

家蚕微孢子虫和 MG₁ 孢子超微结构的观察*

严海峰** 卢铿明 徐兴耀

(华南农业大学蚕桑系, 广州, 510642)

摘要 家蚕微孢子虫(*Nosema bombycis*)和 MG₁ 两种孢子超微结构差异显著。家蚕微孢子虫孢子的外壁、质膜均只见一层结构,极膜呈封闭锥体,膜的层次清晰,极丝平均 13 圈,极丝与孢子中轴倾角 41° 左右;MG₁ 微孢子的外壁有 3 层结构,质膜分 2 层,极膜层次不清,极丝平均 11 圈,极丝与孢子中轴倾角 45° 左右,极泡有许多大的颗粒状物。

关键词 家蚕;微孢子虫;MG₁;超微结构

中图分类号 S884.21

自 1870 年巴斯德证实因微孢子虫感染而使家蚕患病以来,各国学者在微粒子病原等方面做了大量的研究工作(Sato et al.,1982;Burgess et al.,1974;广濑安春等,1979;藤原公等,1980)。近年来,国内外陆续报导发现形态,大小与家蚕微孢子虫不同的微孢子类型(梅玲玲,1989;问锦曾,1989;方定坚,1991,1992),并对其超微结构进行了比较,认为不同类型的微孢子其超微结构有差异。作者通过电镜观察也发现家蚕微孢子和 MG₁ 微孢子的结构与 Sato (1982)的报告不同。现将结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 材料

家蚕微孢子(*Nosema bombycis*)是本系蚕病实验室继代保存株。

MG₁ 微孢子是 1989 年春广东蚕种繁殖试验所在原种母蛾镜检中发现并分离的异型孢子,经方定坚等研究证实它虽能感染家蚕,但致病力比 N.b 微孢子弱 100 ~ 1 000 倍,且尚未发现胚种传染。暂编号为 MG₁,由广东蚕研所馈赠,本系蚕病实验室繁殖。

1.2 方法

1.2.1 扫描电镜(SEM)样品制备 取适量的微孢子虫用 4% 戊二醛固定 24 h(4℃),再用 1% 锇酸固定 3 h(4℃),经漂洗、脱水、自然干燥后,镀金,JSM-25S 型扫描电镜观察。

1.2.2 透射电镜(TEM)样品的制备 取适量微孢子用 6% 戊二醛固定 24 h(4℃),0.1 mol/L 二甲胂酸钠缓冲液(SCB)漂洗 3 次,30 min/次,再用 1% 锇酸 4℃ 下固定 1h,同上漂洗,再用 0.5% 高锰酸钾(生理盐水配制)固定 30 min(4℃),生理盐水漂洗 3 次,15 min/次,用 2% 琼脂糖包埋后,切成 0.5 mm³ 的小块,经乙醇逐级脱水,环氧树脂渗透,包埋后,用石英刀切成 700 Å 左右的薄片,经柠檬酸铝——醋酸双氧铀双重染色后,置于 EM-400 型透射电镜下观察。

1993-10-25 收稿

* 本文是国家“八五”攻关项目内容之一

** 本系硕士研究生,现在江苏蚕种公司工作

2 结果

2.1 N.b 和 MG₁ 孢子的形态、大小

通过扫描电镜观察, N.b 孢子呈椭圆形, MG₁ 孢子呈长椭圆形, 两种孢子的长径相近, 短径差异明显, 其大小 N.b 为 $(3.2 \pm 0.28) \mu\text{m} \times (1.7 \pm 0.26) \mu\text{m}$, MG₁ 为 $(3.3 \pm 0.26) \mu\text{m} \times (1.3 \pm 0.33) \mu\text{m}$ (表 1), 孢子的表面均匀, 两者无明显差异。

表 1 孢子的形态与大小

孢子类型	形态	长径 / μm	短径 / μm	长短径比	大小 ⁽¹⁾
		$\bar{x} \pm s$	$\bar{x} \pm s$	$\bar{x} \pm s$	μm^3
N. b	椭圆形	3.2 ± 0.28	1.7 ± 0.26	1.9 ± 0.2	4.8
MG ₁	长椭圆形	3.3 ± 0.26	1.3 ± 0.33	2.6 ± 0.33	2.9

(1) 孢子大小的计算: $\frac{\pi}{6} \cdot \text{长径} / \mu\text{m} \cdot (\text{短径} / \mu\text{m})^2$

2.2 N.b, MG₁ 孢子的内部结构

2.2.1 孢子壁 N.b 孢子的孢子壁从外至内依次由外壁、内壁、质膜等 3 层组成, 外壁较薄, 内壁较厚, 占孢子壁的 3/4, 着色困难, 外壁与质膜均未见可分的亚层结构 (图版 1,3,5); MG₁ 孢子外壁由 3 层组成, 最外层和内层着色深, 质膜由 2 层组成 (图版 2,6,8)。

2.2.2 极膜 N.b 孢子的极膜由若干层片状的膜围成一封闭锥体, 膜的层次分明, 极膜内部密度大, 无层次 (图版 2,5); MG₁ 孢子的极膜由迭成薄片状的膜组成, 薄膜相互迭加, 层次不明显 (图版 4,6)。

2.2.3 极丝 N.b 孢子极丝平均 13 圈, 极丝与孢子中轴倾角 41° 左右; MG₁ 孢子极丝平均 11 圈, 倾角 45° 左右, 极丝纵向排列整齐 (图版 1,2)。

2.2.4 极泡 N.b 孢子的极泡内部, 其纵切面由花纹状分布的薄片膜组成, 这种薄膜着色性差 (图版 7); MG₁ 孢子的极泡内有许多着色较深的大颗粒 (图版 8)。

3 分析与讨论

微孢子虫的孢子壁厚且坚硬, 为孢子短径的 1/6, 孢子壁的结构为微孢子虫抵抗不良环境提供了保证。MG₁ 微孢子虫的外壁呈 3 层结构, 这种结构可能与其病原性强、弱有关。

Sato 等 (1982) 认为, 极膜层部的形态结构, 核糖体的排列方式、细胞核数目、极丝圈数和倾斜角是区别微孢子虫的重要特征。Burges (1974) 认为细胞核数目、核糖体的排列方式可作为微孢子属的划分依据; 极膜, 极丝圈数与倾斜角可作为微孢子虫种划分依据。Sato 等 (1982) 的报道, N.b 孢子的极膜由两部分组成, 前部由迭成薄片状的膜构成, 属于紧密而平整的液囊, 纵切面呈马蹄形, 后部极膜层由一些疏松而平整的液囊组成。本研究的结果与 Sato 等 (1982) 的报道不同, N.b 孢子的极膜由若干层薄膜围成封闭的锥体, 层次清晰, 锥体中心由染色均一的物质组成。我们认为微孢子极膜的差异是鉴别微孢子虫同属异种的特征之一。

参 考 文 献

- 方定坚,陈汉明,卢铿明,等.1991.家蚕新微孢子虫 MG₁、MG₂ 的研究. I 形态、病原性和传染途径. 广东农业科学,2: 35~38
- 方定坚,卢铿明,农朝志,等.1992.家蚕新微孢子虫 MG₁、MG₂ 的研究. II 孢子的超微结构、发育周期及血清学关系. 华南农业大学学报,13(4): 150~153
- 问锦曾.1989.中国家蚕微孢子虫及其近缘种的考察. 中国农业科学,22(2): 15~19
- 冯永德.1991.家蚕微孢子虫病应用研究进展. 国外农业——蚕业,1: 6~10
- 梅玲玲,金伟.1989.家蚕微孢子虫与桑尺蠖微孢子虫研究. 蚕业科学,15(3): 135~138
- 広瀬安春.1979.昆虫寄生の微孢子虫类 について.九州蚕业,16: 27~29
- 藤原公.1980.カイコから分離された3種の微孢子虫. 日蚕雑,49(3): 229~236
- Burges, Canning, Hulls. 1974. Ultrastructure of *Nosema oryzaephili* and the taxonomic value of the polar filament. J Inverteber Pathol, 23:135~139
- Sato, Kobayashi. Watanabe. 1982. Internal ultrastructure of spores of Microsporidans isolated from the silkworm, *Bombyx mori*. J Inverteber pathol, 40: 260~265

COMPARISON OF THE ULTRASTRUCTURE OF *Nosema bombycis* SPORES AND MG₁ SPORES

Yan Haifeng Lu Kengming Xu Xingyao

(Dept. of Sericulture, South China Agr. Univ., Guangzhou 510642)

Abstract

Marked differences were found between the *Nosema bombycis* (N.b) spores and MG₁ spores. In the N.b spore, only one layer was observed in the exospore and plasmalemma respectively. The polaroplast was closed-cone shaped, the layers were distinct, the polar filament arranged in 13 coils at an average angle of 41° to the axis of the spore, and two nuclei were found. In the MG₁ spore, the exospore had three layers, the plasmalemma two layers, and the layers of polaroplast were indistinguishable. The polar filament had 11 coils and, on the average, the tilt angle was about 45°, and large granules were observed in the posterior vacuole.

Key words silkworm; *Bombyx mori*; *Nosema bombycis*; MG₁; ultrastructure

