

动物科学

# 重庆地区黑眶蟾蜍 *Bufo melanostictus* 肠道 3种寄生鞭毛虫的研究\*

李颖, 赵元著

(重庆师范大学重庆市动物生物学重点实验室, 生命科学学院, 重庆 400047)

**摘要** 采用活体观察及 Giemsa 染色方法, 对重庆北碚地区黑眶蟾蜍 (*Bufo melanostictus*) 肠道内的 3 种寄生鞭毛虫, 即 肠六鞭毛虫 (*Hexamita intestinalis*, Dujardin, 1841), 巨大唇鞭虫 (*Chilomastix gigantea*, Nie, 1948) 和 堂皇三毛滴虫 (*Tritrichomonas augusta*, Alexeieff, 1911) 进行了形态学研究, 其中巨大唇鞭虫 (*C. gigantea*) 为中国新记录种。文章对所获 3 种鞭毛虫还进行了种的清理和修定。

**关键词** 寄生鞭毛虫; 黑眶蟾蜍; 重庆

中图分类号: Q959

文献标识码: A

文章编号: 1672-6693(2008)02-0012-04

鞭毛虫种类繁多, 形态复杂多样且分布极为广泛 (Mariante, 2004)<sup>[1]</sup>。迄今为止, 国内相关研究较少, 尤其关于寄生或共栖生于两栖类的鞭毛虫则鲜有报道 (陈启鏊, 1949, 1956; 李连祥, 倪达书, 1995)<sup>[2-4]</sup>。作为系列研究之一, 本文记述了采自重庆地区之黑眶蟾蜍 (*Bufo melanostictus*) 肠道内的 3 种寄生鞭毛虫, 它们分别为 肠六鞭毛虫 (*Hexamita intestinalis*), 巨大唇鞭虫 (*Chilomastix gigantea*) 和 堂皇三毛滴虫 (*Tritrichomonas augusta*) 现描述如下。

## 1 材料与方法

寄主黑眶蟾蜍 (*Bufo melanostictus*) 采自重庆北碚区, 取其肠道内容物稀释后直接涂片并立即镜检观察, 然后将涂片按以下流程进行依次处理: 甲醇固定 (3~5min), Giemsa 染液染色 (35~50min), 中性水冲洗 (0.5~1min), 95% 的酒精溶液脱水 (1min)。活体及染色标本的观察拍照均在 NIKON E-600 显微镜完成, 线条图通过计算机软件 CorelDRAW 11.0 和 Photoshop 7.0 完成。

## 2 结果与讨论

2.1 肠六鞭毛虫 (*Hexamita intestinalis* Dujardin, 1841)

肉足鞭毛门 Sarcostigophora, Honiberg & Bal-

amuth, 1963

鞭毛亚门 Mastigophora Diesing, 1866

动鞭虫纲 Zoomastigophora Calkins, 1909

双滴虫目 Diplomonadida Wenyon, 1926

六鞭毛科 Hexamitidae Kent, 1880

六鞭毛虫属 *Hexamita* Dujardin, 1838

寄主及部位: 黑眶蟾蜍 (*Bufo melanostictus*) 的肠道

采集地 重庆北碚区

采集时间 2007年2月

形态学重描述 (图 1A-B, G 见封二彩图; 图 2A) 活体呈梨形或卵形, 尾部有短的胞质突起, 运动迅速。Giemsa 染色标本显示虫体呈卵圆形, 少数长形。具两个卵形或长卵形胞核, 约呈“八”字形位于虫体前方。虫体表面光滑无条纹, 后端有两个直径约 1 $\mu$ m 的黑色球体结构。鞭毛 4 对, 其中前鞭毛 3 对, 游离。另 1 对向后延伸, 末端游离成为后鞭毛, 并形成轴索, 两条轴索沿胞核外侧通向后端, 不相互交叉。前后鞭毛粗细均匀, 长度几乎相等。

虫体量度 ( $n = 44$ ): 虫体长约 9.0 $\mu$ m (8.0~11.0), 虫体宽约 6.0 $\mu$ m (3.5~7.5), 胞核长约 2.0 $\mu$ m (1.5~3.0), 胞核宽约 1.0 $\mu$ m (0.5~1.5), 虫体前鞭毛长约 14.5 $\mu$ m (8.0~18.0), 后鞭毛长约 13.0 $\mu$ m (8.0~19.0)。

\* 收稿日期 2008-02-27

资助项目: 重庆市自然科学基金重点项目 (No. CSTC-2006BA1019), 重庆市自然科学基金项目 (No. 9061)

作者简介: 李颖 (1976-) 女, 硕士研究生, 研究方向为鱼类寄生虫及其病害学。通讯作者: 赵元著, E-mail: zhao-yuanjun@hotmail.com

讨论 肠六鞭毛虫 (*Hexamita intestinalis*) 最先由 Dujardin (1841) 在青蛙肠道里发现。在欧洲的褐色斑鳟 (*Trutta fario*)、*Motella tricirrata* 和 *M. Mustela* 等鱼类以及美洲豹蛙 (*Rana pipens*)、林蛙 (*rana temporaria*) 的肠道里有该种的寄生<sup>[5-6]</sup>。另外,在绿池蛙 (*Rana clamitans*) 和牛蛙 (*Rana catesbeiana*) 的血液中也有该种的报道<sup>[7]</sup>。对于六鞭毛虫属 *Hexamita* 的不同的种类,一般可依据虫体的形态及核的形态、大小,两核相互间的位置,轴索的粗细,体表和体内的特殊结构等特征来区分开<sup>[8]</sup>。其中肠六鞭毛虫 (*H. intestinalis*) 区别于其他种的最典型特征就是虫体尾部有突起<sup>[9]</sup>。本研究中的六鞭毛虫,除寄主不同,体后端有两个功能不详、直径约  $1\mu\text{m}$  的黑色球形的结构外,其余形态学特征及统计数据与 Kulda & Nohynkava 报道过的肠六鞭毛虫极为相似(虫体长  $8.0\sim 11.0\mu\text{m}$  与  $5\sim 10\mu\text{m}$ ; 虫体宽  $3.5\sim 7.5\mu\text{m}$  与  $3\sim 7\mu\text{m}$ )<sup>[9]</sup>,同时本研究种群具有典型的虫体尾部突起,鉴于上述特征,故将本种置于肠六鞭毛虫 (*H. intestinalis*)。黑眶蟾蜍 (*Bufo melanostictus*) 为该种的新寄主。本研究描述的虫体后端的两个直径约  $1\mu\text{m}$  的黑色球体的结构,是以往所不曾报道过的特征,但功能不详,有待进一步研究。

## 2.2 巨大唇鞭虫 (*Chilomastix gigantea*, Nie, 1948)

曲滴虫目 Retortamonadida Grasse, 1952;

曲滴虫科 Retortamonadidae Wenrich, 1932;

唇鞭虫属 *Chilomastix* Alexeieff, 1912;

寄主及部位:黑眶蟾蜍 (*Bufo melanostictus*) 的肠道;

采集地:重庆北碚区;

采集时间:2006年8月。

形态学重描述(图 1C-D, H 见封二彩图;图 2B) 活体时,虫体呈长卵形,螺旋形运动。Giemsa 染色标本显示虫体呈梨形或长卵形,前端略微突出,而后端突出并形成穗状的尾。胞核圆形或卵圆形,位于虫体前端略  $1/3$  处。虫体前端具鞭毛 4 条,其中 3 条向前延伸,1 条向后延伸且向后延伸的一条较前 3 条短,并位于胞口边缘。

虫体量度 ( $n=24$ ):虫体长(不包括穗状的尾突)约  $23.0\mu\text{m}$  ( $18.0\sim 28.5$ ),虫体全长(包括穗状的尾突)约  $33.0\mu\text{m}$  ( $27.0\sim 43.0$ ),虫体宽约  $14.0\mu\text{m}$  ( $8.0\sim 18.0$ ),胞核长约  $5.0\mu\text{m}$  ( $3.0\sim 5.0$ ),胞核宽约  $4.0\mu\text{m}$  ( $2.0\sim 5.0$ ),虫体 3 条前鞭毛均长约  $16.0\mu\text{m}$  ( $13.0\sim 19.0$ )。

讨论:该属已报道种类约 29 种<sup>[10]</sup>,广泛寄生于无脊椎动物或脊椎动物寄主体内。巨大唇鞭虫 (*Chilomastix gigantea*) 是由 Nie (1948)<sup>[11]</sup> 根据美国宾夕法尼亚大学的 D. H. Wenrich 教授提供的红螭螈肠道内的寄生虫标本而描述的。本种群除虫体的宽度稍大于 Nie (1948) 的原始描述种群(虫体长  $18.0\sim 28.5\mu\text{m}$  与  $17.6\sim 27.5\mu\text{m}$ ; 虫体宽  $8.0\sim 18.0\mu\text{m}$  与  $7.1\sim 14.0\mu\text{m}$ ) 外,其它形态学特征与后者表现出高度一致,故认为是同种。黑眶蟾蜍 (*Bufo melanostictus*) 是该种新寄主,此为中国新记录种。Kulda & Nohynkava<sup>[9]</sup> 曾认为 Nie (1948) 描述的巨大唇鞭虫 (*C. gigantea*) 可能是卡氏唇鞭虫 (*C. caulleryi*),但就虫体的量度来看,Nie (1948) 描述的巨大唇鞭虫 (*C. gigantea*) 大于 Alexeieff (1909)<sup>[12]</sup> 首次在产婆螈 (*Alytes obstetrican*) 肠道中报道的卡氏唇鞭虫 (*C. caulleryi*) 大(虫体长  $17.6\sim 27.5\mu\text{m}$  与  $20\sim 25\mu\text{m}$ ; 虫体宽  $7.1\sim 14.0\mu\text{m}$  与  $8\mu\text{m}$ ),尤其是虫体宽度,两者表现明显差异。根据本研究结果,作者认为巨大唇鞭虫 (*C. gigantea*) 应为一独立虫种。

## 2.3 堂皇三毛滴虫 (*Tritrichomonas augusta*, Alexeieff, 1911)

该种的同物异名(Syn):*Trichomonas augusta* Alexeieff, 1911;

毛滴虫目 Trichomondida Kirby, 1947;

三毛滴虫属 *Tritrichomonas* Kofoid, 1920;

寄主及部位:黑眶蟾蜍 (*Bufo melanostictus*) 的肠道;

采集地:重庆北碚区;

采集时间:2007年2月。

形态学重描述(图 1E-F, I 见封二彩图;图 2C-D) 活体呈梨形、卵形或梭形,一般可见伸出体外的非收缩性轴杆,常作翻转式运动且运动较为迅速。Giemsa 染色标本显示虫体呈梨形或卵形,自前方的生毛体长出 4 根鞭毛,其中 3 根为不等长的自由前鞭毛,另一根向后延伸并与虫体质膜形成波动膜,且可观察到 4~6 个明显呈横栏状的波状结构;其鞭毛末端通常延伸出体外呈游离状态。肋较明显,呈细棒状。非收缩性轴杆呈较粗壮的管状,并纵穿虫体中央,其末端常伸出体外且急剧变细呈尖锥状,靠近轴杆基部通常可见外轴周环。副基体呈棒状或香肠形。细胞核着色较深,呈圆形或卵形,位于虫体前端  $1/3$  处。

虫体量度 ( $n=28$ ):虫体长约  $17.0\mu\text{m}$  ( $13.0\sim$

26.0) ,虫体宽约 13.0 $\mu\text{m}$  ( 11.0 ~ 17.0 ) ,胞核长约 5.0 $\mu\text{m}$  ( 4.0 ~ 7.0 ) 胞核宽约 4.0 $\mu\text{m}$  ( 3.0 ~ 5.0 ) , 虫体 3 根前鞭毛均长约 20.0 $\mu\text{m}$  ( 11.0 ~ 23.0 ) ,后鞭毛长约 15.0 $\mu\text{m}$  ( 10.0 ~ 17.0 ) 。

讨论 :目前已报道的三毛滴虫属种类约 20 余种<sup>[13]</sup>。Alexeieff ( 1911 ) 首先从法国无尾目两栖类动物中发现并描述了堂皇毛滴虫( *Trichomonas augusta* ) ,Kofoid ( 1920 ) 又重新研究了该虫 ,建立了三毛滴虫属 *Tritrichomonas* ,将其重组为堂皇三毛滴虫( *Tritrichomonas augusta* )<sup>[14]</sup>。Chen ( 1949 ) 从中国的蟾蜍( *Bufo vulgaris* ) 的直肠获得该种 ,但仍鉴别为堂皇毛滴虫( *T. augusta* ) ,并对其进行了重描述<sup>[2]</sup>。而后 ,Buttrey ( 1954 ) 分别从美国、墨西哥和巴拿马的青蛙、蟾蜍和蝾螈的肠道内发现该种并对其进行了详细的研究 ,同时指出该种不仅在种群间存在量度差异 ,而且在种群内也有较大的量度变化<sup>[14]</sup>。Kulda ( 1957 ) 从捷克的蜥蜴肠道内获得过此种<sup>[5]</sup>。在本研究中 ,除本种群的虫体大小量度变化幅度稍小外 ,其它形态学特征及量度均与先前报道过的堂皇三毛滴虫( *T. augusta* ) 极为一致 ( 表 1 ) ,故认为是同种。

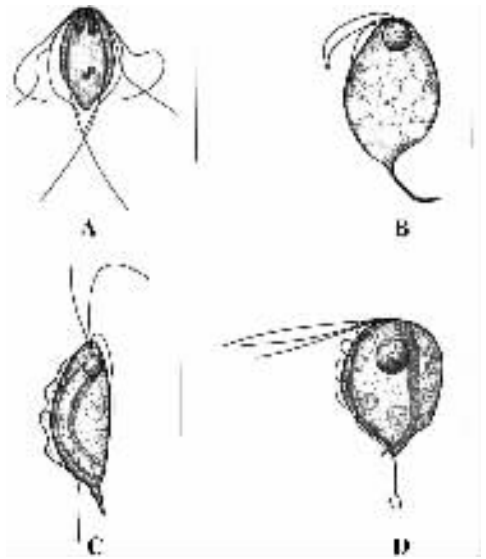


图 2 鞭毛虫形态线条图

A, 肠六鞭毛虫; B, 巨大唇鞭虫;

C-D, 堂皇三毛滴虫; 比例尺: 10 $\mu\text{m}$ 。

Fig. 2 Diagrammatic drawing of flagellates

A, *Hexamita intestinalis* Dujardin, 1841;

B, *Chilomastix gigantea*, Nie, 1948;

C-D, *Tritrichomonas augusta* ( Alexeieff, 1911 );

Scale bar : 10 $\mu\text{m}$ 。

表 1 堂皇三毛滴虫( *Tritrichomonas augusta* ) 不同种群的形态学特征比较

Table 1 Morphometric comparison of six populations of *Tritrichomonas augusta*

堂皇三毛滴虫 <i>Tritrichomonas augusta</i> ( Alexeieff, 1911 )	种群 1	种群 2	种群 3	种群 4	种群 5	种群 6
虫体形态	梨形或卵形	梨形、卵形或管形	梨形、卵形或管形	梨形、卵形或管形	长梭形	梨形、梭形或圆形
虫体长/ $\mu\text{m}$	13.0 ~ 26.0	8.8 ~ 34.1	5.5 ~ 26.4	11.0 ~ 25.3	15.0 ~ 27.0	14.0 ~ 20.0
虫体宽/ $\mu\text{m}$	11.0 ~ 17.0	2.2 ~ 15.4	2.2 ~ 11.0	3.3 ~ 11.0	5.0 ~ 13.0	6.0 ~ 12.0
胞核长/ $\mu\text{m}$	4.0 ~ 7.0	2.8 ~ 6.0	2.8 ~ 6.0	2.8 ~ 6.0	-	4.0 ~ 5.0
胞核宽/ $\mu\text{m}$	3.0 ~ 5.0	1.6 ~ 4.4	1.6 ~ 4.4	1.6 ~ 4.4	-	2.5 ~ 3.0
寄主	蟾蜍	蟾蜍	青蛙	蝾螈	蜥蜴	蟾蜍
分布	中国	美国、墨西哥和巴拿马	美国、墨西哥和巴拿马	美国、墨西哥和巴拿马	捷克	中国
资料来源	本研究	Buttrey, 1954	Buttrey, 1954	Buttrey, 1954	Kudo, 1971	Chen, 1949

参考文献 :

[ 1 ] MARIANTE R M. *Tritrichomonas foetus* pseudocysts Adhere to Vaginal Epithelial Cells in a Contact-Dependent Manner [ M ]. Parasitol Res, 2004, 92 : 303-312.

[ 2 ] CHEN Q L. The Structure of the Intestinal Flagellate *Trichomonas augusta* from the Toad [ J ]. Sinensia, 1949, 20 : 43-50.

[ 3 ] 陈启鏞. 青、鲩、鳙、鲢等家鱼寄生原生动物的研究 II.

寄生青鱼的原生动物 [ J ]. 水生生物集刊, 1956, 1 : 19-42.

[ 4 ] 李连祥, 倪达书. 鱼类寄生六鞭毛虫的研究 ( 动鞭纲 : 双滴虫目 : 六鞭毛科 ) [ J ]. 动物分类学报, 1995, 20 ( 1 ) : 6-28.

[ 5 ] KUDO R R. Protozoology [ M ]. USA : Bannestone House, 1971. 438-479.

[ 6 ] KULDA J, LOM J. Remarks on the Diplomastigine Flagellates from the Intestine of Fishes [ J ]. Parasitol, 1964,

54 :753-762.

- [ 7 ] DESSER S S , JONES S. *Hexamita intestinalis* Dujardin in the Blood of Frogs from Southern and Central Ontario [ J ]. *J Parasitol* , 1985 , 71 ( 6 ) : 841.
- [ 8 ] 肖武汉 , 李连祥. 鱼类寄生六鞭毛虫 [ J ]. *鱼类病害研究* , 1993 , 15 ( 2 ) 25-31.
- [ 9 ] KULDA J , NOHYNKAVA E. Flagellates of the Human Intestine and Intestines of Other Species [ A ]. KREIER J P. *Parasitic Protozoa ( Vol. II )* [ C ]. New York : Academic Press , 1978. 1-138.
- [ 10 ] BRUGEROLLE G , LEE J J. The Illustrated Guide to the Protozoa. Phylum Parabasalia and Order Retortamonadida [ M ]. USA : Allen Press Inc , Lawrence , 2000 , II : 1196-1253.
- [ 11 ] NIE D. The Structure and Division of *Chilomastix intesti-*
- nalis* Kuczynski , with Notes on Similar Forms in Man and Other Vertebrates [ J ]. *J Morphol* , 1948 , 82 ( 3 ) : 287-329.
- [ 12 ] ALEXEIEFF A. Les Flagellés Parasites de l'intestin des Batraciens Indigènes [ J ]. *Comptes Rendus Hebdomadaires des Séances et Mémoires de la Société de Biologie* , 1909 , 67 : 199-201.
- [ 13 ] BRUGEROLLE G , LEE J J. The Illustrated Guide to the Protozoa. Phylum Parabasalia and Order Retortamonadida [ M ]. USA : Allen Press Inc , Lawrence , 2000 , II : 1196-1253.
- [ 14 ] BUTTREY B W. Morphological Variations in *Tritrichomonas augusta* From Amphibia [ J ]. *J Morphol* , 1954 , 94 : 125-163.

## The Characterization of Parasitic Flagellates from the Intestine of *Bufo melanostictus* in Chongqing

LI Ying , ZHAO Yuan-jun

( The Key Laboratory of Animal Biology , Chongqing Normal University , Chongqing 400047 , China )

**Abstract** : Three species of parasitic flagellates ( *Sarcocystis* , *Mastigophora* , *Zoomastigophorea* ) , which habit in intestine of the toad , *Bufo Melanostictus* , from Chongqing area , were redescribed in this study. These flagellates were *Hexamita intestinalis* Dujardin , 1841 , *Chilomastix gigantea* Nie , 1948 and *Tritrichomonas augusta* ( Alexeieff , 1911 ). Based on living observations and impregnation using Giemsa's stain , detailed descriptions are presented in the paper. The diagnostic features of *H. intestinalis* : body oval or elongated , 9.0 μm ( 8.0 ~ 11.0 ) in length and 6.0 μm ( 3.5 ~ 7.5 ) in breadth ; nuclei oval or elongated oval , measuring 2.0 μm ( 1.5 ~ 3.0 ) × 1.0 μm ( 0.5 ~ 1.5 ) in dimension ; a short caudal projection. *C. gigantea* is re-diagnosed as : body pear-shaped or elongated oval , the total length , not including the flagella , 33.0 μm ( 27.0 ~ 43.0 ) in length and 14.0 μm ( 8.0 ~ 18.0 ) in width ; with anterior end pointed and poster end terminating in a spike ; nucleus round or oval , measuring 5.0 μm ( 3.0 ~ 5.0 ) × 4.0 μm ( 2.0 ~ 5.0 ). *T. augusta* is redescribed by : body pyriform or oval , 17.0 μm ( 13.0 ~ 26.0 ) × 13.0 μm ( 11.0 ~ 17.0 ) in size ; nucleus round or oval , 5.0 μm ( 4.0 ~ 7.0 ) × ( 3.0 ~ 5.0 ) in size. Of these three species *C. gigantea* is the first record in China.

**Key words** : parasitic flagellates ; *Bufo melanostictus* ; Chongqing

( 责任编辑 李若溪 )

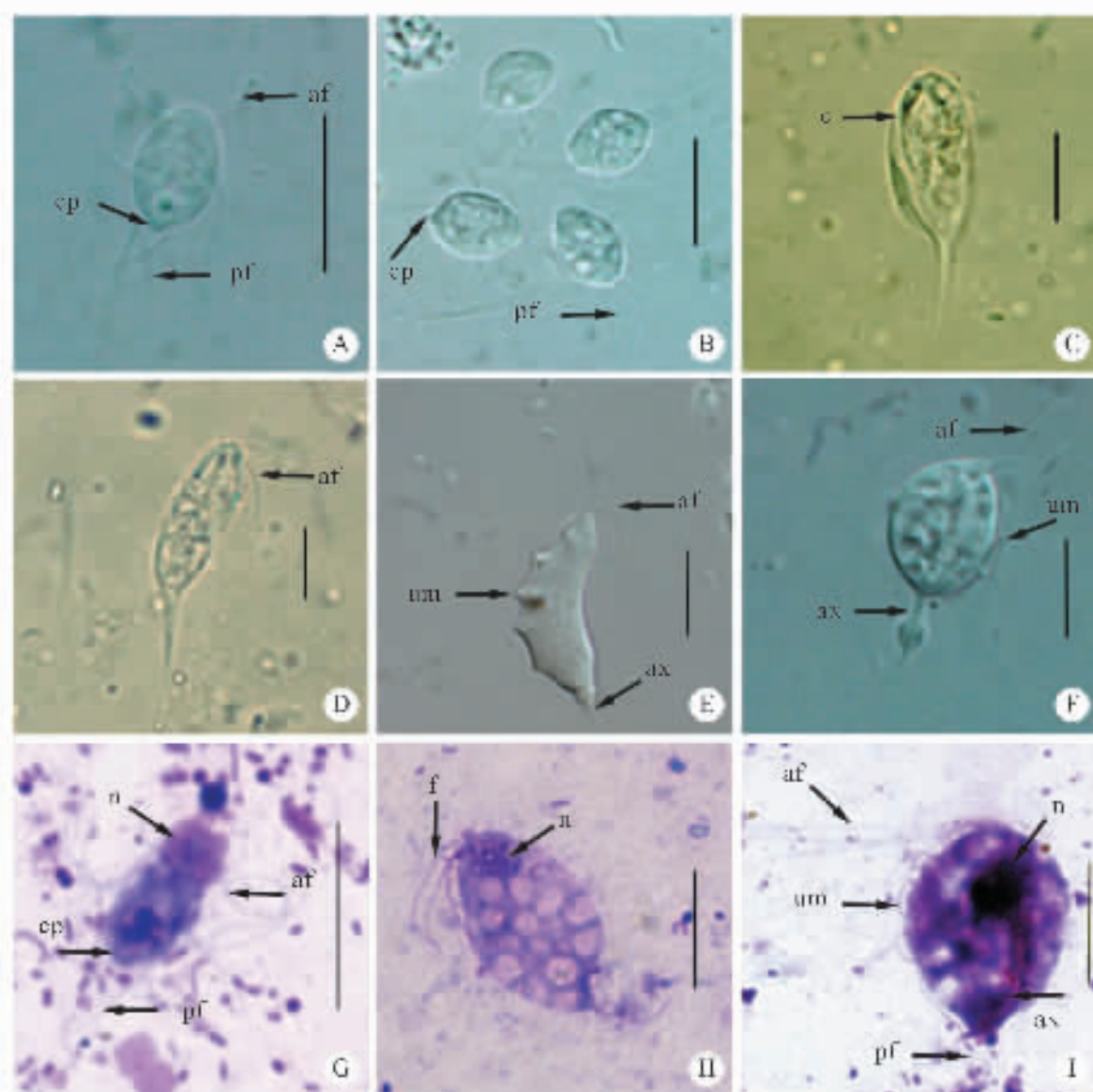


图1 鞭毛虫的活体和染色图片 (自Giemsa染色标本)

A-B, G: 扁舍鞭毛虫; C-D, H: 纤毛鞭毛虫; E-F, I: 柔体二毛鞭虫。比例尺: 10  $\mu$ m。

af: 前鞭毛; pf: 后鞭毛; cp: 尾丝; ax: 轴丝; um: 胞膜; c: 胞口; n: 细胞核

Fig.1. Photomicrographs of living and Giemsa's stain of flagellates.

A-B, G: *Hesanthomastix* (Dujardin, 1841); C-D, H: *Chilomastix gigas*, Nov. 1948.

E-F, I: *Tritrichomonax augusta* (Alexandri, 1911); Szeleber, 1920 m. I: *Lageidium*, cf. anterior flagellum.

af: anterior flagellum; cp: caudal process; pf: posterior flagellum; ax: axostyle; n: nucleus; c: cytostome; um: undulating membrane.