



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ**  
**ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ**  
**ΤΜΗΜΑ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗΣ**

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟΥ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΟΣ ΣΠΟΥΔΩΝ  
ΤΟΥ ΤΜΗΜΑΤΟΣ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗΣ ΣΕ ΣΥΜΠΡΑΞΗ ΜΕ ΤΟ Τ.Ε.Ι. ΗΠΕΙΡΟΥ

**Θεραπευτική και τοξικολογική μελέτη (LC<sub>50</sub>) του εμπορικού σκευάσματος Excis (Cypermethrin 10 mg/ml), στην καταπολέμηση της παρασίτωσης του εκτρεφόμενου λαβράκι (*Dicentrarchus labrax* Linnaeus, 1758) από το ισόποδο παράσιτο *Ceratothoa oestroides* (Risso 1826).**

**Ξένος Δ. Ευστράτιος**

**ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**

- 1. ΑΘΑΝΑΣΟΠΟΥΛΟΥ ΦΩΤΕΙΝΗ**
- 2. ΠΑΠΠΑΣ ΙΩΑΝΝΗΣ**
- 3. ΡΑΡΑΝΝΑ ΚΑΝΤΗΜ**

**Καρδίτσα 2012**



**UNIVERSITY OF THESSALY**  
**SCHOOL OF HEALTH SCIENCES**  
**FACULTY OF VETERINARY MEDICINE**

A THESIS PREPARED UNDER POSTGRADUATE PROGRAM AT THE  
UNIVERSITY OF THESSALY IN PARTNERSHIP WITH THE  
TECHNOLOGICAL EDUCATIONAL INSTITUTE OF EPIRUS

**The efficacy and toxicity (LC<sub>50</sub>) of Excis (Cypermethrin 10 mg/ml)  
against infestations of *Ceratothoa oestroides* (Risso 1826) on farmed  
sea bass (*Dicentrarchus labrax* Linnaeus, 1758).**

**XENOS D. EFSTRATIOS**

**ADVISOR COMMITTEE**

- 1. ATHANASSOPOULOU FOTINI**
- 2. PAPPAS IOANNIS**
- 3. PAPANNA KANTHAM**

**Karditsa, Greece 2012**

## Περίληψη

Σκοπός της παρούσας μελέτης, είναι ο προσδιορισμός της αποτελεσματικότητας του εμπορικού σκευάσματος EXCIS (Cypermethrin 10 mg/ml) στην καταπολέμηση του ισόποδου παρασίτου *Ceratothoa oestroides* (Risso 1826), το οποίο παρασιτεί στην στοματικό κοιλότητα του καλλιεργούμενου λαβρακιού (*Dicentrarchus labrax* Linnaeus, 1758). Επίσης, αντικείμενο μελέτης αποτελεί και η πιθανή τοξική επίδραση του σκευάσματος στον οργανισμό του λαβρακιού.

Στα κεφάλαια ένα, δύο και τρία, γίνεται αναφορά στην παγκόσμια και στην Ελληνική υδατοκαλλιέργεια, καθώς και στα παθολογικά προβλήματα που απασχολούν την καλλιέργεια των ιχθύων, με έμφαση στο λαβράκι. Επίσης, περιγράφονται τα κυριότερα παρασιτικά νοσήματα των ιχθύων και στη συνέχεια γίνεται περιγραφή της συστηματικής κατάταξης του εξεταζόμενου παρασίτου. Στο τέταρτο κεφάλαιο γίνεται ανασκόπηση της βιβλιογραφίας, σχετικά με την αντιμετώπιση και τις θεραπείες που εφαρμόζονται γενικά, για την καταπολέμηση των ισόποδων παρασίτων και του *Ceratothoa oestroides*. Στο πέμπτο κεφάλαιο αναλύονται τα υλικά και οι μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν για την εκτέλεση του πειραματικού μέρους της εργασίας. Τέλος, στο έκτο κεφάλαιο παρουσιάζονται τα αποτελέσματα του συγκεκριμένου πειράματος.

Για την διεξαγωγή του πειράματος, συλλέχθηκαν 700 ιχθύδια λαβρακιού μέσου βάρους περίπου 25 gr από εμπορική μονάδα εντατικής εκτροφής πλωτών ιχθυοκλωβών που βρίσκεται στην περιοχή του Ιονίου, από την νήσο Δραγονέρα. Τα ιχθύδια που επιλέχθηκαν προέρχονταν από κλωβό που παρουσίαζε μεγάλο ποσοστό προσβολής από το ισόποδο παράσιτο (περίπου 35%). Πραγματοποιήθηκε διαλογή με χρήση σάκου εμβολιασμού πολυεστερική κυλινδρική δεξαμενή 20 m<sup>3</sup> με σταθερή παροχή νερού γεώτρησης 20 lit/min. Η θερμοκρασία του νερού της

δεξαμενής κυμάνθηκε από 20 έως 21 °C. Η αλατότητα ήταν σταθερή 31‰ και το pH κυμάνθηκε από 7,2 έως 7,8.

. Ακολούθησε ο εγκλιματισμός των ψαριών στην δεξαμενή, διάρκειας είκοσι ημερών. Στην συνέχεια τα ιχθύδια τοποθετήθηκαν ανά 20 σε έξι κυλινδρικές δεξαμενές 300 lit, όπου και έγιναν τα πειράματα με το λουτρό μίας ώρας σε διαφορετικές δόσεις, με σκοπό τον έλεγχο αποτελεσματικότητας του προϊόντος. Επίσης χρησιμοποιήθηκαν και οκτώ ενυδρεία 20 lit, όπου εκεί τα ιχθύδια τοποθετήθηκαν ανά δέκα για την και ελαφριά αναισθησία (χαλάρωση) του πληθυσμού με αναισθητικό phenoxyethanol για να επιλεχθούν μόνο προσβεβλημένα άτομα από το παράσιτο. Κατόπιν ακολούθησε μεταφορά σε χερσαίες εγκαταστάσεις της ευρύτερης περιοχής με ειδικές δεξαμενές μεταφοράς και τοποθετήθηκαν σε μία

διεξαγωγή των πειραμάτων τοξικότητας, που βασίστηκε στο πρωτόκολλο του LC<sub>50</sub> (50% Lethal Concentration).

Ο έλεγχος των ιχθύων που βρίσκονταν στις πειραματικές δεξαμενές των 300 lit πραγματοποιήθηκε μετά από εικοσιτέσσερις ώρες, ενώ στα ενυδρεία που γίνονταν ο έλεγχος τοξικότητας με το χρόνιο λουτρό του Excis, οι θνησιμότητες καταγραφόταν κάθε εικοσιτέσσερις ώρες για τέσσερις ημέρες (ενενήντα έξη ώρες).

Το EXCIS ήταν αποδοτικό σε όλες τις δοσολογίες που χορηγήθηκε από την μικρότερη ως την μεγαλύτερη (0,5 ml/m<sup>3</sup> ως 6,5 ml/m<sup>3</sup>), καθώς δεν παρουσίασε θνησιμότητα στις δόσεις (0.5 ml/m<sup>3</sup>, 1.0 ml/m<sup>3</sup>, 1.5 ml/m<sup>3</sup>, 2.0 ml/m<sup>3</sup>) εντός ενενήντα έξι ωρών που διήρκησε το πείραμα τοξικότητας LC<sub>50</sub>. Το σημείο LC<sub>50</sub> προσδιορίζεται στις υψηλές δόσεις (6.5 ml/m<sup>3</sup>, 8.5 ml/m<sup>3</sup>, 10 ml/m<sup>3</sup>), και συγκεκριμένα 6,691 ml Excis/m<sup>3</sup> ή 66,910 µg κυπερμεθρίνης/l στις εικοσιτέσσερις ώρες.

Επίσης θα πρέπει να αναφερθεί πώς εκτός από απουσία θνησιμότητας, κατά την διάρκεια των θεραπευτικών λουτρών, δεν παρατηρήθηκε παρουσία stress, και ο πληθυσμός συμπεριφέρθηκε απολύτως φυσιολογικά.

Με την παρούσα μελέτη, διαπιστώθηκε η αποδοτικότητα του σκευάσματος EXCIS στην καταπολέμηση του *Ceratothoa oestroides*, όταν χορηγήθηκε στο λαβράκι με την προτεινόμενη δοσολογία του σκευάσματος 0,5 ml/m<sup>3</sup>. Επίσης, τεκμηριώθηκε και η ασφάλεια του προϊόντος, για το λαβράκι με χρήση του πρωτόκολλου τοξικότητας LC<sub>50</sub>, που έδωσε πολύ καλά αποτελέσματα επιβίωσης σε δόσεις ως και τέσσερις φορές μεγαλύτερες από την προτεινόμενη θεραπευτική δόση.

## Abstract

The purpose of the study was to determine the efficacy of the commercial aquaculture premix EXCIS (Cypermethrin 10 mg/ml) in order to control the Isopod parasite *Ceratothoa oestroides* (RISSO 1826) which parasitizes the oral cavity of sea bass *Dicentrarchus labrax*. Further this study was also aimed at evaluating the possible toxic effect of the Excis formulation on sea bass.

The first chapter of this work presents a review of the Greek and Worldwide aquaculture as well as the pathological problems that concern the fin fish aquaculture with particular reference to sea bass farming. In the following chapters there is also a description of the most important parasitic diseases of Sea bass and of the systematic classification of the Isopod parasite *Ceratothoa oestroides*.

The fourth chapter provides a review of the treatments that are generally applied in order to control the isopod parasites in general and *Ceratothoa oestroides* in particular.

In the fifth chapter we analyze the materials and methods that have been used in the execution of the experimental part of this study. Finally in the sixth chapter the results of the experiment are presented.

In order to carry out the experiments we collected 700 sea bass of 25gr average weight from the floating cages of an intensive commercial fish farm located in the Ionian Sea, Western Greece, located close to the Island of Dragonera.

The fish were selected from a cage that had a high infection rate of the isopod parasite (about 35%). Fish were carefully netted using a vaccination bag and after light anesthesia of the population with 2-phenoxyethanol in order to select only the infected fish (by the parasite) by careful screening. After the selection process the fish were transferred to onshore experimental facilities in the region using special transport tanks and were placed a fiberglass cylindrical tank (20 m<sup>3</sup>) with a steady

supply of water. Constant temperature was maintained at 20 - 21 °C using bore hole sea water that had a stable salinity of 31‰ with the pH of the water ranging from 7,2 to 7,8.

Prior to the start of the experiments the fish were acclimatized to the experimental water quality conditions for twenty days. After this acclimation period the fish were used in groups of twenty in six cylindrical tanks (300 lit) for each experiment.

Experiments were executed as one hour bath treatments using different pre-determined doses of Excis ( 0.5 ml/m<sup>3</sup>, 1.0 ml/m<sup>3</sup>, 1.5 ml/m<sup>3</sup>, 2.0 ml/m<sup>3</sup>, 6.5 ml/m<sup>3</sup> with one control tank 0.00 ml/m<sup>3</sup>), in order to check the efficacy of the product on the sea bass infected isopods.

For the toxicity experiments of Excis on sea bass, eight fish tanks of 20 lit volume were used with 0.5 ml/m<sup>3</sup>, 1.0 ml/m<sup>3</sup>, 1.5 ml/m<sup>3</sup>, 2.0 ml/m<sup>3</sup>, 6.5 ml/m<sup>3</sup>, 8.5 ml/m<sup>3</sup>, 10 ml/m<sup>3</sup> and one control tank 0,00 ml/m<sup>3</sup>, in which fish were placed in groups of ten based on the protocol of LC50 (50 % Lethal concentration).

Observations and recordings were made at the end of 24-hours in case of the 300lit tanks aimed at efficacy studies. While in the case of 20lit tank-toxicity tests, observations were made every 24 hours for four days in a row (total of ninety six hours).

EXCIS was efficient at all the dose levels used at end of 24 hours.

No toxicity effect was observed during the four days experiments in case low doses (at 0.5 ml/m<sup>3</sup>, 1.0 ml/m<sup>3</sup>, 1.5 ml/m<sup>3</sup> and 2.0 ml/m<sup>3</sup>), while higher doses (at 6.5 ml/m<sup>3</sup>, 8.5 ml/m<sup>3</sup> and 10 ml/m<sup>3</sup>) showed dose dependent toxic effects in 24 hours.

In Conclusion the present study has demonstrated that EXCIS at a dose level of 0,2 ml/m<sup>3</sup> is effective in controlling *Ceratothoa oestroides* in sea bass. Further this study has also established a documentation of the product safety using the LC<sub>50</sub> protocol ( The LC<sub>50</sub> value of Excis for sea bass is 6,691 ml Excis/m<sup>3</sup> ή 66,910 µg cypermethrin/l in 24 hours).

## Ευχαριστίες

Ευχαριστώ την Καθηγήτρια του Τμήματος Κτηνιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας κ. Φωτεινή Αθανασοπούλου, η οποία μου έδωσε τη δυνατότητα να εκπονήσω αυτή τη διατριβή και την επέβλεψε, υποστηρίζοντας και καθοδηγώντας με σε όλη τη διάρκειά της. Η συμβολή της ήταν καθοριστική στην επιλογή του θέματος.

Ευχαριστώ επίσης τον κ. Γιάννη Παππά, Καθηγητή του Τμήματος Κτηνιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας για την βοήθειά του στην εκπόνηση αυτής της μελέτης και ειδικότερα στη σχεδίαση του πειραματικού της μέρους.

Ευχαριστώ, τον Διευθυντή του Τμήματος Ιχθυοπαθολογίας του ομίλου ΝΗΡΕΥΣ Δρ. Kantham Paranna για την πολύτιμη βοήθεια και τις συμβουλές του κατά τη διάρκεια εκπόνησης αυτής της εργασίας. Τον ευχαριστώ επίσης, για την βοήθειά του στην προμήθεια του υλικοτεχνικού εξοπλισμού των εργαστηριακών αναλύσεων, για τη διεξαγωγή και ανάγνωση των ιστολογικών εξετάσεων και για την επιείκεια που μου έδειξε διευκολύνοντάς με να εκπονήσω την παρούσα διατριβή κατά τη διάρκεια της εργασίας μου στο Τμήμα Ιχθυοπαθολογίας του ομίλου ΝΗΡΕΥΣ.

Ευχαριστίες επίσης απευθύνω:

Στον κ. Μπαλωμένο Γεράσιμο Γενικό Διευθυντή παραγωγής του ομίλου ΝΗΡΕΥΣ για την διάθεση των πειραματικών ψαριών, του εξοπλισμού για την μεταφορά τους στις πειραματικές εγκαταστάσεις, και την παραχώρηση του χώρου που πραγματοποιήθηκαν τα πειράματα.



Στον κ. Ζώη Μαρίνο, Προϊστάμενο εγκατάστασης εκτροφής Δραγονέρα του ομίλου ΝΗΡΕΥΣ, για την πολύτιμη και ουσιαστική βοήθειά του στην μεταφορά των πειραματικών ψαριών από την μονάδα εκτροφής στις χερσαίες πειραματικές εγκαταστάσεις.

Στον συνάδελφο και φίλο κ. Γρίβας Δημήτρη, Υπεύθυνο χερσαίας υποστήριξης μονάδων πάχυνσης Αστακού του ομίλου ΝΗΡΕΥΣ, για την σημαντική βοήθειά του στις εργασίες διαχείρισης των πειραματικών εγκαταστάσεων και ψαριών σε όλη τη διάρκεια του πειράματος και στην στήριξή του, όποτε το χρειαζόμουν κατά τη διάρκεια εκπόνησης της παρούσας διατριβής.

Στον συνάδελφο και φίλο κ. Δάφνο Λευτέρη , για την βοήθεια του και την συμβουλή του σε ότι τον χιάστηκε, αφιερώνοντας μεγάλο τμήμα του περιορισμένου ελεύθερου χρόνου του.

Στην φίλη κ. Τσούμανι Μιράντα, για την βοήθειά της στη στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων.

Στον φίλο κ. Βλάχο Βασίλη για τη σημαντική βοήθειά του κατά την διάρκεια της συγγραφής και διαμόρφωσης της παρούσας εργασίας.

Στον κ. Σμπούκη Αντρέα, Διευθυντή Ιχθυογεννητικού σταθμού Χιλιαδούς του ομίλου ΝΗΡΕΥΣ, για τη διάθεση των δεξαμενών και του χώρου για την πραγματοποίηση του πειράματος.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ στη σύντροφό μου Βάσω για την κατανόηση της στη διάρκεια του μεταπτυχιακού προγράμματος και στην εκπόνηση της διατριβής, καθώς και για την συμπαράσταση και στήριξή της, όποτε το χρειαζόμουν.

Τέλος, στην μητέρα μου και στην αδερφή μου , ένα μεγάλο ευχαριστώ για την μέχρι τώρα προσφορά τους στην ολοκλήρωση των σπουδών μου και την αμέριστη στήριξή τους σε ότι έχω πραγματοποιήσει μέχρι σήμερα.

## Περιεχόμενα

	Σελ.
Περίληψη.....	2
Abstract.....	5
Ευχαριστίες.....	7
Περιεχόμενα.....	9

### **ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΡΩΤΟ: ΕΙΣΑΓΩΓΗ**

1.1 Υδατοκαλλιέργειες.....	12
1.2 Η Ελληνική υδατοκαλλιέργεια.....	16
1.3 Λαβράκι – Γενικές πληροφορίες.....	19

### **ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΔΕΥΤΕΡΟ: ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΑ ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΑ**

2.1 Εισαγωγή.....	23
2.2 Βακτηριακά νοσήματα.....	24
2.3 Ιογενή νοσήματα.....	26
2.4 Παρασιτικά νοσήματα.....	27

### **ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΡΙΤΟ: ΠΑΡΑΣΙΤΙΚΕΣ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ ΣΤΗΝ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΛΑΒΡΑΚΙΟΥ**

3.1 Εισαγωγή.....	28
3.2 Κυριότερα παράσιτα στο καλλιεργούμενο λαβράκι.....	30
3.3 Συστηματική κατάταξη και περιγραφή του <i>Ceratomyxa oestroides</i> .....	34

### **ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΕΤΑΡΤΟ: ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΚΑΙ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΟΥ *Ceratomyxa oestroides* ΣΤΟ ΛΑΒΡΑΚΙ**

4.1 Παθογένεια και διάγνωση .....	42
4.2 Πρόληψη και θεραπεία .....	44
4.3 Ανασκόπηση θεραπειών.....	47

### **ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΕΜΠΤΟ: ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ**

5.1 Εισαγωγή.....	50
5.2 Είδος και προέλευση ψαριών.....	51
5.3 Πειραματικές δεξαμενές.....	51
5.4 Εξέταση των ψαριών πριν την έναρξη του πειράματος.....	56
5.5 Διεξαγωγή του πειράματος και πρωτόκολλο δειγματοληψιών.....	57
5.6 Επεξεργασία αποτελεσμάτων – Στατιστική ανάλυση.....	61

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΕΚΤΟ: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ – ΣΥΖΗΤΗΣΗ

6.1 Παθολογική κατάσταση .....	62
6.2 Αποτελέσματα λουτρού θεραπείας του εμπορικού σκευάσματος Ecxis (Cypermethrin 10mg/ml), κατά την χορήγηση στο λαβράκι .....	70
6.3 Αποτελέσματα Τοξικότητας (LC <sub>50</sub> ) του εμπορικού σκευάσματος Ecxis (Cypermethrin 10mg/ml), κατά την χορήγηση στο λαβράκι .....	73
6.4 Αποτελέσματα Ιστοπαθολογικών εξετάσεων.....	81
6.5 Συνοπτική περιγραφή αποτελεσμάτων.....	85
6.6 Συζήτηση.....	86
<b>Βιβλιογραφία.....</b>	<b>92</b>

# ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΡΩΤΟ

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

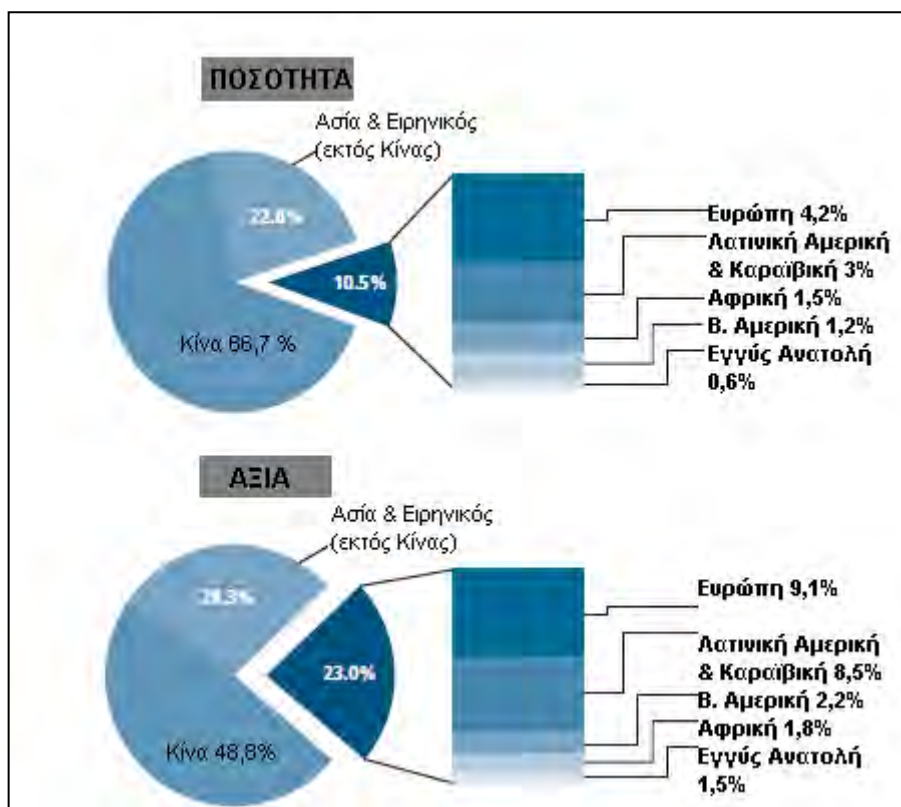
### 1.1 Υδατοκαλλιέργειες Γενικά

Η παγκόσμια παραγωγή προϊόντων υδατοκαλλιέργειας ψαριών, καρκινοειδών, μαλακίων και άλλων υδρόβιων οργανισμών ακολουθεί αυξανόμενη ένταση. Το 1970 η παραγωγή προϊόντων υδατοκαλλιέργειας αποτελούσε μόλις το 3,9% της συνολικής παγκόσμιας παραγωγής, το 2000 το ποσοστό αυξήθηκε στο 27,1% το 2004 άγγιξε το 32,4% και το 2006 το ποσοστό ήταν 36%. Η παραγωγή προϊόντων υδατοκαλλιέργειας συνεχίζει να αυξάνεται με ραγδαίους ρυθμούς σε σχέση με όλους τους άλλους τομείς παραγωγής τροφίμων ζωικής προέλευσης. Ο τομέας σε παγκόσμιο επίπεδο μετά το 1970, παρουσίασε ετήσιο ρυθμό αύξησης 8,8%, ενώ το ίδιο διάστημα οι τομείς της αλιείας και της κτηνοτροφίας παρουσίασαν ρυθμό ανάπτυξης 1,2% και 2,8% αντίστοιχα. Ο ετήσιος ρυθμός ανάπτυξης της παγκόσμιας παραγωγής της Υδατοκαλλιέργειας την περίοδο 2004-2006 ήταν 6,1% σε όγκο παραγωγής, ενώ σε αξία ο αντίστοιχος ρυθμός ήταν 11% (FAO, 2008).

Η παγκόσμια υδατοκαλλιέργεια αναπτύχθηκε σημαντικά το δεύτερο μισό του περασμένου αιώνα. Από μία παραγωγή στις αρχές της δεκαετίας του '50 κάτω του ενός εκατομμυρίου τόνων, το 2006 η αντίστοιχη παραγωγή έφτασε τους 51,7 εκατομμύρια τόνους αξίας 78,8 δις. δολαρίων. Το 2006 οι χώρες της περιοχής της Ασίας και του Ειρηνικού ωκεανού παρήγαγαν το 89% της παγκόσμιας παραγωγής,

ενώ μόνο η Κίνα παρήγαγε το 67% της παγκόσμιας παραγωγής της υδατοκαλλιέργειας. (Εικ. 1.1)

Η συνολική παραγωγή από τις δραστηριότητες των υδατοκαλλιεργειών σε παγκόσμιο επίπεδο εκτός της Κίνας, ήταν 15 εκατομμύρια τόνοι, ενώ της αλιείας ήταν 54 εκατομμύρια τόνοι. Αντίθετα στην Κίνα για την ίδια χρονιά η παραγωγή της υδατοκαλλιέργειας ήταν 31 εκατομμύρια τόνοι ενώ η παραγωγή από την Αλιεία ήταν μόλις έξι εκατομμύρια τόνοι. Στοιχείο που δείχνει ξεκάθαρα την κυριαρχία της υδατοκαλλιέργειας στην Κίνα.



Εικ. 1.1 Παγκόσμια παραγωγή υδατοκαλλιέργειας το 2006 (FAO, 2008)

Τα παραγόμενα είδη της Υδατοκαλλιέργειας διαφέρουν από περιοχή σε περιοχή. Στις περιοχές της Ασίας και του Ειρηνικού ωκεανού, η παραγωγή της Κίνας, της νότιας και νοτιοανατολικής Ασίας αποτελείται κυρίως από κυπρινοειδή, ενώ στις περιοχές της Ανατολικής Ασίας η παραγωγή συνίσταται κυρίως από θαλασσινά ψάρια υψηλής αξίας.

Σε παγκόσμιο επίπεδο το 99,8% των εγκαταστάσεων της υδατοκαλλιέργειας, το 97,5% της παραγωγής των κυπρινοειδών, το 87,4% της παραγωγής γαρίδας και το 93,4% της παραγωγής στρειδιού προέρχεται από τις περιοχές της Ασίας και του Ειρηνικού ωκεανού. Ωστόσο, το 55,6% της παγκόσμιας παραγωγής της καλλιέργειας των Σαλμονιδών προέρχεται από την Δυτική Ευρώπη και συγκεκριμένα από της βόρειες περιοχές της ηπείρου, ενώ η κύρια παραγωγή κυπρινοειδών γίνεται στην κεντρική και ανατολική Ευρώπη.

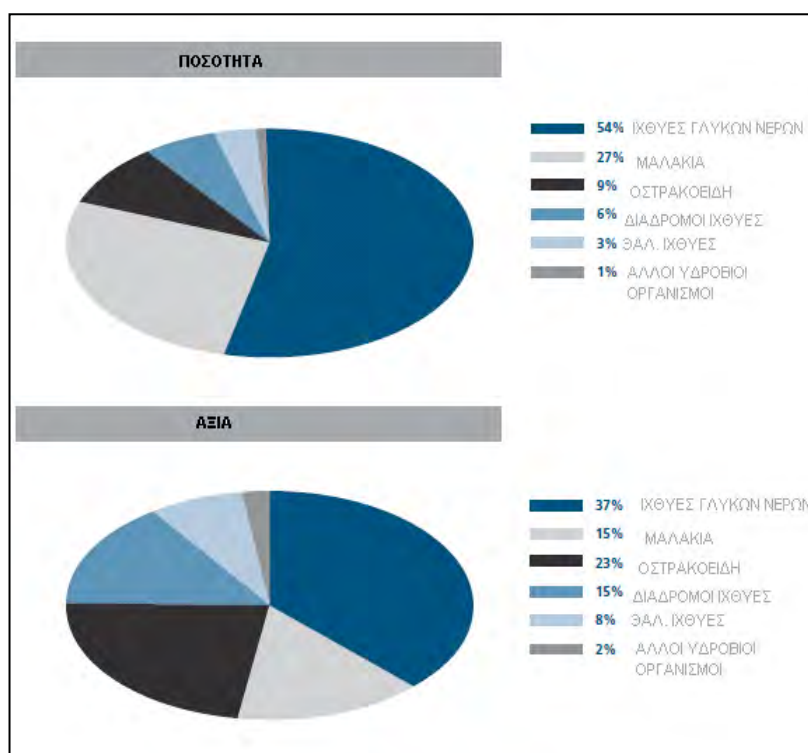
Η παγκόσμια παραγωγή το 2004 έφτασε τους 13.9 εκατομμύρια τόνους, από τους οποίους οι 10,7 προέρχονταν από την Κίνα, 1,2 από τις Φιλιππίνες 0,55 από την Κορέα και 0,48 από την Ιαπωνία.

Η αύξηση της παγκόσμιας παραγωγής συνεχίζεται παρόλο που ο ρυθμός είναι μικρότερος σε σχέση με αυτούς των δεκαετιών του '80 και του '90. Κατά την περίοδο 2000-2004 υπήρξε μεγάλη αύξηση της παραγωγής, κυρίως των οστρακόδερμων, αλλά και των θαλασσιών ψαριών σε αντίθεση με τα υπόλοιπα είδη της Υδατοκαλλιέργειας, των οποίων ο ρυθμός ανάπτυξης φαίνεται να μειώνεται. Επομένως, στο μέλλον περιμένουμε τάση της παραγωγής αλλά με αρκετές διακυμάνσεις. Στην Εικ. 1.2 παρουσιάζεται η εικόνα την παγκόσμιας παραγωγής της υδατοκαλλιέργειας για το 2004, όσον αφορά την ποσότητα και την αξία της, για τις κύριες ομάδες προϊόντων της.

Το μεγαλύτερο ποσοστό των παραγόμενων ιχθύων, οστρακόδερμων και μαλακίων, προέρχεται από τα εσωτερικά ύδατα (61% σε ποσότητα και 53% όσον αφορά την αξία). Από την θαλάσσια υδατοκαλλιέργεια προέρχεται το 34% της παραγωγής σε ποσότητα. Ενώ σε επίπεδο αξίας το ποσοστό αυτό είναι 36%. Παρόλο που το μεγαλύτερο ποσοστό της παραγωγής αποτελείται από ψάρια υψηλής αξίας, μεγάλη είναι επίσης και η παραγωγή χαμηλής αξίας μυδιών και στρειδιών.

Το 2006 περισσότερο από τη μισή παραγωγή υδατοκαλλιέργειας ήταν ιχθύες γλυκού νερού. Η ποσότητα υπολογίζεται σε 27,8 εκ τόνους αξίας 29,5 δις. δολάρια. Το ίδιο έτος η ποσότητα των μαλακίων υπολογίζεται σε 14,1 εκ. τόνους αξίας 11,9 δις δολαρίων. Η πολύ μικρότερη ποσότητα των οστρακοειδών υπολογίζεται σε 4,5 εκ. τόνους αξίας όμως 17,95 δις. δολαρίων. (Εικ. 1.2)

Είναι σημαντικό να σημειώσουμε ότι η αύξηση της παραγωγής της υδατοκαλλιέργειας στις αναπτυσσόμενες χώρες ξεπέρασε το αντίστοιχη αύξηση των ανεπτυγμένων χωρών. Εκατομμύρια άνθρωποι σε όλο τον κόσμο εξαρτώνται άμεσα ή έμμεσα από την αλιεία και την υδατοκαλλιέργεια.



**Εικ. 1.2 Κυριότερες ομάδες προϊόντων υδατοκαλλιεργειών για το 2006 (FAO 2008)**

Κατά την διάρκεια των τελευταίων τριών δεκαετιών, ο αριθμός των ανθρώπων που απασχολούνται στην υδατοκαλλιέργεια αυξήθηκε με ταχύτερους ρυθμούς σε σχέση με την αύξηση του πληθυσμού και η απασχόληση στον κλάδο αυξήθηκε με γοργότερους ρυθμούς σε σχέση με άλλους τομείς της γεωργίας.



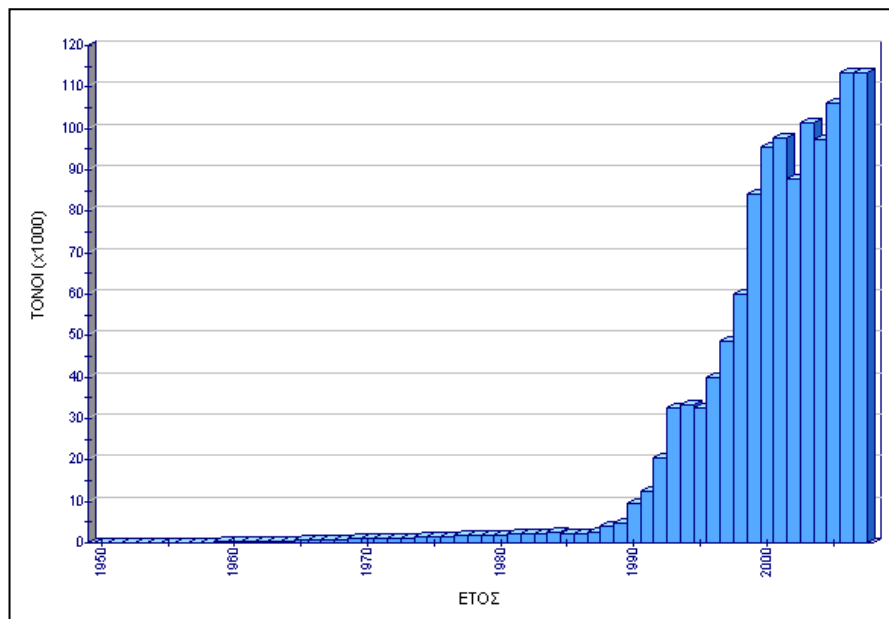
Την περίοδο 2004 υπολογίζεται ότι απασχολούνταν στον κλάδο της αλιείας και της υδατοκαλλιέργειας 41 εκατομμύρια άνθρωποι αποτελώντας το 3,1% του 1,36 δις ανθρώπων που ασχολούνται με τον γεωργικό τομέα. Ο αντίστοιχος αριθμός την περίοδο 2006 έφτασε τα 43,5 εκ. αποτελώντας το 3,2% του συνολικού αριθμού των ανθρώπων που απασχολούνται παγκόσμια στον κλάδο της γεωργίας. Ο μεγαλύτερος αριθμός αλιέων και ιχθυοπαραγωγών εντοπίζεται στις αναπτυσσόμενες χώρες, κυρίως στην Ασία.

## **1.2 Η υδατοκαλλιέργεια στην Ελλάδα**

Παρόλο που η καλλιέργεια υδρόβιων ζώων ξεκίνησε στην Ελλάδα έχει τις ρίζες της στους αρχαίους χρόνους, τα κυρίαρχα είδη της υδατοκαλλιέργειας από το ξεκίνημα στις αρχές της δεκαετίας του '80 ως σήμερα είναι η τσιπούρα και το λαβράκι.

Η έρευνα και ανάπτυξη που πραγματοποιήθηκε από τα πανεπιστήμια και τα ινστιτούτα της Γαλλίας, της Ιταλίας και της Ισπανίας κατά την διάρκεια της δεκαετίας του '70, οδήγησε σε γρήγορη και εντυπωσιακή ανακάλυψη της βιολογίας αυτών των ειδών. Στις αρχές του '80 εμφανίστηκαν τα πρώτα εκκολαπτήρια, καταρχήν στην Γαλλία, την Ιταλία και την Ισπανία και αργότερα στην Πορτογαλία και την Ελλάδα. Η υιοθέτηση των τεχνολογιών καλλιέργειας από την Βιομηχανία του Σολομού, η αυξανόμενη ζήτηση για τα προαναφερθέντα είδη ψαριών και οι κλιματικές συνθήκες της Ελλάδας, την έκαναν χώρα επιλογής για την ανάπτυξη του κλάδου, η οποία με την βοήθεια της Ε.Ε αποτελεί σήμερα τον μεγαλύτερο παραγωγό αυτών των ειδών σε παγκόσμιο επίπεδο. Στην Εικ 1.3 παρουσιάζεται η αλματώδης αύξηση της παραγωγής μετά το 1990. Ο κλάδος της υδατοκαλλιέργειας στην Ελλάδα σύμφωνα με τον FAO απασχολεί πάνω από 10000 άτομα κυρίως σε περιοχές της υπαίθρου, όπου συναντώνται ελάχιστες άλλες κατηγορίες απασχόλησης. Το μεγαλύτερο μέρος της παραγωγής της τσιπούρας και του λαβρακιού πραγματοποιείται σε πλωτούς κλωβούς διαφόρων μεγεθών, σχημάτων και υλικών κατασκευής.

Σήμερα χρησιμοποιούνται κυρίως πλαστικοί κλωβοί κυκλικού σχήματος με περίμετρο που μπορεί να υπερβαίνει τα 120 μέτρα. Η περίοδος εκτροφής διαφέρει από περιοχή σε περιοχή και εξαρτάται κυρίως από την θερμοκρασία του νερού εκτροφής. Σε γενικές γραμμές ο χρόνος αυτός κυμαίνεται από 12 έως 24 μήνες, οπότε οι ιχθύες αποκτούν το εμπορεύσιμο μέγεθος.



**Εικ. 1.3 Παραγωγή προϊόντων υδατοκαλλιέργειας στην Ελλάδα  
(Στοιχεία FAO)**

Το έτος 2000 στην Ελλάδα υπήρχαν 269 εταιρείες υδατοκαλλιεργειών, ενώ το 2003 ο αριθμός μειώθηκε σε 167. Πολλές από αυτές σταμάτησαν την λειτουργία τους ενώ άλλες συγχωνεύθηκαν από άλλες μεγαλύτερες εταιρείες.

Όλα τα καλλιεργούμενα είδη της Ελλάδας συμπεριλαμβανομένων και της τσιπούρας και του λαβρακιού, στα οποία αναφερθήκαμε παραπάνω παρουσιάζονται παρακάτω με σειρά παραγόμενης ποσότητας:

- Τσιπούρα (*Sparus aurata*)
- Λαβράκι (*Dicentrarchus labrax*, Linnaeus, 1758)
- Πέστροφα (*Onchorynchus mykiss*)
- Ευρωπαϊκό Χέλι (*Anquilla anquilla*)
- Μυτάκι (*Diplodus puntazzo*)
- Λιθρίνι (*Pagellus erythrinus*)
- Σαργός (*Diplodus sargus*)
- Τόνος Ατλαντικού (*Thynnus thynnus thynnus*)
- Γλώσσα (*Solea solea*)
- Κέφαλος (*Mugil cephalus*)
- Συναγρίδα (*Dentex dentex*)

Η τσιπούρα και το λαβράκι αποτελούν το 95% της παραγωγής της Ελλάδας, με τα υπόλοιπα είδη να παράγονται σε πολύ μικρές ποσότητες. Η μικρή παραγωγή του Κέφαλου κυρίως στις λιμνοθάλασσες της Δυτικής Ελλάδας αποσκοπεί στην παραγωγή του γνωστού αυγοτάραχου. Επίσης υπάρχει σημαντική παραγωγή από δίθυρα μαλάκια, κυρίως μύδια και στρείδια, η οποία το 1999 έφτασε του 21.000 τόνους (Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων)

Η παραγωγή των υδατοκαλλιεργειών στην Ελλάδα είναι δύσκολο να εκτιμηθεί, κυρίως λόγω της αναξιοπιστίας των επίσημων στοιχείων και της απροθυμίας να παρουσιάσουν την πραγματική παραγωγή. Έτσι ενώ τα επίσημα στοιχεία για το 2002 παρουσίασαν παραγωγή για λαβράκι και τσιπούρα 64.700 τόνους, οι αναλυτές αναφέρουν παραγωγή 103.000 τόνων. Η αξία των προϊόντων της υδατοκαλλιέργειας εκτιμήθηκε με βάση τα επίσημα στοιχεία σε 307 εκ. Ευρώ για το έτος 2002. Επίσης θα πρέπει να σημειωθεί ότι η παραγωγή γόνου τσιπούρας και λαβρακιού συμμετέχει με ποσοστό 16% περίπου, στην συνολική αξία των προϊόντων του κλάδου της υδατοκαλλιέργειας.

Η Ελλάδα είναι η μεγαλύτερη παραγωγός χώρα όσον αφορά το γόνου αυτών των ειδών, αφού παράγεται το 50% της συνολικής Μεσογειακής παραγωγής.

Η παραγωγή της Ελλάδος κατά κύριο λόγο εξάγεται. Το 2002 η Ιταλία και Ισπανία απορρόφησε περίπου 47.000 τόνους της συνολικής παραγωγής των 103.000 τόνων περίπου (Stirling, 2004). Η υπόλοιπη παραγωγή διοχετεύθηκε σε καταναλωτές κυρίως από μεγάλες αλυσίδες Super Markets και παραδοσιακά Ιχθυοπωλεία. Η τάση ωστόσο είναι η συνολική διάθεση των προϊόντων στον τελικό καταναλωτή μέσω μεγάλων αλυσίδων Super Markets. Το ψάρι υδατοκαλλιέργειας και κυρίως η τσιπούρα και το λαβράκι, είναι το τρίτο εξαγόμενο προϊόν της χώρας μετά το ελαιόλαδο και τον καπνό, επομένως αποτελεί ένα σημαντικό προϊόν για την Ελλάδα.

### 1.3 Λαβράκι – Γενικές Πληροφορίες

Το λαβράκι (*Dicentrarchus labrax* Linnaeus, 1758) είναι οστείχθυς (Perciformes), της οικογένειας των Moranidae και του γένους *Dicentrarchus*. Στο ίδιο γένος ανήκει και το είδος *Dicentrarchus punctatus*. Το λαβράκι παρουσιάζει αρκετά μεγάλο εύρος εξάπλωση. Εκτείνεται στον Ατλαντικό ωκεανό από τις ακτές του Μαρόκου έως τη Βαλτική θάλασσα. Το συναντάμε σε κάθε περιοχή της Μεσογείου και των γύρω θαλασσών, εισχωρώντας στις εκβολές των ποταμών και στις λιμνοθάλασσες. Είναι κατεξοχήν ευρύαλο και ευρύθερμο είδος. Προσαρμόζεται εύκολα και αναπτύσσεται εύκολα ακόμη και σε σχεδόν γλυκά νερά. Η θερμοκρασία στην οποία διατρέφεται είναι 7-30 °C, με άριστες 14-28 °C. (Χώτος & Ρογδάκης, 1992)

Το σώμα του λαβρακιού (Εικ. 1.4) είναι επίμηκες με το στόμα ελαφρά προεξέχων. Διαθέτει δύο ξεχωριστά ραχιαία πτερύγια. Το πρώτο αποτελείται από 8-10 σκληρές ακτίνες και το δεύτερο με μια σκληρή και 12-13 μαλακές ακτίνες.

Το ουραίο πτερύγιο είναι διχαλωτό με ίσους τους δύο λοβούς. Διαθέτει μικρά λέπια με την πλευρική γραμμή να αποτελείται από περίπου 70.

Το χρώμα του λαβρακιού είναι ασημί – γκρι στις πλευρές ενώ γίνεται σκούρο προς την ραχιαία περιοχή. Τα νεαρά ιχθύδια εμφανίζουν σκούρες κηλίδες στο πάνω μέρος του σώματος οι οποίες όμως απουσιάζουν από τα ενήλικα άτομα.

Το λαβράκι θεωρείται ένα από τα ιδιαίτερα αξιόλογα είδη εκτρεφόμενων ιχθύων, όχι μόνο για την Ελλάδα αλλά και για όλες τις μεσογειακές και ευρωπαϊκές χώρες. Αυτό οφείλεται στην παραδοσιακή συμμετοχή του στο διαιτολόγιο των παράκτιων πληθυσμών αλλά και στη σημαντική εμπορική του αξία, η οποία είναι αποτέλεσμα της μεγάλης ετήσιας ελεγχόμενης παραγωγής του. (Παπουτσόγλου,2008)



**Εικ. 1.4 Λαβράκι (προσωπικό αρχείο)**

Το λαβράκια καλλιεργούνταν παραδοσιακά σε παράκτιες λιμνοθάλασσες πριν την ανάπτυξη της μαζικής παραγωγής γόνου η οποία άρχισε στα τέλη της δεκαετίας του '60. Την εποχή αυτή η Γαλλία και Ιταλία συναγωνίζονταν με σκοπό την ανάπτυξη τεχνικών μαζικής παραγωγής ιχθυδίων λαβρακιού και στα τέλη της δεκαετίας του '70 οι τεχνικές αυτές αναπτύχθηκαν στις περισσότερες μεσογειακές χώρες και έτσι μπόρεσαν να παράγουν εκατοντάδες χιλιάδες ιχθυδίων λαβρακιού.

Το λαβράκι ήταν το πρώτο θαλάσσιο είδος, εκτός των σαλμονιδών που καλλιεργήθηκε εμπορικά Ευρώπη και αυτή τη στιγμή αποτελεί το σημαντικότερο καλλιεργούμενο ψάρι της Μεσογείου. Η Ελλάδα, η Τουρκία, η Ιταλία, η Ισπανία, η Κροατία και η Αίγυπτος είναι οι μεγαλύτεροι παραγωγοί. Στον χάρτη της Εικ. 1.5 παρουσιάζονται οι κυριότερες χώρες παραγωγής λαβρακιού.



**Εικ. 1.5 Κυριότερες χώρες παραγωγής λαβρακιού (Στοιχεία FAO, 2002)**

Το μεγαλύτερο μέρος παραγωγής λαβρακιού προέρχεται από την θαλάσσια εντατική καλλιέργεια, η οποία πραγματοποιείται σε πλωτούς ιχθυοκλωβούς. Υπάρχουν διάφοροι τύποι κλωβών από πλευράς υλικού κατασκευής και σχήματος. Σήμερα χρησιμοποιούνται σιδερένιοι και κυρίως πλαστικοί κυκλικού σχήματος (Εικ. 1.6). Ανεξάρτητα του τύπου του ιχθυοκλωβού, η φιλοσοφία αυτής της μορφής καλλιέργειας βασίζεται στην εκτροφή ψαριών σε δίκτυ, το οποίο είναι αναρτημένο από τον πλωτό κλωβό μέσα στη θάλασσα με αποτέλεσμα τα ψάρια να διαβιούν στο φυσικό τους περιβάλλον και τρέφονται εξολοκλήρου από βιομηχανοποιημένες ιχθυοτροφές.



**Εικ. 1.6. Πλωτοί ιχθυοκλωβοι (προσωπικό αρχείο)**

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΔΕΥΤΕΡΟ

### ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΑ ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΑ

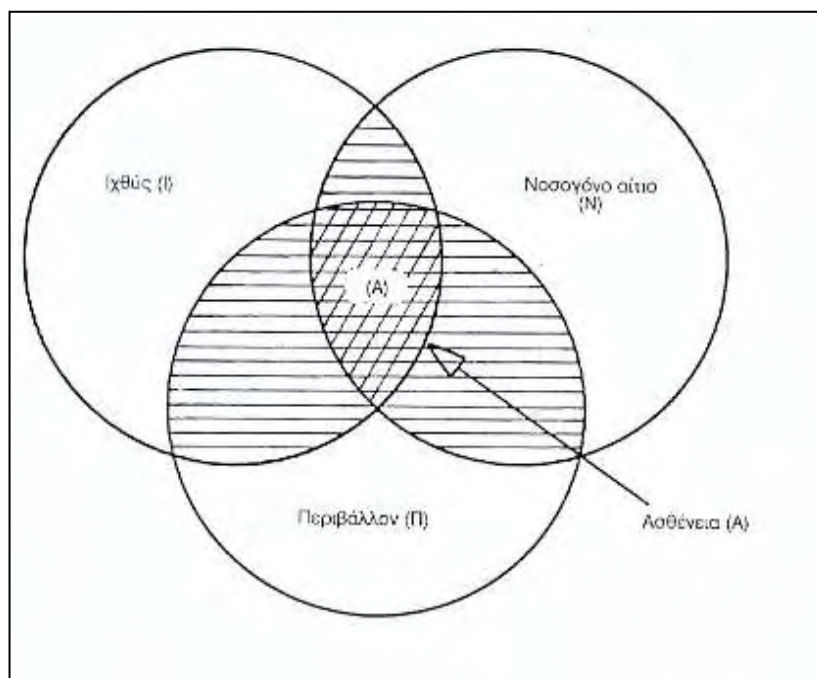
#### 2.1 Εισαγωγή

Η συνεχής αύξηση παραγωγής των θαλασσοκαλλιεργειών τα τελευταία χρόνια και η ανάδειξη τους σε εξαιρετικά δυναμικό κλάδο έφεραν στην επιφάνεια αρκετά παθολογικά προβλήματα. Τα πιο συχνά παθολογικά προβλήματα αφορούν, στην προσβολή από παθογόνα βακτήρια, ιογενή νοσήματα, προσβολές από παράσιτα, διατροφικά νοσήματα και σε νοσήματα άγνωστης αιτιολογίας (Χριστοφιλογιάννης, 2000).

Είναι πολύ σημαντικό να κατανοηθεί πως προϋπόθεση για την εκδήλωση ασθενειών είναι η παρουσία του παθογόνου παράγοντα, η έλλειψη κατάλληλων συνθηκών διαβίωσης των ιχθύων και η ευαισθησία του οργανισμού τους (stress, είδος και ηλικία). Οι προϋποθέσεις αυτές ορίζονται από τον τύπο  $A=I.N.P^2$ , όπου  $A$ =Ασθένεια,  $I$ = Ιχθύς,  $N$ = Νοσογόνο αίτιο,  $P^2$  = Περιβάλλον (stress). Σχηματικά ο τύπος αυτός απεικονίζεται με τρεις κύκλους που τέμνονται, και παρουσιάζουν ένα αλληλοκαλυπτόμενο τμήμα, που συμβολίζει την εκδήλωση της ασθένειας (Εικ. 2.1) (Φώτης, 1999).

Οι παθογόνοι μικροοργανισμοί που μπορούν να προκαλέσουν θνησιμότητες στα ψάρια έχουν προσαρμοστεί στο υδάτινο περιβάλλον καθώς και σε διαφορετικό φάσμα θερμοκρασιών. Με την παρουσία κακών συνθηκών εκτροφής και ευπαθείς οργανισμούς, παρατηρείται το φαινόμενο μικροοργανισμοί που σε διαφορετικές συνθήκες ήταν ακίνδυνοι, να κάμπτουν την άμυνα του οργανισμού και να προκαλούν παθολογικές καταστάσεις. (Χριστοφιλογιάννης, 2000).





**Εικ. 2.1 Αλληλεπίδραση των τριών παραγόντων (Φώτης, 1999)**

## 2.2 Βακτηριακά νοσήματα

Τα πιο σημαντικά μικροβιακά νοσήματα που προσβάλλουν το λαβράκι είναι η δονακίωση, η οποία προκαλείται από το βακτήριο *Listonella anguillarum* Ορότυπος 01 και η παστεριδίαση (Cagiran, 2009). Επιπρόσθετα, σοβαρά προβλήματα στην καλλιέργεια του λαβρακιού προκαλούνται και από το *Tenacibaculum maritimum*, βακτήριο που προκαλεί την μυξοβακτηριδίαση. Τα προσβεβλημένα ψάρια εμφανίζουν αλλοιώσεις και αιμορραγίες στο στόμα, έλκη στο σώμα, αλλοιώσεις στα πτερύγια του σώματος, καθώς και στο ουραίο πτερύγιο. Επιπρόσθετα, η καταστροφή του επιθηλίου του δέρματος, σύμπτωμα κοινό στη νόσο αυτή, δημιουργεί πύλες εισόδου για την μόλυνση από άλλα βακτήρια ή παράσιτα (Toranzo et al., 2005).

Η παστεριδίαση προκαλείται από το βακτήριο *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida*. Πρώτη απομόνωση πραγματοποιήθηκε σε φυσικούς πληθυσμούς του *Morone americanus* το 1963 στον Κόλπο Chesapeake. Από το 1969 η παστεριδίαση αποτελούσε μία από τις σημαντικότερες ασθένειες στην Ιαπωνία, ενώ από το 1990 προκάλεσε μεγάλες οικονομικές απώλειες στις καλλιέργειες τσιπούρας, γλώσσας και λαβρακιού στις Μεσογειακές χώρες της Ευρώπης (Toranzo et al., 2005). Τα προσβεβλημένα ψάρια γενικά εμφανίζουν σκούρο χρωματισμό και ανορεξία. Στις ιστοπαθολογικές εξετάσεις εμφανίζονται χαρακτηριστικά κοκκιώματα στον αιμοποιητικό ιστό του σπλήνα και του νεφρού, από τα οποία σε προχωρημένα στάδια της νόσου απελευθερώνεται ο παθογόνος παράγοντας, με αποτέλεσμα την εκδήλωση αιμορραγικής σηψαιμίας (Roberts, 1989).

Μια από τις παλαιότερες ασθένειες των ιχθύων είναι η δωνακίωση, αποτελεί σημαντική ασθένεια των καλλιεργούμενων αλλά και των άγριων ψαριών στη θάλασσα αλλά και στα υφάλμυρα νερά. Για πρώτη φορά διαπιστώθηκε στα χέλια, αλλά έχει καταγραφεί σε μεγάλο αριθμό ψαριών. Στα καλλιεργούμενα ψάρια η ασθένεια μπορεί να εμφανίζεται πολλές φορές κατά τη διάρκεια του έτους, αλλά συνήθως προκαλεί προβλήματα προς το τέλος του καλοκαιριού. Τα προσβεβλημένα ψάρια εμφανίζουν αιμορραγίες στην επιφάνεια του σώματος, στη βάση των πτερυγίων και στην έδρα (Roberts, 1989).

## 2.3 Ιογενή νοσήματα

Από τα ιογενή νοσήματα, ενδιαφέρον στην καλλιέργεια του λαβρακιού παρουσιάζει ο ιός Noda. Τα κλινικά συμπτώματα της ασθένειας, τα οποία σχετίζονται με τις αλλοιώσεις που προκαλούνται στον εγκέφαλο και τον αμφιβληστροειδή, είναι ακανόνιστη κολύμβηση, διάταση νηκτικής κύστης, προβλήματα στην αντίληψη και αποχρωματισμός. Επίσης παρουσιάζονται νευρικά συμπτώματα όπως κυκλική ή σπειροειδής κολύμβηση (Munday et al., 2002).

Μαζικές θνησιμότητες, οι οποίες σχετίζονταν με εγκεφαλίτιδα και παρουσία ιϊκών σωματιδίων (Viral particles) στα νευρικά κύτταρα, περιγράφηκαν πρώτη φορά από τους Bellance & Gallet de Saint-Aurin (1988). Το καλοκαίρι του 1995, παρουσιάστηκαν υψηλές θνησιμότητες σε μονάδες καλλιέργειας σε δύο περιοχές της Ελλάδας. Και στις δύο περιπτώσεις δύο διαφορετικής κλάσης παρτίδες λαβρακιού εμφάνιζαν νευρικά συμπτώματα ενώ ιστολογικά παρατηρήθηκε εγκεφαλοπάθεια και αμφιβληστροειδοπάθεια. Στα περιστατικά αυτά επιβεβαιώθηκε η παρουσία του ιού Noda στους προσβεβλημένους ιστούς (A Le Breton et al., 1997).

Η Athanassoroulou et al. (2003) αναφέρει περιστατικό προσβολής από Noda σε λαβράκι σε εντατική καλλιέργεια γλυκού νερού. Τα προσβεβλημένα ψάρια εμφάνιζαν νευρικά συμπτώματα και ιστοπαθολογικές αλλοιώσεις όμοιες με αυτές που εμφανίζονται στις θαλάσσιες καλλιέργειες.

## 2.4 Παρασιτικά νοσήματα

Οι ασθένειες που οφείλονται σε παράσιτα είναι κοινές, ειδικά στους άγριους πληθυσμούς σε ποικίλα υδάτινα περιβάλλοντα. Η ποικιλότητα των παρασίτων είναι αξιοσημείωτη και οφείλεται στην μεγάλη ποικιλία και αρχαία καταγωγή των ψαριών – ξενιστών (Feist & Longshaw, 2008).

Η παρασίτωση των θαλασσινών ψαριών παρουσιάζει συνεχής αύξηση της έντασης της στα ψάρια ιχθυοκαλλιέργειας. Αυτό οφείλεται κυρίως στην μεγάλη ένταση της παραγωγής, καθώς και στην επιβάρυνση του υδάτινου περιβάλλοντος από τις ανθρώπινες δραστηριότητες, που καθιστά τους θαλάσσιους οργανισμούς και συγκεκριμένα τους καλλιεργούμενους ευαίσθητους σε προσβολές από παράσιτα (Rohde, 2002).

Στο επόμενο κεφάλαιο παρουσιάζονται γενικές πληροφορίες σχετικά με τον παρασιτισμό των ψαριών και περιγράφονται τα κυριότερα παράσιτα που εμφανίζονται στο εκτρεφόμενο λαβράκι, ενώ αναλύεται η συστηματική και η βιολογία του ισόποδου παρασίτου *Ceratomyxa oestroides* (Risso, 1826). Η προσβολή του λαβρακιού από το παράσιτο αυτό, τα προβλήματα που προκαλεί, ο τρόπος αντιμετώπισης και η θεραπεία αποτελούν το θέμα της παρούσας εργασίας.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΡΙΤΟ

### ΠΑΡΑΣΙΤΙΚΕΣ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ ΣΤΗΝ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΛΑΒΡΑΚΙΟΥ

#### 3.1 Εισαγωγή

Στο φυσικό περιβάλλον είναι σύνηθες το φαινόμενο συνύπαρξης ανάμεσα σε δύο οργανισμούς, οι οποίοι ανήκουν σε διαφορετικά είδη. Οι οργανισμοί αυτοί αλληλεπιδρούν με συγκεκριμένο τρόπο και όχι τυχαία. Ανάλογα με το είδος της αλληλεπίδρασης συναντάμε διάφορες μορφές συμβίωσης των οργανισμών. Μια από αυτές είναι και ο παρασιτισμός, κατά τον οποίο, το ένα είδος (παράσιτο) χρησιμοποιεί κάποιο άλλο (τον ξενιστή) σαν πηγή ενδιαιτήματος και διατροφής. Επομένως το παράσιτο ζει εις βάρος του ξενιστή. Το σώμα του ξενιστή είναι το πρωτογενές περιβάλλον διαβίωσης του παρασίτου, ενώ το περιβάλλον στο οποίο διαβιώνει ο ξενιστής αποτελεί το δευτερογενές περιβάλλον του παρασίτου (Grabda, 1991).

Ο παρασιτισμός ως συμβίωση είναι από τους κοινότερους τρόπους διαβίωσης στο βασίλειο των ζώων και παρατηρείται με διάφορες μορφές. Υπάρχουν πολλά ενδιάμεσα στάδια από τις ελεύθερες μορφές των οργανισμών έως τις παρασιτικές. Πολλά είδη που παρασιτούν κατά το λαρβικό τους στάδιο μόνο, ενώ άλλα παρασιτούν όταν ωριμάσουν. Τα παράσιτα διαχωρίζονται σε εξωπαράσιτα (ectoparasites) και ενδοπαράσιτα (endoparasites) ανάλογα με την θέση τους στο σώμα του ξενιστή. Τα εξωπαράσιτα ζουν στην επιφάνεια του σώματος και στις ανοιχτές κοιλότητες του ξενιστή (Στόμα, βράγχια, ρώθωνες). Τα ενδοπαράσιτα συναντώνται στα εσωτερικά όργανα και τους ιστούς του ξενιστή (πεπτικό σύστημα, κυκλοφορικό και ουροποιητικό σύστημα, συκώτι, νεφρούς, γονάδες, οφθαλμούς κ.α).

Τα εξωπαράσιτα των ψαριών περιλαμβάνουν βλεφαριδωτά, κυρίως μαστιγωτά, μονογενή τρηματώδη, κωπήποδα, ισόποδα, βρανγχίουρα και βδέλλες. Τα ενδοπαράσιτα των ψαριών περιλαμβάνουν τα διγενή τρηματώδη, νηματώδη, ακανθοκέφαλα, καθώς και κάποια πρωτόζωα, όπως μικροσπορίδια (Grabda, 1991).

Στην επόμενη θα γίνει περιγραφή των κυριότερων παράσιτων που απασχολούν την εντατική καλλιέργεια του λαβρακιού και τον τρόπο αντιμετώπισης αυτών, καθώς και τα βασικά στοιχεία συστηματικής του ισόποδου παρασίτου *Ceratomyxa oestroides* Risso, 1826 .

### 3.2 Κυριότερα παράσιτα στο καλλιεργούμενο λαβράκι *Dicentrarchus labrax*, Linnaeus, 1758

#### 1. Εξωπαράσιτα

##### α. Πρωτόζωα: *Amyloodinium* / *Oodinium* spp., *Trichodina* sp.

Τα παράσιτα αυτά μπορούν να προσβάλλουν το λαβράκι, αλλά και άλλα θαλασσινά είδη. Έχουν άμεσο βιολογικό κύκλο και η αντιμετώπιση τους παρουσιάζει προβλήματα. Είναι ικανά να προκαλέσουν υψηλές θνησιμότητες ειδικά σε περιοχές με υποβαθμισμένη ποιότητα του νερού της καλλιέργειας και υψηλές θερμοκρασίες. Η πιο κοινή μέθοδος για την αντιμετώπιση των πρωτόζωων είναι η χρήση απολυμαντικών. Το *Oodinium* spp. αντιμετωπίζεται δύσκολα και το φάρμακο εκλογής είναι ο θειικός χαλκός. Το *Trichodina* sp., συνήθως αντιμετωπίζεται με συνδυασμό φορμόλης και πράσινο του μαλαχίτη. Η χρήση της φορμόλης επίσης, είναι ευρέως διαδεδομένη στην θεραπεία των πρωτόζωων (Athanasopoulou et al., 2009).

##### β. Μονογενή τρηματώδη

Τα παράσιτα αυτά προσβάλλουν κυρίως τα ψάρια που καλλιεργούνται σε πλωτούς ιχθυοκλωβούς. Στο λαβράκι τα ποίο σύνηθες είναι τα *Diplectanum* sp. Τα παράσιτα ερεθίζουν τα βράγχια και ο οργανισμός αντιδρά με άφθονη παραγωγή βλέννας και υπερπλασία του επιθηλίου. Σε περιπτώσεις, που ο αριθμός τους είναι μεγάλος προκαλείται ασφυξία και αναπνευστικά προβλήματα (Athanasopoulou, 2001, Athanasopoulou et al., 2009).

Για την καταπολέμηση των παρασίτων αυτών έχουν χρησιμοποιηθεί οι βενζιμιδαζόλες. Στην καλλιέργεια μεσογειακών ψαριών έχει χρησιμοποιηθεί η μεμπενταζόλη χωρίς πολύ καλά αποτελέσματα. Η λεβαμιζόλη ήταν αποτελεσματική ενάντια στο μονογενές *Gyrodactylus aculeate* (Athanassoroulou et al., 2009).

### **γ. Ισόποδα / Κωπήποδα**

Το ισόποδο παράσιτο *Ceratomyxa oestroides* Risso, 1826 είναι και το παράσιτο που απασχολεί την συγκεκριμένη εργασία. Το παράσιτο εντοπίζεται στην στοματική και βραγχιακή κοιλότητα του λαβρακιού κυρίως αλλά σε περιοχές με μεγάλη ένταση μπορεί να βρεθεί και σε άλλα καλλιεργούμενα είδη. Σε ξενιστές μικρής ηλικίας μπορεί να προκαλέσει σημαντικές απώλειες, κυρίως από εμπλοκή δευτερογενών μολύνσεων στις περιοχές που έχουν προκληθεί μηχανικοί τραυματισμοί. Όταν το παράσιτο βρίσκεται σε ώριμα στάδια εμφανίζεται κατά ζεύγος (αρσενικό και θηλυκό) εντός της στοματικής κοιλότητας (Εικ 3.1 & 3.2). Η παρουσία του στην στοματική κοιλότητα προκαλεί αλλοιώσεις και υπερπλασίες, καθώς και δυσκολία στην διατροφή των ψαριών, με αποτέλεσμα τη μειωμένη ανάπτυξη του ψαριού (Athanassoroulou et al., 2001a).

Για την καταπολέμηση των ισόποδων σε λαβράκι χρησιμοποιήθηκε η διφλοβενζουρόνη και η δελταμεθρίνη με πολύ καλά αποτελέσματα (Bouboulis et al, 2004). Καθώς και η χρήση ιβερμεκτίνης έχει δώσει πολύ καλά αποτελέσματα (Athanassoroulou et al., 2002). Υπάρχουν όμως αρκετά μειονεκτήματα όσον αφορά στη χρήση της, λόγω παρουσίας κατάλοιπων σε ιστούς των ψαριών και στο περιβάλλον (Roth et al., 1993a).



Το κωπήποδο παράσιτο *Lernanthropus kroyeri* εντοπίζεται στα βράγχια του εκτρεφόμενου λαβρακίου και μπορεί να προκαλέσει απώλειες σε νεαρά ιχθύδια λόγω της ασφυξίας, αλλά και αναιμίας που προκαλεί. Οι απώλειες στα καλλιεργούμενα ψάρια είναι μεγαλύτερες μετά από έντονες βροχοπτώσεις και η παρουσία του παρασίτου σχετίζεται με υποβάθμιση των περιβαλλοντικών συνθηκών (Theohari et al., 1997).

Για την καταπολέμηση του κωπήποδου έχουν χρησιμοποιηθεί οργανοφωσφορικά και υπεροξειδίο του υδρογόνου. Η ιβερμεκτίνη μέσω τροφής σε πειράματα έχει δώσει καλά αποτελέσματα (Athanassopoulou et al., 2002). Επίσης καλά αποτελέσματα μέσω τροφής έχει δώσει και η βενζοϊκή εμαμεκτίνη (Εμπορική ονομασία SLICE).



**Εικ 3.1&3.2 Αρσενικό και θηλυκό ισόποδο εντός της στοματικής κοιλότητας με εμφανή την διαφορά μεγέθους μεταξύ των παρασίτων το ανεπτυγμένο ισόποδο είναι το θηλυκό (προσωπικό αρχείο).**

## 2. Ενδοπαράσιτα - Μυξοσπορίδια

Η κλάση Μυξοσπορίδια (Φύλο Μυξόζωα (Myxozoa)) αποτελείται από μεγάλο αριθμό από είδη και γένη (Lom & Dykova, 1995). Τα περισσότερα από αυτά παρασιτούν στα ψάρια και πολλά είδη είναι πολύ γνωστά παράσιτα των ψαριών γλυκών νερών. Τα τελευταία χρόνια έχουν αυξηθεί οι αναφορές παρουσίας των παρασίτων αυτών και στα θαλασσινά ψάρια. Τα περισσότερα παθογόνα μυξοσπορίδια ανήκουν στα γένη: *Ceratomyxa*, *Myxobolus*, *Myxidium*, *Sphaerospora*, *Enteromyxum*, *Kudoa*, *Tetracapsuloides* και *Sphaerospora*. (Alvarez-Pellitero & Sitja-Bobadilla, 1993)

Από αυτά στο λαβράκι συναντάμε το *Ceratomyxa labracis*, το οποίο συνήθως δεν σχετίζεται με εκδήλωση νόσου, το *Sphaerospora dicentrarchi* το οποίο παρασιτεί στο έντερο και την χοληδόχο κύστη και συνήθως εμφανίζεται με χρόνια μορφή χωρίς εξωτερικά κλινικά συμπτώματα εκδήλωσης νόσου. Το *S. testicularis* έχει βρεθεί μόνο στις γονάδες του αρσενικού λαβρακιού και προκαλεί προβλήματα στους γεννήτορες (Sitja-Bobadilla & Alvarez-Pellitero, 1992).

Για την αντιμετώπιση των ενδοπαρασίτων μυξοσποριδίων έχουν χρησιμοποιηθεί αντικοκκιδιακά φάρμακα, τα οποία βρίσκουν εφαρμογή κυρίως στην πτηνοτροφία. Έχουν αναπτυχθεί πολλά φάρμακα, όπως το αμπρόλιουμ, κλοπιδόλ, αλοφουτζινόνη, νικαρπαζίνη, τετρακυκλίνες και σουλφοναμίδες, αλλά λίγα έχουν χρησιμοποιηθεί στην καταπολέμηση παρασιτώσεων ψαριών (π.χ μικροσπορίδια και μυξοσπορίδια). Τα φάρμακα τα οποία έχουν χρησιμοποιηθεί για την καταπολέμηση των μυξοσποριδίων των ψαριών είναι τα ακόλουθα : φουματζιλίνη, τολτραζουρίλ, αμπρόλιουμ, κινίνη, μετρονιζαδόλη, σαλινομυκίνη, βενζιμιδαζόλες, σουλφοναμίδες (Athanasopoulou et al., 2009).

### 3.3 Συστηματική κατάταξη και περιγραφή του *Ceratothoa oestroides* (Risso,1826).

Τα Αρθρόποδα παράσιτα των ψαριών είναι: Τα Κωπήποδα (Copepoda), τα Βραχίουρα (Brachiura) και τα Ισόποδα (Isopoda). Γύρω στα 450 είδη Ισοπόδων είναι παράσιτα των θαλασσινών και γλυκών νερών (Horton, 2000). Τα Ισόποδα ανήκουν στην Υποκλάση των Μαλακοστράκων (Varvarigos, 2003).

#### Μετάζωα.

Τα μετάζωα είναι πολυκύτταροι οργανισμοί, των οποίων τα κύτταρα διαφοροποιούνται σε ιστούς, και τα όργανα συνίστανται από πολλαπλές στιβάδες (germ layers). Τα παράσιτα των ψαριών περιλαμβάνονται στα εξής Φύλα: Κνιδάρια (Cnidaria), Πλατυέλμινθες (Plathelminthes), Νηματέλμινθες (Nemathelminthes), Ακανθοκέφαλα (Acanthocephala) και Αρθρόποδα (Arthropoda) (Grabda, 1991).

#### Φύλο: Αρθρόποδα (Arthropoda)

Είναι το πολυπληθέστερο φύλο που υπάρχει στην γη, ενώ τα παράσιτα των ψαριών συνιστούν κυρίαρχη ομάδα σε αυτό. Το σώμα τους χωρίζεται σε τμήματα που ονομάζονται μεταμερή, τα οποία περιλαμβάνουν το κεφάλι, το θώρακα και την κοιλιακή χώρα. Το κάθε μεταμερές περιλαμβάνει ένα ζεύγος από αρθρωτά εξαρτήματα. Οι αρθρώσεις είναι λεπτές μεμβράνες η οποίες επιτρέπει την κίνηση. Ο διαχωρισμός των εξαρτημάτων γίνεται μεταξύ, τμημάτων του στόματος και κινητά πόδια. Ολόκληρο το σώμα των αρθροπόδων καλύπτεται από μια ημισκληρη μεμβράνη η οποία σχηματίζει εξωσκελετό Grabda (1991),.

Πολλά από τα αρθρόποδα παράσιτα των ψαριών είναι εξαιρετικής σημασίας αφού προκαλούν σοβαρές αλλοιώσεις στην σάρκα των ψαριών και επηρεάζουν την επιβίωσή τους (Woo, 1995).

### Κλάση: Καρκινοειδή (Crustacean)

Είναι υδρόβιοι οργανισμοί βασικό στοιχείο την παρουσία οργάνων αναπνοής που μοιάζουν με βράγχια. Μορφολογικά, οι διάφορες ομάδες των καρκινοειδών παρουσιάζουν σημαντικές διαφορές μεταξύ τους (Schaerclaus, 1992).

Στα περισσότερα καρκινοειδή υπάρχει διαχωρισμός των δύο φύλων. Σε κάποιες παρασιτικές μορφές, όπως τα ισόποδα εμφανίζεται και ερμαφροδιτισμός. Η παρθενογενή αναπαραγωγή είναι επίσης κοινή στα καρκινοειδή. Παρόλο που στις περισσότερες περιπτώσεις υπάρχουν πολύ μικρές διαφορές ανάμεσα στα δύο φύλα, σε πολλές παρασιτικές μορφές καρκινοειδών παρουσιάζονται πολύ μεγάλες διαφορές ανάμεσα στα φύλα. Συνήθως τα θηλυκά αναπτύσσονται πολλή περισσότερο από τα αρσενικά όσον αφορά το μέγεθος. Σε κάποιες περιπτώσεις τα θηλυκά άτομα δεν μπορούν να αναγνωριστούν ως καρκινοειδή. (Schaerclaus, 1992).

### Υποκλάση: Μαλακόστρακα

Σε αυτή την κλάση ανήκουν τα εδώδιμα και μεγάλα καρκινοειδή. Διαβιώνουν κυρίως σε υδάτινο περιβάλλον εκτός από κάποια αμφίποδα, ισόποδα και δεκάποδα που διαβιώνουν στη ξηρά. Χαρακτηρίζονται από καθορισμένο αριθμό μεταμερών (6 στο κεφάλι, 8 στο θώρακα, 6 στην κοιλιά και τέλσον). Ο ναύπλιος υπάρχει ελεύθερος ως προνυμφικό στάδιο μόνο σε μερικά είδη. Η κλάση αυτή περιλαμβάνει περίπου 23.000 είδη και είναι η μεγαλύτερη αριθμητικά κλάση των καρκινοειδών. Διακρίνεται σε έξι υπερτάξεις : Leptostraca, Hoplocarida, Syncarida, Eucarida, Peracarida, με κυριότερους αντιπροσώπους των τάξεων Mysidacea, Isopoda, Amphipoda.

### Υπέρταξη: Paracnida

Βασικό γνώρισμα την κλάσης είναι ότι πάντα τα πρώτα θωρακικά μεταμερή συγχωνεύονται με το κεφάλι, ενώ τα 4 τελευταία θωρακικά μεταμερή είναι ανεξάρτητα ακόμη και όταν υπάρχει κεφαλοθώρακας. Ένα ακόμα χαρακτηριστικό της ομάδας αυτής είναι η εμφάνιση ενός θύλακα επώασης των αβγών στα θηλυκά, ο οποίος σχηματίζεται από ειδικά πλακοειδή εξαρτήματα (ωοστεγίτες) σε κάποια θωρακικά τόξα. Οι πιο πρωτόγονες μορφές είναι μικροφάγα, ενώ τα πιο εξελιγμένα τείνουν να εμφανίσουν άμεσο τρόπο θρέψης. Διακρίνονται στα ισόποδα, και στα αμφίποδα. Και οι δύο ομάδες ζούν τόσο στα γλυκά όσο και στα θαλάσσια νερά, αλλά τα ισόποδα περιλαμβάνουν και πολλά χερσόβια είδη, καθώς και εξωπαράσιτα ψαριών (πχ θαλάσσιες ψείρες).

## Τάξη: Ισόποδα (Isopod)

Υπάρχουν περίπου 400 είδη, είναι παράσιτα ιχθύων θαλάσσιων και γλυκών υδάτων και χωρίζονται σε δύο κατηγορίες με εμφανείς διαφορές τόσο μορφολογικές όσο και οικολογικές. Τα ριπιδοφόρα (Flabellifera), τα οποία έχουν τυπικό σχήμα ισόποδου με κεφαλικό τμήμα, επτά θωρακικά τμήματα (pereon) και έξι κοιλιακά τμήματα (pleon) και επτά ραχιαία (Εικ. 3.1). Το τελευταίο κοιλιακό τμήμα είναι εκτεταμένο και φέρει δύο ζεύγη κολυμβητικών ποδών τα οποία ονομάζονται ουροπόδια, και στο σύνολο τους φέρουν επτά ζεύγη (Εικ. 3.2). Στους ιχθείς έχουν βρεθεί εγκατεστημένα στο δέρμα ή στην στοματική κοιλότητα, της οποίας καλύπτουν ένα μεγάλο μέρος σε πολλές περιπτώσεις. Συγκεκριμένα είδη των ριπιδοφόρων πλησιάζουν το μέγεθος των 6cm και έτσι ανήκουν στα πιο εντυπωσιακά εκτοπαράσιτα των ιχθύων. Η πυκνότητα των ειδών τους αυξάνει από τις ψυχρές στις θερμές περιοχές.

Η δεύτερη κατηγορία Ισόποδων, τα Γναθόμορφα (Gnathiformes) περιλαμβάνει περίπου 500 είδη. Οι προνύμφες, τα ενήλικα αρσενικά και θηλυκά άτομα διαφέρουν εμφανώς μεταξύ τους μορφολογικά. Μόνο η προνύμφη είναι παρασιτική και ζει στις γαστρικές κοιλότητες των θαλάσσιων ανεμώνων και στα βράγχια ή το δέρμα των ιχθύων. Τα ενήλικα στάδια ζουν σε σωλήνες ή σε λασπώδη βυθό όπου παράγουν μια νέα γενιά προνυμφών, η οποία μετά από μια σύντομη πλαγκτονική φάση, «επιτίθεται» σε νέους ξενιστές. Τα Ισόποδα που αναφέρονται στο λαβράκι είναι (Athanasopoulou *et al.*, 2001; Christofiloyannis, 1993; Papoutsoglou *et al.*, 1996):

- *Ceratothoa oestroides*
- *Nerocila orbigny*

- *Meinertia* sp
- *Anilocra physoides*

### Οικογένεια: Cymothoidae

Στις οικογένειες Cymothoidae και Anilocridae, που ο αριθμός των ειδών τους φτάνει τα 200, συμπεριλαμβάνονται και τα είδη παρασίτων, τα οποία παραμένουν στο σώμα των ψαριών καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής τους. Το κυριότερο είδος που ενδιαφέρει τις Ελληνικές θαλάσσιες εκτροφές ιχθύων είναι το είδος *Ceratothoa oestroides*. Υπάρχουν βέβαια και άλλα Ισόποδα παράσιτα (Flabellifera-Cymothoidae, Anilocridae) που έχουν αναφερθεί ότι προσβάλλουν το εκτρεφόμενο λαβράκι και τις τσιπούρες όπως *Anilocra physodes*, *Nerocila orbigny*, *Emetha audouini*, *Ceratothoa parallela*. Στην πράξη, το όνομα *Anilocra* χρησιμοποιείται από τους παραγωγούς για όλα τα Ισόποδο παράσιτα που προσβάλλει τα εκτρεφόμενα ψάρια (Papapanagiotou & Trilles, 2001, Papapanagiotou *et al.*, 1999, Athanassopoulou *et al.*, 2001).

### Γένος: Ceratothoa

Αποτελεί αντιπροσωπευτικό γένος της οικογένειας και είναι το πιο σύνηθες εμφανιζόμενο ισόποδο στο καλλιεργούμενο λαβράκι. Όλα τα είδη του γένους παρασιτούν στο δέρμα και την στοματική κοιλότητα των θαλασσινών τελεόστεων ιχθύων, κυρίως των θερμότερων υδάτων. Τα μέλη της οικογένειας είναι καλά προσαρμοσμένα στο να προσκολλώνται στον ξενιστή χρησιμοποιώντας ως μέσο συγκράτησης τα επτά ζεύγη εξαρτημάτων της κοιλιακής τους επιφάνειας (Risso, 1826).

### Είδος: Ceratothoa oestroides Risso, 1826

Τα άτομα του είδους *Ceratothoa oestroides* είναι πρωτόανδρα ερμαφρόδιτα,

δηλαδή τα άτομα αναπτύσσονται και λειτουργούν ως αρσενικά αρχικά και στην συνέχεια μπορεί να μετατραπούν σε θηλυκό. Ο διαχωρισμός του φύλου καθορίζεται μετά το δεύτερο στάδιο της προνύμφης (rulli II), όταν πλέον οι λάρβες έχουν εγκαταλείψει το γεννητικό σάκο και έχουν εγκατασταθεί στον ξενιστή. Από την στιγμή που το παράσιτο βρίσκεται στο στάδιο rulli II έχει κολυμβητική ικανότητα μπορεί να επιμολύνει έναν ξενιστή για έπτα ημέρες περίπου στους 22°C. Κατά τη διάρκεια αυτής της περιόδου, ακόμα και στην περίπτωση στην οποία ο ξενιστής πεθαίνει, οι προνύμφες των Ισοπόδων παρασίτων αφήνουν αμέσως το νεκρό ψάρι και είναι ακόμα ικανές για άμεση αναζήτηση άλλου ξενιστή. Η παρασίτωση από Ισόποδα είναι από τις πιο κοινές των Καρκινοειδών σε ελεύθερης διαβίωσης τροπικά θαλασσινά ψάρια. Εμφανίζεται λιγότερο σε κρύα θαλασσινά νερά και σπάνια στα πελαγικά ψάρια και στα ψάρια του γλυκού νερού. Το ποσοστό προσβολής των Ισοπόδων παρασίτων, όπως και όλων των άλλων παρασίτων, σχετίζεται περισσότερο με την οικολογία των ξενιστών τους

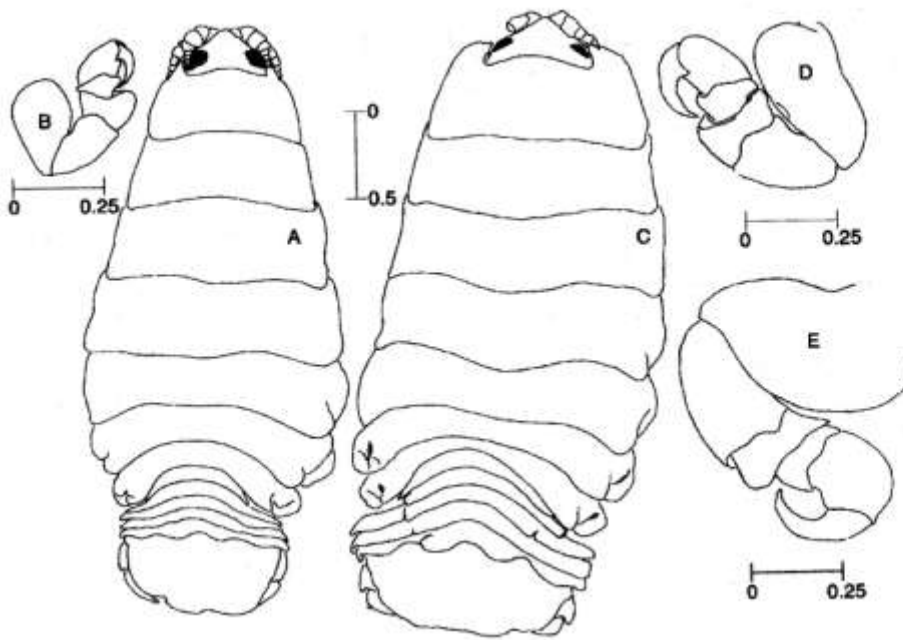
Τα θαλασσινά ψάρια των ακτών προσβάλλονται πιο συχνά, σε αντίθεση με τα βενθικά και πελαγικά ψάρια, τα οποία προσβάλλονται σπανιότερα. Η εντατική ιχθυοκαλλιέργεια στις ακτές της Μεσογείου είναι ένα σχεδόν ιδανικό περιβάλλον που ευνοεί την παρουσία των Ισοπόδων παρασίτων. Έτσι, η προσβολή της εκτρεφόμενης τσιπούρας (*Sparus aurata*), αλλά κυρίως του λαβρακιού (*Dicentrarchus labrax*) από ισόποδα παράσιτα, αποτελεί ένα συχνό πρόβλημα στη Μεσόγειο. Η *Ceratothoa oestroides* είναι το πιο κοινό από όλα τα Ισόποδα παράσιτα και προκαλεί σοβαρές καταστροφές στα εκτρεφόμενα ψάρια. Στα ελεύθερης διαβίωσης ψάρια, οι κοινοί ξενιστές των Ισοπόδων παρασίτων είναι οι κέφαλοι (*Mugil* sp, *Lisa* sp), οι γόπες (*Boops boops*), οι σάλπες (*Boops salpa*), οι μαρμύρες (*Lithognathus mormyrus*) και οι σαργοί (*Diplodus sargus*).

Αυτά τα είδη ψαριών βρίσκονται σε αφθονία γύρω από τους κλωβούς της τσιπούρας (*Sparus aurata*) και του λαβρακιού (*Dicentrarchus labrax*), τρέφονται από την περισσευούμενη τροφή τους και αποτελούν παθητικούς φορείς για τη μεταβίβαση

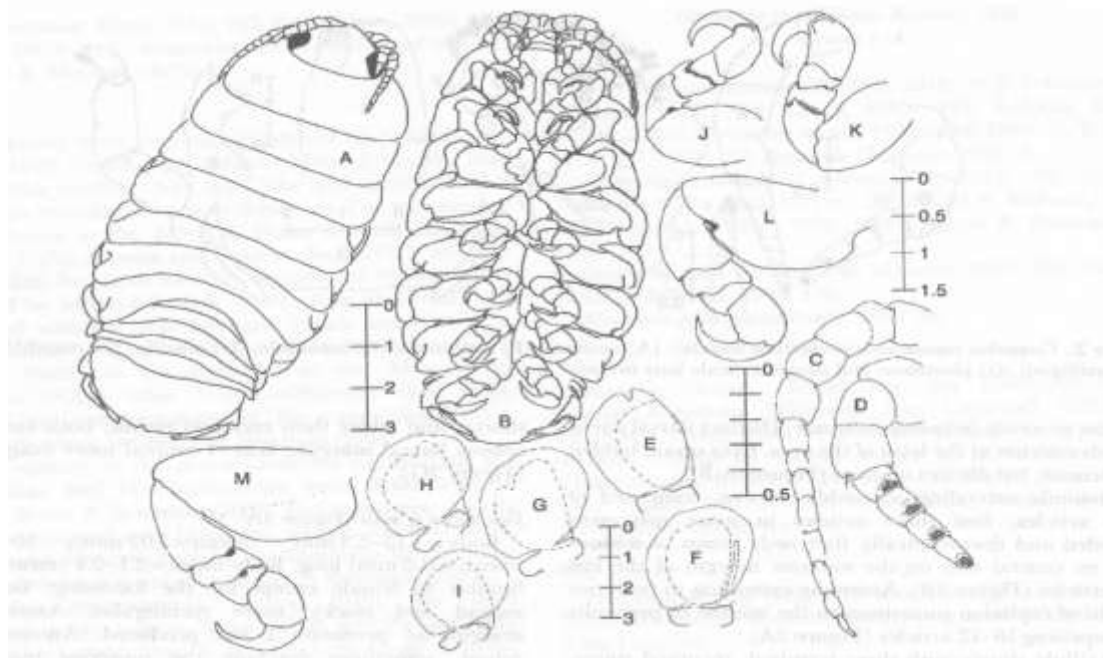


των παρασίτων στα εκτρεφόμενα. Μεγάλης έντασης μολύνσεις από τις προνύμφες των παρασίτων μπορούν να θανατώσουν τα μικρότερα ψάρια καθώς αναζητούν μόνιμη εγκατάσταση. Οι τραυματισμένοι ιστοί συχνά προσβάλλονται από δευτερογενείς μολύνσεις, όπως μολύνσεις με *Aeromonas* sp, *Flexibacter* sp, *Vibrio* sp και το γεγονός αυτό μπορεί να οδηγήσει σε έντονη θνησιμότητα. Στα νεαρά ιχθύδια, η συνολική θνησιμότητα λόγω παρασίτωσης από προνύμφες του δεύτερου σταδίου (pulli II) μπορεί να ξεπεράσει και το 15% ακόμα και χωρίς δευτερογενή βακτηριακή επιπλοκή. Η προσβολή από Ισόποδα παράσιτα επιβεβαιώνεται με απλή εξέταση ή μετά από ιστολογική παρατήρηση των παρασίτων στο δέρμα, το στόμα ή στη βραγχιακή κοιλότητα του ψαριού. Η πρόληψη συνίσταται κυρίως στη λήψη διαχειριστικών μέτρων στους κλωβούς (Athanassoroulou *et al.*, 2006).

<b>ΦΥΛΟ</b>	ARTHROPODA
<b>ΥΠΟΦΥΛΟ</b>	MANDIBULATA
<b>ΚΛΑΣΗ</b>	CRUSTACEA
<b>ΥΠΟΚΛΑΣΗ</b>	MALACOSTRACA
<b>ΥΠΕΡΤΑΞΗ</b>	PARACANIDA
<b>ΤΑΞΗ</b>	ISOPODA
<b>ΥΠΟΤΑΞΗ</b>	FLABELLIFERA
<b>ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ</b>	CYMOTHOIDAE
<b>ΓΕΝΟΣ</b>	<i>CARATOTHOA</i>
<b>ΕΙΔΟΣ</b>	<i>CERATOTHOA OESTROIDES</i>



Εικ. 3.1 (A) *Ceratothoa oestroides* διακρίνονται τα επτά μέρη του παρασίτου, (B) εμπρόσθιο πόδι (C) *Ceratothoa italica*, (D) εμπρόσθιο πόδι, (E) κολυμβητικό πόδι ή ουροπόδιο. (T. Horton).



Εικ. 3.2 (A) *Ceratothoa steindachneri* άνω όψη του παρασίτου, (B) κάτω όψη του παράσιτου (C,D) κεραίες,(E-I) pereopods, (J-M) pleopods. (T. Horton).

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΕΤΑΡΤΟ

### ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ – ΔΙΑΓΝΩΣΗ και ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΤΟΥ CERATOTHOA OESTROIDES (RISSO, 1826) ΣΤΟ ΛΑΒΡΑΚΙ

#### 4.1 ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ ΚΑΙ ΔΙΑΓΝΩΣΗ

Η παρουσία του Ισόποδο *Ceratothoa oestroides* αποτελεί σοβαρό πρόβλημα για την καλλιέργεια του λαβρακιού, αλλά μπορεί να προσβάλλεται και την τσιπούρα σπανιότερα. Μεγάλη ένταση παρουσιάζεται στην περιοχή του Αιγαίου Πελάγους, στο Βόρειο και Νότιο Ευβοϊκό κόλπο, καθώς και κατά μήκος των Τουρκικών ακτών. (Athanasopoulou *et al.*, 2001).

Οι προνύμφες του δεύτερου σταδίου προσβάλουν κυρίως νεαρά ψάρια βάρους 5-20gr, στα οποία προκαλούν σοβαρές αλλοιώσεις στο δέρμα γύρω από το κεφάλι, τα μάτια και στο βραγχιακό επιθήλιο, προκαλώντας πρόσφορο έδαφος για δημιουργία δευτερογενών μολύνσεων (*Aeromonas* sp, *Flexibacter* sp, *Vibrio* sp). Η αιματοφαγία και η μηχανική βλάβη που οφείλεται στα άγκιστρά τους, προκαλούν φλεγμονές και νεκρώσεις στο κεφάλι, το μάτι και τα βράγχια. Τα προσβεβλημένα ψάρια παρουσιάζουν συνήθως αναπνευστικά προβλήματα, απάθεια και ανορεξία.

Στα νεαρά ιχθύδια η θνησιμότητα από παρασίτωση των προνυμφών του δεύτερου σταδίου μπορεί να ξεπεράσει και το 15% ακόμα και αν δεν υπάρχει δευτερογενής βακτηριακή επιπλοκή (Varvarigos, 2003).

Τα ενήλικα Ισόποδα είναι αιματοφάγα και προκαλούν αναιμία στους ξενιστές. Τα προσβεβλημένα ψάρια έχουν σημαντικά χαμηλό αριθμό ερυθροκυττάρων, όπως επίσης και αιματοκρίτη και χαμηλά επίπεδα αιμογλοβίνης. Ο αριθμός των λευκοκυττάρων είναι αυξημένος, που δείχνει την επίδραση των παρασίτων στο ανοσοποιητικό σύστημα των προσβεβλημένων ψαριών. Σε αντίθεση, τα εγκατεστημένα ενήλικα παράσιτα μπορεί να προκαλέσουν αξιοσημείωτες μηχανικές βλάβες στο στόμα λόγω του τρόπου διατροφής τους. Το μεγάλο τους μέγεθος (μεγαλύτερο των 6cm σε μήκος) μπορεί να προκαλέσει ατροφία στη γλώσσα, δυσπλασίες στα δόντια και χαλάρωση των χόνδρινων ιστών, οδηγώντας σε σχηματισμό δυσμορφικού εξογκώματος, τύπου σάκου, στην κάτω σιαγόνα. Η συνεχής παρουσία των μεγάλων ενηλίκων παρασίτων στη στοματική κοιλότητα επεμβαίνει στη θρέψη των ψαριών και προκαλεί χρόνιο stress, με αποτέλεσμα τη βραδεία ανάπτυξη και την προδιάθεση για βακτηριακές και ενδοπαρασιτικές προσβολές.

Η προσβολή από Ισόποδα παράσιτα επιβεβαιώνεται με απλή εξέταση ή μετά από ιστολογική παρατήρηση των παρασίτων στο δέρμα, το στόμα, ή στη βραγχιακή κοιλότητα του ψαριού. Η φλεγμονή είναι χαρακτηριστικά εντοπισμένη δίπλα στα μέρη του στόματος που παρασιτούνται. Τα ενήλικα θηλυκά του είδους *Renocila heterozota* προξενούν ζημιές στα λέπια, την επιδερμίδα, το δέρμα και τους μύς (Bowman & Marischal, 1968). Τα ενήλικα θηλυκά του είδους *Anilocra physodes* έχει αναφερθεί ότι μπορεί να προκαλέσουν την απόπτωση λεπιών, την καταστροφή των σιβάδων του δέρματος και την συλλογή ερυθροκυττάρων, εοσινοφίλων και λεμφοκυττάρων στην επιδερμίδα και τα επιφανειακά στρώματα των μυών στο είδος *Maena maena* (Romestand *et al.*, 1977).

Οι Romestand & Thrilles (1977a) περιέγραψαν τις ιστολογικές αλλαγές που ήταν συνδεδεμένες με τις αλλοιώσεις της γλώσσας στη γόπα (*Boops boops*) που είναι προσβεβλημένη από το είδος *Ceratothoa oestroides*, συμπεριλαμβανομένου και του σχηματισμού οστεοκλαστών και κοκκιωμάτων.

## 4.2 ΠΡΟΛΗΨΗ ΚΑΙ ΘΕΡΑΠΕΙΑ

Η πρόληψη συνίσταται κυρίως στη λήψη διαχειριστικών μέτρων στους κλωβούς. Πρέπει να αποφεύγονται υπερβολικά μεγάλες ιχθυοπυκνότητες στα νεαρά ψάρια. Συχνά, σε περιπτώσεις μεγάλων παρασιτώσεων και θνησιμοτήτων, μόνο η μείωση της πυκνότητας των ψαριών είναι αρκετή ώστε να θεραπευτούν τα ψάρια.

Επιπρόσθετα μέτρα πρόληψης μπορεί να είναι:

- Αποφυγή εκτροφής νεαρών ψαριών (γόνου) κοντά σε ενήλικα λαβράκια, που είναι προσβεβλημένα κυρίως από ενήλικα παράσιτα σε αναπαραγωγική φάση.
- Προτίμηση μεγάλων βαθών με επαρκή κυκλοφορία των υδάτων, τα οποία βοηθούν στη διασκόρπιση των νεαρών παρασίτων, τα αποπροσανατολίζουν και τα κατευθύνουν μακριά από τους κλωβούς.
- Κατά τη διάρκεια εμβολιασμού, καταμέτρησης και ζυγίσματος των ψαριών απομάκρυνση τυχόν παρασίτων από τη στοματική και βραγχιακή κοιλότητα και από το δέρμα με τη βοήθεια λαβίδων.
- Γνωρίζοντας ότι η ψείρα έχει την τάση να επιρεάζεται και να ακολουθεί το φώς, χρήση προβολέων, οι οποίοι καταυθύνουν τις ψείρες σε συγκεκριμένα σημεία στα οποία είναι τοποθετημένες παγίδες, με αποτέλεσμα τον εγκλωβισμό τους σε αυτές, τη συλλογή και την απομάκρυνσή τους.

Είναι αξιοσημείωτο το γεγονός ότι στις μονάδες εκτροφής λαβρακιών που εκτελούνται εμβολιασμοί ενέσιμα, είναι δυνατή η απομάκρυνση των ενηλίκων παρασίτων από τα αναισθησιοποιημένα ψάρια με τη βοήθεια λαβίδων. Ως εκ τούτου, την επόμενη περίοδο, υπάρχει μια σχετική μείωση του αριθμού των προνυμφών των Ισοπόδων παρασίτων και των ζημιών που προκαλούν. Επιπλέον, το αναισθητικό που χρησιμοποιείται πριν από τον εμβολιασμό φαίνεται να επηρεάζει τα ενήλικα Ισόποδα τα οποία αναισθητοποιούνται και απομακρύνονται από τον ξενιστή.

Η αντιμετώπιση των παρασιτώσεων από τις προνύμφες των Ισοπόδων παρασίτων έχει δοκιμαστεί με αξιοσημείωτη επιτυχία με χρήση φορμόλης για μια ώρα, σε συγκεντρώσεις περίπου 150 ppm, αφού προηγουμένως τα ψάρια εγκλωβιστούν σε ένα πλαστικό σάκο με συνεχή οξυγόνωση. Επαναμόλυνση από προνύμφες που βρίσκονται στο τελευταίο στάδιο πριν την ενηλικίωση μπορεί να συμβεί αμέσως μετά τη θεραπεία, εκτός αν οι ιχθυοπυκνότητες μειωθούν.

Θεραπείες με μπάνια με υπεροξειδίο του υδρογόνου, οργανοφωσφορικά (*Aquaguard<sup>TM</sup>*) ή με πυρεθρίνες, όπως δελταμεθρίνη (*Alphamax<sup>TM</sup>*) ή κυπερμεθρίνη (*Excis<sup>TM</sup>*, *Betamax<sup>TM</sup>*), ουσίες που χρησιμοποιούνται κατά της ψείρας του σολομού (*Lepeophtheirus salmonis*) δεν εφαρμόζονται νόμιμα στη Μεσόγειο. Πειράματα του εργαστηρίου με δελταμεθρίνη απέδειξαν ότι η ελάχιστη δόση στο πεδίο, που σκοτώνει τα ενήλικα άτομα της *Ceratothoa oestroides* σε 30 λεπτά, είναι 0,05mg/lit .

Πειραματικά δεδομένα από τον κατασκευαστή του *Alphamax<sup>TM</sup>* σε λαβράκι εκτροφής, απέδειξαν ότι η δελταμεθρίνη στα 3ppb για 30 λεπτά ήταν αποτελεσματική και ασφαλής για τα μικρά λαβράκια (< 10gr) εναντίον των νεαρών σταδίων των Ισοπόδων. Τα μεγαλύτερα ψάρια, που προσβάλλονται από ενήλικα παράσιτα της *Ceratothoa oestroides* ήταν αποτελεσματικά και ασφαλή χρησιμοποιώντας 7,5ppb δελταμεθρίνης για 30 λεπτά (Bouboulis *et al.*, 2004).

Είναι απαραίτητη, επομένως, μελλοντική έρευνα για να συλλεχθούν πληροφορίες σχετικά με αυτά τα διαθέσιμα στο εμπόριο, νόμιμα σκευάσματα, όσον αφορά στη μεθοδολογία εφαρμογής τους, την αποτελεσματικότητά τους στα ενήλικα Ισόποδα, καθώς επίσης και τις προνύμφες, την τοξικότητά τους στα ψάρια, τις περιβαλλοντικές επιπτώσεις ή την πιθανή απόκτηση αντίστασης από τα Ισόποδα παράσιτα. Η αντίσταση έχει καταδειχθεί για να αναπτυχθεί στην περίπτωση της ψείρας του σολομού (J.P.G. Tooney & A.R. Lyndon, 2000).

Σύμφωνα με τους J.P.G. Tooney & A.R. Lyndon, (2000), εναντίον της ψείρας του σολομού, οι συνήθεις δόσεις για μπάνια χρησιμοποιώντας μουσαμά σε θερμοκρασία νερού 10°C, είναι οι παρακάτω:

- Hydrogen peroxide →1500ppm για 20min
- Dichlorvos peroxide →1ppm για 60min
- Cypermethrin →1ppb για 60min

### 4.3 Ανασκόπηση θεραπειών.

Η χρήση χημικών σχημάτων για την αντιμετώπιση παρασιτικών προσβολών σε παραγωγικά ψάρια , εφαρμόστηκε για πρώτη φορά στα τέλη της δεκαετίας του 70, για την αντιμετώπιση της ψείρας (*Lepeophtheirus salmonis*) του σολομού (*Salmon salar*). Η ψείρα του σολομού είναι ένα κωπήποδο παράσιτο, το οποίο παρασιτεί στο δέρμα του . Σε αυτό το κεφάλαιο της εργασίας αναφέρονται και ταξινομούνται τα χημικά που έχουν κατά καιρούς χρησιμοποιηθεί στην καλλιέργεια του σολομού για την αντιμετώπιση του παράσιτου, καθώς η Cypermethrin που είναι η δραστική ουσία του προϊόντος Excis συγκαταλέγεται σε αυτά.

- **Οργανοφωσφορικά (Organophosphates)**

Το διχλωροβόν ήταν το σύνθετο προϊόν που χρησιμοποιούταν για μπάνια στον Σκοτία και την Ιρλανδία από το τέλος του 1970, ως και τις αρχές του 90. Στην Νορβηγία η methrifonated (τριχλωροβόν) κυριάρχησε ως τα μέσα του 1980, όπου και αντικαταστάθηκε από το διχλωροβόν. Στις αρχές του 90 το διχλωροβόν αντικαταστάθηκε στην Ευρώπη από το αζαμεθρίφως που κρίθηκε πιο ασφαλής, και από τα μέσα του 90 έχει άδεια χρήσης για αυτόν τον σκοπό στον Καναδά.



- **Πυρεθροειδί (Pyrethroids)**

Τα άνθη του χρυσάνθεμου περιέχουν φυσικές πυρεθρίνες, οι οποίες εισήχθησαν στην θεραπεία με λουτρό για την ψείρα του σολομού το 1989. Στα μέσα του 90 αντικαταστάθηκαν από την κυπερμεθρίνη (Εικ 4.1) που είναι συνθετικό πυρεθροειδή, στην Ευρώπη και στην ΗΠΑ αλλά όχι στον Καναδά. Επίσης στην Νορβηγία έχει χρησιμοποιηθεί συχνά και η δελταμεθρίνη τα τελευταία χρόνια.

- **Αβερμεκτίνες (Avermectins)**

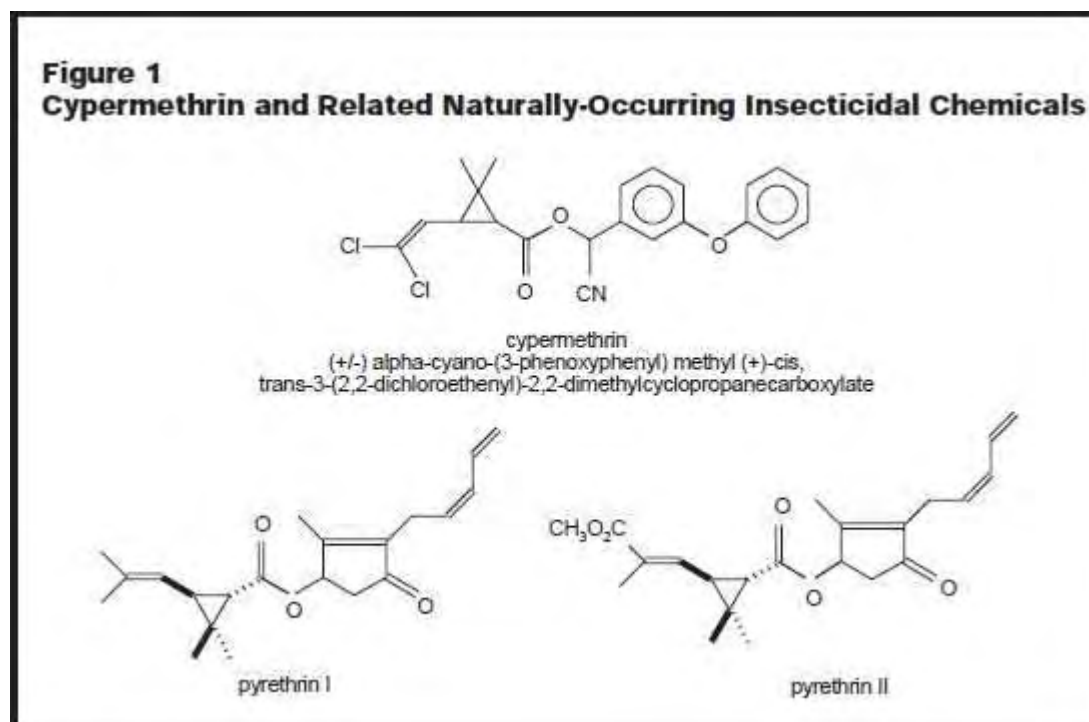
Η ιβερμεκτίνη έχει εξετασθεί ως θεραπεία για την αντιμετώπιση της ψείρας του σολομού, με χρήση μέσω της τροφής από τα τέλη του 1980. Έκτοτε έχει χρησιμοποιηθεί σε κάποιο βαθμό στην Ιρλανδία, την Σκωτία και τον Καναδά. Ωστόσο δεν έχει πλήρη άδεια για χρήση. Στο τέλος του 90 η βενζοϊκή εμαμεκτίνη, μια άλλη αβερμεκτίνη εισήχθη και χρησιμοποιείται ως σήμερα για στην Ευρώπη για την αντιμετώπιση της ψείρας του σολομού.

- **Συνθετικές χιτίνες (Chitin synthesis inhibitors)**

Οι βενζουορίες και τεφλουβενζουρόλες έχουν περιορισμένη χρήση μέσω των τροφών στην αντιμετώπιση της ψείρας του σολομού στην Νορβηγία, η τελευταία μάλιστα συστήνεται επίσης και στην Σκωτία αλλά δεν έχουν ακόμη χρησιμοποιηθεί για εμπορικούς σκοπούς.

- Τοπικά απολυμαντικά (Topical disinfectants)

Η φορμαλδεΰδη ήταν η πρώτη χημική ουσία που χρησιμοποιήθηκε ως απολυμαντικό κατά της ψείρας του σολομού. Στην συνέχεια (στις αρχές του 1990) ακολούθησε το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) στην Νορβηγία. Η παρούσα των παραπάνω απολυμαντικών οφείλεται εν μέρη στην μειωμένη αποτελεσματικότητα των οργανοφωσφωρικών. Εν συνεχεία τα παραπάνω απολυμαντικά εγκρίθηκαν στην Σκοτία, Ιρλανδία και Βόρεια Αμερική. (Denholm I. *et al.*, 2002).



Εικ 4.1 Απεικόνιση της χημικής δομής της κυπερμεθρίνης. (Journal of Pesticide Reform 1996 vol.16, no.2)

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΕΜΠΤΟ

### ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

#### 5.1 Εισαγωγή

Στην παρούσα εργασία πραγματοποιήθηκε μελέτη της αποτελεσματικότητας και της τοξικότητας (LC<sub>50</sub>) του εμπορικού σκευάσματος EXCIS (Cypermethrin 10 mg/ml) (Εικ. 5.1), το οποίο χορηγήθηκε σε λαβράκι για την καταπολέμηση της παρασίτωσης από το ισόποδο *Ceratothoa oestroides*. Για την διεξαγωγή του πειράματος επιλέχθηκαν πέντε δόσεις, από την προτιμώμενη δόση (0,5 ml/m<sup>3</sup>) του σκευάσματος για την καταπολέμηση του κωπήποδου παρασίτου ψείρα του σολομού (*Salmon salar*), και διπλασιάζοντας την οι επόμενες. Για τον έλεγχο τοξικότητας του σκευάσματος επιλέχθηκε η χρήση του πρωτόκολλου LC<sub>50</sub>, (50% Lethal Concentration). Ο μολυσμένος με το ισόποδο παράσιτο πληθυσμός συλλέχθηκε (700 λαβράκια) από εμπορική μονάδα πάχυνσης στην θαλάσσια περιοχή του Ιονίου. Για να επιτευχθεί η συλλογή πληθυσμού με 100% προσβολή από το παράσιτο πραγματοποιήθηκε διαλογή. Τα ψάρια αφότου διαλέχθηκαν μεταφερθήκαν σε χερσαίες εγκαταστάσεις και τοποθετήθηκαν σε μια δεξαμενή των είκοσι κυβικών, όπου και παρέμειναν για 20 ημέρες για να εγκλιματιστούν. Σε αυτό το διάστημα η παροχή νερού ήταν σταθερή, καθώς και η θερμοκρασία, λόγω του ότι το νερό προέρχονταν από γεώτρηση. Μετά από τις ημέρες που διήρκησε ο εγκλιματισμός του πληθυσμού τα ψάρια τοποθετούταν σε μικρότερες δεξαμενές όπου εκεί μετά από 24 ώρες τους χορηγήθηκε η αντιπαρασιτική ουσία σε μορφή λουτρού για μία ώρα, και σε χρόνιο λουτρό για τον έλεγχο τοξικότητας, όπου παρέμεναν για τέσσερα εικοσιτετράωρα (96 ώρες).

## 5.2 Είδος και προέλευση ψαριών

Λαβράκια μέσου βάρους 25 gr περίπου, συλλέχθηκαν από εμπορική μονάδα πάχυνσης πλωτών ιχθυοκλωβών της περιοχής του Ιονίου, από την νήσο Δραγονέρα. Τα ψάρια που επιλέχθηκαν προέρχονταν από κλωβό που παρουσίαζε μεγάλο ποσοστό προσβολής από το ισόποδο παράσιτο (περίπου 35%), πραγματοποιήθηκε διαλογή με χρήση σάκου εμβολιασμού και ελαφριά αναισθησία (χαλάρωση) του πληθυσμού με αναισθητικό *phenoxyethanol* για να επιλεγθούν μόνο προσβεβλημένα άτομα από το παράσιτο (Εικ 5.2). Κατόπιν ακολούθησε μεταφορά σε χερσαίες εγκαταστάσεις της ευρύτερης περιοχής με ειδικές δεξαμενές μεταφοράς (Εικ 5.3) και τοποθετήθηκαν σε μία πολυεστερική κυλινδρική δεξαμενή(Εικ 5.4). Ακολούθησε ο εγκλιματισμός των ψαριών στην δεξαμενή, διάρκειας είκοσι ημερών.

## 5.3 Πειραματικές δεξαμενές

Για την διεξαγωγή του πειράματος χρησιμοποιήθηκε μία κυλινδρική δεξαμενή 20 m<sup>3</sup> υποδοχής και εγκλιματισμού του πληθυσμού, έξι δεξαμενές των 300 lit για την διεξαγωγή των λουτρών μιας ώρας (Εικ. 5.5), με τις πέντε δόσεις και μια ως μάρτυρας, καθώς και οκτώ ενυδρεία όγκου 20 lit το ένα, όπου και πραγματοποιήθηκαν τα χρόνια λουτρά για τον έλεγχο τοξικότητας (Εικ. 5.6). Στην δεξαμενή 20 m<sup>3</sup> υπήρχε σταθερή παροχή νερού γεώτρησης με ροή 20 lit/min. Η θερμοκρασία του νερού της δεξαμενής κυμάνθηκε από 20 έως 21 °C. Η αλατότητα ήταν σταθερή 31‰ και το pH κυμάνθηκε από 7,2 έως 7,8. Οι δεξαμενή ήταν προφυλαγμένη από σκέπαστρο.

Οι δεξαμενές των 300 lit είχαν την ίδια στάθμη νερού, παροχή οξυγόνου που κυμάνθηκε από 6,2 έως 8,5 ppm, αλατότητα σταθερή 31‰, το pH κυμάνθηκε από 7,2 έως 8,4 και η θερμοκρασία νερού από 21 έως 20 °C. Η δεξαμενή 6 χρησιμοποιήθηκε ως μάρτυρας, στις υπόλοιπες χορηγήθηκε το αντιπαρασιτικό με μορφή λουτρού μίας ώρας σε διαφορετικές δοσολογίες. Το πείραμα επαναλήφθηκε, με σκοπό την μέγιστη αξιοπιστία των αποτελεσμάτων. Σε όλες τις δεξαμενές τοποθετήθηκαν από είκοσι ψάρια με ποσοστό παρουσίας του παρασίτου 100%. Κατά την διάρκεια του πειράματος δεν υπήρχε παροχή νερού.

Τα ενυδρεία όπου χρησιμοποιήθηκαν για την διεξαγωγή του πειράματος, τοξικότητας είχαν όλα την ίδια στάθμη νερού, παροχή οξυγόνου που κυμάνθηκε από 6,8 έως 11 ppm, αλατότητα σταθερή 31‰, το pH κυμάνθηκε από 7,4 έως 8,6 και η θερμοκρασία νερού από 21 έως 18,5 °C. Το ενυδρείο 8 χρησιμοποιήθηκε ως μάρτυρας, στις άλλα επτά ενυδρεία χορηγήθηκε το αντιπαρασιτικό με μορφή συνεχούς λουτρού σε διαφορετικές δοσολογίες (λουτρό 96 ωρών). Το πείραμα πραγματοποιήθηκε και με χρήση υγιή ψαριών, αλλά και με ψάρια 100% μολυσμένα από το παράσιτο, και τα δύο πειράματα επαναλήφθηκαν, με σκοπό την μέγιστη αξιοπιστία των αποτελεσμάτων. Κατά την διάρκεια του πειράματος δεν υπήρχε παροχή νερού.



**Εικ. 5.1 Εμπορικό σκεύασμα Excis (10mg/ml Cypermethrin).**



**Εικ. 5.2 Άποψη της διαδικασίας διαλογής μολυσμένων ατόμων με το ισόποδο παράσιτο.**



**Εικ. 5.3 Άποψη των δεξαμενών μεταφοράς.**



**Εικ. 5.4 Άποψη του χώρου εργασιών και της δεξαμενής εγκλιματισμού 20 m<sup>3</sup>.**





**Εικ. 5.5** Άποψη του χώρου που διεξήχθη του πείραμα (δεξαμενές 300 lit).



**Εικ. 5.6** Άποψη του χώρου που διεξήχθη του πείραμα τοξικότητας  $LC_{50}$ .



## 5.4 Εξέταση των ψαριών πριν την έναρξη του πειράματος

Κατά το διάστημα που τα ψάρια βρίσκονταν στην κυλινδρική δεξαμενή των 20m<sup>3</sup> πραγματοποιήθηκε δειγματοληψία (30 ψάρια) για παρασιτολογικό και μικροβιολογικό έλεγχο, με σκοπό την γενική εκτίμηση της παθολογικής τους κατάστασης. Σε κάθε ψάρι πραγματοποιήθηκε μέτρηση του ατομικού βάρους και του ολικού μήκους (TL). Νωπά παρασκευάσματα από δέρμα, στόμαχο και έντερο παρατηρήθηκαν στο μικροσκόπιο για τυχόν ύπαρξη παρασίτων. Δείγματα από νεφρό ενοφθαλμίστηκαν σε δύο θρεπτικά υποστρώματα. Στο γενικό θρεπτικό υπόστρωμα T.S.A με προσθήκη 2% NaCl και στο εκλεκτικό υπόστρωμα T.C.B.S, ειδικό για την ανάπτυξη των *Vibrio sp.* Σε δέκα από τα παραπάνω δείγματα πραγματοποιήθηκε καταμέτρηση παρασίτων βραγχιακά. Από πέντε ψάρια του παραπάνω δείγματος αφαιρέθηκαν βράγχιακά τόξα, νεφρός, σπλήνα, στομάχι και έντερο. Τα όργανα τοποθετήθηκαν σε υδατικό διάλυμα φορμόλης 10% για εκτέλεση ιστολογικών εξετάσεων. Επίσης δείγματα για εκτέλεση ιστολογικών εξετάσεων πάρθηκαν, και από τρία μολυσμένα ψάρια, από το σημείο προσκόλλησης του παρασίτου. Σκοπός είναι η εκτίμηση των ιστολογικών αλλοιώσεων που μπορεί να προκληθούν από το παράσιτο στο σημείο προσκόλλησης. Roberts (1989).

Σε όλα τα ψάρια που χρησιμοποιήθηκαν στις δεξαμενές 300 lit και στα ενυδρεία για το LC<sub>50</sub> (σύνολο 700 ψάρια), πραγματοποιήθηκε μακροσκοπικός έλεγχος στην στοματική τους κοιλότητα με σκοπό την καταγραφή του αριθμού των ισόποδων του κάθε ατόμου, ένα ή δύο παράσιτα ανά άτομο.

## 5.5 Διεξαγωγή του πειράματος και πρωτόκολλο δειγματοληψιών

Από την στιγμή που τοποθετήθηκαν οι αντίστοιχες δόσεις του σκευάσματος Excis στις δεξαμενές των 300 lit (πιν.5.1), που περιείχαν από είκοσι μολυσμένα άτομα με το ισόποδο παράσιτο, η παροχή νερού είχε διακοπεί και ψάρια παρέμειναν στο διάλυμα για μια ώρα. Στην συνέχεια ακολούθησε κατέβασμα της στάθμηση των δεξαμενών στα 20 lit από δύο φορές στην κάθε μία, με σκοπό την απομάκρυνση του αντιπαρασιτικού. Κατόπιν ανοίχτηκαν οι παροχές νερού σε όλες τις δεξαμενές και η στάθμη τους παρέμενε σταθερή για εικοσιτέσσερις ώρες, όπου και πραγματοποιήθηκαν οι μετρήσεις.

Πρέπει να σημειωθεί πως καθ όλη την διάρκεια του κατεβάσματος της στάθμης των δεξαμενών και του εικοσιτετραώρου που ακολούθησε με παροχή νερού ως τις μετρήσεις, στις απορροές των δεξαμενών υπήρχαν τοποθετημένοι κουβάδες με νερό και απόχες με σκοπό την συλλογή των ισόποδων παρασίτων (Εικ 5.6), τα οποία μετά την συλλογή τους τοποθετήθηκαν σε δοχείο των δύο λίτρων με νερό από την γεώτρηση που αντλούσαν και οι πειραματικές δεξαμενές, καθώς και παροχή οξυγόνου (Εικ 5.7), όπου και παρέμειναν για άλλες εικοσιτέσσερις ώρες, με σκοπό τον έλεγχο τους (νεκρά ή ζώντα παράσιτα). Ο έλεγχος για το αν τα παράσιτα ήταν ζωντανά, έγινε με χρήση εργαστηριακής βελόνας, και τρύπημα των παρασίτων στην κοιλιακή χώρα, τοποθετημένα σε στερεοσκόπιο, και παρατηρώντας τυχόν αντιδράσεις από τα κοιλιακά τους εξαρτήματα (πόδια).

Στα ενυδρεία που χρησιμοποιήθηκαν για το πείραμα τοξικότητας τοποθετήθηκαν από δέκα μολυσμένα άτομα με το ισόποδο παράσιτο (στα πρώτα δύο πείραμα), και από δέκα μη μολυσμένα άτομα στα δύο επόμενα πειράματα. Η καταγραφή των θνησιμοτήτων έγινε ανά 24 ώρες με σκοπό τον προσδιορισμό του  $LC_{50}$ . Συνολικά πραγματοποιήθηκαν τέσσερις καταγραφές θνησιμοτήτων (ανά πείραμα), όπου στην κάθε καταγραφή που ακολουθούσε σημειώνονταν το σύνολο των νεκρών του κάθε ενός ενυδρείου ως εκείνη την στιγμή. Οι δόσεις του προϊόντος αναφέρονται στον παρακάτω πίνακα (πιν.5.2), και έχουν επιλεγθεί με γνώμονα την απόλυτη κάλυψη των δόσεων που έγιναν για τα πειραματικά μπάνια ως θεραπεία από το ισόποδο παράσιτο, αλλά και την δημιουργία τοξικών συνθηκών για τα ψάρια, ώστε να είναι δυνατή η εξαγωγή συμπερασμάτων για το πού βρίσκεται το σημείο  $LC_{50}$  του προϊόντος.

Δεξαμενές 300 lit	Δοσολογία Excis cypermethrin 10 mg/ml
1	Δόση 0.5 ml/m <sup>3</sup>
2	Δόση 1 ml/m <sup>3</sup>
3	Δόση 1.5 ml/m <sup>3</sup>
4	Δόση 2 ml/m <sup>3</sup>
5	Δόση 6.5 ml/m <sup>3</sup>
6	Δόση 0 ml/m <sup>3</sup>

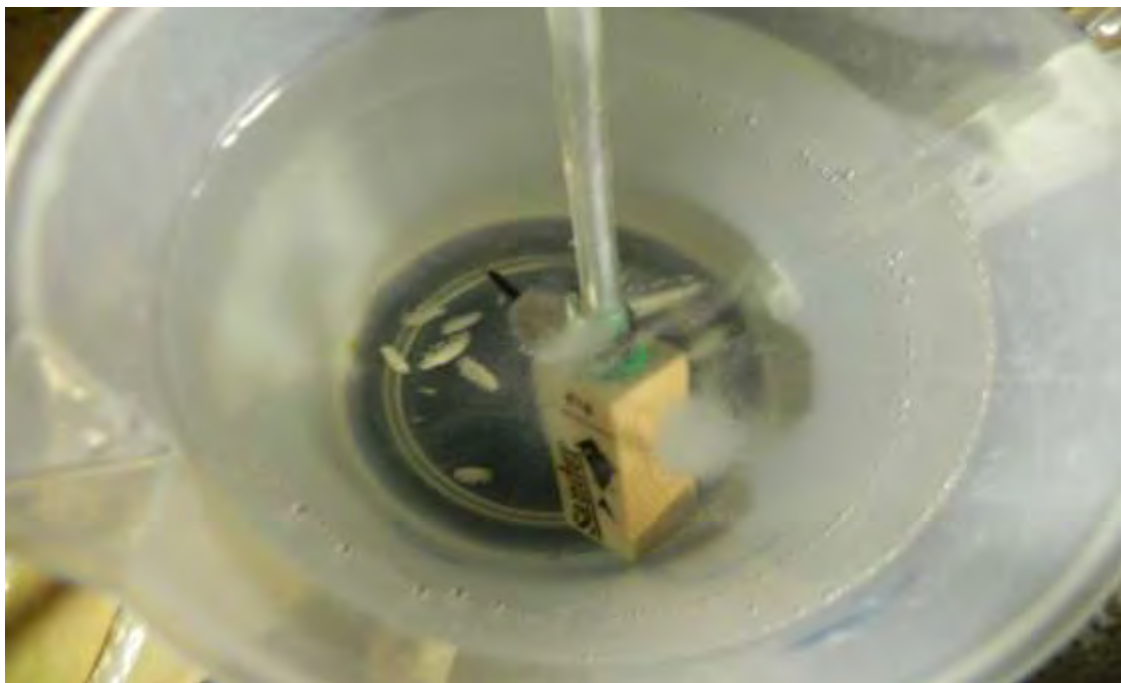
**Πιν 5.1 Ποσότητες Excis που χορηγήθηκε στο λουτρό μίας ώρας σε κάθε δεξαμενή 300 lit.**

Ενυδρεία 20 lit	Δοσολογία Excis cypermethrin 10 mg/ml
1	Δόση 0.5 ml/m <sup>3</sup>
2	Δόση 1 ml/m <sup>3</sup>
3	Δόση 1.5 ml/m <sup>3</sup>
4	Δόση 2 ml/m <sup>3</sup>
5	Δόση 6.5 ml/m <sup>3</sup>
6	Δόση 8.5 ml/m <sup>3</sup>
7	Δόση 10 ml/m <sup>3</sup>
8	Δόση 0 ml/m <sup>3</sup>

**Πιν 5.2 Ποσότητες Excis που χορηγήθηκε σε κάθε ενυδρείο για τον έλεγχο τοξικότητας (LC<sub>50</sub>).**



**Εικ. 5.6 Άποψη του χώρου συγκομιδής των ισόποδων παρασίτων μετά το λουτρό με το Excis.**



**Εικ. 5.7 Δοχείο 2 lit. όπου τοποθετήθηκαν τα ισόποδα μετά την περισυλλογή από τις απόχες.**

## 5.6 Επεξεργασία αποτελεσμάτων – Στατιστική ανάλυση

Για την στατιστική ανάλυση χρησιμοποιήθηκαν το Excel και το στατιστικό software package SPSS V19.0. Τα στοιχεία που συλλέχθηκαν από τα πειράματα τοξικότητας με χορήγηση της ουσίας του εμπορικού σκευάσματος Excis (cypermethrin 10 mg/ml) επεξεργάστηκαν με χρήση της μεθόδου Probit Analysis Statistical. Και υπολογίστηκαν οι τιμές  $LC_{50}$  (με 95% όρια εμπιστοσύνης). Το επίπεδο σημαντικότητας ανάμεσα στις τιμές  $LC_{50}$  values που υπολογίστηκαν και οι χρόνοι διαφορετικής έκθεσης στην ουσία αναλύθηκαν χρησιμοποιώντας a chi-square test. Όσο αναφορά τα πειράματα με τα λουτρά μιας ώρας για την καταπολέμηση του ισόποδου παρασίτου δεν κρίθηκε σκόπιμο να γίνει κανενός είδους στατιστικής ανάλυσης λόγω του ότι όλες οι δόσεις που χορηγήθηκαν, από την ποίο μικρή ως την μεγαλύτερη παρουσίασαν 100% επιτυχία στην απομάκρυνση του ισόποδου παράσιτου.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΕΚΤΟ

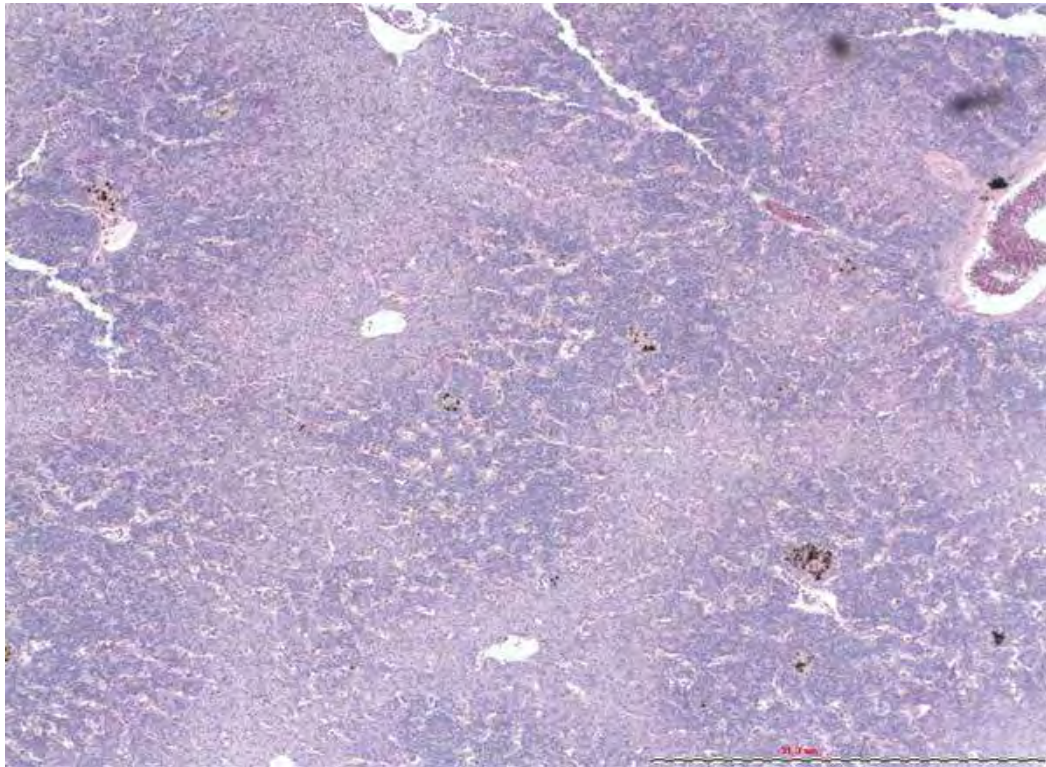
### ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ – ΣΥΖΗΤΗΣΗ

#### 6.1 Παθολογική κατάσταση πληθυσμού

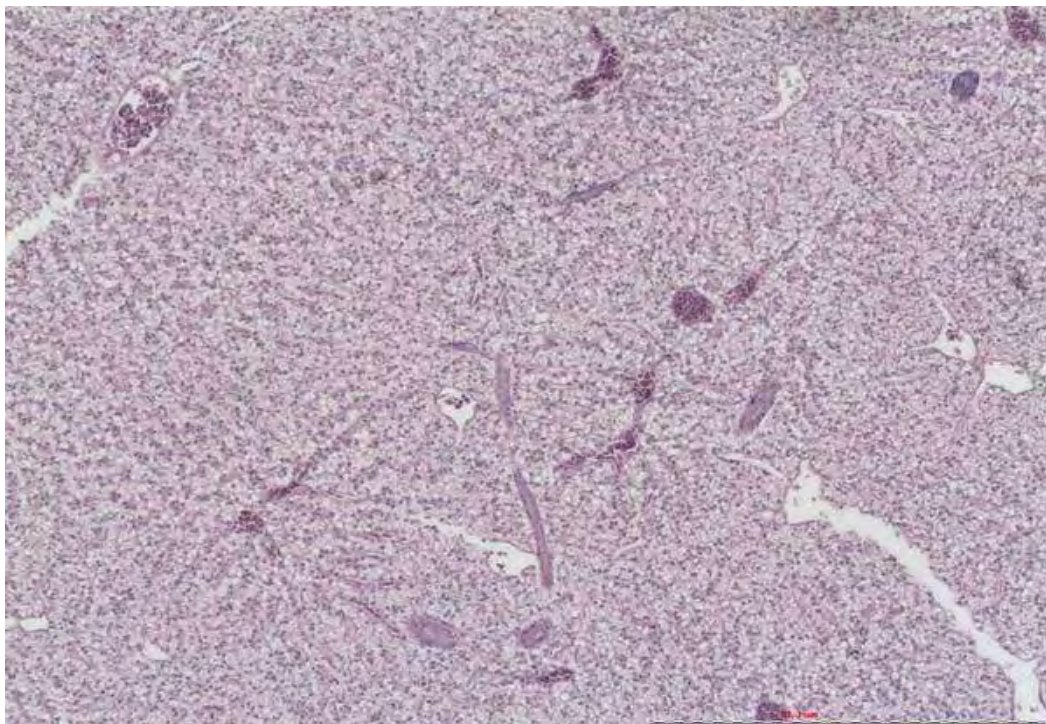
Περίπου 24 ώρες πριν την έναρξη του πειράματος πραγματοποιήθηκε πλήρης μικροβιολογικός και παρασιτολογικός έλεγχος όπως περιγράφηκε στο προηγούμενο κεφάλαιο. Από την εξέταση αυτή διαπιστώθηκε η καλή φυσιολογική τους κατάσταση και η απουσία απομόνωσης παθογόνου παράγοντα. Από τον ιστοπαθολογικό έλεγχο που εφαρμόστηκε στα όργανα (βράγχιακά τόξα, νεφρός, σπλήνα, στομάχι και έντερο), πέντε ψαριών δεν παρατηρήθηκε καμία σημαντική ιστολογική αλλοίωση (Εικ.6.1, 6.2, 6.3, 6.4). Αντιθέτως στις ιστολογικές τομές όπου πάρθηκαν από το σημείο προσκόλλησης του παρασίτου, στις στοματική κοιλότητα του λαβρακίου ,εντοπίστηκαν επιθηλιακές αλλαγές που αποτελούνταν από εστιακές υπερπλασίες, καθώς και περιοχές που παρουσίαζαν σπογγώδη εικόνα και παντελή απουσία βλεννογόνων κυττάρων (Εικ. 6.5, 6.6, 6.7, 6.8).

Κατά τον παρασιτολογικό έλεγχο των δειγμάτων, εκτός από την παρουσία του εξεταζόμενου παρασίτου *Ceratomyxa oestroides* (Εικ. 6.9, 6.10) διαπιστώθηκε η παρουσία μονογενών τρηματωδών παρασίτων (Εικ. 6.11, 6.12) του γένους *Diplectanum* sp. βραγχιακά, σε ποσοστό 100%, σε δέκα τυχαία ψάρια από τον πληθυσμό έγινε πλήρης καταμέτρηση των μονογενών παρασίτων ανά τόξο (πιν. 6.1).



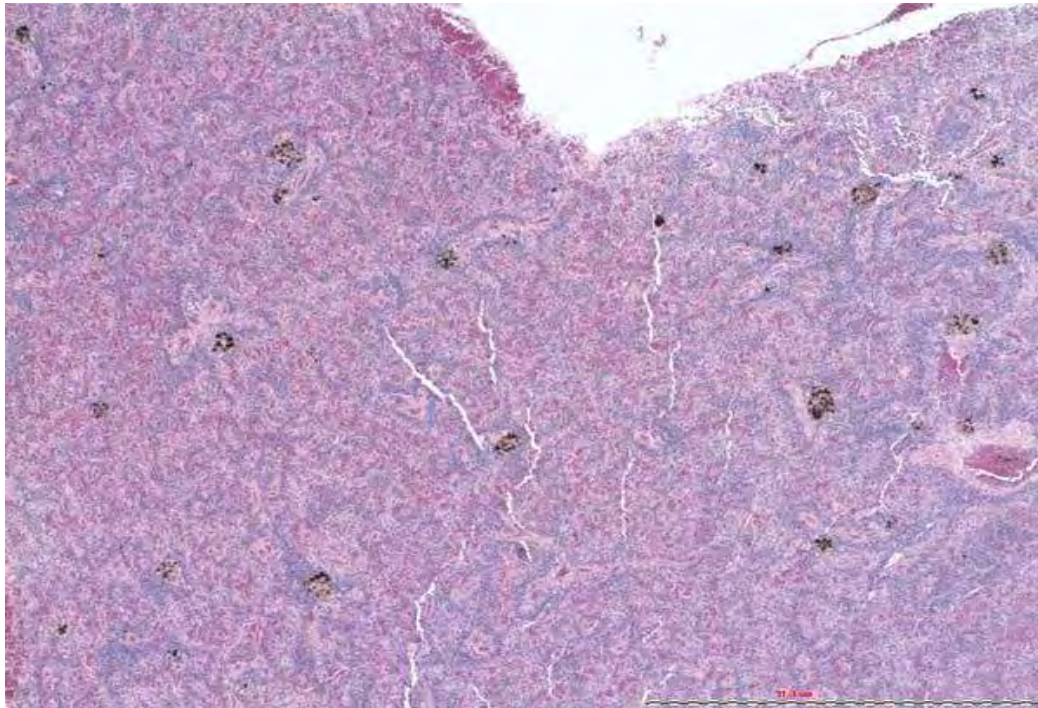


**Εικ. 6.1** Ιστολογική τομή από νεφρό. Φυσιολογική εικόνα χωρίς αλλοιώσεις (H&E, 10x).

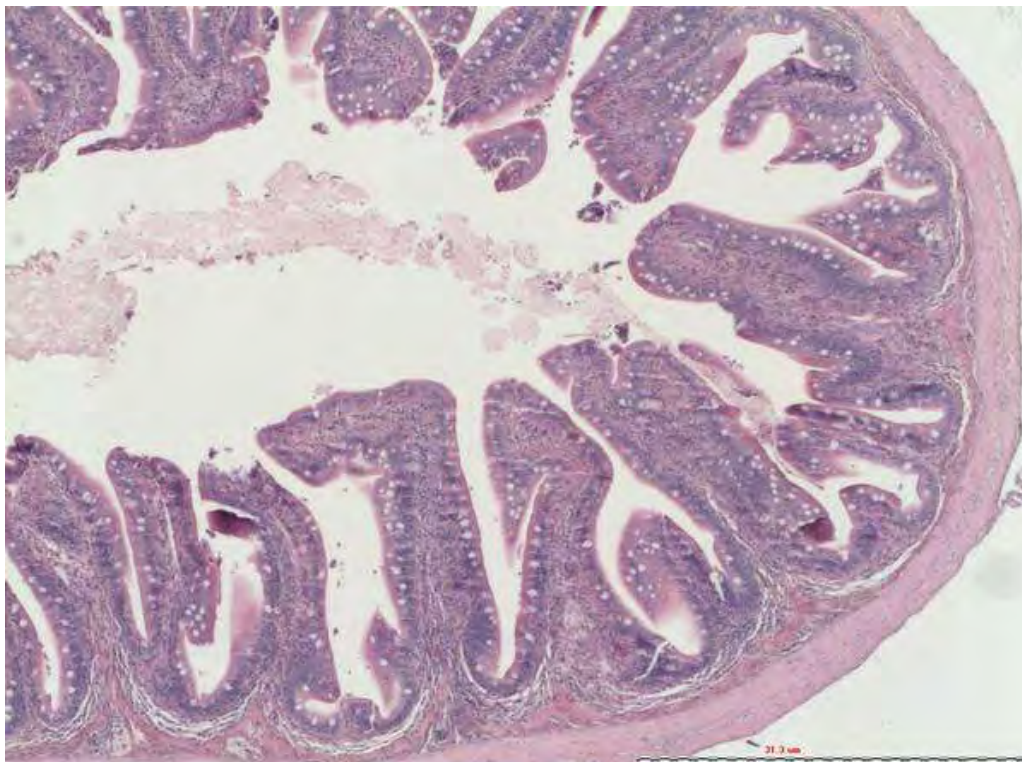


**Εικ. 6.2** Ιστολογική τομή από ήπαρ. Φυσιολογική εικόνα χωρίς αλλοιώσεις (H&E, 4x).

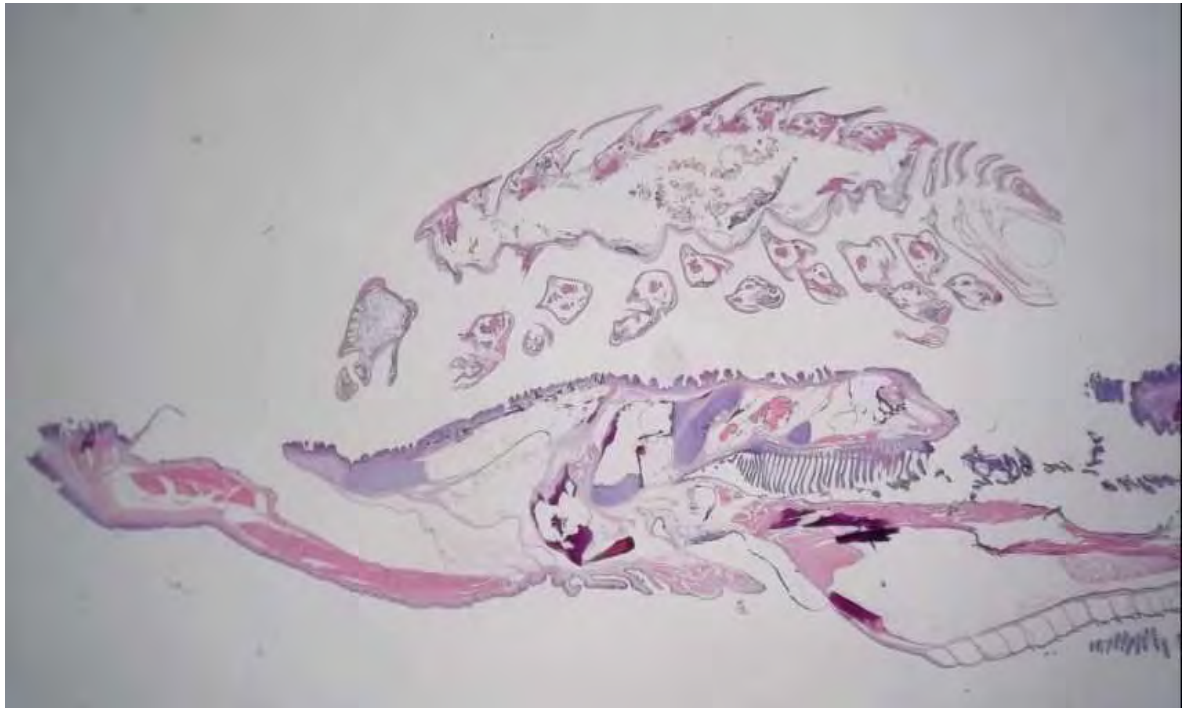




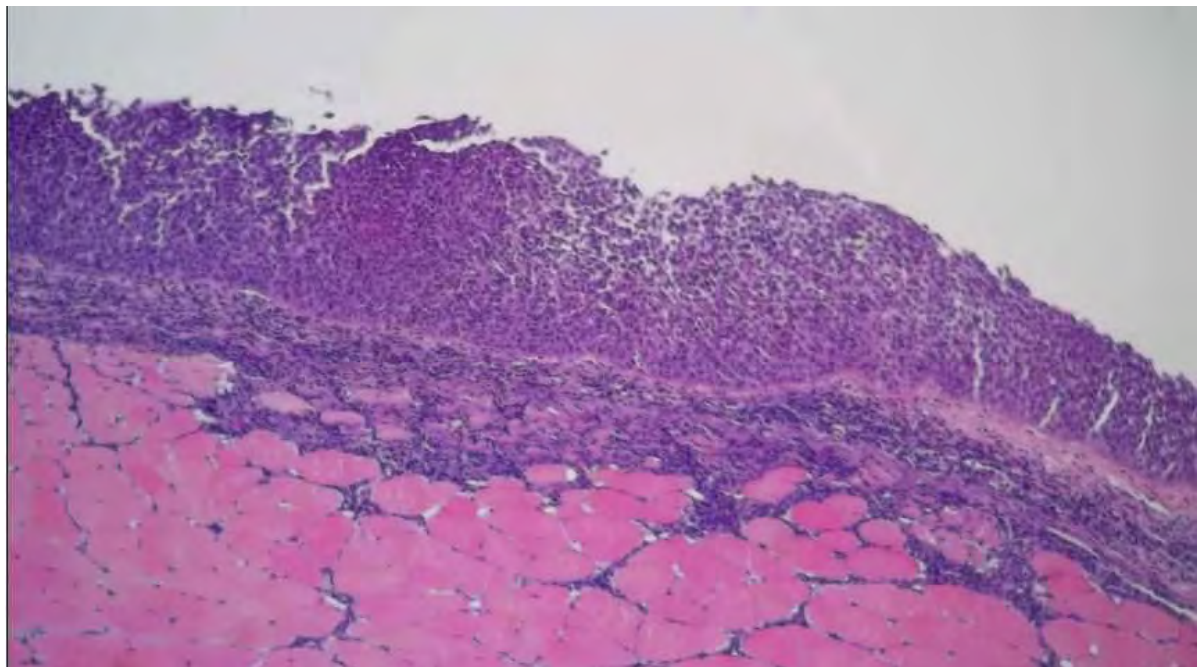
**Εικ. 6.3** Ιστολογική τομή από σπλήνα. Φυσιολογική εικόνα χωρίς αλλοιώσεις (H&E, 4x).



**Εικ. 6.4** Τμήμα γαστρεντερικού συστήματος. Φυσιολογική εικόνα χωρίς αλλοιώσεις (H&E, 4x).

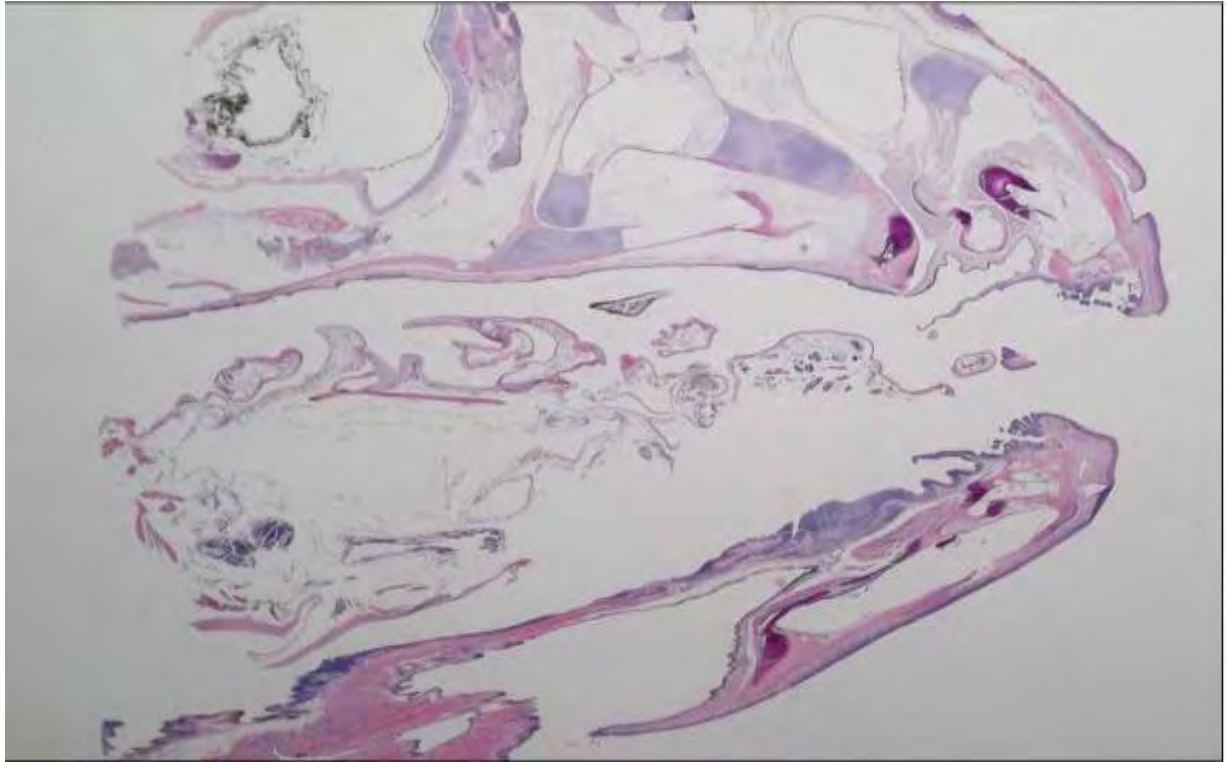


**Εικ. 6.5** Επιμήκης τομή στοματικής κοιλότητας λαυρακιού με εμφανή το ισόποδο παράσιτο, καθώς και της υπερπλασίας του ιστού στο σημείο προσκόλλησης (H&E, x20).

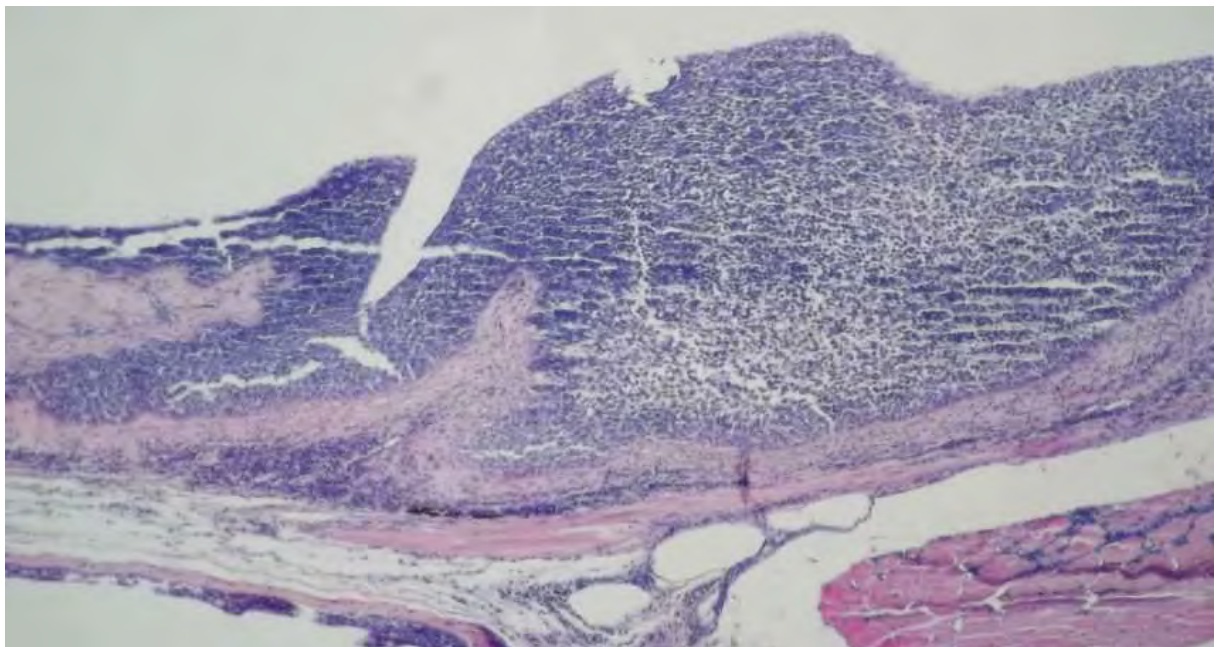


**Εικ. 6.6** Σε μεγέθυνση η υπερπλασία του ιστού, στο σημείο προσκόλλησης του ισόποδου παράσιτου (H&E, x200).





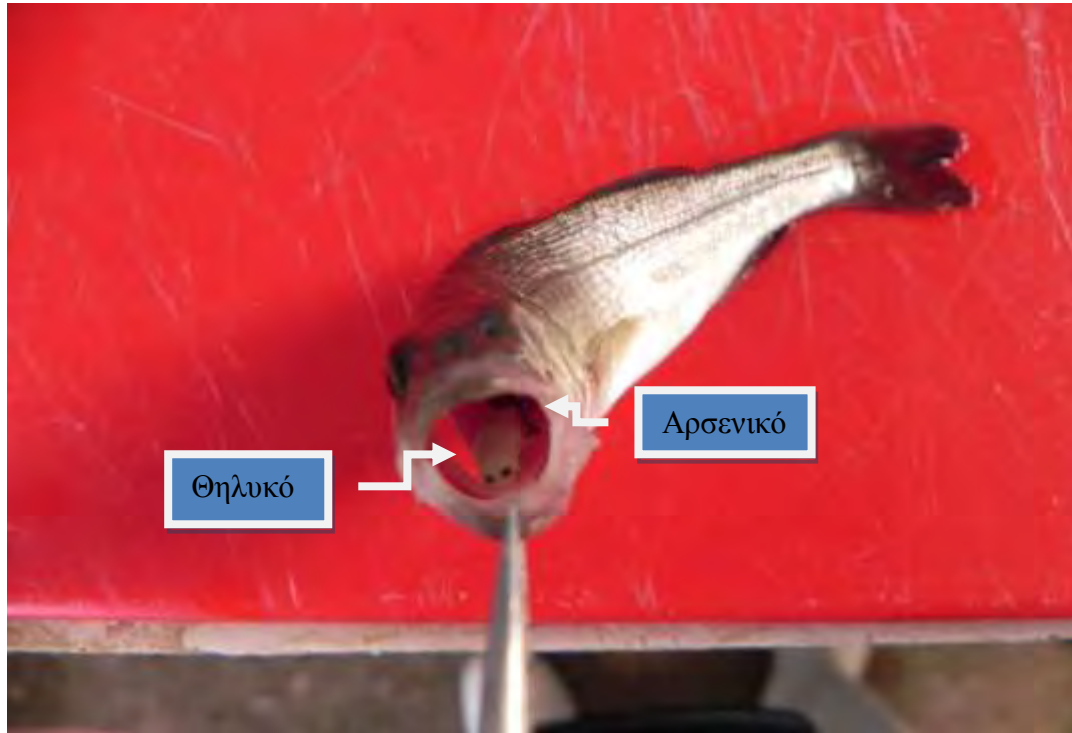
**Εικ. 6.7** Επιμήκης τομή στοματικής κοιλότητας λαυρακιού με εμφανή το ισόποδο παράσιτο, καθώς και της σπογγώδους εικόνας που παρουσιάζει ο ιστός στο σημείο προσκόλλησης (H&E, x25).



**Εικ. 6.8** Σε μεγέθυνση η υπερπλασία του ιστού στο σημείο προσκόλλησης του ισόποδου παράσιτου, που παρουσιάζει σπογγώδης εικόνα και απουσία βλεννογόνων κυττάρων (H&E, x200).

A/α						Σύνολο
		ΤΟΞΟ I	ΤΟΞΟ II	ΤΟΞΟ III	ΤΟΞΟ IV	
F1	A	6	5	3	4	37
	B	8	3	3	5	
F2	A	2	1	0	0	14
	B	4	3	0	4	
F3	A	5	7	3	2	37
	B	7	4	6	3	
F4	A	13	11	12	9	68
	B	5	12	4	3	
F5	A	19	18	16	12	115
	B	18	9	16	7	
F6	A	4	1	3	1	29
	B	2	7	4	7	
F7	A	3	4	2	2	22
	B	4	2	3	2	
F8	A	4	2	3	4	26
	B	3	6	2	2	
F9	A	3	2	4	5	33
	B	4	6	5	4	
F10	A	4	6	3	2	31
	B	3	8	3	2	

**Πιν 6.1 Στον πίνακα φαίνεται ο ακριβής αριθμός μονογενών τρηματώδη *Diplectanum sp.* παρασίτων ανά τόξο σε δέκα τυχαία ψάρια, από τον πληθυσμό που χρησιμοποιήθηκε για τα πειράματα.**



Εικ. 6.9 Θηλυκό και αρσενικό ισόποδο παράσιτο, στον χώρο την στοματικής κοιλότητας που βρίσκονται αγκιστρωμένα.



Εικ. 6.10 Θηλυκό και αρσενικό (τόξο) ισόποδο παράσιτο.



**Εικ.6.11 Μικροσκοπική απεικόνιση του μονογενούς παρασίτου *Diplectanum* sp. σε βράγχια. (x100)**



**Εικ. 6.12 Στερεοσκοπική απεικόνιση των μονογενών παρασίτων επάνω στα βρογχικά ελάσματα, όπου και διαβιούν.**

## **6.2 Αποτελέσματα λουτρού θεραπείας του εμπορικού σκευάσματος Excis (Cypermethrin 10mg/ml), κατά την χορήγηση στο λαβράκι**

Στους Πιν 6.2, 63 (6.2 πρώτο πείραμα, 6.3 επαναληπτικό) παρουσιάζονται οι τιμές του προϊόντος που χορηγήθηκε, ανά δεξαμενή, καθώς και οι παρουσία ή απουσία του ισόποδου παράσιτου στην στοματική κοιλότητα των ιχθύων μετά από εικοσιτέσσερις ώρες που έγινε η καταμέτρηση του πληθυσμού, επίσης αναφέρεται ο αριθμός ισόποδων παρασίτων που συλλέχτηκαν από τον πυθμένα των δεξαμενών και της απόχες στις απορροές .

Η παρουσία και απουσία των παρασίτων κατά τον έλεγχο μετά από 24 ώρες από το λουτρό με Excis καταγράφονται στους παρακάτω πινάκες με **Π** και **A** αντίστοιχα.



Α/α	Άτομα	Πειραματικές δεξαμενές και ποσότητα Excis (Cypermethrin 10 mg/ml)					
		0,5 ml/m <sup>3</sup>	1,0 ml/m <sup>3</sup>	1,5 ml/m <sup>3</sup>	2,0 ml/m <sup>3</sup>	6,5 ml/m <sup>3</sup>	0 ml/m <sup>3</sup>
		1	2	3	4	5	6
20	F1	A	A	A	A	A	Π
20	F2	A	A	A	A	A	Π
20	F3	A	A	A	A	A	Π
20	F4	A	A	A	A	A	Π
20	F5	A	A	A	A	A	Π
20	F6	A	A	A	A	A	Π
20	F7	A	A	A	A	A	Π
20	F8	A	A	A	A	A	Π
20	F9	A	A	A	A	A	Π
20	F10	A	A	A	A	A	Π
20	F11	A	A	A	A	A	Π
20	F12	A	A	A	A	A	Π
20	F13	A	A	A	A	A	Π
20	F14	A	A	A	A	A	Π
20	F15	A	A	A	A	A	Π
20	F16	A	A	A	A	A	Π
20	F17	A	A	A	A	A	Π
20	F18	A	A	A	A	A	Π
20	F19	A	A	A	A	A	Π
20	F20	A	A	A	A	A	Π
	Τελικός αριθμός	20/20Α	20/20Α	20/20Α	20/20Α	20/20Α	20/20Π
	Σύνολο ισόποδων που σηλ.	26	25	26	23	27	0

**Πιν. 6.2 : Στον πίνακα φαίνεται η πλήρη αποδοτικότητα του λουτρού με κυπερμεθρίνη σε όλες τις δόσεις που χορηγήθηκαν.**



Α/α	Άτομα	Πειραματικές δεξαμενές και ποσότητα Excis (Cypermethrin 10 mg/ml)					
		0,5 ml/m <sup>3</sup>	1,0 ml/m <sup>3</sup>	1,5 ml/m <sup>3</sup>	2,0 ml/m <sup>3</sup>	6,5 ml/m <sup>3</sup>	0 ml/m <sup>3</sup>
		1	2	3	4	5	6
20	F1	A	A	A	A	A	Π
20	F2	A	A	A	A	A	Π
20	F3	A	A	A	A	A	Π
20	F4	A	A	A	A	A	Π
20	F5	A	A	A	A	A	Π
20	F6	A	A	A	A	A	Π
20	F7	A	A	A	A	A	Π
20	F8	A	A	A	A	A	Π
20	F9	A	A	A	A	A	Π
20	F10	A	A	A	A	A	Π
20	F11	A	A	A	A	A	Π
20	F12	A	A	A	A	A	Π
20	F13	A	A	A	A	A	Π
20	F14	A	A	A	A	A	Π
20	F15	A	A	A	A	A	Π
20	F16	A	A	A	A	A	Π
20	F17	A	A	A	A	A	Π
20	F18	A	A	A	A	A	Π
20	F19	A	A	A	A	A	Π
20	F20	A	A	A	A	A	Π
	Τελικός αριθμός	20/20Α	20/20Α	20/20Α	20/20Α	20/20Α	20/20Π
	Σύνολο ισόποδων που σηλ.	22	21	25	26	24	0

**Πιν. 6.3 Στο επαναληπτικό πείραμα τα αποτελέσματα είναι ακριβώς ίδια με το πρώτο πείραμα.**

### 6.3 Αποτελέσματα Τοξικότητας (LC<sub>50</sub>) του εμπορικού σκευάσματος Excis (Cypermethrin 10 mg/ml), κατά την χορήγηση στο λαβράκι

Στους Πιν 6.4, 6.5 (6.4 πρώτο πείραμα, 6.5 επαναληπτικό) παρουσιάζονται οι τιμές του προϊόντος ανά ενυδρείο, καθώς και οι θνησιμότητες που προέκυψαν στα μολυσμένα ψάρια με το ισόποδο παράσιτο, ενώ στους Πιν 6.6, 6.7 (6.6 πρώτο πείραμα, 6.7 επαναληπτικό), στα μη μολυσμένα ψάρια. Οι θνησιμότητες έχουν καταγραφεί ανά εικοσιτέσσερις ώρες από τον χρόνο μηδέν ως και ενενήντα έξι. Στην συνέχεια ακολουθεί γραφική απεικόνιση των θνησιμοτήτων ανά ενυδρείο Γράφημα 6.3, 6.4 (μολυσμένα ψάρια) και Γράφημα 6.5, 6.6 (μη μολυσμένα ψάρια).

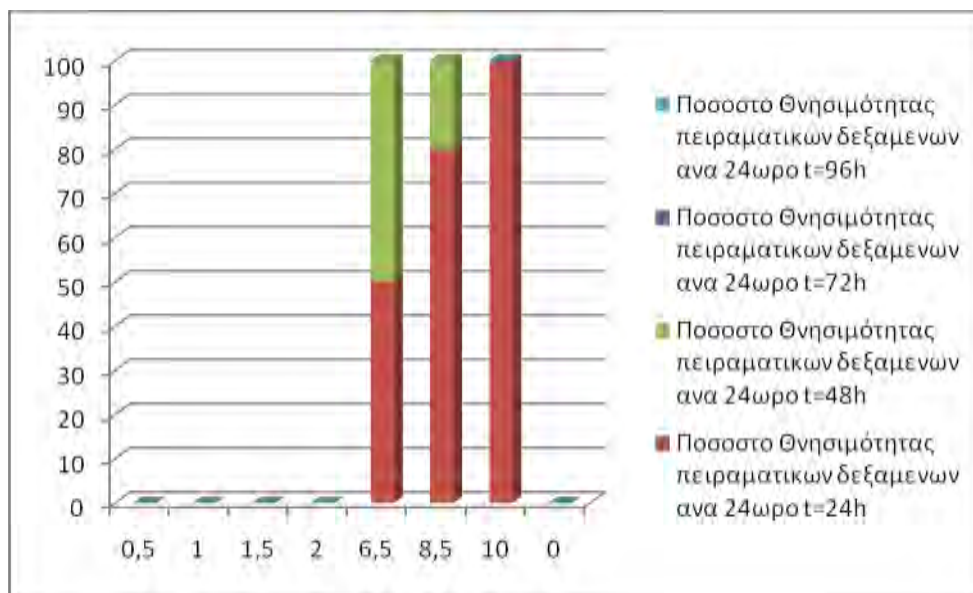
#### Πρώτο πείραμα (μολυσμένα)

Ο αριθμός των νεκρών ψαριών στις συγκεκριμένες συγκεντρώσεις του Excis σε σχέση με το χρόνο έκθεσης τους παρουσιάζεται στον παρακάτω πίνακα.

Ενυδρεία	Δόσεις Excis	Θνησιμότητα πειραματικων δεξαμενων ανα 24ωρο				
		t=0h	t=24h	t=48h	t=72h	t=96h
1	Δόση 0.5 ml/m <sup>3</sup>	0	0	0	0	0
2	Δόση 1 ml/m <sup>3</sup>	0	0	0	0	0
3	Δόση 1.5 ml/m <sup>3</sup>	0	0	0	0	0
4	Δόση 2 ml/m <sup>3</sup>	0	0	0	0	0
5	Δόση 6.5 ml/m <sup>3</sup>	0	5	5	0	0
6	Δόση 8.5 ml/m <sup>3</sup>	0	8	2	0	0
7	Δόση 10 ml/m <sup>3</sup>	0	10	0	0	0
8 Μάρτιρας	Δόση 0 ml/m <sup>3</sup>	0	0	0	0	0

**Πιν 6.4 Στον πίνακα φαίνεται πώς οι χαμηλές δόσεις (ενυδρεία 1, 2, 3, & 4) του προϊόντος δεν έχουν προκαλέσει θνησιμότητα, ενώ οι υψηλές δόσεις (ενυδρεία 5, 6, & 7) έχουν νεκρό όλο τους τον πληθυσμό σε διαφορετικό χρόνο.**

Το ποσοστό θνησιμότητας σε σχέση με τις συγκεντώσεις και το χρόνο έκθεσης σε Excis παρουσιάζεται στο παρακάτω διάγραμμα.



**Γραφ. 6.3** Στο γράφημα φαίνεται καθαρά πώς ο χρόνος του LC<sub>50</sub> στις τρεις υψηλές δόσεις είναι οι 24 ώρες.

Ο αριθμός των νεκρών, κατά το πρώτο 24ωρο, αυξάνεται στατιστικά σημαντικά με την αύξηση συγκέντρωσης της ουσίας (1,5 ml/l, 2 ml/l, 6,5 ml/l, 8,5 ml/l και 10 ml/l) που εκτέθηκαν τα ψάρια ( $p=0.002$ ). Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται τα στατιστικά από το Probit Analysis για χρόνο έκθεσης στην ουσία 24 ώρες.

Συγκεντρώσεις ουσίας σε ml/l	t=24h
1,5	0
2	0
6,5	5
8,5	8
10	10
Chi-square	0.690
LC50	6.691
95% όρια εμπιστοσύνης του LC50	4.352-7.412

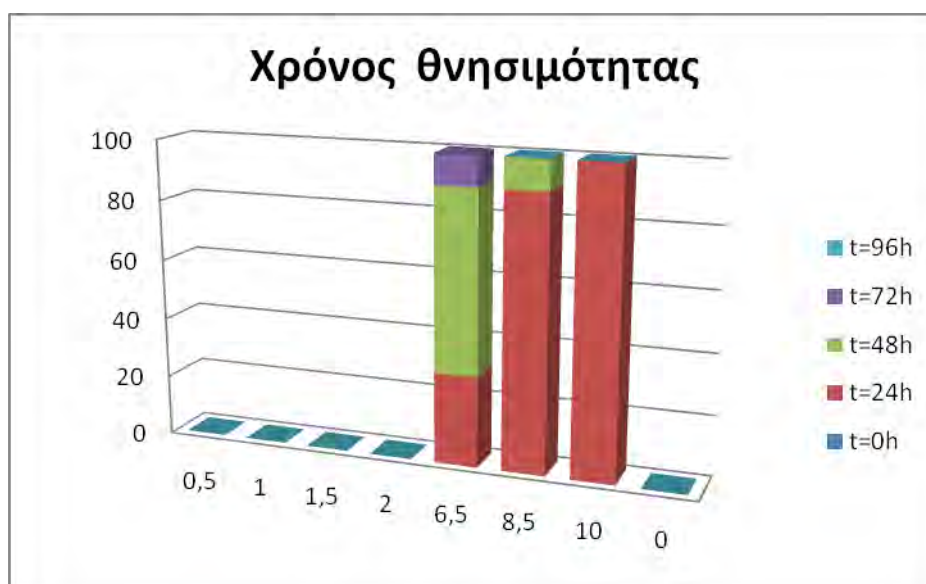
### Δεύτερο πείραμα (μολυσμένα)

Ο αριθμός των νεκρών ψαριών στις συγκεκριμένες συγκεντρώσεις του Excis σε σχέση με το χρόνο έκθεσης τους παρουσιάζεται στον παρακάτω πίνακα.

Ενυδρεία	Δόσεις Excis	Θνησιμότητα πειραματικών δεξαμενών ανα 24ωρο				
		t=0h	t=24h	t=48h	t=72h	t=96h
1	Δόση 0.5 ml/m <sup>3</sup>	0	0	0	0	0
2	Δόση 1 ml/m <sup>3</sup>	0	0	0	0	0
3	Δόση 1.5 ml/m <sup>3</sup>	0	0	0	0	0
4	Δόση 2 ml/m <sup>3</sup>	0	0	0	0	0
5	Δόση 6.5 ml/m <sup>3</sup>	0	3	6	1	0
6	Δόση 8.5 ml/m <sup>3</sup>	0	9	1	0	0
7	Δόση 10 ml/m <sup>3</sup>	0	10	0	0	0
8 Μάρτιρας	Δόση 0 ml/m <sup>3</sup>	0	0	0	0	0

**Πιν 6.5** Στον πίνακα του δεύτερου πειράματος δεν εντοπίζονται σημαντικές διαφορές από το πρώτο πείραμα, εξακολουθούμε να μην έχουμε θνησιμότητα στις χαμηλές δόσεις και η θνησιμότητα των υψηλών δόσεων να είναι 100% του πληθυσμού.

Το ποσοστό θνησιμότητας σε σχέση με τις συγκεντρώσεις και το χρόνο έκθεσης σε Excis παρουσιάζεται στο παρακάτω διάγραμμα.



**Γραφ 6.4** Στο γράφημα του δεύτερου πειράματος ο χρόνος του LC<sub>50</sub> στις δύο πιο υψηλές δόσεις (10 & 8,5 ml/m<sup>3</sup>) είναι οι 24 ώρες, ενώ στην δόση 6,5 ml/m<sup>3</sup> είναι οι 48 ώρες.

Ο αριθμός των νεκρών, κατά το πρώτο 24ωρο, αυξάνεται στατιστικά σημαντικά με την αύξηση των συγκεντρώσεων της ουσίας (1,5ml/l, 2ml/l, 6,5ml/l, 8,5 ml/l και 10 ml/l) που εκτέθηκαν τα ψάρια ( $p=0.003$ ) Στον πίνακα παρουσιάζονται τα στατιστικά από το Probit Analysis για χρόνο έκθεσης στην ουσία 24 ώρες.

Συγκεντρώσεις ουσίας σε ml/l	t=24h
1.5	0
2	0
6,5	3
8,5	9
10	10
Chi-square	0.041
LC50	7.079
95% όρια εμπιστοσύνης του LC50	5.966-7.851

## Πρώτο πείραμα (μη μολυσμένα)

1<sup>ο</sup> πείραμα:

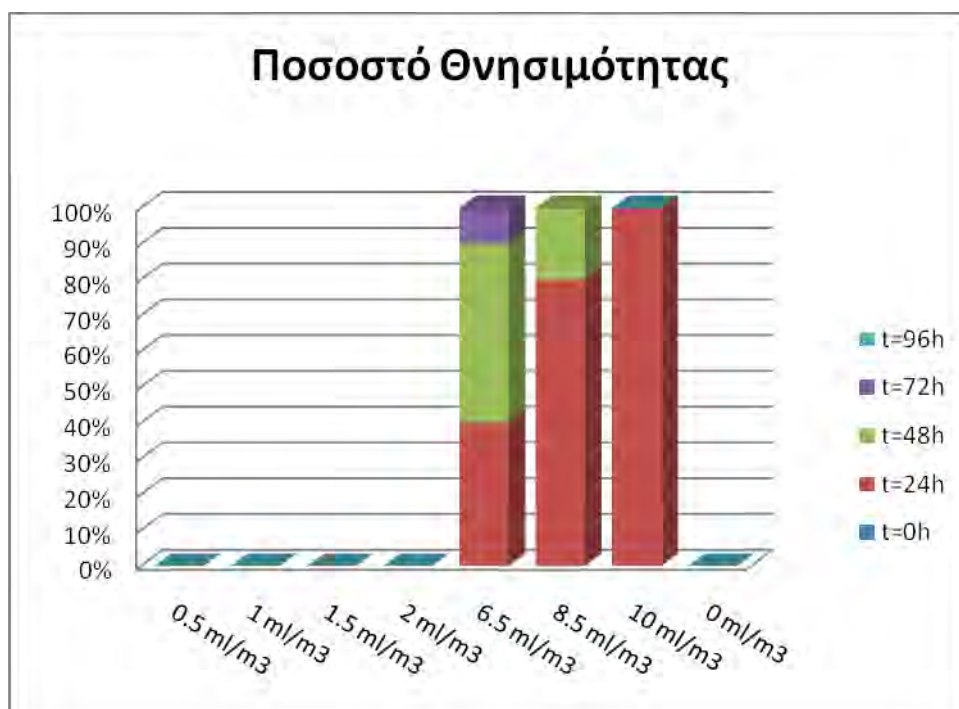
Ο αριθμός των νεκρών ψαριών στις συγκεκριμένες συγκεντρώσεις του Excis σε σχέση με το χρόνο έκθεσης τους παρουσιάζεται στον παρακάτω πίνακα

Πίνακας α: Καταγραφή απωλειών στις πειραματικές ομάδες

Ενυδρεία	Δόσεις Excis	Θνησιμότητα πειραματικών δεξαμενών ανα 24ωρο				
		t=0h	t=24h	t=48h	t=72h	t=96h
1	Δόση 0.5 ml/m <sup>3</sup>	0	0	0	0	0
2	Δόση 1 ml/m <sup>3</sup>	0	0	0	0	0
3	Δόση 1.5 ml/m <sup>3</sup>	0	0	0	0	0
4	Δόση 2 ml/m <sup>3</sup>	0	0	0	0	0
5	Δόση 6.5 ml/m <sup>3</sup>	0	4	5	1	0
6	Δόση 8.5 ml/m <sup>3</sup>	0	8	2	0	0
7	Δόση 10 ml/m <sup>3</sup>	0	10	0	0	0
8 Μάρτυρας	Δόση 0 ml/m <sup>3</sup>	0	0	0	0	0

**Πιν. 6.6** Στον πίνακα φαίνεται πώς οι χαμηλές δόσεις (ενυδρεία 1, 2, 3, & 4) του προϊόντος δεν έχουν προκαλέσει θνησιμότητα, ενώ οι υψηλές δόσεις (ενυδρεία 5, 6, & 7) έχουν νεκρό όλο τους τον πληθυσμό σε διαφορετικό χρόνο.

Το ποσοστό θνησιμότητας σε σχέση με τις συγκεντρώσεις και το χρόνο έκθεσης στην ουσία παρουσιάζεται στο παρακάτω διάγραμμα.



**Γραφ. 6.5** Ο αριθμός των νεκρών, κατά το πρώτο 24ωρο, αυξάνεται στατιστικά σημαντικά με την αύξηση των συγκεντρώσεων της ουσίας (1,5 ml/l, 2 ml/l, 6,5 ml/l, 8,5 ml/l & 10 ml/l) που εκτέθηκαν τα ψάρια ( $p=0.003$ )

Στον πίνακα παρουσιάζονται τα στατιστικά από το Probit Analysis για χρόνο έκθεσης στην ουσία 24 ώρες.

Στατιστικά για Excis	Τιμές
Chi-square	0.432
LC50	6.975
95% όρια εμπιστοσύνης του LC50	5.215-7.839

### Δεύτερο πείραμα (μη μολυσμένα)

2<sup>ο</sup> πείραμα:

Ο αριθμός των νεκρών ψαριών στις συγκεκριμένες συγκεντρώσεις του Excis σε σχέση με το χρόνο έκθεσης τους παρουσιάζεται στον παρακάτω πίνακα.

Ενυδρεία	Δόσεις Excis	Θνησιμότητα πειραματικών δεξαμενών ανά 24ωρο				
		t=0h	t=24h	t=48h	t=72h	t=96h
1	Δόση 0.5 ml/m <sup>3</sup>	0	0	0	0	0
2	Δόση 1 ml/m <sup>3</sup>	0	0	0	0	0
3	Δόση 1.5 ml/m <sup>3</sup>	0	0	0	0	0
4	Δόση 2 ml/m <sup>3</sup>	0	0	0	0	0
5	Δόση 6.5 ml/m <sup>3</sup>	0	4	6	0	0
6	Δόση 8.5 ml/m <sup>3</sup>	0	9	1	0	0
7	Δόση 10 ml/m <sup>3</sup>	0	10	0	0	0
8 Μάρτυρας	Δόση 0 ml/m <sup>3</sup>	0	0	0	0	0

**Πιν. 6.7** Στον πίνακα του δεύτερου πειράματος δεν εντοπίζονται σημαντικές διαφορές από το πρώτο πείραμα, εξακολουθούμε να μην έχουμε θνησιμότητα στις χαμηλές δόσεις και η θνησιμότητα των υψηλών δόσεων να είναι 100% του πληθυσμού.



Το ποσοστό θνησιμότητας σε σχέση με τις συγκεντρώσεις και το χρόνο έκθεσης στην δραστική ουσία cypermethrin παρουσιάζεται στο παρακάτω διάγραμμα.



**Γραφ. 6.6** Διάγραμμα ποσοστού θνησιμότητας με τη χρήση του Excis

Ο αριθμός των νεκρών, κατά το πρώτο 24ωρο, αυξάνεται στατιστικά σημαντικά με την αύξηση συγκέντρωσης του Excis (1,5 ml/l, 2 ml/l, 6,5 ml/l, 8,5 ml/l και 10 ml/l) που εκτέθηκαν τα ψάρια ( $p=0.006$ )

Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται τα στατιστικά από το Probit Analysis για χρόνο έκθεσης στην ουσία 24 ώρες.

Στατιστικά για Excis	Τιμές
Chi-square	0.073
LC50	6.834
95% όρια εμπιστοσύνης του LC50	5.121-7.640

#### 6.4 Αποτελέσματα ιστοπαθολογικών εξετάσεων

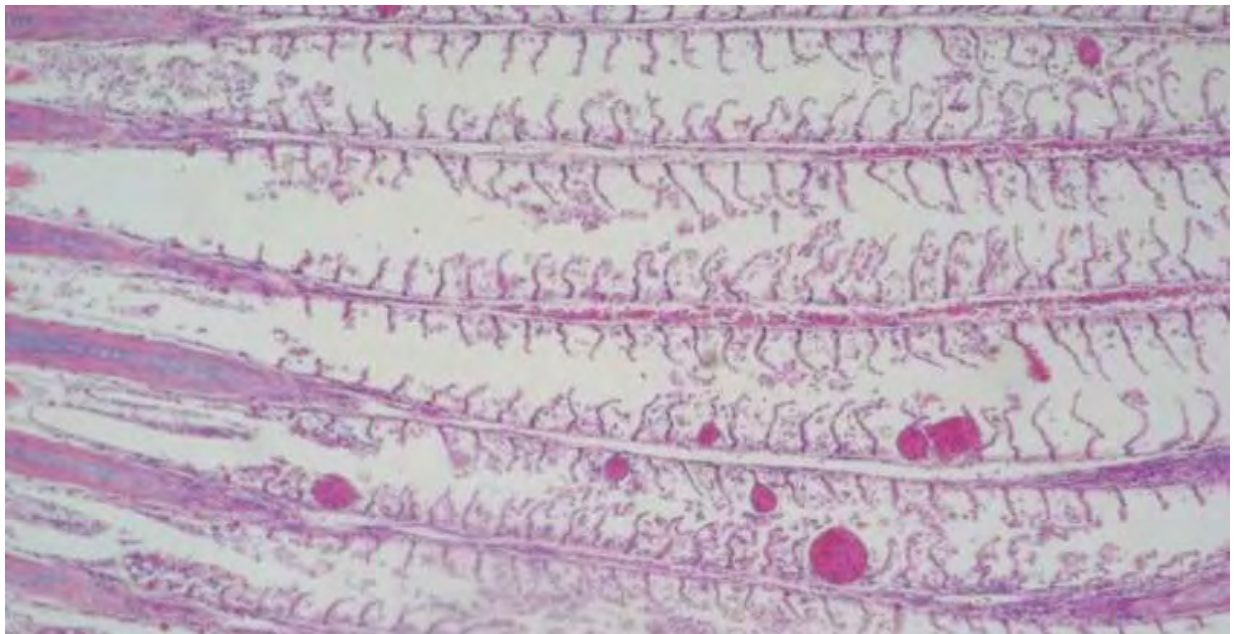
Για τον έλεγχο τυχόν ιστολογικών αλλοιώσεων του λαβρακιού μετά από την χρήση κυπερμεθρίνης επιλέχθηκε να γίνει έλεγχος σε βράγχια, ήπαρ, νεφρό, σπλήνα, πεπτικό σωλήνα και εγκέφαλο. Τα δείγματα που επιλέχθηκαν ήταν τα ακόλουθα. Δύο ψάρια από κάθε δεξαμενή που υποβλήθηκε σε λουτρό με το χημικό για μία ώρα. Όλα τα δείγματα συλλέχθηκαν μετά από 24 ώρες από το τέλος του λουτρού. Επίσης δύο ψάρια από το κάθε ενυδρείο, όπου τα ψάρια εκτέθηκαν σε παρατεταμένο λουτρό για 96 ώρες, με διαφορετική πυκνότητα του χημικού. Στα ενυδρεία 1,2,3,4 και 8 τα δείγματα συλλέχθηκαν με το πέρας των 96 ωρών, ενώ στα ενυδρεία 5,6 και 7 που περιείχαν τις υψηλές δόσεις, τα δείγματα συλλέχθηκαν κατά τον χρόνο των θνησιμοτήτων.

Όπως διαπιστώθηκε και από τον έλεγχο των ιστολογικών τομών των οργάνων, δεν παρουσιάστηκε καμία αλλοίωση ιστού σε όλα τα δείγματα από τις δεξαμενές που υποβλήθηκαν σε 1 ώρα λουτρό. Ακόμα και η δεξαμενή 5 που περιείχε την πιο υψηλή δόση (6,5 ml/m<sup>3</sup>), δεν παρουσίασε καμία ιστολογική αλλοίωση. Μοναδικά σημεία όπου εντοπίστηκαν μικρές εστιακές αλλοιώσεις, ήταν βραγχιακά στα σημεία προσκόλλησης των μονογενών παρασίτων, στα οποία παρουσίαζαν μικρής έκτασης υπερπλασίες.

Όσο αναφορά τα δείγματα που εκτέθηκαν σε διαφορετικές πυκνότητες του χημικού, αλλά για παρατεταμένο χρονικό διάστημα, εκεί εντοπίζονται κάποιες διαφοροποιήσεις. Οι ιστοί από τα τρία πρώτα ενυδρεία (1,2 & 3), δεν παρουσίασαν κάποια σημαντική ιστολογική αλλοίωση παρόλο το παρατεταμένο χρονικό διάστημα που εκτέθηκαν στο χημικό. Στα υπόλοιπα δείγματα από τα ενυδρεία 4, 5,6 και 7 που είναι και τα ενυδρεία με τις πιο υψηλές δόσεις και την παρουσία θνησιμοτήτων, εντοπίστηκαν αλλοιώσεις μόνο βραγχιακά και με διαφορετική ένταση σε κάθε δόση (Εικ 6.13, 6.14, 6.15, 6.16, 6,17).

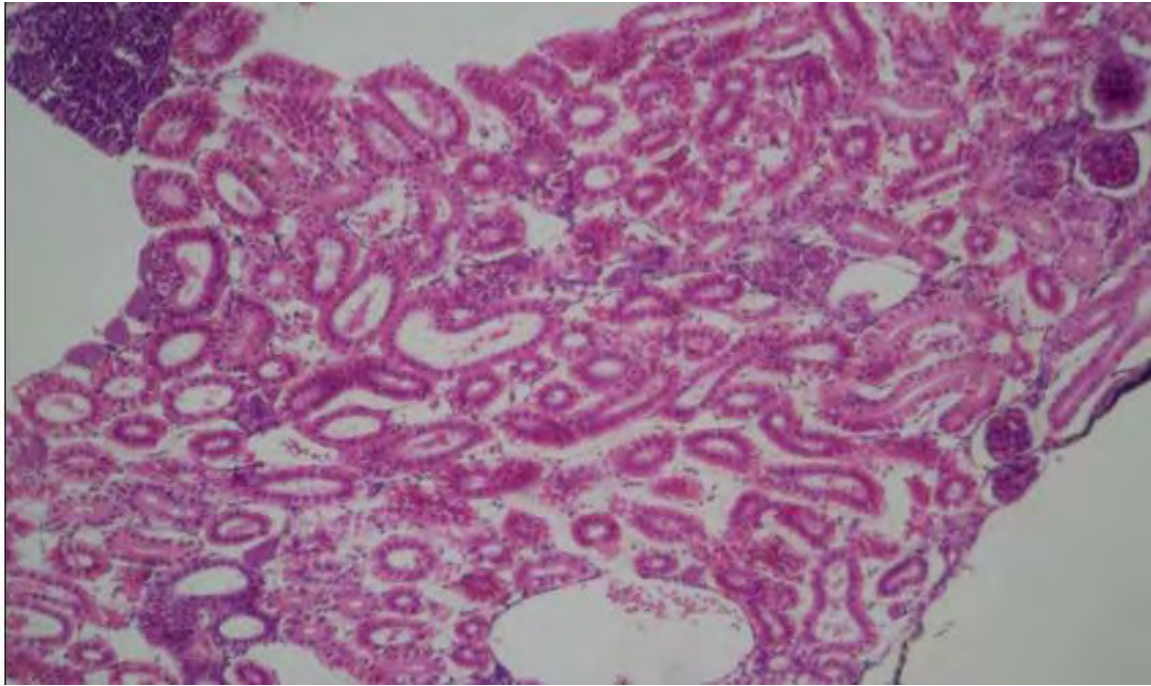


**Εικ. 6.13** Ιστολογική τομή βραγχίων από λαβράκι που εκτέθηκε στην δόση 2.0 ml/m<sup>3</sup> Excis για 96 ώρες. Διακρίνεται ελαφριά υπερπλασία των πρωτογενών νημάτων, καθώς και παρουσία ενός μονογενούς παρασίτου (H&E, x100).

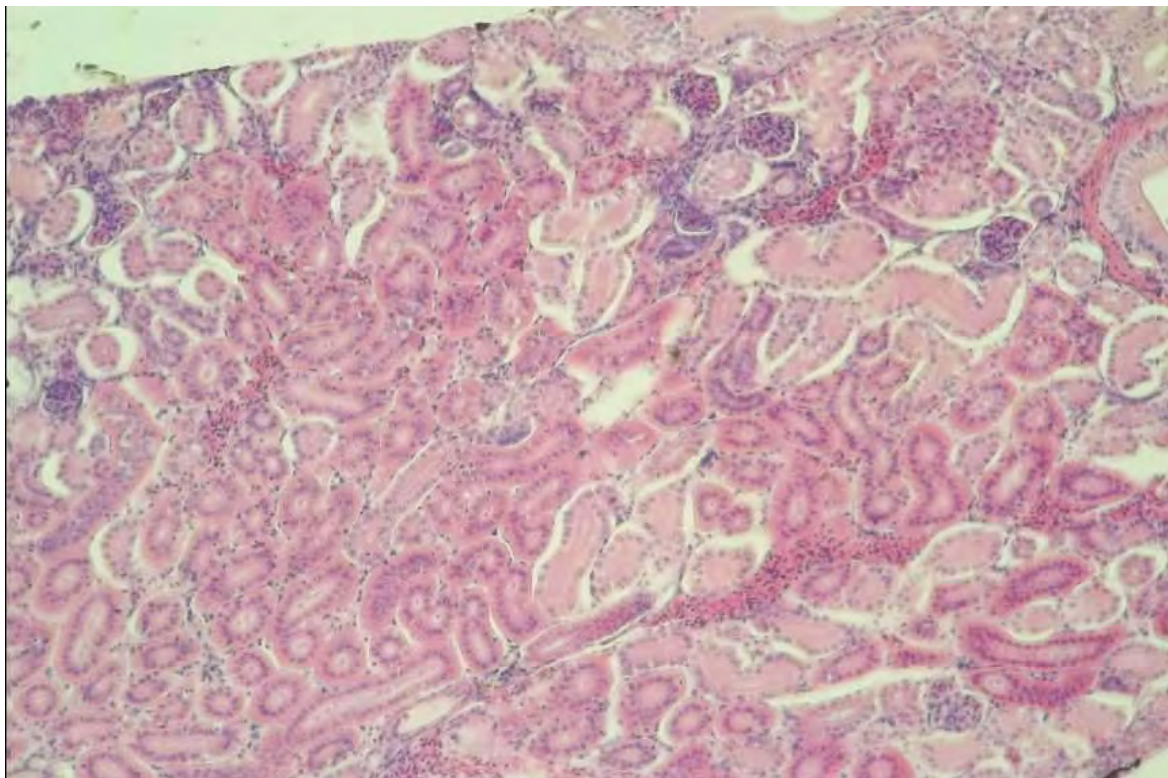


**Εικ. 6.14** Ιστολογική τομή βραγχίων από λαβράκι που εκτέθηκε στην δόση 6.5 ml/m<sup>3</sup> Excis για 48 ώρες. Διακρίνεται η έντονη αλλοίωση όλων των δευτερογενών νημάτων, καθώς και η απόπτωση των επιθηλιακών κυττάρων. Επίσης εντοπίζεται και παρουσία τηλεαγγειεκτασίας, που οφείλεται στην τοξικότητα του χημικού ή στον χειρισμό κατά την δειγματοληψίας (H&E, x100).





**Εικ. 6.15** Ιστολογική τομή από νεφρό λαβράκι που εκτέθηκε στην δόση 2.0 ml/m<sup>3</sup> Excis για 96 ώρες. Φυσιολογική εικόνα χωρίς αλλοιώσεις (H&E, x200).



**Εικ. 6.16** Ιστολογική τομή από νεφρό λαβράκι που εκτέθηκε στην δόση 6.5 ml/m<sup>3</sup> Excis για 48 ώρες. Φυσιολογική εικόνα χωρίς αλλοιώσεις (H&E, x200).



**Εικ. 6.17** Ιστολογική τομή γαστρεντερικού συστήματος από λαβράκι που εκτέθηκε στην δόση  $6.5 \text{ ml/m}^3$  Excis για 48 ώρες. Φυσιολογική εικόνα χωρίς αλλοιώσεις (H&E, x100).

## 6.5 Συνοπτική περιγραφή αποτελεσμάτων

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα των πειραμάτων που διενεργήθηκαν, και παρουσιάζονται αναλυτικά στο παραπάνω κεφάλαιο, προκύπτουν τα ακόλουθα:

- Όλες οι δόσεις του Excis (περιέχει κυπερμεθρίνη 1% β/ο ή 10 mg/ml) που χρησιμοποιήθηκαν σε λουτρά διάρκειας μιας ώρας (0,5 ml/m<sup>3</sup>, 1,0 ml/m<sup>3</sup>, 1,5 ml/m<sup>3</sup>, 2,0 ml/m<sup>3</sup>, 6,5 ml/m<sup>3</sup>), παρουσίασαν ολική απομάκρυνση των ισόποδων παρασίτων από τον πληθυσμό των ψαριών που διενεργήθηκαν οι πειραματικές δόσεις.
- Όλα τα ισόποδα παράσιτα που συλλέχτηκαν και ελέχθησαν μετά από εικοσιτέσσερις ώρες, και σαράντα οκτώ ώρες είχαν θανατωθεί πλήρως και κανένα δεν βρισκόταν στο σημείο προσκόλλησης (την στοματική κοιλότητα του ξενιστή).
- Δεν υπήρξε διαφοροποίηση στα αποτελέσματα μεταξύ του πρώτου κύκλου πειραμάτων και του δεύτερου (επαναληπτικό).
- Κατά τον έλεγχο τοξικότητας με χρήση του πρωτόκολλου LC<sub>50</sub>, δεν παρουσιάστηκε καμία θνησιμότητα στις δόσεις Excis 0,5 ml/m<sup>3</sup>, 1,0 ml/m<sup>3</sup>, 1,5 ml/m<sup>3</sup>, 2,0 ml/m<sup>3</sup>, ως τις ενενήντα έξι ώρες. Στις παραπάνω δόσεις δεν παρατηρείται τοξικότητα.
- Οι δόσεις Excis 6,5 ml/m<sup>3</sup>, 8,5 ml/m<sup>3</sup>, 10 ml/m<sup>3</sup> σε λαβράκια 25 g σε θερμοκρασία 20°C έδειξε ότι η τιμή LC<sub>50</sub> ήταν 6,691 ml Excis/m<sup>3</sup> ή 66,910 μg κυπερμεθρίνης/l στις εικοσιτέσσερις ώρες.
- Δεν παρουσιάστηκαν διαφορές στις χαμηλές δόσεις 0,5 ml/m<sup>3</sup>, 1,0 ml/m<sup>3</sup>, 1,5 ml/m<sup>3</sup> και 2,0 ml/m<sup>3</sup> στο επαναληπτικό πείραμα, καθώς και στο πείραμα με τα μη μολυσμένα ψάρια.
- Δεν παρουσιάστηκαν σημαντικές διαφορές στον χρόνο θανάτωσης στο επαναληπτικό πείραμα των υψηλών δόσεων 6,5 ml/m<sup>3</sup>, 8,5 ml/m<sup>3</sup>, 10 ml/m<sup>3</sup>, ο χρόνος LC<sub>50</sub> παρέμεινε στις εικοσιτέσσερις ώρες, για 8,5 ml/m<sup>3</sup>, 10 ml/m<sup>3</sup> αλλά για την δόση 6,5 ml/m<sup>3</sup> μετατοπίστηκε στις σαράντα οκτώ ώρες. Το ίδιο ισχύει και για το πείραμα με τα μη μολυσμένα ψάρια.

## 6.6 Συζήτηση

Η ανάπτυξη των θαλάσσιων ιχθυοκαλλιεργειών σε πλωτούς ιχθυοκλωβούς οδήγησε σε εμφάνιση παρασιτικών ασθενειών στους καλλιεργούμενους ιχθύες (Kent, 2000), αυτό είχε ως αποτέλεσμα την εφαρμογή θεραπειών με σκοπό την αντιμετώπισή τους. Η αντιμετώπιση των παρασιτικών νοσημάτων συνήθως γίνεται με εφαρμογή θεραπευτικών λουτρών, πρακτική η οποία παρουσιάζει αρκετά μειονεκτήματα όπως, τεχνικές δυσκολίες στην εφαρμογή σε πλωτούς ιχθυοκλωβούς μεγάλου μεγέθους με υψηλές ιχθυοφορτίσεις, υψηλή καταπόνηση (stress) των ψαριών, υψηλό κόστος θεραπείας και περιβαλλοντικές επιπτώσεις, λόγω της απόρριψης των φαρμάκων στο υδάτινο περιβάλλον. (Stone *et al.*, 1999, Hakalathi *et al.*, 2004, Toksen *et al.*, 2006).

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η αποτελεσματικότητα της κυπερμεθρίνης (σκεύασμα EXCIS) στην καταπολέμηση του παρασίτου *Ceratomyxa oestroides*, καθώς και η τοξικότητά του, όταν χορηγήθηκε στο λαβράκι.

Λόγω του πρωτότυπου της παρούσας εργασίας δεν είναι δυνατή η σύγκριση με άλλη που έχει ήδη δημοσιευθεί. Για τον λόγο αυτό επιλέχθηκε η αναφορά κάποιων μελετών με το λαβράκι και το ισόποδο παράσιτο *Ceratomyxa oestroides*, με χρήση διαφορετικών χημικών από αυτό που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα μελέτη. Καθώς και κάποιες εργασίες με το ίδιο χημικό προϊόν, αλλά με χρήση του σε διαφορετικά είδη ψαριών και προσβολή από άλλο παράσιτο.

Η χρήση και η αποτελεσματικότητα της κυπερμεθρίνης στην καταπολέμηση της ψείρας (*Lepeophtheirus salmonis*), στην καλλιέργεια του σολομού (*Salmon salar*) έχει μελετηθεί αρκετά από πολλούς ερευνητές (Stone *et al.*, 1999, 2000, 2002, Ramstad *et al.*, 2002, Treasurer *et al.*, 2002) και έχει δώσει γενικά καλά αποτελέσματα σε όσες μελέτες έχουν γίνει. Σε μελέτη των Tooney *et al.* (2000) που έγινε σχετικά με της αποδοτικότητα της κυπερμεθρίνης, του διχλορβόν και

υπεροξειδίου του υδρογόνου, κατά των αυγών της ψείρας του σολομού, το υπεροξειδίο του υδρογόνου έδειξε να είναι το πιο αποτελεσματικό. Επίσης έχει μελετηθεί αρκετά η χρήση χημικών για στην αντιμετώπιση της ψείρας του σολομού (*Lepeophtheirus salmonis*) από τους Denholm *et al.* (2002), όπου αναφέρεται πώς τα αποτελέσματα του συνθετικού πυρεθροειδούς κυπερμεθρίνη ήταν ικανοποιητικά. Σε πρόσφατη μελέτη από τους Ayoola *et al.* (2008), όπου διενεργήθηκε έλεγχος του LC<sub>50</sub>, καθώς και έλεγχος ιστοπαθολογικών αλλοιώσεων μετά από χρήση κυπερμεθρίνης στο αφρικάνικο γατόψαρο (*Clarias gariepinus*). Η τιμή LC<sub>50</sub> προσδιορίσθηκε στα 0,063 ml/l στις 96 ώρες, όπου διαπιστώθηκε παρουσία αλλοιώσεων στους ιστούς βραγχίων, ήπατος, νεφρού και εγκεφάλου, μόνο στα νεαρά ψάρια. Στα ενήλικα γατόψαρα οι αλλοιώσεις στους ιστούς, μετά από 96 ώρες έκθεσης στην ουσία σε υψηλές δόσεις, ήταν ελάχιστες.

Σε μελέτες που έχουν διενεργηθεί για την τοξικότητα της κυπερμεθρίνης με χρήση του LC<sub>50</sub> στην τιλάπια του Νείλου (*Oreochromis niloticus*), σε νεαρά άτομα, από τους Yaji A.J *et al.* (2011) και τους Sarıkaya R. (2009), ήταν 0,0126 mg/l στις 96 ώρες και παρατηρήθηκε έντονη ενόχληση των νεαρών ψαριών κατά την διάρκεια παραμονής τους στα πειραματικά ενυδρεία, ιδιαίτερα στις πολύ υψηλές δόσεις 0,010-0,011 mg/l.

Ωστόσο, παρόλο τα καλά αποτελέσματα σχετικά με την αποτελεσματικότητα του φαρμάκου, σε όλες τις δημοσιευμένες μελέτες αναφέρθηκε η σημαντική βλάβη που προκαλούν τα συνθετικά πυρεθροειδή στους βενθικούς οργανισμούς.



Εκτεταμένες ερευνητικές εργασίες έχουν γίνει πάνω στην παρασίτωση από ψείρα *C.oestroides* του εκτρεφόμενου λαυρακιού (*Dicentrarchus labrax* L), από τους Athanassopoulou et al., (2001, 2002, 2004) με χρήση δελταμεθρίνης με λουτρό, και διφλουβενζουρόνης και ιβερμεκτίνης με χορήγηση μέσω της τροφής. Η δελταμεθρίνη έδωσε έκανε αποπαρασίτωση σε όλα τα ψάρια σε δόση 10 μg/l, στα μικρά αλλά και στα μεγάλα ψάρια (5 και 20 g). Επίσης πρέπει να σημειωθεί πως δεν παρατηρήθηκε επανάκτηση των παρασίτων κατά τον επόμενο έλεγχο (48 ώρες μετά) και τοξικότητα. Η διφλουβενζουρόνη με χορήγηση μέσω της τροφής για 14 συνεχόμενες ημέρες, σε συγκέντρωση 3 mg/kg σωματικού βάρους, έδωσε εξίσου καλά αποτελέσματα με πλήρη απουσία των παρασίτων κατά τον έλεγχο, 19 ημέρες μετά το τέλος της θεραπευτικής αγωγής. Επίσης σε δεύτερο έλεγχο που διενεργήθηκε 15 ημέρες μετά δεν εντοπίστηκε επανάκτηση παρασίτων στον πληθυσμό. Δεν παρατηρήθηκαν ανεπιθύμητες ενέργειες κατά την περίοδο χορήγησης της διφλουβενζουρόνης. Η ιβερμεκτίνη έδωσε και αυτή καλά αποτελέσματα στην αντιμετώπιση του παρασίτου, με χορήγηση μέσω της τροφής, όπου και μελετήθηκε η τοξικότητα της σε λαβράκια 3 και 35 gr. Η τιμή LC<sub>50</sub> και στις δύο ομάδες ψαριών προσδιορίστηκε σε θερμοκρασία 11°C και 20°C. Οι ομάδες παρουσίασαν διαφορετική LC<sub>50</sub>, όπως θα αναμένονταν, αλλά και διαφορετική στις δύο θερμοκρασίες που ελέχθησαν. Δεν παρατηρήθηκε τοξικότητα στους ιστούς. Τα ίδια πειράματα επαναλήφθηκαν και με έκχυση της ιβερμεκτίνης στα λαβράκια, όπου και διαπιστώθηκε πως η ιβερμεκτίνη με αυτό τον τρόπο χορήγησης ήταν πιο τοξική για τα ψάρια, και κυρίως για τα λαβράκια των 3 gr. Οι ιστολογικές αλλοιώσεις πάντως έδειξαν να περιορίζονται σε μεγάλο βαθμό στα βράγχια και τον εντερικό σωλήνα.

Υπάρχουν επίσης περιορισμοί για τη χρήση της ιβερμεκτίνης, εξαιτίας του μεγάλου χρόνου αναμονής της στους ιστούς, αλλά και των αρνητικών επιπτώσεων που μπορεί να έχει σε άλλους υδρόβιους οργανισμούς.

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η αποτελεσματικότητα του σκευάσματος EXCIS σε πέντε διαφορετικές δόσεις: α. Χορήγηση 0,5 ml/m<sup>3</sup> (προτεινόμενη δόση

για τον σολομό), β. χορήγηση δόσεων 1,0 ml/m<sup>3</sup>, γ. 1,5 ml/m<sup>3</sup>, δ. 2,0 ml/m<sup>3</sup>, ε. 6,5 ml/m<sup>3</sup>. Από τα αποτελέσματα έδειξαν ότι δεν υπήρχε καμία διαφορά ανάμεσα στις δόσεις που πραγματοποιήθηκαν τα πειραματικά μπάνια, καθώς είχαν όλες, από την πιο μικρή ως την μεγάλη δόση προκαλούσαν ολική απομάκρυνση του ισόποδου παράσιτου από τα πειραματικά ψάρια ενώ παράλληλα προκαλούσαν και την θανάτωση τους.

Αναφορικά με τα πειράματα που έγιναν για να μελετηθεί η τοξικότητα (LC<sub>50</sub>) του EXCIS στο λαβράκι, όπως φαίνεται και από τους παραπάνω πίνακες προκύπτει ότι η χρήση των χαμηλών δόσεων (0,5 / 1,0 / 1,5 / 2,0 ml/m<sup>3</sup>) είναι απόλυτα ασφαλής για τον πληθυσμό των λαβρακίων, μιας και σε αυτές τις δόσεις δεν είχαμε την παραμικρή θνησιμότητα εντός 96 ωρών. Αντίθετα η χρήση υψηλών δόσεων δεν μπορεί να χαρακτηριστεί ασφαλής καθώς παρατηρείται μεγάλη θνησιμότητα. Η τιμή LC<sub>50</sub> βρίσκεται στα 6,691 ml Excis/m<sup>3</sup> ή 66,910 μg κυπερμεθρίνης/l στις 24 ώρες. Με βάση τα παραπάνω συνάγεται το συμπέρασμα ότι η χορήγηση δόσης μέχρι 2 ml/m<sup>3</sup> είναι αποτελεσματική χωρίς εμφάνιση τοξικότητας. Η αποτελεσματικότητα της κυπερμεθρίνης, όπως αποδείχθηκε στην παρούσα εργασία, κρίνεται ικανοποιητική και δεν παρουσιάζει σημαντικές διαφοροποιήσεις από εργασίες που δημοσιεύθηκαν σε σολομό και άλλα είδη ψαριών. Τα σημεία που χρήζουν ιδιαίτερης προσοχής, εκτός της αποτελεσματικότητας της κυπερμεθρίνης είναι τα ακόλουθα:

- Η ανθεκτικότητα που αποκτούν τα παράσιτα μετά από χρήση ενός συγκεκριμένου φαρμάκου για παρατεταμένο χρονικό διάστημα. Αυτό είναι κάτι που έχουμε δει να συμβαίνει αρκετές φορές με τα φάρμακα που έχουν χρησιμοποιηθεί στον σολομό για την καταπολέμηση της ψείρας. Κάποια φάρμακα παρόλο που είναι στην αρχή της χρήσης τους αποτελεσματικά, με την πάροδο ετών η αποτελεσματικότητά τους μειώνεται σταδιακά, λόγω της ανθεκτικότητας που αποκτά το παράσιτο σε αυτά. Για το λόγο αυτό τα τελευταία χρόνια οι ιχθυοκαλλιεργητές σολομού, χρησιμοποιούν την βενζοϊκή

εμαμεκτίνη, καθώς είναι το πιο πρόσφατα χρησιμοποιούμενο αντιπαρασιτικό, και συνεχίζει να παρουσιάζει καλά αποτελέσματα ως σήμερα. Αυτό το πρόβλημα είναι δυνατόν να αντιμετωπιστεί με περιοδική χρήση διαφορετικών φαρμάκων, όπως η κυπερμεθρίνη και η δελταμεθρίνη που είναι φάρμακα εξίσου αποτελεσματικά στην καταπολέμηση της ψείρας του λαυρακιού (*Ceratothoa oestroides*), θα ήταν επίσης καλό να ελεγχθεί και η αποτελεσματικότητα του αζαμεθριφός (*azamethriphos*), που είναι αποτελεσματικό φάρμακο στον σολομό.

- Το δεύτερο σημείο που χρήζει ιδιαίτερης προσοχής, είναι η επίδραση όλων αυτών των φαρμάκων (οργανοφωσφωρικά, πυρεθροειδή, αβερμεκτίνες, συνθετικές χιτίνες κλπ.), στου υδρόβιους μικροοργανισμούς, και ειδικότερα στους βενθικούς οργανισμούς, όπου έχει διαπιστωθεί μεγάλη βιοσυσσώρευση με αποτέλεσμα την εκτεταμένη καταστροφή τους. Η τοξικότητα στους βενθικούς οργανισμούς θα μπορούσε να περιορισθεί με την προσεκτική χρήση των φαρμάκων αυτών στις ιχθυοκαλλιέργειες και παράλληλη θέσπιση συγκεκριμένης χρονικής περιόδου πραγματοποίησης αντιπαρασιτικών λουτρών από τις αρμόδιες αρχές. Με τον τρόπο αυτό θα είναι δυνατός ο έλεγχος των ποσοτήτων φαρμάκων που χρησιμοποιούνται κάθε έτος, καθώς και να επιτευχθεί σταδιακή μείωση του παρασιτικού φορτίου.

Με την παρούσα μελέτη παρουσιάζονται δεδομένα όπου δείχνεται ότι το σκεύασμα EXCIS (κυπερμεθρίνη) είναι αποτελεσματικό στην καταπολέμηση του ισόποδου *Ceratothoa oestroides* στο εκτρεφόμενο λαβράκι σε πειραματικές δεξαμενές. Επίσης ανοίγει τον δρόμο μαζικής του χρήσης σε συνθήκες εκτροφής, καθώς τα συγκεκριμένα λουτρά παρουσιάζουν κάποια πλεονεκτήματα, όπου γίνεται εφικτός ο συνδυασμός με ενέσιμο εμβολιασμό κατά της Δονακίωσης που αποτελεί

πλέον διαδικασία ρουτίνας σε όλους τους πληθυσμούς λαβρακίου που εκτρέφονται στις μονάδες πάχυνσης.

Ακολουθώντας την παραπάνω στρατηγική, υπάρχει το πλεονέκτημα της εφαρμογής του φαρμάκου σε μικρού μεγέθους ιχθυδίων, άρα μικρή ποσότητα χορήγησης του προϊόντος, που συνεπάγεται χαμηλή περιβαντολλογική επιβάρυνση και μικρό κόστος χρήσης. Ενδεικτικά θα χρειασθεί περίπου μια συσκευασία του προϊόντος (200 ml EXCIS), για αποπαρασίτωση 70.000 ψαριών. Τα ψάρια δεν θα υποστούν επιπλέον καταπόνηση λόγω του εγκλωβισμού τους στο σάκο, γιατί θα ενσωματωθεί στην διαδικασία χαλάρωσης με αναισθητικό πριν τον εμβολιασμό, επίσης ηλικιακά είναι η καλύτερη περίοδος αποπαρασίτωσης του πληθυσμού, καθώς σε αυτό το στάδια τα ισόποδα παράσιτα (pulli II) προκαλούν έντονους μηχανικούς τραυματισμούς στο επιθήλιο των βραγχίων, και εν συνέχεια δευτερογενείς μολύνσεις και θνησιμότητα.

Περαιτέρω έρευνα και μελέτη θα πρέπει να γίνει για να αποδειχθεί η αποτελεσματικότητά του και σε συνθήκες εκτροφής, όπου τα ψάρια θα είναι εκτεθειμένα σε νέες μολύνσεις. Επίσης, επιπλέον αντικείμενο έρευνας μπορεί να αποτελέσει και ο προσδιορισμός της διάρκειας της αποτελεσματικότητας και της προστασίας που μπορεί να προσφέρει το συγκεκριμένο σκεύασμα στην καλλιέργεια του λαβρακίου.

Τέλος, όσον αφορά την χρήση του σκευάσματος EXCIS στην Ελληνική Ιχθυοκαλλιέργεια, η μελέτη της φαρμακοκινητικής της κυπερμεθρίνης και του τρόπου μεταβολισμού της από το λαβράκι, μπορούν να αποτελέσουν αντικείμενα, για μελλοντική έρευνα.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Alvarez – Pellitero P, Sitja – Bobadilla A (1992). Effect of Fumagillin treatment on sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) parasitized by *Sphaerospora testicularis* (Myxosporea: Bivalvulida). *Diseases of Aquatic Organisms* 14: 171-178
- Alvarez – Pellitero P, Sitja – Bobadilla A (1993). Pathology of Myxosporea in marine fish culture. *Diseases of Aquatic Organisms* 17: 229-238
- Anu Singh (2010). Determination of LC<sub>50</sub> of cadmium chloride in *Heteropneustes fossilis*. *GERF Bulletin of Biosciences* (1): 21-24.
- Athanassopoulou F, Bouboulis D, Martinsen B (2001a). In vitro treatments of deltamethrin against the isopod parasite *Ceratothoa oestroides*, a pathogen of sea bass *Dicentrarchus labrax* L. *Bull. Eur. Ass. Fish. Pathol* 21 (1):26-29.
- Athanassopoulou F, Ragias V, Roth M, Liberis N, Hatzinikolaou S (2002). Toxicity and pathological effects of orally and intraperitoneally administered ivermectin on sea bass *Dicentrarchus labrax*. *Diseases of Aquatic Organisms* 52: 69-79
- Athanassopoulou, F. (1997). Sea lice and the treatments problems. *Fishing News* 187, 74-79.
- Athanassopoulou, F. (2001). The most important parasitic diseases of cultured marine fish in Greece. *Bulletin of the Hellenic Veterinary Association* 52(1), 9-17.
- Athanassopoulou, F., Bouboulis, D & Martinsen, B. (2001). In vitro treatments of deltamethrin against the isopod parasite *Anilocla physoides*, a pathogen of

- seabass *D. Labrax*. L. .The *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists* 21 (1) 26-29.
- Athanassopoulou, F., Bouboulis, D.& Martinsen, B. (2004). Experimental treatments of sea bass *D. Labrax* L. infected with the isopod *Ceratothoa oestroides* with diflubenzuron and deltamethrin. .*Journal of Applied Ichthyology* 20, 314-317.
  - Athanassopoulou, F., Ragias, V., Roth, M., Liberis, N., and Hatzinikolaou, S. (2002). Toxicity and pathological effects of orally and intraperitoneally administered ivermectin in sea bass *D. Labrax* L. *Diseases of Aquatic Organisms* 52(1), 69-76.
  - Athanassopoulou F, Billinis C, Psychas V, Karipoglou K (2003). Viral encephalopathy and retinopathy of *Dicentrarchus labrax* (L.) farmed in fresh water in Greece. *Journal of Fish Diseases* 26:261-365
  - Athanassopoulou F, Pappas I S, Bitchava K (2009). An overview of the treatments for parasitic disease in Mediterranean aquaculture. In: C Rogers & Basurco B (eds) Proceedings of the seminar “The use of veterinary drugs and vaccines in Mediterranean aquaculture”, Mediterranean Seminars: Series A: 86, Izmir.
  - Ayoola S.O, Ajani E.K (2008). Histopathological Effects of Cypermethrin on Juvenile African Catfish (*Clarias gariepinus*). *World Journal of Biological Research* 001: 2.
  - Bellance R, Gallet de Saint-Aurin D (1988). L' encephalite virale de loup de mer. *Caraibes Medical* 2 :105-114.
  - Bere R (1936). Parasitic copepods from Gulf of Mexico fish. *American Midland Naturalist* 17: 577-625

- Bouboulis D, Athanassopoulou F, Tyrpenou A (2004). Experimental treatments with deflubenzuron and deltamethrin of sea bass *Dicentrarchus labrax* L. infected with the isopod, *Ceratothoa oestroides*. *J. Appl. Ichthyol.* 20:1-4.
- Boxshall G (2005). Copepoda (copepods). In: Rohde K (ed) In: Marine Parasitology. CAB International, UK.
- Cabral P, Coste F, Raibaut A (1986). Cycle evolutif de *Lernanthropus kroyeri* Van beneden, 1851. *Ann. Parasitol. Hum Comp* 59 (2): 189-207.
- Cagirgan H (2009). The use of veterinary drugs and vaccines in Turkey. In: Rogers C & Basurco B (eds) Proceedings of the seminar “The use of veterinary drugs and vaccines in Mediterranean aquaculture” , Mediterranean Seminars: Series A: 86, Izmir
- Davies I M, Rodger G K (2000). A review of the use of ivermectin as a treatment for sea lice [*Lepeophtheirus salmonis* (Kroyer) and *Caligus elongatus* Nordmann] infestation in farmed Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture Research* 31: 869-883.
- Denholm L, Devine G, Horsberg T, Sevatdal S, Fallang A, Nolan D, Powell R (2002). Analysis and management of resistance to chemotherapeutants in salmon lice, *Lepeophtheirus salmonis* (Copepoda: Caligidae). *Society of Chemical Industry* 58:528-536.
- Duston J, Cusack R R (2002). Emamectin benzoate: an effective in-feed treatment against the gill parasite *Salmincola edwardsii* on brook trout. *Aquaculture* 207: 1-9.
- FAO (2006). The state of world fisheries and aquaculture, Rome
- FAO (2008) The state of world fisheries and aquaculture, Rome
- Feist SW, Longshaw M (2008). Histopathology of fish parasite infections – importance for populations. *Journal of Fish Biology* 73: 2143-2160.

- Grabda J (1991). Marine Fish Parasitology. An outline. Polish scientific publishers, Warszawa.
- Gustafson L, Ellis S, Robinson T, Marengi F, Endris R (2006). Efficacy of emamectin benzoate against sea lice infestations of Atlantic salmon, *Salmo salar* L.: evaluation in the absence of an untreated contemporary control. *Journal of Fish Diseases* 29: 621-627.
- Hakalathi T, Lankinen Y, Valtonen T (2004). Efficacy of Emamectin benzoate in the control of *Argulus coregoni* (Crustacea: Branchiura) on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Diseases of Aquatic Organisms* 60: 197-204.
- Hewitt G C (1971). Two species of *Caligus* (Copepoda: Caligidae) from Australian waters, with a description of some developmental stages. *Pac. Sci* 25: 145-164.
- Horton T, (2000). *Ceratothoa streindachneri* (Isopod: Cymothoidae) new to British waters with a key to north-east Atlantic and Mediterranean *Ceratothoa*. *Mar. Biol. Ass. U.K.* 80: 1041-1052.
- Johnson S, Blaylock R, Elphick J, Hyatt K (1996). Disease caused by the salmon louse *Lepeophtheirus salmonis* (Copepoda: Caligidae) in wild sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) stocks of Alberni inlet, British Columbia. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 53: 2888-2897.
- Johnson S, Treasurer J, Bravo S, Nagasawa K, Kabata Z (2004). A review of the impact of Parasitic Copepods on Marine Aquaculture. *Zoological Studies* 43 (2): 229-243.
- Kabata Z (1958). *Lernaecocera obtusa* n. sp. Its biology and its effect on the haddock. *Mar. Res. Dept. Agric. Fish. Scotl.* 3: 1-26.
- Kabata Z (1979). Parasitic copepoda of British fishes. British museum (Natural History), London.



- Kent M L (2000). Marine cage farming leads to infections with some unusual parasites. *Int. J Parasitol* 30: 321-326
- 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
- Lester R J G, Roubal F R (1995). Phylum Arthropoda. In: P T K Woo (ed) *Fish Diseases and Disorders, Protozoan and Metazoan infections*. CAB International, UK, p475.
- Lom J, Dykova I (1995). Myxosporea (Phylum Myxozoa). In: P T K Woo (ed) *Fish Diseases and Disorders, Protozoan and Metazoan infections*. CAB International, UK, p97
- Mann H B, Whitney D R (1947). On a test of whether one of two random variables is stochastically larger than the other. *The Annals of Mathematical Statistics* 18 (1): 50-60
- Munday B L, Kwang J, Moody N (2002) Betanodavirus infections of teleost fish: A review. *Journal of Fish Diseases* 25: 127-142
- Neilson J D, Perry R I, Valerio S P (1987). Interactions of caligid ectoparasites and juvenile gadids on Georges Bank. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 39: 221-232.
- Nowak B (2007). Parasitic diseases in marine cage culture – An example of experimental evolution of Parasites? *Int. J Parasitol.* 37: 581-588.
- Rahmi Aydin (2005). Acute toxicity of synthetic pyrethroid cypermethrin on the common carp (*Cyprinus carpio* L.) embryos and larvae. *Aquaculture international* 13:451-458.
- Roberts R (1989). *Fish pathology*. Bailliere, Tindall, London.
- Rohde K (2002). Ecology and Biogeography of Marine parasites. In A J Southward, P A Tyler, C M Young, L A Fuiman (eds) *Advances in Marine Biology Vol. 43*. Academic Press, London, UK

- Roy W J, Sutherland I H, Rodger H D M, Varma K J (2000). Tolerance of Atlantic salmon, *Salmo salar* L., and rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), to emamectin benzoate, a new orally administered treatment for sea lice. *Aquaculture* 184:19-29.
- Stirling Institute of aquaculture (2004). Study of the market for aquaculture produced sea bass and sea bream species, Stirling
- Sarusic G (1999). Preliminary report of infestation by isopod *Ceratothoa oestroides* (Risso, 1826) in marine cultured fish. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol* 19:110-112.
- Sarikaya R, (2009). Investigation of Acute Toxicity of Alpha-Cypermethrin on Adult Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 9: 85-89.
- Schaperclaus W (1992). *Fish Diseases*. Vol. 2. A.A. Balkema, Rotterdam.
- Sibel Baser (2003). Investigation of acute toxicity of permethrin on guppies *poecilia reticulata*. *Chemosphere* 51:469-474.
- Sterud E (2002). Parasites of wild sea bass *Dicentrarchus labrax* from Norway. *Diseases of Aquatic Organisms* 48: 209-212.
- Stone J, Sutherland I H, Sommerville C, Richards R H, Varma K J (2000b). Commercial trials using emamectin benzoate to control sea lice, *Lepeophtheirus salmonis* infestations in Atlantic salmon *Salmo salar* L. *Diseases of Aquatic Organisms* 41: 141-149.
- Toovey J P G, Lyndon A R (2000). Effects of hydrogen peroxide, dichlorvos and cypermethrin on subsequent fecundity of sea lice, *Lepeophtheirus salmonis*, under fish farm conditions. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.* 20 (6): 224-228.
- Toranzo A, Magarinos B, Romalde J (2005). A review of the main bacterial fish diseases in mariculture systems. *Aquaculture* 246: 37-61.

- Treves – Brown K M (2000). Applied Fish Pharmacology. Kluwer Academic Publishers, USA
- Vagianou S, Athanassopoulou F, Ragias V, Cave D, Leontides L, Golomazou E (2006). Prevalence and pathology of ectoparasites of Mediterranean sea bream and sea bass reared under different environmental and aquaculture conditions. *The Israeli Journal of Aquaculture* 58 (2): 78-88.
- Vagianou St., Bitchava K., Athanassopoulou F. (2006). Sea lice (*Ceratothoa oestroides*) (Risso, 1826), infestation in Mediterranean aquaculture: new information, *Bulletin of the Hellenic Veterinary Association*, 57 (3), 223-230.
- Vagianou St., Bitchava K., Athanassopoulou F. (2009). Estimation of seasonality and prevalence of the isopod parasite *Ceratothoa oestroides* (Risso, 1836), in Greece, *Bulletin of the Hellenic Veterinary Association* 60 (1) 14-25.
- Vagianou St., Bitchava K., Yiagnisi, M., Athanassopoulou F. (2009). The study of the biological cycle of the isopod parasite *Ceratothoa oestroides* (Risso, 1836), in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*), *Bulletin of the Hellenic Veterinary Association* 60 (1) 26-38.
- White H C (1940). "Sea lice" (Lepeophtheirus) and the death of salmon. J. Fish. Res. Bd. Can. 5: 172-175.
- Yaji A.J, Auta J, Oniye S.J, Adakole A, Usman J.I. (2011). Effects of cypermethrin on behavior and biochemical indices of fresh water fish *Oreochromis niloticus*, *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*, 10 (2), 1579-4377.
- Παπουτσόγλου Ε (2008). Διατροφή Ιχθύων. Εκδόσεις Σταμούλη Α.Ε, Αθήνα
- Πετριδης Δ (1997). Εφαρμοσμένη στατιστική στην τεχνολογία τροφίμων. Εκδοτική ΟΜΗΡΟΣ, Θεσσαλονίκη

- Φώτης Γ (1999). Εκτροφή και παθολογία ιχθύων Τόμος Α' . Εκδόσεις Σύγχρονη Παιδεία, Θεσσαλονίκη
- Χριστοφιλογιάννης Π (2000). Γενικές αρχές διάγνωσης και δειγματοληψίας στο: Πρακτικός οδηγός Ιχθυοπαθολογίας. Υπουργείο Γεωργίας. Διεύθυνση αλιευτικών εφαρμογών & ΕΑΠ, Αθήνα
- Χώτος Γ, Ρογδακης Ι (1992). Υδατοκαλλιέργειες ευρύαλων ψαριών. Λαβράκι και τσιπούρα. Τεχνικές της αναπαραγωγής και πάχυνσης. Εκδόσεις ΙΩΝ, Αθήνα

http 1: [www.fao.org](http://www.fao.org)

http 2: [www.fao.org/fishery/cultured species/Dicentrarchus\\_labrax](http://www.fao.org/fishery/cultured_species/Dicentrarchus_labrax)

http 3: [www.ccohs.ca/Canadian](http://www.ccohs.ca/Canadian) Canter for Occupational Health and Safety