



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗΣ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ: «ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ-ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΑ
ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΑ ΕΚΤΡΕΦΟΜΕΝΩΝ ΥΔΡΟΒΙΩΝ ΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ»

ΑΣΑΡΙΩΤΗΣ ΚΥΡΙΑΚΟΣ

*Διερεύνηση χειμερινών θνησιμοτήτων σε καλλιεργούμενους
πληθυσμούς *Dicentrarchus labrax**

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Εξεταστική επιτροπή:

Αθανασοπούλου Φωτεινή, Καθηγήτρια (Επιβλέπων)
Κατσούλης Κωνσταντίνος, Επίκουρος Καθηγητής
Μπιτχαβά Κωνσταντίνα, Καθηγήτρια

ΚΑΡΔΙΤΣΑ 2023

**UNIVERCITY OF IOANNINA
DEPARTMENT OF
AGRICULTURE**



**UNIVERSITY OF THESSALY
FACULTY OF VETERINARY
SCIENCE**

**UNIVERCITY OF THESSALY
SCHOOL OF HEALTH SCIENCES
FACULTY OF VETERINARY SCIENCE**

POSTGRADUATE STUDY PROGRAMME: «AQUACULTURE-AQUATIC ANIMAL HEALTH»

ASARIOTIS KIRIAKOS

*Investigation of winter mortalities in farmed populations of
Dicentrarchus labrax.*

Master Thesis

Committee:

Athanassopoulou Foteini, Professor(Supervisor)

Katsoulis Konstantinos, Assistant Professor

Mpithava Konstantina, Professor

KARDITSA 2023

Περιεχόμενα

1. Εισαγωγή.....	7
1.1. Κλιματική αλλαγή και υδάτινα οικοσυστήματα.....	7
1.2. Η Υδατοκαλλιέργεια στην Μεσόγειο.....	12
1.3. Υδατοκαλλιέργεια και μολυσματικές ασθένειες ιχθύων.....	14
1.4. Μετάδοση ασθενειών από τα εκτρεφόμενα στα άγρια είδη.....	18
1.5. Προβλήματα εκτροφής στο λαβράκι.....	22
1.6. Στόχοι παρούσας έρευνας.....	24
2. Υλικά και Μέθοδοι.....	25
2.1. Δειγματοληψίες.....	25
2.2. Ανατομία και μακροσκοπική διερεύνηση.....	27
2.3. Μικροβιολογικές καλλιέργειες.....	27
2.4. Μοριακή ταυτοποίηση βακτηρίων.....	28
3. Αποτελέσματα.....	30
3.1. Μακροσκοπικά ευρήματα.....	30
3.2. Μικροβιολογικές καλλιέργειες και μοριακή ταυτοποίηση βακτηρίων.....	33
4. Συζήτηση.....	35
5. Συμπεράσματα.....	39
6. Βιβλιογραφία.....	41

Πρόλογος

Η μελέτη για την παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε κατά το τελευταίο εξάμηνο του ακαδημαϊκού έτους 2022-2023 στα πλαίσια του μεταπτυχιακού προγράμματος σπουδών «Υδατοκαλλιέργειες-Παθολογικά Προβλήματα Εκτρεφόμενων Υδρόβιων Οργανισμών», του τμήματος Κτηνιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

Αντικείμενο της συγκεκριμένης εργασίας αποτελεί η διερεύνηση των θνησιμοτήτων του είδους *D. labrax* κατά τους χειμερινούς μήνες σε δύο μονάδες καλλιέργειας στην Ελλάδα.

Στο σημείο αυτό θα ήθελα να ευχαριστήσω την τριμελή επιτροπή για την καθοδήγηση τους και ιδιαίτερα την επιβλέπουσα της εργασίας Καθηγήτρια κα. Φωτεινή Αθανασοπούλου για την καθοδήγηση και την πολύτιμη βοήθεια της στο στάδιο εκπόνησης της διατριβής.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω την εταιρεία Δ.Δουμα Υιοί ΟΕ για την αμέριστη συμπαράσταση και στήριξη που μου παρείχαν.

Τέλος, ευχαριστώ θερμά την οικογένεια μου για την αμέριστη στήριξη τους σε όλο το διάστημα εκπόνησης της έρευνας.

Περίληψη

Η κλιματική αλλαγή αποτελεί ανασταλτικό παράγοντα για την ανάπτυξη του κλάδου της υδατοκαλλιέργειας. Η άνοδος της μέσης θερμοκρασίας σε κάθε περιοχή που υφίστανται καλλιέργειες ιχθύων επηρεάζει ως προς τον βαθμό εμφάνισης ασθενειών ακόμα και σε μήνες με χαμηλότερη θερμοκρασία (Χειμερινούς).

Στην συγκεκριμένη έρευνα, μελετήθηκαν δυο περιπτώσεις εμφάνισης θνησιμοτήτων σε χειμερινούς μήνες σε μονάδες που καλλιεργούν άτομα του είδους *D. labrax*. Τα άτομα *D. labrax*, αφού θανατώθηκαν με υπερδοσολογία αναισθητικού, εξετάστηκαν μακροσκοπικά αρχικά και στην συνέχεια πραγματοποιήθηκε ανατομία, μικροβιολογικές καλλιέργειες και μοριακή ταυτοποίηση με στόχο να βρεθεί ο αιτιολογικός παράγοντας των θνησιμοτήτων.

Από την εξέταση των ατόμων που εξετάστηκαν ανιχνευθήκαν κωπηποδα του είδους *Lernanthropus kroyeri* σε σχεδόν πάνω από το ήμισυ των ψαριών που εξετάστηκαν. Στις περιπτώσεις των δειγμάτων που εμφάνισαν παρασιτισμό ανιχνευθήκαν και δευτερογενείς λοιμώξεις ωπημε βακτήρια *Vibrio* spp. Εντούτοις, στην μονάδα με την μεγαλύτερη θνησιμότητα, ανιχνεύθηκε και *Mycobacterium pseudoshottsii* το οποίο δύναται να παίζει και αυτό ρόλο στις θνησιμότητες της μονάδας.

Η ανίχνευση του κυρίου αιτιολογικού παράγοντα αποτελεί σημαντικό γεγονός αλλά και πολύπλοκο. Τα παράσιτα στις υψηλές για την εποχή θερμοκρασίες του χειμώνα σε συνδυασμό με την λοίμωξη από *Vibrio anguillarum* δύναται να προκαλέσουν μαζικές θνησιμότητες, όπως και το *M. pseudoshottsii*, το οποίο περιγράφεται από την βιβλιογραφία ως ένας αναδυόμενος κίνδυνος για τις καλλιέργειες.

Abstract

Climate change and its impacts constitute an important inhibitor factor for the aquaculture sector. Increase of the average temperature in each aquaculture site can affect marine disease dynamics and emerge seasonal diseases though the whole season.

In the present research, two aquaculture facilities which had mortality issues in *D. labrax* culture in winter months, investigated to detect the main etiological agent of the mortalities in the fish cages. Individuals were euthanized, thought high concecration anesthetic and monitored macroscopically for disease signs. Microbiological cultures and molecular identification of the results were also implicated for the study.

Lernanthropus kroyeri copepods were detected in gills in almost every fish examined for the study. *Vibrio anguillarum* were detected also as secondary infection in each individual hosting copepods *L. kroyeri*. Additionally, in the farm with higher mortality rates *Mycobacterium sp.* detected. *Mycobacterium pseudoshottsi* could also play an important factor for mortality in this farm.

Detection of the main etiological agent is critical for the aquaculture production. Furthermore, parasitism due to high temperature in winter months combined with *Vibrio anguillarum* infection could lead in mortalities in farms. Additionally, *M. pseudoshottsi* infections, described as an emergence disease in bibliography, can also constitute a potential threat for the production.

1. Εισαγωγή

1.1. Κλιματική αλλαγή και υδάτινα οικοσυστήματα

Ο FAO αναφέρει ότι η κλιματική αλλαγή απειλεί τις ικανότητες του ανθρώπινου είδους να εξασφαλίσει την παγκόσμια επισιτιστική ασφάλεια, να εξαλείψει τη φτώχεια και να επιτύχει βιώσιμη ανάπτυξη (FAO 2012). Η υπερθέρμανση του πλανήτη από ανθρωπογενείς δραστηριότητες έχει ήδη μεταβάλλει αβιοτικούς παράγοντες των ενδιαιτημάτων του πλανήτη, με εκτεταμένες συνέπειες. Μεγάλη σημασία και αντίστοιχη έρευνα έχει επιτευχθεί όσον αφορά τις επιπτώσεις της κλιματικής μεταβολής για τα χερσαία συστήματα, αλλά η κλιματική αλλαγή έχει επηρεάσει επίσης τα ωκεάνια και υδάτινα οικοσυστήματα σε βάθος με επακόλουθες επιπτώσεις στην αλιεία και την υδατοκαλλιέργεια, και ακολούθως τις κοινωνίες που εξαρτώνται από τις συγκεκριμένες δραστηριότητες για τη διαβίωσή τους.

Η αλιεία και η υδατοκαλλιέργεια παρέχουν σε 3 δισεκατομμύρια ανθρώπους τη δυνατότητα να καλύπτουν με το 20% της μέσης κατά κεφαλήν πρόσληψης ζωικής πρωτεΐνης και σε άλλα 1,5 δισεκατομμύρια ανθρώπους με περίπου το 15% της ζωικής πρωτεΐνης που καταναλώνουν (Garibaldi, 2012). Τα τελικά προϊόντα της υδατοκαλλιέργειας αλλά και της αλιείας αποτελούν τρόφιμα με την υψηλότερη εμπορική αξία, και η ζήτηση τους έχει ανοδική τάση τα τελευταία χρόνια (Smith et al. 2010). Η υδατοκαλλιέργεια σε κλωβούς στην ανοιχτή θάλασσα παρέχει σήμερα το ήμισυ του συνόλου των ψαριών που προορίζονται για ανθρώπινη κατανάλωση και με δεδομένο την υπεραλίευση των ωκεάνιων συστημάτων το ποσοστό αυτό αναμένεται να αυξηθεί τα επόμενα χρόνια (Pauly & Zeller, 2017). Από το 2013, το 31,4% των παγκόσμιων αποθεμάτων ήταν υπεραλιευμένα, το 58,1% ήταν πλήρως αλιευμένα, και

μόνο το 10,5% ήταν υποαλιευμένα (Pauly & Zeller, 2017). Ενώ ορισμένοι μέθοδοι αλιείας μπορεί να βιώσουν βραχυπρόθεσμα οφέλη από την κλιματική αλλαγή, οι συνολικές παγκόσμιες εκφορτώσεις προβλέπεται να μειωθούν 10% έως το 2050 (Barange et al. 2014).

Η αναφερόμενη παγκόσμια παραγωγή ψαριών για ανθρώπινη κατανάλωση ανέρχεται στα 52,5 εκατομμύρια τόνους το 2008 συμπεριλαμβανομένων των καρκινοειδών, των μαλακίων και των άλλων υδρόβιων ζώων που προορίζονται για να καταναλωθούν από τον άνθρωπο. Είναι χαρακτηριστικό ότι κατά την περίοδο 1970-2008, η παραγωγή των ψαριών από υδατοκαλλιέργειες αυξήθηκαν με μέσο ετήσιο ρυθμό 8,3% ενώ ο παγκόσμιος πληθυσμός αυξήθηκε κατά μέσο όρο 1,6% ετησίως (FAO, 2012). Το συνδυασμένο αποτέλεσμα της ανάπτυξης της υδατοκαλλιέργειας σε παγκόσμιο επίπεδο και της αύξησης του παγκόσμιου πληθυσμού είναι ότι η μέση ετήσια κατά κεφαλήν προσφορά ψαριών από υδατοκαλλιέργειες που προορίζονται για ανθρώπινη κατανάλωση αυξήθηκε κατά δέκα φορές, από 0,7 kg το 1970 σε 7,8 kg το 2008, με μέσο ρυθμό αύξησης 6,6% ετησίως (FAO, 2012).

Η δημιουργία αυτών των τάσεων έφερε αυξημένη προσοχή στις δυνατότητες της υδατοκαλλιέργειας να καλύψει το κενό που δημιουργείται από τη συνεχώς μειούμενη διαθεσιμότητα ιχθυερών αλιείας. Η παγκόσμια παραγωγή υδατοκαλλιέργειας αυξάνεται σταθερά εδώ και δεκαετίες, φθάνοντας τα 110,2 εκατ. (συμπεριλαμβανομένων των υδρόβιων φυτών), με την αξία πρώτης πώλησης να εκτιμάται σε 243,5 δισ. δολάρια ΗΠΑ το 2016 (FAO 2018). Η παραγωγή υδρόβιων και θαλάσσιων ζώων έχει φθάσει σχεδόν 74 Mt, και αυτή αναμένεται να επεκταθεί σε 102 Mt μέχρι το 2025 (FAO 2016). Σχεδόν 600 διαφορετικά

υδρόβια είδη (FAO 2018a) καλλιεργούνται σε περίπου 200 χώρες, με το ένα τρίτο να παράγεται χωρίς τη χρήση ζωοτροφών (π.χ. δίθυρα και κυπρίνοι), ενώ επιτυγχάνεται επίσης παραγωγή 27,3 εκατ. τόνων ετησίως υδρόβιων φυτών (FAO 2016). Η παγκόσμια παραγωγή προέχεται σε μεγάλο βαθμό από την Κίνα, η οποία συνεισφέρει στο 60% της παγκόσμιας παραγωγής, ακολουθούμενη από άλλες κορυφαίες χώρες παραγωγής, όπως η Ινδία, το Βιετνάμ, το Μπαγκλαντές και η Αίγυπτος. Στην ενδοχώρα τα συστήματα υδατοκαλλιέργειας αντιπροσωπεύουν την πλειονότητα των υδρόβιων ζώων (47 εκατ. τόνους), με την καλλιέργεια των περισσότερων ιχθύδων να πραγματοποιείται σε χωμάτινες δεξαμενές, αν και η καλλιέργεια των ιχθύδων σε κλωβούς επεκτείνεται όπου οι συνθήκες το επιτρέπουν (FAO 2016). Στις αναπτυσσόμενες χώρες όπου υπάρχει έντονος ανταγωνισμός για χώρο και πόρους, η επέκταση της αλιείας με βάση την καλλιέργεια αναμένεται στα επόμενα χρόνια, όπου η εκτεταμένη υδατοκαλλιέργεια βασίζεται σε αποθέματα και στην επανασύλληψή τους (Da Silva et al., 2016). Οι διαθέσιμες εκτάσεις για την επέκταση της θαλάσσιας υδατοκαλλιέργειας εξακολουθούν να είναι σε μεγάλο βαθμό ανεκμετάλλευτες (Gentry et al. 2017). Το τεράστιο εύρος των ειδών, μεθόδων εκτροφής, περιοχών εκτροφής υποδηλώνει ότι πολλοί τομείς και περιοχές υδατοκαλλιέργειας θα είναι ευάλωτοι σε ποικίλες επιπτώσεις της κλιματικής αλλαγής (Handisyde et al. 2017).

Δεδομένου του εύρους των αβιοτικών και βιοτικών κλιματικών παραγόντων καταπόνησης που δημιουργούνται ως επιπτώσεις της κλιματικής αλλαγής, οι επιπτώσεις στους πόρους, η δια - ποικιλομορφία των βιολογικών μηχανισμών απόκρισης, η πιθανή αλληλεπίδραση των παραγόντων καταπόνησης, η αξιολόγηση κόστους-οφέλους των προσπάθειών προσαρμογής της υδατοκαλλιέργειας είναι ζωτικής

σημασίας και απαιτείται έρευνα για την υποστήριξη αυτών των προσπαθειών αλλά και την κατανόηση του φαινομένου (Handisyde et al. 2017).

Με τον όρο κλίμα εννοούμε τη σύνθεση του καιρού σε μία περιοχή δηλαδή τον μέσο καιρό. Ως «μέσος καιρός» ορίζεται ο μέσος όρος τιμής των καιρικών συνθηκών που επικρατούν σε μια ορισμένη περιοχή για μεγάλη χρονική περίοδο. Υπάρχουν πολλοί παράγοντες, ανθρωπογενείς και φυσικοί, οι οποίοι προσδιορίζουν το κλίμα της γης. Κατά τη Διακυβερνητική Επιτροπή για την Αλλαγή του Κλίματος (IPCC, Intergovernmental Panel on Climate Change), ως κλιματική μεταβολή ορίζεται οποιαδήποτε αλλαγή του κλίματος στο χρόνο, που οφείλεται σε φυσικά αίτια ή είναι προϊόν ανθρώπινης δραστηριότητας. Κατά αυτόν τον ορισμό η κλιματική αλλαγή αποδίδεται έμμεσα ή άμεσα στην ανθρώπινη δραστηριότητα η οποία αλλοιώνει την σύνθεση της παγκόσμιας ατμόσφαιρας και πραγματοποιείται ταυτόχρονα με την φυσική κλιματική αλλαγή η οποία παρατηρείται σε συγκεκριμένα τακτά χρονικά διαστήματα. Σύμφωνα με Fabry et al., (2008) η αλλαγή του κλίματος εκδηλώνεται κυρίως με την άνοδο της θερμοκρασίας, την οξίνιση των ωκεανών αλλά και την ξήρανση εφήμερων ενδιαιτημάτων. Η συσσώρευση διοξειδίου του άνθρακα και άλλων αερίων του θερμοκηπίου στην ατμόσφαιρα αλλάζει πολλά από τα χαρακτηριστικά του κλίματος, των ωκεανών, των παράκτιων οικοσυστημάτων και των οικοσυστημάτων των εσωτερικών νερών. Οι αλλαγές αυτές επηρεάζουν τη θερμοκρασία του αέρα και την θερμοκρασία στην επιφάνεια της θάλασσας, τις βροχοπτώσεις, το επίπεδο της στάθμης της θάλασσας, την οξύτητα των ωκεανών (pH), τα πρότυπα του ανέμου και την ένταση

των τροπικών κυκλώνων (Barange & Perry, 2009). Οι κυριότερες επιπτώσεις της κλιματικής κρίσης έχουν ως αποτέλεσμα:

Αύξηση της οξύτητας

Περίπου το ήμισυ των εκπομπών CO₂ που απελευθερώνεται από τις ανθρώπινες δραστηριότητες μεταξύ 1800 και 1994 είναι αποθηκευμένο στον ωκεανό (Sabine et al., 2004), και περίπου 30% των σύγχρονων εκπομπών CO₂ λαμβάνονται από τους ωκεανούς σήμερα (Feely et al., 2004). Η συνεχής απορρόφηση CO₂ από τους ωκεανούς οδήγησε στην μείωση του pH του επιφανειακού νερού κατά 0,1 μονάδες τα τελευταία 200 χρόνια. Τα διάφορα μοντέλα εκτιμούν ότι θα συνεχιστεί η πτώση του pH στην επιφάνεια των ωκεανών περίπου 0,3 - 0,5 μονάδες τα επόμενα 100 χρόνια και 0,3 - 1,4 μονάδες τα επόμενα 300 χρόνια, ανάλογα με το μοντέλο εκπομπών CO₂ που θα προκύψει (Caldeira & Wickett, 2005).

Αύξηση της μέσης θερμοκρασίας

Σύμφωνα με τους Handisyde *et al.* (2006) ,η θερμοκρασία στα υψηλότερα γεωγραφικά πλάτη προβλέπεται ότι θα αυξηθεί περισσότερο από εκείνη κοντά στο ισημερινό, αλλαγές στη μέση παγκόσμια θερμοκρασία είναι πιθανό να προκληθούν από την αύξηση των ελάχιστων θερμοκρασιών και όχι από την αύξηση της μέγιστης θερμοκρασίας μιας περιοχής, οι υψηλότερες θερμοκρασίες το χειμώνα στα μεγάλα γεωγραφικά πλάτη θα είναι πιο σημαντικές από τις υψηλότερες θερμοκρασίες του καλοκαιριού.

Αλλαγή στάθμης της θάλασσας

Η παγκόσμια μέση στάθμη της θάλασσας έχει αρχίσει να αυξάνεται με μέσο ρυθμό της τάξεως των 1,8mm ετησίως από το 1961

(Douglas, 2001), απειλώντας πολλές περιοχές με χαμηλό υψόμετρο. Ο ρυθμός αυτός από το 1993 έχει επιταχυνθεί σε περίπου 3,1mm ανά έτος, ως αποτέλεσμα της ελάττωσης των ορεινών παγετώνων και του χιονιού και στα δύο ημισφαίρια και της απώλειας των πάγων της Γροιλανδίας και της Ανταρκτικής (Bindoff et al., 2007). Επιπλέον, η αύξηση της θερμοκρασίας προκαλεί αύξηση του όγκου του νερού, επιβάλλοντας στο νερό των ωκεανών κατά τον ίδιο τρόπο να καταλαμβάνει περισσότερο χώρο, προκαλώντας περαιτέρω ανύψωση της στάθμης της θάλασσας (Domingues et al., 2008). Αυτό μπορεί να επιφέρει πλημμύρες σε διάφορες παράκτιες περιοχές μέχρι και πλήρη και μόνιμη κάλυψη αυτών. Επίσης, αναμένεται ότι η μορφολογία της ξηράς θα μεταβληθεί σε μερικές νησιωτικές χώρες λόγω της ανύψωσης της στάθμης της θάλασσας. Η μέση παγκόσμια στάθμη της θάλασσας έχει αυξηθεί από 10 ως 25cm τα τελευταία 100 χρόνια. Είναι πιθανόν ότι αυτή η αύξηση σχετίζεται με την αύξηση της μέσης θερμοκρασίας από το 1860. Από τα κλιματικά μοντέλα έχει υπολογιστεί ότι η μέση στάθμη της θάλασσας μπορεί να αυξηθεί περίπου κατά 15 ως 95cm μέχρι το έτος 2100 (IPCC, 2001).

1.2. Η Υδατοκαλλιέργεια στην Μεσόγειο

Στη Μεσόγειο η υδατοκαλλιέργεια επεκτείνεται με ταχείς ρυθμούς τα τελευταία χρόνια. Η συνεχής μείωση της ωκεάνιας αλιείας και η αυξανόμενη παγκόσμια κατανάλωση ψαριών έχουν προωθήσει την άνοδο της υδατοκαλλιέργειας. Η ανάγκη για αυξημένες προμήθειες υδρόβιων τροφίμων για την ικανοποίηση των αυξανόμενων απαιτήσεων ενός διευρυνόμενου πληθυσμού είναι καλά αναγνωρισμένη (FAO 2010).

Η επιτυχία της εκτροφής σε θαλάσσιους κλωβούς συσχετίζεται ουσιαστικά με τη δυνατότητα μείωσης του κόστους παραγωγής ωστόσο,

η δυσκολία διαχείρισης των ασθενειών στους θαλάσσιους κλωβούς θεωρείται σημαντικό μειονέκτημα (Ernst et al. 2002). Η υδατοκαλλιέργεια αντιμετωπίζει μια σειρά από περιορισμούς λαμβάνοντας υπόψη τους περιφερειακούς, βιολογικούς και περιβαλλοντικούς παράγοντες, παρέχοντας ένα κατάλληλο περιβάλλον για την εμφάνιση νέων παθογόνων μικροοργανισμών (Ghittino et al. 2003).

1.3. Υδατοκαλλιέργεια και μολυσματικές ασθένειες ιχθύων

Τα καλλιεργούμενα είδη ιχθύων μπορεί να αναπτύξουν υψηλότερα φορτία παρασίτων από εκείνα που υπάρχουν σε πληθυσμούς άγριων ιχθύων, επειδή η ανάπτυξη καινοτόμων τεχνικών καλλιέργειας και συνθηκών εκτροφής μπορεί να ευνοήσει εστίες παρασίτων με αποτέλεσμα σημαντικές οικονομικές απώλειες (Ghittino et al. 2003; Johnson et al. 2004; Naylor et al. 2000). Οι περιβαλλοντικές συνθήκες σε συστήματα καλλιέργειας, ιδίως η αυξημένη πυκνότητα των ψαριών, η επανειλημμένη εισαγωγή ιχθυδίων – ξενιστών που δεν είναι ελεύθερα από παθογόνα, οι ομοιογενείς πληθυσμοί ξενιστών, η γρήγορη ανάπτυξη και η πιθανή μείωση της γενετικής ποικιλότητας είναι χαρακτηριστικά που ευνοούν μετάδοση παθογόνων μικροοργανισμών και παρασίτων άμεσου κύκλου ζωής, απειλώντας την παραγωγική δραστηριότητα (Fernandez-Jover et al. 2010; Ghittino et al. 2003).

Τα άγρια αποθέματα φέρουν πολλούς μολυσματικούς παράγοντες, οι οποίοι μπορούν να εισέλθουν στις υδατοκαλλιέργειες μέσω του νερού, της πρόσληψης τροφής ή άμεσα μέσω μολυσμένου γόνου. Κατά συνέπεια, οι περισσότερες μολυσματικές ασθένειες σε εκτρεφόμενα είδη προέρχονται από άγριους ξενιστές στα γύρω ύδατα (Kurath & Winton 2011; Saksida et al. 2014). Ανεξάρτητα από την πηγή της νόσου, τα νέα είδη υδατοκαλλιέργειας μπορεί να πληγούν από σειρά μολυσματικών ασθενειών με την πάροδο του χρόνου. Για παράδειγμα, η καλλιέργεια του είδους *Seriola quinqueradiata* εντατικοποιήθηκε γύρω στο 1961 και παράλληλα τα προβλήματα στην εκτροφή ξεκίνησαν με τη δονακίωση το 1963, τη νοκαρδίαση, την ιχθυοφωνίαση το 1967 και τη στρεπτοκοκκίαση το 1974 (Egusa & Shiomitsu, 1983). Η ιστορία της

υδατοκαλλιέργειας είναι μια ιστορία νικών επί των ασθενειών που ακολουθούνται από νέες προκλήσεις.

Μολυσματικές ασθένειες που μπορεί να μην προσβάλλουν κανονικά τους άγριους ξενιστές μπορούν να αποτελέσουν προβλήματα στην υδατοκαλλιέργεια. Το εκτρεφόμενο ζωικό κεφάλαιο συχνά δεν έχει συν-εξελιχθεί με τοπικούς μολυσματικούς παράγοντες, και αυτό μπορεί να οδηγήσει σε απρόβλεπτα αποτελέσματα. Για παράδειγμα, τα τοπικά στελέχη *Streptococcus iniae* (βακτηριακά) τείνουν να είναι περισσότερο παθογόνα σε εισαγόμενα ψάρια παρά σε τοπικά άγρια ψάρια (Colorni et al. 2002). Ένας άλλος παράγοντας που καθιστά τις υδατοκαλλιέργειες ευάλωτες σε επιδημίες ασθενειών είναι η υψηλή πυκνότητα εκτροφής των μονοκαλλιεργειών, η οποία αυξάνει τα ποσοστά επαφής μεταξύ των ξενιστών, την καταπόνηση και υποβαθμίζει την ποιότητα του νερού (Kent 2000). Αυτές οι συνθήκες είναι ιδανικές για ευκαιριακές βακτηριακές λοιμώξεις όπως *Pseudomonas* spp. και *Vibrios* (ιδίως *Vibrio anguillarum*) (Sinderman 1984). Αντίθετα, οι μολυσματικοί παράγοντες με πολύπλοκο κύκλο ζωής έχουν περισσότερες δυσκολίες στις εξάρσεις τους σε απλουστευμένες συνθήκες υδατοκαλλιέργειας από ό,τι στη φύση, όπου υπάρχουν ενδιάμεσοι ξενιστές (Lillehaug et al. 2003).

Για να παραμείνουν κερδοφόρες, οι γεωργικές εκμεταλλεύσεις πρέπει να επενδύσουν στην πρόληψη και τη θεραπεία. Η πρόληψη των ευκαιριακών ασθενειών απαιτεί καλή ποιότητα νερού και μέτρια πυκνότητα εκτροφής (Sinderman 1984). Οι καλλιέργειες μπορούν επίσης να διαχειρίζονται τα αποθέματα με φυτοφάρμακα και αντιβιοτικά. Ωστόσο, ελάχιστα θεραπευτικά μέσα έχουν καταχωρηθεί για χρήση στην υδατοκαλλιέργεια σε πολλές χώρες λόγω των εξόδων για την απόκτηση

κυβερνητικής έγκρισης σε συνδυασμό με τις μικρές αγορές και τους πιθανούς κινδύνους για την υγεία των καταναλωτών (Friedman et al. 2003; Morrison & Saksida 2013). Ευτυχώς, τα εμβόλια για τους ιούς και τα βακτήρια έχουν αποδείξει ότι μπορεί να είναι αποτελεσματικά για τα ιχθύδια, τα οποία διαθέτουν προσαρμοστική ανοσολογική απόκριση, και τα ανοσοδιεγερτικά έχουν δείξει θετικά αποτελέσματα στα ασπόνδυλα (Smith et al. 2003). Για παράδειγμα, η δονακίωση ήταν καταστροφική στην καλλιέργεια σολομού σε κλωβούς στις δεκαετίες του 1980 και 1990 (McVicar 1997), αλλά μετά τη χρήση εμβολίων, οι καταστάσεις αυτές έγιναν σχεδόν ανύπαρκτες, μειώνοντας την ανάγκη για αντιβιοτικά (Lillehaug et al. 2003). Οι υδατοκαλλιεργητές ελαχιστοποιούν επίσης τις επιπτώσεις των ασθενειών με τη χρήση κατεψυγμένων ή αποξηραμένων ζωοτροφών που περιορίζουν τη μετάδοση ασθενειών καλλιεργώντας παράλληλα αποθέματα γενετικά ανθεκτικά στις ασθένειες (Lillehaug et al. 2003). Με καλή διαχείριση, η πρόσθετη θνησιμότητα από ευκαιριακές λοιμώξεις μπορεί να είναι μικρή στην υδατοκαλλιέργεια όπως και το κόστος της μειωμένης μετατροπής της τροφής και της ανάπτυξης που συνδέονται με τις χρόνιες λοιμώξεις (Scholz 1999). Επιπλέον, το κόστος ρουτίνας της χρήσης φυτοφαρμάκων, εμβολίων και θεραπευτικών ουσιών, είτε για προφύλαξη είτε για θεραπεία, είναι σημαντικό (Asche & Bjørndal 2011, Dixon 2012). Ως εκ τούτου, οι υδατοκαλλιέργειες πρέπει να εξισορροπήσουν το κόστος της πρόληψης και της θεραπείας έναντι του κόστους της μειωμένης παραγωγής και αξίας.

Τα ψάρια που εκτρέφονται στην υδατοκαλλιέργεια αποκτούν κυρίως εξωπαράσιτα τα οποία συνδέονται με αρκετές περιπτώσεις θανάτων σε συστήματα εκτροφής (Mladineo & Marsic-Lucic 2007). Ένα από τα πιο γνωστά παραδείγματα είναι η μόλυνση των ψαριών με

κωπήποδα στα βράγχια, τα οποία ασκούν σημαντικό οικολογικό και οικονομικό αντίκτυπο σε ένα ευρύ φάσμα ειδών ψαριών (Ragias et al. 2004). Έχει αναγνωριστεί εδώ και χρόνια ότι έχουν τη δυνατότητα να επηρεάσουν τη βιολογία και την επιβίωση του ξενιστή τους (Johnson et al. 2004; Noga 2000). Προηγούμενες παρατηρήσεις αποκάλυψαν ότι τα Caligidae ή τα Lernanthropidae είναι και τα δύο κυρίαρχα κωπήποδα παράσιτα που προσβάλλουν είδη ψαριών μεγάλου οικονομικού ενδιαφέροντος σε συνθήκες εκτροφής (Raibaut et al. 1998).

1.4. Μετάδοση ασθενειών από τα εκτρεφόμενα στα αγρία είδη

Ένα σημαντικό δεδομένο της εκτροφής θαλάσσιων οργανισμών είναι η ανακούφιση της αλιευτική πίεσης στα φθίνοντα άγρια αποθέματα και η βοήθεια στην αποκατάσταση των ωκεάνιων οικοσυστημάτων (**Handisyde et al. 2017**).. Αυτό συμβαίνει σε κάποιο βαθμό, αλλά η υδατοκαλλιέργεια έχει οδηγήσει επίσης στην απόδραση εξωτικών ειδών, στον ευτροφισμό, στην υποβάθμιση και τελικά στην καταστροφή των οικοτόπων, και την εξάπλωση θαλάσσιων ασθενειών (Diana, 2009).

Οι μολυσματικοί παράγοντες μπορούν να συσσωρευτούν σε εκμεταλλεύσεις με κακή διαχείριση, αλλά η καλή διαχείριση μπορεί επίσης να ευνοεί τους μολυσματικούς παράγοντες, εάν οι εκμεταλλεύσεις διαχειρίζονται με στόχο την ανοχή του ξενιστή στη μόλυνση (**Handisyde et al. 2017**). Στην Καλιφόρνια, οι οστρακοκαλλιέργειες που παράγουν τα όστρακα άμπαλons μπορούν να διατηρούν κόκκινα άτομα του είδους *Abalone sorinensis* μολυσμένα με οργανισμό που μοιάζει με ρικέτσια (WSRLO) σε τοποθεσίες με δροσερές θερμοκρασίες (Lafferty & Ben-Horin 2013). Αν και τα βακτηριακά φορτία και η μετάδοση είναι χαμηλά σε αυτές τις θερμοκρασίες (Braid et al. 2005, Friedman & Finley 2003), τα ανθεκτικά άτομα μπορεί να γίνουν πηγές μόλυνσης για άγριους πληθυσμούς, αν συμβούν απορρίψεις στο θαλάσσιο περιβάλλον, όπως το μαύρο *Haliotis cracherodii* το οποίο παρουσιάζει ευαισθησία στο συγκεκριμένο βακτήριο και είναι είδος προς εξαφάνιση (Lafferty & Ben-Horin 2013).

Σε υδατοκαλλιέργειες που ευνοούν την δημιουργία, την εξέλιξη και την μετάδοση νόσων, οι εκροές μολυσματικών μικροοργανισμών

είναι μεγαλύτερες από τις εισροές καθιστώντας έτσι τις συγκεκριμένες εκμεταλλεύσεις επικίνδυνες προς τα άγρια αποθέματα (Lafferty et al., 2015). Τα ρεύματα, οι εκροές και η διάρκεια των μολυσματικών σταδίων μέσα στη μονάδα καθορίζουν και τη δυναμική διασποράς της νόσου στο περιβάλλον (Lafferty & Ben-Horin 2013). Για παράδειγμα, εκροές καλλιέργειας *Abalone sorinensis* με ισχυρή παρουσία ρικέτσιας γρήγορα διασκορπίζεται σε απόσταση μικρότερη από ένα έως μερικά χιλιόμετρα από την ακτογραμμή (Lafferty & Ben-Horin 2013).

Το κατά πόσον τα λύματα των υδατοκαλλιεργειών που περιέχουν μολυσματικό παράγοντα επηρεάζουν τα άγρια αποθέματα εξαρτάται από πολλούς παράγοντες (Jackson et al. 2013). Ο βαθμός στον οποίο οι εκροές φτάνουν σε άγρια είδη που είναι ευαίσθητα στη μόλυνση είναι η πιο προφανής ανησυχία (Jackson et al. 2013). Παράδειγμα αποτέλεσε στο παρελθόν οι τοποθέτηση υδατοκαλλιεργειών σολομού κοντά σε περάσματα άγριων σολομών με αποτέλεσμα τον κίνδυνο μετάδοσης ασθενειών μεταξύ πληθυσμών (Jackson et al. 2013). Εντούτοις, τα άγρια αποθέματα είναι συχνά προσαρμοσμένα στους μολυσματικούς παράγοντες, και οι συνέπειες σε επίπεδο πληθυσμού από την αυξημένη έκθεση στους περισσότερους ενδημικούς παθογόνους παράγοντες θα πρέπει να είναι ήπιες (Jackson et al. 2013). Ωστόσο η αυξημένη έκθεση σε παθογόνα εξωτικά αποτελούν προφανώς ένα κίνδυνο για τα άγρια αποθέματα (Lafferty & Ben-Horin 2013). Ανεξάρτητα από αυτό, οι οικονομικές επιπτώσεις είναι δύσκολο να τεκμηριωθούν, όπως φαίνεται στο παράδειγμα των θαλάσσιων ψειρών στον σολομό, επειδή δεν υπάρχουν αρκετές βασικές πληροφορίες σχετικά με τις μολυσματικές ασθένειες στα άγρια αποθέματα για να εκτιμηθεί η καθαρή επίδραση της εξαγωγής ασθενειών από τις υδατοκαλλιεργείες (Kent et al. 1998). Η

τοποθέτηση των υδατοκαλλιέργειών μακριά από τα ενδιαίτηματα των ευαίσθητων ξενιστών και η ανάπτυξη αυστηρότερων βέλτιστων πρακτικών είναι προφανείς τρόποι για τη μείωση των πιθανών άμεσων επιπτώσεων από υδατοκαλλιέργεια, αλλά αυτό μπορεί να συνεπάγεται σημαντικό οικονομικό κόστος για την υδατοκαλλιέργεια.

Ο κίνδυνος αυξάνεται σημαντικά όταν η υδατοκαλλιέργεια απελευθερώνει μολυσματικούς παράγοντες που έχουν αναπτυχθεί στην καλλιέργεια (Kurath & Winton, 2011). Στις φάρμες, οι ευαίσθητοι ξενιστές είναι πάντα διαθέσιμοι, ελαχιστοποιώντας ένα βασικό κόστος για το παράσιτο να πολλαπλασιαστεί και να βλάψει τον ξενιστή (Lafferty & Ben-Horin 2013). Ένα πιθανό παράδειγμα είναι η λοιμώδης αναιμία του σολομού, μια ιογενής ασθένεια του εκτρεφόμενου σολομού του Ατλαντικού (Salmon isavirus) που θεωρείται μη παθογόνος στα άγρια ψάρια, αλλά είναι εξαιρετικά παθογόνος στις υδατοκαλλιέργειες (Raynard et al. 2007). Από τη μία πλευρά, η προσαρμογή στην ποιότητα του νερού, στον τύπο του ξενιστή και στο καθεστώς θεραπευτικών μεθόδων σε ένα εκτροφείο θα πρέπει να επιλέγει μολυσματικούς παράγοντες που δεν προσαρμόζονται σωστά σε άγριους; από την άλλη πλευρά, οι υψηλές πυκνότητες καλλιέργειας θα μπορούσαν να δημιουργήσουν μια γέφυρα που επιτρέπει σε εξωτικούς και μη προσαρμοσμένους μολυσματικούς παράγοντες να προσαρμοστούν στο περιβάλλον της υδατοκαλλιέργειας και τελικά να εγκατασταθούν στο τοπικό ενδιαίτημα (Lafferty et al., 2015). Εναλλακτικά, οι μολυσματικοί παράγοντες που έχουν προσαρμοστεί στην καλλιέργεια μπορεί να προκαλέσουν λοιμώξεις σε ενδημικούς άγριους ξενιστές, οδηγώντας σε μεγαλύτερες επιπτώσεις από αυτές που παρατηρούνται σε ξενιστές που έχουν αναπτυχθεί μαζί με τα παράσιτα (Lafferty et al., 2015).

Οι επιπτώσεις στα άγρια είδη είναι ευκολότερο να αποτιμηθούν όταν η υδατοκαλλιέργεια μεταφέρει μολυσματικούς παράγοντες με την μετακίνηση εκτρεφόμενων ειδών. Ένας τέτοιος μολυσματικός παράγοντας είναι η *Bonamia ostreae*, η οποία εισήχθη στην Ευρώπη στα τέλη της δεκαετίας του 1970 μέσω μολυσμένων στρειδιών *Ostrea edulis* από την Καλιφόρνια, που εξαπλώθηκαν σε όλη την Ευρώπη καθώς τα στρείδια μεταφέρονταν σε διαφορετικές περιοχές καλλιέργειας. Αποτέλεσμα της μεταφοράς των στρειδιών σε διαφορετικά σημεία καλλιέργειας στην Ευρώπη ήταν η μετάδοση της νόσου σε όλους τους άγριους πληθυσμούς της μεσογείου (Friedman et al. 1989). Η εξάπλωση τέτοιου είδους νέων ασθενειών οδήγησε σε κανονισμούς σχετικά με τη μετακίνηση και τις περισσότερες φορές, τα νέα είδη πιστοποιούνται ως απαλλαγμένα από συγκεκριμένες ασθένειες μολυσματικών παραγόντων πριν από την εισαγωγή (Lafferty et al., 2015). Για παράδειγμα, ο περιορισμός των μετακινήσεων στα πρώτα στάδια των αυγών περιορίζει τους περισσότερους μολυσματικούς παράγοντες από την εξάπλωση (Kent & Kieser 2003). Από τους μολυσματικούς παράγοντες που διαφεύγουν από τη διαδικασία ελέγχου, ελάχιστοι θα παραμείνουν σε άγρια αποθέματα (Kennedy et al. 1991). Για εκείνους που το κάνουν, ωστόσο, τα τοπικά αποθέματα εξαιτίας της έλλειψης επαφής με τον συγκεκριμένο μολυσματικό παράγοντα, οδηγούνται σε σημαντικές ασθένειες (Johansen et al. 2011, Johnsen & Jensen 1991). Αν και η εξάπλωση της νόσου από την υδατοκαλλιέργεια έχει μειωθεί με την καλύτερη διαχείριση, η υδατοκαλλιέργεια εξακολουθεί να συμβάλλει στις επιδημίες νέων μολυσματικών παραγόντων (Raynard et al. 2007), όπως το *Harposporidium nelsoni* (που εισήχθη από τα στρείδια του Ειρηνικού από την Ιαπωνία στα στρείδια των Ηνωμένων Πολιτειών)

(Burreson et al. 2000) και το είδος *Terebrasabella heterouncinata* (που εισήχθη από τα όστρακα της Νότιας Αφρικής στα abalone στην Καλιφόρνια) (Kuris & Culver 1999).

1.5. Προβλήματα εκτροφής στο λαβράκι

Το ευρωπαϊκό λαβράκι *Dicentrarchus labrax* είναι ένα από τα κύρια καλλιεργούμενα είδη ψαριών στην περιοχή της Μεσογείου. Αντιπροσωπεύει σημαντική οικονομική πηγή στη Μεσόγειο, ιδίως στην Κορσική (Antonelli 2010a). Η παραγωγή ψαριών αυξήθηκε από 1.000 τόνους το 1994 σε 2.250 τόνους σήμερα (Antonelli et al. 2010a, 2010b). Το *Lernanthropus kroyeri* (Van Beneden και Hesse 1851), που ανήκει στα Lernanthropidae, συναντάται συνήθως στο Μεσογειακό λαβράκι που εκτρέφεται σε κλωβούς (Manera και Dezfuli 2003). Προηγούμενες μελέτες έχουν ήδη επισημάνει την παρουσία αυτού του είδους παρασίτου, αλλά έχουν επικεντρωθεί κυρίως στη γενική μορφολογία και τις παθολογίες του (Manera & Dezfuli, 2003; Ozel et al. 2004; Toksen et al. 2006). Δεδομένα σχετικά με τις παθολογικές επιδράσεις έχουν τεκμηριωθεί επαρκώς σε διάφορες μελέτες. Οι έρευνες τεκμηρίωσαν ότι οι μολύνσεις μέσω της προσκόλλησης των παρασίτων και η ενεργός διατροφή με βλέννα και επιθηλιακά κύτταρα των ψαριών ξενιστών από μεγάλους πληθυσμούς θα μπορούσε να προκαλέσει σοβαρές βλάβες όπως νεκρώσεις, αιμορραγίες, φλεγμονές, και υπερπαραγωγή βλέννας (Manera & Dezfuli, 2003; Noga, 2000; Ragias et al. 2004).

Όσον αφορά τα βακτήρια που αποτελούν απειλή για την καλλιέργεια του είδους ανήκουν κατά κύριο λόγο στην οικογένεια Vibrionaceae. Τα είδη που ανήκουν στην οικογένεια και προκαλούν τις μεγαλύτερες αρνητικές επιπτώσεις στην καλλιέργεια του είδους είναι τα

Vibrio anguillarum και *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida* (Austin et al., 2007; Hjeltne & Roberts, 1993; Toranzo et al., 2005). Οι τρεις ορότυποι του *Vibrio anguillarum* (O1, O2 και O3) αποτελούν πρόβλημα για τις υδατοκαλλιέργειες παγκοσμίως προσβάλλοντας και δημιουργώντας προβλήματα εκτροφής σε δίθυρα μαλάκια, δεκάποδα – καρκινοειδή και σε μια μεγάλη πληθώρα εκτρεφόμενων ιχθύων (Austin et al., 2007). Όσον αφορά το *Photobacterium damsela*, περιλαμβάνει δύο υποείδη : (1) Το *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida*, το οποίο είναι παθογόνο μόνο για διάφορα είδη ψαριών. (2) Το *Photobacterium damsela* subsp. *damsela*, το οποίο είναι παθογόνο σε διάφορα είδη ψαριών και μαλακίων αλλά και στον άνθρωπο (Lattos et al., 2021). Εκτός των προαναφερθέντων ειδών τα οποία αποτελούν και κύριους παθογόνους οργανισμούς για την καλλιέργεια του είδους, παθογένειες τα τελευταία χρόνια έχουν παρουσιάσει και άλλα είδη τα οποία ανήκουν στην οικογένεια Vibrionaceae. Συγκεκριμένα τα *Vibrio harveyi*, *Vibrio vulnificus* και *Vibrio rotiferianus* παρουσιάζουν εξάρσεις σε θαλάσσια είδη αλλά αποτελούν επίσης και απειλή για τον άνθρωπο (Lattos et al., 2021).

Εκτός των προαναφερθέντων βακτηριών που ανήκουν στην οικογένεια Vibrionaceae, προβλήματα στην καλλιέργεια του *D. labrax* προκαλούν σε ιδιαίτερο βαθμό και αυτά σε σχέση με τα *Vibrio* spp. βακτήρια του είδους *Tenacibaculum maritimum*. Πρόκειται για έναν ευκαιριακό παθογόνο μικροοργανισμό ο οποίος προσβάλλει τα Μεσογειακά είδη σε μεγάλο βαθμό προκαλώντας θνησιμότητες (Salati et al., 2005).

1.6. Στόχοι παρούσας έρευνας

Βασικός στόχος της έρευνας είναι η διερεύνηση θνησιμοτήτων που συνέβησαν κατά την διάρκεια των χειμερινών μηνών σε μονάδες εκτροφής του είδους *D. labrax*. Επιμέρους στόχοι είναι η αναγνώριση των αιτιολογικών παραγόντων σε μοριακό επίπεδο και η συσχέτιση τους με τον κύριο αβιοτικό παράγοντα για την εκτροφή που είναι η θερμοκρασία.

2. Υλικά και Μέθοδοι

2.1. Δειγματοληψίες

Για τις ανάγκες της έρευνας πραγματοποιήθηκαν τρεις (3) δειγματοληψίες από δύο διαφορετικές περιοχές καλλιέργειας του είδους *D. labrax*. Οι δειγματοληψίες οργανώθηκαν έτσι ώστε να προκύψει ένα εποχικό πρότυπο εμφάνισης τυχόν κρουσμάτων ασθένειας αλλά και να διερευνηθούν οι θνησιμότητες στην καλλιέργεια του είδους. Η πρώτη μονάδα (Α) βρίσκεται στον Αμβρακικό κόλπο με εντατικό σύστημα εκτροφής (κλωβούς) συνολικής ετήσιας παραγωγής 900 τόνους. Η δεύτερη μονάδα (Β) που παρουσίασε και τα περισσότερα κρούσματα θνησιμοτήτων βρίσκεται στον Αμβρακικό κόλπο με συνολική ετήσια παραγωγή 680 τόνους (Εικόνα 1). Οι πρώτες δειγματοληψίες πραγματοποιήθηκαν στους 26 οC τον μήνα Οκτώβριο. Η δεύτερη δειγματοληψία πραγματοποιήθηκε κατά την διάρκεια του Ιανουαρίου σε θερμοκρασία 22 οC και η τρίτη τον Μάρτιο σε θερμοκρασία 18 οC. Τα δείγματα στις τρεις δειγματοληψίες από την μονάδα που δεν εμφάνισε μεγάλες θνησιμότητες (12% θνησιμότητα από τον αρχικό αριθμό ιχθύων ως την εξαλίευση) είχαν μέσο βάρος 155gr, 201 gr και 240 gr αντίστοιχα τους μήνες Οκτώβριο, Ιανουάριο και Μάρτιο. Από την μονάδα που εμφάνισε και το μεγαλύτερο πρόβλημα (44% θνησιμότητα από τον αρχικό αριθμό ιχθύων ως την εξαλίευση) τα δείγματα είχαν βάρος 165 gr, 182 gr και 210 gr τους μήνες Οκτώβριο, Ιανουάριο και Μάρτιο αντίστοιχα (Πίνακας 1.).



Εικόνα 1. Χάρτης τοποθεσίας μονάδων υδατοκαλλιέργειας που πραγματοποιήθηκαν οι δειγματοληψίες.

	Αριθμός δειγματοληψίας	Περίοδος δειγματοληψίας	Θερμοκρασία δειγματοληψίας (°C)	Αριθμός ατόμων	Μέσο βάρος ατόμων (gr)
Μονάδα Α	1η	Οκτώβριο	26	10	155
	2η	Ιανουάριο	22	10	201
	3η	Μάρτιο	18	10	240
Μονάδα Β	1η	Οκτώβριο	26	10	165
	2η	Ιανουάριο	22	10	182
	3η	Μάρτιο	18	10	210

Πίνακας 1. Δεδομένα δειγματοληψιών που πραγματοποιήθηκαν για τις ανάγκες του πειράματος.

2.2. Ανατομία και Μακροσκοπική διερεύνηση

Για τις ανάγκες του πειράματος κάθε δειγματοληψία περιελάμβανε την εξέταση δέκα ατόμων *D. labrax*. Η θανάτωση των ψαριών γινόταν με υπερδοσολογία φαινοξυαιθανόλης, (100ppm). Αρχικά στα δείγματα γίνονταν παρασιτολογική εξέταση στα βράγχια και στην συνέχεια πραγματοποιούνταν ανατομία με σκοπό την διερεύνηση παθολογικών χαρακτηριστικών στα εσωτερικά όργανα. Πιο συγκεκριμένα, μετά την αφαίρεση των βραγχιακών τόξων από κάθε δείγμα, γινόταν η εξέταση τους για παράσιτα σε ανάστροφο στερεοσκόπιο. Έπειτα, γινόταν η ανατομία όπου σχηματιζόντανε αρχικά μια πρώτη εκτίμηση για παθολογικά φαινόμενα και έπειτα λαμβάνονταν δείγμα με μικροβιολογικό κρίκο από τον πρόσθιο νεφρό και το ήπαρ για μικροβιολογική εξέταση. Στη συνέχεια λαμβάνονταν δείγμα ιστού από τους προαναφερόμενους ιστούς όπου αποθηκεύονταν και σε ουδετεροποιημένη φορμόλη αλλά και στην κατάψυξη για περαιτέρω αναλύσεις.

2.3. Μικροβιολογικές καλλιέργειες

Δείγμα για μικροβιολογικές εξετάσεις λαμβάνονταν, όπως προαναφέρθηκε, και πραγματοποιούνταν καλλιέργεια σε TSA άγαρ (Oxoid) και αιματούχο για απομονώσεις διαφόρων οργανισμών που μπορεί να εμπλέκονται στις θνησιμότητες του είδους. Τα θρεπτικά μετά την σπορά επωάζονταν για 24-28 ώρες στους 25 οC και παρατηρούνταν μετά το πέρας του διαστήματος για την ανάπτυξη βακτηριακών αποικιών. Στην συνέχεια επιλέγονταν μεμονωμένες αποικίες και γίνονταν επανασπορά. Από τις τελευταίες καλλιέργειες γινόταν και

απομόνωση των αποικιών και αποθήκευση τους σε κατάψυξη ($T=-20^{\circ}\text{C}$) με σκοπό την μοριακή ταυτοποίησή τους.

2.4. Μοριακή Ταυτοποίηση βακτηρίων

Απομονωμένες αποικίες βακτηρίων που αποθηκεύτηκαν στους -20°C , επώαστηκαν σε TSA άγαρ με προσθήκη άλατος (NaCl) 2% για 24–48 ώρες για την απομόνωση του DNA. Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε απομόνωση DNA χρησιμοποιώντας το κιτ DNAEasy Blood and Tissue (QIAGEN, Duren, Γερμανία) σύμφωνα με οδηγίες του κατασκευαστή. Η ποιότητα και η ποσότητα του εξαγόμενου DNA μετρήθηκαν σε Q5000 φασματοφωτόμετρο UV μικρο-όγκου (Quawell, Κίνα) καθώς και με ηλεκτροφόρηση σε πήκτωμα αγαρόζης 1,5%. Για σκοπούς ταυτοποίησης, ενισχύθηκε ένα κομμάτι 267 βάσεων του 16s rRNA χρησιμοποιώντας τους εκκινητές CAR-1 και CAR-2 και το ένζυμο πολυμεράσης FastGene Taq 2x Ready Mix (NIPPON Genetics, Ευρώπη) σε 20 μl PCR ολικού όγκου αντίδρασης καθώς και στους γενικούς εκκινητές βακτηρίων 27f-CM και 1492r με ίδιους όγκους αντίδρασης και κιτ ενίσχυσης. Οι συνθήκες για τους εκκινητές CAR1-CAR2 ήταν: 3 λεπτά στους 95°C (αποδιάταξη), ακολουθούμενα από 38 κύκλους (προσαρμογή εκκινητών στο DNA εκμαγείο) στους 94°C για 30 δευτερόλεπτα, 51°C για 40 και 72°C για 45 δευτερόλεπτα, με ένα τελικό βήμα επέκτασης στους 72°C για 5 λεπτά, ενώ για το 27f-CM-1492r ήταν ακριβώς όπως στο Lattos et al. (2021). Τα επιτυχώς ενισχυμένα προϊόντα, σύμφωνα με ηλεκτροφόρηση σε πήκτωμα αγαρόζης 1%, καθαρίστηκαν χρησιμοποιώντας το κιτ καθαρισμού NucleoSpin Gel και PCR (Macherey-Nagel, Γερμανία) και αλληλουχήθηκαν εφαρμόζοντας τη μεθοδολογία Sanger σε γενετικό αναλυτή ABI-PRISM 3130xl χρησιμοποιώντας τόσο πρόσθιους όσο και

τους ανάστροφους εκκινητές. Όσον αφορά απομονώσεις DNA που έγιναν μετά την μακροσκοπική εξέταση κατευθείαν από ιστούς ακολουθήθηκε η παραπάνω διαδικασία αλλά με το ζεύγος εκκινητών MycgenR και MycgenF με συνθήκες : 3 λεπτά στους 95°C, ακολουθούμενα από 36 κύκλους (προσαρμογή εκκινητών στο DNA εκμαγείο) στους 95 °C για 30 δευτερόλεπτα, 55 °C για 45 δευτερόλεπτα και 72 °C για 50 δευτερόλεπτα με ένα τελικό βήμα επέκτασης στους 72 °C για 8 λεπτά. Στη συνέχεια, Τα επιτυχώς ενισχυμένα προϊόντα, σύμφωνα με ηλεκτροφόρηση σε πήκτωμα αγαρόζης 1%, καθαρίστηκαν χρησιμοποιώντας το κιτ καθαρισμού NucleoSpin Gel και PCR (Macherey-Nagel, Γερμανία) και αλληλουχήθηκαν εφαρμόζοντας τη μεθοδολογία Sanger σε γενετικό αναλυτή ABI-PRISM 3130xl χρησιμοποιώντας τόσο πρόσθιους όσο και τους ανάστροφους εκκινητές. Για την επεξεργασία και ανάλυση των ακολουθιών χρησιμοποιήθηκε το λογισμικό MEGA 7.0 (Kumar et al., 2016)

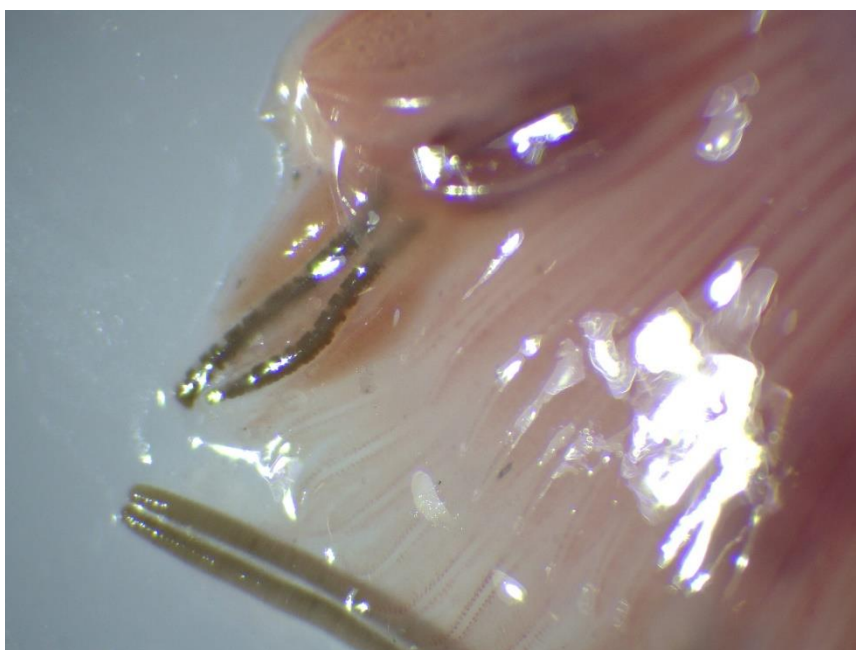
3. Αποτελέσματα

3.1. Μακροσκοπικά ευρήματα

Από την εξέταση των βραγχιικών τόξων προέκυψαν παράσιτα και συγκεκριμένα κοπήποδα το γένους *Lernanthropus*. Τα συγκεκριμένα παράσιτα εμφανίστηκαν σε όλες τις δειγματοληψίες (Πίνακας 2.).

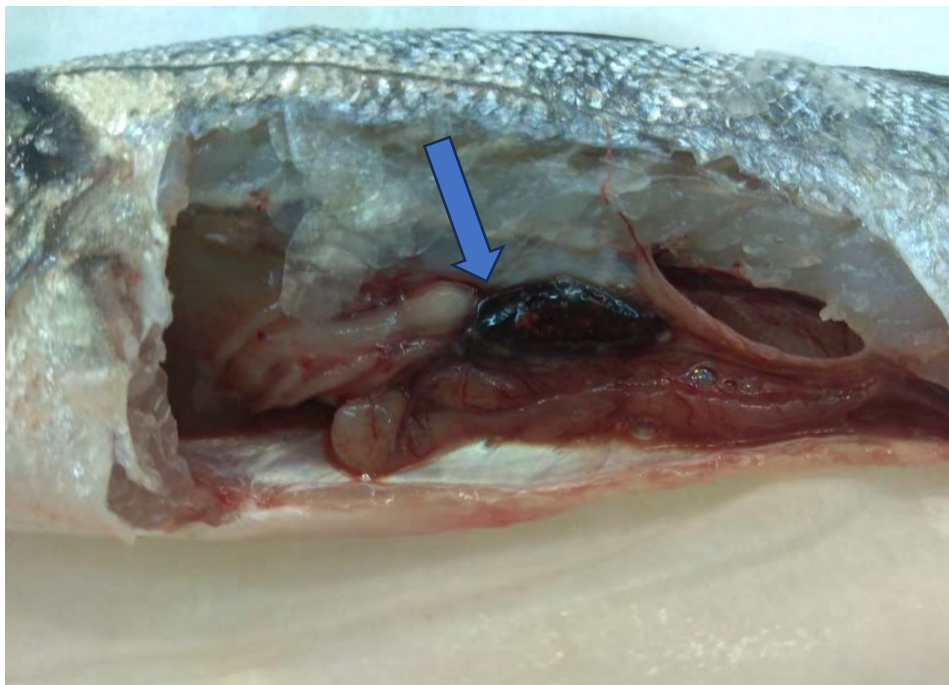
	Αριθμός δειγματοληψίας	Θερμοκρασία δειγματοληψίας (oC)	Αριθμός ατόμων	Αριθμός προσβεβλημένων ατόμων	Μέσος Αριθμός παρασίτων ανά τόξο
Μονάδα Α	1η	26	10	5	3
	2η	22	10	8	4
	3η	18	10	9	4
Μονάδα Β	1η	26	10	3	2
	2η	22	10	7	3
	3η	18	10	6	3

Πίνακας 2. Δεδομένα των ατόμων που προήλθαν από τις δειγματοληψίες και ανιχνεύθηκε στα βράγχιά τους κοπήποδο του γένους *Lernanthropus*.



Εικόνα 2. *Lernanthropus* sp. στα βράγχια των ατόμων *D. labrax* που εξετάστηκαν.

Εκτός από τα μακροσκοπικά στοιχεία που προέκυψαν από την εξέταση στα βράγχια, μακροσκοπικά στοιχεία που παραπέμπουν σε νόσημα βρέθηκαν και κατά την διάρκεια της ανατομίας ορισμένων ψαριών. Συγκεκριμένα, στα ψάρια της μονάδας με τις μεγαλύτερες θνησιμότητες, κάποια από τα ψάρια που εξετάστηκαν εμφάνισαν σπληνομεγαλία με λευκά φυμάτια (Εικόνα 3.). Ενώ τα περισσότερα από τα ψάρια της συγκεκριμένης μονάδας εμφάνισαν και λιπώδη διήθηση του ήπατος (Εικόνα 4.).



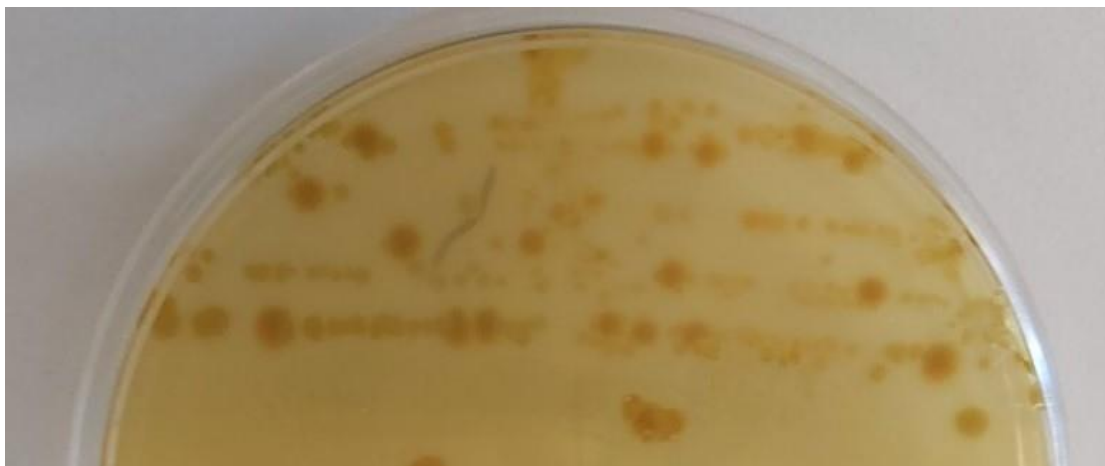
Εικόνα 3. Σπληνομεγαλία με λευκά φυμάτια στο σπλήνα ατόμου D. labrax.



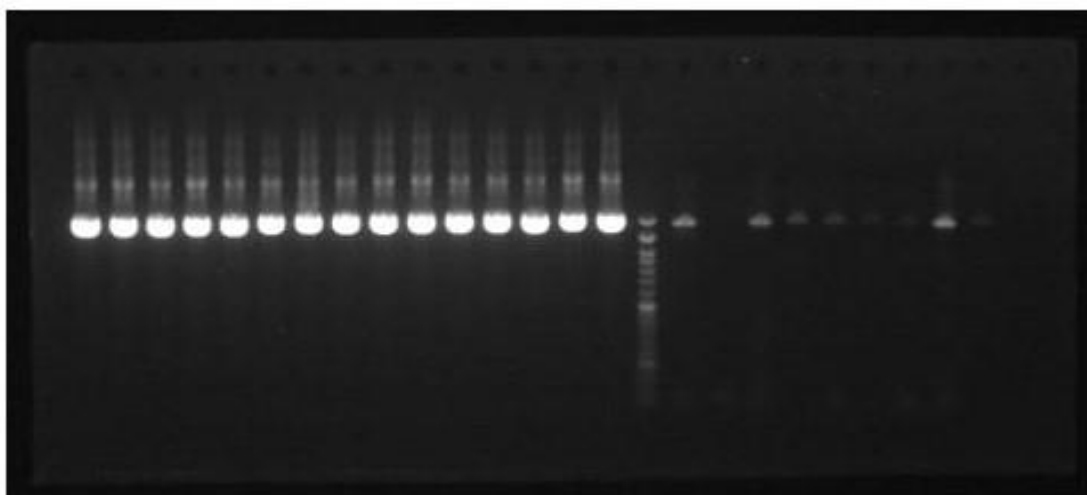
Εικόνα 4. Αιμορραγίες στο συκώτι και έντονη λιπώδης διήθηση σε άτομο *D. labrax*.

3.2. Μικροβιολογικές καλλιέργειες και Μοριακή ταυτοποίηση βακτηρίων

Από τις μικροβιακές καλλιέργειες αναπτυχθήκαν αποικίες στο υπόστρωμα TSA, οι οποίες τακτοποιήθηκαν και μοριακά με χρήση των ευκίνητών που αναφέρθηκαν προηγουμένως (Εικόνα 5,6).



Εικόνα 5. Αποικίες βακτηρίων που προέκυψαν από τις δειγματοληψίες που πραγματοποιήθηκαν για τις ανάγκες της έρευνας.



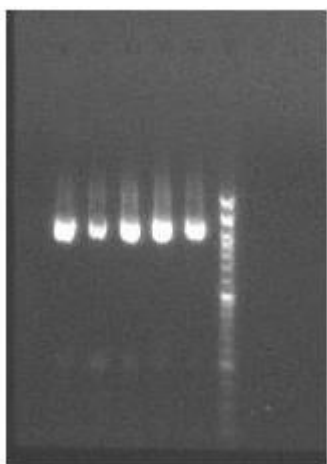
Εικόνα 6. Μοριακή ταυτοποίηση βακτηριακών αποικιών και απεικόνιση προϊόντων PCR σε πήκτωμα αгарόζης με χρήση των εκκινητών 27f-CM και 1492r.

Από την αλληλούχηση των βακτηριακών αποικιών προέκυψαν *Vibrio* spp. που τακτοποιήθηκαν σε επίπεδο είδους (Πίνακας 3). Όλα τα βακτηριακά στελέχη που αναφέρονται στον πίνακα ανήκουν σε άτομα προσβεβλημένα από *Lernanthropus* sp.

α/α	Υπόστρωμα Καλλιέργειας	Μοριακή ταυτοποίηση
1	TSA	<i>Vibrio alginolyticus</i>
2	TSA	<i>Vibrio alginolyticus</i>
3	TSA	<i>Vibrio alginolyticus</i>
4	TSA	<i>Vibrio harveyi</i>
5	TSA	<i>Vibrio anguillarum</i>
6	TSA	<i>Vibrio anguillarum</i>
7	TSA	<i>Vibrio anguillarum</i>
8	TSA	<i>Vibrio anguillarum</i>
9	TSA	<i>Vibrio alginolyticus</i>
10	TSA	<i>Vibrio alginolyticus</i>

Πίνακας 3. Στελέχη *Vibrio* που ταυτοποιήθηκαν στα δείγματα που έφεραν το παράσιτο *L. Kroyeri*.

Εκτός της παρουσίας των *Vibrio* spp., στα δείγματα που εξετάστηκαν με το ζεύγος εκκινητών *MycgenF* και *MycgenR* ανιχνευθήκαν *Mycobacterium* spp., όπου σύμφωνα με την αλληλούχηση ανήκουν στο είδος *Mycobacterium pseudoshottsi* (Εικόνα 7).



Εικόνα 7. Μοριακή ταυτοποίηση βακτηριακών αποικιών και απεικόνιση προϊόντων PCR σε πήκτωμα αгарόζης με χρήση των εκκινητών *MycgenR* και *MycgenF*.

4. Συζήτηση

Τα παράσιτα που ανήκουν στα οστρακόδερμα είναι πολυάριθμα και έχουν παγκόσμια εξάπλωση, σε γλυκά, υφάλμυρα και αλμυρά νερά (Kabata, 1970). Τα κοπήποδα, που ανήκουν σε αυτά αποτελούν τη μεγαλύτερη ομάδα παρασίτων στα ψάρια, αριθμώντας περισσότερα από 1000 είδη, διαδραματίζοντας σημαντικό ρόλο στην φυσιολογία, την ανάπτυξη και την αναπαραγωγή των εκτρεφόμενων ειδών. Με την ανάπτυξη ημι-εντατών και εντατικών υφάλμυρων και θαλάσσιων συστημάτων υδατοκαλλιέργειας, η σημασία των παρασιτικών κοπήποδων ως παραγόντων που προκαλούν ασθένειες έχει γίνει πιο εμφανής. Τα παρασιτικά κοπήποδα τρέφονται στον βλεννογόνο του ξενιστή, από τους ιστούς και το αίμα του και οι δραστηριότητες προσκόλλησης και διατροφής τους είναι υπεύθυνες για οποιαδήποτε δευτερογενή ασθένεια που αναπτύσσεται. Η σχέση του αριθμού των παρασιτικών κοπήποδων με τη σοβαρότητα της νόσου εξαρτάται από 1) το μέγεθος και την ηλικία του ψαριού, 2) τη γενική κατάσταση της υγείας του ψαριού και 3) το είδος του κοπήποδου και τα αναπτυξιακά στάδια που υπάρχουν (Johnson et al., 2014). Οι απώλειες που σχετίζονται με τη νόσο είναι το αποτέλεσμα τόσο της άμεσης θνησιμότητας, της θνησιμότητας λόγω δευτερογενών λοιμώξεων αλλά και της μειωμένης ανάπτυξης του εκτρεφόμενου είδους (Ho et al., 2000). Μια ποικιλία περιβαλλοντικών, βιολογικών παραγόντων και πρακτικών εκτροφής και διαχείρισης επηρεάζουν την αφθονία και τον αντίκτυπο της ασθένειας. Η θερμοκρασία είναι ο πιο σημαντικός περιβαλλοντικός παράγοντας που ελέγχει τους χρόνους ανάπτυξης των παρασιτικών κοπήποδων και τον ρυθμό με τον οποίο αυξάνεται το μέγεθος του πληθυσμού τους απουσία θεραπειών (Johnson et al., 2014). Η ορθή εφαρμογή των πρακτικών

εκτροφής μπορεί να είναι μια πολύ αποτελεσματική μέθοδος για τη μείωση του μεγέθους της μόλυνσης από παρασιτικά κωπηπόποδα (Costello, 1993, Pike & Wadsworth 1999). Η χρήση κτηνοτροφικών πρακτικών για τον έλεγχο της αφθονίας των παρασιτικών κωπηπόδων απαιτεί καλή γνώση της βιολογίας των παρασίτων (π.χ. ρυθμούς ανάπτυξης, διάρκεια επιβίωσης των μολυσματικών σταδίων εκτός ξενιστή, κ.λπ.) και του εύρους του ξενιστή. Όπως και με άλλες μολυσματικές ασθένειες, οποιεσδήποτε δραστηριότητες διαχείρισης (π.χ. πυκνότητα εκτροφής, διαχείριση ποιότητας νερού, κ.λπ.) που μειώνουν την καταπόνηση και διατηρούν τη βέλτιστη υγεία των ψαριών είναι πιθανό να μειώσουν τον αντίκτυπο των παρασιτικών κωπηπόδων. Τεχνικές όπως η σωστή αναλογία ιχθύων ανά κλωβό, η σωστή συντήρηση των διχτύων καθώς και η σωστή διαλογή είναι απαραίτητες τεχνικές για την μείωση εμφάνισης παρασίτων (Johnson et al., 2014).

Τα κοπήποδα του γένους *Lernanthropus* είναι ευρέως διαδεδομένα στα βράγχια θαλάσσιων εκτρεφόμενων τελεόστεων και ιδιαίτερα σε αυτούς που εκτρέφονται σε θερμά ύδατα (Cabral et al., 1984). Το *L. kroyeri* είναι ένα παράσιτο που έχει καταγραφεί υπεράριθμες φορές να παρασιτεί σε λαβράκια του είδους *D. labrax*, που αποτελεί και ένα από τα σημαντικότερα εκτρεφόμενα είδη του κλάδου. Οι παρασιτώσεις με *L. kroyeri* έχουν καταγραφεί εδώ και δεκαετίες σε συστήματα εκτροφής και σχετίζονται άμεσα με συνθήκες διαχείρισης και εκτροφής (Toksen et al., 2008). Οι βλάβες που προκαλεί το συγκεκριμένο παράσιτο στα βράγχια έχει αποδεχθεί ότι συνοδεύονται από δευτερογενείς λοιμώξεις εξαιτίας της καταπόνησης που δημιουργούν στον ξενιστή (Kotob et al., 2016). Επιπλέον, έχει αποδειχθεί ο ρόλος του ως φορέας παθογόνων βακτηρίων *Vibrio* spp. όπως το *V. anguillarum*, το

οποίο έχει αρνητικές επιπτώσεις στις υδατοκαλλιέργειες (Yavuzcan & Otguoclu, 2021). Επιπροσθέτως, οι βλάβες που προκαλεί το συγκεκριμένο παράσιτο και οι επιπτώσεις του έχειδειχθεί ότι επηρεάζουν τόσο δείκτες αύξησης των ιχθύων αλλά και την γενική κατάσταση των ζώων (Manera & Dezfulli, 2003).

Η συγκεκριμένη έρευνα επιβεβαιώνει το γεγονός τόσο της παρουσίας παθογόνων βακτηρίων στα ζώα που αποτελούσαν φορείς του παρασίτου αλλά και στη χειρότερη γενική εικόνα που παρουσίασαν τα ζώα σε ανάπτυξη αλλά και δευτερογενείς λοιμώξεις. Όλα τα δυνητικά παθογόνα βακτήρια που ανιχνευθήκαν ανήκουν σε ζώα στα οποία βρέθηκαν παράσιτα του συγκεκριμένου είδους και ανήκουν σε βακτήρια του γένους *Vibrio*. Επιβεβαιώνεται με τη συγκεκριμένη έρευνα ότι το *L. kroyeri* επιφέρει δευτερογενείς λοιμώξεις στα είδη που προσβάλει οδηγώντας πολλές φορές σε μαζικές θνησιμότητες (Yavuzcan & Otguoclu, 2021). Τα *Vibrio* spp. που ανιχνευθήκαν αποτελούν δυνητικά παθογόνους οργανισμούς για το είδος *D. labrax* ωστόσο χρειάζεται περαιτέρω έρευνα για να πιστοποιηθεί ότι πρόκειται για παθογόνα στελέχη με όλα τα γονίδια που τα καθιστούν παθογόνα.

Εκτός του *L. kroyeri* στη μονάδα με τις μεγαλύτερες σε αριθμό θνησιμότητες ανιχνεύθηκαν και βακτήρια *Mycobacterium* spp. Οι λοιμώξεις από *Mycobacteria* έχουν περιγραφεί σε πολλά είδη οργανισμών στη βιβλιογραφία συμπεριλαμβανομένων και των θαλάσσιων οργανισμών. Το γένος *Mycobacterium* περιλαμβάνει πάνω από 190 είδη τα οποία ανήκουν στην οικογένεια *Mycobacteriaceae* (Tortoli , 2019). Τα τελευταία χρόνια έχουν αναφερθεί πολλές περιπτώσεις λοιμώξεων από το συγκεκριμένο γένος βακτηρίων σε

θαλάσσιους οργανισμούς με χαρακτηριστικά παραδείγματα να αποτελούν οι λοιμώξεις του είδους *P. nobilis* αλλά και σε εκτρεφόμενα είδη γαρίδας (Mohney et al., 1998; Lattos et al., 2020). Η Μυκοβακτηριδίαση είναι μια χρόνια νόσος που προσβάλλει άγριους και εκτρεφόμενους πληθυσμούς θαλάσσιων οργανισμών (Davidovich et al., 2019). Οι οργανισμοί αυτοί είναι σαπροφυτικοί, ενδημούν τόσο το υπόστρωμα αλλά και σε υδάτινα περιβάλλοντα εσωτερικών υδάτων αλλά και στην ανοιχτή θάλασσα με την δυνατότητα να επιβιώνουν για αρκετό διάστημα μέχρι να βρεθεί ξενιστής για να μπορέσουν να δημιουργήσουν ευκαιριακές λοιμώξεις (Kazda et al., 2009). Η μετάδοση τους είναι έμμεση ενώ έχουν αναφερθεί πολύ οργανισμοί που δρουν ως ξενιστές για τα συγκεκριμένα βακτήρια όπως πρωτόζωα, δίθυρα – μαλάκια, δεκάποδα – καρκινοειδή, κνηδάρια, εχινόδερμα και σπόγγοι (Carella et al., 2021). Η παρουσία των συγκεκριμένων βακτηρίων στα είδη που προαναφέρθηκαν ενέχει κάποιες φορές κινδύνους μετάδοσης ορισμένων στελεχών στον άνθρωπο γι' αυτό και η παρουσία ορισμένων στελεχών είναι ιδιαίτερης σημασίας για τη δημόσια υγεία. Η κλινική εικόνα των συγκεκριμένων ειδών που προσβάλουν τους καλλιεργουμένους ιχθύες δίνει αρκετά κλινικά στοιχεία όπως έλκη στο δέρμα, οζίδια στο δέρμα, αλλά και εσωτερικά κλινικά σημάδια όπως υπόλευκα οζίδια στο παρέγχυμα διαφόρων εσωτερικών οργάνων, σε αντίθεση με άλλους οργανισμούς όπου δεν εμφανίζονται εξωτερικά χαρακτηριστικά της ασθένειας (Zanoni et al., 2008; Astrofsky et al., 2000; Davidovich et al., 2020). Ωστόσο οι λοιμώξεις με μυκοβακτήρια στα υδρόβια είδη εγείρουν συζήτηση σχετικά με το αν αποτελούν τον βασικό παράγοντα θνησιμοτήτων ή αν με τις δευτερογενείς λοιμώξεις που προκαλούνται παρουσία τους δημιουργούνται θνησιμότητες στο ζωικό

κεφάλαιο (Carella et al., 2021). Στην συγκεκριμένη έρευνα τα άτομα που έδωσαν υπόλευκα φυμάτια στον σπλήνα βρέθηκαν θετικά σε *Mycobacterium* sp. γεγονός που επιβεβαιώνει την βιβλιογραφία σχετικά με τα παθολογικά χαρακτηριστικά της νόσου. Το συγκεκριμένο βακτήριο *M. pseudoshottsii* απομονώθηκε πρώτη φορά το 2005 σε θνησιμότητα που είχε προκαλέσει στο είδος *Morone saxatilis* στην Αμερική και βρίσκεται φυλογενετικά κοντά με τα *Mycobacterium marinum* και *Mycobacterium shottsii* (Hikima et al., 2016). Έκτοτε έχει ανιχνευθεί να προκαλεί προβλήματα στην παραγωγή σε είδη όπως τα *Morone americana*, *Seriola quinqueradiata*, *Seriola dumerili*, *Pseudocorax dentex*, *Epinephelus septemfasciatus*, *Seriola lalandi* αλλά και στα ευρωπαϊκά *D. labrax* και *Sparus aurata* (Nakanaga et al., 2012; Mugetti et al., 2020).

Και οι δύο μονάδες εμφάνισαν παρασιτισμό από *L. Kroyeri* με αποτέλεσμα τα δείγματα που εξετάστηκαν να δώσουν κλινικές εικόνες που δημιουργεί το παράσιτο. Ωστόσο, η μονάδα με τις μεγαλύτερες σε αριθμό απώλειες εμφάνισε και το Μυκοβακτήριο που εντοπίστηκε. Περαιτέρω έρευνα θα δώσει απαντήσεις σχετικά με το αν το συγκεκριμένο Μυκοβακτήριο αποτελεί τον κύριο αιτιολογικό παράγοντα των θνησιμοτήτων ή αν έχει συνεργιστική δράση με τα *Vibrio* spp. και *L. kroyeri* που ανιχνευθήκαν και στις δυο μονάδες.

5. Συμπεράσματα

Οι λοιμώδεις ασθένειες στο θαλάσσιο περιβάλλον είναι συχνές στα υδάτινα ενδιαιτήματα και μπορούν να μειώσουν την οικονομική αξία των προϊόντων υδατοκαλλιέργειας, μειώνοντας την ποιότητα της

σάρκας, αυξάνοντας το οριακό κόστος συγκομιδής και επεξεργασίας και μειώνοντας τη βιολογική παραγωγικότητα. Η εντατικοποίηση της παραγωγής σε συνδυασμό με την μη εφαρμογή ορθών πρακτικών εκτροφής μπορεί να έχει ολέθρια αποτελέσματα για τις μονάδες υδατοκαλλιέργειας. Συνυπολογίζοντας την αλόγιστη χρήση αντιβιοτικών που συνέβη τα προηγούμενα χρόνια και την ανάπτυξη ανθεκτικών βακτηριακών στελεχών (Lattos et al., 2022) κρίνεται αναγκαία η εφαρμογή ορθών μέτρων εκτροφής για την πρόληψη αυτών το φαινομένων. Οι σωστοί και έγκαιροι έλεγχοι, τα εμβόλια και η σωστή διαχείριση της κάθε μονάδας, επίσης μπορεί να χρησιμοποιηθεί και η βενζοϊκή εμαμεκτίνη, δύναται να μειώσει την εμφάνιση τους η και να τα εξαφανίσει ώστε να δημιουργήσει ένα αειφόρο πεδίο ανάπτυξης για τον κλάδο. Παρόλα αυτά το φαινόμενο της κλιματικής κρίσης και οι συνέπειες του επηρεάζουν άμεσα τον κλάδο, ιδιαίτερα όσον αφορά τον αβιοτικό παράγοντα της θερμοκρασίας. Με τις μέσες θερμοκρασίες ανά περίοδο αυξημένες, παράσιτα όπως το *L. kroyeri* καθώς και μια πληθώρα βακτηρίων θα δημιουργούν στις εκμεταλλεύσεις ολοένα και περισσότερα προβλήματα. Η επένδυση λοιπόν στην έρευνα καθώς και στην τήρηση ορθών πρακτικών εκτροφής κρίνεται αναγκαία για την αντιμετώπιση των ολοένα αυξανόμενων φαινομένων εμφάνισης ασθενειών.

6. Βιβλιογραφία

FAO (Food Agric. Organ. UN). 2012. *The state of world fisheries and aquaculture*. Rep., FAO, Rome

Garibaldi, L., 2012. The FAO global capture production database: a six-decade effort to catch the trend. *Marine Policy*, 36(3), pp.760-768.

Smith, M.D., Roheim, C.A., Crowder, L.B., Halpern, B.S., Turnipseed, M., Anderson, J.L., Asche, F., Bourillón, L., Guttormsen, A.G., Khan, A. and Liguori, L.A., 2010. Sustainability and global seafood. *Science*, 327(5967), pp.784-786.

Pauly, D. and Zeller, D., 2017. Comments on FAOs state of world fisheries and aquaculture (SOFIA 2016). *Marine Policy*, 77, pp.176-181.

Barange, M., Merino, G., Blanchard, J.L., Scholtens, J., Harle, J., Allison, E.H., Allen, J.I., Holt, J. and Jennings, S., 2014. Impacts of climate change on marine ecosystem production in societies dependent on fisheries. *Nature Climate Change*, 4(3), pp.211-216.

FAO (2018) The State of World Fisheries and Aquaculture 2018. FAO Fisheries and Aquaculture Department, Rome, Italy.

FAO (2016) Planning for Aquaculture Diversification: The Importance of Climate Change and Other Drivers. FAO Fisheries and Aquaculture Department, Rome, Italy.

Da Silva, R.F., Kitagawa, A. and Sanchez Vazquez, F.J., 2016. Dietary self-selection in fish: a new approach to studying fish nutrition and feeding behavior. *Reviews in fish biology and fisheries*, 26, pp.39-51.

Gentry, R.R., Froehlich, H.E., Grimm, D., Kareiva, P., Parke, M., Rust, M., Gaines, S.D. and Halpern, B.S., 2017. Mapping the global potential for marine aquaculture. *Nature ecology & evolution*, 1(9), pp.1317-1324.

Handisyde, N., Telfer, T.C. and Ross, L.G., 2017. Vulnerability of aquaculture-related livelihoods to changing climate at the global scale. *Fish and Fisheries*, 18(3), pp.466-488.

Fabry, V.J., Seibel, B.A., Feely, R.A. and Orr, J.C., 2008. Impacts of ocean acidification on marine fauna and ecosystem processes. *ICES Journal of Marine Science*, 65(3), pp.414-432.

Barange, M. and Perry, R.I., 2009. Physical and ecological impacts of climate change relevant to marine and inland capture fisheries and aquaculture. *Climate change implications for fisheries and aquaculture: overview of current scientific knowledge. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper*, 530, pp.7-106.

Sabine, C.L., Feely, R.A., Gruber, N., Key, R.M., Lee, K., Bullister, J.L., Wanninkhof, R., Wong, C.S.L., Wallace, D.W., Tilbrook, B. and Millero, F.J., 2004. The oceanic sink for anthropogenic CO₂. *science*, 305(5682), pp.367-371.

Feely, R.A., Sabine, C.L., Lee, K., Berelson, W., Kleypas, J., Fabry, V.J. and Millero, F.J., 2004. Impact of anthropogenic CO₂ on the CaCO₃ system in the oceans. *Science*, 305(5682), pp.362-366.

Caldeira, K. and Wickett, M.E., 2005. Ocean model predictions of chemistry changes from carbon dioxide emissions to the atmosphere and ocean. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 110(C9).

Douglas, B.C., 2001. Sea level change in the era of the recording tide gauge. *In* B.C. Douglas, M.S. Kearney & S.P. Leatherman, eds. *Sea level rise*, pp. 37–64. San Diego, Academic Press.

Bindoff, N.L., Willebrand, J., Artale, V., Cazenave, A., Gregory, J.M., Gulev, S., Hanawa, K., Le Quere, C., Levitus, S., Nojiri, Y. and Shum, C.K., 2007. Observations: oceanic climate change and sea level.

Domingues, C.M., Church, J.A., White, N.J., Gleckler, P.J., Wijffels, S.E., Barker, P.M. and Dunn, J.R., 2008. Improved estimates of upper-ocean warming and multi-decadal sea-level rise. *Nature*, 453(7198), pp.1090-1093.

Ernst, I., Whittington, I.D., Corneillie, S. and Talbot, C., 2002. Monogenean parasites in sea-cage aquaculture. *Austasia Aquaculture*, 16(1), pp.46-48.

Ghittino, C., Latini, M., Agnetti, F., Panzieri, C., Lauro, L., Ciappelloni, R. and Petracca, G., 2003. Emerging pathologies in aquaculture: effects on production and food safety. *Veterinary Research Communications*, 27, pp.471-479.

Johnson, S.C., Bravo, S., Nagasawa, K., Kabata, Z., Hwang, J., Ho, J. and Shih, C.T., 2004. A review of the impact of parasitic copepods on marine aquaculture. *Zoological studies*, 43(2), pp.229-243.

Naylor, R.L., Goldburg, R.J., Primavera, J.H., Kautsky, N., Beveridge, M.C., Clay, J., Folke, C., Lubchenco, J., Mooney, H. and Troell, M., 2000. Effect of aquaculture on world fish supplies. *Nature*, 405(6790), pp.1017-1024.

Fernandez-Jover, D., Faliex, E., Sanchez-Jerez, P., Sasal, P. and Bayle-Sempere, J.T., 2010. Coastal fish farming does not affect the total parasite

communities of wild fish in SW Mediterranean. *Aquaculture*, 300(1-4), pp.10-16.

Kurath, G. and Winton, J., 2011. Complex dynamics at the interface between wild and domestic viruses of finfish. *Current Opinion in Virology*, 1(1), pp.73-80.

Saksida, S.M., Gardner, I. and Kent, M.L., 2014. Transmission of infectious agents between wild and farmed fish. *Diseases and Disorders of Finfish in Cage Culture*, 2nd ed. CABI International, Boston, MA, pp.313-329.

EGUSA, S. and SHIOMITSU, T., 1983. Two new species of the genus *Kudoa* (Myxosporea: Multivalvulida) from marine cultured fishes in Japan. *Fish Pathology*, 18(3), pp.163-171.

Colorni, A., Diamant, A., Eldar, A., Kvitt, H. and Zlotkin, A., 2002. *Streptococcus iniae* infections in Red Sea cage-cultured and wild fishes. *Diseases of aquatic organisms*, 49(3), pp.165-170.

Sindermann, C.J., 1984. Disease in marine aquaculture. *Helgoländer Meeresuntersuchungen*, 37, pp.505-530.

Friedman, C.S. and Finley, C.A., 2003. Anthropogenic introduction of the etiological agent of withering syndrome into northern California abalone populations via conservation efforts. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 60(11), pp.1424-1431.

Morrison, D.B. and Saksida, S., 2013. Trends in antimicrobial use in Marine Harvest Canada farmed salmon production in British Columbia (2003–2011). *The Canadian Veterinary Journal*, 54(12), p.1160.

Smith, V.J., Brown, J.H. and Hauton, C., 2003. Immunostimulation in crustaceans: does it really protect against infection?. *Fish & Shellfish Immunology*, 15(1), pp.71-90.

McVicar, A.H., 1997. Disease and parasite implications of the coexistence of wild and cultured Atlantic salmon populations. *ICES Journal of Marine Science*, 54(6), pp.1093-1103.

Lillehaug, A., Lunestad, B.T. and Grave, K., 2003. Epidemiology of bacterial diseases in Norwegian aquaculture a description based on antibiotic prescription data for the ten-year period 1991 to 2000. *Diseases of aquatic organisms*, 53(2), pp.115-125.

Scholz, T., 1999. Parasites in cultured and feral fish. *Veterinary parasitology*, 84(3-4), pp.317-335.

Asche, F. and Bjørndal, T., 2011. *The economics of salmon aquaculture*. John Wiley & Sons.

Dixon, B., 2012. Vaccines for finfish aquaculture: What do we need to know to make them work?. *Electronic Journal of Biotechnology*, 15(5), pp.14-14.

Mladineo, I. and Maršić-Lučić, J., 2007. Host switch of *Lamellodiscus elegans* (Monogenea: Monopisthocotylea) and *Sparicotyle chrysophrii* (Monogenea: Polyopisthocotylea) between cage-reared sparids. *Veterinary Research Communications*, 31, pp.153-160.

Ragias, V., Tontis, D. and Athanassopoulou, F., 2004. Incidence of an intense *Caligus minimus* Otto 1821, *C. pageti* Russel, 1925, *C. mugilis* Brian, 1935 and *C. apodus* Brian, 1924 infection in lagoon cultured sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) in Greece. *Aquaculture*, 242(1-4), pp.727-733.

Noga, E.J., 2000. Skin ulcers in fish: Pfiesteria and other etiologies. *Toxicologic pathology*, 28(6), pp.807-823.

Raibaut, A., Combes, C. and Benoit, F., 1998. Analysis of the parasitic copepod species richness among Mediterranean fish. *Journal of marine Systems*, 15(1-4), pp.185-206.

Diana, J.S., 2009. Aquaculture production and biodiversity conservation. *Bioscience*, 59(1), pp.27-38.

Lafferty, K.D. and Ben-Horin, T., 2013. Abalone farm discharges the withering syndrome pathogen into the wild. *Frontiers in microbiology*, 4, p.373.

Braid, B.A., Moore, J.D., Robbins, T.T., Hedrick, R.P., Tjeerdema, R.S. and Friedman, C.S., 2005. Health and survival of red abalone, *Haliotis rufescens*, under varying temperature, food supply, and exposure to the agent of withering syndrome. *Journal of invertebrate pathology*, 89(3), pp.219-231.

Friedman, C.S. and Finley, C.A., 2003. Anthropogenic introduction of the etiological agent of withering syndrome into northern California abalone populations via conservation efforts. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 60(11), pp.1424-1431.

Jackson, D., Cotter, D., Newell, J., McEvoy, S., O'Donohoe, P., Kane, F., McDermott, T., Kelly, S. and Drumm, A., 2013. Impact of *Lepeophtheirus salmonis* infestations on migrating Atlantic salmon, *Salmo salar* L., smolts at eight locations in Ireland with an analysis of lice-induced marine mortality. *Journal of Fish Diseases*, 36(3), pp.273-281.

Kent, M.L., Traxler, G.S., Kieser, D., Richard, J., Dawe, S.C., Shaw, R.W., Prospero-Porta, G., Ketcheson, J. and Evelyn, T.P.T., 1998. Survey of salmonid pathogens in ocean-caught fishes in British Columbia, Canada. *Journal of Aquatic Animal Health*, 10(2), pp.211-219.

Raynard R., Wahli T., Vatsos I., Mortensen S., 2007. *Review of disease interactions and pathogen exchange between farmed and wild finfish and shellfish in Europe*. Rep. 1655, VESO, Oslo, Nor.

Lafferty, K.D., Harvell, C.D., Conrad, J.M., Friedman, C.S., Kent, M.L., Kuris, A.M., Powell, E.N., Rondeau, D. and Saksida, S.M., 2015. Infectious diseases affect marine fisheries and aquaculture economics. *Annual review of marine science*, 7, pp.471-496.

Friedman, C.S., McDowell, T., Groff, J.M., Hollibaugh, J.T., Manzer, D. and Hedrick, R.P., 1989. Presence of *Bonamia ostreae* among populations of the European flat oyster, *Ostrea edulis* Linne. *California, USA. J Shellfish Res*, 8(1), pp.133-137.

Kent, M.L. and Kieser, D., 2003. Avoidance of introduction of exotic pathogens with Atlantic salmon reared in British Columbia. *Biosecurity in Aquaculture Production Systems: Exclusion of Pathogens and Other Undesirables*, pp.43-50.

Kennedy, C.R., Hartvigsen, R. and Halvorsen, O., 1991. The importance of fish stocking in the dissemination of parasites throughout a group of reservoirs. *Journal of Fish Biology*, 38(4), pp.541-552.

Johansen, L.H., Jensen, I., Mikkelsen, H., Bjørn, P.A., Jansen, P.A. and Bergh, Ø., 2011. Disease interaction and pathogens exchange between wild and farmed fish populations with special reference to Norway. *Aquaculture*, 315(3-4), pp.167-186.

Johnsen, B.O. and Jensen, A.J., 1991. The gyrodactylus story in Norway. *Aquaculture*, 98(1-3), pp.289-302.

Burreson, E.M., Stokes, N.A. and Friedman, C.S., 2000. Increased virulence in an introduced pathogen: *Haplosporidium nelsoni* (MSX) in the

eastern oyster *Crassostrea virginica*. *Journal of Aquatic Animal Health*, 12(1), pp.1-8.

Kuris, A.M. and Culver, C.S., 1999. An introduced sabellid polychaete pest infesting cultured abalones and its potential spread to other California gastropods. *Invertebrate biology*, pp.391-403.

Antonelli, L., Quilichini, Y. and Marchand, B., 2010a. *Sparicotyle chrysophrii* (Van Beneden and Hesse 1863)(Monogenea: Polyopisthocotylea) parasite of cultured Gilthead sea bream *Sparus aurata* (Linnaeus 1758)(Pisces: Teleostei) from Corsica: ecological and morphological study. *Parasitology research*, 107, pp.389-398.

Antonelli, L., Quilichini, Y. and Marchand, B., 2010b. Biological study of *Furnestinia echeneis* Euzet and Audouin 1959 (Monogenea: Monopisthocotylea: Diplectanidae), parasite of cultured gilthead sea bream *Sparus aurata* (Linnaeus 1758)(Pisces: Teleostei) from Corsica. *Aquaculture*, 307(3-4), pp.179-186.

Manera, M. and Dezfuli, B.S., 2003. *Lernanthropus kroyeri* infections in farmed sea bass *Dicentrarchus labrax*: pathological features. *Diseases of aquatic organisms*, 57(1-2), pp.177-180.

Özel, İ., Öktener, A. and Aker, V., 2004. A Morphological Study (SEM) on a Parasitic Copepod: *Lernanthropus kroyeri* van Beneden, 1851. *Su Ürünleri Dergisi*, 21(3).

Tokşen, E., Çağırkan, H., Tanrikul, T.T. and Saygi, H., 2006. The effect of emamectin benzoate in the control of *Lernanthropus kroyeri* (van Beneden, 1851) (Lernanthropidae) infestations in cultured sea bass, *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758). *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 30(4), pp.405-409.

Austin, B., Austin, D.A. and Munn, C.B., 2007. *Bacterial fish pathogens: disease of farmed and wild fish* (Vol. 26, p. 552). Dordrecht, The Netherlands: Springer.

Hjeltnes, B. and Roberts, R.J., 1993. Vibriosis. *Bacterial diseases of fish*, pp.109-121.

Toranzo, A.E., Magariños, B. and Romalde, J.L., 2005. A review of the main bacterial fish diseases in mariculture systems. *Aquaculture*, 246(1-4), pp.37-61.

Lattos, A., Chaligiannis, I., Papadopoulos, D., Giantsis, I.A., Petridou, E.I., Vafeas, G., Staikou, A. and Michaelidis, B., 2021. How safe to eat are raw bivalves? Host pathogenic and public health concern microbes within mussels, oysters, and clams in Greek markets. *Foods*, 10(11), p.2793.

Salati, F., Cubadda, C., Viale, I. and Kusuda, R., 2005. Immune response of sea bass *Dicentrarchus labrax* to *Tenacibaculum maritimum* antigens. *Fisheries Science*, 71, pp.563-567.

Kumar, S., Stecher, G. and Tamura, K., 2016. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular biology and evolution*, 33(7), pp.1870-1874.

Kabata, Z., 1970. Some Lernaepodidae (Copepoda) from fishes of British Columbia. *Journal of the Fisheries Board of Canada*, 27(5), pp.865-885.

Ho, J.S., Lin, C.L. and Chen, S.N., 2000. Species of *Caligus* Müller, 1785 (Copepoda: Caligidae) parasitic on marine fishes of Taiwan. *Systematic Parasitology*, 46(3), pp.159-179.

Costello, M., 1993. Review of methods to control sea lice (Caligidae: Crustacea) infestations on salmon (*Salmo salar*) farms. *Pathogens of wild and farmed fish: sea lice*, 219, p.252.

Pike, A.W. and Wadsworth, S.L., 1999. Sealice on salmonids: their biology and control. *Advances in parasitology*, 44, pp.233-337.

Cabral, P., Coste, F. and Raibaut, A., 1984. Cycle évolutif de *Lernanthropus kroyeri* van Beneden, 1851, Copépode branchial hématophage du Loup *Dicentrarchus labrax* (Linné, 1758) dans des populations naturelles et en élevage. *Annales de Parasitologie humaine et comparée*, 59(2), pp.189-207.

Toksen, E., Nemli, E. and Degirmenci, U., 2008. The morphology of *Lernanthropus kroyeri* van Beneden, 1851 (Copepoda: Lernanthropidae) parasitic on sea bass, *Dicentrarchus labrax* (L., 1758), from the Aegean Sea, Turkey. *Turkish Society for Parasitology*, 32(4), pp.386-389.

Kotob, M.H., Menanteau-Ledouble, S., Kumar, G., Abdelzaher, M. and El-Matbouli, M., 2017. The impact of co-infections on fish: a review. *Veterinary research*, 47(1), pp.1-12.

Yildiz, H.Y. and Otgucuoğlu, Ö., 2021. Marine fish parasite, *Lernanthropus kroyeri* (Copepoda) is a repository of *Vibrio anguillarum* as evidenced by Loop-Mediated Isothermal Amplification method. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*.

Manera, M. and Dezfuli, B.S., 2003. *Lernanthropus kroyeri* infections in farmed sea bass *Dicentrarchus labrax*: pathological features. *Diseases of aquatic organisms*, 57(1-2), pp.177-180.

Tortoli, E., 2019. The taxonomy of the genus *Mycobacterium*. In *Nontuberculous mycobacteria (NTM)* (pp. 1-10). Academic Press.

Mohney, L.L., Poulos, B.T., Brooker, J.H., Cage, G.D. and Lightner, D.V., 1998. Isolation and identification of *Mycobacterium peregrinum* from the Pacific white shrimp *Penaeus vannamei*. *Journal of Aquatic Animal Health*, 10(1), pp.83-88.

Lattos, A., Giantsis, I.A., Karagiannis, D. and Michaelidis, B., 2020. First detection of the invasive Haplosporidian and Mycobacteria parasites hosting the endangered bivalve *Pinna nobilis* in Thermaikos Gulf, North Greece. *Marine environmental research*, 155, p.104889.

Davidovich, N., Pretto, T., Blum, S.E., Baider, Z., Grossman, R., Kaidar-Shwartz, H., Dveyrin, Z. and Rorman, E., 2019. *Mycobacterium gordonae* infecting redclaw crayfish *Cherax quadricarinatus*. *Diseases of aquatic organisms*, 135(2), pp.169-174.

Kazda, J., Pavlik, I., Falkinham III, J.O. and Hruska, K., 2009. *The ecology of mycobacteria: impact on animal's and human's health* (pp. 7-11). Springer Science+ Business Media BV.

Davidovich, N., Morick, D. and Carella, F., 2020. Mycobacteriosis in aquatic invertebrates: a review of its emergence. *Microorganisms*, 8(8), p.1249.

Zanoni, R.G., Florio, D., Fioravanti, M.L., Rossi, M. and Prearo, M., 2008. Occurrence of *Mycobacterium* spp. in ornamental fish in Italy. *Journal of Fish Diseases*, 31(6), pp.433-441.

Astrofsky, K.M., Schrenzel, M.D., Bullis, R.A., Smolowitz, R.M. and Fox, J.G., 2000. Diagnosis and management of atypical *Mycobacterium* spp. infections in established laboratory zebrafish (*Brachydanio rerio*) facilities. *Comparative Medicine*, 50(6), pp.666-672.

Davidovich, N., Pretto, T., Sharon, G., Zilberg, D., Blum, S.E., Baider, Z., Edery, N., Morick, D., Grossman, R., Kaidar-Shwartz, H. and Dveyrin, Z., 2020. Cutaneous appearance of mycobacteriosis caused by *Mycobacterium marinum*, affecting gilthead seabream (*Sparus aurata*) cultured in recirculating aquaculture systems. *Aquaculture*, 528, p.735507.

Hikima, J.I., Sakai, M., Aoki, T., Takeyama, H., Hawke, J., Mori, K., Tashiro, K. and Kuhara, S., 2016. Draft genome sequence of the fish pathogen *Mycobacterium pseudoshottsii* strain JCM15466, a species closely related to *M. marinum*. *Genome announcements*, 4(1), pp.10-1128.

Nakanaga, K., Hoshino, Y., Hattori, Y., Yamamoto, A., Wada, S., Hatai, K., Makino, M. and Ishii, N., 2012. *Mycobacterium pseudoshottsii* isolated from 24 farmed fishes in western Japan. *Journal of Veterinary Medical Science*, 74(2), pp.275-278.

Mugetti, D., Varello, K., Gustinelli, A., Pastorino, P., Menconi, V., Florio, D., Fioravanti, M.L., Bozzetta, E., Zoppi, S., Dondo, A. and Prearo, M., 2020. *Mycobacterium pseudoshottsii* in Mediterranean fish farms: new trouble for European aquaculture?. *Pathogens*, 9(8), p.610.

Lattos, A., Giantsis, I.A., Tsavea, E., Kolygas, M., Athanassopoulou, F. and Bitchava, K., 2022. Virulence genes and in vitro antibiotic profile of *Photobacterium damsela* strains, isolated from fish reared in Greek aquaculture facilities. *Animals*, 12(22), p.3133.