



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ  
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ  
ΤΜΗΜΑ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗΣ

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ**

*«Υδατοκαλλιέργειες» -*

*«Παθολογικά Προβλήματα Εκτρεφόμενων Υδρόβιων Οργανισμών»*

**ΣΕ ΣΥΜΠΡΑΞΗ ΜΕ ΤΟ ΤΜΗΜΑ ΙΧΘΥΟΚΟΜΙΑΣ-ΑΛΙΕΙΑΣ ΤΟΥ Τ.Ε.Ι. ΗΠΕΙΡΟΥ**

**ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ:**

**“Μελέτη παθολογικών προβλημάτων σε συνδυασμό με την εκτροφή του μεσογειακού είδους Μυλοκόπι (*Umbrina cirrosa*) σε μονάδα εντατικής εκτροφής στην περιοχή του Διαύλου Ωρεών.”**

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΦΟΙΤΗΤΡΙΑ**

**Μαρία Μαντέ**

**ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**

**Αθανασοπούλου Φωτεινή**, Καθηγήτρια, Επιβλέπουσα, Εργαστήριο Ιχθυοπαθολογίας, Ιχθυολογίας & Υδατοκαλλιεργειών, Τμήμα Κτηνιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

**Αγγελίδης Παναγιώτης**, Αναπληρωτής Καθηγητής, Εργαστήριο Ιχθυολογίας, Κτηνιατρική Σχολή, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Μέλος Συμβουλευτικής Επιτροπής

**Βάτσος Ιωάννης**, Λέκτορας, Εργαστήριο Ιχθυολογίας, Κτηνιατρική Σχολή, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Μέλος Συμβουλευτικής Επιτροπής

ΚΑΡΔΙΤΣΑ 2012



UNIVERSITY OF THESSALY  
SCHOOL OF HEALTH SCIENCES  
FACULTY OF VETERINARY MEDICINE

---

**POSTGRADUATE STUDIES PROGRAM**

*“Aquaculture” – “Aquatic Animal Health”*

*IN COLLABORATION WITH*

*THE DEPARTMENT OF AQUACULTURE & FISHERIES, TEI OF EPIRUS*

**Thesis:**

**“Study of pathological problems in connection with the breeding of Mediterranean species of Shi Drum (*Umbrina cirrosa*) in an aquaculture placed in Channel Oreos.”**

**POSTGRADUATE STUDENT**

**Maria Mante**

**THREE MEMBER COMISSION**

**Athanasopoulou Foteini** Professor, Supervisor Laboratory of Fish Pathology, Ichthyology & Aquaculture, Faculty of Veterinary Medicine, University of Thessaly

**Aggelidis Panagiotis**, Associate Professor, Laboratory of Ichthyology, Veterinary Medicine, Aristotle University of Thessaloniki, Member of Advisor commitee

**Vatsos Ioannis**, Lecturer, Laboratory of Ichthyology, Veterinary Medicine, Aristotle University of Thessaloniki, Member of Advisory Committee

KARDITSA 2012

*Στον πατέρα μου,  
που με ενέπνευσε να συνεχίσω!*

## Περίληψη

Η παρούσα διπλωματική εργασία αποτελεί μια προσπάθεια ανασκόπησης των παθολογικών προβλημάτων που έχουν καταγραφεί μέχρι σήμερα και αφορούν ένα νέο είδος ιχθύος, το μυλοκόπι (*Umbrina cirrosa*) αλλά και την μελέτη της βιολογικής του συμπεριφοράς κάτω από συνθήκες εντατικής εκτροφής. Λόγω του υπερκορεσμού της αγοράς από προϊόντα ιχθύων από τσιπούρα (*Sparus aurata*) και λαυράκι (*Dicentrarchus labrax*), οι περισσότερες μονάδες εντατικής εκτροφής έχουν αρχίσει να επενδύουν σε νέα είδη ιχθύων εκτροφής με σκοπό την αύξηση των κερδών τους και της ανταγωνιστικότητας τους.

Η παρούσα διπλωματική εργασία χωρίζεται σε πέντε κεφάλαια: Το 1<sup>ο</sup> κεφάλαιο, αποτελεί την 'Εισαγωγή' και απαρτίζεται από ένα σύντομο ιστορικό για την εξέλιξη της ιχθυοκαλλιέργειας και την σημασία της. Επιπλέον, παρέχονται πληροφορίες για την παγκόσμια παραγωγή προϊόντων ιχθύων, αλλά και πληροφορίες σχετικά με την κατάσταση των μονάδων εντατικής εκτροφής στον Ελλαδικό χώρο. Επίσης, γίνεται αναφορά στις κατηγορίες των εκμεταλλεύσεων αλλά και στην χωροθέτηση των μονάδων. Το 2<sup>ο</sup> κεφάλαιο, αποτελεί μια σύντομη ανασκόπηση σχετικά με την οντογένεση, την διατροφή και την αναπαραγωγή των ιχθύων μυλοκοπίου (*Umbrina cirrosa*). Το 3<sup>ο</sup> κεφάλαιο, πραγματεύεται τα νοσήματα που έχουν καταγραφεί μέχρι σήμερα και αφορούν στο συγκεκριμένο είδος ιχθύος. Το 4<sup>ο</sup> κεφάλαιο, αναφέρεται στην δειγματοληψία που πραγματοποιήθηκε μέσω αυτής της διπλωματικής εργασίας. Γίνεται αναφορά στα υλικά και τις μεθόδους που χρησιμοποιήθηκαν και στην θεραπευτική αγωγή που ακολουθήθηκε. Στο 5<sup>ο</sup> κεφάλαιο, περιγράφονται τα αποτελέσματα της έρευνας, καθώς και τα συμπεράσματα και οι προτάσεις που στηρίζονται στα ευρήματα της μελέτης αυτής.

## Abstract

The present thesis is an attempt to review the pathological problems that have been reported so far on a new fish species, the croaker (*Umbrina cirrosa*). Also presents different studies of the biological behaviour of the croaker (*Umbrina cirrosa*) under intensive farming conditions. Due to the supersaturation of the market by products from sea bream (*Sparus aurata*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*), the more intensive farming has started to invest in new types of fish in order to increase their profits and their competitiveness.

This thesis is divided into five chapters: The first chapter, is the 'Introduction' and consists of a brief background on the development of aquaculture and its importance. Additionally, provides information about the worldwide production of fish products, and also information on the present situation of farms in Greece. Also, refers to the categories of farms and their location. The second chapter, is a brief review on the ontogeny, diet and reproduction of Shi Drum (*Umbrina cirrosa*). The third chapter, deals with diseases that have been recorded to date in this fish species. The fourth chapter, refers to the sampling carried out in this study. Refers to the materials and methods that have been used and the treatment that followed. The fifth chapter, describes the results of the investigation, the conclusions and the recommendations based on the findings of this study.

## Ευχαριστίες

Ευχαριστώ την κ. Φωτεινή Αθανασοπούλου, Καθηγήτρια του Τμήματος Κτηνιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, Επιβλέπουσα η οποία μου έδωσε τη δυνατότητα να εκπονήσω αυτή τη διπλωματική εργασία και την επέβλεψε, υποστηρίζοντας και καθοδηγώντας με καθ' όλη τη διάρκειά της. Η συμβολή της ήταν καθοριστική στην επιλογή του θέματος και στην επιβεβαίωση των αποτελεσμάτων.

Το Εργαστήριο Ιχθυοπαθολογίας της Κτηνιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας και ειδικότερα την Γουρζιώτη Ευγενία κτηνίατρο (MSc) και τον Μάρκο Κολύγα ιχθυολόγο (MSc) υποψήφιους διδάκτορες του τμήματος για τις συμβουλές τους, αλλά και την βοήθειά τους στην πραγματοποίηση των εργαστηριακών εξετάσεων της παρούσας διπλωματικής εργασίας.

Τους κυρίους Αγγελίδη Παναγιώτη Αναπληρωτή Καθηγητή, Εργαστήριο Ιχθυολογίας, τμήμα Κτηνιατρικής Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης και Βάτσο Ιωάννη Λέκτορα, Εργαστήριο Ιχθυολογίας, τμήμα Κτηνιατρικής Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, για τις εύστοχες παρατηρήσεις τους και πολύτιμες διορθώσεις τους.

Την οικογένειά μου που με την αμέριστη συμπαράστασή τους με στήριξαν και με βοήθησαν να ολοκληρώσω την παρούσα εργασία.

## Πίνακας περιεχομένων

|   |    |
|---|----|
| Περίληψη .....  | 4  |
| Abstract.....   | 5  |
| Ευχαριστίες .....   | 6  |
| Κεφάλαιο 1 <sup>ο</sup> .....   | 9  |
| Εισαγωγή.....   | 9  |
| 1.1 Ιστορικό.....   | 9  |
| 1.2 Σημασία των μονάδων εκτροφής υδρόβιων οργανισμών .....  | 10 |
| 1.3 Παγκόσμια παραγωγή προϊόντων ιχθύων .....   | 13 |
| 1.4 Η Ελληνική κατάσταση του τομέα των υδρόβιων εκτροφών .....  | 19 |
| 1.4.1 Η κατάσταση του κλάδου σήμερα.....  | 19 |
| 1.4.2 Προοπτικές.....   | 21 |
| 1.5 Κατηγορίες εκτροφής υδρόβιων οργανισμών.....  | 22 |
| 1.6 Χωροθέτηση εγκαταστάσεων ανά τύπο μονάδας εκτροφής.....   | 22 |
| 1.7 Η δική μας έρευνα.....  | 28 |
| Κεφάλαιο 2 <sup>ο</sup> .....   | 29 |
| Ζωοτεχνικά στοιχεία νέων ειδών ιχθύων σε Ελληνικές Μονάδες Εκτροφής .....                               | 29 |
| 2.1 Νέα εκτρεφόμενα είδη.....   | 29 |
| 2.2 Οντογένεση ιχθυδίων μυλοκοπίου ( <i>Umbrina cirrosa</i> ).....                                      | 32 |
| 2.3 Η Αναπαραγωγή στο μυλοκόπι ( <i>Umbrina cirrosa</i> ) .....   | 36 |
| 2.4 Η διατροφή στο μυλοκόπι ( <i>Umbrina cirrosa</i> ) .....  | 40 |
| Κεφάλαιο 3 <sup>ο</sup> .....   | 45 |
| Βιβλιογραφική ανασκόπηση των μολυσματικών παραγόντων στο είδος μυλοκόπι ( <i>Umbrina cirrosa</i> )..... | 45 |
| 3.1 Ιογενής νέκρωση του νευρικού συστήματος (VNN).....  | 45 |
| 3.2 Μεταδοτική Παγκρεατική Νέκρωση ( IPN ).....   | 50 |
| 3.3 <i>Ceratomyxa</i> spp. στο είδος μυλοκόπι ( <i>Umbrina cirrosa</i> ) .....                          | 53 |
| 3.4 Μονογενή παράσιτα στο είδος μυλοκόπι ( <i>Umbrina cirrosa</i> ).....                                | 57 |
| Κεφάλαιο 4 <sup>ο</sup> .....   | 62 |
| Υλικά και μέθοδοι .....   | 62 |
| 4.1 Δειγματοληψίες.....   | 62 |
| 4.1.1 Περιοχή δειγματοληψίας .....  | 62 |
| 4.1.2 Ιστορικό .....  | 63 |
| 4.1. 3 Δειγματοληψία .....  | 67 |
| 4.2 Μακροσκοπική και Νεκροτομική εξέταση.....   | 69 |

|   |     |
|---|-----|
| 4.3 Βακτηριολογική εξέταση.....                         | 70  |
| 4.4 Παρασιτολογική εξέταση .....                        | 74  |
| 4.5 Ιστοπαθολογική εξέταση .....                        | 77  |
| Κεφάλαιο 5 <sup>0</sup> .....                           | 78  |
| Αποτελέσματα .....                                      | 78  |
| 5.1 Μακροσκοπικά – Νεκροτομικά ευρήματα .....           | 78  |
| 5.2 Μικροβιολογικές εξετάσεις .....                     | 81  |
| 5.3 Μικροσκοπικά ευρήματα .....                         | 85  |
| 5.3.1 Νωπά επιχρίσματα.....                             | 85  |
| 5.3.2 Μονιμοποιημένα παρασκευάσματα με χρώση GRAM ..... | 87  |
| 5.4 API 20E.....  | 88  |
| 5.5 Αντιβιογράμμα - Θεραπεία.....                       | 90  |
| 5.6 Ιστοπαθολογικές εξετάσεις.....                      | 91  |
| 5.7 Συζήτηση.....                                       | 94  |
| 5.8 Προτάσεις.....                                      | 101 |
| Βιβλιογραφία – References .....                         | 103 |
| Παράρτημα Α.....  | 109 |
| Παράρτημα Β .....                                       | 110 |



# Κεφάλαιο 1<sup>ο</sup>

## Εισαγωγή

### 1.1 Ιστορικό

Οι εκτροφές υδρόβιων οργανισμών, εμφανίστηκαν σε διάφορες περιοχές του πλανήτη και όχι μόνο σε περιοχές όπου ευνοούσαν κατάλληλες συνθήκες αλλά και όπου μπορούσαν να εφαρμοστούν επί σειρά ετών. Οι πρώτες προσπάθειες εκτροφής ιχθύων φάνηκε ότι έγιναν στην περιοχή της Κίνας και της Ινδονησίας περί το 4000 π.Χ. Μεταγενέστερα δεδομένα αποκάλυψαν τις τεχνικές που χρησιμοποιήθηκαν για την εκτροφή του κοινού κυπρίνου (*Cyprinus carpio*) το 2000 π.Χ. Κατά την ίδια περίοδο στην περιοχή της Αιγύπτου γίνονταν προσπάθειες εκτροφής της τιλάπιας (*Tilapia nilotica*), αλλά και παράλληλα προσπάθειες εκτροφής στρειδιών στα Ιαπωνικά νησιά.

Στην περιοχή της Ευρώπης, επικρατούσε η συντήρηση διαφόρων ειδών και μεγεθών ιχθύων σε διαφόρου μεγέθους χωμάτινων δεξαμενών. Έτσι λοιπόν, μέχρι το 12<sup>ο</sup> αιώνα π.Χ. εκτρέφονταν κατά αυτόν τον τρόπο η τούρνα (*Esox lucius*), η μπριάνα (*Barbus barbus*), ο κέφαλος (*Leuciscus* sp.), τα κοκκινόφτερα (*Rutilus rutilus*), και το *Phoxinus phoxinus*. Ωστόσο, μέχρι εκείνη την περίοδο δεν είχε αναφερθεί η εκτροφή κυπρίνου στον Ευρωπαϊκό χώρο.

Η πρώτη εκτροφή κυπρίνου εμφανίστηκε κατά το χρονικό διάστημα 1400 – 1500 μ.Χ. στην Μ. Βρετανία ως το κύριο προϊόν ιχθύων προερχόμενο από συνθήκες εκτροφής. Ενώ, λίγο αργότερα κατά το 1600 μ.Χ. το επόμενο σημαντικό βήμα που πραγματοποιήθηκε αφορούσε στην πραγματοποίηση τεχνητής γονιμοποίησης ώριμων γεννητικά ατόμων για το είδος της πέστροφας (*Salmo trutta fario*)

Όσον αφορά τον Ελλαδικό χώρο, η εξέλιξη των ελεγχόμενων εκτροφών ιχθύων ακολούθησε παρόμοια πορεία με αυτή του Ευρωπαϊκού χώρου. Έτσι, σε αρκετές περιοχές εφαρμόστηκαν μέθοδοι εγκλωβισμού ιχθύων, οι οποίες και διατηρήθηκαν μέχρι σήμερα. Εμποδίστηκε δηλαδή, η μετανάστευση ιχθύων από ημίκλειστες φυσικές θαλασσινές ή υφάλμυρες υδάτινες εκτάσεις, προς την ανοιχτή θάλασσα. (Παπουτσόγλου, 1997)

## **1.2 Σημασία των μονάδων εκτροφής υδρόβιων οργανισμών**

Ο όρος «υδατοκαλλιέργειες», σύμφωνα με τον Παπουτσόγλου (1997), σχετίστηκε με τις προσπάθειες του ανθρώπου για εκτροφή και εκμετάλλευση των υδρόβιων οργανισμών μέσω της καταβολής εργασίας αλλά και ενέργειας. Σε γενικές γραμμές, αποτέλεσαν τον κλάδο της γεωργίας ο οποίος ασχολήθηκε με το υδάτινο περιβάλλον. Οι εκτροφές υδρόβιων οργανισμών, στη σημερινή τους μορφή χαρακτηρίστηκαν ως ένα μεταβατικό στάδιο, μεγάλου φάσματος μεταξύ της Αλιείας και της Γεωργίας. Έτσι λοιπόν, από την άποψη της διαδικασίας παραγωγής πέρασαν από αρκετά ενδιάμεσα στάδια.

Ορισμένοι από τους λόγους που οδήγησαν τον άνθρωπο στην εναλλακτική επιλογή της ανάπτυξης εκτροφών ιχθύων αφορούσαν στην ικανοποίηση κάποιων αναγκών. Οι ανάγκες αυτές σχετίστηκαν με την αύξηση της παραγωγής τροφίμων για ανθρώπινη κατανάλωση, με την παραγωγή τροφίμων για τα κατοικίδια και την παραγωγή προϊόντων για τη βιομηχανία. Αλλά και τη βελτίωση των φυσικών αποθεμάτων των υδρόβιων οργανισμών με τη βοήθεια τεχνητών μεθόδων, την παραγωγή διακοσμητικών υδρόβιων οργανισμών, την παραγωγή δολωμάτων για την αλιεία ιχθύων, την παραγωγή ιχθύων κατάλληλων για τον εμπλουτισμό φυσικών υδάτινων μαζών και την ερασιτεχνική αλιεία.

Η εκτροφή υδρόβιων οργανισμών αποτέλεσε μια νέα μορφή παραγωγής τροφίμων υψηλής πρωτεϊνικής αξίας και κατά επέκταση χαρακτηρίστηκε ως εξαιρετικής σημασίας.

Στο γεγονός αυτό συνέβαλε, ο έντονος ρυθμός αύξησης του πληθυσμού της γης και η διαπίστωση ότι για τα επόμενα 50-100 χρόνια θα πρέπει να υπάρχει η δυνατότητα διατροφής ενός πληθυσμού 2 με 4 φορές μεγαλύτερου από το σημερινό.

Σύμφωνα με τον Παπουτσόγλου (1997), σε αρκετές χώρες του κόσμου, διαπιστώθηκε έλλειψη τροφίμων, και ιδιαίτερα από αυτές που χαρακτηρίζονται ως πρωτεϊνικές πηγές χαμηλού κόστους και υψηλής βιολογικής αξίας. Σε πολλές περιοχές, η παραγωγή φυτικών και ζωικών προϊόντων ήταν δύσκολο να ακολουθήσουν το ρυθμό αύξησης του πληθυσμού της γης.

Ένα επιπλέον στοιχείο ήταν, ότι τα αποθέματα της αλιείας έφτασαν στο μέγιστο σημείο των αποδόσεων τους. Ο έντονος ρυθμός αύξησης του πληθυσμού παρατηρήθηκε σε χώρες υπανάπτυκτες με μικρές δυνατότητες παραγωγής τροφίμων. Ο πληθυσμός των υποανάπτυκτων χωρών ήταν της τάξεως των 2,9 δις. το 1997, και αποτέλεσε το 60% του πληθυσμού της γης. Οι ίδιες αυτές χώρες παρουσίασαν μια ετήσια αύξηση περίπου 60 εκατ. ανθρώπων, η οποία αντιστοιχούσε στα 80% της ετήσιας συνολικής πληθυσμιακής αύξησης της Γης.

Τέλος, όπως αναφέρεται από τον Παπουτσόγλου (1997), σημαντική επίπτωση είχε η βελτίωση της ποιότητας της ζωής σε πολλές αναπτυγμένες χώρες. Μολονότι δεν έχει πλήρως επιβεβαιωθεί, εντούτοις είναι σχεδόν σίγουρο ότι στις αναπτυγμένες χώρες, κατά τα τελευταία χρόνια, οι γεννήσεις ήταν τόσες ώστε η αύξηση του πληθυσμού να είναι γύρω στο μηδέν. Στις ίδιες όμως χώρες, η ευρύτατη αντίληψη για ισορροπημένη διατροφή, καθώς και η σχεδόν άρτια ιατροφαρμακευτική περίθαλψη, ανέβασαν τόσο το επίπεδο όσο και το μέσο όρο ζωής και επομένως μείωσαν το ρυθμό των θανάτων.

Η ανάπτυξη των υδατοκαλλιεργειών σε σχέση με το σύστημα παραγωγής το οποίο εφαρμόστηκε συντέλεσε στη μεγιστοποίηση της παραγωγής, στην παραγωγή προϊόντων

αρίστης ποιότητας, στην επίτευξη της προβλεπόμενης παραγωγής στο ελάχιστο δυνατό χρονικό διάστημα με την χρησιμοποίηση της ελάχιστης δυνατής ποσότητας νερού και του χαμηλότερου δυνατού κόστους παραγωγής. Τέλος συντέλεσε, στη διατήρηση της ισορροπίας του υδάτινου περιβάλλοντος.

Οι υδατοκαλλιέργειες αποτέλεσαν έναν από τους σημαντικότερους τρόπους παραγωγής τροφίμων. Σύμφωνα με τον Παπουτσόγλου (1997), οι ποικιλόθερμοι οργανισμοί απαιτούν λιγότερη ενέργεια για διατήρηση της θερμοκρασίας του σώματός τους, αλλά και για την κίνηση τους. Σε γενικές γραμμές όταν διατρέφονται με ισορροπημένα σιτηρέσια κάτω από δυσμενείς συνθήκες περιβάλλοντος ο συντελεστής εκμετάλλευσης της τροφής (Food Conversion Rate, FCR), ήταν στο 1: 1,5. Δηλαδή για κάθε 1,5 κιλό τροφής που καταναλώνουν το 1 κιλό το κέρδιζαν σε βάρος. Οι ιχθύες χαρακτηρίστηκαν από υψηλή αποδοτικότητα πρωτεϊνικής συνθέσεως η οποία ενδεχομένως σχετίστηκε με τα υψηλά ποσά αμινοξέων που βρέθηκαν στο πλάσμα των ιχθύων. Έτσι λοιπόν, οι ιχθύες αλλά και οι υπόλοιποι υδρόβιοι οργανισμοί αποτέλεσαν 'εργοστάσια' υψηλής και μεγάλης αποδοτικότητας πρωτεϊνών, άριστης ποιότητας τροφής για τον άνθρωπο.

Οι μονάδες παραγωγής ιχθύων αποδείχθηκε ότι υπερτερούσαν με μεγάλη διαφορά έναντι των υπολοίπων μονάδων παραγωγής ζωικών προϊόντων (Εικ. 1, 2, 3). Κάτι τέτοιο οφείλονταν όχι μόνο στην παραγόμενη ποσότητα ανά μονάδα χρόνου και χώρου εκτροφής, αλλά και στο χαμηλό κόστος έναντι άλλων μορφών παραγωγής τροφίμων.

Παρόλα αυτά, θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη ότι το υδάτινο περιβάλλον δεν αποτελεί μια ανεξάντλητη πηγή παραγωγής πρωτεϊνών υψηλής βιολογικής αξίας. Για τον λόγο αυτό θα πρέπει σε κάθε περίπτωση να επιχειρείται η παραγωγή κατά τέτοιο τρόπο που να εξασφαλίζεται η διατήρηση της ισορροπίας των οικοσυστημάτων. (Παπουτσόγλου, 1997)



Εικόνα 1 Μονάδα εντατικής πάχυνσης θαλάσσιων Μεσογειακών ιχθύων στην περιοχή του διαύλου Ωρεών. ( πηγή: προσωπικό αρχείο Μαντέ 2011)

### 1.3 Παγκόσμια παραγωγή προϊόντων ιχθύων

Σύμφωνα με τον Οργανισμό Τροφίμων και Γεωργίας (Food and Agriculture Organization, FAO) η παραγωγή προϊόντων ιχθύων από μονάδες εκτροφής έχει χαρακτηριστεί ως ένας σημαντικός, αναπτυσσόμενος και δυναμικός τομέας παραγωγής τροφίμων υψηλών πρωτεϊνών. Η αναφερόμενη παγκόσμια παραγωγή ιχθύων από υδατοκαλλιέργειες, συμπεριλαμβανομένων όχι μόνο των ιχθύων, αλλά και των μαλακόστρακων, των μαλακίων και άλλων υδρόβιων οργανισμών που προορίζονται για ανθρώπινη κατανάλωση, έφθασε τους 52,5 εκατομμύρια τόνους το 2008. Για το 2009, το αντίστοιχο εκτιμώμενο ποσό ήταν 55,1 εκατομμύρια τόνους, και για το 2010 το προβλεπόμενο ποσό ήταν 57,2 εκατομμύρια τόνους. Κατά την περίοδο 1970-2008, η παραγωγή ιχθύων από υδατοκαλλιέργειες αυξήθηκε με μέσο ετήσιο ρυθμό ανάπτυξης 8,3 τοις εκατό, ενώ ο παγκόσμιος πληθυσμός αυξήθηκε με μέσο όρο 1,6 τοις εκατό ετησίως. Το συνδυασμένο αποτέλεσμα της ανάπτυξης του τομέα της υδατοκαλλιέργειας παγκοσμίως και η αύξηση του παγκόσμιου πληθυσμού είχαν ως αποτέλεσμα η μέση

ετήσια κατά κεφαλήν παροχή τροφίμων που προέρχονται από ιχθύες υδατοκαλλιέργειας προοριζόμενους για ανθρώπινη κατανάλωση να αυξηθεί κατά δέκα φορές, από 0,7 κιλά το 1970 σε 7,8 kg το 2008, κατά μέσο όρο ποσοστό των 6,6 τοις εκατό ετησίως. Το αντίστοιχο εκτιμώμενο ποσό για το 2009 ήταν 8,1 kg, και για το 2010 το προβλεπόμενο ποσό ήταν 8,3 κιλά.

Η συμβολή της υδατοκαλλιέργειας στην συνολική παραγωγή προϊόντων ιχθύων όπως παρουσιάστηκε από τον FAO (2011), αυξήθηκε από 34,5 τοις εκατό το 2006 στο 36,9 τοις εκατό το 2008. Η συνεισφορά της εκτιμήθηκε ότι αυξήθηκε σε 37,9 τοις εκατό το 2009 και προβλέπεται να αυξηθεί σε 38,9 τοις εκατό το 2010. Η υδατοκαλλιέργεια σε παγκόσμιο επίπεδο αντιπροσώπευε το 45,6 τοις εκατό της παραγωγής προϊόντων ιχθύων για την ανθρώπινη κατανάλωση το 2008, και πάνω από 42,7 τοις εκατό το 2006. Στην Κίνα, η οποία αποτέλεσε τον μεγαλύτερο παραγωγό προϊόντων υδατοκαλλιέργειας στον κόσμο, το 80,2 τοις εκατό των ιχθύων εκτροφής καταναλώθηκαν από 1,3 δισεκατομμύρια ανθρώπους το 2008, σε σχέση με το 23,6 τοις εκατό το 1970. Η υδατοκαλλιέργεια παρείχε στον υπόλοιπο κόσμο, το 26,6 τοις εκατό των παραγόμενων προϊόντων ιχθύων, έναντι του 4,8 τοις εκατό το 1970. Παρόλη την μακρά παράδοση των πρακτικών της υδατοκαλλιέργειας σε ορισμένες χώρες, ο τομέας της υδατοκαλλιέργειας σε παγκόσμιο επίπεδο είναι ένας νέος τομέας παραγωγής τροφίμων που έχει αυξηθεί ραγδαία τα τελευταία περίπου 50 χρόνια. Η παγκόσμια παραγωγή του τομέα της υδατοκαλλιέργειας αυξήθηκε σημαντικά. Πρόκειται λοιπόν, για μια αύξηση 52.500.000 τόνους το 2008, έναντι του 1 εκατ. τόνου της ετήσιας παραγωγής το 1950, αποδεικνύοντας κατά αυτόν τον τρόπο την κατά τρεις φορές αύξηση του ρυθμού παραγωγής κρέατος παγκοσμίως (2,7 τοις εκατό, από τα πουλερικά και τα ζώα μαζί) κατά την ίδια περίοδο. Σε αντίθεση με την παγκόσμια παραγωγή ιχθύων από την αλίευση, η οποία έχει σχεδόν σταματήσει να αυξάνεται από τα μέσα της δεκαετίας του 1980, ο

τομέας της υδατοκαλλιέργειας διατηρήθηκε με μέσο ετήσιο ρυθμό ανάπτυξης του 8,3 τοις εκατό σε όλο τον κόσμο (ή 6,5 τοις εκατό με εξαίρεση την Κίνα) μεταξύ των ετών 1970 και 2008. Ο ετήσιος ρυθμός αύξησης στην παγκόσμια παραγωγή της υδατοκαλλιέργειας μεταξύ 2006 και 2008 ήταν 5,3 τοις εκατό σε όγκο. Ο ρυθμός ανάπτυξης στον υπόλοιπο κόσμο (6,4 τοις εκατό) για την περίοδο 2006 - 2008 ήταν υψηλότερη από ότι για την Κίνα (4,7 τοις εκατό).

Η αξία των εξαλιεύσεων της παγκόσμιας υδατοκαλλιέργειας, πλην των υδρόβιων φυτών, είχε εκτιμηθεί σε 98.4 εκατομμύρια δολάρια ΗΠΑ το 2008. Ωστόσο, η συνολική πραγματική αξία της παραγωγής του τομέα της υδατοκαλλιέργειας, θα πρέπει να ήταν σημαντικά υψηλότερη του ποσοστού αυτού, επειδή οι τιμές των εξαλιεύσεων και της παραγωγής γόνου αλλά και της αναπαραγωγής διακοσμητικών ιχθύων δεν έχουν ακόμη εκτιμηθεί. Σε περίπτωση που στις μετρήσεις συμπεριληφθούν τα υδρόβια φυτά, η παγκόσμια παραγωγή της υδατοκαλλιέργειας για το 2008 ήταν 68,3 εκατομμύρια τόνοι, και η εκτιμώμενη αξία σε δολάρια ΗΠΑ ήταν 106 δισεκατομμύρια. (FAO, 2011)

Το 2008, παρήχθησαν δισεκατομμύρια λαύρες ιχθύων τσιπούρας (*Sparus aurata*) και λαυρακιού (*Dicentrarchus labrax*). Με την Ελλάδα, να αντιπροσωπεύει το 45% της συνολικής παραγωγής του εμπορεύσιμου μεγέθους ιχθύων, ενώ παράλληλα οι μεγαλύτερες αγορές βρίσκονταν στην Δυτική Ευρώπη με εντόπιση την Ιταλία και την Ισπανία. (Athanasopoulou & Bitchava, 2010)

Οι τομείς της αλιείας και της υδατοκαλλιέργειας έχουν καθοριστεί ζωτικής σημασίας για την παγκόσμια επισιτιστική ασφάλεια. Παρόλο, που η προσφορά ιχθύων από άγριους πληθυσμούς αλιευμάτων, παρέμεινε στάσιμη για χρόνια, η ζήτηση για ιχθύες και αλιευμένα προϊόντα συνέχισε να αυξάνεται. Επιπλέον, η κατανάλωση έχει υπερδιπλασιαστεί από το 1973. Τα αναμενόμενα οφέλη για την υγεία των καταναλωτών από τους ιχθύες και τις τεχνολογικές εξελίξεις που επιτρέπουν την αύξηση της

διαθεσιμότητας με τη μορφή ενός πιο κατάλληλου προϊόντος, το οποίο ταιριάζει με έναν εύκολο, εύπορο και πιο σύγχρονο τρόπο ζωής, είναι οι βασικοί λόγοι αύξησης της κατανάλωσης. Η συνεχώς αυξανόμενη ζήτηση για προϊόντα ιχθύων και θαλασσινών, συνέπεσε με μια ισχυρή αύξηση της παραγωγής ιχθύων από υδατοκαλλιέργειες, με εκτιμώμενο μέσο ετήσιο ρυθμό αύξησης της τάξης του 8,5 τοις εκατό σε όγκο κατά την περίοδο 1990-2005. Ως αποτέλεσμα του γεγονότος αυτού, ο εφοδιασμός με προϊόντα ιχθύων από μονάδες εκτροφής ήταν εξαιρετικής σημασίας, φθάνοντας σχεδόν το ήμισυ 47 τοις εκατό το 2008, από μόλις 8 τοις εκατό το 1970. Η τάση αυτή αναμένεται να συνεχιστεί, με τη συμβολή της υδατοκαλλιέργειας στον τομέα των τροφίμων η οποία και εκτιμάται ότι θα φθάσει το 60 τοις εκατό έως το 2020 (Πίνακας 1). (FAO, 2011)

**Πίνακας 1 Παγκόσμια Αλιεία και Ιχθυοκαλλιέργεια**

|                              | 2003             | 2004         | 2005         | 2006         | 2007         | 2008         | 2009         |
|------------------------------|------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
|                              | (Million tonnes) |              |              |              |              |              |              |
| <b>ΠΑΡΑΓΩΓΗ</b>              |                  |              |              |              |              |              |              |
| <b>Εσωτερικά ύδατα</b>       |                  |              |              |              |              |              |              |
| Αλιείυση                     | 9.0              | 8.6          | 9.4          | 9.8          | 10.0         | 10.2         | 10.1         |
| Εκτροφές                     | 25.5             | 25.2         | 26.8         | 28.7         | 30.7         | 32.9         | 35.0         |
| <b>Σύνολο</b>                | <b>34.4</b>      | <b>33.8</b>  | <b>36.2</b>  | <b>38.5</b>  | <b>40.6</b>  | <b>43.1</b>  | <b>45.1</b>  |
| <b>Θαλάσσια ύδατα</b>        |                  |              |              |              |              |              |              |
| Αλιείυση                     | 81.5             | 83.8         | 82.7         | 80.0         | 79.9         | 79.5         | 79.9         |
| Εκτροφές                     | 17.2             | 16.7         | 17.5         | 18.6         | 19.2         | 19.7         | 20.1         |
| <b>Σύνολο</b>                | <b>98.7</b>      | <b>100.5</b> | <b>100.1</b> | <b>99.6</b>  | <b>99.2</b>  | <b>99.2</b>  | <b>100.0</b> |
| <b>Σύνολα Αλιευσης</b>       | <b>90.5</b>      | <b>92.4</b>  | <b>92.1</b>  | <b>89.7</b>  | <b>89.9</b>  | <b>89.7</b>  | <b>90.0</b>  |
| <b>Σύνολα Εκτροφών</b>       | <b>42.7</b>      | <b>41.9</b>  | <b>44.3</b>  | <b>47.4</b>  | <b>49.9</b>  | <b>52.5</b>  | <b>55.1</b>  |
| <b>Σύνολο Παγκόσμιος</b>     | <b>133.2</b>     | <b>134.3</b> | <b>136.4</b> | <b>137.1</b> | <b>139.8</b> | <b>142.3</b> | <b>145.1</b> |
| <b>ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΣΗ</b>         |                  |              |              |              |              |              |              |
| Κατανάλωση απο τον άνθρωπο   | 103.4            | 104.4        | 107.3        | 110.7        | 112.7        | 115.1        | 117.8        |
| Μη τροφική χρήση             | 29.8             | 29.8         | 29.1         | 26.3         | 27.1         | 27.2         | 27.3         |
| Πλυθισμός (δισεκατομμύρια)   | 6.4              | 6.4          | 6.5          | 6.6          | 6.7          | 6.8          | 6.8          |
| Κατανάλωση κατά κεφαλήν (Kg) | 16.3             | 16.2         | 16.5         | 16.8         | 16.9         | 17.1         | 17.2         |

(πηγή: FAO 2011)

Επίσης, η χρήση των ιχθύων έχει αλλάξει σημαντικά τις τελευταίες δεκαετίες. Οι πρόοδοι στην τεχνολογία και στην εφοδιαστική αλυσίδα, ιδίως στη βελτίωση της

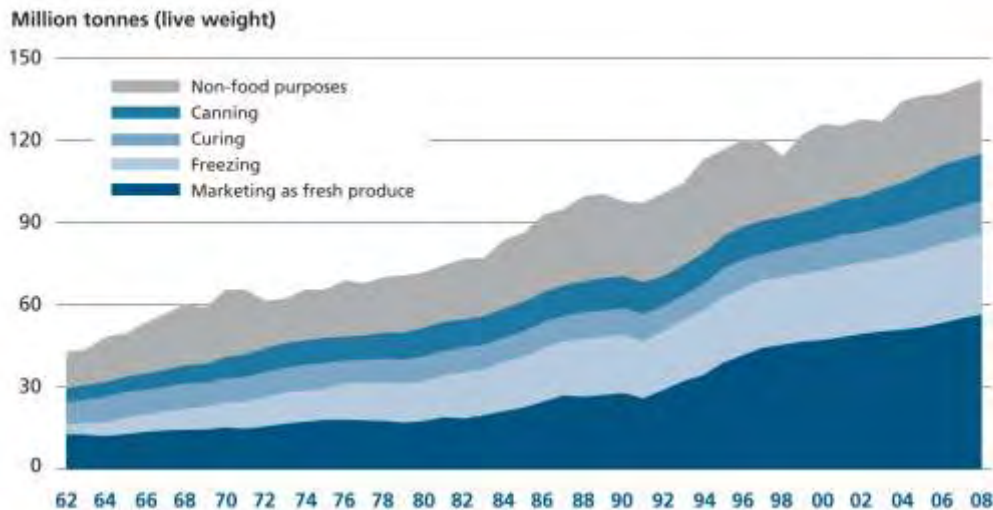


ικανότητας αποθήκευσης και επεξεργασίας, σε συνδυασμό με σημαντικές καινοτομίες στον εξοπλισμό ψύξης, στις μεταφορές, στην συσκευασία τροφίμων και της μεταποίησης ιχθύων επέτρεψαν τη διαφοροποίηση του προϊόντος. Πλέον, στα αλιευτικά σκάφη ενσωματώνονται εγκαταστάσεις επεξεργασίας ιχθύων με αποτέλεσμα να είναι σε θέση να παραμένουν στη θάλασσα για παρατεταμένα χρονικά διαστήματα. Με αυτό τον τρόπο επιτρέπουν τη διάθεση περισσότερων ιχθύων σε νωπή ή κατεψυγμένη μορφή, από τις διαθέσιμες πρώτες ύλες. Το ποσοστό των ιχθύων που διατίθενται στην αγορά ζωντανά ή φρέσκα αυξήθηκε από 25 τοις εκατό το 1980 σε περισσότερο από 39,7 τοις εκατό το 2008. Οι ποσότητες των κατεψυγμένων, των κονσερβών και επεξεργασμένων προϊόντων, παρέμειναν σχετικά σταθεροί κατά την ίδια χρονική περίοδο. Αν και οι κατεψυγμένοι ιχθύες εξακολουθούσαν να αντιπροσωπεύουν περίπου το ήμισυ του συνόλου των μεταποιημένων ιχθύων που προορίζονται για ανθρώπινη κατανάλωση όπως φαίνεται και στο διάγραμμα 1. (FAO, 2011)

Η παγκοσμιοποίηση των αλυσίδων εφοδιασμού σε ιχθύες είχε ως αποτέλεσμα μια σημαντική ποσότητα ιχθύων και θαλασσινών να αλιεύονται ή να εκτρέφονται σε ένα μέρος του κόσμου, ενώ μπορεί να μεταφέρονται για την επεξεργασία και τελικά να καταναλώνονται σε μια άλλη χώρα. Ζωτικής σημασίας παρέμειναν τα συστήματα που επέτρεψαν την πρόσβαση στην διεθνή αγορά αλλά και διασφάλισαν την ασφάλεια των τροφίμων. Μια σειρά εθνικών και διεθνών ρυθμιστικών πλαισίων έχει αναπτυχθεί αναλόγως. Οι καταναλωτές αναμένουν ότι η διατροφή τους θα είναι ασφαλής και ικανοποιητικής ποιότητας, ανεξάρτητα από το πώς αυτή έχει παραχθεί, μεταποιηθεί ή τελικά πωληθεί. Ενώ, η ασφάλεια και η ποιότητα είναι πρωταρχικής σημασίας τα συμφέροντα των καταναλωτών τείνουν να είναι ισχυρότερα όταν οι πιθανές επιπτώσεις, όπως η απειλή για την προσωπική υγεία τους είναι πιο άμεση. Επιπλέον, οι καταναλωτές στις ανεπτυγμένες χώρες ενδιαφέρονται περισσότερο για τις κοινωνικές ή

περιβαλλοντικές επιπτώσεις των τροφίμων που καταναλώνουν. Αυτή η τάση έχει αρχίσει να εμφανίζεται τόσο σε αναπτυγμένες όσο και σε αναπτυσσόμενες χώρες. Σχετικά με τους ιχθύες και τα θαλασσινά, όλο και περισσότεροι καταναλωτές ανησυχούν εάν τα αποθέματα συλλαμβάνονται κατά τρόπο που ευνοείται η αειφόρος διαχείρισή τους. Επιπλέον, υπάρχει έντονο ενδιαφέρον σχετικά με το εάν προστατεύονται τα ευρύτερα οικοσυστήματα αλλά και η ζωή των φυτών και των ζώων που τα απαρτίζουν. Τελικά, αυτή η κοινωνική ευθύνη ασκείται σε όλη την αξία της αλυσίδας, από την παραγωγή έως την διανομή. (FAO, 2011)

Η συνεχής αύξηση των εκτρεφόμενων ιχθύων και θαλασσινών δεν έχουν μειώσει την ανάγκη λήψης μέτρων για την αποκατάσταση της αλιείας και την διασφάλιση της βιωσιμότητας των άγριων αλιευτικών αποθεμάτων, αλλά και των συναφών οικοσυστημάτων. (FAO, 2011) Επιπλέον, ο τομέας της υδατοκαλλιέργειας έχει δημιουργήσει ολοένα και πιο θετική εικόνα για τους ιχθύες και τα θαλασσινά, όπως το γεγονός ότι αποτελούν πηγές υγιεινών τροφίμων. Ωστόσο, οι ανησυχίες αφορούσαν τη χρήση κτηνιατρικών φαρμάκων και τους κινδύνους από την μόλυνση με αλλοιωμένες ζωοτροφές, καθώς και άλλες περιβαλλοντικές ανησυχίες που συνδέονταν με την εκτροφή των ιχθύων. Παραδείγματος χάριν, στα θαλάσσια οικοσυστήματα τη διαφυγή εκτρεφόμενων ιχθύων σε άγρια υδρόβια περιβάλλοντα, αλλά και την καταστροφή των ριζοφόρων. (Washington & Ababouch, 2011)



Διάγραμμα 1 Αξιοποίηση παγκόσμιας παραγωγής αλιείας 1962-2008.(πηγή: FAO 2011)

## 1.4 Η Ελληνική κατάσταση του τομέα των υδρόβιων εκτροφών

### 1.4.1 Η κατάσταση του κλάδου σήμερα

Η Ελλάδα κατέχει ηγετική θέση στις εκτροφές τσιπούρας (*Sparus aurata*) και λαβρακιού (*Dicentrarchus labrax*), ενώ στους σημαντικούς παραγωγούς περιλαμβάνονται η Τουρκία, η Ισπανία και η Ιταλία. Μικρότερη είναι η παραγωγή στις Γαλλία, Πορτογαλία, Κροατία, Κύπρο, Μάλτα, Ισραήλ, Αίγυπτο, Μαρόκο και Τυνησία, ενώ νέοι παραγωγοί έχουν εμφανιστεί τα τελευταία χρόνια στις Αλβανία, Αλγερία και Λιβύη. Η συνολική παραγωγή της τσιπούρας και του λαβρακιού στις μεσογειακές χώρες έφθασε σύμφωνα με εκτιμήσεις, στους 253.000 τόνους το 2010, δηλαδή το 61% για την τσιπούρα και 39% για το λαβράκι.

Μια εκτίμηση της παραγωγής της Ελλάδας ανέρχονταν στους 123.000 τόνους το 2010 με 40.000 τόνοι λαβράκι και 83.000 τόνοι τσιπούρα. Ο μέσος ετήσιος ρυθμός μεγέθυνσης της παραγωγής ήταν της τάξης του 7,4% από το 2000 μέχρι το 2009, και αποτέλεσε το σημαντικότερο παραγωγό τσιπούρας – λαβρακιού σε διεθνές επίπεδο, με μερίδιο 48,6% επί της συνολικής παραγωγής. Η θέση της Ελλάδας στην παραγωγή

τσιπούρας ήταν ισχυρότερη, όπου συγκέντρωσε και το 54% περίπου της διεθνούς παραγωγής. Επιπλέον, αποτέλεσε το μεγαλύτερο εξαγωγέα τσιπούρας και λαβρακιού σε παγκόσμιο επίπεδο, με το σύνολο των εξαγωγών της να σημειώνει την περίοδο 2006-2009 μέσο ετήσιο ρυθμό μεγέθυνσης 11% και να φτάνει το 2009 τους 103.000 τόνους, από 75.600 τόνους το 2006. Η Τουρκία, με συνολικές εξαγωγές 21.000 τόνων το 2009, δηλαδή το 1/5 περίπου των ελληνικών εξαγωγών, κατείχε την δεύτερη θέση, και επομένως την μικρότερη δυνατότητα να επηρεάσει τις εξελίξεις στις διεθνείς αγορές. Οι ελληνικές εξαγωγές τσιπούρας και λαβρακιού στην πλειονότητά τους δηλαδή το 46% περίπου, κατευθύνονταν στην ιταλική αγορά. Οι επόμενες σε σημαντικότητα αγορές για τις ελληνικές εξαγωγές ήταν η ισπανική και η γαλλική αγορά. Έτσι λοιπόν, διαπιστώθηκε σταδιακά αύξηση του αριθμού των χωρών προορισμού της ελληνικής παραγωγής από 22 στα μέσα της δεκαετίας του 1990 σε 41 το 2009.

Στην ελληνική ιχθυοκαλλιέργεια μεσογειακών ειδών εκτιμάται, ότι το 2009 δραστηριοποιήθηκαν 117 εταιρείες και όμιλοι εταιρειών οι οποίοι και κατείχαν 328 ενεργές άδειες παραγωγής. Το σύνολο των πωλήσεων των επιχειρήσεων του κλάδου (ψαριών, γόνου, ιχθυοτροφών, εξοπλισμού) έφθασε το 2009 στα 726 εκατ., ενώ η αξία των εξαγωγών ιχθύων σύμφωνα με τα επίσημα στοιχεία της Eurostat ήταν στο ίδιο έτος 324 εκατ.

Εκτιμάται ότι η συνεισφορά της ιχθυοκαλλιέργειας στην Ελληνική οικονομία είναι ιδιαίτερα σημαντική. Η αξία εξαγωγών τσιπούρας και λαβρακιού αντιστοιχεί στο 23% της συνολικής αξίας εξαγωγών ειδών διατροφής, καθιστώντας τον κλάδο το 2<sup>ο</sup> μεγαλύτερο εξαγωγικό τομέα στα είδη διατροφής. Σε σύγκριση με το σύνολο της αξίας των ελληνικών εξαγωγών, οι ιχθυοκαλλιέργειες καταγράφουν αξιοσημείωτο μερίδιο της τάξης του 2,3% το 2009. ([http<sup>5</sup>](#))

#### 1.4.2 Προοπτικές

Το 2010 υπήρξε σχετικά καλύτερο έτος για τις μεγάλες επιχειρήσεις του κλάδου, οι οποίες επωφελήθηκαν από την αύξηση της ζήτησης στις αγορές του εξωτερικού, αντισταθμίζοντας τις απώλειες στην εγχώρια αγορά. Ωστόσο, οι πρόσφατες βελτιωμένες επιδόσεις δεν πρέπει να δημιουργούν εφησυχασμό, καθώς οι δομικές αδυναμίες, όπως η μεγάλη διάρκεια του κύκλου παραγωγής και η ελλιπής διαφοροποίηση, αλλά και οι έντονες χρηματοοικονομικές δυσκολίες (υψηλή δανειακή πίεση και υψηλά βιολογικά αποθέματα, ανεπαρκής ρευστότητα) δεν έχουν αντιμετωπιστεί επαρκώς.

Για το 2011 εκτιμάται ότι θα υπάρξει καλύτερη ισορροπία μεταξύ προσφοράς και ζήτησης, η οποία θα οδηγήσει σε βελτίωση της επίδοσης της αγοράς και καλύτερες τιμές συγκριτικά με το 2010. Παρά την αβεβαιότητα των εκτιμήσεων σχετικά με το επίπεδο των βιολογικών αποθεμάτων του κλάδου, είναι πιθανό το ενδεχόμενο η παραγωγή κατά το 2011 να υποχωρήσει ελαφρά, λόγω της έλλειψης ρευστότητας αρκετών επιχειρήσεων σε Ελλάδα και Ισπανία και της αβεβαιότητας των προοπτικών της ζήτησης σε κύριες αγορές τσιπούρας και λαβρακιού. Ο περιορισμός των βιολογικών αποθεμάτων και της ποσότητας νέων ψαριών προς ανάπτυξη, λόγω αδυναμίας χρηματοδότησης, μπορεί να οδηγήσει σε σταθεροποίηση των τιμών την επόμενη διετία σε επίπεδα υψηλότερα του κόστους παραγωγής.

Ενώ, ο κλάδος αντιμετωπίζει σοβαρές εξωγενείς απειλές, όπως το ενδεχόμενο ενίσχυσης της ανταγωνιστικής θέσης της Τουρκίας ή την ανάδυση νέων παραγωγικών χωρών με χαμηλότερο κόστος εργασίας κοντά στα μεγάλα κέντρα κατανάλωσης, συνολικά οι εξωγενώς οριζόμενες προοπτικές του είναι θετικές. Η στροφή προς τον υγιεινό τρόπο ζωής και η τάση αύξησης της κατά κεφαλήν κατανάλωσης ψαριού, σε συνδυασμό με σταθεροποίηση ή πτώση της αλιείας, προοιωνίζουν ότι οι συνθήκες που θα αντιμετωπίσει ο κλάδος στο μέλλον θα είναι ευνοϊκές. Ωστόσο, για να μπορέσει ο κλάδος

να εκμεταλλευτεί αυτές τις ευκαιρίες και πράγματι να αποτελέσει έναν από τους σημαντικούς μοχλούς ανάπτυξης της ελληνικής οικονομίας πρέπει καταρχάς να βρει τρόπο να ξεπεράσει τις παθογένειές του. (<http> <sup>5</sup>)



Εικόνα 2 Μονάδα εντατικής πάχυνσης Μεσογειακών ιχθύων. (πηγή: προσωπικό αρχείο Μαντέ 2011)

### 1.5 Κατηγορίες εκτροφής υδρόβιων οργανισμών

Σύμφωνα με την Κοινή Υπουργική Απόφαση η οποία εκδόθηκε στο πλαίσιο του ν. 2742/99 «Χωροταξικός Σχεδιασμός και Αειφόρος Ανάπτυξη & άλλες διατάξεις» (ΦΕΚ 207/Α/1999) του Υπουργείου Περιβάλλοντος Ενέργειας και Κλιματικής Αλλαγής οι υδατοκαλλιεργητικές δραστηριότητες που παρουσίασαν οικονομικό και κοινωνικό ενδιαφέρον για τη χώρα μας με βάση τα περιβαλλοντικά, χωροταξικά και αναπτυξιακά χαρακτηριστικά τους διακρίθηκαν στις ακόλουθες κατηγορίες:

- Υδατοκαλλιέργειες θαλασσινών ειδών (πλην οστρακοκαλλιεργειών)
- Οστρακοκαλλιέργειες
- Υδατοκαλλιέργειες ειδών γλυκών υδάτων
- Καλλιέργειες υδρόβιων οργανισμών σε φυσικά υφάλμυρα οικοσυστήματα (λιμνοθάλασσες και λοιποί υδάτινοι σχηματισμοί)

### 1.6 Χωροθέτηση εγκαταστάσεων ανά τύπο μονάδας εκτροφής

Σύμφωνα με το Υπουργείο Περιβάλλοντος Ενέργειας και Κλιματικής Αλλαγής, οι μονάδες εκτροφής θαλασσινών ειδών οι οποίες αφορούσαν στην εκτροφή ιχθύων, καρκινοειδών, κεφαλόποδων, φυκιών ορίστηκε ότι οι εκτροφές ιχθύων εντατικής μορφής,

πραγματοποιούνται κυρίως σε μισθωμένες θαλάσσιες εκτάσεις, με τη μέθοδο των πλωτών κλωβών. Οι μονάδες αποτελούνται, τόσο από πλωτές εγκαταστάσεις (κλωβοί – εξέδρες εργασίας, κ.λπ.) κατάλληλα αγκυροβολημένες, όσο και από σύνοδες χερσαίες υποδομές.

Το ανώτατο ποσοστό κάλυψης της μισθωμένης θαλάσσιας έκτασης με πλωτές εγκαταστάσεις, καθορίστηκε από τους ισχύοντες κανονισμούς. Η μισθωμένη έκταση σημαίνεται σύμφωνα με τις υποδείξεις του ΓΕΝ / Δ/ση Φάρων. Το ποσοστό κάλυψης της μισθωμένης θαλάσσιας έκτασης σε κάθε περίπτωση θα πρέπει να είναι τέτοιο, ώστε να επιτρέπεται η διαδικασία της υδρανάπαυσης (fallowing). ([http<sup>4</sup>](#) )

Οι σύνοδες χερσαίες υποδομές χωροθετούνται σε χερσαία έκταση εγγύς των πλωτών εγκαταστάσεων. Δε νοείται χορήγηση άδειας ίδρυσης και λειτουργίας μονάδας υδατοκαλλιέργειας, χωρίς την εξασφάλιση χερσαίας έκτασης σε εγγύς περιοχή για την εξυπηρέτηση των θαλάσσιων εγκαταστάσεων. Οι σύνοδες χερσαίες υποδομές που λόγω της φύσης και των λειτουργικών αναγκών των πλωτών μονάδων, πρέπει να χωροθετούνται σε σχετική εγγύτητα με τις θαλάσσιες εγκαταστάσεις, είναι οι παρακάτω:

- Εγκαταστάσεις ελλιμενισμού (προβλήτες, γεωτρήσεις)
- Σύστημα άντλησης θαλασσινού νερού και απορροής υδάτων
- Σύστημα όδευσης τροφών (σιλό, σωληνώσεις κ.λπ.)
- Αποθήκες
- Φυλάκια
- Χώροι φύλαξης δικτυών
- Κλίβανος αποτέφρωσης
- Χώροι παραμονής προσωπικού

Από τις ανωτέρω εγκαταστάσεις, εντός του αιγιαλού είναι δυνατόν να χωροθετηθούν αυτές του συστήματος όδευσης τροφών και άντλησης /απορροής υδάτων,

εφόσον πρόκειται για μη μόνιμες κατασκευές, καθώς και οι προβλήτες και οι γεωτρήσεις άντλησης νερού.

Όσον αφορά τις εκτροφές των λοιπών θαλασσινών ειδών (χταπόδια, καρκινοειδή κ.λπ.), συνήθως ασκούνται επί του θαλάσσιου βυθού. Ως προς τις σύνοδες χερσαίες υποδομές οι χωρικές τους ανάγκες είναι ανάλογες με αυτές των ιχθυοκαλλιεργητικών μονάδων.

Σε χερσαίες εγκαταστάσεις εντός χωμάτινων, τσιμεντένιων ή/και πλαστικών δεξαμενών, εντός ή εκτός στεγασμένου χώρου, ή σε κλειστά κυκλώματα νερού, είναι δυνατή η εκτροφή υδροβίων οργανισμών θαλασσινού ύδατος με το εντατικό, ημιεντατικό ή υπερεντατικό σύστημα. Για τις σύνοδες τους υποδομές ισχύουν τα παραπάνω. ([http<sup>4</sup>](#) )

Οι εκτροφές οστρακοειδών εντατικής μορφής πραγματοποιούνται σε μισθωμένες θαλάσσιες εκτάσεις, σύμφωνα με τις εξής μεθόδους:

- Το πλωτό σύστημα (Long line) και το πασσαλωτό σύστημα (pole) – όπως περιγράφονται στο άρθρο 3 της παρούσας
- Με κυκλικούς πλωτήρες
- Με αρθρωτού τύπου εγκαταστάσεις
- Σε κατακόρυφες στήλες με χρησιμοποίηση δίσκων, πανεριών κ.λπ.
- Καλλιέργεια στο βυθό

Οι μονάδες οστρακοκαλλιέργειας αποτελούνται από πλωτές και σύνοδες χερσαίες εγκαταστάσεις, οι οποίες στο σύνολό τους (πλην των προβλητών), όπως και στις ιχθυοκαλλιέργειες θαλασσινών ειδών, έχουν μη μόνιμο χαρακτήρα. Για τη χωροθέτηση των χερσαίων υποδομών, οι προϋποθέσεις εγκατάστασης είναι ίδιες με της ιχθυοκαλλιέργειας θαλασσινών ειδών. Κατ' εξαίρεση επιτρέπεται η διατήρηση και



επέκταση συνοδών χερσαίων υποδομών, που διατηρούν παραδοσιακές μορφές εγκαταστάσεων (π.χ. πασσαλωτοί οικίσκοι μυδοκαλλιεργητών Θερμαϊκού Κόλπου)

Σχετικά με τις μονάδες εκτροφών γλυκέων υδάτων οι οποίες στην πλειοψηφία τους αποτέλεσαν εντατικής μορφής εκτροφή αναφέρεται ότι, πραγματοποιούνται εγγύς ή εντός υδάτινων συστημάτων (πηγών, ποταμών και λιμνών), ενώ σε ορισμένες περιπτώσεις γίνεται χρήση υπόγειων υδάτων από γεωτρήσεις. Στην κατηγορία αυτή περιλαμβάνονται εκτός της εκτροφής ιχθύων και η εκτροφή караβίδων, βατράχων καθώς και η καλλιέργεια φυκιών κλπ.

Η μέθοδος εκτροφής που εφαρμόζεται είναι κυρίως με δεξαμενές (τσιμεντένιες ή χωμάτινες ή άλλου υλικού), κατάλληλα διαμορφωμένες για την παροχή και την κυκλοφορία εντός αυτών του ύδατος, αλλά και την αποχέτευσή του. Εκτροφή μπορεί να πραγματοποιηθεί επίσης σε πλωτές εγκαταστάσεις εντός λιμνών και ιδιαίτερα των φυσικών. Στις τεχνητές λίμνες, πέραν της διαφορετικής κύριας χρήσης, παρουσιάστηκαν δυσχέρειες, που οφείλονταν στη μεγάλη μεταβολή της στάθμης του ύδατος και τη μορφή του βυθού (ύπαρξη κτισμάτων, δένδρων κλπ).

Η εκάστοτε αναγκαία χερσαία έκταση καθορίστηκε από το είδος του υδρόβιου οργανισμού προς εκτροφή και από τη μέθοδο εκτροφής. Οι τιμές των παραμέτρων εκτροφής ορίστηκαν από τις ισχύουσες διατάξεις. Ειδικές κατασκευές και εξοπλισμοί απαιτήθηκαν στις περιπτώσεις εφαρμογής κλειστού κυκλώματος κυκλοφορίας του ύδατος, που αφορούσαν στη διατήρηση της υψηλής ποιότητας της επαναχρησιμοποιούμενης ποσότητας αυτού. ([http<sup>4</sup>](#))

Τη μονάδα εκτροφής αποτέλεσαν το σύστημα παροχής ύδατος, οι εγκαταστάσεις εκτροφής (δεξαμενές ή πλωτές εγκαταστάσεις), το αποχετευτικό σύστημα και οι συνοδές λοιπές εγκαταστάσεις (αποθήκες, γραφεία και κτίρια προσωπικού, ψυγεία, φυλάκιο,

μηχανοστάσιο, συνεργείο, εγκαταστάσεις διάθεσης αποβλήτων κλπ.), ενώ δύναται να υπάρχει και σταθμός παραγωγής γόνου.

Οι Λιμνοθάλασσες είναι φυσικά, ανοικτά, ευαίσθητα, παράκτια υδάτινα οικοσυστήματα, υπάγονται σε διάφορα (και διεθνή) καθεστώτα προστασίας και λειτουργούν ως μονάδες υδατοκαλλιέργειας εκτατικής μορφής. Χαρακτηρίστηκαν για τα υφάλμυρα ύδατά τους και τις ευνοϊκές συνθήκες ανάπτυξης ορισμένων υδρόβιων οργανισμών, κυρίως ευρύαλων υδρόβιων οργανισμών, που εισέρχονται σ' αυτές σε συγκεκριμένη χρονική περίοδο από την ανοικτή θάλασσα.

Οι επεμβάσεις στη γεωμορφολογία των λιμνοθαλασσών και οι κατασκευές που τις συνοδεύουν για την εκτροφή υδρόβιων οργανισμών εξαρτώνται κυρίως από την τοπογραφία της περιοχής, το βάθος, τη φύση του θαλάσσιου πυθμένα, τις κινήσεις των θαλάσσιων μαζών, το ύψος του αναπτυσσόμενου κύματος, αλλά κυρίως από το είδος του εκτρεφόμενου οργανισμού. ([http<sup>4</sup>](#))

Για την ομαλή λειτουργία των λιμνοθαλασσών, θα πρέπει να εξασφαλιστεί:

- Η διευκόλυνση της εισόδου των ιχθυδίων στη λιμνοθάλασσα
- Η προστασία των ιχθυδίων από τους θηρευτές τους
- Η ικανοποίηση των βιολογικών απαιτήσεων των εκτρεφόμενων ψαριών
- Η άνετη σύλληψή τους, στην προσπάθεια εξόδου τους από τη λιμνοθάλασσα

Οι απαραίτητες επεμβάσεις απαιτούν, επομένως, κατασκευές για:

- Την είσοδο του γόνου
- Την δημιουργία νηπιακών περιοχών (τάφροι προπάχυνσης γόνου) για την προστασία των εισερχομένων ιχθυδίων

- Τη βελτίωση των συνθηκών εκτροφής (κανάλια κυκλοφορίας νερού, τάφροι διαχείμασης).
- Την εξάλειψη σε ιχθυοσυλληπτικές εγκαταστάσεις, που λειτουργούν και ως διαλογείς των συλλαμβανόμενων ιχθύων ανάλογα με το μέγεθός τους.

Στις βασικές κατασκευές και επεμβάσεις, οι οποίες ήταν απαραίτητες για την άσκηση της υδατοκαλλιεργητικής δραστηριότητας, θα πρέπει να συμπεριληφθούν και τα βοηθητικά κτίσματα, που έχουν στόχο την εξυγίανση του παραγόμενου προϊόντος και τη διαφύλαξη της υγείας του καταναλωτή, τη διακίνηση και εμπορία του τελικού προϊόντος και τα κτίσματα που προορίζονται για την παραμονή του προσωπικού και τη φύλαξη των εγκαταστάσεων, οι οποίες χωροθετούνται όπου επιτρέπεται από το καθεστώς προστασίας. Σύμφωνα με την ισχύουσα νομοθεσία η διαχείριση των λιμνοθαλασσών ανατίθεται κατά προτεραιότητα σε αλιευτικούς Συνεταιρισμούς της περιοχής.

Σε κάθε περίπτωση οι αναπτυξιακές προοπτικές τους αφορούσαν κυρίως την αξιοποίηση των ιδιαίτερων οικολογικών και περιβαλλοντικών χαρακτηριστικών τους, έτσι ώστε σε συνδυασμό με την υδατοκαλλιεργητική δραστηριότητα να υπάρξει δυνατότητα παράλληλης ανάπτυξης εναλλακτικού τουρισμού (αλιευτικός τουρισμός – ιχθυοτουρισμός), σύμφωνα και με τυχόν καθεστώς προστασίας που τις διέπει. ([http<sup>4</sup>](http://) )



Εικόνα 3 Μονάδα εντατικής πάχυνσης θαλάσσιων Μεσογειακών ιχθύων ( πηγή: προσωπικό αρχείο Μαντέ 2011)

### 1.7 Η δική μας έρευνα

Ο σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας ήταν η πραγματοποίηση έρευνας η οποία αφορούσε σε ένα νέο εκτρεφόμενο μεσογειακό είδος ιχθύος το μυλοκόπι (*Umbrina cirrosa*). Η εν λόγω εργασία είχε χρονική διάρκεια ενός έτους κατά την οποία και πραγματοποιήθηκαν εργαστηριακές εξετάσεις. Πραγματοποιήθηκαν συνολικά τρεις δειγματοληψίες, από πειραματική ομάδα εκτρεφόμενων ιχθύων, σε μονάδα εκτροφής στην περιοχή του δίαυλου Ωρεών. Όλες οι εργαστηριακές εξετάσεις πραγματοποιήθηκαν στο εργαστήριο Ιχθυολογίας - Ιχθυοπαθολογίας του τμήματος Κτηνιατρικής, του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, στην Καρδίτσα, στα πλαίσια της διπλωματικής αυτής εργασίας.

## Κεφάλαιο 2<sup>ο</sup>

### Ζωοτεχνικά στοιχεία νέων ειδών ιχθύων σε Ελληνικές Μονάδες Εκτροφής

#### 2.1 Νέα εκτρεφόμενα είδη

Σύμφωνα με τον Ballarin και τους συν. (2004), οι μονάδες εκτροφής ιχθύων κατά κύριο λόγο έχουν εστιάσει στην παραγωγή δύο ειδών στην Τσιπούρα (*Sparus aurata*) και στο Λαβράκι (*Dicentrarchus labrax*). Και τα δύο είδη χαρακτηρίζονται από χειμερινή αναπαραγωγή, έχουν εκτραφεί και αναπαραχθεί κάτω από συνθήκες αιχμαλωσίας σύμφωνα με τις συνθήκες ορθής πρακτικής. Ωστόσο, η προοδευτική μείωση της εμπορικής τους αξίας εξαιτίας της άφθονης παραγωγής τους οδήγησε τους παραγωγούς στο να στραφούν στην εναλλακτική εκτροφή αυτόχθονων ειδών.

Για την πραγματοποίηση των εναλλακτικών εκτροφών τα νέα είδη θα πρέπει να έχουν υιοθετήσει καλή ικανότητα αιχμαλωσίας και θα πρέπει να αναπαράγονται κατά την θερινή περίοδο έτσι ώστε, να μην εμπλέκονται με την αναπαραγωγή της τσιπούρας και του λαυρακιού. Τα τελευταία χρόνια για την επίτευξη του παραπάνω στόχου το είδος μυλοκόπι (*Umbrina cirrosa*) φάνηκε να αποτελεί ένα κατάλληλο είδος για εκτροφή (Εικ.4). Για παράδειγμα, βρέθηκε ότι αναπαράγεται νωρίς το καλοκαίρι, διαθέτει υψηλή εμπορική αξία, μεγαλώνει γρήγορα και εύκολα μπορεί να προσαρμοστεί στην τεχνητή διατροφή. (Ballarin *et al.*, 2004)

Κατά την ταξινόμηση του βρέθηκε ότι ανήκει στην κλάση των Οστειχθύων, τάξη των Perciformes, υπόταξη Percoidae, οικογένεια των Scianidae, γένος *Umbrina*, είδος *Umbrina cirrosa* ([http<sup>1</sup>](http)).

Έχει ενταχθεί στους μεσογειακούς ιχθύες διαθέτει την επιστημονική ονομασία *Umbrina cirrosa*, βρέθηκε ότι ανήκει στους τελεόστεους βενθοπελαγικούς ιχθύες, οι

οποίοι κατοικούσαν σε αμμώδεις και βραχώδεις πυθμένες θαλάσσιων αλλά και υφάλμυρων παράκτιων περιοχών. Κατανέμεται ευρέως στην περιοχή της Μεσογείου και της Μαύρης Θάλασσας, αλλά και στον Ανατολικό Ατλαντικό, από το Βискаϊκό Κόλπο και το Γιβραλτάρ έως το νότιο Μαρόκο.

Η αναπαραγωγική τους περίοδος έχει βρεθεί από τον Koumoundouros και τους συν. (2005), ότι εκτείνεται από την άνοιξη έως το καλοκαίρι, σε θερμοκρασίες νερού μεταξύ 17<sup>0</sup> και 28<sup>0</sup> C. Στη φύση, το μυλοκόπι τρέφεται με βενθικούς ασπόνδυλους οργανισμούς. Το μυλοκόπι έχει θεωρηθεί ως ένα πολλά υποσχόμενο υποψήφιο είδος για την υδατοκαλλιέργεια στην περιοχή της Μεσόγειου λόγω του υψηλού ρυθμού ανάπτυξής του αλλά και της καλής προσαρμοστικότητας σε συνθήκες εκτροφής.

Οι έρευνες που έχουν πραγματοποιηθεί είχαν ως στόχο την αναπαραγωγική συμπεριφορά των ιχθύων, την παθολογία, τον ρυθμό αύξησης των λαρβών και των ιχθυδίων. Στην πράξη, το εμβρυϊκό στάδιο ανάπτυξης στο εκκολαπτήριο αποτέλεσε και την πιο κρίσιμη φάση για την επιτυχή παραγωγή ενός είδους. Επιπλέον, η κατανόηση των βασικών λειτουργιών της οντογένεσης αποτέλεσε και την βασική γνώση για την κατάλληλη προσαρμογή των τεχνικών του εκκολαπτηρίου σε κάθε νέο είδος, οι προτιμήσεις του οποίου, παρέμειναν άγνωστες. (Koumoundouros *et al.*, 2005)

Το ευρύαλο είδος μυλοκόπι (*Umbrina cirrosa*), όπως αναφέρθηκε από τον Zaiss και τους συν. (2006), έφτασε το μέσο βάρος των 700gr σε 15 μήνες, το οποίο και αποτέλεσε το διπλάσιο προσκτώμενο βάρος σε σχέση με το λαυράκι και την τσιπούρα για την ίδια χρονική περίοδο. Επιπλέον, το εν λόγω είδος δεν εκδήλωσε κατά την διάρκεια της εκτροφής διάθεση για κανιβαλισμό. Επιπλέον, κατέδειξαν την ύπαρξη πιθανότητας απογαλακτισμού απευθείας από τα rotifers (*Brachionus plicatilis*) στην τεχνητή τροφή, χωρίς την ύπαρξη άμεσης ανάγκης για χορήγηση ναυπλίων *Artemia* spp. Κατά αυτόν τον

τρόπο μπορεί να εξοικονομηθεί σημαντικά το κόστος παραγωγής ζωντανής τροφής φτάνοντας το 50 τοις εκατό.

Προκειμένου, να επιτευχθεί η διάδοση νέων ειδών, σύμφωνα με τον Zaiss και τους συν. (2006), η νυμφική καλλιέργεια αποτέλεσε ένα σημαντικό πρόβλημα. Κατά τη διάρκεια αυτής της περιόδου, η μετάβαση από την ενδογενή στην εξωγενή διατροφή και ο απογαλακτισμός με τεχνητή διατροφή έχει χαρακτηριστεί από υψηλά ποσοστά θνησιμότητας, τα οποία συχνά συνδέονταν με την ανεπαρκή σύνθεση των τροφών. Σε αυτό το στάδιο το πεπτικό σύστημα ήταν αδιαφοροποίητο, με χαμηλή δραστηριότητα σε πεπτικά ένζυμα, με αποτέλεσμα την γρήγορη εκκένωση των πεπτώμενων τροφίμων. Η ιστολογική και βιοχημική περιγραφή της οντογένεσης του πεπτικού συστήματος παρείχε σημαντικές πληροφορίες για την δημιουργία φυσιολογικά ορθών μεθόδων εκτροφής βελτιώνοντας την εμπορική εκτροφή του νυμφικού σταδίου. Ως εκ τούτου, διάφορες μελέτες έχουν πραγματοποιηθεί τα τελευταία χρόνια, σε μια προσπάθεια να διερευνηθεί το πεπτικό σύστημα των προνυμφών των ιχθύων.



Εικόνα 4 Εικόνα του νέου εκτρεφόμενου Μεσογειακού είδος μυλοκόπι (*Umbra cirrosa*) .(πηγή:<http><sup>2</sup>)

Παρά τις δυνατότητες του μυλοκοπίου (*Umbrina cirrosa*) για εκτροφή έχουν πραγματοποιηθεί λίγες μόνο μελέτες σχετικά με τη βιολογία τους, ενώ οι περισσότερες επικεντρώθηκαν κυρίως στην αναπαραγωγή του. Προκειμένου να ενισχυθεί η επιτυχία της εκτροφής των προνυμφών του μυλοκοπίου (*Umbrina cirrosa*), εκδηλώθηκε η ανάγκη για περιγραφή και κατανόηση της οντογένεση του πεπτικού συστήματος. Η ανάπτυξη των σύγχρονων τεχνικών εκτροφής, είχε ως αποτέλεσμα την μείωση των κύριων προβλημάτων που είχε να αντιμετωπίσει η εντατική υδατοκαλλιέργεια, όπως υψηλή θνησιμότητα και χαμηλή ανάπτυξη. (Zaiss *et al.*, 2006)

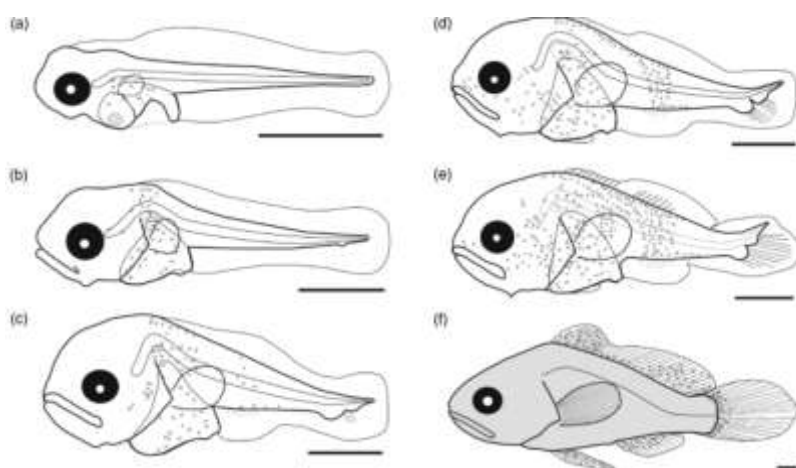
## 2.2 Οντογένεση ιχθυδίων μυλοκοπίου (*Umbrina cirrosa*)

Σύμφωνα με τον Koumoundouros και τους συν. (2005), τα μυλοκόπια (*Umbrina cirrosa*) κατά το στάδιο της ανάπτυξης των λαρβών, συγκρινόμενα με τα Μεσογειακά εκτρεφόμενα είδη της τσιπούρας (*Sparus aurata*) και του λαυρακιού (*Dicentrarchus labrax*) χαρακτηρίστηκαν από την ύπαρξη ογκώδους κεφαλής και κοιλιακής χώρας. Επιπλέον, διέθεταν μια μετακρανιακή κάμψη της νοτοχορδής. Τα παραπάνω χαρακτηριστικά των λαρβών σχετίστηκαν άμεσα με την ικανότητα των λαρβών να συλλάβουν το θήραμα τους. Με την παραπάνω παρατήρηση προασπίστηκε η γρήγορη μετάβαση στο στάδιο της ζωντανής τροφής από τα rotifer στην Artemia, σε σύγκριση με την τσιπούρα (*Sparus aurata*) και το λαυράκι (*Dicentrarchus labrax*).

Η κάμψη της νοτοχορδής όπως φαίνεται στην εικόνα 5, αποδείχτηκε ότι ήταν ένα φυσιολογικό χαρακτηριστικό για τα μυλοκόπια (*Umbrina cirrosa*) καθώς μετά την εκτέλεση του ραδιογράμματος δεν βρέθηκαν σχετικές παραμορφώσεις. Ως εκ τούτου, η κάμψη της νοτοχορδής δεν πρέπει να συγχέεται με την κύφωση της σπονδυλικής στήλης, η οποία αποτέλεσε μια συχνή σπονδυλική παραμόρφωση για τα υπόλοιπα εκτρεφόμενα είδη. (Koumoundouros *et al.*, 2005)



Σε σύγκριση με τα υπόλοιπα Μεσογειακά εκτρεφόμενα είδη όπως αναφέρεται από τον Zaiss και τους συν. (2006), το μυλοκόπι (*Umbrina cirrosa*) άνοιξε το στόμα του στις τρεις βαθμομημέρες. Πιθανόν το γεγονός αυτό να σχετίστηκε με την καλοκαιρινή περίοδο αναπαραγωγής του είδους κατά την οποία η θερμοκρασία βρίσκονταν στους 25°C. Σε παλαιότερες μελέτες καταδείχθηκε ότι η πλήρης απορρόφηση του λεκιθικού σάκου πραγματοποιήθηκε ταυτόχρονα με τον σχηματισμό του στόματος των λαρβών. Κάτι τέτοιο ήρθε σε αντίθεση με τις πιο πρόσφατες μελέτες στις οποίες και διαπιστώθηκε η πλήρης απορρόφηση του λεκιθικού σάκου μετά την παρέλευση 7 βαθμομερών. Με αποτέλεσμα να καταδεικνύεται μια μακρά περίοδος κατά την οποία οι λάρβες διατρέφονταν με ενδογενή και εξωγενή τροφή. Η διαφορά που προέκυψε ανάμεσα στις δύο μελέτες θα μπορούσε να εξηγηθεί εν μέρει από τα διαφορετικά πρωτόκολλα νυμφικής εκτροφής που έχουν χρησιμοποιηθεί.



Εικόνα 5 Τα στάδια της οντογένεσης του μυλοκοπίου (*Umbrina cirrosa*), α) 2,9mm συνολικό μήκος, β) 4,1mm, γ) 4,5mm, δ) 5,4mm, ε) 5,9mm, στ) 17,4mm. (πηγή: Koumoundouros *et al.*, 2005)

Κατά την επώαση το πεπτικό σύστημα του μυλοκοπίου (*Umbrina cirrosa*) παρέμεινε αδιαφοροποίητο και σε στενή επαφή κατά τον επιμήκη άξονα με τον λεκιθικό σάκο, όπως ακριβώς έχει παρατηρηθεί και στα υπόλοιπα εκτρεφόμενα είδη. Ο οισοφάγος,

ο αρχικά σχηματιζόμενος στόμαχος και το έντερο εντοπίστηκαν κατά την τρίτη βαθμοημέρα. Σε αυτό το πρώιμο στάδιο ανάπτυξης, ο οισοφάγος των ευρύαλων ιχθύων βρέθηκε ότι παίζει μεγάλο ρόλο στην οσμωρρύθμιση, πριν ακόμη την πλήρη ανάπτυξη του πεπτικού συστήματος και του νεφρού. Ως εκ τούτου, η πρώιμη διαφοροποίηση του οισοφάγου των λαρβών μυλοκοπίου θα μπορούσε να σχετίζεται με την διατήρηση της ισορροπίας άλατος και ύδωρ στους ευρύαλους ιχθύες. Κατά την ίδια χρονική περίοδο η ειλεϊκή βαλβίδα του ορθού διαχώρισε το πεπτικό σύστημα των λαρβών σε πρόσθια και οπίσθια μοίρα. Η ειλεϊκή βαλβίδα του ορθού βρέθηκε ότι διατηρούσε τα πεπτικά ένζυμα στην πρόσθια μοίρα του εντέρου για να επαναχρησιμοποιηθούν στα πρώιμα στάδια των προνυμφών. Ο διαχωρισμός του εντέρου στο μυλοκόπι έδειξε ότι η διαφοροποίηση του πεπτικού σωλήνα στο εν λόγω είδος εξελίχτηκε πιο γρήγορα από οποιοδήποτε άλλο είδος. (Zaiss *et al.*, 2006)

Σύμφωνα με τον Zaiss και τους συν. (2006), η εκκρινόμενη βλέννα από τα κυπελοειδή κύτταρα χρησίμευσε στην προστασία του βλεννογόνου από παράσιτα, χημικές ουσίες, υπέρτονα μέσα, την οξύτητα, αλλά και για την παροχή λίπανσης για την κατάποση της τροφής. Τα πρώτα κυπελοειδή κύτταρα εμφανίστηκαν στον οισοφάγο την έβδομη ημέρα. Επίσης, οξειδία βλεννίνης βρέθηκαν ότι αφθονούσαν στην πρόσθια μοίρα του εντέρου μετά την παρέλευση της έβδομης βαθμοημέρας. Κατά την διάρκεια αυτή βρέθηκε ότι πραγματοποιήθηκε πέψη των πρωτεϊνών και εγκλωβισμός των βακτηρίων, κάτι που ενισχύει την άποψη ότι διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην ενίσχυση της τοπικής ανοσίας.

Η ανάπτυξη των γαστρικών αδένων στο στομάχι αποτέλεσε προϋπόθεση για την εξωκυτταρική πέψη, καθώς εκκρίνουν HCL και πεπτικά ένζυμα, όπως η πεψίνη. Η αλλαγή από την ενδοκυττάρια πέψη, με ενεργοποίηση της πέψης στον εξωκυττάριο αυλό αποτέλεσε απαραίτητη προϋπόθεση για την πραγματοποίηση πολύπλοκων διαδικασιών

στο πεπτικό, όπως η πέψη των πρωτεϊνών. Κάτι τέτοιο είχε ως αποτέλεσμα την αφομοίωση περισσότερης τροφής για την κάλυψη της αυξανόμενης ενεργειακής ζήτησης της αναπτυσσόμενης προνύμφης. Η δημιουργία του στομάχου των προνυμφών μπορούσε να διακριθεί περίπου από την τέταρτη βαθμομημέρα. Οι πρώτοι αδένες του στομάχου εμφανίστηκαν στις εννιά βαθμομημέρες.

Στους περισσότερους εξεταζόμενους τελεόστεους ιχθύες όπως αναφέρουν ο Zaiss και οι συν. (2006), η πλήρης διαφοροποίηση του στομάχου πραγματοποιήθηκε μετά το πέρας αρκετών εβδομάδων από την έναρξη λήψης εξωγενούς τροφής. Η εμφάνιση των γαστρικών αδένων δεν συνεπάγει και την πλήρη λειτουργία τους στο στάδιο αυτό. Τα πυλωρικά τυφλά στους ιχθύες αποτέλεσαν περιοχές σχήματος σάκου τα οποία διακλαδώθηκαν από την πρόσθια μοίρα του εντέρου αμέσως μετά το στομάχι. Τα πυλωρικά τυφλά χρησιμεύουν στην αύξηση της επιφάνειας του εντέρου για την απορρόφηση θρεπτικών συστατικών. Είναι γενικά παραδεκτό ότι η εμφάνιση των πυλωρικών τυφλών προσδιόρισε την μετάβαση από το στάδιο της λάρβας στο στάδιο του ιχθυδίου.

Ταυτόχρονα με την εμφάνιση των φαρυγγικών δοντιών και των στομαχικών αδένων, η θέση του στόματος των προνυμφών του μυλοκοπίου (*Umbrina cirrosa*) άρχισε να μετακινείται σταδιακά από την αρχική του θέση εντόπισης και σταθεροποιήθηκε κατά το τέλος της νυμφικής εκτροφής. Για το σκοπό αυτό, χρησιμοποιήθηκε γεωμετρική μορφομετρική ανάλυση σε προνύμφες, η οποία αποκάλυψε την μετατόπιση του στόματος υποτελικά στις δεκατρείς βαθμομημέρες. (Zaiss *et al.*, 2006)

Η αλλαγή στην θέση του στόματος των προνυμφών συνδέθηκε με αλλαγές στη συμπεριφορά τους. Για παράδειγμα, κατά την πρώτη εβδομάδα της ζωής τους τα μυλοκόπια (*Umbrina cirrosa*) κατανεμήθηκαν στην στήλη νερού από την μέση και άνω, όπου και εντοπίστηκε το μεγαλύτερο μέρος των ζωοπλαγκτονικών οργανισμών.

Καθώς το στόμα κινήθηκε με υποτελική κατεύθυνση, οι προνύμφες των μυλοκοπίων απέκτησαν μια πιο βενθική διανομή, με αποτέλεσμα την εντόπισή τους στο κάτω μέρος και κοντά στα τοιχώματα των δεξαμενών. Οι πληροφορίες αυτές χαρακτηρίστηκαν μεγάλης αξίας στην εντατική εκτροφή των προνυμφών του μυλοκοπίου, έτσι ώστε οι μέθοδοι εκτροφής, ο τύπος και η διάθεση των ζωοτροφών να ρυθμιστούν σύμφωνα με το αναπτυξιακό στάδιο της προνύμφης.

Εν κατακλείδι, η ιστολογική διαφοροποίηση του πεπτικού συστήματος των προνυμφών του μυλοκοπίου (*Umbrina cirrosa*) προχώρησε πιο γρήγορα από οποιοδήποτε άλλο εκτρεφόμενο Μεσογειακό ιχθύ. Η εμφάνιση των γαστρικών αδένων και η ταυτόχρονη μείωση των γιγαντοπυρηνικών σωμάτων των απορροφητικών κύτταρων της οπίσθιας μοίρας του εντέρου, κατέδειξαν μια βελτιωμένη εξωκυτταρική πέψη των πρωτεϊνών μετά από την ένατη βαθμοημέρα. Αυτά τα ευρήματα απέδειξαν την ικανότητα των προνυμφών του μυλοκοπίου (*Umbrina cirrosa*) να απογαλακτιστούν με τεχνητή διατροφή πολύ νωρίτερα από ότι άλλα είδη. Σε περαιτέρω έρευνα για την οντογένεση του πεπτικού συστήματος θα πρέπει να περιλαμβάνονται μελέτες για τα πεπτικά ένζυμα. (Zaiss *et al.*, 2006)

### **2.3 Η Αναπαραγωγή στο μυλοκόπι (*Umbrina cirrosa*)**

Για την πρόκληση φωτοκίας στους θαλασσινούς ιχθύες σύμφωνα με τον Barbaro και τους συν. (2002), έχουν γίνει αρκετές προσπάθειες, όπως και για την επιτυχή αποθήκευση των συνθετικών ουσιών του αγωνιστή της απελευθερωτικής ορμόνης γοναδοτροπίνης (GnRH<sub>a</sub>), προκειμένου να αυξηθεί η βιοδιαθεσιμότητα και η αποτελεσματικότητά τους. Σε αυτές περιλήφθησαν σφαιρίδια χοληστερόλης, εμφυτεύματα χοληστερόλης-κυτταρίνης, μονά διαφράγματα ημισφαιρικών συσκευών επικαλυμμένα με συμπολυμερές αιθυλενίου-βινυλίου, βιοαποικοδομήσιμα πολύ- και μικροσφαιρίδια

αλλά και μικροκάψουλες. Στα πιο πρόσφατα είδη ιχθύων που τους χορηγήθηκαν εμφυτεύματα, ανήκουν το μπαρμπούνι (*Mugil cephalus*), το μπαραμούντι (*Lates calcarifer*), τσιπούρα (*Sparus Aurata*), λαβράκι (*Dicentrarchus labrax*).

Στην οικογένεια των Sciaenidae, έχουν χορηγηθεί βραχείας δράσης GnRHα σε ελεύθερη μορφή (GnRHα-S), είτε με ενδομυϊκή ένεση είτε από του στόματος για την πρόκληση ωοτοκίας στο είδος red drum (*Sciaenops ocellatus*), το οποίο και εντοπίζεται στο νότιο Ατλαντικό, στον Κόλπο των Ηνωμένων Πολιτειών και στην Κεντρική Αμερική. Ενώ, η μακράς δράσης GnRHα (GnRHα-L) δεν έχει ακόμη εφαρμοστεί στην *S. ocellatus*, ή σε άλλα μεσογειακά Sciaenids, όπως στο συκίο (*Sciaena umbra*), και στο Canary drum (*Umbrina canariensis*) στα οποία έχει επιχειρηθεί ένας πειραματικός έλεγχος της αναπαραγωγής. (Barbaro *et al.*, 2002)

Προκαταρκτικές δοκιμές με χορήγηση GnRHα-S στο μυλοκόπι (*Umbrina cirrosa*), οδήγησαν τον Barbaro και τους συν. (2002), στην διαπίστωση ότι υπήρξε χαμηλή ή μέτρια απελευθέρωση ωαρίων. Ωστόσο, μία δοκιμή με GnRHα-L, έδωσε ένα πολύ μεγαλύτερο ποσοστό ανάπτυξης εμβρύων. Ως εκ τούτου, θεωρήθηκε ότι άξιζε τον κόπο να διερευνηθούν περαιτέρω οι σχετικές συνέπειες από την εφαρμογή θεραπειών από τα GnRHα-S και GnRHα-L για την πρόκληση ωοτοκίας, σε αρκετά αποθέματα άγριων γεννητόρων μυλοκοπίων τα οποία φυλάσσονται σε διαφορετικά εμπορικά εκκολαπτήρια.

Η βιοδιαθεσιμότητα της GnRHα αλλά και η βιοδραστικότητα της στο να επάγουν την ωοτοκία των ιχθύων κατά το στάδιο της αιχμαλωσίας επηρεάστηκε σημαντικά από τον τύπο του μέσου μεταφοράς. Για παράδειγμα, στην τσιπούρα η χορήγηση GnRHα με αλατούχο διάλυμα εξαφανίστηκε από το πλάσμα του αίματος μέσα σε λίγες ώρες. Λαμβάνοντας υπόψη, ότι η GnRHα απελευθερώνεται από μικροέγκλειστα μια προετοιμασία η οποία μπορεί να διαρκέσει για τουλάχιστον 2 εβδομάδες και την πρόσληψη μεγαλύτερου αριθμού των αναπαραγωγικών ιχθύων με πολλαπλούς κύκλους

της ωοτοκίας. Σε *in vitro*, μελέτες δείχτηκε ότι μια σημαντική ποσότητα, της τάξης του 8,8% του GnRHα διαχέεται από βιοδιασπώμενα μικροσφαιρίδια μέσα σε λίγες ώρες μετά την εμφύτευση. Η χορήγηση ενέσιμης GnRHα- σε μικροσφαιρίδια στο είδος striped bass, αποκάλυψε μια αρχική έκρηξη στην κυκλοφορία του αίματος σε GnRHα μέσα στις πρώτες 24 ώρες μετά από την εφαρμογή της θεραπείας. Στη συνέχεια, ακολουθήθηκε από μια σταθερή πτώση με την πάροδο μιας περιόδου 8 εβδομάδων. Ως εκ τούτου, τα πολυμερή συστήματα χορήγησης αναμένεται να εξασφαλίσουν τόσο ταχεία όσο και συνεχή διέγερση της έκκρισης των γοναδοτροπινών. (Barbaro *et al.*, 2002)

Ως εκ τούτου, θεραπείες με GnRHα-L όπως διαπιστώθηκε από τον Barbaro και τους συν. (2002), προκλήθηκε ωρίμανση των αυγών των τελεόστεων ιχθύων η οποία χαρακτηρίστηκε από σύγχρονη ανάπτυξη των ωοθηκών και την εκδήλωση μιας ωορρηξίας το χρόνο, όπως συνέβη με το Ευρωπαϊκό λαβράκι και το striped bass. Καθώς και ασύγχρονη ανάπτυξη των ωοθηκών με την εκδήλωση πολλαπλής ωοτοκίας, όπως συνέβη με το barramundi, την τσιπούρα και το Αμερικανικό shad. Η εκδήλωση της άμεσης ωορρηξίας ειδικά στα είδη εκείνα που εμφάνισαν έναν μόνο κύκλο, πιθανώς να βασίστηκε στην άμεση και παρατεταμένη αποδέσμευση της GnRHα από την βιοδιασπώμενη μήτρα της. Αντίθετα, η συντήρηση της διαδοχικής ωοτοκίας, φάνηκε να εξαρτάται από σταθερά επίπεδα των κυκλοφορούντων GnRHα, όπως υποδεικνύεται από την απώλεια του ελέγχου χρονισμού της ωοτοκίας στην τσιπούρα.

Με την διαπίστωση ότι η GnRHα-L είναι αποτελεσματική σε ιχθύες με αντίθετες αναπαραγωγικές στρατηγικές, δεν αποτέλεσε έκπληξη το ότι βρέθηκε ότι ήταν κατάλληλη για την επαγωγή της ωοτοκίας στο μυλοκόπι (*Umbrina cirrosa*). Πρόκειται για έναν τελεόστεο ενδιάμεσης κατηγορίας, το οποίο εντάχθηκε στην ομάδα της σύγχρονης ανάπτυξης ωοθηκών και αναπαραγωγής. Το γεγονός αυτό ήταν σημαντικό λόγω του ότι το εν λόγω είδος ήταν απρόθυμο να αναπαραχθεί αυθόρμητα σε συνθήκες αιχμαλωσίας.

Ωστόσο, απορίας άξιο αποτέλεσε το γεγονός ότι η GnRH<sub>a</sub>-L απέδωσε συνολικά, πολύ περισσότερα αυγά με την πρόκληση ωορρηξίας και την ανάπτυξη εμβρύων σε βραχυπρόθεσμη βάση, δηλαδή μέσα σε 25 με 53 ώρες από ότι οι θεραπείες με GnRH<sub>a</sub>-S. Προφανώς, η χαμηλή ανταπόκριση η οποία προκλήθηκε με την χορήγηση 5-10 μg/Kg GnRH<sub>a</sub>-S, δεν μπορούσε να αποδοθεί στην ανεπαρκή δοσολογία, διότι δεν παρατηρήθηκε καμία βελτίωση ακόμη και με την αύξηση της δόσης έως 20 μg/Kg GnRH<sub>a</sub>-S. Από την άλλη πλευρά, η θεραπεία με 40 μg/kg GnRH<sub>a</sub>-L παρήγαγε εν γένει πολύ καλύτερα αποτελέσματα. (Barbaro *et al.*, 2002)

Σύμφωνα με τον Barbaro και τους συν. (2002), μια τέτοια διαφορά μπορεί να οφείλονταν στην ανόμοια κινητική των κυκλοφορούντων GnRH<sub>a</sub>. Στην περίπτωση των GnRH<sub>a</sub>-S, η μέγιστη συγκέντρωση μειώθηκε πολύ γρήγορα, περιορίζοντας έτσι τον αριθμό των ανταποκρινόμενων ωοθυλακίων. Αντίθετα, η GnRH<sub>a</sub>-L δημιουργήθηκε πιο αργά ενώ μειώθηκε σταδιακά, παρέχοντας έτσι επαρκή διέγερση σε πιο προωορρηκτικά ωοθυλάκια.

Η εμφάνιση καλών παρτίδων αυγών με τη συνήθη μορφολογία αλλά μάλλον με χαμηλά ποσοστά γονιμοποίησης μετά από χορήγηση GnRH<sub>a</sub>-L σε θερμοκρασίες άνω των 26°C μπορεί να αποδοθεί στο γεγονός ότι το μυλοκόπι εμφάνισε θερμική προτίμηση για την αναπαραγωγή του. Στην πραγματικότητα, οι υψηλές θερμοκρασίες του νερού σε πειραματικά εκκολαπτήρια εμφανίστηκαν στο τέλος της περιόδου αναπαραγωγής (Ιούλιος), κατά την οποία η κινητικότητα του σπέρματος ήταν μειωμένη. Επιπλέον, ο Barbaro και οι συν. (2002), κατέληξαν ότι η εκκόλαψη επιταχύνεται με την αύξηση της θερμοκρασίας του νερού (17 ώρες στους 28°C έναντι των 21 ωρών στους 25°C), ενώ η επιβίωση των προνυμφών 24 ώρες μετά την εκκόλαψη μειώθηκε δραστικά από 8% στους 28°C έναντι 82% στο 23- 25°C.

Τα πρόσφατα δεδομένα στην αναπαραγωγική απόδοση του μυλοκοπίου (*Umbrina cirrosa*) όπως τα παρουσίασαν ο Barbaro και οι συν. (2002), αποκάλυψαν ότι η θεραπεία με GnRH<sub>a</sub>-L ήταν προτιμότερη σε σχέση με την χορήγηση του GnRH<sub>a</sub>-S. Επειδή, επέτρεψε την εκδήλωση ωοτοκίας κατά την πιο ευνοϊκή αναπαραγωγική περίοδο και θερμοκρασία ανάπτυξης για αυτό το είδος. Η αλατότητα φάνηκε ότι αποτέλεσε μια λιγότερο κρίσιμη παράμετρο για την αναπαραγωγή δεδομένου ότι πρόκειται για ευρύαλα είδη ιχθύων. Καθώς η διαχείριση των γεννητόρων, ήταν συγκρίσιμη στα εκκολαπτήρια, άλλες παράμετροι δεν εκτιμήθηκαν. Αξίζει να σημειωθεί ότι η ευαισθησία στις μη βέλτιστες περιβαλλοντικές συνθήκες κατά τα πρώτα στάδια της ζωής μετά την μεταμόρφωση, ακολουθήθηκε από καλή περιβαλλοντική ανοχή και ανθεκτικότητά. Ο ρυθμός ανάπτυξης του μυλοκοπίου ήταν επίσης εξαιρετικός σε σύγκριση με τα σημαντικότερα είδη της μεσογειακής θαλάσσιας υδατοκαλλιέργειας, ήτοι τσιπούρα και λαβράκι, 10 g σε 220 και 250 ημέρες, αντίστοιχα.

Το μυλοκόπι βρέθηκε ότι ήταν εύκολα προσαρμόσιμο στην αιχμαλωσία και την τεχνητή διατροφή, επιτυγχάνοντας καλές τιμές στην αγορά. Αποτέλεσε έναν πολύτιμο υποψήφιο για τα εκτρεφόμενα είδη προσφέροντας διαφοροποίηση και επέκταση των κύκλων παραγωγής του εκκολαπτηρίου, διότι αναπαράγεται τον Ιούνιο-Ιούλιο. Δεδομένου του ότι μόνο άγριοι ιχθύες γεννητόρων χρησιμοποιήθηκαν για την εκπόνηση μελετών, είναι πιθανό ότι μελλοντικά εξημερωμένα είδη γεννητόρων να παρέχουν ακόμη πιο αξιόπιστα μοντέλα προκειμένου να απαντηθούν τα ερωτήματα για τον έλεγχο και την διαχείριση των ορμονικών θεραπειών της αναπαραγωγής. (Barbaro *et al.*, 2002)

## **2.4 Η διατροφή στο μυλοκόπι (*Umbrina cirrosa*)**

Παρά το γεγονός ότι το μυλοκόπι (*Umbrina cirrosa*) αποτέλεσε ένα από τα πιο σημαντικά εκτρεφόμενα είδη λόγω οικονομικών παραμέτρων, αλλά και έναν μελλοντικό



ανταγωνιστή για τα υπόλοιπα κυρίαρχα είδη των Μεσογειακών εκτροφών, λίγα στοιχεία ήταν διαθέσιμα για τις διατροφικές του συνήθειες.

Πρόκειται κυρίως για ένα βαθύβιο είδος το οποίο βρέθηκε ότι διατρέφεται με ασπόνδυλους οργανισμούς και ιχθύες. Το παραπάνω γεγονός υποδήλωνε την πιθανότητα της ύπαρξης υψηλών διαιτητικών αναγκών για πρωτεΐνες, όπως δηλαδή συνέβη και στο παρελθόν με άλλους ιχθύες της οικογένειας των Sciaenidae. Σε γενικές γραμμές έχει επιβεβαιωθεί ότι οι διατροφικές ανάγκες για πρωτεΐνες του μυλοκοπίου (*Umbrina cirrosa*) ιχθύος ήταν περίπου 50%. (Akpinar *et al.*, 2011)

Σύμφωνα με τον Papadaki και τους συν. (2009), στο παρελθόν έγιναν προσπάθειες εκτροφής του είδος *Umbrina cirrosa* χωρίς τη χρήση ναυπλίων *Artemia*, κατά την περίοδο των εκτρεφόμενων λαρβών. Το γεγονός αυτό είχε ως αποτέλεσμα τον άμεσο απογαλακτισμό του *Umbrina cirrosa* από την τροφή με τροχόζωα, στην τεχνητή διατροφή, στις δώδεκα βαθμοημέρες. Στο διάστημα αυτής της περιόδου, παρατηρήθηκε χαμηλή αποδοχή της τεχνητής τροφή από τις λάρβες και εκδήλωση υποσιτισμού. Ωστόσο, στις προνύμφες δεν εκδηλώθηκε καμία μη αναστρέψιμη βλάβη. Η εκδήλωση θνησιμοτήτων ήταν παρόμοια με το τυπικό πρωτόκολλο διατροφής των προνυμφών κατά το στάδιο αυτό και η μόνη διαφορά που εντοπίστηκε αφορούσε την εκδήλωση μιας μικρής απώλειας στην ανάπτυξη. Από την άποψη της φυσιολογίας το καθεστώς της σίτισης δεν φάνηκε να επηρεάζει τη χρονική στιγμή της εμφάνισης των διαφόρων συνιστωσών του πεπτικού συστήματος των προνυμφών του μυλοκοπίου. Παρόλα αυτά, ένα ποσοστό διαφοροποίησης ή ωρίμανση των οργάνων του πεπτικού συστήματος μπορεί να επηρεαστεί. Το εύρημα αυτό επιβεβαίωσε την ύπαρξη ενός ισχυρού γενετικού συστήματος για τον καθορισμένο χρόνο της οντογένεση του πεπτικού συστήματος του μυλοκοπίου (*Umbrina cirrosa*).

Έχει λοιπόν αναφερθεί ότι η εμφάνιση περιόδων με κακή διατροφή στα πρώτα στάδια ανάπτυξης των προνυμφών των ιχθύων, μέχρι τις δεκαπέντε βαθμοήμερες προκάλεσαν σοβαρές βλάβες στους ιστούς του πεπτικού σωλήνα. Κάτι τέτοιο δεν φάνηκε να συμβαίνει στην περίπτωση του μυλοκοπίου (*Umbrina cirrosa*), αφού δεν παρατηρήθηκε καμία σημαντική θνησιμότητα κατά τη διάρκεια αυτής της περιόδου και οι προνύμφες τελικά φάνηκε ότι προσαρμόστηκαν στην τεχνητή τροφή. Επιπλέον, η ιστολογική εξέταση του πεπτικού συστήματος, αποκάλυψε την εμφάνιση μιας αναγέννησης των ιστών που επηρεάστηκαν από την απουσία των ναυπλίων *Artemia* κατά την διατροφή τους. Η ανάκαμψη του πληθυσμού που δεν διατράφηκε με ναυπλίους *Artemia* ήταν αρκετά ραγδαία σε σχέση με την ομάδα που αποτέλεσε τον μάρτυρα και διατράφηκε σύμφωνα με τα πρωτόκολλα εκτροφής για τσιπούρα (*Sparus Aurata*), και λαυράκι (*Dicentrarchus labrax*). (Papadakis *et al.*, 2009)

Η ανεπαρκής διατροφή με πρωτεΐνες όπως αναφέρθηκε από τον Akrcinar και τους συν. (2011), επηρέασε αρνητικά την ανάπτυξη των ιχθύων αλλά και του δείκτη καταβολισμού της τροφής (FCR, feed conversion ratio). Από την άλλη μεριά τα επιπλέον επίπεδα πρωτεϊνών στην τροφή μεταβολίζονταν για την παροχή ενέργειας στον οργανισμό, τα οποία όμως δεν ήταν ούτε οικονομικά συμφέροντα ούτε και φιλικά προς το περιβάλλον. Η αύξηση στην διατροφή των ιχθύων μη πρωτεϊνικών ενεργειακών πηγών, όπως συνέβη με την αύξηση των διαιτητικών λιπιδίων, επέφερε τη διοχέτευση των πρωτεϊνών στην ανάπτυξη του και όχι στην παραγωγή ενέργειας. Κάτι τέτοιο έχει τεκμηριωθεί σε πολλά είδη όπως, στην ιριδίζουσα πέστροφα (*Onchorynchus mykiss*), στον σολομό του Ατλαντικού (*Salmo salar*), και στο Λαβράκι (*Dicentrarchus labrax*). Καλιοπροστατευτικές πρωτεΐνες μέσω των λιπιδίων της τροφής οδήγησαν σε αύξηση της κατακράτησης του αζώτου (N), μειώνοντας κατά αυτόν τον τρόπο την επιβάρυνση του περιβάλλοντος. Ωστόσο, η αύξηση των λιπιδίων της τροφής θα σήμαινε την αύξηση του

άνθρακα (C) της τροφής, για την οποία ήταν αποδεκτό ότι αποτελεί πηγή ρύπου στην υδατοκαλλιέργεια. Επιπλέον, τα λιπίδια που προέρχονταν από τις ζωοτροφές βρέθηκε ότι επηρέασαν τη συσσώρευση λίπους στο σώμα των ιχθύων, όπως για παράδειγμα με τους ιχθύες sciaenid, την ιριδίζουσα πέστροφα και το σολομό του Ατλαντικού. Επιπλέον, η συσσώρευση θα μπορούσε να επηρεάσει άμεσα τη διατήρηση ή την απώλεια του C σε μεγάλη έκταση. Ωστόσο, διαπιστώθηκε ότι υπάρχει έλλειψη πληροφοριών σχετικά με τις επιπτώσεις των λιπιδίων της τροφής στην αναλογία του άνθρακα και στην αναλογία C/N, οι οποίοι ήταν παράμετροι που συνήθως χρησιμοποιούνται στην εκτίμηση του σωματικού λίπους των ιχθύων.

Επιπλέον, έχουν πραγματοποιηθεί μελέτες σχετικά με τα λιπίδια της διατροφής στο μυλοκόπι αλλά και με τα αποτελέσματα των δύο δεικτών εκχυλισμάτων λιπιδίων /αζώτου για την ανάπτυξη, αξιοποίηση της τροφής, και των ποιοτικών χαρακτηριστικών τους. (Akcrinar *et al.*, 2011)

Με βάση τον Akcrinar και τους συν. (2011), κατά τη διαμόρφωση της διατροφής για τα μυλοκόπια (*Umbrina cirrosa*) τα λιπίδια θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη. Τα μυλοκόπια (*Umbrina cirrosa*) έχουν μόνο περιορισμένη δυνατότητα για την χρήση των λιπιδίων ως βασική πηγή ενέργειας, όταν η διαίτα τους είναι κατάλληλα εφοδιασμένη με πρωτεΐνη. Τα λιπίδια δεν επηρέασαν την απόδοση της ανάπτυξης των ιχθύων, ωστόσο επιδείνωσαν σημαντικά τα θρεπτικά συστατικά παραμέτρων όπως FCR, PER, και την κατακράτηση του N, επισημαίνοντας ότι οι μη πρωτεϊνικές ομάδες διέθεταν προστατευτική δράση των λιπιδίων στο μυλοκόπι τουλάχιστον κατά 50% του επιπέδου της πρωτεΐνης που χρησιμοποιείται και διατηρείται σε μη ιδανική θερμοκρασία του νερού. Επιπλέον, η χορήγηση λιπιδίων με την τροφή για ποσοστό πάνω από το 13% δεν ήταν φιλικές προς το περιβάλλον κάτι που βρέθηκε ότι οφείλονταν στην αύξηση των απωλειών του C και του N. Εν συντομία, τα ευρήματα υποστήριξαν την χορήγηση

τροφών με υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη και ενέργεια (λιπιδίων) αναλογία. (Akpinar *et al.*, 2011)

## Κεφάλαιο 3<sup>ο</sup>

### Βιβλιογραφική ανασκόπηση των μολυσματικών παραγόντων στο είδος μυλοκόπι

#### (*Umbrina cirrosa*)

### 3.1 Ιογενής νέκρωση του νευρικού συστήματος (VNN)

#### Επιδημιολογία

Η Ιογενής νέκρωση του νευρικού συστήματος (VNN), επίσης γνωστή και ως ιογενής εγκεφαλοαμφιβληστροειδοπάθεια, πρόκειται για μια νευρολογική κατάσταση η οποία προκάλεσε μαζική θνησιμότητα σε προνύμφες και νεαρά λαβράκια, (*Dicentrarchus labrax*), αλλά και σε διάφορα άλλα θαλάσσια είδη τελεόστεων ιχθύων. Ο αιτιολογικός παράγοντας πρόκλησης της νόσου έχει αναγνωριστεί ως μέλος της οικογένειας Betanodaviridae με βάση την αλληλουχία του γονιδιώματος του RNA αλλά και των φυσικών ιδιοτήτων του. (Katharios & Tsigenopoulos, 2010)

Σύμφωνα με τον Dalla Valle και τους συν. (2000), το γονιδίωμα του ιού της νέκρωσης του νευρικού (NNV) βρέθηκε ότι αποτελείται από δύο ατομικά και απομονωμένα, θετικής αλληλουχίας μόρια RNA. Διακρίθηκαν σε RNA1 και RNA2 μόρια, της τάξεως των 3,0 και 1,4kb μήκος, αντίστοιχα. Η RNA1 βρέθηκε ότι κωδικοποιεί μια μη δομική πρωτεΐνη (RNA εξαρτάται από μια RNA πολυμεράση) και η RNA2 μια πρωτεΐνη από περίπου 42 kDa.

Η ασθένεια παρατηρήθηκε για πρώτη φορά κατά τη διάρκεια του 1988 στην Μαρτινίκα και στη Γαλλία, ενώ εξαπλώθηκε σε Ιταλικά και σε Ελληνικά θαλάσσια ιχθυοτροφεία κατά τη διάρκεια του καλοκαιριού του 1995.

## Τρόπος Μετάδοσης

Ο ιός εντοπίστηκε σε γονάδες, γονιμοποιημένα αυγά και προνύμφες. Το γεγονός αυτό επιβεβαίωσε την ύπαρξη της κάθετης μετάδοσης του ιού. Η οριζόντια μετάδοση της νόσου περιγράφηκε από τους Le Breton, Grisez, Sweetman και Ollevier (1997). Έτσι λοιπόν, περιγράφηκαν κρούσματα VNN σε ιχθυοκαλλιέργειες μετά την εισαγωγή μολυσμένου γόνου. Πιο πρόσφατα περιγράφηκε από τον Dalla Valle και τους συν. (2000), μια οριζόντια μετάδοση της νόσου στο λαυράκι (*D. Labrax*) και στο halibut του Ατλαντικού, (*Hippoglossus hippoglossus*) αντίστοιχα.

Ο Dalla Valle και οι συν. (2000), αποκάλυψαν ότι οι αναλύσεις-PCR με την αντίστροφη-μεταγραφή (RT) για τον VNN μπορούν να εφαρμοσθούν όχι μόνο για την εξάλειψη των ιών σε θετικούς στον ιό γεννήτορες, αλλά και στον έλεγχο της κατάστασης των ιχθύων κατά τη διάρκεια της εκτροφής. Ειδικότερα σε ιχθύες εκτροφής σε πλωτές δεξαμενές ή σε κλωβούς όπου οι επαφές μεταξύ άγριων και εκτρεφόμενων ιχθύων είναι πιο πιθανές να συμβούν. Έχει διαπιστωθεί ότι ο ιός εξακολουθούσε να είναι παρόν σε διάφορες εκτροφές λαβρακιού στην Ιταλία και μπορούσε να επηρεάσει και άλλους Μεσογειακούς ιχθύες, όπως την τσιπούρα, (*Sparus aurata*) και το μυλοκόπι (*Umbrina cirrosa*).

Η σύγκριση των γονιδίων των πρωτεϊνών σε πέντε ιχθύες με προσβολή από podaviruses έδειξε ότι οι ομοιότητες της ακολουθίας μεταξύ της συναγρίδας, (*Pseudocaranx dentex*) VNN (SJNNV), και τεσσάρων άλλων εγκεφαλικών ιών που απομονώθηκαν στην Ιαπωνία και μόλυναν διαφορετικά είδη ιχθύων ήταν 75,8% σε επίπεδο νουκλεοτιδίων και 80,9% σε επίπεδο αμινοξέων. Πρόσφατα, δύο επιπλέον ακολουθίες δημοσιεύτηκαν οι οποίες αντιστοιχούσαν σε VNN, και απομονώθηκαν από το λαυράκι (*D.labrax*) στην Ελλάδα και στη Γαλλία. (Dalla Valle *et al.*, 2000)

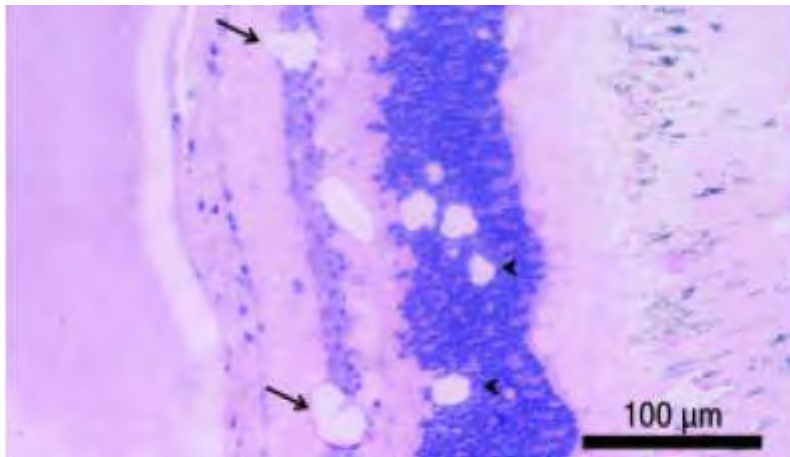
## Συμπτώματα

Η ασθένεια χαρακτηρίστηκε από νευρολογικές ανωμαλίες, όπως, ακανόνιστη κολύμβηση, σπειροειδείς κινήσεις με την κοιλιά προς τα πάνω και μια ξεχωριστή εκφύλιση του νευρικού ιστού του εγκέφαλου και του αμφιβληστροειδή. Η θνησιμότητα που συνδέθηκε με την ασθένεια ήταν σοβαρή, φθάνοντας το 100%, ανάλογα με την ηλικία. Τα νεαρότερα είδη ήταν πιο ευαίσθητα σε σύγκριση με τα μεγαλύτερης ηλικίας.

Οι προσβεβλημένοι ιχθύες παρουσίασαν κλινικά συμπτώματα χαρακτηριστικά της λοίμωξης με *nodavirus*. Συμπεριλαμβανομένων, των σπειροειδών κινήσεων στην επιφάνεια του νερού, το τυχαίο και ασυντόνιστο κολύμπι, τον λήθαργο σε μεταγενέστερα στάδια της νόσου, το κολύμπι με την κοιλιά, συνήθως στην επιφάνεια του νερού και τον σκούρο χρωματισμό του δέρματος. Η θνησιμότητες έφτασαν το 36% του προσβεβλημένου πληθυσμού, ακόμη και σε γόνιο 70 βαθμομερών. Ενώ, το ποσοστό προσβολής αφορούσε το 100% του πληθυσμού. (Katharios & Tsigenopoulos, 2010)

## Ιστοπαθολογικές αλλοιώσεις

Σύμφωνα με τους Kathario και Tsigenopoulo (2010), χαρακτηριστική ήταν η κενотоπιώδης εκφύλιση του αμφιβληστροειδούς χιτώνα των ματιών η οποία αποτέλεσε και την πιο συχνή ιστοπαθολογική αλλοίωση. Κενοτόπια διαφόρων μεγεθών (5 - 40 μm) και σχηματισμών βρέθηκαν ως επί το πλείστον στο εξωτερικό πυρηνικό στρώμα. Επιπλέον, κενοτόπια σε μικρότερο βαθμό παρατηρήθηκαν στο εσωτερικό του πυρηνικού στρώματος επηρεάζοντας τα διπολικά κύτταρα (Εικ. 6).



**Εικόνα 6** Ιστοπαθολογική αλλοίωση στον αμφιβληστροειδή χιτώνα του ματιού ιχθύος. (πηγή: Katharios & Tsigenopoulos, 2010)

Σε ορισμένες περιπτώσεις, τα κενोटόπια παρατηρήθηκαν στην εσωτερική δικτυωτή στοιβάδα. Επίσης, θα πρέπει να σημειωθεί ότι στον αμφιβληστροειδή ορισμένων φαινομενικά υγιών ιχθύων μυλοκοπίου παρατηρήθηκαν κενोटόπια, αν και ήταν πολύ μικρότερα σε μέγεθος και σε αριθμό. (Katharios & Tsigenopoulos, 2010)

#### Διάγνωση

Η ύπαρξη του ιού σε γονιμοποιημένα αυγά ιχθύων επιβεβαιώθηκε από τον Dalla Valle και τους συν. (2000), με την ανοσοενζυμική ανάλυση (ELISA) έναντι των ιικών αντιγόνων αλλά και μέσω της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης (PCR). Η πραγματοποίηση ελέγχων των μολυσμένων αναπαραγωγικών ιχθύων με οποιαδήποτε από τις δύο τεχνικές αποδείχτηκε αποτελεσματική στη μείωση ή την πρόληψη της κάθετης μετάδοσης της νόσου.

Προκειμένου να επιτευχθεί η διάγνωση της Ιογενούς νέκρωση του νευρικού συστήματος, αναπτύχθηκαν διάφορα διαγνωστικά πρωτοκόλλα. Ένα από αυτά ήταν η προσθήκη ένθετων PCR για RT-PCR, τα οποία εκτελέστηκαν είτε σε ένα μόνο σωλήνα ή σε δύο στάδια, παρέχοντας έτσι μια διαγνωστική δοκιμή για τον VNN με αυξημένη ευαισθησία, ειδικότητα και ασφάλεια. Ενώ, απαιτήθηκε μόνο ελαφρώς μεγαλύτερη



εργασία, κόστος και χρόνος εκτέλεσης σε σύγκριση με την πρότυπη RT-PCR μέθοδο. (Dalla Valle *et al.*, 2000)

Σε ορισμένα περιστατικά εκδήλωσης της νόσου αναφέρθηκε, ότι ο ιός ανιχνεύτηκε με τη χρήση *in situ* υβριδισμού σε τμήματα εγκεφαλικού ιστού από την περιοχή του μεσεγκεφάλου και του προμήκη μυελού, χωρίς ωστόσο να βρεθούν κενοτόπια ή νέκρωση του εγκεφαλικού ιστού. (Katharios & Tsigenopoulos, 2010)

#### Πρόληψη – Θεραπεία

Τα Ελληνικά εκκολαπτήρια λαμβάνοντας υπόψη την απειλή που προέκυψε από την εν λόγω νόσο, εφάρμοσαν προληπτικά μέτρα. Σύμφωνα με τους Kathario και Tsigenopoulo (2010), στα μέτρα αυτά συμπεριλήφθησαν η εφαρμογή ελέγχου του γόνου με ELISA, PCR, και απολύμανση του νερού της εκτροφής. Τα μέτρα αυτά απεδείχθησαν επιτυχή διότι τα περιστατικά της μόλυνσης με nodavirus στα λαυράκια μειώθηκαν σημαντικά. Σε περιστατικά προσβολής ιχθύων από τον ιό VNN εφαρμόστηκε θανάτωση όλου του πληθυσμού της εκτροφής, σε μια προσπάθεια να αποφευχθεί η οριζόντια μετάδοση της νόσου στα υπόλοιπα εκτρεφόμενα είδη της εκτροφής.

Ωστόσο, η ανάγκη για διαφοροποίηση της παραγωγής στην υδατοκαλλιέργεια οδήγησε στην εισαγωγή νέων ειδών ιχθύων τα οποία ήταν επιρρεπή σε ασθένειες όπως, VNN. Επιπλέον, οι περιορισμοί των υδάτινων πόρων και των χώρων εκτροφής οδήγησε τους εκτροφείς στην χρήση του γλυκού νερού ως εναλλακτική πηγή εκτροφής για τα λαβράκια. Ως εκ τούτου, μετά την έκθεση αναφοράς για τον εντοπισμό του VNN στην Ελλάδα το 1995, διαπιστώθηκε η προσβολή από την νόσο και άλλων ειδών ιχθύων. Για παράδειγμα, στην τσιπούρα, (*Sparus aurata*), στον ροφό, (*Epinephelus marginatus*), στα λαβράκια (*D.labrax*) που καλλιεργούνται σε γλυκά νερά και στον οξύρρυγχου, (*Acipenser*

sp.) ο οποίος μεταδόθηκε τόσο με οριζόντιο όσο και με κάθετο τρόπο από τους γεννήτορες στα νεαρά άτομα. (Katharios & Tsigenopoulos, 2010)

### 3.2 Μεταδοτική Παγκρεατική Νέκρωση ( IPN )

#### Επιδημιολογία

Η νόσος της μεταδοτικής παγκρεατικής νέκρωσης σύμφωνα με τον Noga (2000), οφείλεται στον ιό birnavirus αποτέλεσε τον κύριο αιτιολογικό παράγοντα για μεγάλο αριθμό θνησιμοτήτων στα σαλμονοειδή των γλυκών νερών. Μερικά από τα είδη που προσβλήθηκαν ήταν, τα χέλια, ο σολομός, το μυλοκόπι, οι ρέγγες, ο κυπρίνος, ο κορέγονος, η πέστροφα, ο λούτσος, το καλκάνι, η γλώσσα και οι πέρκες. Επιπλέον, ο ιός εντοπίστηκε και στα στρείδια, στα καβούρια, και στα διγενή τρηματώδη. Σε όλες τις περιπτώσεις η απομόνωση του ιού δεν αποδείχθηκε ότι είχε παθογόνο δράση για τους ξενιστές αν και περιστασιακά ήταν παθογόνος στην πέστροφα.

Τα τυπικά συμπτώματα της νόσου εμφανίστηκαν την τρίτη με πέμπτη ημέρα στον γόνο ή την όγδοη με δέκατη ημέρα στα ιχθύδια μετά την έκθεσή τους στον υπεύθυνο ιό. Το ποσοστό των θνησιμοτήτων ήταν μεγαλύτερο σε υψηλές θερμοκρασίες 10° με 14° C, ενώ σε χαμηλότερες θερμοκρασίες το ποσοστό ήταν χαμηλότερο αλλά για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα.

Ακόμη και στα πιο θανάσιμα ξεσπάσματα της νόσου υπήρξαν λίγοι επιζώντες. Οι ιχθύες που επέζησαν της νόσου ήταν υπανάπτυκτοι λόγω της ίνωσης του παγκρεατικού ιστού και παραπάνω από το 90 τοις εκατό αυτών ήταν φορείς της νόσου. Έχει βρεθεί ότι, οι επιζώντες μπορούσαν να αποβάλουν τον ιό με τα κόπρανα και με τα ούρα τους στο περιβάλλον για χρονικό διάστημα δύο ετών.

Ο ιός αποδείχθηκε ότι ήταν εξαιρετικά μεταδοτικός. Έχει αποδειχθεί, ότι η μετάδοση της νόσου μπορούσε να πραγματοποιηθεί με οριζόντια μεταφορά της νόσου μέσω της επαφής ή με την κατάποση προσβεβλημένου ιστού. Η κάθετη μετάδοση της νόσου πραγματοποιήθηκε μέσω της μεταφοράς στα γεννητικά υγρά και στα αυγά. (Noga., 2000)

### Συμπτώματα

Η νόσος χαρακτηρίστηκε από την ξαφνική αύξηση των θνησιμοτήτων στο γόνο και στα ιχθύδια με κύρια εντόπιση στα πιο εύρωστα από αυτά. Τα κλινικά συμπτώματα χαρακτηρίστηκαν από ραχιαίο σκούρο χρωματισμό του δέρματος, την ύπαρξη λευκών κοπράνων, κοιλιακή διάταση, εξόφθαλμο, αιμορραγίες στο εδρικό και ωχρά βράγχια. Νευρολογικές διαταραχές όπως, κολύμπι με σπειροειδή κίνηση και στροβιλισμό ήταν δυνατό να διαπιστωθούν. Σε μεγαλύτερης ηλικίας ιχθύες εντοπίστηκαν πετέχιες σε εσωτερικά όργανα. Σε αντίθεση με τον γόνο στον οποίο διαπιστώθηκε η ύπαρξη ωχρών εσωτερικών οργάνων με ελάχιστες αιμορραγίες. Επιπλέον, διαπιστώθηκε η ύπαρξη καταρροϊκού εξιδρώματος στο στόμαχο και συνεκτικό βλενώδες εκμαγείο κοπράνων στον εντερικό σωλήνα. (Noga., 2000)

### Ιστοπαθολογικές αλλοιώσεις

Ο ιστός στόχος του ιού βρέθηκε ότι ήταν από τον Noga (2000), τα κύτταρα των παγκρεατικών λοβίων, τα οποία εμφάνισαν μορφή οξείας νέκρωσης και βασεοφιλικά έγκλειστα. Ο παρακείμενος λιπώδης ιστός μπορεί να ήταν καταστραμμένος. Ένα επιπλέον διαγνωστικό στοιχείο για τον ιό, αποτέλεσε η ύπαρξη McKnight κυττάρων, πρόκειται για επιθηλιακά κύτταρα των πυλωρικών τυφλών, τα οποία διογκώθηκαν και ανέπτυξαν θραύσματα πυρήνα. Σε ένα τελικό στάδιο της νόσου νεκρωτικές αλλοιώσεις ανεβρέθηκαν στα νεφρικά σωληνάκια, στον αιματοποιητικό ιστό, καθώς και στο ήπαρ.

## Διάγνωση

Η κλινική διάγνωση της νόσου επιβεβαιώθηκε με την απομόνωση υψηλών τίτλων της νόσου στα ευαίσθητα είδη. Η απομόνωση του ιού πραγματοποιήθηκε από τον πρόσθιο νεφρό και τα πυλωρικά τυφλά. Παθογνωμονικές αλλοιώσεις αποτέλεσαν η ύπαρξη λευκών κοπράνων σε συνδυασμό με γαλακτώδους όψης βλέννας στο στόμαχο και στον εντερικό σωλήνα. (Noga., 2000)

## Πρόληψη – Θεραπεία

Ως μόνος τρόπος περιορισμού της νόσου σύμφωνα με τον Noga (2000), ήταν η εφαρμογή καραντίνας. Ιδιαίτερη προσοχή θα πρέπει να δοθεί στην αποφυγή μετάδοσης της νόσου σε περιοχές μη ενδημικές. Ο ιός χαρακτηρίστηκε ως εξαιρετικά σταθερός, μπορεί να επιζήσει σε κατεψυγμένο έντερο για μήνες. Σε γλυκό νερό επέζησε για πέντε ημέρες στους 15° C για δέκα ημέρες στους 4° C και για τρεις μήνες σε αποστειρωμένο νερό. Σε ξηρό περιβάλλον βρέθηκε ότι επέζησε για πάνω από μήνα σε 10° C.

Ο ιός αδρανοποιήθηκε με την χρήση 40mg/l χλωρίνης για τριάντα λεπτά, 20.000 ppm φορμόλης για 5 λεπτά, 35 ppm ιωδίου για 5 λεπτά, σε pH 12,5 για 10 λεπτά ή με 90 ppm όζον για μισό με 10 λεπτά. Ωστόσο, παρέμεινε ανέπαφος σε συνθήκες με ιονίζουσα ακτινοβολία.

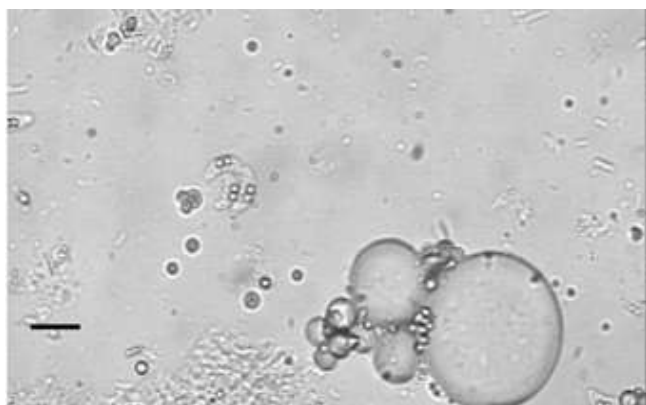
Η αποφυγή της επαφής με τον ιό αποτέλεσε πιο σημαντικό προληπτικό μέτρο, ωστόσο κάτι τέτοιο δεν ήταν πάντα εύκολο. Ορισμένα είδη ιχθύων τα οποία υπέκρυπταν τη νόσο αποτέλεσαν σημαντικούς παράγοντες μετάδοσης του ιού. Προκειμένου να αποφευχθεί η μετάδοση της νόσου σε αυτή την περίπτωση, τα νεαρά ιχθύδια έπρεπε να ανατραφούν σε περιβάλλον ελεύθερο της νόσου τουλάχιστον για τους πρώτους έξι μήνες της ζωής τους. Τα νεαρά πλέον ιχθύδια θα προσβληθούν από τον ιό χωρίς όμως να νοσήσουν.

Παρόλα αυτά, στην περίπτωση της κάθετης μετάδοσης της νόσου η πρόληψη από τον ιό δεν μπορούσε να στηριχθεί στην εκτέλεση μπάνιων των αυγών με αντισηπτικές ουσίες. Το γεγονός αυτό οφείλονταν στο ότι ο ιός βρισκόταν εντός των αυγών ή ήταν καλά προστατευμένος στην επιφάνεια αυτών. Οι φορείς που επέζησαν ενός ξεσπάσματος της νόσου δεν αποτέλεσαν σημαντικό ποσοστό και επιπλέον, ήταν επιρρεπείς στην επανεμφάνιση αυτής μετά από εκδήλωση ενός στρεσογόνου αιτίου. (Noga., 2000)

### 3.3 *Ceratomyxa* spp. στο είδος μυλοκόπι (*Umbrina cirrosa*)

#### Επιδημιολογία

Από την *Ceratomyxa* spp. προσβάλλονται ιχθύες της οικογένειας των σαλμονοειδών και κατά κύριο λόγο εντοπίστηκαν στην περιοχή των Δυτικών Πολιτειών της Αμερικής και του Καναδά. Σε ορισμένες περιπτώσεις, οι θνησιμότητες αφορούσαν το 100% του πληθυσμού των νεαρών ιχθυδίων αλλά και τον πληθυσμό των γεννητόρων πριν την περίοδο της αναπαραγωγής για το είδος του σολομού. Τα πιο ευαίσθητα είδη στην προσβολή από *Ceratomyxa* spp. βρέθηκε ότι ήταν η ιριδίζουσα πέστροφα, ο Chinook salmon, η brown trout και η brook trout. (Noga., 2000) Ωστόσο, ο Βάτσος και οι συν. (2006) αποκάλυψαν την ύπαρξη *Ceratomyxa* spp. στα νέα εκτρεφόμενα είδη μυλοκόπι (*Umbrina cirrosa*) και συκιά (*Sciaena umbra*) (Εικ. 7).



Εικόνα 7 Σπόροι *Ceratomyxa* spp. σε νωπά παρασκευάσματα, 20μm (πηγή: Vatsos *et al.*, 2006)

Σύμφωνα με τον Noga (2000), οι ιχθύες προσβάλλονται σε θερμοκρασίες νερού 4° – 6° C, ωστόσο σε αυτή την περίπτωση η νόσος εξελίσσεται με βραδύ ρυθμό. Η ύπαρξη μεγαλύτερων θερμοκρασιών προκάλεσε την άμεση εμφάνιση των συμπτωμάτων της νόσου, τα οποία εκδηλώθηκαν μέσα σε 7 ημέρες στους 18° C. Σε θερμοκρασία 10° C χρειάστηκαν τρεις μήνες για την εκδήλωση θνησιμοτήτων στους προσβεβλημένους ιχθύες.

Η ανικανότητα μετάδοσης της κερατομύξωσης μέσω της άμεσης επαφής από ιχθύ σε ιχθύ, της κατάποσης σπόρων ή της κατάποσης μολυσμένων ιστών υποδήλωσε την ύπαρξη ενδιάμεσου ξενιστή για την μετάδοση της νόσου. Η προσβολή των ιχθύων ήταν πιο άμεση στην περίπτωση που το περιβάλλον διαβίωσής τους είχε υψηλό παρασιτικό φορτίο ή ήταν λασπώδες. Η μετάδοση των σπόρων της *Ceratomyxa* spp. δεν ήταν άμεση και απαιτούσαν ωρίμανση πριν γίνουν δραστικοί. (Noga., 2000)

### Συμπτώματα

Τα κλινικά συμπτώματα της προσβολής από *Ceratomyxa* spp. εμφάνισαν ποικιλία μεταξύ των ειδών. Εξωτερικά, δεν παρατηρήθηκαν μακροσκοπικές αλλοιώσεις. Κατά την διάνοιξη της κοιλιακής κοιλότητας σε ορισμένους ιχθύες διαπιστώθηκε εξοίδηση της χοληδόχου κύστης και σκούρο πράσινο χρωματισμό της χολής. Η παρασιτολογική εξέταση νωπού επιχρίσματος βράγχιων ήταν αρνητική, ενώ επιχρίσματα από τη χοληδόχο κύστη αποκάλυψαν την παρουσία σπόρων *Ceratomyxa* spp. στο είδος μυλοκόπι (*Umbrina cirrosa*). Επιπλέον, διαπιστώθηκαν σπόροι του παρασίτου και σε νωπά επιχρίσματα του έντερου. (Vatsos *et al.*, 2006)

Ο κύριος ιστός στόχου του παρασίτου ήταν το γαστρεντερικό σύστημα με ειδικότερη εντόπιση στο έντερο. Η ανάπτυξη των παρασίτων υποκίνησε μια διάχυτη κοκκιδωμάτωση σε αρκετούς ιστούς των ξενιστών. Ορισμένοι από αυτούς ήταν το έντερο,

το ήπαρ, τα νεφρά, ο σπλήνας, οι γονάδες και οι μύες. Σε αρκετές περιπτώσεις διαπιστώθηκε διεσταλμένη κοιλία, εξαιτίας της ύπαρξης κοκκιωματώδους περιτονίτιδας. Τα εξιδρωματικό υγρό ήταν πλούσιο σε κωνικούς τοξοειδείς σπόρους. Επιπλέον, διαπιστώθηκε εξοίδηση της έδρας και σε αρκετές περιπτώσεις νεκρωτικά αποστήματα στους ιστούς των ιχθύων. ( Wood *et al.*, 1989)

Σε γενικές γραμμές δεν καταγράφηκε υψηλό ποσοστό θνησιμοτήτων, αλλά η ιστολογική εικόνα των προσβεβλημένων ιχθύων παρέπεμπε στο ότι οι ιχθύες είχαν μειωμένη ικανότητα αξιοποίησης των ζωοτροφών, εξαιτίας της παρεμπόδισης της λειτουργίας των χοληφόρων οδών και της ύπαρξης εντερίτιδας. Το γεγονός αυτό είχε ως αποτέλεσμα την καθυστέρηση της ανάπτυξης των ιχθύων. Επιπλέον, η εκτεταμένη εντερίτιδα θα μπορούσε να προκαλέσει δυσλειτουργία του μηχανισμού της οσμωρρύθμισης. (Vatsos *et al.*, 2006)

#### Ιστοπαθολογικές αλλοιώσεις

Η ιστολογική εξέταση δειγμάτων ιστών, σύμφωνα με τον Vatsos και τους συν. (2006), αποκάλυψε την ύπαρξη αλλοιώσεων στα νεφρά και στο έντερο των μολυσμένων ιχθύων. Ειδικότερα, υπήρξε εκτεταμένη απόπτωση των κυττάρων του εντερικού βλεννογόνου και διείσδυση κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος στο εντερικό τοίχωμα. Στο ήπαρ, δεν διαπιστώθηκε λιπώδης διήθηση των ηπατοκυττάρων, ακολουθούμενη από εστιακή νέκρωση, ειδικά σε μεγαλύτερης ηλικίας ιχθύες. Επίσης, υπήρξε πάχυνση των τοιχωμάτων των χοληφόρων οδών, ο αυλός των οποίων ήταν γεμάτος με διάφορα αναπτυξιακά στάδια της *Ceratomyxa* spp

Στο νεφρό, διαπιστώθηκε εκφύλιση των ουροφόρων σωληναρίων και ύπαρξη πυκνωτικών επιθηλιακών κυττάρων καθώς και διάφορα αναπτυξιακά στάδια της *Ceratomyxa* spp. Σε άλλα είδη ιχθύων, όπως τσιπούρα (*Sparus aurata*), μυτάκι (*Diplodus*

*puntazzo*) και συναγρίδα (*Dentex dentex*) οι λοιμώξεις από *Ceratomyxa* spp. θεωρήθηκαν ότι είχαν αρνητική επίδραση στην ανάπτυξη των ιχθύων, δεδομένου ότι τα παράσιτα μπορούν να επηρεάσουν την λειτουργία του πεπτικού συστήματος.

Εντός, των στοιβάδων του εντέρου δεν ανεβρέθησαν αναπτυξιακά στάδια της *Ceratomyxa* spp. Ωστόσο, πιστεύεται ότι τα παράσιτα ήταν υπεύθυνα για την κακή λειτουργία του εντέρου δεδομένου ότι, σε ιχθύες χωρίς παρασιτισμό από *Ceratomyxa* spp. δεν διαπιστώθηκαν αλλοιώσεις εντερίτιδας. (Vatsos *et al.*, 2006)

### Διάγνωση

Η διάγνωση της νόσου σύμφωνα με τον Noga (2000), στηρίχθηκε στην αναγνώριση των τυπικών σπόρων του παρασίτου σε αλλοιώσεις ή σχισμές του εντερικού αυλού ή της χοληδόχου κύστης. Με την βοήθεια των Ziehl – Neelsen χρώσεων η πολική κάψα βάφτηκε κόκκινη, ενώ το σπορόπλασμα μπλε. Επιπλέον, η ύπαρξη τροφοζωϊτών διαπιστώθηκε με την βοήθεια της ηλεκτρονικής μικροσκοπίας. Τα τελευταία χρόνια αναπτύχθηκαν μονοκλωνικά αντισώματα τα οποία και αναγνώρισαν την μέτριας έντασης προσβολή των ιστών.

### Πρόληψη – Θεραπεία

Για την αντιμετώπιση της παρασίτωσης δεν αναπτύχθηκαν χημειοθεραπευτικά σχήματα. Σε ορισμένες περιπτώσεις διαπιστώθηκε μείωση του παρασιτισμού των ιχθύων μετά την μεταφορά τους σε συνθήκες περιβάλλοντος με διαφορετική αλατότητα. Με τον τρόπο αυτόν ενισχύθηκε η πρόληψη της επέκτασης της νόσου. Για τα ευαίσθητα είδη ιχθύων εφαρμόστηκε φιλτράρισμα του προσβεβλημένου ύδατος ακολουθημένο από υπεριώδη αποστείρωση ή χλωρίωση. Οι μετακινήσεις των προσβεβλημένων ιχθύων από *Ceratomyxa* spp. οι οποίοι διαβιούν σε ενδημικές περιοχές της νόσου πρέπει να αποφεύγονται μέχρι να διαγνωστούν ότι είναι ελεύθεροι της νόσου. (Noga., 2000)



### 3.4 Μονογενή παράσιτα στο είδος μυλοκόπι (*Umbrina cirrosa*)

#### Επιδημιολογία

Πρόκειται για κοινά παράσιτα του δέρματος και των βραγχίων, αφορά θαλάσσια είδη ιχθύων αλλά και του γλυκού νερού. Σε αρκετές περιπτώσεις ο βαρύς παρασιτισμός των ιχθύων οφείλονταν στις ελλιπείς συνθήκες υγιεινής και στην επιδείνωση της ποιότητας του νερού. (Noga., 2000)

Σύμφωνα με τον Ternengo και τους συν. (2010), κατά την εξέταση ορισμένων ειδών ιχθύων διαπιστώθηκε η ύπαρξη μονογενών παρασίτων του είδους *Sciaenocotyle rancerii* το οποίο δεν είχε προηγουμένα αναφερθεί στην υδατοκαλλιέργεια (Εικ. 8). Αυτό το παράσιτο εντοπίστηκε για πρώτη φορά στα βράγχια του είδους *Umbrina cirrosa* και περιγράφηκε ως *Microcotyle rancerii*. Επιπλέον το παράσιτο εντοπίστηκε στο μυλοκόπι αλλά και σε άλλους άγριους πληθυσμούς της οικογένειας των Scianidae από τον κόλπο της Τύνιδας.



Εικόνα 8 Ενήλικο παράσιτο *Sciaenocotyle rancerii* σε εκτρεφόμενο μυλοκόπι (*Umbrina cirrosa*). (πηγή: Ternengo *et al.*, 2010)

Στην πορεία η *M. rancerii* μεταφέρθηκε στο γένος *Sciaenocotyle*. Η μεταφορά αυτή υπογράμμισε την μεταφορά ενός παρασίτου από ένα άγριο σε έναν εκτρεφόμενο πληθυσμό. Αρκετές μικροκοτύλες αποτέλεσαν σημαντικά παθογόνα στην εκτροφή ιχθύων

και ειδικότερα στην περιοχή της Ασίας, όπου είχαν αναφερθεί σε διάφορα είδη ιχθύων όπως, *Pagrus major*, *Takifugu rubripes*, *Seriola quinqueradiata*, *Mugil* sp., *Lutjanus russelli* και *Siganus* sp. Τα τελευταία χρόνια, οι μικροκοτύλες έχουν προκαλέσει σοβαρές απώλειες στις εκτροφές της Μεσογείου. Τα είδη *Sparicotyle chrysophrii*, *Serranicotyle labracis* και *Polylabris tubicirrus* έχουν προσβάλει διάφορα σημαντικά εμπορικά είδη ιχθύων όπως το *Dicentrarchus labrax*, *Sparus aurata* και άλλα είδη της οικογένειας των σπαροειδών. (Ternengo *et al.*, 2010)

Μέχρι τώρα μικροκοτύλες *Sciaenocotyle pancerii* σύμφωνα με τον Ternengo και τους συν. (2010), έχουν αναβρεθεί μόνο στους άγριους πληθυσμούς των *Umbrina cirrosa* και *Argyrosomus regius*. Η επικράτηση και η ένταση *S. pancerii* ήταν σχετικά υψηλές και κορυφώθηκαν το Νοέμβριο και το Δεκέμβριο, όταν η θερμοκρασία νερού ήταν χαμηλότερη. Η ένταση του παρασιτισμού καθορίστηκε από την εποχιακή διακύμανση της θερμοκρασίας. Οι αλλαγές στη θερμοκρασία, καθώς και της αλατότητας, μπορούν να λειτουργήσουν ως στρεσογόνοι παράγοντες οι οποίοι προκαλούν μείωση της ανοσολογικής απάντησης των ιχθύων. Επιπλέον, μπορούν να λειτουργήσουν άμεσα στον κύκλο ζωής του παράσιτου και να προωθήσουν την αναπαραγωγή και την ανάπτυξη των μονογενών παρασίτων. Οι χαμηλές θερμοκρασίες σχετίστηκαν με την κατάπτωση του ανοσοποιητικού συστήματος και ήταν υπεύθυνες για την αφθονία και την αύξηση της έντασης του παρασιτισμού από μονογενή, όπως ήταν τα *gyrodactylids* και τα *microcotylids* συμπεριλαμβανομένων των *Bivagina pagrosomi* και *B. tai*.

Ένας από τους σημαντικότερους παράγοντες που επηρέασαν την παρασιτική πανίδα ήταν το μέγεθος του ξενιστή. Το γεγονός αυτό οφείλονταν στο ότι υπήρχε μεγαλύτερη επιφάνεια βραγχίων διαθέσιμη για τον παρασιτικό μικροοργανισμό, και κατά συνέπεια διαθέσιμη μεγαλύτερη ροή του νερού και αύξηση της ελκυστικότητας των βραγχίων είτε λόγω των φυσικών τους ερεθισμάτων μέσω του αερισμού είτε λόγω

χημικών ερεθισμάτων μέσω της βλέννας. Σε γενικές γραμμές, οι μεγαλύτεροι σε μέγεθος ιχθύες εμφάνισαν περισσότερα παράσιτα των βραγχίων. (Ternengo *et al.*, 2010)

### Συμπτώματα

Τα μονογενή παράσιτα τρέφονται κατά κύριο λόγο στα επιφανειακά στρώματα του δέρματος και των βραγχίων. Αυτού του είδους ο παρασιτισμός αποδείχθηκε ότι προκαλούσε σημαντικό βαθμού ενόχληση και κατά συνέπεια σκούρο χρωματισμό του δέρματος. Σε ορισμένες περιπτώσεις, προκλήθηκαν εστιακές εκχυμώσεις εξαιτίας της υπερπαραγωγής βλέννας, της υπερπλασίας του επιθηλίου, ή λόγω αιμορραγίας. Ορισμένα είδη μπορούσαν να προκαλέσουν βαθιές πληγές του δέρματος. Τα μονογενή μπορούν επιπλέον να βοηθήσουν στην μετάδοση βακτηρίων και άλλων παθογόνων παραγόντων. Εξαιρετικά μεγάλος παρασιτισμός από μονογενή μπορούσε να προκαλέσει θνησιμότητες ιδιαίτερα στους μικρού μεγέθους ιχθύες. Ακόμη και μικρός αριθμός παρασίτων μπόρεσε να προκαλέσει αυξημένη παραγωγή βλέννας ή την εκδήλωση κνησμού. Ωστόσο υπήρξαν ενδείξεις για την ανάπτυξη μερικής ανοχής σε νέα προσβολή. (Noga., 2000)

### Διάγνωση

Η αναγνώριση των σκωλήκων πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με τον Noga (2000), με ευκολία μέσω των νωπών επιχρισμάτων του δέρματος και των βραγχίων. Σε αρκετές περιπτώσεις διαπιστώθηκε ότι αυτά εκδήλωσαν χαρακτηριστικές σπασμωδικές κινήσεις ή κίνηση caterpillar. Κάποια άλλα στοιχεία κλειδί για την αναγνώριση των παρασίτων, ήταν η ύπαρξη άγκιστρων, βεντουζών και σφικτήρων. Στα ζωοτόκα είδη ήταν εύκολη η αναγνώριση ενός εμβρύου εντός του ενήλικου σκώληκα. Στην συντριπτική πλειοψηφία τους τα μονογενή δεν ξεπέρασαν το μέγεθος των 4mm, ωστόσο είδη προερχόμενα από μεγάλου μεγέθους ιχθύες ξεπέρασαν τα 3cm. Η ταυτοποίηση των διαφορετικών ειδών ή του γένους δεν κρίθηκε απαραίτητη για την επιτυχή αντιμετώπιση τους.

Τα μονογενή μπορούν να ανευρίσκονται σε δείγματα ιστών δέρματος και βραγχίων χωρίς ωστόσο να προκαλούν σημαντικές θνησιμότητες. Για παράδειγμα, η ανεύρεση ενός μόνο παρασίτου σε δείγματα ιστών ιχθύων μεγαλύτερο των 10cm δεν θα μπορούσε να ήταν συμβατή με την εκδήλωση θνησιμοτήτων για το είδος αυτό. Επιπλέον, η έρευνα θα πρέπει να στραφεί σε άλλους παράγοντες πρόκλησης νόσου. (Noga., 2000)

#### Πρόληψη – Θεραπεία

Σύμφωνα με τον Noga (2000), αρκετά θεραπευτικά σχήματα έχουν χρησιμοποιηθεί για τον έλεγχο των παρασιτώσεων από μονογενή. Ωστόσο, διαφορετικές θεραπείες δοκιμάστηκαν σε μια προσπάθεια αντιμετώπισης της νόσου, διότι τα μονογενή ανάλογα με το είδος εμφάνισαν διαφορετικό βαθμό ευαισθησίας απέναντι σε διάφορα θεραπευτικά σχήματα. Για παράδειγμα, η δραστική ουσία toltrazuril έδειξε ότι ήταν δραστική έναντι των ψευδογυραδάκτυλων σε σχέση με τα υπόλοιπα είδη.

Ένας παράγοντας που έπρεπε να ληφθεί υπόψη ήταν εάν το είδος του μονογενούς παρασίτου ήταν ωοτόκο ή ζωοτόκο, και αυτό επειδή ορισμένα αυγά των μονογενών παρασίτων ήταν πιο ανθεκτικά στην εφαρμογή θεραπείας. Για αυτόν το λόγο απαιτήθηκαν θεραπείες σε εβδομαδιαία βάση για χρονικό διάστημα 3 εβδομάδων.

Σε αρκετές περιπτώσεις παρασιτώσεων από μικρά μονογενή είδη, εφαρμόστηκαν μπάνια με γλυκό ή θαλασσινό νερό και σε ορισμένες περιπτώσεις συνδυάστηκαν με την εφαρμογή μπάνιων με φορμαλίνης και οργανοφωσφορικών μετά το πέρας 48 ωρών από το πρώτο. Τα παράσιτα που εμφάνισαν εντόπιση στα βράγχια φάνηκε ότι ήταν πιο ανθεκτικά έναντι αυτών με εντόπιση στο δέρμα. Το γεγονός αυτό οφείλονταν στην καλύτερη προστασία που παρείχαν τα βράγχια έναντι της άμεσης έκθεσης τους στην θεραπευτική ουσία. (Noga., 2000)

Τα οργανοφωσφορικά με βάση τον Noga (2000), αποτέλεσαν την πιο χρήσιμη θεραπεία έναντι των μονογενών. Παρόλα ταύτα, υπήρξε αύξηση της ανθεκτικότητας των παρασίτων έναντι της θεραπείας με οργανοφωσφορικά ειδικότερα σε μονάδες εκτροφής οι οποίες τα χρησιμοποιούσαν σε συχνή βάση.

Επιπλέον, η εφαρμογή μάνιου με 80mg/l Βενζοκαΐνης επέτυχε στην αντιμετώπιση παρασιτικής εισβολής από μονογενή. Επίσης, η εφαρμογή Μεμπενδαζόλης και Πραζικουαντέλης έχουν χορηγηθεί με επιτυχία ενάντια σε αρκετά μονογενή του γλυκού ή του θαλασσινού νερού.

Τέλος σε τροπικά θαλάσσια ενυδρεία εφαρμόστηκε η μέθοδος βιολογικού ελέγχου των παρασιτώσεων με την βοήθεια των 'ψαριών καθαριστών' όπως, τα French angelfish (*Pomacanthus paru*), neon gobies (*Stiphodon atropurpureus*) και Pacific cleaner wrasse (*Labroides Dimidiatus*) τα οποία μαζεύουν τα μονογενή από τους υπόλοιπους ιχθύες. (Noga., 2000)

## Κεφάλαιο 4<sup>ο</sup>

### Υλικά και μέθοδοι

#### 4.1 Δειγματοληψίες

##### 4.1.1 Περιοχή δειγματοληψίας

Ο Ευβοϊκός κόλπος σύμφωνα με τον Στεργίου (1991), εκτείνεται ανάμεσα από τα ανατολικά παράλια της Αττικοβοιωτίας και από τα δυτικά παράλια της Εύβοιας. Διαχωρίστηκε σε βόριο και νότιο Ευβοϊκό κόλπο από τα στενά της Αυλίδας και του Ευρίπου. Το νότιο τμήμα του Ν. Ευβοϊκού από το στενό της Αγίας Μαρίνας – Καβαλλιανής ως τη γραμμή Μακρόνησου – Ακρωτήριο Παξιμάδι είναι γνωστό και ως κόλπος των Πεταλιών. Η επικοινωνία του Ευβοϊκού με το Αιγαίο πέλαγος γίνεται στα βόρεια με το διάυλο Ωρεών – Τρίκερι, ενώ στα νότια με τον κόλπο των Πεταλιών.

Η περιοχή στην οποία πραγματοποιήθηκε η δειγματοληψία της εν λόγω εργασίας αφορούσε την περιοχή του διαύλου Ωρεών – Τρίκερι. Ο διάυλος έχει έκταση 232Km και βάθος μικρότερο από 95Km (Εικ. 9). Στην περιοχή, απουσίαζαν οι εκβολές ποταμών και χειμάρρων. Ο διάυλος έχει χαρακτηριστεί από χαμηλό ρυθμό ιζηματογένεσης, ενώ η παρουσία ρευμάτων δικαιολογούσε την ύπαρξη χονδρόκοκκης φάσης ιζημάτων βιολογικής προέλευσης στην επιφάνεια του πυθμένα. Επιπλέον, στην περιοχή απουσίαζαν οι μεγάλες πόλεις ή βιομηχανικής κλίμακας εγκαταστάσεις, ενώ συνήθως συναντάμε κωμοπόλεις, χωριά και παραθεριστικά θέρετρα.

Μετά από μετρήσεις που πραγματοποιήθηκαν στην περιοχή του διαύλου Ωρεών βρέθηκε ότι, η αλατότητα ήταν μικρότερη από αυτή του Β. Ευβοϊκού, ενώ αυξήθηκε κατά βάθος και μειώθηκε από τα δυτικά προς τα ανατολικά ως αποτέλεσμα των θαλάσσιων μαζών χαμηλής αλατότητας που εισέρεαν από το Αιγαίο Πέλαγος. Το στρώμα του

πυθμένα της θάλασσας χαρακτηρίστηκε με υψηλότερες θερμοκρασίες σε σύγκριση με το βυθό του Β. Ευβοϊκού. (Στεργίου, 1991)

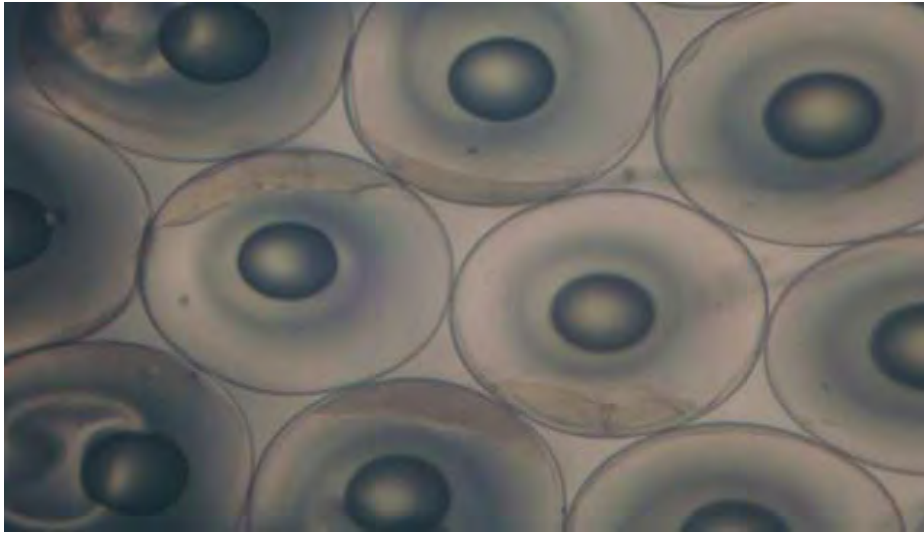


Εικόνα 9 Χάρτης ευρύτερης περιοχής δειγματοληψίας. (πηγή: [http](http://)<sup>7</sup>)

#### 4.1.2 Ιστορικό

Η δειγματοληψία της παρούσας εργασίας πραγματοποιήθηκε σε ιχθύες μυλοκοπίου (*Umbrina cirrosa*) σε μονάδα εκτροφής στην περιοχή της Γλύφας Ν. Φθιώτιδας στον Δίαυλο των Ωρεών.

Οι ιχθύες προήλθαν από πληθυσμούς ιχθύων (*Umbrina cirrosa*) οι οποίοι διατηρούνταν σε μονάδα εκτροφής στην περιοχή της Καβάλας. Στην μονάδα εισέρεαν άγριοι πληθυσμοί ιχθύων σε ποταμό της μονάδας εκτροφής όπου και αναπαράγονταν με φυσικό τρόπο, στην συνέχεια ο πληθυσμός τους εκτρέφονταν με την φυσική τροφή του ποταμού αλλά και με βιομηχανικού τύπου ιχθυοτροφή. Προϊόντα ιχθύων του παραπάνω πληθυσμού συνελήφθησαν και εκτράφηκαν στην μονάδα εκτροφής στην περιοχή της Γλύφας Ν. Φθιώτιδας. Στην πορεία, οι πιο εύρωστοι ιχθύες που προέκυψαν από την παραπάνω εκτροφή διατηρήθηκαν για γεννήτορες.



Εικόνα 10 Αυγά ιχθύος με εμφανή την γονιμοποίηση. (πηγή: προσωπικό αρχείο Μαντέ 2011)

Η αναπαραγωγή των γεννητόρων μυλοκοπίου (*Umbrina cirrosa*) πραγματοποιήθηκε στις εγκαταστάσεις του ιχθυογεννητικού σταθμού μονάδας εκτροφής στην περιοχή της Γλύφας Ν. Φθιώτιδας. Η αναπαραγωγή πραγματοποιήθηκε κατά την χρονική περίοδο Μάιο με Σεπτέμβριο μετά από τεχνητή πρόκληση ωοθυλακιορρηξίας. Στην συνέχεια, τα γονιμοποιημένα ωάρια όπως φαίνονται στην εικόνα 10, συλλέχτηκαν και τοποθετήθηκαν σε κωνικές πολυεστερικές δεξαμενές χωρητικότητας 3 m<sup>3</sup> (Εικ. 11).



Εικόνα 11 Τμήμα εκκόλαψης γόνου ιχθύων με κωνικές πολυεστερικές δεξαμενές . (πηγή: προσωπικό αρχείο Μαντέ 2011)



Μετά την εκκόλαψη η καλλιέργεια του γόνου πραγματοποιήθηκε με την τεχνική των «πράσινων νερών» και εφαρμόστηκαν τα πρωτόκολλα διατροφής που ισχύουν για την εκτροφή ιχθύων τσιπούρας (*Sparus aurata*) και λαυρακιού (*Dicentrarchus labrax*). Δηλαδή, στο στάδιο των λαρβών διατράφησαν με ζωντανή τροφή από *Rotifer* spp. και στην συνέχεια με ναυπλίους *Artemia* spp. Στην πορεία, ακολούθησε η παράθεση βιομηχανοποιημένου τύπου τροφής για ιχθύες τσιπούρας.

Μετά την παρέλευση 3 μηνών μεταφέρθηκαν για προπάχυνση σε τσιμεντένιες δεξαμενές χωρητικότητας 40m<sup>3</sup> στον εξωτερικό χώρο του ιχθυογεννητικού σταθμού όπου και παρέμειναν μέχρι να αποκτήσουν το βάρος των 15γρ. (Εικ. 12). Πραγματοποιήθηκαν δύο εμβολισμοί ο πρώτος με εμβάπτιση περιείχε εμβολιακό στέλεχος για τον παθογόνο μικροοργανισμό *Vibrio anguillarum* βιότυπο 02 στους 4 μήνες και στη συνέχεια ακολούθησε ο επαναληπτικός ενέσιμος εμβολιασμός στην ηλικία των 6 μηνών.



Εικόνα 12 Γόνος μυλοκοπίου (*Umbrina cirrosa*) στο στάδιο της προπάχυνσης. (πηγή: προσωπικό αρχείο Μαντέ 2011)

Όταν απόκτησαν το σωματικό βάρος των 15 γρ. μεταφέρθηκαν σε τετράγωνους μεταλλικούς ιχθυοκλωβούς 6 μέτρων επί 6, σε θαλάσσια έκταση της μονάδας, καλυμμένων με σκίαστρο για την αποφυγή της άμεσης έκθεσης των ιχθύων στο ηλιακό φως, λόγω του ότι πρόκειται για βαθύβιους ιχθύες (Εικ. 13). Ακολούθησε η διατροφή τους με pellets ιχθυοτροφής για ιχθύες τσιπούρας ενισχυμένη με ιχνοστοιχεία και βιταμίνες. Η τροφή τους αποτελούνταν από 44% ολικές πρωτεΐνες, 16% ολικά λίπη, 6,6%τέφρα, 3%κυτταρίνη, 1,1% φωσφόρο, 1000mg/Kg βιταμίνη C, 400mg/Kg βιταμίνη E, 100mg/Kg χηλικό σίδηρο, 50 mg/Kg οξείδιο του μαγγανίου.



Εικόνα 13 Κλωβός μεταλλικός για την εκτροφή ιχθύων μυλοκοπίου (*Umbrina cirrosa*) με σκίαστρο. (πηγή: προσωπικό αρχείο Μαντέ 2011)

Μετά την είσοδο των ιχθύων στους θαλάσσιους ιχθυοκλωβούς και μετά το πέρας του πρώτου εξαμήνου διαπιστώθηκε η αδυναμία τους να συλλάβουν την βιομηχανοποιημένη τροφή. Το γεγονός αυτό είχε ως αποτέλεσμα την επιβράδυνση της ανάπτυξης τους, ορισμένοι ιχθύες εμφάνισαν έντονη καχεξία, διαπιστώθηκε έντονη ανομοιογένεια του πληθυσμού, μείωση του σωματικού τους βάρους και καθυστέρηση στην ανάπτυξη. Ορισμένοι ιχθύες εμφάνισαν αιμορραγικές αλλοιώσεις και αλλοίωση του ουραίου πτερυγίου η οποία ήταν εμφανής κατά την επισκόπηση τους. Επιπλέον,

διαπιστώθηκε η ύπαρξη αποπροσανατολισμού, σκούρος χρωματισμός του δέρματος, αδυναμία κολύμβησης και παρέμειναν ακίνητοι στα πλευρικά τοιχώματα του δικτυού. Η θνησιμότητα διατηρήθηκε σε ένα ποσοστό της τάξης 0,004% σε καθημερινή βάση.

Τον Μάρτιο του 2011, ο πληθυσμός είχε κλείσει τον πρώτο χρόνο εκτροφής στην θάλασσα και άρχισε η συλλογή δειγμάτων η οποία διήρκησε περίπου για ένα χρόνο. Οι θεραπείες που είχαν χρησιμοποιηθεί μέχρι εκείνη την στιγμή ήταν μπάνια με φορμόλη για την μείωση του παρασιτικού φορτίου του πληθυσμού στο στάδιο της προπάχυνσης.

Καθ' όλη την διάρκεια του έτους πραγματοποιήθηκαν καθημερινές μετρήσεις των τιμών της θερμοκρασίας του νερού, του pH, του οξυγόνου και της αλατότητας από το προσωπικό της μονάδας οι οποίες βρέθηκαν εντός των φυσιολογικών ορίων. Επιπλέον, δύο φορές το χρόνο πραγματοποιήθηκαν βιολογικές και φυσικοχημικές εξετάσεις του θαλασσινού νερού από πιστοποιημένο εργαστήριο. Οι βιολογικές περιλάμβαναν εξετάσεις για OMX στους 22° και 37° C, προσδιορισμός ολικών κολιβακτηριοειδών, στρεπτόκοκκοι κοπράνων, *Escherichia coli*, *Salmonella spp.* Οι φυσικοχημικές αφορούσαν τον προσδιορισμό του διαλυμένου οξυγόνου, το pH, τα αμμωνιακά, νιτρώδη, νιτρικά, φωσφόρο, χαλκό και τον ψευδάργυρο. Όλες οι παραπάνω μετρήσεις ήταν εντός των αποδεκτών ορίων.

#### **4.1.3 Δειγματοληψία**

Οι δειγματοληψίες πραγματοποιήθηκαν καθ' όλη την διάρκεια του έτους, αλλά και την περίοδο όπου διαπιστώθηκε αυξημένος αριθμός θνησιμοτήτων, με σκοπό την πραγματοποίηση προληπτικού ελέγχου αλλά και την αντιμετώπιση των πιθανών παθολογικών προβλημάτων αντίστοιχα.

Πραγματοποιήθηκαν συνολικά τρεις δειγματοληψίες οι οποίες αφορούσαν μία ομάδα ιχθύων, από τους οποίους συνολικά εξετάστηκαν 30 ιχθύες με σωματικό βάρος από 200 έως 400 γρ. ανάλογα την εποχή του έτους.

Η πρώτη δειγματοληψία πραγματοποιήθηκε, κατά την περίοδο της άνοιξης του έτους 2011, στην οποία η θερμοκρασία νερού θαλάσσης ήταν 14,5° C και αφορούσε δείγμα 10 ιχθύων με μέσο σωματικό βάρος τα 200 με 250γρ. Η δεύτερη δειγματοληψία πραγματοποιήθηκε το καλοκαίρι του 2011, σε δείγμα 10 ιχθύων και με μέσο σωματικό βάρος τα 250 με 300γρ., η θερμοκρασία νερού ήταν 18° C. Τέλος, η τρίτη δειγματοληψία αφορούσε την περίοδο του Φθινοπώρου του ίδιου έτους, το δείγμα αποτελούνταν από 10 ιχθύες μέσου βάρους 450γρ., και η θερμοκρασία του νερού ήταν 20° C. Και στις τρεις δειγματοληψίες το διαλυμένο οξυγόνο της θάλασσας ήταν από 9 mg/L έως 11 mg/L, ενώ η αλατότητα κυμαίνονταν από 39 έως 40‰. Τα δείγματα των προς εξέταση ιχθύων τα οποία συλλέχθηκαν αφορούσαν καχεκτικούς, με απάθεια ή αποπροσανατολισμό, άρρωστους ή ετοιμοθάνατους ιχθύες στους οποίους δεν είχε προηγουμένα χορηγηθεί οποιαδήποτε θεραπεία.

Τα παραπάνω δείγματα ιχθύων συλλέχθηκαν κατά τις πρώτες πρωινές ώρες τοποθετήθηκαν σε σακούλα και επικαλύφθηκαν με θρυμματισμένο πάγο σε ισοθερμικό περιέκτη από διογκωμένο πολυστυρένιο, προκειμένου να αποφευχθούν οι μεταθανάτιες αλλοιώσεις και η αυτόλυση των ιστών. Μετά την συσκευασία όλα τα δείγματα ιχθύων μεταφέρθηκαν εντός χρονικού διαστήματος δύο ωρών στο εργαστήριο Ιχθυολογίας - Ιχθυοπαθολογίας του τμήματος Κτηνιατρικής, του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, στην Καρδίτσα, όπου πραγματοποιήθηκαν όλες οι παρασιτολογικές, μικροβιολογικές και ιστολογικές εξετάσεις.

## 4.2 Μακροσκοπική και Νεκροτομική εξέταση

Όλα τα δείγματα των ιχθύων μετά την άφιξή τους στο εργαστήριο ιχθυοπαθολογίας του τμήματος Κτηνιατρικής στην Καρδίτσα, τοποθετήθηκαν στον πάγκο του εργαστηρίου όπου σημειώθηκε η ημερομηνία και ο κωδικός αριθμός του κάθε ιχθύος. Στην πορεία, πραγματοποιήθηκε αρχικά η εξέταση της εξωτερικής επιφάνειας των ιχθυδίων για τυχόν αλλοιώσεις (Εικ. 14).

Αρχικά μετρήθηκε το σωματικό βάρος και το μήκος κάθε ιχθύος ξεχωριστά. Εξετάστηκε με προσοχή η εξωτερική όψη των ιχθύων σημειώθηκαν οι καχεκτικοί και με σκελετικές ανωμαλίες ιχθύες, έγινε έλεγχος των οφθαλμών, της στοματικής κοιλότητας, του δέρματος, των πτερυγίων και της βραγχιακής κοιλότητας για την διαπίστωση τυχόν αλλοιώσεων. Τα μεταλλικά εργαλεία που χρησιμοποιήθηκαν για την διενέργεια της νεκροψίας απολυμάνθηκαν με εμβάπτιση τους σε διάλυμα αιθανόλης 100% και πέρασμα σε φλόγα Bunsen.

Για την διενέργεια της νεκροτομικής εξέτασης, απολυμάνθηκε εξωτερικά η επιφάνεια των ιχθύων και με ένα ψαλίδι πραγματοποιήθηκε η διάνοιξη του κοιλιακού τοιχώματος από την έδρα με φορά προς την αρχή της κάτω σιαγόνας. Απομακρύνθηκε το βραγχιακό επικάλυμμα κόβοντάς το κάθετα προς τον άξονα του ιχθύος. Απομακρύναμε εντελώς το τμήμα του δέρματος και των σκελετικών μυών που δημιουργήσαμε με τις τομές και με αυτό τον τρόπο αποκαλύφθηκε πλήρως η περιτοναϊκή κοιλότητα. Στην συνέχεια εξετάστηκαν μακροσκοπικά τα εσωτερικά όργανα για την ύπαρξη αλλοιώσεων. Στην πορεία και για να αποφευχθεί η επιμόλυνση του πεδίου ακολούθησε η δειγματοληψία για τις βακτηριολογικές εξετάσεις. Η εξέταση των εσωτερικών οργάνων πραγματοποιήθηκε σε μια επόμενη φάση, είτε με την παρασκευή νωπών, είτε χρωματισμένων παρασκευασμάτων. (Αθανασοπούλου *et al.*, 2008)



Εικόνα 14 Μακροσκοπική εικόνα ιχθύων μυλοκοπίου (*Umbrina cirrosa*) με εμφανή καχεξία και αλλοιωμένο ουραίο πτερύγιο. (πηγή: Εργαστήριο Ιχθυοπαθολογίας Μαντέ,2011)

#### 4.3 Βακτηριολογική εξέταση

Η λήψη υλικού για την πραγματοποίηση των μικροβιολογικών εξετάσεων προηγήθηκε των υπολοίπων, προκειμένου να ελαττωθεί κάθε πιθανότητα επιμόλυνσης. Ως γνωστό, τα βακτηρίδια σε περίπτωση σηψαιμίας εντοπίζονται στον νεφρό του προσβεβλημένου ιχθύος, και πιο συγκεκριμένα στον πρόνεφρο. Για αυτό το λόγο, ο πρόνεφρος αποτέλεσε το κατεξοχήν όργανο εκλογής για την διενέργεια των μικροβιολογικών εξετάσεων. Όλα τα δείγματα ελήφθησαν με άσηπτο τρόπο.

Μετά την διάνοιξη της κοιλιακής κοιλότητας με άσηπτη μέθοδο ακολούθησε η απομάκρυνση του γαστρεντερικού σωλήνα και της νηκτικής κύστης με αποστειρωμένη λαβίδα (Εικ. 15). Με την βοήθεια ενός αποστειρωμένου νυστεριού έγινε αρχικά τομή

τόσο στον πρόσθιο όσο και στον οπίσθιο νεφρό και σε επόμενο βήμα με την βοήθεια αποστειρωμένου κρίκου συλλέξαμε το δείγμα. (Carter, 1973; Roberts & Shepherd, 1997)



Εικόνα 15 Μακροσκοπική εικόνα εσωτερικών οργάνων μετά την διάνοιξη της κοιλιακής κοιλότητας. (πηγή: Εργαστήριο Ιχθυοπαθολογίας Μαντέ,2011)

Προκειμένου να πραγματοποιηθούν οι βακτηριολογικές εξετάσεις τα εν λόγω δείγματα νεφρού, ενοφθαλμίστηκαν σε Tryptone Soy Agar (TSA), Thiosulphate Citrate Bile Salt Agar (TCBS), Marine Agar (MA) και σε *Flexibacter maritimus* medium (FMM) με τις μεθόδους που έχουν περιγραφεί από τους Roberts & Shepherd (1997) (Εικ. 16).

Μετά την απόκτηση των καθαρών αποικιών από ανακαλλιέργειες ακολούθησαν δοκιμές για την ταυτοποίηση των βακτηριδίων. (Roberts & Shepherd, 1997)



Εικόνα 16 Τρυβλία με θρεπτικά υποστρώματα που χρησιμοποιήθηκαν για τις βακτηριολογικές εξετάσεις. (πηγή: Εργαστήριο Ιχθυοπαθολογίας Μαντέ, 2011)

## API 20E

Για την εκτέλεση του API 20E πήραμε από την ανακαλλιέργεια του προς ταυτοποίηση βακτηριδίου και την ομογενοποιήσαμε με αποστειρωμένο φυσιολογικό ορό. Στην συνέχεια, με μια αποστειρωμένη πιπέτα γεμίσαμε με το εναιώρημα όλες τις θήκες με τα αντιδραστήρια μέχρι το κοίλο μέρος χωρίς να δημιουργηθούν φυσαλίδες. Σε όσα αντιδραστήρια υπήρχε κάτω γραμμή βάζαμε ζελατίνη, ενώ σε όσα υπήρχε κουτάκι βάλαμε δείγμα μέχρι επάνω έως να σχηματιστεί μηνίσκος. Στην πορεία το κλείσαμε καλά και το επώασαμε για 24 ώρες στους  $20^{\circ}$  με  $22^{\circ}$  C. Στην αρχή τα σάκχαρα ήταν όλα μπλε, εφόσον μετά από 24 ώρες τρία από αυτά άλλαξαν χρώμα τότε η διαδικασία συνεχίζονταν, διαφορετικά έπρεπε να επαναλάβουμε από την αρχή. Μετά το πέρας 24 ωρών τοποθετήσαμε κάποιες ουσίες ειδικές για το κάθε αντιδραστήριο και ανάλογα το χρωματισμό σημειώναμε αν ήταν αρνητικό ή θετικό με την βοήθεια μιας κλείδας. Στο τέλος προέκυψε ένας επταψήφιος αριθμός ο οποίος και προσδιόρισε το μικροβιακό στέλεχος (Εικ. 17).



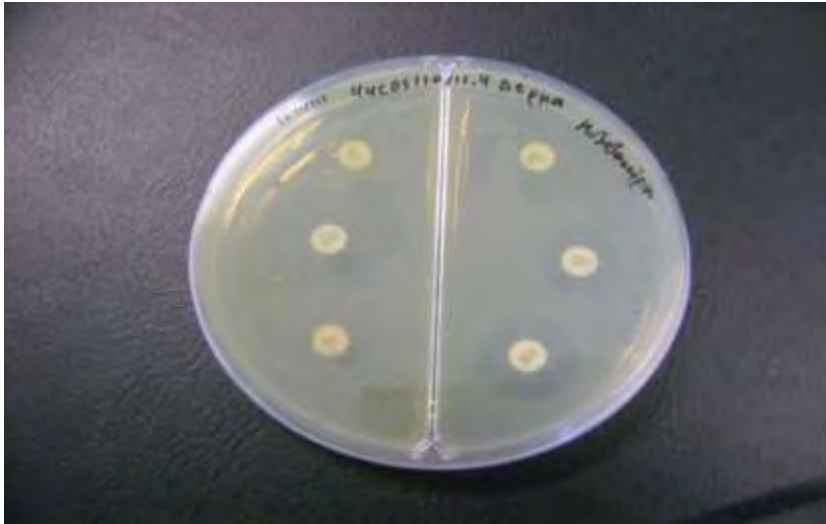


Εικόνα 17 Εικόνα από το API test 20E για την ταυτοποίηση του υπεύθυνου αιτιολογικού παράγοντα. (πηγή: <http><sup>6</sup>)

## Αντιβιογράμμα

Το αντιβιογράμμα, προσδιόρισε την ανθεκτικότητα ή την ευαισθησία του μικροβιακού στελέχους έναντι συγκεκριμένων αντιβιοτικών. Οι δραστικές ουσίες οι οποίες χρησιμοποιήθηκαν ήταν η Σουλφαμεθοξαζόλη – Τριμεθοπρίμη, η Φλουμικίνη, το Οξολονικό οξύ, ο παράγοντας Vibriostatic O129, η Οξυτετρακυκλίνη και η Αμοξυκλίνη. Το κατάλληλο αντιβιοτικό χορηγήθηκε για την αποτελεσματική θεραπεία αποφεύγοντας την αλόγιστη χρήση αντιβιοτικών ουσιών και την δημιουργία ανθεκτικών στελεχών.

Κατά την εκτέλεση του αντιβιογράμματος δημιουργήθηκε ομογενοποιημένο εναιώρημα με δείγμα βακτηρίου με υλικό από καθαρή καλλιέργεια σε αποσταγμένο νερό ή φυσιολογικό ορό. Στην συνέχεια, τοποθετήθηκε σε τρυβλία με θρεπτικό υπόστρωμα TSA και στην πορεία αφαιρέθηκε η περίσσεια του διαλύματος. Ακολούθησε η τοποθέτηση των δίσκων οι οποίοι ήταν εμποτισμένοι με αντιβιοτικό, κατά διαμετρικό τρόπο ώστε να υπάρχει χώρος δράσης για όλα τα αντιβιοτικά. Επώασαμε το τρυβλίο ανεστραμμένο για 24 ώρες και μετά το πέρας αυτού του χρονικού διαστήματος ελέχθησαν οι κύκλοι αναστολής. Το αντιβιοτικό με τον μεγαλύτερο κύκλο ήταν και το καταλληλότερο για την χορήγηση (Εικ. 18).

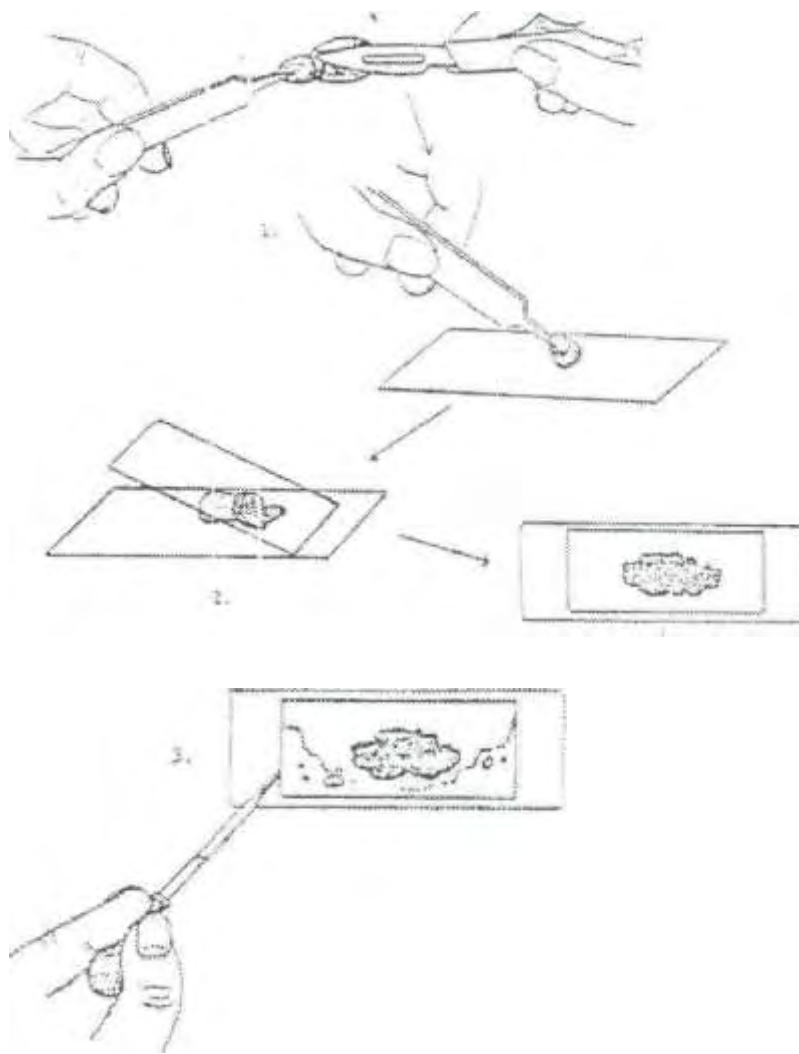


Εικόνα 18 Αντιβιογράμμα (πηγή: Εργαστήριο Ιχθυοπαθολογίας Μαντέ, 2011)

#### 4.4 Παρασιτολογική εξέταση

Κατά την παρασιτολογική εξέταση των ιχθύων, εξετάστηκαν για παρασιτικούς οργανισμούς τα βράγχια, το δέρμα και τα εσωτερικά όργανα (Εικ. 19). Από τα εσωτερικά όργανα εξετάστηκαν ο εντερικός σωλήνας, η χοληδόχος κύστη, το ήπαρ, ο σπλήνας, η καρδιά, οι γονάδες, ο εγκέφαλος και ο νεφρός. Η παρασιτολογική εξέταση των ιχθύων πραγματοποιήθηκε σε νωπά και μονιμοποιημένα παρασκευάσματα σύμφωνα με τις μεθόδους που έχουν περιγράψει οι Roberts (1989) και Athanassopoulou (1990).

Η εξέταση νωπών παρασκευασμάτων πραγματοποιήθηκε σε βράχια προσβεβλημένων ιχθύων. Κατά την εξέταση ελήφθησαν οι πρώτες δεξιές και αριστερές βραγχιακές ασπίδες από το σώμα κάθε ψαριού. Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκαν ξέσματα και των δύο επιφανειών των δύο βραγχιακών ασπίδων σε αντικειμενοφόρες πλάκες, στις οποίες είχε προηγουμένως τοποθετηθεί μία σταγόνα φυσιολογικού ορού, και εν συνεχεία καλύπτονταν με καλυπτρίδα.



Εικόνα 19 Σχηματογράφημα της διαδικασίας παρασκευής νωπών παρασκευασμάτων (πηγή: <http><sup>8)</sup>

Από την βάση του ραχιαίου και των πλευρικών πτερυγίων απομακρύνονταν τα λέπια προσεκτικά και λαμβάνονταν ξέσματα δέρματος, τα οποία τοποθετήθηκαν σε αντικειμενοφόρες πλάκες, στις οποίες είχε ήδη τοποθετηθεί μία σταγόνα φυσιολογικού ορού και ακολούθησε η μικροσκοπική παρατήρηση.

Ακολούθησε η εξέταση του εντερικού σωλήνα από το στόμαχο μέχρι και το απευθυσμένο. Ο εντερικός σωλήνας χωρίστηκε σε δύο ίσα μέρη. Ελήφθησαν ξέσματα του επιθηλίου του στομάχου, του πρόσθιου και του τελευταίου μισού τμήματος του εντερικού σωλήνα και τοποθετήθηκαν σε αντικειμενοφόρες πλάκες, στις οποίες είχε προηγουμένα

τοποθετηθεί μία σταγόνα φυσιολογικού ορού, και καλύφθηκε με καλυπτρίδα για την πραγματοποίηση της μικροσκοπικής παρατήρησης.

Στη συνέχεια, εξετάστηκε η χοληδόχος κύστη η οποία και απομακρύνονταν προσεκτικά, έτσι ώστε να μην σπάσει. Τρεις με τέσσερις σταγόνες τοποθετούνταν σε αντικειμενοφόρες πλάκες και καλύπτονταν με καλυπτρίδα. Επιπλέον, ελήφθησαν ξέσματα από το βλεννογόνο για μικροσκοπική παρατήρηση.

Τέλος, τεμάχια από τον οπίσθιο νεφρό απομακρύνονταν και λυοτριβούνταν σε αντικειμενοφόρες πλάκες, και αφού το επίχρισμα καλύπτονταν με καλυπτρίδα, ακολουθούσε η μικροσκοπική τους εξέταση.

Στην πορεία εξετάστηκαν μονιμοποιημένα παρασκευάσματα, (Παράρτημα Α) των παραπάνω ιστών και οργάνων για την καλύτερη παρατήρηση των παρασιτικών μικροοργανισμών. (Roberts & Shepherd, 1997)

#### Ταυτοποίηση παρασίτων

Η ταυτοποίηση των παρασίτων έγινε αμέσως μετά την ανεύρεσή τους, με την μικροσκοπική παρατήρηση των νωπών παρασκευασμάτων και σε συνδυασμό με τα μονιμοποιηθέντα παρασκευάσματα με βάση τις κλείδες (Yamagouti, 1963; Athanassopoulou, 1990).

#### Υπολογισμός ποσοστού προσβολής (prevalence)

Ο υπολογισμός του ποσοστού προσβολής είναι ο πιο διαδεδομένος τρόπος περιγραφής παρασιτικών μολύνσεων, κυρίως γιατί απαιτεί μόνο ανίχνευση της παρουσίας των παρασίτων και όχι καταμέτρησή τους (Bush *et al.*, 1997). Το ποσοστό προσβολής εκφράστηκε με ποσοστό % και υπολογίστηκε από τον αριθμό των ξενιστών που ήταν

μολυσμένοι από κάποιο παράσιτο προς τον αριθμό όλων των ξενιστών που εξετάστηκαν για το παράσιτο αυτό. Σε κάθε δείγμα ψαριού παρατηρήθηκαν δέκα τυχαία οπτικά πεδία.

#### **4.5 Ιστοπαθολογική εξέταση**

Για την πραγματοποίηση της ιστοπαθολογικής εξέτασης ιστοί από όλα τα εσωτερικά όργανα, το κεφάλι και τους μυς των προσβεβλημένων ιχθύων μονιμοποιήθηκαν με 10% ουδέτερη φορμόλη (Roberts, 1989). Μετά από γρήγορη απασβεστοποίηση παρασκευάστηκαν ιστολογικές τομές οι οποίες, χρωματίστηκαν με Haematoxylin-eosin, σύμφωνα με γνωστή μεθοδολογία. Σε ορισμένες περιπτώσεις όπου κρίθηκε απαραίτητο σε ιστολογικές τομές νεφρού πραγματοποιήθηκαν και οι χρώσεις Giemsa, Ziehl-Nielsen και Gram. (Drury & Wallington, 1980). Η ιστοπαθολογική εξέταση πραγματοποιήθηκε σε δύο ιχθύες από κάθε δειγματοληψία, συνολικά σε έξι ιχθύες. (Παράρτημα Β)

## Κεφάλαιο 5<sup>ο</sup>

### Αποτελέσματα

#### 5.1 Μακροσκοπικά – Νεκροτομικά ευρήματα

Κατά την μακροσκοπική – νεκροτομική παρατήρηση διαπιστώθηκαν ιχθύες με έντονη εικόνα καχεξίας. Επιπλέον, διαπιστώθηκαν αιμορραγικές και ελκωτικές αλλοιώσεις (Εικ. 20) στο δέρμα, στο στόμα, στις γνάθους (Εικ. 21) αλλά και στα θωρακικά περύγια. Επίσης, κατά την μακροσκοπική εξέταση διαπιστώθηκε η ύπαρξη αλλοιωμένων και σε ορισμένες περιπτώσεις νεκρωμένων ουραίων περύγιων (Εικ. 22, 23, 24). Μετά την ανασήκωση των βραγχιακών επικαλυμμάτων εντοπίστηκαν νεκρώσεις και στικτές αιμορραγίες στα βράγγια.



Εικόνα 20 Μυλοκόπι εκτροφής με εμφανή δερματική αλλοίωση κατά την νεκροτομική εξέταση. (πηγή: Εργαστήριο Ιχθυοπαθολογίας Μαντέ, 2011)



Εικόνα 21 Αιμορραγικές αλλοιώσεις στην περιοχή των γνάθων και του στόματος κατά τη μακροσκοπική εξέταση. (πηγή: Εργαστήριο Ιχθυοπαθολογίας Μαντέ, 2011)



Εικόνα 22 Μυλοκόπι (*Umbrina cirrosa*) κατά την μακροσκοπική εξέταση (πηγή: Εργαστήριο Ιχθυοπαθολογίας Μαντέ, 2011)



Εικόνα 23 Μυλοκόπι (*Umbrina cirrosa*) με εμφανή αλλοίωση του ουραίου πτερυγίου. (πηγή: Εργαστήριο Ιχθυοπαθολογίας Μαντέ, 2011)



Εικόνα 24 Μυλοκόπια (*Umbrina cirrosa*) με εμφανή την καχεξία και την αλλοίωση του ουραίου πτερυγίου. (πηγή: Εργαστήριο Ιχθυοπαθολογίας Μαντέ, 2011)

Μετά την διάνοιξη της κοιλιακής κοιλότητας διαπιστώθηκαν αποχρωματισμένα εσωτερικά όργανα (Εικ. 25). Το ήπαρ εμφάνισε κίτρινο-ωχρο χρωματισμό, ενώ το έντερο εμφάνισε εικόνα εντερίτιδας με ορώδες κίτρινο περιεχόμενο, σε ένα μεγάλο αριθμό ιχθύων από κάθε δειγματοληψία. Η χοληδόχος κύστη περιείχε αιμορραγικό περιεχόμενο, το εύρημα αυτό αντιστοιχούσε σε 1 από τους 10 ιχθύες της τρίτης δειγματοληψίας.



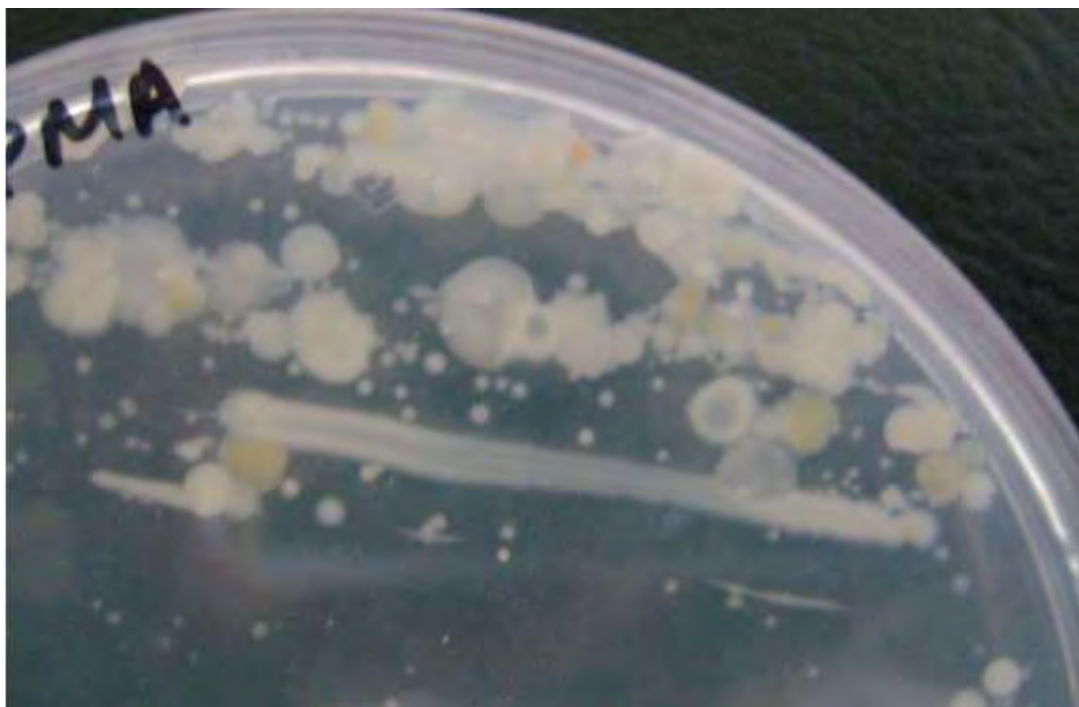
**Εικόνα 25** Επισκόπηση εσωτερικών οργάνων μετά την διάνοιξη της κοιλιακής κοιλότητας, με εμφανές ωχρο – κίτρινο χρωματισμό του ήπατος. (πηγή: Εργαστήριο Ιχθυοπαθολογίας Μαντέ, 2011)



## 5.2 Μικροβιολογικές εξετάσεις

Στην συνέχεια ακολούθησαν οι μικροβιολογικές εξετάσεις από δείγματα ιστών δέρματος, βραγχίων, νεφρού και σπλήνα. Τα δείγματα τα οποία ελήφθησαν από το δέρμα και τα βράγχια ενοφθαλμίστηκαν σε FMM και Marine Agar θρεπτικά υποστρώματα, ενώ τα δείγματα από το νεφρό και το σπλήνα σε TSA και TCBS θρεπτικά υποστρώματα.

Μετά την επώαση στους 19° με 20° C των δειγμάτων ιστών από το δέρμα και τα βράγχια σε θρεπτικά υποστρώματα από FMM και M.A αναπτύχθηκαν αποικίες. Η ανάπτυξη των αποικιών εμφανίστηκε τρεις μέρες μετά την σπορά στα παραπάνω θρεπτικά υποστρώματα. Οι αποικίες που προέκυψαν μετά την επώαση στο FMM ήταν υποκίτρινες με άνισες προεκτάσεις, ενώ στο M.A ήταν στρογγυλές, κίτρινες και ημιδιαφανείς. Οι αποικίες αυτές αντιστοιχούσαν στο *Tenacibaculum maritimum* (*Flexibacter maritimus*) υπεύθυνο μικροβιακό παράγοντα πρόκλησης της Μυξοβακτηριδίασης στους ιχθύες (Εικ. 26, 27).



Εικόνα 26 Ανάπτυξη αποικιών *Tenacibaculum maritimum* (*Flexibacter maritimus*) κίτρινου χρώματος από το δέρμα ιχθύος μυλοκοπίου (*Umbrina cirrosa*) σε θρεπτικό υπόστρωμα από Marine Agar. (πηγή: Εργαστήριο Ιχθυοπαθολογίας Μαντέ, 2011)



Εικόνα 27 Ανάπτυξη αποικιών *Tenacibaculum maritimum* (*Flexibacter maritimus*) κίτρινου χρώματος από το δέρμα και την περιοχή του στόματος ιχθύος Μυλοκοπίου (*Umbrina cirrosa*) σε θρεπτικό υπόστρωμα από FMM. (πηγή: Εργαστήριο Ιχθυοπαθολογίας Μαντέ, 2011)

Από την άλλη μεριά μετά την επώαση σε TSA και TCBS θρεπτικά υποστρώματα από το νεφρό και το σπλήνα διαπιστώθηκε η ανάπτυξη αποικιών του *Listonella* (*Vibrio*) *anguillarum*, σε έναν από τους δέκα συνολικά εξεταζόμενους ιχθύες για την άνοιξη και σε δύο ιχθύες από τους δέκα για το καλοκαίρι. Το *Listonella* (*Vibrio*) *anguillarum* αποτελεί τον υπεύθυνο αιτιολογικό παράγοντα πρόκλησης της Δονακίωσης στα λαυράκια (*Dicentrarchus labrax*). (Noga, 2000)

Το ποσοστό της μόλυνσης ιχθύων από *Tenacibaculum maritimum* (*Flexibacter maritimus*) αυξήθηκε από την άνοιξη προς το φθινόπωρο σε συνδυασμό με την αύξηση της θερμοκρασίας της θάλασσας. Έτσι λοιπόν, κατά την πρώτη δειγματοληψία η προσβολή αφορούσε τέσσερις στους δέκα συνολικά εξεταζόμενους ιχθύες, πέντε στους δέκα στην δεύτερη και επτά στους δέκα στην τρίτη δειγματοληψία. Η προσβολή αυτή αφορούσε ιχθύες μυλοκοπίου (*Umbrina cirrosa*) μεγέθους 250, 350, 450gr κατά σειρά λήψης αντίστοιχα χωρίς την εκδήλωση υψηλού ποσοστού θνησιμοτήτων (Πίνακας 2).

Πίνακας 2 Προσβολή από *Tenacibaculum maritimum* με βάση την εποχικότητα .

| Δειγματοληψία  | Εποχή     | Αριθμός ιχθύων με ανάπτυξη αποικιών <i>Tenacibaculum maritimum</i> | Συνολικός αριθμός ιχθύων |
|----------------|-----------|--|--------------------------|
| 1 <sup>η</sup> | Άνοιξη    | 4  | 10                       |
| 2 <sup>η</sup> | Καλοκαίρι | 5  | 10                       |
| 3 <sup>η</sup> | Φθινόπωρο | 7  | 10                       |

Κατά την θερινή περίοδο διαπιστώθηκε μια μικρή αύξηση του ποσοστού θνησιμοτήτων από την άνοιξη, προς την αρχή του καλοκαιριού. Το γεγονός αυτό συνέπεσε με την παράλληλη ανάπτυξη αποικιών από *Listonella (Vibrio) anguillarum*. (Πίνακας 3).

Πίνακας 3 Προσβολή από *Listonella (Vibrio) anguillarum* με βάση την εποχικότητα.

| Δειγματοληψία  | Εποχή     | Αριθμός ιχθύων με ανάπτυξη αποικιών <i>Listonella (Vibrio) anguillarum</i> | Συνολικός αριθμός ιχθύων |
|----------------|-----------|--|--------------------------|
| 1 <sup>η</sup> | Άνοιξη    | 1  | 10                       |
| 2 <sup>η</sup> | Καλοκαίρι | 2  | 10                       |
| 3 <sup>η</sup> | Φθινόπωρο | 0  | 10                       |

Στη συνέχεια, ακολούθησε η συλλογή αποικιών από κάθε δείγμα και πραγματοποιήθηκαν ανακαλλιέργειες (Εικ. 28). Με αυτό τον τρόπο, πετύχαμε μεμονωμένες καθαρές αποικίες, οι οποίες και μας βοήθησαν στην πορεία της ιχθυοπαθολογικής εξέτασης για την ταυτοποίηση του υπεύθυνου μικροβιακού παράγοντα αλλά και στην εκτέλεση σε ένα μεταγενέστερο βήμα του αντιβιογράμματος.



Εικόνα 28 Ανακαλλιέργεια από αποικίες *Tenacibaculum maritimum* (*Flexibacter maritimus*) μετά την επώαση σε *Cytobaga* θρεπτικό υπόστρωμα. (πηγή: Εργαστήριο Ιχθυοπαθολογίας Μαντέ, 2011)

## 5.3 Μικροσκοπικά ευρήματα

### 5.3.1 Νωπά επιχρίσματα

Κατά την μικροσκοπική παρατήρηση των νωπών παρασκευασμάτων από ξέσματα βραγχίων με φακό 40X παρατηρήθηκαν τα Μονογενή παράσιτα, *Furnistinia* spp. και *Diplectanum* spp. (Εικ. 29, 30).



Εικόνα 29 *Diplectanum* σε νωπά παρασκευάσματα βραγχίων, μεγέθυνση X 400. (πηγή: Εργαστήριο Ιχθυοπαθολογίας Μαντέ, 2011)



Εικόνα 30 Παρασιτικοί οργανισμοί σε νωπά παρασκευάσματα βραγχίων, μεγέθυνση X 400. (πηγή: Εργαστήριο Ιχθυοπαθολογίας Μαντέ, 2011)

Ο αριθμός του παρασιτικού μικροοργανισμού *Furnistinia* spp. διαπιστώθηκε ότι παρέμεινε σταθερός κατά την πρώτη και την δεύτερη δειγματοληψία, ενώ το παρασιτικό φορτίο κατά την Φθινοπωρινή περίοδο φάνηκε να απουσιάζει (Πίνακας 4).

Πίνακας 4 Παρασίτωση από *Furnestinia* spp. με βάση την εποχικότητα.

| Δειγματοληψία  | Εποχή     | Αριθμός παρασιτούμενων ιχθύων από <i>Furnestinia</i> spp. | Συνολικός αριθμός ιχθύων |
|----------------|-----------|---|--------------------------|
| 1 <sup>η</sup> | Άνοιξη    | 2   | 10                       |
| 2 <sup>η</sup> | Καλοκαίρι | 2   | 10                       |
| 3 <sup>η</sup> | Φθινόπωρο | 0   | 10                       |

Όσον αφορά την προσβολή των ιχθύων από τον παρασιτικό μικροοργανισμό *Diplectanum* spp. αποκαλύφθηκε ότι η προσβολή ήταν πιο έντονη στη δεύτερη δειγματοληψία δηλαδή, κατά την θερινή περίοδο. (Πίνακας 5).

Πίνακας 5 Παρασίτωση από *Diplectanum* spp. με βάση την εποχικότητα.

| Δειγματοληψία  | Εποχή     | Αριθμός παρασιτούμενων ιχθύων από <i>Diplectanum</i> spp. | Συνολικός αριθμός ιχθύων |
|----------------|-----------|---|--------------------------|
| 1 <sup>η</sup> | Άνοιξη    | 0   | 10                       |
| 2 <sup>η</sup> | Καλοκαίρι | 1   | 10                       |
| 3 <sup>η</sup> | Φθινόπωρο | 0   | 10                       |

Κατά την μικροσκοπική εξέταση ξεσμάτων δέρματος σε νωπά παρασκευάσματα από δέρμα διαπιστώθηκε η ύπαρξη κυτταρικών στοιχείων σε σχήμα μακρών και λεπτών ράβδων, με ύπαρξη κινητικότητας. Τα κυτταρικά αυτά στοιχεία ανήκαν στον βακτηριακό παράγοντα *Tenacibaculum maritimum* (*Flexibacter maritimus*) υπεύθυνο για την πρόκληση της Μυξοβακτηριδίασης των ιχθύων (Εικ. 31).



Εικόνα 31 Μικροσκοπική απεικόνιση του *Tenacibaculum maritimum* (*Flexibacter maritimus*) σε νωπό παρασκεύασμα από δέρμα ιχθύος μυλοκοπίου (*Umbrina cirrosa*), μεγέθυνση X 1000. (πηγή: Εργαστήριο Ιχθυοπαθολογίας Μαντέ, 2011)

### 5.3.2 Μονιμοποιημένα παρασκευάσματα με χρώση GRAM

Ακολούθησε η χρώση των παρασκευασμάτων από ξέσματα δέρματος με τη Gram χρώση. Τα κυτταρικά στοιχεία που παρατηρήθηκαν χρωματίστηκαν κόκκινα, και με βάση την μορφολογία τους αποδείχτηκε ότι πρόκειται για λεπτούς επιμήκης βακίλους Gram (-), και συγκεκριμένα Μυξοβακτηρίδια *Tenacibaculum maritimum* (*Flexibacter maritimus*) (Εικ. 32).



Εικόνα 32 Μυξοβακτήρια *Tenacibaculum maritimum* (*Flexibacter maritimus*) από ξέσμα δέρματος μετά από Gram χρώση, μεγέθυνση X1000. (πηγή: Εργαστήριο Ιχθυοπαθολογίας Μαντέ, 2011)

## 5.4 API 20E

Για τη ταυτοποίηση των βακτηρίων συλλέχθηκαν καθαρές αποικίες από θυγατρικές καλλιέργειες και πραγματοποιήθηκαν ανακαλλιέργειες μικρού χρόνου επώασης (18-24h), ακολούθησε η εκτέλεση του API 20E με την διαδικασία η οποία περιγράφηκε στο κεφάλαιο 4. Το βιοχημικό προφίλ αποτελεί ισχυρό εργαλείο για την ταυτοποίηση ενός παθογόνου παράγοντα.

Στην περίπτωση του *Tenacibaculum maritimum* η βάση δεδομένων για το API 20E δεν περιέχει το βακτήριο στις καταχωρήσεις, έτσι τα αποτελέσματα που θα προκύψουν, θα συγκριθούν τόσο μεταξύ τους όσο και βιβλιογραφικά για να επαληθευτεί η εγκυρότητα των αποτελεσμάτων. Είναι θετικό καταλάσης, οξυδάσης και απορροφά το κόκκινο του Congo (Avendano- Herrera *et al.*, 2004). Μειώνει τα νιτρικά και δεν παράγει υδρόθειο (H<sub>2</sub>S) ( Bernardet *et al.*, 1990; Ostland *et al.*, 1999), ωστόσο είναι πιθανό για ορισμένα στελέχη του *T. maritimum* να μην παρατηρηθεί μείωση στα νιτρικά και να είναι θετικά σε υδρόθειο (Chen *et al.*, 1995; Avendano- Herrera *et al.*, 2004).

Κατά τον βιοχημικό χαρακτηρισμό με την δοκιμή API 20E, προέκυψε ένας επταψήφιος αριθμός μετά την ολοκλήρωση της διαδικασίας σύμφωνα με το Index προσδιορισμού των μικροβιακών στελεχών. Η ταυτοποίηση του υπεύθυνου αιτιολογικού παράγοντα στην περίπτωση του *Tenacibaculum maritimum* προέκυψε μετά από τον συνδυασμό ευρημάτων των νωπών και με χρώση παρασκευασμάτων, την εξέταση των αποικιών που προέκυψαν από τις μικροβιολογικές μεθόδους, και τέλος από τις βιοχημικές αντιδράσεις στο API 20E (Εικ. 33).

Από την άλλη πλευρά η ταυτοποίηση του υπεύθυνου αιτιολογικού παράγοντα της Δονακίωσης του *Listonella (Vibrio) anguillarum* καταδείχθηκε από τον επταψήφιο αριθμό του API 20 E μετά την ολοκλήρωση της διαδικασίας σύμφωνα με το Index προσδιορισμού των μικροβιακών στελεχών.

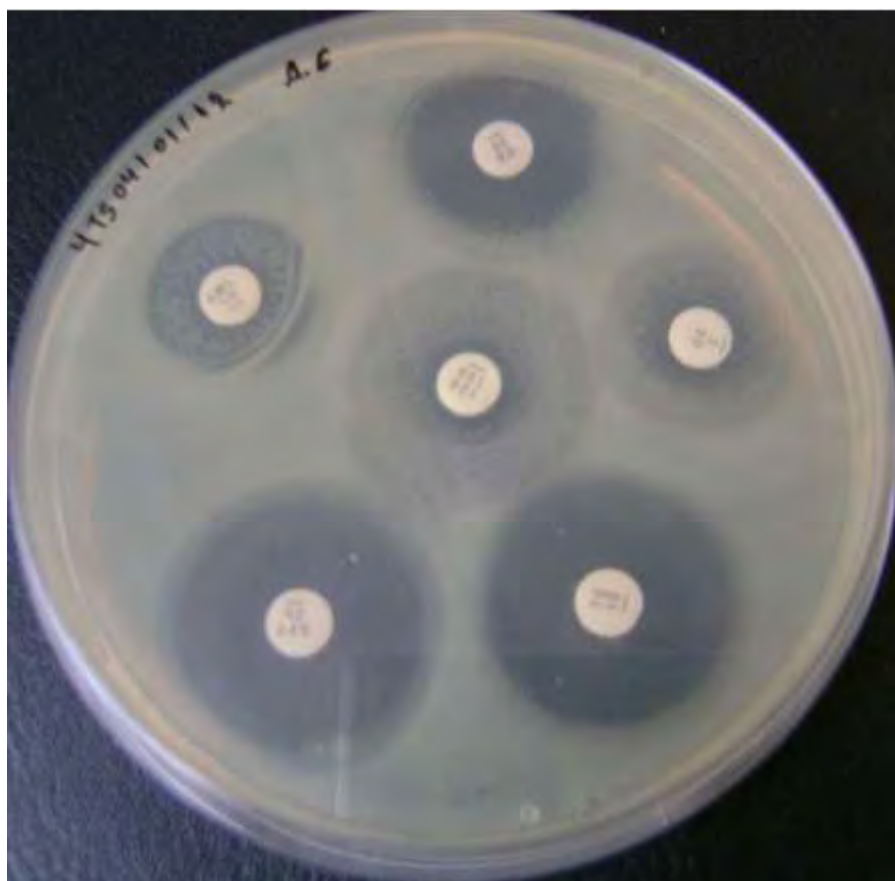




Εικόνα 33 API test 20E κατά το οποίο η αντίδραση στην ζελατίνη και στην οξυδάση ήταν θετικές. (πηγή: Εργαστήριο Ιχθυοπαθολογίας Μαντέ, 2011)

## 5.5 Αντιβιογράμμα - Θεραπεία

Από τα αποτελέσματα του αντιβιογράμματος, διαπιστώθηκε ότι η δραστική ουσία Σουλφαμεθοξαζόλη – Τριμεθοπρίμη και δευτερογενώς η Οξυτετρακυκλίνη εμφάνισαν την μεγαλύτερη διάμετρο κύκλου αναστολής και κρίθηκαν ως οι κατάλληλες για την χορήγηση και αντιμετώπιση του υπεύθυνου αιτιολογικού παράγοντα της Μυξοβακτηριδίασης (Εικ. 34).



Εικόνα 34 Αντιβιογράμμα μετά από 24 ώρες επώασης, με μεγαλύτερη διάμετρο κύκλου αναστολής για την δραστική ουσία οξυτετρακυκλίνη. (πηγή: Εργαστήριο Ιχθυοπαθολογίας Μαντέ, 2011)

Εν κατακλείδι, τα αποτελέσματα της διαγνωστικής εργαστηριακής διερεύνησης των ιχθύων μυλοκοπίου (*Umbrina cirrosa*) κατέδειξαν την ύπαρξη Μυξοβακτηρίων στο δέρμα, την δευτερογενή προσβολή από παρασιτικούς οργανισμούς στα βράγχια και την επιμόλυνση του νεφρού από τον βακτηριακό παράγοντα *Listonella* (*Vibrio*) *anguillarum*.

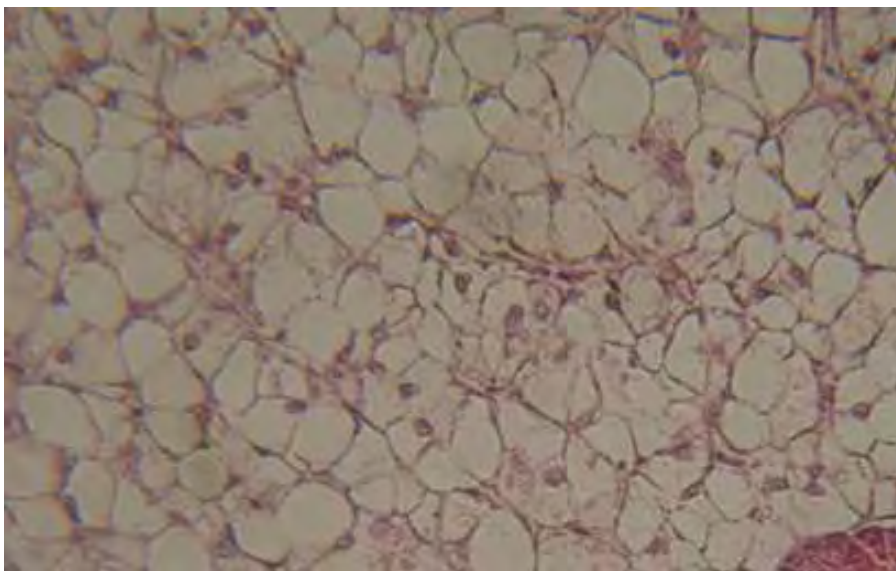
## 5.6 Ιστοπαθολογικές εξετάσεις

Τα αποτελέσματα της ιστοπαθολογικής εξέτασης κατέδειξαν την ύπαρξη υπερπλασίας των βραγχίων (Εικ. 35). Λιπώδους διήθησης (Εικ. 36) και εκφύλισης του ηπατικού ιστού, σε 4 από τους 6 ιχθύες (Εικ. 37). Η χοληδόχος κύστη σε γενικές γραμμές ήταν φυσιολογική, ενώ 1 στους 6 ιχθύες εμφάνισαν απόπτωση και νέκρωση των επιθηλιακών κυττάρων της χοληδόχου κύστης στο εσωτερικό του αυλού της (Εικ. 38, 39). Στο έντερο διαπιστώθηκε απόπτωση των εντερικών λαχνών και του βλεννογόνου, συγκόλληση των εντερικών λαχνών, υπεραιμία του εντέρου και εντερίτιδα σε 4 στους 6 ιχθύες (Εικ 40).

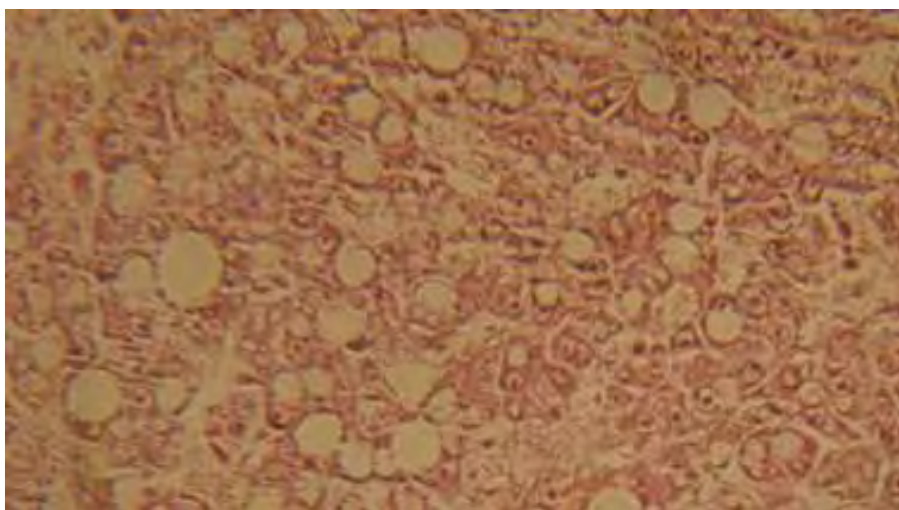
Οι ιστοπαθολογικές εξετάσεις αφορούσαν σε συνολικό αριθμό έξι ιχθύων. Πραγματοποιήθηκαν δηλαδή, εξετάσεις σε δύο ιχθύες από κάθε δειγματοληψία κατά προτίμηση όποιοι εμφάνιζαν μακροσκοπικές αλλοιώσεις οι οποίες έρχηζαν περαιτέρω διερεύνησης.



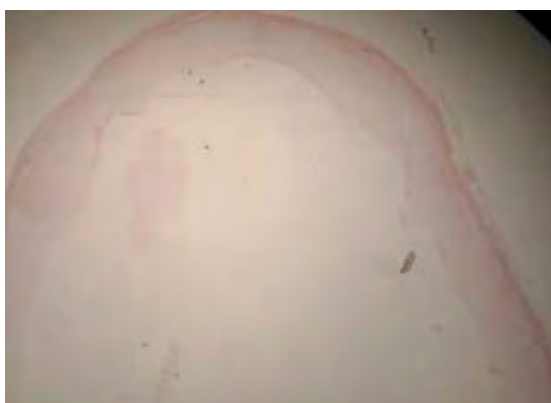
Εικόνα 35 Ιστοπαθολογική εξέταση των βραγχίων, στην οποία διαπιστώθηκε η ύπαρξη υπερπλασίας, χρώση αιματοξυλίνης – εωσίνης, μεγέθυνση X100. (πηγή: Εργαστήριο Ιχθυοπαθολογίας Μαντέ, 2011)



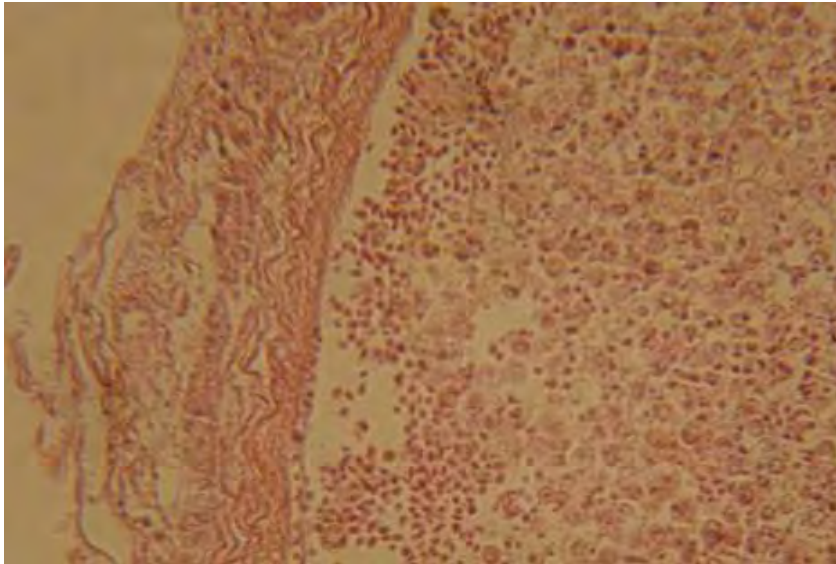
**Εικόνα 36** Ιστολογική τομή ηπατικού ιστού με λιπώδης διήθηση και με εμφανείς τους πυρήνες στην περιφέρεια των κυττάρων, χρώση αιματοξυλίνη – εωσίνη, μεγέθυνση X400. (πηγή: Εργαστήριο Ιχθυοπαθολογίας Μαντέ, 2011)



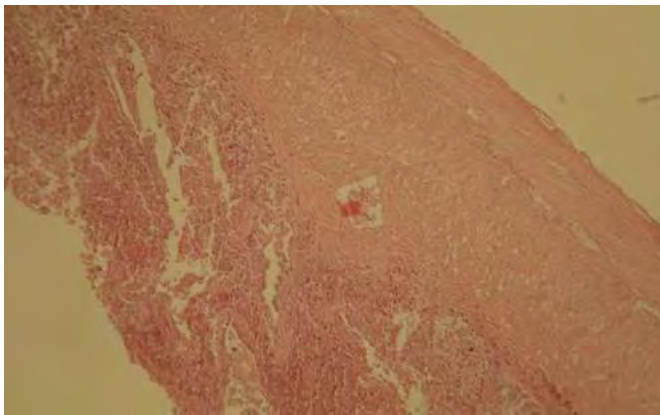
**Εικόνα 37** Ιστολογική τομή ηπατικού ιστού με λιπώδη εκφύλιση, χρώση αιματοξυλίνη – εωσίνη, μεγέθυνση X400. (πηγή: Εργαστήριο Ιχθυοπαθολογίας Μαντέ, 2011)



**Εικόνα 38** Ιστολογική τομή φυσιολογικής χοληδόχου κύστης, χρώση αιματοξυλίνη – εωσίνη, μεγέθυνση X400. (πηγή: Εργαστήριο Ιχθυοπαθολογίας Μαντέ, 2011)



**Εικόνα 39** Ιστολογική τομή χοληδόχου κύστης με εμφανή την απόπτωση και νέκρωση των επιθηλιακών κυττάρων, χρώση αιματοξυλίνη – εωσίνη, μεγέθυνση X400. (πηγή: Εργαστήριο Ιχθυοπαθολογίας Μαντέ, 2011)



**Εικόνα 40** Ιστολογική τομή εντέρου με απόπτωση και συγκόλληση των εντερικών λαχνών και του εντερικού βλεννογόνου, υπεραϊμία και φλεγμονή του εντέρου, χρώση αιματοξυλίνη – εωσίνη, μεγέθυνση X 100 (πηγή: Εργαστήριο Ιχθυοπαθολογίας Μαντέ, 2011)

## 5.7 Συζήτηση

Στον τομέα της θαλάσσιας ιχθυοκαλλιέργειας τα τελευταία χρόνια εκδηλώθηκε έντονη η ανάγκη για εισαγωγή νέων ειδών ιχθύων υψηλής εμπορικής αξίας, με καλή προσαρμοστικότητα σε συνθήκες εκτροφής και υψηλό ρυθμό ανάπτυξης. Το μυλοκόπι (*Umbrina cirrosa*) αποτελεί ένα είδος ιχθύος το οποίο έχει ενταχθεί στα Μεσογειακά είδη και γίνονται προσπάθειες για την εντατική εκτροφή του σε συνθήκες αιχμαλωσίας. Ωστόσο, ο αριθμός των μελετών σχετικά με την παθολογία του είδους είναι πολύ περιορισμένος και δεν έχει ακόμη διερευνηθεί πλήρως. Η παρούσα διπλωματική εργασία είναι πρωτότυπη, επειδή είναι η πρώτη φορά που γίνεται έρευνα σχετικά με την παθολογία του εν λόγω είδους για ένα τόσο εκτεταμένο χρονικό διάστημα.

Μέσω της παρούσας διπλωματικής εργασίας καταδείχτηκε ότι το μυλοκόπι (*Umbrina cirrosa*) κάτω από συνθήκες αιχμαλωσίας ήταν επιρρεπές σε βακτηρίδια και παρασιτικούς οργανισμούς, τα οποία κατά καιρούς έχουν απασχολήσει την Ελληνική ιχθυοκαλλιέργεια.

Το *Tenacibaculum maritimum* (*Flexibacter maritimus*) απομονώθηκε στο μυλοκόπι (*Umbrina cirrosa*) με μεγαλύτερο ποσοστό προσβολής το Φθινόπωρο στο οποίο και εντοπίστηκαν οι υψηλότερες θερμοκρασίες στο θαλασσινό νερό. Το *Tenacibaculum maritimum* (*Flexibacter maritimus*) αποτέλεσε τον υπεύθυνο αιτιολογικό παράγοντα της Μυξοβακτηριδίασης. Πρόκειται για μια βακτηριδιακή νόσο η οποία προκάλεσε σημαντικά ποσοστά θνησιμοτήτων μεταξύ των θαλασσίων ειδών ιχθύων. Παρόλα ταύτα, στο μυλοκόπι αποτέλεσε τυχαίο εύρημα και δεν εκδηλώθηκε με υψηλό ποσοστό θνησιμοτήτων.

Σύμφωνα με τον Santo και τους συν. (1999), το παραπάνω βακτηριακό στέλεχος έχει απομονωθεί και από άλλα είδη ιχθύων. Ορισμένα από αυτά ήταν η γλώσσα (*Solea solea*), τα λαβράκια (*Dicentrarchus labrax*), το καλκάνι (*Scophthalmus maximus*), ο

σολομός του Ατλαντικού (*Salmo salar*) και ο coho σολομός (*Oncorhynchus kisutch*). Στην Ιαπωνία, η ασθένεια έχει αναφερθεί στους κεφάλους (*Pagrus major*), τα σκαθάρια (*Acanthopagrus schlegeli*), και στο καλκάνι (*Paralichthys olivaceous*). Πρόσφατα, το *Tenacibaculum maritimum* απομονώθηκε στη νότια Καλιφόρνια, των ΗΠΑ, από το θαλάσσιο άσπρο μπάσο (*Atractoscion nobilis*), από την σαρδέλα του Ειρηνικού (*Sardinops sagax*), και από γαύρο (*Engraulis mordax*).

Αν και η ασθένεια περιγράφηκε για πρώτη φορά σε νεαρούς ιχθύες, η εμφάνιση της θαλάσσιας Μυξοβακτηρίωσης θεωρήθηκε πλέον ένας εν δυνάμει περιοριστικός παράγοντας για την καλλιέργεια πολλών ειδών θαλάσσιων ιχθύων υψηλής εμπορικής αξίας σε διαφορετικές γεωγραφικές περιοχές. Επιπλέον, αποδείχτηκε ότι μπορούσε να επιδράσει διαφορετικά ανάλογα το στάδιο του κύκλου παραγωγής. (Santos *et al.*, 1999)

Η απομόνωση του *Listonella anguillarum* από το μυλοκόπι (*Umbrina cirrosa*) έγινε για πρώτη φορά. Πρόκειται για το πιο κοινό παθογόνο βακτηρίδιο των ιχθύων εκτροφής. Ο παθογόνος αυτός μικροοργανισμός όπως προκύπτει και παρακάτω θα μπορούσε να συνδέεται με την καταρροϊκή εντερίτιδα η οποία αποκαλύφθηκε με τις μακροσκοπικές και ιστοπαθολογικές εξετάσεις του εντερικού ιστού. Ο παθογόνος μικροοργανισμός *Vibrio anguillarum* με παλαιότερη ονομασία *Listonella (Vibrio) anguillarum* είναι ο υπεύθυνος αιτιολογικός παράγοντας πρόκλησης της Δονακίωσης των εκτρεφόμενων ιχθύων. Πρόκειται για μια θανατηφόρο αιμορραγική, σηψαιμική νόσο η οποία προσβάλλει τόσο ιχθύες, όσο και μαλάκια και καρκινοειδή τα οποία διαβιούν σε θαλασσινό, υφάλμυρο ακόμη και σε γλυκό νερό. Όσον αφορά τις υδατοκαλλιέργειες σε παγκόσμια κλίμακα η ασθένεια αυτή είναι υπεύθυνη για τη πρόκληση σοβαρών οικονομικών απωλειών. (Frans *et al.*, 2011)

Σύμφωνα με τον Noga (2000), η νόσος έχει εμφανιστεί με την υπεροξεία, οξεία και χρόνια μορφή. Η υπεροξεία μορφή, μπορεί να εκδηλωθεί με ανορεξία, σκούρο

χρωματισμό και ξαφνικούς θανάτους σε νεαρούς ιχθύες. Η οξεία μορφή, έχει χαρακτηριστεί από την ύπαρξη σκούρου χρώματος, υποδερμικά έλκη, αναιμία, δερματικές αιμορραγίες. Η εικόνα των εσωτερικών οργάνων είναι αντίστοιχη της σηψαιμικής νόσου χαρακτηρίζεται από πετέχιες, σπληνομεγαλία και νέκρωση του νεφρικού ιστού. Ιστολογικά, έχει διαπιστωθεί νέκρωση του σπλήνα, του ήπατος, των νεφρών και της καρδιάς. Η νεκρωτική εντερίτιδα χαρακτηρίστηκε ότι ήταν υπεύθυνη για την παραγωγή καταρροϊκού, κίτρινου χρώματος, βλενώδους εξιδρώματος. Η χρόνια μορφή, έχει παρουσιαστεί με την ύπαρξη σε βάθος, κοκκιωμάτωσης στους μυς συμπεριλαμβανομένου και της κεφαλής. Ωστόσο, οι αλλοιώσεις αυτές μπορεί να μην ανεβρεθούν παρά μόνο κατά την εξαλίευση. Οι αλλοιώσεις στους οφθαλμούς είναι κοινές, περιλαμβάνουν οίδημα, έλκη του κερατοειδή και εξόφθαλμο. (Noga, 2000)

Η ανεύρεση των Μονογενών παρασίτων *Furnestinia spp.* και *Diplectanum spp.* στο μυλοκόπι (*Umbrina cirrosa*) θα μπορούσε να συνδυαστεί με την υπερπλασία των βραγχίων η οποία εντοπίστηκε με την ιστοπαθολογική εξέταση. Σύμφωνα με την Álvarez-Pellitero (2004), οι παρασιτικοί αυτοί οργανισμοί μπορούσαν να προκαλέσουν διαφορετικού βαθμού ζημιές στους παρασιτούμενους ιχθύες. Σε ορισμένες περιπτώσεις, μετά από μέτριες ή βαριές λοιμώξεις εμφανίστηκαν θάνατοι οι οποίοι αφορούσαν κυρίως νεαρής ηλικίας ιχθύες, σε συνδυασμό με την αύξηση της θερμοκρασίας του νερού. Στα κλινικά συμπτώματα περιλαμβάνονταν ο λήθαργος, η ανοξία, η απώλεια της όρεξης και ο κνησμός. Περίσσεια βλέννας, αδιαφάνεια, ακόμα και έλκη ή αιμορραγίες μπορούσαν να εμφανιστούν. Οι ιστοπαθολογικές αλλοιώσεις των βραγχίων χαρακτηρίστηκαν από την ύπαρξη υπερπλασίας, πεταλοειδή σύντηξη, αιμορραγίες και φλεγμονώδη διήθηση του ιστού.

Σύμφωνα με την Álvarez-Pellitero (2004), το γένος *Furnestinia spp.* ανήκε στην οικογένεια του Diplectanidae. Η *Furnestinia echeneis* βρέθηκε ότι ήταν πιο συχνή στην



τσιπούρα (*S. aurata*), σε διαφορετικές χώρες της Μεσογείου. Δεν θεωρήθηκε ιδιαίτερα παθογόνος παρασιτικός οργανισμός, αν και σε ορισμένες περιπτώσεις μπορούσαν να προκύψουν βλάβες μετά από έντονο παρασιτισμό. Τα ποσοστά θνησιμοτήτων μπορούσαν να αυξηθούν στις περιπτώσεις ύπαρξης μεικτών λοιμώξεων.

Όσον αφορά το *Diplectanum* spp. βρέθηκε από την Álvarez-Pellitero (2004), ότι τα πιο γνωστά είδη του γένους αυτού ήταν το *D.aequans* και το *D.laubieri*, τα οποία και παρασιτούσαν συχνά το μεσογειακό είδος λαυράκι (*D. labrax*). Η διασπορά τους ήταν πολύ μεγάλη στις περιοχές της Μεσογείου και του Ατλαντικού, η οποία και συνέπιπτε με την διανομή του λαβρακιού (*D. labrax*). Το *D.aequans* θεωρήθηκε περισσότερο παθογόνο, κυρίως για τα ιχθύδια γόνου αλλά και των γεννητόρων.

Η διάγνωση του *Diplectanum* βασίζεται κυρίως σε άμεσες μεθόδους εξέτασης νοπών επιχρισμάτων και στην ιστοπαθολογική εξέταση. (Álvarez-Pellitero, 2004) Οι παρασιτικές ασθένειες μπορούσαν να αντιμετωπιστούν με την χρήση του γλυκού ή θαλασσινού νερού κατά περίπτωση. Η χρήση λουτρών με φορμόλη είχε αρκετά καλά αποτελέσματα, ενώ άλλα παράσιτα απαιτούσαν τη χρήση εντομοκτόνων ουσιών. Προσοχή πρέπει να δοθεί στο γεγονός ότι η ανάμιξη σύμπληκτων ζωοτροφής με ένα φάρμακο μπορούσε να προκαλέσει προβλήματα στην γευστικότητα της, αν και κάτι τέτοιο μπορούσε να διορθωθεί με την ανάμιξη τους με ιχθυέλαιο. (Çağırğan, 2009) Ωστόσο, ορισμένες λοιμώξεις εμφάνισαν μεγάλη ανθεκτικότητα στις θεραπείες. Επιπλέον, συνιστάται να λαμβάνονται τόσο γενικά μέτρα πρόληψης, όσο και περιοδική εξέταση των ιχθύων. (Álvarez-Pellitero, 2004)

Με βάση τον Penrith και τους συν. (1994), η ύπαρξη της λιπώδους διήθησης και εκφύλισης του ήπατος μυλοκοπίου (*Umbrina cirrosa*) δεν είχε προηγουμένα περιγραφεί για το εν λόγω είδος. Για τις περισσότερες μονάδες εντατικής εκτροφής ο βαθμός προσβολής από την πάθηση αυτή ήταν σημαντικός, γεγονός που ενισχύει την άποψη ότι η

πρόκειται για διαχειριστικό πρόβλημα. Στην περίπτωση του μυλοκοπίου (*Umbrina cirrosa*), η πάθηση θα μπορούσε να είναι αναμενόμενη από την άποψη ότι μέχρι στιγμής δεν υπάρχουν ισορροπημένα σιτηρέσια για την ορθολογική εκτροφή του νέου αυτού είδους ιχθύος.

Η λιπώδης δυσλειτουργία, λιπώδης ηπατική νόσος ή λιπώδης εκφύλιση του ήπατος αποτέλεσε ένα σοβαρό και συνήθως με θανατηφόρα εξέλιξη νόσο των καλλιεργούμενων ιχθύων. Η νόσος έχει περιγραφεί κυρίως στην ιριδίζουσα πέστροφα, (*Oncorhynchus mykiss*), αλλά ενδεχομένως η εμφάνιση της να αφορά και άλλα είδη ιχθύων. Η διάγνωσή της στηρίχτηκε στην ύπαρξη της γενικευμένης διήθησης του ήπατος από λιπαρά οξέα, αν και διήθηση από λιπαρά οξέα μπορεί να εμφανιστεί και σε ιστούς άλλων οργάνων. Η αναιμία, η στειρότητα και η ανοσοκαταστολή μετά από δευτερογενή βακτηριακή λοίμωξη αποτέλεσαν κοινά επακόλουθα της νόσου. (Penrith *et al.*, 1994)

Η νόσος έχει χαρακτηριστεί ως η πιο κοινή μεταβολική διαταραχή και η συχνότερη αιτία θανάτου για ιχθύες ενυδρείου, ωστόσο ο Cooper (1972), ανέφερε την εμφάνιση της νόσου στο είδος *Cichlasoma festivum*. Όπως και κάθε διαιτητικής προέλευσης νόσημα μπορεί να προληφθεί μέσω της εφαρμογής των κατάλληλων διαχειριστικών μέτρων.

Σύμφωνα με τον Penrith και τους συν. (1994), η νόσος οδηγούσε στον θάνατο των ιχθύων ο οποίος οφείλονταν σε ηπατική ανεπάρκεια, η οποία οδήγησε σε μειωμένη παραγωγή των παραγόντων πήξης και στην πρόκληση αιμορραγίας. Η συσσώρευση αιμοσιδηρίνης στο νεφρό ήταν πιθανώς το αποτέλεσμα της αιμόλυσης, η οποία και αποτέλεσε την συνιστώσα της εκδήλωσης της αναιμίας.

Η λιπώδης διήθηση του ήπατος αποδείχτηκε ότι οφείλονταν σε διαιτητικούς παράγοντες. Η οξειδωση τροφών με υψηλή περιεκτικότητα σε πολυακόρεστα λιπαρά

οξέα, είχε ως αποτέλεσμα την τάγγιση των λιπαρών οξέων και την αδρανοποίηση της βιταμίνης E, προκαλώντας την εκδήλωση της νόσου. Επιπλέον, η νόσος προκλήθηκε και πειραματικά μετά από την χορήγηση μιας ποικιλίας διατροφών, συμπεριλαμβανομένων ξηρών έτοιμων μερίδων αλλά και καθαρής σάρκας των θαλάσσιων ιχθύων. Σε όλες τις περιπτώσεις ως κοινός παράγοντας πρόκλησης της νόσου φάνηκε ότι ήταν η μονότονη διατροφή.

Όπως προέκυψε από τη βιβλιογραφία η νόσος μπορούσε να αποφευχθεί με τη σωστή διαχείριση, και συγκεκριμένα όσον αφορά την παράθεση της τροφής. Επίσης, η αλλαγή της διατροφής αλλά και η αποφυγή της υπερβολικής χορήγησης τροφής φάνηκε ότι ήταν οι πιο σημαντικοί παράγοντες για την πρόληψη της νόσου. (Penrith *et al.*, 1994)

Σύμφωνα με τον Uran και τους συν. (2008), σχετικά με τα ευρήματα των ιστοπαθολογικών εξετάσεων του εντερικού ιστού, και την εμφάνιση εντερίτιδας θα μπορούσε να ενοχοποιηθεί μια συνδυαστική δράση διατροφικών, βακτηριδιακών και παρασιτικών παραγόντων. Στην προκειμένη περίπτωση, του μυλοκοπίου όπως αναφέρθηκε και προηγούμενα δεν υπάρχει σιτηρέσιο για αποκλειστική χρήση στο συγκεκριμένο είδος και οι τροφές που χρησιμοποιήθηκαν ήταν του εμπορίου για τσιπούρα (*Sparus aurata*). Επιπλέον, με βάση τις μικροβιολογικές εξετάσεις διαπιστώθηκε η ύπαρξη του *Listonella (Vibrio) anguillarum* το οποίο θα μπορούσε να αποικήσει το βλεννογόνο του εντέρου και να προκαλέσει την εκδήλωση φλεγμονής.

Το εντερικό επιθήλιο αποτέλεσε ένα σημαντικό χώρο για την απορρόφηση των θρεπτικών ουσιών, την ανοσία, την ωσμωτική ισορροπία, την ανανέωση των ενζύμων και των μακροστοιχείων. Η ποιότητα και η ποσότητα των τροφίμων αποτέλεσαν σημαντικούς παράγοντες για την ανάπτυξη του εντερικού ιστού και της αρχιτεκτονικής του βλεννογόνου, ωστόσο δεν θα πρέπει να παραβλεφθεί και η επιρροή από τις περιβαλλοντικές συνθήκες που επικρατούσαν κάθε φορά. Η θερμοκρασία έχει θεωρηθεί

ένας από τους πιο σημαντικούς περιβαλλοντικούς παράγοντες για την ανάπτυξη και την αύξηση των ιχθύων. Στα είδη των σαλμονιδών, επηρέασαν τις φυσιολογικές λειτουργίες, τη διατροφική συμπεριφορά, τις αντιδράσεις στο στρες και την ευαισθησία τους σε παθογόνους μικροοργανισμούς, οι οποίοι επιδρούσαν στο ανοσοποιητικό σύστημα. (Uran *et al.*, 2008) Ο Houpe και οι συν. (1996), ανέφεραν ότι η περιβαλλοντική θερμοκρασία επηρέασε τις λειτουργικές απαιτήσεις του εντέρου με την αλλαγή του μεταβολισμού και την απορρόφηση των θρεπτικών ουσιών.

Επιπλέον, έχει βρεθεί ότι στελέχη του *Vibrio carchariae* ήταν σε θέση να προκαλέσουν την εκδήλωση γαστρεντερίτιδας και νεκρωτικής εντερίτιδας σε σαρκοφάγους ιχθύες. (Lee *et al.*, 2002)

Σύμφωνα με τους Baeverfjord και Krogdahl (1996), η συμπερίληψη του αλεύρου σόγιας ως εναλλακτική λύση πηγής πρωτεϊνών για την διαίτα των σαλμονιδών επανειλημμένα έχει αποδειχθεί ότι προκαλεί δυσμενείς επιπτώσεις στη λειτουργία του εντέρου. Οι επιπτώσεις αυτές αφορούσαν κυρίως στην μείωση του ρυθμού ανάπτυξης και της πεπτικότητας των λιπιδίων.

Επιπλέον, βρέθηκε ότι χαρακτηριστικές αλλαγές του βλεννογόνου του εντέρου μπορούσαν να προκύψουν, οι οποίες και σχετίστηκαν με την κακή ή περιορισμένη διατροφή των καλλιεργούντων ιχθύων. Η άχρωμη εμφάνιση του βλεννογόνου του εντέρου, σε συνδυασμό με το λεπτό κοκκώδες υπερπυρηνικό κυτταρόπλασμα και η εμφάνιση των εσοχών στις απλές πτυχώσεις, αποτέλεσαν πολύτιμους δείκτες εντοπισμού νηστικών ιχθύων. Επιπλέον, θα μπορούσε να θεωρηθεί ως μια πρόσθετη ένδειξη της απορροφητικής ικανότητας του πρόσθιου τμήματος του εντέρου του σολομού του Ατλαντικού. (Baeverfjord & Krogdahl, 1996)

## 5.8 Προτάσεις

Πολλές από τις πτυχές της βιολογίας του μυλοκοπίου (*Umbrina cirrosa*) πρέπει ακόμη να μελετηθούν για την επίτευξη επιτυχημένης και οικονομικά σύμφορης παραγωγής σε εμπορική κλίμακα. Η μελλοντική έρευνα θα πρέπει να στοχεύει προς την κατεύθυνση του προσδιορισμού των περιβαλλοντικών προτιμήσεων των προνυμφών, τόσο όσο αφορά την επιβίωση και την ανάπτυξη, αλλά και την συσχέτιση με την ανάπτυξη των μορφο-ανατομικών ανωμαλιών του είδους. Επιπλέον, οι μελλοντικές μελέτες θα πρέπει να κατευθύνονται προς την διερεύνηση των διατροφικών συνηθειών του μυλοκοπίου και την δημιουργία ισορροπημένου σιτηρεσίου. Με αυτό τον τρόπο θα διαλευκανθεί το διατροφικό κομμάτι το οποίο και θα δώσει λύση σε ένα μεγάλο ποσοστό των προβλημάτων που κατά καιρούς παρουσιάστηκαν.

Επίσης, απαραίτητη κρίνεται η διεξοδική έρευνα σχετικά με την διερεύνηση της παθολογίας των νέων ειδών που μπαίνουν στις μονάδες εκτροφής. Για παράδειγμα, θα πρέπει να γίνουν περισσότερες παρασιτολογικές, μικροβιολογικές και ιστοπαθολογικές εξετάσεις τόσο στους άγριους όσο και στους εκτρεφόμενους πληθυσμούς. Με αυτό τον τρόπο θα προσδιοριστούν οι παθογόνοι παράγοντες του εν λόγω είδους, διευκολύνοντας έτσι κάθε προσπάθεια εκτροφής τους. Επιπλέον, θα είμαστε σε θέση να προφυλάξουμε την εκτροφή από την μετάδοση μιας νέας νόσου ή παρασιτικό οργανισμό στα υπόλοιπα είδη της εκτροφής. Έτσι λοιπόν, η διερεύνηση της παθολογίας των νέων ειδών σε συνδυασμό με την διερεύνηση της διατροφής θα φέρει λύσεις στην καλύτερη διαχείριση των κρίσεων αλλά και στην εφαρμογή προληπτικών μέτρων τόσο για τα νέα είδη όσο και για τα υπάρχοντα είδη μιας εκτροφής.

Επίσης, η διερεύνηση για την χορήγηση θεραπευτικών παραγόντων στους ιχθύες αποτέλεσε ένα κρίσιμο σημείο για την αντιμετώπιση των ασθενειών στην ιχθυοκαλλιέργεια. Όπως αναφέρεται από τον Wall, (2008) στην περίπτωση όπου μια

ασθένεια εμφανιστεί σε μια εκτροφή ιχθύων αναπόφευκτα θα προσβάλει την ευζωία των ιχθύων και οι θεραπευτικές ουσίες δεν θα είναι σε θέση να αντιμετωπίσουν την νόσο. Στην περίπτωση όπου οι θεραπευτικές ουσίες θα είναι διαθέσιμες ενδεχομένως να υπάρξουν περιορισμοί στην χρήση τους. Συνεπώς, περισσότερα ασφαλή, με μεγάλη δραστηριότητα φαρμακευτικές ουσίες είναι απαραίτητες, σε συνδυασμό με βελτιώσεις στην κτηνοτροφία και στην διαχείριση οι οποίες θα μειώσουν την ανάγκη για την χρήση των παραπάνω φαρμάκων.

Δεδομένου του γεγονότος ότι, μέχρι σήμερα μόνο άγριοι ιχθύες γεννητόρων χρησιμοποιήθηκαν για την εκπόνηση μελετών, είναι πιθανό ότι μελλοντικά εξημερωμένα είδη γεννητόρων θα παρέχουν ακόμη πιο αξιόπιστα μοντέλα προκειμένου να απαντηθούν τα παραπάνω ερωτήματα. Σε γενικές γραμμές, για την πραγματοποίηση των εναλλακτικών εκτροφών τα νέα είδη θα πρέπει να έχουν υιοθετήσει καλή ικανότητα αιχμαλωσίας και θα πρέπει να αναπαράγονται κατά την θερινή περίοδο έτσι ώστε, να μην εμπλέκονται με την αναπαραγωγή της τσιπούρας και του λαυρακιού.

Οι περισσότερες έρευνες που έχουν πραγματοποιηθεί μέχρι σήμερα είχαν ως στόχο την αναπαραγωγική συμπεριφορά των ιχθύων, την παθολογία, τον ρυθμό αύξησης των λαρβών και των ιχθυδίων. Στην πράξη το εμβρυϊκό στάδιο ανάπτυξης στο εκκολαπτήριο αποτέλεσε και την πιο κρίσιμη φάση για την επιτυχή παραγωγή ενός είδους.



### **Βιβλιογραφία – References**

- Αθανασοπούλου Φ., Τζιρώνη Ε., Μπιτχαβά Κ., 2008. *Εργαστηριακές σημειώσεις ιχθυοπαθολογίας*, pp. 36, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Καρδίτσα
- Akpınar Z., Sevgili H., Demir A., Özgen T., Emre Y., Eroldoğ'an T., 2011. Effects of dietary lipid levels on growth, nutrient utilization, and nitrogen and carbon balances in shi drum (*Umbrina cirrosa* L.). *Aquaculture International* 123
- Álvarez-Pellitero P., 2004. Report about fish parasitic diseases, pp. 103-130, CSIC Instituto de Acuicultura Torre de la Sal Ribera de Cabanes, Spain
- Athanassopoulou F., 1990. *A study of the Myxosporean infections of R. rutilus L. with special reference to Myxidium rhodei Leger, 1905 in the renal tissue*. Ph.D. Thesis, University of Stirling, Stirling
- Athanasopoulou F., Bitchava K., 2010. Main pathological conditions in Mediteranian marine finfish culture. *Recent advances in Aquaculture Research* 149-201
- Avendano-Herrera, R., Magarinos, B., Lopez-Romalde, S., Romalde, J.L., Toranzo, A.E., 2004. Phenotypic characterization and description of two major O-serotypes in *Tenacibaculum maritimum* strains isolated from marine fishes. *Diseases of aquatic organisms* 58: 1–8
- Baeverfjord G., Krogdahl A., 1996. Development and regression of soybean meal induced enteritis in Atlantic salmon, *Salmo salar* L., distal intestine: a comparison with the intestines of fasted fish. *Journal of Fish Diseases* 19: 375-387
- Ballarin L., Dall'Oro M., Bertotto D., Libertini A., Francescon A., Barbaro A., 2004. Haematological parameters in *Umbrina cirrosa* (Teleostei, Sciaenidae): a comparison between diploid and triploid specimens. *Comparative Biochemistry and Physiology* 138:45-51

- Bernardet J.F., Campbell A.C., Buswell J.A., 1990. *Flexibacter maritimus* is the agent of 'black patch necrosis' in Dover sole in Scotland. *Diseases of aquatic organisms* 8: 233–237
- Bush A. O., Lafferty K. D., Lotz J. M., Shostak A. W., 1997. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited. *Journal of Parasitology* 83: 575 - 583
- Çağırğan H., 2009. The use of veterinary drugs and vaccines in Turkey. *Options Méditerranéennes* 86:29-34
- Carter G. R., 1973. *Diagnostic procedures in Veterinary Microbiology*, pp. 362 C.Tomas Publisher, USA
- Chen M.F., Henry-Ford D., Groff J.M., 1995. Isolation and characterization of *Flexibacter maritimus* from marine fishes of California. *Journal of Aquatic Animal Health* 7: 318- 326
- Cooper J. E., 1972. A case of lipoidosis in a flag cichlid (*Cichlasoma festivum*) *Journal of Zoo Animal Medicine* 3: 42-43
- Dalla Valle L., Zanella L., Patarnello P., Paolucci L., Belvedere P., Colombo L., 2000. Development of a sensitive diagnostic assay for fish nervous necrosis virus based on RT-PCR plus nested PCR. *Journal of Fish Diseases* 23:321-327
- Drury R. A., Wallington E. A., 1980. *Carleton's Histological Techniques.*, pp. 520 Oxford University Press, London
- FAO 2011. Fisheries and aquaculture technical paper, food and agriculture organization of the United Nations, Rome
- Frans I., Michiels C. W., Bossier P., Willems K. A., Lievens B., Rediers H., 2011. *Vibrio anguillarum* as a fish pathogen: virulence factors, diagnosis and prevention. *Journal of Fish Diseases* 34: 643–661



- Houpe, K.L., Malo C., Oldham, P.B., Buddington R.K., 1996. Thermal modulation of channel catfish intestinal dimensions, BBM fluidity, and glucose transport. *American Journal of Physiology* 270: 1037–1043
- Katharios P., Tsigenopoulos C., 2010. First report of nodavirus outbreak in cultured juvenile shi drum, *Umbrina cirrosa* L., in Greece. *Aquaculture Research* 42: 147-152
- Kirpal S. S., 2003. Health benefits and potential risks related to consumption of fish or fish oil. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 38: 336–344
- Koumoundouros G., Kouttouki S., Georgakopoulou E., Papadakis I., Maingot E., Kaspiris P., Kiriakou Y., Georgiou G., Divanach P., Kentouri M., Mylonas C., 2005. Ontogeny of the shi drum *Umbrina cirrosa* (Linnaeus 1758), a candidate new species for aquaculture. *Aquaculture Research* 36:1265-1272
- Le Breton A., Grisez L., Sweetman J., Ollevier F., 1997. Viral nervous necrosis (VNN) associated with mass mortalities in cage-reared sea bass, *Dicentrarchus labrax* (L.). *Journal of Fish Diseases* 20: 145–151
- Lee K.K., Liu P.C., Chuang W. H., 2002. Pathogenesis of Gastroenteritis caused by *Vibrio carchariae* in cultured marine fish. *Marine Biotechnology* 4: 267-277
- Noga E., 2000. *Fish Disease - Diagnosis and Treatment*. Blackwell publishing, Iowa
- Ostland V. E., LaTrace C., Morrison D., Ferguson, H. W., 1999. *Flexibacter maritimus* associated with bacterial stomatitis in Atlantic salmon smolts reared in net- pens in British Columbia. *Journal of Aquatic Animal Health* 11: 35-44
- Papadakis I., Zaiss M., Kyriakou Y., Georgiou G., Divanacha P., Mylonas C., 2009. Histological evaluation of the elimination of *Artemia nauplii* from larval

rearing protocols on the digestive system ontogeny of shi drum (*Umbrina cirrosa* L.). *Aquaculture* 286:45-52

- Παπουτσόγλου Σ., 1997. *Εισαγωγή στις Υδατοκαλλιέργειες*. Εκδόσεις Σταμούλη, Αθήνα
- Pazos, F., Santos, Y., Macias, AR., Nuñez, S., Toranzo, A.E., 1996. Evaluation of media for the successful culture of *Flexibacter maritimus*. *Journal of Fish Diseases* 19:193–197
- Penrith M.L., Bastianello S. S., Penrith M. J., 1994. Hepatic lipoidosis and fatty infiltration of organs in a captive African stonefish, *Synanceja verrucosa* Bloch & Schneider. *Journal of Fish Diseases* 17(2) 171-176
- Roberts R. J., Shepherd C. J., 1997. *Handbook of trout and salmon diseases*. Fishing News Books, Oxford.
- Roberts R. J., 1989. *Fish pathology*. Bailliere, Tindall, London.
- Santos Ysabel, Pazos Francisco, Barja L. Juan, 1999. *Flexibacter maritimus*, causal agent of flexibacteriosis in marine fish, Internantional council for the exploration of the sea, Denmark
- Στεργίου Κ. Ι., 1991. Τα οικοσυστήματα του Ευβοϊκού και Παγασητικού κόλπου. *Αλιευτικά νέα* 12: 57-67
- Ternengo S., Agostini S., Quilichini Y., Euzet L., Marchand B., 2010. Intensive infestations of *Sciaenocotyle pancerii* (Monogenea, Microcotylidae) on *Argyrosomus regius* (Asso) under fish-farming conditions. *Journal of Fish Diseases* 33: 89-92
- Uran P. A., Schrama J.W., Rombout J.H.W.M., Obach A., Jensen L., Koppe W., Verreth J.A.J., 2008. Soybean meal-induced enteritis in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) at different temperatures. *Aquaculture Nutrition* 14: 324-330

- Vatsos I., Yiagnisis M., Karakostas I., 2006. *Ceratomyxa* spp. (Myxosporea) infection in cultured shi drum (*Umbrina cirrosa*) and cultured brown meagre (*Sciaena umbra*). *Bulletin of European Association in Fish Pathology* 26 (2): 93-96
- Wall T., 2008. Chapter 12: Disease and medicines – The welfare implications. In: Branson J. E., *Fish Welfare*, pp. 200 – 201. Blackwell publishing, United Kingdom
- Washington, S., Ababouch, L., 2011. Private standards and certification in fisheries and aquaculture: current practice and emerging issues. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper. No. 553. Rome, pp.181
- Wood C., Rutherford D. T., Mc Kinnell S., 1989. Identification of sockeye salmon *Oncorhynchus nerka* stocks in mixed – stock fisheries in British Columbia, Canada, and southeast Alaska, USA using biological markers. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 46:2108-2120
- Yamaguti S., 1963. *Systema Helminthum* Vol. I-II. Interscience Publishers, New York.
- Zaiss M., Papadakis I., Maingot E., Divanach P., Mylonas B., Francescon A., Bertotto D., Bozzato G., Di Maria I., Patarnello P., Furlan F., Colombo L., 2002. More effective induction of spawning with long-acting GnRH agonist in the shi drum, *Umbrina cirrosa* L. (Sciaenidae, Teleostei), a valuable candidate for Mediterranean mariculture. *Journal of Applied Ichthyology* 18:192-199

## Ηλεκτρονική βιβλιογραφία

- [http<sup>1</sup>:\[http://species-identification.org/species.php?species\\\_group=fnam&menuentry=soorten &d = 186 6&tab=beschrijving\]\(http://species-identification.org/species.php?species\_group=fnam&menuentry=soorten &d = 186 6&tab=beschrijving\)](http://species-identification.org/species.php?species_group=fnam&menuentry=soorten &d = 186 6&tab=beschrijving) [προσπελάστηκε 20-01-2012]
- [http<sup>2</sup>:<http://www.tapuz.co.il/Forums2008/Articles/Article.aspx?ForumId=467&aId=66738>](http://www.tapuz.co.il/Forums2008/Articles/Article.aspx?ForumId=467&aId=66738) [προσπελάστηκε 20-01-2012]
- [http<sup>3</sup>:<http://freeforumzone.leonardo.it/lofi/-errore-del-pescivendolo-o-pesci-della-stessa-parentela-/D7121034.html>](http://freeforumzone.leonardo.it/lofi/-errore-del-pescivendolo-o-pesci-della-stessa-parentela-/D7121034.html) [προσπελάστηκε 20-01-2012]
- [http<sup>4</sup> :<http://www.opengov.gr/minenv/?p=1625>](http://www.opengov.gr/minenv/?p=1625) [προσπελάστηκε 20-01-2012]
- [http<sup>5</sup>:<http://portal.kathimerini.gr/4dcgi/warticleskathbreak108/06/2011393983>](http://portal.kathimerini.gr/4dcgi/warticleskathbreak108/06/2011393983) [προσπελάστηκε 20-01-2012]
- [http<sup>6</sup>:<http://pigtrop.cirad.fr/services/trainingandeducation/qualityanalysisandmanagement/biochemicaltest/api20e/4>](http://pigtrop.cirad.fr/services/trainingandeducation/qualityanalysisandmanagement/biochemicaltest/api20e/4) [προσπελάστηκε 30-01-2012]
- [http<sup>7</sup>:\[www.google.gr/search?q=διαυλος+Ωρεων&hl=el&prmd=imvns&source\]\(http://www.google.gr/search?q=διαυλος+Ωρεων&hl=el&prmd=imvns&source\)](http://www.google.gr/search?q=διαυλος+Ωρεων&hl=el&prmd=imvns&source) [προσπελάστηκε 19-11-11]
- [http<sup>8</sup>:<http://www.fao.org/docrep/field/003/AC259E/AC259E00.htm>](http://www.fao.org/docrep/field/003/AC259E/AC259E00.htm) [προσπελάστηκε 02-02-2012]
- [http<sup>9</sup>:\[en.wikipedia.org/wiki/Flumequine\]\(http://en.wikipedia.org/wiki/Flumequine\)](http://en.wikipedia.org/wiki/Flumequine) [προσπελάστηκε 20-01-2012]

## Παράρτημα Α

Κατά την εφαρμογή των παρασιτολογικών εξετάσεων εφαρμόστηκε χρώση Giemsa (για επιχρίσματα) η οποία περιελάμβανε τα παρακάτω στάδια.

1. Στέγνωμα στου επιχρίσματος
2. 2 min μεθανόλη
3. Διάλυμα Giemsa (1 μέρος Giemsa σε 9 μέρη διαλύματος φωσφορικών αλάτων (pH 6,8) για 20-25´.
4. 4 sec μεθανόλη
5. Διαφοροποίηση σε απεσταγμένο νερό για 2-5´
6. 4 sec μεθανόλη
7. 1-2 min 70% αλκοόλη
8. 1-2 min απόλυτη αλκοόλη
9. 1-2 min απόλυτη αλκοόλη
10. 2 min ξυλόλη
11. Προσθήκη καλυπτρίδας με Entellan

### Διάλυμα φωσφορικών αλάτων (pH 6,8)

0,68g disodium hydrogen phosphate,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (anhydrous)

0,32g potassium dihydrogen phosphate  $\text{KH}_2\text{PO}_4$

1000ml απεσταγμένο νερό

## **Παράρτημα Β**

Για την πραγματοποίηση των ιστοπαθολογικών εξετάσεων ακολουθήθηκαν με την σειρά τα παρακάτω βήματα:

- i. Κατά το στάδιο της παρασκευής των ιστών, απομονώσαμε τα όργανα που θέλαμε να εξετάσουμε. Στην συνέχεια αφαιρέθηκαν από πάνω τους λίπος ώστε να ελεγχθεί χωρίς να προκληθεί καμία αλλοίωση.
- ii. Η μονιμοποίηση των ιστών πραγματοποιήθηκε με ειδικά μονιμοποιητικά διαλύματα, όπως φορμόλη 10% η οποία θεωρείται και το πλέον κατάλληλο μονιμοποιητικό υλικό.
- iii. Η επεξεργασία του ιστού πραγματοποιήθηκε με εμποτισμό του ιστού σε παραφίνη (σκλήνωση), με την οποία επιτύχαμε σταθερή συνοχή του ιστού και λεπτή τομή με την χρήση του μικροτόμου. Όλα αυτά τα πετύχαμε αφού προηγουμένως είχαμε αφυδατώσει και διανγάζει τους ιστούς.
- iv. Για την παραγωγή τομών, οι κύβοι της παραφίνης κόπηκαν με τη λεπίδα του μικροτόμου σε τομές πάχους 5μm και στη συνέχεια με τη βοήθεια του υδατόλουτρου τοποθετήθηκαν πάνω σε αντικειμενοφόρες πλάκες.
- v. Στην συνέχεια ακολούθησε η χρώση των ιστολογικών τομών. Με τον τρόπο αυτό τα διαλύματα των χρωστικών απέδωσαν διαφορετικές χροιές έτσι ώστε να παρατηρούνται εύκολα στο μικροσκόπιο. Ορισμένα στοιχεία εμφάνισαν ειδική προτίμηση σε ένα είδος χρωστικής και χρωματίστηκαν από αυτές εκλεκτικά ευκολότερα.
- vi. Τέλος, μετά την χρώση οι αντικειμενοφόρες με τις ιστολογικές τομές καλύφθηκαν με Βάλσαμο του Καναδά ή Edelan και καλυπτρίδα και ακολούθησε η μικροσκοπική παρατήρηση.

Τα πρωτόκολλα των κυριότερων χρωστικών ακολουθούν παρακάτω:

Haematoxylin-eosin

1. Ξυλόλη για 5 min.
2. Ξυλόλη για 5 min.
3. Απόλυτη αλκοόλη για 5 min.
4. Απόλυτη αλκοόλη για 5 min.
5. Αλκοόλη 96° για 1 min.
6. Αλκοόλη 96° για 1 min.
7. Αλκοόλη 70° για 1 min.
8. Νερό για 1 min.
9. Αιματοξυλίνη για 12 min.
10. Νερό (τρεχούμενο) για 5 min.
11. Όξινη αλκοόλη 1% για 1-2 εμβαπτίσεις.
12. Νερό (τρεχούμενο) για 5 min.
13. Εωσίνη για 10 min.
14. Ξέπλυμα με νερό βρύσης.
15. Αλκοόλη 70° για 1 εμβαπτίση.
16. Αλκοόλη 96° για 1 εμβαπτίση.
17. Αλκοόλη 96° για 2 εμβαπτίσεις.

18. Απόλυτη αλκοόλη για 2 min.

19. Απόλυτη αλκοόλη για 2 min.

20. Ξυλόλη για 2 min.

21. Ξυλόλη για 5 min.

#### Χρώση Giemsa

1. Ξυλόλη για 5 min.

2. Απόλυτη αλκοόλη για 2 min.

3. Μεθανόλη για 1 min.

4. Ξέπλυμα

5. Giemsa (1:10) για 20 min.

6. Απομάκρυνση της περίσσειας χρωστικής.

7. Μεθανόλη για 30 min.

8. Απόλυτη αλκοόλη για 2 min.

9. Απόλυτη αλκοόλη για 1 min.

10. Ξυλόλη για 5 min.

#### Χρώση Ziehl-Nielsen

1. Ξυλόλη για 5 min

2. Απόλυτη αλκοόλη για 2 min.

3. Μεθανόλη για 1 min.



4. Νερό
5. Χρώση με Φουξίνη για 30 min σε κλίβανο στους 60°C.
6. Ξέπλυμα με tap water.
7. Διαφοροποίηση με όξινη αλκοόλη για 2 min.
8. Νερό
9. Χρώση με Μπλε του μεθυλενίου για 1 min.
10. Νερό
11. Απόλυτη αλκοόλη για 2 min.
12. Απόλυτη αλκοόλη για 1 min.
13. Ξυλόλη για 5 min.
14. Τοποθέτηση καλυπτρίδας και μονιμοποίηση με Entelan

#### *Φουξίνη*

- 1g βασική φουξίνη
- 10ml απόλυτη αλκοόλη
- 100ml υδατικό διάλυμα φαινόλης 5%. Ζεσταίνουμε σε υδατόλουτρο μέχρι να γίνει διαυγές διάλυμα. Διηθούμε πριν τη χρώση και πριν χρησιμοποιηθεί ζεσταίνεται στον κλίβανο στους 56°C.

#### *Μπλε του μεθυλενίου*

- Μπλε του μεθυλενίου 1g
- Glacial acetic acid 1cm<sup>3</sup>
- Απόλυτη αλκοόλη 20cm<sup>3</sup>

- Απεσταγμένο νερό 80cm<sup>3</sup>

#### *Όξινη αλκοόλη 1%*

- 99ml αλκοόλη 96%
- 1ml διάλυμα HCl 37%

#### *Tap water*

- 1000ml νερό
- 3,5g sodium bicarbonate
- 20g magnesium sulphate

#### Χρώση Gram

1. Τοποθετούμε τις τομές στο νερό.
2. Χρώση με Crystal-violet για 2-3 min.
3. Ξέπλυμα της τομής με Gram's iodine και χρώση με Gram's iodine για 2-3 min.
4. Αποχρωματισμός της τομής σε απόλυτη αλκοόλη ή ακετόνη.
5. Χρώση σε υδατικό διάλυμα 1% με neutral red για 2-3 min.
6. Ξέπλυμα σε νερό.
7. Στέγνωμα και αφυδάτωση σε aniline-xylene.
8. Ξυλόλη, τοποθέτηση καλυπτρίδας και μονιμοποίηση με Entelan

#### *Διάλυμα Crystal-violet*

- 2g Crystal-violet
- 20ml αλκοόλη 95%
- 0,8g Ammonium oxalate

- 80ml απεσταγμένο νερό

*Gram's iodine*

- 1g Iodine crystals
- 2g Potassium iodine
- 300ml απεσταγμένο νερό

*Aniline-xylene*

- 2 μέρη Aniline
- 1 μέρος ξυλόλη