

猪米氏住肉孢子虫包裹的 光镜与电镜研究

LIGHT AND ELECTRON MICROSCOPIC STUDIES ON THE CYSTS OF *Sarcocystis*
miescheriana IN NATURALLY INFESTED PIGS

林庆文 刘海虹 汪明 张龙现 林昆华 肖后南 张长弓
(北京农业大学电镜室) (北京农业大学兽医学院) (湖南省畜牧兽医研究所)

Lin Qingwen Liu Haihong Wang Ming Xiao Bingnan Zhang Changgong
Zhang Longxian Lin Kunhua
(Beijing Agricultural University) (Institute of Animal Husbandry
and Veterinary Science, Hunan)

摘要 利用光镜和电镜研究了猪肌肉内米氏住肉孢子虫的形态学。包裹体积为 $0.525 \sim 1.250 \text{ mm} \times 0.075 \sim 0.025 \text{ mm}$, 平均 $0.822 \text{ mm} \times 0.156 \text{ mm}$ 。包裹壁形成大量平行的栅栏样的突起, 光镜下是呈放射条纹状的厚壁, 电镜下可见突起壁下 74~86 根纤丝形成一单环, 突起中央有 7~16 簇由 2~8 根纤丝组成和纤丝束。基质层衬于包裹壁下, 并向腔内伸入形成隔。包裹内细胞按内二分裂方式增殖, 其结构特征与其它形成包裹的球虫相同。研究证明米氏住肉孢子虫包裹壁的超微结构特征不同于本属内的其它虫种, 可作为鉴别的标志。

关键词 住肉孢子虫; 超微结构; 猪

Key words *Sarcocystis*; Ultrastructure; Pig

猪米氏住肉孢子虫由 Kuhn 1865 年首次发现, 命名为 *Synchytrium miescherianum*, Labbe 1989 年将其移入住肉孢子虫属 *Sarcocystis*, 修定为 *Sarcocystis miescheriana*, 并作为该属的模式种。在这以后, 米氏住肉孢子虫一直被认为是家猪和野猪的唯一种, 直到本世纪 70 年代, 住肉孢子虫的生活史被揭示, 才知晓存在于猪、犬、猪—人和猪—猫循环的 3 种住肉孢子虫。3 种住肉孢子虫包裹的超微结构已有作者做过描述。Ludyik (1960) 描述过自然感染猪的住肉孢子虫包裹, Mehlhorn 和 Heydorn (1977) 描述过实验感染猪人住肉孢子虫 *S. suis* 包裹的发育, Gobel 等 (1978) 描述过实验感染猪米氏住肉孢子虫 (即猪犬住肉孢子虫 *S. suis*) 包裹发育的光镜和电镜形态, Bergmann 和 Kinder (1976) 描述过猪猫住肉孢子虫 *S. porci* 包裹的超微结构。本文对采自河南某肉联厂自然感染猪只体内的住肉孢子虫包裹进行了光镜和电镜研究。

1 材料与方法

包裹来自河南省某肉联厂收购的自然感染猪。从屠宰猪的膈肌, 随机取肌肉样品, 光镜压片检查, 记录感染率, 测量包裹体积, 将荷虫肉片投入 2.5% 戊二醛固定液中, 改修成 1 mm^3 后, 换新鲜固定液过夜; PBS 清洗后, 1% 锇酸后固定 1 min; 系列丙酮液脱水, 812 树脂包埋; 先切出半薄切片, 光镜下定位后, LKB 切片机制出超薄切片, 醋酸铀液染色 20~30 min, 柠檬酸铅液复染 10~15 min, JEM-100S 透射电镜下观察。

2 结果

2.1 光镜观察

共检查 791 头猪的隔肌, 检出 11 头感染阳性猪, 阳性检出率为 1.26%。光学显微镜下测出包囊大小为 $0.525 \sim 1.25 \text{ mm} \times 0.075 \sim 0.225 \text{ mm}$, 平均 $0.822 \text{ mm} \times 0.156 \text{ mm}$, $N=29$ 。包囊均存在于肌纤维内, 长轴与肌纤维平行, 包囊壁属厚壁型, 呈放射状, 包囊内充塞细胞, 浅层为球型的母细胞, 其着色较浅, 中部为长形的缓殖子, 其着色较深。

2.2 电镜观察

包囊表面形成大量棒状到长柱形突起, 长约 $3.33 \mu\text{m}$, 直径约 $0.84 \mu\text{m}$, 彼此平行排列, 纵切呈栅栏样 (图 1, 3, 4), 横切呈多角形 (图 5)。突起壁平滑, 由一层质膜和一层嗜银物质加厚形成, 厚约 31.7 nm , 突起基部的壁为典型的原囊壁, 带有许多小泡状凹陷 (图 2)。突起腔除含有基质成份外, 在突起壁下有 $74 \sim 86$ 根纤丝围成一环, 该纤丝直径约 $12.7 \sim 22.2 \text{ nm}$, 起始于突起基部的基质层, 延伸至突起顶端, 走向与突起平行 (图 3, 4, 5)。在突起腔内, 还有 $7 \sim 16$ 簇纤丝, 平均 11 ($N=22$), 每簇约含 $2 \sim 8$ 根纤丝不等 (图 5)。基质层衬于包囊壁下, 厚 $0.38 \sim 0.67 \mu\text{m}$, 由微细颗粒组成, 靠外周含有纤丝, 内层均匀且较透明, 基质层向囊腔内深入, 将囊腔分隔成若干小室 (图 1, 3)。

包囊内所含细胞为母细胞和缓殖子, 均存在于基质隔成的小室中。老包囊只含缓殖子, 或仅在浅层含少量母细胞, 细胞排列紧密, 充塞整个小室 (图 1); 在年轻包囊中, 母细胞与缓殖子成簇出现, 细胞排列相对疏松, 但无空室存在。

母细胞呈球形, 椭圆或卵圆形, 大小 $6.67 \sim 9.52 \mu\text{m} \times 4.20 \sim 6.20 \mu\text{m}$, 被覆双层膜, 表膜上有 1 至数个微孔及许多表膜凹陷, 具有一个大的细胞核, 核内含 1 个或 1 个以上的核仁, 染色质以两种形式存在, 一种聚集成斑块状, 一种呈细颗粒状, 弥散分布, 核被膜上核孔丰富。细胞质电子密度较低, 含有线粒体、内质网、多糖颗粒、半透明小泡、被膜小泡和致密体, 个别细胞有少量微线和多糖颗粒 (图 7, 8)。子代细胞的形成模式为内二分裂 (图 8)。

缓殖子呈香蕉形, 大小约 $11.90 \mu\text{m} \times 3.34 \mu\text{m}$, 被双层膜, 其前部含有锥体、大量的微线、棒状体、微孔, 中部含线粒体、致密体、多糖颗粒及被膜小泡, 核位于中后部, 有或无核仁, 染色质聚集成斑块状, 在核的后部常含一些多糖颗粒 (图 9); 膜下微管为 22 根 (图 6)。致密体形成于由粗面内质网围成的形成区域, 在形成区域中央富含嗜银酸性的均匀物质, 周边是正在形成或已形成的致密体 (图 10)。

3 讨论

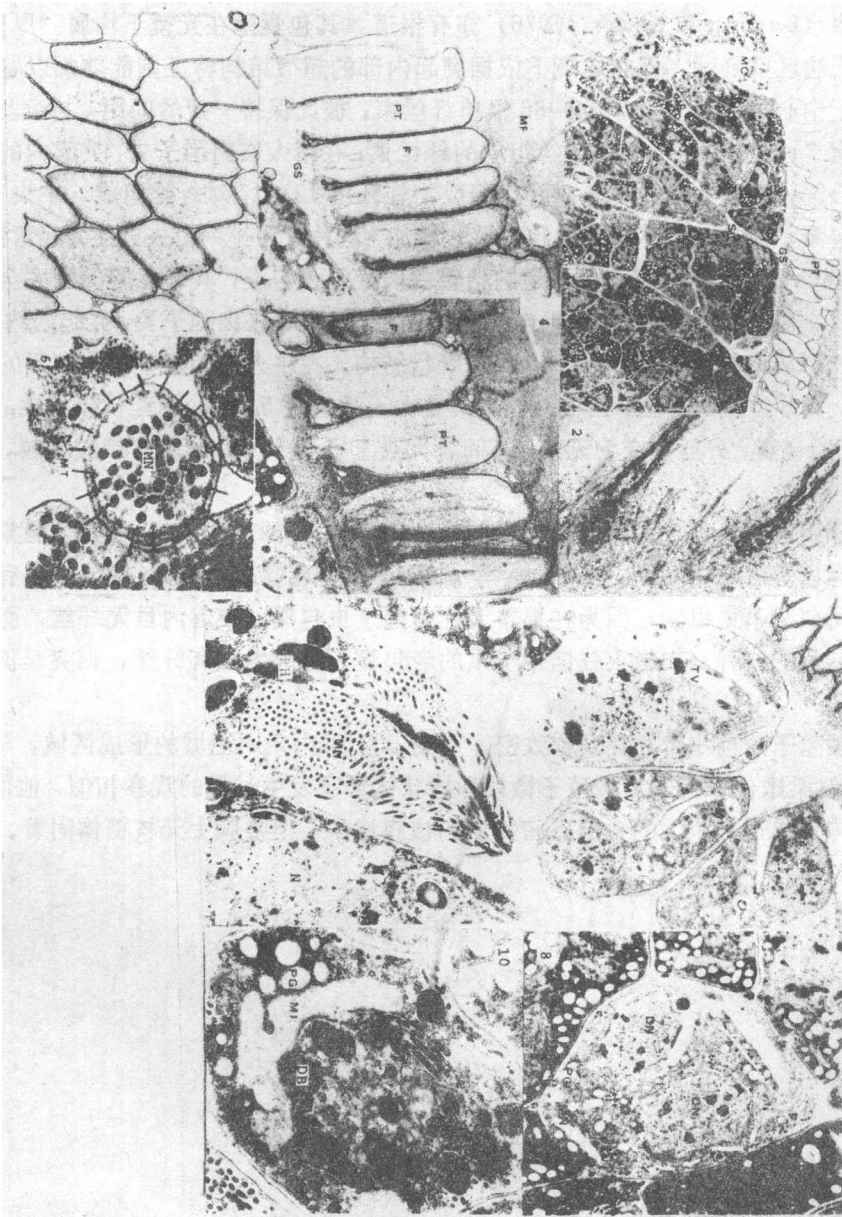
我们对河南猪住肉孢子虫包囊的光镜和电镜观察结果与 Gobel 等 (1978) 对实验感染猪米氏住肉孢子虫所描述和主要结构特性一致, 确定为米氏住肉孢子虫。但与 Gobel 等 (1978) 的描述比较, 仍存在一些细微的差别, Gobel 等 (1978) 报道环状排列纤丝为 $57 \sim 62$ 根, 突起中央有 $5 \sim 8$ 簇纤丝, 突起顶端壁存有刷状缘及细毛。我们观察环形排列的纤丝是 $74 \sim 86$ 根, 突起中央有 $7 \sim 16$ 簇纤丝, 突起顶部壁未发现刷缘及细毛。

米氏住肉孢子虫包囊表面存在的栅栏样的突起层, 在柔嫩住肉孢子虫 *S. tenella* (Mehlhorn 等 1975), 毛形住肉孢子虫 *S. hirsuta* (Gestrich 等, 1975)、牛人住肉孢子虫 *S. bovisomnis* (Mehlhorn 等 1975)、猪人住肉孢子虫 (Mehlhorn 和 Heydorn, 1977) 和猪猫住

肉孢子虫 (Bergman 和 Kinder, 1976) 亦有报道, 其包裹壁在光镜下均属“厚壁型”, 呈放射状, 无法区别到种, 但在电镜下依据突起内部的超微结构特征则能够加以鉴别。在米氏住肉孢子虫中心突起壁下, 有 74~86 根单纤丝束; 彼此保持一定的间距, 排列呈环状, 突起中央含有 7~16 簇由 2~8 根纤丝组成的纤丝束; 在猪人住肉孢子虫, 突起内的纤维排列成两个同心圆, 内环约由 8~11 对纤丝组成, 外环由 12~17 对纤丝组成, 中央有 2 对纤丝, 但在老包裹, 可能由于突起内纤丝数量的增加, 这种有序排列消失, 且突起弯曲呈毛发样。而 Bergmann 和 Kinder (1976) 报道的猪猫住肉孢子虫包裹, 其纤丝走向则完全不同于上述两个种。在柔嫩住肉孢子虫, 突起内无纤丝存在。在毛型住肉孢子虫, 突起内约含 200~300 根纤丝, 形成许多直径约 50~60 nm 的管状结构。在牛人住肉孢子虫, 突起的中部含有大量纤丝, 其纤丝成对存在, 两根纤丝之间是由无数直径 5 nm 的细丝桥接而成的, 但在感染后 98 天的包裹, 纤丝则变为无序, 其间含大量直径 30~40 nm 的嗜银酸颗粒, 突起壁皱折不平。

关于突起内纤丝或微管的功能目前尚不清楚, Ludvik (1960) 认为其可能象毛细管一样具有转运营养物质的功能, Mehlhorn 等 (1975) 认为它们起着支持作用^[7], 现有资料证明起支持作用似乎不太可能, 因为在绵羊犬住肉孢子虫包裹, 突起内虽无纤丝, 而并不影响突起矗立, 另一些种 (如猪人住肉孢子虫的老包裹) 突起内虽有纤丝, 则突起仍弯曲呈毛发样。

在缓殖子的前中部, 观察到致密体形成于粗面内质网围城的形成区域, 与 Mehlhorn 等 (1975) 对柔嫩住肉孢子虫缓殖子微线和棒状体形态发生过程的观察相似, 他们报道, 微线和棒状体形成于一个大的含有致密物质的被膜泡中, 但被膜上无核糖体附着。



- 图版 1 一包裹局部电镜照片,示突起(PT),基质(GS)、隔(S)、母细胞(MC)和缓殖子(BZ)。×1.9 k
- 2 突起基部的放大照片,可见突起基部原囊壁仍带有小泡状的凹陷(IV),突起壁平滑,由一层质膜和膜下嗜银酸物质加厚形成。×25 k
- 3 突起之纵切,示肌原纤维(MF)、柱状突起(PT)、突起腔内的纤丝(F)和基质(GS),可见纤丝始于基质层(GS),延伸至突起顶端。×9.0 k
- 4 突起之纵切,示棒状突起(PT)和纤丝(F)。×9.0 k
- 5 突起之横切。呈多角形外廓,可见壁下74~86根纤丝排成单环,中央有成簇的纤丝束。×9.0 k
- 6 一缓殖子前部之横切,示微线(MN)和22根膜下微管(MT)。×31 k
- 7 母细胞的电镜照片,示核(N)、核仁(NU)、线粒体(MI)、半透明小泡(TV)和被膜小泡(MV)。×5.1 k
- 8 一行内二分裂之母细胞,示2个子细胞核(DN)、多糖颗粒(PG)和少量微线(MN)。×7.2 k
- 9 缓殖子之纵切,示锥体(C)、微线(MN)、棒状体(PH)、致密体(DB)和核(N)。×14 k
- 10 一通过缓殖子中部的横切照片,示多糖颗粒(PG)、长形带嵴的线粒体(MI)和粗面内质网围成的致密体(DB)形成区。×17 k