

鰻腎黏孢子蟲之組織病理和組織化學研究

黃仲嘉¹·羅竹芳²·王重雄²·盧伯爾²

A Histopathological and Histochemical Study on a Myxidium in the Eel Kidney

C. C. HUANG, C. F. LO, C. H. WANG and Rev. F. HUBER

A diffuse, histozoic myxidian parasite was observed in the interrenal tissue in the caudal kidney of cultural eels. This parasite could be a causal factor of the swollen kidney disease of the this fish. The mature fusiform spore measured $10 \times 5 \times 5 \mu$ in dimension. There was a spherical polar capsule in both tapered extremities. The sporal valve gave positive periodic acid Schiff reaction but negative Feulgen's nuclear reaction and stained golden yellow in Mallory triple stain. The control of this infectious disease was discussed.

前 言

近年來屏東地區養鰻池多次出現肛門口後部位腫脹成大小不同球狀之病鰻。據鰻池管理員敘述，此等病鰻急促迴游池水表面；捕撈隔離，不逾日即死亡。大小病魚一般發育尚正常，除前述局部腫脹外並無其他明顯外表異徵。急促迴游極可能為腎腫惡化瀕死之先兆。剖視此等死鰻或病鰻，其後腎有腫脹病徵，郭光雄 (Kou, 1976) 稱之為鰻腎腫大病。病鰻肛門後位腫脹實為後腎腫大所致。為瞭解腎腫大病因，農復會漁業組資助本計劃從事病鰻後腎之光學顯微鏡組織病理之研究。有關腎腫大病原體之電子顯微鏡觀察報告刻撰寫中。

在腎腫病鰻之後腎組織中發現有聚集成羣落或零落之原生動物，黏孢子蟲寄生。寄生鰻屬 (Genus *Anguilla*) 之黏孢子蟲已發現 7 種：(1) *Myxidium giardi* Cèpède (1906) (Kudo, 1920)，寄生歐洲鰻 (*Anguilla vulgaris*) 之腎臟；(2) *M. anguillae* Ishii (1915) (Kudo, 1920)，寄生日本鰻 (*A. japonica*) 之皮膚；(3) *M. uchiyamae* Fujita (1927) 及(4) *M. fusiforme* Fujita (1927)，寄生日本鰻之腎臟組織；(5) *M. matsuii* Fujita (1929) (Hoshina, 1952)，寄生日本鰻之皮膚；(6) *M. illinoisense* Meglitsch (1937)，寄生北美鰻 (*A. bostoniensis*) 之腎臟結締組織中；及(7) *M. enchelypterygii* Hoshina (1952)，寄生日本鰻之鰓內。故鰻魚無分歐洲鰻、日本鰻及北美鰻，都會在其腎臟發現黏孢子蟲之寄生。李媽彬及陳秀男 (Li and Chen, 1972) 曾發現臺北士林養殖之日本鰻，其皮膚、鰓及腎分別感染黏孢子蟲。前述著作僅論列各種黏孢子蟲之形態及其感染部位。本文將描述養殖日本鰻後腎中寄生之黏孢子蟲形態，其染色特徵及腎組織病理之觀察。受黏孢子蟲感染之鰻池，不惟造成減產，亦使病鰻失去商業價值。如何預防鰻腎黏孢子蟲寄生之蔓延，乃當務之急，故將略論其預防與管理。

材料及方法

病鰻為採自屏東地區養鰻場蓄養之日本鰻 (*A. japonica*)。將顯示腎腫之病鰻用 MS222 (10 ppm)

1. 國立臺灣大學動物學系。
2. 私立輔仁大學生物學系。

水溶液麻醉，自肛門口沿腎臟縱剖露出暗紅色後腎。剪取後腎小塊用 Bouin 氏液固定 24 小時後，用 70% 酒精多次漂洗材料，以洗滌其殘留之苦味酸。材料經脫水、透明、浸蠟，然後以石蠟包埋，用迴轉式切片機切製 2 至 7 μ 之薄片，展貼玻片上。

採用下列四種複染法染製永久切片：

- (1) 蘇木紫—伊紅複染法 (Haematoxylin-Eosin)：一般組織觀察。
 - (2) 無水過碘酸、錫佛——不褪綠 (Alcoholic PAS-Fast green) 及無水過碘酸、錫佛——蘇木紫 (Alcoholic PAS-Haematoxylin)：多醣類及醣蛋白特殊染法。
 - (3) 弗而根染法 (Feulgen stain)：DNA 之專一染色法。
 - (4) 馬樂禮三染法 (Mallory trichrome stain)：一般結締組織染色法。
- 永久染片以透視式複合光學顯微鏡觀察及攝影。

觀察和討論

甲、組織病理：

無水 PAS-Fast green 複染之後腎切片最適宜顯示黏孢子蟲感染之程度及部位。在此等染片腎臟組織呈淡藍綠色 (Fast green)，腎細管間支持組織着色均勻，而黏孢子蟲則聚變成大小不等，形狀不規則之塊狀，分佈腎細管間，呈鮮艷磚紅色 PAS 陽性反應，與寄主組織成強烈之彩色對比。黏孢子蟲寄生部位以腎細管間支持組織 (圖 1) 及鮑氏囊周圍 (圖 2) 為主，因屬組織侵潤 (Histozoic infiltration) 寄生。小動脈外圍纖維層 (Tunica adventitia) 亦偶有被侵害之現象，如圖 3。聚集之孢子蟲塊常斑雜有褐色素粒，其外圍無纖維組織鞘囊 (fibrous cyst wall) 披覆，故直接侵迫寄主之組織。管腔內感染 (Coelozoic infection) 則甚罕見，圖 4 為管內寄生之實例；圖中至少有四個梭形孢子寄生鮑氏囊內。

乙、孢子形態及細胞化學：

在切片中孢子呈梭形，兩端圓鈍，長約 10 μ ，寬厚約 5 μ 。兩端各有球形極囊各一個，直徑約 2.5 μ 。兩極囊相距約 3.0 μ ，其間充塞孢質 (Sporoplasm)。

無水 PAS-Haematoxylin 複染之孢子，其莢瓣 (Sporal valves) 呈鮮紅色 PAS 陽性反應，兩極囊間區域呈色特強，如圖 5。此 PAS 陽性反應證明莢瓣含有多醣或醣蛋白。極囊色淡紅色，其中有一藍色圓粒。極囊與孢質間有一不着色隙縫，推測為固定時或脫水過程中所造成之人為空隙。兩球形孢質核着染蘇木紫，呈藍紫色。極囊核半月形，附於極囊外緣，呈藍紫色。

馬樂禮三染法染色的莢瓣呈黃橙色，核淡褐色，極囊如空泡狀或是灰藍色，核淡紫紅色，極囊淡藍色，如圖 6。偶發現殖孢體 (Sporoblast)，細胞質中有一個或數個孢子，圖 7 所示為含有一個孢子的殖孢體。此殖孢體之細胞質中充滿褐色素粒。前述聚集孢子塊附近所見之褐色素顆粒可能即為此等殖孢體釋放孢子後所遺留之物質。

Bond (19376) 曾用馬樂禮染法比較五種黏孢子蟲之孢子莢瓣的染色反應，發現在全殖孢體 (pansporoblast) 內未成熟孢子之莢瓣染紅色，而在游離之成熟孢子者則染金黃色。本試驗之呈色反應稍有不同；成熟孢子之莢瓣染色反應與 Bond 氏所見相同，惟在未成熟之孢子者則染成灰藍色，顯然異於 Bond 之報告。此項迥異之意義猶待研究。

在 Bond (1937a) 氏之 Feulgen's Nuclear Reaction 試驗，成熟孢子之莢瓣有藍色反應而在未成熟之孢子者，則無染色反應。本試驗切片經 1N 鹽酸水解 8 分鐘後染 Feulgen 試液，則僅孢體內之核呈淡紫紅色 DNA 陽性反應，其莢瓣無分是成熟或是未成熟之孢子均不着色。Bond 氏根據觀察推論孢子莢瓣含胸腺核苷核酸 (Thymonucleic acid)。按細胞內被證明確有 DNA 存在之構造不外是細胞核，粒線體及葉綠體。在光學顯微鏡下觀察，亦僅細胞核有 Feulgen 陽性染色反應，粒線體

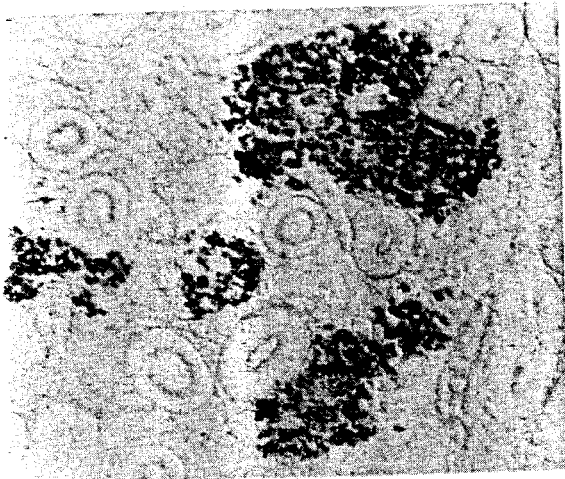


Fig. 1. Histozoic infiltration of spores in the renal tissue. PAS+Fast Green stains. 500×.

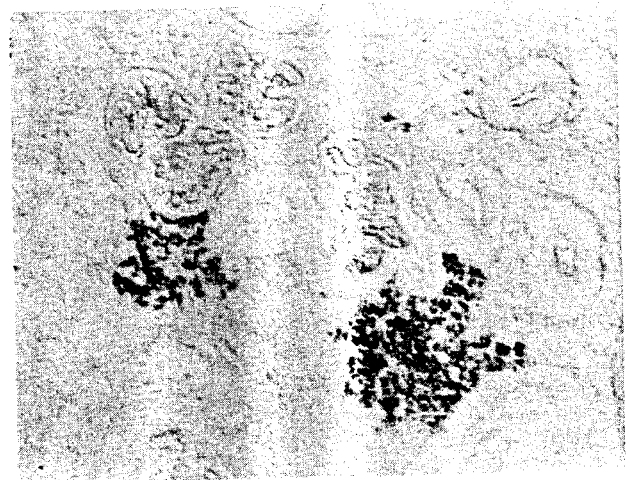


Fig. 2. A Cluster of spores at the vicinity of the Bowman's capsule. PAS+Fast Green stains. 500×.



Fig. 3. Invasion of the spore in the tunica adventitia of a arteriole. PAS+Fast Green stains. 500×.

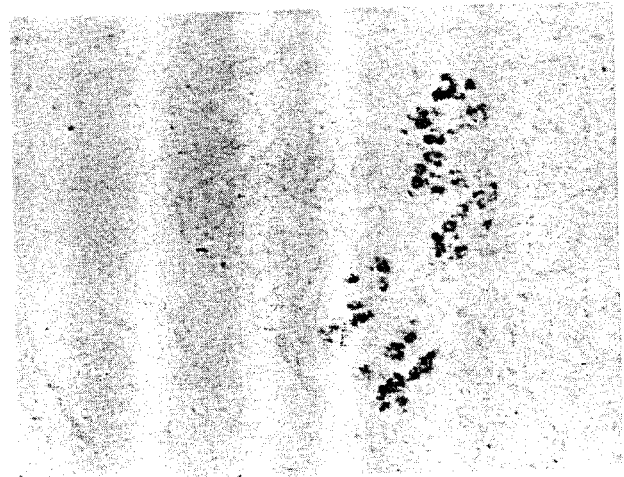


Fig. 4. Infection of the spore in the Bowman's capsule. PAS+H stains. 500×.



Fig. 5. Mature spore. PAS+H stains. 2,000 \times .

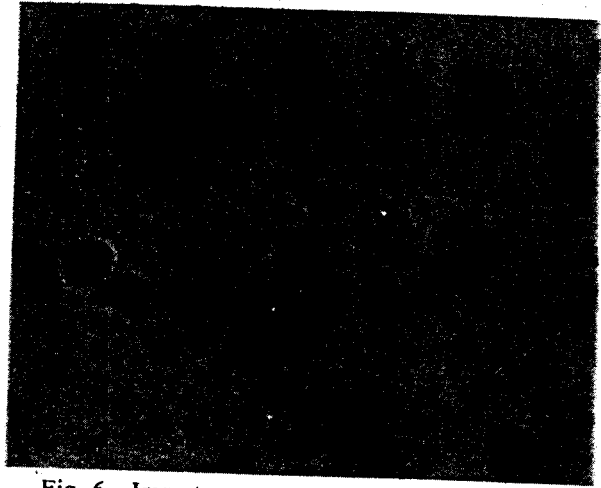


Fig. 6. Immature spores. Mallory triple stain. 2,000 \times .

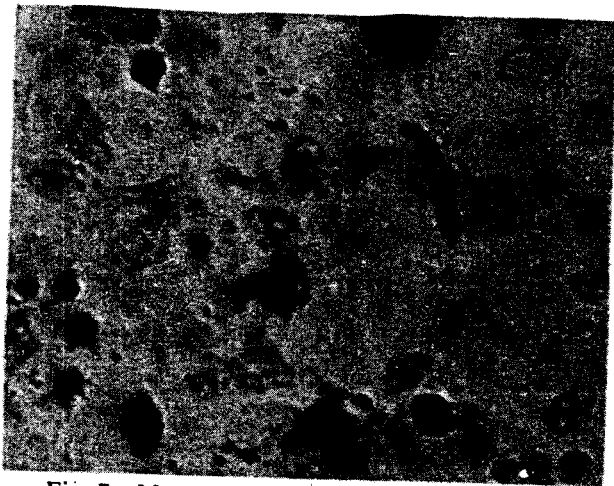


Fig. 7. Mature spores. Mallory triple stain. 2,000 \times .

及葉綠體以其所含之 DNA 不多而無顯明 Feulgen 陽性反應，故 Bond 氏稱孢子莢瓣有 Feulgen 陽性反應及其推論恐有謬誤。

丙、黏孢子蟲之分類：

寄生鰻魚腎臟之黏孢子蟲有 *M. giardi*, *M. illinoiensis*, *M. uchigama*, *M. fusiform*，陳秀男發現未經鑑定者一種及本報告所見共 6 案。比較孢子體大小及形狀，本報告所見與 *M. giardi* 及陳秀男所發現者相似，但後者寄生之組織部位缺少資料無法進一步比對。本種與 *M. giardi* 同是組織侵潤性寄生。據載後者之營養體被困於寄主之結締組織囊鞘內，厚達 30μ 。本種則無此現象，故極可能為一新種，有關本種之分類將另文討論。

丁、黏孢子蟲之傳染：

本報告中記述之黏孢子蟲是一種組織侵潤性寄生蟲，主要寄生部位在鰻魚之後腎並造成後腎之腫大。病魚其他組織器官在肉眼觀察下並無異徵，故不曾作其他組織切片及觀察。

報告中之黏孢子蟲既是腎組織侵潤性寄生，而非細尿管腔內寄生，且成熟孢子缺運動能力，故其無法自活體寄主進入池水已自明。其再感染健康之鰻魚極可能為罹患孢子蟲而病死之鰻體糜爛後，孢子脫離魚體再度傳染健康鰻魚，或水中動物及浮游生物如 Copepoda 等吞食孢子，而鰻魚再吞食 Copepoda，因而孢子進入魚體內。孢子變形蟲究竟由消化道或穿透皮膚而進入寄主尚待究明。

海產魚中普遍感染黏孢子蟲 (Kudo, 1954)。雖然各種黏孢子蟲都有特定的一種或數種寄主 (Bond, 1937b)，因而以下雜魚之魚漿配和鰻魚人工飼料顯非明智之舉，應予避免，除非上屬魚漿確無黏孢子蟲污染。病死鰻魚既有再傳染之可能，因此撈取病死或呈有腎腫病徵之鰻魚當為魚池管理重要工作項目。孢子多耐乾熱及藥物，如何消毒污染之鰻池為今後重要課題之一。

摘 要

在養殖鰻魚之後腎中發現有組織侵潤性的黏孢子蟲寄生，這寄生蟲可能是「腎腫大症」之病因。成熟之黏孢子呈梭形，長、寬、厚為 10、5、及 5 微米；兩圓鈍端各有一梨形極囊。孢子莢囊含多醣類，不含脫氧核糖核酸，馬樂禮三染法中呈金黃色。文中討論黏孢子蟲之預防。

謝 辭

本研究承農村復興委員會漁業組之資助得以完成，謹此致謝。本文承郭光雄博士指正，特為誌謝。

參 考 文 獻

1. BOND, F.F. (1937a). Host specificity of the myxosporidia of *Fundulus heteroclitus* (Linn). J. Parasitol. 23: 540-542.
2. BOND, F.F. (1937b). A probable constituent of the spore coat of myxosporidian spores. J. Parasitol. 23: 542-543.
3. FUJITA, F. (1927). Studies on myxosporidia of Japan. J. Coll. Agr. Hokkaido Imp. Univ. 16: 229-247. Pt. 5.
4. HOSHINA, T. (1952). Notes on some myxosporidian parasites on fishes of Japan. J. Tokyo Univ. Fisheries 39: 69-89. Pt. 4.
5. KOU, K.H. (1975). Fish diseases of Taiwan. (in Chinese). In "Memoir of National Taiwan University, Public Lectures and Symposia in Commemoration of the 30th Anniversary. The Organization Committee of Commemoration of the 30th Anniversary, National Taiwan University, Taipei Taiwan.
6. KUDO, R. (1920). Studies on Myxosporidia. A synopsis of genera and species of myxosporidia. Illinois Biol. Monogr. 5: Nos 3 & 4: 1-265. Pt. 25.

7. KUDO, R. (1954). Protozoology. 4th ed., Charles C. Thomas Pub.
8. LI, Y.P. and CHEN, S.N. (1972). Some parasites found in pond fishes of Taiwan (I). Chinese-American Joint Commission on Rural Reconstruction Fisheries Series No. 12: 54-65.
9. MEGLITSCH, P.A. (1937). On some new and known myxosporidia of the fishes of Illinois. J. Parasitol. 23: 467-477.