

文章编号: 1000- 0615(2005)05- 0635- 08

人工感染的刺激隐核虫各期虫体的超微结构

黄 玮^{1,2}, 马 跃^{1,3}, 李安兴¹

(1. 中山大学生命科学院, 广东 广州 510275; 2. 广东省水产学校, 广东 广州 510320;
3. 西南农业大学动物科学学院, 重庆 402460)

摘要: 从天然感染的卵圆鲳 (*Trachinotus blochii*) 分离到 1 株刺激隐核虫 (*Cryptocaryon irritans*), 再经人工感染的方法收集各期虫体, 制成电镜样品, 对虫体进行超微结构研究。刺激隐核虫质膜的基本结构与淡水的小瓜虫的质膜相似, 分为 3 层: 外限制膜、外胞膜和内胞膜。刺激隐核虫的质膜小泡内充满大量电子致密物质 (EDM)。幼虫、幼体和滋养体均具有复杂的口器, 由胞咽、口肋、双动基体口纤毛和线带等组成, 但不具备膜口类纤毛虫所具有的独特细胞器: Lieberkuhn 氏器。单动基体的体纤毛存在于幼虫、幼体和滋养体, 但在包裹期, 体纤毛和口器消失。各期虫体的胞质中具有线粒体、高尔基体和脂肪体等细胞器, 有的阶段具有粘液囊、伸缩泡、食物泡、共生细菌等。粘液囊在大小、形态和分布上与多子小瓜虫的不同。文中分析了刺激隐核虫在形态上与多子小瓜虫的诸多差异, 认为刺激隐核虫的分类更适合归于原口类 (Promotome), 而不是膜口类 (Ophryoglenina)。

关键词: 刺激隐核虫; 超微结构; 人工感染

中图分类号: S941.5 文献标识码: A

Ultrastructural study on *Cryptocaryon irritans* throughout the life cycle of artificially infecting *Trachinotus blochii*

HUANG Wei^{1,2}, MA Yue^{1,3}, LI An-xing¹

(1. School of Life Science, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China;

2. Aquacultural School of Guangdong Province, Guangzhou 510320, China;

3. School of Animal Science, Southwest Agricultural University, Chongqing 402460, China)

Abstract: The morphology of an isolate of parasitic ciliate *Cryptocaryon irritans* obtained from cage-cultured snubnose pompano (*Trachinotus blochii*) from Huidong, Guangdong Province in China, was examined by observation of scanning electron microscopy (SEM) and transmission electron microscopy (TEM). The strains were maintained in experimentally infecting snubnose pompano from which the sample used for ultrastructural observation was collected. The general structural organization of the pellicles resembles that of the freshwater holotrich *Ichthyophthirius multifiliis*, consisting of three membranes: outer limiting membrane, the outer alveolar membrane and the inner alveolar membrane. The pellicular alveoli are characterized by the accumulation of electron dense material in the trophont, tomite and theront, this material being lost in the newly-encysted tomon. The theront, tomite and trophont possess a complex oral apparatus, being composed of cytopharynx, oral rib, dikinetids and nematodesmata, without an organelle of Lieberkuhn which is considered as a synapomorphy of the suborder Ophryoglenina. The monokinetid somatic cilia appear in rows longitudinally on the theronts, tomites and trophonts, but being lost at early stage of tomons. There are mitochondria, Golgi apparatus and lipid droplets in the cytoplasm of all stages of parasite, and mucocysts, contractile vacuoles and endosymbiotic bacteria in theronts and trophonts. The size, shape and distribution of mucocysts in *C. irritans* are different from those

收稿日期: 2004-12-20

资助项目: 国家自然科学基金资助(30440052); 广东省自然科学基金团队项目(20023002); 广东省自然科学基金面上项目(031640)

作者简介: 黄 玮(1964-), 女, 天津人, 高级讲师, 主要从事水生经济动物病害防治研究

通讯作者: 李安兴, E-mail: LS58@zsu.edu.cn

of *I. multifiliis*. The present study suggests that the taxonomic affinities of *C. irritans* should lie with prostome ciliates by analysis of its different morphological characteristics from *I. multifiliis*.

Key words: *Cryptocaryon irritans*; ultrastructure; artificial infection

刺激隐核虫(*Cryptocaryon irritans*)可以引起海水鱼的致死性疾病即“白点病”。近年来,我国海水养殖集约化程度逐渐提高,养殖密度增大,养殖环境恶化,刺激隐核虫病的危害日益突出。刺激隐核虫几乎可以感染我国南方所有海水养殖鱼类^[1-3],能引起石斑鱼(*Epinephelus* spp.) 50%以上的死亡率,黄鳍鲷(*Sparus lctus*) 75%的死亡率^[3]。相对而言,对刺激隐核虫的研究比之淡水多子小瓜虫要欠缺许多,淡水多子小瓜虫的形态学和免疫学方面有大量的研究报告^[4]。过去对刺激隐核虫的研究主要集中在自然感染或发病时的病原生物学和流行病学研究^[5],而对刺激隐核虫的实验性感染,建立实验动物模型方面则资料很少,迄今仅 Yoshinaga 和 Dickerson^[6]及 Burgess 和 Matthews^[7]分别在黑鱼(*Poecilia latipinna*)和鲮鱼(*Mugil cephalus*)上建立了短暂的感染和传代,但未对其它方面的内容做深入研究。在刺激隐核虫超微结构研究方面, Cheung 等^[8]用扫描电镜观察了滋养体和包囊的结构,但没有研究幼虫。Colomi 和 Diamant^[9]以及 Matthews 等^[10]对刺激隐核虫不同发育期虫体超微结构作过一些描述。徐润林等^[1,11]分别对刺激隐核虫幼虫和包囊壁结构做过超微结构研究。Diggle^[12]侧重对滋养体的扫描电镜方面有过报道。以上研究多是收集的自然感染鱼体上的虫体,侧重进行某一阶段虫体的结构研究。本研究选择中国南方常见的海水养殖的卵圆鲳(*Trachinotus blochii*)作为实验动物,通过人工感染和传代的方法收集各期虫体,对其进行系统的超微结构研究。

1 材料及方法

1.1 虫体来源

1株刺激隐核虫来源于广东省惠东县盐洲岛海湾某海水养殖场饲养的自然发病的卵圆鲳。将感染虫体的病鱼用 M-222 麻醉致死,剪下鳃片,整齐放到含清洁海水的平皿中,待滋养体自行脱落,再用 20 mL 移液器吸取虫体至另一干净平皿中,用过滤海水反复洗涤 3 次。将洗干净的

滋养体放到 6 孔细胞培养板中进行培养(25 ℃)。

1.2 虫体的感染和及各期虫体的收集

待刺激隐核虫幼虫从包囊中孵出后,收集幼虫。每尾鱼用 20 000 个幼虫,感染体重 200 g 的卵圆鲳 2 h。之后每天检查鱼体和鳃,待白点充分显现后,将鱼放到特制的收虫漏斗中暂养过夜。最后取下收虫漏斗下的收虫杯,从中收获滋养体和包囊。为收集不同发育时期的包囊,将包囊放到 6 孔细胞培养板中进行孵化,在不同时间取出包囊进行固定。同样,在包囊孵出幼虫之后,用 0.2% 福尔马林将幼虫其杀死,4 000 r·min⁻¹离心 5 min 收集幼虫,再按样品处理方法进行处理。

1.3 透射电镜(TEM)样品的制备

用 3% 戊二醛(0.1 mol·L⁻¹ 甲次磷酸缓冲液+ 5% 蔗糖)固定虫体 1 h (4 ℃),用甲次磷酸缓冲液洗涤 2 次,每次 15 min。继之用 2% 锇酸(0.1 mol·L⁻¹ 甲次磷酸缓冲液+ 5% 蔗糖)后固定(幼虫和滋养体 1 h,包囊 1.5 h),甲次磷酸缓冲液洗涤 2 次,每次 15 min。将样品用乙醇逐级脱水,然后用 Epon812 树脂包埋(幼虫包埋之前,需进行离心浓缩),超薄切片,再用乙酸双氧铀和柠檬酸铅染色,在 JEM-1200X 透射电镜下观察并记录结果。

1.4 扫描电镜(SEM)样品的制备

用 3% 戊二醛(0.1 mol·L⁻¹ 甲次磷酸缓冲液+ 5% 蔗糖)固定虫体 1 h (4 ℃),用甲次磷酸缓冲液洗涤 2 次,每次 15 min。继之用 2% 锇酸(0.1 mol·L⁻¹ 甲次磷酸缓冲液+ 5% 蔗糖)后固定(幼虫和滋养体 1 h,包囊 1.5 h),甲次磷酸缓冲液洗涤 2 次,每次 15 min。用丙酮逐级脱水,临界点干燥,喷金。在 Hitachi S450 扫描电镜下观察并记录结果。

2 结果

刺激隐核虫具有一个复杂的生活史,整个发育经过营养期(feeding)、休眠期(resting)、分裂期(dividing)和感染期(infecting)4个阶段。在鱼体皮肤和鳃皮层中生长发育的是滋养体(trophont)。

滋养体成熟后从鱼体脱落到水中自由游动一短暂时期,然后附着在固着物上,形成包囊(tomont),即进入休眠期。在环境(如水温)适合时,包囊内的原生质细胞经历一系列分裂(分裂期),形成幼体(tomite)。幼体成熟后逸出包囊进入水中,即为具有感染能力的幼虫(theront),幼虫一旦遇到宿主,即钻入其皮肤和鳃,变成滋养体。下面分述在卵圆鲳上发育的刺激隐核虫各期虫体的超微结构。

2.1 幼虫

幼虫呈卵圆形或泪滴状(40~70 μm),全身密被单动基体纤毛(图版-1,3)。纤毛纵向平行排列,约57~69列(图版-1)。胞口位于前端偏腹侧,即起始于幼虫的前部顶端,向后腹部伸延到虫体的前1/4~1/3处,呈缝隙状(图版-5)。双动基体(paired kinetosome)环绕口孔(图版-1)。从口侧双动基粒至口孔有一环状的无纤毛区域叫口肋(oral rib)(图版-3)。

胞咽为螺旋形下行的凹槽,内衬口肋。口缘纤毛与一组微管相连,共同形成一个发达的漏斗状胞咽套篮(图版-4)。此大丛微管(或线带,nematodesmata)起源于口缘纤毛动基体基部上的一个块状结构,并向前伸延至胞质内部。这种漏斗状的微管丛的前端呈狭窄的套,后端呈锥体状(图版-4)。

幼虫的外膜有3层,由外向内是外限制膜(outer limiting membrane)、外泡膜(outer alveolar membrane)和内泡膜(inner alveolar membrane)。外限制膜覆盖整个虫体、纤毛、细胞表面内陷部分、口囊和伸缩泡。外泡膜衬于外限制膜之下,内泡膜位于质膜小泡之内侧,质膜小泡内充满电子致密物质(图版-10)。因为质膜小泡凸出于质膜表面,故2排质膜小泡之间的细胞膜凹下呈犁沟状,纵行的纤毛即从此犁沟里长出来。质膜小泡中有泡中隔(图版-10)。

幼虫的颗粒状胞质中含有高尔基体、线粒体、共生细菌和伸缩泡(图版-4,5,7,9)。幼虫胞质中还含少量的脂肪颗粒(图版-13)。无食物泡。线粒体分布于整个胞质中,但皮层最多(图版-5,8,9,13)。大核分为4叶,其间有丝状结构相连(图版-2),在大核近旁有几个球形小核。幼虫表层通常可以见到2种不同的排出小体即黏液囊(muco-cyst)和毒囊形排出小体(toxicyst-like

extrusome)。黏液囊发达,呈卵圆形或细颈瓶状,有外膜,多分布于皮质层中(图6)。棒状毒囊形排出小体集中在口区四周的乳头内(质膜延伸部分,与口纤毛相接)(图版-5)。

在幼虫的后端,3层质膜合并向后延伸形成“三质膜延伸物”(three pellicular extension, Pex),其基部的质膜小泡内含有大量电子致密物质,形成一个大黑体(图版-8,11,13),大黑体外面有限制膜包裹。Pex中间可见条纹状的纤维结构物(图版-12),其功能尚不清楚,在其它纤毛虫也尚无相关结构的报道。

2.2 滋养体

滋养体体表被单动基体纤毛所覆盖(图版-15)。体纤毛基部纵行排列于皮层内陷的沟槽中。沟槽的前端始于围绕口器的口环,止于虫体后端。胞口位于虫体前端稍偏腹侧(图版-15,16)。在胞口-胞咽细胞器中没有口膜(一些纤毛虫如四膜虫具有的典型胞器-3小1大的4片口膜)。1排双毛基粒(口纤毛均为双毛基粒纤毛)环绕口孔(图版-23,24),邻接双毛基粒有1个乳头状结构。口纤毛(3~4 μm)比体纤毛(8~9 μm)短而强硬(图版-16)。胞咽由口肋(无纤毛区)包围(图版-16)。起源于口动基体的1组微管支持着口肋,向下伸延到胞咽口,继后即为胞咽微管(图版-19)。胞咽微管沿虫体纵轴平行排列,支持着口孔(图版-19)。线带(nematodesmata)起始于口纤毛基部,形成一个发达的漏斗状套篮(此结构与幼虫的相应结构相似)(图版-14)。

滋养体的质膜中有一厚的上皮层(epiplasm)(图版-17)。质膜泡相当发达,内聚集大量电子致密物质。在质膜泡内具有中膈形成的隔离小室或电子疏松小泡(图版-17,20)。成熟滋养体胞质内充满大量的颗粒、空泡、脂肪体、线粒体、共生细菌和高尔基体(图版-17,20)。线粒体在整个胞质中都有分布,但皮质区最丰富。滋养体胞质内通常含有大量的食物泡,其内包含大量被吞食的宿主细胞碎片、血细胞和黑色素颗粒等。早期滋养体即可见到4叶大核,到发育晚期则融合成为1个折叠带,其旁有几个小核(图版-18)。滋养体拥有发达的伸缩泡(CV)系统(图版-20),用以调节渗透压。在滋养体期,质膜小泡中的电子致密物质增多,小泡外膜折叠形成泡状小体。

随着滋养体的成熟,食物泡和脂肪体增多,

这是为下一阶段的包囊的形成、存活和分裂储备能量。滋养体具有瓶颈状的黏液囊(图版-20),内含均质的电子致密物质。多子小瓜虫的黏液囊有2种类型,即晶状体型和分泌体型^[13]。隐核虫的黏液囊不如多子小瓜虫的复杂,黏液囊通常存在于皮层胞质中。紧邻胞口的乳头里有毒囊样突起结构。

2.3 包囊和幼体

包囊的大小为100~400 μm、球形。包囊外壁较平整,常附着一些棒状细菌(图版-22)。包囊壁数层(图版-21),包囊外壁的不同部位,其厚度不同,是单层疏松的纤维层,内陷一些细菌和细胞碎屑,内层是数层致密层(厚约1.7 μm),层与层之间有分支交错的致密物质(图版-21)。包囊的皮层内/上未发现黏液囊和其它凸出细胞器,而在包囊的限制膜附近可以发现一些致密着色的大团块,这些物质可能参与包囊壁的构建(图版-21)。包囊发育2天后就很少在包囊壁与质膜之间发现纤毛。食物泡、脂肪体和高尔基体散布在包囊的整个细胞质中(图版-21)。在包囊形成过程中,质膜上的电子致密物质(滋养体阶段普遍存在)逐渐减少和消失(图版-21)。包囊壁外层很粘滞,虫体借此能附着于固着物上,同时,包囊壁上还可以黏附很多杂物如碎屑,细菌等,或包囊彼此成团黏着在一起。包囊壁很柔软,易因外力而变形。包囊内的幼体成熟后,很容易钻出,留下的空壳能残存较长时间。

即使在包囊壁同时形成的情况下,包囊的发育、分裂也不是同步的,所以难以确定幼体纤毛形成的准确时间。由于包囊壁不是很透明,故很难观察到包囊内原生质分裂的详细过程。在原生质分裂之前,胞质内常出现许多小泡,包囊分裂的第3天,小泡分散,原生质变成均质体。原生质分裂是不均等分裂或极性分裂,第一次分裂形成1个小细胞和1个大细胞,小细胞接着进行数次分裂,然后大细胞才开始分裂。

在包囊内发育的幼体呈椭圆形或球形。出囊前,幼体开始活动,并逐个钻出包囊,即为幼虫。包囊并不是完全破裂或溶解而释出幼虫的,而是幼虫成熟后从囊壁的某个薄弱区域逐个钻出。幼体的特征与幼虫极为相似,具有丝线相连的4叶大核,及其周边的数个小核。成熟幼体的体纤毛被挤压在2个虫体之间或幼体与包囊壁

之间的狭小空间里,口器呈狭缝状,四周环绕一圈双动基粒体,每个动基体上长出一根短而粗的双体口纤毛,此时的口器无吞咽摄食功能(图版-23,24)。幼体成熟后,逸出包囊(脱囊),即成为幼虫。包囊在室温孵育5~30 d后开始脱囊,多数在6~9 d后脱囊。

3 讨论

在实验室的稳定条件下用刺激隐核虫感染试验鱼,并对虫体的某些生物学特性(包括形态结构)进行细致的研究,避免了自然感染的一些不确定因素对虫体的影响。本文作者在标准化的实验条件下对刺激隐核虫发育各期虫体的超微结构进行了研究。卵圆鲳被选择作为实验动物,原因是该品种是广东省沿海的极普通的养殖鱼类,来源充足,价格便宜。其次,卵圆鲳感染适当剂量的虫体后,有较强的抵抗力,鱼体能存活相当长时间,便于实验操作;再者,刺激隐核虫在卵圆鲳上的寄生部位主要是鳃,鳃片上呈现密集的小白点,便于观察,鳃的黏液分泌较少,便于收集虫体。

刺激隐核虫幼虫和滋养体的质膜小泡中都有大量电子致密物质(EM),该物质在包囊形成后逐渐减少,说明它们可能参与包囊壁的形成,但其确切功能尚不清楚。在前管属(*Prorodon*)纤毛虫质膜泡内也有大量致密物质^[14]。Soltynska^[15]在 *Chilodonella cucullulus* 中也发现有类似的致密物质,其成分为酸性支链淀粉。Colomi 和 Diamant^[9]发现刺激隐核虫的EM具有PAS阳性成分,所以认为它是中性支链淀粉。

滋养体、幼体和幼虫均具有黏液囊,幼虫最丰富,而包囊内则没有。*Tetrahymena*^[16]和 *Ichthyophthirum* 属虫体的黏液囊具有晶状体的亚单位结构,而隐核虫则是无定形的均质体^[13]。多数学者认为黏液囊所释放的黏液参与了包囊壁的形成^[12,17]。但有的学者却认为黏液囊不直接参与包囊壁的形成,因为黏液囊随着滋养体的生长而逐渐消失^[10]。Ewing 和 Kocan^[13]报道,分泌型的黏液囊分泌的物质可以在虫体表面形成黏液性囊套,幼虫借此可以黏附在宿主组织上。由于刺激隐核虫的滋养体生长时,黏液囊迅速消退,所以我们推测幼虫中存在的黏液囊在虫体入侵宿主上皮的过程中起很重要的作用。Matthews

和 Burgess^[10] 在小瓜虫的幼虫中检测到了透明质酸酶,但不能确知其是否存在于黏液囊中。刺激隐核虫包囊壁的形成机制与多子小瓜虫不一样,因为小瓜虫的粘液囊直接参与了包囊壁的形成,且它的粘液囊也明显地大而结构复杂^[13]。这种差异可能与两种虫体包囊壁的发达程度和包囊存活的时间不一样密切相关(刺激隐核虫包囊可存活 35 d,而小瓜虫仅能存活 18~24 h)。

刺激隐核虫的幼虫、幼体和滋养体均具有复杂的口器,其形态结构是分类的重要依据。幼虫的胞咽呈螺旋性下行的凹槽,它包括无纤毛的口孔通道和内固性线带,这种结构与许多原口纤毛虫的胞咽相似^[18,19]。这种胞咽型口器比下口类纤毛虫的弯咽管状胞咽型口器和膜口类纤毛虫如淡水小瓜虫的深囊腔下陷型口器更为原始。刺激隐核虫缺乏 Lieberkuhn 氏器^[9,10,12],此表明其分类地位与淡水小瓜虫有较大差距,因为此细胞器是淡水小瓜虫所在的膜口目的分类特征^[18]。刺激隐核虫的形态特征包括简单的顶位位或亚顶位胞口、双动基体口纤毛、整齐的体纤毛以及螺旋性下行凹槽式胞咽,这些结构表明刺激隐核虫的分类更接近原口类纤毛虫。

参考文献:

[1] Xu R L, Jiang J B, Chen B S. Microscopy observation on life cycle of the *Cryptocaryon irritans* [J]. Marine Sciences, 1992, 4 (2): 87-90.

[2] 黄 玮, 李安兴. 集约化海水养殖中刺激隐核虫病的综合防治[J]. 科学养鱼, 2004, 20: 44-46.

[3] Luo X C, Xie M Q, Li A X. The host-parasite relationships between marine fish and *Cryptocaryon irritans* [J]. Dis Aquat Org, 2005, 66: 275-280.

[4] Dickerson H W, Clark T G. Immune response of fishes to ciliates[J]. Annual Review of Fish Diseases, 1997, 6: 107-120.

[5] Yambot A V, Song Y L, Sung H H. Characterization of *Cryptocaryon irritans*, a parasite isolated from marine fishes in Taiwan[J]. Diseases of Aquatic Organisms, 2003, 54, 147-156.

[6] Yoshinaga T, Dickerson H W. Laboratory propagation of *Cryptocaryon irritans* on a saltwater-adapted *Poecilia* hybrid, the black molly[J]. Journal of Aquatic Animal Health, 1994, 6: 197-201.

[7] Burgess P J, Matthews R A. A standardized method for the *in vivo* maintenance of *Cryptocaryon irritans* (Ciliophora) using the grey mullet *Chelon labrosus* as an experimental host [J]. Parasitol, 1994, 80: 288-292.

[8] Cheung P F, Nigrelli R E, Ruggieri G D. Scanning electron microscopy on *Cryptocaryon irritans* Brown, 1951, a parasitic ciliate in marine fishes [J]. Aquaculture, 1981, 2, 70-72.

[9] Colorni A, Diamont A. Ultrastructural features of *Cryptocaryon irritans*, a ciliate parasite of marine fish [J]. European Journal of Parasitology, 1993, 29, 425-434, 1993.

[10] Matthews B F, Burgess P J. *Cryptocaryon irritans* Brown, 1951 (*Ichthyophiriidae*): the ultrastructure of the somatic cortex throughout the life cycle [J]. Fish Disease, 1993, 16: 339-349.

[11] 徐润林, 白庆笙, 李贵生, 等. 刺激隐核虫感染幼虫的超微结构研究 [J]. 中山大学论丛, 1995, 1: 142-145.

[12] Diggle B K. Some information on the morphology of *Cryptocaryon irritans* from South-East Queensland Australia. Eur [J]. Protistology, 1997, 33: 200-210.

[13] Ewing M S, Kocan K M. *Ichthyophthirius multifiliis* (Ciliophora) development in gill epithelium [J]. Protozool, 1986, 33: 369-374.

[14] Hiller S A. Ultrastructure of *Prorodon* (Ciliophora, Prostomatida) I. Somatic cortex and colpoid ciliates [J]. Euk Microbiol, 1993, 40: 467-486.

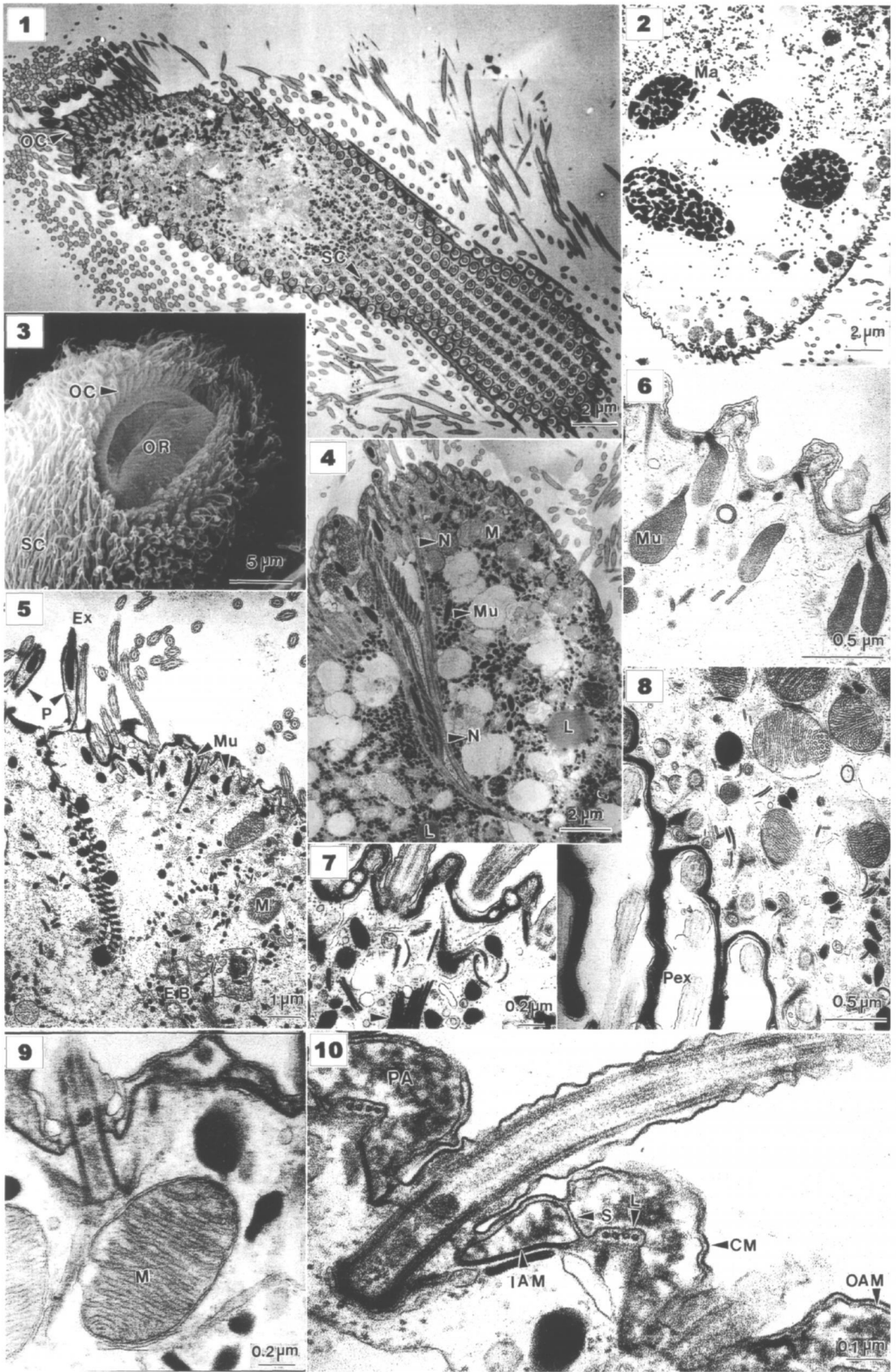
[15] Soltynska M S. Morphology and fine structure of *Chilodonella cuallululus* (O. F. M.). cortex and cytopharyngeal apparatus [J]. Acta Protozool, 1971, 9: 49-82.

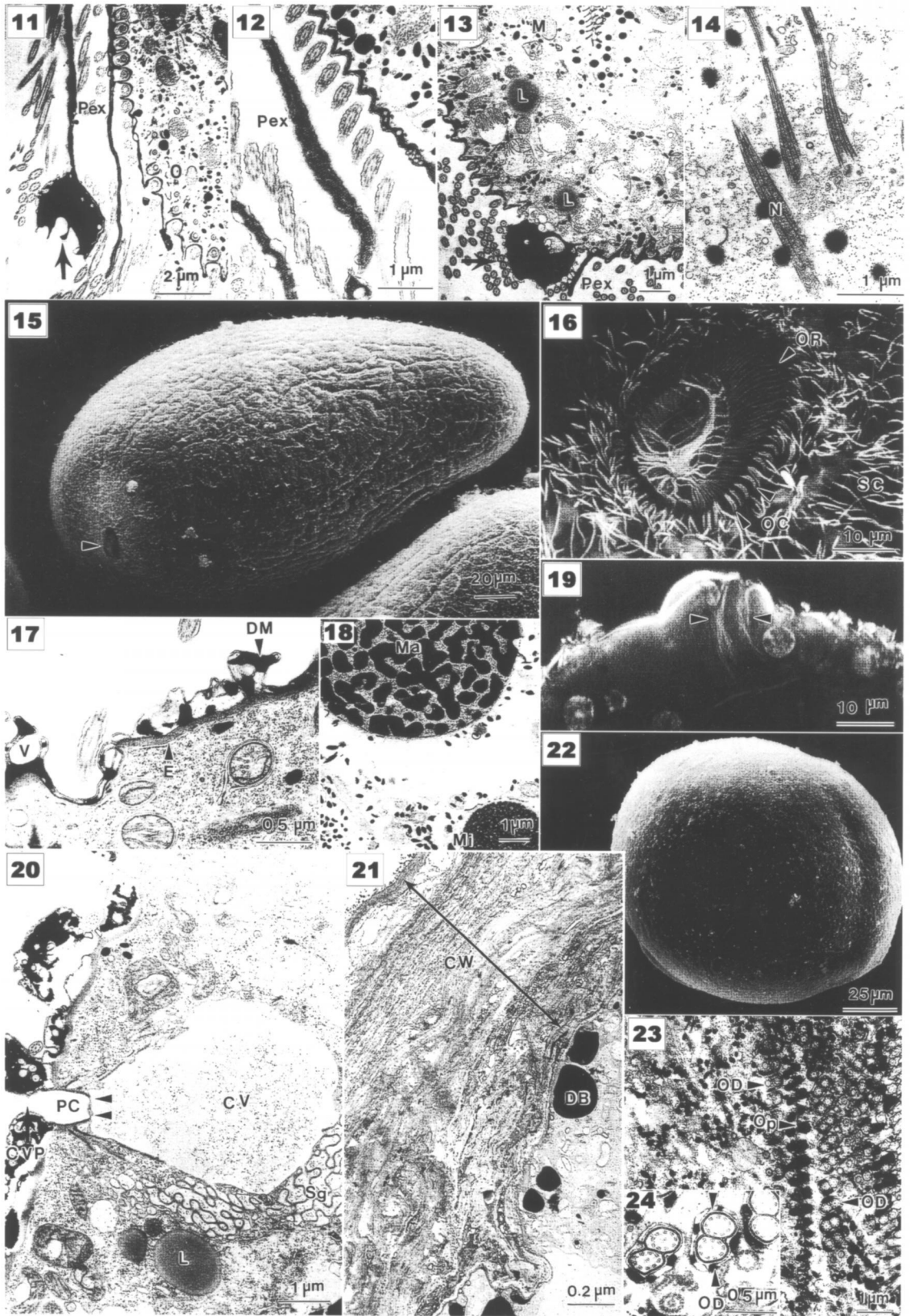
[16] Allen R D. Fine structure, reconstruction and possible functions of components of the of *Tetrahymena pyriformis* [J]. Protozool, 1967, 14: 553-565.

[17] Frombach D H, Ewing S, Kocan M S, EM The organelle of lieberkuhn as a synapomorphy for the *Ophryoglenina* (Ciliophora: Hymenostomatida) [J]. Trans Amer Micro Soc, 1991.

[18] Lynn D H, Corliss J O. Phylum Ciliophora [A]. In: Harrison FR, Corliss JO (eds) Microscopic anatomy of vertebrates [H]. Wiley-Liss, New York, 1991, 333-467.

[19] Hutner S H, Lee J J, Bovee E E C. An Illustrated guide to the Protozoa [M]. Society of Protozoologists, Lawrence, Kansas, 1985, 939-575.





图版说明 Explanation of Plate

1. 全幼虫的纵切电镜图。示单动基体的体纤毛(SC)纵向线形排列, 双动基体的口纤毛(OC)绕口孔环形排列; 2. 示幼虫后端4个大核; 3. 幼虫口器及其口纤毛的TEM。示双动基体口纤毛, 比体纤毛短, 由口纤毛基部延伸到胞口孔的一组微管组成口肋(OR); 4. 幼虫口区的TEM。示一索微管形成的线带(N)支持着口区, 粘液囊(Mu), 线粒体(M)和脂肪体(L); 5. 幼虫口区的纵切面。示乳突(P)和其上深色的突起(Ex), 粘液囊, 线粒体和共生细菌; 6. 幼虫皮层区的横切面。示图质膜下的粘液囊; 7. 皮层的质膜和胞质。示高尔基体(箭头); 8. 幼虫的三质膜延伸体(Pex)箭头所指黑体; 9. 幼虫的皮层胞质。示线粒体(M); 10. 幼虫质膜的横切面。示胞质纵脊之间长出的体纤毛, 纵行在脊顶部的微管(L), 质膜小泡(PA)内充满电子致密物质。其它的一些皮层结构包括细胞膜(CM), 外泡膜(OAM), 内泡膜(IAM)和泡中隔(S); 11、12、13. 幼虫的三质膜延伸体(Pex)。箭头所示黑体; 14. 幼虫口区的纵切面。双动基体与一组线带相连, 这些微管系统来源于口纤毛动基体的基部, 并向下延伸到胞质; 15. 整个滋养体的扫描电镜图。体纤毛覆盖整个细胞, 箭头示口器; 16. 滋养体口器及其周边纤毛的扫描电镜图。示口器的微管结构、口纤毛(OC)、体纤毛(SC)和微管肋(OR); 17. 滋养体质膜结构。示充满电子致密物质(DM)的质膜小泡和电子透明小泡(V); 18. 滋养体的大核(Ma)和小核(Mi); 19. 滋养体前端的扫描电镜图。示一索微管支持着口孔(箭头); 20. 滋养体伸缩泡系统结构图。示伸缩泡(CV)、口道(PC)、泡口(CVP)、薄膜隔(箭头)。在胞质中还可见粘液囊、脂肪体和共生细菌; 21. 包囊的透射电镜图。示电子致密体(DB), 共生细菌(EB), 食物泡(FV)、复层囊壁(CW)和胞周小泡(V); 22. 包囊的扫描电镜图。示包囊平整的外壁; 23. 包囊内发育中的幼体。示缝隙状口孔(Op)和口纤毛的双毛基体(OD); 24. 幼体口纤毛的双毛基体结构。示双毛基体及其纤毛微管的“9+2”结构(箭头)

1. TEM of a sagittal section of the whole theront shows the linear arrangement of monokinetid somatic cilia(SC), and special arrangement of dikinetid oral cilia(OC); 2. TEM of the theront showing the four lobes of macronucleus located close to the posterior end; 3. SEM of the oral apparatus and associated ciliature of the theront. Note the oral dikinetid cilia are shorter than the somatic cilia. Oral ribs(OR) that composed of microtubules extend from the base of the paroral dikinetids toward the cytostomal opening; 4. TEM of oral region of the theront. Note the large bundle of microtubules, nematodema(N), supporting the oral region, mucocysts(Mu), mitochondria(M), and lipid droplet(L); 5. Longitudinal section of the theront showing the oral area. Note papillae(P) with darkly stained extrusome(Ex), mucocysts, mitochondria(M), and endosymbiotic bacteria(EB); 6. Cross section of cortical area the theront. Note mucocysts(Mu) underlying the plasmamembrane; 7. Pellicle and cortical cytoplasm of the theront. Arrowheads point to the Golgi apparatus; 8. Three pellicle extensions(Pex) of the theront. Arrowhead point to dark body. L represents lipid droplets; 9. Cortical cytoplasm of the theront showing the mitochondria(M) with tubular cristae; 10. A sagittal section of the pellicular structures of the theront. Note that somatic kinetids lie between cytoplasmic ridges, longitudinal microtubules(L) are located at the ridge apexes. Pellicular alveoli(PA) are filled with electron dense material. Other cortical structures include cell membrane(CM), outer alveolar membrane(OAM), inner alveolar membrane(IAM), and alveolar septa(S); 11, 12, 13. Three pellicular extensions(Pex) of the theront. Arrowhead points to dark body. L represents lipid droplets; 14. Longitudinal section of the oral region of the theront of *C. irritans*. Paroral dikinetids are associated with a group of microtubules(nematodestama). These large bundles of microtubules originate from a plate at the base of the kinetosomes of the paroral dikinetid cilia(PD) and extend deep into the cytoplasm; 15. SEM of the whole trophont. The somatic cilia cover the whole cell. Arrowhead points to the oral apparatus; 16. SEM of the oral apparatus and associated ciliature of the trophont. Note that the microtubular structures associated with the trophont oral apparatus. Dikinetid oral cilia(OC), monokinetid somatic cilia(SC), and the microtubular ribs(OR) can be seen; 17. TEM of the trophont pellicular structures. Note that pellicular alveoli with electron dense material(DM) and electron lucent vesicles(V). E represents thick epiplasm; 18. TEM of the macronuclei(Ma) and micronuclei(Mi) of the trophont; 19. SEM of the trophont. Note the large bundles of microtubules that support the oral opening(arrowheads); 20. TEM of the contractile vacuole system and its components: Contractile vacuole(CV), pore canal(PC), contractile vacuole pore(CVP) and thin membranous septum(arrowheads). Mucocysts, lipid droplets, endosymbiotic bacteria can be seen in the cytoplasm; 21. TEM of the cyst stage. Note electron dense body(DB), endosymbiotic bacterium(EB), food vacuole(FV), multilayered cyst wall(CW), and peripheral vacuole(V); 22. SEM of the cyst stage. Note the tomont appears devoid of any characteristic cortical structure; 23. TEM of developing tomites inside the cyst. Note the slit-like oral opening(Op) in the middle of the cytostome and dikinetids row of oral cilia(OD) around the cytostome; 24. TEM of the tomital oral dikinetid structure. Paired kinetosomes occur as a ring around the cytostome and both kinetosomes are ciliated. Note the central pair of microtubules of each cilium(Arrowheads)