

University of Nebraska - Lincoln

DigitalCommons@University of Nebraska - Lincoln

H. W. Manter Laboratory Library Materials

9-1988

Parasitangrepp i ögon hos fisk, som lever i kylvatten från kärnkraftsreaktorer

Johan Höglund
Uppsala Universitet

Jan Thulin
Statens Naturvårdsverk, Miljökontrolllaboratoriet, Kustvattenenheten

Follow this and additional works at: <https://digitalcommons.unl.edu/manterlibrary>



Part of the [Parasitology Commons](#)

Höglund, Johan and Thulin, Jan, "Parasitangrepp i ögon hos fisk, som lever i kylvatten från kärnkraftsreaktorer" (1988). *H. W. Manter Laboratory Library Materials*. 89.
<https://digitalcommons.unl.edu/manterlibrary/89>

This Article is brought to you for free and open access by DigitalCommons@University of Nebraska - Lincoln. It has been accepted for inclusion in H. W. Manter Laboratory Library Materials by an authorized administrator of DigitalCommons@University of Nebraska - Lincoln.

SNV -- 3539

Parasitangrepp i ögon hos fisk, som lever
i kylvatten från kärnkraftsreaktorer

Johan Höglund

Jan Thulin

PARASITANGREPP I ÖGON HOS FISK SOM LEVER I KYLVATTEN FRÅN KÄRNKRAFTSREAKTORER

Johan Höglund¹

Jan Thulin²

1. Zoologiska Institutionen, Uppsala Universitet

Box 661, 751 22 Uppsala

2. Statens Naturvårdsverk, Miljökontrolllaboratoriet, Kustvattenenheten

Box 584, 740 71 Öregrund

1988

BESTÄLLNINGSDRESS

**Naturvårdsverket
Informationsenheten
Box 1302
171 25 Solna**

telefon: 08-7991000

ISBN 91-620-3539-8

ISSN 0282-7298

Upplaga: 300 ex

FÖRORD

Föreliggande arbete utgör en slutrapport på det s.k. Diplostomum-projektet vars syfte var att undersöka förekomst och intensitet av ögonsugmaskar hos fisk som påverkats av en förhöjd vattentemperatur samt att belysa parasiternas eventuella skadeverkan på värdjuren. Arbetet har huvudsakligen bedrivits i den av kylvatten uppvärmda Biotestsjön utanför Forsmarks kärnkraftverk

Rapporten vänder sig i första hand till handläggare vid miljöförvaldsmyndigheter, miljöansvariga inom industrin, fiskodlare, samt till personer verksamma med forskning och undervisning inom det fiskeribiologiska ämnesområdet

Uppsala och Öregrund i september 1988

Johan Höglund & Jan Thulin

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

	Sid
Förord	3
Sammanfattning	5
Summary	6
Inledning	7
Material och metoder	10
Insamling av fisk	10
Experimentella infektioner	11
Upparbetning och fixering	12
Statistisk bearbetning	13
Resultat	13
Arttillhörighet	13
Cerkariens morfologi	16
Överlevnadsförsök	17
Infektionsnivån i experimentellt infekterad regnbåge	18
Infektionsnivån i abborre och mört åren 1983-1985	18
Konkurrens mellan arter	27
Infektionsnivån i 1- och 2-årig abborre	29
Diskussion	34
Parasiternas arttillhörighet	36
Den frilevande cercariepopulationen	36
Den penetrerande och vandrande cercariens överlevnad	37
Den etablerade metacercariepopulationen	38
Erkännanden	40
Referenser	42
Rapporter producerade inom projektet	46

SAMMANFATTNING

Under åren 1983 t.o.m. 1987 undersöktes förekomst, intensitet och skadeverkan av ögonsugmaskar hos fisk, som påverkats av en förhöjd vattentemperatur. Undersökningarna utfördes huvudsakligen i Biotestsjön, som är ett 1 km² stort invallat havsområde (5 ‰ salthalt), som mottager uppvärmt (ca. 8 °C) kylvatten (ca. 90 m³/s) från Forsmarks kärnkraftverk. Både de morfologiska och experimentella undersökningarna med metacerkarier tyder på att det förekommer fyra olika arter av släktet *Diplostomum* i Biotestsjön, två i abborre och två i mört. Då taxonomiska revisioner pågår utomlands föredrogs att kalla dessa arter *Diplostomum* sp1-4. Metacerkarier av *D. sp1* förekom mellan nät- och broskhinnan i ögats glaskropp hos abborre och *D. sp4* i ögonlinsen hos mört i över 90% av fiskarna. Metacerkarier av de övriga två *D.*-arterna samt av *Tylodelphys clavata* och *Cotylurus* sp förekom i lägre frekvenser.

Cerkarier av *Diplostomum* spp utvecklas i sporocyster i snäckor tillhörande släktet *Lymnaea*. Cerkariernas svärmningsperiod startar ca. 1 månad tidigare och är även förlängd i den uppvärmda Biotestsjön i förhållande till referensområdet. Infektionsförloppet är dock detsamma i båda undersökningsområdena. Vid experimentella infektionsförsök med cercarier och årsyngel av löja konstaterades ett klart samband mellan ökad yngeldödlighet och ökad cercarietäthet och detta samband förstärktes vid ökad vattentemperatur. Vidare indikerar resultaten att fiskens försvarsmekanismer mobiliseras långsammare mot infektioner med *Diplostomum* spp än vad som är känt vara fallet vid bakterieinfektioner.

Den hastighet med vilken metacerkarier ackumuleras i fiskens ögon är högre i Biotestsjön än i referensområdet. Trots detta är inte metacerkarietätheten i äldre fisk högre här än i referensområdet, vilket kan tyda på att det förekommer en förhöjd parasitorsakad fiskdödlighet, främst genom predation, i Biotestsjön.

De här studerade värd/parasitförhållandena tycks lämpa sig mycket väl för både generella och specifika studier inom fiskimmunologin. Här påpekas dock behovet av ytterligare experimentella studier för att belysa den temperaturreglerade patogeniciteten och eventuella artspecifika skillnader i värddjurens reaktion på cercarier.

SUMMARY

We report here on the effects of raised water temperature on the prevalence, mean infrapopulation density and consequences of eye-flukes in fish. The study was mainly performed in the Biotest basin situated 120 km north of Stockholm, Sweden. This 1 km² basin is an enclosed brackish water (5 ‰) area receiving heated (about 8 °C) cooling water (90 m³/s) from Forsmark nuclear power station. Both morphological and experimental studies of the parasite larvae of sampled fish indicate that we are dealing with four strains of *Diplostomum*, two of which occur in perch and the other two in roach. Since taxonomic revisions are under hand elsewhere we prefer to name these strains *Diplostomum* sp 1-4. Metacercariae of *D. sp1* were found between the retina and sclera in the eye of perch while that of *D. sp4* were found in the eye-lens of roach in over 90% of fish examined. Metacercariae of the other two *D.*-species and of *Tylodelphys clavata* and *Cotylurus sp* were found at lower frequencies.

Cercariae of *Diplostomum* spp were found to develop from sporocysts in snails of the genus *Lymnaea*. The period of cercarial shedding starts about one month earlier and is also prolonged in the Biotest basin compared to the reference locality. The infection procedure, however, is the same in both areas. During experimental infections with cercariae on yearlings of bleak we found a distinct correlation between an increased fry mortality and an increased cercariae density, a connection which was strengthened at increased water temperature. Furthermore, the results indicate that the defence mechanisms of the fish respond slower towards infections with *Diplostomum* spp than that is known to be the case with bacterial infections.

The speed with which the metacercariae accumulate in the eye of the fish is higher in the Biotest basin than in the reference locality. In spite of this, the mean infrapopulation density of metacercariae in older fish is not higher here than in the reference locality which indicates that an increased parasite-induced host mortality, mainly due to predation, may occur in the Biotest basin.

The host-parasite interactions we have examined seem to be very well suited both for general and specific studies within fish immunology. In this connection, however, the need is stressed for further experimental studies to clarify the temperature-related pathogenicity in the host reaction to the cercariae.

INLEDNING

Sedan början av 1970-talet har kustvattenenheten vid naturvårdsverkets miljökontrolllaboratorium bedrivit biologiska effektstudier utanför de svenska kärnkraftverken. Som ett delprojekt studerades infektionsnivån av vissa parasiter hos snäckor och fisk. Dessa studier påbörjades i mitten av 1970-talet i Oskarshamnsområdet där man i kylvattenutsläppet utanför kärnkraftverket undersökte effekterna av temperaturhöjningen på förekomst och infektionsnivån av sugmasklarver i olika snäckarter (Stenbäck, 1975) och i ögonen hos både yngel och vuxen abborre och mört (Stenbäck, 1977; 1979; Thulin, 1980). Trots att förhållandena för parasiternas utveckling var gynnsamma i det av kylvatten påverkade området, Hamnefjärden, kunde man efter några års drift av kraftverket konstatera att infektionsnivån av parasiterna hos fisk låg på en stabil, normal nivå (Thulin, 1984). Orsakssammanhangen bakom den uteblivna förväntade ökningen av parasiter hos fisk förblev emellertid ouppklarade. För att ytterligare belysa och följa parasiternas infektionsförlopp i en varmvattenrecipient påbörjades därför ett forskningsprojekt huvudsakligen förlagt till Biotestsjön utanför Forsmark (Thulin, 1982; Sten *et al.*, 1983). Denna anläggning är ett invallat, 1 km² stort havsområde, som mottager kylvatten (ca 90 m³/s) från två reaktorer vid Forsmarks kärnkraftverk. Vattentemperaturen i Biotestsjön är under större delen av året ca 8 °C högre än i det omgivande havsområdet. Projektets målsättning var att undersöka förekomst och intensitet samt att belysa eventuell skada av ögonsugmaskar, speciellt av släktet *Diplostomum*, hos fisk som påverkats av den förhöjda vattentemperaturen.

Ögonparasiter tillhörande släktet *Diplostomum* förekommer hos ett flertal söt- och brackvattenlevande fiskarter (Shigin, 1986). Olika arter påträffas både i fiskens hjärna och i ögat, endera i linsen, glaskroppen eller mellan nät- och broskhinnan. Enbart inom fisksläktet *Perca* har 16 olika *Diplostomum*-arter rapporterats. Av dessa har 11 arter påträffats i linsen, medan de resterande 5 var från området mellan nät- och broskhinnan (Tab. 1). Från fisksläktet *Rutilus* har 6 arter rapporterats, samtliga från ögats lins (Tab. 1).

Dessa parasiters livscykel är indirekt med olika utvecklingsstadier i ett flertal s.k. värdjur (Fig. 1). Som slutvärd fungerar fiskätande fåglar. I tarmen hos dessa parar sig de fullvuxna parasiterna och deras ägg når vattnet med fågelns avföring. Ur äggen kläcks små cilierade miracidierlarver, som simmande söker upp den första mellanvärd, hos *Diplostomum* spp snäckor tillhörande släktet *Lymnaea*. I snäckans mittarmskörtel omvandlas miracidien till en s.k. sporocyst. Denna säcklika bildning är ett utvecklingsstadium under vilket parasiten förökar sig asexuellt under bildning av s.k.

cerkarielarver. En miracidiumlarv kan på detta vis ge upphov till tusentals s.k. furkocerkarier. Vid vattentemperaturer överstigande 10 °C svärmar cercarierna, d.v.s. de lämnar snäckan. De icke födointagande cercarierna måste inom loppet av några timmar nå en fisk. De borrar sig igenom fiskens hud, s.k. akut infektion, tappar svansen (Fig. 2) och påbörjar en vandring fram mot huvudregionen, där de etablerar sig som metacerkarier i fiskens ögon, den s.k. kroniska infektionen. Livscykeln är fullbordad när en infekterad fisk äts av en fågel och parasiten kommer ned i slutvärdens tarm.

Tabell 1. *Diplostomum*-arter påträffade hos fisksläktena a) *Perca* och b) *Rutilus*.

Art	Auktor	Läge
a		
<i>Diplostomum adamsi</i>	Lester <i>et</i> Huizinga, 1977	Mellan nät- och broskhinnan
<i>baeri</i>	Dubois, 1937	
<i>gasterostei</i>	Williams, 1966	
<i>pungiti</i>	Shigin, 1965	
<i>scudleri</i>	Oliver, 1941	
<i>chromatophorum</i>	Brown, 1931	Lins
<i>commutatum</i>	Diesing, 1850	
<i>flexicaudum</i>	Cort <i>et</i> Brooks, 1928	
<i>helveticum</i>	Dubois, 1929	
<i>huroense</i>	La Rue, 1927	
<i>paraspathaceum</i>	Shigin, 1965	
<i>parviventosum</i>	Dubois, 1932	
<i>pseudobaeri</i>	Razmashkin <i>et</i> Andrejuk, 1986	
<i>rutili</i>	Razmashkin, 1969	
<i>scheuringi</i>	Hughes, 1929	
<i>spathaceum</i>	Rudolphi, 1819	
b		
<i>indistinctum</i>	Guberlet, 1923	Lins
<i>mergi</i>	Dubois, 1932	
<i>nordmanni</i>	Shigin <i>et</i> Sharipov, 1986	
<i>parviventosum</i>	Dubois, 1932	
<i>rutili</i>	Razmashkin, 1969	
<i>spathaceum</i>	Rudolphi, 1819	



Figur 1. *Diplostomum* spp:s livscykel. 1) Den fullvuxna parasiten i slutvärdens tarm, en fiskätande fågel; 2) Parasitens ägg kommer ut i vattnet med fågelns avföring; 3) Den cilierade miracidielarven som infekterar den 1:a mellanvärdens, en snäcka tillhörande släktet *Lymnaea*; 4) Sporocyststadiet i mittarmskörteln hos den 1:a mellanvärdens, en snäcka; 5) Den frilevande cercarielarven ; 6) En cercarielarv som penetrerar den 2:a mellanvärdens, en fisk; 7) Den etablerade metacercarielarven i ögat hos en fisk.



Figur 2. SEM-bild som visar en cercarie, som nyligen tappat svansen i samband med att den penetrerar en fiskhud, 600X.

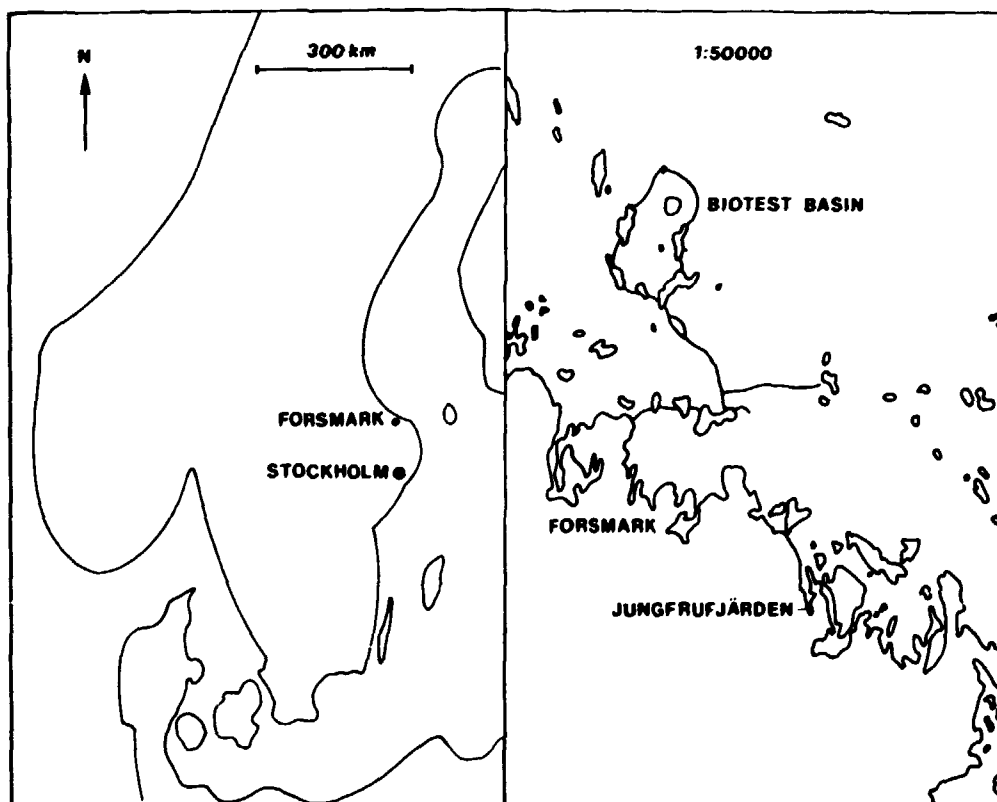
Föreliggande rapport redovisar resultaten av de undersökningar som utförts vid Biotestsjön inom ramen för det s.k. Diplostomum-projektet under åren 1983 t.o.m. 1987.

MATERIAL OCH METODER

Insamling av fisk.

Abborre (*Perca fluviatilis*) och mört (*Rutilus rutilus*) fångades med nät, ryssja eller sprängning. Fångstplats och metod, datum och vattentemperatur noterades liksom fiskens vikt i gram och längd i cm. Antingen undersöktes bara det vänstra eller båda ögonen hos ett antal slumpvis utvalda fiskar och parasitförekomsten noterades till art, läge och antal.

Mellan åren 1983 och 1985 undersöktes kvartalsvis sammanlagt 343 abborrar från Biotestsjön ($60^{\circ}27'N, 18^{\circ}2'E$), och 268 abborrar från referensområdet, Jungfrufjärden (Fig 3). De insamlades vid 9 provtagningstillfällen inom ramen för löpande provfisken utanför Forsmarks kärnkraftverk. Vid samma tillfällen undersöktes 289 mörtar från Biotestsjön och 225 från referensområdet.



Figur 3. Karta över provtagningsområdet.

Mellan maj och september 1986, insamlades och undersöktes, vid sju tillfällen i Biotestsjön respektive sex i den av kylvatten opåverkade Jungfrufjärden, vardera 30 stycken 1-åriga abborrar. Samma årsklass undersöktes även som 2-åringar vid två tillfällen under sommaren 1987. Avsikten var att följa infektionsförloppet hos den i abborre vanligast förekommande ögonparasiten inom en och samma årsklass fisk under en längre tidsperiod.

Experimentella infektioner

Fisk

Överlevnadstiden för årsyngel av löja (*Alburnus alburnus*), 0.8-1.9 mm, exponerade för tre cercarietätheter, undersöktes vid tre olika vattentemperaturer. Cercarier erhöles genom att belysa infekterade snäckor, *Lymnaea palustris* (Müller), insamlade från Biotestsjön, placerade en och en i cirka 50 ml 20 °C vatten under 12 timmar. Cercarietätheten i vattnet bestämdes därefter genom beräkning av antalet cercarier i 7 st 0.2 ml prov. Grupper om tio yngel insamlade från Biotestsjön, placerades i en liter vatten varefter de utsattes för 750, 2250 respektive 4500 cercarier, vid 9, 15 respektive 20 °C. Andelen döda fiskar avlästes efter 30 minuter och därefter var 60:e minut under 6 timmar.

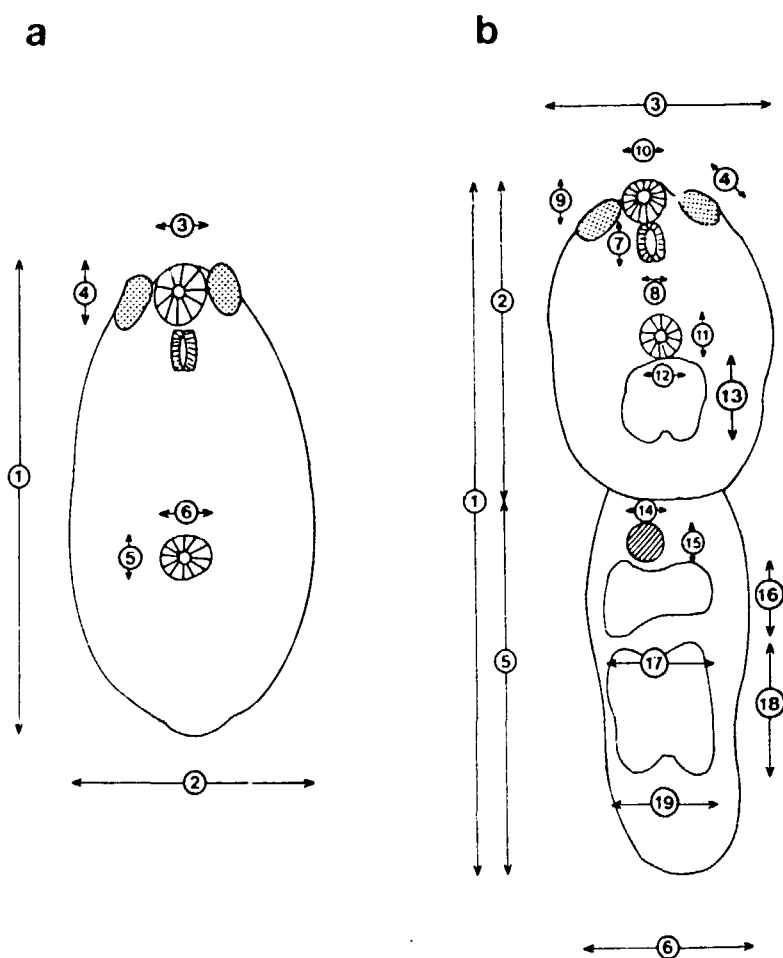
Ett infektionsförlopp efterliknades i laboratoriet genom att regelbundet exponera fisk (regnbåge, *Salmo gairdneri*, 80-120 g, Näs laxodling, Dalälven) för en låg cercariekoncentration under 7 veckor. Fisken indelades i vardera 6 kontroll- och behandlingsgrupper. Inom varje behandlingsgrupp exponerades fiskar en och en för cirka 50 cercarier två gånger i veckan, under respektive 1, 2, 3, 4, 6 och 7 veckor, varefter antalet metacercarier i fiskens ögon räknades. Försöket utfördes vid 14 °C.

Fåglar

Två gråtrutungar, kläcktes i ägginkubator och uppföddes i fångenskap, varav den ena infekterades med metacercarier från mörtens lins och den andra med metacercarier från området mellan nät- och broskhinnan ur abborre. Under tre dagar matades fåglarna med metacercariepreparerade fiskfileer och fick därigenom en sammanlagd dos av cirka 200 metacercarier. Efter ytterligare tre dygn avlivades fåglarna och tarmarna undersöktes med avseende på där etablerade parasiter. Parasiterna registrerades till läge och antal, varefter de fixerades.

Upparbetning och fixering

Ett slumpvis urval parasiter fixerades i Berland's fluid (1 del 40 % formalin samt 19 delar konc. ättiksyra). Efter fixering och innan montering förvarades parasiterna i 70 % alkohol. De monterades i glyceringelatin, alternativt i eukitt efter upparbetning enligt gängse histologisk metodik och färgades med eosin-hämatoxylin. Mätningar på ett slumpvis urval av de monterade parasiterna utfördes med en bildanalysator (Kontron Image Analysis System: MOP-videoplan) enligt figur 4.



Figur 4. Mätningar på a) metacerkarielarven och b) den vuxna parasiten.

Parasiter avsedda för svepelektronmikroskopisk (SEM) undersökning fixerades i 3 % glutaraldehyd i 0.1 M kakodylatbuffert eller i Karnovskys fixeringsvätska och efterfixerades i 4 % OsO₄ före upparbetning enligt gängse elektronmikroskopisk metodik. SEM-undersökning utfördes på *Diplostomum*-metacerkarier från linsen i mört och från området mellan nät- och broskhinnan i abborre, såväl som på *Tylodelphys*

clavata och *Cotylurus* sp från glaskroppen i abborre. Dessutom SEM-undersöktes den typ av *Diplostomum*-cerkariier från *Lymnaea palustris*, som användes vid infektionsförsöken med fisk.

Statistisk bearbetning

Numeriska data har behandlats statistiskt med programpaketet SAS (UDAC, Uppsala Universitet). Följande statistiska tester användes: χ^2 -test (för jämförelse av parasitförekomster), Kruskal-Wallis-test och Wilcoxon 2-sample test (för jämförelse av parasittätheter); t-test (för jämförelse av normalfördelade värden), lineär regressionsanalys (för kurvanpassning), kovariansanalys, ANCOVA (för jämförelse av regressionslinjer), och principal komponentanalys, PCA (för jämförelse av metacerkariernas yttermorfologi).

Två metoder har använts för att beskriva fördelningen av parasiter inom värddjurspopulationen. Dels beräknades kvoten mellan variansen s^2 och medelvärdet x (Elliot, 1977). Dessutom har lutningskoefficienten b för regressionslinjen mellan log. variansen och log. medeltätheten av metacerkariier per provtagningstillfälle använts (Andersson & Gordon, 1982). Parasiterna är homogent fördelade då $s^2/x < 1$ (d.v.s. parasittätheten är ungefär likartad i samtliga värddjur), slumpmässigt fördelade då $s^2/x = 1$, och klumpade (skept fördelade) då $s^2/x > 1$ (d.v.s. ett fåtal värddjur är hårt infekterade). På motsvarande vis är parasiterna homogent fördelade när $b=0$, slumpmässigt fördelade då $b=1$ och klumpade då $b > 1$.

RESULTAT

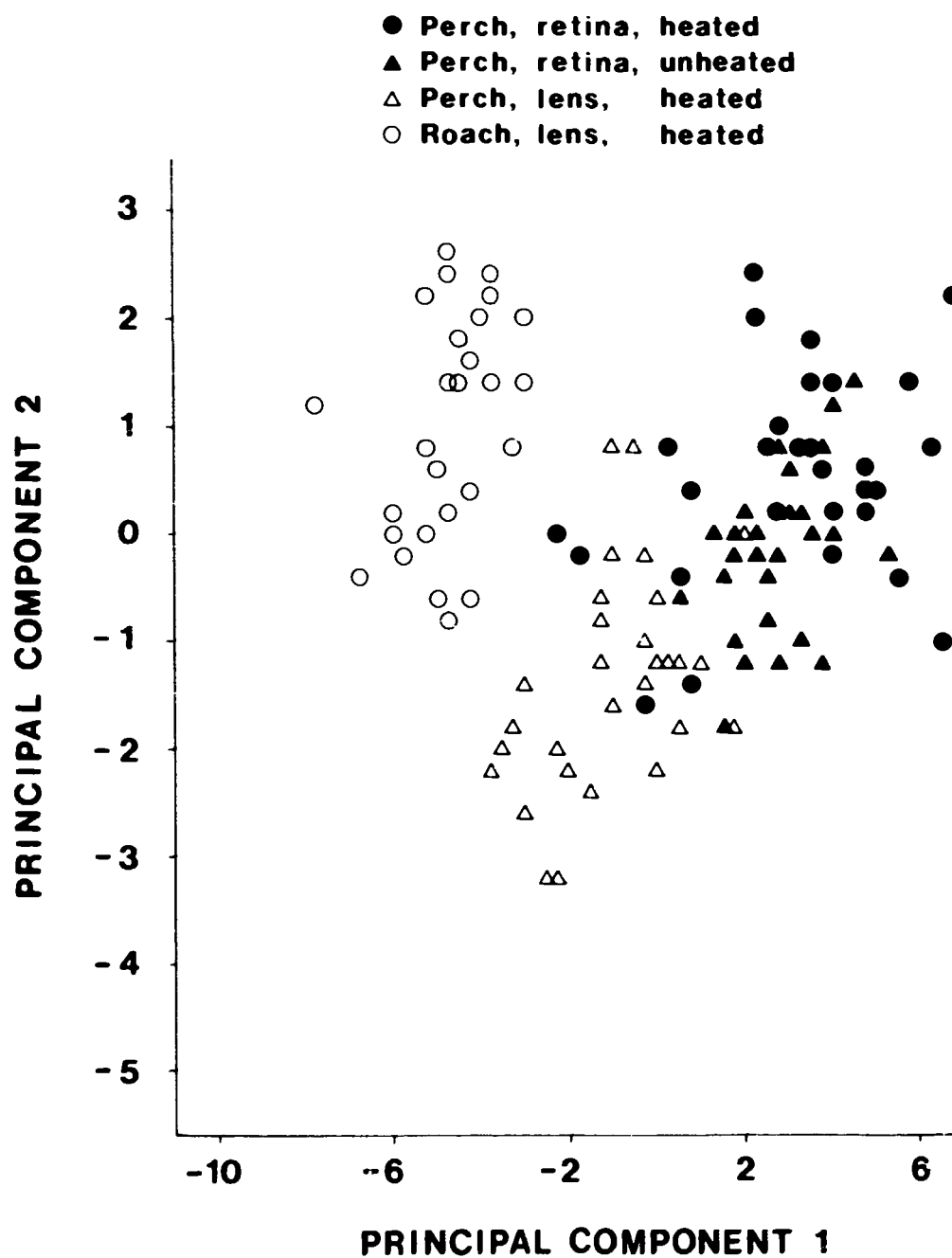
Arttillhörighet.

I figur 5 framgår att yttermorfologin hos de med bildanalysatorn undersökta metacerkarierna var olika. Trots att skillnaderna inte var påfallande var metacerkariier från ögats lins förhållandevis kortare och tjockare än de från området mellan nät- och broskhinnan. Även buksugskålens placering i förhållande till munsugskålen och avståndet mellan pseudosugskålarna, belägna på ömse sidor om munsugskålen, skilde sig mellan de olika *Diplostomum*-arterna/formerna. Skillnader noterades även hos de genom infektionsförsök erhållna vuxna parasiterna trots att de vuxit upp i en för båda morferna gemensam miljö, i tarmen hos gråtrut (Tab. 2). Den vuxna linsformen från mört var betydligt längre och tjockare än vuxna parasiter med ursprung i metacerkariier från

området mellan nät- och broskhinnan ur abborre. Även längdförhållandet mellan fram- och bakkroppen, samt svalget och könsorganen var större hos de vuxna linsformerna. Då oklarheter i taxonomin hos *Diplostomum*-släktet fortfarande föreligger, valde vi att beteckna de fyra arterna/formerna med nummer *Diplostomum* sp1-4.

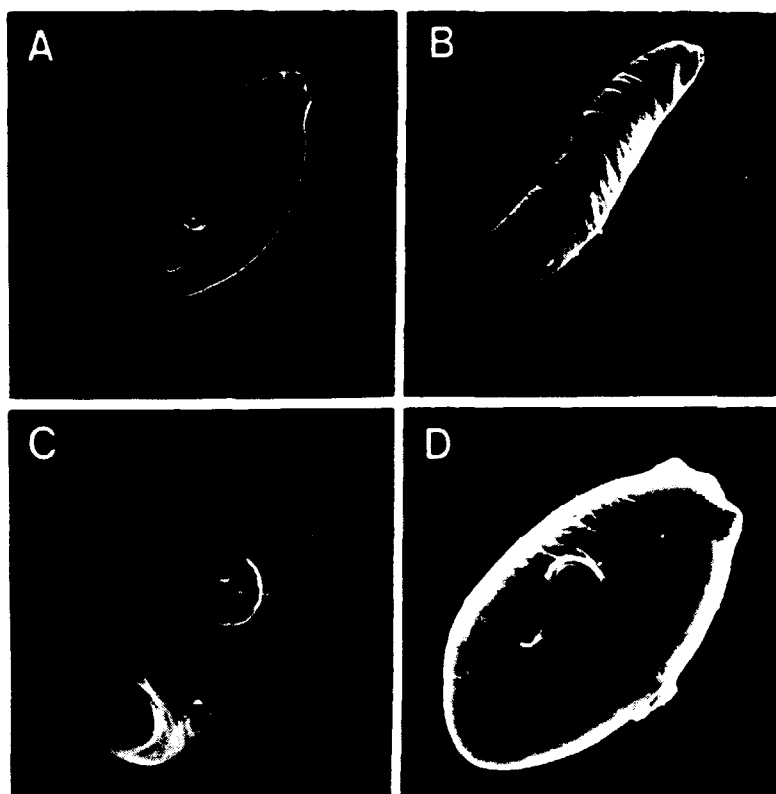
Tabell 2. De fullvuxna parasiternas morfologi (medelvärden \pm SD, enhet μm) i gråtrut, *Larus argentatus* L., som infekterats antingen med *Diplostomum* metacerkarier från området mellan nät- och broskhinnan i abborre, eller med *Diplostomum* metacerkarier ur mörtens lins.

Mått	abborre (retina)		mört (lins)		t-test
	μm	\pm SD	μm	\pm SD	
Längd	1547.3	77.7	2196.7	79.6	***
Framkroppens längd	855.7	34.9	953.5	27.9	*
Framkroppens bredd	483.2	15.6	598.8	17.7	***
Pseudosugsålens längd	114.1	3.3	114.7	3.1	ns
Bakkroppens längd	694.3	51.2	1216.9	67.7	***
Bakkroppens bredd	343.3	10.0	387.8	10.3	**
Förhållandet bak-/ framkropp	0.8		1.3		
Svalgets längd	76.4	1.3	71.1	1.6	*
Svalgets bredd	55.7	1.4	51.7	1.1	*
Munsugsålens längd	82.7	3.0	78.4	1.4	ns
Munsugsålens bredd	77.3	3.2	70.8	2.7	ns
Förhållandet munsugsål /svalg	1.1		1.1		
Buksugsålens längd	116.3	19.7	82.4	3.2	ns
Buksugsålens bredd	101.0	10.8	93.6	2.0	ns
Tribocytiska organets längd	247.6	19.3	257.7	8.5	ns
Ovariets bredd	114.5	3.7	131.7	3.9	**
Ovariets längd	128.3	20.1	131.9	3.5	ns
Främre testis längd	191.4	10.9	225.6	9.9	*
Främre testis bredd	285.3	10.3	304.2	9.7	ns
Bakre testis längd	212.7	12.8	253.4	11.6	ns
Bakre testis bredd	267.8	9.3	302.7	9.6	*
Ägg längd	10.0	0.7	9.8	1.4	ns
Ägg bredd	6.9	0.7	6.6	0.8	ns
Ägg antal	2.7	2.6	4.6	5.1	*



Figur 5. Principal komponentanalys baserad på mätningar av metacercarier från; öppna cirklar: ögats lins hos mört; fyllda cirklar: mellan nät- och broskhinnan i ögat hos referens-abborre; öppna trianglar: abborrens lins; fyllda trianglar: mellan nät- och broskhinnan i ögat hos biotest-abborre.

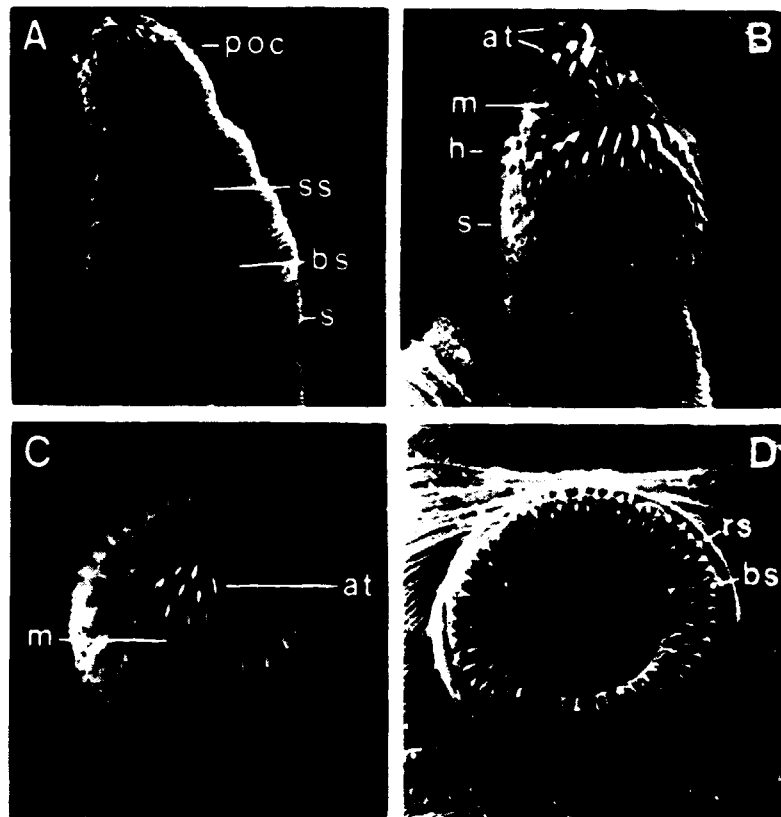
Däremot var *Tylodelphys clavata* och *Cotylurus* sp beteende- och utseendemässigt avvikande, både från varandra och från samtliga *Diplostomum*-arter. *Tylodelphys clavata* var en frilevande, mycket aktiv, långsmal parasit, utrustad med relativt små sugskålar, medan den något större *Cotylurus* sp uppvisade en mycket karakteristisk bakkropp och buksugsåål (Fig. 6). Den sistnämnda parasiten var som regel dessutom inkapslad.



Figur 6. SEM-bilder som beskriver yttormorfologin hos A) *Diplostomum* sp3 från ögats lins hos mört, 200X; B) *Tylodelphys clavata* från glaskroppen i ögat hos abborre, 260X; C) en fripreparerad *Cotylurus* sp från glaskroppen i ögat hos abborre, 300X ; D) *Diplostomum* sp1 från området mellan nät- och broskhinnan i abborrögat, 220X.

Cerkariens morfologi

Vid kraftig förstoring av cercarier iaktogs hur de var utrustade med hakar, taggar och sensoriska organ inordnade enligt ett mönster (Fig. 7a-d). Speciellt kring munöppningen och runt buksugsåålen påträffades en riklig beväpning som bl.a. användes vid penetration av fiskens hud.



Figur 7. SEM-bilder som visar detaljer hos en *Diplostomum*-cercarie ur *Lymnaea peregra*; A) den övre delen av kroppen sedd bakifrån: poc=krage av taggar, ss=sensoriska setae, bs=trubbiga taggar, s=taggar, 1500X; B) detalj av framänden från sidan: at=tofs, m=munöppningen, h=hakar, s=taggar, 2600X; C) detalj av tofsen framifrån: at=tofs, m=munöppningen, 2900X; D) detalj av buksugsålen: rs=ring av taggar, bs=trubbiga taggar, 2400X.

Överlevnadsförsök

Överlevnadstiden för årsyngel av löja som exponerats för olika cercarietätheter vid olika vattentemperaturer redovisas i tabell 3. Ett samband konstaterades mellan en högre dödlighet vid både en högre cercarietäthet och högre vattentemperatur. Sålunda var 95 % av fiskarna som exponerats vid 20 °C och med en täthet av 4500 cercarier per liter vatten döda redan efter 4.5 timmar. Vid 9 °C och 750 cercarier per liter vatten var dödligheten nere i 10%.

Tabell 3. Procentuell överlevnad (tidsenhet=timmar) hos årsyngel av köja exponerade för olika cercarietätheter och vid olika temperaturer; a) 750 cercarier per liter vatten, b) 2250 cercarier per liter vatten, c) 4500 cercarier per liter vatten.

Tid	20 °C			15 °C			9 °C		
	a	b	c	a	b	c	a	b	c
0.5	100	100	100	100	100	100	100	100	100
1.5	100	95	45	100	100	100	100	100	100
2.5	100	95	30	100	100	95	100	100	100
3.5	100	75	20	100	95	80	100	100	100
4.5	100	60	5	100	90	70	100	100	100
5.5	100	45	5	100	85	65	100	100	100
6.5	100	30	5	95	80	65	100	100	100
24	95	30	5	95	70	50	90	95	70

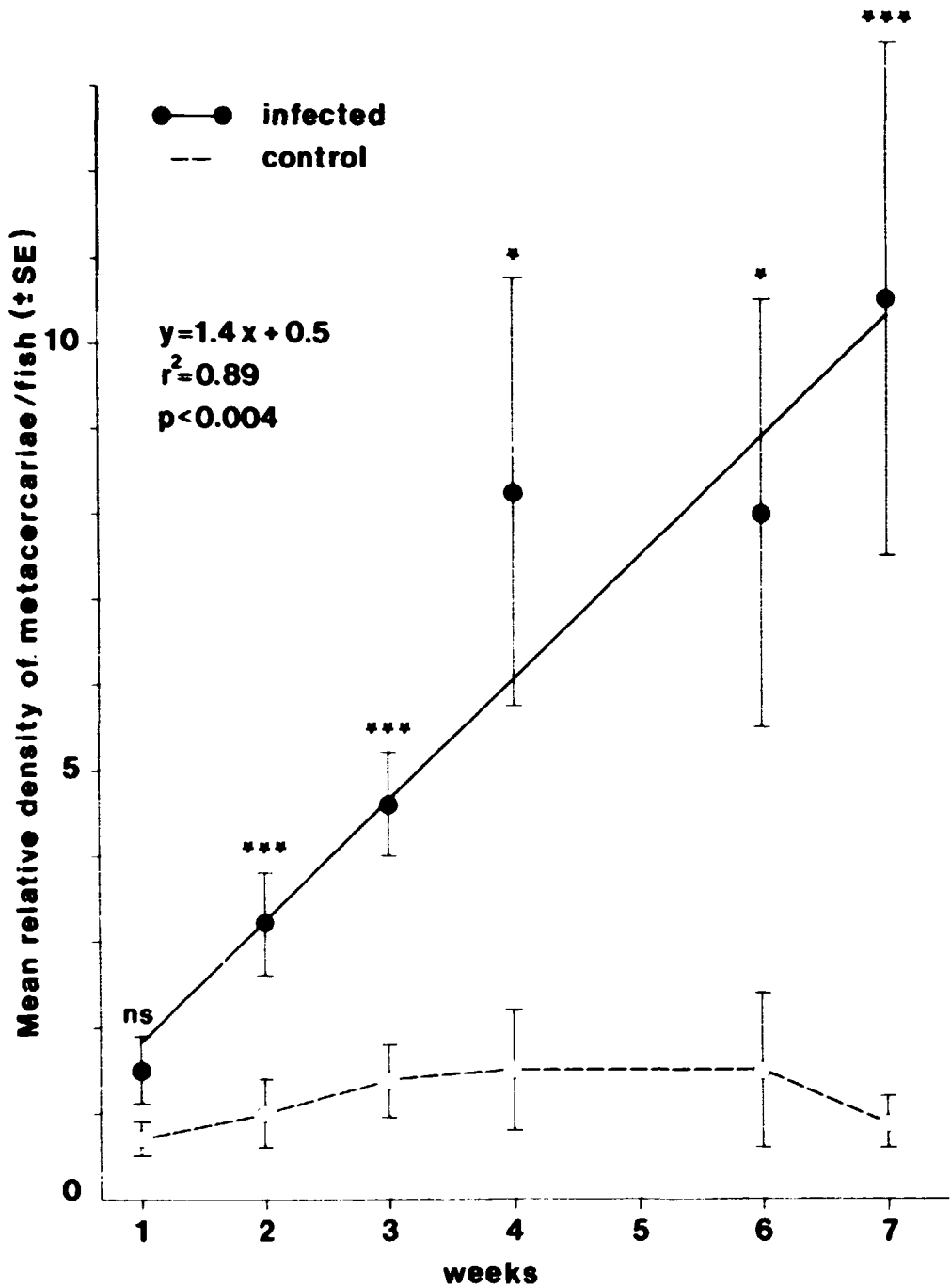
Infektionsnivån i experimentellt infekterad regnbåge

I de grupper av fisk som utsattes för infektion på laboratoriet ökade medeltätheten parasiter per fisk lineärt med antalet veckor de exponerats för cercarier enligt ekvationen, $Y=1.4X+0.5$, $r^2=0.89$, $p<0.004$ (Fig. 8). Efter 7 veckor var medeltätheten parasiter per fisk en faktor 10 högre i den behandlade gruppen jämfört med i kontrollgruppen. Den maximala infektionen bland dessa var 25 parasiter. Även inom kontrollgrupperna var enstaka fiskar infekterade med metacercarier. Dessa fiskar har dock blivit infekterade i fiskodlingen.

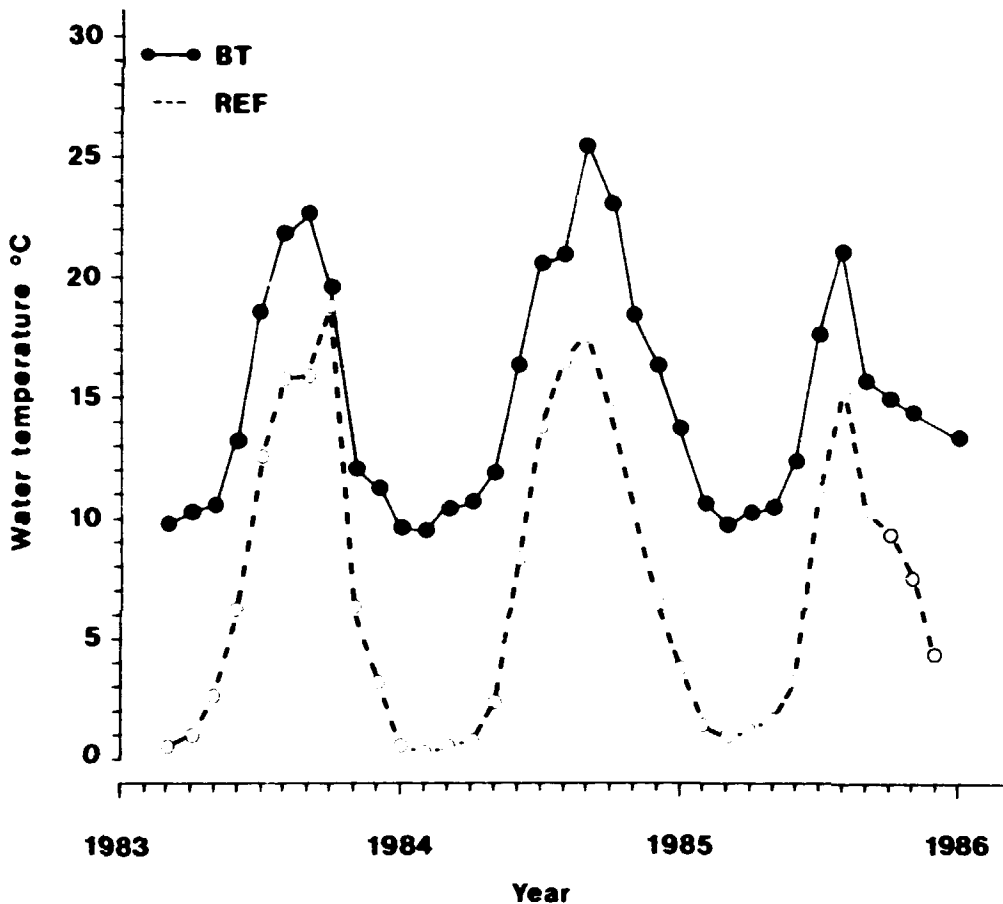
Infektionsnivån i abborre och mört mellan åren 1983-1985

Temperatur

Vattentemperaturen i referensområdet varierade säsongsmässigt under hela undersökningsperioden (Fig. 9). I varje årlig cykel observerades minimitemperaturen i månadsskiftet december-januari och maximumtemperaturen i månadsskiftet augusti-september. Även i Biotestsjön avlästes en årlig återkommande säsongsmässig variation. I motsats till referensområdet understeg emellertid temperaturen aldrig 8 °C. Det ungefärliga temperaturpåslaget i Biotestsjön var ungefär 8 °C förutom under sommarmånaderna då temperaturdifferensen var mindre.



Figur 8. Medelantalet *Diplostomum*-metacerkarier (mean relative density of metacercariae/fish) i regnbåge exponerade för cirka 50 cerkarier en och en två gånger i veckan under sammanlagt 1, 2, 3, 4, 6 och 7 veckor, $n=30$; öppna cirklar: kontrollfiskar; fyllda cirklar: infekterade fiskar; den heldragna linjen representerar regressionslinjen, $Y=1.4X+0.5$, $r^2=0.89$, $p<0.004$; $p<0.05$.



Figur 9. Månadsmedelvärden för vattentemperaturen i °C (water temperature) 1983-1985; öppna cirklar sammandragna med streckad linje: intagsvattnet; fyllda cirklar sammandragna med fylld linje: Biotestsjön.

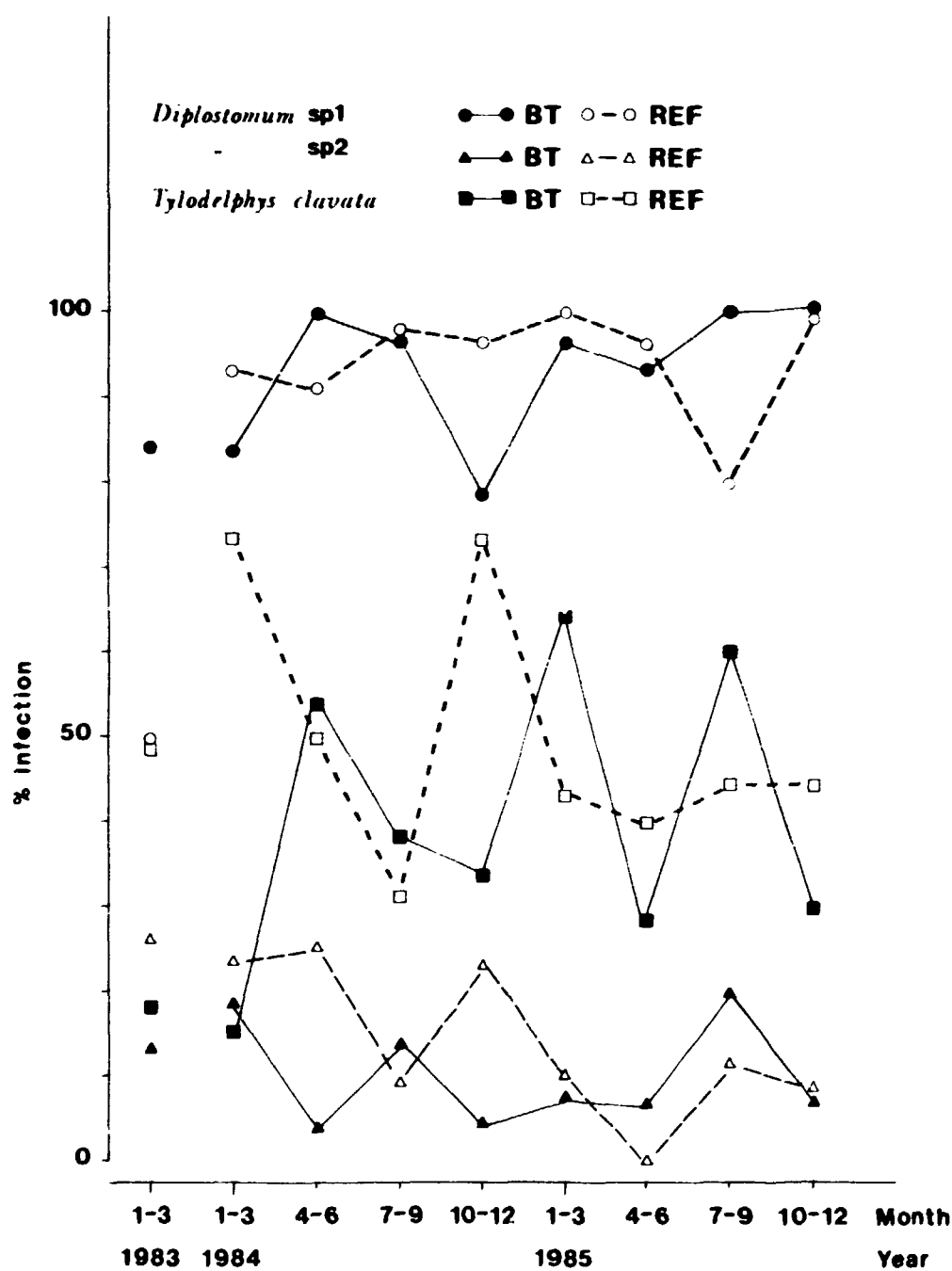
Sex olika arter av metacerkarier, tillhörande tre släkten, identifierades. Förekomsten och tätheten av dessa i vänster öga hos abborre respektive mört mellan åren 1983 och 1985 redovisas artvis nedan.

Abborre

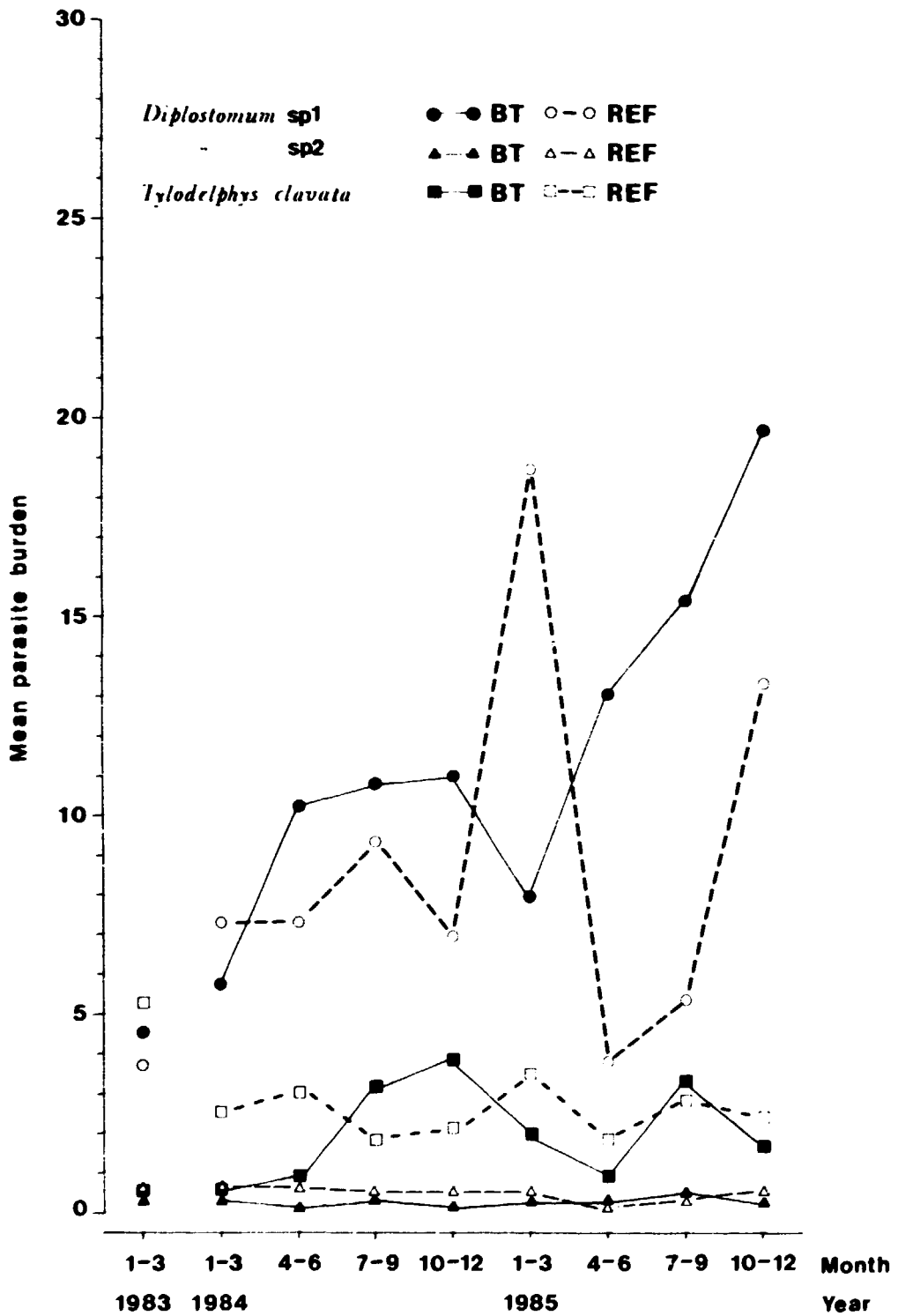
Diplostomum spl

Denna art/form var allmänt förekommande hos abborre i ögonen mellan brosk- och näthinnan. Både det procentuella antalet infekterade fiskar och antalet parasiter per fisk var under hela undersökningen påfallande högt (Fig. 10-11). Vid tretton undersökningstillfällen var över 90 % av fiskarna infekterade. Däremot var skillnaderna i parasitförekomst signifikant olika endast vid 2 tillfällen. Vid ett tillfälle var förekomsten högre i Biotestsjön medan den vid det andra tillfället var högre i referensområdet. Medeltätheten parasiter per fisk i både Biotestsjön och referensområdet varierade mellan 4

och 20. Vid ett tillfälle noterades en statistiskt säkerställd högre täthet i Biotestsjön. Enstaka fiskar var infekterade med mer än 100 parasiter.



Figur 10. Procentuell förekomst (% infection) av ögonparasiter i vänster öga hos abborre från Biotestsjön (BT) och referensområdet (REF) 1983-1985, n=24-69.



Figur 11. Medelantalet ögonparasiter per fisk (mean parasite burden) i vänster öga hos abborre från Biotestsjön (BT) och referensområdet (REF) 1983-1985, n=24-69.

Diplostomum sp2

Denna art påträffades hos abborre i ögats lins. Som framgår av Fig. 10-11 var både andelen infekterade fiskar och medeltätheten metacerkarier per fisk låg under hela undersökningsperioden. Vid två tillfällen var både förekomsten och medeltätheten metacerkarier per fisk signifikant högre i referensområdet .

Tylodelphys clavata

Tylodelphys clavata påträffades fritt i glaskroppen. Andelen infekterade abborrar varierade mellan 15 och 64 % i Biotestsjön och 32 och 77 % i referensområdet (Fig. 10). Vid tre tillfällen var förekomsten signifikant högre i referensområdet.

Cotylurus sp

Även denna mycket stora vanligen encystrerade metacerkarie påträffades i glaskroppen hos båda fiskarterna. Förekomsten i abborre varierade mellan 0 och 40 % i både Biotestsjön och referensområdet (Tab. 4). Även antalet parasiter var hela tiden lågt. En tendens till en något stigande förekomst kunde däremot skönjas i Biotestsjön.

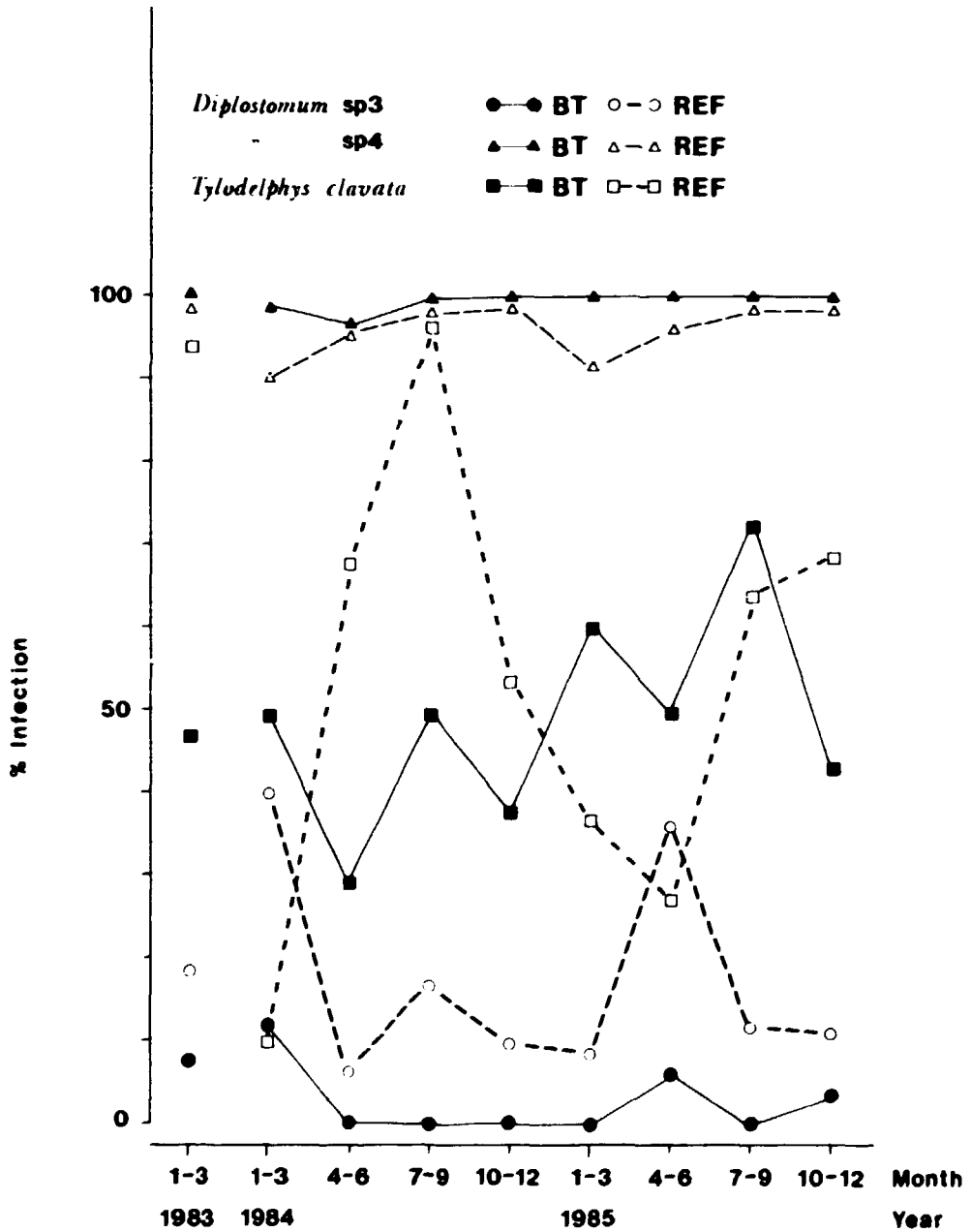
Tabell 4. Förekomst och medeltäthet av *Cotylurus* sp i vänster öga hos abborre från Biotestsjön och referensområdet mellan åren 1983 och 1985, n=24-69, p<0.05.

år	mån	Biotestsjön				referensområdet				z	χ^2
		n	%	x	SD	n	%	x	SD		
1983	1-3	69	1.5	0.1	0.1	26	3.9	0.2	0.8	0.72	0.53
1984	1-3	79	0			30	0				
	4-6	30	0			44	4.6	0.0	0.0		
	7-9	28	10.7	0.1	0.4	54	11.1	0.2	0.5	-1.16	1.40
1985	10-12	24	12.5	0.3	0.9	30	0				
	1-3	28	17.9	0.4	0.9	30	40.0	0.9	1.3	-1.86	3.42
	4-6	30	36.7	0.5	0.7	25	4.0	0.0	0.2	-2.89*	4.13*
	7-9	25	20.0	0.2	0.5	25	0				
	10-12	27	36.6	0.6	1.1	27	3.7	0.0	0.2	-3.04*	9.29*

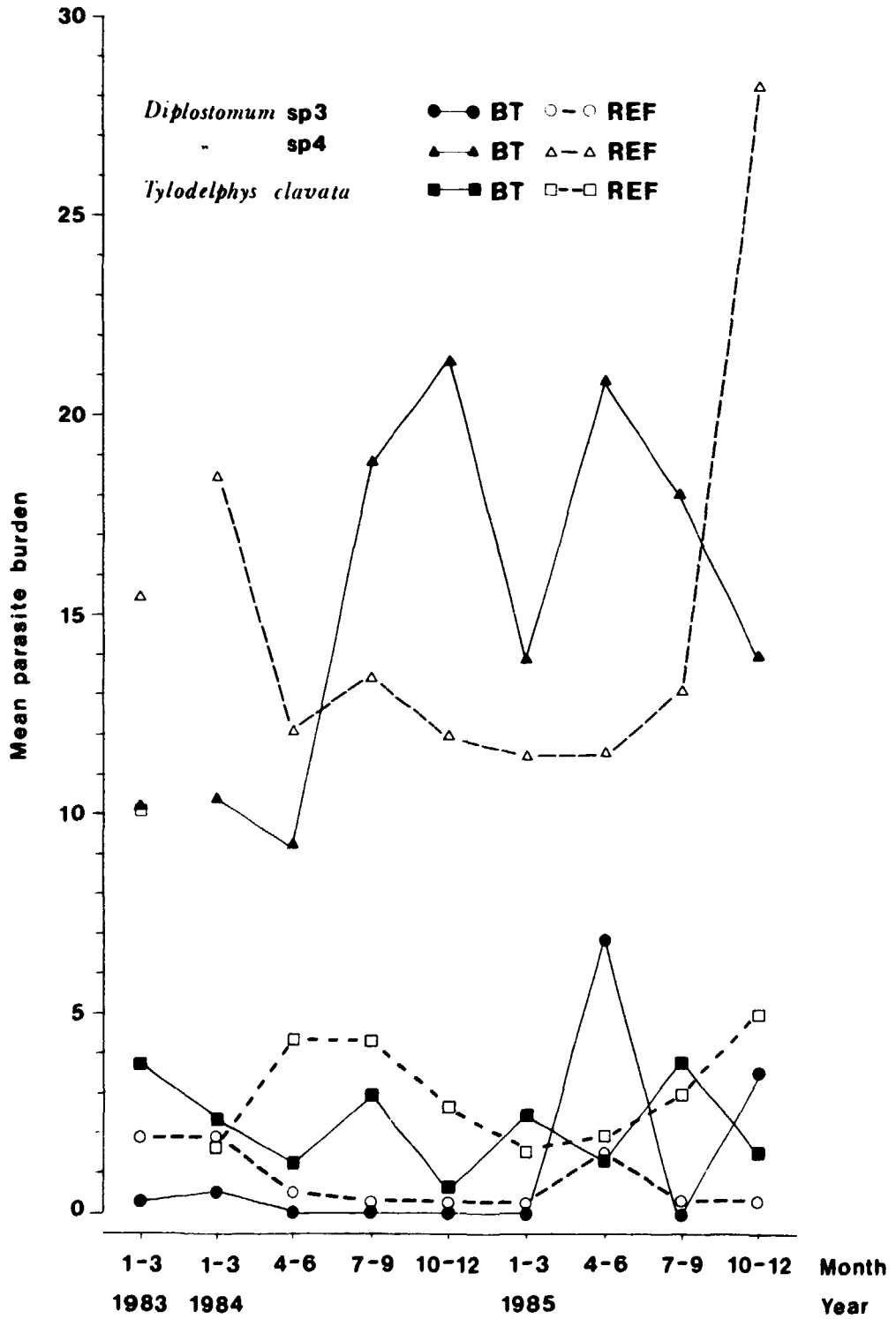
Mört

Diplostomum sp3

Parasiten påträffades endast sällsynt mellan nät- och broskhinnan hos mört (Fig. 12-13).



Figur 12. Procentuell förekomst (% infection) av ögonparasiter i vänster öga hos mört från Biotestsjön (BT) och referensområdet (REF) 1983-1985, n=25-57.



Figur 13. Medelantalet ögonparasiter per fisk (mean parasite burden) i vänster öga hos mört från Biotestsjön (BT) och referensområdet (REF) 1983-1985, n=25-57.

Diplostomum sp4

Denna *Diplostomum*-art var mycket allmänt förekommande hos mört i ögats lins. Frekvensen infekterade fiskar var aldrig lägre än 90 % (Fig. 12). Även medelantalet parasiter per fisk var högt och varierade mellan 9 och 28 parasiter (Fig. 13). Vid ett tillfälle noterades 274 metacerkarier i en lins. Medeltätheten parasiter var signifikant åtskild endast vid 3 tillfällen, och vid 2 av dessa var parasittätheten högre i referensområdet.

Tylodelphys clavata

T. clavata registrerades i ögats glaskropp även hos mört. Det procentuella antalet infekterade mörtar varierade mellan 9 och 98 % (Fig. 12). Parasiten var vid 3 tillfällen vanligare i referensområdet. Medelantalet parasiter per fisk varierade mellan 0.5 och 10. Vid fem tillfällen var medelantalet parasiter högre i referensområdet (Fig. 13).

Cotylurus sp

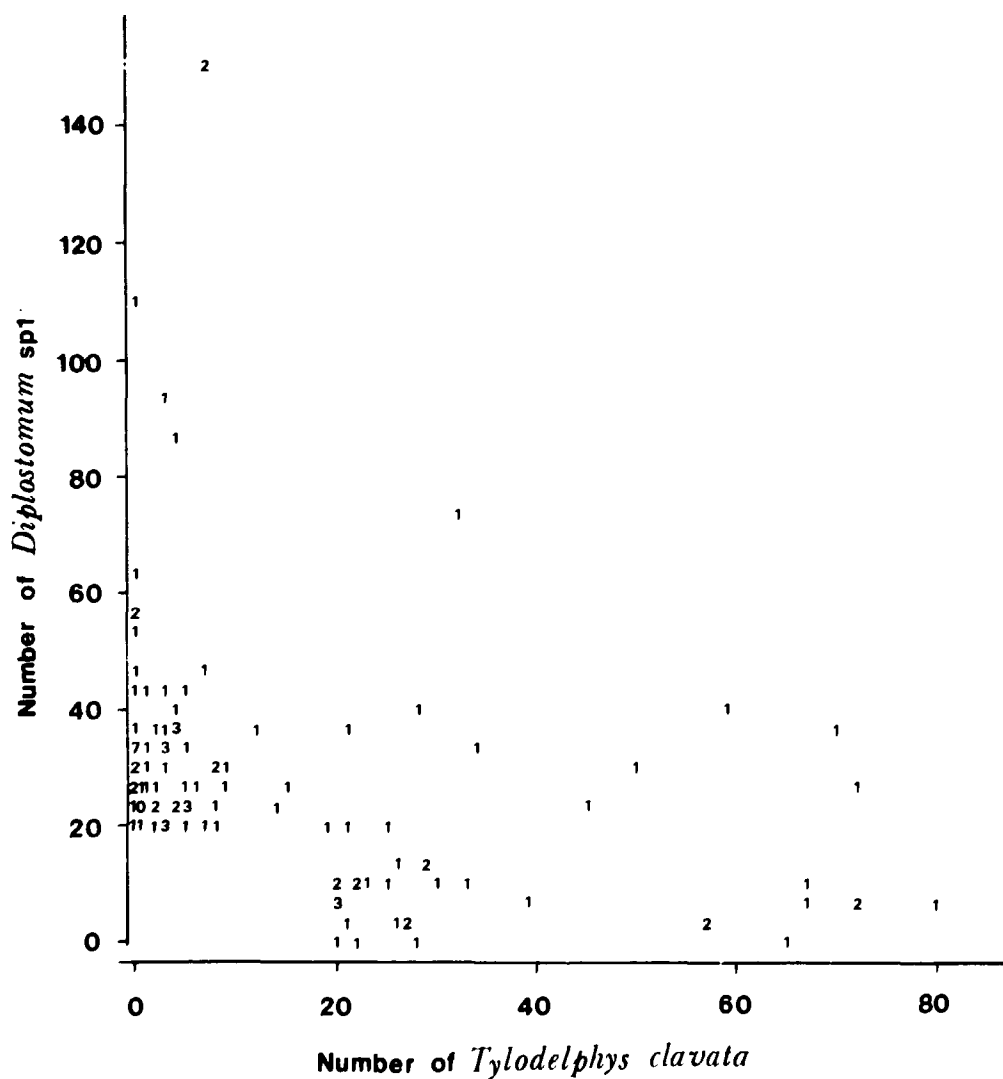
Parasiten påträffades oftast inkapslad i ögats glaskropp men registrerades endast vid 5 tillfällen hos mört (Tab. 5).

Tabell 5. Förekomst och medeltäthet av *Cotylurus* sp i mört i vänster öga i Biotestsjön och referensområdet mellan 1983 och 1985, n=25-57.

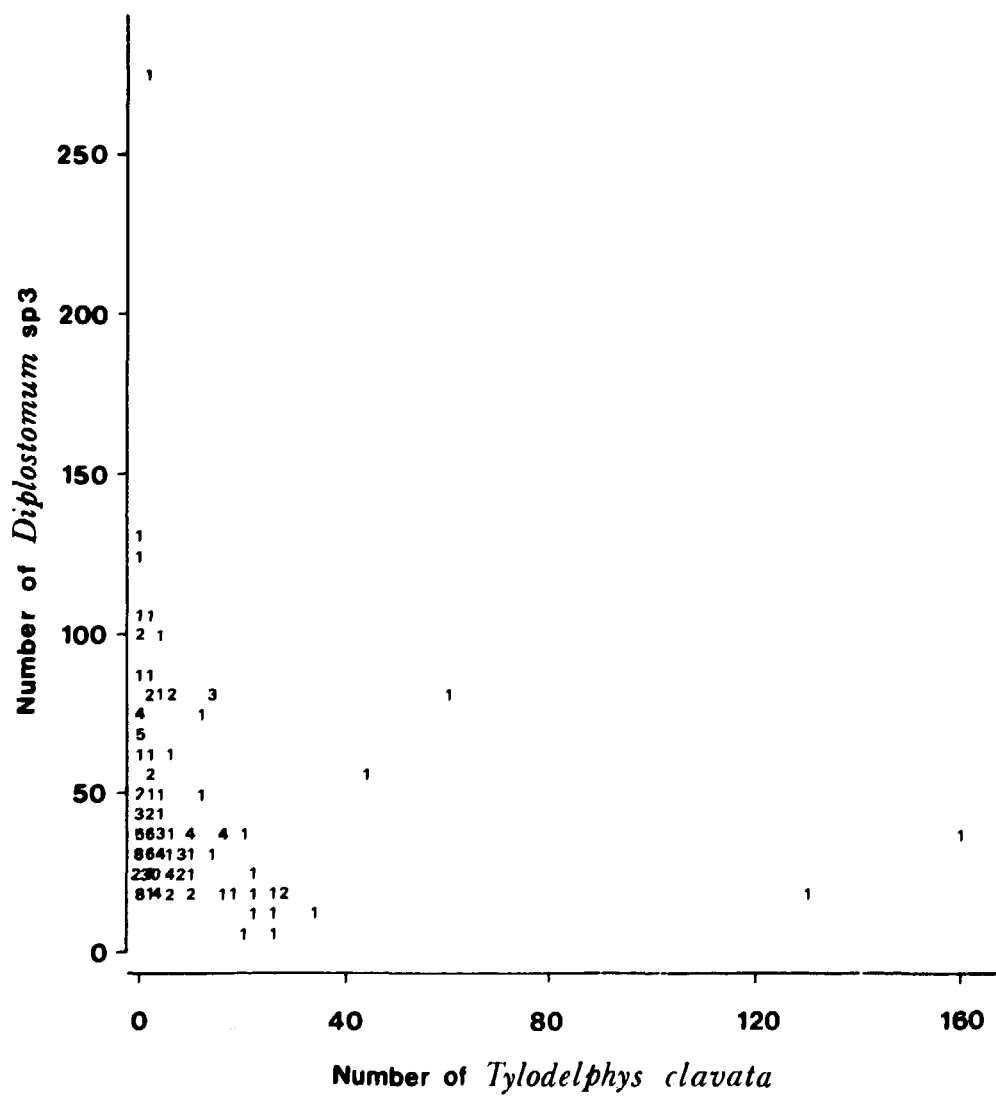
år	mån	Biotestsjön				referensområdet			
		n	%	x	SD	n	%	x	SD
1983	1-3	26	0			50	2.0	0.0	0.0
1984	1-3	57	1.2	0.0	0.0	30	0		
	4-6	31	3.2	0.0	0.0	31	0		
	7-9	30	0			30	0		
	10-12	30	10.0	0.2	0.0	30	0		
1985	1-3	30	0			25	0		
	4-6	30	0			25	0		
	7-9	25	0			25	0		
	10-12	30	3.3	0.0	0.0	28	0		

Konkurrens mellan arter

När flera parasitarter förekommer samtidigt i fiskens öga kan man tänka sig att de konkurrerar om en gemensam begränsad resurs. Det framgår i figurerna 14 och 15, att flera arter samlever i ett och samma värddjur men att detta sällan är hårt infekterat med mer än en av arterna.



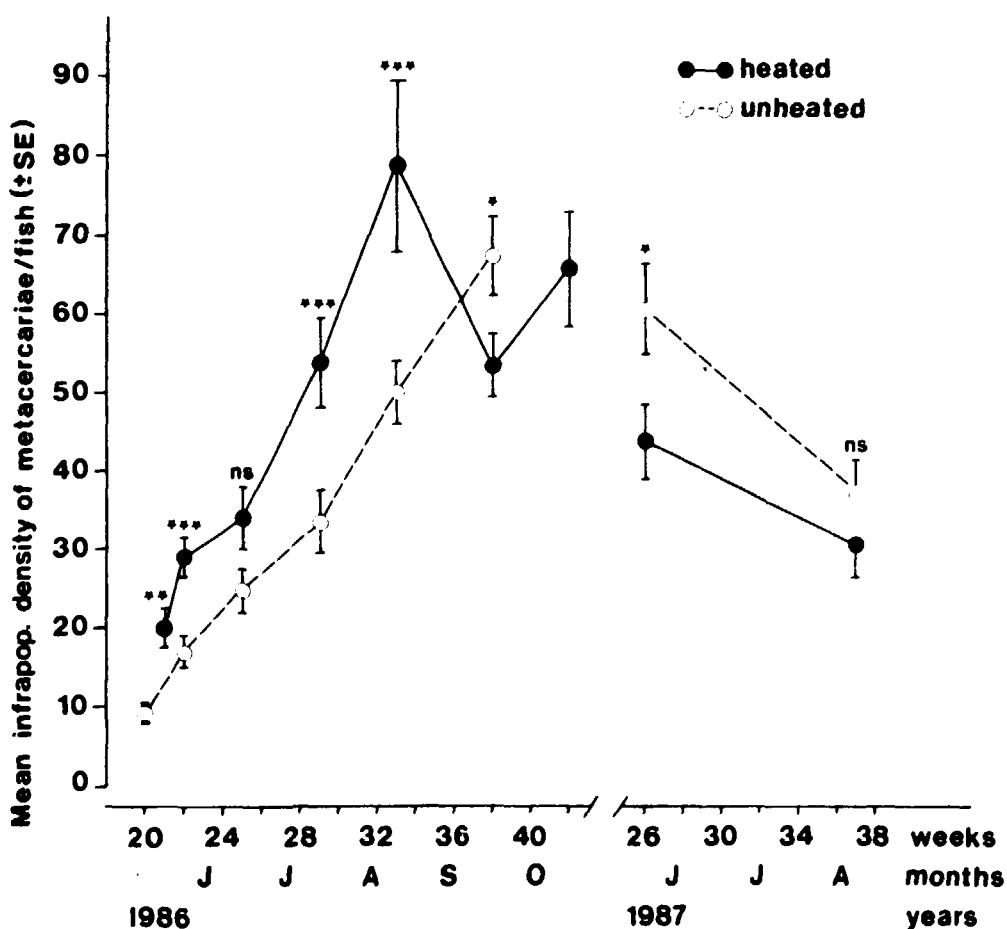
Figur 14. Sambandet mellan antalet (number of) 1) *Diplostomum* sp1 och 2) *Tylodelphys clavata* i abborre.



Figur 15. Sambandet mellan antalet (number of) 1) *Diplostomum* sp3 och 2) *Tylodelphys clavata* i mört.

Infektionsnivån i 1- och 2-årig abborre

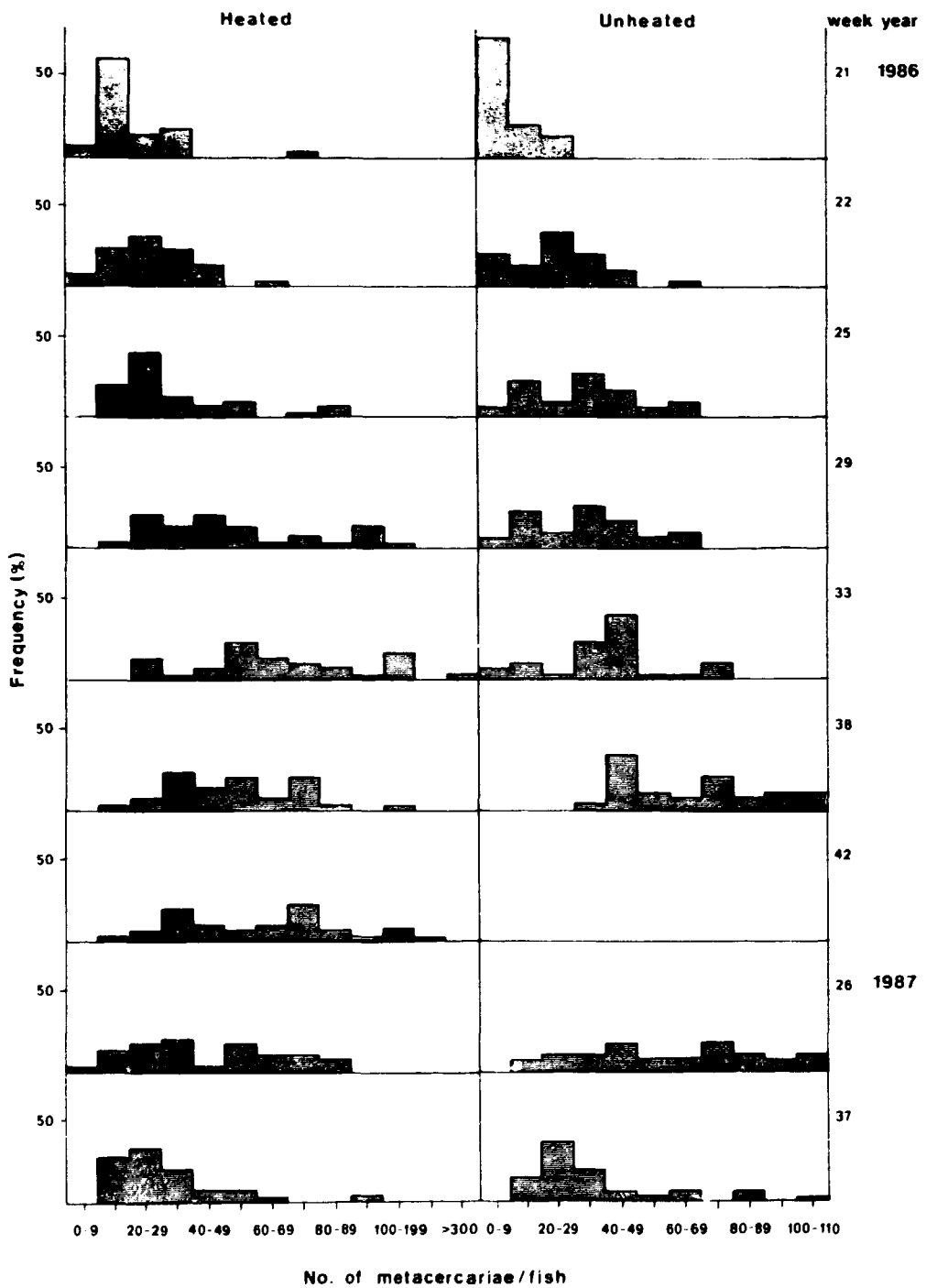
Förekomsten av *Diplostomum* sp1 metacerkarier i abborre var vid samtliga undersökningstillfällen 100 % i både Biotestsjön och i dess referensområde, förutom vid ett tillfälle i maj 1986. I början av undersökningsperioden noterades en gradvis ackumulering av metacerkarier i fiskens ögon i både Biotestsjön och referensområdet (Fig. 16). I Biotestsjön ökade antalet metacerkarier per fisk från 20 i maj 1986 till 79 i augusti 1986, och i referensområdet från 9 i maj 1986 till 67 i september 1986. Även om medeltätheten metacerkarier per fisk var signifikant högre i Biotestsjön under denna tidsperiod, fortsatte ökningen en längre tid i referensområdet. Ett maximum noterades i Biotestsjön redan i augusti 1986, varefter medeltätheten parasiter minskade. I referensområdet observerades däremot en motsvarande minskning först vid undersökningstillfället i juni 1987. Ingen provtagning skedde emellertid under vinterperioden, varför det är möjligt att antalet parasiter började minska redan tidigare.



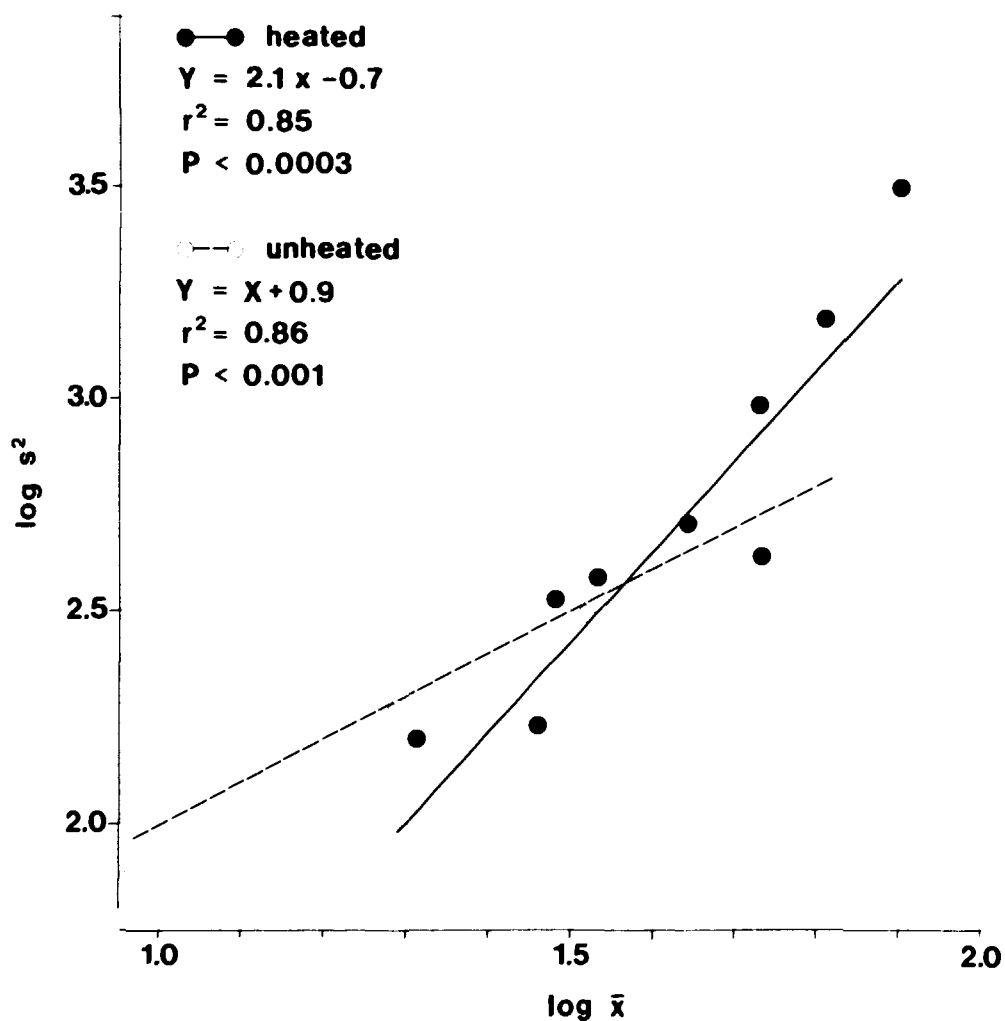
Figur 16. Medeltantalet *Diplostomum* sp1 metacerkarier (mean intrapopulation density of metacercariae/fish) i ögon hos abborre från; öppna cirklar: referensområdet, Jungfrufjärden, och fyllda cirklar: Biotestsjön, 1986 och 1987, n=30, p<0.05.

Metacerkarierna av *D. sp1* ackumulerades enligt följande ekvationer; $Y=4.6X-77.4$, $r^2=0.31$, $p<0.0001$, i Biotestsjön och enligt $Y=3.1X-54.4$, $r^2=0.54$, $p<0.0001$, i referensområdet. Under denna ackumuleringsfas var hastigheten varmed ökningen skedde högre i Biotestsjön (ANCOVA; jämförelse av lutningarna $F_{1,326}=11.59$, $p<0.001$).

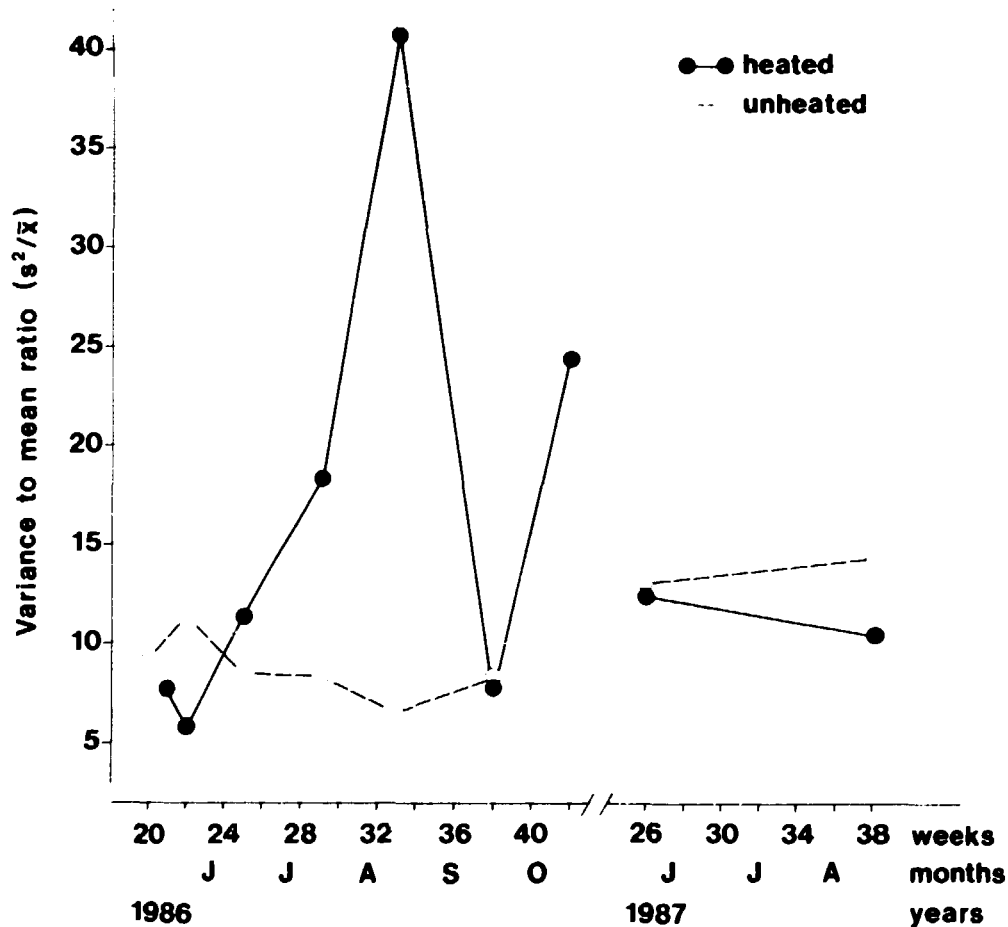
Det framgår av figur 17 att andelen hårt infekterad fisk ökade både i Biotestsjön och referensområdet under ackumuleringsfasen. När medelantalet parasiter började minska var detta orsakat dels av att andelen hårt infekterade individer minskade, dels av att andelen individer med en låg infektion ökade igen. Detta återspeglas även i parasiternas fördelning inom värdjurspopulationen i Biotestsjön, där *D. sp1* metacerkarierna plötsligt blev mer homogent fördelade samtidigt som medeltätheten metacerkarier började minska (Fig. 18). I referensområdet var däremot parasitens spridningsindex, d.v.s. kvoten mellan variansen och medelvärdet, mer eller mindre oförändrat under hela provtagningsperioden. Uttryckt enligt "Taylor's power law" var emellertid spridningsmönstret detsamma i de båda miljöerna (Fig. 19). Trots att ekvationerna för de båda regressionslinjerna var $Y=2.10X-0.68$, $r^2=0.85$, $p<0.001$ i Biotestsjön, och $Y=1.0X+0.96$, $r^2=0.68$, $p<0.001$ för referensområdet, Jungfrufjärden, var skillnaden mellan de båda lutningskoefficienterna inte signifikant (ANCOVA; jämförelse av lutningar $F_{1,13}=0.09$, NS).



Figur 17. Den procentuella andelen (frequency %) abborrar i 1985 års årsklass infekterade med ett visst antal *Diplostomum* spp. metacercarier i intervall om 10 (no. of metacercariae/fish) från Biotestsjön (heated) och referensområdet, Jungfrufjärden (unheated) 1986 och 1987, n=30.



Figur 18. Fördelningen av *Diplostomum* sp1 metacercarier inom värdjurspopulationen uttryckt som kvoten mellan variansen (variance) och medelvärdet (mean), (s^2/\bar{x}), per provtagningstillfälle. Öppna cirklar: referensområdet; fyllda cirklar: Biotestsjön, $n=30$.



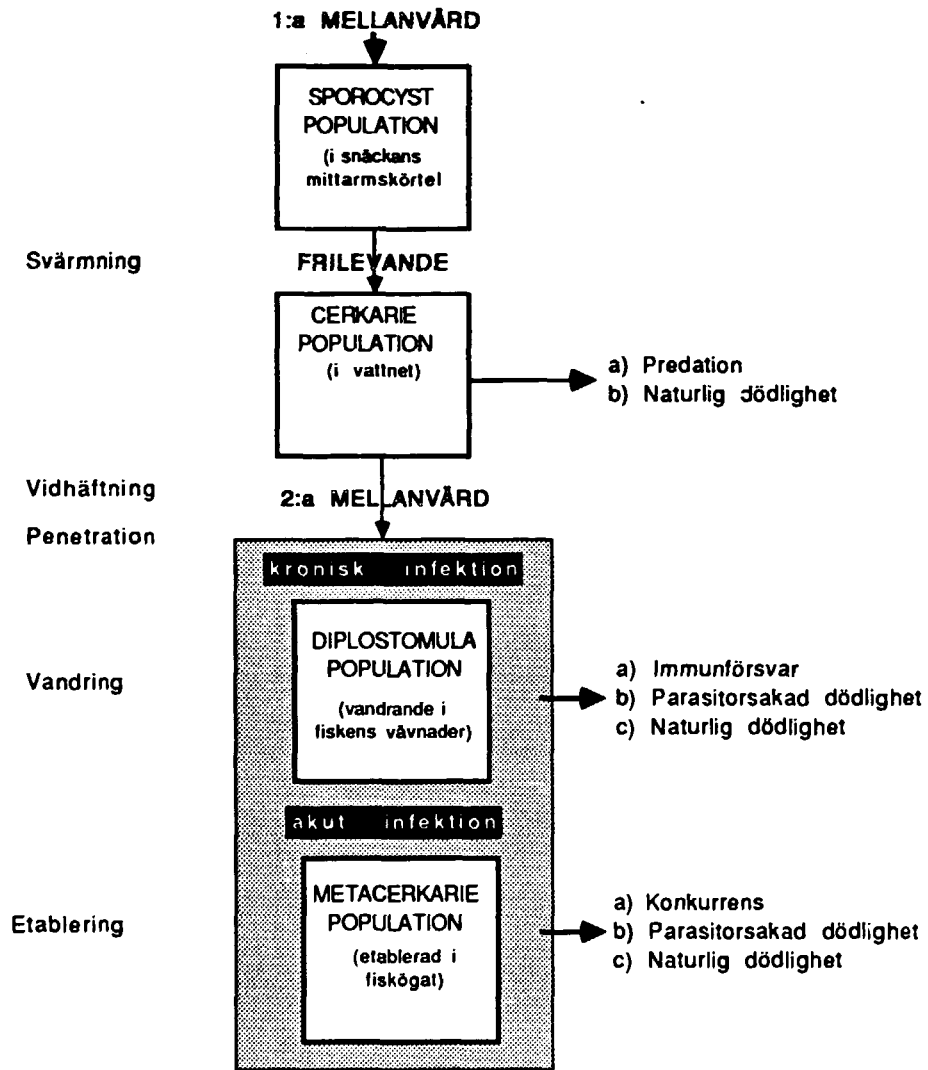
Figur 19. Fördelningen av *Diplostemum* sp1 metacercarier inom värdjurspopulationen uttryckt som sambandet mellan log. variansen och log. medelvärdet per provtagningstillfälle. Öppna cirklar: referensområdet; fyllda cirklar: Biotestsjön, n=30. Den heldragna linjen representerar regressionskvationen för Biotestsjön, $Y=2.10X-0.68$, $r^2=0.85$, $p<0.001$, och den streckade den för referensområdet, Jungfrufjärden, $Y=1.02X+0.96$, $r^2=0.68$, $p<0.001$.

DISKUSSION

Sugmaskars utveckling och den tid det tar att fullborda livscykeln är temperaturberoende (Chubb, 1976). Man har även visat att överföringshastigheten hos ett flertal fiskparasiter förändrats i vattenområden påverkade av kylvattenutsläpp (Eure, 1976; Pojmanska *et al.*, 1980; Pojmanska, 1984a-d; Aho *et al.*, 1982; Camp, *et al.*, 1982; Granath & Esch, 1983a). Det är i dessa miljöer däremot endast undantagsvis känt vilka eventuella skadeverkningar parasiter har och i vilken omfattning de orsakar värdjurets död (Granath & Esch, 1983b). För att kunna bedöma denna eventuella skada krävs en omfattande insikt i hur parasiten i fråga är reglerad. I de fall parasitantalet i värdjuret huvudsakligen bestäms av parasiternas överföringsframgång eller då värdjur utvecklar skyddande immunitet sker förändringar i parasitpopulationens numerär oberoende av dylika förändringar i värdjurspopulationen. Detta gäller även då konkurrens och naturlig parasitdödlighet är de huvudsakliga reglermekanismerna. Däremot lider även värdjurspopulationen förluster när parasitantalet regleras genom att parasiten orsakar värdjurets död. Detta kan ske både i samband med akut infektion och vid kronisk infektion d.v.s. när parasiterna sedan länge varit etablerade i värdjuret. Parasiter kan även indirekt påverka värdjurets reproduktionframgång genom att verka konditionsnedsättande. Regleringen av flertalet parasiter styrs dock av ett flertal faktorer. Den relativa betydelsen av varje enskild faktor varierar dessutom i både tid och rum. För att kunna tolka ett i naturen observerat infektionsförlopp erfordras därför ofta kompletterande experimentell information.

Det här studerade infektionsförloppet under vilket ögonsugmaskar tillhörande släktet *Diplostomum* infekterar fisk är en kedja av händelser som kan delas in i följande tre moment: a) tiden från det att cercarien svärvat tills dess att den etablerat kontakt med fisken, b) tiden från det att cercarien borrar sig igenom fiskens hud tills dess cercarien tagit sig fram genom fiskens vävnader till ögonregion, och c) tiden under vilken metacercarien är etablerad i fiskögat (Fig. 18).

I det följande diskuteras inledningsvis parasiternas arttillhörighet eftersom det är känt att både utvecklings- och överlevnadstider varierar, dels för olika parasitarter, dels i olika värdjursarter. Därefter diskuteras de faktorer som reglerar parasitpopulationens storlek.



Figur 20. En förenklad modell som visar de faktorer som reglerar flödet av *Diplostomum*-individer från den 1:a mellanvärd, snäckan till den 2:a mellanvärd, fisken.

Parasiternas arttillhörighet

Över 160 arter har beskrivits inom sugmaskfamiljen Diplostomatidae, men endast undantagsvis är samtliga utvecklingsstadier beskrivna. Vissa arter är således endast kända som metacerkarier, d.v.s. i det stadium som lever i fisk, medan andra är beskrivna som vuxna parasiter, d.v.s. i det stadium som lever i fåglar. Artindelningen har baserats på morfologiska skillnader. Det bör dock påpekas att mätvärden sällan har testats statistiskt, i synnerhet ej i äldre arbeten, vilket innebär en risk att inomartsvariationen inte har uppfattats. Det är nu väl känt att morfologin hos sugmaskar lätt påverkas av fixeringsmetoden (Bakke, 1988), och ett flertal tidigare beskrivna arter inom släktet *Diplostomum* är därför med stor sannolikhet synonymer. Vi fann trots användandet av en enhetlig fixerings- och upparbetsmetodik, att morfologiska skillnader förelåg hos metacerkarier från både olika värdjur och olika platser i ögat. Dessa skillnader kan emellertid vara miljöbetingade. Vi testade detta antagande på de två vanligast förekommande formerna genom att låta dessa metacerkarier växa till vuxet stadium i tarmen hos gråtrut. Trots detta kvarstod emellertid skillnaderna. Flera forskare arbetar nu med att revidera sugmasksläktet *Diplostomum*. I avvaktan på dessa resultat har vi därför enbart benämnt de svenska arter/former vi påträffat med namnen *Diplostomum* sp1-4.

Den frilevande cercariepopulationen

Cerkarien infekterar fisken via penetration. Sannolikheten för att en fisk skall bli infekterad är således beroende av både fiskpopulationens och cercariepopulationens täthet. Tätheten av cercarier i vattnet dimensioneras av cercariernas svärmsframskridning och påverkas dessutom av en viss cercarieödlighet. Det är påvisat att cercariernas svärmsperiod för ett flertal parasitarter har förlängts i av kylvatten uppvärmda områden (Sankurathri & Holmes, 1976; Stenbäck, 1979). Även om det är troligt att svärmsperioden börjar tidigare och är förlängd i Biotestsjön behöver detta inte innebära att den totala tätheten av cercarier ökar. Exempelvis skulle en samtida eventuell ökad dödlighet inom snäckpopulationen kunna medföra att den totala produktionen av cercarier blir låg. Om dödligheten inom cercariepopulationen dessutom samtidigt ökade skulle således cercarietätheten bli lägre i en uppvärmd miljö i jämförelse med den i ett av kylvattenutsläpp opåverkat område. Dödlighet inom cercariepopulationen orsakas främst av predation och näringsbrist. Det är visat att planktoniska kräftdjur livnär sig av bl.a. cercarier och vid riklig förekomst kan de sålunda påverka cercarietätheten (Christensen, 1979; Zhatkanbayerna, 1987). Inga märkbara förändringar har emellertid skett vad beträffar snäckfaunans respektive de planktoniska kräftdjurens numerär och

sammansättning inom undersökningsområdet (Sandström, 1985), varför inverkan av de ovan beskrivna processerna förmodas vara likartad oberoende av de rådande temperaturförhållandena.

När det gäller temperaturens påverkan på cercarier är det känt att upplagsnäringen hos ett flertal sugmaskar förbrukas snabbare vid en högre temperatur (DeWitt, 1965; Lawson & Wilson, 1980; Evans, 1985). Det är således troligt att den icke födointagande *Diplostomum*-cercariens livslängd och infektionsduglighet påverkas i den uppvärmda miljön. Även om våra preliminära undersökningar också indikerar detta bör ytterligare studier utföras innan några slutsatser kan dras.

Den penetrerande och vandrande cercariens överlevnad

Som redovisats här föreligger ett samband mellan en ökad dödlighet för årsyngel av löja vid stigande cercarietäthet och ökad vattentemperatur. Även Brassard *et al.* (1982) har visat att cercarier tillhörande släktet *Diplostomum* kan döda fisk i storleksintervallet 2-4 cm i samband med akut infektion. Parasiters patogenicitet i allmänhet varierar i både tid och rum (Crofton, 1971; Anderson, 1976), och står under inflytande av ett flertal både abiotiska och biotiska faktorer. Man vet härvidlag att bl.a. värdjurets ålder och kondition är av betydelse. Ett rimligt antagande är då att den dos av cercarier som erfordras för att döda ett värdjur ökar med dess tilltagande storlek, ålder och kondition. Sannolikt är fiskens gulesäcks- och yngelstadier i nämnd ordning de känsligaste för cercarieangrepp. Den snabba tillväxten som konstaterats hos fiskyngel i Biotestsjön (Karås, 1987), har därför sannolikt inneburit att den tidsperiod under vilken fisken är som känsligast för cercarieangrepp har minskat. Det är å andra sidan känt att en förhöjd temperatur kan medföra förhöjd patogenicitet hos en parasit (Vaughan & Coble, 1975; Granath & Esch, 1983b). Det kan därför även förhålla sig så, att den positiva effekten av snabb yngeltillväxt kan neutraliseras av parasitens ökade patogenicitet. Det är slutligen troligt att olika fiskarter reagerar olika på cercarieangrepp. Det vore därför önskvärt att ytterligare experimentella studier utfördes, framförallt för att mer belysa den temperaturreglerade patogeniciteten och eventuella artspecifika skillnader i värdjurens reaktion på cercarier.

Den i alla avseenden viktigaste omgivningsfaktor, som påverkar fiskars immunapparat, är vattentemperaturen (Ellis, 1984). Följaktligen kan man förvänta sig en effektivare immunologisk reglering av parasitantalet hos fisk i den uppvärmda Biotestsjön. Man har på annat håll demonstrerat en ökad antikroppsproduktion i fisk som injicerats med av ultraljud sönderdelade cercarier, vandrande svanslösa cercarier s.k. diplostomuli larver

(Whyte *et al.*, 1987), och metacerkarier (Bortz *et al.*, 1984). Man har dessutom demonstrerat att parasitantalet vid infektionsförsök blev lägre i fiskar som vaccinerats med *Diplostomum*-antigen, varvid detta administrerades via en kanyl in i fiskens muskel eller kroppshåla (Stables & Chappel, 1986a). Det är emellertid fortfarande oklart om fiskar utvecklar skyddande immunitet mot *Diplostomum* under naturliga förhållanden, d.v.s. när cercarierna penetrerar fiskens hud. Vi påvisar i denna studie att metacerkarier ackumulerades kontinuerligt i regnbågar vid en för denna fiskarts immunapparat optimal temperatur (Ellis, 1984). Vid bakteriella infektioner utvecklas vid denna temperatur immunitet i fisk redan efter fyra veckor (Ellis, 1984). Våra resultat indikerar sålunda att fiskens försvarsmekanismer mobiliseras långsammare mot *Diplostomum* än mot bakterier.

Den etablerade metacerkariepopulationen

Utmärkande för *Diplostomum* sp1:s infektionsförlopp inom den årsklass av abborre som här specialstuderades var att tätheten av metacerkarier först ökade och sedan minskade igen. Detta infektionsförlopp noterades oberoende av den omgivande vattentemperaturen även om infektionens maximum registrerades vid olika tidpunkter i de olika miljöerna. Liknande observationer har gjorts av Wootten (1974), Kennedy & Burrough (1976) och Thulin (1984), som samtliga noterar att tätheten av metacerkarier i abborre var störst i fisk i storleksintervallet 140-160 mm. Nyttillskottet av parasiter i ögat motverkas hela tiden av förluster, och infektionsförloppet kan liknas vid en immigrations-/dödlighetsprocess. Infektionsnivån i ögat, d.v.s. metacerkarietätheten, dimensioneras sålunda både av parasitens överföringsframgång och dess dödlighet. Följaktligen regleras den etablerade metacerkariepopulationen av ett flertal processer, som sannolikt är samverkande. Det är känt från nordamerikanska undersökningar att överföringen av den närbesläktade parasiten *Diplostomulum scheuringi* upphörde vid onormalt höga temperaturer (Aho *et al.*, 1982). Även i Biotestsjön minskar rekryteringen när det är som varmast i vattnet. Enbart en upphörd eller minskad överföringsframgång kan emellertid inte förklara det här observerade förloppet, eftersom täthetskurvan då skulle plana ut och inte falla, som den nu gör. Däremot skulle en förklaring på hur antalet parasiter i ögat regleras kunna vara att det samtidigt sker en ökad dödlighet inom metacerkariepopulationen. De viktigaste processerna som orsakar dylik dödlighet är sannolikt metacerkariens ålder, att värdjuren utvecklar skyddande immunitet, en intra- eller interspecifik konkurrens mellan etablerade parasiter i fiskögat, samt en parasitorsakad värdjursdödlighet. Vad beträffar den förstnämnda typen av dödlighet är den i den här studerade årsklassen av fisk av betydelse endast om metacerkariens livstid är kortare än två år. Livslängden för olika arter inom

släktet *Diplostomum* varierar mellan ett (Hoffman & Hundley, 1957) och flera år men kan även vara densamma som värddjurets (Pennycuick, 1971a; Lester, 1977). Livslängden för den art som lever i abborre är emellertid fortfarande okänd, medan det är känt att den för *D. spathaceum* är fyra år. Den senare arten har undersökts under en treårsperiod inom en och samma årsklass av regnbåge (Stables & Chappel, 1986b). De fann att andelen fiskar med en måttlig infektion minskade ju äldre fisken blev, vilket de förklarade med att metacerkarier ackumulerades samt att de var fleråriga. I vår undersökning minskade emellertid först andelen lätt infekterade abborrar för att sedan öka igen. Detta indikerar att den art, som lever mellan nät- och broskhinnan i abborre, är mer kortlivad än *D. spathaceum* i regnbåge. Å andra sidan påträffades aldrig döda eller döende metacerkarier vilket dock kan bero på att döda metacerkarier snabbt upplöses och därför undgår upptäckt.

Fiskögat är, vid jämförelse med andra organ i fiskkroppen, ett i många avseenden immunologiskt skyddat område (Shariff *et al.*, 1980), och etablerade metacerkarielarver kan därför kanske lättare undgå fiskens försvarsmekanismer. Det kan dock inte helt uteslutas att fiskarna med stigande ålder utvecklar en skyddande immunitet som riktar sig specifikt mot de etablerade metacerkarierna. De immunologiska reaktionerna i värd-/parasitförhållanden är idag ett mycket livligt diskuterat och relativt ungt ämnesområde. De här redovisade och andra preliminära resultat indikerar att *Diplostomum* spp är mycket väl lämpade för fortsatta immunologiska studier med både generella och specifika frågeställningar.

Intra- eller interspecifik konkurrens har vid några tillfällen påvisats vara en reglerande faktor vad beträffar parasiter i allmänhet (Anderson, 1974; Halvorsen, 1976). Vi fann att metacerkarier av släktet *Diplostomum* förekom i fiskens öga, antingen i dess lins eller mellan nät- och broskhinnan, medan *Tyloodelphys clavata* endast påträffades i glaskroppen. Eftersom mikrohabitatvalet var så olikartat är det inte heller troligt att de olika arterna konkurrerade interspecifikt. De olika formerna påträffades påfallande ofta aggregerade inbördes, vilket indikerar att de inte heller konkurrerar intraspecifikt. Det är emellertid mycket svårt att bevisa förekomst av sådan konkurrens utifrån ett fältmaterial (Kennedy, 1984), och ytterligare experimentella iakttagelser erfordras därför, innan några slutsatser beträffande konkurrens kan dras.

På experimentell väg har man visat att fiskar som är hårt infekterade med ögonsugmaskar löper en ökad risk att falla offer för rovfiskar (Brassard *et al.*, 1982b) och fiskätande fåglar (Crowden & Broom, 1980). Flera fältundersökningar har också indikerat att orsaken till att en låg metacerkarietätthet av *Diplostomum* spp i äldre fisk är att de hårdast

infekterade individerna är utsatta för en ökad predation (Pennycuick, 1971b; Kennedy & Burrough, 1976; Lester, 1977; Kennedy, 1981). När medeltätheten av metacerkarier minskar kan det således bero bl.a. på att de hårdast infekterade individerna försvinner ur värddjurspopulationen. De metacerkarietätheter vi ibland registrerat i Biotestsjön överträffar vida de tätheter som tidigare är kända från abborre (Wotten, 1974; Kennedy & Burrough, 1976; Andrews, 1979; Kennedy, 1981). I vår undersökning blir metacerkarierna från att ha varit klumpade inom värddjurspopulationen plötsligt homogent fördelade samtidigt som medeltätheten av metacerkarier sjunker. Liknande infektionsförlopp har beskrivits för andra värd-/parasitförhållanden och de har då satts i samband med parasitorsakad värddjursdödlighet vanligen orsakad av predation (Henriksson, 1977; 1978; Anderson & Gordon, 1982; Gordon & Rau, 1982; Lester, 1984; Halvorsen & Andersen, 1984). Det bör emellertid poängteras att en sådan tolkning förutsätter att överföringen av parasiten sker kontinuerligt, att en dödlighet inom parasitpopulationen till följd av ålderssvaghet ej sker, samt att den immunologiska regleringen av parasiten i värdjuret är försumbar och slutligen att antalet undersökta individer är stort (Anderson & Gordon, 1982). Som följd av att den uppvärmda Biotestsjön är isfri året runt sker här en anlockning av fiskätande fågel (Sandström, 1986). Detta medför sannolikt ett ökat predationstryck på fisk i Biotestsjön. Det är därför mycket troligt att de båda faktorer som ökar predationstrycket, d.v.s. den ökade både metacerkarie- och fågeltätheten, här samverkar och att detta i Biotestsjön kan medföra en ökad parasitorsakad dödlighet i fiskpopulationen.

ERKÄNNANDEN

Fisket har delvis utförts av naturvårdsverkets personal vid Biotestsjön, Forsmark. En del av de parasitologiska undersökningarna har utförts av fil. kand. Erik Lindesjö. Fil. dr. E. Neuman har granskat texten och givit värdefulla synpunkter. Fig. 1 har ritats av fil. kand. A. Roos, övriga figurer har tecknats av V. Nilsson. Utrustning för bildanalys har kommit tillhanda genom docent G. Malmberg, Zoologiska Inst., Stockholms Univ. Undersökningarna har bekostats av Imatran Voima, OKG, Sydkraft och Vattenfall. Till nämnda personer och bidragsgivare riktas ett tack.

REFERENSER

- Aho, J. M., Camp, J. W. & Esch, G. W. (1982). Long term studies on the population biology of *Diplostomum scheuringi* in a thermal altered reservoir. *J. Parasitol.* **68**, 695-708.
- Anderson, R. M. (1974) Population dynamics of the cestode *Caryophyllaeus laticeps* (Pallas, 1781) in bream (*Abramis bramae* L.). *J. Anim Ecol.* **43**, 305-322.
- Anderson, R. M. (1976). Dynamic aspects of parasite population ecology. In: *Ecological aspects of parasitology* (C. R. Kennedy, ed) pp 432-462. Amsterdam: North Holland Publ. Comp.
- Anderson, R. M. & Gordon, D. M. (1982). Processes influencing the distribution of parasite numbers within host populations with special emphasis on parasite-induced host mortalities. *Parasitology* **85**, 373-398.
- Andrews, C. (1979). Host specificity of parasite fauna of perch *Perca fluviatilis* L. from the British Isles, with special reference to a study at Llyn Tegid (Wales). *J. Fish Biol.* **15**, 195-209.
- Bakke, T. A. (1988) Morphology of adult *Phyllodistomum umblae* (Fabricius) (Platyhelminthes, Gorgoderidae): the effect of preparation killing and fixation procedures. *Zool. Scripta* **17**, 1-13.
- Bortz, B. M., Kenny, G. E., Pauley, G. B., Garzia-Ortigoza, E., & Anderson, P. P. (1984). The immune response in immunized and naturally infected rainbow trout (*Salmo gairdneri*) to *Diplostomum spathaceum* as detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Dev. Comp. Immun.* **8**, 813-822.
- Brassard, P., Rau, M. E., & Curtis, M. A. (1982a). Infection dynamics of *Diplostomum spathaceum* cercariae and parasite induced host mortality of fish hosts. *Parasitology* **85**, 489-493.
- Brassard, P., Rau, M. E., & Curtis, M. A. (1982b). Parasite-induced susceptibility to predation in diplostomiasis. *Parasitology* **5**, 495-501.
- Camp, J. W., Aho, J. M., & Esch, G. W. (1982). A long-term study on various aspects of the population biology of *Ornithodiplostomum prychocheilus* in a South Carolina Cooling Reservoir. *J. Parasitol.* **68**, 709-718.
- Christensen, N. Ö. (1979). *Schistosoma mansoni* interference with cercarial host finding by various aquatic organisms. *J. Helminthol.* **53**, 7-14.
- Chubb, J. C. (1976). Seasonal occurrence of helminths in freshwater fishes. Part II. Trematoda. *Adv. Parasitol.* **17**, 111-131.
- Crofton, H. D. (1971). A quantitative approach to parasitism. *Parasitology* **62**, 179-193.
- Crowden, A. E., & Broom, D. M. (1980). Effects of the eye fluke, *Diplostomum spathaceum*, on the behaviour of dace, (*Leuciscus leuciscus*). *J. Anim. Behav.* **28**, 287-294.
- DeWitt, W. (1965). Effects of temperature on penetration of mice by cercariae of *Schistosoma mansoni*. *Am. J. Trop. Med.* **14**, 579-580.

- Ellis, A. (1984). General fish immunology. In: *Disease and health control of farmed fish (including shellfish and crustaceans) in Europe*. pp 178-188. Inst. of Aquaculture, University of Stirling.
- Elliot, J. M. (1977) *Some methods for the statistical analysis of samples of benthic invertebrates*. pp 1-157, Fresh. Biol. Ass. Sci. Publ. 25.
- Eure, H. (1976). Seasonal abundance of *Neoechinorhynchus cylindratus* taken from largemouth bass (*Micropterus salmonides*) in a heated reservoir. *Parasitology* 73, 355-370.
- Evans, N. A. (1985) The influence of environmental temperature upon transmission of the cercariae of *Echinostoma liei* (Digenea: Echinostomatidae). *Parasitology* 90, 269-275.
- Gordon, D. M., & Rau, M. E. (1982). Possible evidence for mortality induced by the parasite *Apatemon gracilis* in a population of brook sticklebacks (*Culaea inconstans*). *Parasitology* 84, 41-47.
- Granath, W. O., & Esch, G. W. (1983a). Seasonal dynamics of *Bothriocephalus achailgnathi* in ambient and thermally altered areas of a North Carolina Cooling reservoir. *Proc. Helminthol. Soc. Wash.* 50, 205-218.
- Granath, W. O., & Esch, G. W. (1983b). Survivorship and parasite-induced host mortality among mosquitofish in a predator free, North Carolina cooling reservoir. *Amer. Midland Naturalist* 110(2), 314-326.
- Halvorsen, O. (1976). Negative interactions amongst parasites. In: *Ecological aspects of parasitology* (C. R. Kennedy, ed) pp 100-113. Amsterdam: North Holland Publ. Comp.
- Halvorsen, O. & Andersen, K. (1984). The ecological interaction between arctic charr, *Salvelinus alpinus* (L.), and the plerocercoid stage of *Diphyllobothrium ditremum*. *J. Fish Biol.* 25, 305-316.
- Henriksson, J. (1977a). The abundance and distribution of *Diphyllobothrium dendriticum* (Nitzsch) and *D. ditremum* (Creplin) in char *Salvelinus alpinus* (L.) in Sweden. *J. Fish Biol.* 11, 231-248.
- Henriksson, J. (1977b). The dynamics of infection of *Diphyllobothrium dendriticum* (Nitzsch) and *D. ditremum* (Creplin) in char *Salvelinus alpinus* (L.) in Sweden. *J. Fish Biol.* 13, 51-71.
- Hoffman, G. L. & Hundley, J. B. (1957). The life-cycle of *Diplostomum baeri eucalidae* n subsp (Trematoda: Strigeidae). *J. Parasitol.* 43, 613-627.
- Karås, P. (1987). Food consumption, growth and recruitment in perch (*Perca fluviatilis* L.). PhD Thesis, *Acta Univ. Upsaliensis* 108, Sweden.
- Kennedy, C. R. (1981). Long term studies on the population biology of two species of eyefluke *Diplostomum gasterostei* and *Tylodelphys clavata* (Digenea: Diplostomatidae), concurrently infecting the eyes of perch, *Perca fluviatilis*. *J. Fish. Biol.* 19, 221-236.
- Kennedy, C. R. (1984). The use of frequency distributions in an attempt to detect host mortality induced by infections of diplostomatoid metacercariae. *Parasitology* 89, 209-220.

- Kennedy, C. R., & Burrough, R. (1976). The population biology of two species of eyefluke, *Diplostomum gasterostei* and *Tylodelphys clavata*, in perch. *J. Fish Biol.* **11**, 619-633.
- Lawson, J. R., & Wilson, R. A. (1980). The survival of the cercariae of *Schistosoma mansoni* in relation to water temperature and glycogen utilization. *Parasitology* **81**, 337-348.
- Lester, R. J. G. (1977). An estimate of the mortality in a population of *Perca flavescens* owing to the trematode *Diplostomum adamsi*. *Can. J. Zool.* **55**, 288-292.
- Lester, R. J. G. (1984). A review of methods estimating mortality due to parasites in wild fish populations. *Helgolander Meeresunters.* **37**, 53-64.
- Pennycuik, L. (1971a). Frequency distribution of parasites in a population of three-spined sticklebacks, *Gasterosteus aculeatus* L., with particular reference to the negative binomial distribution. *Parasitology* **63**, 389-406.
- Pennycuik, L. (1971b). Seasonal variations in the parasite infections in a population of three-spined sticklebacks *Gasterosteus aculeatus* L. *Parasitology* **63**, 373-388.
- Pojmanska, T. (1984a). An analysis of seasonality of incidence and maturation of some fish parasites, with regard to thermal factor. II. *Caryophyllaeus laticeps* (Pallas, 1781). *Acta Parasitol. Pol.* **29**, 229-239.
- Pojmanska, T. (1984b). An analysis of seasonality of incidence and maturation of some fish parasites, with regard to thermal factor. III. *Bunodera lucioperca* (Muller 1776). *Acta Parasitol. Pol.* **29**, 313-321.
- Pojmanska, T. (1984c). An analysis of seasonality of incidence and maturation of some fish parasites, with regard to thermal factor. VI. *Bucephalus polymorphus* Baer 1827. *Acta Parasitol. Pol.* **30**, 25-34.
- Pojmanska, T. (1984d). An analysis of seasonality of incidence and maturation of some fish parasites, with regard to thermal factor. V. Digeneans of the genus *Sphaerostomum*, Rudolphi 1809. General conclusion. *Acta Parasitol. Pol.* **30**, 229-239.
- Pojmanska, T., Grabda-Kazubska, B., Kazubski, S., Machalska, J., & Niewiadomska, K. (1980). Parasite fauna of five fish species from the Konin lakes complex, artificially heated with thermal effluents, and from Goplo lake. *Acta Parasitol. Pol.* **27**, 319-357.
- Sandström, O. (1985). Recipient monitoring at Forsmark nuclear power station. *SNV-Rapport* **1915**, 26s.
- Sandström, U. (1986). The occurrence of waterfowl in the biotest basin at the Forsmark nuclear power plant, Sweden, 1981-1984. *SNV-Rapport* **3128**, 21s.
- Sankurathri, C. S. & Holmes, J. C. (1976). Effects of thermal effluents on parasites and commensals of *Physa gyrina* Say (Mollusca: Gastropoda) and their interaction at Lake Wabamun, Alberta. *Can. J. Zool.* **54**, 1742-1753.

- SAS Institute Inc. (1985). SAS user's guide: basics version, 5th ed SAS Institute Inc., Cary, North Carolina.
- Shariff, M., Richards, R. H. & Sommerville, C. (1980). The histopathology of acute and chronic infections of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, with eye flukes *Diplostomum* spp. *J. Fish Dis.* **3**, 455-465.
- Shigin, A. A., (1986). *Rysslands trematod fauna. Diplostomatoida metacercarier* (på ryska). 253s, Nauka, Moskva.
- Stables J. N. & Chappel, L. H. (1986a). Putative immune response of rainbow trout *Salmo gairdneri* to *Diplostomum spathaceum* infections. *J. Fish Biol.* **29**, 115-122.
- Stables, J. N. & Chappel, L. H. (1986b). The epidemiology of diplostomiasis in farmed rainbow trout from north-east Scotland. *Parasitology.* **92**, 699-710.
- Sten, B., Alsrup, B., Grimås, U., Person, W., Svensson, B., Vasseur, B. & Westerberg, H. (1983) Plan för den målinriktade forskningen för kylvatten-recipienter 1984-1987(88). *Nämnden för värmekraftens miljöfrågor*. Stockholm. Stencil, 48s.
- Stenbäck, H. (1975). Skillnaden mellan en varmvattenpåverkad och en opåverkad havsvik med avseende på där levande snäckor. *SNV*, Stencil, 8s
- Stenbäck, H. (1977). Influence of thermal discharges on the frequency of eye flukes in fish inhabiting a coastal area of the Baltic. *Nordiskt Symposium; Vattenföroreningar och fisksjukdomar, Köpenhamn*, 21-23.
- Stenbäck, H. (1979). Skillnader mellan en varmvattenpåverkad och en opåverkad havsvik med avseende på där levande snäckor. *SNV*, Stencil, 28s.
- Thulin, J. (1980) Parasiter och fisksjukdomar. I: *Seminarium om forskning inom Nämnden för Värmekraftens miljöfrågor*. Stencil, 7s.
- Thulin, J. (1982a) Studies on parasites and diseases of fish. Report for evaluation of the project area "Environmental impacts of large cooling water discharges". *SNV, Mkk, Öregrund*. Stencil, 14s.
- Thulin, J. (1982b) Running studies on fish parasites in the biotest basin at Forsmark nuclear power station, Sweden. *Parasitology* **85**:IXX-IXXi (Proc. Brit. Soc. Parasitol.).
- Thulin, J. (1984). Parasiter och sjukdomar hos fisk vid Oskarshamnverket. *SNV, Mkk, Öregrund*, Stencil, 8s.
- Vaughan, G. E. & Coble, D. W. (1975) Sublethal effects of three ectoparasites on fish. *J. Fish Biol.* **7**, 283-294.
- Whyte, S. K., Allan, J. C., Secombes, C. J. & Chappel, L. H. (1987). Cercariae and diplostomules of *Diplostomum spathaceum* (Digenea) elicit an immune response in rainbow trout, *Salmo gairdneri*, Richardson. *J. Fish Biol.* **31**, 185-190.
- Wooten, R. (1974). Observations on strigeoid metacercariae in the eyes of fish from Hanningfield Reservoir, Essex, England. *J. Helminthol.* **48**, 73-83.
- Zhatkanbayerna, D. (1987). Cercariae caused diplostomosis of herbivorous fishes and experiences on the prevention methods in pond fish farms. *Proc 2:nd Int. Symp. of Ichthyoparasitology, Tihany, Hungary*, 111.

RAPPORTER PRODUCERADE INOM PROJEKTET

I det följande redovisas de rapporter som helt eller delvis producerats inom det här slutredovisade forskningsprojektets ram.

- Höglund, J., (1985). The influence of temperature upon the seasonal cycling of the ectoparasite *Diplozoon paradoxum* Nordmann 1832, on roach, *Rutilus rutilus* (L.). *Inst. Parasitol. Åbo Akad., Information* 18, 36-37, (Proc. Scand. Symp. Parasitol.).
- Höglund, J. (1987). The *Diplostomum* metacercariae population in a hot water effluent. In: *Parasites and Diseases in Natural Waters and Aquaculture in Nordic Countries*, (Stenmark, A. & G. Malmberg, eds), 111.
- Höglund, J. & Thulin, J., (1987). A SEM-study of *Diplostomum* sp from *Lymnaea peregra* and perch, *Perca fluviatilis*, in the Biotest basin, Forsmark, Sweden. *Inst. Parasitol. Åbo Akad., Information* 19, p 32, (Proc. Scand. Symp. Parasitol.).
- Höglund, J. The epidemiology of *Diplostomum* sp in the retina of perch (*Perca fluviatilis* L.), living in heated water outside a nuclear power plant. (Proc. Brit. Soc. Parasitol.)
Under tryckning.
- Höglund, J. & Thulin, J. Parasitangrepp i ögon hos fisk, som lever i kylvatten från kärnkraftsreaktorer. *SNV-Rapport* 3539, Under tryckning.
- Höglund, J. & Thulin, J. Thermal effects upon the seasonality of *Paradiplozoon homoion* (Kotlyrovsky, 1986) on roach, *Rutilus rutilus* (L.), Inskickat manuskript
- Höglund, J. An epidemiological survey of *Diplostomum* sp in the retina of baltic perch (*Perca fluviatilis* L.), living in heated water outside nuclear power station.
Manuskript.
- Neuman, E. & Thulin, J. (1985) Fish ecology research in the biotest basin at Forsmark, Sweden. *Abstr. V Congress of European Ichthyologists, Sweden, 12-16 Aug. 1985.* pp 115-116.
- Thulin, J. (1984). Parasiter och sjukdomar hos fisk vid Oskarshamnsverket. *SNV Mkk, Öregrund*, Stencil 8s.
- Thulin, J. (1984). The impact of some environmental changes on the parasite fauna of cod in Swedish coastal waters. *Abstracts of the Fourth European Multicolloquium of Parasitology: Bilgham Publ. House. Izmir, Turkey, 239-240.*
- Thulin, J. (1985) Kontroll av sjukdomar och parasiter hos fisk utanför Forsmarks kärnkraftverk. *SNV-PM* 1983, 16s.
- Thulin, J. (1985) Sjukdomar och parasiter hos fisk i Biotestsjön, Forsmark. Lägesrapport. *SNV, Mkk, Öregrund*. Stencil, 13s.
- Thulin, J. (1986) Några trematoder och deras effekt på värddjuren. *Medd. fr. Havsfiskelaboratoriet, Lysekil.* 317, 15s.

Thulin, J. (1987) The Environmental Protection Board: Fish diseases and pollution. In: *Parasites and Diseases in Natural Waters and Aquaculture in Nordic Countries*, (Stenmark, A. & G. Malmberg, eds), 176.

Thulin, J., Höglund, J. & Lindesjö, E., Fisksjukdomar i kustvatten. *SNV-Rapport*, Under tryckning

ISBN 91-620-3539-8

ISSN 0282-7298