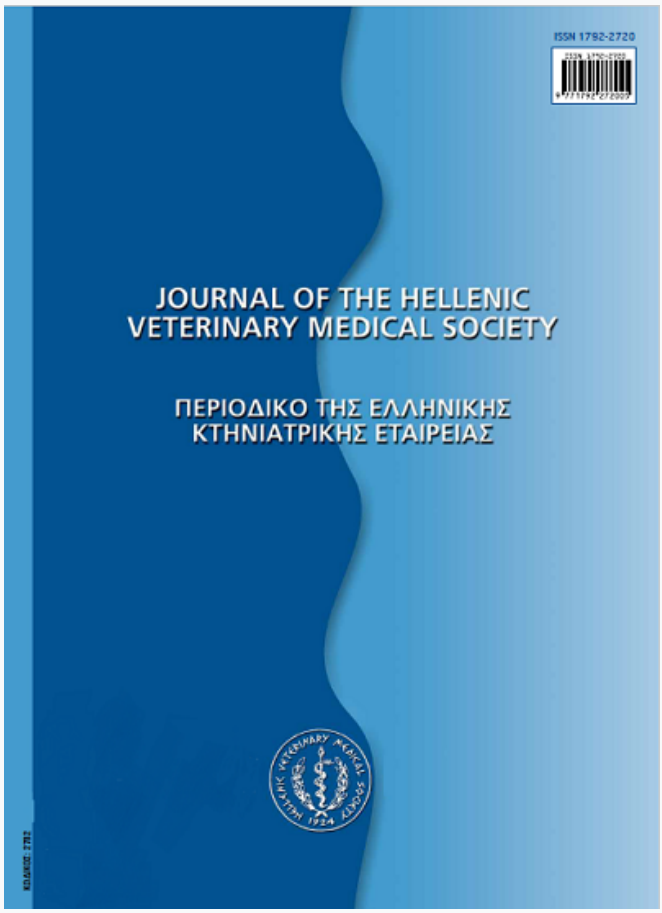
ePublishing

Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society

Vol 60, No 1 (2009)



Study of the biological cycle of the isopod Ceratothoa oestroides, Risso, 1836 in sea bream (Sparus aurata) and sea bass (Dicentrarchus labrax)

St. VAGIANOU (ΣΤ. ΒΑΓΙΑΝΟΥ), C. BITCHAVA (Κ. ΜΠΙΤΧΑΒΑ), M. YAGNISI (Μ. ΓΙΑΓΝΙΣΗ), F. ATHANASSOPOULOU (Φ. ΑΘΑΝΑΣΟΠΟΥΛΟΥ)

doi: 10.12681/jhvms.14912

To cite this article:

VAGIANOU (ΣΤ. ΒΑΓΙΑΝΟΥ) S., BITCHAVA (Κ. ΜΠΙΤΧΑΒΑ) C., YAGNISI (Μ. ΓΙΑΓΝΙΣΗ) M., & ATHANASSOPOULOU (Φ. ΑΘΑΝΑΣΟΠΟΥΛΟΥ) F. (2017). Study of the biological cycle of the isopod Ceratothoa oestroides, Risso, 1836 in sea bream (Sparus aurata) and sea bass (Dicentrarchus labrax). *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, *60*(1), 26–38. https://doi.org/10.12681/jhvms.14912

https://epublishing.ekt.gr | **e-Publisher:** EKT | **Downloaded at:** 21/01/2026 23:36:42

JOURNAL OF THE HELLENIC VETERINARY MEDICAL SOCIETY 2009, 60(1): 26-38
ΠΕΡΙΟΔΙΚΟ ΤΗΣ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗΣ ΕΤΑΙΡΕΙΑΣ 2009, 60(1): 26-38

Original article
Ερευνητική εργασία

Study of the biological cycle of the isopod *Ceratothoa oestroides*, Risso, 1836 in sea bream (*Sparus aurata*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*)

Vagianou St., Bitchava C., Yagnisi M., Athanassopoulou F.

Laboratory of Ichthyology and Aquatic Animal Health, Faculty of Veterinary Medicine, University of Thessaly

Μελέτη του βιολογικού κύκλου του ισοπόδου παρασίτου *Ceratothoa oestroides*, Risso, 1836 σε τσιπούρα (*Sparus aurata*) και λαβράκι (*Dicentrarchus labrax*).

Στ. Βαγιάνου, Κ. Μπιτχαβά, Μ. Γιαγνίση, Φ. Αθανασοπούλου

Εργαστήριο Ιχθυολογίας & Ιχθυοπαθολογίας, Τμήμα Κτηνιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Καρδίτσα

ABSTRACT. The aim of the present study was the investigation of the biological cycle of the isopod parasite *Ceratothoa oestroides* (Risso, 1836), the way of installation in the host and the study of its pathology in young individuals of gilthead sea bream (*Sparus aurata*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*) raised in experimental aquariums. During the experiment, initially, 10 sea bass of marketable size (300-400gr) were collected infected with lice from the region of Chios and Epidavros. The lice were mature and gravid. The adults and their hosts were kept in 15lt aquariums, with constant water of 32-33‰ salinity at temperature of 21-22°C, until they would give both to young parasites. The time that parasites stayed in aquarium was three months. After three months, new hatched larvae appeared. The *pulli* II stage, which was responsible for the most alterations that were observed in the fish and particular in sea bass, were observed in the first week, after the hatching. In this stage, parasites swam freely in the surface of water column. At this phase, 100 parasites were transported in 2 different aquariums with the same conditions of salinity and temperature as in the first aquarium, where young uninfected individuals (3-5 gr) of gilthead sea bream (*Sparus aurata*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*) were placed. The number of the uninfected, healthy fish was 40 individuals per aquarium. During the duration of experiment four weekly samplings of five individuals per sample were performed and these underwent a macroscopical, parasitological and histopathological examination. In addition, the mortalities that existed and the final luck of parasites afterwards the death of their hosts were recorded. From the results, we concluded that *pulli* II stage caused serious lesions and eventually the death of mainly young fish, gilthead sea bream (*Sparus aurata*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*). The process from the moment of "invasion" of young parasites until their final installation in the buccal cavity lasted around 2 hours. In one week, all the isopods were installed in the buccal cavity of young gilthead sea bream (*Sparus aurata*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*). During the second week, the first symptoms of fish appeared. The infected fish swam fast and rubbed their body against the aquarium surface in order to remove the parasites. In the sea bass (*Dicentrarchus labrax*), with the appearance of first symptoms, the biggest rate of mortality (56,25%) followed, while in the gilthead sea bream (*Sparus aurata*), the biggest rate of mortality (52%) was observed in the third week. With regard to the luck of the young parasites that remained without host it was observed that they swam for 48 hours, then fell in the bottom of aquarium and after 24 hours the first mortalities started. The adult parasites, that gave the young *pulli* II after 24 hours, were dead in the bottom of aquarium.

Keywords: Isopod parasites, *Ceratothoa oestroides*, sea bream sea bass

Correspondence: Athanassopoulou F.
Laboratory of Ichthyology and Aquatic Animal Health, Faculty of Veterinary Medicine, University of Thessaly, 224 Trikalon str., Karditsa, 431 00 , Greece, e-mail: eathan@vet.uth.gr

Αλληλογραφία: Φ. Αθανασοπούλου
Εργαστήριο Ιχθυολογίας και Ιχθυοπαθολογίας, Τμήμα Κτηνιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Τρικάλων 224, 431 00, Καρδίτσα, e-mail: eathan@vet.uth.gr

Submission date: 03.02.2009
Approval date: 16.05.2009

Ημερομηνία υποβολής: 03.02.2009
Ημερομηνία εγκρίσεως: 16.05.2009

ΠΕΡΙΛΗΨΗ. Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η διερεύνση του βιολογικού κύκλου του ισοπόδου παρασίτου *Ceratothoa oestroides* (Risso, 1836), ο τρόπος εγκατάστασής του στον ξενιστή και η μελέτη της εποχικότητάς του σε νεαρά εκτρεφόμενα ιχθύδια τσιπούρας (*Sparus aurata*) και λαβρακιού (*Dicentrarchus labrax*) σε πειραματικά ενυδρεία. Κατά τη διάρκεια του πειράματος αρχικά συλλέχθηκαν 10 εκτρεφόμενα λαβράκια εμπορεύσιμου μεγέθους (350-400 gr), μολυσμένα με θαλάσσια ψείρα από την περιοχή της Χίου και της Επιδαύρου. Τα παράσιτα ήταν γεννητικά ώριμα και έτοιμα να δώσουν νεαρά παράσιτα. Τα ενήλικα παράσιτα μαζί με τους ξενιστές τους φιλοξενήθηκαν σε ενυδρεία των 15 λίτρων, με νερό σταθερής αλατότητας (32-33‰) και θερμοκρασίας (21-22°C), μέχρι τη στιγμή που θα απελευθέρωναν τα νεαρά παράσιτα. Το χρονικό διάστημα παραμονής τους στο ενυδρείο ήταν 3 μήνες. Μετά από χρονικό διάστημα 3 μηνών, εμφανίστηκαν οι νεοεκκολαφθήσες προνύμφες των παρασίτων. Το στάδιο *pulli* II, το οποίο ήταν υπεύθυνο για τις περισσότερες αλλοιώσεις που παρατηρήθηκαν στα ψάρια και ιδιαίτερα στο λαβράκι, παρατηρήθηκε εφτά ημέρες μετά την εκκόλαψη. Διαπιστώθηκε ότι σε αυτό το στάδιο, τα παράσιτα κολυμπούσαν ελεύθερα στην επιφάνεια του νερού. Στη φάση αυτή, 100 παράσιτα μεταφέρθηκαν σε 2 διαφορετικά ενυδρεία, στα οποία επικρατούσαν οι ίδιες συνθήκες αλατότητας και θερμοκρασίας με το πρώτο ενυδρείο και στα οποία υπήρχαν ήδη υγιή νεαρά άτομα τσιπούρας (*Sparus aurata*) και λαβρακιού (*Dicentrarchus labrax*) βάρους 3-5 gr. Ο αριθμός των υγιών ψαριών ήταν 40 άτομα ανά ενυδρείο. Κατά τη διάρκεια του πειράματος πραγματοποιήθηκαν τέσσερις εβδομαδιαίες δειγματοληψίες των πέντε ατόμων ανά δείγμα για μακροσκοπική, παρασιτολογική και ιστοπαθολογική εξέταση, με σκοπό την παρατήρηση των αλλοιώσεων που προκλήθηκαν από τα ισόποδα παράσιτα στους ξενιστές τους. Επιπλέον, καταγράφηκαν οι θνησιμότητες που υπήρχαν και η τελική κατάληξη των παρασίτων μετά το θάνατο των ξενιστών τους. Από τα αποτελέσματα αποδείχθηκε ότι τα νεαρά άτομα του σταδίου *pulli* II του παρασίτου ήταν αυτά που προκάλεσαν σοβαρές αλλοιώσεις και τελικά το θάνατο των νεαρών ψαριών της τσιπούρας (*Sparus aurata*) και του λαβρακιού (*Dicentrarchus labrax*). Η όλη διαδικασία από τη στιγμή της "εισβολής" των νεαρών παρασίτων μέχρι και την εγκατάστασή τους στη στοματική κοιλότητα διήρκεσε περίπου 2 ώρες. Μέσα σε μια εβδομάδα όλα τα ισόποδα είχαν εγκατασταθεί στη στοματική κοιλότητα των προνυμφών της τσιπούρας (*Sparus aurata*) και του λαβρακιού (*Dicentrarchus labrax*). Τη δεύτερη εβδομάδα κιόλας άρχισαν να εμφανίζονται τα πρώτα συμπτώματα. Τα προσβεβλημένα ψάρια κολυμπούσαν γρήγορα και έτριβαν το σώμα τους στις επιφάνειες των ενυδρείων για να αποβάλλουν τα παράσιτα. Στο λαβράκι (*Dicentrarchus labrax*) με την εμφάνιση των πρώτων συμπτωμάτων, ακολούθησε και το μεγαλύτερο ποσοστό θνησιμότητας (56,25%), ενώ στην τσιπούρα το μεγαλύτερο ποσοστό θνησιμότητας παρατηρήθηκε την τρίτη εβδομάδα (52%), όπου η θνησιμότητα ήταν μαζική. Στο ενυδρείο με τα λαβράκια μέσα σε τέσσερις εβδομάδες τα παράσιτα είχαν καταφέρει να αφανίσουν όλους τους ξενιστές. Όσον αφορά στην κατάληξη των νεαρών παρασίτων που παρέμειναν χωρίς ξενιστή, κολυμπούσαν για 48 ώρες, στη συνέχεια παρέμεναν στον πυθμένα και μετά από 24 ώρες εμφανίστηκαν οι πρώτες θνησιμότητες. Τα ενήλικα παράσιτα, που έδωσαν τα νεαρά *pulli* II μετά την απομάκρυνση των ξενιστών ψαριών και μετά από 24 ώρες, βρέθηκαν νεκρά στον πυθμένα.

Λέξεις ευρετηρίασης: ισόποδα παράσιτα, *Ceratothoa oestroides*, τσιπούρα, λαβράκι

Η παρούσα εργασία πραγματοποιήθηκε στα πλαίσια του Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών του Τμήματος Κτηνιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας με ειδίκευση στα «Παθολογικά Προβλήματα Εκτρεφόμενων Υδρόβιων Οργανισμών».

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα πιο συνηθισμένα παράσιτα, τα οποία μπορούν να προκαλέσουν σοβαρές απώλειες στο μυτάκι και την τσιπούρα, είναι τα Μονογενή και τα Μυξοσπορίδια. Παρ' όλα αυτά και η παρασίτωση από ισόποδα παράσιτα αποτελεί ένα άλλο σοβαρό πρόβλημα που σήμερα προβληματίζει ένα μεγάλο αριθμό ιχθυοκαλλιεργητών (Athanassopoulou et al. 2001).

Τα ισόποδα ανήκουν στην υποκλάση των μαλακοστράκων. 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 τους ελληνικές θαλάσσιες ιχθυοκαλλιέργειες είναι το είδος *Ceratothoa oestroides*. Υπάρχουν βέβαια και άλλα ισόποδα παράσιτα (Flabellifera–Cymothoidae, Anilocridae) που έχουν αναφερθεί ότι προσβάλλουν τα εκτρεφόμενα λαβράκια και τις τσιπούρες, όπως είναι τα: *Anilocra physodes, Nerocila orbignyi, Emetha audouini, Ceratothoa parallela*. Στην πράξη, το όνομα *Anilocra* χρησιμοποιείται εκτενώς από τους ιχθυοκαλλιεργητές για οποιοδήποτε ισόποδο που προσβάλλει τα εκτρεφόμενα ψάρια.

Η *Ceratothoa oestroides* (Risso, 1836) είναι ένα πρωτανδρικά ερμαφρόδιτο παράσιτο που προσβάλλει ένα ευρύ φάσμα άγριων ειδών ψαριών. Τα τελευταία χρόνια έχει γίνει απειλή στις εντατικές εκτροφές,

όπου η μεγάλη ιχθυοπυκνότητα δημιουργεί ιδανικές συνθήκες για τη μετάδοσή της. Οι συνέπειες της προσβολής από το ισόποδο παράσιτο στην υγεία των ψαριών είναι σημαντικές και κυμαίνονται μεταξύ της επιβράδυνσης της ανάπτυξης και της ανοσοκαταστολής μέχρι τους μαζικούς θανάτους των νεαρών ψαριών (Mladineo, το 2003).

Τα μέλη αυτών των οικογενειών Cymothoidae και Anilocridae είναι πρωτανδρικά ερμαφρόδιτα. Τα αβγά βρίσκονται στο σάκο, στην κοιλιακή χώρα του θηλυκού, ανάμεσα στα θωρακικά πόδια. Στο σάκο τα αβγά εκκολάπτονται σε προνύμφες, οι οποίες δεν διαχωρίζονται σε αρσενικές ή θηλυκές και υφίστανται αρκετές μεταμορφώσεις, για να φτάσουν στο μολυσματικό στάδιο. Κατά το στάδιο αυτό, εγκαταλείπουν το σάκο και κολυμπούν ελεύθερες, ενώ ψάχνουν έναν ξενιστή για να εγκατασταθούν. Ο διαχωρισμός του φύλου καθορίζεται μετά το στάδιο *pulli* II, όπου οι προνύμφες έχουν εγκαταλείψει πια το σάκο.

Το πρώτο στάδιο των προνυμφών (*pulli* I, *pullus primus*, προεκκολάψιμο), το οποίο έχει παρατηρηθεί μόνο μέσα στο σάκο, μεταμορφώνεται και περνάει στο δεύτερο στάδιο (*pulli* II). Το στάδιο *pulli* II φέρει έξι ζεύγη ποδιών και δεν εμφανίζει διαχωρισμό φύλου. Αφού απελευθερωθούν και αρχίσουν να ψάχνουν για καινούριο ξενιστή, οι λάρβες *pulli* II μπορούν να χαρακτηριστούν σαν *manca larvae*. Στο στάδιο αυτό, εγκαθίστανται ή στο πλαγκτόν ή σε ένα ψάρι και διαφέρουν από αυτά του ανήλικου σταδίου στο ότι έχουν πλευρικά τμήματα και έξι ζεύγη ποδιών. Μετά από συνεχείς μεταμορφώσεις, εμφανίζεται το έβδομο τμήμα και το ζεύγος ποδιών και το ισόποδο περνάει στο στάδιο ανηλίκου. Τα ισόποδα παράσιτα αρχικά λειτουργούν σαν αρσενικά και στη συνέχεια μεταμορφώνονται σε θηλυκά ανάλογα με τις συνθήκες που επικρατούν.

Σχετικά με την ευαίσθητη ηλικία των ψαριών ξενιστών, υπάρχει μια σημαντική συσχέτιση μεταξύ του βαθμού μόλυνσης και του μήκους του ξενιστή. Τα μικρά ψάρια (<5gr) είναι ο προφανής στόχος για την προσκόλληση των ισοπόδων παρασίτων. Για το είδος Ceratothoa oestroides έχει διαπιστωθεί ότι τα νεαρά ψάρια θεωρούνται στόχος για τα νεαρά ισόποδα παράσιτα του σταδίου *pulli* II, παρ'όλα αυτά πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι οι προνύμφες του σταδίου *pulli* II κολυμπούν ψάχνοντας για ξενιστή και συνεχώς επιτίθενται στα ψάρια. Αφού προσκολληθούν στη βάση της ουράς ή στο δέρμα, τα νεαρά ισόποδα προχωρούν στο επόμενο τμήμα του σώματος, διεισδύουν στην επιδερμίδα και εγκαθίστανται στη στοματική κοιλότητα. Η όλη διαδικασία από την προσκόλληση πάνω σε έναν ξενιστή μέχρι την εγκατάσταση στη στοματική κοιλότητα διαρκεί περίπου δυο ώρες.

Οι προνύμφες του σταδίου *pulli* II, του είδους *Ceratothoa oestroides,* παραμένουν ελεύθερες κολυμπώντας και είναι ικανές να επιμολύνουν έναν ξενιστή για περίπου εφτά ημέρες στους 22°C. Κατά τη διάρκεια αυτής της περιόδου, ακόμα και στην περίπτωση όπου ο ξενιστής πεθαίνει, οι προνύμφες των ισοπόδων παρασίτων αμέσως αφήνουν το νεκρό ψάρι και είναι ακόμα ικανές για άμεση αναζήτηση άλλου ξενιστή. Αργότερα, μετά από την πρώτη σταθερή εγκατάσταση στη στοματική κοιλότητα του ξενιστή, τα παράσιτα είναι ανίκανα να μεταναστεύσουν σε άλλον ξενιστή και αρχίζουν να τρέφονται με αίμα (αιματοφάγα). Δεν είναι εξακριβωμένο ποιο είναι το μέλλον των ενηλίκων ή των ωοφόρων θηλυκών ισοπόδων, δηλαδή αν είναι αναγκασμένα να εγκαταλείψουν τους ξενιστές όταν αυτοί πεθάνουν.

Οι προνύμφες *pulli* II και τα ανήλικα νεαρά επιτίθενται σε σχετικά νεαρά ψάρια, βάρους 5-20gr, και προκαλούν σοβαρές αλλοιώσεις στο δέρμα γύρω από το κεφάλι, τα μάτια και στο βραγχιακό επιθήλιο, τραυματίζοντας τα βραγχιακά ελάσματα. Η μηχανική ζημιά, που οφείλεται στα άγκιστρά τους, προκαλεί φλεγμονές και νεκρώσεις στο κεφάλι, τα μάτια και τα βράγχια. Τα προσβεβλημένα ψάρια είναι συνήθως απαθή και ανορεξικά και μπορεί να εμφανίζουν αναπνευστικά προβλήματα. Επιπλέον, όταν τα προσβεβλημένα ψάρια συλλεχθούν από το νερό, μερικές προνύμφες των παρασίτων μπορεί να παρατηρηθούν στη στοματική και βραγχιακή τους κοιλότητα ή στο δέρμα τους δίπλα στην περιοχή των βραγχιοκαλυμμάτων.

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 αύξηση της θνησιμότητας. Στα νεαρά ιχθύδια, η θνησιμότητα από μια παρασίτωση από προνύμφες *pulli* II μπορεί να ξεπεράσει και το 15%, ακόμα και αν δεν υπάρχει δευτερογενής βακτηριακή επιπλοκή.

Τα ενήλικα ισόποδα είναι αιματοφάγα παράσιτα και προκαλούν αναιμίες. Τα προσβεβλημένα ψάρια έχουν σημαντικά χαμηλό αριθμό ερυθροκυττάρων, όπως επίσης και αιματοκρίτη και χαμηλά επίπεδα αι-

μογλοβίνης. Ο αριθμός των λευκοκυττάρων είναι αυξημένος, κάτι που δείχνει την επίδραση των παρασίτων στο ανοσοποιητικό σύστημα των προσβεβλημένων ψαριών. Σε αντίθεση, τα εγκατεστημένα ενήλικα παράσιτα μπορεί να προκαλέσουν αξιοσημείωτες ζημιές μόνο στο στόμα κατά τη θρέψη τους ή κατά τη διαδικασία αναπαραγωγής. Το μεγάλο τους μέγεθος (μεγαλύτερο των 6 cm 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 σταθερή παρουσία των μεγάλων ενηλίκων παρασίτων στη στοματική κοιλότητα δυσχεραίνει την πρόσληψη της τροφής των ψαριών και προκαλεί χρόνιο στρες, με αποτέλεσμα τη βραδεία ανάπτυξη και την προδιάθεση για βακτηριακές και ενδοπαρασιτικές προσβολές (Sarusic, 1999).

Τα ενήλικα θηλυκά του είδους *Renocila heterozota* προξενούν ζημιές στα λέπια, την επιδερμίδα, το δέρμα και τους μύες (Bowman and Marischal 1968). Τα ενήλικα θηλυκά του είδους *Anilocra physodes* έχει αναφερθεί ότι μπορεί να προκαλέσουν την απόπτωση λεπιών, την καταστροφή των δερμικών στρωμάτων και την εισροή ερρυθροκυττάρων, εοσινοφίλων και λεμφοκυττάρων στην επιδερμίδα, το δέρμα και τα επιφανειακά στρώματα των μυών στο είδος *Maena maena* (Romestand et al. 1977).

Οι Romestand και Thrilles (1977 α) περιέγραψαν τις ιστολογικές αλλαγές που ήταν συνδεδεμένες με τις αλλοιώσεις της γλώσσας στη γόπα (*Boops boops*), που ήταν προσβεβλημένη από το είδος *Ceratothoa oestroides,* καθώς και το σχηματισμό οστεοκλαστών και κοκκιωμάτων.

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

1. Πειραματικά ενυδρεία

Πειραματικό ενυδρείο Α- Εκκόλαψη παρασίτων

Αρχικά συλλέχθηκαν 10 εκτρεφόμενα λαβράκια εμπορεύσιμου μεγέθους (350-400 gr) μολυσμένα με θαλάσσια ψείρα από την περιοχή της Χίου και της Επιδαύρου. Τα παράσιτα ήταν γενετικά ώριμα και έτοιμα να δώσουν νεαρά παράσιτα. Έχει διαπιστωθεί ότι η κατάλληλη περίοδος αναπαραγωγής της ψείρας είναι τους μήνες Ιούνιο και Ιούλιο, γι' αυτό και το πείραμα πραγματοποιήθηκε το Μάρτιο του 2007 και περατώθηκε τον Ιούλιο του 2007. Τα ενήλικα παράσιτα μαζί με τους ξενιστές τους φιλοξενήθηκαν σε ενυδρεία των 15 λίτρων, με νερό σταθερής αλατότητας (32-33‰) και θερμοκρασία 21-22°C μέχρι τη στιγμή που θα έδιναν τα νεαρά παράσιτα. Το χρονικό διάστημα παραμονής τους στο ενυδρείο ήταν 3 μήνες.

Πειραματικό ενυδρείο Β – Πειραματική μόλυνση σε τσιπούρα (*Sparus aurata*)

Στο ενυδρείο αυτό, στο οποίο επικρατούσαν οι ίδιες συνθήκες με αυτές που επικρατούσαν στο πρώτο ενυδρείο, ήταν τοποθετημένα υγιή νεαρά άτομα τσιπούρας (*Sparus aurata*) βάρους 2-5 gr. Ο αριθμός των επιλεγμένων ψαριών ήταν 40 άτομα. Τα νεαρά ιχθύδια ταΐζονταν τρεις φορές την ημέρα με εμπορική τροφή κατάλληλη για το μέγεθός τους (2,3% επί του σωματικού τους βάρους). Έχει παρατηρηθεί ότι μεγάλες μολύνσεις από το ισόποδο παράσιτο παρουσιάζονται την άνοιξη και το καλοκαίρι όπου οι θερμοκρασίες κυμαίνονται από 15-25°C και σε μεγάλες ιχθυοπυκνότητες. Επίσης, ότι παρόλο που τα ενήλικα του είδους *Ceratothoa oestroides* απουσιάζουν από τη στοματική και βραγχιακή κοιλότητα της τσιπούρας (*Sparus aurata*), τα προνυμφικά στάδια (*pulli* II) δημιουργούν σοβαρές αλλοιώσεις σε νεαρά άτομα του είδους. Έτσι, διατηρώντας όλες τις παραμέτρους σταθερές, προσπαθήσαμε να μελετήσουμε την ευπάθεια των ψαριών στο παράσιτο, την πιθανή διαφορετική χρονική εξέλιξη της μόλυνσης, την εξάπλωση του παρασίτου στους ιστούς των ψαριών και τις διάφορες μακροσκοπικές και ιστολογικές αλλοιώσεις σε αυτούς.

Πειραματικό ενυδρείο Γ – Πειραματική μόλυνση σε λαβράκι (*Dicentrarchus labrax*)

Στο ενυδρείο αυτό, στο οποίο επικρατούσαν οι ίδιες συνθήκες με αυτές που επικρατούσαν στα δύο προηγούμενα ενυδρεία, ήταν τοποθετημένα υγιή νεαρά άτομα λαβρακιού (*Dicentrarchus labrax*) βάρους 2-5 gr. Ο αριθμός των επιλεγμένων ψαριών ήταν 40 άτομα. Τα νεαρά ιχθύδια ταΐζονταν με τον ίδιο τρόπο που ταΐζονταν και τα λαβράκια (2,3% επί του σωματικού τους βάρους).

Κατά τη διάρκεια του πειράματος πραγματοποιήθηκαν τέσσερις εβδομαδιαίες δειγματοληψίες των πέντε ατόμων ανά δείγμα για μακροσκοπική, παρασιτολογική και ιστοπαθολογική εξέταση με σκοπό την παρατήρηση των αλλοιώσεων που προκλήθηκαν από τα ισόποδα παράσιτα στους ξενιστές τους. Επιπλέον, καταγράφηκαν οι θνησιμότητες που υπήρχαν και η τελική κατάληξη των παρασίτων μετά το θάνατο των ξενιστών τους.

2. Ανίχνευση παρασίτων

Μακροσκοπική και νεκροσκοπική εξέταση

Όλα τα ψάρια που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα εργασία αρχικά εξετάστηκαν μακροσκοπικά για την εκτίμηση της εξωτερικής τους εικόνας. Επίσης, πριν τη λήψη των νωπών παρασκευασμάτων για παρασιτολογική εξέταση, έγινε παρατήρηση και εξέταση της γενική εικόνας των βραγχίων και της στοματικής κοιλότητας.

3. Παρασιτολογική εξέταση

Η παρασιτολογική εξέταση των ψαριών έγινε με μεθόδους που έχουν περιγράψει οι Roberts (1989) και Athanassopoulou (1990) και περιελάμβανε τα εξής στάδια:

Α. Εξέταση νωπών παρασκευασμάτων

Βράγχια και δέρμα εξετάστηκαν για ισόποδα. Τα εσωτερικά όργανα που εξετάστηκαν ήταν: ο εντερικός σωλήνας, η χοληδόχος κύστη, το ήπαρ, ο σπλήνας, η καρδιά, οι γονάδες, ο εγκέφαλος και ο νεφρός. Τα ψάρια εξετάστηκαν τόσο για ισόποδα όσο και για άλλα παράσιτα.

Βράγχια: Οι πρώτες δεξιές και αριστερές βραγχιακές αψίδες απομακρύνονταν από το σώμα κάθε ψαριού και ξέσματα και των δύο επιφανειών των δύο βραγχιακών αψίδων λαμβάνονταν σε αντικειμενοφόρες πλάκες, στις οποίες είχε ήδη τοποθετηθεί μία σταγόνα φυσιολογικού ορού, και καλύπτονταν με καλυπτρίδα.

Δέρμα: Στη βάση του ραχιαίου και των πλευρικών πτερυγίων απομακρύνονταν τα λέπια προσεκτικά και ξέσματα δέρματος λαμβάνονταν και τοποθετούνταν σε αντικειμενοφόρες πλάκες, στις οποίες είχε ήδη τοποθετηθεί μία σταγόνα φυσιολογικού ορού, για παρατήρηση.

Β. Ταυτοποίηση παρασίτων

Η ταυτοποίηση των παρασίτων έγινε αμέσως μετά την ανεύρεσή τους, με μακροσκοπική και μικροσκοπική εξέταση νωπών παρασκευασμάτων, σε συνδυασμό με αυτή των ήδη μονιμοποιηθέντων παρασκευασμάτων με βασικό οδηγό τις κλείδες Yamagouti (1963).

Γ. Υπολογισμός ποσοστού προσβολής (prevalence)

Ο υπολογισμός του ποσοστού προσβολής είναι ο πιο διαδεδομένος τρόπος περιγραφής παρασιτικών μολύνσεων, κυρίως γιατί απαιτεί μόνο ανίχνευση της παρουσίας των παρασίτων και όχι καταμέτρησή τους (Bush, Lafferty, Lotz & Shostak 1997). Το ποσοστό προσβολής εκφράστηκε με ποσοστό % και υπολογίστηκε από τον αριθμό των ξενιστών που ήταν μολυσμένοι από κάποιο παράσιτο προς τον αριθμό όλων των ξενιστών που εξετάστηκαν για το παράσιτο αυτό. Σε κάθε δείγμα ψαριού παρατηρήθηκαν δέκα τυχαία οπτικά πεδία.

Table 1. Levels of intensity of the parasitosis

Πίνακας 1. Επίπεδα έντασης της παρασίτωσης

Επίπεδο 1 +	1-3 ανήλικα παράσιτα του σταδίου *pulli* II ανά οπτικό πεδίο
Επίπεδο 2 ++	4-7 ανήλικα παράσιτα του σταδίου *pulli* II ανά οπτικό πεδίο
Επίπεδο 3 +++	> 7 ανήλικα παράσιτα του σταδίου *pulli* II ανά οπτικό πεδίο

Δ. Υπολογισμός έντασης (intensity)

Η ένταση της παρασίτωσης προσδιορίστηκε με την καταμέτρηση των παρασίτων σε κάθε δείγμα ψαριού ξεχωριστά (Bush και συν., 1997). Στη συγκεκριμένη εργασία η ένταση της παρασίτωσης ορίστηκε σε τέσσερα επίπεδα και κάθε δείγμα ψαριού που εξετάστηκε κατατάχθηκε σε ένα από τα επίπεδα αυτά. Τα επίπεδα έντασης που ορίστηκαν φαίνονται στον Πίνακα 1.

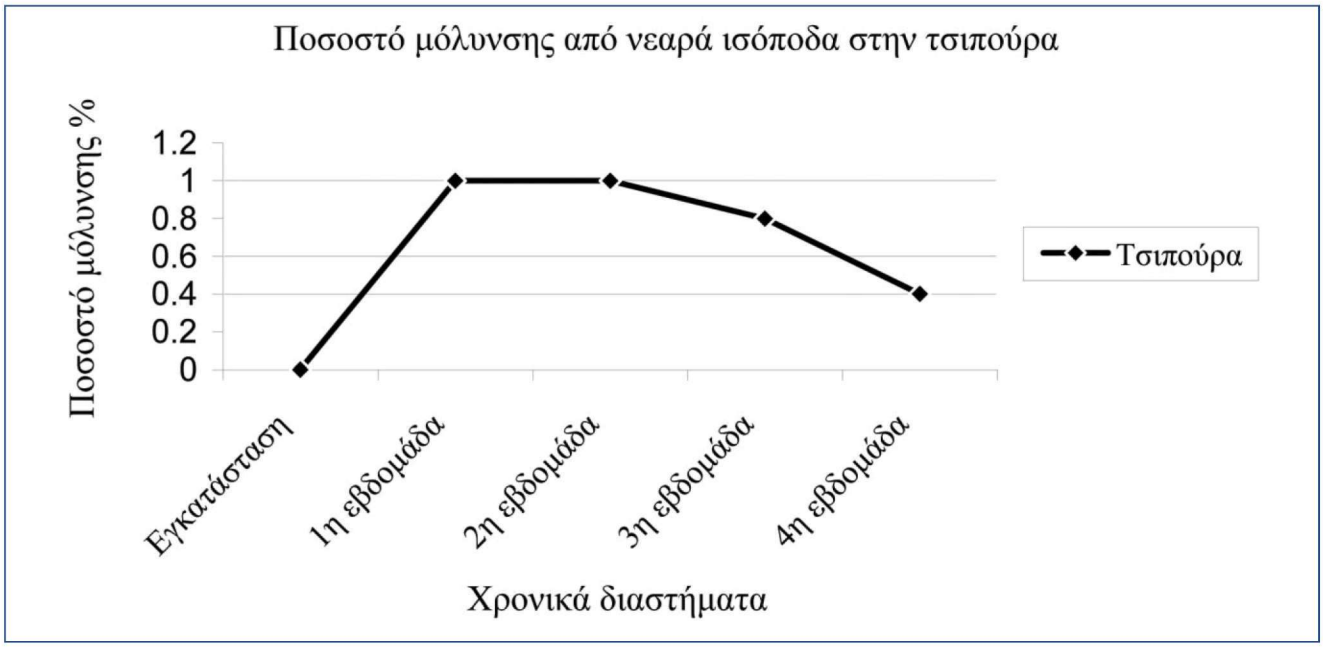
Ε. Ιστοπαθολογική εξέταση

Ιστοί από όλα τα εσωτερικά όργανα, το κεφάλι και τους μυς των πειραματικών ψαριών μονιμοποιήθηκαν με 10% ουδέτερη φορμόλη (Roberts 1987). Μετά από γρήγορη απασβεστοποίηση παρασκευάστηκαν ιστολογικές τομές, οι οποίες χρωματίστηκαν με Haematoxylin-eosin, σύμφωνα με γνωστή μεθοδολογία (Drury & Wallington 1980).

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Πειραματικό ενυδρείο Α – Εκκόλαψη παρασίτων

Μετά από χρονικό διάστημα 3 μηνών, εμφανίστηκαν οι νεοεκκολαφθήσες προνύμφες των παρασίτων. Το στάδιο *pulli* II, το οποίο ήταν υπεύθυνο για τις περισσότερες αλλοιώσεις που παρατηρήθηκαν στα ψάρια και ιδιαίτερα στο λαβράκι, παρατηρήθηκε εφτά ημέρες μετά την εκκόλαψη. Διαπιστώθηκε ότι σε αυτό το στάδιο τα παράσιτα κολυμπούσαν ελεύθερα στην επιφάνεια της στήλης του νερού ή κάτω από αυτήν. Τα μικρότερα ήταν μαζεμένα στη γωνία, ελκυόμενα από



Graph 1. Prevalence of infection with young parasites in sea bream (*Sparus aurata*).

Γράφημα 1. Ποσοστό μόλυνσης από νεαρά ισόποδα στην τσιπούρα (*Sparus aurata*).

το φως και κολυμπούσαν από τον πυθμένα στην επιφάνεια και πίσω με κυκλικό τρόπο.

Στη φάση αυτή 100 παράσιτα μεταφέρθηκαν στα δύο ενυδρεία με τα υγιή ψάρια.

Πειραματικό ενυδρείο Β – Πειραματική μόλυνση σε τσιπούρα (*Sparus aurata*)

Μετά τη μεταφορά των νεαρών παρασίτων του σταδίου *pulli* II στα ενυδρεία με τις υγιείς τσιπούρες, παρατηρήθηκαν χαρακτηριστικές αλλαγές στη συμπεριφορά των παρασίτων. Αρχικά, τα παράσιτα κολυμπούσαν στην επιφάνεια ή ακριβώς κάτω από αυτήν, ενώ τα μικρότερα ήταν μαζεμένα στη γωνία, ελκυόμενα από το φως, και κολυμπούσαν από τον πυθμένα στην επιφάνεια και πίσω με κυκλικό τρόπο. Όταν έβρισκαν κατάλληλο ξενιστή, έφευγαν από το σημείο όπου βρίσκονταν και κολυμπώντας προς τα ψάρια ξενιστές, τους επιτίθονταν. Η παραπάνω διαδικασία διαρκούσε περίπου 2-3 λεπτά.

Το χρονικό διάστημα της εγκατάστασης των ισοπόδων παρασίτων του σταδίου *pulli* II στις υγιείς τσιπούρες κράτησε εφτά ημέρες. Είναι αξιοσημείωτο το γεγονός ότι μέσα σε 30 λεπτά παρατηρήθηκαν παράσιτα του σταδίου *pulli* II στο ουραίο τμήμα του ψαριού.

Μετά την εγκατάστασή τους στη βάση της ουράς των ψαριών ή στο δέρμα του τα ισόποδα κατευθύνονταν αμέσως προς το κεφάλι τους, έφταναν στο βραγχιακό επικάλυμμα των ψαριών και εισχωρώντας κάτω από αυτό έφταναν στη στοματική τους κοιλότητα. Μετά από περίπου 40 λεπτά, το 50% των ψαριών περιείχε από 1-2 παράσιτα. Η όλη διαδικασία από τη στιγμή της "εισβολής" μέχρι και την εγκατάστασή τους στη στοματική κοιλότητα διήρκεσε περίπου 2 ώρες. Μέσα σε εφτά ημέρες όλα τα ισόποδα είχαν εγκατασταθεί στη στοματική κοιλότητα των λαρβών της τσιπούρας (*Sparus aurata*).

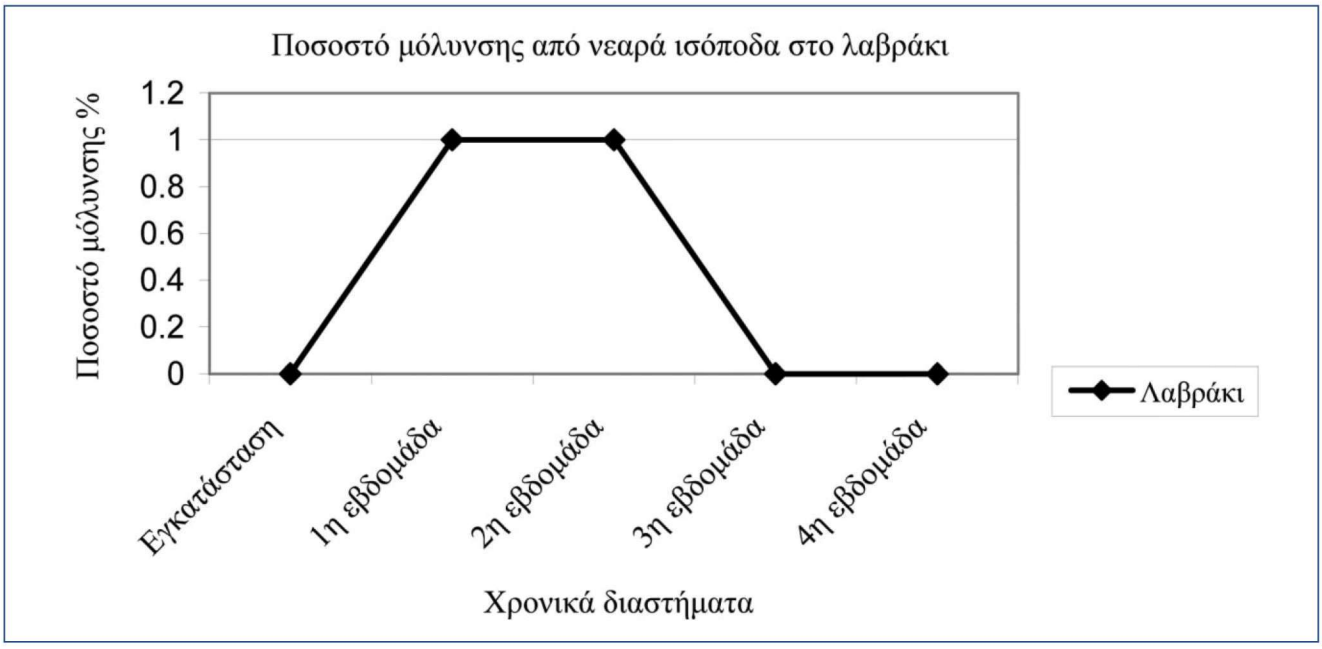
Την πρώτη ημέρα μετά την εγκατάσταση των νεαρών παρασίτων στους ξενιστές, 5 τσιπούρες (12,5%) βρέθηκαν νεκρές πιθανώς κατά την προσαρμογή τους στο νέο περιβάλλον.

Είναι σημαντικό το γεγονός ότι κατά τη διάρκεια του πειράματος παρατηρήθηκαν μερικές προσπάθειες των παρασίτων του σταδίου *pulli* II να αλλάξουν θέση πάνω στο ξενιστή. Έτσι, παρατηρήθηκε μετακίνησή τους από το βραγχιοκάλυμμα προς τα κάτω, κοντά στα κοιλιακά πτερύγια, και μεταπήδησή τους στην άλλη πλευρά του ξενιστή.

Σε αυτό το χρονικό διάστημα τα ψάρια συμπεριφέρονταν φυσιολογικά, έτρωγαν καλά και επιπλέον παρατηρήθηκε και προοδευτική ανάπτυξη.

1η ΕΒΔΟΜΑΔΑ

Στην τσιπούρα την πρώτη εβδομάδα δεν παρατηρήθηκαν επιπλέον θνησιμότητες παρά μόνο αυτές της



Graph 2 . Prevalence of infection with young isopods in sea bass (*Dicentrarchus labrax*).
Γράφημα 2. Ποσοστό μόλυνσης από νεαρά ισόποδα στο λαβράκι (*Dicentrarchus labrax*).

πρώτης ημέρας. Όσον αφορά στην κλινική εικόνα των ψαριών, παρατηρήθηκαν πλάγιες κινήσεις κατά την κολύμβηση τους και τρίψιμο του σώματός τους στις επιφάνειες των ενυδρείων. Κατά την καταμέτρηση βρέθηκαν 4 ψάρια με 1 νεαρό παράσιτο και 1 ψάρι με 2 παράσιτα (πίνακες 2,4). Κατά τη διάρκεια αυτής της εβδομάδας δεν παρατηρήθηκαν αλλοιώσεις (πίνακας 2), παρά μόνο αιμορραγίες στα βράγχια.

2η ΕΒΔΟΜΑΔΑ

Τη δεύτερη εβδομάδα τα προσβεβλημένα ψάρια εμφάνισαν αναπνευστικά προβλήματα, ανοιγοκλείνοντας τα βραγχιακά τους επικαλύμματα έντονα, ήταν απαθή και σταμάτησαν να τρέφονται. Μακροσκοπικά βρέθηκαν νεαρά παράσιτα του είδους *Ceratothoa oestroides* και καταμετρήθηκαν. Κατά την καταμέτρηση παρατηρήθηκαν 4 ψάρια με 2 νεαρά παράσιτα και 1 ψάρι με 3 παράσιτα (πίνακας 4). Επιπλέον, παρατηρήθηκαν και αιμορραγίες στα βράγχια και νεκρώσεις. Η θνησιμότητα έφτασε σε ποσοστό 37,5% (πίνακας 2).

3η ΕΒΔΟΜΑΔΑ

Την 3η εβδομάδα τα αναπνευστικά προβλήματα ήταν εντονότερα και τα ψάρια κολυμπούσαν ανοιγοκλείνοντας έντονα τα βραγχιοκαλύμματά τους Το ποσοστό θνησιμότητας ήταν 52%, το μεγαλύτερο κατά τη διάρκεια του πειράματος όσον αφορά στην τσιπούρα (πίνακας 2). Κατά τη νεκροσκοπική εξέταση παρατηρήθηκαν εκτεταμένες νεκρώσεις. Όσον αφορά την ένταση τον παρασίτων βρέθηκαν 2 ψάρια με 1 νεαρό παράσιτο, 1 ψάρι με 2 παράσιτα και 1 ψάρι με 3 παράσιτα (πίνακες 2,4).

4η ΕΒΔΟΜΑΔΑ

Την 4η εβδομάδα τα ψάρια παρουσίασαν την ίδια συμπτωματολογία με αυτήν της τρίτης εβδομάδας, δηλαδή παρουσίασαν έντονα αναπνευστικά προβλήματα και κολυμπούσαν ανοιγοκλείνοντας τα βραγχιοκαλύμματά τους. Το ποσοστό θνησιμότητας ήταν 16,67% (πίνακας 2). Κατά τη νεκροσκοπική εξέταση παρατηρήθηκαν εκτεταμένες νεκρώσεις στα βράγχια. Από την καταμέτρηση των παρασίτων βρέθηκαν 2 ψάρια με 2 νεαρά παράσιτα. Ιστοπαθολογικά, στην επιδερμίδα παρατηρήθηκαν έλκη με αύξηση λεμφοκυττάρων, εοσινοφίλων και ερυθροκυττάρων, ενώ στους οφθαλμούς βρέθηκαν κοκκιώματα μεγάλων διαστάσεων, αυξημένη φλεγμονώδης αντίδραση που κατέληγε σε τύφλωση ή και ολοκληρωτική απώλεια του οφθαλμού (Εικόνα 1).

Πειραματικό ενυδρείο Γ – Πειραματική μόλυνση σε λαβράκι

Μετά τη μεταφορά των νεαρών παρασίτων του σταδίου *pulli* II στα ενυδρεία με τα υγιή λαβράκια, όπως και στο ενυδρείο με τις τσιπούρες, παρατηρήθηκαν χαρακτηριστικές αλλαγές στη συμπεριφορά των παρασίτων. Έτσι και στην περίπτωση αυτή, τα παρά-

Table 2. Summary of the experimental infection with the isopod *Ceratothoa oestroides* in sea bream (*Sparus aurata*).

Πίνακας 2. Συνοπτικός πίνακας περιγραφής της πειραματικής μόλυνσης με το ισόποδο *Ceratothoa oestroides* στην τσιπούρα (*Sparus aurata*).

Χρονικό διάστημα	Αριθμός ψαριών	Θνησιμότητα (%/εβδομάδα)	Αθροιστική Θνησιμότητα (%)	Στάδια παρασίτου και αριθμός παρασίτου ανά ψάρι	Συμπτώματα	Αλλοιώσεις
Αρχή πειράματος Εγκατάσταση	40	0 (0)	0 (0)	–	–	–
1η ημέρα	35	5/40 (12,5)	–	–	–	–
1-7η ημέρα	35	–	5/40 (12,5)	4/5 με 1 παράσιτο και 1/5 με 2 παράσιτα	Πλάγιες κινήσεις κατά την κολύμβηση, τρίψιμο σώματος στις επιφάνειες των ενυδρείων	Αιμορραγίες στα βράγχια, στο κεφάλι και στο στόμα
8-14η ημέρα	25	10/35 (28,57)	15/40 (37,5)	4/5 με 2 παράσιτα και 1/5 με 3 παράσιτα	Αναπνευστικά προβλήματα, απάθεια και ανορεξία	Αιμορραγίες και νεκρώσεις στα βράγχια
15-21η ημέρα	12	13/25 (52)	28/40 (70)	2/5 με 1 παράσιτο 1/5 χωρίς παράσιτα 1/5 με 2 παράσιτα και 1/5 με 3 παράσιτα	Αναπνευστικά προβλήματα, απάθεια και ανορεξία	Εκτεταμένες νεκρώσεις στα βράγχια
22-28η ημέρα	10	2/12 (16,67)	30/40 (75)	2/5 με 2 παράσιτα και 3/5 χωρίς παράσιτα	Αναπνευστικά προβλήματα, απάθεια και ανορεξία	Εκτεταμένες νεκρώσεις στα βράγχια

σιτα κολυμπούσαν στην επιφάνεια ή ακριβώς κάτω από αυτήν, ενώ τα μικρότερα ήταν μαζεμένα στη γωνία, ελκυόμενα από το φως, και κολυμπούσαν από τον πυθμένα στην επιφάνεια και πίσω με κυκλικό τρόπο. Όταν έβρισκαν κατάλληλο ξενιστή, έφευγαν από το σημείο όπου βρίσκονταν και κολυμπώντας προς τα ψάρια ξενιστές, τους επιτίθονταν. Η παραπάνω διαδικασία ολοκληρωνόταν σε περίπου 2-3 λεπτά.Το χρονικό διάστημα της εγκατάστασης των ισοπόδων παρασίτων του σταδίου *pulli* II στα υγιή λαβράκια κράτησε εφτά ημέρες. Είναι αξιοσημείωτο το γεγονός ότι μέσα σε 0,5 ώρα παρατηρήθηκαν παράσιτα του σταδίου *pulli* II στο ουραίο τμήμα του ψαριού.

Μετά την εγκατάστασή τους στη βάση της ουράς των ψαριών ή στο δέρμα τους, τα ισόποδα κατευθύνονταν αμέσως προς το κεφάλι τους, έφταναν στο βραγχιακό επικάλυμμα των ψαριών και εισχωρώντας κάτω από αυτό έφταναν στη στοματική τους κοιλότητα. Μετά από περίπου 40 λεπτά, το 50% των ψαριών περιείχαν από 1-2 παράσιτα. Η όλη διαδικασία από τη στιγμή της "εισβολής" μέχρι και την εγκατάστασή τους στη στοματική κοιλότητα διήρκεσε περίπου 2 ώρες. Μέσα σε εφτά ημέρες όλα τα ισόποδα είχαν εγκατασταθεί στη στοματική κοιλότητα των λαρβών των λαβρακιών (*Dicentrarchus labrax*).

Την πρώτη ημέρα μετά την εγκατάσταση των νεαρών παρασίτων στους ξενιστές, 8 λαβράκια (20%) βρέθηκαν νεκρά πιθανώς κατά την προσαρμογή τους στο νέο περιβάλλον.

Είναι σημαντικό το γεγονός ότι κατά τη διάρκεια του πειράματος, όπως και στην τσιπούρα, αλλά σε με-

Table 3. Summary of the experimental infection of the isopod *Ceratothoa oestroides* in sea bass (*Dicentrarchus labrax*).

Πίνακας 3. Συνοπτικός πίνακας περιγραφής της πειραματικής μόλυνσης με το ισόποδο *Ceratothoa oesttroestroides* στο λαβράκι (*Dicentrarchus labrax*).

Χρονικό διάστημα	Αριθμός ψαριών	Θνησιμότητα επί αρ. ψαριών και ποσοστό %/ εβδομάδα	Θνησιμότητα και ποσοστό επί του αρχικού αριθμού ψαριών %	Στάδια παρασίτου και αριθμός παρασίτου ανά ψάρι	Κλινικά συμπτώματα	Αλλοιώσεις
Αρχή πειράματος Εγκατάσταση	40	0 (0)	–	–	–	–
1η ημέρα	32	8/40 (20)	–	–	–	–
1-7η ημέρα	32	–	8/40 (20)	3/5 με 1 παράσιτο και 2/5 με 2 παράσιτα	Πλάγιες κινήσεις κατά την κολύμβηση, τρίψιμο σώματος στις επιφάνειες των ενυδρείων	Αιμορραγίες στα βράγχια, στο κεφάλι και στο στόμα
8-14η ημέρα	14	18/32 (56,25)	26/40 (65)	1/5 με 2 παράσιτα 3/5 με 3 παράσιτα 1/5 με 4 παράσιτα	Αναπνευστικά προβλήματα, απάθεια και ανορεξία	Αιμορραγίες και νεκρώσεις στα βράγχια
15-21η ημέρα	0	14/14 (100)	100	–	–	–
22-28η ημέρα	–	–	–	–	–	–

γαλύτερο βαθμό στο λαβράκι, παρατηρήθηκαν μερικές προσπάθειες των παρασίτων του σταδίου *pulli* II να αλλάξουν θέση πάνω στον ξενιστή. Έτσι, παρατηρήθηκε μετακίνησή τους από το βραγχιοκάλυμμα προς τα κάτω, κοντά στα κοιλιακά πτερύγια, και μεταπήδησή τους στην άλλη πλευρά του ξενιστή.

Σε αυτό το χρονικό διάστημα τα ψάρια συμπεριφέρονταν φυσιολογικά, έτρωγαν καλά και επιπλέον παρατηρήθηκε και προοδευτική ανάπτυξη.

1η ΕΒΔΟΜΑΔΑ

Την πρώτη εβδομάδα δεν παρατηρήθηκαν επιπλέον θνησιμότητες παρά μόνο αυτές της πρώτης ημέρας (πίνακας 3). Όσον αφορά στη συμπτωματολογία των ψαριών, παρατηρήθηκαν πλάγιες κινήσεις κατά την κολύμβηση τους και τρίψιμο του σώματός τους στις επιφάνειες των ενυδρείων. Τα ψάρια ήταν απαθή. Κατά τη νεκροσκοπική εξέταση παρατηρήθηκαν αιμορραγίες στα βράγχια. Όσον αφορά στην ένταση των παρασίτων, παρατηρήθηκαν 3 ψάρια με 1 νεαρό παράσιτο και 2 ψάρια με δύο παράσιτα (πίνακες 3,4).

Table 4. Intensity of infection from isopod parasites per week in sea bream (*Sparus aurata*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*).

Πίνακας 4. Ένταση μόλυνσης από ισόποδα παράσιτα ανά εβδομάδα στην τσιπούρα (*Sparus aurata*) και στο λαβράκι (*Dicentrarchus labrax*).

Χρονικά διαστήματα	**Τσιπούρα**	**Λαβράκι**
Εγκατάσταση	-	-
1η ημέρα	+	_
1η εβδομάδα	+	+
2η εβδομάδα	+	++
3η εβδομάδα	+	-
4η εβδομάδα	+	-

2η ΕΒΔΟΜΑΔΑ

Τη δεύτερη εβδομάδα τα προσβεβλημένα ψάρια εμφάνισαν αναπνευστικά προβλήματα, ανοιγοκλεί-

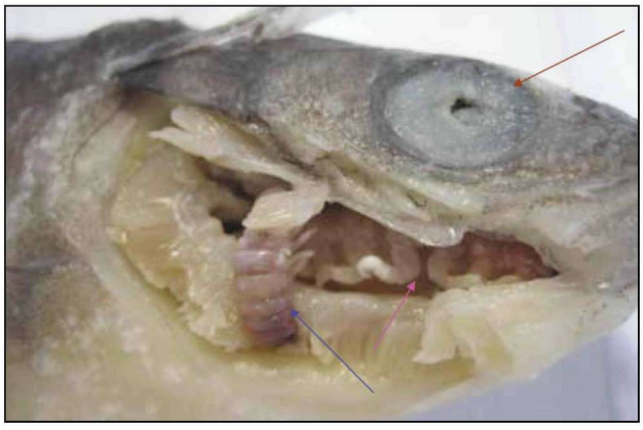


Figure 1. *Ceratothoa oestroides*. A couple of adult parasites in the buccal cavity of sea bass. Male parasite (blue arrow), female parasite (pink arrow). Thickening of the eye (Brown arrow), loss of lens and blindness.

Εικόνα 1. *Ceratothoa oestroides*. Ζευγάρι ενηλίκων παρασίτων εγκατεστημένο στη στοματική κοιλότητα λαβρακιού. Αρσενικό άτομο (μπλε βέλος), θηλυκό άτομο (ροζ βέλος). (Καφέ βέλος) πάχυνση του οφθαλμού, απόπτωση φακού και τύφλωση.

Figure 2. *Ceratothoa oestroides*.Male and female mature parasites ready to give birth to larvae.

Εικόνα 2. *Ceratothoa oestroides*. Αρσενικά και ώριμα θηλυκά παράσιτα έτοιμα να δώσουν νέα άτομα.

νοντας τα βραγχιακά τους επικαλύμματα έντονα, ήταν απαθή και σταμάτησαν να τρέφονται. Μακροσκοπικά βρέθηκαν νεαρά παράσιτα του είδους *Ceratothoa oestroides* και καταμετρήθηκαν. Κατά την καταμέτρηση παρατηρήθηκαν 3 ψάρια με 3 νεαρά παράσιτα και 1 ψάρι με 2 παράσιτα και 1 ψάρι με 4 παράσιτα (πίνακες 3,4). Κατά τη νεκροσκοπική εξέταση παρατηρήθηκαν αιμορραγίες στα βράγχια. Η θνησιμότητα έφτασε σε ποσοστό 65% (πίνακας 3), που ήταν και το μεγαλύτερο κατά τη διάρκεια του πειράματος. Ιστοπαθολογικά στην επιδερμίδα παρατηρήθηκαν έλκη με αύξηση λεμφοκυττάρων, εοσινοφίλων και ερυθροκυττάρων, ενώ στους οφθαλμούς βρέθηκαν κοκκιώματα μεγάλων διαστάσεων, αυξημένη φλεγμονώδης αντίδραση που κατέληγε σε τύφλωση ή και ολοκληρωτική απώλεια του οφθαλμού (Εικόνα 1).

Table 5. Prevalence of infected sea bass (*Dicentrarchus labrax*) και τσιπούρας (*Sparus aurata*) per week after the experimental infection with the isopod *Ceratothoa oestroides.*

Πίνακας 5. Ποσοστό μολυσμένων ατόμων λαβρακιών (*Dicentrarchus labrax*) και τσιπούρας (*Sparus aurata*) μετά από πειραματική μόλυνση με το Ισόποδο *Ceratothoa oestroides* ανά εβδομάδα.

Χρόνος μετά τη μόλυνση	Τσιπούρα	Λαβράκι
1η εβδομάδα	5/5 (100)	5/5 (100)
2η εβδομάδα	5/5 (100)	5/5 (100)
3η εβδομάδα	4/5 (80)	0
4η εβδομάδα	2/5 (40)	0

Figure 3. Young parasites of the isopod *Ceratothoa oestroides.*

Εικόνα 3. Νεαρά παράσιτα του ισοπόδου παρασίτου *Ceratothoa oestroides.*

3η ΕΒΔΟΜΑΔΑ

Την 3η εβδομάδα τα αναπνευστικά προβλήματα ήταν εντονότερα. Τα ψάρια κολυμπούσαν ανοιγοκλείνοντας έντονα τα βραγχιοκαλύμματά τους. Το ποσοστό θνησιμότητας ήταν 100%. Κατά τη νεκροσκοπική εξέταση παρατηρήθηκαν εκτεταμένες νεκρώσεις (πίνακας 3). Συνολικά τα ποσοστά μόλυνσης από το ισόποδο παράσιτο *Ceratothoa oestroides* ανά εβδομάδα στην τσιπούρα (*Sparus aurata*) και το λαβράκι (*Dicentrarchus labrax*) κατά την πειραματική μόλυνση φαίνονται στον πίνακα 5.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Οι πρώτες δημοσιεύσεις για την παρασίτωση από ισόποδα παράσιτα της οικογένειας Cymothoidae κα-

Figure 4.
Sea bass infected with thye parasite *Ceratothoa oestroides.* Young parasites are observed in the gills and mouth.

Εικόνα 4.
Λαβράκι προσβεβλημένο από το παράσιτο *Ceratothoa oestroides*. Παρατηρούνται τα νεαρά παράσιτα στα βράγχια και στο στόμα.

ταγράφηκαν στη Λίμνη Diana στην Κορσική σε εκτρεφόμενα λαβράκια (Bragoni et al., 1983,1984). Το παράσιτο *Nerocila orbignyi* βρέθηκε σε εκτρεφόμενα λαβράκια της οικογένειας Moronidae προκαλώντας μεγάλες θνησιμότητες. Αυτό το είδος είναι ένα εξωπαράσιτο που εγκαθίσταται στο δέρμα και τα πτερύγια των ψαριών και προσβάλλει τα κεφαλοειδή (οικογένεια Mugilidae) (Bragoni et al., 1983).

Ακολούθησαν και άλλες δημοσιεύσεις όσον αφορά στις μολύνσεις από τα ισόποδα παράσιτα της οικογένειας Cymothoidae, όπως παρασίτωση από το ισόποδο *Ceratothoa gaudichaudii* σε εκτροφές σολομού (*Salmon salar*) στη Χιλή (Alvarado et al., 1990, Roa, 1992, Inostroza et al., 1993, Sievers et al, 1996). Στην περίπτωση αυτή παρατηρήθηκε μείωση του βάρους των ψαριών, που φιλοξενούσαν περισσότερα από 8 παράσιτα, σε σχέση με εκείνα τα ψάρια που περιείχαν 3-8 ή λιγότερα από 3 παράσιτα. Τα παράσιτα δεν βρέθηκαν σε άγριους ή εκτρεφόμενους σολομούς στο Βόρειο ημισφαίριο, αλλά στη Χιλή παρατηρήθηκαν στο είδος *Trachurus murphyi,* το οποίο βρέθηκε γύρω από τους κλωβούς των εκτρεφόμενων σολομών τους καλοκαιρινούς μήνες (Sievers et al, 1996).

Στην Ελλάδα παρατηρήθηκαν παρασιτώσεις από το παράσιτο *Emetha audouini* σε εκτροφές λαβρακιών (Papapanagiotou et al., 1999). Τα νεαρά παράσιτα του είδους *Emetha audouini* προκάλεσαν θνησιμότητες που έφτασαν σε ποσοστό 10,75% σε εκτρεφόμενα λαβράκια βάρους 30g. Δεν έχουν αναφερθεί παρασιτώσεις από το είδος αυτό σε λαβράκια ελεύθερης διαβίωσης. Είναι παράσιτο που προσβάλλει είδη των οικογενειών Sparidae και Centracanthidae (Papapanagiotou et al., 1999).

Στην Κροατία βρέθηκε το παράσιτο *Ceratothoa oestroides* σε εκτρεφόμενα λαβράκια και τσιπούρες (Sarusic, 1999). Ο Sarusic (1999) παρατήρησε ότι το παράσιτο μπορεί να παρατηρηθεί οποιαδήποτε εποχή του χρόνου σε λαβράκια εμπορεύσιμου μεγέθους, αλλά όχι σε τσιπούρες. Παρ' όλα αυτά τα προνυμφικά στάδια του παρασίτου προσβάλλουν τα νεαρά ψάρια και των δύο ειδών. Διαπιστώθηκε ότι το παράσιτο προέρχεται από τα γειτονικά ψάρια ελεύθερης διαβίωσης που βρίσκονται γύρω από τους κλωβούς των εκτρεφόμενων ψαριών. Ένα τέτοιο ψάρι φορέας είναι η γόπα (*Boops boops*), (Sarusic, 1999). Τα παράσιτα προκάλεσαν θνησιμότητες σε ποσοστά 10-20% και στα δύο είδη που είχαν βάρος πάνω από 10g και μείωση της ανάπτυξης σε ποσοστό 20% στα ενήλικα ψάρια (Sarusic, 1999).

Στην Ελλάδα οι Papoutsoglou et al. (1996) παρατήρησαν ένα περιστατικό παρασίτωσης από το ισόποδο παράσιτο *Ceratothoa oestroides* σε εκτρεφόμενα λαβράκια το 1991. Είναι άγνωστο από πού προέρχονται τα παραπάνω είδη παρασίτων. Πιστεύεται ότι τα άγρια ψάρια είναι οι φορείς των παρασίτων και ότι από τα γειτονικά ψάρια στους κλωβούς τα παράσιτα μεταφέρονται στα εκτρεφόμενα ψάρια.

Το παράσιτο *Ceratothoa oestroides* δεν είναι ιδιαίτερα εξειδικευμένο παράσιτο, ενώ προκαλεί τη θνησιμότητα και την προοδευτική καθυστέρηση της ανάπτυξης (Horton and Okamura, 2001), τα οποία κάνουν τα πιθανά ξεσπάσματα της παρασίτωσης μια σοβαρή απειλή για τις ιχθυοκαλλιέργειες. Το γεγονός αυτό οφείλεται στα γειτονικά άγρια ψάρια φορείς, που προσελκύονται από την περισσευούμενη τροφή και που δεν υπάρχει τρόπος απομάκρυνσής τους.

Έχουν γίνει μερικές προσπάθειες για την εύρεση θεραπείας, αλλά μέχρι τώρα παραμένουν σε πειραματικό στάδιο (Athanassopoulou et al, 2001b, Athanassopoulou et al, 2001a) και οι ουσίες που χρησιμοποιήθηκαν ήταν ίδιες με αυτές που έχουν χρησιμοποιηθεί εναντίον των παρασίτων του γένους *Caligus* και του είδους *Lepeophtheirus salmonis* στα σολωμοειδή (Papapanagiotou et al, 1999). Παρ' όλα αυτά, οι δοκιμές τοξικότητας των φαρμάκων στη θάλασσα δεν έχουν δώσει επιθυμητά αποτελέσματα για τα είδη της Μεσογείου.

Όσον αφορά στο μηχανισμό της μόλυνσης από τα παράσιτα, είχε περιγραφεί αρχικά από τον Sarusic (1999) και μέχρι το 2002 επικρατούσε η άποψη ότι τα νεαρά ψάρια μολύνονταν με τα παράσιτα του σταδίου *pulli* II, του παρασίτου *Ceratothoa oestroides,* λαμβάνοντάς τα ως ζωντανή τροφή στην προσπάθειά τους για εύρεση τροφής. Το 2002, οι Mladineo και Valic διαπίστωσαν ότι τα νεαρά ψάρια ήταν απίθανο να μολύνονται με αυτόν τον τρόπο. Αντίθετα, φαίνονταν να τρομοκρατούνται από την παρουσία παρασίτων και να προσπαθούν να απομακρυνθούν από αυτά. Παρόμοια εικόνα παρατηρήθηκε και στην παρούσα μελέτη. Επιπλέον, μέσα στα ενυδρεία μπορούσε κανείς να παρατηρήσει παράσιτα του σταδίου *pulli* II, τα οποία κολυμπούσαν ελεύθερα και έκαναν προσπάθειες να επιτεθούν στα νεαρά στρεσσαρισμένα ψάρια. Σύμφωνα με τους Mladineo and Valic (2002), αυτή η φάση των παρασίτων ίσως είναι και το κλειδί για τις εφαρμογές θεραπειών. Είναι πιο εύκολη η καταστροφή των παρασίτων όταν αυτά κολυμπούν ελεύθερα, παρά όταν βρίσκονται μέσα στη στοματική κοιλότητα.

Αξίζει να σημειωθεί ότι κατά τη διάρκεια του πειράματος παρατηρήθηκαν μερικές προσπάθειες των παρασίτων του σταδίου *pulli* II να αλλάξουν θέση πάνω στον ξενιστή. Έτσι, παρατηρήθηκε μετακίνησή τους από το βραγχιοκάλυμμα προς τα κάτω, κοντά στα κοιλιακά πτερύγια, και μεταπήδησή τους στην άλλη πλευρά του ξενιστή. Ίδια διαπίστωση έγινε και από τους Mladineo και Valic (2002), με τη διαφορά ότι τα παράσιτα δεν επεκτείνονταν τόσο πολύ, αλλά κατευθύνονταν μέχρι και κάτω από τα βραγχιακά επικαλύμματα.

Επίσης, μετά την πρώτη θνησιμότητα και στα δυο είδη, παρατηρήθηκε ότι οι προνύμφες του σταδίου *pulli* II, του είδους *Ceratothoa oestroides,* παρέμεναν ελεύθερες κολυμπώντας και ήταν ικανές να επιμολύνουν έναν ξενιστή για περίπου εφτά ημέρες στους 22°C, πράγμα που είχε διαπιστωθεί και στο παρελθόν από τους Mladineo και Valic (2002).

Όσον αφορά στην τύχη των παρασίτων, διαπιστώθηκε ότι τα παράσιτα κολυμπούσαν στη στήλη του νερού για 48 ώρες, κατέληγαν στον πυθμένα με τα πόδια προς τα επάνω όπου παρέμεναν ζωντανά χωρίς ξενιστή για περίπου 24 ώρες και μετά ξεκίνησαν οι πρώτες θνησιμότητες. Αντίθετα, τα ενήλικα παράσιτα 24 ώρες μετά την απομάκρυνση των ξενιστών παρατηρήθηκαν νεκρά στον πυθμένα.

Τέλος, στην τσιπούρα (*Sparus aurata L.*) δεν παρατηρήθηκαν μεταβολές στην ένταση ανά εβδομάδα, αλλά αυτή διατηρήθηκε σε χαμηλά επίπεδα, ενώ στο λαβράκι (*Dicentrarchus L.*) παρατηρήθηκαν μεταβολές στην ένταση με υψηλότερη τη δεύτερη εβδομάδα, διαφορά μη σημαντική στατιστικά.

REFERENCES - ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Alvarado V, Schafer J.W, Enriquez R, Monras M (1990). Salmonicultura en Chile, estado actual, proyecciones y estado sanitario. Medio Ambiente 11:9-14.

Athanassopoulou F (1990). A study of the Myxosporean infections of R. rutilus L. with special reference to Myxidium rhodei Leger, 1905 in the renal tissue. Ph.D. thesis, University of Stirling, Stirling.

Athanassopoulou F, Bouboulis D, Martinsen B (2001). 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.

Bowman TE & Mariscal RN (1968). Renocila heterozota, a new cymothoid isopod, with notes on its host, the anemone fish, Amphiprion akallopisos, in the Seychelles. Crustaceana 14, 97-104.

Bragoni G, Romestand B and Trilles JP (1983). Parasitism by cymothoids among sea-bass (Dicentrarchus labrax Linnaeus) in rearing. II. Parasitic ecophysiology in Diana Pond, Corsica. Annales de Parasitologie Humaine et Comparee 58, 593-609.

Bragoni G, Romestand B and Trilles JP (1984). Parasitoses a cymothoadien chez le loup, Dicentrarchus labrax (Linnaeus, 1758) en elevage. I. Ecologic parasitaire dans le cas de l'Etang de Diana (Haute Corse) (Isopoda, Cymothoidae). Crustaceana 47, 44-51.of sea bass Dicentrarchus labrax L. Bull Eur Ass Fish Pathol., 21(1): 26-29.

Bush AO, Lafferty KD, Lotz JM, Shostak AW (1997). Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited. Journal of Parasitology 83:575-583.

Drury RA & Wallington EA (1980) Carleton's Histological Techniques. Oxford University Press, Oxford, 520pp.

Horton T & Okamura B (2001a). Cymothoid isopod parasitism: an emerging disease of Mediterranean mariculture. 10th Int. Conf. of the EAFP: "Diseases of Fish and Shellfish". Trinity College, Dublin, 9-14 September.

Horton T & Okamura B (2001b). Cymothoid isopod parasites in aquaculture: a review and case study of a Turkish sea bass (Dicentrarchus labrax) and sea bream (Sparus aurata) farm. Dis Aquat Org, 46:181-188.

Inostroza R, Sievers G, Roa J, Aguirrebena R (1993). Prevalencia e intensidad de infeccion estacional por Ceratothoa gaudichaudii en salmones Salmo salar cultivados en agua de mar en el sur de Chile. Arch Med Vet 25:173-179.

Mladineo I (2003). Life cycle of Ceratothoa oestroides, a cymothoid isopod parasite from sea bass Dicentrarchus labrax and sea bream Sparus aurata. Dis Aquat Org, 57:97-101.

Mladineo I & Valic D (2002). The mechanisms of infection of the buccal isopod Ceratothoa oestroides (Risso, 1836), under experimental conditions. Bull Eur Ass Fish Pathol, 22(5):304-309.

Papapanagiotou E.P, Trilles J & Photis G (1999). First record of Emetha andouini, a cymothoid parasite, from cultured sea bass Dicentrarchus labrax in Greece. Dis. Aq. Org. 38:235-237.

Papoutsoglou S, Costello MI, Stamou E, Tziha G (1996). Environmental conditions at sea cages and ectoparasites on farmed European sea bass, D labrax (L) and gill head sea bream, S. aurata L, at two farms in Greece. Aquaculture Research, 27: 25:34.

Roa J (1992). Contribucion al estudio del isopodo Ceratothoa gaudichaudii como parasito de salmones (Salmo salar) cultivados en agua de mar en dos centros de cultivo de la Provincia de Llanquihue. Thesis, M.V. Universidad Austral de Chile, Escuela de Medicina Veterinaria, Valdivia.

Roberts RJ (1989). Fish pathology. Bailliere, Tindall, London.

Romestand B & Trilles J-P (1977a). Degenerescence de la langue des Bogues [(Boops boops L., 1758) (Teleosteens, Sparidae)] parasitees par Meinertia oestroides (Risso, 1826) (Isopoda, Flabellifera, Cymothoidae). Zeitschrift fur Parasitenkunde 54, 47-53.

Romestand B, Janicot M and Trilles J-P (1977). Modifications tissulaires et reactions de defense chez quelques Teleosteens parasites par les Cymothoidae (Crustaces, Isopodes, Hematophages). Annales de Parasitologie 52, 171-180.

Sarusic G (1999). Preliminary report of infestation by isopod Ceratothoa oestroides (Risso, 1826), in marine cultured fish. Bull Eur Ass Fish Pathol, 19(3):110-112.

Sievers G, Lobos C, Inostroza R, Ernst S (1996). The effect of the isopod parasite Ceratothoa gaudichaudii on the body weight of farmed Salmo salar in southern Chile. Aquaculture 143:1-6

Varvarigos P (2003). Parasitic isopods (suborder Flabellifera) affecting the farmed marine fish in Greece, with special reference to Ceratothoa oestroides (family Cymothoidae) www.vetcare.gr

Yamaguti S (1963). Parasitic Copepoda and Branchiura of Fishes. Interscience, New York.