

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ**  
**ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ**  
**ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΙΧΘΥΟΛΟΓΙΑΣ**  
**ΚΑΙ ΥΔΑΤΙΝΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ**

**ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**«ΜΟΡΙΑΚΗ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΠΑΡΑΣΙΤΩΝ ΣΤΟ**  
**ΑΝΑΠΝΕΥΣΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΤΗΣ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗΣ ΦΩΚΙΑΣ**  
**(*Monachus monachus*)»**

**Ναταλία Αθηναίου**

**ΒΟΛΟΣ 2021**

**«ΜΟΡΙΑΚΗ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΠΑΡΑΣΙΤΩΝ ΣΤΟ ΑΝΑΠΝΕΥΣΤΙΚΟ  
ΣΥΣΤΗΜΑ ΤΗΣ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗΣ ΦΩΚΙΑΣ (*Monachus monachus*)»**

**Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή :**

1) **Γκάφας Γεώργιος**, Μόνιμος Επίκουρος Καθηγητής (Ph.D.), Μοριακή Βιολογία της Διατήρησης Θαλάσσιων Θηλαστικών και Ιχθυοαποθεμάτων, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας & Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας ***Επιβλέπων***,

2) **Αθανάσιος Εξαδάκτυλος**, Καθηγητής (Ph.D.), Γενετική Υδρόβιων Ζωικών Οργανισμών, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας & Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας ***Μέλος***,

3) **Αναστασία Κομνηνού**, Καθηγήτρια (Ph.D.), Χειρουργική των Ζώων – Κτηνιατρική κατοικιδίων Εξωτικών και Άγριων Ζώων Τμήμα Κτηνιατρικής, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης ***Μέλος***.

*Η παρούσα εργασία είναι αφιερωμένη στην οικογένειά μου.*



## **ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ**

Θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου σε όσους μου συμπαραστάθηκαν και με βοήθησαν καθ' όλο το διάστημα έως την ολοκλήρωση της παρούσας Πτυχιακής διπλωματικής εργασίας. Αρχικά τον επιβλέποντα καθηγητή μου, κύριο Γεώργιο Γκάφα, Μόνιμο Επίκουρο Καθηγητή, για την αδιάκοπη υποστήριξή του κατά τη διάρκεια του πειράματος, αλλά και κατά τη συγγραφή της εργασίας, καθώς και για τις χρήσιμες συμβουλές του. Την κυρία Ιωάννα Σαραντοπούλου, η οποία με τη σειρά της αποτέλεσε βασικό παράγοντα διεκπεραίωσης του πειράματος στο εργαστήριο γενετικής. Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω τα μέλη της τριμελούς επιτροπής μου, τον Καθηγητή κύριο Αθανάσιο Εξαδάκτυλο και την Καθηγήτρια κυρία Αναστασία Κομνηνού. Τέλος, ευχαριστώ θερμά την οικογένειά μου και τους φίλους μου, για τη συμπαράσταση και την υπομονή που επέδειξαν κατά τη διάρκεια εκτέλεσης του πειράματος και συγγραφής της εργασίας.

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Παθογόνοι μικροοργανισμοί, όπως τα βακτήρια, οι ιοί και τα παράσιτα, εντοπίζονται τόσο σε ξενιστές τη στεριάς όσο και της θάλασσας. Η Μεσογειακή φώκια (*Monachus monachus*) που αποτελεί ένα από τα αντικείμενα μελέτης της συγκεκριμένης εργασίας, ανήκει στην οικογένεια των Φωκίδων ως είδος, είναι αρκετά ευαίσθητο σε ασθένειες προκαλούμενες από παθογόνους μικροοργανισμούς. Άτομο Μεσογειακής φώκιας βρέθηκε νεκρό στον Παγασητικό κόλπο από επαγγελματίες αλιείς και μεταφέρθηκε απευθείας στο Εργαστήριο Υδροβιολογίας-Ιχθυολογίας, του Τμήματος Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας για ανατομία. Ανατομία στο καρδιοαναπνευστικό σύστημα της φώκιας, φανέρωσε την διαβίωση παρασιτικών φθειραπτέρων ατόμων και στους δύο πνεύμονες του ζώου. Η παρούσα εργασία, αποσκοπεί στη μοριακή ταυτοποίηση των ατόμων αυτών και στην επεξήγηση της ύπαρξής τους στον οργανισμό της φώκιας. Ως μοριακός δείκτης χρησιμοποιήθηκε το γονίδιο κυτοχρωμική οξειδάση σύμπλεγμα I. Τα αποτελέσματα της αλληλούχισης έδειξαν ότι το υπό μελέτη παράσιτο εμφανίζει 87.18% ομοιότητα με το είδος *Halarachne halichoeri* καθώς η επικάλυψη φτάνει το 83%. Το είδος αυτό διαβιεί στο αναπνευστικό σύστημα των πτερυγιόποδων κυρίως στη Βαλτική θάλασσα και στις Ευρωπαϊκές ακτές του Ατλαντικού. Δεν έχει παρατηρηθεί στη Μεσόγειο έως και σήμερα και πολύ πιθανό αυτό να ισχύει και για το υπό μελέτη παράσιτο. Παρ' όλο που δεν ταυτοποιήθηκε το είδος που βρέθηκε στο αναπνευστικό σύστημα της Μεσογειακής φώκιας, οι υποθέσεις για την προέλευσή του και την παθολογία που προκαλεί, συσχετίστηκαν με το *Halarachne halichoeri*. Πιθανότερα

σενάρια αποτελούν η είσοδος της φώκιας από τον Ατλαντικό ωκεανό στη Μεσόγειο, η είσοδος άλλου είδους φώκιας, ξενιστή του *Halarachne halichoeria* από τον Ατλαντικό στη Μεσόγειο και η επαφή του με το υπό μελέτη άτομο, καθώς και η διέλευση του παρασίτου στη Μεσόγειο, αφού ως προνύμφη μπορεί να ζει εκτός του ξενιστή του, όμως τα σενάρια αυτά αποτελούν υποθέσεις, από τη στιγμή που έως και σήμερα δεν υπάρχουν καταγραφές.

**ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ**

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	1
1.1 Παθογόνοι οργανισμοί, περιβάλλον και θαλάσσια θηλαστικά.....	1
1.2 Παθογόνα στα πτερυγιόποδα.....	3
1.3 Παθογόνα στη Μεσογειακή φώκια.....	4
1.4 Σκοπός και υποθέσεις έρευνας.....	6
2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	7
2.1 Δειγματοληψία.....	7
2.2 Εξαγωγή DNA.....	7
2.3 Ηλεκτροφόρηση.....	10
2.4 Διαδικασία PCR.....	11
2.5 Δημιουργία φυλογενετικού δέντρου.....	12
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	14
4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	19
5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	25

## 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

### 1.1 Παθογόνοι οργανισμοί, περιβάλλον και θαλάσσια θηλαστικά.

Όλοι οι οργανισμοί έχουν συγκεκριμένες προτιμήσεις και συγκεκριμένες βέλτιστες τιμές όσον αφορά τις συνθήκες του περιβάλλοντος στο οποίο αναπτύσσονται. Τις συνθήκες αυτές αποτελούν τα θρεπτικά συστατικά, το pH, η θερμοκρασία, το διαθέσιμο οξυγόνο, το δυναμικό οξειδοαναγωγής, το ποσοστό υγρασίας, η σύσταση των αερίων του περιβάλλοντος χώρου καθώς και η δομή του υποστρώματος. Όταν γίνεται αναφορά σε παθογόνους οργανισμούς που διαβιούν σε τέτοιου είδους οικοσυστήματα, οι παράμετροι που πρέπει να συμπεριληφθούν σε αυτούς που αφορούν την ανάπτυξή τους περιλαμβάνουν την υδροστατική πίεση, την αλατότητα και τη οσμωρύθμιση (Jarvilehto et al. 1998, Jay 2000b, Banerjee 2021, Anonymous 2003, Peleg & Corradini 2011).

Η εμφάνιση ασθενειών που προκαλούνται στα θαλάσσια θηλαστικά εξ αιτίας παθογόνων οργανισμών, αυξάνονται όλο και περισσότερο τα τελευταία χρόνια, με τις περιπτώσεις επιζωοτίας να καταλήγουν όλο και πιο συχνά σε μαζικούς θανάτους (Sanderson & Alexander 2020).

Βακτήρια του γένους *Nocardia*, είναι τα πιο συχνά παρατηρούμενα στα θαλάσσια θηλαστικά (Legeretal. 2009). Βακτήρια του γένους *Brucella*, κυρίως τα είδη *B. ceti* και *B. Pinnipedialis*, προσβάλλουν θαλάσσια θηλαστικά και ψάρια (Hernández etal. 2013). Βακτήρια του γένους *Clostridium* έχουν διαγνωστεί κυρίως σε κητώδη σε αιχμαλωσία (Stoskopf 2015). Από τις κυριότερες αιτίες θανάτου των θαλασσίων

θηλαστικών, είναι βακτήρια του γένους *Streptococcus* (Stoskopf 2015). Για λοιμώξεις του δέρματος ή των υποδόριων ιστών, οφείλεται το βακτήριο *Erysipelothrix rhusiopathiae* καθώς και τα βακτήρια του γένους *Mycoplasma* (Stoskopf 2015, Hunt et al. 2008). Την κύρια αιτία μετάδοσης του βακτηρίου *Mycobacterium bovis* φαίνεται να είναι οι φώκιες του είδους *Arctocephalus tropicalis* (Stoskopf 2015).

Λίγοι ιοί της οικογένειας Adenoviridae, έχουν απομονωθεί από θαλάσσια θηλαστικά, με ασαφή ακόμα παθογένεια (DeLuca et al. 2021). Η νόσος που προκαλείται από ιούς της οικογένειας Caliciviridae προκαλεί κυρίως δερματοπάθειες και εγκεφαλίτιδα (Bossart & Duignan 2018). Ιοί του έρπητα και της γρίπης Α έχουν συσχετιστεί με εγκεφαλίτιδα και δερματικές βλάβες καθώς και με πνευμονοπάθειες αντίστοιχα (Stoskopf 2015). Ο ιός του γένους *Morbillivirus* σε γενικές γραμμές αποδυναμώνει το ανοσοποιητικό, ενώ προσβάλλει κυρίως το αναπνευστικό σύστημα σε φώκιες και δελφίνια (Swart et al. 1995). Ο ιός της ευλογιάς, σχετίζεται με δερματικές βλάβες (Stoskopf 2015).

Ακανθοκέφαλα όπως αυτά των γενών *Bolbosoma* και *Corynosoma* παρασιτούν κυρίως σε φάλαινες (Van Cleave 1953, Deliamure 1955). Διαφόρων ειδών ακάρεα, μπορούν να προκαλέσουν βήχα, ρινικές εκκρίσεις και δερματικές βλάβες (Stoskopf 2015). Οι πνευμονοσκώληκες *Parafilaroides decorus* και *Otostrongylus circumlitus* χρησιμοποιούν ιχθύες ως ενδιάμεσους ξενιστές. Ο σκώληκας *Dirofilaria immitis* προσβάλλει φώκιες του είδους *Phoca vitulina* (Medway & Wieland 1975) και θαλάσσιους λέοντες (Forrester et al. 1973) σε αιχμαλωσία, ενώ το είδος *Dipetalonema spirocauda* εντοπίζεται σε ελεύθερες φώκιες (Van Den Broek & Wensvoort 1959, Schroeder et al. 1973). Οι νηματώδεις του γένους *Anisakis*, χρησιμοποιούν το γαστρεντερικό σύστημα των θαλασσιών θηλαστικών ως ενδιάμεσο ξενιστή (Sakanari &

McKerrow 1989). Από τα κεστώδη, την μεγαλύτερη κλινική σημασία έχει το είδος *Diphyllobothrium pacificum*, ενώ τρηματώδη έχουν συσχετιστεί με νεκρωτικές εστίες στον εγκέφαλό τους (Stoskopf 2015). Τα είδη *Toxoplasma gondii* και *Sarcocystis neurona* προκαλούν εγκεφαλίτιδα στα θαλάσσια θηλαστικά (Dubey et al. 2003).

## 1.2 Παθογόνα στα πτερυγιόποδα

Όλα τα είδη πτερυγιόποδων εμφανίζουν ευαισθησία στο βακτήριο του είδους *Pasteurella multocida*. Λιγότερα συχνά παρατηρούνται άτομα του γένους *Erysipelothrix*, με τα είδη *E. Insidiosa* και *E. Rhusiopathiae* να έχουν απομονωθεί από ωταρίδες (Benkovsky & Golovina 1971) και θαλάσσιους ελέφαντες (Vedros et al. 1988) αντίστοιχα. Επιπλέον, συχνά παρατηρούνται άτομα του γένους *Mycobacterium*. Η εμφάνιση λεπτοσπείρωσης οφείλεται στο βακτήριο *Leptospira pomona*. Βακτήρια του γένους *Nocardia* spp παρατηρούνται πιο σπάνια. Άτομα του γένους *Salmonella* spp, προσβάλλουν το γαστρεντερικό σύστημα των πτερυγιόποδων (Jellison & Milner 1958). Αντισώματα ενάντια των βακτηρίων του γένους *Brucella* spp έχουν βρεθεί σε 5 από τα 16 άτομα του είδους *Arctocephalus gazella* και σε ένα του είδους *Leptonychotes weddellii* σε μελέτη στην Ανταρκτική (Miller et al. 1999). Αντισώματα του είδους *Vibrio alginolyticus* έχουν βρεθεί σε πτερυγιόποδα (Vedros et al. 1988).

Οι ιοί που προσβάλλουν τα πτερυγιόποδα, δεν είναι εκτενώς μελετημένοι. Σύνηθες, είναι οι ιοί της Ευλογιάς, της οικογένειας Poxviridae, οι πιο κοινοί των οποίων ανήκουν στα γένη *Orthopox* και *Suipox* (Brachtetal. 2006). Επιπλέον, ιοί της

γρίπης, της οικογένειας Orthomyxoviridae (Anonymous 2013), με κύρια γένη τον ιό της γρίπης A, B και C.

Τα κύρια είδη που ανήκουν στην ταξινομική ομάδα των τρηματωδών, είναι τα *Pricetrema zalophi* και *Zalophotrema hepaticum*, ενώ από πρόσφατες έρευνες φαίνεται ότι τα είδη *Z. hepaticum* και *Diphyllobothrium cordatum* παρασιτούν όλο και πιο συχνά σε θαλάσσιους λέοντες (Stroud & Dailey 1978). Από κεστώδη, παρατηρούνται τα *Pyramicocephalus phocarum*, *Diphyllobothrium pacificum*, *D. cordatum* και *Diplogonoporus fasciatus* (Stroud & Dailey 1978, Nagasawa 1999). Παρατηρούνται επίσης νηματώδεις της οικογένειας Anisakidae, των γενών *Pseudoterranova* spp. και *Phocascaris* spp. (McClelland 2002, Kuzmina et al. 2014, Measures 2014), της τάξης Strongylida (Colegrove et al. 2005, Lehnert et al. 2007, Lair et al. 2016) και του γένους *Uncinaria* (Lyons et al. 2012, Nadler et al. 2003). Πρωτόζωα όπως το *Neospora caninum* και το *Cryptosporidium muris*, προσβάλλουν κυρίως είδη της Αρκτικής και της Βόρειας Αμερικής (McClelland 1993). Έλμινθες, έχουν ανιχνευτεί σε πολλά είδη πτερυγιόποδων, όπως το *Phoca hispida* και το *Zalophus wollebaeki* (Dailey et al. 2005). Αρθρόποδα των γενών *Orthohalarachne* spp., *Demodex* spp., *Sarcoptes* spp. και της υπόταξης Anoplura (McIntosh & Murray 2007, Leonardi & Palma 2013), ευθύνονται για διαφόρων ειδών παρασιτικές ασθένειες.

### 1.3 Παθογόνα στη Μεσογειακή φώκια

Γενικότερα στα πτερυγιόποδα, οι ασθένειες βακτηριακής προέλευσης είναι αρκετά συνήθεις, παρ' όλα αυτά όμως, βακτηριολογικές εξετάσεις έχουν πραγματοποιηθεί σε νεκρές Μεσογειακές φώκιες με σκοπό την ιχνηλάτηση της



εκάστοτε νόσου (Androukaki et al. 1999), με ελάχιστα δημοσιευμένα αποτελέσματα. Μία καταγραφή αναφέρει πως με τη νεκροψία που πραγματοποιήθηκε σε νεαρό άτομο Μεσογειακής φώκιας στο Φυσικό Πάρκο της Μαδέρας, απομονώθηκαν τα βακτήρια *Salmonella arizonae*, *Staphylococcus aureus*, διάφορα είδη του γένους *Streptococcus* και δύο τύποι του είδους *Escherichia coli* (Neves & Pires 2001).

Η πιο γνωστή οικογένεια ιών που απομονώνονται από άτομα Μεσογειακής φώκιας, είναι η Paramyxoviridae, με τα δύο πιο κοινά είδη να είναι το *Morbillivirus* και το *Respirovirus* (Gulland et al. 2018). Οι ιοί του γένους *Morbillivirus* που έχουν ανιχνευτεί στην Ελλάδα και πιστεύεται ότι έχουν μεταδοθεί από τα κητώδη στα πτερυγιόποδα (van de Bildt et al. 1999). Το γένος *Pararoxvirus*, φαίνεται να προσβάλλει άτομα Μεσογειακής φώκιας, όπως επιβεβαιώθηκε σε ένα εικοσάχρονο άτομο που βρέθηκε τον Ιανουάριο του 2005, στις ακτές του Μπόντρουμ στην Τουρκία (Torlu et al. 2007).

Το παρασιτικό πρωτόζωο *Toxoplasma gondii* πιθανόν αποτελεί αιτία θανάτου και έχει ανιχνευτεί στη Μεσογειακή φώκια (Mazzariol et al. 2021, Petrella et al. 2021). Το είδος *Acanthocheilonema spirocauda*, αποτελεί ένα από τα πιο κοινά ευρήματα (Haebler & Moeller 1992) με πρώτη αναφορά στη Μεσογειακή φώκια έγινε το 2006 (Yamaguti 1962). Το είδος *Leishmania infantum*, παρατηρείται πολύ συχνά στη Μεσόγειο και μεταδίδεται μέσω της μύγας της άμμου *Phlebotomus papatasi* (Díaz-Espiñeira & Slappendel 1996). Ο νηματώδης *Anisakis pegreffii*, ανιχνεύτηκε πρώτη φορά σε Μεσογειακή φώκια το 1955 (Campana-Rouget & Biocca 1955). Το είδος *Contracaecum osculatum*, ανιχνεύτηκε για πρώτη φορά στη Μεσογειακή φώκια το 1962 από τους Schnapp et al.. Τα κεστώδη παράσιτα του γένους *Diphyllobothrium*, εντοπίζονται στο έντερο των θαλάσσιων θηλαστικών και έχουν καταγραφεί και σε

άτομα Μεσογειακής φώκιας (Mackiewicz 1988). Η θαλάσσια ψείρα *Lepidophthirus piriformis*, ανιχνεύτηκε για πρώτη φορά στη Μεσογειακή φώκια το 1966 από τον Blagoveshtchensky.

#### 1.4 Σκοπός και υποθέσεις έρευνας

Σκοπός της παρούσας έρευνας είναι η φυλογενετική ταυτοποίηση ενός είδους φθειραπτέρων παρασίτων που βρέθηκε στο αναπνευστικό σύστημα ενός θηλυκού ατόμου Μεσογειακής φώκιας *Monachus monachus*, με τη χρήση μοριακών μεθόδων.

Τα ερωτήματα και οι υποθέσεις που τίθενται λοιπόν είναι τα εξής.

1. Ποια η φυλογενετική σχέση των παρασίτων που ανιχνεύτηκαν με άλλα παράσιτα που εντοπίζονται στο σώμα ατόμων *Monachus monachus*;
2. Το υπό μελέτη παράσιτο έχει εντοπιστεί ξανά σε φώκια *Monachus monachus* στη Μεσόγειο θάλασσα;
3. Ποια πιθανά σενάρια υπάρχουν για την παρουσία του παρασίτου αυτού στη συγκεκριμένη φώκια;

## 2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

### 2.1 Δειγματοληψία

Στις 07-07-2020, πραγματοποιήθηκε ανατομία στο καρδιοαναπνευστικό σύστημα θηλυκού νεαρού ατόμου Μεσογειακής φώκιας (*Monachus monachus*), με σκοπό την εύρεση παρασίτων. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκε νυστέρι και με υποβοήθηση λαβίδας κόπηκαν οι πνεύμονες από τη βάση που συνδέει την τραχεία, με κατεύθυνση προς το άκρο τους, ακολουθώντας κάθε φορά μια βρογχιακή αρτηρία του βρογχικού δέντρου. Κατά τη διάρκεια αυτής της διαδικασίας, έγινε πολύ προσεκτική παρατήρηση του ιστού για τυχόν ευρήματα, τα οποία αρχικά τοποθετήθηκαν σε ένα τρυβλίο petri και στη συνέχεια συντηρήθηκαν σε διάλυμα αιθανόλης 70% για την περαιτέρω μοριακή ανάλυση.

Πραγματοποιήθηκαν δύο δοκιμές, η κάθε μία με διαφορετικά δείγματα. Η πρώτη, είχε ως εξής.

### 2.2 Εξαγωγή DNA

Για την εξαγωγή του DNA ακολουθήθηκε το πρωτόκολλο φαινόλης/χλωροφορμίου.

## ΒΗΜΑ 1<sup>ο</sup>

Εξαγωγή DNA από τα δείγματα σύμφωνα με το παρακάτω πρωτόκολλο.

- a. 1mg ( $\pm 0.01$ ) ιστού από κάθε άτομο παρασίτου τοποθετήθηκαν σε ξεχωριστό κωνικό σωληνάριο 1.5 ml τύπου Eppendorf
- b. Στο κάθε σωληνάριο προστέθηκαν 500μl TNE Buffer (10mM Tris-HCl, 100mM NaCl, 1mM EDTA), 100μl Tris-HCL(1M), 80μl SDS (10% κ.β.) και 10μl PrK (20mg/ml )
- c. Τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε υδατόλουτρο στους 55-65°C για περισσότερο από 18 ώρες, όπου και είχαν διαλυθεί πλήρως.

## ΒΗΜΑ 2<sup>ο</sup>

Μετά την αφαίρεση των δειγμάτων από το υδατόλουτρο, για κάθε ένα από αυτά ακολουθήθηκε η παρακάτω διαδικασία:

- a. Προσθήκη 300μl φαινόλης  
Ομαλή ανάδευση για 10 λεπτά  
Φυγοκέντριση στις 12000 στροφές ανά λεπτό για 10 λεπτά στους 4°C και μεταφορά του υπερκείμενου σε νέο σωληνάριο
- b. Προσθήκη 300μl φαινόλης και 600μl χλωροφόρμιου/ ισοαμυλικής αλκοόλης (αναλογία 24:1)  
Ομαλή ανάδευση για 10 λεπτά  
Φυγοκέντριση στις 12000 στροφές ανά λεπτό για 10 λεπτά στους 4°C και μεταφορά του υπερκείμενου σε νέο σωληνάριο
- c. Προσθήκη 600μl χλωροφόρμιου/ ισοαμυλικής αλκοόλης (αναλογία 24:1)  
Ομαλή ανάδευση για 10 λεπτά

Φυγοκέντριση στις 12000 στροφές ανά λεπτό για 10 λεπτά στους 4°C και μεταφορά του υπερκείμενου σε νέο σωληνάριο

### ΒΗΜΑ 3<sup>ο</sup>

- a. Προσθήκη 1000μl EtOH 100% και 15μl οξικού νατρίου 3M

Κατάψυξη δειγμάτων στους -20°C για 30 λεπτά

Φυγοκέντριση στις 12000 στροφές ανά λεπτό για 10 λεπτά στους 4°C και αφαίρεση της περίσσειας αλκοόλης

- b. Προσθήκη 200μl παγωμένης EtOH 70%

Φυγοκέντριση στις 12000 στροφές για 5 λεπτά στους 4°C και απομάκρυνση της υπερκείμενης αιθανόλης

### ΒΗΜΑ 4<sup>ο</sup>

- a. Τοποθέτηση δειγμάτων στους 55°C με ανοιχτά καπάκια μέχρι να στεγνώσουν τα δείγματα

- b. Προσθήκη 50μl TE Buffer (10mM Tris-HCl, 1mM EDTA)

Στη δεύτερη δοκιμή, διαφοροποιήθηκε η διαδικασία εξαγωγής του DNA. Μία διαφοροποίηση αφορούσε την ποσότητα TE Buffer, όπου αντί για 50μl, προστέθηκαν 15μl, με σκοπό την επίτευξη μεγαλύτερης συμπύκνωσης του DNA. Η δεύτερη

διαφοροποίηση αφορούσε τον χρόνο παραμονής των δειγμάτων στην κατάψυξη, ο οποίος αυξήθηκε στη μία ώρα.

Στα δείγματα όπου ο ιστός δεν είχε διασπαστεί ικανοποιητικά μετά το υδατόλουτρο, η διάσπασή του υποβοηθήθηκε με χρήση εμβόλου και την προσθήκη 10μl PrK (20mg/ml) και μία ώρα επιπλέον παραμονή στο υδατόλουτρο.

Στα δείγματα όπου δεν θα παρατηρήθηκε διαυγή υπερκείμενη ουσία, επαναλήφθηκε το στάδιο προσθήκης 600μl χλωροφόρμιου/ ισοαμυλικής αλκοόλης (αναλογία 24:1), με σκοπό να προκύψει πιο διαυγές υπερκείμενη ουσία.

### 2.3 Ηλεκτροφόρηση

Για την προετοιμασία της γέλης ηλεκτροφόρησης προστέθηκαν σε ογκομετρική φιάλη 0,48gr αγαρόζη και 60ml TAE buffer (διάλυμα 1,2%), τα οποία θερμάνθηκαν σε φούρνο μικροκυμάτων, έως να διαλυθεί η αγαρόζη (1 - 1,5 λεπτό). Έπειτα, προστέθηκαν 2,5μl βρωμιούχο αιθίδιο και προσαρμόστηκε η θερμοκρασία του διαλύματος στους ~50°C κάτω από τη βρύση με κρύο τρεχούμενο νερό. Μεταφέρθηκε σε ειδική πλαστική θήκη για την ηλεκτροφόρηση και τοποθετήθηκε στο ψυγείο σε συνθήκες σκότους (καλυμμένο με αλουμινόχαρτο) μέχρις ότου να κρυώσει και αποκτήσει πιο πηκτή σύσταση. Δημιουργήθηκαν με ειδικό χτενάκι πηγαδάκια στα οποία και έγινε η φόρτωση 5μl DNA και 1μl loading buffer (δείκτης + γλυκερόλη), ενώ το τελευταίο πηγαδάκι φορτώθηκε με 1μl μάρτυρα (Διαβαθμισμένο πρότυπο διάλυμα γνωστού αριθμού βάσεων DNA) 1Kb.

## 2.4 Διαδικασία PCR

Η εξαγωγή του DNA από τους ιστούς των δειγμάτων καθώς και η ηλεκτροφόρηση, αποτέλεσαν προετοιμασία για την μοριακή τους ανάλυση με τη χρήση της PCR. Για τη διαδικασία την PCR, δημιουργήθηκε Master Mix για τα δείγματα και το αρνητικό δείγμα (δείγμα χωρίς DNA). Χρησιμοποιήθηκαν γενικοί εκκινητές, οι οποίοι ενισχύουν το γονίδιο κυτοχρωμική οξειδάση (σύμπλοκο 1) του μιτοχονδριακού DNA (cytochrome c oxidase subunit 1 mitochondrial gene). Για την PCR, χρησιμοποιήθηκε 1μl DNA από κάθε δείγμα και για το Master Mix χρησιμοποιήθηκαν 5μl Buffer 10X, 2μl MgCl<sub>2</sub> 25mM, Primer COI 1,5μl (forward) & 1,5μl (reverse) 10μM, 0,2μl dNTP's 10mM, 0,2μl Taq πολυμεράση 5U/μL και ddH<sub>2</sub>O 8,6μl. Συνολικά δημιουργήθηκαν 10 δείγματα προς τοποθέτηση στην PCR (πέντε με DNA του δείγματος 4δ και με DNA του δείγματος 6δ) των 20 μl. Τα 19μl που απέμειναν από το Mater Mix χρησιμοποιήθηκαν ως αρνητικό δείγμα.

Έγινε η χρήση PCR διαβαθμισμένης θερμοκρασίας (Gradient PCR). Οι θερμοκρασίες που επιλέχθηκαν ήταν 48°C, 49.5°C, 52°C, 58°C & 60°C για κάθε ένα από τα δείγματα. Έπειτα από τη λήξη της PCR, τα αποτελέσματα αναλύθηκαν με ηλεκτροφόρηση σε γέλη (1.2%). Η διαδικασία δημιουργίας της γέλης ήταν παρόμοια με αυτήν που ακολουθήθηκε μετά την εξαγωγή του DNA, με τη διαφορά ότι χρησιμοποιήθηκε διαφορετικός ladder, που σε αυτήν την περίπτωση ήταν 100kb. Τα αποτελέσματα αυτής στάλθηκαν σε εξειδικευμένο εργαστήριο για την αλληλούχιση του γονιδιώματος κατά Sanger.

## 2.5 Δημιουργία φυλογενετικού δέντρου

Για τη δημιουργία του φυλογενετικού δέντρου, χρησιμοποιήθηκαν τα πιο γενετικά κοντά είδη με το υπό εξέταση είδος, χρησιμοποιώντας ως μέτρο σύγκρισης το ποσοστό επικάλυψης. Χρησιμοποιήθηκε το πρόγραμμα AliView ([www.github.com/AliView](http://www.github.com/AliView)) Version: 1.27 για την ευθυγράμμιση και στοίχιση των αλληλουχιών και το πρόγραμμα MEGA (Tamura et al. 2011) Version: 11.0.8 για τη ανάλυση των αλληλουχιών. Στη συνέχεια το σετ των αλληλουχιών αναλύθηκε με τη μέθοδο Bootstrap και το μοντέλο Kimura 2-parameter (Kimura 1980). Το μοντέλο αυτό αποσκοπεί στον υπολογισμό της γενετικής απόστασης και της φυλογενετικής σχέσης μεταξύ αλληλουχιών (Nishimaki & Sato 2019). Τέλος, το φυλογενετικό δέντρο δημιουργήθηκε με τη χρήση του προγράμματος MEGA Version: 11.0.8, με βάση το μοντέλο Maximum Composite Likelihood, ρυθμισμένο στις 10.000 επαναλήψεις.

Για την παραπάνω διαδικασία χρησιμοποιήθηκαν αλληλουχίες από έντεκα (11) διαφορετικά είδη (Πίνακας 1), *Uncinaria hamiltoni*, που χρησιμοποιήθηκε ως outgroup, *Tropilaelaps koenigerum*, *T. clareae*, *T. thaii*, *T. mercedesae*, *Halarachne halichoeri*, *Gigaspora margarita*, *Coleolaelaps agrestis*, *Hypoaspis miles*, *Laelaps schatzi*, *Androlaelaps casalis* καθώς και η αλληλουχία που προέκυψε από τη μοριακή ανάλυση των υπό εξέταση παρασίτων, που για την παρούσα διαδικασία ονομάστηκε Sequence.



Πίνακας 1.Αριθμός καταχώρησης βάσης δεδομένων (Accession number) των ειδών που χρησιμοποιήθηκαν για τη δημιουργία του φυλογενετικού δέντρου.

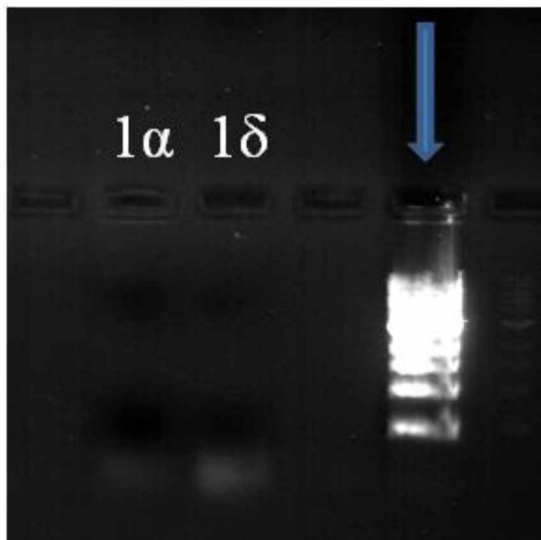
Είδος	Accession number	Βιβλιογραφία
<i>Uncinaria hamiltoni</i>	MW581843	Komnenou et al. 2021
<i>Tropilaelaps koenigerum</i>	EF025475	Anderson& Morgan 2007
<i>Tropilaelaps clareae</i>	EF025474	Anderson& Morgan 2007
<i>Tropilaelaps thaiti</i>	EF025477	Anderson& Morgan 2007
<i>Tropilaelaps mercedesae</i>	HQ533163_GZ3S53	Luo et al. 2011
<i>Halarachne halichoeri</i>	MH426845	Pesapane et al. 2018
<i>Gigaspora margarita</i>	U15692	Waterman 1994
<i>Coleolaelaps agrestis</i>	DQ986381	Nicot et al. 2006
<i>Hypoaspis miles</i>	KU318310	Santos& Tixier 2015
<i>Laelaps schatzi</i>	MK725870	Savchenko & Lareschi 2019
<i>Androlaelaps casalis</i>	AM903317	Roy et al. 2009

### 3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

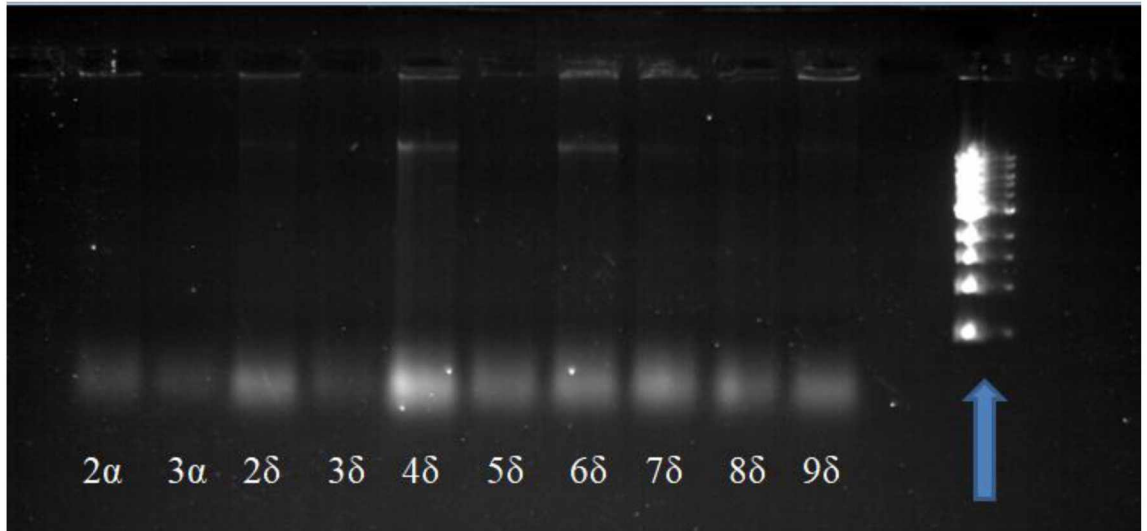
Κατά την ανατομία των οργάνων, βρέθηκαν εννέα άτομα παρασίτων στον δεξί πνεύμονα που ονομάστηκαν 1δ, 2δ, 3δ, 4δ, 5δ, 6δ, 7δ, 8δ και 9δ και τρία στον αριστερό που με τη σειρά τους ονομάστηκαν 1α, 2α, και 3α.

Στα δείγματα 2δ, 4δ, 6δ, 7δ, 8δ και 9δ η διάσπαση του ιστού υποβοηθήθηκε με χρήση εμβόλου και την προσθήκη 10μl PrK και μία ώρα επιπλέον παραμονή στο υδατόλουτρο.

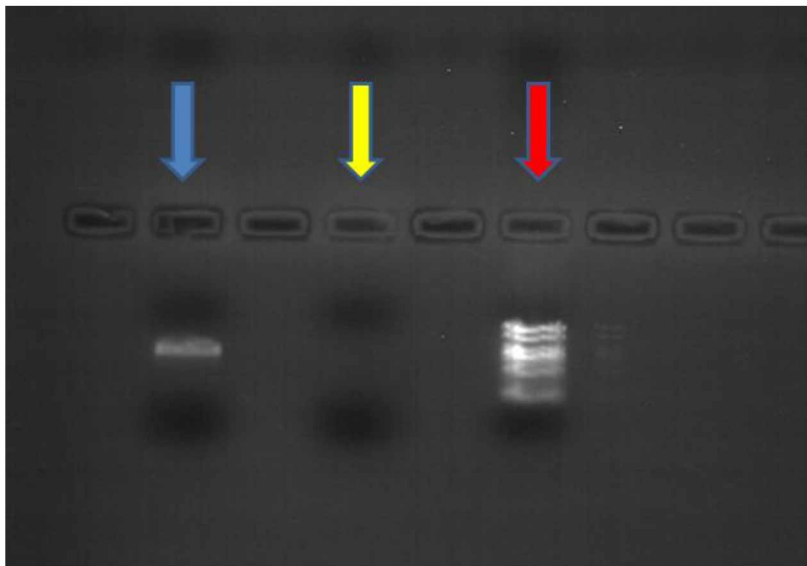
Στα υπόλοιπα δείγματα 2α, 3α, 3δ και 5δ όπου δεν θα παρατηρήθηκε διαυγές υπερκείμενο διάλυμα, το στάδιο προσθήκης 600μl χλωροφόρμιου/ ισομυλικής αλκοόλης (vol. 24:1) επαναλήφθηκε.



**Εικόνα 1.** Αποτέλεσμα ηλεκτροφόρησης μετά την εξαγωγή DNA πρώτης δοκιμής. Στο μπλε βέλος είναι ο ladder, ενώ τα δείγματα αναγράφονται στη φωτογραφία.



**Εικόνα 2.** Αποτέλεσμα ηλεκτροφόρησης μετά την εξαγωγή DNA δεύτερης δοκιμής. Στο μπλε βέλος είναι ο ladder, ενώ τα δείγματα αναγράφονται στη φωτογραφία.



**Εικόνα 3.** Αποτέλεσμα ηλεκτροφόρησης μετά την PCR. Το μπλε βέλος δείχνει το προϊόν της PCR (4δ), το κίτρινο βέλος δείχνει το τυφλό δείγμα και το κόκκινο βέλος δείχνει τον ladder.

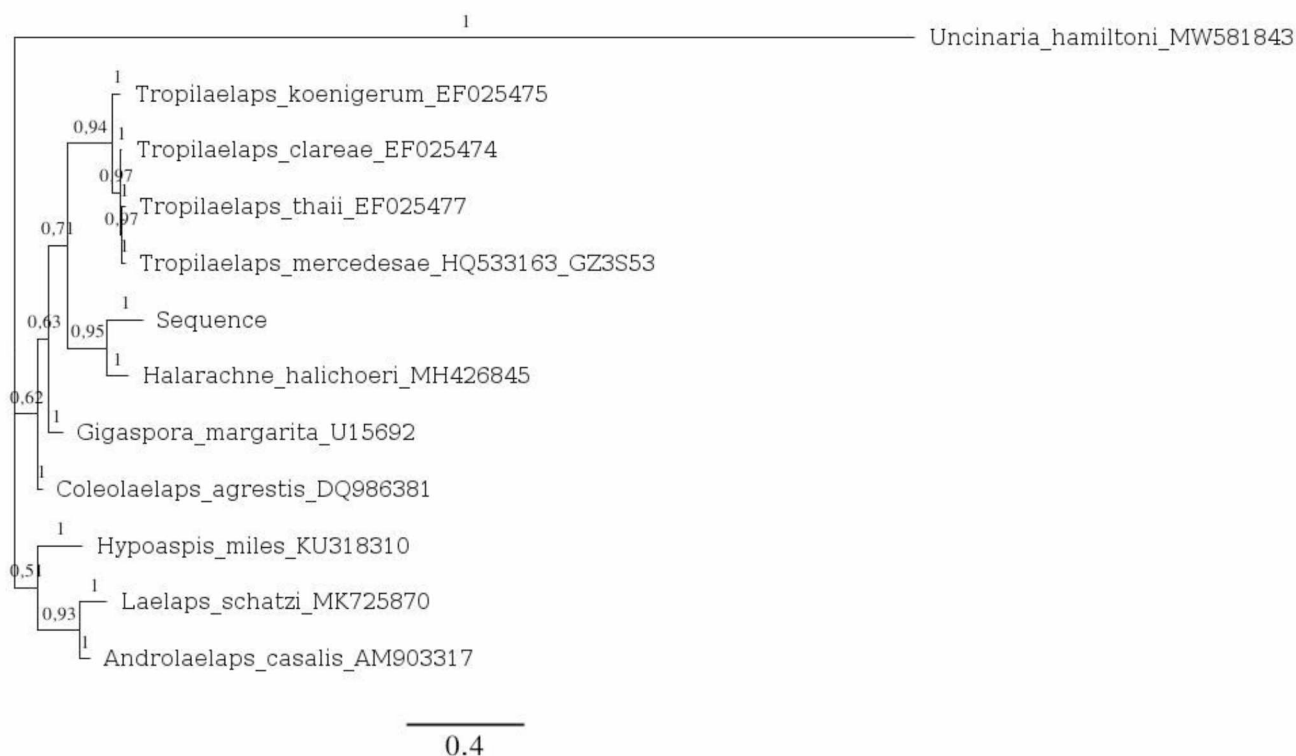
**Πίνακας 2.** Ποσοστά επικάλυψης των ειδών που χρησιμοποιήθηκαν για τη δημιουργία του φυλογενετικού δέντρου σε σχέση με το είδος της έρευνας, σύμφωνα με τη βάση δεδομένων του ncbi (GenBank® - [www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/)).

Είδος	Ποσοστό επικάλυψης (%)
<i>Tropilaelaps koenigerum</i>	71
<i>Tropilaelaps clareae</i>	71
<i>Tropilaelaps thaii</i>	71
<i>Tropilaelaps mercedesae</i>	61
<i>Halarachne halichoeri</i>	83
<i>Gigaspora margarita</i>	59
<i>Coleolaelaps agrestis</i>	60
<i>Hypoaspi smiles</i>	61
<i>Laelaps schatzi</i>	62
<i>Androlaelaps casalis</i>	59

Στο φυλογενετικό δέντρο, παρουσιάζονται οι φυλογενετικές σχέσεις του γονιδίου *cox1* που αναδείχθηκαν μέσω της μοριακής ανάλυσης, καθώς και οι τιμές bootstrap, οι οποίες δείχνουν τη συχνότητα εμφάνισης κάποιου είδους στο κλαδόγραμμα κατά τη δημιουργία του φυλογενετικού δέντρου σύμφωνα με το συνολικό δείγμα. Δώδεκα είναι οι αλληλουχίες που έχουν χρησιμοποιηθεί για την δημιουργία του δέντρου. Όσο πιο κοντά είναι τα είδη στο σχήμα, τόσο πιο κοντά είναι και γενετικά. Η αλληλουχία Sequence φαίνεται να είναι γενετικά πολύ κοντά με την αλληλουχία του

είδους *Halarachne halichoeri*, με τιμή bootstrap 0.95, σε αντίθεση με τις υπόλοιπες αλληλουχίες. Αυτές του γένους *Tropilaelaps* που εμφανίζουν τιμή bootstrap 0,71 σε σχέση με την αλληλουχία Sequence, είναι πιο μακριά γενετικά. Ακολουθεί το είδος *Gigaspora margarita* με τιμή bootstrap 0.63, έπειτα το *Coleolaelaps agrestis* με τιμή 0.62 και τα πιο μακρινά γενετικά είδη σε σχέση με αυτό της έρευνας είναι τα *Hypoaspis miles*, *Laelaps schatzi*, *Androlaelaps casalia* και *Uncinaria hamiltoni*.

Επιπλέον, τα αποτελέσματα της φυλογενετικής ανάλυσης έδειξαν ότι το παράσιτο που απομονώθηκε από το αναπνευστικό σύστημα της φώκιας και υποβλήθηκε σε μοριακή ανάλυση, παρουσιάζει 87.18% ομοιότητα με το είδος *Halarachne halichoeri*, ενώ η επικάλυψη των δύο αυτών ειδών είναι 83%. Το μοντέλο Kimura 2-parameter, εμφάνισε τις γενετικές αποστάσεις των ειδών που προέκυψαν μέσω της αλληλούχισης, αποκαλύπτοντας ότι το είδος *Halarachne halichoeri* είναι το πιο κοντινό γενετικά με το παράσιτο που βρέθηκε στον πνεύμονα της φώκιας σε σχέση με τα υπόλοιπα, με δείκτη 0.1585, ο οποίος αποτέλεσε και τον μικρότερο δείκτη του είδους που μας ενδιαφέρει σε σχέση με τα υπόλοιπα είδη. Μελετώντας το φυλογενετικό δέντρο και μέσα από τις τιμές bootstrap προκύπτει μία πολυφυλετική σχέση ανάμεσα στο είδος της έρευνας, στο είδος *Halarachne halichoeri*, καθώς και στα είδη *Tropilaelaps koenigerum*, *Tropilaelaps clareae*, *Tropilaelaps thaii* και *Tropilaelaps mercedesae* με τιμή bootstrap 71%.



**Εικόνα 3.** Φυλογενετικό δέντρο. Ο αριθμός 0,4 αντιστοιχεί στην κλίμακα μεγέθους και οι αριθμοί που συμπεριλαμβάνονται στο φυλογενετικό δέντρο, αποτελούν τις τιμές bootstrap.

**Πίνακας 3.** Γενετικές αποστάσεις με χρήση του μοντέλου Kimura 2-parameter. Οι τιμές κάτω της διαγωνίου είναι οι γενετικές αποστάσεις και οι τιμές άνω της διαγωνίου είναι η τυπική απόκλιση (τυπικό σφάλμα).

$\alpha/\alpha$	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<i>Uncinaria_hamiltoni_MW581843</i>		0,3097	0,3037	0,3150	0,3070	0,3605	0,3396	0,3354	0,3595	0,3485	0,4374	0,3582
<i>Tropilaelaps_koenigerum_EF025475</i>	1,9690		0,0111	0,0125	0,0122	0,0482	0,0384	0,0419	0,0425	0,0412	0,0319	0,0344
<i>Tropilaelaps_clareae_EF025474</i>	1,9166	0,0534		0,0064	0,0065	0,0474	0,0381	0,0417	0,0447	0,041	0,0321	0,0348
<i>Tropilaelaps_thaii_EF025477</i>	1,9778	0,0650	0,0197		0,0064	0,0482	0,0397	0,0428	0,0458	0,0425	0,0312	0,0350
<i>Tropilaelaps_mercedesae_HQ533163_GZ3S53</i>	1,9344	0,0609	0,0198	0,0199		0,0465	0,0382	0,0413	0,0435	0,0402	0,0308	0,0333
Sequence	2,2125	0,3716	0,3661	0,3693	0,3578		0,0247	0,0518	0,0507	0,0476	0,0431	0,0364
<i>Halarachne_halichoeri_MH426845</i>	2,0443	0,3022	0,2957	0,3105	0,2992	0,1585		0,0464	0,0484	0,0466	0,0338	0,0296
<i>Hypoaspis_miles_KU318310</i>	2,1067	0,3260	0,3283	0,3357	0,3225	0,3896	0,3459		0,0384	0,0342	0,0348	0,0269
<i>Laelaps_schatzi_MK725870</i>	2,1654	0,3158	0,3372	0,3442	0,3238	0,3846	0,3684	0,2697		0,0187	0,0376	0,0364
<i>Androlaelaps_casalis_AM903317</i>	2,1671	0,3177	0,3152	0,3270	0,3079	0,3667	0,3605	0,2427	0,1101		0,0316	0,0289
<i>Gigaspora_margarita_U15692</i>	2,5215	0,2374	0,2391	0,2289	0,2264	0,3200	0,2454	0,2490	0,2663	0,2275		0,0156
<i>Coleolaelaps_agrestis_DQ986381</i>	2,1067	0,2518	0,2555	0,2568	0,2427	0,2438	0,2018	0,1796	0,2416	0,1899	0,0801	

#### 4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Το είδος *Halarachne halichoeri*, το οποίο αποδείχθηκε ότι είναι και το πιο κοντά γενετικά με αυτό της έρευνας, πρόκειται για φθειράπτερο και ανήκει στο γένος *Halarachne* της οικογένειας Halarachnidae που περιλαμβάνει αποκλειστικά παράσιτα που προσβάλλουν το αναπνευστικό σύστημα των όλων των ειδών των θηλαστικών (Furman & Dailey 1980). Ενώ τα περισσότερα φθειράπτερα είναι εξωπαρασιτικά, άτομα της οικογένειας Halarachnidae αποτελούνται ως επί το πλείστον από ενδοπαρασιτικά.

Η εξέλιξή τους μέσα στα χρόνια, φαίνεται να είναι παράλληλη με αυτήν των σαρκοφάγων ζώων, όμως τελικά απέκτησαν μέχρι έναν βαθμό μία σχέση συμβίωσης με τα πτερυγίοποδα, τα οποία αποτελούν και τους τελικούς ξενιστές τους. Κατάφεραν μέσω της εξέλιξης να προσαρμοστούν στο περιβάλλον ενός ημιυδρόβιου ξενιστή, γεγονός που τα καθιστούν πολύ ιδιαίτερους οργανισμούς σε σχέση με τους συγγενικούς τους (Furman 1979, Fain 1994). Εκμεταλλεύτηκαν τους θαλάσσιους ξενιστές τους για την επιβίωσή τους. Οι πληροφορίες όμως που αφορούν τη στροφή εξωπαρασίτων σε εσωπαρασιτικά χρησιμοποιώντας ως ξενιστές υδρόβιους και ημιυδρόβιους οργανισμούς, είναι περιορισμένες (Moon et al. 2019).

Το αναπνευστικό σύστημα των πτερυγίοποδων, φαίνεται να είναι ο κύριος ξενιστής των παρασίτων του γένους *Halarachne* (Allman 1847). Παρατηρείται κυρίως στη ρινική οδό ωταριδίων (Furman & Dailey 1980, Geraci & Aubin 1987) και ενυδρίδων (Kenyon et al. 1965), καθώς και στο σώμα της γκρι φώκιας *Halichoerus grypu* (Rolbiecki et al. 2018), όμως σε γενικές γραμμές είναι επιλεκτικό στους ξενιστές του (Rolbiecki et al. 2018).

Πρώτη φορά ανιχνεύτηκε από τον Bellingham (1837), στο αναπνευστικό σύστημα μίας γκριζας φώκιας *Halichoerus grypus*, η οποία βρέθηκε νεκρή στις ακτές του Δουβλίνου. Ωστόσο, η πρώτη επίσημη καταγραφή έγινε δέκα χρόνια μετά, από τον George James Allman (βλέπε Reckendorf et al. 2019).

Το είδος *Halarachne halichoeri* προκαλεί πολλές και διαφορετικές μορφές αναπνευστικής νόσου, ιδιαίτερα σε φώκιες του είδους *Halichoerus grypus* (Baker 1987, Baker et al. 1998), καταστρέφοντας το βλεννογόνο ιστό του αναπνευστικού συστήματος ή μειώνοντας την αναπνευστική ικανότητα του ξενιστή (Baker 1987, Geraci & Aubin 1987, Alonso- Farré et al. 2012, Measures 2018). Μεταδίδονται είτε μέσω του βήχα, είτε μέσω στενής ρινικής ή σωματικής επαφής (Furman & Smith 1973).

Στην προνυμφική τους μορφή ξεκινούν ως ελεύθερα εξάποδα, τα οποία ευθύνονται κυρίως για την εξάπλωση των λοιμώξεων. Σε αυτή τη μορφή είναι ικανά να επιζήσουν και εκτός του ξενιστή σε υδάτινο περιβάλλον, έως ότου να αισθανθούν συγκέντρωση διοξειδίου του άνθρακα από την εκπνοή του και να διεισδύσουν από τα ρουθούνια του στο αναπνευστικό σύστημα (Furman & Smith 1973). Έπειτα ακολουθεί η οκτάποδη μορφή που καταλήγει στα ενήλικα άτομα (Alonso-Farré 2012). Αυτά εντοπίζονται στον ρινοφαρυγγικό και πνευμονικό βλεννογόνο, ενώ εκτός του περιβάλλοντος αυτού δεν επιβιώνουν (Geraci & Aubin 1987, Fay & Furman 1982).

Έρευνα που πραγματοποιήθηκε στις βορειοδυτικές ακτές της Ισπανίας το διάστημα 1999 με 2009 από τους Alonso-Farré et al.(2012) κατέγραψε την πρώτη εμφάνιση του παρασίτου αυτού στην περιοχή, διευρύνοντας την έως τότε γνωστή γεωγραφική του εξάπλωση. Επιπλέον, επιβεβαίωσε την υπόθεση ότι οι γκρι φώκιες (*Halichoerus grypus*) είναι ο κύριος ξενιστής τους.



Το είδος *Halarachne halichoeri* που παρασιτούσε στη φώκια *Halichoerus grypus* έως τα τέλη του 19<sup>ου</sup> αιώνα στα γερμανικά ύδατα. Το είδος της φώκιας όμως εξαφανίστηκε από την περιοχή, λόγω της υπερεκμετάλλευσης των φυσικών πόρων από ανθρώπινες δραστηριότητες και μαζί με αυτό, εξαφανίστηκε και το παράσιτο. Παρ' όλα αυτά, από το 2014 και έπειτα, μαζί με την εμφάνιση των ειδών φώκιας *Halichoerus grypus* και *Phoca vitulina* στη Βαλτική θάλασσα, επανεμφανίστηκε και το παράσιτο, ταυτόχρονα δηλαδή με τον κύριο ξενιστή του, υποδηλώνοντας και την μετάδοσή του από το ένα είδος φώκιας στο άλλο (Reckendorf et al. 2019).

Σε γενικές γραμμές όμως η επίδραση του *Halarachne halichoeri* στην υγεία των πτερυγιόποδων θα πρέπει να μελετηθεί εκτενέστερα έτσι ώστε να υπάρξει ακριβή εικόνα όσον αφορά τις βλάβες που μπορεί να δημιουργήσει στο αναπνευστικό τους σύστημα (Farre et al. 2012). Παρ' όλα αυτά, είναι γνωστό ότι είναι αρκετά επιλεκτικό παράσιτο όσον αφορά το όργανο που θα παρασιτήσει, το οποίο αφορά το άνω και κάτω αναπνευστικό σύστημα (McFarlane et al. 2009).

Έρευνες δείχνουν ότι το είδος αυτό σε ευρωπαϊκά ύδατα έχει εντοπιστεί στις ακτές της Ισπανίας στον Ατλαντικό ωκεανό, στη Μεγάλη Βρετανία, στην Ολλανδία και στη Γερμανία (Oudemans 1925, Farré et al. 2012, Reckendorf et al. 2016) και συνήθως σε γκρι φώκιες του είδους *Halichoerus grypus*. Έχει εντοπιστεί και σε άλλα είδη πτερυγιόποδων, όπως είναι τα *Cystophora cristata*, *Enhydralutris*, *Halichoerus grypus*, *Mirounga leonine*, *Phoca largha*, *Phoca vitulina*, *Pygoscelis papua*, όμως φαίνεται να έχει βρεθεί τυχαία στους οργανισμούς αυτούς, πολύ πιθανό λόγω ευνοϊκών συνθηκών (Rolbiecki et al. 2018). Η πρώτη επιβεβαιωμένη καταγραφή του στη Βαλτική θάλασσα όμως, ήταν το 2018 (Rolbiecki et al.).

Όπως και στην παραπάνω έρευνα, έτσι και στην παρούσα, ένα παρασιτικό είδος κοντά στο *Halarachne halichoeri*, θα μπορούσε να είχε μεταδοθεί στη Μεσογειακή φώκια της παρούσας έρευνας μέσω κάποιου άλλου ατόμου φώκιας, είτε μέσω τυχαίων ξενιστών. Το γεγονός ότι το παράσιτο αυτό, πιθανότατα ούτε και το υπό μελέτη, δεν έχει ανιχνευτεί στη Μεσόγειο, μπορεί να σημαίνει την εισβολή κάποιου τυχαίου ξενιστή από το στενό του Γιβραλτάρ και την μετέπειτα μετάδοσή του στη Μεσογειακή φώκια, αυτό όμως μπορεί να στηριχθεί προς το παρόν μόνο σε υποθέσεις. Σύμφωνα με τα παραπάνω, αναφέρονται οι παρακάτω υποθέσεις.

Μία πιθανή εξήγηση μπορεί να αποτελεί την είσοδο Μεσογειακής φώκιας στη Μεσόγειο από τον Ατλαντικό ωκεανό, μέσα από το στενό του Γιβραλτάρ. Ενώ πρόκειται για είδος της Μεσογείου, σύμφωνα με το NCBI (GenBank® - [www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/)), άτομα Μεσογειακής φώκιας παρατηρούνται και στις ακτές της Πορτογαλίας, στα νησιά Μαδέρα και στις Αζόρες, που αποτελούν τμήματα του Ατλαντικού ωκεανού. Η εξήγηση αυτή μπορεί να περιλαμβάνει δύο υποθέσεις.

Αρχικά, πληθυσμοί Μεσογειακής φώκιας που ζουν στον Ατλαντικό, μπορούν να εισέλθουν στη Μεσόγειο προς αναζήτηση καλύτερων συνθηκών διαβίωσης και τροφής. Η διατροφή της Μεσογειακής φώκιας περιλαμβάνει κυρίως κεφαλόποδα όπως χταπόδια και καλαμάρια, οστεϊχθύες και καρκινοειδή (Gilmartin et al. 2009). Πολύ πιθανό στη Μεσόγειο, να μην υπάρχει τόσο μεγάλος ανταγωνισμός με άλλα είδη που έχουν ίδιες διατροφικές προτιμήσεις. Επιπλέον, οι μόνοι θηρευτές, εκτός του ανθρώπου, που έχουν όλα τα είδη φώκιας, είναι οι καρχαρίες και οι όρκες. Από τη στιγμή που οι καρχαρίες είναι αυτοί που θα μπορούσαν να αποτελούν θηρευτή σε νερά του Ατλαντικού σε ευρωπαϊκές ακτές, η πιθανότητα μετανάστευσης των πληθυσμών *Monachus monachus* στα νερά της Μεσογείου για αποφυγή θηρευτών δε μπορεί να απορριφθεί.

Ένα άλλο πιθανό σενάριο, είναι η συγκεκριμένη φώκια να ήρθε σε επαφή με άλλο άτομο φώκιας άλλου είδους που αποτελεί ξενιστή παρασίτων όπως αυτό της έρευνας. Η φώκια ξενιστής σε αυτήν την περίπτωση μπορεί να έχει περάσει από τον Ατλαντικό ωκεανό στην δυτική Μεσόγειο και αλυσιδωτά να μετέφερε το παράσιτο και σε άλλα άτομα. Αντίστοιχα, η αλυσίδα αυτή θα μπορούσε να έχει μεγαλύτερη έκταση, ξεκινώντας από πτερυγιόποδα στη Βαλτική θάλασσα και καταλήγοντας στη Μεσόγειο.

Βέβαια, υπάρχει και μία πιο πιθανή εξήγηση στο φαινόμενο αυτό. Όπως προαναφέρθηκε, οι προνύμφες του *Halarachne halichoeri*, μπορούν να ζήσουν και εκτός των ξενιστών τους στο υδρόβιο περιβάλλον (Furman & Smith 1973). Μελετάται λοιπόν η υπόθεση να εισήλθε το παράσιτο αυτό στη Μεσόγειο θάλασσα είτε μέσω έντονης ρευμάτωσης, είτε με κάποιο τεχνητό μέσο, όπως είναι τα καράβια. Έτσι, εκτός από την πιθανή εξήγηση της εύρεσης ενός τέτοιου παρασίτου στο σώμα μίας Μεσογειακής φώκιας, προκύπτει και ένα νέο παρασιτικό ξενικό είδος στη Μεσόγειο, αφού μέχρι και σήμερα δεν υπάρχει επίσημη καταγραφή.

Οι παραπάνω υποθέσεις μπορούν μελλοντικά να συσχετιστούν άμεσα με περιπτώσεις εναλλαγής ξενιστών διαφόρων παρασίτων. Πολλά χρόνια τώρα, λόγω της αύξησης της θαλάσσιας κυκλοφορίας, πολλά θαλάσσια είδη εισάγονται σε νέα περιβάλλοντα και αναγκάζονται να εναρμονιστούν με αυτόχθονα είδη (Vitousek et al. 1997, Lowe et al. 2000, Arena et al. 2012), με τα οποία δε μοιράζονται κοινή εξελικτική πορεία, συμπεριφορά και οικολογία (Huxel 1999, Mooney & Cleland 2001, Shea & Chesson 2002). Η μεταφορά παρασίτου από το ένα είδος στο άλλο, αποτελεί επίσης ένα αναμενόμενο φαινόμενο, το οποίο προκύπτει από την αναπάντεχη αλλά αναπόφευκτη επαφή των ειδών (Lodge 1993, Williamson 1996, Vitousek et al. 1996, Hudson & Greenman 1998, Holway & Suarez 1999, Tompkins et al. 2002, Clay 2003, MacNeil et

al. 2003, Torchin et al. 2003, Torchin & Mitchell 2004, Smith et al. 2006, Crowl et al. 2008) και μπορεί να διαταράξει ανεπανόρθωτα το οικοσύστημα.

## 5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

### Ελληνική

- Γιαβάσης Ι. (2020). Μικροβιολογία Τροφίμων. Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, 169.
- Γιαννακοπούλου Γ.Μ. (2019) Μελέτη των ιδιοτήτων που προάγουν την ανάπτυξη των φυτών σε βακτήρια που απομονώθηκαν από φυμάτια μαυρομάτικου φασολιού. Μεταπτυχιακή Διατριβή, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, σελ. 143.
- Μαδεμλή Α. (2008) Ασθένειες θαλάσσιων θηλαστικών. Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, σελ. 167.
- Μπιλιάνη Σ. (2020). Η επίδραση της αλατότητας στην ανάπτυξη του μικροφύκου *Chrorellavulgaris* και χαρακτηριστικά της παραγόμενης βιομάζας. Μεταπτυχιακή Διατριβή, Πανεπιστήμιο Πατρών, σελ. 79.
- Mom. <https://el.mom.gr/>

### Ξένη

- Adamantopoulou S., Kotomatas S., Dendrinou P., Androukaki E. & Tounta E. (1999) Causes of mortality in the Mediterranean Monk seal (*Monachus monachus*) in Greece.
- AliView. <https://ormbunkar.se/aliview/>
- Alonso-Farré J.M., Díaz D'Silva J.I., Gestald C. (2012) Naso-pharyngeal mites *Halarachnehalichoeri* (Allman, 1847) in Grey seals stranded on the NW Spanish Atlantic Coast. *Veterinary Parasitology*, 183(3–4): 317–322. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.08.002>
- Alonso-Farré, J.M., Díaz D'Silva, J.I. & Gestal, C. (2012) Nasopharyngeal mites *Halarachne halichoeri* (Allman, 1847) in Grey seals stranded on the NW Spanish Atlantic Coast. *Veterinary Parasitology* 183(3–4): 317–322. <http://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.08.002>
- Anderson D.L. & Morgan M.J. (2007) Genetic and morphological variation of bee-parasitic *Tropilaelaps* mites (Acari: Laelapidae): new and re-defined species. *Experimental and Applied Acarology*, 43(1): 1-24.

- Anderson D.L. & Morgan M.J. (2007) *Tropilaelaps thaii* isolate common 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence. . *Experimental and Applied Acarology*, *43*(1): 1-24.
- Anonymous (2001). Factors that Influence Microbial Growth, Evaluation and Definition of Potentially Hazardous Foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, Chapter III.
- Anonymous (2015) Which molecular markers for assessing which taxonomic level? The case study of the mite family Phytoseiidae (Acari: Mesostigmata).
- Anonymous (2018). Infestation with the nasopulmonary mite *Halarachne halichoeri* in threatened southern sea otters (*Enhydra lutris nereis*).
- Anonymous (2021) First Report of *Uncinaria hamiltoni* in Orphan Mediterranean Monk
- Anonymous. (2013) Army Medical Department Journal (2013). <https://ufdc.ufl.edu/AA00062689/00042>
- AntonioRagaJ., FernándezM., BalbuenaJ.A.&AznarF.J. (2009) Parasites. *Encyclopedia of Marine Mammals* (Second Edition), 821-830. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-373553-9.00193-0>
- Arena PC, Steedman C, Warwick C (2012) Amphibian and reptile pet markets in the EU: An investigation and assessment. Available at: [http://animal-public.de/wp-content/uploads/2012/04/ARPM2012\\_v131.pdf](http://animal-public.de/wp-content/uploads/2012/04/ARPM2012_v131.pdf) (Accessed 17 April 2013).
- Attias M., Teixeira D.E., Benchimol M., Vommaro R.C., Henrique Crepaldi P., De Souza W. (2020) The life-cycle of *Toxoplasma gondii* reviewed using animations. *Parasites and Vectors*, *13*(1): 588. <http://doi.org/10.1186/s13071-020-04445-z>
- Aznar F.J., Balbuena J.A., Fernández M., Raga J.A. (2002) Living Together: The Parasites of Marine Mammals. In: Evans P.G.H., Raga J.A. (eds) *Marine Mammals*. Springer, Boston, MA, 385-423. [https://doi.org/10.1007/978-1-4615-0529-7\\_11](https://doi.org/10.1007/978-1-4615-0529-7_11)
- Baker (1987) Causes of Mortality and Morbidity in wild juvenile and adult grey seals (*Halichoerus grypus*). *British Veterinary Journal*, *143* (3): 203-220. [https://doi.org/10.1016/0007-1935\(87\)90083-2](https://doi.org/10.1016/0007-1935(87)90083-2)
- Baker J.R., Jepson P.D., Simpson V.R., Kuiken T. (1998) Causes of mortality and non-fatal conditions among grey seals (*Halichoerus grypus*) found dead on the coasts of England, Wales and the Isle of Man. *Veterinary Record*, *142* (22): 595-601. <https://doi.org/10.1136/vr.142.22.595>
- Béjà O., Spudich E.N., Spudich J.L., Leclerc M., DeLong E.F., (2001) "Proteorhodopsin phototrophy in the ocean." *Nature* *411*, 786-789.
- Benkovsky L.M. & Golovina T.I. (1971) Infestation of *Bperfringes pyocyanem* [sic] *Schroeter* and *Erysipelothrix rhusiopathiae* in fur seals. (In Russian; Engl. summary). *Trudy vses. nauchnoissled.Institute of Marine Fisheries and Oceanography.*, *82*: 124-127.



- Blagoveshtchensky D.I. (1966) New forms of lice (Siphunculata) parasitic on seals and hares. *Entomological Review*, 45, 457–460. English translation of *Entomologicheskoe Obozrenie*, 45(4): 806–813.
- Bossart G.D. & Duignan P.J. (2018) Emerging viruses in marine mammals. *CAB Reviews*, 2018 13, No. 052. <http://doi.org/10.1079/PAVSNNR201913052>
- Bracht A.J., Brudek R.L., Ewing R.Y., Manire C.A., Burek K.A., Rosa C., Beckmen K.B., Maruniak J.E. & Romero C.H. (2006) Genetic identification of novel poxviruses of cetaceans and pinnipeds. *Archives of Virology*, 151: 423–438. <http://doi.org/10.1007/s00705-005-0679-6>
- Carini P., Steindler L., Beszteri S. & Giovannoni S.J. (2013) "Nutrient requirements for growth of the extreme oligotroph 'Candidatus Pelagibacter ubique' HTCC1062 on a defined medium." *ISME J.* 7, 592-602.
- Carlucci A. F. & Pramer D. (1959) Microbiological Process Report. Factors Affecting the Survival of Bacteria in Sea Water. Department of Agricultural Microbiology, Rutgers, The State University, New Brunswick, New Jersey, pp. 388-392.
- Carreno R.A. & Nadler S.A. (2003) Phylogenetic analysis of the Metastrongyloidea (Nematoda: Strongylida) inferred from ribosomal RNA gene sequences. *Journal of Parasitology* 89(5): 965–973. <https://doi.org/10.1645/GE-76R>
- Clay K. (2003) Parasites lost. *Nature* 421: 585–586. <http://dx.doi.org/10.1038/421585a>
- Colegrove K.M., Greig D.J. & Gulland F.M.D. (2005) Causes of live strandings of northern elephant seals (*Mirounga angustirostris*) and Pacific harbor seals (*Phoca vitulina*) along the central California coast, 1992-2001. *Aquatic Mammals*, 31(1), 1. <http://doi.org/10.1578/AM.31.1.2005.1>
- Colleen E.Shockling Dent, Miller M.A., Batac F., Dodd E., Smith W., Pesapane R. & Foley J. (2019) Pathology and epidemiology of nasopulmonary acariasis (*Halarachne* sp.) in southern sea otters (*Enhydra lutris nereis*). *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, 9: 60-67. <https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2019.03.009>
- Conrad P.A., Miller M.A., Kreuder C., James E.R., Mazet J., Dabritz H., Jessup D.A., Gulland F. & Grigg M.E. (2005) Transmission of *Toxoplasma*: clues from the study of sea otters as sentinels of *Toxoplasma gondii* flow into the marine environment. *International Journal of Parasitology*, 35(11-12): 1155-68. <http://doi.org/10.1016/j.ijpara.2005.07.002>
- Crowl T.A., Crist T.O., Parmenter R.R., Belovsky G. & Lugo A.E. (2008) The spread of invasive species and infectious disease as drivers of ecosystem change. *Frontiers in Ecology and the Environment* 6: 238–246. <http://dx.doi.org/10.1890/070151>
- Dailey M., Ellin R. & Parás A. (2005) First report of parasites from pinnipeds in the 33 Galapagos Islands, Ecuador, with a description of a new species of *Philophthalmus*

- (Digenea: Philophthalmidae). *Journal of Parasitology*, *91*(3): 614–617.  
<https://doi.org/10.1645/ge-3425>
- De Luca E., Stimmelmayer R., Rotstein D.S. & Sanchez S. (2021) A Novel Adenovirus Detected in Bering-Chukchi-Beaufort Seas Bowhead Whale (*Balaena mysticetus*): Epidemiologic Data and Phylogenetic Characterization. *Journal of Wildlife Diseases*, *57* (3): 652–656. <https://doi.org/10.7589/JWD-D-20-00151>
- Deliamure S.L. (1955) Helminthofauna of Marine Mammals (Ecology and Phylogeny). Akademiia Nauk SSSR, Gel'minologicheskaya Laboratoriia, Moscow. (English translation, Israel Program for Scientific Translations, Jerusalem, 1968), 522.
- Díaz-Espiñeira M.M. & Slappendel R.J. (1996) A case of autochthonous canine leishmaniasis in the Netherlands. *Veterinary Quarterly*, *19*(2): 69-71.  
<https://doi.org/10.1080/01652176.1997.9694744>
- Dubey J.P., Zarnke R., Thomas N.J., Wong S.K., Van Bonn W., Briggs M., Davis J.W., Ewing R., Mense M., Kwok O.C.H., Romand S., Thulliez P. (2003) *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum*, *Sarcocystis neurona*, and *Sarcocystis canis*-like infections in marine mammals. *Veterinary Parasitology*, *135*(3–4): 385.
- Duignan P.J., Van Bresselem M.F., Cortés-Hinojosa G.A, Kennedy-Stoskopf S. (2018) Viruses. In: Gulland FMD, Dierauf LA, Whitman KL (eds). *CRC Handbook of Marine Mammal Medicine*. 3rd ed. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA, 331–65.
- Duignan P.J., Van Bresselem M-F., Cortes-Hinojosa G. & Kennedy-Stoskopf S. (2018) Infectious Diseases. In: F. M.D. Gulland, L.A. Dierauf & K.L. Whiteman (eds). *Marine Mammal Medicine*. CRC Press, US, 331-357.
- Fay F.H. & Furman D.P. (1982) Nasal mite (Acari: Halarachnidae) in the spotted seal, *Phoca largha* Pallas and other pinnipeds of Alaskan waters. *J. Wildl. Dis.*, *18* (1982), 63-68.
- Ferrer L., Rabanal R.M., Domingo M., Ramos J.A. & Fondevila D. (1988) Identification of *Leishmania donovani* amastigotes in canine tissues by immunoperoxidase staining. *Research in Veterinary Science*, *44*(2): 194–196.  
[https://doi.org/10.1016/s0034-5288\(18\)30838-5](https://doi.org/10.1016/s0034-5288(18)30838-5)
- FORRESTER D.J., JACKSON R.F., MILLER J.F. & TOWNSEND B.C. (1973) Heartworms in captive California sea lions. *Journal of American Veterinary Medical Association*, *163*: 568-570.
- Furman & Smith (1973) In vitro development of two species of Orthohalarachne (Acarina: Halarachnidae) and adaptations of the life cycle for endoparasitism in mammals *J. Med. Entomol.*, *10* (1973), pp. 415-416.
- Furman (1979) Specificity adaptation and parallel evolution in the endoparasitic Mesostigmata of mammals. J.G. Rodriguez (Ed.), *Recent Advances in Acarology*, vol. II, Acad Press, New York (1979), pp. 329-337.



- Furman D.P. & Dailey M.D. (1980) The genus *Halarachne* (Acari: Halarachnidae), with the description of a new species from the Hawaiian Monk Seal. *J. Med. Entomol.*, *17* (4): 352-359.
- Furman D.P. & Smith A.W. (1973) In vitro development of two species of *Orthohalarachne* (Acarina: Halarachnidae) and adaptations of the life cycle for endoparasitism in mammals. *J. Med. Entomol.*, *10* (1973), 415-416.
- Furman, D.P. & Smith, A. (1973). In vitro development of two species of *Orthohalarachne* (Acarina: Halarachnidae) and adaptations of the life cycle for endoparasitism in mammals. *Journal of Medical Entomology* *10*(4): 415–416. <http://doi.org/10.1093/jmedent/10.4.415>.
- Gaarder T. & Sparck R. (1931) III Biochemical and biological investigations of the variations in the productivity of the West Norwegian oyster pools. *Rapports et procès-verbaux, Conseil Permanent International pour l'Exploration de la Mer*, *75*: 47-58.
- Geraci J.R. & Aubin J.St. D. (1987) Effects of parasites on marine mammals. *International Journal for Parasitology*, *17*(2): 407-414. [https://doi.org/10.1016/0020-7519\(87\)90116-0](https://doi.org/10.1016/0020-7519(87)90116-0)
- Geraci J.R., St. Aubin D.J. (1987) Effects of parasites on marine mammals. *Int. J. Parasitol.*, *17* (2): 407-414.
- Gilmartin W.G. & Forcada J. (2009) Monk Seals: *Monachus monachus*, *M. tropicalis*, and *M. schauinslandi*. *Encyclopedia of Marine Mammals (Second Edition)*, 741-744. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-373553-9.00172-3>
- Haebler R. & Moeller R. (1992) Pathology of selected marine mammal diseases. In *Pathobiology of marine and estuarine organisms: An overview*, J. A. Couch and J. W. Fournie (eds.). CRC Press, Boca Raton, Florida, 217–244.
- Hardy J.T. (2003) *Climate Change: Causes, Effects, and Solutions*. Wiley, 264.
- Hernández-Mora G., Palacios-Alfaro J.D., González-Barrientos R. (2013) Wildlife reservoirs of brucellosis: *Brucella* in aquatic environments. *Revue Scientifique et Technique (International Office of Epizootics)*, *32*(1):89-103. <http://doi.org/10.20506/rst.32.1.2194>
- Higgins R. (2000) Bacteria and fungi of marine mammals: a review. *Canadian Veterinary Journal*. *41*(2): 105–116.
- Holway D.A. & Suarez A.V. (1999) Animal behavior: an essential component of invasion biology. *Trends in Ecology & Evolution* *14*: 328–330, [http://dx.doi.org/10.1016/S0169-5347\(99\)01636-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0169-5347(99)01636-5)
- Hudson P. & Greenman J. (1998) Competition mediated by parasites: biological and theoretical progress. *Trends in Ecology & Evolution* *13*: 387–390, [http://dx.doi.org/10.1016/S0169-5347\(98\)01475-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0169-5347(98)01475-X)

- Huxel GR (1999) Rapid displacement of native species by invasive species: effects of hybridization. *Biological Conservation* 89: 143–152, [http://dx.doi.org/10.1016/S0006-3207\(98\)00153-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0006-3207(98)00153-0)
- Jannasch H.W. & Wirsen C.O. (1984) Variability of pressure adaptation in deep sea bacteria. *Archives of Microbiology*, 139: 281–288.
- Järvillehto T. (1998) The theory of the organism-environment system: I. Description of the theory. In: Valsiner J. (eds) *Integrative Psychological and Behavioral Science*. Spriger, Finland, 33:321–334.
- Jay J.M. (2000) *Modern food microbiology*. 6th ed. Gaithersburg (MD): Aspen. p 679.
- Jellison W.L. & Milner K.C. (1958) Salmonellosis (bacillary dysentery) of fur seals. *Journal of Wildlife Management*, 22: 199-200.
- Jensen A.E., Cheville N.E., Thoen C.O., MacMillan A.P. & Miller G.W. (1999) Genomic fingerprinting and development of a dendrogram for *Brucella* spp. isolated from seals, porpoises, and dolphins, *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 11(2): 152-157 .
- Johnson S.P., Nolan S. & Gulland EM.D. (1998) Antimicrobial susceptibility of bacteria isolated from pinnipeds stranded in central and northern California. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 29: 288-294.
- Kagei N. (1968) Life cycle of anisakis. *Seishin Igaku. Modern Medicine*, 24(2): 389–400.
- Katherine L. Moon, Ian J. Aitkenhead, Ceridwen I. Fraser & Steven L. Chown (2019) Can a Terrestrial Ectoparasite Disperse with Its Marine Host?. *Physiological and Biochemical Zoology*, Vol. 92, No. 2.
- Kelner A. (1949) Photoreactivation of ultraviolet-irradiated *Escherichia coli*, with special reference to the dosereduction principle and to ultraviolet-induced mutation. *J. Bacteriol.*, 58, 511-522.
- Kenyon K.W., Yunker C.E., Newell I.M. (1965) Nasal mites (Halarachnidae) in the sea otter. *The Journal of Parasitology*, 51 (6): 960.
- Kimura M. (1980) A simple model for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *J Mol Evol* 16: 111–120.
- Kinoshita R., Brook E., Vedros N., Wad H.S., Lung R. Ng T., Tao L.Y. & Yuen e.S. (1994) Staphylococcal isolations and clinical cases of *Staphylococcus aureus* in bottlenose dolphins at Ocean Park, Hong Kong, in *Proceedings of the 25th Annual Workshop of the International Association for Aquatic Animal Medicine*, 159.
- Klimpel S. & Palm H.W. (2011) Anisakid Nematode (Ascaridoidea) Life Cycles and Distribution: Increasing Zoonotic Potential in the Time of Climate Change? In H. Mehlhorn (Ed.), *Progress in Parasitology*. Springer, Berlin, Heidelberg, 201–222. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-21396-0\\_11](https://doi.org/10.1007/978-3-642-21396-0_11)

- Klimpel S., Palm H.W., Rückert S. & Piatkowski U. (2004) The life cycle of *Anisakis simplex* in the Norwegian Deep (northern North Sea). *Parasitology Research*, *94*(1): 1–9. <https://doi.org/10.1007/s00436-004-1154-0>
- Koutinas A.F., Polizopoulou Z.E., Saridomichelakis M.N., Argyriadis D., Fytianou A., Plevraki K.G. (1999) Clinical considerations on canine visceral leishmaniasis (CVL) in Greece: a retrospective study of 158 spontaneous cases (1989–1996). *Journal of the American Animal Hospital Association*, *35*: 376–383. <https://doi.org/10.5326/15473317-35-5-376>
- Kuzmina T.A., Lyons E.T. & Spraker T.R. (2014) Anisakids (Nematoda: Anisakidae) from stomachs of northern fur seals (*Callorhinus ursinus*) on St. Paul Island, Alaska: parasitological and pathological analysis. *Parasitology Research*, *113*(12): 4463–4470. <https://doi.org/10.1007/s00436-014-4131-2>
- Lair S., Measures L.N. & Martineau D. (2016) Pathologic findings and trends in mortality in the beluga (*Delphinapterus leucas*) population of the St Lawrence Estuary, Quebec, Canada, from 1983 to 2012. *Veterinary Pathology*, *53*(1): 22–36. <https://doi.org/10.1177/0898010115604726>
- Lawrence Dunn J., Buck J.D. & Robeck T.R. (2001) Bacterial Diseases of Cetaceans and Pinnipeds. In: Leslie A. Dierauf & Frances M.D. Gulland. *CRC Handbook in Marine Mammal Medicine*, Second edition. Edition: Second. <http://dx.doi.org/10.1201/9781420041637.ch16>
- Leger J.A. St., Begeman L., Fleetwood M., Frasca S., J.R., Garner M.M., Lair S., Trembley S., Linn M. J. & Terio K. A. (2009) Comparative Pathology of Nocardiosis in Marine Mammals. *Veterinary Pathology*, *46*(2): 299–308. <https://doi.org/10.1354/vp.46-2-299>
- Lehnert K., Raga J.A. & Siebert U. (2007) Parasites in harbour seals (*Phoca vitulina*) from the German Wadden Sea between two Phocine Distemper Virus epidemics. *Helgoland Marine Research*, *61*(4): 239–245.
- Leibniz Institute for Baltic Sea Research Warnemünde. Impact of Salinity on Microbial Communities, <https://www.io-warnemuende.de/bio-ag-molbio-microbes-in-the-salinity-gradient-en.html>
- Leonardi M.S. & Palma R.L. (2013) Review of the systematics, biology and ecology of lice from pinnipeds and river otters (Insecta: Phthiraptera: Anoplura: Echinophthiriidae). *Zootaxa*, *3630*(3): 445–466. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.3630.3.3>
- Lodge D.M. (1993) Biological invasions: Lessons for ecology. *Trends in Ecology & Evolution*, *8*: 133–136. [http://dx.doi.org/10.1016/0169-5347\(93\)90025-K](http://dx.doi.org/10.1016/0169-5347(93)90025-K)
- Lowe S, Browne M, Boudjelas S & De Poorter M (2000) 100 of the world's worst invasive alien species. A selection from the global invasive species database. Hollands Printing Ltd, New Zealand, pp 12.



- Luo Q.H., Zhou T., Wang Q., Dai P.L., Wu Y.Y. & Song H.L. (2011) Identification of *Tropilaelaps* mites (Acari, Laelapidae) Infesting *Apis mellifera* in China. *Apidologie*, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Institute of Apicultural Research, Xiangshan Road, Beijing, Beijing 100093, China.
- Lyons E.T., Kuzmina T. A., Tolliver S.C. & Spraker T.R. (2012) Update on the prevalence of the hookworm, *Uncinaria lucasi*, in northern fur seals (*Callorhinus ursinus*) on St. Paul Island, Alaska, 2011. *Parasitology Research*, *111*(3): 1397–1400.
- Mackiewicz J.S. (1988) Cestode transmission patterns. *The Journal of Parasitology*, 60–71.
- MacNeil C., Dick J.T.A., Hatcher M.J., Terry R.S., Smith J.E. & Dunn A.M. (2003) Parasite-mediated predation between native and invasive amphipods. *Proceedings of the Royal Society B Biological Sciences* *270*: 1309–1314, <http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2003.2358>
- Mazzariol S., Centelleghes C., Petrella A., Marcer F., Beverelli M., Di Francesco C.E., Di Francesco G., Di Renzo L., Di Guardo G., Audino T., Tripodi L. & Casalone C. (2021) Atypical Toxoplasmosis in a Mediterranean Monk Seal (*Monachus monachus*) Pup. *Journal of Comparative Pathology*, *184*: 65-71. <http://doi.org/10.1016/j.jcpa.2021.02.005>
- McClelland G. (1980b) *Phocanema decipiens*: pathology in seals. *Experimental Parasitology*, *49*(3): 405–419.
- McClelland G. (1993) *Eimeria phocae* (Apicomplexa: Eimeriidae) in harbour seals *Phoca vitulina* from Sable Island, Canada. *Diseases of Aquatic Organisms*, *17*: 1.
- McClelland G. (2002) The trouble with sealworms (*Pseudoterranova decipiens* species complex, Nematoda): a review. *Parasitology*, *124*(7): 183.
- McFarlane, R.A., Norman, R.J. de B. & Jones H.I. (2009) Disease and parasites of Antarctic and Sub-Antarctic Seals. In K.R. Kerry & M.J. Riddle (Eds), *Health of Antarctic Wildlife: a challenge for science and policy* (pp. 57–93). Berlin, Heidelberg: Springer.
- McIntosh R.R. & Murray M. D. (2007) Louse infestations of the Australian sea lion *Neophoca cinerea*. *Australian Mammalogy*, *29*(1): 103–105. <https://doi.org/10.1071/AM07014>
- Measures (2018) L.N. Measures. Helminths and parasitic arthropods. F.M.D. Gulland, L.A. Dierauf, K.L. Whitman (Eds.), *CRC Handbook of Marine Mammal Medicine* (third ed.), CRC Press, Boca Raton, FL (2018), 471-497.
- Measures L. (2014) Anisakiosis and pseudoterranovosis. In: Rachel C. Abbott & Charles Van Riper (eds). *U.S. Geological Survey*, Reston, Virginia, 34. <http://dx.doi.org/10.3133/cir1393>

- MEDWAY W. & WEILAND T.C. (1975) *Dirofilaria immitis* infection in a harbor seal. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, *167*: 549-550.
- Meyer L., Du Preez L., Bonneau E., Héritier L., Quintana M.F., Valdeón A., Sadaoui A., Kechemir-Issad N., Palacios C. & Verneau O. (2015) Parasite host-switching from the invasive American red-eared slider, *Trachemys scripta elegans*, to the native Mediterranean pond turtle, *Mauremys leprosa*, in natural environments. *Aquatic Invasions*, *10*(1): 79–91. <http://dx.doi.org/10.3391/ai.2015.10.1.08>
- Mooney H.A., Cleland E. (2001) The evolutionary impact of invasive species. *Proceedings of the National Academy of Science USA* *98*: 446–451, <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.091093398>
- Mossel D.A.A., Corry J.E.L., Struijk C.B., Baird R.M. (1995) *Essentials of the microbiology of foods: a textbook for advanced studies*. Chichester (England): John Wiley and Sons, 699.
- MSD MANUAL Veterinary Manual (2015) Bacterial Diseases of Marine Mammals. <https://www.msdevetmanual.com/exotic-and-laboratory-animals/marine-mammals/bacterial-diseases-of-marine-mammals>
- MSD MANUAL Veterinary Manual (2015) Parasitic Diseases of Marine Mammals. <https://www.msdevetmanual.com/exotic-and-laboratory-animals/marine-mammals/parasitic-diseases-of-marine-mammals>
- MSD MANUAL Veterinary Manual (2015) Viral Diseases of Marine Mammals. <https://www.msdevetmanual.com/exotic-and-laboratory-animals/marine-mammals/viral-diseases-of-marine-mammals>
- Nagasawa K. (1990) The life cycle of *Anisakis simplex*: a review. *Intestinal Anisakiasis in Japan*, 31–40.
- Nagasawa K. (1999) Parasites of pinniped (Mammalia: Carnivora) in Japan. *Bulletin - National Research Institute of Far Seas Fisheries (Japan), Food and Agricultural Organization of the United Nations*, *36*: (27-32).
- National Oceanic and Atmospheric Administration (1970), <https://www.google.com/search?q=NOAA&oq=NOAA&aqs=chrome..69i57j46i199i433i465i512j0i51214j69i6512.675j0j7&sourceid=chrome&ie=UTF-8>
- Neves H.C. & Pires R. (2001) Recuperation of a Mediterranean monk seal pup, *Monachus monachus*, in Desertas Islands, Madeira archipelago: conditions for its Success. *Life and Marine Sciences*, *2* (Part B): 111-116.
- Nicot A., Niogret J. & De Stordeur E. (2007) Combination of morphological characters and ITS-sequence to characterize a new species of *Macrocheles* (Acari: Macrochelidae). *Zootaxa* *1386*: 19-29, Biology, Université Paul Valéry, Route de Mende, Montpellier 34199, France.

- Nishimaki T. & Sato K. (2019) An Extension of the Kimura Two-Parameter Model to the Natural Evolutionary Process. *Journal of Molecular Evolution*, 87(1): 60–67. <https://dx.doi.org/10.1007%2Fs00239-018-9885-1>
- Oudemans, A.C. (1925) Halarachne-Studien. *Archiv für Naturgeschichte* 91A: 48–108.
- Peleg M. & Corradini M.G. (2011) Microbial Growth Curves: What the Models Tell Us and What They Cannot. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51(10), 917-945. <https://doi.org/10.1080/10408398.2011.570463>
- Petrella A., Mazzariol S., Padalino I., Di Francesco G., Casalone C., Grattarola C., Di Guardo G., Smoglica C., Centellegho C. & Gili C. (2021) Cetacean Morbillivirus and *Toxoplasma gondii* Co-infection in Mediterranean Monk Seal Pup, Italy. *Emerging infectious diseases*, 27(4):1237-1239. <http://doi.org/10.3201/eid2704.204131>
- R.L. de Swart R., T.C. Harder T., P.S. Ross P., H.W. Vos H. & A.D.M.E. Osterhaus A. (1995) Morbilliviruses and morbillivirus diseases of marine mammals. *Infectious Agents and Disease*, 4: 125- 130.
- Rallis T., Day M.J., Saridomichelakis M.N., Adamama-Moraitou K.K., Papazoglou L., Fytianou A. & Koutinas A. F. (2005) Chronic hepatitis associated with canine leishmaniasis (*Leishmania infantum*): a clinicopathological study of 26 cases. *Journal of Comparative Pathology*, 132(2–3): 145–152. <https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2004.09.004>
- Ray (1996) *Fundamental food microbiology*. Boca Raton FL: CRC Press., 516.
- Reckendorf A., Wohlsein P., Lakemeyer J., Stokholm I., Von Vietinghoff V. & Lehnert K. (2019) There and back again – The return of the nasal mite *Halarachnehalichoeri* to seals in German waters. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, 9: 112-118. <https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2019.04.003>
- Reckendorf, A., Siebert, U., Wohlsein, P. & Lehne, K. (2016) First record of the nasal mite *Halarachne halichoeri* in a grey seal from the German Wadden Sea. In 30<sup>th</sup> Conference of the European Cetacean Society, 14–16 March 2016 (pp. 176). Madeira: The Madeira Whale Museum.
- Retamal P. & Abalos P. (2001) Additional data on anti-brucella antibodies in arctocephallis *Gazella* from cape shirreff, Livingston island, Antarctica. *CCAMLR Science*, 8: 147-154.
- Reuszer H.W. (1933) Marine bacteria and their role in the cycle of life in the sea. III. The distribution of bacteria in the ocean waters and muds about Cape Cod. *Biology Bulletin*, 65, 480 497.
- Rolbiecki L., Izdebska J.N., Bidziński K. & Jankowska-Jarek M. (2018) Nasopharyngeal mites *Halarachne halichoeri* (Allman, 1847) parasitizing the gray seal *Halichoerus grypus* (Fabricius, 1791) in the Baltic Sea with notes on other



parasitic Halarachnidae associated with marine mammals. *International Journal of Oceanography and Hydrobiology*, 47(4): 398-404.  
<http://doi.org/10.1515/ohs-2018-0037>

- Rouget C. & Biocca (1955) Y. Campana-Rouget, E. Biocca Une nouvelle espèce d'Anisakis chez un phoque méditerranéen. *Annals of Parasitology*, 30: 477-480.
- Roy L., Dowling A.P., Chauve C.M. & Buronfosse T. (2009) Delimiting species boundaries within *Dermanyssus Duges, 1834* (Acari: Dermanyssidae) using a total evidence approach. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 50(3): 446-470.
- Sakanari J. & McKerrow J. (1989) Anisakiasis. *Clinical Microbiology Reviews*, Vol. 2, No. 3, pp 278-284.
- Sanderson C.E. & Alexander K.A. (2020) Uncharted waters: Climate change likely to intensify infectious disease outbreaks causing mass mortality events in marine mammals. *Wiley*, 26(8): 4284-4301. <https://doi.org/10.1111/gcb.15163>
- Savchenko E. & Lareschi M. (2019) A new species of *Laelaps Koch, 1836* (Mesostigmata: Laelapidae) parasitic of the sigmodontine rodent *Oligoryzomys flavescens Waterhouse, 1837* (Rodentia: Cricetidae): Molecular and morphological characterization. *Acta Tropica Journal*, 105146.
- Schnapps B., Hellwing S. & Chizelea G. (1962) Contributions to the knowledge of the Black Sea Seal (*Monachus monachus* Herm.). Bucharest. The National History Museum of Romania "G. Antipa", 3:383-400.
- SCHROEDER R.J., DELLI QUADRI C.A., MCINTYRE R.W. & WALKER W.A. 1973. Marine mammal disease surveillance program in Los Angeles county. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 163: 580-581.
- Seal Pups in Greece and its Clinical Significance.
- Seguel M., Calderón K., Colegrove K., Adkesson M., Cárdenas-Alayza S. & Paredes E. (2018) Helminth and respiratory mite lesions in Pinnipeds from Punta San Juan, Peru. *Acta Parasitologica*. <https://doi.org/10.1515/ap-2018-0103>
- Shea K., Chesson P. (2002) Community ecology theory as a framework for biological invasions. *Trends in Ecology & Evolution* 17: 170–176.  
[http://dx.doi.org/10.1016/S0169-5347\(02\)02495-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0169-5347(02)02495-3)
- Slappendel R.J. & Ferrer L. (1998) *Leishmaniasis* C.E. Greene (Ed.), *Clinical Microbiology and Infectious Diseases of the Dog and Cat*, W.B. Saunders, Philadelphia (1998), 450-458.
- Smith A.W. & Skilling D.E. (1979) Viruses and virus diseases of marine mammals. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 175(9): 918-20.
- Smith K.F., Sax D.F. & Lafferty K.D. (2006) Evidence for the role of infectious disease in species extinction and endangerment. *Conservation Biology* 20: 1349–1357,  
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1523-1739.2006.00524.x>

- Stroud K.R. & Dailey M.D. (1978) Parasites and associated pathology observed in pinnipeds stranded along the Oregon coast. *Journal of Wildlife diseases*, 14 (3): 292–298.  
<https://doi.org/10.7589/0090-3558-14.3.292>
- Stroud R.K. & Dailey M. D. (1978) Parasites and associated pathology observed in pinnipeds stranded along the Oregon coast. *Journal of Wildlife Diseases* 14: 292–298. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-14.3.292>
- Tamura K., Peterson D., Peterson N., Stecher G., Nei M., et al. (2011) MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Mol Biol Evol* 28: 2731–2739.
- Tania D. Hunt, Michael H. Ziccardi, Frances M. D. Gulland, Pamela K. Yochem, David W. Hird, Teresa Rowles & Jonna A. K. Mazet (2008) Health risks for marine mammal workers. *Diseases of Aquatic Organisms*, 81:81-92.  
<https://doi.org/10.3354/dao01942>
- The Biology Notes, Banerjee S. (2021), Environmental Factors affecting Microbial Growth, <https://thebiologynotes.com/environmental-factors-affecting-microbial-growth/>
- Thornton S.M., Nolan S. & Gulland F.M. (1998) Bacterial isolates from California sea lions (*Zalophus californianus*), harbor seals (*Phoca vitulina*), and northern elephant seals (*Mirounga angustirostris*) admitted to a rehabilitation center along the central California coast, 1994-1995. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 29(2):171-6.
- Tompkins D.M., Sainsbury A.W., Nettleton P., Buxton D. & Gurnell J. (2002) Parapoxvirus causes a deleterious in red squirrels associated with UK population declines. *Proceedings of the Royal Society B Biological Sciences* 269: 529–533.  
<http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2001.1897>
- Toplu N., Aydoğan A., Oguzoglu T.C. (2007) Visceral leishmaniosis and parapoxvirus infection in a Mediterranean monk seal (*Monachus monachus*). *Journal of Comparative Pathology*, 136(4): 283-7.  
<http://doi.org/10.1016/j.jcpa.2007.02.005>
- Toplua N., Aydoğan A. & Oguzoglu T.C. (2007) Visceral Leishmaniosis and Parapoxvirus Infection in a Mediterranean Monk Seal (*Monachus monachus*). *Journal of Comparative Pathology*, 136(4): 283-287.  
<https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2007.02.005>
- Torchin M.E. & Mitchell C.E. (2004) Parasites, pathogens, an invasion by plants and animals. *Frontiers in Ecology an the Environment* 2: 183–190,  
[http://dx.doi.org/10.1890/1540-9295\(2004\)002\[0183:PPAIBP\]2.0.CO](http://dx.doi.org/10.1890/1540-9295(2004)002[0183:PPAIBP]2.0.CO)
- Torchin M.E., Lafferty K.D., Dobson A.P., Mckenzie V.J. & Kuris A.M. (2003) Introduced species and their missing parasites. *Nature* 421: 628–630,  
<http://dx.doi.org/10.1038/nature01346>



- Vaccaro R.F. & Ryther J.H. (1954) The bactericidal effects of sunlight in relation to 'light' and 'dark' bottle photosynthesis experiments. *Journal du Conseil / Conseil Permanent International pour l'Exploration de la Mer*, 20: 18-24.
- Van Bresselem M.F., Duignan P.J., Banyard A., Barbieri M., Colegrove K.M., De Guise S., Di Guardo G., Dobson A., Domingo M., Fauquier D., Fernandez A., Goldstein T., Grenfell B., Groch K.R., Gulland F., Jensen B.A., Jepson P.D., Hall A., Kuiken T., Mazzariol S., Morris S.E., Nielsen O., Raga J.A., Rowles T.K., Saliki J., Sierra E., Stephens N., Stone B., Tomo I., Wang J., Waltzek T. & Wellehan J.F.X. (2014) Cetacean Morbillivirus: Current Knowledge and Future Directions. *Viruses*, 6(12): 5145-5181. <https://doi.org/10.3390/v6125145>
- Van Cleave H.J. (1953) *Acanthocephala of North America*. Illinois Biological Monographs. Vol. 23. University of Illinois Press, Urbana, 179.
- Van de Bildt M.W., Martina B.E., Vedder E.J., Androukaki E., Kotomatas S., Komnenou A., Sidi B.A., Jiddou A.B., Barham M.E., Niesters H.G. & Osterhaus A.D. (2000) Identification of morbilliviruses of probable cetacean origin in carcasses of Mediterranean monk seals (*Monachus monachus*). *The Veterinary Record*, 146(24):691-4. <http://doi.org/10.1136/vr.146.24.691>
- Van de Bildt M.W., Vedder E.J., Martina B.E., Sidi B.A., Jiddou A.B., Ould Barham M.E., Androukaki E., Komnenou A., Niesters H.G. & Osterhaus A.D. (1999) Morbilliviruses in Mediterranean monk seals. *Veterinary Microbiology*, 69(1-2): 19-21. [http://doi.org/10.1016/s0378-1135\(99\)00082-6](http://doi.org/10.1016/s0378-1135(99)00082-6)
- Vedros N.A., Schroeder J.P., Suer L., Zhang J.P., MacKnight K., Dunn J.L. (1988) Serological Profile of Bacterial Pathogens in Wild and Captive Marine Mammals. *NAVAL OCEAN SYSTEMS CENTER SAN DIEGO CA*, 19: 163.
- Venn-Watson S., Smith C.R., Jensen E.D. (2008) Primary bacterial pathogens in bottlenose dolphins *Tursiops truncatus*: needles in haystacks of commensal and environmental microbes. *Inter-Research Science Publisher*, 79:87-93. <https://doi.org/10.3354/dao01895>
- Venter J. C., Remington K., Heidelberg J.F., Halpern A.L., Rusch D., Eisen J.A., Wu D., Paulsen I., Nekou K.E., Netson W., Fouts D.E., Levy S., Knap A.H., Lomas M.W., Nealson K., White O., Peterson J., Hoffman J., Parsons R., Baden-Tillson H., Pfannkoch C., Rogers Y-H. & Smith H.O. (2004) "Environmental Genome Shotgun Sequencing of the Sargasso Sea." *Science* 304, 66-74.
- Vitousek P.M., D'Antonio C.M., Loope L.L. & Westbrooks R. (1996) Biological invasions as global environmental change. *American Scientist* 84: 468-478.
- Vitousek P.M., Mooney H.A., Lubchenco J. & Melillo J.M. (1997) Human domination of earth's ecosystems. *Science* 277: 494-499, <http://dx.doi.org/10.1126/science.277.5325.494>

- W. Holger Jannasch & O. Wirsén C. (1984) Variability of pressure adaptation in deep sea bacteria. *Archives of Microbiology*. Springer, Woods Hole Oceanographic Institution Woods Hole, MA 02543, USA, 139:281-288.
- Waksman S.A. & Carey C. L. (1935a) Decomposition of organic matter in sea water by bacteria. I. Bacterial multiplication in stored sea water. *J. Bacteriol.*, 29: 531-561.
- Waltzek T.B., Cortés-Hinojosa G., Wellehan J.F.X. Jr., Gray G.C. (2012) Marine Mammal Zoonoses: A Review of Disease Manifestations. *Wiley Online Library*, 59(8): 521-535. <https://doi.org/10.1111/j.1863-2378.2012.01492.x>
- Waterman L.D. (1994) Sequence analysis of ribosomal DNA amplification products and investigations on protoplast isolation from vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi of the genus *Gigaspora*. University of the West Indies, Department of Biology, Cave Hill Campus, P. O. Box 64, Bridgetown, Barbados, West Indies.
- Wellehan J. & Cortes-Hinojosa G (2019) Marine Mammal Viruses. *Fowler's Zoo and Wild Animal Medicine Current Therapy*, 9: 597–602. <https://dx.doi.org/10.1016%2FB978-0-323-55228-8.00084-9>
- Williamson M. (1996) *Biological Invasions*. Springer, London, pp 244.
- Working group of the Mediterranean monk seal in the eastern Atlantic (2005) .Action plan for the recovery of the Mediterranean monk seal in the eastern Atlantic. Convention on the conservation of migratory species of wild animals. Nairobi, Kenya, pp. 104.
- Yamaguti S. (1962) *Systema helminthum*. Vol. 3. The nematodes of vertebrates. Interscience Publishers, London, UK, 1261.
- Yoshihiro T., Harry E. Stanley, Horst L. (2002) *Biological Systems Under Extreme Conditions*. Springer, Berlin, Heidelberg, 283. <https://doi.org/10.1007/978-3-662-04802-3>
- ZoBell C.E. & McEwen G.F. (1935) The lethal action of sunlight upon bacteria in sea water. *Biology Bulletin*., 68: 93-106.

## ABSTRACT

Pathogens are ubiquitous, causing different types of pathology in their hosts. Bacteria, viruses and parasites are among the pathogenic microorganisms and are found in both land and sea organisms. The Mediterranean seal (*Monachus monachus*), which is one of the study objects of this work, is quite susceptible to diseases caused by pathogenic microorganisms. A Mediterranean seal was found dead in the Pagasetic Gulf by professional fishermen and was transported directly to the Hydrobiology-Ichthyology Laboratory of the Department of Ichthyology and Aquatic Environment of the University of Thessaly for anatomy. Anatomy in the cardiorespiratory system revealed the presence of parasitic individuals in both lungs. The present work aims at the molecular identification of these individuals and at the explanation of their existence in the seal's body. The gene cytochrome oxidase subunit I, was used as a molecular marker. Sequencing results showed that the parasite under study showed 87.18% similarity to the species *Halarachne halichoeri* as the overlap reaches 83%. This species lives in the respiratory system of flippers mainly in the Baltic Sea and the European Atlantic coast. It has not been observed in the Mediterranean to date and it is very likely that this also applies to the parasite under study. Although the species found in the Mediterranean seal's respiratory system has not been identified, speculation about its origin and the pathology it causes has been linked to *Halarachne halichoeri*. The most probable scenarios are the entry of the seal from the Atlantic Ocean to the Mediterranean, the entry of another seal species, host of *Halarachne halichoeri*, from the Atlantic to the Mediterranean and its contact with the person under study, as well as the passage of the parasite to the Mediterranean, as in the larval phase it may live outside its host, but these scenarios are assumed, since to date there are no recordings.

Keywords: pathogenic microorganisms, pinnipeds, sequencing