

REZUMAT

Cuvinte cheie: salmonide, parazitoze, lacuri montane

Acvacultura este sectorul cu cea mai rapidă dezvoltare dintre biotehnologiile producătoare de alimente. Pentru România există un potențial bioproductiv care a cunoscut în ultimile decade o dezvoltare intensă. Din acest motiv am ales ca studiu de caz în teza de doctorat lacul Izvoru-Muntelui Bicz, pe acesta a fost brevetat și implementat în anii '80, sistemul de creștere intensivă a păstrăvului în viviere flotabile, sistem utilizat ulterior și pe lacul Brădișor Vâlcea. Odată cu dezvoltarea acvaculturii în viviere flotabile, pe lacurile de acumulare montane din România, în condiții de densitate ridicată, au apărut o serie de aspecte legate de patologie cu implicații economice.

În ferma salmonicolă flotabilă Potoci, în deceniul trecut, au fost diagnosticate boli parazitare cu evoluție sporadică sau enzootică și anume 7 protozooze, 1 monogenoidoză și 2 crustaceoze. De aceea am considerat necesar un studiu privind aspectele morfoclinice de diagnostic și de tratament actualizat. În aceste condiții prin lucrarea de față am abordat următoarele aspecte:

- aprecieri asupra calității factorilor abiotici și biotici ai lacului Bicz în vederea corelării acestora cu evoluția parazitozelor păstrăvului crescut intensiv;
- determinarea calitativă a ihtiofaunei, pe de o parte pentru aprecierea gradului de sănătate a diferitelor grupe de pești, în relația lor cu mediul și ciclurile de dezvoltare parazitare, iar pe de altă parte pentru a determina compoziția la zi a ihtiofaunei;
- aprecierea evoluției parazitozelor la păstrăvul crescut în viviere flotabile în dinamica ultimilor decenii, odată cu apariția unor noi ferme flotabile pe lacul Bicz, ca urmare a aplicării brevetului de invenție nr. 123419/1986 (Miron I. și colab., 1988).
- descrierea entităților parazitare și micotice care au evoluat în ferma salmonicolă în perioada 2008 - 2012.
- realizarea unei scheme de management terapeutic al parazitozelor și micozelor care au evoluat la păstrăvul crescut intensiv în viviere flotabile în lacul Bicz.

Pentru a înțelege și analiza evoluția entităților patologice s-a utilizat ca și cadru de lucru schema propusă de Kinkelin și Ghittino (1985) care arată succesiunea, interacțiunile și efectele cauzelor naturale și a celor induse de biotehologia de creștere, asupra evoluției bolilor la pești. Deasemeni s-a urmărit și schema propusă de Balbir (1989), sub aspectul importanței

microclimatului, prin componentele sale biotice (ihtiofaună) și abiotice (factori fizico-chimici ai apei) în apariția și evoluția stării de boală.

Lucrarea a fost structurată în două părți:

Partea I cuprinde studii bibliografice privind caracteristicile limnofizice, limnobiologice ale ecosistemului acvatic luat în studiu (Lacul Izvoru-Muntelui Bicaz), asupra patologiei parazitare/micotice a salmonidelor crescute intensiv în viviere flotabile și se întinde pe 61 de pagini cu 19 imagini și 2 tabele.

Partea II se întinde pe 120 de pagini ce cuprind 98 de imagini /17 tabele și a fost structurată în 4 capitole după cum urmează:

În **Capitolul VI** s-a realizat studiul **Importanței modificărilor de microclimat în creșterea și patologia salmonidelor** ca expresie a triumviratului agent patogen, gazdă și microclimat. Rezultă o interferență multifactorială care a fost aprofundată pentru a putea controla sistemele de creștere dirijată. Din acest motiv, pentru a ajunge la caracterizarea stării de boală a efectivelor de salmonide, s-a procedat la identificarea și analiza componentelor abiotice ale mediului acvatic.

Monitorizarea parametrilor fizico-chimici ai apei lacului Bicaz a urmărit stabilirea perioadelor în care apar influențe negative asupra stării de sănătate a salmonidelor, precum și corelarea variațiilor climatice sezoniere cu incidența bolilor parazitare și micotice. În acest scop s-au efectuat 61 de expediții, pentru prelevări de probe, în care s-a utilizat sistemul de monitorizare **Environmental monitoring system 6600 V2, Multiparameter Water Quality Sonde YSI 2**, aprobat și utilizat de laboratoare internaționale de expertiză a calității apei.

Din analiza rezultatelor se disting trei perioade importante în creșterea păstrăvului și anume: **perioada I**-ce cuprinde lunile de vară când temperatura crescută a apei din orizonturile de suprafață favorizează dezvoltarea unor grupe de bacterii, protozoare, helminți, artropode parazite și muceci, astfel patologia parazitara fiind întâlnită cu o incidență maximă, unde temperatura este maximă; **perioada a II-a** de toamnă-iarnă este etapa în care scăderea temperaturii apei duce la diminuarea cazurilor de boală; **perioada a III-a** cuprinde homotermia de toamnă și de primăvară cu uniformizarea calităților fizico-chimice în toată masa apei, datorită amestecului apei din hipolimnion cu cea din epilimnion. Aceste procese îmbogățesc în nutrienți întreaga masă a apei și favorizează dezvoltarea paraziților odată cu explozia zooplanctonului începând cu luna mai.

Analizând gradul de oxigenare al apei lacului și valoarea pH-ului constatăm un nivel în limitele normale dezvoltării păstrăvului, la toate orizonturile de adâncime.

Existența unei cantități de oxigen suficiente speciei în toate orizonturile și temperatura extremă de pe perioada verii din epilimnion (strat superficial) sugerează ideea biomanipulării prin

coborârea peștilor în orizonturi profunde, fără ca aceștia să trăiască în condiții de hipoxie și anoxie, limitând astfel dezvoltarea parazitară prin intreruperea ciclului biologic al speciei.

Capitolul VII cuprinde studiul **structurii ihtiofaunei lacului Bicaz**. Efectul de recif al fermei salmonicole favorizează dezvoltarea peștilor pelagici prin sursa suplimentară de nutrienți asigurată de perifitonul fixat de pereții vivierelor. Contactul peștilor din pelagial cu vivierele flotabile, în căutare de hrană, favorizează portajul parazitar interspecific: exemplul protozoarului *Ichthyophthirius multifiliis* F., singura specie a genului, fără specificitate de gazdă, care poate infesta mai multe specii de pești.

Dacă la formarea lacului în anul 1960 compoziția ihtiofaunistică cuprindea 25 specii de pești, în deceniul următor sunt 19 specii de pești, pentru ca pe măsura trecerii timpului această cifră să scadă respectiv la 15 specii în deceniul al 4-lea. Față de situația deceniului precedent, am identificat existența a 15 specii de pești în lacul Bicaz, semnalând încă prezența lostriței *Hucho hucho* L., a boișteanului *Phoxinus phoxinus* L., și a unui acipenserid - păstruga *Acipenser stellatus*, ultimul, evadat probabil din sistemele de creștere dirijată.

Capitolul VIII cuprinde studiul **bolilor parazitare ale păstrăvului din lacul Bicaz**. Toate bolile parazitare semnalate în lucrarea de față au fost tratate evidențiind agentul etiologic în nomenclatura actuală revizuită, particularitățile morfometrice ale paraziților, aspectele morfoclinice și lezionale precum și măsurile profilactice ori curative care s-au impus, astfel încât să poată constitui date utile pentru practicieni. Pentru diagnosticarea acestor boli s-au utilizat atât metode clasice cât și metode de diagnostic molecular, completând descrierile anterioare ale unor entități patologice după o schemă imaginată de noi ce cuprinde trei etape.

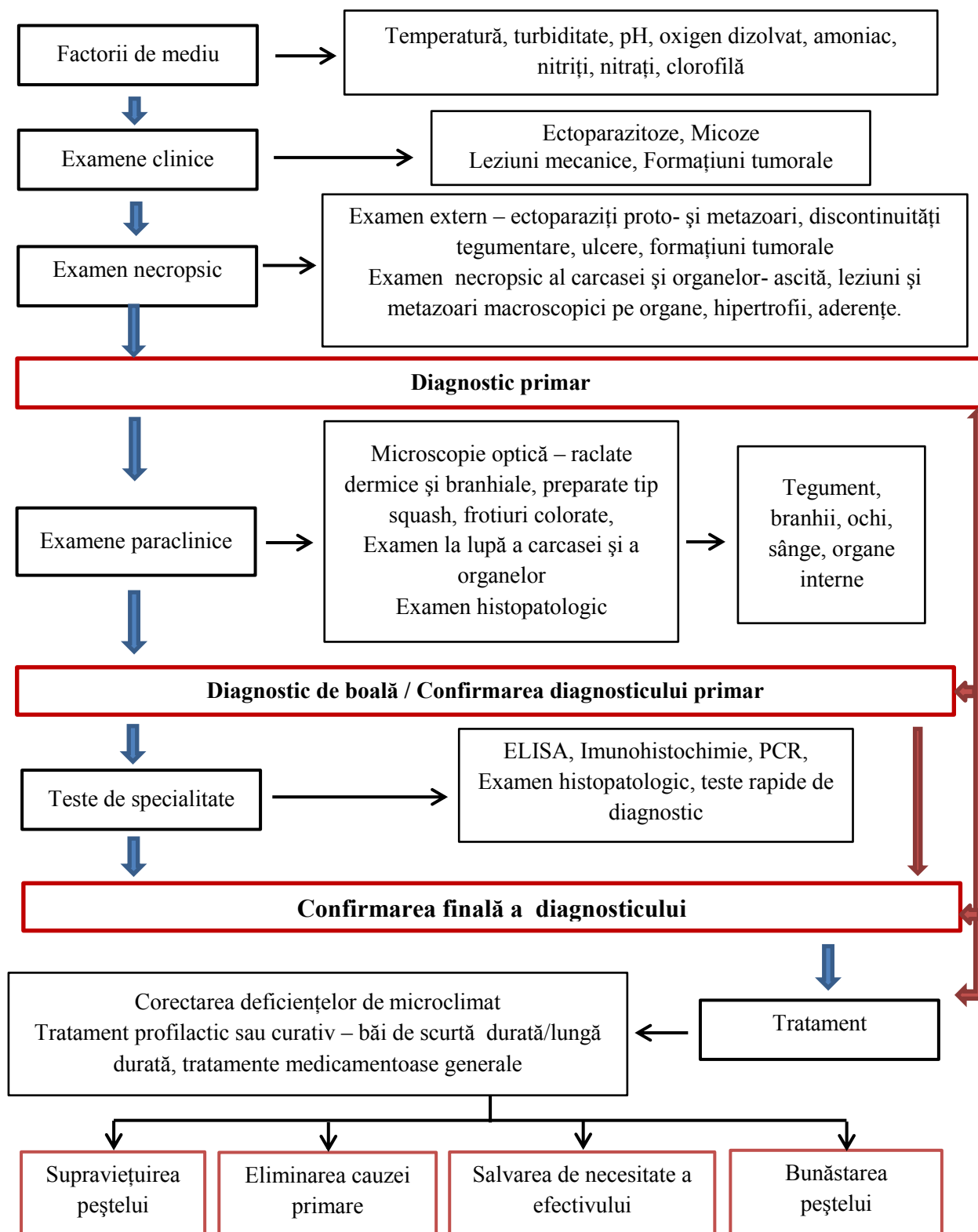
Considerăm că în urma **primei etape** poate fi pus un diagnostic primar care să ne ghideze spre alegerea următoarei tehnici de diagnostic necesare confirmării acestuia. În unele boli, precum arguloza sau saprolegnioza, când semnele clinice sau formele parazitare sunt evidente, diagnosticul final poate fi pus la sfârștul primei etape, caz în care se trece direct la instituirea măsurilor terapeutice.

La finalizarea acestei **de-a doua etape**, de cele mai multe ori s-a confirmat diagnosticul primar și se trece la înlăturarea cauzei prin măsuri medicamentoase, ecologice sau manageriale, fără a continua investigațiile.

În cazul în care nici la acest nivel de cercetare nu poate fi identificată cauza, se trece la **etapa a III-a: Etapa de diagnostic imunologic**: metoda imunoenzimatică ELISA sau metode de imunohistochimie, dar și la diagnosticul molecular. Aceste tehnici precum și testele rapide de diagnostic (disponibile pentru unele boli bacteriene sau virale) sunt costisitoare și necesită o anumită pregătire, de care personalul celor mai multe ferme salmonicole nu dispune. De aceea în majoritatea cazurilor diagnosticul final este pus după încheierea etapei a II-a.

Implementarea unei scheme **terapeutice** constă fie în corectarea deficiențelor de microclimat sau a celor biotehnologice, sau în administrarea profilactică/curativă a unor substanțe medicamentoase.

Schemă de diagnostic în bolile peștilor



Bazându-ne pe această schemă, analiza stării patologice din două ferme și a păstrăvului din libertate a dus la diagnosticarea a 5 parazitoze, care au evoluat cu o incidență crescută la peștii din viviere în raport cu cei liberi.

Eimerioza a fost diagnosticată în urma examenului clinic, chiar dacă semnele de natură enterică erau șterse sau inexistente. În unele cazuri semnele clinice au fost mascate de semne ale tulburărilor respiratorii.

La examenul necropsic s-au putut evidenția aspecte ca: slăbirea organismului și anorexie, pete roșiatice hemoragice localizate pe cecumuri, inflamația peretelui intestinal pe porțiunea posterioară a intestinului cu aspect roșiatic, o cantitate redusă de materii fecale, ușor diareice, alb-gălbui cu un aspect mucos. Acestea pot îndruma examinatorul spre un diagnostic prezumptiv. Dacă în prima etapă rezultatele au fost orientative, după finalizarea diagnosticului paraclinic uzual s-a reușit stabilirea unui diagnostic de certitudine. Prin identificarea următoarelor stadii de dezvoltare a parazitului: schizont cu merozoizi, macrogameți, microgametociți cu microgameți, oochist imatur nesporulat, oochist matur cu 4 sporochiști cu câte doi sporozoiți.

Tratamentul medicamentos în eimerioză constă în utilizarea sulfamidelor potențate precum sulfametoxazol și trimethoprim-20 mg/kg administrat în hrană timp de 10 zile. Deasemeni administrarea coccidiostaticelor 33% în apă în doză de 1ml/32l apă săptămânal, în spații cu volum constant arată eficiență experimentală.

Ihtioftiroza a fost diagnosticată la trei din cele 5 categorii de vârstă, cei mai afectați fiind păstrăvii de 7 luni la care incidența a fost de 71%, urmată apoi de cei de 18 luni cu o incidență de 66,6% și cei de 4 luni cu incidență de 24%. Cazurile de boală au apărut în perioada iunie-septembrie când temperatura apei a fost de peste 20°C, aceasta fiind favorabilă multiplicării rapide a paraziților. În cadrul cercetărilor noastre, incidența maximă întâlnită la vârsta de 7 luni, precum și a identificării trofonților la loturile de 18 luni nu infirmă existența unei imunități dobândite, ci mai degrabă considerăm că au fost incriminate măsurile igienico-sanitare deficitare din fermă, a managementului defectuos și dispunerea centrală a vivirelor în perimetrul fermei, ce favorizează creșterea capacității de invazie a parazitului.

La examenul clinic al peștilor, s-a observat prezența tulburărilor respiratorii, care pot fi asociate agresiunii ciliatului, cu atât mai mult cu cât la peștii examinați au fost identificate coinfecții parazitare. Astfel, la peștii în vârstă de 4 luni asociația dintre *Ichthyophthirius multifiliis* și *Eragasilus sieboldi* a fost înregistrat în procentă la 50% din peștii examinați, iar la peștii în vârstă de 7 luni și 18 luni incidența poliparazitismului a fost de 12,5%, respectiv 33,3%. În acest caz semnele clinice de la nivel branhiar cât și leziunile anatomopatologice ale branhiilor au fost mai evidente și greu de diferențiat etiologic.

La examenul clinic s-a observat înotul la suprafață a peștilor și efortul depus de aceștia în respirație, efort manifestat prin aerofagie și mișcări excesive de închidere și deschidere a operculilor. Aceste tulburări respiratorii nu sunt caracteristice ihtioftiriozei, putând fi întâlnite și în alte ectoparazitoze sau în condițiile diminuării oxigenului solvit în mediul acvatic.

La examenul anatomopatologic s-au evidențiat leziunile branhiale: pete albicioase pe acestea, hipersecreție mucoasă de culoare gri-gălbui consecutiv necrozelor branhiale și aspectul franjurat al branhiilor. Acestea pot fi agravate de înflorirea algală și depunerea microalgelor pe branhiile ori de asociațiile parazitare cu alte specii.

Diagnosticul de certitudine a fost stabilit în etapa a II-a când, prin microscopia optică a raclatelor dermice și branhiale se observă prezența trofontilor, tomitelor și a tomonților. Investigațiile au continuat prin efectuarea metodei imunoenzimatică ELISA efectuată atât pe pești din captivitate cât și păstrăvi din liber. Astfel în urma acestui examen specific s-a observat existența anticorpilor anti-*Ichthyophthirius* la peștii din liber chiar dacă aceștia nu au fost diagnosticați inițial ca pozitivi. Se recomandă astfel utilizarea metodelor specifice atât ca măsură preventivă cât și de diagnostic.

Măsuri generale de profilaxie urmăresc: împiedicarea expunerii peștilor la contactul cu paraziții, identificarea promptă a bolii și în cazul manifestării sale, tratamentul peștilor infectați și imunizarea. Tratamentele fizice urmăresc distrugerea teronțiilor care înoată liber întrerupând ciclul biologic și împiedicând astfel reinfectarea. Acest lucru se face prin circularea continuă a apei și tratamente cu radiații UV.

Tratamentul în ihtioftiroză este impus de identificarea unui singur trofont de *Ichthyophthirius multifiliis* și contă în primul rând în întreruperea ciclului biologic al speciei prin manipularea ecologică a mediului și crearea unor parametri fizico-chimici ai apei care să nu permită dezvoltarea stadiilor parazitare. Deasemeni, tratamentul medicamentos nu trebuie exclus în special în cazul infestațiilor masive când se fac băi cu formalină de scurtă sau de lungă durată, în funcție de gradul infestației, concentrația aleasă și nu în ultimul rând posibilitățile structurale ale fermei.

Tricodinoza a fost întâlnită în luna octombrie în preparatele colorate din mucusul din interiorul narinelor. Datorită faptului că s-a reușit recoltarea unui singur exemplar dar și a colorării incomplete a aparatului bucal, nu s-a putut face identificarea speciei, fiind încadrată doar în genul *Tricodina spp.* Diagnosticul clinic oferă date evidente în infestațiile masive, dar diagnosticul paraclinic uzual duce la identificarea infestațiilor slabe. Fiind o specie saprofită, apariția stării de boală nu este datorată exclusiv evoluției parazitare, starea de sănătate a peștilor, precum și statutul imunitar, având influențe importante.

Din punct de vedere anatomopatologic, datorită atașării slabe a ciliatului de țesut, diagnosticul pe baza examenului histologic poate fi eronat, acestea fiind spălate în momentul fixării. Tratamentul preventiv constă în menținerea optimului condițiilor de microclimat precum și evitarea deficiențelor tehnologice ce pot debilita organismul și efectuarea controalelor antiparazitare periodice. Tratamentului curativ costă în administrarea formalinei, permanganatului de potasiu, sulfat de cupru, clorură de sodiu, sau chiar apă dulce, în cazul speciilor marine. În infestațiile masive cu efecte grave, acetat piridil mercuric 1: 500000/30 min sau 1 oră, sau permanganat de potasiu 1: 500000/30 min, oferă rezultate bune.

Clinic, în **Diplostomoză** au fost observate semne precum: evidențierea înotului la suprafață a peștilor afectați, exoftalmia uni- sau bilaterală, deformarea uni- sau bilaterală a formei capului, precum și lipsa de reactivitate a peștelui la administrarea hranei sau chiar enucleerea globului ocular la scoaterea acestora din apă, datorită presiunii intraoculare crescute.

Prin cercetările noastre s-a constatat că cercarii diplostomidelor care invadează structurile oculare sunt prezenți în apă odată cu atingerea temperaturii de 9°C (mijlocul lunii aprilie). Invazia și transformarea cercarilor în metacercari cu pătrunderea prin efracție prin tegument și migrarea spre organul țintă-globul ocular, se realizează mai repede în lunile iunie-iulie când temperatura apei are în medie 22 °C.

Diagnosticul diplostomozei s-a realizat prin examenul microscopic al cristalinului și prin identificarea metacercarilor în umoarea apoasă. Diferențierea speciilor *Diplostomum pseudosphataceum* și *Diplostomum sphataceum* a fost efectuată prin studiul morfometriei externe, iar datorită asemănărilor foarte mari dintre acestea s-a apelat la examene de biologie moleculară-PCR, prin care nu s-a confirmat dezvoltarea speciei *Diplostomum pseudosphataceum*.

Tratamentul preventiv constă în principal în întreruperea ciclului biologic speciei, prin eliminarea fie a gazdelor intermediare reprezentate de gasteropodele acvatice, fie a celor definitive reprezentate de păsările ihtiofage. În eliminarea într-un procent ridicat (100%) a metacercarilor *Diplostomum sphataceum* se utilizează cu succes paraziquantelul administrat sub formă de îmbăieri, administrat per os sau chiar injectabil. Utilizarea preparatului Droncit Bayer în doză de 330 mg/kg pește /zi, timp de 6 zile consecutiv, poate duce la eliminarea metacercarilor.

Ergasiloză – a fost de asemenea diagnosticată la păstrăvul din viviere în urma examenelor paraclinice uzuale, cei mai afectați fiind cei de 24 de luni cu o incidență parazitară de 100%, urmați de cei în vârstă de 4 luni (50%), 18 luni (33,30%) și cei în vârstă de 7 luni (28,5%). Semnele clinice sunt ca și în ihtioftiroză generate de disfuncția respiratorie, iar la examenul histopatologic al secțiunilor branhiale s-a observat congestia capilarelor de la baza

lamelilor secundare, a trombilor și hiperplazia celulelor cloroase de la baza lamelilor secundare, ca urmare a răspunsului organismului la agresiunea parazitară.

Pe exemplarele de păstrăv capturat din liber, au fost identificate două specii parazitând același pește, copepodul *Ergasilus spp.* și trematodul digen *Diplostomomum spp.* Față de situația de mai sus, la păstrăvul crescut în viviere, întâlnim exemplare de copepode parazite pe branhii, cercari de diplostomide în globii oculari și tomiți de *Ichthyophthirius* pe branhii și tegument. Parazitarea în acest mod, cu o intensivitate importantă și cu trei specii de paraziți pe pește, face imposibilă supraviețuirea păstrăvului.

Este posibil ca infestația păstrăvului din lac să se realizeze de la păstrăvul din viviere și nu invers, întrucât evoluția cel puțin a copepodelor parazite este citată în literatură a se petrece în condiții de igienă precară.

Capitolul IX cuprinde studiul **bolilor micotice ale păstrăvului din lacul Bicz.** Saprolegnioza nu a evoluat ca boală de sine stătătoare, dar au fost identificate cazuri în special în anotimpul rece (nov-dec). Infecțiile micotice au fost caracterizate de apariția pe suprafața corpului, în apropierea liniei albe, înapoia înotătoarelor dorsale a unor pete și zone denudate de solzi unde am constatat o secreție crescută de mucus. Zonele cu caracter ulcerativ au fost raclate și din țesutul prelevat s-au realizat însămânțări pe medii de cultură specifice, mediu PDA cu adaos de cloramfenicol 1%. Astfel că după diferite perioade de incubare de 5-30 de zile la temperatura camerei pe mediul lichid s-a evidențiat dezvoltarea în profunzimea mediului a unor colonii alb-gri cu aspect murdar. Examenul microscopic a dus la identificarea stadiilor de zoosporangii and oospori.