

海水养殖中原生动物病原虫的图解式鉴定*

—— I. 缘毛类纤毛虫的鉴定及方法学

ILLUSTRATED GUIDE TO THE IDENTIFICATION OF PATHOGENETIC PROTOZOA IN MARICULTURE

—— I. DIAGNOSTIC METHODS FOR THE PERITRICHIOUS CILIATES

宋微波 魏 军 王 梅

(青岛海洋大学国家教委水产养殖开放研究实验室 266003)

在水产动物养殖尤其是海洋甲壳类动物及贝类的育苗和养成过程中缘毛类纤毛虫病害长期以来一直是常见而且危害性较大的一大类病原生物。有关该类病原体的形态学作者在过去的一系列文章中曾有过较系统的报道^[1-6]。但这些工作均为从纯专业分类学角度对其进行描述,且需借助特殊的研究方法。对于所有非专业人员尤其是从事病害防治工作以及基层养殖从业者来讲仍嫌过于生僻且不易掌握。因此对无条件开展实验室研究的人来讲,建立一个简洁明了的鉴别方案无疑是十分必要的。

基于这种需要,本文作者将迄今已知的海洋害性缘毛类(属级)的形态特征分解成若干元素,并通过对比性状的活体观察结合图示性对比检索的途径介绍一个简便易行的方法和“鉴定要旨”,以便使用者能够按图索骥地对病原进行快速准确的鉴定。

1 鉴定方法学描述

缘毛目纤毛虫在分类关系上隶属于纤毛门寡毛纲。该目中绝大多数类群均营固着生活,通常有单体和群体(由多个“个员”构成)之分。前者通过虫体“末端”(钟形体的尖锥端)发出的柄,而后者则借群体共同的基柄固附于宿主的体表或鳃表。固着生种类另有一类具有壳室,虫体通过壳室而固着。除固着种类外,另有营假附着的“自由生”种类,靠其反口端(与口围面相背)的附着盘而临时性附于宿主体表。

1.1 观察方法

第一步工作应在解剖镜下进行。由于大部分缘

毛类均为固着生,因此观察时可采用小型镊子、小剪刀或针炙针(或其他替代物)将虫体自宿主体表上剥离(如在鳃组织或贝壳上,则可直接取该部位),并转置于载玻片上,如附于其他基质或小型宿主(如对虾幼体)则可直接取其放于载玻片上,加海水1小滴后封上盖玻片(为防止玻片直接压在虫体上应在四周涂上凡士林或浆糊),此时即可于显微镜下观察。

观察的同时应做记录,如可能应尽量全面提供资料,诸如宿主、时间地点、盐度、水温、采集人。

观察注意要点依次为(具体特征见分述及图示):

(1) 低倍镜下(10~20倍物镜)

a. 虫体外形及大小;b. 群体外形;c. 柄、肌丝有无及收缩状态;d. 伸缩泡数目、位置(正常海水中,通常伸缩间隙较长,可达数分钟,故需留心观察);e. 表膜(虫体外表层)环纹情形。

(2) 高倍镜下(40倍物镜)

将盖玻片轻压至虫体“平躺下”,此时应注意:

a. 表面有无环纹或颗粒;b. 有无肌丝,肌丝上有无颗粒;c. 柄上环纹或褶皱;d. 伸缩泡位置。

将盖玻片轻压至虫体完全不能运动,如可能可换至100倍油镜下观察(如观察车轮虫类,见后)。自盖

* 国家自然科学基金课题,编号 39370091。

收稿日期:1995年11月6日

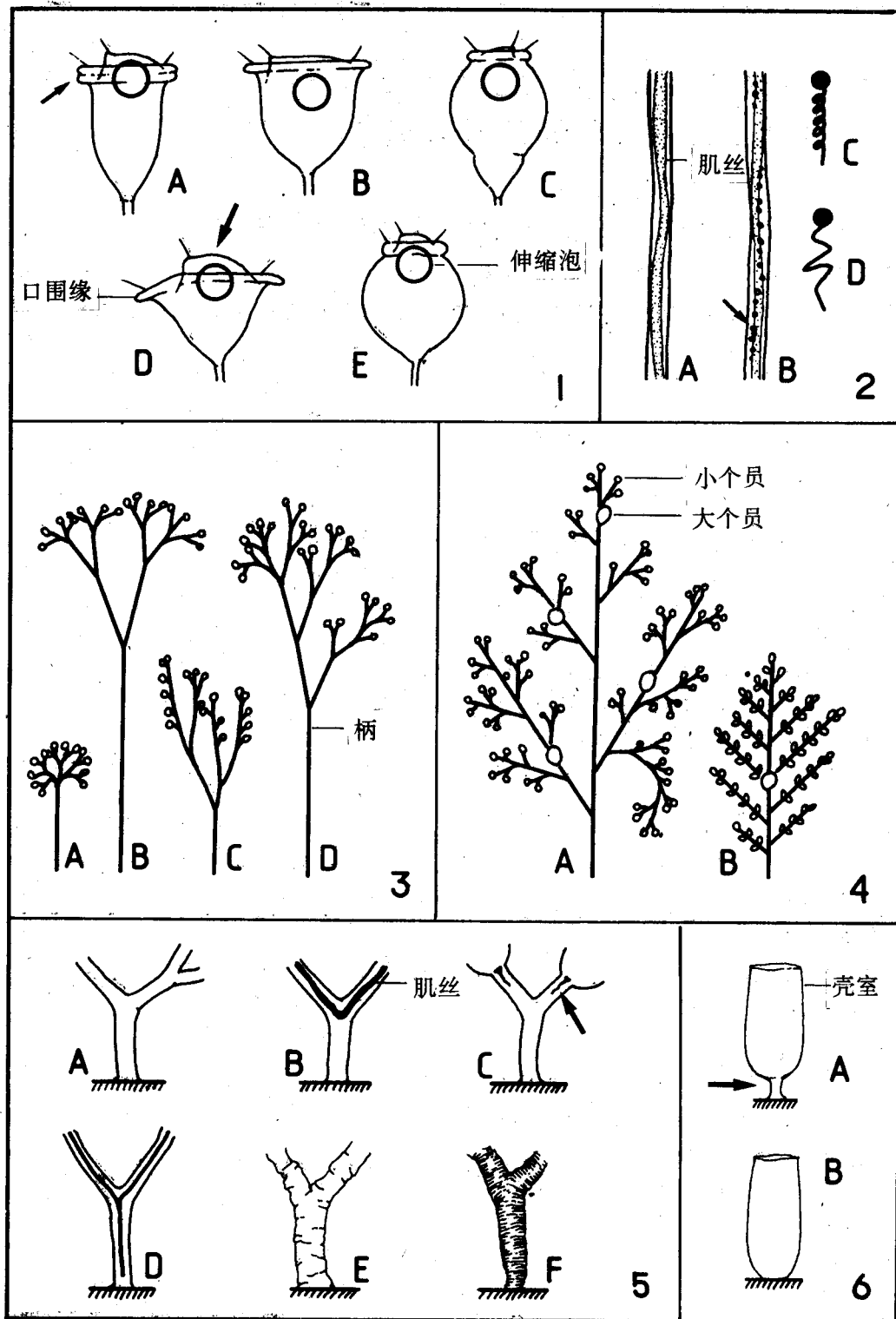


图 1~6 海水养殖中病害性缘毛类纤毛虫的形态学图解

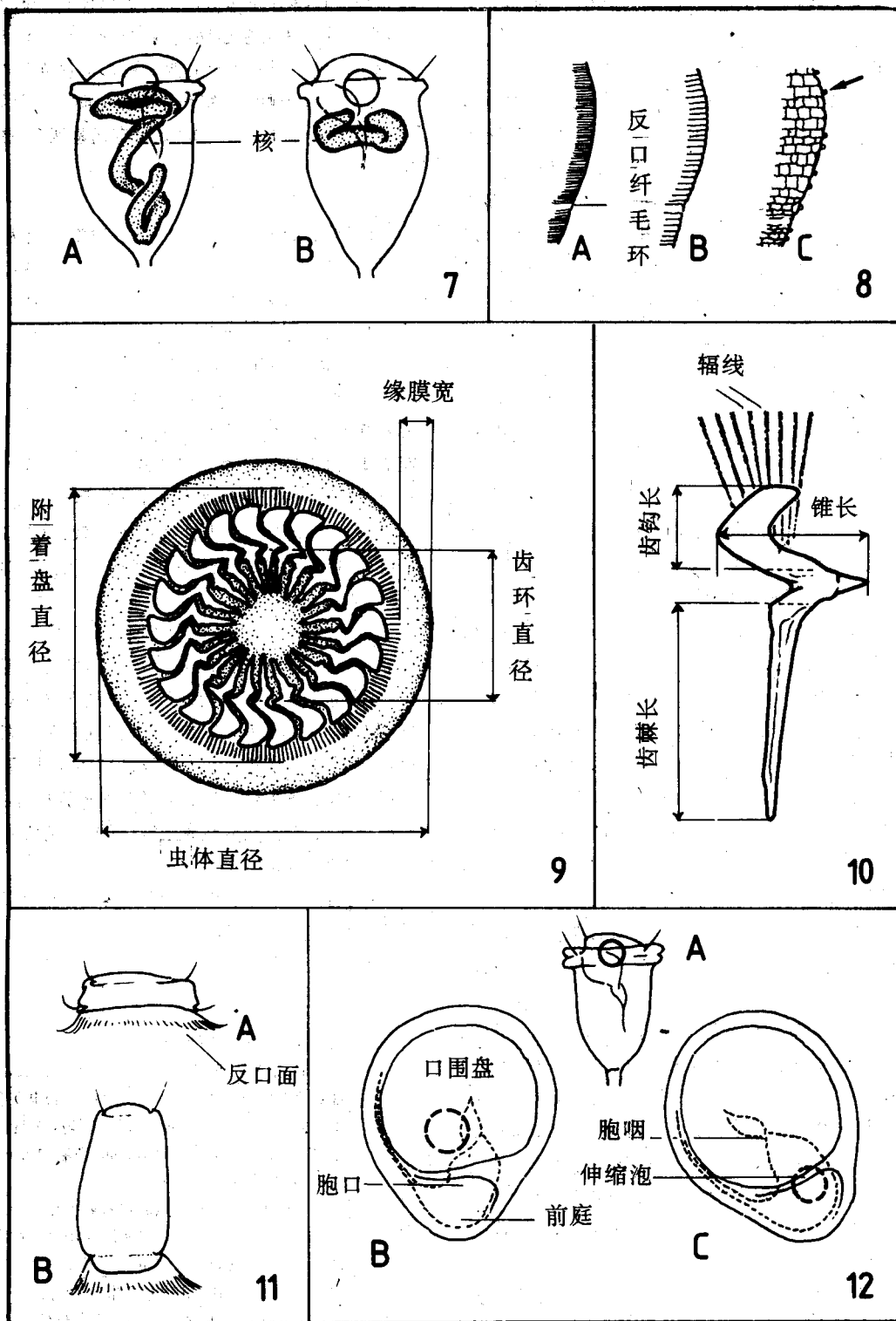


图 7~12 海水养殖中病害性缘毛类纤毛虫的形态学图解

玻片一端加1滴活体染色剂^①,然后观察细胞核。

1.2 鉴别特征

1.2.1 虫体外形(图1)

缘毛类体形及大小通常存在较大幅度的外形变化,但绝大多数种类仍有其基本的外形,因此外形及大小情况可作为分类的基本依据。有柄的缘毛类基本外形为钟状(图1 B,D)、高钟状(图1 A)、椭球状(图1 C)或球状(图1 E)。有些种类的体部较宽(口部窄于体部,图1 C,E);而另一些则相反(图1 A,B,D)。

口围缘可为单层(图1 B~E)或双层(图1 A);口围盘(图1 D 箭头)一般分为低矮(图1 B,C)与膨出明显(图1 A,D,E)两类。

在游走亚目缘毛类中(如车轮虫),虫体通常(侧面观)分成两类。即低矮扁平(图11 A)与长柱状(图11 B)。

1.2.2 柄(图2~6)

缘毛目大多数种类以柄固着。柄内若有可收缩的肌丝则称肌丝柄(图2,图5 B~D)。观察时应注意肌丝表面有无颗粒及其排列方式(图2 A 为表面无颗粒,图2 B 为具有颗粒)。当受到刺激时(如在低倍镜下观察时,轻轻敲击载玻片)虫体会收缩,此时应注意收缩是呈弹簧状(图2 C),还是呈“Z”字形(图2 D)。

在群体类型,柄可能有多种变化。包括有肌丝类型(图5 B,C,D)中的连结每个虫体的肌丝是否互联(图5 B,D 为互联,图5 C 为不联),互联时是否有向下通至基干柄内(图5 D)或不下行至基干柄内(图5 B)。

柄表面可分成有环纹(图5 F)、有皱纹(图5 E)与光滑形(图5 A~D)。

有的种类无柄而外部有一透明的壳室(图6),此时应注意的是壳室有柄(图6 A)或直接固着于基质上(图6 B)。

对群体类型根据柄的分枝情形而分成两大类:双岔形(图3)与交替式分枝(图4)。在前者(双岔式分枝)又可分为规则式(图3 B)与不规则式(图3 A,C,D),其中后者的极端类型是除基柄较长外,其余分枝均极短,因而虫体似乎直接长在基柄上,有时称为“群体呈伞状花序分布”(图3 A)。但此类(双岔式)分枝的特征是不存在一中心主干(对比下述之“交替式”分枝)。

交替式分枝的特点为群体有一中心主干,且虫体有时有大小之分(分别称为大、小个员,图4)。此类主干外的初级侧枝又可以再分生出次级侧枝(图4 A),或无次级侧枝,个员直接生于初级侧枝上(图4 B)。

1.2.3 壳室(图6)

缘毛目具有壳室的种类均为单体且个体通常较小,由于壳室为无色透明结构,在低倍镜下观察时易于忽略。壳室断面观有时为椭圆形故侧面观时有宽窄面之分,这在测量壳室长宽时应注明。壳室的观察应特别注意壳口是否平滑,底面有无基柄等(图6 A,B)。

1.2.4 核(图7)

此结构须经活体染色才可见,通常可分为两类,即纵位(图7 A),核通常较长而发生高度盘卷。与之相对者为横位,多为马蹄形,明显较短(图7 B)。

1.2.5 伸缩泡(图12)

大多数种类伸缩较频繁而易于观察。但当存在两个伸缩泡或伸缩泡较小时(或因收缩间隔较长)而不易观察,故应格外小心。伸缩泡分布部位一般分为两大类:侧面观接近虫体最顶部者为顶位(图12 A),位置低时又可分为两种(须从顶面观察),如其位于虫体前庭内侧靠近虫体中轴线位置为背位(图12 B),反之如靠近前庭虫体表面之间为腹位(图12 C)。

1.2.6 表膜(图8)

在低倍镜(特指10倍物镜或更低倍数)下虫体表面如看不到明显的环纹则称为“表膜光滑”(图8 A)(但其实际仍有环或格状纹,在高倍镜下可见)。低倍镜时即可辨出环(格)者分成两类(应转至高倍40倍或100倍油镜进行下一步辨别):环纹状(图8 A,B)或格纹状(图8 C)。后者通常表面还可见有小的颗粒或小泡状结构,故应注意观察(图8 C,箭头)。

1.2.7 高倍观察

对虫体尤其是对车轮虫的观察应争取在油镜下进行,因这是下一步鉴定的重要的步骤。图9所示为虫体在盖玻片压紧后(压至极限,虫体完全不可动)的

① 活体染色可任选下列染色剂:

1)吉姆萨染液:将37.5ml 甲醇及12.5ml 甘油加热至60℃,加Giemsa染料(有市售)于甲醇中,再将温甘油慢慢加入混合均匀,置温箱中过夜;即可使用。用时稀释,0.3ml 染液加10ml 蒸馏水(可用自来水代替)。

2)醋酸洋红染液:将4~5g 洋红、45ml 冰醋酸、55ml 蒸馏水(可用自来水代替)混合,在小火上加热(不需要煮沸)约45min,冷却后过滤,滤液呈暗红色,封闭保存,用时可稀释为1%溶液。

3)甲基绿-派洛宁染液:以冰醋酸和20%的甲醛溶液各1份为溶剂33ml,将0.1g 甲基绿和0.1g 派洛宁溶入,配成0.3%的染液。

4)鲁哥氏液:1g 碘和1.5g 碘化钾溶于25ml 蒸馏水(可用自来水代替)中。

情形。图中标的各项实测数据对于种的鉴定是必需的。此外对应于每个齿外方的辐线数目(图 10)也是必须提供的(参阅有关鉴定资料,见文献部分)。

下列的检索表可供初步鉴定出科属:

2 鉴定要领

综合了上述各数据后即可进入病原的鉴定过程。

检索表:中国对虾体表共栖缘毛类科属检索表

1 (24) 虫体固着生活	2
2 (21) 虫体无壳,以柄直接附着	3
3 (6) 柄内无肌丝,仅作附着支持用,单体或群体	累枝虫科 Epistylididae
4 (5) 虫体为单体,柄短于体长	短柱虫属 <i>Rhabdostyla</i>
5 (4) 虫体为群体,柄长于体长	累枝虫属 <i>Epistylis</i>
6 (3) 柄内有肌丝,可伸缩,单体或群体	钟虫科 Vorticellidae
7 (16) 柄内肌丝沿轴心排列,收缩时呈“Z”形,群体	8
8 (13) 柄内肌丝发达,分枝处相互连接	9
9 (12) 柄内肌丝下延至基柄内,群体内个体同步收缩	10
10 (11) 表膜具环纹状	聚缩虫属 <i>Zoothamnium</i>
11 (10) 表膜具格纹状	伪聚缩虫属 <i>Zoothamnopsis</i>
12 (9) 柄内肌丝终止于初级分枝处而不下达至基柄,个员单独收缩	裂肌虫属 <i>Myoschiston</i>
13 (8) 肌丝在分枝处互不相连	14
14 (15) 肌丝发达,群体内个员单独收缩	拟单缩虫属 <i>Pseudocarchesium</i>
15 (14) 肌丝细短退化,虫体仅能做轻微缩动,单或群体	间隙虫属 <i>Intranstyrium</i>
16 (7) 肌丝延柄内壁盘绕,收缩时呈螺旋状,单体或群体	17
17 (20) 虫体单独生活	18
18 (19) 表膜具环状纹	钟虫属 <i>Vorticella</i>
19 (18) 表膜具格状纹	拟钟虫属 <i>Pseudovorticella</i>
20 (17) 群体种类,肌丝在分枝处不相联,个员单独收缩	单缩虫属 <i>Carchesium</i>
21 (2) 虫体外具壳室并以其底部固着	鞘居虫科 Vaginisolidae
23 (22) 壳外有柄,以柄固着	靴纤虫属 <i>Cothurnia</i>
24 (1) 虫体自由生活,单体无柄	车轮虫属 <i>Trichodina</i>

当属确定后可对照有关的文献进行种的鉴定。目前国内有关此类病原的鉴定资料不多,主要可参考文献^{[1~6,9]①②}。此处作者推荐:在缺少把握的情况下将你所见的虫体观察记录(最好辅以图示),以及(对照后)与本文中任何项相符的资料汇寄给作者,以便帮助鉴定。在此情况下,作者同时推荐采集者将虫体予以 50% 的福尔马林(即水:甲醛=1:1 的溶液)加以固定,以备鉴定。

3 国内目前已见报道的病害性缘毛类纤毛虫汇总见表 1

- ① 徐奎栋、宋微波,1996. 海产贝类三种外寄生车轮虫病害学初探(原生动物,纤毛虫)。青岛海洋大学学报(印刷中)。
- ② Song, W., 1996. *Zoothamnopsis mengi* nov. gen., nov. spec. and *Pseudovorticella longi* nov. spec., a new genus and two new species of marine peritrichous ciliates. *Ophelia* (in press).

表 1 致病性缘毛类纤毛虫

种名	宿主	多度 *	危害性 **
<i>Cothurnia calix</i> Kahl, 1933 杯形鞭纤虫	对虾	+	+
<i>C. ceramicola</i> Kahl, 1933 钵居鞭纤虫	对虾	+	+
<i>Epistylis acuminata</i> Song, 1986 尖头累枝虫	对虾	++	+
<i>E. aselli</i> Stiller, 1941 栉水虱累枝虫	对虾	+	++
<i>E. carcini</i> Precht, 1935 蟹栖累枝虫	对虾	++	++
<i>E. elongata</i> Stokes, 1889 长累枝虫	对虾	++	+
<i>E. harpacticola</i> Kahl, 1933 猛水蚤累枝虫	对虾	++	+
<i>E. uyemurai</i> Song, 1992 上村累枝虫	对虾	+	+
<i>Intranstylum asellicola</i> Kahl, 1933 栉水虱间隙虫	对虾	++	+++
<i>I. intermedium</i> Song, 1986 居间间隙虫	对虾	+	+
<i>Myoschiston simile</i> Spmg. 1986 相似裂肌虫	对虾	+++	+++
<i>Pseudocarchesium aselli</i> (Engelmann, 1862) Sommer, 1951 栉水虱拟单缩虫	对虾	++	+
<i>Pseudovorticella longa</i> Song, 1996 长拟钟虫	栉孔扇贝	+	+
= <i>Vorticella chydoridicola</i> Sramek-Husek, 1946 sensu Song, 1991 盘肠蚤钟虫			
<i>Rhabdostyla scyphoides</i> Song, 1986 樽形短柱虫	对虾	+	+
<i>Trichodina chlamydos</i> Xu, Song & Warren, 1996 扇贝车轮虫	栉孔扇贝	+	+
<i>T. jadratica</i> Raabe, 1958 亚卓车轮虫	栉孔扇贝	+++	+
<i>T. macommarum</i> Raabe & Raabe, 1959 樱蛤车轮虫	四角蛤蜊	++	+
<i>T. mactrota</i> Xu, Song & Warren 1996 蛤蜊车轮虫	四角蛤蜊	+	+
<i>T. maritinkae</i> Basson & Van As, 1991 马氏车轮虫	菲律宾蛤仔	+++	+
<i>T. puytoraci</i> Lom, 1962 浦氏车轮虫	细长竹蛏	++	+
<i>T. solenos</i> Xu, Song & Warren, 1996 竹蛏车轮虫	细长竹蛏	+	+
<i>Vaginicola crystallina marina</i> Song, 1992 海洋透明鞘居虫	对虾	++	+
<i>Vorticella cylindrica</i> Dons, 1915 圆锥钟虫	对虾	+	+
<i>V. fornicata</i> Dons, 1915 拱形钟虫	对虾	+	++
<i>V. hamata</i> Ehrenberg, 1831 弯钟虫	对虾	+	+
<i>V. marina</i> Greeff, 1870 海洋钟虫	对虾	+	+
<i>V. nebulifera</i> Müller, 1786 星云钟虫	对虾	++	+
<i>V. patellina</i> Müller, 1777 碟形钟虫	对虾	+	++
<i>V. pulchella</i> Sommer, 1951 美丽钟虫	对虾	++	++
<i>V. striata</i> Dujardin, 1841 条纹钟虫	对虾	+++	++
<i>V. utriculus</i> Stokes, 1885 袋形钟虫	对虾	+	+
<i>Zoothamnium affine</i> Stein, 1859 近缘聚缩虫	对虾	+	+
<i>Z. commune</i> Kahl, 1933 群栖聚缩虫	对虾	++	++
<i>Z. cupiferum</i> Song, 1986 杯形聚缩虫 = <i>Z. cupiferum</i> Song, 1986	对虾	+	+
<i>Z. duplicatum</i> Kahl, 1933 双缘聚缩虫	对虾	+++	++
<i>Z. intermedium</i> Precht, 1935 居间聚缩虫	对虾	+	+
<i>Z. maximum</i> Song, 1986 巨大聚缩虫	对虾	++	++
<i>Z. paraentzii</i> Song, 1991 拟恩茨聚缩虫	对虾	++	+
<i>Z. paragammarum</i> Song, 1991 拟沟虾聚缩虫	对虾	+	+
<i>Z. penaei</i> Song, 1992 对虾聚缩虫	对虾	+++	+++
<i>Z. perejaslaw-zewae</i> Kahl, 1935 帕氏聚缩虫	对虾	+	+
<i>Z. rigidum</i> Precht, 1935 坚实聚缩虫	对虾	+	+
<i>Z. sinense</i> Song, 1986 中国聚缩虫 = <i>Z. sinensis</i> Song, 1991	对虾	++	+
= <i>Z. truncatum</i> Song, 1986 截形聚缩虫			
<i>Z. thiophilum</i> Stiller, 1946 嗜硫聚缩虫	对虾	+++	+++
<i>Zoothamnopsis mengi</i> Song, 1996 孟氏伪聚缩虫	扇贝	+	+

* + 数量较少, ++ 数量一般, +++ 数量极大。

** + 无明显危害性, ++ 危害性一般, +++ 具较大危害性。

参考文献

- [1] 宋微波,1991. 青岛海洋大学学报 21:119~128.
- [2] 宋微波,1991. 青岛海洋大学学报 21:45~55.
- [3] 宋微波,1992. 青岛海洋大学学报 22:107~116.
- [4] 宋微波,1986. 动物分类学报 11:225~235.
- [5] 宋微波,1991. 动物学研究 12:355~359.
- [6] 宋微波,1992. 海洋与湖沼 23:90~94.
- [7] 宋微波,1986. 山东海洋学院学报 16:85~97.
- [8] 宋微波,王 梅,1993. 海洋科学 4:41~47.
- [9] Xu Kuidong, Lei Yanli, Song Weibo, 1995. 青岛海洋大学学报 25:321~326.