

**ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΤΕΙ ΔΥΤΙΚΗΣ
ΕΛΛΑΔΟΣ ΤΜΗΜΑ ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ ΚΑΙ
ΑΛΙΕΥΤΙΚΗΣ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ**

**ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΑΣΘΕΝΕΙΩΝ ΣΕ
ΙΧΘΥΟΓΕΝΝΗΤΙΚΟ ΣΤΑΘΜΟ**



ΣΠΟΥΔΑΣΤΕΣ: ΕΥΘΥΜΙΟΠΟΥΛΟΣ ΠΑΝΑΓΙΩΤΗΣ ΑΜ:11022

ΤΑΣΙΟΠΟΥΛΟ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟ ΑΜ:11216

ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ:ΚΩΝ/ΝΟΣ ΠΟΥΛΟΣ

ΜΕΣΟΛΟΓΓΙ 2014

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

<i>ABSTRACT</i>	1
Ευχαριστίες	2
Σκοπός της εργασίας	3
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΙΧΘΥΟΓΕΝΝΗΤΙΚΟΙ ΣΤΑΘΜΟΙ ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ	
1.1. Απαραίτητες προϋποθέσεις για την εγκατάσταση ενός ιχθυογεννητικού σταθμού στην Ελλάδα	4
1.2. Δομή ενός ιχθυογεννητικού σταθμού στην Ελλάδα	7
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΑΝΟΣΟΠΟΙΗΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΚΑΙ ΑΝΑΣΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ ΨΑΡΙΩΝ	14
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΣΠΟΥΔΑΙΟΤΕΡΑ ΙΟΓΕΝΗ ΚΑΙ ΒΑΚΤΗΡΙΑΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ ΓΟΝΟΥ ΤΣΙΠΟΥΡΑΣ ΛΑΥΡΑΚΙΟΥ	
3.1. Λεμφοκύστη (Lymphocystis disease)	21
3.2. Νευρική νεκρωση (vnn) (vrial nervous necrosis betanodavarius)	25
3.3. Δονακίωση(Vibriosis)	28
3.4. Παστερέλωση (Pasteurellosis, photobacteriosis)	35

3.5. Μυξοβακτηρίωση 40

3.6. Μυκοβακτηρίωση 41

ΚΕΦΑΛΑΙΟ:4 ΣΚΕΛΕΤΙΚΕΣ ΔΥΣΜΟΡΦΙΕΣ

4.1. Σκελετικές δυσμορφίες εκτρεφόμενων ιχθύων 42

4.1.1. Γενεσιουργοί παράγοντες των Σκελετικών
Δυσμορφιών 43

4.2. ΚΡΑΝΙΑΚΕΣ ΠΑΡΑΜΟΡΦΩΣΕΙΣ

4.2.1. Βραγχιακού επικαλύμματος 44

4.2.2. Γνάθων 46

4.3. ΠΑΡΑΜΟΡΦΩΣΕΙΣ ΣΠΟΝΔΥΛΙΚΗΣ ΣΤΗΛΗΣ

4.3.1. Λόρδωση 47

4.3.2. Κύφωση 49

4.3.3. Σκολίωση 50

4.4.	ΠΑΡΑΜΟΡΦΩΣΕΙΣ ΠΤΕΡΥΓΙΩΝ	51
5.	Βιβλιογραφία	53

ABSTRACT

The euryhaline fish breeding and fry production mainly seabream and seabass has shown a rapid growth in recent years in Greece , this fenatai both the number of aquaculture and the volume of fish production . Clearly , for this development is the role of favorable conditions in the aquatic environment of the country and the well-funded by the European Union , which was an incentive for investors today that the Greek production being in first place among the countries of the Mediterranean.

The intensive rearing of sea bream and sea bass was consistency and look of serious pathologies during Phase rearing hatcheries . The mortality ratio of bacterial and viral etiology hatcheries , which internationally studied only fragmentarily , can lead to significant losses and reduced brood production . There also have been problems , factors and possible causes malformations fry the fish farms faced with serious economic losses to date ..

This research refers to the organization and problems ichthyogenetikon stations along with major diseases (viral and bacterial) as the main skeletal malformations presented to spawn mainly in sea bream (*Sparus aurata*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*).

Ευχαριστίες

Η παρούσα πτυχιακή εργασία πραγματοποιήθηκε στο τμήμα Τεχνολόγων Αλιείας και Υδατοκαλλιεργειών του Τ.Ε.Ι Μεσολογγίου και αποτελείται από τέσσερα μέρη: το πρώτο μέρος *ιχθυογεννητικοί σταθμοί στην Ελλάδα* όπου περιλαμβάνει τις προϋποθέσεις, τη δομή, τα προβλήματα και τη σημασία παραγωγής γόνου των ιχθυογεννητικών, το δεύτερο μέρος: *Ανοσοποιητικό σύστημα και ανοσοποίηση των ψαριών*, το τρίτο μέρος: *Σπουδαιότερα ιογενή και βακτηριακά νοσήματα γόνου λαυρακιού και τσιπούρας*, και τέλος, το τέταρτο μέρος: *Σκελετικές δυσμορφίες*.

Θεωρούμε καθήκον μας να εκφράσουμε τις θερμές ευχαριστίες μας στον Κωνσταντίνο Πούλο Καθηγητή για την έμπειρη καθοδήγηση, την κατανόηση και την πολύτιμη βοήθεια που μας παρείχε καθόλη τη διάρκεια της πτυχιακής αυτής.

Τελος, ευχαριστούμε τους γονείς μας για την συμπαράσταση την εμπιστοσύνη και τη στήριξη που μας έδειξαν καθ' όλη τη διάρκεια της φοιτητικής μας ζωής και που θα συνεχίσουν να μας δείχνουν.

Σκοπός της εργασίας

Η εκτροφή ευρύαλων ψαριών και η παραγωγή γόνου κυρίως της τσιπούρας και του λαβρακιού έχει παρουσιάσει ραγδαία ανάπτυξη τα τελευταία χρόνια στην Ελλάδα, αυτό φέναται τόσο στον αριθμό των ιχθυοκαλλιεργειών όσο και απο τον όγκο παραγωγής ψαριών. Σαφως, για την ανάπτυξη αυτή ρόλο παίζουν οι ευνοϊκές συνθήκες του υδάτινου περιβάλλοντος της χώρας και η ικανοποιητική χρηματοδότηση από την Ευρωπαϊκή Ένωση που αποτέλεσε σημαντικό κίνητρο για τους επενδυτές ώστε σήμερα η Ελληνική παραγωγή να είναι στην πρώτη θέση ανάμεσα στις χώρες της Μεσογείου.

Η εντατική εκτροφή τσιπούρας και λαβρακιού είχε ως συνέπεια και την εμφάνιση σοβαρών παθολογικών καταστάσεων, κατά τη φάση εκτροφής τους στους ιχθυογεννητικούς σταθμούς. Η θνησιμότητα λόγω βακτηριακής και ιογενούς αιτιολογίας στους ιχθυογεννητικούς σταθμούς, η οποία διεθνώς μελετήθηκε μόνο αποσπασματικά, μπορεί να οδηγήσει σε σημαντικές απώλειες γόνου και μείωση της παραγωγής. Επίσης, έχουν αναφερθεί προβλήματα, παράγοντες και πιθανά αίτια των δυσμορφιών του γόνου τα οποία αντιμετωπίζουν οι ιχθυοκαλλιέργειες με σοβαρές οικονομικές απώλειες μέχρι και σήμερα.

Η παρούσα έρευνα αναφέρεται στην οργάνωση και τα προβλήματα των ιχθυογεννητικών σταθμών μαζί με τα σημαντικότερα νοσήματα (ιογενεί και βακτηριακά) όπως και στις κυριότερες σκελετικές δυσμορφίες που παρουσιάζονται στο γόνο κύριως στην τσιπούρα (*Sparus aurata*) και στο λαβράκι (*Dicentrarchus labrax*).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΙΧΘΥΟΓΕΝΝΗΤΙΚΟΙ ΣΤΑΘΜΟΙ ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ

1.1 Απαραίτητες προϋποθέσεις για την εγκατάσταση ενός ιχθυογεννητικού σταθμού στην Ελλάδα

Για την εγκατάσταση ενός ιχθυογεννητικού σταθμού αρχικά, απαιτούνται η εξασφάλιση των απαραίτητων αδειών από τις κατά τόπους κρατικές υπηρεσίες. Η επιλογή του χώρου πρέπει να γίνει με ιδιαίτερη προσοχή ώστε να είναι προσβάσιμη και να παρέχει αρκετή ποσότητα γλυκού και θαλασσινού νερού ώστε να καλύπτουν τις ανάγκες ενός ιχθυογεννητικού σταθμού. Η ποιότητα του θαλασσινού νερού πρέπει να είναι άριστη γι' αυτό χρειάζεται παρακολούθηση από ειδικούς επιστήμονες για τουλάχιστο ένα χρόνο. Οι σημαντικότερες παράμετροι που μελετούνται είναι η θερμοκρασία, το διαλυμένο οξυγόνο, η τιμή pH και η αλατότητα.

Το κλίμα της περιοχής δεν επηρεάζει ιδιαίτερα τη λειτουργία ενός ιχθυογεννητικού σταθμού, ειδικά αν υπάρχουν κλειστές εγκαταστάσεις, αλλά οι υψηλές θερμοκρασίες του νερού εκτροφής είναι επιθυμητές, γιατί μειώνεται το κόστος θέρμανσης του νερού εκτροφής, ειδικά τους χειμερινούς μήνες. Η ποιότητα που πρέπει να έχει το νερό εκτροφής δίνεται στον πίνακα 1

Πίνακας 1.: Ποιότητα του νερού στις θαλάσσιες ιχθυοκαλλιέργειες (Χώτος και Ρογδάκης 1992)

Παράμετρος	Επιτρεπόμενα όρια
Διαλυμένο οξυγόνο	> 6 mg/l
pH	7,9- 8,2
Αλατότητα	28-38‰
Νιτρώδη (NO₂⁻)	<0,1mg/NO ₂ -N
Συνολική πίεση αερίων στο νερό	< 20 mm Hg
Διοξείδιο του άνθρακα (CO₂)	< 10 mg/l
Υδρόθειο (H₂S)	< 1 μ&I H ₂ S
Υπολειμματικό χλώριο	< 1 μg/l

Μέταλλα

Κάδμιο (Cd)	< 3 µg/l
Χρώμιο (Cr)	< 25 µg/l
Χαλκός (Cu)	< 3 µg/l
Σίδηρος (Fe)	< 100 µg/l
Υδράργυρος (Hg)	<0,1µ8/l
Μαγγάνιο (Mn)	< 25 µg/l
Νικέλιο (Ni)	< 5 µg/l
Μόλυβδος (Pb)	< 4 µ&I
Ψευδάργυρος (Zn)	< 25 µg/l

1.2 Δομή ενός ιχθυογεννητικού σταθμού στην Ελλάδα

Οι εγκαταστάσεις ενός ιχθυογεννητικού σταθμού περιλαμβάνει τα εξής τμήματα :

1.Αντλιοστάσιο (γεώτρηση ή άντληση από θάλασσα)

- μηχανικό φίλτρο
- βιολογικό φίλτρο
- δεξαμενή καθίζησης - αποθήκη
- φυσητήρας - δεξαμενή καθαρού οξυγόνου
- εναλλάκτες για θέρμανση - ψύξη του νερού

2.Εγκαταστάσεις υποστήριξης

- εργαστήριο
- ψυγεία (για νωπή τροφή γεννητόρων)
- αποθήκη σύνθετων ιχθυοτροφών
- χώρος φύλαξης εργαλείων
- χώρος στάθμευσης
- αίθουσα εστίασης - ανάπαυσης προσωπικού
- ξενώνας

3.Δεξαμενές γεννητόρων

4.Δεξαμενές καλλιέργειας φυτοπλαγκτού

5.Δεξαμενές εκκόλαψη *Artemia*

6.Δεξαμενές εκτροφής νυμφών και ιχθυδίων

Οι διαστάσεις των παραπάνω τμημάτων ενός ιχθυογεννητικού παραγωγής 2000000 ιχθυδίων/ετησίως φαίνονται στον παρακάτω πίνακα 2.

Πίνακας 2.: Διαστάσεις μονάδας παραγωγής 2.000.000 ιχθυδίων (Χώτος και Ρογδάκης 1992).

Τμήμα	Κάλυψη (m)	Κάλυψη (%)
Τμήμα γεννητόρων	225	10
Τμήματα φυτοπλακτού και τμήμα ζωοπλακτού	180	8
Τμήμα εκκόλαψης και ανάπτυξης προνυμφών	300	14
Τμήμα αποκοπής και προανάπτυξης ιχθυδίων	650	29
Εγκαταστάσεις υποστήριξης ελεύθερος χώρος	και 850	39
Σύνολο	2.205	100

Το αντλιοστάσιο όπου γίνεται η άντληση του νερού και καλύπτει τις ανάγκες του σταθμού έχει εκτός από την κύρια αντλία και μια εφεδρική σε περίπτωση βλάβης ώστε η τροφοδοσία του νερού να συνεχίσει να γίνεται ομαλά. Η εγκατάσταση μηχανικού ή βιολογικού φίλτρου συνιστάται για τον καθαρισμό του νερού και αποτρέπει την είσοδο φερτών υλών και βελτιώνει την ποιότητα του νερού. Οι δεξαμενές καθίζησης αποτρέπουν την είσοδο φερτών υλικών στις δεξαμενές εκτροφής όπως και την αποβολή των αερίων, ενώ για την οξυγόνωση του νερού γίνεται παροχή καθαρού οξυγόνου ή αέρα.

Οι δεξαμενές εκτροφής γεννητόρων βρίσκονται συνήθως σε κλειστό και ήσυχο μέρος. Ο αριθμός των γεννητόρων εξαρτάται από τις ανάγκες του κάθε ιχθυογεννητικού σταθμού για έναν ή περισσότερους κύκλους αναπαραγωγής κατά τη διάρκεια του έτους. Η επιλογή των γεννητόρων γίνεται με βάση κάποιων κριτηρίων τα οποία είναι το μέγεθος των ψαριών, το φύλο, η σύνθεση και η αφθονία των κλάσεων των μεγεθών των ψαριών, η ευρωστία και η τόνωση της γενετικής ποικιλότητας των αποθεμάτων των γεννητόρων και η ταχύτητα αύξησης. Η ωρίμανση των γονάδων στους γεννήτορες μπορεί να γίνει είτε με χρήση ορμονών, είτε με τον συνδυασμό ρύθμισης του κύκλου φωτισμού και της θερμοκρασίας του νερού σε συνδυασμό με κατάλληλη διατροφή. Η χρήση ορμονών αυξάνει τον αριθμό των παραγόμενων αυγών, αλλά μειώνει την εκκολαπτικότητα και τη βιωσιμότητα και αυξάνει τα ποσοστά των σκελετικών δυσμορφιών (Klaoudatos 1989). Οι φυσικές γεννήσεις δίνουν τα καλύτερα αποτελέσματα. (Χώτος και Ρογδάκης 1992).

Σχετικά με την αναλογία αρσενικών και θηλυκών αναφέρονται αναλογίες από 1 αρσενικό: 3 θηλυκά για την τσιπούρα και 1 αρσενικό:2 θηλυκά για το λαυράκι.

Η τροφή που δίνεται στους γεννήτορες είναι νωπή σε συνδυασμό με σύνθετη ισορροπημένη τροφή υπό μορφή συμπύκτων (extruded pellets) Η χρήση νωπής τροφής που αποτελεί το (80%) της διατροφής των γεννητόρων που σχετίζονται με την διατροφή του στο φυσικό περιβάλλον στα λαβράκια δίνονται ψάρια και καλαμάρια ενώ στην τσιπούρα καλαμάρια, καβούρια και μύδια. Η σύνθετη τροφή που αποτελεί το (20%) της διατροφής των γεννητόρων και αυξάνει την περιεκτικότητα των αυγών σε ω-3 και ω-6 λιπαρά οξέα, με αποτέλεσμα αυξημένα

ποσοστά εκκόλαψης και επιβίωσης παράλληλα συνιστάται ο εμπλουτισμός και σε βιταμίνη C.

Μετά την ωοτοκία, τα γονιμοποιημένα βιώσιμα αυγά εμφανίζουν ένα σφαιρίδιο ελαίου, επιπλέον (είναι «πελαγικά») και μπορούν να συλλεχθούν με κατάλληλα δίκτυα και να μεταφερθούν στις εγκαταστάσεις επώασης, όπου εκκολάπτονται (Κλαουδάτος 1989, Χώτος και Ρογδάκης 1992).

Η ύπαρξη του τμήματος φυτοπλαγκτού σε έναν ιχθυογεννητικό είναι απαραίτητη τόσο για τη διατροφή και γρήγορη ανάπτυξη της καλλιέργειας του ζωοπλακτού (rotifers) όσο και για την χρησιμοποίηση της εκτροφής των θαλάσσιων νυμφών «πράσινων νερών» ως ρυθμιστές της ποιότητας του περιβάλλοντος νερού και ως εμπλουτιστικός παράγοντας των ζωοπλακτονικών θηραμάτων που διανέμονται στις νύμφες.

Η επιλογή των φυτοπλακτονικών ειδών εξαρτάται από την θρεπτική τους αξία, το μέγεθος τους, την έλλειψη τοξικότητας και την ευκολία της καλλιέργειας. Το μέγεθος των φυσικών κυττάρων ποικίλλει από 2 έως 200μm.

Η καλλιέργεια των μικροφυκών απαιτεί αυστηρά ελεγχόμενες συνθήκες από υγειονομικής άποψης και περιβαλλοντικών παραμέτρων. Γίνεται σε κλειστό χώρο κάτω από ελεγχόμενες συνθήκες θερμοκρασίας και φωτισμού όπου ξεκινάει από μικρούς όγκους και καταλήγει σε μεγαλύτερους όγκους με εμβολιασμό και τη βοήθεια θρεπτικών συστατικών.

Επίσης, υπάρχουν και υπαίθριες τεχνικές μαζικής παραγωγής μικροφυκών όπου οι ιχθυογενετικοί λειτουργούν αποκλειστικά με αυτόν τον τρόπο κυρίως σε τροπικά κλίματα ή συμπληρωματικά με τις καλλιέργειες σε κλειστούς χώρους.

Η ύπαρξη ξεχωριστού τμήματος για τα τροχόζωα είναι απαραίτητη. Η χρήση τους στη διατροφή νυμφών (*larvae*) ψαριών έχει καθιερωθεί γιατί αναπτύσσονται σε διάφορες συνθήκες του περιβάλλοντος και έχουν μεγάλη ικανότητα πληθυσμιακής αύξησης όταν βρεθούν σε κατάλληλες περιβαλλοντικές συνθήκες. Το μικρό μέγεθος ώστε να αντιστοιχούν στο άνοιγμα του στόματος των νυμφών στο τέλος του προνυμφικού τους σταδίου, η αδιάκοπη κίνησή τους που τα καθιστά αντιληπτά από τις μικρής ηλικίας προνύμφες, η περιορισμένη μετατόπιση τους κατά τη κίνησή

εξυπηρετεί τις προνύμφες που έχουν περιορισμένη κολυμβητική ικανότητα, ο ευκολος εμπλουτισμός με θρεπτικά συστατικά που είναι απαραίτητα για τις νύμφες, τα καθιστά ως την πρώτη ζωντανή τροφή του διατροφολογίου των νυμφών.

Η καλλιέργεια των τροχόζωων μπορεί να γίνει με ποικίλους τύπους διατροφής όπως φυτοπλαγκτικοί οργανισμοί και ζύμες (μαγιές) σε συνδυασμό με εμπλουτιστικά προϊόντα. Τέλος, να αναφέρουμε πως τα τροχόζωα τρέφονται με πλαγκτικά μικροφύκη, ζωντανά, λυοφιλισμένα ή κατεψυγμένα, με ζύμη (μαγιά, *Saccharomyces cerevisiae*), με βακτήρια, με εμπλουτισμένες μαγιές, ή με οποιοδήποτε συνδυασμό των προηγούμενων (Κεντούρη, 2010β; Κλαδάς, 2006).

Η *Artemia* χρησιμοποιείται ως ζωντανή τροφή (θήραμα) των νυμφικών σταδίων των ψαριών, ακολουθώντας συνήθως τη χρήση των τροχόζωων στην εξέλιξη του διαιτολογίου τους. Διατίθεται στο εμπόριο σε μορφή ξηρών κύστεων (αβγά "διαρκείας") και χρησιμοποιείται, ανάλογα με την ανάπτυξη της νύμφης, σε δυο νυμφικά στάδια, τα οποία συμβατικά ονομάζονται: A0 (ναύπλιος, instar I), το οποίο αντιστοιχεί στο στάδιο της εκκολαπτόμενης *Artemia* και A1 (μεταναύπλιος instar II), το οποίο είναι μία νυμφική μορφή της, 24 περίπου ώρες μετά την εκκόλαψη.

Οι ξηρές κύστες *Artemia* συνοδεύονται από παθογόνους μικροοργανισμούς, οι οποίοι επιδρούν δυσμενώς τόσο στην ποιότητα της εκκόλαψης όσο και στην ποιότητα των παραγόμενων ναυπλίων ως τροφή, για τις νύμφες των ψαριών. Για το λόγο αυτό, πριν την είσοδο των ξηρών κύστεων στο νερό της δεξαμενής επώασης συνιστάται η απολύμανσή τους.

Τέλος, η *Artemia* που διατίθεται στο εμπόριο και καλλιεργείται εύκολα δεν μπορεί να καλύψει τις απαιτήσεις σε θρεπτικά συστατικά που θέλουν οι νύμφες των θαλασσινών ψαριών όπως βιταμίνη C2, πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (PUFA) και φωσφολιπίδια. Πολλά από αυτά δίδονται ως τροφή στην *Artemia* (instar II, A1) λίγες μόνο ώρες πριν τη διανομή της στις νύμφες των ψαριών με την μέθοδο του βιοεγκλεισμού.

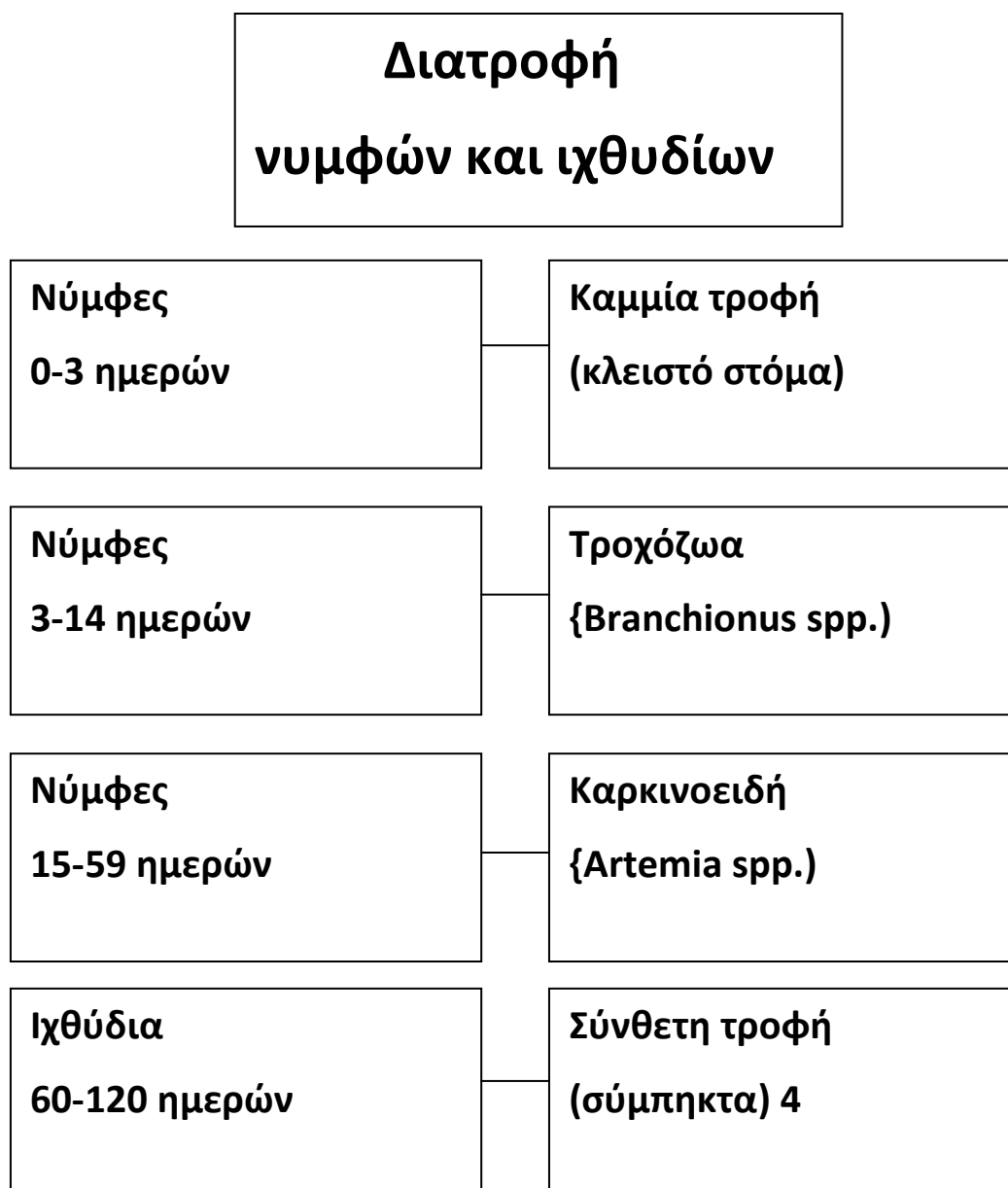
Η εκτροφή των νυμφών και των ιχθυδίων μπορεί να γίνει σε κυλινδρικές καναλόμορφες ή κυκλικές δεξαμενές των 2-20 m³. Μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί κλειστό κύκλωμα κυκλοφορίας του νερού σε συνδυασμό με μηχανικό ή βιολογικό

φίλτρο και λαμπτήρα υπεριώδους ακτινοβολίας. Το κλειστό κύκλωμα, όπως είναι γνωστό, μειώνει τις ανάγκες σε παροχή νερού και την κατανάλωση ηλεκτρικού ρεύματος για τη θέρμανση του. Η χρήση λαμπτήρα υπεριώδους ακτινοβολίας μειώνει το συνολικό βακτηριακό φορτίο, και ειδικότερα τον πληθυσμό του *Vibrio anguillarum* κατά 99,9%. Παρόλα τα πλεονεκτήματά τους, όμως, τα κλειστά κυκλώματα δεν χρησιμοποιούνται στους ιχθυογεννητικούς σταθμούς στην Ελλάδα.

Στον χώρο καλλιέργειας μεταμορφωμένων ιχθυδίων, οι δεξαμενές είναι συνήθως σχήματος ορθογώνιου παραλληλεπιπέδου (raceways), αλλά δεν αποκλείεται και η χρήση ελλειψοειδών, ή κυκλικών δεξαμενών.

Η διατροφή των νυμφών και ιχθυδίων παρουσιάζεται σχηματικά στο διάγραμμα 3.

Διάγραμμα 3.: Διατροφή νυμφών και ιχθυδίων τσιπούρας και λαβρακιού.



Η διατροφή των νυμφών και ιχθυδίων παρουσιάζεται σχηματικά στο διάγραμμα 2.6. Όπως φαίνεται στο διάγραμμα, οι νύμφες αρχικά διατρέφονται με «ζωντανή τροφή» κυρίως *Branchionus* και *Artemia spp.* Μετά από 50-60 ημέρες, που έχει ολοκληρωθεί η εξέλιξη των νυμφών σε ιχθύδια, σταδιακά τους χορηγείται σύνθετη τροφή («απογαλακτισμός» από τη «ζωντανή τροφή»). Η διάρκεια χορήγησης της ζωντανής τροφής μπορεί να είναι και μεγαλύτερη από 60 ημέρες και κάθε ιχθυογεννητικός σταθμός εφαρμόζει το δικό του πρόγραμμα διατροφής, που διαμορφώνεται ανάλογα με την ανάπτυξη των ιχθυδίων (μήκος, βάρος), καθώς και τη θερμοκρασία του νερού εκτροφής. Αναλυτικά σχήματα διατροφής, δίνονται από εταιρίες εμπορίας *Artemia* και σύνθετων ιχθυοτροφών (INVE, KEGO κ.λ.π.).

Ανάλογα με την κατάσταση διατροφής του γόνου της τσιπούρας και του λαβρακιού ο όρος «νύμφες» (*larvae*) χρησιμοποιείται όταν διατρέφονται με «ζωντανή» τροφή, ενώ ο όρος «ιχθύδια» (*fingerlings*) όταν λαμβάνουν σύνθετη τροφή. Τα μεταμορφωμένα ιχθύδια διατρέφονται με σύνθετη τροφή (*extruded pellets*) κατάλληλου μεγέθους, που ανταποκρίνεται στο άνοιγμα στόματος του ιχθυδίου. Στην πράξη, η χρήση αυτόματων μηχανισμών για τη χορήγηση τροφής έχει πολύ καλά αποτελέσματα σε μεταμορφωμένα ιχθύδια.

Καλύτερη βέβαια είναι η συχνή χορήγηση τροφής με το χέρι. Η σύνθετη τροφή που χρησιμοποιείται για τη διατροφή του γόνου τσιπούρας και λαβρακιού έχει αυξημένη περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες. Τα ιχθύδια παραμένουν στον σταθμό για 12-16 εβδομάδες και στη συνέχεια οδηγούνται στους κλωβούς όταν φτάσουν σε βάρος 0,5 με 1,5 g (Πνευματικάτος, 2000).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΑΝΟΣΟΠΟΙΗΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΚΑΙ ΑΝΑΣΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ ΨΑΡΙΩΝ

Το ανοσοποιητικό σύστημα των ψαριών διαθέτει αρκετούς είδικους και μη είδικους μηχανισμούς άμυνας έναντι των νοσημάτων ειδικότερα των τελεόστεων (*Teleostei*), στα οποία συμπεριλαμβάνονται η τσιπούρα και το λαβράκι, δεν παρουσιάζει μεγάλες διαφορές από αυτό των θηλαστικών. Τόσο στα θηλαστικά όσο και στα ψάρια είναι ενεργοί παρόμοιοι ειδικοί και μη ειδικοί μηχανισμοί, χυμικής και κυτταρικής ανοσίας έναντι των παθογόνων βακτηρίων.

Στα ψάρια αιμοποιητικές λειτουργίες εκτελούν μόνο τα νεφρά (Meseguer 1995, Zapata 1996), και σε αντίθεση με ανώτερα σπονδυλωτά είναι το κύριο όργανο που είναι υπεύθυνο για την φαγοκύτωση (Danneving 1994), την επεξεργασία αντιγόνων (Brattgjerd 1996, Kaatari 1985) και το σχηματισμό ανοσολογικής μνήμης μέσω των μελανομακροφάγων κέντρων (Herraez 1986, Tsujii 2000). Ο νεφρός στα ψάρια είναι ένα όργανο σε σχήμα Y που βρίσκεται κατά μήκος του άξονα του. Το κατώτερο μέρος του είναι μια μακρά κατασκευή παράλληλη στη σπονδυλική στήλη, που κατά κύριο λόγο λειτουργεί ως νεφρικό σύστημα. Το ενεργό μέρος του ανοσοποιητικού, ο νεφρός κεφαλής ή προνεφρός, σχηματίζεται από δύο βραχίονες σχήματος Y, οι οποίοι διεισδύουν κάτω από τα βράγχια. Στα ψάρια, η κατασκευή αυτή έχει ένα μοναδικό χαρακτηριστικό: ο νεφρός κεφαλής τους είναι ένα σημαντικό ενδοκρινικό όργανο, ομόλογο των επινεφρίδων των θηλαστικών, που απελευθερώνουν κορτικοστεροειδή και τους ορμόνες. Επιπλέον, είναι ένα όργανο με πολλούς νευρώνες. Έτσι, ο νεφρός κεφαλής είναι ένα σημαντικό όργανο με βασικές ρυθμιστικές λειτουργίες και το κεντρικό όργανο για τις ανοσο-ενδοκρινικές αλληλεπιδράσεις ακόμη και για νευροανοσοενδοκρινικές διασυνδέσεις.

Ο θύμος αδένας, ένα άλλο λεμφοειδές όργανο, που βρίσκεται κοντά στην βραγχιακή κοιλότητα των τελεόστεων, παράγει T λεμφοκύτταρα που εμπλέκονται στην απόρριψη αλλομοσχευμάτων, τη διαδικασία της φαγοκυττάρωσης και την παραγωγή αντισωμάτων από τα κύτταρα B (Powell 2000, Zapata 1999). Η εμπλοκή του θύμου

αδένα στα ψάρια εξαρτάται περισσότερο από τους ορμονικούς κύκλους και τις εποχιακές διακυμάνσεις παρά από την ηλικία (Press 1995). Η διήθηση του αίματος και η καταστροφή των ερυθροκυττάρων εκτελείται από τα μελανομακροφάγα κέντρα, που σχηματίζονται από τη συσσώρευση των μακροφάγων με την βοήθεια των ελλειμοειδών τριχοειδών.

Μη ειδικό ανοσοβιολογικό σύστημα

Αποτελεί την πρώτη γραμμή άμυνας εναντίον των ξένων σωμάτων που διεισδύουν στον οργανισμό. Σε αντίθεση όμως με τα θηλαστικά ο μη ειδικός μηχανισμός ανοσίας συνιστά την πλειονότητα των ανοσολογικών αντιδράσεων. Όπως υποδηλώνει και το όνομά του επιτίθεται εναντίον όλων των ξένων σωμάτων που διεισδύουν , χωρίς να κάνει διακρίσεις και δεν διαθέτει ανοσολογική μνήμη, αντίθετα με το ειδικό ανοσοβιολογικό σύστημα.

Το δέρμα και την βλέννα του

Είναι το κύριο μέσο της άμυνας των ψαριών. Ενώ το ένα τμήμα της βλέννας εμποδίζει τα βακτηρίδια να προσκολλώνται στα επιθηλιακά κύτταρα, το άλλο συνίσταται από συστατικά της μη ειδικής ανοσίας (συμπλήρωμα, λυσοζύμη, φυσικά αντισώματα)

Κύτταρα των αγγείων και των ιστών.

Είναι τα μακροφάγα και τα πολυμορφοπύρρηνα ουδετερόφιλα λευκοκύτταρα. Αυτά είναι σε θέση να αναγνωρίζουν τα ξένα σώματα όπως βακτήρια, ιοί, παράσιτα, που τα προσκολλούν στο κυτταρικό τους τοίχωμα και τελικά τα φαγοκυτταρώνουν και απορροφούν. Τα σωματίδια θανατώνονται και με διάφορους μηχανισμούς: ένζυμα, όξινο pH παραγωγή ελεύθερων οξειδωτικών ριζών (ονομάζεται και καυτή αναπνοή), επειδή για τη λειτουργία της είναι απαραίτητη η αυξημένη κατανάλωση οξυγόνου.

Συμπλήρωμα.

Αποτελεί σύνολο πρωτεϊνών του ορού με ιδιαίτερη σημασία για την άμυνα. Τα τελεόστεα εμφανίζουν τόσο την κλασική (Classic Complement pathway, CCP) όσο και την εναλλακτική οδό ενεργοποίησης (Alternative Complement Pathway, ACP) του συμπληρώματος (Yano 1996). Ο ACP ενεργοποιείται ανεξάρτητα από την παρουσία αντισωμάτων, και για τα ψάρια είναι πιο συχνός και έντονος σε σχέση με τα θηλαστικά (Yano 1996). Λιποπολυσακχαρίτες που βρίσκονται στην επιφάνεια των Gram-αρνητικών βακτηρίων ενεργοποιούν άμεσα τον ACP, με αποτέλεσμα τη λύση του βακτηριακού κυττάρου. Παρόλα αυτά, ορισμένα βακτήρια εμφανίζουν αντοχή μετά την έκθεση τους σε ορό. Τα συστατικά του κυτταρικού τοιχώματος βακτηρίων ενεργοποιούν δύο παράγοντες. Αρχικά ο C5a προσελκύει ουδετερόφιλα και μακροφάγα. Αυτά τα κύτταρα διαθέτουν υποδοχείς για τον παράγοντα C3b που συνδέεται σε βακτήρια και τα καθιστά έτσι πιο ευάλωτα στη φαγοκυττάρωση (Ellis 1999, 2001).

Λυσοζύμη

Είναι ένζυμο που υδρολύει το N-ακετυλομουραμικό οξύ και τη N-ακετυλογλυκοζαμίνη, που αποτελούν βασικά συστατικά του κυτταρικού τοιχώματος των βακτηρίων. Η λυσοζύμη έχει ανιχνευθεί στη γλώσσα, σε μονοκύτταρα και ουδετερόφιλα κύτταρα (Murray and Fletcher, 1976). Σύμφωνα με τον Grinde (1989), η λυσοζύμη στα ψάρια εμφανίζει δύο τύπους, τον I και τον II. Η λυσοζύμη των θηλαστικών δεν μπορεί να δράσει έναντι των Gram αρνητικών βακτηρίων από μόνη της, αλλά χρειάζεται και το συμπλήρωμα για να δράσει στο εσωτερικό του κυτταρικού τοιχώματος των Gram αρνητικών βακτηρίων.

Ειδικό ανοσοβιολογικό σύστημα

Μηχανισμοί ειδικής άμυνας – Ανοσία

Όταν ένας μολυσματικός παράγοντας διεισδύσει στον οργανισμό, δραστηριοποιούνται αμέσως οι μη ειδικοί μηχανισμοί άμυνας. Αυτοί όμως από μόνοι τους μπορεί να αποδειχθούν ανεπαρκείς για να ελέγξουν την μόλυνση. Η ασθένεια εξελίσσεται περαιτέρω και δραστηριοποιεί τους ειδικούς μηχανισμούς ανοσίας.

Υπάρχουν δυο κύριοι τύποι της ειδικής ανοσολογικής αντίδρασης:

Η χυμική ανοσία δηλαδή παραγωγή αντισωμάτων σαν αντίδραση προς το αντιγόνο, μέσω των Β- λεμφοκυττάρων και η κυτταρική ανοσία, δηλαδή η παραγωγή κυτταροτοξικών λεμφοκυττάρων και κυτταροτοξινών σαν αντίδραση προς το αντιγόνο, μέσω των Τ-λεμφοκυττάρων.

Ανοσοποίηση των ψαριών

Υπάρχουν τρεις διαφορετικοί τρόποι για την ανοσοποίηση των ψαριών αυτοί είναι:

- α) Με ένεση (ενδοπεριτοναϊκή έγχυση)
- β) Με εμβάπτιση
- γ) Με χορήγηση του εμβολίου με την τροφή

Οι παραπάνω μέθοδοι παρουσιάζουν διάφορα πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα που έχουν να κάνουν με την προστασία, τις ανεπιθύμητες ενέργειες, το κόστος και τη δυνατότητα εφαρμογής τους στην πράξη. Συνήθως η μέθοδος που χρησιμοποιείται συχνά είναι αθτή της εμβάπτισης.

Με την ενδοπεριτοναϊκή χορήγηση του αντιγόνου μετά απο 24 ώρες απο τον εμβολιασμό συγκεντρώνεται στα μικρά τριχοειδή, κυρίως στον πρόνεφρο και στον σπλήνα όπου παρατηρείται αύξηση του βάρους του σπλήνα και αύξηση των λευκοκυττάρων ανά γραμμάριο του οργάνου. Εκεί εμφανίζονται κύτταρα που μοιάζουν με μακροφάγα που αναλαμβάνουν την παρουσίαση του αντιγόνου. Ο πρόνεφρος και ο σπλήνας αποτελούν τα κύρια όργανα του ανοσοποιητικού, που ανταποκρίνονται στην είσοδο των βακτηριακών αντιγόνων. Κατά τον ενέσιμο εμβολιασμό, τα παραγόμενα αντισώματα μεταφέρονται «παθητικά» από το πλάσμα στη βλέννα του εντέρου και τα βράγχια.

Για την παρασκευή εμβολίων έχουν χρησιμοποιηθεί είδη όπως *Vibrio spp.*, *Vibrio anguillarum*, *Vibrio ordalii* και *Vibrio salmonicida* που προκαλούν την ωόσο της σηψαιμίας. Επίσης γίνονται προσπάθειες και για άλλα είδη όπως : *Vibrio vulnificus*, *Vibrio viscosus*, *Vibrio alginolyticus* *Vibrio viscosus* *Vibrio vulnificus* *Vibrio*

alginolyticus Aeromonas salmonicida subsp. Edwardsiella ictaluri ,Streptococcus spp, με πειράματα σε είδη ψαριών παρουσιάζοντας θετικά αποτελέσματα.

Τα πλεονεκτήματα των εμβολίων ελαττωμένης λοιμογόνου δύναμης είναι ότι η διασπορά του εμβολιακού στελέχους είναι γρήγορη στον πληθυσμό των ψαριών και ο αποικισμός διαρκεί για μεγάλο χρονικό διάστημα. Τα ζωντανά εμβόλια έχουν, επίσης, το πλεονέκτημα να διεγείρουν πιο έντονα την κυτταρική ανοσία. Δυστυχώς όμως, υπάρχει πάντα ο κίνδυνος το εμβολιακό στέλεχος να γίνει παθογόνο και για τον λόγο αυτόν είναι πολύ δύσκολο να χορηγηθεί άδεια από τους αρμόδιους φορείς.

Τέλος, στο εμπόριο κυκλοφορούν εμβόλια με ελαιώδη ανοσοενισχυτικά για ενέσιμη χορήγηση τα οποία έχουν δώσει πολύ καλύτερα αποτελέσματα από άποψη ανοσίας και διάρκειας όμως έχουν σοβαρά μειονεκτήματα όπως την δημιουργία κοκκιωμάτων στην περιοχή έγχυσης και σε ορισμένες περιπτώσεις επηρεάζουν αρνητικά την ανάπτυξη των ψαριών και την ποιότητα του τελικού προϊόντος.

Για τους μηχανισμούς απορρόφησης και παρουσίασης του αντιγόνου κατά την εμβάπτιση ή κατά τη χορήγηση με την τροφή δεν υπάρχουν αρκετές πληροφορίες. Κατά την εμβάπτιση, το αντιγόνο έρχεται αρχικά σε επαφή με τα κύτταρα του ανοσοποιητικού που υπάρχουν στα βράγχια και στο δέρμα, που αναλαμβάνουν την απορρόφηση και την παρουσίαση του αντιγόνου. Κατά την χορήγηση με την τροφή, η απορρόφηση του αντιγόνου γίνεται από τα κύτταρα του εντερικού επιθηλίου και η έρευνα έχει επικεντρωθεί στην προστασία του αντιγονου από την αποδόμησή του (πέψη) κατά τη δίοδο από τον στόμαχο και την αρχική μοίρα του εντέρου, ώστε να φτάσει ανέπαφο στα κύτταρα του ανοσοποιητικού της τελικής μοίρας του εντέρου. Η έρευνα αφορά κυρίως την ενσωμάτωση του αντιγόνου σε μικροσωματίδια για την προστασία του κατά τη δίοδο από το πεπτικό σύστημα.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΣΠΟΥΔΑΙΟΤΕΡΑ ΙΟΓΕΝΗ ΚΑΙ ΒΑΚΤΗΡΙΑΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ ΓΟΝΟΥ ΤΣΙΠΟΥΡΑΣ ΛΑΥΡΑΚΙΟΥ

3.1. Λεμφοκύστη (Lymphocystis Disease)

Η Λεμφοκύστη είναι μια χρόνια ασθένεια των γλυκών και θαλάσσιων ιχθύων που προκαλούνται από λοίμωξη με ιριδοϊούς γνωστή ως Lymphocystivirus ή Lymphocystis νόσος (LCDV), η οποία είναι μέλος της οικογένειας *Iridoviridae*. Η μόλυνση έχει ως αποτελέσματα την ανάπτυξη οζιδίων που εμφανίζονται στα πτερύγια, το δέρμα, βράγχια, όπως και σε άλλους ιστούς. Έχει αναφερθεί παγκοσμίως σε πάνω από 125 διαφορετικά είδη ψαριών της θάλασσας και του γλυκού νερού από 34 διαφορετικές οικογένειες, με την πρώτη περιγραφή το 1874 και λίγο αργότερα το 1962 διπιστώθηκε ότι οφείλεται σε ίο.

Το μέγεθος του ιού κυμαίνεται από 130 έως 300 nm και εξαρτάται από το είδος του προσβεβλημένου ψαριού λόγω παρουσίας διαφορετικών στελεχών. Ο πολλαπλασιασμός του ιού γίνεται στο κυτταρόπλασμα των μολυσμένων κυττάρων και προκαλεί γιγαντισμό των κυττάρων τα οποία γίνονται 100.000 φορές μεγαλύτερα σε μέγεθος από τα φυσιολογικά.

Ευπάθεια τρόπος μετάδοσης και παθογένεια

Ο ιός μεταδίδεται εύκολα στα ψάρια της ίδιας οικογένειας και κυρίως του ίδιου γένους και σπάνια μεταξύ ψαριών που ανήκουν σε διαφορετικές οικογένειες. η προτίμηση αυτή οφείλεται ίσως στην παρουσία πολλών στελεχών. Η μετάδοση γίνεται από μολυσμένο νερό και με την επαφή όπως επίσης και από την συμβολλή εξωπαράσιτων. Η είσοδος του ιού γίνεται από τα βράγχια ή από τραυματισμό του δέρματος.

Η επιθετικότητα, τα παράσιτα, ή ο κακός χειρισμός των ψαριών μπορεί να διευκολύνει την διάδοση της μόλυνσης. Η Λεμφοκύστη δεν εμφανίζεται να διαδίδεται από την κάθετη μετάδοση (δηλ., από τους γονείς στον απόγονο μέσω της μόλυνσης των αυγών ή του σπέρματος).

Αν και όλοι οι παράγοντες που συμβάλλουν για την ασθένεια δεν είναι γνωστοί, φαίνονται να υπάρχουν διαφορετικές γενετικές παραλλαγές ή ενδεχομένως «είδη» λεμφοκύστης. Κάθε μια από αυτά τα είδη επιρεάζει μια διαφορετική ομάδα ψαριών. Επειδή ο ιός που προκαλεί την λεμφοκύστη είναι δύσκολο να μελετηθεί, επιστήμονες έχουν αναφέρει επίσημα μόνο ένα είδος λεμφοκύστης τον ιό λεμφοκύστης 1 (Icdv-1). Διάφορες άλλες παραλλαγές έχουν προταθεί και μπορούν να καθοριστούν να είναι χωριστά είδη (συμπεριλαμβανομένων Icdv-2, Icdv-γ), αλλά αυτές ακόμα δεν έχουν γίνει αποδεκτές επίσημα από όλους τους επιστήμονες.

Υπαρχει κινδινος στα πρωτα σταδια τις αρρωστιας τα μικρα οζιδια που εμφανιζονται να τα μπερδεψουμε με ασθeneia που προκαλουνται απο παρασιτα η ακομα και με την epitheliocystis που eina βακτηριακη νοσο όπως και κάποιες δερματικές αλλιώσεις (καρκίνος) μπορεί επίσης να τα μπερδέψουμε με την Λεμφοκύστη.

Εξωτερικά και εσωτερικά συμπτώματα

Τα ψάρια που μεταφέρουν τον ιό παρουσιάζουν μικρά οζίδια η επιφάνεια των οποίων είναι λεία η ανώμαλη στα διάφορα σημεία του δέρματος κυρίως στα πλευρά και στα πτερύγια τα οζίδια αυτά είναι υπερτροφικά κύτταρα συνδετικού ιστού και όταν είναι σε αθροίσματα έχουν τη μορφή βατόμουρου. το χρώμα τους είναι λευκό κίτρινο και σπάνια με αιμοραγικές εστίες. η νόσος παρουσιάζει χρόνια εξέλιξη και χωρίς θανάτους. τα οζίδια με την πάροδο του χρόνου αποκολλούνται απο τα ψάρια και έτσι θεραπεύονται και σε ορισμένα είδη προκαλεί καθυστέρηση στην ανάπτυξη. Τα οζίδια αυτά εκτός απο την εξωτερική επιφάνεια του ψαριού μπορεί να παρατηρηθούν και στα εσωτερικά όργανα όπως στα τοιχώματα γαστροεντερικού σωλίνα, σπλήνα γεννητικά όργανα και βράγχια.

Η Λεμφοκύστη είναι συνήθως ένα αυτο-περιορισμού ασθένεια, με την έννοια ότι, στις περισσότερες περιπτώσεις, τα τραύματα θα καθαρισουν μετά από λίγες εβδομάδες στα θερμά είδη ψαριών έως και 6 εβδομάδες στα ψυχρά είδη. Ωστόσο, λόγω της καθυστέρησης στην ανάπτυξη τα ψάρια κανονικά δεν μπορούν να πουληθούν κατά τη διάρκεια αυτού του χρόνου

Αν το ψάρι έχει πολλές κακώσεις και τα οζίδια καλύπτουν ένα μεγάλο μέρος των σημαντικών οργάνων (π. χ. , τα βράγχια), μπορεί να υπάρχει κάποια υποβάθμιση και στην εμφάνιση νέων μολύνσεων από βακτηρίδια, παράσιτα ή μύκητες που μπορεί τώρα πιο εύκολα να μολύνουν τα ψάρια και να συμβάλλουν στη θνησιμότητα.

Διάγνωση

Η διάγνωση γίνεται με το ανθρώπινο μάτι ή στην ιστολογική εξέταση και τέλος στην απομόνωση του ιού καλλιέργειες σε κυτταρικές σειρές LBF ή BF. Διάφορες ανοσολογικές τεχνικές έχουν χρησιμοποιηθεί προηγουμένως για την ανίχνευση LCDV στην κυτταροκαλλιέργεια, όπως η έμμεση δοκιμή ανοσοφθορισμού και ρέουν cytometry. Αυτές οι μέθοδοι εμφάνισαν σημαντικές ανεπάρκειες, όπως χαμηλή ευαισθησία και της ιδιομορφία (Garcia-Rosado et al., 2002). Οι πιο ευαίσθητες ανοσολογικές μέθοδοι, όπως το immunoblot, έχουν εφαρμοστεί για την ανίχνευση άλλης προερχόμενης από ιό ασθένειας ψαριών (Sanz and Coll, 1992; Rodriguez Saint-Jean et al.,2001).

Αυτή η εργασία περιγράφει την ανάπτυξη και την εφαρμογή μιας τεχνικής immunoblot για την ανίχνευση LCDV από τα αποσπάσματα ιστού ψαριών, χρησιμοποιώντας έναν συγκεκριμένο αντιορό ενάντια σε μια προερχόμενη από ιό πρωτεΐνη. Αυτή η τεχνική ανιχνεύει LCDV στα ασυμπτωματικά ψάρια χωρίς να θυσιαστούν.

Θεραπεία – Προφύλαξη

Δεν υπάρχει καλή θεραπεία για την πιο γρήγορη ανάρωση από τη ασθένεια αλλά πρέπει να κάνει τον κύκλο της και να περάσει, πιο γρήγορα στα ψάρια των θερμών νερών και πιο αργά στα ψάρια των ψυχρών νερών κάτω από κατάλληλες συνθήκες (καλή ποιότητα νερού, καλή διατροφή, σωστή πυκνότητα πληθυσμού και άλλοι παράγοντες που στρεσάρουν τα ψάρια πρέπει να εξαλειφθούν. Το μόνο που μπορούμε να κάνουμε είναι η προφύλαξη και η στενή παρακολούθηση των ψαριών που αγοράζονται τουλάχιστο για δύο μήνες όσο είναι ο χρόνος επώασης. Αν κάποια παρτίδα από ψάρια έχει τον ιό τότε πρέπει να μετακινηθεί να απομονωθεί από τις άλλες δεξαμενές που εκτρέφουν το ίδιο είδος για να μην επεκταθεί ο ιός ,με τις απαραίτητες προφυλάξεις και από το προσωπικό για να μην μεταφέρουν τον ιό, μέχρι να κάνει τον κύκλο του. Σε περίπτωση που δεν υπάρχει χώρος,χρόνος ή κύνδινος για εξάπλωση ο θάνατος είναι η επόμενη λύση και στις δύο περιπτώσεις η απολύμανση τις δεξαμενής που είχε τα ψάρια με τον ιό είναι απαραίτητη.

3.2. Νευρική νέκρωση (Viral Nervous Necrosis Betanodavirus (vnn))

Η Νευρική νέκρωση είναι μια σημαντική αναδυόμενη ομάδα ιών γνωστή γιατί μολύνει πάνω από 40 θαλάσσια είδη ψαριών σε όλο τον κόσμο από Αυστραλία, Ασία, Ευρώπη, βόρεια Αμερική, Αφρική και το νότιο Ειρηνικό (Walker και Winton 2010). Οι Betanodavirus λοιμώξεις έχουν επίσης αναφερθεί να μολύνουν και είδη ψαριών του γλυκού νερού τόσο σε φυσικούς όσο και σε πειραματικούς πληθυσμούς.

Ως μέλη της οικογένειας *Nodaviridae*, ιοί, το γένος *Betanodavirus* μοιράζονται μια σειρά από χαρακτηριστικά που βοηθούν τους επιστήμονες να τους διακρίνουν από άλλους ιούς. Αυτά τα χαρακτηριστικά περιλαμβάνουν ένα μικρό, non-enveloped and icosahedral-shaped καψίδιο που περιβάλλει γενετικό υλικό που αποτελείται από single-stranded, positive-sense RNA. "Non-enveloped" σημαίνει ότι αυτοί οι ιοί έχουν έλλειψη από ένα εξωτερικό στρώμα που αποτελείται από λιπίδια και πρωτεΐνες, και το "καψίδιο" είναι η πρωτεΐνη "καλημα" που περιβάλλει το γενετικό υλικό του ιού.

Οι ασθένειες που προκαλούνται από τους ιούς αυτούς είναι κοινώς γνωστές ως λοιμώδης νευρική νέκρωση (VNN) ή την ιογενή εγκεφαλοπάθεια και αμφιβληστροειδοπάθεια (VER). Αυτοί οι ιοί προκαλούν ζημιές στο κεντρικό νευρικό σύστημα στα ευπαθή είδη ψαριών και εμφανίζονται συνήθως στα νεαρά στάδια (νύμφες, γόνο), αν και στα εμπορικού μεγέθους ψάρια μπορούν να νοσήσουν με απώλειες που κυμαίνονται από 15- 100 %.

Η βέλτιστη θερμοκρασία για να δράσει ο ιός διαφέρει ανάλογα με το στέλεχος του ιού και το είδος των ψαριών. Βέλτιστη θερμοκρασία για SJNNV είναι 20- 25 °C (68- 77 °F), BFNNV, 15- 20 °C (59- 68 °F), και για TPNNV, 20 °C (68 °F). Για RGNNV, ευνοϊκά εύρη θερμοκρασίας περίπου 25- 30 °C (77- 86 °F) (Hata et al. 2007), με αύξηση της κυτταρικής καλλιέργειας βέλτιστη στους 25 °C (77 °F) (Ciulli et al. 2006).

Εξωτερικά και εσωτερικά συμπτώματα

Η Νευρική νέκρωση είναι η πιο συχνότερη ασθένεια που προκαλεί θνησιμότητες μέσα σε πολύ λίγο χρονικό διάστημα σε προνύμφες και σε νεαρά στάδια ιχθυδίων κάτω από κατάλληλες συνθήκες, επίσης τα εμπορικά μεγέθη ψάρια και τα ενήλικα μπορούν να επηρεαστούν. Ο ιός στοχένει στο νευρικό σύστημα των ψαριών με αποτέλεσμα το ποσοστό της θνησιμότητας να φτάνει και το 100%. Τα εξωτερικά

συμπτώματα είναι ακανόνιστη κολυμβιτική συμπεριφορά, σπироειδές κινήσεις, κατακόρυφη τοποθέτηση του σώματος, κάμψη του σώματος, ανορεξία, όπως και αλλαγές του χρώματος σε ποιο φωτεινό ή σκουρόχρωμο ανάλογα με το είδος.

Εσωτερικά συμπτώματα είναι η αρκετά φουσκωμένη νυκτική κύστη με αποτέλεσμα τα ιχθύδια να κολυμπούν μονίμως στην επιφάνεια, έχουμε ανάπτυξη vacules σε κύτταρα του νευρικού συστήματος (εγκέφαλος, αμφιβληστροειδούς και νωτιαίος μυελός).

Τρόπος μετάδοσης και παθογένεια

Όπως συμβαίνει και με άλλες ιογενείς ασθένειες, περιβαλλοντικοί και στρεσαρικοί παράγοντες, συμπεριλαμβανομένης της υψηλής πυκνότητας και υψηλές θερμοκρασίες, αποδυναμώνει το ανοσοποιητικό σύστημα των ψαριών και να τα κάνει πιο ευπαθή στα λοιμώδη νοσήματα όπως και στην Νευρική νέκρωση. Καλή διαχείριση μπορεί να σας βοηθήσει να μειώσετε τα ποσοστά μόλυνσης και απωλειών.

Ωστόσο, επειδή πολλοί και διαφορετικοί παράγοντες οδηγούν συχνά σε ξεσπασμα μιας νόσου, η πλήρης αξιολόγηση των εγκαταστάσεων, συμπεριλαμβανομένων και επανεξέταση της διαχείρισης πρωτοκόλλων (συμπεριλαμβανομένης της βιοασφάλειας μέτρων) και παραμέτρους του περιβάλλοντος, θα πρέπει να τειρηθούν. ελεγχος των παραμέτρων της ποιότητας των υδάτων, τη διατροφή, και οι παράγοντες που προκαλούν στρες είναι ιδιαίτερα σημαντική. Επιπλέον, η νεκροψία του αντιπροσωπευτικού δείγματος των ψαριών που εμφανίζουν κλινικά συμπτώματα της νόσου, θα πρέπει να εξεταστεί για να αποκλείσει άλλες πιθανά αιτία.

Η εξάπλωση της ασθένειας μπορεί να συμβεί με την εισαγωγή των μολυσμένων ψαριών σε υγιή πληθυσμούς απο ψάρια με χαμηλό ανοσοποιητικό σύστημα λόγω περιβαλλοντικών ή άλλων παραγόντων που προκαλούν στρες. Μεγαλύτερα ψάρια μπορεί να αποκτήσουν ευαισθησία στον ιό κατά περιόδους λόγω αυξημένης θερμοκρασίας. Προσβλημένα ψάρια (άγρια ή καλλιεργημένα) μπορεί να είναι εστία

μόλυνσης για τα υγιή καλλιεργούμενα είδη μίας υδατοκαλλιέργειας. Σε μία μελέτη, για (*Pseudocaranx dentex*) γόνο ("μεταφορείς") ήταν μολυσμένα με betanodavirus σε πολλαπλά εσωτερικά όργανα όπως γονάδες και έντερα, αλλά δεν βρέθηκε στο κεντρικού νευρικού συστήματος (Nguyen et al. 1997).

Αυτό δείχνει ότι αυτά τα ψάρια, τα οποία δεν παρουσιάζουν συμπτώματα της νόσου, μπορεί να μεταδώσουν τον ιό μέσω των γαμετών (αυγά ή σπέρμα) . Μια άλλη μελέτη έδειξε στοιχεία του betanodaviruses (RGNNV) χρησιμοποιώντας PCR στους ιστούς των διαφόρων ειδών σε ασπόνδυλα, συμπεριλαμβανομένων *Charybdid* καβούρια (Χάρυβδη *bimaculata*), νότια humpback γαρίδες (*Pandalus hypsinotus*), και το Μεσογειακό μύδι (*Mytilus galloprovincialis*) (συστήματα Gomez et al. 2008).

Εργαστηριακές μελέτες έχουν αποδείξει ότι η Νευρική νέκρωση μπορεί να εξαπλωθεί οριζόντια (από τα μολυσμένα ψάρια σε υγιει) ή από έκθεση σε μολυσμένο νερό (νερό που περιέχει ιό). Betanodaviruses μπορούν επίσης να μεταδοθούν μέσω διατροφής απο ζωντανή τροφή που είναι μολυσμένη απο τον ιό, όπως *Artemia* (άλμη γαρίδες), *Tigriopus japonicus* (copepod), και *Acetesinte medius* (γαρίδες), είτε μέσω διατροφής των πρώτων μολυσμένα ψάρια.

Τέλος, betanodaviruses έχουν αποδειχθεί οτι μπορεί να μεταδώσει κατακόρυφα, δηλ. , από γεννήτορες σε απογόνους, πιθανώς εντός ή εκτός των γονιμοποιημένων αυγών.

Θεραπεία – Προφύλαξη

Καλές συνθήκες εκτροφής και βιοασφάλεια είναι απαραίτητες , όπως είναι η διατήρηση της καθαρότητας και η διαχείριση του προσωπικού. Προληψη με εμβόλια που έχουν αναπτυχθεί διεθνώς και έχουν αποδείξει τη μείωση των ασθενειών και θανάτων αποτελεσματικά σε πειραματικές δοκιμές. Μελέτες έχουν δείξει ότι ο εμβολιασμός στις νύμφες και τα μεγάλα ψάρια αυξάνεται, έτσι μειώνεται το ποσοστό εμφάνιση της νόσου, και ο εμβολιασμός στους γεννήτορες μπορεί να μειώσει το ενδεχόμενο μετάδοσης του ιού στους απογόνους.

Για τις εγκαταστάσεις παραγωγής, πλύσιμο και απολύμανση των αυγών μετά από γονιμοποίηση μπορεί να βοηθήσει στη μείωση προσβολής από γεννήτορες (αν ο ιός είναι στο εξωτερικό του αυγού). Επίσης καραντίνα κάθε νέα ψάρια αν είναι δυνατό σε ξεχωριστό κτίριο ή έκταση και να τηρούνται κατάλληλα τα πρωτόκολλα βιοασφάλειας (έχοντας ειδικό εξοπλισμό και τα κατάλληλα απολυμαντικά) πριν προστεθούν σε νεους πληθυσμούς. Εάν είναι δυνατόν, να περνεται αντιπροσωπευτικό δείγμα των ιχθύων για πρόσθετες δοκιμές, ειδικά αν τυχόν εμφανιστούν άρρωστα ή εάν υφίσταται θνησιμότητα. Χρήση της πηγής του νερού που μπορεί να περιέχεται άλλο ψάρι ή άλλες πιθανές πηγές των παθογόνων παραγόντων θα αυξάνει τον κίνδυνο. Είναι ασφαλέστερο να χρησιμοποιήσετε νερό από όπο βαθιά πηγάδια, ή νερό που έχει υποστεί επεξεργασία με επαρκή υπεριώδους (UV) αποστείρωση ή χλωρίωση.

Πειραματικές μελέτες έχουν δείξει ότι betanodaviruses (SJNNV) μπορεί να αδρανοποιηθεί με 50 mg/L υποχλωριώδες νάτριο, υποχλωριώδους ασβεστίου, χλωριούχο ή ιώδιο για 10 λεπτά στους 20 °C (68 °F), 60% αιθανόλη, 50% μεθανόλης (καμία φορά δίνεται), pH 12 για 10 λεπτά στους 20 °C (68 °F), ή της θερμοκρασίας στους 60 °C (140 °F) για 30 λεπτά. Η αποτελεσματική UV zap δόση για αδρανοποιεί τους BFNNV πειραματικά ήταν 1,0 x 10⁵ μ Wsec/cm² σε υπεριώδη έντασης 440 MW/cm² σε μια μελέτη και 1,5 -2,5 x 10⁵ μ Wsec/cm² για την αδρανοποίηση του SJNNV στο άλλο. Το όζον κατά 0,1 Mg/ml αδρανοποιηθεί ο ιός (SJNNV) μετά από 2,5 λεπτά (Arimoto 1996• Kasai et al. 2002). Υψηλότερες δόσεις για κάθε μία από αυτές τις μεθόδους είναι δυνατόν να απαιτούθουν ανάλογα με τα επίπεδα οργανικών, θολότητα, ή άλλες διαφορές στην ποιότητα του νερού ή χημεία.

3.3. Δονακίωση (Vibriosis)

Η Δονακίωση (Vibriosis) είναι ένα από τα σημαντικότερα νοσήματα των ιχθύων και προκαλείται από βακτήρια του γένους *Vibrio*, είναι μικρά gram αρνητικά, ευθεία ή κεκαμμένα ραβδίδια, που φέρουν ένα μοναδικό πολικό μαστίγιο. Η Δονακίωση έχει παρατηρηθεί παγκοσμίως και είναι ασθένεια που προσβάλλει ψάρια των υφάλμυρων,

θαλάσσιων νερών, επίσης έχουν αναφερθεί περιστατικά και για ψάρια του γλυκού νερού. Η ασθένεια μπορεί να προκαλέσει (>50%) θνησιμότητα όταν βρίσκεται σε εξέλιξη. Τα σημαντικότερα είδη *Vibrio* που παρουσιάζονται σαν παθογόνα στις ιχθυοκαλλιέργειες θαλάσσιων ειδών, σε όλα τα στάδια ανάπτυξης του ψαριού (νυμφικά, προπάχυνση και πάχυνση) , είναι οκτώ (*V. anguillarum*, *V. ordalii*, *V. alginolyticus*, *V. carchariae*, *V. cholerae*, *V. damsela*, *V. parahaemolyticus* και *V. vulnificus*). Από τα *Vibrionaceae* αυτά που προκαλούν τις οικονομικά σημαντικότερες ασθένειες στην θαλάσσια ιχθυοκαλλιέργεια θεωρούνται ότι είναι τα *Listonella (Vibrio) anguillarum*, *V. ordalii*, *V. vulnificus*, *V. Salmonicida*.

Το *Listonella (Vibrio) anguillarum* έχει απομονωθεί σε ψάρια κυρίως θερμών νερών αλλά και ψυχρών. Το *V. Ordalii* έχει απομονωθεί από σολομοειδή στη Νότια Αμερική, Ιαπωνία και Αυστραλία. Το *V. Vulnificus* που αποτελείται από δύο στελέχη, το στέλεχος 1 και 2, ο 1 εμφανίζεται στους ανθρώπους από την κατανάλωση ωμών οστρακοειδών ενώ το δεύτερο στέλεχος είναι μολυσματικό για τα χέλια. Το *V. Salmonicida* είναι αιτία για την <<Δονακίωση των κρύων νερών>> και έχει απομονωθεί από σολομοειδή στον Καναδά και στις σκανδιναβικές χώρες της Ευρώπης.

Vibrio anguillarum

Ταξινόμηση

Υπερβασιλείο: *Bacteria*

Φύλο: *Proteobacteria*

Κλάση: *Gammaproteobacteria*

Σειρά: *Vibrionales*

Οικογένεια :*Vibrionaceae*

Γένος: *Vibrio*

Είδος: *anguillarum*



Το βακτήριο *anguillarum* πρώτα απομονώθηκε από τον Canestrini (1893) και είναι υπεύθυνο για την «ερυθρά πανώλη των χελιών». Το όνομα *V. anguillarum* για τα αίτια της «ερυθρά πανώλη των χελιών» πρώτο δόθηκε από τον Bergman (1909) κατά τη διάρκεια του 1907. Ύστερα από αρκετές μελέτες για την ταξινόμηση και τον χαρακτηρισμό του *V. anguillarum* τελικά οι MacDonell and Colwell (1985) πρότειναν ένα νέο όνομα για το *V. anguillarum* σε *Listonella anguillarum*. Ωστόσο, αρκετοί επιστήμονες εξακολουθούν να χρησιμοποιούν το όνομα *V. anguillarum* λόγω της στενής σχέσης μεταξύ *V. anguillarum* και των άλλων ειδών *vibriosis*.

Οι Schiawe et al. (1977) ανέφεραν ετερογένεια μεταξύ των στελεχών του *V. anguillarum* και τα απομόνωσαν σε δύο βιοτόπους, 1 και 2. Το όνομα του βιοτόπου 2 άλλαξε σε *V. ordalii* από τους Schiawe et al. (1981) διότι βρήκαν κάποιες

βιοχημικές διαφορές καθώς και στη σχέση του δεσοξυριβονουκλεϊκού οξέος (DNA) ανάμεσα στους βιότοπους 1 και 2. Ύστερα απο φυλογενετική ταξινόμηση που βασήστηκε στα 16s rRNA γονιδίων ανάμεσα στα είδη *Vibrio* έδειξε ότι το *V. anguillarum* και *V. ordalii* είναι στενά συνδεδεμένα είδη (Okada et al., 2005).

To vibrio anguillarum είναι ένα gram αρνητικό, δυνητικά αναερόβιο, ευθύ ή ελαφρώς κυρτό βακτήριο. Το μήκος του είναι (0.5×1.5 μM) και η περιεκτικότητά του σε γουανίνη και κυτοσίνη (G + C) είναι 45.6-46.3 % (Austin and Austin, 1999). Αναπτύσσεται στους 25-30 C σε κοινά θρεπτικά υποστρώματα, όπως στα brain-heart infusion και tryptic soy ζωμό (TSA) ή άγαρ με προσθήκη 1.5-2 % χλωριούχου νατρίου.

To Vibrio anguillarum ενώ είναι απλό να ταυτοποιηθεί και να διαχωριστεί από άλλα είδη *Vibrio*, η παραλλακτικότητα στα βιοχημικά χαρακτηριστικά μεταξύ των στελεχών του είδους δεν επιτρέπει το διαχωρισμό τους σε ομάδες. Έτσι έγιναν διαχωρισμοί με βάση το λιπολυσακχαρίτη του τοιχώματος του βακτηριδίου όπου οδήγησαν στο διαχωρισμό των στελεχών σε ορότυπους.

Αν και ένα σύνολο 23 Ο ορότυπων έχουν βρεθεί να παρουσιάζονται στα διάφορα στελέχη του *Vibrio anguillarum* μόνο οι ορότυποι O1 και O2 και σε μικρότερο βαθμό ο O3 έχουν συσχετιστεί με περιστατικά θνησιμότητας σε καλλιεργούμενα και μή ψάρια ανά το κόσμο. Οι σαλμονίδες προσβάλλονται από τους ορότυπους O1 και O2 ενώ το λαυράκι και η τσιπούρα προσβάλλονται από τον ορότυπο O1. Οι υπόλοιποι ορότυποι θεωρούνται περιβαλλοντικά στελέχη και μόνο σε σπάνιες περιπτώσεις έχουν απομονωθεί σαν υπεύθυνοι δονακοίωσης στα ψάρια.

Ευπάθεια τρόπος μετάδοσης και παθογένεια

To Vibrio anguillarum μπορεί να αποκτήσει παθογόνο δράση κάτω από δυσμενής συνθήκες όπως υψηλή θερμοκρασία του νερού, απότομες αυξομειώσεις αλατότητας, υπερπληθυσμός, έλλειψη διαλυμένου οξυγόνου, μεταβολές του pH παρουσία τοξικών ουσιών και το stress. Άλλες πηγές μόλυνσης είναι από τα πριττώματα των

δεξαμενών, τροφή που δεν καταναλώθηκε, ίζημα δεξαμενών, ψάρια φορείς. Η πιο σημαντική περίοδος για την οξεία εμφάνιση της ασθένειας είναι άνοιξη και φθινόπωρο όταν η θερμοκρασία είναι από 15 έως 20 και ασταθείς με καθημερινές διακυμάνσεις. Έχει παρατηρηθεί ότι η ασθένεια ένα χρόνο μπορεί να εμφανιστεί 3 με 4 φορές με μεγάλες θνησιμότητες και μετά να κάνει 2 με 3 χρόνια να δημιουργήσει πρόβλημα.

Εξωτερικά και εσωτερικά συμπτώματα

Τα ψάρια που νοσούν έχουν αιμοραγίες κυρίως στην κάτω γνάθο, τα βραγχιακά επικαλύμματα και ιδιαίτερα στην κοιλιακή χώρα κυρίως στην βάση των κοιλιακών πτερυγίων επίσης στα εξωτερικά συμπτώματα είναι αμφοτερόπλευρο εξόφθαλμο, αιμοραγίες στα πτερίγια και γύρο από την έδρα. Εσωτερικά μια αιμοραγική σηψαιμία παρατηρείται με αιμοραγίες και πετέχειες στα περισσότερα όργανα. Διόγκωση της κοιλιακής χώρας, το έντερο είναι γεμάτο με διαφανές υγρό καθώς και σπληνομεγάλια. Η χολιδόχος κύστη είναι πάντα γεμάτη λόγω της ασιτίας το συκώτι είναι επίσης ωχρό με πετέχειες, τα νεφρά είναι συμφορημένα, η νυκτική κύστη είναι διογκωμένη και παρατηρείται τα ψάρια να επιπλέουν λιθαργικά στην επιφάνεια.

Ο γόνος μπορεί να προσβεβληθεί και να μην παρουσιάσει κανένα από τα παραπάνω κλινικά συμπτώματα εκτός από εκτεταμένη λιθαργική κατάσταση με άτομα να κολιμπούν αργά στην επιφάνεια και στην άκρη του ιχθυοκλωβού και σκουρότερο χρωματισμό. Προσβάλλει τα λαβράκια όλων των ηλικιών αλλά δεν έχει περιγραφεί στην τσιπούρα. Η θνησιμότητα είναι μεγαλύτερη όταν το μικρόβιο προσβάλλει το γόνο. Στην υποξεία μορφή τα ψάρια δεν παρουσιάζουν προφανή κλινικά σημάδια αν και μπορεί να καταγραφούν ξαφνικές θνησιμότητες.

Διάγνωση

Η διάγνωση για το *Vibrio anguillarum* τίθεται με τη βοήθεια του ιστορικού των κλινικών συμπτωμάτων, των νεκροτομικών ευρημάτων, και η ταυτοποίηση γίνεται είτε βιοχημικά χρησιμοποιώντας τις κλασσικές βιοχημικές δοκιμές ή το σύστημα Biomerieux API 20 E.

Η απομόνωση γίνεται συνήθως σε TSA ή TCBS agar. Μετά από 24 ώρες επώαση σε 25°C βλαστάνουν αποικίες στρογγυλές, επηρμένες, κυρτές, διαμέτρου 1 mm περίπου, χρώματος κρεμ, που αποτελούνταν από βραχεία (1,5 μm) κινητά βακτηρίδια. Εμπορικά διαγνωστικά kit που βασίζονται σε οροσυγκόλληση σε πλάκα ή σε δοκιμή Elisa κυκλοφορούν για ταχεία διάγνωση της Δονακίωσης, δεν επιτρέπουν όμως το διαχωρισμό των οροτύπων (Romalde et al. 1995), γι' αυτό δεν είναι χρήσιμα για επιζωοτιολογικές μελέτες.

Θεραπεία - Προφύλαξη

Καθημερινή χορήγηση αντιβιοτικών αναμιγμένων με την τροφή για 10 μέρες είναι συνήθως αποτελεσματική (oxytetracycline 100mg/kg σωματικού βάρους ανά ημέρα , flumequine 80mg/kg σωματικού βάρους ανά ημέρα, oxolinic acid 60mg/kg σωματικού βάρους ανά ημέρα και ενισχυμένες σουλφοναμίδες (trimethoprim+sulfadiazine) 70mg/kg σωματικού βάρους ανά ημέρα.) Η ασθένεια πάντως επανεμφανίζεται περίπου 20 ημέρες μετά μια φαινομενικά επιτυχή θεραπεία κι έτσι αρκετοί θεραπευτικοί κύκλοι μπορεί να χρειαστούν.(Noussias 1987).

Ο εμβολιασμός με εμβάπτιση ή και ένεση έχει συνήθως επιτυχία στην πρόληψη της ασθένειας. Έχουν αδειοδοτηθεί εμβόλια αρκετών εταιρειών, τα οποία έχουν αποδειχθεί επιτυχή στην πράξη (RPS >80%). Είναι όμως σημαντικό να εφαρμόζεται το ενδεδειγμένο πρωτόκολλο εμβολιασμού ανάλογα με τις ιδιαιτερότητες κάθε μονάδας. Ο εμβολιασμός με την τροφή έχει λιγότερο επιτυχή αποτελέσματα, παρά την ευκολία της εφαρμογής του. Στην πράξη εμβολιασμός εφαρμόζεται ολοένα και περισσότερο, γιατί παρά το υπερβάλλον κόστος και την αύξηση του απαιτούμενου

χρόνου εργασίας, περιορίζει σημαντικά (σχεδόν εξαλείφει) τις αρνητικές συνέπειες της Δονακίωσης.

Εκτός από τον εμβολιασμό, ο περιορισμός της ποσότητας της τροφής για αρκετές μέρες και η αποφυγή στρεσογόνων παραγόντων όπως διάφοροι χειρισμοί (αλλαγή διχτυών, διαλογές) βοηθούν. Επίσης η αποφυγή της απόρριψης νεκρών ψαριών στη θάλασσα και η αποκομιδή τους με σωστό τρόπο.

3.4. Παστερέλωση (*Pasteurellosis, photobacteriosis*)

Η παστερέλωση προκαλείται από το βακτήριο *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida* (πρώην *Pasteurella piscicida*) και ανήκει στην οικογένεια των Vibrionaceae και αποτελεί παράγοντα μεγάλης οικονομικής σημασίας για τη Μεσογειακή Υδατοκαλλιέργεια.

Η παστερέλωση (*Photobacterium damsela*) αρχικά βρέθηκε από φυσικούς πληθυσμούς white perch (*Morone americanus*) και striped bass το 1963 στο Chesapeake Bay, ΗΠΑ. Καταλογίστηκε σαν τις πιο σημαντικές ασθένειες και έχει βρεθεί σχεδόν σε όλο τον κόσμο συγκεκριμένα στην Ιαπωνία, μεσογειακές χώρες και Η.Π.Α να πρσβάλει πολλά είδη όπως yellowtail (*S. Quinqueradiata*), γλώσσας (*Solea senegalensis* και *Solea solea*), του υβριδίου striped bass (*M. saxatilis* x *M. chrysops*) και την καλλιέργεια της τσιπούρας, του λαβρακιού.

Η Παστερέλωση των ψαριών λέγεται και ψευδοφυματίωση (pseudotuberculosis) λόγω της παρουσίας λευκών οζιδίων στα εσωτερικά όργανα και ιδιαίτερα στο σπλήνα και το νεφρό. Σημαντικές θνησιμότητες παρουσιάζονται συνήθως όταν η θερμοκρασία του νερού υπερβεί τους 18-20ο C. Κάτω από αυτή τη θερμοκρασία τα ψάρια μπορεί να φιλοξενούν τον παθογόνο παράγοντα με τη μορφή υποκλινικής μόλυνσης για μεγάλα χρονικά διαστήματα. Ανεξάρτητα από τη γεωγραφική

προέλευση και την πηγή που απομονώθηκε, όλα τα στελέχη του βακτηρίου αυτού είναι βιοχημικά και ορολογικά ομογενή.

Η νόσος προσβάλλει γενικά προνύμφες προκαλώντας θνησιμότητα απο 50-100%, επίσης μπορεί να επηρεάσει νεαρά ψάρια με θνησιμότητα έως 50%.

Στα δύο είδη ψαριών (τσιπούρα, λαυράκι), τα υψηλότερα ποσοστά θνησιμότητας είχαν εμφανιστεί τον Ιούνιο, όταν η θερμοκρασία του νερού είχε φτάσει περίπου στους 20-24°C

Ωστόσο, σε παγκόσμιο επίπεδο ποσοστά νοσηρότητας και θνησιμότητας ήταν υψηλότερη σε τσιπούρες από το λαβράκι.

Ευπάθεια τρόπος μετάδοσης και παθογένεια

Η τσιπούρα είναι πολύ ευαίσθητη στα πρώιμα στάδια της καλλιέργειας. Υψηλές θνησιμότητες που φθάνουν από 50 έως και 100%, παρατηρούνται μόλις φθάνουν οι προνύμφες σε ηλικία 35 ημερών. Σε αυτή τη φάση, οι αντιβιοτικές θεραπείες έχουν πολύ περιορισμένη αποτελεσματικότητα και μπορεί να εμφανιστεί ανθεκτικότητα μέσα σε μια εβδομάδα. Η τσιπούρα παραμένει πολύ ευαίσθητη μέχρι το μέγεθος των 6 γρ. Έκτοτε η ευαισθησία της μειώνεται, έτσι ώστε τσιπούρες μεγαλύτερες από 50 γρ. σπανίως ασθενούν ή υφίστανται σοβαρές θνησιμότητες από την Παστερέλωση. Έτσι γι' αυτό το είδος η Παστερέλωση είναι κυρίως πρόβλημα του νεκκολαπτηρίου και των πρώτων μηνών της πάχυνσης. (Toranzo et al. 2005). Ιστολογικές μελέτες κατέδειξαν ότι τα ουδετερόφιλα και τα μακροφάγα της τσιπούρας μεγαλύτερης από 50 γρμ. φαγοκυττώνουν αποτελεσματικά και σκοτώνουν τα βακτήρια, ενώ αυτού του είδους τα κύτταρα δεν είναι λειτουργικά στα νεαρά ψάρια. (Skarmeta et al. 1995).

Αντιθέτως το λαβράκι είναι ευαίσθητο στην Παστερέλωση κυρίως μεταξύ του βάρους του 1 γρμ. και 60 γρμ. Η ασθένεια προκαλεί τις μεγαλύτερες θνησιμότητες σε λαβράκια στους ιχθυοκλωβούς μεταξύ 5 και 40 γρμ. Έτσι για το λαβράκι η Παστερέλωση είναι κυρίως πρόβλημα κατά τη διάρκεια των πρώτων μηνών της πάχυνσης.

Η λοίμωξη είναι θερμοεξαρτώμενη και εμφανίζεται πάνω από 20 °C στις μονάδες πάχυνσης και 16-17 °C στα εκκολαπτήρια. Στους ιχθυοκλωβούς η Παστερέλωση παρουσιάζεται συνήθως από το τέλος της άνοιξης μέχρι τον Αύγουστο. Αντιθέτως στα εκκολαπτήρια όπου χρησιμοποιείται ζεστό νερό από γεωτρήσεις (>17o C), η ασθένεια παραμένει σοβαρή απειλή καθ' όλη τη διάρκεια του χρόνου.

Επιζωοτιολογικά, την πρώτη χρονιά που εμφανίσθηκε η ασθένεια προσβλήθηκαν ψάρια όλων των ηλικιών. Έκτοτε τα ψάρια αν δεν νοσήσουν στο σταθμό, συνήθως προσβάλλονται στους κλωβούς πάχυνσης κατά τη διάρκεια του πρώτου καλοκαιριού που θα περάσουν εκεί και κατόπιν αποκτούν ανοσία για το υπόλοιπο της ζωής τους.

Εξωτερικά και εσωτερικά συμπτώματα

Η Παστερέλωση παρουσιάζεται στα εκκολαπτήρια σαν οξεία ή χρόνια μορφή. Στην οξεία μορφή τα πιο εμφανή συμπτώματα είναι το σκούρο χρώμα δέρματος και το κολύμπι κοντά στην επιφάνεια του νερού. Ψάρια με αυτά τα κλινικά ευρήματα πέθαναν συνήθως μέσα σε 2-3 ημέρες.

Άλλα κλινικά συμπτώματα που καταγραφονται στο γόνο τσιπούρας και λαβρακιού είναι φλεγμονές στα χείλη και στην κάτω σιαγόνα, καθώς και νεκρωτικά «μπαλώματα» στο δέρμα, στα πλευρά του σώματος και στην περιοχή της ουράς. Πιθανόν να παρατηρηθούν διαβρώσεις στα πτερύγια (κυρίως στα θωρακικά, ραχιαία και ουραία). Σε καμία περίπτωση δεν παρατηρείται αιμορραγική εμφάνιση. Οι διαβρώσεις στο δέρμα και τα πτερύγια καλύπτονται από βλέννη, έτσι οι αλλοιώσεις φαίνονται μέσα στο νερό σαν λευκά μπαλώματα.

Τα βράγχια παρουσιάζουν φλεγμονή με υπερβολική έκκριση βλέννης και συχνά παρατηρούνται νεκρωτικές περιοχές. Το συκώτι είναι συχνά συμφορημένο, ο σπλήνας είναι υπερμεγέθης (σπληνομεγαλία) και ο νεφρός ωχρός και οιδηματώδης.

Στην χρόνια μορφή της ασθένειας τυπικά ψευδοφυμάτια παρουσιάζονται στο παρέγχυμα του σπλήνα ή και του νεφρού. Το έντερο περιέχει μέτριες ποσότητες υδαρούς υγρού. Η νηκτική κύστη δεν είναι διογκωμένη, έτσι η πλειοψηφία των

νεκρών και ημιθανών ψαριών βρίσκονται βυθισμένα στον πυθμένα της δεξαμενής ή του ιχθυοκλωβού.

Διάγνωση

Η διάγνωση τίθεται με τη βοήθεια του ιστορικού, των κλινικών συμπτωμάτων, των νεκροτομικών ευρημάτων, καθώς και με ταχεία διαγνωστικά kit που βασίζονται στη δοκιμή ELISA. Η βλεπτιστη καλλιέργεια του βακτηρίου είναι σε 1.0% – 2.5 % NaCl και θερμοκρασία από 22.5 – 30°C. Η απομόνωση επιτυγχάνεται καλύτερα σε έγχυση με brain heart infusion (BHI) άγαρ με 2% NaCl ή σε άγαρ με αίμα χωρίς πρόσθετο αλάτι.

Είναι μικρότερες από 0.5 mm σε διάμετρο, λευκωπές, ημιδιαφανείς, με ακανόνιστα όρια αν παρατηρηθούν κάτω από ένα στερεοσκόπιο, αρκετά ιξώδεις και προσκολλούνται καλά στην επιφάνεια του θρεπτικού υποστρώματος και είναι καθαρά ορατές μετά από 48 ώρες επώασης στους 27°C.

Η ταυτοποίηση γίνεται είτε βιοχημικά χρησιμοποιώντας τις κλασσικές βιοχημικές δοκιμές ή το σύστημα Biomerieux API-20 E. Αν και το *Ph. damsela* subsp. *piscicida* δεν περιλαμβάνεται στο index του συστήματος API-20 E, αυτό μπορεί να χρησιμοποιηθεί για μια ταχεία διάγνωση της ασθένειας γιατί όλα τα στελέχη του βακτηρίου παρουσιάζουν το χαρακτηριστικό προφίλ 2005004.

Η ορολογική διάγνωση γίνεται με τη βοήθεια οροσυγκόλλησης σε πλάκα ή διαφόρων εμπορικών kits (κυρίως της νορβηγικής εταιρείας Bionor AS) που βασίζονται όχι μόνον σε απευθείας συγκόλληση των βακτηρίων, αλλά επίσης σε δοκιμές ELISA που επιτρέπουν μια ταχεία διάγνωση του βακτηρίου σε ιστούς ψαριών.

Η εφαρμογή ταχέων εξειδικευμένων και ευαίσθητων ορολογικών και μοριακών τεχνολογιών, όπως αυτές που βασίζονται σε ELISA ή PCR είναι θεμελιώδους σημασίας στην περίπτωση της Παστερέλωσης, γιατί έχει αποδειχθεί ότι το παθογόνο μπορεί να μεταδοθεί κάθετα μέσω των σπερματικών και ωοθηκικών υγρών από

φαινομενικά υγιείς γεννήτορες. (Romalde et al. 1999b) καθώς και ότι αυτό το βακτήριο διέρχεται μια έμβια, αλλά μη καλλιεργήσιμη κατάσταση (Magarinos et al. 1994), που κάνει την διάγνωσή του δύσκολη στο περιβάλλον της εκτροφής.

Θεραπεία - Προφύλαξη

Στο εμπόριο υπάρχουν αρκετοί τύποι εμβολίων, αλλά ο εμβολιασμός με εμβάπτιση έχει δείξει μη ικανοποιητικά αποτελέσματα στην πρόληψη της ασθένειας στην πράξη (RPS>45%). Ο ενέσιμος εμβολιασμός δε θεωρείται αναγκαίος γιατί μπορεί να εφαρμοστεί μόνο σε μεγαλύτερα ψάρια, όταν η Παστερέλωση δεν έχει πλέον μεγάλη οικονομική σπουδαιότητα. Στην πράξη όμως διδύναμα εμβόλια για τη Δονακίωση και την Παστερέλωση χρησιμοποιούνται πλέον σε όλο και περισσότερες μονάδες πάχυνσης, κυρίως για το λαβράκι.

Επειδή οι περισσότερες εξάρσεις της Παστερέλωσης παρουσιάζονται από τα νυμφικά στάδια μέχρι τα ιχθύδια των 10 έως 30 γρμ., ένα εμβολιακό πρόγραμμα θα πρέπει να περιλαμβάνει μια εμβάπτιση για ανοσοποίηση στα νυμφικά στάδια και ένα αναμνηστικό εμβολιασμό όταν τα ψάρια φτάσουν το μέγεθος των 1-2 γρμ είναι αναγκαίο.

Στα εκκολαπτήρια, ο εμβολιασμός των γεννητόρων, η χρήση ανοσοενισχυτικών και η χορήγηση βιταμινών συστήνονται. Καλές συνθήκες υγιεινής, απολύμανση της παροχής νερού και μείωση των στρεσογόνων καταστάσεων κατά τη διάρκεια των νυμφικών σταδίων της εκτροφής θα βοηθήσει στον έλεγχο της ασθένειας όπου οι θεραπευτικές επεμβάσεις έχουν περιορισμένη επίδραση.

Καθημερινή χορήγηση αντιβιοτικών αναμιγμένων με την τροφή για 10 μέρες είναι συνήθως αποτελεσματική στο να εξαφανίσει τις θνησιμότητες προσωρινά ((oxytetracycline 100mg/kg σωματικού βάρους ανά ημέρα , flumequine 80mg/kg σωματικού βάρους ανά ημέρα, oxolinic acid 60mg/kg σωματικού βάρους ανά ημέρα και ενισχυμένες σουλφοναμίδες (trimethoprim+sulfadiazine) 70mg/kg σωματικού βάρους ανά ημέρα). Η ασθένεια πάντως επανεμφανίζεται σε λιγότερο από μια εβδομάδα μετά μια φαινομενικά επιτυχή θεραπεία κι έτσι αρκετοί θεραπευτικοί κύκλοι μπορεί να χρειαστούν, χρησιμοποιώντας διαφορετικά θεραπευτικά σχήματα ανάλογα με τα αποτελέσματα του αντιβιογράμματος. Η σημαντικότητα της παρουσίας πολλών μονάδων, όσον αφορά την ενίσχυση της ασθένειας στη θαλάσσια περιοχή, δεν είναι γνωστή. Πάντως, είναι γνωστό ότι οι γειτονικές μονάδες είναι σε κίνδυνο και συνήθως μολύνονται σύντομα η μια από την άλλη, καθώς και ότι αρκετά είδη άγριων ψαριών (π.χ. *Mugil cephalus*, *Liza saliens*) γύρω από τα κλουβιά μολύνονται από την ασθένεια κατά τη διάρκεια μιας έξαρσης, εξαπλώνοντας έτσι το μικρόβιο. Επίσης η ποσότητα και η παρενέργειες των υπολειμμάτων των αντιβιοτικών ή των μεταβολιτών τους που αναπόφευκτα απελευθερώνονται στο νερό, πρέπει να μελετηθούν.

Η θεραπεία με αντιβιοτικά πρέπει να επιλεγεί σύμφωνα με τά αποτέλεσμα του αντιβιογράμματος. Τακτικός έλεγχος της *in vivo* ευαισθησίας του μικροβίου είναι απαραίτητος, ειδικά εάν παρατηρείται αύξηση των καθημερινών θνησιμοτήτων μετά από μια πρόσφατη θεραπεία. Οι συστηματικές προφυλακτικές αντιβιοτικές θεραπείες με λουτρά στις προνύμφες τσιπουρών δεν συστήνονται. Θεραπείες μέσω της ζωντανής τροφής μπορούν να χρησιμοποιηθούν στα μολυσμένα εκκολαπτήρια πριν υποβληθούν τα ψάρια σε στρεσογόνους χειρισμούς (διαλογή ,δοκιμασία επίπλευσης κλπ.).

3.5. Μυξοβακτηρίωση

Μολύνσεις από *Flexibacter maritimus* έχουν γίνει ένα σημαντικό πρόβλημα στην παραγωγή λαβρακιών και τσιπουρών. Άλλα είδη *Flexibacter* και *Cytophaga-like*

βακτήρια (CLB) έχουν παρατηρηθεί σε αυτά τα δύο είδη. Η μελέτη και η ταυτοποίηση αυτών των βακτηρίων δεν είναι εύκολη αλλά τα περισσότερα από αυτά προκαλούν μια παρόμοια παθολογική κατάσταση στα ψάρια γνωστή ως "Μυξοβακτηρίωση". Τα προσβεβλημένα ψάρια, παρουσιάζουν ελκωτικές αλλοιώσεις στο δέρμα, και νεκρωτικές διαβρώσεις στα πτερύγια και την ουρά.

Στα νεαρά παρατηρείται ένα κόκκινο στόμα με αιμορραγίες στις γνάθους που καλύπτονται από ένα παχύ στρώμα κιτρινωπής βλέννας. Σε μερικές περιπτώσεις παρατηρείται εστιακή νέκρωση στα βράγχια μαζί με υπερβολική παραγωγή βλέννας. Νωπά επιχρίσματα από τις διάφορες αλλοιώσεις και τη βλέννα αποκαλύπτουν την παρουσία μακρών βακτηριακών ράβδων που παρουσιάζουν χαρακτηριστική αργή οφιοειδή κίνηση.

Τα μυξοβακτήρια μπορούν επίσης να προκαλέσει σοβαρή συστηματική ασθένεια, ιδιαίτερα σε νεαρές τσιπούρες σύντομα μετά από την μεταφορά τους στην περιοχή πάχυνσης.

Θεραπεία - Προφύλαξη

Τα αντιβιοτικά που παρουσιάζουν *in vitro* ευαισθησία μπορούν να χρησιμοποιηθούν είτε με λουτρό ή από το στόμα. Τακτικές διαλογές για να μειωθεί ο κανιβαλισμός, αποφυγή του stress και των παραγόντων που προκαλούν δερματικά τραυματα, θα μειώσουν τον κίνδυνο μόλυνσης. Εμβόλια έχουν δοκιμαστεί στην Ιαπωνία χωρίς επιτυχία.

3.6. Μυκοβακτηρίωση

Μετά την πρώτη περιγραφή του στο λαβράκι στην Ευρώπη, η παρουσία του *Mycobacterium marinum* σε διαφορετικούς πληθυσμούς αυτού του είδους, στη

περιοχή της Μεσογείου και την Ερυθρά θάλασσα, έχει αυξηθεί, προκαλώντας ανησυχίες σχετικά με το μέλλον της καλλιέργειας του λαβρακιού σε μερικές περιοχές.

Η ασθένεια έχει μία χρόνια πορεία, παραμένει ασυμπτωματική για μια μακριά χρονική περίοδο και μειώνει το ρυθμό αύξησης των μολυνθέντων ψαριών. Εξωτερικά, κανένα κλινικό σημάδι δεν μπορεί να παρατηρηθεί εκτός από μερικές περιπτώσεις. Η παρουσία μικρής εστιακής διάτρησης στη μεμβράνη των πτερυγίων έχει παρατηρηθεί. Εσωτερικά, καμία αλλοίωση δεν ανιχνεύεται στους φορείς ή τα άτομα που είναι στα αρχικά στάδια της μόλυνσης.

Ετσι, η μόνη αποτελεσματική τεχνική διάγνωσης σε αυτά τα ψάρια είναι η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης PCR. Σε προχωρημένα στάδια της μυκοβακτηρίωσης, η σπλήνα γίνεται σκοτεινή και μεγενθύνεται. Αργότερα, λευκά κοκκιώματα εμφανίζονται στο όργανο αυτό. Στο τελευταίο στάδιο της ασθένειας, αυτά τα λευκά κοκκιώματα παρατηρούνται σε όλα τα εσωτερικά όργανα. Σε αυτήν την περίπτωση, η διάγνωση μπορεί να γίνει από ιστολογικές τομές των αλλοιώσεων με χρώση Ziehl-Neelsen και καλλιέργεια σε ειδικά εκλεκτικά μέσα. Η ασθένεια είναι σχεδόν αδύνατο να εκριζωθεί με αντιβιοτικές θεραπείες και καθιστά τα προσβεβλημένα ψάρια μη εμπορεύσιμα.

Θεραπεία – Προφύλαξη

Τα αντιβιοτικά είναι αναποτελεσματικά. Σε μολυσμένες περιοχές ή εάν υποψιαστούμε την ασθένεια, συνιστάται η εξέταση των σπληνών τυχαία επιλεγέντων ψαριών καθώς επίσης καθώς και η καταστροφή ολόκληρων των ιχθυοπληθυσμών, ειδικά γεννητόρων, από τα οποία θετικά ψάρια ανιχνεύονται.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΣΚΕΛΕΤΙΚΕΣ ΔΥΣΜΟΡΦΙΕΣ

4.1. Σκελετικές δυσμορφίες εκτρεφόμενων ιχθύων

Τα προβλήματα των σκελετικών δυσμορφιών ξεκίνησαν για τις ιχθυοκαλλιέργειες της Μεσογείου από το 1970 με 1980 όπου έφερε μεγάλες οικονομικές απώλειες για τις μονάδες παραγωγής λόγω αδύνατης διάθεσης του προϊόντος σε μεγάλα ποσοστά. Η αντιστοίχιση της ποιότητας των εκτρεφόμενων ειδών με τα πρότυπα των άγριων πληθυσμών αποτελεί προαπαιτούμενο για τις υδατοκαλλιέργειες σε οικονομικό, βιολογικό και εμπορικό επίπεδο (Divanach et al.1997).

Σκελετικές δυσμορφίες έχουν βρεθεί σε πολλά είδη εκτρεφόμενων ιχθύων όπως το λαβράκι , η τσιπούρα, η συναγρίδα (*Dentex dentex*), το μυτάκι (*Diplodus puntazzo*), ο σαργός (*Diplodus sargus*) και πολλά άλλα.. Οι σκελετικές δυσμορφίες αναπτύσσονται στα πρώτα αναπτυξιακά στάδια, υπό τη συνεργατική δράση διάφορων γενεσιουργών παραγόντων.

Σκελετική δυσμορφία χαρακτηρίζεται κάθε μη αναστρέψιμη μορφολογική απόκλιση από την καθορισμένη ως φυσιολογική κατάσταση. Τα τελευταία χρόνια μόνο για λίγες σκελετικές δυσμορφίες βρέθηκαν επαρκείς λύσεις αντιμετώπισής τους όπως είναι το πρόβλημα της ανάπτυξης προ-αιματική λόρδωσης εξαιτίας της μη λειτουργικής νηκτικής κύστης που περιορίστηκε με τη χρήση μηχανισμών απομάκρυνσης του ελαιώδους φιλμ από την επιφάνεια των δεξαμενών οπότε οι νύμφες έχουν την δυνατότητα να προσλάβουν έγκαιρα την φυσαλίδα αέρα για την πλήρωση της νηκτικής τους κύστης (Koumoundouros et al. 2002b, Sfakianakis et al. 2003).

Τα προβλήματα των δυσμορφιών αφορούν σε μείωση του ρυθμού σωματικής αύξησης, σε αύξηση της θνησιμότητας και στην παραγωγή προϊόντος που δεν μπορεί να διατεθεί στην αγορά προκαλούν προ-αιματική λόρδωση, μείωση του ρυθμού αύξησης και επιβίωσης, καθώς και αντίστασης στη φυσιολογική καταπόνηση (Chatain 1989, Divanach et al. 1996, Sfakianakis et al. 2006a)

4.1.1. Γενεσιουργοί παράγοντες των Σκελετικών Δυσμορφιών

Οι γενεσιουργοί παράγοντες των σκελετικών δυσμορφιών είναι ποικίλοι. Ο εντοπισμός του δυσχεραίνεται από το γεγονός της κοινής συμπτωματολογίας και της συνεργιστικής δράσης που έχουν στην επαγωγή των παραμορφώσεων. Διακρίνονται σε γενετικούς και επιγενετικούς. Όσοι παράγοντες είναι γενετικής προέλευσης (μεταλλάξεις, υβριδισμός) ή σχετίζονται με τη ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης προκαλώντας προβλήματα στην οργανογένεση και κατ' επέκταση προκαλούν την ανάπτυξη δυσπλασιών συγκαταλέγονται στους γενετικούς.

Οι επιγενετικοί παράγοντες περιλαμβάνουν:

- τους αβιοτικούς, όπως η ένταση του φωτός, το pH, η συγκέντρωση O₂ και CO₂, η αλατότητα, η θερμοκρασία, η ταχύτητα των ρευμάτων στις δεξαμενές εκτροφής,
- τους βιοτικούς, όπου ανήκουν οι διατροφικές ανάγκες του κάθε είδους και σταδίου ανάπτυξης, η πυκνότητα των πληθυσμών, τα μηχανικά τραύματα, οι μολύνσεις από παράσιτα, βακτήρια και ιούς, τα ορμονικά ερεθίσματα, και
- τα διάφορα ξενοβιοτικά-παρασιτοκτόνα, ζιζανιοκτόνα, εντομοκτόνα, βιομηχανικά λύματα και βαρέα μέταλλα.

Γενικά, είναι αποδεκτό πως οι σκελετικές δυσπλασίες επάγονται περιβαλλοντικά με την τροποποίηση των απαραίτητων -για τη διατήρηση της βιοχημικής κατάστασης των οστών-βιολογικών διαδικασιών, ή με νευρομυϊκές επιδράσεις οι οποίες καταλήγουν σε παραμορφώσεις χωρίς τη μεταβολή της σύστασης των οστών. Η πληθώρα των γενεσιουργών αιτιών που έχει αποκαλυφθεί να καθορίζουν την ανάπτυξη των διαφορετικών σκελετικών δυσπλασιών καταδεικνύει την πολυπλοκότητα των φαινομένων (Divanach et al.1996).

4.2. Κρανιακές παραμορφώσεις

4.2.1. Βραγχιακού επικαλύμματος

Οι παραμορφώσεις του βραγχιακού επικαλύμματος έχουν παρατηρηθεί συχνότερα στην τσιπούρα με μεγάλα ποσοστά επηροής του πληθυσμού. Τέσσερις τύποι οστών του σπλαγχοκράνιου είναι υπεύθυνα για τη δημιουργία των παραμορφώσεων:

- i) οι βραγχιοστεγείς ακτίνες,
- ii) το καλυπτρικό οστό,
- iii) το υποκαλυπτρικό και
- iv) το προκαλυπτρικό οστό

Τα οστά αυτά παρουσιάζουν κανονικό ή μικρότερο μέγεθος και συντήχεις ή είναι αναδιπλωμένα ή γυρίζουν προς το εσωτερικό ή εξωτερικό του σώματος (Koumoundouros et al. 1997b, Andrades et al. 1996).

Παράγοντες που ενδέχεται να επηρεάζουν στις δυσπλασίες του βραγχιακού επικαλύμματος μπορεί να είναι οι έντονες μηχανικές κινήσεις για τη σύλληψη της μεγάλου μεγέθους τροφής (ναύπλιοι *Artemia* sp. στο στάδιο Instar II) από τις πολύ μικρές νύμφες, ο υπερ-αερισμός για την κάλυψη των τροφικών αναγκών και τον καθαρισμό των βραγχίων ή με την ανεπάρκεια συγκεκριμένης βιταμίνης (βιταμίνη Α και C) και πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (HUFA n-3)) (Koumoundouros et al. 1997b, Villeneuve et al. 2005a).

Επίσης, η απουσία ή περίσσεια εστέρα της ρετινόλης στην τροφή είχε ως αποτέλεσμα την ανώμαλη ανάπτυξη του βραγχιακού επικαλύμματος στην τσιπούρα. Χαμηλά επίπεδα (0,3%) πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (DHA και EPA) στο φωσφολιπιδικό κλάσμα της β παρεχόμενης τροφής επάγουν την ανάπτυξη ατόμων με προβληματικό βραγχιακό επικάλυμμα. Ο υπερκορεσμός σε αέρια του νερού λόγω της παρουσίας και αύξησης φυσαλίδας αέρα στην στοματική κοιλότητα των νυμφών λίγες μέρες μετά την εκκόλασή τους στο είδος *Salmo gairdneri* παρουσίασαν παραμορφώσεις του βραγχιακού επικαλύμματος (Villeneuve et al. 2005a, Villeneuve et al. 2005b).

Άλλοι παράγοντες που ενδέχεται να παίζουν ρόλο για την παρουσία του βραγχιακού επικαλύμματος είναι οι διακυμάνσεις των νιτρικών και νιτρωδών αλάτων, της αμμωνίας, των φωσφορικών αλάτων, του διοξειδίου του άνθρακα και του pH ,αλλά δεν έχουν γίνει αντίστοιχες μελέτες. Η τροποποίηση του μεταβολισμού ανθρακικών αλάτων/βιταμίνης D που οδηγεί σε αδύναμα οστά όπως και η μειωμένη εναπόθεση ανθρακικών αλάτων μπορεί να επάγει μετατροπή των οστών επιτρέποντας την αναδίπλωσή τους. Η θερμοκρασία ίσως επιδρά έμμεσα με το να τροποποιούνται οι διατροφικές προτιμήσεις των αναπτυσσόμενων ατόμων ανάλογα την εφαρμοζόμενη θερμοκρασία ,η θερμοκρασία του νερού (15 °C) κατά το εμβρυικό και νυμφικό στάδιο έχει σαφή επίδραση στην ανάπτυξη παραμορφώσεων των βραγχιοστεγών ακτινών (Koumoundouros et al.1997b).

4.2.2. Γνάθων

Στις παραμορφώσεις των γνάθων παρουσιάζονται δύο καταστάσεις;

- ι) κοντή κάτω γνάθος (pugheadness)
- ιι) διασταυρώμενο δάγκωμα (cross-bite)

Η δυσμορφία της κοντής κάτω γνάθου επηρεάζει το κρανίο τις 11 γνάθους και τους οφθαλμούς καταλήγοντας σε μείωση του μεγέθους του εμπρόσθιου μέρους του κρανίου και των οστών της άνω γνάθου. Είναι μία συμπίεση του κρανίου και της άνω γνάθου κατά τον προσθοπίσθιο άξονα του σώματος. Το διασταυρώμενο δάγκωμα αφορά στην κάτω γνάθο, η οποία αποκλίνει πλευρικά από το επίπεδο αμφίπλευρης συμμετρίας (Divanach et al. 1996).

Οι παράμετροι που επηρεάζουν τις δυσμορφίες των σιαγόνων είναι κυρίως δυο:

- α) Οι φυσικές παράμετροι και
- β) Η διατροφή.

Στην πρώτη περίπτωση είναι η ακατάλληλη θερμοκρασία εναπόθεσης των αβγών και των νυμφών στο λεκιθοφόρο στάδιο, η αλατότητα, η ένταση του φωτός καθώς και η εισβολή παθογόνων βακτηρίων από τραυματισμένες μεμβράνες της στοματικής κοιλότητας. Οι εντατικές συνθήκες εκτροφής και πιθανοί ρυπαντές ενδέχεται να τροποποιούν τη γονιδιακή έκφραση οδηγώντας στις παραμορφώσεις των σιαγώνων προτείνουν οι Koumoundouros et al. (1997a).

Στην δεύτερη περίπτωση ρόλο παίζουν οι χαμηλές συγκεντρώσεις πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (EPA, DHA) στην παρεχόμενη τροφή, η ανεπάρκεια φωσφολιπιδίων, βιταμίνης C, η απουσία ή η υπερβολική συγκέντρωση βιταμίνης A και των παραγώγων της έχουν διαπιστωθεί πως προκαλούν δυσπλασίες στις νύμφες διαφόρων ειδών (Villeneuve et al. 2005b).

4.3.ΠΑΡΑΜΟΡΦΩΣΕΙΣ ΣΠΟΝΔΥΛΙΚΗΣ ΣΤΗΛΗΣ

4.3.1. Λόρδωση

Η λόρδωση (L) έχει πρωτοπαρατηρηθεί σε νύμφες λαβρακιού και τσιπούρας μήκους 20 mm και χαρακτηρίζεται από την παρουσία νωτοκοιλιακή κάμψη της σπονδυλικής στήλης σχήματος V. Οι σπόνδυλοι που συμμετέχουν στο σχηματισμό της λόρδωσης έχουν τραπεζοειδές σχήμα έναντι του φυσιολογικού τετραγωνισμένου και παρουσιάζουν υπερβολική εναπόθεση αλάτων από τους κανονικούς και οι αλλαγές αυτές χαρακτηρίζονται ως απόκριση στο αυξημένο μηχανικό φορτίο που δέχονται.

Η περίπτωση της λόρδωσης έχει μελετηθεί αρκετά ώστε να κατέχουμε αρκετές πληροφορίες για τον περιορισμό της. Διακρίνεται σε:

- i) προ-αιματική λόρδωση και
- ii) αιματική λόρδωση

Στην προ-αιματική λόρδωση συνήθως εμπλέκονται 2-3 σπόνδυλοι στο σημείο της

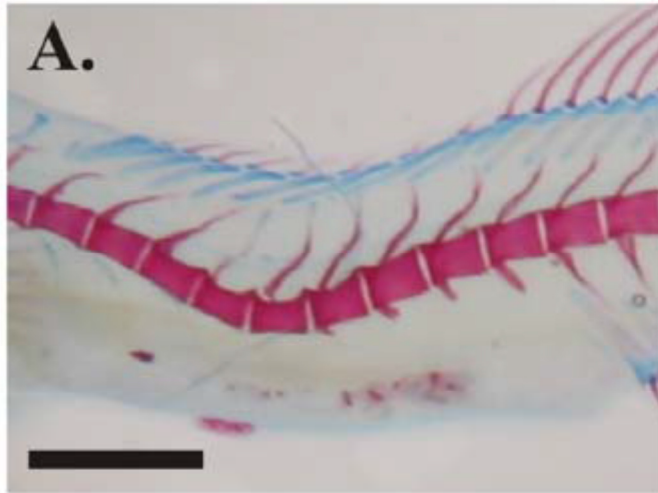
φυσικής κάμψης της σπονδυλικής στήλης.

Ένας από τους παράγοντες της προ-αιματικής λόρδωσης είναι η μη λειτουργική νηκτική κύστη εξαιτίας της μη πλήρωσής της με αέρα αυτό οφείλεται στην περίπτωση αποτυχίας λόγω της δημιουργίας ελαιώδους στρώματος στην επιφάνεια των δεξαμενών από τα προϊόντα του μεταβολισμού της τροφής οπότε είναι αδύνατη η πρόσληψη της φυσαλίδας αέρα, η νηκτική κύστη καθίσταται μη λειτουργική. Τα άτομα με μη λειτουργική νηκτική κύστη αναγκάζονται να κινούνται συνεχώς και σε πρόσθιο-κατακόρυφο προσανατολισμό, προκειμένου να αποφύγουν τη βύθιση με αποτέλεσμα να αναπτύσσεται η λόρδωση στη προ-αιματική περιοχή της σπονδυλικής στήλης. Παράγοντες που συμβάλουν στη μη πλήρωση της νηκτικής κύστης και επομένως έμμεσα στην ανάπτυξη λορδωτικών ατόμων είναι η αλατότητα, η ένταση του φωτός και η φωτοπερίοδος, τα ρεύματα στις δεξαμενές, η θερμοκρασία καθώς και η ευρωστία των νυμφών (Andrades et al. 1996, Chatain 1989).

Άλλος παράγοντας για την ανάπτυξη της προ-αιματικής λόρδωσης είναι η διατροφή. Η ανεπάρκεια ή η απουσία της βιταμίνης C από την παρεχόμενη τροφή διαταράσσει το μεταβολισμό του κολλαγόνου στα οστά προκαλώντας σοβαρές περιπτώσεις τόσο λόρδωσης όσο και σκολίωσης (έχει αποδειχτεί για το λαβράκι) (Dabrowski et al. 1990).

Η αιματική λόρδωση παρατηρείται σε άτομα με λειτουργική νηκτική κύστη όταν υποβάλλονται σε ισχυρά ρεύματα νερού (ταχύτητα μεγαλύτερη από 10cm ανά s) στις δεξαμενές εκτροφής (Divanach et al. 1997).

Πιθανές αιτίες της λόρδωσης γενετικούς παράγοντες, τη σύσταση της λεκίθου, περιβαλλοντικές παραμέτρους όπως θερμοκρασία, φως, ρυπαντές, μολύνσεις, μηχανικό σοκ που θα μπορούσαν να επηρεάσουν είτε του γεννήτορες είτε τα έμβρυα. Η θερμοκρασία του νερού κατά την ανάπτυξη των νυμφών έχει σαφή επίδραση στην δημιουργία και το βαθμό έντασης της αιματικής λόρδωσης αυτό εξηγείται ως αποτέλεσμα της οντογενετικής πλαστικότητας μυών και οστών που επάγεται από τη θερμοκρασία και έχει αποδειχθεί σε πολλά είδη ιχθύων όπως το λαβράκι. Η διατροφή και συγκεκριμένα η ανεπάρκεια βιταμίνης E και σεληνίου Se λόγω της επαγωγής μυοπαθειών θα μπορούσαν να αποτελέσουν γενεσιουργούς παράγοντες της αιματικής λόρδωσης (Andrades et al. 1996, Lopez-Albors et al. 1995).

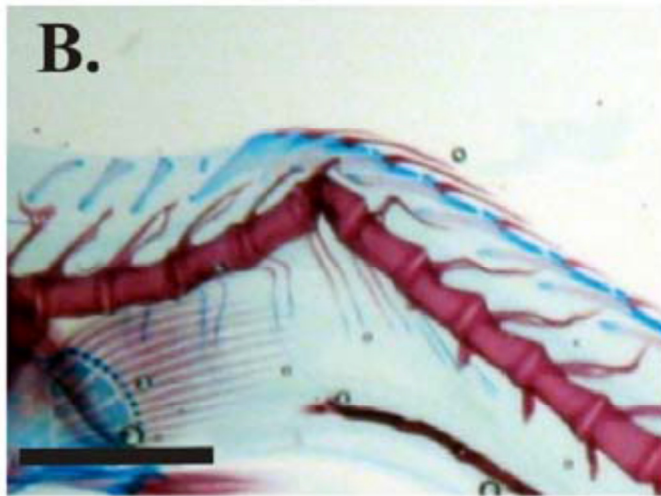


Νύμφη λαβρακιού με λόρδωση. Η κλίμακα ισούται με 1 mm

4.3.2. Κύφωση

Όσον αφορά την κύφωση (Κ) η σπονδυλική στήλη των προβληματικών ατόμων εμφανίζει νωτοκοιλιακή κάμψη σχήματος Λ. Παρατηρείται τόσο στην προ-αιματική ραχιαία της νηκτικής κύστης και συχνά στους σπονδύλους 5 και 6 όσο και στην αιματική περιοχή. Τα κυφωτικά άτομα συμπεριφέρονται ληθαργικά και πως τα ποσοστά εμφάνισης της παραμόρφωσης σε άτομα μεγαλύτερα των 17 mm TL μειώνονται δραματικά λόγω της υψηλής θνησιμότητάς τους. Παράλληλα συσχέτισαν την εμφάνιση της κύφωσης με την παρουσία παραμορφώσεων στις βραγχιοστεγείς ακτίνες (Koumoundouros et al.2002b).

Η ανάπτυξη της κύφωσης συνδέεται με παρασιτισμό από μυξοσπορίδια, διάφορους ρυπαντές αλλά και άγνωστους μέχρις ώρας παράγοντες (Boglione et al.1995, Divanach et al. 1996). Ενώ η πιθανότητα εμπλοκής γενετικών παραγόντων δεν αποκλείεται (Koumoundouros et al. 2002b).



Νύμφη λαβρακιού με κύφωση. Η κλίμακα ισούται με 1 mm.

4.3.3. Σκολίωση

Η σκολίωση (S) αναφέρεται στην πλευρική κάμψη της σπονδυλικής στήλης. Θεωρείται σπάνια παραμόρφωση για εκτρεφόμενους πληθυσμούς. Στην τσιπούρα, η εμφάνιση σκολίωσης έχει αναφερθεί μόνο σε συνδυασμό με λόρδωση και κύφωση. Οι παραμορφώσεις σκελετικών στοιχείων της σπονδυλικής στήλης αναφέρονται σε

α) σύντηξη, μικρότερο μέγεθος, παραμόρφωση ή απουσία των κέντρων,

β) συμπίεση, παραμόρφωση, σπάσιμο, απουσία ή σχηματισμό επιπλέον αιματικών και νευρικών αποφύσεων και τόξων, και

γ) βράχυνση, παραμόρφωση, απουσία ή διαχωρισμό των πλευρών. Η σοβαρότερη περίπτωση της συγκεκριμένης ομάδας παραμορφώσεων είναι η εκτεταμένη σύντηξη σπονδύλων η οποία επιδρά σημαντικά στο σχήμα του σώματος των ατόμων (Divanach et al. 1996).

Η σκολίωση θεωρείται ως μία σπάνια παραμόρφωση στις Μεσογειακές θαλάσσιες υδατοκαλλιέργειες. Σε πείραμα διαφορετικών επιπέδων all-trans εστέρα της ρετινόλης (retinyl acetate) στη χορηγούμενη τροφή βρέθηκαν άτομα με σκολίωση. Η συγκεκριμένη παρατήρηση χρειάζεται περαιτέρω διερεύνηση κατά τους ερευνητές

γιατί δεν βρέθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ των διατροφικών επιπέδων και της εμφάνισης της συγκεκριμένης παραμόρφωσης. Εντούτοις, υψηλά (2,3-4,8%) ή πολύ χαμηλά επίπεδα (0,3%) πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (DHA, EPA) στο φωσφολιπιδικό κλάσμα της παρεχόμενης τροφής επάγουν την ανάπτυξη ατόμων με σκολίωση (Villeneuve et al.2006,Villeneuve et al. 2005a).

4.4. Παραμορφωση Πτερύγιων

Η μη φυσιολογική ανάπτυξη του ουραίου πτερυγίου μελετήθηκε από τους Koumoundouros et al. (1997a) στην τσιπούρα. Περιγράφηκαν δύο περιπτώσεις παραμορφωμένου ουραίου πτερυγίου, του διπλού πτερυγίου και του πτερυγίου με πλάγια κάμψη. Το διπλό πτερύγιο χαρακτηρίζεται από το σχηματισμό επιπλέον ραχιαίων κύριων ακτινών που αρθρώνονται σε επιπλέον μικρά και επίπεδα επουραία οστά. Τα παραπάνω επουραία οστά εδράζονται μεταξύ του τελευταίου υποουραίου ή της νωτοχορδής και του τελευταίου κανονικού επουραίου οστού. Το δεύτερο ουραίο πτερύγιο αναπτύσσεται ραχιαία του κανονικού.

Η πλάγια κάμψη του ουραίου πτερυγίου οφείλεται στην παραμόρφωση και σύντηξη των υποουραίων οστών. Αξιοσημείωτο είναι ότι και οι δυο τύποι δυσπλασιών συνοδεύονταν από εκτεταμένες παραμορφώσεις όλων των εσωτερικών στηρικτικών στοιχείων του ουραίου πτερυγίου. Ο όρος «σύνδρομο saddleback» χρησιμοποιείται για να περιγράψει την έλλειψη ενός τμήματος ή και ολόκληρου του ραχιαίου πτερυγίου. Η μερική ανάπτυξη του ραχιαίου ή του εδρικού πτερυγίου αποτελεί μία από τις σοβαρότερες παραμορφώσεις των συγκεκριμένων πτερυγίων. Έχει αναφερθεί σε είδη όπως η τσιπούρα, το λαβράκι αλλά και η συναγρίδα. Στη συναγρίδα (*Dentex dentex*) και το λαβράκι η ατελής ανάπτυξη του ραχιαίου πτερυγίου ξεκινάει σε πρώιμο νυμφικό στάδιο κατά το οποίο ήδη γίνονται εμφανείς οι ανωμαλίες τόσο στο σχήμα και όσο και τον αριθμό των αντίστοιχων εγγύς πτερυγιοφόρων οστών. Στα προηγούμενα είδη ιχθύων το σύνδρομο saddleback σαφώς σχετίζεται με σοβαρές παραμορφώσεις του ουραίου πτερυγίου (που εκφράζονται κυρίως ως έλλειψη άνω λεπιδιοτριχίων και δερματοτριχίων). Οι δύο αυτές ομάδες παραμορφώσεων

οφείλονται σε ανωμαλίες της πρωτογενούς περιφερειακής πτερυγιοπτυχής και της κάμψης του οπίσθιου τμήματος της νωτοχορδής κατά το σχηματισμό του ουραίου πτερυγίου (flexion stage) (Koumoundouros et al. 2001b).

Στο λαβράκι τα αδημοσίευτα στοιχεία υποδεικνύουν πως το σύνδρομο saddleback εμφανίζει τα ίδια μορφο-ανατομικά πρόδρομα στάδια. Εντούτοις, χωρίς να συνδέεται με παραμορφώσεις της νωτοχορδής ή του ουραίου πτερυγίου. Η παραμόρφωση συνέπιπτε με προ-αιματική κύφωση και αιματική λόρδωση χωρίς όμως ταυτόχρονη έλλειψη οποιουδήποτε σκελετικού στοιχείου του ραχιαίου πτερυγίου. Στο εδρικό πτερύγιο έχουν αναφερθεί ολική ή μερική έλλειψη σκελετικών στοιχείων. Εντούτοις, οι δυσπλασίες των εσωτερικών στηρικτικών οστών είναι πολύ συχνές χωρίς απαραίτητα να σχετίζονται με σοβαρές παραμορφώσεις μακροσκοπικά (Divanach et al. 1996).

Υπάρχουν δύο υποθέσεις για την δημιουργία δυσπλασιών του ουραίου πτερυγίου στην τσιπούρα που αναπτύχθηκαν από τους Koumoundouros et al.(2001a). Η πρώτη αναφέρεται στις συνθήκες εκτροφής και σε πιθανούς ρυπαντές στο νερό ή σε τροποποιημένα συστατικά της τροφής που ενδέχεται να μεταβάλουν την έκφραση ομοιοτικών γονιδίων της ουράς. Η δεύτερη υπόθεση σχετίζεται με το γεγονός πως η εκτατική μέθοδος θα μπορούσε να ασκεί μεγαλύτερη επιλεκτική πίεση, από ότι η εντατική, σε παραμορφώσεις ανατομικών στοιχείων σημαντικών για κρίσιμες λειτουργίες, όπως η κολύμβηση.

Πρόσφατα οι Sfakianakis et al. (2004) κατέδειξαν την επίδραση της θερμοκρασίας στην ανάπτυξη παραμορφώσεων στα στηρικτικά στοιχεία του ουραίου πτερυγίου που αφορούσαν στις αιματικές και νευρικές αποφύσεις των δύο προουραίων σπονδύλων στο είδος *Pagellus erythrinus*. Ως γενεσιουργούς παράγοντες του συνδρόμου saddleback που αναπτύσσεται στο ραχιαίο πτερύγιο οι Sfakianakis et al. (2003) προτείνουν την ανεπάρκεια βιταμινών C, E και του σεληνίου (Se).

Βιβλιογραφία

1. Andrades J. A., Becerra J. and Fernandez-Llebrez P. (1996). Skeletal deformities in larval, juvenile and adult stages of cultured gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.). *Aquaculture* 141: 1-11.
2. Alicia E. ToranzoT, Beatriz Magarin~os, Jesu´ s L. Romalde. (2004). A review of the main bacterial fish diseases in mariculture systems. *Aquaculture* 246 (2005) 37– 61.
3. Ahmad A. Elkamel (2002): PATHOGENIC MECHANISMS OF PHOTOBACTERIUM DAMSELAE SUBSPECIES PISCICIDA IN HYBRID STRIPED BASS.B.V. Sc., Assiut University, 1993.
4. Barnabe1987,<http://eurekamag.com/research/037/263/large-scale-cage-rearing-of-the-european-sea-bass-dicentrarchus-labrax-l-in-tropical-waters.php>
5. Boglione C., Marino G., Fusari A., Ferreri F., Finoia M. G. and Cataudella S. (1995). Skeletal anomalies in *Dicentrarchus labrax* juveniles selected for functional swimbladder. *ICES Mar Sci Symp* 201: 163-169.
6. Chatain B. (1989). Problems related to the lack of functional swimbladder in intensive rearing of *Dicentrarchus labrax* and *Sparus auratus*. In: *Advances in tropical aquaculture*, Tahiti, Febr. 20- March 4, 1989. Aquacop. IFREMER. Actes de colloque 9: 699-709.
7. Divanach P., Papandroulakis N., Anastasiadis P., Koumoundouros G. and Kentouri M. (1997). Effect of water currents on the development of skeletal deformities in sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) with functional swimbladder during postlarval and nursery phase. *Aquaculture* 156: 145-155.
8. H. AVCI1*, S. BIRINCIOĞLU1, E. T. EPIKMEN1, M. DERELI1. Comparative histopathological and immunohistochemical evaluations in juvenile sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and gilthead sea bream (*Sparus aurata*) naturally infected with *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida*.

9. Koumoundouros G., Gagliardi F., Divanach P., Boglione C., Cataudella S. and Kentouri M. (1997a). Normal and abnormal osteological development of caudal fin in *Sparus aurata* L. fry. *Aquaculture* 149: 215-226.
10. Koumoundouros G., Oran G., Divanach P., Stefanakis S. and Kentouri M. (1997b). The opercular complex deformity in intensive gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) larviculture. Moment of apparition and description. *Aquaculture* 156: 165-177.
11. Koumoundouros G., Divanach P. and Kentouri M. (2001a). The effect of rearing conditions on development of saddleback syndrome and caudal fin deformities in *Dentex dentex* (L.). *Aquaculture* 200: 285-304.
12. Koumoundouros G., Divanach P. and Kentouri M. (2001b). Osteological development of *Dentex dentex* (Osteichthyes: Sparidae): dorsal, anal, paired fins and squamation. *Mar Biol* 138: 399-406.
13. Koumoundouros G., Maingot E., Divanach P. and Kentouri M. (2002b). Kyphosi in reared sea bass: ontogeny and effects on mortality. *Aquaculture* 209: 49-58.
14. Sfakianakis D. G., Koumoundouros G., Divanach P. and Kentouri M. (2004). Osteological development of the vertebral column and of the fins of *Pagellus erythrinus* (L. 1758). Temperature effect on the developmental plasticity and morpho-anatomical abnormalities. *Aquaculture* 232: 407-424.
15. Sfakianakis D. G., Georgakopoulou E., Papadakis I., Divanach P., Kentouri M. and Koumoundouros G. (2006a). Environmental determinants of haemal lordosis in European sea bass, *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758). *Aquaculture* 254: 54–64.
16. Villeneuve L., Gisbert E., Le Delliou H., Cahu C. L., and Zambonino-Infante J. L. (2005a). Dietary levels of all-trans retinol affect retinoid nuclear receptor expression and skeletal development in European sea bass larvae. *B J N* 93: 791-801.
17. Villeneuve L., Gisbert E., Zambonino-Infante J. L., Quazuguel P. and Cahu C. L. (2005b). Effect of nature of dietary lipids on European sea bass morphogenesis: implication of retinoid receptors. *B J N* 94: 877-884.

18. Villeneuve L., Gisbert E., Moriceau J., Cahu C. L. and Zambonino-Infante J. L. (2006). Intake of high levels of vitamin A and polyunsaturated fatty acids during different developmental periods modifies the expression of morphogenesis genes in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *B J N* 1-12.

1. Κεντούρη Μ., 2010β. «Υδατοκαλλιέργειες: Παγκόσμια πρακτική και αποδόσεις», Πανεπιστήμιο Κρήτης, τμήμα Βιολογίας, Κρήτη.
2. Κλαδάς Γ., 2006. «Παραγωγή ιχθυδίων θαλασσινών ειδών». Σημειώσεις Μαθήματος. Ηγουμενίτσα.

