

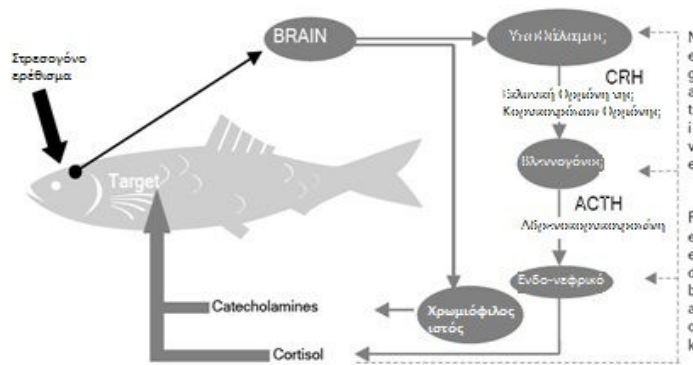
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ  
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ  
ΤΜΗΜΑ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗΣ



ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟΥ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΟΣ  
ΣΠΟΥΔΩΝ ΤΟΥ ΤΜΗΜΑΤΟΣ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗΣ ΣΕ ΣΥΜΠΡΑΞΗ  
ΜΕ ΤΑ ΤΕΙ ΗΠΕΙΡΟΥ

“ Σταθερότητα της απόκρισης ιχθυδίων λαβρακιού σε οξεία επαναλαμβανόμενη καταπόνηση.”

Σπουδάστρια: Κακαβά Έλλη



ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

1. Μ. Παυλίδης: Καθηγητής Πανεπιστημίου Κρήτης, Επιβλέπων
2. Μ. Γιαγνίση (Ερευνήτρια)
3. Γ. Χριστοδουλόπουλος (Καθηγητής ΠΘ)

ΚΑΡΔΙΤΣΑ 2017

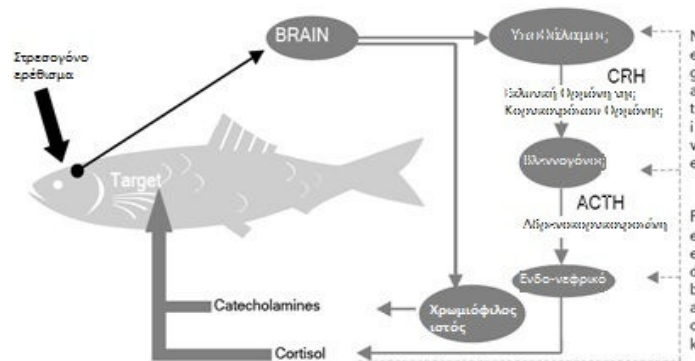
UNIVERSITY OF THESSALY  
SCHOOL OF HEALTH SCIENCES  
FACULTY OF VETENARY MEDICINE



DIPLOMATIC WORK OF POSTGRADUATE STUDY PROGRAM FACULTY  
OF VETERINARY MEDICINE IN COLLABORATION WITH THE T.E.I.  
EPIRUS

“Stability of stress response to repeated  
acute stress in the European sea bass, *Dicentrarchus labrax*, juveniles”

Kakava Elli



ADVISOR COMMITTEE

- 1.M. Pavlidis, Professor (University of Crete, Department of Biology), Supervisor
- 2.M.Giagnisi, (Researcher)
- 3.G.Christodouloupoulos, (Professor)

KARDITSA 2017

**Στη Μητέρα μου και  
στα Παιδιά μου...**

## Περίληψη

Η αντίδραση των ιχθυδίων όταν κινδυνεύει να διαταραχθεί το φυσικό τους περιβάλλον και απειλείται ο τρόπος διαβίωσης τους, διαφέρει τόσο μεταξύ των ειδών όσο και μεταξύ των διαφορετικών περιβαλλοντικών συνθηκών μέσα στο ίδιο είδος. Η παρούσα διατριβή πραγματεύεται, τη μελέτη της σταθερότητας και επαναληψιμότητας ορμονικών και μεταβολικών δεικτών εκτίμησης της καταπόνησης σε ιχθύδια λαβρακιού (*Dicentrarchus labrax*) διαφορετικών γενετικά οικογενειών, τα οποία εκτέθηκαν σε καταδίωξη με απόχη μέσα σε δεξαμενή για 5 λεπτά, μια φορά τον μήνα και για τρεις συνεχόμενους μήνες.

Ο σχεδιασμός του συγκεκριμένου πειράματος διεξήχθη ως εξής:

6 διαφορετικές οικογένειες λαβρακιού του είδους *Dicentrarchus labrax* τοποθετήθηκαν σε 6 διαφορετικές δεξαμενές. Επί 3 μήνες τα ιχθύδια που ήταν τοποθετημένα στις παραπάνω δεξαμενές ταΐζονταν με συγκεκριμένη εμπορική τροφή. Μια φορά το μήνα, εφαρμοζόταν στους πειραματικούς πληθυσμούς της κάθε δεξαμενής οξεία καταπόνηση και εν συνεχεία ακολουθούσε αναισθητοποίηση των ιχθυδίων, ατομικό ζύγισμα, ατομική μέτρηση μήκους, και αιμοληψία από την ουραία φλέβα (με σκοπό τον υπολογισμό συγκεντρώσεων γλυκόζης, κορτιζόλης και γαλακτικού οξέος - αιματολογικοί παράμετροι που χρησιμοποιούνται ως δείκτες καταπόνησης).

Τα αποτελέσματα των μέσων τιμών της συγκέντρωσης κορτιζόλης, γλυκόζης και γαλακτικού οξέος στο πλάσμα των πειραματικών πληθυσμών, έδειξαν σημαντική στατιστική διαφορά μεταξύ των ομάδων, καθώς επίσης και σε κάποιες περιπτώσεις παρουσιάστηκαν διαφορές από μήνα σε μήνα για κάθε ομάδα ξεχωριστά. Τέλος, μπορούμε να μιλήσουμε για σταθερότητα, μόνο για τα καταπονημένα άτομα λαβρακιών της κάθε οικογένειας ξεχωριστά μεταξύ των μηνών (DEC, JAN και FEB).

## Abstract

The response experienced from different fish species when their natural habitat is disrupted and their living and growing pattern is endangered, differs amongst these different species by as much as for the inner species in different environmental conditions. This current thesis is about the study of the stability and the repetitive rate of values of hormones and the metabolic evaluation factors of applied strain in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) in different genetical families, which have been exposed to a pursuit using a net inside a tank for five minutes, once a month for three consecutive months.

The setting out of the specific experiment was carried out as follows:

Six different families of specific sea bass (*Dicentrarchus labrax*) were placed into six corresponding different and separate tanks. For three months the fish were fed with specific commercial food alimentation. Once per month acute stress was applied on the experimental population that existed in each tank and following that, the sea bass were anesthetized, individually weighted, length measured, and with blood taken from samples from the tail vein (to enable the calculation of the levels of glucose, cortisole and lactate -hematological parameters which in turn are used as stress indicators).

The results of the average cortisole concentration, glucose levels and lactate in the plasma of the experimental populations showed significant statistic differences among the groups. Furthermore, statistical differences were also found between the consecutive months (from one month to another) for each team individually. In conclusion, we can confirm stability, only in the stressed sea bass samples from each family particularly between the months of December, January and February.

## Ευχαριστίες

Η παρούσα διπλωματική διατριβή πραγματεύεται τη Μελέτη της απόκρισης ιχθυδίων Ευρωπαϊκού λαβρακιού (*Dicentrarchus labrax*) σε οξεία επαναλαμβανόμενη καταπόνηση. Εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Φυσιολογίας Ιχθύων του Πανεπιστημίου Κρήτης στα πλαίσια των Μεταπτυχιακών Σπουδών με τίτλο “Υδατοκαλλιέργειες-Παθολογικά προβλήματα εκτρεφόμενων υδρόβιων οργανισμών” του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερα τον κ. Μιχάλη Παυλίδη, Καθηγητή του Τμήματος Βιολογίας του Πανεπιστημίου Κρήτης ο οποίος μου έδωσε τη δυνατότητα να πραγματοποιήσω την παρούσα εργασία επιβλέποντας, καθοδηγώντας και υποστηρίζοντας με καθ’ όλη τη διάρκεια της πορείας μου.

Ευχαριστώ την κα. Φωτεινή Αθανασοπούλου, Καθηγήτρια του Τμήματος Κτηνιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, για τις πολύτιμες γνώσεις που μας μετέδωσε και την συνεχή παρότρυνση της καθ’ όλη τη διάρκεια του ακαδημαϊκού έτους.

Θερμές ευχαριστίες στην κα. Λάμπου Ειρήνη, διδάκτορα του Τμήματος Κτηνιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας για την ψυχολογική υποστήριξη και την πολύτιμη βοήθεια της όσο αναφορά τη Στατιστική Ανάλυση του πειράματος (πραγματικά χωρίς εκείνη δεν θα τα είχα καταφέρει). Καθώς επίσης και τον κ. Κολύγα Μάρκο διδάκτορα του Τμήματος Κτηνιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας για τις συμβουλές του σχετικά με την συγγραφή της εργασίας, την εύρεση πηγών και για τη δημιουργία της ευχάριστης ατμόσφαιρας που επικρατούσε στο εργαστήριο μετά από τις ατελείωτες ώρες διδασκαλίας.

Από το Εργαστήριο Φυσιολογίας Ιχθύων του Πανεπιστημίου Κρήτης θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κ. Σαμαρά Αθανάσιο, διδάκτορα του Τμήματος Βιολογίας της Κρήτης που παρόλο τον ελάχιστο ελεύθερο χρόνο που είχε στην διάθεση του, πάντα ήταν πρόθυμος να βοηθήσει και να λύσει τυχόν απορίες που παρουσιάζονταν.

Ευχαριστώ επίσης το “Ερευνητικό Ινστιτούτο Βελτίωσης και Ανάπτυξης γόνου λαβρακιού και σιπούρας” του Ομίλου Νηρέα για την παραχώρηση Ιχθύων λαβρακιού και την δυνατότητα διεξαγωγής του Πειράματος στις εγκαταστάσεις του.

Ένα τεράστιο ευχαριστώ στη μητέρα μου, που είναι πάντα κοντά μου ενθαρρύνοντας με από τη μέρα που με γέννησε να κάνω πάντα ένα βήμα μπροστά, για την κατανόηση της και την πολύτιμη βοήθεια της όσον αφορά την φροντίδα των παιδιών μου όσο εγώ απουσίαζα. Μαζί μ' εκείνη ευχαριστώ τα παιδιά μου που αν και μικρά κατανοούσαν όσο τους το επέτρεπε το άθος της ηλικίας τους την προσπάθεια της μητέρα τους για την διεκπεραίωση της συγκεκριμένης εργασίας.

## Περιεχόμενα

Περίληψη .....	2
Abstract.....	3
Ευχαριστίες.....	4
1. Εισαγωγή.....	8
1.1 Συστηματική κατάταξη του λαβρακιού ( <i>Dicentrarchus labrax</i> Linnaeus, 1758).8	
1.2 Ο κλάδος των υδατοκαλλιέργειών .....	11
1.3 Ευζωία “welfare” ιχθύων.....	12
1.4 Στρες.....	15
1.4.1. Ορισμός του Στρες για τα ψάρια.....	17
1.4.2. Οξύ-Χρόνιο στρες.....	20
1.4.3. Διαχωρισμός Stress :eustress (ευκαταπόνηση) και distress (αντικαταπόνηση).....	21
1.4.4. Παράγοντες καταπόνησης (stressors).....	23
1.4.5. Φυσιολογική απόκριση στην καταπόνηση.....	24
1.4.6. Ανοσολογική απόκριση στην καταπόνηση.....	25
1.4.7. Κυτταρική απόκριση στην καταπόνηση .....	27
1.4.8. Οξειδωτικό στρες.....	29
1.4.10. Δείκτες καταπόνησης .....	31
1.4.11. Σταθερότητα της απόκρισης κορτιζόλης κυρίως σε λαβράκι .....	33
2. ΣΚΟΠΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ .....	35
3. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ .....	36
3.1. Εγκαταστάσεις εκπόνησης πειράματος .....	36
3.2. Καθημερινές διαχειριστικές ενέργειες.....	37
3.3.Τρόπος ταΐσματος.....	38
3.4. Προσδιορισμός των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών του νερού .....	39
3.5. Απαραίτητοι έλεγχοι.....	39
3.6 Εφαρμογή καταπόνησης και ζύγισμα ιχθυοπληθυσμών .....	39
3.7 Μετρήσεις και αναλύσεις των δεικτών καταπόνησης στους πειραματικούς ιχθυοπληθυσμούς.....	41
3.8 Δείκτες ανάπτυξης που υπολογίστηκαν.....	44
3.9 Ειδικός Ρυθμός Ανάπτυξης.....	44
3.10 Εκατοστιαία Αύξηση Ζώντος Βάρους .....	44
3.10.1 Συντελεστής Μετατρεψιμότητας Τροφής.....	44
3.10.2 %FR(Feeding Rate) .....	45



3.10.3 %TGC (Thermal Growth Coefficient) .....	45
4. Στατιστική Ανάλυση .....	46
5 Αποτελέσματα .....	47
5.1 Υπολογισμός Αρχικού, Τελικού: Μέσου Βάρους, FCR, % SGR και % FR.....	47
5.2 Διαχωρισμός των ομάδων ως προς την απόκριση του στρες σε LR και HR συναρτήσεως της συνολικής αύξησης βάρους. ....	49
5.3 Μεταβολές της συγκέντρωσης κορτιζόλης έπειτα από οξεία επαναλαμβανόμενη καταπόνηση σε ιχθύδια λαβρακιού. ....	50
5.4 Μεταβολές της συγκέντρωσης γλυκόζης έπειτα από οξεία επαναλαμβανόμενη καταπόνηση σε ιχθύδια λαβρακιού .....	54
5.5 Μεταβολές της συγκέντρωσης γαλακτικού οξέος έπειτα από οξεία επαναλαμβανόμενη καταπόνηση σε ιχθύδια λαβρακιού. ....	58
5.6 Σύγκριση των μέσων τιμών συγκέντρωσης κορτιζόλης μεταξύ καταπονημένων και μη (control), ατόμων λαβρακιού. ....	62
5.7 Σύγκριση των μέσων τιμών συγκέντρωσης γλυκόζης μεταξύ καταπονημένων και μη (control), ατόμων λαβρακιού. ....	64
5.8 Σύγκριση των μέσων τιμών συγκέντρωσης γαλακτικού οξέος μεταξύ καταπονημένων και μη (control), ατόμων λαβρακιού. ....	66
6. Συζήτηση .....	69
7. Συμπεράσματα.....	74
8. Βιβλιογραφία .....	75

# 1. Εισαγωγή

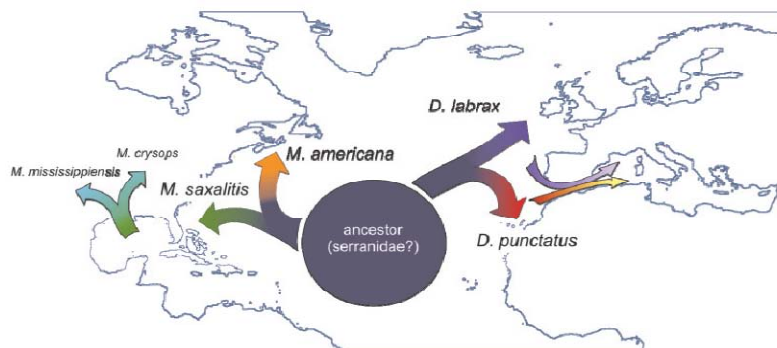
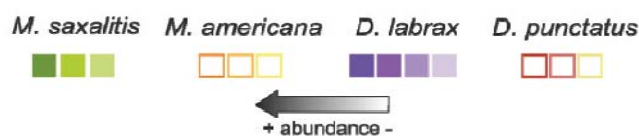
## 1.1 Συστηματική κατάταξη του λαβρακιού (*Dicentrarchus labrax* Linnaeus, 1758)



Εικόνα 1: *Dicentrarchus labrax* (<http://www.weheartdiving.com/european-seabass-dicentrarchus-labrax/>)

Συστηματική κατάταξη	
Συνομοταξία	Chordata
Υποσυνομοταξία	Vertebrata
Υπεροταξία	Gnathostomata
Ομοταξία	Osteichthies
Υφομοταξία	Actynopterygii
Οικογένεια	Serranidae
Υπερτάξη	Teleostei
Τάξη	Perciformes
Υπόταξη	Percoidei
Οικογένεια	Serranidae
Γένος	Dicentrarchus
Είδος	labrax

Το Ευρωπαϊκό λαβράκι (Εικ.1) *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus 1758) είναι από τα πιο δημοφιλή και εμπορικά είδη ψαριών. Εντοπίζεται (Εικ.2) στα παράκτια ύδατα του βορειοανατολικού Ατλαντικού ωκεανού και της Βαλτικής θάλασσας, από τη νότια Νορβηγία έως και το ανατολικό Μαρόκο, αλλά και κατά μήκος της Μεσογείου και της Μαύρης θάλασσας (Froese & Pauly, 2013). Απαντάται ακόμα στα Κανάρια νησιά και στη Σενεγάλη ενώ απουσιάζει από την θάλασσα Μπάρεντς, την λευκή και την Κασπία (Fishbase, Smith 1990). Έχει επίσης αναφερθεί, ότι έχει εισαχθεί για καλλιεργήσιμους σκοπούς στο Ισραήλ, και πρόσφατα στο Ομάν και τα Ηνωμένα Αραβικά Εμιράτα (Haffray *et al.*, 2007).



Εικόνα 2: Κατανομή των Ατλαντικών-μεσογειακών ειδών του λαβρακιού. Τα βέλη δείχνουν πιθανούς τρόπους ειδογένεσης και αποικισμού ή επαναποικιοποίησης της Μεσογείου από αρχαία είδη που πιθανότατα να προέρχονται από τον Κόλπο του Μεξικού και κατανέμονται μέσω του Βορείου Ατλαντικού και της Μεσογείου.

Η δομή των φυσικών ιχθυαποθεμάτων του είδους είναι επαρκώς μελετημένη και έχουν αναγνωρισθεί τρεις γενετικά διακριτοί πληθυσμοί: ένας για τον βορειοανατολικό Ατλαντικό ωκεανό, ένας για τη δυτική και ένας για την Ανατολική Μεσόγειο (Volcaert *et al.*, 2008). Είναι επίσης, ένα από τα πιο εμπορικά είδη υδατοκαλλιεργειών. Το 2012 η συνολική εμπορική παραγωγή ήταν πάνω από 160.000 τόνους (FAO 2014), εκ των οποίων το 95% προήλθε από υδατοκαλλιέργειες. Η τεράστια εμπορική αξία του είδους φαίνεται και από το γεγονός ότι ενώ ο όγκος της αλιευτικής παραγωγής παρέμεινε σταθερός στους περίπου 10.000 τόνους την τελευταία δεκαετία, η παραγωγή μέσω των υδατοκαλλιεργειών αυξήθηκε από τους 5.000 τόνους το 1990 σε περισσότερο από 110.000 τόνους το 2012, με την Ελλάδα να αντιπροσωπεύει το ~ 50% της ευρωπαϊκής παραγωγής (FAO 2014).

Το *Dicentrarchus labrax* είναι κυρίως θαλασσινό είδος το οποίο περνάει το μεγαλύτερο μέρος της ζωής του σε παράκτιες λιμνοθάλασσες και εκβολές ποταμών, παρόλο που έχει παρατηρηθεί κατά καιρούς και σε ποτάμια. Ζει σε υφάλμυρα και θαλάσσια νερά. Η ευρύαλη και ευρύθερμη ικανότητά αυτού του είδους, του επιτρέπει να εμφανίζει ένα μεγάλο γεωγραφικό φάσμα κατανομής και ένα ευρύ φάσμα βάθους. Απαντάται σε μικρά βάθη (2-10 m), αλλά μπορεί να φτάσει και σε βάθος περισσότερο των 100 m. Έχει αναφερθεί σύμφωνα με τους (Froese and Pauly, 2012) ότι μπορεί να επιβιώσει στους 8°C-24°C, επιπλέον όμως έχει αποδειχτεί πως μπορεί να ζήσει και σε χαμηλότερες θερμοκρασίες νερού 2-35 °C, παρόλα αυτά οι ευνοϊκές θερμοκρασίες για τον ρυθμό ανάπτυξης του βρίσκονται στο όριο 20-25°C.(Bernabe 1990, Dalla Via *et al.*, 1998).

## 1.2 Ο κλάδος των υδατοκαλλιιεργειών

Η θαλάσσια ιχθυοκαλλιέργεια έχει σήμερα εδραιωθεί ως ο ταχύτερα αναπτυσσόμενος κλάδος της πρωτογενούς παραγωγής. Τα ψάρια των υδατοκαλλιιεργειών αποτελούν μια από τις πλέον καινοτόμες λύσεις των σύγχρονων διατροφικών αναγκών και απαιτήσεων. Όταν μιλάμε για υδατοκαλλιιεργειες, αναφερόμαστε στην ελεγχόμενη εκτροφή υδρόβιων οργανισμών συμπεριλαμβανομένου των ψαριών, των καρκινοειδών, των μαλακίων και της καλλιιεργειας φυτών σε φυσικό ή ελεγχόμενο θαλάσσιο περιβάλλον ή σε γλυκά νερά (Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων, 2014).

Η ανάπτυξη των υδατοκαλλιιεργειών σε οικουμενικό επίπεδο, δεν ακολουθούσε ρυθμούς ανάλογους με τη γενικότερη παραγωγική ύφεση των θαλάσσιων οικοσυστημάτων, αν λάβουμε υπ' όψιν την ατέκμαρτη κυρίως αλιεία. Στατιστικά, η αύξηση του ρυθμού παραγωγής παρουσιάζεται εντυπωσιακή. Ο μέσος ετήσιος ρυθμός ανάπτυξης του τομέα για την περίοδο 2000-2012 ήταν 6,2% σε παγκόσμιο επίπεδο με παραγωγή 90,4 εκ τόνους (FAO 2014a), ενώ στην Ε.Ε. ήταν 2,9% με τη συνολική παραγωγή ν' αποτελεί το 4,3% του παγκόσμιου συνόλου, δηλαδή 2.880.000 τόνους (FAO 2014b, Bostock *et al.*, 2016). Το πόρισμα της Ευρωπαϊκής επιτροπής αναγνωρίζει την ελληνική δραστηριότητα, κατατάσσοντας τη χώρα μας στα 5 πρώτα κράτη με την μεγαλύτερη παραγωγή {Ισπανία, Γαλλία, Ηνωμένο Βασίλειο, Ελλάδα και Ιταλία} (European Commission 2016).

Είναι ενδεικτικό ότι στην Ελλάδα η ανάπτυξη της υδατοκαλλιιεργειας στηρίζεται στην παραγωγή τσιπούρας και λαβρακιού (*Dicentrarchus labrax*). Αν εκτιμήσουμε τις παραγωγικές δυνατότητες της Ελλάδας, δεν πρέπει να μας εκπλήσσει το γεγονός ότι η χώρα μας είναι μια από τις μεγαλύτερες προμηθεύτριες

των ΗΠΑ στην τσιπούρα σε ποσοστό 58% με κυριότερους ανταγωνιστές την Κύπρο και την Τουρκία, ενώ το λαβράκι κατέχει το 54,2 %, φέρνοντας πρώτη χώρα παραγωγικά την Τουρκία. Ακολουθούν ως είδη καλλιέργειας ή εκτροφής η πέστροφα (*Oncorhynchus mykiss*), ο κυπρίνος (*Cyprinus carpio*), το χέλι (*Anguilla Anguilla*), αλλά και νέα είδη καλλιέργειας όπως κρانيός (*Argyrosomus Regious*), χίονα (*Diplodus puntazzo*) φαγκρί (*Pargus pargus*) όσον αναφορά τους ιχθύες. Στην κατηγορία των οστράκων στην πρώτη θέση βρίσκεται το μύδι (*Mytilous galloprovincialis*) ενώ τα κυδώνια (*Venus verucosa*) και τα στρείδια (*Ostrea edulis*) αντιπροσωπεύουν μικρό παραγωγικό μερίδιο.

Οι όροι άρχισαν να μεταβάλλονται μόλις τα τελευταία 50 χρόνια, καθώς δημιουργείται ένα παραγωγικό δυναμικό, με καταγιστικές τάσεις ανάπτυξης. Οι μονάδες που δραστηριοποιούνται παγκοσμίως το 2014 κατείχαν το 54% της οικουμενικής αλιευτικής παραγωγής και η αξία αυτής ανήλθε σε 144,4 δισεκατομμύρια δολάρια, αποδεικνύοντας την αλματώδη εξέλιξη του παραγωγικού δικτύου (FAO 2014) με δεσπόζουσα θέση την ιχθυοκαλλιέργεια και την ήπειρο της Ασίας πρώτη παραγωγικά. Η εντατική καλλιέργεια θαλασσίων ειδών κυριαρχεί και στην Ευρώπη με μεγαλύτερους παραγωγούς τη Νορβηγία, το Ηνωμένο Βασίλειο, την Ισπανία τη Γαλλία και την Ελλάδα (STECF 2013, FAO 2014). Ο κλάδος λοιπόν της θαλάσσιας αλιείας στην Ελλάδα κατέχει την περίοπτη θέση στην ευρωπαϊκή ιεραρχία αλλά και την τρίτη στην αξιακή κλίμακα (STECF 2013).

### 1.3 Ευζωία “welfare” ιχθύων

Ο έλεγχος του stress, είναι ο κύριος τρόπος ώστε να διασφαλιστεί η ευζωία των οργανισμών (Conte 2004, Huntingford *et al.*, 2006, Ashley, 2007). Ο όρος της

ευζωίας και η εκτίμηση του επιπέδου της αποτελεί ένα πολυδιάστατο θέμα για τα ζώα (Ashley 2007, Conte 2004, Huntingford *et al.*, 2006). Η έννοια της ευημερίας (ή ευζωίας) προϋποθέτει την εξασφάλιση της απουσία πείνας και δίψας, ενόχλησης, πόνου, τραυματισμού και ασθένειας, την δυνατότητα εκδήλωσης φυσικής συμπεριφοράς και τέλος την απουσία φόβου και δυσφορίας/ανησυχίας (distress) (FAWK 1996). Στα ζώα, η έννοια της ευζωίας αποκτά ενδιαφέρον τελευταία (Almazn-Rueda 2004). Ο όρος αυτός μεταφράζεται ως η φυσική και πνευματική κατάσταση ενός ζώου σε σχέση με το περιβάλλον του (Appleby and Hughes, 1997; Duncan and Fraser, 1997). Το “welfare” μεταφράζεται διαφορετικά ανάλογα με την ιδιότητα του καθενός. Για παράδειγμα, η ευζωία των ψαριών για έναν παραγωγό συνδέεται με υγιή και εύρωστα ψάρια, ενώ άλλοι υποστηρίζουν ότι η ευζωία επιτυγχάνεται όταν εξασφαλίζεται η δυνατότητα έκφρασης φυσικής συμπεριφοράς (Dawkins 2004). Αφετέρου, η ευζωία αποτελεί ιδιαίτερα αμφιλεγόμενο θέμα όσον αφορά στα ψάρια. Η έλλειψη νεοφλοιού (neocortex) στον εγκέφαλο των ψαριών, που στα Θηλαστικά σχετίζεται με την συνείδηση και τα συναισθήματα, οδηγεί σε αντικρουόμενες απόψεις σχετικά με το κατά πόσο τα ψάρια έχουν τη δυνατότητα συναίσθησης (sentience) ή συνειδητής αίσθησης πόνου ή φόβου (Braithwaite, 2010; Rose, 2002). Ωστόσο, τα ψάρια διαθέτουν αισθητήρια όργανα που δεν υπάρχουν στα Θηλαστικά (πλευρική γραμμή, ηλεκτροϋποδοχείς), αλλά και περιοχές με ομόλογη λειτουργία του νεοφλοιού στον εγκέφαλό τους, που τους επιτρέπει να αναπτύσσουν τέτοιου είδους συμπεριφορές (Braithwaite 2010; EFSA 2009). Ακόμη, έχουν αναφερθεί αρκετές ομοιότητες μεταξύ ψαριών και Θηλαστικών, σχετικές με τη συμπεριφορά και τη φυσιολογία τους, που ενθαρρύνουν την διερεύνηση τρόπων

εξασφάλισης της ευζωίας τους (Bergqvist and Gunnarsson, 2011, Huntingford *et al.*, 2006, Lund *et al.*, 2007).

Η εκτίμηση της ευζωίας περιλαμβάνει τη γενική κατάσταση των ζώων, σωματικά και «ψυχολογικά» και προϋποθέτει ότι το ζώο είναι υγιές, μπορεί να ανταπεξέλθει στο περιβάλλον που ζει, έχει τη δυνατότητα να εκφράσει οποιαδήποτε φυσική συμπεριφορά, δε βιώνει αρνητικές εμπειρίες ενώ του δίνεται η δυνατότητα να βιώσει θετικές εμπειρίες (Dawkins 2004, Boissy *et al.*, 2007). Η μελέτη της ευζωίας απαιτεί μια σφαιρική προσέγγιση, εκτιμώντας τη φυσική κατάσταση (π.χ. τραυματισμοί, ασθένειες, διατροφική κατάσταση, ανάπτυξη), τη φυσιολογία (π.χ. επίπεδα ορμονών που σχετίζονται με το stress, επίπεδα μονοαμινών του εγκεφάλου) αλλά και τη συμπεριφορά (π.χ. έκφραση φυσικής συμπεριφοράς, δοκιμές προτίμησης) των ζώων (Huntingford *et al.*, 2012).

Όσον αφορά στην εκτίμηση της φυσικής κατάστασης, η εκτίμηση της υγείας, της διατροφικής κατάστασης, της ανάπτυξης και της αναπαραγωγής αλλά και η εξωτερική εμφάνιση των ζώων (ύπαρξη πληγών ή τραυματισμών) αποτελούν βασικούς δείκτες ευζωίας (Huntingford *et al.*, 2012). Οι τραυματισμοί που παρουσιάζονται στα ψάρια των εντατικών εκτροφών κατά τη διάρκεια διάφορων χειρισμών υποβαθμίζουν την ευζωία τους (EFSA 2008).

Για την εκτίμηση της φυσιολογίας, η αξιολόγηση ορμονών που σχετίζονται με το stress (π.χ. κορτιζόλη) αλλά και παράμετροι σχετικές με τον εγκεφαλο (π.χ. μονοαμίνες) αποτελούν σημαντικούς δείκτες ευζωίας. Στην περίπτωση των ορμονών του stress, αυξημένα επίπεδα υποδηλώνουν ενδεχομένως την αντίδραση σε κάποια κατάσταση (π.χ. οξύ stress). Όταν όμως τα επίπεδα αυτά παραμένουν αυξημένα για μεγάλο χρονικό διάστημα, η παρουσία χρόνιου stress σε συνδυασμό



με την ανικανότητα των ατόμων ν' αντιμετωπίσουν μια δυσάρεστη κατάσταση μπορεί να υποδηλώνει μειωμένη ευζωία (Huntingford *et al.*, 2012).

Η εκτίμηση της συμπεριφοράς ως δείκτης της ευζωίας, μπορεί να συγκεντρώσει όλες τις παραμέτρους που σχετίζονται με το ζώο και να δώσει μια πλήρη εικόνα της κατάστασής του (Dawkins 2004). Για την αξιολόγηση της συμπεριφοράς, σημαντική είναι η παρατήρηση στερεοτυπικών κινήσεων, που υποδηλώνουν μια δυσάρεστη κατάσταση για το ζώο (Mason and Rushen, 2006). Ακόμη, οι νευροδιαβιβαστές του εγκεφάλου που σχετίζονται με τη συμπεριφορά, κυρίως την επιθετικότητα και την ανταγωνιστική συμπεριφορά μεταξύ των ατόμων, αποτελούν έναν τρόπο μελέτης των κοινωνικών ιεραρχιών σε ομάδες ψαριών (Winberg and Nilsson, 1993). Επιπλέον, οι δοκιμές προτίμησης αποτελούν ένα μέσο εκτίμησης των αναγκών που σχετίζονται με τη συμπεριφορά και την ψυχολογία των ζώων (Broom 1991; Dawkins 2004) και συνεπώς την εξασφάλιση της ευζωίας τους (Dawkins 2004; Shepherdson *et al.*, 1998). Όσον αφορά στα ψάρια, οι δοκιμές προτίμησης έχουν χρησιμοποιηθεί ώστε να προσδιοριστούν συγκεκριμένες συμπεριφορές, αλλά και για πληροφορίες σχετικά με τις κατάλληλες συνθήκες διαβίωσης (Galhardo *et al.*, 2009; Kistler *et al.*, 2011).

## 1.4 Στρες

Το στρες είναι μια σημαντική φυσιολογική απόκριση σε όλα τα ζώα, συμπεριλαμβανομένων των ψαριών, που την εκφράζουν όταν υποβάλλονται σε καταστάσεις συναγερμού.

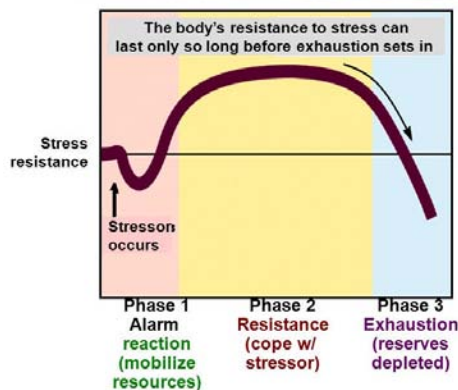
Υπάρχουν τρεις τουλάχιστον κύριες ερμηνείες, που μπορούν να δοθούν όσον αφορά το στρες (Butter 1993). Η πρώτη ερμηνεία, υποστηρίζει ότι το στρες

προέρχεται από την πίεση. Όσο μεγαλύτερη πίεση δέχεται ο οργανισμός τόσο τείνει προς την κατάρρευση του. Η συγκεκριμένη ερμηνεία βασίζεται κυρίως σ' εξωτερικές παραμέτρους στρες, οι οποίες λειτουργούν συσσωρευτικά. Η επιπρόσθετη συμβολή ενός στρεσογόνου παράγοντα, ενδεχομένως να προκαλέσει μικρή απόκριση του οργανισμού αλλά ίσως είναι αρκετή για να τον οδηγήσει στην κατάρρευση.

Η δεύτερη ερμηνεία σύμφωνα με τον (Selye 1956), έχει να κάνει με την απόκριση σε κάποιο ερέθισμα. Συγκεκριμένα, μετρήθηκε το στρες αναφορικά με τις φυσιολογικές αποκρίσεις του οργανισμού, μετά από κάποιο ερέθισμα. Ο Selye παρατήρησε αυτό που ονόμασε "General Adaptation Syndrome" (GAS) ότι μια φυσιολογική διαδικασία περνάει από 3 βασικά στάδια. Αρχικά ο οργανισμός προειδοποιείται και αντιδρά με μια συγκριμένη απόκριση. Στη συνέχεια, πυροδοτούνται αυτόνομες δραστηριότητες καθώς ο οργανισμός προετοιμάζεται για να αντιμετωπίσει το στρες. Το στάδιο αυτό αποτελεί το στάδιο της αντίστασης. Τελικά, εάν το στρες συνεχίσει να υφίσταται και ξεπεράσει το όριο ανοχής του οργανισμού, τότε ο οργανισμός οδηγείται σε κατάρρευση, κάτι το οποίο ονομάστηκε σαν στάδιο εξουθένωσης. Η άποψη αυτή συνείσφερε αρκετά στην όλη θεώρηση του στρες. Η διάρκεια του σταδίου ανοχής εξαρτάται από συγκεκριμένα χαρακτηριστικά, τα οποία είναι διαφορετικά ανάλογα με τον οργανισμό που δέχεται το στρες (Butler 1993). Στην Εικ.3 απεικονίζεται ένα σχεδιάγραμμα του "General Adaptation Syndrome".

## Stress & Illness (from ch. 14)

### General Adaptation Syndrome



- Selye's idea of the body's adaptive response to stress in **3 stages:**
  1. Alarm
  2. Resistance
  3. Exhaustion

27

Εικόνα 3: σχεδιάγραμμα του GAS, στο ροζ πλαίσιο αντικατοπτρίζεται η φάση 1 «του συναγερμού», στο κίτρινο πλαίσιο αντικατοπτρίζεται η φάση 2 «της αντίστασης» και στο γαλάζιο πλαίσιο αντικατοπτρίζεται η φάση 3 «της εξαντλήσεως». (<http://slideplayer.com/slide/719319/>)

Η τρίτη άποψη, ερμηνεύει το στρες σαν μια δυναμική διαδικασία η οποία αντικατοπτρίζει τόσο εσωτερικούς όσο και εξωτερικούς παράγοντες (Lazarus and Folkman's, 1984). Η άποψη αυτή προέρχεται από την βαθύτερη κατανόηση των παραγόντων που εμπλέκονται στην διαδικασία στην οποία υποβάλλεται ο οργανισμός μέσω του στρες.

### 1.4.1. Ορισμός του Στρες για τα ψάρια

Όπως όλα τα ζώα, έτσι και τα ψάρια χρειάζονται ένα ασφαλές περιβάλλον διαβίωσης προκειμένου να επιβιώσουν, να αναπτυχθούν και να αναπαραχθούν. Η εξασφάλιση τέτοιας σταθερότητας ορίζεται ως ομοιόσταση και κάθε ανατροπή τέτοιας κατάστασης ορίζεται ως στρες. Απέναντι σε κάθε παράγοντα ικανό να προκαλέσει μεταβολή της ομοιόστασης (παράγοντας καταπόνησης), τα ζώα τροποποιούν τόσο την συμπεριφορά τους όσο και τη φυσιολογία τους. Τέτοια τροποποίηση ανήκει στα πλαίσια της προσαρμογής, με σκοπό τη διατήρηση της ομοιόστασης (Sutanto and de Kloet, 1994; Tsigos and Crousos, 1994).

Όσον αφορά τα ψάρια (Brett 1958), στρες είναι η κατάσταση, που επεκτείνονται οι προσαρμοστικές αποκρίσεις που αναπτύσσονται σ' ένα ζώο όταν αλλάζει η φυσιολογική του λειτουργία. Κατά τον (Bayne 1985), στρες είναι "οι αλλαγές μίας ή περισσότερων φυσιολογικών μεταβλητών, έτσι ώστε μετά από μεγάλο χρονικό διάστημα η επιβίωση τείνει να διαταραχθεί". Σύμφωνα με τους (Παπουτσόγλου 1998; Σμοκοβίτη 2007) η μεταβολή της ομοιόστασης ή της κατάστασης προσαρμογής του οργανισμού, λόγω διαφόρων εσωτερικών και εξωτερικών παραγόντων μεταφράζεται ως στρες. Ένας άλλος ορισμός κατά των (Schreck *et al.*, 2001) εκφράζεται ως « απόκριση του σώματος» ή «μια φυσιολογική αλληλουχία γεγονότων που λαμβάνει χώρα όταν ο οργανισμός προσπαθεί ν' αντισταθεί στο θάνατο και ν' αποκαταστήσει την ομοιόσταση του.»

Το Γενικό Σύστημα Προσαρμογής χαρακτηρίζεται τόσο από ταχύτατες και άμεσης αποτελεσματικότητας νευροορμονικές διεργασίες, όσο και από νευροορμονικές διεργασίες μακρόχρονες, με τάσεις προσαρμογής. Απαρτίζεται από τρία συγκεκριμένα στάδια: Αρχικά, υπάρχει η φάση του συναγερμού που είναι και η πρωτογενής αντίδραση, τη διαδέχεται η φάση της αντίστασης όπου ο οργανισμός προσαρμόζει ή εξισορροπεί τη διαταραχή ώστε να διατηρήσει την ομοιόσταση του. Σε περίπτωση που δεν καταφέρει ο οργανισμός να αντιμετωπίσει την παρούσα καταπόνηση ακολουθεί η τρίτη και τελική φάση, δηλαδή η φάση της εξαντλήσεως η οποία μπορεί να οδηγήσει στην ανάπτυξη μιας παθολογικής κατάστασης ή και στο θάνατο (Seyle 1973; Pickering and Pottinger, 1995; Papoutsoglou 1998; Pavlidis and Mylonas, 2011).

Κατά την πρωτογενή αντίδραση του οργανισμού στο stress, απελευθερώνονται άμεσα στο αίμα κατεχολαμίνες (αδρεναλίνη και νοραδρεναλίνη)

και κορτικοστεροειδή όπως η κορτιζόλη. Το αρχικό ερέθισμα προκαλεί νευρική ώση, η οποία φτάνει στο κεντρικό νευρικό σύστημα και ενεργοποιεί μία σειρά νευροενδοκρινικών μηχανισμών. Αρχικά παράγονται ορμόνες και εκκρίνονται από τον υποθάλαμο προς δύο άξονες: τον άξονα Συμπαθητικό Νευρικό Σύστημα – Χρωμόφιλος ιστός και τον άξονα Υποθάλαμος- Υπόφυση. Στον πρώτο άξονα, διεγείρονται νευρώνες στα χρωμόφιλα κύτταρα στο άνω νεφρικό σύστημα, με αποτέλεσμα την έκλυση κατεχολαμινών, (αδρεναλίνη και νοραδρεναλίνη) και την απελευθέρωσή τους στο αίμα. Στο δεύτερο άξονα, εκλύεται από τον υποθάλαμο η εκλυτική ορμόνη της κορτικοτρόπου ορμόνης (CRH), η οποία ενεργοποιεί τον άξονα Υποθάλαμος – Υπόφυση – Επινεφρίδια. Η CRH αυξάνει με τη σειρά της την κορτικοτρόπο ορμόνη (ACTH) και μέσω αυτής διεγείρει την έκκριση κορτιζόλης από τον μεσονεφρικό ιστό προς το αίμα (Flik *et al.*, 2006).

Κατά τη δευτερογενή αντίδραση του ιχθύος στο stress, τα αυξημένα επίπεδα κατεχολαμινών και κορτιζόλης επηρεάζουν τις βιοχημικές και φυσιολογικές λειτουργίες του οργανισμού προκαλώντας διαφοροποίηση στους ρυθμούς έκκρισης ορμονών από την υπόφυση και τον θυρεοειδή αδένα και τροποποιήσεις στους ρυθμούς ανανέωσης των νευροδιαβιβαστών. Επίσης, προκαλούν αυξημένη ροή αίματος προς τα βράγχια, καλύτερη οξυγόνωση λόγω αύξησης του καρδιακού παλμού αλλά ταυτόχρονα και κατανάλωση οξυγόνου (Pickering and Pottinger, 1995). Επιπλέον παρατηρούνται βελτιωμένες κολυμβητικές επιδόσεις, ενεργοποίηση του καταβολισμού (αντί του αναβολισμού), αύξηση της γλυκόζης στο αίμα (λόγω έντονης γλυκόλυσης και γλυκονεογένεσης) για ικανοποίηση των αυξημένων ενεργειακών απαιτήσεων (Pickering and Pottinger, 1995; Wendelaar Bonga 1997). Οι ηθολογικές και φυσιολογικές αποκρίσεις στο stress φαίνεται ότι

ελέγχονται από κοινούς μηχανισμούς οι οποίοι ενεργοποιούνται από τη δράση νευροδιαβιβαστών στον εγκέφαλο, με κύριους νευροδιαβιβαστές τη σεροτονίνη, τη ντοπαμίνη και τη νορεπινεφρίνη (Ashley 2007).

Όταν η διάρκεια (ένταση) του stress αγγίζει ή υπερβαίνει τα όρια ανοχής των ιχθύων, δυσχεραίνοντας τον εγκλιματισμό τους, τότε μπορεί να παρατηρηθεί μείωση του ρυθμού ανάπτυξης, διαταραχή της αναπαραγωγικής διαδικασίας καθώς και εξασθένιση του ανοσολογικού συστήματος (τριτογενείς αντιδράσεις) προκαλώντας τελικά εξάντληση και θάνατο (Παπουτσόγλου 1998).

Γενικά, με τον όρο στρες στις υδατοκαλλιέργειες εννοούμε μια κατάσταση κατά την οποία τα ψάρια μας δεν μπορούν να διατηρήσουν κανονικά την φυσιολογική τους κατάσταση, διότι κάποιοι παράγοντες δρουν δυσμενώς στην ευημερία τους.

#### **1.4.2. Οξύ-Χρόνιο στρες**

Υπάρχουν δύο κύριοι τύποι στρες, η οξεία και η χρόνια μορφή καταπόνησης που ορίζονται με βάση την ένταση και το χρόνο. Ενώ η οξεία μορφή καταπόνησης είναι υψηλή σε ένταση και μικρής χρονικής διάρκειας, το χρόνιο στρες είναι χαμηλότερης έντασης αλλά μεγαλύτερης χρονικής διάρκειας.

Η απόκριση στην οξεία μορφή του στρες είναι μια κανονική φυσιολογική προσαρμοστική απόκριση (εφόσον τα ψάρια επιβιώσουν από τον στρεσογόνο παράγοντα, δηλαδή, η ένταση δεν ξεπεράσει την ικανότητα της απόκρισης), η οποία μπορεί να ξεπεράσει τον επόμενο στρεσογόνο παράγοντα της ίδιας φύσης με μεγαλύτερη επιτυχία.

Το χρόνιο στρες εμφανίζεται λιγότερο συχνά στη φύση και ως εκ τούτου μπορεί εύκολα να γίνει μη-προσαρμοστικό. Πρακτικά στις υδατοκαλλιέργειες, τα

ψάρια υπόκεινται σε αιχμαλωσία. Αυτές οι καταστάσεις καθιστούν πιο πιθανό τα φυσικά ή χημικά χαρακτηριστικά του νερού ή την αλληλεπίδραση μεταξύ των ατόμων να γίνουν χρόνιοι στρεσογόνοι παράγοντες, συνεπώς οι συγκεκριμένοι παράγοντες δεν μπορεί να αποφευχθούν. Σε αυτές τις περιπτώσεις οι παραπάνω παράγοντες μπορεί να δημιουργήσουν μια μη-προσαρμοστική απόκριση, με μια συνεχή μείωση των ενεργειακών πόρων, με μια ευαισθησία σε ασθένειες και μια συνολική μείωση της απόδοσης.

Θέλοντας να συνοψίσουμε θα λέγαμε ότι το οξύ στρες προκαλεί ταχεία απόκριση του οργανισμού υπερβαίνοντας τις αντοχές του (θανατηφόρο). Αντίθετα, το χρόνιο είναι συνεχές, με περιοδική έκθεση σε χαμηλής έντασης παράγοντες καταπόνησης και μακροχρόνιες επιδράσεις σ' όλο τον κύκλο της ζωής τους.

Εκτός από την κλασική μορφή οξείας καταπόνησης και χρόνιου στρες, υπάρχουν και άλλα μοντέλα στρεσογόνων παραγόντων, όπως είναι η επαναλαμβανόμενη οξεία καταπόνηση ή ο συνδυασμός της οξείας καταπόνησης σε χρόνια στρεσαρισμένα ψάρια. (Biology of European sea bass, 2014)

### **1.4.3. Διαχωρισμός Stress :eustress (ευκαταπόνηση) και distress (αντικαταπόνηση)**

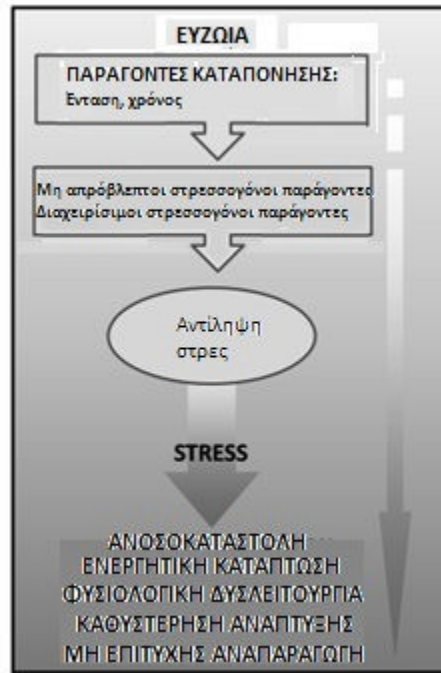
Κατά τον (Selye 1985) το στρες πρέπει να χωρίζεται στην ευκαταπόνηση (eustress) ή υγιή καταπόνηση και την (distress) αντικαταπόνηση ή μη-υγιή καταπόνηση. Η πρώτη πραγματοποιείται ως απόκριση του οργανισμού κάτω από συνθήκες που επιφέρουν φυσιολογικές αλλαγές που βελτιστοποιούν τη βιολογική του απόδοση π.χ. άσκηση. Ενώ η δεύτερη πραγματοποιείται όταν επέλθουν φυσιολογικές αλλαγές σ' έναν οργανισμό εξαιτίας συγκεκριμένου παράγοντα με

αποτέλεσμα να κινδυνεύει η ακεραιότητα του. Στις μέρες μας μεγαλύτερη βάση έχει δοθεί στην αντικαταπόνηση (Martinez-Porchas *et al.*, 2009).



#### 1.4.4. Παράγοντες καταπόνησης (stressors)

Οι παράγοντες καταπόνησης μπορεί να υπάρχουν στη φύση, για παράδειγμα ακραίες φυσικές συνθήκες για τα ψάρια, όπως η συγκέντρωση του οξυγόνου, η αλατότητα, η θερμοκρασία ή μια ραγδαία αλλαγή των μεταβλητών αυτών (Altimiras *et al.*, 1994; Tort *et al.*, 1998) μπορεί να προκαλέσει μια φάση συναγερμού. Άλλοι παράγοντες όπως είναι η παρουσία θηρευτών ή ανταγωνιστών μπορεί να συμπεριληφθούν ως φυσιολογικοί παράγοντες καταπόνησης για τα ψάρια. Ωστόσο, στην αιχμαλωσία, τα ψάρια υποβάλλονται σε μη-φυσικούς παράγοντες καταπόνησης, που μπορεί να ποικίλουν. Έτσι, οι παράγοντες καταπόνησης (stressor) μπορεί να σχετίζονται: (α) με τις φυσικές συνθήκες του νερού (χαμηλό οξυγόνο, αλλαγή της θερμοκρασίας, αλλαγή αλατότητας), (β) με τα χημικά συστατικά του νερού (επίπεδα αμμωνίας ή νιτρωδών, παρουσία χημικών ουσιών, βαρέα μέταλλα) και (γ) με τη κατάσταση του ίδιου του τεχνητού περιβάλλοντος που ζουν (ωτοκία, πυκνότητα) και τις συνέπειες που αυτή η διαβίωση δημιουργεί, όπως η κοινωνική αλληλεπίδραση με κυριαρχία ή εξαρτώμενη σχέση. Ένα βασικό χαρακτηριστικό αυτών των καταστάσεων είναι ότι τα ψάρια δεν μπορούν να ξεφύγουν από αυτό το περιβάλλον με φυσικούς μηχανισμούς, όπως η μετανάστευση, η προστασία στον αμμόδη πυθμένα, η αλλαγή των ενδιαιτημάτων, με αποτέλεσμα οι στρεσογόνοι διαχειρίσιμοι παράγοντες (uncontrollability) και οι μη απρόβλεπτοι (unpredictability) στρεσογόνοι παράγοντες να έχουν άμεση σχέση με τη διέγερση μιας συνεχούς απόκρισης στο στρες (Εικ. 4).



Εικόνα 4: Η αντίδραση του στρες μετά από στρεσογόνο περιστατικό που χαρακτηρίζεται από την ένταση και το χρόνο, αλλά τελικά προκαλείται αν παρουσιάζονται μη στρεσογόνοι διαχειρίσιμοι παράγοντες (uncontrollability) και μη απρόβλεπτοι (unpredictability) στρεσογόνοι παράγοντες.

#### 1.4.5. Φυσιολογική απόκριση στην καταπόνηση

Η φυσιολογική αντίδραση στην καταπόνηση στο Ευρωπαϊκό λαβράκι είναι παρόμοια με των υπόλοιπων θαλάσσιων τελεοστέων. Τα ψάρια εκτίθενται σε διάφορους στρεσογόνους παράγοντες καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής τους. Επιβλαβείς ερεθίσματα προκαλούν μια ολοκληρωμένη αντίδραση στο στρες, συμπεριλαμβανομένων πρωτογενών, δευτερογενών και τριτογενών αποκρίσεων (Wedemeyer et McLeay, 1981). Οι πρωτογενείς αποκρίσεις περιλαμβάνουν την ενεργοποίηση των κέντρων του εγκεφάλου, που έχει ως αποτέλεσμα την απελευθέρωση των κατεχολαμίνων και των κορτικοστεροειδών μέσω της ενεργοποίησης του άξονα υποθαλάμος-συμπαθητικές ίνες-χρωμιόφιλος ιστός και του υποθαλαμικού-υποφυσικού-μεσοenceφρικού άξονα (Bonga 1997). Οι δευτερογενείς αποκρίσεις, έχουν να κάνουν με τις απότομες μεταβολές βιοχημικών και αιματολογικών παραμέτρων (γλυκόζης πλάσματος, γλυκογόνο του ήπατος κ.α),

οι οποίες είναι άρρηκτα συνδεδεμένες με τη διατροφική κατάσταση των ιχθύων (Roncarati *et al.*, 2006), ενώ οι τριτογενείς αποκρίσεις αφορούν το επίπεδο που βρίσκεται ο οργανισμός ή ο πληθυσμός (Boon *et al.*, 1991; Bonga 1997).

Το Ευρωπαϊκό λαβράκι (*Dicentrarchus labrax*) κατά καιρούς έχει περιγραφεί ως ένα ευαίσθητο είδος το οποίο καταπονείται εύκολα, η άποψη αυτή αποδεικνύεται από τα υψηλά επίπεδα της κορτιζόλης στο πλάσμα του αίματος πριν (επίπεδα βάσης) όσο και μετά από έντονο στρες στο λαβράκι (Cerde-Reverter *et al.*, 1998; Rotllant *et al.*, 2003; Fanouraki *et al.*, 2008; Pavlidis *et al.*, 2011) σε σύγκριση με άλλα φυλογενετικά συγγενικά είδη, όπως η τσιπούρα, *Sparus aurata* (Tort *et al.*, 2001), red sea bream, *Pagrus major* (Biswas *et al.*, 2006), ή το red porgy, *Pagrus pagrus* (Fanouraki *et al.*, 2007).

#### **1.4.6. Ανοσολογική απόκριση στην καταπόνηση**

Η σχέση μεταξύ καταπόνησης και ανοσολογικής απόκρισης είναι εμφανής σε κατώτερα σπονδυλωτά όπως για παράδειγμα τα ψάρια, καθώς οι κυτοκίνες και τα νευροπεπτιδία έχουν καθοριστικούς ρόλους τόσο στο νευροενδοκρινικό όσο και το ανοσοποιητικό σύστημα. Αρκετά στοιχεία αλληλεπιδρούν έντονα: Κάποιοι ενδοκρινικοί μεταβιβαστές (messengers) από το ανοσοποιητικό και το ενδοκρινικό σύστημα ανήκουν στην ίδια οικογένεια μορίων. Επίσης το πρόσθιο μέρος του νεφρού διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην ρύθμιση της απόκρισης στο στρες, που συνδέεται στενά με τα υπόλοιπα ρυθμιστικά συστήματα. Αυτά μας βοηθούν, να κατανοήσουμε γιατί το στρες καθορίζεται από κεντρικά και περιφερειακά ανοσοποιητικά και νευροενδοκρινικά κύτταρα και από τους αντίστοιχους ενδοκρινικούς μεταβιβαστές (messengers) (Ottaviani και Franceschi, 1996).

Οι παράγοντες καταπόνησης θεωρείται ότι προκαλούν κατασταλτικές ή ανεπιθύμητες ενέργειες, αλλά μέρος αυτών των αποκρίσεων θα μπορούσαν να θεωρηθούν ως δραστική ή αυξητική ενέργεια, συνεπώς η επίλυση αυτού του περίπλοκου γεγονότος εξαρτάται από την χρονική πορεία, τη προκαλούμενη απόκριση, και τον παράγοντα καταπόνησης. Οι ανοσολογικές αποκρίσεις με δημιουργία φλεγμονών επηρεάζονται από παράγοντες καταπόνησης και χαρακτηρίζονται από κάποια γνωρίσματα, όπως, συρρίκνωση του θύμου, της σπλήνας ή άλλης λεμφικής δομής του σώματος, αλλαγή αριθμού και κατανομής των λευκών αιμοσφαιρίων στο σώμα, έλκη και αιμορραγία στον πεπτικό σωλήνα.

Όταν εφαρμόζεται ένας παράγοντας καταπόνησης, θεωρείται ότι το αποτέλεσμα του θα εξαρτηθεί από την ένταση και τη διάρκειά του συγκεκριμένου παράγοντα. Με τον τρόπο αυτό, πρόσφατες εργασίες απέδειξαν ότι οι παράγοντες καταπόνησης μπορεί να καταστείλουν ή να ενισχύσουν ορισμένα ασφαλή μονοπάτια της ανοσολογικής απόκρισης (Dhabhar *et al.*, 1995; Dhabhar 2002; Dhabha 2008). Οι βάσεις για αυτό δεν έχουν πλήρως καθοριστεί, αλλά έχει παρατηρηθεί μεταφορά των λεμφοκυττάρων στο δέρμα και σε άλλες πιθανές θέσεις, οι οποίες χρησιμοποιούν για την ανίχνευση τις τοπικές ανοσολογικές αποκρίσεις (Dhabhar 2000). Επιπλέον, προηγούμενα περιστατικά με έκθεση σε παράγοντες καταπόνησης προσδιόρισαν την ικανότητα της οικοδόμησης μιας περαιτέρω απόκρισης και για αυτό η αποτελεσματικότητα των regulatory systems, περιλαμβάνει μια ανοσολογική δραστηριότητα (Dhabhar 2002). Αυτό θέτει το ερώτημα για το αν η προηγούμενη μας εμπειρία μπορεί να φέρει ένα πλεονέκτημα σε αυτά τα ζώα ή άτομα όταν αντιμετωπίζουν ένα επιπλέον παράγοντα καταπόνησης. Παρ 'όλα αυτά, η τρέχουσα κατανόηση αυτών των επιδράσεων σε

κυτταρικό και μοριακό επίπεδο δεν είναι αρκετή για να επιτρέψει την πρόβλεψη των αποτελεσμάτων ενός συγκεκριμένου παράγοντα καταπόνησης σε μια συγκεκριμένη ανοσολογική ή φλεγμονώδη λειτουργία (Pruett 2003).

#### 1.4.7. Κυτταρική απόκριση στην καταπόνηση

Σύμφωνα με τους (Holcik and Sonenberg, 2005) η μετάφραση είναι ένας μηχανισμός κλειδί για ένα μεγάλο αριθμό κυτταρικών αποκρίσεων, στους οποίους περιλαμβάνεται και η απόκριση του οξειδωτικού στρες. Οι επιπτώσεις που μπορεί να επιφέρει το στρες στη μετάφραση μπορεί να είναι είτε ενεργοποιητικές, είτε ανασταλτικές. Κατά την έκθεση στο στρες, κάποια κύτταρα θα πρέπει να διατηρήσουν την ενέργειά τους, ώστε να επιβιώσουν στις στρεσογόνες συνθήκες (Hinnebusch 1994). Επιπλέον, σε άλλες συνθήκες κατά την έκθεση σε στρες, αυξάνει τη μετάφραση ειδικών, αμυντικών πρωτεϊνών, οι οποίες έχουν ως στόχο να μπορέσει το κύτταρο να ανταποκριθεί στις αρνητικές επιπτώσεις του στρες. Σε αυτή την περίπτωση το κύτταρο αυξάνει τη μετάφραση ειδικών mRNAs (αγγελιοφόρο RNA) (Bond 2006).

Αρκετά γονίδια λαβρακιού έχουν μελετηθεί από διάφορους συγγραφείς με σκοπό να παρατηρήσουν εάν η έκφραση αυτών των γονιδίων μπορεί να γίνει ένας αντιπροσωπευτικός δείκτης της απόκρισης στρες σ' αυτά τα είδη. Μερικά από αυτά τα γονίδια σχετίζονται με τις επιδράσεις που προκαλούνται από τους ρύπους και τις προσμείξεις και την κυτταρική και μοριακή απόκριση που προκύπτει, μεταξύ αυτών είναι οι μεταλλοθειονεΐνες (MT), οι πρωτεΐνες θερμικού σοκ (Hsps) και άλλα συγκεκριμένα γονίδια.

Οι μεταλλοθειονεΐνες (MT) είναι μία μικρή οικογένεια μεταλλοπρωτεϊνών, πλούσιων σε σουλφυδρυλομάδες, οι οποίες στερούνται ενζυμικής ενεργότητας.

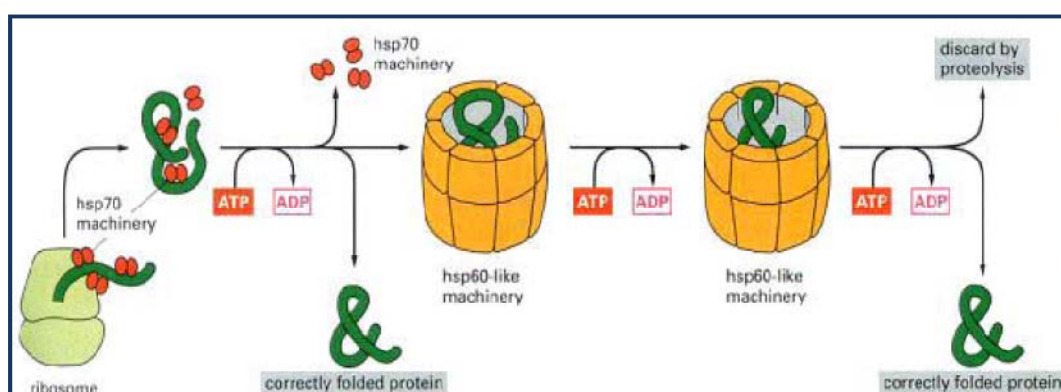
Έχουν τέσσερις βασικές λειτουργίες: πρόσδεση των τοξικών μετάλλων και αποτοξικοποίηση, ομοιοστατική ρύθμιση των μετάλλων, προστασία έναντι του οξειδωτικού stress και νευροπροστασία (Klaasen *et al.*, 2009).

Επίσης παρουσιάζουν αύξηση τόσο στο ήπαρ του λαβρακιού όσο και στον εγκέφαλο του μετά από έκθεση σε υψηλή πυκνότητα εκτροφής, υποδεικνύοντας έτσι ότι δεν είναι συγκεκριμένοι βιοδείκτες, αλλά μπορούν να χρησιμεύσουν στο να παρακολουθούν τις συνθήκες κάτω από τις οποίες στρεσάρονται τα ψάρια (Gornati *et al.*, 2004).

Η έκφραση των πρωτεϊνών θερμικού πλήγματος (Hsps) ως δείκτες κυτταρικής καταπόνησης (στρες), αλλά και δείκτες επαγόμενοι από διαφορετικές διατροφικές προκλήσεις αποτελεί μια αρκετά υποσχόμενη προοπτική (Antonopoulou *et al.*, 2013, 2014 ; Feidantsis *et al.*, 2014).

Μεταξύ των πρωτεϊνικών οικογενειών των Hsps, οι Hsp70 και Hsp90 είναι από τις επικρατέστερες ομάδες με παρουσία σε όλους τους κυτταρικούς τύπους και εξαιρετικά συντηρημένες μεταξύ των φύλων. Η επαγωγή της έκφρασης των Hsps μπορεί να προκληθεί από μια ποικιλία στρεσογόνων παραγόντων όπως η υπερθερμία, το ωσμωτικό στρες, η έκθεση σε βαρέα μέταλλα, τα χημικά σοκ και το οξειδωτικό στρες που προκαλείται από υποξία ή ανοξία (Gornati *et al.*, 2004). Στις κυτταρικές λειτουργίες αυτών των πρωτεϊνών περιλαμβάνονται η αναδίπλωση, η επισκευή και η μετατόπιση ενδοκυτταρικών πρωτεϊνών καθώς και η επανενεργοποίηση μετουσιωμένων πρωτεϊνών (Werner *et al.*, 2006), ενώ συγκεκριμένα για μέλη της οικογένειας Hsp70 έχει βρεθεί ότι συμβάλουν στην αποκατάσταση της κυτταρικής λειτουργίας κατά την ανάρρωση από το στρες, απομακρύνοντας μετουσιωμένες πρωτεΐνες εντός του κυττάρου (Joyeux-Faure *et*

*al.*, 2003). Οι Hsps είναι κομβικής σημασίας για την ενεργοποίηση πυρηνικών ορμονικών υποδοχέων, ενώ ακόμα αλληλεπιδρούν με σηματοδοτικά μόρια του κυτταρικού κύκλου και των μονοπατιών του κυτταρικού θανάτου. Επίσης, τα μεταβαλλόμενα επίπεδα των Hsps στα κύτταρα (ως αντίδραση στο στρες) μπορούν να αλλάξουν τη συνολική αντίδραση σε φυσιολογικά σήματα, ενώ ακόμα έχουν συσχετιστεί και με μειωμένες συγκεντρώσεις των μεταβολικών ενεργειακών αποθεμάτων (Werner *et al.*,2006). Στην παρακάτω Εικόνα 5. αντικατοπτρίζεται η λειτουργία των Hsps.



Εικόνα 5: Λειτουργία των Hsps. κατά την κυτταρική απόκριση

#### 1.4.8. Οξειδωτικό στρες

Η ρίζα του υπεροξειδίου ( $O_2^-$ ), του υδροξυλίου ( $OH^-$ ) και το υπεροξείδιο του υδρογόνου ( $H_2O_2$ ) είναι ελεύθερες οξειδωτικές ρίζες (ROS – Reactive Oxygen Species) οι οποίες αποτελούν προϊόντα του μεταβολισμού του οξυγόνου και παράγονται διαρκώς σε όλους τους αερόβιους οργανισμούς. Όταν η ισορροπία μεταξύ της παραγωγής των ελεύθερων οξειδωτικών ριζών και της δυνατότητας του οργανισμού να διορθώνει τις ζημιές αδρανοποιώντας τα τοξικά αυτά μόρια διαταράσσεται, αυτό οδηγεί σε πρόκληση οξειδωτικού στρες το οποίο στη συνέχεια προκαλεί άλλες βλάβες όπως οξείδωση πρωτεϊνών και βάσεων στο DNA και υπεροξείδωση των λιπιδίων. Τελευταία, το οξειδωτικό στρες θεωρείται ότι έχει

σχέση με μια σειρά διεργασιών και ασθενειών, μέσα σ' αυτές συμπεριλαμβάνονται η μεταλλαξιγένεση, ο καρκίνος, η αρτηριοσκληρίωση, οι καρδιακές παθήσεις, οι διαταραχές του κεντρικού νευρικού συστήματος, οι χρόνιες φλεγμονώδεις ασθένειες, ενώ πιθανός να εμπλέκεται το οξειδωτικό στρες και στην διαδικασία της γήρανσης (Martinez-Alvarez *et al.*, 2005). Είναι γνωστό ότι όλοι οι αερόβιοι οργανισμοί είναι ευαίσθητοι στις ελεύθερες οξειδωτικές ρίζες. Το ίδιο ισχύει και για τους ιχθύες οι οποίοι προσβάλλονται από τις ελεύθερες οξειδωτικές ρίζες και έτσι έχουν αναπτύξει μηχανισμούς αντιμετώπισης του οξειδωτικού στρες. Ειδικά, στους περισσότερους ιχθύς που έχουν μελετηθεί μέχρι σήμερα, η πρώτη γραμμή άμυνας φαίνεται να αποτελείται από αντιοξειδωτικά μόρια όπως η γλουταθειόνη (GSH), τις βιταμίνες C, E και K και τα καροτενοειδή, ενώ ο δεύτερος αμυντικός μηχανισμός συνίσταται από τα αντιοξειδωτικά ένζυμα καταλάση (CAT), υπεροξειδική δισμουτάση (SOD), υπεροξειδάση και ρεδοουκτάση της γλουταθειόνης (GPx και GR) (Martinez-Alvarez *et al.*, 2005; Jin *et al.*, 2010). Κάτω από περιβαλλοντικές μεταβολές, αλλαγές διατροφικών παραγόντων και συμπεριφορών, παρουσία ξενοβιοτικών και παρασιτικών μολύνσεων μπορούν οι αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί των ψαριών να ενεργοποιηθούν. (Martinez-Alvarez *et al.*, 2005).

#### **1.4.9. Καταπόνηση και ηθολογική απόκριση**

Οι ηθολογικές αλληλεπιδράσεις που πραγματοποιούνται μεταξύ των εκτρεφόμενων ψαριών μπορεί να θεωρηθούν ως στρεσογόνοι παράγοντες (Martins *et al.*, 2012). Αρκετές συμπεριφορές έχουν αναπτυχθεί στους άγριους πληθυσμούς οι οποίες ενισχύουν την επιτυχία του ατόμου στο συνεχή ανταγωνισμό για τροφή, χώρο, καλή ποιότητα νερού, κάλυψη για προστασία από θηρευτές και εύρεση συντρόφου.



Η ηθολογική διαβίωση των ψαριών διαδραματίζει εξέχοντα ρόλο στις εντατικές ιχθυοκαλλιέργειες όσον αφορά την κοινωνική αλληλεπίδραση μεταξύ των ατόμων. Τα ιεραρχικά φαινόμενα και ο κανιβαλισμός δημιουργούν μια ανισότητα μεγεθών στους εκτρεφόμενους πληθυσμούς και αυξανόμενη θνησιμότητα (Fernandez and Volpato, 1993; Molnar *et al.*, 2003). Κάποια είδη ψαριών, όπως το *Salvelinus alpinus*, η πέστροφα *Salmo trutta* και η τιλάπια *Oreochromis niloticus* δημιουργούν ιεραρχικές κοινωνικές δομές, διαχωρίζοντας τον πληθυσμό σε κυρίαρχα και υποτακτικά άτομα. Τα περισσότερα είδη, που εμφανίζουν ιεραρχική συμπεριφορά, χαρακτηρίζονται από μοναχική και χωροκτητική ηθολογία διαβίωσης, όπως η τιλάπια, η οποία υπερασπίζεται το χώρο της από άλλα άτομα). Τα υποτακτικά ψάρια παρουσιάζουν συμπτώματα χρόνιου stress (αυξημένος αναπνευστικός και μεταβολικός ρυθμός, μειωμένη κινητικότητα και μειωμένη ανάπτυξη). Εν αντιθέσει, τα κυρίαρχα ψάρια, παρουσιάζουν αυξημένη κινητικότητα, επιθετική συμπεριφορά και υψηλή ανάπτυξη, σε αυτά τα άτομα υπάρχει στρες το οποίο δύσκολα ανιχνεύεται λόγω των παραπάνω χαρακτηριστικών που παρουσιάζουν. ( Fernandez and Volpato, 1993; Hoglund, Kolm *et al.*, 2001; Hancz *et al.*, 2004).

#### 1.4.10. Δείκτες καταπόνησης

Κατά καιρούς έχουν προταθεί ορισμένοι αναγνωρίσιμοι και μετρήσιμοι δείκτες για την αξιολόγηση της καταπόνησης των ιχθύων. Σύμφωνα με τον (Poli, 2009), ως δείκτες καταπόνησης μπορούμε να χρησιμοποιήσουμε τους εξής: δείκτες στο αίμα (κορτιζόλη, γλυκόζη, γαλακτικό οξύ, αιματοκρίτης, ελεύθερα λιπαρά οξέα, (ROS reactive oxygen metabolites) ελεύθερες οξειδωτικές ρίζες, (HSPS) πρωτεΐνες θερμικού πλήγματος, AOP, ATP, ATP/IMP, AEC, K value και φάσεις νεκρικής

ακαμψίας. Άξιο σημείο αναφοράς κατά τους (Marino *et al.*, 2001) είναι το γεγονός ότι για την εκτίμηση της κατάστασης ενός ψαριού όσο αφορά την καταπόνηση, ιδανικό θεωρείται το να λαμβάνονται υπόψη αρκετές αιματολογικές παράμετροι.

Καθώς καταπονείται ένας οργανισμός γίνεται ενεργοποίηση του συστήματος 'Υποθάλαμος-Υπόφυση-Επινεφρίδια'. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα την παραγωγή και έκκριση στεροειδών ορμονών (γλυκοκορτικοειδή) συμπεριλαμβανομένης και της βασικής ορμόνης που σχετίζεται με το στρες, την κορτιζόλη (Ranbir and Reetu, 2011). Η έκκριση της κορτιζόλης πραγματοποιείται από το ενδοεφρικό σύστημα (μεσένεφρος), το ομόλογο του φλοιού των επινεφριδίων των θηλαστικών (Iwama *et al.*, 2004; Huntingford *et al.*, 2006; Ashley 2007). Οι επιπτώσεις της κορτιζόλης στον οργανισμό είναι η κινητοποίηση και αναστολή της πρωτεϊνοσύνθεσης, η κινητοποίηση αμινοξέων από την περιφέρεια στο συκώτι με σκοπό την γλυκονεογένεση, η εναπόθεση ηπατικού γλυκογόνου, η μείωση χρησιμοποίησης υδατανθράκων και οι αλλαγές στις κυτταρικές μεμβράνες.

Πριν από την έκκριση της κορτιζόλης έχουμε και απελευθέρωση συγκεκριμένων κατεχολαμίνων όπως ντοπαμίνη, νοροεπινεφρίνη και επινεφρίνη. Οι επιπτώσεις των κατεχολαμίνων στον οργανισμό συνοδεύονται από αύξηση της γλυκαιμίας, αύξηση γαλακτικού οξέος αλλαγές στα ελευθέρω λιπαρά οξέα λόγω λιπολυτικής δράσης τους στον λιπώδη ιστό, ταχυκαρδία, αύξηση αναπνευστικών κινήσεων, αγγειοδιαστολή/αγγειοσυστολή, αυξημένος αιματοκρίτης προαγωγή ηπατικής – μυϊκής γλυκογονόλυσης και αυξημένη περίσταση. Η διαίσθηση ενός παράγοντα καταπόνησης, αποτελεί νευρικό ερέθισμα, απόρροια του οποίου είναι η έκκριση κατεχολαμινών από το χρωμιόφιλο ιστό, που βρίσκεται στο πρόσθιο νεφρικό σύστημα, ομόλογο του μυελού των επινεφριδίων των θηλαστικών. Οι

συγκεκριμένες ορμόνες θέτουν σε λειτουργία την αμυγδαλή η οποία είναι μια περιοχή του εγκεφάλου και ευθύνεται για τη δημιουργία συναισθηματικής φόρτισης ανάλογα με τον στρεσογόνο παράγοντα. Επιπλέον παρατηρείται απελευθέρωση των νευροπεπτιδίων S, το οποίο είναι μια μικρή πρωτεΐνη που ρυθμίζει τα επίπεδα εγρήγορσης του οργανισμού.

#### **1.4.11. Σταθερότητα της απόκρισης κορτιζόλης κυρίως σε λαβράκι**

Η επιστημονική παρατήρηση της συμπεριφοράς ατόμων διαφορετικών ζωικών ειδών όπως ονομάστηκε η ηθολογία από τον Αμερικανό ερευνητή William Morton Wheeler (Ethology), απέδειξε τα τελευταία έτη την πολυπλοκότητα και ετερότητα της αντίδρασης στο περιβαλλοντικό ερέθισμα της επαπειλούς επιβίωσης. Ειδικότερα, η στρατηγική επιβίωσης (coping strategies) ως βιολογικό γνώρισμα ποικίλλει και χαρακτηρίζει κάθε ζωικό είδος όπως όλα τα άλλα φυσιολογικά και ανατομικά του χαρακτηριστικά. Ενδεικτικό της ανόμοιας αυτής παραλλαγής υπάρχει στον τρόπο που επιβιώνει κάθε θηλαστικό ή πτηνό. Αφενός, εντοπίζεται η προδραστική (proactive) στρατηγική επιβίωσης από την ηθολογία με την προβολή μάχης-φυγής (fight-flight), ως άμεσος πρόδρομος πιο επιθετικού ενστίκτου με εμφανή την προβολή λιγότερων κορτικοστεροειδών στο πλάσμα. Αφετέρου η προώθηση της ακινησίας-αποκρύψεως (freeze-hide) στα μεταδραστικά (reactive) ζώα με υπέρ-προβολή της ατομικής αιδούς, αλλά και ελάττωσης της εφορμήσεως συγκριτικά με τα προδραστικά άτομα. Στη δεύτερη κατηγορία των μεταδραστικών ατόμων η έκθεση στην καταπτόση της αντοχής αυξάνει την κορτιζόλη στο πλάσμα και στα νευροενδοκρινικά συστήματα (Koolhaas *et al.*, 1999). Η τελευταία ως οργανική εξάντληση επηρεάζει αρνητικά την αύξηση την αναπαραγωγή και αντοχή

σε νοσήματα κυρίως σε ζώα οικονομικού ενδιαφέροντος όπως (οι κότες, οι γαλοπούλες και τα γουρούνια).

Στις υδατοκαλλιέργειες η οργανική εξασθένηση φέρει αναπόδραστα αποτελέσματα, αφού παρουσιάζει ιδιαίτερα διακριτά γνωρίσματα μεταξύ στελεχών (strains) σαλμονοειδών (Pickering and Pottinger, 1989 ; McGeer *et al.*,1991) αλλά και μεταξύ των διαφορετικών ατόμων του ίδιου στελέχους (Pottinger *et al.*, 1992). Τα πορίσματα από έγκριτες επιστημονικές απόπειρες τεχνητού εγκλεισμού σε 4 διαφορετικά είδη με περίοπτη θέση την οικουμενική υδατοκαλλιεργική δραστηριότητα τεκμαίρουν περίτρανα την απόκριση κορτιζόλης στην οργανική εξάντληση στους ιχθύες με ιδιαίτερα ιδιότυπα γνωρίσματα για κάθε είδος.

## 2. ΣΚΟΠΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η εκτίμηση της σταθερότητας και επαναληψιμότητας της οξείας καταπόνησης που δέχονται τα ιχθύδια μετά από καταδίωξη με απόχη μέσα σε δεξαμενή για 5 λεπτά. Για το σκοπό του πειράματος χρησιμοποιήθηκαν 6 διαφορετικοί ιχθυοπληθυσμοί του είδους *Dicentrarchus labrax*.

### 3. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ

#### 3.1. Εγκαταστάσεις εκπόνησης πειράματος

Η πειραματική διαδικασία εκπονήθηκε στις εγκαταστάσεις του ερευνητικού κέντρου ΕΝΑΛΙΟΣ του ομίλου ΝΗΡΕΑΣ όπου χρησιμοποιήθηκαν 6 οικογένειες λαβρακιού του είδους *Dicentrarchus labrax* με μέσο αρχικό βάρος 34 gr προερχόμενες από τεχνητή γονιμοποίηση 6 θηλυκών και 6 αρσενικών ψαριών. Σε 6 διαφορετικές δεξαμενές τοποθετήθηκαν αρχικά από 25 ιχθύδια από κάθε οικογένεια. Την ημέρα της έναρξης του πειράματος (δηλαδή την ημέρα 0) εισήχθηκε μαγνητικό τσιπάκι σε κάθε ένα λαβράκι ξεχωριστά και εν συνεχεία τοποθετήθηκαν τα ψάρια στις δεξαμενές. Από τα 25 ιχθύδια κάθε δεξαμενής επιλέχθηκαν 10 στην τύχη μη καταπονημένα λαβράκια, από τα οποία έγινε συλλογή αίματος από την ουραία φλέβα, το οποίο χρησιμοποιήθηκε για τον υπολογισμό των επιπέδων γλυκόζης, κορτιζόλης και γαλακτικού οξέος (αιματολογικοί παράμετροι που χρησιμοποιούνται ως δείκτες καταπόνησης), δημιουργώντας έτσι για κάθε δεξαμενή και έναν μάρτυρα. Εν συνεχεία τα 10 ιχθύδια από κάθε δεξαμενή θανατώθηκαν και έμειναν μέσα 15 άτομα ιχθυδίων λαβρακιού. Οι απόγονοι κάθε ζευγαριού ψαριών τοποθετήθηκαν ξεχωριστά σε 6 κυλινδροκωνικές δεξαμενές χωρητικότητας 120L, οι οποίες τροφοδοτούνταν με παροχή θαλασσινού νερού μέσω γεωτρήσεως. Η θερμοκρασία του νερού καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος ήταν σταθερή στους 17,5 T°C ενώ η φωτοπερίοδος ήταν 12 ώρες φως και 12 ώρες σκοτάδι. Ο κορεσμός του διαλυτού O<sub>2</sub> κυμαινόταν από 90-110% και το pH ήταν 7,4-7,6 ενώ η αλατότητα στις δεξαμενές παρέμενε σταθερή καθ' όλη τη διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας (28‰). Στον Πίνακα 1 παρουσιάζονται αναλυτικά για την

κάθε δεξαμενή το Αρχικό μέσο βάρος και η Αρχική βιομάζα ενώ στον Πίνακα 2. παρουσιάζονται οι σωματομετρήσεις ιχθύων από κάθε μια δεξαμενή που χρησιμοποιήθηκαν ως μάρτυρες (χωρίς να έχει επέλθει καταπόνηση).

Πίνακας 1: Σωματομετρήσεις αρχικού πληθυσμού ιχθύων χωρίς στρες

ΔΕΞΑΜΕΝΗ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΙΧΘΥΩΝ	STRESS	ΑΡΧ Μ ΒΑΡΟΣ(gr) 1 <sup>ΟΥ</sup> ΜΗΝΑ	ΑΡΧΙΚΗ ΒΙΟΜΑΖΑ (gr) 1 <sup>ΟΥ</sup> ΜΗΝΑ
Δ <sub>1</sub>	15	OXI	38,33	575,00
Δ <sub>2</sub>	15	OXI	41,62	624,40
Δ <sub>3</sub>	15	OXI	44,28	664,20
Δ <sub>4</sub>	15	OXI	26,69	400,40
Δ <sub>5</sub>	15	OXI	21,28	298,00
Δ <sub>6</sub>	15	OXI	30,40	456,00

Πίνακας 2 Σωματομετρήσεις ιχθύων από κάθε μια δεξαμενή που χρησιμοποιήθηκαν ως μάρτυρες χωρίς στρες

ΔΕΞΑΜΕΝΗ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΙΧΘΥΩΝ	STRESS	ΑΡΧ Μ ΒΑΡΟΣ(gr)	ΑΡΧΙΚΗ ΒΙΟΜΑΖΑ (gr)
Δ <sub>1</sub>	9	OXI	25,64	230,80
Δ <sub>2</sub>	10	OXI	30,98	309,80
Δ <sub>3</sub>	10	OXI	29,17	291,70
Δ <sub>4</sub>	9	OXI	18,53	166,80
Δ <sub>5</sub>	10	OXI	20,68	206,80
Δ <sub>6</sub>	10	OXI	23,05	230,50

### 3.2. Καθημερινές διαχειριστικές ενέργειες

Κατά τη διεξαγωγή του πειράματος καθημερινά πραγματοποιούνταν οι απαραίτητες μετρήσεις συγκέντρωσης οξυγόνου, αλατότητας, pH, θερμοκρασίας καθώς επίσης γινόταν έλεγχος για νεκρά ιχθύδια τα οποία και απομακρύνονταν.

### 3.3. Τρόπος ταΐσματος

Σε κάθε δεξαμενή τοποθετήθηκαν 15 ψαράκια λαβρακιού τα οποία ταΐζονταν δύο φορές την μέρα από Δευτέρα έως Σάββατο ( πλην Κυριακής όπου θέτονταν σε νηστεία ) μέχρι κορεσμού με ζυγισμένη εμπορική τροφή (τύπου pellets) KEGOBlueLine 3,5mm. η σύσταση της οποίας αναγράφεται στον Πίνακα 3. Η καταλληλότητα του μεγέθους προσδιορίσθηκε ανάλογα με το μέγεθος του στόματος των ιχθύων. Το πρώτο ταΐσμα των δεξαμενών ξεκινούσε γύρω στις 8:30 το πρωί και τελείωνε γύρω στις 09:30 ενώ το δεύτερο ταΐσμα ξεκινούσε στις 14:30 και τελείωνε στις 15:30 περίπου. Μετά από κάθε ταΐσμα γινόταν συλλογή της περίσσιας τροφής με μια απόχη. Η τροφή η οποία δεν είχε καταναλωθεί από τα ιχθύδια, συλλεγόταν σε αλουμινένια κυπελλάκια, τα οποία ήταν ήδη εκ των προτέρων ζυγισμένα και τα οποία τοποθετούνταν σε φούρνο που ήταν εγκατεστημένος στο εργαστήριο της μονάδας, στους 120 T°C για 4-5 ώρες. Στο τέλος της μέρας υπολογιζόταν πόση τροφή κατανάλωσε η κάθε δεξαμενή στην πραγματικότητα, λαμβάνοντας υπόψη και την τροφή που περίσσευε εφόσον είχε ζηγιστεί μετά από την ξήρανση της στο φούρνο. Μια φορά το μήνα πραγματοποιούταν ζύγισμα των ιχθυοπληθυσμών με σκοπό τον προσδιορισμό της βιομάζας των δεξαμενών και την παρακολούθηση της ανάπτυξης τους.

Πίνακας 3 Σύσταση πειραματικών σιτηρεσίων

<b><u>Σύσταση πειραματικών σιτηρεσίων</u></b>	<b><u>%</u></b>
<b>Πρωτεΐνη</b>	<b>45</b>
<b>Λίπος</b>	<b>20</b>
<b>Υγρασία</b>	<b>7.5</b>
<b>Τέφρα</b>	<b>7.3</b>



### 3.4. Προσδιορισμός των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών του νερού

Για τον υπολογισμό του pH του νερού χρησιμοποιήθηκε πεχάμετρο Hanna (HI 98127) ενώ για τον προσδιορισμό του κορεσμένου οξυγόνου χρησιμοποιήθηκε φορητό οξυγονόμετρο (Oxyguard Handy Polaris). Η θερμοκρασία καταγράφηκε με τη χρήση απλού θερμόμετρο ενώ η αλατότητα υπολογίσθηκε με τη χρήση διαθλασίμετρου άλατος Vital Sine™ Salinity Refractometer.

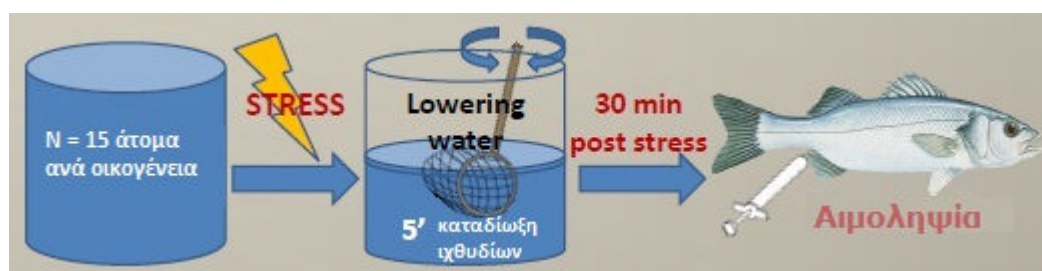
### 3.5. Απαραίτητοι έλεγχοι

Οι απαραίτητοι έλεγχοι ενεργούνταν συνήθως τις πρωινές ώρες και συμπεριλάμβαναν κυρίως, τον έλεγχο της παροχής του νερού και ενδεχομένως διαρροών που μπορεί να υπήρχαν στο κύκλωμα, τη σωστή λειτουργία του φωτισμού καθώς επίσης και τη σωστή λειτουργία της ελαφρόπετρας αν είχε χρειασθεί να χρησιμοποιηθεί σε κάποια δεξαμενή. Καθημερινώς πραγματοποιούνταν tank-flushing (καθαρισμός-έκπλυση δεξαμενής) στις δεξαμενές όχι μόνο για τη συλλογή της περίσσειας τροφής αλλά και για την απομάκρυνση τυχόν περιττωμάτων. Μια φορά το μήνα μετά την αιμοληψία πραγματοποιούνταν απολύμανση των δεξαμενών έτσι ώστε τα ιχθύδια να επιστρέφουν σε καθαρό και υγιές περιβάλλον.

### 3.6 Εφαρμογή καταπόνησης και ζύγισμα ιχθυοπληθυσμών

Μια φορά το μήνα εφαρμοζόταν στους πειραματικούς πληθυσμούς της κάθε δεξαμενής οξεία καταπόνηση με τον εξής τρόπο: Μειωνόταν ο όγκος της δεξαμενής περίπου κατά το ήμισυ, για 10 λεπτά επικρατούσε ηρεμία και εν συνεχεία για 5 λεπτά ακολουθούσε καταδίωξη με τη χρήση απόχης όπως φαίνεται στην Εικόνα 6.

Εφόσον τα ιχθύδια είχαν εξαντληθεί, συλλέγονταν με τη χρήση απόχης και πραγματοποιούταν σε κάθε ένα ιχθύδιο ξεχωριστά ατομικό ζύγισμα με σκοπό την εκτίμηση της διαφορετικής ανάπτυξης με βάση την επίδραση της επαναλαμβανόμενης οξείας καταπόνησης που δέχονταν. Κάθε οικογένεια ιχθυδίων μεταφερόταν σε ειδικό χώρο όπου υπήρχε νερό κυκλώματος, παροχή αέρα, και αναισθητικό (2-φαινοξυθανόλη), ανάλογο της αναμενόμενης βιομάζας (εκτίμηση του αναμενόμενου βάρους με βάση τον ρυθμό ανάπτυξης, που προϋποθέτει η ηλικία και το μέγεθος των ιχθυδίων του προηγούμενου ζυγίσματος της κάθε δεξαμενής). Εφόσον πραγματοποιούταν η αναισθητοποίηση των λαβρακίων με τη βοήθεια ζυγού ακριβείας 0,1 gr ακολουθούσε, ατομικό ζύγισμα και ατομική μέτρηση μήκους με τη βοήθεια ενός χάρακα. Εν συνεχεία πραγματοποιούταν αιμοληψία από την ουραία φλέβα και φυγοκέντριση των δειγμάτων με τη βοήθεια του μηχανήματος Thermo Scientific "Heraeus, Pico 17, Centrifuge". Μετά το τέλος των μετρήσεων τα ιχθύδια επέστρεφαν στην αρχική δεξαμενή τους και ακολουθούσε ο προσδιορισμός της βιομάζας ανά δεξαμενή.



Εικόνα 6 Εφαρμογή οξείας καταπόνησης (Samaras *et al.*, 2014)

### 3.7 Μετρήσεις και αναλύσεις των δεικτών καταπόνησης στους πειραματικούς ιχθυοπληθυσμούς

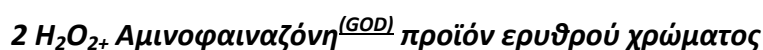
Μετά τη ζύγιση του πληθυσμού της κάθε δεξαμενής και εφόσον είχε επακολουθήσει μέτρηση για κάθε άτομο χωριστά επακολουθούσε αιμοληψία κατά την οποία χρησιμοποιούνταν ηπαρινισμένες σύριγγες του 1ml καθώς και ηπαρινισμένα φιαλίδια των 1,5 ml για την αποφυγή της πήξης των δειγμάτων. Τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν στους 2000 r.p.m για 5 λεπτά. Το πλάσμα που πρόεκυψε διατηρήθηκε στους  $-22^{\circ}\text{C}$  για περαιτέρω αναλύσεις όπως (μετρήσεις γλυκόζης, κορτιζόλης και γαλακτικού οξέος).

#### Μέθοδοι ανάλυσης :

Η συγκέντρωση της **γλυκόζης** στο αίμα των ψαριών έγινε με τη μέθοδο GOD και τη χρήση εμπορικής συσκευασίας (Biosis, Ελλάδα).

#### **Αρχή μεθόδου**

Παρουσία του ενζύμου γλυκόζο οξειδάσης (GOD) η γλυκόζη οξειδώνεται και παράγει  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Η αντίδραση του  $\text{H}_2\text{O}_2$  με φαινολικό οξύ και 4-αμινοφαιναζόνη καταλύεται από το ένζυμο υπεροξειδάση (POD) και παράγει έγχρωμο προϊόν ερυθρού χρώματος. Η αύξηση της απορρόφησης στα 510 nm είναι ανάλογη της συγκέντρωσης της γλυκόζης στο δείγμα.



+

+



Ο υπολογισμός της έγινε βάση του τύπου  $\text{mg/dl Γλυκόζης} = A_{\Delta}/A_s \times 100$

$\text{mmoles/l Γλυκόζης} = A_{\Delta}/A_s \times 5,55$

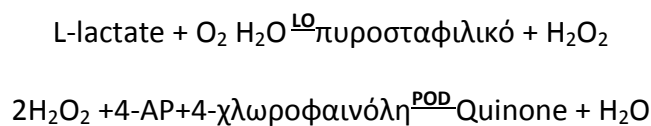
όπου  $A_{\Delta}$  είναι η απορρόφηση του δείγματος μας που υπολογίστηκε με τη χρήση φωτόμετρου του οποίου το μήκος κύματος ήταν ρυθμισμένο στους 510nm (500-550nm) κ  $A_s$  είναι η απορρόφηση του δείγματος standard.

Αναλυτικότερα για τη μέτρηση της γλυκόζης χρησιμοποιήθηκαν τρία γυάλινα φιαλίδια. Ένα γυάλινο για το τυφλό, όπου συμβολιζόταν με T (τυφλό), ένα γυάλινο για το standard όπου είχε το ρόλο του μέτρου σύγκρισης, ουσιαστικά για να ελεγχθεί ότι πάει καλά η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε και συμβολιζόταν με s και ένα γυάλινο σωληνάκι για το δείγμα. Σε όλα τα σωληνάκια τοποθετήθηκε 1 ml διαλύματος εργασίας μέσα στο οποίο υπήρχε ήδη ποσότητα ρυθμιστικού διαλύματος καθώς επίσης ένζυμα και συμπαράγοντες. Στο φιαλίδιο του T προστέθηκε 0,01 ml αποσταγμένο νερό ( $H_2O$ ) ελέγχοντας με αυτόν τον τρόπο αν δουλεύει καλά το φωτόμετρο. Στο δείγμα προστέθηκε 0,01 ml ορού και στο standard προστέθηκε 0,01 ml γλυκόζης συγκεκριμένης περιεκτικότητας 100 mg/dl. Εφόσον ανακινήθηκαν και τα τρία σωληνάκια στον αναδευτήρα (vortex), τοποθετήθηκαν για 15 λεπτά στο φωτόλουτρο και εν συνεχεία το περιεχόμενό τους μεταγγίστηκε σε κυβέτες micro ορατού φάσματος και φωτομετρήθηκαν στα 510 nm για να υπολογιστεί τελικά η μέτρηση της γλυκόζης.

Η συγκέντρωση του **γαλακτικού οξέος** στο αίμα των ψαριών έγινε με χρήση εμπορικής συσκευασίας (SPINREACT, Spain).

#### **Αρχή μεθόδου:**

Το γαλακτικό οξύ οξειδώνεται από την γαλακτική οξειδάση (LO) προς πυροσταφυλικό και υπεροξείδιο υδρογόνου ( $H_2O_2$ ), το οποίο κάτω από την επίδραση της υπεροξειδάσης (POD) της 4-αμινοφαιναζόνης (4-AP) και 4-χλωροφαινόλης σχηματίζουν μια κόκκινη quinone ένωση



Η ένταση του χρώματος που σχηματίζεται είναι ανάλογη με την συγκέντρωση του γαλακτικού οξέος που υπάρχει στο δείγμα. Ο υπολογισμός του γαλακτικού οξέος γίνεται ως εξής :

Απορρόφηση (A) Δείγματος  $\times 10 = \text{mg/dl}$

Απορρόφηση(A) standard

Ο υπολογισμός του σε mmol/L πραγματοποιείται πολλαπλασιάζοντας με 0,1123.

Για την μέτρηση του γαλακτικού οξέος χρησιμοποιήθηκαν τέσσερα σωληνάκια γυάλινα. Ένα για το T (τυφλό), δύο γυάλινα για το πρότυπο ή αλλιώς standard (s) και ένα για το δείγμα. Μέσα στο σωληνάκι του T τοποθετήθηκε 1ml από το διάλυμα εργασίας που περιείχε ρυθμιστικό διάλυμα και ένζυμα. Στα σωληνάκια του standard τοποθετήθηκαν από 1ml ρυθμιστικού διαλύματος και προστέθηκαν και 10 ml από το lactate cal και στο τέταρτο σωληνάκι τοποθετήθηκε 1ml ρυθμιστικού διαλύματος και 10 μl από το δείγμα. Εφόσον ανακινήθηκαν για λίγο τα σωληνάκια στον αναδευτήρα (vortex), τοποθετήθηκαν για διάστημα 5 λεπτών στο υδατόλουτρο στους 37<sup>0</sup>C με σκοπό στην συνέχεια να τοποθετηθούν στο φωτόμετρο, του οποίου το μήκος κύματος ρυθμίστηκε στα 505 nm για να υπολογισθεί η απορρόφηση του γαλακτικού οξέος.

Η μέτρηση της **κορτιζόλης** στο πλάσμα των ψαριών πραγματοποιήθηκε με τη χρήση ELISA (Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay) μέσω εμπορικής

συσσκευασίας (DRG® Cortisol ELISA, DRG® International Inc, Germany). Η αξιολόγηση της συγκεκριμένης συσκευασίας έχει εκτιμηθεί σε δείγματα πλάσματος για το λαβράκι με τη χρήση δοκιμών γραμμικότητας και ανάκτησης (Samaras *et al.*, 2015).

### 3.8 Δείκτες ανάπτυξης που υπολογίστηκαν

Οι δείκτες ανάπτυξης που υπολογίστηκαν για κάθε οικογένεια ιχθύων του πειράματος, ήταν οι εξής:

### 3.9 Ειδικός Ρυθμός Ανάπτυξης

- Ειδικός Ρυθμός Ανάπτυξης (SGR):

$$SGR = [(ln B_t - ln B_a) / t] \times 100$$

Όπου: B<sub>t</sub> το μέσο τελικό βάρος ιχθύος (g).

B<sub>a</sub> το μέσο αρχικό βάρος ιχθύος (g).

t η χρονική διάρκεια εκτροφής (ημέρες).

Για τους σκοπούς της εκτροφής των ψαριών, η αύξηση εκφράζεται με τον Ειδικό Ρυθμό Αύξησης Specific Growth Rate ή (SGR) και μερικές φορές απλώς (G), με τον οποίο δηλώνεται η % καθημερινή αύξηση στο βάρος του ψαριού (Χώτος 2015).

### 3.10 Εκατοστιαία Αύξηση Ζώντος Βάρους

Εκατοστιαία Αύξηση Ζώντος Βάρους (% WG)

$$\% WG = [(B_t - B_a) / B_a] \times 100$$

#### 3.10.1 Συντελεστής Μετατρεψιμότητας Τροφής

Συντελεστής Μετατρεψιμότητας Τροφής (FCR):

$$FCR = \text{ποσότητα καταναλισκόμενης τροφής (g)} / \text{αύξηση ζώντος βάρους (g)}$$

Ο Συντελεστής Μετατρεψιμότητας Τροφής (FCR) είναι η κοινή και ευρέως χρησιμοποιούμενη μέθοδος σύγκρισης της αποδοτικότητας των τροφών σε βάρος ψαριού. (Χώτος, 2015)

### 3.10.2 %FR(Feeding Rate)

$\%FR = 100 \times \{(\text{Τροφή που καταν.} / \text{Μέρες ταΐσματος}) / (\text{Τελική Βιομ.} - \text{Αρχική Βιομ.})\}$

### 3.10.3 ‰TGC (Thermal Growth Coefficient)

$\%TGC = 1000 \times \{(\text{MB}_{\text{TEΛ}}^{1/3} - \text{MB}_{\text{ΑΡΧ}}^{1/3}) / \text{Θερ. νερού} \times \text{Ημέρες}\}$

#### 4. Στατιστική Ανάλυση

Η ανάλυση των αποτελεσμάτων διεκπεραιώθηκε με το λογισμικό SPSS (Statistical Package for the Social Sciences). Τα δεδομένα ελέγχθηκαν ως προς την κανονικότητα – ομοσχεδαστικότητα κατανομής τους και την ομοιογένεια των διασπορών τους έτσι ώστε να πληρούνται οι προϋποθέσεις για το μοντέλο ανάλυσης της διασποράς (TWO WAY ANOVA). Για την διερεύνηση της επίδρασης της καταπόνησης στα λαβράκια κατά την περίοδο της δειγματοληψίας, εξετάστηκαν στατιστικά οι μέσες τιμές της γλυκόζης, του γαλακτικού οξέος και της κορτιζόλης του πειραματικού πληθυσμού με Ανάλυση Διασποράς (TWO WAY ANOVA). Οι περιπτώσεις που εντοπίστηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές απορρίπτονταν για επίπεδο σημαντικότητας 005 ( $p < 0,05$ ).



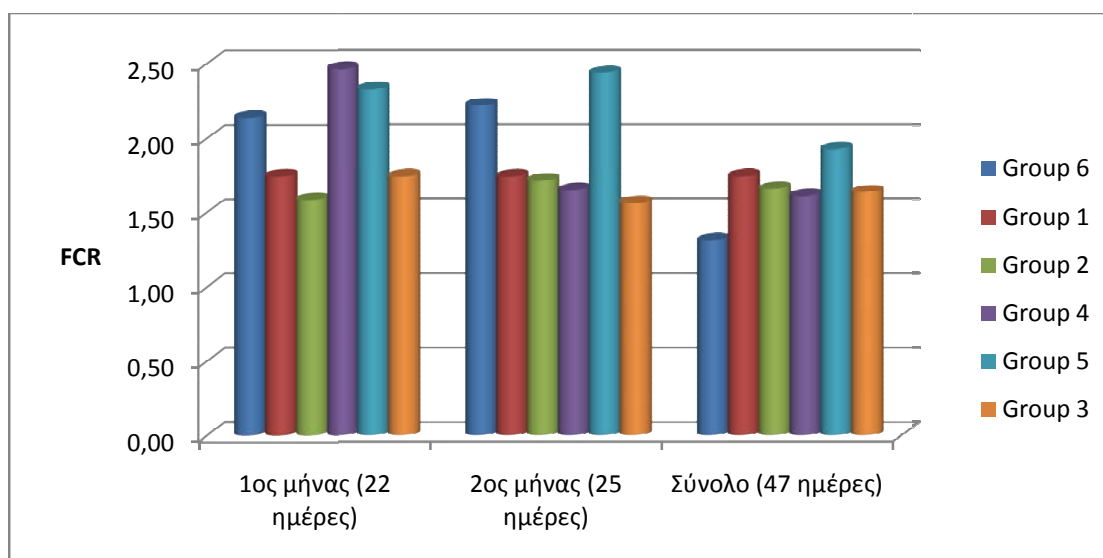
## 5 Αποτελέσματα

### 5.1 Υπολογισμός Αρχικού, Τελικού: Μέσου Βάρους, FCR, % SGR και % FR

Στον παρακάτω Πίνακα 4 αναγράφονται το Αρχικό και Τελικό Μέσο Βάρος των πειραματικών οικογενειών καθώς επίσης και κάποιοι από τους δείκτες ανάπτυξης που υπολογίστηκαν. Εν συνεχεία ακολουθεί το Γράφημα 1. όπου απεικονίζεται το FCR των δεξαμενών καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος.

Πίνακας 4 Απεικόνιση του υπολογισμού Αρχικού, Τελικού: Μέσου Βάρους, FCR, % SGR και % FR

<b>ΑΡΧ Μ ΒΑΡΟΣ gr</b>	<b>G6</b>	<b>G1</b>	<b>G2</b>	<b>G4</b>	<b>G5</b>	<b>G3</b>
<b>1<sup>ος</sup> μήνας</b>	38,33 gr	41,62 gr	44,28 gr	26,69 gr	21,28 gr	30,40 gr
<b>2<sup>ος</sup> μήνας</b>	43,09 gr	49,28 gr	52,28 gr	29,04 gr	23,92 gr	35,10 gr
<b>TOTAL</b>	38,33 gr	41,62 gr	44,28 gr	26,69 gr	21,28 gr	30,30 gr
<b>ΤΕΛ Μ ΒΑΡΟΣ gr</b>						
<b>1<sup>ος</sup> μήνας</b>	43,09 gr	49,28 gr	52,28 gr	29,04 gr	23,92 gr	35,10 gr
<b>2<sup>ος</sup> μήνας</b>	48,20 gr	58,46 gr	62,78gr	35,41 gr	27,85 gr	41,76 gr
<b>TOTAL</b>	48,20 gr	58,46 gr	62,78 gr	35,41 gr	27,85 gr	41,76 gr
<b>FCR</b>						
<b>1<sup>ος</sup> μήνας</b>	2,14	1,74	1,59	2,47	2,33	1,74
<b>2<sup>ος</sup> μήνας</b>	2,22	1,74	1,72	1,65	2,44	1,56
<b>TOTAL</b>	1,33	1,74	1,66	1,61	1,93	1,64
<b>%SGR</b>						
<b>1<sup>ος</sup> μήνας</b>	0,53	0,77	0,75	0,38	0,53	0,65
<b>2<sup>ος</sup> μήνας</b>	0,45	0,68	0,73	0,79	0,61	0,69
<b>TOTAL</b>	0,49	0,72	0,74	0,60	0,57	0,68
<b>%FR</b>						
<b>1<sup>ος</sup> μήνας</b>	1,39	1,63	1,46	1,09	1,51	1,39
<b>2<sup>ος</sup> μήνας</b>	1,34	1,41	1,49	1,24	1,53	1,19
<b>TOTAL</b>	1,41	1,50	1,47	1,19	1,57	1,32



Γράφημα 1 Στο παραπάνω ραβδοδιάγραμμα παρουσιάζονται τα FCR του Πίνακα 4

Παρατηρείται ότι κατά τη διάρκεια των πρώτων 22 ημερών από την στιγμή που πραγματοποιήθηκε το 1<sup>ο</sup> stress μέχρι το 2<sup>ο</sup> stress, το Group 2 (πράσινη ράβδος) έχει το χαμηλότερο FCR με τιμή 1,59 ενώ το Group 4 (μωβ ράβδος) έχει το μεγαλύτερο FCR με τιμή 2,47.

Επίσης κατά τη διάρκεια των επόμενων 25 ημερών από τη στιγμή του 2<sup>ου</sup> stress μέχρι το 3<sup>ο</sup> stress το χαμηλότερο FCR με τιμή 1,56 το έχει το Group 3 (πορτοκαλί ράβδος) ενώ το μεγαλύτερο FCR με τιμή 2,44 το έχει το Group 5 (γαλάζια ράβδος).

Συνολικά, στη διάρκεια των 47 ημερών το χαμηλότερο FCR με τιμή 1,31 το είχε το Group 6 (μπλε ράβδος) και το μεγαλύτερο FCR με τιμή 1,93 το Group 5.

Συμπερασματικά, το Group 6 έχει την καλύτερη ανάπτυξη βάρους σε σχέση με την ποσότητα τροφής που της δόθηκε συγκριτικά με τις υπόλοιπες ομάδες.

## 5.2 Διαχωρισμός των ομάδων ως προς την απόκριση του στρες σε

### LR και HR συναρτήσεως της συνολικής αύξησης βάρους.

Στους παρακάτω Πίνακες 5, 6, και 7 παρατήθετε η συνολική αύξηση βάρους των ομάδων και ο μέσος όρος των τιμών, των αιματολογικών δεικτών καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος.

Πίνακας 5

<b>LR</b>	<b>Αύξηση βάρους/gr</b>	<b>Κορτιζ./ng ml<sup>-1</sup></b>
<b>G6</b>	151,7	261,6 ± 22,53
<b>G1</b>	252,5	274,9 ± 20,20
<b>G2</b>	277,6	238,2 ± 22,18
<b>HR</b>	<b>Αύξηση βάρους/gr</b>	<b>Κορτιζ./ng ml<sup>-1</sup></b>
<b>G4</b>	78,9	356,7 ± 15,61
<b>G5</b>	84,5	401,7 ± 14,00
<b>G3</b>	170,4	331,5 ± 17,77

Οι συγκεντρώσεις της κορτιζόλης στο πλάσμα των ψαριών ήταν σχετικά υψηλότερες στα άτομα των οικογενειών που παρουσίαζαν σχετικά υψηλή απόκριση (HR) σε σχέση με εκείνα που παρουσίαζαν χαμηλή απόκριση (LR) στην καταπόνηση. Παρατηρούμε στον Πίνακα 5 ότι υπάρχει διαχωρισμός των G6, G1, G2 με τα G4, G5, G3 ως προς την απόκριση του στρες σε LR και HR αντίστοιχα.

Πίνακας 6

<b>HR</b>	<b>Αύξηση βάρους/gr</b>	<b>Γλυκόζ./mmol l<sup>-1</sup></b>
<b>G6</b>	151,7	10,68 ± 0,45
<b>G1</b>	252,5	7,01 ± 0,30
<b>G2</b>	277,6	6,18 ± 0,30
<b>LR</b>	<b>Αύξηση βάρους/gr</b>	<b>Γλυκόζ./mmol l<sup>-1</sup></b>
<b>G4</b>	78,9	7,71 ± 0,26
<b>G5</b>	84,5	7,39 ± 0,53
<b>G3</b>	170,4	6,74 ± 0,24

Αντίστοιχος διαχωρισμός των ίδιων ομάδων παρουσιάζεται και στην γλυκόζη με αντίθετη απόκριση όπως φαίνεται στον παραπάνω Πίνακα.6

Τέλος για το γαλακτικό οξύ η απόκριση των 2 παραπάνω ομάδων συμφωνεί με την απόκριση της κορτιζόλης όπως φαίνεται από τον παρακάτω Πίνακα 7.

Πίνακας 7

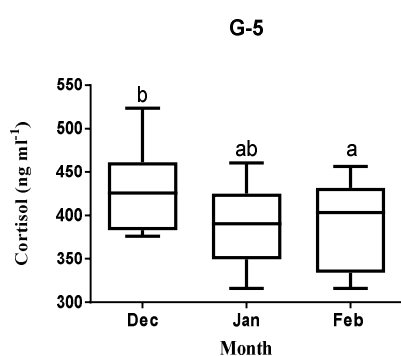
<b>LR</b>	<b>Αύξηση βάρους/gr</b>	<b>Γαλακτ./mmol l<sup>-1</sup></b>
<b>G6</b>	151,7	11,09 ± 1,12
<b>G1</b>	252,5	4,99 ± 0,70
<b>G2</b>	277,6	6,17 ± 0,56
<b>HR</b>	<b>Αύξηση βάρους/gr</b>	<b>Γαλακτ./mmol l<sup>-1</sup></b>
<b>G4</b>	78,9	9,18 ± 0,64
<b>G5</b>	84,5	6,80 ± 0,73
<b>G3</b>	170,4	7,98 ± 0,95

### 5.3 Μεταβολές της συγκέντρωσης κορτιζόλης έπειτα από οξεία επαναλαμβανόμενη καταπόνηση σε ιχθύδια λαβρακιού.

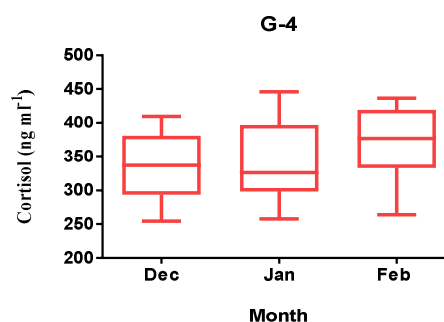
Μετά από οξεία επαναλαμβανόμενη καταπόνηση σε ιχθύδια λαβρακιού διαφορετικών οικογενειών παρατηρήθηκε ότι οι συγκεντρώσεις της κορτιζόλης διαφέρουν

μεταξύ των δειγματοληψιών, με τη μέγιστη μέση τιμή να παρουσιάζεται το μήνα Δεκέμβριο (DEC) για την οικογένεια G-5 (mean ± S.M.E.)  $430,3 \pm 15,9 \text{ ng ml}^{-1}$  (Εικόνα 5.1.1.) και την ελάχιστη μέση τιμή το μήνα Ιανουάριο (JAN) για την οικογένεια G-2 (mean± S.M.E.)  $211,3 \pm 23,0 \text{ ng ml}^{-1}$  (Εικόνα 5.1.6.)

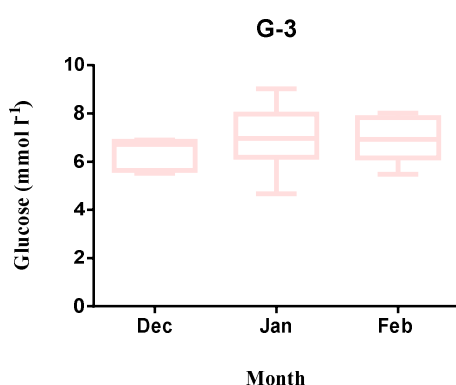
Επιπλέον η συγκέντρωση της κορτιζόλης στο αίμα των ιχθυδίων λαβρακιού παρατηρήθηκε ότι παρουσίασε μεταβολή μετά το στρες που εφαρμόστηκε στις οικογένειες, κατά τους μήνες Δεκέμβριο (DEC), Ιανουάριο (JAN) και Φεβρουάριο (FEB). Η μεταβολή αυτή ήταν σημαντική κυρίως για την οικογένεια G-5 μεταξύ των μηνών (DEC) και Φεβρουάριο (FEB) όπως απεικονίζεται και στην (Εικόνα 5.1.1.).



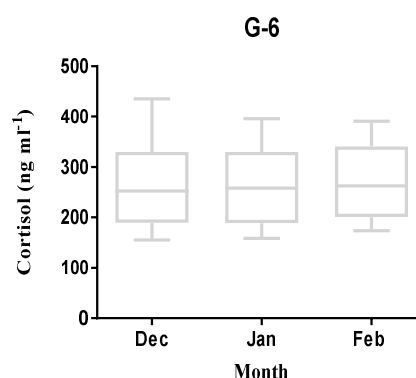
Εικόνα 5.1.1. Μέση τιμή και τυπική απόκλιση της συγκέντρωσης κορτιζόλης της ομάδας G-5 ανά μην: Δεκέμβριο (DEC), Ιανουάριο (JAN) και Φεβρουάριο (FEB). Τα διαφορετικά γράμματα σηματοδοτούν στατιστικά σημαντικές διαφορές ( $p < 0,05$ ) των μέσων τιμών κορτιζόλης μεταξύ των μηνών μέσα στην ίδια ομάδα.



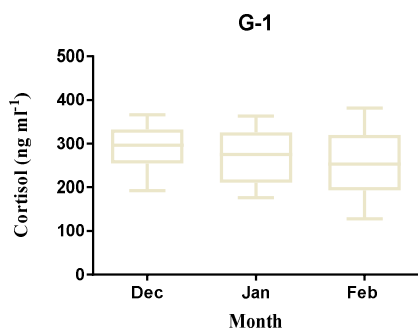
Εικόνα 5.1.2. Μέση τιμή και τυπική απόκλιση της συγκέντρωσης κορτιζόλης της ομάδας G-4 ανά μήνα Δεκέμβριο (DEC), Ιανουάριο (JAN) και Φεβρουάριο (FEB). Η απουσία σηματοδότησης σημαίνει ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά των μέσων τιμών κορτιζόλης μεταξύ των μηνών μέσα στην ίδια ομάδα.



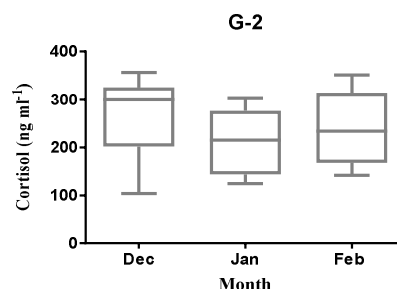
Εικόνα 5.1.3. Μέση τιμή και τυπική απόκλιση της συγκέντρωσης κορτιζόλης της ομάδας G-3 ανά μήνα Δεκέμβριο (DEC), Ιανουάριο (JAN) και Φεβρουάριο (FEB). Η απουσία σηματοδότησης σημαίνει ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά των μέσων τιμών κορτιζόλης μεταξύ των μηνών μέσα στην ίδια ομάδα.



Εικόνα 5.1.4. Μέση τιμή και τυπική απόκλιση της συγκέντρωσης κορτιζόλης της ομάδας G-6 ανά μήνα Δεκέμβριο (DEC), Ιανουάριο (JAN) και Φεβρουάριο (FEB). Η απουσία σηματοδότησης σημαίνει ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά των μέσων τιμών κορτιζόλης μεταξύ των μηνών μέσα στην ίδια ομάδα.

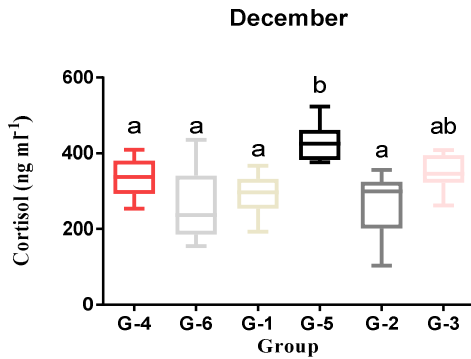


Εικόνα 5.1.5. Μέση τιμή και τυπική απόκλιση της συγκέντρωσης κορτιζόλης της ομάδας G-1 ανά μήνα Δεκέμβριο (DEC), Ιανουάριο (JAN) και Φεβρουάριο (FEB). Η απουσία σηματοδότησης σημαίνει ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά των μέσων τιμών κορτιζόλης μεταξύ των μηνών μέσα στην ίδια ομάδα.

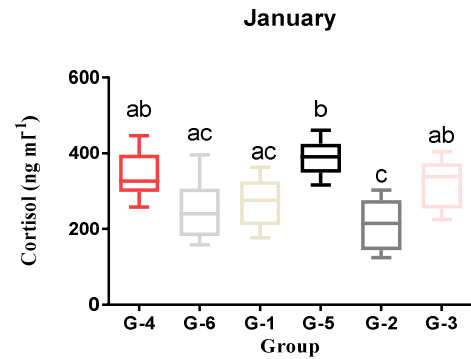


Εικόνα 5.1.6. Μέση τιμή και τυπική απόκλιση της συγκέντρωσης κορτιζόλης της ομάδας G-2 ανά μήνα Δεκέμβριο (DEC), Ιανουάριο (JAN) και Φεβρουάριο (FEB). Η απουσία σηματοδότησης σημαίνει ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά των μέσων τιμών κορτιζόλης μεταξύ των μηνών μέσα στην ίδια ομάδα.

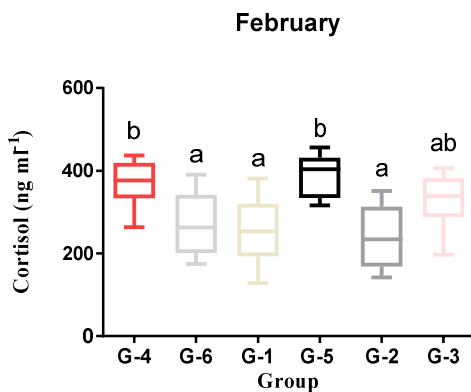
Από την άλλη πλευρά, όπως απεικονίζεται και στις ( Εικόνες : 5.1.7., 5.1.8. και 5.1.9.) διαπιστώνετε ότι οι διαφορές μεταξύ των οικογενειών ποικίλλουν ανάλογα με τους μήνες. Έτσι το μήνα Δεκέμβριο η οικογένεια G-5 (mean  $\pm$  S.M.E.)  $430,3 \pm 15,9 \text{ ng ml}^{-1}$ , παρουσίασε σημαντική στατιστική διαφορά με όλες τις υπόλοιπες οικογένειες εκτός της G-3 (mean  $\pm$  S.M.E.)  $352,1 \pm 15,6 \text{ ng ml}^{-1}$ , η οποία στατιστικά δεν διέφερε με καμία από τις παραπάνω ομάδες (Εικόνα 5.1.7.). Αντιθέτως, τον Ιανουάριο η G-5 (mean  $\pm$  S.M.E.)  $388,8 \pm 16,2 \text{ ng ml}^{-1}$  δεν διέφερε σημαντικά με την G-4 (mean  $\pm$  S.M.E.)  $354,8 \pm 19,2 \text{ ng ml}^{-1}$  και την G-3 (mean  $\pm$  S.M.E.)  $315,6 \pm 21,8 \text{ ng ml}^{-1}$ , ενώ η τελευταία παρουσίασε σημαντική στατιστική διαφορά με την G-2 (mean  $\pm$  S.M.E.)  $211,3 \pm 22,9 \text{ ng ml}^{-1}$  (Εικόνα 5.1.8.). Τέλος, όσον αφορά το Φεβρουάριο για την G-3 (mean  $\pm$  S.M.E.)  $326,86 \pm 22,15 \text{ ng ml}^{-1}$  ισχύει ότι ίσχυε και τον μήνα Δεκέμβριο, ενώ για την G-5 (mean  $\pm$  S.M.E.)  $386,0 \pm 17,5 \text{ ng ml}^{-1}$  παρατηρήθηκε ότι διαφέρει με τις G-6 (mean  $\pm$  S.M.E.)  $270,1 \pm 25,3 \text{ ng ml}^{-1}$ , G-1 (mean  $\pm$  S.M.E.)  $259,8 \pm 27,9 \text{ ng ml}^{-1}$  και G-2 (mean  $\pm$  S.M.E.)  $237,6 \pm 26,0 \text{ ng ml}^{-1}$  αντίστοιχα (Εικόνα 5.1.9.).



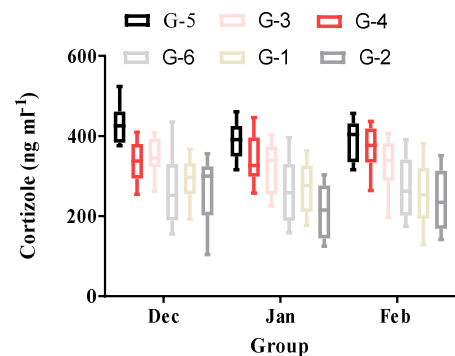
Εικόνα 5.1.7. Μέση τιμή και τυπική απόκλιση της συγκέντρωσης κορτιζόλης μεταξύ των ομάδων (G-1, G-2, G-3, G-4, G-5, G-6) τον μήνα Δεκέμβριο (DEC). Τα διαφορετικά γράμματα σηματοδοτούν στατιστικά σημαντικές διαφορές ( $p < 0,05$ ) των μέσων τιμών κορτιζόλης μεταξύ των ομάδων μέσα στον μήνα Δεκέμβριο (DEC).



Εικόνα 5.1.8. Μέση τιμή και τυπική απόκλιση της συγκέντρωσης κορτιζόλης μεταξύ των ομάδων (G-1, G-2, G-3, G-4, G-5, G-6) τον Ιανουάριο (JAN). Τα διαφορετικά γράμματα σηματοδοτούν στατιστικά σημαντικές διαφορές ( $p < 0,05$ ) των μέσων τιμών κορτιζόλης μεταξύ των ομάδων μέσα στον μήνα Ιανουάριο (JAN).



Εικόνα 5.1.9. Μέση τιμή και τυπική απόκλιση της συγκέντρωσης κορτιζόλης μεταξύ των ομάδων (G-1, G-2, G-3, G-4, G-5, G-6) τον μήνα Φεβρουάριο (FEB). Τα διαφορετικά γράμματα σηματοδοτούν στατιστικά σημαντικές διαφορές ( $p < 0,05$ ) μεταξύ των μέσων τιμών κορτιζόλης μεταξύ των ομάδων μέσα στον μήνα Φεβρουάριο (FEB).



Εικόνα 5.1.10. Μέση τιμή και τυπική απόκλιση της συγκέντρωσης κορτιζόλης μεταξύ των ομάδων (G-1, G-2, G-3, G-4, G-5, G-6) ανά μήνα Δεκέμβριο (DEC), Ιανουάριο (JAN) και Φεβρουάριο (FEB). Συνοπτικός πίνακας των παραπάνω εικόνων: Εικόνα 5.1.7, Εικόνα 5.1.8, Εικόνα 5.1.9.

Συνοψίζοντας, θα λέγαμε ότι συγκέντρωση της κορτιζόλης στα ιχθύδια της οικογένειας G-5, η οποία όπως αναφέρθηκε παραπάνω, παρουσιάζει σημαντική στατιστική διαφορά μεταξύ των μηνών, δείχνει να μην εμφανίζει σταθερότητα σε βάθος χρόνου, εν αντιθέσει με τις υπόλοιπες οικογένειες οι οποίες, η κάθε μία ξεχωριστά, μεταξύ των μηνών δεν παρουσιάζουν σημαντική στατιστική διαφορά πράγμα που δείχνει σταθερότητα στην επαναλαμβανόμενη οξεία καταπόνηση.

## 5.4 Μεταβολές της συγκέντρωσης γλυκόζης έπειτα από οξεία επαναλαμβανόμενη καταπόνηση σε ιχθύδια λαβρακιού

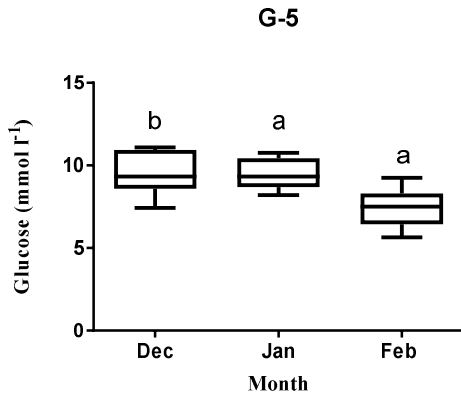
Όπως και με τις συγκεντρώσεις της κορτιζόλης όπως προαναφέρθηκε, έτσι και για τις συγκεντρώσεις της γλυκόζης, στο πλάσμα των ατόμων λαβρακιού, βλέπουμε ότι εμφανίζονται διαφορές, από μήνα σε μήνα. Έτσι, ενώ στην κορτιζόλη η οικογένεια G-5 παρουσίασε τη μέγιστη μέση τιμή κ η G-2 την ελάχιστη, στην γλυκόζη η οικογένεια G-6 εμφάνισε την υψηλότερη μέση τιμή με (mean  $\pm$  S.M.E.)  $12,0 \pm 1,03 \text{ mmol l}^{-1}$  (Εικόνα 5.2.4.) το μήνα Ιανουάριο (JAN) και η G-1 την ελάχιστη μέση τιμή με (mean  $\pm$  S.M.E.)  $6,28 \pm 0,30 \text{ mmol l}^{-1}$  τον ίδιο μήνα (Εικόνα 5.2.6.). Βάση αυτών των αποτελεσμάτων, παρατηρείται ότι οι συγκεντρώσεις της κορτιζόλης δεν επηρεάζονται και δεν σχετίζονται με τις συγκεντρώσεις της γλυκόζης. Έτσι, οδηγούμαστε στο συμπέρασμα: ότι αν μια οικογένεια παρουσιάζει υψηλές συγκεντρώσεις κορτιζόλης, δεν σημαίνει ότι θα παρουσιάζει και υψηλές συγκεντρώσεις γλυκόζης και το αντίθετο.

Δίνοντας προσοχή στις παρακάτω Εικόνες και βλέποντας τη συγκέντρωση της γλυκόζης στο αίμα των ψαριών διαπιστώνετε η ύπαρξη μεταβολών για κάθε ομάδα ξεχωριστά μεταξύ των μηνών {(DEC), (JAN) και (FEB)}. Οι μεταβολές αυτές είναι στατιστικά σημαντικές κυρίως στις οικογένειες G-5 με (mean  $\pm$  S.M.E.)  $7,39 \pm 1,44 \text{ mmol l}^{-1}$ , G-6 με (mean  $\pm$  S.M.E.)  $9,52 \pm 0,73 \text{ mmol l}^{-1}$  κ G-4 με (mean  $\pm$  S.M.E.)  $8,93 \pm 0,63 \text{ mmol l}^{-1}$  κατά το μήνα Δεκέμβριο, οι οποίες διαφέρουν με τις G-1 με (mean  $\pm$  S.M.E.)  $6,86 \pm 0,47 \text{ mmol l}^{-1}$ , G-2 με (mean  $\pm$  S.M.E.)  $6,30 \pm 0,42 \text{ mmol l}^{-1}$  και G-3 με (mean  $\pm$  S.M.E.)  $6,32 \pm 0,20 \text{ mmol l}^{-1}$  αντίστοιχα (Εικόνα 5.2.7.). Τον Ιανουάριο η G-6 με (mean  $\pm$  S.M.E.)  $12,52 \pm 1,02 \text{ mmol l}^{-1}$ , διαφέρει με τις G-1 με (mean  $\pm$  S.M.E.)  $6,28 \pm 0,30 \text{ mmol l}^{-1}$ , G-2 με (mean  $\pm$  S.M.E.)  $4,96 \pm 0,69 \text{ mmol l}^{-1}$ , G-3 με

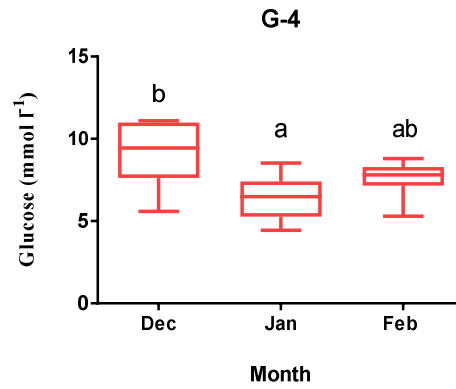


(mean  $\pm$  S.M.E)  $6,97 \pm 0,43 \text{ mmol l}^{-1}$ , ενώ η G-1 με (mean  $\pm$  S.M.E.)  $6,28 \pm 0,30 \text{ mmol l}^{-1}$  παρουσιάζει διαφορά με τη G-5 με (mean  $\pm$  S.M.E.)  $7,34 \pm 1,41 \text{ mmol l}^{-1}$ , η οποία με την σειρά της διαφέρει με την G-3 και την G-2. Τέλος για τον μήνα Ιανουάριο, διαφορά παρατηρείται και μεταξύ των G-1 και G-5 (Εικόνα 5.2.8.). Όσον αφορά το Φεβρουάριο, η μοναδική οικογένεια η οποία παρουσιάζει διαφορά με όλες τις υπόλοιπες οικογένειες είναι η G-6 με (mean  $\pm$  S.M.E)  $10,02 \pm 0,34 \text{ mmol l}^{-1}$  όπως φαίνεται και στην (Εικόνα 5.2.9.). Για τις ομάδες που παρουσιάζουν σημαντικά στατιστικές διαφορές μεταξύ τους, μέσα στον ίδιο μήνα και φαίνεται να μην καταπονούνται το ίδιο, συμπερένεται ότι πιθανός να παίζει ρόλο το γενετικό τους υπόβαθρο.

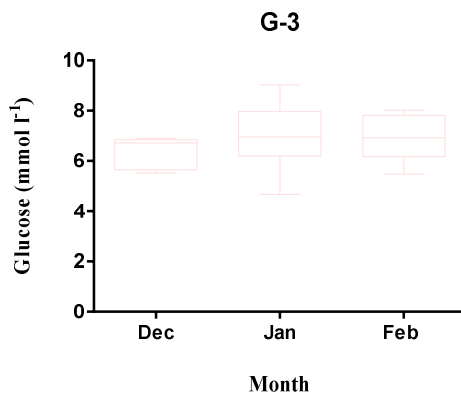
Από την άλλη πλευρά, για τις οικογένειες τις οποίες παρουσιάζουν σημαντική στατιστική διαφορά, μεταξύ των μηνών, όπως φαίνεται και στις παρακάτω εικόνες: (Εικόνα 5.2.1.), (Εικόνα 5.2.2.), (Εικόνα 5.2.5.), (Εικόνα 5.2.6.), διαπιστώνεται ότι δεν υπάρχει σταθερότητα με το πέρασμα του χρόνου. Δεν συμβαίνει όμως το ίδιο για τις οικογένειες G-3 (Εικόνα 5.2.3.) και G-6 (Εικόνα 5.2.4.), οι οποίες δεν φέρουν στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των μηνών, συνεπώς δείχνουν μια σταθερότητα στην επαναλαμβανόμενη οξεία καταπόνηση, σε αντίθεση με τις παραπάνω οικογένειες.



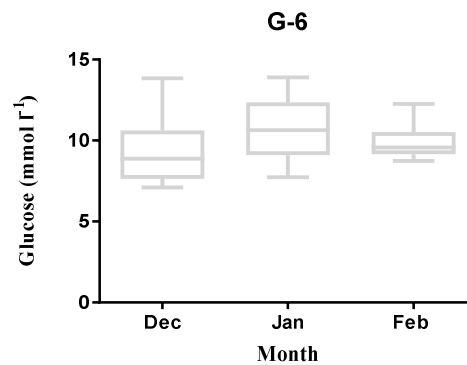
Εικόνα 5.2.1. Μέση τιμή και τυπική απόκλιση της συγκέντρωσης γλυκόζης της ομάδας G-5 ανά μήνα: Δεκέμβριο (DEC), Ιανουάριο (JAN) και Φεβρουάριο (FEB). Τα διαφορετικά γράμματα σηματοδοτούν στατιστικά σημαντικές διαφορές ( $p < 0,05$ ) των μέσων τιμών γλυκόζης μεταξύ των μηνών μέσα στην ίδια ομάδα.



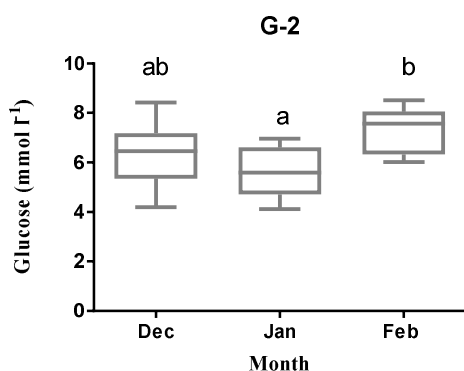
Εικόνα 5.2.2. Μέση τιμή και τυπική απόκλιση της συγκέντρωσης γλυκόζης της ομάδας G-4 ανά μήνα: Δεκέμβριο (DEC), Ιανουάριο (JAN) και Φεβρουάριο (FEB). Τα διαφορετικά γράμματα σηματοδοτούν στατιστικά σημαντικές διαφορές ( $p < 0,05$ ) των μέσων τιμών γλυκόζης μεταξύ των μηνών μέσα στην ίδια ομάδα.



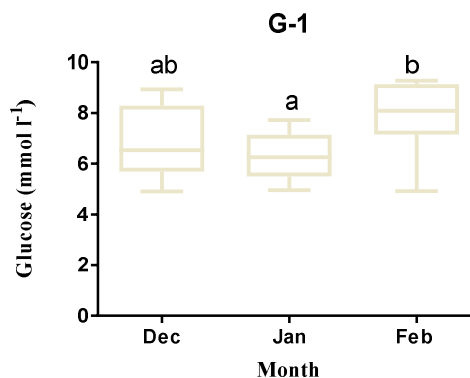
Εικόνα 5.2.3. Μέση τιμή και τυπική απόκλιση της συγκέντρωσης γλυκόζης της ομάδας G-3 ανά μήνα: Δεκέμβριο (DEC), Ιανουάριο (JAN) και Φεβρουάριο (FEB). Η απουσία σηματοδότησης σημαίνει ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά των μέσων τιμών γλυκόζης μεταξύ των μηνών μέσα στην ίδια ομάδα.



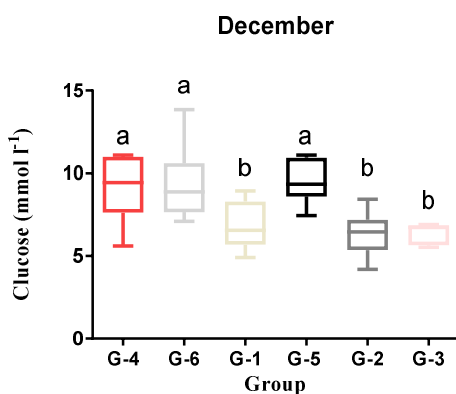
Εικόνα 5.2.4. Μέση τιμή και τυπική απόκλιση της συγκέντρωσης γλυκόζης της ομάδας G-6 ανά μήνα: Δεκέμβριο (DEC), Ιανουάριο (JAN) και Φεβρουάριο (FEB). Η απουσία σηματοδότησης σημαίνει ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά των μέσων τιμών γλυκόζης μεταξύ των μηνών μέσα στην ίδια ομάδα.



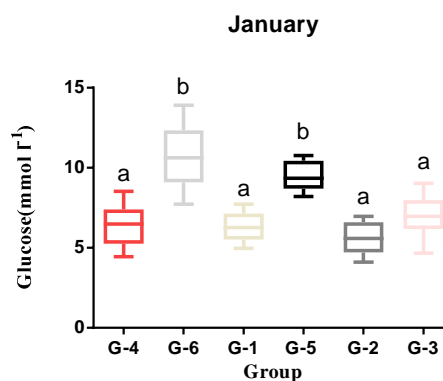
Εικόνα 5.2.5. Μέση τιμή και τυπική απόκλιση της συγκέντρωσης γλυκόζης της ομάδας G-2 ανά μήνα: Δεκέμβριο (DEC), Ιανουάριο (JAN) και Φεβρουάριο (FEB). Τα διαφορετικά γράμματα σηματοδοτούν στατιστικά σημαντικές διαφορές ( $p < 0,05$ ) των μέσων τιμών γλυκόζης μεταξύ των μηνών μέσα στην ίδια ομάδα.



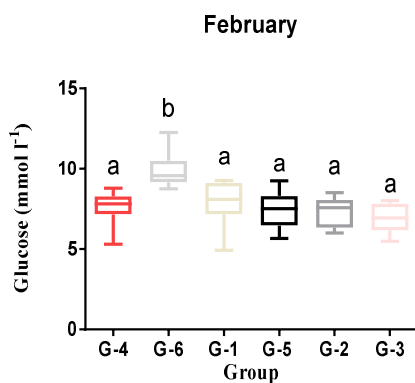
Εικόνα 5.2.6. Μέση τιμή και τυπική απόκλιση της συγκέντρωσης γλυκόζης της ομάδας G-1 ανά μήνα: Δεκέμβριο (DEC), Ιανουάριο (JAN) και Φεβρουάριο (FEB). Τα διαφορετικά γράμματα σηματοδοτούν στατιστικά σημαντικές διαφορές ( $p < 0,05$ ) των μέσων τιμών γλυκόζης μεταξύ των μηνών μέσα στην ίδια ομάδα.



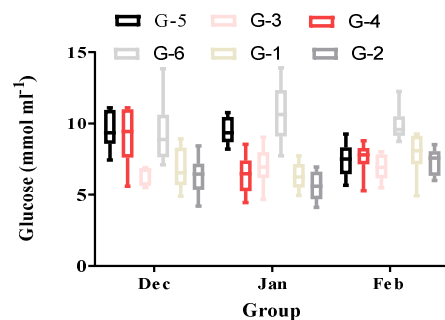
Εικόνα 5.2.7. Μέση τιμή και τυπική απόκλιση της συγκέντρωσης γλυκόζης μεταξύ των ομάδων (G-1, G-2, G-3, G-4, G-5, G-6) τον μήνα Δεκέμβριο (DEC). Τα διαφορετικά γράμματα σηματοδοτούν στατιστικά σημαντικές διαφορές ( $p < 0,05$ ) των μέσων τιμών γλυκόζης μεταξύ των ομάδων μέσα στον μήνα Δεκέμβριο (DEC).



Εικόνα 5.2.8. Μέση τιμή και τυπική απόκλιση της συγκέντρωσης γλυκόζης μεταξύ των ομάδων (G-1, G-2, G-3, G-4, G-5, G-6) τον μήνα Ιανουάριο (JAN). Τα διαφορετικά γράμματα σηματοδοτούν στατιστικά σημαντικές διαφορές ( $p < 0,05$ ) των μέσων τιμών γλυκόζης μεταξύ των ομάδων μέσα στον μήνα Ιανουάριο (JAN).



Εικόνα 5.2.9. Μέση τιμή και τυπική απόκλιση της συγκέντρωσης γλυκόζης μεταξύ των ομάδων (G-1, G-2, G-3, G-4, G-5, G-6) τον μήνα Φεβρουάριο (FEB). Τα διαφορετικά γράμματα σηματοδοτούν στατιστικά σημαντικές διαφορές ( $p < 0,05$ ) των μέσων τιμών γλυκόζης μεταξύ των ομάδων μέσα στον μήνα Φεβρουάριο (FEB).



Εικόνα 5.2.10. Μέση τιμή και τυπική απόκλιση της συγκέντρωσης γλυκόζης μεταξύ των ομάδων (G-1, G-2, G-3, G-4, G-5, G-6) ανά μήνα: Δεκέμβριο (DEC), Ιανουάριο (JAN) και Φεβρουάριο (FEB). Συνοπτικός πίνακας των παραπάνω εικόνων: Εικόνα 5.2.7., Εικόνα 5.2.8. και Εικόνα 5.2.9

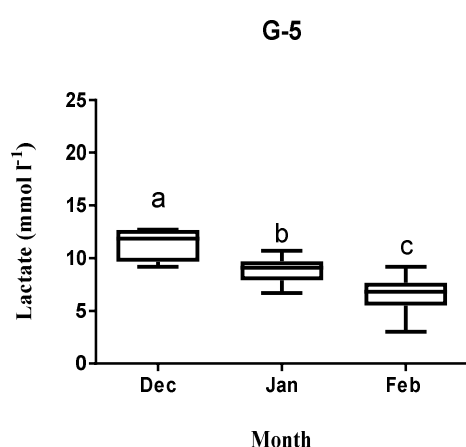
## 5.5 Μεταβολές της συγκέντρωσης γαλακτικού οξέος έπειτα από οξεία επαναλαμβανόμενη καταπόνηση σε ιχθύδια λαβρακιού.

Υπολογίζοντας τις συγκεντρώσεις του γαλακτικού οξέος μετά από επαναλαμβανόμενο έντονο στρες σε ιχθύδια λαβρακιού παρατηρήθηκε όπως και στη γλυκόζη έτσι και στο γαλακτικό οξύ, η ομάδα με την υψηλότερη μέση συγκέντρωση ήταν η G-6 με (mean  $\pm$  S.M.E.)  $13,6 \pm 1,75$  mmol l<sup>-1</sup> το μήνα Ιανουάριο (Εικόνα 5.3.4.) και με την χαμηλότερη μέση συγκέντρωση ήταν η G-1 με (mean  $\pm$  S.M.E.)  $4,7 \pm 0,70$  mmol l<sup>-1</sup> το μήνα Δεκέμβριο (Εικόνα 5.3.5.).

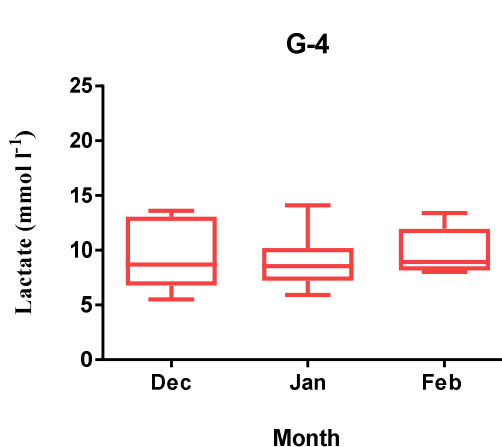
Οι G-5, G-6 και G-2 όπως φαίνεται και από την (Εικόνα 5.3.1.) την (Εικόνα 5.3.4.) και την (Εικόνα 5.3.6.) αντίστοιχα, παρουσιάζουν σημαντικά στατιστικές διαφορές μεταξύ των μηνών μέσα στην ίδια ομάδα. Αντιθέτως, οι G-4, G-3 και G-1 όπως εμφανίζεται στις εικόνες (Εικόνα 5.3.2.), (Εικόνα 5.3.3) και (Εικόνα 5.3.5.) παρουσιάζουν σταθερότητα η κάθε μια ξεχωριστά μεταξύ των μηνών, αφού, πάνω

κάτω οι τιμές δείχνουν να επαναλαμβάνονται σχεδόν το ίδιο χωρίς σημαντική διαφορά.

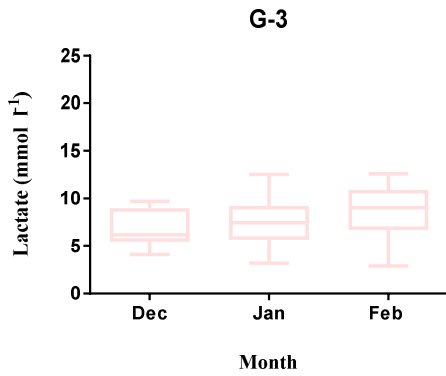
Για το μήνα Δεκέμβριο, διαπιστώθηκε βάση των στατιστικών αποτελεσμάτων όπως απεικονίζονται στην εικόνα (Εικόνα 5.3.7.), ότι η οικογένεια G-5 με (mean  $\pm$  S.M.E.)  $7,12 \pm 2,39 \text{ mmol l}^{-1}$  παρουσίασε διαφορές με τις G-1 με (mean  $\pm$  S.M.E.)  $3,65 \pm 0,88 \text{ mmol l}^{-1}$ , G-2 με (mean  $\pm$  S.M.E.)  $4,92 \pm 0,49 \text{ mmol l}^{-1}$  και G-3 με (mean  $\pm$  S.M.E.)  $7,55 \pm 1,97 \text{ mmol l}^{-1}$  αντίστοιχα. Επιπλέον η G-4 με (mean  $\pm$  S.M.E.)  $10,42 \pm 1,39 \text{ mmol l}^{-1}$  εμφάνισε διαφορά με τις G-1 με (mean  $\pm$  S.M.E.)  $3,65 \pm 0,98 \text{ mmol l}^{-1}$  και τη G-2 με (mean  $\pm$  S.M.E.)  $4,92 \pm 0,49 \text{ mmol l}^{-1}$  και η τελευταία με την G-6 με (mean  $\pm$  S.M.E.)  $8,46 \pm 0,87 \text{ mmol l}^{-1}$ . Παρατηρώντας την (Εικόνα 5.3.8.), διαπιστώνεται ότι η G-6 με (mean  $\pm$  S.M.E.)  $12,55 \pm 1,56 \text{ mmol l}^{-1}$  τον Ιανουάριο διαφέρει σημαντικά στατιστικά μ' όλες τις υπόλοιπες οικογένειες. Τέλος για τον μήνα Φεβρουάριο, παρατηρείται σημαντική στατιστική διαφορά της G-6 με (mean  $\pm$  S.M.E.)  $12,26 \pm 1,96 \text{ mmol l}^{-1}$  με τις: G-1 με (mean  $\pm$  S.M.E.)  $6,64 \pm 0,56 \text{ mmol l}^{-1}$  και G-2 με (mean  $\pm$  S.M.E.)  $7,55 \pm 0,70 \text{ mmol l}^{-1}$  αντίστοιχα (Εικόνα 5.3.9.).



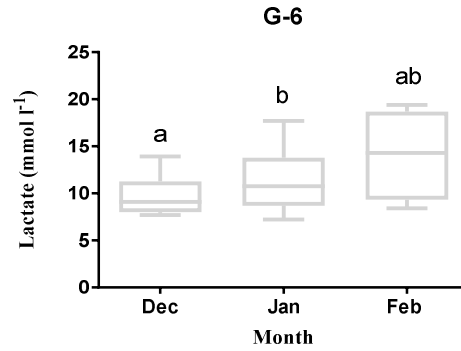
Εικόνα 5.3.1. Μέση τιμή και τυπική απόκλιση της συγκέντρωσης γαλακτικού οξέος της ομάδας G-5 ανά μήνα Δεκέμβριο (DEC), Ιανουάριο (JAN) και Φεβρουάριο (FEB). Τα διαφορετικά γράμματα σηματοδοτούν στατιστικά σημαντικές διαφορές ( $p < 0,05$ ) των μέσων τιμών γαλακτικού οξέος μεταξύ των μηνών μέσα στην ίδια ομάδα.



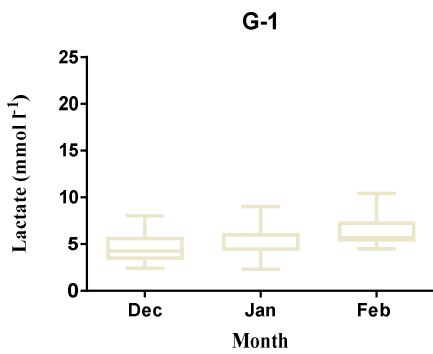
Εικόνα 5.3.2. Μέση τιμή και τυπική απόκλιση της συγκέντρωσης γλυκόζης της ομάδας G-4 ανά μήνα Δεκέμβριο (DEC), Ιανουάριο (JAN) και Φεβρουάριο (FEB). Η απουσία σηματοδότησης σημαίνει ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά των μέσων τιμών γαλακτικού οξέος μεταξύ των μηνών μέσα στην ίδια ομάδα.



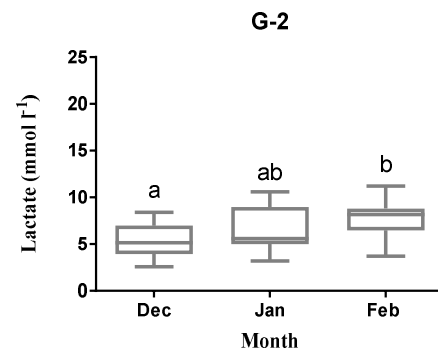
Εικόνα 5.3.3. Μέση τιμή και τυπική απόκλιση της συγκέντρωσης γλυκόζης της ομάδας G-3 ανά μήνα Δεκέμβριο (DEC), Ιανουάριο (JAN) και Φεβρουάριο (FEB). Η απουσία σηματοδότησης σημαίνει ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά των μέσων τιμών γαλακτικού οξέος μεταξύ των μηνών μέσα στην ίδια ομάδα.



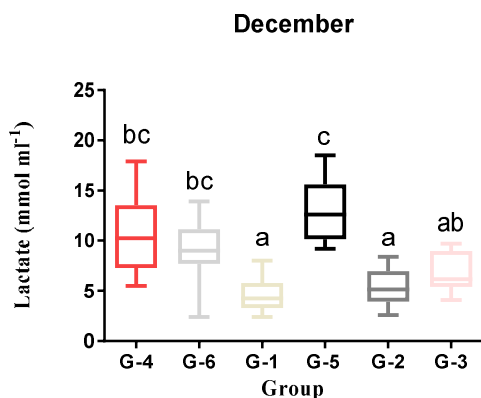
Εικόνα 5.3.4. Μέση τιμή και τυπική απόκλιση της συγκέντρωσης γαλακτικού οξέος της ομάδας G-6 ανά μήνα Δεκέμβριο (DEC), Ιανουάριο (JAN) και Φεβρουάριο (FEB). Τα διαφορετικά γράμματα σηματοδοτούν στατιστικά σημαντικές διαφορές ( $p < 0,05$ ) των μέσων τιμών γαλακτικού οξέος μεταξύ των μηνών μέσα στην ίδια ομάδα.



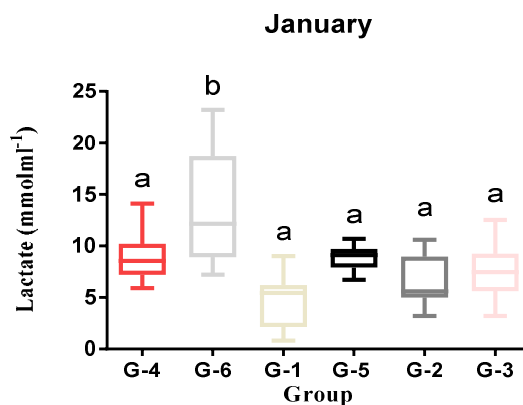
Εικόνα 5.3.5. Μέση τιμή και τυπική απόκλιση της συγκέντρωσης γλυκόζης της ομάδας G-1 ανά μήνα Δεκέμβριο (DEC), Ιανουάριο (JAN) και Φεβρουάριο (FEB). Η απουσία σηματοδότησης σημαίνει ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά των μέσων τιμών γαλακτικού οξέος μεταξύ των μηνών μέσα στην ίδια ομάδα.



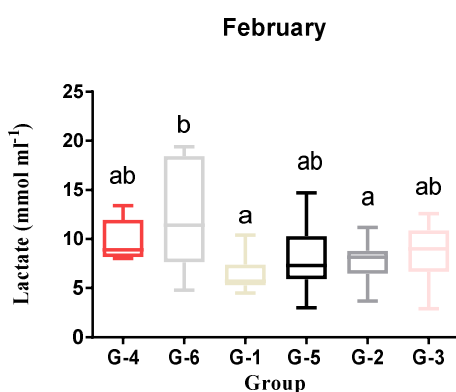
Εικόνα 5.3.6. Μέση τιμή και τυπική απόκλιση της συγκέντρωσης γαλακτικού οξέος της ομάδας G-2 ανά μήνα Δεκέμβριο (DEC), Ιανουάριο (JAN) και Φεβρουάριο (FEB). Τα διαφορετικά γράμματα σηματοδοτούν στατιστικά σημαντικές διαφορές ( $p < 0,05$ ) των μέσων τιμών γαλακτικού οξέος μεταξύ των μηνών μέσα στην ίδια ομάδα.



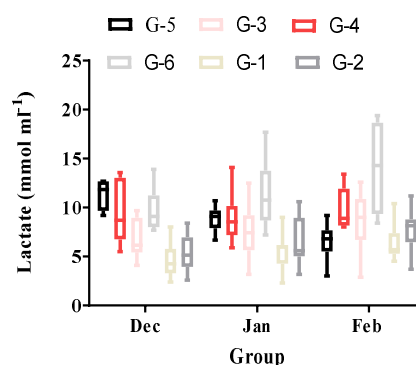
Εικόνα 5.3.7. Μέση τιμή και τυπική απόκλιση της συγκέντρωσης γαλακτικού οξέος μεταξύ των ομάδων (G-1, G-2, G-3, G-4, G-5, G-6) τον μήνα Δεκέμβριο (DEC). Τα διαφορετικά γράμματα σηματοδοτούν στατιστικά σημαντικές διαφορές ( $p < 0,05$ ) των μέσων τιμών γαλακτικού οξέος μεταξύ των ομάδων μέσα στον μήνα Δεκέμβριο (DEC).



Εικόνα 5.3.8. Μέση τιμή και τυπική απόκλιση της συγκέντρωσης γαλακτικού οξέος μεταξύ των ομάδων (G-1, G-2, G-3, G-4, G-5, G-6) τον μήνα Ιανουάριο (JAN). Τα διαφορετικά γράμματα σηματοδοτούν στατιστικά σημαντικές διαφορές των μέσων τιμών γαλακτικού οξέος μεταξύ των ομάδων μέσα στον μήνα Δεκέμβριο (DEC).



Εικόνα 5.3.9. Μέση τιμή και τυπική απόκλιση της συγκέντρωσης γαλακτικού οξέος μεταξύ των ομάδων (G-1, G-2, G-3, G-4, G-5, G-6) τον μήνα Φεβρουάριο (FEB). Τα διαφορετικά γράμματα σηματοδοτούν στατιστικά σημαντικές διαφορές ( $p < 0,05$ ) των μέσων τιμών γαλακτικού οξέος μεταξύ των ομάδων μέσα στον μήνα Φεβρουάριο (FEB).



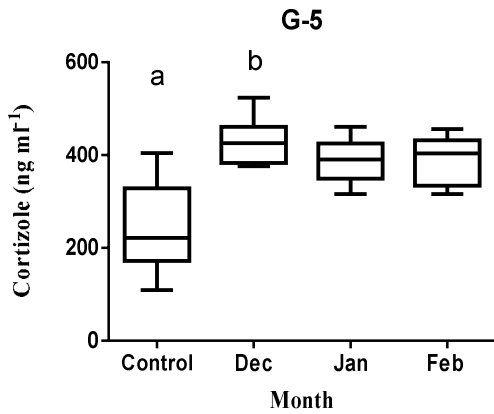
Εικόνα 5.3.10. Μέση τιμή και τυπική απόκλιση της συγκέντρωσης γαλακτικού οξέος μεταξύ των ομάδων (G-1, G-2, G-3, G-4, G-5, G-6) ανά μήνα Δεκέμβριο (DEC), Ιανουάριο (JAN) και Φεβρουάριο (FEB). Συνοπτικός πίνακας των παραπάνω εικόνων: Εικόνα 5.3.7., Εικόνα 5.3.8. και Εικόνα 5.3.9.

## 5.6 Σύγκριση των μέσων τιμών συγκέντρωσης κορτιζόλης μεταξύ καταπονημένων και μη (control), ατόμων λαβρακιού.

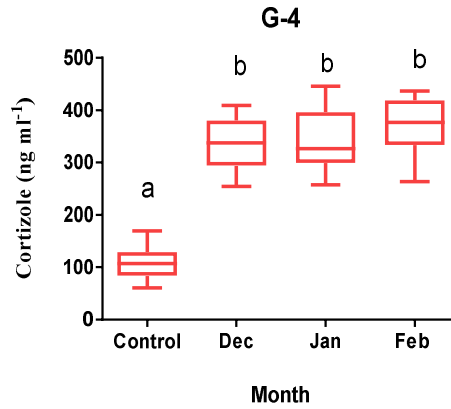
Τα επίπεδα της κορτιζόλης μετά την καταπόνηση αυξήθηκαν σε σχέση πάντοτε με τα control και για τις 6 οικογένειες, κατά τις τρεις δειγματοληψίες που πραγματοποιήθηκαν κατά το μήνα Δεκέμβριο, Ιανουάριο και Φεβρουάριο. Την μεγαλύτερη αύξηση την παρουσίασε η οικογένεια G-4 κατά το μήνα Φεβρουάριο όπως φαίνεται και από τα γραφήματα (Εικόνα 5.4.2.) και την μικρότερη η G-1 κατά τον ίδιο μήνα (Εικόνα 5.4.5.). Επιπλέον αξίζει να σημειωθεί ότι η αύξηση για κάθε οικογένεια ξεχωριστά, μεταξύ των ατόμων του control και της ίδιας, παρουσίασε σημαντική στατιστική διαφορά. Αυτές οι διαφορές μεταξύ τους ποίκιλλαν ανάλογα με την εποχή όπως φαίνεται και από τις παρακάτω Εικόνες. (Εικόνα 5.4.1. έως 5.4.6.).

Η G-5 συγκρίνοντας την πάντοτε με το control της, όπως παρατηρούμε και από το γράφημα της Εικόνας 5.4.1., μας δείχνει ότι: η διαφορά μεταξύ καταπονημένων και μη ιχθυδίων λαυρακιού κατά μήνα Δεκέμβριο ήταν σημαντική, ενώ κατά τον Ιανουάριο και Φεβρουάριο παρουσίασαν σταθερότητα. Το ίδιο συνέβη και με την G-1 (Εικόνα 5.4.5). Αντιθέτως η G-4 (Εικόνα 5.4.2), G-3 (Εικόνα 5.4.3), G-6 (Εικόνα 5.4.4) και η G-2 (Εικόνα 5.4.6) δεν φάνηκαν να προσαρμόζονται στην καταπόνηση όπως συνέβη με τις παραπάνω ομάδες.

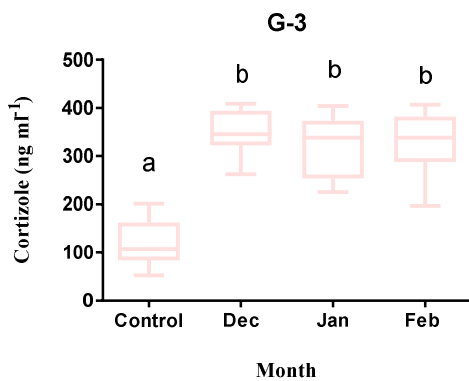




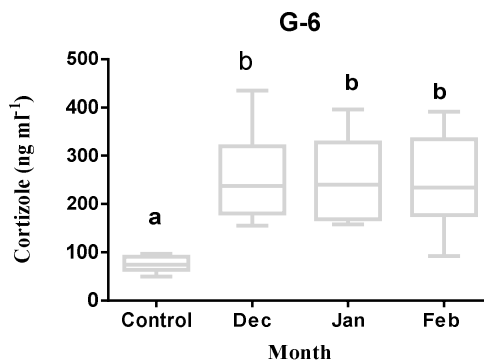
Εικόνα 5.4.1. Μεταβολές της συγκέντρωσης κορτιζόλης ανάμεσα σε καταπονημένα και μη ιχθύδια λαβρακίων, για τρεις διαφορετικές περιόδους δειγματοληψίας. Με διαφορετικά γράμματα σημειώνονται οι στατιστικές σημαντικές διαφορές ( $p < 0,05$ ) ανάμεσα σε καταπονημένα και μη άτομα λαβρακιού εντός της ίδια ομάδας G-5.



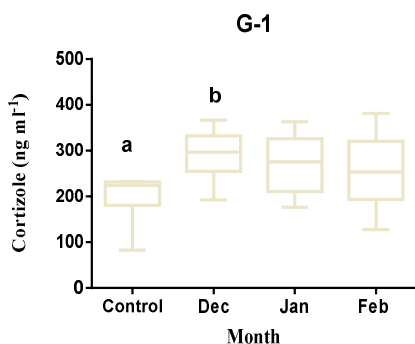
Εικόνα 5.4.2. Μεταβολές της συγκέντρωσης κορτιζόλης ανάμεσα σε καταπονημένα και μη ιχθύδια λαβρακίων, για τρεις διαφορετικές περιόδους δειγματοληψίας. Με διαφορετικά γράμματα σημειώνονται οι στατιστικές σημαντικές διαφορές ( $p < 0,05$ ) ανάμεσα σε καταπονημένα και μη άτομα λαβρακιού εντός της ίδια ομάδας G-4. Η σήμανση των ίδιων γραμμάτων δηλώνει ότι δεν υπάρχει σημαντική στατιστική διαφορά.



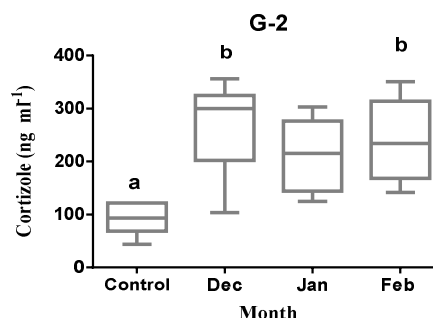
Εικόνα 5.4.3. Μεταβολές της συγκέντρωσης κορτιζόλης ανάμεσα σε καταπονημένα και μη ιχθύδια λαβρακίων, για τρεις διαφορετικές περιόδους δειγματοληψίας. Με διαφορετικά γράμματα σημειώνονται οι στατιστικές σημαντικές διαφορές ( $p < 0,05$ ) ανάμεσα σε καταπονημένα και μη άτομα λαβρακιού εντός της ίδια ομάδας G-4. Η σήμανση των ίδιων γραμμάτων δηλώνει ότι δεν υπάρχει σημαντική στατιστική διαφορά.



Εικόνα 5.4.4. Μεταβολές της συγκέντρωσης κορτιζόλης ανάμεσα σε καταπονημένα και μη ιχθύδια λαβρακίων, για τρεις διαφορετικές περιόδους δειγματοληψίας. Με διαφορετικά γράμματα σημειώνονται οι στατιστικές σημαντικές διαφορές ( $p < 0,05$ ) ανάμεσα σε καταπονημένα και μη άτομα λαβρακιού εντός της ίδια ομάδας G-6. Η σήμανση των ίδιων γραμμάτων δηλώνει ότι δεν υπάρχει σημαντική στατιστική διαφορά.



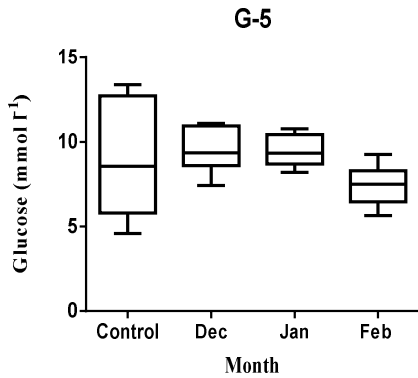
Εικόνα 5.4.5. Μεταβολές της συγκέντρωσης κορτιζόλης ανάμεσα σε καταπονημένα και μη ιχθύδια λαβρακιών, για τρεις διαφορετικές περιόδους δειγματοληψίας. Με διαφορετικά γράμματα σημειώνονται οι στατιστικές σημαντικές διαφορές ( $p < 0,05$ ) ανάμεσα σε καταπονημένα και μη άτομα λαβρακιού εντός της ίδια ομάδας G-1. Η απουσία γραμμάτων δηλώνει ότι δεν υπάρχει σημαντική στατιστική διαφορά.



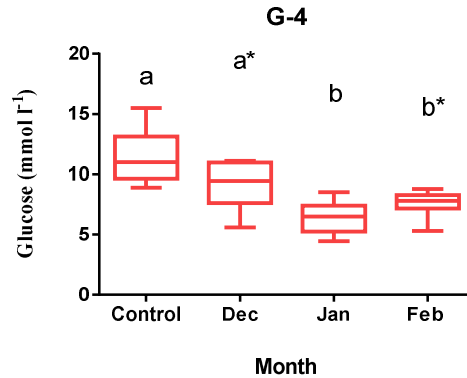
Εικόνα 5.4.6. Μεταβολές της συγκέντρωσης κορτιζόλης ανάμεσα σε καταπονημένα και μη ιχθύδια λαβρακιών, για τρεις διαφορετικές περιόδους δειγματοληψίας. Με διαφορετικά γράμματα σημειώνονται οι στατιστικές σημαντικές διαφορές ( $p < 0,05$ ) ανάμεσα σε καταπονημένα και μη άτομα λαβρακιού εντός της ίδια ομάδας G-2. Η απουσία γραμμάτων δηλώνει ότι δεν υπάρχει σημαντική στατιστική διαφορά καθώς επίσης και η σήμανση των ίδιων γραμμάτων.

## 5.7 Σύγκριση των μέσων τιμών συγκέντρωσης γλυκόζης μεταξύ καταπονημένων και μη (control), ατόμων λαβρακιού.

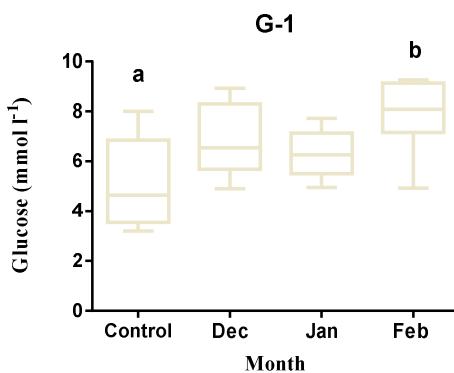
Συγκρίνοντας τις μεταβολές της συγκέντρωσης γλυκόζης ανάμεσα σε καταπονημένα και μη ιχθύδια λαβρακιών, για τρεις διαφορετικές περιόδους δειγματοληψίας, παρατηρούνται τα εξής: Η G-5 (Εικόνα 5.5.1.), που βάση των αποτελεσμάτων της κορτιζόλης παρουσίασε κατά τον Ιανουάριο και τον Φεβρουάριο σταθερότητα, συμπεραίνεται τώρα, ότι σύμφωνα με τ' αποτελέσματα της γλυκόζης, η συγκεκριμένη οικογένεια δεν φαίνεται να τρομάζει ιδιαίτερα, εφόσον δεν υπάρχουν διαφορές μεταξύ καταπονημένων και μη. Το ίδιο διαπιστώνεται αντίστοιχα και για τις G-3 (Εικόνα 5.5.5.) και G-6 (Εικόνα 5.5.6.). Συνεπώς συμπεραίνεται ότι οι συγκεκριμένες οικογένειες δεν φαίνεται να τρομάζουν εύκολα. Αντιθέτως, δεν εξάγονται τα ίδια συμπεράσματα για τις G-4 (Εικόνα 5.5.2.), G-1 (Εικόνα 5.5.3.) και G-2 (Εικόνα 5.5.4.) όπως απεικονίζεται στα πιο κάτω γραφήματα.



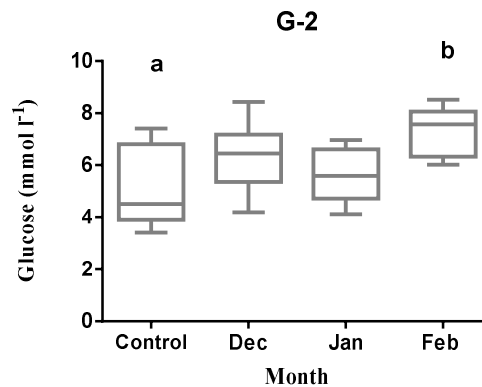
Εικόνα 5.5.1. Μεταβολές της συγκέντρωσης γλυκόζης ανάμεσα σε καταπονημένα και μη ιχθύδια λαβρακίων, για τρεις διαφορετικές περιόδους δειγματοληψίας. Η απουσία σήμανσης φανερώνει ότι δεν υπάρχει στατιστική σημαντική διαφορά ( $p < 0,05$ ) ανάμεσα σε καταπονημένα και μη άτομα λαβρακιού εντός της ίδια ομάδας G-5 μεταξύ των μηνών.



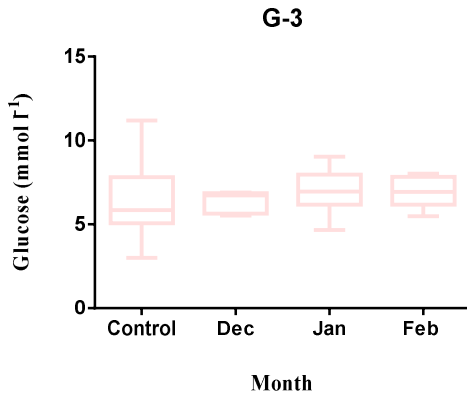
Εικόνα 5.5.2. Μεταβολές της συγκέντρωσης γλυκόζης ανάμεσα σε καταπονημένα και μη ιχθύδια λαβρακίων, για τρεις διαφορετικές περιόδους δειγματοληψίας. Τα διαφορετικά γράμματα φανερώνουν την ύπαρξη στατιστικά σημαντικής διαφοράς ( $p < 0,05$ ) ανάμεσα σε καταπονημένα και μη άτομα λαβρακιού εντός της ίδια ομάδας G-4 μεταξύ των μηνών. Διαφορετικά γράμματα με αστερίσκους φανερώνουν μη στατιστική διαφορά μεταξύ των συγκεκριμένων μηνών.



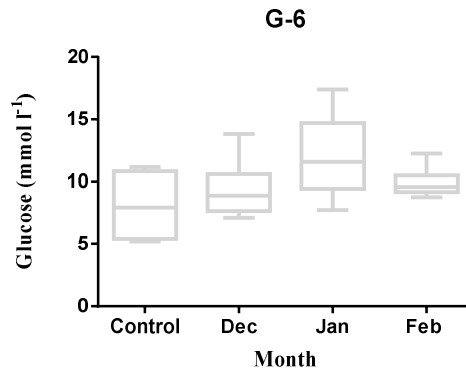
Εικόνα 5.5.3. Μεταβολές της συγκέντρωσης γλυκόζης ανάμεσα σε καταπονημένα και μη ιχθύδια λαβρακίων, για τρεις διαφορετικές περιόδους δειγματοληψίας. Τα διαφορετικά γράμματα φανερώνουν την ύπαρξη στατιστικά σημαντικής διαφοράς ( $p < 0,05$ ) ανάμεσα σε καταπονημένα και μη άτομα λαβρακιού εντός της ίδια ομάδας G-1 μεταξύ των μηνών.



Εικόνα 5.5.4. Μεταβολές της συγκέντρωσης γλυκόζης ανάμεσα σε καταπονημένα και μη ιχθύδια λαβρακίων, για τρεις διαφορετικές περιόδους δειγματοληψίας. Τα διαφορετικά γράμματα φανερώνουν την ύπαρξη στατιστικά σημαντικής διαφοράς ( $p < 0,05$ ) ανάμεσα σε καταπονημένα και μη άτομα λαβρακιού εντός της ίδια ομάδας G-2 μεταξύ των μηνών.



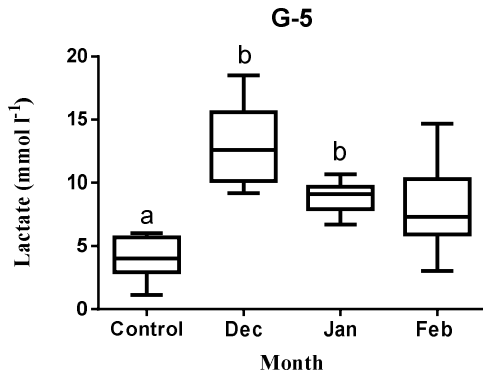
Εικόνα 5.5.5. Μεταβολές της συγκέντρωσης γλυκόζης ανάμεσα σε καταπονημένα και μη ιχθύδια λαβρακίων, για τρεις διαφορετικές περιόδους δειγματοληψίας. Η απουσία σημαντικής διαφοράς ( $p < 0,05$ ) ανάμεσα σε καταπονημένα και μη άτομα λαβρακίου εντός της ίδια ομάδας G-3 μεταξύ των μηνών.



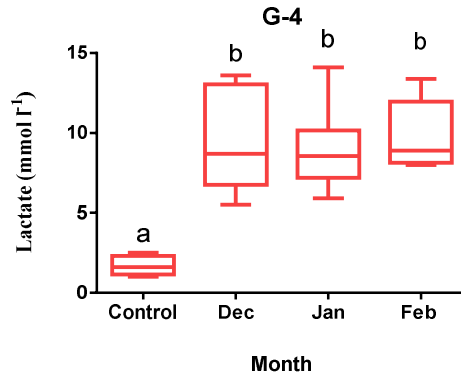
Εικόνα 5.5.6. Μεταβολές της συγκέντρωσης γλυκόζης ανάμεσα σε καταπονημένα και μη ιχθύδια λαβρακίων, για τρεις διαφορετικές περιόδους δειγματοληψίας. Η απουσία σημαντικής διαφοράς ( $p < 0,05$ ) ανάμεσα σε καταπονημένα και μη άτομα λαβρακίου εντός της ίδια ομάδας G-6 μεταξύ των μηνών.

## 5.8 Σύγκριση των μέσων τιμών συγκέντρωσης γαλακτικού οξέος μεταξύ καταπονημένων και μη (control), ατόμων λαβρακίου.

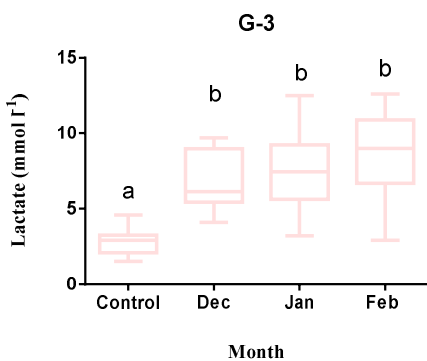
Όσον αφορά το γαλακτικό οξύ, συγκρίνοντας τις μέσες τιμές μεταξύ καταπονημένων και μη, για την οικογένεια G-5 (Εικόνα 5.6.1.) διαπιστώνεται σημαντική στατιστική διαφορά κατά το μήνα Δεκέμβριο κ Ιανουάριο, ενώ το Φεβρουάριο παρατηρείται σταθερότητα (σε σχέση πάντοτε με το control). Για τις υπόλοιπες ομάδες δεν μπορούν να εξαχθούν τα ίδια συμπεράσματα όπως απεικονίζεται στα πιο κάτω γραφήματα.



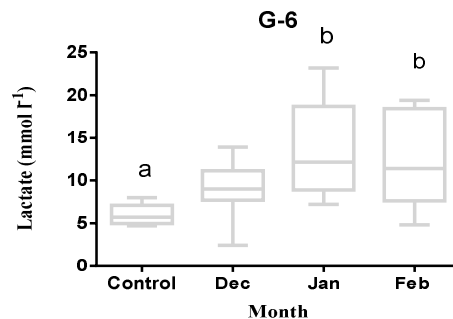
Εικόνα 5.6.1. Μεταβολές της συγκέντρωσης γαλακτικού οξέος ανάμεσα σε καταπονημένα και μη ιχθύδια λαβρακίων, για τρεις διαφορετικές περιόδους δειγματοληψίας. Τα διαφορετικά γράμματα φανερώνουν την ύπαρξη στατιστικά σημαντικής διαφοράς ( $p < 0,05$ ) ανάμεσα σε καταπονημένα και μη άτομα λαβρακίου εντός της ίδια ομάδας G-5 μεταξύ των μηνών. Τα ίδια γράμματα και η απουσία γραμμάτων φανερώνουν μη στατιστική διαφορά.



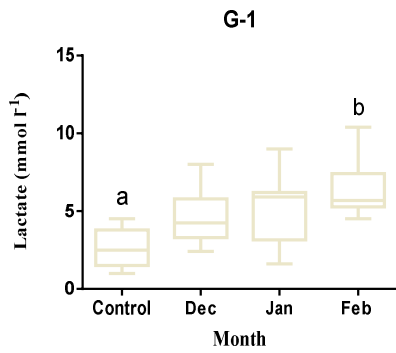
Εικόνα 5.6.2. Μεταβολές της συγκέντρωσης γαλακτικού οξέος ανάμεσα σε καταπονημένα και μη ιχθύδια λαβρακίων, για τρεις διαφορετικές περιόδους δειγματοληψίας. Τα διαφορετικά γράμματα φανερώνουν την ύπαρξη στατιστικά σημαντικής διαφοράς ( $p < 0,05$ ) ανάμεσα σε καταπονημένα και μη άτομα λαβρακίου εντός της ίδια ομάδας G-4 μεταξύ των μηνών. Τα ίδια γράμματα φανερώνουν μη στατιστική διαφορά.



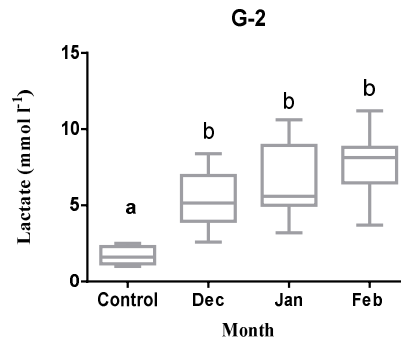
Εικόνα 5.6.3. Μεταβολές της συγκέντρωσης γαλακτικού οξέος ανάμεσα σε καταπονημένα και μη ιχθύδια λαβρακίων, για τρεις διαφορετικές περιόδους δειγματοληψίας. Τα διαφορετικά γράμματα φανερώνουν την ύπαρξη στατιστικά σημαντικής διαφοράς ( $p < 0,05$ ) ανάμεσα σε καταπονημένα και μη άτομα λαβρακίου εντός της ίδια ομάδας G-3 μεταξύ των μηνών. Τα ίδια γράμματα φανερώνουν μη στατιστική διαφορά.



Εικόνα 5.6.4. Μεταβολές της συγκέντρωσης γαλακτικού οξέος ανάμεσα σε καταπονημένα και μη ιχθύδια λαβρακίων, για τρεις διαφορετικές περιόδους δειγματοληψίας. Τα διαφορετικά γράμματα φανερώνουν την ύπαρξη στατιστικά σημαντικής διαφοράς ( $p < 0,05$ ) ανάμεσα σε καταπονημένα και μη άτομα λαβρακίου εντός της ίδια ομάδας G-6 μεταξύ των μηνών. Τα ίδια γράμματα και η απουσία γραμμάτων φανερώνουν μη στατιστική διαφορά.



Εικόνα 5.6.5. Μεταβολές της συγκέντρωσης γαλακτικού οξέος ανάμεσα σε καταπονημένα και μη ιχθύδια λαβρακιών, για τρεις διαφορετικές περιόδους δειγματοληψίας. Τα διαφορετικά γράμματα φανερώνουν την ύπαρξη στατιστικά σημαντικής διαφοράς ( $p < 0,05$ ) ανάμεσα σε καταπονημένα και μη άτομα λαβρακιού εντός της ίδια ομάδας G-1 μεταξύ των μηνών.



Εικόνα 5.6.6. Μεταβολές της συγκέντρωσης γαλακτικού οξέος ανάμεσα σε καταπονημένα και μη ιχθύδια λαβρακιών, για τρεις διαφορετικές περιόδους δειγματοληψίας. Τα διαφορετικά γράμματα φανερώνουν την ύπαρξη στατιστικά σημαντικής διαφοράς ( $p < 0,05$ ) ανάμεσα σε καταπονημένα και μη άτομα λαβρακιού εντός της ίδια ομάδας G-2 μεταξύ των μηνών. Τα ίδια γράμματα φανερώνουν μη στατιστική διαφορά.

## 6. Συζήτηση

Μελετώντας τα αποτελέσματα της Στατιστικής Ανάλυσης διαπιστώθηκε ότι υπάρχουν διαφορές στις μέσες τιμές της κορτιζόλης μεταξύ των οικογενειών, καθώς επίσης και στις μέσες τιμές της κορτιζόλης από μήνα σε μήνα για κάθε οικογένεια χωριστά όπως προαναφέρθηκε παραπάνω. Στο ίδιο συμπέρασμα οδηγηθήκαμε και για τους άλλους δύο αιματολογικούς παραμέτρους, καθώς αναλύθηκαν τα αποτελέσματα της γλυκόζης και του γαλακτικού οξέος. Φτάνοντας στο τέλος της πειραματικής διαδικασίας και αναλύοντας τα δεδομένα παρατηρήθηκε ότι οι οικογένειες των πειραματικών πληθυσμών διαχωρίζονται σε HR (High-Responsive), άτομα τα οποία εμφανίζουν σταθερά υψηλή απόκριση αιματολογικών παραμέτρων στην καταπόνηση και σε LR (Low-Responsive), άτομα που παρουσιάζουν σταθερά χαμηλή απόκριση αιματολογικών παραμέτρων όταν στρεσάρονται. Αυτή η διαφοροποίηση των HR και LR ατόμων, δεν είναι γνωστό γιατί συμβαίνει. Οι Heath *et al.*, (1993), επισήμαναν ότι η διαφορετική απόκριση σε μια στρεσογόνο κατάσταση που παρουσιάζεται σ' ένα άτομο ή σ' έναν πληθυσμό έχει να κάνει με το γενετικό του υλικό, έτσι υπάρχουν άτομα τα οποία τείνουν να εμφανίζουν διαρκώς υψηλές αποκρίσεις κορτιζόλης και κάποια άλλα χαμηλές αποκρίσεις κορτιζόλης όταν στρεσάρονται (Pottinger *et al.*,1992, Tort *et al.*,2001). Στο ίδιο συμπέρασμα έχουν καταλήξει και οι Fevolden *et al.*, (1991), υποστηρίζοντας ότι προγράμματα γενετικής επιλογής έχουν δείξει ότι η απόκριση στην καταπόνηση είναι κληρονομική και όσον αφορά την ατομική απόκριση έχουν οδηγηθεί στο συμπέρασμα ότι είναι σταθερή στο χρόνο. Επιπλέον, σύμφωνα με τους (van Oers *et al.*,2005, Øverli *et al.*,2005, Koolhaas *et al.*,2007) σε αρκετά είδη έχει αποδειχθεί ότι οι διαφορές που

εμφανίζονται σε ηθολογικές και φυσιολογικές αποκρίσεις σε στρεσογόνες καταστάσεις οφείλονται στην κληρονομικότητα.

Σε γενικές γραμμές, τα αποτελέσματα των συγκεντρώσεων κορτιζόλης στο πλάσμα των πειραματικών πληθυσμών επιβεβαίωσαν την ύπαρξη σταθερότητας για τα άτομα της κάθε οικογένεια χωριστά κατά τους μήνες Δεκέμβριο, Ιανουάριο και Φεβρουάριο εκτός της οικογένειας 5 η οποία παρουσίασε σημαντική στατιστική διαφορά μεταξύ των μηνών. Μεταξύ των οικογενειών μέσα στον ίδιο μήνα παρατηρείται σημαντική στατιστική διαφορά, πράγμα που δηλώνει απουσία σταθερότητας. Από την άλλη πλευρά, οι τιμές της γλυκόζης αποδεικνύουν την ύπαρξη σταθερότητας κυρίως για τα άτομα της οικογένειας 6 μεταξύ των μηνών και της οικογένειας 3. Επιπλέον, αξίζει να σημειωθεί ότι κατά το μήνα Φεβρουάριο όλες οι οικογένειες εκτός της 6 δεν παρουσίασαν διαφορές μεταξύ τους πράγμα που δηλώνει σταθερότητα. Τέλος οι ενδείξεις των τιμών του γαλακτικού οξέος, επιβεβαιώνουν ότι κατά τη διάρκεια του πειράματος τα άτομα των οικογενειών 1, 2, 3 και 4, παρουσιάζουν σταθερότητα μεταξύ των μηνών, σε αντίθεση με τις υπόλοιπες ομάδες.

Το γεγονός ότι κατά τον 3<sup>ο</sup> μήνα της πειραματικής διαδικασίας υπήρξε μια μείωση των μέσων τιμών κορτιζόλης στις περισσότερες ομάδες και μια σχετική αύξηση του βάρους τους, ενδεχομένως να φανερώνει μια εξοικείωση με τη διαδικασία της καταπόνησης. Σύμφωνα με τον (Wang *et al.*, 2004) τέτοιο φαινόμενο εξοικείωσης έχει εμφανιστεί μετά τον 4<sup>ο</sup> μήνα στρεσογόνου διαδικασίας και στο ραβδωτό λαβράκι. Από την άλλη πλευρά, όσον αφορά την τσιπούρα προηγούμενες μελέτες δείχνουν ότι εμφανίζει σταθερότητα της απόκρισης κορτιζόλης στο χρόνο. Κατά τους Tort *et al.*, (2001), τα LR άτομα τσιπούρας εμφάνισαν χαμηλότερες τιμές



γλυκόζης, οσμωτικής πίεσης και γαλακτικού οξέος συγκρίνοντας τα με τα HR άτομα. Αυτό συμφωνεί και με τα δικά μας αποτελέσματα, όσον αφορά τις τιμές της γλυκόζης για το λαβράκι και δεν επαληθεύει ταυτόχρονα τα συμπεράσματα για το γαλακτικό οξύ. Σχεδόν στο ίδιο συμπέρασμα έχουν οδηγήσει παλαιότερες μελέτες σε άλλα είδη ψαριών, όπως είναι ο σολομός του Ατλαντικού σύμφωνα με τους (Fevolden *et al.*,1991, Pottinger and Carrick 2001, Trenzado *et al.*, 2003, Schjolden *et al.*,2005) και η ιριδίζουσα πέστροφα (Fevolden *et al.*,1991, Pottinger and Carrick 1999 α,β). Το 2001 ο Pottinger and Carrick διαπίστωσαν ότι οι διαφορές μεταξύ των (HR) και (LR) ιριδίζουσας πέστροφας οφείλονται κυρίως σε μεταβολές στην ευαισθησία του μεσόνεφρου στην ACTH, στην ποσότητα του μεσονεφρικού ιστού στην στεροειδογενετική ικανότητα του μεσόνεφρου και ενδεχομένως σε διαφορές στην κάθαρση της κορτιζόλης. Σε προηγούμενη μελέτη που έγινε κατά το παρελθόν οι Trezado *et al.*(2003), διαπίστωσαν ότι η απόκριση της γλυκόζης των HR ατόμων ιριδίζουσας πέστροφας ήταν πιο ήπια σε σχέση με την απόκριση των LR ατόμων. Κατά τους Pottinger and Carrick (1999β), η απόκριση της κορτιζόλης δεν επηρεάζει την απόκριση της γλυκόζης. Σε αντίθεση με τους Pottinger and Carrick (1999β), στο πείραμα μας οι κατηγορίες 1 και 2 των Groups, επιβεβαίωσαν ότι υψηλές κορτιζόλες μας δίνουν χαμηλές γλυκόζες, και οι χαμηλές κορτιζόλες μας δίνουν υψηλές γλυκόζες. Σε συμφωνία με τα αποτελέσματα του παράγοντα της κορτιζόλης όσον αφορά τις αποκρίσεις (HR) και (LR) έρχεται και το γαλακτικό οξύ. Σε γενικές γραμμές, η απόκριση της κορτιζόλης στο πλάσμα των ψαριών, θεωρείται πιο αξιόπιστος δείκτης της λειτουργίας του HPI άξονα, σε σχέση με την απόκριση της γλυκόζης. Οι τιμές της γλυκόζης στο πλάσμα ιχθυδίων ιριδίζουσας πέστροφας, κυρίως επηρεάζονται από την πρόσληψη της τροφής με την οποία διατρέφονται τα

ιχθύδια, καθώς επίσης έχει διαπιστωθεί ότι έχουν την δυνατότητα να αυξηθούν μόνο 2 φορές μετά την καταπόνηση (Barton *et al.*,1988, Jayaram and Beamish 1992.,Vijayan and Moon, 1992, Holloway *et al.*,1994). Από την άλλη πλευρά πάλι, κατά την άποψη των Barton and Iwama (1991), οι τιμές κορτιζόλης στο πλάσμα στρεσαρισμένων ιχθυδίων ιριδίζουσας πέστροφας, ενδέχεται να αυξηθούν 100 φορές συγκρίνοντας τα με ιχθύδια τα οποία δεν φέρουν καταπόνηση. Είναι ευρέως διαδεδομένο, ότι τα ιχθύδια λαβρακιού εμφανίζουν αρκετά υψηλές συγκεντρώσεις κορτιζόλης ακόμα και αν βρίσκονται σε κατάσταση χαλάρωσης (Roche and Boge, 1996, Marino *et al.*,2001, Rotlland *et al.*,2003α, 2006 Perruzzi *et al.*,2005), συγκρίνοντας τα, με άλλα είδη ψαριών όπως η τσιπούρα (Tort *et al.*,2001), το φαγκρί (Fanouraki *et al.*,2007), η ιριδίζουσα πέστροφα (Ellis *et al.*,2004) καθώς επίσης και άλλα είδη ψαριών. Στο πείραμα μας, κατά την καταπόνηση, η απόκριση σε ατομικό επίπεδο της γλυκόζης, του γαλακτικού οξέος και της κορτιζόλης έχει τη δυνατότητα να ρυθμίζεται σε κάθε ένα χωριστά και δεν αποτελούν ισοδύναμους δείκτες απόκρισης στην καταπόνηση. Αυτό έρχεται σε συμφωνία με προηγούμενη μελέτη των Pottinger and Carrick (1999α). Όσον αφορά τις τιμές της κορτιζόλης, κατά την διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας τα LR άτομα αναπτύχθηκαν περισσότερο σε σχέση με τα HR άτομα όπως φαίνεται και στον Πίνακα 5. Σε αντίστοιχα αποτελέσματα είχε οδηγηθεί και ο Pottinger το (2006), για ιχθύδια ιριδίζουσας πέστροφας σε αντίθεση με τους Øverli *et al.*,(2006), οι οποίοι διαπίστωσαν ότι η ανάπτυξη δεν ήταν υψηλή στα HR άτομα σε σχέση με τα LR άτομα ιριδίζουσας πέστροφας. Επίσης σύμφωνα με τους Tort *et al.*,(2001), τα αρσενικά HR άτομα τσιπούρας αναπτύχθηκαν περισσότερο εν αντιθέσει με τα LR άτομα. Σε παλαιότερη μελέτη των αρσενικών ιχθυδίων ραβδωτού λαβρακιού, οι

Wang *et al.*,(2004), δεν παρατήρησαν διαφορά στην ανάπτυξη μεταξύ HR και LR ατόμων. Επιπλέον οι Trenzado *et al.*,(2006), κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι ο ρυθμός ανάπτυξης των LR ατόμων συγκριτικά με των HR ατόμων είναι καλύτερος, ενώ τα HR άτομα παρουσίασαν μεγαλύτερη συγκέντρωση κορτιζόλης σε σχέση με τα LR, κάτι το οποίο έρχεται σε συμφωνία με το πείραμα μας (Πίνακας 6). Οι Pottinger and Carrick το (2001), κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι ιχθύδια που παρουσιάζουν LR απόκριση στην καταπόνηση επιβάλλονται σε ιχθύδια που εμφανίζουν HR απόκριση κατά την καταπόνηση. Το 2008 οι Ruiz-Gomez *et al.*, επισήμαναν για τα άτομα ιριδίζουσας πέστροφας ότι μόνο κατά τα πρώτα στάδια της ανάπτυξης τους, το γενετικό υλικό προδιαγράφει τη κοινωνική θέση των εν λόγω ατόμων.

Τέλος αξίζει να σημειωθεί ότι τα ψάρια έχουν την ιδιότητα να εμφανίζουν συνολική απόκριση στην καταπόνηση σύμφωνα πάντα με τους (Carmichael *et al.*, 1983, Barton *et al.*,1986, Flos *et al.*,1988, Maule *et al.*, 1988, Mesa, 1994). Παρόλα αυτά, επαναλαμβανόμενη έκθεση σε χαλαρή καταπόνηση ενδεχομένως να αδρανοποιήσει και να εξασθενήσει τις νευροενδοκρινικές και μεταβολικές αποκρίσεις σε επόμενη καταπόνηση κατά τους Reid *et al.*, (1998). Ο Barton το (2002), επισήμανε ότι αντίστοιχη μείωση στην απόκριση γλυκόζης του πλάσματος δείχνει έναν γενικό εθισμό στην καταπόνηση η οποία πραγματοποιείται σε τακτά χρονικά διαστήματα.

## 7. Συμπεράσματα

- ❖ Σταθερότητα παρουσιάζεται κυρίως σε άτομα της ίδιας ομάδας μεταξύ των μηνών
- ❖ Γενικά δεν φαίνεται να εμφανίζεται σταθερότητα μεταξύ των ομάδων μέσα στον ίδιο μήνα
- ❖ Πιθανώς να παίζει ρόλο το γενετικό υπόβαθρο
- ❖ Διαπιστώθηκε διαχωρισμός των ομάδων σε LR και HR
- ❖ Το γεγονός ότι κατά τον 3ο μήνα υπήρξε μια μείωση των μέσων τιμών κορτιζόλης στις περισσότερες ομάδες και μια σχετική αύξηση του βάρους, ενδεχομένως να φανερώνει μια εξοικείωση με τη διαδικασία της καταπόνησης

## 8. Βιβλιογραφία

- Almazán-Rueda, P., Schrama, J.W., Verreth, J.A.J., 2004. Behavioural responses under different feeding methods and light regimes of the African catfish (*Clarias gariepinus*) juveniles. *Aquaculture*. Univ. British Columbia, Vancouver, Canada, 231: 347-359.
- Altimiras, J., Champion, S.R., M. Puigcerver, M., Tort, L., 1994. Physiological responses of the gilthead sea bream *Sparus aurata* to hypoosmotic shock. *Comp. Biochem. Physiol.*, 108(A) 1: 75–80.
- Appleby, M.C., Hughes, B.O., 1997. Introduction. In: Appleby, M.C., Hughes, B.O. (Eds.), *Animal Welfare*. CABI, Oxfordshire, pp. xi–xiii.
- APROMAR, 2012. La acuicultura marina en España, 1–88. Available at <http://www.apromar.es/informes.asp>.
- Ashley, P.J., 2007. Fish welfare: Current issues in aquaculture. *Applied Animal Behaviour Science*, 104: 199–235.
- Barnabé, G., 1986. L'élevage du loup et de la daurade. In: G. Barnabé (ed.). *Aquaculture. Technique et documentation-Lavoisier*, Paris., 627–666.
- Barnabé, G., 1990. L'élevage du loup et de la daurade. In: G. Barnabé (ed.). *Aquaculture. Technique et documentation-Lavoisier*, Paris., 627–666.
- Barton, B.A., Schreck, C.B., and L. A. Sigismondi, 1986. Multiple acute disturbances evoke cumulative physiological stress responses in juvenile chinook salmon. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 115:245-251.

- Barton, B.A., Schreck, C.B., Fowler, L. G., 1988. Fasting and diet content affect stress-induced changes in plasma glucose and cortisol in juvenile chinook salmon. *Prog. Fish-Cult.*, 50:16–22.
- Barton, B.A., Iwama, G.K., 1991. Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. *Annual Review of Fish Disease*, 1: 3–26.
- Barton, B.A., 1997. Stress in finfish: past, present and future-a historical perspective. In: G.K. Iwama, A.D. Pickering, J.P. Sumpter and C.B. Schreck (eds.). *Fish Stress and Health in Aquaculture*. Cambridge University Press, Cambridge, UK., 1–33.
- Barton, B.A., 2002. Stress in fishes: a diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. *Integr. Comp. Biol.*, 42: 517–525.
- Bergqvist, J., Gunnarsson, S., 2011. Finfish aquaculture: Animal welfare, the environment, and ethical implications. *Journal Agricultural and Environmental Ethics*, 26: 75-99.
- Biswas, A.K., Seoka, M., Takii., K., Maita, M., Kumai, H., 2006. Stress response of red sea bream *Pagrus major* to acute handling and chronic photoperiod manipulation. *Aquaculture*, 252: 566–572.
- Boissy, A., Manteuffel, G., Jensen, M.B., Moe, R.O., Spruijt, B., Keeling, L.J., Winckler, C., Forkman, B., Dimitrov, I., Langbein, J., Bakken, M., Veissier, I., Aubert, A., 2007. Assessment of positive emotions in animals to improve their welfare. *Physiology and Behavior*, 92:375–397.
- Bond, U., 2006. *FEMS Yeast Res.*, 6: 160–170.

- Bostock, J., Lane., Hough C., Yamamoto K., 2016. An assessment of the economic contribution of EU aquaculture production and the influence of policies for its sustainable development.
- Braithwaite, V., 2010. Do fish feel pain? Oxford University Press, New York, 194.
- Brett, J.R., 1958. Implications and assessment of environmental stress. In: P.A. Larkin (ed.). The Investigation of Fish-power Problems. H.R.MacMillan Lectures in Fisheries. Univ. British Columbia, Vancouver, Canada, 69–83.
- Broom, D.M., 1991. Animal welfare: concepts and measurement. *Journal of Animal Science*, 69: 4167.
- Carmichael, G.J., Wedemeyer, G.A., McCraren, J.P., Millard, J.L., 1983. Physiological effects of handling and hauling stress on smallmouth bass. *Progressive Fish–Culturist*, 45:110–13.
- Cerdá-Reverter, J.M., Canosa, L.F., 2009. Neuroendocrine Systems of the Fish Brain. In: N.J. Bernier, G. Van Der Kraak, A.P. Farrell and C.J. Brauner (eds.). *Fish Physiology*, Academic Press 28: 3–74.
- Conte, F.S., 2004. Stress and the welfare of cultured fish. *Applied Animal Behaviour Science*, 86: 205-223.
- Dawkins, M.S., 2004. Using behaviour to assess animal welfare. *Animal Welfare*, 13:3-7.
- Dhabhar, F.S., 2000. Acute stress enhances while chronic stress suppresses skin immunity. The role of stress hormones and leukocyte trafficking. *Ann. N Y Acad Sci.*, 917876–917893.

- Dhabhar, F.S., 2002. Stress-induced augmentation of immune function—the role of stress hormones, leukocyte trafficking, and cytokines. *Brain Behav. Immun.* 16 (6): 785–798.
- Dhabhar, F.S., 2008. Enhancing versus suppressive effects of stress on immune function: implications for immunoprotection versus immunopathology. *Allergy Asthma Clin. Immunol.*, 4 (1): 2–11.
- Duncan, I.J.H., Fraser, D., 1997. Understanding Animal Welfare. In: Appelby, M.C., Hughes, B.O. (Eds.), *Animal Welfare*. CABI, Oxfordshire, 19–31.
- EFSA (European Food Safety Authority), 2008. Scientific report of EFSA prepared by working group on seabass/seabream welfare on animal welfare aspects of husbandry systems for farmed european seabass and gilthead seabream. *The EFSA Journal*, Annex I: 844: 1-89.
- EFSA (European Food Safety Authority), 2009. General approach to fish welfare and to the concept of sentience in fish-Scientific opinion of the panel on animal health and welfare. *The EFSA Journal*, 954: 1-27.
- Ellis, T., James, J.D., Stewart, C., Scott, A.P., 2004. A non-invasive stress assay based upon measurement of free cortisol released into the water by rainbow trout. *Journal of Fish Biology*, 65: 1233–1252.
- European Commission, 2016. Maritime affairs and fisheries. Facts and figures on common fisheries policy. Basic statistical data. Luxembourg: Publications office of the European Union.
- Fanouraki, E., Papandroulakis, N., Ellis, T., Mylonas, C.C., Scott A.P., Pavlidis, M., 2008. Water cortisol is a reliable indicator of stress in European sea bass, *Dicentrarchus labrax*. *Behaviour* 145 Suppl. SI: 1267–1281



- Fanouraki, E., Divanach, P., Pavlidis, M., 2007. Baseline values for acute and chronic stress indicators.
- FAO, 2014a. FishStat-Software for fishery statistical time series. United Food and Agriculture Organization, Rome.
- FAO, 2014b. The State of world fisheries and aquaculture-opportunities and challenges. Food and Agriculture Organization of the United Nations. UN FAO, Rome.
- FAO, 2013. Food and Agriculture Organization of the United Nations. <http://www.fao.org/fishery/species/2291/en>.
- FAO, 2009. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). The State of World Fisheries and Aquaculture 2008. Rome 2009. <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/011/i0250e/i0250e.pdf>
- FAWK, (Farmed Animal Welfare Council), 1996. Report on the Welfare of Farmed Fish. Surrey, Surbiton.
- Fevolden, S.E., Refstie, T., Røed, K.H., 1991. Selection for high and low cortisol stress response in Atlantic salmon *Salmo salar* and rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, 95:53–65.
- FISHSTAT & FEAP, 2008. <http://www.feap.info/FileLibrary%5C11%5CProductionreport2008.pdf>.
- Flik, G., Klaren, P.H.M., Van den Burg, E.H., Metz J.R., Huising M.O., 2006. CRF and stress in fish, *General and Comparative Endocrinology*, 146 (1): 36-44.
- Flos, R., Reig, L., Torres, P., Tort, L., 1988. Primary and secondary stress responses to grading and hauling in rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Aquaculture*, 71: 99–106.

- Froese, R., Pauly, D., 2012. FishBase. World Wide Web electronic publication. *www.fishbase.org, version (12/2012)*.
- Froese, R., Pauly, D., 2013. FishBase. <http://www.fishbase.org>
- Galhardo, L., Oliveira, R.F., 2009. Psychological stress and welfare in fish. *Annual Review of Biomedical Sciences*, 11: 1-20.
- Gornati, G., Papis, E., Rimoldi, S., Terova, G., Saroglia M., Bernardini, G., 2004. Rearing density influences the expression of stress-related genes in sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *GENE.*, 341: 111–118.
- Haffray, P., Tsigenopoulos, C.S., Bonhomme, F., Chatain, B., Magoulas, A., Rye, M., Triantafyllidis, A., Triantaphyllidis, C., 2007. European sea bass—*Dicentrarchus labrax*. Genimpact final scientific report, 40–46.
- Heath, D.D., Bernier, N.J., Heath, J.W., Iwama, G.K., 1993. Genetic, environmental, and interaction effects on growth and stress response of Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) fry. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 50: 435–442.
- Holcik, M., Sonenberg, N., 2005. *Nat.Rev. Mol. Cell Biol.*, 6: 318–327
- Holloway, A.C., Reddy, P.K., Sheridan, M.A., Leatherland, J.F., 1994. Diurnal rhythms of plasma growth hormone, somatostatin, thyroid hormones, cortisol and glucose concentration in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, during progressive food deprivation. *Biol. Rhythm Res.*, 25: 415–432.
- Huntingford, F.A., Adams, C., Braithwaite, V.A., Kadri, S., Pottinger, T.G., Sandøe, P., Turnbull, J.F., 2006. Current issues in fish welfare. *Journal of Fish Biology*, 68: 332-372.

- Huntingford, F.A., Kadri, S., Jobling, M., 2012. Introduction: Aquaculture and Behaviour. In "Aquaculture and Behavior" Ed. Huntingford, F., Kadri, S., Jobling, M., Blackwell Publishing Ltd., Chichester, West Sussex, UK, pp. 1-35.
- Iwama, G.K., Afonso, L.O.B., Vijayan, M.M., 2004. Stress in Fish. AquaNet Workshop on Fish Welfare, Campbell River, B.C. Canada.
- Jayaram, M.G., Beamish, F.W.H., 1992. Plasma metabolites of lake trout *Salvelinus namaycush* in relation to diet and storage conditions. *Comp. Biochem. Physiol.*, 103: 373–380.
- Jin, Y., Zhang, X., Shu, L., Chen, L., Sun, L., Qian, H., Liu, W., Fu, Z., 2010. Oxidative stress response and gene expression with atrazine exposure in adult female zebrafish (*Danio rerio*). *Chemosphere*, 78: 846-852.
- Joyeux-Faure, M., Arnaud, C., Godin-Ribuot, D., Ribuot, C., 2003. Heat stress preconditioning and delayed myocardial protection: what is new? *Cardiovascular Research*, 60: 469-477.
- Kistler, C., Heggin, D., Würbel, H., König, B., 2011. Preference for structured environment in zebrafish (*Danio rerio*) and checker barbs (*Puntius oligolepis*). *Applied Animal Behaviour Science*, 135: 318-327.
- Lund, V., Mejdell, C.M., Rocklinsberg, H., Anthony, R., Hastein, T., 2007. Expanding the moral circle: farmed fish as objects of moral concern. *Diseases of Aquatic Organisms*, 75: 109.
- Marino, G., Di Marco, P., Mandich, A., Finoia, M.G., Cataudella, S., 2001. Changes in serum cortisol, metabolites, osmotic pressure and electrolytes in response to different blood sampling procedures in cultured sea bass (*Dicentrarchus labrax L.*). *Journal of Applied Ichthyology*, 17: 115-120.

- Martinez-Alvarez, R.M., Morales, A.E., Sanz, A., 2005. Antioxidant defenses in fish: Biotic and abiotic factors. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 15: 75-88.
- Mason, G., Rushen, J., 2006. *Stereotypic Animal Behaviour: Fundamentals and Applications to Welfare*. CABI, Oxfordshire, UK.
- Maule, A.G., Schreck, C.B., Bradford, C.S., Barton, B.A., 1988. Physiological effects of collecting and transporting emigrating juvenile chinook salmon past dams on the Columbia River. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 117: 245–261.
- Mesa, M. G., 1994. Effects of multiple acute stressors on the predator avoidance ability and physiology of juvenile chinook salmon. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 123:786–793.
- Ottaviani, E., Franceschi, C., 1996. The neuroimmunology of stress from invertebrates to man. *Prog. Neurobiol.*, 48 (4–5): 421–440.
- Øverli, Ø., Sørensen, C., Kiessling, A., Pottinger, T.G., Gjøen, H.M., 2006. Selection for improved stress tolerance in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) leads to reduced feed waste. *Aquaculture*, 261: 776–781.
- Pavlidis, M., Karantzali, E., Fanouraki, E., Barsakis, C., Kollias, S., Papandroulakis, N., 2011. Onset of the primary stress in European sea bass *Dicentrarchus labrax*, as indicated by whole body cortisol in relation to glucocorticoid receptor during early development. *Aquaculture*, 315: 125–130.
- Pavlidis, M., Mylonas, C.C., 2011. *Sparidae: Biology and Aquaculture of Gilthead Sea Bream and Other Species*. Blackwell Publishing Ltd.

- Peruzzi, S., Varsamos, S., Chatain, B., Fauvel, C., Menu, B., Falguiere, J.C., Severe, A., Flik, G., 2005. Hamatological and physiological characteristics of diploid and triploid sea bass, *Dicentrarchus labrax* L. *Aquaculture*, 244: 359-367.
- Pickering, A.D., Pottinger, T.G., 1995. Biochemical effects of stress. In: P.W. Hochachka and T.P. Mommsen. *Biochemistry and Molecular Biology of Fishes. Environmental and Ecological Biochemistry*. Elsevier Science BV, Amsterdam, The Netherlands, 349-379.
- Poli, B.M., 2009. Farmed fish welfare-suffering assessment and impact on product quality. *Italian Journal of Animal Science*, 8: 139–160.
- Pottinger, T.G., Pickering, A.D., Hurley, M.A., 1992. Consistency in the stress response of individuals of two strains of rainbow trout, *Onchorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, 103: 275–289.
- Pottinger, T.G., Carrick, T.R., 1999 $\alpha$ . A comparison of plasma glucose and plasma cortisol as selection markers for high and low stress–responsiveness in female rainbow trout. *Aquaculture*, 175: 351– 363.
- Pottinger, T.G., Carrick, T.R., 1999 $\beta$ . Modification of the plasma cortisol response to stress in rainbow trout by selective breeding. *Gen. Comp. Endocrinol*, 116: 122– 132.
- Pottinger, T.G., Carrick, T.R., 2001. ACTH does not mediate divergent stress responsiveness in rainbow trout. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A*, 129: 399-404.
- Pottinger, T.G., Carrick, T.R., 2001. Stress responsiveness affects dominant–subordinate relationships in Rainbow trout. *Horm. Behav.*, 40:419–427.

- Pottinger, T.G., 2006. Context dependent differences in growth of two rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) lines selected for divergent stress responsiveness. *Aquaculture*, 256:140–147.
- Pruett, S.B., 2003. Stress and the immune system. *Pathophysiology*, 9 (3):133–153.
- Ranabir, S., Reetu, K., 2011. Stress and hormones Indian J Endocrinol Metab. Jan-Mar., 15(1): 18–22.
- Reid, S.G., Bernier, N.J., Perry, S.F., 1998. The adrenergic stress response in fish: control of catecholamine storage and release, *Comparative Biochemistry and Physiology*, 120C: 1-27.
- Roche, H., Boge, G., 1996. Fish blood parameters as a potential tool for identification of stress caused by environmental factors and chemical intoxication. *Marine Environmental Research*, 41 (1): 27-43.
- Roncarati, A., Melotti, P., Dees, A., Mordenti O., L. Angellotti, L., 2006. Welfare status of cultured sea bass (*Dicentrarchus labrax L.*) and sea bream (*Sparus aurata L.*) assessed by blood parameters and tissue characteristics. *J. Appl. Ichthyol.*, 22: 225–234.
- Rotllant, J., Ruane, N.M., Caballero, M.J., Montero, D., Tort, L., 2003. Confinement stress response in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) is characterised by an increased biosynthetic capacity of interrenal tissue, with no effect on ACTH sensitivity. *Comp. Biochem. Physiol.*, 136A: 613–620.
- Rotllant, J., Tort, L., Montero, D., Pavlidis, M., Martinez, M., Wendelaar Bonga, E.S., Balm, M.H.P., 2003α. Background colour influence on the stress response in cultured red porgy *Pagrus pagrus*. *Aquaculture* 223, 129–139.

- Ruiz–Gomez, M.L., Kittilsen, S., Höglund, E., Huntingford, F.A., Sørensen, C., Pottinger, T.G., Bakken, M., Winberg, S., 2008. Behavioral plasticity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) with divergent coping styles: When doves become hawks. *Hormones and Behavior*, 54:534–538.
- Samaras, A., Papandroulakis, N., Costari, M., Pavlidis, M., 2015. Stress and metabolic indicators in a relatively high (European sea bass, *Dicentrarchus labrax*) and a low (meagre, *Argyrosomus regius*) cortisol responsive species, in different water temperatures. *Aquaculture Research*, 1–15.
- Samaras, A., Dimitroglou, A., Tsigenopoulos, C., Kottaras, L., Chatziplis, D., Papaharisis, L., Loukovitis, D., Pavlidis, M., 2014. Improved fitness and genetic selection programmes in Mediterranean aquaculture.
- Sanchez-Vazquez, F.J., Muñoz-Cueto, J.A., 2014. *Biology of European Sea Bass*.
- Schjolden, J., Backström, T., Pulman, K.G.T., Pottinger, T.G., Winberg, S., 2005. Divergence in behavioural responses to stress in two strains of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) with contrasting stress responsiveness. *Horm. Behav.*, 48:537–544.
- Schreck, C.B., Contreras-Sanchez W. & Filtzpatrick, M.S., 2001. Effects of stress on fish reproduction, gamete quality, and progeny. *Aquaculture*, 197:3-24.
- Selye, H., 1956. *The Stress of Life*. McGraw Hill, New York, USA.
- Shepherdson, D.J., Mellen, J.D., Hutchins, M., 1998. *Second nature: environmental enrichment for captive animals*. Smithsonian Institution Press, Washington, DC.

- STECF, 2013. The economic Performance Report on the EU Aquaculture sector. Publication Office of the European Union, Luxembourg.
- Sutanto, W., de Kloet, ER., 1994. The use of various animals in the study of stress and stress-related phenomena. *Laboratory Animals*, 28: 293-306.
- Theodorou, A., Perdikaris, C., Fillipopoulos, N., 2015. Evolution Trough Innovation in Aquaculture: A Critical Review of the Greek Mari culture Industry *Journal of Applied Aquaculture*, 27:160-181.
- Tort, L., Padros, F., Rotllant, J., Crespo, S., 1998. Winter syndrome in the gilthead sea bream *Sparus aurata*. Immunological and histopathological features. *Fish and Shellfish Immunology*, 837–47.
- Tort, L., Montero, D., Robaina, L., Fernandez–Palacios, H., Izquierdo, S.M., 2001. Consistency of stress response to repeated handling in the gilthead sea bream *Sparus aurata* Linnaeus, 1758. *Aquaculture Research*, 32: 593–598.
- Trenzado, C.E., Carrick, T.R., Pottinger, T.G., 2003. Divergence of endocrine and metabolic responses to stress in two rainbow trout lines selected for differing cortisol responsiveness to stress. *Gen. Comp. Endocrinol*, 133:332–340.
- Trenzado, C.E., Morales, A.E., de la Higuera, M., 2006. Physiological effects of crowding in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, selected for low and high stress responsiveness. *Aquaculture*, 258: 583–593.
- Tsigos, C., Chrousos GP., 1994. Physiology of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in health and dysregulation in psychiatric and autoimmune disorders. *Endocrin Metab Clin.*, 23: 451-466.



- Van der Boon, J., van der Thillart, G.E.E.J.M., Addink, A.D.F., 1991. The effects of cortisol administration on intermediary metabolism in teleost fish, *Comp. Biochem. Physiol.*, 100 :47–53.
- Van Oers, K., de Jong, G., van Noordwijk, A.J., Kempenaers, B., Drent, P.J., 2005. Contribution of genetics to the study of animal personalities: a review of case studies. *Behaviour*, 142:1185–1206.
- Vijayan, M.M., Moon, T.W., 1992. Acute handling stress alters hepatic glycogen metabolism in food-deprived rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 49:2260–2266.
- Volckaert, F.A.M., Batargias, C., Chatziplis, D., Chistiakov, D., Haley, C., Libertini, A., Tsigelopoulos, C., 2008. European Sea bass. *Genome Mapping and Genomics in Fishes and Aquatic Animals. Genome Mapping Genomics Animals*, 2: 117-133.
- Wang, C., King, W., Woods III, V.L.C., 2004. Physiological indicators of divergent stress responsiveness in male striped bass broodstock. *Aquaculture*, 232:665–678.
- Wedemeyer, G.A., McLeay, D.J., 1981. Methods for determining the tolerance of fishes to environmental stressors, in: A.D. Pickering, *Stress and Fish*, Academic Press, London, 247–275.
- Wendelaar Bonga, S.E., 1997. The stress response in fish. *Physiol. Rev.*, 77:591-625.
- Werner, I., Viant, M.R., Rosenblum, E.S., Gantner, A.S., Tjeerdema, R.S., Johnson, M.L., 2006. Cellular responses to temperature stress in steelhead

trout (*Oncorhynchus mykiss*) parr with different rearing histories. *Fish Physiology and Biochemistry*, 32:261-273.

- Winberg, S., Nilsson, G.E., 1993. Roles of brain monoamine neurotransmitters in agonistic behaviour and stress reactions, with particular reference to fish. *Comparative Biochemistry and Physiology C*, 106: 597-614.
- Παπουτσόγλου, Σ.Ε., 1998. Ενδοκρινολογία Ιχθύων. Αθήνα, Α. Σταμούλης.
- Σμοκοβίτης, Α., 2007. Φυσιολογία. Θεσσαλονίκη, Εκδοτικός Οίκος Αδελφών Κυριακίδη.
- Χώτος, Γ., 2015. Υδατοκαλλιέργειες νερό και ψάρια. Τμήμα Τεχνολογίας Αλιείας-Υδατοκαλλιεργειών, Τ.Ε.Ι. Δυτ. Ελλάδας.
- <http://alphasouthsarl.com/fish/dicentrarchus-labrax/index.htm>
- <http://slideplayer.com/slide/719319/>