

缢蛏体内食蛭泄肠吸虫尾蚴不同发育阶段的组织学及组织化学的观察¹

石磊

(厦门大学寄生动物研究室 厦门 361005)

摘要 运用组织学、组织化学等方法对食蛭泄肠吸虫 (*Vesicocoeilium solenophagum*) 尾蚴在缢蛏 (*Sinonovacula constricta*) 体内不同发育阶段进行了观察。食蛭泄肠吸虫尾蚴发育主要分为: 胚细胞期、胚团期、尾蚴雏体期、尾蚴发育早期、尾蚴发育中期和成熟尾蚴。在尾蚴的发育过程中, 组化物质变化明显: 发育越成熟尾蚴体被糖原类物质的含量越丰富, 体被下含酸性多糖类物质细胞的数量越多。

关键词 食蛭泄肠吸虫, 缢蛏, 尾蚴发育, 组织化学

中国图书分类号 Q 18

缢蛏 (*Sinonovacula constricta*) 是我国闽、浙沿海人工养殖的一种重要的经济贝类。由于受各种敌害的侵袭使产量大幅度下降。所有敌害中以食蛭泄肠吸虫 (*Vesicocoeilium solenophagum* Tang, Hsu et al., 1975) 的幼虫期所引起的“黑根病”危害最大, 有关此病原生活史各期虫体的形态特征及结构已被详细阐明 (唐崇惕等 1975、1979), 该吸虫幼虫期主要寄生于缢蛏的生殖腺、消化腺等组织器官内, 对缢蛏养殖业造成严重危害^[1,2]。

应用组织学及组织化学的方法对吸虫尾蚴发育情况的研究, 不仅有助于了解吸虫尾蚴期的生物学特性, 而且对吸虫尾蚴期分类、了解吸虫与宿主的相互作用都具有重要的意义。目前对复殖目吸虫尾蚴发育的研究多集中在以腹足纲为中间宿主的吸虫种类, 而以双壳类为中间宿主吸虫尾蚴发育的研究国内外报道较少。

为探明复殖目吸虫在双壳类宿主体内的发育过程, 作者运用组织学、组织化学的方法对食蛭泄肠吸虫尾蚴在缢蛏体内发育情况进行了观察。结果如下。

1 材料和方法

用于本次研究的感染食蛭泄肠吸虫幼虫期的阳性缢蛏为 1997 年 5~6 月间采自福建省龙海市角美镇西边村的二年缢蛏。用 10% 中性福尔马林固定, 石蜡包埋, 连续切片后分别用显示糖原类物质和酸性多糖类物质的过碘酸-Schiff 结合标准阿新蓝法 {PAS/AB (pH2.5)}、显示粘蛋白的粘液胭脂法、显示蛋白结合性氨基类物质的茚三酮-Schiff 法、显示蛋白质的汞-溴酚蓝法、显示胶原纤维和肌纤维的武兆发 Mallory 改良三色法和 Van Gieson, 以及显示 DNA 物质的浮尔根法等组织化学反应方法进行染色制片。制成的染色玻片标本经仔细观察, 并进行拍照。

2 观察结果

在阳性二年缙蛭组织切片中, 缙蛭体内几乎所有子胞蚴内含有发育不同期的尾蚴, 通过对这些子胞蚴的连续切片观察发现, 食蛭泄肠吸虫尾蚴的发育基本可分为: 胚细胞期、胚团期、尾蚴雏体期、尾蚴发育早期、尾蚴发育中期和尾蚴发育成熟期等 6 个阶段, 现将观察结果描述如下:

1) 胚细胞期: 在整个胞蚴腔内存在有一些个体较大的细胞, 为圆形, 细胞核为圆形位于细胞中央或侧中, H-E 染色, 胞质为蓝色, 细胞核着色较深, 该细胞大小约为: $9 \sim 11 \mu\text{m}$ (图 1)。

2) 胚团期: 胞蚴腔内有许多致密的细胞团, 大量细胞堆积在一起, 细胞排列非常紧密, 其外有一层很薄的含一定酸性多糖类物质膜包围, H-E 染色细胞被深染; 该细胞团内可见有两类细胞: 一类为数量较多的小型细胞, 该细胞大小约为: $3 \sim 4 \mu\text{m}$, 细胞核较致密; 另一类细胞个体较大, 约为: $4 \sim 6 \mu\text{m}$, 细胞核较疏松 (图 2)。上述细胞除对浮尔根、汞-溴酚蓝有较强反应外对其它组化试剂反应弱或无。但这两类细胞是否为尾蚴的体细胞和胚细胞, 有待进一步研究。

3) 尾蚴雏体期 (图 2): 可见尾部芽体生成, 口、腹吸盘开始分化, 但其内部组织未见有明显的分化。整个尾蚴雏体被 H-E 染色深染, 体内有大量细胞堆积, 外有一层很薄的含一定酸性多糖类物质的膜包围, 该期尾蚴除对浮尔根、汞-溴酚蓝有较强反应外对其它组化试剂反应弱或无。

4) 尾蚴发育早期 (图 3): 尾蚴身体明显长大, 除口、腹吸盘出现外, 咽、肠管和排泄囊均开始出现分化, 排泄囊细管状, H-E 染色为浅蓝色; 尾部分化不明显, 无排泄管和鳍毛的出现。尾蚴体被较薄含少量糖原类物质, 体被最外缘有一层含酸性多糖类物质的薄层; 在体被下层有大量 H-E 深染的细胞分布, 大小约为 $3 \sim 5 \mu\text{m}$, 该类细胞同时对汞-溴酚蓝、武兆发改良 Mallory 法和浮尔根等组化试剂具有一定的反应, 但对所用其它组化试剂无明显的反应。此外, 在体被下层还分布有少量肾形细胞, 大小在 $4 \sim 6 \mu\text{m}$ 之间, 核圆形, 该类细胞对 PAS 反应呈阳性, 但不含酸性多糖原类物质 (表 1)。

5) 尾蚴发育中期 (图 4): 口、腹吸盘、咽及肠管基本形成, 排泄囊为不发达的细管状, 但囊腔较早期尾蚴有所扩大; 尾部出现鳍毛, 尾干中间出现排泄管雏形。该期体被增厚, PAS 反应中度, 并含少量粘蛋白, 在体被最外缘有一层含酸性多糖类物质的薄层; 体被下出现富含糖原类物质的两类细胞, 一类细胞个体较大, 圆形或椭圆形, 大小在 $6 \sim 10 \mu\text{m}$ 之间, 该细胞胞核较大圆形, 细胞质较疏松, 该细胞夹杂在体被细胞间, 背、腹面均存在; 另一类细胞, 个体较小, 肾形或多角形, 大小约为 $(2 \sim 3) \mu\text{m} \times (4 \sim 5) \mu\text{m}$, 细胞核圆形, 核质较疏松, 分布在体被下层; 此外在该期尾蚴体被下层还具有零星与上述肾形细胞大小相当的椭圆形细胞分布, 该细胞对标准阿新蓝反应呈阳性; 在体被下层同时分布有许多具有颗粒性细胞核的小型细胞, 大小约为 $3 \sim 5 \mu\text{m}$, H-E 染色为深蓝色, 但对所用组化试剂无明显反应。排泄囊 H-E 着色较弱, 在囊腔内含有粘液脂法染色呈红色的粘蛋白颗粒和酸性多糖类物质颗粒; 口、腹吸盘和咽含有少量糖原类物质, 浮尔根染色有许多红色颗粒, 此外, 在尾蚴咽部两侧各存在有一团 Van Gieson 染色呈黄色的肌纤维; 该期尾蚴尾部体被增厚, 体被外缘和鳍毛边缘含有酸性多糖类物质, 标准阿新蓝染色呈蓝色; 尾部体被下层细胞数量减少, 主要为较大的细胞, 该细胞大小为: $4 \sim 7 \mu\text{m}$, 细胞核内有颗粒状的染色质, 胞质对 H-E 着色不明显但含有少量酸性多糖类物质 (表 1)。

6) 尾蚴发育成熟期(图5、图6): 身体各器官已发育成熟, 排泄囊发达, 尾部具鳍毛。该期尾蚴体被发达, 整个体被富含糖原类物质, PAS染色呈深红色, 体被最外缘有一层含酸性多糖类物质的薄层, 其它组化分析表明, 该期尾蚴体被含有胶原纤维和网状纤维及粘蛋白等物质, 体被内层具一层较发达的肌肉层。体被下层细胞数量减少, 但细胞形态较多, 主要有: 1) 圆形细胞: 为小型细胞, 大小约为 $3\sim 5\mu\text{m}$, H-E染色为深蓝色, 对所用组化试剂反应不明显, 该类细胞在体被下层数量最多。2) 大型细胞: 圆形或椭圆形, 大小在 $7\sim 15\mu\text{m}$ 之间, 核大圆形, 核质较疏松, 个别细胞胞质中具有一个较大的孔泡, 该类细胞富含酸性多糖类物质, 同时对粘液脂法反应呈阳性, 该类细胞背腹面均有分布, 此外在尾蚴咽两侧、排泄囊外侧等也有分布。3) 肾形细胞: 大小为 $4\sim 6\mu\text{m}$, 核为圆形, 位于细胞的中央或侧中。该类细胞不仅在体被下层有所分布, 在身体中部以及口、腹吸盘中均有分布, 其中在口、腹吸盘中的数量相对较多; 该类细胞因其所含组化成分不同可分为两类, 一类富含酸性多糖类物质, 另一类含糖原类物质对PAS反应呈阳性, 前者数量较多。口、腹吸盘细胞核含DNA和蛋白质, 吸盘下缘含少量粘蛋白; 排泄囊含微量粘蛋白; 咽部含糖原类物质, 咽部两侧具两团肌纤维。生殖原基细胞核富含DNA和蛋白质; 尾蚴尾部对PAS/AB反应较弱, 尾鳍毛对Van Gieson染色呈黄色, 示存在肌纤维。此外, 发育成熟的尾蚴体被外可见丝状PAS阳性物质, 并在两尾蚴间及胞蚴内壁间形成连接(表1)。

综上所述, 食蛭泄肠吸虫尾蚴的不同发育阶段组织化学成分存在较明显的变化, 其中糖原类物质和酸性多糖类物质的变化最显著, 而这些物质的变化主要表现在尾蚴体被、体被下层细胞等部位。

3 讨论

根据唐崇惕等(1979)对福建九龙江口缢蛭食蛭泄肠吸虫病的研究报道, 食蛭泄肠吸虫尾蚴主要来自3~4代子胞蚴, 而该地区每年5~6月份采集的感染食蛭泄肠吸虫幼虫期的二年缢蛭, 其体内幼虫期几乎全为3~4代子胞蚴, 子胞蚴体内充满不同发育期的尾蚴^[2]。用于本次研究的阳性二年缢蛭, 采集地点和采集时间与唐崇惕等当年的调查基本相同, 通过对缢蛭体内不同子胞蚴的连续切片观察, 基本可以判断食蛭泄肠吸虫尾蚴的发育过程。组织学观察表明, 该尾蚴在子胞蚴体内的发育过程与Cheng和Bier(1972)对曼氏血吸虫尾蚴发育过程的观察基本相同^[3]。

对食蛭泄肠吸虫尾蚴不同发育期的组织化学观察发现, 整个尾蚴发育过程中体被下层一些细胞的组化成分的变化最为显著, 这些细胞按所含物质大致分为两类: 一类是富含糖原类物质的细胞, 在尾蚴发育早期出现, 尾蚴发育中期数量最多, 尾蚴发育成熟期数量减少, 而成熟尾蚴体被糖原类物质含量丰富, 故认为该类细胞可能参与形成尾蚴的含糖体被; 另一类细胞富含酸性多糖类物质, 在尾蚴发育中期出现, 尾蚴成熟期数量最多; 比较其它复殖目吸虫尾蚴体内组化成分的研究(向选东, 1987; 唐崇惕等, 1987a, b; 陈美, 1993; Ch. Dhanumleumri等, 1993)^[4~8], 认为富含酸性多糖类物质的细胞可能是成囊细胞, 参与尾蚴在第二中间宿主小鱼体内的成囊。

观察中发现, 食蛭泄肠吸虫尾蚴尾部存在较弱的物质变化, 发育早期和成熟期尾蚴尾部含少量糖原类物质, 发育中期尾蚴尾部酸性多糖类物质较多, 比较尾蚴排泄囊内物质变化情况, 可见在尾蚴的发育中期排泄囊内也含有较多的酸性多糖类物质, 该现象是否与尾蚴尾部排泄管的

出现有关, 有待更深入的研究. 此外观察中还发现, 发育成熟尾蚴的排泄囊为巨大的空泡, 整个排泄囊对所用组化试剂反应较弱. 对该期尾蚴的活体观察其排泄囊具有浓密的黑色颗粒物质, 为何在切片标本中无该类物质的存在, 是否该黑色颗粒物质富含脂类, 在标本制作过程中由于有机溶剂的处理而丢失, 有待进一步研究.

表 1 食蛭泄肠吸虫不同发育期尾蚴部分器官的组织化学反应

Tab. 1 The results of histochemical reactions on some organs of cercariae of *Vesicocotylem solenophagum*

观 察		实 验						
		PAS/ AB (pH2. 5)	胭脂法	茛三酮 Schiff	汞 溴酚蓝	武兆发 M allory	Van Gieson	浮尔根
早期尾蚴	体被	淡红色	弱	弱	中	浅蓝色	弱	无
	体被下层	淡红色	弱	中或弱	强	淡红色	弱	中
	口吸盘	淡红色	弱	中或弱	强	粉红色	弱	中
	咽	淡红色	弱	中或弱	强	粉红色	弱	中
	腹吸盘	淡红色	弱	中或弱	强	粉红色	弱	中
	排泄囊	无	弱	弱	中	淡红色	弱	中或弱
	生殖原基	未分化	未分化	未分化	未分化	未分化	未分化	未分化
	尾部	淡红色	弱	中或弱	强	淡红色	弱	中
中期尾蚴	体被	淡红色	弱	弱	中	浅蓝色	浅黄色	无
	体被下层	红色细胞	弱	弱	强	无	弱	中或弱
	口吸盘	淡红色	中或弱	弱	强或中	粉红色	弱	中
	咽	粉红色	弱	弱	强或中	粉红色	弱	中
	腹吸盘	淡红色	中或弱	弱	强或中	粉红色	弱	中
	排泄囊	浅蓝色	弱	弱	中	无	弱	弱
	生殖原基	不明显	不明显	不明显	不明显	不明显	不明显	不明显
	尾部	淡蓝色	弱	弱	强或中	尾毛黄色	弱	中或弱
成熟尾蚴	体被	深红色	弱	中或弱	强	浅蓝色	黄色	无
	体被下层	蓝色细胞	红色细胞	弱	强或中	无	弱	弱
	口吸盘	粉红色	中或弱	弱	强	粉红色	弱	中
	咽	粉红色	弱	弱	强	粉红色	弱	中
	腹吸盘	粉红色	中或弱	弱	强	粉红色	弱	中
	排泄囊	无	弱或无	无	弱或无	无	无	无
	生殖原基	淡红色	中或弱	中	强	红色	无	强或中
	尾部	淡红色	弱	弱	弱	尾毛黄色	尾毛黄色	弱

对食蛭泄肠吸虫尾蚴不同发育阶段的划分是通过组织切片观察获得, 而尾蚴的具体发育过程仍有待人工感染实验进一步确证。

本研究是在唐崇惕教授指导下进行, 谨此致谢!

参 考 文 献

- 1 唐崇惕, 许振祖. 福建九龙江口北港缢蛏寄生虫病害的初步研究. 厦门大学学报 (自然科学版), 1975, (2): 162~177
- 2 唐崇惕, 许振祖. 福建九龙江口缢蛭泄肠吸虫病的研究. 动物学报, 1979, 25 (4): 336~345
- 3 Cheng T C, Bier J W. Studies on molluscan schistosomiasis: an analysis of the development of the cercaria of *Schistosoma mansoni*. Parasitology, 1987: 64: 129~141
- 4 向选东. 血吸虫的组织化学研究进展 (一) 碳水化合物、蛋白质、核酸、脂类及无机成分的组织化学研究. 动物学杂志, 1987, 22: 39~45
- 5 唐崇惕, 唐仲璋, 陈美. 腔阔盘吸虫尾蚴及后蚴穿刺腺等腺体的组织化学及其功能的初步研究. 动物学报, 1987a, 33 (2): 155~161
- 6 唐崇惕, 唐仲璋, 唐亮. 青海高原二种双腔吸虫尾蚴腺体组织化学的比较观察. 动物学报, 1987b, 33 (4): 341~346
- 7 陈美. 长尾蚴吸虫幼虫在菲律宾蛤仔的寄生部位及其组织化学的研究. 动物学报, 1994, 40 (4): 377~382
- 8 Dhanumkumari Ch, Rao K H, Shyamasundari K. A Morphological and histochemical study of the gland cells of a cercaria referable to the genus *Acanthoparyphium* (Trematoda: Echimostomatidae). International Journal for Parasitology, 1993, 23 (3): 349~359

The Development of Cercaria of *Vesicocoelium solenophagum* (Trematode) in *Sinonovacula constricta* Lamarck

Shi Lei

(Parasitology Research Laboratory, Xiamen University, Xiamen 361005)

Abstract Development of cercaria of *Vesicocoelium solenophagum* is recognized to be in six stages; in brief, these stages are 1 germinal cell, 2 germ ball, 3 embryonic form cercaria, 4 initial stage cercaria; 5 intermediate stage cercaria, 6 fully developed cercaria. The main components of the histochemical composition on developing cercaria are noticed as follows: 1) on initial stage cercaria, tegument contained a few glycogen and the inside tegument contained a few periodic acid-Schiff reaction positive cells. 2) on intermediate stage cercaria, tegument contained periodic acid-Schiff reaction positive substances and the inside tegument possessed a lot of periodic acid-Schiff reaction positive cells and a few cells containing acid mucopolysaccharides. 3) in fully developed cercaria, there was abundant glycogen in tegument and the inside tegument existed many cells containing acid mucopolysaccharides and a few cells containing glycogen.

Key words *Vesicocoelium solenophagum*, *Sinonovacula constricta*, Cercaria, Development

图版说明

1. 食蝇泄肠吸虫尾蚴发育胚细胞期 (H-E, $\times 400$);
2. 食蝇泄肠吸虫尾蚴发育胚团期及雏体期 (H-E, $\times 200$);
3. 食蝇泄肠吸虫发育早期尾蚴 PAS、阿新蓝阴性 (PAS/AB (pH2.5), $\times 200$);
4. 食蝇泄肠吸虫发育中期尾蚴体被下层具 PAS 阳性细胞 (PAS/AB (pH2.5), $\times 200$);
5. 食蝇泄肠吸虫成熟尾蚴体被具 PAS 阳性物质, 体被下层具阿新蓝阳性细胞 (PAS/AB (pH2.5), $\times 200$);
6. 食蝇泄肠吸虫尾蚴的吸盘、咽和生殖原基含碱性蛋白质 (汞-溴酚蓝法, $\times 200$).

C: 胚细胞 (Germinal cell), G: 胚团 (Germ ball), t: 体被 (Tegument), gp: 生殖原基 (Genital primordia), p: 咽 (Pharynx), e: 排泄囊 (Excretory bladder)