

一種寄生於德國鱗鯉之孢子蟲病之初報

鍾虎雲·郭光雄*

A Preliminary Report on a Myxosoma Disease of the Scale Carp
(*Cyprinus carpio* L.)

Huu-Yun CHUNG and Guang-Hsiung Kou*

An infection of a Myxosporidian resulted in the tumor-like swelling in trunk muscle of scale carp fingerlings were found in Tao-Yuan. The infection caused more than 50% mortality of the fingerlings in 1972-1973, but only 10% or less since 1974.

The myxosporidian is found to be *Myxosoma* sp. The bivalved spore is ovoid or ellipsoid with a dimension of $12.3 \times 8.8 \times 6.0 \mu$. Each spore contains two pyriform polar capsules at one end. Polar filaments extruded by 10% KOH induction, measured $35-50 \mu$ in length. A binucleated sporoplasm can be stained clearly with hematoxylin and eosin. Lugol's iodine treatment shows no iodophilus vacuole.

Artificial infection failed through our experiments.

Susceptibility of the Myxosoma to Sulfamonomethoxine in vivo and vitro was low.

I 概 說

行政院退除役官兵輔導處桃園魚殖管理處於1957年自奧國維也納引進德國鯉魚 (*Cyprinus carpio* Linneus)——鱗鯉 (Scale carp)、革鯉 (Leather carp)、及鏡鯉 (Mirror carp) 三種。自1959年後，此三種鯉魚在每年的春天都可繁殖出大量魚苗供應業者養殖。德國種鯉魚因為生長快速，肉質鮮美厚實，而且肉間細刺比較少，故極受歡迎，目前已普遍養殖於全省各地。1973年夏天著者檢查魚管處之鯉魚苗時，發現有半數左右之魚苗體表凹凸不平，呈現極為顯著之症狀 (Fig. 1) 此後之三年間 (1974~1976)，雖然亦有同樣症狀之病魚，不過病害之比例減少，約在10%之下。著者於初步研究後確定其病因為粘液孢子蟲寄生於魚苗之肌肉內所引起。現在將有關本寄生蟲之形態，罹病魚之情況及利用 Sulfamonomethoxine 處理所得之初步結果提出，以供參考。

II 材料與方法

1. 標本之採集：自1974年4月初 (種魚開始排卵受精) 至7月初。定期由孵化池中逢機採集受精卵 (連同卵所附着之布袋蓮) 或魚苗，攜回臺大動物系之研究室中，分別置於水族箱中孵化或飼養。在6月間魚池中魚苗由外觀上可發現症狀時，則採集魚苗300~500尾，先檢出其中之病魚，進行孢子蟲及組織病理等之檢查，其餘外觀上無症狀之魚苗則攜回飼養於研究室之水族箱中。至7月間全部飼養於水族箱中之魚苗重新檢查。

2. 標本之固定，染色及組織切片之製作：部份病魚直接固定於4%之 Formalin 液或 Bouin's 液中，以備組織切片之用，切片厚 $7-8 \mu$ ，並以 Hematoxylin 及 Eosin 染色。部份病魚則剖開體側肌肉患處，收集孢子蟲之囊胞 (Xenomas)。一部份囊胞置於生理食鹽水中壓碎後，直接塗抹於玻

* 國立臺灣大學理學院動物學系

(Dept. of Zoology, College of Science, National Taiwan University)

Table II. The natural incidence of infection by *Myxosoma* sp. in Tao-Yuan

Date	Total fish examined	No. of diseased fish	Infection ratio (%)
Jun. 10	40	5	12.5
Jun. 12	1395	146	10.4
Jun. 20	397	87	22.3
Jun. 26	741	208	28.1
Jul. 3	116	36	31.0

(18.1%+10.4%) 及 58.0% (35.7%+22.3%) 之多。

2. 病魚之觀察：孢子蟲在病魚背部之肌肉中繁殖成囊胞 (Xenomas) (Fig. 2) 造成體表腫凸之症狀。有些症狀較輕之病魚，外表雖然沒有腫起來，但仔細觀察時則仍然可以看出皮膚下之肌肉有白色之囊胞。囊胞之形狀及大小略有差異；直徑約在 1~8 mm 間，多數分散存在，少數則重疊。囊胞內除孢子外尚含白色乳狀液。

3. 孢子之觀察：在新鮮塗抹標片及電子鏡下可看到孢子呈卵圓形或橢圓形 (Fig. 3 及 4)，其寬度為 6.7 μ ~13.8 μ ，平均為 12.3 μ ，長度為 6.9 μ ~10.2 μ ，平均為 8.7 μ ，厚度則約為 6 μ 。孢子由兩片外殼所成，接縫處有脊 (ridge)，孢子之前端有極囊 (polar capsule) 兩個，長為 4.0~4.5 μ ，寬為 3.0~3.5 μ 內有極絲 (polar filament) 纏繞，極絲長 35~50 μ (Fig. 5)。二極囊間之下方有雙核之孢子質 (sporoplasm)，可染上 Hematoxylin 及 Eosin。利用 Lugol's 碘液染色時，未見嗜碘泡 (Iodinophilous vacuole) 之存在。由以上之結果按 Kudo 之分類⁽¹⁾，此孢子蟲為 *Myxosoma* 屬之一種。

4. 人工感染試驗：供試之 60 尾魚苗在 36 天之飼養時間內，可能由於水質不良之原因，均先後死亡。死亡後進行外表及解剖之觀察，均未見任何感染之症狀。又檢查部份魚體之橫切面連續組織切片，亦未能在肌肉或內臟器官中發現囊胞之存在。

5. 孢子蟲對於磺胺劑 Sulfamonomethoxine 之感受性試驗：體內及體外試驗結果如 Table III 及 IV 所示。不論是體外或體內試驗，孢子蟲對此藥劑之感受性均不高。體內試驗之第 50 日時，各濃度中魚的存活率幾無差異，50 ppm 處理之鯉苗尚存 4 尾，其中 1 尾治愈，1 尾之孢子囊胞萎縮，另 2 尾則症狀依然甚為顯著，100 及 150 ppm 之鯉苗各活存 4 及 3 尾，全部之體表依然腫凸，200 ppm 處理之魚活存 4 尾，其中 2 尾症狀完全消失，另外 2 尾則僅略為可見腫凸。在體外試驗中，除 200 ppm 之濃度外，其餘各種濃度之孢子蟲感受性與蒸餾水中之結果極為接近。

Table III. Susceptibility of *Myxosoma* to Sulfamonomethoxine in vivo

Conc. of Sulfamonomethoxine (ppm)	No. of diseased fish test	No. of fish survived	Condition of fish after 50 days treatment
50	10	4	1 cured, 1 found shrunk xenomas in muscle. 2 with notable symptom.
100	10	4	All with notable symptom.
150	10	3	All with notable symptom.
200	10	4	2 cured, 2 found shrunk xenomas in muscle.

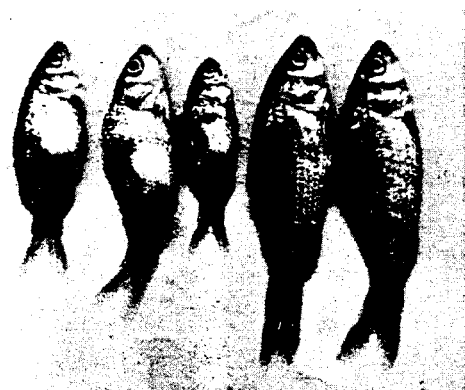


Fig. 1. Scale carp fingerlings, (Left three) Myxosoma disease, (Right two) Normal.

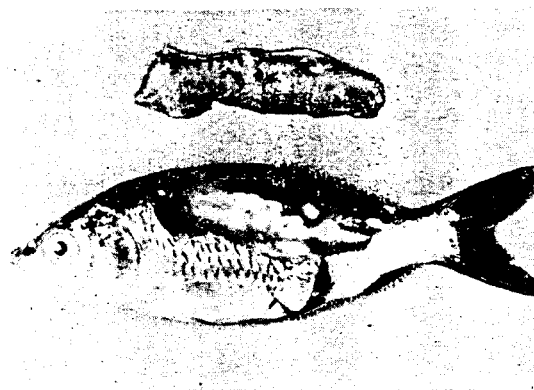


Fig. 2. Xenomas in muscle of Diseased fingerling.



Fig. 3. Spores of Myxosoma sp. (1000 \times).

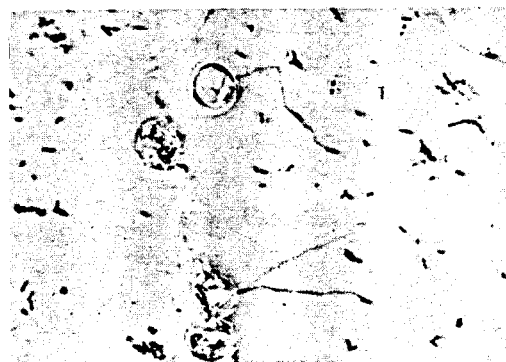


Fig. 4. Polar filaments extrude. (400 \times).



Fig. 5. Spores of Myxosoma sp. (5000 \times). T. E. M.

Table IV. Susceptibility of *Myxosoma* to Sulfamonomethoxine in vitro

Conc. of Sulfamonomethoxine (ppm)	No. of spores examined	No. of spores survived	Survival rate (%)
0	109	106	97.25
50	105	100	95.24
100	101	99	98.02
150	103	100	97.09
200	122	108	88.25

IV 討 論

寄生於魚類孢子蟲絕大部份是屬於刺絲孢子蟲 (Cnidosporidia) 類，此類孢子蟲之特徵除多核外都有極絲 (polar filament) 之構造，較之其他各類孢子蟲似更為進化，故目前分類學家多主張將 Cnidosporidia 分出，另立一綱，以示別與一般孢子蟲 (Sporozoa) 綱。

本孢子蟲，就其形態及大小而言與我國黑龍江 (Amur river)，所產鯉魚消化管壁及腎臟內所寄生之 *Myxobolus artus* Achemerov⁽²⁾ 極為相似，唯因不具有嗜碘泡故顯然與其並非同屬。依現有之資料，尚無法查出與此相同之種，故本種孢子蟲顯然是新種，日本東京大學江草教授曾建議命名為 *Myxosoma taiwanica*，但因尚缺乏其生活史之完整資料，未敢冒然定名。

德國鱗鯉罹患此種孢子蟲之病魚，外觀症狀之出現雖然是在六月間，但其感染之時期必然早在四月間，魚苗孵化後之短期內，蟲體已侵入魚體內，此可由 Table I 之結果看出來；Table I 顯示不僅卵在孵化以前不會感染此寄生蟲，同時也顯示，蟲體是由於魚苗一開始覓食時侵入魚體內，因為攜回研究室之剛孵化之魚苗，雖經三個月之飼育，仍未見有症狀出現，連續組織切片亦未發現魚體內有蟲體。Putz 等 (1966)⁽³⁾ 曾報告鱒魚苗在孵化後第三天，如果置於迴旋病 (whirling disease) 已確立之水族箱中即可受 *Myxosoma cerebralis* 感染。由 Table I 及 II 之結果又可推測四月末時之感染率較四月中旬時之感染率為大，此可能因水溫升高，魚苗攝食力增強而攝進孢子蟲之機會亦增大所致，唯尚須進一步之證實。

德國鱗鯉之繁殖除桃園地區外，竹北水產試驗分所及南部之烏山頭水庫均曾進行，但孵化之魚苗，迄未發現有此種病害發生，可謂是一種地區性之病害，僅發現於桃園及鶯歌地區。桃園魚管處每年均利用不同之池塘作孵化池，但其水源相同，而每年都發生這種病害。著者曾經利用該處水泥地二口作魚卵孵化，以地下水為水源，結果並未發現病魚，由這些資料可推測桃園地區之此種孢子蟲病可能與池水之水源或池之底泥有關；著者曾以發病池之底泥舖於水族箱中，飼育魚苗亦未發現有病魚出現，因此著者推測魚苗罹病之主要原因為水源，但有關此點問題有待進一步的探討。Leith 等 (1967)⁽⁴⁾ 及 Bedell (1971)⁽⁵⁾ 亦曾指出虹鱒之孢子蟲 *Ceratomyxa shasta* 症如果能事先處理水源時則感染率可大為降低。Schafer (1968)⁽⁶⁾ 及 Sanders 等 (1970)⁽⁷⁾ 曾推測 *C. shasta* 及其他生活史類似之寄生蟲症均為由水傳播該寄生蟲之感染期蟲體 (infective stage)。故在孵化池中利用紫外線等方法處理用水之措施^(8,9) 頗值吾人借鏡。

重症之鱗鯉孢子蟲之囊泡不但存在於背部肌肉中，有時在鰓蓋處亦可發現，唯內臟器官中則從未發現。如果此蟲並未對魚體造成致命之病變，到了冬季水溫降低時，腫大之孢子囊胞常消失不見，但解剖魚體檢查時，在靠近脊椎兩旁之肌肉深處還常可發現少數萎縮之囊胞存在。早在 1917 年時 Hahn⁽⁹⁾ 即已證實肌肉中寄生之 *Myxobolus pfeifferi* 有自然痊癒之現象。

Uspenskaya⁽¹⁰⁾ 曾於 1963 以 *Myxosoma cerebralis* 之孢子灌入虹鱒之幼魚胃中，而成功地完成人工感染，而 Summerfelt (1964)⁽¹¹⁾ 以罹患 *Notemigonus crysoleucas* 之病魚之卵巢餵飼 Golden

shiner 時，則無法達成人工感染。Hoffman^(10,12) 等將 *Myxosoma cerebralis* 之孢子及底泥放置於水族箱中，四個月後再放入魚苗，亦可成功地達成人工感染。但未經久置 aging 之新鮮孢子則無感染能力。鱗鯉 *Myxosoma* 之感染是否亦須經此 aging 之處理尚待研究。

Ripson (1944)⁽¹³⁾ 曾證實孢子蟲 *Eimeria tenella* 對於多種磺胺劑均有感受性，尤其是 Sulphadiazine 對於 *E. tenella* 之無性及有性繁殖均有抑制之效。栗倉輝彥等 (1967)⁽¹⁴⁾ 曾試驗過五種磺胺劑對於 Salmonoid fishes 之 Plistophora 症有抑制孢子繁殖及提高病魚活存率之效果，但在本研究中 Sulfamonomethoxine 之效果則甚低。

最令人困惑的是同時繁殖亦共同飼養的同種鯉魚中的革鯉 (Leather carp) 鏡鯉 (Mirror carp) 及本地土產種鯉魚均完全不受該種孢子蟲之感染，此種寄生上的高度種別性差異值得吾人進一步的探討。

謝 詞

本研究得中國農村復興委員會之支持始得完成，又標本之採集承退役官兵輔導會桃園魚殖處之幫忙，孢子蟲電子顯微鏡之照像由輔仁大學生物系王重雄副教授協助製作，謹致以最大謝忱。

參 考 文 獻

1. KUTO R. RICHARD. 1954. Protozoology 4th ed. p. 643-600. Charles c. Thomas publisher Springfield, Illinois U. S. A.
2. BYCHOWSKY, B. E. 編・佐野德夫譯, 1968. 魚類寄生蟲原動物篇 p. 102-104, 恆星社, 厚生閣版。
3. PUTZ, R. E., and G. L. HOFFMAN, 1966. Earliest susceptible age of rainbow trout to whirling disease. Prog. Fish. Culturist. 28(2): 82.
4. LEITH, D. A., and K. D. MOORE, 1967. Pelton pilot hatchery progress report Nov. 1966 through Oct. 1967. Oregon Fish Commission, Research Division. Processed. 50 p.
5. BEDELL, G. W. 1971. Eradicating *Ceratomyxa shasta* from infected water by chlorination and ultraviolet irradiation. Prog. Fish. Cult. 33(10): 51-54.
6. SCHAFER, W. D. 1968. Studies on the Epizootiology of the myxosporidian *Ceratomyxa shasta* Noble. California Fish and Game, 54: 90-99.
7. SANDERS, J. E., J. L. FRYER and R. W. COULD. 1970. Occurrence of the myxosporidian parasite, *Ceratomyxa shasta*, in Salmonid fish from the Columbia River Basin and Oregon coastal streams. A symposium on Diseases of Fish and Shellfishes. American Fisheries Soc. Special publication. No. 5: 133-141.
8. SANDERS, J. E., J. L. FRYER, D. A. LEITH, and K. D. MOORE. 1972. Control of the infectious protozoan *Ceratomyxa shasta* by treating hatchery water supplies. Prog. Fish. Cult. 34(1): 13-17.
9. HAHN, C. W. 1917a. On the Sporozan parasites of the fishes of Woods Hole and vicinity. 1. Further observation on *Myxobolus musculi* from Fundulus. J. parasit. 3(3): 91-104.
10. HOFFMAN, G. L. and ROBERT E. PUTZ, 1969. Host susceptibility and the effect of aging, freezing, heat, and chemicals on spores of *Myxosoma cerebralis*. Prog. Fish-Cult. 31(1): 35-37.
11. SUMMERFELT, R. C. 1964. A New Microsporidian parasite from the golden shiner, *Notemigonus cryoleucas*. Trans. Am. Fish. Soc., 93(1): 6-8.
12. HOFFMAN, G. L., and ROBERT E. PUTZ. 1971. Effect of freezing and aging on the spores of *Myxosoma cerebralis*, the causative agent of salmonid whirling disease. Prog. Fish-Cult., 33(2): 95-98.
13. RIPSON, C. A. 1944. Effects of various sulphadiazine drugs on the protozoan parasite, *Eimeria tenella*. J. Parasit., 30(2): 6.
14. 栗倉輝彥・倉橋澄雄, 1967. Studies on the Plistophora Disease of Salmonoid Fishes-III. On prevention and control of the disease.