

## بررسی اثر دما بر بیماریزایی انگل ایکتیوفتریوس مولتی فیلیس در ماهی قزل آلی رنگین کمان

مجتبی علیشاهی\*

استادیار دانشکده ی دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

\* نویسنده مسئول: [alishahim@scu.ac.ir](mailto:alishahim@scu.ac.ir)

### چکیده

انگل مژه دار ایکتیوفتریوس مولتی فیلیس یکی از معروف ترین انگل های بیماریزای آب های شیرین است. این انگل عامل ایجاد ضرر و زیان اقتصادی فراوان در پرورش ماهی و منابع طبیعی است. تحقیق در این حدت و پراکنش این انگل در اندام های مختلف ماهی (پوست، آبشش و باله ها) در دو دمای ۲۰ و ۱۲ درجه سانتیگراد، بعد از ایجاد عفونت تجربی مورد بررسی قرار گرفت. بعد از چالش ماهی ها با انگل، تعداد تروفونت های قابل مشاهده انگل در روزهای ۳، ۶ و ۹ بعد از چالش در سطح بدن ماهی شمارش گردید. همچنین تلفات تجمعی در ماهیان بعد از عفونت تجربی در دو دما مقایسه شد. نتایج نشان دهنده ی حدت بیشتر انگل و تلفات بیشتر در تیمار ۲۰ درجه سانتیگراد بود (تلفات تجمعی بعد از ده روز در دمای ۱۲ درجه ۴۱ درصد و در دمای ۲۰ درجه ۶۱ درصد) بود. از طرفی پراکنش انگل در اندام های مختلف ماهی نیز تغییر نمود. به طوری که در دمای ۱۲ درجه نسبت تروفونت شمارش شده در باله ها در روزهای ۳، ۶ و ۹ بعد از چالش به ترتیب برابر ۵۵ درصد، ۵۰ درصد و ۵۴ درصد و در دمای ۲۰ درجه به ترتیب برابر ۳۱ درصد، ۳۳ درصد و ۳۳ درصد بود. در پوست نیز تغییر در پراکنش انگل ایجاد شده بود ( $P < 0/05$ )، به طوری که در دمای ۱۲ درجه سانتیگراد در روزهای ۳، ۶ و ۹ بعد از چالش نسبت تروفونت شمارش شده به ترتیب برابر ۳۷ درصد، ۳۴ درصد و ۳۹ درصد ولی در ۲۰ درجه سانتیگراد برابر ۶۴ درصد، ۶۱ درصد و ۶۰ درصد بود. تفاوت معنی داری بین نحوه ی پراکنش انگل در آبشش در دو دما مشاهده نگردید ( $P < 0/05$ ). نتایج این تحقیق علاوه بر تایید اثر دما بر میزان بیماریزایی و تلفات ایجاد شده در ماهی قزل آلا، تاثیر دما بر نحوه ی پراکنش انگل در اندام های جلدی ماهی را برای اولین بار گزارش می نماید. هر چند انگل ایکتیوفتریوس در دماهای بالاتر فعالیت بیشتری نشان داده است و سیکل زندگی کوتاه تری دارد ولی احتمالاً نحوه پراکنش انگل نیز در حدت آن نقش دارد. علت اصلی مرگ در ماهی مبتلا به این انگل به هم خوردن تعادل اسمزی ماهی است، لذا استقرار این انگل در پوست باعث بیماریزایی بیشتر انگل می گردد در صورتی که در باله ها بیماریزایی انگل کمتر است.

کلمات کلیدی: ماهی قزل آلی رنگین کمان، ایکتیوفتریوس مولتی فیلیس، دمای آب، بیماریزایی

## مقدمه

بیماری انگلی جلدی ایکتیوفتریوزیس یا لکه سفید (Ichthyophthiriasis) یکی از مهم ترین عفونت های انگلی در سطح جهان و ایران در ماهی به خصوص ماهی قزل آلا است و با توجه به روند بیماریزایی و سیکل زندگی ریشه کن نمودن آن از محیط آلوده بسیار دشوار می باشد (۱ و ۲). این بیماری توسط انگل مژه دار ایکتیوفتریوس مولتی فیلیس (*Ichthyophthirius multifiliis*) ایجاد می شود و هر ساله تلفات زیادی در ماهی ها به خصوص ماهی های سردآبی و در دمای بالای ۱۵-۱۰ درجه سانتیگراد ایجاد می کند (۲). انگل تنوع گونه ای ندارد و این بیماری در نقاط مختلف و ماهی های مختلف در اثر گونه ی ایکتیوفتریوس مولتی فیلیس ایجاد می شود. سیکل زندگی این انگل شامل مراحل مختلفی است. فرم عفونت زای انگل فرم تومیت یا ترونث *Theront* می باشد که با شنای آزاد در آب حرکت می کند و می تواند پوست ماهی سالم را مورد حمله قرار دهد، بعد از ورود ترونث به پوست، رشد و از پوست تغذیه می کند و مرحله ی تروفونت تشکیل می گردد. تروفونت نقاط سفیدی روی پوست ایجاد می نماید ترونث بعد از تکامل از پوست جدا می شود و در محیط آبی آزاد می گردد (تومونت). تومونت متحمل تقسیمات متعدد هسته ای می شود و به کیستی پر از نوزاد عفونت زای انگل تبدیل می شود، که با منهدم شدن آن ترونث عفونت زای به محیط وارد می گردد (۱، ۳ و ۴). به جرات می توان گفت که این انگل به ویژه در صنعت پرورش ماهی قزل آلا در کشور مهم ترین معضل بهداشتی مرتبط به بیماری های انگلی، می باشد (۵)

این انگل از نقاط مختلف بدن ماهی (پوست، آبشش، باله، چشم، دهان و مخرج) گزارش شده است (۱) ولی از آنجا که انگل یک انگل خارجی است، عفونت در بافت های پوششی بیشتر مشاهده شده و انگل معمولا در بالای لایه بازال اپیدرمی فعالیت می کند و به زیر پوست تهاجم نمی یابد (۶ و ۷). اطلاعاتی در مورد نحوه پراکنش انگل در بافت های مختلف ماهی در دست نیست ولی تلفات بیشتر در هنگام درگیری پوست و آبشش ها با این انگل دیده شده است، در صورتی که ابتلای باله ها کمتر ایجاد تلفات می نماید (۸). احتمالا برخی فاکتورها در نحوه ی پراکنش انگل در نقاط مختلف جلد ماهی نقش دارند. در این تحقیق علاوه بر بررسی میزان حدت انگل در دو دمای ۱۲ و ۲۰ درجه سانتیگراد، اثر دما در پراکنش انگل در سطح بدن ماهی مورد بررسی قرار گرفت. هر چند یکی از علل تلفات ماهی در ابتلا به انگل در دماهای بالا، فعال شدن بیشتر و کوتاه شدن سیکل زندگی انگل می باشد، ولی احتمال دارد که با تغییر شرایط دمایی پراکنش انگل در قسمت های مختلف بدن ماهی نیز تغییر کند. این احتمال مبنای تحقیق جاری قرار گرفت.

## مواد و روش کار

در این تحقیق از ماهی قزل آلا ی رنگین کمان انگشت قد با وزن متوسط  $18 \pm 4/3$  گرم که از یکی از مزارع پرورشی قزل آلا، که سابقه آلودگی با انگل ایکتیوفتریوس مولتی فیلیس در دو سال گذشته را نداشت، در این تحقیق استفاده گردید. ماهی ها به آکواریوم های مخصوص مدار بسته مجهز به بیوفیلتر منتقل شدند و بعد از چند روز به آکواریوم های با دمای ثابت ۱۲ و ۲۰ درجه

استفاده گردید. روزانه ۱۵ درصد آب آکواریوم ها با آب هم دما تعویض می گردید.

ماهی ها بعد از سازش یافتن با محیط جدید، به دو گروه کلی تقسیم گردیدند: ماهی های مربوط به تیمارهای دمای ۲۰ درجه سانتی گراد و ماهی های مربوط به دمای ۱۲ درجه سانتی گراد. در هر دما دو گروه کنترل (بدون تکرار) و آلوده شده (در سه تکرار ۲۰ قطعه ای)، به آکواریوم های مجزا معرفی گردیدند. تیمارهای آلوده به روش استاندارد با ترونت انگل چالش (Challenge) داده شدند. پس از مرحله چالش یا آلوده سازی در روز صفر، در روزهای ۳، ۶ و ۹ اقدام به بیهوش نمودن ماهی ها با دوز ۲۰ میلی گرم در لیتر داروی MS222 گردید. در هر مرحله ۱۰ ماهی از هر تیمار به صورت تصادفی انتخاب شد و تعداد تروفونت قابل مشاهده در زیر لوپ در پوست، آبشش و باله ها در هر تیمار شمارش و ثبت گردیدند. در نهایت مقایسه ی پراکنش انگل در تیمارهای مختلف در دو دما مورد بررسی قرار گرفت. علاوه بر پراکنش انگل، تعداد تلفات در هر تیمار بعد از پایان چالش به صورت روزانه تا ۱۰ روز ثبت گردید و در انتها میزان تلفات تجمعی در گروه شاهد و آلوده به انگل در دو دما مقایسه گردید (همه ماهی های تلف شده از نظر علت مرگ بررسی شد و در صورت اطمینان از آلودگی شدید به انگل در لیست تلفات تجمعی قرار می گرفت).

آلوده سازی ماهی ها (Challenge procedure) با مرحله ی ترونت انگل ایکتیوفتریوس مولتی فیلیس به روش توصیه شده توسط Aihua و همکاران (۲۰۰۲) انجام گرفت (۹). به این منظور ابتدا تعدادی ماهی ۲۰۰

سانتیگراد منتقل گردیدند. پس از سازش یابی و اطمینان از عدم آلودگی ماهی ها به این انگل به مدت ۱۵ روز، بدون هیچگونه تیماری تغذیه آن ها با خوراک استاندارد شرکت خوراک سازی Biomar به میزان ۳ درصد وزن توده زنده ماهی به صورت روزانه انجام شد.

همچنین در این تحقیق از انگل ایکتیوفتریوس مولتی فیلیس جی ۵ (G5) موجود در آزمایشگاه بیماری های ماهی دانشگاه KVL دانمارک جدا شده از مزارع پرورش ماهی قزل آلی رنگین کمان که با استفاده از روش های مولکولی و PCR جنس و گونه آن تایید شده بود استفاده گردید.

از یک حلقه چاه آب محلی به عنوان تامین کننده آب آکواریوم ها استفاده گردید. آب چاه دارای دما  $1 \pm 10^{\circ} C$  در ۱۲ طول تحقیق بود ولی دمای آب سالن های آکواریوم به صورت دستی و با استفاده از منابع بزرگ مجهز به هیتر های برقی قوی ترموستات دار قابل تنظیم در محدوده مورد نظر تثبیت می گردید.  $pH = 7/8$ ، نترات زیر ۰/۰۱ میلی گرم در لیتر، نیتريت و آمونیاک کمتر از ۰/۰۰۱ میلی گرم در لیتر و هدایت الکتریکی (EC) برابر ۳۵۰ میکروزیمنس در سانتی متر مکعب استفاده شد. اکسیژن محلول آب با استفاده از کیت آکوآکوانت (Aquaquant) تولیدی شرکت مرک آلمان تعیین می گردید.

در طول آزمایش بصورت روزانه میزان ترکیبات ازت دار (آمونیاک، نیتريت و نترات)، میزان اکسیژن محلول، pH و دمای آب کنترل می گردید. از بیو فیلترهای داخل آکواریومی و نیز خارج آکواریومی Eheim آلمان برای حذف ترکیبات سمی ازت دار آب

در آکواریوم قرار داده شدند. بعد از آلوده سازی ماهیان هر تیمار به آکواریوم اولیه منتقل می گردیدند. دمای آب آکواریوم های چالش نیز منطبق بر دمای تیمارها بود. گروه کنترل به همین روش چالش داده شدند با این تفاوت که در آکواریوم ترونت انگل اضافه نگردید.

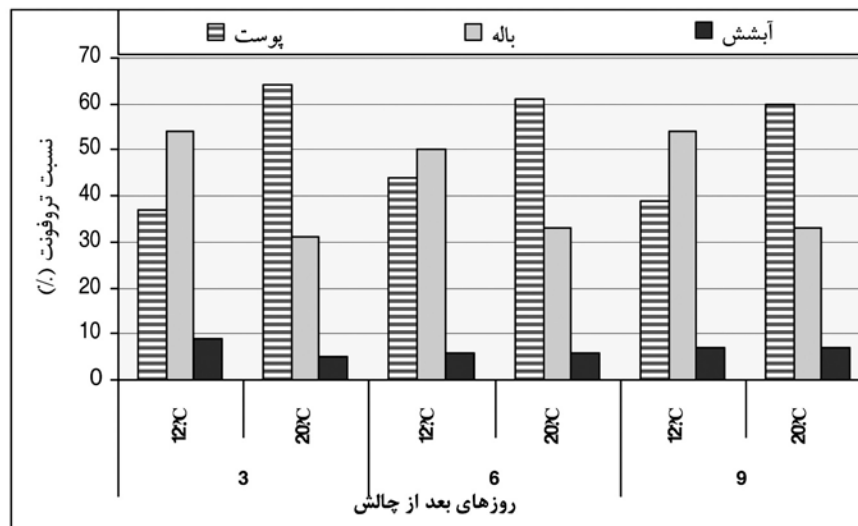
### نتایج

نتایج نحوه پراکنش تروفونت انگل روی قسمت های مختلف بدن ماهی، نسبت توزیع انگل در بدن و تلفات در هر مرحله نمونه گیری در دو دما در جدول ۱ و نمودار ۱ آورده شده است.

گرمی قزل آلا که فاقد تجربه ی آلودگی به این انگل بودند به روش مجاور سازی (Cohabitation) به انگل مبتلا گردیدند. بعد از ایجاد آلودگی شدید تعدادی ماهی با آلودگی بسیار شدید صید و با داروی بیهوشی با دوز بالا (۱ گرم در لیتر) کشته و داخل آب فیلتر شده آکواریوم قرار داده شد. بعد از چند ساعت تومونت های جدا شده از ماهی که به کف آب رسوب می نمودند به وسیله ی مکش با پیپت پاستور برداشت و به ظروف شیشه ای خاص منتقل شدند. این تومونت ها به مدت ۲ روز در دمای منطبق با شرایط تحقیق (۱۲ و ۲۰ درجه) و در تاریکی یا نور کم انکوبه شدند و ترونت های حاصل بعد از شمارش با لام هماتولوژی نئوبار به آکواریوم مخصوص آلوده سازی تجربی منتقل گردیدند. تعداد ترونت در هر آکواریوم ۲۰۰۰ قطعه به ازای هر ماهی تنظیم گردید. ماهی ها برای چالش با انگل به مدت ۱۲ ساعت در داخل قفسه های توری فلزی مستقر

جدول ۱- تعداد تروفونت شمارش شده در قسمت های مختلف بدن ماهی قزل آلا

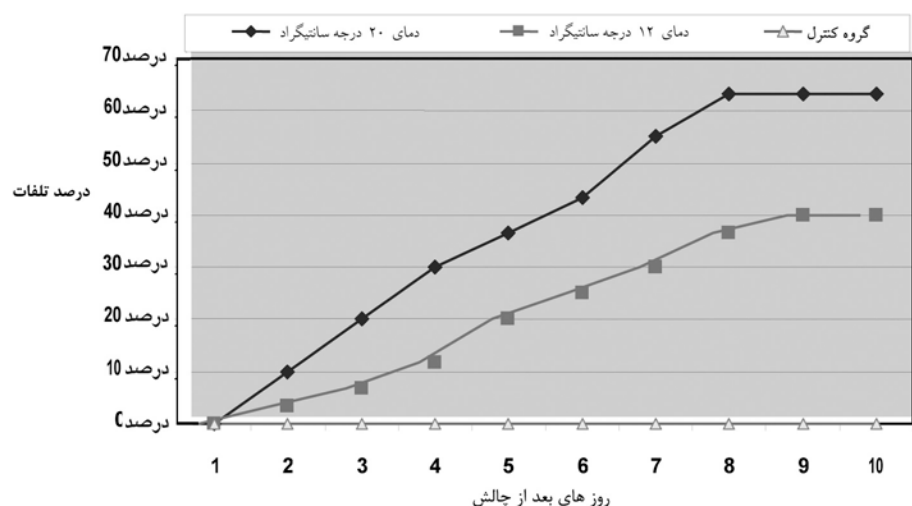
تلفات تجمعی (۶۰ ماهی)	روی آبشش		روی پوست		تروفونت روی باله ها		میانگین تعداد تروفونت	دما		
	نسبت به کل	تعداد	نسبت به کل	تعداد	نسبت به کل	تعداد				
۶۷ درصد	۴	۹ درصد	۱/۵±۰/۷	۳۷ درصد	۶/۳±۳/۱	۵۴ درصد	۹/۱±۶/۳	۱۶/۷±۳/۳	۱۲°C	روز ۳
۲۰ درصد	۱۲	۵ درصد	۵/۶±۳/۲	۶۴ درصد	۶۷/۴±۱۷/۴	۳۱ درصد	۳۲/۵±۱۱/۱	۱۰۵/۵±۲۱	۲۰°C	
۲۵ درصد	۱۵	۶ درصد	۶/۴±۳/۲	۴۴ درصد	۴۲/۹±۱۶/۴	۵۰ درصد	۴۸/۴±۱۶/۸	۹۷/۷±۱۸/۵	۱۲°C	روز ۶
۴۳/۳ درصد	۲۶	۶ درصد	۷/۸±۳/۵	۶۱ درصد	۶۸/۱±۱۵/۸	۳۳ درصد	۳۶/۵±۱۵/۶	۱۱۲/۳±۲۸/۸	۲۰°C	
۴۰ درصد	۲۴	۷ درصد	۱۱/۲±۵/۱	۳۹ درصد	۶۲/۲±۱۵/۱	۵۴ درصد	۸۴/۳±۲۰/۳	۱۵۷/۶±۳۷/۷	۱۲°C	روز ۹
۶۳/۳ درصد	۳۸	۷ درصد	۳/۲±۱/۶	۶۰ درصد	۲۶/۴±۵/۳	۳۳ درصد	۱۴/۳±۴/۱	۴۳/۸±۱۵/۳	۲۰°C	



نمودار ۱- پراکنش انگل ایکتیوفتریوس مولتی فیلیس در اندام های هدف ماهی های آلوده شده به روش تجربی در دو دمای ۱۲ و ۲۰ درجه سانتیگراد. (انگلی در گروه کنترل مشاهده نگردید)

اول تا روز دهم بعد از چالش در نمودار ۲ آورده شده است. روند تلفات و حد اکثر تلفات در هر دو گروه با هم تفاوت های مشخصی دارند.

برای مشخص شدن حدت انگل در دو دما تلفات تجمعی در روزهای بعد از چالش ثبت گردید. نمودار تلفات تجمعی در گروه کنترل و آلوده شده به روش تجربی در دمای  $12^{\circ}\text{C}$  و  $20^{\circ}\text{C}$  از روز



نمودار ۲ - نمودار مقایسه ی تلفات تجمعی در ماهی های چالش داده شده با انگل ایکتیوفتریوس در دو دمای ۱۲ و ۲۰ درجه سانتی گراد با گروه شاهد.

تحقیقات مختلف ایجاد نوعی ایمنی در ماهی مبتلا شده به انگل را گزارش نموده اند لذا بافت های درگیر در برابر انگل واکنش ایمنی نشان می دهند که این ایمنی وابسته به دماست (۱۰).

بر اساس یافته های این تحقیق، الگوی پراکنش انگل در پوست، آبشش و باله ها تحت تاثیر دما قرار گرفت؛ به طوری که در روزهای سوم، ششم و نهم بعد از عفونت تجربی، درصد انگل های شمارش شده در پوست در ۲۰ درجه سانتیگراد به ترتیب ۶۴، ۶۱ و ۶۰ درصد بود، در صورتی که در همین روزها درصد انگل های شمارش شده در پوست در ۱۲ درجه سانتیگراد ۳۷، ۴۴ و ۳۹

در دو گروه کنترل (۱۲ و ۲۰ درجه سانتیگراد) هیچ گونه آلودگی به انگل در تمامی مراحل نمونه گیری مشاهده نگردید و همچنین هیچگونه تلفاتی در کل مراحل در دو تیمار شاهد ایجاد نشد.

### بحث و نتیجه گیری

عفونت انگلی ایکتیوفتریوس مولتی فیلیس از بیماری های مهم انگلی ماهی قزل آلا ی رنگین کمان می باشد که علاوه بر ایجاد استرس شدید در ماهی می تواند ایجاد تلفات نماید (۱). انگل عفونت جلدی ایجاد می کند و به بافت های زیر پوست تهاجم نمی یابد (۴).

تحقیقات انجام شده برای یافتن دلیل مرگ در این بیماری نشان داده است که سوراخ های ایجاد شده در پوست و خروج یون ها و به هم خوردن تعادل اسمزی دلیل اصلی مرگ ماهی مبتلا به ایکتیوفتریوزیس می باشد (۲ و ۳). لذا درگیری پوست باعث افزایش بیماریزایی انگل می گردد چراکه ضایعات جلدی حاصل از نفوذ انگل پوست بیماریزایی بیشتری نسبت به ضایعات باله دارد. البته درگیری آبشش ها نیز یکی از دلایل مهم تلفات در ماهی می باشد ولی بر اساس نتایج این تحقیق تغییر معنی داری در تعداد و نسبت انگل در آبشش حاصل نگردیده است و احتمالاً پراکنش انگل در آبشش تحت تاثیر دما قرار نمی گیرد.

از طرفی در روز سوم بعد از چالش، عفونت نسبتاً شدیدی در پوست و باله ها (۱۰۵ و ۶۷ تروفونت) ماهی ها ایجاد می شود ولی در ۱۲ درجه سانتیگراد آلودگی خفیفی در پوست و باله (۱۷ و ۶ تروفونت) به وجود آمد. که گویای حدت بالاتر انگل در دمای بالا احتمالاً به علت کاهش چرخه زندگی انگل و فعال تر شدن بیولوژیک انگل می باشد. البته در روز نهم بعد از چالش در دمای ۲۰°C برعکس حالت قبل عفونت در پوست و باله های کاهش یافت (۴۴ و ۲۷ تروفونت) ولی در دمای ۱۲°C عفونت در این دو قسمت بدن به حداکثر خود رسید (۱۵۸ و ۶۲) رسید. این نتایج گویای این حقیقت است که در دمای بالاتر ماهی سریع تر نسبت به بیماری مقاومت می یابد و ماهی هایی که در روزهای اول چالش به بیماری مبتلا ولی تلف نشدند دیگر نسبت به انگل حساسیتی ندارند لذا تعداد تروفونت نسبت به روزهای سوم و ششم کاهش یافته است ولی در ۱۲°C به علت سرعت کمتر رشد و تکامل انگل تعداد

درصد گزارش گردید. که تفاوت معنی داری را در هر سه مرحله نمونه گیری بین تیمارها نشان می دهد ( $P < 0/05$ ) تقریباً به همین میزان، نسبت انگل در باله ها در دمای ۲۰ درجه سانتیگراد کمتر از ماهی های تیمار دمای ۱۲ درجه سانتیگراد بود (تفاوت معنی دار  $P < 0/05$ )، ولی نسبت انگل های موجود در آبشش ها تغییر معنی داری را در دو دما نشان ندادند ( $P < 0/05$ ). در گروه کنترل هیچ گونه عفونت انگلی مشاهده نگردید.

هر چند محققین مختلف میزان عفونت انگلی در ماهی را تحت تاثیر مستقیم دمای محیط می دانند، به طوری که در فصول سرد سال با وجود حضور انگل، به علت افت شدید دما بیماری چهره بالینی ندارد (۳). ولی تا به حال بررسی الگوی پراکنش این انگل در بافت های مختلف پوششی ماهی انجام نگرفته است.

Antychowicz و همکاران (۱۹۹۲) برخی فاکتورهای ایمنی را که وابسته به دما هستند در پوست ماهی مبتلا به ایکتیوفتریوس مولتی فیلیس گزارش نمودند (۶). همچنین Matthews (۲۰۰۵) تغییر حدت انگل را با تغییر دما گزارش نمودند (۲). بر اساس این مطالعات تغییر الگوی پراکنش انگل در بافت های مختلف ماهی را می توان هم به تغییرات ایجاد شده در حدت انگل، و هم به تغییرات سیستم ایمنی ماهی نسبت داد (۲ و ۴). ولی نتیجه کلی این تغییر بر میزان تلفات ایجاد شده در ماهی نیز موثر است. چراکه حضور درصد بالاتری از انگل ها در باله در دماهای پایین می تواند یکی از دلایل حدت کمتر انگل در دماهای پایین باشد. و بالعکس، حضور درصد بالاتری از انگل در پوست در دماهای بالاتر می تواند دلیل افزایش تلفات در دمای بالا باشد.

یا هجوم بیشتر انگل به پوست نسبت به باله ها باشد. علت توقف تلفات در روزهای نهم و دهم می تواند ایجاد نوعی ایمنی طبیعی بعد از ایجاد عفونت انگلی در ماهی ها باشد که در طبیعت نیز چنین ایمنی قابل اعتمادی بعد از ابتلای ماهی ها در افراد بهبود یافته جمعیت مشاهده می گردد (۲، ۳، ۸).

#### تشکر و قدردانی

این تحقیق با استفاده از پژوهانه ی اختصاص داده شده توسط معاونت پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز حمایت مالی شده است و برخی از بخش های طرح در دانشکده ی دامپزشکی دانشگاه تهران به انجام رسید.

تروفونت در پوست و باله های ماهی در سه مرحله نمونه گیری در حال افزایش بوده در روز نهم به حد اکثر خود می رسد. تاثیر دما در روند رشد و تکامل انگل در منابع مختلف مورد تاکید واقع شده است (۷، ۹ و ۱۱). در نمودار تلفات تجمعی بعد از ایجاد عفونت تجربی، تلفات در دمای ۲۰ درجه سانتی گراد زودتر شروع شده (روز دوم) و به میزان بالای ۶۰ درصد (در روز هشتم) می رسد، در صورتی که در دمای ۱۲ درجه سانتیگراد تلفات دیرتر شروع شد (روز سوم) و حداکثر به حدود ۴۰ درصد (روز نهم) می رسد و بعد از روز نهم تلفات قطع می شود. علت این تلفات بالا در تیمار چالش  $20^{\circ}\text{C}$  می تواند، فعالیت بالاتر انگل، کوتاه شدن سیکل زندگی



- 1, Dickerson, H.w., Dawe, D. L., 1995. *Ichthyophthirius multifiliis* and *Cryptocaryon irritans*, In fish disease and disorders (woo, P. T. K. Ed.) pp.181227 . protozoan and metazoan infections. CAB International,
2. Matthews, R .A., 2005. *Ichthyophthirius multifiliis* Fouquet and Ichthyophthiriosis in freshwater teleosts, Advance Parasitology 59,159–241.
3. Evalnov, I. A., 1992. Studies on the frequency of distribution and abundance regulation of *Ichthyophthirius multifiliis* in a bleak population, Parasitologia 26 (1), 48-52.
4. Mikkelsen, H., Lindenstrom, T., Nielsen, M. E., 2006. Effects of temperature on production and specificity of antibodies in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) Journal of the World Aquaculture Society 37 (4), 518-522.
5. Jalali, J. B., 1377. Parasites and parasitic diseases of Iranian fresh water fish, Iranian Fisheries Organization publication., 56-89.
6. Antychowicz, J., Rogulska, A., Zelazny, J., Wrobel, M., 199. Scanning electron microscopic studies on *Ichthyophthirius multifiliis* infection in the skin of carp (*Cyprinus carpio*). Bulletin of the Veterinary Institute of Pulawy, 351-6.
7. Buchmann, K., Sigh, J., Nielsen, C.V., Dalgaard, M., 2001. Host responses against the fish parasitizing ciliate *Ichthyophthirius multifiliis*, Veterinary Parasitology 100 (1-2), 105-116
8. Wallingford, A., Hines, R.S. and Spira, D.T., 1974. Ichthyophthiriasis in the mirror carp *Cyprinus carpio* (L.) V. Acquired immunity. Journal of Fish Biology 6, 373–378.
9. Aihua, L., Buchmann, K., 2001. Temperature and salinity dependent development of a Nordic strain of *Ichthyophthirius multifiliis* from rainbow trout. Journal of Applied Ichthyology 17 (1–4), 197-207
10. Xu, D.H., Klesius, P. H., Shelby, R. A., 2002 . Cutaneous antibodies in excised skin from channel catfish, *Ictalurus punctatus* Rafinesque, immune to *Ichthyophthirius multifiliis*
11. Brabrand, A., Bakke, T. A., Faafeng, B. A. 1994. The ectoparasite *Ichthyophthirius multifiliis* and the abundance of roach- larval fish epidemics in relation to host behaviour, Fisheries Research 20 (1), 49-61.