

**A BALATON KUTATÁSÁNAK
1999. ÉVI EREDMÉNYEI**

MAGYAR TUDOMÁNYOS AKADÉMIA
Budapest
2000

HALKÓRTANI VIZSGÁLATOK BALATONI HALAKON, KÜLÖNÖS TEKINTETTEL A DÉVÉRKESZEG ELSŐ ÉS MÁSODNYARAS EGYEDEINEK PARAZITÁS FERTŐZÖTTSÉGÉRE

Molnár Kálmán, Székely Csaba és Eszterbauer Edit
MTA Állatorvos-tudományi Kutatóintézete, Budapest

Összefoglalás. A Balaton három fontos halfaja, a dévérkeszeg, az angolna és a busa parazitológiai vizsgálatára került sor. Az őshonos dévérkeszeg parazitás fertőzöttsége jól ismert. A viszonylag nagyszámú élősködő-faj és a gazdahal között egyensúlyi helyzet van, s ezért a talált fertőzöttségek elhullások valószínűségét nem jelezték. A dévérkeszegen nagy faj- és egyedszámban előforduló nyálkaspórások halon belüli lokációját illetően tettünk szert tudományos szempontból értékes adatokra. A dévérivadék fertőzöttsége a többnyaras egyedekétől több tekintetben eltér, s a Trematoda-lárvák dominanciája figyelhető meg.

Az angolna *Anguillicola*-fertőzöttsége az állomány csökkenése ellenére nem változott, s mind a halakban, mind pedig a köztes szervezetekben intenzív fertőzöttség található.

A balatoni túlkoros busák parazitáktól mentesnek tekinthetők, bennük a tógazdaságokban gyakori fertőzöttségek a vizsgálat során nem voltak kimutathatók.

Bevezetés

Többéves halkórtani felmérő munkánk tárgyevi munkatervének megfelelően 1999-ben a Balaton két fontos halfajának a dévérkeszeg (*Abramis brama*) és az angolna (*Anguilla anguilla*) parazitás fertőzöttségének tanulmányozására koncentráltuk, de módunk nyílt a fehér busa (*Hypophthalmichthys molitrix*) néhány egyedének vizsgálatára is. A végzett boncolások során a halak parazitás fertőzöttségére, azoknak az általános egészségi állapotra gyakorolt hatására gyűjtöttünk adatokat, de egy-egy tudományos szempontból érdekesebb, kevésbé ismert parazita-faj esetében az élősködő morfológiáját, fejlődését és a gazdára gyakorolt hatását is tanulmányoztuk.

Anyag és Módszer

A parazitológiai vizsgálatokhoz mindig frissen kiirtott vagy frissen elhullott halat használtunk. A fenti célból halainkat lehetőleg kíméletes módon gyűjtöttük be, oxigénnel töltött műanyag zsákokban szállítottuk fel az Intézetbe, s csak ritkábban boncoltuk fel a gyűjtés helyszínén. A gyűjtést részben saját halászeszközeinkkel, különböző lyukbőségű húzóhálókkal végeztük, részben pedig a Balatoni Halászati Rt. hajóin

vagy az MTA Balatoni Limnológiai Kutatóintézete hajóján a zsákmányból válogattuk ki.

A saját gyűjtésre elsősorban a fiatalabb korosztályú dévérkeszeg esetében volt szükség, ugyanis ez a sérülékeny pikkelyzetű halfaj a hálóba keveredett hínár mechanikai hatására a kereskedelmi halászatnál, de saját gyűjtésünk során is maradandó károsodást szenvedett. Bár munkatervünknek megfelelően a fiatalabb korosztályok (ivadék, ill. másodnyaras egyedek) parazitáltságának tanulmányozására fektettük a hangsúlyt, ez csak a másodnyaras korosztály esetében valósult meg terveink szerint, az ivadékokat illetően azonban mindössze 20 egyed teljes parazitológiai vizsgálatát tudtuk elvégezni, a moribund állapotban lévő egyedeknél a vizsgálatokat csak a kopoltyúra és a bélre korlátoztuk.

A laboratóriumban kiirtott halak közül a kisebbeket egészben vizsgáltuk sztereomikroszkóp alatt, míg a nagyobbak szerveit boncolás után tekintettük át. A protozoonokat kenet vagy glicerin-zselatinos készítmény formájában fénymikroszkóppal is tanulmányoztuk. Az újnak számító esetekről mikroszkópra szerelt videofelvevővel, ill. digitális kamerával készítettünk dokumentációs képeket. Az esetek egy részében, amikor a halakat, elsősorban a dévérivadékokat sérülékeny voltuk miatt szállítani nem tudtuk, a helyszínen a kutatóhajón vizsgáltuk. Minden esetben a szervi elváltozásokból és a parazitákkal fertőzött szervekből szövettani célra Bouin-oldattal mintákat fixáltunk, amelyeket beágyazott szövettani blokkok metszése után haematoxillin-eosinnal festettünk.

A halélősködő nyálkaspórással azok pontos meghatározása után molekuláris genetikai vizsgálatokat végeztünk. Kutatásaink középpontjában a dévérkeszeg kopoltyúján található *Myxobolus bramae*, *M. macrocapsularis* és *M. impressus* fajok álltak, de izomélősködő fajokkal (*M. pseudodispar*, *M. cyprini*) is végeztünk munkát. A genetikai vizsgálatok alapját a spórákból feltárt 18S riboszomális RNS-t kódoló gén-szakaszok összehasonlítása képezte. A PCR-technika segítségével felerősített, kb. 1700 bp hosszú DNS szakaszok restrikciós enzimes (*Hinf*I és *Msp*I) hasításával nyertük a fajra jellemző mintázatokat (restrikciós fragment-eloszlások vizsgálata, RFLP). A felerősített DNS fragmentumokat szekvencia szinten is vizsgáltuk. Ezideig 3 faj 1700 bp hosszú 18S rDNS szekvenciája fejeződött be.

Eredmények

I. Vizsgálatok dévérkeszegen

1. Vizsgálatok a dévérkeszeg egynyaras (3-5 hónapos) ivadékának parazitás fertőzöttségére

Ivadék dévérben viszonylag alacsony szintű parazitás fertőzöttséget diagnosztizáltunk. A halak többségének kopoltyúján *Trichodina*-fertőzöttséget találtunk, uszonyukon és kopoltyúikon néhány esetben a haldara (*Ichthyophthirius multifiliis*) tömlőit figyeltük meg, s belükből pedig minden esetben a *Goussia stankovitshi*-faj coccidium-ocystái voltak kimutathatók. A halak kopoltyújának ereiben (20 halból 20) egy, az idősebb halakban is gyakori *Sanguinicola* (Trematoda) mótely-faj petéi voltak kimutathatók, esetenként igen nagy számban. Ugyancsak nagyszámban (20 halból 18) voltak jelen a kopoltyún a *Dactylogyrus nanus* (Monogenea) egyedei. A halak uszonyainak porcos sugaraiban minden esetben találtunk betokozódott, fekete pigmentet képző *Apophallus muehlingi* metacerkáriákat, s 11 hal kopoltyúján, ill. uszonyán a *Bucephalus polymorphus* trematoda pigmentburok nélküli metacerkáriái is fellelhetők voltak. A fentiekén kívül néhány esetben *Anodonta*- és *Anguillicola*-lárvákkal való fertőzöttséget is megfigyeltünk, azonban a fertőzöttség egyetlen esetben sem érte el azt a fokot, amelyet kórtanilag jelentősnek kellett volna nyilvánítanunk.

A másodnyaras dévérek parazitafaunája némileg gazdagabb volt (1. táblázat). Különösen a monogeneák képviseltették magukat a *Dactylogyrus*- és *Gyrodactylus*-fajok révén, de az idősebb generációkra jellemző *Myxosporea*-, *Philometra*- és *Ergasilus*-fajok is kimutathatók voltak. Intenzív fertőzöttséget elsősorban az uszonyélősködő, pigmentképző *Apophallus muehlingi* mótelymetaterkáriák okoztak.

A halászatilag hasznosuló (2 nyarasnál idősebb) dévérkeszegen talált élősködőkre vonatkozó adataink a korábban megjelent közleményeinkben közöltekhez hasonló élősködő-összetételt mutatnak. Ez utóbbiak esetében a fajok előfordulásának regisztrálása mellett elsősorban a nyálkaspórások (*Myxosporea*) előfordulására, szezonális és faji megjelenésére, valamint szövet- és szervspecifitására koncentráltunk.

2. Vizsgálatok a dévérkeszeg *Myxobolus*-fertőzöttségeit illetően

A munka során balatoni dévérekről több ismert, valamint még nem azonosított *Myxobolus*-faj került kimutatásra, amelyek közül négy a kopoltyún képezett cisztákat. A fentiek mellett szoliter spórák gyakran

1. táblázat. A első és másodnyaras dévérkeszeg korosztályok parazitás fertőzöttsége a Balaton Keszthelyi-öblében 1999. évben

Parazita	Lokáció	első és egynyaras fert./vizsg. halak száma	másod és kétnyaras fert./vizsg. halak száma
<u>Protozoa</u>			
Phylum: Apicomplexa			
Class: Coccidia			
Family: Eimeriidae			
<i>Goussia stankoviitchi</i>	bél	20/20	22/40
Phylum: Myxozoa			
Class: Myxosporia			
Family: Myxobolidae			
<i>Myxobolus bramae</i>	kopoltyú	-	2/40
<i>Myxobolus spp.</i>	bél, vese	-	10/40
Class: Oligohymenophorea			
Family: Ichthyophthiriidae			
<i>Ichthyophthirius multifiliis</i>	kopoltyú	5/20	5/40
Family: Trichodinidae			
<i>Trichodina</i> sp.	uszony, kopoltyú	18/20	25/40
<u>Metazoa</u>			
Phylum: Platyhelminthes			
Class: Monogenea			
Family: Dactylogyridae			
<i>Dactylogyrus auriculatus</i>	kopoltyú	-	10/40
<i>Dactylogyrus falcatus</i>	kopoltyú	-	15/40
<i>Dactylogyrus nanus</i>	kopoltyú	18/20	-
<i>Dactylogyrus vunderi</i>	kopoltyú	-	6/40
<i>Dactylogyrus zandti</i>	kopoltyú	-	36/40
Family: Gyrodactylidae			
<i>Gyrodactylus</i> sp.	uszony	2/20	10/40
Class: Cestoda			

1. táblázat. A első és másodnyaras dévérkeszeg korosztályok parazitás fertőzöttsége a Balaton Keszthelyi-öblében
1999. évben

Family: Dilepididae	hasüreg	-	4/40
<i>Paradilepis scolecina</i>			
Class: Trematoda			
Family: Bucephalidae			
<i>Bucephalus polymorphus</i> metacerkária	kopolyú, uszony	11/20	11/40
Family: Sanguinicolidae			
<i>Sanguinicola sp.</i> pete	vérerek	20/20	40/40
Family: Diplostomidae			
<i>Diplostomum spathaceum</i>	szem	7/20	9/40
Family: Heterophyidae			
<i>Apophallus muehlingi</i> metacerk.	uszony	20/20	38/40
Phylum: Nematelminthes			
Class: Nematoda			
Family: Philometriidae			
<i>Philometra abdominalis</i>	úszóhólyag	-	4/40
Family: Dracunculidae			
<i>Anguillicola crassus</i> lárva	bélfal	3/20	6/40
Phylum: Annelida			
Class: Hirudinea			
Family: Piscicolidae			
<i>Piscicola geometra</i>	testfelszín	-	3/40
Phylum: Mollusca			
Class: Bivalvia			
Family: Unionidae			
<i>Anodonta sp.</i> lárva	uszony	2/20	8/40
Phylum: Arthropoda			
Class: Crustacea			
Family: Ergasilidae			
<i>Ergasilus sieboldi</i>	kopolyú	-	15/40

előfordultak a vesében, kopoltyúban, bélben és bőrben, ezek azonosítására azonban nem került sor. *A. M. pseudodispar*-ként azonosított izomparazitát és a pikkelyekről új fajként leírt *Myxobolus squamaphilus*-fajt illető eredményeket jelenleg nem érintjük. A kopoltyún négy faj (*M. bramae*, *M. hungaricus*, *M. macrocapsularis* és *M. impressus*) fejlődő és spórákat tartalmazó plasmódiumait találtuk meg. A fajok kopoltyún való elhelyezkedése és szöveti affinitása tekintetében jelentős eltérések voltak (1. ábra). A *M. bramae* és *M. macrocapsularis* a légzőredők és a kopoltyúlemezek vérereiben egyaránt cisztákat képeztek. A ciszták elhelyezkedése és mérete tekintetében különbség nem volt észlelhető. Ezzel szemben a *M. hungaricus*-faj csak a légzőredők kapillárisaiban (intralamellaris fejlődés) alakították ki jelentős méretű cisztáikat. A három fenti intravasculáris fajjal szemben a *Myxobolus impressus* faj tipikus hámélősködőnek bizonyult, és kisméretű, de nagyszámú plasmódiumai a légzőredők közötti többrétegű hámokban formálódtak. Ez a ritka parazita előfordulásakor a kopoltyún külső megtekintéssel is jól észlelhető elváltozásokat, a kopoltyúlemezsorok degenerálódását okozta.

A fenti kopoltyúélősködő fajok spóráit rendszeresen eljuttatjuk kooperáló partnereinkhez molekuláris biológiai vizsgálatok céljára. Egy ilyen spóragyűjtés nyomán jutottunk arra az eredményre, hogy a kopoltyúlemezek végén képződött egyetlen nagyobb cisztában két *Myxobolus*-faj spórái is megtalálhatók. Ez azáltal lehetséges, hogy az említett interlamellaris lokációban a lemezek arteria afferensének elszűkülő részében egyidejűleg több plasmódium is megrekedhet, s ezek összeolvadva egyetlen heterogén cisztát képeznek.

A fenti eredményről nemzetközi rendezvényen is beszámoltunk felhívva a figyelmet arra, hogy a molekuláris biológiai vizsgálatok morfológiában jártas szakemberek közreműködése nélkül hibás adatokat szolgáltathatnak, s véleményünk szerint a génbankban elhelyezett DNS-szekvenciák is tartalmazhatnak hibás adatokat.

Fenti megállapításainkat a ponty, dévér, koncér és vörösszárnýú keszeg izomélősködőivel végzett vizsgálataink is megalapozzák, ugyanis a világszerte elfogadott izom-emésztéses próbák sohasem eredményezik csak egyetlen faj gyűjtését. Erre a valószínűségre az említett halfajok balatoni egy- és kétnyaras ivadékaiból izolált, gondosan tisztított és identifikált spórák DNS-vizsgálata fog feleletet adni.

3. Molekuláris biológiai vizsgálatok nyálkaspóráson

A restriktív enzimekkel (*Hinf*I, *Msp*I) hasított PCR termékek fajra jellemző mintázatokat adtak, és 1.5%-os agaróz gélen egymás mellett futtatva az egyes fajok jól elkülöníthetőek voltak (2. ábra).

II. Vizsgálatok angolnán

Az európai angolnának mint halfajnak a jövője nagyon bizonytalan. Erre nemcsak a balatoni halpusztulások miatt hozott határozatok (az utánpótlás-szerű telepítések leállítása) ad okot, hanem világszerte megfigyelték, hogy egyre kevesebb üvegangelma érkezik Európa partjaihoz. Hipotézisünk szerint ennek fő oka az, hogy az *Anguillicola crassus* nevű úszóhólyag-élősködő, amely a balatoni angolnaelhullások fő tényezője volt, olyan mértékben károsítja az angolnát, hogy az gyengébb úszási képessége és fizikai állapota miatt ívó-helyére, a Sargasso-tengerbe visszatérni nem tud.

A fenti okok miatt az angolna fertőzöttségének alakulását, s az élősködő kártétele nyomán kialakuló ellenállóképeség-csökkenés vizsgálatát folyamatosan figyelemmel kísérjük. Megállapítottuk, hogy a Balatonban az úszóhólyag-férgesség alakulásában jelentős változás nem következett be. Jelenleg is találhatók férgekkel különböző intenzitással fertőzött, valamint férgeket nem tartalmazó, de a férgesség nyomait erőteljesen magukon viselő, megvastagodott úszóhólyagfalú egyedek.

Az említett vizsgálatok során találtuk meg az angolna uszonyában a *Daniconema anguillae* nevű fonálféreg nagyszámú egyedét. A nagyszámú 3. stádiumú lárva alapján már korábban feltételeztük, hogy az élősködőt az *Argulus foliaceus* nevű élősködő rák terjeszti. Jelen vizsgálatok során mind az élősködőt, mind a benne fejlődő lárvákat azonosítani tudtuk.

Ezenkívül az említett fertőzöttség nyomán ismertük fel, hogy egy eddig ismeretlen vérmétely ugyancsak általános ebben a szervben.

Az angolna halászati (és idegenforgalmi) jelentősége miatt továbbra is vizsgálni fogjuk az *Anguillicola*-fertőzöttség alakulását a Balatonban, ill. a féreg paratenikus gazdáiként számba jövő kisebb méretű balatoni halak és egyéb vízi szervezetek lárva-fertőzöttségét is.

III. Vizsgálatok fehér busán

A halak jelentős mérete miatt a busákon végzett vizsgálatainkat az Országos Állategészségügyi Intézet vizsgálataihoz igazítottuk, akik a

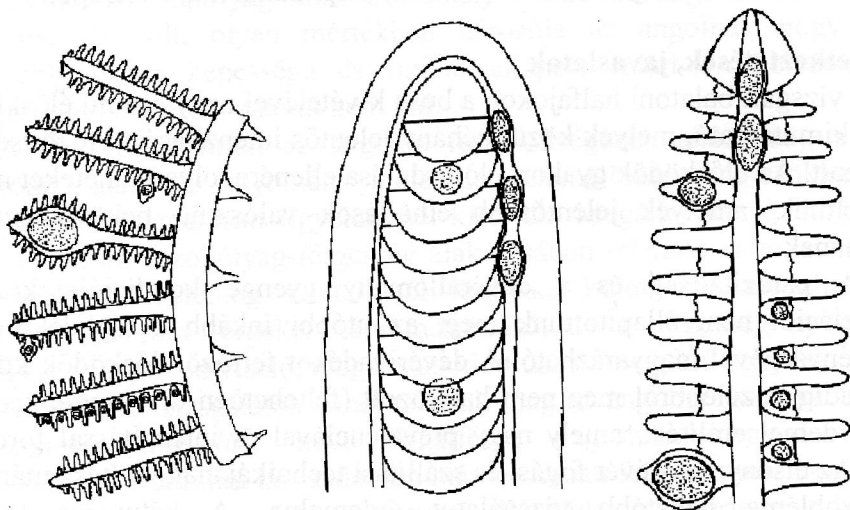
halak izomzatának és zsigeri szerveinek nehézfém, ill. peszticid szennyezettségét mérték. Az általuk vizsgált 10-30 kg tömegű halakból egy tavaszi és egy nyári időpontban 10-10 halat tanulmányoztunk paraziták előfordulására. A kérdéses halakból az uszonyokat, kopolyúkat, belet, vesét és epehólyagot vizsgáltuk meg. A megvizsgált 20 halon semmiféle parazitát sem találtunk, s még azokat a nagyobb halakon is közönséges élősködőket (*Myxobolus pavlovskii*, *Goussia sinensis*) sem tudtuk kimutatni, amelyek a tógazdaságokban a hasonló méretű egyedeken közönségesek. A Balatonban a busa ivadékállományának hiányában a reinfectió lehetősége beszűkül. A busák feltételezett (és várható) tömeges elhullásában inkább a táplálkozási tényezők és az elöregedés, mint paraziták kaphatnak majd szerepet.

Következtetések, javaslatok

1. A vizsgált balatoni halfajokon a busa kivételével nagy számú élősködő volt kimutatható, melyek közül néhány jelentős intenzitású fertőzöttséget okozott. Az élősködők gyakori előfordulása ellenére, olyan tüneteket nem észleltünk, amelyek jelentősebb elhullások valószínű bekövetkeztére utalnának.
2. A parazitáltság és a dévérállomány gyenge kondíciója között korrelációt nem állapítottunk meg, az utóbbi inkább a táplálékforrás szegénységével magyarázható. A dévérivadékokat fertőző élősködők közül az eddig közelebről meg nem határozott (feltehetően új) *Sanguinicola*-faj érdemel említést, amely nagy prevalenciával és intenzitással fordult elő. Az elsőnyaras dévér fogási és szállítási technikájának javítása után ez a probléma behatóbb vizsgálatot érdemelne. A kétnyaras halak fertőzöttsége átmenetet képez az ivadék és idősebb halak fertőzöttsége között. Ezeken elsősorban az uszonyélősködő *Apophallus muehlingi* metacerkáriák nagy száma feltűnő. Ugyancsak említésre érdemes, hogy az idősebb halak általános *Philometra ovata* fertőzöttsége s a *Myxosporea*-fajok előfordulása ezen korosztályoknál még nem jellemző. Ennek a partközelségben ugyancsak ritkán fogható és halászeszközökkel nehezen begyűjthető korosztálynak a további vizsgálata ugyancsak indokolt lenne.
3. Az angolna létszáma a tóban jelentősen csökkent. Ezt nem követte lényeges változás a paraziták fertőzöttség tekintetében. Az élősködők károsítása ezen a halfajon továbbra is jelentős, azonban a kialakult rezisztencia és az angolnapopuláció csökkenése miatt javuló környezeti

feltételek képesek tompítani egy környezeti stressz káros hatását. A fentiek miatt nem tartjuk valószínűnek egy újabb tömeges elhullás bekövetkeztét.

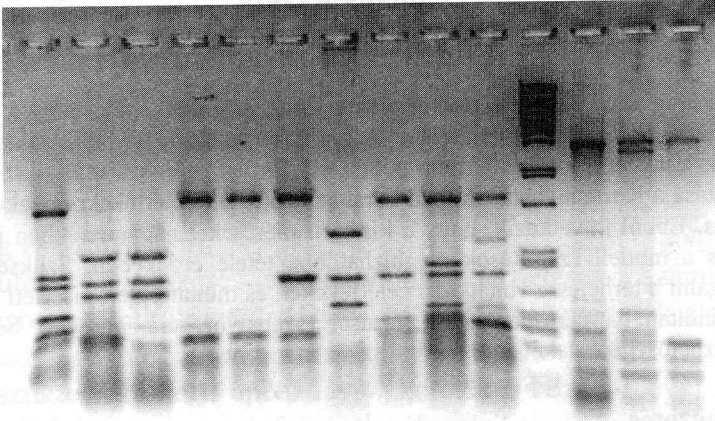
4. A napjainkig egymástól nehezen elkülöníthető halélósködő nyálkaspórák molekuláris biológiai módszerekkel biztosan meghatározhatók, s a restrikciós-fragment eloszlások vizsgálatával a szekvenálás sok esetben kiváltható, olcsóbban és gyorsabban végrehajtható.



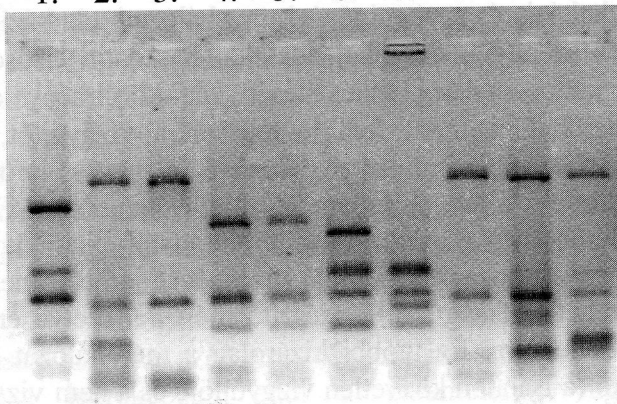
1. ábra. A dévérkeszeg kopoltyúján fejlődő *Myxobolus*-fajok lokációja. (1) *M. bramae* és *M. macrocapsularis* intralamellaris plazmódiumai (2) *M. bramae* és *M. macrocapsularis* interlamellaris plazmódiumai (3) *M. hungaricus* plazmódiumai (4) *M. impressus* plazmódiumai

2. ábra. Balatoni halfajokban élősködő nyálkaspórák 18S rDNS-e 1700 bp hosszú szakaszainak restrikciós fragment-eloszlásai *Hinf*I és *Msp*I enzimekkel

*Hinf*I 1. 2. 3. 4. 5. 6. 7. 8. 9. 10. M a b c



*Msp*I 1. 2. 3. 4. 5. 6. 7. 8. 9. 10.



1. *Henneguya creplini*
1. *Myxobolus cyprini*
2. *M. tisiae*
3. *M. bramae* 1.
4. *M. bramae* 2.
5. *M. macrocapsularis*
6. *M. impressus*
7. *M. pseudodispar* 1. (koncér)
8. *M. pseudodispar* 2. (koncér)
9. *M. pseudodispar* (vörösszárnyú keszeg)

- vágás nélküli kontrollok:
- a. *M. pseudodispar* 1. (8.)
 - b. *M. pseudodispar* 2. (9.)
 - c. *M. pseudodispar* (10.)

M. marker (λ PstI)