

魚類寄生蟲卵圓鞭毛蟲之研究(I)

張錦宜、吳嘉哲、陳力豪
水產養殖組

水產寄生蟲感染症一直是養殖現場的重大威脅之一，臺灣每年因寄生蟲疫情擴散所造成的經濟損失，並不亞於病毒及細菌性感染症。其中卵圓鞭毛蟲 (*Amyloodinium ocellatum*) 主要寄生於海水魚之體表與鰓部，嚴重的感染會造成鰓絲充血、瘀血及腫大，導致黏液增生，氣體交換困難，最後因無法呼吸、窒息死亡 (圖 A)。本病在臺灣養殖魚塢幾乎全年均有病例發生；尤其在海水魚之育苗階段，極易受此蟲感染，感染後魚苗體色變黑，常在短時間內發生突發性的大量死亡，導致養殖海水魚嚴重之損失。

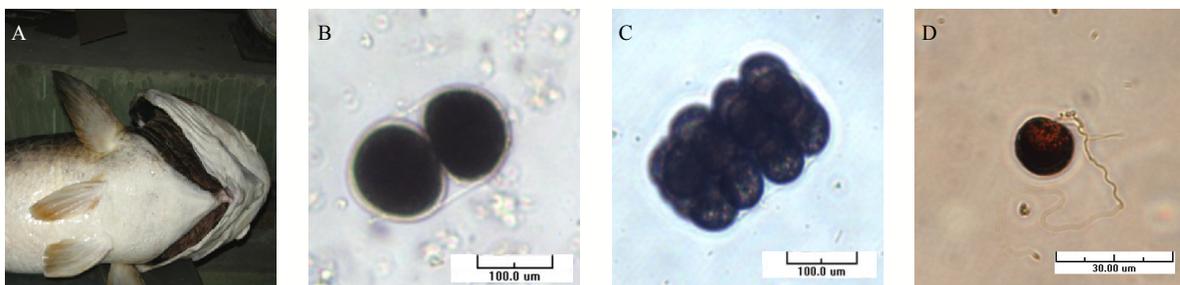
卵圓鞭毛蟲之生活史包括浮游期及附著期，浮游幼體 (dinospore) 具有 2 根鞭毛及 1 個眼點，在水中游泳，自營生活一段時間後，若遇到合適的宿主，即以由鞭毛轉變成之假根，附著在魚體體表或鰓部營寄生生活，此即其營養體 (trophont)。營養體寄生初期呈梨形，後期變為球形或橢圓形，大小約為 20–80 μm ，25°C 時，營養體 3 日可成熟離開寄主，進入孢囊體 (tomont) 時期。孢囊體大小約為 80–120 μm ，會進行細胞分裂，釋出 256 個具 2 根鞭毛，大小約 9–15 μm 的浮游幼體，此即一完整的生活史。

本研究將取自海水卵圓鞭毛蟲感染缸的

點帶石斑的鰓部剪下，於無菌海水中劇烈震盪 (full vortex) 10 秒，以 20 μm 濾網過濾，再以無菌海水逆洗濾網，即可收集自鰓部脫落之營養體。將前述營養體以緩衝液清洗兩次後，於無菌海水中以 25°C 培養 48 小時，以 80 μm 濾網過濾，再以無菌海水逆洗濾網，即可收集自營養體轉成之孢囊體。孢囊體於無菌的 L-15 培養基中以 25°C 培養 3 天，經 8 次細胞分裂 (圖 B 及 C)，即可得有 2 根鞭毛，具感染活性的浮游幼體 (圖 D)。

經比較 10 種、每種 5 個濃度、共 50 種不同組合的抗凍劑，分別以卵圓鞭毛蟲之營養體、孢囊體及浮游幼體進行低溫保存試驗。結果顯示，卵圓鞭毛蟲之營養體在 20% 之蔗糖可於 4°C 保存 14 日，適合做為較短時間的低溫保存。而卵圓鞭毛蟲的浮游幼體在 20% 之二甲基亞砜 (Dimethyl sulfoxide, DMSO)，可於 -196°C 保存最久達 28 日，適合長時間的超低溫冷凍保存。

本計畫所建立之卵圓鞭毛蟲無菌純化及低溫保存方法，讓後續研究計畫所需的試驗材料不虞匱乏，對未來預期以生態平衡、生物防治、疫苗開發及魚池管理模式來降低寄生蟲疫病風險的創新研究提供堅實的基礎，對臺灣水產養殖的永續發展也會有莫大的助益。



感染卵圓鞭毛蟲之魚體(A)；卵圓鞭毛蟲之孢囊體(B：2 細胞期、C：32 細胞期) 及浮游幼體(D)