

養殖石斑魚 (*Ephinephlus* spp.) 感染海水白點蟲之研究一 *Cryptocaryon irritans* 生活史及病原性

趙嘉本^{1,2} 鍾虎雲^{2,3}

1. 臺灣省高雄縣家畜疾病防治所
2. 國立臺灣大學理學院動物學研究所
3. 國立臺灣大學漁業生物試驗所

養殖石斑魚鰓及體表所寄生之海水白點蟲 (*Cryptocaryon irritans*) 利用人工感染方法在水溫 25°C、鹽度由海水至 1.07% 之間除石斑魚外也可感染多種海水魚。引起鰓及皮膚之上皮細胞增生癒合及杯狀細胞增生。發病池如未適當之處理常造成 100% 死亡率。蟲之生活史中其成熟之 trophont 及 tomite 皆具有四個大小約相同之核 trophont 成熟脫離魚體 encyst 成 tomont。tomont 行分裂生殖時初期四個核漸變大而後融合成一大核。再經多次的不等二分裂及多分裂的增殖於水溫 24~26°C 時約 120 小時形成 200~300 隻 tomites。tomont 內尚未放出之 tomite 僅一核。經二次分裂成有四核之成熟 tomites。當成熟 tomites 由 tomont 釋出時如果找到適當寄主寄生即完成生活史。有時亦可見到 tomite 行結合之有性生殖現象。

前 言

海水白點蟲 (*Cryptocaryon irritans*) 屬於周纖毛蟲類 (holotrichous ciliate)，為海水魚類常見寄生原蟲。1987 以前本省養殖石斑魚 (*Epinephelus* spp.) 鮮有海水白點蟲感染之報告，但自 1988 年後高雄縣永安鄉每年均暴發引起大流行，常造成石斑魚池 100% 之死亡率。本病之流行於每年 10 月至次年 3 月之間，尤其水溫突降 (30°C 降到 25°C 以下) 時最容易發病。被感染之石斑魚最後因呼吸困難及體表之破壞而導致死亡。同池中所寄養之吳郭魚 (*Orchromis niloticus*) 及虱目魚 (*Chano chano*) 在石斑魚 100% 感染及死亡率時完全不受影響，形成一強烈之對比。Brown, (1963) 及 Jiri (1976) 所述 *Cryptocaryon irritans* Brown 之 tomont stage 之核分裂方式與本研究中感染石斑魚及其他海水魚的鹽度條件亦有所不同，在此提出以作為重新檢討其分類位置及病害控制之參考。

材 料 與 方 法

疫情調查及病材採集

在發病季節（每年 10 月至次年 3 月），經常赴石斑魚養殖池調查感染發病及死亡率等情形。並詢問養殖措施等作為參考。病魚則撈回實驗室中詳細檢查，紀錄其症狀同時供作寄生蟲採集及組織病理切片之用。

寄生蟲之採集觀察

由病魚之體表，鰓及內臟器官取下部份組織以壓片方法直接在相位差顯微鏡下觀察、照相並記錄蟲體。生活史中其他時期的蟲體則由水中及池底採集。

病理組織切片

魚體組織及蟲體以 10% 中性福馬林 (formalin) 固定後以酒精系列脫水，石臘包埋，切成 3 μ m 厚之切片。以並 H & E (Mayer hematoxylin & eosin) 染色後觀察。

誘導感染試驗

利用二公噸之長方形玻璃纖維桶，各裝 1.2 公噸之海水及自來水調成鹽度 3.2%（養殖海水鹽度），1.6% 及 1.07% 之畜養水。每桶中各放入自然感染 *Cryptocaryon irritans* 之石斑病魚 3 尾（體重約 150 g/尾，感染程度約 6~8 trophonts/cm² 體表）及外觀健康之石斑魚（150 g/尾）5 尾。水溫以恆溫管控制於 25°C 並打氣。觀察期間不餵食，並每日測定水質以作為參考。水質之測定方法：pH 值以 Sunter PC 310 pH meter. D.O. 以 Winkler method，NO₂-N 以 Wood-Armstrong-Richard 法，NH₃-N 以 indophenol 法鹽度以 Atoyo Hand refractor 測定。另外以銀紋笛鯛 (*Lutjanus argentimachbefus*)（100~120g/尾），金目鱸 (*Lates colcarifer*)（100~120 g/尾），黑鯛 (*Acanthopagus schlegeli*)（100~120 g/尾），吳郭魚 (*Ochromis niloticus*) 及虱目魚 (*Chano chans*)（100~120 g/尾）等各三尾代替健康石斑魚，進行同樣的試驗。以同樣條件只畜養健康石斑魚以作為對照組。

結 果

永安鄉石斑魚養殖區約 250 公頃，每年 10 月到次年 3 月為海水白點蟲流行季節。感染初期之石斑魚池並未見到魚隻有任何異樣，偶而於夜間極少數有浮游情形，但白天則食餌乃正常。感染中期則除夜間可見魚隻浮游外，白天之食餌漸減退。到末期時則於白天，晚上皆可見魚隻浮游水面。此時食餌完全停止。由初期到末期約二週時間。感染發病之石斑魚，在外觀上可見到鰓及體表之粘液分泌增加，眼球混濁。體表滿部小白點（圖 1、2）。粘液之壓片可見到 trophont type 之蟲體（圖 3）。組織病理切片中可見鰓絲內及表皮下充滿蟲體，鰓及表皮之上皮細胞 (epithelial cell) 及杯狀細胞 (goblet cell) 增生 (hyperplasia)。部分上皮細胞更有癒合 (fusion) 情形。而蟲體內充滿魚體之細胞及組織碎片 trophont 蟲體由不成熟 (小) 漸趨成熟 (大)。但均具有四個約略大小相同之核 (圖 4、5)。而其它內臟包括肝、腎、脾、腦、胃、腸、心、鰾則未發現蟲體，trophont 離開魚體時，變成具有粘性之 tomont 粘於池底而且常聚集成團，tomont 具有一外膜厚約 10 mm。當 tomont 成熟時，較無粘性而易離開池底。同時 tomite 破囊而出並尋找寄主。被 tomite 感染之石斑魚極度不安，常以體表去磨擦池壁，試圖拋開 tomites 當 tomites 入石斑之鰓及表皮既發育成 trophont。重症病魚因粘液之增加及鰓上皮細胞之增生癒合因此呼吸困難容易缺氧而浮頭死亡。

生活史中各期蟲體之形態及發育生長增殖情形如下：

(1) 營養生長期 (Trophont)：為唯一在魚體寄生時期攝食魚體之組織以生長增大。本期之蟲體具有四個約略大小相等之核當 trophont 直徑達到 400~450 μm 或魚體的表皮因寄生蟲大量寄生而脫落，或魚隻死亡時。trophont 離開魚體附著池壁池底，並 encyst 到 tomont stage。若 trophont 脫離魚體時尚未成熟 ($\leq 400 \mu\text{m}$) 則可能溶解死亡但亦可能 encyst 成功而發育成 tomont stage。

(2) 分裂繁殖期 (Tomont stage)：當成熟 trophont 離開魚體後在水溫 24~26°C。經 12~18 小時即可 encyst 而進入 tomont stage。Cyst 內之蟲體在此溫度下約經 120 小時即可形成成熟之 tomite (圖 6)，而後破囊放出。tomont 在分裂初期蟲體細胞核增大 (圖 7) 而後融合成一團 (圖 8) 再行分裂。分裂時經多次不等之二分裂法及多分裂法，即形成無數仔蟲 (tomite) (圖 9、10、11)。每一仔蟲初期僅有一核，經二次分裂形成四核之 tomite (圖 12、13)。成熟後之仔蟲即破囊 (excyst) 而出。一成熟之 tomont 內之 tomite 數約 200~300 個其大小約為直徑 23~75 μm 。未成熟 trophont 脫落離魚體若 encyst 成功則產生的 tomite 數目往往較少。有時不會超過 20 個 (圖 14)。

(3) 感染仔蟲期 (Tomite)：由成熟 tomont 出之 tomites (圖 15)，如果 24 小時內找不到魚體寄生即溶解而死亡若找到魚體感染則又可發病如前完成生活史。剛出囊之 tomite 已經具四個核，體表覆滿纖毛，並具一明顯之胞口 (圖 16)。此時之 tomites 偶而可見到有結合情形 (圖 15)。海水白點蟲感染養殖石斑於之完整 life cycle 如圖 17。

在病魚與健康魚合共同蓄養之感染實驗中，水中維持 DO：6.0 ppm 以上，NH₃-N：0.1 ppm 以下，NO₂-N：0.08 ppm 以下，pH：7.8~8.3 之間。對蓄養魚隻應不致造成 (stress) 作用。在試驗 3.2%，1.6% 及 1.07% 之三種鹽度之下，帶白點蟲之病魚其蟲體約於第三天 (試驗開始 48 小時) 開始脫離魚體，健康石斑魚，銀紋笛鯛及金目鱸。體上於第 9 天開始體表出現白點蟲，而在 12~14 天間全數死亡。黑鯛體上雖於第 9 天也出現蟲體但是直到約 3 週以上才全數死亡。對照組之健康魚未見發病現像，可證明引發病害之蟲體並非健康魚原來所帶有者。其感染情形及蟲體繁殖完成生活史之時間並無差異，但對於吳郭魚 (*Ochromis niloticus*) 及虱目魚 (*Chano chano*) 雖然在鰓及體表偶見少數蟲體但不會引大量感染或死亡。

討 論

海水白點蟲病一般在養殖池中及水族館或水族箱等小環境下比較容易發生 (Nigrell, Wilkie)。海水白點蟲寄生於魚的體表及鰓，攝食魚體組織。因為蟲體很容易大量繁殖引起嚴重死亡，為養殖業最主要的病害之一。海水白點蟲首先於 1951 由 Brown E.H. 所報告，並將此寄生蟲命名為 *Cryptocaryon irritans*，至目前為止，全世界海水魚的白點病均由此一種所引起。

Cryptocaryon irritans 具有一般 holotrichous 纖毛的生活史分為寄生魚體上的營養生長期 (trophont)，附於池底之分裂繁殖期 (tomont) 及自由游泳四處尋覓寄主的感染仔蟲期 (tomites) Jiri L 等 (1992) 及 Brown E.M. (1963) 等觀察 *C. irritans* 之繁殖情形描述蟲體之 tomont 繁殖時其核先延長採帶狀，然後由上口 (upper pole) 開始分裂。但本研究中感染石斑魚之白點蟲其行分裂生殖前，四核先增大而後融合成一大核，再行不等之二分裂法，與前述 Jiri 及 Brown 等所見顯然不同。

Cheung (1979) 調查溫度及鹽度與海水白點病發生之關係時，說明如鹽度低於 1.6%，溫度在 7~30°C 時，白點蟲之 tomont 即會裂解，無法分裂形成 tomite。但在本研究中的白點蟲在鹽度 1.07% 時仍可完成生活史，並感染魚體造成 100% 的死亡率。按正

進行之另一試驗在甚至 0.5% 鹽度的淡水中乃然可感染致死只是時間延長。可見此寄生蟲之生物學形性、地區性之差異極大。在疫病之發及控制上應有不同之考量。

由組織病理切片中可見到鰓之上皮細胞增生，癒合。杯狀細胞增生，使得鰓絲上充滿粘液，造成魚的呼吸困難。海水白點蟲寄生於魚體表皮同樣引起上皮及杯狀細胞增生，但當蟲體進入或離開表皮組織時，引起皮膚之破裂使魚體滲透壓不平衡，也容易引發二次性之感染，因而加速魚隻死亡。trophont 離開魚體進行分裂生殖，其 trophont 不一定要成熟亦可 encyst 成功並且放出 tomites，再度感染魚隻因而增加蟲體對石斑之感染機會。蟲對石斑魚感染性特別強，可能與石斑魚之生活習性有關，在正常下飽食後之石斑魚於池底停下休息。而與 tomont 之於池底繁殖其放出 tomites 後既可於很短之時間內寄生到石斑魚體上因此魚體既遭受一再的感染而死亡在野外池及人工感染中，在本試驗之各種海水魚中黑鯛對海水白點蟲之抗病力顯然較其他三種魚強究為魚種本身之差異或其他原因尚待確定。吳郭魚及虱目魚雖然皆會感染但始終不致發病死亡，因此這兩種魚是海水白點蟲的傳播媒介。在石斑魚養殖池常放入少量吳郭魚或虱目魚用以控制藻類生長及檢食殘餌平衡養殖生態此一措施之適當性極待檢討。

參 考 文 獻

- Brown E.M. 1951. A new parasitic protozoan the causal organism of a white spot disease in marine fish-Cryptocaryon irritans gen. and sp. n. Agenda and Abstracts of the Scientific Meetings of the Zoological Society of London, 1950, No. 11 pp. 1-2.
- Brown E.M. 1963. Studies on Cryptocaryon irritans Brown Proceedings of the 1st International Congress on Protozoology, Aug. 22-31, 1961, pp. 284-287. Czechoslovak Academy of Science.
- Cheung P.J., R.F. Nigrelli and G.D. Ruffieri 1979. Studies on Cryptocaryoniasis in marine fish: effect of temperature and salinity on the reproductive cycle of Cryptocaryon irritans Brown, 1951. J Fish Dis. 2: 93-97.
- Jiri Lom and Iva Dykova. 1976. Class Oigohymenophorea de puytorac et al., 1974 Protozan parasites of fishes. p252-259. 1992 Jiri Lom and Iva Dykova edited Elsevier publishers Amsterdam.

- Nigrelli R.F. & G.D. Ruggieri. 1966. Enzootics in the New York Aquarium caused by *Cryptocaryon irritans* Brown, 1951. (= *Ichthyophthirius marinus* Sikama, 1961) A histophagous ciliate in the skin, eyes and gills of marine fishes. *Zoologica* 51 : 97-102.
- Sikama Y. 1961. On a new species of *Ichthyophthirius* found in marine fishes. *Science Reports of the Yokosuka City Museum* 6 : 66-70.
- Wilkie D.W. & H. Gordin. 1969. Outbreak of cryptocaryoniasis in marine aquaria at Scripps Institution of Oceanography. *California Fish and Game* 55 : 227-236.

Study on *Cryptocaryon irritans* Infection on Captive Grouper (*Epinephelus* sp) Life cycle and Pathogenicity

Chao Chia-Ben^{1,2} Chung Hsu-Yun^{2,3}

1. Kaohsiung County Livestock Diseases Control Center
2. Department Of Zoology, National Taiwan University
3. Fishery Biology Institute, Taipei, Taiwan, ROC

Captive grouper (*Epinephelus* spp.) in Kao-Hsiung area was heavily infected by *Cryptocaryon irritans* every year. The ciliate invaded into gill and skin of hosts, caused mass mortality. The present organism differed the well known species. *C. irritans* in the following two aspects.

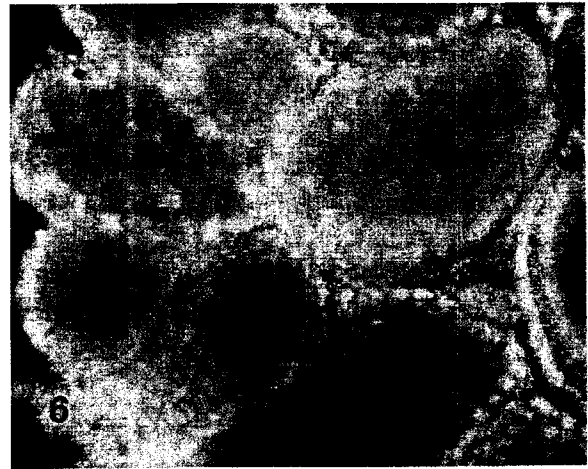
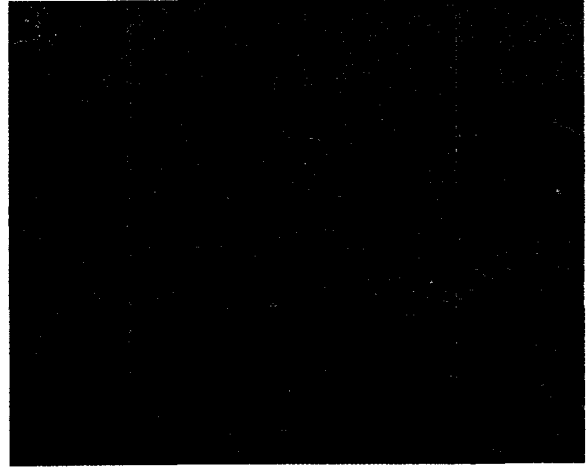
First The *C. irritans* caused infection on grouper in more board range from marine water to lower than 1.07%.

Second The four nuclei in the early stage of tomont enlarged gradually and then fused to become one large nucleus. Subsequently reproduced by unequal binary and multiple fissions into unequal parts, resulting in numerous tomites inside the cyst. The nucleus in each young tomite then divide two times to form a four nuclei's matured infective tomite and released from the encysted tomont. Sexual conjugation of tomites were occasionally observed.

圖 版 說 明

- 圖 1: 石斑魚體表寄生海水白點蟲 *Cryptocaryon irritans*。
- 圖 2: 石斑魚鰓寄生海水白點蟲 *Cryptocaryon irritans* 引起黏液分泌增加，鰓絲腫大。
- 圖 3: 感染海水白點蟲之石斑魚體表黏液壓片可見白點蟲之 trophont (100x)。
- 圖 4: 感染海水蟲之石斑魚其鰓薄板上皮細胞輕度增生，組織內可見寄生之 trophont, H & E, 200 x。
- 圖 5: 感染海水白點蟲之石斑魚鰓絲中可見成熟之 trophont 蟲體中含大量之魚體組織碎片及細胞 (H & E 400 x)。箭頭：蟲體之體表。
- 圖 6: 成熟 trophont 離開魚體後 96-120 小時 (25°C)，tomont 內近成熟之 tomites (200x)
- 圖 7: tomont 分裂初期細胞核漸漸增大。(12~36 小時) (H & E 200x)。
- 圖 8: tomont 內四個增大的核融合成一團大核 (24~48 小時) (H & E 200 x)。
- 圖 9: tomont 行不等二分分裂形成大小不等之二個細胞 (36~72 小時) (H & E 200x)。
- 圖 10: tomont 進行第二次不等二分法分裂 (48~72 小時) (H & E 200x)。
- 圖 11: tomont 行多次不等二分及多分法分裂 (60~84 小時) (H & E 200x)。
- 圖 12: 於 tomont 內剛形成之 tomites 僅具一核。
- 圖 13: 近成熟之 tomites 內已形成四核。
- 圖 14: 魚體上不成熟之 trophont 有時亦可 encyst 成功並分裂產生小數目 (不到 20 個)，直接感染魚體。
- 圖 15: 成熟之 tomites 由 tomont 釋出。並偶見到有二 tomite 有結合情形 (箭頭)。(400 x)
- 圖 16: 剛由 tomont 釋出之 tomite 體表覆滿纖毛並具有四核及一胞口 (箭頭)。
- 圖 17: 石斑魚寄生海水白點蟲 *Cryptocaryon irritans* 之生活史：A. 魚體寄生之白點蟲 trophont。B. trophont 發育成熟離開魚體附於池底內並 encyst 形成 tomont，tomont 間四核開始增大。C. 四核溶合成一大核。D. 結合大核行不等之分裂形成不等個體。E、F、G 經反覆之分裂形成 200~300 個 tomites 仔蟲。H. 成熟子蟲破囊而出 (excyst) 再游泳尋覓寄主感染，有的 tomites 則先行結合生殖後再感染魚隻。A：相對於圖 3。B：相對於圖 7。C、D、E、F、G：相對於圖 8、9、11、12。G、H：相對於圖 14、16。

趙嘉本·鍾虎雲



養殖石斑魚感染海水白點重生活史及病原性之研究

