

中国对虾微孢子虫病的电镜观察*

国际翔 王丽霞 李文清 刘丹

(中国科学院沈阳应用生态研究所 110015)

关键词 中国对虾,微孢子虫,超微结构

微孢子虫又称微粒子虫(*Nosema*),是微小的单细胞动物,分布广、危害大,已发现的种类有 800 多种^[1],主要寄生于无脊椎动物和鱼类,特别是昆虫。在对虾疾病中,微孢子虫是所有寄生虫中危害最严重的一种。

微孢子虫属于微孢亚门、微孢纲、微孢目、单丝亚目。寄生于对虾的微孢子虫属微粒子科(*Nasematidae*);目前已报道 4 种微孢子虫寄生于对虾:奈氏微粒子虫(*Nasemanelsoni*);对虾特汉虫(*Thelapanipanael*);桃红对虾特汉虫(*Thelapanipanael duarara*);对虾匹里虫(*Pleistaphrapanaei*)^[5]。

中国科学院海洋研究所 1979 年 8 月在试验池中饲养的东方对虾体内发现微孢子虫,1991 年又在冰冻虾体内检查出微孢子虫。

1991 年 6 月,中国科学院沈阳应用生态研究所与营口市水产所在营口市郊区路南乡大水

塘养虾场,采集的病虾体内检查出大量微孢子虫,从幼虾受害的症状、微孢子虫寄生虾体的部位及其形态特征与文献报道的基本一致^[1,3]。由此可认为 1991 年 6 月在营口市郊区采集的病虾是由微孢子虫感染所致,属微孢子虫病。

1 材料与方 法

1.1 材 料

中国对虾幼虾(*adolescent*)体长 5~6cm,1991 年 6 月下旬发病,病虾症状:虾体肌肉变白,不透明,逐步扩大整个腹部呈乳白色,鳃丝肿大,活动迟缓,不进食,病虾小于正常虾。对照组健康虾采于同一虾池。

* 本文承蒙王书锦先生审阅;营口水产所陈亚琴、韩守谨、参加部分调查工作,在此一并表示感谢。

收稿日期 1994 年 4 月 25 日

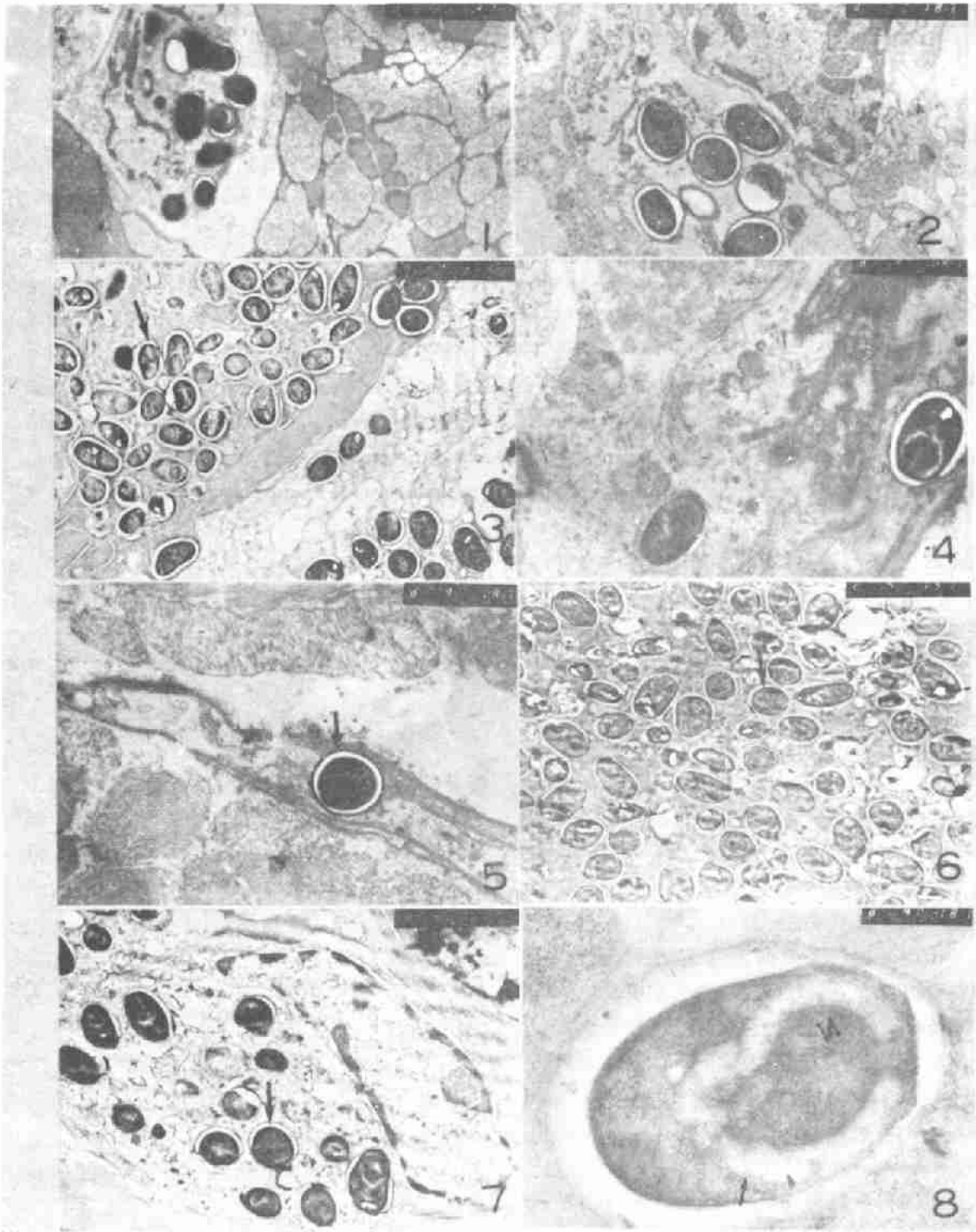


图1 微孢子虫感染寄主细胞的超薄切片

1-1 心肌细胞内微孢子虫 4000×;1-2 肝细胞内微孢子虫 6000×;1-3 肠粘膜下层细胞内微孢子虫 4000×;1-4 鳃丝部细胞内微孢子虫 8000×;1-5 胃粘膜细胞内微孢子虫 8000×;1-6 在肌纤维中充满大量微孢子虫 8000×;1-7 肌间细胞内微孢子虫 6000×;1-8 单个微孢子虫放大 40 000×

1.2 方法步骤

1.2.1 取样。将病虾就地解剖,分部位(心脏、肝、胃、肠、肌肉、鳃)切成 $1\sim 3\text{mm}^3$ 小块,分别放入装有戊二醛与多聚甲醛混合固定液的小瓶中,置 4°C 冰箱中保存。

1.2.2 超薄切片样品的制备。取前固定的样品,先用二甲胍酸钠缓冲液冲洗3次,放入1%锇酸中后固定2h,再用蒸馏水冲洗3次,然后进行乙醇系列脱水至丙酮100%,用环氧树脂812混合包埋剂浸透、包埋。

1.2.3 将固化好的样品置于LKB-III型超薄切片机上切片,切片经双重染色,于JEN-1008透射电镜观察。

1.2.4 对照健康虾样品处理同上。

2 观察结果

在病虾肌间细胞[图1-6]、胃粘膜细胞[图1-5]、心肌细胞[图1-1]、肝脏细胞[图1-2]、肠粘膜细胞[图1-3]及鳃纤维组织[图1-4]中都观察到微孢子虫 \downarrow ,其形态呈卵形或近圆形,大小平均为 $2.5\mu\text{m}\times 2.0\mu\text{m}$ 。孢子有外膜(孢壳),外膜(M)较厚约 $0.5\mu\text{m}$,由薄的蛋白质外壳和较厚的几丁质内壳组成^[2],一般在孢子的前端外膜较薄。孢子内部有孢子质、极泡、腔、核、极丝,核(N)多位于孢子的一端,外有极丝盘绕 \uparrow ^[2,4][图1-8]。

在对虾的组织切片可明显看到,肌间组织充满了孢子虫、肌纤维被微孢子虫所取代[图1-6],在肌间细胞内,由于微孢子虫的侵染细胞核(N)变形并被挤向一边,[图1-1,1-7]细胞质内线粒体消失,出现各种包涵物[图1-7]。

对照健康虾的组织切片内均未见异常,细胞完整、各种细胞器清晰可见。

3 结果讨论

微孢子虫多数是专性寄生,已报道的4种侵染对虾的微孢子虫主要寄生部位是肌肉组织,只有对虾匹里虫不仅寄生肌肉组织,还侵染心脏、鳃、胃、肝脏及肠^①从营口市郊区采集的

病虾组织切片观察结果表明,微孢子虫除寄生于对虾肌肉组织外,也寄生于鳃、胃、肠、肝脏及心脏组织,其孢子形态和大小与文献报道的基本一致,营口大水塘的微孢子虫亦属对虾匹里虫。

对虾微孢子虫病在由原生动物所引起的对虾病害中是较严重的一种,在自然饲养条件下,孢子被寄主吞入消化道后迅速被活化。在消化道内的pH值和钾离子浓度等条件的作用下,使孢子内部产生巨大压力而造成内部变化,将孢质注入寄主细胞内,吸取寄主细胞中的养分而发育、增殖、继续侵染^[2]。在电镜下观察肌肉组织切片时,可明显看到微孢子先在肌间细胞内发育、增殖,使细胞肿大,核变形或消失,细胞膜破裂,肌纤维被破坏,造成肌肉坏死。

从微孢子虫的致病机理分析微孢子虫病传染途径主要是喂食由口进入消化道感染寄主细胞。感染对虾的微孢子虫其中间寄主,主要是各种鱼类。因此控制饲料的质量,消灭明显感病个体,是防治微孢子虫病的重要途径。

参考文献

- [1] 张宗炳、曾骥主编,1990.害虫防治策略与方法.科学出版社,410~417.
- [2] 南开大学生物系编.1984.昆虫病理学.高等教育出版社,106~117.
- [3] C. O 小波因纳著,段道怀译,1984.昆虫病原物鉴定诊断手册.农业出版社,69~104.
- [4] 梅玲玲等,1990.浙江农业大学学报 16(1):83~87.

① 福建海洋研究所,1989.对虾病害防治资料汇编,80~85.

ELECTRON MICROSCOPIC STUDY ON MICROSPORIDIA DISEASE OF *Penaeus chinensis*

Guo Jixiang, Wang Lixia, Li Wenqing and Liu Dan

(*Institute of Applied Ecology Chinese Academy of Sciences, Shenyang, 110015*)

Received: Apr. 25, 1994

Key Words: *Penaeus chinensis*, Microsporidia insect, Ultrastructure

Abstract

A study on the Ultrastructural Pathology of infected host-cell was conducted by using electron microscopy.