

文章编号: 1674-5566(2013)05-0726-08

## 脊尾白虾肌肉微孢子虫病的病原和病理分析

王元<sup>1,2</sup>, 房文红<sup>1</sup>, 周俊芳<sup>1</sup>, 李新苍<sup>1</sup>, 刘强<sup>1,2</sup>

(1. 中国水产科学研究院东海水产研究所 农业部东海与远洋渔业资源开发利用重点实验室, 上海 200090; 2. 上海海洋大学 水产与生命学院, 上海 201306)

**摘要:** 江苏启东海水养殖脊尾白虾出现肌肉白化症状, 虾腹部、头胸甲、步足、尾扇等部位病变明显, 通过活体压片镜检发现肌肉中存在大量球形包囊, 利用超显微技术对病原的形态和结构进行分析, 确定其为微孢子虫, 并对脊尾白虾的病变组织进行了病理分析。结果表明: 该微孢子虫具包囊结构, 包囊大小为  $(5.40 \pm 0.55) \mu\text{m}$ , 一个包囊内含 8 个孢子, 成熟孢子呈椭圆形, 孢子长为  $(2.30 \pm 0.25) \mu\text{m}$ , 孢子宽为  $(1.50 \pm 0.19) \mu\text{m}$ , 孢内极丝一般环绕 9~10 圈。病理分析显示, 脊尾白虾的鳃、胃、肠和肌肉内均发现微孢子虫寄生和不同程度的病变。其中, 肌肉组织病变最严重: 原肌纤维存在的空间被大量的球形包囊占据, 肌纤维断裂, 空泡数量增多, 线粒体消失; 鳃细胞膨大呈空泡状, 鳃膜坏死, 核质、细胞质和细胞器消失; 胃细胞胞浆基质电子密度增大, 孢子寄生在结缔组织中脂滴附近; 肠外膜上皮细胞核质皱缩, 部分肌层消失, 孢子寄生在肠粘膜层和肌层之间。

**研究亮点:** 有关脊尾白虾因寄生虫引起疾病的研究较少, 本文首次报道了脊尾白虾微孢子虫病的临床症状, 分析了病原的形态结构、寄生部位以及造成的病理变化。结果为水生甲壳动物微孢子虫类寄生虫的研究提供基础数据, 为脊尾白虾微孢子虫病的防治提供理论依据。

**关键词:** 脊尾白虾; 微孢子虫; 包囊; 超微结构; 超微病理

**中图分类号:** S 917.4

**文献标志码:** A

脊尾白虾 (*Exopalaemon carinicauda*) 为我国沿海近岸广盐广温品种, 具有食性广、生长快、繁殖期长和疾病少等特点, 是我国沿海重要的混养经济虾类<sup>[1-3]</sup>。然而, 随着养殖密度逐步增加, 病害发生日渐突出<sup>[4-5]</sup>, 江苏南通地区沿海池塘中的脊尾白虾常出现肌肉白化症状, 但因发病虾的数量较少而一直未引起行业重视。直至 2012 年初, 个别虾蟹混养池塘中的脊尾白虾肌肉白化症状的发生率达到 5%~8%, 给养殖收益带来了明显影响, 才引起了脊尾白虾养殖从业人员的关注。

微孢子虫是一类专性细胞内寄生的真核生物, 目前已发现 1 500 余种, 是许多经济昆虫、水生甲壳类、鱼类及人类的致病病原。有关微孢子虫 (microsporidian) 引起养殖虾类肌肉白化病或“棉花病”的病例早有报道<sup>[6]</sup>。2009 年, 广东湛

江池塘养殖南美白对虾暴发微孢子虫病, 发生大规模死亡, 排塘率高达 80%~90%<sup>[7]</sup>。2011 年, 越南养殖斑节对虾大规模暴发微孢子虫病, 波及 4 万公顷养殖区, 部分养殖区遭受毁灭性打击<sup>[8]</sup>。但到目前为止, 微孢子虫感染脊尾白虾的研究尚未见报道, 鉴于此, 本文对患病脊尾白虾的临床症状、致病病原和组织病理进行了观察分析, 以期对微孢子虫病诊断及防治提供参考。

### 1 材料与方法

#### 1.1 材料来源

患病脊尾白虾于 2012 年 1 月采集自江苏省启东市沿海脊尾白虾和梭子蟹混养池塘, 健康脊尾白虾采自同一地区不同养殖池塘。现场固定部分活体病虾和健康虾样品, 其余麻醉后放于冰上运回实验室进行检测和处理。

收稿日期: 2013-03-13 修回日期: 2013-05-30

基金项目: 公益性行业(农业)科研专项基金(201303047)

作者简介: 王元(1987—), 男, 硕士研究生, 研究方向为水产动物病害学。E-mail: wy9501@yeah.net

通信作者: 周俊芳, E-mail: zhoulj@eastfishery.ac.cn

## 1.2 主要仪器及试剂

主要仪器为光学显微镜(OLYMPUS-BX51),透射电子显微镜(JEM-1230),Leica 超薄切片机。考马斯亮蓝 G250、无水乙醇、二甲苯、戊二醛和多聚甲醛等化学试剂均购自国药集团化学试剂公司。

## 1.3 活体检测

首先,取少量病变的肌肉,涂抹在载玻片上,盖玻片轻压以铺平肌肉,1 000×倍下镜检。然后染色观察,取一滴考马斯亮蓝液置于载玻片上,用镊子夹取上述铺平的病变肌肉在考马斯亮蓝溶液中轻轻晃洗数次,以使自由的包囊和孢子释放到染液中,加盖玻片 1 000×倍下镜检。用上述方法检测鳃、胃、肝胰腺、心脏、肠等组织。ImagePro-Plus 软件拍照及测量微孢子虫包囊和孢子大小。

## 1.4 石蜡切片制备与观察

选择肌肉发白的病虾和健康虾,分别取其头胸部和腹部放入 10% 甲醛(含磷酸盐缓冲液)中固定,经系列乙醇和丙酮脱水后移入二甲苯透明,浸蜡包埋后切片,烤干的展片经苏木精-伊红染色法(H&E 染色)染色后显微镜下观察拍照。

## 1.5 电镜样品制备与观察

选择存活的虾体,分别剪取鳃、胃、肝胰腺、心脏、中肠、肌肉等组织块(2 mm<sup>3</sup>)迅速放入含有 2.5% 戊二醛和 2% 多聚甲醛的磷酸缓冲液(0.1 mol/L, pH 7.4)中,4℃固定 24 h。在 0.1 mol/L 磷酸缓冲液中 4℃漂洗过夜后再用 1% 锇酸溶液固定,经过一系列浓度的乙醇脱水,样品块用 EMBED 812 环氧树脂包埋后制备半薄切片(1 μm)和超薄切片(70 nm)。透射电镜 80 kV 电压下观察拍照。

## 2 结果

### 2.1 微孢子虫病症状

患病脊尾白虾清晨多上浮至水面,行动缓慢,游泳速度降低,反应较迟钝,但仍有少数上饵料台摄食。虾体外观症状如图版 I 所示,正常虾体具有一定的透明度,而发病脊尾白虾的头胸甲内两侧的肌肉(图版 I-3),第一触角柄部 1-2 节内的肌肉(图版 I-3),第二触角鳞片内的内收肌和外展肌(图版 I-3),第二步足掌节内的指节内收肌和指节外展肌(图版 I-4),腹部肌

肉(图版 I-5),尾节前、后屈肌和外肢内收肌、外展肌(图版 I-6),均被感染,呈现白化症状,失去透明度,色泽如棉花般,外观差异明显,易辨别。鳃透明度降低,其白化程度没有肌肉明显(图版 I-2)。解剖检查,胃、肠、心脏、肝胰腺颜色与正常相比无明显差别。

### 2.2 微孢子虫的结构

#### 2.2.1 显微结构

取发病虾鳃、肝胰腺、心脏、胃、肠、肌肉等器官或组织,用 PBS(pH 7.4, 0.2 mol/L)缓冲液清洗后涂片镜检,发现肌肉中存在大量的微孢子虫包囊(图版 II-1)。包囊呈球形,包囊膜内含有 7~8 个椭圆形的孢子,新鲜的孢子具有折光性(图版 II-1 插图)。光镜下测量包囊大小为(5.40±0.55) μm,孢子长为(2.30±0.25) μm,孢子宽为(1.50±0.19) μm,包囊和自由孢子经考马斯亮蓝染色后变成蓝色,图版 II-2 插图所示为一个经风干处理后的包囊,其内可见 8 个孢子。病虾鳃、肝胰腺、心脏、胃和肠中未发现微孢子虫包囊或孢子。

#### 2.2.2 超微结构

图版 III 的超微结构进一步明确该病原为微孢子虫。孢子在包囊内生长发育(图版 III-1),成熟孢子具孢壁、质膜、固定盘、极管、极体、核、后极泡等结构。孢壁 3 层,包括电子致密的外壁、电子透明的内壁以及质膜(图版 III-2),孢壁厚约(0.120±0.024) μm,固定盘处的孢壁最薄(图版 III-3)。后极泡位于极管之间,靠近孢子末端处(图版 III-4)。极体薄片层状,由致密区域和疏松区域两部分组成(图版 III-6)。极管是微孢子虫重要的细胞器(也称为极丝),极管的直径部分(柄状体)被极体包围(图版 III-5,6),其余部分围绕孢内壁螺旋形盘绕卷曲(图版 III-7),最多 9~10 圈(图版 III-8),直径为(95±8.5) nm。核为卵圆形,位于孢子中部(图版 III-2,5)。

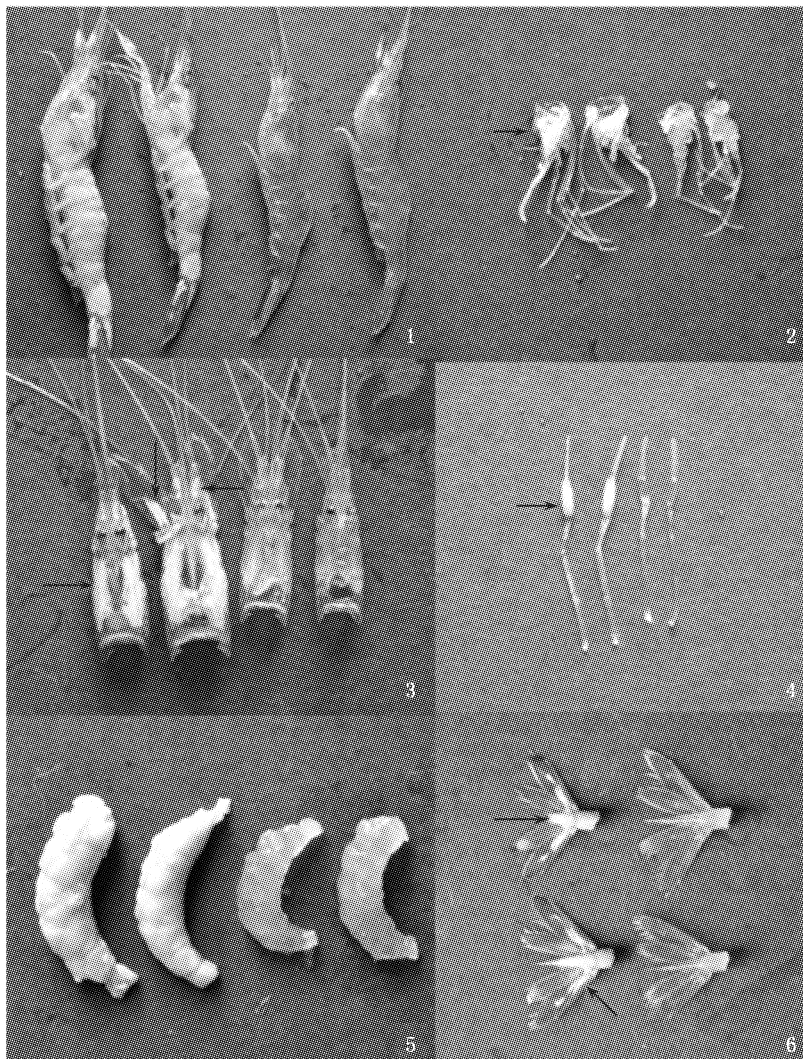
### 2.3 微孢子虫病的病理

#### 2.3.1 组织病理

各组织病理切片显示,肌肉中发现大量微孢子虫存在,鳃、胃、肠、心脏、肝胰腺在光镜下均未发现,其中,肌肉病变最为严重,鳃其次。鳃腔体积变大;角质层与鳃膜分离,部分呼吸上皮细胞坏死;部分鳃膜坏死,膜结构模糊;细胞核肿大,

核质浓缩,后期核裂解消失,细胞呈空泡状(图版 IV-1)。肌纤维被严重破坏,大部分溶解消失,

大量淡绿色的球形包裹占据其内,肌细胞核收缩,染色加深(图版 IV-3)。



图版 I 发病脊尾白虾与健康脊尾白虾

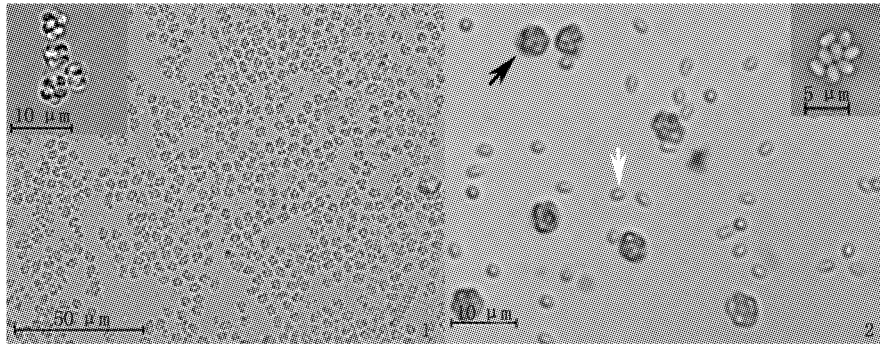
Plate I The diseased *Exopalaemon carinicauda* and healthy *Exopalaemon carinicauda*

1. 全虾对比,左边2个为被感染的脊尾白虾,右边2个为未感染的脊尾白虾,以下对照方式相同; 2. 鳃部对比; 3. 头胸甲(向右箭头),第二触角鳞片(向下箭头),第一触角(向左箭头),对比; 4. 第二步足对比; 5. 腹部肌肉对比; 6. 尾节(向右箭头)和外肢(向左上方箭头)对比。

### 2.3.2 超微病理

各超微病理切片显示,除肌肉中存在大量微孢子虫外,鳃、胃、肠内也发现少量微孢子虫寄生,其中,鳃内寄生的数量最少。鳃轴内细胞膜变薄,细胞膨大,细胞质中出现大量大小不均的小泡。叶状鳃丝内上皮细胞线粒体、高尔基体、糖原颗粒等典型细胞器消失,末期细胞质完全消失,细胞膜溶解,细胞核内染色体边缘化和细胞核裂解,细胞死亡呈空泡状(图版 V-1,2)。胃

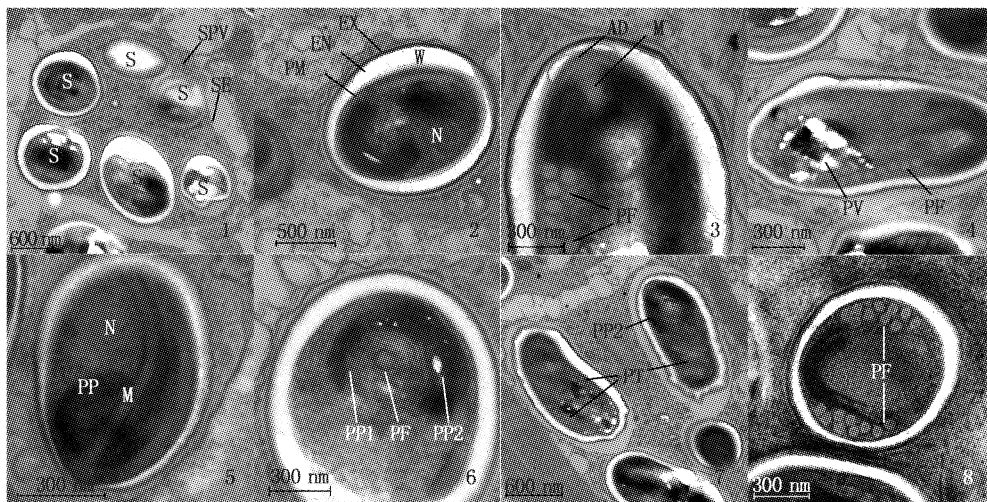
细胞内膜包小泡多破碎不完整,胞浆基质电子密度增大,染色加深,孢子寄生在结缔组织中脂滴附近(图版 V-3,4)。肠外膜上皮细胞核质皱缩,细胞质与细胞器均消失,肌层溶解消失,微孢子虫寄生在肠粘膜层和肌层之间(图版 V-5,6)。肌肉肌丝排列疏松,肌纤维断裂,空泡数量增多,线粒体消失,原有的肌原纤维空间被大量微孢子虫占据(图版 V-7,8)。



图版 II 微孢子虫的显微结构

Plate II The microstructure of microsporidian

1. 自然状态的微孢子虫,插图为四个包裹; 2. 经考马斯亮蓝染色后的微孢子虫,插图为风干后的包裹。



图版 III 微孢子虫超微结构

Plate III The ultrastructure of microsporidian

1. 单个包裹,示6个孢子及包裹膜,标尺为0.5 μm; 2. 孢壁的超微结构,示孢外壁、孢内壁、质膜,标尺为500 nm; 3. 孢子前端纵切,示固定盘、柄状体和极丝,标尺为300 nm; 4. 孢子纵切,示后极泡和极丝,标尺为0.2 μm; 5. 孢子前端斜纵切,示柄状体、极体和核,标尺为300 nm; 6. 孢子前端横切,示极体及极丝,标尺为300 nm; 7. 极管排列方式,标尺为0.5 μm; 8. 极丝圈数,标尺为200 nm。SPV. 包裹; SE. 包裹膜; S. 孢子; W. 孢壁; EX. 孢外壁; EN. 孢内壁; PM. 质膜; N. 核; M. 柄状体; AD. 固定盘; PP. 极体; PP1. 极体的疏松区域; PP2. 极体的致密区域; PF. 极丝; PT. 极管。

### 3 讨论

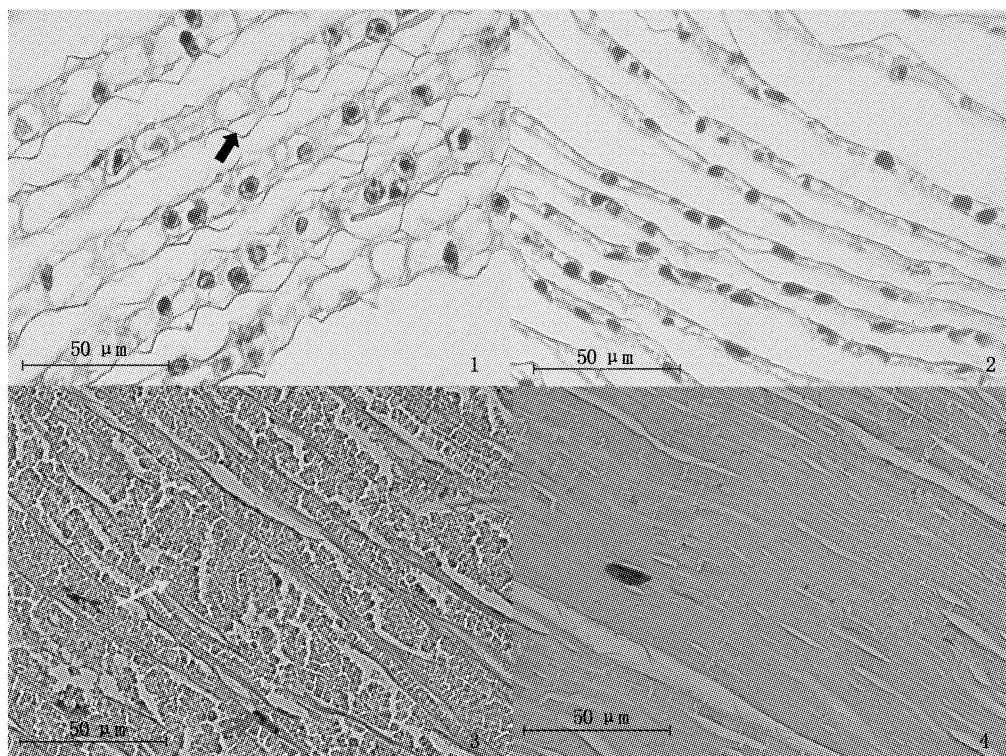
目前国内已报道的虾类肌肉发白的病例有许多,造成原因也多种,如细菌<sup>[9-10]</sup>、病毒<sup>[11-12]</sup>、环境条件<sup>[13]</sup>等均能致使虾类肌肉变白,这些报道多为罗氏沼虾、中国明对虾和南美白对虾,而有关脊尾白虾肌肉发白的报道很少。到目前为止,仅许文军等<sup>[4]</sup>报道了因感染血卵涡鞭虫造成的脊尾白虾肌肉白浊。本文综合显微和亚显微观察结果,病原的大小、形态及内部结构均符合微孢子虫的特征,因此确定该病原属于微孢子虫类寄生虫。通过对血卵涡鞭虫和微孢子虫造成的外观症状对比,我们发现,不同病原感染后的发白症状存在差异:血卵涡鞭虫感染后的肌肉颜色

发白,部分溶解呈液化状,表现出明显的浊感,但并非完全不透明;而微孢子虫感染后的肌肉颜色如同棉花般雪白,肌肉轻微发硬但不液化,且完全失去透明度。而且,目前国外多用“white”来形容微孢子虫感染后的肌肉外观<sup>[14]</sup>,很少用“turbid(浊)”等意思的形容词来描述。基于上述分析,我们认为微孢子虫引起的肌肉发白症状应称为“肌肉白化”更为恰当。根据中华人民共和国水产行业标准《水生动物疾病术语与命名规则 第2部分:水生动物疾病命名规则》,本文建议将该病命名为“脊尾白虾肌肉微孢子虫病”,以与其它导致虾类肌肉发白的疾病区别。

肌肉白化是患病脊尾白虾最明显的临床症状,这与南美白对虾<sup>[15]</sup>、斑节对虾<sup>[16]</sup>等多种虾类

感染微孢子虫后的症状相似。病虾腹部、尾扇、第二触角鳞片、游泳足等部位与虾游泳行为有关<sup>[17-18]</sup>,这些部位内的肌肉因被微孢子虫侵蚀,肌纤维断裂,肌节被破坏,正常的收缩与伸展功能受影响,当面临危险时虾正常的弹跳动作受阻,虾游速降低。严重感染者则表现为游动缓慢,反应迟钝。第一触角和第二步足与虾的摄食行为密切相关,虾通过肌肉牵引第一触角摆动以

感知水流、气味、温度等<sup>[19]</sup>,依靠指节张开和收紧夹取食物,微孢子虫寄生于触角腺和步足的肌肉内,影响虾觅食。鳃是虾重要的呼吸器官,微孢子虫寄生于鳃细胞内,破坏正常的生理功能,导致虾易缺氧,故在池塘氧气条件不佳时(如清晨)虾浮游于水面,这与长毛对虾感染微孢子虫后的症状近似<sup>[20]</sup>。



图版IV 感染微孢子虫的脊尾白虾组织病理症状

Plate IV The histopathology of infected ridgetail white prawn

1. 角质层(黑色箭头),鳃膜(黄色箭头); 2. 正常鳃; 3. 肌纤维间的微孢子虫(黄色箭头),肌细胞核(蓝色箭头); 4. 正常肌肉。

病虾的肌肉在光学显微镜(包括活体检测和组织病理)和透射电子显微镜下均发现大量的微孢子虫,心脏和肝胰腺在光学显微镜和透射电子显微镜下均未发现寄生虫存在,而鳃、胃和肠这些器官在透射电子显微镜下也观察到少量微孢子虫,因此,确定脊尾白虾的鳃、胃、肠和肌肉被感染。心脏和肝胰腺内未发现,这可能与微孢子虫本身有关,不同微孢子虫对寄主及寄生部位有特殊的选择性<sup>[21]</sup>,微孢子虫 *Loma salmonae* 能感染太平洋鲑鱼的肾、心脏、脾脏、肝脏和鳃等多个部位<sup>[22]</sup>,微孢子虫 *Myospora metanephrops* 主要侵袭海螯龙虾肠、心脏和躯干内的肌原纤维<sup>[23]</sup>,微

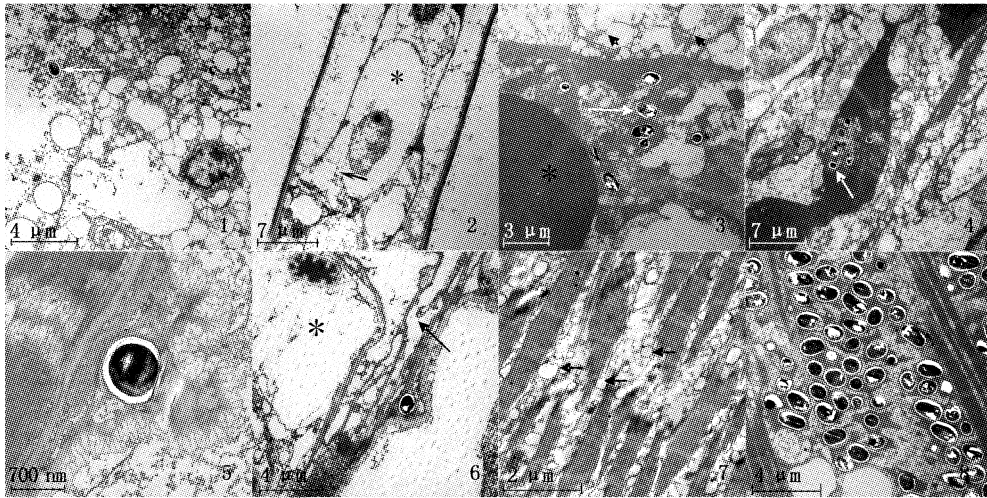
孢子虫 *Enterocytozoon hepatopenaei* 仅感染斑节对虾的肝胰腺<sup>[24]</sup>。本文中脊尾白虾微孢子虫侵入肌细胞后,在肌纤维间大量繁殖,肌纤维被挤压、移位、断裂、溶解转变成其他物质,最终大量微孢子虫占据其内,说明肌肉应是其侵染的主要靶组织。

超微结构显示,包裹并非一个由囊膜构成的空泡,其内部含有具有一定电子密度的物质,类似于细胞的细胞质,这说明孢子并不与寄主细胞的细胞质直接接触,其生长发育可能与这些物质有关。微孢子虫种类繁多,包裹形状也各异,如球形、纺锤形和椭圆形,其中,球形种类较多常



见,纺锤形种类(如 *Chapmanium* 属)或椭圆形种类(如 *Telomyxa gluceiformis*)较为少见。孢壁由外壁、内壁和质膜 3 部分组成。孢外壁较薄,主要成分为蛋白质,故经考马斯亮蓝染色后可变成蓝色;孢内壁较厚,电子致密度明显低于外壁,主要成分为几丁质<sup>[25]</sup>,具有选择通透性;质膜为纤

维性内层,将孢子壁与孢原质隔离开。孢壁是微孢子虫抵御外界环境胁迫的重要屏障,其能够保护孢子长期存活。观察发现有些孢子孢壁光滑有些则褶皱,这可能与孢子的成熟度有关<sup>[23]</sup>,成熟孢子的孢壁光滑(图版Ⅲ-2),未成熟孢子的孢壁部分皱褶(图版Ⅲ-7)。



图版 V 感染微孢子虫的脊尾白虾超微病理症状

Plate V The ultrastructural pathology of infected ridgetail white prawn

1. 鳃内的成熟孢子(白色箭头); 2. 细胞膜破裂(黑色箭头), 细胞器及细胞质均消失成空白(星号); 3. 胃细胞内脂滴(白色星号), 孢子(白色箭头), 膜泡小泡(黑色箭头); 4. 细胞间质(白色星号)中的微孢子虫(白色箭头); 5. 后肠组织粘膜层和肌层之间的微孢子虫; 6. 肠外膜上皮细胞细胞质(星号)和肌层(箭头)消失; 7. 肌原纤维间的小泡(黑色箭头); 8. 肌原纤维间的微孢子虫。

极丝一般在孢子形成的初期就已经出现,细管状,非中空,管内含有具有一定致密度的物质。极丝最初被认为是实心的细胞器<sup>[26]</sup>,而 OHSHIMA<sup>[27]</sup>发现射出的极丝末端出现一个流动团块(位于孢子内的孢原质),故认为极丝应为中空结构,如此才可排出孢原质。随后 KUDO 和 DANIELS 研究证明极丝是一个管状结构<sup>[28]</sup>,并对极丝的排列方式进行了推测,他认为成熟的极丝螺旋盘绕于孢子内,此观点已被广泛接受。许多研究表明极丝(极管)在侵染宿主细胞过程中起关键作用<sup>[29]</sup>。极体、极丝和后极泡三者共同组成孢子的挤出器<sup>[30]</sup>,孢子发芽时,极丝经适当的刺激而活化,同时,极体与钙离子发生作用进而膨大,孢子内压力增加,致使极丝从孢子壁最薄处(固定盘)“破壳而出”并同时外翻射出并刺入宿主细胞内,后极泡膨大扩张,将孢原质压入正在外翻的极管中,经中空的极管排入宿主细胞质中,继而在宿主体内生长增殖。

微孢子虫典型孢子形状主要有 4 种:椭圆形、梨形、球形和棍棒形。其中,以椭圆形和梨形较为普遍。椭圆形常见于 *Enterocytozoon* 属和 *Nasema* 属,梨形常见于 *Gurleya* 属和 *Agglomerata* 属,球形常见于 *Pilosporella* 属和 *Chytridiopsis* 属。棍棒形孢子比较少见,如 *Nadelspora* 属,可感染蟹,外形细长,似针状。此外,微孢子虫还有马蹄形(如 *Toxoglugea* 属和 *Toxospora* 属)、长颈烧瓶形(如 *Cougourdella* 属)等形状。本文中感染脊尾白虾的微孢子虫孢子椭圆形,具 8 孢子型包囊,单核,极丝 9~10 圈,此特征与可以感染虾类 *Thelohania* 属微孢子虫相似。由于目前微孢子虫分类主要依据染色体周期和生活史,以及典型种的典型宿主、传播方式、感染部位、界面、寄生虫-寄主细胞关系、模式产地等诸多特性信息,同时还需微孢子虫的分子生物学信息进行辅助<sup>[31]</sup>,所以依据包囊及孢子等方面的信息尚不能准确的确定该微孢子虫的分类地位,其具体种属问题将

是进一步研究的重点。

### 参考文献:

- [1] 杨国财. 锯缘青蟹、脊尾白虾和缢蛭生态养殖试验[J]. 齐鲁渔业, 2010(8): 23-24.
- [2] 吴国均, 张曹进, 任忠宏, 等. 脊尾白虾、三疣梭子蟹和黑鲷的混养试验[J]. 水产养殖, 2012(3): 10-12.
- [3] 卢新民, 章海鑫, 阮记明. 脊尾白虾与梭子蟹混养高产中的肥水问题[J]. 当代水产, 2010(11): 61-62.
- [4] 许文军, 谢建军, 施慧, 等. 池塘养殖脊尾白虾(*Exopalaemon carinicauda*)感染血卵涡鞭虫的研究[J]. 海洋与湖沼, 2010, 41(3): 396-402.
- [5] 李新苍, 周俊芳, 房文红, 等. 实用 WSSV 定量检测方法的建立及其应用于脊尾白虾病毒感染规律的研究[J]. 水产学报, 2012, 36(10): 1554-1562.
- [6] 国际翔, 王丽霞, 李文清, 等. 中国对虾微孢子虫病的电镜观察[J]. 海洋科学, 1995(2): 67-70.
- [7] 吴兴泰. 南美白对虾微孢子虫病的防治方法[J]. 海洋与渔业, 2010(6): 41-42.
- [8] 胡大胜. 越南大规模暴发对虾疾病[J]. 水产前沿, 2011(7): 18-19.
- [9] 姜兰, 邓国成, 石存斌, 等. 罗氏沼虾肌肉白浊病原研究[J]. 水生生物学报, 2002, 26(5): 477-482.
- [10] 纪荣兴, 邹文政, 鄢庆彬, 等. 凡纳滨对虾“肌肉白浊病”病原的初步研究[J]. 集美大学学报: 自然科学版, 2008, 13(3): 210-214.
- [11] 陆宏达, 陈海清. 罗氏沼虾肌肉白浊病的病原和组织病理[J]. 中国水产科学, 2003, 10(2): 126-132.
- [12] 钱冬, 石正丽, 曹铮, 等. 罗氏沼虾苗种肌肉白浊病诺达病毒的分离和特性研究[J]. 中国水产科学, 2003, 10(6): 457-461.
- [13] 杜开和, 王文, 王沼锦, 等. 患“白体病”罗氏沼虾腹部肌肉病变的超微结构[J]. 中国水产科学, 2002, 9(4): 300-303.
- [14] RAMASAMY P, JAYAKUMAR R, BRENNAN G P. Muscle degeneration associated with cotton shrimp disease of *Penaeus indicus*[J]. Journal of Fish Diseases, 2000, 23: 77-81.
- [15] PRASERTSRI S, LIMSUWAN C, CHUCHIRD N. The effects of microsporidian (*Thelohania*) infection on the growth and histopathological changes in pond-reared Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) [J]. Kasetsart Journal: Natural Science, 2009, 43: 680-688.
- [16] 王维娜, 王安利, 陈丽. 斑节对虾体内微孢子虫的超微结构[J]. 动物学报, 2001, 47(专刊): 78-81.
- [17] DALL W, HILL B J, BOTHLISBERG P C, et al. The biology of the penaeidae[J]. Advances in Marine Biology, 1990, 27: 7-23.
- [18] YOUNG J H. Morphology of the white shrimp *Penaeus setiferus* (Linnaeus, 1758) [R]. Fishery Bulletin, 1959, 59: 1-131.
- [19] 章颖慧, 张东, 林俊达, 等. 日本沼虾第一触角感受器的形态和分布[J]. 水产学报, 2008, 32(6): 825-830.
- [20] 苏亚玲. 对虾匹里虫超微结构观察[J]. 齐鲁渔业, 2008, 25(7): 9-10.
- [21] HAINE E R, BRONDANI E, HUME K D, et al. Coexistence of three microsporidia parasites in populations of the freshwater amphipod: evidence for vertical transmission and positive effect on reproduction [J]. International Journal for Parasitology, 2004, 34: 1137-1146.
- [22] BECKER J A, SPEARE D J. Transmission of the microsporidian gill parasite, *Loma salmonae* [J]. Animal Health Research Reviews, 2007, 8(1): 59-68.
- [23] STENTIFORD G D, BATEMAN K S, SMALL H J, et al. *Myospora metanephrops* (n. gn., n. sp.) from marine lobsters and a proposal for erection of a new order and family (Crustacea: Myosporidae) in the Class Marinosporidia (Phylum Microsporidia) [J]. International Journal for Parasitology, 2010, 40: 1433-1446.
- [24] TOURTIP S, WONGTRIPOP S, STENTIFORD G D, et al. *Enterocytozoon hepatopenaei* sp. nov. (Microspora: Enterocytozoonidae), a parasite of the black tiger shrimp *Penaeus monodon* (Decapoda: Penaeidae): Fine structure and phylogenetic relationships [J]. Journal of Invertebrate Pathology, 2009, 102: 21-29.
- [25] 廖模祥, 刘吉平, 郝娟, 等. 2种野外昆虫来源微孢子虫的超微结构及生活史观察[J]. 蚕业科学, 2011, 37(1): 134-137.
- [26] HUGER A. Electron microscope study on the cytology of a microsporidian spore by means of ultrathin sectioning [J]. Journal of Insect Pathology, 1960, 2(81): 84-105.
- [27] OHSHIMA K. On the function of the polar filament of *Nosema bombycis* [J]. Parasitology, 1937, 29(2): 220-224.
- [28] KUDO R R, DANIELS E W. An electron microscope study of the spore of a microsporidian, *Thelohania californica* [J]. Journal of Eukaryotic Microbiology, 1963, 10(1): 112-120.
- [29] FRANZEN C. Microsporidia: how can they invade other cells [J]. Trends in Parasitology, 2004, 20(6): 275-279.
- [30] 陈广文, 陈曲侯. 甜菜夜蛾微孢子虫研究: IV. 孢子挤出器的超微结构[J]. 动物学报, 2001, 47(5): 573-577.
- [31] 鲁兴萌, 金伟. 微孢子虫分类学研究进展[J]. 科技通报, 1999, 15(2): 119-125.

## Pathogenic and pathological analysis of the muscular microsporidiasis of *Exopalaemon carinicauda*

WANG Yuan<sup>1,2</sup>, FANG Wen-hong<sup>1</sup>, ZHOU Jun-fang<sup>1</sup>, LI Xin-cang<sup>1</sup>, LIU Qiang<sup>1,2</sup>

(1. Key and Open Laboratory of Marine and Estuarine Fisheries, Ministry of Agriculture, East China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fisheries Science, Shanghai 200090, China; 2. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

**Abstract:** Marine cultured ridgetail white prawn, *Exopalaemon carinicauda*, in Qidong, Jiangsu province showed a typical sign of muscle whitening. The muscle in abdomen, cephalothorax, pereopoda and tail fan all exhibited clearly pathological changes. Microscopical examination of fresh muscle demonstrated that there were lots of spherical cysts in the tissue. Further, morphological and structural analysis confirmed that the pathogen belonged to the species of microsporidian by using ultramicroscopic technique. Specifically, the pathogen was characterized by sporophorous vesicle structure which usually contained eight spores and was  $(5.4 \pm 0.55) \mu\text{m}$  in size. The mature spores were oval-shaped, approximately  $(2.3 \pm 0.25) \mu\text{m}$  in length and  $(1.5 \pm 0.19) \mu\text{m}$  in breadth. The polar filament was wrapped around the inside of the spore into 9 – 10 coils. In addition, pathological analysis showed that the parasite invaded the gill, stomach, gut and muscle tissues of host and caused pathological changes in different degree. Among these tissues, the skeletal muscle was damaged most severely. Muscle fibres in the abdomen were largely replaced by spherical sporophorous vesicles. Myofibrils were ruptured apparently. The number of vacuoles increased and the mitochondrion disappeared. The gill tissue exhibited signs of hypertrophy, vacuolization and membrane necrosis with the disappearing of nucleoplasm, cytoplasm and organelles. Electron density of cytoplasmic matrix in the stomach cells increased obviously and spores mainly distributed around the lipid droplets in the connective tissue. Whereas in gut, the parasite mainly distributed between the submucosa and muscle layer with the nucleoplasm of epithelial cells condensed and the muscle layer being destructed.

**Key words:** *Exopalaemon carinicauda*; microsporidian; sporophorous vesicle; ultrastructure; ultrastructural pathology