2.1 枯氏住肉孢子虫 *Sarcocystis cruzi*

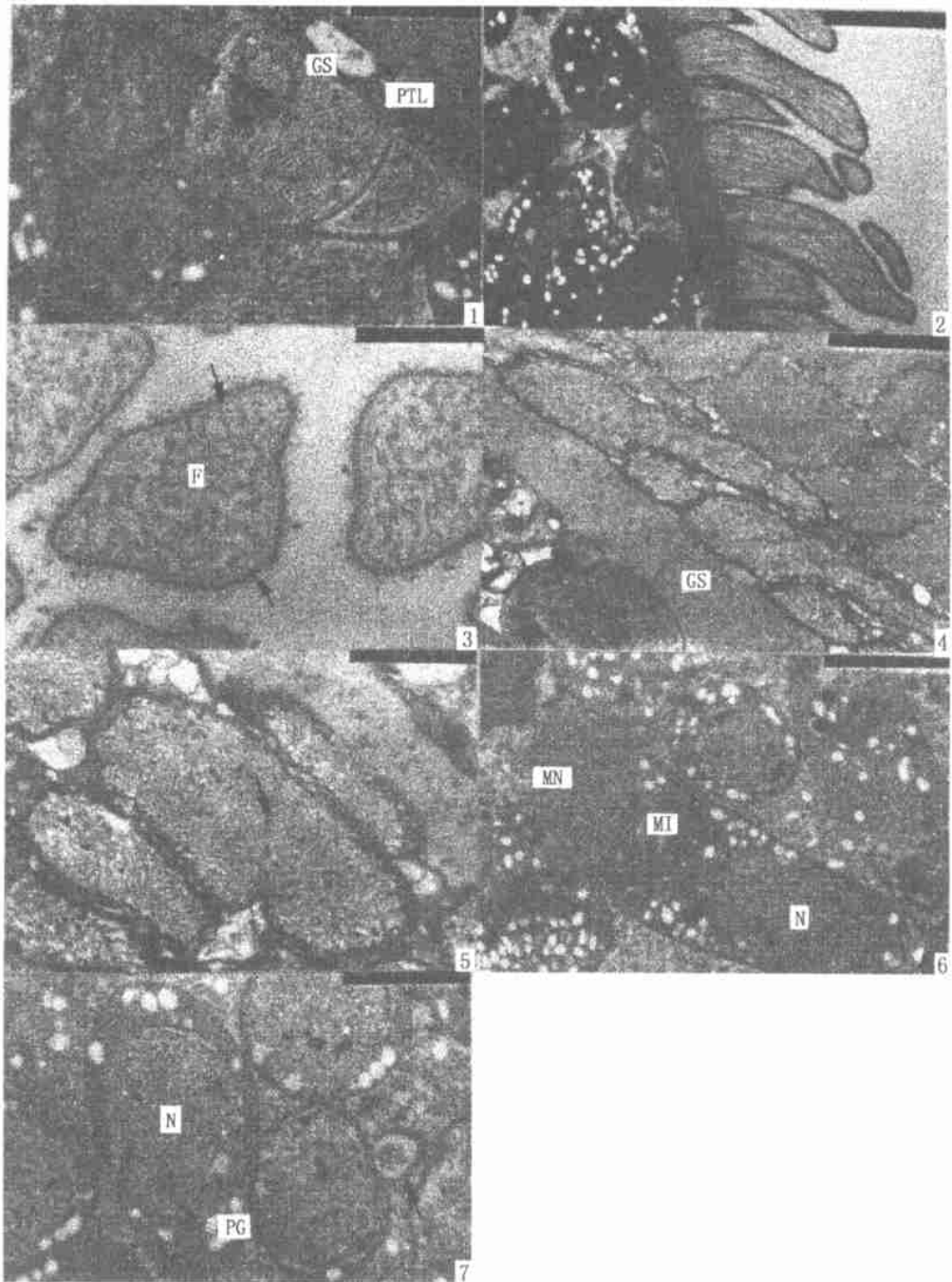
原囊壁厚 20~25 nm,由一层质膜和膜下的一层嗜锇酸物质组成。原囊壁向包囊外表面皱褶形成倒伏的指形突起,突起层高度 $< 1.0 \mu\text{m}$,突起腔内无纤丝或微管,含有基质;突起壁平滑,无波浪起伏或小凹陷。突起层之下是基质层,较薄,并向囊腔内伸入形成隔,把囊腔分隔形成若干小室。小室中含有细胞,靠近外周的细胞多为母细胞;中央多为成熟的缓殖子。缓殖子被双层膜,前部含有极环、锥体、大量的微线和 8 个棒状体。膜下微管 22 根,发自极环,向体后延伸;中部含 1~2 个线粒体、一些致密体、多糖颗粒和被膜小泡,后部有一个带核仁的细胞核;其他细胞器有内质网、核糖体等(图版 I-1)。

2.2 毛形住肉孢子虫 *S. hirsuta*

原囊壁厚 25~40 nm,由一层质膜和膜下一层嗜锇酸物质组成。原囊壁向外表面皱褶形成栅栏样的突起,突起密集相互平行,只留很少的空隙,突起高 $6 \mu\text{m}$,突起内含有平行排列的纤丝,从突起基部一直延伸到突起顶部,横切面观察,纤丝在突起髓腔的外周排成一圈,中央纤丝成簇排列,形成不规则的图案,突起基部的原囊壁形成有规则的小泡状凹陷,到突起中上部这种凹陷消失。在老包囊,突起弯向一侧,基部较宽,远端缩细或变尖。突起远端壁的表面常被覆一层絮状物。基质层由均匀的微细颗粒组成,厚 $1.2 \mu\text{m}$,向内伸入形成隔,把包囊腔分隔成若干小室。缓殖子被双层膜,含有典型的顶器构造,膜下微管 22 根(图版 I-2,3)。

2.3 人住肉孢子虫 *S. hominis*

原囊壁厚 25~40 nm,向表面皱褶形成栅栏样的突起,突起平行,相互挨近,突起之间与突起基部的原囊壁含有小泡状凹陷,到突起顶部凹陷消失。突起内含有纤丝,发起于突起基部的基质中,平行排列延伸到顶部,从突起的横断面观察,突起近圆形,纤丝分布在突起腔的中部,外周有一圈电子疏松区带,纤丝聚合形成微管样构造。在老包囊,突起层高 $3 \mu\text{m}$,突起倾向一边,远端缩细变尖,突起壁形成波浪形起伏,突起内纤丝方向紊乱,纤丝之间夹有直径 62 nm 的嗜锇酸性致密颗粒,常常成串排列呈链珠样。基质层厚 $1.82 \mu\text{m}$,向囊腔延伸形成隔。缓殖子



图版 I 黄牛住肉孢子虫超微结构电镜照片

图版说明

- 1 枯氏住肉孢子虫孢囊的超微结构, 可见突起层(PTL)、基质层(GS)和缓殖子(BZ)。×6 640
- 2 毛形住肉孢子虫孢囊的超微结构, 可见突起(PT)、基质层(GS)和缓殖子(BZ)。×4 000
- 3 毛形住肉孢子虫孢囊壁突起之横切, 可见外周环状排列的纤维(箭头)和成簇的纤丝(F)。×20 800
- 4 人住肉孢子虫孢囊壁, 可见突起(PT)、基质(GS)和缓殖子(BZ)。×5 280
- 5 突起横切, 可见纤丝形成管状结构和致密颗粒(箭头)。×12 800
- 6 缓殖子纵切, 可见微线(MN)、线粒体(MI)和核(N)。×5 280
- 7 缓殖子横切, 可见核(N)、多糖颗粒(PG)和 22 根膜下微管(箭头) ×8 000

呈香蕉形, $12.4 \mu\text{m} \times 3.6 \mu\text{m}$, 具有典型的顶器构造, 膜下微管 22 根(图版 I-4~7)。

3 讨论

本研究依据电镜观察包囊的超微结构, 从黄牛鉴别出了 3 种住肉孢子虫, 即枯氏住肉孢子虫、毛形住肉孢子虫和人住肉孢子虫。其中枯氏住肉孢子虫的超微结构与前人^[4,5]报道的一致, 其特点是原囊壁向表面形成倒伏的指形突起, 突起内无致密颗粒、纤丝或微管; 在光镜下包囊壁为薄壁型。毛形住肉孢子虫和人住肉孢子虫的超微结构与文献^[5,6]的描述基本一致。这 2 种包囊光镜下均为厚壁型, 电镜下年轻包囊突起均为耸立的栅栏样构造, 突起内有纤丝, 纤丝有成对形成微管型的倾向, 无致密颗粒, 二者难以区分。但在老包囊, 差别很明显, 毛形住肉孢子虫包囊突起呈毛发状, 倾斜弯曲, 突起内无致密颗粒, 突起壁是平滑的, 突起横切, 外周纤丝排成一圈, 中央纤丝排列零散; 而人住肉孢子虫的老包囊, 突起倾斜, 突起壁凹凸起伏呈小波浪形, 突起腔内含纤丝和夹在纤丝之间的致密颗粒, 横切纤丝呈微管型。根据 Mehlnorn 等对住肉孢子虫人工感染内生发育过程的超微结构研究, 人住肉孢子虫包囊在感染 98 d 后形成上述结构, 而在感染 62 d 后呈栅栏样构造^[6]。

包囊内的细胞有母细胞和缓殖子 2 类, 不同虫种的母细胞和缓殖子虽有大小差异, 但无结构上的差别。一般体积大的包囊中, 细胞体积较大而且排列疏松; 而体积小的包囊中, 细胞体积较小, 而且排列紧密。母细胞一般分布在包囊内的外缘腔隙中, 缓殖子分布在中央, 根据母细胞与缓殖子的细胞比例可推断包囊的发育成程。幼包囊只含母细胞不含缓殖子, 老包囊只含缓殖子, 或只有少量母细胞。缓殖子是母细胞按内二生殖方式而产生的。

参 考 文 献

- 1 Chobotar B, Sholtyssek E. Ultrastructure. The biology of the coccidia. In: Long P L, ed. London: Edward Arnold. 1982, 104~ 116, 121~ 128
- 2 Levine N D. The taxonomy of *Sarcocystis* species. J Parasitol, 1986, 72: 372~ 383
- 3 Simpson F C. Electron microscopy of *Sarcocystis fusiformis*. J Parasitol, 1966, 52(3): 607~ 613
- 4 Mehlnorn H, Hartley W J, Heydorn A O. A comparative ultrastructural study of the cyst wall of 13 *Sarcocystis* species. Protistologica, 1976, 12: 451~ 476
- 5 Gestrich R, Mehlnorn H, Heydorn A O. Light and electron microscope studies on cysts of *Sarcocystis fusiformis* in the muscles of calves infected experimentally with oocysts and sporocysts of the larges form of *Isospora bigemina* from cats. Zbl Bakt Hyg, I Abt Orig A, 1975, 233: 261~ 276
- 6 Mehlnorn H, Heydorn A O, Gestrich G. Light and electron microscope studies on cyst of *Sarcocystis fusiformis* in the muscles of calves infected experimentally with cysts and sporocysts of *Isospora haminis*: I. The development of cysts and cyst wall. Zbl Bakt Hyg, I Abt Orig A, 1975, 231: 301~ 322