

· 研究简报 ·

## 流行我国马牛的三个伊氏锥虫株的研究

## II. 伊氏锥虫多态现象\*

伦 照 荣

(生物学系)

## 摘 要

首次报导流行我国马牛的伊氏锥虫株存在多态现象, 描述了一种称作变异型 (variant form) 的新形态。经过小鼠的连续传代和涂片以及单克隆接种小鼠的观察, 证明这种变异型个体在流行我国的伊氏锥虫株中是一种正常的形态。

**关键词** 伊氏锥虫, 多态现象, 变异型

伊氏锥虫 (*Trypanosoma evansi* Steel, 1885) 是一种血寄生鞭毛虫, 即牛马锥虫病 (又叫苏拉病 Surra disease) 的病原体。伊氏锥虫的形态首先由 Bruce (1911)<sup>[1]</sup> 作了详细的描述, 并被认为属单态型 (monomorphism), 且得到许多学者的支持<sup>[2,3,4]</sup>。但是国外亦有许多学者在伊氏锥虫中发现其存在多态现象, 特别是某些老实实验株, 其多态现象 (pleomorphism) 更为明显<sup>[6,7,8,9,10,11]</sup>。迄今我国尚未见有伊氏锥虫多态现象的报道。我们在研究中发现, 伊氏锥虫无动基体株、水牛株和马株存在多态现象, 血涂片中可见到细长型、短型 (缺乏游离鞭毛者)、粗壮型和变异型。

### 1 材料和方法

1.1 虫株来源 伊氏锥虫无动基体株由华南农业大学牧医系寄生虫学教研组提供; 伊氏锥虫马株 (16~20% 为无动基体个体) 从云南省畜牧兽医科学研究所引进; 伊氏锥虫水牛株由广东省阳江县畜牧局莫道来提供。

1.2 单克隆接种 基本参照 Inoki 等 (1960)<sup>[12]</sup> 的方法, 但所用稀释液为含 1% 葡萄糖的磷酸缓冲液 (PSG, pH7.2)。锥虫的分离用 Lanham 等 (1970)<sup>[13]</sup> 介绍的 DEAE 纤维素法。克隆接种三周龄白化小鼠后第五天开始, 每日剪尾取血检查并涂片。

1.3 虫株转种及涂片染色 各虫株每隔三至五天转种一次, 接种量每只为  $5 \times 10^4$ 。每次转种均在接种后第三天开始剪鼠尾取血涂片至感染鼠死亡。涂片空气干燥, 甲醇固

本文1987年9月28日收到

● 在江静波教授指导下完成

定, 必要时用0.5%的 Triton X-100浸洗3~5分钟。吉氏(Giemsa)染色40~50分钟, 蒸馏水冲洗, 干燥后用油镜统计各种形态。

1.4 虫体长度测量 血片锥虫在10×100倍显微镜下放大, 以显微描图仪绘制并测量其大小。所有血片标本均保存在中山大学生物系寄生虫学研究室。

## 2 结果

2.1 流行我国马牛的三个伊氏锥虫株的形态 统计伊氏锥虫无动基体株虫体80000个, 细长型占98~99%, 短型(缺乏游离鞭毛者, 占0.6~1%, 粗壮型为0.05~0.1%, 变异型占0.1~0.4%。在马株, 调查80000个虫体, 细长型占98~99.1%(包括占16~20%的细长型无动基体个体), 短型0.4~0.9%, 粗壮型0.04~0.08%, 变异型0.3~0.6%。在水牛株, 调查虫体80000个, 其中细长型占99~99.5%, 短型0.35~0.67%, 粗壮型0.03~0.08%, 变异型0.1~0.5%(表1)。三个虫株在形态上难以区别。细长型虫体呈柳叶状, 核圆形或椭圆, 位于虫株中部, 波动膜发达, 游离鞭毛明显, 动基体在虫体后末端, 多为细小圆形, 动基体附近常有液泡出现, 如图版A, E, I。测量各虫株细长型虫体200个, 无动基体株平均大小为26.3(18~36) $\mu\text{m} \times 1.78$  1.1~2.2) $\mu\text{m}$ , 马株为25.4(18.3~34.9) $\mu\text{m} \times 1.6$ (1~2.2) $\mu\text{m}$ , 水牛株为26(19~32.1) $\mu\text{m} \times 1.59$ (1.1~2.2) $\mu\text{m}$ 。短型, 没有游离鞭毛(光学显微镜下未见到), 波动膜不明显, 核圆或椭圆形, 位于虫体中部, 如图版B, F, J。测量各虫株短型虫体100个, 无动基体株平均大小为20.4(17.2~27.4) $\mu\text{m} \times 1.7$ (0.83~2.2) $\mu\text{m}$ , 马株为19(17~25.4) $\mu\text{m} \times 1.6$ (0.9~2.0) $\mu\text{m}$ , 水牛株为20(16.2~26) $\mu\text{m} \times 1.7$ (1.0~2.1) $\mu\text{m}$ 。粗壮型个体粗大, 后端常纯圆, 游离鞭毛很短, 如图版C, G, K。测量各虫株粗壮型个体100个, 无动基体株平均大小为29.5(21.3~35.7) $\mu\text{m} \times 5.8$ (5.1~8.5) $\mu\text{m}$ , 马株为28.7(22.3~36.8) $\mu\text{m} \times 5.6$ (4.9~8.3) $\mu\text{m}$ , 水牛株为29.1(21.7~37.3) $\mu\text{m} \times 5.5$ (4.8~8.1) $\mu\text{m}$ 。变异型, 虫体胞质疏松, 核形状不一, 但常呈空心环状, 后端钝圆, 如图版D, H, L。测量各虫株变异型虫体100个, 无动基体株平均大小为20.2

表1 三个伊氏锥虫株的各型比例(%)

Tabl. 1 The percentage of various forms of three strains of *Trypanosoma evansi*(%)

| 虫 株   | 细长型     | 短型        | 粗壮型       | 变异型     |
|-------|---------|-----------|-----------|---------|
| 无动基体株 | 98~99   | 0.6~1.0   | 0.05~0.1  | 0.1~0.4 |
| 马 株   | 98~99.1 | 0.4~0.9   | 0.04~0.08 | 0.3~0.6 |
| 水 牛 株 | 99~99.5 | 0.35~0.67 | 0.03~0.08 | 0.1~0.5 |

(18.4~27.3) $\mu\text{m} \times 3.8$ (3~4.6) $\mu\text{m}$ , 马株为19.8(18.3~25.4) $\mu\text{m} \times 3.5$ (3.1~4.3) $\mu\text{m}$ , 水牛株为21.4(19.5~26.2) $\mu\text{m} \times 3.6$ (3.3~4.2) $\mu\text{m}$ (表2)。

2.2 伊氏锥虫株的单克隆分离 用克隆方法感染伊氏锥虫马株的20只幼小小鼠, 分别在接种后第九天(2只), 第十天(7只)和第十一天(8只)查到锥虫。经涂片染

表2 三个伊氏锥虫株各型的大小情况( $\mu\text{m}$ )Tabl. 2 The measurement of various forms of three strains of *T. evansi* ( $\mu\text{m}$ )

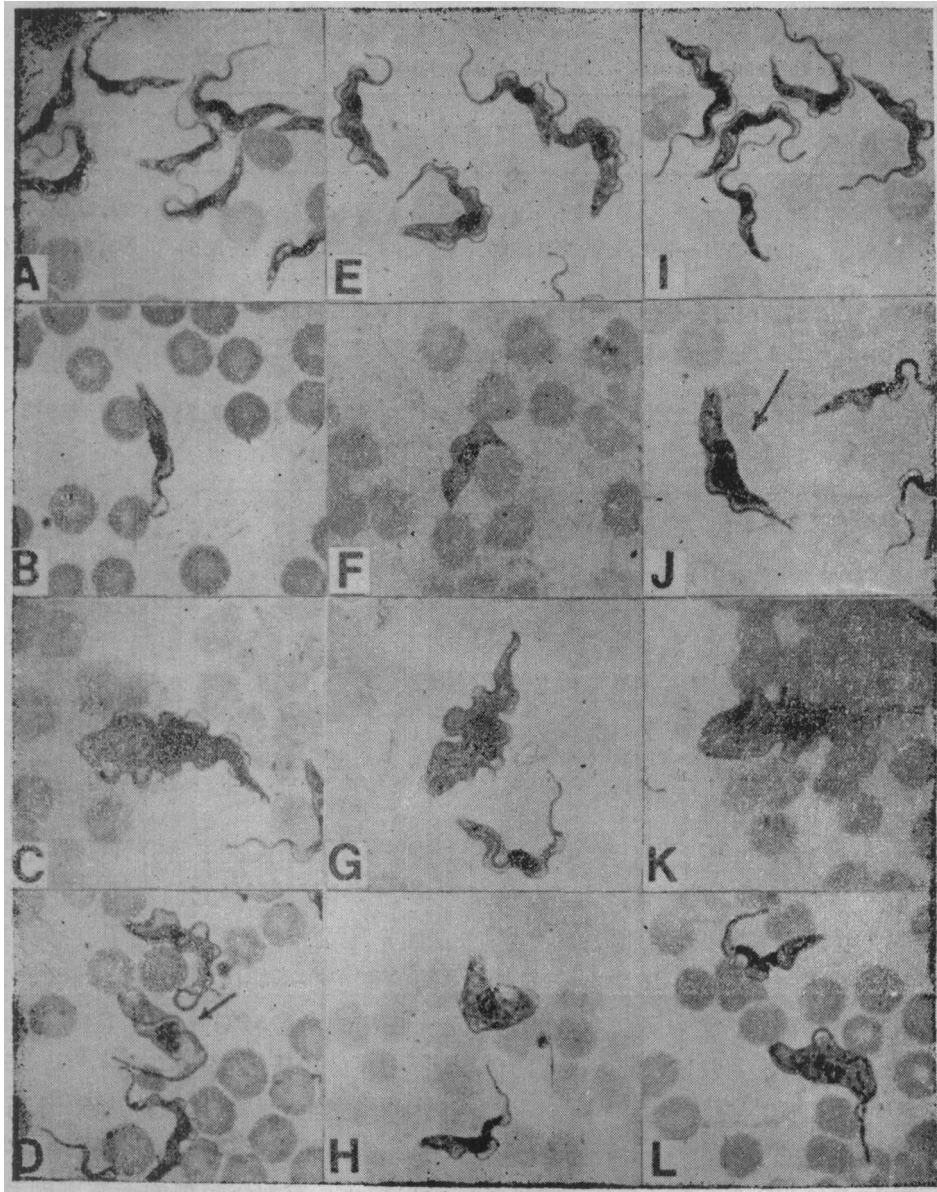
| 虫 株   | 细长型                             | 短 型                                | 粗壮型                               | 变异型                               |
|-------|---------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| 无动基体株 | 26.3(18~36) X<br>1.78(1.1~2.2)  | 20.4(17.2~27.4) X<br>1.7(0.83~2.2) | 29.5(21.3~35.7) X<br>5.8(5.1~8.5) | 20.2(18.4~27.3) X<br>3.8(3~4.6)   |
| 马 株   | 25.4(18.3~34.9) X<br>1.6(1~2.2) | 19(17~25.4) X<br>1.6(0.9~2.0)      | 28.7(22.3~36.8) X<br>5.6(4.9~8.3) | 19.8(18.3~25.4) X<br>3.5(3.1~4.3) |
| 水 牛 株 | 26(19~32.1) X<br>1.59(1.1~2.2)  | 20(16.2~26) X<br>1.7(1~2.1)        | 29.1(21.7~37.3) X<br>5.5(4.8~8.1) | 21.4(19.5~26.2) X<br>3.6(3.3~4.2) |

注:各株细长型测量数为200,其余各型均为100。

色观察,发现其中2只小鼠的血涂片百分之百的锥虫都缺乏吉氏染色可见的动基体,而其余的小鼠血涂片中的锥虫则均为有动基体者。这种用克隆方法从马株分离出的无动基体锥虫和有动基体锥虫均存在多态现象。此外,经单克隆分离过的水牛株和无动基体株锥虫,其多态现象亦依然存在,表明流行我国的伊氏锥虫的多态现象具有遗传特性,不是偶然现象。

### 3 讨论

Bruce (1911)<sup>[1]</sup>对伊氏锥虫的形态曾作过详细的描述。尽管有许多学者把从不同动物宿主分离到伊氏锥虫误认为新种或新亚种<sup>[14,15,16,3]</sup>,但它们之间的形态都是难以区别的。我国学者刘振华等(1980)<sup>[2]</sup>和古代先等(1982)<sup>[17]</sup>报道了流行我国七个省、市和自治区的十四个伊氏锥虫株,它们之间的形态亦不能区别,与Bruce(1911)<sup>[1]</sup>描述的相似。然而,作者从研究中发均现,三个虫株的形态与刘振华等(1980)<sup>[2]</sup>和古代先等(1982)<sup>[17]</sup>以及Bruce(1911)<sup>[1]</sup>描述的伊氏锥虫株有差异:从华南农业大学引进的伊氏锥虫株,所有虫体缺乏动基体,属完全无动基体型;从云南省畜牧兽医研究所引进的马株,其无动基体个体占16~20%,而新近从水牛分离到的水牛株,其无动基体个体仅占0.67~1.1%。此外,三个虫株还具有称作短型的无游离鞭毛的个体,为数较少的粗壮型个体及称作变异型的个体。从多态型的角度来看,上述三个伊氏锥虫株与国内外已报导的伊氏锥虫株都不尽相同,但占绝对数量的细长型(除动基体存在与否的差别外)仍不能与典型的伊氏锥虫相区别,无疑仍为伊氏锥虫的三个虫株。我们推测流行我国的其他各伊氏锥虫株都可能存在我们所见到的那几种形态,只不过由于这几种形态(短型、粗壮型和变异型)的数量较少而忽视了。作者(伦照荣,1985)<sup>[18]</sup>曾报导过伊氏锥虫无动基体株接种壁虎(*Gekko japonicus*)后第一次回传到小白鼠时出现超多核粗壮型个体。然而,这种现象是否与伊氏锥虫的多态现象有关,目前仍不清楚。不过对流行我国的伊氏锥虫各株的形态作深入的研究,这对进一步了解其确切的起源和进化无疑是很有意义的。



图版 小鼠血涂片中见到的伊氏锥虫无动基体株马株和水牛株的多态现象

A、B、C、D分别为无动基体株的细长型、短型、粗壮型和变异型

E、F、G、H分别为马株的细长型、短型、粗壮型和变异型

I、J、K、L分别水牛株的细长型、短粗、粗壮型和变异型(×1000,吉氏染色)

伊氏锥虫变异型是否是一种稳定的形态? 经过两年多在小鼠中转种和连续涂片观察, 并且还在小白鼠接种后的不同时间取血涂片, 均可见到。在用单克隆接种的幼小鼠血涂片中同样查到这种变异型。从结果来分析, 在流行我国的伊氏锥虫株中发现的这种变异型应是一种正常存在的形态, 而且很可能为流行我国的伊氏锥虫所特有。至于这种变异型存在的意义则有待进一步的探索。

## 参 考 文 献

- [1] Bruce, D., *Proc. Roy. Soc. B.*, 84(1911).181-189.
- [2] 刘俊华, 第二次全国家畜寄生虫病科研工作会议论文摘要集, 1980, 340-341.
- [3] Mudaliar, S.V., *Proc. Indian Acad. Sci.*, 21B(1945),101-105.
- [4] Pricolo, A., Ferraro, G., *Clin. Vet.(Milan)*, 37(1914), 941.
- [5] Barotte, J., *Mem. Soc. Nat. Maroc. Rabat.*, 11(1925), 1-183.
- [6] Hoare, C.A., *Rev. Soc. Mexicaca Hist. Nat.*, 10(1950), 81-90.
- [7] Hoare, C.A., *Parasitol.*, 46(1956), 131-172.
- [8] Hoare, C.A., *The Trypanosomes of Mammals. A Zoological Monograph*, Blackwell oxford, 1972, 555-592.
- [9] Miles, M.A., *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 64(1970).471-474.
- [10] Venkatarastnam, A. et al., *Indian Vet. J.*, 45(1969), 586-589.
- [11] Velu, H., *Rev. Gen. Med. Vet.*, 27(1918), 489.
- [12] Inoli, S. et al., *Biken's J.*, 3(1960), 123.
- [13] Lanham, S.M., Godfrey, D.G., *Exp. Parasitol.*, 28(1970), 521-534.
- [14] Darling, S.T., *Paris Bull. Soc. Path. Exot.*, 3(1910), 381-385.
- [15] Mahomed, Z., *Nature*, 144(1939), 790.
- [16] Mesnil, F., *Paris Bull. Soc. Path. Exot.*, 3(1910), 376-381.
- [17] 古代先等, 中国兽医杂志, 8(1982), 16.
- [18] 伦照荣, 畜牧兽医学报, 16(1985), 172-177.

## Studies on Three Strains of *Trypanosoma Evansi* Isolated from Horses and Buffaloes in China

### II. A study of Polymorphism in *Trypanosoma Evansi*

Lun Zhaorong

#### Abstract

The present paper reports the polymorphism occurring the three strains of *Trypanosoma evansi* found in South China (akinetoplast strain, horse strain and buffalo strain). A new form not previously reported is described here as a variant form. The cytoplasm and nucleus of this variant form is loose so that can be easily distinguished from the other forms such as slender form, short form and stumpy form. The average size of this new form is  $20.2(18.4\sim 27.3)\mu\text{m} \times 3.8(3.0\sim 4.6)\mu\text{m}$ . It has been demonstrated by continuous examinations of blood smears of infected mice for two full years that this variant form is a commonly present in all of the three strains of *T. evansi* in this country. This variant form can also be found in the blood smears of mice infected by the clones of the above three strains of *T. evansi*.

**Keywords** Polymorphism, variant form, *Trypanosoma evansi*