

Οικογενειακές και ατομικές διαφορές σε μεταβολικούς δείκτες σε λαβράκι (*Dicentrarchus labrax* L) σε συνάρτηση με το στρες

Θεοδώρα Παπαναγιώτου

Επιβλέπων: Μιχαήλ Παυλίδης

Περίληψη

Η ευημερία (welfare) των εκτρεφόμενων ψαριών απασχολεί όλο και περισσότερο την επιστημονική κοινότητα, θέλοντας να εξασφαλίσει καλύτερες και ιδανικότερες συνθήκες διαβίωσής. Στα πλαίσια των εντατικών εκτροφών, διάφοροι παράγοντες, όπως φυσικοί, χημικοί, διαχειριστικοί, μπορούν να προκαλέσουν καταπόνηση (stress) στους οργανισμούς, η οποία αποτελεί την κύρια πηγή διατάραξης στην ευζωία των ιχθύων.

Η παρούσα εργασία έχει ως κύριο σκοπό την διερεύνηση μεταβολικών δεικτών στο λαβράκι σε συνάρτηση με το γενετικό υπόβαθρο και το στρες, την εξέταση της σταθερότητας στην απόκριση στο στρες (z-score) καθώς και ατόμων με σταθερά υψηλή και χαμηλή απόκριση για κάθε δείκτη χωριστά.

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι αρκετοί από τους βιοχημικούς δείκτες, μεταξύ των οποίων η χοληστερόλη, τα τριγλυκερίδια, οι ολικές πρωτεΐνες, η ωσμωτική πίεση, το χλώριο και το μαγνήσιο, να επηρεάζονται σημαντικά ($p < 0,05$) μετά το στρες, δίνοντας σημαντικές, επίσης, διαφορές μεταξύ ορισμένων οικογενειών. Επιπλέον, όλες οι μεταβλητές, πλην του Mg, αποτελούν ένα σταθερό ατομικό χαρακτηριστικό, συμβάλλοντας στην περαιτέρω διάκριση των ατόμων με συνεχή υψηλή (HR) ή χαμηλή (LR) απόκριση, μετά την έκθεση σε οξύ στρες.

Εισαγωγή

Στην εντατική ιχθυοκαλλιέργεια πολλές διαχειριστικές πρακτικές όπως η μεταφορά, ο εμβολιασμός μπορεί να επάγουν στρες στους εκτρεφόμενους οργανισμούς, εφόσον χαρακτηρίζονται από μεγάλη διάρκεια και ένταση, επηρεάζοντας αρνητικά την ευημερία των ψαριών σε βάθος χρόνου. Η ευημερία των εκτρεφόμενων ψαριών ισοδυναμεί με την βέλτιστη δυνατή παραγωγή αντίστοιχα με χερσαία εκτρεφόμενα είδη. Επομένως η μελέτη της επίπτωσης των πρακτικών αυτών στην ευημερία τους είναι εξαιρετικά σημαντική για την εξαγωγή δεδομένων και προτάσεων για τις βέλτιστες διαχειριστικές πρακτικές (Maricchiolo et al., 2008).

Σε αυτό το πλαίσιο η γνώση της φυσιολογίας του στρες είναι σημαντική ώστε να κατανοήσουμε τον τρόπο απόκρισης τους σε στρεσογόνους παράγοντες και να εξηγήσουμε την βιολογική σημασία της ενδοειδικής διακύμανσης που παρατηρείται σε αυτές τις αποκρίσεις (Samaras et al., 2016).

Υλικά και Μέθοδοι

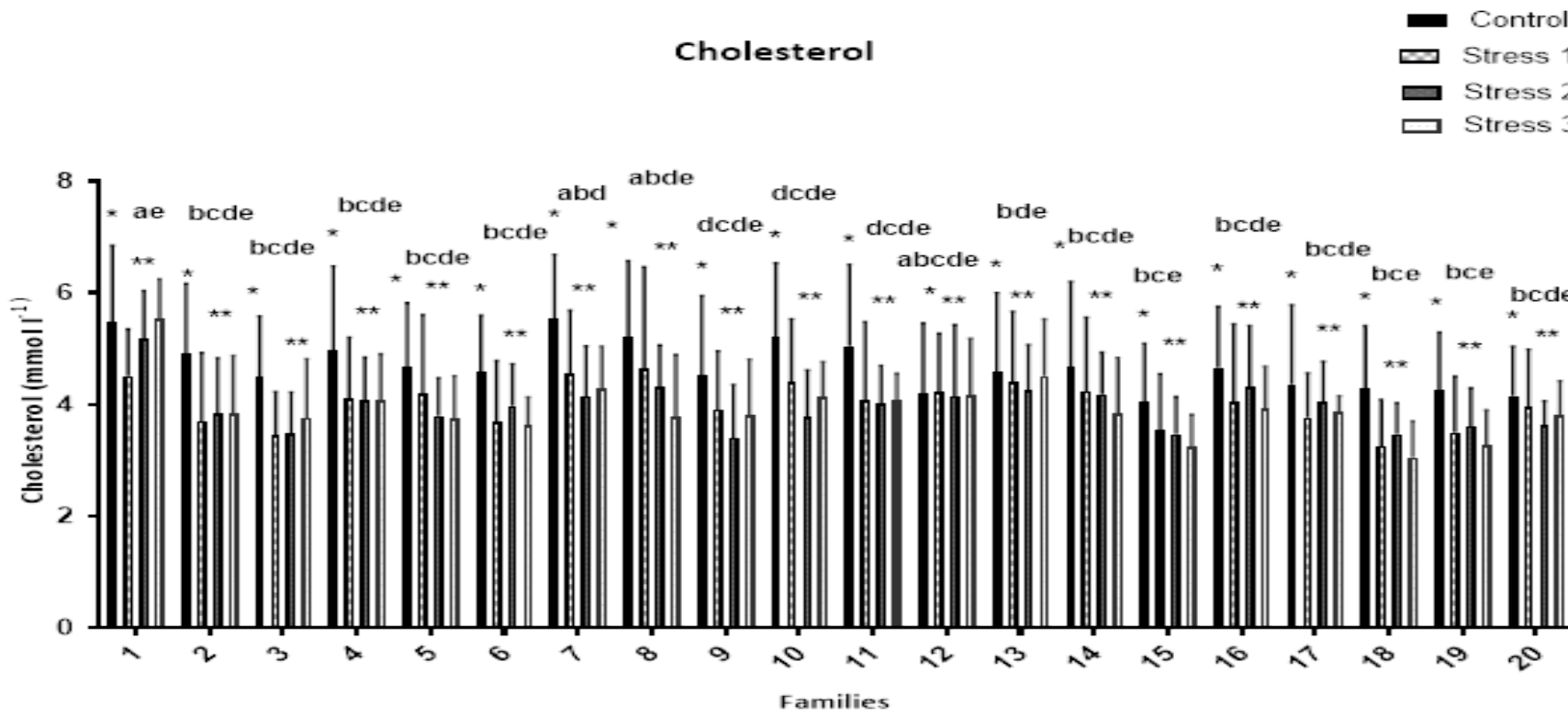
Το δείγμα πληθυσμού που χρησιμοποιήθηκε ήταν 20 οικογένειες. Η κάθε οικογένεια αποτελούνταν από 20 άτομα. Σε κάθε δεξαμενή τοποθετήθηκε ένα ψάρι από κάθε οικογένεια (20 άτομα/δεξαμενή). Συνολικά ο αριθμός των ψαριών ήταν 372 με μέσο βάρος 54,1 ($\pm 2,4$) g.

Για τον προσδιορισμό των τιμών βάσης και των ανοσολογικών δεικτών, πριν την εφαρμογή του πρωτοκόλλου του στρες, πραγματοποιήθηκε δειγματοληψία αίματος όλων των ψαριών χωρίς την έκθεσή τους σε οξύ στρες. Κατά την πρόκληση του στρες, η στάθμη του νερού της δεξαμενής μειώθηκε, τα άτομα καταδιώχτηκαν για 5min με απόχη και στην συνέχεια έμειναν περιορισμένα για 30min. Κατόπιν, τα ψάρια συλλήφθηκαν ($t=0$) με απόχη και αφού αναισθητοποιήθηκαν (2-rhenoxyethanol) πραγματοποιήθηκε αιμοληψία από την ουραία φλέβα. Το πρωτόκολλο αυτό πραγματοποιήθηκε 3 φορές, σε διάστημα 20 ημερών, ιδανικός χρόνος για την πλήρη ανάκαμψη των ψαριών.

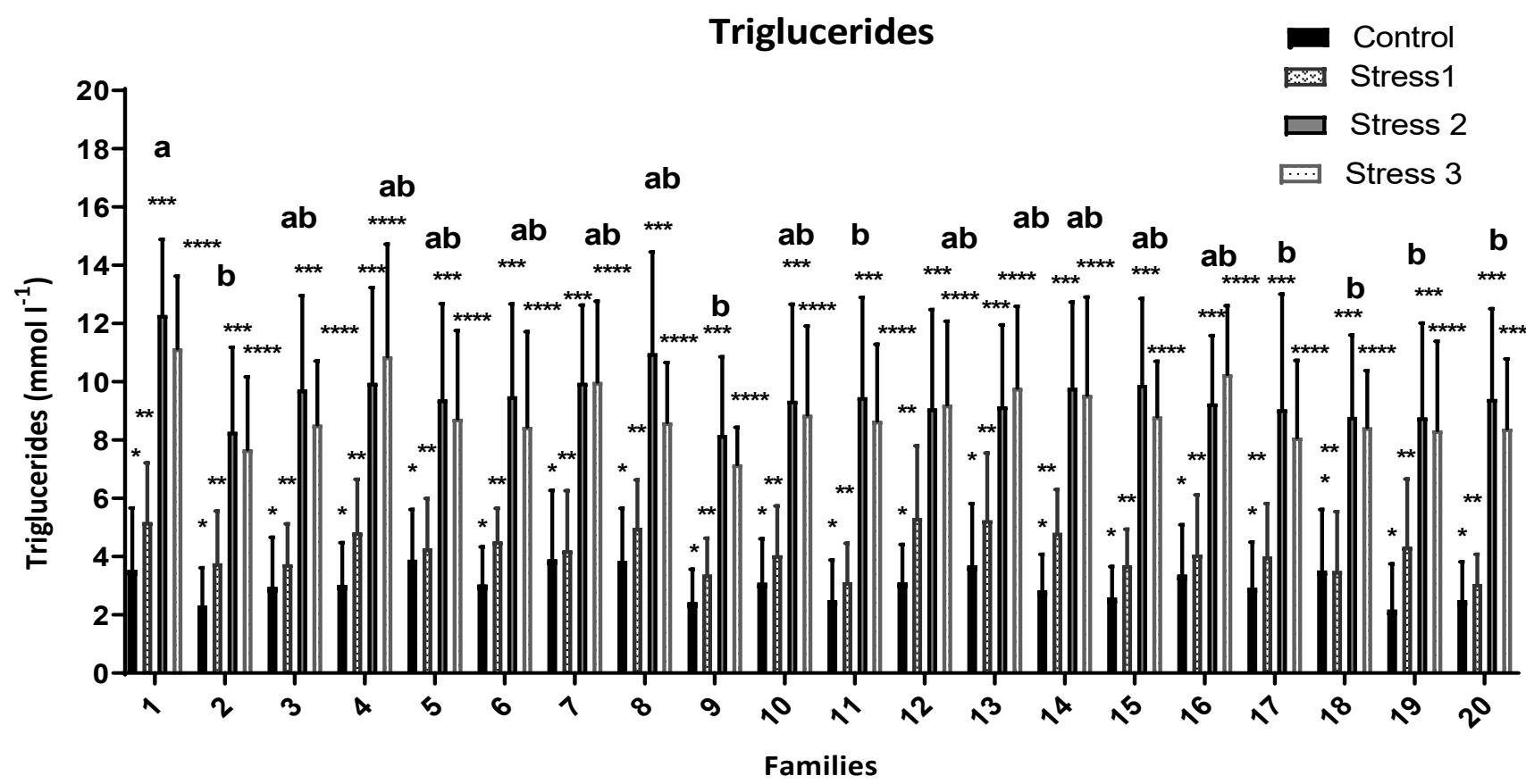
Σε όλες τις δειγματοληψίες καταγράφηκαν το βάρος, η γλυκόζη, το γαλακτικό οξύ, η κορτιζόλη, η χοληστερόλη, τα τριγλυκερίδια, οι ολικές πρωτεΐνες, η αλβουμίνη, η ωσμωτική πίεση, το μαγνήσιο και το χλώριο.

Αποτελέσματα

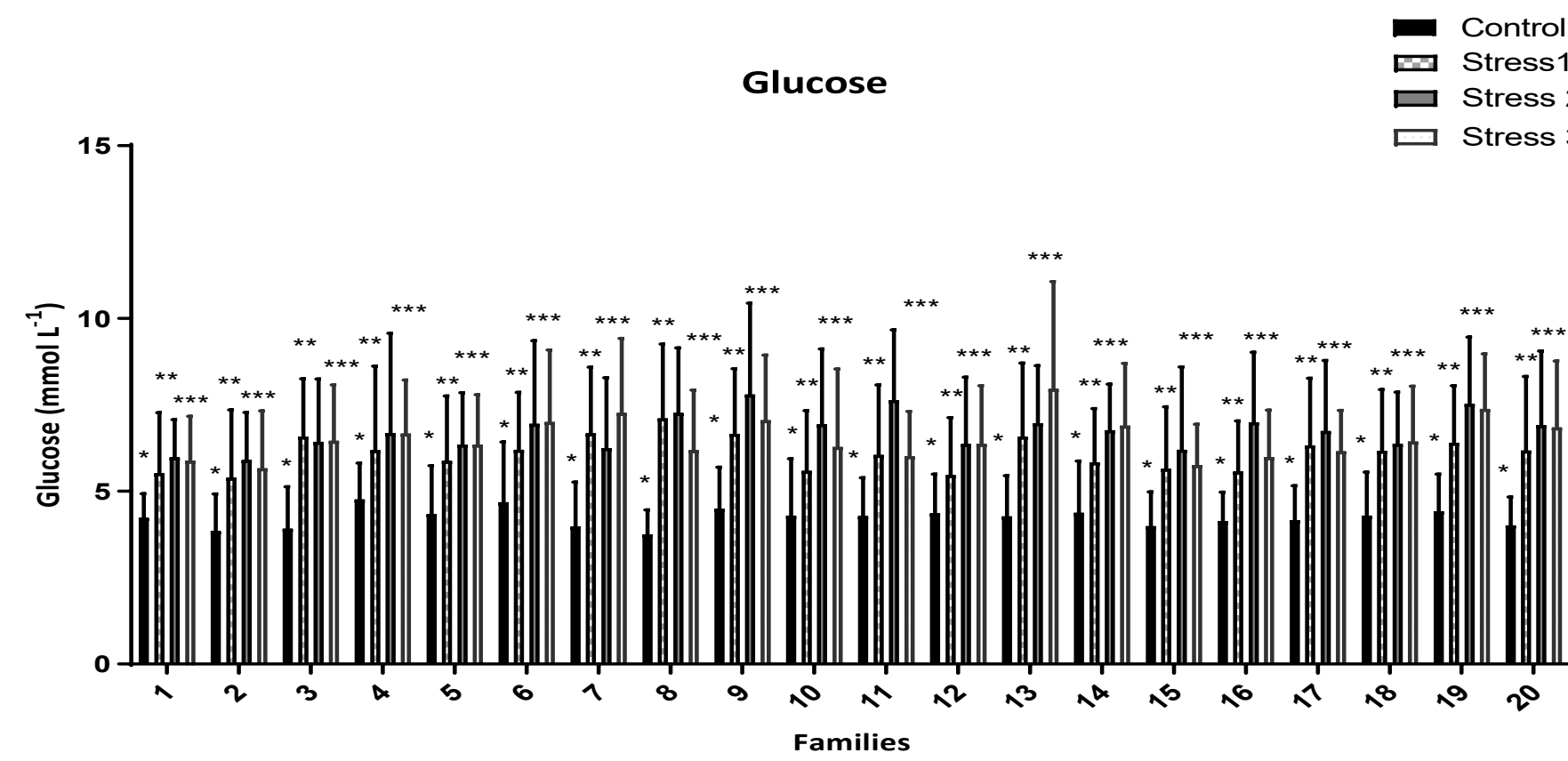
- Στατιστικά σημαντική επίδραση τόσο της οικογένειας όσο και του χειρισμού (στρες) στις μέσες συγκεντρώσεις πλάσματος της χοληστερόλης ($p\text{-value} < 0,01$), χωρίς σημαντικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των δυο παραγόντων ελέγχου ($p\text{-value} = 0,06$)
- Στατιστικά σημαντική επίδραση τόσο της οικογένειας όσο και του χειρισμού (στρες) στις μέσες συγκεντρώσεις πλάσματος των τριγλυκεριδίων ($p\text{-value} < 0,01$), χωρίς σημαντικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των δυο παραγόντων ελέγχου ($p\text{-value} = 0,094$).
- Στατιστικά σημαντική επίδραση του χειρισμού (στρες) στις μέσες συγκεντρώσεις πλάσματος των γλυόζης, χωρίς σημαντικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των δυο παραγόντων ελέγχου ($p\text{-value} = 0,118$).
- Στατιστικά σημαντική επίδραση του χειρισμού (στρες) στις μέσες συγκεντρώσεις πλάσματος του γαλακτικού οξέος και σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ των εξεταζόμενων παραγόντων (οικογένειας και χειρισμών, $F_{57,1042} = 1,576$, $p\text{-value} = 0,05$)
- Όλες οι βιοχημικές παράμετροι αποτελούν ένα ατομικό σταθερό χαρακτηριστικό, εκτός του Mg.
- Ταυτοποίηση των ατόμων με σταθερά χαμηλή (LR)ή υψηλή (HR) απόκριση για κάθε δείκτη χωριστά.



Εικόνα 1. Η επίδραση της οικογένειας και του χειρισμού (στρες) στις μέσες συγκεντρώσεις πλάσματος της χοληστερόλης. Τα γράμματα υποδεικνύουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των οικογενειών και οι αστερίσκοι στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των χειρισμών ($p\text{-value} < 0,01$).



Εικόνα 2. Η επίδραση της οικογένειας και του χειρισμού (στρες) στις μέσες συγκεντρώσεις πλάσματος των τριγλυκεριδίων. Τα γράμματα υποδεικνύουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των οικογενειών και οι αστερίσκοι στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των χειρισμών ($p\text{-value} < 0,01$).



Εικόνα 4. Η επίδραση της οικογένειας και του χειρισμού (στρες) στις μέσες συγκεντρώσεις πλάσματος της γλυκόζης. Οι αστερίσκοι υποδεικνύουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των χειρισμών ($p\text{-value} < 0,01$).

Πίνακας 6. Οι τιμές (mean $\pm$ SD) των συγκεντρώσεων των βιοχημικών δεικτών, μετά την κατανομή των ψαριών σε άτομα χαμηλής (LR) και υψηλής (HR) απόκρισης για κάθε δείκτη ξεχωριστά (αναγράφονται οι τιμές control με τις οποίες γίνεται σύγκριση). Τα γράμματα υποδεικνύουν διαφορές μεταξύ των ατόμων HR, LR και της ομάδας ελέγχου (control) ($p\text{-value} < 0,01$).

Μεταβλητή	LR	HR	Control
Χοληστερόλη (mmol l^{-1})	3,02 $\pm$ 0,5 ^a	5 $\pm$ 0,7 ^b	4,7 $\pm$ 0,4 ^c
Τριγλυκερίδια (mmol l^{-1})	5,14 $\pm$ 2,5 ^a	10,16 $\pm$ 3,9 ^b	3,07 $\pm$ 0,5 ^c
Ολικές πρωτεΐνες (mgml^{-1})	4,1 $\pm$ 0,8 ^a	7,1 $\pm$ 2 ^b	5,2 $\pm$ 0,3 ^c
Κορτιζόλη (ng mL^{-1})	255,6 $\pm$ 43,7 ^a	408,7 $\pm$ 48,7 ^b	140,2 $\pm$ 100 ^c
Γαλακτικό οξύ (mmol l^{-1})	3,6 $\pm$ 1,3 ^a	7,5 $\pm$ 1,8 ^b	4,2 $\pm$ 1,2 ^c
Ωσμωτικότητα (msom kg^{-1})	339 $\pm$ 24 ^a	379 $\pm$ 32 ^b	338,7 $\pm$ 18,6 ^a

Συμπεράσματα- Συζήτηση

- Τα τριγλυκερίδια, η γλυκόζη, η κορτιζόλη και οι ολικές πρωτεΐνες, έδειξαν ταχύτερη απόκριση μετά τη **Stress 2**, με την κορτιζόλη να τείνει να αυξάνεται ακόμη περισσότερο και μετά την **Stress 3**. Το γεγονός αυτό πιθανόν να αποδεικνύει, αφενός, ότι ο χρόνος ανάκαμψης δεν ήταν επαρκής μεταξύ των χειρισμών. Αφετέρου δε το λαβράκι, ως ένα είδος ιδιαίτερα ευαίσθητο στην καταπόνηση, με υψηλές τιμές κορτιζόλης, επηρέασε και την δευτερογενή απόκριση των υπόλοιπων μεταβολιτών.
- Η απόκριση της χοληστερόλης, των τριγλυκεριδίων και της κορτιζόλης μπορεί να αποτελεί ένδειξη της επίδρασης του γενετικού υποβάθρου.
- Η επαναληπτικότητα που παρατηρήθηκε στις περισσότερες μεταβλητές, πλην του Mg, αποδεικνύει ότι αποτελούν ένα σταθερό ατομικό χαρακτηριστικό, συμβάλλοντας στην περαιτέρω διάκριση των ατόμων με συνεχή υψηλή (HR) ή χαμηλή (LR) απόκριση, μετά την έκθεση σε οξύ στρες.
- Ο προσδιορισμός τέτοιων ενδο-ειδικών διαφορών στην απόκριση όλων των μεταβολικών δεικτών, καθώς και η κατανόηση των επιπτώσεων τους στην απόδοση και τη φυσική κατάσταση των εκτρεφόμενων ψαριών, παίζουν σημαντικό ρόλο στην δημιουργία ιδανικότερων συνθηκών διαβίωσης και στην επιλογή αποθεμάτων αναπαραγωγής (breeding stock) σε προγράμματα γενετικής επιλογής (Samaras et al., 2016). Επιπροσθέτως, το γεγονός ότι στα ψάρια η απόκριση στο στρες, η οποία σχετίζεται άμεσα ή έμμεσα με τις συγκεντρώσεις διάφορων μεταβολιτών, έχει γενετική συνιστώσα, αποτελεί ένα επιπλέον πλεονέκτημα στην επιλεκτική αναπαραγωγή (Millot et al., 2010).

Αναφορές

- Maricchiolo G., Caruso G. & Genovese L. (2008). Haematological and Immunological Responses in Juvenile Sea Bass (*Dicentrarchus labrax* L.) After Short-Term Acute Stress. The Open Fish Science Journal. 1. 28-35. 10.2174/1874401X08081010028.
- Millot S., Péan S., Leguay D., Vergnet A., Chatain B., Béguin M.-L. (2010). Evaluation of behavioral changes induced by a first step of domestication or selection for growth in the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*): A self-feeding approach under repeated acute stress. Aquaculture 306 (2010) 211–217. doi:10.1016/j.aquaculture.2010.04.027
- Samaras, A., Dimitroglou, A., Sarropoulou, E. 2016. Repeatability of cortisol stress response in the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and transcription differences between individuals with divergent responses. *Sci Rep* 6, 34858 (2016). <https://doi.org/10.1038/srep34858>