

Çipura Yavrularında (*Sparus aurata* L., 1758) Görülen *Trichodina* spp. Enfeksiyonlarına Formaldehit Banyolarının Etkisi

Erol Tokşen

Ege Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Yetiştiricilik Bölümü, Hastalıklar Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye
E mail: tokxen@sufak.ege.edu.tr

Abstract: *The effect of formaldehyde baths on Trichodiniasis of juvenile Sea Bream (Sparus aurata L., 1758).* This research was carried out in order to determine the reason of mortality in sea bream (*S. aurata* L.) fry. The moribund fish was investigated in parasitological and bacteriological point of view. *Trichodina* spp. was found responsible from high mortality. Fishies were exposed to different dose and periods of formaldehyde baths to show effectivity of formaldehyde. Fishies were successfully treated with formaldehyde bath (100 ppm, 30 minutes). After formaldehyde applications the mortality stopped.

Key Words: Sea Bream (*S. aurata*), *Trichodina* spp., mortality, formaldehyde, Aegean Sea, Turkey.

Özet: Bu araştırma Ege Bölgesinde üretim yapan bir kuluçkahanede çipura (*Sparus aurata* L) yavrularında görülen mortalite nedeninin ortaya konması amacıyla yapılmıştır. Ölme üzere olan balıklar parazitolojik, bakteriyolojik hastalıklar yönünden incelendi. Mortalitenin Trichodiniasisten kaynaklandığı tespit edildi. Enfestasyonun tedavisinde formaldehitin etkinliğinin ortaya konulması amacıyla farklı doz ve sürelerde banyolar uygulandı. 100 ppm konsantrasyonda 30 dakika banyo uygulamalarının etkili olduğu tespit edildi. Uygulama sonrasında işletmede mortalitenin durduğu görüldü.

Anahtar Kelimeler: Çipura (*S. aurata*), *Trichodina* spp., mortalite, formaldehit, Ege Denizi, Türkiye.

Giriş

Trichodiniasis, Urceolariidae familyasına ait *Trichodina*, *Trichodinella*, *Tripartiella*, *Dipartiella* ve *Foliella* cinslerinde yer alan parazitlerin neden olduğu bir hastalıktır. Lom (1963) bu cinslere *Paratrachodina* cinsini de ilave etmiştir. Şimdiye kadar yaklaşık 150 tür tanımlanmıştır (van As ve Basson, 1989).

Trichodiniasis dünyanın her tarafındaki tatlı su, acı su, denizde yetiştiriciliği yapılan balıklarda ve doğal ortamdaki balıklarda, amfibiyumlarda, kabuklularda, mollusklarda ve solenterada görülmektedir. Hastalık Brezilya (Da Cunha ve Pinto, 1928), Kanada (Khan, 1972), İsrail (Basson ve diğ., 1983), Tayvan (van As ve Basson, 1986), Amerika (Wellborn, 1967); van As ve Basson, 1987), Güney Afrika (van As ve Basson, 1992), Malezya (Subasinghe, 1993), Danimarka (Madsen ve diğ., 2000), Yeni Zelanda (Diggles, 2000) ve Türkiye'de (Akmirza, 2001) görülmektedir. Hastalık alabalık (Wellborn, 1967), sazan, tilapia (van As, 1984), levrek, çipura (Alvarez-Pellitero ve diğ., 1993), yılan balığı (Suzuki, 1950), Japon balığı (Schperclaus, 1992), kalkan balığı (Diggles, 2000) gibi farklı tür balıklarda belirlenmiştir.

Trichodina spp. stres oluşturan çevre şartlarında, su kalitesinin düşük olduğu ortamlarda, uygun olmayan rasyonla beslenen balıklarda sayıca artmakta ve mortalite ile sonuçlanacak derin solungaç ve deri lezyonlarına neden olmaktadır (Lom, 1984, in: Kinne, 1984). Trichodiniasis tedavisinde potasyum permanganat (%0.005), kloramin T (10 g.m⁻³), trypaflavine (10 mg.l⁻¹) (Stoskopf, M.K.; 1993; Egusa, 1992; Schaperclaus, 1991; Diggles, 2000; van As ve diğ., 1984) kullanılmış, etkili bulunmuştur. Hans ve diğerleri

acriflavin (25 ppm), bithionol (0.25 ppm), Detarox AP® (30 ppm, çeşme suyu), sarımsak (200 ppm), malaşit yeşili (1 ppm), Virkon PF® vet. (20 ppm) denemişler başarılı olmuşlardır.

Hastalıkların tedavisinde seçilecek kimyasal maddenin etkin, güvenli, kalıntı bırakmaması, ucuz olması ve kolay bulunması gerekmektedir. Ektoparaziter hastalıkların tedavisinde güvenilirliği, ucuz ve kolay bulunabilmesi, kalıntı riskinin olmamasından dolayı ilk seçenek formaldehittir. Bununla beraber formaldehitin dozu balığın türü ve büyüklüğüne, uygulama şekline, su sıcaklığına göre değişmektedir. Trichodiniasisin tedavisinde formaldehit (250-300 ml.m⁻³) (Stoskopf, M.K. 1993; Egusa, 1992; Schaperclaus, 1991; Diggles, 2000; van As ve diğ., 1984) kullanılmaktadır. Lom (1995) formaldehitte 10°C 250 ppm, 10-15°C 200 ppm, 15°C'nin üzerinde ise 150 ppm konsantrasyonunda daldırma banyoların, 250 ppm konsantrasyonunda 1 saat, 40-50 ppm 24 saat flaş banyoların, 15-25 ppm ise sürekli banyolarının etkili olduğunu bildirmektedir. Hans ve diğerleri (2000) formaldehitin (75 ppm) yılan balıklarında etkili olduğunu bildirmektedir. Yapılan bu çalışmada 2 gramlık çipura yavrularında görülen Trichodiniasisin tedavisinde değişik doz ve süredeki formaldehitin etkinliğinin belirlenmesi amaçlanmış ve dozu optimize edilmiştir.

Materyal ve Yöntem

Bu araştırma Ege Bölgesi'nde bir kuluçkahanede üretilen ortalama 2 gr ağırlığındaki çipura (*S. aurata*) yavrularında

%30 mortalite ile seyreden bir epizootide ölüm nedenini ortaya koymak amacıyla yapıldı. Denemenin yapıldığı suyun sıcaklığı 20°C, suyun pH'ı 7.5, O₂ konsantrasyonu 6.5 mg.l⁻¹, tuzluluk oranı %0.36 olarak ölçüldü.

Ölmek üzere olan 30 adet çipuradan önce deriden kazıntı preparatları yapıldı. Daha sonra solungaç lamelleri özenle çıkarılarak içinde deniz suyu bulunan petri kaplarına konularak mikroskop altında paraziter yönden incelendi. Otopsi yapılarak iç organlar (kalp, karaciğer, dalak, böbrek, kas ve bağırsak) incelendi. Bağırsaklar petri kabı içindeki parafin üzerine iğnelenerek diseksiyon makası ile açılarak binoküler mikroskop altında incelendi.

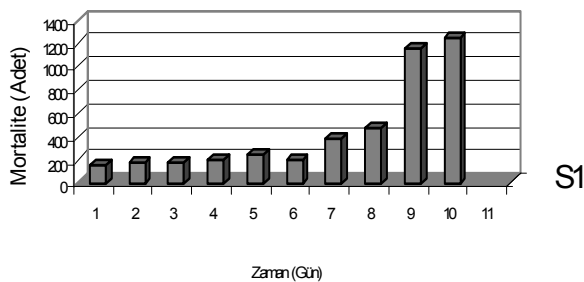
Deri ve solungaçlarda görülen parazitin teşhisi Lom (1958)'un bildirdiği morfolojik kriterler esas alınarak yapıldı. Bulunan parazitin preparatları Lom (1958) ve Wellborn (1967) tarafından bildirilen Klein tekniği kullanılarak hazırlandı. Ölçümleri mikrometrik oküler ile yapıldı.

Yine aynı gruptan ölmek üzere olan 10 adet balığın böbrek ve dalağında Deniz Suyu Agar (SWA), Anacker Ordal Agar (mAOA), %1.5 tuzlu Triptik Soy Agar (TSA, Difco), Thiosulphate Citrate Bile-Salt Sükroz Agar (TCBS, Oxoid), %5 Defibrine Koyun Kanlı Beyin Kalp İnfüzyon Agara (BHIA, Merck) ekimler yapıldı. Petri kapları 20±1°C'de inkübe edildi.

4 ton hacminde daire tanklarda bulunan balıklar havalandırma yapılarak 30 dakika 100 ppm formaldehit banyosuna tabi tutuldular. Uygulama sonrası balıkların deri ve solungaçlarından sürme preparatlar hazırlanarak mikroskop altında incelendi.

Bulgular

Hastalık bir günde normal kabul edilebilecek 3-5 adet ölümün 200-300 adete çıkması ile fark edildi. Bir hafta içinde günlük ölü balık sayısının 1000 adete ulaştığı görüldü. Ölüm oranları Şekil 1'de gösterildi.



Şekil 1. *Trichodina* spp. enfestasyonu sonrasında görülen mortalite oranı

Klinik muayenede ölmek üzere olan balıkların sağlıklı balıklardan kolayca ayırt edildiği görüldü. Hareketlerinde yavaşlama, suyun akışına karşı koyamama semptomları tespit edildi. Balıkların su yüzeyinde solungaç kapakları açık bir şekilde yüzdükleri ve bu balıkların sağlıklı diğer balıklara kıyasla yem alamadıkları ve az geliştikleri gözlemlendi. Balıkların renklerinin karardığı, derisinde mavimsi grimsi bir tabaka şekillendiği görüldü. Balıkların birazında pullarda dökülmeler ve deride yer yer kızarıklıklar vardı. Bazı balıkların yüzgeç ve kuyruklarında erimeler, bazı balıklarda ise sadece yüzgeç

ışınlarının kaldığı tespit edildi. Balıklarda görülen asfeksi belirtilerinin solungaçlarda tespit edilen aşırı mukus salgısından kaynaklandığı anlaşıldı. Solungaçlar mikroskop altında incelendiğinde yer yer proliferasyonlara rastlandı.

Deri ve solungaçlardan hazırlanan kazıntı preparatlarında çok sayıda *Trichodina* spp. görüldü. Parazit şeklinin dorsalden bakıldığında yuvarlak, saat camı, lateralden bakıldığında ise şapka biçiminde olduğu, dorsalinin konveks, ventralinin ise konkav bir yapıda olduğu tespit edildi. Bu konkav yapı yardımıyla parazitin konakçısına tutunmasının kolaylaştığı görüldü. Üstten bakıldığında ise daire şeklinde, sıralı dişçiklerden oluşan bir halkanın bulunduğu görüldü.

Hasta balıkların böbreklerinden SWA, mAOA, TSA, TCBS, BHIA katı besi ortamlarına yapılan bakteriyolojik ekimlerde herhangi bir patojen bakterinin üremediği tespit edildi. Kuyruk ve yüzgeçlerdeki erozyonlu bölgelerin mikroskopisinde *Flexibacter* spp. benzeri bakterilere rastlanmadı.

Katı besi ortamında üremenin olmaması, deri ve solungaçlarda çok sayıda *Trichodina* spp.'nin görülmesiyle mortalitenin paraziter enfestasyondan kaynaklandığı anlaşıldı.

Tedavi amacıyla formaldehit 50, 100, 150, 200, 250 ppm konsantrasyonunda formaldehit banyosu uygulandı. Tedavi uygulanırken havalandırma yapıldı ve balıkların bir gün önceden aç kalması sağlandı. Uygulama sırasında balıklarda herhangi bir toksisite belirtisi oluşmadı. Tedavi denemesi sonrasında balıklardan hazırlanan preparatlar mikroskop altında incelendi, parazite rastlanmadı. Elde edilen bulgular Tablo 1'de verildi.

Tartışma

Bazı araştırmacılar (Grabda, 1991; Egusa, 1992) *Trichodina* spp.'nin zararsız olduğunu söyleseler de Lom (1984) özellikle stres doğuran çevre şartlarında parazitin çok zararlı olduğunu, mortalite ile sonuçlanacak derin solungaç ve deri lezyonlarına neden olduğunu bildirmektedir. Yılan balığı yetiştiriciliğinde çok ciddi ekonomik kayıplara neden olduğuna dair raporlar vardır (Lyholt ve diğ. 1998, in: Hans ve diğ., 1998). Yapılan bu araştırmada enfeksiyonun yüksek mortalite ile seyretmesi ve bakteriyolojik herhangi bir patojenin bulunamaması *Trichodiniasis*'in ağır bir patojeniteye sahip olduğunu göstermektedir.

Enfeksiyon şiddeti balığın yaşı ve kondüsyonuna bağlı olarak değişmektedir. Olumsuz çevre şartları altında yetiştirilen balıklarda ve yavru balıklarda daha fazla görülmektedir. Bu araştırmada da enfeksiyon kuluçkahanede yavru balıklarda görülmüştür.

Su kalitesini yüksek tutulması ve yem artıklarının dipten hemen uzaklaştırılması hastalığın kontrolünde oldukça önemlidir (Stoskopf, 1993). Su sirkülasyonunun çok iyi yapılması, işletmeye giren su mutlaka filtreden geçirilmelidir. Balıklara uygun bir yemleme yapılmalı ve su gerektiği kadar havalandırılmalıdır (Lom, 1995, in: Woo, 1995). Yapılan bu araştırmada işletmede kısa bir süre için kum filtresinin arıza yaptığı ve çalışmadığı günlerde enfeksiyonun ortaya çıkması kayda değer görülmektedir.

Tablo 1. *Trichodina* spp. ile enfeste levreklerde formaldehit ile yapılan tedavi denemeleri.

Doz (ppm)	Uygulama Süresi (Dakika)	Su Sıcaklığı	Balık Sayısı	Balığın Davranışları (N=Normal)	Uygulama Sonrası Gözlemler
50	30	20°C	2000	N	Parazit sayısında azalma yok.
	60	20°C	2000	N	Parazit sayısında azalma var.
100	30	20°C	2000	N	Parazit yok.
	60	20°C	2000	N	Parazit yok.
150	30	20°C	2000	N	Parazit yok.
	60	20°C	2000	N	Parazit yok.
200	30	20°C	2000	N	Parazit yok.
	60	20°C	2000	N	Parazit yok.
250	30	20°C	2000	N	Parazit yok.
	60	20°C	2000	N	Parazit yok.

Bir yaşındaki sazan balıklarından alınan örneklerde x120 büyütmede görüş sahasında 25 adetten fazla parazitin bulunması tedavinin başlaması için yeterli sayıdır (Schaperclaus, 1991). Yapılan araştırmada çipura yavrularının deri ve solungaçlarından hazırlanan preparatlarda sayılamayacak kadar çok parazitin olduğu görülmüştür.

Hastalığın tedavisinde potasyum permanganat (%0.005), kloramin (10 g.m⁻³), trypaflavine (10 mg.l), formaldehit (250-300 ml.m⁻³) (Stoskopf, M.K.; 1993; Egusa, 1992; Schaperclaus, 1991; Diggles, 2000; van As ve diğ., 1984) kullanılmaktadır. Lom (1995) formaldehitte 10°C 250 ppm, 10-15°C 200 ppm, 15°C'nin üzerinde ise 150 ppm konsantrasyonunda daldırma banyoların, 250 ppm konsantrasyonunda 1 saat, 40-50 ppm 24 saat flaş banyoların, 15-25 ppm ise sürekli banyolarının etkili olduğunu bildirmektedir. Fakat 2 gram ağırlığındaki çipura yavruları için kullanılabilirliği hakkında herhangi bir bilgi vermemektedir.

Hans ve diğerleri (2000) 30 kemoterapötikle yaptıkları denemelerde acriflavin (25 ppm), bithionol (0.25 ppm), sarımsak (200 ppm), malaşit yeşili (1 ppm), potasyum permanganat (20 ppm), Virkon PF® vet. (20 ppm), kloramin T (50 ppm) ve formalinin (75 ppm) yılan balıklarında etkili olduğunu bildirmektedir. Araştırmacılar formaldehitin biyofiltre üzerinde olumsuz etkilerini görmüşlerdir.

van As ve diğerleri 25 ppm formaldehiti 24 saat uygulamışlar ve sazanlarda etkili bulmuşlar fakat *O. mosambicus* balıklarında hala parazite rastlamışlardır. Eradikasyon için 45 ppm 24 saat uygulamak gerekmektedir. *O. mosambicus* balıklarında 80 ppm lik formaldehit uygulamasının toksisiteye neden olduğunu bildirmişlerdir.

Yapılan araştırmada 50, 100, 150, 200, 250 ppm formaldehit 30 ve 60 dakika banyo yoluyla uygulanmıştır. Deneme sonrasında tanklardan örnek balıklar alınarak deri ve solungaçlarından preparatlar hazırlanmıştır. 50 ppm. 30 dakika banyo grubunda parazit sayısında değişiklik görülmemiş, aynı dozunda 60 dakikalık grubunda ise parazit sayısında azalma kaydedilmiştir. Diğer gruplarda ise hiç bir *Trichodina* spp. ye rastlanılmamıştır. Sonuç olarak *Trichodina* spp. için 250-300 ppm gibi yüksek dozda formaldehit kullanılmasının gereksiz 100 ppm 30 dakikalık dozunun yeterli olduğu ve herhangi bir toksikasyon belirtisi görülmediği anlaşılmıştır.

Kaynakça

Akmirza, A., 2001. The distribution at our seas of parasite fauna of chub mackerel. Turkish Journal of Marine Science, (in press).

- Alvarez-Pellitero, P., A. Sitja-Bobadilla, A. Franco-Sierra, O. Palenzuela, 1995. Protozoan parasites of gilthead sea bream (*Sparus auratus* L.) from different culture systems in Spain. J. Fish Diseases, 18, 105-115.
- Alvarez-Pellitero, P., A. Sitja-Bobadilla, A. Franco-Sierra, 1993. Protozoan parasites of wild and cultured sea bass (*Dicentrarchus labrax* L) from the Mediterranean area. Aquaculture and Fisheries Management, 24, 101-108.
- Basson, L., J. G. van As, 1983. Trichodinids (Ciliophora: Peritrichia) from a calonoid copepod and catfish from South Africa with notes on host specificity. Systematic Parasitology 18, 147-158.
- Da Cunha, M., C. Pinto, 1928. *Trichodina fariari* n. sp. cillie peritriche endoparasite de Poisson Marin. Comp.Rend. Soc. Biol. 48:1570-1571.
- Diggles, B. K., 2000. Chemotherapy of the ciliate *Trichodina* sp. on juvenile turbot (*Colistium nudipinnis*) with notes on the susceptibility of fish with abnormal pigmentation. New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research, Vol. 34: 653-660.
- Egusa, S., 1992. Infectious Diseases of Fish A. A. Balkema/Rotterdam/ Brookfield, 696 p.
- Grabda, J., 1991. Marine Fish Parasitology Polish Scientific Publishers- Warszawa, 304 p.
- Hans, C., K. Madsen, K. Buckmann, S. Møllergaard, 2000. Treatment of trichodiniasis in eel (*Anguilla anguilla*) reared in recirculation systems in Denmark: alternatives to formaldehyde. Aquaculture, 186, 221-231.
- Khan, R. A., 1972. Taxonomy, prevalence and experimental transmission of a protozoan parasite, *Trichodina oviducti* Polyanski (Ciliata: Peritrichida) of the thorny skate, *Raja radiata* Donovan. J. Parasitol. 58:680-685.
- Kinne, O., 1984. Diseases of marine animals, Vol IV, Part I, Introduction, Pisces. Hamburg, Biologische Anstalt Helgoland, 114-179 pp.
- Lom, J., 1958. A contribution to the systematics and morphology of endoparasitic trichodinids from amphibians with proposal of uniform specific characteristics. J. Protozoology 5, 251-263.
- Lom, J., 1963. The ciliates of the family Urceolariidae inhabiting gills of fishes (the *Trichodinella*-group) Acta Soc.Zool.Bohemoslov 27,7-19.
- Lom, J., I. Dykova, 1992. Protozoan parasites of fishes in: Developments in Aquaculture and Fisheries Science, Vol.26, p.315, Elsevier, Holland.
- Lyholt, H. C. K., S. Møllergaard, K. Buchmann, 1998. Treatment of the skin parasite *Trichodina jadratica* Raabe, 1958 (Ciliophora: Trichodinidae) in eel in Danish aquaculture: alternatives to formaldehyde. in: Treatment of trichodiniasis in eel (*Anguilla anguilla*) reared in recirculation systems in Denmark: alternatives to formaldehyde. (eds) Hans ve diğ., Aquaculture 186, 221-231.
- Schaperclaus, W., 1991. Fish Diseases Volume 2 A. A. Balkema/Rotterdam, 1397 p.
- Stoskopf, M. K., 1993. Fish Medicine, W.B. Saunders Company, PA, U.S.A., 882 p.
- van As, J. G., L. Basson, J. Theron, 1984. An experimental evaluation of the use of formalin to control trichodiniasis and other ectoparasitic protozoans on fry of *Cyprinus carpio* L. and *Oreochromis mossambicus* (Peters) S. Afr. J. Wildl. Res., 14 (2).
- van As, J. G., L. Basson, 1989. A further contribution to the taxonomy of the Trichodinidae (Ciliophora: Peritrichia) and a review of the taxonomic status of some fish ectoparasitic trichodinids. Systematic Parasitology 14:157-179.
- Wellborn, T., 1967. *Trichodina* (Ciliata: Urceolariidae) of freshwater fishes of the South Eastern United States. J. Protozooloji 14 399-412.
- Woo, P. T. K., 1995. Fish Diseases and Disorders, Vol I, Protozoan and Metazoan Infections, CAB International, 229-262 pp.