

中国对虾枝原体形态结构及主要超微病理变化^{*}

杨季芳

(国家海洋局第二海洋研究所, 杭州 310012)

提要 于1991年7月—1992年7月在浙江省宁波、舟山两市暴发了中国对虾肠结节病。在宁海等地对虾养殖场, 采集患肠结节病中国对虾, 运用电镜观察患病中国对虾鳃丝、肝胰腺、中肠、肌肉等组织, 检查枝原体的存在与否及其主要病理变化。结果表明, 病虾近肠壁表皮细胞细胞质和核周腔有枝原体侵入。细胞质内枝原体形态大小不一, 近卵形的直径为0.12—1.2 μm ; 弯条状的直径约0.09 μm , 长度均在0.25—1.4 μm 。核周腔内枝原体均为卵形, 直径约0.12—0.16 μm 。枝原体无细胞壁, 仅有一层膜包围, 膜厚约8nm, 膜上均匀地沉着电子致密颗粒; 枝原体细胞中部电子密度较浅; 细胞质中丝状枝原体形成分枝并在其分枝顶端膨大成球状; 核周腔异常膨胀, 核明显变形, 有多处缢痕, 枝原体以裂殖和芽殖方式分裂子代。枝原体感染引发的肠道局部肿胀甚至梗塞是导致该发病地区中国对虾死亡的主要原因。

关键词 中国对虾 枝原体 超微结构 细胞病理

枝原体作为某些昆虫和植物的病原物早已被认识(Nienhaus et al., 1979; Tseh—An, 1970; Black et al., 1972)。但是, 有关甲壳纲(对虾)的枝原体, 尤其是枝原体作为对虾病原物, 近年才被认识(Krol et al., 1991; 杨秀芳等, 1992)。1991年7月—1992年7月间, 浙江宁波、舟山两市的一些对虾养殖场暴发了一种新病害——肠结节病, 造成严重损失。本研究报道中国对虾枝原体的超微结构和细胞病理, 以期为中国对虾枝原体疾病的有效诊治提供理论依据。

1 材料与方 法

患病中国对虾(*Penaeus chinensis*)体长7—9cm, 中肠局部肿胀, 出现1—3个淡粉红色结节, 较硬; 病虾肝胰腺肿大, 糜烂; 其余脏器无明显表观病变。于1991年7月, 在浙江宁海县西店等地采集患肠结节病的中国对虾, 选取鳃丝、肝胰腺、中肠、肌肉等组织, 用2.5%戊二醛固定, 以健康中国对虾的相应组织作对照。电镜样品制备, 按常规方法进行(林均安, 1988), JEM—1200型透射电镜观察及照相。

2 结 果

2.1 枝原体存在部位

^{*} 国际科学基金组织(IFS)资助, A/2199—1号。杨季芳, 男, 1963年7月31日出生, 助理研究员。

收稿日期: 1994年4月9日, 接受日期: 1996年7月3日。

电镜观察表明, 患肠结节病中国对虾鳃、肌肉组织中没有观察到枝原体。肝胰腺上皮细胞中枝原体检出率极低。近肠壁上皮细胞胞外(图 I: 1 M→)和细胞质(图 I: 2 M)及核周腔(图 I: 3 P)内均有大量的枝原体(M)存在, 但细胞核基质中未见枝原体存在。

作为对照的健康中国对虾相应器官均未见枝原体存在, 也未见明显超微病变。

2.2 枝原体的形态结构

透射电镜观察表明, 患肠结节病中国对虾近肠壁上皮细胞胞质内有形态、数量、大小不一的枝原体(图 I: 4 M)。近卵形的直径约 0.12—1.2 μm ; 弯条状的直径约 0.09 μm , 长度约 0.25—1.4 μm ; 丝状体宽约 0.05 μm , 长约 1.5 μm , 有些丝状体形成分枝(图 I: 5), 并在局部区域形成一个膨大的基体(图 I: 5→), 基体中部是一电子密度较浅的空液泡(图 I: 5,6 B); 有些分枝丝状枝原体在其分枝顶端形成球状膨大(图 I: 6→), 直径可达 0.3 μm 。核周腔(P)内枝原体均为卵形, 直径约 0.12—0.16 μm (图 I: 3 M)。

枝原体虽形态各异, 但其基本结构一致。无细胞壁, 无真核和其它细胞器结构, 仅有一层单位膜包围, 并有大量电子致密颗粒沉着(图 II: 1 M→)。这种膜性结构与粗面内质网(re)管池生物膜结构上沉着电子致密的糖蛋白颗粒结构相类似(图 II: 1 re→)。

2.3 枝原体生殖形式

透射电镜观察显示, 芽殖是枝原体生殖的主要方式, 表现形式有二类。一类是丝状分枝枝原体在其分枝末端形成球状膨大, 然后出现缢痕, 脱离母体(图 I: 6→); 另一类是个体较大的球状枝原体以其自身细胞胞膜内侧为子代个体生长的附着基点(图 II: 1, Δ), 向内出芽生长, 繁殖子代。裂殖生殖较少见, 仅见不形成分枝的丝状枝原体。即由丝状枝原体裂殖成球状链, 然后再分裂成单个球状子代枝原体(图 II: 2→)。

2.4 宿主细胞超微结构病变特征

由于枝原体侵入宿主细胞核周腔(图 II: 3 M), 宿主细胞核不能正常分裂, 呈现多处缢痕的纽带状(图 II: 3→)。有些宿主核周腔呈形态不一的各种突起和膨胀(图 II: 4 P)。这种异常的膨胀核周腔是由于细胞质中枝原体胞膜与核周腔外膜相融合所致, 融合点清晰可见(图 II: 5→)。

由于宿主细胞质中大量的枝原体寄生与繁殖, 细胞质结构被“侵蚀”(图 II: 6→), 细胞质中可见被枝原体“侵蚀”后留下的大量“空泡”样结构(图 II: 2, 6 S)。宿主细胞内未见吞噬泡等宿主免疫应答现象。

3 讨论与结论

3.1 中国对虾枝原体分裂及与细胞形态变化的关系

本研究表明, 患肠结节病的中国对虾, 枝原体存在于虾的近肠壁上皮细胞内。其母体与子代的基本形态为球形(Boatman et al., 1977)。随着生长和环境条件的改变, 形态会发生相应变化(Muse et al., 1976; Razin, 1973)。个体形态与其生长速率直接相关(Luscombe et al., 1971; Razin, 1969)。电镜观察表明, 随着枝原体个体的生长, 不仅胞体形态发生变化, 而且胞体内超微结构也发生相应变化。当胞体趋向分裂时, 其内的电子致密颗粒显著减少, 细胞内基质分散于枝原体胞膜的单位膜上, 并在某一位点开始

向胞体外伸长生长,形成了丝状体,继而出现分枝(图 I: 5)。所以,丝状枝原体并不是枝原体的一种固有形态,而是枝原体在一定条件下由生长发育转向分裂增殖过程的一种特定状态。同样,枝原体母体在进行复制子代时,母体单位膜总与宿主细胞胞内的生物膜相粘附。因为枝原体结构简单,许多构成细胞的物质组分自身不能合成,需宿主细胞提供。寄生于核周腔内的枝原体也是如此,核周腔内外两膜也可成为枝原体细胞的粘附基点(图 II: 4→)。由于核周腔内营养物质相对贫乏,枝原体细胞生长缓慢;因而细胞形态多为近球形,丝状体少见。

3.2 枝原体侵染中国对虾的途径和致病机制

枝原体侵染中国对虾的途径与其独特的生物学特征有关。由于没有细胞壁,仅有一层生物膜包围,当枝原体细胞吸附于某些组织上皮细胞表面时,其细胞膜就会与宿主上皮细胞膜相粘附,随之融合,从而,枝原体顺利侵入宿主细胞胞质内进行生长、繁殖。Krol 等(1991)与笔者的研究(1992)均发现,凡是枝原体参与感染,其病变组织病灶多在呼吸上皮细胞和消化道粘膜上皮细胞(包括肝胰腺上皮细胞)。就中国对虾肠结节病而言,肠道组织上皮细胞就是枝原体最敏感的靶细胞。因为肠道粘膜上皮细胞上遍布与食物流动、营养吸收有关的微绒毛。微绒毛是枝原体细胞容易粘附的膜性结构(Razin, 1978)。本研究结论与之一致。

通过枝原体对节肢动物昆虫致病性和致病机制的研究,国外一些学者认为,枝原体呼吸代谢终产物过氧化氢和其它代谢终产物氨是二种主要的毒性物质。由于枝原体的粘附,宿主细胞质膜表面吸附积累过多的过氧化氢和氨,会使宿主细胞膜破裂直至溶解(Razin, 1969; Cohen et al., 1969, Schneider et al., 1975)。有关中国对虾枝原体的致病机制,目前国内外尚未见有报道。本文研究表明,患肠结节病中国对虾,除上述枝原体的可能的致病机制外,还确实存在另外的致病原因。由于枝原体在近肠壁上皮细胞中大量繁殖,宿主细胞核分裂受影响,原生质中大量基质被“占用”,细胞器减少,细胞呈“坏死”样。尤为严重的是,由于枝原体对近肠壁上皮细胞的感染,引发肠壁炎性肿胀,肠道局部阻塞。这是导致患肠结节病中国对虾急性死亡的主要原因。

参 考 文 献

- 杨季芳, 1992, 东海海洋, 4:63—67。
 林均安, 1988, 实用生物电子显微术, 辽宁科学技术出版社(沈阳), 52—68。
 Boatman, E. et al., 1977, *Cell Tissue Res.*, **170**:1—16。
 Black, F. T. et al., 1972, *J. Bacteriol.*, **111**:254—259。
 Cohen, G. et al., 1969, *J. Bacteriol.*, **98**:547—551。
 Luscombe, B. M. et al., 1971, *J. Gen. Microbiol.*, **69**:433—434。
 Muse, K. E. et al., 1976, *Infect. Immun.*, **13**:229—237。
 Nienhaus, F. et al., 1979, *Ann. Rev. Phytopathol.*, **17**:37—58。
 Razin, S., 1969, *Annu. Rev. Microbiol.*, **23**:317—356。
 Razin, S., 1973, *Adv. Microbiol. Physiol.*, **10**:1—80。
 Razin, S., 1978, *Microbiological Reviews*, **42**:414—470。
 Krol, R. M. et al., 1991, *J. Invertebr. Pathol.*, **57**:362—370。
 Schneider, E.L. et al., 1975, *In Vitro*, **11**:20—34。
 Tseh-An, C., 1970, *Science*, **167**:1333—1336。

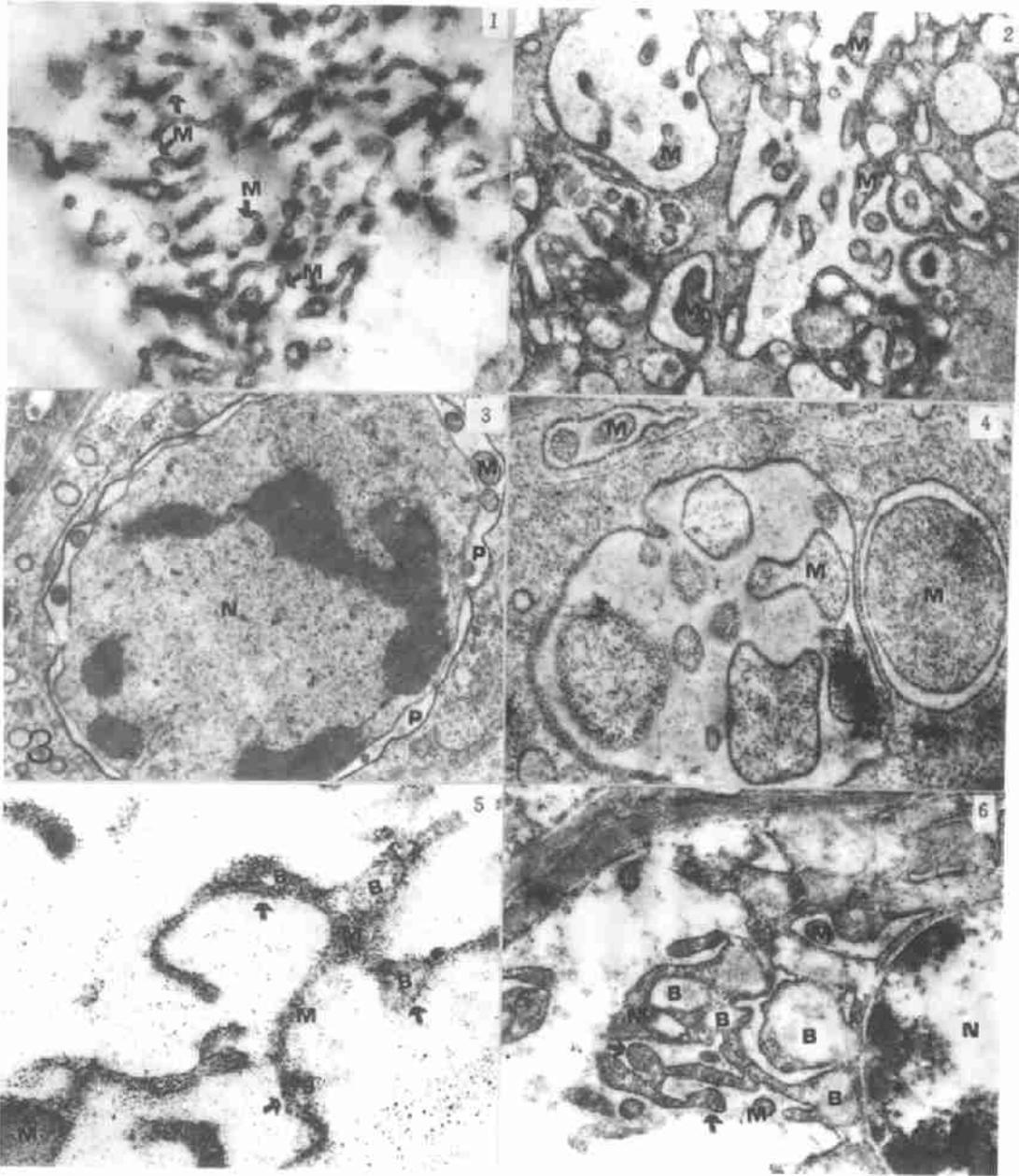
MYCOPLASMA ULTRASTRUCTURE OF PENAEID SHRIMP (*PENAEUS CHINENSIS*) AND MAJOR ULTRAPATHOLOGIC CHANGES OF HOST CELLS

Yang Jifang

(Second Institute of Oceanography, SOA, Hangzhou 310012)

Abstract The ultrastructure of parasitic organism (mycoplasma) in diseased penaeid shrimp and cell-pathologic changes of host are reported in this paper. A gut-node disease of shrimp broke out in shrimp culture-ponds in the east coast of Zhejiang Province in summer of 1991 and 1992. TEM observation showed that mycoplasmas invade cytoplasm and the perinuclear space of epithelium cells near the gut wall. Mycoplasma was found to be variable in shape from spherical structure (0.12—1.2 μm in diameter) to slenderly branched filament of uniform diameter (about 0.09 μm), ranged from 0.25 to 1.4 μm in length in cytoplasm of the host cell. Generally the mycoplasma in the perinuclear space is a spherical structure (from 0.12 to 0.16 μm in diameter). There is no intrusion of mycoplasma into the nuclear substance. The mycoplasma has no cell wall but is enclosed by a membrane layer (8 nm in thickness) on which are a lot of high electron density particles. There is an empty vacuole in the centre of some mycoplasmas. Filament mycoplasma forms branches, whose end expands into a spherical structure. The host cell nucleus changed obviously into tie-shaped multiploid with multi-constriction. The nuclear pore is destroyed seriously. The mycoplasma multiplies during splitting and sprouting.

Key words *Penaeus chinensis* Mycoplasma Ultrastructure Cell pathology



图版 I 中国对虾病肠超薄切片

Plate 1 Ultrasection of diseased gut in shrimp of *Penaeus chinensis*

1. 病灶组织中游离的枝原体, 箭头所示(→), ×25 000; 2. 上皮细胞胞质中枝原体的大量寄生及繁殖, ×20 000; 3. 上皮细胞核周腔(P)内枝原体的寄生, ×12 000; 4. 上皮细胞胞质中枝原体的多形态, ×25 000; 5. 上皮细胞胞质中枝原体的丝状分枝结构, 丝状分枝的枝原体形成膨大基体(→所示), 基体中部有一电子密度较浅的液泡(B); ×40 000; 6. 上皮细胞胞质中枝原体的生长发育, 丝状枝原体形成分枝, 然后在其分枝顶端形成近球状膨大(→), 然后芽殖成球状子代枝原体, ×15 000. B. 丝状分枝枝原体膨大基体中液泡; M. 枝原体; N. 细胞核; P. 核周腔。



图版 I 中国对虾病肠超薄切片

Plate I Ultrasection of diseased gut in shrimp of *Penaeus chinensis*

1. 上皮细胞胞质中枝原体的超微结构;枝原体细胞膜上电子致密颗粒沉着(→m)和向内出芽生殖的基点(△)胞质中粗面内质网(→re)管膜外侧的电子致密颗粒沉着,×20 000;
 2. 上皮细胞胞质中丝状枝原体裂殖(→),繁殖子代,×10 000;
 3. 上皮细胞核核周腔受枝原体侵袭,宿主细胞核不能正常分裂,呈有多处缢缩(→)的纽带状,×10 000;
 4. 上皮细胞核周腔形态异常,枝原体在核周腔内外膜上附着生长(→),×10 000;
 5. 上皮细胞因枝原体侵袭,导致宿主核周腔与胞质局部融合,“→”示融合痕迹,×10 000;
 6. 上皮细胞胞质因受枝原体感染,宿主细胞组分被枝原体“侵蚀”(→),胞质中可见大量受枝原体侵蚀后留下的大空泡,×7 500.
- re. 粗面内质网;S. 空泡.