

柔嫩艾美耳球虫脱囊过程的扫描电镜观察*

朱冠

(浙江省医学科学院寄生虫病研究所)

吴宝华

(杭州大学生物系)

摘要 本文对柔嫩艾美耳球虫的体外脱囊过程进行了扫描电镜观察。结果表明该虫表面粗糙,无其他生物学结构。孢子囊呈橄榄状,斯氏体明显。在脱囊介质作用下,孢子囊壁强度发生变化,出现不同程度的塌陷和皱折。未观察到因斯氏体消失而直接留下的开口。子孢子香蕉状,表面有数个微孔呈不规则排列,顶器短突状,无其他表面结构。

由于球虫卵囊形态比较简单,有关球虫卵囊、孢子囊及营养体等的表面结构的扫描电镜观察不多^[1]。仅有尼伯格(Nyberg)等^[2]报告用扫描电镜观察到柔嫩艾美耳球虫(*Eimeria tenella*)的孢子化卵囊在CO₂作用下会在端部产生凹陷;乔莱(Jolley)等^[3]用扫描电镜观察了兔肝型艾美耳球虫(*E. stiedae*)在CO₂作用下微孔打开情况,同时还观察到CO₂能使部分柔嫩艾美耳球虫卵囊在端部产生凹陷后破裂成孔。维特林(Vetterling)等^[4,5]用扫描电镜观察了家禽球虫脱囊前后和子孢子穿进培养细胞单层的情况。

在各种鸡球虫中,柔嫩艾美耳球虫是导致鸡群球虫病爆发的主要寄生虫之一^[6],而子孢子的脱囊是球虫侵袭宿主细胞的关键和前提^[7]。为获得更多有关球虫脱囊的资料,以利于进一步了解球虫生活史,我们就柔嫩艾美耳球虫的脱囊过程进行了扫描电镜观察。现报道结果如下。

材料和方法

(一)材料准备 柔嫩艾美耳球虫卵囊通过单卵囊分离和感染法获得^[8],用改良韦氏法纯化^[9]。孢子囊的制备与保存方法依朱冠等^[3]。

(二)样品制备 将适量孢子囊分成1#、2#、3#和4#四组,分别置离心管中。1#为对照

组。将2#、3#和4#各用1.5毫升脱囊介质^[3]于41℃分别处理30、60和120分钟后,立即在各样品中加入3%戊二醛约6—7毫升中止脱囊。离心(2,000转/分)10分钟,弃去上清,每管再加3%戊二醛固定2小时。离心去上清后,分别用30%、50%、70%、80%、90%、100%和100%的梯度酒精脱水各20分钟,每次脱水都用离心方法去掉酒精。用醋酸异戊酯置换酒精后,将各样品用醋酸异戊酯制成悬液,并滴于小盖玻片上进行二氧化碳临界点干燥。在DM200型高真空镀膜台上镀金后,用国产TSM-II型扫描电子显微镜观察和摄影。

结果和讨论

柔嫩艾美耳球虫的孢子囊在未经脱囊介质处理前呈长椭圆形或橄榄状,前端斯氏体突出。在斯氏体与孢子囊壁主体之间有一界线(见图1)。孢子囊表面光洁,无其他生物学结构存在。经脱囊介质处理后,首先可观察到孢子囊壁由于强度发生改变而引起的塌陷。塌陷程度随处理时间的延长而增加(见图2—4)。这种塌陷和皱折在光学显微镜下未能观察到^[3],这可能与光镜的分辨率较差有关,也可能是在样品制备过程中产生的。

* 电镜观察工作曾得到国家海洋局第二海洋研究所电镜室张敬、吴友吕副研究员的详尽指导,特此致谢。

斯氏体在脱囊介质的处理下逐渐被消化变小,直至与周围的界线消失。但未观察到直接由于斯氏体消失而产生的开口(见图4)。维特林(Vetterling)等^[10]观察到孢子囊具有一粗糙开口,但只是在子孢子已逸出的孢子囊上发现的。这种开口我们也观察到(见图5,6),启示该球虫斯氏体的消失并不是一个圆孔结构上的蛋白质“塞子”的消失。据光镜观察,子孢子被激活后在孢子囊内活动剧烈,要经过一段时间的窜动才能逸出孢子囊^[3],这暗示着斯氏体的消失很可能只是使得孢子囊壁端部变薄,从而使子孢子能通过运动顶开一个口子或通过释放一些消化酶从里面消化出一个口子逸出。

我们还观察到孢子囊壁在塌陷时被分为二层,内层塌缩,外层仍保持原状。这证实孢子囊壁的结构至少是双层的(见图7),这与某些透射电镜的观察结果相吻合^[9]。

刚脱囊的子孢子呈香蕉状或短棒状。一端略尖,可观察到短突状顶器;另一端略圆钝。子孢子表面不很光洁平整,但无生物学结构。可观察到数个明显的小而深的凹孔(见图5,8,9)。据报道,艾美耳球虫属的子孢子和滋养体在透射电镜下可经常观察到一至数个微孔^[5,8]。我们认为这些凹孔就是微孔。子孢子表面一般都具有数个排列不规则的微孔(见图5,8)。有关微孔的透射电镜观察较多,一般认为可分为“有活性的”和“无活性的”二大类^[9]。

此外,柔嫩艾美耳球虫卵囊表面较为粗糙,无其他生物学结构(见图10),与尼伯格等^[7]和维特林等^[10]的报道一致。

结论 柔嫩艾美耳球虫脱囊过程的扫描电镜观察结果表明该虫卵囊表面粗糙,无其他生物学结构。孢子囊呈橄榄状,斯氏体明显。脱囊介质的作用使孢子囊强度发生变化,出现程度不同的塌陷和皱折。未观察到因斯氏体消失而直接留下的开口。子孢子香蕉状,表面有数个微孔,顶器短突状,无其他表面结构。

参 考 文 献

- [1] 朱冠等 1986 杭州地区鸡球虫种类的初步调查 杭州大学学报 自然科学版 13(2): 224—230。
- [2] 朱冠等 1987 用改良韦氏法纯化鸡球虫卵囊 动物学杂志 22(2): 38—39。
- [3] 朱冠等 1988 柔嫩艾美耳球虫体外脱囊试验和观察 动物学杂志 24(3): 7—9。
- [4] 林维庆等 1980 鸡球虫的单卵囊分离和感染法及其在种的鉴定上的应用 华南农学院学报 1(4): 74—82。
- [5] Chobotar, B. et al. 1982, Ultrastructure, in: Long, P. L., The biology of the coccidia, Edward Arnold, 101—165。
- [6] Jolley, W. R. et al. 1979, Micropyle and oocyst wall changes associated with chemically mediated *in vitro* excystation of *Eimeria stiedae* and *E. tenella*, *International Journal for Parasitology*, 9: 199—204。
- [7] Nyberg, P. A. et al. 1970, Scanning electron microscopy of *Eimeria tenella* oocysts, *Proc. Helminth. Soc. Wash.*, 37(1): 29—36。
- [8] Ryley, J. F. 1969, Ultrastructural studies on the sporozoites of *Eimeria tenella*, *Parasit.* 59: 67—72。
- [9] Scholtyseck, E. 1979, *Fine structure of parasitic protozoa*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg New York, 24—34。
- [10] Vetterling, J. M. et al. 1971 Scanning electron microscopy of poultry coccidia after *in vitro* excystation and penetration of culture cells, *Z. Parasitenk.*, 37: 136—147。
- [11] Wang, C. C. 1982, Biochemistry and physiology of coccidia, in: Long, P. L., The biology of the coccidia, Edward Arnold, 167—228。

《柔嫩艾美耳球虫脱囊过程的扫描电镜观察》

一文之附图 (正文见第 1 页)

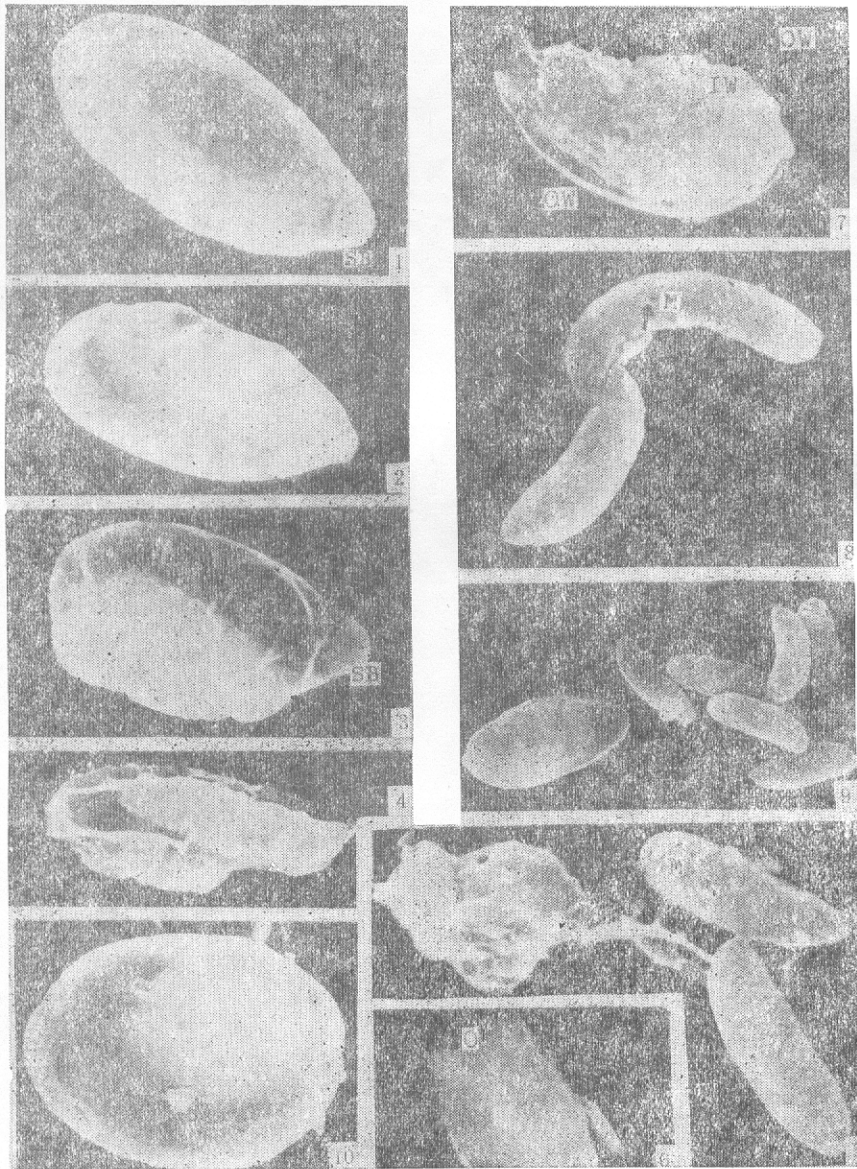


图 1 示孢子囊,斯氏体明显可见($\times 3,000$) 图 2 孢子囊壁部分下陷($\times 3,000$) 图 3 孢子囊壁开始全面塌陷和皱折($\times 3,000$) 图 4 孢子囊壁已全面塌陷,其中子孢子清晰可见($\times 3,000$) 图 5 子孢子和剩余体($\times 3,000$) 图 6 孢子囊空壳,示其开口($\times 3,000$) 图 7 孢子囊壁层分离情况($\times 3,000$) 图 8 脱囊后子孢子及其表面微孔($\times 3,000$) 图 9 脱囊前孢子囊和脱囊后子孢子($\times 18,000$) 图 10 示卵囊表面结构($\times 18,000$) 其中,SB: 斯氏体; R: 剩余体; M: 微孔; O: 开口; OW: 孢子囊壁外层; IW: 孢子囊壁内层。