

# Μελέτη παθολογικών προβλημάτων του μεσογειακού είδους μυλοκόπι *Umbrina cirrosa* (Linnaeus, 1758) σε μονάδα εντατικής εκτροφής στην περιοχή του Διαύλου Ωρεών: προκαταρκτικά αποτελέσματα

Ευγενία Γουρζιώτη<sup>1</sup>, Μάρκος Ν. Κολύγας<sup>1</sup>, Μαρία Μαντέ<sup>1</sup>, Φωτεινή Αθανασοπούλου<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Εργαστήριο Ιχθυολογίας και Ιχθυοπαθολογίας, Τμήμα Κτηνιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Τρικάλων 224, 43100, Καρδίτσα, e-mail: jennygour@hotmail.co.uk

## ABSTRACT

**Evgenia Gourzioti, Markos N. Kolygas, Maria Mante, Fotini Athanassopoulou: Study of pathological problems of Mediterranean species of shi drum *Umbrina cirrosa* (Linnaeus, 1758) in an aquaculture farm placed in Channel Oreos.**

Nowadays, aquaculture industry in the Mediterranean region has started to invest in fish species, like shi drum *Umbrina cirrosa* (Linnaeus, 1758). For shi drum, there are not many available data, especially about their health disorders and pathology. In this study four seasonal samplings were performed on 40 sampled farmed shi drum. All samples were subjected to macroscopic, microscopic, microbiological and histopathological examination. Samples of kidney and spleen were inoculated on tryptic soy agar (TSA) and thiosulphate citrate bile salt agar (TCBS) and from skin and gills on *Flexibacter maritimus* medium (FMM) and Marine Agar (MA). The results showed the presence of the bacterium *Tenacibaculum maritimum* on the skin of shi drum and the presence of *Listonella (Vibrio) anguillarum* in the kidney. A secondary infection of the gills from monogenea parasites, *Furnestinia* sp. and *Diplectanum* sp. was also observed.

**Keywords:** *Umbrina cirrosa*, *Tenacibaculum maritimum*, *Listonella anguillarum*, monogenea parasites

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το μυλοκόπι (*Umbrina cirrosa*) αποτελεί ένα νεοκτρεφόμενο μεσογειακό είδος ιχθύος. Γίνονται προσπάθειες για την αποτελεσματική εντατική εκτροφή του (Ballarin *et al.* 2004). Ωστόσο, ο αριθμός των μελετών σχετικά με την παθολογία του είναι πολύ περιορισμένος. Σκοπός της έρευνας αυτής ήταν η διερεύνηση των παθολογικών προβλημάτων που αντιμετωπίζουν τα εκτρεφόμενα ψάρια του είδους αυτού. Η έρευνα αυτή διήρκησε ένα έτος.

## ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

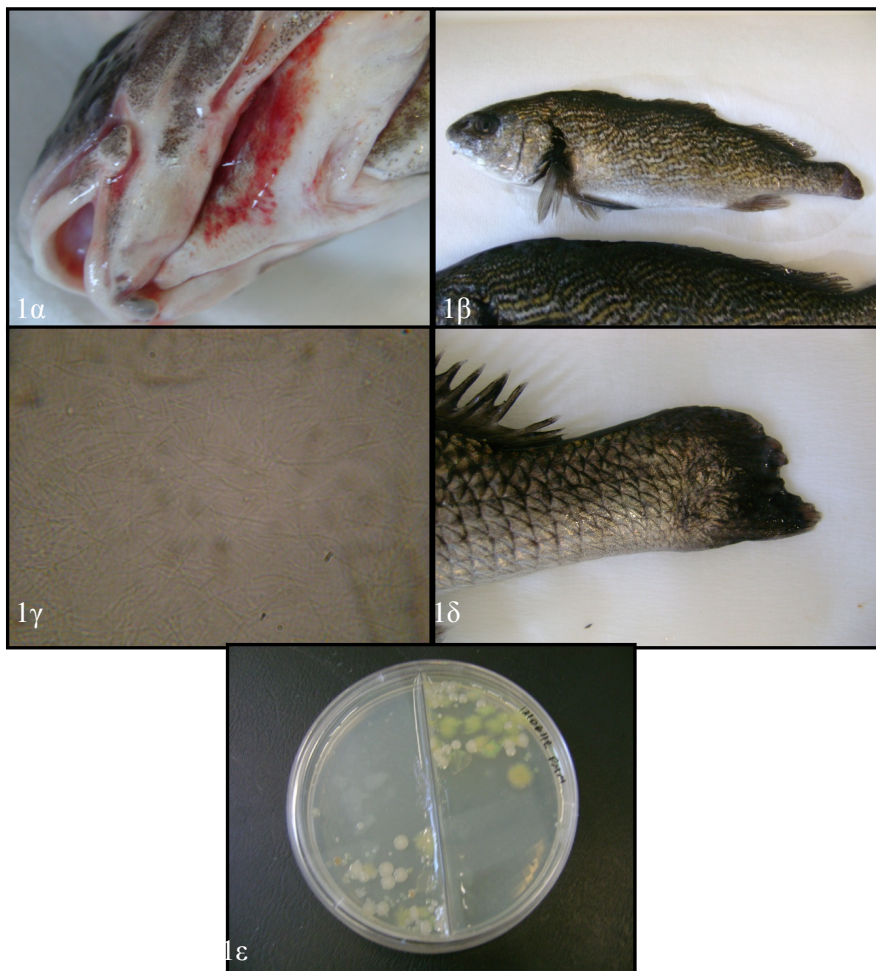
Πραγματοποιήθηκαν τέσσερις δειγματοληψίες σε ιχθυοκαλλιέργεια στην περιοχή του Διαύλου Ωρεών. Συνολικά εξετάστηκαν 40 μυλοκόπια, βάρους 200-400 g. Οι δειγματοληψίες πραγματοποιήθηκαν καθ' όλη την διάρκεια του έτους, με έμφαση την περίοδο όπου διαπιστώθηκε αυξημένη θνησιμότητα. Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων δεν ήταν δυνατή λόγω του μικρού αριθμού δειγμάτων αλλά και της φύσης της εργασίας (περιγραφή και καταγραφή).

Όλες οι εργαστηριακές εξετάσεις: μακροσκοπική, νεκροτομική, μικροβιολογική, παρασιτολογική και ιστοπαθολογική, πραγματοποιήθηκαν στο εργαστήριο Ιχθυολογίας – Ιχθυοπαθολογίας, στο Τμήμα Κτηνιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας. Δείγματα νεφρού και σπλήνα ενοφθαλμίστηκαν σε tryptone soy agar (TSA) και thiosulphate citrate bile salt agar (TCBS), ενώ δείγματα από δέρμα και βράγχια σε *Flexibacter maritimus* medium (FMM) και Marine Agar (MA). Η επώαση έγινε σε 19°C, και για τα τέσσερα θρεπτικά υποστρώματα. Η παρασιτολογική εξέταση πραγματοποιήθηκε με την παρατήρηση νωπών παρασκευασμάτων από βράγχια, δέρμα και εσωτερικά όργανα (μέθοδος Αθανασοπούλου 1990, Roberts 1989). Για την ιστοπαθολογική εξέταση οι ιστοί μονιμοποιήθηκαν με ρυθμιστικό διάλυμα φορμόλης 10%.

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Κατά την μακροσκοπική και νεκροτομική εξέταση διαπιστώθηκαν ιχθύες με εικόνα καχεξίας. Επιπλέον, παρατηρήθηκαν αιμορραγικές αλλοιώσεις στο δέρμα και στις γνάθους (Εικ. 1α) καθώς και η ύπαρξη διαβρωμένων και σε ορισμένες περιπτώσεις νεκρωμένων ουραίων πτερύγων (Εικ. 1β,1δ). Το έντερο εμφάνισε εικόνα εντερίτιδας με ορώδες κίτρινο περιεχόμενο, σε ένα μεγάλο αριθμό ιχθύων από κάθε δειγματοληψία.

Όσον αφορά τα αποτελέσματα των μικροβιολογικών εξετάσεων, μετά από επώαση 3 ημερών, στο FMM θρεπτικό υπόστρωμα αναπτύχθηκαν αποικίες υποκίτρινες με άνισες προεκτάσεις (Εικ. 1ε), ενώ στο Μ.Α αποικίες στρογγυλές, κίτρινες και ημιδιαφανείς. Πρόκειται για αποικίες μυξοβακτηρίων με μορφολογία παρόμοια με αυτή που περιγράφεται βιβλιογραφικά (Pazos *et al.* 1996) και οι οποίες αντιστοιχούσαν στο βακτήριο *Tenacibaculum maritimum*, υπεύθυνο μικροβιακό παράγοντα πρόκλησης της Μυξοβακτηριδίασης στους ιχθύες. Κατά την μικροσκοπική εξέταση παρασκευασμάτων από ξέσματα δέρματος με Gram χρώση παρατηρήθηκαν Gram (-), λεπτοί επιμήκεις βάκιλοι χαρακτηριστικοί επίσης του *Tenacibaculum maritimum* (Εικ. 1γ).



Εικ. 1: α) Αιμορραγικές αλλοιώσεις στην περιοχή των γνάθων κατά τη μακροσκοπική εξέταση. β) Μυλοκόπι κατά την μακροσκοπική εξέταση. γ) Λεπτοί επιμήκεις βάκιλοι *Tenacibaculum maritimum* σε νοπό επίχρισμα (μεγέθυνση X 1000). δ) Διάβρωση του ουραίου πτερυγίου. ε) Αποικίες *Tenacibaculum maritimum* κίτρινου χρώματος από το δέρμα σε θρεπτικό υπόστρωμα FMM.

Fig 1: α) Hemorrhagic lesions in the jaw area, during macroscopic examination. β) Shi drum during macroscopic examination. γ) Long filamentous bacteria *Tenacibaculum maritimum* in smears (magnification X 1000). δ) Fray of the caudal fin. ε) Yellow colonies of *Tenacibaculum maritimum*, from the skin on FMM agar.

Μετά την επώαση σε θρεπτικά υποστρώματα TSA και TCBS δειγμάτων από το νεφρό και το σπλήνα διαπιστώθηκε η ανάπτυξη αποικιών του *Listonella (Vibrio) anguillarum*, που ταυτοποιήθηκε βιοχημικά με την εκτέλεση του API 20E. Η απομόνωση του *Listonella anguillarum* από το μυλοκόπι έγινε για πρώτη φορά (Πίνακας I).

**Πίνακας I: Προσβολή από τα βακτήρια *Tenacibaculum maritimum* και *Listonella (Vibrio) anguillarum* με βάση την εποχικότητα.**

**Table I: Infection of the Shi drum, by the bacteria *Tenacibaculum maritimum* and *Listonella (Vibrio) anguillarum* according to seasonality.**

ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΕΣ	ΠΑΡΟΥΣΙΑ <i>Tenacibaculum maritimum</i>	ΠΑΡΟΥΣΙΑ <i>Listonella (Vibrio) anguillarum</i>	ΣΥΝΟΛΟ ΙΧΘΥΩΝ
1 <sup>η</sup> ΑΝΟΙΞΗ (14-15°C)	4	1	10
2 <sup>η</sup> ΚΑΛΟΚΑΙΡΙ (17-18°C)	5	2	10
3 <sup>η</sup> ΦΘΙΝΟΠΩΡΟ (19-20°C)	7	0	10
4 <sup>η</sup> ΧΕΙΜΩΝΑΣ (12-14°C)	1	1	10

Το *Tenacibaculum maritimum* απομονώθηκε στο μυλοκόπι με μεγαλύτερο ποσοστό προσβολής το Φθινόπωρο, όπου και εντοπίστηκαν οι υψηλότερες θερμοκρασίες στο θαλασσινό νερό (Pazos *et al.* 1996). Κατά την θερινή περίοδο διαπιστώθηκε επίσης μια μικρή αύξηση της θνησιμότητας από την άνοιξη, προς την αρχή του καλοκαιριού. Το γεγονός αυτό συνέπεσε με την παράλληλη ανάπτυξη αποικιών από *Listonella anguillarum*.

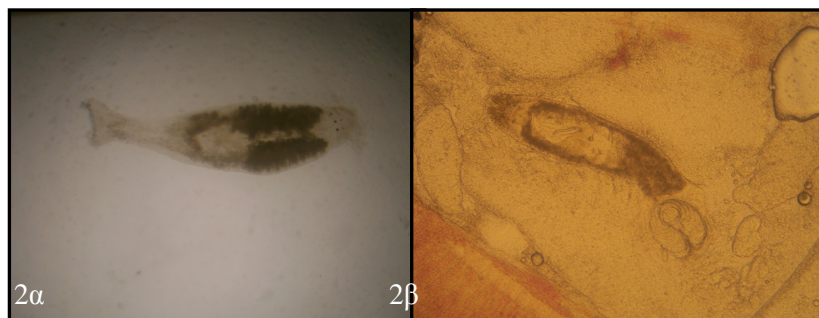
Κατά την μικροσκοπική παρατήρηση των νωπών παρασκευασμάτων από ξέσματα βραγχίων, παρατηρήθηκαν τα Μονογενή παράσιτα, *Furnestinia* sp. και *Diplectanum* sp. Όσον αφορά την προσβολή από τα μονογενή παράσιτα αποκαλύφθηκε ότι η προσβολή ήταν πιο έντονη στη δεύτερη δειγματοληψία δηλαδή, κατά την θερινή περίοδο (Πίνακας II).

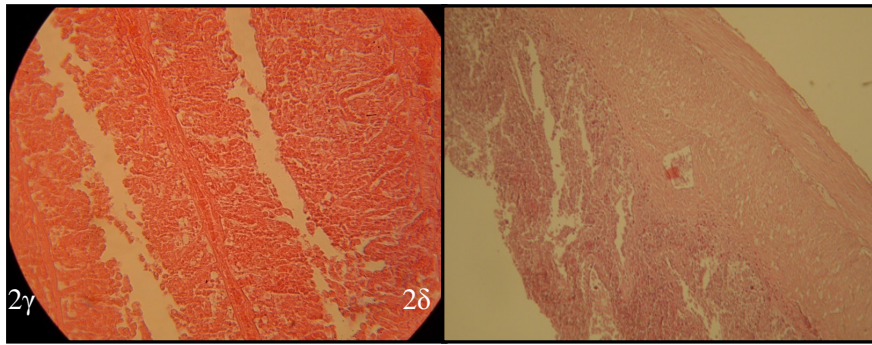
**Πίνακας II: Προσβολή από τα παράσιτα *Furnestinia* sp. και *Diplectanum* sp. με βάση την εποχικότητα.**

**Table II: Infection of the parasites *Furnestinia* sp. and *Diplectanum* sp. according to seasonality.**

ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΕΣ	ΠΑΡΟΥΣΙΑ <i>Furnestinia</i> sp.	ΠΑΡΟΥΣΙΑ <i>Diplectanum</i> sp.	ΣΥΝΟΛΟ ΙΧΘΥΩΝ
1 <sup>η</sup> ΑΝΟΙΞΗ (14-15°C)	2	0	10
2 <sup>η</sup> ΚΑΛΟΚΑΙΡΙ (17-18°C)	2	1	10
3 <sup>η</sup> ΦΘΙΝΟΠΩΡΟ (19-20°C)	0	1	10
4 <sup>η</sup> ΧΕΙΜΩΝΑΣ (12-14°C)	0	0	10

Η ανεύρεση των μονογενών παρασίτων *Diplectanum* sp. και *Furnestinia* sp. στο μυλοκόπι (Εικ. 2α, 2β) θα μπορούσε να συνδυαστεί με την υπερπλασία των βραγχίων η οποία εντοπίστηκε με την ιστοπαθολογική εξέταση (Εικ. 2γ). Στο έντερο διαπιστώθηκε επίσης απόπτωση των εντερικών λαχνών και του βλεννογόνου, συγκόλληση των εντερικών λαχνών, υπεραιμία του εντέρου και εντερίτιδα (Εικ 2δ). Η ύπαρξη του *Listonella anguillarum* το οποίο θα μπορούσε να αποικήσει το βλεννογόνο του εντέρου και να προκαλέσει την εκδήλωση φλεγμονής (Frans *et al.* 2011) θα μπορούσε επίσης να συνδέεται με την καταρροϊκή εντερίτιδα η οποία αποκαλύφθηκε με τις μακροσκοπικές και ιστοπαθολογικές εξετάσεις του εντέρου.





Εικ. 2: α) *Diplectanum* sp. σε νωπά παρασκευάσματα βραγχίων, X 400. β) *Furnestinia* sp. σε νωπά παρασκευάσματα βραγχίων X 400. γ) Ιστολογική τομή, υπερπλασία βραγχίων, αιματοξυλίνη-ηωσίνη X 100. δ) Ιστολογική τομή εντέρου με απόπτωση και συγκόλληση των εντερικών λαχνών και του εντερικού βλεννογόνου, υπεραϊμία και φλεγμονή του εντέρου, αιματοξυλίνη-ηωσίνη X 100.  
 Fig. 2: α) *Diplectanum* sp. in gill smears X 400. β) *Furnestinia* sp. in gill smears X 400. γ) Histological section, hyperplasia of the gills, HE X 100. δ) Histological section of intestine, atropsis and adhesion of the intestinal villi and the intestinal mucosa, hyperemia and inflammation of the intestine, HE X 100.

Εν κατακλείδι, τα αποτελέσματα της διαγνωστικής εργαστηριακής διερεύνησης των ιχθύων μυλοκοπίου κατέδειξαν την ύπαρξη Μυξοβακτηρίων στο δέρμα, την προσβολή από παρασιτικούς οργανισμούς στα βράγχια και την επιμόλυνση του νεφρού από τον βακτηριακό παράγοντα *Listonella anguillarum*. Επιπλέον καταδείχτηκε ότι το μυλοκόπι, κάτω από συνθήκες αιχμαλωσίας ήταν επιρρεπές σε βακτήρια και παρασιτικούς οργανισμούς, τα οποία κατά καιρούς έχουν απασχολήσει την Ελληνική ιχθυοκαλλιέργεια. Απαραίτητη επομένως κρίνεται η διεξοδική έρευνα σχετικά με την διερεύνηση της παθολογίας των νέων ειδών που μπαίνουν στις μονάδες εκτροφής. Με αυτό τον τρόπο θα προσδιοριστούν οι παθογόνοι παράγοντες του κάθε είδους, διευκολύνοντας κάθε προσπάθεια εκτροφής τους.

Η παρούσα έρευνα έχει συγχρηματοδοτηθεί από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο - ΕΚΤ) και από εθνικούς πόρους μέσω του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση» του Εθνικού Στρατηγικού Πλαισίου Αναφοράς (ΕΣΠΑ) – Ερευνητικό Χρηματοδοτούμενο Έργο: Ηράκλειτος ΙΙ. Επένδυση στην κοινωνία της γνώσης μέσω του Ευρωπαϊκού Κοινωνικού Ταμείου.



## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Athanassopoulou F (1990). A study of the Myxosporean infections of *R. rutilus* L. with special reference to *Myxidium rhodei* Leger, 1905 in the renal tissue. Ph.D. Thesis, University of Stirling, Stirling
- Ballarin L, Dall'Oro M, Bertotto D, Libertini A, Francescon A, Barbaro A (2004). Haematological parameters in *Umbrina cirrosa* (Teleostei, Sciaenidae): a comparison between diploid and triploid specimens. *Comparative Biochemistry and Physiology* 138: 45-51
- Frans I, Michiels CW, Bossier P, Willems KA, Lievens B, Rediers H (2011). *Vibrio anguillarum* as a fish pathogen: virulence factors, diagnosis and prevention. *Journal of Fish Diseases* 34(9): 643–661
- Pazos, F, Santos, Y, Macias, AR, Nuñez, S, Toranzo, AE (1996) Evaluation of media for the successful culture of *Flexibacter maritimus*. *Journal of Fish Diseases* 19: 193–197
- Roberts RJ (1989). *Fish pathology*. 2<sup>nd</sup> edn., Bailliere, Tindall, London