

Isolering og karakterisering av *Paramoeba perurans*: Fenotypisk og genetisk karakterisering av utvalgte kloner fra laks og andre verter.

FHF prosjekt: 901053
 Oppstart: 13/3-2015
 Avslutning: 31/1 - 2018

Deltakere

Prosjektgruppe
 Are Nylund, are.nylund@bio.uib.no
 Linda Andersen, Linda.Andersen@lab.uib.no
 Egil Karlsbakk, egil.karlsbakk@imr.no
 Steffen Blindheim, Steffen.Blindheim@bio.uib.no
 Stian Nylund, stian@analytq.no
 Avdelingsingenør
 Forsker

Styringsgruppe
 Carl-Erik Arnesen, carl-erik@firadosea.no
 Olav Breck, Olav.Breck@marineharvest.com
 Bjarne Reinert, bjarne.reinert@sjotroll.no

FHF
 Merete Bjørgan Schröder, merete.schroder@fhf.no

Virulensforskjeller hos kloner av *P. perurans*

Gjennombrudd i kampen mot PGI (proliferativ gjellebetennelse)

October 2006

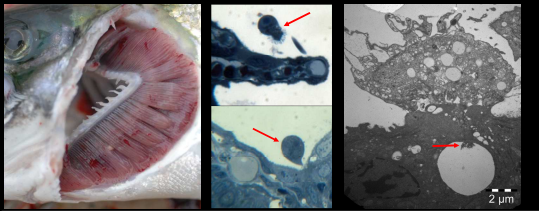
bio Mars 2007

FIGUR 4
 DNA-baserte søkk eller 'tree' analysen isolerte fra laks med PGI, plasserte seg i forhold til andre kjente Paramoeba. Paramoeba proliferans og P. salmonicida er de eneste som er avdekket med høy sikkerhet hos laks i Norge.

Følgende patogener var til stede på gjellene 2006

Ok. 2006	ELF	SGPV	<i>P.tilera</i>	<i>P.perurans</i>	<i>I.salm.</i>	<i>Ca. B.cyst</i>	<i>Ca. P.salm.</i>	<i>Ca. S.salm.</i>	<i>Tenaci.</i>	PRV
Fisk 1	16,1	27,2	10,8	10,3	17,6	10,7	20,0	16,7	30,1	23,4
Fisk 2	18,3	27,8	13,9	14,5	18,8	9,1	23,0	19,0	27,6	17,9
Fisk 3	18,1	27,2	12,8	8,0	14,5	8,2	22,2	15,9	27,0	18,9
Fisk 4	16,9	26,7	11,4	11,4	17,0	7,8	25,6	17,5	29,0	21,2
Fisk 5	17,5	29,1	14,9	8,9	14,0	8,6	23,6	15,5	26,5	26,9
Fisk 6	17,1	27,2	9,5	9,7	17,4	8,4	22,7	18,0	27,1	24,8
Fisk 7	18,2	26,0	12,1	10,1	16,0	11,0	27,7	17,3	28,4	21,6
Fisk 8	17,2	23,3	11,8	9,3	15,4	8,6	26,7	17,5	22,3	24,5
Fisk 9	16,5	27,5	11,7	9,2	15,3	8,8	26,8	15,9	29,9	27,8
Fisk 10	18,3	27,2	14,5	10,7	14,8	8,9	29	17,3	27,5	26,8
Fisk 11	17,0	30,0	16,2	11,4	15,8	11,1	25,3	17,9	29,9	24,5
Fisk 12	17,7	23,1	15,1	11,4	14,8	9,3	16,4	16,9	27,3	19,4
Fisk 13	17,6	31,2	12,9	12,8	17,6	9,6	20,5	18,7	30,0	24,6
Fisk 14	17,3	24,0	15,5	11,1	16,1	6,7	13,7	18,3	27,6	27,4
Fisk 15	17,6	27,5	12,9	12,2	16,0	10,3	16,6	18,5	32,1	25,8
Fisk 16	17,3	27,9	13,8	11,4	16,2	8,0	16,9	18,3	30,4	22,3

Hordaland	gills	gills	gills	gills	gills	gills	gills	gills	gills	gills
AGD 2013	ELF	SGPV	<i>Paramoeba</i>	<i>P.perurans</i>	<i>Procrystobbia</i>	<i>P. theridion</i>	<i>I. salmonis</i>	<i>Ca. B.cyst</i>	<i>Ca. S. salm.</i>	PRV
Fisk 1	13,9	25,6	7,8	13,7	26,2	18,6	15,6	10,7	12,6	
Fisk 2	14,2	22,6	8,4	14,4	23,7	11,9	13,5	11,6	12,8	
Fisk 3	14,1	26,7	5,3	13,5	25,6	10,9	14,3	12,2	12,6	
Fisk 4	16,5	24,1	4,8	15,2	25,4	11,1	13,6	11,1	13,8	
Fisk 5	13,0	27,0	6,8	14,3	26,0	12,7	13,3	10,6	11,8	
Fisk 6	15,0	21,5	4,5	13,5	24,2	8,5	13,9	10,9	13,3	
Fisk 7	12,8	23,8	5,5	14,3	23,7	14,2	13,8	10,9	12,5	
Fisk 8	17,4	30,4	10,8	16,0	32,0	18,0	18,8	19,3	14,6	
Fisk 9	13,5	21,2	5,6	12,8	23,8	9,3	13,3	11,0	13,7	
Fisk 10	12,1	21,7	4,2	12,9	23,8	13,5	13,4	8,6	11,9	
Fisk 11	13,7	23,9	7,3	13,2	25,8	16,6	16,2	12,6	15,5	
Fisk 12	12,8	22,1	12,5	11,2	24,5	10,8	13,2	12,0	12,7	
Fisk 13	12,7	24,1	5,1	13,8	25,2	16,0	12,9	10,5	12,4	
Fisk 14	14,2	32,3	10,4	17,7	25,5	16,8	15,9	12,6	17,8	
Fisk 15	12,4	24,9	6,0	16,1	24,3	18,0	16,3	12,5	13,1	
Fisk 16	13,6	25,3	7,6	14,2	23,7	15,0	13,9	12,2	12,8	
Fisk 17	14,5	24,0	7,4	15,1	26,3	11,7	13,7	9,3	12,4	
Fisk 18	14,4	22,6	7,3	13,9	22,6	13,7	13,8	11,9	12,2	
Fisk 19	12,7	23,7	5,1	15,6	25,9	15,2	12,5	11,5	12,9	



SF	gj	gj	gj	gj	gj	gj	gj	gj	gj
2013	Elf	SGPV	Tetramitus	Paramoeba	P. theridion	Ca. B. cysti.	I. salmonis	PRV	
Fisk 1	15,8	29,2	30,4	Neg	17,1	10,4	24,9	24,6	
Fisk 2	15,2	25,7	27,5	Neg	14,8	8,1	23,6	21,2	
Fisk 3	15,7	29,5	31,1	Neg	12,9	8,5	19,5	28,4	
Fisk 4	14,6	25,7	28,3	Neg	10,8	5,1	13,7	24,4	
Fisk 5	15,7	32,2	35,5	Neg	15,3	6,4	22,7	27,2	
Fisk 6	15,0	23,0	28,9	Neg	12,0	6,3	18,3	27,9	
Fisk 7	15,2	26,7	24,1	Neg	14,1	7,0	19,4	28,1	
Fisk 8	15,2	Neg	30,1	Neg	15,1	5,6	21,0	27,1	
Fisk 9	13,9	24,5	31,7	Neg	11,8	6,0	20,8	26,1	
Fisk 10	15,0	23,5	31,0	Neg	13,4	8,1	22,4	28,5	

Dødelighet over 3 dager 2014

	Total død	Rest antall	% døde
Merd 1	175 347	21 050	89 %
Merd 2	186 279	10 112	95 %
Merd 3	114 258	83 349	58 %
Merd 4	2 000	192 139	1 %
Merd 5	2 000	196 119	1 %
TOTAL	479 884	502 769	49 %

HYDROGENPEROKSID BEHANDLET brønnbåt

	Antall	Vekt	Biomasse	Total Død	Rest antall	% døde
M 1+2	154 511	0,844	96 647	58 823	55 688	51 %
+3	192 139	0,787	151 138	18 660	173 479	10 %
M 4	196 119	0,762	149 452	14 458	183 359	7 %
M 5	502 769	0,790	397 265	91 919	412 928	18 %

Tapet:

Totaltap	Beløp
Dødfisk-kostnad	1 054 850,00
Hydrogenperoksidbehandling	737 000,00
Tap fisk	45 225 837,26
Totaltap på amøbe-utbruddet	47 017 687,26

Følgende patogener var til stede på gjellene September 2014

	gj	gj	gj	gj	gj	gj	gj
	Elf	SGPV	Paramoeba sp	P. perurans	Costia	P. theridion	Ca. B.cyst
Fisk 1	16,3	23,8	12,1	20,9	16,5	17,5	15,6
Fisk 2	14,6	24,0	5,5	19,3	16,9	12,2	17,9
Fisk 3	15,2	21,7	6,7	14,1	15,7	13,8	12,4
Fisk 4	13,7	21,7	7,7	15,7	14,6	12,5	12,2
Fisk 5	13,5	20,7	11,3	15,8	15,2	10,0	13,5
Fisk 6	15,3	21,8	10,6	17,4	14,4	16,3	14,0
Fisk 7	16,4	21,9	12,9	19,7	16,2	21,8	17,0
Fisk 8	14,5	23,7	11,2	14,9	13,1	10,8	14,4
Fisk 9	13,6	24,5	8,2	20,0	13,2	13,7	14,2
Fisk 10	14,3	21,4	6,9	22,6	14,3	16,6	17,5
Fisk 11	12,4	25,0	6,4	20,1	14,0	10,8	15,3
Fisk 12	16,1	22,9	4,8	19,6	13,0	13,8	15,4
Fisk 13	15,6	22,5	5,3	20,0	11,6	18,1	18,4
Fisk 14	18,9	22,2	13,1	22,8	12,6	18,6	20,6
Fisk 15	13,3	22,1	7,8	20,0	13,6	11,4	13,0
Fisk 16	13,0	24,2	5,9	18,1	12,2	14,2	16,9
Fisk 17	13,5	22,4	5,2	20,5	12,5	8,0	14,9

AGD - Virulens – P. perurans

- Virulens til *P. perurans* i smitteforsøk og i felt kan være to forskjellige ting.....?
- Det kan ikke utelukkes at et isolat som ikke gir dødelighet i smitteforsøk kan i kombinasjon med andre mikroparasitter gi sykdom og dødelighet i felt.

Virulens-test av to isolater

Hovedfagsoppgave: Ole M. Vik Dahle, 2014-2015

- Isolat SS fra laks
- Isolat LB fra bergylte

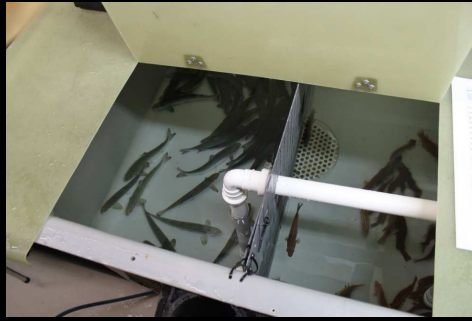


Forsøksoppsett – Test av virulens

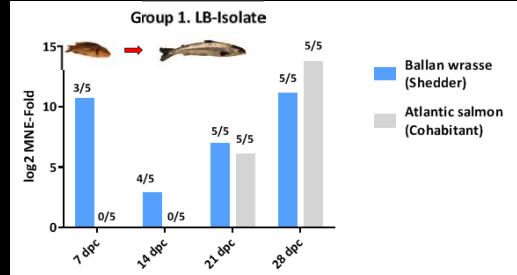
Masteroppgave: Ole M. Vik Dahle

Berglytisolat	Lakseisolat	Kontroll
Gruppe 1 LB → SS (80) (80)	Gruppe 3 LB → SS (80) (80)	Gruppe 5 Berglyt (LB)
Gruppe 2 SS → LB (80) (80)	Gruppe 4 SS → LB (80) (80)	Gruppe 6 Laks (SS)

- Badsmitte
- Smittedose: ~2000 Amøber L⁻¹
- 34‰, 15 °C

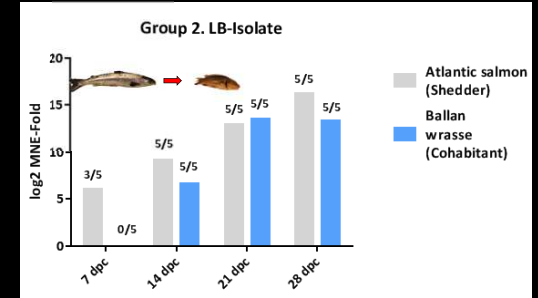


Resultat - Smitteforsøk



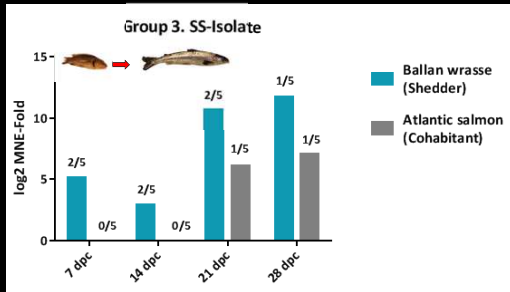
Gjellescore øket fra 1-2 til 3-4 fra uke 3 til 4

Resultat - Smitteforsøk



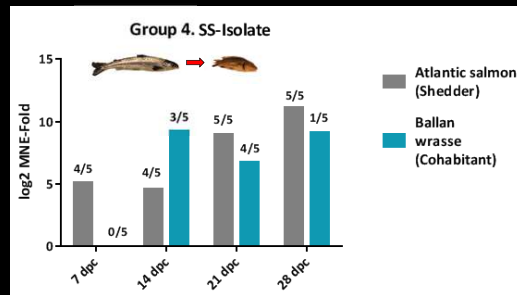
Både laksen og bergylten utvikler sykdom. Laksen får en score på 5 ved slutten av forsøket, mens bergylten har større spredning i score med alt i fra 1-4.

Resultat - Smitteforsøk

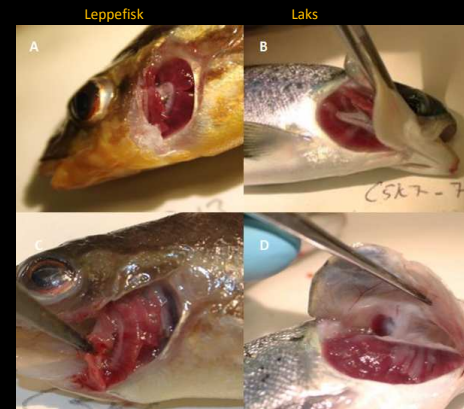


Ingen gjellescore av betydning

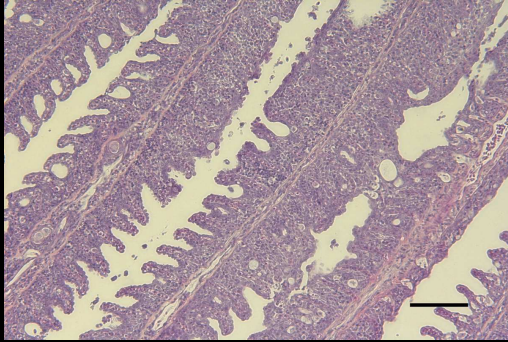
Resultat - Smitteforsøk



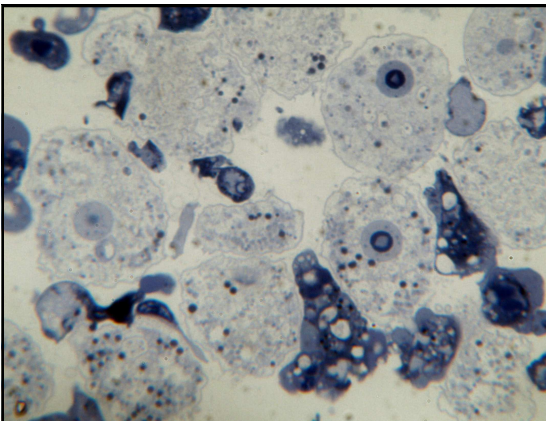
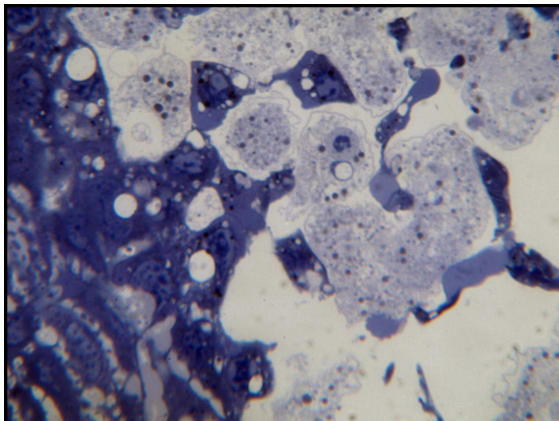
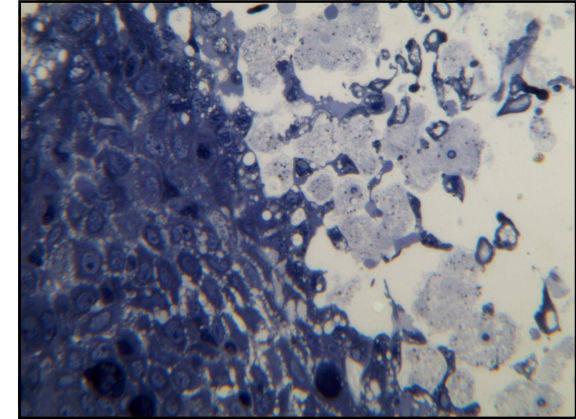
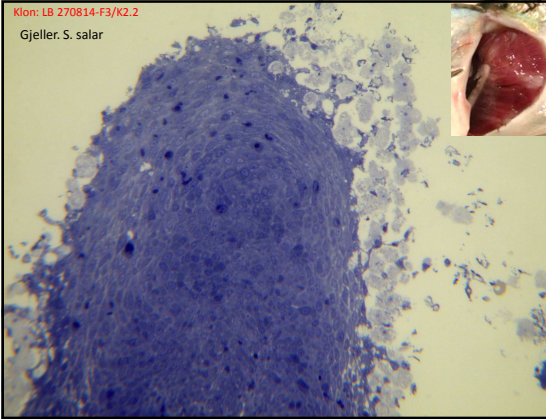
Lite gjellescore



Laks smittet med isolat fra leppefisk

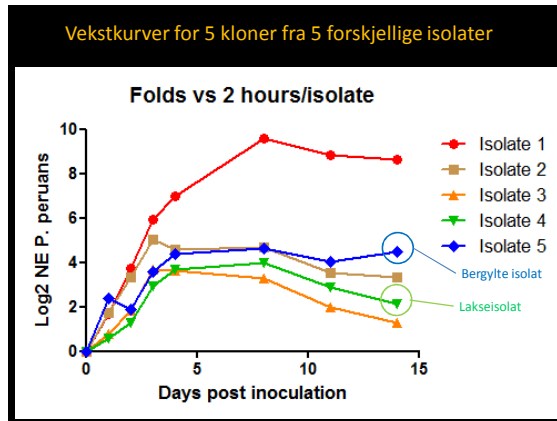


Klon: LB 270814-F3/K2.2
Gjeller. S. salar



Konklusjon

- Isolatene er forskjellige
- Lakseisolatet gav lavere score, og lavere prevalens
- Leppefisken frigav smitte senere enn laks uavhengig av isolat
- Synlige gjelleskader og dødelighet ble kun observert hos laks
- Gjellescore på berggyllt og laks ikkje samanliknbare



Nye smitteforsøk

- 12 isolater fra laks, sei og bergylte (Hordaland, Sogn og fjordane, Møre og Romsdal)
- 2 isolater er *P. pemaquidensis*
- Ett isolat av *Tetramitus* sp. fra laks
- Alle er klonet og fem kloner er fenotypet
- Klare fenotypiske forskjeller mellom isolater av *P. perurans*

Smitteforsøk september 2015

- 12 isolater av *P. perurans*
- To isolater av *P. pemaquidensis*
- Ett isolat av *Tetramitus* sp. (ny art)

