

微小泰泽球虫大配子发育 与受精的超微结构

史美清 陈淑玉

(兽医系)

提 要

采用纯种微小泰泽球虫卵囊,人工感染四日龄雏鹅,定时剖杀,取小肠组织进行超薄切片,在透射电镜下观察微小泰泽球虫大配子体的发育与大、小配子的受精过程。大配子体由第二代裂殖子转变而来,在带虫空泡内发育。早期大配子体细胞核的浅层和周围均有多膜空泡分布。在大配子体的表面观察到了正待逸出的电子半透明空泡。成囊颗粒Ⅰ和Ⅱ先后出现,两者在分布、结构、大小及功能上均有明显不同。受精发生在卵囊壁形成之前。小配子的核和鞭毛均进入大配子,随后,小配子的核进入大配子的细胞核。没有观察到小配子鞭毛进入大配子的细胞核。

关键词 微小泰泽球虫;大配子体;大配子;受精;超微结构

引 言

球虫是原生动物的一大重要类群,同时又是引起动物严重疾病的病原,因此,有关球虫的研究一直是比较热门的课题。尤其自六十年代以来,由于电镜技术的兴起,学者们在球虫的超微结构方面作了大量的工作。但是,这些研究主要集中在艾美耳属的一些种类。本文首次报道了泰泽属的鹅微小泰泽球虫大配子体的超微结构和大、小配子的受精过程。

材 料 和 方 法

从广州地区病鹅的粪便中,单卵囊分离出微小泰泽球虫卵囊,继代数次,获得足够数量纯种卵囊。经口感染严格隔离饲养的四日龄雏鹅,每只鹅感染卵囊50~200万。分别在感染后的75、78、80、82、85、88、90、91、92、93小时剖杀取材,取材部位为空肠前段和中段。将所取组织截成1 mm³的小块,在4℃下,用4%戊二醛固定24小时。取出用磷酸缓冲液漂洗,1%锇酸再固定3小时,然后再用磷酸缓冲液漂洗,乙醇梯度脱水,再经环氧丙烷过渡,812树脂渗透及包埋。LKB超薄切片机切片,切片经醋酸双氧铀和柠檬酸铅双染。用EM400型透射电镜观察并摄影。

1989年1月11日收稿

结 果

大配子体由第二代裂殖子转变而来,在带虫空泡内发育。感染后85小时的早期大配子体呈圆形或椭圆形,直径约 3.5μ ,外被单层限制膜。其细胞核明显比滋养体时期大,平均直径为 2.5μ ,占据细胞大部分空间。核内核仁也较大,直径约为 1.5μ 。核膜为双层膜,内外膜之间有一电子密度浅的间隙。粗面内质网相当发达,环绕在核的周围。线粒体出现在细胞质的浅层。细胞核的浅层及其周围的细胞质中常有多膜空泡分布,空泡内含有电子染色物质。细胞质中还含有游离的核糖体和空泡。有些大配子体表面分布有正待逸出的半透明空泡。带虫空泡内含有半透明空泡和强嗜酸性的无定形物质。(图版1、2)。

随着大配子体的发育,成囊颗粒Ⅰ出现在细胞质的浅层,其外形为圆形,外被一层单位膜,电子染色较深,质地均匀致密,直径约 0.43μ 。成囊颗粒Ⅱ出现较晚,多位于核的附近,其电子染色较浅,不被单位膜,常被粗面内质网包围,直径约 1.04μ 。(图版3)。

成囊颗粒Ⅰ出现时,多糖也开始合成,并且数量越来越多,体积越来越大。此外,在大配子胞质中还可见到大量小管,其长度一般为 1μ ,排列不规则,一直到卵囊壁形成时,仍可见到。(图版3)。

在成囊颗粒出现后,我们在大配子的浅层和深层发现了小配子。小配子的核和鞭毛均进入了大配子,小配子的细胞核强嗜酸性,外被一层膜(图版5、6)。在大配子的深层,我们还观察到了小配子鞭毛的横切面和纵切面(图版7)。小配子进入大配子后,向大配子细胞核接近,最后,小配子的核穿入大配子的细胞核(图版8)。没有观察到小配子鞭毛进入大配子的细胞核。

随着大配子的进一步发育,其限制膜呈波浪状向带虫空泡内展开,这标志着卵囊壁形成的开始。同时,位于细胞浅层的成囊颗粒Ⅰ开始溶解,形成卵囊壁的外层。溶解后的成囊颗粒Ⅰ变为空泡,电子密度变浅。(图版4)。卵囊壁外层形成后,离开合子表面。此时,成囊颗粒Ⅱ移至细胞浅层并溶解,在外层下面形成卵囊壁的内层。

讨 论

据报道,大配子细胞核周围有多膜空泡分布的种有:*Eimeria brunetti*^[2]、*E. magna*^[3]、*E. acervulina*^[5]、*E. labbeana*^[10]、*E. mivati*^[11]、*Isospora felis*^[8]、*Toxoplasma gondii*^[1]。Michael(1974)^[6]和Ferguson et al(1977)^[12]推测:这些多膜空泡来源于细胞核,且由核膜形成,可能含有某些核内废物。我们不仅在微小泰泽球虫大配子体细胞核周围观察到了多膜空泡(图版1)而且首次在其细胞核的浅层发现了多膜空泡(图版2),从而证实了大配子体的多膜空泡来源于细胞核这一观点。

我们曾在大配子体的带虫空泡内发现电子半透明空泡(图版1),也在大配体表面观

观察到正在逸出的电子半透明空泡(图版2)。这与Ferguson et al (1977)^[2] Pittillo et al (1979)^[6]所报道的*E. brunetti*和*E. maxima*相似,他们认为这些空泡来源于退化的线粒体,是大配子体排除废物的一种方式。因为大配子体与裂殖体、小配子体不一样,后两者可将代谢产物遗留在残体,而一个大配子体只发育成为一个大配子,没有残体,只能将代谢产物通过某种方式排出大配子体。

采用电镜研究球虫大小配子的受精,至今报道不多。因此,球虫的受精过程仍然是一个谜。Scholtyseck和Hammond(1970)^[7]在*E. bovis*大配子的细胞质中发现了小配子的细胞核和鞭毛;Madden和Vetterling(1977)^[4]用扫描电镜观察到了*E. tenella*的小配子穿入大配子的过程。但是,他们未能观察到大、小配子细胞核融合的过程,因而不能肯定,进入大配子细胞质的小配子是否参与受精。后来,Sheffield和Fayer(1980)^[8]报道了*Sarcocystis cruzi* (*S. bovicanis*)的受精过程,小配子粘附在大配子表面,两者的细胞质膜融合,形成一个窄的、加固的小柄,小配子的细胞核通过小柄进入大配子的细胞质。据我们的观察:微小泰泽球虫小配子的核和鞭毛均进入了大配子的细胞质,更为有趣的是,我们首次观察到了小配子细胞核穿入大配子细胞核的过程。因此,我们认为进入大配子细胞质的小配子将继续向大配子细胞核靠近,最后,大、小配子的细胞核融合而受精。

小配子进入大配子后,卵囊壁还没有开始形成(图版5、7)。这一结果有利地支持了受精发生在卵囊壁形成之前的观点。

引用文献

- [1] Ferguson, D.J.P. et al 1975. Acta Path. microbiol. scand. Sect. B 83:491-505
- [2] Ferguson, D.J.P. et al 1977. Acta path. microbiol. scand. Sect. B 85:78-88
- [3] Ferguson, D.J. P. et al 1980. Acat Path. microbiol. scand. Sect. B 88:161-168
- [4] Madden, P.A. & J.M. Vetterling 1977. J. Parasitol. 63:607-610
- [5] Michael, E. 1974. Proceedings British Society for Parasitology, 2-4 April 1974. Parasitology 69:XIX
- [6] Pittillo, R.M. & S.J. Ball 1979. Parasitology 79:259-265
- [7] Scholtyseck, E. & D.M. Hammond 1970. Z. Parasitenk. 34:310-318
- [8] Sheffield, H.G. & R. Fayer 1980. Proc. Helminth. Soc. Wash. 47:118-121
- [9] Speer, C.A. et al 1973. J. Protozool. 20:109-115
- [10] Varghese, T. 1975. Z. Parasitenk. 46:43-51
- [11] Wheat, B.E. et al 1976. Z. Parasitenk. 50:125-136

ULTRASTRUCTURAL ASPECTS OF MACROGAMETOGENESIS AND
FERTILIZATION IN Tyzzeria parvula

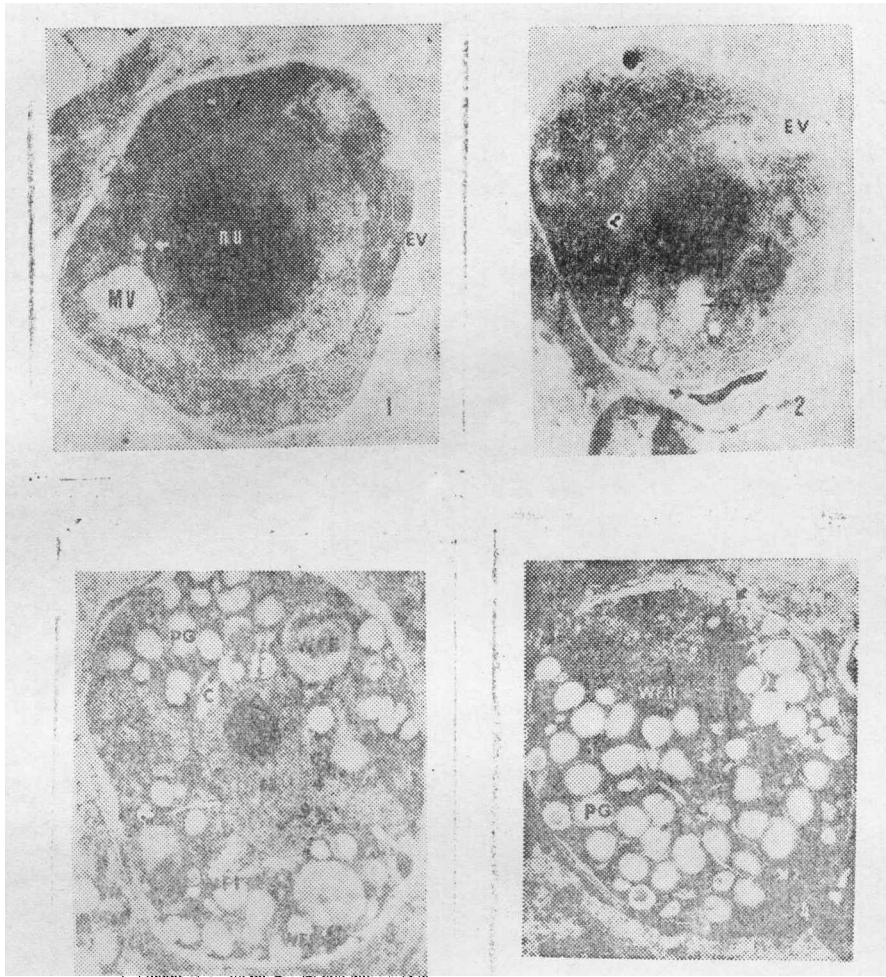
Shi Meiqing Chen Shuyu

(Dept. of Vet. Medicine)

ABSTRACT

The fine structural aspects of Macrogametogenesis and process of fertilization in Tyzzeria parvula were studied in tissue from the small intestine of infected young domestic geese via electron microscopy. Multi-membraneous vesicles were present in both the nucleoplasm and cytoplasm of young macrogametocytes. It was observed that electron translucent vacuoles appeared to be ejected from the surface of the macrogametocytes. The wall forming bodies of type 1 (WF1) came into view before the wall forming bodies of type 2 (WF2). The WF1 was osmophilic, and was smaller than the WF2. WF1 and WF2 participated respectively in formation of the outer and inner layer of the oocyst wall. Fertilization of a macrogamete by a microgamete occurred prior to oocyst wall formation. Both the nucleus and the flagella of the microgamete penetrated into the cytoplasm of macrogamete, but only the nucleus fused with the nucleus of macrogamete.

Key words: Tyzzeria parvula; Macrogametocyte; Macrogamete; Fertilization; Ultrastructure

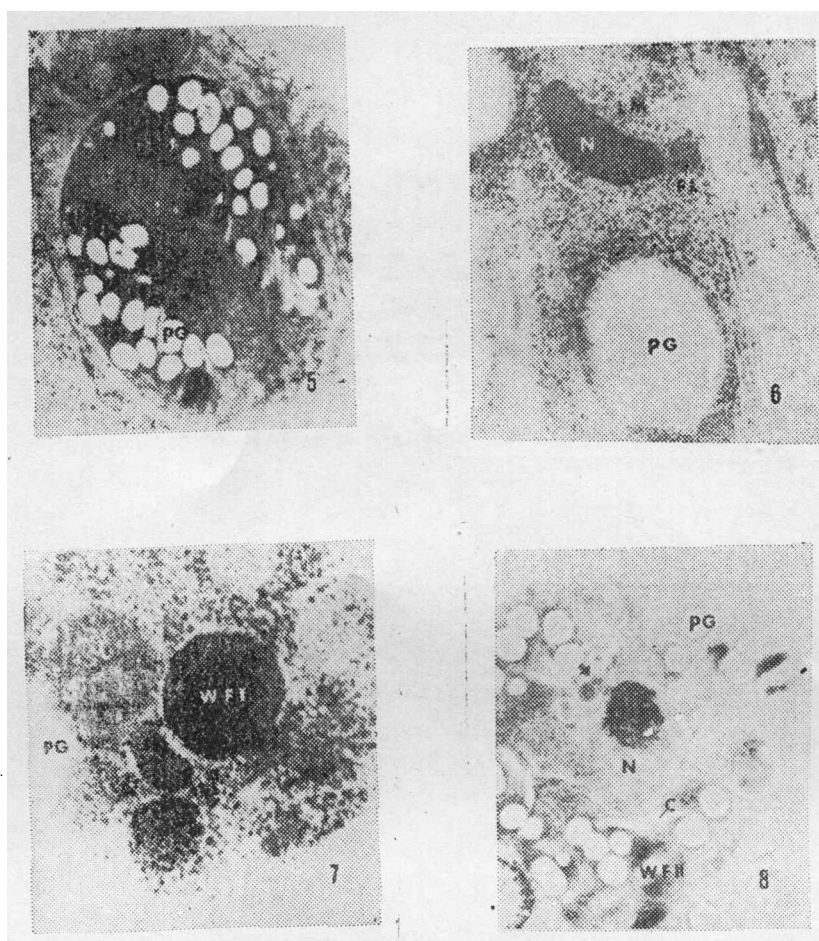


图版 1. 早期大配子体。显示：细胞核(N)，核仁(NU)，内外核膜之间有一电子密度浅的间隙(箭头)。位于细胞核附近的多膜空泡(MV)，粗面内质网(ER)。带虫空泡内的半透明空泡(EV)。
×20265

2. 早期大配子体。显示：细胞核(N)，分布于核质内的多膜空泡(MV)。粗面内质网(ER)，线粒体(MI)，正在逸出的电子半透明空泡(EV)。带虫空泡内含无定形的强嗜银物质(箭头)。
×16200

3. 大配子体。显示：细胞核(N)，成囊颗粒I和II(WF I、WF II)，多糖颗粒(PG)，小管(C)。×9257

4. 合子。显示：限制膜呈波浪状展开(空心箭头)，成囊颗粒I溶解后电子染色变浅(实心箭头)，成囊颗粒II(WF II)，多糖(PG)，小管(C)。×7043



图版 5. 大配子。显示：小配子进入大配子的胞质中（箭头），多糖颗粒（PG）。×7043

6. 图版5的局部放大。显示：进入大配子的小配子，细胞核（N），核膜（LM），鞭毛横切面（FL）。大配子内的多糖颗粒（PG）。×43200

7. 大配子的局部。显示：小配子鞭毛的纵切面和横切面（FL），鞭毛内的微管（箭头）。成囊颗粒I（WFI），多糖颗粒（PG）。×75330

8. 大配子的局部。显示：小配子的细胞核正在穿透大配子的细胞核（箭头）。大配子的细胞核（N），成囊颗粒I（WFI），小管（C），多糖颗粒（PG）。×12150