



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ  
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ  
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΙΧΘΥΟΛΟΓΙΑΣ  
ΚΑΙ ΥΔΑΤΙΝΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ**



**ΠΡΟΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**«Μελέτη της επίδρασης της αλατότητας στα εσπειραμένα σωληνάρια των νεφρών του Ευρωπαϊκού λαβρακιού (*Dicentrarchus labrax*)»**

**Γκάγκαρης Νικόλαος**

**ΒΟΛΟΣ, 2022**

**«Μελέτη της επίδρασης της αλατότητας στα εσπειραμένα σωληνάρια των νεφρών του  
Ευρωπαϊκού λαβρακιού (*Dicentrarchus labrax*).»**

**ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**

- 1. Παναγιώτης Βερίλλης.** Αναπληρωτής καθηγητής. Μικροσκοπία και ανάλυση εικόνας στην ιστολογία και στους υδρόβιους οργανισμούς. Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας.
- 2. Μεντέ Ελένη.** Καθηγήτρια. Φυσιολογία Θρέψη Υδρόβιων Ζωικών Οργανισμών. Τμήμα Κτηνιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Αριστοτέλιο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης
- 3. Γκολομάζου Ελένη.** Επίκουρη Καθηγήτρια. Προστασία-Ευζωία Ιχθύων. Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας.

*Σε όσους πίστεψαν ...*

## Ευχαριστίες

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον επιβλέπων καθηγητή Παναγιώτη Βερίλλη για τον χρόνο του, την απόκριση του και τις γνώσεις, που μου μεταλαμπάδευσε, πάνω στο αντικείμενο και στην συρραφή της διπλωματικής μου εργασίας. Επιπλέον, ευχαριστώ όποια και όποιον βοήθησε στην εργαστηριακή διεκπεραίωση της και σίγουρα τους γονείς μου, τους ψυχολογικούς και οικονομικούς στυλοβάτες μου.

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η ωσμορύθμιση στους θαλάσσιους οργανισμούς είναι ένας από τους κυριότερους μηχανισμούς επίτευξης της ομοιόστασης τους και ειδικεύεται στην αντιμετώπιση της ωσμωτικής πίεσης του υδάτινου περιβάλλοντος. Το κοινό ευρωπαϊκό λαβράκι (*Dicentrarchus labrax*) χρησιμοποιήθηκε από την παρούσα διπλωματική εργασία για την μελέτη ιστολογικών μεταβολών στο νεφρό από την επίδραση της ωσμορύθμισης σε υφάλμυρα νερά ( $0,5\% \leq S \leq 30\%$ ). Συγκεκριμένα, εξετάστηκαν οι διάμετροι των εσπειραμενών σωληνάρων στους νεφρούς 45 νεαρών ατόμων του κοινού ευρωπαϊκού λαβρακιού από 3 διαφορετικές δεξαμενές αλατότητας 8‰, 14‰ και 20‰. Κατά την παρασκευή των δειγμάτων παρατήρησης, οι νεφροί των λαβρακίων εξήχθησαν και τοποθετήθηκαν σε μονιμοποιητικό υγρό Davinson για την επίτευξη της μονιμοποίησης του ιστού. Με το πέρας της επεξεργασίας στην ιστοκινέτα, όπου το πρωτόκολλο της διήρκησε 19 ώρες, οι επεξεργασμένοι νεφρικοί ιστοί εγκλείσθηκαν σε κύβους παραφίνης και με την χρήση παλινδρομικής μικροτόμου δημιουργήθηκαν φύλλα παραφίνης-ιστού των 6 μm πάχος. Η χρώση των ιστών έγινε με την χρώση αιματοξυλινής - ηωσίνης δίνοντας την τελική μορφή των δειγμάτων παρατήρησης. Η παρατήρηση των ιστών έγινε με την χρήση οπτικού μικροσκοπίου και οι τιμές των διαμέτρων των εσπειραμενών σωληνάρων συλλέχθηκαν από φωτογραφίες υψηλής ευκρίνειας μέσω ενσωματωμένης κάμερας στο οπτικό μικροσκόπιο. Οι μετρήσεις παρουσιάστηκαν ως μέσος όρος  $\pm$  τυπικό σφάλμα για κάθε ένα από τα νεαρά ιχθύδια, που χρησιμοποιήθηκαν. Η κατανομή των τιμών δεν ήταν κανονική και ελέγχθηκε από τα Kolmogorov-Smirnov, Normal Q-Qplots, θηκογράμματα

και ιστογράμματα, ενώ ο στατιστικός έλεγχος που χρησιμοποιήθηκε ήταν ο μη παραμετρικός έλεγχος Kruskal-Wallis H Test για να ελεγχθεί η ισότητα των τριών μέσων μεταξύ των τριών ανεξάρτητων δειγμάτων κάθε δεξαμενής. Το επίπεδο σημαντικότητας είναι  $p=0,225$  (για  $p>0,050$ ), επομένως, ενδείκνυται ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των τριών ομάδων των ανεξάρτητων τιμών των δεξαμενών. Συμπερασματικά, δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά των διαμέτρων των εσπειραμένων σωληναρίων μεταξύ των τριών δεξαμενών με τις τρεις διαφορετικές αλατότητες (8‰, 14‰, 20‰), το οποίο αντιπαρέρχεται στην υπόθεση της μεταβολής της διαμέτρου των εσπειραμένων σωληναρίων λόγω ωσμωρυθμιστικής ικανότητας του οργανισμού.

**Λέξεις-κλειδιά:** *Dicentrarchus labrax*, νεφρός, εσπειραμένα σωληνάκια, αλατότητα, ωσμωρύθμιση

## Περιεχόμενα

<b>1. 1. Εισαγωγή</b> .....	<b>1</b>
1.1 Το είδος και τα βιολογικά χαρακτηριστικά του .....	1
1.2 Ιστορικό υπόβαθρο.....	1
1.3 Κύριες χώρες παραγωγής του <i>Dicentrarchus labrax</i> .....	2
1.4 Βιότοπος και χαρακτηριστικά.....	3
1.6 Αλατότητα.....	4
1.7 Φυσιολογία του εκτρεφόμενου οργανισμού .....	7
1.7.1 Εκκριτικά όργανα .....	7
1.7.2 Ουροποιητικό σύστημα.....	11
1.8 Φυσιολογία των νεφρών .....	14
<b>2. Υλικά και μέθοδοι</b> .....	<b>19</b>
2.1 Πειραματικός σχεδιασμός.....	19
2.2 Χρώση και τελικό στάδιο επικάλυψης των τομών .....	27
2.3 Παρατήρηση και μέτρηση διαμέτρων εσπειραμενών σωληναρίων.....	29
2.4 Στατιστική ανάλυση .....	32
<b>3. Αποτελέσματα</b> .....	<b>34</b>
3.1 Περιγραφικά στατιστικά στοιχεία.....	34
3.2 Στατιστικά χαρακτηριστικά του δείγματος.....	35
3.2.1 Έλεγχος κανονικής κατανομής στα ανεξάρτητα δείγματα του πειράματος .....	35
3.2.2 Μη παραμετρικός έλεγχος .....	36
<b>4. Συζήτηση</b> .....	<b>38</b>
4.1 Ανάλυση των αποτελεσμάτων .....	38
4.2 Ανάπτυξη και προσαρμογή κάτω από περιβάλλοντα διαφορετικής αλατότητας .....	41
4.2.1 Προσαρμοστικότητα και θνησιμότητα ευρύαλων ειδών.....	41
4.3 Δομικές δυσλειτουργίες για εξαγωγή αποτελεσμάτων από νεφρό .....	42



4.4 Ιοντικοί μεταφορείς και ωσμωρύθμιση : Μια μοριακή προσέγγιση.....	43
4.5 Σημαντικότητα και προοπτικές του αντικειμένου .....	46
<b>5. Βιβλιογραφία .....</b>	<b>48</b>
5.1 Ελληνική βιβλιογραφία.....	48
5.2 Ξενόγλωσση βιβλιογραφία .....	48
5.3 Ιστοσελίδες.....	53
<b>6. ABSTRACT.....</b>	<b>54</b>

## **1. Εισαγωγή**

### **1.1 Το είδος και τα βιολογικά χαρακτηριστικά του**

Το *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758) ή κοινώς Ευρωπαϊκό λαβράκι είναι ένας οστεϊχθύς, που συγκαταλέγεται στην οικογένεια των Μορονιδών (Moronidae). (Εικ. 1.1). Το σώμα του έχει μακρόστενο σχήμα και χρώμα ασημί γκρι, που πλησιάζει το μπλε, στην πλάτη, ασημί στα πλάγια και η κοιλιά του μερικές φορές χρωματίζεται από μια κίτρινη απόχρωση. Παρουσιάζονται και κάποιες σταχτιές κηλίδες στα νεαρά άτομα, αλλά σε ενήλικα δεν έχουν παρατηρηθεί (FAO,2006). Τα πτερύγια που φέρει στη ράχη είναι δύο, το πρώτο με 8 έως 10 σκληρές ακτίνες και το δεύτερο με 1 σκληρή και 12 ή 13 μαλακές ακτίνες, ενώ το πρωκτικό πτερύγιο 3 σκληρές και 10 έως 12 μαλακές ακτίνες. Η πλευρική γραμμή παρουσιάζεται ως πλήρης με 62 έως 74 λέπια και εκτείνεται έως το ουραίο πτερύγιο, το οποίο παρουσιάζει εγκοπτόμενο σχηματισμό. (Νεοφύτου Χ., 2015).

### **1.2 Ιστορικό υπόβαθρο**

Τα λαβράκια ιστορικά καλλιεργήθηκαν σε παράκτιες λιμνοθάλασσες και παλιρροϊκές δεξαμενές πριν ξεκινήσει η ανάπτυξη της μαζικής παραγωγής νεαρών ιχθυδίων στα τέλη της δεκαετίας του 1960. Η ιχθυοκαλλιέργεια συνδέθηκε αρχικά με την παραγωγή αλατιού σε παράκτιες δεξαμενές εξάτμισης. Οι παραγωγοί συνέλεγαν το αλάτι κατά την υψηλή περίοδο εξάτμισης του καλοκαιριού και του φθινοπώρου και τα ψάρια εκτρέφονταν το χειμώνα και την άνοιξη. Ο εφοδιασμός των ιχθυοκαλλιεργειών σε αυτή την πρωτόγνωρη προσπάθεια

μαζικής ιχθυοπαραγωγής προερχόταν από την παγίδευση κοπαδιών ψαριών, που ζούσαν σε αυτές τις εκβολές (FAO, 2006).

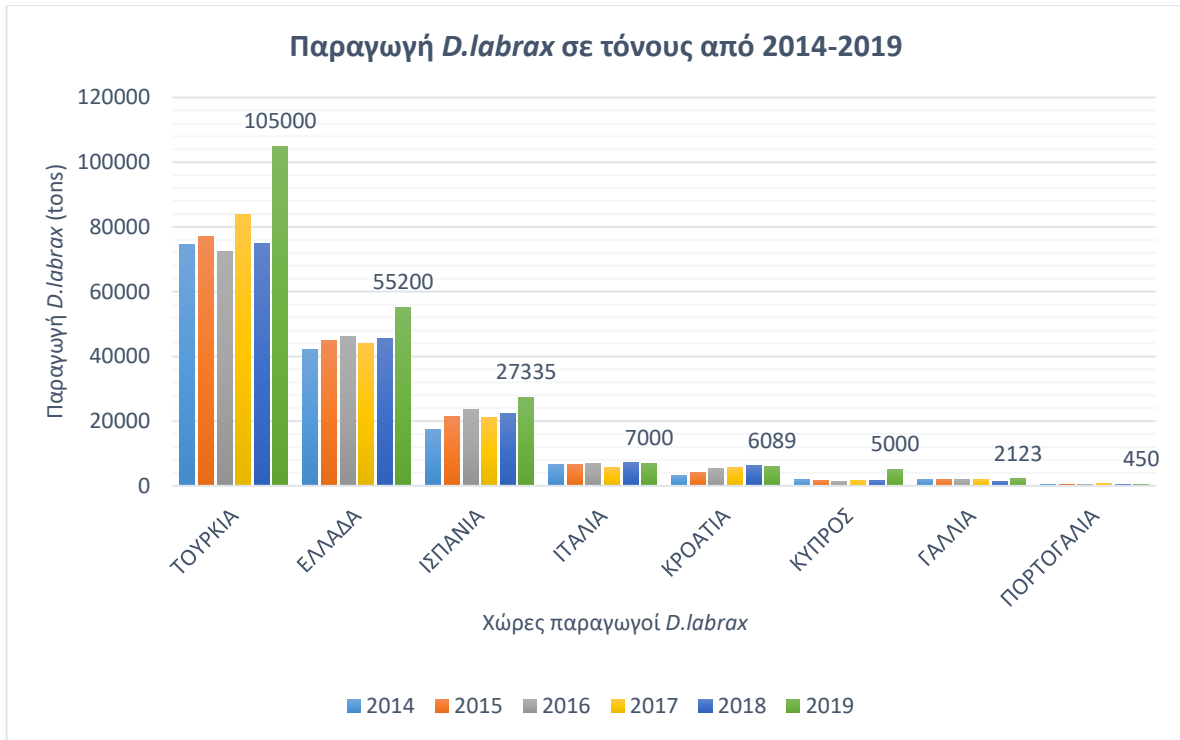


**Εικόνα 1.1** Ευρωπαϊκό λαβράκι (*Dicentrarchus labrax*)

(Πηγή εικόνας: OMARE, 2021)

### **1.3 Κύριες χώρες παραγωγής του *Dicentrarchus labrax***

Στα τέλη της δεκαετίας του 1960, η Γαλλία και η Ιταλία ώθησαν την ανάπτυξη αξιόπιστων τεχνικών μαζικής παραγωγής για νεαρά λαβράκια και, στα τέλη της δεκαετίας του 1970, αυτές οι τεχνικές αναπτύχθηκαν αρκετά καλά στις περισσότερες μεσογειακές χώρες για να παρέχουν εκατοντάδες χιλιάδες ιχθύδια. Το ευρωπαϊκό λαβράκι (*Dicentrarchus labrax*) ήταν το πρώτο θαλάσσιο εκτρεφόμενο είδος, το οποίο δεν άνηκε στην οικογένεια Salmonidae, που καλλιεργήθηκε εμπορικά στην Ευρώπη και προς το παρόν είναι το πιο σημαντικό εμπορικά ψάρι που καλλιεργείται ευρέως στις μεσογειακές περιοχές (FAO, 2006). Η Τουρκία, η Ελλάδα, η Ισπανία, η Ιταλία, η Κροατία και η Κύπρος, η Γαλλία και η Πορτογαλία είναι κατά φθίνουσα σειρά οι μεγαλύτεροι παραγωγοί του στην Ευρώπη (FEAP Production Report, 2020) (Σχήμα 1.3.1).



**Σχήμα 1.3.1** Ποσότητα παραγωγής *D.labrax* (tons) ανά χώρα παραγωγό της Ευρώπης από 2014 έως 2019. Αναγράφεται πάνω στο σχήμα η τιμή παραγωγής *D.labrax* (tons) για το έτος 2019 (FEAP Production Report, 2020).

#### 1.4 Βιότοπος και χαρακτηριστικά

Το ευρωπαϊκό λαβράκι είναι βενθικό, ευρύθερμο (5-28 °C) και ευρύαλο (αλατότητα από 3‰ έως 39‰) είδος (FAO, 2006). Ορισμένοι πληθυσμοί κινούνται εποχιακά μεταξύ ανοιχτής θάλασσας και λιμνοθαλασσών-εκβολών. Υπάρχει μόνο μία περίοδος αναπαραγωγής ετησίως, η οποία λαμβάνει χώρα από τον Ιανουάριο έως τον Απριλίου στον πληθυσμό της Μεσογείου και μέχρι τον Ιούνιο στους πληθυσμούς του Ατλαντικού (Νεοφύτου Χ., 2015). Το λαβράκι γεννά μικρά (1,02-1,39 mm) πελαγικά αυγά σε νερό με

αλατότητα κάτω από 35‰, κοντά στις εκβολές ή στις εκβολές των ποταμών ή στις παραλιακές περιοχές όπου η αλατότητα είναι υψηλή ( $\geq 30\%$ ). Όντας όχι ιδιαίτερα ευαίσθητα στη χαμηλή θερμοκρασία, ορισμένα ψάρια μπορεί να περάσουν τους χειμερινούς μήνες τους στις παράκτιες λιμνοθάλασσες αντί να επιστρέψουν στην ανοιχτή θάλασσα (FAO, 2006). Τα λαβράκια είναι αρπακτικά και το εύρος του διαιτολογίου τους περιλαμβάνει μικρά ψάρια, γαρίδες, καβούρια και διάφορα μαλάκια (Νεοφύτου Χ., 2015).

## 1.6 Αλατότητα

Η αλατότητα (S) είναι το μέτρο της συγκέντρωσης των διαλυμένων στο θαλασσινό νερό αλάτων. Έχει για μονάδες μέτρησης τις g/kg ή ppt ή επί τοις χιλίοις (‰), που προκύπτουν με βάση την συγκέντρωση της ογκομέτρησης των ιόντων Cl. Τα άλατα είναι από τα πιο κύρια συστατικά που είναι διαλυμένα στο νερό. Λόγω της διαλυτικής ικανότητας του νερού τα άλατα μέσα σ' αυτό βρίσκονται σε μεγάλο ποσοστό υπό τη μορφή ιόντων (Πίν. 1.1) (Α. Λασκαράτος - Ν. Καλτσουνίδης, 2010).

**Πίνακας 1.1** Η σύνθεση των στοιχείων του θαλασσινού νερού σε 35‰ αλατότητα (Faisal et al, 2022).

<b>Στοιχείο</b>	<b>g/kg θαλασσινού νερού 35‰</b>
<b>Cl<sup>-</sup></b>	<b>19,354</b>
<b>Na<sup>+</sup></b>	<b>10,77</b>
<b>K<sup>+</sup></b>	<b>0,399</b>
<b>Mg<sup>2+</sup></b>	<b>1,290</b>
<b>Ca<sup>2+</sup></b>	<b>0,4121</b>
<b>SO<sub>4</sub><sup>2-</sup></b>	<b>2,712</b>
<b>Br<sup>-</sup></b>	<b>0,0673</b>
<b>F<sup>-</sup></b>	<b>0,0013</b>
<b>B</b>	<b>0,0045</b>
<b>Sr<sup>2+</sup></b>	<b>0,0079</b>

Σημειώνεται ότι στους ποταμούς τα κύρια ανιόντα είναι κατά φθίνουσα σημασία τα ιόντα τα  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{SO}_4^{--}$  και  $\text{Cl}^-$  ενώ τα κύρια κατιόντα είναι τα  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  και  $\text{K}^+$ . Είναι λοιπόν δυνατόν η σύνθεση της θάλασσας να μεταβάλλεται στις περιοχές κοντά σε ποταμούς.

**Πίνακας 1.2** Κύρια άλατα του θαλασσινού νερού αλατότητας 35‰ και θερμοκρασίας 20°C. (Α. Λασκαράτος - Ν. Καλτσουνίδης, 2010).

<b>Άλας</b>	<b>Συγκέντρωση Kg/m<sup>3</sup></b>
<b>NaCl</b>	<b>28,014</b>
<b>MgCl</b>	<b>3,812</b>
<b>MgSO<sub>4</sub></b>	<b>1,752</b>
<b>CaSO<sub>4</sub></b>	<b>1,283</b>
<b>K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></b>	<b>0,816</b>
<b>CaCO<sub>3</sub></b>	<b>0,122</b>
<b>KBr</b>	<b>0,101</b>
<b>SrSO<sub>4</sub></b>	<b>0,028</b>
<b>H<sub>2</sub>BO<sub>3</sub></b>	<b>0,028</b>

Στο εν λόγω πείραμα , χρησιμοποιήθηκε την επί τοις χιλίοις (‰) προσέγγιση στις μονάδες. Είναι κοινά αποδεκτό, ότι τα γλυκά νερά οριοθετούνται για ποσοστό αλατότητας  $S \leq 0,5\%$ , τα υφάλμυρα μεταξύ  $0,5\% \leq S \leq 30\%$  και το αλμυρό νερό για  $S > 30\%$ .. Η αλατότητα στην ανοιχτή θάλασσα βρίσκεται μεταξύ  $33\% \leq S \leq 39\%$  και επηρεάζεται από παράγοντες όπως το γεωγραφικό πλάτος , το βάθος και η εποχή ( Νεοφύτου Χ. & Νεοφύτου Ν., 2015).

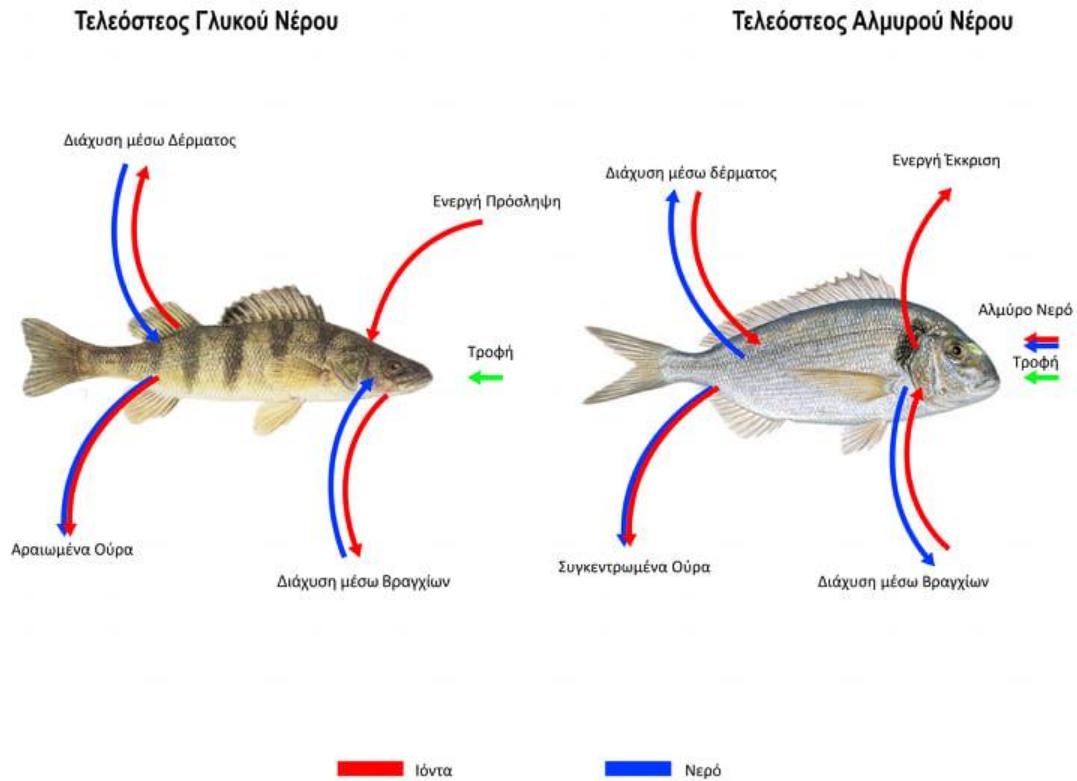
## 1.7 Φυσιολογία του εκτρεφόμενου οργανισμού

### 1.7.1 Εκκριτικά όργανα

Το κύριο όργανο απέκκρισης στα ψάρια, όπως και σε άλλα σπονδυλωτά, είναι ο νεφρός. Στα ψάρια κάποια απέκκριση πραγματοποιείται επίσης στον πεπτικό σωλήνα, στο δέρμα και κυρίως στα βράγχια, όπου εκλύεται αμμωνία. Σε σύγκριση με τα χερσαία σπονδυλωτά, τα ψάρια έχουν δυσκολία στη διατήρηση της σταθερής συγκέντρωσης νερού και διαλυμένων αλάτων στο εσωτερικό του σώματός τους. Δεδομένου ότι οι ιχθύες δεν έχουν λεμφαδένες και τα οστά τους συνήθως δεν έχουν μυελική κοιλότητα, ο αιματοποιητικός ιστός βρίσκεται κυρίως στον σπλήνα και στον πρόσθιο νεφρό. Ο σπλήνας είναι ο κύριος ερυθροποιητικός ιστός στους ελασμοβράγχιους, στους ολοκέφαλους και μερικούς τελεόστεους. Στους περισσότερους τελεόστεους, στους χονδρόστεους και στους ολόστεους τα ερυθροκύτταρα παράγονται εντός του νεφρού. Σε μικρότερο βαθμό εστίες αιμοποίησης εντοπίζονται επίσης και σε περιοχές του ήπατος, στον υποβλεννογόνιο χιτώνα του εντέρου και στον θύμο αδέν (Βερίλλης και Μεντέ, 2017; Kurtovic B., 2008).



Στην Encyclopedia Britannica (2022) αναφέρεται, ότι ομοιόσταση ενός ψαριού διατηρείται σε μεγάλο βαθμό από το σύστημα απέκκρισης. Οι νεφροί, τα βράγχια και το δέρμα παίζουν σημαντικό ρόλο στην ομοιόσταση του εσωτερικού περιβάλλοντος ενός ψαριού και στον έλεγχο των επιπτώσεων της ώσμωσης. Τα θαλάσσια ψάρια ζουν σε ένα περιβάλλον με μεγαλύτερη συγκέντρωση αλάτων από ότι μπορούν να έχουν και να εξακολουθούν να διατηρούν στο σώμα τους. Τα ψάρια γλυκού νερού, από την άλλη πλευρά, ζουν σε νερό με πολύ χαμηλότερη συγκέντρωση αλάτων από ότι απαιτούν στο σώμα τους. Λόγω της ώσμωσης, όταν τα διαλύματα στις δύο πλευρές μιας διαπερατής μεμβράνης έχουν διαφορετικές συγκεντρώσεις διαλυμένων ουσιών, μέσω παθητικής και ενεργητικής διάχυσης, το νερό θα περάσει από τη μεμβράνη στο πιο συμπυκνωμένο διάλυμα, ενώ οι διαλυμένες χημικές ουσίες θα μετακινηθούν στην περιοχή χαμηλότερης συγκέντρωσης (Εικ. 1.5). Η ώσμωση τείνει να προάγει την απώλεια νερού από το σώμα ενός θαλάσσιου ψαριού, ενώ προάγει την απορρόφηση νερού από το σώμα ενός ψαριού γλυκού νερού. Η βλέννα στο δέρμα τείνει να επιβραδύνει τη διαδικασία απώλειας νερού, αλλά δεν αποτελεί επαρκές φράγμα για να την αποτρέψει.



**Εικόνα 1.5** Ωσμωτική ρύθμιση σε τελεόστεους ιχθύες γλυκού, το είδος *Perca fluviatilis* απεικονίζεται (αριστερά) και θαλασσινού νερού (δεξιά), απεικονίζεται το είδος *Sparus aurata*. Η περίσσεια ιόντων αποβάλλεται από τα βράγχια (κυρίως  $\text{Na}^+$  και  $\text{Cl}^-$ ) και τα νεφρά (κυρίως  $\text{Mg}^{2+}$  και  $\text{SO}_4^{2-}$ ) (Nebel et al., 2005). ( Προσωπικό αρχείο)

Ακόμα, ο νεφρός των ψαριών του γλυκού νερού είναι συχνά μεγαλύτερος σε σχέση με το σωματικό τους βάρος σε σύγκριση με αυτόν των θαλάσσιων ψαριών και αποβάλλει επίσης μεγάλες ποσότητες νερού, αντισταθμίζοντας το νερό που απορροφάται από το δέρμα. Τα ψάρια γλυκού νερού τείνουν να απορρίπτουν την περίσσεια αλάτων στο περιβάλλον τους. Η αντικατάσταση της απώλειας σε άλατα επιτυγχάνεται μέσω της ενεργητικής διάχυσης, που

λαμβάνει χώρα στα βράγχια και στις εσωτερικές κοιλότητες του στόματος, μέσω του νερού που περνάει από το στόμα. Άλλη είσοδος ιόντων αλάτων στον οργανισμό είναι μέσω της τροφής, αλλά σίγουρα σε μικρότερη ποσότητα από την ενεργητική διάχυση που προαναφέρθηκε. Η απορρόφηση πραγματοποιείται από ειδικά κύτταρα, που έχουν την ικανότητα να μεταφέρουν άλατα ενάντια στην παθητική διάχυση, που συμβαίνει λόγω της συγκέντρωσης αλάτων. Επίσης, τα ψάρια του γλυκού νερού προσλαμβάνουν μικρή ποσότητα νερού με κατάποση, ενώ ακόμα μικρότερη μέσω της τροφής τους. Τα θαλάσσια ψάρια πρέπει να συγκρατούν νερό, για να διατηρήσουν την ισορροπία του μέσα και έξω από το σώμα τους, και επομένως τα νεφρά τους εκκρίνουν μικρή ποσότητα από αυτό. Η κατάποση μεγάλων ποσοτήτων θαλασσινού νερού είναι η κύρια είσοδος του στο σώμα τους και ουσιαστικά διατηρούν το μεγαλύτερο μέρος του και αποβάλλουν το αλάτι. Οι αζωτούχες ενώσεις φαίνεται να εκκρίνονται από τα βράγχια ως αμμωνία. Ακόμα, η αποβολή ιόντων άλατος μπορεί να επιτευχθεί από την λειτουργία ειδικών κυττάρων, τα οποία ονομάζονται χλωριούχα κύτταρα και βρίσκονται στα βράγχια. Τα θαλάσσια ψάρια, καρχαρίες και σαλάχια έχουν ωσμωτικές συγκεντρώσεις στο αίμα τους περίπου ίση με αυτή του θαλασσινού νερού και έτσι δεν χρειάζεται να πίνουν νερό, ούτε να εκτελούν πολλές φυσιολογικές διεργασίες για να διατηρήσουν την ωσμωτική τους ισορροπία. Σε καρχαρίες και σαλάχια η ωσμωτική συγκέντρωση διατηρείται υψηλή λόγω κατακράτησης ουρίας στο αίμα. Οι καρχαρίες γλυκού νερού εμφανίζουν χαμηλότερη συγκέντρωση ουρίας στο αίμα. Υπάρχουν αρκετοί τελεόστεοι ιχθύες, για παράδειγμα ο σολομός (*Salmo salar*), που ταξιδεύουν μεταξύ γλυκού και θαλασσινού νερού και πρέπει να προσαρμόζονται στις αντιστροφές των ωσμωτικών διαβαθμίσεων. Προσαρμόζουν τις φυσιολογικές τους διαδικασίες περνώντας χρόνο στο ενδιάμεσο υφάλμυρο περιβάλλον (Encyclopedia Britannica, 2022).

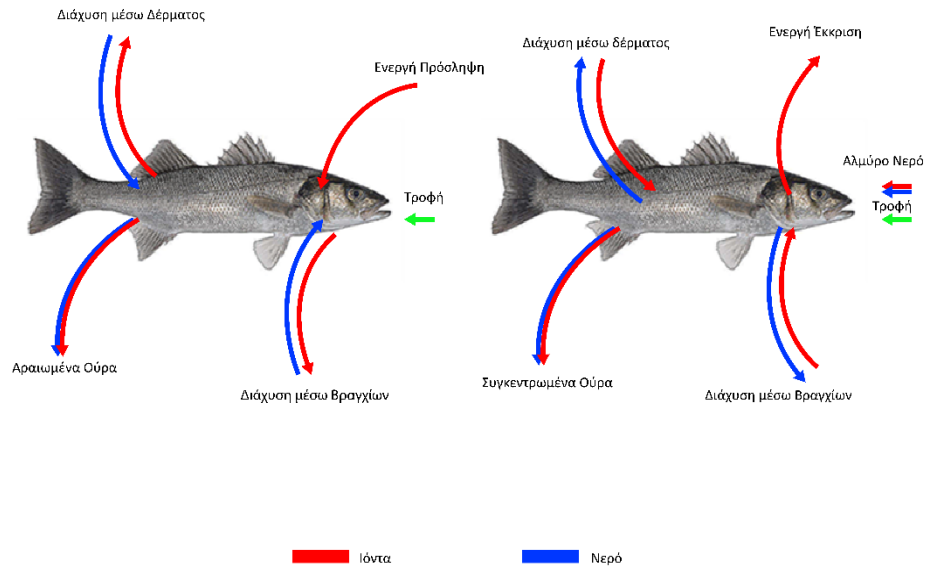
### 1.7.2 Ουροποιητικό σύστημα

Οι ευρύαλοι τελεόστεοι όπως το *Platichthys flesus*, η τσιπούρα *Sparus aurata*, το *Fundulus heteroclitus*, και το ευρωπαϊκό λαβράκι *Dicentrarchus labrax* είναι σε θέση να ελέγχουν την περιεκτικότητα τους σε νερό και ηλεκτρολύτες μέσω διαφορετικών μηχανισμών ωσμωρύθμισης με αποτέλεσμα την υπερ- και υπο-ωσμωρύθμιση σύμφωνα με την εξωτερική αλατότητα. Είναι γνωστό ότι ο νεφρός διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην ωσμωρύθμιση των ευρύαλων ειδών, αλλάζοντας το ρυθμό ροής ούρων και ελέγχοντας την ισορροπία μεταξύ έκκρισης ιόντων και επαναρρόφησης σύμφωνα με την περιβαλλοντική αλατότητα. Παρά τις όποιες αλλαγές της αλατότητας στο εξωτερικό περιβάλλον, η ωσμωτική πίεση του αίματος διατηρείται σχεδόν σταθερή, χάρη στις συνέπειες των ακόλουθων τμημάτων ωσμωτικής ρύθμισης: Οι πρωτεΐνες-υποδοχείς, οι διακλαδικοί θάλαμοι, η πεπτική οδός και το σύμπλεγμα των νεφρών (νεφρός και ουροδόχος κύστη) είναι τα υπεύθυνα μέρη για την ωσμωτική ρύθμιση στους ευρύαλους τελεόστεους.

- Στα γλυκά νερά, τα ευρύαλα είδη κάνουν υπερ-ωσμωρύθμιση: Η ωσμωτικότητα του αίματός τους (περίπου 300 mosm/kg) είναι υψηλότερη από των υδάτων που τα περιβάλλουν (περίπου 5-10 mosm/kg). Εκτίθενται σε διάχυση ιόντων και εισβολή νερού μέσω της ωσμωτικής κλίσης (gradient). Αυτά τα είδη αντλούν νάτριο και χλώριο μέσω του βραγχιακού επιθηλίου. Η πρωταρχική ωσμωρυθμιστική λειτουργία του ουροποιητικού συστήματος είναι να αποβάλλει περίσσεια νερού και να

διατηρήσει τις περισσότερες διαλυμένες ουσίες, μεταξύ των οποίων και τα ιόντα, μέσω της ενεργού επαναρρόφησης, με αποτέλεσμα τον σχηματισμό μεγάλων ποσοτήτων αραιών, υποτονικών ούρων. Η παραγωγή των υποτονικών ούρων στο *D. labrax* ξεκινάει από 2 μηνών ιχθύδιο περίπου, πιθανά από την ενεργή επαναρρόφηση ιόντων στον επιθήλιο των ουρικών σωληνάρων.

- Στο θαλασσινό νερό, τα ευρύαλα είδη κάνουν υπο-ωσμωρύθμιση: Η ωσμωτική πίεση του αίματός τους (περίπου 350 mosm/kg) είναι χαμηλότερη από αυτή του περιβάλλοντος θαλασσινού νερού (περίπου 1.000 mosm/kg), επομένως εκτίθενται σε εισαγωγή άλατος και αφυδάτωση. Για να αντισταθμίσουν την απώλεια νερού, πίνουν θαλασσινό νερό και απορροφούν ενεργά ιόντα μέσω του εντέρου, μια διαδικασία που προκαλεί παθητική απορρόφηση νερού κατά μήκος της ωσμωτικής κλίσης. Η περίσσεια ιόντων αποβάλλεται από τα βράγχια (κυρίως  $\text{Na}^+$  και  $\text{Cl}^-$ ) και τα νεφρά (κυρίως  $\text{Mg}^{2+}$  και  $\text{SO}_4^{2-}$ ). Ο νεφρός παράγει μικρές ποσότητες ισοτονικών ούρων, επιτρέποντας έτσι τη διατήρηση του νερού στο σώμα (Nebel et al., 2005).



**Εικόνα 1.6** Η ωσμωρυθμιστική λειτουργία στους ευρύαλους τελεόστεους. Όπως προαναφέρθηκε, η μετάβαση από την μια φάση στην άλλη και το αντίστροφο δεν γίνεται ακαριαία, καθώς οι ευρύαλοι οργανισμοί θέλουν έναν χρόνο προσαρμογής στα ενδιάμεσα υφάλμυρα νερά για να επιτευχθεί η ωσμωτική μετάβαση πιο σταδιακά και ομαλά. Η περίσσεια ιόντων αποβάλλεται από τα βράγχια (κυρίως  $\text{Na}^+$  και  $\text{Cl}^-$ ) και τα νεφρά (κυρίως  $\text{Mg}^{2+}$  και  $\text{SO}_4^{2-}$ ) (Nebel et al., 2005). (Προσωπικό αρχείο)

Σε κυτταρικό επίπεδο, η ωσμωρυθμιστική λειτουργία στα ψάρια βασίζεται στην παρουσία ή όχι χλωριούχων κυττάρων πλούσιων σε μιτοχόνδρια στα οποία το ένζυμο μεταφοράς ιόντων  $\text{Na}^+/\text{K}^+-\text{ATPase}$  εντοπίζεται στη βασοπλευρική μεμβράνη (basolateral membrane). Η αφθονία των χλωριούχων κυττάρων και  $\text{Na}^+/\text{K}^+-\text{ATPase}$  επηρεάζει την ωσμωρυθμιστική

ικανότητα, η οποία ελέγχει την ικανότητα των ψαριών να ανέχονται την αλατότητα και τις διακυμάνσεις της (Nebel et al., 2005).

Το σύμπλεγμα  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ , ATPase (NKA) είναι μια διαμεμβρανική πρωτεΐνη που παίζει ρόλο στην ωσμωρύθμιση. Η NKA μεταφέρει ενεργά  $\text{Na}^+$  έξω και  $\text{K}^+$  μέσα στο κύτταρο σε ζωικά κύτταρα και διατηρεί αρνητικό δυναμικό μεμβράνης. Αυτή η σημαντική διαμεμβρανική πρωτεΐνη εκφράζεται ιδιαίτερα στα βράγχια και τα νεφρά των διαφόρων ειδών ψαριών. Η παρουσία και η πυκνότητα της NKA στα βράγχια και τα νεφρά είναι ένας δείκτης της δραστηριότητας μεταφοράς των ιόντων (Oğuz, 2015).

## 1.8 Φυσιολογία των νεφρών

Όπως παρουσιάζεται στο Βερίλλης και Μεντέ (2017), οι νεφροί στους τελεόστεους ιχθύες συνήθως εμφανίζονται σε ζεύγη. Οι ιδιότητες που παρουσιάζουν είναι αιμοποιητικές, απεκκριτικές, φαγοκυτταρικές και ενδοκρινικές. Βρίσκονται στην οπισθοπεριτοναϊκή θέση κάτω από την σπονδυλική στήλη και η έκταση που καλύπτουν συνήθως είναι από τα βράγχια έως το πίσω μέρος της κοιλίας. Ο χρωματισμός τους μπορεί να είναι καστανός, κόκκινος και σπάνια μαύρος. Ο κάθε νεφρός μπορεί να δομείται ως ένα ενιαίο όργανο ή να έχει αισθητές εμπρόσθιες και οπίσθιες περιοχές. Το πρόσθιο τμήμα του νεφρού ή πρόνεφρος αποτελείται από αιμοποιητικό, λεμφοειδή και ενδοκρινικό ιστό και παρουσιάζει μια ιδιαίτερη ευαισθησία. Δύο ουρητήρες εκτείνονται στις άκρες των νεφρών και καταλήγουν στην ουροδόχο κύστη, η οποία αποβάλλει τα ούρα από τους ουρητήρες δια μέσου της ουρήθρας. Η βασική λειτουργική μονάδα του νεφρού είναι ο νεφρώνας. Η δομή του νεφρώνα στους ιχθύες του γλυκού νερού οριοθετείται από κυτταρικά διακριτές περιοχές, όπως το νεφρικό

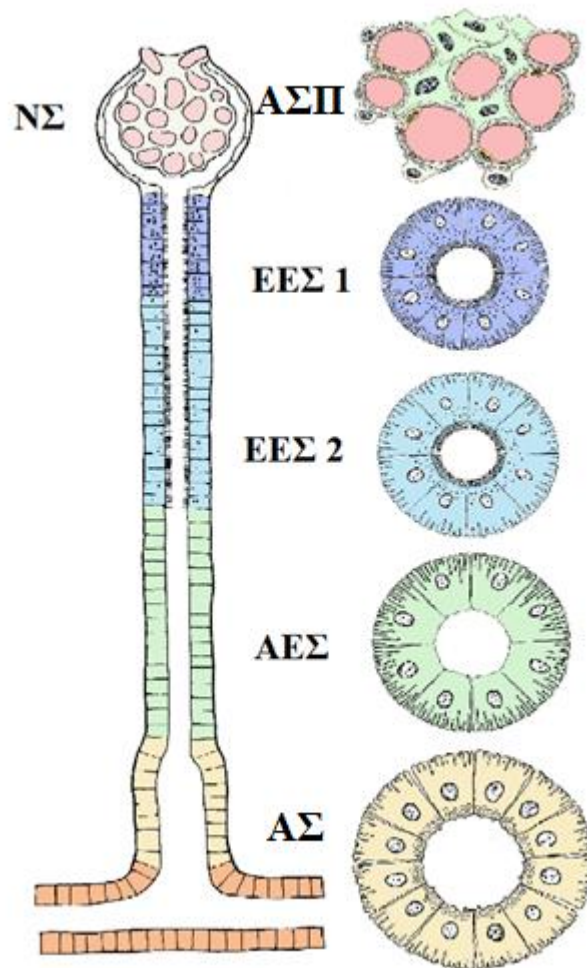
σωμάτιο με το αγγειώδες σπείραμα και την κάψα του Bauman, καθώς επίσης και το εγγύς, το μεσαίο και το άπω εσπειραμένο σωληνάριο. Ο νεφρώνας των ιχθύων του θαλασσινού νερού εμφανίζει λιγότερα σε αριθμό και μικρότερα σε μέγεθος νεφρικά σωμάτια για να επιτευχθεί μεγαλύτερη κατακράτηση ούρων στο σώμα τους. Η συγκράτηση και η διασπορά των ούρων στους ουρητήρες γίνεται μέσω αγωγών, οι οποίοι γεμίζουν από μικρά αθροιστικά σωληνάρια, τα οποία συνδέονται με το άπω εσπειραμένο σωληνάριο. Ο νεφρώνας στους ιχθύες αποτελείται από τις παρακάτω κυτταρολογικές περιοχές, όπως παρουσιάζονται και στην Εικόνα 1.7:

- **Νεφρικό σωμάτιο:** Το νεφρικό σωμάτιο αποτελείται από το αγγειώδες σπείραμα και την κάψα του Bauman, που το περικλείει, με το μονόστιβο πλακώδες επιθήλιο της κάψας. Το επιθήλιο του αγγειώδους σπειράματος δομείται από τα πεπλατυσμένα ποδοκύτταρα. Το μέγεθός του διαφοροποιείται με το είδος του ιχθύος.
- **Εσπειραμένο σωληνάριο:** Αμέσως μετά το νεφρικό σωμάτιο, στην δομή του νεφρώνα, βρίσκεται το εγγύς εσπειραμένο σωληνάριο, με το οποίο μεταφέρεται η ουρία. Το είδος των δομών που συντελούν το εγγύς εσπειραμένο σωληνάριο είναι δυο τύπων: (α) με κυβοειδές και κυλινδρικό επιθήλιο, με πυκνή ψυκτροειδή παρυφή στον αυλό του, πυρήνες στην βάση των κυττάρων και εκτεταμένο σύστημα σωληναρίων στην κορυφή των κυττάρων, και (β) με κυλινδρικά και ψηλότερα, με κεντρικό πυρήνα, επιθηλιακά κύτταρα, χωρίς ανεπτυγμένη ψυκτροειδή παρυφή και εκτεταμένο σύστημα σωληναρίων. Υπάρχει, σε λίγα είδη ιχθύων, μια συνέχεια του εγγύς εσπειραμένου σωληναρίου, το μεσαίο εσπειραμένο σωληνάριο, με στενό αυλό



και μικρολάχνες , για υποβοήθηση στην μετακίνηση των υγρών. Το άπω εσπειραμένο σωληνάριο αποτελείται από μεγάλα κυλινδρικά επιθηλιακά κύτταρα και υπάρχουν μόνο στους ιχθύες γλυκών νερών.

- **Αθροιστικά σωληνάρια και ουροδόχος κύστη:** Τα ούρα στην συνέχεια εισέρχονται στα αθροιστικά σωληνάρια και τους ουρητήρες. Το επιθήλιο των αθροιστικών σωληναρίων είναι κυλινδρικό με πυρήνες που είναι στην βάση του κυττάρου και δεν έχουν ψυκτροειδή παρυφή. Η διάμετρος διαδοχικών αθροιστικών σωληναρίων δύναται να αυξάνει και το επιθήλιο να μετατρέπεται σε ψευδοπολύστιβο και να εμφανίζει βλεννογόνα κύτταρα. Τα μεγάλα αθροιστικά σωληνάρια εμφανίζουν κάτω από το επιθήλιο στιβάδες συνδετικού και μυϊκού ιστού. Οι ουρητήρες ανοίγουν κατευθείαν προς τα έξω και τα ούρα εκβάλλονται από τον ουρικό πόρο ή καταλήγουν στην ουροδόχο κύστη, όπως στην περίπτωση των κυπρινοειδών. Η ουροδόχος κύστη επενδύεται από ένα ψευδοπολύστιβο επιθήλιο. Όταν η ουροδόχος κύστη είναι γεμάτη, το επιθήλιο της εμφανίζεται κυβοειδές, ενώ όταν είναι άδεια , τα ίδια κύτταρα φαίνονται κυλινδρικά. Κάτω από το επιθήλιο υπάρχουν στιβάδες συνδετικού και μυϊκού ιστού και νεύρα. Η κύστη μπορεί να είναι απλά μια διάταση των ουρητήρων ή ένα σακοειδές όργανο, που εκκενώνεται μέσω του ουρογεννητικού πόρου.



**Εικόνα 1.7** Ανατομική ανασκόπηση του νεφρώνα ευρύαλου ιχθύος. Η εικόνα αναπαριστά την δομή του νεφρώνα ενός ευρύαλου ιχθύ με τα δομικά του μέρη: το νεφρικό σωματίο (ΝΣ), που αποτελείται από το αγγειώδες σπείραμα (ΑΣΠ) και την κάψα του Bauman, τα 2 μέρη του εγγύς εσπειραμένου σωληναρίου (ΕΕΣ 1, ΕΕΣ 2), το άπω εσπειραμένο σωληνάριο (ΑΕΣ) και το αθροιστικό σωληνάριο (ΑΣ). (Takvam et al,2021)

Η πειραματική διπλωματική εργασία αυτή έχει ως σκοπό να ενδείξει αν η ωσμωρύθμιση στο *D.labrax*, που παρευρίσκονταν σε νερά 3 διαβαθμισμένων υφάλμυρων αλατοτήτων (8‰, 14‰ και 20‰), επηρεάζει τις διαμέτρους των νεφρικών εσπειραμενών σωληναρίων .

## 2. Υλικά και μέθοδοι

### 2.1 Πειραματικός σχεδιασμός

Το πείραμα πραγματοποιήθηκε στις εγκαταστάσεις του Τμήματος Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Τα 45 νεαρά ιχθύδια ευρωπαϊκού λαβρακιού προήλθαν από 3 δεξαμενές, 15 από κάθε δεξαμενή αντίστοιχα, με ρυθμισμένες αλατότητες 8‰, 14‰ και 20‰. Χάριν ευκολίας κατονομάστηκαν σε δεξαμενές Δ8, Δ14 και Δ20.

Αρχικά, τα άτομα λαβρακιού εισήχθησαν στο εργαστήριο, αφού πρώτα είχαν θυσιαστεί για τον σκοπό του πειράματος με υπερδοσολογία αναισθητικού MS-222. Στην συνέχεια, με την χρήση νυστεριού, δημιουργήσαμε μια κοιλιακή τομή στα άτομα και εξήχθησαν όσο το δυνατότερο μεγαλύτερα τμήμα από τον οπίσθιο νεφρό, το οποίο εισήχθη σε ήδη ονοματισμένα πλαστικά φιαλίδια, που περιείχαν προπαρασκευασμένο μονιμοποιητικό υγρό Davinson (Eltoum et al, 2001).

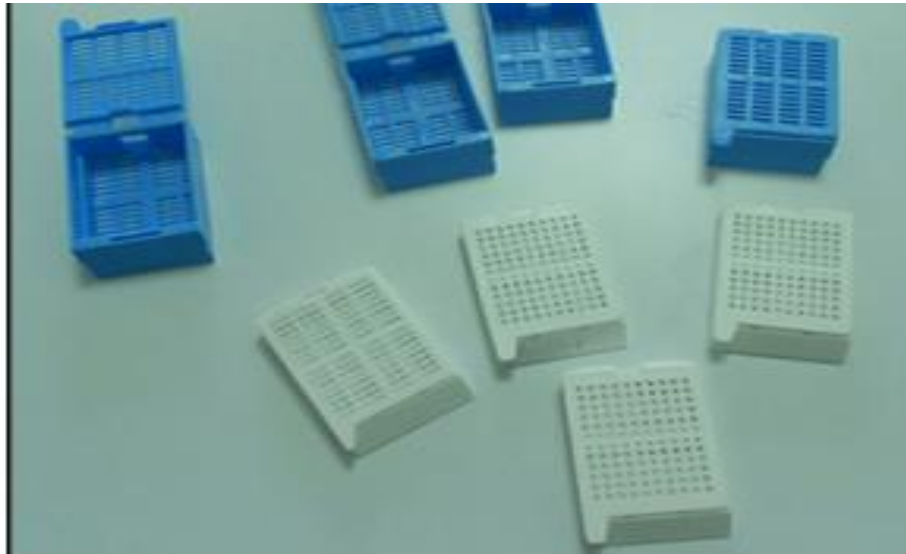
**Πίνακας 2.1.1** Πρωτόκολλο παρασκευής υγρού Davinson (Eltoum et al, 2001). Το μονιμοποιητικό υγρό αποθηκεύτηκε στο ψυγείο και αφέθηκε τουλάχιστον 24 ώρες πριν την τοποθέτηση των δειγμάτων.

<b>Ουσίες-Συστατικά</b>	<b>Ποσότητα (ml)</b>
<b>Αιθανόλη 95 %</b>	<b>60</b>
<b>Φορμαλδεΰδη 37 %</b>	<b>40</b>
<b>Αιθανικό οξύ</b>	<b>20</b>
<b>H<sub>2</sub>O</b>	<b>60</b>
	<b>Σύνολο : 180</b>

Η αφαίρεση και τοποθέτηση του τμήματος του οργάνου στα φιαλίδια έγινε με την χρήση χειρουργικών ψαλιδιών και λαβίδων (Εικ. 2.1.1). Με το πέρας 24 ωρών, τα δείγματα τεμαχίστηκαν σε μικρότερα κομμάτια, ονοματίστηκαν και τοποθετήθηκαν σε ειδικές κασετίνες μονιμοποίησης (Εικ. 2.1.2).

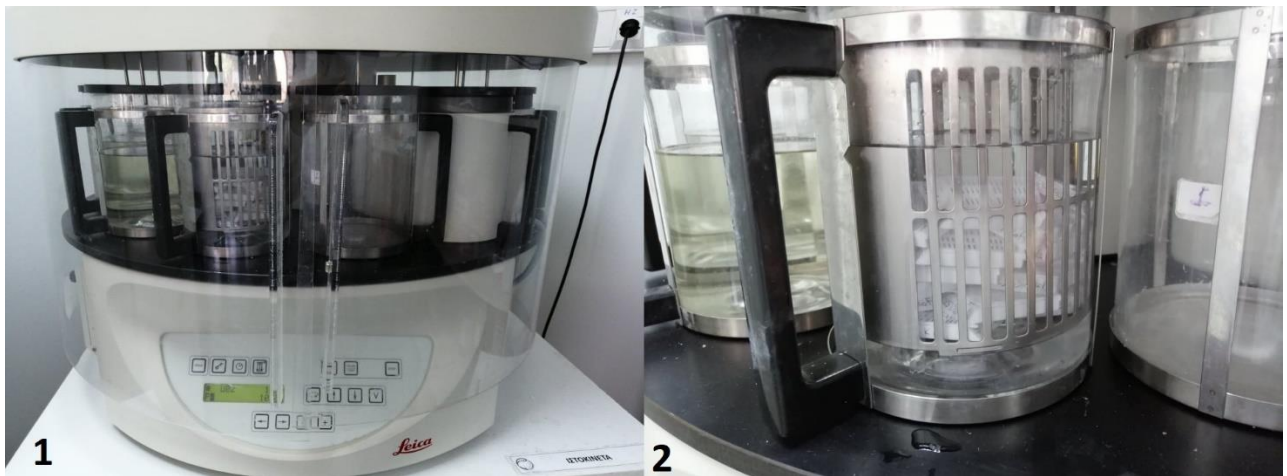


**Εικόνα 2.1.1** Χειρουργικά εργαλεία για απόσπαση του υπό μελέτη ιστού (εργαστηριακό φυλλάδιο).



**Εικόνα 2.1.2** Ειδικές θήκες, βασικό εργαλείο της μονιμοποίησης (εργαστηριακό φυλλάδιο).

Ακολούθως, οι κασετίνες με τα δείγματα τοποθετήθηκαν στο κενό ειδικό εξάρτημα-δοχείο της ιστοκινέτας (Leica TP 1020) (Εικ. 2.3) για να επιτευχθεί το στάδιο της αφυδάτωσης και της διάλυσης. Το πρωτόκολλο της ιστοκινέτας που χρησιμοποιήθηκε παρουσιάζεται στον Πίνακα 2.1.2 και το πρόγραμμα του διαρκεί 19 ώρες.



**Εικόνα 2.1.3** Στην αριστερή εικόνα 1 παρουσιάζεται η ιστοκινέτα (Leica TP 1020) με τα 12 δοχεία εμφυτίσεων και στην δεξιά εικόνα 2 φαίνεται η στήλη της παραφίνης και οι ειδικές θήκες που βρίσκονται κάτω από την στάθμη της (προσωπικό αρχείο).

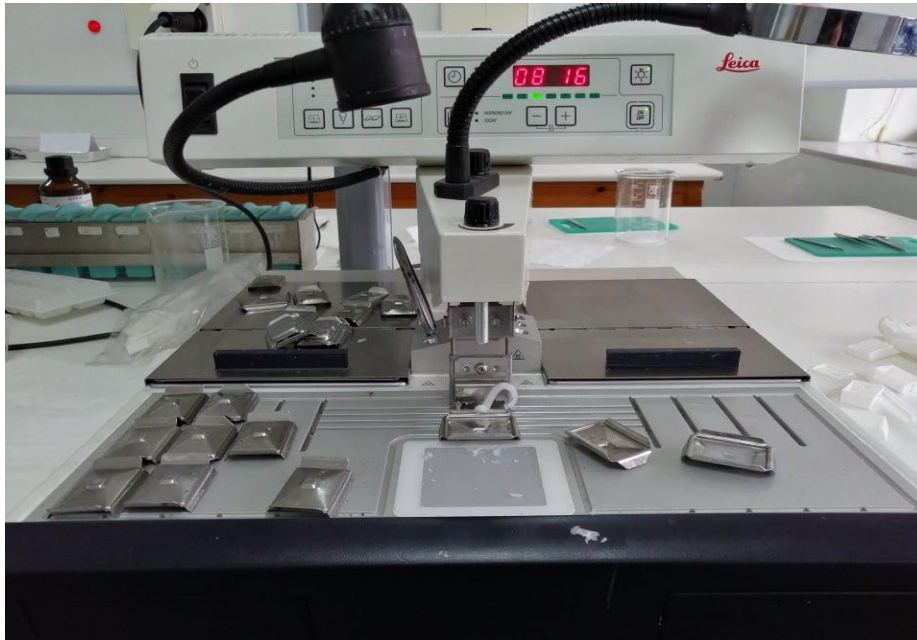
Πίνακας 2.1.2 Πρωτόκολλο Ιστοκινέτας: Επιλογή προγράμματος PROG 5

Αριθμημένα δοχεία με διαλύματα	Διάρκεια Εμβάπτισης (ώρες)
1. Αιθανόλη 70 %	1
2. Αιθανόλη 80 %	1
3. Αιθανόλη 95 %	2
4. Αιθανόλη 95%	1
5. Αιθανόλη 100%	1
6. Αιθανόλη 100%	1
7. Αιθανόλη 100%	2
8. Ξυλόλη	2
9. Ξυλόλη	2
10. Παραφίνη	2
11. Παραφίνη	4
Σύνολο : 19 ώρες	

Με το πέρας του προγράμματος, αφαιρέθηκε το δοχείο με τις κασετίνες , ανοίχθηκαν και τοποθετήθηκαν οι αφυδατωμένοι ιστοί σε ειδικές μεταλλικές θήκες-καλούπια για να επιτευχθεί η έγκλιση τους σε παραφίνη με την χρήση της συσκευής σκλήνωσης (Leica EG 1150 H) (Εικ. 2.1.4). Η παραφίνη εγχύθηκε στα μεταλλικά καλούπια και άμεσα



τοποθετήθηκε σε μια ψυχρή πλακά (Leica EG 1150 C) για να στερεοποιηθεί η υγρή παραφίνη (Εικ. 2.1.5).



**Εικόνα 2.1.4** Στην εικόνα διακρίνεται η συσκευή σκλήνωσης και τα μεταλλικά καλούπια (προσωπικό αρχείο).



**Εικόνα 2.1.5** Η ψυχρή πλάκα. (προσωπικό αρχείο)

Τυχόν ξεχειλίσματα παραφίνης από το καλούπι αποσπάστηκαν με νυστέρι. Αφαιρώντας τα μεταλλικά καλούπια δημιουργείται ένας στερεός κύβος παραφίνης-ιστού έτοιμος για λήψη τομών με την χρήση της παλινδρομικής μικροτόμου (SLEE MAINZ CUT 5062) (Εικ. 2.1.6). Εκεί τοποθετήθηκε στην ειδική βάση ο κύβος και προγραμματίστηκε η μικροτόμος να ωθεί 6μm τον κύβο, με χειροκίνητη κίνηση του μοχλού, προς την λεπίδα, που φέρει. Τα λεπτά φύλλα πάχους 6μm παραφίνης-ιστού που δημιουργήθηκαν ελήφθησαν προσεκτικά με λαβίδα, τοποθετήθηκαν σε υδατόλουτρο, σε θερμοκρασία 40°C (Εικ. 2.1.7). Στη συνέχεια, πάρθηκαν και επικολλήθηκαν πάνω σε ονοματισμένες αντικειμενοφόρες πλάκες. Η εξάτμιση του νερού από το υδατόλουτρο μεταξύ αντικειμενοφόρου πλάκας και τομών επιταχύνθηκε με την τοποθέτηση τους πάνω σε θερμαινόμενη πλάκα (Εικ. 2.1.8). Η φύλαξη των δειγμάτων έγινε σε αποστειρωμένο θάλαμο. Ο καθαρισμός των μηχανημάτων γινόταν σε τακτά χρονικά διαστήματα με ξυλόλη για αποφυγή καταλοίπων παραφίνης.



**Εικόνα 2.1.6** Η παλινδρομική μικροτόμος με τον χειροκίνητο μοχλό στα δεξιά. (Solmedia, 2022)



**Εικόνα 2.1.7** Το υδατόλουτρο ρυθμισμένο στους 40°C (προσωπικό αρχείο).



Εικόνα 2.1.8 Θερμαινόμενη πλάκα (προσωπικό αρχείο).

## 2.2 Χρώση και τελικό στάδιο επικάλυψης των τομών

Η χρώση πραγματοποιήθηκε με την χρήση των υδατοδιαλυτών χρώσεων αιματοξυλινή και ηωσίνη. Η μεταφορά και η εμφύσηση αντικειμενοφόρων πλακών στα διαλύματα που αναγράφονται στο πρωτόκολλο χρώσης (Πίν. 2.2.1) επιτεύχθηκε με ειδικό δοχείο, που φέρει 10 ειδικούς υποδοχείς για τις αντικειμενοφόρους πλάκες. Οι χρωστικές διηθήθηκαν υσττέρα από κάθε επανάληψη του πρωτοκόλλου χρώσης για αποφυγή επιμολύνσεων.

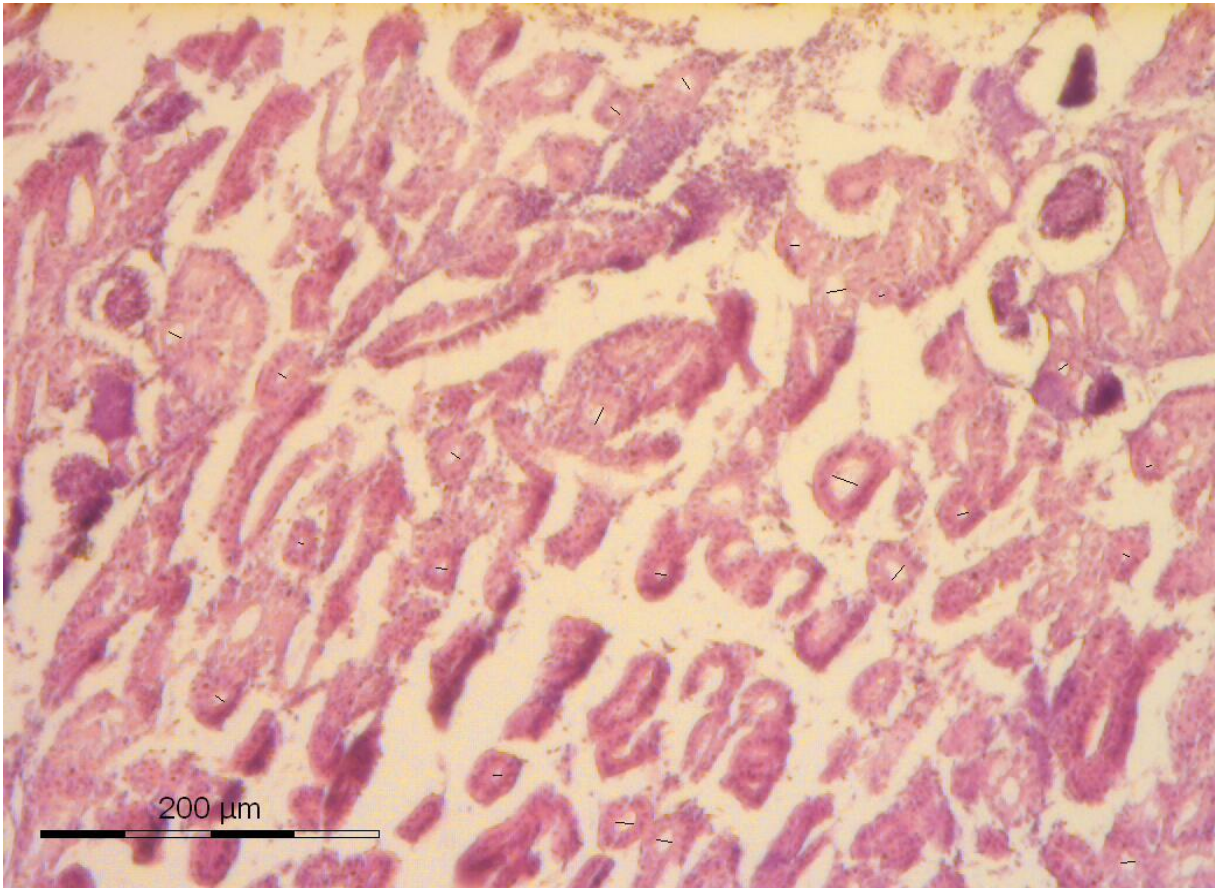
Πίνακας 2.2.1 Πρωτόκολλο Χρώσης με τις χρώσεις Αιματοξυλινή Ηωσίνη

ΒΗΜΑΤΑ	ΧΡΩΣΕΙΣ	ΧΡΟΝΟΙ
1	Ξυλόλη I	15 '
2	Ξυλόλη II	15 '
3	Αλκοόλη 100%	5 '
4	Αλκοόλη 100%	5 '
5	Αλκοόλη 95%	5 '
6	Αλκοόλη 95%	5 '
7	Αλκοόλη 70%	5 '
8	H <sub>2</sub> O (βρύσης)	2 '
9	Αιματοξυλίνη	7 '
10	H <sub>2</sub> O (τρεχούμενο βρύσης)	2 '
11	Διάλυμα διαφοροποίησης	2 εμβαπτίσεις
12	H <sub>2</sub> O (τρεχούμενο βρύσης)	2 '
13	Ηωσίνη	3 '
14	H <sub>2</sub> O (βρύσης)	30''συνεχόμενες εμβαπτίσεις
15	Αλκοόλη 70%	1 '
16	Αλκοόλη 90%	1 '
17	Αλκοόλη 90%	1 '
18	Αλκοόλη 100%	1 '
19	Αλκοόλη 100%	1 '
20	Ξυλόλη	15 '

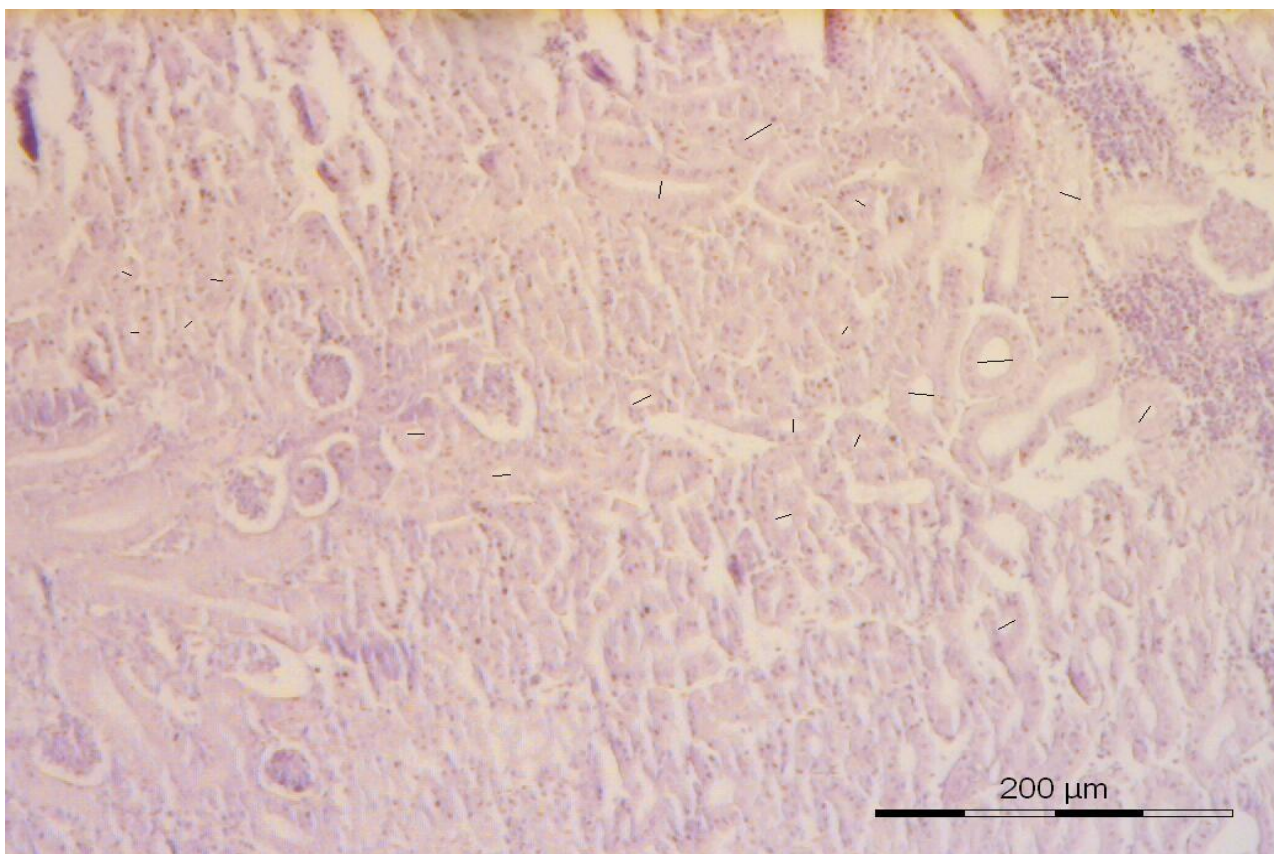
Με το πέρας της διαδικασίας χρώσης των ιστολογικών τομών χρησιμοποιήθηκε η συνθετική συγκολλητική ουσία DPX για την επικόλληση επικαλυπτρίδων στις αντικειμενοφόρους πλάκες.

### **2.3 Παρατήρηση και μέτρηση διαμέτρων εσπειραμενών σωληναρίων**

Οι 38 αντικειμενοφόρες πλάκες φυλάχθηκαν σε αποστειρωμένη ειδική θήκη. Η παρατήρηση τους έγινε με το οπτικό μικροσκόπιο ZEISS (AxioStar Plus) στον αντικειμενικό φακό με μεγέθυνση x10 και η απεικόνιση τους έγινε σε οθόνη μέσω ειδικής ενσωματωμένης κάμερας (Jenoptik ProgRes® Capture), καθώς και η λήψη ιστολογικών στιγμιότυπων με το λογισμικό της ProgRes®-Capture Pro 2.1. Συνολικά πάρθηκαν 134 στιγμιότυπα από 30 δείγματα που είχαν ευδιάκριτα εσπειραμένα σωληνάκια. Οι μετρήσεις των διαμέτρων των εσπειραμενών σωληναρίων έγιναν με το λογισμικό ImageJ. Οι διάμετροι των εσπειραμενών σωληναρίων εμπεριείχαν μόνο την διάμετρο του αυλού του σωληναρίου. (Εικ. 2.3.1, 2.3.2 , 2.3.3)

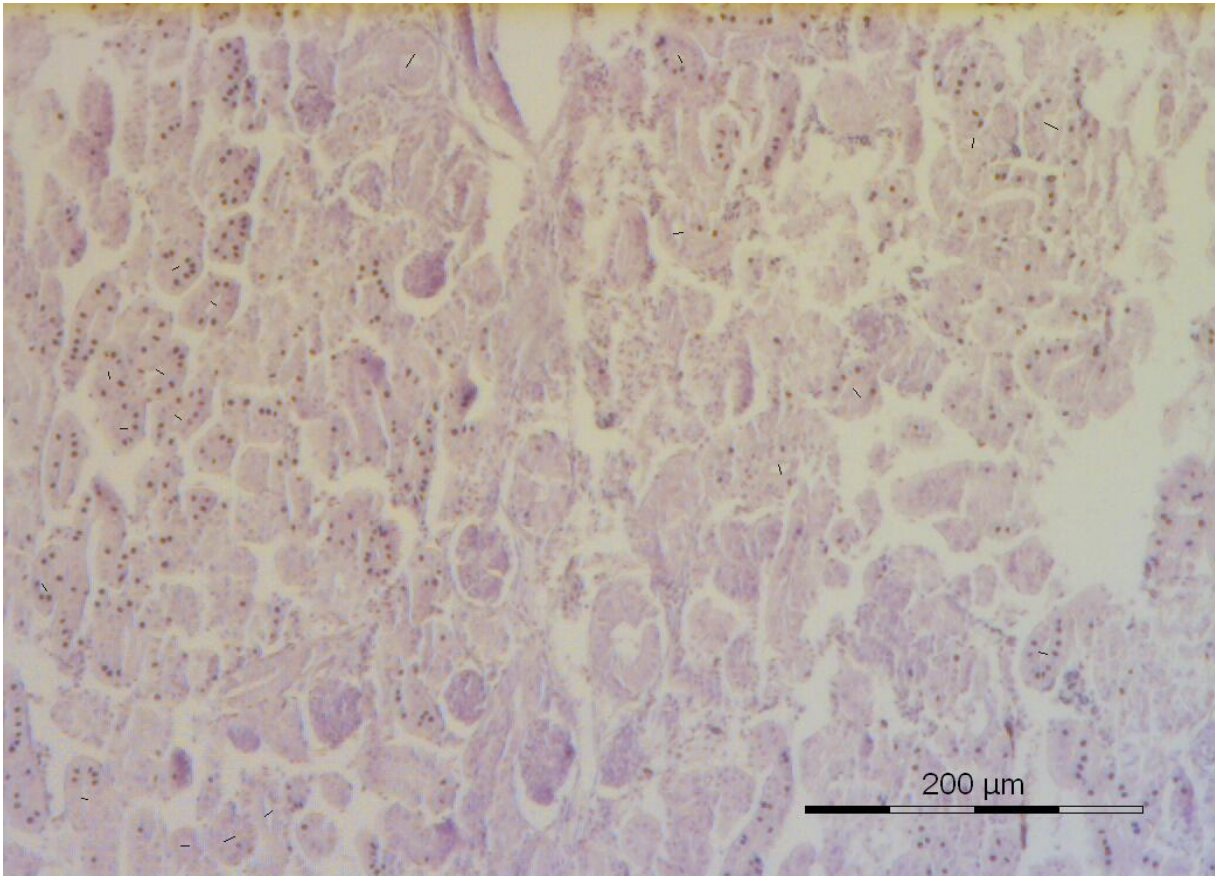


**Εικόνα 2.3.1** Οπίσθιος νεφρός λαβρακιού που έζησε σε δεξαμενή με αλατότητα  $S_8 = 8\%$ , όπως απεικονίζεται με την χρήση της ειδικής κάμερας (Jenoptic ProgRes® Capture). Με μαύρες γραμμές επισημαίνονται τα σημεία που πάρθηκαν οι μετρήσεις (προσωπικό αρχείο).



**Εικόνα 2.3.2** Οπίσθιος νεφρός λαβρακιού που έζησε σε δεξαμενή με αλατότητα  $S_{14}= 14\%$ . Είναι σημειωμένα με μαύρες γραμμές τα σημεία, που πάρθηκαν οι μετρήσεις. (προσωπικό αρχείο)





**Εικόνα 2.3.3** Οπίσθιος νεφρός λαβρακιού που έζησε σε δεξαμενή με αλατότητα  $S_{20}= 20\%$ . Είναι σημειωμένα με μαύρες γραμμές τα σημεία, που πάρθηκαν οι μετρήσεις. (προσωπικό αρχείο)

## 2.4 Στατιστική ανάλυση

Οι μετρήσεις στα αποτελέσματα παρουσιάζονται με την μορφή μέσων όρων  $\pm$  τυπικό σφάλμα. Με την εφαρμογή των Kolmogorov-Smirnov, Normal Q-Qplots, θηκογραμμάτων και ιστογραμμάτων ελέγχθηκε η κανονική κατανομή των μετρήσεων. Kruskal-Wallis H Test χρησιμοποιήθηκε για την δημιουργία ισχυρισμού ισότητας των μέσων των τριών ομάδων αλατότητας. Η επιλογή αυτού του στατιστικού ελέγχου έγινε λόγω στο ότι η εξαρτημένη

μεταβλητή έχει μετρηθεί σε τακτικό επίπεδο , με μια συνέχεια στην δομή της και η ανεξάρτητη μεταβλητή τυπικά πρέπει να αποτελείται από 3 ή περισσότερες ανεξάρτητες ομάδες , σε αντίθεση με το Mann-Whitney U test που χρησιμοποιείται πιο συχνά για 2 ομάδες. Ακόμα, η επιλογή καθορίστηκε και από τα ανεξάρτητα δείγματα, οι παρατηρήσεις έγιναν από διαφορετικά άτομα για κάθε βαθμίδα της εξαρτημένης μεταβλητής. Όλες οι στατιστικές αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν με την χρήση του λογισμικού IBM SPSS Statistics 27.0.

### 3. Αποτελέσματα

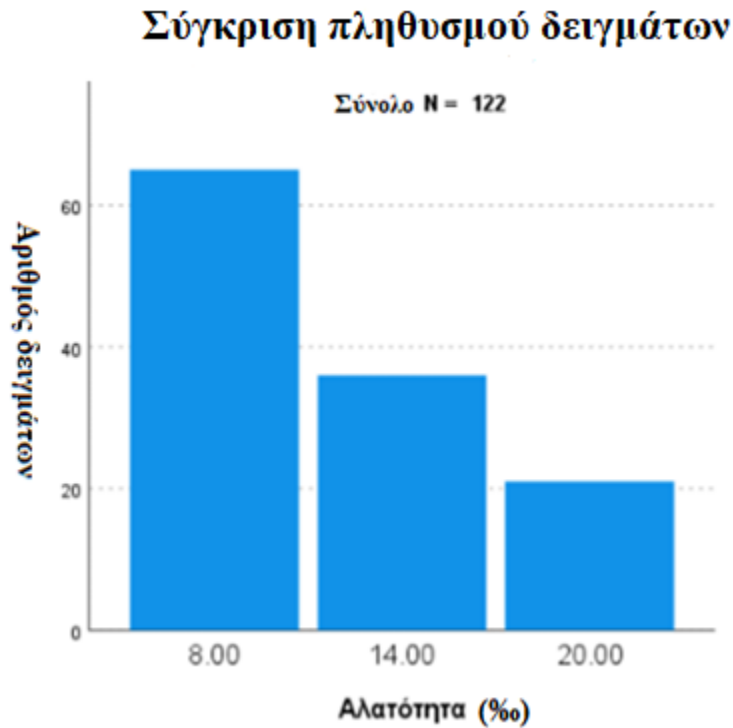
#### 3.1 Περιγραφικά στατιστικά στοιχεία

Οι μετρήσεις που πάρθηκαν από τα δείγματα της δεξαμενής Δ8 αντιπροσωπεύουν το 53,27 % των συνολικών μετρήσεων, ενώ οι μετρήσεις για την δεξαμενή Δ14 το 29,51% και για Δ20 το 17,21% . Ο μέσος όρος (mean) για τη δεξαμενή Δ20 είναι  $M20=7,878 \mu\text{m}$  ( $SE = 0,684$ ) και ήταν ο μεγαλύτερος μεταξύ των 3 ομάδων. Στην συνέχεια ακολουθούσε εκείνος της ομάδας Δ8 με τιμή  $M8=6,79 \mu\text{m}$  ( $SE=0,161$ ) και ο πιο μικρός ήταν της ομάδας Δ14 με τιμή  $M14=6,715 \mu\text{m}$  ( $SE=0,251$ ).

**Πίνακας 3.1.1** Οι τιμές των μέσων όρων των διαμέτρων των εσπειραμένων σωληναρίων ( $\mu\text{m}$ )  $\pm$  τυπικό σφάλμα ανά αλατότητα (%).

<b>Αλατότητα (%)</b>	<b>Μέσοι όροι διαμέτρων εσπειραμένων σωληναρίων (<math>\mu\text{m}</math>)</b>
<b>8</b>	<b><math>6,79 \pm 0,161</math></b>
<b>14</b>	<b><math>6,715 \pm 0,251</math></b>
<b>20</b>	<b><math>7,878 \pm 0,684</math></b>

Συνολικά δημιουργήθηκαν 38 ιστολογικά δείγματα, 13 ήταν από την δεξαμενή Δ8, 11 από την δεξαμενή Δ14, τα λιγότερα στον αριθμό (6) πάρθηκαν από την δεξαμενή Δ20, ενώ και 8 κρίθηκαν ακατάλληλα για εξαγωγή μετρήσεων . Τραβήχτηκαν συνολικά 122 φωτογραφικά στιγμιότυπα, από τα οποία 65 ήταν από την δεξαμενή Δ8, 36 από την δεξαμενή Δ14 και 21 από την δεξαμενή Δ20 (Σχ. 3.1.1).



**Σχήμα 3.1.1** Σύγκριση πληθυσμών των δειγμάτων στις 3 διαφορετικές αλατότητας.

## 3.2 Στατιστικά χαρακτηριστικά του δείγματος

### 3.2.1 Έλεγχος κανονικής κατανομής στα ανεξάρτητα δείγματα του πειράματος

Με την χρήση ενός ελέγχου Kolmogorov-Smirnov για επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας όπου  $p < 0,05$ , για κάθε μια από τις 3 αλατότητες (8%, 14%, 20%) , ενώ και με οπτική παρατήρηση των ιστογραμμάτων, των Normal Q-Q PLOTS και του θηκογράμματος αποδείχθηκε ότι οι τιμές των διαμέτρων των εσπειραμενών σωληνάριων και για τις 3 αλατότητες δεν ακολουθούν κανονική κατανομή. Αυτό συμβαίνει, γιατί η λοξότητα για τα δείγματα με αλατότητα 8% είναι  $S_{kp8}=1,115$  ( $SE=0,297$ ) και η κύρτωση 1,613 ( $SE=$

0,586), για αλατότητα 14‰, η λοξότητα είναι  $S_{kp14}=1,836$  (SE= 0,393) και η κύρτωση 3,616 (SE= 0,768) και τέλος για αλατότητα 20‰ η λοξότητα είναι  $S_{kp20}= 2,049$  (SE= 0,501) και η κύρτωση 3,986 (SE= 0,972) (Cramer ,1998 ; Cramer & Howitt , 2004 ; Doane & Seward, 2011).

**Πίνακας 3.2.1.1** Παρουσίαση τιμών για τον έλεγχο της κανονικής κατανομής στα ανεξάρτητα δείγματα διαμέτρων των εσπειραμένων σωληναρίων των τριών αλατοτήτων (8‰,14‰,20‰). Οι τιμές με τον ίδιο εκθέτη <sup>(a)</sup> είναι  $p<0,05$ , οπότε τα δείγματα μας δεν ακολουθούν κανονική κατανομή.

<b>Αλατότητα (%)</b>	<b>Μέσοι όροι (μm)</b>	<b>Kolmogorov-Smirnov</b>	<b>Λοξότητα ± τυπικό σφάλμα</b>	<b>Κύρτωση ± τυπικό σφάλμα</b>
<b>8</b>	<b>6,79</b>	<b>0,016<sup>a</sup></b>	<b>1,115 ± 0,297</b>	<b>1,613 ± 0,586</b>
<b>14</b>	<b>6,715</b>	<b>&lt;0,001<sup>a</sup></b>	<b>1,836 ± 0,393</b>	<b>3,616 ± 0,768</b>
<b>20</b>	<b>7,878</b>	<b>0,002<sup>a</sup></b>	<b>2,049 ± 0,501</b>	<b>3,986 ± 0,972</b>

### 3.2.2 Μη παραμετρικός έλεγχος

Εφόσον, τα δείγματα δεν ακολουθούν κανονική κατανομή χρησιμοποιείται μη παραμετρικός έλεγχος της ισότητας τριών μέσων μεταξύ των τριών ανεξάρτητων δειγμάτων μέσω του Kruskal-Wallis H Test ( Kruskal & Wallis , 1952).

Χρησιμοποιείται αυτός ο στατιστικός έλεγχος, γιατί η εξαρτημένη μεταβλητή, δηλαδή η αλατότητα των δεξαμενών, μετράτε σε τακτικό επίπεδο, ενώ η ανεξάρτητη μεταβλητή, δηλαδή η διάμετρος των εσπειραμένων σωληναρίων, δομεί 3 ανεξάρτητες ομάδες τιμών, οι οποίες είναι ανεξάρτητες μεταξύ τους.

Με την χρήση του SPSS αποδεικνύεται, ότι πρέπει να διατηρήσουμε την μηδενική υπόθεση, η οποία αναφέρει ότι η κατανομή των διαμέτρων των εσπειραμένων σωληναρίων είναι στατιστικά ίδια κατά μήκος των 3 κατηγοριών της αλατότητας των δεξαμενών. Το επίπεδο σημαντικότητας είναι  $p=0,225$ , όπου  $p>0,050$ , και έρχεται να επιβεβαιώσει την μηδενική υπόθεση που πάρθηκε.

**Πίνακας 3.2.2.1** Οι τιμές των μέσων όρων των διαμέτρων των εσπειραμένων σωληναρίων ( $\mu\text{m}$ )  $\pm$  τυπικό σφάλμα ανά αλατότητα ( $\%$ ). Οι μέσοι όροι, που παρουσιάζονται στον πίνακα με τον ίδιο εκθέτη δεν έχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ τους ( $p=0,225 > 0,05$ ).

<b>Αλατότητα (%)</b>	<b>Μέσοι όροι διαμέτρων εσπειραμένων σωληναρίων (<math>\mu\text{m}</math>)</b>
<b>8</b>	<b><math>6,79^a \pm 0,161</math></b>
<b>14</b>	<b><math>6,715^a \pm 0,251</math></b>
<b>20</b>	<b><math>7,878^a \pm 0,684</math></b>

## 4. Συζήτηση

### 4.1 Ανάλυση των αποτελεσμάτων

Στο παρόν πείραμα παρουσιάστηκαν μη στατιστικά σημαντικές διαφορές στους μέσους όρους των διαμέτρων των εσπειραμένων σωληνάρων των λαβρακίων για κάθε μια από τις 3 αλατότητες (8‰, 14‰, 20‰), που πραγματοποιήθηκε ο πειραματικός μας έλεγχος. Η αλατότητα ασκεί επιλεκτική πίεση σε όλα τα αναπτυξιακά στάδια, συμπεριλαμβανομένων των νεότερων, γεγονός που δικαιολογεί μια οντογενετική προσέγγιση της μελέτης της ωσμωρύθμισης. Κατά την οντογένεση, καλά τεκμηριωμένες περιπτώσεις καταδεικνύουν τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ ωσμωρύθμισης, ανοχής αλατότητας και οικολογίας. Η οντογενετική διακύμανση στην ικανότητα ωσμωρύθμισης εμφανίζεται ως ένας από τους βασικούς παράγοντες που επιτρέπουν την επιτυχή προσαρμογή ενός είδους στον βιότοπό του. Πρόσφατες μελέτες έχουν περιγράψει την οντογένεση και την αλληλεπίδραση της με την ωσμωρύθμιση στο *D. labrax*, όπου όπως αναφέρεται, αμέσως μετά την εκκόλαψη, οι προνύμφες έχουν την ικανότητα να ωσμωρρυθμίζονται και η ωσμωρρυθμιστική τους ικανότητα αυξάνεται κατά την ανάπτυξη. Αυτή η ικανότητα οφείλεται εν μέρει στην παρουσία ιονοκυττάρων διάσπαρτων στην πρόιμη μορφή τους, που παρουσιάζουν οι προνύμφες και αργότερα παρεβρίσκονται κατά μήκος των βραγχίων. Κατά την πρόιμη ανάπτυξη του λαβρακιού, τα προνεφρικά σωληνάρια αυξάνονται σε μέγεθος, διαφοροποιούνται και αναδιπλώνονται στο πρόσθιο τμήμα του ουροποιητικού συστήματος. Ο οπισθόνεφρος του *D. labrax* αναπτύσσεται από τα συλλεκτικά σωληνάρια περίπου στο στάδιο της 25<sup>ης</sup> μέρας. Σε αυτό το στάδιο, τα εσπειραμένα σωληνάρια είναι κοντά, διπλωμένα και συνδέονται με ένα μικρό σπείραμα.

Αργότερα, γύρω στο στάδιο της 60<sup>ης</sup> μέρας, στη μετάβαση από προνύμφη σε νεαρό άτομο, αυτά τα σωληνάρια επιμηκύνονται και ο αριθμός τους αυξάνεται (Varsamos et al, 2001).

Μια ολοκληρωμένη σειρά γεγονότων φαίνεται λοιπόν να συμβαίνει κατά την ανάπτυξη των ψαριών, από μοριακές και κυτταρικές αλλαγές (έκφραση πρωτεϊνών, διαφοροποίηση ιονοκυττάρων και ωσμωρυθμιστική επιθήλια) που σχετίζονται με ανατομικές τροποποιήσεις (που επηρεάζουν το δέρμα, το πεπτικό σύστημα, το ουροποιητικό σύστημα, τα βράγχια) που οδηγεί σε φυσιολογικές συνέπειες (αλλαγές στην ωσμωρυθμιστική ικανότητα), ενώ, όπως αναφέρεται στο άρθρο από Stathoroulou P. et.al (2021) η επιτυχία του λαβρακιού να εισέλθει στις εκβολές ποταμών μπορεί να εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από την αντίσταση των ιστών στις αλλαγές στην ιοντοωσμωτική κατάσταση του πλάσματος, που επιτρέπουν διακυμάνσεις στην ανοχή στην αλατότητα που πραγματοποιούνται κατά τον φυσιολογικό κύκλο ζωής ενός ευρύαλου είδους. Ακόμα, μεμονωμένες μετρήσεις της ωσμωτικότητας του αίματος έχουν αποκαλύψει ότι, σε νεαρά μεταεμβρυονικά στάδια, τα κύτταρα μπορούν να ανεχθούν ποικίλες ωσμωτικές πιέσεις. Αυτό το εύρημα δείχνει ότι υπάρχει μια γενικά αποδεκτή δήλωση, ότι η ωσμωτικότητα του αίματος ρυθμίζεται αυστηρά στη συντριπτική πλειοψηφία των σπονδυλωτών και ισχύει για τους ενήλικες αλλά όχι πάντα για τα νεαρά στάδια.

Αρκετοί επιστήμονες (Varsamos et al., 2001; Nebel et al., 2005; Janech et al., 2006; Keshtkar et al., 2021; McDonald, 2007 ; Cao et al., 2021, εκφράζουν την άποψη, ότι τα νεφρά των ψαριών είναι εξαιρετικά μεταβλητά και επιτυγχάνουν την ισορροπία του νερού στις αλλαγές της αλατότητας, ιδίως μέσω της τροποποίησης των βασικών δομών των νεφρών (McDonald, 2007). Τα νεφρά των θαλάσσιων ψαριών είναι εξειδικευμένα για την απέκκριση δισθενών ιόντων και έχουν πολλά μοναδικά ανατομικά χαρακτηριστικά, όπως



μικρότερα και λιγότερα σπειράματα από τα ψάρια του γλυκού νερού (Varsamos et al., 2001). Στο υφάλμυρο νερό, μετά την μεταφορά των προνυμφών του αστεριού οξύρρυγχου (*Acipenser stellatus*) ο αριθμός των σπειραμάτων μειώθηκε με την αύξηση της αλατότητας και της ηλικίας, σε σύγκριση με τα ίδια μεγέθη και βάρη στο γλυκό νερό (Keshtkar L.E., 2021). Σε περιβάλλοντα υψηλής αλατότητας, για παράδειγμα, η μείωση του μεγέθους και του αριθμού των σπειραμάτων διήθησης φαίνεται να είναι ένας δείκτης μειωμένης σπειραματικής διήθησης (Keshtkar et al., 2021). Οι τροποποιήσεις αυτές είναι αποτέλεσμα της ανάγκης για ενεργή σωληναριακή επαναρρόφηση του νερού από τα ουρά και παραγωγής πιο συμπυκνωμένων ούρων από ότι των ιχθύων του γλυκού νερού, που πηγάει ξεκάθαρα από την βιολογική ανάγκη αποφυγής της αφυδάτωσης του οργανισμού (Dendrinios & Thorpe, 1985).

Με βάση τις προαναφερθείσες ιδιότητες του νεφρού και των εσπειραμένων σωληναρίων, δηλαδή την ακαριαία ωσμωρύθμιση μετά την εκκόλαψη, την εξαιρετική μεταβλητότητα των βασικών δομών του νεφρού για την επίτευξη της ομοιόστασης, τη μείωση του μεγέθους και του αριθμού των εσπειραμένων σωληναρίων με την αύξηση της αλατότητας, αλλά και την φυσιολογική μεταβολή του μήκους και του αριθμού των εσπειραμένων σωληναρίων κατά την μεταβολή της προνύμφης σε νεαρό άτομο, θα ήταν αξία αναφοράς η υπόθεση, ότι με την αύξηση των ποσοστών αλατότητας υπάρχει ως επακόλουθο μείωση της διαμέτρου των εσπειραμένων σωληναρίων. Ο λόγος της μείωσης της διαμέτρου γίνεται για πιθανή επίτευξη μειωμένης ροής υγρών και για πιθανή παροχή περισσότερου χρόνου για την ενεργή σωληναριακή επαναρρόφηση. Στο πείραμα, που διεξήχθηκε, δεν παρατηρήθηκε καμία στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των διαμέτρων των εσπειραμένων

σωληναρίων για κάθε περιβάλλον αλατότητας (8%,14%,20%), το οποίο δεν συμβαδίζει με την υπόθεση, που τέθηκε.

## 4.2 Ανάπτυξη και προσαρμογή κάτω από περιβάλλοντα διαφορετικής αλατότητας

### 4.2.1 Προσαρμοστικότητα και θνησιμότητα ευρύαλων ειδών

Σε πιο παλιές χρονολογικά έρευνες, (Dendrinos & Thorpe, 1985; Cataudella & et al., 1991) παρατηρήθηκε απώλεια στην όρεξη και αυξημένα ποσοστά θνησιμότητας κατά την μεταφορά *D.labrax* απευθείας σε γλυκό νερό. Κατά το πέρασμα των χρόνων, πιο σύγχρονες μελέτες έδειξαν ότι αυτό το είδος είναι σε θέση και να προσαρμοστεί επιτυχώς στο γλυκό νερό υπό πειραματικές συνθήκες (Giffard-Mena I.,2008). Ουσιαστικά, αναθεωρήθηκε η απευθείας μεταφορά των ιχθύων από θαλασσινό σε γλυκό νερό και αντικαταστάθηκε με μια πιο σταδιακή μεταφορά με μηδενικά ποσοστά θνησιμότητας, αλλά με πολλές διαφορές στο χρονικό διάστημα και στα ποσοστά της αλατότητας ανά ερευνητικό άρθρο. Η Stathoroulou et al.(2021) αναφέρει σταδιακή μείωση της αλατότητας σε διάστημα ενός μηνά, με την αλατότητα να μειώνεται κατά 4 ppt ανά 7 ημέρες, ενώ οι (Rubio et al., 2005 ; Lopez Olmeda et al., 2009) αναφέρουν σταδιακή μείωση της αλατότητας μέσα σε 24 ώρες μέχρι και 0,5 ppt, ενώ ακόμα αναφέρεται και απευθείας μεταφορά από 37‰ θαλασσινό νερό σε υφάλμυρο νερό με αλατότητα 3,9‰ με 100% ποσοστά επιβίωσης.

Οι προνύμφες *D.labrax* φαίνεται να δείχνουν προτίμηση σε χαμηλά ποσοστά αλατότητας κατά την ανάπτυξη τους, η οποία μπορεί να αντιστοιχεί στις συνθήκες που αντιμετωπίζουν στην πραγματικότητα στη νεανική τους οικοφάση (Saillant E. et al.,

2003). Ωστόσο, η ανάπτυξη κάτω από μεταβολές στην αλατότητα στο περιβάλλον ευρύαλων ειδών δεν είναι σαφές αν ωθεί τη βέλτιστη ανάπτυξη, καθώς υπάρχει μια διαφωνία μεταξύ των ερευνητών εάν ο εγκλιματισμός σε γλυκό νερό μπορεί να προκαλέσει απώλεια όρεξης, αυξημένη θνησιμότητα και μείωση του συντελεστή μετατρεψιμότητας (Peters, 1971; Silva & Perera, 1976; Allegrucci et al., 1995; Shaw et al., 1995) ή μπορεί να προκαλέσει παρόμοιες ή και μεγαλύτερες τιμές στο συντελεστή μετατρεψιμότητας από το θαλασσινό νερό (Eroldogan & Kumlu, 2002; Nozzi et al., 2016; Vlachos et al., 2019; Dendrinis & Thorpe, 1985; Islam et al., 2020; Yilmaz et al., 2020; Stathopoulou P. et al 2021)

#### **4.3 Δομικές δυσλειτουργίες για εξαγωγή αποτελεσμάτων από νεφρό**

Η ιστολογική μελέτη δειγμάτων νεφρών αρχικά παρουσιάζει ένα ποσοστό δυσκολίας εξαγωγής δειγμάτων και στην συνέχεια αποτελεσμάτων που σχετίζονται με αυτόν. Η δομή του οπίσθιου νεφρού δεν είναι συμπαγής, αφού ο δομικός λίθος τους, ο νεφρώνας, δεν δημιουργεί ενιαίες και συμπαγείς ιστολογικές δομές. Επομένως, με την χρήση των διαβαθμισμένων διαλυμάτων αλκοόλης, που χρησιμοποιήθηκαν κατά την σκλήνωσης των ιστολογικών δειγμάτων, οδηγούμαστε σε έντονη ευθραυστότητα και αλλοίωση της ρεαλιστικής δομικής συνοχής του νεφρικού ιστού. Επίσης, έντονη σκληρότητα και ευθραυστότητα του επιχρίσματος παρουσιάζεται κατά την λήψη τομών του ιστού (Μωυσής, 2002). Τα συστατικά και η συγκέντρωση του μονιμοποιητικού υγρού είναι ακόμα ένας παράγοντας δυσκολίας εξαγωγής ιστολογικών δειγμάτων. Το διάλυμα Davinson που χρησιμοποιήθηκε στο εν λόγω πείραμα έχει την ικανότητα υψηλότερης

διαπερατότητας σε σχέση με διαλύματα υπερμαγγανικών και φορμαλδεϋδών, έτσι η συγκέντρωση του πρέπει να είναι όσο πιο μικρή γίνεται για αποφυγή έντονης αλλοίωσης του ιστού. Ακόμα, ο προς εξέταση ιστός που αφαιρείται από τον οργανισμό πρέπει το συντομότερο δυνατό να εισέλθει σε διάλυμα μονιμοποιητικού υγρού για να αποφευχθεί η διαδικασία της σήψης (Μωυσής, 2002).

#### **4.4 Ιοντικοί μεταφορείς και ωσμωρύθμιση : Μια μοριακή προσέγγιση**

Στο γλυκό νερό, ο νεφρός εκκρίνει μεγάλους όγκους νερού μέσω υψηλών ρυθμών σπειραματικής διήθησης (GFR) και χαμηλού ρυθμού σωληναριακή επαναρρόφιση, ενώ επαναρροφεί ενεργά τα περισσότερα ιόντα με υψηλούς ρυθμούς. Το προϊόν, το διάλυμα των ούρων, εκκρίνεται (UFR) με αραιή σύνθεση. Στο θαλασσινό νερό, ο ρυθμός σπειραματικής διήθησης μειώνεται πολύ και τα σωληνάρια επαναρροφούν όσο το δυνατόν περισσότερο νερό, ενώ εκκρίνουν ενεργά δισθενή ιόντα. Το προϊόν που απεκκρίνεται έχει χαμηλό UFR και είναι σχεδόν ισοσμωτικό με το πλάσμα του αίματος με τα  $Mg^{2+}$ ,  $SO_4^{2-}$  και  $Cl^-$  ως κύρια ιοντικά συστατικά. Στο γλυκό νερό, τα ιόντα είναι σπάνια και η ωσμωτικότητα είναι πολύ χαμηλή. Έτσι τα ψάρια του γλυκού νερού και τα ευρύαλα (όταν βρίσκονται σε γλυκό νερό) βιώνουν μια συνεχή ωσμωτική εισροή νερού και μια διάχυτη απώλεια κύριων ιόντων μέσω των βραγχίων και του δέρματος. Ο νεφρός το αντιμετωπίζει φιλτράροντας μεγάλες ποσότητες αίματος στα σπειράματα, διατηρώντας έτσι υψηλούς ρυθμούς σπειραματικής διήθησης, περίπου 4–16 ml/kg/h και ρυθμούς ροής ούρων 1–6 ml/kg/h. , εξασφαλίζοντας την απέκκριση μεγάλων όγκων αραιών ούρων (20–50 mOsm/L) (Takvam et al, 2021). Τα ούρα των τελεόστεων του γλυκού νερού περιέχουν τυπικά 5-20

mM NaCl με άλλα ιόντα να είναι το πολύ λίγα χιλιοστογραμμομοριακά (mM) και συχνά στο εύρος υπο του χιλιογραμμομορίου (Hickman and Trump, 1969). Η παραγωγή αραιών ούρων είναι δυνατή λόγω των αδιαπέραστων χαρακτηριστικών του περιφερικού σωληναρίου και των συλλεκτικών σωληναρίων και αγωγών, συμπεριλαμβανομένης της ουροδόχου κύστης, επιτρέποντας την επαναρρόφηση πολύτιμων ιόντων (κυρίως  $\text{Na}^+$  και  $\text{Cl}^-$ ) ενώ περιορίζει τη συνοδευτική οσμωτική επαναρρόφηση του νερού.

Στους θαλάσσιους τελεόστεους, τα ιόντα είναι άφθονα και το νερό εξωθείται λόγω ώσμωσης μέσω των βραγχίων και του δέρματος. Τα ψάρια αντικαθιστούν την απώλεια νερού με την πόση, αλλά με αυτόν τον τρόπο επιβαρύνονται με επιπλέον ιόντα  $\text{Na}^+$  και  $\text{Cl}^-$  λόγω της εντερικής απορρόφησης. Γενικά, τόσο ο όγκος όσο και η σύνθεση των ούρων διαφέρουν μεταξύ των θαλάσσιων και γλυκών τελεόστεων. Στο θαλασσινό περιβάλλον, η διατήρηση του νερού και η απέκκριση περίσσειας δισθενών ιόντων (π.χ.  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ) από τους νεφρούς είναι ζωτικής σημασίας. Ως εκ τούτου, ο νεφρός των θαλάσσιων τελεόστεων παρουσιάζει τυπικά χαμηλό ρυθμό σπειραματικής διήθησης (0,5–2,0 ml/h/kg) που αντικατοπτρίζει πολύ μειωμένο αριθμό λειτουργικών σπειραμάτων ή μερικές φορές χωρίς σπειράματα και χαμηλό ρυθμό απέκκρισης ούρων (0,2–0,3 ml/h/kg) σε σύγκριση με τα ψάρια του γλυκού νερού, παράγοντας ούρα που είναι περίπου ισοτονικά (300–410 mOsm/L) με το πλάσμα του αίματος (Takvam et al, 2021). Τα κύρια κατιόντα των ούρων είναι τα  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$  και  $\text{Ca}^{2+}$ , ενώ τα κύρια ανιόντα είναι τα  $\text{SO}_4^{2-}$  και  $\text{Cl}^-$  (Hickman and Trump, 1969). Το άπω εσπειραμένο σωληνάριο συνήθως μειώνεται σε διάμετρο και μέγεθος και η επαναρρόφηση των  $\text{Na}^+$  και  $\text{Cl}^-$  λαμβάνει χώρα στο εγγύς σωληνάριο και στην ουροδόχο κύστη. Είναι ενδιαφέρον ότι η ουροδόχος κύστη είναι ένα σημαντικό

συστατικό της ισορροπίας ιόντων και νερού για τους θαλάσσιους τελεόστους ( Cao et al., 2021).

Στο Takvam et al (2021) αναφέρεται, ότι  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase (NKA) διατηρεί υψηλές και χαμηλές ενδοκυτταρικές συγκεντρώσεις  $\text{K}^+$  και  $\text{Na}^+$ , αντίστοιχα, και επομένως είναι ζωτικής σημασίας για τη ρύθμιση του διαμεμβρανικού δυναμικού που χρησιμοποιείται για την κυτταρική ομοιόσταση και τη δευτερογενή μεταφορά πολλών ενώσεων. Ανάλογο με τον ωσμωρρυθμιστικό του ρόλο στα βράγχια και στο έντερο, η αντλία NKA είναι υπεύθυνη για την επαναρρόφηση και την έκκριση στα νεφρικά σωληνάκια και έμμεσα επιτρέπει την αμοιβαία εναλλαγή μεταφοράς ιόντων και νερού κατά τη μετανάστευση μεταξύ γλυκού και θαλασσινού νερού. Στο νεφρό, η NKA παίζει πρωταρχικό ρόλο στην προώθηση της επαναρρόφησης  $\text{Na}^+$ , νερού (έμμεσα) και άλλων διαλυμένων ουσιών. Η νεφρική δραστηριότητα της NKA συχνά ανταποκρίνεται σε αλλαγές στην περιβαλλοντική αλατότητα, αν και τα πρότυπα είναι ασυνεπή μεταξύ των ειδών. Η δραστηριότητα της NKA αυξάνεται σε ορισμένα είδη όπως το *Dicentrarchus labrax*, το *Dicologlossa cuneata*, το *Chanos chanos* κατά τη μεταφορά τους από θαλασσινό σε γλυκό νερό, υποδηλώνοντας μια αυξημένη απαίτηση για σωληνοειδή μεταφορά ιόντων, που πιθανώς αντανάκλα την ανάγκη για έκκριση δισθενών ιόντων. Η NKA αποτελείται από δύο βασικές υπομονάδες, τον καταλυτή άλφα ( $\alpha$ ) και την δομικά σημαντική βήτα υπομονάδα ( $\beta$ ), και οι δύο είναι απαραίτητες για τη ρύθμιση των ιδιοτήτων μεταφοράς του ενζύμου. Επιπλέον, μια τρίτη υπομονάδα γάμμα ( $\gamma$ ), που συχνά αναφέρεται ως πρωτεΐνη FXYP, φαίνεται να τροποποιεί τις κινητικές ιδιότητες της μεταφοράς  $\text{Na}^+$  και  $\text{K}^+$ . Μερικές από τις διαφορές στις ρυθμιστικές αποκρίσεις των υπομονάδων και της ενζυμικής δραστηριότητας στους νεφρούς των ευρύαλων τελεόστεων πιθανώς αντανάκλουν το ιστορικό του κύκλου ζωής

τους(αναδρομία, καταδρομία, αμφιδρομία) και την προτίμηση αλατότητας. Η μελλοντική έρευνα θα πρέπει να επικεντρωθεί στην ενζυμική δραστηριότητα της συγκεκριμένης κατηγορίας και στην έκφραση διαφορετικών υπομονάδων σε σχέση με τα μεταναστευτικά πρότυπα και την προτίμηση της αλατότητας.

Η επαναρρόφηση του νερού από τους νεφρούς διευκολύνεται από την παρουσία ακουαπορινών που είναι ενσωματωμένες στις κυτταρικές μεμβράνες (Saillant E. et al., 2003). Οι λειτουργίες και η ρύθμιση των ακουαπορινών είναι περίπλοκες, με πολλές πτυχές που δεν έχουν ακόμη διευκρινιστεί. Οι ακουπορίνες των σπονδυλωτών είναι ετερογενείς, βρίσκονται σε διάφορους ιστούς και γενικά κατηγοριοποιούνται βάση προτίμησης διαπερατότητας για νερό, γλυκερίνη και άλλες μικρές διαλυμένες ουσίες. Από τις 10 ισόμορφες ακουπορίνες που έχουν περιγράψει μέχρι τώρα, οι 7 υπάρχουν στο νεφρό των θηλαστικών, που βρίσκεται κατά μήκος του νεφρώνα και του συλλεκτικού αγωγού, υπογραμμίζοντας τη σημασία τους για τη νεφρική διαχείριση του νερού. Πολλές ακουπορίνες στους τελεόστεους ιχθύες έχουν αναγνωριστεί και αντιστοιχηθεί με τις ανάλογες ακουπορίνες των θηλαστικών : AQP-1aa, -1ab, -3a, -3b, -7, -8aa, - 8ab, -9a, -10a, 10b, and -12 (επί του παρόντος γνωστοί μεταφορείς νερού). Παρόλο που αρκετοί εκφράζονται στον νεφρό των τελεόστεων, ο ρόλος τους στη νεφρική φυσιολογία παραμένει ασαφής (Takvam et al, 2021).

#### **4.5 Σημαντικότητα και προοπτικές του αντικειμένου**

Οι ευρύαλοι ιχθύες είναι ιδιαίτερα ελκυστικοί στην επιστημονική κοινότητα λόγω της ανθεκτικότητάς τους και της προσαρμοστικότητάς τους, ενώ και λόγω μείωσης των άγριων

πληθυσμών διάφορων φύλων τους , όπως οι σολομοί , τα χέλια και οι κιχλίδες, που είναι σημαντικά για την παγκόσμια αλιεία. Είναι σημαντικό να κατανοήσουμε τους μηχανισμούς αντιμετώπισης των ιχθύων αυτών ενόψει της παγκόσμιας κλιματικής αλλαγής, επειδή η άνοδος της στάθμης της θάλασσας, ως αποτέλεσμα της τήξης των πολικών πάγων, σχετίζεται με μειωμένη αλατότητα των ωκεανών στις πελαγικές ζώνες. Αντίθετα, η παρατήρηση ασυνήθιστα αυξημένης αλατότητας των παράκτιων περιοχών συμβαίνει ως συνέπεια ακραίων κλιματικών γεγονότων (πλημμύρες, τσουνάμι, τυφώνες κ.λπ.), όπου το θαλασσίνο νερό εισβάλλει συχνά σε περιβάλλοντα γλυκού νερού και, ως εκ τούτου, μπορεί να επηρεάσει αρνητικά τα στενόαλα ψάρια, που φυσιολογικά διαβιώνουν εντός στενού εύρους αλατότητας (Takvam et al., 2021). Ακόμα, όταν απευθυνόμαστε σε έντονα υποτονικές και υπερτονικές αλατότητες, μόνο το 3-5% των ευρύαλων ιχθύων έχουν την ικανότητα να εγκλιματίζονται σε αυτές (Takvam et al., 2021), ενώ έχει παρατηρηθεί γενετικός πολυμορφισμός σε άτομα του μεσογειακού λαβρακιού, που αλιεύθηκαν από την θάλασσα και λιμνοθάλασσές της δυτικής Μεσογείου (Nebel et al., 2005) που μας υποδεικνύουν την ιδιαιτερότητα και την μοναδικότητα καθενός από τα είδη των ευρύαλων ειδών.

Η συντριπτική πλειοψηφία της άφθονης βιβλιογραφίας που ασχολείται με τους μηχανισμούς ωσμωρύθμισης στα ψάρια σχετίζεται με τις λειτουργίες των βραγχίων. Ωστόσο, ο Alderdice (1988) είχε προτείνει ότι «ίσως η γοητεία με τη λειτουργία κλαδικών χλωριούχων κυττάρων έχει αποσπάσει την προσοχή από το νεφρικό σύμπλεγμα...». Επιπλέον, ο νεφρός ενός ψαριού λαμβάνει τη συντριπτική πλειοψηφία του μεταβραγχιακού αίματος και οι νεφρικές αλλοιώσεις μπορεί να αναμένεται να είναι καλοί δείκτες του περιβαλλοντικού στρες (Kurtovic, 2008).



## 5. Βιβλιογραφία

### 5.1 Ελληνική βιβλιογραφία

Βερίλλης Π. & Μεντέ Ε. (2017) Ιστοφυσιολογία Ιχθύων και Καρκινοειδών, Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Θεσσαλίας, Βόλος, σελ. 235-242

Μαυσής Μ. ( 2002), Ιστολογία, Εργαστήριο Ζωολογίας Ι , Πανεπιστήμιο Κρήτης, Τμήμα Βιολογίας

Νεοφύτου Χ. (2005) Βιολογία ιχθύων & θαλάσσιων θηλαστικών. UNIVERSITY STUDIO PRESS, Θεσσαλονίκη, σελ. 226

Νεοφύτου Χ. & Νεοφύτου Ν. (2005) Ιχθυολογία. UNIVERSITY STUDIO PRESS, Θεσσαλονίκη, σελ. 53

### 5.2 Ξενόγλωσση βιβλιογραφία

Alderdice DF (1988) Osmotic and ionic regulation in teleost eggs and larvae. In: Hoar WS, Randall DJ (eds) Fish physiology, vol XIA. Academic Press, San Diego, pp 163–251

Allegrucci G, Fortunato C, Cataudella S, Sbordoni V. Acclimation to fresh-water of the sea bass-evidence of selective mortality of allozyme genotypes. Genetics and Evolution of Aquatic Organisms Conference; London: Chapman & Hall; 1995. pp. 486–502.

Barnabe, G., Boulineau-Coatanea, F., Rene, F., & Martin, V. (1976). CHRONOLOGIE DE LA MORPHOGENESE CHEZ LE LOUP OU BAR DICENTRARCHUS LABRAX (L.) (PISCES, SERRANIDAE) OBTENU PAR REPRODUCTION ARTIFICIELLE. In *Aquaculture* (Vol. 8).

Cataudella S, Allegrucci G, Bronzi P, Cataldi E, Cioni C, Corti M, Crosetti D, De Merich D, Fortunato C, Garibaldi L, Loy A. (1991) Multidisciplinary approach to the optimization of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) rearing in freshwater–basic morpho-physiology and osmoregulation. *Aquaculture Environment Interactions*. 1991;14:56–57.

Cramer D., (1998) *Fundamental statistics for social research*. London : Routledge

Cramer D. & Howitt D., (2004) *The SAGE dictionary of statistics*. London : SAGE

Cao Q., Giffard-Mena I., Blondeau-Bidet E., Hermet S., Yau-Chung Hu, Tsung-Han Lee, Lorin-Nebel C. Mechanisms of acclimation to hypersalinity in two European sea bass lineages: a focus on the kidney function, *Aquaculture*, Volume 534, 2021, 736305, ISSN 00448486, <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.736305>

Dendrinou P. & Thorpe J.P. (1985), Effects of reduced salinity on growth and body composition in the European bass *Dicentrarchus labrax* (L.), *Aquaculture*, Volume 49, Issues 3–4, 1985, Pages 333-358, ISSN 0044-8486, [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(85\)90090-0](https://doi.org/10.1016/0044-8486(85)90090-0).

De Silva S.S. & Perera P.A.B., (1976) Studies on the young grey mullet, *Mugil cephalus* L.: I. Effects of salinity on food intake, growth and food conversion, *Aquaculture*, Volume 7, Issue 4, 1976, Pages 327-338, ISSN 0044-8486, [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(76\)90129-0](https://doi.org/10.1016/0044-8486(76)90129-0).

Doane D.P & Seward L.E., (2011) Measuring Skewness. *Journal of Statistics Education*, 19(2), 1-18.

Eltoum I., Fredenburgh J., Myers R.B & Grizzle W.E(2001) Introduction to the Theory and Practice of Fixation of Tissues, *Journal of Histotechnology*, 24:3, 173-190, DOI: [10.1179/his.2001.24.3.173](https://doi.org/10.1179/his.2001.24.3.173)

Eroldogan O., Tufan, Kumlu , Metin (2002) "Growth Performance, Body Traits and Fillet Composition of the European Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*) Reared in Various Salinities and Fresh Water," *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*: Vol. 26: No. 5, Article 2. Available at: <https://journals.tubitak.gov.tr/veterinary/vol26/iss5/2>

Faisol, Yulianto, T., Arsyiah, Sugiono, Basuki, A., & Zainuddin, M. A. (2022). Seawater salinity modeling using bivariate probit regression. *Journal of Physics: Conference Series*, 2157(1). <https://doi.org/10.1088/1742-6596/2157/1/012026>

Federation of European Aquaculture Producers Production Report (2020). European Aquaculture Production Report 2014-2019, September 2020

Giffard-Mena I, Lorin-Nebel C, Charmantier G, Castille R, Boulo V. Adaptation of the sea bass (*Dicentrarchus labrax*) to fresh water: role of aquaporins and Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPases. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*. 2008 Jul;150(3):332-8. doi: 10.1016/j.cbpa.2008.04.004. Epub 2008 Apr 10. PMID: 18485772.

Janech M. G., Fitzgibbon W. R., Ploth D. W., Lacy, E. R., & Miller, D. H. (2006). Effect of low environmental salinity on plasma composition and renal function of the Atlantic stingray, a euryhaline elasmobranch. *Am J Physiol Renal Physiol*, 291, 770–780. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00026.2006.-Marine>

Islam J., Kunzmann A., Thiele R., Slater M.J. Effects of extreme ambient temperature in European seabass, *Dicentrarchus labrax* acclimated at different salinities: Growth performance, metabolic and molecular stress responses, *Science of The Total Environment*, Volume 735, 2020, 139371, ISSN 0048-9697, <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139371>.

Keshtkar-Langerudi E., Jamili, Sh., Ramezani-Fard, E., & Khoshnood, Z. (2021). Research Article: Optimum weight of stellate sturgeon (*Acipenser stellatus*) fingerling to release into brackish water: plasma electrolytes, plasma hormones and histological observation. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 20(2), 449–462. <https://jifro.ir/article-1-4153-en.html>

Kurtović B. (2008). *Histological comparison of spleen and kidney tissue from farmed and wild European sea bass (Dicentrarchus labrax L.)*. Received: 21 May 2008 Accepted: 18 September 2008

López-Olmeda J.F., Oliveira C., Kalamariz H., Kulczykowska E., Delgado M.J., Sánchez-Vázquez F.J., Effects of water salinity on melatonin levels in plasma and peripheral tissues and on melatonin

binding sites in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*), *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, Volume 152, Issue 4, 2009, Pages 486-490, ISSN 1095-6433, <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2008.12.003>.

McDonald M (2007) The renal contribution to salt and water balance  
J.M. Baldisserotto, B. Romero, G. Kapoor (Eds.), *Fish Osmoregulation*, Science Publishers, Enfield (2007), pp. 322-345

Nebel C, Nègre-Sadargues G, Blasco C, Charmantier G. Morphofunctional ontogeny of the urinary system of the European sea bass *Dicentrarchus labrax*. *Anat Embryol (Berl)*. 2005 Feb;209(3):193-206. doi: 10.1007/s00429-004-0438-6. Epub 2004 Dec 23. PMID: 15616825.

Nebel C., Romestand B., Nègre-Sadargues G, Grousset E, Aujoulat F, Bacal J., Bonhomme F., Guy Charmantier; Differential freshwater adaptation in juvenile sea-bass *Dicentrarchus labrax*: involvement of gills and urinary system. *J Exp Biol* 15 October 2005; 208 (20): 3859–3871. doi: <https://doi.org/10.1242/jeb.01853>

Nozzi V, Strofaldi S., Piquer I.F., Di Crescenzo D, Olivotto I., Carnevali O. Amyloodinium ocellatum in *Dicentrarchus labrax*: Study of infection in salt water and freshwater aquaponics, *Fish & Shellfish Immunology*, Volume 57, 2016, Pages 179-185, ISSN 1050-4648, <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2016.07.036>.

Oğuz A.R. (2015). A histological study of the kidney structure of Van fish (*Alburnus tarichi*) acclimated to highly alkaline water and freshwater, *Marine and Freshwater Behavior and Physiology*, 48:2, 135-144, DOI: 10.1080/10236244.2015.1004838

Peters, D.S., (1972) Growth and energy utilization of juvenile flounder, *Paralichthys dentatus* and *Paralichthys lethostigma*, as affected by temperature, salinity, and food availability, *Dissertation Abstracts International B*, The Sciences and Engineering 32(7): 4303  
<https://eurekamag.com/research/022/733/022733902.php>

Razali N.M. & Wah Y.B.,(2011) Power comparisons of Shapiro-Wilk, Kolmogorov-Smirnov, Lilliefors and Anderson-Darling tests. *Journal of Statistical Modeling and Analytics*, 2(1), 21-33

Rubio V.C., Sánchez-Vázquez F.J., Madrid J.A.,(2005) Effects of salinity on food intake and macronutrient selection in European sea bass, *Physiology & Behavior*, Volume 85, Issue 3, 2005, Pages 333-339, ISSN 0031-9384, <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2005.04.022>.

Saillant E., Fostier A., Haffray P., Menu B. & Chatain B. (2003). Saline preferendum for the European sea bass, *Dicentrarchus labrax*, larvae and juveniles. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 287. 103-117. 10.1016/S0022-0981(02)00502-6.

Shaw H. M., R. L. Saunders, and H. C. Hall. Environmental Salinity: Its Failure to Influence Growth of Atlantic Salmon (*Salmo salar*) Parr. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*. 32(10): 1821-1824. <https://doi.org/10.1139/f75-216>

Stathopoulou P, Berillis P, Vlahos N, Nikouli E, Kormas KA, Levizou E, Katsoulas N, Mente E. Freshwater-adapted Sea bass *Dicentrarchus labrax* feeding frequency impact in a lettuce *Lactuca sativa* aquaponics system. *PeerJ*. 2021 Jun 3;9:e11522. doi: 10.7717/peerj.11522. PMID: 34141483; PMCID: PMC8180194.

Takvam M., Wood, C. M., Kryvi, H., & Nilsen, T. O. (2021). Ion Transporters and Osmoregulation in the Kidney of Teleost Fishes as a Function of Salinity. In *Frontiers in Physiology* (Vol. 12). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.664588>

Varsamos, S. & Connes, R. & Diaz, J. & Barnabé, Gilbert & Guy, Charmantier. (2001). Ontogeny of osmoregulation in the European sea bass *Dicentrarchus labrax* L. *Marine Biology*. 138. 909-915. 10.1007/s002270000522.

Vlahos, N., Levizou, E., Stathopoulou, P., Berillis, P., Antonopoulou, E., Bekiari, V., Krigas, N., Kormas, K., & Mente, E. (2019). An experimental brackish aquaponic system using juvenile gilthead sea bream (*Sparus aurata*) and rock samphire (*Crithmum maritimum*). *Sustainability (Switzerland)*, 11(18). <https://doi.org/10.3390/su11184820>

William H. Kruskal & W. Allen Wallis ,1952 ,Use of Ranks in One-Criterion Variance Analysis .  
Journal of the American Statistical Association Volume 47, 1952 - Issue 260

Yilmaz, H. A., Turkmen, S., Kumlu, M., Eroldogan, O. T., & Perker, N. (2020). Alteration of growth and temperature tolerance of European sea bass (*Dicentrarchus labrax* Linnaeus 1758) in different temperature and salinity combinations. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 20(5), 331–340. [https://doi.org/10.4194/1303-2712-v20\\_5\\_01](https://doi.org/10.4194/1303-2712-v20_5_01)

### 5.3 Ιστοσελίδες

Λασκαράτος Α. & Καλτσουνίδης Ν. (2010) Εισαγωγή στην Φυσική Ωκεανογραφία. Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Φυσικό , Τομέας Φυσικής Εφαρμογής  
(Πρόσβαση : 20-06-2021)

Food and Agriculture Organization of the United Nations (2006), Cultured Aquatic Species Information Programme, *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758)  
[http://firms.fao.org/fi/website/FIRetrieveAction.do?dom=culturespecies&xml=Dicentrarchus\\_labrax.xml](http://firms.fao.org/fi/website/FIRetrieveAction.do?dom=culturespecies&xml=Dicentrarchus_labrax.xml) (Πρόσβαση: 14-06-2021)

Laerd Statistics, Kruskal-Wallis H Test using SPSS Statistics, <https://statistics.laerd.com/spss-tutorials/kruskal-wallis-h-test-using-spss-statistics.php> (Πρόσβαση: 20-07-2021)

Omare, *Dicentrarchus labrax* <http://www.omare.pt/en/especie/dicentrarchus-labrax-2/>  
(Πρόσβαση: 05-06-2021)

Parenti, Lynne R. and Weitzman, Stanley H. "fish". Encyclopedia Britannica, 22 Apr. 2022,  
<https://www.britannica.com/animal/fish>. (Πρόσβαση: 28-08-2022)

Solmeida, SEMI-AUTOMATIC PRECISION MICROTOME – CUT 5062  
<https://www.solmedialtd.com/product/semi-automatic-precision-microtome-cut-5062/> (Πρόσβαση: 28-06-2021)

## 6. ABSTRACT

Osmoregulation in marine organisms is one of the main mechanisms for achieving their homeostasis and is specialized in encountering the osmotic pressure of the aquatic environment. The common European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) was used by this thesis to study histological changes in the kidney from the effect of osmoregulation in brackish water ( $0.5\text{‰} \leq S \leq 30\text{‰}$ ). Specifically, the diameters of the renal tubules in the kidneys of 45 young individuals of the common European sea bass from 3 different tanks  $\Delta 8=8\text{‰}$ ,  $\Delta 14=14\text{‰}$  and  $\Delta 20=20\text{‰}$  were examined. During the preparation of the observation samples, sea bass kidneys were extracted and placed in Davinsons fixative fluid, where they were later given a suitable shape for their further processing, which is tissue fixation. At the end of the histokinette processing, where the protocol lasted 19 hours, the processed kidney tissues were embedded in paraffin cubes and using a reciprocating microtome, paraffin-tissue sheets of 6  $\mu\text{m}$  thickness were created. Tissue staining was done with hematoxylin-eosin staining, giving the final form of observation samples. The tissues were observed using an optical microscope, and the values of the diameters of the renal tubules were taken from high-definition photographs through a built-in camera in the optical microscope. Measurements were presented as mean  $\pm$  standard error for each of the juveniles used. The distribution of values was not normal and was checked by Kolmogorov-Smirnov, Normal Q-Qplots, thecograms and histograms, while the statistical test used was the non-parametric Kruskal-Wallis H Test to test the equality of the three medians of the three independent samples of

each tank. The level of significance is  $p=0.225$  ( $p>0.050$ ), therefore, it is indicated that there are no statistically significant differences between the three groups of independent tank values.