

柯氏艾美耳球虫发育史的研究

范万红 陈淑玉

(华南农业大学动物医学系, 广州 510642)

摘要 柯氏艾美耳球虫(*Eimeria kofoidi*)的内生发育包括2代无性繁殖和1代有性繁殖,第1代裂殖生殖阶段的时间为感染后至48 h,第2代裂殖生殖阶段的时间为感染后48~84 h,配子生殖阶段始于感染后76 h,感染后90~138 h在肠绒毛中发现成熟的配子体,感染后96 h在回肠肠腺中发现卵囊,至138 h仍可见。最短孢子化时间为9~12 h。柯氏艾美耳球虫的宿主特异性强,不感染虎皮鹦鹉、八哥、鹌鹑和雏鸡。

关键词 鹌鹑;艾美耳球虫;发育史

中图分类号 S 852.72

鹌鹑是一种经济价值较高的珍禽,散居于世界各地。鹌鹑球虫的研究,国内外报道不多。到目前为止,据文献报道不同种属鹌鹑的球虫有8种,均属艾美耳属。其中可寄生于美国鹌鹑(*Alectoris chukar*)的球虫有2种:*Eimeria kofoidi* Yakimoff 和 *E. dispersa* Tyzzer。*E. dispersa* 对宿主的特异性不强,可人工感染美国鹌鹑及其它鸟类。*E. kofoidi* 除寄生在美国鹌鹑外,尚可寄生于灰鹌鹑(*Perdix perdix*)、岩鹌鹑(*Alectoris graeca*)和红脚鹌鹑(*A. rufa*)。鹌鹑球虫病,在保加利亚和西班牙曾有报道(Eerrera et al, 1972; Yakimoff et al, 1936)。Doran (1978)报道了火鸡上 *E. dispersa* 的生活史和人工感染美国鹌鹑的研究。关于柯氏艾美耳球虫的生活史国内外报道不多。为了探讨球虫的发育,作者进行了这方面的研究。

1 材料与方法

1.1 试验动物

从华南农业大学鸡场购进100只刚出壳的健壮美国鹌鹑,饲养在严格消毒的环境中,喂不含抗球虫药物饲料,饮用水经煮沸消毒。饲养6~11 d后进行感染。

1.2 卵囊来源

用饱和盐水浮卵法从肇庆鹌鹑场患禽粪便中收集卵囊,经孢子化后,用1月龄阴性鹌鹑进行感染继代。继代所得卵囊经完全孢子化后采用单卵囊分离技术,获得纯种卵囊,再经继代繁殖。收集大量纯种卵囊,置 $w=2.5\%$ 重铬酸钾液内,于28℃温箱中培养,待完全孢子化后置4℃冰箱内保存备用。

1.3 感染试验及制片方法

用纯种孢子化卵囊10~20万/只经口感染11日龄鹌鹑,于感染后定时扑杀(见表1)。取材部位为回肠后段、直肠和盲肠基部,各2 cm,于 $\varphi=10\%$ 福尔马林固定,石蜡切片(5 μm 厚),HE染色。BH-2型Olympus显微镜观察摄影。

表 1 人工感染试验

编号	<i>t</i> 扑杀/h	扑杀只数	感染卵囊量/万个	编号	<i>t</i> 扑杀/h	扑杀只数	感染卵囊量/万个
1, 2	7	2	20	27, 28	78	2	10
3, 4	12	2	20	29, 30	80	2	10
5, 6	18	2	20	31, 32	82	2	10
7, 8	24	2	20	33, 34	84	2	10
9, 10	30	2	15	35, 36	86	2	10
11, 12	36	2	15	37, 38	90	2	10
13, 14	42	2	15	39, 40	96	2	10
15, 16	48	2	10	41, 42	102	2	10
17, 18	54	2	10	43, 44	114	2	10
19, 20	66	2	10	45, 46	118	2	10
21, 22	70	2	10	47, 48	120	2	10
23, 24	72	2	10	49, 50	124	2	10
25, 26	76	2	10	51, 52	138	2	10

1.4 卵囊形态及发育

用饱和盐水浮卵法收集卵囊进行培养, 每隔 1~2 h 观察 1 次, 记录卵囊发育情况. 重复试验 2 次. 卵囊孢子化完毕后在 95×10 倍显微镜下测量. BH-2 型 Olympus 显微镜摄影.

1.5 卵囊潜在期及排卵囊持续时间的测定

每天检查人工感染雏鸕鸕的粪便 2~3 次, 记录排卵囊的最早时间(潜在期)和排卵囊持续时间.

1.6 鸕鸕对球虫的免疫力

纯种孢子化卵囊 30 万/只重复感染已停止排卵囊的鸕鸕 2 只(2 个半月龄), 于感染后每天粪检 2 次, 至第 10 d, 观察耐受过球虫感染的鸕鸕对球虫的免疫力.

1.7 人工感染其它动物的试验

购进 4 只鸕鸕, 2 只八哥, 刚出壳的鹌鹑 5 只及石岐杂雏鸡 2 只, 饲养在实验室中. 粪检阴性者用于感染试验. 6 只 6 日龄阴性鸕鸕作感染对照, 试验期间, 喂不含抗球虫药饲料, 饮水经煮沸消毒. 于感染后第 3 d 开始粪检, 每天 2~3 次, 至感染后第 10 d.

2 结果

2.1 内生发育阶段

人工感染后 24 h, 见少量多核体, 寄生于肠绒毛上皮细胞和肠腺细胞内, 位于核的上方或下方(图版-1). 多核体的平均大小为 4.7 μm×5.1 μm, 胞浆呈浅紫红色, 有数个圆形深紫色核.

感染后 42 和 48 h 在回肠、直肠和盲肠中见有极少量裂殖体. 感染后至第 48 h 范围属第 1 代裂殖生殖阶段. 裂殖体呈椭圆形或圆形, 形如菊花样, 呈浅紫色; 裂殖子为香蕉形, 核位于裂殖子中后部. 裂殖子呈深紫色(图版-2). 第 1 代裂殖体的平均大小为 11.5 μm×8.7 μm. 含裂殖子 10~20 个, 裂殖子的平均大小为 4.58 μm×0.92 μm.

感染后 48 h, 在肠绒毛上皮细胞及固有层中见较多的滋养体, 多数呈椭圆形和圆形, 呈紫

红色,为第2代无性发育阶段滋养体,平均大小为 $2.36\ \mu\text{m} \times 3.05\ \mu\text{m}$ (图版—3)。

感染后 54~76 h,在回肠、盲肠和直肠见有较多的裂殖体(图版—4)。感染后 48~84 h 为第2代裂殖生殖阶段。裂殖体的平均大小为 $7.63\ \mu\text{m} \times 6.22\ \mu\text{m}$,含裂殖子 4~14 个,多数为 5~8 个,裂殖子的平均大小为 $4.3\sim 1.1\ \mu\text{m}$ 。

感染后 76 h,在肠绒毛上皮细胞及固有层中见大量的成配子体母细胞,平均大小为 $1.89\ \mu\text{m} \times 2.21\ \mu\text{m}$ 。成熟大配子体呈紫红色,中央有 1 个近圆形,呈深红色的核,四周有深染的红色圆形成壁颗粒分布,其原生质内散布有许多细小的反光颗粒(图版—5),成熟大配子平均大小为 $10.13\ \mu\text{m} \times 11.29\ \mu\text{m}$ 。成熟小配子体多数为椭圆形,呈浅红色,平均大小为 $10.77\ \mu\text{m} \times 13.58\ \mu\text{m}$ 。

感染后 96 h,在小肠绒毛基部肠腺中发现极少量卵囊,位于肠绒毛上皮细胞、肠腺细胞及固有层中,至 138 h 仍可见个别卵囊。卵囊多数为椭圆形,或长椭圆形,少数为圆形。卵囊周围有一层明显加厚的卵囊壁(切片中见多数卵囊囊壁皱缩,图版—6)。卵囊的平均大小为 $11.93\ \mu\text{m} \times 14.57\ \mu\text{m}$ 。

鹧鸪人工感染后第 4 d(96 h)首次排出卵囊,其潜在期为 96 h。感染的鹧鸪排卵囊持续至 62 d。

病理变化:剖检肉眼病变于感染后 54 h 较明显,主要见盲肠不同程度肿胀,肠壁变薄。

病理组织学变化主要在感染后 54 h 出现。镜下见局部肠绒毛固有层中淋巴细胞不同程度浸润,伴有淡红色均质水肿液瘀血,甚至出血。

2.2 外生发育

卵囊多数呈卵圆形至椭圆形,偶见亚球形;卵囊囊壁光滑,2 层,外层呈淡黄色,内层为淡绿色;无卵膜孔,极帽及卵囊残体,但是有极粒。孢子囊呈椭圆形,一端钝圆,另一端较尖并有较为明显的孢子囊斯氏体;孢子囊内 2 个子孢子的钝端各见 1 个圆形的大折光体沿孢子囊纵轴相对而立,孢子囊残体呈颗粒状散在分布于孢子囊中(图版—7)。

新鲜卵囊,其原生质呈球形,位于卵囊一端,卵囊与另一端有半月形的间隙(图版—8)。孢子化卵囊的平均大小为 $19.5\ \mu\text{m} \times 15.1\ \mu\text{m}$,卵囊形状指数为 1.30。孢子囊的平均大小为 $9.3\ \mu\text{m} \times 5.6\ \mu\text{m}$,长宽比率为 1.5~2.0,平均 1.7。

新鲜卵囊置 $w=2.5\%$ 重铬酸钾液中, $28\ ^\circ\text{C}$ 下培养,7 h 后卵囊内的原生质开始分裂,至第 9 h 时大部分卵囊内的原生质已分列成 4 个界限清晰的孢子囊,第 10~12 h 可见到明显的孢子囊斯氏体及成熟子孢子内的圆形大折光体。孢子发育的最短时间为 9~12 h。

2.3 感染鹧鸪对球虫的免疫力

未发现球虫卵囊。试验结果表明:耐受过球虫感染康复的鹧鸪对球虫的再感染有坚强的免疫力。

2.4 人工感染其它动物

柯氏艾美耳球虫不感染鸚鵡、八哥、鸚鵡和雏鸡,其宿主特异性较强。

3 讨论与结论

(1)柯氏艾美耳球虫内生发育包括 2 个裂殖生殖阶段和 1 个配子生殖阶段。第 1 代裂殖生殖在感染后 48 h 内完成;第 2 代裂殖生殖阶段出现于感染后 48~84 h。第 2 代裂殖生殖后,

一部分裂殖子进入配子生殖阶段,另一部分裂殖子仍继续进行无性繁殖,进入第3代裂殖生殖阶段。配子生殖始于感染后76 h,至138 h仍见少量配子体。

(2)柯氏艾美耳球虫主要寄生在回肠、盲肠和直肠,也可寄生于空肠中,但在十二指肠中未发现虫体。

(3)柯氏艾美耳球虫引起的病变主要于感染后54 h出现。肉眼病变主要为肠粘膜出现不同程度的潮红充血,并伴有针尖大小的出血点呈散在性分布。组织病变主要见肠绒毛上皮不同程度脱落,肠绒毛固有层中淋巴细胞增生,并有淡红色均质水肿液,小血管扩张充血甚至出血等。感染时间愈久,病变愈严重。从病变出现的时间来看,主要是由第2代裂殖生殖及配子生殖阶段虫体所致。

(4)分离的柯氏艾美耳球虫卵囊与Yakimoff等(1936)描述基本一致。作者测量的卵囊的平均大小为 $19.5\mu\text{m}\times 15.1\mu\text{m}$,卵囊形状指数为1.30,孢子囊的平均大小为 $9.3\mu\text{m}\times 5.6\mu\text{m}$,与Yakimoff等(1936)的原始描述(卵囊平均大小为 $20.0\mu\text{m}\times 16.5\mu\text{m}$,卵囊形状指数为1.22,孢子囊平均大小为 $8.8\mu\text{m}\times 6.05\mu\text{m}$)极为接近。

(5)柯氏艾美耳球虫外生阶段的发育,至今尚少见报道。实验表明,柯氏艾美耳球虫的潜在期为4 d(96 h),最短的孢子发育时间为9~12 h,持续排卵囊至少62 d。

(6)柯氏艾美耳球虫对宿主的特异性较强,人工感染鸚鵡、八哥、鹌鹑和雏鸡均未获成功。

(7)耐受过柯氏艾美耳球虫感染康复后的鸚鵡对球虫再感染有坚强的免疫力。

参 考 文 献

- Doran D J. 1978. The life cycle of *Eimeria dispersa*, from the turkey in gallinaceous birds. J Parasitol, 64: 882~885
Eerrera J L, Rodriguez J. 1972. Coccidiosis in partridges(*Alectoris rufa*) with special reference to *Eimeria gonza-lezi* and *E. kofoidi*. Revista Iberica de Parasitologia 32(1/2): 95~113
Yakimoff W L, Matikaschwili I L. 1936. Coccidiosis of the grey and stone partridge. Parasitological, 28: 146~147

STUDIES ON THE LIFE CYCLE OF *Eimeria kofoidi*

Fan Wanhong Chen Shuyu

(Dept. of Veterinary Medicine, South China Agric. Univ., Guangzhou, 510642)

Abstract

The endogenous development of *E. kofoidi* was found to include two asexual stages and one sexual stage. The 1st and 2nd generation schizogonies were completed at 48 h and 84 h postinoculation(PI) respectively. The sexual development began at 76 h PI. The mature macro- and micro-gametocytes were observed from 90~138 h PI. The oocysts were seen in the base of the glands of the ilium at 96 h PI, up to 138 h PI. The prepatent period was 96 h, and the oocysts continued to be discharged for at least 62 d PI. The oocysts took 9~12 h for sporulation. The oocysts of *E. kofoidi* showed strict host specificity, could not infect *Gallus domestica*, *Coturnix coturnix*, *Melopsittacus undulatus* and *Acridotheres cristatellus*.

Key words *Alectoris chukar*; *Eimeria kofoidi*; life cycle



1. 多核体(感染后 24 h, 回肠切片)HE× 945; 2. 成熟裂殖体(感染后 48 h, 回肠切片)HE× 945; 3. 滋养体(感染后 48 h, 回肠切片)HE× 945; 4. 滋养体(小黑箭头)、多核体(空心箭头)、裂殖体(实心箭头)(感染后 72 h, 回肠切片)HE× 945; 5. 成熟大配子体(实心箭头)和成熟小配子体(空心箭头)(感染后 124 h, 盲肠切片)HE× 945; 6. 卵囊(感染后 120 h, 盲肠切片)HE× 945; 7. 孢子化卵囊× 1 350; 8. 未孢子化卵囊× 1 350

图版 柯氏艾美耳球虫发育史

【责任编辑 柴 焰】