

農發會魚病研究專集(一)



JCRR FISHERIES SERIES No. 29

Reports on Fish Disease Research (I)



Taipei, Taiwan, Republic of China

September 1977

序

隨著水產養殖的發展，尤其是高密度養殖方法的逐漸普及，池魚傳染疾病的機會增加，養殖漁戶遭受魚病損失之問題日趨嚴重。本省之魚病研究歷史極短，民國六十二以後，由於養鰻業之迅速發展集約養殖之普遍實施，魚罹病死亡事件日增，魚病引起養殖經營之損失方才引起業界之注意。

農復會於六十三年度起開始資助臺灣大學漁業生物試驗所及師範大學生物研究所展開魚病之基礎研究工作，由甫從日本東京大學學成歸國的郭光雄博士領導，至六十五年度開始並列入加速農村建設重要措施計畫，加強此項工作之推動，由臺灣省水產試驗所實施全省魚病之調查及防治，並利用臺灣省養豬科學研究所，臺大獸醫系、私立輔仁大學等學術研究機構現有的技術及研究設備加強有關魚病的基礎研究，對於本省常發生或引起嚴重損失的重要魚病深入研究，探對其病原及引起病發之環境因素等以為魚病研究、預防及治療策之根據。經數年來的努力，已逐漸建立本省魚病資料的基礎。此次郭光雄博士將前年參加魚病研究各單位之研究心得報告彙編成冊，為本省魚病研究第一章之重要文獻，欣見其成，希望以此為開端，將來繼續定期發表一系列之魚病研究報告，作為本省魚病防治之參考。

農復會漁學組組長 闕 壯 狄

六十六年九月

目 錄

Contents

頁 數
Page

序言

- 1 養殖鰻潰瘍病原菌 *Edwardsiella anguillimortiferum* 之分離……郭上卿·鍾虎雲·郭光雄
Edwardsiella anguillimortiferum Isolated from Edwardsiellosis of Cultured Eel
(*Anguilla japonica*)
Shang-Ching KUO, Hsu-Yun CHUNG, and Guang-Hsiung KOU
- 7 鰻腎黏孢子蟲之組織病理和組織化學研究……黃仲嘉·羅竹芳·王重雄·屈伯爾
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
- 13 臺灣地區牛蛙 (*Rana catesbiana*)、淡水長腳大蝦 (*Macrobrachium rosenbergii*) 及
淡水養殖魚類發現之細菌及寄生蟲病……蕭世民·陳孝禹
Bacterial and Parasitic Diseases of Bull Frog (*Rana catesbiana*), Malaysian Prawn
(*Macrobrachium rosenbergii*) and Fresh-Water Cultured Fishes Found in Taiwan
Shyh-Min HSIAO and Shiao-Yeu CHEN
- 22 魚類 Nocardiosis 在臺灣發生之報告……徐興銘·朱海崗·翁仲男
An Enzootic of Nocardiosis in Fish
Frank S. Hsu, H. M. CHU and C. N. WENG
- 28 養殖蝦類常見之二、三病害之原因及其對策 (預報) ……廖一久·楊富榮·羅秀婉
Preliminary Report on some Diseases of Cultured Prawn and their
Control Methods
I-Chiu LIAO, Fu-Rong YANG, and Shou-Wan LOU
- 34 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.)
Hsu-Yun CHUNG and Guang-Hsiung KOU
- 40 鰻魚凹凸病之組織變化研究……赤田幸雄·簡璽衡·余廷基
The Histological Changes of Eels (*Anguilla japonica*) Infected by
Plistophora sp.
Yukio AKADA, Shau-Heng CHING, and Ting-Chi YU
- 47 鰻孢子蟲白點病之病理研究……徐興銘·張文發
Pathology of *Myxidium matsuii* Infection
Frank S. Hsu and Marty CHANG
- 50 虱目魚越冬期間細菌疾病研究——初步報告……黃銀河
Preliminary Report of the Studies on Bacterial Disease of Milkfish
(*Chanos chanos*) During Winter
Yn-Her HUANG
- 55 鰻魚橫紋肌瘤……徐興銘·張文發
Rhabdomyoma in Eel
Frank S. Hsu and Marty CHANG
- 57 魚池生態環境與魚病關係之研究 (I)
臺灣鰻魚疾病之統計分析……林曙松·蕭世民
The Statistic Analysis of Eel Disease in Taiwan
Yao-Sung LIN and Shyh-Nin HSIAO

養殖鰻潰瘍病病原菌 *Edwardsiella* *anguillimortiferum* 之分離

郭上卿·鍾虎雲·郭光雄

Edwardsiella anguillimortiferum Isolated from Edwardsiellosis of Cultured
Eel (*Anguilla japonica*)

Shang-Ching Kuo*, Hsu-Yun CHUNG* and Guang-Hsiung Kou*

From the trunk ulcer, liver and kidney of edwardsiellosis eel, *Edwardsiella anguillimortiferum* was isolated without exception, and in some cases from gill and intestine too.

The optimum temperature for the rampancy of this epidemic disease is about 30°C.

All isolated strains are highly sensitive to Nalidixic acid, Nitrofurantoin and Kanamycin, but quite a variant sensitivity to Tetracycline and Chloramphenicol occurs between strains.

I 概 說

赤鰭病一直為鰻魚的重要疾病之一，每年因此疾病所造成的損害相當嚴重。其病原菌為 *Aeromonas hydrophila* (*A. liquefaciens*)，罹病魚的初期外觀症狀為鰭部變紅，尤以腹鰭及胸鰭為甚，嚴重時體側及腹部皮膚也出現紅斑，同時因腸管發炎，肛門也呈紅腫之症狀。

著者發現被認為是罹患赤鰭病的病鰻中有部份病魚的外觀症狀與上述赤鰭病的症狀稍有不同；有些病鰻腹部出現淤血或出血的斑點，鰭部却無赤變，重症者則在肝臟位置或肛門後面的體表出現周圍有紅色環狀的白斑 (Fig. 1) 更嚴重者則此白斑之組織開始潰爛，使體表洞穿，有時連內臟都暴露出來 (Fig. 2, 3)。解剖病魚時可見此潰瘍患部不拘洞穿與否，腎臟或者肝臟出現腫瘍甚至糜爛成洞，顯然與 *A. hydrophila* 所引走的赤鰭病症狀有所不同，因此著者稱此種症狀之鰻病為潰瘍病，認為引起此病之病原菌非為 *A. hydrophila*。經年餘來的詳細調查研究證實此為一種周鞭毛桿菌 *Edwardsiella anguillimortiferum* (*Paracolobactrum anguillimortiferum*, *E. tarda*) 所引起的。*E. anguillimortiferum* 過去在日本初認為是引起赤鰭病之病原菌之一^(1,2)，有時與 *A. hydrophila* (*A. punctata*) 共同感染鰻魚引起赤鰭病。*E. anguillimortiferum* 除了引起鰻魚的潰瘍病外，尚可侵害金魚⁽³⁾及美國河魴等多種動物⁽⁴⁾，此外尚有引起胎兒腦膜炎 (menigitis) 的病例⁽⁵⁾故目前本菌極受研究者的重視。

著者就病鰻所分離之 *E. anguillimortiferum* 在分類、抗藥性及病原性等方面之研究結果在此提出報告，以供參考。

II 材料及方法

自 1975 年 4 月至 1976 年 6 月間，分別由屏東、鹿港及桃園地區採集外觀患有潰瘍症之病鰻，於

* 國立臺灣大學理學院動物學系

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

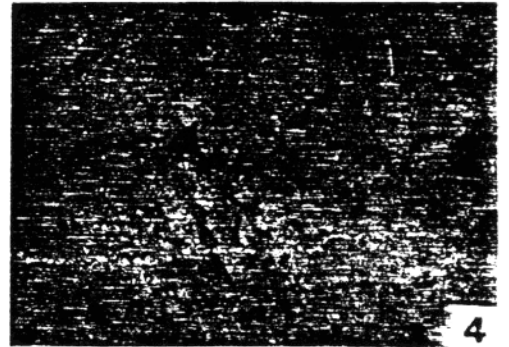
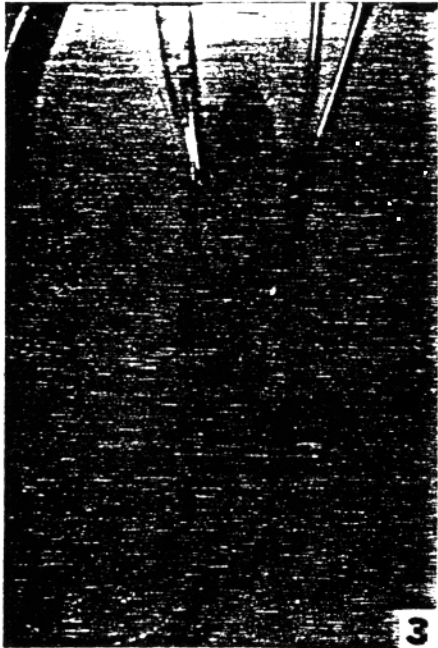


Fig. 1. Light infection of Edwardsiellosis eel.
 Fig. 2. Heavy infection of Edwardsiellosis eel.
 Fig. 3. Ulceration of liver and kidney in Edwardsiellosis eel.
 Fig. 4. *Edwardsiella anguillimortiferum* isolate from Edwardsiellosis eel. (1700x)

現場分離細菌，或將活病魚攜回實驗室中，再做細菌之分離。分離方法是先以 0.04% 之 MS-222 (tricaine methane sulfonate) 將魚麻醉後，用 70% 的酒精棉花擦拭魚體患部 (潰瘍處之外表) 及鰓部，然後自患部、鰓、肝、腎及腸管取一小塊組織，塗抹於普通培養基上 (peptone 15 g, beef ext. 7.5 g, NaCl 5 g, agar 15 g, dist. H₂O 1000 c. c. pH 7.0~7.2)。然後將培養基上不同形態之菌落，接種於斜面培養基上，以供病原性、生化學特性及抗藥性等試驗之用。

病原性試驗 (Test of pathogenicity): 取在 28°C 下經 24 小時培養之濕菌溶於 0.85% 之無菌生理食鹽水中，使成菌懸浮液，按每 100 g 魚體重接種 2 mg 濕菌重 (1 mg 濕菌約 10⁸ 個細胞) 之比例，將菌懸浮液注射入泥鰍背部肌肉內，泥鰍之大小為 15~20 g。每一菌株均接種 4 尾泥鰍，分二次進行，每次試驗皆以無菌生理食鹽水代替懸浮液接種魚體做為對照。注射後之泥鰍收容於玻璃水槽中，觀察七天，記錄病情之發展，以能否致使接種魚死亡而判斷病原性之有無。試驗期間每天換水但不給飼料。

生化學特性試驗 (Test of biochemical characteristics): 利用生長於 Rimler-Shotts 培養基上菌落之顏色，配合其對 Cytochrome oxidase 之反應初步確定該菌是否為腸內細菌類⁽⁸⁾，以 TSI 及 SIM 培養基測定 H₂S 之產生⁽⁷⁾。利用 One-tube O-F test 測定其是否為嫌氣性⁽⁹⁾，利用 Brooker 的快速方法測出 Arginine dihydrolase, Lysine decarboxylase, Ornithine decarboxylase 之產生⁽¹⁰⁾。並以 Acid mercuric chloride 測定 liquefaction of gelatin⁽¹⁰⁾。利用 Gillies medium I 及 medium II 測定 glucose, manitol, sucrose, salicin 之發酵性及 H₂S 與 Indole 之產生⁽¹¹⁾。其餘生化學特性均按常法測定⁽¹²⁾。又各試驗均在 28°C 之下進行。

藥物感受性試驗 (Test of drug sensitivity): 所使用之藥片為 Difco. Dispens-O-Disc (Bacterosensitivity discs)，利用 Kirby-Bauer method (surface-swab method)^(13,14)，測定分離菌對於 Polymyxin B 等 11 種抗菌劑之感受性。

III 結 果

由外觀判定為淡褐色之鰻魚體表患處，肝、腎及少數病魚之鰓與腸中分離出一種 Gram 氏染色陰性，大小為 2~3 μ × 1 μ 之短桿菌，菌體周邊具有細長之鞭毛 (Fig. 4) 運動性極強。在普通寒天平板培養基上之生長不良，於 28°C 下培養 24 小時之菌落為約 0.5 mm 之淡黃色，周邊完整之圓

Table I. Biological characteristics of the 10 strains of *Ewardsiella anguillimortiferum* isolated from diseased eel

Test	Result	Test	Result
Gram stain	-*	Hugh-Leifson's agar (one tube)	F**
Gas from carbohydrate	+***	Nitrate reduction	+
Cytochrome oxidase	-	Indole	+
Production of H ₂ S	+	Voges-Proskauer	-
Hydrolysis of starch	-	Methyl Red	+
2,3-butanediol	-	Utilization of Citrate (Simmons)	-
Liquefaction of gelatin	-	Litmus milk	-
Lysine Decarboxylase	+	Utilization of Malonate	-
Arginine Dihydrolase	-	Phenylalanine Deaminase	-
Ornithine Decarboxylase	+		

*: Negative ** : Fermentative ***: Positive

形隆起。在 Rimler-Shotts 培養基上，37°C 下培養 24 小時之菌落則為周圍綠色，中心黑色。

10株 *E. anguillimortiferum* 分離菌均呈相同之生化反應，如 Table I 及 II 所示。其較顯著之特徵為不產生 Cytochrome Oxidase，但極易產生 H₂S。可發酵性利用 Glucose, Maltose, Galactose 及 Fructose 與 D-Mannose，其餘糖類則均不利用。生長之溫度為 15°~41°C，適溫為 35°~38°C，鹽度之生長範圍為 0~4%。

藥物感受性試驗 (Test of drug sensitivity)：10株 *E. anguillimortiferum* 對 Polymyxin B 等藥物之感受性試驗之結果如 Table III 所示，均對 Nalidixic acid, Nitrofurantoin 及 Kanamycin

Table II. Utilization of carbohydrates by the 10 strains of *Edwardsiella anguillimortiferum* isolated from diseased eel

Carbohydrates	Result	Carbohydrates	Result
Glucose	+	Mannitol	-**
Lactose	-	Dulcitol	-
Salicin	-	Sorbitol	-
Inositol	-	Galactose	+
Raffinose	-	Fructose	+
Rhamnose	+	Glycogen	-
L(+)-Arabinose	-	D-Cellobiose	-
Sucrose	-	Glycerol	-
Maltose	+	D-Mannose	+
Xylose	-	L-Sorbose	-

*: Positive **: Negative

Table III. Sensitivity of the 10 strains of *Edwardsiella anguillimortiferum* from diseased eel to antimicrobial agents (Difco sensitivity disk)

Strain No.	Source	PB*	OL	NB	NA	TE	FD	CL	S	C	G	K
En-G ₁	Tao-Yuan	-**	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+
760217-1G	Ping-Tung	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	+
760217-5L	Ping-Tung	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	+
760217-6L	Ping-Tung	+	-	-	+	-	+	+	+	-	-	+
760322-1K	Ping-Tung	+	-	-	+	-	+	-	+	+	-	+
760419-1I	Tao-Yuan	+	-	-	+	-	+	-	+	+	-	+
760419-2K	Tao-Yuan	-	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+
760508-1L	Tao-Yuan	+	-	-	+	-	+	-	+	+	-	+
760508-3SK	Tao-Yuan	+	-	-	+	-	+	-	+	+	-	+
760603-2SK	Lu-Kang	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+

*: PB: Polymyxin B

OL: Oleandomycin

NB: Novobiocin

NA: Nalidixic acid

TE: Tetracycline

FD: Nitrofurantoin

CL: Colistin sulfate

S: Streptomycin

C: Chloramphenicol

G: Sulfisoxazole

K: Kanamycin

** : - : Resistant + : Intermediate + : Sensitive

等三種藥具有高感受性，對 Oleandomycin, Novobiocin 及 Sulfisoxazole 顯示無感受性。對於 Polymyxin B, Tetracycline, Chloramphenicol 及 Colistin sulfate 等四種藥物則不同地區或不同時間所分離之菌株呈現不同之感受性，其中最值得注意的為由桃園及鹿港所分離之菌株對於 Chloramphenicol 均有高感受性，而由屏東地區所分離之四株菌株中有三株顯示無感受性，此三菌株為同一次採集之分離菌，另一株為不同日期所分離者，則有極高之感受性。對於 Colistin sulfate 則僅有兩株菌株呈現感受性。對於 Tetracycline 則屏東分離之菌株全無感受性，而桃園地區所分離者顯示不同之感受性。對於 Polymyxin B 之感受性不拘屏東地區之分離菌或是桃園地區之分離菌，各菌株間有顯著差異。

病原性試驗 (Test of pathogenicity): 10 株菌株接種於泥鰍後，泥鰍均在 48 小時之內死亡，檢查病變之發展；先是在注射部位呈現紅腫，繼而潰爛，解剖時可見肝臟及腎臟呈現潰爛之症狀，而且腎臟之潰爛較為顯著，與自然感染之病變發展相同，但在體表尚未出現潰爛，造成病變前魚體即已死亡。

IV 討 論

1962 年保科⁽¹²⁾由罹患赤鰓病之鰻中分離出兩種病原菌：其中一種為 *A. punctata* (*A. hydrophila*)，另一種具有腸內細菌羣之特性，即 Cytochrome oxidase 為陰性，周鞭毛之短桿菌，不利用 Citrate 及 melonate 為碳源，產生 H_2S 之病原菌，不能確定其屬於何種腸內細菌，保科將之命名為 *Paracolobacterium anguillimortiferum*。1965 Ewing 等⁽¹³⁾，於研究人體及牛糞中所分離之細菌時發現腸內細菌科中之新屬 *Edwardsiella tarda*。Wakabayashi 等⁽¹⁴⁾於比較保科所分離之 *Paracolobacterium anguillimortiferum* 及 Ewing 等所分離之 *Edwardsiella tarda* 時，認為二者實際為同一種細菌。雖然保科之報告發表在前，但是因為 *Paracolobacterium* 之屬名一般認為已無存在價值而取消⁽¹⁵⁾，故現今改稱為 *E. tarda*。又 Sakazaki⁽¹⁶⁾認為基於優先權 (priority) 之慣例，保科所定之種名應予保留而建議將此菌更名為 *E. anguillimortiferum*。著者分離之本菌，按其各項形態及生化學之特性均與 Wakabayashi⁽¹⁴⁾及 Ewing 等⁽¹³⁾所分離之 *E. tarda* 完全一致。著者極為同意 Sakazaki 之提議而取用 *E. anguillimortiferum*。

著者分離本菌時，常常同時分離出赤鰓病之病原菌 *A. hydrophila*，觀察病魚之症狀除呈現潰瘍病之症狀外亦呈現鰓病之症狀，因此推測 1975 及 1976 二年中本省屏東地區之養鰻因潰瘍而造成大量死亡之原因，除鰻受本菌之感染外亦受 *A. hydrophila* 及粘液性細菌 *Flexibacter columnaris* 之感染。

鰻魚潰瘍病之發生與水溫似有密切關係，屏東地區此症之發生在 1975 年時開始於 4 月間（水溫約為 25°C 左右），1976 年時則水溫於 3 月間回升至 25°C 左右而此病亦提早於 3 月間發生。北部地區此二年間水溫之變化及此病害之發生情形均與南部之屏東相似，唯時間上恰好較屏東延遲一個月。

E. anguillimortiferum 對鰻之肝及腎臟侵害造成潰瘍之病巢，但是對於美國河魴 (*Ictalurus punctatus*) 之侵害則只造成體側部及尾柄處肌肉之腐爛，腐爛處因充滿氣泡而腫大，故被稱為「氣腫性病敗症」(Emphysematous putrefactive disease of catfish) 簡稱 EPDC⁽¹⁷⁾，此種與鰻魚迥異之病巢為一有趣之現象，又鯉魚之腹水及立鱗症之病魚中亦可分離出 *E. anguillimortiferum* 之病原菌，不過以此菌作病原性試驗時却未能引起同樣的症狀⁽¹⁸⁾。換言之，本菌對不同魚種所引起之病變並不完全相同，關於此點之機制實有待將來進一步的究明。

關於分離菌對同一種藥物感受性之產生差異，可由養殖場平常施用藥物之情形，推測為抗藥菌產生的關係。著者於調查此病時曾詳詢業者平常選用藥物之情形，發現抗藥性菌株所抗之藥物恰為經常施用者。青木等^(19,20)於探討養殖魚類及池水中抗藥性菌之產生時有同樣的結論。至於同一時間同一地區由不同魚體分離的菌株也有感受性的差異，則可能是因為定期按魚體大小分池而將不同來源的鰻

混養一池的關係。關於抗藥性菌株之種種問題，有待將來進一步的探討。

V 謝 詞

本研究是農復會經費支持之 76-ARDP-1-4- -107 號魚病研究計劃。研究標本之採集及部分生化學特性試驗得臺大動物系魚病研究室黃欣汝小姐等之協助，謹致以最大謝忱。

參 考 文 獻

1. HOSHINA, T. (1962). On a new bacterium, *Paracolobactrum anguillimortiferum* n sp. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 28: 162-164.
2. HOSHINA, T. (1962). ウナギの鱗赤病に關する研究。東京水産大學特別研究報告, 6(1): 1-104。
3. 郭光雄・江草周三 (1968). ウナギ及びキンギョから分離された一種の *Paracolobactrum* 菌について。魚病研究, 3(1): 58-61.
4. MEYER, F. P., and G. L. BULLOCK. (1973). *Edwardsiella tarda*, a new pathogen of channel catfish (*Ictalurus punctatus*). Appl. Microbiol. 25: 155-156.
5. SONNENWIRTH, A. C., and B. A. KALLUS. (1968). Meningitis due to *Edwardsiella tarda*. Amer. J. Clin. Path. 49(1): 92-95.
6. SHOTTS, E. B., and R. B. RIMLER. (1973). Medium for the isolation of *Aeromonas hydrophila*. Appl. Microbiol. 26: 550-553.
7. SHOTTS, E. B., and G. L. BULLOCK. (1975). Bacterial diseases of fishes: Diagnostic procedures for Gram-Negative pathogens. J. of the Fish. Res. Board Can. 32(8): 1243-1247.
8. PORRES, J. M., and R. E. STANYON. (1974). One-tube oxidation fermentation test. Amer. J. Clin. Path. 61: 368-374.
9. BROOKER, D. C., M. E. LUND., and D. J. BLAZEVIC. (1973). Rapid test for lysine decarboxylase activity in Enterobacteriaceae. Appl. Microbiol. 26: 622-623.
10. PACHA, R. E., and S. PORTER. (1968). Characteristics of Myxobacteria isolated from the surface of freshwater fish. Appl. Microbiol. 16: 1901-1906.
11. GILLIES R. R. (1956). An evaluation of two composite media for preliminary identification of Shigella and Salmonella. J. Clin. Path. 9: 368-371.
12. Manual of microbiological methods (1957). Mc. Graw-Hall Book Company Inc. New York.
13. BARRY *et al.* (1970). An improved single-disc method for testing the antibiotics susceptibility of rapidly growing pathogens. Amer. J. Clin. Path. 53: 149-158.
14. BAUER *et al.* (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. Amer. J. Clin. Path. 45: 493-496.
15. EWING, W. H., A. C. MCWHORTER, M. R. ESCOBAR, and A. H. LUBIN. (1965). *Edwardsiella*, A new genus of Enterobacteriaceae based on a new species, *E. tarda*. Int. Bull. of Bacteriol. Nomencl. Taxon. 15(1): 33-38.
16. WAKABAYASHI, H., and S. EGUSA. (1973). *Edwardsiella tarda* (*Paracolobactrum anguillimortiferum*) associated with pond-cultured eel disease. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 39: 611-616.
17. Bergey's manual of determinative bacteriology 8th ed. (1974). The Williams and Wilkins Company. Baltimore. 290-296.
18. SAKAZAKI, R., and K. TAMURA. (1975). Priority of the specific epithet *anguillimortiferum* over the specific epithet *tarda* in the name of the organism presently known as *Edwardsiella tarda*. Inter. J. of Sys. Bact. 25(2): 219-220.
19. 青木宙・江草周三・渡邊力 (1972). 水産養殖における薬剤耐性と R 因子。Japanese. J. of Bact. 27(6): 762-767.
20. 青木宙・渡邊力 (1973). ウナギの養殖池水および腸管より分離された薬剤耐性菌の研究。Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 39(2): 121-130

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·扈伯爾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，都曾在其腎臟發現黏孢子蟲之寄生。李煥彬及陳秀男(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蕃養之日本鰻(*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，自肛門口沿背縱綫剖露出暗紅色後腎。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、錳佛——不褪綠 (Alcoholic PAS-Fast green) 及無水過碘酸、錳佛——蘇木紫 (Alcoholic PAS-Haematoxylin)：多醣類及耐蛋白特殊染法。
 - (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，而黏孢子蟲則聚集成大小不等，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，其英囊 (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 陽性反應證明英囊含有多醣或耐蛋白。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英囊呈黃橙色，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之孢子英囊的染色反應，發現在全殖孢體 (pansporoblast) 內未成熟孢子之英囊染紅色，而在成熟孢子者則染金黃色。本試驗之呈色反應稍有不同；成熟孢子之英囊染色反應與 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，成熟孢子之英囊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，其英囊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英囊含胸腺核苷核酸 (Thymonucleic acid)。按細胞內核證明確有 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 \times .

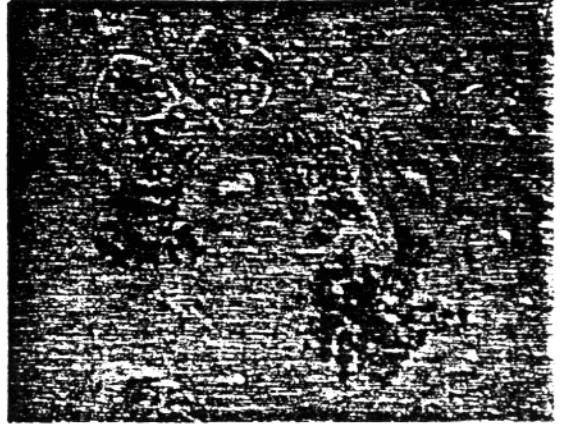


Fig. 2. A Cluster of spores at the vicinity of the Bowman's capsule. PAS+Fast Green stains. 500 \times .

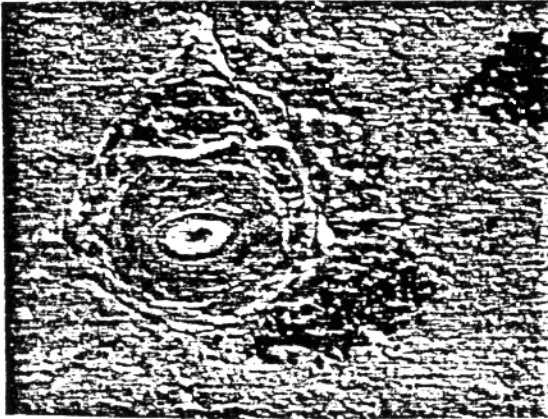


Fig. 3. Invasion of the spore in the tunica adventitia of a arteriole. PAS+Fast Green stains. 500 \times .



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



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 氏稱孢子莢含有 Feulgen 陽性反應及其推論恐有謬誤。

丙、黏孢子蟲之分類：

寄生鯉魚腎臟之黏孢子蟲有 *M. giardi*, *M. illinoensis*, *M. uchizama*, *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，主要寄生部位在鯉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。其再感染健康之鯉魚極可能為罹患孢子蟲而病死之鯉體糜爛後，孢子脫離魚體再度傳染健康鯉魚，或水中動物及浮游生物如 Copepoda 等吞食孢子，而鯉魚再吞食 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)，因而以下雜魚之魚糞配和鯉魚人工飼料頗非明智之舉，應予避免，除非上層魚類確無黏孢子蟲污染。病死鯉魚既有再傳染之可能，因此撈取病死或呈有腎腫病徵之鯉魚當為魚池管理重要工作項目。孢子多耐乾熱及藥物，如何消毒污染之鯉池為今後重要課題之一。

摘 要

在養殖鯉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

本研究承農林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.

臺灣地區牛蛙 (*Rana catesbiana*)、淡水長腳大蝦 (*Macrobrachium rosenbergii*) 及淡水養殖魚類 發現之細菌及寄生蟲病

蕭世民·陳孝禹*

Bacterial and Parasitic Diseases of Bull Frog (*Rana catesbiana*), Malaysian Prawn
(*Macrobrachium rosenbergii*) and Fresh-Water Cultured
Fishes Found in Taiwan

Shyh-Min HSIAO and Shiao-Yeu CHEN*

In this paper the bacterial diseases of bull frog, Malaysian prawn and seven species of fresh-water fishes were reported. The pathogens were *Aeromonas hydrophila*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Edwardsiella tarda* etc.

The parasitic diseases of thirteen species of fresh-water fishes were also provided. The parasites included Protozoa, Trematoda, Nematoda and Acanthocephala.

前 言

由於魚病防治之技術未能配合養殖技術而有相對之進步，水產病害已成為影響養殖事業發展之重要因子，此情形漸成為普遍而嚴重之現象⁽¹⁾，為改進水產工作之成效，研究魚病實為當前急務。

本省養殖魚類病害之研究於近年來有長足之進展，然而僅對鰱魚、香魚、鱧魚、草魚等之少數細菌性疾病及外部寄生蟲疾病有過記載⁽²⁻⁵⁾，此少數之研究及未有適當人員從事現場病害處理，養殖魚之疾病幾乎仍在毫無控制之狀態而不斷發生。筆者整理 1975~1976 年收集之各種淡水養殖魚、蝦及牛蛙之病害，記載其症狀、發病時間、地點、疑似病原體，並附圖片，做為魚病工作者之參考。

材 料 與 方 法

1. 病原體之分離：

病原菌：於 1975~1976 年間，筆者自桃園、新竹、苗栗等地各養殖場採取罹病之魚（鰱、鯉、鱸、香魚、草魚及塘虱魚）、牛蛙及淡水長腳大蝦。記載其外部病徵及養殖環境之情況後，剖折體內各部，仔細觀察，記載各器官之症狀，疑患細菌性疾患者，由可疑之感染部位採菌，進行病原菌之分離。常用之培養基為普通平板培養基 (Polypeptone 15 g, Beef extract 7.5 g, NaCl 5 g, dist. H₂O 1000 C. C., pH. 7.0~7.2, Agar 15 g)、Tryptic Soy Agar (Difco)、Cetrimide Agar Base (Difco) 及 R. S. medium⁽⁶⁾。分離出之純菌株隨即使用與罹病之魚、牛蛙及淡水長腳大蝦同種生物或泥鰱 (*Misgurnus anguillicaudatus*) 進行病原性試驗。各菌株於 25°C 培養 24 小時後用 0.85% 食鹽水調製 530 mμ 光

* 臺灣省水產試驗所竹北分所

(Chu-pei Fish Culture Station, Taiwan Fisheries Research Institute.)