

## Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society

Vol 57, No 1 (2006)



### Marteiliosis in molluscs

D. KARAGIANNIS (Δ. ΚΑΡΑΓΙΑΝΝΗΣ), P. ANGELIDIS  
(Π. ΑΓΓΕΛΙΔΗΣ)

doi: [10.12681/jhvms.15008](https://doi.org/10.12681/jhvms.15008)

### To cite this article:

KARAGIANNIS (Δ. ΚΑΡΑΓΙΑΝΝΗΣ) D., & ANGELIDIS (Π. ΑΓΓΕΛΙΔΗΣ) P. (2017). Marteiliosis in molluscs. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 57(1), 42–50. <https://doi.org/10.12681/jhvms.15008>

## Μαρτελίωση των οστρακοειδών

Δ. Καραγιάννης, Π. Αγγελίδης

**ΠΕΡΙΛΗΨΗ.** Ένας από τους σημαντικότερους παθογόνους παράγοντες στην οστρακοκαλλιέργεια είναι τα πρωτόζωα που ανήκουν στο φύλο *Paramyxa* και συγκεκριμένα στο γένος *Marteilia*. Τα τελευταία τριάντα χρόνια η μαρτελίωση έχει προκαλέσει σημαντικές οικονομικές απώλειες στην οστρακοκαλλιέργεια παγκοσμίως. Σύμφωνα με την Παγκόσμια Οργάνωση Υγείας των Ζώων (O.I.E.), δεν είναι ζωοανθρωπονόσος και κατατάσσεται στη λίστα II των νοσημάτων των μαλακίων, που περιλαμβάνει νοσήματα υποχρεωτικής δηλώσεως στην Ευρωπαϊκή Ένωση. Η νόσος χαρακτηρίζεται από προοδευτική απώλεια σωματικού βάρους των προσβεβλημένων οστρακοειδών και αλλοίωση του χρώματος του πεπτικού αδένα. Λόγω της απουσίας παθογνωμονικών συμπτωμάτων απαιτούνται ιστολογικές και μοριακές τεχνικές για τη διάγνωση της. Στην Ελλάδα η μαρτελίωση αποτελεί συνεχή απειλή της υγείας των οστρακοειδών και χρίζει επιτήρησης και ορθής διαχείρισης. Η γενετική βελτίωση των οστρακοειδών-ξενιστών, με σκοπό την παραγωγή ατόμων με αυξημένη αντίσταση στη νόσο, και η γνώση της βιολογίας της *Marteilia* αποτελούν χρήσιμα εργαλεία για τη μείωση των επιπτώσεων της μαρτελίωσης.

**Λέξεις ευρετηρίασης:** *Marteilia* sp., *Mytilus galloprovincialis*, *Ostrea edulis*

### ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Μαρτελίωση είναι η νόσος των οστρακοειδών που προκαλείται από το πρωτόζωο *Marteilia* sp. Εντοπίστηκε για πρώτη φορά το 1968 σε στρείδια *Ostrea edulis* στην περιοχή της Βρετάνης στη Γαλλία, προκαλώντας απώλειες πάνω από 90% (Alderman 1979). Η μαρτελίωση είναι γνωστή ως Νόσος του Aber ή Νόσος QX, όταν ο αιτιολογικός παράγοντας είναι η *Marteilia refringens* ή η *Marteilia sydneyi*, αντίστοιχα.

Στην Ελλάδα ένας από τους σημαντικότερους τομείς των υδατοκαλλιεργειών είναι οι οστρακοκαλλιέργειες. Ο Θερμαϊκός κόλπος αποτελεί τη μεγαλύτερη πηγή παραγωγής καλλιεργούμενων μυδιών *Mytilus galloprovincialis* στην Ελλάδα, αφού το 88% της εθνικής παραγωγής προέρχεται από αυτόν. Το 2003 η

## Marteiliosis in molluscs

Karagiannis D., Angelidis P.

**ABSTRACT.** The protozoans, belonging to the phylum Paramyxea and particularly to the genera *Marteilia*, are the more important mollusc pathogens. The last thirty years marteiliosis has caused economic losses in mollusc aquaculture worldwide. According to the World Organisation for Animal Health (O.I.E.), it is not a zoonosis and it is classified in List II that includes mollusc diseases which are an obligatory statement in the European Union. The disease is characterized by progressive loss of body-weight of the infected shellfish and alteration of the colour of the digestive gland. Because of the absence of pathognomonic symptoms, histological and molecular techniques are required for the diagnosis of the disease. In Greece, marteiliosis constitutes a continuous threat for the mollusc aquaculture and demands surveillance and proper management. Genetic improvement of host species, in order to produce individuals resistant to the disease, as well as knowledge of the biology of *Marteilia* sp. constitute useful tools for the reduction of the impact of marteiliosis.

**Key words:** *Marteilia* sp., *Mytilus galloprovincialis*, *Ostrea edulis*

εθνική παραγωγή οστρακοειδών ήταν περίπου 33.000 τόνοι, από τους οποίους οι 31.600 ήταν μύδια *M. galloprovincialis* και οι υπόλοιποι διάφορα οστρακοειδή, όπως στρείδια *Ostrea edulis*, κυδώνια *Venus verrucosa* και χάβαρα *Modiolus barbatus* (FAO, 2003).

Τα συστήματα μυδοκαλλιέργειας που εφαρμόζονται στο Θερμαϊκό κόλπο είναι δύο: α) το πασσαλωτό σε ρηγά νερά βάθους 3 – 4 m και β) το πλωτό μακράς γραμμής (Long-line) σε βάθη 8 – 20 m (Παπουτσόγλου, 1985).

Η θαλάσσια περιοχή του Θερμαϊκού κόλπου, λόγω της εισόδου γλυκών νερών και θρεπτικών ουσιών από τους ποταμούς Γαλλικό, Αξιό, Λουδία και Αλιάκμονα, παρουσιάζει υψηλό τροφικό δυναμικό και αποτελεί ιδανικό μέρος για την καλλιέργεια του μυδιού. Ωστόσο



σο, η συνεχώς αυξανόμενη εγκατάσταση νέων μονάδων μυδοκαλλιέργειών στην περιοχή αυτή αυξάνει την πιθανότητα εκδήλωσης ασθενειών και κυρίως παρασιτώσεων (Figueras 1991, Figueras et al. 1991b, Fuentes et al. 1995).

Τα μύδια και γενικότερα τα δίθυρα μαλάκια παρυσιαίζουν βιοτικές αλληλεπιδράσεις με διάφορους οργανισμούς, οι οποίοι ταξινομούνται σε θηρευτές, ανταγωνιστές και παράσιτα (Lauckner 1983, Figueras et al. 1991b, Teia dos Santos and Coimbra 1995, Fuentes et al. 1998). Η παθογόνος δράση μερικών από τους οργανισμούς αυτούς μπορεί να προκαλέσει βλάβες στους καλλιεργούμενους οργανισμούς με συνέπεια τη μείωση της παραγωγής.

Η δραματική μείωση του πληθυσμού του πλατιού στρείδιου *Ostrea edulis* στο Θερμαϊκό κόλπο την περίοδο 1994-1998, που είχε ως συνέπεια τη διακοπή της αλίευσής του από το 1999, αποτέλεσε την αφορμή για τη διερεύνηση των επιπτώσεων των παρασιτώσεων στην υγεία των καλλιεργούμενων οστρακοειδών. Το πρωτόζωο *Marteilia* sp. εντοπίζεται στο Θερμαϊκό κόλπο για πρώτη φορά σε μύδια *Mytilus galloprovincialis* (Φώτης και συν. 1997, Virvilis et al. 2003, Rayyan 2003, Καραγιάννης 2005) και στη συνέχεια σε στρείδια *Ostrea edulis* σε ποσοστό 60,4% (Angelidis et al. 2001, Virvilis et al. 2003). Μέχρι σήμερα δεν έχει αναφερθεί η παρουσία του πρωτόζωου αυτού σε άλλες περιοχές της Ελλάδας.

Η συχνότητα παρασίτωσης των μυδιών *M. galloprovincialis* από τη *Marteilia* sp. στο Θερμαϊκό κόλπο κυμαίνεται από 10 μέχρι 36,7% ανάλογα με τη θαλάσσια περιοχή, την εποχή του έτους και τον τύπο της καλλιέργειας (Virvilis et al. 2003, Rayyan 2003, Καραγιάννης 2005). Στην Ισπανία, το ποσοστό προσβολής των καλλιεργούμενων μυδιών *M. galloprovincialis* από τη νόσο κυμαίνεται στα ίδια επίπεδα (Figueras et al. 1991b, Robledo and Figueras 1995, Fuentes et al. 1995, 1998, Villalba et al. 1993a, 1993b, 1997). Ωστόσο, οι Pernas et al. (2001) έδειξαν ότι οι σύγχρονες μοριακές τεχνικές διάγνωσης της *Marteilia* sp. (nested PCR) αναδείκνυαν ποσοστό προσβολής 65% σε αντίθεση με τις συμβατικές μεθόδους (επιχρίσματα πεπτικού αδένου και ιστολογική εξέταση), που αναδείκνυαν μόνο 25 και 20%, αντίστοιχα σε μια δεδομένη μόλυνση.

Μεταξύ των δύο τύπων καλλιέργειών των μυδιών, του πλωτού και του πασσαλωτού, το ποσοστό παρασίτωσης από τη *Marteilia* sp. είναι σημαντικά μεγαλύτερο στα μύδια που αναπτύσσονται στα πασσαλωτά σε σχέση με εκείνο των πλωτών (Villalba et al. 1993a, Fuentes et al. 1995, Robledo and Figueras 1995, Καραγιάννης 2005).

Η μαρτελίωση, σύμφωνα με την Παγκόσμια Οργάνωση

Υγείας των Ζώων (O.I.E.), δεν είναι ζωοανθρωπονόσος και κατατάσσεται στη λίστα II των νοσημάτων των μαλακίων, που περιλαμβάνει νοσήματα υποχρεωτικής δηλώσεως στην Ευρωπαϊκή Ένωση (OIE 2003a). Αυτό καθιστά τη νόσο ιδιαίτερης σημασίας τόσο από βιολογικής όσο και από οικονομικής απόψεως. Στη συνέχεια αναφέρονται η συστηματική κατάταξη, ο βιολογικός κύκλος, η παθογένεια και η διάγνωση της νόσου.

### Συστηματική ταξινόμηση της *Marteilia* sp.

Το παράσιτο *Marteilia* sp. κατατάσσεται στα πρωτόζωα (Desportes and Perkins 1990) και ειδικότερα στο φύλο Paramyxia, που περιλαμβάνει ένα μεγάλο αριθμό οργανισμών που προσβάλλουν τα θαλάσσια ασπόνδυλα. Το φύλο Paramyxia περιλαμβάνει δύο κλάσεις: τη Martelliidea με τρία γένη *Marteilia*, *Paramarteilia*, *Marteilioides* και τη Paramyxidea με το γένος *Paramyxa*. Η ταξινόμηση του γένους *Marteilia* αποτελεί αντικείμενο διαφωνιών μεταξύ των επιστημόνων από την εποχή που πρωτοεμφανίστηκε μέχρι και σήμερα (Poljansky 1992). Αρχικά κατατασσόταν στους κατώτερους μύκητες και συγκεκριμένα στην τάξη Chytridiales και στη συνέχεια, στα πρωτόζωα και στο φύλο Ascetospora (Sprague 1979). Στις ημέρες μας, με τη βοήθεια των μοριακών τεχνικών (PCR και in-situ υβριδισμό), η συστηματική ταξινόμηση σύμφωνα με τους Desportes and Perkins, (1990) είναι η εξής: Βασίλειο: Protozoa, Φύλο: Paramyxia, Κλάση: Martelliidea, Οικογένεια: Martelliida, Γένος: *Marteilia*. Συγκεκριμένα, το γένος *Marteilia* περιλαμβάνει τα πέντε είδη: *M. refringens*, *M. maurini*, *M. sydneyi*, *M. christenseni* και *M. lenghi*.

Το είδος *M. refringens* εντοπίστηκε στα στρείδια *Ostrea edulis*, *O. angasi*, *O. puelchana*, *O. chilensis* (Grizel 1979, Balouet 1979, Grizel et al. 1982, Bougrier et al. 1986, Pascual et al. 1991) και στα μύδια *Mytilus edulis* και *M. galloprovincialis* (Figueras et al. 1991a, Villalba et al. 1993a). Κύτταρα της *Marteilia refringens* έχουν βρεθεί, επίσης, στα στρείδια *Crassostrea gigas* και *C. virginica* (Cahour 1979, Renault et al. 1995, Montes et al. 1998), αλλά δεν έχουν σχετιστεί με πραγματικές μολύνσεις και θα μπορούσαν να ερμηνευτούν ως άτυπες μολύνσεις από το παράσιτο σε διηθηματοφάγους οργανισμούς (Berthe et al. 2004).

Το είδος *M. maurini* εντοπίστηκε μόνο στο μύδι του Ατλαντικού *Mytilus edulis* και στο μύδι της Μεσογείου *M. galloprovincialis* (Comps et al. 1982, Auffret and Poder 1987, Longshaw et al. 2001, Zrncic et al. 2001).

Το είδος *Marteilia sydneyi* εντοπίστηκε στο Αυστραλιανό στρείδι *Saccostrea glomerata* (Perkins and Wolf 1976, Adlard and Ernst 1995, Peters and Raftos 2002) και *S. commercialis* (Roubal et al. 1989, Anderson et al. 1995, Hine and Thorne 2000), το είδος *M.*



*christenseni* στο δίθυρο *Scrobicularia* [piperata] *plana* (Comps 1985) και τέλος, η *M. lengehi* στο στρείδι *Saccostrea cucullata* (Comps 1976).

Οι προαναφερθέντες ξενιστές, που προσβάλλονται από τα είδη του γένους *Marteilia*, δεν μπορεί να θεωρηθεί ότι είναι και οι μόνοι, δεδομένου ότι απομονώθηκαν και σε άλλα είδη οστρακοειδών παράσιτα που πιθανόν να ανήκουν στο γένος *Marteilia* sp. (Berthe et al. 2004). Ειδικότερα έχει αναφερθεί ως *Marteilia* sp. στην πουρλίδα *Cardium edule*, στις αχιβάδες *Tapes rhomboides* και *T. pullastra* (Comps et al. 1975, Figueras et al. 1996), στους σωλήνες της άμμου *Ensis minor* και *E. siliqua* (Ceschia et al. 2001), στο χτένι *Argopecten gibbus* (Moyer et al. 1993) και στο γιγάντιο χτένι *Tridacna maxima* (Norton et al. 1993). Σύμφωνα με τους Virvilis et al. (2003) στο Θερμαϊκό κόλπο δεν εντοπίστηκε προσβολή από *Marteilia* sp. των κυδωνιών *V. verrucosa* και των χαβάρων *M. barbatus*.

Στην Ευρώπη, στο γένος του παρασίτου *Marteilia* υποστηρίζεται ότι υπάρχουν δύο είδη, η *M. refringens* και η *M. maurini*. Ο διαχωρισμός μεταξύ τους βασίστηκε αρχικά στο είδος του ξενιστή στον οποίο εντοπίστηκαν (*M. refringens* σε μύδια *M. edulis* και *M. maurini* σε μύδια *M. galloprovincialis*), καθώς και σε μορφολογικά χαρακτηριστικά τους (σχήμα απλοσποροσώματος του σποραγγείου) (Comps et al. 1982). Ωστόσο, όταν εντοπίστηκε η *M. maurini* σε μύδια *M. edulis* (Auffret and Poder 1985) και η *M. refringens* σε μύδια *M. galloprovincialis* (Villalba et al. 1993b, Robledo and Figueras 1995), έπαψε να ισχύει το πρώτο κριτήριο. Παράλληλα, η διαπίστωση ότι το ίδιο παράσιτο μπορεί να έχει διαφορετική μορφολογία σε διαφορετικούς ξενιστές (Zrnčić et al. 2001, Longshaw et al. 2001) προκάλεσε σύγχυση ως προς την ταυτοποίηση των προαναφερθέντων πρωτόζωων.

Με τη βοήθεια μοριακών τεχνικών αποδείχθηκε ότι υπάρχουν δύο γενετικά “προφίλ” της *Marteilia*. Ο τύπος ‘Ο’, (*M. refringens*) που εντοπίζεται στα στρείδια *Ostrea edulis* και στα μύδια *M. edulis* και ο τύπος ‘Μ’, (*M. maurini*) που εντοπίζεται στα μύδια *M. galloprovincialis* (Berthe et al. 2000, Le Roux et al. 2001). Τα αποτελέσματα, όμως, αυτά έρχονται σε αντίθεση με πρόσφατες έρευνες που υποστηρίζουν ότι οι δύο τύποι διαφοροποιήθηκαν λόγω των πολλαπλών μεταβιβάσεων μεταξύ των ξενιστών τους και μπορούν να ανευρεθούν τόσο σε μύδια *M. edulis* όσο και σε μύδια *M. galloprovincialis* (Novoa et al. 2005).

### Βιολογικός κύκλος της *Marteilia* sp.

Το πρωτόζωο *Marteilia* sp. παρουσιάζει ασυνήθιστο βιολογικό κύκλο, που δεν παρατηρείται στα πρωτόζωα. Το μέχρι σήμερα γνωστό κομμάτι του βιολογι-

κού κύκλου του παρασίτου είναι εκείνο που εξελίσσεται μέσα στον ξενιστή, το στρείδι *O. edulis* (Grizel et al. 1974) (Εικόνα 1). Η σπορογένεση περιλαμβάνει μια σειρά από ενδογενείς βλαστήσεις, που παράγουν «κύτταρα μέσα σε κύτταρα». Τα ποικίλα στάδια του βιολογικού κύκλου της *Marteilia refringens* έχουν μελετηθεί εντατικά με τη βοήθεια του ηλεκτρονικού μικροσκοπίου (Perkins 1976).

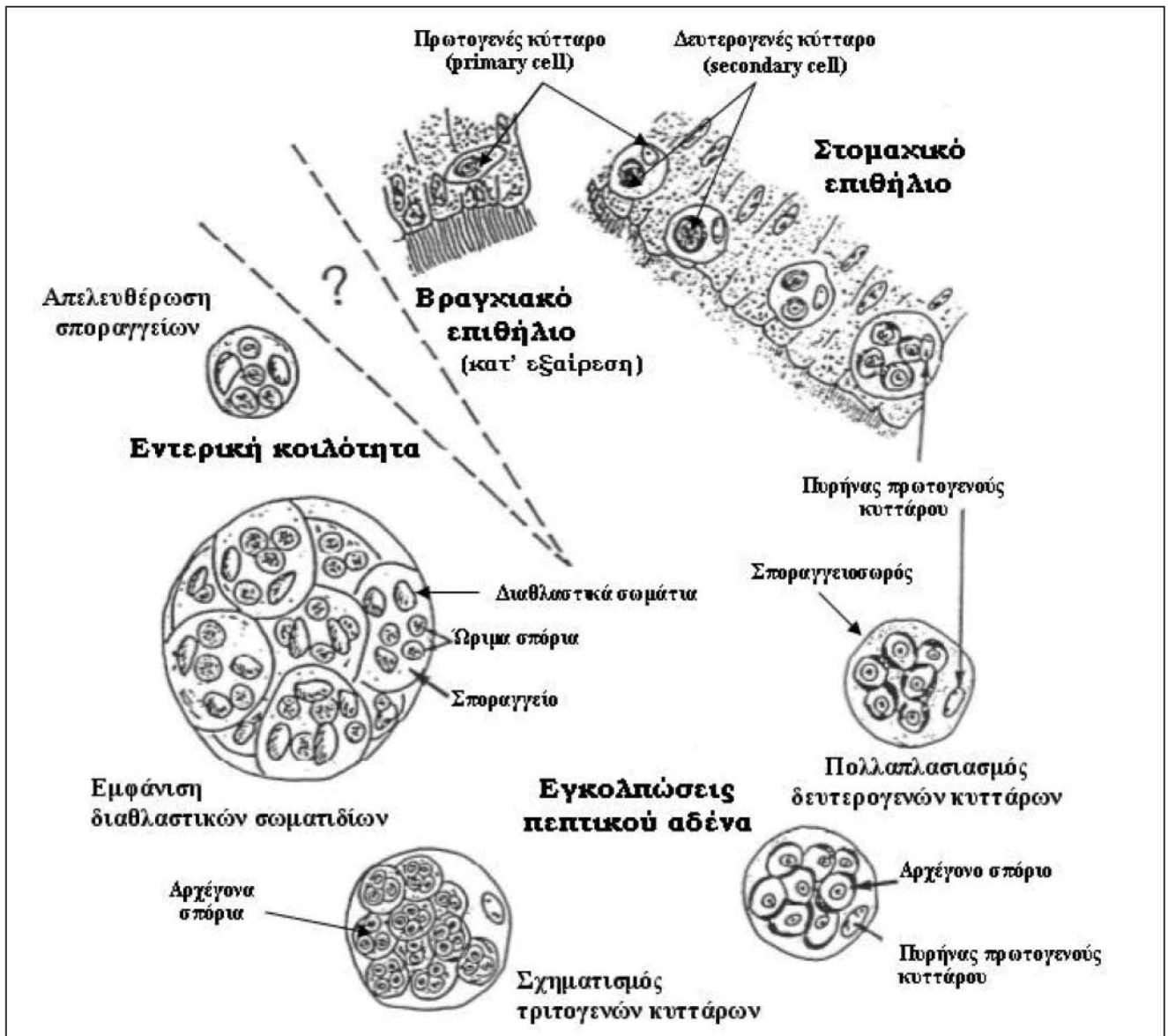
Το πρωτόζωο αρχικά ανευρίσκεται στο στομαχικό επιθήλιο και στα βράγχια (Comps 1970) του ξενιστή ως πλασμώδιο (αρχικό κύτταρο-primary cell). Από το πλασμώδιο και με ενδογενή βλάστηση προκύπτουν προσποράγγεια ή δευτερογενή κύτταρα (secondary cells). Στο στάδιο αυτό, που το πλασμώδιο αποτελείται πλέον από δευτερογενή κύτταρα, το πρωτόζωο ονομάζεται σποραγγειοσωρός (sporangiogous) (Εικόνα 2). Σε κάθε σποραγγειοσωρό περιλαμβάνονται περίπου 8 δευτερογενή κύτταρα. Τα δευτερογενή κύτταρα αναπτύσσουν κυτταρικό τοίχωμα και μέσα από μια διαδικασία πολλαπλασιασμού του πυρήνα και μερισμού του κυτταροπλάσματός τους εξελίσσονται το καθένα από αυτά σε τρία ή τέσσερα τριτογενή κύτταρα (tietary cells) ή αλλιώς πρωταρχικοί σπόροι (spore primodia). Στη διάρκεια της ωρίμανσης των σπόρων, το εξωτερικό κυτταρόπλασμα του σπόρου εμφανίζει πολύμορφα έγκλειστα σωματίδια, τα οποία είναι χαρακτηριστικά του σποραγγείου. Τα σωματίδια αυτά είναι εξόχως διαθλαστικά και εξαιτίας της ιδιότητάς τους αυτής το παράσιτο έλαβε την ονομασία *Marteilia* η διαθλαστική (*refringens*).

Σύμφωνα με τους Figueras and Montes (1988), η προσβολή των ξενιστών από τη *Marteilia refringens* ξεκινάει συνήθως το μήνα Μάιο, φτάνει στο μέγιστο τους μήνες Ιούνιο, Ιούλιο και Αύγουστο, για να μειωθεί σημαντικά έως το μήνα Δεκέμβριο. Το χειμώνα και νωρίς την άνοιξη, η *Marteilia refringens* απουσιάζει ή ανευρίσκεται σε μικρό ποσοστό στους πληθυσμούς των ξενιστών. Προς το τέλος της άνοιξης η αύξηση της θερμοκρασίας των νερών ενεργοποιεί την ανάπτυξη του παρασίτου (Figueras and Montes 1988).

Ο σημαντικός ρόλος της θερμοκρασίας, της αλατότητας και του ρυθμού ανανέωσης των νερών στη μολυσματική ικανότητα της *Marteilia* sp. επισημαίνεται και από την Audemard et al. (2001). Αυτοί οι παράγοντες πιθανόν να αιτιολογούν την απουσία της *Marteilia* sp. στους ανοικτούς ωκεανούς (Grizel 1985). Εκτός από τους περιβαλλοντικούς παράγοντες, η μολυσματική ικανότητα της *Marteilia* sp. σχετίζεται και με τη βιολογία του ίδιου του παρασίτου. Μέχρι σήμερα δεν είναι γνωστοί όλοι οι ενδιάμεσοι – τελικοί ξενιστές του.

Ο ολοκληρωμένος κύκλος ζωής της *Marteilia* sp., παρά το πλήθος των ερευνών, παραμένει ακόμα άγνωστος, αφού ο τρόπος μόλυνσης των οστρακοειδών, αλ-





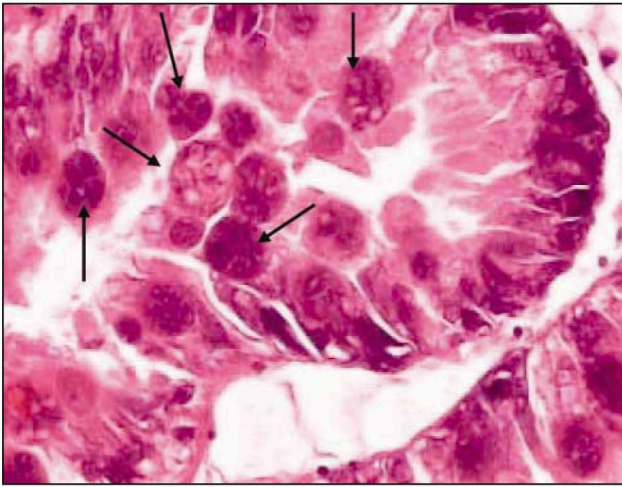
Εικόνα 1. Βιολογικός κύκλος της *Marteilia refringens* στο στρείδι, *Ostrea edulis* (από Figueras & Montes, 1988).

Figure 1. Biological cycle of *Marteilia refringens* inside the oyster, *Ostrea edulis* (from Figueras & Montes, 1988).

λά και η μολύνουσα μορφή δεν έχουν ακόμα καθοριστεί (Balouet 1979, Lauckner 1983, Figueras and Montes 1988, Berthe et al. 1998, Audemard et al. 2001, 2002). Η αναγκαιότητα της ύπαρξης ενδιάμεσου ή ενδιάμεσων ξενιστών για την ολοκλήρωση του κύκλου της ζωής της *Marteilia* sp. διαπιστώθηκε με τις μελέτες των Balouet (1979), Grizel and Tige (1979) και Berthe et al. (1998). Στις μελέτες αυτές απέτυχε η in vitro μετάδοση της νόσου, αποκλείοντας έτσι την πιθανότητα της άμεσης μετάδοσης. Συγκεκριμένα, απέτυχε η άμεση μετάδοση της *Marteilia refringens* μεταξύ στρειδιών *O. edulis* σε συγκατοίκηση ή με έγχυση ή με χορήγηση με την τροφή εναιωρήματος σπόρων του παρασίτου (Balouet 1979, Perkins 1988, Grizel 1985, Berthe et al. 1998).

Στις ημέρες μας σε μικρά τεχνητά οικοσυστήματα (claire ponds) με τη βοήθεια των μοριακών τεχνικών βρέθηκε ένας πιθανός ενδιάμεσος ξενιστής, το κωπήποδο *Paracartia grani*, το οποίο προσβάλλεται από τη *Marteilia refringens* (Audemard et al. 2001, 2002, 2004). Συγκεκριμένα, γενετικό υλικό της *Marteilia* εντοπίστηκε μόνο στις ωοθήκες θηλυκών ατόμων του κωπήποδου. Ο εποχιακός του κύκλος συμπίπτει με εκείνον της *Marteilia* sp. Κατά τη διάρκεια του χειμώνα το *Paracartia grani* απουσιάζει από τη στήλη του νερού και εμφανίζεται πάλι την άνοιξη από διαπαυσιακά βενθικά αυγά. Πιθανόν τα αυγά αυτά να αποτελούν το μέσο διαχείμασης του πρωτόζωου (Audemard et al. 2001, 2002, 2004). Για το κωπήποδο αυτό δεν υπάρχει





**Εικόνα 2.** *Marteilia refringens* (σποραγγειοσπόροι) στα επιθηλιακά κύτταρα των πεπτικών σωληναρίων του πεπτικού αδένου στρείδιου *Ostrea edulis* (H&E χρώση, μεγέθυνση x200).

**Figure 2.** *Marteilia refringens* (sporangiosorus) in the epithelial cells of digestive tubules of digestive gland of oyster *Ostrea edulis* (H&E staining, magnification x200).

καμία αναφορά στο Θερμαϊκό κόλπο και αποτελεί αντικείμενο μελλοντικής μελέτης.

### Παθογένεια και συμπτώματα της Μαρτελίωσης

Κύρια χαρακτηριστικά της νόσου είναι η προοδευτική απώλεια σωματικού βάρους των προσβεβλημένων οστρακοειδών, καθώς και η αλλοίωση του χρώματος του πεπτικού αδένου, ο οποίος λαμβάνει χρώμα καφέ έως ανοιχτό κίτρινο. Λόγω προσβολής του πεπτικού αδένου ο οργανισμός δεν μπορεί να πέψει σωστά την τροφή του, με αποτέλεσμα την αναγκαστική χρήση των αποθηκών γλυκογόνου του μανδύα για την πρόσληψη ενέργειας. Έτσι, ο μανδύας του οστρακοειδούς γίνεται ημιδιαφανής, ενώ παράλληλα σταματά η ανάπτυξη του οστράκου. Η σπλαχνική μάζα αποχρωματίζεται και σε πολύ βαριά μολυσμένα άτομα εμφανίζεται συρρικνωμένη και εύθρυπη (Figueras and Montes 1988). Η νόσος συνοδεύεται από αιμοκυτταρική διήθηση του συνδετικού ιστού και του επιθηλίου των σωληναρίων του πεπτικού αδένου, καθώς και από σχηματισμό κοκκιομάτων στον πεπτικό αδένου και το μανδύα.

Τα παραπάνω κλινικά συμπτώματα δεν είναι παθολογικά της νόσου και σε καμία περίπτωση δεν θέτουν τη διάγνωση, δεδομένου ότι μπορούν να παρατηρηθούν και σε οστρακοειδή που δεν είναι μολυσμένα με *Marteilia* sp. Το παράσιτο μπορεί να ανευρεθεί σε φαινομενικώς υγιή οστρακοειδή με καλή σωματική ανάπτυξη και φυσιολογικές γονάδες. Ο θάνατος των προσβεβλημένων οστρακοειδών οφείλεται στη ρήξη του επιθηλίου των σωληναρίων του πεπτικού αδέ-

να κατά την απελευθέρωση των σποραγγείων (Figueras and Montes 1988).

Σύμφωνα με τον Balouet (1979), τα δευτερογενή κύτταρα της *Marteilia* sp. προκαλούν χρόνια μόλυνση των μυδιών καθ' όλη τη διάρκεια του έτους. Αντίθετα, τα τριτογενή κύτταρα του παρασίτου εμφανίζονται αποκλειστικά κατά τις εποχές του έτους που η θερμοκρασία είναι πάνω από 17°C και πιθανότατα αυτά είναι υπεύθυνα για την εξάπλωση της νόσου. Αυτό το πρότυπο της εποχικής εξάρσης της μαρτελίωσης επιβεβαιώνεται από πολλούς ερευνητές (Alderman 1979, Balouet 1979, Cahour 1979, Grizel and Tige 1979, Figueras and Montes 1988). Ωστόσο, διαφορετικά εποχιακά πρότυπα προσβολής αναφέρονται στην Ισπανία από τους Figueras et al. (1991b), όπου τα μεγαλύτερα ποσοστά προσβολής των μυδιών από τη *Marteilia* sp. παρουσιάζονται το Φεβρουάριο και τον Οκτώβριο. Επίσης, σύμφωνα με τους Robledo and Figueras (1995), οι μολύνσεις από το παράσιτο δεν παρουσιάζουν κάποια εποχικότητα και υπάρχουν αρκετές εξάρσεις της νόσου κατά τη διάρκεια του έτους. Μάλιστα, επισημαίνουν ότι οι εξάρσεις αυτές, που συνοδεύονται και από σοβαρής εντάσεως προσβολή, συμπίπτουν με τη μετά-φοτοκίας περίοδο, όπου τα μύδια είναι εξασθενημένα λόγω απελευθέρωσης των γαμετών.

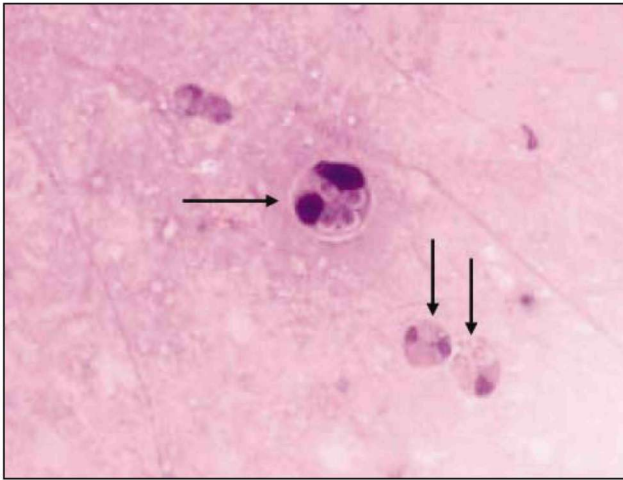
Οι παράγοντες που καθορίζουν ή επηρεάζουν τη λοιμογόνο δύναμη της *Marteilia* sp. παραμένουν ακόμα αδιευκρίνιστοι, όπως και οι παράγοντες που πυροδοτούν την παθολογική αντίδραση του ξενιστή σε μια αρχικά ασυμπτωματική μόλυνση αυτού. Οι παράγοντες αυτοί είναι πιθανό να σχετίζονται με περιβαλλοντική καταπόνηση του οργανισμού ή με διαφορές στην αντίσταση του κάθε οργανισμού των οστρακοειδών στη νόσο (Berthe et al. 2004).

### Διάγνωση της Μαρτελίωσης

Οι τεχνικές που εφαρμόζονται στη διάγνωση των ασθενειών στα μαλάκια είναι περιορισμένες και οι περισσότερες από τις έρευνες στηρίζονται σε ιστολογικές εξετάσεις ή εξετάσεις με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο (Perkins 1976, Longshaw et al. 2001, Savvidis 2001, Kleeman et al. 2002a). Οι κλασικές ορολογικές μέθοδοι δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν για διαγνωστικούς σκοπούς, επειδή τα μαλάκια δεν παράγουν αντισώματα (Berthe et al. 2004). Μοριακές μέθοδοι, όπως η χρήση μονοκλωνικών αντισωμάτων ή ανιχνευτών νουκλεϊνικού οξέος (DNA probes) μπορούν να εφαρμοστούν στη διάγνωση ασθενειών των μαλακίων (Robledo et al. 1994, Berthe et al. 1999, Berthe 2000, Savvidis 2002, Cunningham 2002).

Η διάγνωση της μαρτελίωσης μπορεί να γίνει με τρεις τρόπους (OIE 2003b): α) Κυτταρολογικές εξετά-





**Εικόνα 3.** *Martellia refringens* σε επιχρίσματα πεπτικού αδένα στρεϊδιού *Ostrea edulis* (Haemacolor kit, Merk®, μεγέθυνση x120).

**Figure 3.** *Martellia refringens* in digestive gland imprints of *Ostrea edulis* (Haemacolor kit, Merk®, magnification x120).

σεις, β) Ιστολογικές εξετάσεις και γ) Μοριακές τεχνικές.

Επειδή η μακροσκοπική εξέταση των προσβεβλημένων οστρακοειδών δεν παρέχει κανένα παθογνωμονικό εύρημα, οι κυτταρολογικές και ιστολογικές εξετάσεις είναι ιδιαίτερα σημαντικές. Είναι, επίσης, δυνατόν η θνησιμότητα να οφείλεται σε διάφορους παθολογικούς παράγοντες ή σε φυσιολογικές μεταβολές, όπως μειωμένη φυσιολογική κατάσταση μετά από ωτοκία. Η διάκριση μεταξύ της νόσου και των άλλων αιτιών μπορεί να γίνει μόνο χρησιμοποιώντας ιστολογικές μεθόδους. Οι κυτταρολογικές εξετάσεις γίνονται με επιχρίσματα πεπτικού αδένα (Εικόνα 3) και χρησιμοποιούνται για γρήγορη διάγνωση σε περίπτωση υποψίας της νόσου. Αντίθετα, οι ιστολογικές εξετάσεις επιβεβαιώνουν τη διάγνωση της νόσου και παρέχουν σημαντικές πληροφορίες για τη δομή των κυττάρων και των ιστών με τη βοήθεια οπτικού μικροσκοπίου. Επιπλέον, η χρήση ηλεκτρονικού μικροσκοπίου επιτρέπει την ταυτοποίηση μέχρι το βαθμό του είδους της *Martellia* sp. (Longshaw et al. 2001).

Οι μοριακές μέθοδοι που χρησιμοποιούνται για τη διάγνωση της μαρτελίωσης είναι ο in-situ υβριδισμός και η αλυσιδωτή αντίδραση της πολυμεράσης (PCR) (Le Roux et al. 1999, Pernas et al. 2000, 2001, Kleeman et al. 2002b, Lopez-Flores et al. 2004). Και με τις δύο μεθόδους μπορεί να γίνει διάκριση μεταξύ της *M. refringens* και της *M. sydneyi*, ενώ μόνο με τη μέθοδο της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης μπορεί να γίνει διάκριση μεταξύ της *M. refringens* και της *M. maurini* (Kleeman and Adlard 2000).

### Αντιμετώπιση της Μαρτελίωσης

Η αντιμετώπιση της Μαρτελίωσης αποτελεί πρωταρχικό στόχο στην υδατοκαλλιέργεια οστρακοειδών, αφού οι εξάρσεις της νόσου έχουν αναγνωριστεί ως σημαντικός περιοριστικός παράγοντας τόσο της παραγωγής όσο και του εμπορίου τους με σοβαρές οικονομικές και κοινωνικές επιπτώσεις. Ωστόσο, ενώ η παρασίτωση αυτή υπάρχει στα μύδια του Θερμαϊκού κόλπου από το 1997 (Φώτης και συν. 1997), η παραγωγή των μυδιών φαίνεται να εξελίσσεται χωρίς προβλήματα. Δεν συμβαίνει όμως το ίδιο με τα στρεϊδιά του Θερμαϊκού κόλπου τα οποία εξοντώθηκαν από την παρασίτωση αυτή (Angelidis et al. 2001, Virvilis et al. 2003).

Τα οστρακοειδή απαιτούν ιδιαίτερους χειρισμούς όσον αφορά στη διαχείριση της υγείας τους, διότι η καλλιέργειά τους στη θάλασσα δεν επιτρέπει θεραπευτικές επεμβάσεις. Η έλλειψη εξελιγμένου ανοσοποιητικού συστήματος στα οστρακοειδή, απουσία λεμφοκύτταρων Β/Τ, απουσία αντισωμάτων (Berthe et al. 2004) αποτελεί αδυναμία για σχεδιασμό ενεργητικής ανοσοποίησης.

Σε συγκεκριμένες στρεϊδοπαραγωγικές περιοχές της Ολλανδίας έχει αναφερθεί ότι η *M. refringens* ελέγχθηκε επιτυχώς εφαρμόζοντας τακτικούς ελέγχους στις στρεϊδοκαλλιέργειες με παράλληλο περιορισμό τους. Οι προσβεβλημένοι πληθυσμοί των στρεϊδιών είτε αλιεύονταν είτε καταστρέφονταν (Van Banning 1988). Κατά την Audemard et al. (2002) το αποτέλεσμα της διαχείρισης αυτής πιθανόν να οφείλεται στη διακοπή του βιολογικού κύκλου του παρασίτου.

Η μεταφορά παθογόνων μικροοργανισμών μέσω της μετακίνησης υδρόβιων οργανισμών είναι η σημαντικότερη ελλοχεύουσα αιτία πιθανής επιζωοτίας (Tamburri et al. 2002). Ο περιορισμός τέτοιων καταστάσεων θα μπορούσε να αντιμετωπιστεί εφαρμόζοντας προγράμματα διαχείρισης της νόσου τόσο στις περιοχές όπου υπάρχει το παράσιτο όσο και σε ελεύθερες περιοχές.

Για να εφαρμοστούν σε ευρεία κλίμακα προγράμματα διαχείρισης της υγείας των οστρακοειδών απαιτείται η γενετική τους βελτίωση με σκοπό την αύξηση της αντίστασής τους στη νόσο. Επίσης, η πλήρη γνώση της βιολογίας του παρασίτου θεωρείται απαραίτητη για το σκοπό αυτό. Μέχρι όμως να βρεθούν αποτελεσματικοί τρόποι αντιμετώπισης της νόσου, η βασική μέθοδος αποτροπής της εξάπλωσής της παραμένει η αποφυγή μεταφοράς μολυσμένων οργανισμών στις ελεύθερες από *Martellia* sp. περιοχές (ΟΙΕ 2003b). □



## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ - REFERENCES

- Adlard RD, Ernst I (1995) Extended range of the oyster pathogen *Marteilia sydneyi*. Bull Eur Assoc Fish Pathol, 15: 119-121.
- Alderman DJ (1979) Epizootiology of *Marteilia refringens* in Europe. Mar. Fish. Rev, 41 (1/2): 67-69.
- Anderson TJ, Adlard RD, Lester RJG (1995) Molecular diagnosis of *Marteilia sydneyi* (Paramyxia) in Sydney rock oysters, *Saccostrea commercialis* (Angas). J Fish Dis, 18: 507-510.
- Angelidis P, Virvilis C, Photis G, Chollet B, Berthe F (2001) First report of *Marteilia* disease of the flat oyster *Ostrea edulis*, in the gulf of Thessaloniki, Greece. 10th International Conference on 'Diseases of Fish and Shellfish' EAFF, 10-14 September, Dublin, Ireland.
- Audemard C, Barnaud A, Collins CM, Le Roux F, Sauriau PG, Coustau C, Blachier P, Berthe FCJ (2001) Claire ponds as an experimental model for *Marteilia refringens* life-cycle studies: new perspectives. J Exp Mar Biol Ecol, 257: 87-108.
- Audemard C, Le Roux F, Barnaud A, Collins C, Sautour B, Sauriau PG, De Montaudouin X, Coustau C, Combes C, Berthe FCJ (2002) Needle in a haystack: involvement of the copepod *Paracartia grani* in the life-cycle of the oyster pathogen *Marteilia refringens*. Parasitology, 124: 315-323.
- Audemard C, Sajus MC, Barnaud A, Sautour B, Sauriau PG, Berthe FCJ (2004) Infection dynamics of *Marteilia refringens* in flat oyster *Ostrea edulis* and copepod *Paracartia grani* in a claire pond of Marennes-Oléron Bay. Dis Aquat Org, 61: 103-111.
- Auffret M, Poder M (1985) Recherches sur *Marteilia maurini*, parasite de *Mytilus edulis* sur les côtes de Bretagne nord. Rev Trav Inst Pêches Mar, 47: 105-109.
- Auffret M, Poder M (1987) Pathology of the main bivalve mollusc species from oyster rearing areas in Brittany (France). Aquaculture, 67: 255-257.
- Balouet G (1979) *Marteilia refringens* - Considerations of the life-cycle and development of Aber disease in *Ostrea edulis*. Mar Fish Rev, 41 (1/2): 64-66.
- Berthe CJF (2000) Mollusc health management: weapons for responsible aquaculture in the Mediterranean region. World Aquaculture 2000. 2-6 mai 2000. Nice. France.
- Berthe CJF, Burreson E, Hine M (1999) Use of molecular tools for mollusc disease diagnosis. Bull Eur Ass Fish Pathol, 19(6): 277-278.
- Berthe FCJ, Le Roux F, Adlard RD, Figueras A (2004) Martelliosis in molluscs: A review. Aquat Living Resour, 17: 433-448.
- Berthe CJF, Le Roux F, Peyretailade E, Peyret P, Rodriguez D, Gouy M, Vivares CP (2000) Phylogenetic analysis of the small subunit ribosomal RNA of *Marteilia refringens* validates the existence of phylum Paramyxia (Desportes and Perkins, 1990). J Eukaryotic Microbiol, 47: 288-293.
- Berthe CJF, Pernas M, Zerabib M, Haffner P, Thebault A, Figueras AJ (1998) Experimental transmission of *Marteilia refringens* with special consideration of its life cycle. Dis Aquat Org, 34: 135-144.
- Bougrier S, Tigé G, Bachère E, Grizel H (1986) *Ostrea angasi* acclimatization to French coasts. Aquaculture, 58: 151-154.
- Cahour A (1979) *Marteilia refringens* and *Crassostrea gigas*. Mar Fish Rev, 41 (1/2): 45-53.
- Ceschia G, Zanchetta S, Sello M, Montesi F, Figueras A (2001) Presenza di parassiti in cannolicchi (*Ensis minor* e *Ensis siliqua*) pescati nell'area costiera del Mar Tirreno meridionale e del Mar Adriatico. Bol Soc Ital Patol Ittica, 13: 20-27.
- Cunningham CO (2002) Molecular diagnosis of fish and shellfish diseases: present status and potential use in disease control. Aquaculture, 206: 19-55.
- Comps M (1970) Observations sur les causes d'une mortalité anormale des huîtres plates (*Ostrea edulis* L.) dans le bassin de Marennes. Rev Trav Inst Pêches Mar, 34: 317-326.
- Comps M (1976) *Marteilia lengehi* n. sp., parasite de l'huître *Crassostrea cucullata* Born. Rev Trav Inst Pêches Mar, 40: 347-349.
- Comps M (1985) Étude morphologique de *Marteilia christenseni* sp. n. parasite du lavignon *Scrobicularia piperata* P. (mollusque pélecypode). Rev Trav Inst Pêches Mar, 47: 99-104.
- Comps M, Grizel H, Tigé G, Duthoit JL (1975) Parasites nouveaux de la glande digestive des mollusques marins *Mytilus edulis* L. et *Cardium edule*. C.R. Acad. Sci. Paris Sér. D. 281: 179-181.
- Comps M, Pichot Y, Papayianni P (1982) Recherche sur *Marteilia maurini* n. sp. parasite de la moule *Mytilus galloprovincialis* Lmk. Rev Trav Inst Pêches Mar, 45: 211-214.
- Desportes I, Perkins FO (1990) Phylum Paramyxia. In: L.Margulis, J.O. Corliss, M. Melkonian, D.J. Chapman (Eds.), Handbook of Protoctista. Jones and Bartlett Publishing, Boston, 30-35.
- FAO, 2003. <http://faostat.fao.org>.
- Figueras AJ (1991) Mortalities, parasites and diseases of mussels (*Mytilus edulis* and *Mytilus galloprovincialis*) from natural and cultured populations. Bull Aquacul Assoc Canada, 91-2: 54-62.
- Figueras AJ, Jardon CF, Caldas JR (1991a) Diseases and parasites of mussels (*Mytilus edulis*, Linnaeus, 1758) from two sites on the east coast of the United States. J Shellfish Res, 10: 89-94.
- Figueras AJ, Jardon CF, Caldas JR (1991b) Diseases and parasites of rafted mussels (*Mytilus galloprovincialis* Lmk): preliminary results. Aquaculture, 99: 17-33.
- Figueras AJ, Montes J (1988) Aber disease of edible oysters caused by *Marteilia refringens*. In: Fisher W.S. (Ed.). Disease Processes in Marine Bivalve Molluscs, Am Fish Soc Spec Publ, 38-46.
- Figueras AJ, Robledo JAF, Novoa B, (1996) Brown ring disease and parasites in clams (*Ruditapes decussatus* and *R. philippinarum*) from Spain and Portugal. J Shellfish Res, 15: 363-368.
- Fuentes J, Molares J, Villalba A (1998) Growth, mortality and parasitization of mussels cultivated in the Ria de Arousa NW Spain from two sources of seed: intertidal rocky shore vs. collector ropes. Aquaculture, 162: 231-240.
- Fuentes J, Villalba A, Zapata C, Alvarez G (1995) Effects of stock and culture environment on infections by *Marteilia refringens* and *Mytilicola intestinalis* in the mussel *Mytilus galloprovincialis* cultured in Galicia (NW Spain). Dis Aquat Org, 21: 221-226.
- Φώτης Γ, Κυριαζή-Παπαδοπούλου Α, Πνευματικάτος Η, Καλδρυμίδου Ε, Κανακούδης Γ, (1997) Πρόδρομος μελέτη του προτόζου ως αιτία θανάτου των μυδιών *Mytilus galloprovincialis* στο Θερμαϊκό κόλπο Θεσσαλονίκης. Δελτίον της Ελληνικής Κτηνιατρικής Εταιρείας 48(3): 121-125.
- Grizel H (1979) *Marteilia refringens* and oyster disease recent observations. Mar Fish Rev, 41 (1/2): 38-44.
- Grizel H (1985) Étude des récentes épizooties de l'huître plate (*Ostrea edulis* Linné) et leur impact sur l'ostréiculture bretonne. Thèse Doctorat es Sciences, Univ. Sciences et Techniques du Languedoc, Montpellier.
- Grizel H, Comps M, Bonami JR, Cousseras F, Duthoit JL, Le



- Pennec MA (1974) Recherche sur l'agent de la maladie de la glande digestive de *Ostrea edulis* Linné. *Sci Pêche*, 240: 7-29.
- Grizel H, Comps M, Raguènes D, Leborgne Y, Tigé G, Martin AG (1982) Bilan des essais d'acclimatation d'*Ostrea chilensis* sur les côtes de Bretagne. *Rev Trav Inst Pêches Marit*, 46: 209-225.
- Grizel H, Tigé G (1979) Observations sur le cycle de *Marteilia refringens*. *Haliotis*, 8: 327-330.
- Hine PM, Thorne T (2000) A survey of some parasites and diseases of several species of bivalve mollusc in northern Western Australia. *Dis Aquat Org*, 40: 67-78.
- Kleeman SN, Adlard RD (2000) Molecular detection of *Marteilia sydneyi*, pathogen of Sydney rock oysters. *Dis Aquat Org*, 40: 137-46.
- Kleeman SN, Adlard RD, Lester RJG (2002a) Detection of the initial infective stages of the protozoan parasite *Marteilia sydneyi* in *Saccostrea glomerata* and their development through to sporogenesis. *Int J Parasitol*, 32: 767-784.
- Kleeman SN, Le Roux F, Berthe F, Adlard RD (2002b) Specificity of PCR and in situ hybridization assays designed for detection of *Marteilia sydneyi* and *M. refringens*. *Parasitology*, 125: 131-141.
- Καραγιάννης Δ (2005) Παρασιτολογική μελέτη του καλλιεργούμενου δίθυρου μαλακίου *Mytilus galloprovincialis* L. στο Θερμαϊκό κόλπο και επίδραση του πρωτόζωου *Marteilia* sp. στις φρσιολογικές του λειτουργίες. Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη.
- Lauckner G (1983) Diseases of Mollusca: Bivalvia. In: O. Kinne (ed.) Diseases of Marine Animals. Volume II: Introduction, Bivalvia to Scaphopoda. Biologische Anstalt Helgoland, Hamburg.
- Le Roux F, Audermard C, Barnaud A, Berthe F, (1999) DNA probes as potential tools for the detection of *Marteilia refringens*. *Mar Biotechnol*, 1: 588-597.
- Le Roux F, Lorenzo G, Peyret P, Audemard C, Figueras A, Vivarès C, Gouy M, Berthe F (2001) Molecular evidence for the existence of two species of *Marteilia* in Europe. *J Eukaryot Microbiol*, 48: 449-454.
- Longshaw M, Feist SW, Matthews RA, Figueras A (2001) Ultrastructural characterisation of *Marteilia* species (Paramyxea) from *Ostrea edulis*, *Mytilus edulis* and *Mytilus galloprovincialis* in Europe. *Dis Aquat Org*, 44: 137-142.
- Lopez-Flores I, De La Herran R, Garrido-Ramos MA, Navas JJ, Ruiz-Rejon C, Ruiz-Rejon M (2004) The molecular diagnosis of *Marteilia refringens* and differentiation between *Marteilia* strains infecting oysters and mussels based on the rDNA IGS sequence. *Parasitology*, 129: 411-419.
- Montes J, Longa MA, Lama A, Guerra A (1998) *Marteiliosis* of Japanese oyster (*Crassostrea gigas*) reared in Galicia NW Spain. *Bull Eur Ass Fish Pathol*, 18: 124-126.
- Moyer MA, Blake NJ, Arnold WS (1993) An ascetosporan disease causing mass mortality in the Atlantic calico scallop, *Argopecten gibbus* (Linnaeus, 1758). *J Shellfish Res*, 12: 305-310.
- Norton JH, Perkins FP, Ledua E (1993) *Marteilia*-like infection in a giant clam, *Tridacna maxima*, in Fiji. *J Invertebr Pathol*, 61: 328-330.
- Novoa B, Posada D, Figueras A (2005) Polymorphisms in the sequences of *Marteilia* internal transcribed spacer region of the ribosomal RNA genes (ITS-1) in Spain: genetic types are not related with bivalve hosts. *J Fish Dis*, 28(6): 331-338.
- OIE (2003a) Diagnostic Manual for Aquatic Animal Diseases. OIE, Paris. Fourth edition.
- OIE (2003b) International Aquatic Animal Health Code. OIE, Paris. Sixth edition.
- Pascual M, Martin AG, Zampatti E, Coatanea D, Defossez J, Robert R (1991) Testing of the Argentina oyster, *Ostrea puelchana* in several French oyster farming sites. ICES Council Meeting Pap. CM 1991/K, 30.
- Perkins FO (1976) Ultrastructure of sporulation in the European flat oyster pathogen, *Marteilia refringens*-taxonomic implications. *J Protozool*, 23: 64-74.
- Perkins FO (1988) Parasite morphology, strategy and evolution. Structure of protistan parasites found in bivalve molluscs. *Am Fish Soc Spec Publ*, 18: 93-111.
- Perkins FO, Wolf PH (1976) Fine structure of *Marteilia sydneyi* sp. n.- Haplosporidian pathogen of Australian oysters. *J Parasitol*, 62: 528-538.
- Pernas M, Novoa B, Tafalla C, Figueras (2000) Efficiency of different monoclonal antibodies in immunological assays developed for the detection of *Marteilia* sp. isolated from *Mytilus galloprovincialis*. *Bull Eur Ass Fish Pathol*, 20(5): 193-198.
- Pernas M, Novoa B, Berthe F, Tafalla C, Figueras A (2001) Molecular methods for the diagnosis of *Marteilia refringens*. *Bull Eur Ass Fish Pathol*, 21(5): 200-209.
- Peters R, Raftos D (2002) The effects of *Marteilia sydneyi* on the host defense responses of the Sydney rock oysters, *Saccostrea glomerata*. *J Shellfish Res*, 21(1): 437.
- Poljansky GI (1992) Protozoology and the problem of species. *J Protozool*, 39(1): 177-180.
- Παπουτσόγλου ΣΕ (1985) Κατασκευές ελεγχόμενης εκτροφής δίθυρου μαλακίων. Στο: Κατασκευές Υδατοκαλλιέργειών. Εκδόσεις Λιβάνη, Αθήνα: 254-284.
- Rayyan A (2003) Βιοτικές αλληλεπιδράσεις του καλλιεργούμενου εδώδιμου δίθυρου μαλακίου *Mytilus galloprovincialis* Lam. στο Θερμαϊκό κόλπο. Διδακτορική διατριβή, Θεσσαλονίκη.
- Renault T, Cochenec N, Chollet B, (1995) *Marteiliosis* in American oysters *Crassostrea virginica* reared in France. *Dis Aquat Org*, 23: 161-164.
- Robledo JAF, Boulo V, Mialhe E, Despres B, Figueras A (1994) Monoclonal antibodies against sporangia and spores of *Marteilia* sp. (Protozoa: Asctospora). *Dis Aquat Org*, 18: 211-216.
- Robledo JAF, Figueras AJ (1995) The effects of culture-site, depth, season and stock source on the prevalence of *Marteilia refringens* in cultured mussels (*Mytilus galloprovincialis* LMK.) from Galicia, Spain. *J Parasitol*, 81: 354-363.
- Roubal FR, Masel J, Lester RJG (1989) Studies on *Marteilia sydneyi*, agent of QX disease in the Sydney rock oyster, *Saccostrea commercialis*, with implications for its life cycle. *Aust J Mar Freshwater Res*, 40: 155-167.
- Savvidis G (2001) Health status in the Greek bivalve mollusk culture. Proceedings of annual meeting of EU National Reference Laboratories for Bivalve Mollusc Diseases, Brussels 14-15 November 2001.
- Savvidis G (2002) Health status in the Greek bivalve mollusk culture. Proceedings of annual meeting of EU National Reference Laboratories for Bivalve Mollusc Diseases, La Tremblade (France) 23-26 September 2002.
- Sprague V (1979) Classification of the Haplosporidia. *Mar Fish Rev*, 41: 40-44.
- Tamburri NM, Wasson K, Masayasu M (2002) Ballast water deoxygenation can prevent aquatic introductions while reducing ship corrosion. *Biological Conservation* 103(3): 331-341
- Teia dos Santos AM, Coimbra J (1995) Growth and production of raft-cultured *Mytilus edulis* L., in Ria de Aveiro: gonad symbiotic infestation. *Aquaculture*, 132: 195-211.

- Van Banning PJ (1988) Management strategies to control diseases in the Dutch culture of edible oysters. In: Couch J.A., Fournie J.W. (Eds.). *Advances in Fisheries Science, Pathobiology of marine and estuarine organisms*. Boca Raton, CRC Press, 243-245.
- Villalba A, Mourelle SG, Carballal MJ, Lopez MC (1993a) Effects of infection by the protistan parasite *Marteilia refringens* on the reproduction of cultured mussels *Mytilus galloprovincialis* in Galicia (NW Spain). *Dis Aquat Org*, 17: 205-13.
- Villalba A, Mourelle SG, Carballal MJ, Lopez MC, Azevedo C (1993b) Marteliasis affecting cultured mussels *Mytilus galloprovincialis* of Galicia NW Spain: I. Etiology, phases of the infection, and temporal and spatial variability in prevalence. *Dis Aquat Org*, 16: 61-72.
- Villalba A, Mourelle SG, Carballal MJ, Lopez MC (1997) Symbionts and diseases of farmed mussels *Mytilus galloprovincialis* throughout the culture process in the Rias of Galicia (NW Spain). *Dis Aquat Org*, 31: 127-139.
- Virvilis C, Angelidis P, Photis G (2003) Presence of the parasite *Marteilia* sp. in the shellfish of the Thermaikos Gulf in northern Greece. *Bull Eur Ass Fish Pathol*, 23: 157-161.
- Zrncic S, Le Roux F, Oraic D, Sostaric B, Berthe FCJ (2001) First record of *Marteilia* sp. in mussels *Mytilus galloprovincialis* in Croatia. *Dis Aquat Org*, 44: 143-148.